

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

**GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS'LU
HASTALARDA FETUİN A (AHSG) GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Suna KAHRAMAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Halit AKBAŞ

ŞANLIURFA

2017

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

GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS'LU
HASTALARDA FETUİN A (AHSG) GEN
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Suna KAHRAMAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Halit AKBAŞ

Bu tez, Hr. Ü Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 17037 proje numarası ile desteklenmiştir

ŞANLIURFA

2017

T. C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Suna KAHRAMAN'nın hazırladığı "Gestasyonel Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Fetuin A (AHSB) Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" konulu çalışma 25.12.2017 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Doç. Dr. Hilmi İSİ

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

ÜYE

Doç. Dr. Halit AKBAŞ

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Sibel SAK

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim
Dalı Öğretim Üyesi

28.12.2017
ONAY
Prof. Dr. Mustafa DENİZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tezimin her aşamasında tüm bilgi, destek ve deneyimleriyle yanımda olan, yaptığım hatalar karşısında daima anlayış gösteren, bana olan inancı ve güveni nedeniyle değerli danışman hocam Sn. Doç. Dr. Halit AKBAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince her zaman desteklerini hissettiğim ve bilimsel olarak beni aydınlatan Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ'e ve yüksek lisans eğitimimdeki katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Feridun AKKAFa'ya teşekkürlerimi sunarım.

Hasta ve kontrol gruplarının temin edilmesinde büyük katkıları ve destekleri olan Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı hocalarından Sayın Yrd. Doç. Dr. Sibel Sak'a, Araştırma görevlisi Mesut Yardımcıel ve Asistan Doktor Bihter Gündoğdu'ya teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2017

Suna KAHRAMAN

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. DİABETES MELLİTUS	3
2.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus	4
2.2. GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS	5
2.2.1. GDM Prevalansı	5
2.2.2. Gestasyonel Diyabet Görülme Riskini Arttıran Faktörler	6
2.2.3. Gebelikte Gukoz Metabolizması	7
2.2.4. İnsülin Glukoz Metabolizması	7
2.2.5. İnsülin Direnci	10
2.2.6. Gestasyonel Diabetes Mellitus Taraması ve Tanı Kriterleri	10
2.2.7. Gestasyonel Diabetes Mellitusun Genetiği	12
2.3. Fetuin-A (α 2-HEREMANS SCHMİD GLİKOPROTEİN)	15
2.4. AHSG Geni	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM	18
3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Oluşturulması ve Periferik Kan Örneklerinin Toplanması	18
3.2. Kullanılan Laboratuvar Araç-Gereç ve Kimyasalları	18
3.2.1. Kullanılan Araç-Gereçler	18
3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	19

3.3. DNA İzolasyonu	19
3.3.1. İnvitrogen Pure Link Genomik DNA Mini Kit K1820-02 yöntemiyle DNA İzolasyonu Protokolü.....	20
3.4. İzole Edilen DNA Örneklerinin Real-Time PCR Yöntemiyle Analizi.....	21
3.4.1. AHSB Geninde Çalışılan SNP'lerin Özellikleri	22
3.5. Genotip Tayini	23
3.6. İstatistiksel Analiz	25
4. BULGULAR	26
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaş Bakımından Değerlendirilmesi	26
4.2. AHSB Genindeki Genotip Dağılımı ve Allel Frekansının Değerlendirilmesi.....	26
4.2.1. AHSB geni 767C>G (rs4918) polimorfizmine ait genotip dağılımı ve allel frekansları.....	27
4.2.2. AHSB geni -843A>T (rs2248690) polimorfizmine ait genotip dağılımı ve allel frekansları.....	28
5. TARTIŞMA.....	30
6. SONUÇ.....	33
7. KAYNAKLAR	34

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Gestasyonel Diyabet İçin Tanı Kriterleri.....	11
Tablo 2. GDM ile ilişkili aday genler.....	14
Tablo 3. AHSG genine ait 767C>G polimorfizmi.....	21
Tablo 4. AHSG genine ait -843 A>T polimorfizmi.....	22
Tablo 5. AHSG genine ait SNP'lerin Real-Time PCR protokolü.....	23
Tablo 6. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları.....	26
Tablo 7. AHSG geni 767C>G polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı.....	27
Tablo 8. AHSG geni 767C>G polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları.....	28
Tablo 9. AHSG geni -843 A>T polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı.....	28
Tablo 10. AHSG geni -843 A>T polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları.....	29

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. insülin reseptör tirozin kinaz yapısı aktivasyonu.....	8
Şekil 2. β -hücrelerince insülin salınımının hücre içi mekanizması.....	9
Şekil 3. Fetuin- A aracılığı ile insülin reseptörünün inhibisyonu.....	16
Şekil 4. Fetuin-A proteinini kodlayan AHSG geninin kromozom 3 üzerindeki lokalizasyonu..	17
Şekil 5. Wild alleli belirleyici VIC (Yellow) probu ile işaretli, pozitif ve negatif pik örnekleri.	24
Şekil 6. Polimorfik alleli belirleyici FAM (Green) probu ile işaretli, pozitif ve negatif pik örnekleri	24

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
AHSG	: Alfa 2 –Heremans-Schmid Glikoprotein
BMI	: Vücut kitle indeksi
CRP	: C reaktif protein
DM	: Diabetes Mellitus
ERK	: Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz
GDM	: Gestasyonel Diabetes Mellitus
GLUT	: Glukoz taşıyıcısı
GWAS	: Genom boyu ilişkilendirme çalışmaları
HOMA-IR	: İnsülin direncinin homeostatik model değerlendirmesi
HPL	: Human plasental laktojen
IADPSG	: Uluslararası Diyabetik Gebelik Çalışma Grupları Birliği
IFG	: Bozulmuş açlık glukozu
IGT	: Bozulmuş glukoz toleransı
IR	: İnsülin reseptörü
IRS	: İnsülin reseptör substrat
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
PI3K	: Fosfoinositol-3-kinaz
SNP	: Tek nükleotit polimorfizmi
TK	: Tirozin kinaz
TURDEP	: Türkiye Diabet Epidemiyoloji

ÖZET

GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA FETUİN A (AHSG) GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Tıbbi Biyoloji Yüksek Lisans Tezi

Amaç: Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) gelişiminde insülin direnci merkezi role sahiptir. Gebelik döneminde serum düzeyi artan fetuin A (AHSG = Alpha-2-Heremans Schmid Glycoprotein) molekülü bir insülin reseptör tirozin kinaz inhibitörüdür. Bu çalışmada insülin direnci ile ilişkili olan fetuin A genindeki 767 C>G (rs4918) ve -843 A>T (rs2248690) polimorfizmlerinin belirlenerek GDM ile ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmaya Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı polikliniklerine başvuran ve gestasyonel diabetes mellitus tanısı konmuş 83 GDM'li gebe ile benzer yaş ve gebelik haftası aralığında ki 100 normal hamilelik sürecindeki gebeler kontrol grubu olarak dahil edilmiştir. Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerden alınmış olan EDTA'lı kan örneklerinden spin yöntemiyle DNA izolasyon yapılarak, her bireyin AHSG genine ait 767 C>G ve -843 A>T polimorfizmlerinin moleküler analizi, Real-Time PCR yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerdeki söz konusu polimorfizmler Real-Time PCR sonucu elde edilen amplifikasyon eğrileri ile genotiplendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda fetuin A geni 767 C>G polimorfizmi bakımından polimorfik olan homozigot GG genotipi hasta grubundaki hiçbir bireyde görülmezken kontrol grubundaki 6 bireyde (%6) tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının homozigot CC ile homozigot GG genotipleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). AHSG geni -843 A>T polimorfizmi bakımından polimorfik olan homozigot TT genotipi GDM'li hiçbir bireyde görülmezken kontrol grubuna ait dört bireyde tespit edilmiştir. Ancak hasta ve kontrol gruplarının homozigot AA ile homozigot TT genotip dağılımları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Sonuç: Çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular, fetuin A geni 767 C>G polimorfizminin, GDM gelişiminde bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceği ve homozigot GG varyantının GDM'nin gelişimine karşı koruyucu bir etkisinin olabileceği sonucunu doğurmuştur.

Anahtar Kelimeler: GDM, Fetuin A, Polimorfizm, Gen, AHSB

ABSTRACT

INVESTIGATION OF FETUIN-A GENE POLYMORPHISMS IN PATIENTS WITH GESTATIONAL DIABETES MELLITUS

Medical Biology Master Thesis

Objective: Insulin resistance plays a central role in the development of gestational diabetes mellitus (GDM). The fetuin A molecule (AHSG = Alpha-2-Heremans Schmid Glycoprotein), serum levels of which is increased during pregnancy, is an insulin receptor tyrosine kinase inhibitor. The fetuin A molecule is associated with insulin resistance. In this study, it was aimed to investigate the relationship between 767 C>G (rs4918) and 843 A>T (rs2248690) polymorphisms in fetuin-A gene and GDM.

Methods: Eighty-three pregnant women with GDM and one hundred control pregnancies without GDM during the same age and gestational week, admitted to Harran University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, were included in this study. Genomic DNA was isolated from the blood samples with EDTA of all individuals from the patient and the control groups by spin column method. Molecular analysis of 767 C> G and -843 A> T polymorphisms in AHSG gene of each individual of both groups was performed by the Real-Time PCR method. The polymorphisms in the samples were genotyped by amplification curves obtained from the Real-Time PCR results.

Results: In our study, homozygous GG genotype for fetuin A gene 767 C>G polymorphism was found in 6 individuals in the control group (6%) while it was not found in any individual in the patient group. This difference between homozygous CC and GG genotype distribution of the patient and the control groups was found statistically significant ($p < 0.05$). Homozygous TT genotype for AHSG gene -843 A> T polymorphism was not found in any of the individuals with GDM but was detected in four individuals belonging to the control group. However, the difference between homozygous CC and homozygous GG genotypes distribution of the patient and the control groups was not statistically significant ($p > 0.05$).

Conclusions: The findings of this study have led to the conclusion that 767 C>G polymorphism in fetuin A gene can be evaluated as a risk factor for the development of GDM and that a homozygous GG variant might have a protective effect against GDM development.

Keywords: GDM, Fetuin-A, Polymorphism, Gene, AHSB

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gestasyonel diabetes mellitus (GDM), ilk kez gebelikte ortaya çıkan veya ilk kez gebelik döneminde saptanan karbonhidrat intoleransı olarak tanımlanmaktadır (1). Gebelikte başlayıp doğumla sonlanan diyabet tipi olmakla birlikte doğumdan sonra GDM'nin kalıcı olma ihtimalinin %5 civarında olduğu belirlenmiştir. GDM'nin, zemininde genetik yatkınlık bulunmakla beraber plasental hormonlar nedeniyle dengelenememiş insülin direncidir. Tüm dünyada prevalansı giderek artmaktadır (2). Aynı zamanda GDM prevalansının tip 2 diabetes mellitus (tip 2 DM) prevalansı ile doğrudan ilişkili olduğu saptanmıştır (1). Gebe bireyin yaşının 25'in üzerinde olması, gebelik döneminden önce obezite varlığı, birinci derece akrabalarında diyabet görülmesi gestasyonel diyabetin oluşumunu arttıran etkenlerdendir (2). Gebelik döneminde fetüs besin ve enerjiye ihtiyaç duyar. Annenin pankreatik beta hücreleri bu ihtiyacı giderecek düzeyde insülin salgılayamaması halinde insülin direnci ve hiperinsülinemi gelişmektedir dolayısıyla anne de GDM oluşmaktadır (3). İnsülin direnci bir hücre-reseptör defektidir; Bu nedenle beta hücreleri tarafından üretilen insülin kullanılamaz insülinin görevini yapamaması nedeniyle glukozun hücre içerisine alınımı gerçekleşemez ve enerji olarak kullanılamaz (2). İnsülin direnci, doğal yollarla gelişebilir, insülin tedavisi sırasında anti-insülin antikörlerinin oluşması ve insüline duyarlılığın azalması sonucu da gelişebilir (4).

GDM'nin gelişiminde çevresel ve genetik faktörler yüksek düzeyde görev almaktadır. Ancak genetik zeminine yönelik çalışmalar, diğer diyabet tiplerine göre geç başladığından dolayı, GDM'nin gelişiminde rol oynayan genetik nedenler tam olarak bilinmemektedir. GDM'li bireylerde ilerleyen dönemlerde tip 2 DM görülme riskinin yüksek olması, yine tip 2 DM aile öyküsü olan bireylerde de GDM gelişme olasılığının yüksek olması her iki hastalığın zemininde aynı genetik faktörlerin görev aldığı düşünülmektedir. Bu nedenle özellikle son yıllarda tip 2 DM'nin genetik altyapısı üzerine yoğunlaşmış aday gen çalışmaları, bağlantı analizleri ve genom boyu ilişki (GWA) çalışmaları ile ortaya konan genler ve risk faktörlerinin GDM gelişimi üzerinde etkileri araştırılmaktadır. Bu genlerin önemli bir kısmının insülin salınım mekanizmasıyla ilişkili genler olduğu belirlenmiştir (5).

Fetuin-A (alfa2-Heremans-Schmid glikoproteinini, AHSG), 55-59 kDa ağırlığında fosforile edilmiş bir glikoproteindir ve yetişkinlerde karaciğer hepatosit hücrelerinden sentezlenerek dolaşıma katılır (6).

