

**T.C**  
**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**GESTASYONEL DİYABETTE “PRE-MİR-27A VARIANT RS895819” GEN  
POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

**Dr. Selen SEYHAN BAYDAĞ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Müge HARMA**

**ZONGULDAK**  
**2019**

**T.C**  
**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**GESTASYONEL DİYABETTE “PRE-MİR-27A VARIANT RS895819” GEN  
POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

**Dr. Selen SEYHAN BAYDAĞ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Müge HARMA**

**ZONGULDAK**  
**2019**

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

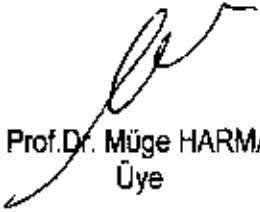
Tez Başlığı : Gestasyonel Diabette "Pre-mir 27a Variant rs895919" Gen Polimorfizminin Rolü

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Selen SEYHAN BAYDAĞ

Tez Savunma Tarihi : 16/10/2019

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Müge HARMA

  
Prof.Dr. Mehmet Ibrahim HARMA  
Jüri Başkanı

  
Prof.Dr. Müge HARMA  
Üye

  
Prof.Dr. İnan İker ARIKAN  
Üye

UYGUNDUR



## ÖNSÖZ

*Uzmanlık eğitimim süresince; klinik bilgi ve tecrübelerini sevgi ve şefkati ile paylaşan; klinik bilgi ve tecrübelerinin yanında hekimlik nosyonu ve insanlığı ile de her zaman kendime rol modeli olarak aldığım, ayrıca tez hazırlık sürecinde sabırla ve özveriyle desteklerini esirgemeyen kıymetli hocam Sayın **Prof. Dr. Müge HARMA**'ya;*

*Uzmanlık eğitimim boyunca; klinik yönetimi, disiplini, tecrübesi, ve cerrahisi ile, her zaman kendime örnek aldığım iyi bir uzman olarak yetişmemi sağlayan, zor durumlarda arkamda olduğunu bilerek güven duyduğum, değerli hocam, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın **Prof. Dr. Mehmet HARMA**'ya*

*Uzmanlık eğitimim süresince cerrahi bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, üzerimde büyük emeği olan, iyi bir hekim olmanın yanında iyi bir insan olmanın önemini de öğreten, değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Ülkü ÖZMEN**'e,*

*İyi bir hekim olarak yetişebilmem için bilgi, emek ve deneyimlerini esirgemeyen, her konuda sonsuz destek olan, hekim-hasta ilişkisini örnek aldığım, değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Aykut BARUT**'a*

*Birlikte çalışmış olmaktan gurur duyduğum, uzmanlık eğitimimde klinik ve cerrahi yol göstermeleriyle her zaman yanımda olduğunu hissettiğim değerli hocam Sayın **Dr. Öğ. Üy. Görker SEL**'e*

*Birlikte çalışırken klinik ve cerrahi tecrübelerini esirgemeyen, çalışma aşkı ve enerjisi ile yol gösteren değerli hocam Sayın **Dr. Öğ. Üy. Adile Yeşim AKDEMİR**'e*

*Obstetrik ve jinekolojik ultrasonografi konusunda bilgi ve tecrübelerini sabırla ve özveriyle paylaşan bilgi ve deneyimlerinden faydalanma şansı bulduğum değerli hocam Sayın **Prof. Dr İnan İlker ARIKAN**'a*

*Tezimin hazırlama sürecinde bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen Sayın **Doç. Dr. Sevim KARAKAŞ ÇELİK**'e*

*Birlikte çalışmış olmaktan gurur duyduğum, uzmanlık eğitimimde klinik ve cerrahi yol göstermeleriyle birlikte, dost olarak sevgilerini her zaman yanımda hissettiğim çok sevgili **Op. Dr. Anıl TURHAN ÇAKIR, Op. Dr. Tuba ZENGİN AKSEL, Op. Dr. Raşan EYÜP DOĞAN, Op. Dr. Rabia BAŞER AÇIKGÖZ ve Op. Dr. Dilara ÖZAYDIN TAŞTAN**'a,*

*Birlikte geçirdiğimiz zaman boyunca yardımlarını benden esirgemeyen ve kendileriyle çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum tüm araştırma görevlisi, hemşire ve diğer sağlık çalışanı arkadaşlarıma,*

*Beni sevgiyle büyütüp, özgüvenli ve ilkeli bir birey olarak yetişmemi sağlayan, her zaman yanımda olan, varlıklarıyla bana güç veren, annem ve babama; varlığını hep yanımda hissettiğim biricik kardeşime,*

*Hayatıma girdiği andan itibaren hayatımı aydınlatan, bu zor süreçte varlığını, sevgisini ve desteğini her zaman kalbimde hissettiğim sevgili eşim Cemalettin Baydağ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.*

***Dr. Selen SEYHAN BAYDAĞ***

***Zonguldak, 2019***



## ÖZET

**Selen SEYHAN BAYDAĞ, Gestasyonel Diyabette “Pre-mir-27a variant rs895819” Gen Polimorfizminin Rolü, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2019.**

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, Gestasyonel Diyabette Premir27a variant rs895819 Gen Polimorfizminin Rolü'nü araştırmaktır. Daha önce yapılan çalışmalarda bu gen ile Tip 2 diyabet arasında ilişki bulunmuş olup, gestasyonel diyabet ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Dolayısıyla; Premir27a variant rs895819 gen polimorfizmi ile GDM arasındaki ilişkiyi inceleyen bu çalışma; bu konuda yapılan ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu araştırmada, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Gestasyonel Diyabet tanısı konmuş, akraba olmayan 106 hasta (çalışma grubu) ve herhangi bir kronik hastalığı olmayan 100 sağlıklı gebe (kontrol grubu) yer almıştır. Bilgilendirme ve onam işleminin ardından tüm bireylerin rutin kontrolü için verdikleri kanın 2ml'si alınmıştır. Ardından kit yöntemiyle DNA izolasyonu sadece ilgili gen poliformizmi incelenmiştir. Elde edilen genomik DNA, 280 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülerek DNA kalitesinin uygunluğu belirlenmiştir.

Pre-mir-27a variant rs895819gen polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi ile uygun primerler kullanılarak yapılmıştır. Çalışmanın analizinde SPSS 18.0 for Windows (Chicago, IL) paket programı kullanılmıştır.

**Bulgu ve sonuçlar:** Hasta grubunda 106, kontrol grubunda 100 kişi üzerinde yapılan istatistiksel analizde iki grup arasında TT, TC ve CC genotipleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

C alelinin dominant ve C alelinin resesif olduğu modellere göre; fenotipler üzerinde de analizler yapılmış, anlamlı bir fark saptanmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Gestasyonel diyabet, Pre-mir-27a variant rs895819, mikrozomalrna

## ABSTRACT

**Selen SEYHAN BAYDAĞ, The role of the “Pre-mir-27a variant rs895819” gene polymorphism in Gestational Diabetes, Zonguldak Bülent Ecevit Univesity Faculty Of Medicine, Thesis in Obstetrics and Gynecology. Zonguldak, 2019.**

**Aim:** The aim of this study is to investigate the role of the “Pre-mir-27a variant rs895819” gene polymorphism in Gestational Diabetes. In the previous studies it was found that there is a relationship between this gene and Type 2 diabetes but there is no study on gestational diabetes. Thus, this study investigating the relation between the gene polymorphism Premir27a variant rs895819 and GDM is the first one conducted on this issue.

**Material and Method:** Non-kin 106 patients (working group) diagnosed Gestational Diabetes in the Department of Obstetrics and Gynaecology of the Medical Faculty in Zonguldak Bülent Ecevit University and 100 healthy pregnant women with non chronic disease (control group) took part in this study. After the information and consent period, in order to investigate only related gene polymorphism DNA isolation of 2 ml of donated blood sample was handled via kit method for each individual’s routine control. The suitability of DNA quality was determined by measuring the obtained Genomic DNA at spectrophotometer in 280 nm wave length. The Pre-mir-27a variant rs895819 gene polymorphisms were conducted through PCR\_RFLP method with appropriate primers. For the analysis of the study, SPSS 18.0 for Windows (Chicago, IL) packaged software was used.

**Findings and Results:** A significant difference between two groups was determined in terms of TT, TC and CC genotypes in the statistical analysis performed on 106 patient group and 100 control group.

Other analyses were also performed on phenotype according to the models in which C allele is dominant or recessive, but there is no significant difference.

**Key words:** Gestational diabetes, Pre-mir-27a variant rs895819, mikrozomalrna

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Gestasyonel Diyabetes Mellitus .....	4
2.1.1. Tanım ve prevalans .....	4
2.1.2. Tarihçe .....	4
2.1.3. Fizyopatoloji .....	5
2.1.4. İnsülin direnci ve hücrel mekanizmalar .....	9
2.1.5. GDM’de risk faktörleri, tarama ve tanı kriterleri: .....	9
2.1.6. GDM’de annede ortaya çıkabilecek riskler .....	14
2.1.7. GDM’de anne ve fetusta ortaya çıkabilecek komplikasyonlar.....	17
2.1.8. GDM’de tedavi prensipleri .....	20
2.2. Mikro-RNA .....	25
2.2.1. Tanım .....	25
2.2.2. Tarihçe .....	26
2.2.3. Sentezlenme basamakları.....	26
2.2.4. MiRNA tespit etme yöntemleri .....	27
2.2.5. Fonksiyonları - GDM ile ilişkisi.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	32
3.1.1. Alet ve cihazlar .....	32
3.1.2. Kimyasal Malzemeler .....	33
3.1.3. Çözeltiler.....	34



3.2. Kullanılan Yöntemler .....	35
3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu .....	35
3.2.1.1. Prensip .....	35
3.2.1.2. Protokol .....	35
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) .....	36
3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi .....	37
3.2.4. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) .....	38
3.2.5. İstatistiksel Analiz .....	38
4. SONUÇLAR .....	40
5. TARTIŞMA .....	44
6. KAYNAKÇA .....	46
7. EKLER .....	56
Ek 1: Etik Kurul Kararı .....	56

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ACOG</b>	: Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği
<b>ADA</b>	: Amerikan Diyabet Derneği
<b>AKŞ</b>	: Açlık Kan Şekeri
<b>BMI</b>	: Body Mass Index
<b>C&amp;C</b>	: Coustan & Carpenter
<b>DG R8</b>	: Drosha ve Kofakörü Pasha
<b>DL</b>	: Desilitre
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>EAPM</b>	: Avrupa Perinatal Tedavi grubu
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
<b>GDM</b>	: Gestasyonel Diyabetes Mellitus
<b>GH</b>	: Büyüme Hormonu
<b>GL</b>	: Glukoz
<b>GLUT-4</b>	: Glukoz Taşıyıcı Protein - 4
<b>HAPO</b>	: The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome
<b>Hba1c</b>	: Glikozile Hemoglobin
<b>HCG</b>	: Human Chorionic Hormon
<b>HCL</b>	: Hidroklorik Asit
<b>HCS</b>	: Human Koryonik Somatotropin
<b>HDL</b>	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
<b>HPGH</b>	: İnsan Plasental Büyüme Hormonu
<b>HPL</b>	: İnsan Plasental Laktojeni
<b>IADPSG</b>	: Uluslararası Diyabetik Gebelik Çalışma Grupları Birliği
<b>IGT</b>	: Bozulmuş Glukoz Toleransı
<b>IRS-1</b>	: İnsülin Reseptör Substratı - 1
<b>K</b>	: Potasyum
<b>LGA</b>	: Large Gestational Age
<b>MiRNA</b>	: Mikrozomal Ribonükleik Asit
<b>Mg</b>	: Miligram
<b>NCBI</b>	: National Center for Biotechnology Information

<b>NDDG</b>	: Ulusal Diyabet Veri Grubu
<b>NIH</b>	: National Institute of Health
<b>NPH</b>	: Nötral Protamin Hagedorn
<b>OAD</b>	: Oral Antidiyabetik
<b>OGTT</b>	: Oral Glukoz Tolerans Testi
<b>PCO</b>	: Polikistik Over
<b>PCR–RFLP</b>	: Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism
<b>PG</b>	: Plazma Glukoz Düzeyi
<b>PGDM</b>	: Pregestasyonel Diyabetes Mellitus
<b>PP</b>	: Postprandiyal
<b>PPAR</b>	: Peroxisome proliferator-activated Receptor
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	: Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma
<b>PRL</b>	: Prolaktin
<b>RDS</b>	: Respiratuvar Distres Sendromu
<b>RFLP</b>	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>RNase-R</b>	: RNA ekzonükleaz
<b>RT-PCR</b>	: Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>SNP</b>	: Single Nucleotide Polymorphisms
<b>SSS</b>	: Santral Sinir Sistemi
<b>T2DM</b>	: Tip 2 Diabetes Mellitus
<b>TEMĐ</b>	: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği
<b>TİKYGS</b>	: Tanı İçin Kullanılan Yüksek Glukoz Sayısı
<b>TKŞ</b>	: Tokluk Kan Şekeri
<b>TNF–<math>\alpha</math></b>	: Tumor Nekrozis Faktör-Alfa
<b>U</b>	: Ünite
<b>VLDL</b>	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü

## TABLolar LİSTESİ

### Sayfa

Tablo 1: Gebelikte oluşan hormonal değişiklikler ve glukoz metabolizması ile insüline olan etkileri .....	8
Tablo 2: Oral glukoz tolerans testi ile GDM tanı kriterleri.....	13
Tablo 3: GDM tanısı için farklı kuruluşların önerdiği tanı kriterleri.....	13
Tablo 4: GDM’de insülin tedavisi.....	23
Tablo 5: GDM ile ilişkili olduğu düşünölen genler .....	29
Tablo 6: Genotiplerin gruplar arası dağılımı.....	41
Tablo 7: C_dominant modelinin fenotip dağılımı.....	42
Tablo 8: C_resesif modelinin fenotip dağılımı .....	42

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1: Mi-RNA'ların biyosentezi .....	27
Şekil 2: DraIII enzimi ile kesilmiş PCR ürünlerinin %3,5'lük agaroz jeldeki görüntüsü .....	38



# 1. GİRİŞ

Poli ve morfizm kelimelerinin bir araya gelmesi ile oluşan ve eski Yunanca'da "çok şekillilik" anlamına gelen polimorfizm, türlerin buldukları ortama adaptasyonlarını kolaylaştırarak, evrimsel süreçte doğal seleksiyon karşısında türlerini devam ettirebilmesine olanak sağlar. Bunun yanında tıp alanında yapılan polimorfizm çalışmalarında elde edilen bulgular, hastalıklara yatkınlığın belirlenmesinde ve tedavinin yönlendirilmesinde kayda değer bir önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı, Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM)'ta Pre-mir-27a variant rs895819 Gen Polimorfizminin Rolü'nü araştırmaktır.

Bu çalışma, GDM'li 106 gebe ve benzer demografik özelliklere sahip 100 sağlıklı gebe arasında Pre-mir-27a variant rs895819 gen polimorfizmi açısından anlamlı bir fark olup olmadığını araştırmaktadır. Gen analizi polimerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) kullanılarak yapılmıştır.

Gebelikte sık görülen komplikasyonlardan biri olan diyabet; insülin eksikliği veya direnci sonucu organların (özellikle göz, böbrekler, sinir sistemi, dolaşım sistemi) kronik hiperglisemiye maruz kaldığı klinik bir durumdur. Gebeliklerde %1-14 oranında GDM görülmektedir (1).

GDM, plasentadan salgılanan hormonların; annedeki glikoz metabolizması üzerine etkileri sonucu sıklıkla 24'üncü haftadan sonra ortaya çıkar. Bu hastalığın tanısını ve tedavisini atlamak gebelikte morbidite ve mortalite artışına neden olur (örn; makrozomi, omuz distozisi, neonatal komplikasyonlar) (2).

Araştırmalar, GDM'nin hem anne hem de fetüs sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olduğunu (makrozomi, ölü doğumlar ve yenidoğan metabolizma bozuklukları vs.) kanıtlamıştır. GDM'li gebelerde bu etkiler diabetes mellitus (T2DM)'lu hastalar ile karşılaştırıldığında daha çok görülmektedir (3).

MiRNA'lar, neredeyse tüm biyolojik yollarda post-transkripsiyonel düzenleyiciler olarak önemli rol almaktadır (4-5).

MiRNA'ların; metabolizmanın ve glukoz homeostasisinin birçok yönünde önemli bir rol oynadığını ve dolayısıyla T2DM gibi metabolik hastalıkların patogenezinde yer aldığını düşündüren önemli veriler mevcuttur (6).

MiRNA'ların hedef dokularda (yağ dokusunda miR-222 ve miR-27a ve miR-125a ve miR-195) insülin sekresyonu ve üretiminde (miR-375, miR-30d, miR-124a), pankreas adacık gelişiminde (miR-375, miR-146) ve insülin direncinde kritik bir role sahip olduğunu ortaya koyan kanıtlar artmaktadır (7).

MiR-27a, PPAR $\gamma$  genini hedefleyerek adipogenez ve adiposit farklılaşmasının negatif düzenleyicisi olarak işlev görür (7).

MiR-27a; adipogenez süreçlerde, preadipositlerden adipositlerin olgunlaşması ve gelişmesinde rol alır. Bu yolağın; insülin direnci, T2DM, hipertansiyon ve ateroskleroz ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (8-9).

Herrera ve ark ile Karolina ve ark. tarafından yapılan araştırmalarda, MiR-27a ekspresyonunun T2DM'nin spontan bir sıçan modelinin yağ dokusunda arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca metabolik sendrom ve T2DM tanısı konan hastalarda da dolaşımdaki düzeylerin arttığı bulunmuştur (10-11).

Bugüne kadar sadece birkaç çalışma, rs895819 ile T2DM gelişimine duyarlılık arasındaki ilişkiyi araştırmıştır (12).

Çalışmaların bir kısmında rs895819 polimorfizmi ile T2DM arasındaki ilişki gösterilmiştir. İran'da yapılan büyük çapta kohort çalışma ile de rs895819 polimorfizmi (hsa-mir-27a dahilinde) ve T2DM duyarlılığı arasındaki ilişki gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalar, GDM geçmişi olan kadınların T2DM gelişme olasılığının diğerlerinden daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur (13).

GDM ve T2DM arasında risk faktörü patofizyoloji açısından benzerlik vardır. Her iki durumda da yüksek vücut kütle indeksi (BMI) ve anormal glukoz tolerans öyküsü mevcuttur. Her iki koşulun da en belirgin özelliği, periferik insülin direncinin artışı ve pankreatik beta-hücre insülin üretiminin yetersizliğidir. Bu iki hastalık

arasında çarpıcı benzerliklerin bulunması, genetik katkılar arasında belirgin bir örtüşme olduğunu düşündürmektedir. (14)

Buna ek olarak, aile öyküsünde T2DM olan kadınların, GDM geçmişi olmasa dahi, diğer kadınlardan daha fazla GDM geliştirmeye yatkın oldukları kanıtlanmıştır (15).

Bu çalışmalar, T2DM'de etkili olan genetik polimorfizmlerin GDM'de de etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu verilerden yola çıkarak çalışmada, Pre-mir-27a variant rs895819 gen polimorfizmi ile GDM arasındaki ilişki incelenmiştir. Bununla birlikte, Pre-mir-27a variant rs895819 gen polimorfizminin GDM ile ilişkisini araştıran bir çalışmanın literatürde olmaması, bu çalışmayı önemli kılmaktadır.



## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Gestasyonel Diyabetes Mellitus**

#### **2.1.1. Tanım ve prevalans**

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM); ilk olarak gebelikte başlayan ya da gebelikte fark edilen glukoz intoleransı tablosudur. Bu tanımlamanın en önemli kısıtlılığı; gebelik öncesinde de var olan fakat, tanı almamış diyabet olasılığını dışlamamasıdır. Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği (ACOG) halen aynı terminolojiyi kullansa da; son yıllarda Uluslararası Diyabetik Gebelik Çalışma Grupları Birliği (IADPSG), Amerikan Diyabet Derneği (ADA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve diğerleri ilk olarak gebelik sırasında tanı konan ancak muhtemelen öncesinde diyabetik olduğu düşünülen kadınların, gestasyonel diyabetten ayrılması gerektiğini savunmaktadır.

Tüm gebeliklerin ortalama %7'si GDM ile komplike olmaktadır. Bu oran farklı popülasyonlarda %1 ile %14 arasında değişmekle birlikte(1) Türkiye'de 1,2 ile 4,5 arasındadır (16,17).

GDM, hem anneyi hem de bebeği etkileyen bir sağlık problemidir. (18) Diabetes mellitus ile komplike olmuş gebeliklerin %90'ını gestasyonel diabetes mellitus oluşturur (19-20).

#### **2.1.2. Tarihçe**

Gestasyonel diyabet ile ilgili; ilk defa 1828 yılında Dr.Heinrich Bennewitz, Berlin Hastanesine başvuran 22 yaşında yedi aylık gebe bir kadının önceki gebeliğindeki poliüri ve polidipsi yakınmalarının doğum sonrası düzeldiğini ve şimdiki gebeliğinde tekrar ortaya çıktığını bildiren bir vaka sunumu yapmıştır (21).

Literatürde GDM ilgili ilk temel kaynak, 1882'de Matthews Duncan tarafından yazılmış olan derlemedir. Bu derlemede Matthews Duncan hastalığın gebelikte ortaya

çıkıldığını, gebelik devam ettiği sürece hastalığın devam ettiğini ve gebelik sona erdiğinde hastalığın da kısa bir süre sonra sona erdiğini ifade etmiştir (22).

“Gestasyonel Diyabet” terimi ilk defa Jorgen Pedersen tarafından Kopenhag’da kullanılmış ve 1980 yılında Chicago’da toplanan konferansta GDM “gebelik ile başlayan veya gebelik sırasında ilk defa ortaya çıkan, değişik derecelerdeki karbonhidrat intoleransı” olarak tanımlanmıştır (22).

### **2.1.3. Fiziopatoloji**

GDM’li olgularda fiziopatoloji %90 oranında insülin direnci iken %10 oranında insülin eksikliği söz konusudur. Gestasyonel diabetes mellitusun patofiziolojisi tip 2 DM ile benzer şekilde olup; problem reseptör seviyesindedir ve insülin rezistansı vardır (20).

Birinci trimesterde maternal metabolizma; insülin duyarlılığında artış, açlık hissinde artma ve açlık durumunda karbonhidrat yerine yağ kullanılmasına eğilim yönünde değişim gösterir. Buna karşın, ikinci ve üçüncü trimesterde fetüsün metabolik ihtiyaçlarının karşılanması amacı ile insülin rezistansında bir artış meydana gelir. Normal gebelikte ve GDM’deki insülin direncinin sebebi insülin reseptör defekti değildir. Glukoz daha çok fetüs için rezerve edilirken, yağlar anne için kullanılır. Serumda keton ve serbest yağ asitleri artarken açlık kapiller kan glukoz konsantrasyonu düşer (23-24).

Diyabetik olmayan gebelerde insülin direnci özellikle yemeklerden sonra artmış insülin salgısı ile kompanse edilir. Bu durum; progresif insülin direncine rağmen kapiller glukoz düzeyinin, diyet kısıtlaması yapılmaksızın normal seviyelerde tutulmasına olanak sağlar (24).

Gebelikte açlık plazma glukoz düzeyinde azalma, tokluk glukoz düzeylerinde artış, açlık ve tokluk insülin düzeylerinde artış ortaya çıkar. Pankreasta  $\beta$  hücre hiperplazisi ve hipertrofisi oluşur. Yağ dokusunda ise lipolizde artış meydana gelir. Gebelik metabolizmasındaki bu fizyolojik değişiklikler sonucunda insülin duyarlılığında azalma görülmektedir (23-24).

GDM'li kadınlarda ise açlık insülin düzeyi diyabetik olmayan gebelerdekine eşit veya daha yüksek olsa bile; bu, normoglisemiye sağlamak için yeterli değildir. Buna ek olarak postprandial insülin yanıtı gecikmiştir ve diyabetik olmayan kadınlarda insülin pik düzeylere genellikle yemekten sonra 60. dakikada ulaşırken, diyabetik kadınlarda bu süre 90. dakikaya kadar uzayabilir. Diyabetli olmayan gebelerinkine benzer şekilde 60. dakikada kalması nadir görülür (24).

### **İnsülin rezistansını artıran hormonlar:**

#### Birinci trimesterde:

- Östrojen
- Progesteron

#### İkinci trimesterde:

- İnsan plasental laktojeni (hPL)
- İnsan plasental büyüme hormonu (hPGH)
- TNF- $\alpha$
- Kortizol
- Prolaktin

**Östrojen:** Gebeliğin erken döneminde yükselen östrojen ve progesteron hormonları maternal glukoz metabolizmasının değişimine neden olur. Östrojen verilmiş sıçanlarda glukoz tolerans testinden sonra glukoz konsantrasyonunda anlamlı bir düşme gözlenmiştir (25). Glukoz düzeyindeki azalmayı takiben, insülin düzeyi iki katına çıkar. Sıçan yağ dokusu kültüründe östrojen; glukoz taşınması üzerinde etkili değilken, maksimum insülinin reseptörlerine bağlanmasını indükler (26).

**Progesteron:** Progesteron insülinin glukozu yanıtını %60–70 arttırır (27) Progesteron sıçan yağ dokusu kültüründe maksimum glukoz transportunu ve insülin bağlanmasını azaltır (25). Nelson ve ark. (28) yaptıkları çalışmada, ooforektomize sıçanlarda infüzyon ve öglisemik klemp tekniği ile endojen glukoz dönüşümünü ve glukoz alımını ölçmüşlerdir. Progesteron verilmesi çevre dokularda insülin aracılı glukoz kullanımını değıştirmedığı, fakat insülinin endojen glukoz üretme yeteneğini azalttığı gösterilmiştir.

**İnsan Plasenta Laktojeni (hPL):** Gebelikteki en güçlü insülin antagonisti hormon insan plasental laktojenidir (hPL). Düzeyi gebeliğin 10. haftasından itibaren plasental doku ile doğru orantılı olarak artmaya başlar, 20. haftada en yüksek seviyesine ulaşır. hPL, insülin salgılanmasına rağmen hücrelerin duyarlılığını azaltıp insülin rezistansı geliştirerek, gliseminin artmasına neden olur ve diyabetojenik etki gösterir. Maternal glukoz ve aminoasit kullanımı azalır. Gebelikte insülin reseptörlerinde azalma yoktur. İnsülin rezistansının postreseptör bir bozukluğa bağlı olduğu düşünülmektedir. Artan hPL düzeylerine ek olarak kandaki trigliserid, serbest yağ asitleri, HDL, VLDL, lipoproteinler ve serbest kortizol miktarları da artarak insülin rezistansı ve hiperglisemiye neden olmaktadır. Ayrıca hPL; pankreas  $\beta$  hücrelerinde insülin üretimini uyarıp annede insülin salınımının 2–3 kat artmasına sebep olur. (29-30)

**İnsan plasenta büyüme hormonu (hPGH):** İnsan plasental büyüme hormonu (hPGH) da insülin rezistansına yol açan bir hormondur. Yirminci gebelik haftasından itibaren maternal dolaşımda büyüme hormonunun neredeyse tamamı plasental kaynaqlıdır.

Progesteron, hPL, hPGH ve tümör nekroz faktörü (TNF)- $\alpha$  gebeliğin ikinci ve üçüncü trimesterinde insülin rezistansını artırarak fetüse yeterli besin desteğinin sağlanmasına yardımcı olurlar (24).

### **Diğer Hormonlar:**

**Glukagon:** Normal bir gebelikte açlık plazma glukagonunda özellikle son üç aya doğru bir artış gözlenmektedir. Gestasyonel diyabetli gebelerde ise glukagon düzeyleri ya hiç değişmemekte ya da son dönemde hafif bir artış göstermektedir. Her iki grupta da aynı zamanda açlık insülin düzeyinin de yüksek olması nedeni ile insülin glukagon oranı artmaktadır. Gebelik sırasında glukagon salgısının hiperglisemi ile baskılanmasına duyarlılık artmıştır. Bütün bu değişikliklerin diyabete eğilim yaratan bir rol oynamadığı, ancak anabolizma ve insülin salgılanmasındaki artışın bir sonucu olarak geliştiği düşünülmektedir (31).

**Prolaktin ve GH (Büyüme Hormonu):** Ön hipofizdeki laktotrop hücrelerden salgılanan prolaktin doğuma kadar sürekli artmaktadır. Gebe olmayan

hiperprolaktinemisi olan kadınlarda glukoz intoleransı, hiperinsülinemi ve hiperglukagonemi gözlenmesi bu hormonun gebelikteki diyabete eğilim yaratan hormonlar arasında sayılmasını sağlamıştır. GH düzeylerinde gebelikle ilgili bir artış olmaması ve hatta ilk üç aydan itibaren gebe olmayanlara göre daha düşük düzeylerde seyretmesi, gebelikte bu hormonun glikoz metabolizmasını etkilemediğini düşündürmektedir (32).

**Glukokortikoidler:** Gebelik süresince anne kortizolü sürekli bir artış göstermekte ancak gün içerisindeki ritmi önemli ölçülerde değişmemektedir. Farmakokinetik araştırmalar kortizol yarılanma ömründe uzama olduğunu ve atılımının yavaşladığını göstermekte ve bu faktörler serbest kortizol artışından sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca östrojen artışının sonucu olarak özellikle son üç ayda gözlenen yüksek transkortin (kortizol bağlayıcı protein) düzeyleri de plazmada bağlı kortizol düzeyini arttırmaktadır. Yağ hücrelerinde insülin reseptör etkileşimini azaltan kortizol, insülin karşıtı bir hormondur ve glukoz intoleransına yol açmaktadır (33).

Plasental ve plasenta dışı salgılanan bütün bu hormonlar gebeliğin değişen dönemlerinde farklı etkiler göstermektedir. İlk üç ayda progesteron ve hCG'nin etkileri baskın iken, sonraki dönemde hPL aktivitesi giderek artmaktadır. Sonuç olarak ise son üç ayda tepe düzeyine ulaşan bir insülin direnci oluşmaktadır. Gebelikte oluşan hormonal değişiklikler ve glikoz metabolizması ile insüline olan etkileri tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1: Gebelikte oluşan hormonal değişiklikler ve glukoz metabolizması ile insüline olan etkileri**

Hormonlar	Etkileri
Östrojen	İnsülin konsantrasyonunda artış İnsülin reseptör bağlanmasında artış
Progesteron	Glukoz transportunda azalma İnsülin reseptör bağlanmasında azalma
Kortizol	İnsülin direncinde artma İnsülin reseptör fosforilasyonunda azalma IRS-I'de azalma
Plasental Laktojenler	İnsülin duyarlılığında azalma İnsülin salgısında artma İnsülin sentezinde artma Glukoz oksidasyonunda artma B hücre sayısında artma B hücre kitlesinde artma
Leptin	İnsülin direncinde artma
Glukagon	İnsülin direncinde artma

#### **2.1.4. İnsülin direnci ve hücrel mekanizmalar**

Gebelikte insülin direnci artar, GDM'li hastalarda bu artışın daha belirgin olduğu görülmüştür. Az sayıda çalışmada insülin rezistansından sorumlu olan mekanizmalar araştırılmıştır. Araştırmaların büyük bir kısmında normal ve GDM'li kişilerde insülinin reseptöre bağlanmasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur (34-35). İnsülin reseptör fosforilasyonunda dokuya özgü azalma ve kas dokusunda temel protein olan İnsülin Reseptör Substrat-1 (IRS-1) ekspresyonunda azalma sonucunda, gebelikte insülin ile uyarılmış glukoz transportu obeziteden bağımsız olarak azalır.

GDM'de ise insülin rezistansını arttıran bu değişimlerin yanında; kas dokusunda insülin reseptörünün insülin aracılı tirozin fosforilasyonunda normal gebelikte gözlenmeyen bir azalma gerçekleşir. Bunun bir sonucu olarak insülin reseptör aktivitesinde daha da belirgin azalma, IRS-1'de daha az fosforilasyon ve glukoz taşıyıcı protein-4 (GLUT-4)'ün plazma membranına glukoz transportunda azalma meydana gelir (36-37).

Ayrıca GDM'de, yağ dokusunda peroksizom prolife aktive reseptör (PPAR) ekspresyonunda azalma mevcut olup, dolaşımdaki serbest yağ asidi seviyeleri de yüksektir. GDM'de adipositlerde GLUT-4 sayısında azalma olup, GLUT-4 translokasyonunda bozukluklar, insülinin bu proteinleri hücre yüzeyine taşımasında azalmaya yol açar (38).

Bu bilgiler, gebelikteki insülin direncinin dokulara özgü olduğunu ve glukoz ile ilgili metabolik yolları değiştiren postreseptör olaylarla bağlantılı olduğunu gösterir.

#### **2.1.5. GDM'de risk faktörleri, tarama ve tanı kriterleri:**

Taramada amaç tanı koymak değil, risk altındaki hasta grubunu belirlemektir. Geçmiş yıllarda tarama için sadece gebenin özgeçmiş ve aile hikayesi kullanılıyordu. Ailede diyabet öyküsü olan veya daha önceki gebeliklerinde ölü doğum, makrozomik bebek öyküsü olanlara tanısal 100 gr OGTT uygulanması şeklinde tarama yapılıyordu (39).

Sadece hikayeye dayanan bu taramada sensitivitenin az olduğu, GDM'li gebelerin ancak %50'sinin yakalanabildiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (40).

İlk kez 1990 yılında Chicago Workshop Conference on Gestational Diabetes Mellitus tarama programı çerçevesinde, 24-28'inci haftalar arasında tüm gebelere 1 saatlik 50 gr glukoz yükleme testi yapılması önerilmiştir. Bu uygulamaya göre; tarama testinde eşik değer 140 mg/dl alınırsa GDM'lu kadınların ortalama % 80'i saptanırken, eşik değer 130 mg/dl alınırsa GDM'lu olarak tanı alacak kadınların % 90'ının saptandığı görülmüştür (41).

Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji topluluğu düşük riskli gebelerde bu testin fayda/maliyet oranının düşük olması nedeni ile özellikle yüksek riskli gebelere uygulanmasını önermektedir. 25 yaş altında, diyabet prevalansının yüksek olduğu etnik gruplara dahil olmayan, BMI 25 ve altında olan, kötü obstetrik hikayesi olmayan, anormal glukoz tolerans öyküsü olmayan ve birinci derece akrabalarında diyabet öyküsü olmayan gebeler düşük risk grubu olarak kabul edilmektedir.

Avrupa Perinatal Tedavi grubu (EAPM), düşük risk kriterlerini karşılayan çok az sayıda gebe olması (tüm gebelerin %10'u) nedeni ile tüm gebelerin glukoz tolerans testi ile taranmasını önermektedirler (42).

#### **Düşük risk grubu:**

- Yaş < 25
- BMI < 25
- GDM prevelansı düşük olan etnik gruplara ait olması
- Birinci derece yakınlarında diyabet bulunmaması
- Bozuk glukoz toleransı anamnezinin olmaması
- Kötü obstetrik sonuç veya makrozomik bebek öyküsünün olmaması

#### **Yüksek risk grubu:**

- Obezite
- GDM anamnezi veya makrozomik bebek doğurma yks
- Glukozüri
- Kuvvetli ailesel diyabet anamnezi

### **Orta risk grubu:**

Bu grup yüksek veya düşük risk durumuna girmeyen kadınlardan oluşur. (43)

Genel ya da yüksek riskli kişilerin taranması, tarama zamanı, uygulanacak test, değerlendirilmede kullanılan eşik değerler ve testin bir ya da iki basamaklı olarak uygulanması ile ilgili tartışmalar devam etmektedir. GDM taraması ve tanısı yaklaşımında halen ortak bir fikir birliği olmamakla birlikte iki veya daha fazla patolojik glukoz değeri GDM tanısı için gereklidir.

GDM'un ya da T2DM'un erken tanısı için en iyi tarama testinin hangisi olduğu konusu açık değildir.

2009 yılında yapılan HAPO (The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome) çalışmasında gestasyonel diyabet tarama yöntemi olarak 75 gr glukoz ile 2 saatlik OGTT önerilmiş ve GDM tanısı için eşik kan şekeri değerleri; 0. saat 92 mg/dl, 1. Saat 180 mg/dl, 2. Saat 153 mg/dl olarak belirlenmiştir. Bu kan şekeri düzeylerinden en az bir tane ve üzeri değerleri GDM tanısı için yeterli olacağı belirtilmiştir (45).

Bunun üzerine ADA tarafından gestasyonel diyabet tanı kriterleri 2011 yılında yeniden güncellenmiş ve HAPO çalışmasının önerdiği kriterler kabul edilmiştir (46).

ACOG 2018 yılında çıkarttığı bültende; erken gebelik taraması için, gebe olmayan bireylerde T2DM tanısında kullanılan testin (75g glukoz alımını takiben açlık kan glukozu ve 2.saat plazma glukoz ölçümü) kullanılabileceğini savunmuştur. Fakat doğum hekimlerinin ve doğum öncesi bakım hizmeti verenlerin çoğu GDM tanısı için 50g OGTT ile başlayan 2 aşamalı tarama protokolünü kullandığını ifade etmiştir (47).

American Diabetes Association (ADA), HbA1c ölçümünün ek olarak kullanılabileceğini, ancak OGTT yaklaşımı ile karşılaştırıldığında duyarlılığının (sensitivitesinin) düşük olmasından dolayı tek başına kullanılmasının uygun olmadığını belirtmektedir (47).

Erken gebelikte yapılan tarama test sonuçları negatif olsa bile, gebeliğin erken dönemindeki tarama testleri negatif olan ve daha sonra GDM gelişen kadınların oranının yüksek olması nedeni ile yine de gebeliğin 24-28. haftalarında GDM tarama testi yapılması önerilmektedir. Gebeliğin erken döneminde 50-g tarama testi sonucu



pozitif olup, tanı testi negatif olan kadınlarda, 24-28. gebelik haftalarında tekrar 50-g tarama testi yapmadan, doğrudan tanı testlerinin kullanılması yaygın kabul gören bir durumdur (47).

Birleşik Devletlerde GDM taramasında sıklıkla iki basamaklı yaklaşım kullanılır (47).

**İki basamaklı yaklaşım:** İlk olarak 50 gr glukoz yükleme ile tarama uygulanır. Takiben 1. saat glukoz >140 mg/dl olanlarda tanısal amaçlı 100 gr glukoz ile 3 saatlik OGTT uygulanır.

**Tek basamaklı yaklaşım:** Tarama testi yapılmaz. 75 gr glukoz ile 2 saatlik OGTT ile tanısal test uygulanır.

**Glukoz yükleme testi:** Son yemek zamanından bağımsız olarak günün herhangi bir zamanında yapılabilir. 50 gr glukozlu sıvı içirildikten 1 saat sonra plazma glukoz (PG) düzeyi değerlendirilir. Eşik değer olarak 140 mg/dl alındığında GDM'li kadınların %80-90'ı belirlenebilir. Hastaların yaklaşık %15'inde ise OGTT gerekir. Glukoz yükleme testi pozitif olan kadınlarda GDM tanısı için 100 gr ya da 75 gr OGTT yapılmalıdır. Glukoz yükleme testinde 1. saat PG>180 mg/dl olması GDM tanısı konulması için yeterlidir. Bu durumda OGTT yapmaya gerek yoktur.

**100 gr OGTT:** Bu test sonucunda en az 2 değer yüksek olduğunda GDM tanısı konulur. Eşik değerler için Ulusal Diyabet Veri Grubu (NDDG) tarafından ya da Carpenter ve Coustan tarafından önerilen değerler kullanılır.

**75 gr OGTT:** Tek bir yüksek değer GDM için tanısaldır. Eşik değerler için IADPSG tarafından önerilen değerler kullanılır. 75 gr OGTT, 100 gr OGTT'ye göre daha uygun, daha iyi tolere edilebilen ve olumsuz sonuçlar açısından riskli gebenin saptanmasında daha duyarlı bir testtir. Duyarlılığının daha yüksek olmasının sebebi, testin pozitif olarak kabul edilmesi için tek bir yüksek değer yeterli olmasıdır (42).

**Tablo 2: Oral glukoz tolerans testi ile GDM tanı kriterleri**

Kriterler	Yıl	Basamak	TİKYGS*	Gl. Dozu(gr)	Açlık	Gl. Düzeyi (Mg/Dl)		3. saat
						1.Saat	2.Saat	
O'Sullivan	1964	2	2	100	90	165	145	125
NDDG	1979	2	2	100	105	190	165	145
C&C	1982	2	2	100	95	180	155	140
WHO	1999	1	1	75	126	-	140	-
IADPSG	2010	1	1	75	92	180	153	-

TİKYGS: Tanı için kullanılan yüksek glukoz sayısı

C&C: Coustan & Carpenter

NDDG: Ulusal Diyabet Veri Grubu

IADPSG: Uluslararası Diyabetik Gebelik Çalışma Grupları Birliği

Gl: Glukoz

**Tablo 3: GDM tanısı için farklı kuruluşların önerdiği tanı kriterleri**

<b>WHO</b>	IADPSG –GDM tanı kriterleri
<b>Endocrine Society</b>	IADPSG –GDM tanı kriterleri
<b>ADA</b>	IADPSG –GDM tanı kriterleri ile tek basamaklı tarama (75 gr OGTT)
	Ya da
	50 gr yükleme ve 100 gr OGTT ile iki basamaklı yaklaşım (Carpenter-Coustan ya da NDDG kriterleri)
<b>NIH</b>	50 gr yükleme ve 100 gr OGTT ile iki basamaklı yaklaşım (Carpenter-Coustan ya da NDDG kriterleri)
<b>ACOG</b>	50 gr yükleme ve 100 gr OGTT ile iki basamaklı yaklaşım (Carpenter-Coustan ya da NDDG kriterleri)
<b>TEMĐ</b>	50 gr yükleme ve 75 gr OGTT ile iki basamaklı yaklaşım (en az 2 yüksek değer)

HAPO: The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome

NIH: National Institute of Health

TEMĐ: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği

## 2.1.6. GDM'de annede ortaya çıkabilecek riskler

### Erken Dönem Riskler

- Sezaryen riski artmıştır (~%30)
- Polihidramnios ve erken doğum riski artmıştır
- Preeklampsi riski artmıştır (~%20-30). Gebeliğe bağlı olarak indüklenen hipertansiyon insülin rezistansının klinik bulgusudur. Gebelikte insülin direnci fizyolojik olarak artmaktadır (46 - 47).

### Geç Dönem Riskler

- GDM'li olguların doğum sonrası 5–10 yıl içinde T2DM gelişme riskleri yüksek olup aşağıdaki kriterlere sahip olan olgularda bu risk %50'ye yakındır:
  - Açlık hiperglisemisinin olması
  - 24. haftadan önce GDM tanısı almış olmak (önceden glukoz intoleransı olanlar)
  - Obezite
  - T2DM prevalansı yüksek etnik gruba mensup olmak
  - Postpartum 6. haftada glukoz intoleransı gösterenler. (Bu kritere sahip olan bireyler ise en yüksek riske sahiptir. Bu bireylerde 5 yıl içinde T2DM gelişme riski %80'dir. Bu gruba primer korunma uygulanmalıdır) (48).

MacNeill ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gebeliğinde GDM tanısı konan hastaların, gelecekteki gebeliklerde GDM tekrarlama riski %35,6 olarak bulunmuştur (49).

Artmış parite, BMI'nin  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> olması, GDM tanısının 24 haftadan önce konulması ve gebelikte insülin kullanımı bir sonraki gebelikte GDM'nin tekrarlama riskini arttırmaktadır. Ayrıca gebelikte 7 kg'dan fazla kilo almak ve iki gebelik arasının 24 aydan kısa olması GDM'nin tekrarlama ile ilişkili olarak saptanmıştır (50).

## **Tip 2 DM gelişme riski:**

GDM tanılı hastaların çoğunda glukoz toleransı postpartum dönemde normale döner, ancak hayatın ilerleyen dönemlerinde DM gelişme riski yüksektir. Mestman ve Coustan'ın yaptıkları çalışmalarda daha önceden GDM tanısı alanlarda diyabet ve bozulmuş glukoz toleransı (IGT) oranını; 0–2 yılda %6, 3–4 yılda %13, 5–6 yılda %15, 7–10 yılda %30 olarak saptamışlardır (51-52).

Bir başka çalışmada ise, GDM ile komplike gebeliklerde doğum sonrası 3–5. yıllar arasında T2DM gelişme oranı %30–50 bulunmuştur (53).

Greenberg ve ark. 94 GDM'li hastada postpartum diyabet gelişimi için en önemli göstergelerin gebelikte insülin gereksinimi, kötü glisemik kontrol ve doğum sonrası bozulmuş glukoz toleransının devam etmesi olduğunu saptamışlardır (54).

Tüm bu faktörler insülin rezistansının önemini göstermektedir; bu, gelecekte DM ve diğer vasküler komplikasyonların gelişimi için bir işaretidir. Peters ve ark. GDM öyküsü olan kadınların tekrar gebe kalmaları durumunda gelişen insülin rezistansının beta hücresi fonksiyonları üzerine etkisini araştırmışlardır. Değerlendirmeye alınan GDM öykülü 666 hastanın 87'si tekrar gebe kalmıştır. Tekrar gebe kalan kadınlar kalmayanlarla karşılaştırıldığında, gebe kalanlarda 3.3 kat daha fazla diyabet gelişimi gözlenmiştir. Kilo alımı da diyabet gelişimi için bağımsız bir risk faktörüdür ve alınan her 4,5 kg diyabet riskini 1,05 kat artırmaktadır (53).

## **Etiyopatogenez:**

Gebelikte ortaya çıkan insülin direnci, annenin artmış yağ dokusu ve plasentada yapılan hormonların, insülini duyarsızlaştırıcı etkilerinin kombinasyonu sonucudur. Doğumdan sonra bu durumun kısa süre içinde düzelmesi, plasental hormonlardan kaynaklandığını düşündürmektedir (55).

Maternal metabolizmanın hızlanması ve fetoplasental ihtiyaçların artmasından dolayı gebelikte günlük kalori ihtiyacı artmaktadır. Gebeliğin ilk aylarında östrojen ve progesteron hormonlarının artmasına bağlı olarak pankreasın  $\beta$ -hücrelerinde

hiperplazi oluşmakta ve bu şekilde glukozu karşı insülin cevabı artmaktadır. Glukozun periferik dokular tarafından kullanımının artması sonucu ilk trimesterde hipoglisemiye eğilim artmıştır. Gebeliğin erken döneminde hiperinsülinizm lipolizi baskımlarken lipogenezi uyarır (56).

Bu nedenle gebeliğin ilk yarısı maternal protein, glikojen ve yağ depolarının arttığı anabolik bir fazdır. Gebeliğin ikinci yarısında ise katabolik faz gerçekleşir. Bu dönemde plasenta kitlesiyle doğru orantılı olarak artan insan plasental laktojeni (hPL), hücrelerin insüline duyarlılığını azaltarak kan şekerinin artmasına neden olur ve bu yol ile diyabetojenik etki gösterir. Gebelikte insülin reseptörlerinde sayısal bir azalma olmadığı, insülin direncinin reseptör sonrası düzeydeki bir bozukluğa bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (56).

Diyabetik olmayan gebelerde insülin direncindeki bu artış insülin üretimindeki artış ile karşılanmaktadır. Üçüncü trimesterde 24 saatlik ortalama kan insülin düzeyi gebelik öncesi değerinin iki katına ulaşarak gerek açlık gerekse tokluk kan şekerinin normal sınırlarda tutulmasını sağlar. Fakat sınırlı veya hiç insülin rezervi bulunmayan diyabetik hastalarda artmış insülin direnci gebelik ilerledikçe hiperglisemiye yol açmakta, gebeliğin artan insülin direncini insülin ile karşılayamayan kadınlarda ise GDM oluşmaktadır. Artan hPL düzeylerine ek olarak kandaki kortizol, prolaktin ve leptin gibi hormonlar da insülin direncine katkıda bulunmaktadır (57-58).

Glukoz plasentadan kolaylaştırılmış difüzyonla geçmektedir. Büyük bir polipeptid olan insülin ise plasentadan fetüse geçememektedir. Plasenta, besinlerin anneden fetüse aktarılmasında çok önemli rol üstlenen bir organ olsa da insülin antagonisti olan lipolitik steroidler ve hormonlar sentezleyerek annedeki metabolik yakıtların düzenlenmesinde de rol almaktadır. Human koryonik somatotropin (HCS), plasenta tarafından sentezlenen esas polipeptittir. Gebelik sırasında annede insülin salgısına yol açarak fetüse glukoz alınması işlemini düzenler. HCS, gebeliğin ikinci yarısında hızlanmış fetal büyüme süresince yeterli glukoz ve aminoasit geçişini sağlayarak, lipolizi uyarmaktadır (59).

Lokal üretilen östrojen, progesteron, kortizol, human koryonik somatotropin (hCS), human plasental laktojen (hPL), prolaktin (PRL) ve growth hormon (GH) insülin direncinin artmasına katkı sağlamaktadır (60-61).

İnsülin tarafından uyarılan kas ve yağ dokusuna glukoz alınması işlemi, reseptör sonrası düzeyde insüline zıt etkili olan bu hormonlarca inhibe edilmektedir. GDM'da tirozin fosforilasyonu, insülin reseptör substratı-1 (IRS-1) ekspresyonu ve glikoz transporter-4 (GLUT-4) düzeylerinde azalma olduğu gösterilmiştir (62).

Gebelerde insülin direnci, vücut kitle indeksi ve kalıtım tarafından belirlenmektedir (62-63).

Özetlenecek olursa; Gebelikte endokrin pankreasın işlevsel durumu değişmiştir, pankreas Langerhans adacık hormonları glukagon / insülin oranı değişmiştir, plasental hormonlar insülinin etkisini önleyici yöndedir, çevre dokuların insüline duyarlılığı azalmıştır, insülin karşıtı hormonların etkileriyle insülin salgısı azalmıştır ve hedef organların insülin reseptörlerinde azalma vardır.

### **2.1.7. GDM'de anne ve fetusta ortaya çıkabilecek komplikasyonlar**

Diyabetik gebeliklerin maternal ve perinatal morbidite ve mortalitesi, sağlıklı gebeliklere göre daha yüksektir (64).

Gebelikteki ortalama kan glukoz seviyesi ile perinatal morbidite ve mortalite arasında yakın bir ilişki vardır. Diyabette perinatal risk artışına doğrudan sebep olan; annedeki plazma glukoz seviyesidir (65).

Perinatal olumsuz etkilerin diğer belirleyicileri ise hastalığın başlangıcı, süresi ve kardiyovasküler komplikasyonlarının varlığıdır. Plazma glukoz seviyelerinin kontrol altına alınmasıyla mortalite ve morbidite belirgin derecede azalır. 2008 HAPO çalışması verilerine göre aşağıda bahsedilen komplikasyonların büyük çoğunluğunun kontrol edilemeyen plazma glukoz düzeyleri ve HbA1c değerleri ile orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. Annede artan glukoz, fetusa geçerek fetal hiperglisemiye ve fetal pankreastan artmış insülin salgısına yol açar. Bu durum ise makrozomiye neden olmasının yanı sıra tip 2 alveol hücrelerinin sürfaktan yapımını engelleyerek

respiratuvar distres sendromu (RDS) riski gibi risklerin artışına neden olur . Diyabetik annelerin bebeklerinde ayrıca diyabetin şiddeti ile orantılı olarak fetus karaciğerinde glikojen ve trigliserid depolanır. Bu da gelecekteki yaşamında çocuğu metabolik bozukluğa iten önemli bir faktördür (66).

Hipoglisemi/ Ketoasidoz: Özellikle ilk trimesterdeki hiperemesis sonucu azalmış kalori alımı sonucunda gelişen ketoasidoz tablosu oldukça ciddi, fetal kayıp, maternal mortalite ve diyabetik malformasyon ile ilişkili bir komplikasyondur.

Hiperglisemi: Gebeliğin ikinci yarısında artan insülin rezistansı nedeniyle gelişir. Doğum sonrası diyabetojenik hormonların kaynağı olan plasentanın atılmasıyla insülin ihtiyacı hızla azalır (66).

Enfeksiyonlar: Diyabetik hastalarda en sık görülen enfeksiyonlar candida vulvovajinitleri, üriner enfeksiyonlar ve puerperal enfeksiyonlardır. Sağlıklı gebeliklerde de olabilen glukozürinin GDM'de daha da artması ve idrar retansiyonu olması bakteri kolonizasyonu için uygun besiyeri sağlayacağından asemptomatik de olsa bakteriüri saptanan bütün GDM tanılı hastalar tedavi edilmelidir (66).

Hipertansiyon, preeklampsi ve eklampsi: Hiperglisemisi olan hastalarda sağlıklı kadınlara göre preeklampsi gelişme riski 2-3 kat daha fazladır. Son yıllarda kan glukoz düzeyi ile preeklampsinin şiddeti arasında bağlantı kuran yayınlar mevcuttur (67).

Bu durum, gestasyonel diyabetik gebe kadınların anormal fonksiyon gören endotelinin; artmış anjiyotensin-2 ve vazopressin düzeylerini antagonize edecek kadar prostosiklin salgılayamamasından kaynaklanır. Normotansif gestasyonel diyabetik kadınlara göre perinatal mortalitede yaklaşık 20 kat artış vardır (68).

Erken gebelik kayıpları/konjenital malformasyonlar: Erken gebelik kayıpları oranları sağlıklı gebelere oranla 2 kat fazladır. Genel populasyonda %1-2 sıklıkta görülen konjenital anomaliler (bu hastalarda en sık görülen anomali olan kardiyak septal defekt ve kontrol altında olmayan diyabete özgü kaudal regresyon, situs invertus, SSS defektleri, anensefali, çift üreter, tek umbilikal arter vb...) PGDM kadınların bebeklerinde, normoglisemik kadınların bebeklerine göre 4-8 kat daha fazladır (69).

Polihidroamnios: Diyabetik gebelerde sıklığı %6-31 oranında değişir. Etiyolojisi kesin olmasa da fetal hipergliseminin fetal poliüriye neden olması ve amniotik sıvıda glukoz konsantrasyonunun artması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (70).

Erken doğum: Tip2 aşikar diyabet, erken doğum için bağımsız bir risk faktörüdür. Bu hastalarda, preterm eylem geliştiğinde tedavide hiperglisemi, hiperinsülinemi gibi yan etkileri olan beta-mimetik ajanlar yerine kalsiyum kanal blokerleri ve magnezyum sülfat kullanılır. Akciğer matürasyonu amacıyla glukokortikoid uygulanırken glukokortikoide bağlı 48-72 saat hiperglisemi olabileceği, akciğerleri hali hazırda matür olan bebeklere verilmesi halinde ise anne ve fetusu gereksiz metabolik yüke sokabileceği akılda tutulmalıdır (67).

Makrozomi: Diyabetik anne bebeklerinde makrozomi insidansı %16-29 arasında değişmekte olup sağlıklı anne bebeklerine göre üç kat daha sık görülmektedir.. Makrozomi gelişimindeki ana sebep maternal hiperglisemiye sekonder gelişen fetal hiperinsülinemidir. Fetusta insüline duyarlı dokular olan karaciğer, yağ dokusu, kas dokusu, kalp, adrenal glandlar, pankreas gibi dokular hipertrofi ve hiperplaziye uğrar. İnsülin bağımlı olmayan beyin, böbrekler ve femur boynunda ise aynı değişim görülmez . Diyabetik annelerin makrozomik bebeklerinde, LGA bebeklerden farklı olarak, iskelet sistemi aşırı gelişmeden omuz ve gövdede aşırı yağ birikimi antropometrisi omuz distosisi ve beraberinde brakial pleksus yaralanması, klavikula kırığı, operatif doğum ve neonatal hipoglisemi riskini arttırır. Önceden iri bebek doğurmuş olmak, obezite, multiparite, gün aşımı, OGTT’de tek değer pozitifliği de makrozomi ile ilişkilendirilmiş risk faktörleridir (71).

Fetal Gelişme Kısıtlılığı: PGDM’da mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyon sonucu gelişen uteroplental yetmezliğe bağlı olduğu düşünülmektedir (68).

İn Utero Mort Fetalis: Genellikle 35. gestasyon haftası sonrasında gerçekleşir. Sıklıkla preeklampsi, ketoasidoz, fetal malformasyon varlığı, diyabetin süresi ve insülin ihtiyacı gibi parameterlerle ilişkili değildir. Uteroplental yetmezlik, hemoglobinin oksijen affinitesinin asit-baz değişimlerinden etkilenmesi veya hiperglisemi ve hiperinsülinemi sonucu gerçekleşen fetal hipermetabolik durumun sorumlu olabileceği düşünülmektedir (70).



Doğum Yaralanmaları: Omuz takılması ve brakial pleksus yaralanmaları diyabetik anne bebeklerinde, normal popülasyondaki %0.3'lük sıklık oranına göre 24 kat daha siktir. 4000 gr üstünde insidans 10 kat artar (71).

Respiratuar Distres Sendromu: Normal gebeliklerin %99'unda 37. gestasyon haftasına kadar fetal akciğer maturasyonu tamamlanır. Bazı çalışmalar diyabetik anne bebeklerinde RDS'nin 5-6 kat daha sık olduğunu savunulmakla beraber , bazı çalışmalar bu görüşe zıt olacak şekilde RDS'nin diyabetten ziyade gebelik yaşı ile ilişkili olduğunu savunmuşlardır (72).

İnsülin, akciğerde tip 2 pnömositlerden surfaktan yapımını olumsuz yönde etkiler. Fetal akciğer maturasyonunu tespiti için kullanılan lesitin/sfingomyelin oranının sensitivitesi diyabette düşüktür. Bu yüzden lesitin/sfingomyelin oranı yerine amnion sıvısında fosfotidilgliserol veya fosfotidilinozitol tayini daha güvenilirdir (72).

Diyabetik Retinopati: Diyabetin en önemli komplikasyonlarından biridir. Diyabetik retinopati, 24-64 yaş arasında gerçekleşen körlüğün en önemli nedenidir. Prolaktin (PRL), hiperglisemi ve proteinüri diyabetik retinopati ile ilişkili bulunmuştur (73).

Diyabetik Nefropati: Diyabet, Birleşmiş Devletler'de son dönem böbrek yetmezliğinin ana nedenidir. Hiperglisemik gebelerde, nefropatinin kronik hipertansiyonla birlikteliği nedeniyle preeklampsi riski %60'lara çıkar. Mikroalbüminüri idrardaki protein miktarının 30-300 mg/gün arasında olması olarak tanımlanır ve nefropati (300 mg/gün üzerinde proteinüri) ve kardiyovasküler hastalıkların erken belirtecidir (74).

Nefropatinin gebelik üzerine olumsuz etkileri bilinmesine rağmen gebeliğin nefropati üzerinde bir etkisi olmadığı düşünülmektedir. Önceki gebeliklerinde GDM öyküsü olan hastaların, GDM öyküsü olmayanlara göre gebelik sonrası dönemde daha fazla yüksek sistolik kan basıncına sahip oldukları gösterilmiştir (74).

### **2.1.8. GDM'de tedavi prensipleri**

Tedavinin ana amacı, tüm kadınlarda glukoz seviyelerini gebelik için normal olan sınırlarda tutabilmektir. Çünkü fetal riskler göz önüne alındığında gebelik dönemi için,

maternal kan şekeri eşik değeri net olarak saptanmamıştır. Sadece AKŞ değerlerinin değil postprandiyal glukoz değerlerinin de normal olması hedeflenir. Postprandiyal hipergliseminin preprandiyal hiperglisemiye göre daha fazla fetal makrozomi ile ilişkili olduğunu gösteren iki çalışmanın sonuçlarına bakıldığında postprandiyal 1'inci saat glukoz değerleri 120-140 mg/dl aralığında tutulduğunda makrozomi riskinin minimum olduğu bildirilmiştir (75-76).

Optimal glisemik hedef değerlerini tespit etmek için kontrollü çalışma bulunmamaktadır.

ACOG 1994 bülteninde açlık plazma glukozunun 105 mg/dl ve postprandiyal (2'inci saat) plazma glukozunun 120 mg/dl olarak hedeflenmesini önermiştir. 1998'de Fourth International Workshop Conference'da hedef açlık plazma glukoz seviyesi değiştirilerek 95 mg/dl olması, postprandiyal 1'inci saat 140 mg/dl ve 2'nci saat 120 mg/dl'ye eşit veya altında tutulması önerilmiştir (77).

ADA 1999'da aynı önerilerde bulunmuştur.

ACOG da 2018'de yayınladığı bültende aynı önerilerin geçerliliğini koruduğunu ifade etmiştir (47).

Tedavide seçilecek yaklaşımlar diyet, egzersiz ve ilaç tedavisidir.

#### Diyet Tedavisi:

Diyet ilk ve en önemli basamaktır. Bu tedavinin amacı kan glukozunu kontrol altında tutarken, açlık ketozuna sebep olmadan anne ve bebeğe gerekli besinleri sağlayabilmektir.

Diyetin; %50-55 kompleks karbonhidrat, %20-30 özellikle doymamış yağ, %20-30 protein ve yüksek oranda fibril içermesi önerilmiştir. Basit şekerler, kolesterol ve doymuş yağlardan fakir bir diyetin dünenlenmesi gerektiği belirtilmiştir (78). Total kalorinin %24'ü kahvaltıda, %30'u öğlen yemeğinde, %33'ü akşam yemeğinde ve %13'ü de öğünler arasında verilmek üzere planlanmalıdır (79).

Diyet tedavisinin asıl amacı, insüline karşı periferik cevabı güçlendirmektir. Obezite doğrudan insülin direncine neden olmakta ve GDM olgularının yaklaşık %60-80'inin obez olduğu bilinmektedir. Bu hastalarda az miktarda kilo kaybının bile olumlu etkisi vardır. Diyet tedavisinin insülin hassasiyetini artırıcı etkisinin görülebilmesi için ortalama iki haftaya ihtiyaç vardır. Diyet ile maternal glukoz seviyelerinde 15-20 mg/dl'lik bir düşüş beklenir.

Diyabetik gebeliklerde ketonların fetusta nörolojik ve entellektüel problemler yaratabileceğini bildiren yayınlar mevcuttur. Açlıktan kaynaklı ketonemi ile kontrolsüz diyabet sonrası gelişen ketonemi arasında fark vardır. Gece boyunca açlık sonrası %10-20 gebede ketonüri görülmekte ve bebeği açlıktan korumaktadır. Yapılan iki çalışma da açlıktan değil de hiperglisemiden kaynaklı ketoneminin neonatal komplikasyonlara yol açtığını göstermiştir (80-81).

Tüm gebelik boyunca diyabetik annelerin kilo alımı 7.5-10 kg ile sınırlı kalırsa perinatal mortalite düşüktür. Gebeye verilecek total kalori aşağıdaki şekilde hesaplanır:

$$\text{Boy}^2 \text{ ( m ) } \times 27 = \text{İdeal kilo}$$

$$\text{İdeal kilo} \times 35 = \text{Günlük total ideal kalori}$$

Hastaların diyetleri 3 ana öğün, 3 ara öğün şeklinde ayarlanır (82).

#### Egzersiz:

Tüm gebelere tavsiye edilmelidir. Egzersiz ile maternal glukoz seviyesi düşer, hepatik glukoz yapımı ve klirensi düzenlenir. Özellikle üst vücut kaslarını çalıştıran egzersizler önerilir (82).

Yapılan bir çalışmada egzersiz ve diyet tedavisinde, yalnız diyet tedavisine göre daha düşük glukoz konsantrasyonları izlenmiştir (83).

Egzersizin glukoz seviyesine etkisi 4 hafta sonra ortaya çıkar.

### İlaç tedavisi:

İnsülin 1921 yılında Banting ve Best tarafından keşfedilmiş ve kısa bir süre sonra DM tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. İnsülin plasentayı geçmez ve fetusu etkilemez.

İnsülinin kimlere ne sıklıkta ve hangi dozda verileceği tartışma konusudur. İnsülin tedavisinin etkinliğindeki hedefler fetal makrozominin ve neonatal komplikasyonların engellenmesidir (41).

Önceleri açlık plazma glukozu 105 mg/dl üzerinde olduğunda insülin tedavisi başlanırken, yapılan çalışmalar açlık glukoz değerinin 95 mg/dl üzerinde olduğu olgularda da sık fetal makrozomiyle karşılaştığını göstermiş ve insülin başlama eşik değeri 95 mg/dl olarak kabul edilmiştir. İnsülin, iyi bir glisemik kontrol sağlamanın yanında makrozomi ile ilişkili olduğu bildirilen maternal kandaki lösin, serin, alanin gibi aminoasitlerin yükselmesini de önler (78).

GDM'li hastalarda fetal ve neonatal komplikasyonların hangi glukoz düzeyinden sonra arttığı henüz net olarak belirlenememiştir. GDM'li hastalarda insülin tedavi protokolu preprandiyalden çok postprandiyal kan şekeri profiline göre yapılırsa glukoz düzeyleri daha iyi kontrol edilir ve neonatal hipoglisemi, makrozomi ve sezeryan ile doğum riski azalır.

ADA, gebelerde ve gebelik düşünenlerde insan insülini kullanımını önermektedir. Etkisinin ortaya çıkma zamanı, pik süresi ve toplam etki süresine göre değişik insülin formülasyonları mevcuttur (84).

**Tablo 4: GDM'de insülin tedavisi**

	Etki başlama zamanı	Pik	Süre
Lispro	15-20 dk	1-2 saat	4 saat
Regüler	30-60 dk	2-4 saat	4-6 saat
NPH	1-2 saat	5-7 saat	10-12 saat
Ultralente	1-2 saat	10-12 saat	20-24 saat

İnsülin 3 farklı formülasyonda bulunur: Kısa etkili (regüler ve semilente), orta etkili (lente ve NPH) ve uzun etkili (ultralente). Hızlı etkili insülinler yemek sonrası glukoz yükselmelerini önlemek için kullanılır. Orta etkili insülin olan NPH ise uygulandığı subkutan bölgeden salınarak kan şekerini daha uzun bir süre kontrol edebilir. Uzun etkili insülinler ise karaciğerde glukoz yapımını baskılayarak kan şekerini regüle ederler (84).

Yeni bir insülin formu olan insülin lispro yemeklerden hemen önce uygulanmaktadır (Regüler insülin ise yemekten 30 dk önce uygulanmalıdır). İnsülin lispronun GDM'li gebelerde kullanımıyla hem daha az hipoglisemik epizod izlenmiş hem de diğer insülin formülasyonları kadar iyi bir glisemik kontrol sağlanmıştır. Human insülin kullanımı anti-insülin antikor oluşumunu azaltır. Ancak Balsells ve ark. GDM'li kadınlarda human insülinle tedavi sırasında da anti-insulin antikor geliştiğini bildirmişlerdir (85).

İnsulin tedavisinde hedeflenen plazma glukoz değerleri, açlık 60-90 mg/dl, preprandiyal 80-95mg/dl, postprandiyal <120 mg/dl, ortalama 90-105 mg/dl'dir (86).

Diyabetik gebelerde insülin dozlarının ayarlanması için, glukoz değerlerinin çok sıkı izlenmesi gerekir.

#### İnsülin Tedavi Protokolü:

Başlangıç dozu genellikle 0,7 U/kg/gün olarak hesaplanır. Haftalık plazma glukoz ölçümlerine göre doz arttırılabilir (87-88).

İnsülin, subkutan olarak uygulanmakla beraber günde kaç kez yapılması gerektiği, başlanan tedavi protokolüne göre elde edilen kan şekeri değerleri göz önüne alınarak belirlenir.

İnsülin, 2'li, 3'lü, 4'lü protokoller şeklinde uygulanabilir.

#### 2'li protokol:

Total insülin dozunun 2/3'ü sabah, 1/3'ü akşam verilir. Sabah dozunun 2/3'ü NPH, 1/3'ü kristalize insülin dir. Total akşamki insülin dozunun yarısı NPH, yarısı da kristalize insülin dir.

#### 3'lü protokol:

Total doz ve uygulaması 2'li protokoldeki gibi olup sadece akşamki NPH insülin dozu, gece yatarken yapılır.

#### 4'lü protokol:

Burada hesaplanan günlük total kristalize insülin dozu 3 eşit parçaya bölünerek sabah, öğle ve akşam öğünlerinden önce yapılmak üzere ayarlanır. Yine akşam için hesaplanan NPH dozu gece yatarken yapılır.

Haftalık AKŞ, TKŞ (PP2'nci saat) takipleri istenen düzeylere (AKŞ;60-90 mg/dl, PP2'nci saat < 120 mg/dl ) inmiyorsa insülin dozu %10-15 oranında arttırılır. İnsülin, yemeklerden 30 dk önce subkutan enjekte edilir.

#### GDM Tedavisinde Oral Antidiyabetikler:

GDM tedavisinde oral hipoglisemik ajanların rolü sınırlıdır. Kullanılmalarına potansiyel teratojenik etkilerinden dolayı yıllardır karşı çıkmıştır. Uzun yıllardır yapılan çalışmalar sonucunda 2'nci kuşak sülfonilüre grubu oral antidiyabetiklerden (OAD) glyburide'in plasentadan geçmediği gösterilmiştir (89-90).

## **2.2. Mikro-RNA**

### **2.2.1. Tanım**

MikroRNA'lar fonksiyon olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan, yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda tek iplikçikli bir RNA molekül çeşididir. MiRNA'lar genom üzerinde protein kodlayan intron ve ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan fakat proteine translasyonu

gerçekleşmeyen fonksiyonel RNA molekülleridir. İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. Şu an itibari ile miRbase (<http://www.mirbase.org>) sayfasında en son açıklanan verilerine göre insanda 38589 adet miRNA tanımlanmıştır (Ekim 2018) (91).

### **2.2.2. Tarihçe**

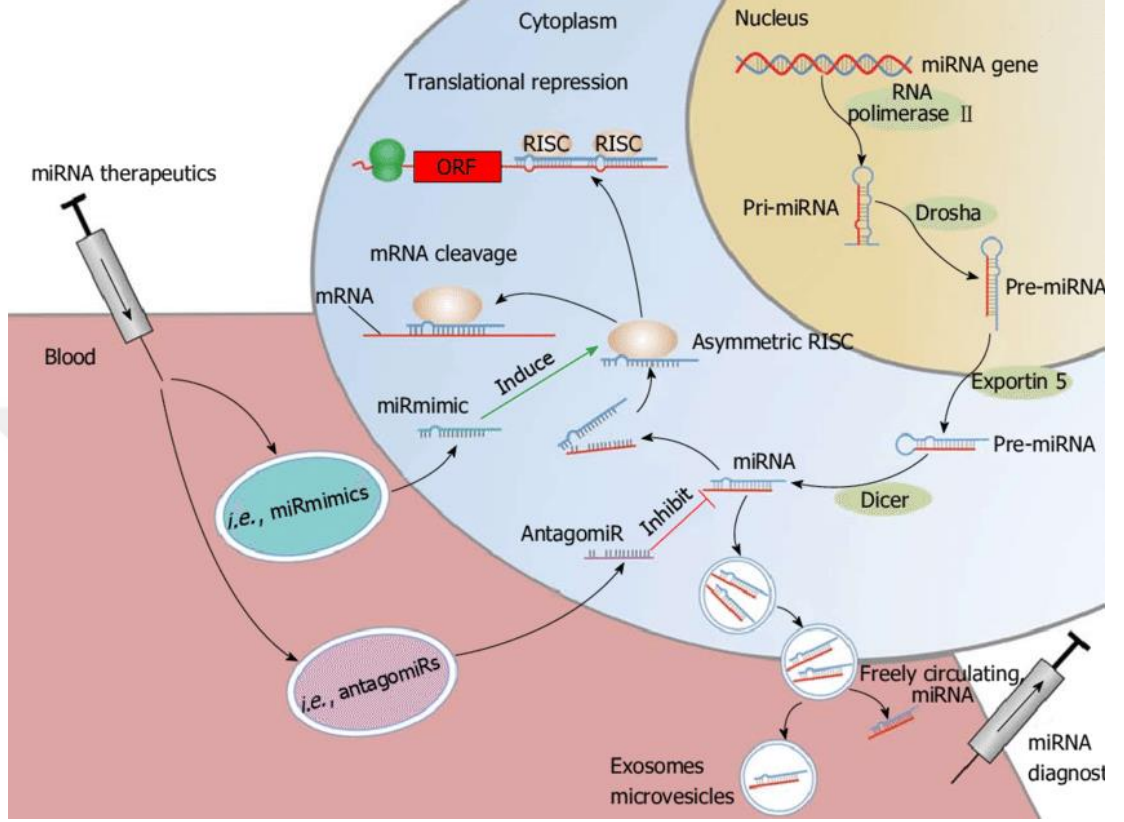
İlk miRNA Lee ve arkadaşları tarafından 1993 yılında keşfedilmiş olup, 'Micro RNA' terimi 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır. İlk defa *Caenorhabditis elegans* isimli nematodda tanımladığı ilk miRNA, lin-4, lin 14 geninin mRNA'sının 3'UTR (untranslated region) bölgesine bağlanarak baz eşleşmesi ile translasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (92-93).

### **2.2.3. Sentezlenme basamakları**

MikroRNA sentezi primer miRNA'ların transkripsiyonu, pre-miRNA oluşumu ve miRNA'nın aktif halinin oluşumu basamakları ile gerçekleşmektedir.

1. MikroRNA'lar primer transkript olarak RNA polimeraz enzimi tarafından genomik DNA'da sentezlenir. Primer miRNA 'cap' ve 'poli A' kuyruğuna sahip loop yapısındadır.
2. Nukleusta primer miRNA, RNAaz III enzim ailesinin bir endonukleazı olan Drosha ve kofakörü Pasha (DG R8) (microprocessor kompleks) tarafından yaklaşık 70 nükleotid uzunluğunda pre-miRNA'ya dönüştürür.
3. Pre-miRNA molekülü sitoplazmaya Exportin 5 ve RAN-GTP'ye bağlı olarak taşınır.
4. Pre-miRNA'lar sitoplazmada RNAaz enzim ailesinde Dicer adlı nükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA moleküllerine çevrilir.
5. Dicer ve partner proteini çift iplikli miRNA molekülünü keserek çift iplikçiği açar.
6. Dicer aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA- 19 induced silencing complex: R S ) oluşumunu başlatır MiRNA'lar aktif R S kompleksine

entegre olduktan sonra argonuate proteinleri yardımı ile mRNA yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olurlar (94-95).



Şekil 1: Mi-RNA'ların biyosentezi (95).

#### 2.2.4. MiRNA tespit etme yöntemleri

MiRNA'ların anormal ekspresyonu birçok hastalıkla ilişkilidir. RNA ekzonükleaz veya RNase-R ile bozulmaya duyarlı normal RNA moleküllerinin aksine miRNA'lar vücut sıvılarında oldukça stabildir. Bu durum da miRNA'ları hastalık teşhis, tedavi ve prognoz için biyobelirteç olarak kullanabilmek için uygun kılar (97-99).

MiRNA fonksiyon çalışmaları ve hastalık tanıları için hızlı, uygun maliyetli, spesifitesi ve sensivitesi yüksek yöntemler oluşturulmalıdır (98).

MiRNA tanımlanması ve ölçülmesi için kullanılan klasik yöntemler, Northern blot, microarray, small RNA dizilimi, insitu hibridizasyon ve revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) üzerine kuruludur (100-104).



Ancak bu yöntemler *in vivo* miRNA'ların düşük seviyeleri nedeniyle hem karmaşıktır hem de sensitiviteyi düşüktür. QRT-PCR validasyonunun ardından microarray profillemesi miRNA ölçümü için standart yöntem olarak kabul edilmektedir (105).

Son yıllarda miRNA'ları tespit yöntemleri bu kısıtlılıklar üzerine geliştirilmiştir. Özellikle enzim aracılı amplifikasyon yöntemleri, "Rolling circle" amplifikasyon, "isothermal exponential" amplifikasyon yöntemleri gibi sinyal amplifikasyon mekanizmaları üstüne çalışılmaktadır. Bu yöntemler, daha yüksek spesifikite ve sensitiviteyi nedeniyle önem kazanmaktadır. Ayrıca nanoteknolojiye dayalı miRNA tespit yöntemleri de büyük gelişme kaydetmiştir. Ancak daha uygulanabilir ve verimli yöntemlerin geliştirilmesine daha ihtiyaç devam etmektedir (97).

#### **2.2.5. Fonksiyonları - GDM ile ilişkisi**

Matur miRNA'lar hedef genlerin ekspresyonunu azaltarak protein sentezinin düzenlenmesine katılırlar. MikroRNA'lar kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sahiptirler. MikroRNA, RS ile kompleks oluşturarak mRNA'ya bağlanır ve protein translasyonunun inhibisyonu ya da mRNA'nın yıkımına neden olur (106).

MikroRNA'nın hedef mRNA'ya bağlanma şekli sonucunda mRNA yıkımı ya da translasyonun inhibisyonu durumu gelişir. Bunun nedeni miRNA hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgeye bağlanırsa tam olmayan komplementerlik oluşmasına ve bu translasyon baskılanmaktadır. Ancak tam komplementasyon var ise miRNA hedef mRNA'nın 'open reading frame' bölgesine bağlanır ve Argonaute 2 tarafından mRNA yıkımı gerçekleşir (94).

Her bir miRNA birden fazla mRNA ekspresyonunu düzenlerken, mRNA'ların da birden fazla miRNA tarafından hedef olabildiği saptanmıştır (107).

miRNA diğer hastalıklar miRNA'ların sadece kanser yollarında değil, sistemik lupus eritematoz gibi inflamatuvar hastalıklar, miyokardit gibi kardiyak hastalıklar, diyabet gibi sistemik hastalıklar, nefritik sendrom gibi glomerüler hastalıklar hepatit gibi enfeksiyon hastalıklar ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir (108-110).

Gestasyonel diyabet ve T2DM ile genetik polimorfizmin araştırıldığı çalışmaların çoğu az sayıda katılımcı içermektedir. Bu konuda yakın zamanda yapılan 2 meta-analiz mevcuttur. Bir çalışmada, 29 çalışmadan elde edilen sonuçları içeren 10 gen içerisindeki 12 tek nükleotid polimorfizminin (SNP) ilişkisi incelenirken, diğerinde 22 çalışmada sekiz gende rapor edilen 9 SNP incelenmiştir. Bu iki meta-analizdeki on altı çalışmanın ortak olduğu görülmektedir. Bu iki meta analizde de 6 genin varyantları ile GDM arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Her meta analizde diğerinden farklı olarak ek bir gen daha belirlenmiş olup, GDM ile ilişki gösteren bu 8 gen aşağıdaki gibidir: TCF7L2, GCK, KCNJ11, KCNQ1, CDKAL1, IGF2BP2, MTNR1B ve IRS1 (Tablo 5). Bu lokusların tümü aynı zamanda T2DM riski ile de ilişkilidir (111-114).

**Tablo 5: GDM ile ilişkili olduğu düşünülen genler (114).**

GEN	PROTEİN	GÖREVİ
IRS1	İnsülin reseptör substrat 1	İnsan adipositlerinde, insüline cevaben PI3-kinazın aktivasyonu ve bağlanması için IRS-1'in ana bağlanma proteini olduğu bildirilmiştir.
IGF2BP2	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 2 mRNA-Bağlayıcı Protein 2	İnsülin sinyal yolağına katılmakta ve insülin sekresyonunda rol oynamaktadır. IGF2BP2 varyantlarının bozulmuş beta hücre fonksiyonu ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir.
CDKAL1	CDK5 regülatör altünite ilişkili protein 1 benzeri 1	tRNA metiltiotransferaz; tRNALys(UUU)'da 2-metiltiyo-N6 - threonilkarbamoyladenozin (ms2t6A) biyosentezini yapan ve AAA ve AAG kodonlarının doğru translasyonu için gerekli olan bir memeli metiltiotransferazıdır. Bu gendeki varyasyonlar insülin yanıtında bozukluk ile ilişkilendirilmiştir.
GCK	Glukokinaz	Glukoz metabolizmasında ilk ve hız kısıtlayıcı basamak olan glukozun glukoz-6-fosfata fosforillenmesini katalize eden enzimdir. Glukokinaz geninin heterozigot inaktive edici mutasyonlarında glukozun algılanmasında bozukluk ile karakterize pankreas beta hücre disfonksiyonu ve glukoz duyarlılığında bozulma gözlenmektedir.
TCF7L2	Transkripsiyon faktörü 7-benzeri 2	Proglukagon gen ekspresyonunun düzenlenmesinde görev alan bir transkripsiyon faktörüdür
KCNQ1	Potasyum voltaj-kapılı kanal altfamilyası Q üyesi 1	1 Potasyum kanalının bir altbirimini kodlar. İnsülin sekresyonunun regülasyonunda görev alır.
MTNR1B	Melatonin reseptör 1B	b-hücrelerinde eksprese olan G-proteini reseptörü melatoninin bağlar ve insülin salınımını antagonize eder
KCNJ11	KQT-benzeri alt ailesi, 1. Üye	insülin salınım mekanizmasında anahtar rol oynayan ATP bağımlı potasyum kanalını (KATP) kodlayan genlerden biridir. Bu gendeki mutasyonlar (nadir varyantlar) konjenital insülin salınım bozukluklarına yol açar

Pre-mir-27a variant rs895819 Gen Polimorfizminin TİP2DM de etkili olduğu ortaya konmuş olup Gestasyonel Diyabetes Mellitus'lu hastalarda bu genin polimorfizmi çalışılmamıştır.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, prospektif kontrollü bir çalışma olarak planlanmıştır. Çalışma, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra başlatılmıştır. Mart 2018 – Mart 2019 tarihleri arasında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na başvurmuş, akraba olmayan 112 hasta (çalışma grubu) ve sağlıklı 101 sağlıklı gebe birey (kontrol grubu) bu araştırmaya dahil edilmiştir. 50 gr glukoz tarama testi için eşik değer 140 mg/dl olarak alınmıştır. Tarama testi 200 mg/dl üzerinde saptanan olgulara 100 gr OGTT yapılmadan GDM tanısı konulmuştur. 50 gr glukoz tarama testi 140-200 mg/dl aralığında olanlara 100 gr OGTT uygulanmıştır. 100 gr OGTT için NDDG kriterleri kullanılmıştır.

Aşağıdaki durumlardan herhangi biri bulunan kadınlar çalışma dışında tutulmuştur:

- Kronik karaciğer hastalığı olanlar
- Kronik böbrek hastalığı olanlar
- Tip 1 ve Tip 2 diyabetes mellitus olanlar
- Çoğul gebelikler (ikiz hariç – 3 ve üzeri fetüs)

Sistolik ve diastolik kan basınçları 30 dakikalık istirahati takiben sağ koldan uygun boyutta manşon ile ölçülmüştür. Bilinen hipertansiyon tanısı olmayan ancak kan basıncı yüksek çıkan kadınlarda 10 dakika dinlendikten sonra tekrar ölçüm yapılmıştır ve ikinci ölçüm kaydedilmiştir. İki gruptaki olgular aşağıdaki parametreler açısından karşılaştırılmıştır:

- Demografik özellikler
- Gravida/parite öyküsü
- Ailede DM öyküsü
- Sigara kullanımı

- Alkol kullanımı
- Önceki gebelikte GDM öyküsü
- Makrozomik fetus
- Polikistik over sendromu varlığı
- Boy, Kilo, BMI

Bilgilendirme ve onam işleminin ardından tüm gönüllü bireylerin rutin kontrolü için verdikleri kanın 2ml'si EDTA'lı tüplere alınmıştır. Periferik dolaşımdaki lökositlerden PureLink® Genomic DNA Mini Kit ile DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA'lar analizi yapılana kadar Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda -20°C'de saklanmıştır. Belirli aralıklar ile toplanan kan numuneleri Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümüne izolasyon ve analiz için uygun şartlarda transfer edilmiştir. MiR-27a gen polimorfizmlerinin genotiplenmesi için öncelikle uygun primerler kullanılarak PCR ile ilgili diziler çoğaltılmıştır. Daha sonra DraIII restriksiyon enzimleri ile kesim reaksiyonu gerçekleştirilmiş ve agaroz jel elektroforezi yöntemi ile analiz edilmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

### **3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler**

#### **3.1.1. Alet ve cihazlar**

- a. Thermal Cyclers (BIO-RAD T100™)
- b. Buzdolabı (Altus)
- c. Buzdolabı (Bosch)
- d. Etüv (Nüve EN 500)
- e. Mikrosantrifüj (Nüve NF 048)
- f. Minisantrifüj (Isolab)
- g. Manyetik Karıştırıcı (Nüve MK 418)
- h. Vorteks (Nüve NM 110)
- i. Termal Blok (Inovia UHB-1)
- j. Mikropipet seti (Thermo Scientific – Finnpiquette, Sartorius, Isolab)

- k. Mikrodalga Fırın (Altus ALMD 17B)
- l. Elektroforez Tankı (JUNYI®)
- m. Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo Scientific EC 300XL)
- n. Jel Dökümantasyon Sistemi (Vilber Lourmat Bio-Print ST4, Cedex, France)
- o. Derin Dondurucu (Bosch)
- p. Otoklav (Nüve)
- q. Spektrofotometre (Mecasys- Optizen)
- r. Hassas Terazî (Rad-Wag)

### 3.1.2. Kimyasal Malzemeler

- PureLink Genomic DNA Mini Kit (invitrogen by life technologies)
- dH<sub>2</sub>O (distile su) (Eczacıbaşı)
- Asetik Asit (Merck – UN 2789)
- Trizma base (Sigma T1503)
- Orange G (Sigma – O7252-25G)
- Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (Sigma 3341160)
- Ethidium Bromide (EtBr) (Sigma E-7637)
- Disodyum EDTA (Na<sub>2</sub>EDTA) (Thermo Scientific – 17892)
- Gliserol (Aklar Kimya)
- Agaroza (life technologies)
- Ethanol Absolute ( $\geq$ %99.9) (Isolab chemicals UN1170)
- 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific GeneRuler 100bp)
- 10X Taq Buffer (+NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, -MgCl<sub>2</sub>) (Thermo Scientific)
- 2 mM dNTP Mix (Thermo Scientific)
- 25 mM MgCl<sub>2</sub> (Thermo Scientific)
- Taq DNA Polimeraz 5U/ $\mu$ l (Thermo scientific)
- Dimetil sülfoksit (DMSO) (VMR Life Science)
- Primerler (Oligomer – 100nmol)  
 F'; 5'-GAA CTT AGT CAC TGT GAA CAC CAC TTG G-3'  
 R; 5'-GAT TTG CTT CCT GTC ACA AAT CAC ATT G-3'
- DraIII restriksiyon enzimi (Thermo Scientific)

### 3.1.3. Çözeltiler

- 50X Tris-Asetik asit-EDTA (TAE) Tamponu

242 g Tris baz

57.1 ml asetik asit

37.2 g Na<sub>2</sub>EDTA

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda çözünmesi sağlanır.

- Elektroforez Yürütme Tamponu

Hazırlanan 50X TAE'den 20 ml alınır, distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

1X'lik TAE yürütme tamponu hazırlanmış olur.

- Orange G Çözeltisi

2.232 g Na<sub>2</sub>EDTA

200 mg Orange G

60 ml Gliserol

40 ml distile suda çözülür.

- %3'lük Agaroz Jel Çözeltisi

200 ml 1X TAE Tamponu

10 g Agaroz

10 µl Ethidium Bromide

- %1.5'lik Agaroz Jel Çözeltisi

200 ml 1X TAE Tamponu

3 g Agaroz

10 µl Ethidium Bromide

## 3.2. Kullanılan Yöntemler

### 3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

#### 3.2.1.1. Prensip

Periferik kanda bulunan hücreler nükleaz inhibitörü guanidin HCl varlığında, proteinlerin degradasyonunu sağlayan proteinaz K ile inkübe edilir. Bu işlem hücrelerin parçalanmasını sağlar. Açığa çıkan hücresel nükleik asitler spin kolona yerleştirilmiş silika tabanlı membrana bağlanırlar. Yıkama ve santrifügasyon işlemleri; bu özel matriksteki fiberlere bağlanan nükleik asitleri kontaminasyona veya safsızlığa sebep olabilecek hücresel elemanlardan ve ortamdaki diğer moleküllerden arındırmak amacı ile gerçekleştirilir. Sonrasında düşük yoğunluklu tuz elüsyonu ile fiberlere bağlı olan nükleik asitlerin bu yapıdan ayrılması sağlanır.

#### 3.2.1.2. Protokol

DNA izolasyonu; toplanan kanların 200 µl'si ile PureLink Genomic DNA Mini Kit (invitrogen by life technologies) kullanılarak üretici firmanın aşağıdaki protokolüne göre gerçekleştirilmiştir.

Protokol:

1. 55 °C'de ısı bloğu veya su banyosu hazırlanır.
2. 200 µL taze veya donmuş kan örneği steril bir mikrosantrifüj tüpüne, eklenir.
3. Örneğe 20 µL Proteinaz K eklenir.
4. Örneğe 20 µL RNase A eklenir, karıştırmak için kısaca vortekslenir akabinde 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.
5. 200 µL PureLink® Genomic Lysis Binding Buffer eklenir sonrasında homojen bir çözelti elde etmek için iyice vortekslenir.
6. Proteinlerin parçalanmasını teşvik etmek için 55 ° C'de 10 dakika inkübe edilir.
7. Lizat'a 200 µL %96-100 etanol eklenir, 5 saniye boyunca homojen bir çözelti elde etmek için vortekslenir.
8. Bir toplama tüpü ve bir PureLink® Spin Column'u (spin kolon) paketinden çıkarılır.



9. PureLink® Genomic Lysis Binding Buffer ve etanol ile hazırlanan lizat (~ 640 µL) PureLink® Spin Kolonu'na eklenir.
10. 1 dakika boyunca, oda sıcaklığında 10.000 x g'de santrifüjlenir.
11. Toplama tüpü atılır ve spin kolon kitle birlikte verilen temiz bir PureLink® toplama tüpüne konulur.
12. Kolona etanol ile hazırlanan 500 µL Wash Buffer 1 eklenir.
13. 1 dakika boyunca, oda sıcaklığında 10.000 x g'de santrifüj edilir.
14. Toplama tüpü atılır ve spin kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirilir.
15. Kolona etanol ile hazırlanmış 500 µL Wash Buffer 2 eklenir.
16. Kolonu 3 dakika boyunca oda sıcaklığında maksimum hızda santrifüj edilir. Toplama tüpü atılır.
17. Spin kolon steril bir 1.5 mL mikrosantrifüj tüpüne konulur.
18. Kolona 25–200 µL PureLink® Genomic Elution Buffer eklenir.
19. 1 dakika, oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra kolon 1 dakika boyunca oda sıcaklığında maksimum hızda santrifüjlenir. Tüp saflaştırılmış genomik DNA içerir.
20. İkinci bir elüsyon aşaması aynı hacimde Elution Buffer kullanılarak gerçekleştirilir. Kolon oda sıcaklığında 1,5 dakika maksimum hızda santrifüjlenir.
21. Tüpe akan genomik DNA içeren buffer DNA'nın saklanacağı mini santrifüj tüplerine aktarılır ve -20 °C'de uzun süre saklanabilir.

### **3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)**

PCR yöntemi, genomik DNA'nın ısının etkisiyle çift zincirinin tek zincir hale gelmesi sonrasında uygun sıcaklıkta ilgili primerlerin ilgili primer bölgesine yapışması akabinde DNA Tag polimeraz enzimi katalizörlüğünde ortamdaki dört deoksिनükleotid trifosfatın (adenin, guanin, sitozin, timin) yeni zincire eklenmesi sonucunda ilgili gen bölgelerin çoğaltılması temeline dayanmaktadır.

İzole edilen DNA'ların kalitesi ve saflığı spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalgaboylarındaki ölçümler kullanılarak değerlendirilmiştir. PCR'da kullanılacak konsantrasyonda olacak şekilde 25-50 ng olarak ayarlanmıştır. PCR yöntemiyle miR-27a gen amplifikasyonları gerçekleştirilmiştir. Her bir örnek için toplam 25 µl reaksiyon hacminde PCR ortamı hazırlanmıştır. Reaksiyon tüpüne 1 mM 1X Taq

Buffer, 30 pmol primerler, 11U Taq polimeraz enzimi, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP mix ve 25-50 ng DNA eklendi. Amplifikasyonlar “Biorad T100™ Thermal Cycler” cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

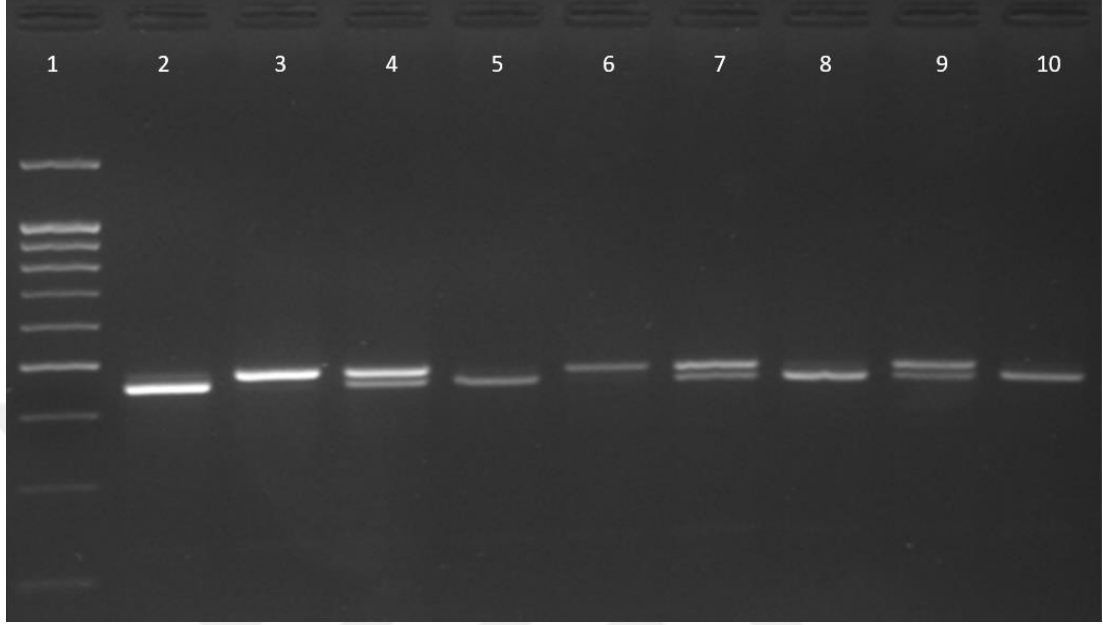
### 3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz Jel Elektroforezi, DNA ve PCR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması için yaygın kullanılan yöntemlerden biridir.

Bu çalışmada; öncelikle 57.1 ml glasiyel asetik asit, 242g Tris baz ve 37.2 g Na<sub>2</sub>EDTA bir cam şişe içerisinde manyetik karıştırıcıda bir gece boyunca çözdürülerek 50X’lik TAE tamponu hazırlanmıştır. Daha sonra elektroforez işleminde kullanılmak üzere 1X’e seyreltmek için 50X’likten 20 ml alınarak dH<sub>2</sub>O ile 1000 ml’ye tamamlanmıştır. Bu çözelti, jelin hazırlanma esnasında ve yürütme esnasında yürütme tamponu olarak kullanılmıştır. PCR sonrasında tasarlanan primerlerin doğru bölgeyi çoğaltıp çoğaltmadığını kontrol etmek için ürünler agaroz jelde yürütülmüştür. %1.5’luk agaroz jel hazırlanmıştır. 200 ml 1X TAE tamponu ve 3 g agaroz bir erlen içerisine aktarıldı ve mikrodalgada homojen bir görünüm oluşuncaya kadar agarozun erimesi sağlanmıştır. Jelin tablaya ve taraklara zarar vermemesi soğuması beklenip hafifçe karıştırılmıştır. Daha sonra 10 µl, 10 mg/ml’lik EtBr’den eklenerek iyice karışması sağlandı ve hazırlanan tablaya dökülmüş ve taraklar yerleştirilmiştir. Jel donduktan sonra taraklar çıkarılarak içinde 1X’lik yürütme tamponu (1X TAE tamponu) bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. PCR ürünleri üzerlerine 10 µl Orange G boyası eklenerek pipetaj yapılarak jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. Bant boyutlarını karşılaştırarak tespit etmek amacıyla referans DNA bantları içeren 100 bp’lik DNA Ladder kullanılmıştır. Örnekler 120 voltta 30 dk yürütülmüştür. Yürütme sonunda jel, jel dökümantasyon sistemi (Vilber Lourmat Bio-Print ST4, Cedex, France) ile UV altında görüntülenmiştir. Elde edilen bantların boyutları kullanılan DNA Ladder ile karşılaştırılarak yaklaşık olarak belirlenmiş ve doğrulanmıştır.

Şekil 2’de DraIII enzimi ile kesilmiş PCR ürünlerinin %3,5’luk agaroz jeldeki görüntüsü izlenmektedir. 1 numaralı kuyucukta 100 bp DNA marker bulunmaktadır. PCR ürünü 472 bp’dir ve kesim sonrasında polimorfik C alleli kesilmeden kalırken, normal T alleli 448 bp ve 24 bp olmak üzere iki parçaya ayrılmaktadır fakat 24 bp’lik bant jelde

gözlenememektedir. Bu bantlara göre genotipleme yapıldığında 2 numaralı kuyucukta TT, 3 numaralı kuyucukta CC ve 4 numaralı kuyucukta TC genotipi izlenmektedir.



**Şekil 2: DraIII enzimi ile kesilmiş PCR ürünlerinin %3,5'lük agaroz jeldeki görüntüsü**

#### **3.2.4. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)**

PCR sonrası elde edilen amplikonların, seçilen uygun enzimlerle ve bunların optimum çalışma sıcaklıklarında inkübe edilerek restriksiyonu gerçekleştirildi. Bu reaksiyon, 10-15 µl PCR ürünü, 5U restriksiyon enzimi ve 1X tampon (enzime uygun) ile 25 µl hacimde gerçekleştirildi. Enzim kesimi sonrasında yukarıda anlatıldığı gibi %3'lük agaroz jel hazırlanarak örnekler yüklendi ve 120 voltta 50-60 dk yürütüldü. Bant boyutları kullanılan DNA Ladder'a göre değerlendirildi.

#### **3.2.5. İstatistiksel Analiz**

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 19.0 programında yapılmıştır. Nicel değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleriyle; nitel değişkenler frekans ve yüzde ile gösterilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin 2 grup karşılaştırmalarında Mann Whitney

U testi kullanılmıştır. Nitel değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında Yates ve Pearson ki-kare testleri kullanılmıştır. Çalışmadaki tüm istatistiksel karşılaştırmalarda p değeri 0,05'in altındaki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



## 4. SONUÇLAR

Çalışmaya dahil edilen 112 hasta grubundan 6 kişi, 101 kontrol grubundan 1 kişi kan numunelerinin alınması, saklanması ve çalışılması aşamalarında karşılaşılan engellerden dolayı çalışmanın dışında bırakılmıştır. İstatistiksel analiz; 106 hasta, 100 kontrol grubu dahil edilerek yapılmıştır.

İki grubun (çalışma ve kontrol grupları); yaş, gravida, parite, yaşayan çocuk sayısı, çoğul gebelik (ikiz) varlığı, kilo, boy, gebeliğe başlangıç kilosu, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, önceki gebeliğinde gestasyonel diyabet öyküsü, makrozomik fetüs öyküsü, ailede diyabet öyküsü, polikistik over sendromu öyküsü, sigara ve alkol kullanımı verileri değerlendirilmiştir. Birincil hipotezimizin bağlı değişkeni olan genetik polimorfizm; gebelik haftası ile değişkenlik göstermediğinden, numune alınması ve yapılan değerlendirme sırasında hastanın gebelik haftası gözlemlenmemiştir. Buna bağlı olarak kayıtların her hasta için farklı gebelik haftasında alındığı göz önünde bulundurularak, hastaların vücut ağırlığı parametresinin istatistiksel analizi yapılmamıştır. Yeterli veri olmadığından dolayı boy ve gebeliğe başlangıç kilosu da değerlendirmeye alınmamıştır. Her iki grupta da gebeliği sırasında alkol aldığı tespit edilen birey bulunmamaktadır.

İki grup; yaş, gravida, parite, yaşayan çocuk sayısı, çoğul gebelik (ikiz) varlığı, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, önceki gebeliğinde gestasyonel diyabet öyküsü, makrozomik fetüs öyküsü, ailede diyabet öyküsü, polikistik over sendromu öyküsü, sigara kullanımı açısından karşılaştırılmıştır.

İki grup arasında gravida, parite, yaşayan çocuk, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, sigara kullanımı, polikistik over (PCO) öyküsü, çoğul gebelik varlığı açısından bir farklılık bulunmamaktadır.

Kontrol grubunda önceki gebeliğinde GDM öyküsü olan birey bulunmamaktadır. Hasta grubunda önceki gebeliğinde GDM öyküsü olan birey n:29 (%27,4) olarak saptanmış olup, iki grup arasında bu parametre açısından anlamlı fark bulunmuştur.

Makrozomik fetüs doğumu ve ailede diyabet öyküsü açısından da iki grup arasında anlamlı fark saptanmıştır.

**Tablo 6: Genotiplerin gruplar arası dağılımı**

			Grup		Toplam
			Hasta	Kontrol	
Polimorfizm	TT	N	54	51	105
		%	%50.9	%51.0	%51.0
	TC	N	41	40	81
		%	%38.7	%40	%39.3
	CC	N	11	9	20
		%	%10.4	%9	%9.7
Toplam		N	106	100	206
		%	%100	%100	%100

Tablo 6’da belirtildiği gibi; yapılan genotip analizinde hastaların % 50.09’unda TT genotipi saptanırken, % 38.7’ sinde TC, % 10.4’ünde ise CC genotipi saptanmıştır. Kontrol grubu genotip dağılımında ise % 51 oranında TT, % 40 oranında TC, % 9 oranında ise CC genotipi bulunmaktadır. Hasta ve kontrol grupları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında genotip açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (P = 0.940).

Yapılan ileri analizlerde; C allelinin dominant gen ve C alelinin resesif gen, olarak varsayıldığı ve grupların fenotipe göre yeniden düzenlendiği ek analizler yapılmıştır.

C alelinin dominant varsayıldığı modelde; CC ve TC genotiplerinin C fenotipi olarak görüleceği, TT genotipinin T fenotipi olarak görüleceği göz önünde bulundurularak; hasta ve kontrol grupları, TT ile CC+TC genotipleri açısından karşılaştırılmıştır. İki grup arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir.

**Tablo 7: C\_dominant modelinin fenotip dağılımı**

			Grup		Toplam
			Hasta	Kontrol	
C_dominant	TT (T fenotipi)	N	54	51	105
		%	%50.9	%51	%51
	TC + CC (C fenotipi)	N	52	49	101
		%	%49.1	%49	%49
Toplam		N	106	100	206
		%	%100	%100	%100

Tablo 7’de gösterildiği gibi; hasta grubunda TT genotipine (T fenotipine) sahip 54 birey (%50.9), TC + CC genotipine (C fenotipine) sahip 52 birey (%49.1) saptanmıştır. Aynı şekilde kontrol grubunda TT genotipine (T fenotipine) sahip 51 birey (%51), TC + CC genotipine (C fenotipine) sahip 49 birey (%49 ) saptanmıştır. C alelinin dominant gen varsayıldığı modelde; iki grup arasında T ve C fenotipleri arasınra anlamlı bir fark bulunmamıştır (p: 0.552).

C alelinin resesif varsayıldığı modelde; CC genotipinin C fenotipi olarak görüleceği, TT ve TC genotiplerinin T fenotipi olarak görüleceği göz önünde bulundurularak; hasta ve kontrol grupları, TT + TC ile CC genotipleri açısından karşılaştırılmıştır. İki grup arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir.

**Tablo 8: C\_resesif modelinin fenotip dağılımı**

			Grup		Toplam
			Hasta	Kontrol	
C_resesif	TT + TC (T fenotipi)	N	95	91	186
		%	%89.6	%91	%90.3
	CC (C fenotipi)	N	11	9	20
		%	%10.4	%9	%9.7
Toplam		N	106	100	206
		%	%100	%100	%100

Tablo 8’de gösterildiği gibi; hasta grubunda TT + TC genotiplerine (T fenotipine) sahip 95 birey (%89.6), CC genotipine (C fenotipine) sahip 11 birey (%10.4)

saptanmıştır. Aynı şekilde kontrol grubunda TT + TC genotiplerine (T fenotipine) sahip 91 birey (%91), CC genotipine (C fenotipine) sahip 9 birey (%9 ) saptanmıştır. C alelinin resesif gen varsayıldığı modelde; iki grup arasında T ve C fenotipleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p: 0.475).

Hasta grubunda; önceki gebeliğinde diyabet öyküsü olmayan bireyler ile kontrol grubu karşılaştırıldığında TT, TC, CC genotiplerinin dağılımı açısından anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür (p: 0.830).





## 5. TARTIŞMA

GDM; ilk olarak gebelikte başlayan ya da gebelikte fark edilen glukoz intoleransı tablosudur. Bu hastalığın metabolik faktörlerle ilişkili olduğu düşünülse de, yakın zamandaki çalışmalar GDM'ye yatkınlığı etkileyen çeşitli çevresel-genetik risk faktörleri olabileceğini düşündürmektedir. Pre-mir-27a variant rs895819 polimorfizmi T2DM etyolojisi açısından çeşitli çalışmalarda araştırılmış; sonuçların bir kısmında pre-mir-27a variant rs895819 polimorfizminin T2DM üzerinde etkili olduğu saptanırken, büyük bir çoğunluğunda etkisiz olduğu ortaya koyulmuştur. GDM ile ilgili bizim çalışmamıza benzer nitelikte bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Xi Chen ve arkadaşlarının eylül 2019'da yaptığı bir meta analizde (115) yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunda Pre-mir-27a, rs895819 polimorfizminin T2DM üzerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bunun yanında çalışmaların bir kısmında C aleli ve T aleli karşılaştırıldığında C alelinin T2DM grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az olduğu saptanmıştır. Ayrıca CC aleline sahip bireylerin, TC ve TT aleline sahip bireyler ile kıyaslandığında T2DM'li hastalarda görülme sıklığının anlamlı olarak daha az olduğu saptanmıştır.

Ghaedi H. ve arkadaşlarının, İran'da 413 kişinin katılımıyla gerçekleştirdiği bir kohort çalışmasında (4), T2DMli hastalarda C allelinin, kontrol grubuna göre belirgin şekilde az bulunduğu saptanmıştır.

Tong-Tong Wang ve arkadaşlarının 3960 kişiyle yaptıkları çalışmada, iki grup arasında Pre-mir-27a variant rs895819 polimorfizmi açısından herhangi bir fark saptanmamıştır (116).

İlgili literatür ve yapılan araştırma bulguları, çalışmaların bir kısmında bahsedilen gen polimorfizmi ile T2DM arasında ilişki olduğunu saptamış, nitekim önemli bir kısmında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

Bu çalışma; GDM ve Pre-mir-27a variant rs895819 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışma olma özelliğini taşıması nedeni ile önem arz etmektedir.

Bu çalışma sonucunda da, T2DM’de yapılan çalışmaların çoğu ile benzer şekilde Pre-mir-27a variant rs895819 polimorfizmi ve GDM arasında bir ilişki saptanmamıştır.

İlk aşamada hasta ve kontrol grupları arasında polimorfizm genotipleri (TT, TC, CC) açısından fark olup olmadığı araştırılmış olup, T2DM ile ilgili yapılan çalışmaların büyük kısmına benzer şekilde anlamlı bir fark saptanmamıştır.

İlerleyen aşamalarda C alelinin dominant gen olduğunun varsayıldığı model baz alınarak yapılan analizde; T ve C fenotiplerinin gruplar arası dağılımında anlamlı bir fark görülmemiştir.

C alelinin resesif gen olduğunun varsayıldığı model baz alınarak yapılan analizde; T ve C fenotiplerinin gruplar arası dağılımında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Pre-mir-27a variant rs895819 polimorfizminin GDM üzerinde etkisi olmadığı bu çalışma ile gösterilmiş olup, literatürde yapılan çalışmaların bir kısmında T2DM ile ilgili olduğu saptanmıştır. GDM’li hasta grubu üzerinde prospektif olarak, gebelik sonrasında diyabeti devam eden hastalar üzerinde, Pre-mir-27a variant rs895819 polimorfizmi araştırılabilir. GDM’li hastalarda gebelik sonrası diyabetin devam etmesinde pre-mir-27a variant rs895819 polimorfizminin etkili olup olmadığı konusunda yapılacak araştırmalara literatürde ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKÇA

1. American Diabetes Association. Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26 - 1: 103-5.
2. Kuhl C. Glucose metabolism during and after pregnancy in normal and gestational diabetic woman. *Acta Endocrinol* 1995; 79:709-19.
3. Tong GX, Cheng J, Chai J, Geng QQ, Chen PL, Shen XR et al. Association between gestational diabetes mellitus and subsequent risk of cancer: a systematic review of epidemiological studies. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(10): 4265–4269.
4. Ghaedi H, Tabasinezhad M, Alipoor B, Shokri F, Movafagh A, Mirfakhraie R et al. The premir27a variant rs895819 may contribute to type 2 diabetes mellitus susceptibility in an Iranian cohort. *J Endocrinol Invest.* 2016; Oct;39(10):1187-93.
5. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004; 116(2):281–297.
6. Rottiers V, Naar AM. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012; 13(4):239–250.
7. Chen H, Lan HY, Roukos DH, Cho WC. Application of microRNAs in diabetes mellitus. *J Endocrinol.* 2014; 222(1):R1–R10.
8. Kim SY, Kim AY, Lee HW, Son YH, Lee GY, Lee JW, et al. MiR-27a is a negative regulator of adipocyte differentiation via suppressing PPARgamma expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 392(3):323–328.
9. Tan CK, Chong HC, Tan EH, Tan NS. Getting ‘Smad’ about obesity and diabetes. *Nutr Diabetes.* 2012; 5 (2):1.
10. Herrera BM, Lockstone HE, Taylor JM, Ria M, Barrett A, Collins S, et al. Global microRNA expression profiles in insulin target tissues in a spontaneous rat model of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2010; 53:1099-109.
11. Karolina DS, Tavintharan S, Armugam A, Sepramaniam S, Pek SL, Wong MT, et al. Circulating miRNA profiles in patients with metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:E2271-6.

12. Wang T-T, Chen Y-J, Sun L-L, Zhang S-J, Zhou Z-Y, Qiao H. Affection of single-nucleotide polymorphisms in miR- 27a, miR-124a, and miR-146a on susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Chinese Han people. *Chin Med J* 2015; 128 (4): 533.
13. Ben-Haroush A, Yogev Y, Hod M. Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2004; 21 (2): 103–113.
14. Çelik SK, Yamak AS. Gestasyonel Diyabette Genetik ve Epigenetik Değişimler. *Turkish Journal of Diabetes and Obesity.* 2018; 1: 9-15.
15. Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care.* 2002; 25 (10): 1862–1868.
16. Oğuzöncül AF, Güngör Y, Açık Y, Güngör L. Elazığ Yenimahalle Eğitim Ve Araştırma Sağlık Ocağına Bağlı Populasyona Ait Gebelerde Gebelik Diabeti Taraması. *Dicle Tıp Dergisi.* 2011; 38(3): 325-328.
17. Tanir HM, Sener T, Gürer H, Kaya M. A Ten-Year Gestational Diabetes Mellitus Cohort At a University Clinic of The MidAnatolian Region Of Turkey. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2005; 32 (4) : 241–4.
18. İsmail D, Özlem Ö. Diabetes mellitus ve gebelik. In: Çiçek N, Akyürek C, Çelik C, Haberal A (editörler), eds. *Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi.* 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2006. 435-50.
19. Cunningham FG. *Diabetes.* Williams Obstetrics McGraw Hill: 2001: 1360-77.
20. Janzen C. Diabetes mellitus and pregnancy. In: DeCherney AH, Nathan L, eds *Current Obstetric & Gynecologic Diagnosis & Treatment McGraw Hill:*2003: 326-38.
21. Hadden DR. A historical perspektive on gestational diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21: 3-4.
22. Hadden DR. Historical context of hyperglycemia in pregnancy. In: Mc Cance DR, Maresh M. Sacks D., eds *A Practical Manual Of Diabetes In Pregnancy Wiley-Blackwell:* 2010: 37-44.
23. Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes mellitus. *J Clin Invest* 2005; 115:485–91.

24. Yamashita H, Shao J, Friedman JE. Physiologic and molecular alterations in carbohydrate metabolism during pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Clin Obstet Gynecol* 2000; 43:87–98.
25. Costrini NV, Kalkhoff RK. Relative effects of pregnancy, estradiol, and progesterone on plasma insulin and pancreatic islet insulin secretion. *J Clin Invest* 1971; 50:992–9.
26. Ryan EA, Enns L. Role of gestational hormones in the induction of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67:341–7.
27. Kalkhoff RK, Jacobson M, Lemper D. Progesterone, pregnancy and the augmented plasma insulin response. *J Clin Endocrinol Metab* 1970; 31:24–8.
28. Nelson T, Shulman G, Grainger D, Diamond MP. Progesterone administration induced impairment of insulin suppression of hepatic glucose production. *Fertil Steril* 1994; 62:491–6.
29. Beksaç S. Maternal–Fetal Tıp ve Perinatoloji. Gebelik ve Karbonhidrat Metabolizması, Ankara: N.T. Kitabevi; 2001: 435–52.
30. Ergeneli MH. Diyabetes Mellitus Patogenezi ve Sınıflaması, İn: Kışnişci HA, Gökşin E eds, Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş Kitabevi; 1996: 364–84.
31. Fuchs F, Klopper A. Spellacy WN: Carbohydrate metabolism in pregnancy. *Endocrinology in pregnancy*. 3rd ed. Philadelphia, Harper and Row; 1983: 161-175.
32. Metzger BE, Unger RG, Freinkel N: Carbohydrate metabolism in pregnancy. XIV. Relationships between circulating glucagon, insulin, glucose and aminoacids in response to mixed meal in late pregnancy. *Metabolism* 1977; 26: 151-156.
33. Burke CW, Roulet F: Increased exposure of tissues to Cortisol in late pregnancy. *Br Med J* 1970; 1: 657.
34. Andersen O, Kuhl C. Adipocyte insulin receptor binding and lipogenesis at term in normal pregnancy. *Eur J Clin Invest* 1988; 18:575–81.

35. Hjollund E, Pedersen O, Espersen T, Klebe JG. Impaired insulin receptor binding and postbinding defects of adipocytes from normal and diabetic pregnant women. *Diabetes* 1986; 35: 598–603.
36. Handwerger S, Freemark M. The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13:343–56.
37. Friedman JE, Ishizuka T, Shao J, Huston L, Highman T, Catalano P. Impaired glucose transport and insulin receptor tyrosine phosphorylation in skeletal muscle from obese women with gestational diabetes. *Diabetes* 1999; 48:1807–14.
38. Garvey WT, Maianu L, Zhu JH, Hancock JA, Golichowski AM. Multiple defects in the adipocyte glucose transport system cause cellular insulin resistance in gestational diabetes. Heterogeneity in the number and a novel abnormality in subcellular localization of GLUT4 glucose transporters. *Diabetes* 1993; 42:1773–85.
39. Coustan D. Making the diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Clinical Obstet Gynecol* 2000; 43:99-105.
40. Coustan D. Maternal age and screening for gestational diabetes: A population based study. *Obstet Gynecol* 1989; 73:557-61.
41. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2006; 29 Suppl 1: 43-8.
42. Gestational diabetes mellitus. ACOG Practice Bulletin No. 190. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2018; 131:e49–64.
43. Sacks DA, Hadden DR, Maresh M, Deerochanawong C, Dyer AR, Metzger BE, et al. Frequency of gestational diabetes mellitus at collaborating centers based on IADPSG consensus panel recommended criteria: the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) S. *Diabetes care*. 2012; 35(3):526-8.
44. Coustan DR, Lowe LP, Metzger BE, Dyer AR; International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups. The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study: paving the way for new diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol*. 2010; 202: 654.e1-6.

45. Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, et al. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel International association of diabetes and pregnancy study group recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care* 2010; 33: 676–682.
46. Nahum GG, Huffaker BJ. Racial differences in oral glucose screening test results: establishing race-specific criteria for abnormality in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1993; 81:517–22.
47. Gestational diabetes mellitus. ACOG Practice Bulletin No. 190. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gyne- col* 2018; 131:e49–64.
48. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979; 28:1039–57.
49. MacNeill S, Dodds L, Hamilton DC, Armson BA, VandenHof M. Rates and risk factors for recurrence of gestational diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24:659–62.
50. Spong CY, Guillermo L, Kuboshige J, Cabalum T. Recurrence of gestational diabetes mellitus: identification of risk factors. *Am J Perinatol* 1998; 15:29–33.
51. Mestman JH, Anderson GV, Guadalupe V. Follow-up study of 360 subjects with abnormal carbohydrate metabolism during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1972; 39:421–5.
52. Coustan DR. Maternal insulin to lower the risk of fetal macrosomia in diabetic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1991; 34:288–95.
53. Peters RK, Kjos SL, Xiang A, Buchanan TA. Long-term diabetogenic effect of single pregnancy in women with previous gestational diabetes mellitus. *Lancet* 1996; 347:227–30.
54. Greenberg LR, Moore TR, Murphy H. Gestational diabetes mellitus: antenatal variables as predictors of postpartum glucose intolerance. *Obstet Gynecol* 1995; 86:97–101.
55. Buchanan T.A, Xiang A, Kjos S.L, Watanabe R, What is Gestational Diabetes *Diabetes Care* 2007; 30, Suppl.2: 105-111.
56. Puavilai G, Drobny EC, Domont LA, Baumann G. Insulin receptors and insulin resistance in human pregnancy: evidence for a postreceptor defect in insulin action. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 247-53.

57. Legro RS, Castracane VD, Kauffman RP. Detecting insulin resistance polycystic ovary syndrome: purposes and pitfalls. *Obstet Gynecol Survey* 2004; 59: 141-54.
58. Catalano PM, Tyzbir ED, Wolfe RR, Calles J, Roman NM, Amini SB, et al. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes. *Am J Physiol* 1993; 264: 60-7.
59. Hollingsworth DR, Moore TR. Diabetes in pregnancy, in *Maternal Fetal Medicine-Principles and Practice*. Creasy RK, Resnik R eds. WB Saunders Co. 4th ed. N. J. Philadelphia 1999; 964-99.
60. Buchanan T.A, Xiang A.H, Gestational Diabetes Mellitus, *J Clin Invest* 2005; 115: 485-491.
61. Brody A, Veland K, Kase N. *Endocrine disorders in pregnancy*. Appleton and Lange 1989; 247-272.
62. Kühl C. Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM, Implications for diagnosis and management. *Diabetes* 1991; 3: 18-24.
63. Karam JH. *Endocrinology and metabolism clinics of north america, diabetes mellitus: Perspectives on therapy* 1992; 21: 433-456.
64. Pettitt JD, Bennett PH, Knowler WC. Gestational diabetes mellitus and impaired glucose tolerance during pregnancy: long-term effects on obesity and glucose tolerance in the offspring. *Diabetes* 1985; 34:119–122.
65. Jovanović L, Peterson CM. Optimal insulin delivery for the pregnant diabetic patient, *Diabetes Care* 1982; 5:24-37.
66. İsmail D, Ozlem O. *Diabetes Mellitus ve Gebelik*, İn; Ayhan A, Günalp S eds, *Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. 1inci Baskı, Güneş Kitabevi, İstanbul, TR, 2006: pp.435-450.
67. Yogev Y. The association between preeclampsia and the severity of gestational diabetes: The impact of glycemic control. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2004; 191:1655-1660.
68. Lowy C. Type 1 diabetes and pregnancy. *Lancet* 1995; 346:966-967.
69. Ningham FG. Diabetes. In: *Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF et al eds: Williams Obstetrics*. 21th Edition, McGraw-Hill Companies, 2001: pp.567-618.



70. Dashe JS, Nathan L, Leveno KJ. Correlation between amniotic fluid glucose correlation and amniotic fluid volume in pregnancy complicated by diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:901-904.
71. Thomas R. Moore. Diabetes in pregnancy. In: Creasy RK, Resnik R eds, *Maternal Fetal Medicine*. 5th Edition, WB Saunders Company, Philadelphia, USA, 2004: pp.1023-1061.
72. Berkowitz K, Reyes C, Saadat P, Kjos SL. Fetal lung maturation. Comparison of biochemical indices in gestational diabetic and nondiabetic pregnancies. *J Reprod Med* 1997; 42:793-800.
73. Frank RN. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2004; 350:48.
74. Volpe L, Cuccuru I, Lencioni C et al. Early subclinical atherosclerosis in women with previous gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2008; 31:e32.
75. De Veciana M. Postprandial versus preprandial blood glucose monitoring in women with gestational diabetes mellitus requiring insulin therapy. *N Eng J Med* 1995; 333:1237-41.
76. Jovanovic L. Maternal postprandial glucose levels and infant birth weight. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164:103-11.
77. Metzger BE. Summary and Recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21:161-7.
78. Gestasyonel Diyabet. In: Kişnişçi HA, Gökşin E eds, *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. Ankara: 1996: 378-83.
79. In: Özşener S, Güner H eds, *Yüksek Riskli Gebeliklerde Tanı ve Tedavi Protokolleri 3.baskı*. Ankara: Atlas Kitapçılık. 1998: 249-52.
80. Churchill JA. Neuropsychological deficits in children of diabetic mothers. *Am J Obstet Gynecol* 1969; 105:257-68.
81. Rizza T. Correlations between antepartum maternal metabolism and intelligence of offspring. *N Engl J Med*.1991; 325:911-6.
82. Jovanovic L, Druzin M, Peterson CM. Effect of euglycemia on the outcome of pregnancy in insulin-dependent diabetic women as compared with normal control subject. *Am J Med* 1981; 71:921-8.

83. Jovanovic L, Durak EP, Peterson CM Randomized trial of diet versus diet plus cardiovascular conditioning on glucose levels in gestationals diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161:415-9.
84. Gonzalez J. Management of diabetes in pregnancy. *Clin Obstet and Gynecol* 2002; 45:165-9.
85. Balsells M, Corcoy R, Mauricio D. Insulin antibody response to a short course of human insulin therapy in women with gestational diabetes. *Diabetes Care* 1997; 20:1172-5.
86. Langer O, Conway DL, Berkus MD, Xenakis EM, Gonzales O. A comparison of glyburide and insulin in women with gestational diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2000; 343:1134-8.
87. Langer O, Anyegbunam A, Brustman L, Guidetti D, Mazze R. Gestational diabetes: insulin requirements in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157:669-75.
88. Langer O. Maternal glycemic criteria for insulin therapy in gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1998; 21:91-8.
89. Elliot BD, Langer O, Schenker S, Johnson RF. Insignificant transfer of glyburide occurs across the human placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:807-12.
90. Elliott BD, Langer O, Schuessling F. Human placental glucose uptake and transport are not altered by the oral antihyperglycemic agent metformin. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176:527-30.
91. (<http://www.mirbase.org>)
92. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843– 854.
93. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; 294: 797–799.
94. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123:631-640.

95. Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. microRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12:1- 27.
96. Schulte C. Diagnostic and prognostic value of circulating microRNAs in heart failure with preserved and reduced ejection fraction. *World Journal of Cardiology (WJC)* 2015; 7(12): 843.
97. Yan, Y., Wang R, Guan W, Qiao M, Wang L. Roles of microRNAs in cancer associated fibroblasts of gastric cancer. *Pathol Res Pract*, 2017; 213(7): 730-736.
98. Labib, M. and M.V. Berezovski, Electrochemical sensing of microRNAs: Avenues and paradigms. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015; 68: 83-94.
99. Kawaguchi, T., et al., Circulating MicroRNAs: A Next-Generation Clinical Biomarker for Digestive System Cancers. *International journal of molecular sciences*, 2016; 17(9): 1459.
100. Válóczy A., Hornyik C, Varga N, Burgyán J, Kauppinen S, Havelda Z. Sensitive and specific detection of microRNAs by northern blot analysis using LNA-modified oligonucleotide probes. *Nucleic acids research*, 2004; 32 (22): p. e175-e175.
101. Castoldi, M., Sabine Schmidt, Vladimir Benes, Mikkel Noerholm, Andreas E. Kulozik, Matthias W. Hentze et al., A sensitive array for microRNA expression profiling (miChip) based on locked nucleic acids (LNA). *RNA (New York, N.Y.)*, 2006; 12(5): 913-920.
102. Hafner, M., Renwick N, Farazi TA, Mihailović A, Pena JT, Tuschl T . Barcoded cDNA library preparation for small RNA profiling by next-generation sequencing. *Methods (San Diego, Calif.)*, 2012; 58(2): 164-170.
103. Shen, Y, Tian F, Chen Z, Li R, Ge Q, Lu Z. Amplification-based method for microRNA detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015; 71: 322-331.
104. Chen, C, Ridzon DA, Broomer AJ, Zhou Z, Lee DH, Nguyen JT. Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic acids research*, 2005; 33(20): p. e179-e179.
105. Zampetaki, A., M. Mayr, Analytical challenges and technical limitations in assessing circulating MiRNAs. *Thromb Haemost*, 2012; 108(10): p. 592-598.

106. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev.* 2009; 28:369–378.
107. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? *RNA* 2005; 11:1753–1761.
108. Qu B, Shen N. miRNAs in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *Int J Mol Sci.* 2015; 16 (5):9557-72. 53.
109. Van den Hoogen P, Van den Akker F, Deddens JC, Sluijter JP. Curr Heart Failure in Chronic Myocarditis: A Role for microRNAs? *Genomics* 2015; 16 (2):88-94.
110. Ramezani A, Devaney JM, Cohen S, Wing MR, Scott R, Knoblach S, Singhal R et al. Circulating and urinary microRNA profile in focal segmental glomerulosclerosis: a pilot study. *Eur J Clin Invest* 2015; 45(4):394-404.
111. Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, Ferreira T, Segrè AV, Steinthorsdottir V et al. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes *Nat Genet.* 2012; 44 (9):981-90.
112. Basile KJ, Johnson ME, Xia Q, Grant SF. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: Follow-up of findings from genomewide association studies. *Int J Endocrinol.* 2014; 769671.
113. Mohlke KL, Boehnke M. Recent advances in understanding the genetic architecture of type 2 diabetes. *Hum Mol Genet.* 2015; 24: R85–92.
114. Karakaş Çelik S, Yamak AS. Gestasyonel Diyabette Genetik ve Epigenetik Değişimler. *Turkish Journal of Diabetes and Obesity.* 2018; 1: 9-15.
115. Chen X, Wang W, Li R, Yu J, Gao L. Association between polymorphisms in microRNAs and susceptibility to diabetes mellitus. *Medicine (Baltimore).* 2019; 98(44):e17519.
116. Wang TT, Chen YJ, Sun LL, Zhang SJ, Zhou ZY, Qiao H Affection of Single-Nucleotide Polymorphisms in miR-27a, miR-124a, and miR-146a on Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus in Chinese Han People *Chin Med J (Engl).* 2015; 128(4): 533-9.

## 7. EKLER

### Ek 1: Etik Kurul Kararı



**T.C.**  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı**

**TOPLANTI TARİHİ** : 17/01/2018  
**TOPLANTI NO** : 2018/02

#### KARARLAR :

- 13- Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2018-24-17/01 Protokol no'lu "Gestasyonel Diyabette "Pre-mir-27a variant rs895819" Gen Polimorfizminin Rolü" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R

Prof. Dr. Günnur ÖZBAKİŞ DENGİZ  
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

B.E.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Gestasyonel Diyabette "Pre- mir- 27a variant rs895819" Gen Polimorfizminin Rolü
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2018-24-17/01

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, 67600/ Kozlu-ZONGULDAK
	TELEFON	0 372 261 32 60   Dahili -3260
	FAKS	(0372) 261 02 65
	E-POSTA	etiksekretery@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Müge HARMA			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Kadın Hastalıkları ve Doğum			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	B.E.Ü. Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	TÜBİTAK			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz : Uzmanlık Tezi					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	02/01/2018		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

Prof. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ  
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı  
İmza:

B.E.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Gestasyonel Diyabette "Pre-mir-27a variant rs895819" Gen Polimorfizminin Rolü
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2018-24-17/01

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
		SİGORTA	<input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	TÜBİTAK 2209/A Projesi -27.104,20 TL
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	
	ILAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2018/02	Tarih: 17/01/2018	
	B.E.Ü. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Muge HARMA'nın sorumluluğunda yürütülecek olan ve yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

B.E.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ (Başkan)	Tıbbi Farmakoloji	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ali Uğur EMRE (Başkan Yrd.)	Genel Cerrahi	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayşe Semra DEMİR AKKA (Bildirimlerden sorumlu üye)	Aile Hekimliği	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İbrahim Etem PIŞKIN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Kıvanç ERGEN	Biyofizik	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Sibel KOÇAK	Endodonti	B.E.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Görevli
Yrd. Doç. Dr. Bilgehan AÇIKGÖZ	Halk Sağlığı	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Serpil YAZGAN	Göz Hastalıkları	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinli
Yrd. Doç. Dr. Yasin ÖZTÜRK	İç Hastalıkları	B.E.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzman Dr. Volkan Bilge YIĞIT	KBB Hastalıkları	Zonguldak Atatürk Devlet Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. İbrahim Kerem ERTEM	Hukuk	B.E.Ü. Hukuk Müşavirliği	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Mehmet Kıvanç ERDEM	Eczacı	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Zohre BORAZAN	Ev Hanımı	Serbest	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Prof. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ  
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı  
İmza: