

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**GESTASYONEL DİYABETTE MİKRO RNA-223'ÜN**  
**PLASENTADAKİ EKSPRESYONUNUN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

Segün DOĞRU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2017-ANTALYA

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**GESTASYONEL DİYABETTE MİKRORNA-223'ÜN**  
**PLASENTADAKİ EKSPRESYONUNUN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

Segün DOĞRU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2015-1206 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir.”

2017-ANTALYA

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼ne;**

Bu alışma j¼rimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Tıbbi Biyokimya Programı'nda y¼ksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 30/06/2017

İmza

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN  
Akdeniz ¼niversitesi

¼ye : Prof. Dr. G¼ltekin Y¼CEL  
Akdeniz ¼niversitesi

¼ye : Doç. Dr. Ayşe Yeşim G¼CMEN  
Bozok ¼niversitesi

Bu tez, Enstit¼ Y¼netim Kurulunca belirlenen yukarıdaki j¼ri ¼yeleri tarafından uygun g¼r¼lm¼ř ve Enstit¼ Y¼netim Kurulu'nun ...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN

Enstit¼ M¼d¼r¼

## ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Segün DOĞRU

İmza

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN

İmza

## TEŐEKKÜR

İlk olarak, akademik kariyerim ve eğitim hayatım süresince maddi ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan, her anımda beni motive edip yalnız bırakmayan annem Nadire DOĞRU, babam Sedat DOĞRU, abim Senih Anıl DOĞRU ve çok değerli dostlarıma,

Yüksek lisans eğitim sürecimde, tez danışmanım olan Doç. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN'a,

Akademik hayatımın ilk basamağı, yüksek lisans eğitim sürecimde, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine,

Tez projem kapsamında, yardımlarımdan ve desteklerinden dolayı Doç. Dr. Mehmet SAKINCI'ya,

Yardımlarından dolayı Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün tüm değerli çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Amaç:** Plasenta, besin maddelerinin ve gazların, anne-fetüs dolaşım sisteminin düzenleyicisidir. Plasental transport fonksiyonlarındaki değişiklikler, gelişmekte olan fetüs üzerindeki GDM metabolik anormalliklerinin etkisini değiştirebilmektedir. Gebeliğin üçüncü trimesterinde, önemli miktardaki adiponektin eksikliği, plasenta aracılı GDM komplikasyonlarıyla ilişkilendirilmektedir. Plasental ekspresyonlarıyla karakterize olan miRNA'ların, GDM tanısında, yeni ve etkili biyomarkerlar olarak önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda, üçüncü trimesterdeki, plasenta miR-223 ekspresyonu ve serum adiponektin seviyesi arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi hedeflemekteyiz.

**Yöntem:** Bu çalışmada, plasenta dokusu ve serum, üçüncü trimester gebelerden elde edildi. Adiponektinin maternal serum konsantrasyonu ve miR-223'ün plasental numune ekspresyonu ölçüldü. miRNA-223 ekspresyonu, plasenta dokularında Real-time PCR ile adiponektin düzeyleri ise ELİSA yöntemiyle değerlendirildi.

**Bulgular:** Real-time PCR bulgularına göre, GDM grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, plasentadaki miR-223 ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma belirlendi. ELİSA sonuçlarına göre, kontrol grubuyla karşılaştırılan GDM grubundaki serum adiponektin miktarının azaldığı, ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadığı gözlemlendi.

**Sonuç:** Sonuç olarak, miR-223'ün, GDM'nin tanı ve tedavisiyle ilişkili olarak yeni bir biyomarker olabileceği düşünülmektedir. Son literatür çalışmalarında, maternal, fetal ve plasental süreçleri regüle ettiği belirtilen adiponektinin, GDM'li plasentalardaki miR-223 ekspresyonuna olan katkısını anlamak için daha çok kanıtı ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Gestasyonel diyabet, plasenta, mikroRNA-223, adiponektin

## ABSTRACT

**Objective:** The placenta is regulator of materno-fetal transport of nutrients and gases. Alterations in placental transport functions can modify the impact of metabolic abnormalities of GDM on the developing fetus. Severe adiponectin deficiency in the third trimester of pregnancy has been associated with risks of placenta-mediated complications of GDM. Placental expressions of characterized miRNAs is thought to play an important role in the diagnosis of GDM as novel and effective biomarkers. We aimed to estimated the association between third-trimester miR-223 expressions of placenta and adiponectin levels of serum.

**Method:** This study included placental tissue and serum was obtained from third trimester pregnancies. Maternal serum concentrations of adiponectin and placental sample expressions of miR-223 were measured. Expressions of miR-223 in the placenta were evaluated Real-time PCR and levels of adiponectin was determined by ELISA method.

**Results:** According to the findings of Real-time PCR, expression of miR-223 decreased in the statistically significant range in GDM group compared to control group in placenta. According to the findings of ELISA, expression of adiponectin decreased in GDM group compared to control group in serum, but there was not statistically significant difference between other groups.

**Conclusion:** To conclude, miR-223 is considered to be a novel biomarker related to diagnosis and treatment of GDM. Given the abundant, recent literature, it is now increasingly clear that adiponectin also known as in the regulation of maternal, fetal and placental process may potentially contribute to better expression of miR-223 on placenta, with further evidence needed to clarify its true in this with GDM.

**Key words:** Gestationel diabetes mellitus, placenta, microRNA-223, adiponectin

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	iii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	iv
<b>TABLOLARDİZİNİ</b>	vi
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	vii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Hipotezin Temeli ve Amaç	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Diyabete Giriş	3
2.2. Diyabetin Tanı Kriterleri	3
2.2.1. Açlık Kan Glukozu (FPG)	4
2.2.2. Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)	4
2.2.3. Glikozillenmiş Hemoglobin A1c (HbA1c)	4
2.2.4. Tokluk/Random Kan Glukozu	5
2.3. Diyabetin Sınıflandırılması	5
2.3.1. Tip 1 Diyabet	5
2.3.2. Tip 2 Diyabet	5
2.3.3. Diğer Spesifik Tip Diyabet	6
2.3.4. Gestasyonel Diyabet	7
2.4. Plasenta	9
2.4.1. Plasenta ve GDM	10
2.5. Gestasyonel Diyabet ve Epigenetik Mekanizmalar	12
2.6. miRNA	14
2.6.1. miRNA Mekanizması	15
2.6.2. miRNA'ların Klinik Önemi	16
2.6.3. miRNA ve Plasenta	17
2.7. miR-223	17



2.8. Gestasyonel Diyabet ve miR-223	18
2.9. Sitokinler	19
2.9.1. İnterferonlar	19
2.9.2. İnterlökinler	20
2.9.3. Kemokinler	21
2.9.4. Mezenkimal Büyüme Faktörleri	21
2.9.5. Tümör Büyüme Faktörleri	21
2.9.6. Tümör Nekroz Faktörler (TNF)	22
2.9.7. Adipokinler	22
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	29
3.1. Kullanılan Gereçler	29
3.2. Numuneler	29
3.2.1. Doku Temini	30
3.2.2. Serum Temini	30
3.3. miR-223'ün Hedef Geninin Belirlenmesi	31
3.4. Total RNA İzolasyonu	32
3.5. Total RNA Konsantrasyonlarının ve Saflıklarının Hesaplanması	33
3.6. Total RNA Jel Analizi	34
3.7. Taqman miRNA cDNA Protokolü	35
3.8. İnsan Adiponektin ELİSA Kit Protokolü	37
3.9. İstatiksel Analizler	39
<b>4. BULGULAR</b>	40
4.1. Total RNA İzolasyonlarını Jelde Görüntüleme	40
4.2. Kontrol ve GDM Gruplarının Demografik ve Biyokimyasal Parametreleri	41
4.3. PCR Bulguları	41
4.4. ELİSA Bulguları	42
<b>5. TARTIŞMA</b>	43
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	47

**KAYNAKLAR**

48

**EKLER**

**EK-1.** Aydınlatılmış Onam Formu

**ÖZGEÇMİŞ**

71



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 2.1.</b> Gestasyonel diyabetin tanı kriterleri	9
<b>Tablo 3.1.</b> 10X TBE tamponu hazırlama	34
<b>Tablo 3.2.</b> 8M üre ile %15'lik poliakrilamid jel hazırlama	34
<b>Tablo 3.3.</b> Taqman miRNA cDNA sentezi için karışım hazırlama	35
<b>Tablo 3.4.</b> Termal döngü sıcaklıkları ve süreleri	36
<b>Tablo 3.5.</b> miR-223 ve RNU için PCR reaksiyonu hazırlama	36
<b>Tablo 3.6.</b> Real-time PCR cihazının protokolü	37
<b>Tablo 4.1.</b> Kontrol ve GDM gruplarının biyokimyasal ve demografik parametrelerinin karşılaştırılması	40

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.1.</b> Plasentanın morfolojisi	10
<b>Şekil 2.2.</b> Plasentada fetal ve maternal dolaşım	11
<b>Şekil 2.3.</b> Gestasyonel diyabet ile epigenetik mekanizmaların ilişkisi	12
<b>Şekil 2.4.</b> Epigenetik mekanizmalar	14
<b>Şekil 2.5.</b> miRNA mekanizması	15
<b>Şekil 2.6.</b> Gebelikte, insülin direncinin ile fetüse etkileri	24
<b>Şekil 2.7.</b> Adiponektinin yapısı	25
<b>Şekil 2.8.</b> Adiponektin reseptörlerinin sinyalizasyonu	27
<b>Şekil 2.9.</b> Gestasyonel diyabet ile adiponektin ilişkisi	28
<b>Şekil 3.1.</b> miR-223'ün, adiponektin genindeki hedef bölgesi	31
<b>Şekil 3.2.</b> ELİSA standartlarının hazırlanması	38
<b>Şekil 4.1.</b> Total RNA izolasyonlarını jelde görüntüleme	41
<b>Şekil 4.2.</b> Kontrol ve GDM grubu term dönem plasentalarda, miR-223'ün ekspresyonlarının karşılaştırılması	41
<b>Şekil 4.3.</b> Kontrol ve GDM grubu term dönem serumlarda adiponektin konsantrasyonlarının karşılaştırılması	42

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>ADA</b>	:Amerikan Diyabet Birliği
<b>AdipoR1</b>	:Adiponektin Reseptörü 1
<b>Anti-GADA</b>	:Glutamik Asit Dekarboksilaz Karşıtı Antikor
<b>APS</b>	:Amonyum Persülfat
<b>BMI</b>	:Vücut Kitle İndeksi
<b>C14MC</b>	:14. kromozom miRNA Kümelenmesi
<b>C19MC</b>	:Kromozom 19 miRNA Kümelenmesi
<b>CpG</b>	:Sitozin Fosfo Guanin
<b>DNMT</b>	:DNA Metiltransferazlar
<b>dsRNA</b>	:Çift Zincirli RNA
<b>EIF4E</b>	:Ökaryotik Başlama Faktörü 4E
<b>FGF</b>	:Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>FPG</b>	:Açlık Kan Glukozu
<b>G6Paz</b>	: Glukoz-6 Fosfataz
<b>GDM</b>	: Gestasyonel Diyabet
<b>HAPO</b>	:Hiperglisemi ve Kötü Gebelik Sonuçları
<b>HbA1c</b>	:Glikozillenmiş Hemoglobin A1c
<b>HGF</b>	:Hepatosit Büyüme Faktörü
<b>HNF-1<math>\alpha</math></b>	:Hepatosit Nükleer Faktör-1 $\alpha$

<b>ICD</b>	:İntrasitoplazmik Domain
<b>IGF-I</b>	:İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
<b>kDa</b>	:Kilo Dalton
<b>LPL</b>	: Lipoprotein Lipaz
<b>MAPK</b>	: Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz
<b>MCSF</b>	:Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
<b>miRNA</b>	:MikroRNA
<b>MODY</b>	:Gençlerde Görülen Erişkin Tipi Diyabet
<b>mRNA</b>	:Mesajcı RNA
<b>NIH</b>	:Ulusal Sağlık Enstitüsü
<b>OGTT</b>	:Oral Glukoz Tolerans Testi
<b>PEPCK</b>	:Fosfoenol Pirüvat Karboksikiaz
<b>RANKL</b>	:Nükleer Kappa B Ligandı Reseptör Aktivatörü
<b>RISC</b>	:RNA- indüklenmiş Susturma Kompleksi
<b>siRNA</b>	:Küçükİnterferans RNA
<b>TEMED</b>	:N,N,N',N' Tetrametiletildiamin
<b>TGF-β</b>	:Tümör Büyüme Faktörü- β
<b>WHO</b>	:Dünya Sağlık Örgütü

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Hipotezin Temeli ve Amaç

Gestasyonel diyabet (GDM), gebelik sırasında meydana gelen,  $\beta$  hücrelerinin genetik defektleri, insülin etkisinde genetik defektler, endokrinopatiler, enfeksiyonlar ve ilaçların kullanımı sonucu ortaya çıkabilen hiperglisemik metabolik hastalıktır (ADA, 2014). Gebelik döneminde oluşan GDM, doğumdan sonra kaybolursa da GDM'li kadınların %30'u 7-10 yıl içerisinde diyabet ve bozulmuş glukoz intoleransı tanısı almaktadır. GDM'de erken doğum, perinatal mortalite, fetal makrozomi, polisitemi, sarılık, hidroamniyoz, kardiyomiyopati, ilk trimesterde hipoglisemi ve gebeliğin ikinci yarısında hiperglisemi riski artar.

Anne ile fetüs arasındaki metabolik aktiviteyi düzenleyen plasenta, plasental ve fetal gelişimi olumsuz olarak etkileyen intrauterin koşullara maruz kaldığında, GDM gelişimine neden olduğu, hatta plasentada anatomik ve fizyolojik bazı değişikliklerin ortaya çıktığı görülür (Gauster ve ark., 2012). Çalışmalar, gebelik ve/veya emzirme dönemindeki beslenme bozukluklarının, ileri dönemde bazı metabolik hastalıklara olan duyarlılığı artırdığını gösterir. Ancak bunun altında yatan mekanizmalar çok açık değildir. Son yıllarda epigenetiğin, fetüsün dengesiz beslenmesi ve glukoz metabolizması bozukluklarının önemli bir moleküler temeli olabileceği üzerinde durulur. Temel mekanizma; beslenmenin, fetüsteki gelişme ve metabolizma ile ilişkili bazı genlerin epigenetik modifikasyonlarını regüle edebileceği üzerine kurulmuştur (Ma ve ark., 2015; Maccani ve Marsit, 2009).

Gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenleyicileri olan mikroRNA (miRNA)'ların beslenme ve metabolik hastalıkların fetal epigenetik programlanmasının kritik modülatörleri olduğu düşünülür (Ma ve ark., 2015). miRNA'lar, yaklaşık 20-22 nükleotid uzunluğunda protein kodlamayan RNA molekülleridir. Hedef genin mRNA'lara düşük özgüllükte bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olabileceği için miRNA'lar gen ifadesinin kontrolünde önemli rollere sahiptir. miRNA'lar; hücre büyümesi ve proliferasyon, farklılaşma, organogenez,

metabolizma, immünite gibi biyolojik süreçlerde ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gibi hastalıklarda önemli rollere sahiptir (Moreno-Moya ve ark., 2014; Tétréault ve De Guire, 2013). İnsan plasentası, gebelik sırasında dinamik olarak değişen spesifik bir miRNA ekspresyon paternine sahiptir. Bu miRNA'lar, trofoblast hücre farklılaşması, proliferasyon, ve invazyon/migrasyon gibi süreçlerin düzenlenmesinde görevlidir. Bu süreçlerdeki, preeklampsi, intrauterin büyüme geriliği ve GDM gibi bozukluklar gebelik ile ilişkili hastalıklara yol açmaktadır. Maternal sirkülasyon içinde olduklarından, plasental miRNA'ların, gebelik ile ilişkili hastalıkların tanısında faydalı olabileceği düşünülmektedir. Çok sayıda önemli hücresel sürecin regülasyonunda rol oynayan miR-223, diyabet, obezite, ve kolesterol transportu gibi metabolizma-ilişkili hastalıklarda önem kazanmaktadır. GDM'li gebelik sonucu doğan yenidoğanlar için metabolik komplikasyonlar, endotelial/vasküler disfonksiyon ile ilişkilidir ve bu da ileri dönemde obezite, hipertansiyon, tip 2 diyabet ve metabolik sendroma yol açar (Gabbay-Benziv ve Baschat, 2015).

Leptin, adiponektin, resistin, adipokinler olarak bilinen adipositlerden türeyen sinyal moleküllerinin gebelik ile ilişkili hastalıklardaki rolleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Briana ve Malamitsi-Puchner, 2010; Retnakaran ve Retnakaran, 2012). Adiponektin, 28-30 kilo Dalton (kDa) moleküler ağırlığında kollajen benzeri bir plazma proteindir. Adiponektin'in başlangıçta sadece adipoz dokuda üretildiği düşünülmeye rağmen son yıllarda yapılan çalışmalarda; insan ve fare osteoblastları, karaciğer parankim hücreleri, miyositler, epitelyal hücreler ve plasenta dokusu gibi diğer dokularda da mRNA ve protein düzeylerinde eksprese edildiği gösterilmiştir. İnsan adiponektin geni kromozom 3q27'de olup, bu bölgenin metabolik sendrom ve tip 2 diyabetle de ilişkili olduğu bulunmuştur. Çok sayıda çalışma, GDM'de adiponektin konsantrasyonlarında azalma olduğunu göstermiştir. Azalmış adiponektin konsantrasyonlarının, gebeliğin birinci ve ikinci trimestrinde artmış GDM riski ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Fasshauer ve ark., 2014).

Çalışmamızda, miR-223'ün GDM'li plasentadaki ekspresyonunun ve adiponektin olan ilişkisinin değerlendirilmesi sonucu elde ettiğimiz bulgularla, gebelik patolojilerinin aydınlatılması üzerine yapılan çalışmalara yeni bir katkı yapacağımızı düşünmekteyiz.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diyabete Giriş

Diyabet, insülin salınımı (ve) veya insülin etkisinin azlığı ile ortaya çıkan, karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasında anormalliklere neden olan, hiperglisemiyle ilişkili kronik metabolik bir hastalıktır (ADA, 2014). Diyabetin, farklı patolojik süreçleri vardır. İnsülin salınımını sağlayan pankreas  $\beta$  hücrelerinin, otoimmün saldırıya uğramasıyla, insülin salınımının tamamen veya kısmen yok olması önemli patolojik süreçlerden biridir. Bu patolojik süreçler, diyabetin en belirgin özelliği olan hiperglisemiyi meydana getirmektedir (Bonner-Weir, 2000; Finegood ve ark., 1995).

Hiperglisemik koşullar, poliüri, polidipsi, kilo kaybı, görmede bulanıklık, yaraların geç iyileşmesi, polifaji gibi anormallikler oluşturur. Hiperglisemi, ketoasidoz ve ketoasidoz olmayan, hiperosmolar sendroma neden olur. Bu durum, ilerlemiş diyabeti olan vakalarda rastlanır ve hayati önemi bulunmaktadır (Mallick ve ark., 2007). Diyabetin hayati önem taşımayan, ancak retinopati, nefropati, nöropati, görme kaybı-bulanıklık, seksüel, gastrointestinal ve kardiyovasküler bozukluklar gibi yaşam kalitesini düşüren komplikasyonları vardır (Ajani ve ark., 2000).

Diyabet, dünya çapında, morbidite ve mortalite açısından en önemli bir sağlık problemlerinden biri olarak görülmektedir. 2013 yılında yapılan çalışmada, literatür taramasında 219 ülke belirlendi. Toplanan veri sonucu, 381.8 milyon diyabet hastası yetişkinin olduğu ve 2035 yılında, istatistiksel olarak 591.9 milyona ulaşacağı belirlendi (Atlas, 2013).

### 2.2. Diyabetin Tanı Kriterleri

Diyabet tanısında, poliüri, polifaji, polidipsi, istem dışı kilo kaybı, halsizlik gibi semptomlar değerlendirilmektedir. Hastada bu bulgular varsa, kandaki glukoz konsantrasyonuna bakılmaktadır. Araştırmacılar, ilk olarak kan glukoz konsantrasyonlarını, açlık kan glukozu (FPG) ve Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) olarak belirlemişlerdir. Epidemiyolojik çalışmalarda, retinopati ile FPG arasında güçlü korelasyon vardır (ADA, 2014). Gözlemsel çalışmalarda, her populasyon için diyabetin

mikro semptomları değerlendirildiğinde, FPG ile retinopati arasındaki korelesyon yetersiz kalmaktadır (Sabanayagam ve ark., 2009; Van Leiden ve ark., 2003). Bu sebeple, son 2-3 aylık kan glukoz konsantrasyonunun bilgisini veren, glikozillenmiş hemoglobin A1c (HbA1c) testi, kan glukozu konsantrasyonları için belirleyici tanı kriteri olmaya başlamıştır (ADA, 2014; Kahn, 2003). Diyabetin, kandaki glukoz konsantrasyonunun değerlendirildiği tanı testleri, açlık kan glukozu, tokluk/random kan glukozu, OGTT, HbA1c testidir (ADA, 2015; Diabetes ve Panel, 2010).

### **2.2.1. Açlık Kan Glukozu (FPG)**

Kan örneği, hastadan en az sekiz saatlik açlık sonrası alınır. Hasta bu süreçte kalori almamalıdır. Kan glukozu değeri, o anlık bir değerdir. Test sonucu, 100 mg/dL (5.6 mmol/L)'nin altında olmalıdır. Bu değer, 100 mg/dL (5.6 mmol/L) ile 125 mg/dL (6.9 mmol/L) arasında ise, hastanın açlık kan glukozu 126mg/dL (7.0 mmol/L)'nin üzerinde ise, diyabet tanısı konur.

