

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TİP 2 DİABETES MELLİTUS HASTALARINDA PPARG GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Fehime DAĞ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2022**

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TİP 2 DİABETES MELLİTUS HASTALARINDA PPARG GEN
POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Fehime DAĞ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2022**

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
1.1.Diabetes Mellitus Tanımı.....	2
1.2.Diyabetes Mellitus Sınıflandırılması	3
1.2.1.Tip 1 diyabet.....	3
1.2.2.Tip 2 diyabet.....	3
1.3.Diyabete Neden Olan Risk Etmenleri	4
1.4.T2DM Etiyolojisi	4
1.4.1.Çevresel Faktörler	4
1.4.2.Genetik Faktörler	5
1.5.T2DM'nin Genetik Açından Araştırılması	6
1.5.1.Tüm genom taramaları yaklaşımı	6
1.5.2.Aday Gen yaklaşımı	7
1.6.PPARG	7
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	10
3.MATERYAL ve YÖNTEM	14
3.1. Materyal	14
3.1.1.Materyal seçimi	14
3.1.2.Gereçler	15
3.1.3.Kullanılan Kimyasal Malzemeler	16
3.2.Yöntem	16
3.2.1.Real Time PCR Tekniği	17
4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	24
4.1.Araştırma Bulguları	24
4.1.1.Analiz Yöntemi ve Bulgular.....	24
4.2.Tartışma	38
5.SONUÇLAR ve ÖNERİLER	42
5.1. Sonuçlar	42
5.2.Öneriler	44
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	Error! Bookmark not defined.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TİP 2 DİABETES MELLİTUS HASTALARINDA PPARG GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Fehime DAĞ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Arif PARMAKSIZ
İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÖZ
Yıl:2021, Sayfa:48

Diyabet çeşitleri arasında T2DM yaklaşık olarak %95'lik bir kısmını teşkil eder. T2DM, dünya genelinde endişe verici bir şekilde artmakta ve yaygın metabolik hastalıklardan biri olmaktadır. Multifaktoriyel ve karmaşık bir metabolik hastalık olan T2DM'nin klinik olarak heterojen oluşumunda genetik faktörlerin çok yönlü etkileşimine hem de çevresel faktörlere bağlıdır. Hastalığın genetik yapı bakımından anlaşılması, risk etkenlerinin belirlenerek, hastalığın tanısından tedavisine klinik kullanımına katkı sağlaması açısından önem arz etmektedir. T2DM gelişiminde, beta (β) hücre işlevi, insülin duyarlılığı, glukoz üretimi, yağ hücreleri işlevi gibi bazı işlevler etkili olmaktadır. Bununla birlikte çalışmamızda PPARG geninin sekansları incelenerek rs1801282 polimorfizmi tespit edilmiştir. Çalışma, Harran Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Bu çalışmaya, Harran Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından T2DM hastalığı tanısı almış, tedavi ve takip altında olan hem kadın hem erkek hastalar dahil edilmiştir. Kontrol grubu herhangi bir kronik hastalığı olmayan sağlıklı gönüllü bireylerden oluşturulmuştur. T2DM tanısı bulunan 109 hasta ve 114 sağlıklı bireyden EDTA'lı tüplere alınarak 4 cc periferik kan örneklerinden DNA izolasyon kitleri ile genomik DNA elde edilmiş ve elde edilen DNA'ların spektrofotometrik olarak değerleri ölçülmüştür. PPARG genine ait genotipler Real Time Polimeraz Zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemiyle belirlenmiştir. PPARG geni için tanımlanan bölgede bireyler CC, CG genotiplerine göre gruplara ayrılarak allel frekansları hesaplanmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre 109 hasta bireyin 27'si CG ve 82 hasta bireyin sonucu CC çıkmıştır. Kontrol grubunda olan 114 sağlıklı bireyden 20'si CG ve 94'ü ise CC genotipidir. Hasta grubunda bireylerin %24,8'inin, kontrol grubundakilerin ise %16,7'sinin PCR sonucu CG'dir. Hasta grubu ile kontrol grubu arasında ve ayrıca genotiplere göre gruplar arasında, kan glukozu ve glikolize hemoglobin (HbA1c) değerleri gruplar arasında ve bazı biyokimyasal analiz sonuçları da dikkate alınarak karşılaştırma yapılmıştır. Çalışmamızdaki bulgular literatür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Sonuçlarımız T2DM gelişiminde PPARG gen polimorfizminin rolünü değerlendirmede yararlı olacaktır ve gelecekteki çalışmalar için yol gösterici olabilir. Ayrıca elde edilen sonuçlarda bazı risk profillerinin belirlenerek tanıdan tedaviye klinik alanda pratik uygulamaya da katkı yapacağı düşünülmüştür. Bu konuda TİP 2 diyabet gelişiminde farklı gen polimorfizmlerinin de değerlendirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELER: Diyabet, Tip 2 Diabetes mellitus, PPARG, rs 1801282, HbA1c

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF PPARG GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Fehime DAĞ

**Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

**Supervisor: Assoc. Prof. Arif PARMAKSIZ
Supervisor: Assist. Prof. Özlem ÖZ
Year: 2021, Page: 48**

Among the types of diabetes, (T2DM) constitutes approximately %95 .Type T2DM is worryingly increasing worldwide and is one of the most common metabolic diseases. being clinical heterogeneity of T2DM, which is a multifactorial and complex metabolic disease, is due to both the multifaceted interaction of genetic factors and environmental factors. Understanding the disease in terms of genetic structure contributes to the diagnosis, treatment and clinical use of the disease Many processes such as beta (β) cell function, insulin sensitivity, hepatic glucose production, and function of adipocytes are effective in the development of T2DM. Therefore, rs1801282 polymorphism was determined by examining the sequences of the PPARG gene in our study plan. The study was carried out in the Molecular Genetics Laboratory of the Department of Medical Genetics of Harran University. Both male and female patients diagnosed as T2DM and under treatment by Harran University Internal Medicine Department were included in this study. The control group consisted of healthy volunteers without a history of any systemic disease. Genomic DNA was obtained from 4 cc peripheral blood samples with DNA isolation kit from 109 patients with type 2 DM and 114 healthy individuals in EDTA tubes and the values of the obtained DNAs were measured spectrophotometrically. Genotypes of the PPARG gene were determined by Real Time polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method. In the area defined for the PPARG gene, individuals were divided into groups according to CC, CG genotypes, and allele frequencies were calculated. According to the results of our study, 27 patients were CG and 82 patients were CC. Of 114 healthy individuals in the control group, 20 were CG and 94 were CC genotypes. The PCR result of 24.8% of the individuals in the patient group and 16.7% of the individuals in the control group was CG. Comparisons were made between the patient group and the control group, and also between the groups according to genotypes, blood glucose and glycosylated hemoglobin (HbA1c) values between the groups and some biochemical analysis results.. The findings in our study were found to be compatible with the results of the literature. Our results will be useful in evaluating the role of PPARG gene polymorphism in the development of T2DM and will be a guide for future studies. In addition, it is thought that some risk profiles will be determined in the results obtained and it will contribute to the practical application in the clinical field from diagnosis to treatment. In this regard, we think that there is a need for more comprehensive studies in which different gene polymorphisms are evaluated in the development of T2DM.

KEY WORDS:Diabetes, Tip 2 Diabetes mellitus, PPARG, rs 1801282, HbA1c

TEŞEKKÜR

Tez alıőmam boyunca değerli bilgilerini benimle paylaőan, danıőmanlıęımı üstlenen, her konuda bana destek olan saygıdeğer hocam Doç.Dr.Arif PARMAKSIZ'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Tezimin hazırlanması ve tamamlanmasında, laboratuvar çalışmalarında desteklerini sunan saygıdeğer hocam Harran Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Dr.Öęrt.Üyesi Özlem ÖZ'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım.Tez çalıőmam sürecinde laboratuvar örneklerinin toplanmasında desteklerini esirgemeyen ve kıymetli önerilerini sunan Harran Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Dr.Öęrt.Üyesi ığdem CİNDÖĞLU'ya sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Tez çalıőmam sürecinde kıymetli fikirlerini benimle paylaőan arkadaőım Gülden ŐENÖCAK SORAN 'a çok teşekkür ederim. Tez çalıőmam sürecinde bana destek veren ve sabır gösteren sevgili eőim Yaőar DAğ'a ve çocuklarıma, sonsuz teőekkürlerimi sunarım.



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 3.1.DNA izolasyonu İnvitrogen Genomic DNA Mini Kit	15
Şekil 3.2.Gerçek zamanlı PCR cihazı (LightCycler96).....	20
Şekil 3.3.DNA izolasyonu aşamasında periferik kan numunelerinin ependorflara aktarılması.....	20
Şekil 3.4.DNA izolasyonunun gerçekleştirilmesi	21
Şekil 3.5.Homozigot hastaya ait analiz görüntüsü	23
Şekil 3.6.Heterezigot hastaya ait analiz görüntüsü.....	23
Şekil 4.1.PCR sonuçları ile cinsiyet arasında karşılaştırma grafiği.....	24



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1.RS1801282 polimorfizm analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları.....	22
Çizelge3.2. RS1801282 polimorfizm analizi için PCR koşulları	22
Çizelge4.1. Puanların basıklık ve çarpıklık katsayıları	24
Çizelge 4.2.Grup ile PCR ve cinsiyet arasındaki ilişki.....	25
Çizelge 4.3.PCR sonuçları ayırımında cinsiyet ile grup arasındaki ilişki.....	26
Çizelge 4.4.Cinsiyet ayırımında PCR sonuçları ile grup arasındaki ilişki.....	26
Çizelge 4.5.Grupların parametreler açısından karşılaştırılması (t testi)	27
Çizelge 4.6.Grupların parametreler açısından karşılaştırılması (mann whitney u testi).....	28
Çizelge 4.7.Hasta grubundakilerin PCR sonucuna göre parametrelerin Karşılaştırılması	29
Çizelge 4.8.Kontrol grubundakilerin PCR sonucuna göre parametrelerin karşılaştırılması.....	30
Çizelge 4.9.PCR sonucu CG olanlarda hasta/kontrol grubuna göre parametrelerin karşılaştırılması	31
Çizelge 4.10.PCR sonucu cc olanlarda hasta/kontrol grubuna göre parametrelerin karşılaştırılması	32
Çizelge 4.11.PCR sonucu CG olan ve hasta grubunda olanlarda cinsiyete göre parametrelerin karşılaştırılması	34
Çizelge 4.12. PCR sonucu CG olan ve kontrol grubunda olanlarda cinsiyete göre parametrelerin karşılaştırılması	35
Çizelge 4.13. PCR sonucu CC olan ve hasta grubunda olanlarda cinsiyete göre parametrelerin karşılaştırılması	36
Çizelge 4.14. PCR sonucu CC olan ve kontrol grubunda olanlarda cinsiyete göre parametrelerin karşılaştırılması	37

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

T2 DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
PPARG	Peroksizom aktive edici proliferatör reseptör-gama
SNP	Single Nucleotide Polimorphizm(Tek Nükleotid değişimleri)
IRS	İnsülin direncinde insülin reseptör substratı.
GLUT	Glukoz taşıyıcısı olan bir membran protein grubudur.
DNA	Deoksiribo nükleik asit
PCR	Polimeriz zincir reaksiyonu
SYRB-Green	Sadece çift sarmal DNA' ya bağlanabilen bir boyadır.
ABD	Ana Bilim Dalı
VIC	İlk olarak Applied Biosystems tarafından geliştirilmiş, ancak şimdi tescilli olan bir floresan boyadır



1. GİRİŞ

Diyabet çeşitleri arasında T2DM yaklaşık olarak yüzde doksan beşlik bir kısmını teşkil eder. T2DM, dünya genelinde endişe verici bir şekilde artmakta ve yaygın metabolik hastalıklardan biri olmaktadır (ADA, 2015).21.yy da en sıkıntılı hastalıklardan biri olduğu düşünülen T2DM, DünyaSağlık Örgütü tarafından durmadan arttığı için bir salgına benzetilmiştir.T2DM'nin prevalısındaki bu artışta; hareketsiz yaşam tarzı, beslenme alışkanlıklarındaki değişim, artan obezite, kentsel yaşamın getirdiği kültürel değişiklikler gibi pek çok faktörün etkili olduğu düşünülmektedir. Hastalık oran artışının, ülkeler bazında değerlendirildiğinde ülkemizde de benzer şekilde olduğu görülmektedir (Satman ve ark., 2002).

Ülkemizde son yıllarda diyabet sıklığı ciddi bir hızla artarak başka hastalıkların da tedavisini zorlaştırmaktadır. T2DM'nin gelişiminde, çevresel faktörlerle birlikte genetik faktörlerin etkisinin olduğu bilinmektedir. Aile taramalarında genetik geçiş gösterilmiş ve ailesinde diyabet hastası olan kişilerde diyabet gelişme riskinin yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Multifaktoriyel ve karmaşık bir metabolik hastalık olan T2DM'nin klinik olarak heterojen oluşu,hemgenetik faktörlerin çok yönlü etkileşimine hem de çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır. Hastalığın genetik yapı bakımından anlaşılması, risk etkenlerinin belirlenerek, hastalığın tanısından tedavisine klinik kullanımına katkı sağlaması açısından önem arz etmektedir.

