



**DIYABETLİ HASTALARDA BAZI GEN POLİMORFİZMLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Büşra GÖRGÜN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2016

Büşra GÖRGÜN tarafından hazırlanan “DİYABETLİ HASTALARDA BAZI GEN POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Leyla AÇIK

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Başkan : Prof. Dr. Sibel SÜMER

Biyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye : Prof. Dr. İlhan YETKİN

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 30/03/2016

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Metin GÜRÜ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Büşra Görgün
30.03.2016

DİİYABETLİ HASTALARDA BAZI GEN POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Büşra GÖRGÜN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2016

ÖZET

Tip 2 diyabet (T2D), geçmişte “insüline bağımlı olmayan diyabet” veya “erişkin diyabet” olarak da isimlendirilen, genetik olarak yatkın kişilerde yaşam tarzı ile tetiklenen, giderek artan insülin direnci ve zamanla azalan insülin salınımının olduğu diyabet tipidir. Glukokortikoidler (GC) glukoz ve insülin metabolizmasında önemli etkileri olan hormonlardır ve etkilerini glukokortikoid reseptörlerine (GR) bağlanarak göstermektedirler. Bu önemli etkilerinden dolayı glukokortikoid aktivitesinde meydana gelen düzensizlikler tehlikeli olup T2D ile ilişkilidir. Bireyler arasında glukokortikoidlere duyarlılık GR gen polimorfizmleri ile değişmektedir. Bu çalışmanın amacı, Türk toplumunda T2D hastalarında glukokortikoid reseptör gen varyantlarının görülme sıklığı ve hastalıkla ilişkisini araştırmaktır. Çalışmada T2D tanılı 96 hasta ve 51 sağlıklı olmak üzere toplam 147 bireyin kan örnekleri kullanılmıştır. Kandan DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ardından polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi ile GR geninde *BclI* ve *N363S* polimorfizmleri için genotiplendirme yapılmıştır. *NR3C1* geni *BclI* polimorfizmleri genotip frekansları ile T2DM hastalık oluşumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,05$). CC (%34,1) ve CG (%56,5) genotipleri hasta grubunda, GG (%70,9) genotipi kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. *NR3C1* geni *BclI* polimorfizmleri allel frekansları ile T2DM hastalığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,05$). *NR3C1* geni *BclI* C allelinin risk faktörü olduğu belirlenmiş tip 2 diyabeti 4,762 kat arttırdığı tespit edilmiştir. *NR3C1* geni *N363S* polimorfizmleri genotip frekansları ile T2DM gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). *NR3C1* geni *N363S* polimorfizmleri allel frekansları ile T2DM gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). *NR3C1* geni *N363S* A allelinin risk faktörü olduğu tespit edilmiş olup tip 2 diyabeti 1,218 kat arttırdığı tespit edilmiştir.

Bilim Kodu : 20326
Anahtar Kelimeler : Tip 2 diyabet, Glukokortikoid reseptör geni, *BclI*, *N363S*
Sayfa Adedi : 91
Danışman : Prof. Dr. Leyla Açıık

THE SCREENING OF SOME POLYMORPHISMS IN DIABETES PATIENTS

(M.Sc. Thesis)

Büşra GÖRGÜN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

March 2016

ABSTRACT

Type 2 diabetes (T2D) is the diabetes type that is formerly called “non-insuline dependent diabetes” or “adult-onset diabetes”, triggered in genetically susceptible people by their lifestyles together with gradually increasing insulin resistance and decreasing insulin secretion in time. Glucocorticoids (GC) are the hormones having significant effects on glucose and insulin metabolism and they show their effects by binding with the glucocorticoid receptors (GR). Due to these significant effects, the irregularities occurred in the glucocorticoid activity are dangerous and they are related to T2D. Glucocorticoid susceptibility among the individuals varies depending on the GR gene polymorphisms. The purpose of this study is to investigate the correlation between the incidence of glucocorticoid receptor gene variants and the disease in T2D patients in Turkish population. In the study, blood samples of totally 147 individuals, 96 of whom are diagnosed with T2D and 51 of whom are healthy individuals, are used. DNA isolation is performed from the blood and then genotyping is performed for *BclI* and *N363S* polymorphisms in GR gene via the polymerase chain reaction-restriction section length polymorphism. A statistically significant difference between the genotype frequencies of *BclI* polymorphisms of *NR3C1* gene and the T2DM disease development is observed ($p<0,05$). In CC (%34,1) and CG (%56,5) genotype patient group, GG (%70,9) genotype is significantly found higher in the control group. A statistically significant difference is observed between *NR3C1* gene *BclI* polymorphisms allele frequencies and T2DM disease ($p<0,05$). It is found that *BclI* C allele of *NR3C1* gene is a risk factor and it has increased type 2 diabetes 4,762 times. No statistically significant difference is observed between the genotype frequencies of *NR3C1* gene *N363S* polymorphisms and T2DM development ($p>0,05$). No statistically significant difference is found between the allele frequencies of *NR3C1* gene *N363S* polymorphisms and T2DM development ($p>0,05$). It is found that *N363S* A allele of *NR3C1* gene is a risk factor and it has increased type 2 diabetes 1,218 times.

Science Code : 20326

Key Words : Type 2 diabetes, Glucocorticoid receptor gene, *BclI*, *N363S*

Page Number : 91

Supervisor : Prof. Dr. Leyla AÇIK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecinde danışmanlığımı üstlenen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK'a, tez çalışmamın gerçekleşmesi için gerekli materyallerin sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen “Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi” İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İlhan YETKİN'e, “Gaziosmanpaşa Üniversitesi” Doğa Bilimleri Fakültesi Biyomühendislik bölümü Öğretim Görevlisi Dr. N. Selcen BAYRAMCI'ya ve “Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi” İç Hastalıkları Anabilim Dalı Uzm. Dr. Çağdaş KALKAN'a, tez savunma jürimde bulunarak tezin değerlendirilmesinde önemli katkılar sağlayan Sayın Prof. Dr. Sibel SÜMER'e, eğitimim sırasında bilgilerini benimle paylaşan, değerli hocalarım Prof. Dr. Hilal ÖZDAĞ ve Yrd. Doç. Dr. Bala Gür DEDEOĞLU'na, her zaman yanımda olan sevgili hocam Araş. Gör. Betül AYDIN ile laboratuvar arkadaşlarım Ebru YILMAZ, Erdi Can AY TAR ve Leyla ARSLAN'a, bugüne dek üzerimde emeği olan tüm hocalarıma ve son olarak eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan aileme, içtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Diyabet	3
2.2. Kan Glukoz Düzeyinin Kontrolü ve Diyabet	4
2.2.1. İnsülin.....	7
2.2.2. İnsülinin sentezi ve yıkılması	8
2.2.3. İnsülinin salgılanması ve inhibisyonu	8
2.2.4. İnsülinin etki mekanizması.....	10
2.2.5. İnsülinin biyolojik etkileri	11
2.3. Prediyabet (Bozulmuş Açlık Glukozu, Bozulmuş Glukoz Toleransı)	12
2.4. Diyabet Tanı Kriterleri, Tarama ve Risk Grupları	13
2.4.1. Diyabetin tanı kriterleri ve tarama.....	13
2.4.2. Diyabetin risk grupları	15
2.5. Diyabetin Semptom ve Komplikasyonları	15
2.6. Diyabetin Sınıflandırılması.....	16
2.7. Tip 1 Diyabet.....	17

	Sayfa
2.8. Tip 2 Diyabet	18
2.8.1. Tip 2 diyabetin patofizyolojisi	19
2.8.2. Tip 2 diyabette genetik ve çevresel faktörler	20
2.9. Glukokortikoidler ve Glukokortikoid Reseptör Geni	25
2.9.1. Glukokortikoidlerin özellikleri	25
2.9.2. Glukokortikoidlerin biyosentezi ve salgılanması	26
2.9.3. Glukokortikoidlerin biyolojik etkileri	28
2.9.4. Glukokortikoid reseptörleri ve glukokortikoid reseptör geni	29
2.10. Gen Polimorfizmi	31
2.10.1. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP)	32
2.10.2. Glukokortikoid reseptör geni polimorfizmleri	33
2.10.3. Genetik polimorfizmin belirlenmesi	35
2.11. Polimorfizm Analizinde Kullanılan Moleküler Yöntemler	35
2.11.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)	35
2.11.2. Agaroz jel elektroforezi	38
2.11.3. Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP)	39
3. MATERYAL VE METOT	41
3.1. Materyal	41
3.1.1. Kullanılan aletler	41
3.1.2. Kimyasal maddeler	41
3.1.3. Kullanılan tampon ve çözeltiler	42
3.1.4. Kullanılan primerler	43
3.1.5. Kullanılan enzimler	44
3.1.6. Hasta ve kontrol grubu kan örneklerinin toplanması	44
3.2. Metot	50
3.2.1. Periferik kandan DNA izolasyonu	50

	Sayfa
3.2.2. DNA miktarının ölçülmesi	50
3.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu	51
3.2.4. Agaroz jel elektroforezi.....	53
3.2.5. Restriksiyon enzimleri ile kesim	53
3.2.6. İstatistiksel analiz	54
4. DENEYSEL BULGULAR	55
4.1. Klinik ve Laboratuvar Bulguları.....	55
4.1.1. <i>Glukokortikoid reseptör</i> geni <i>BclI</i> (rs41423247) polimorfizmi T2DM hastaları ve sağlıklı kontrollerin klinik ve laboratuvar bulguları	55
4.1.2. <i>Glukokortikoid reseptör</i> geni <i>N363S</i> (rs6195) polimorfizmi T2D hastaları ve sağlıklı kontrollerin klinik ve laboratuvar bulguları....	56
4.2. Moleküler Genetik Analiz Bulguları	57
4.2.1. DNA izolasyon sonuçları	57
4.2.2. PZR ve RFLP sonuçları.....	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR	75
EKLER.....	83
EK-1. Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun tez projesi hakkındaki kararı	84
EK-2. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu.....	86
ÖZGEÇMİŞ	91

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Kan glukoz düzeyinin kontrolü	5
Çizelge 2.2. DM ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri.....	13
Çizelge 2.3. DM risk grupları	15
Çizelge 2.4. DM semptomları	16
Çizelge 2.5. DM akut ve kronik komplikasyonları.....	16
Çizelge 2.6. Diyabetin sınıflandırılması	17
Çizelge 2.7. T2D risk faktörleri	19
Çizelge 2.8. T2D gelişimine katkıda bulunan genler.....	22
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primer bilgileri	43
Çizelge 3.2. Çalışmada yer alan hastaların bilgileri	45
Çizelge 3.3. Çalışmada yer alan kontrollerin bilgileri	48
Çizelge 3.4. NR3C1 geni <i>BclI</i> polimorfizmi PZR reaksiyon karışımı	51
Çizelge 3.5. NR3C1 geni <i>BclI</i> polimorfizmi için kullanılan PZR programı	52
Çizelge 3.6. NR3C1 geni N363S polimorfizmi PZR reaksiyon karışımı	52
Çizelge 3.7. NR3C1 geni N363S polimorfizmi için kullanılan PZR programı	52
Çizelge 3.8. NR3C1 geni <i>BclI</i> ve N363S polimorfizmleri PZR ürünlerinin kesimleri için kullanılan restriksiyon enzimleri	53
Çizelge 3.9. <i>BclI</i> kesim reaksiyon içeriği	54
Çizelge 3.10. N363S kesim reaksiyon içeriği	54
Çizelge 4.1. <i>Glukokortikoid reseptör</i> geni <i>BclI</i> polimorfizmi T2D’li hasta ve kontrol grubu dağılımları.....	55
Çizelge 4.2. <i>Glukokortikoid reseptör</i> geni <i>BclI</i> polimorfizmi T2D’li hastaların klinik ve laboratuvar bulguları	55
Çizelge 4.3. <i>Glukokortikoid reseptör</i> geni <i>BclI</i> polimorfizmi kontrol grubunun klinik ve laboratuvar bulguları	56
Çizelge 4.4. <i>Glukokortikoid reseptör</i> geni N363S polimorfizmi T2D’li hasta ve kontrol grubu dağılımları.....	56

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.5. <i>Glukokortikoid reseptör</i> geni N363S polimorfizmi T2D’li hastaların klinik ve laboratuvar bulguları	57
Çizelge 4.6. <i>Glukokortikoid reseptör</i> geni N363S polimorfizmi kontrol grubunun klinik ve laboratuvar bulguları.....	57
Çizelge 4.7. T2D’li hasta ve kontrol grubu genotip sonuçları	61
Çizelge 4.8. T2D’li hasta ve kontrol grubunda CC homozigot, CG heterozigot ve GG homozigot genotipe sahip birey sayıları.....	61
Çizelge 4.9. T2D’li hastalarda genotip dağılımlarına göre klinik ve laboratuvar bulguları	62
Çizelge 4.10. T2D hastalarında görülen komplikasyonlar ile genotipleri arasındaki ilişki	65
Çizelge 4.11. T2D’li kadın ve erkek hastalar arasında allellerin görülme yüzdeleri.....	65
Çizelge 4.12. T2D’li hasta ve kontrol gruplarında allel dağılımları	65
Çizelge 4.13. T2D’li hasta ve kontrol grubu genotip sonuçları	66
Çizelge 4.14. T2D’li hasta ve kontrol grubunda AAT ve AGT genotipe sahip birey sayıları.....	67
Çizelge 4.15. T2D’li hastalarda genotip dağılımlarına göre klinik ve laboratuvar bulguları.....	67
Çizelge 4.16. T2D hastalarında görülen komplikasyonlar ile genotipleri arasındaki ilişki.....	70
Çizelge 4.17. T2D’li kadın ve erkek hastalar arasında allellerin görülme yüzdeleri.....	70
Çizelge 4.18. T2D’li hasta ve kontrol gruplarında allel dağılımları	70

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Pankreastaki langerhans adacığı β hücreleri ve salgılanan insülin hormonunun şematik görünümü.....	6
Şekil 2.2. Kan glukoz düzeyinin ayarlanması.....	7
Şekil 2.3. Aktif insan insülininin yapısı.....	8
Şekil 2.4. İnsülin salgılama mekanizması.....	9
Şekil 2.5. İnsülin etki mekanizması	10
Şekil 2.6. Normal hücre ile insülin direnci olan hücre	20
Şekil 2.7. Böbrek üstü bezinde kabuk ve öz bölgesi.....	25
Şekil 2.8. Glukokortikoidlerin biyosentezi ve salgılanması	27
Şekil 2.9. <i>NR3C1</i> geninin 5. kromozomdaki yeri	30
Şekil 2.10. SNP şematik görünümü	33
Şekil 2.11. GR geni polimorfizmleri.....	34
Şekil 2.12. PZR işleyiş mekanizması.....	37

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. <i>BclI</i> polimorfizmi PZR sonucu.....	58
Resim 4.2. <i>BclI</i> polimorfizmi RFLP sonucu.....	58
Resim 4.3. <i>N363S</i> polimorfizmi PZR sonucu.....	59
Resim 4.4. <i>N363S</i> polimorfizmi RFLP sonucu.....	60



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda verilmiştir.

Simgeler	Açıklama
>	Büyük
<	Küçük
%	Yüzde
±	Ortalama standart sapma
bç	Baz çifti
Ca ⁺⁺	Kalsiyum
dl	Desilitre
g	Gram
H ⁺	Hidrojen
Hg	Civa
K ⁺	Potasyum
kb	Kilo baz
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
m ²	Metre-kare
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum klorür
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
mol	Mol
ng	Nanogram
nm	Nanometre
°C	Santigrat derece
pH	Hidrojen kuvveti
rpm	Dakikada devir sayısı

Simgeler	Açıklama
-----------------	-----------------

U	Ünite
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μmol	Mikromol
χ^2	Ki-Kare

Kısaltmalar	Açıklama
--------------------	-----------------

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
AGÇ	Aday Gen Çalışması
AIDS	Sonradan Kazanılan Bağışıklık Yetmezliği Sendromu
APG	Açlık Plazma Glukozu
ATP	Adenozin Trifosfat
AVP	Arjinin Vazopressin
BA	Bağlantı Analizi
BAG	Bozulmuş Açlık Glukozu
BGT	Bozulmuş Glukoz Toleransı
CBG	Kortikosteroid Bağlayıcı Globulin
CCK	Kolesistokinin
C-peptid	Bağlayıcı Peptid
CRH	Kortikotropik Hormonu Salgılatıcı Hormon
DER	Düz Endoplazmik Retikulum
DKA	Diyabetik Ketoasidoz
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
E	Erkek
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ER	Endoplazmik Retikulum

Kısaltmalar	Açıklama
GBİÇ	Genom Boyu İlişkilendirme Çalışması
GLUT-2	Glukoz Taşıyıcı-2
GR	Glukokortikoid Reseptörü
HbA1c	Hemoglobin A1c
HCL	Hidroklorik Asit
HDD	Hiperglisemik Hiperosmolar Durum
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HLA	İnsan Lökosit Antijenleri
HPA	Hipotalamus Hipofiz Adrenokortikal
IDF	Uluslararası Diyabet Federasyonu
INS	İnsulin
K	Kadın
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MA	Meta Analiz
MODY	Gençlerde Görülen Erişkin Tipli Diyabet
mRNA	Haberci Ribonükleik asit
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
nGRE	Glukokortikoid Cevap Elementi
NR3C1	Nükleer Reseptör Altaile 3 Grup C Sınıf 1
OD	Optik Dansite
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
OR	Odds Oranı
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAF	Risk Alleli Frekansı
RBC	Eritrosit Parçalama Tamponu
RE	Restriksiyon Endonükleaz
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
RNA	Ribonükleik asit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi
T1D	Tip 1 Diyabet

Kısaltmalar	Açıklama
T2D	Tip 2 Diyabet
TAE	Tris-Asetik asit-EDTA
TG	Trigliserit
TK	Total Kolesterol
TKŞ	Tokluk Kan Şekeri
TURDEP-II	Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması 2
VKİ	Vücut Kitle İndeksi



1. GİRİŞ

Pankreastan salgılanan insülin hormonunun eksikliği veya etkisizliği sonucunda oluşan diyabet ya da tıptaki adıyla diabetes mellitus (DM), karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasında anormalliklerin bulunduğu, çeşitli mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların eşlik ettiği, hiperglisemi ile karakterize edilen metabolik bir hastalıktır. Bilinen en eski hastalıklardan olan diyabet, 20. yüzyılın en büyük halk sağlığı problemlerinden olup, 21. yüzyılda da sorun olmaya adaydır [1, 2]. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından yayınlanan yenilenmiş Yedinci Diyabet Atlası verilerine göre Dünya’da 2015 yılı diyabetli sayısı 415 milyon olup bu hızla artmaya devam ederse 2040 yılı için bu sayının 642 milyona ulaşacağı düşünülmektedir. Türkiye’de ise 2015 yılında diyabetli sayısı 6 milyonun üzerinde olup bu sayı hızla artmaktadır [3].

Diyabetin tip 1, tip 2, gestasyonel ve diğer özel tipleri olmak üzere birçok farklı tipi bulunmakta olup, bütün diyabet olgularının %90’ından fazlasını tip 2 diyabet (T2D) oluşturmaktadır [4]. T2D, genellikle 40 yaşından sonra ortaya çıkan, yaş arttıkça görülme sıklığı artan, diyabet belirtilerinin hafif olduğu, bazen de hiç olmadığı, kronik komplikasyonların sık görüldüğü, özellikle başlangıç dönemlerinde insülin gereksinimi olmayan, diyet ve oral antidiyabetik ajanlarla kontrol altına alınabilen diyabet tipidir [5-8]. Hızla artan görülme sıklığı ve yaygınlık oranı ile dünya çapında milyonlarca insanı etkilemektedir [9]. Patogenezinde beta hücre fonksiyon bozukluğu ve insülin direnci olmak üzere iki ana metabolik bozukluk rol oynamaktadır. Primer hasar olarak insülin direnci ve/veya insülin eksikliği ön plandadır [10]. Bu bozukluklar DM patogenezinde heterojen bir rol almakla birlikte, T2D gelişimi, genler ve çevre arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkmaktadır [11]. İnsülin salınım bozukluğu ve insülin direncine genetik yatkınlığı olan kişilerde çevresel faktörlerin eklenmesi ile zamanla DM gelişmektedir [12].

Genetik olarak T2D’nin çok genli ve tek genli tipleri bulunmaktadır [1]. Nadir tek genli DM formları dışında T2D çoğunlukla çok genlidir. DM patogenezinde rol alan insülin direnci, insülin salınımı, glukoz taşınımı gibi olaylarda rol alan proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyon ve polimorfizmler DM’nin genetik temelini oluşturmaktadır [12]. Gen polimorfizmi, Mendel kurallarına göre kalıtılmakla birlikte toplumda %1’den daha sık görülen DNA dizisindeki nükleotid değişimleridir [13]. Bazı hastalıklara karşı duyarlılıkta kişisel farklılıkları belirlememizi sağlamaktadır. Bazı gen polimorfizmleri hastalık riskini

arttırırken bazıları azaltabilmekte, bazı polimorfik alleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir [14]. Bu çalışmada glukokortikoid reseptör geninde (*NR3C1*), *BclI* ve *N363S* olmak üzere iki polimorfizm araştırılmıştır.

Nükleer reseptör altailesi 3, grup C, sınıf 1 (*NR3C1*) geni, insan genomunda 5q.31.3 lokusunda tek kopya halinde bulunmaktadır. 157 581 baz çifti uzunluğunda 9 ekzon içerir ve 777 amino asit kodlar. Gen, glukokortikoid reseptörlerini kodlar. Bu reseptörler glukokortikoidlere cevap veren genlerin promotorlarındaki glukokortikoid cevap elemetlerine bağlanarak transkripsiyonlarını aktive etmek için transkripsiyon faktörü olarak ve diğer transkripsiyon düzenleyicisi olarak işlev görür. Tipik olarak sitoplazmada bulunan reseptör ligand bağlandığı zaman çekirdeğe taşınır. Bağışıklık cevapları, hedef hücredeki farklılaşma ve gelişmede rol alır [15]. Etkilerini bu sitoplazmik glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak gösteren glukokortikoidler ise vücutta metabolizmanın düzenlenmesi, kan basıncı, immün fonksiyonlar ile fiziksel ve psikolojik strese sistemik, adaptif cevap gibi oldukça önemli rollere sahiptirler [16, 17]. Bu nedenle, glukokortikoidlerin salgılanmalarında veya aktifliklerinde meydana gelen düzensizlikler tehlikeli olup, otoimmün inflamatuvar hastalıklar, obezite, T2D, metabolik sendrom, hipertansiyon ve depresyon gibi bir dizi hastalıkla artan bir şekilde ilişkilidir [18].

Bu tez çalışmasında, *NR3C1* geninde yer alan *BclI* ve *N363S* polimorfizmleri genotip dağılımları ve allel frekanslarının T2D hastalığıyla ilişkisini belirleyebilmek amacıyla 96 T2D hastası ile 51 sağlıklı bireyi içeren kontrol grubu olmak üzere toplam 147 birey incelenmiştir. Çalışma kapsamı içerisinde yer alan bireylerin periferik kan örneklerinden fenol/kloroform yöntemiyle DNA izole edilmiştir. *BclI* ve *N363S* polimorfizmlerinin genotiplendirmesi PZR-RFLP yöntemiyle yapılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Diyabet

Pankreastan salgılanan insülin hormonunun eksikliği veya etkisizliği sonucunda oluşan diyabet ya da tıptaki adıyla diabetes mellitus (DM), karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasında anormalliklerin bulunduğu, çeşitli mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların eşlik ettiği, hiperglisemi ile karakterize edilen metabolik bir hastalıktır [1, 2].

DM insanlık tarihi boyunca bilinen en eski ve karmaşık hastalıklardan birisidir [19]. Günümüzde sıklığı ve sebep olduğu sorunlar nedeniyle tüm dünyada önemi gittikçe artan bir sağlık sorunudur [3]. DM'un tip 1, tip 2, gestasyonel ve diğer özel tipleri olmak üzere birçok farklı tipi bulunmakta, bu tiplerin oluşmasında ise genetik zemin ve çevresel faktörler etkili olmaktadır. DM etiyolojisine bağlı olarak, insülin salınımında azalma, plazma glukoz kullanımında azalma ve glukoz yapımında artma gibi faktörler hiperglisemiye katkıda bulunmaktadır. Hastalığa eşlik eden metabolik bozukluklar ise pek çok organı ilgilendiren fizyopatolojik değişikliklere neden olmaktadır [4, 10].

Diyabet ve komplikasyonları, Çin, Hindistan, Amerika Birleşik Devletleri ve Rusya gibi çoğu ülkede görülen erken ölümün başlıca nedenlerindendir. 2015 yılında, 20 ile 79 yaşları arasında yaklaşık 5 milyon kişi hayatını kaybetmekle beraber, tüm dünyada ölüm nedenlerinin %14,5'ini diyabet ve komplikasyonlarının oluşturduğu rapor edilmiştir [3]. Hastalık giderek artan sıklığıyla, dünya çapında başta gelen morbidite ve mortalite sebebi olmaya da aday gibi görünmektedir [10].

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından yayınlanan 7. Diyabet Atlası'ndaki diyabet verilerine göre 2015 yılında dünyadaki diyabetli sayısı 415 milyon iken bu sayının 2040 yılında 642 milyona ulaşacağı düşünülmektedir. Özellikle T2D yaygınlık oranı, yaşam tarzındaki hızlı değişim ile birlikte gelişmiş ve gelişmekte olan toplumların tümünde hızla yükselmektedir [3]. Bu artışın başlıca nedenleri nüfus artışı, yaşlanma ve kentleşmenin getirdiği yaşam tarzı değişimi sonucu obezite ve fiziksel aktifliğin azalmasıdır. T2D'in yanında tip 1 diyabet (T1D) sıklığı da artmakta ve bu artışın okul öncesi çağlarda daha belirgin olduğu bilinmektedir [22]. Ayrıca T2D'in gelişimi ve

kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olan bozulmuş glukoz toleransının (BGT) prevalansı da diyabete paralel bir şekilde artmaktadır. Dünyada BGT'li kişi sayısı 2015 yılında 318 milyondur, 2040 yılında ise 481 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bu hastaların çoğunluğu 50 yaş altındadır ve bu durum diyabet epidemisinin sonraki yıllarda da devam edeceğinin kanıtı olarak görülmektedir [3]. Bütün bunlara ek olarak diyabetli hastaların %46'sı, yani yaklaşık 175 milyonu diyabetik olduğunun farkında değildir ve bu bireyler diyabete bağlı komplikasyon geliştirme açısından da risk altında bulunmaktadır [22, 23].

Yedinci Diyabet Atlası'nda IDF, 2015 yılı için Türkiye'de erişkin yaş grubundan 52 094 insanın diyabet ve diyabet ilişkili nedenlerle kaybedildiği öngörmektedir. 2015 yılı itibarı ile Türkiye, 20 ile 79 yaş arasındaki bireylerin yer aldığı erişkin nüfusta diyabet yaygınlık oranı %12.5, dünya nüfusuna göre standardize edilmiş yaygınlık oranı %12.8 ve diyabetli hasta sayısı 6 milyondan fazladır. Ülkemizde diyabetli hastaların önemli bir kısmını, yaklaşık 2,7 milyon tanı konmamış diyabetli oluşturmaktadır. Daha önce yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP-II) sonuçları ve IDF tarafından yayınlanan Yedinci Diyabet Atlası tahminleri, diyabetin ülkemizde beklenenden de hızlı bir şekilde arttığını ve yirmi yıl sonrası için öngörülen rakamlara şimdiden ulaştığını göstermektedir [3].

Gittikçe artan hastalık, hem bireylere hem de ülkelere finansal anlamda da ciddi yük getirmektedir. 2015 yılında dünyada yapılan 673 milyar Dolar'lık sağlık harcamaları diyabet ve komplikasyonları için ayrılmış olup bu miktarın 2040 yılında 802 milyar Dolar'a ulaşacağı tahmin edilmektedir [3].

Her ülkede görülebilen hastalık, etkili önleme ve yönetim programları olmadığı için dünya çapında artmaya devam edecektir. Bu nedenle diyabetin önemi her geçen gün daha da artmakta ve hastalıkla ilgili çalışmalar hız kazanmaktadır. Ülkemizde de diyabete yönelik çalışmalar yapılmakta ve hastalığın önemi giderek anlaşılmaktadır [6].

2.2. Kan Glukoz Düzeyinin Kontrolü ve Diyabet

Kan şekeri dendiğinde oldukça önemli bir yakıt molekülü olan glukoz anlaşılmakta olup her canlı türünde fizyolojik olarak belirli sınırlar içerisinde tutulmaktadır [2, 25, 26].

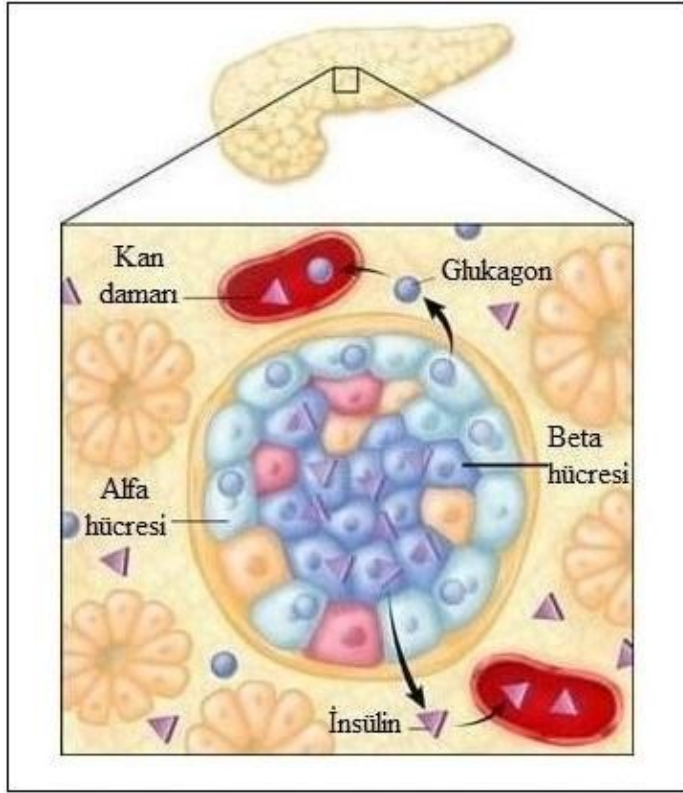
İnsanda metabolik denge için belirlenmiş olan normal açlık plazma ya da serum glukoz düzeyi 70-100 mg/dl arasında seyretmektedir [1]. Kan glukoz düzeyi, kana glukoz veren olaylar ile kandan glukoz alan olaylar arasındaki denge ile ayarlanmaktadır (Çizelge 2.1). [25].

Çizelge 2.1. Kan glukoz düzeyinin kontrolü [25]

Kan Glukoz Düzeyinin Kontrolü	
Kana Glukoz Veren Faktörler	Kandan Glukoz Alan Faktörler
• Karbonhidrat emilimi açığa çıkışı olayı • Glikojenoliz (glikojenden glukozun açığa çıkışı olayı) • Glukoneojenez (karbonhidrat olmayan öncüllerden hücre içinde glukoz biyosentezi)	• Glukozun dolaylı oksidasyonu [glukozun önce pirüvata dönüşümü (glikoliz) sonra pirüvatın anaerobik koşullarda laktata dönüşümü, aerobik koşullarda ise sitrik asit döngüsünde yıkılımı] • Glukozun doğrudan oksidasyonu (glukozun pentoz fosfat yolunda yıkılımı) • Glukozun glukuronik asit yolunda yıkılımı • Glikojenez (glukozdan glikojen sentezi) • Liponeojenez (glukozun yağ asitlerine ve yağa dönüşümü) • Glukozdan diğer monosakkaritlerin ve kompleks karbonhidratların oluşumu • Kan glukoz düzeyinin böbrek eşiği olan %160-180 mg'ı aştığı durumlarda idrarla glukoz atılımı (glukozüri)

Kan glukoz konsantrasyonunun belirli sınırlar içerisinde tutulmasında doğrudan veya dolaylı olarak etkili birçok sistem rol almaktadır. Bu sistemlerin başında hormonal düzenleme gelmektedir [26]. Temel olarak kan glukoz seviyelerinin ayarlanmasında rol alan hormonlar insülin ve glukagondur [27].

İnsülin ve glukagon, kandaki glukoz düzeyini ayarlayan, birbirine zıt etkili hormonlardır [28]. Pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin kan glukoz düzeyini düşürürken, alfa hücrelerinden salgılanan glukagon kan glukoz düzeyini yükseltmektedir (Şekil 2.1). Kan glukoz yoğunluğu, negatif geri bildirim sayesinde, adacıklardan salgılanacak insülin ve glukagonun birbirine göreceli miktarlarını belirlemektedir. Her iki hormon da kan glukoz düzeyini çok sayıda mekanizmayla birlikte belirlemektedir [29].

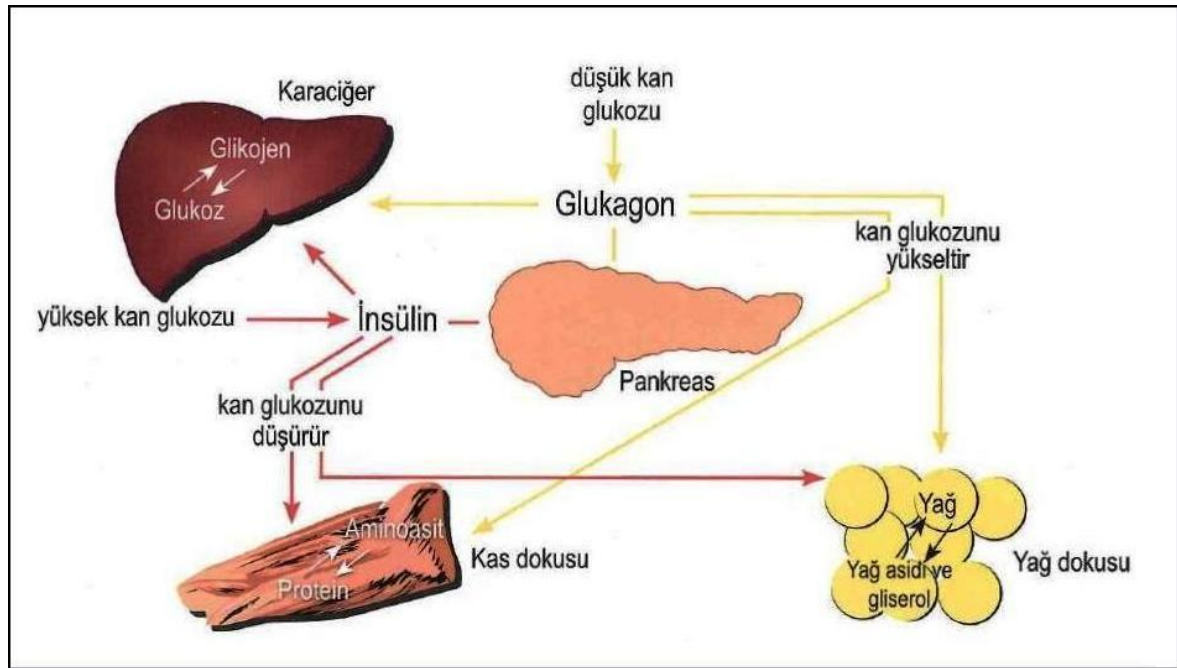


Şekil 2.1. Pankreastaki langerhans adacığının β hücreleri ve salgılanan insülin hormonunun şematik görünümü [30]

İnsülin ve glukagon haricinde adrenal korteks hormonlarından kortikosteroidler, hipofiziyel adrenokortikotropin (ACTH), büyüme hormonu, adrenal medulladan salgılanan hormonlar, glukokortikoidler gibi birçok hormon da doğrudan veya dolaylı yolla kan glukoz düzeylerini etkilemektedir [26, 29]. Hormonal düzenlemeden başka, karaciğer, bağırsak ve böbrekler de kan glukoz düzeyleriyle ilişkili diğer bir sistem olarak sayılabilir. Karaciğer, hormonal düzenlemenin durumuna göre kana glukoz vererek veya kandan glukoz alarak seviyenin ayarlanmasında rol almaktadır. Bağırsak mukozası hücreleri, sindirimi ve emilimi takiben kana glukoz vererek hiperglisemi oluşumunda rol almaktadır. Böbrekler ise böbrek glukoz eşiği fonksiyonu ile hiperglisemi durumlarında idrara glukoz geçmesine izin vererek kan glukoz düzeyinin ayarlanmasında diğer sistemlerle işbirliği içinde çalışmaktadır [26].

Hormon ve organların birlikte işleyişine bakıldığında, normal glukoz homeostazı insülin, glukagon ve dolaşımdaki glukoz arasında gerçekleşen ilişki ile sağlanmaktadır (Şekil 2.2). Açlık durumunda plazma glukoz düzeyinde düşme ile pankreatik alfa hücreleri glukagon salgılar. Eş zamanlı olarak, pankreatik beta hücreleri daha az, minimum insülin salgılar. Glukagon karaciğerde depolanan glikojenden glikojenolizle glukoz üretimini uyararak

plazma glukozunu yükseltmeye çalışır. Karaciğer aynı zamanda açlık sırasında diğer kaynaklardan glukoneogenez ile glukoz oluşturur. Sonuçta kan şekeri düzeyini yükselterek vücut dengesinin sürdürülmesi sağlanmış olur [5, 29]. Beslenme durumunda ise, yiyeceklerle alınan glukozun bağırsak hücreleri tarafından emilip kan dolaşımına girişi ile pankreasın beta hücreleri uyarılır ve hemen insülin salgılanarak ilk aşamada karaciğerde açlıkta yapılan hepatik glukoz üretimi durdurulur. Daha sonra kas ve yağ dokusu başta olmak üzere diğer dokularda da glukozun kullanımı gerçekleştirilir ve lipolizin baskılanması sağlanır. Böylece glukoz seviyesi düşürülmüş olur [29].



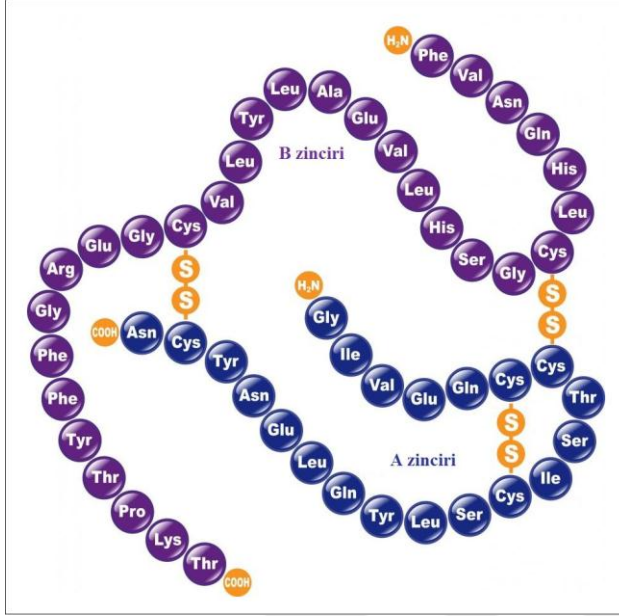
Şekil 2.2. Kan glukoz düzeyinin ayarlanması [31]

Glukoz homeostasisini sağlayan mekanizmalarda bir sorunun olması, canlı için ciddi problemlere yol açmaktadır. Bunlardan biri endokrin hastalıklardan olan diyabettir. Hastalık insülin azlığından ya da hedef hücrelerin insüline tepkisizliğinden oluşmakta ve yüksek kan glukozu ile sonuçlanmaktadır [5, 29].

2.2.1. İnsülin

İnsülin, pankreasın endokrin kısmında kümelenmiş hücreler halinde bulunan Langerhans adacıklarındaki beta hücreleri tarafından salgılanan bir hormondur [5]. Molekül ağırlığı 5,7 kDa olan insan insülini, küçük küresel bir proteindir. Aktif hormon iki zincirden oluşur. Bunlardan A zinciri 21, B zinciri 30 amino asitten oluşur (Şekil 2.3) [32]. Zincirler

arasında iki adet, A zincirinin içinde de bir adet disülfid bağı bulunmaktadır [33]. Yapıda yer alan bu disülfid köprüleri ise biyolojik aktivite için gerekli olan kısımlardır [32].



Şekil 2.3. Aktif insan insülininin yapısı [34]

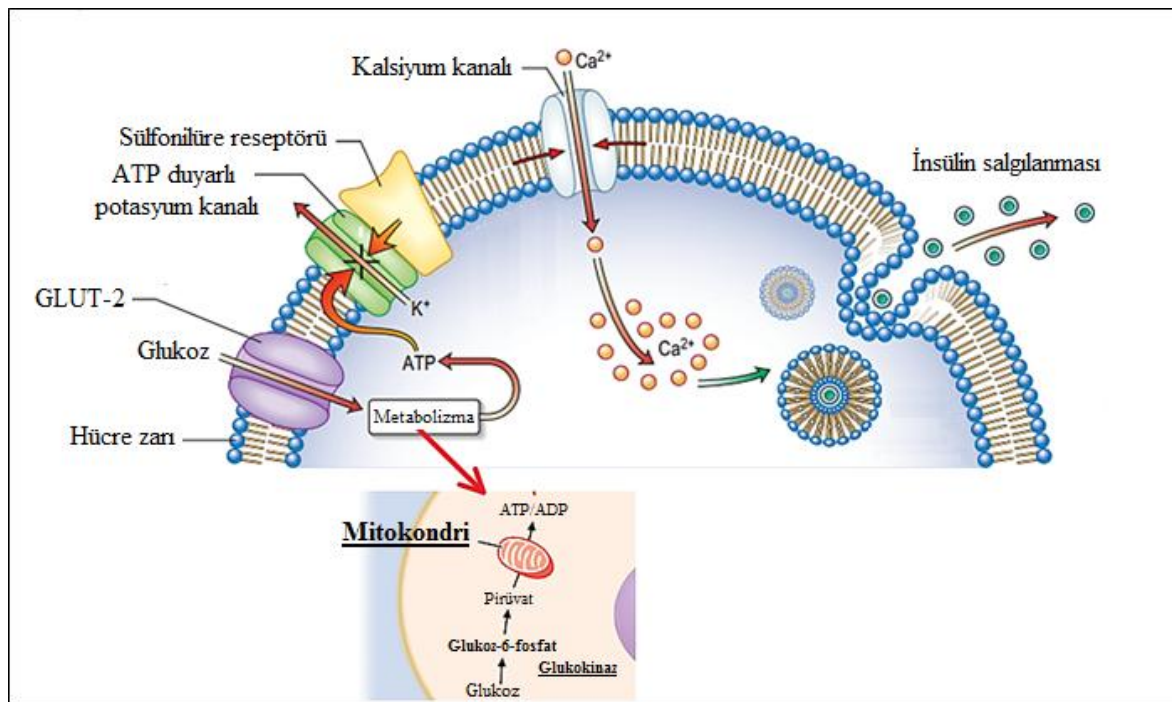
2.2.2. İnsülinin sentezi ve yıkılması

İnsülin sentezini kodlayan gen 11. kromozomda yer almaktadır. Hormon protein yapısındadır [27]. Sentezde aktif olmayan öncül olan preproinsülin ve proinsülinin ardışık olmak üzere kesilerek sonunda aktif hormon olan insülin ve C-peptid oluşmaktadır. İnsülin sitozoldeki granüllerde toplanmakta ve uygun uyarıya karşı ekzositozla salgılanmaktadır. Hormonun plazma yarı ömrü yaklaşık altı dakikadır. Karaciğerde ve böbreklerde daha az miktarda bulunan insülinaz enzimi ile de yıkılmaktadır [29].

2.2.3. İnsülinin salgılanması ve inhibisyonu

Normal erişkinlerde pankreas günde ortalama 40-50 ünite insülin üretmektedir. İnsan vücudunda insülinin salgılanması ise bazal ve uyarılmış olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Bazal salgılanma, gıda alımı olmadan vücutta belli bir düzeyde insülin salgılanmasının devam etmesidir [10]. Uyarılmış salgılanmada ise gıda alımını takiben beta hücrelerinin insülin salgılayarak uyarılara yanıt vermesi şeklinde gerçekleşmektedir [10, 29]. İnsülin salgılanmasının en güçlü uyarısı glukozdur [35]. Glukozun plazma konsantrasyonunun artması insülin salınımını artırmakta, plazma glukoz

konsantrasyonunun azalması ise insülin salınımını azaltmaktadır [5]. Kandaki glukoz düzeyi arttığında beta hücrelerine glukoz taşıyıcı 2'ler (GLUT-2) ile glukoz girişi olmaktadır. Hücre içine giren glukoz, glukokinaz enzimi ile okside edilmektedir. Bunun sonucunda hücre içinde ATP konsantrasyonu artmakta ve bu da potasyum (K^+) kanallarını kapatarak membran depolarizasyonuna neden olmaktadır. Bu membran depolarizasyonu ile voltaj bağımlı kalsiyum (Ca^{++}) kanalları açılmakta ve hücre içine kalsiyum girişi ve hücrede kalsiyum konsantrasyonu artışıyla insülin egzozitozu gerçekleşmektedir (Şekil 2.4) [31].



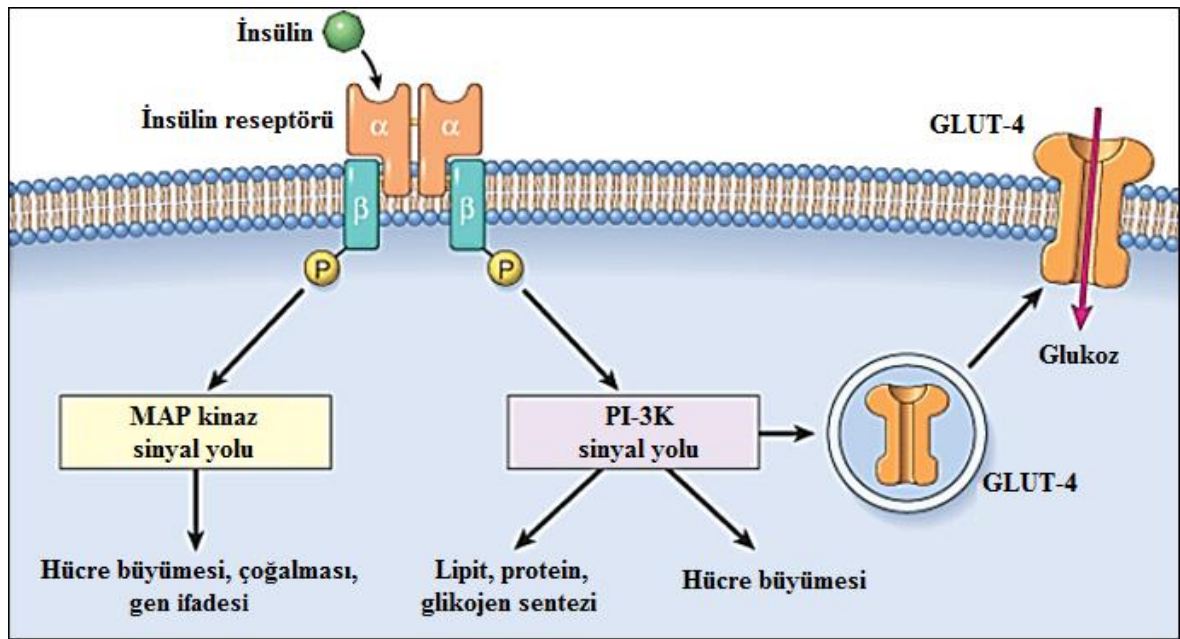
Şekil 2.4. İnsülin salgılama mekanizması [36]

İnsülin salgılanmasında etkili olan diğer uyanlar ise mannoz, lösin, yağ asitleri, vagal uyarılar ve sülfonilüre gibi ilaçlardır. Ayrıca Glukagon benzeri peptid (GLP), gastrik inhibitör peptid (GIP), kolesistokinin (CCK), sekretin, gastrin gibi enterik hormonlar, beta adrenerjikler gibi nöral uyarılar ve arjinin de glukozun uyardığı insülin salgısını artırıcı rolü olan faktörlerdir [10, 29, 35]. İnsülin sentezi ve salınımı diyet yakıtlarının kıtlığı ve ateş ve enfeksiyon gibi stres durumunda azalır. Bu etkiler, başlıca epinefrin aracılığıyla sağlanır. Epinefrin, stres, travma ve ağır egzersiz sonucu adrenal medulladan salgılanır. Bu şartlarda epinefrinin enerji metabolizmasına doğrudan etkileri vardır; karaciğerde glukojenoliz ya da glukoneogenez ile oluşturulmuş glukoz, yağ dokusundan yağ asitleri gibi enerji veren yakıtların hızlı bir şekilde hareket etmesine neden olur. Ayrıca, glukozla

uyarılan insülin salınımını bastırabilir. Böylece acil durumlarda sempatik sinir sistemi beta hücre salgılamasını kontrol ederek plazma glukoz konsantrasyonlarını değiştirir [29].

2.2.4. İnsülinin etki mekanizması

İnsülin etkisini, karaciğer, kas ve yağ dokusu gibi birçok dokuda hücre zarında bulunan özel insülin reseptörlerine bağlanarak göstermektedir Şekil (2.5) [5, 28]. Bu ise çeşitli biyolojik etkilerle sonuçlanan şelale tarzındaki bir reaksiyonun ilk basamağıdır [29].



Şekil 2.5. İnsülin etki mekanizması [36]

İnsülin reseptörü yaklaşık 350 000 Daltonluk bir glikoprotein olup iki özdeş birimin dimeridir [2, 32]. Her birim bir disülfid bağıyla birleşmiş bir alfa zincirinden ve bir beta zincirinden oluşmuştur. Her alfa alt birimi hücrenin dışına uzanmış bir yapıda olup insülinin bağlanmasından sorumludur [2]. Beta alt birimleri ise alfa alt birimlerine bağlı küçük hücre dışı kısım, transmembran kısım ve tirozin kinaz aktivitesine sahip büyük bir hücre içi kısım olmak üzere üç bölgeden oluşmaktadır. Beta alt birimindeki tirozin kinaz, insülin bağlı olmadığı zaman alfa alt birimi tarafından inhibe edilmektedir [32]. İnsülinin alfa alt birimine bağlanması ile bu inhibisyon ortadan kalkmakta ve tirozin kinaz aktifleşmektedir [10, 32]. Bu aktivasyon sitoplazmada bulunan insülin reseptör substratlarını aktifleştirmektedir. Bu sayede hücrede fosfoinositid 3 (PI3) kinaz, mitojen

aktive protein (MAP) kinaz birçok yolağın aktivasyonu gerçekleşmekte ve insülinin biyolojik etkileri ortaya çıkmaktadır [10].

İnsülin etkisi ile oluşan cevaplar ise iki gruba ayrılmaktadır. Birinci grup cevaplar, plazma membranında insülinin reseptörü ile birleşmesi sonucu plazma membranı düzeyinde oluşmaktadır. Bu yanıtlar bazı iyonlar, amino asitler ve glukoz için hücre yüzeyinde bulunan taşıma sistemlerinin harekete geçirilmesi ile ilişkilidir. İkinci grup cevaplar ise insülinin plazma membranında reseptörü ile birleştikten sonra hücre içinde oluşturduğu cevaplardır. Karbonhidrat ve lipit metabolizması ile ilgili enzimlerin pek çoğu ile DNA ve RNA sentezi, ikinci grup yanıtlar tarafından etkilenmektedir [32]. Tüm bu yanıtlar verildikten sonra reseptörün defosforilasyonu ile insülinin etkileri sonlanmaktadır [29].

2.2.5. İnsülinin biyolojik etkileri

İnsülin vücutta pek çok hücreyi etkileyen bir hormon olmakla birlikte hücrelerde üç temel etki bölgesi bulunmaktadır. Bunlar hücre zarı, sitoplazma ve çekirdektir. Hormon hücre zarında, iyonların, glukozun ve diğer besin maddelerinin taşınmasını artırmakta, sitoplazmada glikojen sentetaz, pirüvat dehidrogenaz gibi çeşitli enzimleri aktifleştirmekte, çekirdekte ise ribonükleik asit (RNA) ve deoksiribonükleik asit (DNA) sentezini ve metabolizmasını düzenlemektedir [32].

İnsülin, kan şekerini düşürebilen tek hormondur [32]. Bu nedenle, vücutta karbonhidrat metabolizması için oldukça önemlidir. Ayrıca yağ ve protein metabolizmasının düzenlenmesinde insülinin çeşitli etkileri bulunmaktadır [27].

İnsülinin karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri

İnsülin glukozun hücrelere girişini kolaylaştırarak kan glukoz düzeyini düşürmektedir [27]. Burada hormon, glukozun hücrelere girmesini sağlayan bir tür anahtar görevine sahiptir [19]. Bağırsak epiteli, böbrek tübülleri, koroid pleksus, eritrosit, lökosit, göz lensi, kornea, karaciğer ve beyin hücrelerinin dışında tüm hücrelere glukozun girişini artırsa da bu etki esas olarak kas ve yağ dokusu hücrelerinde belirgindir [29].

İnsülin hücrelere glukoz taşınmasının ardından glikolizi hızlandırır [33]. Glukoz kullanımının artmasıyla plazmaya glukoz geçişi dolaylı olarak yavaşlamaktadır [32].

Ayrıca karaciğer ve kaslarda glikojen sentezini arttırırken, glukoneogenezi baskılamaktadır [33].

İnsülinin lipid metabolizması üzerine etkileri

İnsülin adipositlerde yağların yıkımını engeller. Hormon burada yağların serbestleşmesinde önemli rolü olan hormon duyarlı lipazı inhibe etmektedir. Ayrıca yüksek insülin düzeyleri adipositlerde lipit sentezini de hızlandırmaktadır [33].

İnsülinin protein metabolizması üzerine etkileri

İnsülin, amino asitlerin hücre içine girişini ve protein sentezini uyarmaktadır [29]. Bu etkisinin yanında, hücrelerde protein yıkımını baskılamaktadır. Ayrıca RNA ve DNA sentezini de artırmaktadır [32].

2.3. Prediyabet (Bozulmuş Açlık Glukozu, Bozulmuş Glukoz Toleransı)

Açlık plazma glukozu (APG) 100-125mg/dl ise bozulmuş açlık glukozu (BAG), oral glukoz tolerans testi (OGTT) 2. Saat 140-199mg/dl ise bozulmuş glukoz toleransı (BGT) tanımlamaları kullanılır. Bu sonuçlarla birlikte Hemoglobin A1c %5,7-6,4 arasında olduğu durumlar prediyabet olarak tanımlanır Çizelge 2.2. [4]. Bu tanımlamalar plazma glukoz seviyesinin diyabet tanısı için gerekenden az ama normalden yüksek olduğu bireyleri anlatmaktadır [1].

Prediyabetin önemi, gelecekte diyabet gelişme riskinin yüksek olduğunu göstermesidir [4]. Her ne kadar bu hastalar henüz diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarına sahip olmasalar da, hiperglisemik döneme sekonder arteriyosklerotik depolanmaya bağlı makrovasküler komplikasyonlar açısından risk altındadırlar ya da bu komplikasyonları geliştirmeye başlamışlardır. Bu bireyler aynı zamanda özellikle hipertansiyon, 25 kg/m²'nin üzerinde bir vücut kitle indeksi (VKİ), sedentar yaşam biçimi, dislipidemi ve artmış trigliseridler (TG), gebelikte görülen diyabet öyküsü, polikistik over sendromu ve Afrika kökenli Amerikalılar, Latin Amerikalılar, Yerli Amerikalılar ve Pasifik Adası kökenlileri gibi riskli etnik kökenin yer aldığı risk faktörlerinin eşlik etmesi durumunda diyabet geliştirme açısından önemli ölçüde risk taşımaktadırlar. Yalnızca Amerika Birleşik Devletlerinde 15 milyona yakın erişkinde BGT ve 10 milyon kadarında ise BAG mevcuttur. İlginç olarak,

bu iki bozuk durum arasında çok az bir örtüşme olup bireylerin yalnızca %16'sında hem BGT, hem de BAG varken, %23'ünde sadece BAG ve %60'ında ise sadece BGT vardır. BGT'li bireyler %3,6-8,7/yıl oranında diyabet geliştirme riskine sahiptir [7]. Bu bireyler diyabet riskleri artmış olduğundan risk faktörleri tedavi edilerek diyabetten korunma programına alınırlar [10]. Aksi takdirde bunların yaklaşık %25'inde diyabet gelişmektedir [1].

2.4. Diyabet Tanı Kriterleri, Tarama ve Risk Grupları

2.4.1. Diyabetin tanı kriterleri ve tarama

Diyabet tanısı, klasik semptomlar ve komplikasyonlar var ise kolaylıkla konabilir. Bununla birlikte erken tanı ve bazı laboratuvar yöntemlerinin doğru şekilde kullanılması, sonuçların tanı kriterlerine uygun olarak değerlendirilmesi önemlidir [37]. Geçmişte açlık kan şekeri (AKŞ) değeri, BAG ve BGT gibi bazı değerler kullanılarak hastalık için tanı kriterleri belirlenmiştir [1]. Son on beş yılda ise diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarının tanı ve sınıflandırılmasında değişiklikler yapılmıştır. 2003 ve 2010 yılı revizyonlarını kapsayan yeni tanı kriterleri Çizelge 2.2'de görülmektedir [38].

Çizelge 2.2. DM ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri [38]

DM ve Diğer Bozukluklar Tanı Yöntemleri	Aşikar DM	İzole IFG	İzole BGT	BAG+BGT	DM Riski Yüksek
APG (≥8 st açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	> 100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2. st PG (75 gr glukoz)	≥200 mg/dl	> 140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
Rastgele PG	≥200 mg/dl + Diyabet semptomları)	-	-	-	-
HbA1C	≥%6,5 (≥48mmol/mol)	-	-	-	≥%5,7-6,4 (39-46 mmol/mol)

Diyabet veya prediyabet tanısı açlık plazma glukozu ölçümü, iki saatlik oral glukoz tolerans testi, rastgele kan glukoz ölçümü ve bu glikozillenmiş hemoglobin A1c (HbA1c) ölçümleri olmak üzere bu dört yöntemden herhangi birisi ile konulabilmektedir [6].

Açlık plazma glukoz ölçümü, en az sekiz saatlik gece boyu açlığı takiben plazma glukoz düzeyinin ölçülmesi halen en fazla kabul gören ve pahalı olmayan yaklaşımdır. APG düzeyi 126 mg/dL veya üzerinde ise diyabet tanısı konulur. Oral glukoz tolerans testi, diyabet riski yüksek kişilerde yapılması diyabet ve prediyabet tanısı konmasında faydalıdır. Bunun için 75 gram glukozlu sıvı içirildikten 2 saat sonra kan glukoz düzeyinin 200 mg/dL veya üzerinde olması diyabet tanısını koydurur. Rastgele kan glukoz ölçümü, poliüri, polidipsi gibi diyabet semptomları varlığında rastgele bir zamanda ölçülen plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dL veya üzerinde olması da diyabet tanısı koydurur [6]. HbA1c, yani glikozillenmiş hemoglobin A1c, kandaki şekerin eritrositlerde bulunan hemoglobinle reaksiyonu sonucu ortaya çıkan bir proteindir. HbA1c testi, yüz yirmi gün yaşayan ve daha sonra dalakta parçalanan kırmızı kan hücrelerine dayalı bir testdir. Kısaca HbA1c, son üç ay veya yüz gün içindeki ortalama kan glukozu düzeyini vermektedir [10].

Çok ağır diyabet semptomlarının bulunmadığı durumlar dışında, tanının daha sonraki bir gün, tercihen aynı (veya farklı bir) yöntemle doğrulanması gerekir. Eğer başlangıçta iki farklı test yapılmış ve test sonuçları uyumsuz ise sonucu eşik değerin üstünde çıkan test tekrarlanmalı ve sonuç yine diyagnostik ise diyabet tanısı konulmalıdır [38].

Hastalık taramasında ise herhangi bir risk faktörü olmayan ve vücut kitle indeksi (VKİ) normal olan 40 yaş üstü erişkinlerin periyodik olarak yapılması önerilmektedir. Bunun dışında, VKİ 25 kg/m² ve üzerinde olan kişilerde ve diyabet açısından risk faktörü taşıyanlarda diyabet taramasına herhangi bir yaşta başlanabilmektedir. Tarama sonucu diyabet saptanmasa da 3 yılda bir testlerin tekrarlanması gerekmektedir. Çocuklarda ise T2D yönünden tarama 10 yaşından sonra başlamak üzere, özellikle fazla kilolu olup en az iki risk faktörü pozitif olanlarda önerilmektedir. Bu risk faktörleri ailede T2D varlığı, yüksek riskli etnik gruba mensup olmak, insülin direnci bulguları veya akantosis nigrikans, hipertansiyon, dislipidemi, polikistik over sendromu (PCOS), düşük doğum ağırlığı hikâyesi gibi insülin direnci ile ilişkili durumlar, annede diyabet ya da GDM varlığıdır. T1D için ise rutin tarama önerilmemektedir [21].

2.4.2. Diyabetin risk grupları

Çizelge 2.3'te verilen durumlarda diyabet riski yüksektir. Bu durumlarda APG normal sınırlarda olsa bile OGTT yapılması önerilmektedir. Risk gruplarına dâhil kişilerin daha genç yaşlardan itibaren ve daha sık aralıklarla araştırılması gereklidir [6].

Çizelge 2.3. DM risk grupları [6]

Diabetes Mellitus Risk Grupları
• Hareketsiz yaşam tarzı • Obezite (özellikle santral tipte) • Birinci derece akrabalarda diyabet varlığı • İri bebek doğurma ya da gestasyonel diabetes mellitus (GDM) öyküsü • Hipertansiyon (kan basıncı $\geq 140/90$ mmHg ya da hipertansiyon tedavisi) • Dislipidemi (HDL-kolesterol <35 mg/dl ve/veya trigliserid >250 mg/dl) • Polikistik over sendromu • Önceki testlerde BAG veya BGT saptanması • Ağır insülin direnci ile seyreden sağlık sorunlarının varlığı (örneğin, akantozis nigrikans) • Erken yaşta kardiyovasküler hastalık öyküsü • Atipik antipsikotik ilaç kullanma • Şizofreni öyküsü bulunan kişiler

2.5. Diyabetin Semptom ve Komplikasyonları

Kan şekeri kontrolünün sağlanamaması, vücutta kısa veya uzun dönemde sağlık sorunları oluşturmaktadır [39]. Diyabette hastalar sıklıkla poliüri, polidipsi ve polifaji gibi hiperglisemi semptomları ile doktora başvurmaktadırlar [40]. Kişinin kan glukoz düzeyi aşırı yükseldiğinde fazlası idrar ile kaybedilmeye başlar. İdrarda glukoz atılımı su ile birlikte olduğundan, poliüri ve polidipsi ortaya çıkar. Yeteri kadar sıvı alınamadığı durumlarda hastalarda ağız kuruluğu görülür. Hastalığın başlangıcında hücre içi hipoglisemi olduğundan iştah artar ve hastada polifaji görülür [41]. Ancak bu semptomlar hastadan hastaya değişiklik gösterebilmektedir [40]. Semptomlar klasik ve daha az görülen olmak üzere incelenebilmektedir (Çizelge 2.4) [38].

Çizelge 2.4. DM semptomları [38]

Diabetes Mellitus Semptomları	
Klasik Semptomlar	Daha Az Görülen Semptomlar
- Hareketsiz yaşam tarzı - Poliüri (çok idrar yapma) - Polidipsi (aşırı susama) - Polifaji (çok yemek yeme) veya iştahsızlık - Halsizlik, çabuk yorulma - Ağız kuruluğu - Noktüri (gece idrara çıkma)	- Bulanık görme - Açıklanamayan kilo kaybı - İnatçı enfeksiyonlar - Tekrarlayan mantar enfeksiyonları Kaşıntı

Bazı hastalar ilk defa diyabetik koma denilen ketoasidoz ile de gelebilmekteyken bazı hastalar da semptomatik hiperglisemi görülmeden, nöropati gibi diyabetin kronik komplikasyonları ile hekime başvurabilmektedir [40]. Diyabetin komplikasyonları akut ve kronik olarak ele alınabilmektedir (Çizelge 2.5) [38]. Bunlar hem Tip 1 hem de T2D'li bireylerde görülebilmektedir [39].

Çizelge 2.5. DM akut ve kronik komplikasyonları [38]

Diabetes Mellitus Komplikasyonları	
Akut Komplikasyonlar	Kronik Komplikasyonlar
- Diyabetik ketoasidoz (DKA) - Hiperglisemik hiperosmolar durum (HDD) - Laktik asidoz (LA)	- Mikrovasküler komplikasyonlar - Retinopati - Nefropati - Nöropati - Makrovasküler komplikasyonlar (Hızlandırılmış ateroskleroz)

2.6. Diyabetin Sınıflandırılması

Diyabetin sınıflandırılması (Çizelge 2.6) da verilmiştir [4]. İlk üç tip olan T1D, T2D, gestasyonel diyabet primer, diğer özel diyabet tipleri ise sekonder diyabet formları olarak adlandırılmıştır [38].

Çizelge 2.6. Diyabetin sınıflandırılması [38]

I. Tip 1 diyabet (Genellikle mutlak insülin eksikliğine sebep olan β -hücre yıkımı vardır)	
A. İmmün aracılıklı	
B. İdiyopatik	
II. Tip 2 diyabet (İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin salgılama kusuru ile karakterizedir)	
III. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM)	
Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet	
IV. Diğer özel diyabet tipleri	
A. β-hücre fonksiyonlarının genetik hasarı (monogenetik diyabet formları) • 20. Kromozom, HNF-4α (MODY1) • 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2) • 12. Kromozom, HNF-1α (MODY3) • 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4) • 17. Kromozom, HNF-1β (MODY5) • 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6) • 2. Kromozom, KLF11 (MODY7) • 9. Kromozom, CEL (MODY8) • 7. Kromozom, PAX4 (MODY9) • 11. Kromozom, INS (MODY10) • 8. Kromozom, BLK (MODY11) • Mitokondriyal DNA • 11. Kromozom, Neonatal DM (Kir6.2, ABCC8, KCNJ11 mutasyonu) • Diğerleri B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler • Leprechaunism • Lipoatrofik diyabet • Rabson-Mendelhall sendromu • Tip A insülin direnci • Diğerleri C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları • Fibrokalkülöz pankreatopati • Hemokromatoz • Kistik fibroz • Neoplazi • Pankreatit • Travma/pankreatektomi • Diğerleri D. Endokrinopatiler • Akromegali • Aldosteronoma • Cushing sendromu • Feokromositoma • Glukagonoma (MODY5) • Hipertiroidi • Somatostatinoma • Diğerleri	E. İlaç veya kimyasal ajanlar • Atipik anti-psikotikler • Anti-viral ilaçlar • β-adrenerjik agonistler • Diazoksit • Fenitoin • Glukokortikoidler • α-İnterferon • Nikotinik asit • Pentamidin • Proteaz inhibitörleri • Tiyazid grubu diüretikler • Tiroid hormonu • Vacor • Diğerleri (post transplant diyabet) F. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları • Anti-insülin reseptör antikorları • 'Stiff-man' sendromu • Diğerleri G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar • Alström sendromu • Down sendromu • Friedreich tipi ataksi • Huntington korea • Klinefelter sendromu • Laurence-Moon-Biedl sendromu • Miyotonik distrofi • Porfiria • Prader-Willi sendromu • Turner sendromu • Wolfram (DIDMOAD) sendromu • Diğerleri H. Enfeksiyonlar • Konjenital rubella • Sitomegalovirus • Koksaki B • Diğerleri (adenovirus, kabakulak)

2.7. Tip 1 Diyabet

T1D, otoimmün veya idiyopatik nedenlerle pankreas beta hücrelerinin yıkımı sonucu insüline bağımlılığın ortaya çıktığı diyabet tipidir [10, 37]. Tüm diyabetlilerin yaklaşık %7-10'luk bölümünü oluşturmaktadır. Genellikle otuz yaşından önce başlamakta ve en sık on ile on beş yaşları arasında görülmektedir [42]. Burada asıl sorun pankreas beta

hücrelerinden insülin salınımının azalmasıdır [1]. Hastalar ya tam ya da tama yakın bir biçimde insülinde yoksundurlar [7]. Bu nedenle yaşamın devam ettirilebilmesi için mutlaka insüline bağımlılık görülmektedir [1].

T1D'in büyük bir bölümü otoimmün tipte, geri kalanı ise idiyopatik tiptedir [35, 1]. Otoimmün tip 1 DM, genetik, çevresel ve immünolojik etkenlerin sinerjistik etkileriyle pankreasın beta hücrelerinin hasarı sonucu meydana gelmektedir. Genetik olarak diyabet gelişme yatkınlığı olanların beta hücre kitlesi doğumda normaldir ama aylar yıllar içinde gelişen otoimmün yıkıma paralel olarak azalmaya başlar. Bu otoimmün olayın enfeksiyonlar veya başka çevresel faktörlerce tetiklendiği ve beta hücrelerine özgü moleküllerce sürdürüldüğü sanılmaktadır. Hastaların çoğunda immünolojik belirteçler tetikleyici olaydan sonra ama klinik diyabetin başlangıcından önce ortaya çıkar. Bundan sonra beta hücreleri azalmaya başlar ve insülin salgısı giderek düşer [1]. Sağlam beta hücreleri %20'nin altına düştüğünde ise diyabetin klinik dönemi ortaya çıkar [42].

Otoimmün T1D'in gelişiminden birden fazla gen sorumludur. Hastalığın gelişimine yatkınlık oluşturan genlerin esas yerleşim yeri ise altıncı kromozomdaki insan lökosit antijenleri (HLA) lokusudur. Bu bölümdeki HLA gen polimorfizmi otoimmün tip 1 DM gelişmesine zemin hazırlayan genetik etkenlerin %40-50'sinden sorumludur. Her ne kadar otoimmün T1D için bazı yatkınlık genleri olsa da bu genleri taşıyanların hepsinde diyabet gelişmemektedir [1]. Tip 1 DM'un idiyopatik formunda ise otoimmünite veya başka bilinen etyolojik bir neden yoktur. Hastalarda insulinoopenia olarak adlandırılan mutlak insülin eksikliği ve ketoasidoza yatkınlık görülmektedir ancak beta hücre otoimmünitesine işaret eden immünolojik bulgu yoktur. Tip 1 DM hastalarının sadece çok az bir kısmının bu kategoriye uymaktadır ve bu hastaların çoğu Afrika ya da Asya kökenlidirler. Bu hastalar insülin eksikliğini ve ketoasidozu nöbetler halinde yaşamaktadırlar. Hastalardaki insülin tedavisi gereksinimi de nöbetlere göre değişebilmektedir [43].

2.8. Tip 2 Diyabet

Geçmişte 'insüline bağımlı olmayan diyabet' veya 'erişkin diyabet' olarak da isimlendirilen tip 2 diyabet (T2D), temelinde genetik olarak yatkın kişilerde yaşam tarzı ile tetiklenen, giderek artan insülin direnci ve zamanla azalan insülin salınımının olduğu diyabet tipidir [4].

T2D bütün diyabet olgularının %90'ından fazlasını oluşturmaktadır. Tüm dünyada toplumun %5-10'u T2D'lidir [3]. Genellikle kırk yaşından sonra ortaya çıkmakla birlikte, Çizelge 2.7'de gösterilen ailede diyabet hikayesi, yüksek riskli etnik grup mensubu olma, prediyabet ve hipertansiyon gibi risk faktörlerinden bir ya da birkaçı bulunan kişiler diyabet açısından risklidir [4]. Ayrıca nüfusun artışı, toplumların yaşlanmasına, obezitenin ve fiziksel aktifliğin azalmasına paralel olarak daha sık görülmektedir [10]. Bununla beraber, son yıllarda yaşam ve günlük aktivitelerdeki değişiklikler ve artan obezite sıklığı nedeniyle çocuk ve adolesan yaşlarında da T2D sıklığı artmaktadır [4]. Hastalığın tedavisinin temelini ise eğitim, plazma glukozunun normale çekilmesi, mikro ve makrovasküler komplikasyonların ve kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrol altına alınması oluşturmaktadır [10].

Çizelge 2.7. T2D risk faktörleri [44]

Tip 2 Diyabet Risk Faktörleri
• Ailede diyabet hikayesi • Yüksek riskli etnik grup mensubu • Prediyabet • Hipertansiyon varlığı • HDL kolesterol <40 mg/dL ve trigliserid >250 mg/dL • Kardiyovasküler hastalık • Artan yaş • Obezite • Polikistik over sendromu (PCOS) • Gestasyonel diyabet hikayesi • 4 kilonun üzerinde bebek doğurma öyküsü • İnsülin direnci ile ilişkili durumlar (akantozis nigrikans, non-alkolik steatohepatit) • Şizofreni gibi ciddi ruhsal hastalıklar • Bazı atipik antipsikotik ve antidepresan ilaçların kullanımı • Hareketsiz yaşam tarzı • Solid organ transplantasyonu yapılmış olan kişiler

2.8.1. Tip 2 diyabetin patofizyolojisi

T2D'te iki temel sorun söz konusudur. Bunlardan birincisi periferik insülin direnci, ikincisi insülin salgısında azalmadır [10]. İnsülin direnci, dolaşımdaki normal insülin düzeylerine hedef dokularda yanıtın azalması, bir başka deyişle aynı glisemik değerlere ulaşmak için daha çok insülin tüketilmesidir (Şekil 2.6). Bu durum hem genetik hem de kazanılmış metabolik bozukluklardan kaynaklanmaktadır [27, 31]. Ancak gerçek mekanizması henüz anlaşılamamıştır [10].



Şekil 2.6. Normal hücre ile insülin direnci olan hücre [45]

T2D'in erken dönemlerinde, insülin direnci olmasına rağmen glukoz toleransı normaldir. Bu dönemde glukoz toleransının normal kalması ise beta hücrelerinde insülin salgısının artmasına bağlıdır. Bu sayede dolaşımdaki insülin düzeyi artırılınca plazma glukoz düzeyi normale gelebilmektedir [10]. Normalde pankreas beta hücreleri insülin direncini telafi etmek için insülin salgılanmasını artırır ancak insülin direnci ilerledikçe, pankreasın beta hücreleri bu durumu sürdüremez hale gelir. Beta hücresi işlevinin bozulmasıyla da insülin salınımı azalmaya başlar ve sonuçta diyabet gelişir [31]. Tanı anında beta hücre işlevi %50 azalmıştır ve tedaviye rağmen de azalmaya devam eder [46]. T2D'te insülin salgı kapasitesindeki azalmanın nedenleri bilinmemektedir. İnsülin direncine ilave bir genetik kusurun beta hücre yetersizliğine yol açtığı varsayılmış ise de, şimdiye kadar bu konuda yapılmış genetik araştırmalar adacık genlerinde böyle bir mutasyon varlığını gösterememiştir [10].

2.8.2. Tip 2 diyabette genetik ve çevresel faktörler

T2D, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi ile ortaya çıkan kompleks bir hastalıktır [47]. Gelişiminde genetik faktörlerin önemli rol oynayabileceğini gösteren ailesel birikim ve kalıtsal geçiş örnekleri, ikizlerdeki oranların karşılaştırılması, populasyonlar ve etnik gruplardaki farklılıklar gibi çeşitli kanıtlar bulunmaktadır [48, 49]. Bu kanıtlardan biri olan aileden gelen genetik faktörler, T2D hastalığının klinik olarak değerlendirilmesi için kullanılmıştır. T2D'in hastalık riskinin genel bir populasyon içinde %7 olarak görülürken, anne ya da babasından birinin bu hastalığı taşıyanlarda %40 oranında görülmüştür. Hem annesinde hem babasında bu hastalığı taşıyanların hastalığa yakalanma riskinin %70 olduğu görülmüştür. Birinci derecedeki akrabalarında T2D hastalığı bulunanların; gelecekte bu hastalığa yakalanma riskinin, birinci derecedeki akrabalarında bu hastalığı taşımayanlara göre, iki kat olduğu görülmüştür [9, 50]. Bunun yanında ikizlerle yapılan

alışmalar da T2D'e yatkınlıkta genetik zeminin önemini göstermektedir. T2D konkordansın çift yumurta ikizlerinde %20-30, tek yumurta ikizlerinde yaklaşık %70 olduğu görülmüştür [11]. Bu örneklerin dışında etnik köken dikkate alındığında, Nauru adası yaşayanları ve Pima yerlileri gibi toplumlarda T2D'in yüksek prevelansının genetik etiyoloji ile tutarlı olduğu görülmüştür. Safkan yaşlı Nauruluların arasında T2DM prevelansı %83'ken yabancıların eklenmesi ile oluşan genetik karışım sonucu bu yaygınlık oranının %17 olduğu bildirilmiştir. Gruplar arasında belirgin kültürel farklılıklar olmadığından bu durum diyabet riskinde yabancı genotipin koruyucu bir etkisi olduğunu göstermiştir. Benzer bulgular Pima yerlileri ve Kızıldereli toplumlardada belirtilmiştir [48].

β hücresi genlerindeki hasarlarla ilişkili olan anasal kalıtılan diyabet ve sağırılık (MIDD) ve gençlerde ergenlikte başlayan diyabet (MODY) ya da insülin reseptör genindeki mutasyonlarla ilişkili olan Leprechaunizm, tip A insülin direnci ve Rabson-Mendenhall sendromu gibi formlar nadir olarak görülen tek genli diyabet formlardır [56]. Mendelyan kalıtım da denen tek gen hasarının görüldüğü diyabetin bu formları günümüzde, diyabetin diğer özel tipleri başlığı altında sınıflandırılmıştır [49, 51]. Nadir tek genli diyabet tipleri dışında T2D çoğunlukla çok genlidir [12]. Bu nedenle diyabet riskine katkıda bulunan genlerin tanımlanması yıllardır araştırmaların odak noktası olmuş, bağlantı analizi, aday gen yaklaşımı, büyük ölçekli ilişkilendirme çalışmaları ve genom boyu bağlantı çalışmaları (GWAS) ile T2D gelişimine katkıda bulunan birçok gen başarıyla belirlenmiştir (Çizelge 2.8) [49, 52, 53].

Çizelge 2.8. T2D gelişimine katkıda bulunan genler [9]

Gen	Kromozom	OR	RAF	Çalışma	İşlev ve Mekanizma
ADAMTS9	3	1.09-1.05	0.68-0.81	MA	Transkripsiyonal düzenleyici / İnsülin etkisi
ADCY5	3	1.12	0.78	MA	Adenilat siklaz / İnsülin etkisi
ANK1	8	1.09	0.76	MA	Hücre kararlılığı / β -hücre işlevi
ANKRD55	5	1.08	0.7	MA	İnsülin etkisi
ANKS1A	6	1.11	0.91	GBİÇ	Yolak düzenleyici / Bilinmeyen
ARAP1	11	1.08-1.14	0.81-0.88	GBİÇ, MA	Aktin düzenleyici / β -hücre işlevi
BCAR1	16	1.12	0.89	MA	Kenetlenen protein / β -hücre işlevi
BCL2	18	1.09	0.64	GBİÇ	Hücre ölümü düzenleyici / Bilinmeyen
BCL11A	2	1.08-1.09	0.46	MA	Çinko parmak / β -hücre işlevi
CAMK1D	10	1.07-1.11	0.18	BA, MA	Protein kinaz / β -hücre işlevi
CDC123					Mitotik protein / β -hücre işlevi
CAPN10	2	1.09-1.18	0.73-0.96	MA	Kalpain sistein proteaz / İnsülin etkisi
CDKAL1	6	1.10-1.20	0.27-0.31	GBİÇ, MA	β -hücre işlevi
CDKN2A	9	1.19-1.20	0.82-0.83	GBİÇ	Siklin-bağımlı kinaz inhibitörü / β -hücre işlevi
CDKN2B					
CENTD2	11	1.08-1.13	0.81-0.88	GBİÇ	β -hücre işlevi
CHCHD9	9	1.11-1.20	0.93	MA	Bilinmeyen
TLE4					
CILP2	19	1.13	0.08	MA	Bilinmeyen
DGKB	7	1.04-1.06	0.47-0.54	MA	Diaçilgliserol kinaz / İnsülin etkisi
DUSP9	X	1.09-1.27	0.12-0.77	MA	Fosfataz
FOLH1	11	1.10	0.09	GBİÇ	Zardan geçebilen glikoprotein / Bilinmeyen
FTO	16	1.06-1.27	0.38-0.41	GBİÇ, MA	Metabolik düzenleyici / İnsülin etkisi
GATAD2A	19	1.12	0.08	GBİÇ	Transkripsiyonal baskılayıcı / Bilinmeyen
GCK	7	1.07	0.20	MA	Glukokinaz / İnsülin etkisi
GCKR	2	1.06-1.09	0.59-0.62	MA	Glukokinaz düzenleyici / İnsülin etkisi
GIPR	19	1.10	0.27	GBİÇ	G-protein kenetli reseptörler
GTB14	2	1.07	0.60	MA, AGÇ	Adaptör protein / İnsülin etkisi
HFE	6	1.12	0.29	MA	Zar proteini / Bilinmeyen
HHEX	10	1.12-1.13	0.53-0.60	BA, MA	Transkripsiyonel baskılayıcı / Hücre içi insülin yıkımı / Motor protein

Çizelge 2.8. (devam) T2D gelişimine katkıda bulunan genler [9]

Gen	Kromozom	OR	RAF	Çalışma	İşlev ve Mekanizma
IDE					
KIF11					
HMG20A	15	1.08	0.68	MA, AGÇ	Kromatin-iliskili protein / Bilinmeyen
HMGA1	6	1.34-15,8	0.10	AGÇ	Transkripsiyonal düzenleyici / İnsülin etkisi
HMGA2	12	1.10-1.20	0.09-0.10	MA	Transkripsiyonal düzenleyici
HNF1A	12	1.07-1.14	0.77-0.85	MA	Pankreatik, karaciğer transkripsiyonel aktivatör
HNF1B	17	1.08-1.17	0.47-0.51	AGÇ, MA	Transkripsiyon faktörü / β -hücre işlevi
IGF2BP2	3	1.14	0.29-0.32	GBİÇ, MA	Bağlanma proteini / β -hücre işlevi
IRS1	2	1.09-1.12	0.64-0.67	AGÇ, MA	İnsülin sinyal elementi / İnsülin etkisi
JAZF1	7	1.10	0.52	MA	Çimko parmağı / β -hücre işlevi
KCNJ11	11	1.09-1.14	0.37-0.47	AGÇ, MA	Potasyum kanalı / β -hücre işlevi
KCNQ1	11	1.08-1.23	0.44	GBİÇ	Potasyum kanalı / β -hücre işlevi
KLF14	7	1.07-1.10	0.55	MA	Transkripsiyon faktörü / İnsülin etkisi
KLHDC5	12	1.10	0.80	MA	Mitotik süreç ve sitokinez / Bilinmeyen
LAMA1	18	1.13	0.38	GBİÇ	Hücrel göç aracı / Bilinmeyen
MCR4	18	1.08	0.27	MA	G-protein kenetli reseptörler / Bilinmeyen
MTNR1B	11	1.05-1.08	0.28-0.30	GBİÇ, MA	Melatonin reseptörü / β -hücre işlevi
NOTCH2	1	1.06-1.13	0.10-0.11	MA	Zar reseptörü
PPARG	3	1.11-1.17	0.85-0.88	AGÇ, MA	Çekirdek reseptörü / İnsülin etkisi
PRC1	15	1.07-1.10	0.22	MA	Sitokinez düzenleyici
PROX1	1	1.07	0.50	MA	Homeobox transkripsiyon faktör / İnsülin etkisi
PTPRD	9	1.57	0.10	GBİÇ	Protein tirozin fosfat
RBMS1	2	1.11-1.08	0.79-0.83	MA	DNA düzenleyici / İnsülin etkisi
SLC2A2	3	1.06	0.74	GBİÇ	Glukoz algılayıcı / β -hücre işlevi
SLC30A8	8	1.11-1.18	0.65-0.70	GBİÇ, MA	Çinko akışı taşıyıcısı / β -hücre işlevi
SREBF1	17	1.07	0.38	GBİÇ	Lipid transkripsiyonel düzenleyici / Bilinmeyen
SRR	17	1.28	0.69	GBİÇ	Serin rasemaz
TCF7L2	10	1.31-1.71	0.26-0.30	BA, MA, GBİÇ	Wnt sinyal yolağına katılanlar / β -hücre işlevi
THADA	2	1.15	0.90	MA	Tiroid adenom-iliskili protein / β -hücre işlevi
TH/INS	11	1.14	0.39	GBİÇ	Katekolamin sentezi / Bilinmeyen
TLE1	9	1.07	0.57	MA	Transkripsiyonel korepressor / Bilinmeyen

Çizelge 2.8. (devam) T2D gelişimine katkıda bulunan genler [9]

Gen	Kromozom	OR	RAF	Çalışma	İşlev ve Mekanizma
TP53JNP1	8	1.06-1.11	0.48	MA	Proapoptotik protein / Bilinmeyen
TSPAN8	12	1.06-1.09	0.27-0.71	MA	Hücre yüzeyi glikoproteini / β -hücre işlevi
LGR5					G-protein kenetli reseptörler / Bilinmeyen
WFS1	4	1.10-1.13	0.60-0.73	AGÇ	Hücre zarından geçebilen protein / β -hücre işlevi
ZBED3	5	1.08-1.16	0.26	MA	Çinko akışı taşıyıcısı / β -hücre işlevi
ZFAND6	15	1.01-1.11	0.60-0.72	MA	Çinko akışı taşıyıcısı / β -hücre işlevi
ZMIIZ1	10	1.08	0.52	MA	Transkripsiyonel düzenleyici / Bilinmeyen
Haplogrup B	mtDNA	1.52	0.25	AGÇ	
OriB	mtDNA	1.10	0.30	MA	

Bir hastalıktan sorumlu genin saptanmasına yönelik yaklaşımlardan en yaygın olarak kullanılanları, DNA markırlarının hastalıkla ilişkisini test eden bağlantı ve ilişkilendirme çalışmalarıdır. Bağlantı analizi ile aynı kromozom üzerinde birbirine yakın iki yerleşimin anne-babadan çocuğa aktarılırken bir arada geçiş olasılığı hesaplanmaktadır. Bu tip çalışmalar basit Mendelyan geçiş gösteren hastalıkların genetiğini anlamada başarılı olmaktadır. İlişkilendirme ise kalıtım kalıbı tam olarak belirlenemeyen hastalıklarda tercih edilen yöntemdir. Bu yöntemle hasta ve kontrol gruplarında belirli bir genetik markıra ilişkin allellerin frekansları karşılaştırılır. Bu haritalama yöntemleriyle hastalık geninin tanımlanması o genin fonksiyonu ile ilgili hücresel mekanizmaların daha iyi anlaşılmasında bize yardımcı olur ve hastalığın oluşumunu kavramamıza olanak sağlar. Hastalık geninin saptanması ayrıca ilaç üretilmesine, doğum öncesi ve sonrası genetik tanıya da olanak sağlayacaktır [54]. Böylece hastalığın büyüyen yükünü azaltmak için önleyici stratejilerin benimsenmesini kolaylaştırmıştır [52, 53]. Ancak diyabetin gelişmesinde genetiğin oynadığı rolü anlamak halen yetersizdir. Bu nedenle dünyada çalışmalar halen devam etmektedir [55].

Genetik faktörlerin yanı sıra çevresel faktörlerin de T2D'e duyarlılığı etkilemede önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Bu faktörler arasında popülasyonlarda daha yüksek yaşam standardı ve modern bir yetişkinin hayatında aşırı kilo ve obezitenin çoğundan sorumlu olan Batılılaşmış yaşam tarzında ortak olarak görülen artmış kalori alımı ve hareketsiz yaşam tarzı oldukça önemlidir. Bu nedenle gelişmekte olan ülkelerde özellikle kırsal

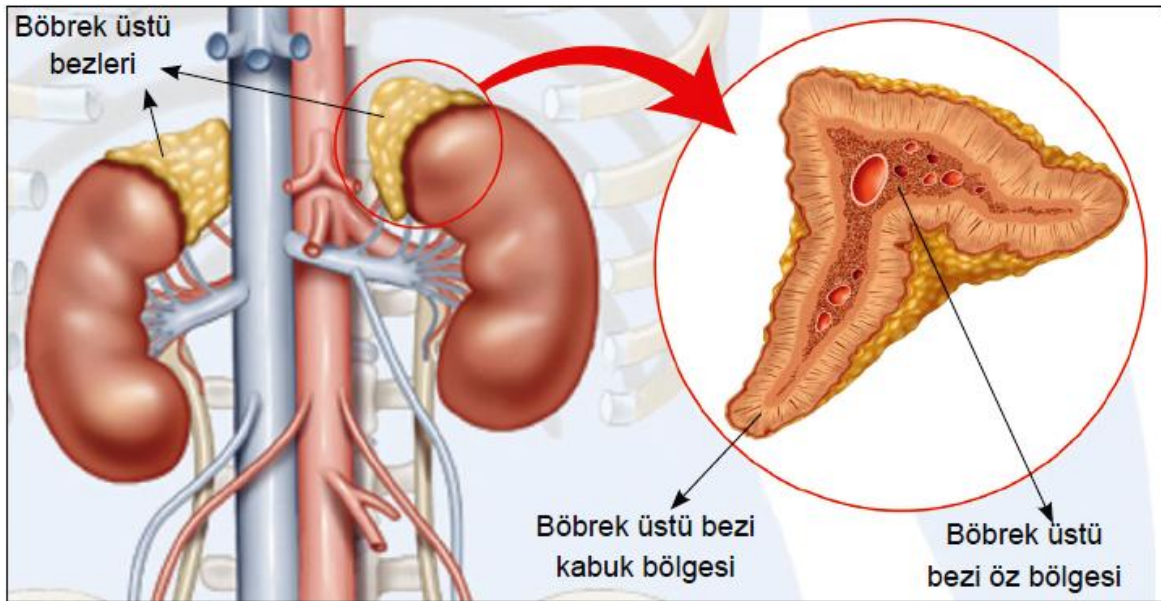
bölgelerde T2D'in insidansı genellikle düşüktür. Batı ülkeleri ve batılılaşan ülkelerde ise insidans yüksektir. Burada aşırı kilo T2D'in doğal seyrinin ilk adımını temsil eden insülin direncine neden olmaktadır. Başlangıçta diyabet olmaya yatkın bireylerde pankreas beta hücreleri tarafından insülin direnci telafi edilmekte ancak ilerleyen dönemlerde T2D görülmektedir [9].

Genler, obezite ve fiziksel inaktivite T2D gelişiminde oldukça önemli faktörlerdir. Bu etkenlerin dışında düşük doğum ağırlığı, rahimde diyabetik çevreye maruz kalınması gibi başka etkenler de bulunmaktadır. Ancak bunların populasyon düzeyindeki etkileri obezite ve fiziksel olarak hareketsizlikten daha az etkilidir [56].

2.9. Glukokortikoidler ve Glukokortikoid Reseptör Geni

2.9.1. Glukokortikoidlerin özellikleri

GC'ler, böbreküstü bezinin kabuk bölgesinden (Şekil 2.7) günlük ritimde veya stres durumunda salgılanan ve hemen hemen tüm organ ve dokularda çeşitli biyolojik süreçlerde önemli rol oynayan, steroid hormonlardır [32, 57]. Hem vücutta salgılanmakta hem de sentetik olarak üretilmektedir [58].

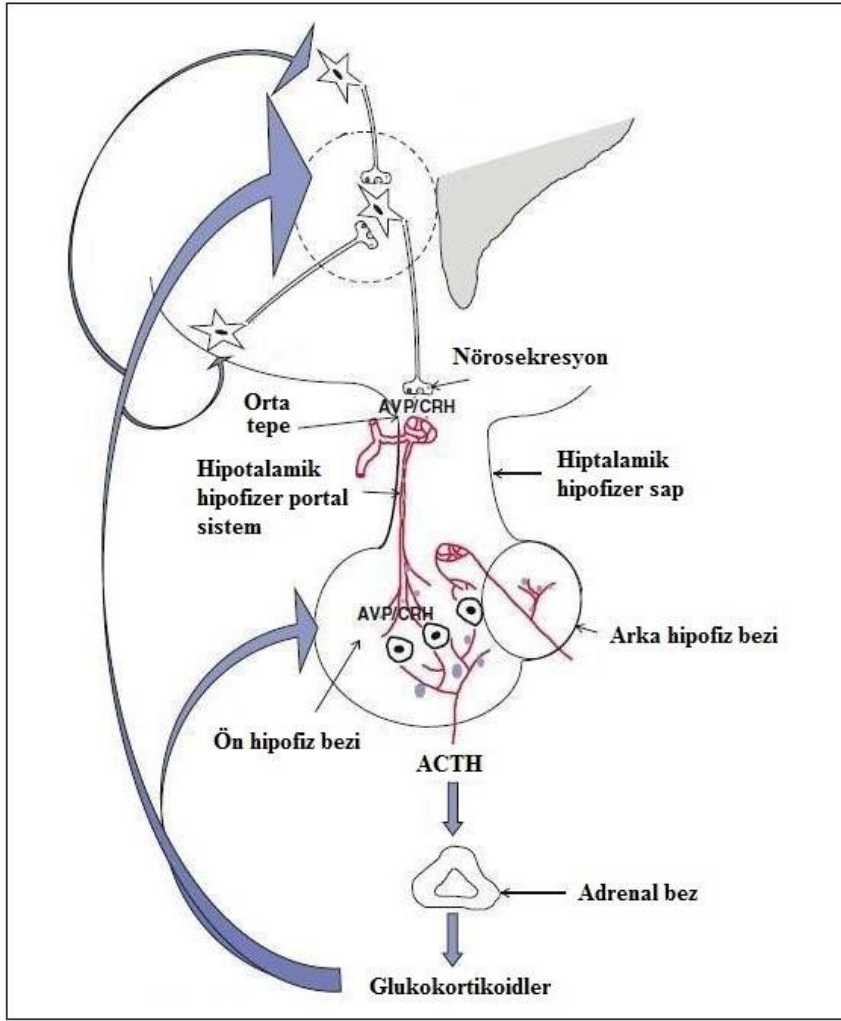


Şekil 2.7. Böbrek üstü bezinde kabuk ve öz bölgesi [59]

Başlıca endojen GC'ler kortizol ve kortikosterondur. Bu steroidlerin ikisi de memelilerde üretilir ancak salgılanması türden türe değişmektedir. İnsanlarda predominant olarak kortizol üretilmektedir [18]. Bu nedenle glukokortikoid etkinin %95'i kortizole aittir [60]. Kortizolün %90-95'i α_1 -globulin fraksiyonunda yer alan kortikosteroid bağlayıcı globulin (CBG), az oranda da albumine bağlı olarak taşınır. Kortizolün CBG'ye ilgisi daha fazladır. Kortizolün yarı ömrü 60-90 dakikadır. Karaciğer, kortikosteroidlerin başlıca yıkım yeri olduğundan karaciğerde yıkılıp yıkımla oluşturulan inaktif glukuronik asit ve sülfat konjugatlarının %25'i safra ve feçes yoluyla atılır. Kalanı suda çözünmediği için serbestçe kan yoluyla böbreklere gelir ve idrarla atılır [61].

2.9.2. Glukokortikoidlerin biyosentezi ve salgılanması

Glukokortikoidlerin günlük ve stres etkisi ile oluşan salgısı hipotalamus-hipofiz eksenini tarafından kontrol edilmektedir (Şekil 2.8). Hormonların salgılandığı yolda ilk olarak iki hipotalamik nörohormon olan kortikotropik hormonunu salgılatıcı hormon (CRH) ve arjinin vazopressin (AVP) salınır. Parvosellular nöronlardan salınan bu hormonlar, paraventrikular nükleus median eminens'e gönderilir. CRH ve AVP hipotalamustan hipofizyal-portal damarlar yolu ile anterior hipofiz bezine hareket ederler ve orada ACTH üreten hücreler olan kortikotroflardan adrenokortikotropik hormonun (ACTH) salınmasını tetiklerler. Bu salınım özel reseptörler olan tip-1 kortikotrofin salgılatıcı hormon reseptör ve tip-1b vasopressin reseptör aracılığıyla yaparlar. ACTH kortizol-kortikosteronun sentezini başlatmak için tip-2 melanokortin reseptör yolu ile adrenal korteksi etkiler [18].



Şekil 2.8. Glukokortikoidlerin biyosentezi ve salgılanması [18]

Glukokortikoidler, böbrek üstü bezinin üç tabakasından biri olan zona fasikülatanın hücrelerinde, kolestrolen sentezlenir. Gerekli kolesterölün %80'i LDL'den geri kalanı da yeniden sentezle sağlanır. LDL adrenal korteks hücre membranı üzerindeki özel reseptörlerine bağlanır, endositoz ile içeri alınır, veziküller lizozomlarla birleşir ve kolesteröl serbestleştirilir. LDL'den kazanılan kolesteröl, hücrede yeni sentezi yapılmış kolesteröl ve hücre içi havuzunu oluşturmak üzere kolesteröl esterleri şeklinde depolanan kolesteröl miktarları arasında denge vardır. Kolesteröl tutulumu fazla ise esterleştirilerek depolanır [61].

Hormon sentezi mitokondri ve ER'de yapılır. Kolesteröl mitokondri iç membranına taşınır. Bu transport ACTH tarafından düzenlenen steroidojenik akut regülatör (StAR) protein aracılığı ile yapılır. Hız sınırlayıcı basamaktır. Serbest kolesteröl mitokondride sitokrom P₄₅₀ yan zincir kıran enzim olan desmolaz ile yirmi bir karbonlu pregnenolona

dönüştürülür. Bu basamak da hız sınırlayıcı basamaktır. Pregnenolon düz endoplazmik retikuluma (DER) geçer [61].

Zona fasikülata da ACTH'nin kontrolünde 17-Hidroksi yolu ve 17-Deoksi yolu olmak üzere iki sentez yolu işler. En güçlü doğal glukokortikoid olan kortizol 17-Hidroksi yolu ile sentezlenir [61]. Sentezlenen GC'ler difüzyon ile sistemik dolaşıma bırakılır [18].

Gelen uyarıya hipotalamus-hipofiz-adrenokortikal (HPA) eksenin duyarlılığı, negatif feedback sistemi ile düzenlenir. Bu nedenle sırasıyla hipotalamustan salgılanan CRH/AVP ve hipofizden salgılanan ACTH, GC'lerin kendileri tarafından bastırılır. [18].

2.9.3. Glukokortikoidlerin biyolojik etkileri

Glukokortikoidlerin karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmaları üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır [32]. Genel olarak insülin karşıtı etkiye sahip olup, kan şekerini artırırlar. Karaciğerde anabolik, diğer dokularda ise katabolik etkilidirler [61].

Glukokortikoidlerin karbonhidrat ve protein metabolizması üzerine etkileri

En önemli özellikleri kan glukozunu arttırmaları olup bunu iki olayla gerçekleştirmektedirler [32]. Birinci olarak, insülin salıverilmesini baskırlar, bunun sonucu olarak kas, yağ dokusu ve lenfoid hücrelerde glukozun membrandan transportunu inhibe ederek hücre içinde kullanımını engeller. İkinci olarak ise karaciğerde pirüvat karboksilaz, PEP karboksikinaz, fruktoz 1-6-bifosfataz ve glukoz-6-fosfataz gibi ilgili enzimlerin aktivitelerini arttırarak glukoneogenezi uyarırlar ve bu fonksiyonları özellikle beyin dokusunun enerji ihtiyacının karşılanması için önemlidir [26, 61]. Glukoneogenez substratlarını sağlamak için periferik dokuda glukoz ve amino asit tutulumunu inhibe ederler. Aşırı salgılanmaları periferik dokuda proteinlerin katabolizmasını arttırır, sentezlerini azaltır. Ayrıca kortizol periferik dokuda protein yıkımını uyarırken karaciğerde protein sentezini uyarır [61]. Periferik dokuda protein katabolizması sonucu amino asitlerin artışı ile birlikte glukagon uyarılır ve glukagonun salınmasıyla glukoneogenez hızlanır. Glukoneogenez ile elde edilen glukozun bir kısmı kana verilir, bir kısmı ise karaciğerde glikojene çevrilir. Sonuçta kanın glukoz konsantrasyonu ile karaciğerin glikojen içeriği artmaktadır [32].

Glukokortikoidlerin lipid metabolizması üzerine etkileri

Yağ dokusunda hormona duyarlı lipaz aktifliğini arttırarak lipolizi uyarırlar, bu nedenle yağ asidi ve gliserol serbestleşmesi olur [61]. Bu özellikleri sonucu aşırı salgılanması veya farmakolojik dozları, ekstremitelerde lipolizi uyararak hiperlipidemiye neden olmakta ve vücudun bazı bölgelerinde özellikle yüz ve beden ile boynun arka kısmında deri altı yağ depolanmasına yol açabilmektedir [26, 32].

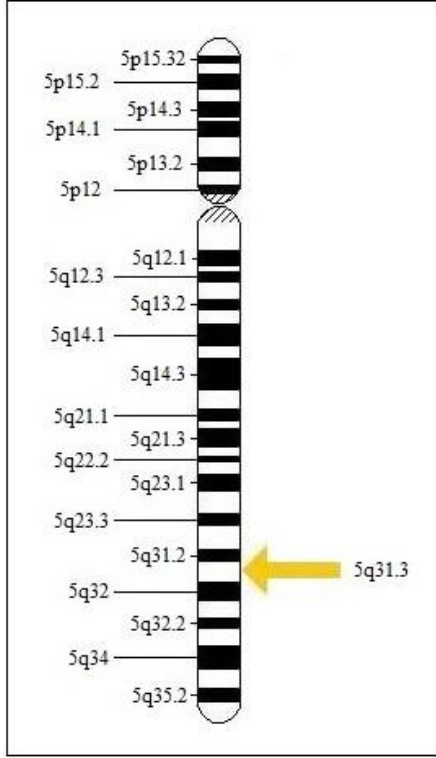
Glukokortikoidlerin diğer etkileri

Kronik ve uzamış glukokortikoid tedavisi sonucunda midede hidroklorik asit (HCl) ve pepsinojen, pankreastan tripsinojen salınımı artar, sonuçta ülserler oluşur. Kemiklerden kalsiyum kaybı olur, osteoporoz gelişir [61].

Glukokortikoidler ayrıca antienflamatuvar ve immünosüpressif etki gösterirler [61]. Bu fonksiyonları ile iltihabi ve alerjik semptomların ortadan kalkmasını sağlarlar. Retikula endotelial sistemin fagositik aktiviteleri ile dolaşımdaki lenfosit ve eozinofil sayılarında azalmalara yol açarlar. Bunlara ilaveten antikor sentez ve sekresyonu azalır ve böylece humoral immunitiyi de zayıflatır. Ancak glukokortikoidlerin bu etkisi enfeksiyöz hastalıklar için sakıncalıdır ve enfeksiyon etkenlerinin çoğalması için iyi bir ortam hazırlamış olur [26].

2.9.4. Glukokortikoid reseptörleri ve glukokortikoid reseptör geni

GR, nüklear reseptör ailesine bağlı, sitoplazmik bir proteindir [18]. Nüklear reseptör subfamilya 3, grup C, üye 1 olarak bilinmesinin yanında, GR, GCR, GRL ve GCCR olarak da sembolize edilir [62]. Reseptör bir N-terminal domain, merkezi bir DNA bağlanma domaini ve bir C-terminal ligand bağlanma domainine sahiptir [17]. Glukokortikoid reseptörü, insanda *NR3C1* geni tarafından sentezlenmektedir. *NR3C1* (nuclear receptor subfamily 3, group C, class 1) geni, insan genomunda 5q.31.3 lokusunda tek kopya halinde bulunmaktadır (Şekil 2.9). 157 581 baz çifti uzunluğunda olup dokuz ekzon içermektedir [15].



Şekil 2.9. *NR3C1* geninin 5. kromozomdaki yeri [63]

Glukokortikoid reseptörleri vücutta neredeyse her hücrede ifade edilmektedir [58]. En fazla mRNA seviyeleri de akciğer, dalak, beyin ve karaciğerde bulunmaktadır [64]. Bu genden alternatif ekzon birleştirme sonucu çeşitli GR izoformları meydana gelir. Araştırmalar 777 amino asit olan GR α ve 742 amino asit olan GR β izoformlarına odaklanmıştır. GR α biyolojik açıdan aktif bir izoformdur ve yaygın bir şekilde ifade edilir [65]. GR β ise glukokortikoid bağlama yeteneğine sahip değildir ve GR α 'ya göre daha az ifade edilir [17, 65]. Çelişkili sonuçlar rapor edilmesine rağmen, GR α 'nın transkripsiyonel aktivitesini etkilediğinden dolayı GR β için GR α 'nın baskın bir negatif inhibitörü olarak işlev gördüğü tahmin edilmektedir. Bir diğer izoform olan GR γ ise GR α 'ya kıyasla çeşitli dokularda glukokortikoid reseptör mRNA'sının %3,8-8,7'si kadar olmak üzere büyük ölçüde ifade edilmektedir ve transkripsiyonel aktivitesi azaltılmıştır [17]. Ayrıca GR α , GR β ve GR γ dışında GR-A ve GR-P olmak üzere iki izoform daha bulunmaktadır. Bu izoformlar hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır [65]. Reseptörün alternatif translasyonu ile ise reseptörün fonksiyonel çeşitliliğini arttırmaktadır. Translasyonel izoformlar arasında ligand afinitesi ve glukokortikoid cevap elemanları arasındaki etkileşimde farklılık görülmemesine rağmen gen transkripsiyon profillerinde çarpıcı farklılıklar bulunmuştur [17].

Glukokortikoidler lipofilik özelliği dolayısıyla hücreleri pasif olarak geçer ve etkilerini sitoplazmik glukokortikoid reseptörlerine (GR) bağlanarak gösterirler [16, 66]. Temel hücrel koşullar altında reseptör, bir GR molekülü ve ısı şoku proteinleri ile kompleks bir çok protein bileşimi içinde aktif olmayan bir şekilde bulunur. Hormonun reseptöre bağlanması ise, ısı şok proteinlerinin ayrılması, GR'nin aktifleşmesi ve hormon reseptör kompleksinin nükleusa taşınmasını içeren bir dizi etkinliğe yol açar [67]. Aktif GR, çekirdekte değişik mekanizmalar aracılığı ile DNA transkripsiyonu seviyesinde gen düzenlemesine dâhil olur [17, 58].

Aktifleşen GR hedef genin transkripsiyonunu doğrudan DNA'ya bağlanarak ya da transkripsiyon faktörleri ile etkileşerek iki şekilde gerçekleştirir. İlk durumda transkripsiyonel düzenleme, DNA'daki glukokortikoid yanıt elementlerinde dimerize olmuş glukokortikoid-glukokortikoid reseptör kompleksinin bağlanmasını gerektirir ve ardından transkripsiyon başlar. Transkripsiyonun baskılanmasında ise glukokortikoid reseptörü, transkripsiyonu inhibe eden hedef genin promotor bölgesinde bulunan negatif glukokortikoid cevap elementi (nGRE) ve diğer transkripsiyon faktörleri ile birlikte çalışır [16, 17]. Ancak glukokortikoidlerin bağışıklık düzenlemesindeki transkripsiyon baskılanması nGRE'yi içermemektedir. Burada proinflamatuvar sitokin transkripsiyonun baskılanması söz konusudur ve bu olay aktivatör-protein1 (AP-1) ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) gibi proinflamatuvar transkripsiyon faktörleri ile glukokortikoid reseptörleri arasında doğrudan etkileşimi içerir [17]. Sonuçta proinflamatuvar genler baskılanmış olur [68].

2.10. Gen Polimorfizmi

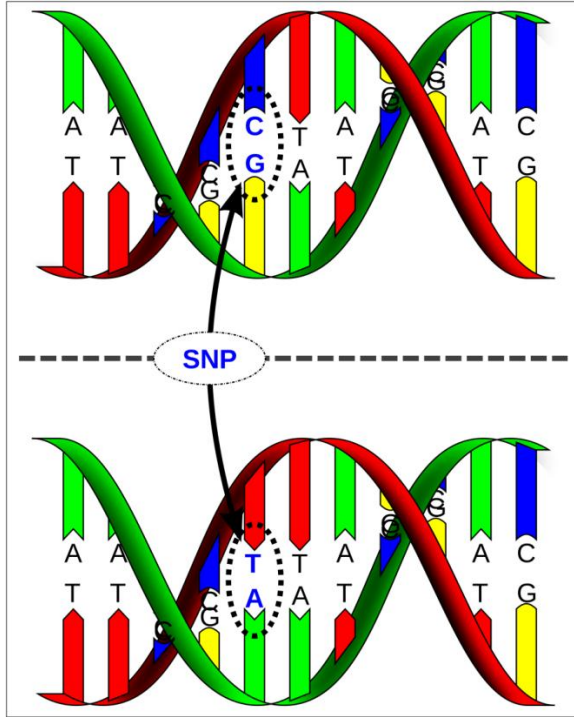
Bir türün üyeleri arasında aynı genin birçok alternatif formu bulunmaktadır. Bu nedenle aynı tür organizmalar genellikle birbirinden farklı fenotip göstermektedirler [69]. Bir popülasyonda iki ya da daha fazla sayıda farklı fenotipin bulunmasına ise polimorfizm denmektedir [70]. Normal bir popülasyonda bir karakter için iki veya daha fazla fenotip bulunuyorsa ve fenotiplerden her biri popülasyonda %1'den daha büyük sıklıkla görülüyorsa bu durum genetik polimorfizm olarak adlandırılır [71].

DNA'daki nükleotidlerin %99,9 gibi bir kısmının dizisi tüm insanlarda aynıdır fark sadece %0,1'lik bir bölümdedir. DNA dizisinin %0,1'lik kısmındaki bu değişiklikler, bireylerin

pek çok hastalığa veya ilaca karşı farklı duyarlılık göstermelerine neden olmaktadır [72]. Birçok durumda, DNA tamiri, hücre döngüsü kontrolü, sinyal iletimi gibi hücre metabolizması için önemli olan yollarda rol alan genlerin kritik pozisyonlarında yer alırlar. Bu durumda genin kodladığı proteinin işlevi ya da enzim aktivitesi bu değişikliklerden önemli ölçüde etkilenebilir. Hücre metabolizması için kritik önem taşıyan proteinlerin işlev bozulması hastalıklara yol açmakta veya hastalıklar için riski artırmaktadır [73]. Meme kanseri, kas hastalığı, sağırılık ve körlükle ilgili bazı genlerin yeri saptanmış olup kardiyovasküler hastalık, diyabet, artrit ve kanser gibi sık görülen hastalıkların genlerinin bulunmasına da çalışılmaktadır [72]. Ayrıca gen polimorfizmleri popülasyonda yaygın görülmekte, etnik ve coğrafi farklılıklar göstermektedirler. Bu nedenle farklı ülkelerde hastalıkların polimorfizmleri incelenmektedir [73].

2.10.1. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP)

İnsan genomunda en çok görülen polimorfizmler olan SNP'ler özgün bir pozisyonda bulunan adenin bazının timine dönüşmesi gibi genom dizisindeki tek nükleotid (A, T, C, G) değişimleridir Şekil (2.10) [74, 75]. SNP'leri normal mutasyondan ayıran bazı farklılıklar vardır. Öncelikle bir değişimin SNP olarak tanımlanabilmesi için, geniş bir toplumun en az %1'inin DNA dizisinde görülmelidir. Ayrıca SNP'lerin etkinlikleri düşük olmalarına rağmen yaygındırlar ve tek başlarına hastalığa yol açmazlar, oysaki mutasyonlar nadir görülmelerine rağmen etkinlikleri yüksektir, tek başlarına hastalık nedenidir. SNP'ler genlerin içinde veya gene yakın bir bölgede bulunabilirler. Genomun çok küçük bir bölümü gen kodladığı için, SNP'lerin büyük kısmı gen kodlamayan bölgelerdedir. İnsan genomunda 15-30 milyon SNP olduğu varsayılmaktadır ve günümüzde 13 milyona yakını tanımlanmıştır [75].

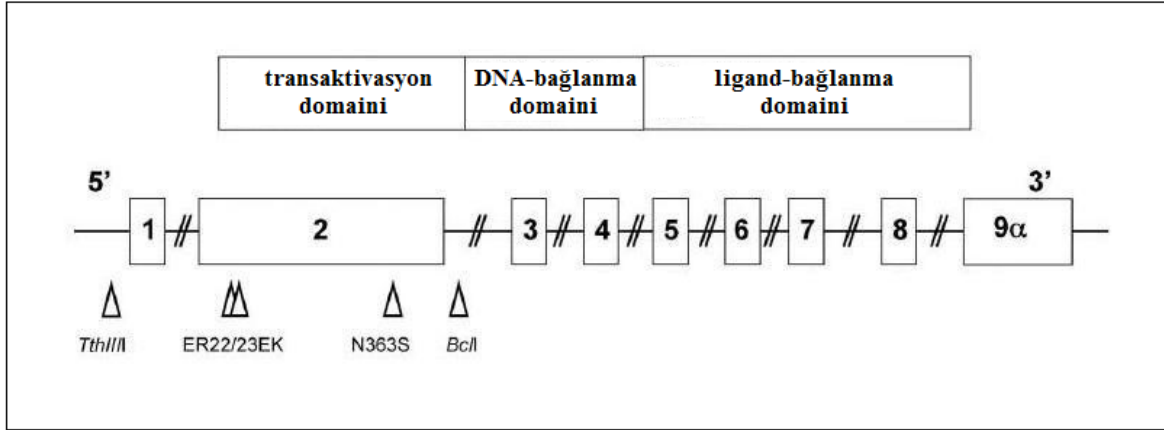


Şekil 2.10. SNP şematik görünümü [76]

SNP'ler benzer koşullarda neden bazı bireylerin daha sağlıklı iken, diğerlerinin hastalığa yatkın olmasına, aynı hastalığın farklı bireyler arasında neden farklı şekilde seyrettiğine, ayrıca bazı bireylerin tedaviye olumlu yanıt verirken, diğerlerinin vermemesine büyük oranda açıklık getirir. Çünkü DNA'larımız arasındaki %0,1'lik farkın büyük kısmını SNP'ler oluşturur. Bu farklılıklar bireyler üzerinde çeşitli etkiler yaratır. Örneğin, fenotipi etkileyen bazı farklılıklar zararsızken, diğer bazıları ise diyabet, kanser, kalp hastalığı, Alzheimer, otizm, şizofreni gibi hastalıklara neden olabilir [75]. Bu nedenle SNP'ler yaygın önemli rahatsızlıklarda risk tayini için genetik belirteç olarak kullanılabilirler [77]. Bu polimorfik durumlar tedavi edici ilaç seçimi ve ilaca cevapta kişiler arasındaki farklılıkları açıklamak ve kişiye özgü tedavi seçenekleri geliştirmek için de yararlanılmaktadır [78].

2.10.2. Glukokortikoid reseptör geni polimorfizmleri

GR geninde bulunan polimorfizmler genellikle değişmiş GC duyarlılığı ile ilişkili olduğu ve bu polimorfizmlerin çoğunun genin N-terminal transaktivasyon domaininde yerleştiği bildirilmektedir (Şekil 2.11) [79]. Bu tezde ise *BclI* ve *N363S* olmak üzere iki polimorfizm incelenmiştir.



Şekil 2.11. GR geni polimorfizmleri [79]

GR geni *BclI* polimorfizmi

BclI polimorfizmi ilk olarak 1987'de Murray ve ark., tarafından 2,3 kb'lık kısa fragment ve 4,5 kb'lık uzun fragmentten oluşan intronik bir RFLP rapor edilmiştir. Bu araştırmadan sonra bu polimorfizmin obezite ile ilişkisini araştıran birçok çalışma olmuştur. Daha sonra van Rossum ve ark, 2003 doğru nükleotid değişikliğini tespit ederek 2,2 kb ve 3,9 kb'da fragmentler veren ekzon 2'den sonraki 646. nükleotid olan sitozinin (C) guanine (G) değişimi olarak tanımlanmıştır [80].

Bu polimorfizmin moleküler mekanizması halen anlaşılamamış olup yüksek insülin seviyesi, artan insülin direnci, artan GC duyarlılığı, artan vücut ağırlığı, artan VKİ, artan abdominal obezite, ve artan açlık glukozu ile ilişkili olduğunu bulan çalışmalar mevcuttur [80-83].

GR geni *N363S* polimorfizmi

N363S polimorfizmi 2. ekzonun 363. kodonunda 1220 baz çiftindeki A (AAT)→G (AGT) tek nükleotit değişiminden (SNP) kaynaklanan asparajin→serin amino asit değişimi şeklinde tanımlanmıştır [84]. Bu polimorfizmin artmış GC duyarlılığı, bel-kalça çevresinin artması ve VKİ'nin artması ile ilişkili olduğunu bulan çalışmalar mevcuttur. Ayrıca bu polimorfizmi ve *BclI* polimorfizminin her ikisini taşıyanlarda daha yüksek kolesterol seviyeleri olduğunu ifade eden çalışmalar bulunmaktadır [85-88]. 2003'te Lin ve arkadaşları ise bu varyantın kilodan bağımsız olarak koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır [89].

Serin alleli taşıyanlar, asparajin alleli taşıyanlar ile kıyaslandığında artmış kortizol hassasiyetine ve vücut kitle indeksine sahiptirler. Diyabetik olmayan kişilerde serin alleli ile kilo artışı ve merkezi obezite arasında bir ilişki mevcuttur [84, 90].

2.10.3. Genetik polimorfizmin belirlenmesi

Polimorfizm analizi geleneksel olarak polimeraz zincir reaksiyonu-bağılantılı restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemi ile yapılmaktadır. Bu yöntem, polimorfizmi ortaya çıkaran baz değişiminin bir restriksiyon enzimi için yeni bir kesim yeri ortaya çıkarması veya mevcut olan bir kesim yerini ortadan kaldırmasına bağlı olarak, polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılan fragmentin enzim kesimi sonucunda normal durum ile polimorfik allel arasında uzunluk farklılıklarının izlenmesi esasına dayanır [73].

2.11. Polimorfizm Analizinde Kullanılan Moleküler Yöntemler

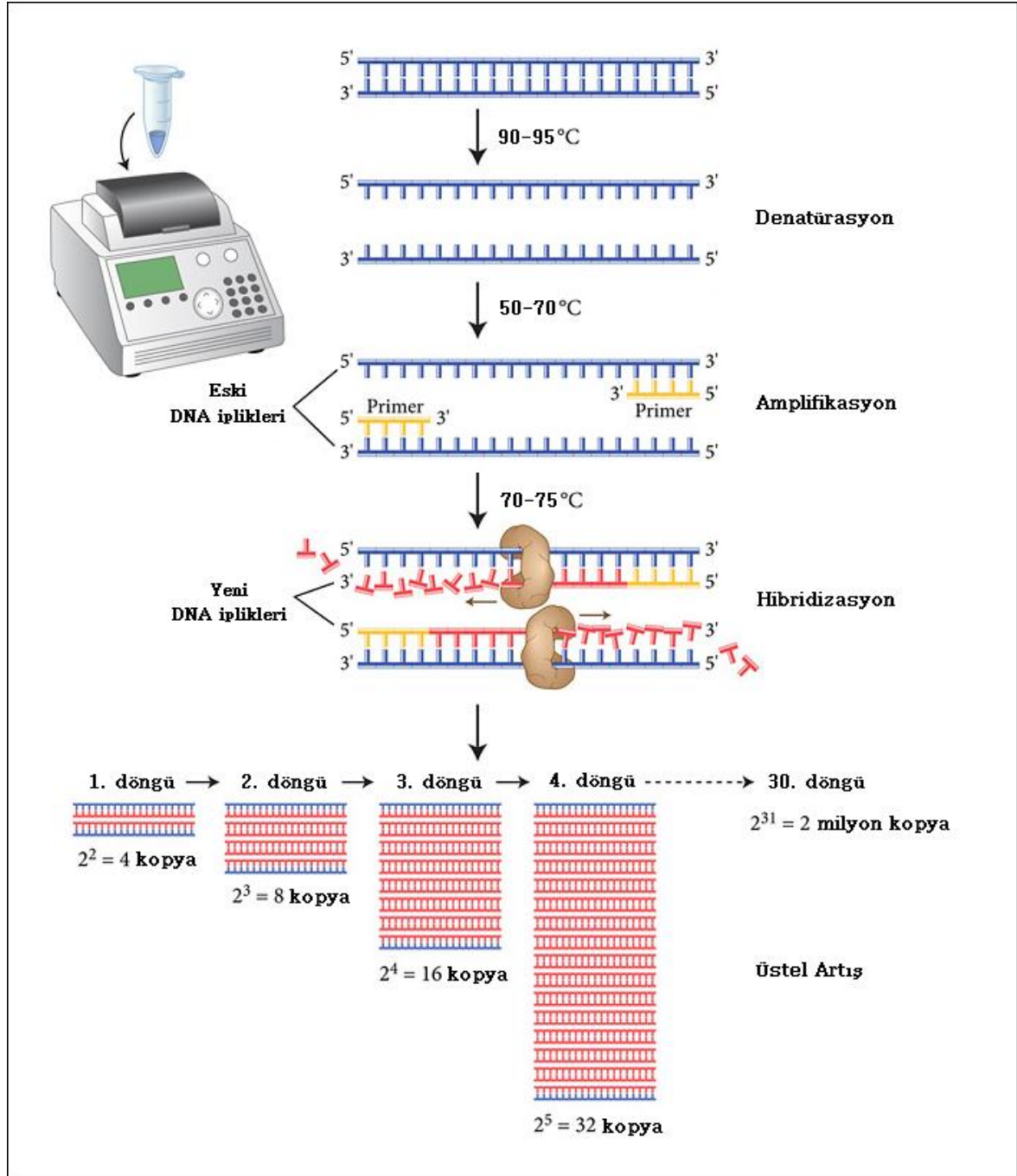
2.11.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Hücrelerde DNA doğal olarak, replikasyon ile çoğalır. İn vitro koşullarda ise istenilen bir genin ya da özgün bir DNA dizisinin çok sayıda kopyasının elde edilmesi için rekombinant DNA yöntemleri ile DNA klonlanmasına ek olarak PZR kullanılmaya başlanmıştır [91]. Polimeraz zincir reaksiyonu, hedef DNA dizisinin kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak in vitro koşullarda sentezlenmesini sağlayan bir yöntemdir [92]. İlk olarak 1985 yılında R. Saiki, K. Mullis ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş, sonrasında ise klonlama, dizi analizi, DNA haritalaması gibi temel moleküler biyolojik araştırmalarda ve orak hücre anemisi, kistik fibrozis, fragile X sendromu, AIDS, lösemi gibi birçok hastalığın DNA temeline dayanan tanısı için klinik tıpta hızla kullanılmaya başlanmıştır [91, 93]. Günümüzde ise DNA amplifikasyonunu kısa sürede ve doğru olarak gerçekleştirmesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır [93].

PZR ile 3-5 saatte yaklaşık olarak 20 000 baza kadar olan genlerin 300 milyon kadar kopyası çoğaltılması sonucu sentezlenmektedir. Bir fosilden veya faili meçhul sanık tespitinde bir kan lekesinden gen klonlaması veya DNA dizi analizi için yeterli miktarda DNA bulunmaz. Az miktardaki doku hatta tek bir hücreden elde edilen DNA miktarını arttırabilmek için PZR kullanılmaktadır. Genomik DNA'da dizisi bilinen veya dizisi henüz

tespit edilmemiş olarak klonlanan yabancı DNA'nın çoğaltılmasını ve bunun dizi analizini tespit etmeye yarayan önemli bir tekniktir. Günümüzde oldukça önem arz eden insan genom projesi bu teknik sayesinde tamamlanmıştır [93].

PZR'nin temel bileşenleri, kalıp olarak kullanılan DNA molekülü, DNA polimeraz enzimi, primerler, deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) karışımı, tampon ve magnezyum klorür ($MgCl_2$)'dür. Teknik çift iplikli bir DNA molekülünde hedef dizilere iki oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanır ve üç basamaklı bir döngüden oluşur (Şekil 2.12). Bir PZR döngüsü denatürasyon, hibridizasyon ve amplifikasyon aşamalarından meydana gelir [91, 93]. Denatürasyon, çoğaltılacak olan çift iplikli DNA'nın yüksek sıcaklıkta tek iplikçiklere ayrılması işlemidir. Çift iplikli DNA 90-95°C'de 2-3 dakika ısıtılarak birbirinden ayrılmaktadır [93]. Ayrıca DNA zincirini ayırmak için, bazı durumlarda 5-10 dakika ön ısıtma yapmak gerekebilir [94]. Hibridizasyon, reaksiyon sıcaklığının, 50-70 °C'ye düşürülerek oligonükleotid primerlerinin açılan DNA zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgeye yapışması işlemidir [92, 94]. Bu işlem, üretilecek baz uzunluğuna bağlı olarak 30-60 saniyede gerçekleşmektedir [94]. Amplifikasyon, DNA polimeraz ile primerlerden itibaren zincirin uzaması işlemidir [93]. DNA polimeraz enzimi, 70-75 °C'de uygun tampon ve dört çeşit dNTP varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlar. Böylece kalıp DNA ipliğine tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmiş olur [91, 92].



Şekil 2.12. PZR işleyiş mekanizması [95]

Bütün döngünün tekrarlanmasıyla DNA parçaları üssel olarak artar [96]. Bu üstel artışın nedeni, bir döngü sonucu sentezlenen ürünün, ardışık döngüde diğer primerler için kalıp görevi yapmasıdır. Böylece her PZR döngüsü DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin iki katına çıkması ile sonuçlanır [91].

PZR, farklı sıcaklık derecelerini istenilen süreler için otomatik olarak ayarlanabilen PZR aletlerine yerleştirilmiş mikrotüplerde gerçekleştirilir. Amaca göre farklı PZR tüpleri ve değişik sıcaklık dereceleri kullanılabilir [91, 96].

2.11.2. Agaroz jel elektroforezi

Elektroforez, boyut ve elektrik yüklerinden yararlanarak molekülleri ayırmak için kullanılan standart biyokimyasal bir yöntemdir [96]. Jel elektroforezi ise elektrik varlığında hareketlenen moleküllerin jel boyunca karşıya hareket ettiği bir tekniktir. Gerekli güç, jelin iki ucunda bulunan elektrotlara uygulanan voltajdır [97]. Yürütülen maddenin hızı ise molekülün büyüklüğüne, yapısına, jelde kullanılan maddenin konsantrasyonuna, iyonik kuvvete ve uygulanan akıma bağlı olarak değişmektedir [91].

Geliştirilmiş elektroforez teknikleri içinde nükleik asitler için en çok kullanılanı agaroz jel elektroforezidir. Agaroz, bir kırmızı alg türü olan Agar agar'dan izole edilen doğrusal bir polisakkariddir. Agaroz sıcak suda çözünür ve soğutulduğu zaman polimerde karşılıklı hidrojen bağlarının oluşumu ile jel yapısı oluşur. Bu oluşum geri dönüşümlüdür [91].

Elektroforez adı verilen bir cihaz yardımıyla DNA molekülleri, elektron yüklerine, molekül ağırlıklarına ve yapılarına bağlı olarak hazırlanan jelde farklı hızlarda hareket ederler. Elektroforezde eksi yüklü moleküller, artı yüklü elektroda hareket ederken, artı yüklü moleküller, eksi yüklü elektroda doğru hareket ederler [96]. DNA negatif yüklü fosfat grupları içerdiği için jelde artı yüklü elektroda doğru ilerler [97]. Küçük molekül yapısına sahip DNA bantları ağır olanlardan daha hızlı bir şekilde hareket ettiği için daha hızlı ilerler Şekil 2.15. [96].

Yürütmeden sonra DNA'nın jel üzerindeki yerini belirlemek gerekir. Bunun için DNA etidyum bromür ile boyanır [91, 96]. Etidyum bromür DNA'nın iki iğlikçiği arasındaki hidrojen (H^+) bağlarıyla kompleks oluşturur ve ultraviyole ışınları üzerinde DNA'ya floresans özelliğini kazandırarak görünür hale gelmesini sağlar. Böylece agaroz jel içerisindeki DNA bantları görünür hale gelir. Son olarak jel görüntüleme sisteminde bir kamera yardımıyla görüntüler elde edilip bilgisayar ortamına aktarılabilir [93].

2.11.3. Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP)

RFLP, bir kesim enzimi ile DNA'yı keserek farklı uzunlukta DNA parçalarının oluşmasını sağlayan bir yöntemdir [29, 96]. DNA'nın enzimatik kesimi restriksiyon endonükleazların (RE) kullanımı ile gerçekleşmektedir. 1950'li yılların başlarında varlıkları saptanan restriksiyon endonükleazları, çift iplikli sarmal DNA'da özel nükleotid dizilerini tanıyan ve DNA'nın her iki ipliğini kesen enzimlerdir. Bakterilerde bulunan bu enzimler DNA'da özgün kısa dizileri tanır ve kesme işlemini, enzime göre değişmek üzere, tanıma yerinde gerçekleştirir. Kesim sonucunda ise küt veya yapışkan uçlu DNA parçaları oluşur. [91].

Moleküler düzeyde polimorfizm, nükleotid izisinde bir bireyden diğerine olan değişiktir. DNA'daki bu genetik farklılık, kesim bölgesini oluşturan veya yok eden bir değişiklik meydana getirebilmektedir. Her iki durum da kesilen parça uzunluklarının normalden farklı olmasına yol açar. Bu sayede RFLP'ler insandaki genetik bozuklukları saptayabilirler [29].



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan aletler

Çalışmada kullanılan aletler aşağıda verilmiştir.

- AgaroZ Jel Tankı ve Düzeneği, Scie-Plus
- Etüv, Memmert
- Hassas terazi, Scaltec
- İklim Dolabı, Sanyo
- Jel Elektroforez Güç Kaynağı, Wealtec
- Kırık Buz Makinesi, Hoshizaki
- Otoklav, Tomy
- Otomatik Mikropipetler, Gilson
- PZR cihazı, Biometra
- pH metre, Mettler Toledo
- Spektrofotometre, Shimadzu
- UV kaynağı, BioDocAnalyze

3.1.2. Kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler aşağıda verilmiştir.

- AgaroZ, Sigma
- Brom fenol mavisi, Sigma
- dNTP set, Promega
- EDTA, Sigma
- Etanol, Merck
- Etidyum bromid, Sigma
- Fenol, Sigma
- İzöamil alkol, Merck
- Kloroform, Merck

- Magnezyum klorür, Merck
- Sodyum klorür, Merck
- Taq DNA polimeraz enzim seti, Promega
- Tris, Sigma
- 100 bp ladder, GeneMark

3.1.3. Kullanılan tampon ve çözeltiler

Çalışmada kullanılan tampon ve çözeltiler aşağıda verilmiştir.

Kandan DNA izolasyonu için kullanılan tampon ve çözeltiler

Eritrosit parçalama tamponu (RBC lizis tamponu): 150 mM NH_4Cl , 10 mM NaHCO_3 ve 0,5 M EDTA (pH: 8,0).

Lökosit parçalama tamponu (STE; Sodyum klorid-Tris-EDTA): 10 mM Tris-HCl (pH: 7,4), 400 mM NaCl ve 0,1 M EDTA (pH: 8,0).

Fenol: kloroform: izoamilalkol (25:24:1) çözeltisi: 25 ml fenol, 24 ml kloroform ve 1 ml izoamilalkol karıştırılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti bir gece $+4^\circ\text{C}$ 'de bekletildikten sonra kullanılmıştır.

Proteinaz K (20 $\mu\text{g/ml}$): 0,2 mg proteinaz K, 10 ml TE tamponu içinde çözünür.

TE çözeltisi: 10 mM Tris (pH: 8,0), 1 mM EDTA (pH: 8,0).

%10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (SDS): 10 gr SDS, 100 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

2M Sodyum Asetat (CH_3COONa): 1,64 gr sodyum asetat, 100 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

%70'lik etil alkol: 70 ml %100'lük etil alkol, 30 ml distile su.

%95'lik etil alkol: 95 ml %100'lük etil alkol, 5 ml distile su.

PZR için kullanılan tampon ve çözeltiler

Taq polimeraz tamponu 10x: GoTaq Flexi (Promega)

Magnezyum klorür ($MgCl_2$): 25 mM (Promega) kullanılmıştır.

Nükleotit Karışımı: 10 mM dNTP (dATP, dGTP, dTTP, dCTP) (Promega).

Agaroz jel elektroforezi için kullanılan tampon ve çözeltiler

Tris-Asetik Asit-EDTA (TAE) tamponu (x50) (pH: 8,0): 242 g Tris, 57,1 ml glasial asetik asit, 0,5 M 100 ml EDTA (pH 8,0) distile su içerisinde çözülerek hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

Agaroz: %0,8 ve %2'lik (w/v) agaroz TAE tamponunda çözülerek hazırlanmıştır.

Yükleme tamponu: 40 g. sukroz, 0,025 g. bromofenol mavisi, 0,25 g. ksilen siyanol 100 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

Etidyum bromür: 10 mg/ml derişimde hazırlanmış ve koyu renkli şişelerde muhafaza edilmiştir.

Moleküler ağırlık belirteci (Marker): 100 baz çiftlik (Fermantas)

3.1.4. Kullanılan primerler

Çalışmada kullanılan primerler Çizelge 3.1 'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primer bilgileri

Polimorfizm	Primer Dizileri	PZR Ürün Büyüklüğü
<i>BclI</i>	İleri 5' - GAG AAA TTC ACC CCT ACC AAC - 3' Geri 5' - AGA GCC CTA TTC TTC AAA CTG - 3'	418 bç
<i>N363S</i>	İleri 5' - AGT ACC TCT GGA GGA CAG AT - 3' Geri 5' - GTC CAT TCT TAA GAA ACA GG - 3'	249 bç

3.1.5. Kullanılan enzimler

PZR için kullanılan enzim

Taq polimeraz: 5 u/ µl (Promega) kullanılmıştır.

RFLP için kullanılan restriksiyon enzimleri

BclI Restriksiyon Enzimi: Fermantas marka restriksiyon enzimi, tamponu ve steril distile su

TasI (Tsp5091) Restriksiyon Enzimi: Fermantas marka restriksiyon enzimi, tamponu ve steril distile su

3.1.6. Hasta ve kontrol grubu kan örneklerinin toplanması

T2D tanısı bulunan hastalarda ve diyabet tanısı bulunmayan sağlıklı kontrollerde glukokortikoid geni, nükleer reseptör subfamilya 3, grup C, üye 1 (*NR3C1*), *BclI* ve *N363S* polimorfizmlerinin taranması amacıyla çalışmaya dâhil edilen hasta ve kontrol grubuna ait kan örnekleri T.C. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma polikliniğine başvurarak ayaktan veya yatarak tedavi olan 96 T2D'li ve 51 sağlıklı olmak üzere toplam 147 bireyden alınmıştır.

Çalışmanın amacı ve içeriği gönüllülere açık bir dille anlatılarak T.C. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmış genetik materyal üzerinde yapılacak çalışmalar için bilgilendirilmiş gönüllü olur formu aracılığıyla izinleri alınmıştır. Tüm T2D hastalarının yaş ve cinsiyetleri kayıt edilmiş, boy ve kiloları ölçülerek vücut-kitle indeksleri ($VKI, kg/m^2 = \text{Kilo (kg)} / [\text{Boy uzunluğu (m)}]^2$) formülü kullanılarak hesaplanmış, diyabet süreleri ve kullandıkları tedaviler kayıt edilmiştir. Alınan serum/plazma örneklerinde rutin biyokimyasal parametreler olan açlık kan şekeri (AKŞ), tokluk kan şekeri (TKŞ), total kolesterol, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), trigliserit (TG) ve hemogloblin-A1c (HbA1c) ölçümleri yapılmıştır (Çizelge 3.2). Sağlıklı kontrollerde ise yaş ve cinsiyet kayıt edilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.2. Çalışmada yer alan hastaların bilgileri

T2D DNA NO	Yaş (Yıl)	Boy (cm)	Kilo (kg)	VKI (kg/m ²)	T2D Süresi (Ay)	T2DM Başlama Yaşı (Yıl)	HbA _{1c} (%)	AKŞ (mg/dl)	TKŞ (mg/dl)	TK (mg/dl)	HDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	TG (mg/dl)	Nefropati	Retinopati	Nöropati	Komplikasyonlar	Cinsiyet
1	61	169	78	27,60	108	52	9,8	175	209	193	36	123	167	-	-	-	-	E
2	49	163	76	28,61	84	42	9,7	253	289	224	31	145	236	+	+	-	+	K
3	58	159	73	28,88	132	47	7,3	134	204	181	40	94	234	+	+	-	+	K
4	65	161	81	31,25	192	49	7,2	168	290	258	49	175	167	+	-	-	-	K
5	87	154	73	28,61	144	75	7,55	155	180	214	43	135	178	-	-	-	-	K
6	87	158	76	28,88	312	61	6,5	105	87	204	54	117	161	+	-	-	-	K
7	63	157	71	31,25	144	47	8,7	146	187	134	47	45	207	+	-	-	-	K
8	45	156	71	28,61	120	35	5,9	109	89	199	44	120	172	-	-	-	-	K
10	47	165	71	26,08	60	42	5,6	137	137	182	41	119	137	-	-	-	-	E
11	69	173	74	24,73	12	68	5,1	114	149	219	49	145	122	-	-	-	-	E
12	51	172	78	26,37	84	44	6,5	113	135	148	50	88	49	+	-	-	-	E
13	57	161	77	29,71	144	45	7,1	98	147	155	51	68	180	-	-	-	-	K
14	69	170	78	26,99	84	59	6,5	122	123	157	38	104	73	+	-	-	-	E
16	66	156	67	27,53	96	58	5,5	131	184	174	38	91	223	+	-	-	-	K
17	71	174	79	26,09	132	60	7,0	153	191	174	30	97	241	+	-	-	-	E
18	53	160	67	26,17	12	52	5,8	118	120	160	40	90	152	+	-	-	-	K
19	56	159	71	28,08	120	44	6,7	116	156	188	61	109	88	+	-	+	-	K
20	77	161	69	26,62	144	65	8,1	162	404	248	44	159	222	+	-	+	-	K
21	56	177	80	25,54	84	49	7,2	135	114	218	40	143	171	+	-	-	-	E
22	48	161	69	26,62	84	41	5,8	114	81	161	38	93	149	+	-	-	-	K
23	47	163	67	25,22	144	35	6,9	184	192	229	45	151	165	-	-	-	-	E
24	57	159	71	28,08	120	47	6,3	123	177	148	38	90	99	+	-	-	-	K
26	57	160	69	26,95	108	48	8,3	172	274	258	42	154	310	+	-	-	-	K
28	67	158	70	28,04	168	53	6,9	181	152	150	33	95	108	+	-	-	-	K
29	43	163	82	30,86	120	33	7,2	154	270	227	45	142	174	+	-	-	-	K
30	61	169	73	25,56	108	52	7,7	166	118	197	29	100	336	+	-	-	-	E
31	68	174	79	26,09	144	56	6,3	124	99	147	44	78	121	-	-	-	-	E

Çizelge 3.2. (devam) Çalışmada yer alan hastaların bilgileri

T2D DNA NO	Yaş (Yıl)	Boy (cm)	Kilo (kg)	VKİ (kg/m ²)	T2D Süresi (Ay)	T2DM Başlama Yaşı (Yıl)	HbA _{1c} (%)	AKŞ (mg/dl)	TKŞ (mg/dl)	TK (mg/dl)	HDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	TG (mg/dl)	Nefropati	Retinopati	Nöropati	Komplikasyonlar	Cinsiyet
32	56	166	79	28,67	96	48	7,2	151	168	279	44	186	243	+	-	-	-	K
34	71	176	78	25,18	168	57	6,1	138	187	171	40	125	75	-	-	-	-	E
35	63	170	72	24,91	132	52	9,3	150	275	214	35	129	246	+	-	-	+	K
36	60	170	171	24,57	120	50	6,0	164	93	151	37	90	103	+	-	-	-	E
37	35	168	69	24,45	24	33	5,0	116	126	213	53	127	162	+	-	-	-	K
38	74	168	75	26,57	300	49	9,2	219	184	182	35	114	164	+	+	+	-	E
39	59	157	66	26,78	24	57	7,8	135	199	258	42	154	310	-	-	-	-	K
40	54	160	70	27,34	168	40	10,6	237	248	258	42	154	310	-	+	-	-	K
41	71	174	72	23,78	264	49	8,5	167	201	122	33	76	63	+	+	+	+	E
42	71	169	70	24,51	72	65	13,0	132	197	109	16	58	173	+	-	-	+	E
44	50	172	78	26,37	132	39	12,8	264	284	162	42	105	73	+	+	-	-	E
45	71	158	71	28,44	192	55	9,1	254	206	228	31	139	188	-	-	+	+	K
46	53	157	70	28,40	108	44	5,6	227	186	162	51	80	51	-	-	-	-	K
47	52	174	88	29,07	96	44	10,3	228	416	192	38	111	145	+	-	-	-	E
48	60	160	82	32,03	372	29	7,0	122	141	133	33	71	144	+	-	+	-	K
49	67	162	69	26,29	144	55	6,3	117	121	226	60	136	147	+	-	-	-	K
50	24	172	79	26,70	36	21	9,7	220	224	232	24	70	751	+	-	-	-	E
51	39	166	98	35,56	96	31	6,7	163	164	236	46	156	168	-	-	-	-	K
52	47	159	67	28,40	48	43	6,4	110	98	178	62	100	78	+	-	-	-	K
53	73	158	60	29,07	180	58	5,4	159	212	123	28	74	105	-	-	-	-	E
55	65	154	69	26,29	144	53	7,6	155	115	229	53	150	128	+	-	+	-	K
56	42	154	96	26,70	72	36	5,9	99	177	223	34	107	404	-	-	-	-	K
58	61	155	71	29,55	96	53	7,9	150	98	205	57	113	171	+	-	-	-	K
61	45	168	81	28,70	72	39	5,6	77	126	134	38	81	75	-	-	-	-	K
97	54	158	71	28,44	96	46	8,2	289	381	291	36	186	344	+	-	-	-	K
98	45	154	60	25,30	108	36	7,2	133	174	201	43	125	161	+	-	-	-	K
100	35	171	78	26,67	48	31	13,4	433	369	140	43	79	87	-	-	-	-	E

Çizelge 3.2. (devam) Çalışmada yer alan hastaların bilgileri

T2D DNA NO	Yaş (Yıl)	Boy (cm)	Kilo (kg)	VKI (kg/m ²)	T2D Süresi (Ay)	T2DM Başlama Yaşı (Yıl)	HbA _{1c} (%)	AKŞ (mg/dl)	TKŞ (mg/dl)	TK (mg/dl)	HDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	TG (mg/dl)	Nefropati	Retinopati	Nöropati	Komplikasyonlar	Cinsiyet
102	61	169	73	25,56	96	53	7,3	139	168	172	48	98	127	-	-	+	-	K
105	61	169	72	25,21	168	47	8,8	200	204	184	45	122	85	-	-	-	-	E
156	60	174	82	27,08	144	48	8,0	120	200	162	38	92	156	-	+	-	-	K
160	62	167	76	27,30	156	49	5,0	87	119	165	31	111	111	-	-	-	-	E
164	43	180	75	23,15	60	38	4,9	87	104	208	40	128	197	-	-	-	-	E
165	41	155	105	43,70	120	31	10,7	296	216	176	27	80	345	+	-	-	-	K
167	62	173	79	26,40	204	45	7,3	181	202	184	45	108	153	-	-	-	-	E
168	41	176	80	25,83	96	33	8,7	214	248	314	22	420	1273	-	-	-	-	E
171	68	168	72	25,51	108	59	7,6	183	206	181	27	115	193	-	-	-	-	E
172	44	170	80	27,68	72	38	5,1	92	110	226	40	115	354	-	-	-	-	E
173	58	171	79	27,02	108	49	4,9	137	149	172	37	110	123	-	-	-	-	E
174	37	163	69	25,97	36	34	6,4	150	179	140	28	74	186	-	-	-	-	K
176	65	160	71	27,73	84	58	5,8	138	151	142	45	76	104	-	-	-	-	K
177	59	161	76	29,32	120	49	12,4	107	79	184	66	101	85	-	-	-	-	K
178	58	162	72	27,43	156	45	6,2	119	136	160	48	85	131	-	-	-	-	K
179	46	157	68	27,59	24	44	6,1	83	116	269	38	191	200	-	-	-	-	K
180	52	157	67	27,18	1	52	6,0	107	137	203	69	139	151	-	-	-	-	K
283	59	176	84	27,12	72	53	7,2	163	147	197	49	118	146	+	-	-	-	E
414	49	163	116	43,7	180	34	8,0	164	135	173	44	101	142	-	-	+	+	K
437	47	177	107	34,15	1	47	6,5	141	280	233	46	146	204	+	-	+	-	E
445	63	165	74	27,2	76	56	4,8	110	108	190	43	115	156	-	-	-	+	E
446	56	165	90	33,05	168	42	7,3	188	162	176	34	106	178	+	-	+	+	E
447	54	162	62	23,62	1	54	5,7	108	218	224	43	154	131	-	-	-	-	K
448	56	161	98	37,81	84	49	5,9	107	159	140	41	58	204	-	-	-	+	K
449	66	170	85	29,42	180	51	7,6	176	298	167	22	111	167	-	+	-	-	E
450	65	178	86	27,14	240	45	7,1	133	163	206	39	135	157	-	-	-	-	E
451	54	177	85	27,13	48	50	10,9	230	297	212	32	125	271	+	-	-	-	E

Çizelge 3.2. (devam) Çalışmada yer alan hastaların bilgileri

T2D DNA NO	Yaş (Yıl)	Boy (cm)	Kilo (kg)	VKİ (kg/m ²)	T2D Süresi (Ay)	T2DM Başlama Yaşı (Yıl)	HbA _{1c} (%)	AKŞ (mg/dl)	TKŞ (mg/dl)	TK (mg/dl)	HDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	TG (mg/dl)	Nefropati	Retinopati	Nöropati	Komplikasyonlar	Cinsiyet
452	57	170	82	23,38	204	40	10,8	190	160	202	40	110	257	-	-	-	-	E
453	50	155	92,5	37,46	36	47	6,3	105	87	156	43	92	101	-	-	-	-	E
454	50	157	73	29,62	48	46	7,1	147	116	205	43	123	194	+	-	-	-	K
476	55	160	88	34,37	180	40	10	223	134	148	49	61,2	189	+	+	-	-	K
503	59	171	79	27,02	144	47	7,2	111	146	165	45	100	97	-	-	-	-	E
504	81	158	83	33,25	96	73	6,5	111	116	212	41	129	206	-	-	-	-	K
506	43	175	81	26,45	24	41	6,3	117	110	188	42	113	164	-	-	-	-	K
507	58	156	72	29,59	132	47	6,2	123	109	173	43	94	177	-	-	-	-	K
511	63	168	76	26,9	168	49	5,7	97	134	153	33	95	121	-	-	-	-	E
512	52	167	68	24,38	84	45	8,4	171	308	173	27	87	291	-	-	-	+	E
513	86	162	71	27,05	1	86	9,0	198	204	176	42	115	95	-	-	-	-	E
514	70	165	82	30,12	108	61	7,2	87	218	175	29	98	238	-	-	-	-	E
515	51	150	85	37,78	60	46	7,3	104	188	221	50	146	122	-	-	+	-	K
516	53	180	95	29,32	120	43	6,5	121	144	126	41	67	87	+	-	+	+	E
518	52	160	73	28,52	60	47	7,0	95	132	275	43	173	295	-	+	-	-	E

Çizelge 3.3. Çalışmada yer alan kontrollerin bilgileri

Kontrol Grubu DNA No	Cinsiyet	Yaş (Yıl)
113	K	81
115	K	53
119	K	31
120	E	41
121	K	41
122	K	45
125	K	55
127	K	37
146	E	46
147	K	12
152	E	56
159	E	28
161	K	31
170	E	33
175	K	24
182	E	17

Çizelge 3.3. (devam) Çalışmada yer alan kontrollerin bilgileri

Kontrol Grubu DNA No	Cinsiyet	Yaş (Yıl)
185	E	35
189	K	35
190	K	27
193	K	26
199	E	20
202	K	21
210	K	54
213	E	21
214	K	35
215	K	16
231	E	30
233	K	6
234	E	75
237	K	58
242	E	18
249	E	57
250	E	37
374	E	24
382	E	36
384	E	47
388	K	78
427	K	28
428	E	60
429	K	15
430	E	26
431	K	62
432	K	18
433	K	11
434	K	36
435	K	16
436	E	22
458	K	81
496	K	35
497	E	21
505	K	52

DNA eldesinde kullanılmak üzere tüm bireylerden 9 ml periferik kan, etik kurulun belirlediği ve onayladığı protokole uygun olarak alınmış olup bu tez kapsamında yapılan tüm deneysel çalışmalar, T.C. Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Periferik kandan DNA izolasyonu

Çalışma grubunu oluşturan T2D hastalarından 1ml 0,5 M EDTA'lı tüp içerisine 9 ml kan örneği alınmış ve iyice karıştırılmıştır. Alınan kan örneği 50 ml'lik falkon tüp içerisine aktarılmış ve 25 ml RBC lizis çözeltisi ile çalkalanarak renk iyice koyulaşınca kadar 20 dakika buz içerisinde bekletilmiştir. Soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant dökülmüş ve pellet üzerine tekrar 25 ml RBC lizis çözeltisi eklenmiştir. Bu işlem tüm eritrositler giderilene kadar tekrarlanmıştır. Dipte kalan lökositler üzerine 1000 µl RBC lizis çözeltisi eklenmiştir. Bu karışımın 800 µl'si ependorf tüpe alınarak stok olarak saklanmıştır. Geriye kalan 200 µl'lik karışım ependorf tüpe alınmış, üzerine 20 µg/ml olacak şekilde *proteinaz K*, son konsantrasyon %0,5 olacak şekilde %10'luk SDS ve lökosit hacminin 2,5 katı olacak şekilde STE eklenerek bir gece 56 °C'de sıcak su banyosunda bekletilmiştir. İkinci gün 1:1 oranında fenol: kloroform: izoamilalkol eklenerek 10 dakika elde iyice çalkalanmıştır. Çalkalama işlemi takiben 20 dakika buz içerisinde bekletilmiş ve +4 °C 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. İki faza ayrılan karışımın üst kısmı başka bir ependorf tüpüne alınmış ve üzerine toplam hacmin 1/10'u kadar 2M sodyum asetat ve toplam hacmin 2 katı kadar %95'lik etanol eklenmiştir. Tüp nazikçe çevrilerek DNA görünür hale getirildikten sonra -20 °C'de bir gece bekletilmiştir. Üçüncü gün +4 °C 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek DNA çöktürülmüştür. Süpernatant dökülerek tüpe 500 µl %70'lik etanol eklenmiş ve +4 °C 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda süpernatant dökülmüş ve tüp içerisinde alkol kokusu kalmayana kadar kurutulmaya bırakılmıştır. Kurutulduktan sonra tüp içerisine TE çözeltisi eklenip 37 °C'de bir gece bekletilerek DNA'nın çözülmesi sağlanmıştır. İzole edilen DNA +4 °C'de saklanmıştır.

3.2.2. DNA miktarının ölçülmesi

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nanometre (nm) dalga boyundaki ışığı maksimum düzeyde absorbe etmektedir. Bu dalga boyundaki absorpsiyon nükleik asitlerin miktarını göstermektedir. DNA'nın miktar ve saflığını belirlemek amacıyla her bir örnek spektrofotometrede 260 nm (DNA için) ve 280 nm (protein için) dalga boylarında ölçülerek belirlenmiştir. Optik dansite (OD) çift iplikli DNA için 50µg/ml'ye karşılık

gelmektedir. İzole edilen DNA çift iplikli oldukları için, miktarının belirlenmesinde 260 nm'deki absorpsiyon değeri 50 ile çarpılmıştır.

$$\text{DNA}(\mu\text{g/ml}) = 260 \text{ nm'deki OD} \times \text{seyreltme oranı} \times \text{katsayı}$$

260 nm OD ölçümünün 280 nm OD ölçümüne oranı DNA'da protein ya da RNA kontaminasyonu olup olmadığı hakkında bilgi vermektedir. Sağlıklı bir PZR analizi için OD 260 / OD 280 oranı 1,8 ile 2,0 arasında olmalıdır. OD'nin 2,0'nin üzerinde olması RNA kontaminasyonunu, 1,8'in altında olması da protein kontaminasyonunu göstermektedir.

İzole edilen DNA'ların spektrofotometrede konsantrasyonlarını ölçmek üzere 2 µl DNA çözeltisi 1698µl suya ilave edilerek 1/850 oranında seyreltilmiş ve DNA'ların absorbans değerleri 260 ve 280 nm dalga boylarında okunmuştur. Elde edilen değerlerin OD 260/OD 280 oranının 1,8 ile 2,0 arasında olmasına dikkat edilmiştir.

3.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu

Periferik kandan izole edilmiş genomik DNA'larda *NR3C1* geni ekzon 2 bölgesinde bulunan *BclI* ve *N363S* polimorfizmlerinin analizleri, Çizelge 3.1'de verilen uygun primer çiftleri kullanılarak PZR yöntemi ile belirlenmiştir.

NR3C1 geni *BclI* PZR işlemi için; 10 µl Taq tamponu, 1 µl dNTP, 4 µl MgCl₂, 1'er µl ileri ve geri primer, 5 µl kalıp DNA ve 0,5 µl Taq polimeraz enzimi ilave edilmiş ve reaksiyon hacmi distile su ile 50 µl'ye tamamlanarak PZR karışımı elde edilmiştir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. *NR3C1* geni *BclI* polimorfizmi PZR reaksiyon karışımı

PZR bileşeni	Hacim (µl)	Konsantrasyon
Tampon	10 µl	5X
dNTP	1,0 µl	200 µmol
MgCl ₂	4,0 µl	25 mM
İleri primer	1,0 µl	100 µmol
Geri primer	1,0 µl	100 µmol
Taq DNA polimeraz	0,5 µl	5 U/ µL
Genomik DNA	5,0 µl	10-50 ng/ml
Distile su	27,9 µl	
Toplam	50,0 µl	

Hazırlanan PZR karışımı, PZR cihazına (Biometra) yerleştirilip *NR3C1* geni *BclI* polimorfizmi için aşağıda verilen program kullanılmıştır (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. *NR3C1* geni *BclI* polimorfizmi için kullanılan PZR programı

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	95 °C	7 dakika	1
Denatürasyon	94 °C	1 dakika	40
Bağlanma	50 °C	1 dakika	
Uzama	72 °C	1 dakika	
Son uzama	72 °C	10 dakika	1

NR3C1 geni *N363S* PZR işlemi için; 5 µl Taq tamponu, 1 µl dNTP, 6 µl MgCl₂, 0,6'şar µl ileri ve geri primer, 5 µl kalıp DNA ve 0,2 µl Taq polimeraz enzimi ilave edilmiş ve reaksiyon hacmi distile su ile 50 µl'ye tamamlanarak PZR karışımı elde edilmiştir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. *NR3C1* geni *N363S* polimorfizmi PZR reaksiyon karışımı

PZR bileşeni	Hacim (µl)	Konsantrasyon
Tampon	5,0 µl	10X
dNTP	1,0 µl	200 µmol
MgCl ₂	6,0 µl	25 mM
İleri primer	0,6 µl	10 µmol
Geri primer	0,6 µl	10 µmol
Taq DNA polimeraz	0,2 µl	5 U/ µL
Genomik DNA	5,0 µl	10-50 ng/ml
Distile su	27,6 µl	
Toplam	50,0 µl	

Hazırlanan PZR karışımı, PZR cihazına (Biometra) yerleştirilip *NR3C1* geni *N363S* polimorfizmi için aşağıda verilen program kullanılmıştır (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. *NR3C1* geni *N363S* polimorfizmi için kullanılan PZR programı

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	96 °C	5 dakika	1
Denatürasyon	95 °C	30 saniye	35
Bağlanma	54 °C	30 saniye	
Uzama	72 °C	30 saniye	
Son uzama	72 °C	7 dakika	1

3.2.4. Agaroz jel elektroforezi

PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. %2'lik agaroz jel hazırlamak için 1,1 gr agaroz, 55 ml TAE tamponuna karıştırılmıştır. Kap, mikrodalga fırın içinde agaroz partikülleri tamamen homojen hale gelene kadar kaynatılmış ve oda sıcaklığında biraz bekletildikten sonra son hacmi 0,5 µg/ml olacak şekilde etidyum bromür ilave edilmiştir. DNA yükleme kuyucukları oluşturmak için elektroforez jel dökme tabağına tarak yerleştirilmiştir. Erimiş agaroz 55 °C'ye kadar soğutulduktan sonra tarak yerleştirilmiş jel tabağına dökülmüştür. Polimerizasyon için oda sıcaklığında yaklaşık 45 dakika beklenmiştir. Jelin polimerizasyonundan sonra jel tabağı elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Elektroforez tankı TAE 1X tamponu ile jelin üstü kapanacak şekilde doldurulmuştur. Jelde yüklenen örnekler 70 V'ta 25-30 dakika yürütülmüştür. Yürütme işleminin sonunda NR3C1 geni PZR ürünlerinin görüntülenmesi DNA görüntüleme cihazında (Biometra BioDoc Analyze, Goettingen, Germany), UV ışık altında yapılmıştır. Jellerin fotoğrafları dijital olarak bilgisayar ortamında çekilmiştir.

3.2.5. Restriksiyon enzimleri ile kesim

Elde edilen PZR ürünleri restriksiyon enzimleri ile kesilmiştir. Bu kesimlerle ilgili bilgiler Çizelge 3.8'de verilmiştir.

Çizelge 3.8. NR3C1 geni *BclI* ve N363S polimorfizmleri PZR ürünlerinin kesimleri için kullanılan restriksiyon enzimleri

Polimorfizm	Restriksiyon Enzimi	Enzim Çalışma Sıcaklığı (°C)	Enzimin Tanıma Bölgesi	Kesim Sonrası Elde Edilen Parçaların Büyüklüğü (bp)
<i>BclI</i>	<i>BclI</i>	37	5'...T↓GATCA...3' 3'...ACTAG↑T...5'	CC genotip: 284+177 bp CG genotip: 418+284+177 bp GG genotip: 418 bp
N363S	<i>TspI</i> (Tsp5091)	37	5'...↓AATT...3' 3'...TTAA↑...5'	AAT genotip: 135+95+19 bp AGT genotip: 154+95 bp

BclI polimorfizmi PZR ürünlerinin *BclI* restriksiyon enzimi ile kesimi

Çizelge 3.9'da belirtilen reaksiyon içeriğine sahip tüpler buz üzerinde hazırlandı ve 37°C'de inkübatörde 20 saat kesime tabi tutuldu. Kesim sonrası ürünler, %2,5'luk agaroz

jelde 100 bç'lik moleküler ağırlık belirteci eşliğinde 40 dakika 70 volt sabit akımda yürütülmüş ve dijital görüntüleme sistemi ile değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.9. *BclI* kesim reaksiyon içeriği

Reaksiyon içeriği	Miktarı (µl)	Konsantrasyon
PZR ürünü	8,5 µl	0,2 µg DNA
Tampon	1 µl	10X
<i>BclI</i> enzim	0,5 µl	10U/µl

N363S polimorfizmi PZR ürünlerinin *TasI* (*Tsp5091*) restriksiyon enzimi ile kesimi

Çizelge 3.10'da belirtilen reaksiyon içeriğine sahip tüpler buz üzerinde hazırlandı ve 37 °C'de inkübatörde 16 saat kesime tabi tutuldu. Kesim sonrası ürünler, %2,5'luk agaroz jelde 100 bç'lik moleküler ağırlık belirteci eşliğinde 40 dakika 70 volt sabit akımda yürütülmüş ve dijital görüntüleme sistemi ile değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.10. *N363S* kesim reaksiyon içeriği

Reaksiyon içeriği	Miktarı (µl)	Konsantrasyon
PZR ürünü	8,7 µl	0,2 µg DNA
Tampon	1 µl	10 X
<i>TasI</i> enzim	0,3 µl	10U/µl

3.2.6. İstatistiksel analiz

Çalışmanın istatistiksel analizi için IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılmıştır. Veriler değerlendirilirken kategorik değişkenler için frekans dağılımları, sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler (ortalama±standard sapma) verilmiştir. Sayısal değişkenler için normallik varsayımını sağlayıp sağlamadığına bakılmış, normallik varsayımını sağlayan değişkenlere parametrik testler, normallik varsayımını sağlamayan değişkenlere ise parametrik olmayan testler uygulanmıştır. İki bağımsız grup arasında fark olup olmadığına Bağımsız Örneklem T testi ve Mann Whitney U testi ile bakılmıştır. İki'den fazla bağımsız grup arasında fark olup olmadığına tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Kruskal Wallis testi ile bakılmıştır. İki kategorik değişken arasında ilişki olup olmadığına Ki-Kare testi ile bakılmıştır. Gruplar arası risk etkeninin belirlenmesi için Odds oranı (OR) ve % 95 güven aralığı (% 95 GA) verilmiştir. Allel frekansı hesaplamalarında gen sayma yöntemi kullanılmıştır.

4. DENEYSEL BULGULAR

4.1. Klinik ve Laboratuvar Bulguları

4.1.1. *Glukokortikoid reseptör geni BclI (rs41423247) polimorfizmi T2D hastaları ve sağlıklı kontrollerin klinik ve laboratuvar bulguları*

Çalışma kapsamında 85 T2D hastası ile 31 diyabet hastası olmayan sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam 116 birey yer almıştır. T2D grubu içerisinde en sık rastlanan komplikasyon nefropati (%44,7) olup bunu nöropati (%14,1), retinopati (%11,8) ve diğer komplikasyonların (%11,8) takip ettiği görülmüştür (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. *Glukokortikoid reseptör geni BclI* polimorfizmi T2D’li hasta ve kontrol grubu dağılımları

Bireyler	Sayısal Bilgiler
T2D’li Hasta	85
- Nefropati - Retinopati - Nöropati - Diğer komplikasyonlar	38 (%44,7) 10 (%11,8) 12 (%14,1) 10 (%11,8)
Kontrol	31

T2D hastalarının klinik ve laboratuvar bulgularının ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. *Glukokortikoid reseptör geni BclI* polimorfizmi T2D’li hastaların klinik ve laboratuvar bulguları

Değişkenler	Ortalama ± Standart Sapma
Yaş (yıl)	57,21±11,627
Boy (cm)	164,65±7,057
Kilo (kg)	78,84±16,721
VKİ (kg/m ²)	28,05±3,661
T2DM Süre (ay)	116,84±68,455
T2DM Başlama Yaşı (yıl)	47,37±10,438
HbA1c (%)	7,44±1,877
AKŞ (mg/dl)	152,08±55,611
TKŞ (mg/dl)	175,98±68,204
TK (mg/dl)	190,15±40,302
HDL (mg/dl)	41,21±9,657
LDL (mg/dl)	115,74±45,064
TG (mg/dl)	186,58±153,909

T2D olmayan sağlıklı kontrollere ait klinik ve laboratuvar bulgularının ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. *Glukokortikoid reseptör* geni *BclII* polimorfizmi kontrol grubunun klinik ve laboratuvar bulguları

Değişkenler	Ortalama $\pm$ Standart Sapma
Yaş (yıl)	38,61 $\pm$ 19,830

4.1.2. *Glukokortikoid reseptör* geni *N363S* (rs6195) polimorfizmi T2D hastaları ve sağlıklı kontrollerin klinik ve laboratuvar bulguları

Çalışma kapsamında 82 T2D hastası ile 45 diyabet hastası olmayan sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam 127 birey yer almıştır. T2D grubu içerisinde en sık rastlanan komplikasyon nefropati (%45,1) olup bunu nöropati (%12,2), retinopati (%8,5) ve diğer komplikasyonların (%9,8) takip ettiği görülmüştür (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *Glukokortikoid reseptör* geni *N363S* polimorfizmi T2D’li hasta ve kontrol grubu dağılımları

Bireyler	Sayısal Bilgiler
T2D’li Hasta	82
• Nefropati • Retinopati • Nöropati • Diğer komplikasyonlar	37 (%45,1) 8 (%9,8) 10 (%12,2) 8 (%9,8)
Kontrol	45

T2D hastalarının klinik ve laboratuvar bulgularının ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. *Glukokortikoid reseptör* geni N363S polimorfizmi T2D’li hastaların klinik ve laboratuvar bulguları

Değişkenler	Ortalama ± Standart Sapma
Yaş (yıl)	57,50±11,928
Boy (cm)	165,00±7,252
Kilo (kg)	77,34±13,721
VKİ (kg/m ²)	28,00±3,298
T2DM Süre (ay)	115,37±68,497
T2DM Başlama Yaşı (yıl)	47,78±10,5804
HbA1c (%)	7,45±1,780
AKŞ (mg/dl)	155,93±57,149
TKŞ (mg/dl)	183,95±75,362
TK (mg/dl)	192,82±40,479
HDL (mg/dl)	41,04±9,380
LDL (mg/dl)	117,35±45,500
TG (mg/dl)	193,45±156,355

T2D olmayan sağlıklı kontrollere ait klinik ve laboratuvar bulgularının ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *Glukokortikoid reseptör* geni N363S polimorfizmi kontrol grubunun klinik ve laboratuvar bulguları

Değişkenler	Ortalama ± Standart Sapma
Yaş (yıl)	35,22±18,314

4.2. Moleküler Genetik Analiz Bulguları

4.2.1. DNA izolasyon sonuçları

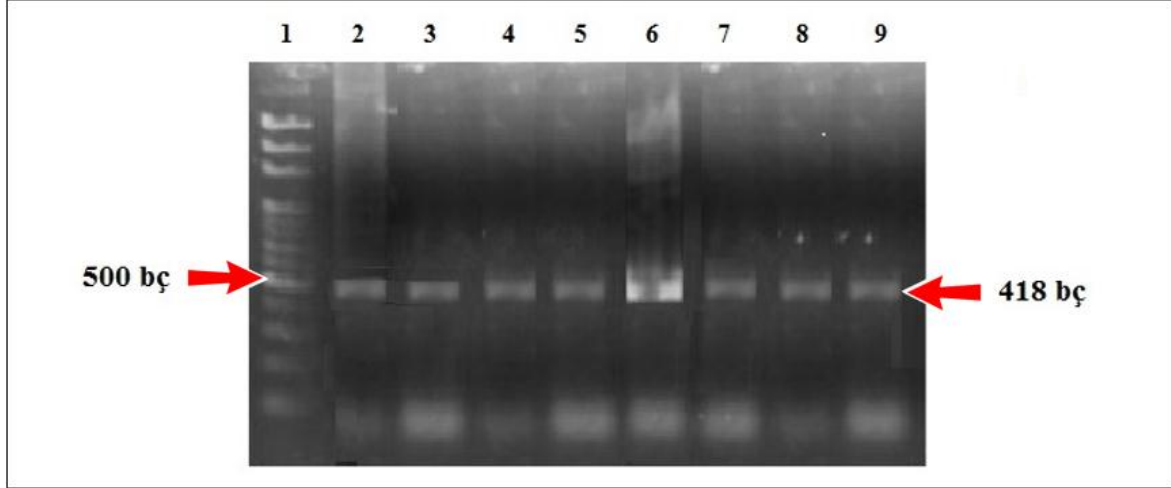
Çalışmaya alınan 96 diyabetli ve 51 sağlıklı olmak üzere toplam 147 bireyin kanından elde edilen DNA’ların saflık ve konsantrasyon tayini için ölçümler spektrofotometre cihazında 260 ve 280 nm dalga boylarında yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre saflık derecesini gösteren 260/280 oranının 1,8 ile 2,0 arasında yoğunlaştığı görüldü.

4.2.2. PZR ve RFLP sonuçları

BclI polimorfizmi PZR-RFLP bulguları

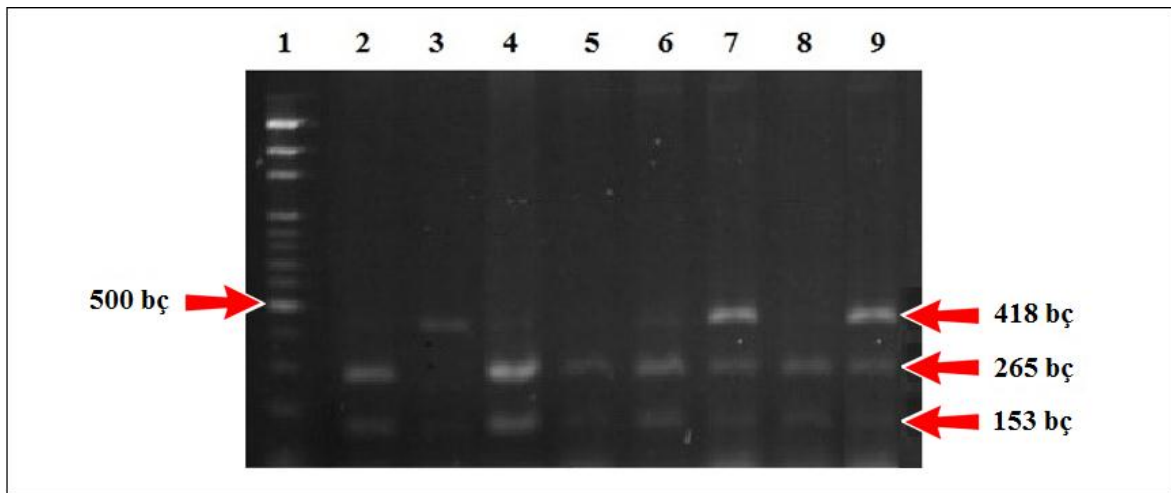
NR3C1 geni ekzon 2’den sonraki 646. nükleotid olan sitozinin (C) guanine (G) değişimi sonucu ortaya çıkan *BclI* polimorfizmini içeren gen bölgesi materyal metot bölümünde Çizelge 3.1’de dizisi verilen uygun primerler kullanılarak PZR yöntemi ile çoğaltılmıştır.

NR3C1 geni *BclI* polimorfizminin genotiplendirmesi doğrudan PZR sonrasında gerçekleştirilen agaroz jel elektroforezi yöntemi ile yapılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri moleküler ağırlık belirteci varlığında %2'lik agaroz jelde yürütülmüş ve ürün büyüklüğü 418 bp olarak gözlenmiştir (Resim 4.1).



Resim 4.1. *BclI* polimorfizmi PZR sonucu (1. kuyucuk: Moleküler ağırlık belirteci; 2., 3., 4. ve 5. kuyucuk: Tip 2 diyabet hastalarına ait PZR görüntüsü; 6., 7., 8. ve 9. kuyucuk: Sağlıklı bireylere ait PZR ürün görüntüsü)

PZR sonrası yapılan RFLP sonucunda, GG genotipli bireylerde 418 bp'lık tek bant, CC genotipli bireylerde 265 ve 153 bp'lık iki bant, heterozigot (CG) bireylerde ise 418, 265 ve 153 bp olmak üzere üç bant gözlemlendi (Resim 4.2).

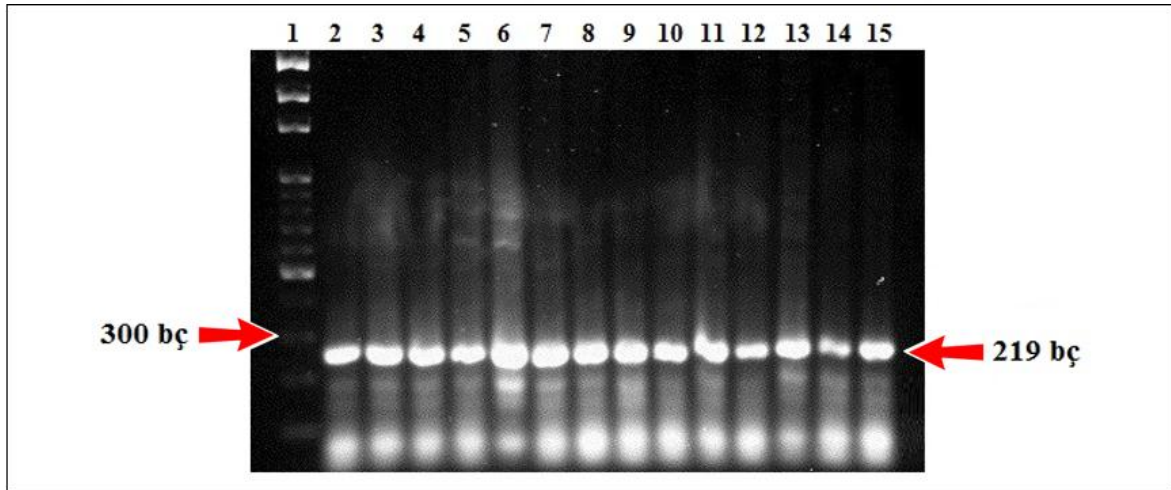


Resim 4.2. *BclI* polimorfizmi RFLP sonucu (1. kuyucuk: Moleküler ağırlık belirteci; 3. kuyucuk: Homozigot GG (418 bp) genotip; 2., 4., 5., 8. ve 9. kuyucuk: Homozigot CC (265+153 bp) genotip; 6. ve 7. kuyucuk: Heterozigot GC (418+265+153 bp) genotip)

N363S polimorfizmi PZR-RFLP bulguları

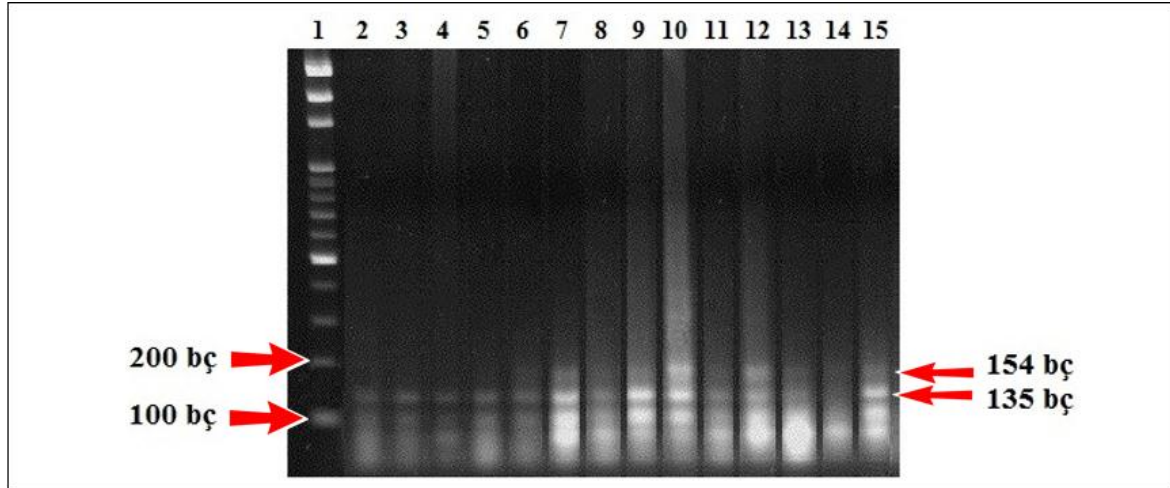
NR3C1 geni ekzon 2'den sonraki 646. nükleotid olan sitozinin (C) guanine (G) değişimi sonucu ortaya çıkan N363S polimorfizmini içeren gen bölgesi materyal metot bölümünde Çizelge 3.1'de dizisi verilen uygun primerler kullanılarak PZR yöntemi ile çoğaltılmıştır.

NR3C1 geni N363S polimorfizminin genotiplendirmesi doğrudan PZR sonrasında gerçekleştirilen agaroz jel elektroforezi yöntemi ile yapılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri moleküler ağırlık belirteci varlığında %2'lik agaroz jelde yürütülmüş ve ürün büyüklüğü 219 bp olarak gözlenmiştir (Resim 4.3).



Resim 4.3. N363S polimorfizmi PZR sonucu (1. kuyucuk: Moleküler ağırlık belirteci; 2., 3., 4., 5., 6., 7. ve 8. kuyucuk: Tip 2 diyabet hastalarına ait PZR ürün görüntüsü; 9., 10., 11., 12., 13., 14. ve 15. kuyucuk: Sağlıklı bireylere ait PZR görüntüsü)

PZR sonrası yapılan RFLP sonucunda, AAT (Asn) genotipli yabanıl tip homozigot Asn363Asn bireylerde 135, 95 ve 19 bp'lik üç bant, AGT (Ser) genotipli heterozigot polimorfik allel taşıyan bireylerde 154 ve 95 bp'lik iki bant gözlemlendi. 19 bp'lik bant agaroz jelde görülemediği için değerlendirme 154 ve 135 bp'lik bantların varlığına göre yapılmıştır (Resim 4.4).



Resim 4.4. *N363S* polimorfizmi RFLP sonucu (1. kuyucuk: Moleküler ağırlık belirteci; 2., 3., 4., 5., ve 14. kuyucuk: Doğal tip, AAT (135+95+19 bç) genotip; 6., 7., 8., 9., 10., 11., 12., 13., 14. ve 15. kuyucuk: Polimorfik tip, AGT (154+95 bç) genotip)

4.2.3. Genotip ve allel bulguları

BclI polimorfizmi için genotip bulguları

Yapılan RFLP analizleri sonucunda T2D’li hasta ve kontrol grubundaki CC homozigot, CG heterozigot ve GG homozigot genotipli bireyler Çizelge 4.7’de gösterilip sayıları Çizelge 4.8’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.7. T2D’li hasta ve kontrol grubu genotip sonuçları

Hastalar								Kontroller					
DNA NO	Genotip	DNA NO	Genotip	DNA NO	Genotip	DNA NO	Genotip	DNA NO	Genotip	DNA NO	Genotip	DNA NO	Genotip
1	CC	17	CC	36	CG	51	CG	168	CG	449	CC	113	GG
2	GG	18	CC	37	CG	52	GG	171	CG	450	CC	115	GG
3	CG	19	GG	38	CG	55	CG	172	CG	452	CG	119	GG
4	CG	20	CG	39	CG	56	CC	173	CG	453	CG	120	GG
5	CG	21	CG	40	CG	58	CG	174	CG	454	CC	121	GG
6	CG	23	CG	41	CG	61	CC	176	CG	476	CG	122	GG
7	CG	24	CG	42	CG	98	CG	177	CG	503	CC	125	GG
8	CC	26	GG	44	CG	100	CG	178	GG	511	CC	127	GG
10	CC	28	GG	45	CG	102	CG	179	CC	512	CG	146	GG
11	CC	29	CG	46	CG	156	CC	180	CG	513	CC	147	GG
12	CC	30	CG	47	CG	160	CC	414	CC	514	CG	152	GG
13	CC	31	CC	48	CG	164	GG	445	CG	515	CG	159	CG
14	CC	32	CC	49	CC	165	CG	446	CC	516	CC	161	GG
16	CC	34	CG	50	CC	167	CC	447	GG	518	CG	170	GG

Çizelge 4.8. T2D’li hasta ve kontrol grubunda CC homozigot, CG heterozigot ve GG homozigot genotipe sahip birey sayıları

Genotipler	Hasta (n=85)	Kontrol (n=31)	p
CC	29 (%34,1)	7 (%22,6)	0,000
CG	48 (%56,5)	2 (%6,5)	
GG	8 (%9,4)	22 (%70,9)	

Bu sonuçlara göre, uygulanan Ki-Kare testi sonucunda hasta ve kontroller arasında CC, CG ve GG genotipleri görülme oranı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,05$). CC genotipinin hasta grubunda yüksek olduğu (%34,1) gözlenmiştir. Hasta grubunda CG genotipinin görülme oranı (%56,5) kontrol grubunda görülme oranına (%6,5) göre anlamlı derecede daha yüksektir. GG genotipinin kontrol grubunda görülme oranı (%70,9) hasta grubunda görülme oranına (%9,4) göre anlamlı derecede daha yüksektir.

Diyabetlilerde genotip dağılımlarına göre klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

Yapılan analizler sonucunda T2D'li hastalarda genotip dağılımlarına göre klinik ve laboratuvar bulguları karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. T2D'li hastalarda genotip dağılımlarına göre klinik ve laboratuvar bulguları

Parametreler	CC	CG	GG	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	
Yaş (yıl)	55,08±15,854	56,06±14,220	42,47±17,039	0,001
Boy (cm)	166,79±6,992	163,65±6,920	162,88±7,140	0,125
Kilo (kg)	82,72±19,009	77,93±16,085	70,25±4,464	0,009
VKİ (kg/m ²)	28,09±3,410	28,24±4,002	26,79±2,167	0,827
T2DM Süre (ay)	110,10±61,466	124,85±73,909	93,13±56,324	0,617
T2DM Başlama Yaşı (yıl)	48,24±11,716	47,08±10,369	45,88±5,489	0,821
HbA1c (%)	6,82±1,235	7,92±2,126	6,85±1,512	0,031
AKŞ (mg/dl)	133,24±36,293	164,94±62,383	143,25±54,954	0,050
TKŞ (mg/dl)	156,48±44,539	187,35±77,184	178,38±73,617	0,260
TK (mg/dl)	183,76±36,780	192,58±43,075	198,75±36,441	0,536
HDL (mg/dl)	39,86±7,904	41,40±10,297	45,00±11,539	0,408
LDL (mg/dl)	108,90±29,677	118,96±54,277	121,25±27,670	0,453
TG (mg/dl)	176,38±129,679	197,19±176,181	159,88±81,010	0,611

CC genotipine sahip bireylerin yaş ortalaması 55,08 iken CG genotipine sahip bireylerin yaş ortalaması 56,06 ve GG genotipine sahip bireylerin yaş ortalaması ise 42,47'dir. Uygulanan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonucunda, genotip çeşitleri arasında yaş ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Buna göre GG genotipine sahip bireylerin yaş ortalaması diğer genotiplere sahip bireylere göre anlamlı derecede daha düşüktür.

CC genotipine sahip bireylerin boy ortalaması 166,79 iken CG genotipine sahip bireylerin boy ortalaması 163,65 ve GG genotipine sahip bireylerin boy ortalaması ise 162,88'dir. Uygulanan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonucunda, genotip çeşitleri arasında boy ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

CC genotipine sahip bireylerin kilo ortalaması 82,72 iken CG genotipine sahip bireylerin kilo ortalaması 77,93 ve GG genotipine sahip bireylerin kilo ortalaması ise 70,25'dir. Uygulanan Kruskal Wallis testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında kilo ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Buna göre CC

genotipine sahip bireylerin kilo ortalaması GG genotipine sahip bireylere göre anlamlı derecede daha yüksektir.

CC genotipine sahip bireylerin VKİ ortalaması 28,09 iken CG genotipine sahip bireylerin VKİ ortalaması 28,24 ve GG genotipine sahip bireylerin VKİ ortalaması ise 26,79'dur. Uygulanan Kruskal Wallis testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında VKİ ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

CC genotipine sahip hastaların T2DM süre ortalaması 110,10 iken CG genotipine sahip hastaların T2DM süre ortalaması 124,85 ve GG genotipine sahip hastaların T2DM süre ortalaması ise 93,13'tür. Uygulanan Kruskal Wallis testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında T2DM süre ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

CC genotipine sahip bireylerin T2DM başlama yaş ortalaması 48,24 iken CG genotipine sahip bireylerin T2DM başlama yaş ortalaması 47,08 ve GG genotipine sahip bireylerin T2DM başlama yaş ortalaması ise 45,88'dir. Uygulanan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonucunda, genotip çeşitleri arasında T2DM başlama yaşı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

CC genotipine sahip hastaların HbA1c ortalaması 6,82 iken CG genotipine sahip hastaların HbA1c ortalaması 7,92 ve GG genotipine sahip hastaların HbA1c ortalaması ise 6,85'dir. Uygulanan Kruskal Wallis testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında HbA1c ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Buna göre CG genotipine sahip hastaların HbA1c ortalaması CC genotipine sahip hastalara göre anlamlı derecede daha yüksektir.

CC genotipine sahip hastaların AKŞ ortalaması 133,24 iken CG genotipine sahip hastaların AKŞ ortalaması 164,94 ve GG genotipine sahip hastaların AKŞ ortalaması ise 143,25'dir. Uygulanan Kruskal Wallis testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında AKŞ ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Buna göre CG genotipine sahip hastaların AKŞ ortalaması CC genotipine sahip hastalara göre anlamlı derecede daha yüksektir.

CC genotipine sahip hastaların TKŞ ortalaması 156,48 iken CG genotipine sahip hastaların TKŞ ortalaması 187,35 ve GG genotipine sahip hastaların TKŞ ortalaması ise 178,38'dir. Uygulanan Kruskal Wallis testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında TKŞ ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

CC genotipine sahip bireylerin TK ortalaması 183,76 iken CG genotipine sahip bireylerin TK ortalaması 192,58 ve GG genotipine sahip bireylerin TK ortalaması ise 198,75'dir. Uygulanan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonucunda, genotip çeşitleri arasında TK ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

CC genotipine sahip hastaların HDL ortalaması 39,86 iken CG genotipine sahip hastaların HDL ortalaması 41,40 ve GG genotipine sahip hastaların HDL ortalaması ise 45,00'dir. Uygulanan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonucunda, genotip çeşitleri arasında HDL ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

CC genotipine sahip hastaların LDL ortalaması 108,90 iken CG genotipine sahip hastaların LDL ortalaması 118,96 ve GG genotipine sahip hastaların LDL ortalaması ise 121,25'dir. Uygulanan Kruskal Wallis testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında LDL ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

CC genotipine sahip hastaların TG ortalaması 176,38 iken CG genotipine sahip hastaların TG ortalaması 197,19 ve GG genotipine sahip hastaların TG ortalaması ise 159,88'dir. Uygulanan Kruskal Wallis testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında TG ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Diyabet hastalarında komplikasyonların görülme durumları ile genotipler arasındaki ilişki incelenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. T2D hastalarında görülen komplikasyonlar ile genotipleri arasındaki ilişki

Komplikasyonlar	CC		CG		GG		p
	VAR	YOK	VAR	YOK	VAR	YOK	
Nefropati	11 (%37,9)	18 (%62,1)	22 (%45,8)	26 (%54,2)	5 (%62,5)	3 (%37,5)	0,451
Retinopati	2 (%6,9)	27 (%93,1)	7 (%14,6)	41 (%85,4)	1 (%12,5)	7 (%87,5)	0,573
Nöropati	3 (%10,3)	26 (%89,7)	8 (%16,7)	40 (%83,3)	1 (%12,5)	7 (%87,5)	0,729
Diğer komplikasyonlar	3 (%10,3)	26 (%89,7)	6 (%12,5)	42 (%87,5)	1 (%12,5)	7 (%87,5)	0,957

T2D hastalarında komplikasyonlar görülme durumları ile genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$).

BclI polimorfizmi için allel bulguları

T2D'li kadın ve erkek hastalar arasında allellerin görülme yüzdeleri bakımından inceleme yapılmıştır (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. T2D'li kadın ve erkek hastalar arasında allellerin görülme yüzdeleri

Alleller	KADIN	ERKEK	p
C	64 (%53,3)	56 (%46,7)	0,874
G	26 (%52,0)	24 (%48,0)	

T2D'li kadın ve erkek hastalar arasında allellerin görülme yüzdeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Yapılan analizler sonucunda T2D'li hasta ve kontrol gruplarında allel dağılımları incelenmiştir (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. T2D'li hasta ve kontrol gruplarında allel dağılımları

Alleller	Hasta	Kontrol	OR	%95 GA	χ^2	p
C	106 (%86,9)	16 (%13,1)	4,762	2,491 – 9,103	24,337	0,000
G	64 (%58,2)	46 (%41,8)	1			

Çizelgeye göre, hasta ve kontrol grupları ile C ve G allelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p<0,05$). C alleli hasta grubunda kontrol grubuna göre daha fazla görülmektedir. C alleli hastalık açısından risk faktörü olarak bulunmuştur. C alleli diyabet hastalığını 4,762 kat arttırmaktadır.

Çizelge 4.13. T2D’li hasta ve kontrol grubu genotip sonuçları

Hastalar										Kontroller					
DNA No Genotip		DNA No Genotip		DNA No Genotip		DNA No Genotip		DNA No Genotip		DNA No Genotip		DNA No Genotip		DNA No Genotip	
1	AAT	22	AAT	45	AAT	156	AGT	447	AAT	113	AGT	190	AGT	431	AGT
2	AAT	23	AAT	46	AAT	164	AAT	448	AGT	115	AGT	193	AAT	432	AGT
3	AAT	24	AAT	47	AGT	165	AGT	449	AGT	119	AGT	199	AGT	433	AAT
4	AGT	26	AAT	48	AAT	167	AGT	450	AGT	120	AGT	214	AGT	434	AGT
5	AGT	28	AGT	49	AGT	168	AGT	451	AGT	121	AGT	215	AAT	435	AAT
6	AGT	29	AGT	50	AAT	171	AGT	452	AGT	122	AGT	231	AGT	436	AAT
7	AGT	30	AGT	51	AAT	172	AGT	453	AAT	125	AAT	233	AAT	458	AAT
8	AAT	31	AGT	52	AGT	173	AAT	503	AGT	127	AGT	234	AAT	496	AGT
10	AGT	32	AAT	53	AAT	174	AGT	504	AGT	147	AAT	237	AGT	497	AGT
11	AGT	34	AGT	55	AGT	176	AGT	506	AGT	152	AGT	242	AAT		
12	AGT	35	AAT	56	AAT	177	AGT	507	AGT	159	AGT	249	AGT		
13	AGT	36	AAT	58	AGT	178	AGT	512	AAT	161	AGT	250	AGT		
14	AGT	38	AGT	61	AAT	179	AGT	513	AAT	170	AGT	374	AAT		
17	AGT	39	AGT	97	AGT	180	AGT	514	AGT	175	AAT	382	AAT		
19	AGT	40	AGT	98	AGT	283	AGT			182	AGT	384	AAT		
20	AGT	41	AGT	100	AGT	437	AAT			185	AAT	429	AAT		
21	AAT	44	AAT	102	AAT	446	AGT			189	AGT	430	AAT		

Çizelge 4.14. T2D’li hasta ve kontrol grubunda AAT ve AGT genotipe sahip birey sayıları

Genotipler	Hasta (n=82)	Kontrol (n=45)	p
AAT	29 (%35,4)	18 (%40,0)	0,268
AGT	53 (%64,6)	27 (%60,0)	

Bu sonuçlara göre hastaların AAT genotipinde olma oranı %35,4 iken AGT genotipinde olma oranı ise %64,6’dır. Kontrol grubunun AAT genotipinde olma oranı %40,0 iken AGT genotipinde olma oranı ise %60,0’dır. Uygulanan Ki-Kare testi sonucunda hasta ve kontrol grubu arasında AAT ve AGT genotipi bulunma durumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Diyabetlilerde genotip dağılımlarına göre klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

Yapılan analizler sonucunda T2D’li hastalarda genotip dağılımlarına göre klinik ve laboratuvar bulguları karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.15.).

Çizelge 4.15. T2D’li hastalarda genotip dağılımlarına göre klinik ve laboratuvar bulguları

Parametreler	AAT	AGT	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	
Yaş (yıl)	44,89±19,645	52,38±16,417	0,023
Boy (cm)	164,86±6,999	165,08±7,452	0,900
Kilo (kg)	79,95±20,414	76,68±8,064	0,797
VKİ (kg/m ²)	27,88±3,339	28,07±3,306	0,727
T2DM Süre (ay)	102,72±69,932	122,28±67,359	0,099
T2DM Başlama Yaşı (yıl)	45,41±11,550	49,08±9,884	0,135
HbA1c (%)	7,26±1,841	7,56±1,754	0,273
AKŞ (mg/dl)	156,38±50,198	155,68±61,077	0,652
TKŞ (mg/dl)	186,31±66,395	182,66±80,426	0,396
TK (mg/dl)	193,17±40,116	192,62±41,057	0,954
HDL (mg/dl)	38,72±6,502	42,30±10,473	0,099
LDL (mg/dl)	114,86±30,894	118,72±52,015	0,988
TG (mg/dl)	190,45±133,587	195,09±168,712	0,869

AAT genotipine sahip bireylerin yaş ortalaması 44,89 iken AGT genotipine sahip bireylerin yaş ortalaması ise 52,38’dir. Uygulanan bağımsız örneklem t testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında yaş ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). Buna göre AGT genotipine sahip bireylerin yaş ortalaması AAT genotipine sahip bireylere göre anlamlı derecede daha yüksektir.

AAT genotipine sahip bireylerin boy ortalaması 164,86 iken AGT genotipine sahip bireylerin boy ortalaması ise 165,08'dir. Uygulanan bağımsız örneklem t testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında boy ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin kilo ortalaması 79,95 iken AGT genotipine sahip bireylerin kilo ortalaması ise 76,68'dir. Uygulanan Mann Whitney U testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında kilo ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin VKİ ortalaması 27,88 iken AGT genotipine sahip bireylerin VKİ ortalaması ise 28,07'dir. Uygulanan Mann Whitney U testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında VKİ ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin T2DM süre ortalaması 102,72 iken AGT genotipine sahip bireylerin T2DM süre ortalaması ise 122,28'dir. Uygulanan Mann Whitney U testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında T2DM süre ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin T2DM başlama yaş ortalaması 45,41 iken AGT genotipine sahip bireylerin T2DM başlama yaş ortalaması ise 49,08'dir. Uygulanan bağımsız örneklem t testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında T2DM başlama yaşı ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin HbA1c ortalaması 7,26 iken AGT genotipine sahip bireylerin HbA1c ortalaması ise 7,56'dır. Uygulanan Mann Whitney U testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında HbA1c ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin AKŞ ortalaması 156,38 iken AGT genotipine sahip bireylerin AKŞ ortalaması ise 155,68'dir. Uygulanan Mann Whitney U testi sonucunda,

genotip çeşitleri arasında AKŞ ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin TKŞ ortalaması 186,31 iken AGT genotipine sahip bireylerin TKŞ ortalaması ise 182,66'dır. Uygulanan Mann Whitney U testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında TKŞ ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin TK ortalaması 193,17 iken AGT genotipine sahip bireylerin TK ortalaması ise 192,62'dir. Uygulanan bağımsız örneklem t testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında TK ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin HDL ortalaması 38,72 iken AGT genotipine sahip bireylerin HDL ortalaması ise 42,30'dur. Uygulanan bağımsız örneklem t testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında HDL ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin LDL ortalaması 114,86 iken AGT genotipine sahip bireylerin LDL ortalaması ise 118,72'dir. Uygulanan Mann Whitney U testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında LDL ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

AAT genotipine sahip bireylerin TG ortalaması 190,45 iken AGT genotipine sahip bireylerin TG ortalaması ise 195,09'dur. Uygulanan Mann Whitney U testi sonucunda, genotip çeşitleri arasında TG ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Diyabet hastalarında komplikasyonların görülme durumları ile genotipler arasındaki ilişki incelenmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. T2D hastalarında görülen komplikasyonlar ile genotipleri arasındaki ilişki

Komplikasyonlar	AAT		AGT		p
	VAR	YOK	VAR	YOK	
Nefropati	13 (%44,8)	16 (%55,2)	24 (%45,3)	29 (%54,7)	0,968
Retinopati	3 (%10,3)	26 (%89,7)	5 (%9,4)	48 (%92,5)	0,895
Nöropati	4 (%13,8)	25 (%86,2)	6 (%11,3)	47 (%88,7)	0,745
Diğer komplikasyonlar	5 (%17,2)	24 (%82,8)	3 (%5,7)	50 (%94,3)	0,100

T2D hastalarında komplikasyonlar görülme durumları ile genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$).

N363S polimorfizmi için allel bulguları

T2D’li kadın ve erkek hastalar arasında allellerin görülme yüzdeleri bakımından inceleme yapılmıştır (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. T2D’li kadın ve erkek hastalar arasında allellerin görülme yüzdeleri

Alleller	Kadın	Erkek	p
A	32 (%55,2)	26 (%44,8)	0,955
G	58 (%54,7)	48 (%45,3)	

T2D’li kadın ve erkek hastalar arasında allellerin görülme yüzdeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Yapılan analizler sonucunda T2D’li hasta ve kontrol gruplarında allel dağılımları incelenmiştir (Çizelge 4.18.).

Çizelge 4.18. T2D’li hasta ve kontrol gruplarında allel dağılımları

Alleller	Hasta	Kontrol	OR	%95 GA	χ^2	p
A	58 (%61,7)	36 (%38,3)	0,821	0,483 – 1,394	0,535	0,464
G	106 (%66,2)	54 (%33,8)	1			

Çizelge 4.18’ye göre, hasta ve kontrol grupları ile A ve G allelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$). A alleli hasta grubunda kontrol grubuna göre daha fazla görülmektedir. A alleli hastalık açısından risk faktörü olarak bulunmuştur. A alleli diyabet hastalığını 1,218 (1/0,821) kat arttırmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diyabet ya da tıptaki adıyla diabetes mellitus (DM), pankreastan salgılanan insülin hormonunun eksikliği veya etkisizliği sonucunda oluşan metabolik bir hastalıktır [1]. T1D, T2D, gestasyonel diyabet ve diğer özel diyabet tipleri olmak üzere dört tipi vardır [4]. Tüm diyabet olgularının %90'ından fazlasını oluşturan tip 2 diyabet (T2D) ise, temelinde genetik olarak yatkın kişilerde yaşam tarzı ile tetiklenen, giderek artan insülin direnci ve zamanla azalan insülin salınımının olduğu bir diyabet tipidir [3].

Glukokortikoidler, diyabetle yakından ilişkili olan glukoz ve insülin metabolizmasında önemli işlevleri olan hormonlardır. Etkilerini sitoplazmada bulunan glukokortikoid reseptörlerine (GR) bağlanarak göstermektedirler. Hormon ve bağlandığı reseptör ile ilgili herhangi bir sorun, etkilediği mekanizmadan dolayı diyabet ile ilişkili olabilmektedir. Bu da glukokortikoid reseptör gen polimorfizmlerini diyabette etiyolojik bir faktör olarak incelemenin temel nedenini oluşturmaktadır [16, 83].

Bu çalışma, Türk toplumundaki tip 2 diyabetli bireylerde, glukokortikoid reseptör geninde bulunan *BclI* ve *N363S* polimorfizmlerinin belirlenmesi ve bunların hastalıkla olan ilişkilerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını görmek amacıyla yapılmıştır.

Çalışmamızda *BclI* polimorfizmi için hasta ve kontroller arasında CC, CG ve GG genotipleri görülme oranı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,05$). CC genotip frekansı hasta grubunda (%34,1), kontrol grubuna göre (%22,6) anlamlı derecede daha yüksektir. CG genotipinin frekansı hasta grubunda (%56,5), kontrol grubuna göre (%5) anlamlı derecede daha yüksektir. GG genotipinin frekansı ise kontrol grubunda (%70,9), hasta grubuna göre (%9,4) anlamlı derecede daha yüksektir.

Genotip çeşitleri arasında yaş, kilo, HbA1c ve AKŞ ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuş olup ($p<0,05$), boy, VKİ, T2D süresi, T2D başlama yaşı, TKŞ, TK, HDL, LDL ve TG ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Buna göre GG genotipine sahip bireylerin yaş ortalaması diğer genotiplere sahip bireylere göre anlamlı derecede daha düşüktür. CC genotipine sahip bireylerin kilo ortalaması GG genotipine sahip bireylere göre anlamlı derecede daha yüksektir. CG genotipine sahip hastaların HbA1c ortalaması CC genotipine sahip hastalara

göre anlamlı derecede daha yüksektir. CG genotipine sahip hastaların AKŞ ortalaması CC genotipine sahip hastalara göre anlamlı derecede daha yüksektir.

Hasta ve kontrol grupları ile C ve G allelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). C alleli hasta grubunda kontrol grubuna göre daha fazla görülmekte olup, hastalık açısından risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Tip 2 diyabeti 4,762 kat arttırdığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda N363S polimorfizmi için hasta ve kontrol grubu arasında AAT ve AGT genotipi bulunma durumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Hastaların AAT genotip frekansı %35,4 iken AGT genotip frekansı %64,6 olarak bulunmuştur. Kontrol grubunun AAT genotipinde olma oranı %40,0 iken AGT genotipinde olma oranı ise %60,0 şeklinde bulunmuştur.

Genotip çeşitleri arasında yaş ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuş olup ($p<0,05$), kilo, HbA1c, AKŞ, boy, VKİ, T2D süresi, T2D başlama yaşı, TKŞ, TK, HDL, LDL ve TG ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Buna göre AGT genotipine sahip bireylerin yaş ortalaması AAT genotipine sahip bireylere göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur.

Hasta ve kontrol grupları ile A ve G allelleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$). A alleli hasta grubunda kontrol grubuna göre daha fazla görülmekte olup, hastalık açısından risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Tip 2 diyabeti 1,218 (1/0,821) kat arttırdığı tespit edilmiştir.

BclI polimorfizmi ve T2DM ilişkisinin istatistiksel olarak belirlenmesine katkı sağlayan yalnızca diyabetliler üzerinde yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Literatürde Rosmond ve Holm tarafından kalp damar rahatsızlığı, hipertansiyon ve tip 2 diyabetlilerin olduğu hasta grubu ile kontrol grubu arasında yapılmış bir çalışma yer almaktadır. Burada GR gen polimorfizmlerinin obezite, hipertansiyon ve tip 2 diyabet ile ilişkisi istatistiksel olarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda *BclI* polimorfizmi ile hastalıklar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Buna karşılık *BclI* polimorfizmi için GG genotipli bireylerde vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi, abdominal obezite, açlık

glukozu, insülin ve homeostaz modeli değerlendirilmesinde önemli bir artış görülmüştür. GG genotipi için diyabete doğru giden patofizyolojik süreçlerin başlamasına olanak tanıyarak, normoglisemik seviyelerin yükselmesine sebep olan plazma glukozuna neden olabileceğini düşünülmüştür [83]. Tip 2 diyabetlilerin de bulunduğu hastalar üzerinde yapılan bir diğer *BclI* polimorfizm çalışması Geelen ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *BclI* polimorfizmi ile vücut yağı arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda GG genotipli hastaların, CG ve CC genotipli hastalara göre önemli derecede yüksek vücut yağına sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca bu kişilerin insülin direnci, VKİ ve bel kalça çevresi değerlerinin yüksek olduğu ifade edilmiştir. Artan GC duyarlılığının iç kaynaklı GC'lerin olumsuz etkilerine yol açabileceği yorumu yapılmıştır [82]. Bu sonuçların aksine bizim çalışmamızda CC ve CG genotip frekanslarının hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür. Rosmond ve Holm'un çalışmasında GG genotipli bireylerde vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi, açlık glukozunda görülen artış ile Geelen ve arkadaşlarının GG genotipli hastalarında, CG ve CC genotipli hastalara göre yüksek olan VKİ değerleri, bizim çalışmamızda farklılık göstermiştir. Sonuçlarımıza göre genotip çeşitleri arasında VKİ ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p>0,05$), CC genotipine sahip hastaların kilo ortalaması GG genotipine sahip bireylere göre anlamlı derecede daha yüksek, CG genotipine sahip hastaların AKŞ ortalaması CC genotipine sahip hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur.

N363S polimorfizminin belirlenmesi ve Tip 2 diyabetle olan ilişkisinin istatistiksel olarak araştırılması Lin ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *N363S* polimorfizminin obezite, tip 2 diyabet ve hipertansiyon ile ilişkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda bu polimorfizmin obezite ile ilişkili olduğu ancak hipertansiyon ve tip 2 diyabet ile ilişkili olmadığı görülmüştür. T2DM ile *NR3C1* geni *N363S* polimorfizmi ki-kare analiz sonuçlarına göre A alleli için T2DM hastalarında allel frekansı 0,92, kontrol grubunda 0,92 ve G alleli için T2DM hastalarında allel frekansı 0,08 ve kontrol grubunda 0,08 olarak belirlenmiş olup T2DM hastaları ile kontrol grubu arasında allel frekansları bakımından anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir [98]. Çalışmamızda da *N363S* polimorfizminin tip 2 diyabet ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca Lin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yaş ortalamaları, cinsiyet, VKİ, bel kalça oranı, plazma yağı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır [98]. Bizim çalışmamızda genotip çeşitleri arasında yaş ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık

bulunmuş olup ($p<0,05$) AGT genotipine sahip bireylerin yaş ortalamasının AAT genotipine sahip bireylere göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür. Plazma yağı, VKİ ortalamaları ve cinsiyet bakımından Lin ve arkadaşlarının çalışmalarındaki gibi istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Elde ettiğimiz bilgiler gelecek yıllarda tip 2 diyabetin genetik yönünün aydınlatılması için yapılacak çalışmalara bir temel oluşturmaktadır. Bu nedenle Dünya’da daha geniş sayıda örnekleme ile yapılacak genom tarama, polimorfizm ve mutasyon çalışmalarının tip 2 diyabet gelişiminde genetiğin rolünün daha iyi açıklanabileceğini düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

1. Erdoğan, G. (2005). *Koloğlu endokrinoloji: temel ve klinik*. (İkinci baskı). Ankara: MN Medikal & Nobel, 342-554.
2. Berg, J. M., Tymoczko, J. L. and Stryer, L. (2007). *Biochemistry*. (Sixth edition). New York: W.H. Freeman, 392-773.
3. International Diabetes Federation, (2015). *Diabetes Atlas*, (Seventh edition), International Diabetes Federation, Brussels, Belgium.
4. American Diabetes Association, (2014). Standards of Medical Care In Diabetes-2011, *Diabetes Care*, 37(1), 14-80.
5. Voet, D. and Voet, J. G. (2004). *Biochemistry*. (Third edition). New York: J. Wiley & Sons, 661-1066.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. (2011). *Türkiye diyabet önleme ve kontrol programı eylem planı (2011-2014)*. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 816, 1-100.
7. Codario, R.A. (2005). *Tip 2 diyabet, pre-diyabet, ve metabolik sendrom: birinci basamak tanı ve tedavi rehberi*, Karşıdağ, K. ve Sağlam, H. (Editörler). Totowa: Humana Press, 5-19.
8. Yılmaz, C., Yılmaz, M. T., İmamoğlu, Ş. ve Akalın, S. (2000). *Diabetes mellitus 2000*. İstanbul: Gri Tasarım, 37-85.
9. Brunetti, A., Chiefari, E. and Foti, D. (2014). Recent advances in the molecular genetics of type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 5(2), 128-140.
10. Özata, M. (2011). *Endokrinoloji: metabolizma ve diyabet*. (İkinci baskı). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 539-571.
11. Lyssenko, V. and Laakso, M. (2013). Genetic screening for the risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 36(2), 120-126.
12. Owen, K. R. and McCarthy, M.I. (2007). Genetics of type 2 diabetes. *Current Opinion in Genetics & Development*, 17, 239-244.
13. İnternet: Genetik terimler sözlüğü URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.thd.org.tr%2FthdData%2FBooks%2F723%2Fgenetik-terimler-sozlugu.pdf&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 15.01.2015.
14. Ekmekçi, A., Konaç, E. ve Önen, H. İ. (2008). Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal*, 21(3), 282-295.

15. İnternet: NR3C1 nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1 (glucocorticoid receptor) [*Homo sapiens* (human)] URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fgene%2F2908+&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 28.02.2015.
16. Hayaski, R., Wada, H., Ito, K. and Adcock, I. M. (2004). Effects of glucocorticoids on gene transcription. *European Journal of Pharmacology*, 500, 51-62.
17. İnternet: NR3C1 nuclear URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fpublication%2F257248880_Glucocorticoid_sensitivity_in_health_and_disease&date=2016-04-20, Son Erişim Tarihi: 28.02.2015.
18. Buckingham, J. C. (2006). Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking. *British Journal of Pharmacology*, 147, 258-268.
19. Steven, C. (1999). *Doğal yollardan yararlanma kılavuzu diyabet*. İstanbul: Alkım Kitabevi, 9-12.
20. İnternet: The top 10 causes death URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.who.int%2Fmediacentre%2Ffactsheets%2Ffs310%2Fen%2F%23&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 06.07.2015.
21. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. (2014). *Türkiye diyabet programı* (2015-2020). Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 816, 1-90.
22. Spijkerman, A. M. W., Dekker, J. M., Nijpels, G., Adriaanse, M. C., Kostense, P. J., Ruwaard, D., Stehouwer, C. D. A., Bouter, L. M. and Heine, R. J. (2003). Microvascular complications at time of diagnosis of type 2 diabetes are similar among diabetic patients detected by targeted screening and patients newly diagnosed in general practice. *Diabetes Care*, 26, 2604-2608.
23. Plantinga, L. C., Crews, D. C., Coresh, J., Miller, E. R., Saran, R., Yee, J., Hedgeman, E., Pavkov, M., Eberhardt, M. S., Williams, D. E. and Powe, N. R. (2010). Prevalence of chronic kidney disease in US adults with undiagnosed diabetes or prediabetes. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 5, 673-682.
24. İnternet: Statistics about diabetes URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.diabetes.org%2Fdiabetes-basics%2Fstatistics%2F+&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 12.02.2015.
25. Altınışık, M. (2010). Karbonhidrat metabolizması bozukluklarına biyokimyasal yaklaşım. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 11(1), 51-59.
26. Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N. ve Tiftik, A. M. (2006). *Biyokimya*. Ankara: Nobel, 333-391.
27. Wilcox, G. (2005). Insulin and insulin resistance. *The Clinical Biochemist Reviews*, 26, 19-39.

28. Elliott, W. H. and Elliott, D. C. (2009). *Biochemistry and molecular biology*. (Fourth edition). New York: Oxford University Press, 156-442.
29. Harvey, R. and Ferrier, D. (2011). *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*, (Fifth edition). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 306-454.
30. İnternet: Islet cell transplation URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Ftransplant.surgery.ucsf.edu%2Fconditions--procedures%2Fislet-cell-transplantation.aspx+%&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 28.03.2015.
31. Kutlu, M., Taşlıpınar, A. ve Bařaran, Y. (Editörler). (2012). *Tip 2 diyabette insülin direnci ve beta hücre koruması*, Ankara: Türkiye Klinikleri, 2-7.
32. Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E. Y. (2006). *İnsan biyokimyası*. (İkinci baskı). Ankara. Palme Yayıncılık, 472-490.
33. Montgomery, R. (2000). *Biyokimya: olgu sunumlu yaklaşım.*, Altan, N. (Editör). (Altıncı baskı). Ankara: Palme Yayıncılık, 571-572.
34. İnternet: Human insulin URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Ffitnesspoint1.files.wordpress.com%2F2013%2F11%2Fhuman-insulin-protein-structure-917x1024.jpg&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 05.05.2015.
35. Belchetz, P., Hammond, P. J. (2003). *Mosby's color atlas and text of diabetes and endocrinology*. Edinburgh: Mosby, 9-19.
36. İnternet: Diabetes mellitus 1: insulin URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fmedicinehack.wordpress.com%2F2012%2F11%2F02%2Finsulin%2F&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 25.06.2015.
37. İnternet: Diyabet hemşireliği derneği kitabı URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.tdhd.org%2Fdhd_kitab.php+%&date=2016-04-20, Son Erişim Tarihi: 19.03.2014.
38. IDF Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneęi. (2013). *Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu*, (Altıncı baskı). Ankara: Miki Matbaacılık, 15-216.
39. İnternet: Diyabetin komplikasyonları URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.turkdiab.org%2Fpage.aspx%3Fs%3D4+%&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 18.12.2014.
40. Özbey, N. ve Orhan, Y. (2003). *Diabetes Mellitus*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1-13.

41. Kaptan, G. ve Dedeli, Ö. (2012). *Teoriden uygulamaya iç hastalıkları hemşireliği: kavram ve kuramlar*. (Birinci baskı). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 361-362.
42. Satman, İ., Boztepe, H. ve Alagöl, F. (2007). *Endokrinoloji diyabet yılığı*. (Birinci baskı). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 129-130.
43. American Diabetes Association, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, 36(1), 67-74 (2013).
44. İnternet: Text of diabetes 4th edition URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.google.com.tr%2Fbooks%3Fid%3DmGV4wu8AkPwC%26printsec%3Dfrontcover%26hl%3Dtr%23v%3Donepage%26q%26f%3Dfalse+&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 12.06.2013.
45. İnternet: Normal hücre ile insülin direnci gelişmiş hücrenin karşılaştırılması URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fpremiumdiet.com.tr%2Fimage%2Fkurumsal%2F619154145011369.jpg&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 25.05.2013.
46. Bilous, R. and Donnelly, R. (2013). *Diyabet el kitabı*. (Çev. N. Dinççağ ve H. A. Çakmak). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 49-50.
47. Kato, N. (2013). Insights into the genetic basis of type 2 diabetes. *Journal of Diabetes Investigation*, 4(3), 233-244.
48. Gloyn, A. L. and McCarthy, M. I. (2001). The genetics of type 2 diabetes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 15(3), 293-308.
49. Rich, S. S., Norris, J. M. and Rotter, J. I. (2008). Genes associated with risk of type 2 diabetes identified by a candidate-wide association scan. *Diabetes*, 57, 2915-2917.
50. Majithia, A. R. and Florez, J. C. (2009). Clinical translation of genetic predictors for type 2 diabetes. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity*, 16(2), 100-106.
51. Gardner, D. G. and Shoback, D. (2011). *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*. (Nineth edition). McGraw-Hill, 587-593.
52. Meigs, J. B., Shrader, P., Sullivan, L. M., McAteer, J. B., Fox, C. S., Dupuis, J., Manning, A. K., Florez, J. C., Wilson, P. W. F., D'Agostino, R. B. and Cupples, L. A. (2008). Genotype score in addition to common risk factors for prediction of type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 359(21), 2208-2219.
53. Lyssenko, V., Jonsson, A., Almgren, P., Pulizzi, N., Isomaa, B., Tuomi, T., Berglund, G., Altshuler, D., Nilsson, P. and Groop, L. (2008). Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 359, 2220-2232.
54. Örenay-Boyacıoğlu, S. ve Dündar, M. (2012). Gen haritalama stratejileri. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 21(1), 50-60.

55. Singh, S. (2011). The genetics of type 2 diabetes mellitus: a review. *Journal of Scientific Research*, 55, 35-48.
56. Inzucchi, S. E. (2009). *Diabetes mellitus el kitabı.*, Demiriz, I. Ş., Demiriz, B. (Editors). (Sixth edition). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 26-75.
57. Reyer, H., Ponsuksili, S., Wimmers, K. and Murani, E. (2013). Transcript variants of the porcine glucocorticoid receptor gene (NR3C1). *General and Comparative Endocrinology*, 189, 127-133.
58. De Bosscher, K., Berghe, W. V. and Haegeman, G. (2000). Mechanisms of anti-inflammatory action and of immunosuppression by glucocorticoids: negative interference of activated glucocorticoid receptor with transcription factors. *Journal of Neuroimmunology*, 109, 16-22.
59. İnternet: Böbrek üstü bezleri URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fbobrekustubezleri.nedir.com&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 22.07.2014.
60. Durna, Z., Akın, S. ve Özdemir, K. (2012). *İç hastalıkları hemşireliği uygulama rehberi*, (İkinci baskı). İstanbul: Nobel Tıp, 355-356.
61. Burçak, G. (2012). *Biyokimya ders kitabı*. (Cilt 2). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınevi, 333-391.
62. İnternet: Aliases for NR3C1 gene URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.genecards.org%2Fcgi-bin%2Fcarddisp.pl%3Fgene%3DNR3C1&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 12.12.2014.
63. İnternet: NR3C1 URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fghr.nlm.nih.gov%2Fgene%2FNR3C1+&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 05.03.2014.
64. Oakley, R. H., Sar, M., and Cidlowski, J. A. (1996). The human glucocorticoid receptor β isoform. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(16), 9550-9559.
65. Oakley, R. H. and Cidlowski, J. A. (2011). Cellular processing of the glucocorticoid receptor gene and protein: new mechanisms for generating tissue-specific actions of glucocorticoids. *The Journal of Biological Chemistry*, 286, 3177-3184.
66. Demirkıran, O. (2006, 30-31 Mayıs). *Sepsiste glukokortikoid kullanımı*. Güncel Bilgiler Işığında Sepsis Sempozyumunda sunuldu, İstanbul.
67. Orlovsky, M. A. (2012). Allelic polymorphism of glucocorticoid receptor NR3C1 (GR): from molecular biology to clinical implications. *Biopolymers and Cell*, 28(5), 338-351.
68. Baschant, U. and Tuckermann, J. (2010). The role of the glucocorticoid receptor in inflammation and immunity. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 120, 69-75

69. Klug, W. S., Cummings, M. R. and Spencer, C. A. (2009). *Genetik kavramlar*. Sümer, S., Öner, R., Ögüş, A. ve Açıık, L. (Editörler). (Sekizinci baskı). Ankara: Palme Yayıncılık, 70-71.
70. İnternet: Moleküler hematoloji sözlüğü URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.thd.org.tr%2FthdData%2Fuserfiles%2Ffile%2F6_IBK_06.pdf+&date=2016-04-20, Son Erişim Tarihi: 16.04.2014.
71. Özden, A. ve Emir, F. (2006). Genetik polimorfizm ve polimorfizm çalışmaları. *Güncel Gastroenteroloji*, 10(1), 24-28.
72. Yuluğ, I. (2002). İnsan genom projesi. *Avrasya Dosyası Molekuler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel*, 8(3), 7-23.
73. Deligezer, U., Akışık, E. E. ve Dalay, N. (2004). Gen polimorfizm analizinde lightcycler floresan pcr tekniğinin kullanılması: myeloid lösemili çocuk ve yetişkin hastalarda MTHFR C677T gen polimorfizm dağılımının belirlenmesi. *Türk Onkoloji Dergisi*, 19(4), 134-139.
74. Nussbaum, R. L., McInnes, R. R. and Willard, H. F. (2005). *Thompson and Thompson tıbbi genetik*. (Altıncı baskı). Ankara: Güneş Kitabevi, 313-330.
75. Battaloğlu, E. ve Başak, A. N. (2010). Kompleks hastalık genetiği: güncel kavramlar ve nörolojik hastalıkların tanısında kullanılan genomik yöntemler. *Klinik Gelişim*, 23(1), 128-133.
76. İnternet: SNP URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.geneticgenealogysig.org%2Fresearch-by-topic%2Fsnp%2F+&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 22.05.2014.
77. Brookes, A. J. (1999). The essence of SNPs. *Gene*, 234, 177-186.
78. Forsberg, L., de Faire, U., Marklund, S. L., Andersson, P. M., Stegmayr, B. and Morgenstem, R. (2000). Phenotype determination of a common pro-leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 26(5), 423-426.
79. Bray, P. J. and Cotton, R. G. (2003). Variations of the human glucocorticoid receptor gene (NR3C1): pathological and in vitro mutations and polymorphisms. *Human Mutation*, 21, 557-568.
80. Van Rossum, E. F. C., Koper, J. W., Uitterlinden, A. G., Janssen, J. A. M. J. L., Brinkmann, A. O., Grobbee, D. E., de Jong, F. H., Pols, H. A. P. and Lamberts, S. W. J. (2003). Identification of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo, and body mass index. *Clinical Endocrinology*, 59, 333-357.
81. DeRijk, R. H., Schaaf, M. and de Kloet, E.R. (2002). Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 81(2), 103-122.

82. Geelen, C.C., van Greevenbroek, M. M., van Rossum, E. F., Schaper, N. C., Nijpels, G., t Hart, L. M., Schalkwijk, C. G., Ferreira, I., van der Kallen, C. J., Sauerwein, H. P., Dekker, J. M., Stehouwer, C. D. and Havekes, B. (2013). BclI glucocorticoid receptor polymorphism is associated with greater body fatness: the hoorn and CODAM studies. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 98(3), 595-599.
83. Rosmond, R. and Holm, G. (2008). A 5-year follow-up study of 3 polymorphisms in the human glucocorticoid receptor gene in relation to obesity, hypertension, and diabetes. *Journal of Common Market Studies*, 3(3), 132-135.
84. Lin, R. C. Y., Wang, W. Y. S. and Morris, B. J. (1999). High penetrance, overweight, and glucocorticoid receptor variant: case-control study. *British Medical Journal*, 319, 1337-1338.
85. Koper, J. W., Stolk, R. P, de Lange, P., Huizenga, N. A. T. M., Molijn, G. J., Pols, H. A. P., Grobbee, D. E., Karl, M., de Jong, F. H., Brinkmann, A. O. and Lamberts, S. W. (1997). Lack of association between five polymorphisms in the human glucocorticoid receptor gene and glucocorticoid resistance. *Human Genetics*, 99, 663-668.
86. Rosmond, R. (2002). The glucocorticoid receptor gene and its association to metabolic syndrome. *Obesity Research*, 10, 1078-1086.
87. Echwald, S. M., Sorensen, T. I., Andersen, T. and Pedersen, O. (2001). The Asn363Ser variant of the glucocorticoid receptor gene is not associated with obesity or weight gain in Danish men. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 25, 1563-1565.
88. Di Blasio, A. M., van Rossum, E. F. C., Maestrini, S., Berselli, M. E., Tagliaferri, M., Podesta, F., Koper, J. W., Liuzzi, A. and Lamberts, S. W. J. (2003). The relation between two polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and body mass index, blood pressure and cholesterol in obese patients. *Clinical Endocrinology*, 59, 68-74.
89. Lin, R. C. Y., Wang, X. L. and Morris, B. J. (2003). Association of coroner artery disease with glucocorticoid receptor N363S variant. *Hipertension*, 41, 404-407.
90. Dobson, M. G., Redfern, C. P. F., Unwin, N. and Weaver, J. U. (2001). The N363S polymorphism of the glucocorticoid receptor: potential contribution to central obesity in men and lack of association with other risk factors for coronary heart disease and diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(5), 2270-2274.
91. Temizkan, G. ve Arda, N. (Editörler). (2008). *Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 68-102.
92. Strachan, T. and Read, A. P. (2000). *Human molecular genetics 2*. (Second edition). New York: Wiley-Liss, 119-120.
93. Dilsiz, N. (2009). *Moleküler biyoloji*. (İkinci baskı). Ankara: Palme Yayınevi, 60-71.

94. Yılmaz, S. ve Devran, Z. (2003). Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve bitki biyoteknolojisinde uygulamaları. *Derim*, 20(1), 31-42.
95. İnternet: PZR işleyiş mekanizması URL: <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.neb.com%2F%7E%2Fmedia%2FnebUs%2FPage%2520Images%2FApplications%2FDNA%2520Amplification%2520and%2520PCR%2Fpcr.jpg+%&date=2016-04-20>, Son Erişim Tarihi: 15.06.2014.
96. Pierce, B. A. (2012). *Genetics: a conceptual approach*. (Fourth edition). New York: W. H. Freeman and Company, 517-533.
97. Tropp, B. E. (2008). *Molecular biology: genes to proteins*. (Third edition). Sudbury, Massachusetts, Jones and Bartlett Publishers, 139-140.
98. Lin, R. C. Y. Wang, X. L., Dalziel, B., Caterson, I. D. and Morris, B. J. (2003). Association of obesity, but no diabetes or hypertension, with glucocorticoid receptor N363S variant, *Obesity Research*. 11(6), 802-808.



EK-1. Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun tez projesi hakkındaki kararı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU									
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI		Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu						
	AÇIK ADRES		Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara						
	TELEFON		0312 202 69 58						
	FAKS		0312 202 46 73						
	E-POSTA		tipeetikkurul@gazi.edu.tr						
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Tip 2 Diyabetli Türk Hastalarda Bazı Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi						
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Prof.Dr.Leyla AÇIK						
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ		G.Ü.Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü						
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)								
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ		Tanımlamaya yönelik genetik materyalde yapılacak araştırmalar (Gen tedavisi klinik araştırmaları ve farmakogenetik çalışmalar dışında kalan)-Yüksek Lisans Tezi						
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER		TEK MERKEZ	ÇOK MERKEZLİ	ULUSAL	ULUSLARARASI			
			☒	☐	☐	☐			
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı		Tarihi	Ver.No	Dili				
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ				Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐				
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU				Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐				
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı				Açıklama				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		☒						
	BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU		☐						
	DİĞER		☐						
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 190		Toplantı tarihi: 11.11.2013						
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup araştırmanın dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına G.Ü.Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oyçokluğu ile karar verilmiştir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.								
GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik (13.04.2013), İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof.Dr.Canan ULUOĞLU							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi		Katılım *		İmza	
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐			
Uzm.Dr.Cemal GÜVERCİN BAŞKAN YARD.	Tıp Etiği	Y.mah. Prof.Dr. Yunus Müftü AÇS/AP Merk.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐			
Prof.Dr.Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐			

EK-1. (devam) Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun tez projesi hakkındaki kararı

Prof.Dr.Bülent BOYACI ÜYE	Kardiyoloji A.D	G.C.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Sefer AYGAN ÜYE	Halk Sağlığı A.D	G.C.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Mehmet Akif ÖZTÜRK ÜYE	İç Hastalıkları A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Ehvan İŞERİ ÜYE	Çocuk Psikiyatrisi A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Arzu BAKIRTAŞ ÜYE	Çocuk Sağlığı ve Hast. A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Nilüfer TURAN DURAL ÜYE	Farmakoloji A.D	G.Ü.E.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Hakan KAYIR ÜYE	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.A.Y.A	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Mustafa ARSLAN ÜYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Murat AKIN ÜYE	Genel Cerrahi A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç.Dr.Sercan AKSOY ÜYE	İç Hastalıkları AD.	H.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Av.Arzu BUZKIRAN KAYA ÜYE	Avukat	G.Ü.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Emine ŞEKER ÜYE	Sivil Temsilci	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

EK-2. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış
bilgilendirilmiş gönüllü olur formu



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

**GENETİK MATERYAL ÜZERİNDE YAPILACAK ÇALIŞMALAR İÇİN
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**

Araştırma Projesinin Adı: Tip 2 Diyabetli Türk Hastalarda Bazı Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

Sorumlu Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Leyla AÇIK

Diğer Araştırmacıların Adı: Prof. Dr. İlhan Yetkin, N. Selcen Bayramcı, Büşra Görgün

Destekleyici (varsa): BAP'a proje sunulacak

"Tip 2 Diyabetli Türk Hastalarda Bazı Gen Polimorfizmlerinin Belirlenmesi" isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma, araştırma amacı ile yapılmaktadır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapıldığını, sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini, olası yararlarını, risklerini ve rahatsızlıklarını bilmeniz önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırın ve bu bilgileri ailenizle ve/veya doktorunuzla tartışın. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir.

1. Genetik çalışmanın amacı ve dayanağı nelerdir; benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

Bu bölümde aşağıdaki sorular cevaplanmalıdır.

a. *Neden özellikle bu kişi / hasta seçilmiştir?*

Bu çalışmaya davet edilmenizin nedeni sizde/çocuğunuzda/ailenizin bir üyesinde Tip 2 Diabetes Mellitus hastalığı tanısı konmasıdır. Katılımınız ile bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir.

b. *Çalışmanın önemi ve gerekliliği nelerdir?*

Genler, DNA olarak isimlendirilen genetik materyalden oluşurlar. DNA hücrenin bir bölümüdür ve kalıtsal özelliklerin (göz rengi gibi) oluşmasından sorumludur. "Tip 2 Diabetes Mellitus" hastalığı ile ilişkilendirilen çeşitli genler bulunmuştur. Bu araştırma ile sizin DNA'nızı çalışmak ve genlerinizde herhangi bir anormallik olup olmadığını ya da bu soruna neden olabilecek yeni genler olup olmadığını bulmak istiyoruz.

c. *Çalışmaya toplam kaç kişinin katılması planlanmaktadır?*

Çalışmaya toplam 500 kişinin katılması planlanmaktadır.

**2. Bu genetik çalışmaya katılmalı mıyım?
(Bu bölüm aynen korunacaktır)**

Genetik Olur	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	29.05.2013/01	1/5

EK-2. (devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış
bilgilendirilmiş gönüllü olur formu



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Eğer katılmaya karar verirsiniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Böyle bir karar vermeniz durumunda tıbbi bakımınız bu durumdan etkilenmeyecektir.

3. Genetik araştırma nasıl yapılacaktır?

(Bu bölümde katılımcının anlayacağı sade bir dille çalışma protokolü açıklanmalı ve aşağıdaki sorular mutlaka cevaplanmalıdır)*

a. Hangi örnek (ler) alınacak ve nasıl alınacaktır ?

Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz, kolunuzdan 1 tüp (5ml) kan alınacaktır.. Genellikle bir tek örnekleme yeterlidir ancak bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir.

b. Örnekte neler araştırılacaktır ?

Alınan kan örneklerinde Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2), NR3C1 ve Calpain (CAPN10) gen polimorfizmleri araştırılacaktır.

c. Örnekler nerede çalışılacaktır?

Toplanan örnekler T.C. Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'na bağlı Moleküler Biyoloji Laboratuvarında incelenecektir.

d. Genetik örneğin gelecekte nasıl imha edilmesi planlanıyor ?

Elde edilen DNA, DNaz enzimi ile parçalanarak, atılacaktır.

4. Tarafımdan alınan örnekler gelecekte de kullanılabilecek mi?

(Bu bölümde katılımcıdan "Tabakalandırılmış olur" olarak isimlendirilen bir onay alınmalıdır. Aşağıda yazılı olan bölüm aynen korunarak katılımcının aşağıdaki 4 seçenekten birini işaretlemesi istenmelidir.)

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninizle tabidir. Bu örnekler uzun yıllar isminiz (kimlik bilgileriniz) korunmak ya da yok edilmek kaydı ile saklanabilir. Lütfen aşağıdaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyiniz.

- 1- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.
- 2- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileri çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.
- 3- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

Genetik Olur	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	29.05.2013/01	2/5

EK-2. (devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış
bilgilendirilmiş gönüllü olur formu



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

4- ☐ Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum, ve gelecekte de her türlü genetik çalışmada anonim (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

***Kodlanmış örnek:** Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

5. Çalışmanın riskleri nelerdir?

- Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz ve kolda morarma olabilir. Düşük bir olasılık da olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması, veya enfeksiyon riski vardır.
- Yapılacak genetik teste bağlı oluşabilecek riskler: Yapılan testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötüye kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de olumsuz etkileyebilir.

6. Çalışmanın yararları nelerdir?

Tip 2 Diabetes Mellitus hastalığı için risk grubunda iseniz, izlemle hastalığın erken tanı ve tedavisi mümkün olacaktır. İlgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

7. Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Çalışma doktorunuz kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır. Çalışmanın sonunda, size ait tüm sonuçlar hakkında bilgi istemeye hakkınız olduğu gibi böyle bir bilgiyi öğrenmeyi reddetme hakkınız da vardır. Lütfen aşağıdaki kutucuklardan size uygun olanı işaretleyiniz:

- ☐ Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istiyorum
☐ Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istemiyorum.

Çalışma sonuçları çalışma bitiminde tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Sağlık Bakanlığı ve diğer ilgili sağlık otoriteleri orijinal tıbbi kayıtlarınıza doğrudan erişebilir. Bu yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalayarak yalnızca adı geçen kişi ve kurumlara erişim izni vermiş olacaksınız. Ancak kimlik bilgileriniz gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanamayacak; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.

(Çalışma için eğer gerekiyorsa aşağıdaki standart durumlar açıklanmalıdır)

- Örnek:** Kanınız genetik faktörler açısından test edilecek ve elde edilen bilgi sizin hakkınızda bize genetik bilgi verecektir. Genetik testler, bu araştırma ile ilgisi olmayan size ait çok özel başka bilgiler de verebilir. Böyle bir durumda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacak ve bilgiler üçüncü şahıslara sizin onayınız olmaksızın açıklanmayacaktır.)

Genetik Olur	Rev. Tarihi / No.Su:	Sayfa
	29.05.2013/01	3/5

EK-2. (devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış
bilgilendirilmiş gönüllü olur formu



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

8. Bu çalışmaya katılmamanın maliyeti nedir?

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

9. Çalışmanın ticari bir yönü var mıdır?

(Bu bölüm aynen korunacaktır)

Gönüllülerden elde edilen bilgilerden, tıbbi testler ya da tedaviler geliştirilebilmesi gibi ticari bir fayda sağlanabilir. Böyle bir durum olursa, gönüllüler herhangi bir şekilde ticari gelir temin etmeyeceklerdir.

10. Göreceğim olası bir zarar durumunda ne yapılacak?

- *Araştırmadan dolayı katılımcının göreceği olası bir zararda bunun sorumluluğunun ve giderilmesi için gerekli her türlü tıbbi müdahalenin yapılacağını; bu konudaki tüm harcamaların üstlenileceğini belirtiniz.*

11. Daha fazla bilgi, yardım ve iletişim için kime başvurabilirim ?

Araştırma ile ilgili bir sorunuz olduğunda ya da çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksinim duyduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI : Prof. Dr. Leyla AÇIK
GÖREVİ : Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi
TELEFON : 0-312-202-11-85

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÜTF Endokrinoloji Anabilim dalında, Prof. Dr. İlhan YETKİN tarafından genetik bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. *(Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim)*. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi girişimin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi girişimlerle ilgili olarak parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Genetik Olur	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	29.05.2013/01	4/5

EK-2. (devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış
bilgilendirilmiş gönüllü olur formu



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Prof. Dr. İlhan YETKİN'i, 0312-202 58 18 telefon numarası ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı 06500 Beşevler/ANKARA adresinden arayabileceğimi biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu genetik araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı: İlhan YETKİN, Prof. Dr.

Adres: Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı 06500 Beşevler/ANKARA

Tel: 0312 202 58 18

İmza:

Tarih:

**AYDINLATMA ve KATILIMCININ BEYANI KESİNLİKLE BİRBİRLERİNİN DEVAMI
ŞEKLİNDE OLACAKTIR. AYRI AYRI SAYFALARDA YER ALMAYACAKTIR.**

Genetik Olur	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	29.05.2013/01	5/5

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : GÖRGÜN, Büşra
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 28.02.1988, Ankara
 Medeni hali : Bekâr
 Telefon : 0 (312) 284 26 77
 e-mail : busra.gorgun@hotmail.com
 : busragorgun88@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi/Biyoloji	2011
Lise	Ankara Y. D. A. Lisesi/Fen Bilimleri	2006

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Görgün, B., Açık, L., Yetkin, İ., Bayramcı, N.S. ve Kalkan, Ç. (2015/22-26 Nisan). Tip 2 Diyabetik Bireylerde *Glukokortikoid Reseptör (NR3C1)* Geni BCL1 (RS 41423247) Polimorfizmi, 51. Ulusal Diyabet Kongresi, Antalya.

Hobiler

Buz pateni, Kitap, Müzik, Sinema, Tenis



GAZİ GELECEKTİR..