



**GESTASYONEL DİYABET MELLİTUS İLE
BCL11A, ADAMTS9, WFS1 VE C2CD4B
GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLER
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yeliz ESKİ

**2020
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Emre TAŞKIN**

**GESTASYONEL DİYABET MELLİTUS İLE BCL11A, ADAMTS9, WFS1
VE C2CD4B GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLER ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yeliz ESKİ

**T.C.
Karabük Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Emre TAŞKIN**

**KARABÜK
Haziran 2020**

Yeliz ESKİ tarafından hazırlanan “GESTASYONEL DİYABET MELLİTUS İLE BCL11A, ADAMTS9, WFS1 VE C2CD4B GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLER ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Emre TAŞKIN

.....

Tez Danışmanı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından Oy Birliği ile Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 29/06/2020

Ünvanı, Adı SOYADI (Kurumu)

İmzası

Başkan : Doç. Dr. Özlem KUTLU (SÜ)

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARA (KBÜ)

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Emre TAŞKIN (KBÜ)

.....

KBÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu, bu tez ile, Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Hasan SOLMAZ

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü



“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Yeliz ESKİ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GESTASYONEL DİYABET MELLİTUS İLE BCL11A, ADAMTS9, WFS1 VE C2CD4B GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLER ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Yeliz ESKİ

**Karabük Üniversitesi
Lisansüstü Eğitimi Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

Tez Danışmanı:

Dr. Öğr. Üyesi Emre TAŞKIN

Haziran 2020, 53 sayfa

Diabetes Mellitus (DM) glikoz metabolizmasında meydana gelen kalıcı hiperglisemi ile karakterize olan heterojen metabolik hastalık grubudur. İnsülin ve/veya insülin sekresyonunda oluşan, çevresel ve genetik faktörlerden kaynaklanan kusurlar DM gelişimine neden olmaktadır. Diyabetten kaynaklanan kronik hiperglisemi gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları olmak üzere vücudun çeşitli organlarında komplikasyon gelişme riskini arttırmaktadır. Tip 1 (insülin bağımlı) Diabetes Mellitus (T1D), Tip 2 (insüline bağımlı olmayan) Diabetes Mellitus (T2D) ve Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) olmak üzere belli başlı etiyolojik ve/veya patojenik DM fenotipleri mevcuttur. Ancak çoğu durumda hastaların diyabet türü bu sınıflandırmalara uymamaktadır. Gestasyonel diyabet gebelik ile ortaya çıkan ve ilk kez gebelikte saptanan glikoz intoleransı olarak tanımlanır. Gebeliğin diyabetojenik etkisini tolere edemeyen pankreatik fonksiyon, gebeliğin 24.-28. haftalarında şiddetli

insülin direnci ve hiperglisemi ile GDM patogenezinin neden olmaktadır. Gebelikte meydana gelen en yaygın bozukluklardan biri olan GDM, gebelik dışında da diyabete yakalanma ve diyabeti geliştirme riski taşımaktadır. Bu nedenle GDM patogenezinin araştırılmasının hastalığın önlenmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu tez kapsamında T2D gelişiminde rol oynayan BCL11A geni rs243021, ADAMTS9 geni rs4607103, WFS1 geni rs1801214 ve C2CD4B geni rs11071657 polimorfizmlerinin GDM ile ilişkisi araştırılmıştır. Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniklerine başvuran GDM tanısı konmuş 69 gebe ile çalışma grubu ve 69 sağlıklı gebe kontrol grubu oluşturulmuştur. Polimorfizmler Allele-Özgü Polimeraz Zincir Reaksiyonu (ASPCR) yöntemi gerçek zamanlı görüntüleme sağlayan Real-Time PCR cihazında incelenmiştir. Çalışma sonuçları BCL11A geni rs243021, ADAMTS9 geni rs4607103, WFS1 geni rs1801214 ve C2CD4B geni rs11071657 polimorfizmlerinin GDM için risk faktörü olarak değerlendirilemeyeceği ortaya konmuştur.

Anahtar Sözcükler : GDM, T2D, BCL11A, ADAMTS9, WFS1, C2CD4B, polimorfizm.

Bilim Kodu : 20104

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF ASSOCIATIONS BETWEEN GESTATIONAL DIABETES MELLITUS AND BCL11A, ADAMTS9, WFS1 AND C2CD4B GENES

Yeliz ESKİ

**Karabük University
Institute of Graduate Programs
Department of Chemistry**

Thesis Advisor:

Assist. Prof. Dr. Emre TAŞKIN

June 2020, 53 pages

Diabetes Mellitus (DM) is a heterogeneous group of metabolic diseases characterized by persistent hyperglycemia occurring in glucose metabolism. Defects of insulin and/or insulin secretion that are derived from environmental and genetic factors lead to progression of DM. Chronic hyperglycemia caused by DM increases the risk of complications in various organs of the body including eyes, kidneys, nerves, heart and blood vessels. There are main etiologic and/or pathogenic DM phenotypes; Type 1 (insulin dependent) Diabetes Mellitus (T1D), Type 2 (non-insulin dependent) Diabetes Mellitus (T2D) and Gestational Diabetes Mellitus (GDM). However, in most cases, patients' type of diabetes are misfit these classifications. GDM is defined as glucose intolerance that occurs during pregnancy and is detected for the first time during pregnancy. Pancreatic function, which cannot tolerate the diabetogenic effect of pregnancy. It causes pathogenesis of GDM with severe insulin resistance and

hyperglycemia. GDM, which is one of the most common disorders in pregnancy, carries the risk of developing diabetes and developing diabetes outside of pregnancy. Therefore, it is thought that investigating the pathogenesis of GDM will contribute to the prevention of the disease. In this thesis, the relationship between GMD and the polymorphisms of rs243021 of BCL11A gene, rs4607103 of ADAMTS9 gene, rs1801214 of WFS1 gene and rs11071657 of C2CD4B gene were investigated. The case group was composed of 69 pregnant women that has GDM and the control group was composed of 69 healthy pregnant who were admitted to the Gynaecology and Obstetrics Polylinics of Karabuk University Training and Research Hospital, women. Polymorphisms Allele-Specific Polymerase Chain Reaction (ASPCR) method was studied on a Real-Time PCR instrument that provides real-time imaging.

The results showed that BCL11A gene rs243021, ADAMTS9 gene rs4607103, WFS1 gene rs1801214 and C2CD4B gene rs11071657 polymorphisms cannot be evaluated as risk factors for GDM.

Key Word : GDM, T2D, BCL11A, ADAMTS9, WFS1, C2CD4B, polymorphism

Science Code : 20104

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bütün bilgi ve birikimini benimle paylaşan, her konuda bana destek olan tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Emre TAŞKIN'a, hasta ve kontrol gruplarının oluşturulmasında yardımcı olan Sayın Dr. Vüsale Aziz'e teşekkürü borç bilirim.

Bütün hayatım boyunca her zaman yanımda olan en büyük gurur kaynağım annem Penpe ESKİ'ye, 11 yıldır yanımızda olmasa da manevi varlığıyla bize güç veren rahmetli babam Musa ESKİ'ye, neşesi ve azmiyle bana ilham olan kız kardeşim Süreyya İrem ESKİ'ye, bütün akrabalarım ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına destek veren Karabük Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (Proje kodu: KBÜBAP-18-YL-171) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	3
GENEL BİLGİLER	3
2.1. DİABETES MELLİTUS	3
2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus	4
2.1.1.1. Bağımsızlık Aracılı Diyabet	4
2.1.1.2. İdiyopatik Diyabet	5
2.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus	5
2.1.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus	7
2.2. GDM VE GENETİK	8
2.2.1. BCL11A Geni rs243021 Polimorfizmi.....	8
2.2.2. ADAMTS9 Geni rs4607103 Polimorfizmi	10
2.2.3. WFS1 Geni rs1801214 Polimorfizmi	12
2.2.4. C2CD4B Geni rs11071657 Polimorfizmi	14
BÖLÜM 3.	16
GEREÇ VE YÖNTEM	16

Sayfa

3.1. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ OLUŞTURULMASI.	16
3.2. KULLANILAN LABORATUAR ARAÇ-GEREÇ VE KİMYASALLARI. 16	
3.2.1. Kullanılan Araç-Gereçler.....	16
3.2.2. Kullanılan Kimyasallar.	17
3.3. DNA İZOLASYONU.....	17
3.3.1. DNA İzolasyon Protokolü.	18
3.4. PRİMER DİZAYNI.	18
3.5. GENOTİPLEME.	20
3.5.1. AS-PCR.	21
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	22
BÖLÜM 4	23
BULGULAR.....	23
4.1. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ KLİNİK ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	23
4.2. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ GENOTİPLERİNİN İNCELENMESİ	24
4.2.1. BCL11A Geni Rs243021 Polimorfizmi İle İlgili Sonuçlar.	24
4.2.2. WFS1 Geni Rs1801214 Polimorfizmi İle İlgili Sonuçlar	28
4.2.3. ADAMTS9 Geni Rs4607103 Polimorfizmi İle İlgili Sonuçlar.....	32
4.2.4. C2CD4B Geni Rs11071657 Polimorfizmi İle İlgili Sonuçlar.....	35
BÖLÜM 5.	39
TARTIŞMA.	39
BÖLÜM 6	43
SONUÇ	43
KAYNAKLAR.	44
ÖZGEÇMİŞ	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	ADAMTS9 ekspresyonunun insülin direncini nasıl tetiklediği için önerilen mekanizma	11
Şekil 2.2.	Wolframin proteininin transmembran domen yapısı ve mutasyonların dağılımı.....	13
Şekil 4.1.	rs243021 polimorfizmine ait allellerin erime eğrisi	25
Şekil 4.2.	rs243021 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant örneklerle ait PCR görüntüleri.....	25
Şekil 4.3.	rs243021 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant bireylere ait erime eğrisi grafikleri	26
Şekil 4.4.	rs1801214 polimorfizmine ait G ve A allellerinin erime eğrisi	29
Şekil 4.5.	rs1801214 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant örneklerle ait PCR görüntüleri.....	29
Şekil 4.6.	rs1801214 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant bireylere ait erime eğrisi grafikleri	30
Şekil 4.7.	rs4607103 polimorfizmine ait C ve T allellerinin erime eğrisi.....	32
Şekil 4.8.	rs4607103 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant örneklerle ait PCR görüntüleri.....	32
Şekil 4.9.	rs4607103 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant bireylere ait erime eğrisi grafikleri	33
Şekil 4.10.	rs11071657 polimorfizmine ait A ve G allellerinin erime eğrisi.	35
Şekil 4.11.	rs11071657 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant örneklerle ait PCR görüntüleri.....	35
Şekil 4.12.	rs11071657 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant bireylere ait erime eğrisi grafikleri	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. OGTT normal aralıklar	16
Çizelge 3.2. Primer dizileri	19
Çizelge 3.3. rs243021 ve rs1801214 için PCR'da kullanılan miktarlar	20
Çizelge 3.4. rs4607103 ve rs11071657 için PCR'da kullanılan miktarlar	20
Çizelge 3.5. PCR programı	21
Çizelge 3.6. Melting programı	21
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının klinik bulguları	23
Çizelge 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında genotiplerin dağılımı	24
Çizelge 4.3. rs243021 polimorfizminin klinik bulgular ile ilişkisi	27
Çizelge 4.4. rs243021 polimorfizminin homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre klinik bulgular ile ilişkisi	28
Çizelge 4.5. rs1801214 polimorfizminin klinik bulgular ile ilişkisi	31
Çizelge 4.6. rs1801214 polimorfizminin homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre klinik bulgular ile ilişkisi	31
Çizelge 4.7. rs4607103 polimorfizminin klinik bulgular ile ilişkisi	34
Çizelge 4.8. rs4607103 polimorfizminin homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre klinik bulgular ile ilişkisi	34
Çizelge 4.9. rs11071657 polimorfizminin klinik bulgular ile ilişkisi	37
Çizelge 4.10. rs11071657 polimorfizminin homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre klinik bulgular ile ilişkisi	37
Çizelge 4.11. Polimorfizmlerin eklemeli modelde lojistik regresyon analizi.	38
Çizelge 4.12. Polimorfizmlerin dominant modelde lojistik regresyon analizi.	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

GDM	: Gestasyonel Diabetes Mellitus
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
DM	: Diabetes Mellitus
DI	: Diabetes İnsipidus
ADH	: Antidiüretik Hormon
T1D	: Tip 1 Diabetes Mellitus
T2D	: Tip 2 Diabetes Mellitus
OGTT	: Oral Glikoz Tolerans Testi
BCL11A	: BAF Chromatin Remodeling Complex Subunit A
C2H2	: Cys2-His2 Zinc Finger Protein (Cys2-His2 Çinko Parmak Proteini)
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
Iip2	: İnsülin Benzeri Peptit 2
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
CIR	: Corrected Insulin Response (Düzeltilmiş İnsülin Cevabı)
DI	: Disposition Index (Eğilim İndeksi)
CI	: Confidence Interval (Güven Aralığı)
OR	: Odds Ratio (Göreceli Olasılıklar Oranı)
ADAMTS9	: A Disintegrin-Like And Metalloprotease With Thrombospondin Type I Motif 9
GWAS	: Genome Wide Association Studies (Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları)
PPARG	: Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma
GSIS	: Glucose-Stimulated Insulin Secretion (Glikoz Uyarımlı İnsülin Sekresyonu)
WFS1	: Wolframin ER Transmembrane Glycoprotein
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotit Polimorfizmi)
C2CD4B	: C2 Calcium Dependent Domain Containing 4B
DIDMOAD	: Diabetes Insipidus, Diabetes Mellitus, Optik Atrofi, Deafness

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM), gebeliğin ortasında (üçüncü trimesterin başına yakın) başlayan şiddetli insülin direnci ve hiperglisemi olarak tanımlanmaktadır [1]. İnsülin direnci, hamilelik sırasında meydana gelen birçok fizyolojik değişiklikten biridir ve insülin direncine pankreatik beta hücre yetmezliği eşlik ettiğinde, GDM gelişebilir. Gestasyonel diyabetin patogeneğinde gebeliğin diyabetojenik etkisini yeterince tolere edemeyen pankreatik fonksiyon bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine uygun olarak yapılmış olan ilk küresel hiperglisemi değerlendirmesi için 20-49 yaş aralığındaki kadınlarda yapılan bir çalışma sonucunda gebelikte global hiperglisemi prevalansı %16,9 veya 2013 yılına ait verilerde 21,4 milyon canlı doğum olarak belirtilmiştir. Bu çalışmaya göre en yüksek prevalans, Kuzey Amerika ve Karayipler Bölgesindeki %10,4 oranı ile karşılaştırıldığında, Güneydoğu Asya Bölgesinde %25,0 olarak bulunmuştur. Gebelikte hiperglisemi vakalarının %90'ından fazlasının düşük ve orta gelirli ülkelerde olduğu tahmin edilmektedir [2]. Gebelikte GDM görülen kadınların yaklaşık %20-50'sinin 5 yıl içerisinde Tip 2 Diabetes Mellitus (T2D) geliştiği gözlenmiştir [3]. Gestasyonel diyabet, prevalansı, hamilelik sırasında ilişkili komplikasyonları ve daha sonraki yaşamda T2D riskinde artışa sebep olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Gestasyonel diyabetin ayırt edici özelliği, azalan dengeleyici insülin salgı cevabı ile birlikte artan insülin direncidir. T2D, insülin direncinin artması ve insülin salgılanmasının azalmasına neden olur. Bu nedenle, hem T2D hem de GDM, yüksek vücut kitle indeksi (VKİ), anormal glukoz intoleransı öyküsü, ailede diyabet öyküsü, yaş ve etnik köken gibi benzer risk faktörlerinden etkilenen aynı patofizyolojiyi ve ortak bir etiyolojiyi paylaşmaktadır [4,5]. Gebelik boyunca 166 GDM'li gebe ve normal karbonhidrat metabolizması olan 83 kontrol grubunda doğumdan önce genetik geçmişin araştırılması için yapılan bir çalışmada, GDM'li kadınlarda ebeveyni diyabetik olan fenotipler ve diyabet tipi arasında anlamlı bir ilişki ($P<0,001$)

gözlenmiştir [6]. Bir başka çalışmada da, aile diyabet öyküsünün (tek başına veya hipertansiyon ile ilişkili olduğunda), genetik ve davranışsal faktörleri yansıtmaması nedeni ile aile diyabet öyküsüne sahip kadınların artan GDM riskine yatkın olabileceği sonucuna ulaşılmıştır [7]. Bugüne kadar 120'den fazla polimorfizmin T2D riski ile ilişkili olduğu doğrulanmıştır [8]. Bunların büyük bir kısmı GDM ile de bir ilişki göstermiştir. *MTNR1B*, *FTO*, *TLE1*, *G6PC2*, *GCKR*, *TCF7L2*, *ADCY5*, *CDKAL1*, *TCF2*, *HNF1B*, *PPARG*, *KCNJ11*, *SLC30A8* lokuslarındaki T2D risk varyantları daha önce Avrupa popülasyonlarında GDM ile ilişkilendirilmiştir [9,10]. *CDKN2A/2B*, *MTNR1B* ve *KCNQ1* lokusları Koreli kadınlarda GDM ile ilişkili bulunmuştur [11,12].