β - hücre fonksiyonu, insülin duyarlılığı, hepatik glukoz üretimi ve yağ hücresi fonksiyonu gibi birçok süreç T2DM gelişiminde etkilidir. Tüm bu mekanizmalarda farklı genler tarafından kodlanan proteinlerin rolü vardır (Schwanstecher, 2002).

1990'lı yıllarda hasta kontrol çalışmalarında ve fonksiyonel etki çalışmalarında bazı genler araştırılmaya başlandı ve T2DM'nin özellikleri üzerindeki etkileri araştırıldı. Bu çalışmalarda esas olarak genlerin protein kodlayan bölgeleri taranmıştır.

Aday gen araştırmalarının önemli bilinen ilk sonucu, yağ hücreleri farklılaşmasında önemli rolü oynayan ve transkripsiyona neden olan PPARG geni kullanılarak elde edildi. PPARG genindeki P12A tek nükleotid polimorfizminin T2DM ile ilişkisi ilk defa 1997’de olduğu tespit edilmiş ve daha sonraki yıllarda, farklı popülasyonlarda ve etnik gruplarda yapılan araştırmalarda insülin direnci ve hastalıkla ilişkisi literatür ile uyumlu olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızda, T2DM’nin genetik etkenlerinin belirlenmesi, hastalığın moleküler düzeyde işleyişinin açıklanması ve bunlardan yola çıkarak erken teşhisi için genetik riskin tespit edilmesi hedeflenmiştir. Bu nedenle, PPARG geninin sekansları incelenerek rs1801282 polimorfizminin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilen bilgilerin kullanılabilir hale getirilmesinde genetik tetkiklerin önemini vurgulamak ve diğer çalışmalara referans olması hedeflenmiştir. Ayrıca elde edilen sonuçlarda bazı risk profillerinin belirlenerek tanıdan tedaviye klinik kullanımına katkı yapacağı düşünölmektedir.

1.1. Diabetes Mellitus Tanımı

DM, insülin salgılanması, insülin etkileme mekanizması veya her ikisinin beraberindeki bozukluklardan kaynaklanan kronik ve metabolik bir hastalıktır. Hastalık ilerledikçe karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozulmalara yol açar.

DM Belirtileri:

- Halsizlik, bitkinlik ve çabuk yorulma hissi.
- Hızlı bir şekilde ve istenmeyen kilo verme durumu
- Görmede bulanıklık.
- Ayaklarda iğnelenme hissi ve uyuşukluk.
- Yaraların geç iyileşmesi.
- Cilt yüzeyinde kuruluk ve kaşıntı hissi
- Ağızda kokuoluşumu gibi belirtilerdir (Yenigün, 2001).

DM 'klinik ve etiyolojik olarak ortaya çıkışı(Gürbüz, 2005).

- Genetik yatkınlık
- İmmün sistem ile ilgili bozukluklar
- İnsülin sekresyonunda düşüş
- OGTT yanıtlarında bozulma
- Klinik olarak diyabet semptomları oluşur ama glukagona C-peptid yanıtı vardır.
- Total DM evresinin başlaması

1.2. Diyabetes Mellitus Sınıflandırılması

DM hastaları iki gruba ayrılır: İnsüline-bağımlı DM (Tip 1-IDDM) ve İnsülin-den-bağımsız DM(Tip 2-NIDDM), (Sav ve Özdamar, 2009).

1.2.1. Tip 1 diyabet

Bu grup diyabetik hastalar, diyabetlilerin %10-20'sini oluşturmaktadır. Genellikle 25 yaş öncesi açığa çıkar. Viral/otoimmün atağı sonucu β -hücre ölümü gerçekleşmektedir. Tip 1 diyabet hastalarında, insülin üreten ve salgılayan β -hücreleri insülin üretimi açısından yetersizdir. Bu hastalarda genelde insülin verilir ve bu durum insüline bağımlı DM olarak isimlendirilir.

1.2.2. Tip 2 diyabet

DM hastalığının en sık görülen şekli T2DM 'dir (Savve Özdamar, 2009). Diyabetlilerin yaklaşık %90'ı tip 2'dir. T2DM 'de çevresel ve genetik faktörlerin rol aldığı karmaşık etkileşim söz konusudur. T2DM de genellikle insülin salınım bozukluğu ve direnç beraberdir. Salgılanan insülinin etkili olamadığı kabul edilmektedir. Karaciğer, kas ve yağ dokularında insülin hassasiyetinin yetersizleşmesi ve β -hücre fonksiyonunun bozulması ile tanımlanır.(Sav ve Özdamar, 2009).

Bu durumdaki kişilerde insülin salınımı ya yetersiz miktardadır ya da insülin anormal yapıda bulunup sadece kısmi fonksiyon göstermektedir. insülinin hücre içi sinyalinde kusur bulunmaktadır. Bir başka etmen olarak da glikoz hemostazında önemi bulunan bir enzimin gen ekspresyonu veya fosforilasyon yoluyla düzenlenmesinin bozulması söylenebilmektedir (Campagna ve Imperatore, 2001).

1.3. Diyabete Neden Olan Risk Etmenleri

- Beslenme
- Obezite
- Alkol ve Sigara Tüketimi
- Cinsiyet
- Vücut Yağ Dağılımı
- İnsülin Direnci
- Genetik Belirteçler ve Kalıtım

1.4. T2DM Etiyolojisi

T2DM çok faktörlü kalıtsal bir hastalıktır ve etiyolojisi birçok gen ve çevresel faktörü içerir. Bu hastalıkta birden fazla gen poligenik bir şekilde birbirini etkiler. Çeşitli çevresel ve genetik faktörlerin karmaşık bir süreç içerisinde hastalığı tetikler ve hızlandırır. Etiyolojik etkenleri 2 gruba ayrılarak incelenmiştir (Pearson, 2008).

1.4.1. Çevresel Faktörler

Tip 2 diyabeti etkileyen çevresel faktörlere baktığımızda kültürel faktörler, stres, cinsiyet, kentsel yaşam, hareketsiz yaşam tarzı, dengesiz beslenme ve tüm bu saydıklarımızın sonucunda gelişen obezite yer alır.

Stres altındaki yaşam tarzında, glukoz tolerans bozukluğunun geliştiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Stres faktörünün etkisi ile adrenal hormonların(özellikle glukokortikoid hormon) aktif hale gelebileceği ve sonucunda glukoz toleransının bozulduğubelirtilmiştir.Diyabetgelişimindeki burolün, bozulmaların stres kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (Huang ve ark., 1997).

Yine Afrikalı ve Meksikalı popülasyonlarda yapılan bir araştırmada cinsiyet faktörü değerlendirilmiş; araştırmanın sonucuna göre Meksikalı popülasyonda erkeklerde T2DM sıklığı daha yüksek iken Afrikalı popülasyonda ise kadınlarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Durcops ve ark., 1996).

Yine Japonlar üzerinde yapılan bir araştırmada coğrafik değişikliklerin T2DM gelişiminde etkisi olduğu açıklanmıştır. Bu çalışmaya göre Japonya'da yaşayan Japonlarda Brezilya'da yaşayan Japonlara göreT2DM prevalansı daha düşük çıkmıştır(Franco, 1996).

Yine kentsel yaşamın T2DM üzerindeki etkisi araştırılmış ve araştırma sonuçlarına göre kentsel bölgelerde yaşayan kişilerin beslenme alışkanlıklarının kırsal bölgelerde yaşayanlara göre hazır gıda tüketimi şeklinde oluşu T2DM vakalarını arttırabileceği şeklindedir(Adeghate ve ark., 2006).

Dengesiz beslenmenin T2DM gelişimindeki etkisiyle ilgili bir çalışmada, Meksikalılarda yüksek kalorili ve yağlı besin tüketiminin, T2DM gelişimini hızlandırdığı yönündedir(Lerman ve ark.,1998).

1.4.2. Genetik Faktörler

Multifaktöriyel bir hastalık olduğu kabul edilen T2DM gelişiminde genetik faktörler önemlibir yer tutmaktadır (Das ve ark., 2006).Akraba topluluklarda ve izole yaşayan bazı toplumlarda, örneğin Avustralyalı Aborjinlerde Meksikalı-Amerikanlarda Pima yerlilerinde ve Pasifik Adalılarda (Nauru) T2DM prevalansı %20'den daha yüksek olduğu görülmüştür (Zimmet ve ark., 1997).

Pima yerlileri üzerinde yapılan bir araştırmada etnik gruplarda T2DM sıklığı çevresel faktörler ile birlikte genetik faktörlerin etkili olduğunu göstermiştir(Bhatia, 2004).

Yapılan araştırmalarda kardeşler arasında T2DM gelişme riskinin, genel popülasyon ile karşılaştırıldığında 4 katı olduğu tespit edilmiştir (Das ve ark., 2006).T2DMhastalarının birinci derece akrabalarında genç yaşlarda insülin direnci gelişimi ve ilerleyen yaşlarla beraber diyabet gelişiminin daha sık olduğu bildirilmiştir (Lyssenko, 2005).

Tek yumurta ikizleri arasındaki %41-55 eşit hastalanma oranının ayrı yumurta ikizlerindeki %10-15eşit hastalanma oranına göre oldukça yüksek olması T2DMpatojeninde genetik faktörlerin etkisinin yüksek olduğunu önemli derecedekandılamıştır (Malecki ve ark., 2005).

1.5. T2DM'nin Genetik Açıdan Araştırılması

T2DM'yi etkileyen genetik faktörleri incelemek için tercih edilen yöntemler; Tüm genom taraması ve Aday gen yöntemi ve şeklindedir.

1.5.1. Tüm genom taramaları yaklaşımı

Tüm genom tarama yöntemleri varsayımlara dayalı değildir. Bu yöntemde ortak bir fenotipe sahip aile üyeleri arasında aynı genleri içeren kromozomal bölgelerin paylaşılması ve genlerin genomik lokasyonlarına göre belirlenmesi esasına dayanır(Stumvoll ve ark. 2005).Çeşitli araştırmalarda T2DM ile ilişkilendirilen bazı gen bölgeleri bildirilmiştir. Ancak günümüze kadar elde edilen sonuçlara göre Tüm Genom Taramaları Yaklaşımı T2DM gelişimini açıklamakta tek başına yetersiz kaldığı görülmüştür(Pearson, 2008). Tüm genom taramaları neticesinde tespit edilen TCF7L2 gibi bazı genlerT2DM gelişimi ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (Rich ve ark. 2009); (Grant ve ark., 2006).

1.5.2. Aday Gen yaklaşımı

Hastalığa neden olabilecek genleri incelemek için aday gen yöntemleri de tercih edilen yöntemlerden biridir. Aday gen yönteminin amacı, bağımsız bireylerin allelleri ve fenotipleri arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Tip 2 diyabet genetik açıdan araştırılırken çok fazla sayıda adaygen tanımlanmıştır. Bu aday genler için farklı polimorfizmler çalışılmıştır. Fakat birçoğunun T2DM gelişiminde çok önemli bir rolü olduğu gösterilememiş veya T2DM hastalığını açıklamakta tek başına yeterli olamamıştır (Stumvoll ve ark., 2005).

İlk aday gen çalışmasında insülin, insülin reseptörü, insülin reseptör substratı (IRS), glukoz taşıyıcı (GLUT) 4 ve glukokinaz genleri, insülin fonksiyonundaki önemi nedeniyle incelenmiştir. Bu çalışmalarda, esas olarak proteinde kodlanan genin bir kısmı taranmıştır. Ancak aday gen araştırmalarının ilk önemli sonucu, adipositlerin farklılaşmasında en etkin role sahip olan transkripsiyon faktörü PPARG'yi kodlayan PPARG geni ile elde edilmiştir (Guja ve Gagnic, 2012).

PPARG genindeki P12A tek nükleotid polimorfizminin, T2DM ile ilişkisi ilk kez 1997'de bildirilmiştir (Yen ve ark. 1997). Takip eden yıllarda, yapılan araştırmalarda farklı popülasyonlarda ve etnik gruplarda yapılan araştırmalarda PPARG geninin insülin direnci ve T2DM ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir (Deeb ve ark., 1998).

1.6. PPARG

PPARG primer olarak yağ dokusu hücrelerinde, biraz iskelet kasında, karaciğer, kalp ve bağırsakta oluşum gösterir (Escher ve Wahli, 2000). PPARG insülin direnci, T2DM ve yağ metabolizması üzerinde önemli etkileri olan bir gen dir. Bu genin başka genlerle ve çevresel faktörlerle etkileşimi sonucunda metabolik hastalıklar oluşur. Bu etkileşim multifaktöriyel olarak tanımlanır (Ahmed

ve ark., 2007). PPARG'nin diğer faktörlerle etkileşimi, metabolik etki mekanizmaları ve çeşitli yöntemler kullanılarak halen araştırılmaktadır(Heikkinen ve ark., 2007).



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Deeb ve ark. (1998) İlk aday gen araştırmalarında, yağ hücreleri farklılaşmasında etkili olan ve PPARG transkripsiyon faktörünü kodlayan PPARG geni (peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör gama) elde edildi. PPARG geninde P12A tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ilk kez 1990'lı yıllarda T2DM ile ilişkilendirilmiştir. İlerleyen yıllarda, farklı popülasyonlar ve etnik kökenler üzerinde çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda İnsülin direnci ve T2DM gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Syed ve ark. (2014) Pakistan popülasyonunda yapılan bir çalışmada romatoid artrit (RA) hastalığı ile PPARG rs1801282 polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. PPARG'deki Pro12Aa varyantının genotipleri, 150 RA vakası ve 150 kontrol grubu Pakistanlı bireylerden oluşturulmuştur. Genotiplendirme, ARMSPCR yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Yapılan araştırmada PPARG rs1801282 polimorfizminin Pakistanlılarda romatoid artrit ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Rotter ve ark. (2016), tarafından Kafkas kökenli bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada, obezite ve lipid bozuklukları gibi metabolik hastalıkların genetik faktörlerle ilişkili olabilirliği araştırılmıştır. FTO rs9939609, MC4R rs17782313 ve PPAR γ rs1801282 polimorfizimleri ile MetS ve bileşenlerinin varlığı, eşzamanlı lipid bozuklukları ve cinsiyet hormonu konsantrasyonları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya, 50-75 yaşları arasında Kafkas kökenli 272 erkek birey dahil edilmiştir. TCh, LDL, HDL ve TG'yi içeren lipid profili, spektrofotometrik yöntemle değerlendirilmiştir. Bu çalışma, analiz edilen genetik polimorfizimler ile MetS, T2DM, HT ve obezite varlığı arasındaki bağlantıları göstermemiştir.

Akçamlı ve ark. (2018). Bu çalışmada futbolcularda PARA rs4253778 polimorfizm dağılımı incelenmiştir. Çalışmaya katılan 64 genç futbolcunun tamamında incelendiğinde, 42' si GG genotipi, 21' i GC ve 1 futbolcu da CC genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda net ve kararlı sonuçlar

açıklanamamıştır. Sporcuların performanslarındaki değişimleri anlayabilmek için, hem genetik hem de çevresel faktörlerin ayrı ayrı incelenmesi gerektiği düşünülmüştür. Genetik ile çevresel faktörler arasındaki bağlantının daha detaylı çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca PPARA rs4253778 polimorfizmi ile ilgili Türk sporcu örneklerini içeren yeteri kadar verinin bulunmadığı belirtilmiştir.

Naemi and Ahmad (2018). Irak halkında yapılan bir çalışmada, Pro12Ala (rs1801282) polimorfizminin T2DM ile ilişkisi araştırılmıştır. 97 T2DM hastası ve 95 sağlıklı birey olmak üzere toplamda 192 yetişkin birey çalışmaya dahiledilmiştir. PCR-RFLP yöntemi kullanılarak genotipleme yapılmıştır. Pro12Ala genotipleri ile ilgili klinik, antropometrik ve biyokimyasal değişkenler karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak bu çalışma, Arap Iraklılar arasında Ala12 alelinin nispeten yüksek bir frekansını ortaya çıkarmıştır. Fakat bu frekanslar, Pro12Ala'nın T2DM ile ilişkisini tam olarak açıklayamamıştır.

Eski ve ark. (2020) Yapılan bir çalışmada, T2DM ile ilişkili olduğu saptanan ancak daha önce gestasyonel DM (GDM) ile ilişkisi olmayan dört polimorfizm incelenmiştir. Bu çalışmada sırasıyla BCL11A, ADAMTS9, WFS1 ve C2CD4B genlerinin rs243021, rs4607103, rs1801214 ve rs11071657 polimorfizmleri ile GDM arasındaki olası ilişki incelenmiştir. Çalışmada GDM ve normal hamile kadınlar incelenmiş ve GDM ile bu gen bölgeleri arasında bir ilişki bulunamadığı bildirilmiştir. Sonuç olarak, bu polimorfizmlerin GDM gelişimi için risk faktörleri olarak kabul edilemeyeceğikanaatine varılmıştır.

Rehman ve ark. (2020) Pakistan halkı üzerinde yapılan bir çalışmada, kardiyovasküler hastalık (KVH) tanısı bulunan hastalarda PPARG (rs1801282) tek nükleotid polimorfizminin T2DM risk faktörleri ile ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmaya Kardiyoloji Bölümü, Sargodha Bölgesi Merkez Eğitim Hastanesi, Pakistanlı 244 birey katılmıştır. 244 katılımcının 144'ü hasta ve 100'ü sağlıklı bireylerden oluşturulmuştur. KVH hastaları ayrıca 111 koroner arter hastası (KAH) ve 33'ü kardiyomiyopati hastası olarak ayrılmıştır. Çalışmada ARMS-PCR

yöntemi kullanılmıştır. Biyokimyasal analizleri de ek olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak, KMP hastalarına kıyasla özellikle KAH hastalarında PPAR- γ 'da Pro/Ala mutasyonuna eşlik eden en kritik risk faktörlerinin obezite, hipertansiyon ve sigara içme (sırasıyla %35, %23, %21) olduğu tespit edilmiştir. KAH hastalarında Pro/Ala mutasyonu ile yüksek glikoz, kolesterol, trigliserit ve ALT seviyeleri arasında benzer bir ilişki gözlenmiştir. Ayrıca, ACE inhibitörleri (%18) ve β -blokerler (%13) kullanan KAH hastalarının Pro/Ala genotipinin taşıyıcıları olduğu ve ayrıca glikoz seviyesinde önemli artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Bakhashab ve ark. (2020) Yapılan bir çalışmada PPARG rs1801282, yağ kütlesi ve obezite ile ilişkili protein (FTO) rs9939609 ve melanokortin 4 reseptörü (MC4R) rs2229616 polimorfizmlerinin allel ve genotip sıklığı ve bunların birbiriyle olan ilişkileri araştırılmıştır. Batı Suudi popülasyonunda yapılan bu çalışmada, kontrol ve T2DM hastalarından alınan genomik DNA, bu tek nükleotid polimorfizmleri için izole edilmiştir ve genotiplendirilmiştir. MC4R ile önemli bir ilişki tespit edilmiştir. T2DM ile rs2229616 varyantı, ancak PPARy rs1801282 veya FTO rs9939609 ile T2DM ile hiçbir ilişki saptanmamıştır. PPARG rs1801282 için C/C, FTO rs9939609 için A/A ve MC4R rs2229616 için C/C kombinasyonu, T2DM riskini 1,82 arttırdığı tespit edilmiştir. FTO rs9939609 için A/T genotipinin, PPARG rs1801282 için C/C ve MC4R rs2229616 için C /C veya PPARy rs1801282 ve C/T MC4R rs2229616 için C/C ile birleştirildiğinde T2DM riskini azalttığı tahmin edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma Suudi popülasyonunda T2DM gelişimi için değerlendirilen varyantların riskini göstermiştir

Erkoç ve ark. (2021) Türk toplumunda yapılan bir çalışmada, PPARG genindeki Pro12Ala'nın insülin direnci gelişimi ve T2DM riski üzerine etkileri araştırılmıştır. Konya bölgesinde yaşayan 181 obez olmayan ve 206 obez olmak üzere toplamda 387 T2DM tanısı almış kişi ve 264 (137 obez olmayan/127 obez) sağlıklı kişi olmak üzere toplam 650 kişide değerlendirme yapılmıştır. Bireylerden alınan kan örneklerinden, T2DM ile ilişkili biyokimyasal parametreler analiz edilmiş ve sonrasında HOMA-IR (HOMA indeksi) hesaplanmış. HOMAIR indeksi 2.5'ten yüksek olan kişiler insüline dirençli olarak kabul edilmiştir. İzole edilen DNA

örneklerinde, Pro12Ala genotiplendirmesi RT-PCR tekniği ile çalışılmış. Sonuç olarak, hem genetik faktörlerin hem de çevresel faktörlerin bir arada bulunması hastalığın gelişiminde etkili olduğu belirtilmiştir. Birden fazla genin T2DM gelişiminde etkili olması da hastalığın patojenindeki etkisinin anlaşılmasını zorlaştırdığı belirtilmiştir. Bu nedenle, PPARG'nin hastalığın genetik zeminindeki olası rolünü belirlemek için daha büyük popülasyonlarda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Çalışma Türk toplumunda PPARG ve T2DM ile ilişkisi bakımından sunulan ilk rapor olması ile önem arz etmektedir.

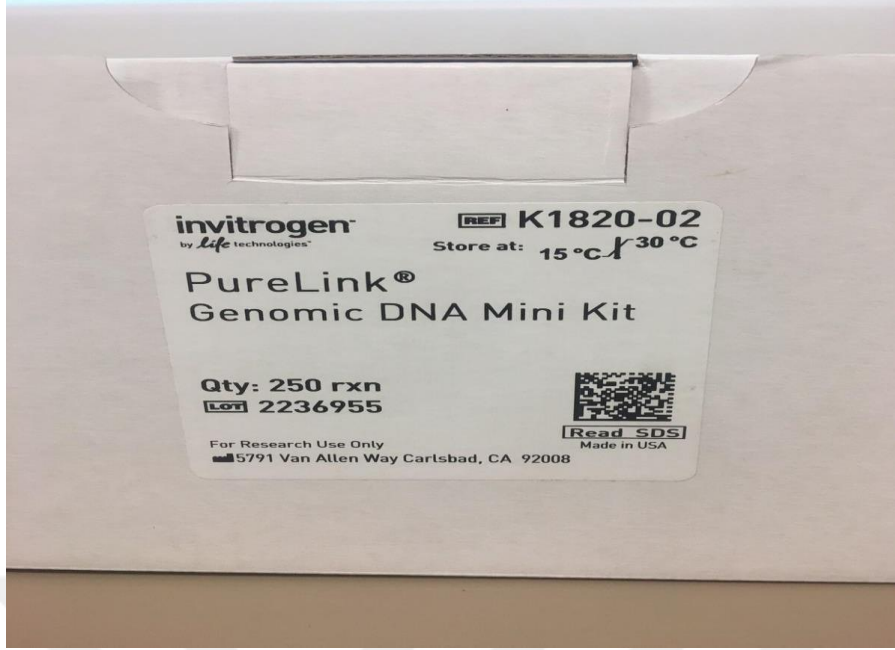


3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Materyal seçimi

Çalışmamıza 10 Mayıs 2021- 20 Ağustos 2021 tarihleri arasında üniversitemize başvuran, T2DM tanısı alan, klinik ve laboratuvar bulguları olan 109 olgu dahil edildi. Hastalar Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tip 2 diyabet tanı kriterlerine göre değerlendirildi. Minimum 8 saat açlıktan sonra kan glukoz değeri $>126\text{mg/dl}$, hipoglisemiye ait belirtiler ve gün içinde herhangi bir saatte kan glukoz değeri $>200\text{mg/dl}$ ya da oral glukoz tolerans testinde 2. saat glukoz değeri $>200\text{mg/dl}$ olarak belirlenen hastalar T2DM tanısı olarak değerlendirilerek çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubuna öz ve soy geçmişinde T2DM tanısı olmayan, herhangi bir kronik hastalık öyküsü olmayan toplam 114 sağlıklı gönüllü birey dahil edildi. Hasta ve kontrol grubundaki bireyler çalışma hakkında bilgilendirilerek bilgilendirilmiş onam formu dolduruldu. Hasta ve kontrol grubundaki her bireyden EDTA'lı tüplere 4ml periferik kan numuneleri alındı. Harran Üniversitesi Genetik Tanı Birimi Laboratuvarı'nda 223 olgunun periferik kan numunelerinden DNA izolasyonu İnvitrogen Genomic DNA Mini Kit kullanılarak yapıldı.



Şekil.3.1.DNA izolasyonu İnvitrogen Genomic DNA Mini Kit kullanılarak yapıldı

3.1.2. Gereçler

- Santrifüj (Isolab, Almanya)
- -20 0C Derin dondurucu (Vestel, Türkiye)
- -80 0C Derin dondurucu (ARCTIKO, Danimarka)
- +4 0C Soğutucu (Vestel, Türkiye)
- 1,5 ml'lik kapaklı ependorf tüp (Isolab, Isolab, Almanya)
- Otomatik ayarlanabilir pipet (GILSON, ABD)
- Gerçek zamanlı PCR cihazı (LightCycler96, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)
- Digital Cooling Dry Bath (Thermo Scientific, ABD)
- Vorteks (Isolab, Almanya)
- PCR tüpleri
- Mikropipet ucu 10µl, 100µl, 200µl, 1000µl (Axygen, ABD)

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- İnvitrogen Genomic DNA Mini Kit (Lot. No. 2236955, Thermo Fisher Scientific, ABD)
- TaqMan Universal Master Mix II, no UNG (Lot. No. 00660627, Thermo Fisher Scientific, ABD)
- TaqMan® Drug Metabolism Genotyping Assays (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, ABD)
- Distile su (Polyfarma, Türkiye)
- Etanol (%96) (Merck, Almanya)

3.2. Yöntem

Bu çalışmada; PPARG geni rs1801282 bölgesi RT-PCR yöntemi ile çalışılan hasta ve kontrol grubundaki bireyler CC, CG genotiplerine göre gruplara ayrılarak, allel frekansları hesaplandı. Hasta ile kontrol grubu arasında ve ayrıca genotiplere göre gruplar arasında vücut kitle indeksi, kan şekeri ve HbA1c değerleri ve bazı biyokimyasal parametreler karşılaştırıldı. Veri seti analizi için SPSS 24.0 istatistiksel paket programı kullanıldı. Sayısal verilerin değerlendirilmesinde bağımsız grup T testi, kategorik değişkenlerin değerlendirilmesindeki-kare testi kullanıldı, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilen bu çalışmada Genetik Tanı Laboratuvarı olanaklarından yararlanıldı. Bu araştırma Harran Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (Proje No:21035)ve HRU/20.16.02 sayı ile desteklendi. Çalışmamız 11.12.2020 tarih ve 2020/38/2021 sayılı karar ile Harran Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından etik kurul onayı alındıktan sonra başlatıldı.