### **2.2.2. Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)**

Bu testin yapılabilmesi için, hasta en az sekiz saatlik aç olmalıdır. Hasta bu süreçte kalori almamalıdır. Oral glukoz tolerans testi yapılacak hastadan açlık kan glukozu için kan örneği alınır. Hastaya, 75 g suda çözülmüş olan glukoz içirilir. Bunu takiben, 1. ve 2. saatlerde tekrar kan örneği alınarak, hastanın kan glukozu değerlerine bakılır. 2. saat kan glukoz değerleri, 140 mg/dL (7.8 mmol/L) ile 199 mg/dL (11.0 mmol/L) arasında ise bozulmuş glukoz toleransı vardır. Bu değer, 140 mg/dL (7.8 mmol/L)'nin üzerinde ise kesin diyabet tanısı konur.

### **2.2.3. Glikozillenmiş Hemoglobin A1c (HbA1c)**

OGTT, açlık kan glukozu ve tokluk kan glukozu testleri anlık kan glukozu konsantrasyonu bilgisi verirken, HbA1c son üç ayda seyreden kan glukoz konsantrasyonu hakkında bilgi vermektedir. Bu sebeple, HbA1c değeri ölçülen bir hasta için açlık veya tokluk kan glukozu bakılması zorunlu değildir. Hastaya diyabet tanısı konulabilmesi için; HbA1c  $\geq$  6.5% olması ve 140 mg/dL (7.8 mmol/l) ile 199 mg/dL (11.0 mmol/l) (48 mmol/mol) değerleri arasında olması beklenmektedir (Bonner-Weir, 2000).

#### **2.2.4. Tokluk/Random Kan Glukozu**

Klasik diyabet semptomları veya komplikasyonları görülen hastada, hastalığı teyit etmek için istenmektedir. Tokluk kan glukozu değeri, 200 mg/dL(11.1 mmol/L)'nin üzerinde olan hastalara diyabet tanısı konmaktadır. Bu hastalara kesin tanı için, HbA1c testi de istenir (ADA, 2014; Kahn, 2003).

#### **2.3. Diyabetin Sınıflandırılması**

Diyabet, Amerikan Diyabet Birliği (ADA)'ne göre, tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, diğer spesifik tipler ve GDM olmak üzere 4 gruba ayrılır (Kahn, 2003).

##### **2.3.1. Tip 1 Diyabet**

Çocukluk çağında ortaya çıkan, kronik otoimmün bir hastalıktır. Çocukların, %70-90'ında görülür. Tip 1 diyabet, genellikle, otoantikörlerin pankreas  $\beta$  hücrelerine saldırısıyla oluşan, otoimmün harabiyetle karakterizedir. Bu sebeple, insülin salınımının tamamen veya kısmi olarak azalması sonucu hiperglisemi oluşur. Keşfedilen ilk otoantikör, glutamik asit dekarboksilaz karşıtı antikör (anti-GADA)'dur ve hedefleri insülidir. 65 kDa molekül ağırlığında olduğu için GAD65 olarak da bilinir. Literatürde, tip 1 diyabet hastalarının küçük bir kısmında, immün yanıt ve otoantikörlere bağlı olmaksızın hastalığın genetik bir alt yapısı olduğu bilinmektedir; ancak genel olarak otoimmüniteyle ilişkili olduğu kabul edilmektedir (Group, 2004; Ziegler ve ark., 1999).

##### **2.3.2. Tip 2 Diyabet**

Diyabet hastalarının %90-95'i tip 2 diyabet grubuna dahildir (ADA, 2014). Tip 2 diyabetin spesifik etiyolojik sebebi, tam anlamıyla aydınlatılmamıştır, ancak bu konuda hala çalışmalar devam etmektedir. Hastaların büyük çoğunluğunda, obezite veya aşırı kilo durumu söz konusudur. Tip 2 diyabet için, pankreas  $\beta$  hücrelerindeki otoimmün bir harabiyet söz konusu değildir. İnsülin direnci oluşan ve (veya) insülin salınımının eksikliğiyle meydana gelen, hiperglisemiyle karakterize bir hastalıktır. Hastalarda genel olarak, obezite veya aşırı kiloya yatkınlık vardır (ADA, 2014; Petersen ve ark., 2012).

Tip 2 diyabet, 'insüline bağlı olmayan diyabet veya erişkin dönem diyabeti olarak da bilinir. Aşırı kilolu veya obez olan hastaların çoğunluğunda artmış yağ oranı kapasitesi

insülin direncini tetiklemektedir. Tip 2 diyabet hastalarında, genetik yatkınlıkları olmasına rağmen, obezite daha baskın bir etken olarak görülmektedir (Olefsky, 2009).

### **2.3.3. Diğer Spesifik Tip Diyabet**

Diğer spesifik tip diyabet, pankreas  $\beta$  hücrelerindeki genetik defektler, insülin etkisindeki genetik defektler, ekzokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, enfeksiyonlar vb. sebeplerle ortaya çıkmaktadır (ADA, 2015). Pankreas  $\beta$  hücrelerindeki genetik defektler, insülin sekresyonunun bozulmasına neden olur. Bu diyabet tipinde meydana gelen hiperglisemi, insülin sekresyonunun azalmasıyla ilişkilidir.

Gençlerde Görülen Erişkin Tipi Diyabet (MODY), diğer spesifik tip diyabet grubuna dahildir. Genellikle 25 yaşından küçük bireylerde görülür. Otozomal dominant kalıtım nedeniyle meydana gelir. MODY'nin iki formu bulunur. En yaygın formu, hepatosit nükleer faktör (HNF)-1 $\alpha$ 'daki mutasyon sonucu oluşan MODY'dir. HNF-1 $\alpha$ , 12. kromozomda bulunan, karaciğer transkripsiyon faktörüdür. Diğer formu ise, 7p kromozomunda lokalize olan glukokinaz genindeki mutasyonla oluşmaktadır. Bu mutasyon, glukozun, glukoz-6-fosfata dönüşümünü engeller. Plazmadaki glukoz miktarı artar ve gerekli insülin sekresyonu yapılamadığı için hiperglisemi oluşu görülmektedir (Bonner-Weir, 2000).

İnsülin sekresyonunu etkileyen genetik defektler, insülin reseptöründe meydana gelen mutasyonları içerir.

Ekzokrin pankreas hastalıkları olan pankreatit, pankreatektomi, pankreas kanseri, diyabet gelişimini tetiklemektedir. Etki mekanizması genel olarak, pankreastaki  $\beta$  hücrelerinin azalması veya tamamen yok olması şeklindedir.

Endokrinopatiler, bazı hormonlarla ilişkilidir. İnsülin hormonuna zıt etkili olarak çalıştıkları için hiperglisemi gelişir. Hiperglisemiye neden olan hormonlar, büyüme hormonu, kortizol, epinefrin, glukagondur. Bunların aşırı salgılanması, insülini baskılar.

Bazı genetik sendromlarla ilişkili hastalıklar, insülin hormonunun baskılanmasına neden olur. Bunlar, akromegali, Cushing Sendromu, glukaganom gibi hastalıklardır.

Enfeksiyonlarda, pankreas  $\beta$  hücrelerini azalması, insülinin yeterince veya tamamen salınmaması sonucu diyabet semptomları artar. Diyabete neden olan ajanlar, konjenital rubella, sitomegalovirus gibi virüslerdir (ADA, 2015).

#### **2.3.4. Gestasyonel Diyabet (GDM)**

Sadece gebelik sırasında ortaya çıkan, insülin etkisindeki veya  $\beta$  hücrelerindeki genetik defektler nedeniyle meydana gelen, hipergliseminin görüldüğü, metabolik bir hastalıktır (Barbour ve ark., 2007). Kontrol grubu kadınlarında görülen risk faktörleri, gestasyonel diyabetli kadınlara göre oldukça azdır. Bu risk faktörlerinden hayati önem taşıyanlar, makrozomi, neonatal hipoglisemi ve sezaryan doğumdur (Ajani ve ark., 2000; Wendland ve ark., 2012; Wong ve ark., 2013). İstatiksel çalışmalar, gestasyonel diyabetli kadınlar, doğumu takiben 5-10 yıl içerisinde tip 2 diyabete tanısı konduğunu gösterir (Bellamy ve ark., 2009). GDM'li annelerin bebeklerinde ise, glukoz intoleransı, obezite ve insülin direnci gelişir (Dabelea ve ark., 2008; Pettitt ve ark., 1983).

Artan doğum sayısı, ilerlemiş anne yaşı, diyabet hikayesi, beyaz ırk, obezite, aşırı kilo, standardın üzerindeki vücut kitle indeksi (BMI) gestasyonel diyabet riskini artıran belirgin kriterlerdir (Ferraro ve ark., 2012; Hinkle ve ark., 2012; Hunsberger ve ark., 2010).

Gestasyonel diyabette, pankreasın  $\beta$  hücrelerindeki genetik defektler üç nedenle olur. İlk neden olan faktörde, pankreas  $\beta$  hücre harabiyeti ve otoimmün hasar ciddi derecede fazladır. Bu sebeple, insülin salınımı oldukça azdır ve hastalar genellikle insülin takviyesi alır (Catalano ve ark., 1990). Gebe kadınların %10'dan daha az bir kısmında görülür. İkinci nedende, monojenik formlardan olan MODY de olduğu gibi genetik varyasyonlarla geçmektedir. Gebelikte, değişen hormonlar, beslenme tarzı vb. faktörler, genetik alt yapıyı tetiklediği için hiperglisemi meydana gelir. Bu sebeple, istatistiksel çalışmalar, GDM oranının dünya çapında artışının, genetik açıdan değerlendirilmesi gereken önemli bir konu olduğunu gösterir (Catalano ve ark., 1999; Chen ve ark., 2000; Weng ve ark., 2002). Sonuncusunda, obezite ve insülin direncine bağlı olarak meydana gelen  $\beta$  hücre harabiyeti söz konusudur. Gebelik öncesi, tip 2 diyabet riski fazla olan kadınlarda görülür. Populasyondaki kadınların, BMI, kilo indeksi artışı, insülin direncini

tetikler. Gebelik sırasında, hiperglisemi oluşturan her neden, GDM riski oluşturmaktadır (Homko ve ark., 2001; Saisho ve ark., 2010).

Hiperglisemi ve Kötü Gebelik Sonuçları (HAPO) çalışması ile son yıllarda epidemiyolojik olarak farklı kökenlerden gelen 25.000 gebe kadın taranmıştır. HAPO, gebeliğin 24-28. haftalarında olan kadınlarda, glisemik fonksiyonları değerlendirmişlerdir. Anne ve fetus için, en önemli dönemin 24. ve 28. hafta aralığında olduğunu, bebeğin neonatal yaşamını bu süreçte geçirdiği glisemik fonksiyonların, obezite, insülin direnci, kardiyovasküler hastalıklar gibi komplikasyonlara yatkınlığıyla ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (Group, 2008).

Gebe kadınların, açlık kan glukozunda normal değerler görüldüğünde, düşük risk grubuna dahilse OGTT yapılmaz. Yüksek risk grubunda olan gebelerde, 24-28. haftada bir basamaklı ya da iki basamaklı testle değerlendirilir.

Gestasyonel diyabetin tanısı, pek çok tarama ve tanı testi ile yapılır. Uluslararası Diyabet ve Gebelik Çalışma Grupları Birliği (IADPSG)'e göre, 24-28 haftalık gebe kadınlara, 50 g glukoz yüklemesi yapılır. Tablo 2.1'de belirtilen değerlerin üzerinde olması, kesin GDM tanısıdır. Bu değerler, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), ADA tarafından da kabul edilen kriterlere sahiptir. Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH)'ne göre, iki basamaklı tarama ile OGTT yapılmalıdır. NIH'e göre, ilk olarak 24-28 haftalık gebe kadınlara, 50 g glukoz yüklemesi yapılır. İlk taramada, herhangi bir zaman diliminde 50 g glukoz yüklemesi yapılır. 1. saatte, tablo 2.1'de belirtilen değer, kan glukoz değeri, 140 mg/dL (7.8 mmol/L)'nin üzerinde ise ikinci taramaya geçilir. İkinci taramada, 100 g glukoz yüklemesi yapılır. Tablo 2.1'de gösterildiği gibi açlık, 1., saat, 2., saat ve 3. saat kan glukozu değerlerine bakılır. Sırasıyla, 95mg/dL (5.3 mmol/L), 180 mg/dL (10.0 mmol/L, 155 mg/dL (8.6 mmol/L), 140 mg/dL (7.8 mmol/L)'nin üzerinde kan glukoz değerleri çıkması durumunda, gestasyonel diyabet tanısı konulmaktadır. Bu test için 8-14 saatlik açlık ve en az 3 gün 150 g karbohidrat alımı gerekmektedir. Tablo 2.1'de belirtilen değerlerin üzerinde olması, kesin GDM tanısıdır. Bu değerler, WHO ve ADA tarafında da kabul edilen kriterlere sahiptir (ADA, 2015).

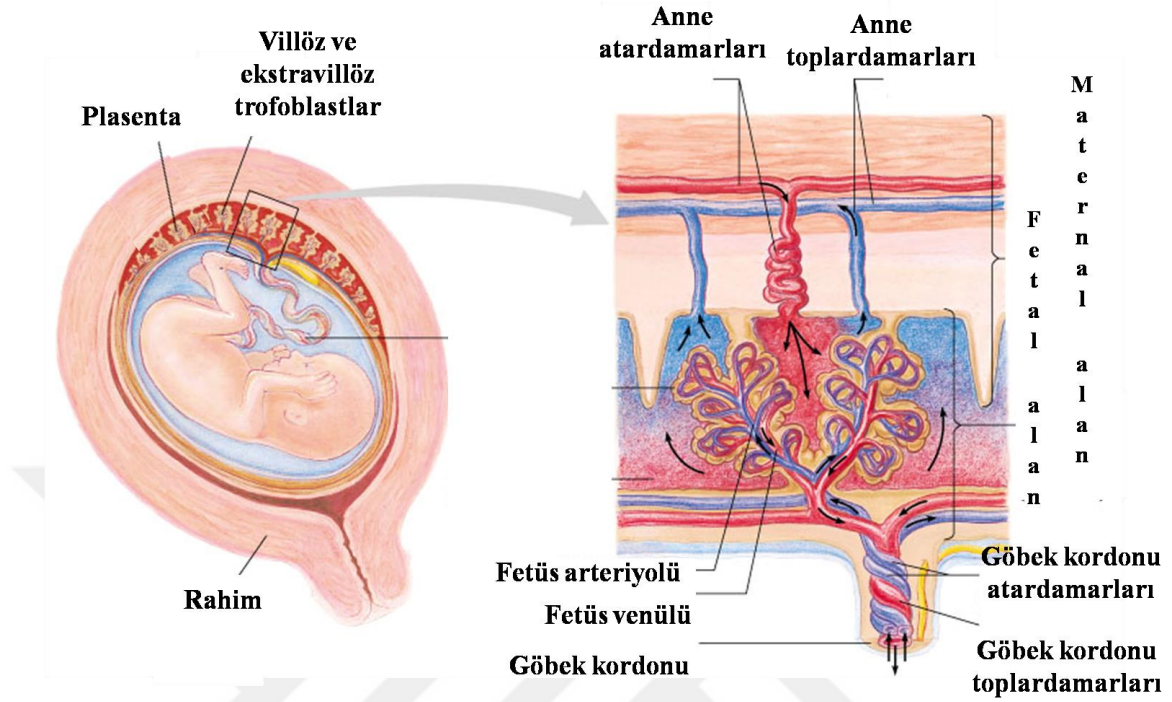
**Tablo 2.1.** Gestasyonel diyabetin tanı kriterleri (ADA, 2015)

<b>Tek Aşamalı Test</b>	<b>Açlık Kan Şekeri</b>	<b>1. saat</b>	<b>2. saat</b>	<b>3. saat</b>
50 g Glukoz	92 mg/dL (5.1 mmol/L)	180 mg/dL (10.0 mmol/L)	153 mg/dL (8.5 mmol/L)	-
<b>İki Aşamalı Test</b>	<b>Açlık Kan Şekeri</b>	<b>1. saat</b>	<b>2. saat</b>	<b>3. saat</b>
50 g Glukoz	-	140 mg/dL (7.8 mmol/L)	-	-
100 g Glukoz	95 mg/dL (5.3 mmol/L)	180 mg/dL (10.0 mmol/L)	155 mg/dl (8.6 mmol/L)	140 mg/dL (7.8 mmol/L)

#### **2.4. Plasenta**

Plasenta, fetüsün beslenmesi, gaz alışverişi, immün koruma ve hormonal sinyal iletiminde görevlidir. Fetüsün normal büyümesi ve gelişmesi için gebelik sırasında oluşan fetal bir organdır. Oksijen, su, karbohidratlar, vitaminler, hormonlar ve aminoasitlerin, fetüse geçişini sağlar. Karbondioksit, üre ve diğer atık metabolitlerin fetüsten anneye ileterek atılmasında görevlidir. Bu iletim şekillerine, maternal sirkülasyon ve fetal sirkülasyon ismi verilir.

Plasentanın implantasyonu oldukça spesifiktir. İmplantasyonda en önemli görev, trofoblastlara düşmektedir. Trofoblastlar, immün mekanizmayla ilişkili, blastokistten köken alan bir doku grubudur. İmplantasyondan sonra, villöz ve ekstrasvillöz yapılara dönüşmektedir. Plasenta vaskülarizasyonu 21. günde başlar ve doğum sonlana kadar farklılaşma ve gelişme devam eder. Gebeliğin ilk sürecinde, proliferasyon ve farklılaşma olayları, trofoblastlarda villöz and ekstrasvillöz yapıların oluşmasına neden olmakta, bebekle birlikte plasentanın da geliştiği, farklılaştığı görülmektedir (Gauster ve ark., 2012; Myatt, 2006).



Şekil 2.1. Plasentanın morfolojisi (Schoenwolf, 2008)

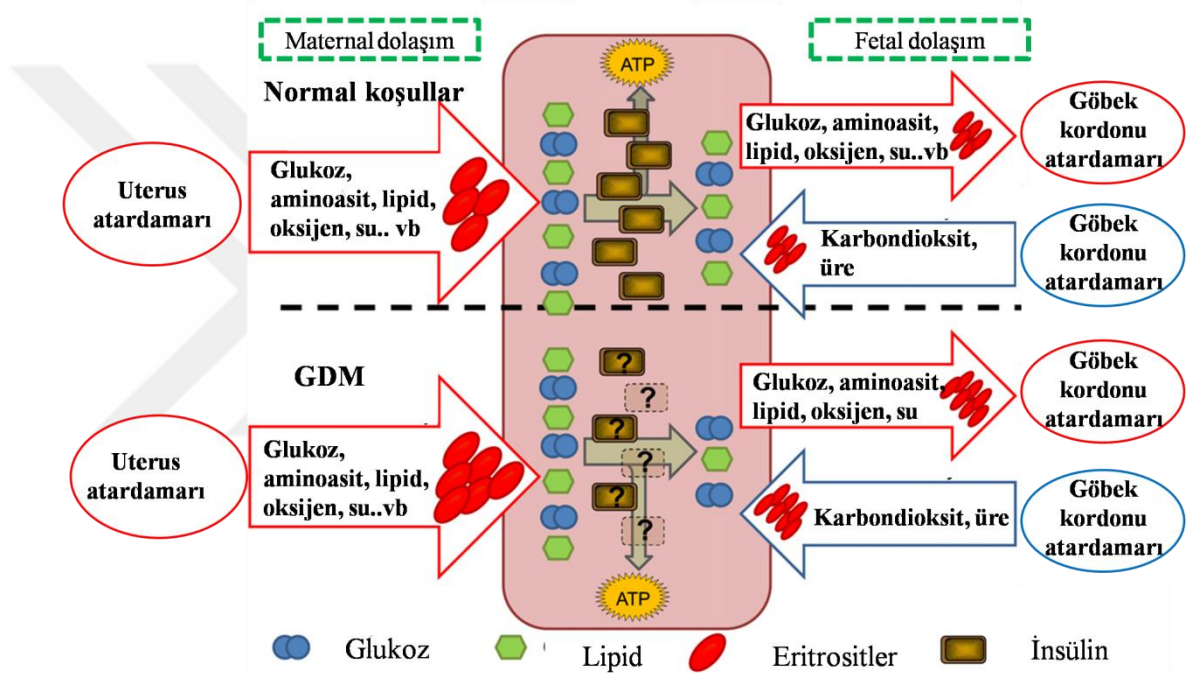
#### 2.4.1. Plasenta ve GDM

Gebelik sürecinde, kötü intrauterin koşullarına sahip olan kadınlarda, fetal ve maternal sirkülasyondaki, besin, oksijen, karbondioksit, hormonal değişiklikler meydana gelir. İntrauterin koşulların bebek için önemi, neonatal dönemde, metabolik ve kardiyovasküler hastalıklara yatkınlığıyla ilişkilidir (Vambergue ve Fajardy, 2011).

