



T.C.
ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GESTASYONEL DİABETES MELLİTUSLU GEBELERDE
4-22 KARBONLU YAĞ ASİTLERİ VE
8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

CANSU ARSLAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Abdurrahman Coşkun

İSTANBUL- 2019



T.C.
ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GESTASYONEL DİABETES MELLİTUSLU GEBELERDE
4-22 KARBONLU YAĞ ASİTLERİ VE
8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

CANSU ARSLAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Abdurrahman Coşkun

İSTANBUL- 2019

Anabilim Dalı: Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Program: Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı
Tez Başlığı: Gestasyonel Diabetes Mellituslu Gebelerde 4- 22 Karbonlu Yağ Asitleri ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin Düzeylerinin Değerlendirilmesi.
Öğrencinin Adı-Soyadı: Cansu Arslan
Savunma Sınavı Tarihi: 23/08/2019

Bu tez çalışması jürimiz tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı Prof. Dr. Fehime Benli Aksungar
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi
Tez Danışmanı Prof. Dr. Abdurrahman Coşkun
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi
Üye Doç. Dr. Saime Batirel
Marmara Üniversitesi
Üye Ünvanı, Adı-Soyadı
Kurumu
Üye Ünvanı, Adı-Soyadı
Kurumu



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda 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, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

20. 09. 2019

Cansu ARSLAN



ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) anne ve bebek için diyabet riski taşımasının yanı sıra karbonhidrat, protein ve lipit metabolizması bozuklukları, hiperinsülinemi ve beraberinde getirdiği hipertansiyon gibi metabolik bozukluklar, hatta DNA hasarına kadar giden bir oksidatif stres artışına sebep olmaktadır. Çalışmamızda GDM'li gebeler ile sağlıklı gebeler arasında OGTT sırasında alınan serum örneklerinde 4-22 karbonlu yağ asidi düzeyleri ve 8-OHdG düzeylerine ek olarak ghrelin ve trigliserit ölçümleri yapıp karşılaştırılmıştır.

Eğitimimde, bu tezin belirlenmesinde, gerçekleştirilmesinde ayrıca tez ve dersler dışında bana verdiği hayat dersleriyle hep yanımda olan değerli danışmanım Prof. Dr. Abdurrahman Coşkun'a,

Tez konusundaki yardımları ve istatistiği bana sevdirdiği için değerli hocam Prof. Dr. Muhittin Serdar'a,

Bizleri her daim koruyup kollayan çok değerli bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. Aysel Özpınar'a,

Örneklerin toplanmasında ve gönüllülerle iletişimim konusunda yardımlarını esirgemeyen Acıbadem Atakent Hastanesi Kan Alma Bölümünde çalışan Mehmet Begik Hemşire'ye ve Laboratuvarda çalışan Nurbiye Ayyıldız Hanım'a ve diğer tüm çalışanlara,

Tezimdeki testlerin yapılmasında yardımcı olan tüm Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarı çalışanlarına,

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi'nde yüksek lisans ve doktorasını yapan, tecrübeleri ile bana yol göstermekten çekinmeyen tüm arkadaşlarıma,

Bu tezi yapabileceğime dair inancımı her daim tazeleyen, hep yanımda olan biricik aileme teŖekkürü bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
BEYAN	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
RESİM LİSTESİ	x
TABLolar LİSTESİ	xi
EK LİSTESİ	xii
ÖZET	1
SUMMARY	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1 Gestasyonel Diabetes Mellitus	7
2.1.1 Tanım ve prevalans	7
2.1.2 GDM tarama ve tanı	7
2.1.3 GDM risk faktörleri	8
2.1.4 GDM patofizyolojisi	9
2.2 Yağ asitleri	10
2.2.1 Yağ asitlerinin yapısı	10
2.2.2 Yağ asitlerinin sınıflandırılması ve isimlendirilmesi	10
2.3 Trigliseritler	11
2.3.1 Trigliserit ile GDM ilişkisi	12
2.4 Ghrelin	12
2.5 Oksidatif Stres	13
2.5.1 Oksidatif stres göstergesi olarak 8-OHdG	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1 Gereçler	14
3.1.1 Kitler ve kimyasallar	14
3.1.2 Cihazlar	14
3.1.3 Serum örneklerinin toplanması	14

3.2	Biyokimyasal Ölçümler	15
3.2.1	Yağ asitleri	15
3.2.2	8-OHdG düzeylerinin ölçülmesi	18
3.2.3	Ghrelın düzeylerinin ölçülmesi	19
3.2.4	Glukoz ve trigliserit düzeylerinin ölçülmesi	20
3.3	İstatistiksel Analizler.....	21
4.	BULGULAR.....	22
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	29
	KAYNAKLAR	34
	EKLER.....	41
	EK-1 Etik Kurul Onayı.....	41
	EK-2 AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	43
	EK- 3 Anket	47
	ÖZGEÇMİŞ	50

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

8-OHdG	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
DM	Diabetes Mellitus
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FID	Flame İyonizasyon Dedektörü
GC	Gaz Kromatografisi
GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
GLUT	Glukoz Transporter
LPL	Lipoprotein Lipaz
NSB	Non-spesifik bağlanma
OEA	Oleoiletanolamid
OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
ROS	Reactive Oxygen Species
TG	Trigliserit
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
YA	Yağ Asidi

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa no
Şekil 3.1 Yağ Asidi Standardı GC-FID Grafiği	17
Şekil 3.2 10 Numaralı Gönüllünün GC-FID Sonuç Grafiği	17
Şekil 3.3 8-OHdG Ölçümü İçin Kullanılan Metodun Kalibrasyon Eğrisi	19
Şekil 3.4 Ghrelin Ölçümü İçin Kullanılan Metodun Kalibrasyon Eğrisi	20
Şekil 4.1 Kontrol ve GDM'de Ölçülen Ghrelin Düzeyleri	26
Şekil 4.2 Kontrol ve GDM'de Ölçülen 8-OHdG Düzeyleri	27



RESİM LİSTESİ

	Sayfa No
Resim 3.1 GC-FID Cihazı.....	16



TABLolar LİSTESİ

	Sayfa no
Tablo 2.1 GDM Tanı Kriterleri.....	8
Tablo 3.1 Çalışmaya Alınan Bireylerin GDM, Yaş ve VKİ Dağılımı.....	15
Tablo 3.2 GC-FID Kolon Sıcaklık Basamakları Tablosu	17
Tablo 4.1 Kontrol ve GDM Gruplarında Glukoz ve Trigliserit Düzeyleri	22
Tablo 4.2 Çalışma Grubundaki Bireylerin Yaş, VKİ, Glukoz ve Trigliserit Korelasyonu	22
Tablo 4.3 GC-FID ile Serumda Ölçülebilen Yağ Asitleri	23
Tablo 4.4 GC-FID Ölçüm Limiti Altında Kalan Yağ Asitleri.....	24
Tablo 4.5 Kontrol ve GDM Gruplarında Yağ Asitlerinin Karşılaştırılması	25
Tablo 4.6 Kontrol ve GDM'de Yağ Asitlerinin Korelasyon Tablosu.....	25
Tablo 4.7 GDM ve Kontrol Grubu Ghrelin Düzeyleri.....	26
Tablo 4.8 GDM'de Ghrelin Korelasyon Tablosu	26
Tablo 4.9 Kontrol ve GDM Grupları 8-OHdG Düzeyleri.....	27
Tablo 4.10 GDM'de 8-OHdG Korelasyon Tablosu.....	28

EK LİSTESİ

Sayfa no

EK-1 Etik Kurul Onayı..... 41

EK-2 Aydınlatılmış Onam Formu 43

EK-3 Anket 47



ÖZET

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM), gebelik esnasında ortaya çıkan ve asemptomatik hiperglisemi ile karakterizedir. Gebelikten önce var olan ancak tanısı konulmamış Tip 2 Diabetes Mellitus (DM) ile karışabilmektedir. Bu çalışmada DM patofizyolojisinde önemli işlevleri olan yağ asitleri, trigliserit ve ghrelin hormonu ile DNA hasarının bir göstergesi olarak kabul edilen 8-OHdG düzeylerinin GDM tanısı konulmuş hastalar ile sağlıklı gebelerdeki düzeyleri ölçülüp özellikle yağ asitleri içinde anlamlı değişimlerin olup olmadığı araştırılmıştır.

Çalışmada 21'i GDM tanısı konulmuş hasta ve 39'u sağlıklı gönüllü gebe olmak üzere toplam 60 kişiden OGTT esnasında 0. saat kan örneği alınmıştır. GC-FID yöntemiyle 4-22 karbonlu yağ asitleri, ELISA yöntemiyle 8-OHdG ve ghrelin düzeyleri ve standart laboratuvar yöntemleri (otoanalizör) ile trigliserit ve glukoz düzeyleri ölçüldü. Veriler normal dağılıma uymadığından gruplar arasındaki farkın anlamlılığı için Mann Whitney U testi ve korelasyon analizleri için Spearman Korelasyon testi kullanıldı.

GDM'li gebelerde kontrol grubuna oranla trigliserit, glukoz ve oleik asit anlamlı derecede yüksek, ghrelin ise anlamlı derecede düşük bulundu. 8-OHdG'de ise anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Ancak GDM'li gebelerde 8-OHdG düzeylerinin bazı yağ asitleri (linoleik ve araşidonik asit) ve hastaların yaşı ile anlamlı korelasyon gösterdiği gözlemlendi. Ghrelin ile VKİ ve araşidonik asit arasında anlamlı derecede pozitif korelasyon tespit edildi.

Sonuç olarak, komplikasyonsuz gebelerden oluşan çalışma grubumuzda oleik asit düzeyinin anlamlı derecede yüksek bulunması ve DNA hasarının bir göstergesi olan 8-OHdG düzeylerinin de linoleik ve araşidonik asit ile ilişkili olmasının bu yağ asitlerinin GDM metabolizmasında önemli işlevleri olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Gestasyonel Diabetes Mellitus, Trigliserit, 8-OHdG, Ghrelin, Yağ asitleri



SUMMARY

Assessment of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine and 4-22 Carbon Fatty Acid Levels in Gestational Diabetes Mellitus

Gestational Diabetes Mellitus (GDM) is characterized by asymptomatic hyperglycemia which occurs during pregnancy. It may be confused with pre-gestational undiagnosed Type 2 Diabetes Mellitus (DM). In this study, the levels of 8-OHdG; which are accepted as an indicator of DNA damage, fatty acids, triglyceride and ghrelin hormone; which have important functions in the pathophysiology of DM, were measured in GDM patients and healthy pregnant women and researched the meaningful changes especially in fatty acids.

In this study, we took fasting blood samples from 21 patients diagnosed with GDM and 39 healthy volunteers, in total 60 people, during Oral Glucose Tolerance Test. We measured 4-22 carbon fatty acids with GC-FID; 8-OHdG and ghrelin levels with ELISA method; triglyceride and glucose levels with standard laboratory methods (auto-analyzer). As the obtained data did not match the normal distribution, for the significance of difference Mann Whitney U test and for the correlation analysis of Spearman Correlation test were used.

In pregnant women with GDM, triglyceride, glucose and oleic acid were significantly higher and ghrelin was significantly lower than the control group. No significant difference was observed in 8-OHdG. The 8-OHdG levels in pregnant women with GDM were observed significantly correlated with age and some fatty acids (linoleic and arachidonic acids).