Fetuin-A'nin insülin reseptörü (InsR) tirozin kinaz(TK) aktivitesini ve insülin sinyalizasyonunun ERK1/2 mitojenik sinyalizasyon kolunu inhibe ettiği gösterilmiştir. İnsülin reseptör otofosforilasyonunun inhibe olmasıyla insülin sinyal yolunun önemli bir düzenleyicisi olan İnsülin Reseptör Substrat 1 (IRS-1) proteini uyarılmaz. Aynı zamanda Fetuin-A'nin fare miyoblastlarında insülinle uyarılan Glut 4 translokasyonunu bloke ettiği belirlenmiştir (7). Yapılan in vivo ve In vitro çalışmalar ile fetuin-A'nin insülin reseptör tirozin kinaza bağlanarak ve sinyal yolağını zayıflatarak insülin rezistansına neden olduğu belirlenmiştir (8).

GDM'nin, karaciğerden sekrete edilen Fetuin-A ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir(9). Gebeliğin ilerleyen haftalarında serum fetuin-A düzeyinin arttığı ve GDM'li gebelerde serum fetuin-A düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca serum fetuin A düzeyi ile maternal insülin direnci arasında anlamlı ve pozitif yönde bir ilişki olduğu belirlenmiştir (10). Fetuin-A'yı kodlayan AHSG geni (HGNC:349), kromozom 3q27.3 üzerinde lokalize olan 8.40 kb uzunluğunda 7 ekzon ve 6 introndan oluşan bir gendir. Genin lokalize olduğu kromozom lokusunun tip2 diyabet ve metabolik sendrom ile ilişkili olduğu saptanmıştır. AHSG geni oldukça polimorfiktir. AHSG geni üzerinde yer alan bazı polimorfizmlerin serumdaki Fetuin-A düzeyi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (11). Genin promotor bölgesinde yer alan -843 A>T polimorfizminin (rs2248690), sözkonusu genin transkripsiyonel aktivitesi ile ilişkili olduğu ve serum fetuin A düzeyini etkilediği bildirilmiştir (12). Genin 7. Ekzonunda yer alan 767 C>G polimorfizminin ise (rs4918), protein ürününde Ser256Thr missens mutasyonuna yol açtığı ve serum fetuin A düzeyi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (13). Yukarıdaki bilgiler doğrultusunda bu çalışmada, AHSG genindeki -843 A>T ve 767 C>G polimorfizmlerinin GDM ile ilişkili olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Mevcut literatür bilgisine göre bu çalışma, GDM'li hastalarda AHSG (fetuin A) gen polimorfizmlerinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS

Diabetes mellitus (DM) birçok nedene bağlı olarak gelişen, insülin eksikliği veya etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı ve hiperglisemi ile kendini gösteren, kronik ilerleyişli endokrin ve metabolik bir hastalıktır. DM etiolojisinde büyük oranda genetik ve çevresel faktörler rol oynar. DM, belirli genetik faktörlerin, farklı patolojik ve etiyojik mekanizmaların neden olduğu heterojen bir grup hastalıktan oluşmaktadır (2, 14).

Vücudumuzda kan glukoz seviyesini dengeleyen en önemli hormon pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonudur (15). DM, salgı bezinin yeterli miktarda insülin üretememesi ya da ürettiği insülin hormonunun etkili bir şekilde kullanılamaması nedeniyle ortaya çıkar ve ömür boyu süren bir hastalık haline dönüşür (16).

Diabetes mellitus uzun süre kontrol edilmediğinde çoklu organ hasarına yol açan bir hastalıktır (17). Diabetes mellitusun oluşturduğu komplikasyonlar; ölüm oranını artıran diabetik ketoasidoz, hiperglisemi ve hipoglisemi koması, metabolik komplikasyonlar ve kronikleşmiş hiperglisemik durumun neden olduğu damar hasarlarından oluşmaktadır. Damar komplikasyonlarında mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlara neden olmaktadır. Bunlar; göz, ürogenital sistem, sinir sistemi, yine miyokardiyal enfarktüsle sonuçlanan kardiyovasküler hastalıklar, inme ile sonuçlanan serebrovasküler hastalıklar ve Pulmoner Arteriye Hipertansiyon (PAH) gibi hastalık gruplarına yol açmaktadır (18). Aynı zamanda DM ateroskleroz, miyokard disfonksiyonu, depresyon, seksüel fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır (19-21).

Diyabetes mellitus, İnsülin eksikliğine bağlı olan Tip 1 diabet, hücre reseptör defektine bağlı olarak ortaya çıkan Tip 2 diabet ve ilk kez gebelikte başlayıp ilk kez gebelikte tanı alan ve doğumdan sonra kaybolan gestasyonel diabetes mellitus olarak sınıflandırılabilir.

2.1.1. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 diabetes mellitus, insüline bağımlı olmayan diabet tipidir (22). Yaşın ilerlemesiyle görülme sıklığı artan, diabet belirtilerinin az görüldüğü, kronik komplikasyonların daha sık görüldüğü DM tipidir. Tip 2 DM'nin temelinde insülin direnci ve insülin salgılanmasında bozukluk vardır (23). Bu kişilerde insülin vücutta üretilir ancak üretilen insülin hedef dokularda etkili olarak kullanılamaz (24). Tip 2 diyabetli hastaların büyük bir bölümü obezite problemi yaşamaktadır. Hiperglisemi kademe kademe artar ve hastalığın başlangıcında ki belirtilerin şiddetli olmaması nedeniyle hastalar uzun yıllar tanı almayabilirler. Bu nedenle Tip 2 diyabetliler tanı anında makrovasküler ve mikrovasküler patolojilerin ve hastalıkların gelişmesi açısından risk altındadırlar (25). Tip 2 DM, çevresel ve genetik faktörler, toplumun modernleşmesi ile beraber değişen yaşam biçimi ve obezite gibi faktörlerin bir araya gelmesi ile oluşur (26). Yapılan bazı araştırmalarla insülin direncinin oluşumunda, çeşitli kademelerdeki fonksiyonları yöneten gen hatalarının tip 2 diyabet gelişiminde rol oynadığı kanıtlanmıştır (27).

Tip 2 DM'lilerde insülinin etkilerine karşı periferik dokularda insülin direnci meydana gelir. Tip 2 diabette beta hücreleri kan şekeri düzeyine yanıt veremez ve glukozu karşı insülinin yanıtında bir bozukluk bulunur. Bazı tip 2 diyabetlilerde glukokinaz enziminin eksik olmasının bu duruma neden olduğu belirlenmiştir (28).

Eğer karaciğerden glukoz üretimi artmışsa bu durum insülin eksikliğinden, glukagon fazlalığından veya insülinin etkisini gösterememesinden kaynaklanır bunun sonucunda açlık hiperglisemisi ortaya çıkar (29).

Tip 2 DM oluşumunda bir takım risk faktörleri yer almaktadır: Yaş ilerlemesiyle tip 2 DM'nin görülme sıklığının artması, monozigot ikizlerde %90 oranında birlikte görülmesi nedeniyle genetik faktörlerin tip 2 DM'de büyük ölçüde rol oynadığını göstermektedir, birinci derece akrabalarda diabet bulunması diabet gelişme riskini 2-6 kat artırır. Yine Tip 2 DM'nin HLA grupları ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda obezite, Tip 2 diabet gelişiminde görev alan önemli risk faktörlerinden biridir (30-32). Bozulmuş açlık glukozu (IFG) ve bozulmuş glukoz toleransı (IGT)'nin tip 2 DM ortaya çıkmadan önce görüldüğü belirlenmiştir. IGT varlığı diabet gelişme riskini 5-8 kat arttırmaktadır ve her yıl bu bireylerin %1-9'unda tip 2 DM görülmektedir (33). IFG içinde benzer durum söz konusudur. IFG mikro ve makrovasküler hastalıkların başladığı dönemdir. Genellikle orta ya da ileri yaş hastalığı olarak kabul edilmektedir ancak son zamanlarda daha genç yaşlarda da tip 2 DM vakaları görülmektedir (34).

2.2. GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS

GDM, ilk kez gebelik sırasında başlayan veya ilk kez gebelikte farkına varılan karbonhidrat intoleransıdır (35). Gebelikten önce bilinen diyabeti olanlar bu tanım içerisine girmezler (36). GDM olgularının büyük bir kısmında glukoz tolerans bozukluğu gebelik esnasında başlamaktadır. Hastaların az bir kısmında ise daha önceden fark edilmemiş tip 2 diyabet bulunmaktadır (3). Glukoz intoleransı olguların büyük çoğunluğunda doğum sonrası ortadan kaybolmaktadır. Gebelikte plasentadan salgılanan insülin karşıtı hormonlar nedeniyle hedef organlar da; karaciğer, kas ve yağ dokusunda insülin duyarlılığı azalmaktadır. Dolayısıyla hedef organlardaki insülin direnci gelişimine karşılık beta hücrelerinin yetersiz insülin salgısı hiperglisemiye neden olmaktadır (26). Normal gebelik sürecinde ortaya çıkan insülin duyarlılığındaki %60'lık düşüş, bu bireylerde GDM'ye yol açar (37).

GDM pek çok maternal ve fetal komplikasyonların artmasına neden olmaktadır. GDM'li annelerin çocuklarında uzun dönemde bozulmuş glukoz intoleransı, artmış obezite ve entelektüel kapasitede azalma gibi sağlık sorunları ortaya çıkmakta ve toplum sağlığını büyük oranda etkilemektedir(1). Bu nedenle, gebelik sırasında diyabet, yalnızca annelerde diyabet riski ile değil, aynı zamanda çocuklarında şeker hastalığının gelişmesine yol açabilecek metabolik değişikliklerle de ilişkilidir (38). Yapılan bir araştırmaya göre doğumdan sonra diyabetin kalıcı olma ihtimali %5 civarında olup 5 yıl içinde tip 2 diyabet gelişme riskinin %50 olduğu bildirilmiştir (39).

2.2.1. GDM Prevalansı

GDM prevalansı tüm dünyada giderek artış göstermektedir. Prevalansın farklı popülasyonlarda %1-14 olduğu bildirilmiştir (40). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'inde GDM prevalansı % 6-7 civarındadır (41). ABD'deki gebeliklerin %4'ünün GDM nedeniyle komplike olduğu tahmin edilmektedir. Yaygınlığı ırk ve etnik köken arasında önemli farklılıklar göstermekle beraber günümüzde sıklığı giderek artmaktadır (26). GDM sıklığı ABD'de beyazlarda düşük iken, Afrika ve Güney Amerika kökenlilerde ve Yerlilerde ise daha yüksektir (42). Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışma (TURDEP I ve II)'larına göre, Türkiye'de diyabet prevalansında son 12 yılda %90 artış (%7,2→%13,7) olduğu belirlenmiştir. Bu durum aynı zamanda GDM prevalansındada artış olduğunu göstermektedir

(43). Prevalans oranları; o toplumda kullanılan tarama ve tanı testlerinin, tanısal kriterlerin ve o popülasyonun karakteristik özelliklerinin (ortalama yaş, hamile kadınlardaki vücut kitle indeksi gibi) farklı olması nedeniyle değişiklik göstermektedir. Yalnız annenin yaşının ve obezitesinin artması nedeniyle GDM prevalansı da zamanla artmaktadır (44). Yirmi beş yaş üzeri gebelerde GDM sıklığı, 25 yaş altı gebelere göre 8-10 kat daha fazladır (45). Dünya çapındaki diyabet hastalarının % 90-95'ini tip 2 diyabetliler oluşturmaktadır. GDM prevalansının toplumdaki tip 2 diyabet prevalansı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (1). Gebelikten sonra GDM geçiren kadınlarda tip 2 DM gelişme riski %17-63 arasında değişmektedir. Nüfusa bağlı olarak gebelik sonrası 5-16 yıl içinde bu risk faktörleri artmaktadır (41).

GDM'nin daha sonraki gebeliklerde % 45'lik bir oranla tekrarlayabileceği bildirilmiştir (46). GDM'li kadınlarda ilerleyen yıllarda tip 2 DM, IFG, IGT ve lipid metabolizma bozuklukları gelişebilir. Bu nedenle Doğumdan sonra 6 ay içinde oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılarak glukoz metabolizmasının kontrol edilmesi gerekir. GDM, tip 2 DM için yatkınlık oluşturmaktadır (47-49).

2.2.2. Gestasyonel Diyabet Görülme Riskini Arttıran Faktörler

İnsülin direncinden sorumlu olan human plasental laktojen (HPL), progesteron, kortizon, ve prolaktin hormonları gebeliğin diabete olan eğilimini arttırmırlar. HPL miktarının artması ile kandaki trigliserit, serbest yağ asitleri, HDL, VLDL, lipoproteinler ve serbest kortizon miktarları artarak hiperglisemiye katkıda bulunurlar (50). GDM gelişme riskini arttıran çok sayıda faktör olduğu bildirilmiştir. Bunlar; (51-53).

- 1. derece akrabalarında DM olması
- İdeal vücut ağırlığının 110 kg`dan fazla olması
- Gebelik yaşının 25`den büyük olması
- 40 yaşın üstündeki kadınlarda GDM'nin ortaya çıkma sıklığı, 20-24 yaş grubundaki kadınlara göre yaklaşık 10 kat daha yüksektir
- Önceki gebeliklerde bozulmuş glukoz toleransı ya da GDM öyküsü olması
- Daha önce 4,1 kg`ın üstünde veya 2,7 kg`ım altında bebek doğurmak
- İlk prenatal vizitte glukozüri görülmesi

- Polikistik over sendromu görülmesi
- Obezite
- Tip 2 diyabet gelişim riskinin yüksek olduğu bir etnik gruba dahil olmak

2.2.3. Gebelikte Glukoz Metabolizması

GDM'nin patofizyolojisine, insülin direncinin neden olduğu belirlenmiştir. Gebeliğin ilk aylarında annenin depoladığı protein, glikojen ve yağ dokusu fetusun ihtiyaçları için kullanılmaktadır. Bu dönemde glukozun kullanımı arttığı için annenin kan glukoz düzeyi düşüktür. Bu aylarda insülin duyarlılığı artar ve hipoglisemiye eğilim gelişir. Gebelikte ilerleyen aylarda glukoz ve proteinlerin fetusa saklanması sağlanır. Plasentadan salgılanan HPL, progesteron, kortizon gibi bazı hormonlar insülin direncini ve gebeliğin diyabete olan eğilimini artırırlar. (54,55).