İlk trimesterde, glukoz toleransı azalır. Plazma hacmi artar. Term dönemde, fetoplasental glukoz kapasitesi ve hepatik glukoz üretimi artar. Annede, insülin direnci oluşmaya başlar. İlk trimesterden, term döneme kadar olan süreçte, meydana gelen bu değişikliklerin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak, annedeki insülin direnci, bebeğe aşırı miktarda glukoz transferine neden olur. Gebe annede, kan glukozunu dengelemek amacıyla insülin üretmek için, pankreas  $\beta$  hücre kitlesini artırır (Catalano ve ark., 1990; Lain ve Catalano, 2007; Reece ve ark., 2009; Robitaille ve Grant, 2008). Plasentadaki bu değişiklikler, diyabetik bir mikroçevre oluşturduğundan, annenin kan glukoz konsantrasyonu hiperglisemik bir profil çizmektedir. Glukoz metabolizması dışında, lipid ve amino asit metabolizmasında da değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişikliklerden hiperinsülinemi ve dislipidemi en karakterize olaylar



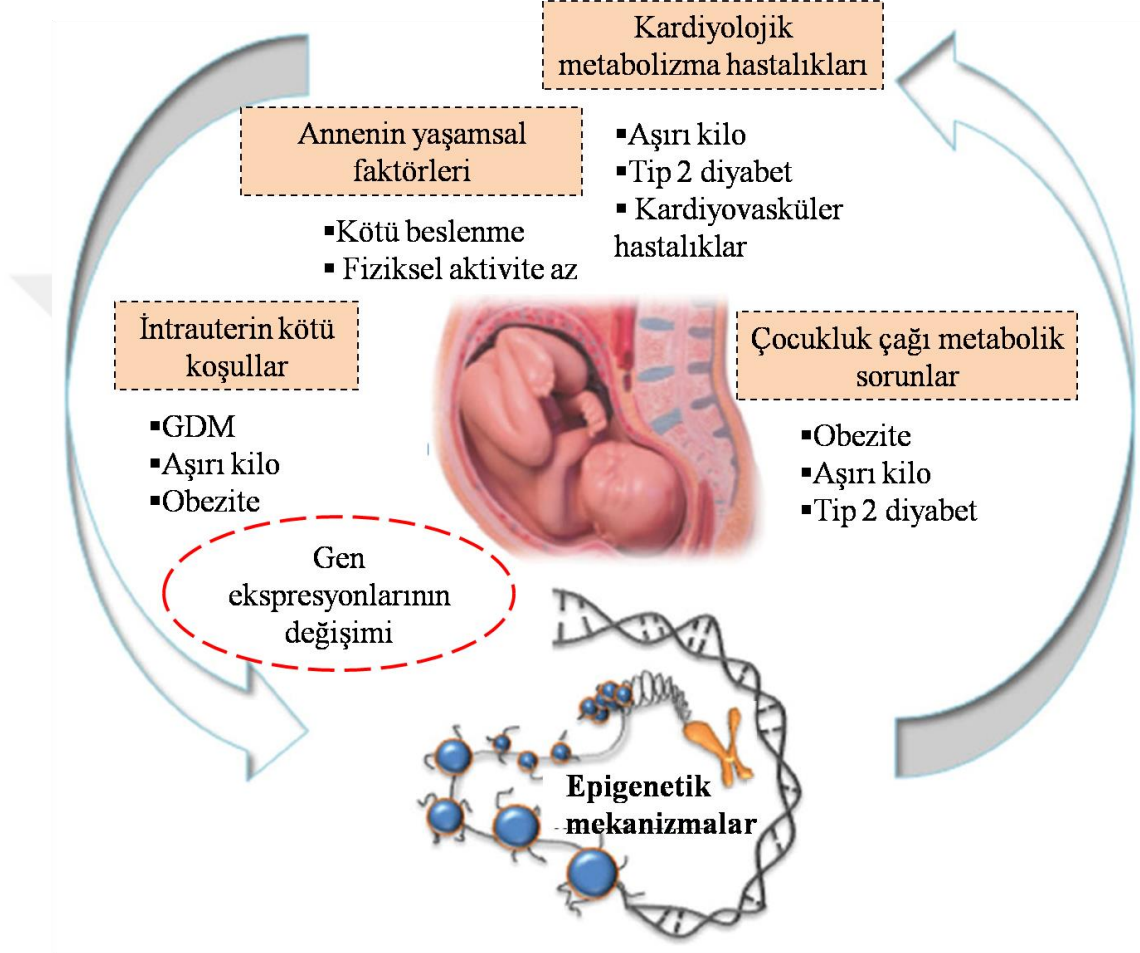
arasında bulunmaktadır. Gebelik döneminde, hiperglisemik kan glukozuna sahip kadınlara gestasyonel diyabet tanısı konur. Hiperglisemik kan glukoz konsantrasyonu, karbohidrat, lipid ve amino asit metabolizmasıyla ilişkili genlerin ekspresyonunu değiştirir (Radaelli ve ark., 2003). Gebelikteki hiperglisemi, yaygın olarak gebelik öncesine dayanır. Değişen hormon düzeyleri, diyabetik yiyeceklerle beslenme alışkanlıklarının devam etmesiyle, gebelik sırasında gestasyonel diyabet meydana gelir (ADA, 2014).



Şekil 2.2. Plasentada fetal ve maternal dolaşım (Murray, 2012)

Gestasyonel diyabetli annelerin, leptin, adiponektin, insülin, TNF- $\alpha$  konsantrasyonları, normal gebelere göre farklıdır. Bozulan karbohidrat metabolizması, karbohidratlarla ilişkili hormonların, sitokinlerin ve genlerin işleyişi değişir (Kirwan ve ark., 2002). Gestasyonel diyabetli annelerin, hiperglisemik kan konsantrasyonları, bebeğe geçer. Bebeklerin hiperglisemi maruziyeti, insülin direnci, mezenkimal kök hücrelerinin adipoz doku yönünde farklılaşmasına neden olur. Uzun süreli sonuçları değerlendirildiğinde, bebekler ileriki yaşlarda, obezite, kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet gibi komplikasyonlarla karşılaşır. GDM grubu ile kontrol grubu kıyaslandığında, diyabetik plasentalarda, tromboz, hematoma veya kalsifikasyonlar görülmüştür (Salge ve ark., 2012).

Son zamanlarda yapılan çalışmalara göre, genetik alt yapının değişmediği ancak genlerin işleyişinin değiştiği ve bunun nedenin de epigenetik mekanizmalar olduğu görülmüştür (Loscalzo ve Handy, 2014).



Şekil 2.3. Gestasyonel diyabet ile epigenetik mekanizmaların ilişkisi (Estampador ve Franks, 2014)

## 2.5. Gestasyonel Diyabet ve Epigenetik Mekanizmalar

Epigenetik mekanizmalar, histon modifikasyonları, DNA metilasyonu, RNA interferans olarak üç gruba ayrılır (Loscalzo ve Handy, 2014). Histon modifikasyonları, metil, asetil gibi grupların, ilgili enzimlerle kromatinde bulunan amino asitlere bağlanmasıyla meydana gelir. Bu sebeple, kromatinde yapı ve fonksiyon değişikliklerinin meydana geldiği modifikasyonlar epigenetik mekanizmalardır. Histon-histon veya histon-DNA arasındaki etkileşimlerde rol alarak kromatin yapısını değiştirirler (Strahl ve Allis, 2000). En çok görülen, önemli histon modifikasyonları asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, ubikütinasyonudur (Bannister ve Kouzarides, 2011).

DNA metilasyonları, sitozin fosfo guanin (CpG) adacıkları ismi verilen bölgelerde meydana gelir. DNA metiltransferazlar (DNMT) ile, CpG adacıklarındaki sitozinlerin, 5' ucuna metil grupları bağlanır. Transkripsiyonu baskıladığından, ilgili genin ekspresyonu azalmaktadır (Okano ve ark., 1998). Gestasyonel diyabetli anneler ile kıyaslandığında, kontrol grubu plasentalarında, DNA metilasyonlarının çok daha az olduğu görülmüştür. Gestasyonel diyabetli annelerin, yüksek glukoz konsantrasyonuna sahip hiperglisemik kan konsantrasyonunun, karbohidrat metabolizmasına ilişkin genlerin ekspresyonunu değiştirdiği görülmüştür (El Hajj ve ark., 2013; Lowe Jr ve ark., 2016).

RNA interferans, çift zincirli RNA'nın (dsRNA) hücreye girdiği zaman komplementer mRNA dizisinin parçalanmasıdır ve bunun sonucunda kodlanmayan RNA'lar meydana geldiği mekanizmadır. Bu kodlanmayan RNA'lara, küçük interferans RNA (siRNA), miRNA'lar denilmektedir. Mekanizmaya, transkripsiyon sonrası gen susturma mekanizması adı verilmiştir (Agrawal ve ark., 2003; Kusenda ve ark., 2006). Mesajcı RNA (mRNA) molekülü, diziye özgü yıkıma uğrar ya da translasyona giremez. İnsan genomunu, virüs kalıtım materyaline (DNA veya RNA), transpozonlara karşı korur. Bu şekilde, hücrel savunmada rol almasından dolayı, doğal metabolik süreçte de rolü vardır (Zhao ve ark., 2015).

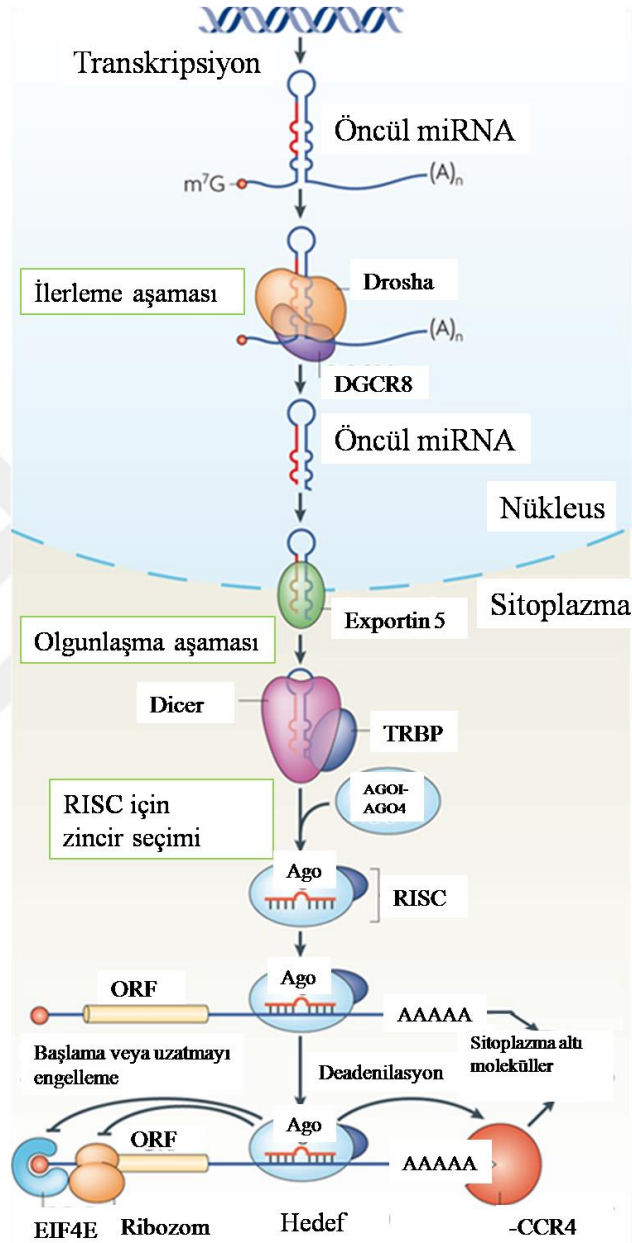
Mekanizma	Epigenetik proteinler/RNA	Etkileri
<p>Histon modifikasyonları</p>	<p>Yazıcı: EZH2, SETD2, ATM, MLL1 Okuyucu: BRD1, CHD2, PHF6, ASXL1 Silici: HDAC, UTX, JMJD3, BAP1</p>	
<p>DNA metilasyonu</p>	<p>Yazıcı: DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, Silici: HDAC, UTX, JMJD3, BAP1</p>	
<p>RNA interferans</p>	<p>miRNA, siRNA</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Translasyon başlatma,</li> <li>■ Splays yapma</li> <li>■ Düzenleme</li> <li>■ mRNA regülasyonu</li> </ul>

Şekil 2.4. Epigenetik mekanizmalar (Yang ve ark., 2016)

## 2.6. miRNA

miRNA'lar, küçük, protein kodlanmayan, 18-22 nükleotid uzunluğunda moleküllerdir. İntronlar tarafından, bazen de belirli spesifik genler tarafından kodlanır. miRNA'lar, spesifik hedef proteinlerin ekspresyonunu, mRNA degradasyonu sağlayarak veya onların translasyonunu engelleyerek düzenler. miRNA, mRNA'nın kodlanmayan 3' bölgesini (3UTR) hedef alır. İnsan genomunun üçte birini veya ikisinde fonksiyonel olan moleküllerdir (Lewis ve ark., 2005). Büyüme, proliferasyon, farklılaşma, sinyal iletimi, apoptoz, metabolizma gibi önemli fonksiyonları vardır (Kloosterman ve Plasterk, 2006). Bir çalışma, miRNA'ların mRNA regülasyonunu, hedef mRNA'ların translasyonunu engelleyerek gerçekleştirdiği, mRNA degradasyonunun az miktarda görüldüğünü savunur (Lewis ve ark., 2005). Farklı bir çalışma grubu, memeli miRNA'larının, mRNA degradasyonu aracılığıyla protein seviyelerinde azalma meydana getirdiğini savunur (Chen ve ark., 2004). Yapılan çalışmalar doğrultusunda, tüm insan dokularında, miRNA ekspresyonlarının olduğu tespit edilmiştir. Belirli mekanizmaların dışında, genel olarak, posttranskripsiyonel düzenleyiciler sınıfına dahil edilir (Chen ve ark., 2000; Lewis ve ark., 2005).

## 2.6.1. miRNA Mekanizması



Şekil 2.5. miRNA mekanizması (Inui ve ark., 2010)

Çift zincirli RNA'nın ilgili bölgesi bulunur ve miRNA transkripsiyon aşamasına geçilir. RNA polimeraz II tarafından, öncül miRNA'lar transkript edilir. Öncül miRNA'ların içeriğinde, en az bir tane hairpin yapısı bulunur. Bunlar, RNAaz III ailesinden olan Drosha endonükleazlarının tanınmasını sağlar. Drosha ile aynı işleve sahip

DGCR8'lerde nükleusta görevlidir. Exportin 5 molekülü, öncül miRNA'yı aktif hale getirir. Sitoplazmada, DGCR8 yerine, Drosha görev alır. Drosha da, öncül miRNA'yı tanıır. Dicer, öncül miRNA'yı parçalara ayırır. Biyolojik koşullarda, iki zincirden biri seçilir, diğeri uzaklaştırılarak parçalanır. Olgunlaşan miRNA, RNA-indüklenmiş susturma kompleksi (RISC) ile birleşir. miRNA, RISC'in, hedef mRNA'yı tanınmasına izin verir. RISC içindeki endonükleazlar, mRNA'yı degrade eder. Bu iki mekanizma ile olur. İlki, CCR-siz molekül ile deadenilasyon aracılığıyla, poli A kuyruğu çıkarılır ve mRNA degrade olur. İkincisi, ökaryotik başlama faktörü 4E (EIF4E) bloke edilir (Inui ve ark., 2010).

### **2.6.2. miRNA'ların Klinik Önemi**

Gelişme, büyüme, farklılaşma ve metabolizmayı düzenleme gibi önemli biyolojik süreçleri düzenler. Memeli genomunda, yaklaşık olarak 2200 tane miRNA vardır. miRNA'lar büyüme, gelişme ve farklılaşma kontrolüne sahip olduğundan, kanser tedavisinde önemli bir belirteçtir. miRNA'ların az veya fazla ekspresyonu, apoptoza veya protoonkogenlerin aktivasyonuna sahip olabilir. miR-21, miR-155, miR-23 ve miR-191'in fazla ekspresyonu meme kanserine neden olurken, miR-205, miR-145, miR-10b, ve miR-125b'nin ekspresyonunun az olması da meme kanserine neden olmaktadır. miR-21'in aşırı ekspresyonu, hem meme hem de kolon kanserine sebep olabilmektedir. Her süreç için, miRNA'lar farklı görevler üstlenir (Ardekani ve Naeini, 2010).

miRNA'lar, kanser dışında (Urbich ve ark., 2008), kardiyovasküler, inflamatuvar, nörogelişimsel hastalıklar için belirteçtir (Miska ve ark., 2004). Alzheimer (Cogswell ve ark., 2008) gibi yaşam kalitesini düşüren hastalıklarla ilişkisi olduğu keşfedildi, ancak temel mekanizmaları tam olarak aydınlatılamadı. Diyabet patogenezinin rolünü araştırmak amacıyla tip 1 diyabet ve tip 2 diyabet hayvan modeli oluşturulduğunda, pankreas  $\beta$  hücreleri, karaciğer, adipoz doku ve iskelet kaslarında miR-146a, miR-21, miR-29a (Guay ve ark., 2011), miR-34a, miR-222 ve miR-375 ekspresyonlarının arttığı görüldü (Herrera ve ark., 2010).

### 2.6.3. miRNA ve Plasenta

Plasentada çok miktarda bulunan miRNA'ların, plasentanın patofizyolojisinde, gelişiminde ve biyolojik fonksiyonlarında önemli rollerinin olduğu bilinmektedir (Barad ve ark., 2004). Primat plasentasına özgü miRNA'lar, 19. kromozomun 19q13.41 lokalize olmaktadır. Genel olarak kromozom 19 miRNA kümelenmesi (cluster) (C19MC) olarak bilinir (Barad ve ark., 2004). C19MC miRNA'ları, plasenta, testis, embriyonik kök hücreler ve bazı tümörlerde belirlenmiştir (Luo ve ark., 2009). Gebelik süresince, C19MC, miRNA'ların plasentanın trofoblast hücrelerinde ekspresyonlarının yüksek olduğu gözlenmiştir. Plasentada, 14. kromozom miRNA kümelenmesi (C14MC)'nin ekspresyonu yüksektir ve en çok term dönemde artışı görülmüştür. İnsanlara özgüdür, sadece plasentada ekspresyonu görülmez, tüm dokular için ekspresyonu söz konusudur (Morales-Prieto ve ark., 2013).

### 2.7. miR-223

miR-223, ilk kez hemotoloji çalışmaları sırasında keşfedilmiştir. miR-223'ün en önemli rolü, hematopoetik hücrelerin farklılaşmasını düzenlemesidir. Kemik iliğinde ekspresyonları yüksektir. Hematopoetik kök hücre, kemik iliği, akyuvar ve lenfosit hücrelerin gelişimini etkilemektedir (Johnnidis ve ark., 2008).

X kromozomunun q12 lokusundan bulunan gen tarafından kodlanır. miRNA, hematopoetik sistem çalışmaları sırasında keşfedilmiştir. miR-223'ün ekspresyonu, PU.1 faktörü, CCAAT kuvventlendirici bağlayıcı protein-  $\alpha$  ve  $\beta$  (C/EBP- $\alpha$  ve - $\beta$ ), nükleer faktör 1-A (NFI-A) gibi transkripsiyon faktörleriyle düzenlenmektedir. PU.1 faktörü, osteoklast farklılaşmasında ve miR-223 promoter bölgesinin içindeki iki ayrı bölgenin birbirine bağlanmasında görevlidir. PU.1 ekspresyonu, makrofaj koloni stimüle edici faktör (MCSF) ve nükleer kappa B ligandı reseptör aktivatörü (RANKL) tarafından indüklenir. PU.1, miRNA ekspresyonunu aktive eden miR-223 promoterına bağlanarak, osteoklastlara özgü mRNA'ları hedefleyerek osteoklastogenezi indükler (Chen ve ark., 2004; Kapinas ve Delany, 2011). C/EBP- $\alpha$ , miR-223 ekspresyonunu artıran miR-223 promoterına bağlanarak, granülosit farklılaşmasını indüklemekte (Fazi ve ark., 2005), NFI-A ise granülosit ve osteoklast farklılaşmasını engellemektedir (Chen ve ark., 2004; Fazi ve ark., 2005).

miR-223'ün immün sistemin homeostasisinde ve gelişiminde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Kanserin birçok tipinde, inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda, diğer patolojik süreçlerde de, miR-223'ün ilişkili olduğu gösterilmiştir (Johnnidis ve ark., 2008).

## **2.8. Gestasyonel Diyabet ve miR-223**

Preeklampsi, intrauterin büyüme geriliği gibi gebelik patolojilerinde plasenta-spesifik miRNA'ları araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur (Pillar ve ark., 2015). Ancak, GDM gelişiminin regülasyonunda miRNA'ların rolünü araştıran çalışma çok azdır. Preeklampsik gebeliklerden sağlanan plasentalarda çok sayıda miRNA'nın ekspresyon profilleri çalışılmış ve miR-223'ün plasentadaki ekspresyonu ve preeklampsideki downregülasyonu gösterilmiştir (Choi ve ark., 2013; Zhu ve ark., 2009). Çok sayıda önemli hücreyel sürecin regülasyonunda rol oynayan miR-223, ilk olarak granülosit ve makrofaj farklılaşmasında bildirilmiştir (Johnnidis ve ark., 2008). miR-223, osteoklastogenez (Kapinas ve Delany, 2011) ve insan embriyonik kök hücrelerinin farklılaşmasında da rol oynamaktadır (Yu ve ark., 2013). miR-223'ün lipoprotein ve kolesterol mekanizmasındaki çok sayıda genin post-transkripsiyonel regülasyonunu koordine ederek sistemik kolesterol regülasyonunda kritik bir role sahip olduğu gösterilmiştir (Vickers ve ark., 2014). Kalpte miR-223'ün upregüle olduğu ve aşırı ekspresyonu sonucu ise GLUT4'ün posttranskripsiyonel upregülasyonu yoluyla kardiyomiyositlere PI3K-bağımsız glukoz alımını arttırdığı görülmüştür (Lu ve ark., 2010). miR-223'ün obezite ilişkili kronik hastalıkların patogenezi ile ilişkili adipoz doku inflamasyonunun düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir (Zhuang ve ark., 2012). Obez hastalarda yapılan bir çalışmada miR-223 düzeylerinin belirgin derecede düşük olduğu ve bu miRNA'nın obezitedeki metabolik değişiklikler için biyomarker olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir (Kilic ve ark., 2015).