Bu tez çalışması kapsamında daha önce T2D ile ilişkili bulunmuş ancak henüz GDM ile ilişkisi araştırılmamış polimorfizmler incelenmiştir. *BCL11A* geni rs243021 polimorfizmi, *ADAMTS9* geni rs4607103 polimorfizmi, *WFS1* geni rs1801214 polimorfizmi ve *C2CD4B* geni rs11071657 polimorfizmi GDM'li ve normal gebe kadınlarda incelenmiştir. Polimorfizmlerin belirlenmesinde çift iplikli DNA'ya bağlanarak floresans ışıma yayan boya ilavesi ile eş zamanlı PCR yöntemi kullanılmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS

Diabetes Mellitus (DM) insülin ve/veya insülin sekresyonundaki kusurlardan kaynaklanan kalıcı hiperglisemi ile karakterize heterojen metabolik hastalık grubudur. Diyabetten kaynaklanan kronik hiperglisemi özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları olmak üzere çeşitli organların uzun vadeli hasarına işlev bozukluğuna ya da işlev yetersizliğine neden olabilmektedir [13]. Potansiyel görme kaybı riski de taşıyan retinopati; böbrek yetmezliğine yol açabilen nefropati; ayak ülseri, amputasyon ve Charcot eklemi (Charcot ayağı diye de bilinir ve iyileşmeyen ayak yaraları ve deformasyonların tamamına verilen isimdir) riski olan periferik nöropati, gastrointestinal, genitoüriner, kardiyovasküler semptomlara ve cinsel işlev bozukluğuna neden olabilen otonom nöropati uzun vadede görülen diyabet komplikasyonları arasındadır [14]. Diyabet gelişiminde birkaç patojenik süreç söz konusudur. Bunlar, pankreastaki β hücrelerinin otoimmün yıkımı sonucunda ortaya çıkan insülin eksikliğinden başlayıp hedef dokulardaki insülin etkisine direnç ile sonuçlanan anormalliklere kadar uzanmaktadır. Diyabetteki karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin temeli, insülinin hedef dokular üzerindeki yetersiz etkisidir. Yetersiz insülin sekresyonu ve/veya hormon etkisinin karmaşık yollarındaki bir veya daha fazla noktada insüline verilen doku tepkilerinden kaynaklanan yetersiz insülin etkisi de meydana gelebilmektedir. İnsülin sekresyonunun ve işlevinin bozulması aynı hastada sıklıkla birlikte görülmektedir [14]. Örtüşen fenotiplerin etiyolojik ve patojenik sınıflandırmayı zorlaştırmasına rağmen, spesifik etiyoloji ve/veya patogeneze açısından farklı diyabetik tipler tanımlanmaktadır [15]. Diabetes Mellitus genellikle kısaca diyabet olarak adlandırılır. Ancak “şekersiz şeker hastalığı” olarak da bilinen Diabetes Insipidus (DI) ile DM arasında fark vardır. Diabetes Insipidus hipofiz bezinde antidiüretik hormon (ADH)

üretimi olmaması ya da böbreklerde ADH yanıtı oluşmamasına bağlı olarak ortaya çıkan bir hastalıktır [16]. Bu kondisyonlar böbreklerin suyu tutamamasına neden olmaktadır. Hastalığın nedeni, komplikasyonları ve tedavisi açısından DI ile DM arasında fark vardır. Glikoz metabolizmasında meydana gelen bozukluklardan kaynaklanan DM'nin en yaygın görülen tipleri: insülin bağımlı diyabet olarak da bilinen tip 1 diyabet (T1D), insülin bağımlı olmayan diyabet olarak bilinen tip 2 diyabet (T2D) ve gebelik ile birlikte ortaya çıkan GDM'dir. Hastaya bir diyabet türü tanısı koymak çoğu zaman tanı sırasında mevcut olan koşullara bağlıdır ve birçok diyabetli hasta tek bir sınıfta kolayca değerlendirilememektedir. Diyabette hekim ve hasta için, hipergliseminin patogenezi anlamak ve etkili bir şekilde tedavi etmek hastanın diyabet tipini belirlemek ve sınıflandırmaktan daha önemli olmaktadır. Tüm diyabet formlarının sağlık üzerinde ciddi etkileri bulunmaktadır. Bu etkiler arasında hiperlipidemi, proteinlerin glikolizasyonu gibi metabolik anormalliklerinin yanında DM ile ilişkili pek çok uzun dönem komplikasyonlar da mevcuttur. DM genç erişkinlerde morbidite, sakatlık ve erken ölümden sorumlu kardiyovasküler, periferik vasküler, oküler, nörolojik ve renal hastalıklara neden olabilmektedir [14,17]. Glisemik kontrol bu komplikasyonların gelişme riskini azaltsa da diyabet dünya çapındaki popülasyonlarda sosyal, psikolojik ve finansal yüklerin önemli bir nedeni olmaya devam etmektedir. Uluslararası Diyabet Federasyonu, seçili 110 ülkede yapılan araştırmalar sonucu diyabetik hastaların sayısının 2011 yılında 366 milyon olduğunu ve bu sayının 2030 yılında 552 milyona ulaşacağını tahmin etmektedir [18].

2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Pankreas β hücrelerinin yıkımı sonucu gelişmektedir. Mutlak insülin eksikliği, semptomların aniden ortaya çıkması, ketozise yatkınlık ve hayat boyu eksojen insüline bağımlılık ile karakterizedir. İnsülin hormonlarının eksikliği sonucu ortaya çıkan T1D, sıklıkla çocukluk ve gençlik yaşlarında başladığı için “Juvenil diyabet” adını da almaktadır [19].

2.1.1.1. Bağışıklık Aracılı Diyabet

Bağışıklık aracılı diyabet, pankreas β hücrelerinin hücresel aracılı otoimmün yıkımından kaynaklanmaktadır [20]. Bu diyabet formunda, β -hücre yıkım oranı

oldukça değişkendir, bazı hastalarda (çoğunlukla bebekler ve çocuklar) hızlıdır ve bazılarında (çoğunlukla yetişkinler) düşüktür. Özellikle çocuklarda ve gençlerde, hastalığın ilk belirtisi olarak ketoasidoz ortaya çıkabilir. Diğer bir hasta grubu ise enfeksiyon veya diğer stres varlığında hızla şiddetli hiperglisemi ve/veya ketoasidoza dönüşebilen ılımlı açlık hiperglisemisine sahiptir. Yine bir başka grup, özellikle yetişkinler, ketoasidozu yıllarca önleyebilecek yeterli hücre miktarını ve fonksiyonunu koruyabilir. Bu tür bireyler ketoasidoz için de risk altında olurlar ve sonunda hayatta kalmak için insülin tedavisine bağımlı hale gelebilirler. Hastalığın bu son aşamasında, insülin sekresyonu çok az ya da hiç yoktur. İmmün aracılı diyabet yaygın olarak çocukluk ve ergenlikte görülür, ancak çok ileri yaşlarda bile ortaya çıkabilir.

2.1.1.2. İdiyopatik Diyabet

Bazı tip 1 diyabet formlarının bilinen bir etiyolojisi yoktur. Bu hastaların bazılarında kalıcı insülin eksikliği vardır ve ketoasidoz eğilimlidir ancak otoimmünite kanıtı yoktur. Bu diyabet tipi olan kişiler, epizodik ketoasidoza maruz kalırlar ve ataklar arasında değişken derecelerde insülin eksikliği sergilerler. Bu diyabet tipi güçlü bir şekilde kalıtsaldır ancak β hücre otoimmünitesi için immünolojik kanıtlardan yoksundur [21]. İdiyopatik diyabetli hastalarda gereken zamanda insülin tedavisinin başlaması için çok iyi takip yapılmalıdır [14].

2.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

İnsülin bağımlı olmayan diyabet türü olan T2D’de, insülin eksikliği ile birlikte insülin direnci görülebileceği gibi insülin sekresyon bozukluğu da görülebilir [22]. Tip 2 diyabet komplikasyonları geniş bir aralıkta dağılım göstermektedir. En azından başlangıçta ve sıklıkla yaşamları boyunca bu bireylerin hayatta kalmak için insülin tedavisine ihtiyaçları yoktur. Bu diyabet formunun bilinen ve bilinmeyen birçok farklı nedeni vardır. Spesifik etiyolojisi bilinmemesine rağmen β hücrelerinin otoimmün yıkımı meydana gelmez. Bu diyabet tipi olan hastaların çoğu obezdir ve obezitenin kendisi bir dereceye kadar insülin direncine neden olur. Geleneksel ağırlık kriterlerine göre obez olmayan hastalar, ağırlıklı olarak karın bölgesinde dağılmış olan vücut yağ yüzdesinde artışa sahip olabilir. Ketoasidoz nadiren bu tip diyabetlerde kendiliğinden ortaya çıkar. Ketoasidoz görüldüğü zaman ise, genellikle enfeksiyon gibi başka bir

hastalığın eklemeli etkisi ile birlikte ortaya çıkar. Bu diyabet tipi sıklıkla yıllarca teşhis edilmez, çünkü hiperglisemi aşamalı olarak gelişir ve daha erken aşamalarda hastanın klasik diyabet semptomlarından herhangi birini fark etmesi için yeterince şiddetli değildir. Bununla birlikte, bu tür hastalar makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyon geliştirme riski altındadır [23]. Bu diyabet tipine sahip olan hastalarda insülin seviyesi normal ya da yüksek olarak görülebilmektedir. Bu diyabetik hastalarda β hücre fonksiyonlarının normal olması durumunda bile kan şekeri seviyesindeki yükselmelerin daha yüksek insülin değerlerine neden olması beklenebilmektedir. Dolayısıyla, insülin sekresyonu bu hastalarda bozuktur ve insülin direncini telafi etmek için yetersizdir. İnsülin direnci, kilo verme ve/veya hipergliseminin tedavisi ile iyileşebilir, ancak nadiren normale döner. Bu diyabet formunu geliştirme riski yaş, obezite ve fiziksel aktivite eksikliği ile birlikte artar. Tip 2 diyabet GDM'li kadınlarda ve hipertansiyon veya dislipidemili bireylerde daha sık görülür ve sıklığı farklı ırk/etnik alt gruplarda değişiklik gösterebilir [24]. Bununla birlikte, bu diyabet formunun genetik arka planı karmaşıktır ve henüz açıkça anlaşılamamış çevresel faktörlerle de bağlantılıdır [25]. Tip 2 diyabetin arkasındaki genetik mekanizmaları açıklamaya yönelik yapılan girişimler ile bu hastalık ile genom çapında ilişkiler gösteren yaklaşık 40 SNP tanımlanmıştır [26]. Bununla birlikte SNP'lerin hedef genleri üzerinde bir etki yarattıkları moleküler mekanizmaları anlamak, özellikle çoğu kodlamayan SNP'ler olduğu için zorluk ortaya koymaktadır. Bu SNP'lerin T2D'ye yatkınlık sağlamada nasıl bir rolü olduğuna dair kanıtlar hala azdır ve sadece insülin sekresyonunu ve duyarlılığını etkileyen birkaç varyant için yapılmış çalışmalar mevcuttur [27]. Ruchat ve arkadaşları, bazı SNP'lerin T2D etiyolojisi üzerinde etkisini ortaya çıkarmak ve fizyolojik mekanizmaları açıklığa kavuşturmak için çalışma yapmışlardır. Katılımcılara 75 g oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılmış ve glikoz, insülin ve C-peptit seviyeleri için ölçülmüştür. İnsülin duyarlılığı ve insülin sekresyonu indeksleri açlık ve OGTT ölçümlerinden elde edilmiştir. *CDKAL1*, *CDKN2B*, *HHEX/IDE*, *KCNJ11* ve *TCF7L2*'deki varyantların insülin sekresyonu ile anlamlı ilişkileri olduğunu ve bu varyantların bazılarının insülin duyarlılığı ve glikoz toleransı ile ilişkilerini göstermişlerdir. Bu varyantların T2DM ile ilişkili özelliklerin varyansının %2,0-8,5'ini oluşturduğu bulunmuştur [27]. *IGF2BP2* ve *SLC30A8* SNP'leri insülin sekresyonu ve glikoz toleransı ile ilişkili bulunmamış ancak *IGF2BP2* varyantı insülin duyarlılığı ($P=0,002$) ile ilişkili bulunmuştur [27]. Tip 2 diyabet,

genetik, epigenetik ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık etkileşimin neden olduğu karmaşık bir hastalıktır. Ana çevresel faktörler, diyet ve aktivite düzeyi iyi bilinmesine rağmen, genetik faktörlerin belirlenmesi zor bir iş olmuştur. Bununla birlikte, son yıllarda, GWAS ve yeni nesil sekanslamaya izin veren teknik gelişim nedeniyle T2D'nin riskinde ve korunmasında genetik varyantların patlaması görülmüştür [8]. Bugün, 120'den fazla varyant T2D ile ve daha birçoğu diyabetle ilgili özelliklerle ilişkilendirilmek için çoğaltılmıştır [8]. Yine de, bu varyantlar T2D'nin toplam kalıtımının sadece küçük bir kısmını açıklamaktadır. Tip 2 diyabetin patogenezi daha iyi anlamak ve SNP'lerin moleküler ve biyolojik fonksiyonlarını açıklamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

2.1.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gestasyonel diyabet perinatal komplikasyonlarla ilişkili dünya çapında büyüyen bir halk sağlığı sorunudur. Uluslararası Diyabet Federasyonu verilerine göre GDM'den etkilenen gebelikler yaklaşık %14 civarındadır ve dünya genelinde artmaya devam etmektedir [28]. Gestasyonel diyabet ilk kez hamilelikte ortaya çıkan hiperglisemi olarak tanımlanmaktadır. Gestasyonel diyabetin hem anne hem de bebek için yalnızca kısa vadede değil, aynı zamanda uzun vadede de metabolik hastalık riski artışı gibi sonuçları vardır [29]. Gebelikte GDM görülen kadınların, olumsuz gebelik sonuçlarının yanı sıra, GDM'siz kadınlara kıyasla gelecekte tip 2 diyabet gelişme riskinin birkaç kat daha fazla olduğu gösterilmiştir [3,30]. GDM tanısı için en uygun yöntem olan OGTT, hassas ve spesifik bir biyobelirteç olduğu için GDM araştırmalarında önemli bir odak noktası haline gelmiştir [31]. OGTT gebeliğin 24. ve 28. haftaları arasında yapılmaktadır ve GDM'nin daha erken saptanması hamilelikte meydana gelebilecek muhtemel komplikasyonları önlemek için bir fırsat sunar [32]. Tek aşamalı ve iki aşamalı olmak üzere iki çeşit OGTT testi vardır. Tek aşamalı test Uluslararası Diyabet ve Gebelik İlişkisi Çalışması (International Association of Diabetes and Pregnancy Study-IADPS) kriterlerine göre 75 gram glikoz yüklemesinden 1 saat sonra kandan yapılan ölçüm değeri 180 mg/dL ya da 2 saat sonra kandan yapılan ölçüm değeri 153 mg/dL üzerindeyse GDM tanısı koyulur [32]. İki aşamalı testte ise ilk aşamada 50 gram glikoz yüklemesi sonrası 140 mg/dL sınır değerdir. İkinci aşamada 100 gram glikoz yüklemesi ardından 1 saat sonra kandan

yapılan ölçüm değeri 180 mg/dL, 2 saat sonra kandan yapılan ölçüm değeri 155 mg/dL ve 3 saat sonra kandan yapılan ölçüm değeri 140 mg/dL sınır olarak belirlenmiştir. İki aşamalı testte en az iki değerin belirtilen sınırların üzerinde olması durumunda GDM tanısı konulur.

2.2. GDM VE GENETİK

2.2.1. *BCL11A* Geni Rs243021 Polimorfizmi

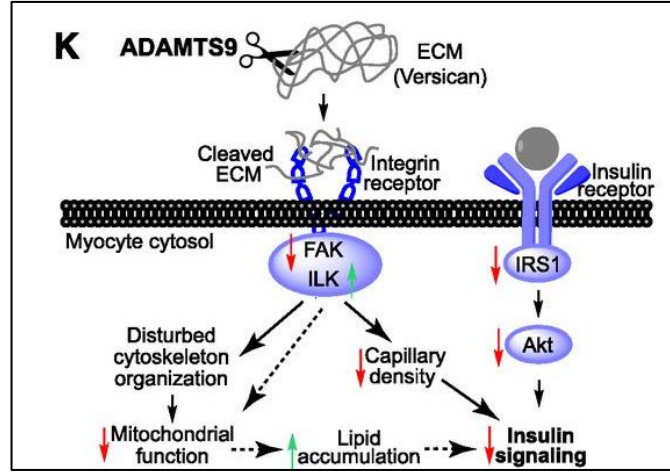
Rs243021 polimorfizmi 2. kromozom üzerinde intergenik bölge olan chr2:60357684 konumunda B-hücreli lenfoma/lösemi 11A (*BCL11A*) geninin yakınında, downstream bölgesinde, yer almaktadır. *BCL11A* geni, fare *BCL11A/Evi9* proteinine benzer olarak, ağırlıklı olarak beyin ve hematopoetik dokuda eksprese edilen C2H2 (Cys2-His2) tipi çinko parmak proteinini kodlamaktadır. C2H2 çinko parmak proteinleri kromozomal organizasyonda görevli uzun ve özgün DNA hedef dizisini tanıma özelliğine sahip, evrimsel süreçte erken dönemde ortaya çıkmış ve pek çok ökaryotta bulunan korunmuş transkripsiyon faktörleridir [33,34]. *BCL11A*, yetişkin eritrosit hücrelerinde gama-globin ekspresyonunun susturulmasının sürdürülmesinde rol oynamaktadır ve insanlarda fetal-yetişkin hemoglobin anahtarlama sürecinde doğrudan transkripsiyonel regülatör olarak işlev gördüğü, fetal hemoglobinin (HbF) azalmasını yetişkin hemoglobinin (HbA) artışı desteklediği keşfedilmiştir [35]. HbF ve hemoglobin A1c (HbA1C) seviyelerinin T1D ve T2D’li hastalarda diyabetik olmayan bireylere göre yüksek olduğu gösterilmiştir [36]. Glikoz ilk olarak HbA1C’yi oluşturan beta zincirinin N-terminal valin kalıntısına bağlanır, daha sonra kararlı bir form elde etmek için yeniden düzenlenmeye tabi tutulur [37]. Kandaki HbA1C seviyesi 2-3 aylık ortalama kan glikoz konsantrasyonu gösterir ve HbA1C seviyesinin ölçümü diyabet tedavisinin gözlemlenmesi için önemli bir referans değerdir [38]. B-lenfosit ve T-lenfositlerin gelişiminde ve β hücrelerinin fonksiyonunda görevli olan B-hücreli Lenfoma 11A proteinini kodlayan *BCL11A* geni, glikoza verilen insülin cevabını [39] ve glukagon sekresyonunu [40] etkilemektedir. 2018 yılında üstün deneysel genetiğe sahip bir model organizma olan *Drosophila melanogaster* üzerinde yapılan bir çalışmada *BCL11A* geninin insülin sekresyonundaki önemini göstermektedir [41]. Bu çalışma kapsamında, *BCL11A* ile ortolog olan *CG9650* geninin knockdown edilmiştir. *Drosophila*’ya ait insülin üreten hücrelerden glikoz

regülasyonu için salgılanan insülin benzeri peptit 2 (Iip2) önemli bir proteindir [42]. Peiris ve arkadaşları [41], *CG9650* geninin knockdown edilmesi ile dolaşımdaki epitop işaretli ve biyolojik olarak aktif analog Iip2HF seviyesinin arttığını göstermişlerdir. Çalışmadan elde edilen verilere göre, insülin ekzositozunda rol oynayan çoklu genlerin *BCL11A*'ya bağımlı bir şekilde düzenlendiği ve bu nedenle hücreye özgü T2D risk ile bağlantılı olduğunu ileri sürülmektedir [41]. *Drosophila* ile yapılan bir başka çalışmada, *CG9650* geninin susturulması ile Iip2 mRNA seviyelerini veya toplam Iip2HF içeriğini etkilemeden dolaşımdaki Iip2HF seviyesinin arttığı gösterilmiş ve *CG9650* geninin post-translasyonel seviyede düzenleme yaptığı öne sürülmüştür [43]. *BCL11A* rs243021 polimorfizmi A alleli, 2010 tarihli bir derleme makalede tip 2 diyabet için bir risk varyantı olarak tanımlanmıştır [44]. *BCL11A* geni tarafından kodlanan protein, fetal beyinde ve yetişkin merkezi sinir sisteminde en yüksek ifadeye sahip olan çinko-parmak proteinidir. Biyolojik fonksiyonu tam olarak açıklanamamasına rağmen, hücreden hücreye sinyal iletimi veya hormon salgısının nöronal düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir [40]. Jonsson ve arkadaşları *BCL11A* geni rs243021 polimorfizminin in vivo ve in vitro ortamların ikisinde de insülin ve glukagon sekresyonunu etkilediğini göstermişlerdir [40]. Bu çalışmada rs243021 polimorfizmi risk alleli, oral glukoz yüklemesinden sonra glikoz ve insülin arasındaki doz-cevap ilişkisini gösteren Düzeltilmiş İnsülin Cevabı (Corrected Insulin Response-CIR $P=0,048$) ve azalmış insülin sekresyonu anlamlı derece ilişkili çıkmıştır. Aynı çalışmada aynı risk allelinin, kan şekeri seviyesine yanıt olarak salgılanan insülin miktarı ile insülin duyarlılığının çarpımı ile bulunan Eğilim indeksi (Disposition index-DI) ile bağlantısının olmadığı görülmüştür ($P=0,24$). Ayrıca rs243021 polimorfizminin α hücre fonksiyonunu da etkileyip etkilemediğini araştırmak için OGTT sırasında glukagon konsantrasyonu da analiz edilmiş ve yüksek açlık glukagon seviyesi ile ilişkili bulunmuştur (CI %95) ($P=0,0069$) [40]. Bu değerler sonucunda Jonsson ve arkadaşları rs243021 polimorfizmi risk allelinin homozigot olması durumunda insan pankreas adacıklarında azaltılmış insülin ve artmış glukagon konsantrasyonları yoluyla T2D riskinin artmasına neden olabileceği sonucuna varmışlardır. Cauchi ve arkadaşlarının 2011 yılında Fas ve Tunus popülasyonunda yaptıkları bir çalışmada, resesif modelde *BCL11A* geni rs243021 polimorfizmi risk alleli Fas popülasyonunda OR:1,25 (%95 CI:1,03-1,54) ($P=0,02$) ve Tunus popülasyonunda OR:1,27 (%95 CI:1,02-1,26) ($P=0,03$) T2D ile anlamlı derecede

ilişkili bulunmuştur [45]. Etnik kökenlere göre T2D risk allel yükünün karşılaştırılması için yapılan bir çalışmada, Afrikalı Amerikalılarda OR:0,89 (%95 CI:0,76-1,04) (P=0,127) ile ilişkisiz bulunurken, Avrupalı Amerikalılarda OR:1,31 (%95 CI:1,11-1,54) (P=0,001) ilişkili bulunmuştur [46].

2.2.2. ADAMTS9 Geni Rs4607103 Polimorfizmi

Rs4607103 polimorfizmi 3. kromozom üzerinde chr3:64726228 konumunda yer almaktadır. *ADAMTS9* (A disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type I motif 9) geninin 38 kilobaz (3p14.3-2) upstream bölgesinde bulunmaktadır. *ADAMTS9* geni rs4607103 polimorfizmi C allelinin insülin duyarlılığında meydana gelen bir bozulmaya neden olarak T2D riskini arttırabileceği düşünülmektedir [47]. *ADAMTS9*, hücre dışı matriks (HDM) ve diğer potansiyel substratlardaki büyük agregasyon proteoglikanlarına karşı versikan ve agrekanlara karşı aktif olarak salgılanan bir metaloproteazdır [48,49]. İskelet kasında HDM değişikliği ile insülin duyarlılığı arasında nedensel bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür [50]. Hem obez bireylerin hem de T2D'li bireylerin iskelet kasında [51] ve yüksek yağlı bir diyetle (YYD) maruz kalan farelerde [52,53] HDM bileşenlerinin seviyelerinde artış gözlenmiştir. Belirli HDM bileşenlerinin içeriğini azaltan müdahaleler ile YYD'nin neden olduğu insülin direncinin önlenildiği gösterilmiştir [52]. Bu çalışmalar ışığında, uzun etkili bir hiyalüronidaz ile uzun süreli tedavinin, diyetle indüklenen obez farelerde insülin duyarlılığını arttırdığı gözlemlenmiştir [53]. HDM değişiklikleri ayrıca insülin direnci ve T2D patogenezi etkilediği öne sürülen solunum da dahil olmak üzere mitokondriyal fonksiyonu değiştirebilmektedir [54,55]. Heterodimerik integrin reseptörleri, HDM ile hücre içi organizasyon ve fonksiyon arasındaki, çift yönlü bir iletişim için gereklidir. İntegrinler, hücre içi kinazların, psödokinazların ve fokal adezyon kinaz (FAK) ve integrin bağlantılı kinaz (ILK) gibi iskelet proteinlerini birbirine bağlar. Ayrıca, değişmiş integrin reseptör sinyalinin ve bunun sonucunda ortaya çıkan FAK ve ILK modülasyonunun, potansiyel olarak değiştirilmiş kılcal yoğunluk yoluyla iskelet kasındaki insülin duyarlılığını düzenlediği gösterilmiştir [52,56-59]. Şekil 2.1'de *ADAMTS9* geninin insülin sinyal yolağında olası etkisi gösterilmiştir.



Şekil 2.1. *ADAMTS9* ekspresyonunun insülin direncini nasıl tetiklediği için önerilen mekanizma [47].

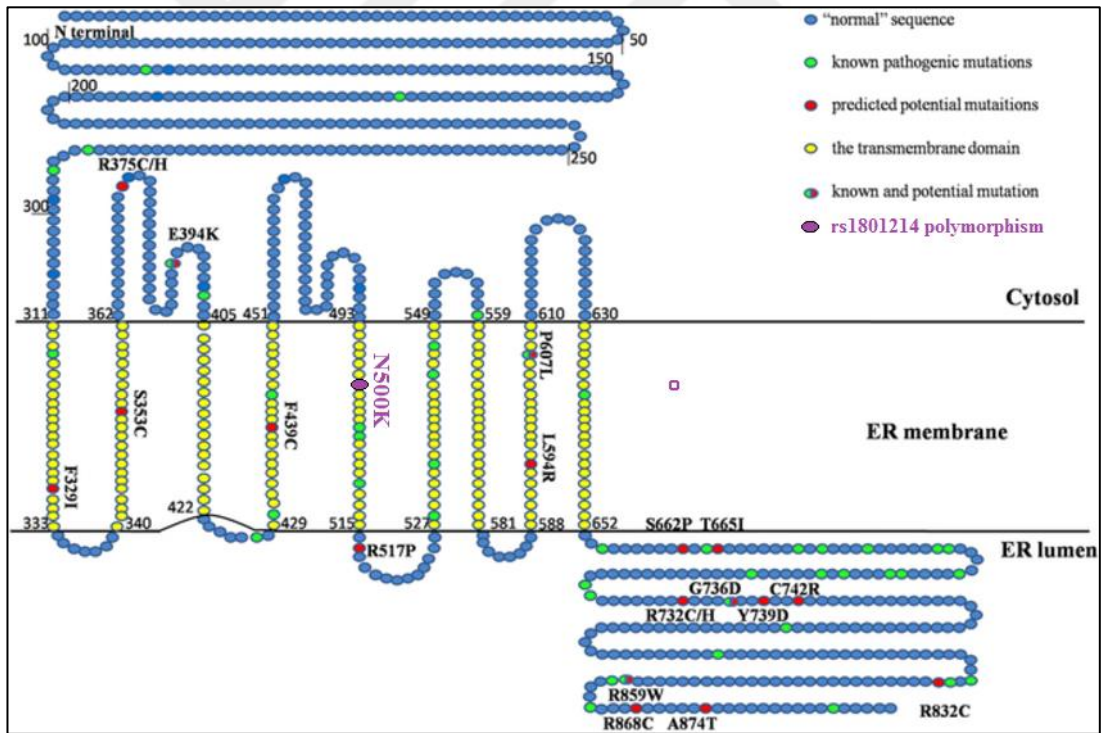
ADAMTS9 geni rs4607103 polimorfizmi yapılan bir Genom Çapında Araştırma Çalışmasında (GWAS) OR: 1,09 (%95 CI:1,06-1,22) ($P < 0,001$) T2D risk varyantı olduğu gösterilmiştir [60]. *ADAMTS9* genine yakın konumda bulunan rs4607103 polimorfizminin *PPARG* Pro12Ala polimorfizminden sonra, insülin direnci nedeniyle T2D riski kazandıran ikinci gen lokusu olabileceği düşünülmektedir [61]. Boesgaard ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, rs4607103 polimorfizmi C risk alleli artmış açlık plazma glikoz seviyesi ($P = 0,007$) ve periferik insülin direncini belirlemede altın standart olarak kabul edilen öglisemik-hiperinsülinemik klemp testinde azalmış insülin-uyarımlı glikoz alımı ($P = 0,002$) ile bağlantılı olduğu gösterilmiş. Bu nedenle periferik dokuların insülin duyarlılığında bir azalma ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca rs4607103 polimorfizmi C risk alleli intravenöz glikoz tolerans testinde değerlendirilen artmış birinci faz ($P = 0,003$) ve ikinci faz ($P = 0,009$) serum insülin salınımı ile ilişkili bulunmuştur. Bunun yanı sıra oral glikoz alımından 30 dakika sonra serum insülin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olmuştur ($P = 0,01$) [61]. Almanya’da 1578 bireyin katılımıyla yapılan başka bir çalışmada, rs4607103 polimorfizmi C risk allelinin insülin direncini OGTT’den elde edilen ölçümlerinde bir artış ile nominal olarak anlamlı bir ilişkisi olduğu bildirilmiştir [62]. Aynı çalışmada, 513 denekten oluşan bir alt grup öglisemik-hiperinsülinemik klemp testi uygulanarak incelenmiştir. Burada rs4607103’teki C risk alleli taşıyıcıları insülin duyarlılığının azalmasına bir eğilim göstermiştir. 2010 yılında yapılan bir çalışmada [39], *ADAMTS9* geni rs4607103 polimorfizminin birinci faz glikoz uyarımlı

insülin salınımına (GSIS) ve eğilim indeksine etkisi olduğuna dair kanıtlar sağlanmıştır. Tip 2 diyabet risk genotipi olan CC taşıyıcıları paradoksal olarak, riskli olmayan TT referans genotipine göre %40 oranında birinci faz GSIS artışı göstermiştir ($P<0,001$). Bu etki, hem normal glikoz toleranslı hem de bozulmuş glikoz toleranslı deneklerde benzer yönde bulunmuştur. Ayrıca, risk alel taşıyıcıları da daha yüksek bir eğilim indeksi göstermiştir ($P<0,001$). İkinci faz GSIS (glukagon benzeri peptit-1 veya arjinine verilen cevap) ve insülin duyarlılık indeksi rs4607103 polimorfizminden önemli ölçüde etkilenmemiştir [39]. Diğer çalışmalar ise, pankreas β hücre fonksiyonunda veya insülin duyarlılığında rs4607103 polimorfizminin herhangi bir değişikliğe neden olmadığını bildirmişlerdir [63-65]. Bu karşı sonuçlar ve *ADAMTS9* geninin T2D duyarlılığında ve/veya pankreas β hücre fonksiyonunda bilinmeyen fonksiyonu göz önüne alındığında hastalık mekanizmasına yönelik daha fazla çalışma gerekmektedir.

2.2.3. WFS1 Geni Rs1801214 Polimorfizmi

Rs1801214 polimorfizmi 4. kromozom üzerinde chr4:6301295 konumunda yer almaktadır. *WFS1* endoplazmik retikulum (ER) kalsiyum homeostazında ve ER stres yanıtında görevli ER membran glikoproteini olan wolframin proteinini kodlamaktadır [66]. Wolframin proteini ER kalsiyum deposunun dolum durumunu modüle ederek hücresel Ca^{++} homeostazının düzenlenmesine katılmaktadır [67]. Pankreas β hücrelerine giren glikoz glukokinaz enzimi ile yıkılır ve hücre içindeki adenosin trifosfat (ATP) seviyesi yükselir. Bu yükseliş ATP bağımlı potasyum (K^{+}) kanallarının kapanması ile hücre içi depolarizasyona neden olur. Bu depolarizasyon voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını açarak hücre içine giren Ca^{++} iyonları aracılığıyla insülin sekresyonunu artırır. İnsülin sekresyonu ile bağlantılı olan Ca^{++} homeostazından sorumlu bu gende meydana gelen mutasyonlar, DI, juvenil-erken başlangıçlı otoimmün olmayan DM, optik atrofi ve nörosensoriyel işitme kaybı ile karakterize, genetik kökenli nörodejeneratif bir hastalık olan Wolfram sendromuna (DIDMOAD) neden olmaktadır [68]. Farelerde yapılan bir çalışmada *WFS1* geninde meydana gelen bozulmanın genetik arka plana bağlı olarak bozulmuş glikoz toleransı ya da diyabete neden olduğu gösterilmiştir [69]. Hem insanlarda hem de farelerde wolframin eksikliğinin artan ER stresine bağlı olarak β hücre apoptozunda artış olduğu

gözlemlenmiştir [70]. Bu nedenle *WFS1*, insülin üreten pankreas β hücrelerinin hayatta kalması ve işlevi için kritik bir öneme sahip olduğu düşünülmektedir [71]. Rs1801214 polimorfizmi *WFS1* geninin kodlama yapan bölgesinde bulunur ve oluşan proteinin 500. aminoasitinin asparajin (Asn-N) yerine lizin (Lys-K) aminoasitinin eklenmesine neden olur. Ayrıca konumu itibarı ile DNA metilasyon potansiyeli olan bir sitozin-fosfat-guanin (CpG) dinükleotit bölgesini uzaklaştırır. Farklılaştırılmış memeli hücrelerinde, DNA metilasyonu esas olarak bir CpG dinükleotidindeki bir sitozinde gerçekleşmektedir [72]. Şekil 2.2’de Wolframin proteininin transmembran domen yapısı ve mutasyonların dağılımı gösterilmiştir [73]. Bu genetik-epigenetik etkileşim, lokal DNA metilasyonunu, alternatif splicing’i veya hedef genlerin ekspresyonunu etkileyebilen düzenleyici proteinlerin DNA’ya bağlanmasına müdahale edebilir. Artan DNA metilasyonu transkripsiyonel susturma ile ilişkilendirilmiştir [74].



Şekil 2.2. Wolframin proteininin transmembran domen yapısı ve mutasyonların dağılımı [73].

Nöropsikiyatrik hastalıklarda yapılan bir çalışmada, SNP ile örtüşen CpG dinükleotitlerinin metilasyonunun düzenlenmesi yoluyla hedef gen ekspresyonunun değişebileceği gösterilmiştir [75]. DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gibi

epigenetik modifikasyonların T2D patogenezi etkileyebileceği ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur [76-78]. Daye ve arkadaşlarının düzenlediği bir çalışmada, bir CpG dinükleotidinin silinmesi veya çıkarılmasının, T2D ile bağlantılı SNP'lerden bazılarının DNA metilasyonu yoluyla gen fonksiyonunu etkilediği ve sonuç olarak hastalığın fenotipine katkıda bulunduğu moleküler bir mekanizma olabileceğini düşündüren sonuçlar ortaya konulmuştur [79]. Aynı çalışmada, T2D ile bağlantılı olduğu düşünülen *WFS1* geni rs1801214 CpG-SNP'nin insan pankreas adacıklarında alternatif uç birleştirme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [79]. Hücrelerdeki kalsiyum miktarının kontrolünde görevli olan wolframin proteinini kodlayan *WFS1* geninde bulunan rs1801214 polimorfizmi T alleli Afrikan-Amerikan popülasyonda OR:1,11 (%95 CI:1,00-1,22) (P=0,044) T2D riskinin düşük olması ile ilişkili bulunmuştur [80]. İran popülasyonunda yapılan bir çalışmada *WFS1* geni rs1801214 polimorfizmi, düşük T2D riski ile ilişkilendirilmiştir [81]. Araştırmada, en az bir T aleli olan denekler daha düşük T2DM riski taşıdığı, TT genotipini taşıyan bireylerin, CC genotipini taşıyanlara kıyasla anlamlı derecede düşük T2DM riski gösterilmiştir (TT vs. CC, OR: 0,41, CI: 0,22-0,77, P=0,016909).

2.2.4. *C2CD4B* geni rs11071657 polimorfizmi

Rs11071657 polimorfizmi 15. kromozom üzerinde chr15:62141763 konumunda yer almaktadır. Nükleer kalsiyum bağımlı domain içeren proteini kodlayan *C2CD4B* geni (ayrıca *FAM148B* ve *NLF2* olarak da bilinir) glikoz uyarılı insülin cevabını zayıflatır. Açlık glikozu ve proinsülin seviyeleriyle ilişkilidir. Endotel hücrelerinde ekspres edilir ve pro-enflamatuar sitokinler tarafından regüle edilir. Pankreasta yüksek bir ekspresyon seviyesine sahiptir, ancak glikoz homeostazı ile moleküler bağlantısı şu anda belirsizdir [82]. 21 GWAS çalışmasının incelendiği 122743 katılımcı ile gerçekleştirilen bir meta analizde, rs11071657 polimorfizmi açlık glikozu (P<0,001), açlık insülini (P=0,03) ve 2 saatlik OGTT glikoz ölçümü (P=0,001) ile bağlantılı bulunmuştur. Dolayısıyla T2D ile OR: 1,03 (%95 CI: 1,01-1,05) (P<0,001) ilişkili olduğu düşünülmektedir [83]. Ingelsson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, açlık glikoz seviyesi artırıcı allel için *C2CD4B* rs11071657'de yüksek açlık proinsülin seviyeleri (P = 0,004) ve düşük insülinojenik indeks (P = 0,06) ile ilişkili bir eğilim görülmüştür [84]. Bu lokasyonlarda insülinojenik indeks ile açlık proinsülin seviyeleri

arasındaki ilişki koruyucu alel taşıyıcıları için lineer iken, risk alleli taşıyıcıları artan proinsülin oranlarıyla orantılı olarak insulinojenik endekste artış gösterememiştir. Açlık glikozu, açlık insülini veya 2 saatlik glikoz gibi T2D ile ilişkili veya T2D bağlantılı fenotiplerle ilişkili çok sayıda yaygın genetik varyant tanımlanmıştır [85]. Tip 2 diyabet ile ilişkili 46 SNP'nin kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkisini araştıran bir çalışmada rs11071657 polimorfizmi de incelenmiştir [86]. Diyabet, kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğundan, diyabetle ilişkili bazı genetik varyantların da kardiyovasküler hastalıklar için de risk faktörleri olması muhtemeldir [86]. Diyabetle ilişkili genetik varyantların ve risklerinin kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalar tutarsız sonuçlar vermiştir [87-90]. Borglykke ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada, *C2CD4B* geni rs11071657 polimorfizmi risk alleli tehlike oranı (Hazard Ratio-HR) 1,092 olmak üzere (%95 CI: 1,007–1,183) ($P=0,0323$) diyabet ile bağlantılı olarak kardiyovasküler hastalıklar ile de ilişkili bulunmuştur [86]. Kuzey Hintli kadınlarla hamilelik sürecinde glikoz intoleransı ve genetik risk varyantları arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, rs11071657 polimorfizmi A risk alleli önceki çalışmalarda artan insülin sekresyonu ile ilişkili bulunmasına rağmen ($P=0,044$), GDM ile ilişkili bulunmamıştır ($P=0,13$) [91].

BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniklerine başvuran 18-45 yaş aralığındaki OGTT yapılan 24-30 gebelik haftasındaki kadınlar çalışmaya dahil edildi. Tek aşamalı veya iki aşamalı olarak yapılan OGTT sonucuna göre çizelge 3.1’de belirtilen değerlere göre GDM tanısı alanlar hasta grubuna, GDM tanısı almayanlar kontrol grubuna dahil edildi. Hasta grubu belirlenmesinde gebelik öncesi diyabete sahip olunması dışlama kriteri olarak belirlendi. Bu tez çalışması Karabük Üniversitesi Rektörlüğü Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 77192459-050.99-E.11465 sayılı ve 2018/8-14 nolu karar ile etik olarak uygun bulunmuştur.

Çizelge 3.1. OGTT normal aralıklar.

	AKŞ	1. saat	2. saat	3. saat
50g		<140 mg/dL		
100g		<180 mg/dL	<155 mg/dL	<140 mg/dL
75 g	<92 mg/dL	<180 mg/dL	<153 mg/dL	

3.2. KULLANILAN LABORATUVAR ARAÇ-GEREÇ VE KİMYASALLARI

Deneyisel çalışmalar Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Kullanılan Araç-Gereçler

- Buzdolabı
- Su banyosu

- Mikrosantrifüj (Microstar 17R-VWR)
- Mikropipet seti (Eppendorf)
- Mikropipet uçları (Eppendorf)
- Mikrosantrifüj tüpleri (Eppendorf)
- Vorteks (DragonLab-MX-S)
- Kuru blok ısıtıcı (Boeco-Bio TDB-100)
- 8, 12 ve 36 kuyulu Real Time PCR plate
- Real Time PCR cihazı (7500 Real Time PCR System-Applied Biosystems)
- Güç kaynağı

3.2.2. Kullanılan Kimyasallar

- DNA ekstraksiyon kiti (Blood SV Mini-GeneAll, Kore)
- %99 etanol (SNP Biotechnology R&D Ltd., Türkiye)
- 10X PCR buffer (SNP Biotechnology R&D Ltd., Türkiye)
- 25 mM MgCl₂ (SNP Biotechnology R&D Ltd., Türkiye)
- 10 mM dNTP (New England Biolabs)
- DMSO (SNP Biotechnology R&D Ltd., Türkiye)
- Primer (Oligomer Biyoteknoloji A.Ş., Türkiye)
- 20X Eva Green (SNP Biotechnology R&D Ltd., Türkiye)
- 2,5 U/μL HotStart Taq Polimeraz (SNP Biotechnology R&D Ltd., Türkiye)

3.3. DNA İZOLASYONU

Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden Etilendiamin tetraasetik asitli (EDTA'lı) ve antikoagülansız tüplere 3 mL kan örneği alındı. Alınan kan örneklerinden, ticari olarak temin edilen GeneAll Exgene Blood SV Mini DNA ekstraksiyon kiti kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapıldı. DNA ekstraksiyonu, kit ile birlikte gönderilen kullanım kılavuzunda yer alan “tam kandan DNA ekstraksiyonu” bölümünde belirtilen prosedüre göre gerçekleştirildi. Elde Edilen DNA'lar -20°C'de muhafaza edildi.

3.3.1. DNA İzolasyon Protokolü

İlk olarak mikrosantrifüj tüpüne 20 µL Proteinaz K konulur. 200 µL kan örneği eklenir. Üzerine 200 µL GeneAll Exgene Blood SV Mini BL tamponu eklenerek iyice santrifüj edilir ve kuru blok ısıtıcıda 70°C’de 20 dakika inkübe edilir. Tercihe bağlı olarak bu inkübasyon süresinde 5 dakika aralıklarla vorteks işlemi uygulanabilir. İnkübasyon sonrasında 200 µL %99 saflıkta etanol eklenerek hızlıca vorteks yapılır. Hazırlanan karışım GeneAll Exgene Blood SV Mini kolonuna aktarılır. Yaklaşık 6,000 xg (en az 8,000 rpm) hızında 1 dakika santrifüj edilir. Kolonun altta bulunan toplama bölmesi atılır ve kolon bölmesi kit içeriğinde sağlanan boş toplama tüpüne yerleştirilir. 600 µL GeneAll Exgene Blood SV Mini BW tamponu eklenir ve yaklaşık 6,000 xg (en az 8,000 rpm) hızında 1 dakika santrifüj edilir. Kolonun toplama bölmesi atılır ve kolon bölmesi boş toplama tüpüne yerleştirilir. 700 µL GeneAll Exgene Blood SV Mini TW tamponu eklenir ve yaklaşık 6,000 xg (en az 8,000 rpm) hızında 1 dakika santrifüj edilir. Bu aşamada kolonun toplama bölmesi boşaltılarak kolon bölmesi aynı toplama tüpüne tekrar yerleştirilir. En yüksek hızda 1 dakika santrifüj edilerek etanol kalıntıları uzaklaştırılır. Kolon bölmesi temiz bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilir ve 200 µL GeneAll Exgene Blood SV Mini AE tamponu eklendikten sonra oda sıcaklığında 1-2 dakika inkübe edilir. Daha sonra son hızda 1 dakika santrifüj edilir ve kolon bölmesi atılır. Elde edilen DNA örneği kısa süreli kullanımlar için +4°C’de daha ileri tarihli kullanımlar için -20°C’de muhafaza edilir.

3.4. PRİMER DİZAYNI

AS-PCR için gerekli olan polimorfik bölgeye özgü çizelge 3.2’de gösterilen primerler Web-based Allele Specific Primer designing tool (<http://bioinfo.biotec.or.th/WASP/>) sitesi kullanılarak tasarlandı. Her bir polimorfizm için normal ve polimorfik allele özgü olmak üzere iki adet primer ve bu primerlerin ikisi için de ortak bir tamamlayıcı primer dizayn edildi. Ayrıca spesifiteyi arttırmak için SNP’yi tanıyacak bazdan önceki bir nükleotit yanlış eşleşme (mismatch) olarak değiştirildi. Çizelge 3.2’de gösterilen primer dizilerinde altı çizili olarak gösterilen baz polimorfik bölgeyi tanıyacak bazdır. Altı çizili bazdan bir önceki küçük harfle gösterilen baz ise mismatch olarak dizayn edilmiştir.

Çizelge 3.2. Primer dizileri.

Polimorfizm	Primer adı	Primer dizisi	Erime sıcaklığı	Ürün Uzunluğu
Rs243021	Normal Forward Primer	5'-GACTATCTTGCATCTACTATAAAcC-3'	58 °C	84 bç
	Polimorfik Forward Primer	5'-GACTATCTTGCATCTACTATAAAcT-3'	56 °C	
	Ortak Reverse Primer	5'-ATAATTCCACATGGCTCATC-3'	53 °C	
Rs1801214	Normal Forward Primer	5'-CACCTGGTCGTCCTTCatC-3'	58 °C	115 bç
	Polimorfik Forward Primer	5'-CACCTGGTCGTCCTTCatT-3'	56 °C	
	Ortak Reverse Primer	5'-GCACAAGGTAGCAGTAGGTG-3'	59 °C	
Rs4607103	Ortak Forward Primer	5'-TTGCTGCTAGATGATTTTGGAA-3'	55 °C	81 bç
	Normal Reverse Primer	5'-AACCTAAGAAAAAGTCAAGTTGtG-3'	55 °C	
	Polimorfik Reverse Primer	5'-AACCTAAGAAAAAGTCAAGTTGtA-3'	54 °C	
Rs11071657	Ortak Forward Primer	5'-TGCATAACATTTGTACGAAGTATACAGTTG-3'	61 °C	196 bç
	Normal Reverse Primer	5'-CTCATTTCTCTGGGGGTCTCaT-3'	60 °C	
	Polimorfik Reverse Primer	5'-CTCATTTCTCTGGGGGTCTCaC-3'	62 °C	

3.5. GENOTİPLEME

Polimorfizmlerin belirlenmesi için AS-PCR yöntemi kullanıldı. Her bir birey için SNP'nin normal ve polimorfik allele göre tasarlanan farklı primerler kullanılmak üzere iki farklı PCR karışımı hazırlandı. PCR karışımı; 1X buffer, 3 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 0,3 µL DMSO, çizelge 3.3 ve çizelge 3.4'te verilen miktarlarda primerler, 0,4X Eva Green, 0,5 U HotStart Taq Polimeraz ve yaklaşık 50 ng DNA ile hazırlandı.

Çizelge 3.3. rs243021 ve rs1801214 için PCR'da kullanılan miktarlar.

	Rs243021	Rs1801214
Normal Forward Primer	0,2 µM	0,32 µM
Polimorfik Forward Primer	0,24 µM	0,32 µM
Ortak Reverse Primer	0,24 µM	0,32 µM

Çizelge 3.4. rs4607103 ve rs11071657 için PCR'da kullanılan miktarlar.

	Rs4607103	Rs11071657
Ortak Forward Primer	0,28 µM	0,32 µM
Normal Reverse Primer	0,24 µM	0,32 µM
Polimorfik Reverse Primer	0,28 µM	0,28 µM

Real Time PCR yöntemi ile hedeflenen bölge çizelge 3.5'te verilen PCR koşulları kullanılarak çoğaltıldı. Çoğaltılan bölgenin gözlemlenebilmesi için çift iplikli DNA'ya bağlanan Eva Green (SNP Biotechnology, Ankara) ajanı kullanıldı. Çoğaltım işlemi sonrası elde edilen PCR ürünlerine aynı cihaz ile çizelge 3.6'da verilen koşullar kullanılarak erime analizi yapıldı. Sıcaklığın kademeli artışı ile birlikte çift iplikli DNA'nın denatüre olması ve Eva Green ajanının DNA'dan ayrılması temeline dayanan erime analizi yöntemi kullanıldı. Eva Green ajanının DNA'dan ayrılarak floresans ışına yapmamaya başlaması nedeniyle floresans ışına miktarında meydana gelen azalma ölçüldü. Cihaz tarafından bu azalmanın ölçümü yapılarak erime noktası belirlendi.

Çizelge 3.5. PCR programı.

PCR Programı		
95 °C	10 dk	1 döngü
95 °C	15 sn	35 döngü
60 °C	1 dk	

Çizelge 3.6. Melting programı.

Melting Programı		
95 °C	15 sn	
70 °C	30 sn	100%
95 °C	30 sn	2%
60 °C	15 sn	100%

3.5.1. AS-PCR

AS-PCR SNP'lerin belirlenmesinde kullanılan bir PCR çeşididir. Primerin 3' ucunun polimorfik nükleotide denk gelecek şekilde tasarlaması temeline dayanmaktadır. Forward veya reverse primerin 3' ucu SNP'nin farklı allellerine tamamlayıcı olarak dizayn edilir. Böylece normal allele göre dizayn edilen primer sadece normal alleli taşıyan DNA dizisine bağlanacak, polimorfik alleli taşıyan DNA dizisine bağlanamayacak ve çoğalma meydana gelmeyecektir. Aynı şekilde polimorfik allele göre dizayn edilen primer sadece polimorfik alleli taşıyan DNA dizisine bağlanacak, normal alleli taşıyan DNA dizisine bağlanamayacak ve çoğalma meydana gelmeyecektir. Ayrıca PCR hassasiyetini arttırmak için 3' ucundan bir önceki nükleotit mismatch olacak şekilde değiştirilir. Bu mismatch bağlanmada uyumsuz bölgeler için iki nükleotitlik fark yaratarak yanlış bağlanma riskini daha da düşürecek [92]. Bu yöntem kullanılarak, klasik PCR yöntemi ile çoğaltma işlemi yapıp agaroz jel elektroforezi ile yürütme yapılarak görüntüleme sağlanabileceği gibi Real Time PCR yöntemi ile eş zamanlı görüntüleme de sağlanabilir. Bu tez kapsamında Real Time PCR yöntemi tercih edilmiştir. Eş zamanlı görüntülemenin sağlanması için çift iplikli DNA'ya bağlanarak floresans ışıma veren SYBR green benzeri işleve sahip olan Eva Green boyama yöntemi kullanılmıştır. SYBR Green boyama hassasiyeti yüksek ancak spesifitesi olmayan bir yöntemdir. Bu hassasiyet problemini aşmak için PCR tasarımına oldukça dikkat edilmeli, yanlış eşleşmelerden ve primer dimerlerinden mümkün olduğunca kaçınılmalıdır.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz için SPSS (SPSS Inc., IL, Chicago) yazılımı kullanıldı. Ortalama ve standart sapma (SD) değerleri sürekli değişkenler için çizelgelerde gösterilmiştir. GDM ve kontrol grupları arasındaki genotip ve alel frekans farklılıklarının değerlendirilmesinde ki-kare analizi kullanıldı. Grupların Hardy-Weinberg denklemi ki-kare analizi ile test edildi. Gen sayımı grupların genotip ve alel frekansları için yapıldı. Genotipler arasındaki klinik özellik farklılıkları ANOVA ile test edilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov analizi ile test edilmiştir. Gruplar arasındaki klinik özellik farkını değerlendirmek için Student's T testi yapıldı. Polimorfizmlerin GDM'ye olan etkileri lojistik regresyon yöntemi ile analiz edildi. Tüm istatistiksel analizler için anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR

Çalışmaya Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniklerine başvuran 69 GDM’li ve 69 normal gebe dahil edildi. GDM tanısı konması için iki aşamalı veya tek aşamalı olarak yapılan OGTT testi uygulandı. Gebelik öncesi diyabete sahip hastalar çalışma dışında tutuldu.

4.1. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ KLİNİK ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Gruplar yaş, açlık kan şekeri (AKŞ), tokluk kan şekeri (TKŞ), OGTT 50g, OGTT 75g, OGTT 100g ve HbA1C değerleri bakımından incelendi. Klinik bulguların hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımı ve istatistiksel P değerleri çizelge 4.1’de verilmiştir. Hasta grubunun yaş ortalamasının 31, kontrol grubunun yaş ortalamasının 29 olduğu görüldü.

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının klinik bulguları.

	GDM (n=69)	Kontrol (n=69)	P
Yaş (yıl)	31,09 ± 04,29	29,84 ± 04,03	P > 0,05
AKŞ (mg/dL)	97,18 ± 17,04	84,38 ± 09,30	P < 0,001
TKŞ (mg/dL)	134,9 ± 25,42	105,56 ± 28,17	P = 0,019
OGTT 50g	168,33 ± 33,01	111,32 ± 26,70	P < 0,001
OGTT 100g 1s	176,85 ± 35,51	147,33 ± 26,08	P > 0,05
OGTT 100g 2s	151,13 ± 40,73	121,67 ± 30,08	P > 0,05
OGTT 100g 3s	108,17 ± 31,41	97,0 ± 45,13	P > 0,05
OGTT 75g 1s	189,31 ± 27,58	131,08 ± 23,67	P < 0,001
OGTT 75g 2s	146,31 ± 40,47	113,73 ± 16,06	P = 0,001
HbA1C (%)	5,81 ± 00,83	5,14 ± 00,54	P < 0,001
HbA1C (mmol/mol)	38,58 ± 07,28	33,26 ± 05,42	P = 0,001

4.2. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ GENOTİPLERİNİN İNCELENMESİ

Çalışmaya katılan bireylerin genotipleri AS-PCR yöntemi kullanılarak belirlendi. GDM'li ve sağlıklı gebe kadınlarda gözlenen genotipler ve allel frekansları çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Her bir polimorfizmin genotiplerinden herhangi birinin hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı Student's T testi ile incelenmiş ve hiçbir anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca allel frekansları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

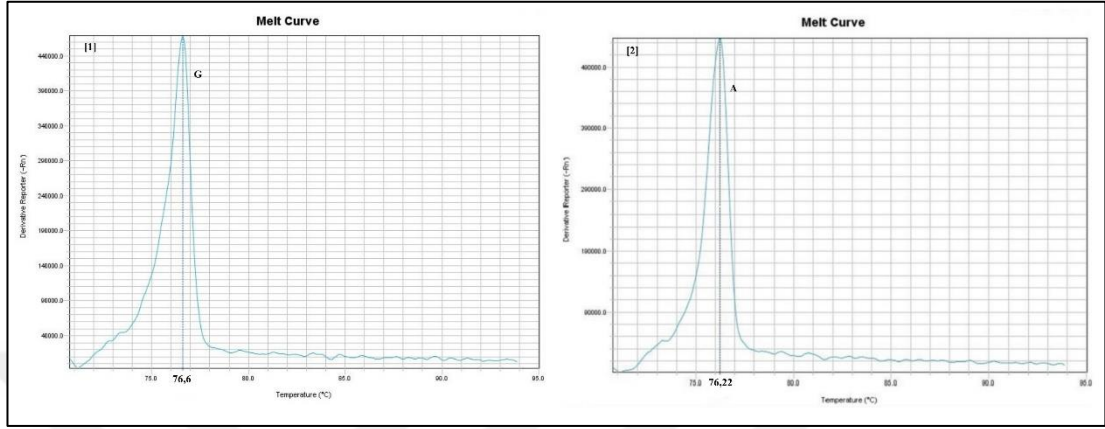
Çizelge 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında genotiplerin dağılımı.

Polimorfizm	Genotip	GDM	Kontrol	P
RS243021 n (%)	GG	12 (17,4)	15 (21,7)	0,307
	GA	39 (56,5)	30 (43,5)	
	AA	18 (26,1)	24 (34,8)	
Allel frekansı A/G		0,46/0,54	0,43/0,57	0,716
RS1801214 n (%)	GG	10 (14,5)	13 (18,8)	0,561
	GA	33 (47,8)	27 (39,1)	
	AA	26 (37,7)	29 (42,0)	
Allel frekansı C/G		0,38/0,62	0,38/0,62	1
RS4607103 n (%)	CC	23 (33,3)	23 (33,3)	0,575
	CT	39 (56,5)	35 (50,7)	
	TT	7 (10,1)	11 (15,9)	
Allel frekansı A/G		0,62/0,38	0,59/0,41	0,622
RS11071657 n (%)	AA	26 (37,7)	26 (37,7)	0,603
	AG	43 (62,3)	42 (60,9)	
	GG	0 (0,0)	1 (1,4)	
Allel frekansı C/G		0,69/0,31	0,68/0,32	0,896

4.2.1. BCL11A Geni Rs243021 Polimorfizmi İle İlgili Sonuçlar

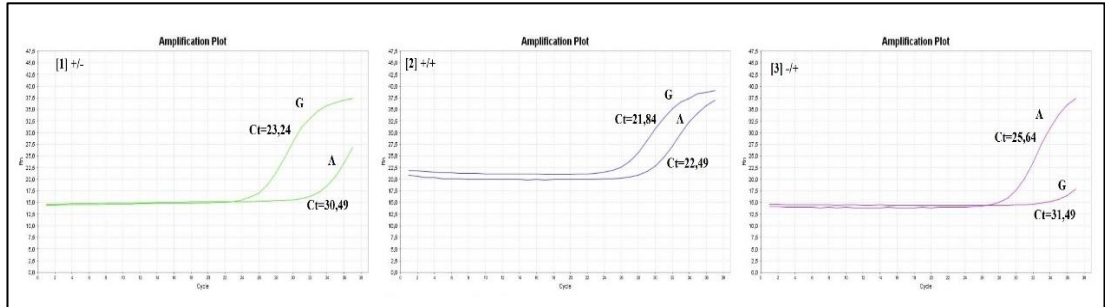
Rs243021 polimorfizmi AS-PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılmıştır. PCR ürünlerinin gözlemlenebilmesi için Eva-Green boya kullanılmış ve erime eğrisi çıkarılarak hedeflenen bölgede çoğalma olup olmadığı gözlenmiştir. Şekil 4.1'de rs243021 polimorfizmine ait allellerin erime eğrileri gösterilmiştir. 1 numaralı grafikte

gösterildiği üzere G alleli için erime sıcaklığı yaklaşık 76,6 °C, 2 numaralı grafikte A alleli için yaklaşık 76,22°C'dir. Kullanılan primerlerin hedeflediği bölge 84 baz çifti (bç) uzunluğunda olduğu için erime sıcaklıkları da birbirine yakındır.



Şekil 4.1. rs243021 polimorfizmine ait allellerin erime eğrisi.

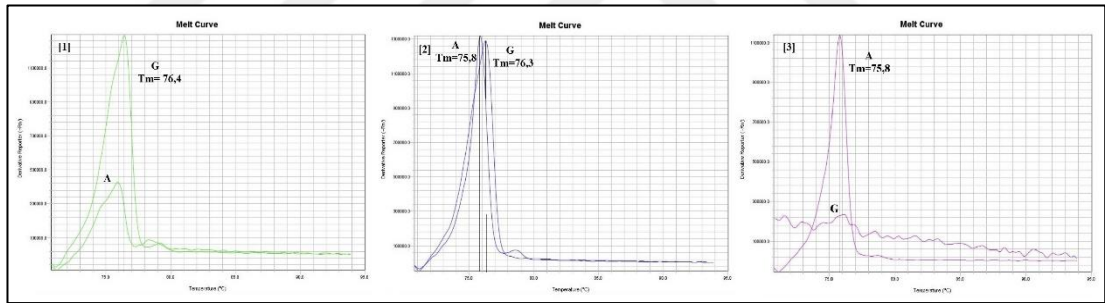
Rs243021 polimorfizmi genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımı çizelge 4.2'de verilmiştir. Ayrıca şekil 4.2'de homozigot normal, heterozigot ve homozigot birer bireye ait PCR görüntülerine yer verilmiştir.



Şekil 1.2. rs243021 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant örneklere ait PCR görüntüleri.

Şekil 4.2'de 1 numaralı grafik homozigot normal yani GG genotipine sahip bir bireye aittir. G alleleline özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda 23. döngüden sonra floresans sinyal alınmaya başlanmıştır. Bu nedenle döngü eşiği (cycle threshold-Ct) 23,24 olarak görülmektedir. Diğer yandan A alleleline özgü forward primer kullanılan kuyuda çoğalma meydana gelmemiştir. Bir PCR çalışmasında döngü sayısı belli seviyelerin üzerinde ne kadar artarsa yanlış pozitif sonuç çıkma olasılığı o kadar

artacaktır. Bu nedenle 35 döngü olarak gerçekleştirilen PCR çalışmasında $C_t=30,49$ olması örneğimizin A alleleline sahip olmadığını göstermektedir. 2 numaralı grafik heterozigot yani GA genotipine sahip bir bireye aittir. G alleleline özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda 21. döngüden sonra floresans sinyal alınmaya başlanmıştır. Bu nedenle $C_t=21,84$ olarak görülmektedir. A alleleline özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda 22. döngüden sonra floresans sinyal alınmaya başlanmıştır. Bu nedenle $C_t=22,49$ olarak görülmektedir. 3 numaralı grafik homozigot mutant yani AA genotipine sahip bir bireye aittir. A alleleline özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda 25. döngüden sonra floresans sinyal alınmaya başlanmıştır. Bu nedenle $C_t=25,64$ olarak görülmektedir. G alleleline özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda ise 31. döngüden sonra floresans sinyal alınmaya başlanmıştır. Bu nedenle $C_t=31,49$ olarak görülmektedir ve hedeflenen bölgeye ait bir sinyal değildir. Şekil 4.3'te rs243021 polimorfizmine ait homozigot normal, heterozigot ve homozigot mutant birer bireye ait erime eğrisi grafikleri gösterilmiştir.



Şekil 4.3. rs243021 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant bireylere ait erime eğrisi grafikleri.

Şekil 4.3'te 1 numaralı grafik GG genotipine sahip bir bireye aitti. G alleleline özgü forward primerin kullanıldığı kuyudan alınan floresans sinyalinin türevi bu kuyu için erime sıcaklığının $76,4^{\circ}\text{C}$ olduğunu göstermektedir ve pik yüksekliği yaklaşık 1200000'dir. Diğer yandan A alleleline özgü forward primer kullanılan kuyudan yeterli floresans sinyali alınamamıştır. 1 numaralı şekilde görülen küçük pik primer dimeri gibi yanlış pozitif sonuç gösterecek hatalı çoğalmaları işaret etmektedir. 2 numaralı grafik GA genotipine sahip bir bireye aittir. G alleleline özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda erime sıcaklığının $76,26^{\circ}\text{C}$, A alleleline özgü forward primerin

kullanıldığı kuyuda erime sıcaklığının 75,84°C olarak ölçülmüştür ve iki pikinde yüksekliği 1 300 000'e yakındır. 3 numaralı grafik AA genotipine sahip bir bireye aittir. A alleleline özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda erime sıcaklığının 75,77°C olduğu ve pik yüksekliğinin 1 100 000 olduğu görülmüştür. Öte yandan G alleleline özgü primerin kullanıldığı kuyudan herhangi bir pik alınmamıştır. Çizelge 4.3'te rs243021 polimorfizmi genotipler arasındaki klinik özellik farklılıkları ANOVA ile test edilmiştir.

Çizelge 4.3. rs243021 polimorfizminin klinik bulgular ile ilişkisi.

Rs243021	Kontrol				GDM			
	GG	GA	AA	P	GG	GA	AA	P
AKŞ (mg/dL)	83,77 ± 8,14	83,74 ± 9,42	85,50 ± 10,20	0,802	96,10 ± 19,73	98,50 ± 17,61	94,55 ± 13,71	0,792
TKŞ (mg/dL)	89	103,00 ± 33,21	121,50 ± 3,54	0,66	140,00 ± 19,98	143,65 ± 30,70	122,22 ± 15,86	0,174
OGTT 50g (mg/dL)	106,75 ± 29,95	108,00 ± 26,88	117,60 ± 26,74	0,75	186,20 ± 38,68	158,74 ± 31,64	175,40 ± 27,12	0,257
OGTT 100g 1s (mg/dL)	176	141	125	-	185,33 ± 35,12	179,70 ± 29,97	167,20 ± 48,53	0,77
OGTT 100g 2s (mg/dL)	119	153	93	-	150,67 ± 42,36	155,14 ± 34,60	145,00 ± 56,14	0,92
OGTT 100g 3s (mg/dL)	101	140	50	-	105,00 ± 23,52	106,44 ± 23,93	114,00 ± 53,27	0,92
OGTT 75g 1s (mg/dL)	122,20 ± 34,69	133,58 ± 23,78	132,88 ± 16,58	0,662	169,33 ± 16,50	189,70 ± 25,11	197,25 ± 33,70	0,34
OGTT 75g 2s (mg/dL)	110,75 ± 6,65	112,50 ± 21,84	117,60 ± 15,60	0,817	132,67 ± 27,39	140,80 ± 41,35	161,75 ± 42,43	0,427
HbA1C (%)	5,19 ± 0,55	4,94 ± 0,60	5,28 ± 0,49	0,379	5,28 ± 0,52	6,03 ± 0,91	5,70 ± 0,71	0,114
HbA1C (mmol/mol)	33,26 ± 6,06	31,93 ± 5,36	34,23 ± 5,31	0,676	33,99 ± 5,92	39,94 ± 7,30	38,62 ± 7,41	0,218

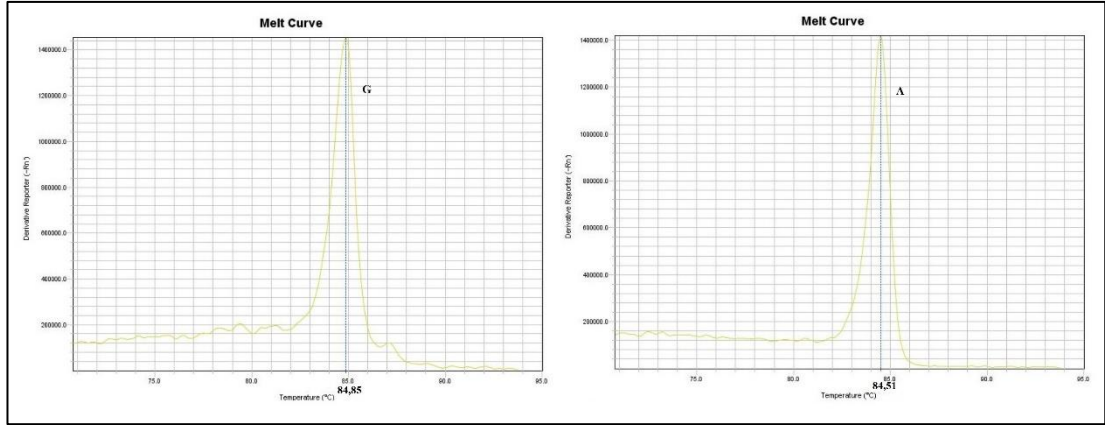
Çizelge 4.4'te rs243021 polimorfizmi homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre klinik özellikler arasındaki farklılıklar ANOVA ile test edilmiştir.

Çizelge 4.4. rs243021 polimorfizminin homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre klinik bulgular ile ilişkisi.

RS243021	Kontrol			GDM		
	GG	GA+AA	P	GG	GA+AA	P
AKŞ (mg/dL)	83,77 ± 8,14	84,56 ± 9,71	0,791	96,10 ± 19,73	97,44 ± 16,59	0,826
TKŞ (mg/dL)	89	107,63 ± 29,38	0,569	140,00 ± 19,98	133,50 ± 26,53	0,691
OGTT 50g (mg/dL)	106,75 ± 29,95	113,60 ± 26,02	0,623	186,20 ± 38,68	163,37 ± 30,63	0,177
OGTT 100g 1s (mg/dL)	176	133,00 ± 11,31	0,198	185,33 ± 35,12	174,89 ± 36,73	0,662
OGTT 100g 2s (mg/dL)	119	123,00 ± 42,43	0,951	150,67 ± 42,36	151,24 ± 42,13	0,983
OGTT 100g 3s (mg/dL)	101	95,00 ± 63,64	0,951	105,00 ± 23,52	108,96 ± 33,95	0,854
OGTT 75g 1s (mg/dL)	122,20 ± 34,69	133,30 ± 20,71	0,359	169,33 ± 16,50	191,91 ± 27,90	0,188
OGTT 75g 2s (mg/dL)	110,75 ± 6,65	114,82 ± 18,52	0,681	132,67 ± 27,39	148,09 ± 42,01	0,546
HbA1C (%)	5,19 ± 0,55	5,13 ± 0,55	0,785	5,28 ± 0,52	5,90 ± 0,85	0,09
HbA1C (mmol/mol)	33,26 ± 6,06	33,26 ± 5,31	0,997	33,99 ± 5,92	39,38 ± 7,27	0,095

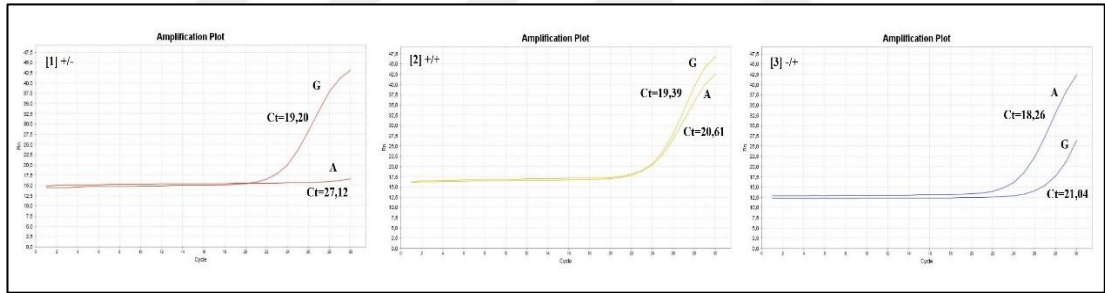
4.2.2. WFS1 Geni Rs1801214 Polimorfizmi İle İlgili Sonuçlar

Rs1801214 polimorfizmi AS-PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılmıştır. PCR ürünlerinin gözlemlenebilmesi için Eva-Green boya kullanılmış ve erime eğrisi çıkarılarak hedeflenen bölgede çoğalma olup olmadığı gözlenmiştir. Şekil 4.4'te rs1801214 polimorfizmine ait allellerin erime eğrileri gösterilmiştir. G alleli için erime sıcaklığı yaklaşık 84,85°C, A alleli için yaklaşık 84,51°C'dir. Kullanılan primerlerin hedeflediği bölge 115 bp uzunluğunda olduğu için erime sıcaklıkları da birbirine yakındır.



Şekil 4.4. rs1801214 polimorfizmine ait G ve A allellerinin erime eğrisi.

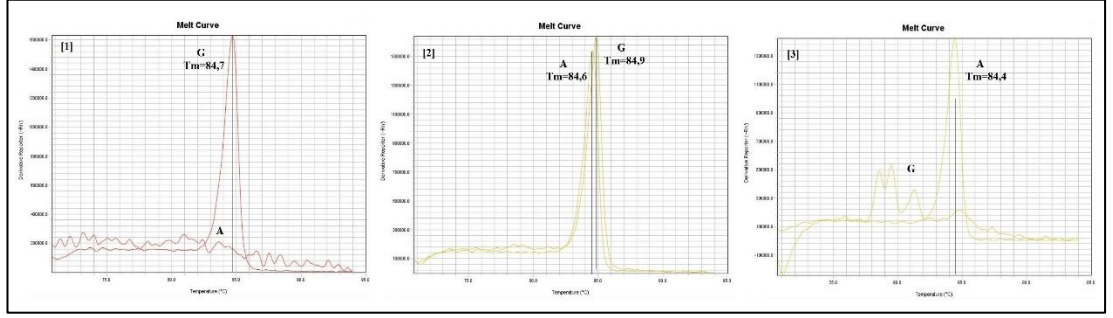
Rs1801214 polimorfizmi genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımı çizelge 4.2’de verilmiştir. Ayrıca şekil 4.5’te homozigot normal, heterozigot ve homozigot birer bireye ait PCR görüntülerine yer verilmiştir.



Şekil 4.5. rs1801214 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant örneklere ait PCR görüntüleri.

Şekil 4.5’te 1 numaralı grafik GG genotipine sahip bir bireye aittir. G alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda Ct=19,2 olarak ölçülmüştür. Diğer yandan A alleleine özgü forward primer kullanılan kuyuda Ct=27,12’dir ve çoğalma meydana gelmemiştir. 2 numaralı grafik GA genotipine sahip bir bireye aittir. G alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda Ct=19,39 olarak görülmektedir. A alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda Ct=20,61 olarak görülmektedir. 3 numaralı grafik AA genotipine sahip bir bireye aittir. A alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda Ct=18,26 olarak görülmektedir. G alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda ise Ct=21,04 olarak görülmektedir ve hedeflenen bölgeye ait bir sinyal değildir.

Şekil 4.6'da rs1801214 polimorfizmine ait homozigot normal, heterozigot ve homozigot mutant birer bireye ait erime eğrisi grafikleri gösterilmiştir.



Şekil 4.6. rs1801214 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant bireylere ait erime eğrisi grafikleri.

Şekil 4.6'da 1 numaralı grafik GG genotipine sahip bir bireye aittir. G alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=84,73^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür ve pik yüksekliği yaklaşık 1 600 000'dir. Diğer yandan A alleleine özgü forward primer kullanılan kuyudan yeterli floresans sinyali alınamamıştır. 2 numaralı grafik GA genotipine sahip bir bireye aittir. G alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=84,87^{\circ}\text{C}$, A alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=84,56^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür ve iki pikinde yüksekliği 1 500 000'den fazladır. 3 numaralı grafik AA genotipine sahip bir bireye aittir. A alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=84,42^{\circ}\text{C}$ olduğu ve pik yüksekliğinin 1 300 000'den fazla olduğu görülmüştür. Öte yandan G alleleine özgü primerin kullanıldığı kuyudan herhangi bir pik alınmamıştır.

Çizelge 4.5. rs1801214 polimorfizminin klinik bulgular ile ilişkisi.

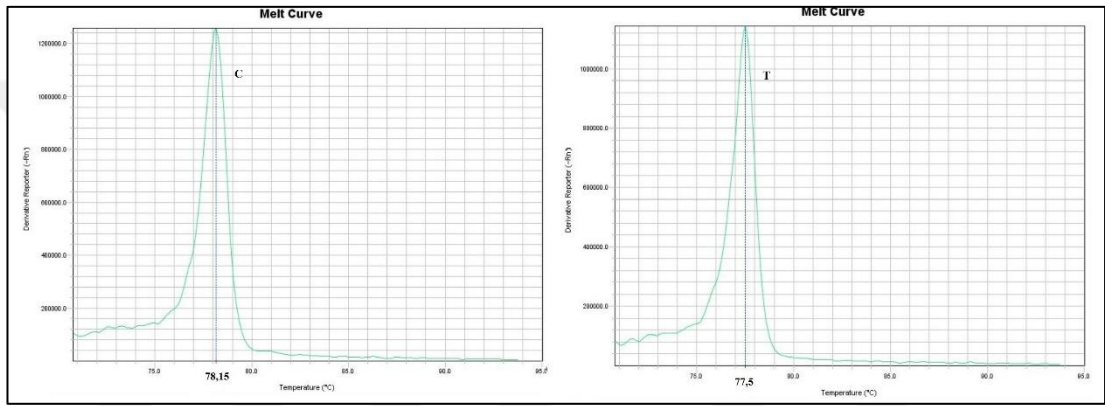
Rs1801214	Kontrol				GDM			
	GG	GA	AA	P	GG	GA	AA	P
AKŞ (mg/dL)	82,33 ± 8,66	85,05 ± 9,74	84,52 ± 9,40	0,765	89,88 ± 13,38	95,82 ± 17,49	101,38 ± 17,33	0,24
TKŞ (mg/dL)	97,33 ± 18,93	106,80 ± 35,65	124	0,762	136,50 ± 19,09	129,59 ± 23,16	139,78 ± 30,27	0,688
OGTT 50g (mg/dL)	131,25 ± 22,85	113,79 ± 28,75	97,46 ± 20,88	0,121	184,75 ± 41,72	166,43 ± 23,01	161,50 ± 46,90	0,547
OGTT 100g 1s (mg/dL)	125	158,50 ± 24,75	-	0,468	152	180,94 ± 33,11	176,38 ± 40,72	0,772
OGTT 100g 2s (mg/dL)	93	136,00 ± 24,04	-	0,382	103	163,87 ± 42,04	146,00 ± 38,96	0,355
OGTT 100g 3s (mg/dL)	50	120,50 ± 27,58	-	0,284	89	114,21 ± 37,72	104,86 ± 27,64	0,732
OGTT 75g 1s (mg/dL)	120,20 ± 28,12	137,89 ± 17,16	130,45 ± 26,31	0,423	168,00 ± 28,62	196,58 ± 31,58	187,18 ± 20,91	0,27
OGTT 75g 2s (mg/dL)	121,50 ± 16,26	119,60 ± 14,78	105,63 ± 12,78	0,064	114,33 ± 36,96	159,08 ± 38,29	141,09 ± 40,96	0,202
HbA1C (%)	5,13 ± 0,71	5,06 ± 0,62	5,24 ± 0,37	0,74	5,95 ± 1,39	5,71 ± 0,65	5,92 ± 0,91	0,686
HbA1C (mmol/mol)	32,59 ± 7,80	33,05 ± 5,66	33,81 ± 4,07	0,902	35,47 ± 8,11	38,47 ± 6,80	35,59 ± 8,01	0,611

Çizelge 4.6. rs1801214 polimorfizminin homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre klinik bulgular ile ilişkisi.

Rs1801214	Kontrol			GDM		
	GG	GA+AA	P	GG	GA+AA	P
AKŞ (mg/dL)	82,33 ± 8,66	84,77 ± 9,46	0,477	89,88 ± 13,38	98,53 ± 17,43	0,19
TKŞ (mg/dL)	97,33 ± 18,93	109,67 ± 32,65	0,572	136,50 ± 19,09	134,18 ± 26,36	0,905
OGTT 50g (mg/dL)	131,25 ± 22,85	105,62 ± 25,58	0,091	184,75 ± 41,72	164,87 ± 31,14	0,284
OGTT 100g 1s (mg/dL)	125	158,50 ± 24,75	0,468	152	178,51 ± 36,12	0,489
OGTT 100g 2s (mg/dL)	93	136,00 ± 24,04	0,382	103	154,34 ± 40,02	0,235
OGTT 100g 3s (mg/dL)	50	120,50 ± 27,58	0,284	89	109,54 ± 32,14	0,548
OGTT 75g 1s (mg/dL)	120,20 ± 28,12	133,80 ± 22,42	0,259	168,00 ± 28,62	192,09 ± 26,84	0,159
OGTT 75g 2s (mg/dL)	131,50 ± 16,26	111,00 ± 14,77	0,093	114,33 ± 36,96	150,48 ± 39,75	0,149
HbA1C (%)	5,13 ± 0,71	5,15 ± 0,51	0,941	5,95 ± 1,39	5,80 ± 0,76	0,706
HbA1C (mmol/mol)	32,59 ± 7,80	33,45 ± 4,78	0,738	35,47 ± 8,11	38,93 ± 7,23	0,373

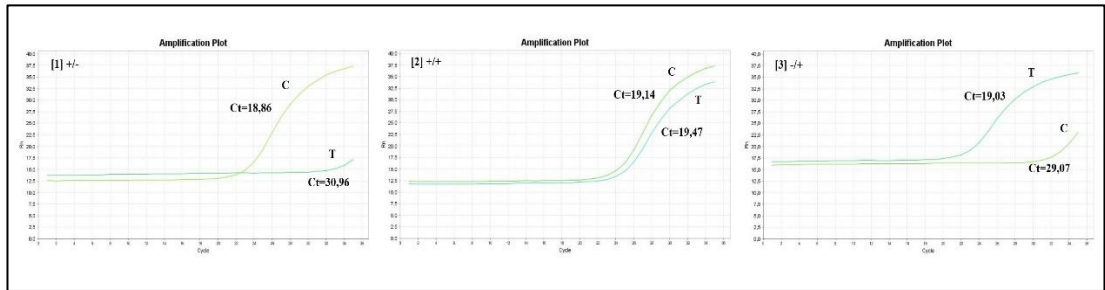
4.2.3. ADAMTS9 Geni Rs4607103 Polimorfizmi İle İlgili Sonuçlar

Rs4607103 polimorfizmi AS-PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. PCR ürünlerinin gözlemlenebilmesi için Eva-Green boya kullanılmış ve erime eğrisi çıkarılarak hedeflenen bölgede çoğalma olup olmadığı gözlenmiştir. Şekil 4.7’de rs4607103 polimorfizmine ait allellerin erime eğrileri gösterilmiştir. G alleli için erime sıcaklığı yaklaşık 78,15°C, A alleli için yaklaşık 77,5°C’dir. Kullanılan primerlerin hedeflediği bölge 81 bp uzunluğunda olduğu için erime sıcaklıkları da birbirine yakındır.



Şekil 4.7. rs4607103 polimorfizmine ait C ve T allellerinin erime eğrisi.

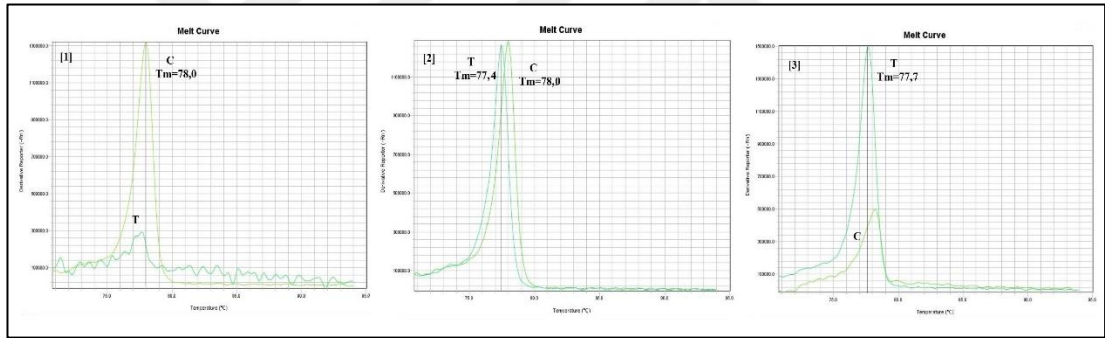
Rs4607103 polimorfizmi genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımı çizelge 4.2’de verilmiştir. Ayrıca şekil 4.8’de homozigot normal, heterozigot ve homozigot birer bireye ait PCR görüntülerine yer verilmiştir.



Şekil 4.8. rs4607103 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant örneklere ait PCR görüntüleri.

Şekil 4.8’de 1 numaralı grafik CC genotipine sahip bir bireye aittir. C alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $C_t=18,86$ olarak ölçülmüştür. Diğer yandan T alleleine özgü forward primer kullanılan kuyuda $C_t=30,96$ ’dır ve çoğalma meydana gelmemiştir. 2 numaralı grafik CT genotipine sahip bir bireye aittir. C alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $C_t=19,14$ olarak görülmektedir. T alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $C_t=19,47$ olarak görülmektedir. 3 numaralı grafik TT genotipine sahip bir bireye aittir. C alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $C_t=29,07$ olarak görülmektedir ve hedeflenen bölgeye ait bir sinyal değildir. T alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda ise $C_t=19,03$ olarak görülmektedir.

Şekil 4.9’da rs4607103 polimorfizmine ait homozigot normal, heterozigot ve homozigot mutant birer bireye ait erime eğrisi grafikleri gösterilmiştir.



Şekil 4.9. rs4607103 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant bireylere ait erime eğrisi grafikleri.

Şekil 4.9’da 1 numaralı grafik CC genotipine sahip bir bireye aittir. C alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=77,99^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür ve pik yüksekliği yaklaşık 1 300 000’dir. Diğer yandan T alleleine özgü forward primer kullanılan kuyudan yeterli floresans sinyali alınamamıştır. 2 numaralı grafik CT genotipine sahip bir bireye aittir. C alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=77,99^{\circ}\text{C}$, T alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=77,44^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür ve iki pikinde yüksekliği 1 100 000’den fazladır. 3 numaralı grafik TT genotipine sahip bir bireye aittir. T alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=77,68^{\circ}\text{C}$ olduğu ve pik yüksekliği yaklaşık 1 500 000 olarak ölçülmüştür.

Öte yandan C alleleline özgü primerin kullanıldığı kuyudan herhangi bir pik alınmamıştır.

Çizelge 4.7. rs4607103 polimorfizminin klinik bulgular ile ilişkisi.

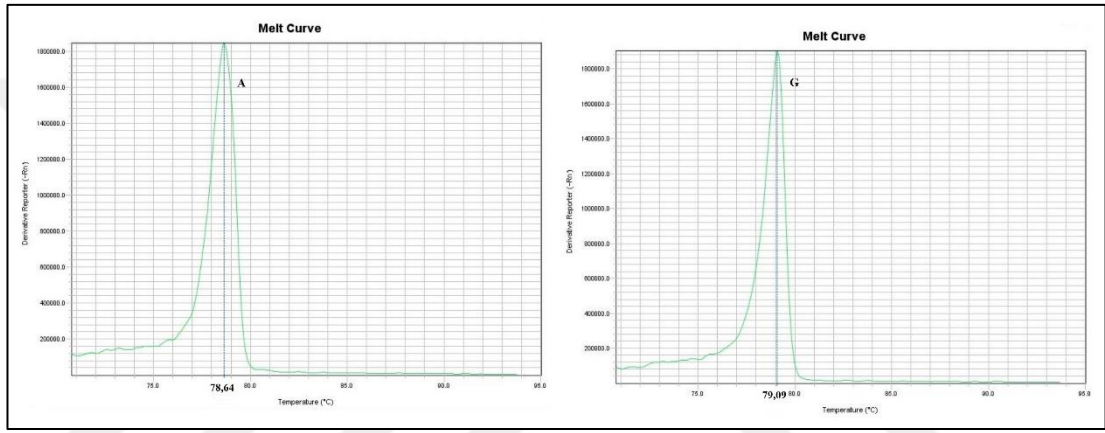
Rs4607103	Kontrol				GDM			
	CC	CT	TT	P	CC	CT	TT	P
AKŞ (mg/dL)	85,28 ± 9,73	84,23 ± 9,21	82,88 ± 9,67	0,83	97,93 ± 18,89	97,55 ± 17,37	92,60 ± 9,40	0,823
TKŞ (mg/dL)	125,00 ± 25,10	90,00 ± 20,85	*	0,056	149,50 ± 35,12	126,75 ± 19,73	142,50 ± 2,12	0,169
OGTT 50g (mg/dL)	116,04 ± 32,70	105,67 ± 25,01	118,13 ± 27,42	0,69	162,37 ± 42,14	169,36 ± 29,53	182,00 ± 36,77	0,764
OGTT 100g 1s (mg/dL)	176	125	141	-	177,93 ± 34,97	176,63 ± 41,82	174,50 ± 23,34	0,994
OGTT 100g 2s (mg/dL)	119	93	153	-	162,35 ± 34,83	144,75 ± 49,98	143,00 ± 11,31	0,723
OGTT 100g 3s (mg/dL)	101	50	140	-	125,75 ± 28,67	95,14 ± 32,52	101,00 ± 12,73	0,212
OGTT 75g 1s (mg/dL)	136,20 ± 25,13	126,00 ± 24,52	134,33 ± 16,66	0,604	198,91 ± 29,04	182,50 ± 24,10	181,33 ± 34,93	0,327
OGTT 75g 2s (mg/dL)	117,63 ± 21,11	110,17 ± 6,31	104	0,603	158,58 ± 35,00	131,73 ± 42,57	150,67 ± 50,82	0,288
HbA1C (%)	5,22 ± 0,86	5,23 ± 0,53	4,49 ± 0,57	0,085	6,18 ± 0,89	5,67 ± 0,78	5,39 ± 0,58	0,121
HbA1C (mmol/mol)	33,56 ± 5,32	33,66 ± 5,76	28,86 ± 3,71	0,508	42,25 ± 7,94	37,07 ± 6,52	35,38 ± 6,37	0,081

Çizelge 4.8. rs4607103 polimorfizmi homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre klinik bulgular ile ilişkisi.

rs4607103	Kontrol			GDM		
	CC	CT+TT	P	CC	CT+TT	P
AKŞ (mg/dL)	85,28 ± 9,73	83,95 ± 9,19	0,622	97,93 ± 18,89	96,86 ± 16,49	0,84
TKŞ (mg/dL)	125,00 ± 25,10	90,00 ± 20,85	0,056	149,50 ± 35,20	128,72 ± 19,15	0,088
OGTT 50g (mg/dL)	116,04 ± 32,07	109,50 ± 25,31	0,656	162,37 ± 42,14	170,94 ± 29,40	0,579
OGTT 100g 1s (mg/dL)	176	133,00 ± 11,31	0,198	177,93 ± 34,97	176,20 ± 37,70	0,929
OGTT 100g 2s (mg/dL)	119	123,00 ± 42,43	0,951	162,35 ± 34,83	144,40 ± 44,24	0,412
OGTT 100g 3s (mg/dL)	101	95,00 ± 63,64	0,951	125,75 ± 28,87	96,44 ± 28,63	0,075
OGTT 75g 1s (mg/dL)	136,20 ± 25,13	127,67 ± 22,89	0,389	198,91 ± 29,04	182,27 ± 25,12	0,131
OGTT 75g 2s (mg/dL)	117,63 ± 21,11	109,29 ± 6,21	0,334	158,58 ± 35,00	135,79 ± 43,08	0,156
HbA1C (%)	5,22 ± 0,49	5,09 ± 0,59	0,548	6,18 ± 0,89	5,64 ± 0,76	0,047
HbA1C (mmol/mol)	33,56 ± 5,31	33,02 ± 5,68	0,805	42,25 ± 7,94	36,89 ± 6,41	0,026

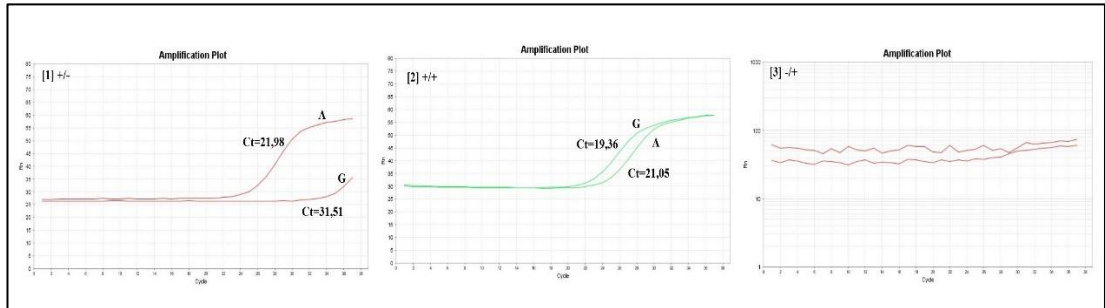
4.2.3. C2CD4B Geni Rs11071657 Polimorfizmi İle İlgili Sonuçlar

Rs11071657 polimorfizmi AS-PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır. PCR ürünlerinin gözlemlenebilmesi için Eva-Green boya kullanılmış ve erime eğrisi çıkarılarak hedeflenen bölgede çoğalma olup olmadığı gözlenmiştir. Şekil 4.10'da rs11071657 polimorfizmine ait allellerin erime eğrileri gösterilmiştir. A alleli için erime sıcaklığı yaklaşık 78,64°C, G alleli için yaklaşık 79,09°C'dir. Primerlerin hedeflediği bölge 196 bç uzunluğunda olduğu için erime sıcaklıkları da birbirine yakındır.



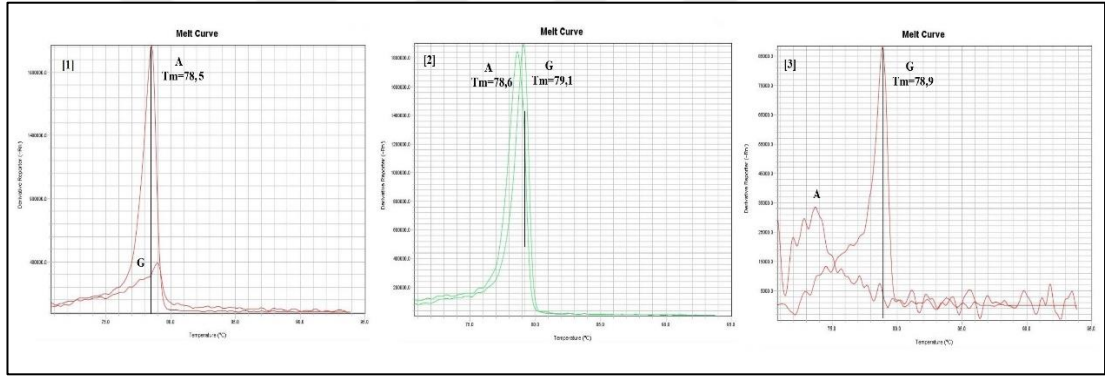
Şekil 4.10. rs11071657 polimorfizmine ait A ve G allellerinin erime eğrisi.

Rs11071657 polimorfizmi genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımı çizelge 4.2'de verilmiştir. Ayrıca şekil 4.11'de homozigot normal, heterozigot ve homozigot birer bireye ait PCR görüntülerine yer verilmiştir.



Şekil 4.11. rs11071657 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant örneklere ait PCR görüntüleri.

Şekil 4.11’de 1 numaralı grafik AA genotipine sahip bir bireye aittir. A alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $C_t=21,98$ olarak ölçülmüştür. Diğer yandan G alleleine özgü forward primer kullanılan kuyuda $C_t=31,51$ ’dir ve çoğalma meydana gelmemiştir. 2 numaralı grafik AG genotipine sahip bir bireye aittir. A alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $C_t=21,05$ olarak görülmektedir. G alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $C_t=19,36$ olarak görülmektedir. 3 numaralı grafik GG genotipine sahip bir bireye aittir. Bu çalışma kapsamında sadece bir örnekte GG genotipi görülmüştür. Erime eğrisi grafiğinde pikler görülmesine rağmen PCR grafiğinde A alleleine özgü primerin kullanıldığı kuyuda cihaz tarafından sinyal alınamamıştır ancak G alleleine özgü primerin kullanıldığı kuyuda $C_t=26,64$ olarak ölçülmüştür. Şekil 4.12’de rs11071657 polimorfizmine ait homozigot normal, heterozigot ve homozigot mutant birer bireye ait erime eğrisi grafikleri gösterilmiştir.



Şekil 4.12. rs11071657 polimorfizmine ait (1) homozigot normal, (2) heterozigot ve (3) homozigot mutant bireylere ait erime eğrisi grafikleri

Şekil 4.12’de 1 numaralı grafik AA genotipine sahip bir bireye aittir. A alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=78,53^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür ve pik yüksekliği 1900000’in üzerindedir. Diğer yandan G alleleine özgü forward primer kullanılan kuyudan yeterli floresans sinyali alınamamıştır. 2 numaralı grafik AG genotipine sahip bir bireye aittir. A alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=78,64^{\circ}\text{C}$, G alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=79,09^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür ve iki pikinde yüksekliği 1800000’den fazladır. 3 numaralı grafik GG genotipine sahip bir bireye aittir. G alleleine özgü forward primerin kullanıldığı kuyuda $T_m=78,89^{\circ}\text{C}$ olduğu ve pik yüksekliği yaklaşık 85000 olarak ölçülmüştür. Öte yandan A alleleine özgü primerin kullanıldığı kuyudan herhangi bir pik alınmamıştır.

Çizelge 4.9. rs11071657 polimorfizminin klinik bulgular ile ilişkisi.

Rs11071657	Kontrol				GDM			
	AA	AG	GG	P	AA	AG	GG	P
AKŞ (mg/dL)	85,08 ± 7,56	83,84 ± 10,51	-	0,626	94,94 ± 16,71	98,39 ± 17,35	-	0,495
TKŞ (mg/dL)	118,20 ± 28,04	89,75 ± 21,65	-	0,14	143,43 ± 33,50	130,17 ± 20,71	-	0,264
OGTT 50g (mg/dL)	107,67 ± 23,84	113,14 ± 28,85	-	0,695	160,42 ± 35,97	176,96 ± 28,59	-	0,238
OGTT 100g 1s (mg/dL)	141	150,50 ± 36,06	-	0,865	171,29 ± 32,80	181,18 ± 38,86	-	0,598
OGTT 100g 2s (mg/dL)	153	106,00 ± 18,39	-	0,284	148,14 ± 38,59	153,46 ± 44,50	-	0,806
OGTT 100g 3s (mg/dL)	140	75,50 ± 36,06	-	0,382	107,14 ± 35,17	109,06 ± 30,20	-	0,911
OGTT 75g 1s (mg/dL)	142,00 ± 22,50	123,86 ± 23,06	123	0,172	178,83 ± 26,66	192,45 ± 27,73	-	0,298
OGTT 75g 2s (mg/dL)	111,00 ± 4,70	115,56 ± 20,70	-	0,609	141,43 ± 29,75	148,11 ± 44,36	-	0,717
HbA1C (%)	5,07 ± 0,64	5,19 ± 0,50	-	0,573	5,85 ± 0,95	5,78 ± 0,76	-	0,795
HbA1C (mmol/mol)	33,30 ± 5,70	33,24 ± 5,45	-	0,979	39,21 ± 8,58	38,15 ± 6,36	-	0,652

Çizelge 4.10. rs11071657 polimorfizminin homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre klinik bulgular ile ilişkisi.

rs11071657	Kontrol			GDM		
	AA	AG+GG	P	AA	AG+GG	P
AKŞ (mg/dL)	85,08 ± 7,56	83,84 ± 10,51	0,626	94,94 ± 16,71	98,39 ± 17,35	0,495
TKŞ (mg/dL)	118,20 ± 28,04	89,75 ± 21,65	0,14	143,43 ± 33,50	130,17 ± 20,71	0,264
OGTT 50g (mg/dL)	107,67 ± 23,84	113,14 ± 28,85	0,695	160,42 ± 35,97	176,96 ± 28,59	0,238
OGTT 100g 1s (mg/dL)	141	150,50 ± 36,06	0,865	171,29 ± 32,80	181,18 ± 38,86	0,598
OGTT 100g 2s (mg/dL)	153	106,00 ± 18,39	0,284	148,14 ± 38,59	153,46 ± 44,50	0,806
OGTT 100g 3s (mg/dL)	140	75,50 ± 36,06	0,382	107,14 ± 35,17	109,06 ± 30,20	0,911
OGTT 75g 1s (mg/dL)	142,00 ± 22,50	123,80 ± 22,22	0,172	178,83 ± 26,66	192,45 ± 27,73	0,298
OGTT 75g 2s (mg/dL)	111,00 ± 4,69	115,56 ± 20,70	0,609	141,43 ± 29,75	148,11 ± 44,36	0,717
HbA1C (%)	5,07 ± 0,64	5,19 ± 0,50	0,573	5,85 ± 0,95	5,79 ± 0,76	0,795
HbA1C (mmol/mol)	33,30 ± 5,70	33,24 ± 5,45	0,979	39,21 ± 8,58	38,15 ± 6,36	0,652

Çizelge 4.11’de polimorfizmlerin düzeltilmemiş ve yaşa göre düzeltilmiş olarak lojistik regresyon analizleri gösterilmiştir. Lojistik regresyon sonucuna göre genotiplerin bireyin hasta veya kontrol grubunda yer almasında bir etkisi olmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.11. Polimorfizmlerin lojistik regresyon analizi.

Genotip		Unadjusted model		Adjusted model ^a	
		OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
RS243021	GG	1		1	
	GA	1.625 (0.663-3.981)	0,29	1.610 (0.651-3.985)	0,3
	AA	0.938 (0.354-2.484)	0,9	0.926 (0.345-2.481)	0,88
RS1801214	GG	1		1	
	GA	1.589 (0.603-4.186)	0,35	1.385 (0.514-3.730)	0,52
	AA	1.166 (0.438-3.105)	0,76	1.118 (0.226-3.008)	0,83
RS4607103	CC	1		1	
	CT	1.114 (0.534-2.327)	0,77	1.635 (0.477-5.602)	0,43
	TT	0.636 (0.210-1.931)	0,43	0.472 (0.177-1.257)	0,13
RS11071657	AA	-	-	-	-
	AG	-	-	-	-
	GG	-	-	-	-

Çizelge 4.12’de polimorfizmlerin düzeltilmemiş ve yaşa göre düzeltilmiş olarak dominant modelde lojistik regresyon analizleri gösterilmiştir. Lojistik regresyon sonucuna göre homozigot normal allel ve polimorfik allel taşıyıcısı olmanın bireyin hasta veya kontrol grubunda yer almasında bir etkisi olmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.12. Polimorfizmlerin dominant modelde lojistik regresyon analizi.

Genotip		Unadjusted model		Adjusted model ^a	
		OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
RS243021	GG	1		1	
	GA+AA	1.319 (0.567-3.073)	0,52	1.306 (0.555-3.072)	0,54
RS1801214	GG	1		1	
	GA+AA	1.370 (0.556-3.375)	0,49	1.244 (0.497-3.112)	0,64
RS4607103	CC	-	-	-	-
	CT+TT	-	-	-	-
RS11071657	AA	-	-	-	-
	AG+GG	-	-	-	-

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Gestasyonel diyabet gebelikte meydana gelen en yaygın gestasyonel bozukluklardan biridir. İlk defa gebelikte meydana gelen glikoz intoleransı olarak tanımlanır ve genellikle gebelikten sonra düzelmesi beklenir. Anne yaşı, obezite, stres ve beslenme bozuklukları gibi çevresel faktörlerin yanı sıra genetik faktörler de GDM ile ilişkilidir [93]. Eğer gebelikte hiperglisemi teşhis edilmez ve önlem alınmazsa anne ve bebekte ciddi komplikasyonlar ortaya çıkabilir [94]. Ayrıca lipid anormallikleri [95], hipertansif bozukluklar [96] ve hiperinsülinemi [97] gibi kardiyometabolik risk faktörleri de GDM ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar daha sonra kardiyovasküler hastalık ve metabolik sendrom gelişmesine neden olabilir [94]. Farklı risk faktörlerinin, patofizyolojik mekanizmaların ve GDM'nin genetik faktörlerinin anlaşılmasının, risk altındaki kadınların tespit edilmesine, etkili önleyici tedbirler geliştirilmesine ve hastalığın yeterli tedavisinin sağlanmasına yardımcı olacağı düşünülmektedir [94].

Gestasyonel diyabetin kalıtsal ve çevresel faktörlerden etkilenen bir hastalık olduğu bilinmekle birlikte genetik arka planı yeterince aydınlatılamamıştır. Birçok çalışmada *TCF7L2* (rs7903146), *GCK* (rs4607517), *KCNJ11* (rs5219), *CDKAL1* (rs7754840), *IGF2BP2* (rs4402960), *MTNR1B* (rs10830963), *PPARG* (rs1801282), *IRS1* (rs1801278), *ADRB3* (rs4994), *TNF* (rs1800629) genlerindeki polimorfizmler ile GDM arasında ilişki bulunduğu gösterilmiştir [98,99]. Yaşamın ilerleyen dönemlerinde GDM, T2D gelişiminde önemli bir risk oluşturmaktadır [100], ailesel diyabet geçmişi olan kadınlarda GDM riskinin arttığı düşünülmektedir [7] ve ayrıca çocuklarda T2D ve obezite riskini artırdığı da bilinmektedir [101]. Bazı çalışmalarda daha önce tanımlanmış bazı T2D genlerinin GDM ile ilişkisi gösterilmiştir [10,102].

İstatistiksel güç eksikliği, çoklu hipotez testi, popülasyon farklılıkları ve fenotipik heterojenite nedeniyle genetik ilişkilendirme çalışmaları yetersiz kalmaktadır. T2D

aday genlerinin GDM üzerindeki etkisinin araştırılması ve aralarındaki ilişkinin değerlendirilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu tez çalışması kapsamında T2D ile ilişkisi bulunan ancak daha önce GDM ile ilişkisi araştırılmamış dört polimorfizm incelenmiştir.

Bu tez çalışmasında *BCL11A*, *ADAMTS9*, *WFS1* ve *C2CD4B* genlerine ait sırasıyla rs243021, rs4607103, rs1801214 ve rs11071657 polimorfizmleri ile GDM arasındaki muhtemel ilişkiler incelendi. Hasta ve kontrol gruplarına tek aşamalı veya iki aşamalı OGTT testi uygulandı. Çalışmaya Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniklerine başvuran 24-28 haftalık gebe kadınlar dahil edildi. Gebelik öncesi diyabet tanısı bulunan kadınlar çalışma dışında tutuldu.

Hasta ve kontrol gruplarında tek aşamalı 75g glikoz yüklemesinde 1. saatte yapılan kan ölçümü için 180 mg/dL, 2. saatte yapılan kan ölçümü için 153 mg/dL sınır değeri olarak alındı. İki aşamalı OGTT testi için ise 50g glikoz yüklemesi sonucu 1. saat yapılan kan ölçümü için 140 mg/dL sınır değeri olarak alındı ve bu değerin üzerinde olan bireyler için ikinci aşama olan 100g şeker yüklemesi yapıldı. 100g şeker yüklemesinde 1. saatte yapılan kan ölçümü için 180 mg/dL, 2. saatte yapılan kan ölçümü için 155 mg/dL ve 3. saatte yapılan kan ölçümü için 140 mg/dL sınır değeri olarak belirlendi.

BCL11A, *ADAMTS9*, *WFS1* ve *C2CD4B* genlerine ait sırasıyla rs243021, rs4607103, rs1801214 ve rs11071657 polimorfizmleri daha önce T2D ile ilişkili bulunmuş ancak GDM ile ilişkisi araştırılmamıştır. Bu tez kapsamında belirtilen bu polimorfizmler ile GDM arasındaki ilişki ilk kez çalışılmıştır. GDM'li kadınların yaklaşık %20-50'sinde 5 yıl içerisinde T2D geliştiği gözlenmesi nedeniyle [3] T2D ile ilişkili bu polimorfizmlerin GDM ile de ilişkisi olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.1 incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasında kan glikozu seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($P<0,001$). Çalışmanın yapıldığı popülasyonda hasta kümesinin OGTT sonucu çizelge 3.1'de belirtilen değerlerin üzerinde olan bireylerden oluşturulduğu göz önüne alındığında kan glikozu seviyesi

yüksekliği ile glikoz yüklemesi sonucu elde edilen kan glikozu seviyesi yüksekliğinin birlikte görüldüğü söylenebilir. Ayrıca TKŞ ($p=0,019$), % HbA1C ($p<0,001$) ve HbA1C (mmol) ($p=0,001$) değerleri ile GDM arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmiştir. GDM insülin üretiminde ve/veya salgılanmasında meydana gelen bozukluklara neden olduğu için kandaki glikoz seviyesinin, TKŞ'nin ve yaklaşık 3-4 aylık kan şekeri belirteci olan glikozillenmiş hemoglobin seviyesini gösteren HbA1C değerlerinin hasta grubunda daha yüksek görülmesi beklenen bir durumdur.

C2H2 tipi çinko parmak proteinlerini kodlayan *BCL11A* geni yakınlarında yer alan rs243021 polimorfizmi pek çok çalışmada T2D ile ilişkili bulunmuştur. Voight ve arkadaşlarının yaptığı bir ilişkilendirme çalışmasında rs243021 polimorfizmi A alleli T2D için risk faktörü olarak gösterilmiştir [44]. Bir başka çalışmada in vivo ve in vitro ortamlarda insülin ve glukagon sekresyonunu etkilediği gösterilmiştir [40]. Bu çalışma kapsamında çizelge 4.11'de hasta ve kontrol gruplarında rs243021 polimorfizmi A risk allelinin gruplara göre dağılımı lojistik regresyon analizi ile incelendiğinde GDM ile ilişkisinin bulunmadığı görülmüştür OR:0,926 (%95 CI:0,345-2,481) ($p=0,88$). Dominant modelde lojistik regresyon analizi sonucuna göre de OR:1,306 (%95 CI:0,555-3,072) ($p=0,54$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

ADAMTS9 geninin upstream bölgesinde yer alan rs4607103 polimorfizmi C allelinin insülin duyarlılığında meydana gelen bir bozulmaya neden olarak T2D riskini arttırabileceği düşünülmektedir [47]. Zeggini ve arkadaşlarının yaptığı bir GWAS çalışmasında rs4607103 polimorfizmi T2D için risk varyantı olarak gösterilmiştir [60]. Çizelge 4.11'de hasta ve kontrol gruplarında rs4607103 polimorfizmi T risk allelinin gruplara göre dağılımı lojistik regresyon analizi ile incelendiğinde GDM ile ilişkisinin bulunmadığı görülmüştür OR:0,472 (%95 CI:0,177-1,257) ($p=0,13$). Rs4607103 polimorfizmi T allelinin klinik bulgular ile homozigot normal allelin polimorfik allel taşıyıcılarına göre ilişkisine bakıldığında ise çizelge 4.8'de belirtilen değerlere göre HbA1C (%) ve HbA1C (mmol) değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olduğu görülmüştür (sırasıyla $p=0,047$ ve $p=0,026$). Bu değerlerdeki beklenmedik ilişki hastaların tedavi sonrası ölçümleri alınmış olabileceği göz önüne alınarak açıklanabilir.

WFS1 geninin kodladığı proteinin 500. aminoasitinin asparajinden lizine dönüşmesine neden olan rs1801214 polimorfizmi C alleli Afrika-Amerikan [80] ve İran [81] popülasyonlarında düşük T2D riski ile ilişkilendirilmiştir. Çizelge 4.11’de hasta ve kontrol gruplarında rs1801214 polimorfizmi A risk allelinin gruplara göre dağılımı lojistik regresyon analizi ile incelendiğinde GDM ile ilişkisinin bulunmadığı görülmüştür OR:1,118 (%95 CI:0,226-3,008) (P=0,83). Dominant modelde lojistik regresyon analizi sonucuna göre de OR:1,244 (%95 CI:0,497-3,112) (P=0,64) istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Ayrıca çizelge 4.5 ve çizelge 4.6 da rs1801214 polimorfizmi ile klinik bulgular arasındaki ilişki incelendiğinde hiçbir istatistiksel bağlantı görülmemiştir.

C2CD4B geni rs11071657 polimorfizmi açlık glikoz seviyesi ve T2D ile ilişkili bulunmuştur [83]. Rs11071657 polimorfizmine ait GG genotipi sadece kontrol grubuna ait bir bireyde gözleendiği için istatistiksel analiz yapılamamıştır. Ayrıca çizelge 4.9 ve çizelge 4.10’da rs11071657 polimorfizmi ile klinik bulgular arasındaki ilişki incelendiğinde hiçbir istatistiksel bağlantı görülmemiştir.

BÖLÜM 6

SONUÇLAR

Bu tez çalışması kapsamında GDM ile BCL11A, ADAMTS9, WFS1 ve C2CD4B genlerine ait sırasıyla rs243021, rs4607103, rs1801214 ve rs11071657 polimorfizmleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. T2D ile farklı çalışmalarda ilişkili bulunan bu polimorfizmler Karabük Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniklerine başvuran GDM’li ve normal gebelerde incelenmiş ve GDM ile bağlantılı bulunmamıştır. Bu polimorfizmlerin GDM gelişiminde risk faktörü olarak değerlendirilemeyeceği sonucu ortaya çıkmıştır. Yine de örneklem sayısının yetersizliği nedeniyle daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Moyce, B. L. ve Dolinsky, V. W., “Maternal β -cell adaptations in pregnancy and placental signalling: implications for gestational diabetes”, ***International Journal of Molecular Sciences***, 19 (11): 3467 (2018).
2. Guariguata, L., Linnenkamp, U., Beagley, J., Whiting, D. R. ve Cho, N. H., “Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy”, ***Diabetes Research and Clinical Practice***, 103 (2): 176-185 (2014).
3. Kim, C., Newton, K. M. ve Knopp, R. H., “Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review”, ***Diabetes Care***, 25 (10):1862-1868 (2002).
4. Robitaille, J. ve Grant, A. M., “The genetics of gestational diabetes mellitus: evidence for relationship with type 2 diabetes mellitus”, ***Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics***, 10 (4): 240-250 (2008).
5. Buchanan, T. A. ve Xiang, A. H., “Gestational diabetes mellitus”, ***Journal of Clinical Investigation***, 115 (3): 485-491 (2005).
6. Martin, A. O., Simpson, J. L., Ober, C., ve Freinkel, N., “Frequency of diabetes mellitus in mothers of probands with gestational diabetes: possible maternal influence on the predisposition to gestational diabetes”, ***American Journal of Obstetrics and Gynecology***, 151 (4): 471-475 (1985).
7. Williams, M. A., Qiu, C., Dempsey, J. C., ve Luthy, D. A., “Familial aggregation of type 2 diabetes and chronic hypertension in women with gestational diabetes mellitus”, ***The Journal of Reproductive Medicine***, 48 (12): 955-962 (2003).
8. Prasad, R. B. ve Groop, L., “Genetics of type 2 diabetes—pitfalls and possibilities”, ***Genes (Basel)***, 6 (1): 87-123 (2015).
9. Lauenborg, J. vd., “Common type 2 diabetes risk gene variants associate with gestational diabetes”, ***The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism***, 94 (1): 145-150 (2009).
10. Cho, Y. M. vd., “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***, 52 (2): 253-261 (2009).
11. Kwak, S. H. vd., “A genome-wide association study of gestational diabetes mellitus in korean women”, ***Diabetes***, 61 (2): 531-541 (2012).

12. Kim, J. Y. vd., “Melatonin receptor 1 B polymorphisms associated with the risk of gestational diabetes mellitus”, **BMC Medical Genetics**, 12(82) (2011).
13. Verhulst, M. J. L., Loos, B. G., Gerdes, V. E. A., ve Teeuw, W. J., “Evaluating all potential oral complications of diabetes mellitus”, **Front Endocrinol (Lausanne)**, 10 (2019).
14. American Diabetes Association, “Diagnosis and classification of diabetes mellitus”, **Diabetes Care**, 37 (1): S81-90 (2014).
15. Stone, M. A., Camosso-Stefinovic, J., Wilkinson, J., Lusignan, S. D., Hattersley, A. T., ve Khunti, K., “Incorrect and incomplete coding and classification of diabetes: a systematic review”, **Diabetic Medicine**, 27 (5):491-497 (2010).
16. Kalra, S. vd., “Diabetes insipidus: the other diabetes”, **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, 20 (1): 9-21 (2016).
17. Raghavan, S. vd., “Diabetes mellitus–related all-cause and cardiovascular mortality in a national cohort of adults”, **Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease**, 8 (4) (2019).
18. Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C., ve Shaw, J., “IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030”, **Diabetes Research and Clinical Practice**, 94 (3): 311-321 (2011).
19. Gepts, W., “Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus”, **Diabetes**, 14 (10): 619-633 (1965).
20. Morran, M. P., Vonberg, A., Khadra, A., ve Pietropaolo, M., “Immunogenetics of type 1 diabetes mellitus”, **Molecular Aspects of Medicine**, 42: 42-60 (2015).
21. Fajans, S. S., Cloutier, M. C., ve Crowther, R. L., “Clinical and etiological heterogeneity of idiopathic diabetes mellitus. The banting memorial lecture”, **Schweizerische Medizinische Wochenschrift**, 109 (46): 1774-1785 (1979).
22. Druet, C., Tubiana-Rufi, N., Chevenne, D., Rigal, O., Polak, M., ve Levy-Marchal, C., “Characterization of insulin secretion and resistance in type 2 diabetes of adolescents”, **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 91 (2): 401-404 (2006).
23. Rosenbloom, A. L., Silverstein, J. H., Amemiya, S., Zeitler, P., ve Klingensmith, G. J., “Type 2 diabetes in children and adolescents”, **Pediatric Diabetes**, 10 (12): 17-32 (2009).
24. Kahn, S. E., Cooper, M. E., ve Del Prato, S., “Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present and future”, **Lancet**, 383 (9922): 1068-1083 (2014).

25. American Diabetes Association, "2. classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2019", ***Diabetes Care***, 42 (Suppl 1): 13-28 (2019).
26. McCarthy, M. I., "Genomics, type 2 diabetes, and obesity", ***The New England Journal of Medicine***, 363 (24): 2339-2350 (2010).
27. Ruchat, S.-M. vd., "Association between insulin secretion, insulin sensitivity and type 2 diabetes susceptibility variants identified in genome-wide association studies", ***Acta Diabetologica***, 46 (3): 217-226 (2009).
28. İnternet: "IDF Diabetes Atlas 9th edition 2019", <https://diabetesatlas.org/en/> [Erişim: 17-Kas-2019].
29. Nielsen, K. K., Kapur, A., Damm, P., de Courten, M., ve Bygbjerg, I. C., "From screening to postpartum follow-up – the determinants and barriers for gestational diabetes mellitus (GDM) services, a systematic review", ***BMC Pregnancy Childbirth***, 14 (41) (2014).
30. Damm, P., "Future risk of diabetes in mother and child after gestational diabetes mellitus", ***International Journal of Gynaecology and Obstetrics: The Official Organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics***, 104 (Suppl 1): S25-26 (2009).
31. Dias, S., Pfeiffer, C., Abrahams, Y., Rheeder, P., ve Adam, S., "Molecular biomarkers for gestational diabetes mellitus", ***International Journal of Molecular Sciences***, 19 (10) (2018).
32. "International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy", ***Diabetes Care***, 33 (3): 676-682 (2010).
33. Heger, P., Marin, B., Bartkuhn, M., Schierenberg, E., ve Wiehe, T., "The chromatin insulator CTCF and the emergence of metazoan diversity", ***Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America***, 109 (43): 17507-17512 (2012).
34. Fedotova, A. A., Bonchuk, A. N., Mogila, V. A., ve Georgiev, P. G., "C2H2 zinc finger proteins: the largest but poorly explored family of higher eukaryotic transcription factors", ***Acta Naturae***, 9 (2): 47-58 (2017).
35. Sankaran, V. G., Xu, J. ve Orkin, S. H., "Transcriptional silencing of fetal hemoglobin by BCL11A", ***Annals of the New York Academy of Sciences***, 1202:64-68 (2010).
36. Pardini, V. C. vd., "Fetal hemoglobin levels are related to metabolic control in diabetic subjects", ***Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas***, 32 (6):695-701 (1999).

37. Goldstein, D. E., Little, R. R., Wiedmeyer, H. M., England, J. D. ve McKenzie, E. M., “Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications”, **Clinical Chemistry**, 32 (10): B64-70 (1986).
38. Cefalu, W. T., Wang, Z. Q., Bell-Farrow, A., Kiger, F. D. ve Izlar, C., “Glycohemoglobin measured by automated affinity HPLC correlates with both short-term and long-term antecedent glycemia”, **Clinical Chemistry**, 40 (7): 1317–1321 (1994).
39. Simonis-Bik, A. M. vd., “Gene variants in the novel type 2 Ddiabetes loci CDC123/CAMK1D, THADA, ADAMTS9, BCL11A, and MTNR1B affect Ddifferent aspects of pancreatic β -cell function”, **Diabetes**, 59 (1): 293-301 (2010).
40. Jonsson, A. vd., “Effects of common genetic variants associated with type 2 diabetes and glycemic traits on α - and β -cell function and insulin action in humans”, **Diabetes**, 62 (8): 2978-2983 (2013).
41. Peiris, H. vd., “Discovering human diabetes-risk gene function with genetics and physiological assays”, **Nature Communications**, 9 (2018).
42. Haselton, A., Sharmin, E., Schrader, J., Sah, M., Poon, P., ve Fridell, Y.-W. C., “Partial ablation of adult *Drosophila* insulin-producing neurons modulates glucose homeostasis and extends life span without insulin resistance”, **Cell Cycle**, 9 (15): 3063-3071 (2010).
43. Park, S., Alfa, R. W., Topper, S. M., Kim, G. E. S., Kockel, L., ve Kim, S. K., “A genetic strategy to measure circulating drosophila insulin reveals genes regulating insulin production and secretion”, **PLoS Genetics**, 10 (8) (2014).
44. Voight, B. F. vd., “Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis”, **Nature Genetics**, 42 (7): 579-589 (2010).
45. Cauchi, S. vd., “European genetic variants associated with type 2 diabetes in North African Arabs”, **Diabetes & Metabolism**, 38 (4): 316-323 (2012).
46. Keaton, J. M. vd., “A comparison of type 2 diabetes risk allele load between african americans and european americans”, **Human genetics**, 133 (12): 1487-1495 (2014).
47. Graae, A.-S. vd., “ADAMTS9 regulates skeletal muscle insulin sensitivity through extracellular matrix alterations”, **Diabetes**, 68 (3): 502-514 (2019).
48. Somerville, R. P. T. vd., “Characterization of ADAMTS-9 and ADAMTS-20 as a distinct ADAMTS subfamily related to *Caenorhabditis elegans* GON-1”, **The Journal of Biological Chemistry**, 278 (11): 9503–9513 (2003).

49. Tharmarajah, G. vd., “Melanocyte development in the mouse tail epidermis requires the Adamts9 metalloproteinase”, ***Pigment Cell & Melanoma Research***, 31 (6): 693–707 (2018).
50. Williams, A. S., Kang, L., ve Wasserman, D. H., “The extracellular matrix and iInsulin resistance”, ***Trends in endocrinology and metabolism: TEM***, 26 (7): 357–366 (2015).
51. Berria, R. vd., “Increased collagen content in insulin-resistant skeletal muscle”, ***American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism***, 290 (3): E560–565 (2006).
52. Kang, L. vd., “Diet-induced muscle insulin resistance is associated with extracellular matrix remodeling and interaction with integrin alpha2beta1 in mice”, ***Diabetes***, 60 (2): 416–426 (2011).
53. Kang, L. vd., “Hyaluronan accumulates with high-fat feeding and contributes to insulin resistance”, ***Diabetes***, 62 (6): 1888–1896 (2013).
54. Irwin, W. A. vd., “Mitochondrial dysfunction and apoptosis in myopathic mice with collagen VI deficiency”, ***Nature Genetics***, 35 (4): 367–371 (2003).
55. Werner, E. ve Werb, Z., “Integrins engage mitochondrial function for signal transduction by a mechanism dependent on Rho GTPases”, ***The Journal of Cell Biology***, 158 (2): 357–368 (2002).
56. Bisht, B., Srinivasan, K. ve Dey, C. S., “In vivo inhibition of focal adhesion kinase causes insulin resistance”, ***The Journal of Physiology***, 586 (16): 3825–3837 (2008).
57. Huang, D., Khoe, M., Ilic, D. ve Bryer-Ash, M., “Reduced expression of focal adhesion kinase disrupts insulin action in skeletal muscle cells”, ***Endocrinology***, 147 (7): 3333–3343 (2006).
58. Kang, L. vd., “Integrin-Linked Kinase in Muscle Is Necessary for the Development of Insulin Resistance in Diet-Induced Obese Mice”, ***Diabetes***, 65 (6): 1590–1600 (2016).
59. Zong, H. vd., “Insulin Resistance in Striated Muscle-specific Integrin Receptor β 1-deficient Mice”, ***The Journal of Biological Chemistry***, 284 (7): 4679–4688 (2009).
60. Zeggini, E. vd., “Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes”, ***Nature Genetics***, 40 (5): 638–645 (2008).
61. Boesgaard, T. W. vd., “Variant near ADAMTS9 known to associate with type 2 diabetes is related to insulin resistance in offspring of type 2 diabetes patients—EUGENE2 study”, ***PLoS One***, 4 (9) (2009).

62. Staiger, H. vd., “Novel meta-analysis-derived type 2 diabetes risk loci do not determine prediabetic phenotypes”, **PLoS One**, 3 (8) (2008).
63. Stančáková, A.vd., “Association of 18 Confirmed Susceptibility Loci for Type 2 Diabetes With Indices of Insulin Release, Proinsulin Conversion, and Insulin Sensitivity in 5,327 Nondiabetic Finnish Men”, **Diabetes**, 58 (9): 2129-2136 (2009).
64. Sanghera, D. K. vd., “Testing the association of novel meta-analysis-derived diabetes risk genes with type II diabetes and related metabolic traits in Asian Indian Sikhs”, **Journal of Human Genetics**, 54 (3): 162-168 (2009).
65. Grarup, N. vd., “Association testing of novel type 2 diabetes risk alleles in the JAZF1, CDC123/CAMK1D, TSPAN8, THADA, ADAMTS9, and NOTCH2 loci with insulin release, insulin sensitivity, and obesity in a population-based sample of 4,516 glucose-tolerant middle-aged danes”, **Diabetes**, 57 (9): 2534-2540 (2008).
66. Inoue, H.vd., “A gene encoding a transmembrane protein is mutated in patients with diabetes mellitus and optic atrophy (Wolfram syndrome)”, **Nature Genetics**, 20 (2): 143-148 (1998).
67. Takei, D. vd., “WFS1 protein modulates the free Ca(2+) concentration in the endoplasmic reticulum”, **FEBS Letters**, 580 (24): 5635-5640 (2006).
68. Strom, T. M. vd., “Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy and deafness (DIDMOAD) caused by mutations in a novel gene (wolframin) coding for a predicted transmembrane protein”, **Human Molecular Genetics**, 7 (13): 2021–2028 (1998).
69. Ishihara, H. vd., “Disruption of the WFS1 gene in mice causes progressive beta-cell loss and impaired stimulus-secretion coupling in insulin secretion”, **Human Molecular Genetics**, 13 (11): 1159–1170 (2004).
70. Yamada, T. vd., “WFS1-deficiency increases endoplasmic reticulum stress, impairs cell cycle progression and triggers the apoptotic pathway specifically in pancreatic beta-cells”, **Human Molecular Genetics**, 15 (10) 1600–1609 (2006).
71. Sandhu, M. S. vd., “Common variants in WFS1 confer risk of type 2 diabetes”, **Nature Genetics**, 39 (8) 951–953 (2007).
72. Lister, R.vd., “Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences”, **Nature**, 462 (7271): 315-322 (2009).
73. Qian, X., Qin, L., Xing, G., ve Cao, X., “Phenotype prediction of pathogenic nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in WFS1”, **Scientific Reports**, 5 (2015).

74. Bird, A., “Perceptions of epigenetics”, *Nature*, 447 (7143): 396-398 (2007).
75. Taqi, M. M. vd., “Prodynorphin CpG-SNPs associated with alcohol dependence: elevated methylation in the brain of human alcoholics”, *Addiction Biology*, 16 (3): 499-509 (2011).
76. Volkmar, M. vd., “DNA methylation profiling identifies epigenetic dysregulation in pancreatic islets from type 2 diabetic patients”, *The EMBO Journal*, 31 (6): 1405-1426 (2012).
77. Yang, B. T. vd., “Increased DNA methylation and decreased expression of PDX-1 in pancreatic islets from patients with type 2 diabetes”, *Molecular Endocrinology*, 26 (7): 1203-1212 (2012).
78. Ling, C.vd., “Epigenetic regulation of PPARGC1A in human type 2 diabetic islets and effect on insulin secretion”, *Diabetologia*, 51 (4): 615-622 (2008).
79. Dayeh, T. A., Olsson, A. H., Volkov, P., Almgren, P., Rönn, T., ve Ling, C., “Identification of CpG-SNPs associated with type 2 diabetes and differential DNA methylation in human pancreatic islets”, *Diabetologia*, 56 (5): 1036-1046 (2013).
80. Long, J. vd., “Evaluation of genome-wide association study-identified type 2 diabetes loci in african americans”, *American Journal of Epidemiology*, 176 (11): 995-1001 (2012).
81. Torkamandi, S. vd., “Association of CpG-SNP and 3’UTR-SNP of WFS1 with the risk of type 2 diabetes mellitus in an iranian population”, *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 6 (4): 197-203, (2017).
82. Warton, K., Foster, N. C., Gold, W. A., ve Stanley, K. K., “A novel gene family induced by acute inflammation in endothelial cells”, *Gene*, 342 (1): 85-95 (2004).
83. Dupuis, J. vd., “New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk”, *Nature Genetics*, 42 (2):105-116 (2010).
84. Ingelsson, E.vd., “Detailed physiologic characterization reveals diverse mechanisms for novel genetic loci regulating glucose and insulin metabolism in humans”, *Diabetes*, 59 (5): 1266-1275 (2010).
85. Grarup, N., Sparsø, T., ve Hansen, T., “Physiologic characterization of type 2 diabetes–related loci”, *Current Diabetes Reports*, 10 (6): 485-497 (2010).
86. Borglykke, A. vd., “Genetic variant SCL2A2 is associated with risk of cardiovascular disease – assessing the individual and cumulative effect of 46 type 2 diabetes related genetic variants”, *PLoS One*, 7 (11) (2012).
87. Ridker, P. M. vd., “Alanine for proline substitution in the peroxisome proliferator–activated receptor gamma-2 (PPARG2) gene and the risk of incident myocardial

- infarction”, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23 (5): 859-863 (2003).
88. Paynter, N. P. vd., “Association between a literature-based genetic risk score and cardiovascular events in 19,313 women”, *JAMA : The Journal of The American Medical Association*, 303 (7): 631-637 (2010).
 89. Bielinski, S. J., Pankow, J. S., Folsom, A. R., North, K. E., ve Boerwinkle, E., “TCF7L2 SNPs, cardiovascular disease, and all-cause mortality: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study”, *Diabetologia*, 51 (6): 968-970 (2008).
 90. Pfister, R., Barnes, D., Luben, R.N., Khaw, K.T., Wareham, N.J., Langenberg, C., “Individual and cumulative effect of type 2 diabetes genetic susceptibility variants on risk of coronary heart disease”, *Diabetologia*, 54 (9): 2283-7 (2011).
 91. Arora, G. P. vd., “Association between genetic risk variants and glucose intolerance during pregnancy in north Indian women”, *BMC Medical Genomics*, 11, (2018).
 92. Bosco Dhas, D. B., Ashmi, A. H., Bhat, B. V., Parija, S. C., ve Banupriya, N., “Modified low cost SNP genotyping technique using cycle threshold (Ct) & melting temperature (Tm) values in allele specific real-time PCR”, *The Indian Journal of Medical Research*, 142 (5): 555-562 (2015).
 93. Ferrara, A., Kahn, H. S., Quesenberry, C. P., Riley, C., ve Hedderson, M. M., “An increase in the incidence of gestational diabetes mellitus: Northern California, 1991-2000”, *Obstetrics and Gynecology*, 103 (3): 526-533 (2004).
 94. Dirar, A. M. ve Doupis, J., “Gestational diabetes from A to Z”, *World Journal of Diabetes*, 8 (12): 489 (2017).
 95. Kitajima, M., Oka, S., Yasuhi, I., Fukuda, M., Rii, Y., ve Ishimaru, T., “Maternal serum triglyceride at 24--32 weeks’ gestation and newborn weight in nondiabetic women with positive diabetic screens”, *Obstetrics and Gynecology*, 97 (5): 776-780 (2001).
 96. Lykke, J. A., Langhoff-Roos, J., Sibai, B. M., Funai, E. F., Triche, E. W., ve Paidas, M. J., “Hypertensive pregnancy disorders and subsequent cardiovascular morbidity and type 2 diabetes mellitus in the mother”, *Hypertension*, 53 (6): 944-951 (2009).
 97. Kim, C., “Gestational diabetes: risks, management, and treatment options”, *International Journal of Women's Health*, 2: 339-351 (2010).
 98. Wu, L., Cui, L., Tam, W. H., Ma, R. C. W., ve Wang, C. C., “Genetic variants associated with gestational diabetes mellitus: a meta-analysis and subgroup analysis”, *Scientific Reports*, 6 (2016).

99. Zhang, C. vd., “Genetic variants and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review”, **Human Reproduction Update**, 19 (4): 376-390 (2013).
100. Bellamy, L., Casas, J.-P., Hingorani, A. D., ve Williams, D., “Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis”, **Lancet**, 373 (9677): 1773-1779 (2009).
101. Hillier, T. A., Pedula, K. L., Schmidt, M. M., Mullen, J. A., Charles, M.-A., ve Pettitt, D. J., “Childhood obesity and metabolic imprinting: the ongoing effects of maternal hyperglycemia”, **Diabetes Care**, 30 (9): 2287-2292 (2007).
102. Mao, H., Li, Q., ve Gao, S., “Meta-analysis of the relationship between common type 2 diabetes risk gene variants with gestational diabetes mellitus”, **PLoS One**, 7 (9) (2012).



ÖZGEÇMİŞ

Yeliz ESKİ 1993 yılında Karabük'te doğdu; ilk ve orta öğrenimini aynı şehirde tamamladı. Bolu Gerede Anadolu Öğretmen Lisesi Sayısal Bölümü'nden mezun oldu. 2011 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde öğrenime başlayıp 2015 yılında mezun oldu. Karabük Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programını 2020 yılında tamamladı.

ADRES BİLGİLERİ

Adres : Kıranköy Mah. Çeştepe Sok. No.:16

Eskipazar / KARABÜK

Tel : (543) 240 5263

E-posta : yelizeski@gmail.com