Expressively positive correlations were obtained in between ghrelin and Body Mass Index and arachidonic acid. As a result, the fact that oleic acid levels were found to be significantly higher in our study group consisting of uncomplicated pregnant women and the association of 8-OHdG levels, which is an indicator of DNA damage,

with linoleic and arachidonic acid, suggests that these fatty acids may have important functions in GDM metabolism.

Keywords: Gestational Diabetes Mellitus, Triglyceride, 8-OHdG, Ghrelin, Fatty acids



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM), gebelik sürecinde tanımlanan asemptomatik hiperglisemi ile karakterizedir. Dünya genelinde yaklaşık %10 gibi yaygın bir şekilde görülmektedir. Gebeliğin 24 ile 28. haftaları arasında oral glukoz tolerans testi (OGTT) ile tanısı konulur (1). GDM, lipit abnormaliteleri, hiperinsülinemi, hipertansiyon gibi metabolik risk faktörleriyle ilişkilidir (2, 3). GDM, anne açısından Tip 2 Diabetes Mellitus (DM) riskini arttırırken (4), fetüste hiperglisemi, makrozomi ve bebekte hipoglisemiye yol açabilir (5).

GDM tanısının ancak gebeliğin ilerleyen safhalarında konulabilmesi hem anne hem de fetus için önemli bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle erken tanı ve takipte kullanılabilcek duyarlı ve özgül biyobelirteçlere gereksinim duyulmaktadır. Bu amaçla farklı uzunluktaki yağ asitleri biyobelirteç olarak incelenebilir.

Hidrokarbon zinciri ve bir karboksilik asit fonksiyonel grubundan oluşan yağ asitleri (YA) zincirdeki karbon sayısı ve bağların satüre olup olmamasına göre çok heterojen bir grup oluşturmaktadır. Dolaşımında bulunan YA'lar ya albümin ile kompleks oluştururlar ya da kolesterol veya gliserolle esterlenmiş şekildedir. Metabolizmada önemli işlevlere sahip olan YA'lar biyobelirteç olarak yeterince değerlendirilememiştir.

GDM'de oluşan oksidatif stres sonucu lipit peroksidasyonunun arttığı ve buna bağlı olarak hücre membranından DNA'ya kadar çok sayıda organel ve makromolekülde hasar meydana geldiği bilinmektedir. DNA'da oluşan hasarın göstergesi olarak serum 8-OHdG düzeyleri biyobelirteç olarak kullanılabilir.

Başta mide olmak üzere pankreas α hücreleri, plasenta, gonadlar, lenfositler, akciğer ve tükürük bezinde sentezlenen ghrelin hormonu insülin ve glukagon ile birlikte glukoz metabolizmasında düzenleyici olarak rol almaktadır (6-8). Açlık durumunda kan dolaşımında seviyesi yüksek olup, toklukta seviyesi azalarak iştahı ve glukoz homeostazisini düzenler (9, 10). GDM'li gebelerde önemli metabolik işlevleri olan

ghrelin hormonunun sağlıklı bireylere gore serum seviyesinin duşuk olduğu gosterilmiştir (11).

Çalışmamızda GDM tanısı konulmuş hastalarda farklı uzunlukta yağ asitlerinin kan glukoz, trigliserit ve ghrelin gibi molekullerle karşılaştırılarak biyobelirteç olarak kullanılabilir yağ asitlerinin varlığını araştırmayı amaçladık. GDM hastalarında gorlebilen olası DNA hasarını değerlendirmek için 8-OHdG düzeylerini ölçtük. Komplikasyon gelişen hastalarda biyobelirteçlerin duyarlılık ve özgüllüğü değerlebileceğinden dolayı çalışmaya komplikasyonsuz hastalar alındı.



2. GENEL BİLGİLER

Metabolik bir hastalık olan DM, insülin seviye ve aktivitesinde bozukluklara bağlı gelişen hiperglisemi ile karakterizedir. İnsülin yokluğu veya yetersizliği Tip 1 DM; insülin direnci, insülin salgısının bozulması ve dolayısıyla glukoz artışı sonucu ise Tip 2 DM olarak sınıflandırılır (12). Bu sınıflandırmanın dışında yer alan diğer bir hiperglisemi ise gebelikte gelişen GDM'dir ve sonrasında annede Tip 2 DM riski ile fetüste hiperglisemi, doğum sonrası ise hipoglisemi riski artmaktadır (1).

2.1 Gestasyonel Diabetes Mellitus

2.1.1 Tanım ve prevalans

GDM, gebelik esnasında ortaya çıkan ve asemptomatik olan hiperglisemidir (13). Gebelikten önce var olan ancak tanısı konulmamış Tip 2 DM ile karışabilmektedir (12,14).

Amerikan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'ne göre GDM Dünya genelinde % 9.2 oranında görülmektedir (15). Bu oran Avrupada ortalama % 6.1 iken (15), Türkiye'de yapılan çalışmalarda % 1.9 ile % 27.9 aralığında gösterilmiştir (16).

2.1.2 GDM tarama ve tanı

24. ile 28. haftalar arasında OGTT ile GDM taraması yapılmaktadır, bu tarama dünyada iki farklı yöntemle yapılabilmektedir (14). Bunlar tek aşamalı ya da iki aşamalı yüklemidir. Tek aşamalı yükleme 75 gr glukoz ile yapılırken iki aşamalı yüklemde ilk olarak 50 gr yüklem yapılır. 50 gr yüklem durumunda 1. saat glukoz ölçümü 140 mg/dl ya da daha yüksek çıkması durumunda 100 gr glukoz ile tekrar yüklem yapılır. Ancak Uluslararası Diyabet ve Gebelik Çalışma Grupları Birliği (17) ve Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (18) günümüzde 75 gr çalışmayı önermektedir.

Gebenin açlık kan şekerinin 126 mg/dl, anlık kan şekerinin ise 200 mg/dl ve daha yüksek olması yükleme testi gerekmeksizin GDM'yi tanılamaktadır (14). GDM tanı kriterleri Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1 GDM Tanı Kriterleri

	0. Saat	1. Saat	2. Saat	3. Saat
75 gr yükleme[¥]			≥140 mg/dl	
50 gr yükleme		≥180 mg/dl*		
100 gr yükleme^α		≥180 mg/dl	≥155 mg/dl	≥140 mg/dl
Anlık ölçüm	≥200 mg/dl			
Açlık Kan Şekeri	≥126 mg/dl			

*50 gr yükleme yapıldığında 140-180mg/dl arası çıkarsa 100gr ile test tekrarlanır ancak 180mg/dl'den yüksek çıkarsa direk GDM tanısı koyulur (18). ¥WHO GDM tanı kriterleri (19) α ADA GDM tanı kriterleri (20) .

Kaynak: 18- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Diyabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. 2019. 19- World Health Organisation (WHO). Definition, diagnosis and classification of Diabetes Mellitus and its complications. Part I: Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. 1999; pp. 1-59. 20- American Diabetes Association (ADA). Standards of medical care in diabetes-2010. Diabetes Care. 2010; vol. 33, Suppl 1: S11-61

2.1.3 GDM risk faktörleri

GDM için risk faktörleri aşağıda sıralanmıştır:

- Önceki gebelikte ya da gebelik öncesinde bozulmuş glukoz toleransı
- Ailede özellikle de birinci derecede diyabet hikâyesi ya da insülin direnci varlığı
- Vücut kitle indeksinin (VKİ) >25kg/m² olması
- Gebelikte aşırı kilo alımı (>20 kg)

- Bebeğin doğum kilosunun <2.7 veya >4.1 kg olması ya da öncesinde >4.1 kg bebek doğurulmuş olması
- Etnik açıdan prevalansı yüksek bir grupta yer alma, Güney veya Doğu Asya gibi.

Bu maddelerin varlığı GDM riskini arttırmaktadır (17, 21).

2.1.4 GDM patofizyolojisi

GDM'de ve normal gebelikte pankreas β hücrelerinde değişiklikler meydana gelmektedir. Bunlar insülin sentezi (22) ve salınımında artışı (23), glukoz kullanım ve oksidasyonunda artışı (24), β -hücre proliferasyonunun hızlanması ve adacık hücre hacminin artışıdır (25). Bütün bunların sonucunda sağlıklı gebeler insülin direncini tolere edebilirken, tolere edemeyen gebelerde GDM gelişir. Tip 2 DM ile GDM arasında patofizyolojik benzerlikler görülmektedir, ikisinde de karbonhidrat intoleransı gelişir (26). Glukoz transportu glukoz transporter (GLUT) proteinleri ile gerçekleşmektedir. GLUT4 kas, beyin ve adipoz dokuda bulunur ve insüline duyarlıdır (27). GDM'de adipoz dokuda insüline duyarlı olan GLUT4'ün azalmasına bağlı olarak glukoz transportunun azaldığı saptanmıştır (28).

Pankreas β hücrelerin fonksiyonunun bozulması sonucunda hücre içi toksik lipit türevleri birikmekte, oksidatif stres ve inflamasyon (29, 30) artmaktadır. Lipit peroksidasyonu oksidatif stres söz konusu olduğunda kritik bir biyomarkır olarak rol almaktadır. Uzun zincirli çoklu doymamış YA öncülerinden üretilen lipit hidroperoksitleri ve biyolojik olarak aktif metabolitleri oluşturan mekanizmalar hücresel yapı üzerindeki etkileriyle diyabet oluşumu araştırmalarında önem arz etmektedir (31). İnsülin direnci artışı ve β hücresi fonksiyonu bozukluğu anne kanındaki YA düzeyinin artışıyla da ilişkilidir (32, 33).

Hiperglisemi çok farklı mekanizmalarla ve özellikle mitokondride reaktif oksijen radikallerinin artışı sonucu oksidatif streste artışa neden olmaktadır. GDM hastalarında hiperglisemiden dolayı oksidatif stres ve DNA hasarı sağlıklı bireylere

göre daha yüksektir (31). Oksidatif DNA hasarı biyobelirteçleri lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit ve 8-OHdG'dir. 8-OHdG normal gebelere oranla GDM'de daha yüksektir (34).

Ghrelin 28 amino asit içeren peptid yapıda bir hormondur (6-8). Glukoz homeostazisi üzerinde önemli işlevleri olan ghrelin hormonunun özellikle insülin direnci ve Tip 2 DM ile ilişkili olduğu bilinmektedir. İnsülin salgılanmasını baskılayan ghrelinin GDM'li gebelerde YA düzeyleri ve 8-OHdG'nin aksine düşük olduğu saptanmıştır (11).

2.2 Yağ asitleri

2.2.1 Yağ asitlerinin yapısı

YA yapısında alifatik hidrokarbon zinciri ve karboksilik asit fonksiyonel grubu bulunduran bileşiklerdir. Zincir uzunluğu 4-36 karbon arasında değişebilmektedir. Bazı yağ asitleri hidrokarbon zincir ve karboksilik aside ek olarak halkasal yapılar, hidroksil gruplar gibi farklı yapılar içerebilir. Serbest YA'lar karboksilik fonksiyonel grupları nedeniyle plazma ve hücre içi sıvıda iyonik yapıdadır. Dolaşımında albümine bağlanarak taşınırlar. Kolesterol ve gliserolle esterleşmiş olanlar lipoproteinler içinde dokulara taşınırlar (35).

2.2.2 Yağ asitlerinin sınıflandırılması ve isimlendirilmesi

YA'lar hidrokarbon zincirin uzunluğu (yapıdaki karbon sayısı), içerdiği çift bağların sayısı ve dallı yapının bulunup bulunmamasına göre sınıflandırılabilir. Hiç çift bağ içermiyorsa tam doymuş (satüre), bir ya da daha fazla çift bağ içeriyorsa doymamış (ansatüre) yağ asidi olarak isimlendirilir.

Sıklıkla görülen yağ asitleri doymuş, 12-24 karbon içeren ve dallanmamış yapıdadır. Yağ asitlerinin sentezi 2 karbonlu birimlerle gerçekleştiği için genellikle yapıda çift sayıda karbon bulunmaktadır.

Doymamış yağ asitlerinde çift bağın lokasyonu ve pozisyonu yağ asidine kimliğini kazandırmaktadır. Tekli doymamış yağ asitlerinde çift bağ genellikle C-9 ve C-10 arasında bulunmaktadır. Çoklu doymamış yağ asitlerinde ise çift bağlar genellikle C12-C13 ve C15-C16 arasında bulunmaktadır. Bu kuralın pek çok istisnaları da bulunmaktadır. Örneğin araşidonik asit bu kurala uymamaktadır.

Çift bağın iki yanındaki karbonlar eğer aynı tarafta ise buna cis konfigürasyonu denir ve bu durumda YA zincirinde bir bükülme gözlenir. Çift bağın iki yanındaki karbonların karşı yönlerde bulunmasına ise trans konfigürasyonunu oluşturmaktadır. Bu konfigürasyondaki YA'larda bükülme görülmediği için doymuş YA'ya benzemektedir. Doğal yollarla oluşan yağ asitleri genellikle cis konfigürasyonuna sahiptir.

YA isimlendirmesi iki farklı yöntemle yapılabilmektedir. Sınıflandırma 1 numara ile karboksil karbonundan başlayabilir ya da karboksil grubunun komşu karbonundan başlayarak α , β , γ şeklinde ilerler ve metil grubu karbonu ω (omega) olarak isimlendirilir (36, 37).

2.3 Trigliseritler

Karaciğer ve adipoz dokuda sentezlenen TG'ler, üç YA'nın bir gliserol molekülü ile esterleşmesiyle oluşan lipofilik bileşiklerdir. Gliserol ve yağ asitlerinde polar yapılar bulunmakla birlikte bu yapılar ester bağı oluşumuna katıldıkları için TG'ler nonpolar bileşikler olup suda çözünmezler. Lipofilik yapıları nedeniyle TG'ler lipoproteinlerle dokulara taşınırlar. TG yapısındaki üç yağ asidi aynı ya da farklı olabilir ancak doğal yollarla oluşan TG'lerdeki yağ asitleri genellikle farklıdır. Hidrofobik yapısı gereği glukoz ve diğer hidrofilik yapılara göre yağ dokusunda kolaylıkla depolanan TG'ler organizmanın enerji ihtiyacının karşılanmasında kullanılan temel bileşiklerden biridir.

2.3.1 Trigliserit ile GDM ilişkisi

Gebelik döneminde lipid metabolizmasında belirgin değişiklikler meydana gelmektedir. Gebeliğin 12. haftasından itibaren östrojenin stimülasyonu ve oluşan insülin direnci nedeniyle kolesterol, fosfolipid ve TG düzeylerinde artış görülmektedir. Glukoz ve amino asitlerin daha çok fetüs için kullanılmak istenildiği bu dönemde enerji sağlamak amacıyla maternal dokular da daha çok lipidleri kullanılmaktadır. Gebelik döneminde maternal dolaşımdaki lipid artışı başlangıçta hafif düzeyde iken giderek artış göstermektedir. Kolesterol ve fosfolipidlere göre TG'lerdeki artış daha belirgindir. GDM'li gebelerde TG düzeyleri sağlıklı gebelere göre her üç trimesterde de daha yüksek seyretmektedir (38, 39).

2.4 Ghrelin

Daha önce bahsedildiği gibi 28 amino asit uzunluğunda peptid yapılı bir hormon olan ghrelin başta mide olmak üzere pankreas, plasenta, gonadlar, akciğer, tükürük bezinde sentezlenmektedir (40). Ghrelin ilk önce preprohormon olarak ve 117 aa uzunlukta bir zincir olarak sentezlenir. Bu yapı daha sonra iki ghrelin molekülü oluşturmak üzere yeniden düzenlenir. Dolaşımda açile veya de-açile formda bulunabilir. Ghrelin o-açiltransferaz enzimi ile N terminalde 3. aa olan serine açil grubun bağlanmasıyla açil ghrelin elde edilmektedir (41-43).

Ghrelinin büyüme hormonu salgısını artırdığı, besin ve kilo alımını stimule ettiği bilinmektedir. Ancak ghrelin bu işlevleri sadece kendi başına değil insülin, ACTH gibi pek çok hormonun ortaklaşa etkisiyle gerçekleştirmektedir. Ghrelin ve insülin ilişkisi ile ilgili çalışmalar devam etmekte olup pankreatik hücrelerde sentezlenen ghrelinin insülin sekresyonunu baskıladığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar serum ghrelin düzeyi ile VKİ arasında negatif yönde bir ilişkinin bulunduğunu göstermiştir (44).

2.5 Oksidatif Stres

Reaktif oksijen türevleri (ROS), moleküler oksijenin indirgenmesiyle oluşurlar. Başta mitokondriler olmak üzere oksidatif yönden aktif yapılar temel ROS üretim merkezleridir. Ayrıca sigara, alkol, aşırı beslenme, stres, ağır egzersiz ve radyoaktif ışına maruziyet gibi çevresel faktörler varlığında da üretilir (45). ROS'ların zararlı etkileri yanında kontrol altında üretildiklerinde yararlı etkileri de bulunmaktadır. Örneğin immun sistem tarafından fagositik hücrelerin aktive edilmesi (46) sırasında üretilen radikaller vücut savunmasında önemli bir yere sahiptir. Fizyolojik koşullarda metabolizmada ROS ile antioksidan arasında bir denge vardır. Aşırı ROS üretimi veya antioksidanların azalışı sonucu oluşan dengesizlik oksidatif strese yol açar (47, 48). ROS fazla ise lipid, protein ve nükleik asitlerin hasarına yol açan kimyasal zincir reaksiyonlarına sebep olur ve bu süreç ile hücre DNA'sına zarar verebilmektedir (49).

2.5.1 Oksidatif stres göstergesi olarak 8-OHdG

Lipitler, proteinler ve DNA'da en çok hasar oluşturan ROS hidroksil grubudur (-OH). Bu birçok mekanizmayla ortaya çıkmakla birlikte, en çok hidrojen peroksidin demir katyonuyla (Fe^{+2}) girdiği reaksiyon sonucu açığa çıkar ve hücre çekirdeğine geçebilir. DNA'da oksidasyona en yatkın baz guanozindir. -OH'ın guanozinin 8. karbonuna bağlanmasıyla 8-OHdG meydana gelir (49). 8-OHdG oluşumu ile DNA'da GC:AT transversiyonu oluşur (50) böylece DNA hasarı görülür.

Glukoz metabolizması bozukluğu görülen gebelerde genel olarak bir oksidatif DNA hasarı artışı görülmektedir (51). Özellikle GDM'de pürin bazlarının (adenin ve guanozin) oksidatif DNA hasarına uğradığı gösterilmiştir (34). 8-OHdG de oksidatif DNA hasarının tanımı için kullanılan hassas biyobelirteçlerden biridir ve bozulan glukoz homeostazisinin patogenezinde rol aldığı gösterilmiştir (52).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereçler

3.1.1 Kitler ve kimyasallar

Çalışmamızda kit olarak, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) *in vitro* ELISA Kiti (Abcam, Cambridge, İngiltere) ve Ghrelin ELISA kiti (Biovendor, Çekya) kullanıldı. Kimyasallar ise; FID için kullanılan Gazlar (He, H) (Havelsan, Türkiye) ve GC-FID için yağ asidi standardı olan Supelco 37 Component FAME Mix (Sigma Aldrich, Merck, Almanya) kullanıldı.

3.1.2 Cihazlar

Çalışmada Mikroplate Okuyucu (Sunrise, TECAN, İsviçre), Mikroplate Yıkayıcı (Hydroflex, TECAN, İsviçre), GC-FID sistemi (7890 Agilent, USA), FID kolonu (HP88 Agilent, USA), Otoanalizör (Siemens Dimension EXL, Siemens Healthcare Diagnostics Products, Almanya), Etüv (Nüve EV 018Thermo, Canada, USA), -80°C Derin Dondurucu (Haier, Çin), -20°C Buzdolabı (Kirsch, Almanya) ve Santrifüj (NS1200R Thermo, USA) kullanıldı.

3.1.3 Serum örneklerinin toplanması

Hazırladığımız proje Acıbadem Üniversitesi ve Acıbadem Sağlık Kuruluşları Tıbbi Araştırma Etik Kurulu'nca (ATADEK) tıbbi etik yönünden uygun bulundu ve onaylandı (Karar No: 2018/3/17). Acıbadem Atakent Hastanesinde OGTT yapılmasına karar verilen 22 ile 42 yaşları arasında, 39 sağlıklı ve 21 GDM olmak üzere toplam 60 gönüllü gebe çalışmaya alındı. Çalışmaya katılan tüm bireylerin yazılı onamları alındıktan sonra 0. saat kan örnekleri alındı. Alınan tüm örnekler santrifüj edildi ve 3 alikot halinde -20°C'de saklandı. Daha sonra bu örnekler Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Laboratuvarı'nda -80°C'lik dondurucularda analize kadar saklandı.

Tablo 3.1 Çalışmaya Alınan Bireylerin GDM, Yaş ve VKİ Dağılımı

	Kontrol	GDM	p değeri
n	39	21	-
Yaş			
Ortanca (min – maks)	32 (22 - 39)	32 (24 - 42)	0.744
VKİ (kg/m²)			
Ortanca (min – maks)	25 (18 - 40)	25 (19 - 35)	0.311

3.2 Biyokimyasal Ölçümler

3.2.1 Yağ asitleri

3.2.1.1. Yağ asitlerinin ekstraksiyonu ve metilasyonu

GC-FID yönteminin ayrıştırma etkinliğini arttırmak için, bir asidin karboksil grubu ile bir alkolün hidroksil grubunun etkileşime girip sonucunda suyun açığa çıkmasını sağlayan reaksiyona, metilasyona (esterifikasyon reaksiyonuna), gereksinim duyulmaktadır.

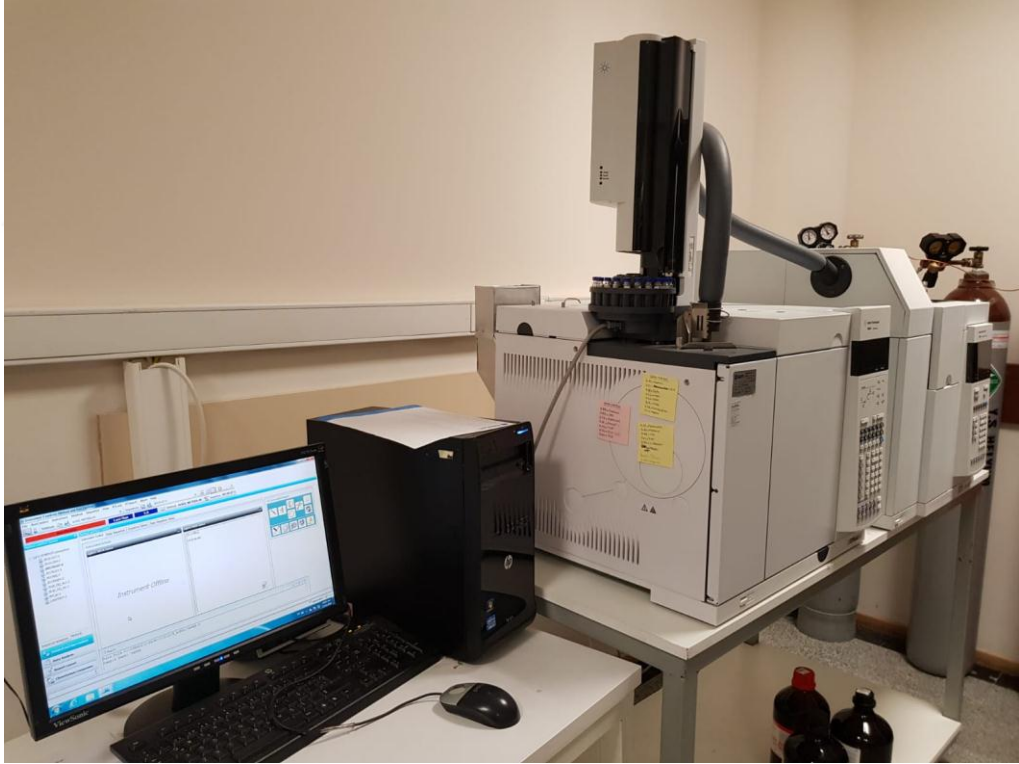
Bu amaçla aşağıdaki işlemler yapıldı;

- Cam tüplere 50 µl iç standardeptadekanoik asit (C17:0) ve 50 µl serum örneği pipetlendi.
- Daha sonra tüplere 1 ml 3N HCl eklendi ve 90°C'ye ayarlı etüvde 4 saat süresince transmetilasyon için inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon bitiminde tüpler oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi.
- Tüplere 2 ml hekzan eklendi ve 10 sn vortekslendi.
- Vorteksle birlikte tüplerde üst tabaka oluşumu gözlemlendi.
- Çeker ocağın altında nitrojen varlığında hekzan uçuruldu.
- Cam tüplerde oluşan gri tabaka 100 µl hekzan ile çözüldü.

Bu basamaklar sonrasında serum örneklerindeki YA, GC-FID ölçümü için metile hale getirilmiş olmaktadır.

3.2.1.2. Serum örneklerinde GC-FID yöntemiyle yağ asitlerinin ölçümü

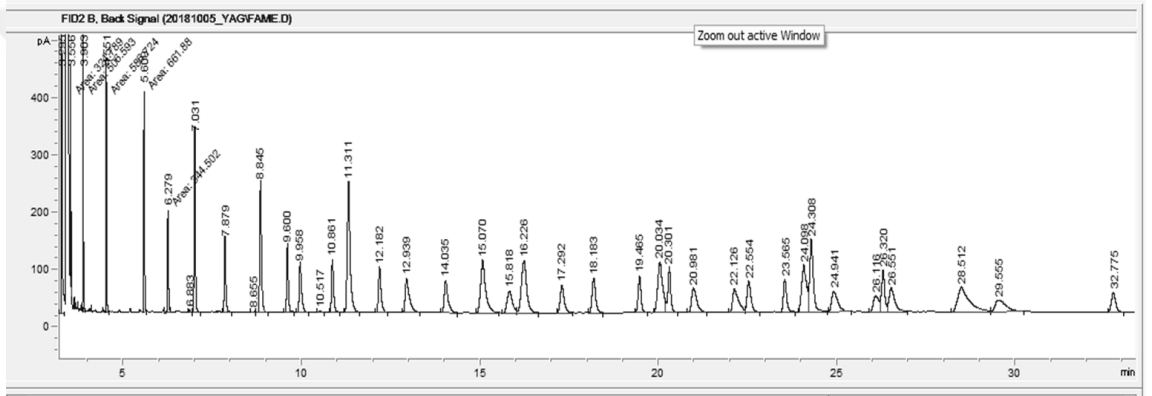
GC-FID yöntemi için Resim 3.1'deki Agilent FID sistemi kullanıldı. Başlangıçta Agilent HP88 kolonuna (100 m uzunlukta, 250 μ m çapta ve 0,2 μ m film kalınlığında) He verildi ve 120°C'de tutuldu. 2 μ l örnek enjekte edildi. Test esnasındaki fırın sıcaklığı ve sıcaklıktaki artış hızları Tablo 3.1'de verilmiştir. Kolondan geçen YA'lar FID'ye 250°C'de verildi ve dedektörde yağ asitlerine ait piklerden oluşan bir grafik elde edildi. Yağ asidi standardı (Supelco FAME 37 mix) ve örnek olarak seçilen bir gönüllünün pikleri Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de verilmiştir.



Resim 3.1 GC-FID Cihazı

Tablo 3.2 GC-FID Kolon Sıcaklık Basamakları Tablosu

	Sıcaklık Artışı (°C/dk)	Sıcaklık (°C)	Tutulma Süresi (dk)	Total Süre (dk)
Başlangıç		120	1	1
1. Adım	10	175	10	16.5
2. Adım	5	210	12	35.5
3. Adım	5	230	5	44.5

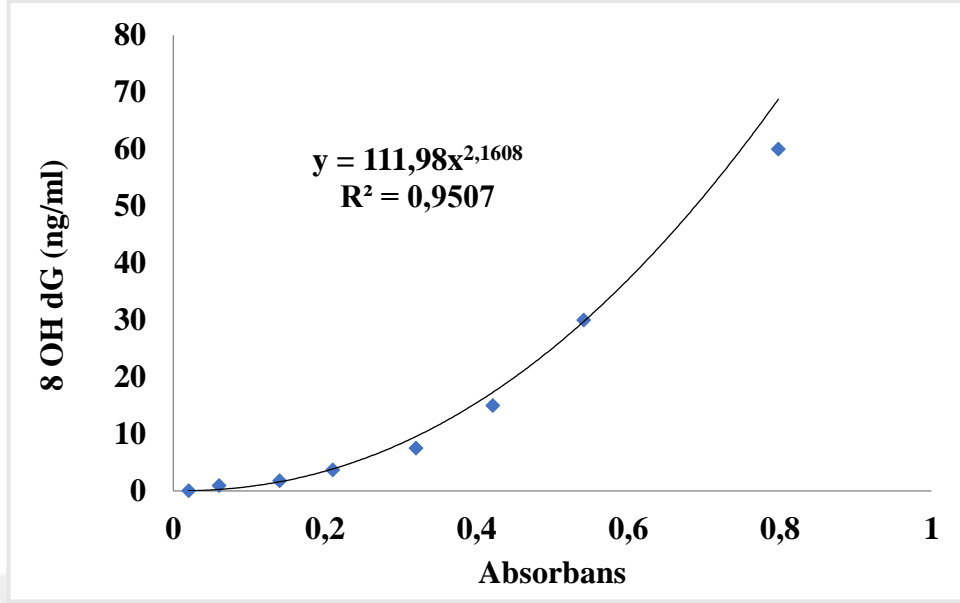


3.2.2 8-OHdG düzeylerinin ölçülmesi

Serum 8-OHdG düzeyi ELISA yöntemi ile ölçüldü. Kit prosedürü (53) aşağıdaki şekilde uygulandı;

1. Teste başlamadan önce tüm reaktifler ve materyaller oda sıcaklığına getirildi.
2. 8-OHdG standartları, kontrol ve örnekler kuyucuklara 50 µl pipetlendi.
3. Kör haricindeki tüm kuyucuklara 50 µl antikor solüsyonu eklendi.
4. Kör kuyucuğa örnek dilüenti ve antikor dilüentinden 50'şer µl pipetleme yapıldı.
5. Plate üstü kapatılarak oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakıldı.
6. İnkübasyonun ardından üstü açılan plate 300 µl yıkama solüsyonu eklenip ardından aspire edilmek üzere 4 kere yıkandı.
7. Yıkama sonrasında plate kurutma kağıdına ters çevrilerek nazikçe kurutuldu.
8. Tüm kuyucuklara 100 µl Tetrametilbenzidin solüsyonu eklendi.
9. Üzeri kapatılan plate oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika bekletildi. Bu sırada reaksiyon sonucu mavi renk oluşumu gözlemlendi.
10. 30 dakikanın ardından nazikçe üzeri açılan plateteki tüm kuyucuklara 100 µl Stop solüsyonu eklenip karışması için hafifçe vuruldu.
11. Stop solüsyonun eklenmesiyle birlikte maviden sarıya renk değişimi gözlemlendi.
12. Oluşan renk yoğunluğunun ölçümü 450 nm'de spektrofotometrede okundu.

Kullanılan yöntemin kalibrasyon grafiği Şekil 3.2'de verilmiştir. Kullanılan kitin sensitivitesi 0.59 ng/ml olup ölçüm aralığı ise 0.94 –60 ng/ml'dir.



Şekil 3.3 8-OHdG Ölçümü İçin Kullanılan Metodun Kalibrasyon Eğrisi

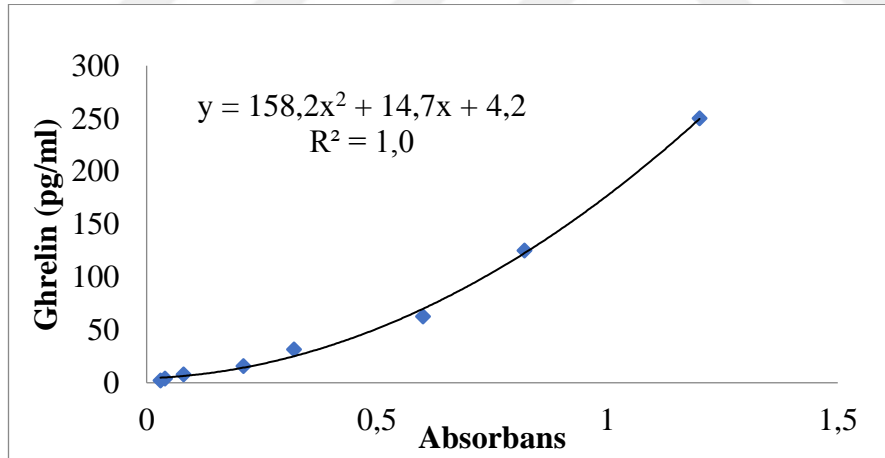
3.2.3 Ghrelin düzeylerinin ölçülmesi

Serum ghrelin düzeyi ELISA yöntemi ile ölçüldü. Kit prosedürü (54) aşağıdaki gibi uygulandı;

1. Plate paketinden çıkarıldı ve yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkandı.
2. Teste başlamadan önce plate ters çevrilip kurutma kağıdına hafifçe vurularak kurduğundan emin olundu.
3. İlk sıra 8 kör kuyucuk ve 8 Non-spesifik bağlanma (NSB) kuyucuğu olarak belirlendi.
4. Dilüsyon çözücüsünden NSB kuyucuklarına 25 µl ve kör kuyucuklara 50 µl pipetlendi.
5. Açile Ghrelin Standartları (S1-S8) ve örnekler ile kontrol örneği de 25 µl olarak kuyucuklara pipetlendi.
6. Açile Ghrelin konjugat solüsyonu da kör kuyucuklar dışındaki kuyucuklara 25 µl pipetlendi.
7. Konjugat pipetlemesinin ardından plate üstü kapatılarak 3 saat oda sıcaklığında inkübe edildi.

8. İnkübasyonu biten plate ters çevrilerek boşaltıldı.
9. Her bir kuyucuk yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkandı, 5. yıkama sırasında plate çalkalayıcıda hafifçe çalkalandı.
10. Ardından plate 300 µl yıkama solüsyonuyla 5 kere daha yıkandı.
11. Yıkama bittikten sonra plate tamamen boşaltıldı ve ters çevrilip kurutma kağıdına emdirilerek tamamen kurduğundan emin olundu.
12. Kurutulan kuyucuklara 50 µl substrat solüsyonu pipetlendi ve üstü alüminyum folyo ile sıkıca kapatıldıktan sonra oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
13. Plate üzeri kurutma kağıdıyla temizlendi ve kuyucukların dışında sıvı olmadığından emin olundu.
14. Substrat solüsyonu eklendikten sonra plate 405 nm’de okutuldu.

Kullanılan yöntemin kalibrasyon grafiği Şekil 3.3’te verilmiştir. Kitin sensitivitesi <5 pg/ml olup, ölçüm aralığı ise 2 – 250 pg/ml’dir.



Şekil 3.4 Ghrelin Ölçümü İçin Kullanılan Metodun Kalibrasyon Eğrisi

3.2.4 Glukoz ve trigliserit düzeylerinin ölçülmesi

Glukoz ve trigliserit düzeyleri Siemens Dimension EXL (Siemens Healthcare Diagnostics Products, Almanya) cihazında standart laboratuvar metotları kullanılarak ölçüldü.

3.3 İstatistiksel Analizler

Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Normal dağılıma uymayan gruplar arasındaki fark Mann Whitney U testi ile kontrol edildi. Gruplar arasındaki ilişkinin araştırılması için Spearman Korelasyon testi yapıldı ve anlamlılık düzeyi için $p < 0.05$ olarak alındı.



4. BULGULAR

Yapılan ölçümler sonucu elde edilen değerler aşağıda sırasıyla verilmiştir.

4.1 Glukoz ve Trigliserit

Çalışmaya katılan bireylerden alınan numunelerde ölçülen glukoz ve ve trigliserit düzeyleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Kontrol grubuna göre GDM tanısı konulan gebelerde glukoz ve trigliserit düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Tablo 4.1 Kontrol ve GDM Gruplarında Glukoz ve Trigliserit Düzeyleri

Parametre	Ortanca (Min – Maks)		p değeri
	Kontrol	GDM	
Glukoz (mg/dl)	80 (73 - 98)	85 (69 - 103)	0.010*
Trigliserit (mg/dl)	141 (75 - 273)	185 (80 - 357)	0.034*

Gruplar arasında yapılan korelasyon analizinde ise glukoz ve trigliserit düzeyleri arasında anlamlı ilişki olduğu gözlemlendi (Tablo 4.2). Ayrıca VKİ’nin serum glukoz ve bireylerin yaşı ile anlamlı korelasyonu tespit edildi.

Tablo 4.2 Çalışma Grubundaki Bireylerin Yaş, VKİ, Glukoz ve Trigliserit Korelasyonu

Parametreler		Korelasyon Katsayısı (R)	p Değeri
Yaş	VKİ	0.263	0.042
VKİ	Glukoz	0.370	0.004
Glukoz	Trigliserit	0.270	0.040

4.2 Yağ Asitleri

Çalışmamızda çok sayıda yağ asidinin analizi yapılmasına rağmen bazı yağ asitlerinin düzeyleri ölçüm sınırının altında kaldığı için değerlendirmeye alınamadı. Ölçülen ve ölçülemeyen yağ asitlerinin listesi Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.3 GC-FID ile Serumda Ölçülebilen Yağ Asitleri

Simge	Yağ Asidi Adı
C16	Palmitik Asit
C18	Stearik Asit
C18:1n9c	Oleik asit
C18:2n6c	Linoleik Asit
C21	Henikosanoik Asit
C20:3n3	Eikosatrienoik Asit
C20:4n6	Araşidonik Asit
C22:6n3	Dokosaheksaenoik Asit

Tablo 4.4 GC-FID Ölçüm Limiti Altında Kalan Yağ Asitleri

Simgesi	Yağ Asidi Adı
C4:0	Bütirik asit
C6:0	Kaproik asit
C8:0	Kaprilik asit
C10:0	Kaprik asit
C11:0	Undekanoik asit
C12:0	Laurik asit
C13:0	Tridekanoik asit
C14:0	Miristik asit
C14:1	Miristoleik asit
C15:0	Pentadekanoik asit
C15:1	cis-10-Pentadesenoik asit
C16:1	Palmitoleik asit
C17:0	Heptadekanoik asit
C17:1	cis-10-heptadesenoik asit
C18:1n9t	Elaidik asit
C18:2n6t	Linolelaidik asit
C18:3n6	γ -Linolenik asit
C18:3n3	α -Linolenik asit
C20:0	Araşidik asit
C20:1n9	cis-11-Eikosenik asit
C20:2	cis-11,14-eikosadienoik asit
C20:3n6	cis-8,11,14-eikosatrienoik asit
C20:5n3	cis-5,8,11,14,17-Eikosapentaenoik asit
C22:0	Behenik asit
C22:1n9	Erusik asit
C22:2	cis-13,16-dokozadienoik asit
C23:0	Trikosanoik asit
C24:0	Lignoserik asit
C24:1n9	Nervonik asit

Anlamli olarak ölçülen yağ asitlerinin düzeyleri gruplara göre karşılaştırıldığında sadece oleik asidin (c18:1n9c) GDM tanısı alan hastalarda anlamli olarak yüksek olduğu, diğer yağ asitlerinin kontrol grubuna göre farklı olmadığı tespit edildi. (p> 0.05) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5 Kontrol ve GDM Gruplarında Yağ Asitlerinin Karşılaştırılması

Parametre	Ortanca (Min – Maks)		p değeri
	Kontrol	GDM	
c18:1n9c	37.13 (3.15 - 53.37)	42.98 (5.37 - 64.99)	0.012*
c16	66.92 (47.49 - 201)	73.72 (48.45 - 111)	0.572
c18	42.48 (5.67 - 83.87)	33.53 (3.60 - 61.44)	0.142
c18:2n6c	129.5 (1.33 - 264)	133.99 (13.75 - 384)	0.462
c20:3n3	40.46 (36.22 - 47.95)	38.31 (4.66 - 45.69)	0.361
c20:4n6	76.77 (4.50 - 97.72)	55.52 (1.43 - 129)	0.256

Ölçülen yağ asitlerinin glukoz, trigliserit ve VKİ ile olan ilişkileri korelasyon analizi ile değerlendirildi.

Tablo 4.6 Kontrol ve GDM’de Yağ Asitlerinin Korelasyon Tablosu

Grup	Parametreler	Korelasyon Katsayısı (R)	p Değeri
Kontrol	c16	Trigliserit	0.603
	c18	Trigliserit	0.484
	c18:1n9c	Trigliserit	0.806
	c20:4n6	VKİ	-0.427
GDM	c18:2n6c	Yaş	-0.472
	c20:4n6	Yaş	0.559

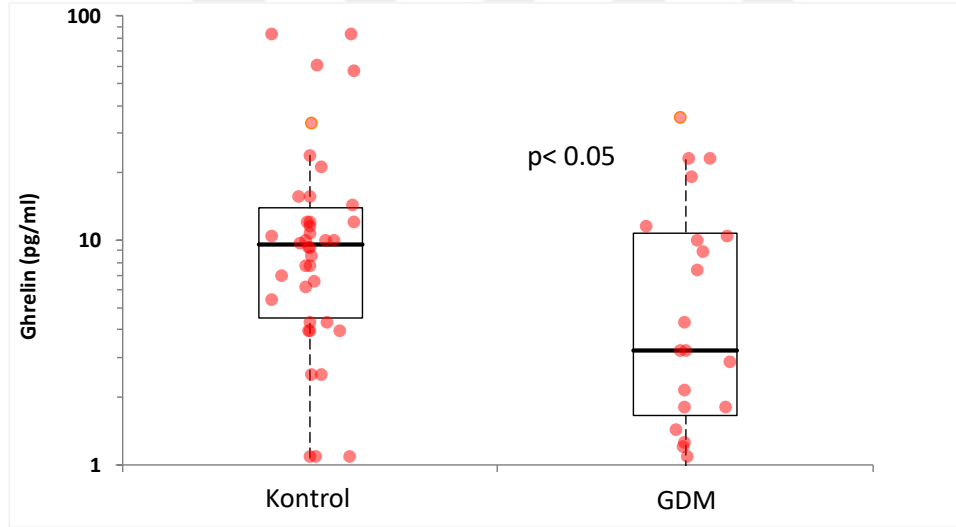
Tablo 4.6’da görüldüğü gibi kontrol grubunda trigliserit ve VKİ ile yağ asitleri arasında anlamli korelasyon var iken bu ilişki GDM hastalarında kaybolmuştur.

4.3 Ghrelin

GDM ve kontrol grubundaki bireylerde ölçülen ghrelin düzeyleri Tablo 4.7’de verilmiştir. Sağlıklı bireylerde ghrelin düzeylerinin GDM’li hastalara göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$) (Tablo 4.7)

Tablo 4.7 GDM ve Kontrol Grubu Ghrelin Düzeyleri

Parametre	Ortanca (Min – Maks)		p değeri
	Kontrol	GDM	
Ghrelin (pg/ml)	9.60 (1.08 - 82.57)	3.22 (0.03 - 35.04)	0.041*



Şekil 4.1 Kontrol ve GDM’de Ölçülen Ghrelin Düzeyleri

Tablo 4.8 GDM’de Ghrelin Korelasyon Tablosu

Grup	Parametreler		Korelasyon Katsayısı (R)	p Değeri
GDM	Ghrelin	VKİ	0.470	0.032
	Ghrelin	c20:4n6	0.558	0.016

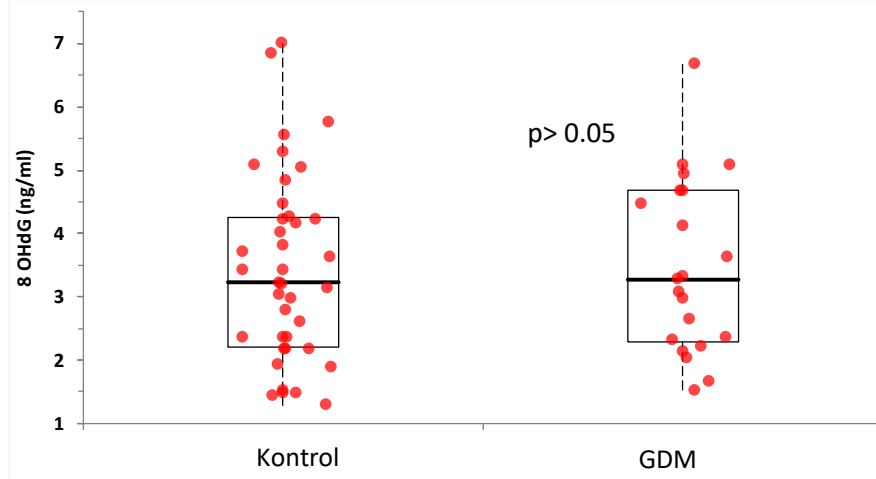
Tablo 4.8’de görüldüğü gibi GDM’de ghrelin ile VKİ ve araşidonik asit arasında pozitif korelasyon saptanmıştır.

4.4 8-OHdG

GDM ve kontrol grubundaki bireylerde ölçülen serum 8-OHdG düzeyleri Tablo 4.9’da verilmiştir. Sağlıklı bireyler ile GDM hastaları arasında 8-OHdG düzeylerinin anlamlı derecede farklı olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9 Kontrol ve GDM Grupları 8-OHdG Düzeyleri

Parametre	Ortanca (Min – Maks)		p değeri
	Kontrol	GDM	
8-OHdG (ng/ml)	3.42 (1.29 - 32.47)	3.27 (1.52 - 6.68)	0.975



Şekil 4.2 Kontrol ve GDM’de Ölçülen 8-OHdG Düzeyleri

8-OHdG’nin yaş ve yağ asitleri ile olan ilişkileri korelasyon analizi ile değerlendirildi.

Tablo 4.10 GDM’de 8-OHdG Korelasyon Tablosu

Grup	Parametreler		Korelasyon Katsayısı (R)	p Değeri
GDM	8-OHdG	Yaş	-0.731	<0.001
	8-OHdG	c18:2n6c	0.496	0.022
	8-OHdG	c20:4n6	-0.640	0.004

Tablo 4.10’da görüldüğü gibi 8-OHdG ile yaş ve araşidonik asit arasında anlamlı negatif korelasyon görülürken, linoleik asit ile pozitif korelasyon görülmüştür.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada DM'nin metabolizmasında önemli rol alan yağ asitleri ile trigliserit, glukoz, ghrelin hormonu ve oksidatif stres sonucu oluşan DNA hasarının bir belirteci olarak kabul edilen 8-OHdG'nin GDM hastalarındaki değişimleri ve aralarındaki ilişki araştırıldı.

GDM'li hastalarda biyokimyasal değişimler gebeliğin erken safhasında başlamakla birlikte tanısı gebeliğin ancak ilerleyen safhalarında konulabilmektedir. Gebeliğin erken dönemlerinde biyokimyasal değişimler olduğu bilindiğinden, GDM tanısı için bu aşamada kullanılacak bir biyobelirtecin varlığı bu hastaların tanı ve takiplerinde oldukça yararlı olacaktır. Ancak şimdiye kadar yapılan çalışmalarda bu alanda güvenle kullanılacak duyarlı ve spesifik bir biyobelirteç ortaya konulmamıştır. Çalışmamızda GDM'li hastalarda özellikle bireysel yağ asitlerindeki değişimi ve bu değişimin glukoz metabolizması ile olan ilişkisini araştırdık. Yağ asitlerinin çeşitliliği biyobelirteç olma potansiyelini de beraberinde getirmektedir.

Çalışmamızda kontrol grubuna göre GDM'li hastalarda glukoz ile birlikte serum trigliserit düzeyinin de anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. İnsüline bağlı glukoz kullanımı temel olarak kas ve yağ dokularında görülmektedir. Normal gebelikte insüline bağlı glukoz kullanımı azalırken normal glukoz düzeylerinin sağlanması için pankreastan insülin sekresyonu artmaktadır. İnsüline karşı direncin olduğu bu aşamada glukoz metabolizmasının olumsuz etkilenmesi için plasental hormonların devreye girdiği bilinmektedir. Human plasental laktojen (hPL) hormonu artarak pankreastan insülin salınımını uyarmaktadır. Buna ek olarak human plasental growth hormon (hPGH) ve adipokinler olarak da bilinen interlökin-6, adiponektin, leptin, resistin, TNF-alfa ve diğer moleküllerin düzeylerindeki artış periferik insülin direncinin oluşuma katkıda bulunmaktadır (26, 55).

Normal gebelikte 6. ve 9. aylar arasında serbest YA ve serum TG düzeyleri gebe olmayanlara göre anlamlı derecede artış göstermektedir (32). Artan insülin direnci ve pankreas β hücresi fonksiyonundaki değişikliklerin maternal YA düzeyinin artışıyla

ilişkili olduğu gözlenmiştir (32, 33). Lipit metabolizmasında önemli işlevlere sahip olan insüline karşı direnç gelişmesi GDM'li hastalarda önemli metabolik değişimleri de beraberinde getirmektedir. İnsülin direnci gelişimiyle birlikte karakteristik olarak serum VLDL ve trigliserit düzeylerinde artış meydana gelir ve buna HDL düzeylerindeki düşüş eşlik eder (56).

Çalışmamızda çok farklı yağ asitlerinin GDM'li hastalardaki değişimini inceledik. Ancak araştırdığımız yağ asitlerinin büyük bir kısmı ölçüm sınırının altında kaldığı için değerlendirmeye alınmadı ve bu nedenle bu yağ asitlerinin GDM'li hastalarda sağlıklı bireylere göre nasıl değişim gösterdiğini inceleme imkânımız olmadı. Bu yağ asitlerinin ölçüm sınırının altında kalması onların potansiyel biyobelirteç olmalarını sınırlandırmamaktadır. Aksine, metodolojik olan ölçüm sorunlarının giderilmesiyle daha fazla yağ asidi çeşidi biyobelirteç olarak değerlendirilebilecektir.

Ölçüm sınırı (limit of quantitation, LOQ) biyokimyasal belirteç araştırmalarında iki açıdan önemli bir bariyer oluşturmaktadır. 1) Ölçüm sınırının altında kalan hiçbir değer güvenilir değildir ve dikkate alınmamalıdır. 2) Ölçüm sınırı civarında yapılan ölçümlerde elde edilen sonuçlarda varyasyon oranı yüksektir. Bu nedenle ölçülen konsantrasyonu ölçüm sınırı altında kalan ya da hafif üstünde olan biyobelirteçler için daha hassas ölçüm yöntemlerinin geliştirilmesi gerekir.

Ölçülebilir düzeyde tespit edilen yağ asitlerinden sadece oleik asidin GDM'li hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit ettik. Oleik asidin Tip 2 DM'in patofizyolojisinde önemli işlevleri olabileceği gösterilmiştir (57). Antidiabetik etkileri olan oleik asidin bu etkilerini endojen ürünü olan oleoiletanolamid (OEA) üzerinden gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Diyetle oleik asit alımının OEA düzeylerinde artışa neden olduğu artan OEA'nın PPAR α (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Alpha) yolağını aktive ederek gıda alımını baskıladığı (tokluk hissini artırarak) ve kilo alımını azalttığı gösterilmiştir (57).

Palmitik asit gibi sature yağ asitlerinin düzeylerindeki artış mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ile birlikte inflamasyon ve periferel dokularda insüline karşı direnç oluşumuna neden olmaktadır. Oleik asidin Tip 2 DM'deki en önemli etkisinin palmitik asidin neden olduğu patolojik etkilerin azaltılması olduğu düşünülmektedir (58). Oleik asidin palmitik asit üzerindeki etkisinin diyabet tedavisinde etkin bir yeri olan metforminin etkisine benzer olduğu ve bunu palmitik asidin neden olduğu AMPK (AMP-activated protein kinase) aktivitesindeki azalmayı engellediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (59).

Tip 2 DM'nin aksine bireysel yağ asitlerinin GDM'li hastalardaki değişimiyle ilgili literatürde fazla veri bulunmamaktadır. Chen ve ark. yaptıkları çalışmada serbest yağ asitlerinden palmitoleik, oleik, linolenik ve miristik asit ile HOMA-IR arasında negatif bir ilişkinin bulunduğunu göstererek serbest yağ asitlerindeki değişimin GDM'li hastalarda inflamasyonla ilişkili olduğunu iddia etmişlerdir (33). Ayrıca maternal serbest yağ asitlerinin insülin direnci ve sekresyonuna etkisinin olduğu ve diyetdeki yağ asitleri içeriğinin değiştirilmesiyle GDM riskinin azaltılabileceğini iddia etmişlerdir (33).

Serum düzeyleri kontrol grubuna göre farklı olmamakla birlikte yapılan korelasyon analizinde GDM'li hastalarda 8-OHdG ile linoleik asit arasında pozitif, araşidonik asit ve hastaların yaşları ile 8-OHdG arasında da negatif yönde anlamlı korelasyon tespit edildi. GDM hasta grubunda yaş ile araşidonik asit arasında pozitif ve yaş ile linoleik asit arasında negatif yönde korelasyon tespit edildi. Kontrol grubunda bu parametreler arasında anlamlı korelasyon tespit edilememekle birlikte araşidonik asit ile VKİ arasında negatif yönde anlamlı korelasyon tespit edildi. Linoleik asit düzeylerinin Tip 2 DM riskini azalttığını ve bunu palmitik asidin neden olduğu patolojik etkileri inhibe etmekle gerçekleştirdiği iddia edilmiştir (60). Düşük linoleik ve yüksek palmitik asidin Tip 2 DM ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle diyetle linoleik asit takviyesinin Tip 2 DM riskini azaltabileceği düşünülmektedir (60). Bununla birlikte Kaneko ve ark. yaptıkları çalışmada insan fibroblast hücrelerinde linoleik asit hidroperoksitleri kullanıldığında doza bağımlı olarak 8-OHdG düzeylerinde artış olduğunu göstermişlerdir (61). Bizim çalışmamızda

gözlenen linoleik asit ve 8-OHdG arasındaki pozitif yöndeki ilişkinin olası nedeni linoleik asit hidroperoksitlerinin neden olduğu 8-OHdG düzeylerindeki artış olabilir.

Chen ve ark. yaptıkları çalışmada GDM tanısı almış hastalarda linoleik asit ile sitokinler arasında anlamlı korelasyonun olmadığı fakat araşidonik asit ile TNF- α arasında pozitif yönde korelasyon olduğunu iddia etmişler (33). Araşidonik asit siklooksijenaz (COX) ve lipoksijenaz (LOX) metabolik yollarının temel substratı olduğundan inflamasyonla yakından ilişkilidir. COX-2 ve LOX aktivitesi ürünlerinin sitokin aracılı β hücre disfonksiyonu ile ilişkili olabileceği ve bu enzimlerin inhibe edilmesi ile β hücre fonksiyonunda görülen bozulmanın azalacağı iddia edilmiştir (62). Bununla birlikte Wu ve ark. yaptıkları geniş kapsamlı bir çalışmada araşidonik asit düzeylerinin Tip 2 DM ile ilişkili olmadığını iddia etmişlerdir (63).

Çalışmamızda GDM'li hastalarda ghrelin düzeyleri sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede düşük bulundu. Yapılan korelasyon analizinde GDM'li hastalarda ghrelin ile araşidonik asit ve VKİ arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon tespit edildi. Kontrol grubunda bu parametreler arasında anlamlı korelasyon tespit edilemedi.

Yapılan çalışmalarda ghrelin verilen bireylerde plazma insülin seviyesinde azalma, glukoz seviyesinde de artış gözlenmiştir (64, 65). Gomez ve arkadaşları komplikasyonlu GDM'li gebelerde ghrelin seviyesinin düşük olduğunu iddia etmiştir (11). Bulgularımız bu çalışma ile uyumlu olmakla birlikte çalışma grubumuzda komplikasyonlu gebelerin bulunmaması ghrelinin GDM hastalarında genel olarak düşük olabileceğini düşündürmektedir.

Gebelikte görülen hipergliseminin oksidatif stresi arttırarak genotoksisiteye, DNA hasarına, kromozom yapısında ve sayısında değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (34). 8-OHdG de oksidatif DNA hasarının değerlendirmek için kullanılan bir biyobelirteçtir ve yapılan çalışmalarda bozulan glukoz homeostazisinin patogenezinde rol aldığı gösterilmiş, GDM riski için biyomarkır olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (48). 8-OHdG özellikle Tip 2 DM ve komplikasyonlu vakalarda artmaktadır (36, 48, 66). Yapılan çalışmalarda 8-OHdG düzeylerinin

GDM'li hastalarda diğer bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (34). Çalışmamızda GDM'li hastalar ile sağlıklı bireylerin serum 8-OHdG düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Bunun olası nedeni olarak çalışmaya alınan GDM'li bireylerde komplikasyonların olmaması ve kan glukoz düzeyinin kontrol altında olması olabilir.

Sonuç olarak çalışmamızda komplikasyonsuz GDM'li hastalarda trigliserit, ghrelin hormonu, 8-OHdG ile birlikte çok sayıda farklı yağ asitlerinin değişimini inceledik. İncelenen yağ asitlerinin büyük bir kısmı ölçülebilir sınırın altında kaldığı için değerlendiremedik.

Ölçülebilen yağ asitleri içinde sadece oleik asit GDM'li hastalarda anlamlı derecede yüksek bulundu. Yapılan korelasyon analizinde sadece araşidonik ve linoleik asit 8-OHdG ile ilişkili bulundu. Bu üç yağ asidinin GDM hastalarında önemli metabolik işlevleri olabileceğini düşünüyoruz. Çalışmamız sınırlı sayıda (21 GDM ve 39 sağlıklı gebe) bireyi kapsamaktadır. Bu nedenle ilgili yağ asitlerinin gebeliğin farklı dönemlerini kapsayacak şekilde daha geniş katılımın olduğu çalışmalarda değerlendirilmesi gerekir.

KAYNAKLAR

1. Catalano PM, McIntyre HD, Cruickshank JK, McCance DR, Dyer AR, Metzger BE, Lowe LP, Trimble ER, Coustan DR, Hadden DR, Persson B. The hyperglycemia and adverse pregnancy outcome study. *Diabetes Care*. 2012; 35(4): 780-6.
2. HAPO Study Cooperative Research Group et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *New England Journal of Medicine*. 2008; 358(19): 1991–2002.
3. Dirar AHM and Doupis J. Gestational Diabetes from A to Z. *World Journal of Diabetes*. 2017; 8(12): 489–511.
4. Horgan RP, Clancy OH, Myers JE, Baker PN. An overview of proteomic and metabolomic technologies and their application to pregnancy research. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2009; 116(2): 173-81
5. Yogeve Y. The association between preeclampsia and the severity of gestational diabetes: The impact of glycemic control. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2004; 191: 1655-1660
6. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Suda M, Koh T, Natsui K, Toyooka S, Shirakami G, Usui T, Shimatsu A, Doi K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86(10): 4753-8.
7. Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 280(3): 904-7.
8. Konturek PC, Brzozowski T, Pajdo R, Nikiforuk A, Kwiecien S, Harsch I, Droz-dowicz D, Hahn EG, Konturek SJ. Ghrelin-a new gastroprotective factor in gastric mucosa. *J Physiol Pharmacol*. 2004; 55(2): 325-36.

9. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes, J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2001; 50(8), 1714-1719.
10. Flanagan DE, Evans ML, Monsod TP, Rife F, Heptulla RA, Tamborlane WV, Sherwin RS. The influence of insulin on circulating ghrelin. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.* 2003; 284(2), E313-E316.
11. Gómez-Díaz RA, Gómez-Medina MP, Ramírez-Soriano E, López-Robles L, Aguilar-Salinas CA, Saucedo R, Zarate A, Valladares-Salgado A, Wachter NH. Lower plasma ghrelin levels are found in women with diabetes complicated pregnancies. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2016; 8(4): 425-431.
12. American Diabetes Association (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2011; volume 34, supplement 1.
13. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). Technical bulletin: Diabetes and pregnancy. *Int J Gynecol Obstet.* 1995; 200(48), 331-339.
14. World Health Organisation (WHO). Diagnostic criteria and classification of hyperglycemia first detected in pregnancy. 2013.
15. McIntyre HD, Catalano P, Zhang C, Desoye G, Mathiesen ER, Damm P. Gestational Diabetes Mellitus, *Nature Reviews, Disease Primers.* 2019; 5:47.
16. Karaçam Z, Çelik D. The prevalence and risk factors of gestational diabetes mellitus in Turkey: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine.* 2019; 1-11.
17. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel (IADPSG). International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes care.* 2010; 33(3): 676-82.
18. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Diyabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. 2019.
19. World Health Organisation (WHO). Definition, diagnosis and classification of Diabetes mellitus and its complications. Part I: Diagnosis and classification of Diabetes mellitus. 1999; pp. 1-59.

20. American Diabetes Association (ADA). Standards of medical care in diabetes-2010. *Diabetes Care*. 2010; vol. 33, Suppl 1: S11-61.
21. Guariguata L, Linnenkamp U, Beagley J, Whiting DR, Cho NH. Global estimates of the prevalence of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014; 103: 176-85.
22. Weinhaus AJ, Stout LE, Sorenson RL. Glucokinase, hexokinase, glucose transporter 2, and glucose metabolism in islets during pregnancy and prolactin-treated islets in vitro: mechanisms for longterm up-regulation of islets. *Endocrinology*. 1996; 137(5): 1640-9.
23. Markoff E, Beattie GM, Hayek A, Lewis UJ. Effects of prolactin and glycosylated prolactin on (pro) insulin synthesis and insulin release from cultured rat pancreatic islets. *Pancreas*. 1990; 5(1): 99-103.
24. Brelje TC, Allaire P, Hegre O, Sorenson RL. Effect of prolactin versus growth hormone on islet function and the importance of using homologous mammosomatotropic hormones. *Endocrinology*. 1989; 125(5): 2392-8.
25. Vasavada RC, Garcia-Ocaña A, Zawalich WS, Sorenson RL, Dann P, Syed M, Ogren L, Talamantes F, Stewart AF. Targeted expression of placental lactogen in the beta cells of transgenic mice results in beta cell proliferation, islet mass augmentation, and hypoglycemia. *Journal of Biological Chemistry*. 2000; 275(20): 15399-406.
26. Barbour LA, McCurdy CE, Hernandez TL, Kirwan JP, Catalano PM, Friedman JE. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care*. 2007; 30 (Suppl 2): S112-119.
27. Garvey WT, Maianu L, Hancock JA, Golichowski AM, Baron A. Gene expression of GLUT4 in skeletal muscle from insulin-resistant patients with obesity, IGT, GDM, and NIDDM. *Diabetes*. 1992; 41(4): 465-75.
28. Garvey WT, Maianu L, Zhu JH, Hancock JA, Golichowski AM. Multiple defects in the adipocyte glucose transport system cause cellular insulin resistance in gestational diabetes: heterogeneity in the number and a novel abnormality in subcellular localization of GLUT4 glucose transporters. *Diabetes*. 1993;42(12):1773-85

29. Radaelli T, Varastehpour A, Catalano P, Hauguel-de Mouzaon S. Gestational diabetes induces placental genes for chronic stress and inflammatory pathways. *Diabetes*. 2003; 52: 2951-58.
30. Hauguel-de Mouzon S, Guerre-Millo M. The placenta cytokine network and inflammatory signals. *Placenta*. 2006; 27: 794-98.
31. Matough FA, Budin BS, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *SQU Medical Journal*. 2012; Volume 12, Issue 1.
32. Herrera E, and Ortega-Senovilla H. Lipid metabolism during pregnancy and its implications for fetal growth. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2014; 15(1): 24–31.
33. Chen X, Stein TP, Steer RA, et al. Individual free fatty acids have unique associations with inflammatory biomarkers, insulin resistance and insulin secretion in healthy and gestational diabetic pregnant women. *BMJ Open Diabetes Research and Care*. 2019; 7: e000632.
34. Toljic M, Egic A, Munjas J, Karadzov Orlic N, Milovanovic Z, Radenkovic A, Vuceljcic J, Joksic I. Increased oxidative stress and cytokines-block micronucleus cytome assay parameters in pregnant women with Gestational Diabetes Mellitus and Gestational Arterial Hypertension. *Reproductive Toxicology*. 2017; 71: 55–62.
35. Chavan-Gautam P, Rani A, Freeman DJ. Distribution of fatty acids and lipids during pregnancy, *advances in clinical chemistry*, Chapter Six, Volume 84, 2018; 209- 239. Elsevier Inc., ISSN 0065-2423.
36. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Chapter 15. Lipids of physiologic significance. 2009.
37. Champe PC, Harvey RA. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry* 4th Edition. Chapter 16. 2011; 181-200.
38. Alanbay İ, Çoksüer H, Ercan CM, Keskin U, Öztürk M, Karaşahin EK, Tapan S, Başer İ. Gestasyonel diyabetes mellitus olgularında maternal vücut kitle indeksi ve kilo alımı ile maternal biyokimyasal değerler ve fetal doğum ağırlığının karşılaştırılması. *Gülhane Tıp Derg*. 2011; 53: 237-242

39. Aydemir B, Baykara O, Cinemre FB. LOX-1 gene variants and maternal levels of plasma oxidized LDL and malondialdehyde in patients with Gestational Diabetes Mellitus. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2016; 293(3), 517–527.
40. Aydın S. Ghrelin hormonunun keşfi: Araştırmaları ve klinik uygulamaları. *Türk Biyokimya Dergisi.* 2007; 32: 76-89.
41. Aydın S, Özkan Y, Çaylak E, Aydın S. Ghrelin and its biochemical functions. *Türkiye Klinikleri. J Med Sci.* 2006; 26: 272-283.
42. Bilgin HM. Ghrelin; gündemdeki hormon. *Dicle Tıp Dergisi.* 2006; 33(4): 268-272.
43. Achike F, To NH, Wang H, Kwan CY. Obesity, metabolic syndrome, adipocytes and vascular function: A holistic viewpoint. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2011; 38: 1-10.
44. Castañeda TR, Tong J, Datta R, Culler M, Tschöp MH. Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. *Front Neuroendocrinol.* 2010; 31(1): 44-60.
45. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. Oxford Press, Oxford. 1999; vol 3. İn Qiu C, Hevner K, Abetew D, Enquobahrie DA, Williams MA. Oxidative DNA damage in early pregnancy and risk of Gestational Diabetes Mellitus: A pilot study. *Clin Biochem.* 2011; 44(10-11): 804–808.
46. Frenkel K. Carcinogen-mediated oxidant formation and oxidative DNA damage. *Pharmac. Ther.* 1992. Vol. 53, pp. 127-166.
47. Scandalios JG, Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defences. Cold Spring Harbor Laboratory press, USA. 1997.
48. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009; 27(2): 120-139.
49. Haghdoust S, Sjölander L, Czene S, Harms-Ringdahl M. The nucleotide pool is a significant target for oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2006; 41(4): 620-626.

50. Cooke MS, Evans MD, Herbert KE, Lunec J. Urinary 8-oxo-2'-deoxyguanosine-source, significance and supplements. *Free Radic Res.* 2000; 32(5): 381-97. Review.
51. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001; 414(6865), 813-820.
52. Qiu C, Hevner K, Abetew D, Enquobahrie DA, Williams MA. Oxidative DNA damage in early pregnancy and risk of Gestational Diabetes Mellitus: A Pilot Study. *Clinical Biochemistry.* 2011; 44(10–11): 804–8.
53. Abcam, 8-OHdG ELISA Kit Data Sheet.
54. Biovendor, Human Acylated Ghrelin ELISA Product Data Sheet.
55. Brelje TC, Scharp DW, Lacy PE, Ogren L, Talamantes F, Robertson M, Friesen HG, Sorenson RL. Effect of homologous placental lactogens, prolactins, and growth hormones on islet β -cell division and insulin secretion in rat, mouse, and human islets: implication for placental lactogen regulation of islet function during pregnancy. *Endocrinology.* 1993; 132: 879–887.
56. Ginsberg HN, Zhang YL, Hernandez-Ono A. Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. *Arch Med Res.* 2005; 36(3): 232-40.
57. Palomer X, Pizarro-Delgado J, Barroso E, Vázquez-Carrera M. Palmitic and oleic acid: The yin and yang of fatty acids in Type 2 Diabetes Mellitus. *Trends Endocrinol Metab.* 2018; 29(3): 178-190.
58. Kwon B, Lee HK, Querfurth HW. Oleate prevents palmitate-induced mitochondrial dysfunction, insulin resistance and inflammatory signaling in neuronal cells. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1843(7): 1402-13.
59. Kwon B, Querfurth HW. Palmitate activates mTOR/p70S6K through AMPK inhibition and hypophosphorylation of raptor in skeletal muscle cells: Reversal by oleate is similar to metformin. *Biochimie.* 2015; 118: 141-50.
60. Riccardi G. Linoleic acid and risk of Type 2 Diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017; 5(12): 929-930.
61. Kaneko T, Tahara S. Formation of 8-oxo-2'-deoxyguanosine in the DNA of human diploid fibroblasts by treatment with linoleic acid hydroperoxide and ferric ion. *Lipids.* 2000; 35(9): 961-5.

62. Persaud SJ, Muller D, Belin VD, Kitsou-Mylona I, Asare-Anane H, Papadimitriou A, Burns CJ, Huang GC, Amiel SA, Jones PM. The role of arachidonic acid and its metabolites in insulin secretion from human islets of Langerhans. *Diabetes*. 2007; 56(1): 197-203.
63. Wu JHY, Marklund M, Imamura F, Tintle N, Ardisson Korat AV, de Goede J, et al. Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) Fatty Acids and Outcomes Research Consortium (FORCE). Omega-6 fatty acid biomarkers and incident type 2 diabetes: pooled analysis of individual-level data for 39740 adults from 20 prospective cohort studies. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017; 5(12): 965-974.
64. Dezaki K, Kakei M, Yada T. Ghrelin uses Galphai2 and activates voltage-dependent K⁺ channels to attenuate glucose-induced Ca²⁺ signaling and insulin release in islet beta-cells: novel signal transduction of ghrelin. *Diabetes*. 2007; 56: 2319e2327.
65. Fusco A, Bianchi A, Mancini A, Milardi D, Giampietro A, Cimino V, De Marinis L. Effects of ghrelin administration on endocrine and metabolic parameters in obese women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2007; 30(11), 948-956.
66. Qui C, Hevner K, Abetew D, Sedensky M, Morgan P, Enquobahrie DA, Williams MA. Mitochondrial DNA copy number and oxidative DNA damage in placental tissues from Gestational Diabetes and control pregnancies: A Pilot Study. *Clin Lab*. 2013; 59(0): 655–660.

EKLER

EK-1 Etik Kurul Onayı



SAYI: ATADEK-2018/3
KONU: Etik Kurul Kararı

Sayın Cansu Arslan

Sorumluluğunu yürüttüğünüz “Gestasyonel Diabetes Mellituslu (GDM) gebelerde yağ asitleri ve 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin değerlendirilmesi” başlıklı proje 01.03.2018 tarih 2018/3 Sayılı Atadek Toplantısında görüşülmüş olup 2018-3/17 karar numarası ile tıbbi etik yönden uygun bulunmuştur.



Prof.Dr. İsmail Hakkı ULUS
ATADEK Başkanı

ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KURULU (ATADEK)

Etik onay istenen tıbbi araştırmanın başlığı:

Gestasyonel Diabetes Mellituslu (GDM) gebelerde yağ asitleri ve 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin değerlendirilmesi

Etik onay istenen tıbbi araştırmanın yürütücüsü (sorumlusu):

Cansu Arslan

Karar:

Kabul (Etik olarak uygun) (X) **Revizyon ()*** **Etik olarak uygun değil ()****

Toplantı Tarihi:01.03.2018

Karar Numarası: 2018-3/17

Kurul Üyesi-Unvan Ad-Soyad	İmza	Karara	
		Katılıyorum	Katılmıyorum***
Prof. Dr. İsmail Hakkı Ulus (Başkan)		(X)	()
Prof. Dr. Güldal Süyen (Başkan Yrd)		()	()
Prof.Dr. Mert Ülgen		(X)	()
Doç.Dr. Ükke Karabacak		(X)	()
Prof.Dr. A.Elif Eroğlu Büyüköner		()	()
Doç.Dr. Berrin Karadağ		(X)	()
Yrd.Doç.Dr. Fatih Artvinli		(X)	()
Yrd.Doç.Dr. Günseli Bozdoğan		(X)	()

EK-2AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Gönüllünün Protokol Numarası:

Çalışmanın Adı:GESTASYONEL DİABETES MELLİTUSLU (GDM)

GEBELERDE YAĞ ASİTLERİ VE 8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN (8-OHdG) DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Gönüllü olarak katıldığınız bilimsel araştırmanın adı,

‘GestasyonelDiabetesMellituslu (GDM) gebelerde YAleri ve 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin değerlendirilmesidir. Bu araştırmanın temel amacı, GDM pozitif ve negatif gebeler arasında OGTT sırasında alınan serum örneklerinde GC-FID yöntemiyle ölçülecek olan YA düzeylerini ve ELISA yöntemiyle saptanacak olan 8-OHdG düzeylerini karşılaştırmaktır. Bu araştırma, risk içermeyen ve sadece bir kez alınacak olan kan örneğinizi kullanmaya dayalı tıbbi bir araştırmadır.

Bu araştırma kapsamında size hiçbir ilaç verilmeyecek; herhangi bir işlem, tedavi veya diyet uygulanmayacaktır. Sadece bir defaya mahsus olmak üzere sizden kan örneği alınacaktır. Bunun dışında, size ait ve sadece dosyanızda kayıtlı bulunan tıbbi bilgiler kullanılacaktır. Dosyanızda kayıtlı bulunan tıbbi bilgileriniz dışında hiçbir bilginiz kullanılmayacak veya bu amaçla herhangi bir araştırma yapılmayacak. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacak ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir. Siz de istediğinizde kendinize ait araştırma sonuçlarına analizden sonra ulaşabilirsiniz.

Bu araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 60’tır.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için 0507 053 50 17 no.lu telefondan araştırmacı Cansu Arslan’a başvurabilirsiniz.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır; ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün işlemler için sizden veya bağlı olduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz, bu yönde karar alırsanız, bu kararınız sizin aleyhinize herhangi bir yaptırım ve zarara yol açmayacaktır. Araştırmacı, bilginiz dahilinde veya isteğiniz

dışında, çalışma programını aksatmanız vb. nedenlerle veya araştırma süresince ortaya çıkacak olan bilimsel gerekçelerle sizi araştırmadan çıkarabilir.



(Gönüllünün Beyanı)

Çalışmaya Katılma Onayı

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye 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 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 Araştırmacı- Hekimin Adı- Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Onam alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı- Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih:



EK- 3 Anket

**GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS (GDM) POZİTİF VE NEGATİF
GEBELER ARASINDA YAĞ ASİDİ VE 8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN (8-
OHDG) DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

GÖNÜLLÜYE AİT BİLGİLER;

PROTOKOL NO:

ADI SOYADI:

DOĞUM TARİHİ:

BOY:

KİLO:

GEBELİK ESNASINDA ALDIĞI KİLO:

GEBELİK HAFTASI:

GEBELİK SAYISI:

***OLDUYSA YAPTIĞI DÜŞÜK SAYISI:**

0 () 1-3 () 3- 5 () 5+ ()

SİGARA İÇME DURUMU:

***EĞER İÇİYORSA SÜRESİ VE SIKLIĞI(GÜNLÜK):**

0 () SOSYAL İÇİCİ () <1PAKET () 1PAKET- 2PAKET () >2PAKET ()

ALKOL ALMA DURUMU:

***EĞER İÇİYORSA SIKLIĞI(GÜNLÜK):**

0 () SOSYAL İÇİCİ () <1KADEH () 1KADEH () >1KADEH ()

MESLEĞİ:

***ÇALIŞMA KOŞULLARI:**

***GÜNDE KAÇ SAAT:**

***OTURARAK () AYAKTA ()**

YEMEĞİ ŞİRKET SAĞLIYOR (CATERİNG) () DIŞARDAN ALIYORUM ()

EV DEN YİYORUM ()

GELİR DURUMU:

<2000 () 2000-5000 () 5000-10000 () >10000 ()

BESLENME ALIŞKANLIKLARI:

GENELDE SEBZE AĞIRLIKLILIKLI () GENELDE ET AĞIRLIKLILIKLI () FAST FOOD ()

SALATA ()

ŞEKER KULLANMA SIKLIĞI:

KULLANMAM () ÇAYA/KAHVEYE ATARIM () ÇAYA/KAHVEYE ÇOK ŞEKER

ATARIM ()

TATLI YEME ALIŞKANLIKLARI:

YEMEM() ÇİKOLATA YERİM () TATLI YERİM (SÜTLÜ- ŞERBETLİ) ()

SPOR:

YAPMAM ()

YÜRÜYÜŞ YAPARIM (SIKLIĞI:)

SPOR SALONUNA GİDİYORUM (YAPILAN SPOR VE SIKLIĞI:)

VARSA DİĞER HASTALIKLARI:

DÜZENLİ KULLANDIĞI İLAÇ:

GEBE KALMA DURUMU:

NORMAL YOLLARLA () TEDAVİ İLE (HANGİ TEDAVİ:)

VARSA ALDIĞI HORMON TEDAVİLERİ:

AİLEDE ŞEKER HASTALIĞI OLMA DURUMU:

**EĞER VARSA YAKINLIK DERECESESİ:*

*DESTEKLERİNİZ İÇİN ÇOK TEŞEKKÜRLER
BEBEĞİNİZİ SAĞLIKLA KUCAĞINIZA ALMANIZ DİLEĞİYLE*



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	CANSU	Soyadı	ARSLAN
Doğum Yeri	TARSUS	Doğum Tarihi	13/10/1993
Uyruğu	T.C.	Telefon	05070535017
E-mail	rsln.cansu@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Anadolu Üniversitesi	2016
Lisans	İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi	2015
Lise	Nişantaşı Nuri Akın Anadolu Lisesi	2011

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre
Mikrobiyoloji Uzm. Yrd.	Turgut İlaçları AŞ.	Ağustos 2019-
Laboratuvar Uzmanı	Koçak Farma Serum Üretim Tesisi	Mayıs 2017- Temmuz 2019

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	Çok iyi	iyi	İyi

Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu									
KPDS	ÜDS	IELT S	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE	DİĞER (YÖKDİL)
									71,25

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES	82,96	82,03	70,13

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
Microsoft Office	Çok iyi



12

CANSU ARSLAN **ACIBADEM MEHMET ALI AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ** **YÜKSEK LİSANS TEZİ** **İSTANBUL 2019**
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