



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



# **IL-6 POLİMORFİZMİNİN DOKU METAL DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**SERAP YALÇIN**

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ TIP ANABİLİM DALI  
ADLİ KİMYA VE ADLİ TOKSİKOLOJİ PROGRAMI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Tülin SÖYLEMEZOĞLU**

**2010-ANKARA**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# IL-6 POLİMORFİZMİNİN DOKU METAL DÜZEYLERİNE ETKİSİ

SERAP YALÇIN

DİSİPLİNLERARASI ADLİ TIP ANABİLİM DALI  
ADLİ KİMYA VE ADLİ TOKSİKOLOJİ PROGRAMI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tülin SÖYLEMEZOĞLU

Bu çalışma için gerekli cihazlar Adli Tıp Enstitüsü Toksikoloji Laboratuvarında bulunmaktadır, sarf malzemeleri “TOKSİK METALLER VE İZ ELEMENTLERİN SAĞLIKLI VE HASTA BİREYLERDE DÜZEYLERİ” başlıklı (2003K1201902) DPT projesinden temin edilmiştir.

2010-ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Disiplinlerarası Adli Tıp Anabilim Dalı

**Adli Kimya ve Adli Toksikoloji Doktora Programı**

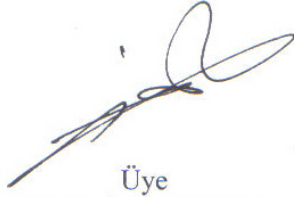
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

**Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05.07.2010



Jüri Başkanı  
Prof. Dr. Tülin SÖYLEMEZOĞLU  
A.Ü. Adli Tıp Enstitüsü



Üye  
Prof. Dr. İsmail KURT  
G.A.T.A



Üye  
Prof. Dr. Gülin GÜVENDİK  
A.Ü.Eczacılık Fakültesi



Üye  
Doç. Dr. Birsen KAPLAN  
G. Ü. Sağ. Hiz. Mes. Yük. Okulu

Üye  
Doç. Dr. Gürol CANTÜRK  
A.Ü. Tıp Fakültesi



## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	vii
Çizelgeler	viii
<b>1.GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Sitokinler	1
1.2. İnterlökinler	5
1.2.1. IL-6 (İnterlökin 6)	5
1.2.2. IL-6 Geni ve Yapısı	8
1.2.3. IL-6 Reseptör Süperailisi	12
1.2.4. IL-6 Reseptörü (IL-6R) ve GP 130' un Yapısı	13
1.2.5. Çözünebilir IL-6 Reseptörü	16
1.2.6. IL-6' nın Biyolojik Aktivitesi	18
1.3. IL-6' nın Hastalıklarla İlişkisi	19
1.4. IL-6, Metallothionein ve Çinko	22
1.5. STAT Proteinleri ile Sinyal İletim Yolu	23
1.6. Genetik Polimorfizm	23
1.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	24
1.6.2. Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP)	27
1.7. Metaller	29
1.7.1. Çinko (Zn)	29
1.7.2. Demir (Fe)	32
1.7.3. Kadmiyum (Cd)	33
1.7.4. Kurşun (Pb)	35
1.7.4.1. Üretimi ve Kullanımı	35
1.7.4.2. Maruziyet	36
1.7.4.3. Kurşunun Organlar Üzerine Etkileri	38
1.7.4.4. Kurşun İmmunotoksikolojisi	38
1.7.5. Bakır(Cu)	38
1.7.5.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler	39
1.7.5.2. Üretimi ve Kullanımı	39
1.8. Metal İçeren Biyolojik Moleküller	39
1.8.1. Metalloporfirinler	40
1.8.2. Non-Hem Demir Proteinleri	40
1.8.3. Kobalt İçeren Biyolojik Moleküller	41
1.8.4. Metalloenzimler	41
1.8.5. Metallothioneinler	41

1.8.6. Kurşun Bağlı Biyolojik Moleküller	41
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	42
2.1. Gereçler	42
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	42
2.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	44
2.2. Yöntem	46
2.2.1. Örneklerin Toplanması	46
2.2.2. Doku Örneklerinden DNA İzolasyonu	47
2.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	48
2.2.4. Primerler ve Restriksiyon Enzimi	48
2.2.5. PCR Reaksiyonu ve Programı	49
2.2.6. PCR Ürünü için Agaroz Jel Hazırlanması	50
2.2.7. PCR Ürününün RFLP Yöntemi ile Kesimi	51
2.3. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Cd, Pb, Zn ve Cu düzeylerinin belirlenmesi	52
2.3.1. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Cu Düzeyi Ölçümü	53
2.3.2. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Zn Düzeyi Ölçümü	54
2.3.3. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Pb Düzeyi Ölçümü	54
2.3.4. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Cd Düzeyi Ölçümü	56
2.4. İstatistiksel Analiz	57
<b>3. BULGULAR</b>	58
3.1. Otopsi Materyallerinden İzole Edilen DNA Örneklerinde IL-6 -174 G/C polimorfizmi	58
3.2. IL-6 polimorfizminin yaş ve cinsiyetle ilişkisi	60
3.3. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Metal Düzeyi	63
<b>4. TARTIŞMA</b>	66
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	71
<b>ÖZET</b>	72
<b>SUMMARY</b>	74
<b>KAYNAKLAR</b>	75
<b>EKLER</b>	101
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	102

## ÖNSÖZ

Tez çalışmamda, otopsi doku örneklerinde IL-6 polimorfizmini belirlenmiş ve bu polimorfizm ile karaciğer ve böbrek doku metal düzeyleri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Tüm yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca benden sevgi ve desteğini esirgemeyen, canım kadar çok sevdiğim danışman hocam Sayın Prof. Dr. Tülin Söylemezoğlu'na,

Laboratuar çalışmalarında bana her konuda yardımcı olan arkadaşlarım, Dr. Bio. Zeliha Kayaaltı, Dr. Kim. Görkem Mergen ve Uzm. Bio. Ayşe Karakuş'a,  
Örneklerin toplanmasında yardımları için Dr. Servet B. İritaş'a,

Destekleri için canım aileme teşekkür ederim.

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>IL-6</b>	Interlökin 6
<b>MT</b>	Metallotiyoneinler
<b>AAS</b>	Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi
<b>Cd</b>	Kadmiyum
<b>Pb</b>	Kurşun
<b>Zn</b>	Çinko
<b>Cu</b>	Bakır
<b>ALAD</b>	Delta-aminolevülinik asit dehidrataz
<b>PCR</b>	Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>RFLP</b>	Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1. İnsanda bulunan Sitokin ve Kemokinleri gösteren periodik tablo	2
Şekil 1.2. IL-6 yolağı	6
Şekil 1.3. IL-6 kristal yapısı	7
Şekil 1.4. Homo sapiens'de interlökin 6 (interferon, beta 2) (IL-6), mRNA ve IL-6 geninin amplifikasyonu yapılan bölgesinin şematik gösterimi	9
Şekil 1.5. IL-6'nın biyolojik aktiviteleri	11
Şekil 1.6. IL-6 üreten hücreler	11
Şekil 1.7. IL-6R ve Gp 130' un yapısı	14
Şekil 1.8. Hekzamerik IL-6 reseptör kompleksi	15
Şekil 1.9. İnsanda IL-6, LIF, CNTF ve GH yapılarının karşılaştırılması	16
Şekil 1.10. Gp 130'un dimerizasyonu ve şematik gösterimi	17
Şekil 1.11. IL-6'nın çözünbilir reseptör-ligand kompleksi	17
Şekil 1.12. IL-6 reseptör yapısı	18
Şekil 1.13. IL-6 ve Diyabet	21
Şekil 1.14. Polimeraz zincir reaksiyon basamakları	25
Şekil 1.15. PCR	26
Şekil 1.16. Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi	28
Şekil 1.17. Periyodik Tablo	29
Şekil 1.18. Çinko ve immün sistem	30
Şekil 1.19. Zn sinyal yolları	31
Şekil 1.20. Dünya 'da Cd yayını g/km <sup>2</sup> /yıl (2006)	34
Şekil 1.21. Türkiye'de kadmiyum yayını (2006) g/km <sup>2</sup> /y	34
Şekil 1.22. Türkiye'de kurşun yayını kg/km <sup>2</sup> /yıl	36
Şekil 1.23. ALAD enzimi kristal yapısı	36
Şekil 2.24. NlaIII restriksiyon enzimi kesim bölgesi	51
Şekil 2.25. PCR ürününün Nla III enzimi ile kesiminin şematik gösterimi	52
Şekil 2.26. Karaciğer dokusunda bakır analizine ait örnek kalibrasyon grafiği	53
Şekil 2.27. Karaciğer dokusunda çinko analizine ait kalibrasyon grafiği	54
Şekil 2.28. Karaciğer dokusunda kurşun analizine ait örnek kalibrasyon grafiği	55
Şekil 2.29. Karaciğer ve böbrek dokusunda kadmiyum analizine ait örnek kalibrasyon grafiği	56
Şekil 3.30. DNA izolasyonu ve enzim kesimi jel görüntüsü M: 100 bp ladder, 1,2: PCR ürünü (303 bp), 3,4,5: homozigot tipik genotip (233 bp), 6,7: heterozigot genotip (233 bp ve 122 bp), 8: homozigot atipik genotip (122 bp)	58

**ÇİZELGELER**

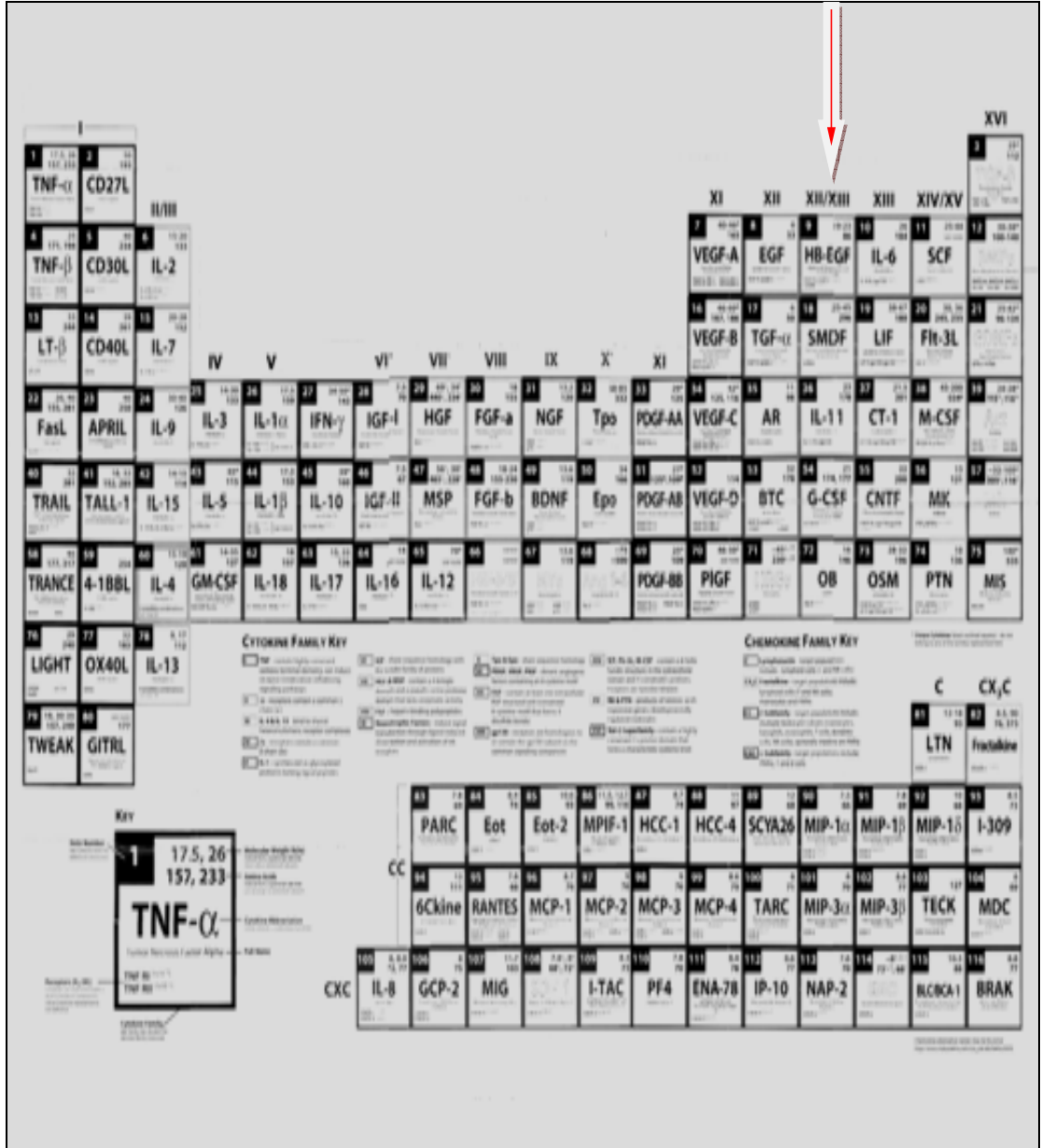
<b>Çizelge 1.1.</b> Sitokinlerin biyolojik aktiviteler	3
<b>Çizelge 1.2.</b> IL-6 polimorfizmi ve genel hastalıklar	20
<b>Çizelge 1.3.</b> Çocuk ve yetişkinlerde kan- kurşun düzeyi	37
<b>Çizelge 1.4.</b> Metal taşıyan proteinler	40
<b>Çizelge 2.5.</b> IL-6 polimorfizminde kullanılan primer dizisi	48
<b>Çizelge 2.6.</b> PCR Reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları	49
<b>Çizelge 2.7.</b> Mikrodalga fırına ait karaciğer dokusu yakma programı	53
<b>Çizelge 3.8.</b> Otopsi böbrek örneklerinde IL-6 , -174 G/C polimorfizmi sonucu toplumdaki alel frekansı	59
<b>Çizelge 3.9.</b> Otopsi böbrek örneklerinde IL-6 , -174 G/C polimorfizmi sonucu toplumdaki genotip frekansı ve Hardy-Weinberg dengesi	59
<b>Çizelge 3.10.</b> IL-6 ve cinsiyet	61
<b>Çizelge 3.11.</b> IL-6 ve yaş	62
<b>Çizelge 3.12.</b> Böbrek dokularında metal düzeyleri	64
<b>Çizelge 3.13.</b> Karaciğer dokularında metal düzeyleri	65
<b>Çizelge 4.14.</b> Avrupa ülkeleri ve Türkiye'deki IL-6 polimorfizm genotiplerinin karşılaştırılması	67

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Sitokinler

Başıklık yanıtının düzenlenmesinde ilgili hücrelerce salınan hormon benzeri aracı maddelere genel olarak Sitokin adı verilir. Bunlardan T ve B hücreleri tarafından oluşturulanlara **Lenfokinler**, monositlerce oluşturulanlara **Monokinler** adı verilir.

Sitokinler, hematopoitik sisteminde içinde bulunduğu, hedef hücrelerin aktivitelerini değiştiren veya düzenleyen protein ya da glikoprotein yapılı immunomodulatörlerdir. Sitokinler hedef hücrelerdeki kendilerine ait spesifik ligandlara bağlanarak etkilerini gösterirler. Bağlanma ile başlayan sinyal transdüksiyonu ve ikinci haberci iletimi, gen aktivasyonu, mitotik bölünme, büyüme ve farklılaşma, migrasyon veya apoptozise neden olur (Bidwell, 1999).



Şekil 1.1. İnsanda bulunan Sitokin ve Kemokinleri gösteren periodik tablo (R&D systems, 2010).

Sitokinler hücre membranına bağlanabilen protein veya haberci (hücreden hücreye bilgi taşıma) glikoprotein molekülleridir. 200' den fazla sitokin tanımlanmıştır ve bunlar genel olarak bölünerek interlökinlerin, büyüme faktörlerinin, kemokinlerin, interferonların ve koloni stimüle edici faktörlerin alt gruplarına ayrılırlar. Sitokinler inflamatuvar aktivitelere göre pro-inflamatuvar

(IL1, IL-6, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ) ve anti-inflamatuvar (IL-1Ra, IL-10) olarak gruplandırılır. Sitokin fonksiyonları, hedef hücrenin yüzeyinde bulunan sitokin reseptörlerine göre, spesiflik kazanır. Çözünabilir mediatörler olarak sitokinlerin fonksiyonları otokrin, parakrin veya sistemik (hormona benzer) olabilir. Bazı sitokinler, sitokin ile agonistik çalışan çözünabilir reseptör formlarına sahiptir. Sitokin aracılı- proinflamator- efektör fonksiyonlar, antiinflamator sitokinler veya sitokin reseptör spesifik antogonizma tarafından inhibe edilebilir. Bu inhibe ve uyarıcı faktörler arasındaki denge, normal hücre fonksiyonları için önemlidir ve bir çok hastalığın oluşumunun sitokin üretimindeki dengesizlikten kaynaklandığı çalışmalarda görülmektedir (Callard ve ark., 1999). Çizelge 1.1'de sitokinler ve aktiviteleri gösterilmektedir.

**Çizelge1.1 :** Sitokinlerin biyolojik aktiviteleri (<http://www.med.unibs.it/~marchesi/growfact.html>, Bilgehan, 2005).

İnterlökin ve Diğer Sitokinler	Kaynak	Başlıca etkinlikleri
<b>IL-1 <math>\alpha</math> ve -<math>\beta</math></b>	Makrofajlar, diğer antijen sunucu hücreler, diğer vücut hücreleri	Antijen sunucu ve T lenfositlerini uyarma , B lenfositlerinin çoğalmasını ve Ig oluşumu Karaciğerde akut faz yanıtı sağlama Fagosit aktivasyonu Hematopoiezis Yangısal tepkime ve ateş oluşturma
<b>IL-2</b>	Aktive TH 1, Tc ve NK hücreleri	Aktive T hücrelerinin proliferasyonu NK ve Tc fonksiyonlarını artırma B proliferasyonunu ve IgG2 oluşturmalarını artırma
<b>IL-3</b>	T lenfositleri	Erken hematopoietik ana hücrelerini geliştirmek
<b>IL-4</b>	TH2 hücreleri, mast hücreleri	B hücrelerinin çoğalmasını, IgE ve MHCII oluşturmalarını sağlama TH2 ve Tc proliferasyonu ve fonksiyonları Eozinofil ve Mast hücrelerinin gelişmesi ve fonksiyonları Monokin üretimini baskılama
<b>IL-5</b>	TH2 ve mast hücreleri	Eozinofil gelişmesi ve fonksiyonu
<b>IL-6</b>	Aktive TH2, APC ve diğer somatic hücreler	T hücreleri stimülasyonu için IL1 ve TNF ile sinerjistik etki B hücre proliferasyonu ve Ig oluşturmalarını artırma Trombopoiezis

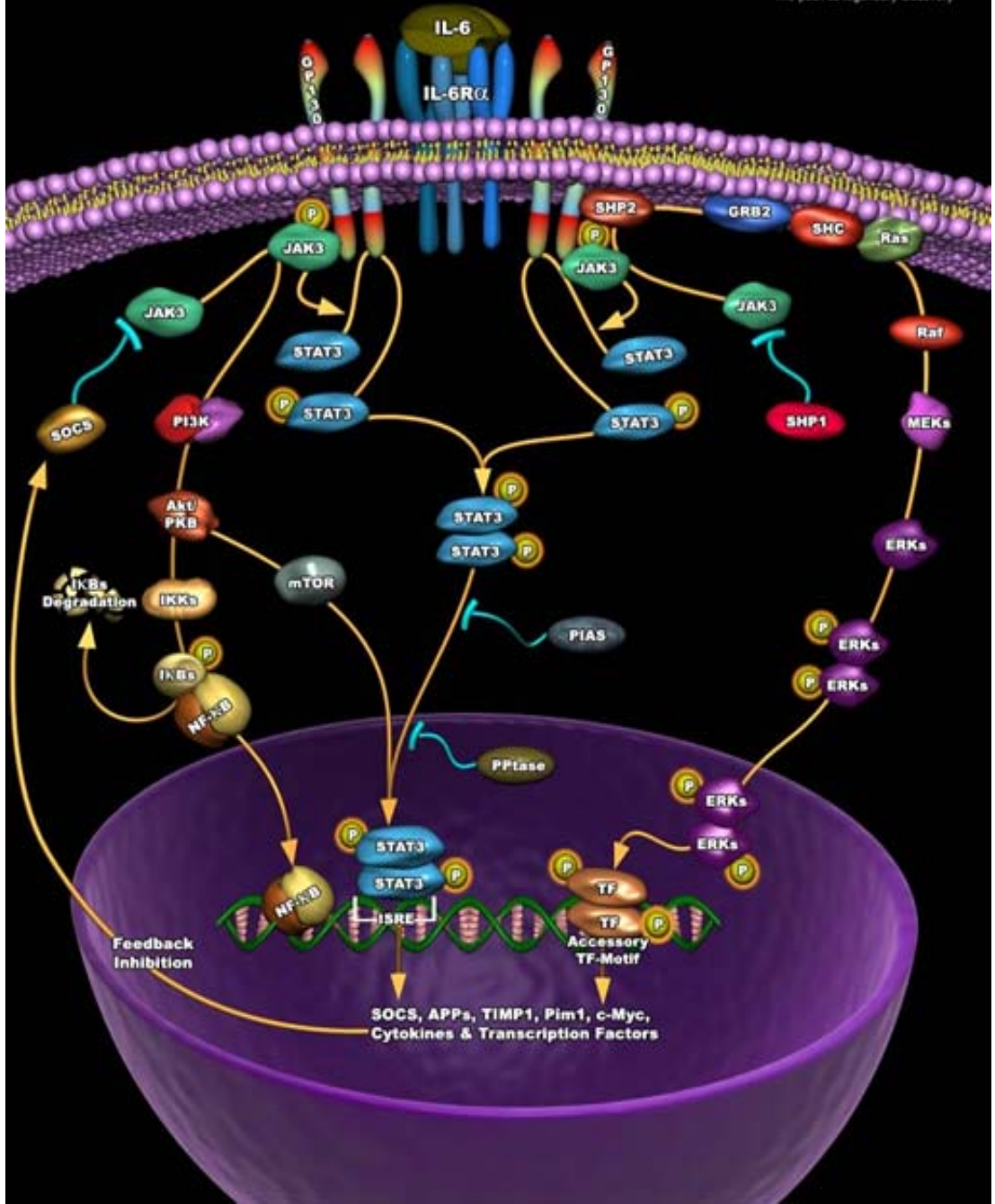
<b>IL-7</b>	Timus ve stroma hücreleri	T ve B lenfopoiezi ve Tc fonksiyonlarına etki
<b>IL-8</b>	Makrofaj ve diğer somatik hücreler	Nötrofil ve T hücreleri için kemoatraktan etki
<b>IL-9</b>	Kültür hücreleri	Bazı hematopoietik ve timopoietik etki
<b>IL-10</b>	Aktive TH2, CD8T ve B lenfosit, Makrofaj	TH1, NK ve APs lerin sitokin üretimini inhibe etme B hücrelerinin çoğalmasını ve antikor oluşturmalarını artırma Hücrel bağışıklığı baskılama
<b>IL-11</b>	Stroma hücreleri	Hematopoiez ve Trombopoiez üzerine sinerjistik etki
<b>IL-12</b>	B hücreleri ve Makrofajlar	Aktive Tc ve NK proliferasyon ve fonksiyonu INF g üretimi TH1 indüksiyonu, TH2 fonksiyon inhibisyonu Hücrel bağışıklık yanıtını ilerletme
<b>IL-13</b>	TH2 hücreleri	IL4 benzeri etkiler
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Aktive makrofajlar, diğer somatik hücreler	IL1 benzeri etkiler Vasküler Tromboz ve tumor nekrozu
<b>TNF-<math>\beta</math></b>	Aktive TH1 hücreler	IL1 benzeri etkiler Vasküler Tromboz ve tumor nekrozu
<b>IFN <math>\alpha</math> ve <math>\beta</math></b>	Makrofajlar, Nötrofiller, diğer somatik hücreler	Antiviral etki Tüm hücrelerde MHC 1 oluşumunu teşvik etme Makrofaj ve NK aktivasyonu
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	Aktive TH1 ve NK hücreleri	Tüm hücrelerde MHC-1 oluşumunu teşvik etme APC-1 ve diğer hücrelerde MHC-2 oluşumunu teşvik etme Makrofaj, Nötrofil ve NK Aktivasyonu Hücrel bağışıklık yanıtı ilerletme Antiviral etki
<b>TGF <math>\beta</math></b>	Aktive T lenfositleri, plateletler, makrofajlar ve diğer hücreler	Antiinflamatuvar etki Makrofaj ve lenfositler için Antiproliferatif B hücrelerinin Ig A oluşturmalarını ilerletme Fibroblast Çoğalmasını ve yara iyileşmesini ilerletme

## 1.2. İnterlökinler

Bir kısmı lenfositlerce oluşturulan (lenfokin) bir kısmı da monosit ve makrofajlarca oluşturulan (Monokin) hücreler arası etkin maddeler için **İnterlökin** adı verilmektedir. (Bilgehan, 2005).

### 1.2.1. IL-6 (İnterlökin 6)

IL-6, multifonksiyonel bir sitokindir. İmmün, hematopoietik aktivite ve akut faz cevabı indükleme özelliği nedeniyle çok geniş bir aralıkta savunma sisteminde görev alır. IL-6' nın artan ekspresyonu myeloma, romatoid artrit, Castleman's hastalığı, psoriasis, post menopozal osteoporoz gibi bir çok hastalığın patolojisinde tanımlanmıştır. IL-6, IL-11, lösemi inhibitör faktörü (LIF), onkostatin M (OSM), kardiotropin-1 ve siliar nörotropik faktörünü de içine alan sitokin ailesinin bir üyesidir. Bu ailenin diğer üyeleri gibi, IL-6 büyüme ve reseptör sistemi ile farklılaşmayı indükler. IL-6 bölgelerinin tanımlanması, IL-6 reseptörü ve gp 130 arasındaki ilişkiye bağlıdır. Burada ilk basamak, terapötik faydaları için bu sitokinlerin etkilerinin bölgesel manipülasyonudur (Simpson ve ark., 1997).



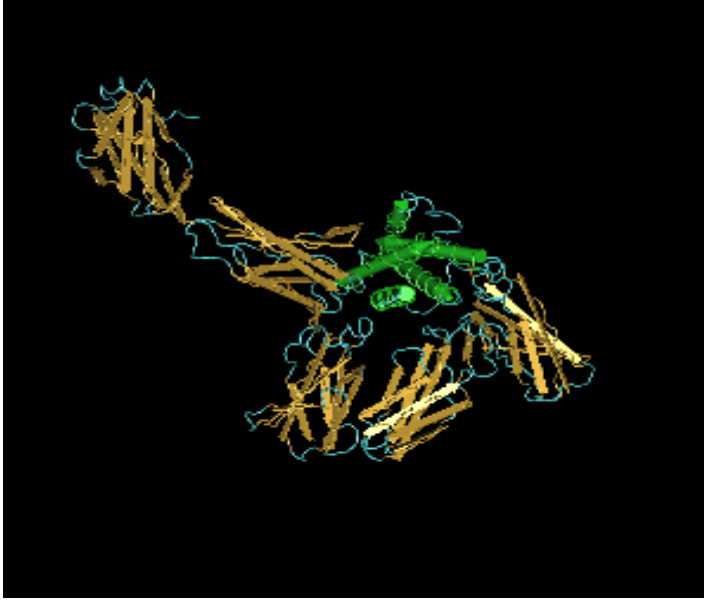
Şekil 1. 2. IL-6 yolağı ([http://www.biolegend.com/media\\_assets/pathways](http://www.biolegend.com/media_assets/pathways)).

IL-6, proinflamatuvar ve proaterogenetik aktiviteleri nedeniyle en çok araştırılan sitokinlerdendir. Sadece diğer reaktan proteinlerin ve karaciğerden C-reaktif proteininin (CRP) üretimi için ana uyarıcı değil, aynı zamanda E-selektin, ICAM-1, VCAM-1'ı arttırarak ve bizzat kendisini de içeren inflamatuvar

mediatorleri salarak endotelyal hücre adhezivliğini artırmaya öncülük eden başka önemli rollere de sahiptir (Huber ve ark., 1999).

İnterlökin- 6 (IL-6), fibrinojen ve C-reaktif protein (CRP) gibi inflamasyonun serum biyogöstergeleri aterosklerotik hastalıklarda önemli rol oynar. IL-6 endotelyal aktivasyonda direk rol oynarken (Romano ve ark., 1997) fibrinojen sentezinde indirek görev alır (Dalmon ve ark., 1993). Bu inflamasyon biyogöstergeleri CAD insidansı (Ridker ve ark., 1998a; Ridker ve ark., 1998b; Ridker ve ark., 2000) ve akut koroner sendromu (ACS) prognoz ile ilişkilidir (Lindmark, 2001; Haim ve ark., 2002).

İnterlökin-6 (IL-6), birçok inflamatuvar ve immün sistem aracılı cevapta önemli rol oynayan bir sitokindir. İmmün ve inflamatuvar olayların oluşumunda anahtar rolü üstlenen tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) ve IL-1'e cevap olarak üretilir. Esas olarak vasküler endotelyal hücreler, mononükleer fagositler, fibroblastlar, aktive T lenfositler, mesane ve serviks tümörlerinden salınır. Etkisini özellikle B lenfositler ve hepatositler üzerinde gösterir. B lenfositlerin antikor üreten hücrelere farklılaşmasını sağlarken, hepatositlerden CRP, mannoz bağlayan lektin (MBL) ve kompleman komponentleri gibi akut faz reaktanlarının salınımına neden olur. Böylece inflamatuvar cevabın ortaya çıkmasını ve gelişmesini sağlar. T lenfosit ve timositler üzerine kostimulatördür. Diğer sitokinlerle beraber kemik iliğindeki hematopoietik kök hücrelerin gelişimini uyarır. IL-1 ile beraber T-helper hücreleri aktive eder (Cruse ve ark., 1999).



**Şekil 1.3.** IL-6 kristal yapısı

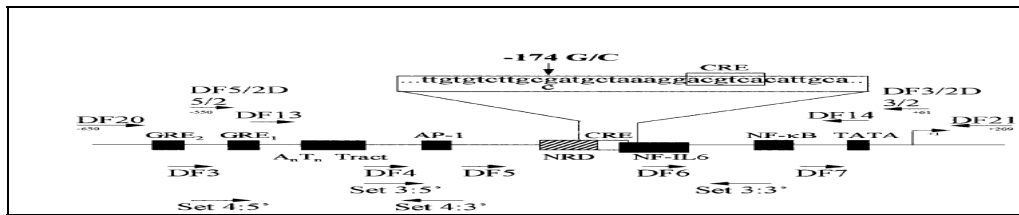
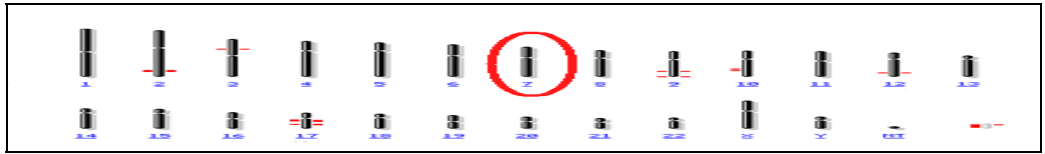
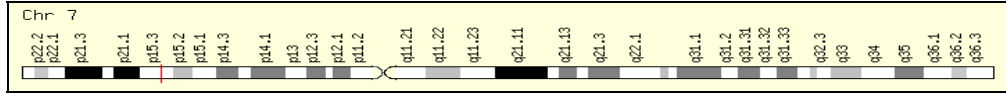
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdb/mmdbsrv.cgi?uid=23622>).

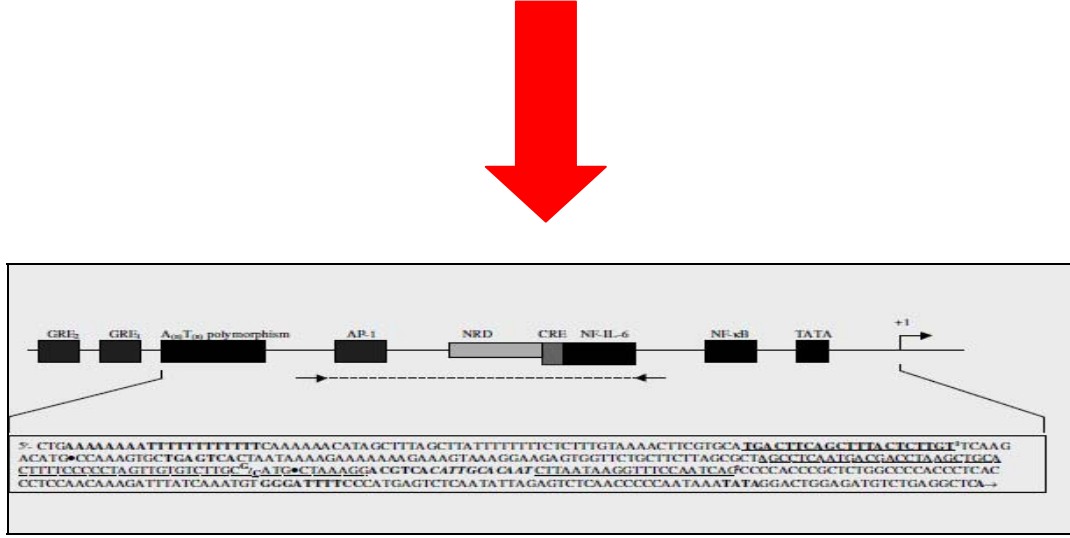
### 1.2.2.IL-6 Geni ve Yapısı

IL-6 proinflatuvar, anti-inflamasyon ve endokrin fonksiyonları olan pleiotropik bir sitokindir. IL-6 ilk hepatosit stimüle edici faktör (HSF) (Ritchie ve Fuller,1983) olarak tanımlanmıştır. 1985 yılında HSF' ye benzer B- hücre farklılaştırma faktörü (BSF-2 yada İnterferon  $\beta$ -2) bulunmuştur (Gauldie ve ark., 1987; Hirano ve ark., 1985). Bir sitokin olarak bilinen IL-6, akut faz proteinlerinin (APPs, örneğin C reaktif protein, serum amiloid A protein, albumin, haptoglobulin) üretimini düzenlenmesinden sorumludur (Simpson ve ark., 1997).

IL-6 geni insanda 7p15-p21 kromozomunda bulunur (Bowcock ve ark., 1988, Hirano ve ark., 1986) ve 5 ekson ve 4 intron içerir (Yasukawa ve ark., 1987). IL-6 geni 5' ve 3' bölgelerinde polimorfiktir (Bowcock ve ark., 1989, Fishman ve ark., 1998). Promotör bölgede -174 G/C baz değişim polimorfizmi birçok çalışmada gösterilmiştir (Olomolaiye ve ark., 1998). Fishman ve arkadaşları (1998), HeLa hücrelerine geçici lusiferaz haberci vektörü transfer ederek G allel varlığının IL-6 geninde yüksek transkripsiyon aktivitesi varlığı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Araştırmalar GG homozigot ve GC heterozigot kişilerde plazma IL-6 seviyesinin CC

homozigot taşıyıcılara göre daha yüksek olduğunu göstermiştir(Fernandez- Real ve ark., 2000). 92 Romatoid artrit vakası arasındaki polimorfizm dengesizliği 383 sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Bu sonuç özellikle CC genotipi taşıyan hastalar arasında sıklığın azalmasına neden olmaktadır. G allel varlığı plazma lipid profili (yüksek trigliserid, düşük yoğunluklu lipoprotein ve serbest yağ asitleri, düşük-yüksek yoğunluklu lipoprotein) ile de ilişkilidir (Fernandez- Real ve ark., 2000). IL-6 allellerinin fenotipik farklılıklarla bağlantısı tam olarak bilinmemekle birlikte fakat IL-6 geninin promotör bölgesindeki transkripsiyon faktörü (AP-1, NF-IL-6 ve NF-κB) bağlanma bölgelerindeki bağlanma kapasitesi IL-6 üretiminde farklılıklara neden olmaktadır (Matsusaka ve ark., 1993). IL-6 geninin -174 polimorfizmi,  $A_{(n)} T_{(n)}$  polimorfik bölge ile en az 6 allel ( $A_{(8)}T_{(12)}, A_{(9)}T_{(11)}, A_{(10)}T_{(10)}, A_{(9)}T_{(10)}, A_{(10)}T_{(9)}, A_{(10)}T_{(11)}$ ) içermektedir (Fishman ve ark., 1998).



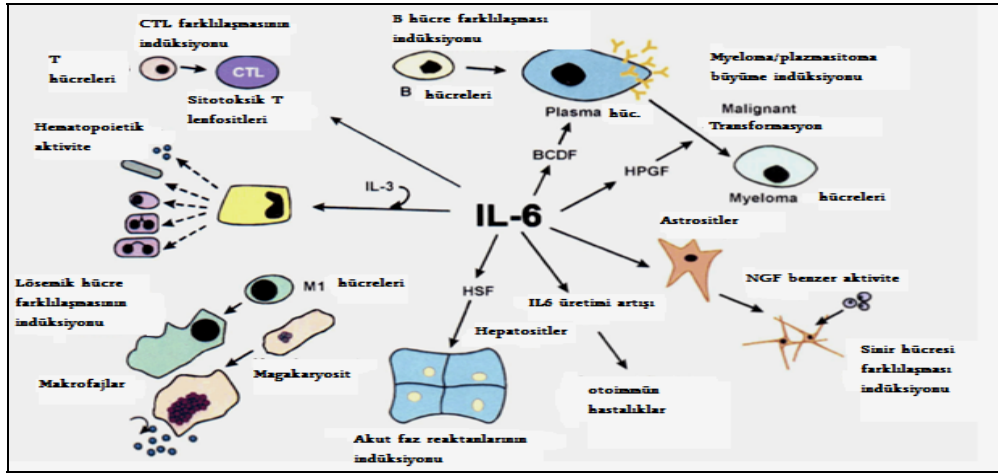


Şekil 1.4 : Homo sapiens’de interlökin 6 (interferon, beta 2) (IL-6), mRNA ve IL-6 geninin amplifikasyonu yapılan bölgesinin şematik gösterimi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>; Fisherman ve ark., 1998).

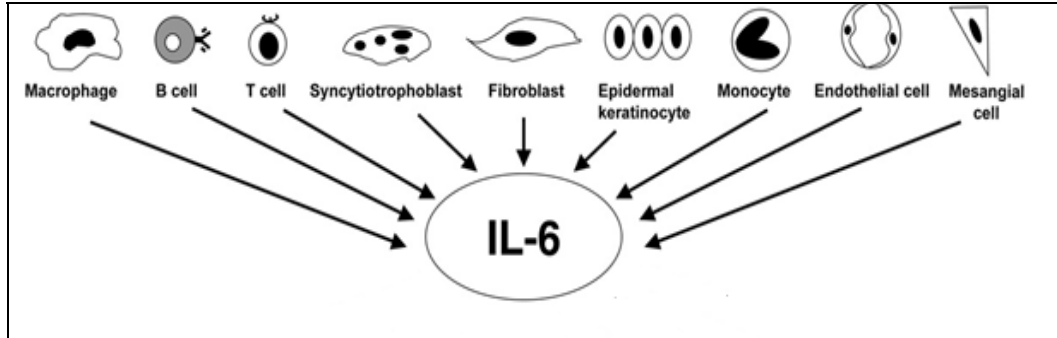
IL-6 geni, 7. kromozomun kısa kolunda (7p14-7p21) lokalize olmuştur (Sehgal ve ark., 1986). İnsan (Zilberstein ve ark., 1986 ; Yasukawa ve ark., 1987) , fare (Tanabe ve ark., 1988) ve rat (Northemann ve ark., 1989) IL-6 genleri 4 intron ve 5 ekzon içermektedir. Genin protein kodlanan bölgesinde ekson/intron sınırlarının pozisyonu, ekson uzunluğu ve eksonlardaki sistein kalıntılarının lokasyonu türler arasında korunmuştur. Ancak ekson1’in 5’ sınırı ve Ekson 5’in 3’ sınırında farklılıklar meydana gelmektedir ve bu bölgeler kodlanan bölgenin dışına uzanmaktadır. Genomik yapıdaki bu korunma, granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF) geninde de benzer şekilde ilişkilidir (Tanabe ve ark., 1988). Olgun IL-6 molekülü 26 kDa ağırlığında bir proteindir (Cruse ve ark., 1999).

IL-6 geni promotor bölgesinde -174 pozisyonunda tanımlanan G-C değişimi fonksiyonel öneme sahiptir. Yapılan transfeksiyon çalışmalarında, C allelini taşıyanlarda transkripsiyon seviyesinin, G allelini taşıyanlara oranla azaldığı tespit edilmiştir. Bu değişimi içine alan -225 ile -164 arasındaki bölge, gen ekspresyonunda negatif regülatör etkiye sahiptir. DNA footprinting deneyleri, glukokortikoid reseptörünün -201 civarında bir bölgeye bağlandığını göstermiştir. Polimorfizm, glukokortikoid reseptör bağlanmasını etkileyebilecek kadar bu bölgenin yakınında yer almaktadır ve bu nedenle transkripsiyonel aktivasyonu

baskılayabilir. Ayrıca -174'deki bu değişim bir transkripsiyon faktörü olan NF-1 için potansiyel bir bağlanma bölgesi yaratmaktadır. NF-1'in, transkripsiyonu farklı etkiler gösterebilmekle beraber, gen ekspresyonunun baskılayıcısı özellik gösterdiği bilinmektedir. Sonuç olarak, C allelini taşıyan kişilerde, G allelini taşıyanlara oranla, lipopolisakkaritler ve IL-1'e cevap olarak IL-6 salınımı daha düşük olmaktadır (Fishman ve ark., 1998). Bu noktadan hareketle, pek çok immün ve inflamatuvar hastalık ile bu polimorfizm arasında bir ilişki olup olmadığı çalışılmaya başlanmış ve sistemik başlangıçlı juvenil kronik artrit (Fishman ve ark., 1998), Alzheimer hastalığı (Papassotiropoulos ve ark., 1999), iskemik inme (Grau ve ark., 2001) ve koroner kalp hastalıkları (Humphries ve ark., 2001; Georges ve ark., 2001) gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir.



Şekil 1.5. IL-6'nın biyolojik aktiviteleri (Simpson ve ark., 1997).



Şekil 1. 6. IL-6 üreten hücreler (Naka ve ark., 2002).

IL-6, kortikotropin releasing hormon (CRH) salınımını, Adrenokortikotropik hormon (ACTH) sentezini ve kortikosteroid üretimini artırarak hipotalamus- hipofiz-adrenal aksinin stimülasyonuna neden olur (Naitoh ve ark., 1988; Tsigos ve ark., 1997).

İnflamasyon fonksiyonlarının yanında IL-6 megakaryosit olgunlaşması ve IgG, IgM ve IgA sentezi gibi B hücre farklılaşması teşvik eder (Baatout 1996, Kishimoto ve ark., 1995, Muraguchi ve ark., 1988). IL-6'nın kalp hipertrofisinde ve kemik şekillenmesinde rol oynadığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Papanicolaou ve ark., 1998). Birçok çelirdekli hücre tarafından IL-6 ekspresyonu ve sentezinin gerçekleştiği in vitro olarak gösterilmiştir ama en önemli kaynağı monosit/makrofaj hücreleri, sitokin uyarıcı stromal hücreler (fibroblastlar) ve endotelial hücrelerdir (Kato ve ark., 1990). IL-6 genini uyaran en kuvvetli uyarıcılar; LPS ve forbol esteridir (TPA) (Cox ve Gauldie, 1997). IL-6, B hücre olgunlaşmasında önemli bir rol oynamasına rağmen IL-6 geni üzerinde farelerle yapılan çalışmalarda B hücrelerinin gelişmesi için çok gerekli olmadığı bulunmuştur (Fattori ve ark., 1994a, Kopf ve ark., 1994; Libert ve ark., 1994, Ramsay ve ark.1994). Transgenik fareler üzerinde IL-6 ekspresyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda dalak, lenf nodu, timus, akciğer, karaciğer ve böbrekte ağır plazmasitozisi sonucu olarak IL-6'nın aşırı ekspresyonu görülmektedir (Brandt ve ark., 1990, Campbell ve ark., 1993, Fattori ve ark., 1994a, Katsume ve ark., 1997, Suematsu ve ark., 1989, Suematsu ve ark., 1992, Woodrooffe ve ark., 1992). IL-6 transgenik farelerde kırmızı kan hücrelerinin sayısının ve hemoglobin konsantrasyonunun azalmasının yanında trombositosis ve leukositosis görülmektedir (Katsume ve ark., 1997). Bu farelerde IL-6 ekspresyonun artışı insanlarda Castleman sendromuna (hipergammaglobulinemi, lenf nodu genişlemesi ve APP sentezi artışı) benzer bir sendroma yol açar (Brandt ve ark., 1990). IL-6'nın uzun süreli aşırı ekspresyonu farelerde lenfomaların gelişmesi ile sonuçlanmaktadır (Woodrooffe ve ark., 1992).

Ateş, anoreksia, yorgunluk ve influenza'ya benzer semptomlar, anemi, lökositosis, trombositosis ve akut faz cevabın indüksiyonu insanlarda IL-6'nın etkisi altındadır (Papanicolaou ve ark., 1998, Schuler ve ark., 1998).

### 1.2.3. IL-6 Reseptör Süper Ailesi

IL-6 reseptörü, 80kDa' luk IL-6 bağlanma proteini (a zincir) ve 130kDa' luk sinyal dönüştürücü gp130 (b zincir) adı verilen iki molekül içerir (Yamasaki ve ark., 1988; Taga ve ark., 1989; Hibi ve ark., 1990). IL-6 direk olarak gp130'a bağlanmamasına rağmen, IL-6/IL-6R/gp130 yüksek affiniteli kompleksi oluşturmak için IL-6R'a bağlanabilir. Büyüme faktörü reseptörleri, CNTF, IL-2, eritropoietin, G-CSF ve IL-5 gibi bir çok sitokin reseptörlerinin yapısı, IL-6R ve tip I sitokin reseptör süper ailesinin yapısına benzerdir (Bazan, 1990 ; Bazan, 1992).

Bu reseptörlerde 4 sistin kalıntısının korunması ve triptofan-serin-X-triptofan-serin (W-S-X-W-S) motifinin (WS motif) transmembran bölgesine yerleşimi karakteristiktir. IL-6Ra' nin sitoplazmik alanda IL-6 sinyal iletimine ihtiyacı yoktur (Taga ve ark., 1989; Hibi ve ark., 1990). IL-6Ra'nın sitoplazmik bölgesindeki intrasisternal A gen tekrarının (IAP-LTR) insersiyonu fare plazmasitomasında bulunmuştur (Sugita ve ark., 1990). Bunun yanında kompleks IL-6 ve çözülebilir IL-6 Ra, IL-6 sinyal iletimi oluşturabilir. IL-6Ra ve gp 130 'a IL-6 bağlanarak her 2 üyenin hegzamer oluşum formasyonunu indükler (Paonessa ve ark., 1995). IL-6, 3 reseptör bağlanma bölgesine sahiptir. Bunlar;

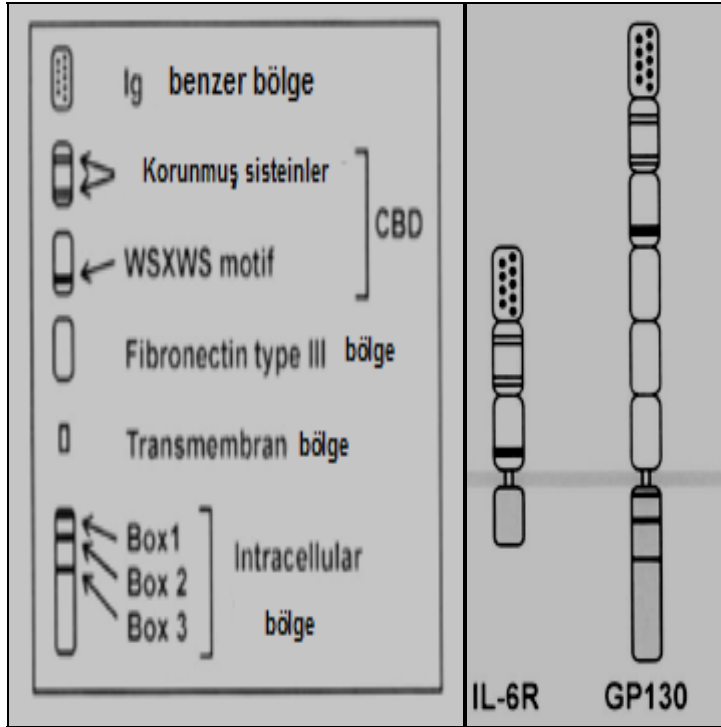
1. IL-6Ra bağlanmak için Heliks D üzerinde bulunan Arg-179 etrafındaki 1. Bölgedir.
2. gp 130 için heliks A ve C bölgesi
3. Diğer gp 130 için bağlanması için heliks D'nin merkez etrafındaki N-terminal ucudur (Brakenhoff ve ark., 1994; Savino ve ark., 1994 a,b).

Aynı zamanda Asn-230 ve IL-6Ra' nın etrafındaki kalıntılar, IL-6Ra ve gp 130 arasında ilişkiyi sağlamaktadır (Yawata ve ark., 1993; Salvati ve ark., 1995). Asn-230, His-280 ve Asp-281 deki değişimler gp 130 ve çözülebilir IL-6Ra arasındaki

ilişkiye zarar verdiği bulunmuştur (Salvati ve ark., 1995). IL-6' nın hem 2 hem de 3. bölgelerin esas görevi sinyal iletimi olan gp130 dimerizasyonunda önemlidir. IL-6 variantları inhibitör olarak görev yapan 2 ya da 3. bölgede veya her iki bölgede de aminoasit kalıntıları taşırlar (Sporeno ve ark., 1996).

#### 1.2.4. IL-6 Reseptörü (IL-6R) ve GP 130' un Yapısı

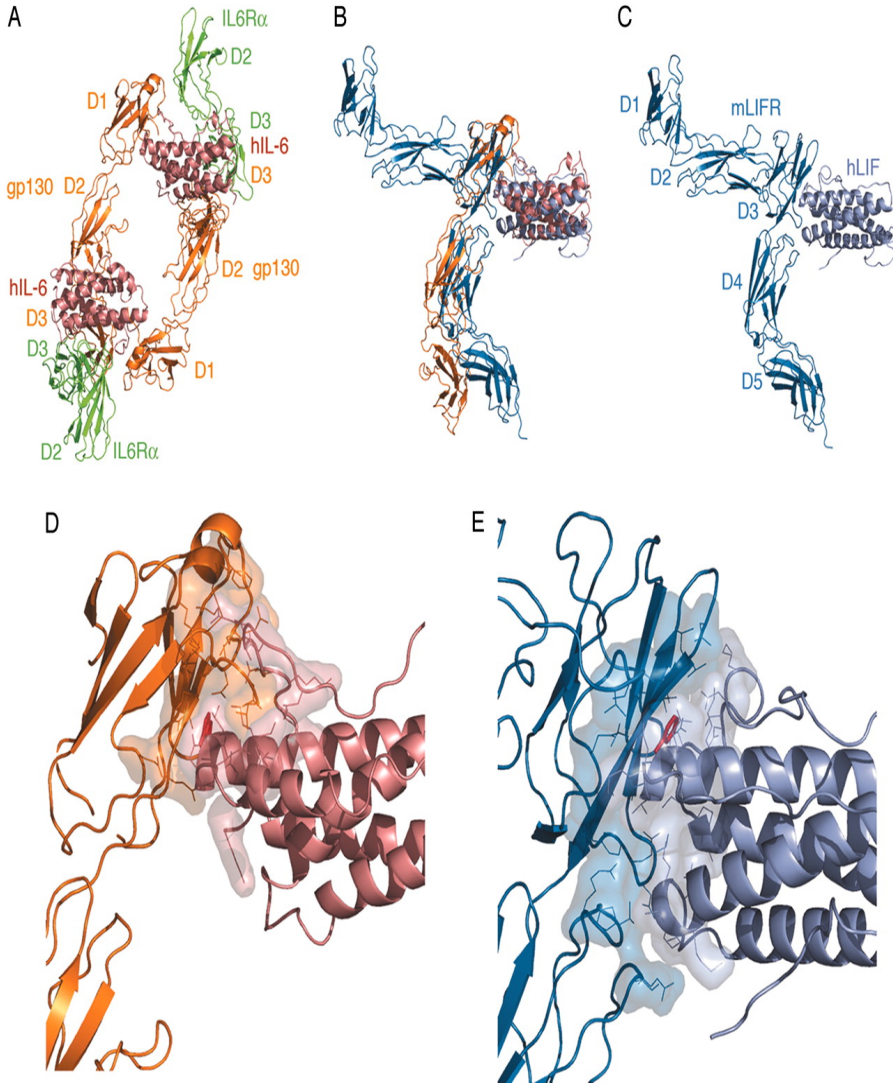
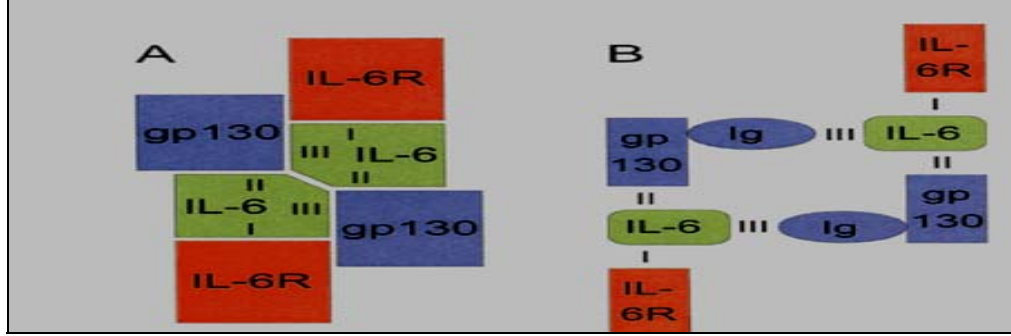
IL-6 reseptör sistemi tarafından IL-6'nın biyolojik aktiviteleri düzenlenmektedir. IL-6 reseptör sistemi 2 membran proteininden oluşur ; Ligand bağlı  $\alpha$ - subunit reseptör (IL-6R) ve sinyal dağıtıcı  $\beta$ -subunit (gp130). Gp 130, lösemi inhibitör faktör(LIF), Oncostatin M(OSM), İnterlökin 11(IL-11), kardiotropin-1(CT-1) reseptör komplekslerinin bir parçasıdır (Gearing ve ark., 1992 ; Ip ve ark., 1992 ; Liu ve ark., 1992 ; Taga ve ark., 1992 ; Yin ve ark., 1993 ; Fourcin ve ark., 1994 ; Pennica ve ark., 1995).



Şekil 1.7. IL-6R ve Gp 130' un yapısı

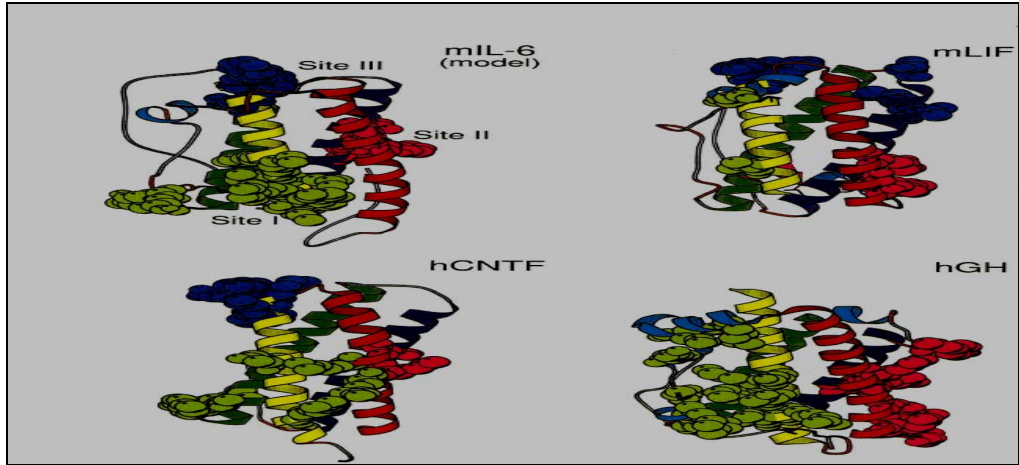
Farelerde gp130'un hedeflenen bölünmesi ile yapılan çalışmalarda embriyogenezin erken evrelerinde gelişen miyokardial bozukluk ve hematopoiezis

nedeniyle ölüm meydana gelmektedir (Yoshida ve ark., 1996). Transgenik farelerde gp130'un sürekli aktivasyonu ise miyokardial hipertrofiye neden olmaktadır (Hirota ve ark., 1995).



**Şekil 1.8.** Hekzamerik IL-6 reseptör kompleksi (Ransohoff ve Benveniste, 2006; Huyton ve ark., 2007).

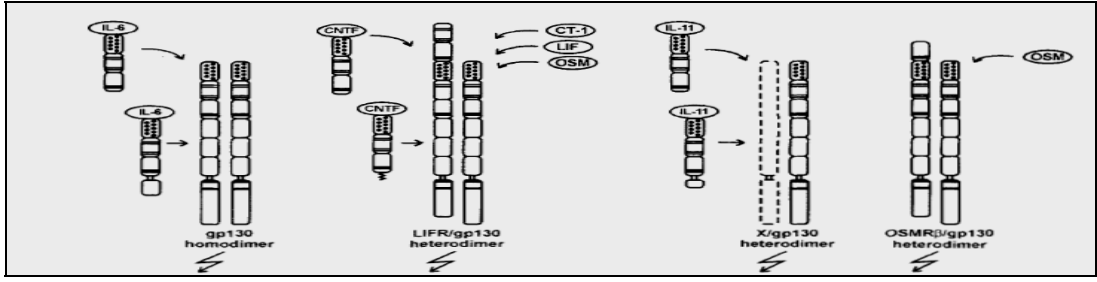
IL-6 reseptörü (IL-6R) tarafından IL-6 etkilenir. IL-6R, 2 zincir içerir. Ana zincir reseptörün vücudu olarak adlandırılır, 130-kD protein (glikoprotein 130) büyüklüğündedir ve diğer sitokinler gibi (lösemi inhibitör faktör(LIF), Oncostatin M(OSM), İnterlökin 11(IL-11), siliar nörotropik faktör (CNTF) ve kardiotropin-1(CT-1)) kullanılan spesifik bir ligand değildir. Glikoprotein 130 "**genel sitokin sinyal dönüştürücü**" olarak da adlandırılır. İnsanlarda ligand bağlayıcı IL-6 reseptörü, glikoprotein 80 yada CD126 olarak da bilinir (Hibi ve ark., 1996). Gp 80 immunoglobülin süperaillesinin bir üyesidir ve monositler, hepatositler, T hücreleri ve aktive B hücrelerinde varlığı bilinmektedir (Cox ve Gauldie, 1997). IL-6 ve IL-6R arasındaki bağlantı, Gp 130'un homodimerizasyonunu indükler ve hücre membranlarındaki çeşitli tirozin kinazların ve JAK/STAT, Ras/Raf, Src isimli transkripsiyon faktörlerinin aktive olmasına yola açan sinyal transdüksiyon kaskadlarının aktivasyonuna neden olur (Hallek ve ark., 1997b; Kishimoto ve ark., 1995).



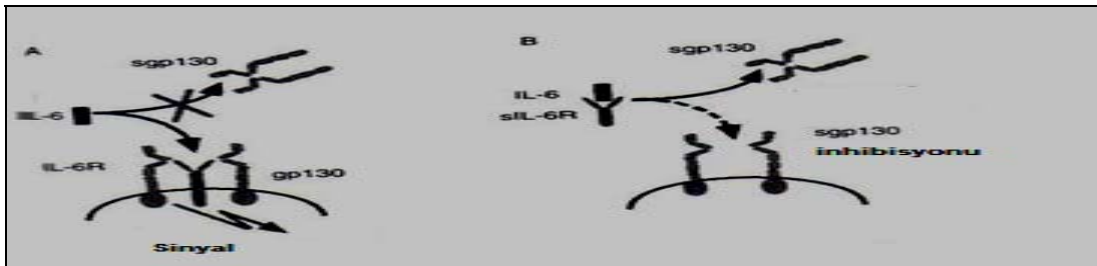
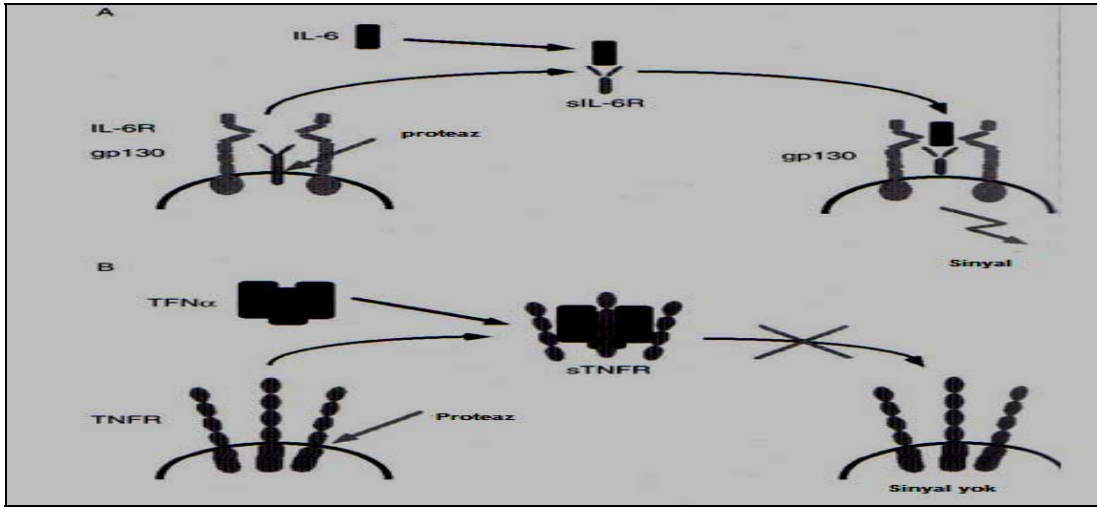
Şekil 1.9. İnsanda IL-6, LIF, CNTF ve GH yapılarının karşılaştırılması

### 1.2.5.Çözünebilir IL-6 Reseptörü

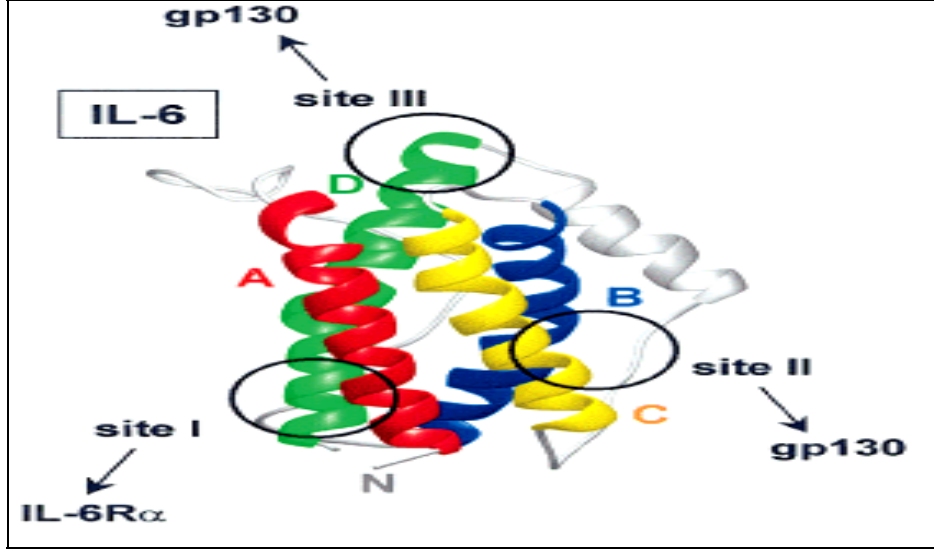
Çözünebilir IL-6 reseptörü (sIL-6R, 55 kDa formu) IL-6 proteinine agonist bir fonksiyona sahiptir (Olsson ve ark., 1993).



Şekil 1.10. Gp 130'un dimerizasyonu ve şematik gösterimi (Hibi ve ark., 1990).



Şekil 1.11. IL-6'nın çözünür reseptör- ligand kompleksi (Ransohoff ve Benveniste, 2006).



Şekil 1.12. IL-6 reseptör yapısı (Heinrich ve ark., 2003).

### 1.2.6. IL-6' nın Biyolojik Aktivitesi

İnterlökin-6 (IL-6), lenfoid ve lenfoid olmayan hücreler tarafından üretilen ve akut faz cevabı, inflamasyon, onkogenezis, hematopoiezis ve immun aktivitenin düzenlenmesi gibi çok geniş biyolojik aktivitesi olan pleiotropik bir sitokindir (Kishimoto,1989; Le ve Vilcek, 1989; Sehgal ve ark., 1989; Heinrich ve ark., 1990; Hirano ve Kishimoto, 1990, 1992; Van Snick, 1990; Hirano, 1992a). IL-6, interferon- $\beta$  (IFN $\beta$ ) (Weissenbach ve ark., 1980; May ve ark., 1986; Zilberstein ve ark., 1986), T-hücre replacing faktör (TRF)-benzer faktör (Yoshizaki ve ark., 1982), B hücre farklılaştırma faktörü(BCDF) (Okada ve ark., 1983), 26-kDa proteini (Haegeman ve ark., 1986), B-hücre stimülasyon faktör-2 (BSF2) (Hirano ve ark., 1985, 1986), hibridoma-plasmasitoma büyüme faktörü (HPGF or IL-HP1) (Aarden ve ark., 1985; Nordan ve Potter, 1986; Van Damme ve ark., 1987a; Van Snick ve ark., 1988), hepatosit-stimüle edici faktör (HSF) (Andus ve ark., 1987;Gauldie ve ark., 1987) ve monosit-granulosit indükleyici tip 2 (MGI-2) (Shabo ve ark., 1988) olarak çeşitli isimlerle adlandırılmışsada, IFN $\beta$  (May ve ark., 1986; Zilberstein ve ark., 1986), 26-kDa proteini (Haegeman ve ark., 1986) ve BSF-2'nin (Hirano ve ark., 1986) moleküler klonlanması sonucu bu moleküllerin tanımlanmasına (Sehgal ve

ark., 1987a) ve 1988'lerin sonunda ise bu molekülün IL-6 olarak isimlendirilmesine karar verilmiştir (Kishimoto, 1989; Le ve Vilcek, 1989; Sehgal ve ark., 1989; Van Snick, 1990; Hirano ve Kishimoto, 1990; Heinrich ve ark., 1990).

IL-6'nın biyolojik aktivitesi 3 grup altında incelenir:

1. İmmun Cevap
2. Hematopoiezis
3. Akut-faz cevap

IL-6, savunma mekanizmasında, immün cevapta, hematopoiezis ve akut faz reaksiyonlarında önemli rol oynar. Diğer yandan IL-6 geninin ekspresyonu özellikle autoimmün hastalıklar, plazmasitoma-miyelom ve çeşitli kronik proliferatif inflamasyon hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde etkilidir. IL-6 geninin ekspresyonunun düzenlenmesi ve IL-6'nın reseptör mekanizması ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda hastalıkların moleküler mekanizması ve yeni terapötik metodların gelişimi daha iyi ilerlemektedir.

### **1.3. IL-6'nın Hastalıklarla İlişkisi**

İlk olarak kardiyak mikzoma hastalarında poliklonal B hücrelerindeki anormallikler, IL-6 geninin ekspresyonundan kaynaklandığı gösterilmiştir (Hirano ve ark., 1987). Kardiyak mikzomalı hastalar hipergammaglobulinemi, otoantikör varlığı ve akut faz proteinlerinin artışı gibi çeşitli autoimmün belirtiler gösterirler. B hücrelerindeki anormalliklerin, IL-6'ya bağlı olması ilk kardiyak mikzomalı hastalarda belirtilmiştir (Hirano ve ark., 1987; Jourdan ve ark., 1990).

IL-6 üretimindeki düzensizlik inflamasyon, otoimmün hastalıklar, malignite gibi çeşitli hastalıkların oluşmasında rol almaktadır (Weissenbach ve ark., 1980). IL-6 üretimindeki anomaliler, Castleman's hastalığı (Yoshizaki ve ark., 1989) ve romatoid artirit hastalarında da gözlemlenmiştir (Hirano ve ark., 1988; Houssiau ve ark., 1988; Bhardwaj ve ark., 1989). IL-6 üretimi farelerde tip II kollojen artrit ve proliferatif glomerulonefrit ile otoimmün hastalıkların (MRL/lpr) (Tang ve ark.,

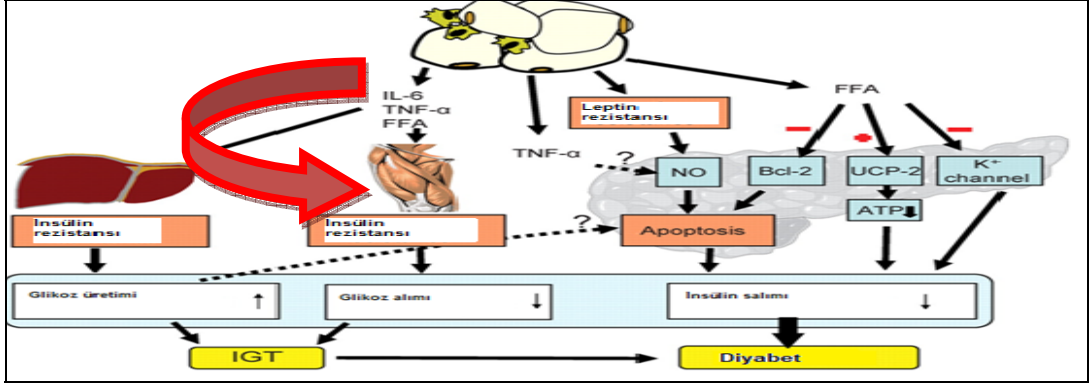
1991) oluşumunda görülmektedir. IL-6,  $\beta$  hücreleri ve tiroit bezinden de üretilmektedir (Bendtzen ve ark., 1989; Campbell ve ark., 1989).

**Çizelge 1.2** : IL-6 polimorfizmi ve genel hastalıklar ( House ve Descotes, 2007).

<b>HASTALIK</b>	<b>IL-6 SNP</b>	<b>KAYNAK</b>
<b>Kanser</b>	IL-6- 174G/C	De Michele ve ark., 2003
<b>Koroner arter hastalığı</b>	IL-6- 174G/C	Humphries ve ark., 2001
<b>Diabet</b>	IL-6- 174G/C	Jahrom i ve ark., 2000
<b>Periodontitis</b>	IL-6- 174G/C	Trevilatto ve ark., 2003
<b>Romatoid artrit</b>	IL-6- 174G/C	Fishman ve ark., 1998
<b>Alzheimer</b>	IL-6- 174G/C	Faltraco ve ark., 2003

IL-6 asbestoz ve silika tarafından indüklenen pulmoner fibrozisin patogenezi ile de ilişkilendirilmektedir. Tanı için hastalardan alınan BAL (*Bronkoalveoler Lavaj*) sıvısında bu sitokinin seviyesinin artışı uzun süreli maruziyetle birlikte görülmektedir (Vanhee ve ark.,1995; Simeonova ve ark., 1997; Kline ve ark., 1993). Benzer şekilde silika maruziyeti sonucu insan ve rodent BAL sıvısı ve akciğer dokularında IL-6 artışı tanımlanmıştır (Davis ve ark., 1998; Yuen ve ark., 1996; Orfila ve ark., 1998; Zhang ve ark., 1993; Li ve ark., 1993).

Asbestozun akut intratrakeal yerleşimi alveolar makrofajlardan IL-6 salınımını stimule etmektedir (Driscoll ve ark., 1995; Lemaire ve ark., 1996). Hajer ve arkadaşları (2008) tarafından IL-6'nın diyabetle ilişkisinin varlığı gösterilmiştir.



Şekil 1.13. IL-6 ve Diyabet (Hajer, 2008).

Gelişiminde inflamasyonun önemli rol oynadığı hastalıklardan biri olan Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF)'nin en önemli etkisi amiloidozdur. Amiloidoz gelişiminde, ailevi Akdeniz Ateşi geninde meydana gelen mutasyonlar gibi genetik faktörler ile, çevresel faktörlerin etkileri üzerinde durulmaktadır. Serum amiloid A (SAA) üretimini, TNF $\alpha$ , IL-1 ve IL-6'nın indüklediği gösterilmiştir (Yamada ve ark., 1998; Moriguchi ve ark., 1999).

Sitokinler, tromboz gelişiminde, inflamasyonda anahtar rol oynamakta ve hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda hemostatik dengenin düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. Sitokinler (IL-1, IL-6 ve TNF $\alpha$ ), monosit ve endotelde doku faktörü ve doku PAI tip-I ekspresyonunu in-vitro olarak artırırlar (Grignani ve Maiolo,2000; Green ve ark., 2002).

IL-6, sepsis gelişiminde rol alan önemli bir sitokindir. Septik hastalarda şok gelişimi ve ölüm riski ile ilişkili bulunmaktadır. Sepsiste IL-6 üretimi birçok inflamatuvar mediatör tarafından uyarılmaktadır (Holmes ve ark., 2003).

Pulmoner embolide, sıklıkla emboliye yol açacak bir trombotik olay mevcuttur ve olaya cevap olarak gelişen inflamatuvar reaksiyonun şiddeti önemlidir (Taheri ve ark., 1999).

Tatebayashi ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, pulmoner arterde tıkanmaya yola açan 23 sağ ventriküler mikzoma vakasında IL-6 düzeylerinin yükseldiğini saptamışlardır (Tatebayashi ve ark., 1993).

#### 1.4. IL-6, Metallothionein ve Çinko

Metallotiyoneinler düşük molekül ağırlıklı, metal bağlayıcı ve sisteince zengin proteinlerdir. Metallotiyoneinlere bağlı haldeki çinko; civa, kadmiyum gibi ağır metallere bağlı toksisiteyi azaltır (Onosaka ve ark., 2002). Metallotiyonein çinko metabolizmasında ve intrasellüler çinko homeostazisinde önemli role sahiptir (Giacconi ve ark., 2004). Çinko konsantrasyonu metallotiyonein indüksiyonuna bağlı bir indikatördür (Onosaka ve ark., 2002). Çinko immün sistem için çok önemli bir eser elementtir. Katalitik, yapısal(çinko parmak) ve düzenleyici bir iyonudur (Mocchegiani ve ark.,2000). Çinko iyonu kullanımının azalması immün cevabın zayıflamasına neden olur (Mocchegiani ve ark., 1998).

Metallothionein, IL-6 seviyesindeki artış ve düşük çinko iyon varlığı yaşlanma ve kronik inflamasyon, tip 2 diyabet, aterosklerozis ile ilgili bir çok hastalıkta gözlenmektedir (Mocchegiani ve ark., 2002, Giacconi ve ark., 2005).

Yaşlanma sürecinde azalan çinko iyon kullanımı immün cevabın değişimi ile ilişkilendirilmektedir. Çinko kullanımının temel düzenleyicilerinden biri, metallotiyoneinlerdir. Özellikle yaşlanma sürecinde çinko bağlı metallotiyonein anahtar role sahiptir. Metallotiyoneinler genç-olgunluk yaşlarında geçici stres şartlarına bağlı olarak meydana gelen oksidatif strese karşı koruma sağlar. Bu koruma hastalıklar(kanser ve infeksiyon gibi) ve yaşlanma gibi daimi stres durumlarında azalır ve plazma ve dokulardan çinko tükenmesi ve metallotiyonein seviyesinde artış meydana gelmektedir (Mocchegiani ve ark.,2000). Metallotiyonein indüksiyonu ve ekspresyonu IL-6'nın kontrolü altındadır (Jacob ve ark., 1999; Mazzatti ve ark., 2008). IL-6 üretiminin kontrolü ise -174. pozisyonundaki polimorfizme bağlıdır. Yaşlanma gibi kronik inflamasyonun görüldüğü durumlarda

metallotiyonein tarafından çinko salınımı azalmakta ve buna bağlı olarak çinko kullanımında azalma görülmektedir (Mazzatti ve ark., 2008).

### **1.5.STAT Proteinleri ile Sinyal İletim Yolu**

Sinyal dağıtıcı ve transkripsiyon aktive edici (STAT) proteinler 1990'lı yılların başında interferon (IFN) aracılı olarak gen transkripsiyonunun düzenlenmesi ile birlikte tanımlandı. Son yıllarda çeşitli sitokinlerin farklı STAT proteinlerini aktive ettikleri bilinmektedir. Memeli hücrelerinde yedi STAT proteini tanımlanmıştır (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6) (Bowman ve ark., 2000).

Sitokin aracılı STAT aktivasyonunun aşamaları şu şekilde sıralanmaktadır (Bowman ve ark., 2000). Sitokin, hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanır ( $\alpha$  alt birim). Daha sonra  $\alpha\alpha$  ya da  $\alpha\beta$  oligomerizasyonu gerçekleşir. Bu oligomerizasyon, reseptör ile ilişkili olan JAK proteinlerinin çapraz fosforilasyon ile aktivasyonunu sağlar. Bu bölgeler sitoplazmadaki inaktif STAT proteinlerinin reseptör ile etkileşmesine neden olur. STAT proteinlerin daha sonra homodimer ya da heterodimer oluşturmak üzere reseptörden ayrılarak hücre çekirdeğine gelirler ve DNA üzerinde özgül cevap elemanı dizileri ile etkileşerek hedef genlerin transkripsiyonunu uyarırlar (Bowman ve ark., 2000).

### **1.6.Genetik Polimorfizm**

Doğada türleri aynı olan canlılar genellikle bazı görünüşleri ile farklıdırlar. Bu farklılıklar genetik değişikliklerle ilişkili olarak belirlenmiştir. Bir genin belli bir lokusta yer alan alternatif kopyalarından her birine allel denir. Allellerin genel popülasyonda kromozomlarda %1' den fazla bulunması genetik polimorfizm olarak tanımlanmaktadır. Burada en düşük sıklıkla görülen allel yalnızca tekrarlayan mutasyonlardan korunamaz. Bir gen lokusunda, alleller en az %1 frekansına sahip

oldukları ve sonuçta bu allelde heterozigot en az %2 oranında görüldüğü takdirde polimorfik olarak belirlenebilir (Beaudet ve ark., 1995).

### 1.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Bakteri, virüs gibi canlı bir hücreye gereksinim olmadan, ardışık sentez sistemi kullanılarak, DNA segmentinin amplifikasyon yoluyla birçok kopyası oluşturulabilir. Bir dizi DNA polimeraz reaksiyonları içerdiğinden, bu yöntem polimeraz zincir reaksiyonu yada PCR olarak tanımlanır. İlk olarak 1985’de tanımlanan bu yöntem ile, bir DNA segmenti tek bir orijinal kopyadan milyonlarca kez çoğaltılabilir ve böylece örneğin bir mutasyon belirlenmesi gibi araştırmalar için yeterli miktar sağlanabilir (Erich ve Arnheim, 1992).

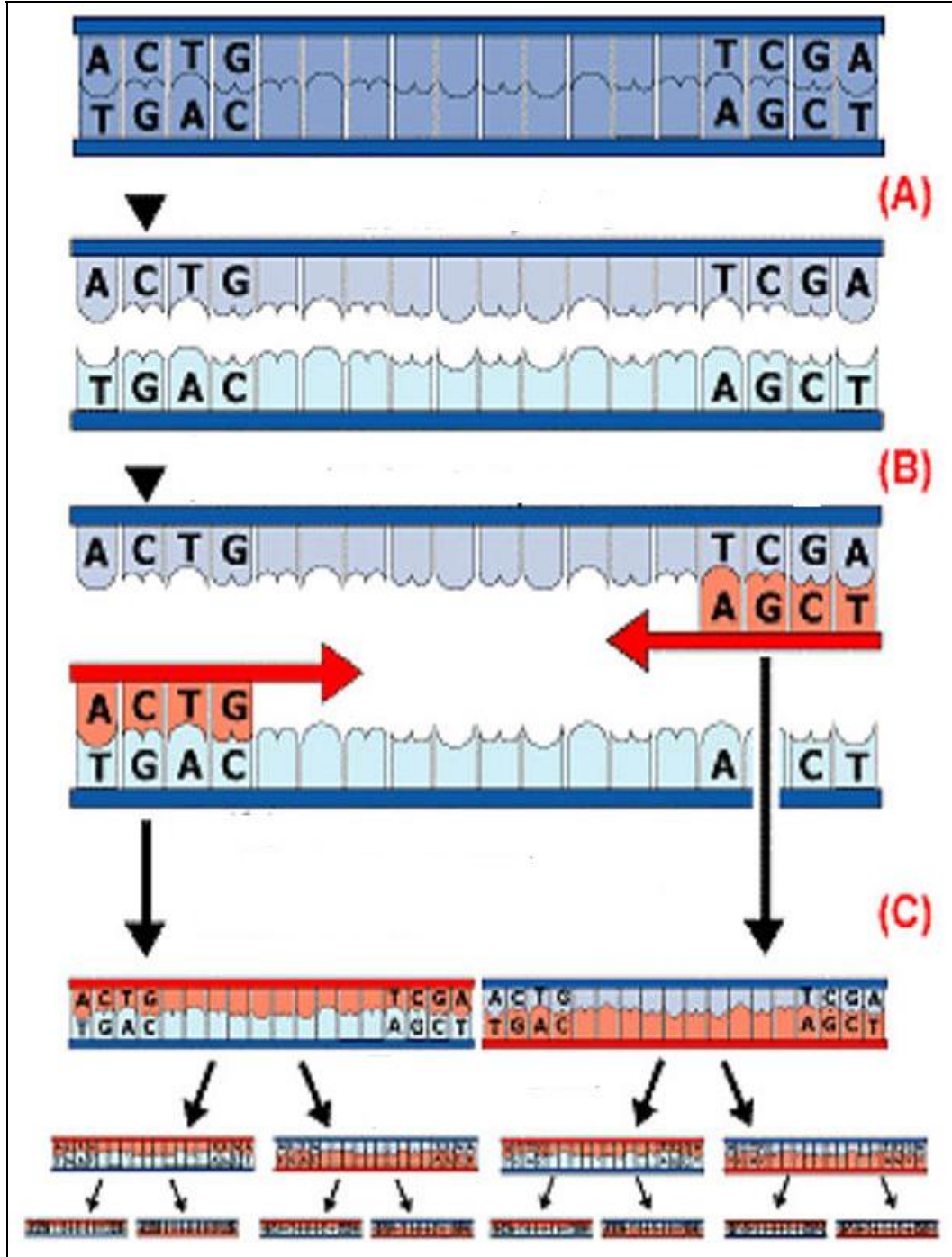
PCR ile genellikle 10 kilobaz (kb) uzunluğa kadar DNA bölgeleri çoğaltılabilmektedir, ancak bazı metodlarla bu uzunluk 40 kb’a kadar ulaşabilmektedir. PCR’nin prensibi; tekrarlanan üç basamağa dayanır.

- **A. Denatürasyon:** Bu basamakta PCR reaksiyonu içinde yer alan çift zincirli kalıp DNA’nın birbirinden ayrılması sağlanır. Genelde 94-95°C’de 0.5-2 dakika denatürasyon yeterlidir. Alternatif olarak denatürasyonu kolaylaştırmak için reaksiyona gliserol, dimetilsülfoksit (DMSO) ve formamid gibi kimyasallar eklenebilir.

- **B. Primerlerin yapışması (annealing):** Bu basamakta birbirinden ayrılmış DNA zincirlerine primerlerin 55-60°C’de bağlanması gerçekleştirilir. Optimal “annealing” sıcaklığı  $T_m$  (melting temperature) derecesinden 5°C daha düşüktür. 0.5-2 dakika “annealing” için yeterlidir. Eğer spesifik olmayan PCR ürünleri elde ediliyorsa her defasında “annealing” derecesi 1-2°C artırılarak optimize edilebilir.

- **C. Zincir uzaması-polimerizasyon (extention):** Zincir uzaması taq polimerazın aktivitesinin en yüksek olduğu 70-75°C arasında gerçekleştirilir. 2 kb’a

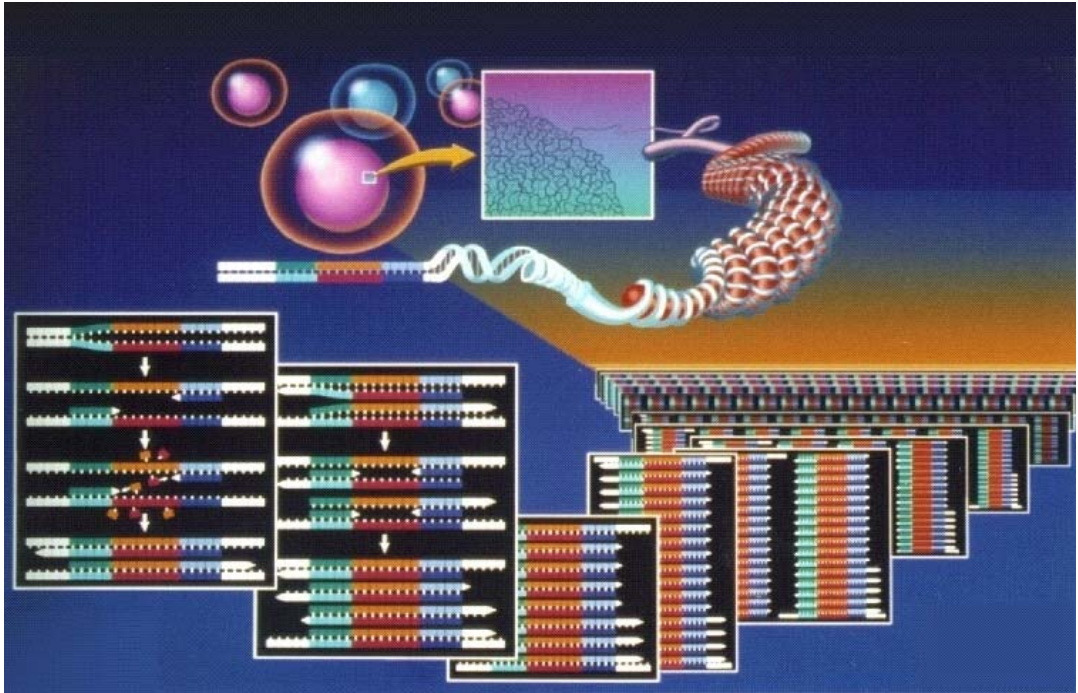
kadar olan PCR ürünlerinin oluşturulması için bir dakika süre yeterlidir. Daha uzun DNA fragmanlarının çoğaltılabilmesi için bu süreye her kb için bir dakika eklenmelidir.



Şekil 1.14: Polimeraz zincir reaksiyon basamakları (<http://www.oceanexplorer.noaa.gov>).

PCR ile bir hedef DNA parçasından milyonlarca çoğaltmak mümkündür. Reaksiyon başlatılmadan önce istenen sayıda döngünün tekrarlanması sağlanabilir. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı olan, 18-20 baz uzunluğunda bir çift sentetik oligonükleotid primer kullanılarak, bu iki primer ile sınırlandırılan bölgenin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır. PCR'ın en önemli özelliği çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamasıdır. Bir PCR döngüsü için gerekli olan beş ana madde vardır.

1. DNA örneği, genelde genomik DNA;
2. Çoğaltılacak bölgeyi sağdan ve soldan çevreleyen bir çift sentetik primer;
3. Deoksi-nükleotit-trifosfatlar (dNTP);
4. Yüksek ısıya dayanıklı DNA polimeraz enzimi;
5. Uygun pH ve iyon koşullarını ( $Mg^{+2}$ ) sağlayan tampon karışımı, genelde  $MgCl_2$  (Snustad ve Simmons, 2003; <http://members.aol.com/BearFlag45/Biology1A/LectureNotes/LNPics/Recomb/pcr.gif>, 25 Ocak 2005).



Şekil 1.15: PCR (<http://www.roche.com/pages/facets/1/pcr1.jpg>)

Mutasyonlar, DNA bazlarında meydana gelen değişikliklere göre sınıflandırıp, translokasyonlar, inversiyonlar, insersiyonları ve delesyonlar şeklinde olabileceği gibi nokta mutasyonları ve baz insersiyonları ve delesyonları (SNPs) şeklinde gruplandırılır. SNP' ler DNA dizisinde çok sık meydana gelen varyasyonlar olup, her 100-300 bazda bir karşılaşılabilmektedir (Syvanen, 2001). SNP analizi için hızlı, güvenilir, hassas ve ucuz bir metodun gerekliliği, mevcut tekniklerin sayısını arttırmaktadır (Syvanen, 2001).

### **1.6.2. Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polimorphism-RFLP)**

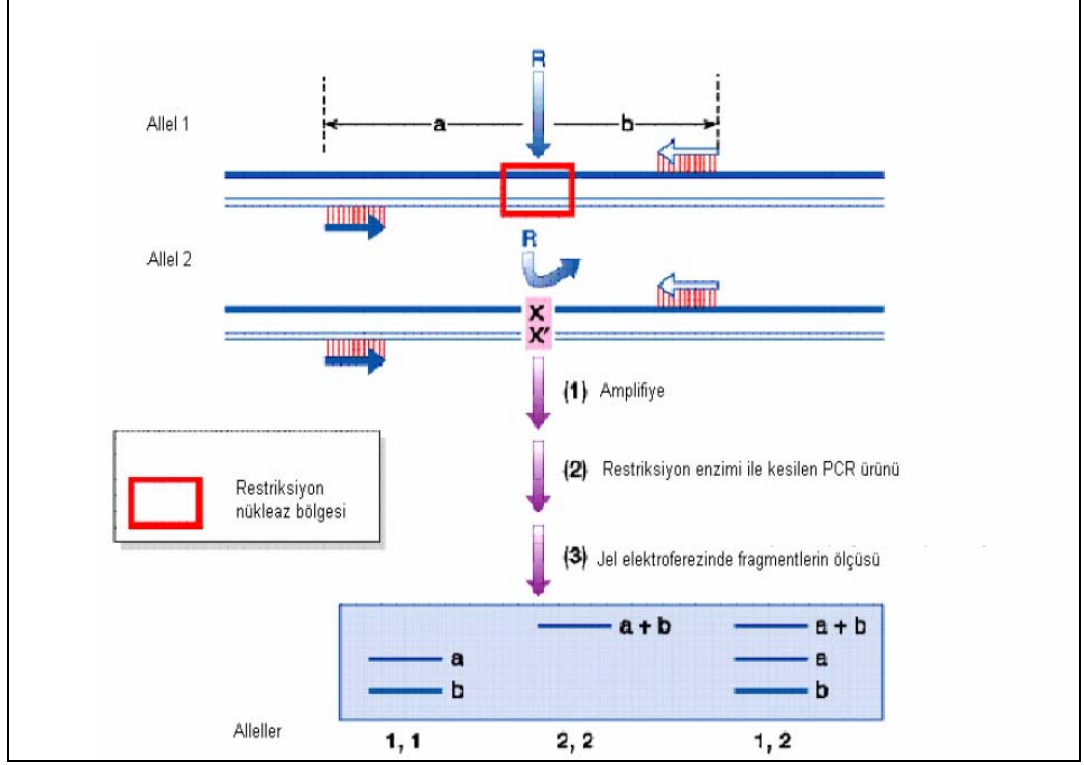
Restriksiyon enzimi ilk defa 1970 yılında Hamilton Smith ve Kent Wilcox tarafından izole edilmiş ve bu yıldan sonra hızla rekombinant DNA teknolojisinde, protein üretilmesinde, gen dizilimlerinin belirlenmesinde ve polimorfizm çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır (Aggarwal, 1995).

Restriksiyon endonükleazlar DNA- kesen enzimlerdir. Yabancı DNA'dan korunmak için bu enzimleri üreten bakterilerden elde edilirler. Belli bir enzim DNA'yı keseceği, 4-8 nükleotidlik özgül bir dizini tanır. DNA parçalarının büyüklüğü restriksiyon noktalarının dağılımına bağlıdır. Dört yüzden fazla farklı restriksiyon enzimi izole edilmiştir (Housman, 1995).

Bir DNA segmentinin yaklaşık her 100 baz çiftindeki nükleotid dizisi bireylerde değişiklik gösterir (DNA polimorfizmi) (Housman, 1995).

Bir restriksiyon enziminin tanıma dizini, belirli bir DNA bölgesinde, düzensiz olarak yer alır. Bu nedenle, restriksiyon noktaları arasındaki mesafeler farklıdır. Bir restriksiyon enzimi ile kesim sonrasında, çeşitli büyüklüklerde DNA parçaları (restriksiyon fragmanları) ortaya çıkar. Belirli bir restriksiyon enzimi, belli bir DNA bölgesini, karakteristik ölçülerde bir dizi DNA fragmanına ayırır (Housman, 1995; Passarge,2000).

Belirli restriksiyon endonükleaz kesilme bölgelerindeki değişimlerden oluşan RFLP'ler, tek nükleotid polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphism) olarak bilinirler.



**Şekil 1.16.** Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi (Strachan, T., Read, A.P., 1999, Human Molecular Genetics 2, 2nd Edition, BIOS Scientific Publishers, Ltd., Oxford, UK.).

DNA sarmalı özgül restriksiyon enzimleri ile kesildiği zaman farklı uzunluklarda fragmentler oluşur ve bu fragmentler, elektroforetik davranışlarındaki farklılıklar ile jel elektroforezinde gözlemlenebilirler (Nussbaum ve ark., 2005).

## 1.7. Metaller

*IUPAC İnorganik kimya terminolojileri'ne* göre metallerin ana grupları periyodik sistemde grup 1(alkali metaller Na, K, Rb, Cs, Fr), grup 2 (toprak alkalileri Be, Mg, Ca, Sr, Ba, Ra), grup 13(Al, Ga, In, Tl), grup 14 (Ge, Sn, Pb), grup 15(Sb, Bi) ve grup 16(Po), geçiş metalleri ise grup 3(Sc, Y, La, Ac), grup 4 (Ti, Zr, Hf), grup 5 (V, Nb, Ta), grup 6 (Cr, Mo, W), grup 7 (Mn, Tc, Re), grup 8 (Fe, Ru, Os), grup 9 (Co, Rh, Ir), grup 10 (Ni, Pd, Pt), grup 11 (Cu, Ag, Au) ve grup 12 (Zn, Cd, Hg) olarak belirlenmiştir.

Group	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	1 H																	2 He
2	3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
3	11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
4	19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
5	37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
6	55 Cs	56 Ba	*71 Lu	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
7	87 Fr	88 Ra	*103 Lr	104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Ds	111 Rg	112 Unb	113 Uut	114 Uuq	115 Uup	116 Uuh	117 Uus	118 Uuo
*Lanthanoids			*57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70		
*Actinoids			La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb		
			*89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102		
			Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No		

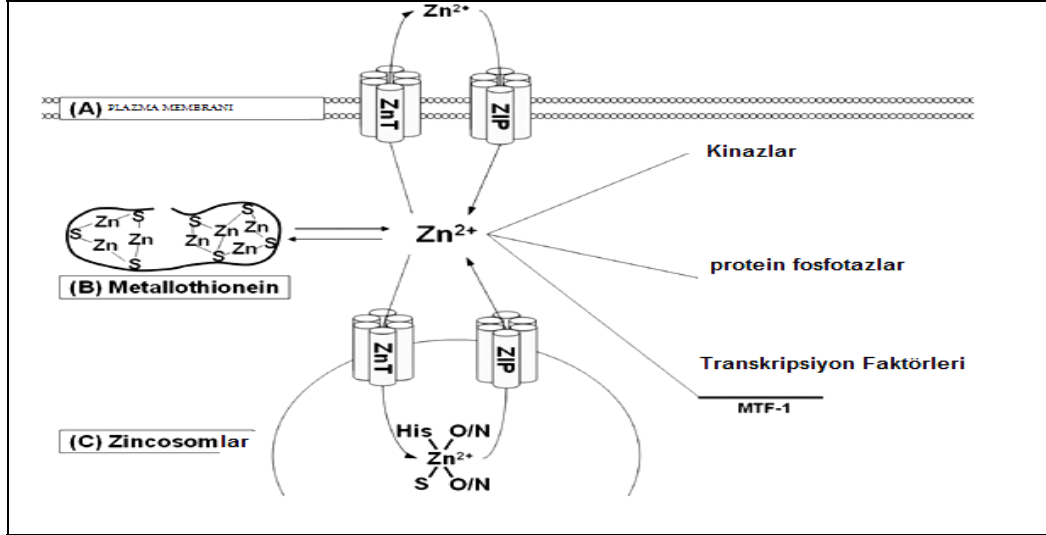
Şekil 1.17 : Periyodik Tablo ([http://www.iupac.org/reports/periodic\\_table/IUPAC\\_Periodic\\_Table-14Jan05-CI.pdf](http://www.iupac.org/reports/periodic_table/IUPAC_Periodic_Table-14Jan05-CI.pdf); Nordberg ve ark., 2007).

Metaller mesleki ve çevresel maruziyet yönünden önemli bir toksik etken grubudur. Sağlık yönünden önemi olanlar, çevrede yaygın olarak bulunan toksik metallerle (kadmium, kurşun, arsenik ve cıva), çinko, krom ve bakır gibi esansiyel iz elementlerdir.

### 1.7.1. Çinko (Zn)

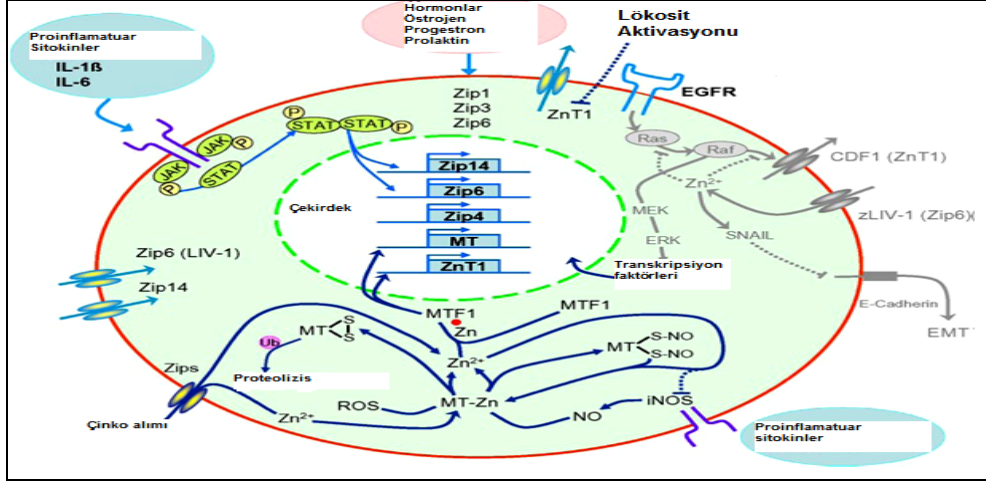
Çinko, canlılarda hücrelerin proliferasyon, replikasyon ve farklılaşması için aminoasitler, glukoz, yağ asitleri ve vitaminler yanında minerallere de ihtiyaç vardır. Tüm organlar, dokular ve vücut sıvılarında yer alan esansiyel bir elementtir (Arcasoy, 2002). Önemli proteinlerin yapısına girer. Proteinlerin yapısına katılır,

enzimlerin aktif bölgelerine bağlanarak anahtar rol oynar. Hücrelerdeki membranların ve iyon kanallarının bütünlüğünü korur. Redoks aktivitesinin olmaması nedeniyle bağlandığı proteini dayanıklı hale getirir. Protein, karbohidrat, lipid, nükleik asit, gen ekspresyonu, hem sentezi, üreme görevleri vardır (Arcasoy, 2002; Rostan ve ark., 2002).



Şekil 1.18. Çinko ve immün sistem (Haase ve Rink, 2009).

Çinko metabolizması karaciğerde gerçekleşir (Saner, 2002). Çinko eksikliği, büyümenin hızlı olduğu dönemler, hamilelik ve yaşlılık gibi fizyolojik nedenlerle olabildiği gibi karaciğer hastalıkları, malabsorbsiyon sendromları ve uzun süre parenteral beslenme gibi patolojik nedenlerle de meydana gelmektedir (Saner, 2002). Diyetle tüketiminin azalması, mukozal, intestinal ve sistemik faktörler çinko eksikliğinin nedenleridir (Arcasoy, 2002). Bazı gıdalar, örneğin vitaminler ve mineraller çinko emilimini etkileyerek çinko eksikliği ya da fazlalığına sebep olabilirler. Lifli besinler, fosfatlar, oksalat, kalsiyum, bakır, inorganik demir, kadmiyum, fitatlar ve toprak çinko emilimini azaltırken; proteinler, şarap, D vitamini, B6 vitamini ve D penisilamin çinko emilimini artırır (Saner, 2002).



Şekil 1.19: Zn sinyal yolları (Robert ve ark., 2006).

İnsanlarda çinko eksikliğinde, hipogonadizm, büyüme-gelişme geriliği, parakeratoz, alopesi, yara iyileşmesinde gecikme, enfeksiyonlara duyarlılıkta artma, bozulmuş nörofizyolojik performans ve koku-tat duyusu bozukluğu gibi çeşitli etkiler ortaya çıkar (Saner, 2002).

Son yıllarda çinko metabolizmasında sorumlu olduğu düşünülen bazı insan genleri saptanmıştır. Bu genler metalloproteinler, ZIP, ZNT4 ve çinko parmak (Zinc finger) proteindir (Arcasoy, 2001, Onosaka ve ark., 2002).

Çinko eksikliğinin genlerle ilişkisi:

#### A. DNA Sentezi

DNA sentezi için hücre siklusunun G1 evresinin çinkoya ihtiyaç vardır. DNA sentezinde rolü olan DNA polimeraz ve Timidin kinaz enzimlerinin sentezinde çinko gerekmektedir. DNA polimeraz aktivitesi için çinko esansiyeldir. Timidin kinaz ise DNA sentez yolunda görev yapar (Arcasoy, 2002).

## B. RNA Sentezi

RNA polimeraz, çinko varlığında RNA içindeki dört ribonükleozid grubunu katalizler. Çinko eksikliği hücrelerin total RNA varlığını değiştirmez ama Messenger RNA(mRNA) sentezinin kompozisyonunu değiştirir.

## C. Apoptozis

Hücreler kendi ölümünü programlanmış hücre ölümü (apoptozis) ile kontrol eder. Çinko fazlalığının apoptozis inhibisyonuna, çinko eksikliğinin ise stimülasyonuna neden olduğu bilinmektedir (Favier,1998).

## D. Çinko ve Antioksidan Etki

Çinkonun serbest radikal oluşumundan (ROS) ve oksidatif stresten koruyucu rolü vardır. Oksidatif hasarın neden olduğu inflamatuvar hastalıklar, siroz, alkolizm ve kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde rol oynar. Çinko antioksidan etkilerini 2 mekanizma ile sağlar:

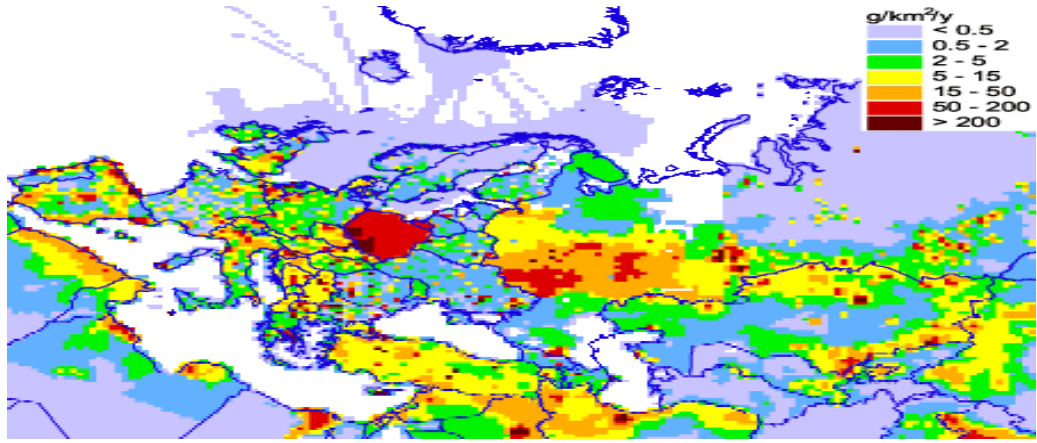
1. Redoks stabil halde bulunan çinko, hücre içi ve hücre dışı bölgelerde demir ve bakır gibi redoks reaktif olan metallerin yerine geçer.
2. Metalloiyoneinlerin sentezini indükler. Ayrıca süperoksit dismutazın (SOD) ve metalloiyoneinlerin yapısında yer alır.

### 1.7.2. Demir(Fe)

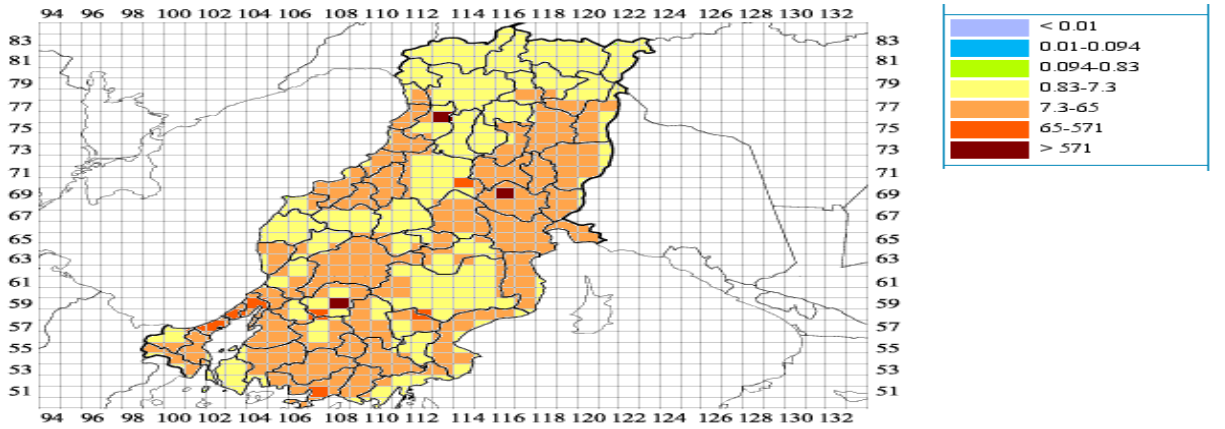
Demir'in, atomik ağırlığı 55.8, atom numarası 26, yoğunluğu 7.9, erime noktası 1536 C<sup>0</sup>, kaynama noktası 2750 C<sup>0</sup> dir. Demir çevrede su ve toprakta çok yaygın olarak bulunmaktadır (Nordberg ve ark., 2007).

### 1.7.3.Kadmiyum(Cd)

Kadmiyum doğada Zn ile birlikte bulunan  $320.9\text{ C}^0$  de erime noktasına sahip bir metaldir. Demir, çelik, bakır, çinko gibi metallerin korozyonuna karşı kaplamalarda, kablo kaplamalarda, boya ve cam üretiminde, pil yapımı gibi önemli endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır. Kadmiyum periyodik tabloda, çinko ve civa ile birlikte yer alan bir geçiş elementidir. Nadiren saf halde bulunur. Petrol ve kömürde bulunduğu gibi, toprak ve suda değişik bileşikleri vardır. Kadmiyumun oksit ve karbonat tuzları suda çözünmezken sülfat, nitrat ve halojenli bileşikleri çözünür (Waalkes ve ark., 1992).



Şekil 1.20: Dünya 'da Cd yayınımmı g/km²/yıl (2006). (<http://www.msceast.org>).



Şekil 1.21: Türkiye'de kadmiyum yayınımmı(2006) g/km²/y (<http://www.msceast.org>).

Sağlıklı yetişkin insanların tüm dokularındaki Cd düzeyleri böbrek ve karaciğer dışındaki diğer organlarda değişken ve düşüktür. Farklı coğrafik bölgelerde insan dokularındaki Cd düzeyleri fark edilebilir bir şekilde değişirken, yaşın ilerlemesi de vücuttaki Cd artışıyla doğru orantılıdır. Cd ve Zn nun atomik yapı ve kimyasal davranışları arasında benzerlik olup her ikisi de canlı organizmadaki bazı fonksiyonları sağlar. Cd' un dikkati çeken birikimi ve özel makromoleküllerle özgül birlikteliği, onun biyolojik bir rolü olduğuna işaret eder (Waalkes ve ark., 1992).

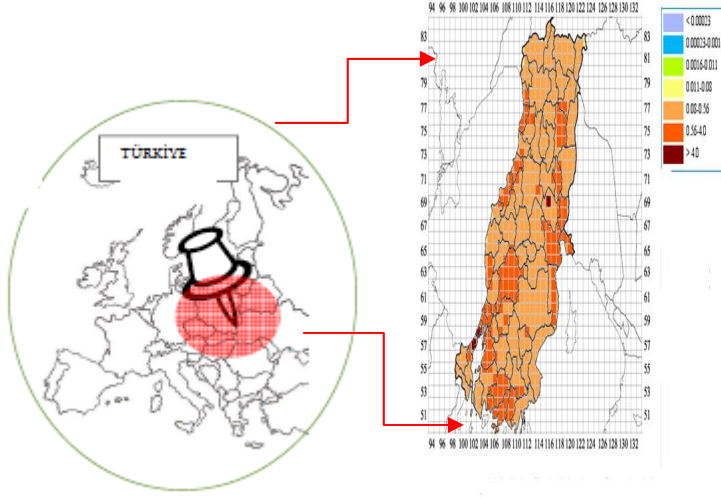
#### **1.7.4.Kurşun (Pb)**

Kurşunun (Pb:CAS 7439-92-1) atomik ağırlığı 207.19(1 $\mu$ g=0.004826 $\mu$ mol), yoğunluğu 11.3 g/cm<sup>3</sup>, erime noktası 327.5 C<sup>0</sup>, kaynama sıcaklığı 1740 C<sup>0</sup> dir (Nordberg ve ark., 2007).

##### **1.7.4.1.Üretimi ve kullanımı**

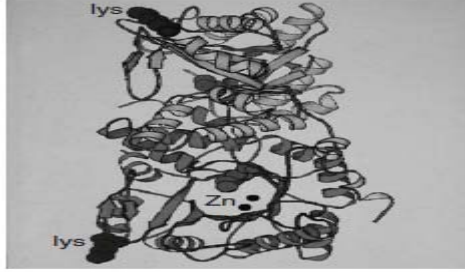
Dünyada yıllık yaklaşık 3 milyon metre ton kurşun ana kaynaklarından çıkartılmaktadır. Kurşun işleyen ülkelerin başında Çin, Australia, ABD, Peru gelmektedir. Dünyadaki kurşun tüketimi oldukça fazla olup, 2001-2004 yılları arasında tüketim 6.5-7.0 milyon tondur (ILZSG, 2005).

Bugün kurşunun en önemli kullanım alanı (%71) bataryalardır (özellikle araç bataryaları, elektrik ve endüstriyel bataryalar). Diğer kullanım alanları boya (%12), cephaneler (6%), ve kablo kaplama (3%; ILZSG, 2005). Kurşun ayrıca alaşımlar (pirinç ve bronz), ağırlıklar, kristal ve polivinil klorür (PVC) içinde sabitleyici olarak kullanılmaktadır.



Şekil 1.22: Türkiye'de kurşun yayılımı  $\text{kg}/\text{km}^2/\text{yıl}$  (<http://www.msceast.org/Turkey>).

Kurşunun en önemli etkisi hematopoetik sistem üzerinedir.  $\delta$ - aminolevülinik asit dehidraz (ALA-D) enzimini inhibe ettiği bir çok çalışmada gösterilmiştir (Nordberg ve ark., 2007).



Şekil 1.23: ALAD enzimi kristal yapısı ( Jaffe ve ark., 2000).

#### 1.7.4.2.Maruziyet

Genel olarak kurşuna benzin, endüstriyel emisyonlar ve kurşun boya ile maruz kalınmaktadır. Birçok ülke özellikle genel popülasyondaki maruziyet önemli derecede azalmaktadır çünkü benzine katılan kurşun elimine edilmiştir. Ama gelişmekte olan ülkelerde hala bu maruziyet söz konusudur. Kurşuna mesleki

maruziyette oldukça yüksek orandadır. Klinik kurşun zehirlenmesi raporlarına bakıldığında, mesleki maruziyet, gıda depolama ve sırlı seramik kaplardan yenilen yiyeceklerden kaynaklandığı bildirilmektedir (Gerhardsson ve ark., 2002).

**Çizelge1. 3:** Çocuk ve yetişkinlerde kan- kurşun düzeyi (Fewtrell ve ark., 2004).

ALAN	ARAŞTIRMA YAPILAN ÜLKELER	KAN- KURŞUN DÜZEYİ(µg/lt)	
		ÇOCUK	YETİŞKİN
<b>Afrika</b>	Nijerya,	111	116
	Güney Afrika	98	104
<b>Amerika</b>	Kanada, USA	22	17
	Arjantin, Brezilya, Şili		
	Jamaika, Meksika	70	85
	Uruguay, Venezuela	90	108
<b>Doğu Akdeniz</b>	Suudi Arabistan	68	68
	Mısır, Morokko, Pakistan	154	154
<b>Avrupa</b>	Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İsrail,İsveç	35	37
	Türkiye, Yugoslavya	58	92
	Rusya, Macaristan	67	67
<b>Güney batı Asya</b>	Endonezya, Tailand	74	74
	Bangladeş, Hindistan	74	98
<b>Batı pasifik</b>	Australya, Japonya, Yeni Zelanda, Singapur	27	27
	Çin, Filipinler, Kore	66	36

### **1.7.4.3.Kurşunun Organlar Üzerine Etkileri**

Kurşun organ ve dokular üzerinde toksik etkilere neden olabilir. Kurşun; sinir sistemi (merkezi, periferel, otonom sinir sistemi), kan, böbrekler, kardiovasküler sistem, endokrin sistem, gastrointestinal sistem,iskelet sistemi üzerine etkileri vardır .

### **1.7.4.4.Kurşun İmmunotoksitesitesi**

Kurşunun immunotoksik etkileri hakkında bilgi çok sınırlıdır (McCabe, 1994). Yapılan çalışmalarda kurşuna maruziyetin immuotoksik etkisi üzerine bir kanıt bulunamamıştır. Ama kurşun işçilerinde yapılan çalışmalarda hormonal immünite (serumda immunoglobülin seviyesi) üzerine çeşitli etkileri olduğu görülmüştür (Horiguchi ve ark., 1992a; Pinkerton ve ark., 1998; Queiroz ve ark., 1993; 1994; Undeger ve ark., 1996 . Bunun yanında kurşuna maruz kalan işçilerde lökosit ve lenfosit türleri ve fonksiyonları üzerine çeşitli etkileri tanımlanmıştır(Fishbein ve ark., 1993; Pinkerton ve ark., 1998; Queiroz ve ark., 1994; Sata ve ark., 1997; Undeger ve ark., 1996; Valentino ve ark., 1991). Horiguchi ve arkadaşlarının çalışmalarında kurşun işçilerinin enfeksiyonlara duyarlılıklarının arttığı belirlenmiştir (Horiguchi ve ark., 1992b).

### **1.7.5.Bakır(Cu)**

Bakır (Cu) hayati fonksiyonlar için esansiyel bir elementtir ve Süperoksit dismutaz (SOD),ferroksidazlar, sitokrom oksidaz,tirozinaz,lizil oksidaz ve dopamin beta hidroksilaz enzimlerinin yapısında bulunmaktadır. Bakırın biyolojik sistemlerde transportunun düzenlenmesinde çinko, kadmiyum, ve molibden gibi çeşitli metallerin rol aldığı bildirilmektedir. Rodentlerle yapılan çalışmalarda bakır metabolizmasının kurşun tarafından değiştirebildiği, plazma bakır düzeyinin azaldığı gösterilmiştir (Klauder ve Petering, 1979; Skoczynska ve ark, 1994). Absorbsiyonu bakırın alınan miktarına, kimyasal formuna ve diğer gıda komponentlerinin kompozisyonuna

bağlıdır. İçme suyu bakır boruların kullanımına bağlı olarak günlük bakır alımında önemlidir. Absorbsiyon karaciğerde homeostatik mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir ve bakır arttığı zaman safra salgısında artar. Bakır bütün organlarda bulunmaktadır. Hem yetişkinler hemde yenidoğanlarda, en yüksek konsantrasyonda karaciğerde bulunmaktadır. Aynı zamanda beyinde bakır yönünden zengindir. Safra salgısı ile birlikte yalnızca %1 oranında bakır idrarda atılmaktadır. Bakır varlığında safra salgısının kontrolü ATP7B geninin kontrolü altındadır. ATP7B geninde meydana gelen mutasyonlar Wilson hastalığından sorumludur(Nordberg ve ark., 2007).

#### **1.7.5.1.Fiziksel ve kimyasal özellikler**

Bakır (Cu) saf formu kırmızımsı kahverengi renkte bir metaldir. Atom ağırlığı 63.54, atom numarası 29, yoğunluğu  $8.94\text{g/cm}^3$  dür. Erime noktası  $1083\text{ }^{\circ}\text{C}$ , kaynama noktası  $2595\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dür. Bakır  $^{63}\text{Cu}$  ve  $^{65}\text{Cu}$  olmak üzere 2 izotopa sahiptir, doğada bulunma sıklığı sırasıyla %69.2, %30.8 dir (Georgopoulos ve ark.,2001).

#### **1.7.5.2.Üretimi ve kullanımı**

En geniş bakır rezervleri Şili, Amerika, Peru, Zambia, Kongo'da bulunmaktadır. Dünyada bulunan bakır çevherlerinin yaklaşık %90'ı sülfidik, %9'u oksidik, ve <%1'i metalik bakır cevherleri halindedir. En önemli kullanım alanı tel ve kablo yapımıdır. Elektronik endüstrisinde, su borularında, teneke, çatı kaplamaları ve çeşitli bina yapım malzemelerinde kullanılmaktadır (Landner ve Lindeström, 1999).

### **1.8.Metal İçeren Biyolojik Moleküller**

Bir çok metal enzimlerin ve vitaminlerin biyolojik aktivitelerinde önemli rol oynarlar. Örneğin Çinko, çinko bağlı bir enzim olan alkol dehidrogenaz yapısında, kobalt ise vitamin B<sub>12</sub> de önemli rol oynar. Metalloproteinler(diğer bir isimle

konjuge proteinler) protein ve prostetik grup ya da kofaktör içerir. Metalloenzimler holoenzimler olarak tanımlanmaktadır ve kofaktör metal içermektedir. Hemoglobin, hemeritrin ve miyoglobin demire bağlı oksijen taşımaktadır. Redoks enzimleri cytp450, katalaz ve peroksidazdır. Metal taşıyan proteinler Çizelge1.4' de gösterilmiştir (Nordberg ve ark., 2007).

**Çizelge 1.4:** Metal taşıyan proteinler(Nordberg ve ark., 2007)

<b>PROTEİN</b>	<b>METAL</b>
<b>Seruloplazmin</b>	Cu
<b>Metallothionein</b>	Zn, Cd, Hg, Cu
<b>Albumin</b>	Zn, Cd
<b>Fosfoproteinler</b>	Ca
<b>Transferrin, Hemoglobin, Sitokromlar</b>	Fe

### **1.8.1.Metalloporfirinler**

Metalloporfirinler 2 önemli yapı içerir. Klorofil molekülü ve hem grubu taşıyan moleküller. Klorofilin ışığı absorblama kabiliyeti porfirin halkasının konjuge polien yapısı ile ilgilidir. Demir içeren biyolojik komplekslerin ana fonksiyonları oksijen taşınması ve elektron taşıma zincirinde aracılık etmektir (Nordberg ve ark., 2007).

### **1.8.2.Non-hem demir proteinleri**

Non-hem demir proteinleri (rubredoksin, ferredoksin ve yüksek-potansiyele sahip demir proteinleri) güçlü fonksiyonel demir atomlarına bağlanmış halde bulunur ancak porfirin içermezler. Bunlar elektron transferinde görev alırlar. Ferritin ve hemosiderin ise önemli demir bağlayan protein yapılarıdır, hücrede demir deposu olarak iş görürler. Transferin ferrik iyonunu bağlar ve plazmada demir taşınmasında rol oynar (Nordberg ve ark., 2007).

### **1.8.3.Kobalt içeren biyolojik moleküller**

Kobalt içeren biyolojik moleküllerden en iyi bilineni vitamin B12 koenzimidir (kobalaminler). Kobalaminler kobalt atomu içerirler (makrosiklik ligand korrin) ve fosfat grubu, şeker ve organik faz bulunan bir kompleks içerirler (Nordberg ve ark., 2007).

### **1.8.4.Metalloenzimler**

Bazı enzimler bir ya da daha fazla metali yapılarında bulundururlar. Bunlara metalloenzimler adı verilir. En iyi bilinen örnekleri karbonik anhidraz ve karboksipeptidazdır (Nordberg ve ark., 2007).

### **1.8.5.Metallothioneinler**

İlk kez 1957'de at böbrek korteksinden  $Cd^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  içeren metalloproteinler izole edilmiştir. Metalloproteinler tek zincirli 61 aminoasitten oluşan yaklaşık 6500 dalton, düşük molekül ağırlıklı sisteince zengin bir moleküllerdir (Hamer, 1986, Nordberg ve ark., 2007).

### **1.8.6.Kurşun bağlı biyolojik moleküller**

Kurşun bağlayan proteinler kurşun toksisitesi ile ilgilidir. Örneğin  $\delta$ -aminolevulinik asit dehidrataz (ALAD) genetik polimorfizimi tanımlanmış olup bu polimorfizmin kurşun toksisitesi ile ilişkisi önemlidir (Nordberg ve ark., 2007).

IL-6, metal bağlayıcı metallothionein üretimine bağlı olarak çinko homeostazına da etkili olmaktadır (Gabay ve Kushner, 1999). Metallothionein polimorfizmi-metal birikimi arasında belirlenmiş olan ilişki ile bağlantılı olarak (Kayaaltı ve ark 2010, Kita ve ark. 2006), IL-6 genindeki polimorfizmin de doku metal düzeylerine etkili olabileceği varsayılmış ve IL-6 genindeki polimorfik yapının doku metal düzeylerine ne derecede etkili olacağını araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada, otopsi olgularında İnterlökin-6 (IL-6) polimorfizmi belirlenmiş ve bu olguların karaciğer ve böbrek doku örneklerindeki metal düzeyleri tespit edilip aralarındaki ilişki araştırılmıştır.

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1.Gereçler

#### 2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Primerler	Alpha
Agaroz	Prona
Etidyum bromür	Applichem
6x loading çözeltisi	Qiagen
DNA ase RNA ase free water	Qiagen
Taq DNA polimeraz	Qiagen
Proteinaz K	Qiagen
Ladder (100bp)	Fermentase
Restriksiyon enzimi(NIaIII)	New England Biolab
Doku DNA izolasyon kiti	Qiagen
Pb,Cd, Cu,Zn Standart	AA Standart E. SCP Science
Triton X 100	Scharlau
Nitrik asit HNO <sub>3</sub> (%65'lik)	Merck
Hava - Asetilen Tüpü	
Argon Tüpü	

### 2.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

PCR	Techne TC 512
Jel Görüntüleme cihazı	Syngene
Güç Kaynağı	B10-Rad
Otoklav	Nüve
Laminar Flow	Esco
Mikrodalga fırın	Arçelik
Yatay elektroforez cihazı	Scie-Plas
Hassas terazi	Schimadzu Libror
Su banyosu	Nüve BM 402
pH metre	Mettler Toledo
1.5 ml. ve 0.2 ml'lik eppendorf steril tüpler	Axygen Genuine
10 µl, 100 µl, 1000 µl. filtreli	
Pyrogen free pipet uçları	Finntip
Otomatik mikropipet	Eppendorf
Vorteks karıştırıcı	Biosan
Atomik Absorbsiyon Spektrometresi	Varian
Grafit Tüp Atomlaştırıcı	Varian GTA 120
Grafit Tüpleri	Varian GTA

Sample Cup, 2 ml Vial

Pothtech Elkay

Hassas Terazi

Mettler Toledo

Mikrodalga Fırın

Mars X Press

Manyetik Karıştırıcı

Mirak

Ph Metre

M. Toledo

Polipropilen, Kapaklı Tüpler (15 ve 25 ml)

## 2.2. Yöntem

Bu çalışmada IL-6 -174 bölgesi G/C polimorfizmini belirlemek için Mazzatti ve arkadaşlarının (2008) yöntemleri kullanılmıştır. Otopsi doku örneklerinden kit ile DNA izolasyonları yapılmıştır. IL-6 gen bölgelerindeki polimorfizmi tanımlamak amacıyla, SNP (Single Nucleotide Polymorphism)' nin olduğu kısmı da içeren bölge PCR (Polymerase chain reaction) yöntemi ile amplifiye edilmiştir. Amplifikasyon ürünleri RFLP (Restriction fragment length polymorphism) tekniği kullanılarak restriksiyon enzimi ile muamele edilmiştir. Polimorfik özelliğe göre restriksiyon enzimiyle kesilmiş olan oligonükleotidler %2-3'lük agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür.

Çalışmanın diğer aşamasında ise dokulardaki Pb, Cd Cu, ve Zn düzeyleri belirlenmiştir.

### 2.2.1 Örneklerin Toplanması

Otopsi doku örnekleri Adli Tıp Kurumu Ankara Grup Başkanlığına gelmiş olan erişkin (18 yaş üstü), otopsi olgularından alınmıştır. Böbrek dokusundan korteks ve medulla ayrı olarak ve karaciğerin sağ lobundan, (0.5-1 gr) örnek alınmıştır.

Biyolojik materyalden metal analizleri yöntemleri, Varian marka atomik absorpsiyon spektroskopi cihazının el kitaplarından yararlanılarak kurulmuş ve daha önce yapılan tezlerde standardize (Kayaaltı ve ark.2010) edilmiştir. Kadmiyum, kurşun, bakır ve çinko düzeyi öncelikle araştırılacak olan elementlerdir. Doku örnekleri paslanmaz çelik bıçaklarla kesildikten sonra polipropilen tüplere alınmış ve analiz yapılıncaya kadar -20°C de saklanmıştır.

### 2.2.2.Doku Örneklerinden DNA İzolasyonu

- Böbrek hücrelerindeki DNA'yı açığa çıkarabilmek amacıyla, "Qiagen Tissue" izolasyon kiti ile çalışıldı.
- Örnekler ayrı ayrı 20 mg. böbrek veya karaciğer örneği, steril makas ve pens ile kesilerek 1.5 ml.lik ependorf tüp içerisine konuldu ve üzerine 20 µl. DTT, 180 µl. ATL Buffer ve 20 µl. Proteinaz K eklendi.
- Su banyosunda 56 °C'de 1.5-2 saat inkübe edildi.
- Üzerine 200 µl. AL Buffer eklendi ve 70 °C'lik su banyosunda 10 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında 200 µl. saf etanol eklendi.
- Solusyon filtreli kolona aktarıldı.
- 8000 rpm.de 1 dakika santrifüj edildi, toplama tüpü atılarak yerine yenisi yerleştirildi.
- 500 µl AW1 Buffer eklendi.
- 8000 rpm.de 1 dakika santrifüj edildi, toplama tüpü atılarak yerine yenisi yerleştirildi.
- 500 µl AW2 Buffer eklendi.
- 14000 rpm.de 3 dakika santrifüj edildi, toplama tüpü atıldı.
- Kolona 1.5 ml.lik ependorf tüp takıldı ve kolon içerisine 150 µl. RNase-DNase free su ilave edildi.
- 8000 rpm.de 1 dakika santrifüj edildi ve kolon atıldı.
- Ependorf tüpe DNA örneği toplandı.

### 2.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

PZR aşaması, TECHNE TC 512 Thermal Cycle cihazı ile yapıldı.

### 2.2.4. Primerler ve Restriksiyon Enzimi

Primerler Alpha DNA firmasına sentezletirildi. Kullanılan primerler aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

**Çizelge 2. 5.** IL-6 polimorfizminde kullanılan primer dizisi

Gen	SNP	Primer dizisi	Kullanılan restriksiyon enzimi
IL-6	-174 pozisyonunda G/C polimorfizmi rs1800795	F:5'-TTGTCAAGACATGCCAAAGTGCT-3' R:5'-GCCTCAGACATCTCCAGTCC-3'	NlaIII

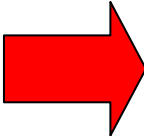
### 2.2.5. PCR Reaksiyonu ve Programı

PCR Reaksiyonunda kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 2.6.'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. PCR reaksiyonunda kullanılan kimyasal maddeler ve miktarları

PCR için kullanılan kimyasallar	Son konsantrasyon
10 X PCR Buffer	1U
Taq DNA Polimeraz	1U
F Primer	10 pmol
R Primer	10 pmol
dNTP	200 $\mu$ M
İzole edilen DNA	50 ng

PCR programı aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirildi.

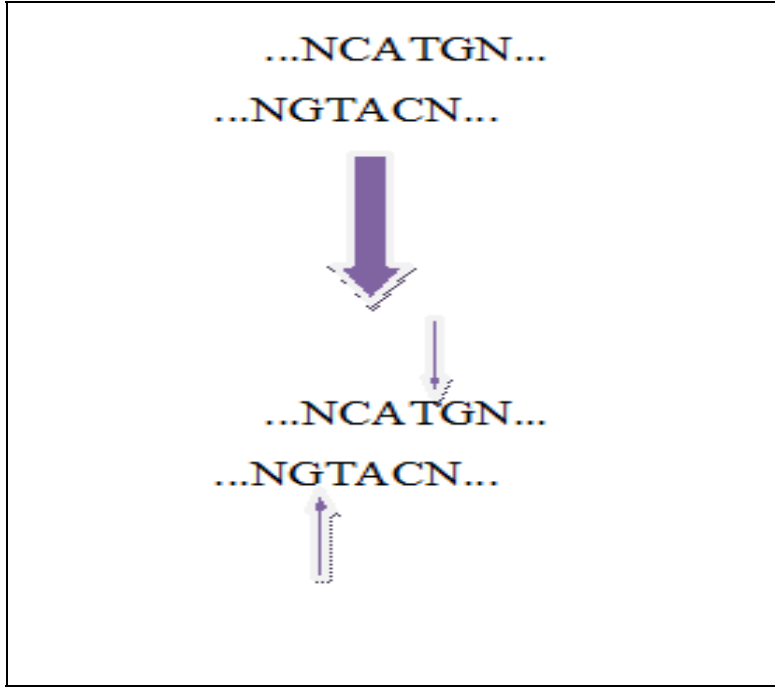
- |                          |          |  |          |
|--------------------------|----------|--|----------|
| ➤ + 95 <sup>0</sup> C'de | 5 dakika |  | 35 döngü |
| ➤ + 94 <sup>0</sup> C'de | 1 dakika |  |          |
| ➤ + 60 <sup>0</sup> C'de | 1 dakika |  |          |
| ➤ + 72 <sup>0</sup> C'de | 1 dakika |  |          |
| ➤ + 72 <sup>0</sup> C'de | 5 dakika |  |          |
| ➤ + 4 <sup>0</sup> C'de  | ∞ dakika |  |          |

### 2.2.6. PCR Ürünü İçin Agaroz Jel Hazırlanması

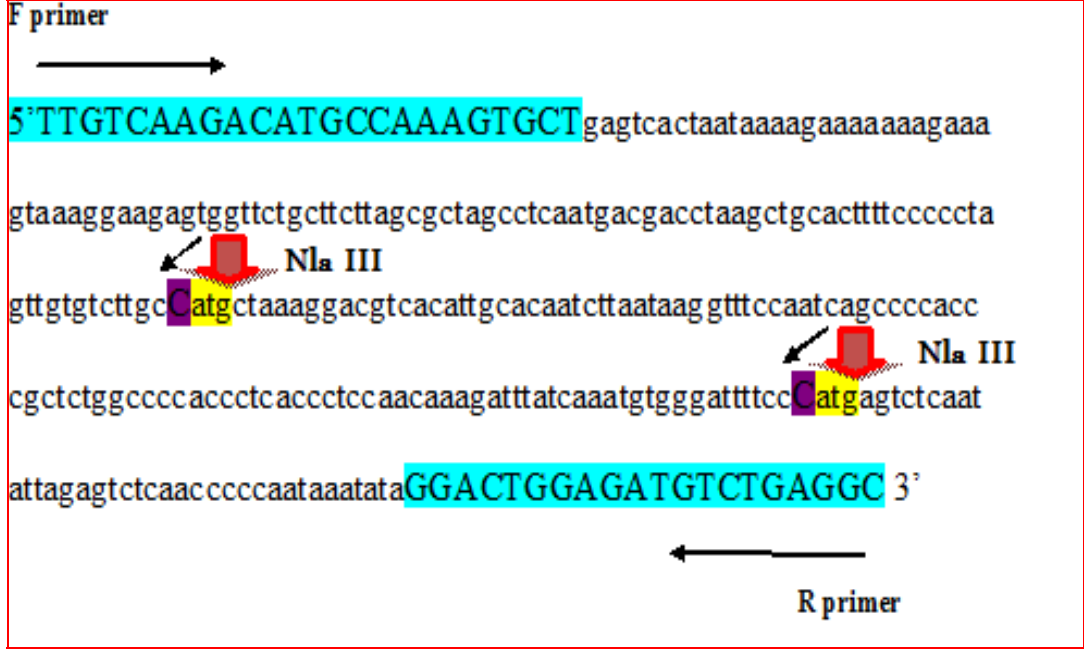
- PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde tespit edildi.
- 2.2 gr Agaroz tartılarak 120 ml 1XTBE içerisinde çözüldü.
- Mikrodalga fırında ağzı alimünyum folyo ile kapatılıp üzerinde delikler açılarak en yüksek sıcaklıkta kaynatıldı.
- Agar oda sıcaklığında 45-55<sup>0</sup>C'ye düşünceye kadar bekletildi.
- Sıcaklık düşünce 10µl EtBr eklendi ve karışana kadar erlen çalkalandı.
- Yatay elektroforezin tarakları takıldı agar kalıba döküldü.
- Jelin katılaşması için oda sıcaklığında 40-45 dakika bekletildi.
- Agar katılaştıktan sonra taraklar çıkarılarak jel elektroforez tankına yerleştirildi.
- Tanka, jelin üzerini 2-3 mm kaplayacak miktarda 1X TBE çözeltisi eklendi.
- 6 µl PCR ürünü, 2µl 6 X Jel Loading Buffer ile karıştırılarak kuyucuklarına yüklendi.
- Jel, 100 Volt ve 70 Amperde 50-60 dakika arası yürütüldü.
- Sonuçlar jel görüntüleme sistemi ile değerlendirildi.

### 2.2.7.PCR Ürününün RFLP Yöntemi ile Kesimi

Çalışmamızda, IL-6 geninin -174 bölgesindeki G/C polimorfizmini belirlemek için, amplifikasyon sonucunda oluşan PCR ürünü NlaIII Restriksiyon enzimi ile kesildi. NlaIII enzimi *Neisseria lactamica* (NRCC 2118) bakterisinden izole edilmiştir. Nla III enzimi;



Şekil 2. 24. NlaIII restriksiyon enzimi kesim bölgesi



Şekil 2.25: PCR ürününün Nla III enzimi ile kesiminin şematik gösterimi.

İnkübasyon; 37 °C’de 1 gece yapılmıştır. NlaIII enzimi ile kesim işleminden sonra oluşan oligonükleotidlerin analizleri, %2’lik agaroz jel ile gerçekleştirildi. Sonuçlar jel görüntüleme sistemi ile belirlendi.

### 2.3.Böbrek ve Karaciğer Dokularında Cd, Pb, Zn ve Cu düzeylerinin belirlenmesi

Dokular -20 C<sup>0</sup> den çıkartılarak oda sıcaklığında bekletildi. Islak dokular hassas terazide tartıldıktan sonra cam tabla üzerine aktarıldı ve önceden 75°C’ye ayarlanmış etüvde 24 saat kurumaya bırakıldı.

Etüvden çıkarılan karaciğer ve böbrek dokuları hassas terazi ile tekrar kuru ağırlıkları belirlenmek üzere tartılarak, teflon tüplerine alındı. Dokuların üzerine 10 ml %65’lik HNO<sub>3</sub> eklenerek, mikrodalga fırında asitle yakma işlemi yapıldı.

**Çizelge 2.7.** Mikrodalga fırına ait doku yakma programı.

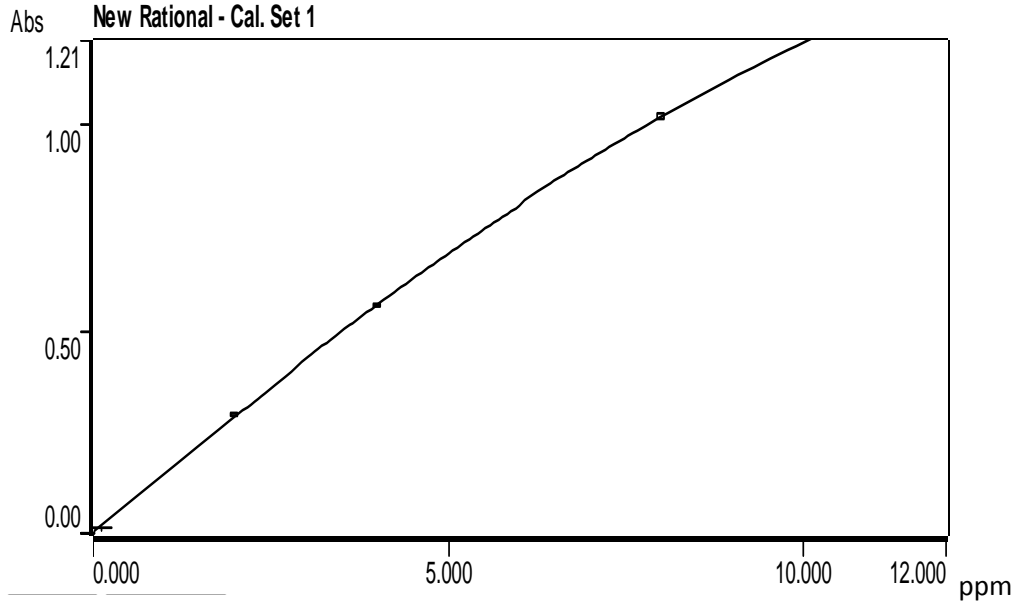
Max. Güç(W)	%Güç	Zaman(dk)	Basınç (psi)	Sıcaklık(C <sup>0</sup> )	Bekleme (dk)
600	100	10	350	210	10

Analizler Atomik Absorbyion cihazı ile yapılmıştır. Alevli Atomik Absorbsiyon Tekniği ile bakır ve çinko iz elementleri (asetilen gazı), Grafit Fırın Tekniği ile de kurşun ve kadmiyum düzeyleri (Argon gazı) saptanmıştır.

### 2.3.1. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Cu Düzeyi Ölçümü

Karaciğer dokusunda bakır analizi için 1000 ppm lik bakır ana stok solüsyonundan kalibrasyon eğrisini oluşturmak üzere 2.0 ppm, 4.0 ppm, 8.0 ppm ve 10.0 ppm konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı.

Bakır analizine ait örnek kalibrasyon grafiği Şekil 2.26.'da gösterilmiştir.

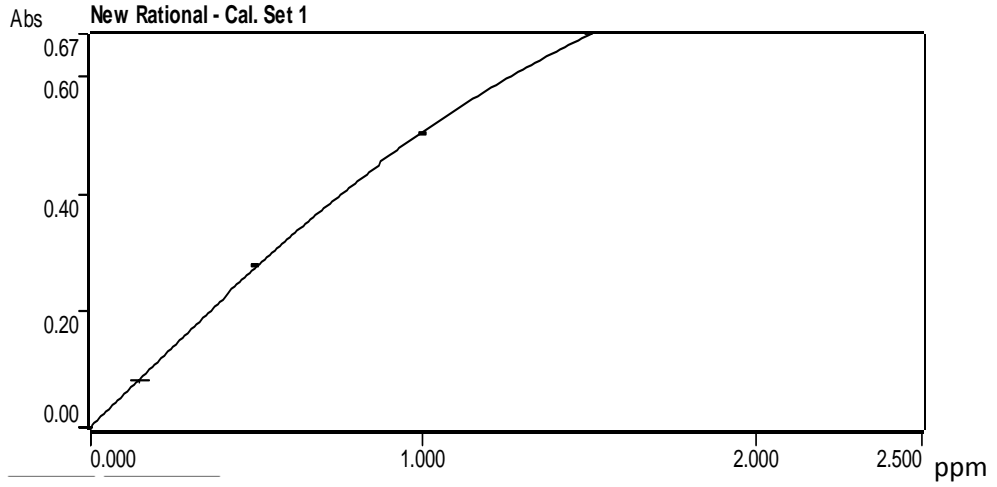


R Değeri= 1.0000

**2.26.** Karaciğer dokusunda bakır analizine(ppm) ait örnek kalibrasyon grafiği

### 2.3.2. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Zn Düzeyi Ölçümü

Karaciğer dokusunda çinko analizinde Kalibrasyon eğrisi oluşturmak için 1000 ppm lik çinko stok solüsyonundan 2,0 ppm, 4,0 ppm, 8,0 ppm ve 10,0 ppm konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı. Kalibrasyon eğrisi için her bir standart çözeltiden 4 enjeksiyon yapıldı.

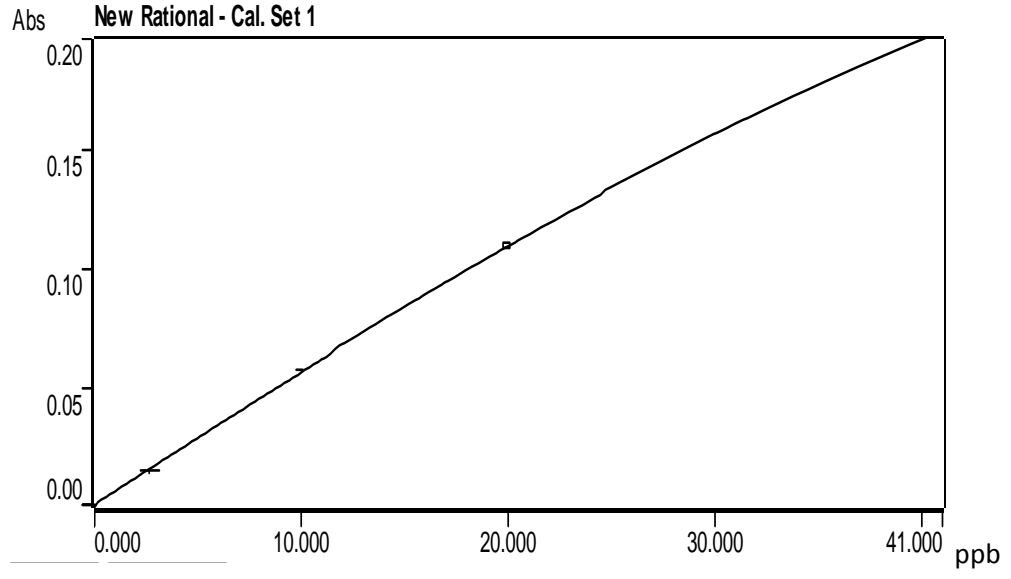


R Değeri= 1.0000

Şekil 2.27. Karaciğer dokusunda çinko analizine(ppm) ait kalibrasyon grafiği

### 2.3.3. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Pb Düzeyi Ölçümü

Karaciğer dokusunda kurşun analizi için 1000 ppb lik kurşun stok solüsyonundan kalibrasyon eğrisini oluşturmak üzere 60 ppb konsantrasyonunda ana standart hazırlanarak, 10 ppb, 20 ppb, ve 40 ppb konsantrasyonları ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

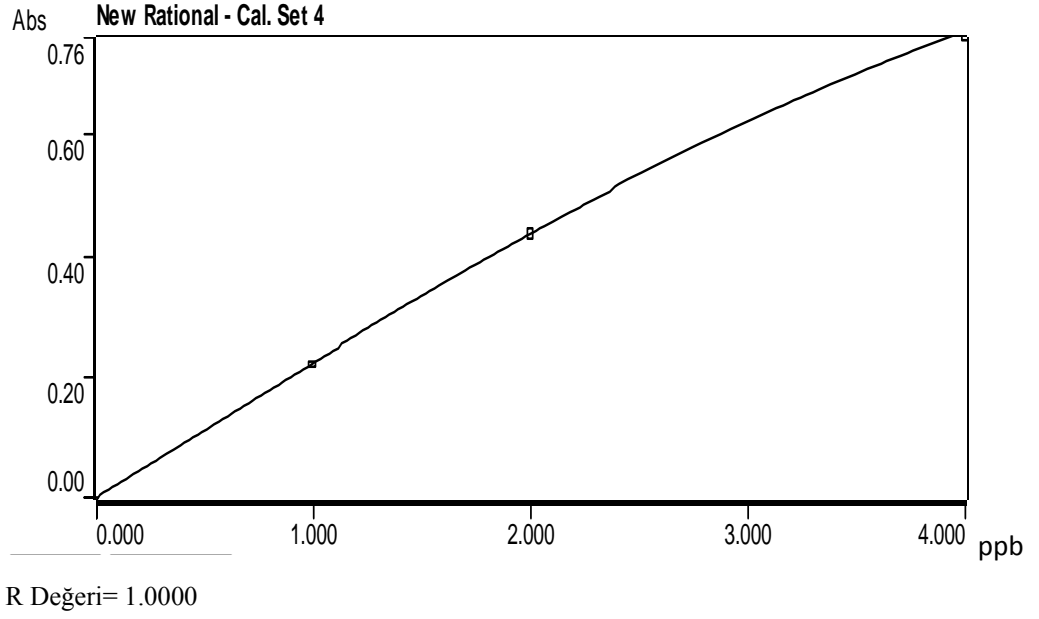


R Değeri= 1.0000

**Şekil 2.28.** Karaciğer dokusunda kurşun analizine (ppb) ait örnek kalibrasyon grafiği

### 2.3.4. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Cd Düzeyi Ölçümü

Karaciğer dokusunda kadmiyum analizi için Varian AA240Z Zeeman grafit fırınlı Atomik Absorbsiyon Spektrometresi kullanıldı. 1000 ppb lik kadmiyum stok solüsyonundan kalibrasyon eğrisini oluşturmak üzere 8 ppb konsantrasyonunda standart hazırlanarak, 1 ppb, 2 ppb, ve 4 ppb konsantrasyonları ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.



Şekil 2.29. Karaciğer ve böbrek dokusunda kadmiyum analizine(ppb) ait örnek kalibrasyon grafiği

#### **2.4.İstatistiksel Analiz**

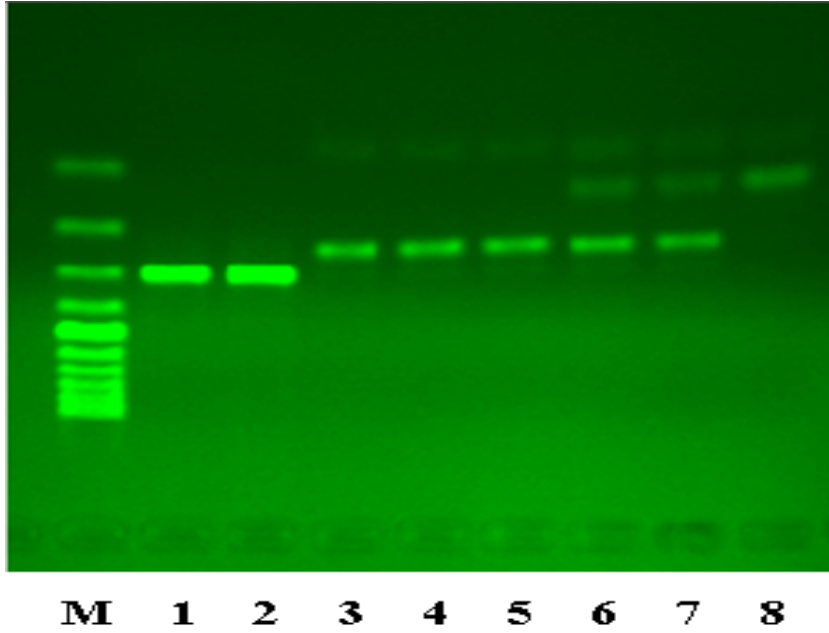
İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 16 programında değerlendirilerek One Way ANOVA testi kullanılmıştır. IL-6 -174G/C polimorfizmi genotip dağılımı ve allel dağılımı Hardy Weinberg dengesi kullanılarak değerlendirilmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Otopsi materyallerinden izole edilen DNA örneklerinde IL-6 -174 G/C polimorfizmi

Otopsi vakalarından alınan 122 böbrek doku örneği çalışılmıştır. Çalışmada bütün vakaların DNA'larının izolasyonu gerçekleştirilmiştir. IL-6, -174. pozisyonda G/C'ye değişim göstermektedir. Bu değişimi göstermek amacıyla bu bölgeyi içeren 303 bp'lik bölge amplifiye edildi ve PCR ürünü G/C polimorfizmini belirlemek amacıyla Nla III enzim ile kesildi.

GG genotipli bireylerde (Homozigot tipik) Nla III enzimi kesimi sonucu 233 bp'lik ürün, GC genotipli bireylerde (heterozigot tipik) 122 ve 233 bp'lik ürünler, CC genotipli bireylerde (homozigot atipik) ise 122 ve 111 bp'lik bölgeler Şekil 3.30.'da birarada görülmektedir.



**Şekil 3. 30** : DNA izolasyonu ve enzim kesimi jel görüntüsü M: 100 bp ladder, 1,2: PCR ürünü (303 bp), 3,4,5: Homozigot tipik genotip (233 bp), 6,7: Heterozigot genotip (233 bp ve 122 bp), 8: Homozigot atipik genotip (122 bp).

Otopsi örneklerinde IL-6, -174 G/C polimorfizmi sonucu toplumdaki allel frekansı (n:244), G allel frekansı %74.6; C allel frekansı ise % 25.4 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.8).

**Çizelge 3.8:** Otopsi böbrek örneklerinde IL-6 -174 G/C polimorfizmi ve allel frekansları

Doku	Allel (G/C)	Allel Frekansı	
		n	%
Otopsi Böbrek Korteks Örnekleri	G	182	74.6
	C	62	25.4
	<b>Toplam</b>	<b>244</b>	<b>100</b>

**Çizelge 3.9.** Otopsi böbrek örneklerinde IL-6 , -174 G/C polimorfizmi sonucu toplumdaki genotip frekansı ve Hardy-Weinberg dengesi

Doku	Polimorfizm	Genotip Frekansı	
		n	%
Otopsi Böbrek Kortex Örnekleri (n:122)	GG (Homozigot tipik)	67	54.9
	GC (Heterozigot)	48	39.3
	CC (Homozigot atipik)	7	5.7
<b>TOPLAM</b>		<b>122</b>	
<b>SERBESTLİK DERECESİ 2</b>	$\chi^2$ <b>0.179</b>		<b>p&gt;0.05</b>

Otopsi örneklerinde yapılan çalışmalar sonucu toplumdaki genotip frekansı (n: 122), homozigot tipik (GG) bireylerde %54.9, heterozigot tipik (GC) bireylerde %39.3, homozigot atipik (CC) bireylerde ise %5.7 olarak bulunmuş ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu gösterilmiştir ( $\chi^2=0.179$ )(Çizelge 3.9).

### **3.2. IL-6 polimorfizminin yaş ve cinsiyetle ilişkisi**

Çalışmamızda, IL6 polimorfizminin cinsiyet ve yaş ile ilişkisi araştırılmış, sonuçlar Çizelge 3.10. ve Çizelge 3.11’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre, IL-6 polimorfizmi, yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır (p=0.088; p=0.813).

Çizelge 3.10. IL-6 ve cinsiyet arasındaki ilişki

Cinsiyet	Polimorfizm	Genotip sıklığı		Hardy-Weinberg dengesi		p
		N	%	N	%	
Kadın	IL-6 G/G genotip	13	50.0	13.16	50.6	1.000
	IL-6 G/C genotip	11	42.3	10.67	41.0	
	IL-6 C/C genotip	2	7.7	2.16	8.3	
	IL-6 G allele	37	71.2	-	-	
	IL-6 C allele	15	28.8	-	-	
Erkek	IL-6 G/G genotip	54	56.2	54.75	57.0	0,788
	IL-6 G/C genotip	37	38.5	35.49	36,9	
	IL-6 C/C genotip	5	5.2	5.75	5,9	
	IL-6 G allele	145	75.5	-	-	
	IL-6 C allele	47	24.5	-	-	
Toplam	IL-6 G/G genotip	67	54,9	67,88	70,7	0.813
	IL-6 G/C genotip	48	39,3	46,25	48,3	
	IL-6 C/C genotip	7	5,7	7,88	8,3	
	IL-6 G allele	182	74,6	-	-	
	IL-6 C allele	62	25,4	-	-	

Çizelge 3.11. IL-6 ve yaş arasındaki ilişki

Yaş	Polimorfizm					P
		N	Ort±SD	Min	Max	
Kadın	IL-6 G/G genotip	13	34,54±12,07	18	23	0,297
	IL-6 G/C genotip	11	46,36±23,79	23	76	
	IL-6 C/C genotip	2	48,00±33,94	24	72	
	Toplam	26	40,58±19,51	18	76	
Erkek	IL-6 G/G genotip	54	42,36±16,41	18	77	0,230
	IL-6 G/C genotip	37	46,78±14,10	24	86	
	IL-6 C/C genotip	5	52,40±21,04	25	73	
	Toplam	96	44,60±15,88	18	86	
Toplam	IL-6 G/G genotip	67	40,87±15,89	18	77	0.088
	IL-6 G/C genotip	48	46,69±16,52	23	86	
	IL-6 C/C genotip	7	51,14±22,18	24	73	
	Toplam	122	43,75±16,71	18	86	

### 3.3. Böbrek ve Karaciğer Dokularında Metal Düzeyi

Çalışmamızda, 122 otopsi böbrek dokusunda AAS ile yapılan analizlerde ortalama metal (Cu, Zn, Pb, Cd) konsantrasyonu Cu:  $17.10 \pm 15.74$  ppm, Zn:  $180.48 \pm 85.15$  ppm, Pb:  $492.89 \pm 807.19$  ppb, Cd:  $96.72 \pm 64.13$  ppb, karaciğer dokularında ise Cu:  $29.99 \pm 17.12$  ppm, Zn:  $218.03 \pm 83.99$  ppm, Pb:  $399.72 \pm 288.93$  ppb, Cd:  $4915.11 \pm 6691.64$  ppb olarak bulunmuştur (Çizelge 3.12 ve Çizelge 3.13).

Böbrek dokusu örneklerindeki IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile Cu, Cd, Pb arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmazken ( $p > 0.05$ ), karaciğer ve böbrek dokularındaki Zn düzeyi ve IL-6 polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Zn Böbrek  $p = 0.033$ , Zn karaciğer  $p = 0.041$ ).

Çizelge 3.12. Böbrek dokularında metal düzeyleri

<b>METALLER</b>													
		<b>Cu (ppm)</b>			<b>Zn(ppm)</b>			<b>Pb(ppb)</b>			<b>Cd(ppb)</b>		
<b>IL-6</b>	<b>N</b>	<b>ORT±SD</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>ORT±SD</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>ORT±SD</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>ORT±SD</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
<b>GG</b>	<b>68</b>	<b>18,18±20,42</b>	<b>1,54</b>	<b>171,38</b>	<b>168,53±89,29</b>	<b>25,64</b>	<b>475,40</b>	<b>482,12±582,76</b>	<b>36,62</b>	<b>2544,40</b>	<b>100,53±68,59</b>	<b>21,92</b>	<b>311,66</b>
<b>GC</b>	<b>47</b>	<b>16,14±6,38</b>	<b>2,89</b>	<b>31,10</b>	<b>203,58±76,49</b>	<b>73,38</b>	<b>377,87</b>	<b>534,87±1089,19</b>	<b>43,39</b>	<b>7484,64</b>	<b>94,02±60,14</b>	<b>20,98</b>	<b>282,58</b>
<b>CC</b>	<b>2</b>	<b>13,33±7,40</b>	<b>3,40</b>	<b>24,11</b>	<b>136,54±67,63</b>	<b>51,43</b>	<b>224,13</b>	<b>308,19±236,53</b>	<b>61,97</b>	<b>708,36</b>	<b>78,73±47,58</b>	<b>43,40</b>	<b>179,57</b>
<b>Total</b>	<b>122</b>	<b>17,10±15,74</b>	<b>1,54</b>	<b>171,38</b>	<b>180,48±85,15</b>	<b>25,64</b>	<b>475,40</b>	<b>492,89±807,19</b>	<b>36,62</b>	<b>7484,64</b>	<b>96,72±64,13</b>	<b>20,98</b>	<b>311,66</b>
<b>p</b>		<b>0,641</b>			<b>0,033*</b>			<b>0,778</b>			<b>0,650</b>		

Çizelge 3.13. Karaciğer dokularında metal düzeyleri

METALLER													
IL-6	N	Cu (ppm)			Zn (ppm)			Pb(ppb)			Cd(ppb)		
		Ort±SD	Min	Max	Ort ±SD	Min	Max	Ort±SD	Min	Max	Ort±SD	Min	Max
GG	68	29,37±12,95	5,70	73,36	214,55±69,27	102,70	629,94	379,14±259,37	30,35	1226,5	5221,18±8717,67	170,46	72457,30
GC	47	31,35±20,98	8,75	122,70	232,91±102,03	94,98	662,55	447,47±334,99	34,30	1412,2	4780±74±2668,78	139,63	11050,30
CC	2	26,62±24,22	9,82	80,37	149,28±22,72	113,88	177,46	269,28±147,08	60,13	488,5	2907,06±2315,31	192,16	7161,68
Toplam	122	29,99±17,12	5,70	122,70	218,03±83,99	94,98	662,55	399,72±288,93	30,35	1412,2	4915,11±6691,64	139,63	72457,30
p		0.721			0.041*			0.216			0.677		

#### 4.TARTIŞMA

IL-6 inflamatuvar yanıtta önemli rol oynayan temel pro-inflamatuvar sitokindir (Akira ve ark., 1993). B hücrelerinde, T hücrelerinde, mezenşimal hücrelerde, keratinositlerde, sinir hücrelerinde, osteoklastlarda ve bazı tümör hücreleri ile endotelial hücrelerde büyüme ve farklılaşmadan sorumlu çeşitli işlevleri düzenlemektedir (Simpson ve ark., 1997; Nishimoto ve Kishimoto, 2006). IL-6, karaciğer hücrelerinde inflamatuvar yanıtın temel proteini olan akut faz proteinlerinin ekspresyonundan da sorumludur (Habif, 2005).

IL-6, inflamatuvar ve immün sisteme yanıtta, önemli rol oynayan bir sitokindir. IL-6 geni, 7. kromozomun kısa kolunda, 7p14-7p21 arasında lokalize olmuştur ve IL-6 molekülü 26 kDa ağırlığında bir proteindir. IL-6 geni promotor bölgesinde -174 pozisyonunda tanımlanan G/C değişimi önem taşır ve bu polimorfizmde 2 farklı allel tanımlanır (G ve C alleli). Bunun sonucu olarak 3 genotip görülür; GG, GC ve CC. IL-6 promoter bölgesinde, -174 pozisyonda C allelinin varlığı IL-6 üretimini azaltır (Fishman ve ark.,1998; Bonafe ve ark., 2001; Olivieri ve ark., 2002). Yapılan çalışmalarda, -174 C allelini taşıyan bireylerde transkripsiyon düzeyinin, G allelini taşıyanlara oranla azaldığı belirlenmiştir (Fishman ve ark., 1998).

IL-6, diğer sitokinlerle birlikte karaciğerde metallothionein sentezini indükler (Cui,1998). Metallothionein ekspresyonu IL-6' nın kontrolü altındadır (Jacob ve ark., 1999; Mocchegiani ve ark. 1998). Metallothioneinler bir taraftan organizmada çinko ve bakır dengesini düzenlerken diğer taraftan toksik metallerin etkilerine karşı koruyucu rol oynamaktadır (Andrews, 2000).

Otopsi doku örneklerinde IL-6 -174G/C promotor bölge polimorfizmini belirlemek için yaptığımız çalışma sonucunda, GG (homozigot tipik) genotipi 67 bireyde, GC (heterozigot tipik) genotipi 48 bireyde, CC (Homozigot atipik) genotipi ise 7 bireyde görülmüştür. Allel frekansları G allel frekansı % 74.6; C allel frekansı %25.4, genotip frekansları ise GG genotipi %54.9, GC genotipi % 39.3, CC genotipi

% 5.7 olarak bulunmuştur. İstatistiksel analiz sonucunda  $\chi^2$  değeri 0.179 olarak hesaplanmıştır ( $p>0.05$ ).

Fishman ve arkadaşlarının üç etnik grup ile yaptıkları çalışmalarında Hardy-Weinberg dengesine göre  $\chi^2$  değerleri beyaz ırklarda 2.7 ( $p=0.10$ ), Hindistan 0.03 ( $p=0.86$ ) ve Afrika kökenli Karayip 0.22 ( $p=0.64$ ) olarak hesaplanmıştır (Fishman ve ark., 1998).

**Çizelge 4.14.** Avrupa ülkeleri ve Türkiye'deki IL-6 polimorfizm genotiplerinin karşılaştırılması (Mocchegiani ve ark., 2008).

<b>Genotip</b>	<b>İtalya (%)</b>	<b>Polonya (%)</b>	<b>Almanya (%)</b>	<b>Yunanistan (%)</b>	<b>Fransa (%)</b>	<b>Türkiye (%)</b>
<b>CC</b>	5.3	22.7	13.1	1.2	15.3	5.7
<b>GC</b>	26.5	57.4	53.1	31.1	44.6	39.3
<b>GG</b>	68.1	19.9	33.8	67.7	40.1	55

Otopsi dokularında yaptığımız çalışma sonucu IL-6 polimorfizmi Avrupa ülkeleri ile karşılaştırıldığında ise Almanya, Polonya, Fransa popülasyonuna göre daha düşük bulunmuştur. Kuzey ve orta-güney Avrupa ülkeleri ( $\chi^2$ : 128.141,  $p<0.001$ ) karşılaştırıldığı zaman geniş farklılıklar görülmektedir. Homozigot G alleli taşıyıcılarında (C-), Polonya'da yaklaşık %20, Fransa'da yaklaşık %40 ve Almanya yaklaşık %34 İtalya ve Yunanistanda % 68, çalışmamızda ise % 54.9 oranında görülmektedir. Homozigot CC (G-) taşıyanlarda ise en yüksek oran Polonya' da (% 22.7) görülmektedir.

Çalışmamızın ikinci aşamasında, otopsi böbrek ve karaciğer örneklerinde Cd, Zn, Cu ve Pb seviyeleri ölçülerek, IL-6 G/C polimorfizminin, metal seviyeleri üzerine etkisi araştırılmıştır. IL-6 polimorfizmi ve otopsi böbrek dokularında Cu ( $p=0.641$ ), Pb ( $p=0,778$ ), Cd ( $p=0.650$ ) düzeyleri karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ancak Zn düzeyi ve IL-6 polimorfizmi ( $p=0.033$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Karaciğerde metal düzeyleri ve IL-6 polimorfizmi karşılaştırıldığında Pb ( $p=0.216$ ),

Cd(p=0.677), Cu (p=0.721) düzeyleri arasında yine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Ancak karaciğer Zn düzeyi ve IL-6 polimorfizmi arasında (p=0.041) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir. Sonuçlarımızla uyumlu olarak Mc Bean ve arkadaşları (1972), karaciğer ve böbrek dokularında yaptıkları çalışmalarında, Zn konsantrasyonunu 194±48 ppm; 179±66 ppm olarak bulmuşlardır.

Vücuttaki toplam çinkonun %10'u metabolik olarak aktiftir ve karaciğer Zn metabolizmasında önemli rol oynar. Zn, absorpsiyonunu takiben hızlı bir şekilde karaciğere alınır. Proinflamator bir sitokin olan IL-6, metal bağlayıcı metallothionein üretimini ve ona bağlı olarak çinko bağlanma kapasitesini artırmaktadır (Gabay ve Kushner, 1999; Wolf ve ark., 1996). IL-6 ile inflamatuvar cevabın düzenlenmesi, özellikle çinko parmak proteinleri aracılığı ile çinko iyonu kullanımını kontrolü altında tutmakta (Dreosti, 2001) ve plazma Zn seviyesini azaltmakta ancak bu takiben karaciğer tarafından Zn'nun yeniden dağıtımı gerçekleştirilmektedir (Grungreiff, 2002). Bu nedenle karaciğer dokularında, Zn miktarı böbrek dokularından daha yüksektir (Olderid, 1993; Orłowski ve ark., 1996). Bizim sonuçlarımıza göre, karaciğerde Zn konsantrasyonu 218,03±83.99 ppm, böbrek dokularında ise 136,54±67.63 ppm olarak bulunmuştur.

IL-6 geninde meydana gelen genetik varyasyonlar, IL-6 üretimi ve immün cevapta önemli rol oynar. Yaşlanma ile birlikte artan IL-6 seviyesi, MT geninin ekspresyonuna ve düşük çinko kullanımına neden olur (Mocchegiani ve ark., 2006). Metallothioneinler, sisteince zengin, düşük molekül ağırlıklı, metal bağlayan proteinlerdir. Çinko'ya karşı yüksek affiniteye sahiptir ( $k_d=1.4 \times 10^{-13}$  M) (Kagi ve Schaffer, 1998). MT'ler ağır metaller, oksidatif stres, IL-1, interferon, iyonize radyasyon, hormonlar (glukortikoidler), organik çözücüler (etanol, hekzan) ve antikanser ajanları gibi uyarımlarla ekspresyonu artar (Onosaka ve ark., 2002). Metallothioneinlere bağlı haldeki çinko, kadmiyum, bakır, civa gibi ağır metallere bağlı toksisiteyi azaltır (Onosaka ve ark., 2002). Hücrelerarası metal dengesini sağlayarak, antioksidan olarak görev yapar. Çinko konsantrasyonu metallothionein indüklenmesi sonucu artış gösterir (Onosaka ve ark., 2002). Çinkonun antioksidan etkisi redoks stabil çinkonun, hücresel bölgelerde demir ve bakır gibi redoks reaktif

metallerin yerine geçmesi ve serbest radikallere karşı antioksidan rol oynayan metallothioneinlerin sentezini indüklenmesinden kaynaklanır (Rostan ve ark., 2002).

Yaşlanmaya bağlı azalan çinko iyon kullanılabilirliği değişen immün cevap ile ilişkilidir. Çinko kullanımının ana düzenleyicilerinden biri olan metallothionein indüksiyonu IL-6'nın kontrolü altındadır. IL-6'nın üretimi ise -174 nükleotid pozisyonundaki değişim tarafından kontrol edilmektedir. IL-6, G/C polimorfizmi metallothioneinler gibi proteinlerin ekspresyonunun aynı zamanda Zn homeostazi modülasyonunun düzenlenmesinde yer aldığı bilinmektedir (Mocchegiani ve ark., 2008). Kronik inflamasyonun olduğu durumlarda metallothionein tarafından çinko salınımı sınırlanır ve çinko yararlanımında azalma görülür (Mazzatti ve ark., 2008).

Çalışmamızda C+ ve C- allel varlığı, yaş ile karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı olamamasına rağmen, C+ allele sahip kişilerde ortalama yaşın ( $46.68 \pm 16.52$ ) C- kişilerde ( $43.03 \pm 16.68$ ) daha yüksek olduğu görülmüştür. IL-6 ve düşük çinko iyon kullanılabilirliği kronik inflamasyon ve yaşlanma sendromlarını içeren çeşitli hastalıklarda görülmektedir (Mocchegiani ve ark., 2002). Bunun yanında yüksek seviyede IL-6 üretimi yaşlanma sürecinde belirgin bir özelliktir. (Fagiolo ve ark., 1993; Ferrucci ve ark., 1999). IL-6, -174 promotor bölgesindeki C alleli varlığı IL-6'nın plazmadaki seviyesini azaltmaktadır (Bonafe ve ark., 2001; Olivieri ve ark., 2002).

İnterleukin-6 (IL-6) promotor geninde meydana gelen tek nükleotid polimorfizmi (SNP), kardiyovasküler hastalıklar, kanser, Alzheimer hastalıklarının patogeneğinde yaygın ve kapsamlı olarak çalışılmıştır (Licastro ve ark., 2003; Antonicelli ve ark., 2005; Koivisto ve ark., 2005; Garg ve ark., 2006).

IL-6, G/C gen promotor polimorfizmi üzerine yapılan çalışmaların genelde kardiyovasküler hastalıklar üzerine olduğu görülmektedir. Pola ve arkadaşlarının İtalya'da iskemik stroke hastaları ile yaptıkları çalışmalarında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir ( $P < 0.0001$ ) (Pola ve ark., 2003). Bir çalışmada ise damar sertliği ve tansiyonun IL-6 polimorfizmi ile ilişkili olduğu görülmüştür (Sie ve ark., 2008).

Losito ve arkadaşlarının Dializ hastalarında, sol ventriküler hipertrofi ve hipertansiyonun IL-6 -174 G/C promoter polimorfizmi arasındaki ilişki belirlenmiştir (Losito ve ark., 2003). Avustralya 'da retinal arter tıkanıklığı vakalarında IL-6 polimorfizminin ilişkisi araştırılmış CC genotipi taşıyan bireylerin RAO'ya karşı koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir (Weger ve ark., 2004).

IL-6, bir çok kanser olgusunun patogenezinde de önemli role sahiptir. Papiller tiroid karsinomuna sahip Türk hastalarında IL-6 polimorfizmi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ( $p<0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ancak prognostik faktör olarak bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (Özgen ve ark., 2009). Marcos ve arkadaşları alkolik karaciğer hastalığı ile IL-6 polimorfizmi ve diğer interleukin genleri üzerinde yaptıkları çalışmada anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (Marcos ve ark., 2009).

Çalışmamızda IL-6 polimorfizimin doku metal düzeyleri ile ilgisi araştırılmış olup, bu konu ile ilgili Pb, Cd ve Cu düzeyleri açısından herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır, ancak metal düzeylerinin hücrel ve hormonal sitokin seviyesi üzerine etkisi ile ilgili bir çalışma bulunmaktadır (Yücesoy ve ark., 1997).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda otopsi doku örneklerinden elde edilen 122 örnekten DNA izolasyonu yapılarak IL-6 -174 G/C polimorfizmi ve böbrek ve karaciğer dokularında Pb, Cu, Zn, Cd düzeyleri ölçülerek IL-6 polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. IL-6 polimorfizmi 122 bireyde GG(homozigot tipik) genotipi 67 bireyde, GC (heterozigot tipik) genotipi 48 bireyde, CC (Homozigot atipik) genotipi ise 7 bireyde görülmüştür. Genotip frekansları ise GG genotipi %54.9, GC genotipi %39.3, CC genotipi % 5.7 olarak bulunmuştur. 122 otopside elde edilen karaciğer ve böbrek doku Pb, Cu, Cd düzeyleri ile IL-6 -174 G/C tek nükleotit polimorfizmi (SNP) arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. IL-6 polimorfizmi, Karaciğer-Zn ( $p= 0.041$ ) ve böbrek-Zn düzeyi ( $p= 0.033$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur.

Litaratür araştırması sonucu biyolojik dokularda metal düzeyleri (Pb, Zn, Cd, Cu) ve IL-6 -174 G/C polimorfizmi ilişkisi ile ilgili benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız metallerin toplumumuzdaki bireylerin dokularındaki normal ortalama değerlerinin belirlenmesi, çevresel maruziyet ile kaza sonucu ve kasıtlı zehirlenme olaylarında analitik bulguların değerlendirilmesi yönünden adli toksikoloji yönünden önem taşımaktadır. Veriler genetik farklılıkların doku metal birikiminde etkili olabileceğini göstermekte, metallerle doğrudan veya dolaylı etkileşen proteinlerin polimorfik yapısında önemli olduğunu göstermekte ayrıca gelecek çalışmalarımızı da bu yönde planlamamızı sağlamaktadır.

## ÖZET

### **IL-6 Polimorfizminin Doku Metal Düzeylerine Etkisi**

Çalışmamızın amacı, otopsi doku örneklerinde IL-6 polimorfizmini belirlemek ve bu polimorfizm ile karaciğer ve böbrek doku metal düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Çalışmamızda 122 otopsi doku örneğinde IL-6 -174 G/C promotör bölge polimorfizmi araştırıldı. IL-6 -174 G/C polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile tanımlanmıştır. Amplifiye edilen oligonükleotitler RFLP tekniği kullanılarak NlaIII restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Amplifikasyon ürünü, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniği kullanılarak Nla III restriksiyon enzimi ile kesilerek oligonükleotitler elde edilmiştir. IL-6 polimorfizminin allel frekansları ; G allel frekansı % 74.6, C allel frekansı % 25.4; Genotip frekansları ise GG(homozigot tipik) genotipi %54.9, GC (heterozigot tipik) genotipi %39.3, CC (homozigot atipik) genotipi %5.7 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızın diğer aşamasında metal konsantrasyonları atomik absorpsiyon spektroskopisi ile belirlenmiştir. Sonuçlara göre otopsi örneklerinde IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile Pb, Cd, Cu düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmazken, Zn konsantrasyonu ile pozitif anlamlı bir korelasyon görülmüştür. Otopsi böbrek dokularında ortalama metal (Cu, Zn, Pb, Cd) konsantrasyonu Cu: 17.10±15.74 ppm, Zn: 180.48±85.15 ppm, Pb: 492.89±807,19 ppb, Cd: 96.72±64.13 ppb, karaciğer dokularında ise Cu: 29,99±17,12 ppm, Zn: 218,03±83,99 ppm, Pb: 399,72±288,93 ppb, Cd: 4915,11±6691,64 ppb olarak bulunmuştur. Karaciğer ve böbrek dokularında, Pb, Cu, Cd konsantrasyonları ile IL-6 polimorfizmi arasında istatistiksel olarak bir farklılık görülmezken karaciğer ve böbrek dokularında ölçülen Zn düzeyi ile IL-6 polimorfizmi arasında ( $p<0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlılık bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** IL-6, Metaller (Pb, Cu, Zn, Cd), Otopsi örnekleri, Polimorfizm

## SUMMARY

### Effect of IL-6 Polymorphism on Tissue Metal Levels

The aim of our study was to investigate the IL-6 polymorphism in autopsy tissue samples and the relationship between this polymorphism with liver and kidney tissue metal levels.

In our study, -174 G/C polymorphism of the IL-6 gene promoter region was investigated in 122 autopsy tissues. IL-6 -174 G/C polymorphism was detected by PCR-RFLP analysis. The amplified oligonucleotides were cut with NlaIII restriction enzyme by RFLP technique. The allele frequencies; G allele frequency %74.6, C allele frequency %25.4; genotype frequencies were 54.9 % homozygote typical (GG), 39.3% heterozygote typical (GC) and 5.7 % homozygote atypical (CC).

In the other part of our study, metal concentrations were determined using an atomic absorption mass spectrometer. In conclusion no correlation was found between the IL-6 -174 G/C polymorphism and Pb, Cd, and Cu ( $p>0.05$ ) levels in the kidney tissues but positive correlation was detected with the Zn concentration. The mean values of Zn, Cu, Cd and Pb levels in kidney tissue were  $180.48\pm 85.15$  ppm,  $17.10\pm 15.74$  ppm,  $96.72\pm 64.13$  ppb and  $492.89\pm 807.19$  ppb, in liver tissue;  $218.03\pm 83.99$ ,  $29.99\pm 17.12$ ,  $4915.11\pm 6691.64$ ,  $399.72\pm 288.93$  respectively. When IL-6 G/C polymorphism versus metal concentrations in autopsy kidney and liver tissues is compared, only Zn concentration shows significance ( $p<0.05$ ) as statistical with polymorphism.

**Key words:** Autopsy samples, IL-6, metals (Pb, Cu, Zn, Cd), polymorphism,

## KAYNAKLAR

- AARDEN, L., LANSDORP, P. , DE GROOT, E. (1985). A growth factor for B cell hybridomas produced by human monocytes. *Lymphokines*. **10**: 175–185.
- AGGARWAL, AK. (1995). Structure function of restriction endonucleases. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **5(1)**:11-9.
- AKIRA, S., TAGA, T., KISHIMOTO, T. (1993). Interleukin-6 in biology medicine. *Adv Immunol.* **54**:1–78.
- ANDUS, T., GEIGER, T., HIRANO, T., NORTHOFF, H., GANTER, U., BAUER, J., KISHIMOTO, T., HEINRICH, PC. (1987). Recombinant human B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IFN-beta 2) regulates beta-fibrinogen albumin mRNA levels in Fao-9 cells. *FEBS Lett.* **221**: 18–22.
- ANTONICELLI, R., OLIVIERI, F., BONAFE`, M., CAVALLONE, L., SPAZZAFUMO, L., MARCHEGIANI, F., CARDELLI, M., RECANATINI, A., TESTARMATA, P., BOEMI, M., PARATI, G., FRANCESCHI, C.(2005). The interleukin-6 -174G>C promoter polymorphism is associated with a higher risk of death after an acute coronary syndrome in male elderly patients. *Int. J. Cardiol.***103**: 266–271.
- ARCASOY, A. (2002). Çinko ve çinko eksikliği.Ankara Talasemi Derneği Yayınları, 2.Baskı, 1-23.
- BAATOUT, S.(1996). Interleukin-6 megakaryocytopoiesis: an update. *Ann Hematol.* **73**: 157-62.
- BAZAN, JF. (1990). Haemopoietic receptors helical cytokines. *Immunol. Today* **11**: 350–354.

- BAZAN, J.F.(1992). Neurotropic cytokines in the hematopoietic fold. *Neuron* **7**: 1–12.
- BEAUDET, A.L., SCRIVER, C.R., SLY, W.S., VALLE, D. (1995). Genetics, biochemistry, molecular basis of variant human phenotypes. In Scriver CR, et al, eds. *The Metabolic Bases of Inherited Disease*. New York: McGraw- Hill p: 53-118.
- BENDTZEN, K., BUSCHARD, K., DIAMANT, M., HORN, T., SVENSON, M. (1989). Possible role of IL-1, TNF-alpha, and IL-6 in insulin-dependent diabetes mellitus and autoimmune thyroid disease. *Thyroid Cell Group*. **8**: 335–340.
- BHARDWAJ, N., SANTHANAM, U., LAU, LL., TATTER, SB., GHAYEB, J., RIVELIS, M., STEINMAN RM., SEHGAL, PB., MAY, LT. (1989). IL-6/IFN- $\gamma$  2 in synovial effusions of patients with rheumatoid arthritis other arthritides. Identification of several isoforms studies of cellular sources. *J. Immunol.*, **143**:2153–2159.
- BIDWELL, J., KEEN, L., GALLAGHER, G., KIMBERLY, R., HUIZINGA, T., MCDERMOTT, MF., OKSENBERG, J., MCNICHOLL, J., POCIOT, F., HARDT, C., D'ALFONSO, S. (1999). Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes Immun.*, **1(1)**:3-19.
- BILGEHAN, H. (2005) .Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Barış Yayınları, 11. Baskı.
- BOWCOCK, AM., KIDD, JR., LATHROP, GM., DANESHVAR, L., MAY, LT., RAY, A., SEHGAL, PB., KIDD, KK., CAVALLI-SFORZA, LL. (1988). The human "interferon-beta 2/hepatocyte stimulating factor/interleukin-6" gene: DNA polymorphism studies localization to chromosome 7p21. *Genomics*, **3**: 8-16.

- BOWCOCK, AM., RAY, A., ERLICH, H., SEHGAL, PB. (1989). Rapid detection sequencing of alleles in the 3' flanking region of the interleukin-6 gene. *Nucleic Acids Res.*, **17**: 6855-64.
- BOWMAN, T., GARCIA, R., TURKSON, J., JOVE, R. (2000). STATs in oncogenesis. *Oncogene*, **19(21)**:2474-88.
- BRAKENHOFF, JP., DE HON, FD., FONTAINE, V., TEN BOEKEL, E., SCHOOLTINK, H., ROSE-JOHN, S., HEINRICH, PC., CONTENT, J., AARDEN, LA. (1994). Development of a human interleukin-6 receptor antagonist. *J. Biol. Chem.*, **269**: 86-93.
- BRT, SJ., BODINE, DM., DUNBAR, CE., NIENHUIS, AW. (1990). Dysregulated interleukin 6 expression produces a syndrome resembling Castleman's disease in mice. *J Clin Invest.*, **86**: 592-9.
- CALLARD, R., GEORGE, AJ., STARK, J. (1999). Cytokines, chaos, and complexity. *Immunity.*, **11**: 507-13.
- CAMPBELL, IL., ABRAHAM, CR., MASLIAH, E., KEMPER, P., INGLIS, JD., OLDSTONE, MB., MUCKE, L. (1993). Neurologic disease induced in transgenic mice by cerebral overexpression of interleukin 6. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **90**: 10061-5.
- CAMPBELL, IL., CUTRI, A., WILSON, A., HARRISON, LC. (1989). Evidence for IL-6 production by and effects on the pancreatic b-cell. *J. Immunol.* **143**: 1188-1191.
- COUSINS RJ., LIUZZI JP., LICHTEN LA. (2006). Mammalian Zinc Transport, Trafficking, and Signals. *J Biol Chem.*, **281(34)**:24085-9.

- COX, G., GAULDIE, J. (1997). Interleukin-6. In Cytokines in health and disease. Eds. Remick D, Friedland J, Marcel Dekker Inc., New York.
- CRUSE, JM., LEWIS, RE. (1999). Atlas of Immunology. CRC Press LLC and Springer Company(copublishers). Boca Raton, FL, USA and Heidelberg, Germany, p:192-193.
- DALMON, J., LAURENT, M., COURTOIS, G. (1993). The human beta fibrinogen promoter contains a hepatocyte nuclear factor 1-dependent interleukin-6-responsive element. *Mol Cell Biol.*, **13(2)**:1183-93.
- DAVIS, GS., PFEIFFER, LM., HEMENWAY, DR. (1998). Persistent overexpression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in murine silicosis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.*, **17(2)**:99-114.
- DEMICHELE, A., MARTIN, A.M., MICK, R., GOR, P., WRAY, L., KLEIN-CABRAL, M., ATHANASIADIS, G., COLLIGAN, T., STADTMAUER, E., WEBER, B. (2003). Interleukin-6 -174G-->C polymorphism is associated with improved outcome in high-risk breast cancer. *Cancer Res.*, **63(22)**:8051-6.
- DREOSTI, IE. (2001). Zinc and the gene. *Mutat Res.*, **475(1-2)**:161-7.
- DRISCOLL, KE., MAURER, JK., HIGGINS, J., POYNTER, J.(1995). Alveolar macrophage cytokine and growth factor production in a rat model of crocidolite-induced pulmonary inflammation and fibrosis. *J Toxicol Environ Health.*, **46(2)**:155-69.
- ERLICH, HA., ARNHEIM, N. (1992). Genetic analysis with the polymerase chain reaction. *Ann Rev Genet.* **26**:479-506.
- FALTRACO, F., BÜRGER, K., ZILL, P., TEIPEL, S.J., MÖLLER, H.J., HAMPEL, H., BONDY, B., ACKENHEIL, M. (2003). Interleukin-6-174G/C promoter gene polymorphism C allele reduces Alzheimer's disease risk. *J.Am Geriatr Soc.* **51**:578-579.

- FATTORI, E., CAPPELLETTI, M., COSTA, P., SELBITTO, C., CANTONI, L., CARELLI, M., FAGGIONI, R., FANTUZZI, G., GHEZZI, P., POLI, V. (1994). Defective inflammatory response in interleukin 6-deficient mice. *J Exp Med.* **180**: 1243-50.
- FAVIER, A. (2002). Is zinc a cellular mediator in the regulation of apoptosis? In: Collery Ph, Bratter P, Negretti de Bratter V, Khassanova L, Etienne JC, eds. *Metal Ions in Biology and Medicine 5*. John Libbey Eurotex, Paris:164–7.
- FERNANDEZ-REAL, JM., BROCH, M., VENDRELL, J., RICHART, C., RICART, W. (2000). Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* **85**: 1334-9.
- FISHMAN, D., FAULDS, G., JEFFERY, R., MOHAMED-ALI, V., YUDKIN, JS., HUMPHRIES, S., WOO, P. (1998). The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and on association with systemic onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* **102(7)**: 1369-1376.
- FOURCIN, M., CHEVALIER, S., LEBRUN, JJ., KELLY, P., POUPLARD, A., WIJDENES, J., GASCAN, H. (1994). Involvement of gp130/interleukin-6 receptor transducing component in interleukin-11 receptor. *Eur J Immunol.* **24(1)**:277-80.
- GABAY, C., KUSHNER, I. (1999). Acute phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* **340(6)**:448-54.
- GARG, R., WOLLAN, M., GALIC, V., GARCIA, R., GOFF, BA., GRAY, HJ., SWISHER, E. (2006). Common polymorphism in interleukin 6 influences survival of women with ovarian and peritoneal carcinoma. *Gynecol. Oncol.* **103**: 793–796.

- GAULDIE, J., RICHARDS, C., HARNISH, D., LANSDORP, P., BAUMANN, H. (1987). Interferon beta 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **84**: 7251-5.
- GEARING, DP., COMEAU, MR., FRIEND, DJ., GIMPEL, SD., THUT, CJ., MCGOURTY, J., BRASHER, KK., KING, JA., GILLIS, S., MOSLEY B. (1992). The IL-6 signal transducer, gp130: an oncostatin M receptor and affinity converter for the LIF receptor. *Science.* **255**(5050):1434–1437.
- GEORGES, JL., LOUKACI, V., POIRIER, O., EVANS, A., LUC, G., ARVEILER, D., RUIDAVETS, JB., CAMBIEN, F., TIRET, L. (2001). Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction: the ECTIM study. Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde. *J Mol Med.* **79**(5-6):300-5.
- GRAU, AJ., AULMANN, M., LICHY, C., MEISER, H., BUGGLE, F., BRANDT, T., GROND-GINSBACH, C. (2001). Increased cytokine release by leucocytes in survivors of stroke at young age. *Eur J Clin Invest.* **31**(11): 999-1006.
- GREEN, J., DOUGHTY, L., KAPLAN, SS., SASSER, H., CARCILLO, JA. (2002). The tissue factor and plasminogen activator inhibitor type-1 response in pediatric sepsis-induced multiple organ failure. *Thromb Haemost.* **87**(2): 218-223.
- GRIGNANI, G., MAIOLO, A. (2000). Cytokines and haemostasis. *Haematologica.* **85**(9): 967-972.
- GRUNGREIFF, K. (2002). Zinc in liver disease. *J Trace Elem Exp Med.* **15**:67–78.
- HAASE, H., RINK, L. (2009). The immune system and the impact of zinc during aging. *Immun Ageing,* **6**:9.

- HABIF, S. (2005). İnflamatuvar Yanıtta Akut Faz Proteinleri. İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi.**43**:55-65.
- HAEGEMAN, G., CONTENT, J., VOLCKAERT, G., DERYNCK, R., TAVERNIER, J., FIERS, W. (1986). Structural analysis of the sequence encoding for an inducible 26-kDa protein in human fibroblasts. *Eur. J. Biochem.* **159**: 625–632.
- HAIM, M., TANNE, D., BOYKO, V., RESHEF, T., GOLDBOURT, U., LEOR, J., MEKORI, YA., BEHAR, S. (2002). Soluble intercellular adhesion molecule-1 and long-term risk of acute coronary events in patients with chronic coronary heart disease. Data from the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Study. *J Am Coll Cardiol.* **39(7)**:1133-8.
- HAJER, GR., VAN HAEFTEN, TW., VISSEREN, FL. (2008). Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J.* **29(24)**:2959-71.
- HALLEK, M., NEUMANN, C., SCHAFFER, M., DANHAUSER-RIEDL, S., VON BUBNOFF, N., DE VOS, G., DRUKER, BJ., YASUKAWA, K., GRIFFIN, JD., EMMERICH, B. (1997). Signal transduction of interleukin-6 involves tyrosine phosphorylation of multiple cytosolic proteins and activation of Src-family kinases Fyn, Hck, and Lyn in multiple myeloma cell lines. *Exp Hematol.* **25**: 1367-77.
- HAMER, DH. (1986). Metallothionein. *Annu. Rev. Biochem.*, **55**: 913-951.
- HEINRICH, PC., BEHRMANN, I., HAAN S., HERMANNNS, HM., MULLER-NEWEN, G., SCHAPER, F. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem. J.* **374**: 1–20.

- HEINRICH, PC., CASTELL, JV., ANDUS, T. (1990). Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.* **265**: 621–636.
- HIBI, M., NAKAJIMA, K., HIRANO, T. (1996): IL-6 cytokine family and signal transduction: a model of the cytokine system. *J Mol Med.* **74(1)**: 1-12.
- HIBI, M., MURAKAMI, M., SAITO, M., HIRANO, T., TAGA, T., KISHIMOTO, T. (1990). Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. *Cell* **63**: 1149–1157.
- HIRANO, T., TAGA, T., NAKANO, N., YASUKAWA, K., KASHIWAMURA, S., SHIMIZU, K., NAKAJIMA, K., PYUN, KH., KISHIMOTO, T. (1985). Purification to homogeneity and characterization of human B-cell differentiation factor (BCDF or BSFp-2). *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **82**: 5490-5494.
- HIRANO, T. (1992). The biology of interleukin-6. *Chem. Immunol.* **51**: 153–180.
- HIRANO, T., KISHIMOTO, T. (1990). Interleukin 6. In: Sporn, M.B. and Roberts, A.B. (eds) *Handbook of Experimental Pharmacology, Peptide Growth Factors and Their Receptors*, vol. 95/1. Berlin: Springer, p: 633–665.
- HIRANO, T., KISHIMOTO, T. (organizers) (1992). In the 46th Forum in Immunology ‘Molecular Biology and Immunology of Interleukin-6’. *Res. Immunol.* **143**: 723–783.
- HIRANO, T., MATSUDA, T., TURNER, M., MIYASAKA, N., BUCHAN, G., TANG, B., SATO, K., SHIMIZU, M., MAINI, R., FELDMANN, M., KISHIMOTO, T. (1988). Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.*, **18**: 1797–1801.

- HIRANO, T., TAGA, T., NAKANO, N., YASUKAWA, K., KASHIWAMURA, S., SHIMIZU, K., NAKAJIMA, K., PYUN, KH., KISHIMOTO, T. (1985). Purification to homogeneity and characterization of human B-cell differentiation factor (BDCF or BSFp-2). *Proc. Natl Acad. Sci USA*. **82**: 5490–5494.
- HIRANO, T., TAGA, T., YASUKAWA, K., NAKAJIMA, K., NAKANO, N., TAKATSUKI, F., SHIMIZU, M., MURASHIMA, A., TSUNASAWA, S., SAKIYAMA, F., KISHIMOTO, T. (1987). Human B cell differentiation factor defined by an anti-peptide antibody and its possible role in autoantibody production. *Pro Natl Acad Sci USA*. **84(1)**: 228–231.
- HIRANO, T., YASUKAWA, K., HARADA, H., TAGA, T., WATANABE, Y., MATSUDA, T., KASHIWAMURA, S., NAKAJIMA, K., KOYAMA, K., IWAMATSU, A., TSUNASAWA, S., SAKIYAMA, F., MATSUI, H, TAKAHARA Y, TANIGUCHI T , KISHIMOTO T. (1986). Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. **324(6092)**: 73–76.
- HIROTA, H., YOSHIDA, K., KISHIMOTO, T., TAGA, T. (1995). Continuous activation of gp130 a signal transduction receptor component for interleukin 6-related cytokines, causes myocardial hypertrophy in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. **92**: 4862–4866.
- HOLMES, CL., RUSSELL, JA., WALLEY, KR. (2003). Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock. Role in prognosis and potential for therapy. *CHEST*. **124**: 1103-1105.
- HOUSE, RV., DESCOTES, J. (2007). Cytokines in human Health. Humana press. Totova, New Jersey.
- HOUSMAN, D. (1995). Human DNA polymorphism. *N Eng J Med*. **332**: 318-320.

- HOUSSIAU, FA., COULIE, PG., OLIVE, D., VAN SNICK, J. (1988). Synergistic activation of human T cells by interleukin 1 and interleukin 6. *Eur. J. Immunol.* **18**: 653–656.
- HUBER, SA., SAKKINEN, P., CONZE, D., HARDIN, N., TRACY, R.(1999). Interleukin-6 exacerbates early atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **19(10)**:2364-2367.
- HUMPHRIES, SE., LUONG, LA., OGG, MS., HAWE, E., MILLER, GJ. ( 2001). The interleukin-6 -174G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J.* **22(24)**: 2219-2220.
- HUYTON, T., ZHANG, JG., LUO, CS., LOU, MZ., HILTON, DJ., NICOLA, NA., GARRETT, TP. (2007). An unusual cytokine: Ig-domain interaction revealed in the crystal structure of leukemia inhibitory factor (LIF) in complex with the LIF receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **104(31)**:12737-42.
- ILZSG. (2005). International Lead and Zinc Study Group. <http://www.ilzsg.org>.
- IP, NY., NYE, SH., BOULTON, TG., DAVIS, S., TAGA, T., LI, Y., BIRREN, SJ., YASUKAWA, K., KISHIMOTO, T., ANDERSON, DJ., STAHL, N., YANCOPOULOS, GD. (1992). CNTF and LIF act on neuronal cells via shared signaling pathways that involve the IL-6 signal transducing receptor component gp130. *Cell.* **69**: 1121–1132.
- ISSHIKI, H., AKIRA, S., TANABE, O., NAKAJIMA, T., SHIMAMOTO, T., HIRANO, T., KISHIMOTO, T. (1990). Constitutive and interleukin-1 (IL-1)-inducible factors interact with the IL-1-responsive element in the IL-6 gene. *Mol Cell Biol.* **10(6)**: 2757-64.
- JAHROMI, MM., MILLWARD, BA., DEMAINE, AG. (2000).A polymorphism in the promoter region of the gene for interleukin-6 is associated with

susceptibility to type 1 diabetes mellitus. *J Interferon Cytokine Res.* **20(10)**:885-8.

JOURDAN, M., BATAILLE, R., SEGUIN, J., ZHANG, XG., CHAPTAL, PA., KLEIN, B. (1990). Constitutive production of interleukin-6 and immunologic features in cardiac myxomas. *Arthritis Rheum.* **33**: 398–402.

KARAHAN, ZC., DEDA, G., SIPAHI T., ELHAN, AH., AKAR, N. (2005). TNF- $\alpha$  -308G/A and IL-6 -174 G/C polymorphisms in the Turkish pediatric stroke patients. *Thromb Res.* **115(5)**:393-8.

KARAHAN, ZC., OZTURK, A., AKAR, E., AKAR, N.(2005). Interleukin-6 (IL-6) -174 G/C polymorphism in familial Mediterranean fever patients with and without amyloidosis. *J Nephrol.* **18(5)**:582-4.

KATO, K., YOKOI, T., TAKANO, N., KANEGANE, H., YACHIE, A., MIYAWAKI, T., TANIGUCHI, N. (1990). Detection by in situ hybridization and phenotypic characterization of cells expressing IL-6 mRNA in human stimulated blood. *J Immunol.* **144(4)**: 1317-22.

KATSUME, A., MIYAI, T., SUZUKI, H., MORIGUCHI, Y., KAWATA, H., TATSUMI, T., SUEMATSU, S., KISHIMOTO, T., OHSUGI, Y. (1997). Interleukin-6 overexpression cannot generate serious disorders in severe combined immunodeficiency mice. *Clin Immunol Immunopathol.* **82(2)**: 117-24.

KAYAALTI, Z., MERGEN, G., SÖYLEMEZOĞLU, T. (2010). Effect of metallothionein core promoter region polymorphism on cadmium, zinc and copper levels in autopsy kidney tissues from a Turkish population. *Toxicol Appl Pharmacol.* Mar 18. [Epub ahead of print].

KESER, M., (2007). Aterosklerotik Plaklardaki Ağır Metal Oranlari ile E-Nos ve IL-6 Gen Polimorfizmi Arasındaki İlişki.Uzmanlık tezi.

- KISHIMOTO T, AKIRA S, NARAZAKI M, TAGA T (1995): Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood*. **86(4)**: 1243-54.
- KISHIMOTO, T. (1989). The biology of interleukin-6. *Blood*. **74**: 1–10.
- KITA, K., MIURA, N., YOSHIDA, M., YAMAZAKI, K., OHKUBA, T., IMAI, Y., NAGANUMA, A.(2006). Potential effect on cellular response to cadmium of a single-nucleotide A --> G polymorphism in the promoter of the human gene for metallothionein IIA. *Hum Genet*. **120(4)**:553-60.
- KLAUDER, DS., PETERING, HG. (1977). Anemia of lead intoxication: A role for copper. *J. Nutr*. **107**: 1779-1785.
- KLINE, JN., SCHWARTZ, DA., MONICK, MM., FLOERCHINGER, CS., HUNNINGHAKE, GW. (1993). Relative release of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist by alveolar macrophages. A study in asbestos-induced lung disease, sarcoidosis, and idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest*. **104(1)**:47-53.
- KOIVISTO, AM., HELISALMI, S., PIHLAJAMA`KI, J., MOILANEN, L., KUUSISTO, J., LAAKSO, M., HILTUNEN, M., KEIJO, K., HA`NNINEN, T., HELKALA, EL., KERVINEN, K., KESA`NIEMI, YA., SOININEN, H. (2005). Interleukin-6 promoter polymorphism and late-onset Alzheimer's disease in the Finnish population. *J. Neurogenet*. **19**: 155–161.
- KOPF, M., BAUMANN, H., FREER, G., FREUDENBERG, M., LAMERS. M., KISHIMOTO, T., ZINKERNAGEL, R., BLUETHMANN, H. KOHLER, G. (1994). Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature*. **368(6469)**: 339-42.

- LE, J., VILCEK, J. (1989). Interleukin 6 a multifunctional cytokine regulating immune reaction and the acute phase protein response. *Lab. Invest.* **61**: 588–602.
- LEMAIRE, I., OUELLET, S. (1996). Distinctive profile of alveolar macrophage-derived cytokine release induced by fibrogenic and nonfibrogenic mineral dusts. *J Toxicol Environ Health.* **47(5)**:465-78.
- LI, XY., LAMB, D., DONALDSON, K. (1993). The production of TNF-alpha and IL-1-like activity by bronchoalveolar leucocytes after intratracheal instillation of crocidolite asbestos. *Int J Exp Pathol.* **74(4)**:403-10.
- LINDMARK, E., DIDERHOLM, E., WALLENTIN, L., SIEGBAHN, A. (2001). Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or non invasive strategy. *JAMA.* **286(17)**:2107-13.
- LIU, J., MODRELL, B., ARUFFO, A., MARKEN, JS., TAGA, T., YASUKAWA, K., MURAKAMI, M., KISHIMOTO, T., SHOYAB, M. (1992). Interleukin-6 signal transducer gp130 mediates oncostatin M signaling. *J Biol Chem.* **267(24)**:16763–16766.
- LIUZZO, G., BIASUCCI, LM., GALLIMORE, JR., GRILLO, RL., REBUZZI, AG., PEPYS, MB., MASERI, A. (1994). The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med.* **331(7)**:417-24.
- LIBERT, C., TAKAHASHI, N., CAUWELS, A., BROUCKAERT, P., BLUETHMANN, H., FIERS, W. (1994). Response of interleukin-6- deficient mice to tumor necrosis factor-induced metabolic changes and lethality. *Eur J Immunol.* **24(9)**: 2237-42.

- LICASTRO, F., GRIMALDI, LM., BONAFE`, M., MARTINA, C., OLIVIERI, F.,CAVALLONE, L., GIOVANETTI, S., MASLIAH, E., FRANCESCHI, C. (2003). Interleukin-6 gene alleles affect the risk of Alzheimer's disease and levels of the cytokine in blood and brain. *Neurobiol. Aging*. **24**: 921– 926.
- LOSITO, A., KALIDAS, K., SANTONI, S., JEFFERY, S. (2003). Association of interleukin-6 -174G/C promoter polymorphism with hypertension and left ventricular hypertrophy in dialysis patients. *Kidney Int*. **64(2)**:616-22.
- MARCOS, M., PASTOR, I., GONZÁLEZ-SARMIENTO, R., LASO, FJ. (2009). Common polymorphisms in interleukin genes (IL4, IL-6, IL8 and IL12) are not associated with alcoholic liver disease or alcoholism in Spanish men. *Cytokine*. **45(3)**:158-61.
- MATSUSAKA, T., FUJIKAWA, K., NISHIO, Y., MUKAIDA, N., MATSUSHIMA, K., KISHIMOTO, T., AKIRA, S. (1993). Transcription factors NF-IL-6 and NF-kappa B synergistically activate transcription of the inflammatory cytokines, interleukin 6 and interleukin 8. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **90(21)**: 10193-7.
- MAY, LT., HELFGOTT, DC., SEHGAL, PB. (1986). Anti-binterferon antibodies inhibit the increased expression of HLA-B7 mRNA in tumor necrosis factor-treated human fibroblasts: structural studies of the b2 interferon involved. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **83**: 8957–8961.
- MAZZATTI, DJ., MALAVOLTA, M., WHITE, AJ., COSTARELLI, L., GIACCONI, R., MUTI, E., CIPRIANO, C., POWELL, JR., MOCCHEGIANI, E. (2008). Effects of interleukin-6 -174C/G and metallothionein 1A +647A/C single-nucleotide polymorphisms on zinc-regulated gene expression in ageing. *Exp Gerontol*. **43(5)**:423-32.
- MC BEAN, LD., DOVE, JT., HALSTED, JA., SMITH, JC JR. (1972).Zinc concentration in human tissues. *Am J Clin Nutr*. **25(7)**:672-6.

- MC CANCE, RA, WIDDOWSON, EM. (1937). Absorbtion and excretion of iron. *Lancet* ii, 680, *J Physiol.* (London). **94**:438.
- MOCCHEGIANI, E., MUZZIOLI, M., GIACCONI, R. (2000). Zinc, metallothioneins, immune responses, survival and ageing. *Biogerontology*.**1(2)**:133-43.
- MORIGUCHI, M., TERAJ, C., KOSEKI, Y., UESATO, M., NAKAJIMA, A., INADA, S., NISHINARITA, M., UCHIDA, S., NAKAJIMA, A., KIM, SY., CHEN, C., KAMATANI, N. (1999). Influence of genotypes at SAA1 and SAA2 loci on the development and the length of latent period of secondary AA amyloidosis in patients with rheumatoid arthritis. *Hum Genet.* **105**:360-366.
- MURAGUCHI, A., HIRANO, T., TANG, B., MATSUDA, T., HORII, Y., NAKAJIMA, K., KISHIMOTO, T. (1988). The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells. *J Exp Med.* **167(2)**: 332-44.
- NAITOH, Y., FUKATA, J., TOMINAGA, T., NAKAI, Y., TAMAI, S., MORI, K., IMURA, H.(1988). Interleukin-6 stimulates the secretion of adrenocorticotropic hormone in conscious, freely-moving rats. *Biochem Biophys Res Commun.* **155**: 1459-63.
- NAKA, T., NISHIMOTO, N., KISHIMOTO, T. (2002).The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Res.* **4(3)**:S233-42.
- NISHIMOTO, N., KISHIMOTO, T. (2006). Interleukin 6: from bench to bedside. *Nat Clin Pract Rheumatol.* **2**:619-26.
- NORDAN, RP., POTTER, M. (1986). A macrophage-derived factor required by plasmacytomas for survival and proliferation in vitro. *Science.* **233**: 566–569.

- NORDBERG, GF., FOWLER BA., NORDBERG M., FRIBERG L. (2007). Handbook on the toxicology of metals. Third Edition. Academic Press.
- NORTHEMANN, W., BRACIAK, TA., HATTORI, M., LEE, F., FEY, GH. (1989). Structure of the rat interleukin 6 gene and its expression in macrophage-derived cells. *J. Biol. Chem.* **264**: 16072–16082.
- NUSSBAUM, RL., MCINNES, RR., WILLARD, HF., CORNELIUS, FB.III.(2005). Thompson &Thompson Tibbi Genetik, 6. Baskı, Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Saunders.
- OKADA, M., SAKAGUCHI, N., YOSHIMURA, N., HARA, H., SHIMIZU, K., YOSHIDA, N., YOSHIZAKI, K., KISHIMOTO S, YAMAMURA Y, KISHIMOTO T. (1983). B cell growth factor (BCGF) and B cell differentiation factor from human T hybridomas: two distinct kinds of BCGFs and their synergism in B cell proliferation. *J. Exp. Med.* **157**: 583–590.
- OLDEREID, NB., THOMASSEN, Y., ATTRAMADAL, A., OLAISEN, B., PURVIS, K. (1993). Concentrations of lead, cadmium and zinc in the tissues of reproductive organs of men. *J Reprod Fertil.* **99(2)**:421-5.
- OLOMOLAIYE, O., WOOD, NA., BIDWELL, JL. (1998). A novel NlaIII polymorphism in the human IL-6 promoter. *Eur J Immunogenet.* **25(2-3)**: 267.
- OLSSON, I., GATANAGA, T., GULLBERG, U., LANTZ, M., GRANGER GA (1993): Tumour necrosis factor (TNF) binding proteins (soluble TNF receptor forms) with possible roles in inflammation and malignancy. *Eur Cytokine Netw.* **4(3)**: 169-80.
- ONOSAKA, S., TETSUCHIKAWAHARA, N., MIN, K. (2002).Paradigm Shift in Zinc: Metal Pathology. *Tohoku J Exp Med.* **196**:1-7.

- ONOSAKA, S., TETSUCHIKAWAHARA, N., MIN, K.S., TOHOKU, J. (2002). Paradigm shift in zinc: metal pathology. *Tohoku J Exp Med.* **196(1)**:1-7.
- ORFILA, C., LEPERT, J.C., GOSSART, S., FRISACH, M.F., CAMBON, C., PIPY, B. (1998). Immunocytochemical characterization of lung macrophage surface phenotypes and expression of cytokines in acute experimental silicosis in mice. *Histochem J.* **30(12)**:857-67.
- ORŁOWSKI, C., PIOTROWSKI JK, KUBÓW M. (1996). The levels of cadmium, zinc and copper in the renal cortex and liver of the inhabitants of the copper basin. *Int J Occup Med Environ Health.* **9(3)**:255-63.
- OZGEN, A., KARADENIZ, M., ERDOGAN, M., BERDELI, A., SAYGILI, F., YILMAZ, C.(2009). The (-174) G/C Polymorphism in The Interleukin-6 Gene Is Associated With Risk of Papillary Thyroid Carcinoma in Turkish Patients. *J Endocrinol Invest.* **32(6)**:491-4.
- PAONESSA, G., GRAZIANI, R., DE SERIO, A., SAVINO, R., CIAPPONI, L., LAHM, A., SALVATI, AL., TONIATTI, C., CILIBERTO, G. (1995). Two distinct and independent sites on IL-6 trigger gp130 dimer formation and signalling. *EMBO J.* **14**: 1942–1951.
- PAPANICOLAOU, DA., WILDER, RL., MANOLAGAS, SC, CHROUSOS GP (1998). The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Ann Intern Med.* **128 (2)**: 127-37.
- PAPASSOTIROPOULOS, A., BAGLI, M., JESSEN, F., BAYER, TA., MAIER, W., RAO, ML., HEUN, R. (1999). A genetic variation of the inflammatory cytokine IL-6 delays the initial onset and reduce the risk for sporadic Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* **45**: 666-668.

- PENNICA, D., SHAW, K J., SWANSON, TA., MOORE, MW., SHELTON, DL., ZIONCHECK, KA., ROSENTHAL, A., TAGA, T., PAONI, NF., WOOD, W. I. (1995). Cardiotrophin-1. Biological activities and binding to the leukemia inhibitory factor receptor/gp130 signaling complex. *J. Biol. Chem.* **270**: 10915-1092.
- POLA, R., FLEX, A., GAETANI, E., FLORE, R., SERRICCHIO, M., POLA P. (2003) Synergistic effect of -174 G/C polymorphism of the interleukin-6 gene promoter and 469 E/K polymorphism of the intercellular adhesion molecule-1 gene in Italian patients with history of ischemic stroke. *Stroke.* **34(4)**:881-5.
- RAMSAY, AJ., HUSBAND, AJ., RAMSHAW, IA., BAO, S., MATTHAEI, KI., KOEHLER, G., KOPF, M. (1994). The role of interleukin-6 in mucosal IgA antibody responses in vivo. *Science.* **264(5158)**: 561-3.
- RAY, A., LAFORGE, KS., SEHGAL, PB. (1990). On the mechanism for efficient repression of the interleukin-6 promoter by glucocorticoids: enhancer, TATA box, and RNA start site (Inr motif) occlusion. *Mol Cell Biol.* **10(11)**: 5736-46.
- RITCHIE, DG., FULLER, GM. (1983). Hepatocyte-stimulating factor: a monocyte-derived acute-phase regulatory protein. *Ann N Y Acad Sci.* **408**:490-502.
- RIDKER, PM., GLYNN, RJ., HENNEKENS, CH. (1998a). C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation.* **97(20)**:2007-11.
- RIDKER, PM., HENNEKENS, CH., ROITMAN-JOHNSON, B., STAMPFER, MJ., ALLEN, J. (1998b). Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet.* **351(9096)**:88-92.

- RIDKER, PM., RIFAI, N., STAMPFER, MJ., HENNEKENS, CH. (2000). Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. **101(15)**:1767-72.
- ROMANO, M., SIRONI, M., TONIATTI, C., POLENTARUTTI, N., FRUSCELLA, P., GHEZZI, P., FAGGIONI, R., LUINI, W., VAN HINSBERGH, V., SOZZANI, S., BUSSOLINO, F., POLI, V., CILIBERTO, G., MANTOVANI, A. (1997). Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. *Immunity*. **6(3)**:315-25.
- ROSTAN, EF., DEBUYS, HV., MADEY, DL., PINNELL, SR. (2002). Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin. *Int J Dermatol*. **41(9)**:606-11.
- RANSOHOFF, RM., BENVENISTE, EN. (2006) Cytokines and the CNS. Taylor & Francis. Boca Raton London, New York. Second Edition.
- SALVATI, AL., LAHM, A., PAONESSA, G., CILIBERTO, G., TONIATTI, C. (1995). Interleukin-6 (IL-6) antagonism by soluble IL-6 receptor a mutated in the predicted gp130-binding interface. *J. Biol. Chem*. **270**:12242–12249.
- SANER, G.(2002). Mikroelementler (Çinko). Neyzi O, Ertuğrul T, *Pediatric: Cilt 1*, 3.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul,174-75.
- SATO, M., KONDOH, M. (2002). Recent Studies on Metallothionein: Protection Against Toxicity of Heavy Metals and Oxygen Free Radicals. *Tohoku J Exp Med*. **196(1)**:9-22.
- SAVINO, R., LAHM, A., SALVATI, AL., CIAPPONI, L., SPORENO, E., ALTAMURA, S., PAONESSA, G., TONIATTI, C., CILIBERTO, G. (1994a). Generation of interleukin-6 receptor antagonists by molecular modeling guided mutagenesis of residues important for gp130 activation. *EMBO J*. **13**: 1357–1367.

- SAVINO, R., CIAPPONI, L., LAHM, A., DEMARTIS, A., CABIBBO, A., TONIATTI, C., DELMASTRO, P., ALTAMURA, S., CILIBERTO, G. (1994b). Rational design of a receptor super-antagonist of human interleukin-6. *EMBO J.* **13**: 5863–5870.
- SCHULER, M., BRUNTSCH, U., SPATH-SCHWALBE, E., SCHREZENMEIER, H., PESCHEL, C., FARBER, L., BURGER, KJ., LEISSNER, J., HUBER, C., AULITZKY, WE (1998). Lack of efficacy of recombinant human interleukin-6 in patients with advanced renal cell cancer: results of a phase II study. *Eur J Cancer.* **34**: 754-6.
- SEHGAL, P.B., HELFGOTT, D.C., SANTHANAM, U. (1989). Regulation of acute phase and immune responses in viral disease. *J. Exp.Med.* **167**: 1951–1956.
- SEHGAL, PB., ZILBERSTEIN, A., RUGGIERI, RM., MAY, LT., FERGUSON-SMITH, A., SLATE, DL., REVEL, M., RUDDLE, FH. (1986). Human chromosome 7 carries the b2 interferon gene. *Proc Natl Acad Sci USA.* **83**: 5219–5222.
- SHABO, Y., LOTEM, J., RUBINSTEIN, M., REVEL, M., CLARK, SC., WOLF, SF., KAMEN, R., SACHS, L. (1988). The myeloid blood cell differentiation-inducing protein MGI-2A is interleukin-6. *Blood.* **72**: 2070–2073.
- SIE, MP., MATTACE-RASO, FU., UITTERLINDEN, AG., ARP, PP., HOFMAN, A., POLS, HA., HOEKS, AP., RENEMAN, RS., ASMAR, R., VAN DUIJN, CM., WITTEMAN, JC. (2008). The interleukin-6-174 G/C promoter polymorphism and arterial stiffness; the Rotterdam Study. *Vasc Health Risk Manag.***4(4)**:863-9.
- SIMEONOVA, PP., TORIUMI, W., KOMMINENI, C., ERKAN, M., MUNSON, AE., ROM, WN., LUSTER, MI. (1997). Molecular regulation of IL-6

activation by asbestos in lung epithelial cells: role of reactive oxygen species. *J Immunol.* **159(8)**:3921-8.

SIMPSON, R.J., HAMMACHER, A., SMITH, D.K., MATTHEWS, J.M., WARD, LD. (1997) Interleukin-6: structure-function relationships. *Protein Sci.* **6(5)**:929-55.

SKOCZYNSKA, A., SMOLIK, R., MILIAN, A. (1994). The effect of combined exposure to lead and cadmium on the concentration of zinc and copper in rat tissues. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* **7(1)**: 41–49.

SNUSTAD, D.P., SIMMONS, M J. (2003). Principles of Genetics, Third Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York.

SOLIS-HERRUZO, JA., RIPPE, RA., SCHRUM, LW., DE LA TORRE, P., GARCIA, I., JEFFREY, JJ., MUNOZ-YAGUE, T., BRENNER, DA. (1999). Interleukin-6 increases rat metalloproteinase-13 gene expression through stimulation of activator protein 1 transcription factor in cultured fibroblasts. *J Biol Chem.* **274**: 30919 –30926.

SPORENO E, SAVINO R, CIAPPONI L, PAONESSA G, CABIBBO A, LAHM A, PULKKI K, SUN RX, TONIATTI C, KLEIN B, CILIBERTO G. (1996). Human interleukin-6 receptor super-antagonists with high potency and wide spectrum on multiple myeloma cells. *Blood.* **87**: 4510–4519.

SUGITA, T., TOTSUKA T, SAITO M, YAMASAKI K, TAGA T, HIRANO T, KISHIMOTO T. (1990). Functional murine interleukin 6 receptor with the intracisternal A particle gene product at its cytoplasmic domain. Its possible role in plasmacytomagenesis. *J Exp Med.* **171(6)**: 2001–9.

SYVANEN, AC. (2001). Genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nat Rev Genet.* **2**: 930-942.

- TAGA, T., HIBI, M., HIRATA, Y., YAMASAKI, K., YASUKAWA, K., MATSUDA, T., HIRANO, T., KISHIMOTO, T. (1989). Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell*. **58(3)**: 573–581.
- TAGA, T., NARAZAKI, M., YASUKAWA, K., SAITO, T., MIKI, D., HAMAGUCHI, M., DAVIS, S., SHOYAB, M., YANCOPOULOS, GD., KISHIMOTO, T. (1992). Functional inhibition of hematopoietic and neurotrophic cytokines by blocking the interleukin 6 signal transducer gp130. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **89(22)**:10998–11001.
- TAHERI, SA., SHENOY, S., MURAWSKI, S., DIVAN, K., CULLIN, J., MOUSA S. (1999). Diagnosis of pulmonary embolism by use of urinary TNF alpha and its soluble TNF receptor I. *Angiology*. **50 (9)**: 703-06.
- TANABE, O., AKIRA, S., KAMIYA, T., WONG, GG., HIRANO, T., KISHIMOTO, T. (1988). Genomic structure of the urine IL-6 gene. High degree conservation of potential regulatory sequences between mouse and human. *J. Immunol*. **41**: 3875–3881.
- TATEBAYASHI, T., ONUKI, T., ITO, H., KAGURAOKA, H., SAKASEGAWA, M., NITTA, S. 1993. Right ventricular myxoma with near obstruction of the pulmonary artery (abstract). *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi*. **41(11)**: 2256-2260.
- THOMSON, AW., LOTZE MT. (2003). *The Cytokine Handbook*. Academic Press. Fourth edition.
- TREVILATTO, PC., SCAREL-CAMINAGA, RM., DE BRITO RB, JR., DE SOUZA, AP., LINE, SR. (2003). Polymorphism at position -174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. *J Clin Periodontol*. **30(5)**:438-42.

- TSIGOS, C., PAPANICOLAOU, DA., DEFENSOR, R., MITSIADIS, CS., KYROU, I., CHROUSOS, GP. (1997). Dose effects of recombinant human interleukin-6 on pituitary hormone secretion and energy expenditure. *Neuroendocrinology*. **66**: 54-62.
- U.S. GS. (2005). "U.S. Geological Survey, Mineral Commodity Summaries, January 2005." <http://www.usgs.gov>.
- VAN DAMME, J., OPDENAKKER, G., SIMPSON, RJ., RUBIRA, MR., CAYPHAS, S., VINK, A., BILLIAU, A., VAN SNICK, J. (1987). Identification of the human 26-kD protein, interferon- $\beta$ 2 (IFN- $\beta$ 2), as a B cell hybridoma/plasmacytoma growth factor induced by interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J Exp Med*. **165**: 914-919.
- VAN SNICK, J. (1990). Interferon-6: an overview. *Annu. Rev. Immunol.* **8**: 253-278.
- VAN SNICK, J., CAYPHAS, S., SZIKORA, JP., RENAULD, JC., VAN ROOST, E., BOON, T., SIMPSON, RJ. (1988). cDNA cloning of murine interleukin-HP1: homology with human interleukin 6. *Eur J Immunol.* **18**: 193-197.
- VANHÉE, D., GOSSET, P., BOITELLE, A., WALLAERT, B., TONNEL, AB. (1995). Cytokines and cytokine network in silicosis and coal workers' pneumoconiosis. *Eur Respir J.* **8(5)**:834-42.
- WAALKES, MP., COOGAN, TP., BARTER, RA. (1992). Toxicological principles of metal carcinogenesis with special emphasis on cadmium. *Crit. Rev Toxicol.* **22**:175-201.
- WEGER, M., STEINBRUGGER, I., HAAS, A., MÄRZ, W., EL-SHABRAWI, Y., WEGER, W., SCHMUT, O., RENNER, W. (2005). Role of the Interleukin-6  $\_174$  G>C Gene Polymorphism in Retinal Artery Occlusion. *Stroke.* **36(2)**:249-52.

- WEISSENBACH, J., CHERNAJOVSKY, Y., ZEEVI, M., SHULMAN, L., SOREQ, H., NIR, U., WALLACH, D., PERRICAUDET, M., TIOLLAIS, P., REVEL, M. (1980). Two interferon mRNAs in human fibroblasts: *in vitro* translation and *Escherichia coli* cloning studies. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. **77**: 7152–7156.
- WOLF, M., BOHM, S., BRAND, M., KREYMANN, G. (1996). Proinflammatory cytokines interleukin 1 beta and tumor necrosis factor alpha inhibit growth hormone stimulation of insulin like growth factor I synthesis and growth hormone receptor mRNA levels in cultured rat liver cells. *Eur J Endocrinol*. **135**: 729-737.
- WOODROOFE, C., MULLER, W., RUTHER, U. (1992). Long-term consequences of interleukin-6 overexpression in transgenic mice. *DNA Cell Biol*. **11(8)**: 587-92.
- YAMADA, T., OKUDA, Y., ITOH, Y. (1998). The frequency of serum amyloid A2 alleles in the Japanese population. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest*. **5**: 208-211.
- YAMASAKI, K., TAGA, T., HIRATA, Y., YAWATA, H., KAWANISHI, Y., SEED, B., TANIGUCHI, T., HIRANO, T., KISHIMOTO, T. (1988). Cloning and expression of the human interleukin-6 (BSF-2/INF b2) receptor. *Science*. **241**: 825–828.
- YASUKAWA, K., HIRANO, T., WATANABE, Y., MURATANI, K., MATSUDA, T., NAKAI, S., KISHIMOTO, T. (1987). Structure and expression of human B cell stimulatory factor-2 (BSF-2/IL-6) gene. *EMBO J*. **6**: 2939-45.
- YAWATA, H., YASUKAWA, K., NATSUKA, S., MURAKAMI, M., YAMASAKI, K., HIBI, M., TAGA, T., KISHIMOTO, T. (1993). Structure–function analysis

of human IL-6 receptor: dissociation of amino acid residues required for IL-6-binding and for IL-6 signal transduction through gp130. *EMBO J.* **12**: 1705–1712.

YIN, T., TAGA, T., TSANG, ML., YASUKAWA, K., KISHIMOTO, T., YANG, YC. (1993). Involvement of IL-6 signal transducer gp130 in IL-11-mediated signal transduction. *J Immunol.* **151**(5):2555–2561.

YOSHIDA, K., TAGA, T., SAITO, M., SUEMATSU, S., KUMANOGOH, A., TANAKA, T., FUJIWARA, H., HIRATA, M., YAMAGAMI, T., NAKAHATA, T., HIRABAYASHI, T., YONEDA, Y., TANAKA, K., WANG, WZ., MORI, C.(1996). Targeted disruption of gp130, a common signal transducer for the interleukin 6 family of cytokines, leads to myocardial and hematological disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A.***93**:407– 411.

YOSHIZAKI, K., MATSUDA, T., NISHIMOTO, N., KURITANI, T., TAEHO, L., AOZASA, K., NAKAHATA, T., KAWAI, H., TAGOH, H., KOMORI, T., KISHIMOTO, S., HIRANO, T., KISHIMOTO, T. (1989). Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. *Blood.* **74**: 1360–1367.

YOSHIZAKI, K., NAKAGAWA, T., KAIEDA, T., MURAGUCHI, A., YAMAMURA, Y., KISHIMOTO, T. (1982). Induction of proliferation and Igs-production in human B leukemic cells by anti-immunoglobulins and T cell factors. *J. Immunol.* **128**: 1296–1301.

YUEN, IS., HARTSKY, MA., SNAJDR, SI., WARHEIT, DB.(1996). Time course of chemotactic factor generation and neutrophil recruitment in the lungs of dust-exposed rats. *Am J Respir Cell Mol Biol.* **15**(2):268-74.

YUCESOY, B., TURHAN, A., URE, M., IMIR, T., KARAKAYA, A. (1997) Effects of occupational lead and cadmium exposure on some immunoregulatory cytokine levels in man. *Toxicology.* **123**(1-2):143-7.

ZHANG, Y., LEE, TC., GUILLEMIN, B., YU, MC., ROM, WN. (1993). Enhanced IL-1 beta and tumor necrosis factor-alpha release and messenger RNA expression in macrophages from idiopathic pulmonary fibrosis or after asbestos exposure. *J Immunol.* **150(9)**:4188-96.

ZILBERSTEIN, A., RUGGIERI, R., KORN, JH., REVEL, M. (1986). Structure and expression of cDNA and genes for human interferon-b2, a distinct species inducible by growthstimulatory cytokines. *EMBO J.* **5**: 2529–2537.

T. C.  
ADALET BAKANLIĞI  
Adli Tıp Kurumu Başkanlığı

Sayı : B.03.1.ATK.0.01.00.08/ 8  
Konu: Bilimsel Kurul hk.

13.01.2009

Sayın, Uz. Bio. Serap YALÇIN

"İnterlökin-6 Gen Polimorfizminin, Otopsi Karaciğer ve Böbrek Dokusundaki Bazı Metallerin Düzeyi İle İlişkisi" isimli çalışma öneriniz; 13.01.2009 tarihli Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komisyonu toplantısında görüşülmüş ve kabul edilmiştir.  
Bilginize rica ederim.

  
Uz. Dr. Keramet KURT  
BAŞKAN

Adli Tıp Kurumu, Telefon: (0 212) 454 15 00 Faks:(0 212 ) 454 15 82  
Çobançeşme Mah. Kımız Sok. Bahçelievler/İST. Elektronik Ağ: www.atk.gov.tr

## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı: Serap

Soyadı: YALÇIN

Doğum Tarihi ve Yeri: 02.10.1982

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Bekar

İletişim Adresi ve Telefonu:

Ahi Evran Üniversitesi Kaman Meslek Yüksekokulu/Gıda Teknolojisi Programı

Kırşehir/Türkiye

Tel : (0555) 518 01 29

### II- Eğitimi

2004-2006: Ankara Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, Adli Kimya ve Adli Toksikoloji

(Yüksek Lisans)

1999 – 2003 : Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji (Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji) (Lisans)

1996 – 1999 : Eryaman Lisesi/Ankara

1993 – 1996 : Danişment Çiçekli İlköğretim Okulu/Ankara

1988– 1993 : Danişment Çiçekli İlköğretim Okulu/Ankara

Yabancı Dili: İngilizce

**III- Mesleki Deneyimi**

2008- : Kırşehir, Ahi Evran Üniversitesi, Öğretim Görevlisi

2007-2008: Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA), Patoloji AD., Uzm. Biyolog

2005-2007: Ankara Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, Proje Çalışanı, Biyolog

**IV- Bilimsel İlgi Alanları**

**V- Aldığı Kurslar ve Katıldığı Programlar**