

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS'LU
HASTALARDA İRİSİN (FNDC5) GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
HALİL CAŞKA

DANIŞMAN
Prof. Dr. HALİT AKBAŞ

ŞANLIURFA

2020

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS'LU
HASTALARDA İRİSİN (FNDC5) GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
HALİL CAŞKA

DANIŞMAN
Prof. Dr. HALİT AKBAŞ

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
Tarafından 19258 Proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2020

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim sürecinde, engin bilgi, tecrübe ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim çok değerli hocalarıma; başta danışman hocam Sayın Prof. Dr. Halit AKBAŞ olmak üzere, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ hocama ve Dekan yardımcısı Sayın Doç. Dr. Feridun AKKAFİ hocama en kalbi duygularıyla teşekkür ediyorum.

Katkı ve desteklerinden dolayı Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı hocalarımızdan Sayın Doç. Dr. Sibel SAK hocamıza ve ekibine ayrıca teşekkür ediyorum.

Yine bu süreçte manevi desteklerini hissettiğim Harran Üniversitesi Hastanesi Başhekimisi Sayın Dr. Öğretim Üyesi Ahmet GÜZELÇİÇEK'e, ve bana sağladığı kolaylık ve desteklerinden dolayı Şanlıurfa Bahçeşehir Okulları Kurucusu, Eğitimci ve İş insanı Sayın Essum Saatçi ASLAN Hanımefendiye teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan çok kıymetli aileme ve bilhassa yoğun çalışmalarına sabır gösteren değerli eşim ve çocuklarıma çok teşekkür ederim.

Son olarak, dünyaya geldiğim andan itibaren, vefatına kadar adete hayat kaynağım ve güneşim olan Rahmetli Anneme Rabbimden mağfiret diler, ondan razı olmasını ve cennetinde kabul etmesini diliyor ve bu tez çalışmasını ANNEME ithaf ediyorum.

Halil CAŞKA

Temmuz 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	1
İÇİNDEKİLER	2
TABLolar DİZİNİ	4
ŞEKİLLER DİZİNİ	5
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	6
ÖZET	7
ABSTRACT	9
1. GİRİŞ VE AMAÇ	11
2. GENEL BİLGİLER.....	14
2.1. Diabetes Mellitus Türleri.....	14
2.1.1. Tip-1 Diabetes Mellitus.....	14
2.1.2. Tip-2 Diabetes Mellitus.....	15
2.1.3. Spesifik Diyabet Tipleri	15
2.1.4. İnsülin etkisindeki Genetik bozukluklar sonucu oluşan Diyabet	16
2.1.5. Ekzokrin pankreas hastalıklarının sebep olduğu Diyabet	17
2.1.6. Endokrinopatiler sonucu oluşan Diyabet.....	17
2.1.7. İlaç veya kimyasal kaynaklı Diyabet.....	18
2.1.8. Enfeksiyonlar sonucu oluşan Diyabet	18
2.1.9. İmmün aracılı yaygın olmayan Diyabet formları	19
2.1.10. Diyabetle ilişkili diğer genetik sendromlar	19
2.1.11. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)	19
2.1.11.1. GDM Etiyolojisi.....	20
2.1.11.2. Gestasyonel Diyabetes Mellitus Komplikasyonları.....	21
2.1.11.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus Teşhis Kriterleri	21
2.2. Glikoz transport mekanizması ve metabolizması	23
2.3. İnsülin hormonu ve insülin direnci.....	26
2.4. İnsülin Direnci.....	27
2.5. Gestasyonel Diabetes Mellitus genetiği	30
2.6. İrisin	40
2.6.1. İrisin proteinin yapısı.....	41
2.7. <i>FNDC5</i> Geni	44
2.7.1. <i>FNDC5</i> Geninin Polimorfizmleri.....	46

3. GEREÇ VE YÖNTEM	48
3.1. Çalışmaya dahil edilme kriterleri.....	48
3.2. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri.....	49
3.3. Kullanılan Kimyasallar ile Laboratuvar Araç ve Gereçleri	49
3.3.1. Kimyasallar	49
3.3.2. Laboratuvar Araç ve Gereçler.....	49
3.4. DNA Ekstraksiyonu	50
3.4.1. Invitrogen Pure Link Genomik DNA Kiti ile DNA Ekstraksiyon Protokolü:...	50
3.4.2. Ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilen DNA numunelerinin Real-Time PCR tekniği ile analizi:	51
3.5. <i>FNDC5</i> Geninde çalışılan SNP'lerin özellikleri	52
3.6. Genotip Tespiti.....	53
3.7. İstatistiksel Analiz.....	54
4. BULGULAR	54
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri	55
4.2. <i>FNDC5</i> Genindeki Genotip Dağılımı ve Allel Frekansının Analizi.....	55
4.2.1. <i>FNDC5</i> geni G>A (rs726344) Polimorfizmine ait Genotip dağılımı ve allel frekansları.....	56
4.2.2. <i>FNDC5</i> geni G>T (rs16835198) Polimorfizmine ait Genotip dağılımı ve allel frekansları.....	57
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
7. KAYNAKLAR:	63
8. EKLER:	70

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Monogenik Diyabetler (β -Hücrelerindeki Genetik bozukluklar sonucu oluşan Diyabetler)	6
Tablo 2.2. İnsülin etkisindeki Genetik defektler	6
Tablo 2.3. Ekzokrin pankreas hastalıkları	7
Tablo 2.4. Endokrinopatiler.....	7
Tablo 2.5. Diyabeti indükleyen bazı İlaç ve Kimyasallar	8
Tablo 2.6. Diyabetler ilişkili diğer sendromlar	9
Tablo 2.7. NDDG ve Carpenter-Coustan ölçümlerine göre plazma glikoz düzeyleri.....	12
Tablo 2.8. Bazı transport proteinleri.....	14
Tablo 2.9. GDM ile ilişkili üzerinde çalışılmış Genetik varyantlar.....	28-30
Tablo 3.1. Genotipleme analizi için uygulanan RT-PCR programı.....	42
Tablo 3 2. <i>FNDC5</i> geninde bulunun rs726344 polimorfizmi	42
Tablo 3. 3. <i>FNDC5</i> geninde bulunun rs16835198 polimorfizmi	42
Tablo 4.1. Hasta ve Kontrol gruplarının demografik karakteristikleri.....	45
Tablo 4.2. <i>FNDC5</i> geni rs726344 G>A polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı	46
Tablo 4.3. <i>FNDC5</i> geni rs726344 G>A polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları.....	47
Tablo 4.4. <i>FNDC5</i> geni rs16835198 G>T polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı	48
Tablo 4.5. <i>FNDC5</i> geni rs16835198 G>T polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları.....	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. GLU4 transport proteininin membrana hareketi ve glikozları içeri alması	15
Şekil 2.2. İnsülinin yapısı	17
Şekil 2.3. ERK ve PI3K-Akt-mTOR sinyalizasyon yolları	18
Şekil 2.4. mTOR yolağı.....	19
Şekil 2.5. GDM ve obezite ile ilişkili besin taşınımındaki bozukluklar.....	19
Şekil 2.6. Pankreas β hücresinde K-ATP kanalı ve insülin sekresyonu.....	21
Şekil 2.7. UCP2 proteini ve İnsülin sekresyonu ilişkisi.....	21
Şekil 2.8. B hücrelerinin glikoz hassasiyet mekanizması ve insülin salgılanması.....	22
Şekil 2.9. B hücrelerinin glikoz düzeyine tepkisi, GCK enzim etkinliği ve insülin sekresyonu.....	23
Şekil 2.10. İnsülin Reseptörü yapısı.....	24
Şekil 2.11. IRS1'in bazı yolları.....	25
Şekil 2.12. Egzersiz ve fiziksel aktiviteye bağlı olarak İrisinin etkisi.....	31
Şekil 2.13. İrisin oluşumu ve yapısı.....	32
Şekil 2.14. İrisinin sentezlenmesi ve salgılanması.....	32
Şekil 2.15. İrisinin bazı doku ve organlara üzerindeki potansiyel etkileri.....	33
Şekil 2.16. <i>FNDC5</i> geni lokalizasyonu.....	34
Şekil 2.17. <i>FNDC5</i> genin eksprese edildiği bazı dokular.....	35
Şekil 2.18. <i>FNDC5</i> geninin ekspresyonu, kesilmesi ve etkileri.....	36
Şekil 3.1. Wild Alleli belirleyici VIC (Yellow) probu ile işaretli, pozitif ve negatif pik örneği.....	43
Şekil 3.2. Polimorfik Alleli belirleyici FAM (Green) probu ile işaretli, pozitif ve negatif pik örneği.....	44

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADA: American Diabetes Association (Amerikan Diyabet Birliği)

BMI: Body Mass Index (Vücut kitle indeksi)

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial (Diyabet Kontrol ve Komplikasyonları Denemesi-Testi)

DM: Diabetes Mellitus

FNDC5: Fibronectin Type III Domain Containing 5

FPG: Fasting Plasma Glucose (Açlık Plazma Glikozu)

GDM: Gestational Diabetes Mellitus (Gestasyonel Diyabet Mellitus)

GLUTs: Glucose Transporters (Glikoz Taşıyıcılar)

HbA1c: Hemoglobin A1c- Glycated haemoglobin (Glikozillenmiş hemoglobin)

HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (İnsülin Direnci Homeostatik Model Deđerlendirmesi)

IDF: International Diabetes Federation (Uluslararası Diyabet Federasyonu)

IFG: Impaired Fasting Glucose (Bozuk Açlık Glikozu)

IGT: Impaired Glucose Tolerance (Bozuk Glukoz Toleransı)

IR: Insulin Receptor

IRS: Insulin Receptor Substrate

MODY: Maturity-Onset Diabetes of the Young (Olgunluk Başlangıçlı Diyabet)

NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program (Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı)

OGTT: Oral Glucose Tolerance Test (Oral Glukoz Tolerans Testi)

SGLT: Sodyum Glukoz Transporter (Sodyum Glukoz Taşıyıcılar)

SNP: Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)

T1DM: Type 1 Diabetes Mellitus

T2DM: Type 2 Diabetes Mellitus

WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ÖZET

GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA İRİSİN (*FNDC5*) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Halil CAŞKA

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Amaç: Bu çalışmada İrisin (*FNDC5*) genindeki iki polimorfizmin rs726344 (G/A) ve rs16835198 (G>T) serum iris düzeyi üzerindeki etkisi ve Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışma için; Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı polikliniklerine başvuran, ADA (American Diabetes Association) kriterlerine göre, Gestasyonel Diabetes Mellitus tanısı alan 110 hasta ve benzer yaş grubunda olan 123 sağlıklı birey kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grubundaki bireylerden rutin laboratuvar tetkikleri amacıyla hemogram tüplerine (EDTA'lı) alınmış olan kan örneklerinden spin kolon yöntemi ile Genomic DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Her bireydeki *FNDC5* genine ait polimorfizmlerin (rs16835198 ve rs726344) moleküler analizi, Real-Time PCR yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *FNDC5* geni üzerinde seçilen iki çift primer (forward ve reverse), ve iki çift prob sekans dizilerine göre sentezlettilererek Real-Time PCR'da genomik DNA'nın çoğaltılmasında ve genin söz konusu polimorfizmler bakımından genotiplendirilmesinde kullanılmıştır.

Bulgular: Bu araştırmada *FNDC5* geni rs726344 G>A polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki dağılımı GDM'li hasta grubunda homozigot GG genotipi 97 bireyde (%88), heterozigot GA genotipi 13 bireyde (%12) tespit edilmiş olup homozigot AA genotipine ise hiçbir bireyde rastlanmamıştır. Kontrol grubu genotipler açısından incelendiğinde, homozigot GG genotipi 108 bireyde (%88), heterozigot GA genotipi 14 bireyde (%11) ve homozigot AA genotipi ise 1 bireyde (%1) tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda *FNDC5* geni rs726344 G>A polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

($p>0.05$). *FNDC5* geni rs16835198 G>T polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımına bakıldığında homozigot GG genotipinin 64 bireyde ve %58 oranında, kontrol grubunda ise 70 bireyde ve %57 oranında olduğu saptanmıştır. Heterozigot GT genotipinin hasta grubunda 34 bireyde %31 oranında, kontrol grubunda ise 43 bireyde %35 oranında olduğu tespit edilmiştir. Homozigot TT genotipinin hasta grubunda 12 bireyde %11 oranında, kontrol grubunda ise 10 bireyde %8 oranında olduğu görülmüştür. *FNDC5* geni rs16835198 G>T polimorfizmi bakımından da hasta ve kontrol gruplarındaki genotip dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p>0.05$).

Sonuç: Araştırma neticesinde elde edilen bulgular, *FNDC5* geni rs726344 ve rs16835198 polimorfizmlerinin gestasyonel diabetes mellitus ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *FNDC5*, İrisin, Polimorfizm, GDM, Gen

ABSTRACT

INVESTIGATION OF IRISIN (*FNDC5*) GENE POLYMORPHISMS IN PATIENTS WITH GESTATIONAL DIABETES MELLITUS

Halil CAŞKA

Medical Biology Department, Master Thesis

Objective: Gestational Diabetes Mellitus (GDM) is defined as a disease of glucose intolerance, which is first identified in pregnancy. Transmembrane protein fibronectin type III domain-containing protein 5 (*FNDC5*) that is encoded by the *FNDC5* gene has been demonstrated to be cleaved and released as a novel hormone-like myokine irisin. *FNDC5* is expressed from, heart, brain, liver, skeletal muscle, ovary, spleen, kidney, lung, pancreas, thymus, prostate, small intestine, large intestine and adipose tissues. Irisin is a protein with 112 amino acids and a molecular weight of 12 kDa. Irisin belongs to the class of adipomyokines since it acts both in adipose and muscle tissue (adipokine and myokine) and is a thermogenic protein that promotes energy expenditure by WAT browning. Irisin plays an essential role in several functions associated with some important diseases. In the myokine group, Irisin peptide, released from muscle cells, acting as a messenger between muscle and adipose tissue, has been known to play an important role in insulin resistance and energy metabolism regulation. In this study, it was aimed to investigate the effects of two polymorphisms (G> A (rs726344) and G> T (rs16835198)) in the Irisin (*FNDC5*) gene on serum Irisin level and their relationship with Gestational Diabetes Mellitus (GDM).

Methods: The study included 233 pregnant subjects who applied to Harran University Medical Faculty Obstetrics and Gynecology Outpatient Clinic. The study population was divided into two groups; the first one is 110 subjects of the GDM group and the second one is 123 subjects of the control (Non-GDM subjects) group. 110 subjects of the first group, who diagnosed with GDM at the 24-28 gestational period, were chosen as the patient group according to the criteria of ADA (American Diabetes Association). DNA isolation was performed by using Genomic DNA isolation kit with spin column method from blood samples taken from hemogram tubes (with EDTA) for routine laboratory tests

from subjects in the study group. Molecular analysis of polymorphisms (rs16835198 and rs726344) of the *FNDC5* gene of each subject was performed by using the Real-Time PCR.

Two pairs of primers (forward and reverse) and two pairs of probes selected on the *FNDC5* gene were synthesized according to sequence order and used to replicate genomic DNA in Real-Time PCR and the polymorphisms were genotyped by amplification curves gained from the RT-PCR results.

Results: In this study, distribution of *FNDC5* gene G> A polymorphism in GDM patients and control group was determined as homozygous GG (88%) in 97 subjects and heterozygous GA genotype in 13 subjects (12%), and homozygous AA genotype was not found in any subject. In terms of genotype when the control group was examined, homozygous GG genotype was detected in 108 subjects (88%), heterozygous GA genotype in 14 subjects (11%), and homozygous AA genotype in 1 subject (1%). As a result of the analyzes made, statistically no significant difference was observed in the genotype distribution of *FNDC5* gene G> A (rs726344) polymorphism in GDM patient and control groups ($p>0.05$). The genotype distribution of the *FNDC5* gene rs16835198 G> T polymorphism in GDM patients and the control group was observed as homozygous GG genotype in 64 subjects and 58%, in the control group 70 subjects and 57%. The heterozygous GT genotype was observed as 31% in 34 patients and 35% in 43 subjects in the control group. The homozygous TT genotype was observed as 11% in 12 subjects in the patient group and 8% in 10 subjects in the control group. In terms of *FNDC5* gene rs16835198 G> T polymorphism, when the genotype distributions in the patient and control groups were compared it was found that it was not statistically significant in terms of genotype distributions ($p>0.05$).

Conclusions: As a result of this research, it was concluded that *FNDC5* gene rs726344 and rs16835198 polymorphisms are not related to gestational diabetes mellitus.

Keywords: *FNDC5*, Irisin, Polymorphism, GDM, Gene

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM), ilk defa gebelikte ortaya çıkan ya da ilk defa gebelik sürecinde başlayan Glikoz intoleransı olarak tanımlanmaktadır (1, 2). Gebelik sürecinin herhangi bir zaman diliminde gerçekleşebilmekle birlikte, genellikle gebeliğin 24. haftasından sonra meydana gelir ve gebeliğin sonlanması ile ortadan kalkar (2). Ancak GDM'nin doğumla sonlanmasına rağmen kalıcı olma riski de bulunmaktadır. GDM'nin sebepleri arasında plasental hormonlara bağlı olarak insülin direnci ve genetik yatkınlık gibi sebepler sayılabilir. GDM'nin bütün dünyada prevalansı gittikçe yükselmektedir (1, 2). GDM prevalansının yükselişte olmasının sebepleri arasında; sosyo-ekonomik, demografik, genetik ve çevresel faktörler yer almaktadır. GDM geçiren bireyler ileriki yaşamlarında T2DM a yakalanma riskini yüksek oranda taşımaktadırlar. Ayrıca, anneleri GDM'li olan bebekler hayatlarında obezite ve T2DM'li olma riskleri yüksektir (2).

Glikoz, fetüs için en önemli enerji kaynağıdır. Gebe bireyin insülin direncine ek olarak, pankreatik β - hücrelerindeki tahribatlar da GDM'nin patofizyolojisinde önemli bir etken olarak görülmektedir. GDM'li hastalarda, besin transferi mekanizmalarında aksaklık ya da değişiklikler olması durumunda fetüste obezite oluşma ihtimali meydana gelebilir. GDM'li hastaların ilk trimester sürecinde hiperlipidemi ve hiperinsülinemi durumları yaygın olarak görülebilmektedir. GDM'nin patogenezi tam olarak net olmamakla beraber genetik, epigenetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir. GDM de, T2DM'ta olduğu gibi poligenik ve heterojenik bir hastalık olup birçok sebep bu hastalığın oluşumunda etkilidir (3, 4, 5).

Enerji tüketiminin egzersiz sırasında arttığı ve insülin duyarlılığını artırdığı bilinmektedir. Düzenli egzersiz yapılması halinde kas hücrelerinin insülin duyarlılığı ve glikoz metabolizmasının düzenlenmesinde etkili olan bazı genlerin ekspresyon düzeyi de değişebilmektedir. Fiziksel aktivite ve egzersiz faaliyetlerine bağlı olarak kas hücrelerinden miyokin olarak bilinen hormonlar salgılanır. Bu miyokinler GDM'nin altında yatan insülin direncinin gelişimindeki etkenlerden birisi olarak kabul edilmektedir. Bir miyokin olan İrisinin, yapılan çalışmalar sonucunda, egzersiz sırasında yüksek düzeyde eksprese edildiği ve bu molekülün beyaz adipoz dokuyu, kahverengi

adipoz dokuya dönüştürdüğü tespit edilmiştir. Bu durumun metabolizma hızını arttırdığı ve insülin direncinin de azalmasına sebebiyet verdiği ortaya konmuştur (6, 7).

İrisin, molekülü 112 amino asitten oluşan, yaklaşık olarak 12kDa ağırlığında ve enerji metabolizmasında görevli olan bir proteindir. İrisin proteini, Fibronectin Type III Domain Containing 5 (FNDC 5) geni tarafından kodlanmaktadır. İrisin, birçok doku ve organı etkileyerek fizyolojik fonksiyonlarında birtakım değişikliklere sebep olmaktadır. Bu değişiklikler arasında; beyaz adipoz dokuyu kahverengiye dönüştürme, enerji tüketimini arttırma, glikozdan yüksek oranda yararlanma, insülin direncini azaltma sayılabilir. Yapılan birkaç çalışma neticesinde, gebelikte serum irisin düzeyinin yüksek olduğu hem GDM'li hastalarda hem de normal glikoz toleranslı bireylerde doğum sonrası üç aylık süre zarfı içinde, serum irisin düzeyinde anlamlı şekilde düşüş olduğu, gebelik durumunda plasentanın dolaşımdaki irisin düzeyinin artışına katkı sağladığı ve GDM'li hastalarda irisin düzeyinin, sağlıklı bireylere göre daha düşük olduğu ifade edilmiştir (8, 9, 10, 11).