3.2.1. Real Time PCR Tekniği

Günümüzde nükleik asitlerin sayısını belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Reaksiyon sırasında oluşan ürün miktarı ile orantılı olarak artan floresan boya ve probun verdiği sinyal izlenerek gerçek zamanlı yani real-time PCR (RT-PCR) de oluşan ürün miktarının anlaşılabilmesi, amplifiye olurken, belirli sayıda DNA molekülü elde etmek için döngü numarası da gereklidir. Çift sarmallı DNA'ya bağlanan "SYBR-Green I" floresan boyası en kolay yöntem olarak kabul edilir. "SYBR-Green I" boyası kullanılarak tespit çok verimli bir yöntemdir. Bununla birlikte, reaksiyon ortamında herhangi bir çift sarmallı DNA olduğunda, floresan verecektir. Bu tür primer-dimerlerin oluşumu da meydana gelebilir. Güvenilir kabul edilen, floresan yayabilen üç etiketli prob daha mevcuttur. Bunlar "TaqMan® probları" veya hidroliz probları, moleküler boncuk yöntemleri ve hibridizasyon probları dahil problar olarak bilinir. Gerçek zamanlı PCR kullanmanın birçok avantajı vardır. Gerçek zamanlı PCR'nin tipik kullanımları, patojen tespiti, gen ekspresyonu analizi, kromozomal dijital yapısal bozuklukların analizi ve "gerçek zamanlı" immüno-PCR ile protein tespitidir. Gen ekspresyonunun daha verimli, daha duyarlı, daha hızlı olması tercih edilme nedenlerindedir (Gibson vd., 1996; Kubista vd., 2006).

"TaqMan® Probe" yöntemi aynı zamanda "Dual Dye Oligonucleotide", "Dual Labeled Probe" veya "5' Nuclease Probe" olarak da bilinir. "TaqMan® Probe" yöntemi, amplifiye edilecek DNA'yı tamamlayan floresan etiketli tek sarmallı problar içerir. "Florofor" (6-karboksifloresan = 6-FAM) floresan etiketli probun 5' ucundadır ve "söndürücü" (6-karboksitetrametilrodamin = TAMRA) 3' ucundadır. 3' ucundaki inhibitör TAMRA boyası, 5' ucunda FAM boyası tarafından sinyal oluşumunu engeller. Prob hedef DNA'ya bağlandığında bile floresan sinyal ölçümü düşüktür. Amplifikasyon sırasında, TaqMan probları, hedef nükleik asit dizisi üzerindeki primer bağlanma bölgeleri arasına bağlanır. Primer bağlanmasından sonra yeni bir iplik oluşmaya başlar. Probun bağlı olduğu bölgeye gelince, Taq DNA polimeraz, FAM'ı probdan ayırmak için 5'→3 nükleaz aktivitesini kullanır. Serbest bırakılan FAM bir sinyal üretir. DNA zincir sentezi uzamaya devam eder. Her

döngüde ürün proliferasyonu arttıkça, floresan da buna göre artmaya devam eder. "TagMan® Probe" yaklaşımında mutasyon tespiti ile birlikte sayısal değerlere ulaşılabildiği için araştırmacılara avantaj sağlar. Bu method , mevcut bir protokole, basit bir tasarıma ve çok az optimizasyona sahip olduğundan alelik ayırım ve ifade profili oluşturma için kolayca kullanılır (Gut, 1999).

Real Time-Quantitative'nin sonuçları relatif ve standart-eğri kantitasyonu olarak adlandırılan iki analitik yöntem ile analiz edilmektedir. Önemli avantajları olan bu yöntem; hassas (<5 kopya) olup, geniş bir dinamik aralığın üzerinde (7-8 log 10) kantitasyonu sağlayıp, yüksek doğruluğa (<%2 standart sapma) sahiptir. Ayrıca, miktarı az olan total RNA' dan güzel sonuçlar alınabilmekte ve PCR sonrası başka işlemlere ihtiyaç duyulmamaktadır. Real-Time PCR' da belirli bir eşik seviyesine göre ölçüm yapılmaktadır. Eşik döngüsü (CT), floresanın eşiği aştığı döngü sayısı olarak ifade edilmekte olup, ürünlerdeki ilk anlamlı artış bu noktada meydana gelmektedir (Bustin.,2000). RNA miktarı ve kalitesinde meydana gelebilecek değişiklikleri normalize etmek için referans bir gen kullanılarak ilgilenilen genin farklı örnekleri arasında gen ifadesi ölçülmektedir. CT metodu olarak adlandırılan bu normalizasyon işlemi, farklı örnekler arasında ilgilenilen genin ifadesinin karşılaştırılması sağlanmaktadır (Schefe, 2006). CT yöntemi, gen ekspresyonundaki nispi değişiklikleri Real Time PCR tekniği ile analiz etmede uygun bir yöntem olup relatif kantifikasyonda en yaygın kullanılan yöntem olarak bildirilmektedir. Bu yöntem iki varsayıma dayanmaktadır. Bunlardan ilki reaksiyonun %100 verimlilikle çalışması olup ikincisi örnekler arasında ifadesi sabit olan bir genin bulunması olarak belirtilmektedir (Livak, 2001).

3.2.1.1. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu kit içerisinde belirtilen protokole uygun şekilde gerçekleştirildi. Çalışmaya başlamadan önce bir defaya mahsus olarak WASH 1 ve 2 kutularının üzerinde yazan miktarda ethanol (%96-100) eklendi. Sonra sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı.

- 1) Kuru ısı bloğu 55⁰C'ye ayarlandı.
- 2) 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne sırasıyla 20 mikrolitre (µl) Proteinaz K, 20 µl RNase A, 200 µl kan örneği (öncesinde kan örnekleri el ile yavaşça alt üst edildi) eklendi ve vorteks edilerek oda sıcaklığında 2 dk. İnkübe edildi.
- 3) 200 µl Prelink Genomic Lysis/Binding Buffer ekleyip vortekslendi.
- 4) Kuru ısı bloğundaki örnekler 55 ⁰C'de 10 dk inkübe edildi.
- 5) 200 µl %96-100 ethanol eklendi ve 5 sn vortekslendi.
- 6) İçerisinde filtrelili tüp olan kilit kapaklı Purelink Spin kolonlara ürünümüzün tamamını (toplam volüm 640 µl) eklendi.
- 7) Oda sıcaklığına ayarlı santrifüj ile 10.000 rpm' de 1 dk santrifüj edildi.
- 8) DNA'lar filtrede kaldığı için filtrelili kolon alınarak ikinci boş bir toplama tüpüne aktarıldı.
- 9) WASH 1'den ürün üzerine 500 µl eklendi.
- 10) İkinci kez 10.000 rpm' de 1 dk santrifüj edildi, sonra filtrelili üst kısmı yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.
- 11) WASH 2'den ürün üzerine 500 µl eklendi.
- 12) Oda sıcaklığında maksimum devirde 20.000 rpm'de 3 dk santrifüj işlemi yapıldı.
- 13) Spin kolonu 1,5 ml' lik ependorfa alınarak 50 mikrolitre elution buffer ekleyip maksimum devirde 1 dk santrifüj edildi. Nano drop cihazında DNA konsantrasyonlarına bakıldı ve konsantrasyon 200 ng/µl olarak ayarlandı.
- 14) Elde edilen DNA -20 derecede muhafaza edildi.



Şekil 3.3. DNA izolasyonu aşamasında periferik kan numunelerinin ependorflara aktarılması aşaması görülmektedir



Şekil 3.4. DNA izolasyonunun gerçekleştirilmesi aşamasında çekilen bir fotoğrafı görmekteyiz



Şekil 3.2. Çalışmamızda kullandığımız Gerçek zamanlı PCR cihazı (LightCycler96, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya) görülmektedir

3.2.1.2. Elde Edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Tayini

DNA numunelerinin konsantrasyon ve miktar tayini yapılmadan önce her numunenin optik yoğunluğu (OD) spektrofotometre yardımı ile 260 nm ve 280 nm'de ölçülmüştür. DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu, 260 nm ve 280 nm dalga boylarında bir spektrofotometrede ölçülerek belirlenir. OD260 / OD280 oranı 1.7-1.8 olan DNA temiz olarak kabul edilir. 50 µg/ml DNA'nın çift sarmallı içeriğinin 260 nm dalga boyunda bir optik yoğunluk ürettiği kabul edilmektedir. DNA örneğinin saflığını belirlemek için OD260/OD280 oranı kullanılır. Yeterli saflıkta DNA'nın OD260/OD280 değeri yaklaşık 1.8 olarak kabul edilir. Ortamda fenol veya protein varsa oran 1.8'den az olacaktır. OD260/OD280 değeri 2'den büyük ise ortamda RNA var demektir.

3.2.1.3. Gen Polimorfizmin Belirlenmesi ve Primer ve prob dizaynı

Bütün amplifikasyon primerleri standart fosforamid kimyası (MWG-Biotech) ve tüm VIC/FAM işaretli problemler Thermofischer tarafından sentezlenmiş ve ters-faz HPLC ile saflaştırılmıştır. Amplifikasyonda TLR1 için bir set primer prob kullanılmıştır. VIC/FAM işaretli primer problemler kullanılmıştır. VIC probu ile C nükleotidi FAM probu ile G nükleotidi detekte edilmiştir. rs1801282 için nükleotid dizisi aşağıda gösterilmiştir:

AACTCTGGGAGATTCTCCTATTGAC[C/G]CAGAAAGCGATTTCCTTCA
CTGATAC

PCR Koşulları

rs1801282 analizi için kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları Çizelge 3.1’de, polimorfizm analizi için PCR koşulları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1.rs1801282 polimorfizm analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları verilmiştir.

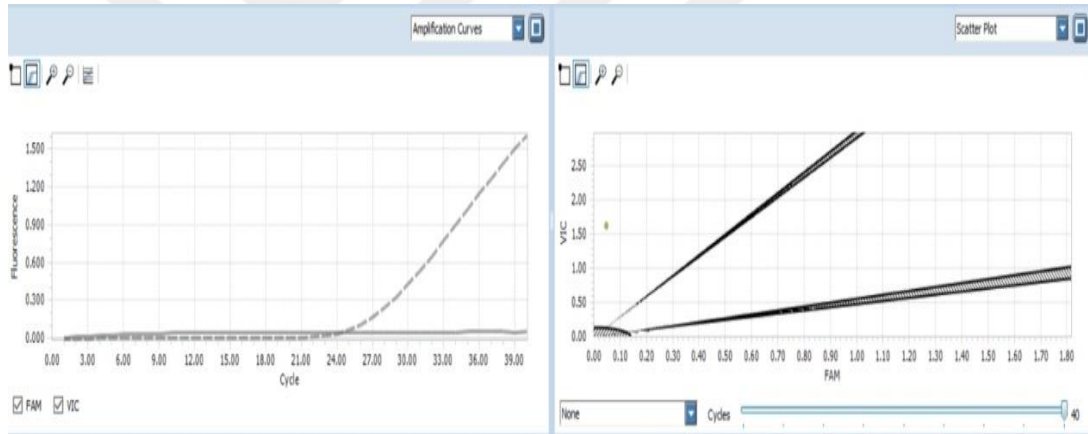
İçerik	Miktar
Taqman assay master mix	10 µL
Forward primer (0,5 nM)	1 µL
Revers primer (0,5 nM)	1 µL
FAM probe (0,2 nM)	1 µL
VIC probe (0,2 nM)	1 µL
PCR grade su	1 µL
Örnek DNA	5 µL
Toplam tepkime hacmi	20 µL

Çizelge 3.2.rs1801282 polimorfizm analizi için PCR koşulları verilmiştir

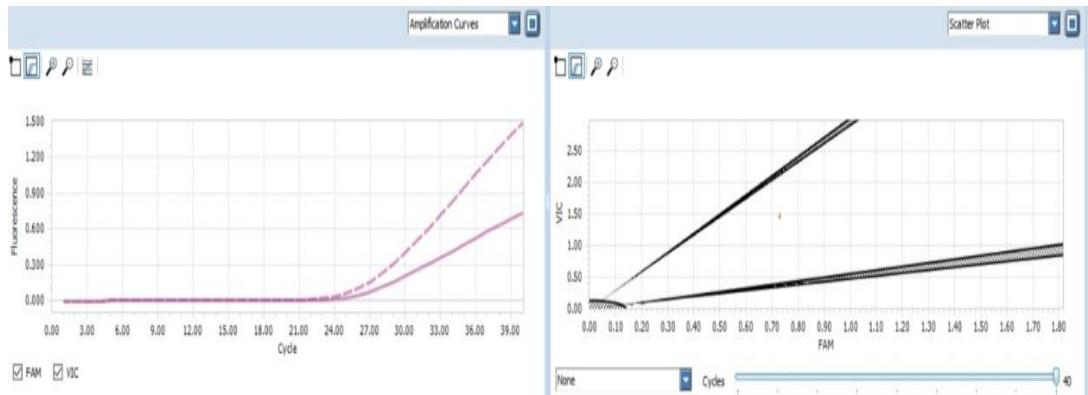
PCR aşamaları	Hedef ısı (°C)	Bekleme süresi	Isı geçiş oranı (°C/sn)	Floresan okuma
Denatürasyon	95	10 dk	4,4	Yok
Amplifikasyon				
Denatürasyon	95	15 sn	4,4	Yok
(40 Döngü) Uzama	60	60 sn	2,2	Tek
Soğuma	37	30 sn	2,2	Yok

3.2.1.4. Genotip belirlenmesi (End point analizi)

End point analizi ile genotipleme, ticari olarak temin edilebilen önceden tanımlanmış SNP genotipleme deneyleri ile çift renkli hidroliz problemlerinin kullanımına dayanır. Genotipler otomatik olarak görülebilir ve dağılım grafiklerinde kolayca görselleştirilebilir. Kullanılan her iki kanal için amplifikasyon eğrileri alternatif olarak görüntülenebilir. Genotip belirlemede VIC ve FAM hidroliz problemler kullanılır ve problemlerin bağlanması özelliğinden yararlanır. Problemlerden birisi C nükleotidine bağlanırken diğeri G nükleotidine bağlanmaktadır. End point analizi bu farktan faydalanarak doğal ve mutant tipleri birbirinden ayırır. Çalışmamızda VIC probu ile C nükleotidi, FAM probu ile G nükleotidi tespit edilmiştir. Buna göre genotipler heterozigot ve homozigot olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.5. Genotip belirlenmesi sonucu Homozigot hastaya ait analiz görüntüsü görülmektedir



Şekil 3.6. Genotip belirlenmesi sonucu Heterozigot hastaya ait analiz görüntüsü görülmektedir

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Araştırma Bulguları

4.1.1. Analiz Yöntemi ve Bulgular

Veri analizi SPSS 24.0 kullanılarak yapıldı. Çalışmalarda parametrelerin normal dağılıma uygunluğunu belirlemek için basıklık ve çarpıklık katsayıları incelenir. +3 ile -3 arasındaki basıklık ve çarpıklık değerlerinin normal dağıldığı kabul edilmesi yeterlidir (Groeneveld and Meeden, 1984; Moors, 1986; Hopkins and Weeks, 1990; De Carlo, 1997).

Cizelge4.1 de bazı parametrelerin basıklık ve çarpıklık katsayıları görülmektedir

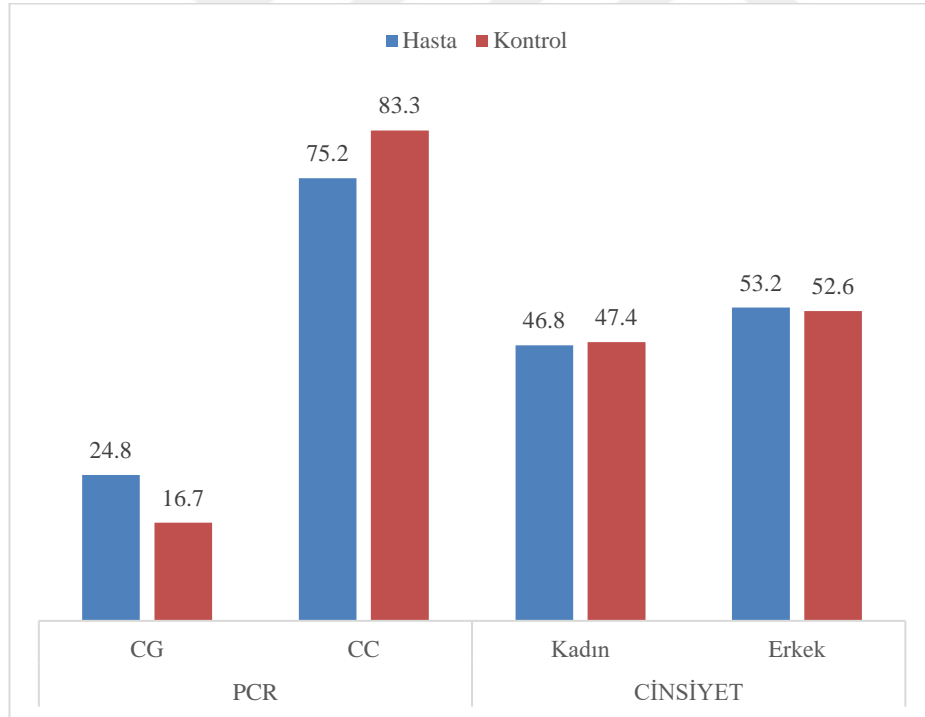
	n	Çarpıklık	Basıklık
YAŞ	223	0,030	-0,288
HbA1C	109	0,717	-0,274
HbA1C-IFCC(SI)	109	0,700	-0,268
GLUKOZ	223	2,143	5,458
ÜRE	223	2,814	9,444
KREATİNİN	223	8,232	87,302
ÜRİK ASİT	223	1,144	2,707
ALT	223	12,489	174,006
GGT	223	3,877	18,055
NA	223	-0,820	1,838
K	223	0,011	0,291
AMİLAZ	223	5,178	47,043
WBC	223	1,436	2,679
HGB	223	-0,729	1,913
PLT	222	0,953	3,404

Değerler incelendiğinde bazı parametrelerin basıklık ve çarpıklık katsayılarının -3 ile +3 arasında olduğu, bazılarının ise olmadığı görülmektedir. Bu sonuca göre normal dağılım koşulunu sağlayan parametreler için t testi ile analiz yapılırken normal dağılım koşulunu sağlamayan parametreler için Mann Whitney U testi ile analiz yapılmıştır. Bununla birlikte PCR sonuçlarına göre gruplar ve cinsiyet arasındaki ilişki ki kare testi ile analiz edilmiştir.

Çizelge 4.2. Hasta ve kontrol grupları ile PCR sonuçları ve cinsiyet arasındaki ilişkinin analiz edilmesi için yapılan ki kare testi sonuçları verilmiştir

		Hasta		Kontrol		Ki Kare Testi	
		n	%	n	%	X ²	P
PCR	CG	27	24,8	19	16,7	2,235	0,135
	CC	82	75,2	95	83,3		
CİNSİYET	Kadın	51	46,8	54	47,4	0,008	0,931
	Erkek	58	53,2	60	52,6		

Hasta ve kontrol grupları ile PCR sonuçları ve cinsiyet arasındaki ilişki analizi yapılan ki kare testi sonuçlarına göre tabloda gösterilmiştir..Hasta grubundakilerin %24,8'inin, kontrol grubundakilerin ise %16,7'sinin PCR sonucu CG'dir. Hasta grubundakilerin %53,2'si, kontrol grubundakilerin ise %52,6'sı erkektir. Analiz sonuçlarına göre grup ile PCR arasında ve grup ile cinsiyet arasındaki ilişki istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur.(p>0,05).



Şekil 4.1.PCR sonuçları ile cinsiyet arasında karşılaştırma grafiği yüzdeler olarak verilmiştir

Çizelge 4.3. PCR sonuçlarına göre cinsiyet ile hasta ve kontrol grupları arasındaki ilişkisi ki kare testi sonuçları tabloda verilmiştir

		Hasta		Kontrol		Ki Kare Testi	
		n	%	n	%	X ²	p
CG	Kadın	13	48,1	10	52,6	0,090	0,765
	Erkek	14	51,9	9	47,4	0,090	0,765
CC	Kadın	38	46,3	44	46,3	0,000	0,997
	Erkek	44	53,7	51	53,7	0,000	0,997

PCR sonuçlarına göre cinsiyet ile gruplar arasındaki ilişki analiz edilmiştir.ki kare testi sonuçları tabloda verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre PRC testi sonucu CG olanlarda cinsiyet ile grup arasında ve PCR testi sonucu CC olanlarda cinsiyet ile grup arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur (p>0,05).

Çizelge 4.4.Cinsiyete göre PCR sonuçları ile gruplar arasındaki ilişkisi ki kare testi sonuçları tabloda verilmiştir

		CG		CC		Ki Kare Testi	
		n	%	n	%	X ²	p
KADIN	Hasta	13	56,5	38	46,3	0,745	0,388
	Kontrol	10	43,5	44	53,7	0,745	0,388
ERKEK	Hasta	14	60,9	44	46,3	1,569	0,210
	Kontrol	9	39,1	51	53,7	1,569	0,210

Cinsiyetlere göre PCR sonuçları ile gruplar arasındaki ilişkinin analiz edilmesi amacıyla yapılan ki kare testi sonuçları tablodadır. Analiz sonuçlarına göre kadınlarda PCR testi sonuçları ile gruplar arasında ve erkeklerde PCR testi sonuçları ile gruplar arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur (p>0,05).

Çizelge 4.5.Grupların yaş ve kan parametreleri açısından karşılaştırılması (t testi)sonuçlarına göre tabloda verilmiştir.

		n	Ort.	ss	t	p
YAŞ	Hasta	109	58,67	14,08	2,559	0,011*
	Kontrol	114	53,68	14,97		
ÜRİK ASİT	Hasta	109	4,96	1,69	0,328	0,743
	Kontrol	114	4,88	1,92		
NA	Hasta	109	137,45	4,35	-2,985	0,003*
	Kontrol	114	139,01	3,36		
K	Hasta	109	4,50	0,57	3,243	0,001*
	Kontrol	114	4,25	0,59		
WBC	Hasta	109	8,79	3,18	0,211	0,833
	Kontrol	114	8,69	3,35		
HGB	Hasta	109	12,70	2,65	-0,847	0,398
	Kontrol	114	12,98	2,25		

*p<0,05

Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve kan parametreleri açısından karşılaştırılması için yapılan t testi sonuçlarına göre tabloda verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre hasta - kontrol grubu arasında yaş açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,011) ve ortalama değerlere göre hasta grubundaki bireylerin yaşları daha büyüktür.

Hasta grubu ile kontrol grubu arasında NA değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,003) ve ortalama değerlere göre hasta grubundakilerin NA değerleri daha düşüktür.

Hasta grubu ile kontrol grubu arasında K değerlerinde istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,001) ve ortalama değerlere göre hasta grubundakilerin K değerleri daha yüksektir.

Çizelge 4.6. Grupların kan parametreleri açısından karşılaştırılması Mann Whitney U testi sonuçlarına göre tabloda verilmiştir

		n	Ort.	ss	U	p
GLUKOZ	Hasta	109	187,62	83,23	293,000	0,000*
	Kontrol	114	91,00	7,62		
ÜRE	Hasta	109	47,51	29,88	4028,500	0,000*
	Kontrol	114	35,26	21,55		
KREATİNİN	Hasta	109	1,22	1,14	4281,500	0,000*
	Kontrol	114	0,81	0,44		
ALT	Hasta	109	37,49	86,15	5284,500	0,054
	Kontrol	114	27,09	22,14		
GGT	Hasta	109	53,73	62,45	4584,500	0,001*
	Kontrol	114	42,18	73,17		
AMİLAZ	Hasta	109	67,73	32,02	6058,500	0,748
	Kontrol	114	71,04	55,20		
PLT	Hasta	108	290,93	86,98	5173,000	0,040*
	Kontrol	114	272,64	114,49		

*p<0,05

Gruplarıkan parametreleri bakımından karşılaştıran Mann Whitney U testi sonuçları tabloda verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre hasta - kontrol grubu arasında glukoz değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p<0,05) ve ortalama değerlere göre kontrol grubundakilerin glukoz değerleri daha düşüktür.

Hasta grubu ile kontrol grubu arasında üre değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p<0,05) ve ortalama değerlere göre kontrol grubundakilerin üre değerleri daha düşüktür.

Hasta grubu ile kontrol grubu arasında kreatinin değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p<0,05) ve ortalama değerlere göre kontrol grubundakilerin kreatinin değerleri daha düşüktür.

Hasta grubu ile kontrol grubu arasında GGT değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,001) ve ortalama değerlere göre kontrol grubundakilerin GGT değerleri daha düşüktür.

Hasta grubu ile kontrol grubu arasında Plt değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,04) ve ortalama değerlere göre kontrol grubundakilerin PLT değerleri daha düşüktür.

Çizelge 4.7. Hasta grubundaki bireylerin PCR sonuçlarına göre kan parametrelerin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir

	Hasta				Karşılaştırma Testi	
	CG		CC		Test İstatistiği	P
	Ort.	ss	Ort.	ss		
YAŞ	56,44	14,12	59,40	14,07	-0,946^a	0,346
HbA1C	9,20	2,34	8,60	2,05	1,269^a	0,207
HbA1C-IFCC(SI)	77,42	25,27	70,57	22,46	1,331^a	0,186
GLUKOZ	190,67	65,53	186,62	88,63	979,500^b	0,371
ÜRE	44,45	21,47	48,51	32,22	1093,000^b	0,922
KREATİNİN	1,15	0,82	1,24	1,23	1082,000^b	0,860
ÜRİK ASİT	5,30	1,79	4,84	1,65	1,227^a	0,223
ALT	36,85	19,95	37,70	98,83	744,000^b	0,011*
GGT	58,48	55,52	52,17	64,81	889,000^b	0,126
NA	137,30	4,30	137,50	4,39	-0,210^a	0,834
K	4,33	0,34	4,56	0,62	-2,475^a	0,015*
AMİLAZ	65,04	28,21	68,61	33,29	1034,000^b	0,608
WBC	8,24	3,41	8,97	3,10	-1,037^a	0,302
HGB	12,79	3,06	12,67	2,51	0,193^a	0,847
PLT	255,04	70,99	302,90	88,88	745,000^b	0,013*

a: t testi (t istatistiği) b: Mann Whitney U testi (U istatistiği) *p<0,05

Hasta grubundaki bireylerin PCR sonuçlarına göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda belirtilmiştir. Analiz sonuçlarına göre hasta grubunda PCR sonucu CG olanlar ile CC olanlar arasında ALT değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,011). Ortalama değerlere göre PCR sonucu CG olanların ALT değerleri CC olanlara göre daha düşüktür. Hasta grubunda PCR sonucu CG olanlar ile CC olanlar arasında K değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,015). Ortalama değerlere göre PCR sonucu CG olanların K değerleri CC olanlara göre daha düşüktür. Hasta grubunda PCR sonucu CG olanlar ile CC olanlar arasında PLT değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,013). Ortalama değerlere göre PCR sonucu CG olanların PLT değerleri CC olanlara göre daha düşüktür.

Çizelge 4.8.Kontrol grubundaki bireylerin PCR sonuçlarına göre kan parametrelerin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir.

	Kontrol				Karşılaştırma Testi	
	CG		CC		Test İstatistiği	P
	Ort.	ss	Ort.	ss		
YAŞ	56,26	15,60	53,17	14,88	0,821^a	0,413
GLUKOZ	90,42	6,77	91,12	7,81	829,000^b	0,576
ÜRE	32,66	13,87	35,78	22,80	855,500^b	0,720
KREATİNİN	0,83	0,32	0,81	0,46	840,000^b	0,632
ÜRİK ASİT	5,45	2,53	4,76	1,77	1,426^a	0,157
ALT	21,68	21,07	28,17	22,29	713,500^b	0,150
GGT	37,58	49,41	43,11	77,23	860,500^b	0,749
NA	138,95	2,15	139,02	3,56	-0,087^a	0,931
K	4,12	0,52	4,27	0,60	-1,038^a	0,302
AMİLAZ	62,63	24,94	72,72	59,38	869,000^b	0,799
WBC	8,29	2,64	8,78	3,48	-0,578^a	0,564
HGB	13,02	1,81	12,97	2,34	0,079^a	0,937
PLT	282,46	132,11	270,67	111,32	883,500^b	0,885

a: t testi (t istatistiği) b: Mann Whitney U testi (U istatistiği)

Kontrol grubundakibireylerin PCR sonuçlarına göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda belirtilmiştir. Analiz sonuçlarına göre kontrol grubunda PCR sonucu CG olanlar ile CC olanlar arasında yaş ve diğer ölçülen değerler açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p>0,05$).

Çizelge 4.9. PCR sonucu CG olan bireylerin hasta/kontrol grubuna göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir

	CG				Karşılaştırma Testi	
	Hasta		Kontrol		Test İstatistiği	p
	Ort.	ss	Ort.	ss		
YAŞ	56,44	14,12	56,26	15,60	0,041^a	0,967
GLUKOZ	190,67	65,53	90,42	6,77	7,500^b	0,000*
ÜRE	44,45	21,47	32,66	13,87	157,000^b	0,026*
KREATİNİN	1,15	0,82	0,83	0,32	178,500^b	0,079
ÜRİK ASİT	5,30	1,79	5,45	2,53	-0,232^a	0,817
ALT	36,85	19,95	21,68	21,07	93,000^b	0,000*
GGT	58,48	55,52	37,58	49,41	139,000^b	0,009*
NA	137,30	4,30	138,95	2,15	-1,713^a	0,094
K	4,33	0,34	4,12	0,52	1,616^a	0,113
AMİLAZ	65,04	28,21	62,63	24,94	249,000^b	0,867
WBC	8,24	3,41	8,29	2,64	-0,054^a	0,957
HGB	12,79	3,06	13,02	1,81	-0,319^a	0,751
PLT	255,04	70,99	282,46	132,11	235,500^b	0,639

a: t testi (t istatistiği) b: Mann Whitney U testi (U istatistiği) *p<0,05

PCR sonucu CG olan bireylerin hasta ve kontrol grubuna göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre PCR sonucu CG olan bireylerden hasta-kontrol grubu arasında glukoz açısından istatistiği anlamlı görülmüştür (p<0,05) ve hasta grubundaglukoz değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CG olan bireylerin hasta- kontrol grubu arasında üre açısından istatistiği anlamlı görülmüştür (p=0,026) ve hasta grubunda üre değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CG olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında ALT açısından istatistiği anlamlı görülmüştür (p<0,05) ve hasta grubundaALT değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CG olan bireylerin hasta- kontrol grubu arasında GGT açısından istatistiği anlamlı görülmüştür ($p=0,009$) ve hasta grubunda GGT değerleri daha yüksektir.

Çizelge 4.10. PCR sonucu CC olan bireylerin hasta/kontrol grubuna göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir

	CC				Karşılaştırma Testi	
	Hasta		Kontrol		Test İstatistiği	p
	Ort.	ss	Ort.	ss		
YAŞ	59,40	14,07	53,17	14,88	2,850^a	0,005*
GLUKOZ	186,62	88,63	91,12	7,81	209,000^b	0,000*
ÜRE	48,51	32,22	35,78	22,80	2552,000^b	0,000*
KREATİNİN	1,24	1,23	0,81	0,46	2670,000^b	0,000*
ÜRİK ASİT	4,84	1,65	4,76	1,77	0,311^a	0,757
ALT	37,70	98,83	28,17	22,29	3801,000^b	0,782
GGT	52,17	64,81	43,11	77,23	3111,500^b	0,021*
NA	137,50	4,39	139,02	3,56	-2,543^a	0,012*
K	4,56	0,62	4,27	0,60	3,092^a	0,002*
AMİLAZ	68,61	33,29	72,72	59,38	3743,500^b	0,656
WBC	8,97	3,10	8,78	3,48	0,385^a	0,701
HGB	12,67	2,51	12,97	2,34	-0,819^a	0,414
PLT	302,90	88,88	270,67	111,32	2916,000^b	0,006*

a: t testi (t istatistiği) b: Mann Whitney U testi (U istatistiği) * $p<0,05$

PCR sonucu CC olan bireylerin hasta ve kontrol grubuna göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre PCR sonucu CC olan bireylerin hasta -kontrol grubu arasında yaş açısından istatistiği anlamlı görülmüştür. ($p=0,005$) ve hasta grubunda bulunan bireylerin yaşları daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında glukoz açısından istatistiği anlamlı görülmüştür. ($p<0,05$) ve hasta grubunda glukoz değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında üre açısından istatistiği anlamlı görülmüştür. ($p<0,05$) ve hasta grubunda üre değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında kreatinin açısından istatistiği anlamlı görülmüştür($p<0,05$) ve hasta grubunda kreatinin değerleri daha dŐktr.

PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında GGT açısından istatistiği anlamlı görülmüştür($p=0,021$) ve hasta grubunda GGT değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında Na açısından istatistiği anlamlı görülmüştür ($p=0,012$) ve hasta grubunda Na değerleri daha dŐktr.

PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında K açısından istatistiği anlamlı görülmüştür($p=0,002$) ve hasta grubunda K değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında PLT açısından istatistiği anlamlı görülmüştür. ($p=0,006$) ve hasta grubunda PLT değerleri daha yüksektir.

Çizelge 4.11. Hasta grubunda PCR sonucu CG olan bireylerin cinsiyete göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir.

	PCR = CG				Karşılaştırma Testi	
	Hasta					
	Kadın	Erkek	Ort.	ss	Test İstatistiği	p
YAŞ	61,08	52,14	13,56	13,70	1,702^a	0,101
HbA1C	10,24	8,23	2,63	1,57	2,432^a	0,023*
HbA1C-IFCC(SI)	88,40	67,22	28,74	16,82	2,359^a	0,026*
GLUKOZ	167,85	211,86	52,18	71,20	58,500^b	0,115
ÜRE	47,05	42,04	20,71	22,66	69,500^b	0,296
KREATİNİN	0,88	1,40	0,55	0,96	35,000^b	0,006*
ÜRİK ASİT	5,11	5,48	1,99	1,63	-0,532^a	0,599
ALT	39,15	34,71	23,12	17,10	84,000^b	0,734
GGT	49,08	67,21	53,58	57,84	52,000^b	0,058
NA	137,54	137,07	4,84	3,91	0,277^a	0,784
K	4,26	4,39	0,28	0,38	-0,959^a	0,347
AMİLAZ	62,38	67,50	24,07	32,31	85,500^b	0,789
WBC	9,07	7,46	3,77	2,97	1,233^a	0,229
HGB	12,78	12,79	2,18	3,79	-0,003^a	0,998
PLT	237,91	270,95	60,87	78,05	67,000^b	0,244

a: t testi (t istatistiği) b: Mann Whitney U testi (U istatistiği)*p<0,05

Hasta grubunda PCR sonucu CG olan bireylerin cinsiyete göre kan parametrelerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda verilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre hasta grubunda,PCR sonucu CG olan bireylerde kadın ile erkekler arasında HbA1C açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,023) ve kadınların HbA1C değerleri daha yüksektir.

Hasta grubunda, PCR sonucu CG olan bireylerde kadın ile erkekler arasında HbA1C-IFCC(SI) açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur(p=0,026) ve kadınların HbA1C-IFCC(SI) değerleri daha yüksektir.

Hasta grubunda, PCR sonucu CG olan bireylerde kadın ile erkekler arasındakreatinin açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur(p=0,006) ve erkeklerin değerleri daha yüksektir.

Çizelge 4.12. Kontrol grubunda PCR sonucu CG olan bireylerin cinsiyete göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir.

	PCR = CG					
	Kontrol				Karşılaştırma Testi	
	Kadın		Erkek		Test İstatistiği	p
Ort.	ss	Ort.	ss			
YAŞ	50,60	17,85	62,56	10,20	-1,764^a	0,096
GLUKOZ	88,50	6,19	92,56	7,09	28,000^b	0,164
ÜRE	28,25	8,06	37,57	17,55	29,000^b	0,189
KREATİNİN	0,69	0,19	0,99	0,38	22,000^b	0,057
ÜRİK ASİT	4,61	1,16	6,38	3,31	-1,519^a	0,160
ALT	14,60	3,72	29,56	29,17	11,000^b	0,005*
GGT	19,40	6,55	57,78	67,62	20,500^b	0,045*
NA	139,60	1,84	138,22	2,33	1,438^a	0,169
K	4,21	0,31	4,02	0,70	0,770^a	0,452
AMİLAZ	64,40	20,45	60,67	30,34	36,000^b	0,462
WBC	7,84	1,77	8,78	3,42	-0,767^a	0,454
HGB	12,46	0,62	13,63	2,48	-1,372^a	0,204
PLT	286,21	64,18	278,30	186,00	30,000^b	0,220

a: t testi (t istatistiği) b: Mann Whitney U testi (U istatistiği) *p<0,05

Kontrol grubunda PCR sonucu CG olan bireylerin cinsiyete göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre kontrol grubunda, PCR sonucu CG olan bireylerde kadın ile erkekler arasında ALT açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,005) ve erkeklerin değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CG olan bireylerde kadın ile erkekler arasında GGT açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,045) ve erkeklerin değerleri daha yüksektir.

Çizelge 4.13. Hasta grubunda PCR sonucu CC olan bireylerin cinsiyete göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir.

	PCR = CC					
	Hasta				Karşılaştırma Testi	
	Kadın		Erkek		Test İstatistiği	p
Ort.	ss	Ort.	ss			
YAŞ	60,21	12,89	58,70	15,13	0,481^a	0,632
HbA1C	9,17	2,35	8,10	1,63	2,364^a	0,021*
HbA1C-IFCC(SI)	76,70	25,74	65,28	17,84	2,299^a	0,025*
GLUKOZ	203,24	99,00	172,27	76,87	678,000^b	0,142
ÜRE	48,46	35,81	48,56	29,19	752,500^b	0,437
KREATİNİN	1,18	1,24	1,29	1,23	618,500^b	0,042*
ÜRİK ASİT	4,79	1,45	4,89	1,82	-0,277^a	0,783
ALT	43,00	143,75	33,11	23,92	540,000^b	0,006*
GGT	45,37	56,76	58,05	71,16	649,500^b	0,083
NA	137,18	4,29	137,77	4,51	-0,603^a	0,548
K	4,62	0,58	4,51	0,65	0,814^a	0,418
AMİLAZ	70,58	38,89	66,92	27,93	823,000^b	0,904
WBC	9,46	3,16	8,54	3,01	1,350^a	0,181
HGB	12,43	1,57	12,88	3,11	-0,852^a	0,398
PLT	326,00	85,46	282,49	87,77	596,500^b	0,037*

a: t testi (t istatistiği) b: Mann Whitney U testi (U istatistiği) *p<0,05

Hasta grubunda PCR sonucu CC olan bireylerin cinsiyete göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre PCR sonucu CC olan bireylerde kadın ile erkekler arasında HbA1C açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,021) ve kadınların değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerde kadın ile erkekler arasında HbA1C-IFCC(SI) açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,025) ve kadınların değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerde kadın ile erkekler arasında kreatinin açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur (p=0,042) ve erkeklerin değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerde kadın ile erkekler arasında ALT açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur ($p=0,006$) ve kadınların değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerde kadın ile erkekler arasında PLT açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur ($p=0,037$) ve kadınların değerleri daha yüksektir.

Çizelge 4.14. Kontrol grubunda PCR sonucu CC olan bireylerin cinsiyete göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir.

	PCR = CC					
	Kontrol				Karşılaştırma Testi	
	Kadın		Erkek		Test İstatistiği	p
Ort.	ss	Ort.	ss			
YAŞ	53,73	16,81	52,69	13,14	0,338^a	0,736
GLUKOZ	91,07	8,79	91,16	6,94	1093,000^b	0,828
ÜRE	31,37	19,67	39,58	24,74	758,500^b	0,007*
KREATİNİN	0,68	0,54	0,92	0,35	448,000^b	0,000*
ÜRİK ASİT	4,47	2,04	5,02	1,49	-1,517^a	0,133
ALT	26,50	24,33	29,61	20,51	894,500^b	0,089
GGT	36,11	61,05	49,14	89,03	946,000^b	0,189
NA	139,48	3,43	138,63	3,66	1,161^a	0,249
K	4,23	0,54	4,32	0,65	-0,747^a	0,457
AMİLAZ	80,16	75,91	66,29	39,79	926,000^b	0,143
WBC	7,95	3,03	9,48	3,72	-2,175^a	0,032*
HGB	12,30	1,76	13,55	2,62	-2,763^a	0,007*
PLT	258,01	86,12	281,60	129,06	1050,500^b	0,594

a: t testi (t istatistiği) b: Mann Whitney U testi (U istatistiği) * $p<0,05$

Kontrol grubunda PCR sonucu CC olan bireylerin cinsiyete göre kan parametrelerinin karşılaştırıldığı t testi ve Mann Whitney U testi sonuçları tabloda gösterilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre PCR sonucu CC olan bireylerinkadın ile erkekler arasında üre açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur ($p=0,007$) ve erkeklerin değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerinkadın ile erkekler arasında kreatinin açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) ve erkeklerin değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerinkadın ile erkekler arasında WBC açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p=0,032$) ve erkeklerin değerleri daha yüksektir.

PCR sonucu CC olan bireylerinkadın ile erkekler arasında HGB açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p=0,007$) ve erkeklerin değerleri daha yüksektir.

4.2. Tartışma

Syed ve ark. (2014) Pakistan popülasyonunda yapılan bir çalışmada romatoid artrit (RA) hastalığı ile PPARG rs1801282 polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Genotiplendirme, ARMSPCR yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Yapılan araştırmada PPARG rs1801282 polimorfizminin Pakistanlılarda romatoid artrit ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışma ile karşılaştırdığımızda bu çalışma diyabet hastalarından oluşan bireyler üzerinde ileriki çalışmalarda yapılabilir. RT-PCR yöntemi tercih edilebilir. Aynı gen polimorfizminin her iki hastalık üzerindeki etkisi araştırılabilir.

Rotter ve ark. (2016) tarafından Kafkas kökenli bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada, obezite ve lipid bozuklukları gibi metabolik hastalıkların genetik faktörlerle ilişkili olabilirdiği araştırılmıştır. FTO rs9939609, MC4R rs17782313 ve PPAR γ rs1801282 polimorfizimleri ile MetS ve bileşenlerinin varlığı, eşzamanlı lipid bozuklukları ve cinsiyet hormonu konsantrasyonları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu çalışma, analiz edilen genetik polimorfizmler ile MetS, T2DM, HT ve obezite varlığı arasındaki bağlantıları gösterememiştir. Bu çalışmayla karşılaştırdığımızda çalışmamızın sonuçları, T2DM hastalığında PPARG rs1801282 polimorfizm ilişkisi anlamlı bulunmuştur. Fakat T2DM üzerinde etkili olabilen birden fazla genin olması, çevresel faktörlerin de hastalığın gelişiminde rol oynaması, patojeninizdeki etkinin anlaşılmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle PPARG geninin hastalığın gelişimindeki rolünü belirlemek için daha çok sayıda hastanın yer aldığı geniş popülasyonlarda çalışılması gerekmektedir. Çalışmaya dahil edilen bireylerden farklı gen bölgelerinin etkisinde incelenmesinin hastalığın patogenezinin anlaşılmasında faydalı olacaktır.

Naemi and Ahmad (2018) Irak halkında yapılan bir çalışmada, Pro12Ala (rs1801282) polimorfizminin T2DM ile ilişkisi araştırılmıştır. 97 T2DM hastası ve 95 sağlıklı birey olmak üzere toplamda 192 yetişkin birey çalışmaya dahil edilmiştir. PCR-RFLP yöntemi kullanılarak genotipleme yapılmıştır. Pro12Ala genotipleri ile ilgili klinik, antropometrik ve biyokimyasal değişkenler karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak bu çalışma, Arap Iraklılar arasında Ala12 alelinin nispeten yüksek bir frekansını ortaya çıkarmıştır. Fakat bu frekanslar, Pro12Ala'nın T2DM ile ilişkisini tam olarak açıklayamamıştır. Bu çalışma bizim yaptığımız çalışma ile benzerlik göstermektedir. Fakat bizim genotipleme tekniğimiz RT-PCR olarak tercih edilmiştir. Çalışmamızda dahil ettiğimiz birey sayısı daha yüksek tutulmuştur. Çalışmamızda dahil ettiğimiz bireylerin T2DM hastalığının tanısında gerekli görülen biyokimyasal analizleri de yapılmıştır. Çalışma gruplarının çeşitli kan parametreleri açısından karşılaştırılması çalışmaya daha da anlamlı katkılar sağlamıştır.

Rehman ve ark.(2020) Pakistan halkı üzerinde yapılan bir çalışmada, kardiyovasküler hastalık (KVH) tanısı bulunan hastalarda PPARG (rs1801282) tek nükleotid polimorfizminin T2DM risk faktörleri ile ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmaya Kardiyoloji Bölümü, Sargodha Bölgesi Merkez Eğitim Hastanesi, Pakistanlı 244 birey katılmıştır. 244 katılımcının 144'ü hasta ve 100'ü sağlıklı bireylerden oluşturulmuştur. KVH hastaları ayrıca 111 koroner arter hastası (KAH) ve 33' ü kardiyomiyopati hastası olarak ayrılmıştır. Çalışmada ARMS-PCR yöntemi kullanılmıştır. Biyokimyasal analizleri de ek olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak, KMP hastalarına kıyasla özellikle KAH hastalarında PPAR- γ 'da Pro/Ala mutasyonuna eşlik eden en kritik risk faktörlerinin obezite, hipertansiyon ve sigara içme (sırasıyla %35, %23, %21) olduğu tespit edilmiştir. KAH hastalarında Pro/Ala mutasyonu ile yüksek glikoz, kolesterol, trigliserit ve ALT seviyeleri arasında benzer bir ilişki gözlenmiştir. Ayrıca, ACE inhibitörleri (%18) ve β -blokerler (%13) kullanan KAH hastalarının Pro/Ala genotipinin taşıyıcıları olduğu ve ayrıca glikoz seviyesinde önemli artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışma da bizim çalışmayı sonuçlar açısından desteklemektedir. Bizim çalışmamız, T2DM ile beraber gelişebilen kalp ve damar hastalıkları ve aynı zamanda yağ metabolizması ile ilişkili olabilecek gen bölgelerinin araştırıldığı çalışmalara da yol gösterici olacaktır. Aynı zamanda genetiipleme olarak farklı yöntem kullanılmıştır.

Bakhashab ve ark. (2020) Yapılan bir çalışmada PPARG rs1801282, yağ kütlesi ve obezite ile ilişkili protein (FTO) rs9939609 ve melanokortin 4 reseptörü (MC4R) rs2229616 polimorfizmlerinin allel ve genotip sıklığı ve bunların birbiriyle olan ilişkileri araştırılmıştır. Batı Suudi popülasyonunda yapılan bu çalışmada, kontrol ve T2DM hastalarından alınan genomik DNA, bu tek nükleotid polimorfizmleri için izole edilmiştir ve genotiplendirilmiştir. MC4R ile önemli bir ilişki tespit edilmiştir. T2DM ile rs2229616 varyantı, ancak PPARG rs1801282 veya FTO rs9939609 ile T2DM ile hiçbir ilişki saptanmamıştır. PPARG rs1801282 için C/C, FTO rs9939609 için A/A ve MC4R rs2229616 için C/C kombinasyonu, T2DM riskini 1,82 arttırdığı tespit edilmiştir. FTO rs9939609 için A/T genotipinin, PPARG rs1801282 için C/C ve MC4R rs2229616 için C /C veya PPARG rs1801282 ve C/T MC4R rs2229616 için C/C ile birleştirildiğinde T2DM riskini azalttığı tahmin edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma Suudi popülasyonun da T2DM gelişimi için değerlendirilen varyantların riskini göstermiştir. Bu çalışmanın bizim çalışmamıza göre avantajlı oluşu birkaç gen polimorfizmin etkileşimi araştırılmıştır. Fakat bizim çalışmamızda bir polimorfizmin diyabet üzerindeki etkisi araştırıldığından dolayı sonuçlar daha belirleyici olmuştur.

Erkoç ve ark. (2021) Türk toplumunda yapılan bir çalışmada, PPARG genindeki Pro12Ala'nın insülin direnci gelişimi ve T2DM riski üzerine etkileri araştırılmıştır. Konya bölgesinde yaşayan 181 obez olmayan ve 206 obez olmak üzere toplamda 387 T2DM tanısı almış kişi ve 264 (137 obez olmayan /127 obez) sağlıklı kişi olmak üzere toplam 650 kişide değerlendirme yapılmıştır. Bireylerden alınan kan örneklerinden, T2DM ile ilişkili biyokimyasal parametreler analiz edilmiş ve sonrasında HOMA-IR (HOMA indeksi) hesaplanmış. HOMAIR indeksi 2.5'ten yüksek olan kişiler insüline dirençli olarak kabul edilmiştir. İzole edilen DNA

örneklerinde, Pro12Ala genotiplendirmesi RT-PCR tekniği ile çalışılmış. Sonuç olarak, hem genetik faktörlerin hem de çevresel faktörlerin bir arada bulunması hastalığın gelişiminde etkili olduğu belirtilmiştir. Birden fazla geninT2DM gelişiminde etkili olması da hastalığın patogenezindeki etkisinin anlaşılmasını zorlaştırdığı belirtilmiştir. Bu nedenle, PPARG'nin hastalığın genetik zeminindeki olası rolünü belirlemek için daha büyük popülasyonlarda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Çalışma Türk toplumunda PPARG ve T2D ilişkisi bakımından sunulan ilk rapor olması ile önem arz etmektedir. Bizim çalışmamız da bu çalışmayı tamamen destekleyici niteliktedir.



5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Genetik olarak Tip 2 Diyabet oluşumunda ana rol oynayan tek bir gen bulunmamaktadır ama çevresel faktörlere tepki veren ortalama etkilere sahip pek çok gen vardır. Bu nedenle çalışma planımızda aday gen olarak kabul edilen PPARG geninin sekansları incelenerek rs1801282 polimorfizmi tespit edilmiştir.

5.1. Sonuçlar

- Çalışmamıza toplamda 223 gönüllü birey katılmıştır. Katılan gönüllü bireylerin 109' u hasta grubundadır ve 114' ü ise kontrol grubundadır.
- Hasta olguların 58' i erkek, 51' i ise kadın bireylerden oluşmaktadır. Kontrol grubunun 60' ı erkek,54' ü ise kadın bireylerden oluşmaktadır. Hasta grubundakilerin %53,2'si, kontrol grubundakilerin ise %%52,6'sı erkektir.
- Çalışmamıza katılan Tip-2 DM hastalarının yaş ortalaması 58,66' dır.Çalışmamıza katılan kontrol grubu sağlıklı bireylerin de yaş ortalaması 53,68'dir.Analiz sonuçlarına göre hasta - kontrol grubu arasında yaş açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p=0,011$) ve ortalama değerlere göre hasta grubunda bireylerin yaş ortalamaları daha büyüktür.
- Çalışmamızda hasta grubunda 109 bireyin 27' si CG ve 82'si CC genotipine sahiptir. Kontrol grubunda ise 114 sağlıklı bireyin 20'si CG ve 94'ü CC genotipine sahiptir. Hasta grubundaki bireylerin %24,8'inin, kontrol grubundakilerin ise %16,7'sinin PCR sonucu CG'dir.
- Hasta grubu ile kontrol grubu arasında ve ayrıca genotiplere göre gruplar arasında, kan glukozu ve glikolize hemoglobin (HbA1c) değerleri gruplar arasında ve bazı biyokimyasal analiz sonuçları da dikkate alınarak karşılaştırma yapılmıştır.
- Analiz sonuçlarına göre hasta grubunda PCR sonucu CG olan bireylerde kadın ile erkekler arasında HbA1C açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur ($p=0,023$) ve kadınların HbA1C değerleri daha yüksektir.

- Hasta grubunda, PCR sonucu CG olan bireylerde kadın ile erkekler arasında HbA1C-IFCC(SI) açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p=0,026$) ve kadınların HbA1C-IFCC(SI) değerleri daha yüksektir.
- Analiz sonuçlarına göre PCR sonucu CG olan bireylerden hasta - kontrol grubu arasında glukoz açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) ve hasta grubunda glukoz değerleri daha yüksektir.
- PCR sonucu CG olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında üre açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p=0,026$) ve hasta grubunda üre değerleri daha yüksektir.
- PCR sonucu CG olan ve hasta grubunda olanlarda kadınlar ile erkekler arasında KREATİNİN açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p=0,006$) ve erkeklerin değerleri daha yüksektir.
- Analiz sonuçlarına göre PCR sonucu CG olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında ALT değerleri açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p<0,05$). Hasta grubunda ALT değerleri daha yüksektir.
- PCR sonucu CG olan bireylerin hasta - kontrol grubunda olanlarda GGT açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p=0,009$) Hasta grubunda GGT değerleri daha yüksektir.
- PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında glukoz açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) ve hasta grubunda glukoz değerleri daha yüksektir.
- PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında üre açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p<0,05$) ve hasta grubunda üre değerleri daha yüksektir.
- PCR sonucu CC olan bireylerin hasta -kontrol grubu arasında kreatinin açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) ve kontrol grubunda kreatinin değerleri daha düşüktür.
- PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında GGT açısından istatistiği anlamlı bulunmuştur($p=0,021$) ve hasta grubunda GGT değerleri daha yüksektir.

- PCR sonucu CC olan bireylerin hasta -kontrol grubu arasında Na açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,012$) ve hasta grubunda Na değerleri daha düşüktür.
- PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında K açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,002$) ve hasta grubunda K değerleri daha yüksektir.
- PCR sonucu CC olan bireylerin hasta - kontrol grubu arasında PLT açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,006$) ve hasta grubunda PLT değerleri daha yüksektir.

5.2. Öneriler

- Genel olarak çalışmamızdaki bulgular literatür sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.
- Bazı risk profillerinin belirlenmesinde genetik açıdan yaklaşımın tanıdan tedaviye klinik kullanıma kolaylık sağlayacaktır.
- Çalışmadan elde edilen bilgilerin kullanılabilir hale getirilmesinde genetik tetkiklerin önemli olduğu vurgulanmıştır.
- Bu çalışma T2DM hastalığı ile beraber gelişimi hızlanabilecek böbrek yetmezliği, kalp ve damar hastalıkları ve hormonal dengenin bozulması gibi bazı hastalıkların tanı ve tedavisinde yol gösterici ve destekleyici olabilir.
- Çalışmaya dahil edilen bireylerden farklı gen bölgelerinin etkisini incelemenin hastalığın patogenezinin anlaşılmasında faydalı olacaktır.
- Bu konuda T2DM gelişiminde gen polimorfizmlerinin değerlendirildiği daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- ADEGHATE, E., SCHATTNER P. and DUNN, E., 2006. An update on the etiology and Epidemiology of Diabetes Mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 1084: 1-29)
- AHMED, W., ZIOUZENKOVA, O., BROWN, J., DEVCHAND, P., FRANCIS, S., KADAKIA, M. ET AL., PPARs and their metabolic modulation: new mechanisms for transcriptional regulation?. *J Intern Med* 2007; 262: 184-189.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA).2015. Diagnosis and classification of diabetes mellitus, *Diabetes Care* 2015;38(Suppl):8-16.
- AKÇAMLI, D., SİPAHİ, S., YÜKSEL, İ., KAVAS N.C., POLAT, T., SERCAN, C., KAPICI BAŞAK, S., EKEN, F. ve ULUCAN, K. 2018. Futbolcularda Peroksizom Proliferatör – Aktive Reseptör Alfa rs4253778 Polimorfizm Dağılımının Belirlenmesi, *Avrasya Spor Bilimleri Araştırmaları*, ERISS, Cilt 3:2
- ALTSHULER, D., HIRSCHHORN, J.N. and KLANNEMARK, M. ET, AL., 2000. The common PPAR γ Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*, 26:76–80).
- BAKHASHAB, S., FILIMBAN, N., ALTALL, RM., NASIR, R., QUSTI, SY., ALQAHTANI, MH., ABUZENADAH, AM., DALLOL, A., 2020 PPAR γ rs1801282, FTO rs9939609 ve MC4R rs2229616 Varyantlarının Batı Suudi Nüfusunda Tip 2 Diabetes Mellitus Riski Üzerindeki Etki Boyutları: Kesitsel Bir Prospektif Çalışma. *Genler* 11 , 98. <https://doi.org/10.3390/genes11010098>.
- BHATIA V., 2004. IAP National Task Force for Childhood Prevention of Adult Diseases. IAP National Task Force for Childhood Prevention of Adult Diseases: insulin resistance and type 2 diabetes mellitus in childhood. *Indian Pediatr* 41:443-57
- BUSTİN, 2000/10/1KaynakJournal of molecular endocrinologyCilt25Sayı2Sayfalar169-193YayıncıBioScientifica
- CAMPAGNA, F.A and IMPERATORE G., 2001. Type 2 Diabetes in children. *BMJ*, 322: 377-78.
- DAS, K.W. and ELBEİN, S.C., 2006. The genetic basis of type 2 diabetes. *Cellscience* 2:100-31.
- DE CARLO, L.T.,1997. “On the Meaning and Use of Kurtosis”, *Psychological Methods*, 2: 292-307.
- DEEB, S.S., FAJAS, L. and NEMOTO, M., ET AL. 1998. A Pro12Ala substitution in PPAR γ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 1998;20:284-7. 21.
- DENİZ, K., BENGÜ, T., AZEHRA, B., CUZAY, G., DOĞUZ, Ö. ve AYDOĞANA, H.Y., 2017. Koroner Kalp Hastalarında PPARG ve PPAR-B/D Gen Varyasyonlarının Serum LDL Alt-fraksiyonlarına Etkilerinin İncelenmesi, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 37(1):1-9.
- DURCOPS, M., BALEYNAUD, S., MAYAUDON, H. and CASTAGNE, C., 1996. Bauduceau B.Prevalence survey of diabetes in Mauritania. *Diabetes Care*, 19: 761-763.73.
- ERKOÇ, K.D., ARİKOGLU, H., İŞÇİOĞLU, F., İPEKÇİ, S. ve BALDANE, S. 2021 .PPARG genindeki Pro12Ala polimorfizmi, Türk populasyonunda insülin direnci ve tip 2 diyabet ile ilişkili değildir: Bir vaka-kontrol çalışması

- Araştırma Makalesi, 31: (4):339 – 343.
- ESCHER, P. and WAHLI, W., 2000. Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions. *Mutat Res*, 448: 121-138.
- FRANCO L.J., 1996. Diabetes in Japanese-Brazilians: influence of the acculturation process. *Diabetes Res Clin Pract*, 34: 51-57.
- GRANT, S.F., THORLEIFSSON, G., REYNISDOTTIR, I., BENEDIKTSSON, R., MANOLESCU, A. and SAÑZ, J., ET AL., 2006. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*, 38: 320-323.
- GROENEVELD, R.A. and MEEDEN, G., 1984. Measuring Skewness and Kurtosis”, *The Statistician*, 33: 391-399.
- GUJA, C. and GAGNIUC, P. (2012). Ionescu-Tirgovişte. Genetic factors involved in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Proc Rom Acad Series B* 1:44-61.
- GÜRBÜZ, E., 2005. Temel ve Klinik Endokrinoloji, Medikal Network.
- HEIKKINEN S, AUWERX J, ARGMAN CA. PPAR γ in human and Mouse physiology. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1771: 999-1013.
- HOPKINS, K.D. and WEEKS, D.L.,1990. Tests for Normality and Measures of Skewness and Kurtosis: Their Place in Research Reporting”, *Educational and Psychological Measurement*, 50: 717-729.
- HUANG, Z., CABANELA, V. and HOWELL, T., 1997. Stress, bottle feeding, and diabetes. *Lancet*, 350: 889.
- KANG, E.S., PARK, S.Y. and KIM, H.J., ET AL. (2005). Effects of Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 gene on rosiglitazone response in type 2 diabetes. *Clin Pharmacol Ther*, 78:202-8.
- LERMAN, I.G., VILLA, A.R., MARTINEZ, C.L., CERVANTES, TURRUBIATEZ, L., AGUILAR, SALINAS, C.A. and WONG, B., ET AL. 1998. The prevalence of diabetes and associated coronary risk factors in urban and rural older Mexicans. *J Am Geriatric Soc*, 46: 1387-1395.
- LYSSENKO, V., ALMGREN, P. and ANEVSKI, D. 2005. Predictors of and longitudinal changes in insulin sensitivity and secretion preceding onset of type 2 diabetes. *Diabetes* 2005;54:166-74.
- MALECKI, M.T. and KLUPA, T., 2005. Type 2 diabetes mellitus: from genes to disease. *Pharmacol Rep*. 57:20-32.
- MOORS, J. J. A. (1986), “The Meaning of Kurtosis: Darlington Reexamined”, *The American Statistician*, 40: 283-284.
- NAEMI A.H. and AHMAD A.J., 2018. Is the rs1801282 (G/C) Polymorphism of PPAR - Gamma Gene Associated with T2DM in Iraqi People? *Open Access Maced J Med Sci*. 6(3): 447–455.
- PEARSON, E.R., 2008. Recent advances in the genetics of diabetes. *Prim Care Diabetes*, 2: 67-72..
- REHMAN, K., JABEEN, K., AWAN, F.R., HUSSAIN, M., SADDIQUE, M.A., SAJID M. and AKASH H. 2020. Biochemical investigation of rs1801282 variations in PPAR- γ gene and its correlation with risk factors of diabetes mellitus in coronary artery disease clinical and experimental, *Cilt* 47 (9): 1517-1529
- RICH, S.S., ONENGUT-GUMUSCU,S. and CONCANNON, P., 2009. Recent Progress in the Genetics of Diabetes. *Horm Res*, 71: 17-23.
- ROTTER, I., SKONIECZNA-ŻYDECKA, K., KOSIK-BOGACKA, D., ADLER,

G., RYŁ, A. and LASZCZYŃSKA, M., 2016. Relationships between FTO rs9939609, MC4R rs17782313, and PPAR γ rs1801282 polymorphisms and the occurrence of selected metabolic and hormonal disorders in middle-aged and elderly men - a preliminary study, *Clin Interv Aging*, 23;11:1723-1732.

- SATMAN I, Yilmaz T, Sengül A, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care* 2002;25:1551-6.
- SAV, A. ve ÖZDAMAR Ş.O., 2009. Hastalığın Patolojik Temelleri. Güneş Tıp Kitabevi.
- SAXENA, R., VOİGH, B.F. and LYSSENKO, V., ET AL. 2007. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science*, 316:1331-6.
- SCHEFE JH, KE Lehmann, IR Buschmann... - Moleküler Dergisi..., 2006 - Springer
- SCHWANSTECHE C, Meyer U, Schwanstecher M. K(IR)6.2 polymorphism predisposes to type 2 diabetes by inducing overactivity of pancreatic α -cell ATP-sensitive K(+) channels. *Diabetes* 2002;51:875-9
- SLADEK, R., ROCHELEAU, G. and RUNG, J., ET AL. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*, 445:881-5.
- STUMVOLL M, GOLDSTEİN, B.J., VAN, HAEFTEN, T.W., 2005. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*, 365: 1333-1346.
- SUN, X., YU, W. and HU, C., 2014. Genetics of type 2 diabetes: insights into the pathogenesis and its clinical application. *Biomed Res Int* 2014;2014:926713.
- SYED, F.J., ILTAF A., ZEESHAN G., MUSHTAQ A., JAVAID M.M., PETER J. and ATTYA, B., 2014 Association of Pro12Ala (rs1801282) variant of PPAR gamma with rheumatoid arthritis in a Pakistani population *Rheumatol Int*, 34(5):699-703.
- YEN, C.J., BEAMER, B.A. and NEGRİ, C. ET, AL., 1997. Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor γ (hPPAR γ) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR γ 2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun*, 241:270- 274.
- YENİGÜN, M., 2001. Her yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi
- ZİMMET, P.Z., MCCARTY, D.E. and COURTEN, M.P., 1997. The global epidemiology of non-insulin-dependent diabetes mellitus and the metabolic syndrome. *J Diabetes Complications* 11:60-8.