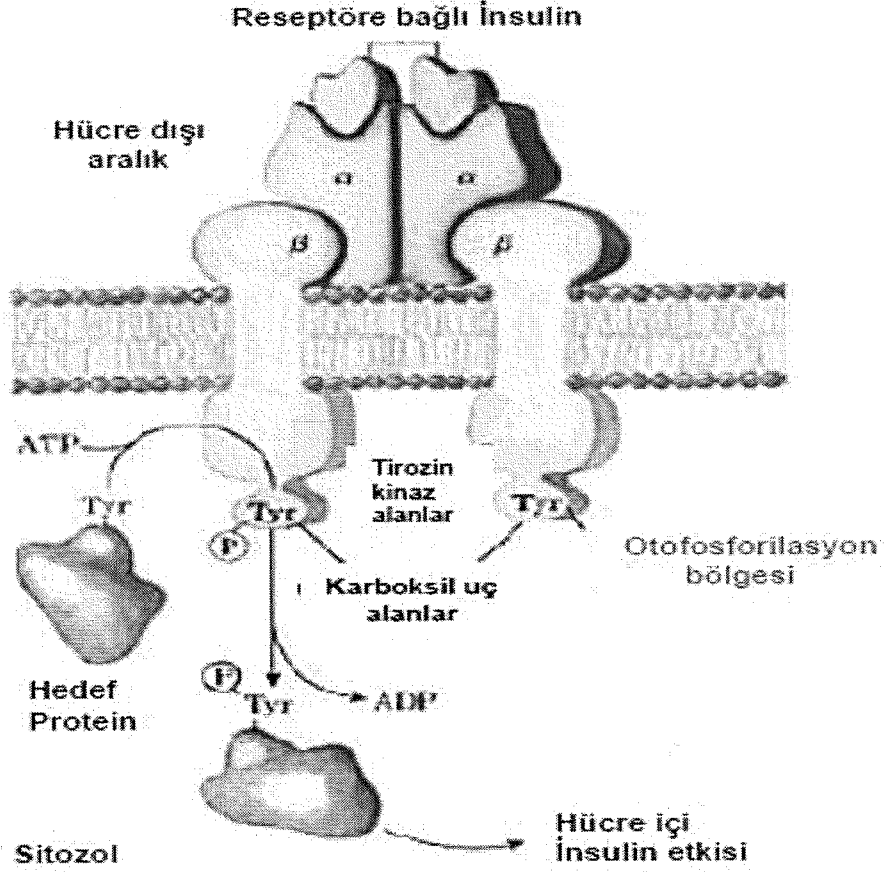
Normal gebeliklerde son üç ayda insülin duyarlılığında belirgin bir azalma olduğu görülmüştür (56). İnsülin direnci GDM'li gebelerde beta hücre fonksiyonunun bozulmasına neden olarak insülinin, glukozun kullanımını uyarmasına bir direnç oluşturur. Böylece hiperglisemi ile seyreden GDM tablosu gelişir (57). GDM, normal glukoz dengesinin sağlanmasında doku gereksinimlerini karşılayacak insülin salgısının dengelenememesinden kaynaklanır. Gebeliğin son aylarında insülin ihtiyacı giderek artmakta ve dokularda giderek artan bir insüline duyarsızlık gelişmektedir (56). Bunun en belirgin nedeni de insülin direncinin beta hücre fonksiyonunu bozmasıdır. Doğum sonrası oluşan insülin direnci azalır fakat normal bireylere göre yinede yüksek çıkar (22).

2.2.4. İnsülin Glukoz Metabolizması

İnsülin, pankreas bezinin langerhans adacıklarından salgılanan ve dokuların yakıt kullanımını koordine eden en önemli hormondur. İnsülin'in hücreler üzerindeki etkisi reseptör üzerinden olur ve bu reseptörler glikoprotein yapıdadır (58).

Hücre başına düşen reseptör sayısı açlıkta artarken, obezitede azalır. İnsülin miktarının artması reseptör sayısını azaltırken, azalması ise reseptörün sayısını ve ilgisini artırır (4). İnsülin reseptörü, glikozile edilmiş α ve β alt birimlerinden oluşup tirozin kinaz reseptör

ailesinin bir üyesidir. Bu alt birimler disülfid bağlarıyla bağlanarak bir tetramer içine yerleştirilir. Her bir β alt biriminde ki bir hidrofobik alan, plazma zarını kapsar. Beta alt birim, hücrenin dışında, transmembran bölgede ve hücre içi kısmında bulunmaktadır. Alfa alt birimi, ekstraselüler alanda insülin bağlanma bölgesidir. Beta alt biriminin sitozolik alanı, insülin tarafından aktive edilen bir tirozin kinazdır (Şekil 1) (59, 60).

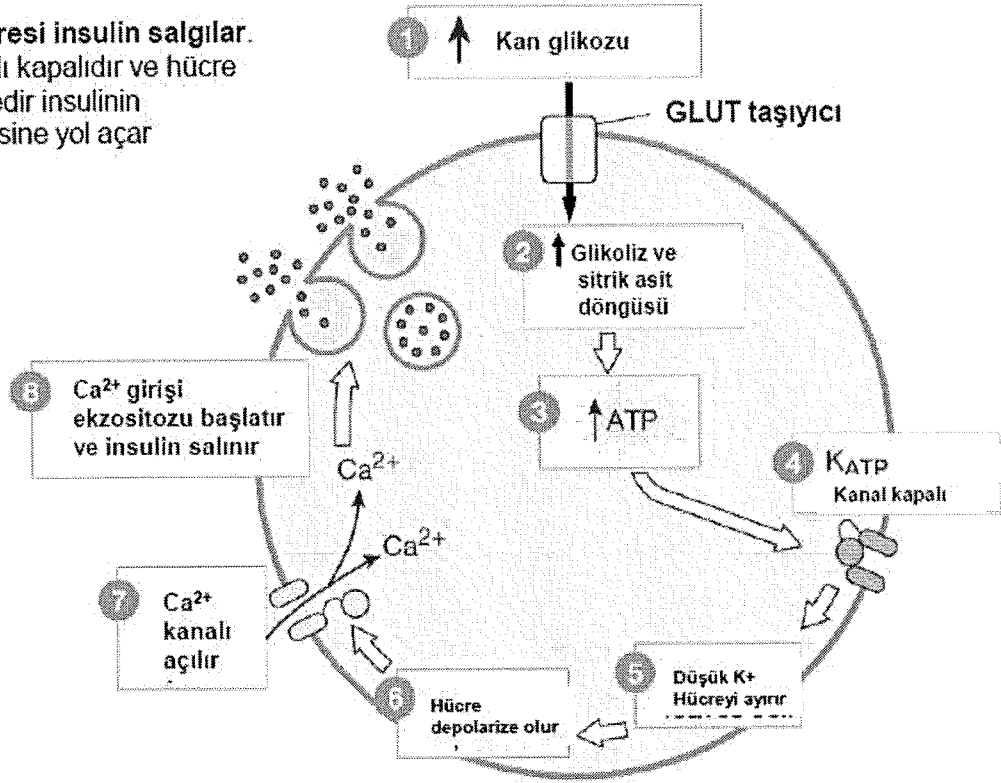


Şekil 1. İnsülin reseptör tirozin kinaz yapısı ve aktivasyonu

İnsülin salınımı, iki aşamada gerçekleşir birincisi; kandaki glukoz düzeyinin artmasıyla beta hücrelerindeki depo insülinin salgılanması, ikincisi; uyarı devam ettikçe aktif insülin sentezi ile gecikmiş ve uzamış salınım. İnsülin sentezi ve salınımındaki en önemli uyarıcı glukoz molekülüdür. İnsülinin salınabilmesi için ortamda ATP olması gerekir GLUT-2 (glukoz transporter II) aracılığıyla beta hücreleri içine giren glukoz glukokinaz enzimi ile yıkılır ve dolayısıyla hücre içinde ATP düzeyi artar. Bu durum ATP-bağımlı K^+ kanallarını kapatarak depolarizasyona neden olur. Depolarizasyon membrandaki voltaj-bağımlı Ca

kanallarını açarak, hücre dışından hücre içine giren Ca^{++} aracılığıyla insülin salgılanmasını artırır (Şekil 2) (61).

Beta hücresi insülin salgılar.
 K_{ATP} kanalı kapalıdır ve hücre depolarizedir insülinin ekzositozisine yol açar



Şekil 2. β -hücrelerince insülin salınımının hücre içi mekanizması

İnsülin, karaciğer, kas ve yağ dahil çoğu dokunun hücre zarı içindeki spesifik, yüksek affiniteli reseptörlere bağlanır (59). Bu biyolojik eylemler sonucunda fosforilasyon-defosforilasyon şeklinde bir dizi reaksiyon gerçekleşir; İnsülinin reseptöre bağlanmasıyla beta alt birimi fosforillenir ve hemen ardından tirozin kinaz aktive edilir. Aktifleşen tirozin kinaz iskelet kasında görev alan IRS-1 ve karaciğerde görev alan IRS-2 gibi ilgili hücre içi proteinleri fosforile ederek aktifleştirir. IRS proteinleri de intrasellüler bir enzim olan PI3K (fosfoinositol-3-kinaz) ya bağlanır. PI3K'nın aktive olmasıyla (62,63), hücre içi havuzdan hücre membranına glukoz taşıyıcılarının alınımını teşvik eder. Glukoz taşıyıcıları insülin aracılığı ile glukozun hücreden geçişini sağlar. İnsülin seviyesi düştüğünde, glukoz taşıyıcıları veziküler endozom adı verilen organel oluşturarak hücre membranından hücre içi depolama alanına geçerek burada bir sonraki görev için beklerler (59.).

2.2.5. İnsülin Direnci

İnsülin direnci, beta hücreleri tarafından salgılanan insüline biyolojik yanıtta bozukluk olarak tanımlanır (64). Normalde insüline cevap veren hedef dokularda insülin sinyal yolunun yetersiz kalması olarak açıklanabilir. İnsülin direnci, doğal yollarla gelişebilir, insülin tedavisi sırasında anti-insülin antikorlarının oluşması ve insüline duyarlılığın azalması sonucu da gelişebilir (4).

İnsülin direnci hücrel olarak prereseptör, reseptör ve postreseptör olmak üzere üç mekanizma ile gerçekleşebilir. (65).

Prereseptör düzeyde insülin direncinde insülin geni yapısında meydana gelen mutasyonlar nedeniyle defektif insülin molekülleri oluşur. Yine proinsülin molekülünün yapısında meydana gelen anomali nedeniyle proinsülin insülene tam olarak dönüşemez. Bu etkenler insülin direncine yol açar. Kortizol, büyüme hormonu gibi hormonlar ile serbest yağ asitleri, anti insülin antikorları gibi hormonal olmayan karşıt etkili maddelerde insülin direncine neden olurlar. Reseptör düzeyinde ya reseptör sayısında azalma ya da reseptörde mutasyon görülmesi sonucunda yine insülin direnci meydana gelir.

Postreseptör düzeyinde İnsülin reseptörünün tirozin kinaz aktivitesi, glukoz iletiminde ve fosforilasyonunda azalma, insülin reseptör sinyal yolunda bozukluk insülin direncine neden olmaktadır (66). İnsülinin insülin reseptörü ile birleşmesi sırasındaki basamaklarda bir bozukluk meydana gelmesi halinde vücut insüline anormal yanıt vererek, karaciğer, kas ve yağ dokusunda direnç oluşumuna neden olur. Bu durum hepatik glukoz üretimi arttırırken kas ve yağ dokusunda glukozun hücre içine alımı azalacaktır (67).

2.2.6. Gestasyonel Diabetes Mellitus Taraması ve Tanı Kriterleri

Gebe bireylerde GDM taraması ve tanı kriterleri ile ilgili çok sayıda farklı görüşler bulunmaktadır. Ülkemizde GDM taramalarında, American Diabetes Association (ADA) kriterlerinin uygulanmasının daha doğru sonuçlar vereceği, diğer kriterlerin uygulanması halinde GDM insidansının yükseldiği bildirilmiştir. ADA iki aşamalı tarama testini önermektedir. Bu kriterlere göre GDM taramasında herhangi bir zaman aralığında, gebeye (aç

veya tok halde verilebilir) 50 gr glukoz içirilir. Eğer açlık kan şekeri 140 mg/dL`den yüksek çıkarsa 100 mg`lık OGTT testine geçilir. Bu testte AKŞ <95, 1. saat PG <180, 2. saat PG <155 mg/dl, 3. Saat PG <140 mg/dl olmalıdır. Bu değerlerden iki tanesinin sınır değerini üzerinde olması halinde GDM tanısı konmaktadır (68,69,70).