GDM'li gebelik sonucu doğan yenidoğanlar için metabolik komplikasyonlar, endotelial/vasküler disfonksiyon ile ilişkilidir ve bu da ileri dönemde obezite, hipertansiyon, tip 2 diyabet ve metabolik sendroma yol açmaktadır. Bu komplikasyonların bazıları, diyabetik annenin metabolik ortamı sonucu oluşan bozulmuş plasental yapı ve fonksiyonu ile ilişkilidir (Gabbay-Benziv ve Baschat, 2015). Son



yıllarda leptin, adiponektin, resistin ve proinflamatuvar sitokinleri içeren ve adipokinler olarak bilinen adipositlerden-türeyen sinyal moleküllerinin gebelik ile ilişkili hastalıklardaki rolleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Briana ve Malamitsi-Puchner, 2010; Retnakaran ve Retnakaran, 2012).

## **2.9. Sitokinler**

Sitokinler, düşük molekül ağırlıklı, parakrin ve otokrin etki gösterebilen, proinflamatuvar, inflamasyon, immün sistem, onkojenik gibi süreçlerde regülatör rolü olan moleküllerdir (Feldmann ve Maini, 2003). İnterferon, interlökin, kemokin ailesi, mezenkimal büyüme faktörü, tümör nekroz faktör ailesi ve adipokin şeklinde gruplara ayrılmaktadır (Gordon, 2007).

### **2.9.1. İnterferonlar**

Metabolizma, hücre sağkalımı, proliferasyon, doğuştan ve sonradan kazanılmış immün cevapta rolü olan sitokinlerdir. Tüm hücre tiplerinde üretilmektedir (Rusinova ve ark., 2013). Sadece konak hücrelerde replikasyonunu gerçekleştiren virüslerin, çoğalmasını engellemek amacıyla adaptif immün yanıt oluşmasında sitokinlerin rolü olduğu bilinmektedir (Kotenko, 2011).

Farklı hücre tipleri, gen lokusları, primer protein sekansları, reseptör farklılıkları nedeniyle, interferon I, II ve III olmak üzere üç farklı ligandı bulunur (González-Navajas ve ark., 2012; Huang ve ark., 2007; YOUNG, 1996). Tip 1 interferonlar, hem virüs hem de bakteri enfeksiyonlarına immün cevap verir (Kotenko, 2011). İnsanlarda, tip I interferonların, fonksiyonel olan 13 tane  $\alpha$  ve 1 tane  $\beta$  olmak üzere 14 tane interferon çeşidi bulunur. Tip I ve III interferonları IL-10 ailesine yapısal olarak benzer (Díaz ve ark., 1994). Bu interferonların sinyal reseptörleri, uzun intrasitoplazmik domain (ICD) R1 ve kısa ICD R2 olmak üzere 2 zincirli transmembran glikoprotein yapısından oluşmaktadır. JAK1 sinyal yolağını kullanan bu interferonlar, R1 ve R2 subünitelerini, bağlanma bölgesi olarak kullanmaktadırlar. Sinyal kaskadlarının aktive olmasıyla, JAK1 sinyal yolağı aktivitesi gerçekleşmektedir (Langer ve ark., 2004).

## 2.9.2. İnterlökinler

Hücrelerde, inflamasyon, proliferasyon, migrasyon, adhezyon, büyüme ve gelişimde görevlidir. 4-15 kDa ağırlığında (Fina ve Pallone, 2008), hücrel mesaj iletim ağıyla bağlantılı, glikoprotein veya protein yapıdaki moleküllerdir. Özellikle immün sistem hücrelerinin farklılaşması, aktivasyonu, homeostasisinde ve gelişiminde görev alırlar (Koss ve ark., 2000). Mitoz bölünme, büyüme, farklılaşma, migrasyon ve apoptoz olayları, interlökin reseptörlerinin hedef hücrelere bağlanarak, ikincil mesaj ve sinyal transdüksiyonunun başlaması için sinyal oluşmasında görevlidirler (Akdis ve ark., 2011).

İnterlökin-1'in, organizmada, en çok üretildiği hücreler, makrofajlar, keratinositler, endotel hücreler, düz kas hücreleri, dendritik hücreler, fibroblastlar ve nötrofillerdir. IL-1 hemen her hücrede üretilir (Akira ve ark., 1993; Dinarello ve Bufler, 2013; Nold ve ark., 2010; Sharma ve ark., 2008). Mikroorganizmalarda, LPS, muramil dipeptid gibi uyarıcı moleküllerin varlığında, IL-1 üretimi artırılmaktadır (Sharma ve ark., 2008).

İnterlökin-6, otokrin ve parakrin etkisi olduğu bilinen bir sitokindir (Borsellino ve ark., 1995; Van Snick, 1990). T lenfosit, monosit, makrofaj, fibroblast, endotel hücre, mast hücresi, hepatositler, nöronal hücrelerde üretilir (Klein ve ark., 1989). T ve B lenfositlerinin büyüme ve farklılaşmasını sağlar (Hirano ve ark., 1985). Obezite, tip 2 diyabet, insülin duyarlılığı, glukoz intoleransı gibi metabolik süreçlerde ve hastalıklarda, TNF- $\alpha$  ile bağlantılı olarak artar. Adipoz dokuda üretimi ve dolaşımdaki miktarı, obezite, bozulmuş glukoz tolerans ve insülin direnci durumlarında artar (Stirrat ve Reynolds, 2014). Hepatik C-reaktif protein üretiminin önemli bir düzenleyicisidir (Ide ve ark., 2003). Plazma IL-6 düzeyleri tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalık (KVH) gelişimi açısından prediktif bir özellik gösterir (Mauricio ve ark., 1992).

Yapılan çalışmalarda obez annelerde, portal yolla karaciğere ulaşarak hepatik trigliserit oluşumunu ve sekresyonunu artırır, hipertrigliseridemiye sebep olur. Yağ dokusunun LPL aktivitesini ve enerji depolamasını azaltır. Obezitede plazma IL-6 miktarı artmaktadır. İnsüline dirençli periferik dokular, pankreası daha fazla insülin salgılatmaya zorlar; sürekli olarak insülin üretimi de insülin direnci gelişimine yol açar. Benzer

komplasyonlar TNF- $\alpha$ 'da da görüldüğünden, metabolizmada, TNF- $\alpha$  ile interlökin-6 mekanizmasının ortak noktaları bulunmaktadır (Stirrat ve Reynolds, 2014).

### **2.9.3. Kemokinler**

Kemokinler, inflamasyon, homeostaz, anjiyogenez, lökositler ile kök hücrelere kemotaksi yaptırmak gibi görevleri bulunmaktadır. Lökositlerin migrasyonunu düzenlerler (Rot ve ark., 1996; Watson ve Arkinstall, 1994). Çoklu domainleri vardır. Düşük molekül ağırlıklı, protein yapıda olan sitokinlerdir. Kemokin genleri spesifik lokuslarda bulunur. IL-1 ve TNF- $\alpha$  ikincil proinflamatuvarlardır. CXC ve CC olmak üzere iki tane subfamilyası bulunmaktadır. CXC kemokinlerinin tüm üyelerinde, ilk iki sisteminin arasında bir adet aminoasit bulunmakta, CC kemokinlerinde ise ilk sistemin birbirine bitişik durumda bulunmaktadır (Murphy, 1994).

### **2.9.4. Mezenkimal Büyüme Faktörleri**

Mezenkimal büyüme faktörleri, hücre sinyal iletimi, proliferasyon, farklılaşma, çoğalma gibi biyolojik süreçlerde görevlidir. Otokrin veya parakrin etki gösteren sitokinlerdir. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) mitojenik faktör ailesi olup, fonksiyonel olarak mezenkimal ve sinir ektoderm kökenli hücrelerde çalışmaktadır. Hepatosit büyüme faktörü (HGF), hepatosit hücreleri başta olmak üzere farklı hücre tiplerinde üretilir. Hepatositlerde endotel hücre çoğalmasını sağlar (Aguilar ve ark., 2009; Danišovič ve ark., 2012; Patterson ve Padgett, 2000; Yano ve ark., 2008).

### **2.9.5. Tümör Büyüme Faktörler**

Tümör büyüme faktörü-  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), trombositler, makrofajlar, lenfositler, kemik, böbrek gibi farklı dokulardan sentezlenir. TGF- $\beta$ , hücrelerin gelişmesini, çoğalmasını ve birçok farklı hücre tipinin gelişiminin bloke edilmesini düzenler. TGF- $\beta$  reseptörü tip I ve tip II alt birimlerden oluşur (Massagué, 1998; Patterson ve Padgett, 2000). Makrofajlar tarafından kendi üretimini otokrin yolla düzenler. Monositleri uyarak FGF, PDGF, İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), TNF- $\alpha$  (Massagué, 1998) gibi büyüme faktörlerinin salınmasını sağlar. Tüm hücrelerin TGF- $\beta$  için reseptörü vardır. Hücrelerin gerekli metabolik, kimyasal ve immünite süreçlerinde, TGF- $\beta$  aracılığı ile sinyal almaktadırlar. Bunlar Smad protein ailesini uyaran, serin tirozin kinazlardır. TGF- $\beta$ 'nın hücre yüzeyindeki tip II reseptöre bağlanması tip I reseptörün fosforlanmasına neden

olur. Böylece tip I reseptör Smad 2 ve 3 proteinini fosforlayarak, aktive edebilecek duruma getirmektedir. Aktive olan Smad 2 ve Smad 3, Smad 4 ile heterodimerler oluşturur ve nükleusa giderler. Smad kompleksi, ko-aktivatörler, ko-represörler ve diğer transkripsiyon faktörleriyle birlikte gen ekspresyonunu regüle eder (Shi ve Massagué, 2003).

#### **2.9.6. Tümör Nekroz Faktörleri (TNF)**

TNF'nin, apoptotik hücre ölümü, inflamasyon, tümör gelişimi ve viral replikasyonun baskılanması sürecinde, hücrelerdeki ekspresyonu artar. 17 kDa ağırlığında bir moleküldür. 157 amino asitten meydana gelir. Proinflamatuvar bir sitokindir (Müller ve ark., 1987). Aktif makrofajlar, T hücrelerinden transmembran prekürsör proteini şeklinde üretilir. Prekürsör protein, TNF- $\alpha$  ve tümör büyüme faktörleri (TACE) tarafından parçalanır. TACE, metalloproteaz özelliğe sahip bir enzimdir ve TNF- $\alpha$ , oluşumunu sağlar (Bemelmans ve ark., 1996).

Üç TNF monomeri bir araya gelerek trimerik TNF'yi oluşturur. Trimerik TNF iki reseptörden birine, TNFR1 veya TNFR2'ye bağlanarak aktif hale geçer (Faustman ve Davis, 2010). TNF- $\alpha$ , inflamatuvar sitokinleri (IL-1 beta, IL-6, IL-8) uyararak kemokin oluşumunu tetikler. Endotel adezyon moleküllerinin, aktif hale geçmesini sağlar. TNF- $\alpha$ 'nın fonksiyonel özelliği, inflamatuvar reaksiyonlara ilişkin olayların başlamasını ve sürdürülmesini sağlamaktır (Flynn ve ark., 1995; Roach ve ark., 2002).

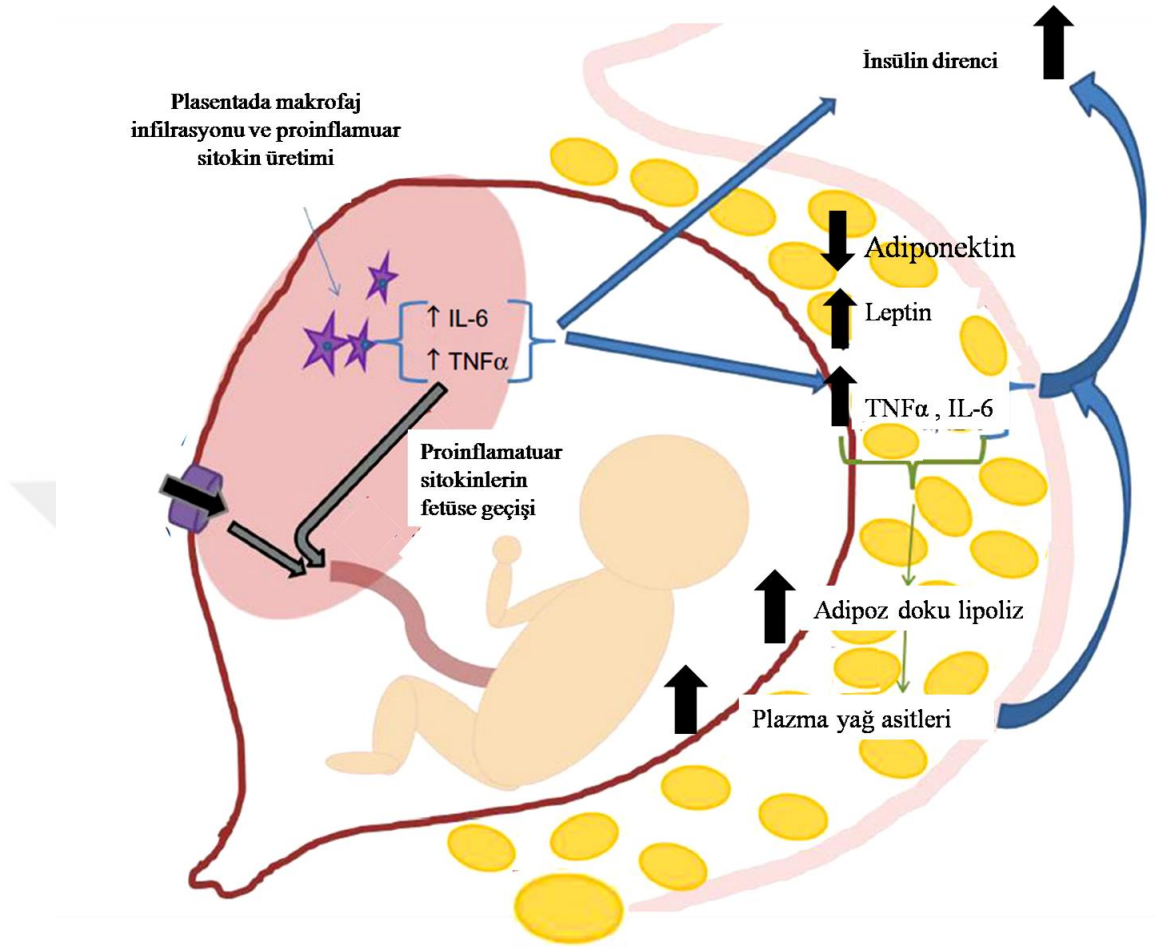
#### **2.9.7. Adipokinler**

Adipoz doku, metabolik aktivitesi yüksek, karmaşık yapıda, adiposit denilen hücrelerden meydana gelen bir dokudur. Metabolizmada enerji, lipid deposu ve hormonal düzeni sağlar (Ahima ve Flier, 2000). Adipoz dokunun, temel elemanı olan adipositlerden adipokin denilen, adipoz doku kaynaklı sitokinler salgınır. Bunlardan en önemlileri, adiponektin ve leptindir. Resistin ve IL-6 gibi adipoz dokudaki stromal hücreler tarafından salgınan sitokinler de yine adipokinler sınıfına dahil olmaktadır (Hardie ve ark., 1997).

## **Leptin**

Adipoz doku kitlesinin orantılı bir şekilde artışını sağlayan, adipoz doku hücreleri tarafından üretilen bir sitokindir. Merkezi hipotalamus yolağında, besin ve enerji dengesinin homeostasisinde, üreme sisteminde sinyal yollarında görev alır. Pankreasın  $\beta$  hücrelerinden insülin üretimini düzenler. İnsülin direnci olan kişilerde, adiponektin, IL-6 ile TNF- $\alpha$  konsantrasyon seviyelerinde azalma görülür (Lea ve ark., 2000; Lee ve ark., 1996).

Gebelikte, kötü intrauterin koşullar, bebeğin neonatal hayatını etkilemektedir. Çünkü, annenin maternal dolaşımındaki katı ve sıvı besin maddeleri, fetal dolaşımına bebeğe aktarılmaktadır. Annedeki, artmış insülin direncinin, fetoplazental dolaşımına bebeğe geçer. İnsülin direncinin artışı, proinflatuar sitokinler olan IL-6 ve TNF- $\alpha$  miktarını artırmaktadır. Bu sitokinler fetüse de geçmektedir. Bu, iki proinflatuar sitokin artışı, fetusteki leptin ve adiponektin seviyesini düşürmektedir. Bu iki sitokin grubu zıt etkili olarak çalışmaktadır ve fetusteki adipoz doku lipolizini artırmaktadır. Yani fetüsün, ileri dönemde obeziteye yatkınlığı artmaktadır (Stirrat ve Reynolds, 2014). Leptin, gebelik sürecinde, insülin direncinin artma potansiyeline karşın, hem anne hem fetüs sirkülasyonundaki glukoz konsantrasyonunu düzenlemek amacıyla, plasentadan üretilir (Lea ve ark., 2000).



Şekil 2.6. Gebelikte, insülin direncinin ile fetüse etkileri (Stirrat ve Reynolds, 2014)

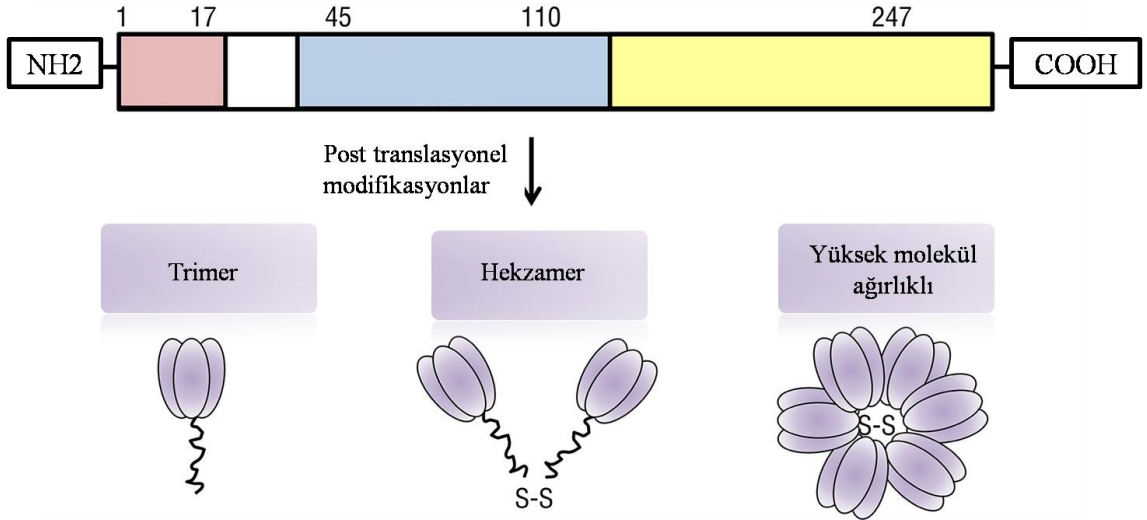
Plasentadaki leptin ekspresyonu, koryonik villuslarda, koryon levede ve amniyonda yüksektir. İnsan leptin mRNA'sı ve proteini, villöz vasküler endotel hücrelerde lokalize olur. Bu hücrelerin fetal dolaşımına direkt olarak bağlantısı vardır. Leptinin uzun ve kısa reseptör (Ob-R) izoformları, plasentada bulunur. Placenta fonksiyonunda otokrin veya parakrin etki göstermektedirler. Plasenta'nın maternal yüzeyindeki sinsityotrofoblastlarda lokalize olur (Lea ve ark., 2000; Lee ve ark., 1996). Placenta, ilk trimestere göre ikinci ve üçüncü trimesterde, leptinin maternal sirkülasyonundaki önemli bir kaynağıdır (Lee ve ark., 1996).

Placenta, hem leptin hem de onun reseptörlerini eksprese etmektedir. Üstelik son çalışmalarda, plasentada rezistinin de insanlarda üretildiği rapor edilmiştir. Leptinden farklı olarak, rezistinin serum ve placenta seviyesi, gebelik sürecinde artar. Bu korelasyonlar, gebeliğin ikinci döneminde insülin duyarlılığını azaltır. Bu durum, fetüs

gelişimi için oldukça olumlu bir katkıdır (Lea ve ark., 2000; Lee ve ark., 1996; Lönnqvist ve ark., 1995).