FNDC5 geni (Fibronectin Type III Domain-Containing Protein 5); 6 ekzon, 5 intron içermekte olup birinci kromozomun p35.1 pozisyonunda lokalizedir. *FNDC5* geni, 33,100,464 no'lu nükleotid pozisyonundan 33,108,934 no'lu nükleotid pozisyonuna kadar uzanan 8.47 kb uzunluğundadır. Polimorfik özellik gösteren *FNDC5* gen varyantlarının, metabolizma ve metabolik sendromlar ile ilişkili olduğu yapılan birçok çalışmada ortaya konmuştur. Bunlardan bazıları insülin hassasiyeti, insülin direnci, glikoz metabolizması, obezite ve dolaşımdaki serum irisin düzeyidir. *FNDC5* geni üzerinde yer alan rs16835198 ve rs726344 SNP'lerinin insülin hassasiyeti ile anlamlı ilişki içinde olduğu ve rs16835198 G alelinin açlık insülin seviyesi ile ilişkili bulunduğu bildirilmiştir (12, 13). Keza *FNDC5* geni rs16835198 G> T polimorfizminin, T2DM'ye karşı anlamlı bir koruma sağladığı ve bu SNP nin wild G allelinin, yüksek açlık insülini, HOMA-IR ve dislipidemi ile ilişkili olduğu ifade belirtilmiştir (14). *FNDC5* geni rs16835198 ve rs726344 SNP'lerinin, obezite ile ilişkili olduğu, rs726344 varyantının GG genotipi ve G alleli ile rs16835198 varyantının TT genotipi ve T allelinin obeziteye yatkınlığı arttırabileceği, dolaşımdaki serum irisin düzeyi üzerinde etkili olduğu ifade edilmiştir (15).

Yukarıdaki literatür bilgileri paralelinde bu araştırmada, *FNDC5* genindeki yaygın polimorfizmlerden rs726344 ve rs16835198 polimorfizmlerinin, Gestasyonel Diabetes Mellitus ile ilişkili olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Diyabet terimini, tedavi yokluğunda hipergliseminin varlığı ile karakterize edilen bir grup metabolik bozukluk olarak tanımlamaktadır. Heterojen etiopatoloji, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklar, insülin salgısındaki defektler, insülinin etki gösterememesi veya her ikisini kapsamaktadır (16). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Diabetes Mellitusu ilk kez 1965 yılında, hastalığa yakalanan kişilerin yaş aralıklarına göre, 0-14 yaş aralığında olan çocukluk, 15-24 yaş aralığında olan gençlik, 25-64 aralığında yetişkinlik ve 65 yaş ve üstü yaşlı olmak üzere dört yaş grubuna ayırarak sınıflandırmıştır (17). WHO, değişik yıllarda sınıflandırmaları güncellemiş ve en son olarak da 2019 yılında aşağıda açıklanan sınıflandırmayı yapmıştır.

2.1. Diabetes Mellitus Türleri

2.1.1. Tip-1 Diabetes Mellitus

Tip-1 DM, otoimmün sistemin, pankreasta bulunan ve insülin üreten β -hücrelerini tahrip etmesi sonucu oluşur. Buna bağlı olarak da yetersiz veya hiç insülin üretilmemesi durumu ortaya çıkar (18). β -hücrelerinin yıkımı tam olarak anlaşılacakla birlikte, genetik yatkınlık, enfeksiyon, bazı toksinler ve beslenme faktörlerinin otoimmün reaksiyonları tetiklediği tahmin edilmektedir (19, 20). T1DM prevalansı ile ilgili küresel ölçekte data olmamakla beraber, çocukluk döneminde T1DM, gelir düzeyi çok yüksek olan ülkelerde yıllık olarak %3 ila %4 arasında artış göstermektedir (21). T1DM her iki cinsiyeti de eşit oranlarda etkilemektedir (20). T1DM çocukluk döneminde sık olmasına karşın, hastalık yetişkinlerde meydana gelebilir ve hastaların %84'ü yetişkinlerdir (22). Gelir düzeyi düşük olan ülke ve ailelerde, insüline ulaşamama, öz bakım cihazlarına sahip olmama ve hastalıkla ilgili nitelikli bilgilendirme ve eğitimden yoksun olma gibi dezavantajlar, zararlı olan keton cisimlerin vücutta birikmesi ile Diyabetik Ketoasidozis durumunun (DKA) oluşması ve erken ölüm gibi şiddetli sonuçları beraberinde getirmektedir. T1DM semptomları arasında, aşırı susama, görme bulanıklığı, yatak ıslatma, sık idrara çıkma, aşırı yorgunluk, ani acıkma ve ani kilo kaybı olarak ortaya

çıkılmaktadır. T1DM hastaları Glikoz düzeyini istenilen aralıkta tutmak için günlük olarak insüline ihtiyaç duymaktadır. Günlük insülin tedavisinin yanı sıra, Glikoz düzeyini rutin olarak takip etme ve hastalıkla ilgili eğitim almaları Diyabetle ilişkili komplikasyonların önüne geçme ve sağlıklı yaşam için gereklidir (23). T1DM, immün aracılı ve İdopatikler olarak iki sınıfa ayrılmaktadır (24).

2.1.2. Tip-2 Diabetes Mellitus

T2DM, tüm dünyadaki diyabet hastalarının %90-95 ini oluşturmaktadır. T2DM, vücut hücrelerinin insülin hormonuna cevap vermemesi neticesinde bu durumun Hiperglisemi ile sonuçlanmasıdır ve bu durum insülin direnci olarak tanımlanmaktadır. Zamanla, β hücrelerinin talebi karşılayamaması sonucu da insülin yetersizliği ortaya çıkabilir. T2DM prevalansı tüm dünyada giderek artmaktadır. Bunun sebepleri arasında, etnik durum, aile geçmişi, ekonomik gelişmeler, şehirleşme, hareketsiz yaşam tarzı, obezite ile ilişkili sağlıksız besinlerin tüketimi gibi durumlar söz konusudur (2, 25). T2DM, hipertansiyon, dislipidemi, genetik yatkınlığı olan ve GDM geçirmiş bireylerde daha sık ortaya çıkmaktadır (18). T2DM hastalarının çoğu insüline bağımlı değil ancak kronik komplikasyonların önüne geçmek ve kan şekeri düzeyini azaltmak için insülin tedavisine gerek duyabilirler (16). T2DM tedavisi noktasında, sağlıklı diyet, düzenli egzersiz, sigara içmeme ve kilo dengesinin korunması gibi önlemler alınmalıdır (23).

2.1.3. Spesifik Diyabet Tipleri

β -Hücrelerindeki Genetik bozukluklar sonucu oluşan Diyabet: Bazı spesifik genlerdeki mutasyonlar sonucu, β -hücrelerindeki fonksiyonel defektlerin oluşmasıdır. Daha çok Neonatal ve erken yetişkinlik döneminde ortaya çıkmaktadır. Bu defektler, insülin salgısındaki azalma ile karakterize olmuş, olgunluk başlangıçlı diyabet (MODY, Maturity-Onset Diabetes of the Young) olarak bilinirler. Bu defektlerden sorumlu olan genler otozomal baskın olarak kalıtılırlar (Tablo 1). Farklı kromozomlar üzerinde bulunan genlerden en yaygın olanları, 12.Kromozom üzerinde bulunan MODY 3 (Hepatosit Nükleer Faktör (HNF)-1 α) ve 7.Kromozom üzerinde bulunan MODY 2 dir (26).

Tablo 2. 1. Monogenik Diyabetler (β -Hücrelerindeki Genetik bozukluklar sonucu oluşan Diyabetler).

1	MODY 3 (12. Kromozom, HNF-1a)
2	MODY 1 (20. Kromozom, HNF-4a)
3	MODY 2 (7.Kromozom, glukokinaz)
4	MODY nin diğer nadir formları. (MODY 4: 13.Kromozom, insulin promoter factor-1; MODY 6: 2.Kromozom, NeuroD1; MODY 7: 9.Kromozom, carboxyl ester lipase)
5	Transient neonatal diabetes (en yaygın olarak ZAC/HYAMI imprinting defect on 6q24)
6	Permanent neonatal diabetes (yaygın olarak KCNJ11 gene encoding Kir6.2 subunit of β -cell KATP channel)
7	Mitokondrial DNA
6	Diğerleri

2.1.4. İnsülin etkisindeki Genetik bozukluklar sonucu oluşan Diyabet

Spesifik genlerdeki mutasyonlar sonucu oluşur. Bu defektler, obezite olmadan şiddetli insülin direncine sebep olurlar (Tablo 2). β -hücrelerinin insülin direncini karşılamamaları sonucu diyabet gelişir (16).

Tablo 2.2. İnsülin etkisindeki Genetik defektler.

1	Tip A insulin direnci
2	Leprechaunism
3	Rabson-Mendenhall sendromu
4	Lipoatrophic diabetes
5	Diğerleri

2.1.5. Ekzokrin pankreas hastalıklarının sebep olduğu Diyabet

Pankreatit, travma, enfeksiyon, pankreatektomi ve pankreatik karsinoma gibi hastalıklar sonucu pankreasın hasar görmesi sonucu diyabetin gelişmesidir (16). Ekzokrin pankreas hastalıkları Tablo 3'te olduğu gibi sıralanabilir.

Tablo 2. 3. Ekzokrin pankreas hastalıkları

1	Kistik Fibröz
2	Pancreatit
3	Travma/pancreatektomy
4	Neoplazi
5	Hemokromatoz
6	Fibrokalkülöz pankreatopati
7	Diğerleri

2.1.6. Endokrinopatiler sonucu oluşan Diyabet

Büyüme hormonu, kortizol, glukagon gibi Tablo 4'te görülen, insüline antagonist etki gösteren hormonların aşırı miktarda salgılanması da diyabete sebep olabilir (27).

Tablo 2.4. Endokrinopatiler

1	Akromegali
2	Cushing's sendromu
3	Glukagonoma
4	Hipertrioidizm
5	Feokromosaytoma
6	Somatostatinoma
7	Aldosteronoma
8	Diğerleri

2.1.7. İlaç veya kimyasal kaynaklı Diyabet

Bazı ilaç ve kimyasallar insülin salgısını azaltarak veya etkisini bozarak diyabete sebep olabilir (16). Diyabeti indükleyen bazı İlaç ve Kimyasallar Tablo 5'te yer almaktadır.

Tablo 2. 5. Diyabeti indükleyen bazı İlaç ve Kimyasallar

1	Glukokortikoidler
2	Vacor
3	Pentamidin
5	Trioid hormonu
6	Nikotik Asit
7	Diazoksid
8	Alfa-Adrenerjik agonistler
9	Beta-Adrenerjik agonistler
10	Thiazidler
11	Dilantin
12	Pyrinuron
13	İnterferon alfa
14	Diğerleri

2.1.8. Enfeksiyonlar sonucu oluşan Diyabet

Konjenital rubella ve cytomegalovirus gibi bazı virüs türlerinin enfeksiyonu sonucu, β hücrelerinin tahrip olmasıyla oluşan diyabettir.

2.1.9. İmmün aracılı yaygın olmayan Diyabet formları

Stiff Person Sendromu (SPS) ve Sistemik lupus eritamatozus (SLE) gibi otoimmün hastalık durumlarında anti-insülin reseptör antikorlarının, insülin reseptörlerine bağlanarak sebep olduğu diyabettir (26).

2.1.10. Diyabetle ilişkili diğer genetik sendromlar

Down sendromu, Klinefelter sendromu, Turner sendromu, Wolfram sendromu, Friedreich ataxia, Huntington chorea gibi Tablo 6'da yer alan genetik anomalilerin sebep olduğu diyabettir (26).

Tablo 2. 6. Diyabetle ilişkili diğer sendromlar

1	Down sendromu
2	Klinefelter sendromu
3	Turner sendromu
4	Wolfram sendromu
5	Friedreich ataxia
6	Huntington chorea
7	Laurence-Moon-Biedl sendromu
8	Myotonic dystrophy
9	Porphyria
10	Prader-Willi sendromu
11	Diğerleri

2.1.11. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)

Gestasyonel Diabetes Mellitus yaygın olarak, ilk defa gebelikte fark edilen ya da ilk kez gebelik sürecinde başlayan Glikoz intoleransı olarak tanımlanmaktadır (1, 2). GDM, gebelik sürecinde kanda yüksek miktarda Glikoz varlığı ile karakterizedir. Gebelik

sürecinin herhangi bir zaman diliminde gerçekleşebilmekle birlikte, genellikle gebeliğin 24. haftasından sonra meydana gelir ve gebeliğin sonlanması ile de ortadan kalkar (2).

GDM, küresel anlamda hem anne hem de bebek için hastalık ve ölüm nedenleri arasında önde gelir ve ciddi bir risk taşımaktadır (28, 29). 2019 yılı içinde, tüm dünyada canlı doğumların yaklaşık olarak %15.8'i (20.4 milyon) gebelik sırasındaki hiperglisemiden etkilendiği tahmin edilmektedir. GDM prevalansının yükselişte olmasının sebepleri arasında; sosyoekonomik, demografik, genetik ve çevresel faktörler yer almaktadır. GDM geçiren kadınlar ileriki yaşamlarında T2DM a yakalanma riskini yüksek oranda taşımaktadırlar. Ayrıca, anneleri GDM'li olan bebekler hayatlarında obezite ve T2DM'li olma riskleri yüksektir (2).

2.1.11.1. GDM Etiyolojisi

GDM etiyolojisi, pankreatik β -hücrelerinin disfonksiyonu, β -hücrelerinin glisemik düzeye geç geç tepki vermesi, plasental hormon salınımının insülin direncine sebebiyet vermesi gibi etkenlerle oluşabilmektedir. GDM için insan laktojen hormonu, insülin direncinin oluşmasındaki en etkili hormondur. GDM ile ilişkili diğer hormonlar ise; büyüme hormonu, prolaktin, kortikotropin releasing hormon ve progesterondur. Bu hormonlar gebelikte hiperglisemi ve insülin direncinin uyarılmasını tetiklemektedir.

Gestasyonel Diyabetes Mellitus gelişiminde klinik faktörlerden bazıları (30);

- ✓ Vücut ağırlığının artışı (özellikle vücut kitle indeksinin (BMI) 25 ten büyük olması)
- ✓ Fiziksel aktivitenin azlığı
- ✓ Birinci dereceden Diabetes Mellituslu akrabanın olması
- ✓ GDM öyküsünün oluşu
- ✓ Düşük HDL (35mg/dL den daha düşük)
- ✓ Trigliserit düzeyinin 250 mg/dL den yüksek olması
- ✓ Polikistik Over Sendromu
- ✓ Hemoglobin A1C değerinin 5.7 den fazla olması
- ✓ Anormal oral glikoz tolerans testi
- ✓ Önemli insülin direnci belirtisi (Akantozis nigrikans gibi)
- ✓ Kardiyovasküler hastalık geçmişi

2.1.11.2. Gestasyonel Diyabetes Mellitus Komplikasyonları

GDM komplikasyonları maternal komplikasyonlar ve fetal komplikasyonlar olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Maternal komplikasyonlar olarak; sezaryan riski artışı, hipertansiyon, preklampsia ve diabetes mellitus riskini içermektedir. Fetal komplikasyonlar olarak da makrosomia, neonatal hipoglisemi, polisitemi, omuz distosisi, hiperbillirubinemi, neonatal solunum distress sendromu, artmış prenatal mortalite ve hipokalasemi sayılabilir (31, 32).

Bozuk Glikoz Toleransı:

Bozuk Glikoz Toleransı (IGT) ve bozuk açlık glikozu (IFG), glikoz düzeyinin normal seviyenin üzerinde seyretmesidir. Ancak, diyabet tanısı eşik değerinin de hemen altındadır. IGT ve IFG kavramları yerine bazen “pre-diyabetes” veya “diyabetik olmayan hiperglisemi” kavramları da kullanılmaktadır. IGT ve IFG birkaç sebepten dolayı önemlidir. Bunlar;

- Gelecekte Tip-2 diyabet riskini göstermektedir.
- Kardiovasküler hastalıklara delalet eder.
- Tip-2 diyabetin engellenmesi noktasında önlem alma fırsatını sunmaktadır.

Yetişkin olup da IGT ve IFG değeri yüksek olan ve Tip-2 diyabete yakalanma riski taşıyan yaklaşık 374 milyon kişi bulunmaktadır. Bu sayının 2030 itibariyle 454 milyona ve 2045 yılı itibariyle de bu sayının 548 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (23).

2.1.11.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus Teşhis Kriterleri

GDM'nin T2DM ten ayrıt edilmesi ve teşhisinin konması çok önemlidir. Bu bağlamda GDM açlık kan şekeri düzeyi ve OGTT glikoz değerleri analiz edilerek GDM, T2DM ten ayrıt edilir. ADA kriterlerine göre, GDM “Tek adımlı” (75g OGTT) veya “İki adımlı” 50g (non-fasting) ve akabinde 100g OGTT (taraması pozitif olanlar için) olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilir.

Tek adımlı: Bu adımda, gebeliğin 24-28 haftaları arasında daha önce diyabet tanısı konmamış kişilere, aç karınla plazma glikoz düzeyleri ölçülür ve 2 saatlik 75g OGTT uygulanır (OGTT, en az 8 saat aç kaldıktan sonra sabah uygulanmalıdır). Uygulama

yapıldıktan sonra, plazma glikoz düzeyi aşağıdaki değerlerde veya üstünde olursa GDM tanısı konur;

- ✓ Aç karınla: 92 mg/dL (5.1 mmol/L)
- ✓ 1. Saatte: 180 mg/dL (10.0 mmol/L)
- ✓ 2. Saatte: 153 mg/dL (8.5 mmol/L)

İki adımlı: Bu adımda iki aşama mevcuttur;

Birinci aşama: Bu adımda, gebeliğin 24-28 haftaları arasında, daha önce diyabet tanısı konmamış kişilere, (nonfasting) plazma glikoz düzeyleri ölçüldükten sonra, 1 Saatlik 50g GLT uygulanır. GLT yüklemesinden sonra, 1 saatlik süre sonunda plazma glikoz düzeyi; ≥ 130 mg/dL, 135mg/dL, veya 140mg/dL (7.2mmol/L, 7.5mmol/L, ya da 7.8mmol/L) değerlerinde ise 100g OGTT uygulamasına geçilir.

İkinci aşama: Bu adımda hastaya aç karınla 100g OGTT uygulanmalıdır. Carpenter-Coustan veya NDDG ye göre; aç karınla, 1. saat, 2.saat ve 3. saatlerdeki OGTT ölçümleri neticesinde aşağıdaki dört plazma glikoz düzey (Tablo 7) ölçümleri eş ya da üstünde değerlere çıkmışsa GDM tanısı konur (24).

Tablo 2. 7. NDDG ve Carpenter-Coustan ölçümlerine göre plazma glikoz düzeyleri (33)

	NDDG (National Diabetes Data Group)	Carpenter-Coustan (21)
Açlık Değeri	105 mg/dL (5.8 mmol/L)	95 mg/dL (5.3 mmol/L)
1. Saat	190 mg/dL (10.6 mmol/L)	180 mg/dL (10.0 mmol/L)
2. Saat	165 mg/dL (9.2 mmol/L)	155 mg/dL (8.6 mmol/L)
3. Saat	145 mg/dL (8.0 mmol/L)	140 mg/dL (7.8 mmol/L)

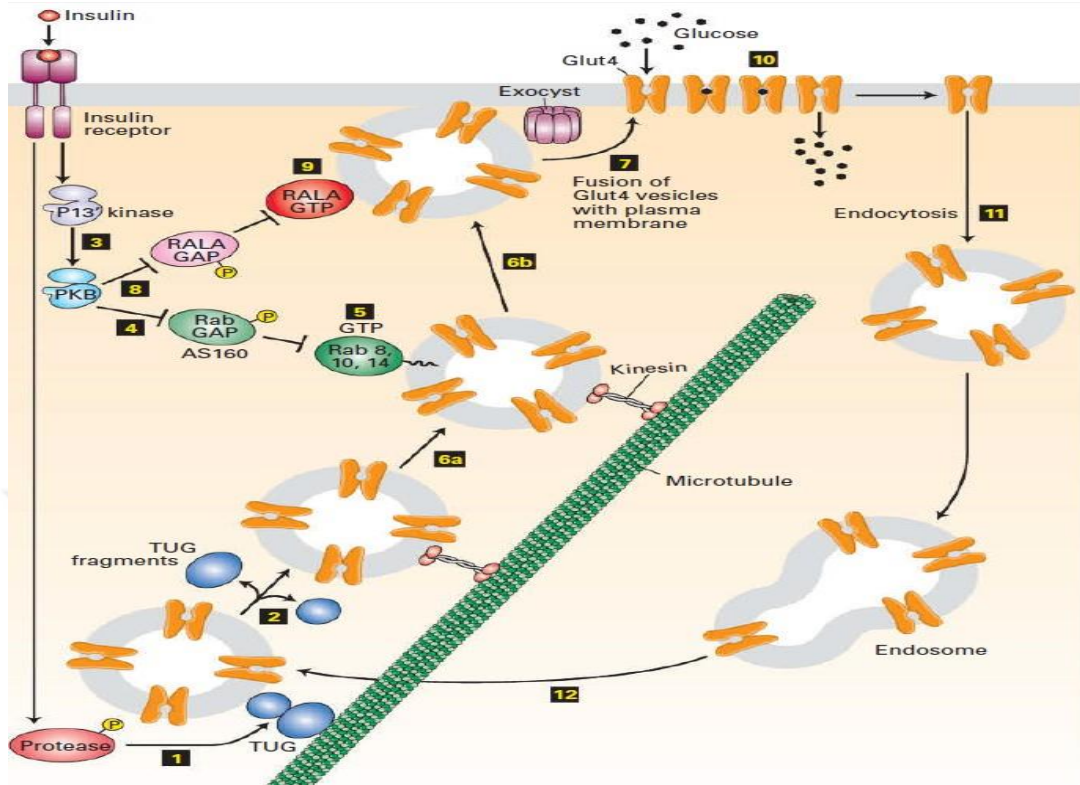
2.2. Glikoz transport mekanizması ve metabolizması

Glikoz, fetüs ve plasenta için en önemli enerji kaynağıdır. Glikoz molekülü Hidrofilik yapıda, polar ve göreceli olarak büyük bir molekül olduğundan hücre membranından kolayca diffüze olamamaktadır. Bu nedenle, hücreler glikozu içeri alabilmek için taşıyıcı proteinlere ihtiyaç duymaktadır. Bu proteinlere Glikoz taşıyıcı proteinler denir. Transmembran proteini olan bu proteinler iki gruba ayrılır; birinci grup GLUTs (Glucose Transporters) olarak bilinmektedir ve 14 farklı türü mevcuttur. Bu taşıyıcı proteinler, ATP ve Sodyum gereksinimi duymazlar. Glikoz transport proteinleri bütün hücre türlerinde bulunmaktadır. İkinci grup transport proteinler ise Sodyum bağımlı taşıyıcılardır. Bu taşıyıcılar işlevlerini yerine getirmek için ATP'ye ihtiyaçları vardır. Vücutta farklı yerlerde özellikle, incebağırsak, renal tübüller ve beyin-kan bariyerlerinde bulunurlar. Bazı transport proteinleri ve özellikleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 8):

Tablo 2.8. Bazı transport proteinleri.

Taşıyıcı	Bulunduğu doku türü	Özelliği	Gen Lokasyonu
GLUT1	Tüm hücre tiplerinde bulunur ancak, kan, kalp, kan-beyin bariyerlerinde ve Placentada daha fazla bulunmaktadır.	Glikoz molekülünü hücre içine alabilmesi için insüline ihtiyaç duymamaktadır. GLUT1 in K_m değeri düşüktür. Bu da glikoz moleküllerine afinitisinin yüksek olduğunu gösterir.	1, Kromozom
GLUT2	Karaciğer, incebağırsak ve pankreasta (β - hücrelerinde) bulunmaktadır.	GLUT2 in K_m değeri yüksektir. Bundan dolayı glikoz molekülüne karşı afinitesi düşüktür ve glikoz moleküllerini hücre içine alabilmesi için glikozun kandaki seviyesinin yüksek olması gerekmektedir.	4. Kromozom
GLUT3	Özellikle plasenta ve beyinde (nöronlarda) bulunmaktadır.	GLUT3 in K_m değeri oldukça düşüktür. Bu da glikoz molekülüne karşı afinitesinin yüksek olmasını sağlamaktadır. Glikozun kandaki seviyesi çok düşük olsa bile hücre içine kolayca alabilmektedir.	12. Kromozom
GLUT4	Özellikle iskelet kası, kalp ve adipoz dokuda bulunur.	GLUT4 in K_m değeri orta düzeydedir ve glikoz molekülüne karşı affinitesi de orta düzeydedir.	17. Kromozom
GLUT5	Daha çok incebağırsak epitel hücrelerinde bulunur.	Fruktozun hücre içine alınmasından sorumludur.	1. Kromozom
SGLT1	Daha çok incebağırsak epitel hücrelerinde bulunur.	İnsülinin yanında ATP ve Na moleküllerine ihtiyaç duymaktadır. İncebağırsaktan glikoz Emilimini sağlamaktadır.	22. Kromozom
SGLT2	Böbreklerdeki nefron kanallarının proksimal tübüllerinde bulunur.	İnsülinin yanında ATP ve Na moleküllerine ihtiyaç duymaktadır. Glikozun geri Emilimini sağlar.	16. Kromozom

GLU4 transport proteininin membrana hareketi ve glikozları içeri alması:



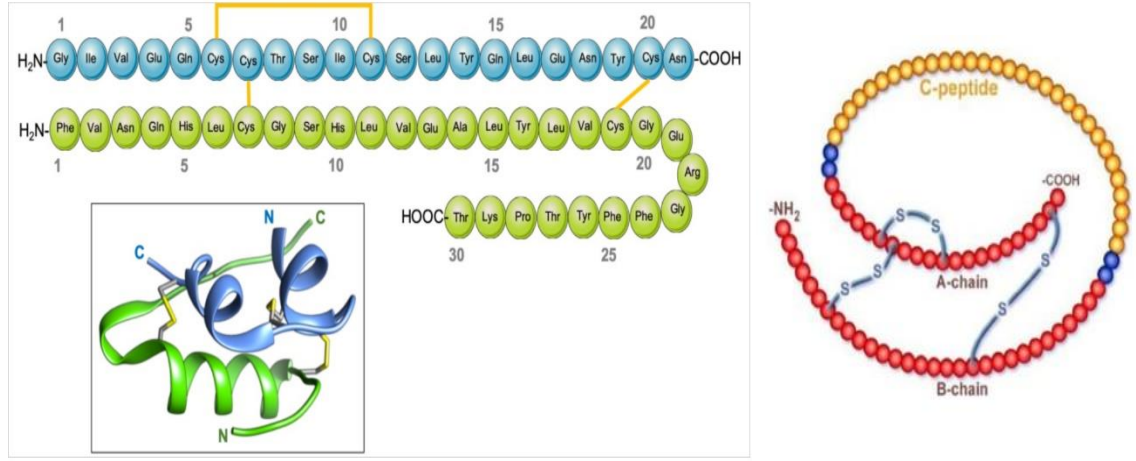
Şekil 2.1. GLU4 transport proteininin membrana hareketi ve glikozu içeri alması

İnsülin sinyalizasyonu, hücre membranında GLUT4 düzeyini arttırmak için bir takım yolakları harekete geçirerek, kanda bulunan glikoz moleküllerinin hücre içine alınmasını sağlamaktadır (Şekil 1). Kandaki glikoz düzeyi normal değer aralığında olduğunda, GLUT4 proteinleri özelleşmiş GLUT4 depo veziküllerinde (GSVs), golgi lümenindeki TUG proteini tarafından golgiye bağlı halde bulunmaktadır. İnsülin molekülünün insülin reseptörüne bağlanmasıyla, TUG proteininin protease ile kesilmesi işlemi aktive edilir (1.adım). TUG proteinin kesilmesi ile GLUT4 içeren veziküllerin serbest kalması sağlanır ve veziküllerin kinesin tarafından mikrotübül boyunca hareketi başlar (2.adım). 3. Adımda insülin PKB yi aktive eder. PKB, Rab GAP (AS160) proteinini fosforile eder. Bu da Rab GAP (AS160) proteinin GTP hidrolizini hızlandırma yeteneği, Rab8, Rab10 ve Rab14 ile inhibe edilmiş olur (4.adım). Böylece Rab proteinlerinin, GTP ye bağlı olma durumları kümelenme halinde devam eder (5.adım). Bu durum GLUT4 depo veziküllerinin mikrotübül boyunca hücre yüzeyine hareket etmesine olanak verir. (6 (a-b).adım). 7.adımda ise GLUT4 depo vezikülleri plazma membranı ile kaynaşmış olur.

PKB, membrana bağlanma etkinliğini RALA GAP prteinini fosforile ederek inaktif hale getirir (8.adım) ve RALA nın GTP ye bağlı olma durumunu devam ettirir (9.adım). Bu adımların sonunda uygun sinyalizasyonlar sonucunda, GLUT4 proteinin extrasellüler matriksten glikozları hücre içine alması, bu yolaklarla uyarılmayan hücelere göre on kat fazla olur (10.adım). İnsülin hormonun ayrılması ile GLUT4 proteini endosiztoz işlemi ile hücre içine alınır (11.adım). 12. Adımda ise GLUT4 proteinleri tekrar özelleşmiş GLUT4 depo veziküllerine (GSVs) taşınmış olur (34, 35, 36).

2.3. İnsülin hormonu ve insülin direnci

1889 yılında Alman bilim adamları Minkowski ve Mering, hayvanlarla yapmış oldukları deneysel çalışmalarda, pankreotektomi işlemi sonucunda, şiddetli diyabetin oluştuğunu ve buna bağlı olarak da pankreastan salgılanan bir maddenin diyabet metabolizmasını ciddi şekilde etkilediğini tespit etmişlerdir. 1921 yılında da insülinin izole edilip saflaştırılmasıyla, insülin keşfedilmiş oldu (37, 38). İnsülin hormonu protein yapılı olup, pankreasın Langerhans adacıklarının β hücrelerinden salgılanan bir hormondur. İnsülin hormonu, insanın metabolik aktivitelerinde merkezi bir role sahiptir. İnsülin, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasını düzenleyerek, glikozun hücre içine alınmasını ve bunun neticesinde de kandaki glikoz düzeyinin belli bir aralıkta kalmasını sağlar. İnsülin ($C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$) hormonu, 5.8 kDa ağırlığında, disülfid köprüleri ile birbirine bağlanmış, α (Alfa) ve β (Beta) zincirlerinden oluşan 51 amino asitlik bir proteindir. α (Alfa) zincirinde 21, β (Beta) zincirinde 30 amino asit bulunmaktadır. α (Alfa) zinciri N-terminal heliks yapısına sahiptir ve anti paralel olarak C-terminal heliks yapısına bağlıdır. β (Beta) zinciri ise merkezi bir heliks segmentine sahiptir (Şekil 2) (39).



Şekil 2.2. İnsülinin yapısı (39).

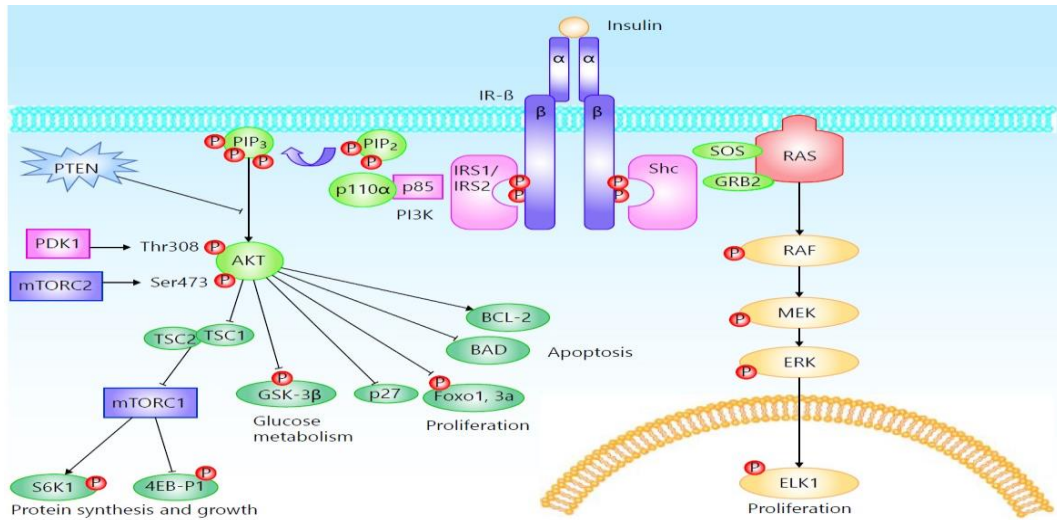
2.4. İnsülin Direnci

İnsülin direnci, İnsülin hormonu ile ilişkili sinyalizasyon yollarındaki bozukluk olarak tarif edilebilir (23). Gebelik durumundaki insülin direncinin sebepleri arasında; maternal obezite, adipositokin üretimindeki değişiklikler ve plasental diyabetojen hormonlarındaki artışlar sayılabilir. İnsülin direncine ek olarak, pankreatik β -hücrelerindeki tahribatlar da GDM'nin patofizyolojisinde önemli bir etken olabilir (24).

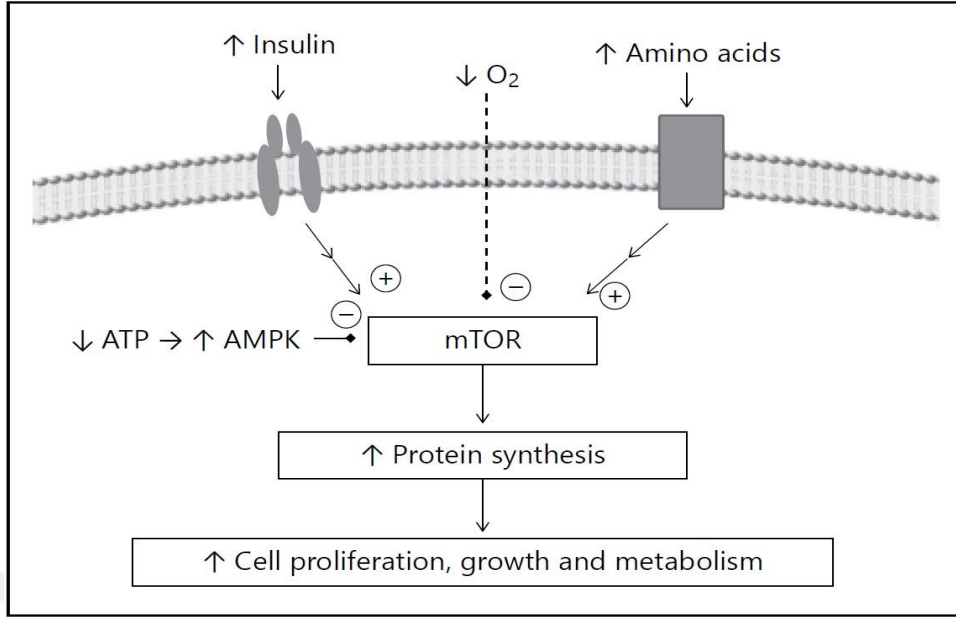
İnsülin hormonu, plasentayı geçmemesine ya da plasental glikoz transporter GLUT1'i aktivelememesine rağmen, trofoblast membrandaki, insülinin özel resptörü olan IR'e bağlanarak insülin sinyalizasyon yollarını harekete geçirerek plasental besin metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir (40, 41). Gebeliğin ilk trimesterinde insülin reseptörleri (IRs) daha yoğun olarak sinsityotrofoblastlarda bulunurken, gebeliğin sonunda daha çok fetal endotel hücrelerinde bulunur (40, 42). Plasentada, insülin hormonu trofoblast membrandaki IR'ye bağlanarak, Ras-ERK (Ras-extracellular-signal-regulated Kinase) ve IRS (IR-Substrate)-PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase)-Akt (ya da protein kinase B)-mTOR (mammalian Target Of Rapamycin) sinyalizasyon yollarını harekete geçirebilir. Bu iki yolak, hücrelerin hayatta kalma, farklılaşma, çoğalma ve metabolizmalarının düzenlenmesinde çok önemli bir yere sahiptir.

Bu yolların aktifleşmesinde sadece insülin hormonu değil aynı zamanda, sitokinler, diğer hormonlar ve büyüme faktörleri de etkilidir. Bütün bu moleküller hem hücrel metabolizmanın düzenlenmesinde hem de besinlerin taşınmasında etkilidir. PI3K-Akt-mTOR yolağı (Şekil 3) temel olarak besin metabolizması üzerinde etkili olmakla beraber, apoptoz ve hücre proliferasyonunda da etkilidir. Akt (Protein Kinaz B) aktivasyonu periferal dokularda GLUT4 glikoz taşıyıcısını sitoplazmdan membrana doğru yönelmesini tetiklemektedir. Diğer taraftan, sinsityotrofoblastlarda glikoz alımı GLUT1 ile düzenlenmektedir. Bundan dolayı da Akt'nin, plasentada farklı bir etki oluşturabilir.

Akt-mTOR (mammalian target of rapamycin or mechanistic target of rapamycin) yolağı ise, büyüme, metabolizma, otofaji ve proliferasyon gibi birçok hücrel işlevin düzenlenmesinde etkilidir. mTOR yolağı ile ilgili en önemli özellik plasentadan besinlerin alınmasında sensör özelliğinin olmasıdır. mTOR yolağının diğer bir özelliği, insülinin ziyade büyüme faktörleri veya aminoasit gibi besinler tarafından aktifleştirilmesidir. mTOR yolağının en önemli fonksiyonlarından birisi de, GDM vakalarında anormal fetal büyümeye neden olan amino asit taşıyıcılarının ekspresyonu üzerindeki etkisidir (Şekil 4). Ras-ERK sinyalizasyon yolağı ise daha çok hücre proliferasyonunda etkilidir. Ras-ERK sinyalizasyon yolağı ile ilgili plasenta ve periferal dokudaki insülin direnci vakalarında çok az çalışma yapılmıştır (43, 44, 45, 46, 47).

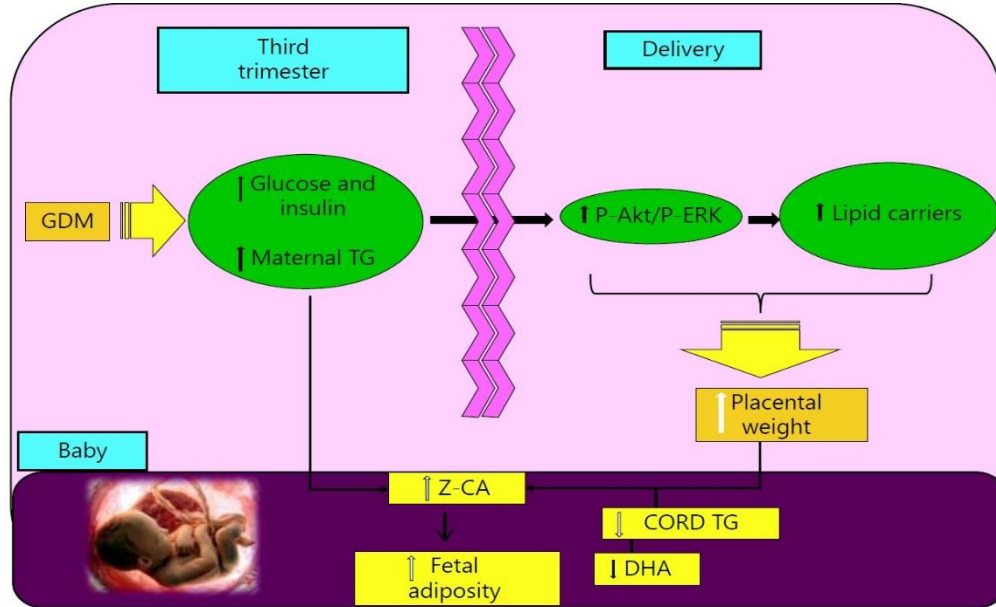


Şekil 2.3. ERK ve PI3K-Akt-mTOR sinyalizasyon yolları.



Şekil 2.4. mTOR sinyalizasyon yolağı

GDM'li hastalarda, besin transferi mekanizmalarında aksaklık ya da değişiklikler olması durumunda fetüste obezite oluşma durumu meydana gelebilir. GDM'li hastaların ilk trimester döneminde hiperlipidemi ve hiperinsülinemi durumları yaygın olarak görülmektedir. Bu da plasental ağırlığında, kalınlaşmasında ve insülin sinyalizasyon yollarında değişikliklere sebep olur (Şekil 5) (5).

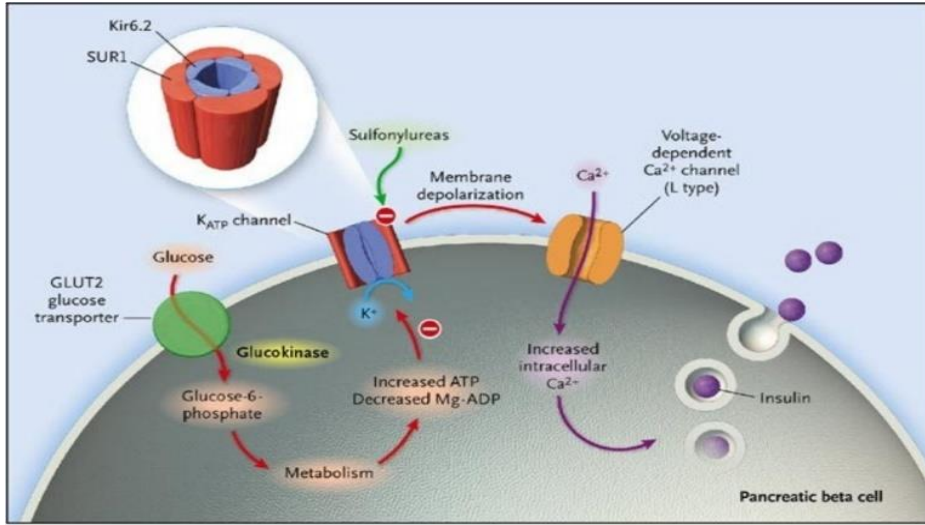


Şekil 2.5. GDM ve obezite ile ilişkili besin taşınımındaki bozukluklar.

2.5. Gestasyonel Diabetes Mellitus genetiği

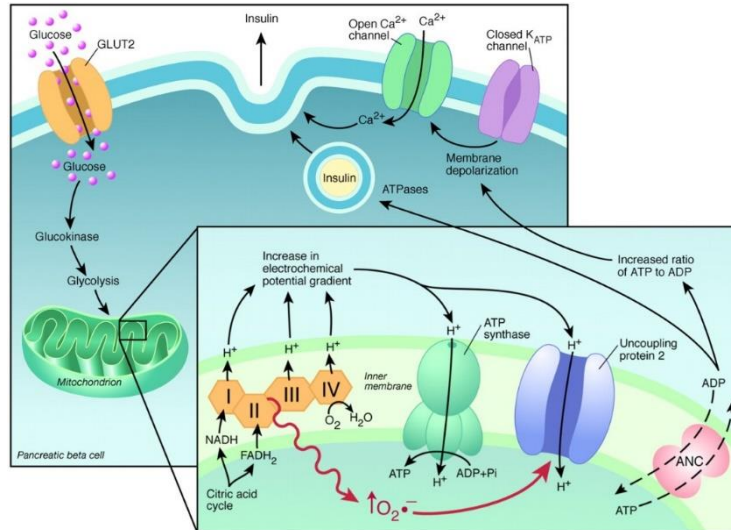
GDM'nin patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik, epigenetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucunda meydana geldiği görüşü hakimdir (48). GDM ile yapılan yakın zamanlı yapılan çalışmalarda, GDM nin belirgin özelliklerinden olan insülin direnci ve insülin yetersizliğinin genetik kaynaklı olduğu bildirilmiştir (49). GDM de, T2DM'ta olduğu gibi poligenik ve heterojenik bir hastalıktır ve birçok faktör bu hastalığın oluşmasında etkilidir. GDM ile çalışılan genlerde; insülin sekresyonu, insülin reseptörleri, insülin direnci, enerji metabolizması, insan lökosit antijeni (HLA) ile ilişkisi olanlar şeklinde sınıflandırılabilir (30).

İnsülin sekresyonu ile ilişkili olan KCNJ11 ve ABCC8 genleri, aynı kromozom üzerinde (11p15.1) lokalize olan bu genler DNA üzerinde birbirlerinden sadece 4.5 kb uzaklıkta olmaları ve INS genine yakın olmaları dikkat çekicidir. ABCC8 geni, DNA üzerinde 100kb tan fazla bir alana yayılmış olup 39 ekzona bölünmüştür. ABCC8 geni, ATP-binding cassette transporter üyelerinden biri olan Sulfonyl Urea Receptor 1 (SUR1) proteinini kodlamaktadır. KCNJ11 geni ise 43kDa ağırlığında ve 1 ekzona sahiptir. KCNJ11 geni Kir6.2 proteinini kodlamaktadır. KCNJ11 ve ABCC8 genleri K-ATP Kanalının entegrasyonunda etkin rollere sahiptir. K-ATP Kanalının iç kısmında dört Kir6.2 ve dış kısmında dört SUR1 alt birim olmak üzere sekiz alt birimden oluşmaktadır. Pankreas β -hücrelerinin insülin salgılama mekanizması K-ATP kanalına bağlı olmasından dolayı bu kanalın uygun şekilde çalışması GDM için çok önemlidir (Şekil 6).



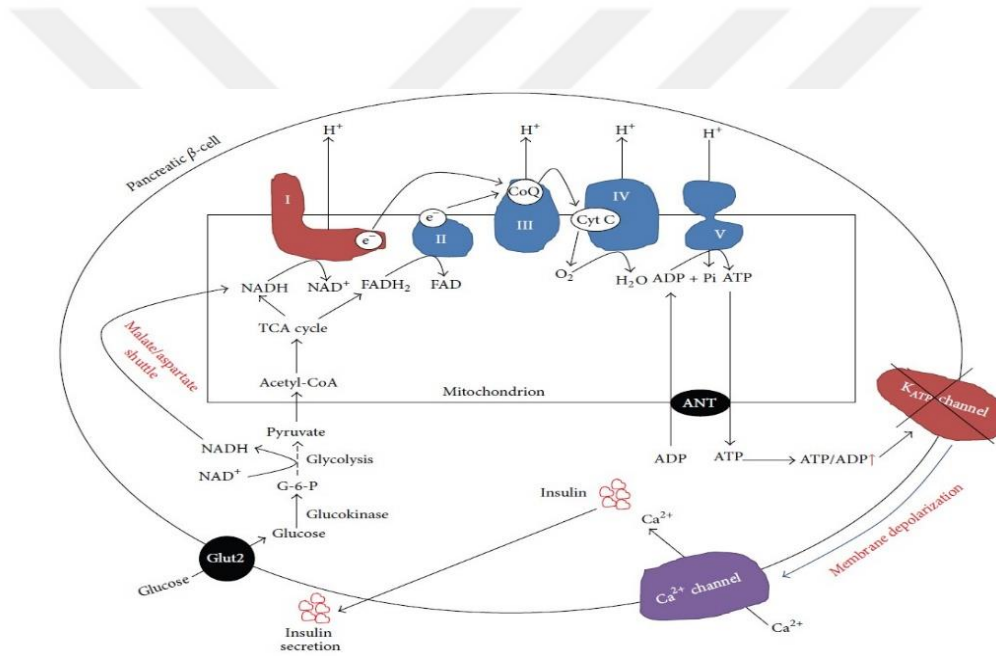
Şekil 2.6. Pankreas β hücresinde K-ATP kanalı ve insülin sekresyonu.

UCP-2 geni 11q13 bölgesinde lokalize olup, pankreas α ve B hücrelerinde bulunmaktadır. Bir mitokondriyal transmembran taşıyıcı ailesi üyelerinden biri olan UCP-2 proteini, UCP-2 geni tarafından kodlanmaktadır. Bu gen ısı üretiminde özelleşmiş olan Kahverengi Adipoz Dokuda (BAT) sentezlenmektedir. UCP-2 proteini mitokondrial iç zar boyunca protonların transferini sağlayarak mitokondrial oksidatif fosforliasyonunu engeller ve böylece ATP üretimini azaltmış olur. ATP üretiminin azalması sonucunda da insülin sekresyonu azalmasına sebep olur (Şekil 7).



Şekil 2.7. UCP2 proteini ve İnsülin sekresyonu ilişkisi

β hücrelerinde glikoz sadece enerji kaynağı değil aynı zamanda insülin sekresyonunu da uyarmaktadır. B hücreleri Glut2 ve glukokinaz için yüksek K_m değerine sahiptir. Glut2 ve glukokinazın her ikisi de kandaki yüksek glikoz değerine karşı hassastırlar. Zincirleme glikoliz reaksiyonlar sonucunda oluşan NADH ve elektronlar ETS sistemine ulaşır ve NADH dehidrojenaz ile devam eder. Bu zincirleme reaksiyonlardan dolayı glikoz metabolizması ve insülin sekresyonu arasında kuvvetli bir bağ vardır. Bir mitokondrial DNA geni olan MT-ND1 geni 36 kDa ağırlığında ve 318 amino asitlik bir protein olan NADH dehidrojenazı sentezlemektedir. MT-ND1 geninde olası bir mutasyon NADH dehidrojenazın mitokondrial ETS üzerindeki fonksiyonunda değişikliğine sebebiyet verebilir ve bu da insülin sekresyonunda azalmayla sonuçlanabilir.

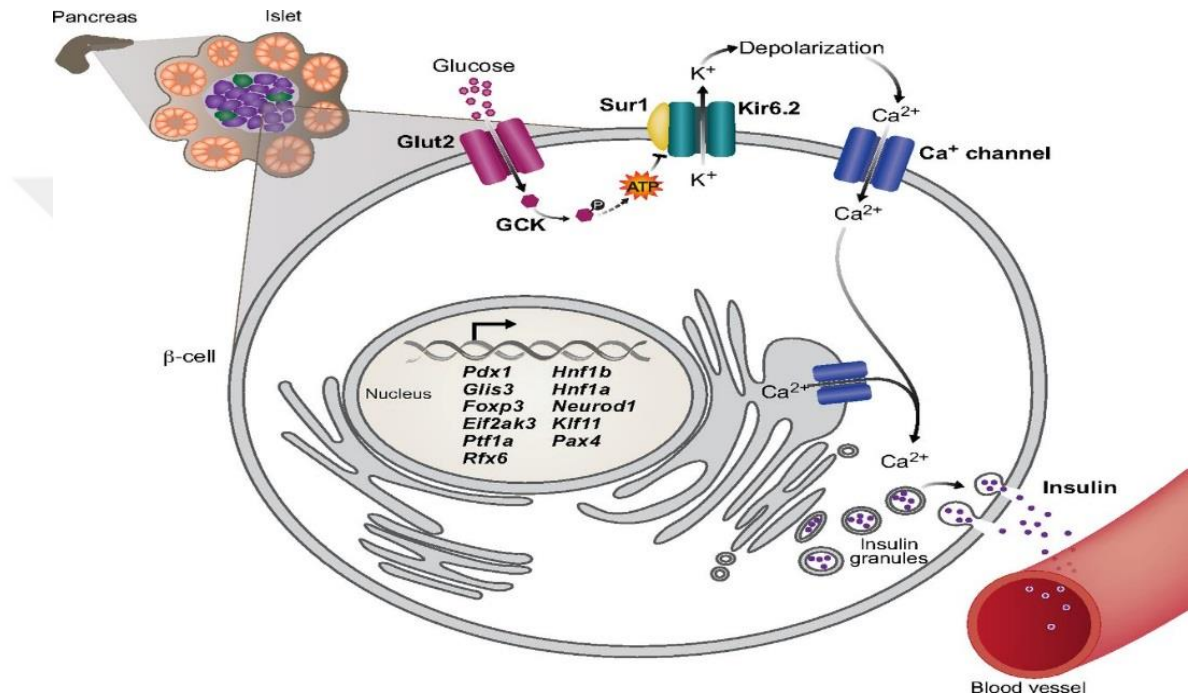


Şekil 2.8. β hücrelerinin glikoz hassasiyet mekanizması ve insülin salgılanması.

Glikoz düzeyi yükseldiğinde buna bağlı olarak da ATP düzeyinde artış meydana gelir. ATP artışı ile hücre zarının membranında depolarizasyon oluşur ve bunun neticesinde K-ATP kanalının kapanması tetiklenir. Bu olayın sonucu olarak da Ca^{2+} kanalının açılmasını sağlar. Bu olayların sonucu olarak da insülin granüllerinin ekzositoz ile salgılanması gerçekleşir (Şekil 8). Polimorfik ve pleotropik özellik taşıyan TCF7L2 geni, 10q25.3 üzerinde lokalize olup 19 exondan oluşmaktadır ve otozomal olarak kalıtılmaktadır. Yapılan iki çalışmada, GDM'li hasta ve kontrol gruplarının rs7903146 genetik varyantının T alellerinin, TCF7L2 geni ve GDM ile ilişkili olduğu görülmüştür

(50,51) Glikoz metabolizması üzerinde ve insülin sekresyonunda önemli bir rolü olan GCK geni 7p15.3-p15.1 lokalizedir. Bu gen 12 exon içerir ve yaklaşık 52kDa ağırlığında monomerik bir proteini kodlar.

GCK geni β hücrelerinde ‘glikoz sensörü’ olarak görev yapar. Plazma glikoz düzey artışına bağlı olarak β hücrelerine geçiş artar ve GCK geni ürünü olan glikokinaz enzim etkinliği artar ve insülin sekresyonu ile sonuçlanacak reaksiyonlar zinciri başlar (Şekil 9).



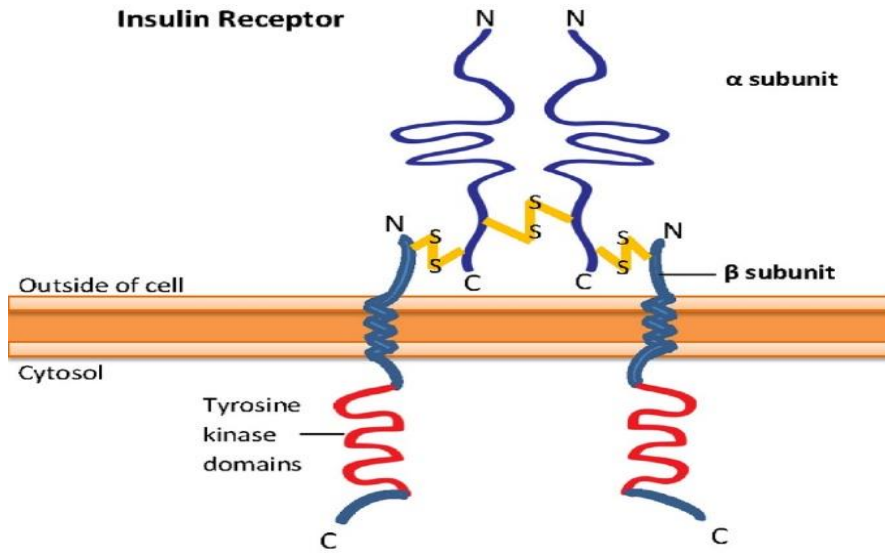
Şekil 2.9. β hücrelerinin glikoz düzeyine tepkisi, GCK enzim etkinliği ve insülin sekresyonu

Nükleer hormon reseptörleri için transkripsiyon faktörleri olan HNF1A ve HNF4A, β hücrelerinde eksprese edilmekte ve glikoz metabolizması kaynaklı insülin sekresyonunu regüle etmektedir. Bu faktörler HNF1A ve HNF4A genleri tarafından kodlanmaktadır. HNF4A geni 20q13.12 üzerinde lokalizedir ve bu gen hepatik glikonejenik programında ve lipit metabolizmasında etkilidir. HNF4A geni karaciğer ve pankreas dahil birçok dokuda eksprese edilmektedir. HNF4A hepatik gen ekspresyonunu regüle etmektedir. B hücrelerinde ise direkt olarak insülin gen ekspresyonunu aktive etmektedir (52). HNF4A geni sadece MODY ile ilişkili değil aynı zamanda GDM duyarlılığı ile de ilişkili olabilir. Bununla beraber HNF4A genindeki varyasyon, GDM’de gözlenen β hücrelerinin fonksiyon kaybı ile ilişkili olabilir (53).

12q24.2 üzerinde lokalize olan HNF1A geni karaciğer ve pankreasta eksprese edilmektedir ve HNF4A'nın ekspresyonu üzerinde etkilidir bu durum MODY1 VE MODY3 arasında bağlantı olduğunu göstermektedir. Buradan hareketle MODY transkripsiyon faktörlerinin glikoz homeostasisinin sağlanmasında düzenleyici bir ağ oluşturduğu fikrini ön plana çıkılmaktadır.

İnsülinin prekürsörü olan Preproinsülin, INS geni tarafından kodlanmaktadır. 11p15.5 üzerinde lokalize olan INS geninin β hücrelerinden sentezi için glikoz düzeyi fizyolojik bir uyarıcı etki göstererek insülin sentezinin regüle edilmesinde etkilidir. İnsülin temel olarak transkripsiyon faktörleri olan PDX1, NeuroD1 ve MafA tarafından sentezletirilir. Bu gen VNTR class-I alellerinin, VNTR class-III alellerine göre daha sık meydana geldiği bir promotör bölgesi içermektedir. Yapılan bir çalışmada, VNTR class-III allel oranının GDM ile ilişkili olduğu yönündedir (54).

19p13.3-p13.2 üzerinde lokalize olan INSR geni insülin reseptörünü kodlamaktadır. İnsülin reseptörü (IR), intrinsik kinaz aktivitesine sahip tirozin kinaz ailesine aittir. IR heterotetramerik yapıda; ekstrasellüler 2α altbirim, zar boyunca 2β altbirimden oluşmuş olup, disülfür köprüleri ile birbirine $\alpha_2\beta_2$ konfigürasyonu şeklinde bağlanmıştır (Şekil 10).



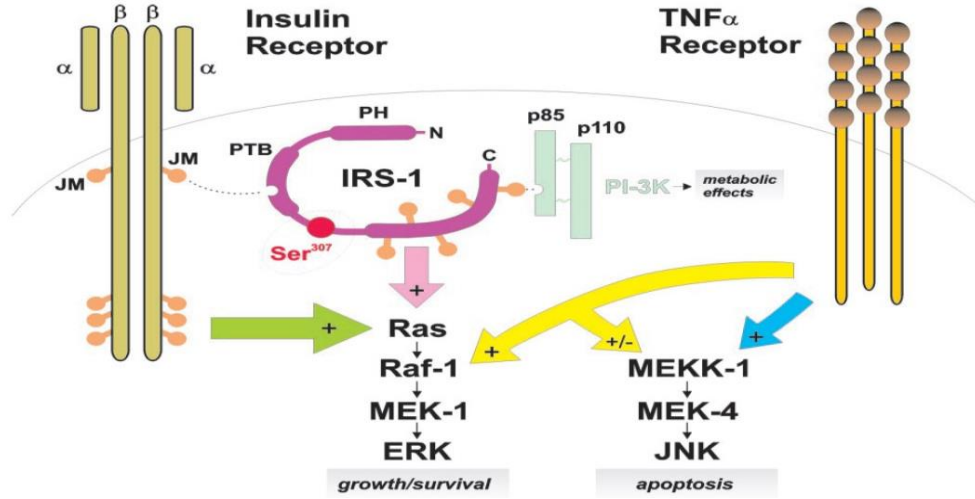
Şekil 2.10. İnsülin Reseptörü yapısı.

Yapılan bir çalışmada siyahi ve Kafkas kadınlarında INSR geninin, RFLP Kpn-I allel-I inin GDM ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu vurgulanmıştır. BMI in GDM riski

üzerindeki etkisi INSR allel-I i pozitif olan bireylerde anlamlı olduğu bulunmuştur. IGF2:11p15.5 üzerinde lokalize olan IGF2 geni polipeptid büyüme faktörlerinin insülin ailesinin bir üyesini kodlar. IGF2 geni β hücrelerinin yenilenmesi ve insülin fonksiyonunun stimülasyonunda da etkilidir. Kafkas kadınları üzerinde yapılan bir çalışmada, INSR allele-1 varlığında, IGF2 Bam HI RFLP taşıyıcısı olanlarda GDM riskinde artış olduğu yönündedir (55).

IGF2BP2 geni, 3q27.2 üzerinde lokalize olup, IGF2'nin mRNA'sının 5' UTR bölgesine bağlanan bir proteini kodlamakta ve translasyonunu regüle etmektedir. Kore kadınları üzerinde yapılan bir çalışmada IGF2BP2 geninin bir varyantının GDM ile anlamlı bir ilişkisi olduğu ifade edilmiştir (56).

IRS1 geni 2q36 üzerinde lokalizedir ve 131 kDa ağırlığındaki bir adaptör proteini olan İnsulin Receptor Substrate 1 (IRS-1) proteinini kodlamaktadır. IRS1, insülin ve IGF-1 gibi reseptörlerden gelen sinyalleri hücre içi yollarından olan PI3K / Akt ve Erk MAP kinaz yollarına aktarılmasında önemli bir rol üstlenmektedir (Şekil 11). IRS1' in etkileşime girdiği bazı moleküller; Bcl-2, Grb2, INSR, IGF1R, JAK1, JAK2, MAPK8, PIK3R1, PIK3R3, PTK2, PTPN11, PTPN1, YWHAE. Yapılan bir meta analiz çalışmasında IRS1 genin GDM ile anlamlı ilişki içinde olduğu gösterilmiştir (57).



Şekil 2.11. IRS1'in bazı yolları

PPARG: 3p25 üzerinde lokalize olan PPARG geni, adiposit farklılaşması, lipit ve glikoz metabolizması üzerinde etkili olan bir faktörü kodlamaktadır. 4p15.1 üzerinde lokalize olan PPARGC1A geni PPARG ve PPARA'nın koaktivatorü olmanın yanı sıra enerji metabolizmasında görev alan genleri de regüle etmektedir (Tablo 9) (58).

ADRB3: 8p11.23 üzerinde lokalize olan ADRB3 geni adipoz dokuda β -3 adrenerjik reseptörünü eksprese etmekte, enerji metabolizmasını ve omental yağ hücrelerinde lipolizi olaylarını düzenlemektedir (Tablo 9) (59,60).

SLC2A1 geni 1p34.2 üzerinde lokalize olup. SLC2A1 geni, uniporter olan SLC2A1 (Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1) ya da Glucose Transporter 1 (GLUT1) olarak da bilinen proteini kodlamaktadır (61). GLUT1, birçok hücrede glikozun taşınmasında etkin bir rol oynamaktadır (Tablo 9).

ADIPOQ: 3q27 üzerinde lokalize olan ADIPOQ geni, 247 amino asitten oluşan, protein yapıdaki Adiponektin hormonunu kodlamaktadır. Bu hormonun üretimi adipoz dokuda gerçekleşmektedir. Adiponektin glikoz düzeyinin ayarlanmasında ve yağ asitlerinin yıkımına görev almaktadır (Tablo 9) (62).

FOXC2: 16q24.1 üzerinde lokalize olan FOXC2 geni, en az 43 üyelik FOX (Human Forkhead-box) ailesi üyelerinden birisidir (63). FOXC2, birkaç yönden adiposit metabolizmasını, diyete bağlı insülin direncini ve büyük çapta glikoz metabolizmasını regüle etmektedir (Tablo 9) (64).

HLA: 6p21 üzerinde lokalize olan HLA genleri immün sistem çok önemli molekülleri kodlamaktadır. Bu moleküller immün hücrelerin tanıyabilmesi ve analiz edebilmesi için hücre yüzeyinde küçük amino asit zincirleri tutarlar. İmmün hücreler uygun zincirleri bulmadıklarında ilgili hücrelere saldırırlar. Otoimmün hastalıklar çoğu zaman immün sistemin kendi doku ve hücrelerine zarar vermesi sonucu oluşur. Bu hastalıklardan birisi de Tip-1 Diyabettir. Bu hastalık özellikle pankreas β hücrelerini tahrip edebilmektedir. Ancak HLA alelleri diyabet riskini arttırma, etkilememe veya koruyucu bile olabilmektedir (65).

Siyahi kadınlarla yapılan bir çalışmada bilhassa HLA-DR3 ve HLA-DR4 genlerinin GDM ile yüksek oranda ilişkili olduğu görülmüştür (Tablo 9) (66).

CAPN10: 2q37.3 üzerinde lokalize olan CAPN10 geni, her yerde eksprese edilen intrasellüler kalsiyum-bağımlı sistein proteaz grubunu kodlamaktadır (67). Kalapınler (Calpains) grubu proteazları büyük bir katalitik alt birim ve küçük düzenleyici alt birim içermektedir. Kalapınler intrasellüler signalling, proliferasyon, farklılaşma ve belki de adiposit farklılaşmasındaki düzenlemeleri gibi geniş selüler fonksiyonlarda etkin rol oynarlar (68). Ayrıca insülin bağımlı, IRS1'in düzenlenmesinde de etkilidirler (Tablo 9) (69).

HFE: 6p21.3 üzerinde lokalize HFE geni 7 ekzon içermektedir. HFE geni, beta-2 mikroglobin proteinine bağlanan HFE ekstrasellüler proteinini kodlamaktadır. HFE, demir metabolizmasının ana düzenleyicisi olan hepsidin ekspresyonunu düzenleyerek demir emilimini etkilemektedir. Haemochromatosis (HFE) genindeki C282Y ve H63D varyantlarından C282Y'nin GDM'li kadınlarda daha yüksek oranda artış gösterdiği ifade edilmiştir (Tablo 9) (70).

MBL2: MBL2 geni 10q11.2 üzerinde lokalizedir. MBL2 geni serumda bulunan mannoz-binding lektin veya mannoz-binding proteini kodlamaktadır. Bu protein kollektin ailesine üyedir ve doğuştan gelen bağışıklık sistemi üzerinde çok etkilidir. MBL2, ayrıca TNF- α salgılanmasını inhibe ederek inflamatuvar tepkiyi etkilemektedir (71). MBL2 genin Gly54Asp varyantının GDM artışı ile yüksek oranda ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Tablo 9) (72).

SERPINE1: 7q22.1 üzerinde lokalize olan SERPINE1 geni, serpin E1 proteinini kodlamaktadır. Bu proteinin yüksek oranda salgılanması tromboz ve aterosklerosis riskleri için risk oluşturmaktadır (73). Serpin E1 bir serin proteaz olup özellikle Doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinaz (uPA) inhibitörü olarak işlev görmektedir. SERPINE1 genin promotor bölgesinde en yaygın alelleri 4G/5G dir. GDM'li hastalarda -675 4G/5G varyantının rolü olabilir (Tablo 9) (74).

AHSG: AHSG geni 3q27.3 üzerinde lokalize olup Fetuin-A proteinini kodlamaktadır. Yapılan çalışmalarda yüksek Fetuin-A düzeyinin insülin direnci ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada da Fetuin-A genin 767 C>G polimorfizminin GDM için bir risk faktörü olarak görülebileceği, GG varyantının da GDM için koruyucu bir etki oluşturabileceği ifade edilmiştir (Tablo 9) (75).

Tablo 2. 9. GDM ile ilişkili üzerinde çalışılmış Genetik varyantlar;

a. İnsülin salgısı ile ilişkili genler

İnsülin salgısı ile ilişkili genler	Genin açıklımı	Lokasyonu	Varyantı	GDM ile ilişkisi
ABCC8	ATP Binding Cassette Subfamily C Member 8)	11p15.1	exon 16'nın tagGCC alleli ve R1273R nin AGG alleli	Anlamli
KCNJ11	Potassium channel inwardly rectifying subfamily J member 11	11p15.1	E23K	Anlamli
UCP-2	Uncoupling protein-2	11q13	UCP2-866G>A	Tartışmalı
MT-ND1	Mitochondrial NADH dehydrogenase-1	mtDNA	T3398C mutasyonu	Anlamli
TCF7L2	Transcription factor 7-like 2	10q25.3	rs7903146	Anlamli
GCK	Glucokinase	7p15.3-p15.1	rs1799884 (-30G/A)	Anlamli
HNF4A	Hepatocyte nuclear factor 4 alpha	20q13.12	rs2144908, rs2425637 ve rs1885088	İlişkisi yok
HNF1A	Hepatocyte nuclear factor 1 alpha	12q24.2	rs1169288, rs1800574	İlişkisi yok

Tablo 9; b. İnsülin ve insülin reseptörleri genleri

İnsülin ve insülin reseptörleri genleri	Genin açıklımı	Lokasyonu	Varyantı	GDM ile ilişkisi
INS	Insulin	11p15.5	INS-VNTR class-III allele	Tartışmalı
INSR	Insulin receptor	19p13.3-p13.2	INSR allele-1 Kpn I RFLP	Anlamli
IGF2	Insulin-like growth factor 2	11p15.5	IGF2 Bam HI RFLP	Anlamli
IGF2BP2	Insulin-like growth factor-2 mRNA-binding protein-2	3q27.2	rs4402960	Anlamli
IRS1	Insulin receptor substrate 1	2q36	rs1801278 (Gly972Arg)	Tartışmalı

Tablo 9; c. İnsülin Direnci Genleri

İnsülin Direnci Genleri	Genin açılımı	Lokasyonu	Varyantı	GDM ile ilişkisi
PPARG	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	3p25	rs1801282	İlişkisi yok
PPARGC1A	Peroxisome proliferatoractivated receptor gamma coactivator 1-alpha	4p15.1	rs8192678	İlişkisi yok
ADRB3	adrenergic receptor β 3	8p11.23	rs4994 (Trp64Arg)	Tartışmalı
SLC2A1	Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 1	1p34.2	SLC2A1 XbaI RFLP	İlişkisi yok
ADIPOQ	Adiponectin	3q27	rs1501299	İlişkisi yok
FOXC2	Forkhead box C2	16q24.1	-512C allele	İlişkisi yok

Tablo 9; d. HLA Genleri

HLA Genleri	Genin açılımı	Lokasyon	Varyantı	GDM ile ilişkisi
HLA	Human leukocyte antigen	6p21	DR3 and DR4	Tartışmalı
HLA	Human leukocyte antigen	6p21	DR3-DQ2/X, DR4-DQ8/X with positive autoantibodies	İlişkili
HLA	Human leukocyte antigen	6p21	DR7-DQ2/X, DR9-DQ9/X and DR14-DQ5/X	İlişkili
HLA	Human leukocyte antigen	6p21	DQB1 alleles	İlişkili

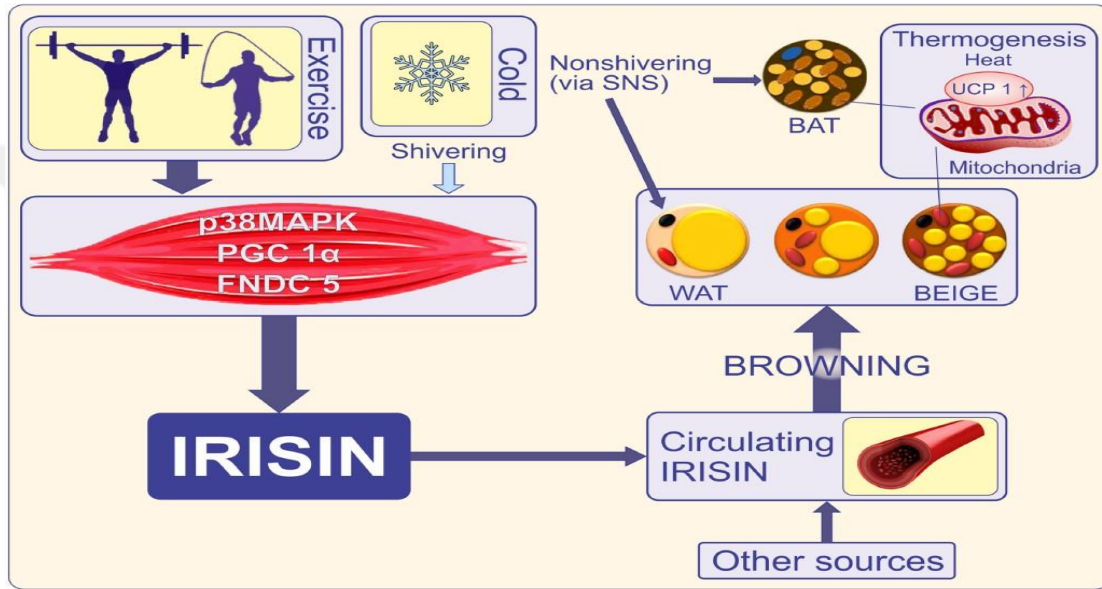
Tablo 9; e. Diğer genler

Diğer Genler	Genin açılımı	Lokasyon	Varyantı	GDM ile ilişkisi
CAPN10	Calpaine 10	2q37.3	SNP-19, SNP-43, SNP-44, SNP-63)	İlişkisi yok
HFE	Haemochromatosis	6p21.3	C282Y Kuzey ve Orta Avrupa Kadınlarında	İlişkili
HFE	Haemochromatosis	6p21.3	H63D	İlişkisi yok
MBL2	Mannose binding lectin2	10q11.2	rs1800450 (Gly54Asp)	Anlamlı
MBL2	Mannose binding lectin2	10q11.2	rs5030737 (Arg52Cys)	İlişkisi yok
SERPINE1	Serpin peptidase 40nhibitör, clade E, member1	7q22.1	-675 4G/5G	İlişkili olabilir
AHSG	Alfa2-Heremans-Schmid glyco-protein (AHSG)	3q27.3.	767C>G	İlişkili olabilir

2.6. İrisin

Enerji tüketiminin egzersiz sırasında arttığı ve insülin hassasiyetini tetiklediği bilinmektedir. Düzenli egzersiz yapılması halinde kas hücrelerinin insülin hassasiyeti ve glikoz metabolizmasının düzenlenmesinde etkili olan bazı genlerin ekspresyon düzeyi de farklılaşmaktadır. Fiziksel aktivite ve egzersiz faaliyetlerine bağlı olarak kas hücrelerinden miyokinler salgılanır. Bu Miyokinler GDM'nin altında yatan insülin direncinin gelişimindeki etkenlerden birisi olabilir (6).

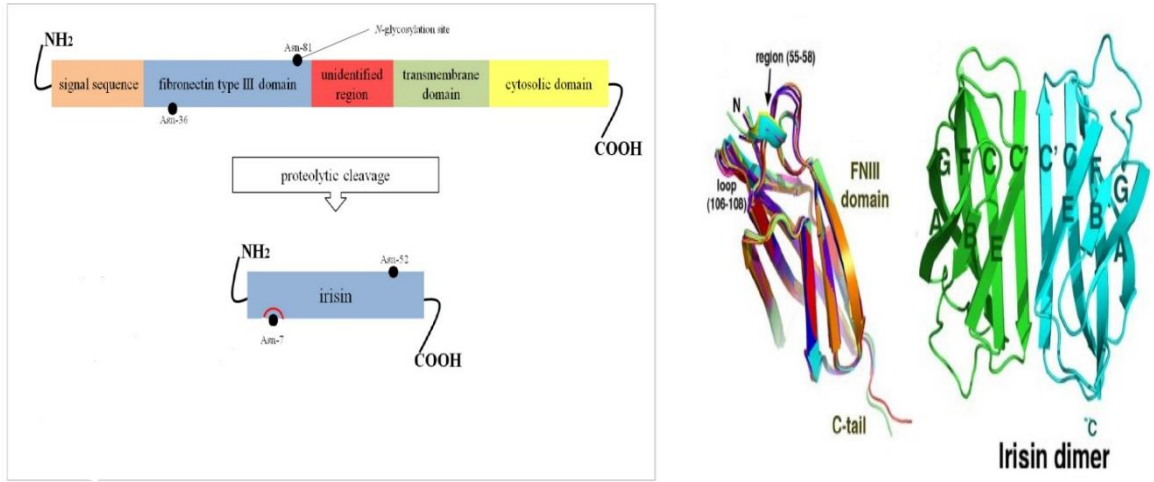
Bir miyokin olan İrisin, 2012 yılında Bostrom ve ark. tarafından ilk kez tanımlanmıştır. Ve adını da Yunan mitolojisindeki, Yunan Tanrılarının mesajcısı olan ‘İris’ ten almıştır. Bostrom ve ark. in vitro ve in vivo ortamlarda yaptıkları çalışmalar neticesinde, egzersiz sırasında irisin molekülünün yüksek düzeyde eksprese edildiğini ve bu molekülün beyaz adipoz dokuyu, kahverengi adipoz dokuya dönüştürdüğünü tespit etmişlerdir (Şekil 12). Bu durum metabolizma hızını arttırmış ve insülin direncinin de azalmasına sebebiyet vermiştir (7).



Şekil 2.12. Egzersiz ve fiziksel aktiviteye bağlı olarak İrisinin etkisi.

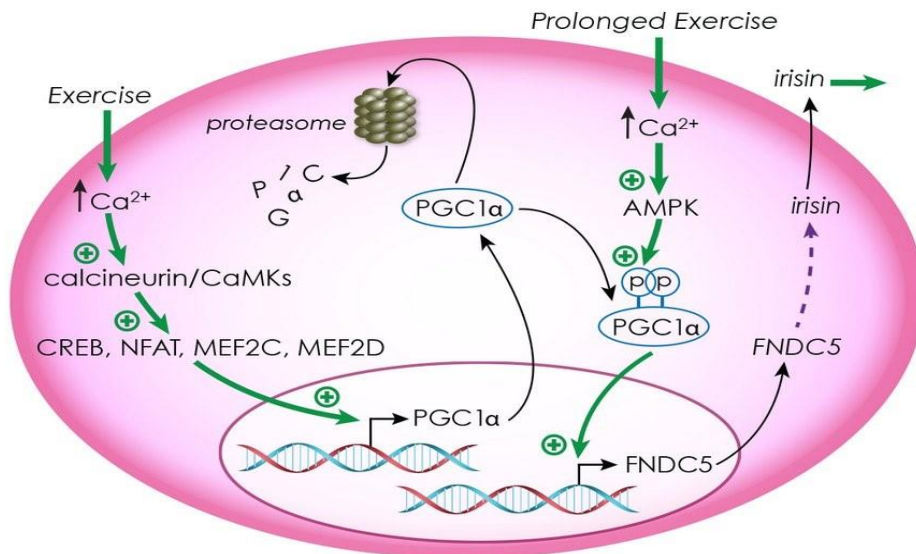
2.6.1. İrisin proteinin yapısı

İrisin, 112 amino asitten oluşan, yaklaşık olarak 12kDa ağırlığında ve enerji metabolizmasında görevli olan bir proteindir. İrisin proteini, Fibronectin Type III Domain Containing 5 (FNDC 5) geni tarafından kodlanmaktadır (8).



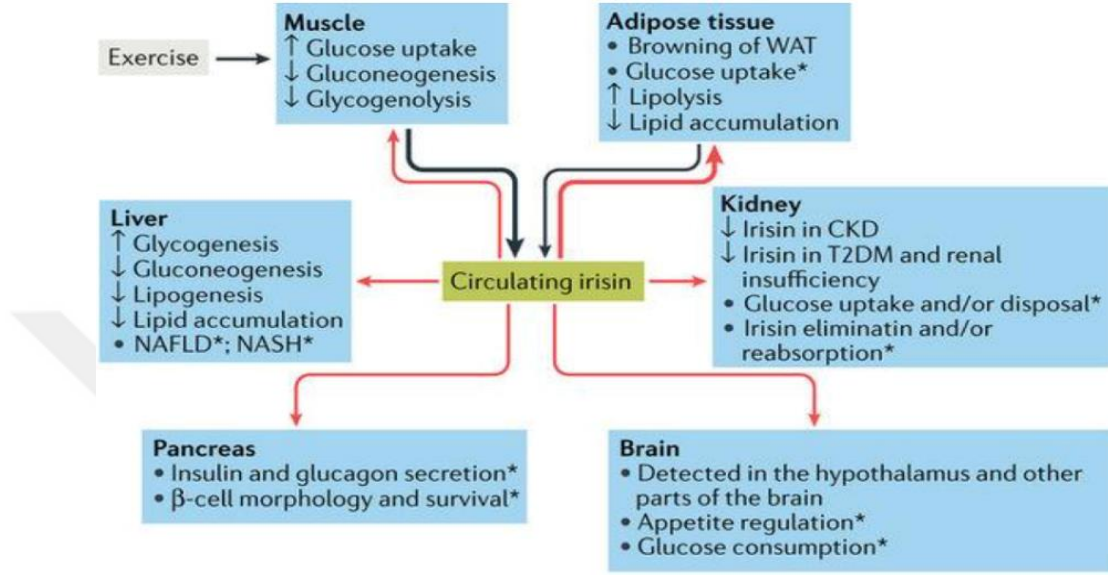
Şekil 2.13. İrisin oluşumu ve yapısı

İrisin güçlü bir mesajcı olup, çizgili kas, karaciğer, kalp, yağ, beyin ve pankreas hücrelerinin işlevlerini yönlendirmektedir (77). İrisinin sentezlenip salgılanması egzersiz ve PGC1- α (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) ile tetiklenmektedir (Şekil 14). PGC1- α , besin ve fizyolojik tepkiye bağlı olarak birçok genin ekspresyonunda ve düzenlenmesinde etkilidir. Uzun ve devamlı egzersiz yapılması halinde PGC1- α 'nın, bilhassa kalp ve iskelet kaslarında ekspresyonu artar ve neticede insülin hassasiyeti, sinyalizasyon ve AMPK aktivasyonu gibi farklı metabolik yollara etki eder. Ayrıca PGC1- α 'nın fosforilasyonu, *FNDC5* üretimi ve *FNDC5* 'in kesilmesi, akabinde de İrisinin oluşmasında görev alır (Şekil 13) (78,79).



Şekil 2.14. İrisinin sentezlenmesi ve salgılanması

İrisin, birçok doku ve organı etkileyerek fizyolojik fonksiyonlarında birtakım değişikliklere sebep olur (Şekil 15). Bu değişiklikler arasında; beyaz adipoz dokuyu kahverengileştirme, enerji tüketimini artırma, glikozdan yüksek oranda yararlanma, insülin direncini azaltma sayılabilir (80, 81).



Şekil 2.15. İrisinin bazı doku ve organlara üzerindeki potansiyel etkileri.

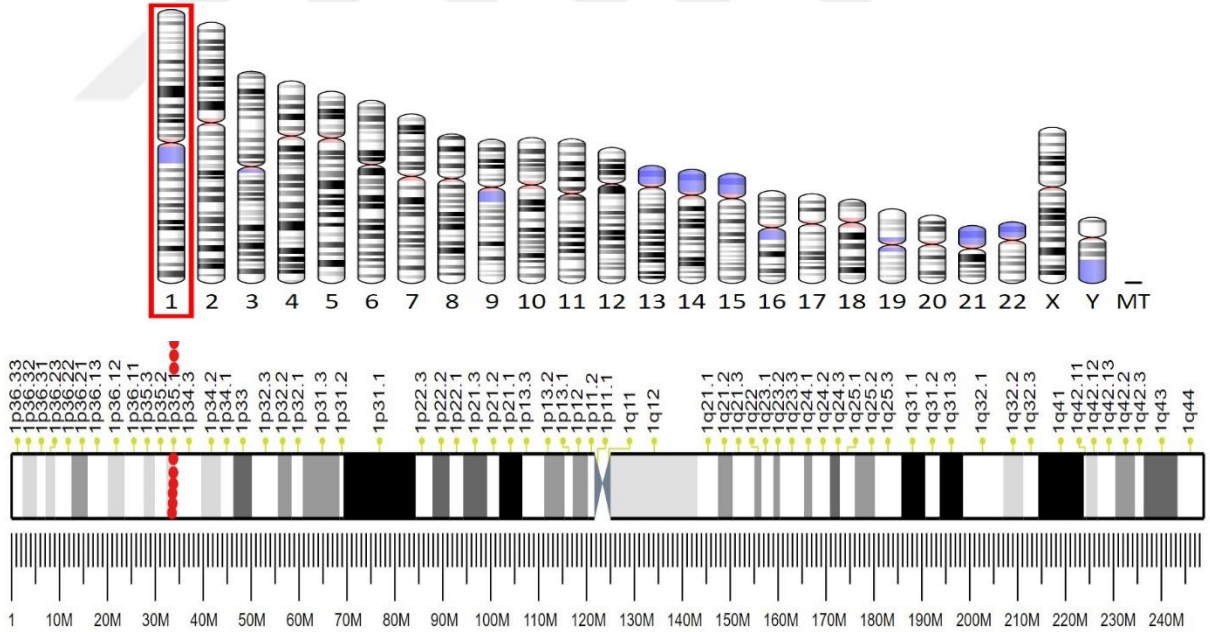
Yukarıdaki sayılan etkilerin yanı sıra serum irisin düzeyi menstrual döngüde %25'in üzerine çıkar ve vücut sıcaklığının korunmasına etki eder. Bu durumun oluşması irisin molekülünün adipoz doku için bir sinyal etkisi oluşturarak ısı artışının meydana gelmesine etki ettiğini ortaya koymaktadır. GDM insülin direnci ile karakterize olmuş metabolik bir rahatsızlık olup, gebelik durumunda serum irisin düzeyi değişkenliği meydana gelebilir. Yapılan bir çalışmada gebelikte serum irisin düzeyinin yüksek olduğu görülmüştür (82).

Başka bir çalışmada ise hem GDM'li hastalarda hem de normal glikoz toleranslı bireylerde doğum sonrası üç aylık süre zarfı içinde, serum irisin düzeyinde anlamlı şekilde düşüş olduğu tespit edilmiştir (77). Bu çalışmalar gebelik durumunda plasentanın dolaşımdaki irisin düzeyinin artışına katkı sağladığı yönündedir (9). Yapılan birkaç çalışma sonucunda, GDM'li hastalarda irisin düzeyinin, sağlık bireylere göre daha düşük olduğu ifade edilmiştir (10, 11, 83).

Gelecekte daha fazla çalışma yapılması halinde, insülin direnci ile karakterize olmuş GDM gibi hastalıklarda İrisinden, terapötik hedef veya risk biyobelirteçi olarak yararlanılabilir (9).

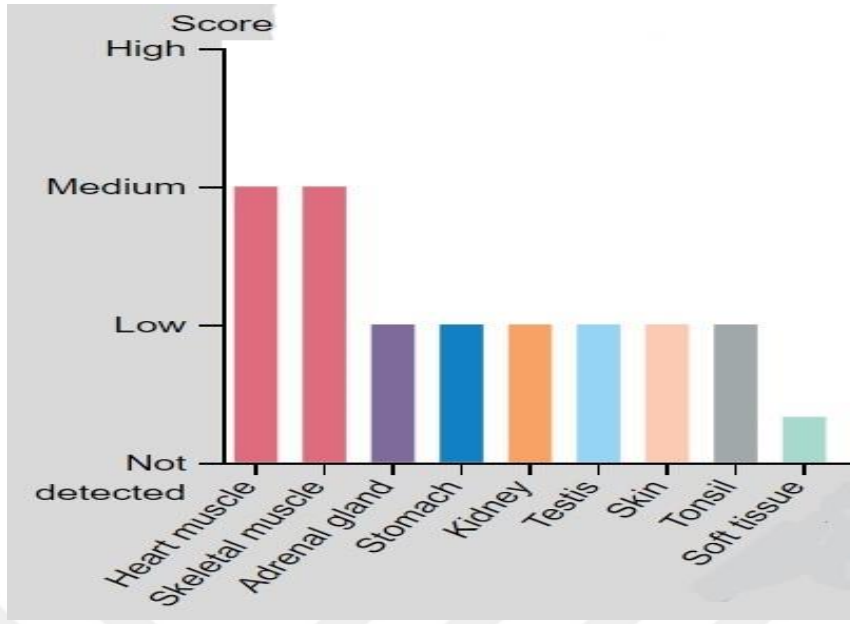
2.7. *FNDC5* Geni

FNDC5 geni (Fibronectin Type III Domain-Containing Protein 5); 6 ekzon, 5 intron içermekte olup birinci kromozomun p35.1 pozisyonunda lokalizedir (Şekil 16). *FNDC5* geni, 33,100,464 no'lu nükleotid pozisyonundan 33,108,934 no'lu nükleotid pozisyonuna kadar uzanan 8.47 kb uzunluğundadır. Seçilen rs16835198 ve rs726344 SNP'lerin, *FNDC5* genin 5. intronun 3' flanking (yan) bölgesinde yer alması sebebiyle üretilen proteinin amino asit sekansı üzerine etki etme olasılığı yoktur. Bir genin, DNA sekansının 3' – UTR bölgesinde olan değişiklikler gen ekspresyonunun seviyesi, zamanlaması ve lokasyonun değişimi üzerinde bir etki potansiyeli vardır. İtronik genomik varyantlar transkripsiyon faktörlerinin bağlanması, alternatif mRNA kesimi, mRNA stabilitesi, gen ekspresyonu ve böylece fenotip üzerinde etki oluşturabilirler.



Şekil 2.16. *FNDC5* geni lokalizasyonu

Polimorfik özellik gösteren *FNDC5* geninin farklı varyantları birtakım hastalıklarla ilişkili olabilir (12). Farklı dokularda eksprese edilen *FNDC5* geni çeşitli upstream ve downstream sinyalizasyon yolları ile regüle edilmektedir (Şekil 17) (84).



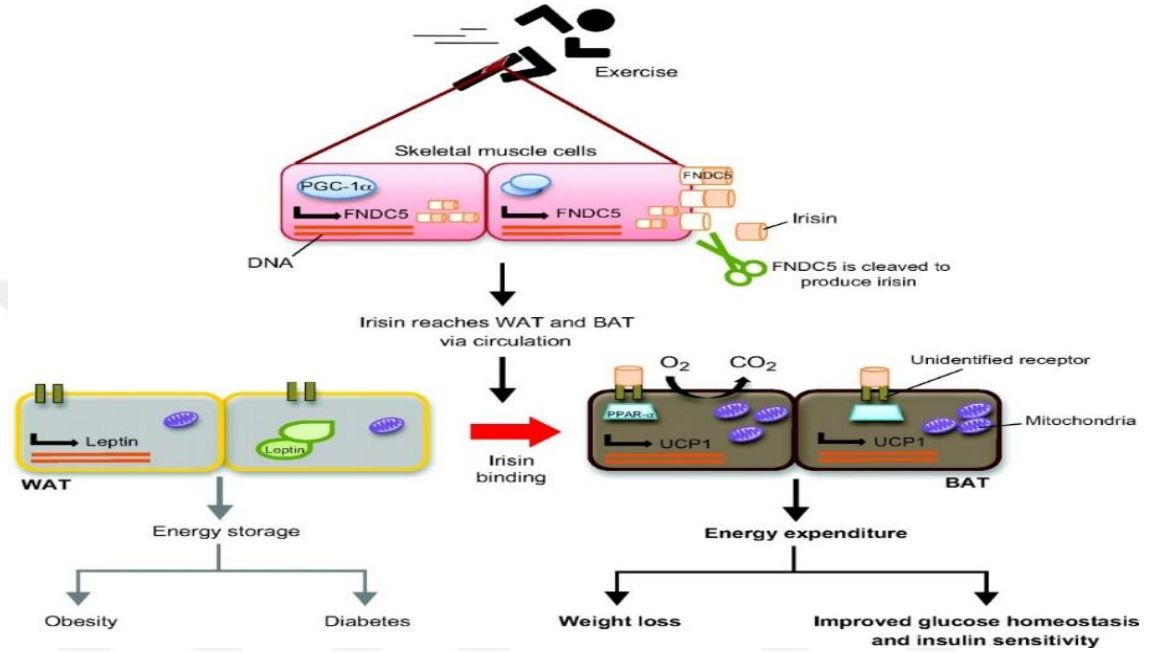
Şekil 2.17. *FNDC5* genin eksprese edildiği bazı dokular.

FNDC5 geni tarafından kodlanan *FNDC5* proteini; N-terminal sinyal sekansı, irisin domaini (Fibronectin type III domain), belirsiz bölge (unidentified region), kısa transmembran bölge ve sitozolik C-terminal domain kısımlarını içerir. *FNDC5* proteini, 209 aminoasitten oluşmakta olup; N-terminal sinyal sekansında 29 amino asit, Fibronectin type III domain (irisin) kısmında 94 amino asit, belirsiz bölgede (unidentified region) 28 amino asit, transmembran domain bölgesinde 19 amino asit ve C-terminal domain kısmında da 39 amino asit bulunmaktadır. *FNDC5* proteinleri kitlesi 20- 32 kDa ağırlığı aralıklarında olmakla beraber, N-terminal glikozilasyon aşamasının post-translasyonel safhasında proteinlere eklenen oligosakkaritlerin yapı ve sayısına göre değişkenlik arz etmektedir (85,86).

FNDC5 aktivasyonu, ligand-reseptör kompleksi oluşturularak gerçekleştirilebilir. Ligand-reseptör kompleksi oluşumunda ve *FNDC5* genin eksprese edilmesinde PGC1- α etkilidir. Bir transkripsiyon koaktivatörü olan PGC1- α enerji metabolizması dahil birçok biyolojik işlemde etkin bir rol oynamaktadır (69).

Egzersiz ile indüklenen ve buna bağlı olarak da kaslarda ekspresyon düzeyi artan PGC1- α , *FNDC5* ekspresyonunu tetikler ve böylece *FNDC5* oluşur. *FNDC5*, C-terminal kısmından, bilinmeyen bir proteaz ile kesilir ve bunun sonucunda irisin üretilmiş olur. Oluşan irisin molekülü, adiposit yüzeyinde bilinmeyen bir reseptör veya ligand aracılığı ile bağlanır ve beyaz adipoz dokunun (WAT) genetik profiline etki eder. İrisin molekülü

bilhassa adipoz dokusunda PPAR- α (Peroxisome Proliferator Activated Receptor alpha) ekspresyonuna etki eder ve böylece artan PPAR- α düzeyi de UCP1 (uncoupling protein 1) ekspresyonunu tetikleyerek metabolizma artışına, beyaz yağ dokunun kahverengileşmesine, enerji tüketiminde artışa ve insulin direncinde azalmaya sebep olur (Şekil 18) (87).



Şekil 2.18. *FNDC5* geninin ekspresyonu, kesilmesi ve etkileri

2.7.1. *FNDC5* Geninin Polimorfizmleri

Giderek artan kanıtların ortaya çıkması neticesinde polimorfik özellik gösteren *FNDC5* gen varyantlarının, metabolizma ve metabolik sendromlar ile ilişkileri ortaya çıkmaktadır. *FNDC5* (İrisin) geninin en yaygın polimorfizmleri; rs16835198, rs726344, rs3480, rs1746661, rs1298190 ve rs1570569 dir. Bu varyantlar farklı etnik gruplarda değişik şekillerde etki oluşturabilirler (88).

Örneğin, 1006 tip II diyabetli hasta ve 434 kişilik kontrol grubu içeren Brezilya popülasyonu ile yapılan bir çalışmada, T2DM'lu kadınlarda rs3480 varyantının G alelinin, glikozillenmiş hemoglobinin artışı ile, rs1746661 varyantının T alelinin ise yüksek sistolik kan basıncı, total kolesterol artışı, LDL-kolesterol artışı ve HDL-kolesterol düşüşü ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (89). *FNDC5* genindeki rs3480, rs1746661,

rs1298190, rs726344 ve rs1570569 polimorfizmlerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, 394 T2DM hastası ve 414 kontrol grubu içeren Suudi popülasyonunda, söz konusu *FNDC5* gen polimorfizmlerinin metabolik durum ile ilişkili olduğu yönündedir. Bu çalışma neticesinde; rs1746661 G alelinin yüksek trigliserit ile ilişkili olduğu, rs1570569 TT genotipinin yüksek açlık insülini ile ilişkili olduğu ve rs3480 GG genotipinin de obezite riskini azaltma ve BMI değerini düşürme ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (90). *FNDC5* rs3480 A>G polimorfizminin, NAFLD'li (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease=karaciğer yağlanması) hastalarda, fibrozis oluşumuna karşı anlamlı şekilde koruma sağladığı ifade edilmiştir (91). 1976 kişilik Alman popülasyonunda yapılan bir tarama neticesinde, rs16835198 ve rs726344 SNP'lerinin insülin sensitivitesi ile anlamlı ilişki içinde olduğu bulunmuştur (12). 6822 kişilik geniş Çin Han popülasyonu ile yapılan bir genotip taramasında rs16835198 polimorfizminin, majör G alelinin açlık insülin seviyesi ile yakinen ilişkili olduğu saptanmıştır (13). *FNDC5* (rs16835198 G> T) gen polimorfizminin, Mısırlı hastalarda, Nefropati ve serum İrisin düzeylerine etki etmeden, T2DM'ye karşı anlamlı bir koruma sağladığını ve bu SNP nin wild G allelinin, yüksek açlık insülini, HOMA-IR ve dislipidemi ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca, *FNDC5* rs16835198 polimorfizmi ve serum irisin düzeyi arasında herhangi bir ilişki olmadığı yönünde fikir beyan edilmiştir (14).

Japon popülasyonu içeren, *FNDC5* geninin yaygın iki SNP'si (rs3480 and rs16835198) ile yapılan başka bir çalışmada ise bu iki polimorfizm ile serum düzeyleri arasında herhangi bir ilişkinin söz konusu olmadığı yönündedir (92). Alman popülasyonu ile yapılan bir çalışmada, İrisini kodalayan *FNDC5* genin, rs16835198 ve rs726344 SNP'lerinin, insülin hassasiyeti ile ilişkili olduğu saptanmıştır (12). *FNDC5* genin rs16835198 ve rs726344 SNP'lerinin 200 kişilik Mısır popülasyonunda, obezite ile ilişkili olduğu, rs726344 varyantının GG genotipi ve G alleli ile rs16835198 varyantının TT genotipi ve T allelinin obeziteye yatkınlığı arttırabileceği, ayrıca dolaşımdaki serum irisin düzeyi ve çeşitli metabolik parametrelerle genotip-fenotip korelasyonu olduğu gözlemlenmiştir (15). Yukarıda ortaya konan çalışmalar neticesinde *FNDC5* geni ve polimorfizmlerinin, metabolik parametrelerin düzenlenmesinde, hastalıklarla ilişkilerinde hayati bir öneme sahip olduğu görülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Helsinki Deklarasyonuna bağlı kalmış ve protokolleri Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Bütün katılımcılardan çalışmanın başında onay alınmıştır. Çalışmaya 233 gebe kadın dahil edildi. Çalışma grubu, Harran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran, yaş aralıkları birbirine yakın, tetkik ve takipleri yapılan kişilerden oluşmaktadır. Çalışma grubu ikiye ayrıldı. Birinci grup 110 kişilik GDM'li hastalardan, ikinci grup ise kontrol GDM olmayan (kontrol grubu) hastalardan oluşturuldu. Birinci grup, American Diabetes Association kriterlerine göre, gebeliğin 24-28. Periyodunda Gestasyonel Diabetes tanısı konmuş kişiler hasta grubu olarak belirlendi.

3.1. Çalışmaya dahil edilme kriterleri

GDM'li gebe hastalar için dahil edilme kriterleri;

- Daha önce Hipoglisemik ilaç kullanmamış ve ilk kez GDM teşhisi konmuş,
- Gebeliğin 24-28. Haftaları aralığında,
- ADA kriterlerine göre Gestasyonel Diabetes tanısı konmuş,
- 18 yaşından büyük,
- Çalışmaya onay vermiş kişilerdir.

GDM'li olmayan gebeler (Kontrol grubu) için dahil edilme kriterleri;

- ADA kriterlerine göre Gestasyonel Diabetes tanısı konmamış,
- Ailesinde diyabet öyküsü olmayan,
- Majör hastalıkları olmayan,
- Glikoz toleransını değiştirebilecek ilaç kullanmayan,
- Gebeliğin 24-28. Haftaları aralığında,
- 18 yaşından büyük,
- Çalışmaya onay vermiş kişiler.

3.2. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

- BMI >30 olan,
- 18 yaşından küçük,
- Diabetes Mellitus tanısı olan,
- Obezite hastası olan,
- Pre-gestational diyabet tanısı olan,
- Majör hastalıkları olan kişiler.

3.3. Kullanılan Kimyasallar ile Laboratuvar Araç ve Gereçleri

3.3.1. Kimyasallar

- Etanol (Riedel-de Haen 32221)
- Proteinaz K
- Distile su
- DNA izolasyon kiti (Invitrogen Pure Link Genomik DNA Mini Kit K1820-02)
- PCR Master Mix (Applied Biosystems, 4364340)
- Human rs16835198 *FNDC5* gene Validated Primer Probes for Real Time
- Human rs726344 *FNDC5* gene Validated Primer Probes for Real Time

3.3.2. Laboratuvar Araç ve Gereçler

- Rotor Gene Q Series (Qiagen) Real-Time PCR cihazı
- 36 Kuyucuklu Real-Time PCR Plate
- Etüv (Nüve EN-500)
- Santrifüj Tüpleri (1,5 ml'lik) (BD Falcon)
- Otoklav (Nüve OT 4060 V, OT 40 L)
- Vorteks (VELP)
- Mikropipet Seti (Eppendorf)

- Santrifüj (Nüve NF-800)
- Buzdolabı (Arçelik 8188 NF)
- Deep Freezer (SANYO, Biomedical Freezer)
- Pipet ucu (200 µl) (DNA & RNA free)
- Pipet ucu 1000 µl (DNA & RNA free)
- Pipet ucu 10 µl (DNA & RNA free)
- Mikrosantrifüj Tüpü (P.P- 1,5 ml) (DNA & RNA free)
- Eldiven
- PCR tüpleri (0,2 ml)

3.4. DNA Ekstraksiyonu

Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerin her birinden 2 ml kan alınarak EDTA`lı tüplere aktarıldı ve sonrasında 200 µl`lik kanlardan Invitrogen Pure Link Genomik DNA Mini Kit K1820-02 tekniği ile DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi (93).

3.4.1. Invitrogen Pure Link Genomik DNA Kiti ile DNA Ekstraksiyon Protokolü:

1. Birinci adımda, Mikrosantrifüj tüplerine 200 µl kan konuldu.
2. İkinci adımda 20 µl proteinaz K ve 20 µl RNAase eklendi. Vortekslenerek oda sıcaklığında 2 dk inkübasyonu sağlandı.
3. Sonrasında 200 µl purelink genomik lizis tamponu eklendi ve sonrasında vorteksleme işlemi uygulandı.
4. Numuneler etüve alınarak 55⁰C`de 10 dakika inkübasyona tabi tutuldu.
5. Etüvden alınan lizata 200 µl %96-100 etanol ieklenerek 5 sn vorteksleme işlemine tabi tutuldu.

6. Numuneler Mikrosantrifüj tüplerinden, spin kolonlarının konulduğu toplama tüplerine aktarma işlemi yapıldı.
7. Tüpler santrifüj cihazına konularak 10 000xg de 1 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüjden çıkarılan toplama tüpleri atıldı ve kolonlar temiz tüplere konuldu.
8. Etanol ilaveli 500 µl Wash Buffer-1 (WB1) eklenerek kolonlar 10 000xg de 1 dakika santrifüj işlemine tabi tutuldu. Çıkarılan toplama tüpleri atıldı ve kolonlar temiz tüplere yerleştirildi.
9. Etanol ilaveli 500 µl Wash Buffer-2 (WB2) eklenerek kolonlar 3 dakika boyunca maximum (14 000xg de) santrifüj işlemine tabi tutuldu ve toplama tüpleri atıldı.
10. Spin kolonlar 1.5 ml'lik Ependorf tüplerine konuldu. Kolona 200µl purelink genomik Elution buffer ilave edildi ve 1 dakikalık inkübasyondan sonra 1 dakika boyunca 14 000xg de santrifüj işlemine tabi tutuldu.
11. Santrifüj işleminden sonra kolonlar atıldı ve DNA'ların aktarıldığı tüplerin kapakları kapatılarak -20°C'de muhafaza edildi.

3.4.2. Ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilen DNA numunelerinin Real-Time PCR tekniği ile analizi:

Periferik kan numunelerinden DNA ekstraksiyon işlemi yapıldıktan sonra Hasta ve kontrol gruplarının genotiplendirme işlemi gerçekleştirildi. Bu çalışmada FNDC 5 (Fibronectin Type III Domain Containing 5) polimorfizmlerinden olan rs726344 ve rs16835198'nin (Tablo 11, 12) analizleri Validated Primer Probes kullanılarak RT-PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction) tekniği ile yapılmıştır (Tablo 10).

Tablo 3.1. Genotiplleme analizi için uygulanan RT-PCR programı

Sıcaklık (0C)	Zaman	Döngü Sayısı
95	180 Saniye	1
95	15 saniye (Denatürasyon)	45
60	60 saniye (Annealing ve Extensiyon)	

3.5. *FNDC5* Geninde çalışılan SNP'lerin özellikleri

Tablo 3.2. *FNDC5* geninde bulunun rs726344 polimorfizmi

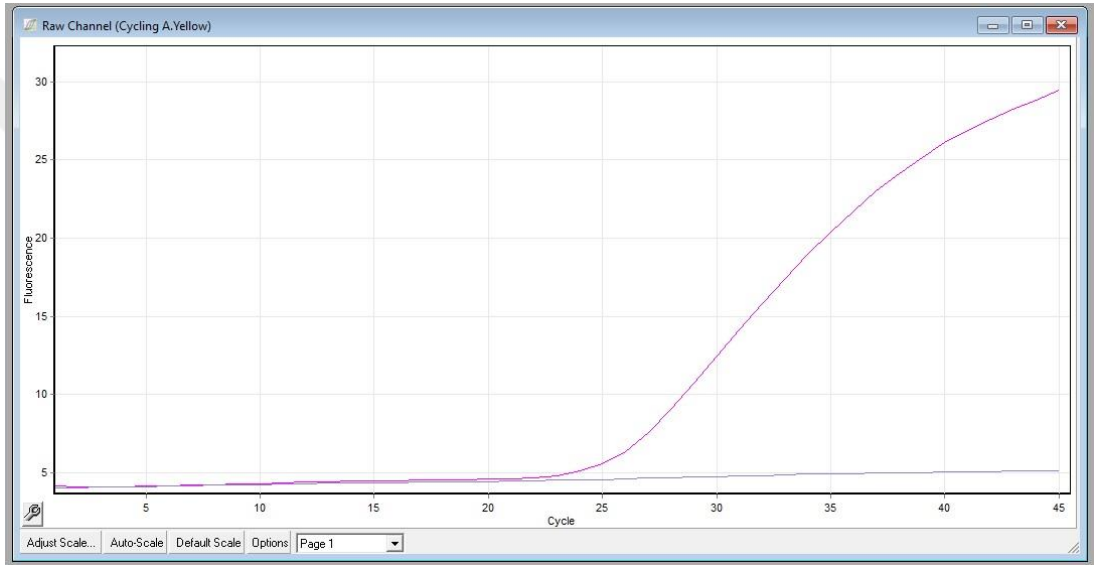
Gen Adı	Nükleotid Değişimi	Referans Numarası
<i>FNDC5</i>	G>A	rs726344
Çoğaltılan Sekans	AGCCCCAAGAAGCTGAACCTCTTCT[G/A]AGGGAGGGCGAAGGCA AGTACTCAT	

Tablo 3.3. *FNDC5* geninde bulunun rs16835198 polimorfizmi

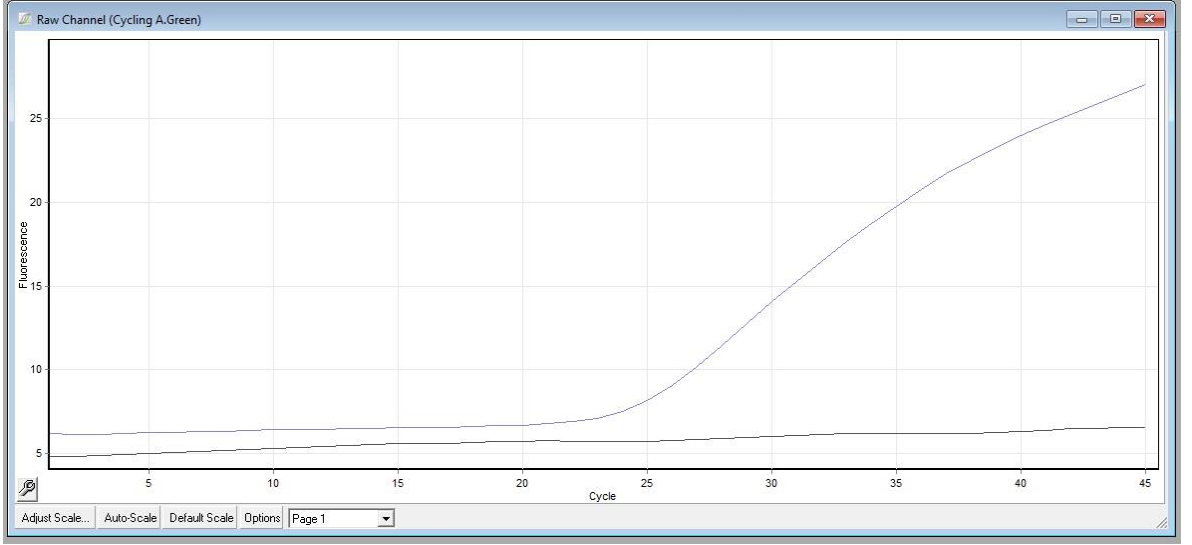
Gen Adı	Nükleotid Değişimi	Referans Numarası
<i>FNDC5</i>	G>T	rs16835198
Çoğaltılan Sekans	AAGGACACCACGACCTAACCTCAGA[G/T]AATTAAGTTGCCTGAGG TGTTAGGT	

3.6. Genotip Tespiti

FNDC5 gen polimorfizmleri (rs726344, rs16835198) 110 GDM'li hasta ve 123 normal hamilelik sürecindeki kontrol grubu içeren çalışmada, her birey için Validated Primer Probes kullanılarak Real Time-PCR tekniği ile genotip tespiti gerçekleştirildi. Bu polimorfizmlere ait alleller uygun floresan boya ile işaretlenip oluşan amplifikasyon eğrileriyle her bir numunenin genotip tayin işlemi yapıldı. Kullanılan primer ve prob setinde Wild Allel VIC (yellow) ile, polimorfik allel de FAM (Green) ile işaretlidir. Wild ve Polimorfik allelerin pozitif ve negatif örnekleri Şekil-19 ve 20 de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Wild Alleli belirleyici VIC (Yellow) probu ile işaretli, pozitif ve negatif pik örneği (Yatay eğri negatif, Sigmoidal eğri ise pozitifdir)



Şekil 3.2. Polimorfik Alleli belirleyici FAM (Green) probu ile işaretli, pozitif ve negatif pik örneği (Yatay eğri negatif, Sigmoidal eğri ise pozitifdir)

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu araştırmada GDM'li hastalar ve kontrollerdeki *FNDC5* gen polimorfizmleri arasındaki ilişki tespit edilirken, gruplar arasındaki ortalamaların karşılaştırılması işleminde Unpaired t test uygulandı. Allellerin genotiplere dağılımı ve bu dağılımın beklenen değerlerle uyumunun (Hardy-Weinberg Equilibrium) analizinde Pearson ki-kare testi uygulandı.

Genotiplerin ve allellerin olası riskleri Odds oranı hesaplanarak tespit edildi. Araştırmadan edinilen verilerin istatistik analizleri SPSS V20.0 programı kullanılarak elde edilmiştir. İstatistik analizlerde %95 güven aralığında, $p < 0,05$ olduğunda sonuçlar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu araştırma Harran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde Gestasyonel Diyabet teşhisi konmuş 24-30 haftalık 110 gebe ile benzer yaş ve gebelik haftası aralığındaki 123 sağlıklı gebe üzerinde uygulanmıştır.

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri

Yaş açısından değerlendirildiğinde hasta grubunun yaş ortalamasının 28.89 (± 6.58), kontrol grubunun ise yaş ortalamasının 29.03 (± 5.74) olduğu tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ($p > 0,05$) görülmüştür. BMI açısından değerlendirildiğinde de anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının Glukoz değerleri karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p > 0,05$). (Tablo 13)

Tablo 4.1. Hasta ve Kontrol gruplarının demografik karakteristikleri.

Değişken	Hasta (N=110) Ortalama \pm SD	Kontrol (N=123) Ortalama \pm SD	P*
Yaş	28.89 \pm 6.58	29.03 \pm 5.74	0.86
BMI (kg/m ²)	27.85 \pm 3.24	27.34 \pm 1.67	0.126
Glucose (mg/dl)	114.59 \pm 18.88	84.05 \pm 5.37	<0.0001

*Unpaired t test uygulandı

4.2. *FNDC5* Genindeki Genotip Dağılımı ve Allel Frekansının Analizi

Bu araştırmada *FNDC5* geninde yer alan iki polimorfizm hasta ve kontrol gruplarındaki genotip dağılımları ve allel frekansları açısından araştırılmıştır. Bu polimorfizmlerden birincisi *FNDC5* geninin G>A polimorfizmidir (rs726344). İkincisi ise G>T polimorfizmidir (rs16835198).

4.2.1.FNDC5 geni G>A (rs726344) Polimorfizmine ait Genotip dağılımı ve allel frekansları

FNDC5 geni G>A polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı tablo 14.’te verilmiştir. Tablodaki verilere göre GDM’li hasta grubunda homozigot GG genotipi 97 bireyde (%88), heterozigot GA genotipi 13 bireyde (%12) tespit edilmiş olup homozigot AA genotipine ise hiçbir bireyde rastlanmamıştır. Kontrol grubu genotipler açısından incelendiğinde, homozigot GG genotipi 108 bireyde (%88), heterozigot GA genotipi 14 bireyde (%11) ve homozigot AA genotipi ise 1 bireyde (%1) tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. *FNDC5* geni rs726344 G>A polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı.

<i>FNDC5</i> G>A	Hasta N =110 (%)	Kontrol N =123 (%)	OR	%95 CI	P
Genotip					
GG	97 (%88)	108 (%88)	1	-	-
GA	13 (%12)	14 (%11)	1,034	0,46-2,3	0,93
AA	0 (%0)	1 (%1)	0,37	0,015-9,21	0,34

Tablo 14’teki veriler incelendiğinde homozigot GG genotipinin hasta ve kontrol gruplarında aynı oranda olduğu, Heterozigot GA genotipinin ise kontrol ve hasta gruplarında çok yakın bir yüzdeliğe sahip olduğu görülmektedir. Homozigot AA genotipi hasta grubunda hiç görülmemiş, kontrol grubunda ise %1 oranında olduğu saptanmıştır. Yapılan analizler sonucunda *FNDC5* geni G>A (rs726344) polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

FNDC5 geni rs726344 G>A polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları Tablo 15.'te verilmiştir. Buna göre, G alleli hasta grubunda %94 oranında, kontrol grubunda ise %93 oranında saptanmıştır. A alelinin hasta grubunda %6 oranında, kontrol grubunda ise %7 oranında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmede GDM'li hasta ve kontrol gruplarında *FNDC5* geni rs726344 G>A polimorfizmindeki allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 15).

Tablo 4.3. *FNDC5* geni rs726344 G>A polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları:

<i>FNDC5</i> G>A	Hasta N =110 (%)	Kontrol N =123 (%)	OR	%95 CI	P
Allel					
G	207 (%94)	230 (%93)	1		
A	13 (%6)	16 (%7)	0,90	0,42- 1,92	0.79

4.2.2. *FNDC5* geni G>T (rs16835198) Polimorfizmine ait Genotip dağılımı ve allel frekansları

FNDC5 geni rs16835198 G>T polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı Tablo 16.'da verilmiştir. Buna göre homozigot GG genotipinin hasta grubunda 64 bireyde ve %58 oranında, kontrol grubunda ise 70 bireyde ve %57 oranında olduğu saptanmıştır. Heterozigot GT genotipinin hasta grubunda 34 bireyde %31 oranında, kontrol grubunda ise 43 bireyde %35 oranında olduğu tespit edilmiştir. Homozigot TT genotipinin de hasta grubunda 12 bireyde %11 oranında, kontrol grubunda ise 10 bireyde %8 oranında olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.4. *FNDC5* geni rs16835198 G>T polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı:

<i>FNDC5</i> G>T	Hasta N =110 (%)	Kontrol N =123 (%)	OR	%95 CI	P
Genotip					
GG	64 (%58)	70 (%57)	1	-	-
GT	34 (%31)	43 (%35)	0,86	0,10-74,62	0,61
TT	12 (%11)	10 (%8)	1,31	0,53-3,24	0,55

(Pearson Chi-Square testi uygulandı.)

Tablo 16’den da anlaşıldığı gibi, homozigot GG, heterozigot GT ve homozigot TT genotiplerinin hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

FNDC5 geni rs16835198 G>T polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları Tablo 17’de incelendiğinde, G allelinin hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda %74 oranında olduğu, T allelinin de hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda %26 oranında olduğu görülmektedir. Yapılan incelemede hasta ve kontrol grupları arasında *FNDC5* geni rs16835198 G>T polimorfizmindeki allel frekansları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.5. *FNDC5* geni rs16835198 G>T polimorfizminin GDM’li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları:

<i>FNDC5</i> G>T	Hasta N =110 (%)	Kontrol N =123 (%)	OR	%95 CI	P
Allel					
G	162 (%74)	183 (%74)	1		
T	58 (%26)	63 (%26)	1,04	0,68- 1,57	0,85



5. TARTIŞMA

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) gebelik başlangıcında veya gebelik esnasında ilk kez fark edilen herhangi bir glukoz intoleransı derecesi olarak tanımlanmaktadır. GDM, temelinde genetik yatkınlık bulunmakla beraber plasental hormonlar sebebiyle dengelenememiş insülin direncidir. Tüm dünyada prevalansı giderek artmaktadır (94). Bu sebeple GDM oluşumunun arka planındaki genetik sebepler araştırmacıların dikkatini çekmiştir.

İrisin 112 aminoasitlik peptid yapısında, 12kda molekül ağırlığına sahip olan, enerji metabolizmasında görevli hormonlardan birisidir (69, 94). İrisin, enerji metabolizmasını, beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna dönüştürmeyi indükleyen ve kimyasal enerjiyi ısıya dönüştüren, yeni keşfedilmiş bir miyokindir. İrisin metabolik homeostazinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Miyokin grubu içinde, kas hücrelerinden salınan, kas ile yağ dokusu arasında mesajcı olarak işlev gören irisin peptidinin, insülin direncinde ve enerji metabolizma düzenlemesinde önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir (69). İrisin proteini, Fibronectin Type III Domain Containing 5 (FNDC 5) geni tarafından kodlanmaktadır. İnsanlarda 1p35.1 kromozomal bölgesinde lokalize olan bu gen, 6 exon ve 5 intron içermektedir (95). *FNDC5* (İrisin) geninin yaygın olarak çalışılmış polimorfizmleri; rs16835198, rs726344, rs3480, rs1746661, rs1298190 ve rs1570569'dur. İrisin, bir membran proteini olan *FNDC5* (Membrane protein Fibronectine Type III Domain Containing-5)'in N-terminal parçasının ayrılması ile oluşmaktadır. *FNDC5*, proteolitik olarak parçalanıp, irisin olarak sekrete edilmektedir (69). *FNDC5*; kalp, beyin, karaciğer, iskelet kası, yumurtalık, dalak, böbrek, akciğer, pancreas, timus, prostat, incebağırsak, kalınbağırsak ve adipoz gibi birçok doku tipinden eksprese edilmektedir (96, 97).

Yapılan bir araştırmada, İrisinin, insülin direncinde ve enerji metabolizmasında etkili olduğu gösterilmiştir (69). Diğer bir çalışmada ise, vücut kitle indeksi aralığı 20-48 kg/m² olan bireylerde, irisin ile pozitif bir korelasyon olduğu yönünde bir eğilim gözlenmiştir (98). Choi ve ark. (99) yeni tanı Tip 2 DM'li hastalarla normal glukoz toleransına sahip kontrollerin serum irisin düzeylerini karşılaştırmış ve serum irisin düzeylerinin yeni tanı Tip 2 DM'li grupta belirgin olarak azaldığını bulmuşlardır. Artmış irisin düzeylerinin, düşük yeni tanı Tip 2 DM olasılığı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Xiang ve ark. (100) yeni tanılı Tip 2 DM'li vakalarda, serum irisin düzeylerinin kontrollerden belirgin olarak daha düşük olduğunu kaydetmişlerdir. Hee Park ve ark. (101) ayrıca dolaşımdaki irisinin açlık glukozu ve HOMA-IR (Homeostasis Model Assesment Of Insulin Resistance) ile pozitif ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Chang ve ark. (102) kontrollere göre PKOS'lu hastalarda serum irisin düzeylerinin belirgin olarak arttığını bildirmişlerdir. Zhang ve ark. (103) Non-Alkolik yağlı karaciğer hastası obez erişkinlerde serum irisin düzeylerinin azaldığını bulmuşlardır. Shoukry A. ve ark. Yaptıkları çalışmada, dolaşımdaki serum İrisin düzeyinin, Nondiyabetik obezlerde arttığını, T2DM li hastalarda ise düşük olduğunu gözlemlemişlerdir (104).

E.G. Khidr ve arkadaşları çalışmalarında, *FNDC5* (rs16835198 G >T) gen polimorfizminin, Mısırlı hastalarda, nefropati ve serum irisin düzeylerine etki etmeden T2DM'a karşı anlamlı bir koruma sağladığını ve bu SNP'nin, wild G allelinin, yüksek açlık insulini, HOMA-IR ve dyslipidemia ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir (14). Al-Daghri NM ve arkadaşları, *FNDC5* genindeki SNP'lerle yaptıkları çalışmada, bu gendeki SNP'lerin, obezite ve glukoz-lipid metabolizmasının, serum irisin düzeyi ile ilişkili olduğunu gözlemlemişlerdir. rs3480 GG genotipinin, obesiteye karşı koruma sağladığını, rs1746661 G allelinin yüksek trigliserit düzeyi ile anlamlı olarak ilişkili olduğunu, benzer şekilde rs3480 AA genotipinin yüksek HDL-kolesterol düzeyi ile ilişkili olduğunu ve son olarak rs1570569 TT genotipinin yüksek açlık serum insulin düzeyi ve HOMA-IR ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca, *FNDC5* rs1570569 TT genotipinin, düşük serum İrisin düzeyi ile muhtemel ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir (89). *FNDC5* rs3480 A>G SNP sinin NAFLD'li (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease) hastalarda, fibrosise karşı anlamlı şekilde koruma sağladığı ifade edilmiştir (90). Abdu Allah AM ve ark., yaptıkları çalışmada, *FNDC5* , rs16835198 ve rs726344 SNP lerinin Mısır popülasyonunda, obezite ile ilişkili olduğunu, rs726344 varyantının, GG genotipi ve G alleli ile rs16835198 varyantının TT genotipi ve T allelinin obeziteye yatkınlığı arttırabileceğini, ayrıca, dolaşımdaki serum irisin ve çeşitli metabolik parametrelerle genotip-fenotip korelasyonu olduğunu gözlemlemişlerdir (15). Kumpei Tanisawa ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ise, yaygın *FNDC5* SNP'leri ve serum irisin düzeyi arasında herhangi bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir (93).

Yukarıdaki çalışmalardan hareketle, bu araştırmada İrisin sentezinden sorumlu olan *FNDC5* genindeki iki polimorfizmin GDM üzerindeki etkisinin araştırılması

hedeflendi. *FNDC5* genininde serum irisin seviyesi ve fonksiyonu üzerinde etkili olan iki polimorfizmin GDM ile ilişkisi araştırıldı. Elde edilen verilere göre çalışılan iki polimorfizmin de serum irisin düzeyi ve GDM arasında herhangi bir ilişkisi saptanmamıştır. Çalışılan hasta örneklerinin hacimsel olarak sınırlı olması bu sonucun ortaya çıkmasında bir sebep teşkil etmiş olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırma neticesinde elde edilen bulgularla, *FNDC5* geni rs726344 ve rs16835198 polimorfizmlerinin gestasyonel diabetes mellitus ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Farklı etnik toplumlardan elde edilen daha yüksek örnek hacminin olduğu çalışmalarla bu sonuçlarımızın doğrulanması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR:

1. Wendland EM, Torloni MR, Falavigna M, Trujillo J, Dode MA, Campos MA, et al. Gestational diabetes and pregnancy outcomes-a systematic review of the World Health Organization (WHO) and the International Association of Diabetes in Pregnancy study groups (IADPSG) diagnostic criteria. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2012;12(1):23.
2. Gasim T. Gestational diabetes mellitus: maternal and perinatal outcomes in 220 Saudi women. *Oman Med J*. 2012;27(2):140.
3. Mirghani Dirar A, Doupis J. Gestational diabetes from A to Z. *World Journal of Diabetes*. 2017; 8(12), 489–511.
4. Hiden U, Maier A, Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Wadsack C, Lang I, et al. Insulin control of placental gene expression shifts from mother to foetus over the course of pregnancy. *Diabetologia* 2006; 49: 123–131.
5. Rosik J, Szostak B, Machaj F, Pawlik A. The role of genetics and epigenetics in the pathogenesis of gestational diabetes mellitus. *Ann Hum Genet*. 2019;1–11.
6. Eckardt K, Görgens SW, Raschke S, Eckel J. Myokines in insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2014; 57: 1087-1099.
7. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1 α dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis, *Nature*. 2012; 481: 463-e468.
8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/252995>
9. Ramin C, Barrett HL, Callaway LK, Nitert MD. The Role of Irisin in Gestational Diabetes Mellitus: A Review. *Endocrinol Metab Syndr*. 2014; 3: 138.
10. Ural UM, Sahin SB, Tekin YB, Cüre MC, Sezgin H. Alteration of maternal serum irisin levels in gestational diabetes mellitus. *Ginekol Pol*. 2016;87(5):395–8.
11. Zhao L, Li J, Li ZL, Yang J, Li ML, Wang GL. Circulating irisin is lower in gestational diabetes mellitus. *Endocr J*. 2015;62(10):921–6.
12. Scheler M, Berti L, Schick F, Staiger H, Bo A, Machicao F, et al. Common Genetic Variation in the Human FNDC5 Locus , Encoding the Novel Muscle-Derived ‘ Browning ’ Factor Irisin , Determines Insulin Sensitivity. 2013;8(4):1–11.
13. Tang S, Zhang R, Jiang F, Wang J, Chen M, Peng D, et al. An Interaction between a FNDC5 Variant and Obesity Modulates Glucose Metabolism in a Chinese Han Population. *PLoS One*. 2014;9:e109957.
14. Gamil E, Saddik S, Mahmoud M, Ahmed O. Association of irisin and FNDC5 rs16835198 G > T gene polymorphism with type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy . An Egyptian pilot study. *Gene* 2017;626:26–31.
15. Abdu Allah AM, Hammoudah SA, Abd El Gayed EM, El-Attar LM, Shehab-Eldin WA. Obesity and its Association with Irisin Level Among Individuals with FNDC5/Irisin

Gene Variants RS16835198 and RS726344. Vol. 25, Protein & Peptide Letters. 2018. p. 560–9.

16. Classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

17. Diabetes mellitus. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: World Health Organization; 1965.

18. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus, ADA Clinical Practice Recommendations. Diabetes Care. 2013;36 Suppl 1:S67-74.

19. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. Lancet. 2014;383(9911):69–82;

20. Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. Epidemiology of type 1 diabetes. Endocrinol Metab Clin North Am. 2010;39(3):481–97

21. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, Green A, Soltész G. EURODIAB study group incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study. Lancet. 2009;373:2027–2033.

22. Centers for Disease Control and Prevention. National Diabetes Statistics Report: Estimates of Diabetes and Its Burden in the United States, 2014. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services; 2014.

23. Federation ID. IDF Diabetes Atlas - 2019. International Diabetes Federation. 2019. 176 p.

24. Care D, Suppl SS. 3 . Comprehensive Medical Evaluation and Assessment of Comorbidities : Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care 2018;41:28–37.

25. Basu S, Yoffe P, Hills N, Lustig RH. The relationship of sugar to population-level diabetes prevalence: an econometric analysis of repeated cross-sectional data. PLoS ONE. 2013;8(2):e57873

26. Metzger BE. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. Diabetes Care. 2010;33(3):676–82.

27. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2014;37:S81–S90.

28. Pilliod RA, Page JM, Burwick RM, Kaimal AJ, Cheng YW, Caughey AB. The risk of fetal death in nonanomalous pregnancies affected by polyhydramnios. Am J Obstet Gynecol. 2015;213(3):410 e1-. e6.

29. Spaight C, Gross J, Horsch A, Puder JJ. Gestational Diabetes Mellitus. Endocr Dev. 2016;31:163-78.

30. Alfadhli EM. Gestational diabetes mellitus. Saudi Med J. 2015;36(4):399-406.

31. Zhu Y, Zhang C. Prevalence of Gestational Diabetes and Risk of Progression to Type 2 Diabetes: a Global Perspective. Curr. Diab. Rep. 2016;16(1):7.

32. Carpenter MW, Coustan DR. Criteria for screening tests for gestational diabetes. *AmJ Obstet Gynecol* 1982;144:768–773
33. J. Bogan, 2012, *Annu. Rev. Biochem.* **81**:507
34. A. Saltiel, 2012, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13**:383,
35. J. Belman et al., 2014, *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **15**:55.
36. Karamanou M. Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. *World J Diabetes.* 2016;7(1):1.
37. Fargion S, Dongiovanni P, Guzzo A, Colombo S, Valenti L, Fracanzani AL. Iron and insulin resistance. *Aliment Pharmacol Ther Suppl.* 2005;22(2):61–3.
38. Dodson G, Steiner D. The role of assembly in insulin’s biosynthesis. *Curr Opin Struct Biol.* 1998;8:189-94
39. <https://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/drugs/insulin/insulin>
40. Desoye G, Hofmann HH, Weiss PA: Insulin binding to trophoblast plasma membranes and placental glycogen content in well-controlled gestational diabetic women treated with diet or insulin, in well-controlled overt diabetic patients and in healthy control subjects. *Diabetologia* 1992; 35: 45–55.
41. Desoye G, Hartmann M, Jones CJP, Wolf HJ, Kohnen G, Kosakke G, et al. Location of insulin receptors in the placenta and its progenitor tissues. *Microsc Res Tech [Internet].* 1997 Jul 1;38(1-2):63–75.
42. Colomiere M, Permezel M, Riley C, Desoye G, Lappas M: Defective insulin signaling in placenta from pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2009; 160: 567–578.
43. Knöfler M, Sooranna SR, Daoud G, Whitley GS, Markert UR, Xia Y, et al. Trophoblast signalling: knowns and unknowns – A workshop report. *Placenta.* 2005;26:S49–51
44. Ruiz-Palacios M, Ruiz-Alcaraz AJ, Sanchez-Campillo M, Larqué E. Role of Insulin in Placental Transport of Nutrients in Gestational Diabetes Mellitus. *Ann Nutr Metab.* 2017;70(1):16–25.
45. Mendoza MC, Er EE, Blenis J: The Ras-ERK and PI3K-mTOR pathways: cross-talk and compensation. *Trends Biochem Sci* 2011; 36: 320–328.
46. Jansson T, Aye IL, Goberdhan DC: The emerging role of mTORC1 signaling in placental nutrient-sensing. *Placenta* 2012; 33(suppl 2):e23–e29.
47. Ruiz-Palacios M, Ruiz-Alcaraz AJ, Sanchez-Campillo M, Larqué E. Role of Insulin in Placental Transport of Nutrients in Gestational Diabetes Mellitus. *Ann Nutr Metab.* 2017;70(1):16–25.
48. Poulsen P, Levin K, Petersen I, Christensen K, Beck-Nielsen H, Vaag A. Heritability of Insulin Secretion, Peripheral and Hepatic Insulin Action, and Intracellular Glucose Partitioning in Young and Old Danish Twins. *Diabetes.* 2005;54(1):275 LP – 283.

49. Shaat N, Lernmark Å, Karlsson E, Ivarsson S, Parikh H, Berntorp K, et al. A variant in the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene is associated with an increased risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2007;50(5):972–9.
50. Watanabe RM, Allayee H, Xiang AH, Trigo E, Hartiala J, Lawrence JM, et al. Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) is associated with gestational diabetes mellitus and interacts with adiposity to alter insulin secretion in Mexican Americans. *Diabetes*. 2007;56(5):1481–5.
51. Silander K, Mohlke KL, Scott LJ, Peck EC, Hollstein P, Skol AD, et al. Genetic Variation Near the Hepatocyte Nuclear Factor-4 α Gene Predicts Susceptibility to Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2004;53(4):1141 LP – 1149.
52. Kanthimathi S, Chidambaram M, Bodhini D, Liju S, Bhavatharini A, Uma R, et al. Association of recently identified type 2 diabetes gene variants with Gestational Diabetes in Asian Indian population. *Mol Genet Genomics*. 2017;292(3):585–91.
53. Litou H, Anastasiou E, Thalassinou L, Sarika H-L, Philippou G, Alevizaki M. Increased prevalence of VNTR III of the insulin gene in women with gestational diabetes mellitus (GDM). *Diabetes Res Clin Pract*. 2007;76(2):223—228.
54. Ober C, Xiang KS, Thisted RA, Indovina KA, Wason CJ, Dooley S. Increased risk for gestational diabetes mellitus associated with insulin receptor and insulin-like growth factor II restriction fragment length polymorphisms. *Genet Epidemiol*. 1989;6(5):559–69.
55. Cho YM, Kim TH, Lim S, Choi SH, Shin HD, Lee HK, et al. Type 2 diabetes-associated genetic variants discovered in the recent genome-wide association studies are related to gestational diabetes mellitus in the Korean population. *Diabetologia*. 2009;52(2):253–61.
56. Cui L, Qiao T, Xu F, Li Z, Chen T, Su H, et al. Circulating irisin levels of prenatal and postnatal patients with gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*. 2020;126:154924.
57. Finck BN, Kelly DP. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. *J Clin Invest*. 2006;116(3):615–22.
58. Krief S, Lönnqvist F, Raimbault S, Baude B, Van Spronsen A, Arner P, et al. Tissue distribution of beta 3-adrenergic receptor mRNA in man. *J Clin Invest*. 1993;91(1):344–9.
59. Lönnqvist F, Thöme A, Nilsell K, Hoffstedt J, Arner P. A pathogenic role of visceral fat beta 3-adrenoceptors in obesity. *J Clin Invest*. 1995;95(3):1109–16.
60. Mueckler M, Caruso C, Baldwin SA, Panico M, Blench I, Morris HR, et al. Sequence and structure of a human glucose transporter. *Science*. 1985;229(4717):941–5.
61. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;221(2):286–9.
62. Katoh M, Katoh M. Human FOX gene family (Review). *Int J Oncol*. 2004;25(5):1495–500.

63. Cederberg A, Grønning LM, Ahrén B, Taskén K, Carlsson P, Enerbäck S. FOXC2 is a winged helix gene that counteracts obesity, hypertriglyceridemia, and diet-induced insulin resistance. *Cell*. 2001;106(5):563–73.
64. Dean L, McEntyre J. *The Genetic Landscape of Diabetes*. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2004.
65. Freinkel N, Metzger BE, Phelps RL, Dooley SL, Ogata ES, Radvany RM, et al. Gestational diabetes mellitus. Heterogeneity of maternal age, weight, insulin secretion, HLA antigens, and islet cell antibodies and the impact of maternal metabolism on pancreatic B-cell and somatic development in the offspring. *Diabetes*. 1985;34 (2):1–7.
66. Cox NJ, Hayes MG, Roe CA, Tsuchiya T, Bell GI. Linkage of Calpain 10 to Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2004;53(suppl 1):S19 LP-S25.
67. Patel YM, Lane MD. Role of calpain in adipocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci*. 1999;96(4):1279 LP – 1284.
68. Smith LK, Rice KM, Garner CW. The insulin-induced down-regulation of IRS-1 in 3T3-L1 adipocytes is mediated by a calcium-dependent thiol protease. *Mol Cell Endocrinol* 1996;122:81–92.9
69. Cauza E, Hanusch-Enserer U, Bischof M, Spak M, Kostner K, Tammaa A, et al. Increased C282Y Heterozygosity in Gestational Diabetes. *Fetal Diagn Ther*. 2005;20(5):349–54.
70. Soell M, Lett E, Holveck F, Schöller M, Wachsmann D, Klein JP. Activation of human monocytes by streptococcal rhamnose glucose polymers is mediated by CD14 antigen, and mannan binding protein inhibits TNF-alpha release. *J Immunol*. 1995;154(2):851 LP – 860.
71. Megia A, Gallart L, Fernández-Real J-M, Vendrell J, Simón I, Gutierrez C, et al. Mannose-Binding Lectin Gene Polymorphisms Are Associated with Gestational Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(10):5081–7.
72. Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost*. 2005;3(8):1879–83.
73. Leipold H, Knoefler M, Gruber C, Klein K, Haslinger P, Worda C. Plasminogen activator inhibitor 1 gene polymorphism and gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol*. 2006;107(3):651–6.
74. Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Kröber SM, et al. Alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes Care*. 2006;29(4):853–7.
75. Akbas H, Kahraman S, Sak S, Akkafa F. Minor variant of AHSB gene 767C>G polymorphism may decrease the risk of gestational diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol (Lahore)*. 2019 Jul 24;1–5.
76. Zhang Y, Li R, Meng Y, Li S, Donelan W, Zhao Y, et al. Irisin stimulates browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP kinase signaling. *Diabetes*. 2014;63(2):514–25.

77. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J.* 2014;281(3):739–49.
78. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, Guerra E, Pardo G, Tinahones F, et al. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(4):E769-78.
79. Rizk FH, Elshweikh SA, Abd El-Naby AY. Irisin levels in relation to metabolic and liver functions in Egyptian patients with metabolic syndrome. *Can J Physiol Pharmacol.* 2016;94(4):359–62.
80. Liu JJ, Wong MDS, Toy WC, Tan CSH, Liu S, Ng XW, et al. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2013;27(4):365–9.
81. Garcés MF, Peralta JJ, Ruiz-Linares CE, Lozano AR, Poveda NE, et al. Irisin levels during pregnancy and changes associated with the development of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: 2113-2119.
82. Kuzmicki M, Telejko B, Lipinska D, Pliszka J, Szamatowicz M, Wilk J, et al. Serum irisin concentration in women with gestational diabetes. *Gynecol Endocrinol.* 2014;30(9):636–9.
83. Cui L, Qiao T, Xu F, Li Z, Chen T, Su H, et al. Circulating irisin levels of prenatal and postnatal patients with gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine.* 2020;126.
84. Li X, Fang W, Hu Y, Wang Y, Li J. Characterization of fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5) gene in chickens: Cloning, tissue expression, and regulation of its expression in the muscle by fasting and cold exposure. *Gene.* 2015;570(2):221—229.
85. Schumacher MA, Chinnam N, Ohashi T, Shah RS, Erickson HP. The structure of Irisin reveals a novel intersubunit β -sheet fibronectin type III (FNIII) dimer: Implications for receptor activation. *J Biol Chem.* 2013;288(47):33738–44.
86. Korta P, Poche E. Irisin as a Multifunctional Protein : Implications for Health and Certain Diseases. 2019;1–14.
87. Castillo-Quan JI. From white to brown fat through the PGC-1 α -dependent myokine irisin: Implications for diabetes and obesity. *DMM Dis Model Mech.* 2012;5(3):293–5.
88. Cao RY, Zheng H, Redfearn D, Yang J. A novel player in metabolism and metabolic syndrome. *J. Biochimie FNDC5.* 2019;158:111-116.
89. L.A. Brondani, G. Boelter, T.S. Assmann, C.B. Leitao, L.H. Canani, D. Crispim, et al. Irisin-encoding gene (FNDC5) variant is associated with changes in blood pressure and lipid profile in type 2 diabetic women but not in men, *Metabolism.* 2015; 64: 952-e957.
90. Al-daghri NM, Mohammed AK, Al-attas OS, Amer OE, Clerici M, Alenad A, et al. SNPs in FNDC5 (irisin) are associated with obesity and modulation of glucose and lipid metabolism in Saudi subjects. *Lipids Health Dis.* 2016;5:1–8.

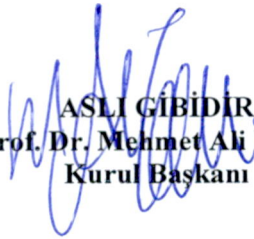
91. Le ARTIC, Petta S, Valenti L, Svegliati-baroni G, Ruscica M, Pipitone RM, et al. Fibronectin Type III Domain – Containing Protein 5 rs3480 A > G Polymorphism, Irisin, and Liver Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. 2017;102:2660–9.
92. Tanisawa K, Taniguchi H, Sun X, Ito T, Cao Z-B, Sakamoto S, et al. Common single nucleotide polymorphisms in the FNDC5 gene are associated with glucose metabolism but do not affect serum irisin levels in Japanese men with low fitness levels. *Metabolism*. 2014;63(4):574–83.
93. (https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/purelink_genomic_man.pdf)
94. Landrove O, Baltar J, Roca-rivada A, Castelao C, Mari L, Casanueva FF. FNDC5 / Irisin Is Not Only a Myokine but Also an Adipokine. 2013;8(4):1–10.
95. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/252995>
96. A. Teufel, N. Malik, M. Mukhopadhyay, H. Westphal, Frcp1 and Frcp2, two novel fibronectin type III repeat containing genes, *Gene*. 2002; 297:79-e83.
97. H.K. Kim, Y.J. Jeong, I.S. Song, Y.H. Noh, K.W. Seo, M. Kim, et al., Glucocorticoid receptor positively regulates transcription of FNDC5 in the liver, *Sci. Rep*. 2017;43296.
98. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism*. 2012;61(12):1725–38.
99. Choi YK, Kim MK, Bae KH, Seo HA, Jeong JY, Lee WK, et al. Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013 Apr;100(1):96–101.
100. Xiang L, Xiang G, Yue L, Zhang J, Zhao L. Circulating irisin levels are positively associated with endothelium-dependent vasodilation in newly diagnosed type 2 diabetic patients without clinical angiopathy. *Atherosclerosis*. 2014;235(2):328-33
101. Hee PK, Zaichenko L, Brinkoetter M, Thakkar B, Sahin-Efe A, Joung KE, et al. Circulating irisin in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(12):4899-907
102. Chang CL, Huang SY, Soong YK, Cheng PJ, Wang C-J, Liang IT. Circulating irisin and glucose-dependent insulinotropic peptide are associated with the development of polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(12):E2539-48.
103. Zhang H-J, Zhang X-F, Ma Z-M, Pan L-L, Chen Z, Han H-W, et al. Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults. *J Hepatol*. 2013;59(3):557–62.
104. Shoukry A, Shalaby SM, El-Arabi Bdeer S, Mahmoud AA, Mousa MM, Khalifa A. Circulating serum irisin levels in obesity and type 2 diabetes mellitus. *IUBMB Life*. 2016;68(7):544–56.

8. EKLER:



Evrak Tarih ve Sayısı: 24/10/2019-E.46466

HARRAN ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI	
TARİH	: 14.10.2019
OTURUM	: 03
SAAT	: 13. ⁰⁰

19/03/02	<p>Karar: Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doç. Dr. Halit AKBAŞ'ın yürütücüsü "Gestasyonel Diabetes Mellitus'lu Hastalarda İrisin (FNDC5) Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" başlıklı çalışmaya Etik Kurul Onayı verilmesine</p> <p>Oy birliği ile karar verilmiştir.</p> <p style="text-align: center;"> ASLI GİBİDİR Prof. Dr. Mehmet Ali EREN Kurul Başkanı</p>
-----------------	---



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

Öğrencinin

Numarası : 185308001
Adı, Soyadı : Halil CAŞKA
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyoloji
Programı : Yüksek Lisans
Tezin Adı : "GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA İRİSİN (FNDC5) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI"

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans Tez çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam 72 sayfalık kısmına ilişkin, 29/07/2020 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı %11'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından kabul edilen lisansüstü orijinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığını ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, blok şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntılarım bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağını gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden her hangi birisinin yer almadığını, etik ihlal tespiti halinde, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca, diplomamın iptal edilmesini kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. 29/07/2020

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı-Soyadı: Halil CAŞKA

İmzası:

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım. 29/07/2020

Danışmanın

Unvanı-Adı-Soyadı: Prof. Dr. Halit AKBAŞ

İmzası:



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Halil Çaçka
Ödev başlığı: HALİL ÇAŞKA
Gönderi Başlığı: YÜKSEK LİSANS TEZİ
Dosya adı: THESIS_D_zeltme-12_28.07.2020.d...
Dosya boyutu: 3.75M
Sayfa sayısı: 72
Kelime sayısı: 14,048
Karakter sayısı: 92,136
Gönderim Tarihi: 29-Tem-2020 09:09AM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1363526573

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim sürecinde,engin bilgi, tecrübe ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim çok değerli hocalarıma; başta danışman hocam Sayın Prof. Dr. Halit AKBAŞ olmak üzere, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ hocama ve Dekan yardımcısı Sayın Doç. Dr. Feridun AKKAFİ hocama en kalbi duygularıyla teşekkür ediyorum.

Katki ve desteklerinden dolayı Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı hocalarımdan Sayın Doç. Dr. Sibel SAK hocamıza ve ekibine ayrıca teşekkür ediyorum.

Yine bu süreçte manevi desteklerini hissettiğim Harran Üniversitesi Hastanesi Başhekimini Sayın Dr. Öğretim Üyesi Ahmet GÜZELÇİÇEK'e, ve bana sağladığı kolaylık ve desteklerinden dolayı Şanlıurfa Bahçeşehir Okulları Kurucusu, Eğitmeni ve İş insanı Sayın Essam Saatçi ASLAN Hanımefendiye teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan çok kıymetli aileme ve bilhassa yoğun çalışmalarına sabır gösteren değerli eşim ve çocuklarıma çok teşekkür ederim.

Son olarak, dünyaya geldiğim andan itibaren, vefatına kadar adete hayat kaynağım ve güneşim olan Rahmetli Anneme Rabbimden mağfret diler, ondan razı olmasını ve cennetinde kabul etmesini diliyorum ve bu tez çalışmamı ANNEME ithaf ediyorum.

Halil ÇAŞKA
Temmuz 2020

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORIJINALLIK RAPORU

% **11**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **9**

İNTERNET
KAYNAKLARI

% **8**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

docs.neu.edu.tr

İnternet Kaynağı

% **1**

2

www.uspreventiveservicestaskforce.org

İnternet Kaynağı

% **1**

3

www.wjgnet.com

İnternet Kaynağı

% **1**

4

www.frontiersin.org

İnternet Kaynağı

<% **1**

5

issuu.com

İnternet Kaynağı

<% **1**

6

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<% **1**

7

Richard Y. Cao, Hongchao Zheng, Damian Redfearn, Jian Yang. "FNDC5: A novel player in metabolism and metabolic syndrome", Biochimie, 2019

Yayın

<% **1**

8

Halit Akbas, Suna Kahraman, Sibel Sak,

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10355627
Yazar Adı / Soyadı	HALİL CAŞKA
Orcid	
T.C.Kimlik No	60769399920
Telefon	5382771349
E-Posta	halilcaska@yahoo.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA İRİSİN (FNDC5) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI
Tezin Tercümesi	INVESTIGATION OF IRISIN (FNDC5) GENE POLYMORPHISMS IN PATIENTS WITH GESTATIONAL DIABETES MELLITUS
Konu	Tıbbi Biyoloji = Medical Biology
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı	Tıbbi Biyoloji Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2020
Sayfa	71
Tez Danışmanları	PROF. DR. HALİT AKBAŞ
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	

04.09.2020

İmza:.....