ADA, önceleri yukarıda açıklanan iki aşamalı tarama testini savunurken, 2010 yılından itibaren Uluslararası Diyabetik Gebelik Çalışma Grupları Birliği (IADPSG) kriterlerinin uygulanmasını önermektedir. Bu kriterlere göre gebe bireye aç halde iken 75 g glukoz ile yapılan 2 saatlik OGTT testinde, AKŞ <92 mg/dl, 1.saat PG <180 mg/dl, 2.saat PG <153 mg/dl olmalıdır ve bu değerlerden bir tanesinin sınır değerini üzerinde olması halinde GDM tanısı konmaktadır (Tablo 1) (68-71).

Tablo 1. Gestasyonel Diyabet İçin Tanı Kriterleri

American Diabetes Association (ADA Kriterleri)	AKŞ	1. saat PG	2. saat PG	3. saat PG
100 gr Glukoz ile OGTT (En az 2 değerin pozitif olması halinde tanı konulur)	≤ 95	≤ 180	≤ 155	≤ 140
75 gr Glukoz ile OGTT (En az 1 değerin pozitif olması halinde tanı konulur)	≤ 92	≤ 180	≤ 153	—

GDM taraması gebeliğin 24-28. haftaları arasında, daha önce GDM tanısı almamış ve herhangi bir risk grubunda olmayan bireylere uygulanması önerilmektedir. Yüksek riskli gebelerde ise görüldükleri ilk ziyaret sırasında tarama yapmanın uygun olduğu belirtilmiştir (35).

2.2.7. Gestasyonel Diabetes Mellitusun Genetiği

GDM'nin genetik yapısı tam olarak bilinmemekle beraber GDM'li bireylerin ilerleyen dönemlerde tip 2 DM'ye yakalanma riskinin bulunması ve tip 2 DM aile öyküsü olan bireylerde de GDM gelişme riskinin yüksek olması her iki hastalığın aynı genetik zemine sahip olabileceğini göstermektedir (5). GDM'li bireylerin annelerinde tip 2 DM prevalansının babalarına göre yüksek olduğu ve aynı zamanda anne-büyükanne soyağacında tip 2 DM prevalansının da baba-dede soyağacına göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (72). Danimarkalı ikizler arasında yapılan bir çalışmada insülin salınımında ki bozulma % 75'ten fazla ve insülin duyarlılığı %53 oranında bulunmuştur. Bu durum GDM'nin genetik zemini olabileceğini göstermektedir (73). Tek başına aile öyküsü bile gestasyonel diyabet için önemli bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Ebeveynlerinde diyabet öyküsü olan bireylerle diabet öyküsü olmayan bireyler kıyaslandığında, sadece bir ebeveyni diyabetli olanların gestasyonel diyabet riskinin 2.3 kat arttığı aynı zaman da diyabetik bir kardeşe sahip olan kadınların 8.4 kat yüksek GDM riski taşıdığı belirlenmiştir (74,75). GDM tanısı konmuş 100 kadın üzerinde yapılan bir araştırmaya göre kadınlar doğumdan sonra 11. yılda tekrar incelenmiş ve % 60'ında tip 2 DM ya da IGT olduğu belirlenmiştir. Bu kadınların ebeveynleri de incelenmiş ve büyük bir bölümünde tip 2 DM ya da IGT saptanmamış olması, poligenik kalıtımın ya da çevresel faktörlerin otozomal dominant kalıttan daha fazla etkili olduğunu düşündürmektedir. GDM ile ilişkili genetik polimorfizmlerin belirlenmesinde GDM'nin patogenezinde etkili olduğu tahmin edilen aday genlerdeki genotip varyasyon çalışmaları kullanılmıştır. Aday gen çalışmalarının önemli bir sınırlaması, genom çapında ilişkilendirme çalışmalarından (GWAS; genome-wide association studies) farklı olarak çalışılacak genlerin seçiminde yönlendirilmiş bir yaklaşımın kullanılmasıdır. GWAS çalışmaları bu kısıtlamalara rağmen hastalık yolları hakkında yeni bilgiler vermekte ve karmaşık genetik mimarinin incelenmesine olanak sağlamaktadır (76,77). GDM ile ilgili önceki çalışmalar çoğunlukla başlangıçta biyolojik olarak makul olan genlere dayalı ve daha sonra tip 2 DM ile ilişkisi kanıtlanan genlere dayalı aday gen analizlerine odaklanmıştır. Bu çalışmaların çoğu az sayıda katılımcı üzerinde gerçekleştirildiğinden sonuçlar birbirleriyle çelişmektedir. Yakın zamanda, yapılan çalışmaların birçoğunu içeren iki farklı meta-analiz gerçekleştirilmiştir (78,79). Bunlardan birinde; 29 çalışmadan elde edilen sonuçları içeren 10 gen içerisindeki 12 SNP'nin ilişkisi incelenirken, diğerinde 22 çalışmada sekiz gende rapor edilen 9 SNP incelenmiş olup bu iki meta-analizdeki on altı çalışmanın ortak olduğu görülmektedir. Bu iki meta analizde de

6 genin varyantları ile GDM arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Her meta analizde diğerinden farklı olarak ek bir gen daha belirlenmiş olup GDM ile ilişki gösteren bu 8 gen;TCF7L2, GCK, KCNJ11, KCNQ1, CDKAL1, IGF2BP2, MTNR1B ve IRS1 genleridir. Bu gen lokuslarının tümü aynı zamanda TİP 2 DM riski ile de ilişkilidir. GCK, KCNJ11, KCNQ1, MTNR1B, IGF2BP2, CDKAL1 ve TCF7L2'nin de dahil olduğu bu genlerin çoğunluğu, beta hücre fonksiyonu veya gelişimi için önemli olan, proteinleri kodlamaktadır. Buna karşılık, insülin sinyalizasyonunda kritik rol oynayan, bir bağlanma/kenetlenme proteini olan IRS1'deki varyantlarda, insülin duyarlılığını etkilemektedir. Gebeliğe bağlı insülin direncinin altında yatan başka bir mekanizma ise inflamatuvar modülatör üretilmesidir. Bu bilgiye dayalı olarak, enflamatuvar yollarda yer alan önemli lokuslardaki genetik varyasyonlar ile GDM'nin ilişkisini inceleyen aday gen çalışmaları da gerçekleştirilmiştir. Avrupa ve Tayland kökenli HAPO katılımcıları ile yapılan bir çalışmada, enflamatuvar yolda yer alan RETN, IL8, ADIPOR8, LEPR, IL6 ve TNF- α gen varyantlarının GDM ile ilişkisi saptanmıştır. GDM'li Meksikalı gebe kadınlarla yapılan küçük bir çalışmada TNF- α 'nın promotor bölgesindeki bir polimorfizminin insülin direnci (HOMA-IR) ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir (Tablo 2) (78-86).

Tablo 2. GDM ile ilişkili aday genler

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

Yukarıda açıklanan çalışmaların yanı sıra, birçok az vaka sayısı kullanılarak yapılan ve tekrarlanmamış çalışmalarda da, GDM ile ilişkili olduğu bildirilen başka aday lokuslar bildirilmiştir (86).

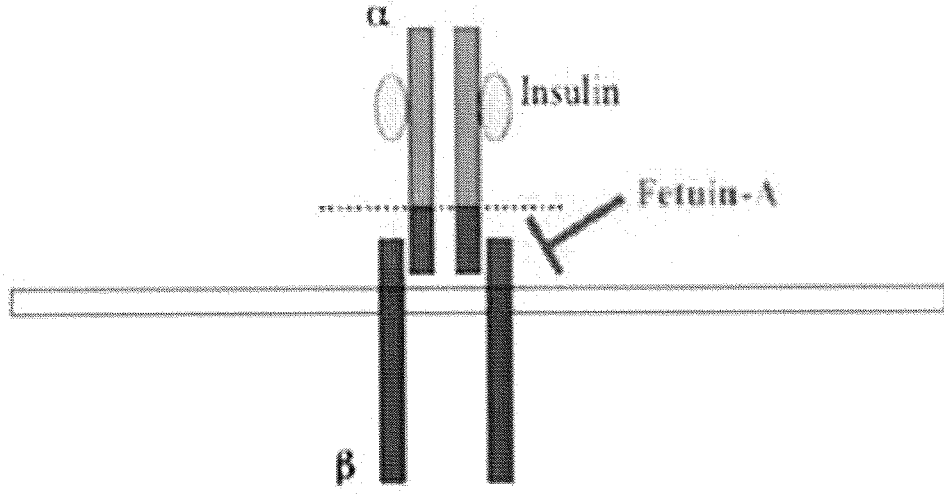
2.3. FETUİN-A (AHSĞ)

AHSĞ olarak da bilinen Fetuin-A ilk olarak 1944 yılında saptanmıştır (87). Molekül fetal dönemde birçok dokuda üretilirken erişkinlerde büyük oranda karaciğerde sentezlenir. Fetuin-A 59 kD ağırlığında protein yapısında bir molekül olup sistein proteaz inhibitörlerinin sistatin süper ailesinin bir üyesidir. Arka arkaya dizilen sistein, prolin ve glisin aminoasitlerinden oluşur (88). Fetuin-A'nın serum düzeyi, proinflamatuvar sitokinlerle (IL-1, IL-6 ve TNF- α ve C reaktif protein-CRP) ters ilişkilidir (89) Bundan dolayı bir negatif akut faz reaktanı olarak bilinir (90). Serum fetuin-A düzeyi ile adiponektin düzeyi arasında negatif korelasyon saptanmış olup (91), adiponektin mRNA'sının çoğalmasımı baskıladığı bildirilmiştir (92).

Diyaliz hastalarında fetuin-A'nın hem serum seviyesinde düşüklük hemde aktivitesinde azalma olduğu saptanmıştır. Bu da diyaliz hastalarında düşük fetuin- A düzeyi ile artmış vasküler kalsifikasyon ve inflamasyon arasında belirgin bir ilişki olduğunu göstermektedir. (93). Diyaliz hastalarında bu glikoprotein serum seviyesi ile tüm nedenli ölüm ve kardiyovasküler ölüm oranları arasında ters yönlü ilişki olduğu belirlenmiştir (94). Yapılan başka bir araştırmada prediyalitik dönemdeki diyabetik nefropatili hastalarda, serum fetuin-A düzeyi ile koroner arter kalsifikasyon düzeyleri arasında doğrudan bir ilişki olduğu gösterilmiştir (95).

Fetuin-A'nın hem invivo hem invitro ortamda, insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesini ve insülin reseptör otofosforilasyonunu inhibe ederek insülinin etki etmesini engellediği belirlenmiştir. Bu özellik fetuin-A'nın insülin direnciyle ilişkili olduğunu göstermektedir (8). Kas ve yağ dokusunda insülin reseptör tirozin kinaza tersinir olarak bağlanıp sinyal yollarını zayıflatarak bu dokularda insülin direncine neden olmaktadır (96).

İnsülin reseptör otofosforilasyonunun inhibe olması insülin sinyal yolunun önemli bir düzenleyicisi olan insülin reseptör substrat 1 (IRS-1)'in uyarılmasını engeller. IRS-1 proteini, ayrıca hücrelere glukoz depolanması ve taşınmasında, yağ ve protein metabolizmasında, hücrelerin farklılaşmasında önemli rol oynamaktadır (96). (Şekil 3) (97).



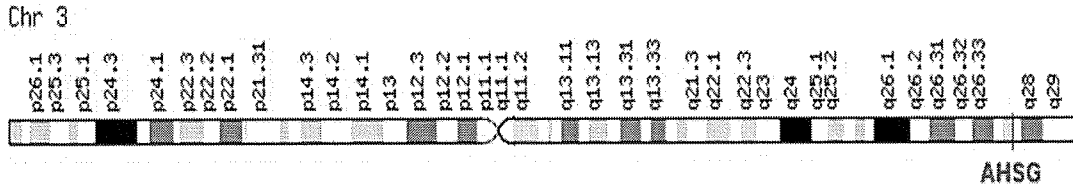
Şekil 3. Fetuin-A aracılığı ile insülin reseptörünün inhibisyonu

Fetuin-A'nın bulunmadığı farelerde insüline duyarlılığın arttığı ve diyetle indüklenen obezitenin düzeldiği gözlemlenmiştir (8). İnsanlarda yapılmış çalışmalarda; yüksek fetuin-A düzeyleri insülin rezistansı ile ilişkili bulunmuştur (98).

Yağlı karaciğerde fetuin-A yapımının arttığı durumda insüline duyarlı dokularda insülin etkisinin bozularak, insülin direnci ile beta hücre fonksiyonunun zayıfladığı ve tip2 diyabetin oluştuğu belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, yüksek serum fetuin-A düzeyinin diğer risk faktörlerinden bağımsız şekilde tip 2 diyabet gelişimi ile güçlü ilişkisinin olduğu gösterilmiştir (99).

2.4. AHSG Geni

Fetuin-A'yı kodlayan AHSG geni (HGNC:349), kromozom 3q27.3 üzerinde lokalize olan 8.40 kb uzunluğunda 7 ekzon ve 6 introndan oluşan bir genidir (100). Genin lokalize olduğu kromozom lokusunun tip2 diyabet ve metabolik sendrom ile ilişkili olduğu saptanmıştır (101).



Şekil 4. Fetuin-A proteinini kodlayan AHSG geninin kromozom 3 üzerindeki lokalizasyonu

Genomik yapı 7 ekzon ve 6 introndan oluşur (102). AHSG geni oldukça polimorfiktir ve üzerinde çeşitli tek nükleotit polimorfizmleri (SNP'ler) tespit edilmiştir. Fetuin-A serum seviyesinin, AHSG geni içindeki SNP'lerle korele olduğu tespit edilmiştir (104). AHSG geni üzerinde 1560 tane polimorfik bölge olduğu belirlenmiştir (105, 106).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Oluşturulması ve Periferik Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışmanın materyalini Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi (HÜTF) Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde gestasyonel diyabet tanısı almış gebeler ile benzer yaş ve gebelik haftası aralığındaki sağlıklı gebeler oluşturmuştur. Araştırmaya dahil edilen gebeler, HÜTF Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğinde izlenen ve OGTT taraması için HÜTF Hastanesi Endokrinoloji Polikliniğine yönlendirilen 24-30 haftalık gebe kadınlardı. Araştırmaya dahil edilen çalışmaya onay veren gebeler, OGTT sonucuna göre gestasyonel diyabeti olan 83 gebe ve 100 sağlıklı gebe olmak üzere iki gruba ayrıldı.

Çalışmaya Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik sayılı onayı alınarak başlandı.

3.2. Kullanılan Laboratuvar Araç-Gereç ve Kimyasalları

3.2.1. Kullanılan Araç-Gereçler

- Real-Time PCR (Rotor-Gene Q Series, Qiagen)
- Standart 36 Kuyucuklu Polipropilen Real Time PCR Plate
- Etüv (Nüve EN-500)
- 1,5 ml'lik Polipropilen Santrifüj Tüpleri (BD Falcon)
- Otoklav (Nüve OT 4060 V, OT 40 L)
- Vorteks (VELP)
- Mikropipet Seti (Eppendorf)
- Santrifüj (Nüve NF-800)
- Buzdolabı (Arçelik 8188 NF)

- Derin Dondurucu (SANYO, Biomedical Freezer)
- Hassas Terazî (AND)
- Pipet ucu - şeffaf - 200 ul --DNA & RNA free
- Pipet ucu - şeffaf - 1000 ul -- DNA & RNA free
- Pipet ucu - şeffaf - 10 ul -- DNA & RNA free
- Tüp - mikrosantrifüj - P.P - 1,5 ml - DNA & RNA free
- Eldiven nitril pudrasız
- qPCR tüpleri - düz kapaklı - 0,2 ml – steril

3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Absolute Etanol (Riedel-de Haen 32221)
- Proteinaz K (Invitrogen 46-7285)
- Steril distile su (Respiflo 21000)
- DNA izolasyon kiti (Invitrogen Pure Link Genomik DNA Mini Kit K1820-02)
- 2X TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, 4364340)
- 40X Pre-designed TaqMan Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Assays Mix (Applied Biosystems) (*rs4918*; C_1838758_10).
- 40X Pre-designed TaqMan Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Assays Mix (Applied Biosystems) (*rs2248690*; C_3259700_1_).

3.3. DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubuna ait bireylerin her birinden 2ml'lik kan örneği EDTA'lı tüplere alındı ve bu bireylerin 200 µl'lik periferik kanından İnvitrogen Pure Link Genomik DNA Mini Kit K1820-02 yöntemiyle DNA izolasyonu yapıldı (107).

3.3.1. İnvitrogen Pure Link Genomik DNA Mini Kit K1820-02 yöntemiyle DNA izolasyonu Protokolü:

1. Steril mikrosantrifüj tüplerine 200 µl taze veya dondurulmuş kan örneği konuldu.
2. Örneğe 20µl proteinaz K (Kit ile birlikte verilir) ve 20µl RNAase A (Kit ile birlikte verilir) eklendi. Vortekslenerek oda sıcaklığında 2dk inkübe edildi.
3. 200µl purelink genomik lizis tamponu ilave edildi ve tekrar vorteksleme yapıldı.
4. Örnekler 55°C`de 10 dakika etüvde inkübe edildi.
5. Etüvden alınan lizata 200 µl %96-100 etanol ilave edilip 5 sn ye vorteksleme yapıldı.
6. Örnekler mikrosantrifüj tüplerinden spin kolonun yerleştirildiği toplama tüplerine aktarıldı.
7. Tüpler santrifüj cihazına yerleştirilerek 10 000xg de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden çıkarılan toplama tüpleri atıldı ve kolon temiz tüplere yerleştirildi.
8. Etanol ile hazırlanmış 500 µl WB1 (Wash Buffer 1) eklendi ve kolon 10 000xg de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Çıkarılan toplama tüpleri atılarak kolon temiz tüplere yerleştirildi.
9. Etanol ile hazırlanmış 500 µl WB2 (Wash Buffer 2) eklendi. Kolonu 3 dakika boyunca maksimum (14 000xg de) santrifüj edildi ve toplama tüpleri atıldı.
10. Spin kolon steril 1.5 ml`lik ependorf tüplerine yerleştirildi. Kolona 200µl purelink genomik Elution buffer eklendi ve 1 dakika ünkübe etikten sonra 1 dakika boyunca 14 000xg de santrifüj edildi.
11. Santrifüj işleminden sonra kolon atıldı ve DNA`ların bulunduğu tüplerin kapakları kapatılarak -20°C`de saklandı.

3.4. İzole Edilen DNA Örneklerinin Real-Time PCR Yöntemiyle Analizi

Periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldıktan sonra hasta ve kontrol grupları üzerinde genotiplendirme çalışması yapıldı. Bu çalışmada fetuin A (Alpha-2-Heremans Schmid Glycoprotein, AHSG) genindeki 767C>G (rs4918) ve -843 A>T (rs2248690) polimorfizmleri “TaqMan Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Assays” primer ve problemleri kullanılarak Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyon (Real Time Polymerase Chain Reaction) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Tablo 3'te bu araştırma için uygulanan bağlanma sıcaklıkları ve süreleri verilmiştir.

Tablo 3. AHSG genine ait SNP'lerin Real-Time PCR protokolü

Sıcaklık(°C)	Süre	Döngü Sayısı
95°C'de	3 dakika	1
95°C'de	15 saniye denatürasyon	40
60°C'de	60 saniye bağlanma/uzama	

3.4.1. AHSB Geninde alışılan SNP'lerin zellikleri

Tablo 4. AHSB genine ait 767C>G polimorfizmi

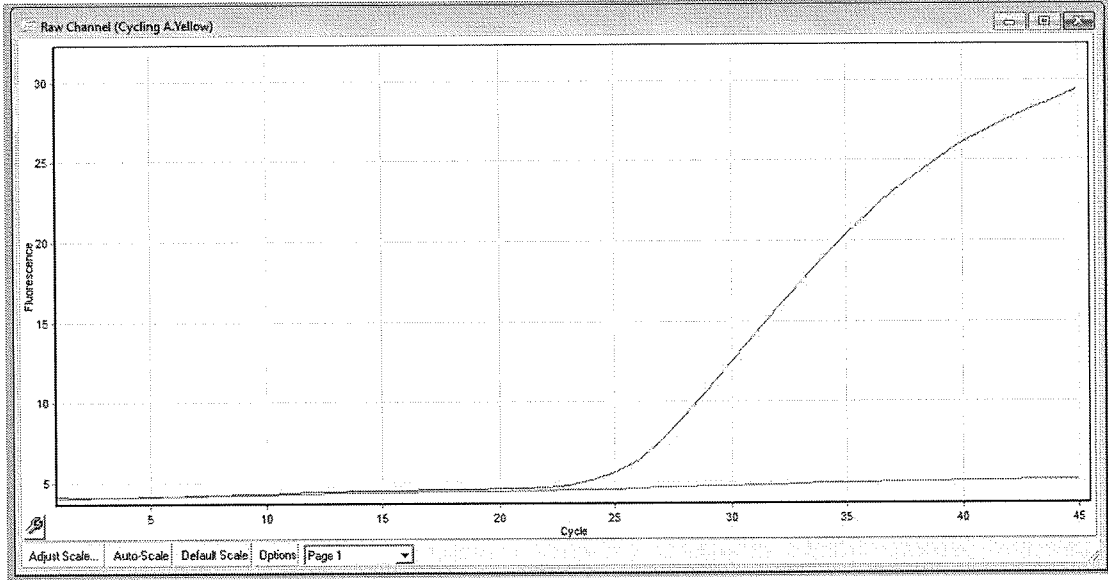
Genin Adı	Nükleotid Değişimi	SNP referans numarası
AHSB	Ekzon7 767 C>G	rs4918
Çoğaltılan Sekans	AAATGGTCCTTTTTCCAGCCCGTGA[C/G]CTCACAGCCCCAACCAGA AGGTGCC	
Çoğaltılan Bölge	ACAAAGACAATCCTAGTGAGGCCGGGGCCAACATAGGCCAGTCACC CCTCCTTGTAACCTTGATGACAATCCCTTGACTTGGGTAGGTCCTTT CTTGCTAGACTCTTTGCAAATAAAAATGTATAATGTGAGGAAATTGG GTGCCAGTGCCACCTGGGCCTGTGGGTTGTCTTGCCTGGGAGGAGGA AGCAAATAACTGAAGGAAATGGTCCTTTTTCCAGCCCGTGA[C/G]CTCACAGCCCCAACCAGAAGGTGCCAATGAAGCAGTCCCCACAC CCGTGGTGGACCCAGATGCACCTCCGTCCCCTCCACTTGGCGCACCT GGACTCCCTCCAGCTGGCTCACCCCAGACTCCCATGTGTTACTGGC AGCTCCTCCAGGACACCAGTTGCACCGGGCGCACTACGACCTGCGC C	

Tablo 5. AHSG genine ait -843 A>T polimorfizmi

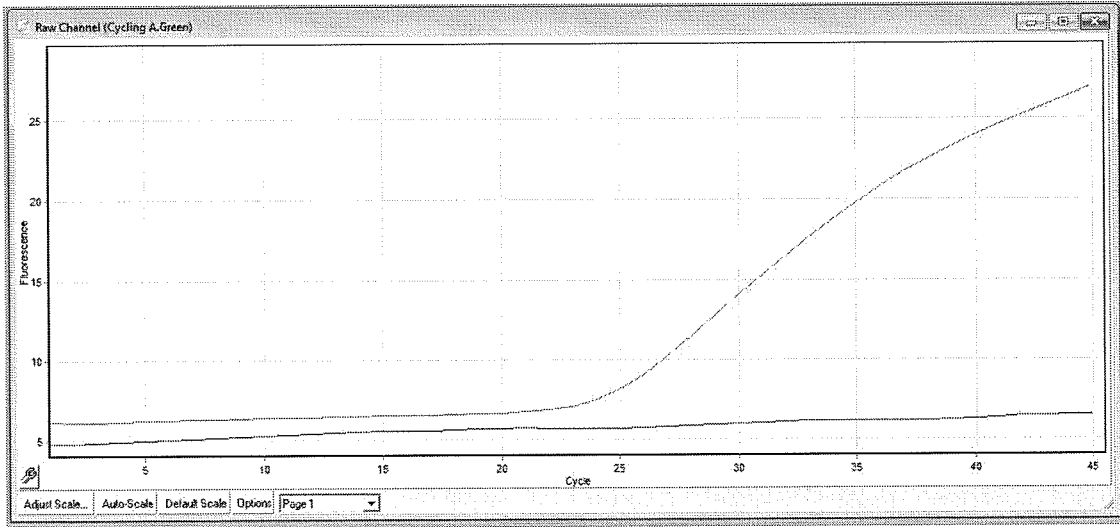
Genin Adı	Nükleotid Değişimi	SNP referans numarası
AHSG	5' UTR -843 A>T	rs2248690
Çoğaltılan Sekans	GACTCGAACCCAGAGCTGTGTCAAAA[A/T]GAGTCAGGACTCCCCTCTGCTGCCC	
Çoğaltılan Bölge	CAAGGGTCACTTAATAGGCAGTGCCTGGAGTCAACACTGGCCCTCTGTTCTGGCCAGAAAGACACACTGTAATTCTGCTGAGTCTGCAAAGAATGTTCAAGGGGTATTTGTGTCCGTAGCTGCTCGTGCAGCATCTCAGCCTGCGGTGTCAGACTCGAACCCAGAGCTGTGTCAAAA[A/T]GAGTCAGGACTCCCCTCTGCTGCCCTTGTGCACTGGCAGGGGCACTAGGTTACTAGTGCTAGGAGACTCTGGTCAGTGCCCATCTGTGCTGTCACATGCAGGGCCCTGGCAGTGAGGTCTGGAGAAGGAAGAGAAGGGGCAGGGAACCCACACGTTTTGCTGGTCATTTCCCACCGTGGTCCTGCCACGGGA	

3.5. Genotip Tayini

AHSG (*rs4918*, *rs2248690*) gen polimorfizmleri için 83 GDM'li hasta ve 100 normal hamilelik sürecindeki kontrol grubu içeren çalışmada, her bir birey için "Pre-designed TaqMan Single Nucleotide Polymorphism Genotyping Assays" sistemine göre Real Time-PCR yöntemiyle genotip tayini yapıldı. Bu gen polimorfizmlerine ait alleller uygun floresan boya ile işaretlenip elde edilen amplifikasyon eğrileri ile her bir örneğin genotipi tespit edildi. Kullanılan primer-prob setinde wild allel VIC (yellow) ile, polimorfik allel ise FAM (Green) ile işaretlenmiştir. Wild ve polimorfik allellere ait pozitif ve negatif örnekler Şekil 5 ve 6'da gösterilmiştir (Şekil 5, 6).



Şekil 5. Wild alleli belirleyici VIC (Yellow) probu ile işaretli, pozitif ve negatif pik örnekleri (sigmoidal eğri pozitif; yatay eğri negatiftir).



Şekil 6. Polimorfik alleli belirleyici FAM (Green) probu ile işaretli, pozitif ve negatif pik örnekleri (sigmoidal eğri pozitif; yatay eğri negatiftir).

3.6. İstatistiksel Analiz

Yapılan çalışmada GDM'li hastalar ve kontrollerdeki AHSB genpolimorfizmleri arasındaki ilişkinin belirlenmesinde, gruplar arasındaki ortalamaların karşılaştırılmasında Unpaired t test yapıldı. Allellerin genotiplere dağılımı ve bu dağılımın beklenen değerlerle uyumunun (Hardy-WeinbergEquilibrium) incelenmesinde Pearson ki-kare testi kullanılmıştır. Genotiplerin ve allelerin olası riskleri odds oranı hesaplanarak belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS v.11.5 paket programı ile yapılmıştır. İstatistik analizlerde %95 güven aralığında, $p < 0,05$ olduğunda sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir (108).

4. BULGULAR

Bu çalışma Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde gestasyonel diyabet tanısı konmuş 24-30 haftalık 83 gebe kadın ile benzer yaş ve gebelik haftası aralığında ki 100 sağlıklı gebe üzerinde yapılmıştır.

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaş Bakımından Değerlendirilmesi

Yaş bakımından değerlendirildiğinde hasta grubunun yaş ortalamasının 55,57(\pm 5,457), kontrol grubunun ise yaş ortalamasının 54,91 (\pm 5,5) olduğu görülmüştür. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir (tablo 6).

Tablo 6. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları

YAŞ	Sayı	Ortalama	Std. Sapma	P*
Hasta	100	27,18	5,64	0,28
Kontrol	83	28,08	5,73	

*Unpaired t test yapıldı

4.2. AHSB Genindeki Genotip Dağılımı ve Allel Frekansının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada *AHSB (fetuin A)* geni üzerinde yer alan iki polimorfizm hasta ve kontrol gruplarındaki genotip dağılımları ve allel frekansları bakımından incelenmiştir. Bu polimorfizmlerden birincisi AHSB geninin 7. ekzonunda yer alan 767C>G polimorfizmidir (rs4918). İkinci polimorfizm ise söz konusu genin promotor bölgesinde yer alan (5'UTR) - 843A>T polimorfizmidir (rs2248690).

4.2.1 AHSG geni 767C>G (rs4918) polimorfizmine ait genotip dağılımı ve allel frekansları

AHSG geni 767C>G polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki dağılımı Tablo 8'de verilmiştir. Buna göre GDM'li hasta grubunda homozigot CC genotipi 49 bireyde (%60), heterozigot CG genotipi 33 bireyde (%40) saptanmış olup, homozigot GG genotipi ise hiçbir bireyde görülmemiştir. Kontrol grubu genotipler açısından incelendiğinde; homozigot CC genotipi 65 bireyde (%65), heterozigot CG genotipi 33 bireyde (%33) ve homozigot GG genotipi ise 6 bireyde (%6) olarak tespit edilmiştir.

Tablo 7. AHSG geni 767C>G polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı

AHSG 767C>G	Patients n=82 (%)	Controls n=100 (%)	Chi- Square	P-value
Genotype				
CC	49 (% 60)	65 (% 65)		
CG	33 (% 40)	29 (% 29)	6,79	0.034
GG	0 (% 0)	6 (% 6)		

Tablo 7'den da anlaşılacağı gibi, kontrol grubuna göre homozigot sitozin genotipinin azaldığı, heterozigot sıklığının arttığı görülmekle birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,19$). Polimorfik homozigot guanin genotipinin ise hasta grubunda hiç görülmemiş olmasına karşın kontrol grubunda 6 bireyde (%6) saptanmış olması dikkat çekicidir. Yapılan istatistiksel değerlendirmede de hasta ve kontrol gruplarının homozigot sitozin ile homozigot guanin genotipleri arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,03$).

AHSG geni 767C>G polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları Tablo 8'de verilmiştir. Buna göre allel sıklığı bakımından oransal olarak sonuçlar incelendiğinde, hasta grubunda C allel frekansı % 80 ve G allel frekansı %20 iken, kontrol grubunda C allel frekansı %80 G allel frekansı %20 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları arasında allelik dağılım bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,92$).

Tablo 8. AHSG geni 767C>G polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları

AHSG 767C>G	Patients n=82 (%)	Controls n=100 (%)	Chi-Square	P-value
Allele				
C	131 (% 80)	159 (% 80)	0,01	0.92
G	33 (%20)	41 (% 20)		

4.2.2. AHSG geni -843A>T (rs2248690) polimorfizmine ait genotip dağılımı ve allel frekansları

AHSG geni -843A>T polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki dağılımı tablo 9'da verilmiştir. Buna göre GDM'li hasta grubunda homozigot AA genotipi 67 bireyde (%81), heterozigot AT genotipi 16 bireyde (%19) saptanmış olup, homozigot TT genotipi ise hiçbir bireyde görülmemiştir. Kontrol grubu genotipler açısından incelendiğinde; homozigot AA genotipi 81 bireyde (%81), heterozigot AT genotipi 15 bireyde (%15) ve homozigot TT genotipi ise 4 bireyde (%4) olarak tespit edilmiştir.

Tablo 9. AHSG geni -843 A>T polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımı

AHSG -843 A>T	Patients n=83 (%)	Controls n=100 (%)	Chi-Square	P-value
Genotype				
AA	67 (%81)	81 (%81)		
AT	16 (%19)	15 (% 15)	3,81	0,149
TT	0 (% 0)	4 (% 4)		

Pearson Chi-Square testi uygulandı.

Tablo 9'dan da anlaşılacağı gibi, kontrol grubuna göre homozigot timin genotipinin değişmediği, heterozigot sıklığının ise arttığı görülmekle birlikte bu fark istatistiksel olarak

anlamli bulunmamıştır (p=0,51). Polimorfik homozigot timin genotipinin ise hasta grubunda hiç görülmemiş olmasına karşın kontrol grubunda 4 bireyde saptanmış olması dikkat çekicidir. Ancak yapılan istatistiksel değerlendirmede hasta ve kontrol gruplarının homozigot adenin ile homozigot timin genotip dağılımları arasındaki fark anlamli bulunmamıştır (p=0,07). Çalışılan örnek hacminin genişletilmesi ile bu farkın netleşeceği kanaatindeyiz.

AHSG geni -843 A>T polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları Tablo 10'da verilmiştir. Buna göre allel sıklığı bakımından oransal olarak sonuçlar incelendiğinde, hasta grubunda A allel frekansı % 90 ve T allel frekansı %10 iken, kontrol grubunda A allel frekansı %88 T allel frekansı %12 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları arasında allelik dağılım bakımından istatistiksel olarak anlamli bir fark saptanmamıştır (p=0,92).

Tablo 10. AHSG geni -843 A>T polimorfizminin GDM'li hasta ve kontrol grubundaki allel frekansları

AHSG - 843 A>T	Patients n=83 (%)	Controls n=100 (%)	Chi- Square	P-value
Allele				
A	150 (% 90)	177 (%88)	0,33	0.56
T	16 (% 10)	23 (% 12)		

5. TARTIŞMA

Multifaktöriyel kalıtlı olan GDM, gebelik sırasında başlamış veya ilk defa gebelik sırasında fark edilmiş olan değişik şiddette hiperglisemi ile sonuçlanan glukoz tolerans bozukluğu olup, tip 2 DM gelişimi için yatkınlık oluşturmaktadır. GDM genellikle gebeliğin sonlanmasıyla kaybolur ve kandaki şeker düzeyi normal sınırlara düşer. GDM'li bireylerde yaşamın sonraki dönemlerinde tip 2 DM'ye yakalanma riskinin yükselmiş olması ve aynı şekilde tip 2 diabetli aile öyküsü olan bireylerde de GDM gelişme riskinin yüksek olması her iki hastalığın aynı genetik alt yapıya sahip olabileceğini akla getirmektedir. Burdan yola çıkılarak özellikle son yıllarda, multifaktöriyel kalıtlı olan tip DM'nin genetik temeli ile ilgili olarak yapılmış aday gen çalışmaları, GWAS çalışmaları ile ortaya konan genler ve risk varyantlarının GDM'nin gelişimi üzerinde etkileri, GDM gelişiminin altında yatan genetik mekanizmaların aydınlatılmasında araştırmaların odak noktasını oluşturmuştur.

Bir serum glikoproteini olan fetuin A, İnsülin direnci üzerinden tip 2 DM ile ilişkilendirilen moleküllerden birisidir. Fetuin-A obezite, karaciğer yağlanması, insülin direnci ve metabolik sendromla ilişkili olduğu düşünülen, memelilerde bolca bulunan bir proteindir (99, 109). Kandaki yüksek fetuin A düzeyinin diabetes mellitus, metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (110). Mathews ve arkadaşları fetuin-A'nın insülin ile stimüle olan insülin reseptör fosforilasyonunu engelleyerek insülin direncine neden olduğunu saptamışlardır (111).Yapılan hayvan çalışmalarında, fetuin-A'nın kas ve karaciğer dokusunda insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesini ve sinyal iletimini inhibe ederek insülin direncine neden olduğu saptanmıştır (112). Gebelikte insülin direncinin arttığı ve bu artışın gestasyonel diyabeti olan gebelerde daha belirgin olduğu bilinmektedir (113). GDM'nin de insülin direnci ile yakından ilişkili olması fetuin A'nın da GDM gelişimi üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Fetuin-A'nın GDM gelişimi üzerindeki etkisini inceleyen araştırma sayısı oldukça azdır. Kalabay ve arkadaşları "fetuin-A'nın GDM gelişimi ile ilişkisini inceledikleri bir çalışmada; ilerleyen gebelik haftalarında serum fetuin-A düzeyinin arttığını ve GDM'li gebelerde serum fetuin-A düzeyinin GDM olmayan iki gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğunu" saptamışlardır. Bununla birlikte, serum fetuin A düzeyi ile maternal insülin direnci

arasında anlamlı ve pozitif yönde bir ilişki olduğunu rapor etmişlerdir (10). İyidir ve arkadaşları 26 GDM'li ve 24 Sağlıklı gebe kadında yaptıkları araştırmada da serum fetuin A düzeyinin GDM'li kadınlarda arttığını saptamışlardır (114). Yaptığımız literatür taramasında fetuin A'yı kodlayan AHSG geni ile GDM gelişimini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Yukarıdaki verilerden yola çıkılarak bu çalışmamızda fetuin A'nın sentezinden sorumlu olan AHSG genindeki polimorfizmlerin GDM üzerinde etkisini araştırmayı amaçladık. AHSG geninde serum fetuin A düzeyi ve aktivitesi üzerinde etkili olan iki polimorfizmin GDM ile ilişkisini araştırdık. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, çalıştığımız iki polimorfizmden biri olan AHSG geni 767 C>G polimorfizminin GDM ile ilişkili olduğunu tespit ettik. Çalışmamızda polimorfik olan homozigot GG genotipi, 100 kişilik kontrol grubunda altı bireyde görülürken 83 bireyden GDM grubunda hiç saptanmamıştır. Bu sonuç istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Bir missense mutasyona yol açan 767 C>G polimorfizmi, sentezlenen proteinin 256. sırasındaki treonin amino asidini serine dönüştürmektedir. Bu durum proteinin aktivitesini etkilemektedir. Fetuin A'nın homozigot GG varyantının hasta grubunda hiç görülmemiş olması, bu mutant varyantın GDM gelişimine karşı koruyucu bir etkisinin olabileceği sonucunu doğurmuştur. Daha önce yapılmış çalışmalarda bu polimorfizmin serum fetuin A düzeyi ile ilişkili olduğu ve polimorfik GG varyantın serum fetuin A düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir (115,116). Temesszentandrasi ve ark. sağlıklı grupta, düşük TNF- α ve adiponektin ile yüksek leptin düzeylerinin rs4918 (767 C>G) minör varyantı ile ilişkili olduğunu, miyokart enfarktüsü hikayesi olan grupta ise olumlu obezite parametreleri ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (117). Lavebratt ve ark. zayıf yapılı İsveç erkeklerinde yüksek sıklıkta 767 G alleli saptamışlardır (118). Ancak iskemik inmede ise G allelinin risk artırıcı faktör olduğu bildirilmiştir (119). Sidding ve ark. Fransız toplumunda yaptıkları çalışmada AHSG genindeki sinonim rs1071592 polimorfizminin tip 2 diabetes ile ilişkili olduğunu ve çalıştığımız rs4918 (767 C>G) polimorfizminin de bu polimorfizm ile güçlü bağlantı dengesizliği oluşturduğunu saptamışlardır (120). Literatürde ilk defa çalışmamızda GDM'li hastalarda 767 C>G (rs4918) polimorfizmi ile ilgili elde ettiğimiz anlamlı sonuçlar, diabetik ve obez hasta populasyonları üzerinde yapılanlarla uyumlu görünmekte ve destekleyici bir veri sunmaktadır.

Çalışmamızda araştırdığımız ikinci polimorfik bölge ise AHSG geninin 5'UTR bölgesindeki -843 A>T (rs2248690) polimorfizmidir. Bu polimorfik bölge genin promotor

bölgesinde yer almaktadır. Kalabay ve ark. GDM'li hastalarda fetuin A düzeyinin arttığını, ve AHSg konsantrasyonu ile insülin direncinin indirek parametreleri arasında pozitif korelasyon olduğunu ileri sürmüşlerdir (10). Inoue M. Ve ark. AHSg geninin promotör bölgesindeki bu polimorfizmin; genin AP-1 transkripsiyon faktörü ile ilişkisini değiştirerek, genin transkripsiyonel aktivitesini etkilediğini bildirmişlerdir. (121). Lehtinen ve ark. (125) AHSg genindeki rs2248690 (-843 A>T) dahil bazı SNP'lerin, diyabetik hastalarda koroner arter kalsifiye plak derecesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (122). Majken K. ve ark. rs2248690 polimorfizminin fetuin A konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu, ancak tip 2 diabet ile ilişkili olmadığını ileri sürmüşlerdir (123). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, genin polimorfik varyantı olan homozigot TT genotipi, GDM'li hasta grubunda hiç görülmezken, kontrol grubunda 4 bireyde görülmüştür. Elde edilen bu sonuç anlamlı görülmeyle birlikte genel olarak 100 kontrol ve 83 hasta grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışma grubumuzdaki sözkonusu polimorfizmin allel frekansının düşük çıkması (0.11 ± 0.02), seçilen örnek hacminin bu polimorfizm için yeterli olmadığı sonucunu doğurmuştur. Power analizi ışığında örnek hacminin artırılması ile, sözkonusu polimorfizm ile ilgili daha güçlü istatistiksel sonuç alınabileceğini düşünüyoruz. Elde ettiğimiz sonuçları değerlendirdiğimizde, genin promotör bölgesinde yer alan bu polimorfizmin, GDM gelişimi üzerinde etkili olmadığı sonucunu doğurmuştur.

6. SONUÇ

Çalışma sonunda elde edilen bulgular, fetuin A geni 767 C>G polimorfizminin, GDM gelişiminde bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceği ve homozigot GG varyantının GDM' gelişimine karşı koruyucu bir etkisinin olabileceği sonucunu doğurmuştur. AHSB -843 A>T (rs2248690) polimorfizmindeki genotip dağılımının ise GDM ile ilişkili olmadığı saptanmıştır. Ancak bu polimorfizmdeki allel frekansının düşük çıkması nedeniyle örnek hacminin genişletilmesinin gerektiği sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

- 1- Sivrikoz T. S , Has R. , Perinatoloji BD, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye Klinikleri J GynecolObst-Special Topics 2015;8(3):38-49.
- 2- Dinçaç N. Diabetes Mellitus Tanı ve Tedavisinde Güncel Durum. İç hastalıkları Dergisi.2011; 18:181223.
- 3- Sönmez A, Kutlu M. Gestasyonel diyabet güncel tarama ve tanı yöntemleri. İçinde: Kutlu M, ed. Gestasyonel Diabetes Mellitus Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri J Endocrin 2010;3:1-5.
- 4- GANONG, W. F. (2002). Tıbbi Fizyoloji. 20. basım. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul.
- 5- Schäfer SA, Machicao F, Fritsche A, Häring HU, Kantartzis K. New type 2 diabetes risk genes providene winsights in insülin secretion mechanisms. Diabetes Res Clin Pract 2011;93:9-24.
- 6- Cell Signal. 2011 Jun;23(6):980-90. doi: 10.1016/j.cellsig.2010.11.003. Epub 2010 Nov 16. The "thrifty" gene encoding Ahsg/Fetuin-A meets the insulin receptor: Insights into the mechanism of insulin resistance. Goustin AS1, Abou-Samra AB.
- 7- Goustin AS1, Derar N, Abou-Samra AB. Cell Signal. 2013 Apr;25(4):981-8. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.12.011. Epub 2013 Jan 11. Ahsg-fetuin blocks the metabolic arm of insulin action through its interaction with the 95-kD β -subunit of the insulin receptor.
- 8- Mathews ST, Rakhade S, Zhou XH, et al. Fetuin-null mice are protected against obesity and insulin resistance associated with aging. Biochem Biophys Res Commun. 2006; 350: 437–443.
- 9- Kimy. Yerlikaya F. H, Mehmetoğlu İ, Fetuin A ve Fizyopatolojik Etkileri, Biyokimya AD, Konya Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Konya, Türkiye Klinikleri J Endocrin 2012;7(1):217.
- 10- Kalabay, L., et al., Correlation of maternal serum fetuin/alpha2-HS-glycoprotein concentration with maternal insulin resistance and anthropometric parameters of neonates in normal pregnancy and gestational diabetes. Eur J Endocrinol, 2002 Aug;147(2):243-8.
- 11- Stenvinkel P, Pecoits-Filho R, Lindholm B and DialGene C: Gene polymorphism association studies in dialysis: the nutrition-inflammation axis. Semin Dial 18: 322-330, 2005.
- 12- Inoue M, Takata H, Ikeda Y. A ve ark. promoter polymorphism of the a2-HS glycoprotein gene is associated with its transcriptional activity. 2007. Department of Endocrinology, Metabolism and Nephrology, Kochi Medical School, Kochi University, Kohasu, Oko-cho, Nankoku, Kochi 783-8505, Japan.
- 13- Marechal S, Schlieper G, Nguyen P ve ark. Serum Fetuin-A Levels Are Associated with Vascular Calcifications and Predict Cardiovascular Events in Renal Transplant Recipients. 2011. Article in Clinical Journal of the American Society of Nephrology.
- 14- Bozkuş Y, Diyabetin Etiyolojisi ve Tip 2 Diabetes Mellitus'un Patofizyolojisi, 2015.
- 15- L M T_erney, S J McPhee, M A Papadak_s (2002). Current medical Diagnosis & Treatment. International Edition. New York: Lange Medical Books/McGrawHill. s. 1203–1215. ISBN 0071376887.
- 16- N Engl J Med 356 (15): 1499-1501. DOI:10.1056/NEJMp078030 (<http://dx.doi.org/10.1056%2FNEJMp078030>). PMID17429082 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17429082>). <http://content.nejm.org/cgi/content/full/356/15/1499>.

- 17- Çobanoğlu Z. S. Ü, Altuntaş Y, Karamustafalıoğlu K. O, Şengül A, Çobanoğlu N, Tip 1 ve Tip 2 Diyabetes Mellitus Hastalarında Yeme Bozuklukları ve Bozulmuş Yeme Davranışı, Düşünen Adam; 2008, 21(1-4):24-31.
- 18- Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. *Physiological reviews*. 2013;93(1):137-88.
- 19- Nouwen A, Nefs G, Caramlau I, Connock M, Winkley K, Lloyd CE, et al. Prevalence of depression in individuals with impaired glucose metabolism or undiagnosed diabetes: a systematic review and meta-analysis of the European Depression in Diabetes (EDID) Research Consortium. *Diabetes care*. 2011;34(3):752-62).
- 20- Adeniyi AF, Adeleye JO, Adeniyi CY. Diabetes, sexual dysfunction and therapeutic exercise: a 20 year review. *Current diabetes reviews*. 2010;6(4):201-6.
- 21- Thorve VS, Kshirsagar AD, Vyawahare NS, Joshi VS, Ingale KG, Mohite RJ. Diabetes-induced erectile dysfunction: epidemiology, pathophysiology and management. *Journal of diabetes and its complications*. 2011;25(2):129-36.
- 22- Gündoğdu S, Açıbay Ö. Tip 2 diabetin evreleri ve takip kriterleri. *Aktüel Tıp Dergisi*. 1996. 8:557-559.
- 23- Özata M. ENDOKRİNOLOJİ Metabolizma ve Diyabet. İstanbul Tıp, 2. Baskı, 553-59, 2011.
- 24- American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 2005; 28: 37-42.
- 25- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2012 Jan;35 Suppl 1:S64-71.
- 26- Scheen A, Charpentier G, Östgren C.J et al. Efficacy and safety of saxagliptin in combination with metformin compared with sitagliptin in combination with metformin in adult patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2010. 26 (7):540–549.
- 27- Leahy JL. Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *Arch Med Res* 2005; 36: 197-209.
- 28- Ercan V. Tip 2 Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Eritrosit Sayısı, Hematokrit, Hemoglobin, Ortalama Eritrosit Hacmi, Ortalama Eritrosit Hemoglobin Değerlerinin Başlangıç Halinde (İncipient) Diyabetik Nefropati ile İlişkisi. 2006. Uzmanlık Tezi. İstanbul.
- 29- Öztürk H, Diabetes Mellitus'da Paraoksonaz Aktivitesi ve AOPP Düzeyleri, 2008, İstanbul, uzmanlık tezi.
- 30- Bennett PH, Rewers M, Knowler WC. Epidemiology of diabetes mellitus. Rifkin H (editör). *Textbook of Diabetes*, 5. Baskı, London Appleton Lange 1998; sayfa:373-400.
- 31- Satman I, Yılmaz MT, Bastar I, Şengül A, Sargın M, Salman F, Salman S, Karşıdağ K, Dinççağ N, Yıllar G, Tütüncü Y and TURDEP Group: Diabetes Epidemiology Study in Turkey: first step data results. *Diabetes* 1998; 47(suppl1):A384.
- 32- Pan XR, Li GW, Hu YH, Wang JX, Yang WY, An ZX, Hu ZX, Lin J, Zhong J, Cao HB, Liu PA, Jiang YY, Wang JP, Zheng H, Bennett PH, Howard BV. Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Care* 1997; 20:537-544.

- 33- N Engl J Med. Diabetes Prevention Program Research Group: Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin 2002; 346:393–403.
- 34- Zimmet P, Williams J, deCourten M. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. In: Wass JAM, Shalet SM; Gale E, Amiel S, eds. Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes. Oxford, Newyork, Oxford University Pres. 2002. 1635-46.
- 35- Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, de Leiva A, Dunger DB, Hadden DR, et al. Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on gestational diabetes mellitus. Diabetes Care 2007;30 (Suppl.2):S251-60.
- 36- Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on gestational Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 1998. 21, 161-7.
- 37- Öztürk F Y, Altuntaş Y, Gestasyonel Diabetes Mellitus, Ş.E.E.A.H. Tıp Bülteni 2015;49(1):1-10,DOI:10.5350/SEMB.20150317014238, Endokrinol ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği, İstanbul-Türkiye, Derleme.
- 38-Silverman BL, Rizzo TA, Cho NH, Metzger BE. Long-term effects of the Intrauterine environment. The Northwestern university diabetes inpregnancy center. Diabetes Care 1998;21(suppl 2):B142–B149
- 39- Zimmet P, Shaw J. A global problem: Diabetes, Ed: Kahn R et al. Joslin's diabetes mellitus, 14th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Boston Philadelphia. 2005. 525-529.
- 40- Engelgau MM, Herman WH, Smith PJ, German RR, Aubert RE. The epidemiology of diabetes and pregnancy in the U.S., 1988. Diabetes Care 1995;18:1029-33.
- 41- Lobner K, Knopff A, Baumgarten A, Mollenhauer U, et al. Predictors postpartum diabetes in women with gestational diabetes mellitus. Diabete 2006;55:792–797.
- 42- Centers for Disease Control, 1993. Prenatal care and pregnancies complicated by diabetes. US reporting areas, 1989. MMWR CDC Surveill Summ, 42, 119.
- 43- Satman I, TURDEP-II Group. 33. National Congress of Endocrinology. Antalya-Turkey,12-16 Oct 2011.
- 44- Getahun D, Nath C, Ananth CV, Chavez MR, Smulian JC. Gestational diabetes in the United States: temporal trends 1989 through 2004. Am J Obstet Gynecol, 2008; 198:
- 45- Marquette GP, Klein VR, Niebyl JR. Efficacy of screening for gestational diabetes. Am J Perinatol 1985;2:7-9.
- 46- Kwak SH, Kim HS, Choi SH, Lim S, Cho YM, Park KS, Jang HC, Kim MY, Cho NH, Metzger BE. Subsequent pregnancy after gestational diabetes mellitus: frequency and risk factors for recurrence in Korean women. Diabetes Care. 2008. 31, 1867-1871.
- 47- Kitzmiller JL, Dang-Kilduff L, Taslimi MM. Geastational diabetes after delivery. Short-term menagement and long-term risks. Diabetes Care. 2007. 30, 225-235.
- 48- Ratner RE, 2007. Prevention of type 2 diabetes in women with previous geastational diabetes. Diabetes Care, 30, 242-S245.
- 49- Bentley-Lewis R, Levkoff S, Stuebe A, Seely EW. GDM: postpartum oppurtunities for the diagnosis and prevention of type 2 diabetes mellitus. Nat Clin Pract Endocrinol Metab. 2008. 4, 552-8.

- 50- Herrera E, Lasuncion MA, Palacin M, Zorzano A, Bonet B. Inferred intermediary metabolism in pregnancy. First theme of the Freinkel era. *Diabetes* 1991;2:83-8.
- 51- Solomon CG, Willett WC, Carey VJ, Rich-Edwards J, Hunter DJ, Colditz GA, Stampfer MJ, Speizer FE, Spiegelman D, Manson JE. A prospective study of pregravid determinants of gestational diabetes mellitus. *JAMA* 1997. 278, 1078-83.
- 52- Egeland GM, Skjaerven R, Irgens LM. Birth characteristics of women who develop gestational diabetes: population based study. *BMJ*. 2000. 321, 545-7.
- 53- Yılmaz MT. Gestasyonel Diyabette Metabolik Değişiklikler ve Sağlık Yönetimi. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics*. 2010. 3, 54-8.
- 54- Moore TR. Diabetes in pregnancy. *Maternal and fetal medicine; Principles and Practice*. Creasy RK, Resnik R, Jay D. Iams Saunders 5th edition. 2004. 1023-57.
- 55- Saraç E G, Annelerinde gestasyonel diyabet tanısı olan yenidoğanların değerlendirilmeleri, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, Nisan 2015.
- 56- Catalano P. Longitudinal Changes in insulin release and insulin resistance in non-obese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*, 1991; 165: 1667.
- 57- Herrera E, Lasuncion MA, Palacin M, Zorzano A, Bonet B. Inferred intermediary metabolism in pregnancy. First theme of the Freinkel era. *Diabetes* 1991;2: 83-8.
- 58- http://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/1045/mod_resource/content/1/6.%20Pankreas%20fzyp.pdf.
- 59- Richard A. Harvey, Lippincotts Illustrated Reviews Biochemistry 5th edition.
- 60- <http://slideplayer.biz.tr/slide/3177716/hormon>.
- 61- <http://194.27.141.99/dosya-depo/ders-notlari/ahmet-gokhanakkan/Endokrin%20Pankreas%20Hormonlari.pdf>.
- 62- Kashyap SR ve Defronzo RA. The insulin resistance syndrome: physiological considerations. *Diabetes and Vascular Disease Research* 2007;4, 13-19.
- 63- Kido Y, Burks DJ, Withers D. et al. Tissue-specific insulin resistance in mice with mutations in the insulin receptor, IRS-1, and IRS-2. *J Clin Invest* 2000;105(2):199-205.
- 64- BUSE, J. B. POLANSKY, K. S, BURANT, C. F. (2003). *Williams Textbook of Endocrinology* 3. ediditon. (p. 1427-85). Sanders, NY USA.
- 65- Altuntaş Y. İnsülin direnci ve ölçüm metodları. Ed. Yenigün M, Her yönüyle diabetes mellitus. 2. Basım, Nobel tıp kitapevi, İstanbul, 2001, s.839-852.
- 66- Olefsky, J. M. The insulin receptor: its role in insulin resistance of obesity and diabetes. *Diabetes* 1976; 25:1154-1165.
- 67- Hollenbeck C, Reav GM. Variations in insulin stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1169-73.
- 68- Özüğüz U, Aydın Y, Berker D. Gestasyonel diyabet: Risk faktörleri, Tanı ve Tedavisi. 2017. *İç Hastalıkları Dergisi*; 17:71-79.

- 69- American Diabetes Association, 2004. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 27, 88-90.
- 70- Satman i, İmamoğlu S, Yılmaz C, Akalın S ve TEMD Diabetes Mellitus Çalışma Grubu, 2011. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve izlem Kılavuzu, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği-2011. 5. Baskı, Bayt Bilimsel Araştırmalar Basın, Yayın ve Tanıtım Ltd şti. Ankara, s. 15-30,152-158.
- 71- American Diabetes Association. Standarts of Medical Care in Diabetes, Position Statement. *Diabetes Care*. 2012. 35, 15.
- 72- Harder T, Franke K, Kohlhoff R, Plagemann A. Maternal and paternal family history of diabetes in women with gestational diabetes or insulin-dependent diabetes mellitus type I. *Gynecol Obstet Invest*. 2001. 51, 160-4.
- 73- Poulsen P, Levin K, Petersen I, Christensen K, Beck-Nielsen H, Vaag A. Heritability of insulin secretion, peripheral and hepatic insulin action, and intracellular glucose partitioning in young and old Danish twins. *Diabetes*. 2005. 54, 275–283.
- 74- Williams MA, Qiu C, Dempsey JC, Luthy DA. Familial aggregation of Type 2 diabetes and chronic hypertension in women with gestational diabetes mellitus. *J Reprod Med* 2003;48(12):955e62.
- 75- Practice Bulletin No. 137. Gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol* 2013;122(2 Pt 1): 406-16
- 76- Lowe WL Jr, Scholtens DM, Sandler V, Hayes MG. Genetics of Gestational Diabetes Mellitus and Maternal Metabolism. *Curr Diab Rep*. 2016 Feb;16(2):15.
- 77- Korte A, Farlow A. The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. *Plant Methods* 2013;9(1):29.
- 78- Mao H, Li Q, Gao S. Meta-analysis of the relationship between common type 2 diabetes risk gene variants with gestational diabetes mellitus. *PLoS One*. 2012;7:e45882.
- 79- Zhang C, Bao W, Rong Y, Yang H, Bowers K, Yeung E, Kiely M. Genetic variants and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2013;19:376–90.
- 80- Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, Ferreira T ve ark. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2012;44:981–90.
- 81- Basile KJ, Johnson ME, Xia Q, Grant SF. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: follow-up of findings from genomewide association studies. *Int J Endocrinol*. 2014;2014:769671.
- 82- Mohlke KL, Boehnke M. Recent advances in understanding the genetic architecture of type 2 diabetes. *Hum Mol Genet*. 2015;24: R85–92.
- 83- Dimas AS, Lagou V, Barker A ve ark. on behalf of the Mi. Impact of type 2 diabetes susceptibility variants on quantitative glycemic traits reveals mechanistic heterogeneity. *Diabetes* 2014;63:2158–71.
- 84- Urbanek M, Hayes MG, Lee H, Freathy RM, Lowe LP, Ackerman C, Jafari N, Dyer AR, Cox NJ, Dunger DB, Hattersley AT, Metzger BE, Lowe WL Jr. The role of inflammatory pathway genetic variation on maternal metabolic phenotypes during pregnancy. *PLoS One*. 2012;7, e32958.

- 85- Guzmán-Flores JM, Escalante M, Sánchez-Corona J ve ark. Association analysis between -308G/A and -238G/A TNF-alpha gene promoter polymorphisms and insulin resistance in Mexican women with gestational diabetes mellitus. *J Investig Med.* 2013;61:265–9.
- 86- Çelik S. K, Yamak A. S, Gestasyonel Diyabette Genetik ve Epigenetik Değişimler, Bülent Ecevit Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak.
- 87- Pederson KO. Fetuin, a new globulin isolated from serum. *Nature* 1944; 154: 575.
- 88- Denecke B, Graber S, Heiss A, Wöltje M, Jahnen – Dechent W. Tissue distribution and activity testing suggest a similar but not identical function of fetuin-B and fetuin-A. *Biochem J.* 2003;376:135-145.
- 89- Ridker PM. Rosuvastatin in the primary prevention of cardiovascular disease among patients with low levels of low density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity C-reactive protein: Rationale and design of the Jupiter trial. *Circulation* 2003; 108: 2292-97.
- 90- Ketteler M. Fetuin – A and extraosseous calcification in uremia. *Curr OpinNephrol Hypertens.* 2005 Jul;14(4):337-342.Review.
- 91- Jung CH, Kim BY, Kim CH, Kang SK, Jung SH, Mok JO. Associations of serum fetuin-A levels with insulin resistance and vascular complications in patients with type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res.*10(5):459-67.
- 92- Hennige AM, Staiger H, Wicke C, Machicao F, Fritsche A, Haring HU, et al. Fetuin-A induces cytokine expression and suppresses adiponectin production. *PLoS One.* 2008;3(3):e1765.
- 93- Wang AY, Woo J et al. Associations of serum fetuin-A with malnutrition, inflammation, atherosclerosis and valvular calcification syndrome and outcome in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20(8):1676-85.
- 94- Hermans MMH, Brandenburg V, Ketteler M, et al. Association of Serum Fetuin-A Levels with Mortality in Dialysis Patients. *Kidney Int.* 2005;67:2295–2304.
- 95- Avşar ÇU akut koroner sendromlu hastalarda serum fetuin-a düzeyi, kalp kapak kalsifikasyonu ve bunun diğer biyokimyasal parametrelerle ilişkisinin değerlendirilmesi, uzmanlık tezi. 2009. İstanbul.
- 96- Wilson C, Hargreaves M, Howlett K.F. Exercise does not alter subcellular localization, but increases phosphorylation of insulin-signaling proteins in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290: 341–46.
- 97- Oktan M A, Gestasyonel Diabetes Mellitus Tanılı Hastalarda APELIN, Fetuin-A ve D Vitamininin İnsülin Direnci ile İlişkisi. 2013. İzmir.
- 98- Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Krober SM, Machicao F, Fritsche A, Haring HU. α 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes Care.*2006;29: 853–857.
- 99- Norbert S, Andreas F, Cornelia W, Heiner B, Hans-Georg J, Hans-Ulrich H, Matthias B S. Plasma Fetuin-A Levels and the Risk of Type 2 Diabetes. *Diabetes.* 2008 Oct;57(10):2762-7.
100. http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Location/View?db=core;g=ENSG00000145192;r=3:186612923-186621318.

- 101- Vionnet, N., et al., Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet*, 2000 Dec;67(6):1470-80.
- 102- Osawa M, Umetsu K, Sato M, et al: Structure of the gene encoding human alpha 2-HS glycoprotein (AHSG). *Gene* 196: 1997. 121-125.
- 103- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=197>.
- 104- Stenvinkel P, Pecoits-Filho R, Lindholm B and DialGene C: Gene polymorphism association studies in dialysis: the nutrition-inflammation axis. *Semin Dial* 18: 2005. 322-330.
- 105- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=Ahsg>
- 106- <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=AHSG>
- 107- https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/purelink_genomic_man.pdf
- 108- <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=AHSG>
- 109- Ix, J.H., et al., Fetuin-A and kidney function in persons with coronary artery diseasedata from the Heart and Soul Study. *Nephrol Dial Transplant*, 2006 Aug;21(8):2144-51.
- 110- Fischer, D.C., et al., Reduced serum fetuin-A in nephrotic children: a consequence of proteinuria? *Am J Nephrol*, 2011;34(4):373-80.
- 111- Mathews, S.T., et al., Alpha2-HSG, a specific inhibitor of insulin receptor autophosphorylation, interacts with the insulin receptor. *Mol Cell Endocrinol*, 2000 Jun;164(1-2):87-98.
- 112- Mori K, Emoto M, Inaba M. Fetuin-a: a multifunctional protein. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. 2011 May;5(2):124-46.
- 113- Yamashita H, Shao J, Friedman JE. Physiologic and molecular alterations in carbohydrate metabolism during pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Clin Obstet Gynecol* 2000 Mar;43(1):87-98.
- 114- İyidir OT, Değertekin CK, Yılmaz BA. Serum levels of fetuin A are increased in women with gestational diabetes mellitus. 2014. DOI 10.1007/s00404-014-3490-3.
- 115- Stenvinkel P, Wang K, Qureshi AR, et al. Low fetuin-A levels are associated with cardiovascular death: impact of variations in the gene encoding fetuin. *Kidney Int*. 2005;67:2383-2392.
- 116- Osawa M, Tian W, Horiuchi H, et al. Association of alpha2-HS glycoprotein (AHSG, fetuin-A) polymorphism with AHSG and phosphate serum levels. *Hum Genet*. 2005;116:146-151.
- 117- Temesszentandrás G, Vörös K, Márkus B ve ark. Human Fetuin-A Rs4918 Polymorphism and its Association with Obesity in Healthy Persons and in Patients with Myocardial Infarction in Two Hungarian Cohorts. 2016. DOI: 10.12659/MSM.896232.
- 118- Lavebratt C, Wahlqvist S, Nordfors L et al: AHSG gene variant is associated with leanness among Swedish men. *Hum Genet*, 2005; 1: 54–60.
- 119- Ma S, He Z, Zhao J et al: Association of AHSG gene polymorphisms with ischemic stroke in a Han Chinese population. *Biochem Genet*, 2013; 11–12: 916–26.

- 120- Siddiq A, Lepretre F, Hercberg S ve ark. A Synonymous Coding Polymorphism in the 2-Heremans-Schmid Glycoprotein Gene Is Associated With Type 2 Diabetes in French Caucasians. 2005 by the American Diabetes Association.
- 121- Inoue M, Takata H, Ikeda Y ve ark. A promoter polymorphism of the a2-HS glycoprotein gene is associated with its transcriptional activity. 2007. Department of Endocrinology, Metabolism and Nephrology, Kochi Medical School, Kochi University, Kohasu, Oko-cho, Nankoku, Kochi 783-8505, Japan.
- 122- Lehtinen AB, Burdon KP, Lewis JP, et al. Association of alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein polymorphisms with subclinical atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:345–52.
- 123- Jensen MK, Bartz TM, Djoussé L ve ark. Genetically Elevated Fetuin-A Levels, Fasting Glucose Levels, and Risk of Type 2 Diabetes. 2013. *Diabetes Care* 36:3121–3127.

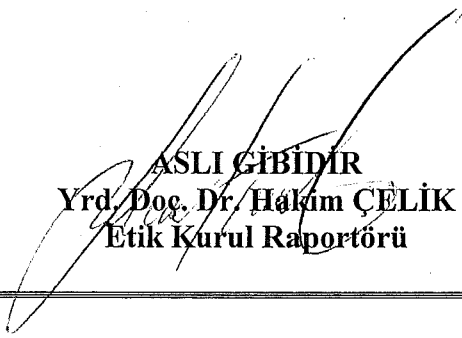
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Etik Kurul Kararı

TARİH : 09.03.2017
OTURUM : 03
SAAT : 15:00

17/03/21

Karar: Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Halit AKBAŞ'ın yürütücüsü olduğu "**Gestasyonel Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Fetuin A (AHSG) Gen Polimorfizminin Araştırılması**" başlıklı çalışmaya Etik Kurul onayı verilmesine,

Oybirliğiyle karar verilmiştir.


ASLI GİBİDİR
Yrd. Doç. Dr. Halim ÇELİK
Etik Kurul Raportörü

GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS FETUİN A

ORIJINALLIK RAPORU

% **17**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **14**

İNTERNET
KAYNAKLARI

% **5**

YAYINLAR

% **4**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	%4
2	www.geneltip.org İnternet Kaynağı	%2
3	istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
4	besni1noluasm.com İnternet Kaynağı	%1
5	www.turkendokrin.org İnternet Kaynağı	<%1
6	www.ctf.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	acikerisim.istanbulbilim.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
8	www.turkiyeklinikleri.com İnternet Kaynağı	<%1
9	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<%1