### Adiponektin

Adiponektin ortalama 28-30 kDa ağırlığında protein yapıda bir sitokindir. Protein içeriğinde ortalama 247 amino asit bulunur. Adiponektin, AdipoQ geninde kodlanır. Bu gen, 3. kromozomda bulunur ve lokasyonu 3q27'dir. Adiponektin geni, 3 ekzon içerir ve 16 kb zincire sahiptir. Genom kaynaklı linkaj çalışmaları, 3q27 lokusunun diyabet ile ilişkisini göstermektedir (Vionnet ve ark., 2000). İnsülin duyarlı, anti-inflamatuar, antiaterojenik bir adipokin olarak bilinir. Adiponektin, iki monomerdan oluşur. Bunlar, globüler domainden oluşan C terminali ve kollajen domainden oluşan N terminalidir (Scherer ve ark., 1995). Molekül ağırlığı düşük olarak üretildiğinde, plazmada monomer veya trimer yapıda olur. Yüksek molekül ağırlığında üretildiğinde, plazmada kompleks yapıda bulunur. Adiponektin insan plazmasında 2-10 µg/ml kadar bulunur (Takahashi ve ark., 2000). Total plazma proteinlerine göre oranı 0.01% 'dır (Masuzaki ve ark., 1998).

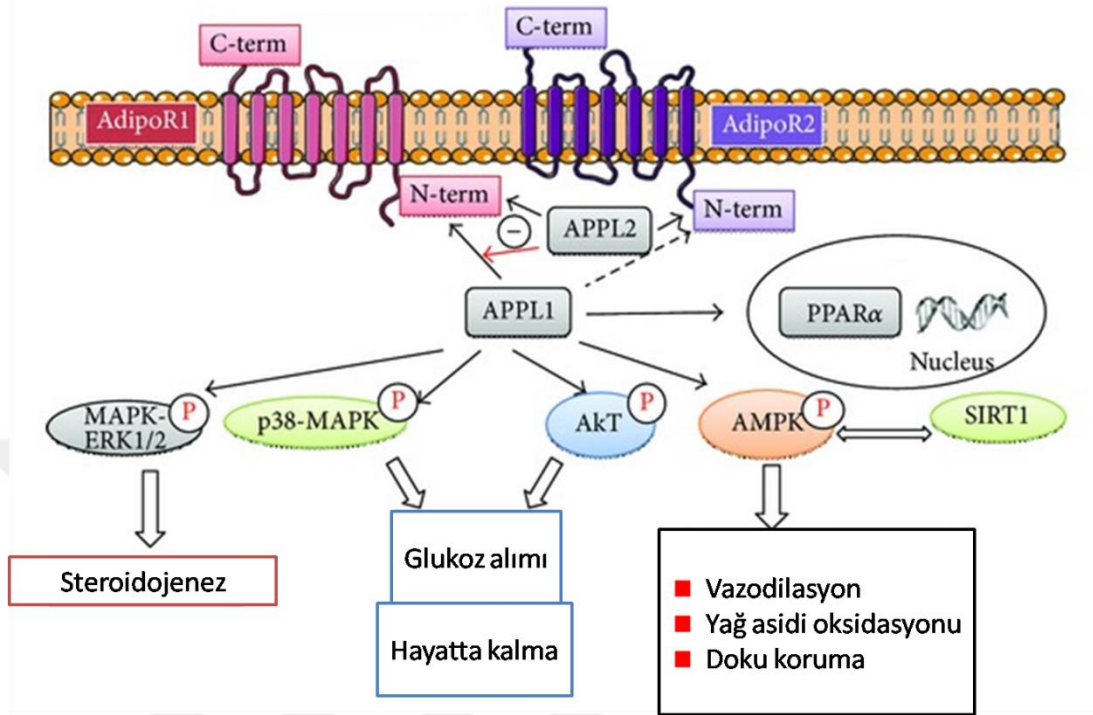


Şekil 2. 7. Adiponektinin yapısı (Fu ve ark., 2016)

Adiponektin reseptörü (AdipoR)1 ve AdipoR2 olmak üzere iki tane reseptörü vardır (Scherer ve ark., 1995). AdipoR1, kas hücrelerinde, AdipoR2 ise karaciğer hücrelerde çok miktarda sentezlenir. Adiponektin reseptörleri, AMP aktive eden protein kinaz (AMPK), fosfoinozimid 3 kinaz (PIK3), P38/P42/P44, mitojen aktive edici protein kinaz

(MAPK) ve JUN kinaz gibi sinyal yolları ile uyarılır (Scherer ve ark., 1995; Ye ve Scherer, 2013). Adiponektin, adrenerjik aktiviteyi, glukokortikoidleri, TNF- $\alpha$ , dibütiril cAMP üretimini engeller. Adiponektinin adipoz dokudaki ekspresyonu, plazmadaki seviyesini artırmakta ve karaciğer glukoz üretimi engellenmesiyle birlikte glukoz toleransı gelişmektedir. Adiponektin, adrenerjik aktiviteyi, glukokortikoidleri, TNF- $\alpha$ , dibütiril cAMP üretimini engeller. Adiponektinin adipoz dokudaki ekspresyonu, plazmadaki seviyesini artırmakta ve karaciğer glukoz üretimi engellenmesiyle glukoz toleransı gelişmektedir. Metabolizmadaki sentezlenen adiponektin miktarındaki azalış, insülin duyarlılığını tetiklemekte, karaciğer glukoz üretimini azaltmakta, insülin üretimini ise artırmaktadır. Glukoneogenez enzimleri olan fosfoenolpürivat karboksikinaz (PEPCK), glukoz-6-fosfotaz (G6Paz) ve yağ asidi oksidasyonunu azaltmaktadır. Adiponektin, karaciğerde, CD36 ekspresyonundaki azalmayla yağ asidi oksidasyonunu artırdığı, yağ asidi akışını ve karaciğer trigliseridlerini azalttığı bilinmesine rağmen, AMPK, asetil CoA karboksilaz, p38, MAPK ve PPAR- $\alpha$ 'nın glukoz ve lipid metabolizmasındaki rolü tam olarak kesinleştirilmemiştir (Rasouli ve Kern, 2008; RYAN ve ENNS, 1988).



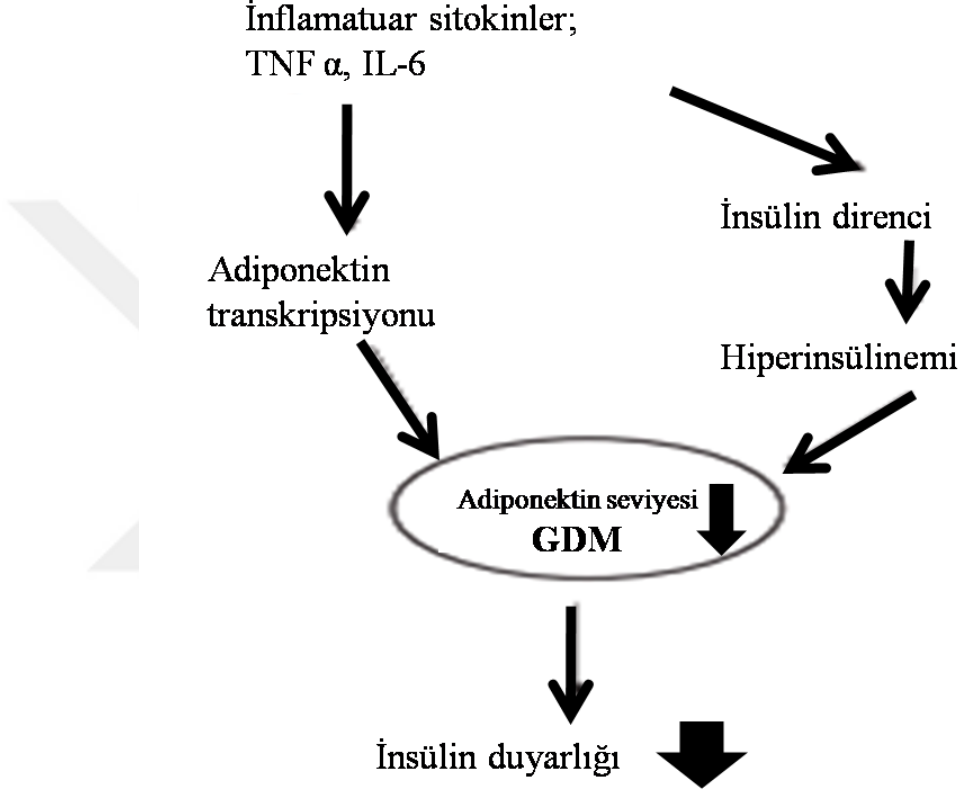


Şekil 2.8 Adiponektin reseptörlerinin sinyalizasyonu (Reverchon ve ark., 2014)

Düşük adiponektin serum seviyesi, tip 2 diyabet, insülin direnci, obezite, hipertansiyon, ventriküler hipertropiyle yüksek oranda korelasyona sahip olduğu bilinmektedir (Rasouli ve Kern, 2008).

Gebelikte, hormon, sitokin, inflamatuvar düzenleyiciler değişmektedir. Normal gebelikte, bu değişkenler insülin direncini oluşturmaktadır (Barbour ve ark., 2002). Gebe kadınların, beyaz yağ dokusundaki, mRNA adiponektin düzeylerine bakıldığında %60 oranla azaldığı görülmüştür. Plazmadaki adiponektin konsantrasyonunun ve mRNA'nın, adipoz doku oranıyla negatif korelasyonu olduğu görülmüştür. Adiponektin sekresyonu ve mRNA adiponektin seviyesi beyaz yağ dokudaki, zayıf kadınlarda da dahil gebelik sürecinde azaldığı bilinmektedir (Barbour ve ark., 2007). Adiponektin, term plasentada sinsityotrofoblastlardan sentezlemektedir (Kühl, 1991). Plasenta hücrelerinde üretilen sitokinlerin, tipi ve yeri, onların plasental, maternal veya fetal sinyaller olup olmadıklarına bakılarak belirlendiğinden, gebelikte annede görülen, GDM veya obezite varlığında, plasenta fonksiyonunun dış kontrolü sitokinlerin değişimiyle takip edilebilmektedir. TNF- $\alpha$ , leptin ve rezistin, GDM'li annelerde insülin duyarlılığını

artırdığı yönünde bir görüş bulunmaktadır (Gepts, 1965). Normal ve GDM hastası annelerin, maternal konsanrasyonları kıyaslandığında, adiponektinin azaldığı dolayısıyla insulin direncinin artmış olduğu yönünde bulgular vardır (Horvath ve ark., 2010; Vandorsten ve ark., 2012).



Şekil 2.9. Gestasyonel diyabet ile adiponektin ilişkisi (Miehle ve ark., 2012)

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu tez projesinde yapılan tüm deneyler, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Deneylerde kullanılan, hasta serum ve plasenta numuneleri Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki gebe kadınlardan temin edildi.

#### 3.1. Kullanılan Gereçler

- RNAlater stabilizasyon solüsyonu (Ambion/AM7021), plasenta dokularını muhafaza etmek için kullanıldı.
- mirVana miRNA izolasyon kiti (İçerisinde fenol ilaveli ve 40 kullanımlık) (Life Tech/AM1560) miRNA izolasyonu ve cDNA sentezi için kullanıldı.
- TaqMan mikroRNA revers transkripsiyon kiti (Thermo/4366596) (200 reaksiyonluk) Real-time PCR ve miRNA analizi için kullanıldı.
- TaqMan mikroRNA primeri hsa-miR-223-5p, 002098 (Thermo/4427975) Real-time PCR ve miRNA analizi için kullanıldı.
- TaqMan mikroRNA primeri RNU6B, 001093 (Thermo/4427975) Real-time PCR ve miRNA analizi için kullanıldı.
- TaqMan karışım solüsyonu II (Thermo/4440040) (İçerisinde UNG yok) Real-time PCR ve miRNA analizi için kullanılmıştır.
- MicroAmp optik yapışkan film (Thermo/4360954) (25 film) Real-time PCR ve miRNA analizi için kullanılmıştır.
- MicroAmp 96 kuyucuklu optik okuma aparatı (Thermo/4346906) (20 tane) Real-time PCR ve miRNA analizi için kullanılmıştır.
- İnsan adiponektin ELİSA kiti (Abcam/ab99968)

#### 3.2. Numuneler

Deneylerde kullanılan serum ve plasenta numuneleri, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 26.08.2015 tarihli, 138 karar no ile onay alınarak temin edildi.

Bu çalışmada, gebe kadınların term dönem plasentaları ve kanları kullanıldı. Gebe kadınların plasentaları ve kanları, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan temin edildi. Kontrol grubu için 10 tane, gestasyonel diyabet için 10 tane ve toplam 20 tane doku ve kan örneği ile çalışıldı.

### **3.2.1. Doku Temini**

Doğumdan sonra, term dönem plasenta ve kan numuneleri alındı. Ameliyathaneden alınan numuneler, +4°C sıcaklıkta muhafaza edilerek laboratuvara taşındı. Plasenta numuneleri, steril bistüri aracılığı ile küçük parçalara ayrıldı. Steril distile su ile muamele edilerek, plasentalar kanından arındırıldı. Kesilen plasenta numuneler, steril tüplere alındı. Her numune, RNAlater solüsyonu ile muamele edildi. RNAlater solüsyon miktarı, numunenin yaklaşık 5 hacim fazlası oranında hesaplandı. RNAlater solüsyonu ve plasenta, heterojen karışımları, +4°C'de bir gece bekletildi. Bir gece bekletilen numunelerden, RNAlater uzaklaştırıldı. Numuneler, miRNA izolasyonu yapılana kadar, -80°C'de, muhafaza edildi.

### **3.2.2. Serum Temini**

Gebe kadınların kan numuneleri, doğum sırasında, açılan damar yolundan, temin edildi. Kanlar, biyokimya tüplerine alındı. Kanın stabilitesini korumak ve pıhtılaşmasını engellemek amacıyla, +4°C sıcaklıkta muhafaza edilerek laboratuvara getirildi. Kan, oda sıcaklığında, 5300 rpm'de, 5 dakika santrifüj edilerek serumu alındı. Serum, ELİSA kitinde kullanılıncaya kadar, -80°C'de muhafaza edildi.



### **3.4. Total RNA İzolasyonu**

#### **Yıkama Solüsyonlarının Hazırlanması**

Protokolün, son aşamalarında yıkama işlemi için, miRNA yıkama solüsyonu 1 ve miRNA yıkama solüsyonu 2/3 hazırlandı. miRNA yıkama solüsyonu 1 üzerine, 21 mL %100 etanol eklendi. miRNA yıkama solüsyonu 2/3 üzerine, 40 mL %100 etanol eklendi. Hazırlana yıkama solüsyonları, oda sıcaklığında bekletildi.

- Protokolün son aşamalarında kullanılacak olan, %100 etanol oda sıcaklığına getirildi.

#### **Denev Protokolü**

- Her plasenta numunesi, -80°C beklediği için oda sıcaklığına getirildi.
- RNAlater solüsyonunun fazlası, steril bez aracılığıyla numuneden uzaklaştırıldı.
- Numuneler, fiziksel olarak kolay parçalamak amacıyla, sıvı nitrojenle muamele edilip, havanda ezildi.
- Dokuların 0,1 g'ı hassas terazide tartıldı ve deneyde bu miktar kullanıldı.
- Doku üzerine, 1 mL liziz/bağlama tamponu eklendi, Magna Lyser cihazında parçalanması sağlandı (Kit içeriğinde belirtilen, 1:10 ağırlık/hacim prosedürüne uygun olarak, 0.1 g için 1 liziz/bağlama tamponu kullanıldı).
- Doku lizatına, 30 µL miRNA homojenize edici solüsyon eklenip, vortekslendi (Kit içeriğinde belirtilen, 1/10 hacim prosederüne uygun olarak, 300 µl doku lizatına 30 µL miRNA homojenize edici solüsyon kullanıldı).
- Yeni lizat, 10 dakika buzda (+4°C ) bekletildi.
- Lizatların üzerine, 300 µL asit-fenol: kloroform eklendi, tüp alt üst edildi. Sonrasında 1 dakika vortekslendi (Kit içeriğinde belirtilen, başlangıç lizatı miktarı kadar eklenildi).
- Lizat, oda sıcaklığında 5 dakika, 10000 g hızında santrifüj edildi. Oluşan aköz faz ile organik faz birbirinden ayrıldı.
- Aköz faz, yeni ve temiz tüplere aktarıldı ve hacimleri not edildi.

- İzolasyon sonunda kullanılacak olan elüsyon tamponu, 95°C’de, 5 dakika ısıtıldı.
- Aköz fazın üzerine, aköz fazın 1.25 hacminde olacak şekilde %100 etanol eklenip, vortekslendi (Kit içeriğinde belirtilen, aköz fazın 1.25 hacmi olacak şekilde %100 etanol eklendi.)
- Her numune için, filtre kolonları, toplama tüplerine yerleştirildi.
- 700 µl hacimde lizat, kolonlara aktarıldı. Tüpler, 15 saniye, 10000 g’de santrifüjlendi. Tüpün altında kalan filtrat, temiz bir tüpe aktarıldı.
- Filtrat üzerine, 2/3 hacimde %100 etanol eklenip alt üst edilerek karıştırıldı (Kit içeriğinde belirtilen, 400 µL lizat için, 266 µL %100 etanol eklendi).
- 700 µL lizat, kolona aktarılıp, 15 saniye, 10000 g’de çevrildi. Kolonun altında kalan filtrat uzaklaştırıldı.
- 700 µL miRNA yıkama solüsyonu 1, kolon üzerine eklenip, 10 saniye santrifüj edildi. Kolonun altında kalan filtrat uzaklaştırıldı.
- 500 µL miRNA yıkama solüsyonu 2/3, kolon üzerine eklenip, 10 saniye santrifüj edildi. Kolonun altında kalan filtrat uzaklaştırıldı.
- Son işlem 2 kez tekrar edilerek yapıldı.
- Filtratlar uzaklaştırıldıktan sonra, filtre kolonu ve toplama kolonu 1 dakika boş şekilde santrifüjlendi.
- 100 µl, önceden ısıtılmış olan elüsyon tamponu her numune üzerine eklendi.
- Maksimum hızda 30 saniye çevrildi.
- İzole edilen miRNA’lar, cDNA sentezi için -20°C’de muhafaza edildi.

### **3.5. Total RNA Konsantrasyonlarının ve Safılıklarının Hesaplanması**

Total RNA izolasyonları, 1:100 oranında dilüe edildi. Elde edilen total RNA’nın konsantrasyonu ve safılıkları spektrofotometrik olarak 260 nm ve 280 nm dalga boyunda ölçülerek değerlendirildi.

### Total RNA Saflık Değerleri;

A260/A280 dalga boyunda, 1.8 ile 2.1 arasında olmalıdır.

### Total RNA Konsantrasyonları;

Konsantrasyon = ( $\mu\text{g/mL}$ ) =  $40 \times A_{260}$  şeklinde hesaplanmıştır.

### 3.6. Total RNA Jel Analizi

#### 10X TBE (Tris/ Borat/EDTA) Tamponu Hazırlama

Tablo 3.1. 10X TBE tamponu hazırlama

Konsantrasyon	Bileşik	1 Litre için
0.9 M	Tris	109 g
0.9 M	Borik asit	55 g
20 mM	0.5 M EDTA	40 mL

Tablo 3.1.'de verilen bileşikler 850 mL'de çözdürüldü. Solüsyonun son hacmi, 1L'ye tamamlandı.

#### 8 M Üre ile %15 Poliakrilamid Jel Hazırlama

Tablo 3.2. 8M üre ile %15'lik poliakrilamid jel hazırlama

<u>Bileşik</u>	<u>Miktar</u>
Üre	7.2 g
10X TBE	1.5 mL
%40Akrilamid:Bisakrilamid	5.6 mL
15 mL distile su eklenmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır.	
%10Amonyum persülfat (APS)	75 $\mu\text{L}$
TEMED (N,N,N',N' Tetrametiletildiamin)	15 $\mu\text{L}$
APS ve TEMED çok hızlı donduğu için, köpürtülmeden dikkatli karıştırıldı.	



### **%15'lik Poliakrilamid Jeli Yürütme ve Görüntüleme**

- 1-2 µg RNA ile aynı hacimde Gel Loading Buffer II karıştırılıp, 95°C'de kaynatıldı.
- %15'lik jel, dikey elektroforezde donmaya bırakıldı.
- Numuneler, jelin kuyucuklarına yüklendi ve 45 miliamper (mA)'de yürütüldü.
- Prosedüre uygun olarak, bromofenol mavisi, jelin alt yüzeyine gelinceye kadar yürütüldü.

### **3.7. Taqman Total RNA cDNA Protokolü**

- Her 15 µL Rervers Transkriptaz için 10 ng Total RNA kullanıldı. Protokol dahilinde, enzimlerin aktivitesinin değişmemesi için, buz (+4°C) üzerinde çalışıldı.

**Tablo 3.3.** Taqman miRNA cDNA sentezi için karışım hazırlama

<b><u>Bileşik</u></b>	<b><u>Miktar</u></b>
100 mM dNTPler	0.15 µL
MultiScribe reverse transkriptaz, 50 U/µL	1.0 µL
10× revers transkriptaz tamponu	1.5 µL
RNaz inhibitörü, 20U/µL	0.19 µL
Nükleaz içermeyen distile su	4.16 µL
Toplam	7 µL

- Yukarıda belirtilen bileşiklerden 7 µL'lik bir karışım hazırlandı.
- Karışım vortekslendi.
- Her 15 µL Rervers Transkriptaz için;
- 7 µL karışım (0.15 µL MultiScribe reverse transkriptaz, 1 µL 10× revers transkriptaz tamponu, 0.19 µL RNaz inhibitörü 20U/µL, 4.16 µL nükleaz içermeyen distile su ile hazırlandı).
- 5 µL miRNA eklendi.
- 3 µL 5X RT primer ile karıştırılarak yeni bir karışım elde edildi.

- Son karışım 5 dakika buzda bekledikten sonra termal döngü aşamasına geçildi.

### **Termal Döngü Aşaması**

cDNA sentezi için hazırlanan karışımlar, Tablo 3.5 ile gösterilen sıcaklıklar ve sürelerine göre termal döngü cihazı ayarlandı. Hazırlanan numuneler, cihaza yerleştirildi.

**Tablo 3.4.** Termal döngü sıcaklıkları ve süreleri

<b>Basamak</b>	<b>Sıcaklık</b>	<b>Süre</b>
1.	16 °C	30 dakika
2.	42 °C	30 dakika
3.	85 °C	5 dakika
4.	4 °C	∞

### **Taqman 2X PCR Karışım Protokolü**

miR-23 ve RNU ekspresyonları için PCR karışımı, her numune için aşağıdaki gibi hazırlandı.

**Tablo 3.5.** miR-223 ve RNU için PCR reaksiyonu hazırlama

<b>Bileşik</b>	<b>Miktar</b>
TaqMan miRNA primeri (20×)	1.0 µL
Revers transkripsiyon reaksiyon ürünü (minimum 1:15 dilisyon)	1.33 µL
TaqMan 2× PCR karışımı	10.0 µL
Nükleaz içermeyen distile su	7.67 µL
Toplam	20 µL

Tablo 3.6.'da verilen bileşikler, belirtilen miktarlar ölçüsünde karışım hazırlandı ve Real-Time PCR aşamasına geçildi.

### **Real- time PCR Cihazının Protokolü**

**Tablo 3.6.** Real-time PCR Cihazının Protokolü

<b>Basamak</b>	<b>Sıcaklık</b>	<b>Süre</b>
1.	95 °C	10 dakika
2.	95°C	15 saniye
3.	60 °C	1 dakika

miRNA ekspresyonlarıyla ilişkin veriler, delta-delta CT metodu ile analiz edilip, Step One Plus Real-Time PCR System (Thermo Scientific) Software ile kantitatif olarak hesaplanmıştır.

### **3.8. İnsan Adiponektin ELİSA Kit Protokolü**

Deneyler, oda sıcaklığında yapılmıştır.

#### **ELİSA Solüsyonlarının Hazırlanması**

##### **1X Yıkama Tamponu Hazırlama**

1:10 dilisyon yapıldı. 30 mL 10X stok solüsyon, 270 mL distile su ile karıştırılarak kullanıldı.

##### **1X ELİSA Tamponu Hazırlama**

1:100 dilisyon yapıldı. 20 mL 10X stok solüsyon, 180 mL distile su ile karıştırılarak kullanıldı.

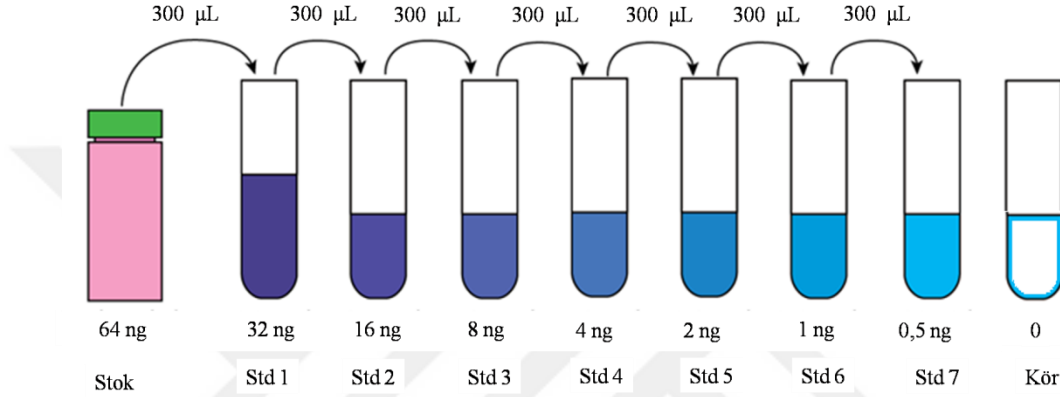
##### **1X Primer Antikoru Hazırlama**

1:1000 dilisyon yapıldı. 10 mL 10X primer antikorstok solüsyonu ile 10 mL 1X ELİSA tamponu karıştırıldı. Solüsyon stabil olmadığı için kullanımdan hemen önce hazırlandı.

### 1X HRP Solüsyonu Hazırlama

1:100 dilisyon yapıldı. 100 mL 100X HRP stok solüsyonu ile 10 mL 1X ELİSA tamponu karıştırıldı. Solüsyon stabil olmadığı için kullanımdan hemen önce hazırlandı.

### Standartların Hazırlanması



Şekil 3.2. ELİSA standartlarının hazırlanması

Adiponektin standart (Std) solüsyonu 1 mL distile su ile çözüldü. Yavaşça karıştırılıp, kullanmadan önce en az 15 dakika kadar bekletildi. Standart üzerine 64 nanogram/mililitre (ng/mL) yazıldı.

- 7 tane standart tüpüne sırasıyla 32, 16 ,8 , 4, 2, 1, 0.5 yazıldı ve bir tane kör tüp eklendi. Toplam 8 tüp oldu. Aynı bu şekilde bir seri tüp daha yazıldı.
- Her tüpe 1X ELİSA tamponu eklendi.
- Standart tüplerden birincisine 300 µL adiponektin standart solüsyonu eklendi. Toplamda 300 µL 1X ELİSA ve 300 µL adiponektin standart solüsyonu olmak üzere 600 µL karışım elde edildi. Bu karışım vortekslenip, 300 µL'si 2. standart tüpüne eklendi.
- İşlem birinci ve ikinci tüplerde olduğu gibi sırasıyla devam edildi.
- En son 0.5 ng/mL olan tüpte 600 µL karışım kaldı.

### **ELİSA Protokolü**

- 100 µL serum ve hazırlanan standartlar kuyucuklara eklendi. 1 saat, 37°C'de inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra kuyucuklar boşaltılıp, 3 kez 1X yıkama tamponu ile kuyucuklar temizlendi.
- 100 µL primer antikor eklenip, 1 saat, 37 °C'de inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra kuyucuklar boşaltılıp, 3 kez 1X yıkama tamponu ile kuyucuklar temizlendi.
- 100 µL 1X HRP dolüsyonu eklenip, 1 saat, 37°C'de inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra kuyucuklar boşaltılıp, 5 kez 1X yıkama tamponu ile kuyucuklar temizlendi
- 100 µL TMB Subsrat solüsyonu eklenip, 20 dakika, oda sıcaklığında kuyucuklarda koyu renk (mavi) görülünceye kadar inkübe edildi.
- 100 µL Stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu.
- Spektrofotometrede, 450 nm dalga boyu seçilerek konsantrasyonlar okutuldu.

### **3.9. İstatiksel Analizler**

İstatistiksel analiz için IBM SPSS Statistics 20 Programı kullanıldı. Kontrol ve gestasyonel diyabetik gruplar için normalite testleri uygulandı. SPSS programında, hastaların biyokimyasal ve demografik parametreleri, Real-time PCR ve ELİSA sonuçları için Paired Samples T Testi kullanıldı. \*\*p<0.01, \* p<0.05 olan değerler anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM olarak verildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Kontrol ve GDM Gruplarının Demografik ve Biyokimyasal Parametreleri

Kontrol ve GDM grubu term dönem gebe kadınların yaşları, açlık kan glukozu, HbA1c, HDL, LDL, VLDL, total kolesterol ve trigliseritleri değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM olarak verildi.  $**p<0,001$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

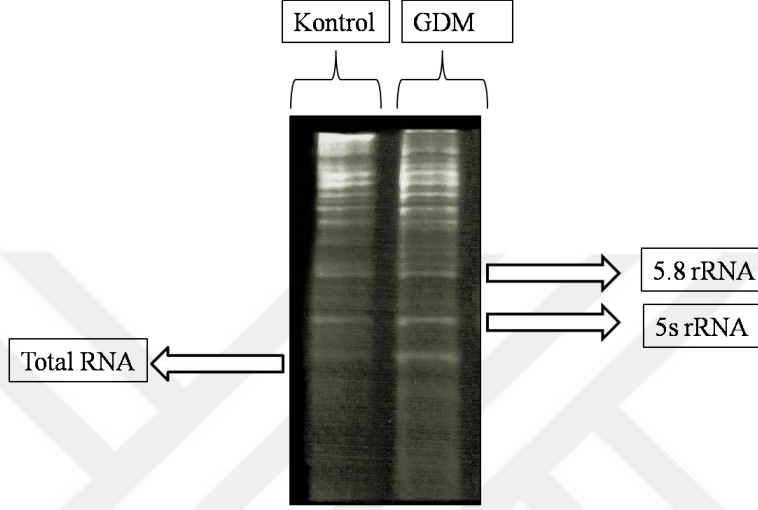
**Tablo 4.1.** Kontrol ve GDM gruplarının biyokimyasal ve demografik parametlerinin karşılaştırılması

	Kontrol (n=10)	GDM (n=10)	p
Yaş (yıl)	29,0 $\pm$ 1	35,810 $\pm$ 0,83	p<0,001
FPG (mg/dL)	79,21 $\pm$ 1,6	92,39 $\pm$ 2,21	p<0,001
HbA1c (%)	4,73 $\pm$ 0,21	5,65 $\pm$ 0,11	p<0,001
HDL (mg/dL)	44,04 $\pm$ 1,42	36,60 $\pm$ 2,1	p<0,018
LDL (mg/dL)	86,8 $\pm$ 3,8	162,0 $\pm$ 7,04	p<0,001
VLDL (mg/dL)	8,7 $\pm$ 0,2	7,3 $\pm$ 0,31	p<0,001
Total Kolesterol (mg/dL)	172,0 $\pm$ 8,31	232,1 $\pm$ 6,72	p<0,001
Trigliserit (mg/dL)	135,8 $\pm$ 2,12	211,53 $\pm$ 8,01	p<0,001

Tabloda yaş değerleri yıl, HbA1c değerleri yüzde ( %) ve FPG, HDL, LDL, VLDL, total kolesterol ve trigliserit değerleri mg/dL cinsinden verildi.

#### 4.2. Total RNA İzolasyonlarını Jelde Görüntüleme

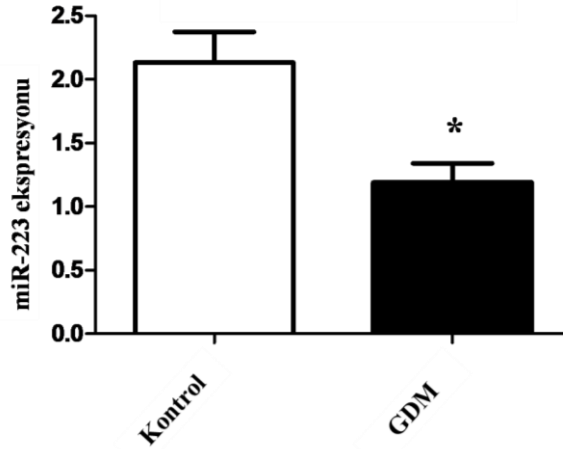
Term dönem plasentalardan elde edilen total RNA izolasyonu jelde görüntülendi. Bulgu olarak, total RNA, 5s rRNA ve 5.8 rRNA bantları tespit edildi.



Şekil.4.1. Total RNA'nın izolasyonlarını jelde görüntüleme

#### 4.3. PCR Bulguları

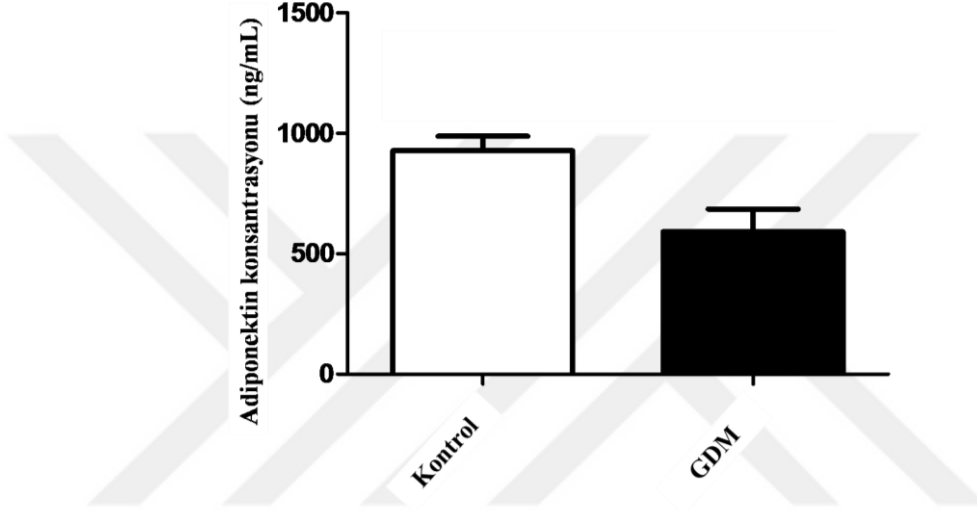
PCR bulgularında term dönemde alınan kontrol grubu plasentaları ile kontrol grubu ile GDM grubu plasentaları karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM olarak verildi. miR-223 ekspresyonu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, GDM grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi ( $p < 0.04$ ).



Şekil 4.2. Kontrol ve GDM grubu term dönem plasentalarda, miR-223'ün ekspresyonlarının karşılaştırılması \*( $p < 0,05$ ). Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir.

#### 4.4. ELİSA Bulguları

ELİSA bulgularında term dönemde alınan kontrol grubu serumları ile GDM grubu serumları karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir. Kontrol grubu ile GDM grubu karşılaştırıldığında, GDM grubunun kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi, ancak  $p < 0.07$  bulunduğu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.



Şekil 4.3. Kontrol ve GDM grubu term dönem serumlarında adiponektin konsantrasyonlarının karşılaştırılması \*( $p < 0,05$ ). Sonuçlar ortalama  $\pm$  SEM olarak verildi.



## 5. TARTIŞMA

Gebelikte, intrauterin koşullar altındaki fetüsün, besin maddelerinin ve gazların alışverişini sağlayarak, atık maddelerin uzaklaştırılmasını düzenleyen organ plasentadır (Gauster ve ark., 2012; Myatt, 2006). Fetal bir organ olan plasentadaki besin akışı, vasküler gelişimi sağlar. Anjiyogenez ve vaskülogenezi etkileyen fetal, plasental ve utero-plasental dolaşım, fetüs ve anne için oldukça önemli olaylardır. Bu olaylardaki malformasyonlar, intrauterin büyüme geriliği, preeklamsi ve diyabet gibi metabolik hastalıklara neden olur (Catalano ve ark., 1999). Gestasyonel diyabetli kadınların plasentaları, gebeliğin ikici yarısında, morfolojik olarak incelendiğinde, villuslarında anjiyogenez ve vaskülerizasyonun aşırı artış gösterdiği tespit edilmiştir (Vonnahme ve Ford, 2004).

Gestasyonel diyabet, gebelik sırasında görülen, pankreas  $\beta$  hücreleri ve insülin salınımıyla ilişkili genetik defektlerin meydana geldiği maternal ve fetal komplikasyonlarla karakterize, metabolik bir hastalıktır (ADA, 2015). Bu hastalığın önemi, bebeğin ileriki yaşamında görülen komplikasyonlardan kaçınmaktır. Bu komplikasyonlar, obezite, tip 2 diyabet, insülin direnci, kardiyovasküler hastalıklar gibi yaşam kalitesini düşüren hastalıklardır (ADA, 2015; Barbour ve ark., 2002).

Küçük, protein kodlanmayan, 18-22 nükleotid uzunluğunda post-transkripsiyonel regülatörler olan miRNA moleküllerinin, metabolizmada birçok biyolojik faaliyette rolü bulunmaktadır (Lewis ve ark., 2005). Pankreas gelişimi ve insülin salınımının düzenlenmesinde rolü olan bu moleküllerin, diyabet patogenezini yönettiği bilinmektedir. miRNA'lar, kanser, tip 2 diyabet, otoimmün, kardiyovasküler, nörolojik hastalıkların taramalarında, farklı ekspresyonlarıyla dikkat çeken moleküllerdir (Bartel, 2009). Guay ve ark., in vivo ve in vitro koşullarda tip 1 ve tip 2 diyabet hayvan modeli oluşturarak, insülin üreten hücrelerde ve insülinin hedef dokularında, belirli miRNA profillerini incelemişlerdir. İnsülin ilişkili hedef dokular olan pankreas, karaciğer, adipoz dokuda farklı ekspresyonlar gösteren miRNA'ları belirlemişlerdir. Çalışmalarında, pankreas  $\beta$  hücreleri, karaciğer, adipoz doku ve iskelet kasında miR-146a, miR-21, miR-29a, miR-34a, miR-222 ve miR-375 gibi miRNA'ların farklı şekilde ekspresyon

gösterdiğini bulmuşlardır. İleriki dönemlerde, miRNA'ların tip 1 ve tip 2 diyabetin prognozunda önemli biyobelirteçler arasında olduğunu düşünmektedirler (Guay ve ark., 2011). Zhao ve ark., GDM için hedef gördükleri miR-29a, miR-222 ve miR-132'yi, kontrol ve GDM gruplarından alınan serumlardaki ekspresyonlarını karşılaştıklarında, bu iki grup arasında belirgin ekspresyon farklılıkları olduğunu görmüşlerdir (Zhao ve ark., 2011).

Çalışmamızdaki, kontrol ve GDM gruplarını kesin bir şekilde belirlemek amacıyla, gruplarda bulunan gebe kadınlardan temin edilen serumlarda FPG, LDL, VLDL, total kolesterol ve trigliserit değerlerinde kıyaslama yapılmıştır. HDL dışındaki tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi. HDL'de ise kontrol gruplarında bir artış söz konusudur. Dos Santos ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, GDM'li gebelerde trigliserit/HDL kolesterolün plazmadaki logaritmasını kıyasladıklarında, kontrol grubuna göre bir azalma olduğunu görmüşlerdir (dos Santos-Weiss ve ark., 2013). Sarkar ve ark. yaptığı çalışmada, HbA1c, total kolesterol, trigliserit ve LDL parametreleri, kontrol grubunda gestasyonel diyabetli gruba göre azalmıştır (Sarkar ve ark., 2006). Çalışmamızdaki gebe kadınların yaşları kıyaslandığında, GDM'li grupta yaş oranının daha yüksek olduğu görülmüştür. Kontrol ve GDM grubu olan bir çalışmada, GDM grubunun yaş oranının fazla olduğu bulunmuştur (Huo ve ark., 2015).

Çalışmamızda, kontrol grubu ile gestasyonel diyabetli kadınların term dönem plasentalarındaki miR-223 ekspresyon düzeyleri araştırıldı. Gestasyonel diyabet grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğu tespit edildi ( $p < 0.04$ ). Bir çalışmada, metabolik, inflamatuvar ve anti-anjiyogenik yolların, epigenetik regülasyonlar ile değiştiği düşünülen miRNA'ların ekspresyonları değerlendirilmiştir. Tip 2 diyabetli serumların, mikroarray ve Real-time qPCR sonuçlarında, miR-20b, miR-21, miR-24, miR-15a, miR-126, miR-191, miR-197, miR-223, miR-320, miR-486 ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir (Zampetaki ve ark., 2010). Ratlarda yapılan bir çalışmada, miR-223'ün kalp kası hücrelerinde, GLUT4 ekspresyonunu azaltarak glukoz metabolizmasını düzenlediği belirlenmiştir (Lu ve ark., 2010). Zampetaki ve ark., diyabet prevalansını, miR-20b, miR-21, miR-24, miR-15a, miR-126, miR-191, miR-197, miR-223, miR-320 ve miR-486'yı Real-time qPCR'daki

ekspresyonlarını değerlendirdiklerinde, çalıştıkları miRNA'ların ekspresyonlarında azalma görmüşlerdir (Zampetaki ve ark., 2010). Yapılan alışmalar, genellikle tip 2 diyabet üzerine olsa da, çalışmamızda ve diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlar doğrultusunda, aynı paterne sahip olan GDM'nin term dönem diyabetik insan plasentasındaki miR-223 ekspresyonundaki azalmanın, GDM nedeniyle olabileceği yönündedir.

Adipoz dokudan, leptin, adiponektin, resistin gibi proinflamatuvar sitokinler salgılanmaktadır (Ahima ve Flier, 2000; Hardie ve ark., 1997; Zampetaki ve ark., 2010). Adiponektin, 28-30 kDa ağırlılığında, 247 aminoasit içeren Adipoq proteinini ekprese eden bir sitokindir. AdipoQ geninden kodlanan adiponektinin, metabolizmada iki tane reseptörü bulunur. Bunlar, AdipoR1 ve AdipoR2'dir (Scherer ve ark., 1995). Adiponektin, AMPK ve PPAR'ların aktivasyonu aracılığıyla, lipid ve glukoz metabolizmasını düzenleyerek, enerji metabolizmasını dengede tutar (Zampetaki ve ark., 2010). Adiponektin azalışı, obezite, insülin direnci, glukoz intoleransı, dislipidemi, aterosklerozis gibi olaylar ile ilişkilidir. Diyabetin erken dönem patogenezinde, adipoz dokudan salınan adiponektinin azalmasıyla insülin duyarlılığının da azaldığı görülmektedir (Yamauchi ve ark., 2002). Bu olaylar zinciri, annenin BMI ve insülin duyarlılığı ile negatif bir korelasyon oluşturmaktadır (Retnakaran ve ark., 2005). GDM'li kadınlarda, adiponektin konsantrasyonu düşmektedir. Gebelikte, hipoadiponektemi, pankreas  hücrelerinin azalmasına neden olur (Mastorakos ve ark., 2007). Bhograj ve ekibinin yaptığı bir çalışmada, gebelikte laktojen, prolaktin ve büyüme hormonlarının,  hücrelerinin proliferasyonunu etkilediğini göstermişlerdir. Serum adiponektinin azalışının, plasentada insulin stimuli eden amino asit taşınmasını engellediğinden fetüsteki büyümenin değiştiğini savunmaktadırlar. Ayrıca düşük adiponektin seviyesinin de, pankreas  hücrelerinin fonksiyonunu değiştirdiğini göstermişlerdir (Bhograj ve ark., 2016).

Çalışmamızda, kontrol grubu ile gestasyonel diyabetli kadınlara serumlarındaki adiponektin konsantrasyonları karşılaştırıldı. Elde ettiğimiz bulgulara göre, term dönem gebe kadınlardan elde edilen gestasyonel diyabetik serumlarda bir azalmanın olduğu tespit edildi. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ( $p < 0,07$ ). Li

ve ark., GDM ile ilgili yaptığı bir çalışmada, adipoz dokudaki adiponektin mRNA ekspresyonlarının baskılandığı ve insülin duyarlılığının arttığı yönünde bulgular elde etmişlerdir (Li ve ark., 2017). Yapılan çalışmalar, gestasyonel diyabetli serumlardaki adiponektin konsantrasyonlarının, kontrol grubuna göre azaldığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda da gestasyonel diyabetli serumlardaki konsantrasyonların azaldığı görüldü. Ancak, bulgular istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır, bunun nedeninin ise çalışılan gruplardaki numune sayısının (n=10) az olmasından dolayı olduğunu düşünmekteyiz.

Zhuang ve ark., obezite ile ilişkili adipoz doku inflamasyonu ilişkin yaptığı bir çalışmada, miR-223'ün adipoz dokudaki makrofaj polarizasyonunu negatif olarak regüle ettiğini ve insülin duyarlılığına katkısı olduğunu bulmuşlardır (Zhuang ve ark., 2012). Adipoz doku inflamasyonuna ilişkin başka bir çalışmada ise, adiponektin ile adipoz doku miRNA'lar değerlendirildiğinde, miR-95 ile pozitif bir korelasyon bulurken, miR-181a ile negative bir korelasyon bulduklarını göstermişlerdir (Ge ve ark., 2012).

Daha fazla sayıda numune ve ileri çalışmalar sonrasında, adiponektin ve miR-223 arasındaki korelasyon incelendiğinde, bu parametrelerin GDM prognozu için yeni ve efektif biyomarkerlar olacağı konusunda etkili sonuçlara ulaşılacağı kanısındayız.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, kontrol ve gestasyonel diyabetli gebe kadınlardan temin edilen plasenta ve serum numuneleri kullanıldı. Kontrol grubu ile gestasyonel diyabetli gruplar arasında miR-223 ekspresyonu ve adiponektin konsantrasyonları değerlendirildi.

Çalışmamızda, kontrol grubu gebe kadınlarda, gestasyonel diyabetli gebe kadınlar kıyaslandığında, gestasyonel diyabetli gebelerin ilerlemiş yaşa sahip olduğunu, HDL kolesterolün, GDM grubunda daha düşük olduğu, FPG, LDL, VLDL, total kolesterol ve trigliseritin, GDM grubunda daha yüksek oranda olduğunu gördük. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Yapılan diğer çalışmalarla kıyasladığımızda, adiponektin konsantrasyonu ölçmek ve miR-223 ekspresyonunu değerlendirmek için, kontrol ve GDM grupları arasında doğru kıyaslamalar yapılacağı düşünüldü.

Gestasyonel diyabetli gebelerin plasentalarında, miR-223'ün ekspresyonunun kontrol grubuna göre azaldığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Gestasyonel diyabetli gebelerin serumlarında, adiponektin konsantrasyonunun kontrol grubuna göre azaldığı, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonuçlarına varıldı. Bu sonucun, numune sayısının az olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu sebeple de, kontrol ve GDM grubu gebe kadın sayısının artırılması ile daha anlamlı sonuçlara ulaşabileceğimiz kanısındayız. İlerleyen çalışmalarda, miR-223'ün GDM'li plasentadaki ekspresyonunun ve adiponektin olan ilişkisinde değerlendirilmesi sonucu elde ettiğimiz bulguların gebelik patolojilerinin aydınlatılması üzerine yapılan çalışmalara yeni bir katkı yapacağı düşünülmektedir.

GDM'de, adiponektin konsantrasyonu ve miR-223 ekspresyonu ile elde ettiğimiz sonuçların, daha ileri düzeyde yapılacak çalışmalar sonrasında, GDM'de miR-223 ve adiponektinin önemli biyomarkerlar olma potansiyeline sahip olabileceğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2014 37: S81-S90.

ADA. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*. 2015 38: S8-S16.

Agrawal, N., Dasaradhi P., Mohmmmed A., Malhotra P., Bhatnagar R. K. ve Mukherjee S. K. RNA interference: biology, mechanism, and applications. *Microbiology and molecular biology reviews*. 2003 67: 657-685.

Aguilar, S., Scotton C. J., McNulty K., Nye E., Stamp G., Laurent G., Bonnet D. ve Janes S. M. Bone marrow stem cells expressing keratinocyte growth factor via an inducible lentivirus protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *PloS one*. 2009 4: e8013.

Ahima, R. S. ve Flier J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2000 11: 327-332.

Ajani, U. A., Hennekens C. H., Spelsberg A. ve Manson J. E. Alcohol consumption and risk of type 2 diabetes mellitus among US male physicians. *Archives of Internal Medicine*. 2000 160: 1025-1030.

Akdis, M., Burgler S., Cramer R., Eiwegger T., Fujita H., Gomez E., Klunker S., Meyer N., O'Mahony L. ve Palomares O. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- $\gamma$ : receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of allergy and clinical immunology*. 2011 127: 701-721. e770.

Akira, S., Taga T. ve Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Advances in immunology*. 1993 54: 1-78.

Ardekani, A. M. ve Naeini M. M. The role of microRNAs in human diseases. *Avicenna journal of medical biotechnology*. 2010 2: 161.

Atlas, I. D. (2013). *International Diabetes Federation: Brussels, Belgium*.

Bannister, A. J. ve Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell research*. 2011 21: 381-395.

Barad, O., Meiri E., Avniel A., Aharonov R., Barzilai A., Bentwich I., Einav U., Gilad S., Hurban P. ve Karov Y. MicroRNA expression detected by oligonucleotide microarrays: system establishment and expression profiling in human tissues. *Genome research*. 2004 14: 2486-2494.

Barbour, L. A., Shao J., Qiao L., Pulawa L. K., Jensen D. R., Bartke A., Garrity M., Draznin B. ve Friedman J. E. Human placental growth hormone causes severe insulin resistance in transgenic mice. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002 186: 512-517.

Barbour, L. A., McCurdy C. E., Hernandez T. L., Kirwan J. P., Catalano P. M. ve Friedman J. E. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes care*. 2007 30: S112-S119.

Bartel, D. P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009 136: 215-233.

Bellamy, L., Casas J.-P., Hingorani A. D. ve Williams D. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*. 2009 373: 1773-1779.

Bemelmans, M., Van Tits L. ve Buurman W. Tumor necrosis factor: function, release and clearance. *Critical Reviews™ in Immunology*. 1996 16:

Bhograj, A., Suryanarayana K., Nayak A., Murthy N., Dharmalingam M. ve Kalra P. Serum adiponectin levels in gestational diabetes mellitus. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2016 20: 752.

Bonner-Weir, S. Islet growth and development in the adult. *Journal of molecular endocrinology*. 2000 24: 297-302.

Borsellino, N., Beldegrun A. ve Bonavida B. Endogenous interleukin 6 is a resistance factor for cis-diamminedichloroplatinum and etoposide-mediated cytotoxicity of human prostate carcinoma cell lines. *Cancer research*. 1995 55: 4633-4639.

Briana, D. D. ve Malamitsi-Puchner A. The role of adipocytokines in fetal growth. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010 1205: 82-87.

Catalano, P. M., Tyzbit E. D. ve Sims E. A. Incidence and significance of islet cell antibodies in women with previous gestational diabetes. *Diabetes care*. 1990 13: 478-482.

Catalano, P. M., Huston L., Amini S. B. ve Kalhan S. C. Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1999 180: 903-916.

Chen, C.-Z., Li L., Lodish H. F. ve Bartel D. P. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *science*. 2004 303: 83-86.

Chen, Y., Liao W., Roy A., Loganath A. ve Ng S. Mitochondrial gene mutations in gestational diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*. 2000 48: 29-35.

Choi, S.-Y., Yun J., Lee O.-J., Han H.-S., Yeo M.-K., Lee M.-A. ve Suh K.-S. MicroRNA expression profiles in placenta with severe preeclampsia using a PNA-based microarray. *Placenta*. 2013 34: 799-804.

Cogswell, J. P., Ward J., Taylor I. A., Waters M., Shi Y., Cannon B., Kelnar K., Kemppainen J., Brown D. ve Chen C. Identification of miRNA changes in Alzheimer's disease brain and CSF yields putative biomarkers and insights into disease pathways. *Journal of Alzheimer's disease*. 2008 14: 27-41.

Dabelea, D., Mayer-Davis E. J., Lamichhane A. P., D'agostino R. B., Liese A. D., Vehik K. S., Narayan K. V., Zeitler P. ve Hamman R. F. Association of intrauterine exposure to maternal diabetes and obesity with type 2 diabetes in youth. *Diabetes care*. 2008 31: 1422-1426.



Danišovič, L., Varga I. ve Polák Š. Growth factors and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Tissue and Cell*. 2012 44: 69-73.

Diabetes, I. A. o. ve Panel P. S. G. C. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes care*. 2010 33: 676-682.

Díaz, M. O., Pomykala H. M., Bohlander S. K., Maltepe E., Malik K., Brownstein B. ve Olopade O. I. Structure of the human type-I interferon gene cluster determined from a YAC clone contig. *Genomics*. 1994 22: 540-552.

Dinareello, C. A. ve Bufler P. (2013). Interleukin-37. *Seminars in immunology*, Elsevier.

dos Santos-Weiss, I. C., Réa R. R., Fadel-Picheth C. M., Rego F. G., Pedrosa F. d. O., Gillery P., Souza E. M. ve Picheth G. The plasma logarithm of the triglyceride/HDL-cholesterol ratio is a predictor of low risk gestational diabetes in early pregnancy. *Clinica Chimica Acta*. 2013 418: 1-4.

El Hajj, N., Pliushch G., Schneider E., Dittrich M., Müller T., Korenkov M., Aretz M., Zechner U., Lehnen H. ve Haaf T. Metabolic programming of MEST DNA methylation by intrauterine exposure to gestational diabetes mellitus. *Diabetes*. 2013 62: 1320-1328.

Estampador, A. C. ve Franks P. W. Genetic and epigenetic catalysts in early-life programming of adult cardiometabolic disorders. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*. 2014 7: 575.

Fasshauer, M., Blüher M. ve Stumvoll M. Adipokines in gestational diabetes. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2014 2: 488-499.

Faustman, D. ve Davis M. TNF receptor 2 pathway: drug target for autoimmune diseases. *Nature reviews Drug discovery*. 2010 9: 482-493.

Fazi, F., Rosa A., Fatica A., Gelmetti V., De Marchis M. L., Nervi C. ve Bozzoni I. A minicircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBP $\alpha$  regulates human granulopoiesis. *Cell*. 2005 123: 819-831.

Feldmann, M. ve Maini R. N. TNF defined as a therapeutic target for rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Nature medicine*. 2003 9: 1245-1250.

Ferraro, Z., Barrowman N., Prud'Homme D., Walker M., Wen S., Rodger M. ve Adamo K. Excessive gestational weight gain predicts large for gestational age neonates independent of maternal body mass index. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2012 25: 538-542.

Fina, D. ve Pallone F. What is the role of cytokines and chemokines in IBD? *Inflammatory bowel diseases*. 2008 14: S117-S118.

Finegood, D. T., Scaglia L. ve Bonner-Weir S. Dynamics of  $\beta$ -cell mass in the growing rat pancreas: estimation with a simple mathematical model. *Diabetes*. 1995 44: 249-256.

Flynn, J. L., Goldstein M. M., Chan J., Triebold K. J., Pfeffer K., Lowenstein C. J., Schrelber R., Mak T. W. ve Bloom B. R. Tumor necrosis factor- $\alpha$  is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Immunity*. 1995 2: 561-572.

Fu, Z., Gong Y., Löfqvist C., Hellström A. ve Smith L. E. Review: adiponectin in retinopathy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2016 1862: 1392-1400.

Gabbay-Benziv, R. ve Baschat A. A. Gestational diabetes as one of the “great obstetrical syndromes”—the maternal, placental, and fetal dialog. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2015 29: 150-155.

Gauster, M., Desoye G., Tötsch M. ve Hiden U. The placenta and gestational diabetes mellitus. *Current diabetes reports*. 2012 12: 16-23.

Ge, Q., Gérard J., Noël L., Scroyen I. ve Brichard S. M. MicroRNAs regulated by adiponectin as novel targets for controlling adipose tissue inflammation. *Endocrinology*. 2012 153: 5285-5296.

Gepts, W. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*. 1965 14: 619-633.

González-Navajas, J. M., Lee J., David M. ve Raz E. Immunomodulatory functions of type I interferons. *Nature Reviews Immunology*. 2012 12: 125-135.

Gordon, S. The macrophage: past, present and future. *European journal of immunology*. 2007 37: S9-S17.

Group, H. S. C. R. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl j Med*. 2008 2008: 1991-2002.

Group, S. S. SEARCH for Diabetes in Youth: a multicenter study of the prevalence, incidence and classification of diabetes mellitus in youth. *Controlled clinical trials*. 2004 25: 458-471.

Guay, C., Roggli E., Nesca V., Jacovetti C. ve Regazzi R. Diabetes mellitus, a microRNA-related disease? *Translational Research*. 2011 157: 253-264.

Hardie, L., Trayhurn P., Abramovich D. ve Fowler P. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clinical endocrinology*. 1997 47: 101-106.

Herrera, B., Lockstone H., Taylor J., Ria M., Barrett A., Collins S., Kaisaki P., Argoud K., Fernandez C. ve Travers M. Global microRNA expression profiles in insulin target tissues in a spontaneous rat model of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2010 53: 1099-1109.

Hinkle, S. N., Sharma A. J., Swan D. W., Schieve L. A., Ramakrishnan U. ve Stein A. D. Excess gestational weight gain is associated with child adiposity among mothers with normal and overweight prepregnancy weight status. *The Journal of nutrition*. 2012 142: 1851-1858.

Hirano, T., Taga T., Nakano N., Yasukawa K., Kashiwamura S., Shimizu K., Nakajima K., Pyun K. H. ve Kishimoto T. Purification to homogeneity and characterization of

human B-cell differentiation factor (BCDF or BSFp-2). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1985 82: 5490-5494.

Homko, C., Sivan E., Chen X., Reece E. ve Boden G. Insulin Secretion during and after Pregnancy in Patients with Gestational Diabetes Mellitus 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001 86: 568-573.

Horvath, K., Koch K., Jeitler K., Matyas E., Bender R., Bastian H., Lange S. ve Siebenhofer A. Effects of treatment in women with gestational diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Bmj*. 2010 340: c1395.

Huang, Y., Yang H., Borg B. B., Su X., Rhodes S. L., Yang K., Tong X., Tang G., Howell C. D. ve Rosen H. R. A functional SNP of interferon- $\gamma$  gene is important for interferon- $\alpha$ -induced and spontaneous recovery from hepatitis C virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007 104: 985-990.

Hunsberger, M., Rosenberg K. D. ve Donatelle R. J. Racial/ethnic disparities in gestational diabetes mellitus: findings from a population-based survey. *Women's Health Issues*. 2010 20: 323-328.

Huo, Y., Liu S., Song G., Ren L., Wang C. ve Zhang D. Plasma levels and placental expression of vaspin in pregnant women with diabetes mellitus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2015 48: 273-279.

Ide, M., McPartlin D., Coward P., Crook M., Lumb P. ve Wilson R. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *Journal of clinical periodontology*. 2003 30: 334-340.

Inui, M., Martello G. ve Piccolo S. MicroRNA control of signal transduction. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2010 11: 252-263.

Johnnidis, J. B., Harris M. H., Wheeler R. T., Stehling-Sun S., Lam M. H., Kirak O., Brummelkamp T. R., Fleming M. D. ve Camargo F. D. Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by microRNA-223. *Nature*. 2008 451: 1125-1129.

Kahn, R. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus: the expert committee on the diagnosis and classifications of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2003 26: 3160.

Kapinas, K. ve Delany A. M. MicroRNA biogenesis and regulation of bone remodeling. *Arthritis research & therapy*. 2011 13: 220.

Kilic, I. D., Dodurga Y., Uludag B., Alihanoglu Y. I., Yildiz B. S., Enli Y., Secme M. ve Bostancı H. E. microRNA-143 and-223 in obesity. *Gene*. 2015 560: 140-142.

Kirwan, J. P., Hauguel-De Mouzon S., Lepercq J., Challier J.-C., Huston-Presley L., Friedman J. E., Kalhan S. C. ve Catalano P. M. TNF- $\alpha$  is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. *Diabetes*. 2002 51: 2207-2213.

Klein, B., Zhang X.-G., Jourdan M., Houssiau F., Aarden L., Piechaczyk M. ve Bataille R. Paracrine rather than autocrine regulation of myeloma-cell growth and differentiation by interleukin-6. *Blood*. 1989 73: 517-526.

Kloosterman, W. P. ve Plasterk R. H. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Developmental cell*. 2006 11: 441-450.

Koss, K., Satsangi J., Fanning G., Welsh K. ve Jewell D. Cytokine (TNF [alpha], LT [alpha] and IL-10) polymorphisms in inflammatory bowel diseases and normal controls: differential effects on production and allele frequencies. *Genes and immunity*. 2000 1: 185.

Kotenko, S. V. IFN- $\lambda$ s. *Current opinion in immunology*. 2011 23: 583-590.

Kusenda, B., Mraz M., Mayer J. ve Pospisilova S. MicroRNA biogenesis, functionality and cancer relevance. *Biomedical papers*. 2006 150: 205-215.

Kühl, C. Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM: implications for diagnosis and management. *Diabetes*. 1991 40: 18-24.

Lain, K. Y. ve Catalano P. M. Metabolic changes in pregnancy. *Clinical obstetrics and gynecology*. 2007 50: 938-948.

Langer, J. A., Cutrone E. C. ve Kotenko S. The Class II cytokine receptor (CRF2) family: overview and patterns of receptor–ligand interactions. *Cytokine & growth factor reviews*. 2004 15: 33-48.

Lea, R., Howe D., Hannah L., Bonneau O., Hunter L. ve Hoggard N. Placental leptin in normal, diabetic and fetal growth-retarded pregnancies. *Molecular human reproduction*. 2000 6: 763-769.

Lee, G.-H., Proenca R., Montez J. ve Carroll K. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature*. 1996 379: 632.

Lewis, B. P., Burge C. B. ve Bartel D. P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 2005 120: 15-20.

Li, L., Lee S. J., Kook S. Y., Ahn T. G., Lee J. Y. ve Hwang J. Y. Serum from pregnant women with gestational diabetes mellitus increases the expression of FABP4 mRNA in primary subcutaneous human pre-adipocytes. *Obstetrics & gynecology science*. 2017 60: 274-282.

Loscalzo, J. ve Handy D. E. Epigenetic modifications: basic mechanisms and role in cardiovascular disease (2013 Grover Conference series). *Pulmonary circulation*. 2014 4: 169-174.

Lowe Jr, W. L., Scholtens D. M., Sandler V. ve Hayes M. G. Genetics of gestational diabetes mellitus and maternal metabolism. *Current diabetes reports*. 2016 16: 1-10.

Lönnqvist, F., Arner P., Nordfors L. ve Schalling M. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects. *Nature medicine*. 1995 1: 950-953.

Lu, H., Buchan R. J. ve Cook S. A. MicroRNA-223 regulates Glut4 expression and cardiomyocyte glucose metabolism. *Cardiovascular research*. 2010 86: 410-420.

Luo, S.-S., Ishibashi O., Ishikawa G., Ishikawa T., Katayama A., Mishima T., Takizawa T., Shigihara T., Goto T. ve Izumi A. Human villous trophoblasts express and secrete

placenta-specific microRNAs into maternal circulation via exosomes. *Biology of reproduction*. 2009 81: 717-729.

Ma, R. C., Tutino G. E., Lillycrop K. A., Hanson M. A. ve Tam W. H. Maternal diabetes, gestational diabetes and the role of epigenetics in their long term effects on offspring. *Progress in biophysics and molecular biology*. 2015 118: 55-68.

Maccani, M. A. ve Marsit C. J. REVIEW ARTICLE: Epigenetics in the Placenta. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2009 62: 78-89.

Mallick, C., Chatterjee K., Mandal U. ve Ghosh D. Antihyperglycaemic, antilipidperoxidative and antioxidative effects of extracts of *Musa paradisiaca* and *Coccinia indica* in streptozotocin-induced diabetic rat. *Ethiopian Pharmaceutical Journal*. 2007 25: 9-22.

Massagué, J. TGF- $\beta$  signal transduction. *Annual review of biochemistry*. 1998 67: 753-791.

Mastorakos, G., Valsamakis G., Papatheodorou D. C., Barlas I., Margeli A., Boutsiadis A., Kouskouni E., Vitoratos N., Papadimitriou A. ve Papassotiriou I. The role of adipocytokines in insulin resistance in normal pregnancy: visfatin concentrations in early pregnancy predict insulin sensitivity. *Clinical chemistry*. 2007 53: 1477-1483.

Masuzaki, H., Ogawa Y., Sagawa N., Hosoda K., Matsumoto T., Mise H., Nishimura H., Yoshimasa Y., Tanaka I. ve Mori T. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Obstetrical & gynecological survey*. 1998 53: 156-158.

Mauricio, D., Corcoy R., Codina M., Balsells M., Puig-Domingo M., Pou J. ve De Leiva A. Islet cell antibodies identify a subset of gestational diabetic women with higher risk of developing diabetes mellitus shortly after pregnancy. *Diabetes, nutrition & metabolism*. 1992 5: 237-241.

Miehle, K., Stepan H. ve Fasshauer M. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Clinical endocrinology*. 2012 76: 2-11.

Miska, E. A., Alvarez-Saavedra E., Townsend M., Yoshii A., Šestan N., Rakic P., Constantine-Paton M. ve Horvitz H. R. Microarray analysis of microRNA expression in the developing mammalian brain. *Genome biology*. 2004 5: R68.

Morales-Prieto, D. M., Ospina-Prieto S., Chaiwangyen W., Schoenleben M. ve Markert U. R. Pregnancy-associated miRNA-clusters. *Journal of reproductive immunology*. 2013 97: 51-61.

Moreno-Moya, J. M., Vilella F. ve Simón C. MicroRNA: key gene expression regulators. *Fertility and sterility*. 2014 101: 1516-1523.

Murphy, P. M. The molecular biology of leukocyte chemoattractant receptors. *Annual review of immunology*. 1994 12: 593-633.

Murray, A. Oxygen delivery and fetal-placental growth: beyond a question of supply and demand? *Placenta*. 2012 33: e16-e22.

Müller, U., Jongeneel C. V., Nedospasov S. A., Lindahl K. F. ve Steinmetz M. Tumour necrosis factor and lymphotoxin genes map close to H-2D in the mouse major histocompatibility complex. *Nature*. 1987 325: 265-267.

Myatt, L. Placental adaptive responses and fetal programming. *The Journal of physiology*. 2006 572: 25-30.

Nold, M. F., Nold-Petry C. A., Zepp J. A., Palmer B. E., Bufler P. ve Dinarello C. A. IL-37 is a fundamental inhibitor of innate immunity. *Nature immunology*. 2010 11: 1014-1022.

Okano, M., Xie S. ve Li E. Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases. *Nature genetics*. 1998 19: 219-220.

Olefsky, J. M. IKK $\epsilon$ : A Bridge between Obesity and Inflammation. *Cell*. 2009 138: 834-836.



Patterson, G. I. ve Padgett R. W. TGF $\beta$ -related pathways: roles in *Caenorhabditis elegans* development. *Trends in genetics*. 2000 16: 27-33.

Petersen, K. F., Dufour S., Morino K., Yoo P. S., Cline G. W. ve Shulman G. I. Reversal of muscle insulin resistance by weight reduction in young, lean, insulin-resistant offspring of parents with type 2 diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012 109: 8236-8240.

Pettitt, D. J., Baird H. R., Aleck K. A., Bennett P. H. ve Knowler W. C. Excessive obesity in offspring of Pima Indian women with diabetes during pregnancy. *New England Journal of Medicine*. 1983 308: 242-245.

Pillar, N., Yoffe L., Hod M. ve Shomron N. The possible involvement of microRNAs in preeclampsia and gestational diabetes mellitus. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2015 29: 176-182.

Radaelli, T., Varastehpour A., Catalano P. ve Hauguel-de Mouzon S. Gestational diabetes induces placental genes for chronic stress and inflammatory pathways. *Diabetes*. 2003 52: 2951-2958.

Rasouli, N. ve Kern P. A. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008 93: s64-s73.

Reece, E. A., Leguizamón G. ve Wiznitzer A. Gestational diabetes: the need for a common ground. *The Lancet*. 2009 373: 1789-1797.

Retnakaran, A. ve Retnakaran R. Adiponectin in pregnancy: implications for health and disease. *Current medicinal chemistry*. 2012 19: 5444-5450.

Retnakaran, R., Hanley A., Raif N., Hirning C., Connelly P., Sermer M., Kahn S. E. ve Zinman B. Adiponectin and beta cell dysfunction in gestational diabetes: pathophysiological implications. *Diabetologia*. 2005 48: 993-1001.

Reverchon, M., Ramé C., Bertoldo M. ve Dupont J. Adipokines and the female reproductive tract. *International journal of endocrinology*. 2014 2014:

Roach, D. R., Bean A. G., Demangel C., France M. P., Briscoe H. ve Britton W. J. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *The Journal of Immunology*. 2002 168: 4620-4627.

Robitaille, J. ve Grant A. M. The genetics of gestational diabetes mellitus: evidence for relationship with type 2 diabetes mellitus. *Genetics in Medicine*. 2008 10: 240-250.

Rot, A., Hub E., Middleton J., Pons F., Rabeck C., Thierer K., Wintle J., Wolff B., Zsak M. ve Dukor P. Some aspects of IL-8 pathophysiology. III: Chemokine interaction with endothelial cells. *Journal of Leukocyte Biology*. 1996 59: 39-44.

Rusinova, I., Forster S., Yu S., Kannan A., Masse M., Cumming H., Chapman R. ve Hertzog P. J. Interferome v2. 0: an updated database of annotated interferon-regulated genes. *Nucleic acids research*. 2013 41: D1040-D1046.

RYAN, E. A. ve ENNS L. Role of gestational hormones in the induction of insulin resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1988 67: 341-347.

Sabanayagam, C., Liew G., Tai E., Shankar A., Lim S., Subramaniam T. ve Wong T. Relationship between glycated haemoglobin and microvascular complications: is there a natural cut-off point for the diagnosis of diabetes? *Diabetologia*. 2009 52: 1279.

Saisho, Y., Miyakoshi K., Tanaka M., Shimada A., Ikenoue S., Kadohira I., Yoshimura Y. ve Itoh H. Beta cell dysfunction and its clinical significance in gestational diabetes. *Endocrine journal*. 2010 57: 973-980.

Salge, A. K. M., Rocha K. M. N., Xavier R. M., Ramalho W. S., Rocha É. L., Guimarães J. V., Siqueira K. M., Abdalla D. R., Michelin M. A. ve Murta E. F. C. Macroscopic placental changes associated with fetal and maternal events in diabetes mellitus. *Clinics*. 2012 67: 1203-1208.

Sarkar, P. D., Shivaprakash T. ve Maheshwari R. Haptoglobin is associated with Gestational Diabetes Mellitus. *Biomedical Research*. 2006 17:

Scherer, P. E., Williams S., Fogliano M., Baldini G. ve Lodish H. F. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *Journal of Biological chemistry*. 1995 270: 26746-26749.

Schoenwolf, G. C. (2008). *Atlas of descriptive embryology*, Benjamin-Cummings Publishing Company.

Sharma, S., Kulk N., Nold M. F., Gräf R., Kim S.-H., Reinhardt D., Dinarello C. A. ve Bufler P. The IL-1 family member 7b translocates to the nucleus and down-regulates proinflammatory cytokines. *The Journal of Immunology*. 2008 180: 5477-5482.

Shi, Y. ve Massagué J. Mechanisms of TGF- $\beta$  signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell*. 2003 113: 685-700.

Stirrat, L. ve Reynolds R. Effects of maternal obesity on early and long-term outcomes for offspring. *Res Rep Neonatol*. 2014 2014: 43-53.

Strahl, B. D. ve Allis C. D. The language of covalent histone modifications. *Nature*. 2000 403: 41-45.

Takahashi, M., Arita Y., Yamagata K., Matsukawa Y., Okutomi K., Horie M., Shimomura I., Hotta K., Kuriyama H. ve Kihara S. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *International journal of obesity*. 2000 24: 861.

Tétreault, N. ve De Guire V. miRNAs: their discovery, biogenesis and mechanism of action. *Clinical biochemistry*. 2013 46: 842-845.

Urbich, C., Kuehbach A. ve Dimmeler S. Role of microRNAs in vascular diseases, inflammation and angiogenesis. *Cardiovascular research*. 2008

Vambergue, A. ve Fajardy I. Consequences of gestational and pregestational diabetes on placental function and birth weight. *World J Diabetes*. 2011 2: 196-203.

Van Leiden, H. A., Dekker J., Moll A., Nijpels G., Heine R., Bouter L., Stehouwer C. D. ve Polak B. C. Risk factors for incident retinopathy in a diabetic and nondiabetic population. *Evidence-Based Ophthalmology*. 2003 4: 160-161.

Van Snick, J. Interleukin-6: an overview. *Annual review of immunology*. 1990 8: 253-278.

Vandorsten, J. P., Dodson W. C., Espeland M. A., Grobman W. A., Guise J. M., Mercer B. M., Minkoff H. L., Poindexter B., Prosser L. A. ve Sawaya G. F. NIH consensus development conference: diagnosing gestational diabetes mellitus. NIH consensus and state-of-the-science statements. 2012 29: 1-31.

Vickers, K. C., Landstreet S. R., Levin M. G., Shoucri B. M., Toth C. L., Taylor R. C., Palmisano B. T., Tabet F., Cui H. L. ve Rye K.-A. MicroRNA-223 coordinates cholesterol homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014 111: 14518-14523.

Vionnet, N., Dupont S., Gallina S., Francke S., Dotte S., De Matos F., Durand E., Leprêtre F., Lecoœur C. ve Gallina P. 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. *The American Journal of Human Genetics*. 2000 67: 1470-1480.

Vonnahme, K. A. ve Ford S. P. Differential expression of the vascular endothelial growth factor-receptor system in the gravid uterus of Yorkshire and Meishan pigs. *Biology of reproduction*. 2004 71: 163-169.

Watson, S. ve Arkininstall S. *The G-Protein linked Receptor Facts Book* Academic Press. Hartcourt Brace and Company, Publishers San Diego, CA. 1994

Wendland, E. M., Torloni M. R., Falavigna M., Trujillo J., Dode M. A., Campos M. A., Duncan B. B. ve Schmidt M. I. Gestational diabetes and pregnancy outcomes—a systematic review of the World Health Organization (WHO) and the International

Association of Diabetes in Pregnancy Study Groups (IADPSG) diagnostic criteria. *BMC pregnancy and childbirth*. 2012 12: 23.

Weng, J., Ekelund M., Lehto M., Li H., Ekberg G., Frid A., Åberg A., Groop L. C. ve Berntorp K. Screening for MODY mutations, GAD antibodies, and type 1 diabetes–associated HLA genotypes in women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2002 25: 68-71.

Wong, T., Ross G., Jalaludin B. ve Flack J. The clinical significance of overt diabetes in pregnancy. *Diabetic Medicine*. 2013 30: 468-474.

Yamauchi, T., Kamon J., Minokoshi Y. a., Ito Y., Waki H., Uchida S., Yamashita S., Noda M., Kita S. ve Ueki K. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature medicine*. 2002 8: 1288-1295.

Yang, Q., Diamond M. P. ve Al-Hendy A. Early life adverse environmental exposures increase the risk of uterine fibroid development: role of epigenetic regulation. *Frontiers in pharmacology*. 2016 7:

Yano, S., Wang W., Li Q., Matsumoto K., Sakurama H., Nakamura T., Ogino H., Kakiuchi S., Hanibuchi M. ve Nishioka Y. Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor–activating mutations. *Cancer research*. 2008 68: 9479-9487.

Ye, R. ve Scherer P. E. Adiponectin, driver or passenger on the road to insulin sensitivity? *Molecular metabolism*. 2013 2: 133-141.

YOUNG, H. A. Regulation of interferon- $\gamma$  gene expression. *Journal of interferon & cytokine research*. 1996 16: 563-568.

Yu, Y.-H., Zhang L., Wu D.-S., Zhang Z., Huang F.-F., Zhang J., Chen X.-P., Liang D.-S., Zeng H. ve Chen F.-P. MiR-223 regulates human embryonic stem cell differentiation by targeting the IGF-1R/Akt signaling pathway. *PloS one*. 2013 8: e78769.

Zampetaki, A., Kiechl S., Drozdov I., Willeit P., Mayr U., Prokopi M., Mayr A., Weger S., Oberhollenzer F. ve Bonora E. Plasma MicroRNA profiling reveals loss of endothelial MiR-126 and other MicroRNAs in type 2 Diabetes Novelty and significance. *Circulation research*. 2010 107: 810-817.

Zhao, C., Dong J., Jiang T., Shi Z., Yu B., Zhu Y., Chen D., Xu J., Huo R. ve Dai J. Early second-trimester serum miRNA profiling predicts gestational diabetes mellitus. *PloS one*. 2011 6: e23925.

Zhao, D., Lin M., Chen J., Pedrosa E., Hrabovsky A., Fourcade H. M., Zheng D. ve Lachman H. M. MicroRNA profiling of neurons generated using induced pluripotent stem cells derived from patients with schizophrenia and schizoaffective disorder, and 22q11. 2 Del. *PloS one*. 2015 10: e0132387.

Zhu, X.-m., Han T., Sargent I. L., Yin G.-w. ve Yao Y.-q. Differential expression profile of microRNAs in human placentas from preeclamptic pregnancies vs normal pregnancies. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2009 200: 661. e661-661. e667.

Zhuang, G., Meng C., Guo X., Cheruku P. S., Shi L., Xu H., Li H., Wang G., Evans A. R. ve Safe S. A novel regulator of macrophage activation: miR-223 in obesity associated adipose tissue inflammation. *Circulation*. 2012 CIRCULATIONAHA. 111.087817.

Ziegler, A.-G., Hummel M., Schenker M. ve Bonifacio E. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB Study. *Diabetes*. 1999 48: 460-468.

## AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

**Katılımcı / Gönüllünün Protokol Numarası:**

### **1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:**

#### **Araştırmanın Adı:**

Gestasyonel diyabette mikroRNA-223'ün plasentadaki ekspresyonunun değerlendirilmesi

#### **Araştırmanın İçeriği:**

Gestasyonel diyabet, gebelik sırasında sıklıkla rastlanan maternal ve fetal komplikasyonlarla ilişkili metabolik bir bozukluktur. Anne ile fetus arasındaki birçok metabolik aktiviteyi düzenleyen bir geçiş bölgesi olan plasentanın, GDM'in patogeneğinde önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. MikroRNA (miRNA)'ların beslenme ve metabolik hastalıkların fetal epigenetik programlanmasının kritik modülatörleri olduğu düşünülmektedir. İnsan plasentası, gebelik sırasında dinamik olarak değişen spesifik bir miRNA ekspresyon paternine sahiptir. Önemli gebelik patolojilerinden olan GDM ve miRNA'lar arasındaki bağlantıyı araştıran çok az sayıda çalışma mevcuttur. Plasentada çok sayıda miRNA'nın ekspresyon profilleri çalışılmış ve birçok hücresel sürecin regülasyonunda rol oynayan miR- 223'ün plasentadaki ekspresyonu gösterilmiştir. Biyoinformatik analizler adiponektinin, miR-223'ün hedef genlerinden biri olduğunu göstermektedir. Önemli bir adipokin olan adiponektin'in maternal, fetal ve plasental süreçleri direkt olarak etkileyebileceği düşünülmektedir. Maternal adiponektin fetal büyümeyi azaltır ve bu adipokinin azalmış konsantrasyonları GDM-ilişkili makrozomide rol oynayabilir. Ancak, adiponektinin GDM patofizyolojisindeki rolü tam olarak açıklanamamıştır. Bu çalışmada, miR-223'ün GDM'li hastaların plasentalarındaki ekspresyonu araştırılacaktır. Aynı zamanda GDM'li hastaların serum adiponektin düzeyleri ELİSA yöntemi ile belirlenecek ve elde edilecek sonuçlara göre metabolizma-ilişkili hastalıkların regülasyonunda önemli olan bu iki molekülün ilişkisi değerlendirilecektir.

### **Araştırmanın Amacı:**

Bu çalışmada, miR-223'ün GDM'li hastaların plasentalarındaki ekspresyonu araştırılacaktır. Aynı zamanda GDM'li hastaların serum adiponektin düzeyleri ELİSA yöntemi ile belirlenecek ve elde edilecek sonuçlara göre metabolizmailişkili hastalıkların regülasyonunda önemli olan bu iki molekülün ilişkisi değerlendirilecektir.

#### **a. Araştırmanın Nedeni:**

( ) Bilimsel araştırma

(X) Tez çalışması

**b. Araştırmanın Öngörülen Süresi:** Satın alma işlemleri tamamlandıktan sonra 1 yıl.

**c. Araştırmaya Katılması Beklenen Katılımcı/Gönüllü Sayısı:** 20

#### **d. Araştırmada İzlenecek Deneysel İşlemler:**

-Plasenta numunelerinden miRNA izolasyonu

-Plasentalarda araştırılacak miR-223'e özgül tasarlanan primerlerle ilgili genlerin amplifikasyonu (PCR yöntemi ile)

-Serumda adiponektin tayin

## **2. Gönüllünün/Katılımcının Uygulama Sırasında Karşılaşabileceği Riskler ve Rahatsızlıklar:**

**Yukarıda açıklanan araştırma sırasında uygulanacak olan işlemlerin bana aşağıda belirtilen riskleri ve rahatsızlıkları getirebileceğinin bilincindeyim:** Diğer kan alma işlemlerinde olduğu gibi kan alınan yerde kızarma, şişme ve ağrı oluşabilir. Bunun dışında girişimsel bir işlem yapılmayacağı için herhangi bir risk veya zarar yoktur. Plasenta, gebenin doğumu bittikten sonra alındığı için proje kapsamında invaziv veya cerrahi bir işlem yapılmadığı için gebeye ve bebeğe zararı yoktur.



**3. Gönüllüler/Katılımcılar İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:**GDM hastaları için miR-223'ün biyomarker olarak kullanılması

**4. Araştırma Konusundaki Soruların Cevaplandırılması:**

**5. Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile haklarım konusunda bilgi almak için aşağıda belirtilen kişiyle bağlantı kurmam yeterli olacaktır.**

**Adı- Soyadı:** Doç.Dr. Dijle KİPMEN KORGUN

**Telefon:** 05334933221

**Adı-Soyadı:** Arş. Gör. Segün DOĞRU

**Telefon:**05069329213

**Zararların Karşılanması:**

**Bu çalışmaya katıldığım için zarar göreceğim olursam, gerekli olan tıbbi bakımın sorumlu araştırmacı tarafından yerine getirileceği, uygulanan işleme bağlı olarak gelişebilecek her tür hasara (sakatlanma ve ölüm dahil) karşı güvencede olduğum, masraflarımın Doç. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN tarafından karşılanacağı bana bildirildi.**

**6. Araştırma Giderleri:**

Araştırma kapsamındaki bütün işlemler için benden ya da bağlı olduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

**7. Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı,**

**Çalışmadan Çıkarılma:**

a) Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

b) Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

c) Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan ekilebileceğimin bilincindeyim.

**8. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmalim nedeniyle ya da araştırma prosedürüne bağlı olarak onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.**

**9. Gizlilik:**

Çalışma süresince tutulan bütün kayıtlar ve dosya bilgileri gerektiğinde, .....firması ve yöneticilerine ulaştırılacaktır. Bu çalışmadan elde edilen bilgiler, verilere gereksinimi olan öteki ülkelerin hkmetlerine ve ilgili birimlerine iletilebilir. Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

**10. Çalışmaya Katılma Onayı:**

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye / katılımcıya verilmesi gereken bilgileri gösteren Aydınlatılmış Onam Formu adlı metni kendi anadilimde okudum ya da bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra çekildiğim durumda, hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

**Gönüllünün / katılımcının Adı- Soyadı:**

**Yaş ve Cinsiyeti:**

**İmzası:**

**Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):**

.....

.....

**Tarih:**

**Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için;**

**Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:**

**İmzası:**

**Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):**

.....

.....

**Tarih:**

**Açıklamaları Yapan Araştırmacının**

**Adı- Soyadı:** Doç. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN

**İmzası:**

**Tarih:**

**Adı-Soyadı:** Arş. Gör. Segün DOĞRU

**İmzası:**

**Tarih:**

**Onam alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin**

**Adı- Soyadı:**Doç.Dr. Mehmet SAKINCI

**İmzası:**

**Görevi:**

**Tarih:**



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Segün	<b>Uyruğu</b>	T.C.
<b>Soyadı</b>	Doğru	<b>Tel no</b>	05069329213
<b>Doğum tarihi</b>	23.02.1991	<b>e-posta</b>	segundogru@hotmail.com

### Eğitim Bilgileri

	<b>Mezun olduğu kurum</b>	<b>Mezuniyet yılı</b>
<b>Lise</b>	Antalya Gazi Anadolu Lisesi	2009
<b>Lisans</b>	Akdeniz Üniversitesi/ Fen Fakültesi/ Biyoloji	2013
<b>Yüksek Lisans</b>		
<b>Doktora</b>		

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (yıl-yıl)</b>

<b>Yabancı Dilleri</b>	<b>Sınav türü</b>	<b>Puanı</b>
İngilizce	YDS	62.5

### Proje Deneyimi

<b>Proje Adı</b>	<b>Destekleyen kurum</b>	<b>Süre (Yıl-Yıl)</b>
Normal ve diyabetik maternal lökositlerde CX3CR1 ekspresyonu dağılımının akım sitometri ve western blot yöntemleriyle belirlenmesi	TUBİTAK	2016

### Burslar-Ödüller:

### Yayınlar ve Bildiriler: