



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**GENÇLİKTE ORTAYA ÇIKAN ERİŞKİN TIP DİYABET
(MODY) N TANISI İLE İZLENEN HASTALARDA
HEDEFLENMİŞ GEN YENİ NESİL DİZİ ANALİZ
YÖNTEMİ SONUÇLARININ İNCELENMESİ**

Dr. Haluk Kavuş

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA-2018



T.C.

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ
TİBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**GENÇLİKTE ORTAYA ÇIKAN ERİŞKİN TIP DİYABET
(MODY) N TANISI İLE İZLENEN HASTALARDA
HEDEFLENMİŞ GEN YENİ NESİL DİZİ ANALİZ
YÖNTEMİ SONUÇLARININ İNCELENMESİ**

Dr. Haluk Kavuş

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yusuf Tunca

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA-2018

Gülhane Tıp Fakültesi Dekanlığına:

“Gençlikte Ortaya Çıkan Erişkin Tip Diyabet (MODY) Ön Tanısı İle İzlenen Hastalarda Hedeflenmiş Gen Yeni Nesil Dizi Analiz Yöntemi Sonuçlarının İncelenmesi” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yusuf TUNCA



Üye : Prof. Dr. Zerrin YILMAZ ÇELİK
Başkent Üniversitesi




Üye : Doç. Dr. Deniz TORUN



ONAY:

Dr. Haluk KAVUŞ’un 22/06/2018 tarihinde savunduğu bu tez Fakülte Yönetim Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Muzaffer KIRIŞ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Gülhane Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen, insani ve ahlaki değerleriyle örnek aldığım ve ömür boyu saygıyla anacağım, tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Yusuf TUNCA'ya,

Klinik ve moleküler genetiğe yönelik bilgi ve becerilerimin gelişmesinde bilgi ve deneyimini esirgemeyen, aynı zamanda hayata dair paylaşımlarıyla bana yol gösteren Doç. Dr. Deniz TORUN'a,

Değerli görüş ve önerilerini esirgemeyerek bu teze katkıda bulunan tez jürisindeki değerli hocam Prof. Dr. Zerrin YILMAZ ÇELİK'e,

Birlikte bulunduğum süre boyunca bana her konuda destek olan, çalışılan ortamda da aile olunabileceğini bana öğreten, akademik vizyonları ve yol göstericilikleri ile birlikte çalışmaktan onur duyduğum Uzm. Dr. Ali ÖZTUNA ve Uzm. Dr. Hatice AKAR'a,

Değerli asistan arkadaşım Dilek ÖZATA AKSOY'a, yıllar boyunca aile olmaktan sonsuz mutluluk duyduğum Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda görevli tüm hemşire, laboratuvar çalışanları ve sekreter arkadaşlarıma,

Çalışmaya dahil ettikleri hastaları ile tezin yürütülmesinde sundukları katkılardan dolayı Uzm. Dr. Büşranur ÇAVDARLI ve Uzm. Dr. Tülay OMMA'ya,

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem Meliha KAVUŞ'a, babam merhum Ali KAVUŞ'a ve kardeşlerime,

Her zaman sabrı ve desteğiyle yanımda olan kıymetli eşim Fatma KAVUŞ'a ve bize mutluluk kavramını yeniden öğreten kızım Zeynep Alya KAVUŞ'a,

Sonsuz teşekkürlerimle...

Dr. Haluk KAVUŞ
Ankara, 2018

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR.....	vi
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. DİABETES MELLİTUS.....	3
2.1.1. Diabetes Mellitus Tanımı	3
2.1.2. Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi.....	3
2.1.3. Diabetes Mellitus'un Semptomları ve Tanı Kriterleri.....	5
2.1.4. Diabetes Mellitus Sınıflandırma	7
2.2. İNSÜLİN HORMONU FİZYOLOJİSİ.....	7
2.3. TİP 1 DİABETES MELLİTUS	9
2.4. TİP 2 DİABETES MELLİTUS	9
2.5. GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS.....	10
2.6. MONOGENİK DİYABET.....	11
2.6.1. MODY.....	11
2.6.1.1. MODY Tanımı, Tarihçesi ve Epidemiyolojisi.....	11
2.6.1.2. MODY Tanısı	12
2.6.1.3. MODY Alt Tipleri.....	13
2.6.1.3.1. MODY1 (HNF4A*600281)	15
2.6.1.3.2. MODY2 (GCK*138079)	15
2.6.1.3.3. MODY3 (HNF1A*142410)	17
2.6.1.3.4. MODY4 (PDX1*600733).....	18
2.6.1.3.5. MODY5 (TCF2*189907).....	18
2.6.1.3.6. MODY6 (NEUROD1*601724).....	19
2.6.1.3.7. MODY7 (KLF11*603301)	19

2.6.1.3.8. MODY8 (CEL*114840)	19
2.6.1.3.9. MODY9 (PAX4*167413).....	20
2.6.1.3.10. MODY10 (INS*176730).....	20
2.6.1.3.11. MODY11 (BLK*191305)	20
2.6.1.3.12. MODY13 (KCNJ11*600937).....	20
2.6.1.3.13. MODY14 (APPL1*604299).....	21
2.6.2. Neonatal Diabetes Mellitus	21
2.6.3. Diğer Diyabet Sendromları.....	23
2.6.3.1. Wolfram Sendromu (WFS*606201).....	23
2.6.3.2. Mitokondriyal Diabetes Mellitus (mtDM).....	23
2.7. YENİ NESİL DNA DİZİLEME TEKNOLOJİSİ.....	23
2.7.1. DNA Dizileme Teknolojisinin Tarihçesi ve Gelişimi.....	23
2.7.2. Yeni Nesil DNA Dizileme Teknolojisinin Temeli	25
2.7.3. Yeni Nesil DNA Dizileme Kullanım Uygulamaları.....	26
2.7.4. Varyantların Yorumlanmasında Kullanılan Veritabanları	26
2.7.4.1. SIFT.....	27
2.7.4.2. PolyPhen-2 HumDiv	27
2.7.4.3. Mutation Taster	27
2.7.4.4. Mutation Assessor	28
2.7.4.5. FATHMM ve FATHMM-MKL.....	28
2.7.4.6. MetaLR ve MetaSVM	28
2.7.4.7. VEST3	28
2.7.4.8. CADD.....	28
2.7.4.9. DANN.....	29
2.7.4.10. PROVEAN.....	29
2.7.4.11. LRT	29
2.7.4.12. GERP ⁺⁺ RS	29
2.7.4.13. M-CAP.....	29
2.7.5. Varyantların Yorumlanmasında Kullanılan Kılavuz	29
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	34
3.1. HASTA SEÇİMİ.....	34
3.2. MOLEKÜLER GENETİK ÇALIŞMA.....	35

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Panelin Özellikleri	35
3.2.2. DNA İzolasyonu	35
3.2.3. DNA Kütüphanesinin Hazırlanması ve Pürifikasyonu	35
3.2.4. Örneklerin Ion 530™ Çipe Yüklenmesi ve Dizileme.....	35
3.2.5. Dizileme İşlemi Sonrası Ham Datanın Elde Edilmesi	35
3.3. TESPİT EDİLEN VARYANTLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	37
3.3.1. Tespit Edilen Varyantların Önceliklendirilmesi	39
3.4. VERİLERİN İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLERLE ANALİZİ	40
4. BULGULAR	41
4.1. KLİNİK BULGULAR.....	41
4.2. GENETİK BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇLAR	70
KAYNAKLAR.....	71
EKLER	86
EK 1- ETİK KURUL ONAYI.....	86
EK 2 - MODY OLGU RAPOR FORMU.....	87

KISALTMALAR

- 1000G** : 1000 Genomes Project
- 2.st PG** : 2. saat plazma glukozu
- ABCC8**: ATP Binding Cassette Subfamily C Member 8
- ACMG**: American College of Medical Genetics and Genomics
- ADP**: Adenozin difosfat
- AKT2**: AKT Serine/Threonine Kinase 2
- AMP**: Association for Molecular Pathology
- ANNOVAR**: ANNOtate VARIation
- APG**: Açlık plazma glukozu
- APPL1**: Adaptor Protein, Phosphotyrosine Interacting With PH Domain And Leucine Zipper 1
- ATP**: Adenozin trifosfat
- BAM**: Binary Alignment/Map
- BLK**: B Lymphoid Tyrosine Kinase
- CADD**: Combined annotation-dependent depletion
- CAP**: College of American Pathologists
- CEL**: Carboxyl ester lipase
- C-peptit**: Connecting peptide
- DANN**: Deleterious Annotation of genetic variants using Neural Networks
- ddNTP**: Dideoksinükleotit trifosfat
- DIDMOAD**: Wolfram sendromu, (diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy, deafness)
- DM**: Diabetes Mellitus
- DNA**: Deoksiribonükleik asit,
- DNN**: Deep Neural Network
- dNTP**: Deoksinükleotit trifosfat
- EDTA** :Ethylene diamine tetra acetic acid
- ENCODE**: The Encyclopedia of DNA Elements
- ER**: Endoplazmik Retikulum
- ESP6500**: Exome Sequencing Project v.6500

ExAC: Exome Aggregation Consortium
FAD: Erişkin ailesel diyabet, (Familial Diabetes of the Adulthood)
FATHMM: Functional Analysis Through Hidden Markov Models
GAD: Glutamat dekarboksilaz antikoru
GCK: Glukokinaz, (Glucokinase)
GDM: Gestasyonel Diabetes Mellitus
GERP⁺⁺ RS: Genomic Evolutionary Rate Profiling Rejected Substitutions
GLUT: Glukoz transporter
gnomAD: The Genome Aggregation Database
HbA1c: Glikozillenmiş Hemoglobin A1c
HDL: High density lipoprotein
HGMD: Human Genome Mutation Database
HLA: İnsan lökosit antijeni, (Human leukocyte antigen)
HLH: Helix-loop-helix
HNF1A: Hepatosit nükleer faktör 1 alfa, (Hepatocyte Nuclear Factor-1 Alpha)
HNF1B: Hepatosit nükleer faktör 1 beta, (Hepatocyte Nuclear Factor-1 Beta)
HNF4A: Hepatosit nükleer faktör 4alfa, (Hepatocyte Nuclear Factor-4 Alpha)
HPLC: Yüksek performanslı likid kromatografi (High performance liquid chromatography)
IA-2: Adacık antijeni 2, (islet antigen 2)
IAA: insülin otoantikorları, (insulin auto antibody)
ICA: Adacık hücre antikoru, (islet cell antibody)
IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu (International Diabetes Federation)
IFG: Bozulmuş açlık glukozu (impaired fasting glucose)
IGT: Bozulmuş glukoz toleransı (impaired glucose tolerance)
IGV: The Integrative Genomics Viewer
INS: İnsulin
IPEX: İmmünodisregülasyon, poliendokrinopati, enteropati-X linked sendromu
IPF-1: Insulin promoter factor 1
IUGR: İntrauterin gelişme geriliği
İGP: İnsan Genom Projesi
KCNJ11: Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily J Member 11

KLF11: Kruppel like factor 11
LDL: Low density lipoprotein
LR: Logistic Regression
LRT: The likelihood ratio test
M-CAP: Mendelian Clinically Applicable Pathogenicity
MAF: Minör allel frekansı
MD: Monogenik Diyabet
MIDD: Maternal kalıtlı diyabet-işitme kaybı sendromu
MODY: Gençlikte ortaya çıkan erişkin tip diyabet (maturity onset diabetes of the young)
mtDM: Mitokondriyal Diabetes Mellitus
NCBI dbSNP: National Center for Biotechnology Information The Single Nucleotide Polymorphism
NDM: Neonatal Diabetes Mellitus
NEUROD1: Neuronal Differentiation 1
NGS: Yeni nesil DNA dizileme, (Next Generation Sequencing)
OAD: Oral antidiyabetik
OGTT: Oral glukoz tolerans testi
OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man
PAX4: Paired box 4
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDX1: Pancreas/Duodenum Homeobox Protein-1
PG: Plasma glukozu
PNDM: Kalıcı Neonatal Diabetes Mellitus, (Permanent Neonatal Diabetes Mellitus)
PolyPhen-2 HumDiv: Polymorphism Phenotyping v2 Human Diversity-based algorithm
PROVEAN: Protein Variation Effect Analyzer
RCAD: Renal kist ve diyabet sendromu, (Renal cysts and diabetes syndrome)
SDS: Standart deviasyon skoru
SIFT: Sorting Intolerant from Tolerant
SNP: Tek nükleotit polimorfizmi, (Single nucleotide polymorphism)
SVM: Support Vector Machine

T1DM: Tip 1 Diabetes Mellitus

T2DM: Tip 2 Diabetes Mellitus

TCF2: Hepatic Transcription Factor-2

TNDM: Geçici Neonatal Diabetes Mellitus, (Transient Neonatal Diabetes Mellitus)

TURDEP : Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması

UTR: Translasyona uğramayan bölge, (Untranslated region)

VCF: Variant Calling Format

VEST3: Variant Effect Scoring Tool v3

VKİ: Vücut kitle indeksi

VUS: Önemi bilinmeyen varyant, (Variant of Unknown Significance)

WES: Tüm ekzom analizi, (Whole Exome Sequencing)

WGS: Tüm genom analizi, (Whole Genome Sequencing)

WHO: Dünya Sağlık Örgütü, (World Health Organization)

WS: Wolfram sendromu

ZnT8: Zinc transporter 8

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1:** Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) Atlası 2017 Tahminleri(2017-2045yılı)
- Tablo 2:** Diabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri
- Tablo 3:** Diabetes Mellitus'un etiyolojik sınıflaması
- Tablo 4:** OMIM'de tanımlı MODY Alt Tipleri ve Diğer Özellikleri
- Tablo 5:** Neonatal Diabetes Mellitus'tan sorumlu major genler ve özellikleri
- Tablo 6:** Patojenik varyantların sınıflandırılmasındaki kriterler
- Tablo 7:** Benign varyantların sınıflandırılmasındaki kriterler
- Tablo 8:** Varyantların sınıflandırılmasında kullanılan kriterlerin kombinasyonu ile varyantların önceliklendirilmesi
- Tablo 9:** Panelde bulunan genlerin özellikleri
- Tablo 10:** Hedeflenmiş Gen Yeni Nesil Dizileme Yöntemi Akış Şeması
- Tablo 11:** Kullanılan biyoinformatik tahmin araçları ve patojenite sınırları
- Tablo 12:** Hastaların tanı anındaki antropometrik özellikleri
- Tablo 13:** Hastaların tanı anındaki laboratuvar bulguları
- Tablo 14:** Tespit edilen tüm varyantların özellikleri ve in silico tahmin skorları
- Tablo 15:** Missense varyantların 15 biyoinformatik tahmin aracı sonuçları
- Tablo 16 :** Varyant (+) ve Varyant (-) Hastaların Klinik ve Laboratuvar Özellikleri
- Tablo 17:** Varyant tespit edilen olgulara ait özellikler
- Tablo 18:** Varyant tespit edilmeyen olgulara ait özellikler

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: BAM uzantılı dosyanın IGV programında görüntülenmesi

Şekil 2: Tespit edilen varyantların genlere dağılımı

Şekil 3: Patojenik varyant saptanan O16 kodlu olguya ait soyağacı

Şekil 4: Klinik önemi bilinmeyen varyant saptanan O11 kodlu olguya ait soyağacı

Şekil 5: Varyant saptanmayan O34 kodlu olguya ait soyağacı

Şekil 6: Varyant saptanmayan O43 kodlu olguya ait soyağacı



ÖZET

Gençlikte ortaya çıkan erişkin tip diyabet (MODY) ön tanısı ile izlenen hastalarda hedeflenmiş gen yeni nesil dizi analiz yöntemi sonuçlarının incelenmesi

Diabetes Mellitus (DM), kandaki glukoz düzeyinin çeşitli nedenlerle normal aralığın üzerine çıktığı kronik bir hastalıktır. Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM), Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM) ve Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) en fazla görülen diyabet formlarıdır. Gençlikte Ortaya Çıkan Erişkin Tip Diyabet [Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY)] tüm diyabet vakalarının %1-2'sini oluşturmaktadır. MODY, genetik olarak heterojen bir hastalıktır ve moleküler tanısının koyulabilmesi için yeni nesil DNA dizileme teknolojisi ile hastalık etkeni olabilecek tüm genlerin panel şeklinde analiz edilmesi en uygun yaklaşımdır. Bu çalışmada, MODY fenotipine yol açtığı bilinen, ayrıca pankreas gelişimi ve fonksiyonu ile ilişkili toplam 23 gen içeren panel kullanıldı. Bu çalışma, bildiğimiz kadarıyla Türkiye'de erişkin MODY hasta grubunda yapılmış ilk hedeflenmiş gen paneli çalışmasıdır. Çalışmaya, klinik olarak MODY ön tanısı ile takip edilen 50 erişkin hasta dahil edildi. Hastaların soyağaçları çizildi, klinik ve laboratuvar parametreleri kaydedildi. Yapılan moleküler analiz sonucunda 50 hastanın 30'unda (%60) hastalık etkeni olabilecek en az bir varyant tespit edildi. Varyant tespit edilen ve edilmeyen gruplar arasında laboratuvar bulguları açısından istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı. Tespit edilen 41 varyant 18 farklı gene dağılmış olarak bulundu. Panelde bulunan GLUD1, KCNJ11, NEUROD1, NEUROG3 ve PAX4 genlerinde herhangi bir varyant tespit edilmedi. Missense varyantların patojenitesinin değerlendirilebilmesi için 15 farklı biyoinformatik aracın skorları kombine edilerek yeni bir varyant önceliklendirme yöntemi oluşturuldu. 15 biyoinformatik aracın her biri için belirlenen patojenite eşik değerine ulaşan missense varyantlar 1 ulaşamayanlar 0 olarak puanlandı. HNF1A, BLK, GCK, HNF4A, PDX1, G6PC2, HADH, GLIS3, RFX6, ABCC8, INS ve SLC16A1 genlerinden en az 1 varyant biyoinformatik skorlama sisteminden 8 puan (median üzeri değer) ve üzerinde aldı ve bu varyantlar segregasyon ve fonksiyonel çalışmalar için aday olarak değerlendirildi. Ayrıca, varyant tespit edilemeyen olgularda hastalık etkeni olabilecek başka genlerin varlığının araştırılması maksadıyla ileri çalışmaların yapılması gerektiği değerlendirildi.

Anahtar kelimeler: MODY, Monogenik Diyabet, Hedeflenmiş Gen Dizi Analizi, Türkiye

ABSTRACT

Investigation of next generation targeted gene sequencing analysis results of the patients monitored with Maturity Onset Diabetes of the Young

Diabetes Mellitus (DM) is a chronic disease in which the blood glucose levels exceed normal ranges due to different reasons. The most common forms of diabetes are Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), Type 1 Diabetes Mellitus (T1DM) and Gestational Diabetes Mellitus (GDM). Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) is a genetically heterogeneous disorder that accounts for the 1-2% of all diabetes cases. Targeted next generation sequencing method is the most suitable approach to do molecular analysis of multiple genes simultaneously. In this study, 23-gene panel including pancreas development and function associated genes and known causal MODY genes was used. To our knowledge, this is the first targeted gene panel sequencing study in the adult MODY patients in Turkey. Fifty adult patients who clinically followed by MODY pre-diagnosis were included in the study. Patient pedigrees were drawn, clinical and laboratory parameters were recorded. As a result of the molecular analysis, at least one likely disease-causing variant was detected in 30 out of 50 patients (60%). There was no statistical difference between the variant positive and the variant negative groups in terms of laboratory findings. The identified 41 variants were found to be distributed among 18 different genes. No variants were identified in the *GLUD1*, *KCNJ11*, *NEUROD1*, *NEUROG3* and *PAX4* genes. In order to be able to evaluate pathogenicity of missense variants, a new method was developed by combining the scores of 15 bioinformatics tools. While the missense variants which reach the pathogenicity threshold determined for each of 15 bioinformatic tools were scored as 1, the ones which cannot reach were scored as 0. At least 1 variant of the *HNF1A*, *BLK*, *GCK*, *HNF4A*, *PDX1*, *G6PC2*, *HADH*, *GLIS3*, *RFX6*, *ABCC8*, *INS* and *SLC16A1* genes took 8 or more points (above median value) from the bioinformatics scoring system and these variants were evaluated as candidates for segregation and functional studies. Also, it was concluded that further studies should be carried out to investigate to presence of candidate genes which may be cause of the disease in variant negative cases.

Keywords: MODY, Monogenic Diabetes, Targeted Gene Sequencing, Turkey

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM), kandaki glukoz düzeyinin çeşitli nedenlerle istenilen düzeyin üzerine çıktığı kronik bir hastalıktır. Diyabet global bir sorundur. Epidemik bir klinik durum haline gelen diyabet ve komplikasyonları dünyada sağlığı etkileyen en büyük problemlerden biridir. Uluslararası Diyabet Federasyonu [International Diabetes Federation (IDF)] 2017 yılı verilerine göre, dünya genelinde diyabet prevalansı %8.8 olarak tespit edilmiştir. 20-79 yaş aralığındaki bireyler arasında 425 milyon diyabet hastası olduğu tahmin edilmektedir. Aynı yaş grubunda diyabete bağlı ölüm sayısı 4 milyon olarak bildirilmiştir. 2045 yılında dünya genelinde her 10 kişiden 1'inin diyabet hastası olacağı tahmin edilmektedir (1).

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM), Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM) ve Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) en fazla görülen diyabet formlarıdır. Bunun yanında tüm diyabet vakalarının az bir kısmını oluşturan spesifik diyabet formları da mevcuttur (2). Diyabet hastalarının %90'dan fazlasına T2DM tanısı koyulmaktadır (3,4). T2DM prevalansının bu kadar yüksek olmasının en büyük nedenleri; obezite, sedanter yaşam ve enerji içeriği yüksek gıdalarla beslenme alışkanlığı gibi çevresel etmenlerdir (5). T1DM, genetik predispozisyonu olan bireylerde otoimmün pankreatik beta hücre yıkımı nedeniyle ortaya çıkan, hastaların çok ciddi insülin ihtiyacının olduğu bir klinik durumdur. Her yaşta ortaya çıkabilse de çocukluk ve adolesan dönem hastalığı olarak bilinir. 20 yaş altında diyabet tanısı koyulan bireylerin %85'ini T1DM oluşturur (6). Bir diğer diyabet alt tipi, ilk defa gebelik esnasında ortaya çıkan, glukoz intoleransının olduğu GDM'dir. Popülasyonlara göre GDM prevalansı farklılık gösterse de ortalama prevalansı yaklaşık %2'dir (7,8).

Tüm diyabet vakalarının %1-5'ini Monogenik Diyabet (MD) oluşturur (9-12). Diyabet bulguları doğumdan sonra 6 ay içinde ortaya çıkarsa Neonatal Diabetes Mellitus (NDM) adını alır. NDM, genetik olarak heterojen bir hastalık grubunu oluşturur (13).

Bir diğer monogenik diyabet alt tipi ise Gençlikte Ortaya Çıkan Erişkin Tip Diyabet [Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY)] olup, tüm diyabet vakalarının %1-2'sini oluşturduğu tahmin edilmektedir (14). MODY, pankreas beta hücre işlevinde fonksiyon bozukluğu sonucu oluşan, otozomal dominant kalıtım gösteren monogenik diyabet tipi olarak tanımlanmaktadır. MODY, genetik ve klinik açıdan heterojen

özellikler gösteren bir hastalık grubudur ve MODY hastaları sıklıkla T1DM veya T2DM şeklinde yanlış tanı ile takip edilmektedir (14). Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) veri tabanında MODY fenotipine neden olan şu ana kadar 13 farklı gen bildirilmiştir.

İlk 3 MODY fenotipine yol açan HNF4A, GCK ve HNF1A genlerinin mutasyonlarına toplumda diğerlerine göre daha sık oranda rastlanmaktadır (15,16). Moleküler olarak MODY tanısının konulması ve alt tipinin belirlenmesi hastaların tedavi yöntemlerini önemli oranda değiştirmektedir. Özellikle GCK-MODY tanısı alanların gebeliklerinde diyabet (GDM) gelişme riski arttığı bildirilmiştir ve öncesinde tanı alması halinde gebelikte fetüsü etkileyebilecek komplikasyonların önüne geçmek mümkün olabilmektedir (17). Aynı şekilde HNF1A veya HNF4A geni mutasyonuna bağlı ortaya çıkan diyabet vakalarında gereksiz insülin kullanımı yerine hastaların sülfonilüre tedavisine iyi yanıt verdikleri gösterilmiştir (18).

Yeni nesil DNA dizileme (Next Generation Sequencing- NGS) teknolojisinin yaygınlaşmasından önce MODY moleküler tanısı ancak sık görülen genlerin Sanger DNA dizileme yöntemiyle tek tek taranması ile mümkün oluyordu. Fakat MODY oldukça heterojen bir grubu oluşturmakta ve hastalıktan sorumlu çok sayıda gen bulunmakta olduğu için bu yöntemle tanı oranları çok düşük kalmaktaydı. Günümüzde NGS teknolojisini yaygın olarak kullanılmaya başlamasıyla gen panelleri oluşturularak MODY fenotipine yol açan tüm genlerin moleküler analizi daha hızlı ve daha ucuz şekilde yapılabilmektedir (19–21). Klinik ve genetik bulgularının heterojen olmasından dolayı sıklıkla yanlış tanı alan ve yanlış tedavi uygulanan bu hasta grubunda moleküler tanının koyulması hem hasta birey hem de diğer aile bireyleri için önem arz etmektedir.

Bu tezin amacı, erken yaşta diyabet tanısı alan, majör diyabet tiplerine uymayan ve bu nedenle MODY ön tanısı ile izlenen hastalarda, MODY moleküler tanısının koyulabilmesi ve genotip-fenotip ilişkisinin kurulabilmesidir. Çalışmada, yeni nesil DNA dizileme yöntemi kullanılarak moleküler çalışması yapılan 23 genin varyantları biyoinformatik araçlar kullanılarak değerlendirilmiş ve hastalık yapıcı varyantlar ortaya koyulmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS

2.1.1. Diabetes Mellitus Tanımı

Diabetes mellitus, insülin sekresyonunda ve/veya insülin etkisindeki yetersizlik sonucunda ortaya çıkan, kanda hiperglisemi varlığı ile karakterize, tüm metabolik süreçleri etkileyen kronik seyirli bir hastalıktır. İnsülin hormonu, vücutta pankreas beta adacık hücreleri tarafından üretilir ve kandaki glukozun enerjiye dönüşmek üzere hücrelere taşınmasını sağlar. İnsülin hormonunun vücutta yeterli miktarda üretilmemesi veya hücrelerin var olan insüline uygun cevabı verememesi durumunda diyabetin en önemli belirtisi olan hiperglisemi ortaya çıkar. Hiperglisemi tedavi edilmemesi halinde uzun dönemde bir takım organlarda hayatı tehlikeye atacak komplikasyonlara yol açar. En sık görülen komplikasyonlar kardiyovasküler hastalıklar, nöropati, nefropati ve retinopati'dir. Bununla birlikte hipergliseminin tedavi edilmesi durumunda bu komplikasyonlar önemli oranda geciktirilecek veya tamamen önlenecektir.

Diabetes Mellitus tanısının yanında, bozulmuş glukoz toleransı ve bozulmuş açlık glukozu şeklinde iki tanımlama daha vardır. Bu iki tanımlama, kandaki glukoz yüksekliğinin henüz DM tanısı için yeterli düzeyde olmadığı fakat normal değerlerin üzerinde olduğu pencere dönemlerini ifade eder (1).

2.1.2. Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi

Diabetes Mellitus, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin karşılaştığı en büyük sağlık problemlerinden biri haline gelmiştir. En büyük DM grubunu oluşturan T2DM hastaları son 20 yılda iki katından fazla artmıştır (22). Son yayınlanan ve Tablo 1'de ayrıntıları verilen Uluslararası Diyabet Federasyonu atlası verilerine göre, 2017 yılında dünyada 425 milyon DM hastası vardır ve 2045 yılında bu sayının %48 artışla 629 milyon olacağı tahmin edilmektedir (1). Aynı atlasın verilerine göre, yaş aralıklarına bakıldığında, 20-64 yaş aralığında 327 milyon, 65-79 yaş aralığında 98 milyon DM hastası vardır. Cinsiyete göre bakılacak olursa, 221 milyon erkek, 203 milyon kadın hasta olduğu tahmin edilmektedir. Avrupa kıtasında 2017 yılında 58 milyon DM hastası vardır ve bu sayı 2045 yılında 67 milyon olacaktır.

Tablo 1:Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) Atlası 2017 Tahminleri (2017–2045 yılı)(1)

	2017	2045
Toplam Dünya Nüfusu	7.5 milyar	9.5 milyar
Erişkin Nüfus (20-79 aralığı)	4.84 milyar	6.37 milyar
Diyabet Tahminleri		
Prevalans (20-79 yaş) (%)	8.8 (7.2-11.3)	9.9 (7.5-12.7)
DM tanılı vaka sayısı (20-79 yaş)	424.9 milyon (346.4-545.4 milyon)	628.6 milyon (477-808.7 milyon)
Diyabete bağlı ölüm sayısı (20-79 yaş)	4.0 (3.2-5.0) milyon	-
Diyabete bağlı sağlık harcamaları	727 milyar dolar	776 milyar dolar
Gebelikte Hiperglisemi(20-49 aralığı)		
Etkilenen canlı doğumların oranı (%)	16,2	-
Etkilenen canlı doğumların sayısı	21,3 milyon	-
Bozulmuş Glukoz Toleransı (IGT) Tahminleri		
Prevalans (20-79 yaş) (%)	7.3 (4.8-11.9)	8.3 (5.6-13.9)
IGT tanılı vaka sayısı (20-79 yaş)	352.1 milyon (233 -577 milyon)	531.6 milyon (353-883 milyon)
Tip1DM (0-19 yaş)		
Tip1 DM tanılı çocuk ve yetişkin sayısı	1,106,500	-
Yıllık insidans	132,600	-

20-79 yaş arası erişkin popülasyonda 2017 yılında diyabet prevalansı %8.8 iken, 2045 yılında %9.9 olacağı tahmin edilmektedir. 20-79 yaş arası erişkin popülasyonda diyabete bağlı ölüm sayısı 2017 yılı için 4 milyon olarak hesaplanmıştır. Aynı popülasyon için dünyadaki tüm ölümlerin yaklaşık %10'u diyabete bağlı gerçekleşmektedir. Aynı grup erişkinlerde bozulmuş glukoz toleransı oranının %7.3 (352 milyon) olduğu tahmin edilmektedir. 20-49 arası popülasyonda canlı doğan gebeliklerde hiperglisemi oranı %16.2 (21.3 milyon) olarak tahmin edilmiştir.

Yüksek gelire sahip ülkelerde tüm diyabet vakalarının %87-91'i T2DM, %7-12'si T1DM ve %1-3'ü diğer tip diyabet hastalarından oluşmaktadır (1). Orta ve düşük gelir düzeyine sahip ülkelerde prevalans hesaplayabilmek için yeterli sayıda çalışma henüz bulunmamaktadır.

Uluslararası Diyabet Federasyonu 2017 verisine göre Türkiye'nin 2045 yılında 11.2 milyon diyabet hastası ile en fazla diyabet hastası bulunan 10. dünya ülkesi haline geleceği tahmin edilmektedir.

Diabetes Mellitus tanısının erken koyulması ve tedavi başlanması uzun dönem komplikasyonların önlenmesi açısından çok önemlidir. Dünya genelinde tanı almamış

vaka sayısının 212 milyon civarında olduğu tahmin edilmektedir. Bölgesel olarak bakıldığında en fazla tanı almamış vakanın, Batı-Pasifik ülkelerinde olduğu gözlenirken (86 milyon), Avrupa kıtası için tanı almamış vaka sayısının 22 milyon olduğu tahmin edilmektedir.

Türkiye verilerine bakıldığında 1997-1998 yıllarında 24,788 kişi üzerinde yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP)'e göre, 20-80 yaş grubunda diyabet sıklığı % 7.2, bozulmuş glukoz toleransı ise % 6.7 bulunmuştur (23).

TURDEP-II çalışmasında ise ülke genelinde 20 yaş üzerinde 26.499 kişi incelenmiş ve Tip 2 DM sıklığının geçen yıllarda önemli derecede arttığı ve %13,7'ye ulaştığı görülmüştür (24).

Yukarıda verilen tüm veriler birleştirildiğinde, diyabet insidansının, nüfus artışı, yaşam tarzı değişiklikleri, obezite ve altta yatan genetik faktörler sonucu giderek artmakta olduğu değerlendirilmektedir.

2.1.3. Diabetes Mellitus'un Semptomları ve Tanı Kriterleri

Diabetes Mellitus semptomları, klasik ve daha az görülen semptomlar olarak ikiye ayrılır. Klasik semptomları; poliüri, polidipsi, polifaji veya iştahsızlık, halsizlik, çabuk yorulma, ağız kuruluğu, noktüri iken, daha az görülen semptomları ise; bulanık görme, açıklanamayan kilo kaybı, tekrarlayan mantar enfeksiyonları ve kaşıntıdır (25).

Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları için güncel tanı kriterleri Tablo 2'de özetlenmiştir. Bu kriterlere göre, diyabet tanısı, belirtilen dört yöntemden herhangi birisi ile koyulabilir. DM tanısı için bu kriterlerden bir tanesinin olması yeterlidir. Şüpheli durumlarda tanının başka bir zamanda doğrulanması gerekir. Eğer başlangıçta iki farklı test yapılmış ve test sonuçları uyumsuz ise, sonucu eşik değerinin üstünde çıkan test tekrarlanmalı ve sonuç yine diyabet ile uyumlu ise kesin tanı konulmalıdır.

Tanı için 75 g glukoz ile standart oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılması, açlık plazma glukoz (APG)'ye göre daha sensitif ve spesifik olmakla birlikte, bu testin aynı kişide günden güne değişkenliğinin fazla olması ve maliyetli olması rutin kullanımını güçleştirmektedir. Diğer taraftan, APG'nin daha kolay uygulanabilmesi ve ucuz olması klinik pratikte kullanımını artırmaktadır (25).

Tablo 2: DM ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri (25)

	Aşık DM*	İzole IFG**	İzole IGT	IFG + IGT	Pre-DM****
APG		100-125	<100	100-125	100-125
(≥8 st açıklıkta)	≥126 mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
OGTT 2. st PG		<140	140-199	140-199	140-199
(75 g glukoz)	≥200 mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
Rastgele PG	≥200 mg/dl + Diyabet semptomları	-	-	-	-
HbA1c***	≥%6.5 (≥48 mmol/mol)	-	-	-	%5.7-6.4(39-46 mmol/mol)

*Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçülür. 'Aşık DM' tanısı için dört tanı kriterinden herhangi birisi yeterli iken 'İzole IFG', 'İzole IGT' ve 'IFG + IGT' için her iki kriterin bulunması şarttır. **2006 yılı WHO/IDF Raporunda normal APG kesim noktasının 110 mg/dl ve IFG 110-125 mg/dl olarak korunması benimsenmiştir. ***Standardize metotlarla ölçülmelidir. ****3 ölçümden herhangi bir gruba girmek diyabet gelişim riskinin yüksek olduğunu gösterir.

Glikozillenmiş hemoglobin A1c (HbA1c) uzun yıllar standardizasyonunun sağlanamamış olması nedeniyle tanı aracı olarak kullanılamasa da son yıllarda laboratuvarlarda ölçüm yönteminin yüksek performanslı likid kromatografi (HPLC) yöntemine göre kalibre edilmesi sonucu artık HbA1c DM tanı aracı olarak kabul edilmektedir.

Ulusal (Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrin Hastalıklar Prevalans Çalışması: TURDEP-II) (24) ve uluslararası toplumsal bazlı çalışmalar, HbA1c'ye göre diyabet tanısı alan kişilerin, APG veya OGTT ile tanı alan kişilere göre, metabolik açıdan (kilo, bel çevresi, lipid ve kan basıncı yönünden) daha olumsuz durumda olduklarını göstermiştir. TURDEP-II çalışmasında, HbA1c'ye göre 'Diyabet Riski Yüksek' (HbA1c: %5.7-6.4) kategorisinde tanımlanmış grubun metabolik risk profili, 'Kombine Glukoz Tolerans Bozukluğu' (IFG + IGT) saptanmış grubun risk profiline yakın ölçüde bozulmuş olarak bulunmuştur. Bu bulgular tanıda standardize edilmiş HbA1c kullanımının ne kadar değerli olabileceğini göstermektedir (25).

2.1.4. Diabetes Mellitus Sınıflandırma

Diyabet sınıflamasında dört klinik tip yer almaktadır. Bunlardan üçü (T1DM, T2DM ve GDM) primer diyabet tiplerini oluştururken, diğerleri (spesifik tipler) ise sekonder diyabet tiplerini oluşturmaktadır (25).

Diabetes Mellitus'un etiyolojik sınıflaması Tablo 3'de özetlenmiştir.

2.2. İNSÜLİN HORMONU FİZYOLOJİSİ

ATP-duyarlı potasyum kanalları vasıtasıyla glukoz uyarımına bağlı insülin sekresyonu gerçekleşir. Pankreasın β hücrelerinde glukoz hücre dışından (ekstraselüler bölge) sitoplazmaya glukoz transporterlar (GLUT2) yardımıyla aktarılır. Ardından glukoz, Glukokinaz (GCK) enzimi ile fosforile edilir. Glukokinaz enzimi hücre içindeki fizyolojik sınırlardaki glukoz miktarı ile sature olmaz ve son ürünü olan Glukoz-6-fosfat ile inhibe edilmez. Bu özelliğinden dolayı beta hücrelerinin glukoz sensörü olarak adlandırılmaktadır. Bu sürecin ardından Glukoz-6-fosfat glikoliz, krebs siklusu ve oksidatif fosforilasyon yoluyla ATP üretmek amacıyla metabolize olur. Pankreas beta hücreleri içinde artmış ATP/ADP oranı ATP-duyarlı potasyum kanallarının kapanmasını sağlar. Bu kanalların kapanması, hücre membranının depolarizasyonuna ve voltaj duyarlı kalsiyum kanallarının açılmasına neden olur. Sonuç olarak hücre içine kalsiyum iyonlarının akışı insülin içeren granüllerin hücre membranına göç edip insülin sekresyonuna yol açar (26).

İnsülin prohormonu, insülin ve C-peptit (Connecting peptide) olmak üzere parçalanır. C-peptit ve insülin birlikte ve eşit miktarda sekretuar granüllerden salgılanır. Uzun bir süre C-peptit'in insülin gibi fizyolojik bir rolü olmadığı düşünülmüştür fakat son yıllarda biyolojik aktivitesinin olduğu ve tedavide kullanılabileceği tartışılmaktadır (27). C-peptit rutinde pankreatik beta hücrelerinin aktivitesini gösteren biyomarker olarak kullanılmaktadır.

Tablo 3: Diabetes Mellitus'un etiyolojik sınıflaması (25)

I. T1DM (Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan pankreas beta hücre yıkımı vardır)	
A. İmmun aracılıklı B. İdiyopatik	
II. T2DM (İnsülin direnci zemininde, ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir)	
III. GDM (Gebelik sırasında ortaya çıkar ve genellikle doğumla birlikte düzelen düzelir)	
IV. Diğer spesifik diyabet tipleri	
A. Beta-hücre fonksiyonunun genetik defekti (monogenik diyabet formları) <ul style="list-style-type: none">• 20. Kromozom, HNF4A (MODY1)• 7. Kromozom, GCK (MODY2)• 12. Kromozom, HNF1A (MODY3)• 13. Kromozom, IPF1 (PDX1) (MODY4)• 17. Kromozom, HNF1B (MODY5)• 2. Kromozom, NEUROD1 (MODY6)• 2. Kromozom, KLF11 (MODY7)• 9. Kromozom, CEL (MODY8)• 7. Kromozom, PAX4 (MODY9)• 11. Kromozom, INS (MODY10)• 8. Kromozom, BLK (MODY11)• Mitokondriyal DM (mtDM)• 11. Kromozom, NDM (ABCC8, KCNJ11)• Diğerleri	E. İlaç veya kimyasal ajanlar <p>Atipik anti-psikotikler Anti-viral ilaçlar b-adrenerjik agonistler Diazoksid Fenitoin Glukokortikoidler a-İnterferon Nikotinik asit Pentamidin Proteaz inhibitörleri Tiyazid grubu diüretikler Tiroid hormonu Vacor Statinler Diğerleri (Transplant rejeksiyonunu önlemek için kullanılan ilaçlar)</p>
B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler <p>Leprechaunizm Lipoatrofik diyabet Rabson-Mendenhall sendromu Tip A insülin direnci Diğerleri</p>	F. İmmun aracılıklı nadir diyabet formları <p>Anti insülin-reseptör antikorları “Stiff-man” sendromu Diğerleri</p>
C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları <p>Fibrokalkülöz pankreatopati Hemokromatoz Kistik fibroz Neoplazi Pankreatit Travma/pankreatektomi Diğerleri</p>	G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar <p>Alström sendromu Down sendromu Friedreich tipi ataksi Huntington korea Klinefelter sendromu Laurence-Moon-Biedl sendromu Miyotonik distrofi Porfiria Prader-Willi sendromu Turner sendromu Wolfram (DIDMOAD) sendromu Diğerleri</p>
D. Endokrinopatiler <p>Akromegali Aldosteronoma Cushing sendromu Feokromositoma Glukagonoma Hipertiroidi Somatostatinoma Diğerleri</p>	H. Enfeksiyonlar <p>Konjenital rubella Sitomegalovirus Koksaki B Diğerleri (adenovirus, kabakulak)</p>

2.3. TİP 1 DİABETES MELLİTUS

Diyabetin bu formu, "İnsülin-Bağımlı DM" veya "Juvenil başlangıçlı DM" olarak adlandırılan ve toplam diyabet vakalarının %5-10'unu oluşturan tipidir.

Tip 1 Diabetes Mellitus, genetik yatkınlığı olan bireylerde, pankreatik β hücrelerinin otoimmün veya çevresel etkilenme ile yıkımı sonucu oluşan ciddi insülin yetmezliği olan ve insülin tedavisine gereksinim duyan bir klinik durumdur. T1DM her yaşta ortaya çıkabilse de tipik olarak çocukluk ve gençlik dönemi hastalığıdır. Tablo 3'de belirtildiği gibi 2 tipi vardır, hastaların %90'ı Tip1A (otoimmün tip), %10'u Tip1B (idiyopatik)'tir. Hastalık kendini ilk defa ketoasidosiz şeklinde gösterebilir. Pankreas beta hücre yıkımı çocuklarda daha hızlı olurken erişkinlerde daha yavaştır. Hastaların bir kısmında sadece hiperglisemi görülürken stres veya enfeksiyon gibi tetikleyici etmenler sonucu ağır hiperglisemi ve/veya ketoasidosiz ortaya çıkar. Çocukların aksine erişkinlerin pankreas beta hücre rezervinin fazla olması yıllarca ketoasidoz gelişmesini önleyebilir ama sonuçta insüline bağımlı hale gelirler. Hastalığın son aşamasında hastalarda çok az veya hiç insülin üretimi olmaz ve bu nedenle kanda C-peptit tespit edilemez (28).

20 yaş altında diyabet ortaya çıkan bireylerin %85'i T1DM'dir (6). Yaşla birlikte T2DM prevalansı oldukça arttığı için 30 yaş üstünde T1DM tanısının konulması zordur. Adacık hücre antikoru (ICA), insülin otoantikorları (IAA), anti-glutamat dekarboksilaz antikoru (anti-GAD), anti-tirozin fosfataz antikorları (IA-2 ve IA-2 β) ve ZnT8 tanı için kullanılan otoantikorlardır (29).

Tip 1 diyabet tanısı yukarıda belirtilen otoimmün belirteçlerin biri veya daha fazlası varsa koyulabilir. T1DM, poligenik bir kalıtıma sahiptir ve ilişkili nadir veya sık görülen varyantların etki boyutu diğer kompleks hastalıkların aksine Tip 1 diyabet gelişimi açısından yüksektir (30). Şu ana kadar yapılan çalışmalarda, T1DM'ye yatkınlık oluşturan 50'den fazla genomik lokus tespit edilmiştir (31). T1DM, DQA ve DQB gibi HLA genleri ile güçlü bir ilişkiye sahiptir. Bu HLA-DR/DQ allelleri hastalık için yatkınlık oluşturabileceği gibi koruyucu da olabilmektedir.

2.4. TİP 2 DİABETES MELLİTUS

Tip 2 Diabetes Mellitus, eskiden bilinen adlarıyla "İnsülin-den-bağımsız diyabet" veya "Erişkin başlangıçlı diyabet" tüm diyabet vakalarının %90-95'ini oluşturur.

Diyabetin bu formuna sahip olan bireylerde değişken oranlarda insülin yetmezliği ve periferik dokularda insülin direnci vardır (32). Bu bireylerin büyük çoğunluğunda en azından tedavinin başında ekzojen insülin takviyesine ihtiyaç duyulmamaktadır.

Tip 2 Diabetes Mellitus oluşumuna yol açabilecek çok sayıda etyolojik faktör vardır. Bu faktörlerin başında obezite gelmektedir. T2DM tanılı bireylerin hepsinde olmasa da çoğunluğunda aşırı kilo problemi bulunmaktadır. Aşırı kilo tek başına insülin direncinden belli oranda sorumlu tutulmaktadır. İnsülin direnci, zayıflama ve bazı farmakolojik tedavilerle hafifletilebilmektedir. Obez olmayan hastalarda ise abdominal bölgede yoğunlaşmış, artmış vücut yağ oranı bulunabilmektedir.

Tip 2 Diabetes Mellitus semptomları hastalığın erken dönemlerinde çok ağır olmadığından hastalara uzun süre tanı konulamayabilmektedir. Uzun süreli hiperglisemi nedeniyle tüm hastalarda makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyon görölme riski artmıştır. T2DM gelişme riski yaş, obezite, ve fiziksel aktivitenin az olması ile artmaktadır. Gebeliklerinde GDM gelişmiş kadınlarda T2DM gelişme riski artmıştır.

Birinci derece akrabalarında Tip 2 diyabet olan bireyler için yüksek genetik yatkınlık söz konusudur. Tip 2 diyabetin genetik nedenleri henüz yeterli derecede anlaşılamamıştır. T2DM ile ilişkilendirilmiş çok sayıda varyantın hastalık gelişimi açısından etki boyutları düşüktür (33,34).

Bazı vakalarda Tip 1 diyabet, Tip 2 diyabet, monogenik diyabet veya MODY ayrımını yapmak güçleşmektedir. Çünkü değişen yaşam tarzı değişiklikleri ile T2DM görölme riski giderek erken yaşlara kaymaktadır.

2.5. GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS

Gestasyonel Diabetes Mellitus, gebelik öncesi diyabet tanısı olmayan bireylerde gebelik esnasında tanı konulan diyabet formudur (28). Gebelik sırasında annede GDM gelişimi, fetal makrozomi, yenidoğan döneminde metabolik bozukluklar ve hatta doğum sırasında ölümle sonuçlanabilen komplikasyonlara neden olabilmektedir (35). GDM tanılı annelerin bebeklerinde diyabet ve obezite gelişme riski artmıştır (36). Gebeliğinde GDM tanısı koyulan kadınlar gebelik sonrası diyabet gelişimi için yüksek riske sahiptir ve yakın takip edilmelidir.

Obezite ve Tip 2 diyabet prevalansının çok artması ve giderek genç yaşlarda görölmeye başlaması GDM prevalansını da artırmaktadır. Tanı konulmamış T2DM

hastaları gebelik esnasında ortaya çıkmaktadır. Bundan dolayı tip 2 diyabet için risk faktörü taşıyan gebelerin ilk kontrolde diyabet açısından taranması önerilmektedir (28).

Gestasyonel diyabetin genetik sebeplerine yönelik çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Tip 1 ve tip 2 diyabete sahip olan kişilerde de ilk defa GDM şeklinde tanı konulduğu için sadece GDM'ye spesifik genetik varyantları bulmak zordur. MODY tanısı koyulmuş kadınlarda görülen artmış GDM insidansı ve GDM tanısı koyulan kadınlardan daha sonra yapılan genetik analizlerde MODY alt tiplerinin genetik yatkınlık oluşturabileceği değerlendirilmektedir. GCK, HNF1A ve HNF4A genlerini hedef alan bazı çalışmalar mevcuttur (8,37–39). Bu çalışmalar GDM ve MODY fenotiplerinin birbirleriyle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Yeni nesil dizileme teknolojisinin kullanımının artmasıyla gestasyonel diyabete neden olan genetik faktörlerin daha iyi anlaşılması mümkün olacaktır (20).

2.6. MONOGENİK DİYABET

Monogenik diyabet, tek bir gende meydana gelen mutasyonlar sonucu, pankreas beta hücrelerinin disfonksiyonu ile ortaya çıkar. Monogenik diyabet temel olarak, NDM, MODY, mtDM ve sendromik diyabet tipleri olarak ayrılmaktadır. Monogenik diyabet, tüm diyabet vakalarının %1-5'ini oluşturur. Tip 1 ve tip 2 diyabetten ayırımı yapmak özellikle genç bireylerde zordur. Moleküler tanısının konulması ve alt tipinin belirlenmesi tedaviyi direkt olarak etkileyeceği için çok önemlidir. Monogenik diyabet tanısının konulması için hastalar belli kriterler eşliğinde çalışmaya alınsa bile hastaların %80'inde doğru tanı konulamamaktadır.

Günümüze kadar monogenik diyabete neden olan çok sayıda gen bildirilmiştir. Bu genlerden GCK, HNF1A ve HNF4A genlerinde meydana gelen mutasyonlar otozomal dominant kalıtılan, erken çocukluk veya erişkinlik döneminde ortaya çıkan, bozulmuş açlık glukozuna neden olan ve bazı alt tiplerinde sülfonilüre tedavisine iyi cevap veren bir kliniğe sahiptir (40).

2.6.1. MODY

2.6.1.1. MODY Tanımı, Tarihçesi ve Epidemiyolojisi

Gençlikte Ortaya Çıkan Erişkin Tip Diyabet [Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY); MIM #606391], diyabetin monogenik formlarından biridir. Genellikle

25 yaş öncesi bireylerde ortaya çıkar. Primer genetik defekt, pankreas beta hücre fonksiyonu üzerinde etkili olup otozomal dominant kalıtım gösterir. Diyabetin bu formu ilk defa 1974 yılında Tattersall tarafından 3 ailede tanımlanmıştır (41). Bu ailelerde, başlıca rölatif olarak erken başlayan, daha hafif seyreden, komplikasyonları daha az olan bir diyabet formu tanımlanmıştır. Örneğin 30 yaşın altında diyabet tanısı alan 12 vakadan 7'sinde 37 yıllık bir süreçte retinopati gelişmediği gözlemlendi. Ayrıca ailelerde en az 3 jenerasyonda diyabetin %50 oranında sonraki nesile aktarıldığı gösterildi. Her etkilenen bireyin ebeveyni de etkilenmişti. MODY fenotipine ve kalıtımına ait kanıtlar ilerleyen yıllarda da devam etti (42–45).

MODY tanımlaması eskiye dayalı bir tanımlamadır. MODY 25 yaşın altında ortaya çıkan, insülin bağımlı olmayan otozomal dominant bir kliniği ifade etmesine rağmen, çocuk ve gençlerde poligenik tip 2 diyabet insidansındaki artışa işaret edilen bir yayında MODY yerine "Otozomal Dominant Tip 2 Diyabet" adlandırması önerilmiştir (46). MODY tanımlaması eskiden çocukluk başlangıçlı ve erişkin başlangıçlı diye ayrılıyorken günümüzde Amerikan Diyabet Derneği ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından "Beta hücre fonksiyonunda genetik defekt" grubunda yer almaktadır (Tablo 3).

1990'lı yıllara gelindiğinde moleküler genetik analizlerin yaygınlaşması ve MODY fenotipine sahip ailelerin artmasıyla hastalıkla ilişkili genler tanımlanmaya başlamıştır. MODY, Avrupa ve Kuzey Amerika popülasyonlarında iyi değerlendirilebilmiştir (13,47,48). Diğer popülasyonlarda da yeni çalışmalar son dönemde yayınlanmaktadır (40,49,50). Fajans ve arkadaşları, ailesinde MODY ile uyumlu öykü bulunan ama MODY ilişkili 6 gende mutasyon taşımayanların Avrupa popülasyonunda %15-20, Japonlarda %80 civarında olduğunu ifade etmiştir (51). MODY2 ve MODY3'ün en yaygın alt tipler olduğu, Avrupalılarda tüm MODY vakalarının %80'ini oluşturdukları bildirilmiştir (52).

2.6.1.2. MODY Tanısı

MODY klinik özellikleri, metabolik parametreleri ve genetik nedenleri ile heterojen bir hastalıktır, bu nedenle kesin tanısının konulması oldukça zordur. Tablo 4'te özetlendiği gibi, MODY'e neden olduğu bildirilen birçok gen tanımlanmış olsa da moleküler tanı oranı hala çok düşüktür. Hangi diyabet hastalarında MODY düşünüp moleküler genetik test yapılmalıdır sorusuna cevaben bazı kriterler belirlenmiştir.

Bunlardan Vaxillaire ve Froguel'in belirlediği 5 kriter MODY klinik tanısı için kabul görmüştür (53). Bu kriterler:

- i. 25 yaşından önce tespit edilmiş, en az 1 ideal olarak 2 aile üyesinde hiperglisemi varlığı;
- ii. Otozomal dominant kalıtımı düşündüren, en az 3 jenerasyonda diyabetin dikey kalıtımının gösterilmesi ve diyabetik aile bireylerindeki fenotiplerin birbirine benzemesi;
- iii. Hastaların tanıdan sonra en az 5 yıl insülin tedavisi almaması veya insülin tedavisi almasına rağmen hastada çok önemli seviyede C-peptit bulunması;
- iv. İnsülin seviyesinin çoğunlukla normal aralıkta olması fakat beta hücre fonksiyonunda primer defekti düşündüren, normal olan insülin seviyesinin hiperglisemi ile uyumsuz olarak düşük kalması;
- v. Aşırı kilo ve obezite olmaması.

MODY tanısını koymanın ve diğer diyabet alt tiplerinden ayırımını yapmanın oldukça güç olması nedeniyle MODY olasılık hesabı yapan yöntemler geliştirilmiştir (54). Bu yöntemlerin tanıya ulaşmakta bir miktar faydası olmuşsa da henüz istenilen seviyede doğruluk oranları mevcut değildir.

2.6.1.3. MODY Alt Tipleri

OMIM'de şu ana kadar tanımlanan MODY genleri, kromozomal lokusları aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

MODY1 (OMIM; 125850); 20.kromozom üzerindeki **Hepatocyte Nuclear Factor-4 Alpha (HNF4A; 600281)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY2 (OMIM; 125851); 7.kromozom üzerindeki **Glucokinase (GCK; 138079)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY3 (OMIM; 600496); 12.kromozom üzerindeki **Hepatocyte Nuclear Factor-1 Alpha (HNF1A; 142410)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY4 (OMIM; 606392); 13. kromozom üzerindeki **Pancreas/Duodenum Homeobox Protein-1 (PDX1; 600733)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY5 (OMIM; 137920); 17. kromozom üzerindeki **Hepatic Transcription Factor-2 (HNF1B, TCF2; 189907)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY6 (OMIM; 606394) 2. kromozom üzerindeki **Neuronal Differentiation 1 (NEUROD1; 601724)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY7 (OMIM; 610508) 2. kromozom üzerindeki **Kruppel Like Factor 11 (KLF11; 603301)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY8 (OMIM; 609812), 9. kromozom üzerindeki **Carboxyl Ester Lipase (CEL; 114840)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY9 (OMIM; 612225) 7. kromozom üzerindeki **Paired Box 4 (PAX4; 167413)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY10 (OMIM; 613370) 11. kromozom üzerindeki **Insulin (INS; 176730)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY11 (OMIM; 613375) 8. kromozom üzerindeki **B Lymphoid Tyrosine Kinase (BLK; 191305)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY13 (OMIM; 616329) 11. kromozom üzerindeki **Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily J Member 11 (KCNJ11; 600937)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

MODY14 (OMIM; 616511) 3. kromozom üzerindeki **Adaptor Protein, Phosphotyrosine Interacting With PH Domain And Leucine Zipper 1 (APPL1; 604299)** genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar.

OMIM'de yer almayan fakat bazı yayınlarda MODY fenotipine yol açtığı bildirilen 11. kromozom üzerindeki **ATP Binding Cassette Subfamily C Member 8 (ABCC8; 600509)** gen mutasyonlarının da **MODY tip 12'**ye yol açtığı ifade edilmektedir (55).

OMIM'de tanımlı MODY genleri ve özellikleri Tablo 4'te verilmiştir.

2.6.1.3.1. MODY1 (HNF4A*600281)

MODY tip 1 ilk tanımlanan MODY alt tipidir (MODY1;MIM #125850). Hastalığa neden olan gen HNF4A (hepatosit nükleer faktör-4A)'dır ve kromozom 20q13.12 bölgesine haritalandırılmıştır (HNF4A;MIM #600281). Diğer MODY alt tipleri gibi otozomal dominant kalıtım kalıbı göstermektedir. HNF4A geni bir transkripsiyon faktörüdür ve karaciğer, barsak, böbrek ve pankreatik adacık hücrelerinde eksprese olur. Glukoz transportu, hepatik glukoneogenez ve lipid metabolizmasını düzenleyen genlerin regülasyonunda görev alır (56).

HNF4A mutasyonları Avrupa'da tüm MODY mutasyonlarının %10'undan daha azından sorumlu tutulmuştur (57). Hastaların klinik bulguları diğer MODY alt tiplerinden HNF1A ilişkili tip 3'e çok benzer. HNF1A mutasyon analizi normal gelen hastaların %10-29'unda HNF4A mutasyonu bulunduğu bildirilmiştir (58).

HNF4A mutasyonu olan bireylerde hipergliseminin yanında klasik diyabet semptomları olan poliüri, polidipsi, kilo kaybı ve nadir de olsa diyabetik ketoasidoz görülebilir (59). HNF4A kesin tanısını moleküler test ile koymak çok önemlidir çünkü bu hastalarda insülin tedavisine ihtiyaç duyulmadan sülfonilüre tedavisiyle çok başarılı sonuçlar alınmaktadır (60).

2.6.1.3.2. MODY2 (GCK*138079)

MODY tip 2 (MODY2;MIM #125581), Glukokinaz genindeki fonksiyon kaybettirici heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. İlk defa 1992 yılında GCK genindeki heterozigot mutasyonların farklı bir diyabet alt tipine yol açtığı gösterildi (61,62). GCK geni ilişkili MODY prevalansının 1000 kişide 1 olduğu düşünülmektedir fakat büyük çoğunluğuna tanı konulamamaktadır (63). MODY vakalarının %10-60'ına, dirençli insidental çocukluk hiperglisemisinin %10-60'ına ve gestasyonel diyabet vakalarının %1-2'sine GCK mutasyonları neden olmaktadır.

Tablo 4: OMIM'de tanımlı MODY Alt Tipleri ve Diğer Özellikleri (40)

Alt tip	Gen adı	Lokus	Sıklık (%)	Patofizyoloji	Diğer Bulgular	Tedavi
MODY1	HNF4A	20q13	5	β -hücre disfonksiyonu	Neonatal hiperinsülinemi	Sülfonilüre
MODY2	GCK	7p13	15-20	β -hücre disfonksiyonu (Glukoz sensör defekti)	Stabil açlık hiperglisemisi	Diyet
MODY3	HNF1A	12q24	30-50	β -hücre disfonksiyonu	Glikozüri	Sülfonilüre
MODY4	PDX1/IPF1	13q12	<1	β -hücre disfonksiyonu	Homozigotlarda pankreas agenezisi	Diyet veya OAD veya İnsülin
MODY5	HNF1B/TCF2	17q12	<1	β -hücre disfonksiyonu	Renal, genital, pankreas anomalileri	İnsülin
MODY6	NEUROD1	2q31	<1	β -hücre disfonksiyonu	Erişkin başlangıçlı diyabet	OAD veya İnsülin
MODY7	KLF11	2p25	<1	β -hücre disfonksiyonu	T2DM benzer	OAD veya İnsülin
MODY8	CEL	9q34	<1	Pankreas endokrin ve ekzokrin disfonksiyonu	Ekzokrin pankreas defekti, lipomatozis	OAD veya İnsülin
MODY9	PAX4	7q32	<1	β -hücre disfonksiyonu	Muhtemel ketoasidoz	Diyet veya OAD veya İnsülin
MODY10	INS	11p15	<1	İnsülin gen mutasyonu	Neonatal diyabete benzer	OAD veya İnsülin
MODY11	BLK	8p23	<1	İnsülin sekresyon defekti	Aşırı kilo, rölatif insülin sekresyon defekti	Diyet veya OAD veya İnsülin
MODY13	KCNJ11	11p15	<1	ATP-duyarlı potasyum kanal disfonksiyonu	Homozigotlarda neonatal diyabet	Diyet veya OAD veya İnsülin
MODY14	APPL1	3p14	<1	İnsülin sekresyon bozukluğu	Yeterli veri yok	OAD veya İnsülin

GCK geni glikolitik enzim aktivitesi gösteren proteini kodlar ve heksokinaz ailesinin dört üyesinden biridir. Pankreas beta hücrelerinde ve hepatositlerde glukoz metabolizmasının ilk basamağı olan, glukozun glukoz-6-fosfata katalizini gerçekleştirir. GCK pankreas beta hücrelerinin anahtar düzenleyici genidir ve bu nedenle glukoz sensörü olarak adlandırılmaktadır (64,65). GCK-MODY olan hastalarda glukoz algılanmasında problem vardır bu nedenle glukoz homeostazı normalin üstünde bir düzeye sabitlenmiştir ve hafif açlık hiperglisemisi şeklinde kendini göstermektedir. Glukoz sensöründe arıza nedeniyle kontrollere göre GCK mutasyonu taşıyan bireylerde aynı seviyede glukozu karşı daha az insülin üretildiği tespit edilmiştir (66). Ayrıca bu hastalarda karaciğerde azalmış glikojen üretimi olduğu bildirilmiştir (67).

Bu durum olgularda doğumla birlikte vardır ve yaşla birlikte çok hafif bir kötüleşme gösterir. Hiçbir tedavi almadan çok uzun yıllar hiperglisemi devam etse bile mikrovasküler veya makrovasküler komplikasyon riskinde genel popülasyona göre belirgin bir artış gözlenmemektedir. Gebelik süreci haricinde bu grup hastalara herhangi bir farmakolojik tedavi önerilmemektedir (68). Gebelik süresince fetal makrozomi gelişmemesi için yakın takip gereklidir ve lüzum görüldüğünde GCK mutasyonu taşıyan anneye insülin tedavisi verilebilmektedir. Tip 1 ve tip 2 şeklinde yanlış tanı alan hastaların gereksiz yere tetkik yaptırmamaları ve yanlış tedavi almamaları için GCK-MODY tanısının moleküler olarak koyulması çok önemlidir.

2.6.1.3.3. MODY3 (HNF1A*142410)

HNF1A mutasyonlarına bağlı gelişen tip 3, Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'da en sık MODY nedenidir (69). HNF1A geni heterozigot mutasyonlarına bağlı olarak pankreas beta hücrelerinden glukoz uyarımına bağlı insülin sekresyonu bozulmaktadır (70). Ayrıca HNF1A mutasyonlarına bağlı gençlik döneminde başlayan ilerleyici pankreas beta hücre disfonksiyonu görülür ve bu MODY tipi GCK mutasyonlarına bağlı oluşan tipten daha ciddidir. Bu gende ortaya çıkan mutasyonlar yüksek bir penetransa sahiptir ve taşıyıcıların %63'ünde 25 yaş öncesi diyabet gelişir (71). Mutasyon taşıyıcılarında azalmış renal glukoz absorpsiyonuna bağlı olarak diyabet gelişmeden önce bile glukozüri görülebilmektedir (72).

Ciddi hiperglisemi varlığı ve yaşla birlikte kötüleşme riski olduğu için mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyon gelişme riski T1DM ve T2DM kadar yüksektir (73). Bu nedenle bu grup hastalarda yakın glisemi ve komplikasyon takibi

gereklidir. HNF1A ilişkili MODY alt tipinde, ilk tedavi seçeneği iyi cevap verdikleri için sülfonilürelerdir. İnsülin kullanılan hastalarda tanı konulduktan sonra tedavi değişikliği güvenle yapılabilir. Yıllar içinde bazı hastalarda kötü glisemik kontrol nedeniyle insülin gereksinimi doğmaktadır.

2.6.1.3.4. MODY4 (PDX1*600733)

MODY tip 4 PDX1 (pankreatik duodenal homeobox-1 protein) genindeki fonksiyon kaybettirici heterozigot mutasyonlar nedeniyle oluşmaktadır. PDX1 pankreas gelişim sürecinde ve insülin gen ekspresyonunda görev alan bir transkripsiyon faktörüdür ve IPF-1 (Insulin promoter factor-1) adı ile de bilinmektedir (74). Pankreas beta hücrelerinin gelişimi, farklılaşması ve olgun beta hücrelerinin fonksiyonlarının devamı için önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Farede yapılan deneylerde PDX1 homozigot mutasyonları pankreas agenezisine yol açarak kalıcı neonatal diyabete neden olmuştur (75). Heterozigot mutasyonları ise pankreatik beta hücre disfonksiyonu ve MODY4'e yol açar. PDX1-MODY ilk defa 1997 yılında tanımlanmıştır ve çok nadir görülür (76).

2.6.1.3.5. MODY5 (TCF2*189907)

MODY tip 5 (MODY5;MIM #137920), HNF1B (Hepatosit nükleer faktör homeobox 1) genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. Diğer adı TCF2 (Transkripsiyon faktörü 2) olan bu gen ilk olarak embriyonun gastrulasyon aşamasında visseral endoderimde eksprese olur. Daha sonra böbrek, karaciğer ve pankreas gelişimi ve devamlılığı için eksprese olmaya devam etmektedir. Embriyonik dönemde pankreas gelişimi ve farklılaşması için önemli olan bu faktörün ekspresyonunun tamamen yok edildiği hayvan deneylerinde bu durumun ölümcül olduğu değerlendirilmiştir. HNF1B geni ayrıca pankreas kanal morfogenezi, asiner hücre farklılaşması ve asiner hücre kimliğinin sürdürülmesinde anahtar rol oynar. HNF1B mutasyonlarının pankreas gelişim anormalliklerine ve insülin sekresyon bozukluğuna yol açtığı değerlendirilmektedir (77).

HNF1B mutasyonları nadir de olsa Geçici Neonatal Diabetes Mellitus'a (TNDM) veya Kalıcı Neonatal Diabetes Mellitus'a (PNDM) yol açabilir. Ürogenital anomaliler, renal kistler ve diyabet ile giden (Renal cysts and diabetes, RCAD) sendromuna yol açtığı tespit edilmiştir. HNF1B mutasyonu taşıyan hastaların çoğunluğunda sülfonilüre tedavisine dirençli bir hiperglisemi vardır ve insülin tedavisine gereksinim duyarlar (78).

2.6.1.3.6. MODY6 (NEUROD1*601724)

MODY tip 6 (MODY6;MIM #606394), NEUROD1 (Nöronal diferensiasyon 1) genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. NEUROD1 geni basic helix-loop-helix (HLH) motifi taşıyan bir transkripsiyon faktörüdür ve diğer ismi BETA2'dir. Bu gen pankreatik hücre olgunlaşması ve sürekliliği için kritik bir öneme sahiptir. NEUROD1 geninin fonksiyonunu anlamak için yapılan fare deneylerinde bu geni eksprese etmeyen hayvanlarda artmış apoptoz nedeniyle adacık hücrelerinin olgunlaşmadığı, NDM geliştiği ve yaşamın ilk günlerinde ölüm gözlemlenmiştir (79). NEUROD1 mutasyonlarında ciddi glukoz intoleransı ve ciddi derecede azalmış insülin sekresyonu tespit edilmiştir. Pankreatik beta hücrelerinin gelişimi, olgunlaşması ve sürekliliği için NEUROD1 geni hayati bir öneme sahiptir (80). NEUROD1 heterozigot mutasyonları çocuklarda veya erişkinlerde diyabete neden olurken, homozigot mutasyonları NDM ile ilişkilendirilmiştir (81,82).

2.6.1.3.7. MODY7 (KLF11*603301)

MODY tip 7 (MODY7;MIM #610508), KLF11 (Kruppel- benzeri faktör 11) genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. KLF11 geni pankreas adacık hücrelerinde eksprese edilen bir çinko-parmak transkripsiyon faktörüdür. KLF11, glukozu duyarlı insülin geninin düzenleyicisi olarak gösterilmiştir (83). İki nadir KLF11 gen varyantı üç ailede erken başlangıçlı T2DM kliniği ile ilişkili bulunmuştur (84). KLF11 geninin MODY tip 4'e yol açan transkripsiyon faktörü PDX1 geninin ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (84).

2.6.1.3.8. MODY8 (CEL*114840)

MODY tip 8 (MODY8;MIM #609812), CEL (Karboksil-ester lipaz) genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. CEL geni meme glandüler hücreleri ve pankreas asiner hücreleri tarafından eksprese edilir. CEL geninin kodladığı enzim, pankreatik sıvının en önemli komponentlerinden biridir ve kolesterol esterlerinin hidrolizinden sorumludur. CEL-MODY alt tipi ilk defa otozomal dominant diyabeti olan bir ailede tanımlanmıştır (85). Heterozigot CEL geni mutasyonları pankreatik atrofi, fibrozis ve lipomatozis yanında pankreasın hem ekzokrin hem de endokrin fonksiyonlarının bozulması ile karakterizedir (86). Tedavide oral antidiyabetikler veya insülin kullanılabilir.

2.6.1.3.9. MODY9 (PAX4*167413)

MODY tip 9 (MODY9;MIM #612225), PAX4 (Paired-box gene 4) genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. PAX4 geni insülin üreten pankreatik beta hücrelerinin farklılaşması için gerekli bir transkripsiyon faktörüdür. Fonksiyonunu genel olarak transkripsiyon baskılayıcı şekilde gösterir. PAX4 gen mutasyonları ketozise yatkın diyabet vakalarında da tespit edilmiştir (87). PAX4 geninin pankreas alfa hücrelerinde glukagon promoter aktivitesini güçlü bir şekilde baskıladığı ve pankreas beta hücrelerinde insülin promoter aktivitesini zayıf bir şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir (88). PAX4 geninde meydana gelen mutasyonların glukagon üzerindeki bu baskılayıcı etkisini ortadan kaldırdığı ve glukagon yükselmesine neden olduğu değerlendirilmektedir (87).

2.6.1.3.10. MODY10 (INS*176730)

MODY tip 10 (MODY10;MIM #613370), INS (Insulin) genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. INS geni mutasyonları PNDM, hiperinsülinemi, hiperproinsülinemi, MODY tip 10, T1DM ve nadir de olsa T2DM gibi çok sayıda klinik fenotipe yol açar. INS geni mutasyonları PNDM'nin en sık nedenlerinden biridir. 2007 yılında INS mutasyonlarının persistan neonatal diyabete neden olduğu bildirilmiştir (89). INS geninde meydana gelen mutasyonların preproinsülin molekülünün hatalı katlanmasına yol açarak pankreas beta hücreleri Endoplazmik Retikulumunda (ER) biriktiği ve ER stresine yol açarak apoptozu artırdığı bildirilmiştir.

2.6.1.3.11. MODY11 (BLK*191305)

MODY tip 11 (MODY11;MIM #613375), BLK (B lenfosit spesifik tirozin kinaz) genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. BLK, pankreas beta hücrelerinde transkripsiyon faktörleri PDX1 ve Nkx6.1 ekspresyonunu artırarak insülin sentezi ve sekresyonunu artıran, src proto-onkogen ailesi içinde bulunan non-reseptör tirozin kinaz aktivitesi gösteren bir gendir (90). Bilinen MODY genlerinde mutasyon tespit edilemeyen ailelerde yapılan çalışmalarda 8p23 lokusu MODY ile ilişkili bulunmuş ve bu hastalarda diğer MODY alt tiplerine göre obezite oranının daha fazla olduğu bildirilmiştir (91).

2.6.1.3.12. MODY13 (KCNJ11*600937)

MODY tip 13 (MODY13;MIM #616329), KCNJ11 (Potasyum kanalı alt aile J 11) genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. Pankreas beta

hücrelerindeki ATP-duyarlı potasyum kanalları oktamerik (sekizli) yapıdadır. Bu subunitlerden 4 tanesi KCNJ11 geni tarafından kodlanan Kir6.2 ve diğer 4'ü ABCC8 geni tarafından kodlanan SUR1'dir. KCNJ11 geninin fonksiyon artırıcı homozigot mutasyonları neonatal diyabete yol açarken, heterozigot mutasyonları farklı tipte diyabet fenotiplerine yol açmaktadır (92).

KCNJ11 mutasyonlarının erken başlangıçlı ailesel tip 2 diyabete neden olduğu bildirilmiştir (93). Bu hastalarda MODY fenotipinden farklı olarak insülin rezistansı bulguları vardır.

2.6.1.3.13. MODY14 (APPL1*604299)

MODY tip 14 (MODY14;MIM #616511), APPL1 (adaptor protein, phosphotyrosine interacting with PH domain and leucine zipper 1) genindeki heterozigot mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar. APPL1 geni insülin sinyal yolağında anahtar rol oynayan AKT2 proteinine bağlanmakta ve AKT2 aktivasyonu yaparak yolaktaki diğer molekülleri insülin aktivitesini artırıcı yönde uyarmaktadır. APPL1 genindeki mutasyonların MODY fenotipine yol açtığı ilk defa 2015 yılında bilinen MODY genleri mutasyon analizleri negatif çıkan hastalarda yapılan tüm ekzom analizi (WES) sonrası ortaya koyuldu (94). İki geniş ailede, heterozigot iki farklı fonksiyon kaybettirici mutasyon tespit edildi.

2.6.2. Neonatal Diabetes Mellitus

Tanısı doğum sonrası ilk 6 ay içinde koyulan diyabet vakalarına "konjenital" veya "neonatal" diyabet tanımlaması yapılır ve bu vakaların %80-85'inde altta yatan bir monogenik mutasyon bulunur (13). Neonatal Diabetes Mellitus vakalarının çok az bir kısmı 6 ay sonrası ortaya çıkarken tip 1 diyabet vakaları 6 aydan önce görülmemektedir (2).

NDM geçici ve kalıcı olarak iki tipe ayrılmaktadır. Geçici NDM (TNDM) vakalarının büyük çoğunluğu kromozom 6q24'te bulunan genlerin fazla fonksiyonu nedeniyle ortaya çıkar. TNDM vakalarının yaklaşık yarısı yaşamın ilerleyen dönemlerinde tekrarlayabilir. Bu hastalarda insülin yerine oral tedavi yeterli olmaktadır (95).

Kalıcı NDM (PNDM) ise çoğunlukla pankreas beta hücrelerinin potasyum duyarlı ATP kanallarının Kir6.2 subuniti (KCNJ11) ve SUR1 subuniti (ABCC8)'i kodlayan genlerindeki fonksiyon kazandıran mutasyonları sonucu ortaya çıkar. ABCC8 ve

KCNJ11 genlerinde meydana gelen fonksiyon kaybettirici mutasyonlar artmış ATP sensitivitesine aktivitesine yol açarak membran depolarizasyonunun artmasına ve hücre içine fazla miktarda kalsiyum girişine ve sonuç olarak artmış insülin sekresyonuna yol açar. Bu klinik duruma konjenital hiperinsülinizm denir.

Bu hastalarda doğru tanının konulması çok kritiktir çünkü hastalar insülin kullanmak yerine yüksek doz sülfonilüre tedavisine çok iyi yanıt verirler. PNDM'nin en sık ikinci nedeni İnsülin (INS) genindeki mutasyonlardır ve bu hastalarda yoğun insülin tedavisi uygulanması gerekmektedir.

Neonatal diyabet ile ilişkisi bildirilmiş diğer genler; GCK, INS, PDX1, PTF1A, HNF1B, NEUROD1, NEUROG3, RFX6, EIF2AK3, FOXP3, GLIS3, SLC19A2, SLC2A2, IER3IP1, ZFP57, WFS1, GATA6 ve GATA4'dür (20).

Tablo 5: Neonatal Diabetes Mellitus'tan sorumlu major genler ve özellikleri(96)

Gen adı	Lokus	Kalıtım	Klinik Bulgular	Tedavi
KCNJ11	11p15.1	OD	TNDM veya PNDM, IUGR, muhtemel gelişim geriliği ve epilepsi	Sülfonilüre
INS	11p15.5	OD	PNDM, IUGR	İnsülin
ABCC8	11p15.1	OD	TNDM veya PNDM, IUGR	Sülfonilüre
6q24 (PLAG1, HYMA1)	6q24	OD	TNDM, IUGR, makroglossi, umbilikal herni	OAD
GATA6	18q11.2	OD	PNDM, kardiyak anomaliler, pankreas hipoplazisi, pankreas ekzokrin yetmezliği	İnsülin
EIF2AK3	2p11.2	OR	PNDM, Wolcott-Rallison sendromu, epifizyal displazi, pankreas ekzokrin yetmezliği,	İnsülin
FOXP3	Xp11.23	X'e bağlı	PNDM, immünodisregülasyon, poliendokrinopati, enteropati-X linked sendromu (IPEX), otoimmün diyabet, otoimmün tiroit hastalığı, eksfoliyatif dermatit	İnsülin

2.6.3. Diğer Diyabet Sendromları

2.6.3.1. Wolfram Sendromu (WFS*606201)

Wolfram sendromu (WS) (MIM#222300), Wolframin proteinini kodlayan kromozom 4p'de lokalize WFS1 genindeki homozigot veya bileşik heterozigot mutasyonlar sonucu ortaya çıkan otozomal resesif kalıtılan bir hastalıktır (97).

Wolfram Sendromu bazen DIDMOAD (diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy, and deafness) olarak da adlandırılmaktadır. Erken yaşta diyabet ile gelen hastalarda anne baba arasında akrabalık varsa, işitme kaybı öyküsü varsa veya görme ile ilgili sıkıntılar varsa WS akılda tutulmalıdır.

2.6.3.2. Mitokondriyal Diabetes Mellitus (mtDM)

Maternal kalıtlı diyabet-ışitme kaybı sendromu (MIDD), mitokondriyal genlerdeki mutasyonlara bağlı oluşur. Bu sendromda hastalarda diyabetin yanında işitme ve görme problemleri gözlenmiştir (98). Wolfram sendromu ayırıcı tanısında akılda tutulmalıdır. Diğer klinik bulgular ve kalıtım paterni yönünden iki fenotip ayrımı yapılabilir. MTTL1, MTTE ve MTTK genlerindeki mutasyonlar hastalığa yol açabilir. En sık gözlenen mutasyon MTTL1 genindeki 3243A>G değişimidir.

2.7. YENİ NESİL DNA DİZİLEME TEKNOLOJİSİ

2.7.1. DNA Dizileme Teknolojisinin Tarihçesi ve Gelişimi

Deoksiribonükleik asit (DNA), bilindiği gibi Adenin (A), Guanin (G), Sitozin (C) ve Timin (T) bazlarının deoksiriboz şeker ve fosfat bağlarıyla oluşturduğu nükleotidlerin belli bir sıraya göre dizilenmesi ile oluşmaktadır. İnsan genomunun dizisini doğru bir şekilde tespit etmek bilim dünyasında her zaman en önde gelen amaçlardan biri olmuştur. DNA dizileme teknolojisi için 1977 yılı bir milat olmuştur. Bu yıldan önce kullanılan yöntemler çok kısa DNA parçacıklarının dizilenmesine fırsat veremekteydi. 1973 yılında Maxam ve Gilbert Lac Operatorun 24 bazlık kısmını Ribonükleik asit (RNA) üzerine kopyalayarak dizilediklerini bildirdiler (99). 24 bazın dizilenmesi yaklaşık 24 ay almıştı. 1977 yılında Maxam ve Gilbert ile Sanger ve Coulson iki farklı DNA dizileme teknolojisi geliştirdi ve bu yıldan sonra moleküler biyoloji ve genetik alanında gelişmeler çok hızlı bir şekilde arttı (100,101).

Maxam ve Gilbert'in geliştirdiği yöntemde, dizilenmek istenen DNA bölgesinin 5' ucuna kimyasal bir reaksiyonla radyoaktif işaretlenmiş fosfat takılıyordu. Daha sonra

G ve C ayrı ayrı veya Pürinler (A ve G) ve Pirimidinler (C ve T) için ayrı restriksiyon kimyasalları kullanılarak bazlar kesiliyordu. Bu kesilme işlemi sonlandırıldıktan sonra gerçekleştirilen 4 reaksiyondan farklı büyüklükte DNA dizileri jel elektroforezine yükleniyor, bantlar X-ray otoradyografi ile görselleştiriliyordu. İlk zamanlarda Maxam-Gilbert metodu Sanger-Coulson yöntemine göre daha yeni ve daha kolay uygulanabilir olduğu için popüler olsa da Sanger yönteminin kullandığı teknolojinin gelişmesiyle Maxam-Gilbert DNA dizileme tekniği fazla zararlı kimyasal içerdiği ve uygulamasının daha zor olduğu gibi nedenlerle bırakılmıştır.

Sanger DNA dizileme yönteminin temeli modifiye edilmiş dideoksinükleotid trifosfatların (ddNTP) kullanımına bağlı zincir sonlanımı olması üzerine kuruluydu. Bu reaksiyon için normal dNTP'ler, modifiye ddNTP'ler, DNA polimeraz, kalıp DNA ve dizilenmek istenilen bölgeye spesifik primerler gerekmekteydi. İlk zamanlar reaksiyonlar 4 farklı şekilde kuruluyor, ilgili primerler radyoaktif olarak işaretleniyordu. DNA polimeraz normal dNTP'leri kullanarak zinciri uzatırken modifiye edilmiş ddNTP'ler geldiğinde zincir sonlanıyor ve kurulan 4 farklı örnek jel elektroforezine yüklenip X-ray filme aktarıldığında farklı boyutta bantlar görülerek dizi okunuyordu. Sonraları ddNTP'ye bağlanan hazır boyalarla bu 4 reaksiyon tek bir multipleks reaksiyona dönüştürülmüş, kapiller elektroforez sistemi ile otomatize edilmiştir. Floresan işaretleme tekniğinin gelişmesi Sanger yönteminin kullanımını önemli oranda yaygınlaştırmıştır. Optimize edilen bu yöntem 40 yıldır kullanılmakta ve NGS teknolojisinin yanında hala önemini korumaktadır.

DNA dizileme teknolojisinde yaşanan gelişmeler sadece bunlardan ibaret olmadı. 1980'ler ve 1990'lar da sürekli yeni gelişmeler yaşandı. Özellikle 1990 yılında insan genom projesinin yürürlüğe girmesi bu teknolojiye verilen önemi artırdı. Bu proje dünyada gerçekleştirilen en büyük biyolojik ortaklık projesi olarak kayıtlara geçmiştir. Farklı ülkeler projeyi devlet bazında desteklemiş, 20'den fazla üniversite ve araştırma merkezi projede yer almıştır. Devlet girişimi haricinde Celera firması da özel olarak projeyi gerçekleştirmeye çalışmıştır.

İnsan genom projesinin primer amacı yaklaşık 3,2 milyar bazdan oluşan haploid insan genomunun tam dizisini ortaya koymaktı. Proje süresince daha küçük genoma sahip farklı organizmaların da genom dizileri ortaya koyulmuştur. İnsan genomunun ilk taslak hali 26 Haziran 2000 tarihinde ABD başkanı Bill Clinton ve İngiltere başbakanı Tony

Blair tarafından halka duyurulmuştur. Milyar dolarlar harcanan ve yaklaşık 15 yıl alan bu projenin sonuçlarının 2001 yılında ilk makalesi ve sonunda 2004 yılında tüm insan genomu dizisi yayınlanmıştır (102,103).

Referans insan genomunun tespit edilmesinden sonra sıra hastalıklara neden olan genleri ve varyasyonları bulmaya gelmişti fakat eldeki yöntemin ihtiyacı karşılamaması yeni nesil DNA dizileme teknolojisine doğmasına neden oldu (104). Farklı platformlar ve tekniklerle geliştirilen NGS sonrası 3.jenerasyon olarak Nanopore dizileme teknolojisi piyasaya sunuldu (105).

2.7.2. Yeni Nesil DNA Dizileme Teknolojisinin Temeli

NGS tek bir tekniği ifade etmekten daha ziyade, Sanger dizileme yönteminin üzerine son 13 yılda geliştirilen farklı DNA dizileme teknolojilerini tanımlar. NGS teknolojisi, "Massively Parallel Sequencing", "Deep Sequencing" ve "Shotgun Sequencing" gibi tanımlamalarla da anılabilmektedir. NGS yönteminin kullandığı kimyasal temel, iyi bilinen "sequencing-by-synthesis" (106), "sequencing-by-ligation" (107), "ion semiconductor sequencing" (108) ve diğerlerini kapsar . Yöntemlerin temeli DNA molekülünün her hücre bölünmesi esnasında replikasyonuna dayanır. DNA replikasyonu için, kalıp DNA, polimeraz enzimi ve dNTP'lere ihtiyaç vardır. Bu üç bileşenin farklı kimyasal formatlarda sentezlenmesi ile yeni teknolojiler ortaya çıkmaktadır.

Tipik bir NGS çalışmasını 4 bölüme ayırabiliriz: kütüphane hazırlama, amplifikasyon, dizileme ve elde edilen verinin analiz edilmesi. Kütüphane hazırlama işlemi için ilk aşama kalite ve miktar tayini işleminden geçen kalıp DNA'nın fragmentasyon işlemidir. Bu işlem enzimatik olarak veya fiziksel yöntemlerle (sonikasyon) gerçekleştirilebilir. Küçük parçalara ayrılan DNA molekülünün uçları tamir edildikten sonra adaptörler (küçük, çift-zincir sentetik DNA parçaları) DNA ligaz enzimi yardımıyla takılır. Hedef bölgeye yönelik hazırlanan kütüphane, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve klonal amplifikasyon yöntemiyle çoğaltılır. Amplifikasyon yöntemi kullanılan teknolojiye göre, emülsiyon PCR veya köprü amplifikasyon (bridge amplification" olabilir. Amplifiye edilen klonal ampikonlar dizileme cihazına yüklenir ve ilk paragrafta bahsedilen dizileme çeşitlerinden biri ile dizilenir (109).

Dizileme işlemi sonucunda elde edilen ham veri, çeşitli yazılımlar kullanılarak analize hazır hale getirilmektedir. Karşılaşılan en önemli zorluk, NGS teknolojilerinin

kullanımının ucuzlaması ve yaygınlaşmasıyla dizileme işleminin daha ulaşılabilir olması, elde edilen verinin her geçen gün artması fakat verilerin yüksek doğrulukla analiz edilmesi işleminin giderek zorlaşmasıdır (110).

2.7.3. Yeni Nesil DNA Dizileme Kullanım Uygulamaları

NGS, insan sağlığı ve hastalıkları, virüsler ve bakteriler gibi tüm organizmaların tespiti, atasal DNA analizi, bitkilerin ve hatta tüm ekosistemin DNA dizisini anlamak gibi çok farklı alanlarda kullanılmaktadır.

NGS yönteminin insan sağlığını ilgilendiren başlıca kullanım alanları şunlardır:

- i. Tek gen hastalıklarının (mendelian) tanısı,
- ii. Konjenital anomalileri olan hastalarda, bilişsel gerilik ve otizm spektrum bozukluk tanısı olanlarda hastalık nedeni olan varyantın tespiti,
- iii. Genetik heterojenitesi olan hastalıklara (MODY gibi) yönelik gen panelleri ile hastalığa neden olan bütün genlerin aynı anda analiz edilmesi,
- iv. Sporadik kanser olgularında somatik mutasyonların oransal tespiti (klonal),
- v. Kanser vakalarında erken tanı amacıyla kanda dolaşan serbest DNA'nın analiz edilmesi,
- vi. Anne kanındaki serbest fetal DNA'yı kullanarak anöploidi tespiti,
- vii. Ailesel vakaları kullanarak mendelian ve kompleks hastalıklarda hastalık yapıcı aday gen tespiti.

2.7.4. Varyantların Yorumlanmasında Kullanılan Veritabanları

Yeni nesil DNA dizileme analizi sonucunda her hasta için çok sayıda varyant çıkmaktadır. Bu varyantların hastalık etkeni olup olmadıklarını anlamak, genom analizi için önümüzdeki en büyük problemi oluşturmaktadır.

Bu problemi ortadan kaldırmak amacıyla çok sayıda biyoinformatik yazılım geliştirilmektedir. Bu tez çalışmasında, çalışma grubundaki olgularda tespit edilen varyantları değerlendirmek için biyoinformatik araçlar kullanılmıştır. Çalışmada, sürekli güncellenen ve bakımları yapılan, tahmin doğrulukları yüksek ve sınıflandırma kriterleri güçlü veritabanları kullanılmıştır.

Bu veritabanlarının nelere odaklandığı ve nasıl yorumlanması gerektiği aşağıda özetlenmiştir.

2.7.4.1. SIFT

Genomun protein kodlayan bölgelerindeki "nonsynonymous" varyantların protein fonksiyonu üzerindeki etkisini tahmin etmek için geliştirilmiş ve halen aktif kullanılan biyoinformatik yazılımdır (111). "Sorting Tolerant From Intolerant" (SIFT) yazılımı SNP değişimlerinin etkisini inceler. SIFT, tek nükleotid değişikliklerinin pozisyonuna göre yorum yapar. Aminoasit değişikliğinin meydana geldiği pozisyon evrimsel süreçte çok korunmuş bir bölgede ise protein fonksiyonu üzerine etkisinin fazla olacağı tahmin edilir. Eğer değişiklik az korunmuş bir bölgede ise fonksiyon üzerine etkisinin daha az olacağı tahmin edilir. SIFT, DNA dizi homoloji bilgisini kullanarak, her pozisyon için mümkün olan tüm SNP değişikliklerinin etkisini tahmin edebilir.

SIFT yazılımının varyant analizleri için oldukça yüksek oranda kullanılmasının ardından yöntemin kapsamını 200'den fazla farklı organizmada analiz yapabilmek için genişletmek ve analiz hızını artırmak için yeni versiyonu olan SIFT 4G (SIFT for genomes) çıkarılmıştır (112).

SIFT yazılımı online olarak kullanıcıların hizmetine sunulmuştur (<http://sift.jcvi.org>).

2.7.4.2. PolyPhen-2 HumDiv

Polymorphism Phenotyping v2 (PolyPhen-2) "nonsynonymous" varyantları değerlendirmek için geliştirilmiş güçlü bir yazılımdır (113). PolyPhen-2 yazılımı aminoasit değişikliklerinin proteinin yapısı ve fonksiyonu üzerine etkisini inceler. Aminoasit değişikliğinin etkisini anlamak için dizi bilgisini, filogenetik bilgiyi ve protein yapısına ait özellikleri analiz eder. PolyPhen-2 HumDiv ve HumVar şeklinde iki farklı eğitilmiş makina öğrenim sistemi kullanır. HumVar sınıflama modeli daha çok protein üzerine etkisi çok şiddetli olan değişiklikleri ortaya koyar ve bu nedenle Mendelian hastalıkların tanısında kullanılmaya daha uygun skorlar sunar. HumDiv ise potansiyel olarak kompleks fenotiplere etkisi olabilecek nadir allelleri skorlar.

PolyPhen-2 yazılımı online olarak kullanıcıların hizmetine sunulmuştur (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>).

2.7.4.3. Mutation Taster

MutationTaster yazılımı sadece protein kodlayan bölgedeki "nonsynonymous" olan değişiklikleri değil, tüm DNA dizi değişimlerine yönelik (intronik, synonymous, küçük insersiyon/delesyon (indel), ekzon-intron sınırı varyantları) tahmin yapmak için

geliştirilmiştir (114). MutationTaster2, yeni geliştirilmiş versiyon olarak, The Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE) projesi (115) ve JASPAR (116) verilerini de sisteme entegre ederek regülatuar bölgelere ait tahmin yapma doğruluğunu artırmıştır (117).

MutationTaster yazılımı online olarak kullanıcıların hizmetine sunulmuştur (<http://www.mutationtaster.org/>).

2.7.4.4. Mutation Assessor

Mutation Assessor yazılımı, "nonsynonymous" varyantların evrimsel korunmuşluk bilgisi üzerine dayalı, fonksiyonel etki skoru hesaplar (118).

Mutation Assessor online olarak kullanıcıların hizmetine sunulmuştur (<http://mutationassessor.org/r3/>)

2.7.4.5. FATHMM ve FATHMM-MKL

Functional Analysis through Hidden Markov Models (v2.3) (FATHMM) yazılımı, "nonsynonymous" ve "non-coding" varyantların etkisini tahmin etmek üzere geliştirilmiştir (119). FATHMM-MKL (multiple kernel learning) yazılımı daha sonradan geliştirilmiş ve "non-coding" analizlere yönelik tahmin gücünü artırmıştır (120).

FATHMM-MKL online olarak kullanıcıların hizmetine sunulmuştur (<http://fathmm.biocompute.org.uk/fathmmMKL.htm>).

2.7.4.6. MetaLR ve MetaSVM

MetaLR ve MetaSVM yazılımı, 11 farklı fonksiyonel tahmin skoru veren, 3 farklı evrimsel korunmuşluk skoru veren, 4 farklı topluluk (ensemble) skoru veren yazılımı birleştirmiş ve sonucunda Support Vector Machine (SVM) ve Logistic Regression (LR) yöntemleriyle iki farklı skorlama ortaya çıkarmıştır (121).

2.7.4.7. VEST3

Variant Effect Scoring Tool (VEST v3) yazılımı, "nonsynonymous" varyantların analizi için geliştirilmiştir (122). VEST3, "missense" varyantların patojenik olup olmadığını tahmin etmek için makina öğrenim algoritması kullanır.

2.7.4.8. CADD

Combined annotation-dependent depletion (CADD), hem protein kodlayan hem de "non-coding" bölgede olan varyantları yorumlamak için kullanılan çok güçlü bir veritabanıdır (123). CADD, farklı genom anotasyon yöntemlerini kombine ederek, sadece SNP'ler için değil Indel'ler için de C skoru vermektedir.

2.7.4.9. DANN

Bir önceki bölümde anlatılan CADD yazılımı, evrimsel olarak muhtemel benign varyantlarla, simüle edilmiş muhtemel hastalık yapıcı varyantları ayırmak için linear kernel support vector machine (SVM) yöntemini kullanır. Fakat bu yöntemde lineer olmayan ilişkiler incelenemez, bu nedenle derin nöral ağ (Deep Neural Network, DNN) metodunu kullanan, Deleterious Annotation of genetic variants using Neural Networks (DANN) geliştirilmiştir (124).

2.7.4.10. PROVEAN

Protein Variation Effect Analyzer (PROVEAN) yazılımı, SNP veya Indel şeklinde olan tüm varyantların proteinin biyolojik fonksiyonu üzerine olan etkisini tahmin eder (125).

PROVEAN yazılımı online olarak kullanıcıların hizmetine sunulmuştur (<http://provean.jcvi.org/index.php>).

2.7.4.11. LRT

Likelihood ratio test (LRT) yazılımında, 32 farklı vertebral türü karşılaştırılarak protein kodlayan bölgelerdeki varyantların fonksiyonel etkisi tahmin edilir (126).

2.7.4.12. GERP⁺⁺ RS

Genomic Evolutionary Rate Profiling Rejected Substitutions (GERP⁺⁺ RS) yazılımı, evrimsel süreçte korunmuş elemanları değerlendirerek skorlama yapar (127).

2.7.4.13. M-CAP

The Mendelian Clinically Applicable Pathogenicity (M-CAP) yazılımı, "missense" varyantların patojenik olup olmadığını anlamak için 9 fonksiyonel tahmin skorunu ve 7 evrimsel korunmuşluk skorunu kombine eder (128). Ayrıca 99 farklı türün birden fazla dizi hizalamasını yaparak 298 yeni özellik ile makina öğrenim metodunu geliştirir.

2.7.5. Varyantların Yorumlanmasında Kullanılan Kılavuz

2015 yılında NGS yöntemi uygulanması sonucu tespit edilen varyantların analizinin ve raporlanmasının optimize edilmesi için American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), Association for Molecular Pathology (AMP) ve College of American Pathologists grupları tarafından bir kılavuz yayınlanmıştır (129). Halen kullanılan bu klavuzun ayrıntıları ve nasıl yorumlanacağı Tablo 6, Tablo 7 ve Tablo 8'de özetlenmiştir. Kılavuzda; standart bir terminoloji oluşturmanın Mendelian

hastalıklara neden olan genlerdeki mutasyonları tanımlamak için gerekli olduğu vurgulanmıştır ve varyantlar "patojenik", "olası patojenik", "önemi bilinmeyen", "olası benign" ve "benign" olarak gruplandırılmıştır.

Saptanan varyantların fonksiyonel etkisini değerlendirebilmek için varyantlar, Human Genome Mutation Database (HGMD), National Center for Biotechnology Information The Single Nucleotide Polymorphism Database (NCBI dbSNP Database), ClinVar, Pubmed, Google Scholar gibi hastalıklarla ilişkili veri bankaları kullanılarak değerlendirildi. Varyantın daha önce literatürde tespit edilip edilmediği, eğer bilinen bir varyant ise hangi hastalıklarla ilişkilendirildiği incelendi. Klinik önemi bilinmeyen varyantların etkisini saptamak için aile içi segregasyon analizleri planlandı.



Tablo 6: Patojenik varyantların sınıflandırılmasındaki kriterler (129)

Kanıt	Kategori
Çok güçlü	PVS1 Fonksiyon kaybettirici mutasyonlar (nonsense, frameshift, splice site, başlangıç kodon, tek ya da birden fazla ekzon delesyonları) <i>Bu madde hastalık mekanizması fonksiyon kaybına bağlı ortaya çıkan genler içindir.</i> i. İlgili genin hastalık yapıcı mutasyonları fonksiyon kaybına bağlı oluşmuyorsa, ii. Tespit edilen varyant proteinin yapısını etkilemeyecek şekilde genin 3' ucunda ise, iii. Tespit edilen varyant ekzon atlatmasına yol açarak proteinin yapısını bozmuyorsa, iv. Genin birden fazla transkripti olduğu durumlarda varyant yorumlanırken dikkatli olunmalıdır.
Güçlü	PS1 Daha önce tanımlanmış patojenik aminoasit değişiminin aynı kodondaki farklı nükleotit değişikliğinden kaynaklanması Örnek: Val→Leu değişikliği G>C ya da G>T nedeniyle olmuş olabilir. <i>Aminoasit/protein değişikliği değil "splicing" etkilenmesi yapan varyantlara dikkat edilmesi gerekmektedir.</i> PS2 De-novo varyant tanımlanması (anne ve babada olmadığı gösterilen varyantlar) PS3 İn-vivo veya in vitro yapılan fonksiyonel çalışmaları bulunan varyantlar PS4 Etkilenen bireylerdeki varyant sıklığının kontrol gruplara göre önemli ölçüde fazla olması
İlmlı	PM1 Mutasyonun hotspot bölgede ve/veya kritik ve iyi tanımlanmış fonksiyonel domainde yer alması PM2 ESP, 1000G, veya ExAC veritabanlarında kontrol gruplarda olmaması (resesif ise çok düşük sıklıkta olması) PM3 Resesif hastalıklar için patojenik varyantın <i>trans</i> şeklinde tespit edilmesi PM4 Tekrarlamayan bölgelerde in-frame indel kaynaklanan ya da stop kodonu değiştirerek proteinin uzunluğunun değişmesi PM5 Patojenik missense mutasyon tespit edilen bölgede farklı bir missense değişikliğin saptanması PM6 De-novo olduğu tahmin edilen ancak anne babanın çalışılmadığı durumlar
Destekleyici	PP1 Hastalığa neden olduğu bilinen bir gende aynı ailedeki birden çok etkilenmiş bireyde segregasyon saptanması PP2 Hastalığın çoğunlukla missense varyantlarla ilişkili olduğu durumlarda Benign missense varyant oranının düşük olduğu bir gende missense varyant tespit edilmesi PP3 Birden çok bilgisayar programının gen veya gen ürününün zararlı (deleterious) bir şekilde etkilendiğini göstermesi PP4 Hastanın fenotipi ya da aile öyküsünün tek bir genetik etyolojiye sahip hastalıkla uyumlu olması PP5 Son zamanlarda güvenilir bir kaynaktan patojenik olarak rapor edilmiş ancak ispatı için laboratuvarında bağımsız değerlendirme gerçekleştirmenin mümkün olmaması

PVS: Pathogenic Very Strong, PS: Pathogenic Strong, PM: Pathogenic Moderate, PP: Pathogenic Supporting,

Tablo 7: Benign varyantların sınıflandırılmasındaki kriterler (129)

Benign	Kategori
Tek başına	BA1 Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, veya Exome Aggregation Consortium veritabanlarında allel sıklığı >%5 olması
	BS1 Allel sıklığının hastalık için beklenenden daha yüksek olması
	BS2 Erken yaşlarda tam penetrans olması beklenen resesif (homozigot), heterozigot (dominant), X'e bağlı (hemizigot) hastalıklar için
Güçlü	sağlıklı yetişkin bireylerde gözlenmesi
	BS3 İn vivo ve in vitro fonksiyonel çalışmalarda protein fonksiyonu ve “splicing” üzerine hasar verici etkisinin gösterilememesi
	BS4 Ailedeki etkilenmiş bireylerde segregasyon olmaması
	BP1 Proteinin erken sonlanmasına sebep olan varyantlarının hastalık nedeni olduğu bilinen genlerde tespit edilen missense varyantlar
	BP2 Tam penetrans gösteren otozomal dominant bir hastalıkta patojenik bir varyant ile <i>trans</i> pozisyonunda gözlenmesi ya da herhangi bir kalıtım paterninde <i>cis</i> durumunda patojenik varyant gözlenmesi
	BP3 Fonksiyonu bilinmeyen tekrarlayıcı bölgelerde in-frame delesyon ya da insersiyon saptanması
	BP4 Birden çok bilgisayar programının gen veya gen ürününün zararlı bir şekilde etkilendiğinin gösterilmemesi (evrimsel
Destekleyici	korunmuşluk, “splicing” etkisi)
	BP5 Alternatif bir moleküler temeli olan bir hastada varyant gözlenmesi
	BP6 Son zamanlarda güvenilir bir kaynakta benign olarak rapor edilmiş ancak ispatı için laboratuvarında bağımsız değerlendirme gerçekleştirmek için elverişli olmayan
	BP7 "Synonymous" varyasyonun “splicing” tahmin algoritmalarında "splice" konsensüs dizilerine etki etmemesi ve yeni bir splice oluşturmaması ve nükleotidin yüksek korunmuş bir bölgede yer almaması

BA: Benign Stand-Alone, BS: Benign Strong, BP: Benign Supporting,

Tablo 8: Varyantların sınıflandırılmasında kullanılan kriterlerin kombinasyonu ile varyantların önceliklendirilmesi (129)

Patojenik	(i) 1 Çok güçlü (PVS1) VE
	a) ≥ 1 Güçlü (PS1–PS4) YA DA
	b) ≥ 2 Orta (PM1–PM6) YA DA
	c) 1 Orta (PM1–PM6) ve 1 destekleyici (PP1–PP5) YA DA
	d) ≥ 2 Destekleyici (PP1–PP5)
Patojenik	(ii) ≥ 2 Güçlü (PS1–PS4) YA DA
	(iii) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE
	(a) ≥ 3 Orta (PM1–PM6) YA DA
	(b) 2 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 2 destekleyici (PP1–PP5) YA DA
(c) 1 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 4 destekleyici (PP1–PP5)	
Olası patojenik	(i) 1 Çok güçlü (PVS1) VE 1 orta (PM1–PM6) YA DA
	(ii) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE 1–2 orta (PM1–PM6) YA DA
	(iii) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE ≥ 2 destekleyici (PP1–PP5) YA DA
	(iv) ≥ 3 Orta (PM1–PM6) YA DA
	(v) 2 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 2 destekleyici (PP1–PP5) YA DA
	(vi) 1 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 4 destekleyici (PP1–PP5)
Benign	(i) 1 Tek başına (BA1) YA DA
	(ii) ≥ 2 Güçlü (BS1–BS4)
Olası Benign	(i) 1 Güçlü (BS1–BS4) VE 1 destekleyici (BP1–BP7) YA DA
	(ii) ≥ 2 Destekleyici (BP1–BP7)
Önemi Bilinmeyen	(i) Yukarıda sıralanan kriterler karşılanmıyorsa YA DA
	(ii) Benign ve patojenik kriterler çelişkili ise

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. HASTA SEÇİMİ

Bu çalışmaya, Ekim 2017-Mart 2018 tarihleri arasında klinik olarak MODY ön tanısı ile Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinin Endokrinoloji ve Metabolizma bölümlerinden yönlendirilen 50 hasta dahil edilmiştir.

Bu çalışma için 11.04.2018 tarihinde SBÜ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 1902/2018 karar no ile etik onay alınmıştır.

Aşağıda belirtilen çalışmaya dahil edilme kriterlerinden en az 2'sini taşıyan bireyler çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- i. Çalışma anında 18 yaşından büyük olmak
- ii. İlk tanı yaşı 1 yaşından büyük, 35 yaşından küçük olmak,
- iii. Klinik olarak diyabet tanısı almış olmak,
- iv. Otozomal dominant kalıtımı destekleyen ailesinde en az 2 jenerasyon diyabet öyküsü olmak,
- v. Tip 1 diyabet düşündürülen otoantikolar açısından negatif olmak,
- vi. İnsülin direnci bulguları bulunmamak (akantozis nigrikans, obezite vs.).

Hastaların çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

- i. Tanı anında 1 yaşından küçük, 35 yaşından büyük olmak,
- ii. İnsüline bağımlı diyabet bulgularının varlığı,
- iii. Tip1 diyabeti düşündürülen otoantikör pozitifliği,
- iv. Otozomal dominant kalıtımı düşündürülen aile öyküsünün olmaması

Olguların yaş, cinsiyet, laboratuvar bulguları (açlık plazma glukozu, tokluk kan glukozu, tanı anındaki ve son ölçülen HbA1c, serum insülin ve C-peptit seviyesi, diyabet oto antikörleri, idrar glukoz ve keton düzeyi, serum kolesterol, trigliserit, LDL, HDL düzeyleri) kaydedilmiş, hastaların diğer medikal kayıtları dosyalarından taranmış ve en az 3 üç kuşak içeren soyağaçları çizilmiştir.

3.2. MOLEKÜLER GENETİK ÇALIŞMA

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Panelin Özellikleri

Çalışmada, Tablo 9’da yer alan 23 genin ekzon ve ekzon-intron bileşke bölgelerindeki değişiklikleri saptayacak şekilde, GRCh37 (hg19) referans dizisi baz alınan, ortalama 400 baz çifti içeren 384 amplikondan oluşan Thermo Fisher Scientific tarafından hazırlanan özel üretim (custom dizayn) panel kullanıldı.

Tablo 9’da panelde bulunan 23 gene ait bilgiler özetlenmiştir.

3.2.2. DNA İzolasyonu

MODY şüphesi ile takip edilen ve rutin tanı amacıyla yönlendirilen hastalardan çalışma için EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid) içeren tüpe 2ml venöz kan örneği alındı ve hastane kuryelerince Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi Laboratuvarına (Siteler/ANKARA) transfer edildi. DNA izolasyonu, PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Almanya) kullanılarak üreticinin protokolleri doğrultusunda gerçekleştirildi.

3.2.3. DNA Kütüphanesinin Hazırlanması ve Pürifikasyonu

İzole edilen DNA'nın miktar ve kalite analizi yapıldıktan sonra hedef bölgeler, Ion Torrent™ Ion AmpliSeq™ Library Kit 2.0 (Life Technologies, ABD) kullanılarak multiplex PCR ile çoğaltıldı. Amplikonlar pürifikasyon amacıyla kısmi olarak parçalandı. Ion Torrent™ Ion Xpress™ Barcode Adapters 1-16 Kit (Life Technologies, ABD) kullanılarak barkodlama gerçekleştirildi. Adaptör takılan kütüphane, Agencourt AMPure XP PCR Purification System (Beckman Coulter, ABD) kullanılarak pürifiye edildi.

3.2.4. Örneklerin Ion 530™ Çipe Yüklenmesi ve Dizileme

Örnekler Ion 530™ Kit ve Ion Chef™ System kullanılarak çiplere yüklendi. Hazırlanan çipler Ion S5™ System (Thermo Fisher Scientific, ABD) cihazına yüklenerek dizileme işlemi gerçekleştirildi.

3.2.5. Dizileme İşlemi Sonrası Ham Datanın Elde Edilmesi

Dizileme sonrası elde edilen veri üretici firma tarafından cihaz üzerinde bulunan Torrent Suite™ Software kullanılarak analize hazır veri Binary Alignment/Map (BAM) ve Variant Calling Format (VCF) formatında elde edildi.

Tablo 9: Panelde bulunan genlerin özellikleri

Gen	Ref Seq	OMIM	İlişkili OMIM Fenotipleri
HNF4A	NM_000457.3	600281	125850, 616026, 125853
GCK	NM_000162.3	138079	125851, 125853, 606176, 602485
HNF1A	NM_000545.5	142410	600496, 612520, 142330, 144700, 222100, 125853
PDX1	NM_000209.3	600733	606392, 260370, 125853
HNF1B	NM_000458	189907	137920, 125853, 144700
NEUROD1	NM_002500.4	601724	606394, 125853
KLF11	NM_003597.4	603301	610508
PAX4	NM_006193.2	167413	612225, 125853, 612227
INS	NM_000207.2	176730	613370, 125852, 606176, 616214
BLK	NM_001715.2	191305	613375
KCNJ11	NM_000525.3	600937	616329, 610582, 606176, 601820, 125853
ABCC8	NM_000352.3	600509	125853, 606176, 610374, 256450, 240800
RFX6	NM_173560.3	612659	615710
FOXP3	NM_014009.3	300292	304790, 222100
GLIS3	NM_001042413.1	610192	610199
GLUD1	NM_005271.3	138130	606762
G6PC2	NM_021176.2	608058	612108
HADH	NM_001184705.2	601609	231530, 609975
INSR	NM_000208.2	147670	610549, 609968, 246200, 262190
NEUROG3	NM_020999.3	604882	610370
NKX2-2	NM_002509.3	604612	-
SLC16A1	NM_003051.3	600682	245340, 610021, 616095
ZFP57	NM_001109809.2	612192	601410

Tablo 10'de Yeni Nesil Dizileme yöntemi basamakları özetlenmiştir.

Çalışmanın Tablo 10'da belirtilen basamaklarından 11, 12 ve 13. basamakları GEAH Genetik Hastalıklar Tanı Merkezinde diğer basamakları ANEAH Genetik Hastalıklar Tanı Merkezinde yapıldı.

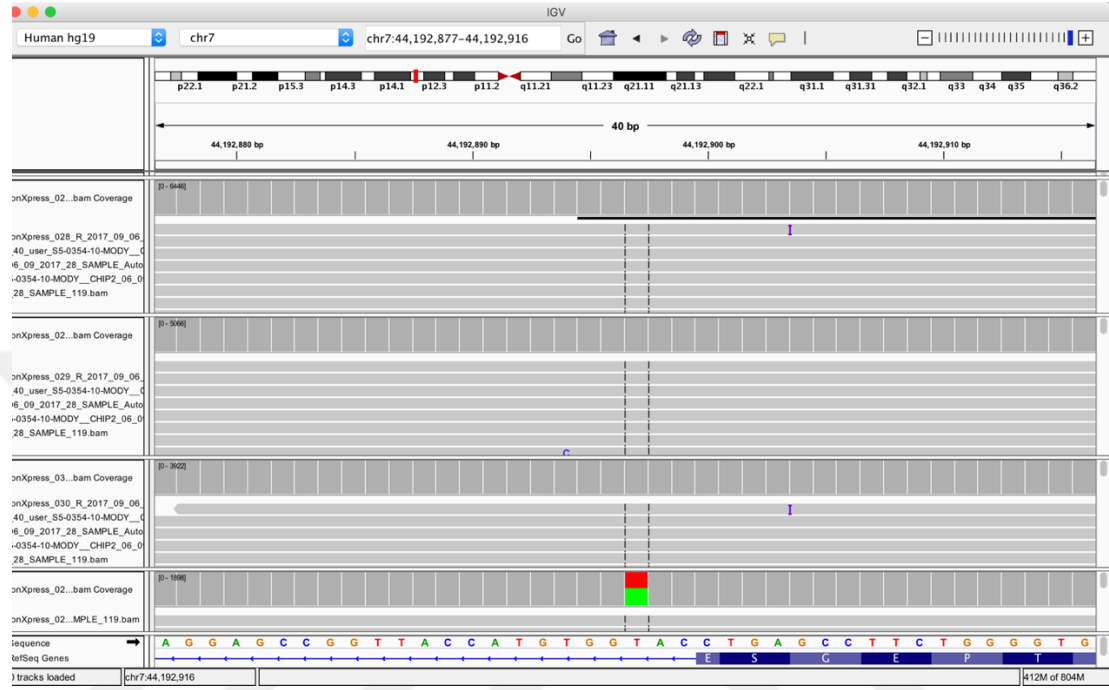
Tablo 10: Hedeflenmiş Gen Yeni Nesil Dizileme Yöntemi Akış Şeması

-
- 1 Hasta kan örneklerinin alınması ve laboratuvara transportu
 - 2 Periferik kandan genomik DNA izolasyonu
 - 3 Genomik DNA'nın miktar ve kalite analizi
 - 4 Hedef bölgelerin multiplex PCR ile çoğaltılması
 - 5 Amplikonların kısmi olarak parçalanması
 - 6 Barkodların ve Adaptörlerin ampliconlara ligasyonu ve pürifiye edilmesi
 - 7 Kütüphanenin eşitlenmesi ve miktar ölçümü
 - 8 Örneklerin Ion Chef™ System cihazına yüklenmesi
 - 9 Örneklerin Ion S5™ System cihazına yüklenmesi
 - 10 Verilerin BAM ve VCF formatında elde edilmesi
 - 11 Örneklerin BAM dosyasının IGV programında görsel olarak incelenmesi
 - 12 VCF dosyasının ANNOVAR programında annotate edilmesi (yorumlanması)
 - 13 Varyantların ACMG kriterlerine göre sınıflandırılması
 - 14 Sanger dizileme yöntemiyle varyantların konfirmasyonu
 - 15 Sanger dizileme yöntemiyle aile içi segregasyon çalışmalarının yapılması
 - 16 Raporlama
-

3.3. TESPİT EDİLEN VARYANTLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma dosyaları cihazdan Binary Alignment/Map (BAM) ve Variant Calling Format (VCF) formatında alındı. VCF dosyasındaki varyantların doğrulukları, The Integrative Genomics Viewer v2.3 (IGV, Broad Institute) programı kullanılarak, BAM dosyalarının görsel olarak değerlendirilmesiyle doğrulandı. IGV ile değerlendirme yapılırken aynı çalışmada yer alan en az 3 hastanın verisi birlikte değerlendirilerek iç kalite kontrol yapılmış oldu. Varyant önceliklendirilmesi yapılırken protein kodlayan bölgelere, ardından ekzon-intron birleşme bölgelerine ve ekzon komşuluğundaki

intronların ilk 20 bazı değerlendirildi. Tespit edilen varyantların frekans bilgileri, in siliko tahmin araçları ve diğer bilgilerinin tespiti için ANNOVAR programı kullanıldı (130).



Şekil 1: BAM uzantılı dosyanın IGV programında görüntülenmesi

ANNOVAR programında anotasyon (çok sayıda veritabanı bilgisinin eklenmesi) işlemi yapıldı. Annotasyon işleminden sonra tespit edilen varyantların önceliklendirilmesi (prioritization) ve sınıflandırılması aşamasına geçildi. Varyantları önceliklendirmek için yapılan işlemler sırasıyla şu şekildedir:

- i. Varyantların The Genome Aggregation Database (gnomAD) ekzom ve gnomAD genom veritabanındaki sıklıklarına göre filtrelenmesi (yüzde 1'in üzerinde görülen varyantlar dışlanmıştır)
- ii. Varyantların 1000 Genomes Project (1000G), Exome Aggregation Consortium (ExAC) ve Exome Sequencing Project v.6500 (ESP6500) veritabanı sıklıklarına göre filtrelenmesi (yüzde 1'in üzerinde görülen varyantlar dışlanmıştır)
- iii. Protein kodlayan bölge dışındaki varyantların dışlanması
- iv. Geriye kalan varyantların biyoinformatik tahmin araçları yardımıyla ve literatür bilgisiyle yorumlanması

Protein kodlayan bölgelerde hastalık nedeni olabilecek patojenik bir varyant bulunmadığı durumlarda iii aşamasına geri dönerek, intronik, "splice site" ve UTR bölgelerindeki varyantların yorumlanması işlemi yapıldı. Özellikle ekzon-intron bileşkesine 20 bazdan daha yakın olan varyantlar, Human Splicing Finder (HSF) ve GeneSplicer gibi veritabanlarında fonksiyonel etkisi açısından incelendi.

Varyantların hastalık yapıcı olup olmadığını değerlendirirken, Tablo 6, 7 ve 8'de özetlenen, ACMG tarafından yayınlanan mutasyon değerlendirme kılavuzu referans alınmıştır. Bu referansa göre varyantlar "patojenik", "muhtemel patojenik", "önemi bilinmeyen (Variant of Unknown Significance-VUS)", "muhtemel benign" ve "benign" olarak gruplandırılmıştır.

3.3.1. Tespit Edilen Varyantların Önceliklendirilmesi

Genetik heterojenitesi olan hastalıklarda tanıya ulaşmada gen paneli çalışması sonunda elde edilen varyantların önceliklendirme işlemi şu anda en önemli aşamayı oluşturmaktadır. Özellikle protein kodlayan bölgede meydana gelen nükleotit değişimleri protein yapısında veya fonksiyonunda bozukluğa yol açarak hastalık gelişimine neden olmaktadır. Protein kodlayan bu bölgelerin varyantlarının fonksiyonel çalışmasını yapmak her zaman mümkün olmamaktadır. Bu amaçla biyoinformatik tahmin araçları geliştirilmiştir ve yenileri geliştirilmeye devam etmektedir. Bu araçlardan en önemlileri Bölüm 2.7.3'te özetlenmiştir.

Bu araçların kombine bir şekilde kullanılabilmesi ile ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur. Örneğin bir çalışmada bu araçlardan 13 tanesinin skorları hesaplanmış, patojenik olarak değerlendirilenlere 1 patojenik olmayanlara 0 puan verilmiş ve 7 puan ve üzeri alan varyantlar önceliklendirilmiştir (131).

Bizim çalışmamızda ise bu araçlardan 15 tanesinin skorlamaları hesaplandı ve patojenik değere sahip olanlara 1 olmayanlara 0 puan verildi. Bu puanlama sonucunda toplam puanı 8 ve üzeri olan varyantlar önceliklendirildi. 8 puan alınmasının nedeni çalışma median değerinin üzerinde olmasıdır. Bu çalışmada kullanılan biyoinformatik araçlar ve kullanılan skorlamaların patojenite sınır değerleri Tablo 11'de verilmiştir.

Sonuç olarak, bir varyantın etkisini değerlendirmek için, segregasyon analizleri, varyanta ait toplum allel frekansları, popülasyon verileri ve in siliko tahmin araçlarının verileri kullanıldı. Ayrıca, varyantın oluşacak olan protein için kritik bir bölgede

probleme yol açıp açmadığı, aminoasit düzeyinde etkilenmenin nelere yol açabileceği, farklı türden canlılarda varyantın saptandığı lokusun evrimsel açıdan korunmuş bir bölgede olup olmadığı, varyantın tespit edildiği bölgede daha önce bir mutasyonun literatürde mevcut olup olmadığı değerlendirildi. Bu analizler neticesinde varyantın ACMG 2015 kriterlerine göre hangi sınıfa girdiğine karar verildi.

Tablo 11: Kullanılan Biyoinformatik tahmin araçları ve patojenite sınırları

No	Biyoinformatik Tahmin Aracı	Patojenite Sınırı
1	SIFT	<0.05
2	PolyPhen2 HDIV	>0.453
3	Mutation Taster	D veya A
4	Mutation Assessor	>1.9
5	FATHMM	<-1.5
6	FATHMM MKL	>0.5
7	MetaLR	>0.5
8	MetaSVM	>0
9	VEST3	>0.8
10	CADD	>0
11	DANN	>0.8
12	PROVEAN	<-2.5
13	LRT	D
14	GERP++ RS	>4.4
15	M-CAP	>0.025

3.4. VERİLERİN İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLERLE ANALİZİ

Verilerin analizi için SPSS 20 Windows paket programı kullanıldı. Çalışmaya alınan tüm hastaların verilerinin sonuçlarının değerlendirilmesi için tanımlayıcı istatistik yöntemleri kullanıldı. Varyant saptanan ve saptanmayan grupların verilerinin karşılaştırılmasında non- parametrik testlerden Mann-Whitney U testi, grup oranlarının karşılaştırılmasında ise ki-kare testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistik sonuçları ortalama \pm standart deviasyon skoru (SDS) olarak verilirken, non-parametrik testlerin sonuçları ortalama \pm SDS (median) olarak verilmiştir. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. KLİNİK BULGULAR

Çalışmaya toplam 54 MODY ön tanısı koyulan olgu dahil edilmiştir. Bunlardan 26'sı (%52) kadın 24'ü (%48) erkektir. Hastaların yaşı ortalama 35.7 ± 8.7 (19 – 60), tanı alma yaşı ise ortalama 29.2 ± 5.9 yaş (17 - 35) idi. Hastaların boyları ortalama 168.7 ± 9.5 cm (150-184), hastaların ağırlıkları ortalama 77.02 ± 16.02 kg (48-125) ve hastaların vücut kitle indeksleri ortalama 27.1 ± 5.1 kg/m² (17.6-37.3) olarak tespit edildi.

Olguların aile ağaçları incelendiğinde 10 olgunun anne babası arasında akrabalık tespit edildi. Olguların 6'sının anne babası aynı köylü (endogami) olarak tespit edildi. Aile öyküleri diyabet açısından incelendiğinde 30 olgunun ailesinde birden fazla bireyde diyabet mevcut iken, 20 olgunun ailesinde 3 jenerasyon diyabet öyküsünün olduğu gözlemlendi. Hastaların tanı anındaki antropometrik özellikleri Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12: Hastaların tanı anındaki antropometrik özellikleri

Cinsiyet	
Kadın	26 (%52)
Erkek	24 (%48)
Yaş	$35.7 \pm 8.7^*$ (19 - 60)**
Tanı alma yaşı	29.2 ± 5.9 (17 - 35)
Boy (cm)	168.7 ± 9.5 (150 - 184)
Ağırlık (kg)	77.02 ± 16.02 (48 - 125)
VKİ (kg/m ²)	27.1 ± 5.1 (17.6 - 37.3)
Anne-baba akrabalık	10 (%20)
Anne-baba endogami	6 (%12)

*ortalama \pm standart sapma, ** (minimum – maksimum)

Hastaların laboratuvar tetkikleri incelendiğinde, tanı anında ortalama açlık plazma glukozu düzeyinin 229.7 ± 96.5 mg/dl olduğu, ortalama tokluk kan glukozu düzeyinin 268.7 ± 140.2 mg/dl olduğu tespit edildi. Tanı anında HbA1c değeri ortalama 9.67 ± 2.6 ,

son kontrolde HbA1c değeri % 7.61 ± 2.01 olarak saptandı. Hastaların tanı anındaki laboratuvar özellikleri Tablo 13'de özetlenmiştir.

Tablo 13: Hastaların tanı anındaki laboratuvar bulguları

Açlık Plazma Glukozu (mg/dl)	$229.7 \pm 96.5^*$ (110 - 479)**
Tokluk Kan Glukozu (mg/dl)	268.7 ± 140.2 (127 - 581)
HbA1c (%)	9.67 ± 2.6 (5 - 15,9)
C-peptit (ng/ml)	2.02 ± 1.12 (0,39 - 5,61)
İnsülin (μ IU/ml)	12.1 ± 9.5 (1.43 - 33.9)
Kolesterol (mg/dl)	214 ± 44.3 (143 - 332)
Trigliserit (mg/dl)	302.6 ± 247 (41 - 939)
HDL (mg/dl)	43.4 ± 11.2 (28 - 68)
LDL (mg/dl)	121.4 ± 35 (76 - 181)

*ortalama \pm standart sapma, ** (minimum – maksimum)

Hastaların ortalama C-peptit düzeyi 2.02 ± 1.12 ng/ml, insülin düzeyi ise $12.1 \pm 9.5 \mu$ IU/ml saptandı. Çalışmaya katılan 4 hastanın C-peptit düzeyi düşük ($<0,9$ ng/ml) olarak saptandı fakat MODY klinik şüphesi olması nedeniyle çalışmaya alındı.

Çalışmaya alınan hastalara, anti-insülin antikor, adacık hücre antikor ve glutamik asit dekarboksilaz antikor (anti-GAD, GAD65, GADA) antikorları bakıldı. 1 hastanın anti-GAD testi pozitif olarak değerlendirildi ve Tip1DM tanısı koyuldu. Aynı hastanın GCK geninde klinik önemi bilinmeyen değişiklik saptandı. 1 hastada adacık hücre antikor pozitif tespit edildi. Anti-insülin antikor değerleri normal aralıktaydı.

Hastaların ortalama kolesterol düzeyi 214 ± 44.3 mg/dL, ortalama trigliserid düzeyi 302.6 ± 247 mg/dL, ortalama HDL düzeyi 43.4 ± 11.2 mg/dL ve ortalama LDL düzeyi 121.4 ± 35 mg/dL olarak tespit edildi.

Tanı anında 13 hastada glukozüri (%26), 8 hastada ketonüri (%16), 4 hastada proteinüri (%8) tespit edildi. Hastaların hiçbirinde batın ultrason muayenesinde

ürogenital anomali tespit edilmedi. Diyabet komplikasyonları açısından bakıldığında 2 hastada nöropati geliştiği gözlemlendi. Nefropati ve retinopati bulunmamaktaydı.

4 hastaya gebeliklerinde GDM tanısı koyulduğu ve insülin kullandıkları tespit edildi. 3 hastanın annesi veya kız kardeşinde GDM öyküsü tespit edildi. OGTT testi az sayıda hastaya uygulandığı için verileri çalışmaya dahil edilmedi.

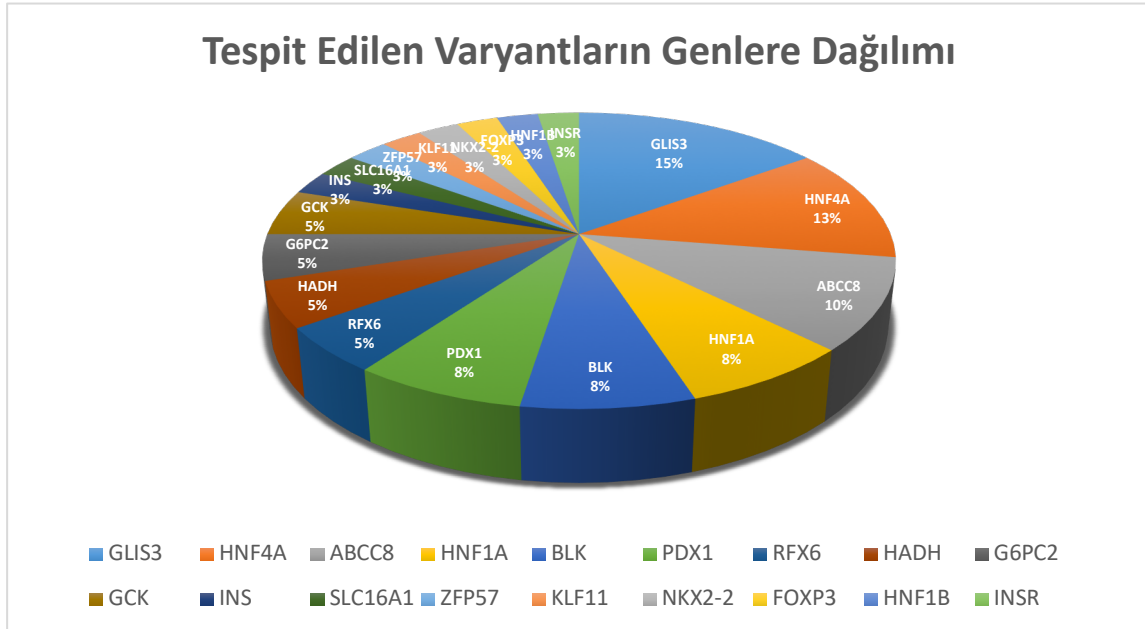
Tedavi açısından bakıldığında, çalışmaya katılan 21 hasta (%42) insülin tedavisi ve OAD tedavisini kombine olarak alıyordu. 6 hasta (%12) sadece insülin tedavisi almaktaydı, 12 hasta (%24) sadece OAD tedavisi alıyordu ve 11 hasta (%22) sadece diyet tedavisi ile takip edilmekteydi.

Ek bulgular açısından değerlendirildiğinde çalışmaya katılan hastaların 1 tanesinde Friedreich Ataksisi tanısı, 1 hastada epilepsi tanısı, 1 hastada vitiligo tanısı bulunmaktaydı.

4.2. GENETİK BULGULAR

Çalışmaya alınan 50 hastaların 30'unda (%60) varyant tespit edildi. 30 hastada toplam 41 varyant tespit edildi.

Tespit edilen varyantların hangi genlere ne oranda dağıldığı Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2: Tespit edilen varyantların genlere dağılımı

Tespit edilen 41 varyantın 37 tanesinin klinik önemi bilinmeyen değişiklik olduğu gözlemlendi. 4 hastada hastalık yapıcı etkisi kesin olan (patojenik) varyant ortaya koyuldu. Klinik önemi bilinmeyen değişiklik tespit edilen olgular, ilgili varyantın segregasyon analizlerinin yapılabilmesi, varyantın de novo olup olmadığının anlaşılabilmesi için aile içi ileri çalışmalara yönlendirildi. Klinik ve moleküler olarak varyantların önceliklendirilme çalışmaları devam etmektedir.

Tespit edilen tüm varyantlara ait özellikler ve in silico tahmin skorları Tablo 14'de verilmiştir.

Missense varyantların Tablo 11'de verilen kriterler sonucunda tespit edilen 15 biyoinformatik tahmin aracı sonuçları Tablo 15'de özetlenmiştir.

Tablo 14: Tespit edilen tüm varyantların özellikleri ve in silico tahmin skorları

	Gen:Transkript:Varyant	Varyant tipi	dbSNP	Allel sıklığı (gnomAD)	GERP⁺⁺ NR	DANN	ACMG Sınıfı	Referans
1	ABCC8:NM_000352 c.G2176A:p.A726T	missense	rs138687850	0,0005	5,26	0,945	VUS	(132)
2	ABCC8:NM_000352 c.G4563T:p.K1521N	missense	rs142272833	0,001	5,07	0,996	VUS	(133)
3	ABCC8:NM_000352.4 c.1923+8C>A	Intronic	NA	NA	4,57	0,823	VUS	Bulunmuyor
4	ABCC8:NM_000352.4 c.A1448G:p.Q483R	missense	NA	NA	6,01	0,98	VUS	Bulunmuyor
5	BLK:NM_001715 c.G1108C:p.E370Q	missense	rs757431553	0,0001	4,21	0,99	VUS	Bulunmuyor
6	BLK:NM_001715 c.G344A:p.R115Q	missense	rs367628135	1.7e-05	5,09	0,997	VUS	Bulunmuyor
7	BLK:NM_001715.2 c.G713A:p.R238Q	missense	rs141865425	0,003	4,53	1	VUS	ClinVar
8	FOXP3:NM_014009 c.C959T:p.T320I	missense	NA	NA	4,73	0,817	VUS	Bulunmuyor
9	G6PC2:NM_021176 c.A620C:p.Y207S	missense	rs2232323	0,005	5,88	0,989	VUS	(134)
10	G6PC2:NM_021176 c.G699A, p.L233L	synonymous	NA	0,001	5,86	0,777	VUS	(134)
11	GCK:NM_000162 c.T1178C:p.M393T	missense	NA	NA	5,59	0,99	Muhtemel patojenik	(134)
12	GCK:NM_000162.4 c.208+3A>T	Splice site	NA	NA	5,07	0,972	VUS	(135)

Tablo 14: Tespit edilen varyantların özellikleri ve in silico tahmin skorları (*devam*)

13	GLIS3:NM_001042413 c.A2154T, p.S718S	synonymous	NA	NA	NA	NA	VUS	Bulunmuyor
14	GLIS3:NM_001042413 c.C1090T, p.P364S	missense	rs143056249	0,0012	5,63	0,23	VUS	ClinVar
15	GLIS3:NM_001042413 c.C1855T;p.R619W	missense	NA	NA	6,17	0,999	VUS	Bulunmuyor
16	GLIS3:NM_001042413 c.C287T;p.P96L	missense	rs143425492	0,0002	5,75	0,984	VUS	Bulunmuyor
17	GLIS3:NM_001042413 c.T1881C;p.Y627Y	synonymous	rs141985853	0,004	5,82	0,519	VUS	Bulunmuyor
18	GLIS3:NM_001042413.1 c.1710+10C>T	Intronic	rs200890980	3.23e-05	5,36	0,924	VUS	Bulunmuyor
19	HADH:NM_001184705 c.-195A>G	UTR5	NA	0,0001	2,48	0,32	VUS	Bulunmuyor
20	HADH:NM_001184705 c.G703A;p.E235K	missense	NA	NA	5,51	0,999	VUS	Bulunmuyor
21	HNF1A:NM_000545 c.C1135G, p.P379A	missense	rs754729248	0,0001	4,63	0,998	Patojenik	(19)
22	HNF1A:NM_000545 c.G1522A:E508K	missense	rs483353044	9.71e-05	5	0,999	VUS	(136)
23	HNF1A:NM_000545.6 c.G788A;p.R263H	missense	rs1057520504	NA	4,84	1	Patojenik	(137)
24	HNF1B:NM_000458 c.C985T;p.L329L	synonymous	rs1046837220	4.06e-06	5,32	0,743	VUS	Bulunmuyor

Tablo 14: Tespit edilen varyantların özellikleri ve in siliko tahmin skorları (*devam*)

25	HNF4A:NM_000457 c.*977C>G	UTR3	rs367907885	0,0002	3,73	0,802	VUS	ClinVar
26	HNF4A:NM_000457 c.C1242T:p.N414N	synonymous	rs141448616	0,0005	5,92	0,854	VUS	ClinVar
27	HNF4A:NM_000457 c.G266A:p.R89Q	missense	NA	NA	5,17	1	Muhtemel Patojenik	(138)
28	HNF4A:NM_000457 g.43019133C>T	Intronic	rs547483668	3.23e-05	4,28	0,856	VUS	Bulunmuyor
29	HNF4A:NM_000457.4 c.*1078G>A	UTR3	rs573432571	0,001	3,25	0,383	VUS	ClinVar
30	INS:NM_000207 c.C242T:p.A81V	missense	rs757595587	2.83e-05	3,25	0,993	VUS	Bulunmuyor
31	INSR: NM_000208.3 c.C41T:p.L14P	missense	rs745857330	0,0003	2,97	0,889	VUS	ClinVar
32	INSR: NM_000208.3 c.3259-3C>A	Splice site	NA	4.78e-06	5,15	0,758	VUS	Bulunmuyor
33	KLF11:NM_003597 c.C938T:p.T313I	missense	rs755666407	2.09e-05	5,34	0,989	VUS	Bulunmuyor
34	NKX2-2:NM_002509 c.G365C:p.G122A	missense	rs8192563	0,019	4,38	0,968	VUS	Bulunmuyor
35	PDX1:NM_000209 c.C456T:p.A152A	synonymous	NA	3.23e-05	5,01	0,962	VUS	Bulunmuyor
36	PDX1:NM_000209 c.C719G:p.P240R	missense	NA	2.66e-05	4,67	0,977	VUS	ClinVar
37	PDX1:NM_000209 c.C97A:p.P33T	missense	rs192902098	0,001	5,46	0,998	VUS	(139)

Tablo 14: Tespit edilen varyantların özellikleri ve in silico tahmin skorları (*devam*)

38	RFX6:NM_173560 c.*33A>T	UTR3	rs759318465	9.55e-06	0,92	0,081	VUS	Bulunmuyor
39	RFX6:NM_173560 c.G1733C:p.R578P	missense	rs146115506	0,001	6,03	0,998	VUS	ClinVar
40	SLC16A1:NM_003051.3 c.T303G:p.I101M	missense	rs148691598	6.46e-05	5,9	0,992	VUS	Bulunmuyor
41	ZFP57:NM_001109809 c.C1118G:p.S373C	missense	rs193232883	0,0001	3,94	0,821	VUS	ClinVar

VUS: Variant of Unknown Significance, NA: Non-available

Tablo 15: Missense varyantların 15 biyoinformatik tahmin aracı sonuçları

No	Gene/ Transcript/ Variant	SIFT	PolyPhen HDIV	Mutation Taster	Mutation Assessor	FATHMM	FATHMM MKL	MetaLR	MetaSVM	VEST3	CADD	DANN	PROVEAN	LRT	GERP++RS	M-CAP	TOPLAM
1	HADH:NM_001184705 c.G703A:p.E235K	0	1	D	3,2	-2,8	0,993	0,89	0,91	0,92	7,4	0,999	-3,9	D	5,52	0,28	15
2	HNF1A:NM_000545 c.C1135G, p.P379A	0	1	D	2,3	-5,74	0,997	0,976	1,08	0,92	4,9	0,998	-4,18	D	4,63	0,776	15
3	HNF1A:NM_000545.6 c.G788A:p.R263H	0,001	1	D	2,5	-3,91	0,984	0,902	1,04	0,978	7,37	1	-4,06	D	4,84	0,775	15
4	G6PC2:NM_021176 c.A620C:p.Y207S	0	0,999	D	3,1	-1,11	0,99	0,53	0,16	0,939	4,35	0,98	-5,89	D	4,73	-	14
5	HNF4A:NM_000457 c.G266A:p.R89Q	0	1	D	1,1	-4,2	0,964	0,926	1,085	0,938	5,5	1	-3,6	D	5,77	0,97	14
6	GCK:NM_000162 c.T1178C:p.M393T	0,086	0,881	D	1,4	-3,02	0,99	0,83	0,81	0,928	5,98	0,99	-3,2	D	5,59	0,53	13
7	HNF1A:NM_000545 c.G1522A:E508K	0,003	0,994	D	2,05	-4,66	0,979	0,92	1,027	0,85	6,8	0,999	-2,1	D	4,11	0,411	13
8	PDX1:NM_000209 c.C97A:p.P33T	0	1	D	1,895	-3,12	0,99	0,83	0,75	0,942	6,4	0,942	-4,32	D	5,47	-	13
9	GLIS3:NM_001042413 c.C1855T:p.R619W	0	1	D	2,6	0,6	0,903	0,32	-0,2	0,89	6,5	0,999	-7,5	D	1,11	0,07	11
10	RFX6:NM_173560 c.G1733C:p.R578P	0,001	1	D	1,895	-0,02	0,95	0,31	-0,37	0,83	5,32	0,998	-1,3	D	5,17	0,06	10
11	BLK:NM_001715.2 c.G713A:p.R238Q	0,001	1	D	3,74	2,76	0,935	0,087	-0,84	0,267	6,93	1	-3,28	-	3,65	0,039	9
12	ABCC8:NM_000352.4 c.A1448G:p.Q483R	0,422	0,002	D	-0,1	-0,25	0,989	0,445	-0,37	0,243	1,738	0,98	-0,86	D	6,02	0,049	8

Tablo 15: Missense varyantların 15 biyoinformatik tahmin aracı sonuçları (devam)

13	BLK:NM_001715 c.G1108C:p.E370Q	0,027	0,417	D	1,2	-1,73	0,954	0,453	-0,07	0,287	4,258	0,99	-1,93	D	4,22	0,068	8
14	INS:NM_000207 c.C242T:p.A81V	0,154	0,574	N	3,04	-2,4	0,063	0,706	-0,11	0,465	1,87	0,993	-0,74	-	2,34	0,373	8
15	SLC16A1:NM_003051.3 c.T303G:p.I101M	0,002	0,571	D	2,48	1,21	0,314	0,073	-1,03	0,321	2,9	0,992	-2,04	D	-0,72	0,054	8
16	PDX1:NM_000209 c.C719G:p.P240R	0,026	0,609	N	1,1	-2,84	0,59	0,461	-0,52	0,276	1,768	0,977	-0,07	N	2,95	0,838	7
17	ABCC8:NM_000352 c.G4563T:p.K1521N	0,337	0,449	D	1,2	-1,06	0,9	0,296	-0,69	0,459	3,257	0,996	-1,39	D	3,21	0,072	6
18	GLIS3:NM_001042413 c.C287T:p.P96L	1	1	D	-	2,81	0,921	0,02	-1,1	0,1	0,58	0,984	-0,73	-	4,85	0,009	6
19	INSR: NM_000208.3 c.C41T:p.L14P	0,089	0,984	D	1,6	-1,05	0,815	0,48	-0,22	0,679	2,32	0,889	-0,85	-	2,97	0,973	6
20	NKX2-2:NM_002509 c.G365C:p.G122A	0,104	0,026	D	1,79	-3,7	0,906	0,5	-0,09	0,098	1,3	0,968	-0,5	D	4,39	-	6
21	ABCC8:NM_000352 c.G2176A:p.A726T	0,377	0	N	1,3	-3,26	0,183	0,611	0,352	0,151	2,321	0,945	-0,19	N	2,94	0,046	5
22	FOXP3:NM_014009 c.C959T:p.T320I	0,867	0,1	N	1,18	-3,47	0,395	0,733	-0,1	0,406	0,994	0,817	1,89	N	3,86	0,099	5
23	KLF11:NM_003597 c.C938T:p.T313I	0,07	0,267	N	2,48	2,51	0,318	0,031	-1,03	0,122	1,483	0,989	-1,58	N	3,55	0,013	3
24	BLK:NM_001715 c.G344A:p.R115Q	0,147	0,005	N	0,9	0,97	0,155	0,078	-0,97	0,064	2,43	0,997	-0,64	N	3,26	0,007	2
25	ZFP57:NM_001109809 c.C1118G:p.S373C	0,133	0,056	N	-	3,3	0,164	0,007	-0,95	0,101	0,711	0,821	-1,68	N	2,11	-	2
26	GLIS3:NM_001042413 c.C1090T, p.P364S	0,83	0	N	-0,6	3,04	0,27	4E-04	-0,09	0,063	-2,02	0,23	0,47	N	2,16	0,004	0

D:Deleterious, N:Neutral ya da Polimorfizm

Çalışmaya alınan 50 olgudan 30'u varyant tespit edilen (Varyant +) ve 20 olgu varyant tespit edilmeyen (Varyant -) olarak gruplandırıldı. Varyant saptanan (Varyant +) ve varyant saptanmayan (Varyant -) hastalar karşılaştırıldığında iki grup arasında yaş, tanı yaşı, boy, ağırlık, VKİ, açlık plazma glukozu, tokluk kan glukozu, tanı anındaki HbA1c, son ölçülen HbA1c, C-peptit, insülin, ve lipit profili değerleri açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (Tablo 16).

Gruplara ait istatistiksel değerlendirmeler Tablo 16'da verilmiştir.

Tablo 16: Varyant (+) ve Varyant (-) Hastaların Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

	Varyant + (n=30)	Varyant - (n=20)	p değeri
Yaş (yıl)	35.5 ± 10.1 (36)	35.9 ± 6.2 (36)	0.741
Tanı yaşı (yıl)	29.6 ± 6.2 (30)	28.6 ± 5.4 (28)	0.519
Boy (cm)	170.8 ± 8.1 (172)	165.5 ± 10.5 (163)	0.119
Ağırlık (kg)	77.6 ± 18.6 (78)	76.1 ± 11.6 (75)	0.984
VKİ (kg/m ²)	26.5 ± 5.5 (26)	27.9 ± 4.4 (26)	0.343
Açlık Plazma Glukozu (mg/dl)	237.8 ± 100.4 (228)	217.5 ± 92 (181)	0.634
Tokluk Kan Glukozu (mg/dl)	250.3 ± 126.3 (188)	291 ± 157.3 (222)	0.486
HbA1c (%) (tanı)	9.7 ± 2.8 (10)	9.5 ± 2.2 (9)	0.797
HbA1c (%) (son)	7.5 ± 2.6 (6)	7.6 ± 1.7 (7)	0.513
C-peptit (ng/ml)	2.2 ± 1.2 (2.4)	1.5 ± 0.7 (1.5)	0.078
İnsülin (µIU/ml)	13.1 ± 9.3 (9.4)	11.1 ± 10.1 (8.5)	0.591
Kolesterol (mg/dl)	212 ± 47 (203)	215 ± 41 (230)	0.746
Trigliserit (mg/dl)	322 ± 260 (215)	266 ± 231 (151)	0.579
HDL (mg/dl)	40.5 ± 9.5 (38)	47.5 ± 12.6 (43)	0.157
LDL (mg/dl)	115 ± 34 (103)	130 ± 37 (132)	0.423

Veriler ortalama ± SDS (median) olarak verilmiştir.

Çalışmaya alınan ve varyant tespit edilen 30 olguya ait özellikler ve varyant listesi Tablo 17'de özetlenmiştir.

Tablo 17: Varyant tespit edilen olgulara ait özellikler

Olgu kodu	Varyantlar	Akrabalık	Yaş	Tanı yaşı	Tedavi
O1	ABCC8:c.A1448G:p.Q483R	Yok	39	38	İnsülin
O2	ABCC8:c.G2176A:p.A726T PDX1:c.C719G:p.P240R RFX6:c.*33A>T	Yok	60	34	İnsülin ve OAD
O3	ABCC8:c.G4563T:p.K1521N	Yok	42	35	İnsülin ve OAD
O4	BLK:c.G1108C:p.E370Q	Var	34	30	İnsülin ve OAD
O5	BLK:c.G344A:p.R115Q	Yok	42	35	İnsülin ve OAD
O6	FOXP3:c.C959T:p.T320I BLK:c.G713A:p.R238Q	Yok	36	35	Diyet
O7	G6PC2:c.A620C:p.Y207S	Yok	37	33	Diyet
O8	G6PC2:c.A620C:p.Y207S	Yok	36	30	İnsülin ve OAD
O9	G6PC2:c.G699A:p.L233L RFX6:c.G1733C:p.R578P GLIS3:c.C287T:p.P96L PDX1:c.C456T:p.A152A	Yok	32	28	İnsülin
O10	GCK:c.T1178C:p.M393T	Yok	19	18	Diyet
O11	GLIS3:c.C1090T:p.P364S GLIS3:c.A2154T:p.S718S	Yok	19	18	İnsülin ve OAD
O12	GLIS3:c.T1881C:p.Y627Y HNF1B:c.C985T:p.L329L	Endogami	23	22	Diyet
O13	ZFP57:c.C1118G:p.S373C HADH:c.-195A>G	Yok	35	33	OAD
O14	HADH:c.G703A:p.E235K GLIS3:c.C1855T:p.R619W	Yok	48	28	İnsülin ve OAD
O15	HNF1A:c.G788A:p.R263H	Yok	34	23	İnsülin ve OAD
O16	HNF1A:c.C1135G:p.P379A	Yok	45	43	İnsülin
O17	HNF1A:c.G1522A:E508K HNF4A:c.*1078G>A	Yok	38	32	OAD
O18	HNF4A:c.*977C>G	Var	43	29	İnsülin ve OAD
O19	HNF4A:c.C1242T:p.N414N	Endogami	38	32	OAD
O20	HNF4A:c.G266A:p.R89Q	Yok	26	25	Diyet

Tablo 17: Varyant tespit edilen olgulara ait özellikler (devam)

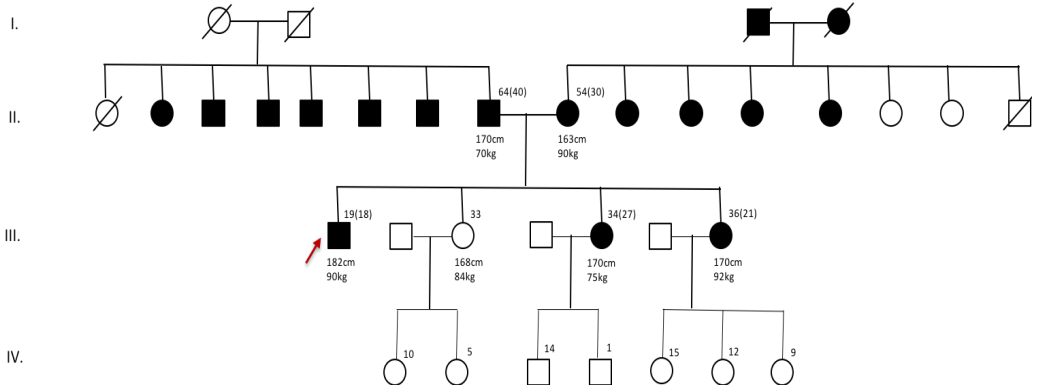
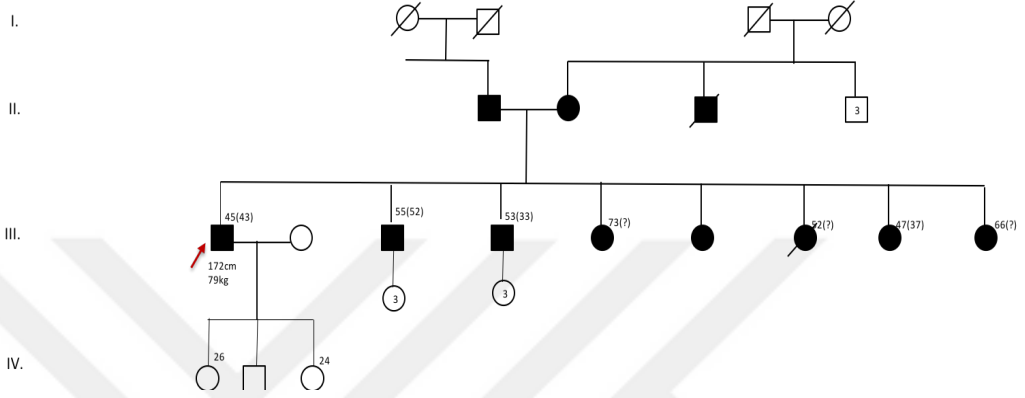
O21	HNF4A:g.43019133C>T	Yok	26	24	OAD
O22	INS:c.C242T;p.A81V	Var	38	31	Diyet
O23	INSR:c.3259-3C>A	Yok	36	34	OAD
O24	KLF11:c.C938T;p.T313I	Yok	34	26	İnsülin
O25	PDX1:c.C97A;p.P33T G6PC2:c.A620C;p.Y207S	Var	26	25	İnsülin ve OAD
O26	RFX6:c.G1733C;p.R578P GLIS3:c.1710+10C>T	Yok	45	41	OAD
O27	SLC16A1:c.T303G;p.I101M ABCC8:c.1923+8C>A	Yok	26	25	Diyet
O28	INSR:c.C41T;p.L14P	Var	25	23	İnsülin
O29	GCK:c.208+3A>T	Yok	25	23	Diyet
O30	NKX2-2:c.G365C;p.G122A	Yok	59	35	İnsülin ve OAD

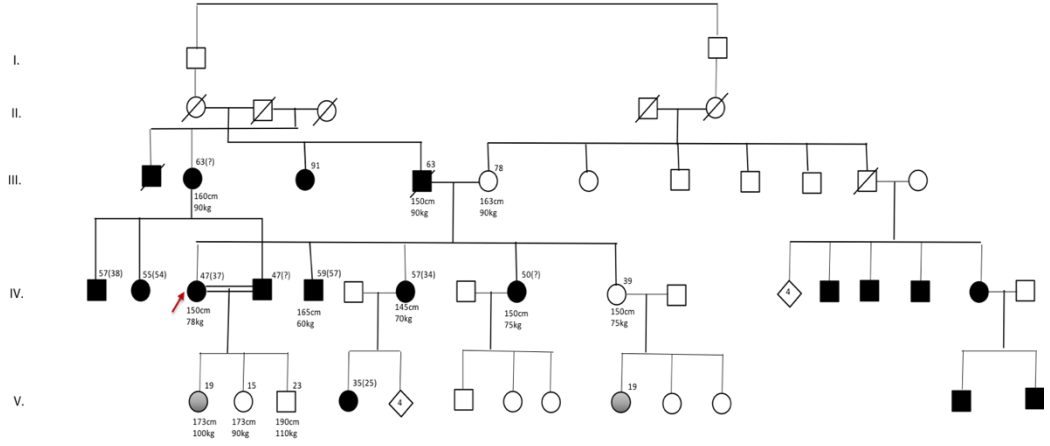
Çalışmaya alınan ve varyant tespit edilmeyen 20 olguya ait özellikler Tablo 18'de özetlenmiştir.

Tablo 18: Varyant tespit edilmeyen olgulara ait özellikler

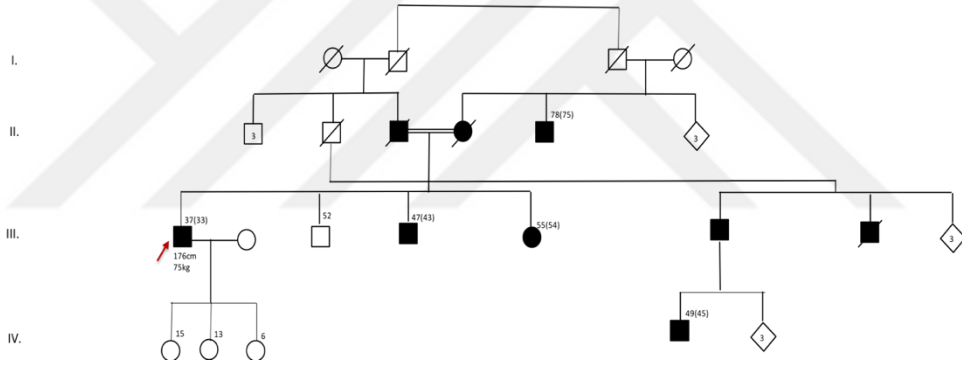
Olgu kodu	Varyantlar	Akrabalık	Yaş	Tanı yaşı	Tedavi
O31	Saptanmadı	Endogami	36	28	OAD
O32	Saptanmadı	Var	28	25	İnsülin ve OAD
O33	Saptanmadı	Endogami	43	17	İnsülin
O34	Saptanmadı	Yok	47	37	OAD
O35	Saptanmadı	Yok	24	23	OAD
O36	Saptanmadı	Yok	36	27	Diyet
O37	Saptanmadı	Yok	34	29	İnsülin ve OAD
O38	Saptanmadı	Yok	31	30	OAD
O39	Saptanmadı	Yok	27	24	İnsülin ve OAD
O40	Saptanmadı	Yok	42	27	İnsülin ve OAD
O41	Saptanmadı	Var	46	31	İnsülin ve OAD
O42	Saptanmadı	Endogami	30	20	İnsülin ve OAD
O43	Saptanmadı	Var	37	33	İnsülin ve OAD
O44	Saptanmadı	Yok	38	28	İnsülin ve OAD
O45	Saptanmadı	Var	34	27	OAD
O46	Saptanmadı	Endogami	37	32	OAD
O47	Saptanmadı	Yok	39	30	Diyet
O48	Saptanmadı	Var	33	30	İnsülin ve OAD
O49	Saptanmadı	Yok	44	40	İnsülin ve OAD
O50	Saptanmadı	Yok	34	33	Diyet

Olguların soyağaçları ayrıntılı bir şekilde çizildi. 50 olgudan örnek olarak 4 olgunun soyağacı Şekil 3, 4, 5 ve 6' da verildi. Koyu ile işaretli bireyler klinik olarak DM tanısı alanları temsil etmektedir. Olgunun şu andaki yaşı, ilk tanı yaşı sağ üstte, boy ve kilo bilgileri altta belirtilmiştir.





Şekil 5: Varyant saptanmayan O34 kodlu olguya ait soyağacı [Yaş (Tanı yaşı)]



Şekil 6: Varyant saptanmayan O43 kodlu olguya ait soyağacı [Yaş (Tanı yaşı)]

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, majör diyabet tipleri olan T1DM ve T2DM gruplarına girmeyen, genç yaşta diyabet tanısı alan, en az iki bazı ailelerde üç jenerasyon diyabet geçişi olan, hasta bireyin birinci derece yakınları (anne, baba, kardeş, çocuk) arasında erken yaşta başka diyabet olgularının olduğu ve bu nedenlerle monogenik diyabet olabileceği değerlendirilen 50 hastada, yeni nesil dizileme teknolojisinin avantajı olan, birden çok genin (bu çalışmada 23 gen) aynı anda, hızlı ve daha ucuz şekilde analizi yapılmış, %60 oranında hastada hastalığa neden olabilecek varyant saptanmıştır.

Monogenik diyabet ile ilgili yapılan prevalans saptama çalışmaları çoğunlukla Avrupa toplumlari kökenlidir. Irgens ve ark. yaptığı Norveç ulusal çocuk diyabet vakaları kohortunda MODY prevalansı %1.1 olarak bulunmuştur (140). Aynı çalışmada tüm Norveçli çocuklar arasında monogenik diyabet prevalansı 3.1/100000 olarak tespit edilmiştir. Avrupa'dan gelen farklı verilerde MODY prevalansının %1-5 arasında olduğu tahmin edilmektedir (141–143).

Mohan ve ark. tarafından yapılan, Güney Hindistan kökenli, klinik olarak MODY tanısı koyulmuş 152 hastanın moleküler analizinde en sık mutasyon tespit edilen genler, HNF1A(%7.2) ve ABCC8 (%3.3) olarak tespit edilmiştir (144). Bu çalışmada ilişkili MODY genlerinin analizi ile hastaların sadece 23/152'sine (%15) tanı konulabilmiştir. Yine bu çalışmada GCK mutasyonu tespit edilen hasta oranı diğer popülasyonların oldukça altında, <%1 tespit edilmiştir.

Giuffrida ve ark. tarafından açıklanan Brezilya Ulusal Monogenik Taraması sonuçlarına göre, 311 hastanın 72'sinde GCK mutasyonu, 31'inde HNF1A mutasyonu ve 1 hastada da HNF1B mutasyonu saptanmıştır (49). Bu çalışma sonunda Brezilya'da en sık görülen MODY alt tipinin GCK-MODY olduğu ifade edilmiştir. Diğer çalışmalarda olduğu gibi GCK geninde ki mutasyonların herhangi bir "hotspot" nokta taşımadığı, tüm gene yayıldığı tespit edilmiştir.

Türkiye'de MODY ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Erişkin yaş grubunda tüm MODY genlerini tarayan kapsamlı bir çalışma bildiğimiz kadarıyla bulunmamaktadır. Bu çalışma Türkiye'de erişkin diyabet hasta grubunda, NGS teknolojisi kullanılarak çok sayıda genin analizinin yapıldığı ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. 2014 yılında Anık ve ark. pediatrik yaş grubunda 42 çocuk hasta dahil

ettikleri çalışmada 11 gen taramış ve hastaların %29'unda varyant tespit etmiştir (145). Diğer bir çalışmada, Aykut ve ark. tarafından 177 hasta üzerinde yapılmış GCK geni dizi analizi sonucunda 79 hastada varyant tespit edilmiştir (146). Bu 79 hastada 45 farklı varyant tespit edilmiş, bunlardan 20 tanesi ilk defa tanımlanmıştır. Bu rakamlar Türkiye'de de GCK prevalansının yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Türkiye'den yapılan diğer çalışmalarda da en sık görülen MODY alt tipinin GCK genindeki mutasyonlarla oluştuğu bildirilmiştir (135,147).

Bu çalışmaya alınan 50 hastanın 30'unda (%60) hastalık yapıcı veya klinik önemi bilinmeyen varyant tespit edilirken, 20 hastada (%40) hastalığa neden olabilecek herhangi bir varyant tespit edilmemiştir. Yapılan analiz sonucunda 18 farklı gende 41 varyant tespit edilmiştir. GLIS3 geninde 6, HNF4A geninde 5, ABCC8 geninde 4, HNF1A geninde 3, BLK geninde 3, PDX1 geninde 3, RFX6 geninde 2, HADH geninde 2, G6PC2 geninde 2, GCK geninde 2 ve INS, INSR, FOXP3, HNF1B, KLF11, NKX2-2, SLC16A1, ZFP57 genlerinde ise 1'er varyant tespit edilmiştir. Tespit edilen varyantların genlere göre dağılımı Şekil 2'de verilmiştir. Panelde bulunan GLUD1, KCNJ11, NEUROD1, NEUROG3 ve PAX4 genlerinde herhangi bir varyant tespit edilmemiştir.

Monogenik diyabet grubunda moleküler tanının koyulması 1990'lı yıllardan itibaren Sanger yöntemiyle her bir genin tek tek dizilenmesiyle mümkün olabilmekteydi. NGS teknolojisi sayesinde birden fazla gen aynı anda dizilenmeye ve bu nedenle moleküler tanı oranları artmaya başladı (20). Hedeflenmiş gen paneli kullanılarak yapılan moleküler analizlerde tanı oranı bir makalede MODY grubunda %27 olarak bildirilmiştir (148). Bir başka çalışmada, Globa ve ark. tarafından, 1-18 yaş aralığında 39 etkilenmiş bireyi dahil ettikleri çalışmada, 15 hastada (%38) patojenik varyant tespit edildiği bildirilmiştir (149).

Günümüzde NGS teknolojisinin gelişmesiyle tüm genom analizi (Whole Genome Sequencing-WGS), tüm ekzom analizi (Whole Exome Sequencing-WES), ve hedeflenmiş gen paneli analizi (Targeted Gene Sequencing) yaygınlaşmıştır. Burada önemli bir problem ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalar sonucunda çok sayıda varyant tespit edilmekte fakat hangisinin hastalığa yol açtığını bulmak samanlıkta iğne aramaya benzemektedir (150). Bu varyantların hepsinin aile segregasyon çalışmasını veya fonksiyonel çalışmasını yapmak her zaman mümkün olmamaktadır. Bu nedenle

varyantların patojenisitesinin değerlendirilebilmesi için çok sayıda biyoinformatik araç geliştirilmiştir (110). Bu araçların tek tek kullanılması yerine kombine skorlama yapmanın uygun olabileceği değerlendirilmektedir.

Pezzilli ve ark. yaptığı çalışmada, missense varyantlar için, 13 farklı biyoinformatik araç kullanmış, 7 ve üzeri puan alan varyantlar ileri fonksiyonel çalışmalar ve aile segregasyon çalışması için aday olarak değerlendirilmiştir (131). Bu çalışmaya alınan ve varyant tespit edilen 30 hastada ortaya konulan 41 varyantın 26 tanesi missense olarak değerlendirilmiştir. İlk defa bu çalışmada, missense varyantlar 15 farklı biyoinformatik araç kullanılarak skorlanmış ve önceliklendirilmeye çalışılmıştır. Toplam elde edilen 41 varyanttan intronik olanlar, "synonymous" olanlar ve UTR bölgesinde olan varyantlar çıkarılmış ve geriye kalan 26 missense varyantın, 15 farklı biyoinformatik araç skoru tespit edilmiş ve toplam skorları belirlenmiştir (Tablo 11). Her bir biyoinformatik araç için kendi belirlediğimiz eşik değeri geçebilen varyantlar 1, geçemeyen varyantlar 0 puan almıştır. Toplamda 15 araçtan aldığı puan 8 ve üzeri olan varyantlar ileri fonksiyonel ve aile çalışmaları için öncelikli olduğu değerlendirilmiştir. 8 puanın sınır alınmasının nedeni çalışmanın median değerinin üstünde olan değer olmasıdır. Sınır daha yukarılara çekildiğinde sınır üzerinde puan alan varyantların pozitif olma şansı artacaktır fakat değerlendirmenin yanlış negatiflik verme şansı da artacaktır.

Yukarıda özetlenen skorlama sistemine göre 26 missense varyanttan 8 ve üzeri puan alan varyant sayısı 15 (%57.6) olmuştur. Bu değerlendirme sonucuna göre, çalışmaya alınan 50 hastanın 16'sında (%32) patojenik olabileceği kuvvetle muhtemel varyantlar tespit edilebilmiştir. Pezzilli ve ark. yaptığı çalışmaya alınan 55 hastadan sadece 8 tanesi (%14,5) yaptıkları skorlama sisteminden 13 puan üzerinden 7 puanı geçebilmiştir (131). Bizim çalışmamızda bu oranın 2 katı kadar hastada skorlama sistemimizi geçen varyant tespit edilmiştir.

Bu çalışmada tespit edilen çok önemli bir başka bulgu ise hiçbir varyant tespit edilmeyen 20 (%40) olgu ile [Varyant (-) grup] varyant tespit edilen 30 (%60) olgu [Varyant (+) grup] grupları arasında, yaş, tanı yaşı, VKİ, açlık plazma glukozu, tokluk kan glukozu, HbA1c ve lipid profilleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememesi olmuştur. Sadece laboratuvar parametreleri olarak değil soyağaçları incelendiğinde Varyant (-) olan gruptaki olgularda da erken yaşta diyabet tanısı, aile

içi birden fazla bireyde diyabet olması gibi özellikler bulunmaktadır. Varyant (-) gruptan 2 hastanın örnek soyağacı Şekil 4 ve 5'te gösterilmiştir.

Bu bulgudan iki farklı sonuç çıkarılabilir. Birincisi MODY hastalığına neden olan genlerin tahmin edilenden çok daha fazla olması fakat henüz tespit edilememesidir. 23 gen içeren panel yerine ilişkisi saptanmış başka genlerin de bu gibi panellere eklenmesi ile varyant tespit etme oranı artacaktır. İkincisi ise, MODY tanımlamasının yanında daha kapsayıcı olan Erişkin Ailesel Diyabet [Familial Diabetes of the Adulthood (FAD)] tanımını kullanmanın uygun olacağı değerlendirilmektedir. Ludovico ve ark. yaptığı çalışmada, 2583 T2DM hastası arasında birden fazla kuşakta diyabet bulunan 77 olguyu HNF4A, GCK, HNF1A, PDX1, HNF1B, NEUROD1 genleri ve mitokondriyal A3243G mutasyonu açısından incelemiştir (151). 77 hastanın 9'unda (%11,7) bu genlerde mutasyon tespit edilmiş ve MODY grubu olarak tanımlanmış, geri kalan hastalar FAD grubu olarak tanımlanmıştır. Tanımladıkları 3 grubun tanı yaşını sırasıyla T2DM için 51.2, FAD için 37.7 ve MODY için 22 olarak tespit etmişlerdir (151). Bizim çalışmamızda Varyant (+) grupta tanı yaşı 29.6 ve Varyant (-) grupta tanı yaşı 28.6 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca göre bizim grubumuzun hem MODY hem de FAD grubuna girebilecek hastalardan oluştuğu düşünülebilir. Bu nedenle Varyant (-) grup olgularının WES gibi ileri çalışmalara alınması ve FAD diyabet grubuna yönelik yeni gen tanımlamalarının yapılmasının uygun olacağı değerlendirilmektedir.

Bu çalışmaya alınan olguların tanı anındaki antropometrik ölçümleri Tablo 12'de ve laboratuvar bulguları minimum-maksimum değerleri, ortalama ve standart sapmaları ile birlikte Tablo 13'de verilmiştir. Bu bulgular ve moleküler analiz sonuçları dikkate alınarak çalışmaya dahil edilen hastalar Varyant (+) ve Varyant (-) olarak gruplandırılmış ve bunlara ait olan klinik ve laboratuvar özellikler Tablo 16'da özetlenmiştir. Bu bulgulara göre iki grup arasında tanı anındaki parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

Bu çalışmaya alınan hastaların VKİ 27.1 kg/m² olarak tespit edilmiştir. Varyant tespit edilen grubun VKİ 26.5 kg/m² ve varyant saptanmayan grubun VKİ 27.9 kg/m² bulunmuştur. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da Varyant (-) grubun VKİ'nin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular erişkin grupta MODY düşünülen hastalar arasında aşırı kilolu veya obez hastaların olabileceğini

göstermiştir. Bu nedenle 5 MODY tanı kriterinden biri olan "Aşırı kilolu veya obez olmaması" kriterinin hasta seçiminde esnetilerek kullanılmasının uygun olacağı değerlendirilmiştir (53). Bu durum zaten heterojen olan ve T2DM ile karışan MODY hastalarını tespit etmeyi daha da zorlaştırabilir. Bir başka çalışmada MODY hasta grubunun VKİ 24.9 kg/m² olarak bulunmuştur (151). Klinik olarak MODY tanısının koyulduğu 152 hasta ile yapılan başka bir çalışmada ise VKİ 24.3 kg/m² olarak bildirilmiştir (144).

Hasta grubumuzda tespit edilen bir diğer önemli husus akrabalık ve endogami oranının oldukça yüksek olmasıydı. Literatürde bulunan MODY ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda anne baba arasında akrabalık bilgisinin genellikle çalışmaya dahil edilmediği gözlenmiş ve bu nedenle yeterli bilgi elde edilememiştir. Bu çalışmada 50 hastanın 10'unun anne babası arasında akrabalık olduğu, 6 hastanın ise aynı köylü (endogami) olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaya katılan hastalar arasındaki akrabalık oranı Türkiye'deki diğer monogenik hastalıkların araştırıldığı çalışmaların oranları ile paralel olarak %20 olarak tespit edilmiştir (152). Toplamda ise 16 hastada (%32) ailesel bir aktarımdan söz edilebilir. Bu oran kompleks bir hastalık olarak bilinen DM için genetik faktörlerin ve kalıtsal geçişin ne kadar büyük bir rol alabileceğini göstermesi açısından çok önemlidir.

Açlık plazma glukozu ölçümü, diyabet tanısı koyulurken kullanılan en pratik ölçümlerden biridir. Monogenik diyabetin T1DM ve T2DM ile karşılaştırıldığı çalışmalarda APG ölçümü önemli yer tutmuştur (153–156). Monogenik diyabet alt tiplerinden GCK mutasyonunun olduğu hastalarda tipik olarak APG hafif artmıştır (156). Çalışma grubumuzda APG ortalaması 229 mg/dl olarak bulunmuştur. Literatürde MODY alt tiplerinden GCK haricindekilere ait yeterli APG verisi tespit edilememiştir. Bununla birlikte bizim grubumuzda APG ortalamasının bu kadar yüksek olması dikkate değer bir durumdur. Buna paralel olarak çalışma grubumuzda tokluk kan glukozu ortalaması 269 mg/dl olarak bulunmuştur.

Monogenik diyabet tanılı hastalarda tespit edilen HbA1c değerleri değişkenlik göstermektedir. SEARCH çalışması sonucunda 539 kişiden oluşan MODY (-) grupta HbA1c değeri %7.5 bulunurken, 47 kişiden oluşan MODY grubunda %6.8 olarak tespit edilmiştir (157). Çalışma grubumuzda HbA1c ortalaması % 9.7 olarak bulunmuştur. Bu oran yine literatürdeki diğer verilerin çok üstündedir. Kandaki glukoz

miktarının göstergesi olan APG ve HbA1c değerlerinin bu kadar yüksek olması bu hastalarda var olan genetik bozuklukların metabolizmayı diğer diyabet tiplerine göre daha fazla bozduğunu düşündürmektedir.

Yıllar geçmesine rağmen hastaların C-peptit değerinin normal sınırlarda olması monogenik diyabetin önemli bulgularından biridir (59). Bu çalışmada hastaların C-peptit ortalaması 2.02 ng/ml olarak bulunmuştur. Bununla birlikte 4 hastanın C-peptit değeri 0.9 ng/ml altında tespit edilmiştir. Çalışmaya alınan hastaların insülin ortalaması ise 12.1 µIU/ml olarak bulunmuştur.

Çalışma grubumuzdaki hastaların kolesterol değerleri ve trigliserit değerleri normal sınırların üzerinde çıkarak (sırasıyla 214 mg/dl ve 303 mg/dl) dislipidemi tablosuna sahip oldukları tespit edilmiştir. Schober ve ark. tarafından 20 yaş altı Alman ve Avusturyalı diyabet hastalarının MODY grubunda %23 oranında dislipidemi saptanmıştır (158).

MODY grubu ile T2DM grubu çoğu zaman birbirine karışmaktadır (158). Bansal ve ark. tarafından 4016 tip 2 diyabet hastası ve 2872 kontrolde (toplam 6888) yapılan, 22 genin analiz edildiği çalışmada, 40 hastada GCK, HNF1A, HNF4A, ABCC8, ve INS genlerinden birinde mutasyon tespit edilmiştir (19). Bu sonuçlar T2DM tanısı koyulan 40 yaş altı bireylerde MODY mutasyonlarının hastalık nedeni olabileceğini göstermiştir.

Genellikle çocukluk yaş grubunda diyabet tanısı konulduğunda ilk akla gelen tip T1DM'dur. MODY T2DM grubuyla olduğu gibi özellikle antikor negatif olan T1DM grubu ile de karışabilmektedir (159). Norveç genelinde diyabet tanısı almış çocuklar arasında MODY prevalansını bulmak için Johansson ve ark. yaptığı çalışmada, ulusal diyabet kohortunda antikor-negatif olanlarda MODY prevalansı %6.5 olarak bulunmuştur (160).

HNF4A geni varyantlarına ait özellikler

HNF4A geni bir transkripsiyon faktörüdür. Şu ana kadar HNF4A geninin promoter, intronik, ekzonik ve translasyona uğramayan (UTR) bölgelerine ait farklı varyantlar bildirilmiştir (57). HNF4A geninde alternatif “splicing” sebebiyle oluşmuş transkriptler ve protein izoformları nedeniyle varyantların adlandırılmasında zaman zaman sıkıntılar yaşanmaktadır. Colclough ve ark. yaptığı çalışmada en sık bildirilen

HNF4A gen mutasyonlarının, NM_175914.4 transkriptine göre c.-192C>G, c.334C>T, c.340C>T, c.868C>T, c.869G>A, c.925C>T olduğunu bildirmiştir (57).

HNF4A geni mutasyonlarının uzun dönemde pankreas beta hücre fonksiyonunu ve rezervini kötüleştirdiği bildirilmiştir (18). HNF4A geninde mutasyonuna sahip hastaların düşük doz sülfonilüre tedavisine çok iyi cevap verdiği ve tedavide insülin kesilip OAD tedavisine geçilebileceği bildirilmiştir (18).

Bu çalışmada, HNF4A geninde, NM_000457 transkriptine göre c.*977C>G, c.1242C>T, c.266G>A, g.43019133C>T ve c.*1078G>A varyantları saptandı. Bu varyantlardan sadece p.R89Q değişikliği biyoinformatik değerlendirmemizden 14 puan olarak muhtemel patojenik sınıfına girmiştir (Tablo 15).

Tespit edilen c.*977C>G (rs573432571) değişikliği HNF4A geninin 3'-UTR bölgesinde bulunuyordu. Varyant ACMG kriterlerine göre VUS şeklinde sınıflandı. Varyant tespit edilen olgu 43 yaşındaydı ve 14 yıldır diyabet nedeniyle takip ediliyordu. Olgunun vücut kitle indeksi 23,7 olarak bulundu. Olgunun annesi ileri yaşta (58) diyabet tanısı almıştı ve erkek kardeşi 40 yaşında diyabet tanısı almıştı. Olgunun anne ve babası kuzendi ve 3.derece akrabalık mevcuttu. Tedavi olarak OAD ve insülin kombine alıyordu.

Çalışmada tespit edilen diğer HNF4A geni varyantı c.1242C>T (rs141448616) değişikliği idi. Bu varyant aminoasit değişikliğine yol açmayan "synonymous" etkili bir değişiklikti. Clinvar veritabanında VUS olarak tanımlanmıştı (161). "Synonymous" varyantlar çoğunlukla sessiz etkili olarak değerlendirilseler de hastalığa farklı mekanizmalarla yol açabildikleri bilinmektedir (162). MAF değeri gnomAD veritabanında 10000'de 5 olan bu değişikliğin hastalık etkeni olarak göz ardı edilemeyeceği değerlendirilmiştir. Bu varyantı taşıyan olgu 32 yaşında diyabet tanısı almış ve 6 yıldır OAD tedavisi almaktaydı. Anne babası aynı köylü olarak bildirildi.

Bir diğer varyant olan c.266G>A "missense" değişikliğinin literatürde daha önceden hastalık yapıcı olduğu bildirilmişti (138). Bu çalışmada uyguladığımız skorlama sisteminden 14 puan almıştır (Tablo 15). Bu varyantı taşıyan olguya 25 yaşında diyabet tanısı koyulmuştu ve anne babası arasında akrabalık yoktu.

HNF4A geni intronik varyantı olan g.43019133C>T (rs547483668) değişikliği VUS olarak değerlendirilmiştir. Bu varyantı taşıyan olgu 24 yaşında diyabet tanısı almıştı ve OAD tedavisi ile takip ediliyordu.

Diğer bir HNF4A geni varyantı 3'-UTR bölgesinde bulunan c.*1078G>A değişikliği idi. Bu değişiklik Clinvar veritabanında VUS olarak tanımlanmıştı. Bu varyant taşıyan olgu aynı zamanda HNF1A geninde "missense" varyant taşımaktaydı. Olguya 32 yaşında diyabet tanısı koyulmuş ve OAD tedavisi ile izleniyordu.

HNF4A varyantı taşıyan olguların başarılı biçimde insülinin kesilip sülfonilüre ile takip edildiğini bildiren yayınlar mevcuttur (18). Klinik önemi bilinmeyen değişiklik şeklinde sınıflanan HNF4A varyantları için hastayı takip eden klinisyenin insülin tedavisini kesip sülfonilüre tedavisine devam etme konusunda temkinli olması gerektiği değerlendirilmiştir.

HNF1A geni ve HNF1B geni varyantlarına ait özellikler

"Hepatocyte Nuclear Factor 1" grubunun alfa ve beta şeklinde iki alt tipi vardır. Bu genler homodimer veya heterodimer yaparak birbirlerinin fonksiyonunu artırıcı etkileri vardır. HNF1A geni mutasyonlarına ait MODY alt grubunun Avrupa toplumlarında en sık görülen grup olduğu bildirilmiştir (163). HNF1B alt tipi daha az sıklıkla görülür ve renal kistlerle veya diğer pankreatik ya da ürogenital anomalilerle birlikte ortaya çıktığı bildirilmiştir (164).

Bu çalışmada HNF1A geninde, NM_000545 transkriptine göre, c.1135C>G, c.1522G>A ve c.788G>A varyantları tespit edildi. HNF1B geninde ise NM_000458 transkriptine göre, c.985C>T varyantı tespit edildi (Tablo 14).

HNF1A geninde tespit edilen c.1135C>G (rs754729248) değişikliği daha önce literatürde çok sayıda ailede bildirilmiş patojenik bir varyanttır (19,57). Bu varyant taşıyan olgunun soyağacı Şekil 3'de verilmiştir. Olgumuz şu anda 45 yaşında olup 2 yıldır diyabet tanısı ile insülin tedavisi almaktadır. Olgunun 7 kardeşinde, anne ve babasında da diyabet öyküsü mevcuttur.

Tespit edilen diğer HNF1A değişikliği c.1522G>A (rs483353044) VUS olarak sınıflanmıştır. Biyoinformatik skorlamamızdan 13 puan alan varyant kuvvetle muhtemel hastalık nedenidir. Diyabet hastalarında HNF1A geni 508. kodonda değişiklik literatürde daha önce bildirilmiştir (57). Başka bir makalede bulduğumuz bu değişikliğin T2DM için yatkınlık oluşturan bir allel olduğu iddia edilmiştir (165). Varyantı tespit ettiğimiz olguda bu varyanta ek olarak HNF4A geninde c.*1078G>A değişikliği bulunmaktaydı. Olguya 32 yaşında tanı konulmuş ve 6 yıldır OAD tedavisi

almaktaydı. Olgunun VKİ 27.5 kg/m² olarak tespit edildi. Olgunun 2 sağlıklı kardeşi vardı ama annesinde 50 yaşında tanı konulan diyabet öyküsü vardı.

Tespit ettiğimiz diğer HNF1A geni değişikliği c.788G>A (rs1057520504) biyoinformatik skorlamamızdan 15 puan almış ve muhtemel patojenik olarak değerlendirilmiştir. "DNA binding domain" bölgesinde olan bu varyanta yönelik yapılan fonksiyonel çalışmada HNF1A geninin fonksiyonunda azalmaya yol açtığı ortaya koyulmuştur (165). Bu varyantı taşıyan olgumuza ilk gebeliğinde 23 yaşında GDM tanısı koyulmuş ve insülin başlanmıştır. 12 yıldır takip edilen hastanın literatürün aksine sülfonilüre tedavisinden fayda görmediği ve İnsülin ve OAD kombine aldığı bildirilmiştir. Olgunun babasına da 45 yaşında diyabet tanısı koyulmuştur.

Tespit ettiğimiz tek HNF1B geni varyantı ise c.985C>T (rs1046837220) "synonymous" değişikliğidir. VUS olarak değerlendirilen bu değişikliğe sahip olgu 23 yaşında olup açlık hiperglisemisi nedeniyle diyet ile takip edilmektedir. Olguda herhangi bir renal veya pankreatik anomali mevcut değildir.

GCK geni varyantlarına ait özellikler

Bu çalışmada GCK geninde NM_000162 transkriptine göre c.1178T>C ve c.208+3A>T varyantları tespit edildi.

Tespit ettiğimiz c.1178T>C varyantı literatürde daha önce bildirilmiştir (135,146,166). Biyoinformatik skorlamamızdan 13 puan almış ve muhtemel patojenik olarak değerlendirilmiştir. Varyantı taşıyan olgumuza 18 yaşında diyabet tanısı koyulmuştur ve diyet tedavisi ile izlenmektedir. Olgunun 14 yaşındaki kardeşinin de APG değeri yüksek olup bozulmuş açlık glukozu tanısı ile takip edilmektedir. Olgunun babası 44 yaşında diyabet tanısı almış olup annesi ise kardeşi gibi bozulmuş açlık glukozu tanısı ile takip edilmektedir.

Tespit ettiğimiz diğer varyant c.208+3A>T "splice site" değişikliğidir. Bu varyant ilginç bir şekilde Türkiye'den yapılmış olan yayınlarda bildirilmiştir (135,146,167). Bu varyanta sahip olgunun anti-GAD antikoru pozitif değerlendirilmiş ve T1DM tanısı konulmuştur. Olgu 23 yaşında olup HbA1c'si %7.5 olarak bulunmuştur. Olgunun annesine 40 yaşında diyabet tanısı koyulmuştur.

Tespit edilen diğler varyantlara ait özellikler

Biyoinformatik skorlamamızdan 15 puan alan varyantlardan biri de HADH geni NM_001184705 transkriptine göre c.703G>A değişikliğidir. HADH geni otozomal resesif kalıtılan ailesel hiperinsülinemik hipoglisemi tip 4 (OMIM #609975) kliniğı ile ilişkilendirilmiştir (168). Bizim olgumuzda böyle bir klinik bulunmamaktaydı. Olgumuz 48 yaşında olup yaklaşık 20 yıldır diyabet tanısı ile takipliydi. Olgumuzun şu anda 20 yaşında olan ve 12 yıldır diyabet tanısıyla insülin kullanan bir çocuğı bulunmaktaydı. Olgunun bir kardeşı de 30'lu yaşlarında diyabet tanısı almıştı. Olgu da ayrıca GLIS3 geninde c.1855C>T varyantı da heterozigot olarak bulunmaktaydı. GLIS3 geni otozomal resesif olarak kalıtılan konjenital hipotroidi ile birlikte PNDM kliniğı ile ilişkilendirilmiştir (OMIM #610199). Bu iki varyantta biyoinformatik skorlamamızdan 8 puanın üzerinde almasına rağmen olgumuzun kliniğini net olarak açıklayamamıştır. Olgumuzun çocuğı ve kardeşinden bu varyantlara ait segregasyon çalışması planlandı.

Tespit ettiğimiz bir diğler varyant G6PC2 geni c.620A>C(rs2232323) değişikliğiydi. G6PC2 geni açlık plazma glukozunu düzenleyen, varyantlarının bozulmuş glukoz toleransı fenotipine yol açtığı bildirilmiş bir gen dir (169,170). Bu çalışmada tespit ettiğimiz varyant fonksiyonel çalışmalarda APG üzerine etkisi incelenmiş bir değişiklik tir (171,172). Bu varyantı 3 olguda tespit ettik. 2 olgu kardeşti ve birine 30 diğlerine 34 yaşında diyabet tanısı konulmuştu. Olguların birinin HbA1c'si %10.8 kardeşinin HbA1c'si ise %8.6 bulunmuştu. Diğler olguda bu varyantın yanında PDX1 c.97C>A değişikliği de mevcuttu. Bu varyantta biyoinformatik skorlamamızdan 13 puan almıştı. Bu olguya ise 25 yaşında diyabet tanısı koyulmuştu. Olgunun HbA1c'si %14.3 olarak çok yüksek bulunmuştu. Ayrıca 3 olgunun 2'sinin VKİ >35 bulundu.

Tespit ettiğimiz diğler bir varyant RFX6 geninde bulunan c.1733G>C değişikliğiydi. Bu değişiklik biyoinformatik skorlamamızdan 10 puan almıştı ve VUS olarak değerlendirildi. RFX6 genindeki varyantlar MODY ile daha önce ilişkilendirilmiştir (173). Bu varyant 2 olguda saptandı. Olgulardan birine 41 yaşında diğlerine 28 yaşında tanı konulmuştu.

Tespit edilen diğler bir varyant ABCC8 genindeki NM_000352.4 transkriptine göre c.1448A>G değişikliğiydi. Bu varyant biyoinformatik skorlamamızdan 8 puan

olarak eşik değeri geçti ve VUS olarak değerlendirildi. Tespit edilen bu varyant daha önce literatürde bildirilmemişti. Varyantı taşıyan olgu 38 yaşında diyabet tanısı almıştı. Olgunun VKİ 31.7 olup, kardeşlerinden 3'ünün VKİ >30 kg/m² olarak tespit edildi. Bir kardeşinde 24 yaşında tanı konulan diyabet öyküsü vardı. Ailede birden fazla kişide obezite olması bu varyantın obeziteye yatkınlık oluşturmuş olabileceğini düşündürmüştü ve aile bireylerinin taranması planlanmıştır. ABCC8 genindeki varyantların obeziteye neden olabileceğine dair tespitler literatürde mevcuttur (174).

Bu çalışmada tespit edilen, biyoinformatik skorlamamızdan 8 puan alan ve VUS olarak değerlendirilen bir başka varyant ise BLK geninin NM_001715 transkriptine göre c.1108G>C (rs757431553) değişikliğidir. BLK geninde şu ana kadar az sayıda varyant hastalık etkeni olarak bildirilmiştir (90). Varyant tespit ettiğimiz olguya 32 yaşında diyabet tanısı koyulmuştu. Bir kardeşinde daha 30 yaşında koyulmuş diyabet tanısı öyküsü vardı. Olgumuzun anne babası arasında akrabalık mevcuttu. Olgunun HbA1c seviyesi tedaviye rağmen %13'lerde olup oldukça yüksek seyretmektedir. BLK geninde tespit ettiğimiz ve biyoinformatik skorlama sistemimizden 9 puan alan bir başka varyant ise c.713G>A (rs141865245) değişikliğidir. Bu varyantı taşıyan olguya 36 yaşında tanı konulmuş olup aile bireylerinin hiç birinde diyabet öyküsü mevcut değildir. Bu genin etkisini anlayabilmek için başka aile çalışmalarına ve fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tespit edilen diğer bir varyant INS geninin NM_000207 transkriptine göre c.242C>T (rs757595587) değişikliğiydi. INS genindeki mutasyonların PNDM'nin en sık ikinci nedeni olduğu bildirilirken MODY hastalarında çok nadir görüldüğü bildirilmiştir (175). Bizim olgumuza 31 yaşında diyabet tanısı koyulmuştu. Anne babası akraba olan olgumuzun her iki ebeveyninde de 40 ve 47 yaşlarında tanı konulmuş diyabet mevcuttu. Olgumuzun VKİ 29.1kg/m² ve HbA1c'si %9.2 olarak tespit edildi.

Bu çalışmadan tespit edilen ve biyoinformatik skorlamamızdan 8 puan alan son varyant ise SLC16A1 geninin NM_003051.3 transkriptine göre c.303T>G (rs148691598) değişikliğiydi. Bu genin varyantları daha çok konjenital hiperinsülinizm ile ilişkilendirilmiştir (176,177). Varyant tespit edilen olgumuza 25 yaşında diyabet tanısı koyulmuştu. Annesine 44 babasına ise 54 yaşında diyabet tanısı koyulmuştu. Olgumuzun VKİ < 25 ve HbA1c seviyesi üst sınıra yakın tespit edilmişti.

Tespit edilen diğler "missense" varyantlar biyoinformatik skorlamamızda 8 puan alamamıştır. Tespit edilen "synonymous", intronik ve "splice site" değışiklikleri Tablo 14'de özetlenmiştir.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmada 23 gen içeren ve monogenik diyabet moleküler tanısı için özel olarak dizayn edilmiş bir panel kullanılmıştır. Bu panel içerisinde OMIM'de MODY'e yol açtığı bilinen CEL geni (MIM #114840) ve APPL1 geni (MIM # 604299) bulunmamaktadır. Varyant tespit edilmeyen grupta bu genlerin çalışılmaması bir kısıtlılıktır. Ayrıca, bu panel ile MODY fenotipine yol açan yeni genlerin bulunması mümkün değildir. Aynı şekilde bu panelde sadece monogenik diyabetle ilişkili genlerin ekzonları ve ekzon komşuluğundaki bölgeleri analiz edilebilmiştir. Panel içeriğinin promoter bölgeleri, derin intronik bölgeleri, intergenik bölgeleri, büyük insersiyon ve delesyonları saptayabilecek şekilde düzenlenmesi moleküler tanı oranını artıracaktır. Özellikle HNF1B geni delesyonlarının MODY ile ilişkili olabileceği literatürde bildirilmiştir (178).

Bunların yanında NGS sistemlerinin de kendine göre problemleri vardır. Bu çalışmada kullanılan Ion S5™ System (Thermo Fisher Scientific, ABD) cihazında homopolimer bölgelerin yeterli düzeyde okunamaması, panel içeriğinde bulunan bazı genlere ait okuma sayılarının çok düşük olması, diğler dizileme platformlarına göre okuma hata oranının bir miktar yüksek olması gibi sıkıntıları vardır.

Bütün genetik çalışmalarda istatistiksel anlamlılık sağlayabilmek ve araştırma gücünü artırabilmek için örnek miktarının fazla olması tercih edilmektedir. Bu çalışmaya sadece 50 olgu dahil edilebilmiştir. Yüksek hasta sayısı ile yapılacak çalışmalarda gruplar arasında anlamlı farklar bulunabilecektir.

Çalışmanın en önemli kısıtlılıklarından birisinin de tespit edilen varyantların 37'sinin (%90) ACMG kriterlerine göre VUS kategorisine girmesi olarak değerlendirilmiştir. Varyant tespit edilen olguların çeşitli nedenlerle aile içi segregasyon çalışmalarına alınamaması, varyantların fonksiyonel çalışmasının yapılamaması, bazı varyantlara ait allel frekansı verisinin olmaması, biyoinformatik tahmin araçlarının çoğunun sadece missense varyantlar için yorumda bulunması gibi nedenlerden dolayı elde edilen varyantların çoğu VUS kategorisine girmiştir. MODY nedeni olabilecek potansiyel varyantlar VUS kategorisine girerek klinik

değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Bu durumun aşılabilmesi için yeni bir biyoinformatik skorlama sistemi geliştirilmiştir.

MODY gibi fenotip olarak da çok heterojen olan hastalıklarda ayrıntılı bir fenotipik verinin toplanması gerekmektedir. Çalışmaya aldığımız hasta kohortunun bütün yönleriyle değerlendirildiği fenotip verisinin kayıtlı olması genotip-fenotip ilişkisinin kurulabilmesini sağlayacaktır. Bu çalışmada ise hem hasta sayısının az olması hem de hastaların 3 farklı hastaneden gelmesi nedeniyle az sayıda fenotipik veri toplanabilmiştir.



6. SONUÇLAR

1. Bu çalışmada klinik olarak MODY düşünülen 50 erişkin hastanın moleküler analizi yapılmıştır. Yöntem olarak yeni nesil DNA dizileme teknolojisi kullanılmış ve 23 gen içeren hedeflenmiş gen paneli kullanılmıştır.
2. Bu gen panelinin çalışılması sonucunda 30 hastada (%60), patojenik, muhtemel patojenik veya klinik önemi bilinmeyen değişiklik kategorisine giren varyant saptanmıştır.
3. Gen panelinde bulunan 23 genin 18'inde en az bir varyant bulunmuş, 5 gende (GLUD1, KCNJ11, NEUROD1, NEUROG3 ve PAX4) hiçbir varyant tespit edilmemiştir.
4. Varyant tespit edilen hasta grubu ile varyant tespit edilmeyen hasta grubu arasında, laboratuvar parametreleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.
5. Protein kodlayan bölgede bulunan "missense" varyantların klinik öneminin tespit edilebilmesi için 15 farklı biyoinformatik araç kullanılarak yeni bir skorlama sistemi geliştirilmiştir.
6. Panelde bulunan genlerden HNF1A geninden 3, BLK geninden 2, GCK geninden 1, HNF4A geninden 1, PDX1 geninden 1, G6PC2 geninden 1, HADH geninden 1, GLIS3 geninden 1, RFX6 geninden 1, ABCC8 geninden 1, INS geninden 1 ve SLC16A1 geninden 1 varyant, biyoinformatik skorlama sistemimizden 15 puan üzerinden en az 8 puan almıştır ve bu varyantlar segregasyon ve fonksiyonel çalışmalar için aday olarak değerlendirilmiştir.
7. Bu çalışma, bildiğimiz kadarıyla Türkiye'de erişkin MODY hasta grubunda yapılmış ilk hedeflenmiş gen panel çalışmasıdır.
8. Çalışma sonucunda, MODY gibi genetik olarak heterojen hasta grubunda tek tek gen analizi yapmak yerine, hastalık ile ilişkili tüm genlerin panel şeklinde aynı anda çalışılmasının tanı oranında ciddi artışa yol açtığı değerlendirilmiştir.
9. Varyant tespit edilmeyen vakaların WES ve WGS gibi ileri moleküler çalışmalara alınarak MODY'e neden olan yeni genlerin tespit edilebileceği değerlendirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas Eighth Edition 2017 [Internet]. International Diabetes Federation. 2017. 150 p. Available from: <http://www.diabetesatlas.org/>
2. Tuomi T, Santoro N, Caprio S, Cai M, Weng J, Groop L. The many faces of diabetes: A disease with increasing heterogeneity. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;383(9922):1084–94. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673613622199>
3. Bruno G, Runzo C, Cavallo-Perin P, Merletti F, Rivetti M, Pinach S, et al. Incidence of type 1 and type 2 diabetes in adults aged 30–49 years: the population-based registry in the province of Turin, Italy. *Diabetes Care*. United States; 2005 Nov;28(11):2613–9.
4. Holman N, Young B, Gadsby R. Current prevalence of Type 1 and Type 2 diabetes in adults and children in the UK. *Diabetic Medicine*. 2015;32(9):1119–20.
5. Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2017;389(10085):2239–51. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30058-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30058-2)
6. David M Maahs, Nancy A West, Jean M. Lawrence, And Mayer-Davis EJ. Epidemiology of Type 1 Diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010;39:481–97.
7. Chen L, Mayo R, Chatry A, Hu G. Gestational Diabetes Mellitus: Its Epidemiology and Implication beyond Pregnancy. *Curr Epidemiol Reports* [Internet]. 2016;3(1):1–11. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40471-016-0063-y>
8. Coustan DR. Gestational diabetes mellitus. *Clin Chem*. 2013;59(9):1310–21.
9. Thomas ER, Brackenridge A, Kidd J, Kariyawasam D, Carroll P, Colclough K, et al. Diagnosis of monogenic diabetes: 10-Year experience in a large multi-ethnic diabetes center. *J Diabetes Investig* [Internet]. 2015;7(3):n/a-n/a. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jdi.12432>
10. Gandica RG, Chung WK, Deng L, Goland R, Gallagher MP. Identifying monogenic diabetes in a pediatric cohort with presumed type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2015;16(3):227–33.
11. Kropff J, Selwood MP, McCarthy MI, Farmer AJ, Owen KR. Prevalence of monogenic diabetes in young adults: A community-based, cross-sectional study in Oxfordshire, UK. *Diabetologia*. 2011;54(5):1261–3.
12. Fendler W, Borowiec M, Baranowska-Jazwiecka A, Szadkowska A, Skala-Zamorowska E, Deja G, et al. Prevalence of monogenic diabetes amongst Polish children after a nationwide genetic screening campaign. *Diabetologia*. 2012;55(10):2631–5.
13. De Franco E, Flanagan SE, Houghton JAL, Allen HL, MacKay DJG, Temple IK, et al. The effect of early, comprehensive genomic testing on clinical care in neonatal diabetes: An international cohort study. *Lancet* [Internet]. De Franco et al. Open Access article distributed under the terms of CC BY; 2015;386(9997):957–63. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60098-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60098-8)

14. Ellard S, Bellanné-Chantelot C, Hattersley AT. Best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia* [Internet]. 2008;51(4):546–53. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-008-0942-y>
15. Ekholm E, Shaat N, Holst JJ. Characterization of beta cell and incretin function in patients with MODY1 (HNF4A MODY) and MODY3 (HNF1A MODY) in a Swedish patient collection. *Acta Diabetol.* 2012;49(5):349–54.
16. Pulst K, Arbo T, Kahre T, Peet A, Tillmann V. MODY2 caused by a novel mutation of GCK gene. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2012;25(7–8):801–3.
17. Rees K, Reed A, Banerjee A, Pasupathy D. Maturity onset diabetes of the young in pregnancy: diagnosis, management and prognosis of MODY in pregnancy. *Obstet Gynaecol Reprod Med* [Internet]. Elsevier Ltd; 2017;27(5):144–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ogrm.2017.02.005>
18. Fajans SS, Bell GI. MODY: History, genetics, pathophysiology, and clinical decision making. *Diabetes Care.* 2011;34(8):1878–84.
19. Bansal V, Gassenhuber J, Phillips T, Oliveira G, Harbaugh R, Villarasa N, et al. Spectrum of mutations in monogenic diabetes genes identified from high-throughput DNA sequencing of 6888 individuals. *BMC Med. BMC Medicine;* 2017;15(1):1–14.
20. Ellard S, Lango Allen H, De Franco E, Flanagan SE, Hysenaj G, Colclough K, et al. Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing. *Diabetologia.* 2013;56(9):1958–63.
21. Szopa M, Ludwig-gałęzowska A, Radkowski P, Skupień J, Zapala B, Platek T, et al. Genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing in patients with maturity-onset diabetes of the young. 2015;845–51.
22. Zimmet P, Alberti KG, Magliano DJ, Bennett PH. Diabetes mellitus statistics on prevalence and mortality: Facts and fallacies. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. Nature Publishing Group; 2016;12(10):616–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2016.105>
23. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care.* 2002;25(9):1551–6.
24. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(2):169–80.
25. Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C, Akalın S, Salman S DN. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. 8.Baskı-2016 [Internet]. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMĐ) Yayınları Ankara. 2016. 45-49 p. Available from: <http://www.temd.org.tr>

26. Ashcroft FM, Rorsman P. KATPchannels and islet hormone secretion: New insights and controversies. *Nature Reviews Endocrinology*. 2013. p. 660–9.
27. Yosten GLC, Maric-Bilkan C, Luppi P, Wahren J. Physiological effects and therapeutic potential of proinsulin C-peptide. *Am J Physiol Endocrinol Metab* [Internet]. 2014;307(11):E955-68. Available from: <http://ajpendo.physiology.org/content/307/11/E955>
28. The American Diabetes Association (ADA). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes Care* [Internet]. 2018;41(Supplement 1):S13–27. Available from: <http://care.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/dc18-S002>
29. Kawasaki E. ZnT8 and type 1 diabetes. *Endocr J* [Internet]. 2012;59(7):531–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22447136>
30. Polychronakos C, Li Q. Understanding type 1 diabetes through genetics: Advances and prospects. *Nat Rev Genet* [Internet]. Nature Publishing Group; 2011;12(11):781–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrg3069>
31. Robertson CC, Rich SS. Genetics of type 1 diabetes. *Curr Opin Genet Dev* [Internet]. Elsevier Ltd; 2018;50(Figure 1):7–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gde.2018.01.006>
32. Harris MI. Impaired glucose tolerance in the U.S. population. *Diabetes Care*. United States; 1989;12(7):464–74.
33. Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, Ferreira T, Segre A V., 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.
34. Scott RA, Scott LJ, Mägi R, Marullo L, Gaulton KJ, Kaakinen M, et al. An Expanded Genome-Wide Association Study of Type 2 Diabetes in Europeans. *Diabetes*. 2017;66(11):2888–902.
35. O’Sullivan JB, Gellis SS, Dandrow R V, Tenney BO. The potential diabetic and her treatment in pregnancy. 1966;27:683-9. *Obs Gynecol*. United States; 2003 Jul;102(1):7.
36. Dabelea D. The predisposition to obesity and diabetes in offspring of diabetic mothers. *Diabetes Care*. United States; 2007 Jul;30 Suppl 2:S169-74.
37. Watanabe RM, Black MH, Xiang AH, Lawrence JM, Buchanan T a. Genetics of Gestational Diabetes Mellitus and Type 2 Diabetes. 2010;30(Suppl 2):1–12.
38. Chiu KC, Go RC, Aoki M, Riggs AC, Tanizawa Y, Acton RT, et al. Glucokinase gene in gestational diabetes mellitus: population association study and molecular scanning. *Diabetologia*. 1994;37(1):104–10.
39. Stoffel M, Bell KL, Blackburn CL, Powell KL, Seo TS, Takeda J, et al. Identification of glucokinase mutations in subjects with gestational diabetes mellitus. *Diabetes*. 1993;42(6):937–40.
40. Kim S. Maturity-Onset Diabetes of the Young: What Do Clinicians Need to Know? *Diabetes Metab J*. 2015;6087(39):468–77.

41. Tattersall RB. Mild familial diabetes with dominant inheritance. *Q J Med. England*; 1974 Apr;43(170):339–57.
42. Tattersall RB, Fajans SS. A difference between the inheritance of classical juvenile-onset and maturity-onset type diabetes of young people. *Diabetes. United States*; 1975 Jan;24(1):44–53.
43. Tattersall RB, Fajans SS. Prevalence of diabetes and glucose intolerance in 199 offspring of thirty seven conjugal diabetic parents. *Diabetes. 1975*;24(5):452–62.
44. P G Nelson and D A Pyke. Genetic diabetes not linked to the HLA locus. 1976;(January):196–7.
45. Johansen K, Gregersen G. A family with dominantly inherited mild juvenile diabetes. *Acta Med Scand. Sweden*; 1977;201(6):567–70.
46. Glaser B. Dominant SUR1 mutation causing autosomal dominant type 2 diabetes. *Lancet (London, England). England*; 2003 Jan;361(9354):272–3.
47. Chambers C, Fouts A, Dong F, Colclough K, Wang Z, Batish SD, et al. Characteristics of maturity onset diabetes of the young in a large diabetes center. *Pediatr Diabetes. 2015*;(1):1–8.
48. Shepherd M, Shields B, Hammersley S, Hudson M, McDonald TJ, Colclough K, et al. Systematic population screening, using biomarkers and genetic testing, identifies 2.5% of the U.K. pediatricdiabetes population with monogenic diabetes. *Diabetes Care. 2016*;39(11):1879–88.
49. Lima RA, Alves C, Dotto RP, Franco LF, Dib SA, Dias-da-Silva MR, et al. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) in Brazil: Establishment of a national registry and appraisal of available genetic and clinical data. *Diabetes Res Clin Pract. 2017*;123:134–42.
50. Taneera J, Mussa B, Saber-Ayad M, Dhaiban S, Aljaibeji H, Sulaiman N. Maturity-onset diabetes of the young: an overview with focus on the Middle East. *Curr Mol Med [Internet]. 2018 Feb*; Available from: <https://doi.org/10.2174/1566524018666180222121158>
51. Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular mechanisms and clinical Pathophysiology of maturity - onset diabetes of the young. *English J. 2001*;345(13):971–80.
52. Frayling TM, Evans JC, Bulman MP, Pearson E, Allen L, Owen K, et al. Beta-Cell Genes and Diabetes: Molecular and Clinical Characterization of Mutations in Transcription Factors. *Diabetes [Internet]. 2001*;50(February):S94-100. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11272211
53. Vaxillaire M, Froguel P. Monogenic diabetes in the young, pharmacogenetics and relevance to multifactorial forms of type 2 diabetes. *Endocr Rev. 2008*;29(3):254–64.
54. Shields BM, McDonald TJ, Ellard S, Campbell MJ, Hyde C, Hattersley AT. The development and validation of a clinical prediction model to determine the probability of MODY in patients with young-onset diabetes. *Diabetologia. 2012*;55(5):1265–72.

55. Bowman P, Flanagan SE, Edghill EL, Damhuis A, Shepherd MH, Paisey R, et al. Heterozygous ABCC8 mutations are a cause of MODY. *Diabetologia*. 2012;55(1):123–7.
56. Chandra V, Huang P, Potluri N, Wu D, Kim Y, Rastinejad F. Multidomain integration in the structure of the HNF-4 α nuclear receptor complex. *Nature* [Internet]. Nature Publishing Group; 2013;495(7441):394–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature11966>
57. Colclough K, Bellanne-Chantelot C, Saint-Martin C, Flanagan SE, Ellard S. Mutations in the Genes Encoding the Transcription Factors Hepatocyte Nuclear Factor 1 Alpha and 4 Alpha in Maturity-Onset Diabetes of the Young and Hyperinsulinemic Hypoglycemia. *Hum Mutat*. 2013;34(5):669–85.
58. Pearson ER, Pruhova S, Tack CJ, Johansen A, Castleden HAJ, Lumb PJ, et al. Molecular genetics and phenotypic characteristics of MODY caused by hepatocyte nuclear factor 4?? mutations in a large European collection. *Diabetologia*. 2005;48(5):878–85.
59. Steck AK, Winter WE. Review on monogenic diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* [Internet]. 2011;18(4):252–8. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=01266029-201108000-00005>
60. Pearson ER, Starkey BJ, Powell RJ, Gribble FM, Clark PM, Hattersley AT. Genetic cause of hyperglycaemia and response to treatment in diabetes. *Lancet*. 2003;362(9392):1275–81.
61. Hattersley AT, Turner RC, Patel P, O’Rahilly S, Hattersley AT, Patel P, et al. Linkage of type 2 diabetes to the glucokinase gene. *Lancet*. 1992;339(8805):1307–10.
62. Froguel P, Vaxillaire M, Sun F, Velho G, Zouali H, Butel MO, et al. Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* [Internet]. 1992;356(6365):162–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1545870>
63. Chakera AJ, Spyer G, Vincent N, Ellard S, Hattersley AT, Dunne FP. The 0.1% of the population with glucokinase monogenic diabetes can be recognized by clinical characteristics in pregnancy: The Atlantic Diabetes in Pregnancy cohort. *Diabetes Care*. 2014;37(5):1230–6.
64. Nolan CJ, Prentki M. The islet β -cell: fuel responsive and vulnerable. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2008. p. 285–91.
65. Matschinsky FM, Glaser B, Magnuson MA. Pancreatic β -cell glucokinase: Closing the gap between theoretical concepts and experimental realities. *Diabetes*. 1998. p. 307–15.
66. Byrne MM, Sturis J, Clément K, Vionnet N, Pueyo ME, Stoffel M, et al. Insulin secretory abnormalities in subjects with hyperglycemia due to glucokinase mutations. *J Clin Invest*. 1994;93(3):1120–30.
67. Velho G, Petersen KF, Perseghin G, Hwang JH, Rothman DL, Pueyo ME, et al. Impaired hepatic glycogen synthesis in glucokinase-deficient (MODY-2) subjects. *J Clin Invest*. 1996;98(8):1755–61.

68. Chakera AJ, Steele AM, Gloyn AL, Shepherd MH, Shields B, Ellard S, et al. Recognition and management of individuals with hyperglycemia because of a heterozygous glucokinase mutation. *Diabetes Care*. 2015;38(7):1383–92.
69. Hattersley AT. Maturity-onset diabetes of the young: clinical heterogeneity explained by genetic heterogeneity. *Diabet Med* [Internet]. 1998;15:15–24. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9472859
70. Dukes ID, Sreenan S, Roe MW, Levisetti M, Zhou YP, Ostrega D, et al. Defective pancreatic beta-cell glycolytic signaling in hepatocyte nuclear factor-1alpha-deficient mice. *J Biol Chem* [Internet]. 1998;273(38):24457–64. Available from: <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.273.38.24457><http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9733737>
71. Harries LW, Ellard S, Stride A, Morgan NG, Hattersley AT, Vaxillaire M, et al. Isomers of the TCF1 gene encoding hepatocyte nuclear factor-1 alpha show differential expression in the pancreas and define the relationship between mutation position and clinical phenotype in monogenic diabetes. *Hum Mol Genet*. 2006;15(14):2216–24.
72. Pontoglio M, Prié D, Cheret C, Doyen A, Leroy C, Froguel P, et al. HNF1alpha controls renal glucose reabsorption in mouse and man. *EMBO Rep* [Internet]. 2000;1(4):359–65. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1083745&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
73. Steele AM, Shields BM, Shepherd M, Ellard S, Hattersley AT, Pearson ER. Increased all-cause and cardiovascular mortality in monogenic diabetes as a result of mutations in the HNF1A gene. *Diabet Med*. 2010;27(2):157–61.
74. Stoffers DA, Thomas MK, Habener JF. Homeodomain protein IDX-1: a master regulator of pancreas development and insulin gene expression. *Trends Endocrinol Metab* [Internet]. 1997;8(4):145–51. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18406800
75. Schwitzgebel VM, Mamin A, Brun T, Ritz-Laser B, Zaiko M, Maret A, et al. Agenesis of human pancreas due to decreased half-life of insulin promoter factor 1. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(9):4398–406.
76. Staffers DA, Ferrer J, Clarke WL, Habener JF. Early-onset type-II diabetes mellitus (Mody4) linked to ipf1. *Nat Genet*. 1997;17(2):139.
77. Wang L, Coffinier C, Thomas MK, Gresh L, Eddu G, Manor T, et al. Selective deletion of the Hnf1beta (MODY5) gene in beta-cells leads to altered gene expression and defective insulin release. *Endocrinology* [Internet]. 2004;145(8):3941–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15142986>

78. Murphy R, Ellard S, Hattersley AT. Clinical implications of a molecular genetic classification of monogenic β -cell diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* [Internet]. 2008;4(4):200–13. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/ncpendmet0778>
79. Naya FJ, Huang HP, Qiu Y, Mutoh H, DeMayo FJ, Leiter AB, et al. Diabetes, defective pancreatic morphogenesis, and abnormal enteroendocrine differentiation in BETA2/NeuroD-deficient mice. *Genes Dev.* 1997;11(18):2323–34.
80. Gu C, Stein GH, Pan N, Goebbels S, Hörnberg H, Nave KA, et al. Pancreatic β Cells Require NeuroD to Achieve and Maintain Functional Maturity. *Cell Metab.* 2010;11(4):298–310.
81. Rubio-Cabezas O, Minton JAL, Kantor I, Williams D, Ellard S, Hattersley AT. Homozygous mutations in NEUROD1 are responsible for a novel syndrome of permanent neonatal diabetes and neurological abnormalities. *Diabetes.* 2010;59(9):2326–31.
82. Malecki MT, Jhala US, Antonellis A, Fields L, Doria A, Orban T, et al. Mutations in NEUROD1 are associated with the development of type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* [Internet]. 1999;23(november):323–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=10545951>
83. Neve B, Fernandez-Zapico ME, Ashkenazi-Katalan V, Dina C, Hamid YH, Joly E, et al. Role of transcription factor KLF11 and its diabetes-associated gene variants in pancreatic beta cell function. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2005;102(13):4807–12. Available from: <http://www.pnas.org/content/102/13/4807.full>
84. Fernandez-Zapico ME, van Velkinburgh JC, Gutiérrez-Aguilar R, Neve B, Froguel P, Urrutia R, et al. MODY7 gene, KLF11, is a novel p300-dependent regulator of Pdx-1 (MODY4) transcription in pancreatic islet β cells. *J Biol Chem.* 2009;284(52):36482–90.
85. Ræder H, Johansson S, Holm PI, Haldorsen IS, Mas E, Sbarra V, et al. Mutations in the CEL VNTR cause a syndrome of diabetes and pancreatic exocrine dysfunction. *Nat Genet.* 2006;38(1):54–62.
86. Johansson BB, Torsvik J, Bjørkhaug L, Vesterhus M, Ragvin A, Tjora E, et al. Diabetes and pancreatic exocrine dysfunction due to mutations in the carboxyl ester lipase gene-maturity onset diabetes of the young (CEL-MODY): A protein misfolding disease. *J Biol Chem.* 2011;286(40):34593–605.
87. Mauvais-Jarvis F, Smith SB, Le May C, Leal SM, Gautier JF, Molokhia M, et al. PAX4 gene variations predispose to ketosis-prone diabetes. *Hum Mol Genet.* 2004;13(24):3151–9.
88. Smith SB, Ee HC, Connors JR, German MS. Paired-homeodomain transcription factor PAX4 acts as a transcriptional repressor in early pancreatic development. *Mol Cell Biol.* 1999;19(12):8272–80.
89. Støy J, Edghill EL, Flanagan SE, Ye H, Paz VP, Pluzhnikov A, et al. Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2007;104(38):15040–4. Available from: <http://www.pnas.org/content/104/38/15040.full>

90. Borowiec M, Liew CW, Thompson R, Boonyasrisawat W, Hu J, Mlynarski WM, et al. Mutations at the BLK locus linked to maturity onset diabetes of the young and beta-cell dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:14460–5.
91. Kim SH, Ma X, Weremowicz S, Ercolino T, Powers C, Mlynarski W, et al. Identification of a Locus for Maturity-Onset Diabetes of the Young on Chromosome 8p23. *Diabetes*. 2004;53(5):1375–84.
92. Bonnefond A, Philippe J, Durand E, Dechaume A, Huyvaert M, Montagne L, et al. Whole-exome sequencing and high throughput genotyping identified KCNJ11 as the thirteenth MODY gene. *PLoS One*. 2012;7(6).
93. Liu L, Nagashima K, Yasuda T, Liu Y, Hu H-R, He G, et al. Mutations in KCNJ11 are associated with the development of autosomal dominant, early-onset type 2 diabetes. *Diabetologia*. Germany; 2013 Dec;56(12):2609–18.
94. Prudente S, Jungtrakoon P, Marucci A, Ludovico O, Buranasupkajorn P, Mazza T, et al. Loss-of-Function Mutations in APPL1 in Familial Diabetes Mellitus. *Am J Hum Genet [Internet]*. The American Society of Human Genetics; 2015;97(1):177–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.05.011>
95. De Franco E, Ellard S. Genome, Exome, and Targeted Next-Generation Sequencing in Neonatal Diabetes. *Pediatr Clin North Am [Internet]*. Elsevier Inc; 2015;62(4):1037–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcl.2015.04.012>
96. Carmody D, Støy J, Greeley SAW, Bell GI, Philipson LH. A Clinical Guide to Monogenic Diabetes. *Genetic Diagnosis of Endocrine Disorders*. 2016. p. 21–30.
97. Cano A, Rouzier C, Monnot S, Chabrol B, Conrath J, Lecomte P, et al. Identification of novel mutations in WFS1 and genotype-phenotype correlation in Wolfram syndrome. *Am J Med Genet A*. United States; 2007 Jul;143A(14):1605–12.
98. Guillausseau PJ, Massin P, Dubois-LaForgue D, Timsit J, Virally M, Gin H, et al. Maternally inherited diabetes and deafness: a multicenter study. *Ann Intern Med*. United States; 2001 May;134(9 Pt 1):721–8.
99. Gilbert W, Maxam A. The Nucleotide Sequence of the lac Operator. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 1973;70(12):3581–4. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.70.12.3581>
100. Maxam a M, Gilbert W. A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]*. 1977;74(2):560–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/265521><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC392330>
101. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 1977;74(12):5463–7. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.74.12.5463>

102. Collins FS, Lander ES, Rogers J, Waterson RH. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*. 2004;431(7011):931–45.
103. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* [Internet]. 2001;409(6822):860–921. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11237011><http://www.nature.com/nature/journal/v409/n6822/pdf/409860a0.pdf>
104. Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bembien LA, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*. 2005;437(7057):376–80.
105. Laszlo AH, Derrington IM, Ross BC, Brinkerhoff H, Adey A, Nova IC, et al. Decoding long nanopore sequencing reads of natural DNA. *Nat Biotechnol*. 2014;32(8):829–33.
106. Ronaghi M, Uhlén M, Nyrén P. A sequencing method based on real-time pyrophosphate. *Science*. 1998. p. 363–5.
107. Shendure J, Porreca GJ, Reppas NB, Lin X, McCutcheon JP, Rosenbaum AM, et al. Molecular biology: Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome. *Science* (80-). 2005;309(5741):1728–32.
108. Rothberg JM, Hinz W, Rearick TM, Schultz J, Mileski W, Davey M, et al. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature*. 2011;475(7356):348–52.
109. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet* [Internet]. Nature Publishing Group; 2016;17(6):333–51. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27184599>
110. Eilbeck K, Quinlan A, Yandell M. Settling the score: variant prioritization and Mendelian disease. *Nat Publ Gr* [Internet]. Nature Publishing Group; 2017; Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrg.2017.52>
111. Kumar P, Henikoff S, Ng PC. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. 2009;4(8):1073–82.
112. Vaser R, Adusumalli S, Leng SN, Sikic M, Ng PC. SIFT missense predictions for genomes. *Nat Protoc* [Internet]. Nature Publishing Group; 2016;11(1):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2015-123>
113. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations a. *Nat Publ Gr* [Internet]. Nature Publishing Group; 2010;7(4):248–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth0410-248>

114. Schwarz JM, Rödelsperger C, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nat Publ Gr [Internet]. Nature Publishing Group; 2010;7(8):575–6*. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth0810-575>
115. Dunham I, Kundaje A, Aldred SF, Collins PJ, Davis CA, Doyle F, et al. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. 2012;489(7414):57–74.
116. Portales-Casamar E, Thongjuea S, Kwon AT, Arenillas D, Zhao X, Valen E, et al. JASPAR 2010: The greatly expanded open-access database of transcription factor binding profiles. *Nucleic Acids Res*. 2009;38(SUPPL.1):105–10.
117. Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster2 : mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Publ Gr [Internet]. Nature Publishing Group; 2014;11(4):361–2*. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.2890>
118. Reva B, Antipin Y, Sander C. Predicting the functional impact of protein mutations: Application to cancer genomics. *Nucleic Acids Res*. 2011;39(17).
119. Shihab HA, Gough J, Cooper DN, Stenson PD, Barker GLA, Edwards KJ, et al. Predicting the Functional, Molecular, and Phenotypic Consequences of Amino Acid Substitutions using Hidden Markov Models. *Hum Mutat*. 2013;34(1):57–65.
120. Shihab HA, Rogers MF, Gough J, Mort M, Cooper DN, Day INM, et al. An integrative approach to predicting the functional effects of non-coding and coding sequence variation. *Bioinformatics*. 2015;31(10):1536–43.
121. Dong C, Wei P, Jian X, Gibbs R, Boerwinkle E, Wang K, et al. Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. *Hum Mol Genet*. 2015;24(8):2125–37.
122. Carter H, Douville C, Stenson PD, Cooper DN, Karchin R. Identifying Mendelian disease genes with the Variant Effect Scoring Tool. *BMC Genomics [Internet]. 2013;14(Suppl 3):S3*. Available from: <http://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-14-S3-S3>
123. Kircher M, Witten DM, Jain P, O’roak BJ, Cooper GM, Shendure J. A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants. *Nat Genet [Internet]. Nature Publishing Group; 2014;46(3):310–5*. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.2892>
124. Quang D, Chen Y, Xie X. DANN: A deep learning approach for annotating the pathogenicity of genetic variants. *Bioinformatics*. 2015;31(5):761–3.
125. Choi Y, Sims GE, Murphy S, Miller JR, Chan AP. Predicting the Functional Effect of Amino Acid Substitutions and Indels. *PLoS One*. 2012;7(10).
126. Chun S, Fay JC. Identification of deleterious mutations within three human genomes. *Identif deleterious Mutat within three Hum genomes [Internet]. 2009;19(9):1553–61*. Available from: <http://dx.doi.org/10.1101/gr.092619.109%5Cnpapers3://publication/doi/10.1101/gr.092619.10>

127. Davydov E V., Goode DL, Sirota M, Cooper GM, Sidow A, Batzoglu S. Identifying a high fraction of the human genome to be under selective constraint using GERP++. *PLoS Comput Biol.* 2010;6(12).
128. Jagadeesh KA, Wenger AM, Berger MJ, Guturu H, Stenson PD, Cooper DN, et al. M-CAP eliminates a majority of variants of uncertain significance in clinical exomes at high sensitivity. *Nat Genet.* 2016;48(12):1581–6.
129. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med [Internet]. IOP Publishing;* 2015;17(5):405–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/gim.2015.30>
130. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: Functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(16):1–7.
131. Pezzilli S, Ludovico O, Biagini T, Mercuri L, Alberico F, Lauricella E, et al. Insights from molecular characterization of adult patients of families with multigenerational diabetes. *Diabetes.* 2018;67(1):137–45.
132. Banerjee I, Skae M, Flanagan SE, Rigby L, Patel L, Didi M, et al. The contribution of rapid KATP channel gene mutation analysis to the clinical management of children with congenital hyperinsulinism. *Eur J Endocrinol [Internet].* 2011;164(5):733–40. Available from: <http://www.eje-online.org/cgi/doi/10.1530/EJE-10-1136>
133. Tarasov AI, Nicolson TJ, Riveline J, Taneja TK, Baldwin SA, Baldwin JM, et al. A Rare Mutation in ABCC8/SUR1 Leading to Altered ATP-Sensitive K⁺ Channel Activity and b-Cell Glucose Sensing Is Associated With Type 2 Diabetes in Adults. *Diabetes.* 2008;57(June):1595–604.
134. Bonnefond A, Bouatia-Naji N, Simon A, Saint-Martin C, Dechaume A, De Lonlay P, et al. Mutations in G6PC2 do not contribute to monogenic forms of early infancy diabetes and beta cell dysfunction. *Diabetologia.* 2009;52(5):982–5.
135. Haliloglu B, Hysenaj G, Atay Z, Guran T, Abalı S, Turan S, et al. GCK gene mutations are a common cause of childhood-onset MODY (maturity-onset diabetes of the young) in Turkey. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2016;85(3):393–9.
136. Carette C, Riveline J, Larger E, Reznik Y, Ducluzeau P, Lecomte P, et al. The Type and the Position of HNF1A Mutation Modulate Age at Diagnosis of Diabetes in Patients with Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY)-3. *Diabetes.* 2008;57(February):503–8.
137. Tatsi C, Kanaka-Gantenbein C, Vazeou-Gerassimidi A, Chrysis D, Delis D, Tentolouris N, et al. The spectrum of HNF1A gene mutations in greek patients with MODY3: Relative frequency and identification of seven novel germline mutations. *Pediatr Diabetes.* 2013;14(7):526–34.

138. Johansson S, Irgens H, Chudasama KK, Molnes J, Aerts J, Roque FS, et al. Exome sequencing and genetic testing for MODY. *PLoS One*. 2012;7(5):1–8.
139. Gragnoli C, Stanojevic V, Gorini A, Von Preussenthal GM, Thomas MK, Habener JF. IPF-1/MODY4 gene missense mutation in an Italian family with type 2 and gestational diabetes. *Metabolism*. 2005;54(8):983–8.
140. Irgens HU, Molnes J, Johansson BB, Ringdal M, Skrivarhaug T, Undlien DE, et al. Prevalence of monogenic diabetes in the population-based Norwegian Childhood Diabetes Registry. *Diabetologia*. 2013;56(7):1512–9.
141. Ledermann HM. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) at least ten times more common in Europe than previously assumed? *Diabetologia*. 1995. p. 1482.
142. Shields BM, Hicks S, Shepherd MH, Colclough K, Hattersley AT, Ellard S. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): How many cases are we missing? *Diabetologia*. 2010;53(12):2504–8.
143. Stanik J, Dusatkova P, Cinek O, Valentinova L, Huckova M, Skopkova M, et al. De novo mutations of GCK, HNF1A and HNF4A may be more frequent in MODY than previously assumed. *Diabetologia*. 2014;57(3).
144. Mohan V, Radha V, Nguyen TT, Stawiski EW, Pahuja KB, Goldstein LD, et al. Comprehensive genomic analysis identifies pathogenic variants in maturity-onset diabetes of the young (MODY) patients in South India. *BMC Med Genet*. *BMC Medical Genetics*; 2018;19(1):22.
145. Anik A, Çatlı G, Abacı A, Sarı E, Yeşilkaya E, Korkmaz HA, et al. Molecular diagnosis of maturity-onset diabetes of the young (MODY) in Turkish children by using targeted next-generation sequencing. *J Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 2015;28(December):1265. Available from: [//www.degruyter.com/view/j/jpem.2015.28.issue-11-12/jpem-2014-0430/jpem-2014-0430.xml](http://www.degruyter.com/view/j/jpem.2015.28.issue-11-12/jpem-2014-0430/jpem-2014-0430.xml)
146. Aykut A, Karaca E, Onay H, Gökşen D, Çetinkalp Ş, Eren E, et al. Analysis of the GCK gene in 79 MODY type 2 patients: A multicenter Turkish study, mutation profile and description of twenty novel mutations. *Gene*. 2018;641(October 2017):186–9.
147. Anik A, Çatlı G, Abacı A, Böber E. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): An update. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2015. p. 251–63.
148. Esponda OL, Hunter R, Valance A, Biology C, Juan S. Phenotypic heterogeneity in monogenic diabetes: The clinical and diagnostic utility of a gene panel-based next-generation sequencing approach. 2015;21(1):30–4.
149. Globa E, Zelinska N, Elblova L, Dusatkova P, Cinek O, Lebl J, et al. MODY in Ukraine: Genes, clinical phenotypes and treatment. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017;30(10):1095–103.

150. Cooper GM, Shendure J. Needles in stacks of needles: finding disease-causal variants in a wealth of genomic data. *Nat Rev Genet.* 2011;
151. Ludovico O, Carella M, Bisceglia L, Basile G, Mastroianno S, Palena A, et al. Identification and Clinical Characterization of Adult Patients with Multigenerational Diabetes Mellitus. 2015;1–8.
152. Tuncbilek E, Ozguc M. Application of medical genetics in Turkey. *Turk J Pediatr. Turkey;* 2007;49(4):353–9.
153. McCarthy MI, Hattersley AT. Learning from molecular genetics: Novel insights arising from the definition of genes for monogenic and type 2 diabetes. *Diabetes.* 2008;57(11):2889–98.
154. Kleinberger JW, Copeland KC, Gandica RG, Haymond MW, Levitsky LL, Linder B, et al. Monogenic diabetes in overweight and obese youth diagnosed with type 2 diabetes: the TODAY clinical trial. *Genet Med [Internet]. Nature Publishing Group;* 2017;00(October):gim2017150. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/gim.2017.150>
155. Pinelli M, Acquaviva F, Barbetti F, Caredda E, Coccozza S, Delvecchio M, et al. Identification of candidate children for maturity-onset diabetes of the young type 2 (MODY2) gene testing: A seven-item clinical flowchart (7-iF). *PLoS One.* 2013;8(11).
156. Maltoni G, Zucchini S, Martini AL, Marasco E, Mantovani V, Pession A. Clinical heterogeneity in the same generation of siblings with GCK/MODY 2. *Diabetes Res Clin Pract [Internet]. Elsevier Ireland Ltd;* 2015;107(1):e1–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2014.11.002>
157. Pihoker C, Gilliam LK, Ellard S, Dabelea D, Davis C, Dolan LM, et al. Prevalence, characteristics and clinical diagnosis of maturity onset diabetes of the young due to mutations in HNF1A, HNF4A, and glucokinase: Results from the SEARCH for diabetes in Youth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(10):4055–62.
158. Schober E, Rami B, Grabert M, Thon A, Kapellen T, Reinehr T, et al. Phenotypical aspects of maturity-onset diabetes of the young (MODY diabetes) in comparison with Type 2 diabetes mellitus (T2DM) in children and adolescents: Experience from a large multicentre database. *Diabet Med.* 2009;26(5):466–73.
159. Chambers C, Fouts A, Dong F, Colclough K, Wang Z, Batish SD, et al. Characteristics of maturity onset diabetes of the young in a large diabetes center. *Pediatr Diabetes.* 2016;17(5):360–7.
160. Johansson BB, Irgens HU, Molnes J, Sztromwasser P, Aukrust I, Juliusson PB, et al. Targeted next-generation sequencing reveals MODY in up to 6.5% of antibody-negative diabetes cases listed in the Norwegian Childhood Diabetes Registry. *Diabetologia.* 2017;60(4):625–35.
161. Landrum MJ, Lee JM, Riley GR, Jang W, Rubinstein WS, Church DM, et al. ClinVar: Public archive of relationships among sequence variation and human phenotype. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(D1):980–5.

162. Hunt RC, Simhadri VL, Iandoli M, Sauna ZE, Kimchi-Sarfaty C. Exposing synonymous mutations. *Trends Genet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;30(7):308–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2014.04.006>
163. Frayling TM, Bulamn MP, Ellard S, Appleton M, Dronsfield MJ, Mackie AD, et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1alpha gene are a common cause of maturity-onset diabetes of the young in the U.K. *Diabetes* [Internet]. 1997;46(4):720–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9075818>
164. Edghill EL, Bingham C, Ellard S, Hattersley a T. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes. *J Med Genet*. 2006;43(1):84–90.
165. Mercader JM, Florez JC. The Genetic Basis of Type 2 Diabetes in Hispanics and Latin Americans: Challenges and Opportunities. *Front Public Heal* [Internet]. 2017;5(December):1–7. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpubh.2017.00329/full>
166. Osbak KK, Colclough K, Saint-Martin C, Beer NL, Bellanné-Chantelot C, Ellard S, et al. Update on mutations in glucokinase (GCK), which cause maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Human Mutation*. 2009. p. 1512–26.
167. Ağladioğlu SY, Aycan Z, Çetinkaya S, Baş VN, Önder A, Peltek Kendirci HN, et al. Maturity onset diabetes of youth (MODY) in Turkish children: Sequence analysis of 11 causative genes by next generation sequencing. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2016;29(4):487–96.
168. Flanagan SE, Patch AM, Locke JM, Akcay T, Simsek E, Alaei M, et al. Genome-wide homozygosity analysis reveals HADH mutations as a common cause of diazoxide-responsive hyperinsulinemic-hypoglycemia in consanguineous pedigrees. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(3):498–502.
169. Boortz KA, Syring KE, Dai C, Pound LD, Oeser JK, Jacobson DA, et al. G6PC2 modulates fasting blood glucose in male mice in response to stress. *Endocrinology*. 2016;157(8):3002–8.
170. Mahajan A, Sim X, Ng HJ, Manning A, Rivas MA, Highland HM, et al. Identification and Functional Characterization of G6PC2 Coding Variants Influencing Glycemic Traits Define an Effector Transcript at the G6PC2-ABCB11 Locus. *PLoS Genet*. 2015;11(1):1–25.
171. An P, Czajkowski J, Kraja AT, Province MA, Borecki IB. Low-frequency and rare exome chip variants associate with fasting glucose and type 2 diabetes susceptibility. 2015;
172. Boortz KA, Syring KE, Pound LD, Wang Y, Oeser JK, O'Brien RM. Functional analysis of mouse G6pc1 mutations using a novel in situ assay for glucose-6-phosphatase activity and the effect of mutations in conserved human G6PC1/G6PC2 amino acids on G6PC2 protein expression. *PLoS One*. 2016;11(9):1–24.
173. Patel KA, Kettunen J, Laakso M, Stančáková A, Laver TW, Colclough K, et al. Heterozygous RFX6 protein truncating variants are associated with MODY with reduced penetrance. *Nat Commun*. 2017;8(1).

174. Feero WG, Guttmacher AE, McCarthy MI. Genomics, Type 2 Diabetes, and Obesity. *N Engl J Med* [Internet]. 2010;363(24):2339–50. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra0906948>
175. Edghill EL, Flanagan SE, Patch A-M, Boustred C, Parrish A, Shields B, et al. Mutations in the *INS* Gene Are a Common Cause of Neonatal Diabetes but a Rare Cause of Diabetes Diagnosed in Childhood or Adulthood. *Diabetes*. 2008;57(4):1034–1042.
176. Şıklar Z, Berberoğlu M. Current Status of Childhood Hyperinsulinemic Hypoglycemia in Turkey. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* [Internet]. 2016;12(4):375–80. Available from: http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article_1696/JCRPE-8-375.pdf
177. Yorifuji T. Congenital hyperinsulinism: current status and future perspectives. *Ann Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 2014;19(2):57. Available from: <https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.6065/apem.2014.19.2.57>
178. Takizawa M, Iwasaki N, Yamamoto T, Uchigata Y, Iwamoto Y. Whole gene deletion mutation of *HNF1B* and exonic aberration mutations of *GCK* and *HNF1B* in patients with *MODY* in Japan. *Diabetol Int*. 2012;3(4):224–32.

EKLER

EK 1- ETİK KURUL ONAYI

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU							
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Gençlikte ortaya çıkan erişkin tip diyabet (MODY) ön tanısı ile izlenen hastalarda hedeflenmiş gen yeni nesil dizi analiz yöntemi sonuçlarının incelenmesi					
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		-					
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 1902/2018	Tarih: 11.04.2018					
	Yukarıda bilgileri verilen Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'nden Prof. Dr. Yusuf Tunca sorumluluğunda yapılması planlanan ve Dr. Haluk Kavuş'un tezi olan "Gençlikte ortaya çıkan erişkin tip diyabet (MODY) ön tanısı ile izlenen hastalarda hedeflenmiş gen yeni nesil dizi analiz yöntemi sonuçlarının incelenmesi" isimli klinik araştırma 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.						
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. Hürrem BODUR					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza	
Prof. Dr. Hürrem BODUR	Enf. Hast. ve Kl. Mikrobiyoloji	SBÜ Ankara Numune SUAM	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"/>		
Prof. Dr. Süreyya BARUN	Tıbbi Farmakoloji	Gazi Üniversitesi 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"/>		
Prof. Dr. Ahmet Deniz BELEN	Beyin Cerrahi	SBÜ Ankara Numune SUAM	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"/>		
Prof. Dr. Adem ÖZKARA	Aile Hekimliği	SBÜ Ankara Numune SUAM	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"/>		
Prof. Dr. İshak ÖZKOÇAK TURAN	Anestezi ve Reanimasyon	SBÜ Ankara Numune SUAM	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"/>		
Prof. Dr. Sezer KULAÇOĞLU	Patoloji	SBÜ Ankara Numune SUAM	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"/>		
Prof. Dr. Özlem EVREN KEMER	Göz Hastalıkları	SBÜ Ankara Numune SUAM	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"/>		
Prof. Dr. Altuğ TUNCEL	Üroloji	SBÜ Ankara Numune SUAM	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. Doğan UNCÜ	Tıbbi Onkoloji	SBÜ Ankara Numune SUAM	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. İsmail KARABULUT	Fizyoloji	Hacettepe Üniversitesi 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. Tanju TÜTÜNCÜ	Genel Cerrahi	SBÜ Ankara Numune SUAM	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"/>		
Uzm. Dr. Dilek KANYILMAZ	Halk Sağlığı	SBÜ Ankara Numune SUAM	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"/>		
Etik Kurul Başkanı Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Hürrem BODUR İmza:		 ANKARA NUMUNE ÜNİVERSİTESİ ETİK KURULU BAŞKANI Prof. Dr. Hürrem BODUR Etik Kurul Sekreteri Emine İKADIOĞLU					

EK 2 - MODY OLGU RAPOR FORMU

Adı-Soyadı

TC Numarası

Doğum Tarihi

Cinsiyet

Telefon Numarası-Adres

Gönderen Doktor

Başvuru Tarihi

Tanı yaşı

Boy (cm)- Boy SDS

Ağırlık (kg)- Ağırlık SDS

VKİ (kg/m²) - VKİ SDS

APG-Glukoz (mg/dl)

HbA1c (%)

Son HbA1c (%)

Glutamic acid decarboxylase (GAD)

Islet cell antibody (ICA)

Doğum ağırlığı (gr)

insülin (µIU/ml)

C-peptit (ng/ml)

Kolesterol (mg/dl)

Trigliserit (mg/dl)

HDL (mg/dl)

LDL (mg/dl)

Tiroit fonksiyon testleri

OGTT 0.dk glukoz (mg/dl)

OGTT 120.dk glukoz (mg/dl)

OGTT 0.dk insülin (µIU/ml)

OGTT 120.dk insülin (µIU/ml)

Açlık İnsulin (pmol/L) -Açlık glukagon

İdrarda glukoz (glukozüri)

İdrarda keton (ketonüri)

High-sensitivity C-reactive protein (hsCRP)

Urinary Albumin Creatinine Ratio (UACR)

Glomerular Filtration Rate (GFR)

Aldığı Tedavi

Sülfonilüre + Bazal insülin

Sülfonilüre +Metformin

Sülfonilüre + GLP-1 agonisti

Sülfonilüre + DPP 4 inhibitörü

İnsülin + Metformin

Sadece diyet

Sadece Metformin

Insulin (Günlük birden fazla enjeksiyon)

Diğer:

Komplikasyonlar

Mikrovasküler (retinopati, nefropati, nöropati)

Makrovasküler (Koroner arter hastalığı (KAH); Kalp krizi (MI)/angina/Koroner baypas op.)

Serebrovasküler (SVO) (iskemik strok)

Hipertansiyon

Periferik arter hastalığı (PAH)

Diğer: