

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI

**GESTASYONEL DİYABETES MELLİTUS VE
BOZULMUŞ GLUKOZ TOLERANSI OLAN
GEBELERDE OKSİDATİF DNA HASARININ
DEMİR DÜZEYLERİ İLE İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Dr. MEHMET OĞUZ ERBAĞCI

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2019

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI

**GESTASYONEL DİYABETES MELLİTUS VE
BOZULMUŞ GLUKOZ TOLERANSI OLAN
GEBELERDE OKSİDATİF DNA HASARININ
DEMİR DÜZEYLERİ İLE İLİŞKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Dr. MEHMET OĞUZ ERBAĞCI

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

Prof. Dr. Gül Hüray İşlekel

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin
2016.KB.SAG.013 sayılı proje desteği ile gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
KISALTMALAR.....	viii
TEŞEKKÜR.....	x
ÖZET	1
SUMMARY.....	4
1 GİRİŞ VE AMAÇ	7
2 GENEL BİLGİLER.....	8
2.1 DİABETES MELLİTUS (DM).....	8
2.2 GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS (GDM)	11
2.2.1 Tanım	11
2.2.2 GDM Patogenezi	11
2.2.3 Gebelikte Şekerin Anne ve Fetüs Üzerine Etkileri	12
2.2.4 Risk Faktörleri.....	13
2.2.5 GDM Tarama ve Tanı Protokolleri	14
2.3 GEBELİKTE BOZULMUŞ GLUKOZ TOLERANSI (BGT).....	18
2.4 DEMİR ELEMENTİ VE ÖZELLİKLERİ.....	18
2.4.1 Gebelikte Demir Desteği	20
2.4.2 Demirin Oksidatif Stres ve GDM ile Etkileşimi	21
2.5 OKSİDATİF DNA HASARI VE PARAMETRELERİ.....	25
2.5.1 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OH-dG).....	29
2.5.2 8,5'-siklo-2'-deoksiadenozinler (S-cdA ve R-cdA)	332
2.6 OKSİDATİF STRESİN DM VE GDM İLE İLİŞKİSİ	34
3 GEREÇ VE YÖNTEMLER	41

3.1 ARAŞTIRMANIN TİPİ	41
3.2 ARAŞTIRMANIN YERİ VE ZAMANI	41
3.3 ETİK KURUL ONAYI.....	41
3.4. ARAŞTIRMANIN EVRENİ VE ÖRNEKLEMİ.....	41
3.5 ARAŞTIRMANIN DEĞİŞKENLERİ	443
3.6 VERİ TOPLAMA ARAÇLARI.....	44
3.6.1 Kullanılan Cihaz, Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeleri	44
3.6.2 İdrarda hasarlı DNA Nükleozidlerinin Kantitasyon Yöntemi.....	46
3.6.2.1 Hasarlı DNA Nükleozidlerinin Ekstraksiyon Basamakları	47
3.6.2.2 LC-MS/MS SID-MRM	47
3.6.3 Hemogram Ölçüm Yöntemi	53
3.6.4 HbA1c Ölçüm Yöntemi	53
3.6.5 Ferritin Ölçüm Yöntemi.....	53
3.6.6 Kreatinin Ölçüm Yöntemi.....	554
3.7 ARAŞTIRMA PLANI VE TAKVİMİ.....	55
3.8 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	55
3.9 ARAŞTIRMANIN KISITLILIKLARI	56
4 BULGULAR.....	57
4.1 ÇALIŞMA GRUBUNU TANIMLAYICI BULGULAR	57
4.1.1 Yaş ve Vücut Kitle İndeksi Verileri (Demografik Veriler).....	57
4.1.2 Önceki Gebeliklerden GDM Varlığı	57
4.1.3 Ek Hastalık	58
4.2 BİYOKİMYASAL ANALİZLER	58
4.2.1 Rutin Parametreler	588
4.2.2 Oksidatif DNA Hasarı Belirteçleri.....	64
4.3 KORELASYON ANALİZLERİ.....	79

5 TARTIŞMA	83
6 SONUÇ VE ÖNERİLER	95
7 KAYNAKLAR.....	97
8 EKLER.....	111



TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Diabetes Mellitus Tipleri	9
Tablo 2. Diabetes Mellitus tanı kriterleri (ADA 2018).....	10
Tablo 3. Gebelikte insülin ve glukoz metabolizması üzerine etkisi olan hormonlar....	12
Tablo 4. Gestasyonel diabetes mellitus tanı kriterleri.....	17
Tablo 5. Tip 2 DM ve GDM gelişimi riskini arttıran faktörler.....	18
Tablo 6. Reaktif oksijen türlerinin kaynakları.....	26
Tablo 7. Reaktif oksijen türleri.....	26
Tablo 8. Çalışmada kullanılan cihazlar.....	44
Tablo 9. Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler.....	45
Tablo 10. Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri.....	46
Tablo 11. Hasarlı DNA nükleozidlerinin iyon çiftleri ve alıkonma zamanları.....	53
Tablo 12. Gebelerin yaş ve VKİ verileri.....	57
Tablo 13. GDM'li ve normal glukoz toleransına sahip gebelerin rutin biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması.....	59
Tablo 14. GDM grubunun rutin biyokimyasal parametrelerinin 3. ve 6. ay sonuçları karşılaştırılması.....	62
Tablo 15. Kontrol grubunun rutin biyokimyasal parametrelerinin 3. ve 6. ay sonuçları karşılaştırılması	63
Tablo 16. GDM'li ve kontrol grubu gebelerin oksidatif DNA hasarı idrar belirteç düzeylerinin karşılaştırılması.....	65
Tablo 17. Üçüncü ay 8-OH-dG eşik değer düzeyine göre gebelerde GDM gelişimi.....	67
Tablo 18. Üçüncü ay açlık kan şekeri eşik değer düzeyine (81 mg/dL) göre gebelerde GDM gelişimi.....	68
Tablo 19. Üçüncü ay açlık kan şekeri eşik değer düzeyine (92 mg/dL) göre gebelerde GDM gelişimi.....	69
Tablo 20. GDM grubunun idrar 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin 3. ve 6. ay sonuçları.....	70

Tablo 21. Kontrol grubunun idrar 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin 3. ve 6. ay sonuçları	70
Tablo 22. Tüm gebelerde üçüncü ay ferritin 50 persantil değerlerine göre idrar nükleozid hasar sonuçları.....	71
Tablo 23. GDM'li gebelerde üçüncü ay ferritin 50 persantil değerlerine göre idrar nükleozid hasar sonuçları.....	74
Tablo 24. Kontrol gebelerinde 3. ay Ferritin 50 persantile göre idrar nükleozid hasar sonuçları.....	75
Tablo 25. İlk trimesterde demir takviyesi alanlar ile almayanların idrar nükleozid hasar belirteç düzeylerinin karşılaştırılması tanı kriterleri	77
Tablo 26. İlk trimesterde demir takviyesi alımına göre GDM gelişimi	78
Tablo 27. Tüm gebelerde korelasyon analizi sonuçları	80
Tablo 28. GDM grubu gebelerde korelasyon analizi sonuçları	81
Tablo 29. Kontrol grubu gebelerde korelasyon analizi sonuçları	82

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Gebelik ve emzirme dönemindeki günlük demir gereksinimleri	20
Şekil 2. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları	22
Şekil 3. Hidroksil radikalının DNA üzerinde saldırdığı bölgeler	28
Şekil 4. Oksidatif hasara uğramış DNA bazları	30
Şekil 5. 8-OH-Gua oluşum mekanizması	31
Şekil 6. 8-OH-Gua'nın replikasyona etkisi ve yanlış eşleşme sonucu guanin timin transversiyonu	31
Şekil 7. 8,5'-siklo-2'-deoksiadenozinlerin oluşum mekanizması	33
Şekil 8. Oksidatif stresin ilişkili olduğu hastalıklar	35
Şekil 9. Tandem MS şematik gösterimi ve çalışmamızda ölçtüğümüz analitler	49
Şekil 10. R-cdA ve S-cdA fragmentasyonu	50
Şekil 11. 8-OH-dG fragmentasyonu	51
Şekil 12. Kontrol ve GDM grubunun 3. ay açlık kan şekeri düzeyleri	60
Şekil 13. Kontrol ve GDM grubunun 6. ay OGTT serum glukoz düzeyleri	61
Şekil 14. Kontrol ve GDM grubunun idrar 8-OH-dG düzeylerinin karşılaştırılması ...	66
Şekil 15. Üçüncü ay ferritin düzeylerine göre tüm gebelerde idrar 8-OH-dG düzeylerinin karşılaştırılması (50 persantil esas alınarak)	72
Şekil 16. Üçüncü ay ferritin düzeylerine göre tüm gebelerde idrar R-cdA düzeylerinin karşılaştırılması (50 persantil esas alınarak)	73
Şekil 17. Üçüncü ay ferritin düzeylerine göre kontrol grubu gebelerde idrar 8-OH-dG düzeylerinin karşılaştırılması (50 persantil esas alınarak)	76

KISALTMALAR

8-OH-dG	8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin
S-cdA	8,5'-Siklo-2'-Deoksiadenozin
R-cdA	8,5'-Siklo-2'-Deoksiadenozin
ADA	American Diabetes Association
BAG	Bozulmuş Açlık Glukozu
BGT	Bozulmuş Glukoz Toleransı
CRP	C-Reaktif Protein
DEA	Demir Eksikliği Anemisi
DEÜTF	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ESCOOD	European Standards Committee on Oxidative DNA Damage
GC-MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry
GDM	Gestational Diabetes Mellitus
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GST	Glutasyon-S-Transferaz
HAPO	Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome
HbA1c	Hemoglobin A1c
hPL	Human Placental Lactogen
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
IADPSG	International Association of The Diabetes and Pregnancy Study Group
IRS-1	İnsülin Reseptör Substrat-1
IS	İnternal Standart
LC-MS	Liquid Chromatography Mass Spectrometry
LC-MS/MS	Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry
LGA	Large for Gestational Age
MDA	Malondialdehit
MGH	Mild Gestational Hyperglycemia
MRM	Multipl Reaction Monitoring
NDDG	National Diabetes Data Group

OGTT	Oral Glukoz Tolerans Testi
PCR	Polymerase Chain Reaction
PGDM	Pregestasyonel Diyabetes Mellitus
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SID	Stabil Isotope Dilution
SOD	Süperoksit Dismutaz
sTfR	Soluble Transferrin Receptor
TBARS	Tiyobarbütirik Asit Reaktif Maddeleri
Tip 1 DM	Tip 1 Diabetes Mellitus
Tip 2 DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
VKİ	Vücut Kütle İndeksi
WHO	World Health Organization

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel birikimlerini ve manevi desteklerini esirgemeyen, uzmanlık eğitimimde emeği geçen başta Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı önceki Başkanımız Prof. Dr. Canan ÇOKER ve Başkanımız Prof. Dr. Sezer Uysal olmak üzere tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı değerli öğretim üyelerine;

Tez çalışmamın en başından sonuna kadar her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, bilimsel birikimleriyle bana her konuda destek olan tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Gül Hüray İŞLEKEL'e;

Tezin planlama aşamasından sonuç aşamasına kadar her konuda bilgi birikiminden yararlandığım Moleküler Tıp Bilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Gamze Tuna ve Uzm. Dr. Semir Köse'ye;

Tez için örnek toplama aşamasında yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. Sabahattin Altunyurt, Dr. Onur YAVUZ, Dr. Hüseyin Aytuğ AVŞAR, Dr. Demet ACAR SAYIM, Dr. Sümeyra KOÇ, Dr. Anıl İNCEDERE, Dr. Samican ÖZMEN, Dr. Hikmet Tunç TİMUR, Dr. Ceren AYDIN, Dr. Begüm ERTAN, Dr. Gökçe AYKANAT'a;

Uzmanlık eğitimim boyunca arkadaşlık ve dostluklarını esirgemeyen uzman ve asistan arkadaşlarım Dr. Ferhat DEMİRCİ, Dr. Barış SAĞLAM, Dr. Burcu ÜNLÜ, Dr. Gülsüm Feyza ALTAŞ, Dr. Müge Gül GÜLEÇOĞLU ÖNEM, Dr. Zeynep KORKMAZ ÜNAL, Dr. Dilara KARACAN ve Dr. Alper KUTLU'ya;

Uzmanlık eğitimimiz boyunca tüm işlerimizi kolaylaştıran Anabilim Dalı sekreterimiz Sayın Eda OLUM'a;

Laboratuvar çalışmaları sırasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Dr. Merve AKIŞ, Dr. Melis KANT ve MSc. Nazlı Ecem DAL'a;

Beni bugünlere getiren ve her daim arkamda duran sevgili annem, babam ve kardeşlerime

Bu zor süreci benim için kolaylaştıran ve hayatın her basamağında desteğini hissettiğim sevgili eşim Aylin ERBAĞCI'ya en içten dileklerle teşekkür ederim.

ÖZET

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) ilk kez gebelik sırasında ortaya çıkan yüksek glukoz düzeyleri ile karakterize klinik bir bozukluktur; gebeliğin en sık rastlanan metabolik komplikasyonudur. Diğer yandan gebelerde demir eksikliği anemisine sık rastlanmaktadır. Demir büyüme ve gelişme için esansiyel bir iz element olsa da, anemik olmayan gebelerde demir takviyesi iatrojenik demir fazlalığını indüklemektedir. Demir fazlalığının oksidatif stres ve GDM'ye neden olduğu düşünülmektedir. Bu araştırmada GDM'li ve normal glukoz toleransı olan gebelerde, gebeliğin 11-14. haftaları ve 24-28. haftalarında alınan idrar ve kan örneklerinde kümülatif oksidatif stresin duyarlı göstergesi olarak oksidatif DNA hasarını referans yöntem sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometri ile değerlendirmeyi ve vücut demir depo düzeyleri ile ilişkisini incelemeyi amaçladık.

Araştırmamız prospektif bir çalışma olarak tasarlanarak Mart 2016-Ağustos 2018 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışma grupları, GDM (33) ve normal glukoz toleransına sahip kontrol grubu (84) olmak üzere 117 gönüllüden oluşturuldu. Çalışmaya katılan gebelerden 11-14. haftalarında, ve rutin 75 gr. glukoz ile tarama ve tanı testi (OGTT) için geldikleri 24-28. haftalarında sabah ilk idrar örnekleri alındı. Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Gebe Polikliniği'ne başvuran gebelerin demografik verileri ve oral demir takviyesi alıp almadıkları kayıt edildi. Rutin kontrol için alınan venöz kan örneklerinde açlık kan şekeri (AKŞ), HbA1c ferritin, hemogram değerleri ve idrar örneklerinde kreatinin ölçüldü. GDM tanısı 24-28 hafta OGTT sonuçlarına göre ADA 2017 kriterleri esas alınarak konuldu.

GDM grubunun 3. ay 8-OH-dG düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,006$). GDM grubunun 6. ay 8-OH-dG düzeyleri de kontrol grubuna göre yüksek bulunmakla birlikte istatistiksel bir anlamlılık gözlenmedi. GDM grubunun 3. ay AKŞ değerleri ile 6. ayda yapılan OGTT 0., 1. ve 2. saat glukoz değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<,001$). GDM grubunun ferritin düzeyleri kontrol grubundan yüksek bulunmuş olsa da istatistiksel bir anlamlılık saptanmadı.

Çalışmamızda araştırılan parametrelerin ilk ve ikinci trimester sonu arasındaki uzunlamasına değişimleri incelendiğinde, her iki grubun da gebeliklerinin 3. ayından 6. ayına 8-OH-dG düzeylerinde istatistiksel bir anlamlılık göstermemekle birlikte azalma gözlemlendi. Kontrol grubunda ise ferritin, hemoglobin ve HbA1c değerleri üçüncü aya kıyasla altıncı ayda daha düşük bulundu ($p<0.001$). Diğer incelenen parametreler açısından iki gebelik dönemi arasında bir fark gözlemlenmedi.

Çalışmamıza katılan tüm gebeler 3. ay ferritin düzeylerine göre düşükten yükseğe doğru sıralandığında, 50 persantilin üzerindeki gebelerin (Ferritin $\geq 13,0$ ng/mL) 3. ay 8-OH-dG ve R-cdA değerleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,034$, $p=0,009$). Kontrol grubu gebeleri 3. ay ferritin düzeylerine göre düşükten yükseğe göre sıralandığında, 50 persantilin üzerindeki gebelerin (Ferritin $\geq 11,9$ ng/mL) 3. ay 8-OH-dG değerleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,017$).

Çalışmamızda incelenen parametrelerin birbirleri ile ilişkileri değerlendirildiğinde; hem GDM grubunda hem de kontrol grubunda 6. ay R-cdA'nın 6. ay S-cdA ile pozitif yönde anlamlı korelasyonu saptandı (sırasıyla $r=0,549$, $p=0,003$ ve $r=0,504$, $p<0,001$). Kontrol grubunda 3. ay R-cdA ile 3. ay S-cdA ve 8-OH-dG düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon tespit edildi (sırasıyla $r=0,456$, $p<0,001$ ve $r=0,364$, $p=0,001$). Kontrol grubunda 3. ay ferritin düzeyleri ile 3. ay S-cdA ve 8-OH-dG düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon belirlendi (sırasıyla $r=0,279$, $p=0,011$ ve $r=0,256$, $p=0,019$). GDM grubunda ise, 6. ay 8-OH-dG düzeyleri ile 6. ay ferritin ve OGTT 1. saat glukoz değerleri arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon belirlendi (sırasıyla $r=0,466$, $p=0,014$ ve $r=0,452$, $p=0,020$)

Çalışmamız gebeliğin geç ve erken olmak üzere iki farklı döneminde oksidatif DNA hasarının incelendiği ve gebelerin vucüt demir durumu ile ilişkilendirildiği ilk çalışmadır. Çalışma sonuçlarımız normal glukoz toleransı olan gebelere kıyasla, ikinci trimester sonunda OGTT ile gestasyonel diyabet tanısı alan gebelerin, gebeliğin erken döneminde oksidatif DNA hasarına daha fazla maruz kaldıklarını; erken dönemde eşik değerin üzerinde 8-OH-dG düzeyleri olan gebelerde daha düşük olanlara kıyasla, ikinci trimesterde daha yüksek oranda GDM görüldüğünü kullanılan referans tandem kütle spektrometrik yöntemle ilk kez ortaya koymuştur. Bu sonuçlar gebelerde erken dönemde yapılacak non-invaziv idrar DNA hasar ölçümlerinin ileri dönem GDM

öngörüsünde yararlı olabileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmamız sonuçları doğrultusunda, demir depo düzeyleri daha düşük olan grupta oksidatif DNA hasar parametrelerinin anlamlı olarak düşük tespit edilmesi gebelerde demir düzeyi ile oksidatif stres arasında güçlü bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu konuda daha fazla gestasyonel diyabetli gebe ile yapılacak çalışmalar oksidatif stres-GDM-demir ilişkisinin aydınlatılmasına yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Gestasyonel diyabet, oksidatif DNA hasarı, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OH-dG), 8,5'-siklo-2'-deoksiadenozin (S-cdA), demir, demir fazlalığı



SUMMARY

Gestational diabetes mellitus (GDM) is a clinical disorder characterized by high glucose levels occurring for the first time during pregnancy; the most common metabolic complication of pregnancy. On the other hand, iron deficiency anemia is common in pregnant women. Although iron is an essential trace element for growth and development, iron supplementation in non-anemic pregnant women induces iatrogenic iron excess. Iron excess is thought to cause oxidative stress and GDM. In this study, we evaluated oxidative DNA damage as a sensitive indicator of cumulative oxidative stress in urine and blood samples taken at 11-14 weeks and 24-28 weeks of gestation in pregnant women with GDM and normal glucose tolerance. We also aimed to examine the relationship between the levels of DNA damage products and iron status.

Our study was designed as a prospective study between March 2016 and August 2018. The study groups were composed of 117 volunteers, GDM (33) and control group (84) with normal glucose tolerance. The first urine samples at morning were taken in 11-14. weeks from the pregnant women who participated in the study and at the 24-28. weeks when they had visited for routine 75 g. glucose screening and diagnostic test (OGTT). Demographic data and oral iron supplements status of the pregnant women were recorded who applied to the Department of Obstetrics and Gynecology, Pregnant Polyclinic. Urinary creatinine and fasting blood glucose (FBG), HbA1c, ferritin, hemogram values were measured in venous blood samples taken for routine control. The diagnosis of GDM was made according to ADA 2017 criteria using OGTT results for 24-28 weeks.

In the third month, 8-OH-dG levels of GDM group were significantly higher than the control group ($p = 0.006$). Although the 8-OH-dG levels in the sixth month of the GDM group were higher than the control group, no statistical significance was observed. At the third month, fasting blood glucose levels of the GDM group and at the 6th month, OGTT values at the 0., 1st, and 2nd hours were significantly higher than the control group values ($p < .001$). Although the ferritin levels of the GDM group were found to be higher than the control group, there was no statistical significance.

In our study, when the longitudinal changes in the parameters between the end of the first and second trimester were examined, although insignificant, the 8-OH-dG levels were decreased from 3-month-to-6-month in pregnant of both groups. In the control group ferritin, hemoglobin and HbA1c values were lower in the sixth month compared to the third month ($p < 0.001$). There was no difference between the two pregnancy terms regarding other parameters investigated.

When all of the pregnant women who participated in our study were ranked from low to high according to ferritin levels at the 3rd month, 8-OH-dG and R-cdA values of pregnant women over 50 percentile (Ferritin ≥ 13.0 ng / mL) were found to be significantly higher than the ones below 50 percentile ($p = 0.034$, $p = 0.009$). When only the control group pregnant were ranked according to ferritin levels from low to high in the third month, similarly, 8-OH-dG values were higher than the ones below 50 percentile (Ferritin ≥ 11.9 ng / mL) ($p = 0.017$).

As the relationship between the parameters examined in our study; in both the GDM group and the control group, the 6th month R-cdA had a positive correlation with S-cdA at the 6th month ($r = 0.549$, $p = 0.003$ and $r = 0.504$, $p < 0.001$, respectively). There was a significant positive correlation between the 3rd month R-cdA and 3rd month S-cdA and 8-OH-dG levels in the control group ($r = 0.456$, $p < 0.001$ and $r = 0.364$, $p = 0.001$, respectively). In the control group, a positive correlation was found between the 3rd month ferritin levels and 3rd month S-cdA and 8-OH-dG levels ($r = 0.279$, $p = 0.011$ and $r = 0.256$, $p = 0.019$, respectively). In the GDM group, there was a positive correlation between 8-OH-dG levels at 6th month and ferritin and OGTT 1st hour glucose values at 6th month ($r = 0.466$, $p = 0.014$ and $r = 0.452$, $p = 0.020$, respectively).

Our study is the first one to investigate oxidative DNA damage in the late and early stages of pregnancy and to correlate pregnant women with the status of body iron. The results of our study showed that pregnant women who were diagnosed with gestational diabetes with OGTT at the end of second trimester were more exposed to oxidative DNA damage in early pregnancy, compared to pregnant women with normal glucose tolerance; For the first time it was shown that, in the early period, in the pregnant with higher 8-OH-dG levels, measured with the

reference tandem mass spectrometric method, the ratio of future GDM diagnosis was higher compared the lower ones according to the cut-off level. These results suggest that non-invasive urine DNA damage measurements to be performed in the early period in pregnant women may be useful in predicting the future GDM. According to the results of our study, it was found that oxidative DNA damage parameters were significantly lower in the group with lower levels of depot iron and a strong relationship between iron level and oxidative stress in pregnant women. We anticipate that, future studies with more pregnant women with gestational diabetes will help to clarify the relationship between oxidative stress and GDM-iron.

Keywords: Gestational diabetes, oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH-dG), 8,5'-cyclo-2'-deoxyadenosine (S-cdA), iron, iron excess

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) ilk kez gebelik sırasında ortaya çıkan yüksek glukoz düzeyleri ile karakterize klinik bir bozukluktur. Tüm gebeliklerin yaklaşık %7'sinde görülmekte olup, bu oran farklı popülasyonlarda %1-14 arasında değişmektedir. Yüksek maternal ve fetal morbidite riski ile ortaya çıkan gebelik komplikasyonlarının %3-5'inden sorumludur ve gebeliğin en sık rastlanan metabolik komplikasyonudur.

GDM bebekte makrozomi, Respiratuvar Distress Sendromu ve doğum travması gibi etkilere yol açmasının yanı sıra, annede de hiperglisemi sebebiyle olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Hastalık süresince artan glukoz düzeylerinin mitokondride reaktif oksijen türlerinin oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir. Artan bu reaktif oksijen türleri hücre içinde protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi yapıları hedef alır ve hasara neden olur.

Gebelerde demir eksikliği anemisine sık rastlanmaktadır. Dünya genelinde prevalansı %19,2 olarak hesaplanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü tüm gebe kadınlara gebelik boyunca günde 60 mg elementer demir takviyesini önermektedir. Demir büyüme ve gelişme için esansiyel bir iz elementtir. Ancak anemik olmayan gebelerde demir takviyesi iatrojenik demir fazlalığını indükleyebilmektedir. Yüksek miktarlardaki demirin oksidatif strese ve GDM gelişimine neden olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda demir depo seviyeleri yüksek olan gebelerde daha yüksek oranda GDM gelişimi gözlenmiştir.

Bu bilgiler ışığında yaptığımız literatür incelemesinde, oksidatif stres ile GDM arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma olsa da; oksidatif DNA hasarı ile GDM ilişkisinin incelendiği az sayıda çalışma bulduk. Bu az sayıdaki çalışmalarda da gebeliğin iki farklı döneminde oksidatif DNA hasarını inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. Biz bu araştırmamızda GDM'li ve normal glukoz toleransı olan gebelerde, gebeliğin 11-14. haftaları ve 24-28. haftalarında alınan idrar ve kan örneklerinde kümülatif oksidatif stresin duyarlı göstergesi olan oksidatif DNA hasarının referans yöntem olan sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometri yöntemi ile değerlendirmeyi ve vücut demir depo düzeylerini incelemeyi amaçladık.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 DİABETES MELLİTUS (DM)

Diyabet, pankreasın ürettiği insülin hormonunun yetersizliği veya etkisizliği nedeniyle vücudun şeker dengesini düzenleyemediği ve metabolizmayı normal bir şekilde kontrol edemediği metabolik bir hastalıktır. Diyabet hastalarında organizma karbohidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamaz ve kanda görülen yüksek şeker düzeyleri nedeniyle zamanla mikrovasküler ve/veya makrovasküler komplikasyonlar açığa çıkar (1).

Diyabetes Mellitus (DM) , Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) tarafından etyopatogenez ve diyabetin evreleri düşünülerek Tip 1 diabetes mellitus (Tip 1 DM), Tip 2 diabetes mellitus (Tip 2 DM), Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM) ve diğer diyabet tipleri olmak üzere dört ana grupta sınıflandırılmıştır (**Tablo 1**).

Diyabet olgularının büyük çoğunluğu iki etyopatogenetik kategori içerisinde bulunur. Tip 1 DM'nin bulunduğu ilk kategoride insülin sekresyonunda mutlak eksiklik vardır. Prevalansı çok daha yüksek olan Tip 2 DM'nin bulunduğu grupta ise hastalığın sebebi insülin etkisine direnç gelişmesi ve pankreas beta hücrelerinin yetersiz insülin salgılamasının birlikte görüldüğü bir durumdur. İkinci tipte diyabet tanısı konulana kadarki süreçte gelişmiş olan hiperglisemi, klinik semptom vermeden hedef organlarda patolojik ve fonksiyonel değişikliklere sebep olabilmektedir.

American Diabetes Association (ADA)'a göre diyabet tanısı; Açlık plazma glukozu, 75 gramlık oral şeker yükleme testi (OGTT)'nin 2. saat plazma glukozu düzeyleri veya HbA1c kriterlerine göre konulabilir (**Tablo 2**) (2,3).

Tablo 1. Diabetes Mellitus Tipleri

1- T1DM • İmmün aracılıklı • İdiopatik	
2- T2DM	
3- Diğer Spesifik Diyabet Tipleri A-Beta hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları) • MODY 3 (Kromozom 12, HNF -1α) • MODY 1 (Kromozom 20, HNF -4α) • MODY 2 (Kromozom 7, glukokinaz) • Diğer nadir görülen MODY'ler (MODY 4: Kromozom 13, insülin promotör faktör -1; MODY 6: Kromozom 2, NÖRO D1; MODY 7: Kromozom 9, karboksil esteraz lipaz) • Transient neonatal diyabet (6q24'te ZAC/HYAMİ imprints defekti) • Kalıcı neonatal diyabet (β-cell K_{ATP} kanal) • Mitokondriyal DNA • Diğer B- İnsülinin etkisindeki genetik defektler • Tip A insülin direnci • Leprechaunism • Rabson-Mendenhall sendromu • Lipoatrofik diyabet • Diğer C- Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları • Pankreatit • Travma/pankreatektomi • Neoplazi • Kistik fibroz • Hemokromatoz • Fibrokalkülöz pankreatopati • Diğer D- Endokrinopatiler • Akromegali • Cushing sendr. • Glukagonoma • Feokromositoma • Hipertiroidi • Somatostatinoma E- İlaç veya kimyasal ajanlar	• Vacor • Pentamidin • Nikotinik asit • Glukokortikoidler • Tiroid hormonu • Diazoksit • b-adrenerjik agonistler • Tiyazid grubu diüretikler • Dilantin • Y- İnterferon • Diğer F- Enfeksiyonlar • Konjenital rubella • Sitomegalovirüs • Diğerleri G- İmmün aracılıklı nadir diyabet formları • Stiff-man sendr. • Anti-insülin reseptör antikorları • Diğerleri H- Diyabetle ilişkili genetik sendromlar • Down sendr. • Klinefelter sendr • Alström sendr. • Turner sendr • Wolfram (DIDMOAD) sendr. • Friedreich tipi ataksi • Huntington korea • Laurence-Moon-BiedL sendr. • Miyotonik distrofi • Porfiriya Prader-Willi sendromu
4- Gestasyonel diabetes mellitus (GDM)	
HNF-1 α: Hepatosit nükleer faktör-1 α, MODY1 -10: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları 1 -10 (maturity onset diabetes of the young 1 -10), HNF-4 α: Hepatosit nükleer faktör-4α, IPF-1: İnsülin promotör faktör-1, HNF-1 β: Hepatosit nükleer faktör-1 β, NeuroD1: Nörojenik diferansiyasyon 1, DNA: Deoksi-ribonükleik asit, HIV: İnsan immün eksiklik virusu, DIDMOAD sendr.: Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve sağırılık (deafness) ile seyreden sendrom (Wolfram sendromu), KLF11: Kruppel like factor 11, CEL: Carboxyl ester lipase (bile salt-dependent lipase), PAX4: Paired box4, ABCC8: ATP-binding cassette C8, KCNJ11: Potassium inwardLy-rectifying channel J11, INS: İnsülin.	

Tablo 2. Diabetes Mellitus tanı kriterleri (ADA 2018)

DM TANI KRİTERLERİ		
Açlık Plazma Glukozu	≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L)	En az 8 saatlik açlığı takiben ölçüm yapılmalıdır.
OGTT	2. saat plazma glukozu ≥200 mg/dL (11.1 mmol/L)	Test WHO'nun önerdiği şekilde suda çözünmüş 75 gram anhidroz glukoz eş değeri kullanılarak yapılmış olmalıdır.
Rastgele Ölçülen Plazma Glukozu	≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)	Klasik hiperglisemi semptomları veya hiperglisemi krizi eşlik etmelidir.
HbA1c	≥ %6.5	NGSP sertifikası olan ve DCCT'ye göre standardize edilmiş bir metot ile çalışılmış olmalıdır.

2004 yılında ADA tarafından DM tanı kriterlerine Bozulmuş Açlık Glukozu (BAG) ve Bozulmuş Glukoz Toleransı (BGT) gibi yeni kategoriler eklenmiştir (4). Buna göre, açlık kan şekeri 100-125 mg/dL (5,6-6,9 mmol/L) arasında olanlar Bozulmuş Açlık Glukozu (BAG), 75 gramlık OGTT'de 2 saat sonra plazma glukozu 140-199 mg/dL (7,8-11,1 mmol/L) olan kişilerdeki durum Bozulmuş Glukoz Toleransı (BGT) olarak tanımlanmaktadır. Her iki durum da prediyabet olarak kabul edilir ve bu olgularda 5 yıl içinde diyabet gelişme riski %60'dır (5,6).

2.2 GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS (GDM)

2.2.1 Tanım

İlk defa gebelikte belirlenen glukoz intoleransı olarak tanımlanmıştır (2). Gebelik öncesi glukoz intoleransının varlığı ya da gebelikten sonra glukoz intoleransının devam edip etmemesi klasik GDM tanımında dikkate alınmamaktadır. Gebeliğin en sık rastlanan metabolik komplikasyonudur. Tüm gebeliklerin yaklaşık %7'sinde görülmekte olup, bu oran farklı popülasyonlarda %1-14 arasında değişmektedir (7). Ancak, son dönemlerde tek aşamalı tanı testinin ve tek tanı kriterinin tanı için yeterli olmasının da etkisiyle insidans %15-20 düzeylerine kadar çıkmıştır (2). GDM, bütün doğumlardaki komplikasyonların %3-5'inden sorumludur (8).

2.2.2 GDM Patogenezi

Normal gebelik, plasental hormonlara bağlı olarak özellikle ikinci trimesterde insülin duyarlılığının bozulmasından dolayı "diyabetojenik bir durum" olarak yorumlanabilir (9). Gebelikte vücudun enerji ihtiyacı artmıştır. Bebeğin gelişimi için gerekli enerjiyi sağlamak için daha fazla glukoza gereksinim duyulur. Bu nedenle gebeliğin ilk aylarında açlık kan şekeri normale göre düşük düzeydedir. Postprandiyal glukoz düzeyleri ise uzun süre yüksek kalmaktadır. Bunun sebebi insüline olan periferik direncin artmasıdır. Gebe kanında yüksek miktarda bulunan lipoproteinler, trigliseritler ve serbest yağ asitleri de hiperglisemiye katkıda bulunurlar (10).

İlk trimester, maternal protein, glikojen, yağ depoları ve glikoneogenezin arttığı anabolik bir evredir. Östrojen insülin direncine karşı koruyucu bir etki gösterirken, progesteron insülin direncini artırır. Gebeliğin erken dönemlerinde maternal yüksek insülin düzeyleri lipogenezi artırır, lipolizi ise baskılar.

Gebelikte insülin reseptörlerinde azalma mevcut değildir. İkinci trimester başında yükselmeye başlayan İnsan Plasental Laktojen (hPL), İnsülin Reseptör Substrat-1 (IRS-1) fosforilasyonunda azalmaya ve bundan dolayı belirgin insülin direncine yol açar. hPL'nin yanı sıra, gebelik ilerledikçe anne kanındaki miktarları artan prolaktin, kortizol ve leptin gibi insülin antagonisti hormonların da etkisi ile insülin duyarlılığı azalır (9,11). Söz konusu hormonlar ve progesteron, insüline duyarlı hücrelerin glukoz alımını bozarak etki gösterirler ve gebeliğin diyabetojen bir durum olmasından sorumlu ana hormonlardır (**Tablo 3**).

Plasental hormonların anne kan glukoz homeostazisi üzerindeki etkilerinden dolayı GDM belirgin olarak üçüncü trimesterde gebeleri etkilemektedir. Normal bir gebelikte üçüncü trimesterde insülin duyarlılığında % 44'lük bir azalma saptanmıştır (12). Non-Diyabetik gebelerde insülin direncindeki bu artış, insülin üretimindeki artış ile rahatlıkla dengelenmektedir. Normal koşullar altında yeterli insülin salgılayabilen fakat gebeliğin artan insülin rezistansını karşılayamayan gebelerde ise gestasyonel diyabet meydana gelmektedir.

Tablo 3. Gebelikte insülin ve glukoz metabolizması üzerine etkisi olan hormonlar

Hormon	Etkisi
Östrojen	İnsülin konsantrasyonu ↑ İnsülinin reseptörüne bağlanması ↑
Progesteron	Glukoz transportu ↓ İnsülin reseptörüne bağlanması ↓ Hepatik glukoneogenez ↓
Prolaktin	İnsülin direnci ↑
Human Plasental Laktojen(hPL)	İnsülin direnci ↑ IRS-1 fosforilasyonu ↓ Glukoz transportu ↓
Leptin	İnsülin direnci ↑

2.2.3 Gebelikte Şekerin Anne ve Fetüs Üzerine Etkileri

Gestasyonel Diyabetes Mellitus kısa ve uzun vadede önemli maternal ve fetal sonuçlarla ilişkilendirilmiştir. GDM, organogenez tamamlandıktan sonra ortaya çıkan bir problem olduğundan dolayı konjenital anomali görülmesi beklenmemektedir. Annenin kan şekeri düzeyleri fetal komplikasyonlar için belirleyicidir. Yapılan çalışmalarda komplikasyonların Hemogloblin A1c (HbA1c) düzeyleri ile korelasyon gösterdiği saptanmış, fakat komplikasyonlara yol açan sınır glukoz düzeyi saptanamamıştır (13).

Diyabetik gebelerin bebeklerinde makrozomi, polisitemi, hipoglisemi, hiperbilirubinemi, hipokalsemi, Respiratuvar Distress Sendromu (RDS) gibi neonatal morbiditeler, normal gebelere göre daha sık rastlanmaktadır. Bu risk artışı gebelik

öncesinde diyabeti olan gebelerde (Pregestasyonel diyabet, PGDM) ise daha fazladır (14).

Makrozomi, bebeğin doğum ağırlığının gestasyonel yaşa göre 90. persantilin üstünde olması veya 4000 gramın üstünde olması olarak tanımlanır. Diyabetik annelerden doğan bebeklerin %15-45'i makrozomiktir ve bu oran normoglisemik gebelere oranla 3 kat daha yüksektir (15). GDM'li gebelerde yüksek kan glukozu, plasenta yolu ile fetüste de hiperglisemiye neden olmaktadır. Bu da fetüsün ikinci trimesterden itibaren kendi insülin üretimini arttırmasına ve adipoz doku miktarının artmasına neden olmaktadır (15). Makrozominin oluşum mekanizması bu şekilde açıklanmaktadır. Makrozomi, doğum sırasında omuz distosisi riskini ve sezeryan ile doğum oranlarını arttıran bir durum olması sebebiyle önemlidir.

Perinatal mortalite GDM'li gebelerde normal popülasyona yakın düzeylerde iken, pregestasyonel diyabetlilerde yüksektir. Açlık hiperglisemisi gebeliğin son 4-8 haftasında intrauterin ölüm riskini arttırmaktadır.

Uzun vadede, GDM öyküsü olan kadınlardaki kronik insülin direnci ve bunun altında yatan pankreatik β -hücre disfonksiyonu, gebeliği izleyen yıllarda Tip 2 DM gelişme riskinde önemli artışa yol açar (16,17). GDM'nin gebelik sonrası dönemde Tip 2 DM'a dönme oranıyla ilgili farklı çalışmalarda farklı sonuçlara rastlansa da, genel olarak %16-50 arası bir oran belirtilmektedir.

Bebekte gelişen makrozomi sebebiyle annede doğum sırasında genital bölge hasarı, doğum sonrası kanama görülebilir. Uterin atoni riski artmıştır (15). Hipertansiyon ve preeklamps riski, GDM'li gebelerde glukoz toleransı normal gebelere oranla en az 2-4 kat artmıştır. Normal gebelerle karşılaştırıldığında preeklampsisi bulunan diyabetik kadınlarda perinatal mortalite riski yaklaşık 20 kat artmaktadır (18). Polihidroamnios, preterm doğum ve üriner enfeksiyonlar diyabetik gebelerin normal gebelere göre daha sık yaşadığı sorunlardır.

2.2.4 Risk Faktörleri

GDM oluşumu için risk faktörleri olarak şu durumlar öne çıkmıştır (19):

Vücut Kitle İndeksi'nin 30 kg/m^2 'den yüksek olması

Daha önceki gebelikte makrozomik bebek doğurmuş olmak (Doğum ağırlığı>4,5 kg)

Daha önceki gebelikte geçirilmiş Gestasyonel Diyabet

Ailede diyabet öyküsü (birinci dereceden yakınlarında)

Tip 2 DM prevalansı yüksek bir etnik gruba mensup olmak (Güney Asya, Karayipler, Orta Doğu)

Yapılan retrospektif analizlerde ileri yaş, infertilite öyküsü, polikistik over sendromu ve yardımcı üreme teknikleri kullanımı gibi risk faktörü olan kadınlarda GDM oranının arttığı bulunmuştur (20–22). Diğer yandan GDM olgularının %30-50'si herhangi bir risk faktörüne sahip değildir.

2.2.5 GDM Tarama ve Tanı Protokolleri

Klinikte GDM tanısı için tek aşamalı veya iki aşamalı yaklaşımlar kullanılmaktadır. Tarama ve tanı yöntemlerinin tüm gebelere mi yoksa sadece riskli gebelere mi uygulanması gerektiği, bu testlerin tek ya da iki aşamalı olması ve tanısıl eşik değerler konularında bir fikir birliği bulunmamaktadır (23).

Bundan önceki dönemlere bakıldığında 1964'de O'Sullivan ve Mahan, 1979'da Uluslararası Diyabet Veri Grubu (NDDG, National Diabetes Data Group), 1982'de Carpenter ve Coustan, 1989'da Sacks ve arkadaşları tarafından farklı tanı protokolleri önerilmişti. Bu farklı tanı protokollerinin her biri 100 gram glukoz yüklemesi ile üç saatlik dönemde kan glukoz düzeylerinin ölçülmesini esas almakta iken, herbirinin eşik değerleri farklı idi. Bu yaklaşımlarda GDM tanısı almak için iki eşik değer üstünde kan şekeri düzeylerine sahip olmak gerekiyordu. Carpenter&Coustan kriterleri 2000 yılından itibaren ADA kılavuzlarında yer almıştır.

GDM tanısı koymak için uygulanan bir diğer yaklaşım ise, iki aşamalı yaklaşımdır. Bu yaklaşımda, başlangıçta 50 gram glukoz yüklemesinden bir saat sonra kan şekeri ölçümü yapılmaktadır. Birinci saat glukoz değeri ≥ 140 mg/dL veya ≥ 130 mg/dL olan kadınlara farklı bir günde GDM kesin tanısı için 100 gram glukoz yüklemeli 3 saatlik OGTT uygulanır ve eşik değerlerin 2'sini geçen gebeye GDM tanısı konur (**Tablo 4**). 50 gram glukoz yüklemede 1. saat eşik noktası 140 mg/dL alınırsa GDM'li kadınların %80'ine, 130 mg/dL kabul edilirse GDM'li kadınların %90'ına tanı konulabilir.

GDM şüphesi yüksek olan kadınlarda 50 gram glukozlu ön tarama testi yapılmadan doğrudan 100 gram glukozlu OGTT de uygulanabilir. 50 gram glukoz yüklemesinden 1 saat sonraki kan şekeri değeri >180 mg/dl olan gebelerde ise genel olarak 2.aşama OGTT yapılması gerekli görülmemekte ve direkt GDM gibi izlenmesi ve tedavi edilmesi önerilmektedir (24). Her iki yaklaşımda da Carpenter&Coustan tanı kriterleri kullanılmaktadır (24,25).

Günümüzde ise iki aşamalı tanı yaklaşımının kullanımı giderek azalırken, tek aşamalı tanı testinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Sonuçları 2008 yılında yayınlanan HAPO (Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome) çalışması verilerine dayanarak, Uluslararası Diyabetik Gebelik Çalışma Grupları Birliği (IADPSG: International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group) tarafından 2010 yılında GDM için iki basamaklı tarama ve tanı yönteminin terk edilmesi, Tip 2 DM ve GDM riskini arttıran faktörlere sahip olmayan tüm gebelere 24-28. gebelik haftaları arasında 75 gram glukoz yüklemesi içeren iki saatlik OGTT uygulanmasını önerilmiştir.

Tip 2 DM ve GDM riskini arttıran faktörlere (**Tablo 5**) sahip kadınların ise ilk prenatal vizitte standart Tip 2 DM tanı kriterlerine (**Tablo 2**) göre taranması önerilmiştir (26). İlk prenatal vizitte standart tanı kriterlerinden (**Tablo 2**) birinin olması aşikar diyabet (Gebelikte Tip 2 DM veya Pregestasyonel Diyabetes Mellitus) tanısı koyduruyor iken, açlık plazma glukozunun ≥ 92 mg/dl, fakat <126 mg/dl olması durumu GDM tanısını koydurur. Bundan dolayı IADPSG'ye göre ilk defa gebelik sırasında fark edilen diyabet aşikar (gebelikte Tip 2 DM) veya gestasyonel diyabet olabilmektedir. Bu kriterler 2011 yılında Amerikan Klinik Endokrinologlar Derneği (AACE, American Association of Clinical Endocrinologists) ve ADA tarafından da kabul görmüştür (26,27).

WHO geçmiş raporlarında gebelere diyabet tanısının gebe olmayan erişkinlerdeki gibi konulması gerektiğini belirtmiş ve 75 gr OGTT'yi önermiştir. 1999 yılı raporunda ise, AKŞ ≥ 126 mg/dL veya OGTT 2. saat kan şekeri ≥ 140 mg/dL şeklinde GDM tanısını revize etmiştir. Son olarak 2013 yılında yayınlanan WHO raporunda, GDM tanısı için AKŞ: 92-125 mg/dL veya OGTT 2. saat kan şekeri: 153-199 mg/dL kriterlerinden birinin bulunmasının GDM tanısı için yeterli olduğu vurgulanmıştır (28).

Amerikan Jinekologlar ve Obstetrisyenler Birliği (American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG) yeni (IADPSG) tanı kriterlerinin kullanımı ile tarama ve tedavi giderlerinin ve GDM sıklığının arttığını öne sürerek hala iki basamaklı yaklaşımı ve 100 gram glukoz yüklemeli OGTT ile NDDG ya da Carpenter ve Coustan tanı kriterlerinin kullanımını desteklemektedir.

National Institutes of Health (NIH)'in 2013 tarihli konsensus grubu, açlık gerektirmeden yapılacak 50 gram glukoz yüklemesi ile 1.saatte bakılacak şeker taramasını önermiştir. Yine de bu tarama sonunda yüksek bulunan grubun da GDM tanısı alabilmesi için daha sonra OGTT yapılması gerekmektedir.

Dokuz Eylül Üniversitesi'nde tek aşamalı ve IADPSG kriterlerine göre tanı testi uygulanmaktadır. GDM için mevcut tanı testlerinin yorumlanması **Tablo 4**'de özetlenmiştir.

Tablo 4. Gestasyonel diabetes mellitus tanı kriterleri (*)

		APG	1.stPG	2.stPG	3.stPG
Tek aşamalı test					
IADPSG/ADA kriterleri	75 g glukozlu OGTT (En az 1 patolojik değer tanı koydurur)	≥92	≥180	≥153	-
İki aşamalı test (**)					
İlk aşama	50 g glukozlu	-	≥140	-	-
İkinci Aşama (Carpenter&Coustan kriterleri 1982)	100 g glukozlu OGTT (En az 2 patolojik değer tanı koydurur)	≥95	≥180	≥155	≥140
İkinci Aşama (NDDG kriterleri 1979)	100 g glukozlu OGTT (En az 2 patolojik değer tanı koydurur)	≥105	≥190	≥165	≥145

(*) Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile mg/dL olarak ölçülür.

(**) İki aşamalı tanı testi günümüzde daha az tercih edilmektedir.

IADPSG: Uluslararası Diyabetik Gebelik Çalışma Grupları birliği, ADA: Amerikan Diyabet Birliği, GDM: Gestasyonel Diyabetes Mellitus, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, APG: Açlık plazma glukoz, 1.stPG, 2.stPG, 3.st plazma glukoz

Tablo 5. Tip 2 DM ve GDM gelişimi riskini arttıran faktörler (26).

İlk prenatal vizitte glukozürinin saptanması
Birinci derece yakınında diyabet öyküsü
Tip 2 diyabetes mellitus gelişimi açısından yüksek riskli ırk/etnik köken
Makrozomik bebek (>4kg) doğurma öyküsü
Daha önce GDM öyküsünün varlığı
Esansiyel hipertansiyon veya gebelikle ilişkili hipertansiyonun olması
Glukokortikoid kullanıyor olmak
Polikistik over sendromlu kadınlar
İnsülin direnci ile ilişkili diğer klinik durumlar (şiddetli obezite, akantosis nigrikans vb.)
Daha önce yapılan testlerde HbA1c $\geq$ %5,7 olması, bozulmuş glukoz toleransı ya da bozulmuş açlık glisemisinin varlığı
Daha önce nedeni açıklanamamış perinatal kayıp veya malforme çocuk doğurma öyküsü
25 yaşında veya daha büyük olmak
Gebelik öncesi vücut kitle indeksinin ≥ 30 kg/m ² olması

2.3 GEBELİKTE BOZULMUŞ GLUKOZ TOLERANSI (BGT)

Gebe olmayan kişilerde, Tip 2 DM tanısı açlık, tokluk kan şekeri değerlerine veya HbA1c düzeylerine göre konulabilmektedir. Tanıda açlık esas alındığında, Tip 2 DM tanısı koymak için açlık kan şekerinin 126 mg/dL veya daha üzerinde olması gerekmektedir. Tanıda tokluk kan şekeri esas alındığında, Tip 2 DM tanısı koymak için 75 gramlık OGTT sonucunda tokluk kan şekeri (2. saat) düzeyinin 200 mg/dL veya daha üstünde olması gerekmektedir. Tanıda HbA1c düzeyleri esas alındığında, Tip 2 DM tanısı koymak için HbA1c'nin %6.5 veya daha yüksek olması gerekmektedir. 75 gramlık OGTT sonucunda açlık kan şekeri normal (126 mg/dL'den düşük) olup, 2. saat kan glukoz düzeyi 140-199 mg/dL (7,8-11,1 mmol/L) olan kişilerdeki duruma ise "bozulmuş glukoz toleransı" (BGT) adı verilmektedir.

Gebelikte diyabet tanısı konulurken ise, 75 gramlık oral glukoz tolerans testi sonucunda tokluk kan şekeri (2.saat) düzeyinin, Tip 2 DM'den farklı olarak, 153 mg/dL'nin üstünde olması gerekmektedir. Gebelikte bozulmuş glukoz toleransı

kavramı ise net değildir. Geçmişte 100 gramlık OGTT sonucunda, tanı için gerekli olan 2 kriteri alamayıp 1 kriterde kalan gebelerin BGT grubu veya tek anormal değer grubu olarak sınıflandığı çalışmalar mevcuttur (29–31). 2015 yılında Gelaleti ve arkadaşları, 2016 yılında ise Moreli ve arkadaşları ‘hafif gestasyonel hiperglisemi’ (Mild Gestastional Hyperglycemia, MGH) tanımını kullanmışlardır. OGTT sonucu glukoz değerleri normal olup glisemik profili bozuk olan gebeler (AKŞ ≥ 90 mg/dL ve/veya tokluk kan şekeri ≥ 130 mg/dL) hafif gestasyonel hiperglisemi grubuna dahil edilmişlerdir (32,33).

Biz çalışmamızda, 75 gramlık OGTT sonucunda açlık ve 1. saat kan şekeri değerleri eşik değerlerin altında iken, 2. saat kan şekeri düzeyleri 140-153 mg/dL olan gebeleri bozulmuş glukoz toleransı olarak değerlendirdik. Ancak, bu aralıkta sadece dört gebe bulabildiğimiz ve yeterli sayıya ulaşamadığımız için bu grubu çalışmaya dahil etmedik.

2.4 DEMİR ELEMENTİ VE ÖZELLİKLERİ

Demir, atom numarası 26 olan, +2 ve +3 değerlikli olarak bulunan bir eser elementtir. İnsan vücudundaki toplam miktarı 3-4 gramdır. Vücuttaki günlük yapım/yıkım 25-30 mg, günlük alım/kayıp ise 1-2 mg civarındadır.

Demirin hücresel solunumda elektron transferini sağlamak, hem ve myoglobinin yapısına katılarak oksijen taşınması ve depolanmasında rol oynamak, deoksiribonükleik asit (DNA) sentezinde rol oynamak, bağışıklık sisteminde etkili olan enzimlerin yapısına katılmak, sinyal iletiminde rol almak gibi vücut için çok önemli fonksiyonları vardır.

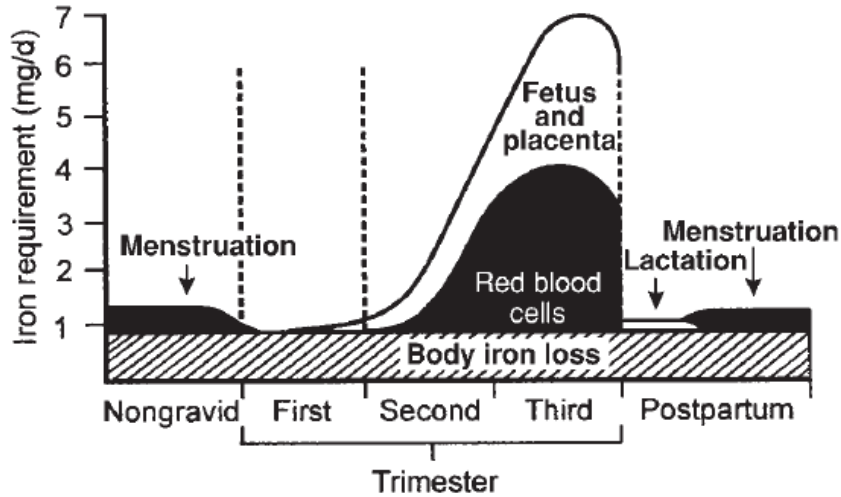
Vücuttaki demirin yaklaşık %65’i hemoglobinde, %4 kadarı myoglobinde bulunur. %25’i ferritine bağlı olarak karaciğerde, %5 kadarı ise retikuloendotelyal sistemin diğer kısımlarında depolanmaktadır. %1’i intrasellüler oksidasyonda görev alan çeşitli bileşiklerde, %0,1’i serumda transferrine bağlı olarak bulunur.

Demirin vücutta kontrollü bir atılım mekanizması yoktur. Yetişkin bir insanın günlük demir ihtiyacı vücudundan kaybettiği kadardır. Fakat diyetteki demirin sadece yaklaşık %10’u barsaklardan emildiği için günlük besinlerle alınması gereken demir

miktarı erişkin bir erkekte 8-10 mg'dır. Erişkin ve gebe olmayan kadınlarda günlük 15-18 mg iken gebe kadınlarda bu ihtiyaç 27-30 mg'a kadar çıkmaktadır.

2.4.1 Gebelikte Demir Desteği

Gebelerdeki demir ihtiyacı birinci trimestrde menstrüasyonun durmasının da etkisiyle en az iken, fetüsün büyümesine bağlı olarak üçüncü trimestrde maksimuma ulaşır (**Şekil 1**). Birinci trimestrde günlük ihtiyaç 0,8 mg, ikinci trimestrde 4-5 mg ve üçüncü trimestrde 6 miligramın üzerinde olur (34). Emziren kadınlarda günlük demir ihtiyacı farklı kaynaklarda değişmekle birlikte olarak 1-5 mg kadardır.



Şekil 1. Gebelik ve emzirme dönemindeki günlük demir gereksinimleri (34)

Demir eksikliği anemisi (DEA) gebelikte çok sık görülen bir durumdur. WHO'ya göre gebelerde demir eksikliği anemisi hemoglobininin 1. ve 3. trimesterde 11,0 g/dL'nin, 2. trimesterde ise 10,5 g/dL'nin altında olması olarak tanımlanır. Dünya genelindeki prevalansının %41 olduğu düşünülmektedir (35). WHO'nun 2008 yılına ait raporuna göre ülkemizdeki prevalansı ise %40'dır (36). Gebeliğin erken dönemlerinde görülen DEA, düşük doğum ağırlığı, prematürite, artmış maternal ve fetal mortalite ile ilişkilidir (37,38). Yapılan çalışmalarda ve meta-analizlerde gebelik sırasında demir takviyesinin bu olası komplikasyonları önlediği gösterilmiştir (39).

WHO tüm gebe kadınlara gebelik boyunca günde 60 mg elementer demir takviyesini önermektedir. Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı anemik olmayan tüm gebelerde ikinci trimesterden başlayarak 6 ay ve doğum sonrası 3 ay olmak üzere toplamda 9 ay süre ile günde 40-60 mg elementer demir desteği verilmesini uygun görmektedir. Anemisi olan gebelerde ise bu miktar, aneminin tespit edildiği andan itibaren 100-120 mg/dL dir (40).

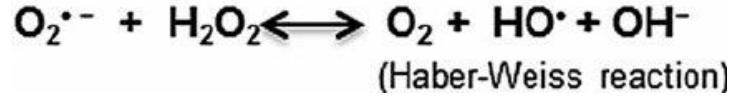
Buna karşın, annenin anemik olmadığı durumlarda yapılan demir takviyesinin gebelikte komplikasyon görülme olasılığını arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (41,42).

2.4.2 Demirin Oksidatif Stres ve GDM ile Etkileşimi

Demir büyüme ve gelişme için esansiyel bir iz element olsa da, anemik olmayan gebelerde demir takviyesi iatrojenik demir fazlalığını indükleyebilmektedir (41).

WHO tüm gebelere gebelik boyunca 30-60 mg elemental demir takviyesi önermektedir (43). Gebelikte artan demir ihtiyacı ve gebelikte görülen demir eksikliği anemisinin ileride yol açabileceği ciddi sorunların da göz önünde bulundurulmasıyla gebelere 1. trimesterden itibaren demir takviyesine başlansa da, ilk trimesterdeki nispeten düşük ihtiyaç nedeniyle bu durum gebede teorik olarak demir birikimine neden olabilir.

Demir vücutta serbest şekilde kalırsa serbest radikaller oluşumuna sebep olarak doku hasarı oluşturabilir. Teorik olarak hücre içinde serbest demir bulunmaz. Ancak in vivo ortamda artmış süperoksit radikal ($O_2^{\bullet-}$) düzeyleri demir depo proteini olan ferritinden az miktarda demirin serbestleşmesine neden olabilir (44). Serbestleşen bu demir (Fe^{2+}) reaktif hidroksil radikali ($\bullet OH$) oluşumuna yol açan Fenton reaksiyonunu katalizler. $O_2^{\bullet-}$ radikalleri ayrıca H_2O_2 ile reaksiyona girerek de oksidatif strese yol açabilmektedir (Haber-Weiss reaksiyonu) (**Şekil 2**).



Şekil 2. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları

Hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$) hidroksil iyonunun nötral formudur. Çok kısa yarı ömrü (9-10 sn) süresince tehlikeli reaksiyonlara neden olabilir (45). Canlılardaki en güçlü serbest radikaldir. Superoksit radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$), ferröz demirin (Fe^{2+}) oksijenle direkt reaksiyona girmesiyle de oluşabilir. Bu radikaller hücre için toksik olup DNA, lipid ve protein gibi hücrede görevli olan yapılarla reaksiyona girerek pek çok hastalığın (kanser, ateroskleroz, iskemi-reperfüzyon hasarı) patogenezinde rol oynadığı düşünülen reaktif moleküllerdir. Ortamda oksijen redüksiyon ürünleri ve yüksek miktarda demir olması durumu prooksidan durum olarak yorumlanabilir. Hücrenin oksidan strese açık olduğunu gösterir (46). Proteine bağlı olmayan demir, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu artırır (47,48).

İnsülin üreten pankreas beta hücreleri, zayıf bir antioksidan savunmaya sahip olduğu için demirin zararlı etkilerine karşı daha savunmasızdır (49,50). Demir düzeylerinin yüksek olduğu durumlarda reaktif oksijen ürünlerinin miktarı artmakta ve beta hücrelerinde hasara ve apoptoza neden olmaktadır (51). Hansen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada demir yükü düşürülen Tip 2 DM farelerde beta hücrelerinin fonksiyonlarında ilerleme gösterdiği görülmüştür (52,53).

Hayvan çalışmalarında demir yüksekliğinin iskelet kasında glukoz oksidasyonunu inhibe edip yağ oksidasyonunu artırarak insülin etkisine direnç geliştirdiği, adipositlerde insülin aracılı glukoz transportunu azalttığı ve karaciğere glukoneogenez substratı geri dönüşümünü artırarak hepatik glukoz üretimini yükselttiği gösterilmiştir (54,55). Bunların yanı sıra yüksek demir düzeyleri krom mobilizasyonunu yarışmalı bir şekilde inhibe ederek insülin duyarlılığını azaltabilir (56).

Hayvan çalışmalarında glukoza olan toleransın demir suplementasyonu ile azaldığı, demirin tükenmesi ile ise arttığı gösterilmiştir (57).

Normal gebelikte mitokondriden zengin plasenta ve dolayısıyla bol miktardaki demir vb. geçiş elementlerinin varlığı yüksek oksidatif stres ortamına yol açmaktadır (58). Yüksek oksidatif stresin pankreas beta hücrelerini etkileyerek GDM oluşumunu kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Nitekim GDM'li gebelerde demir durumunu inceleyen çalışmalarda serum ferritin konsantrasyonlarının diyabetik olmayan kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (59)(60).

2012 yılında 399 gebede yürütülen prospektif bir araştırmada, gebelik sırasında yüksek demir alımının özellikle anemik olmayan gebelerde GDM riskini arttırdığı saptanmıştır ve gebelerde rutin demir suplementasyonunu sorgulamıştır (61).

Bao ve arkadaşlarının önceden GDM tanısı almış 3976 gebeyi gelecekte Tip 2 DM gelişimi açısından takip ettikleri çalışmada 641 gebe (%16,1) ilerleyen yıllarda Tip 2 DM tanısı almıştır. Bu çalışmaya göre daha yüksek total demir alımı, diyet hem demiri ve suplemental demir alımı Tip 2 DM gelişme riskini arttırmıştır (62). Bu çalışmaların yanı sıra iki çalışmada ise flebotomi, demir şelasyon terapisi gibi yöntemlerle vücut demir miktarı düşürüldüğünde insülin duyarlılığının ve glukoz toleransının daha iyi hale geldiği tespit edilmiştir (63,64).

Tarım ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ferritin düzeyleri kendi çalışma gruplarında 50 persantilin üzerinde olan gebelerde (ferritin $\geq$ 19,7 μ g/L) GDM görülme sıklığını ferritini düşük olan gebe grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulurken, GDM'li gebelerin ferritin düzeyleri ile kontrol grubunun ferritin düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır (65). Zein ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları çalışmada 104 non-anemik gebe, 1. trimesterdeki ferritin düzeylerine göre 4 gruba ayrılmış ve erken gebelik dönemindeki yüksek ferritin düzeylerinin non-anemik kadınlarda gebelik şekerinin prediktörü olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ayrıca yüksek ferritin düzeyleri ile 75 gr OGTT 2. saat kan şekeri yüksekliği arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır. Yine Zein ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları çalışmada ferritin düzeyi GDM olan grupta kontrol grubuna göre yüksek bulunsa da anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak, oksidatif stres ve glukoz intoleransı arasındaki korelasyonda modifiye edici faktör olarak bulunmuştur (66).

İnflamasyon markerı olan C-Reaktif Protein (CRP) GDM ile ilişkili bulunmuştur. Ferritin ve CRP'nin GDM ile ilişkisini eşzamanlı olarak inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır (67–70). Chen ve arkadaşları GDM'nin, Jiang ve arkadaşları ise Tip 2 DM'nin yüksek ferritin ve CRP düzeyine sahip olan bireylerde daha sık görüldüğünü belirtmiştir (71,72). Bu bulgular, inflamasyonun GDM gelişimine aracılık edebileceğini göstermektedir. Fakat yapılmış başka çalışmalarda akut faz reaktanı olmayan demir, hemoglobin gibi parametreler de GDM ile ilişkili bulunmuştur.

Sivitskaya ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada vücutta demir birikimi (hemokromatozis) ile özdeşleşmiş bir gen olan C282Y'in allel sıklığının, GDM'li gebelerde normal gebelere göre daha sık görüldüğü saptanmıştır (73). Barke ve arkadaşlarının plasenta üzerinde yaptığı bir çalışmada GDM'li kadınların plasentalarında daha fazla demir yükü olduğu tespit edilmiştir. (74). Khambalia ve arkadaşlarının 4420 gebede yaptığı çalışmada serum ferritin düzeyi ve toplam vücut demiri (çözünebilir transferrin reseptörü (sTfR)'nün ferritine oranı üzerinden hesaplamalarla bulunan) üzerinden hesaplanan demir eksikliği anemisi, azalmış GDM riski ile ilişkili bulunmuştur. Toplam vücut demiri aynı zamanda artmış yüksek doğum ağırlıklı bebek (LGA, Large for Gestastional Age) riski ile de ilişkili bulunmuştur (70).

Birçok çalışmada ferritin konsantrasyonları istikrarlı bir şekilde GDM ile ilişki göstermiştir ve düşük-yüksek ferritin düzeylerinde de bu ilişki devam etmiştir. (75–77). Fakat demir yüksekliği için hangi eşik değerin kullanılması gerektiği henüz belirsizdir.

Gebelerde demir fazlalığı ile GDM ilişkisini araştıran çalışmaların büyük çoğunluğunda gebenin diyetine, diyet ile aldığı hem/non-hem demir durumuna dikkat edilmemiştir. Lu Zhao ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir meta-analiz çalışmasındaki sonuçlara göre, non-hem demir alımı ve demir takviyesi ile GDM arasında bir ilişki bulunamamışken, hem demir alımı ve serum ferritin düzeyleri ile GDM gelişimi arasında anlamlı ilişkili bulunmuştur (78). Hem demir ile non-hem demir arasındaki bu farkın barsaklardaki absorpsiyon durumlarındaki farklılıklardan olabileceği belirtilmektedir. Hem demir hayvansal kaynaklı iken ve barsaklardan %15-%35 i emilip kalsiyum dışında önemli bir inhibitöre sahip değil iken non-hem demir bitkisel kaynaklı olup absorpsiyon oranı %2-%20 arasında değişmektedir ve diyetteki diğer birçok içerikten etkilenmektedir.

Diğer yandan, yapılan in vitro çalışmalarda yüksek glukoza maruz bırakılmış β hücrelerinde artmış ferritin düzeylerinin temel nedeninin, ferritinin aynı zamanda antioksidan özellik göstermesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (79,80). GDM'li gebelerde ferritin düzeylerinin daha yüksek olmasına böyle bir açıklama da getirilebilir. Nitekim 1164 gebede yapılan randomize plasebo kontrollü başka bir çalışmada ise demir takviyesinin GDM riskini arttırmadığı bildirilmiştir (81)

2.5 OKSİDATİF DNA HASARI VE PARAMETRELERİ

İnsan vücudunda oksidatif stres, reaktif oksijen türleri başta olmak üzere serbest radikallerin üretiminde artış ile hücresel antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır (82). Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya birden daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen addır (83). Serbest radikaller normal metabolizma sırasında veya patolojik yollarla ortaya çıkabilmektedir (**Tablo 6**). Serbest radikallerin DNA yapısında meydana getirdikleri hasara Oksidatif DNA hasarı denir. Serbest radikaller reaktif oksijen türleri, reaktif azot türleri, kükürt merkezli radikaller ve diğer radikal komponentlerinden oluşur. Serbest radikaller elektrofilik özellikleri nedeniyle elektron yoğunluğu en yüksek olan bölgelere eklenme eğilimindedir (84). Reaktif oksijen türlerinin (ROT) radikal olan ve radikal olmayan türleri **Tablo 7**'de özetlenmiştir.

Tablo 6. Reaktif oksijen türlerinin kaynakları (85)

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Elektron transport zinciri	Sigara, Benzen
Peroksizomal oksidazlar	Alkol
Ksantin Oksidaz	Zararlı ışınlar (UV Işınları, X-ray)
Fagositoz yapan hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar	İlaçlar, Ksenobiyotikler
Otooksidasyon reaksiyonları	
Redoks reaksiyonu	
Endoplazmik retikulumdaki reaksiyonlar (Yağ asidi desatürasyonu, Sitokrom P450 sistemi)	

Tablo 7. Reaktif Oksijen Türleri

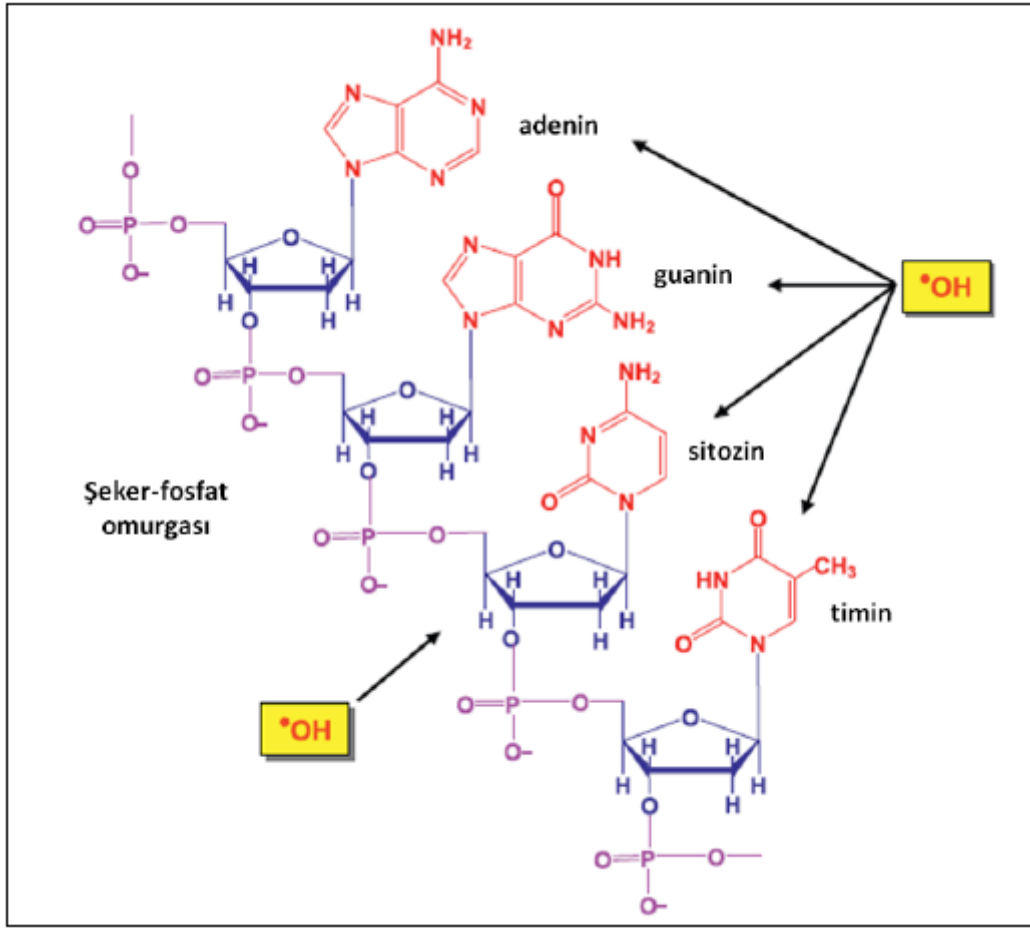
Radikaller	Radikal Olmayan Türler
Süperoksit anyonu, $O_2^{\bullet-}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, $\bullet OH$	Peroksinitrit, $ONOO^-$
Hidroperoksil, $HOO\bullet$	Hipokloröz asit, $HOCl$
Peroksil, $ROO\bullet$	Organik peroksit, $(R)OOH$
Alkoksil, $(R)O\bullet$	Singlet oksijen, 1O_2
Nitrik oksit, $NO\bullet$	Ozon, O^3

Hücrel aerobik metabolik olaylar sonucunda ve/veya eksojen ajanlarla ortaya çıkan reaktif oksijen türleri DNA, lipid, karbohidrat ve protein gibi biyomolekülleri

oksidatif hasara uğratarak, birçok hastalığın patogenezinde rol oynayan hasarlı ürünlerin oluşumuna yol açmaktadır.

Oksidatif DNA hasarı, kümülatif oksidatif stresin duyarlı göstergesi olması nedeniyle önem taşımaktadır. Oksidatif DNA hasarı, reaktif oksijen türlerinin DNA yapısındaki nükleozid, baz gibi yapılarla reaksiyona girmesi sonucu oluşur. Bu reaksiyonlar DNA nükleozid hasarı, DNA baz hasarı, DNA şeker hasarı, zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA protein çapraz bağları, tandem lezyonlar (hidroksil radikalının hem baz hem de şeker ile reaksiyona girmesi) olarak sıralanabilir. Hücrenin ve canlının genetik materyali olan DNA'nın hasarının en büyük sebebi reaktif oksijen türleridir. Hücre, DNA yapısında meydana gelen hasarları onarabilecek mekanizmalara sahiptir ve sağlıklı bireylerde DNA hasarı çok düşük düzeyde kalmaktadır. Fakat bu onarım mekanizmalarının yetersiz kaldığı aşırı hasar durumlarında genetik materyal kalıcı olarak zarar görmektedir. Meydana gelen bu DNA hasarı karsinogenez ve yaşlanma gibi durumların başlangıç aşamasını oluşturur (83).

Üzerinde bulundurduğu fosfat gruplarının negatif yükü sebebiyle DNA anyonik bir yapı gibi davranır ve katyonları bağlama yeteneği mevcuttur. Demir ve bakır gibi birçok pozitif yüklü iyon bu sebeple DNA'ya bağlanabilmektedir. Bu katyonlar DNA'ya sürekli bağlı bulunabilmelerinin yanı sıra oksidatif stres altında hücre içinde bulunan demirli ve bakırlı proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedirler. Bunun yanı sıra, DNA yapısında bulunan 5 karbonlu şeker molekülü (deoksiriboz) de demir bağlama özelliğine sahiptir (86). Bu sebeple DNA'da 'bölge-spesifik' hidroksil radikali atakları meydana gelebilmektedir (**Şekil 3**).



Şekil 3. $\bullet\text{OH}$ radikalinin DNA üzerinde saldırdığı bölgeler

DNA sarmalı bir hasara uğradığında onarım mekanizmaları önce hasarın tanınması, sonra hasarlı kısmın uzaklaştırılması ve son olarak da uzaklaştırılan hasarlı kısmın boşluğunun doldurulması şeklinde işler. Uzaklaştırılan hasarlı kısım idrar ile atılmaktadır. İdrardaki DNA hasar ürünleri tüm vücuttaki belirli bir süredeki oksidatif hasarın göstergesidir (87).

Oksidatif hasar ile oluşan 30'dan fazla nükleotid bazı (nükleobaz) çeşidi olduğu bilinmektedir (88) (**Şekil 4**). Dört DNA bazı içerisinde guanine bazı, en düşük redoks potansiyeline sahip olması sebebiyle diğer bazlara göre daha kolay okside olur. Yapılan araştırmalarda da nükleozid hasar parametresi olarak en sık guanine'in türevleri yer almaktadır. 8,5'-siklo-2'-deoksiadenozin (S-cdA) ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OH-dG), oksidatif DNA nükleozid hasarının başlıca göstergeleridir. Bu hasar

ürünleri DNA onarım enzimleri tarafından kesilerek uzaklaştırılır, periferik dolaşıma geçer ve idrarla atılır.

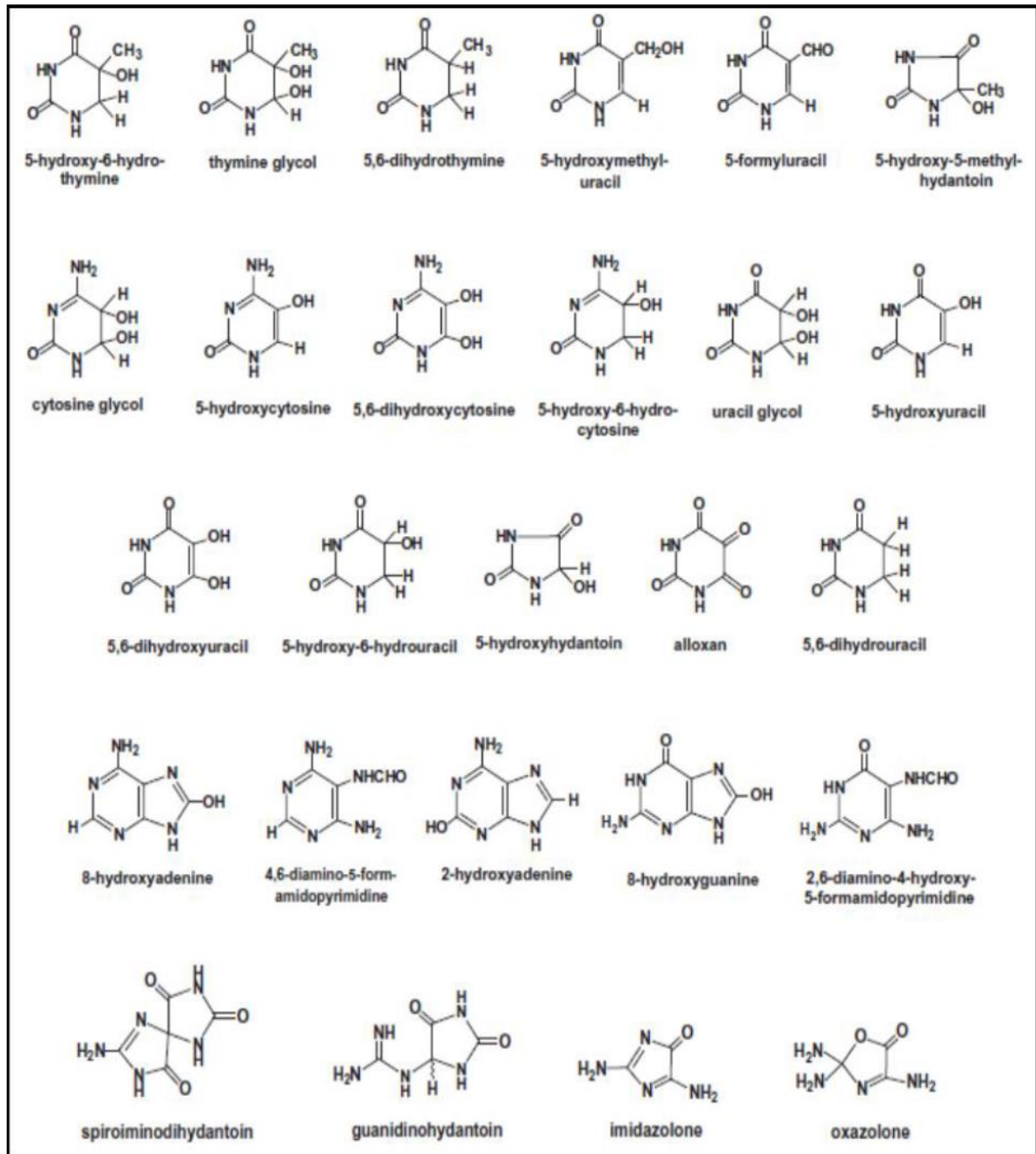
2.5.1 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OH-dG)

Nükleer ve mitokondriyal DNA'da en sık tespit edilen okside nükleozid 8-OH-dG'dir. 8-OH-dG yaygın olarak kullanılan hassas bir in vivo oksidatif stres biyobelirtecidir (89,90). Hidroksil radikalının guaninin 8. karbon atomu ile reaksiyonu sonucunda önce ana ürün C8-OH eklenti radikali meydana gelir. Daha sonra bu radikal bir elektron ve proton kaybederek son ürün olan 8-OH-dG'yi oluşturur (**Şekil 5**).

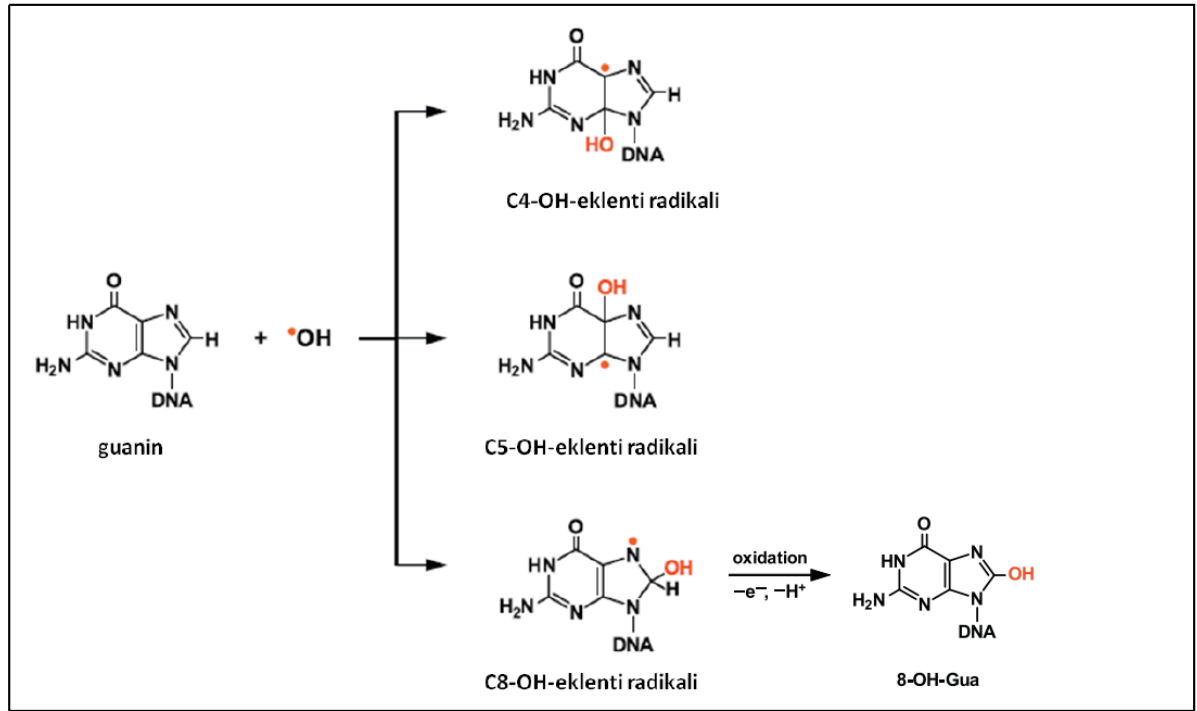
8-OH-dG mutajenik özelliklere sahiptir ve DNA replikasyonu sırasında adenin ile yanlış eşleşerek Guanin-Timin transversiyonuna sebep olmaktadır (91) (**Şekil 6**).

8-OH-dG stabil yapısı ve kolayca oluşma potansiyeli sebebi ile oksidatif DNA hasar ürünleri arasında en sık karşılaşılan üründür (92). Baz kesip çıkarma onarımı ile DNA zincirinden kesilerek başka hiçbir reaksiyona katılmadan uzaklaştırılır ve idrarla atılır. Kolay ölçümü ve mutajenik özelliklerinin de etkisiyle çalışmalarda en çok araştırılan DNA ürünü olmuştur (93). Bir hücre içinde her gün ortalama 10^5 8-OH-dG kalıntısı üretildiği bildirilmiştir (88,94).

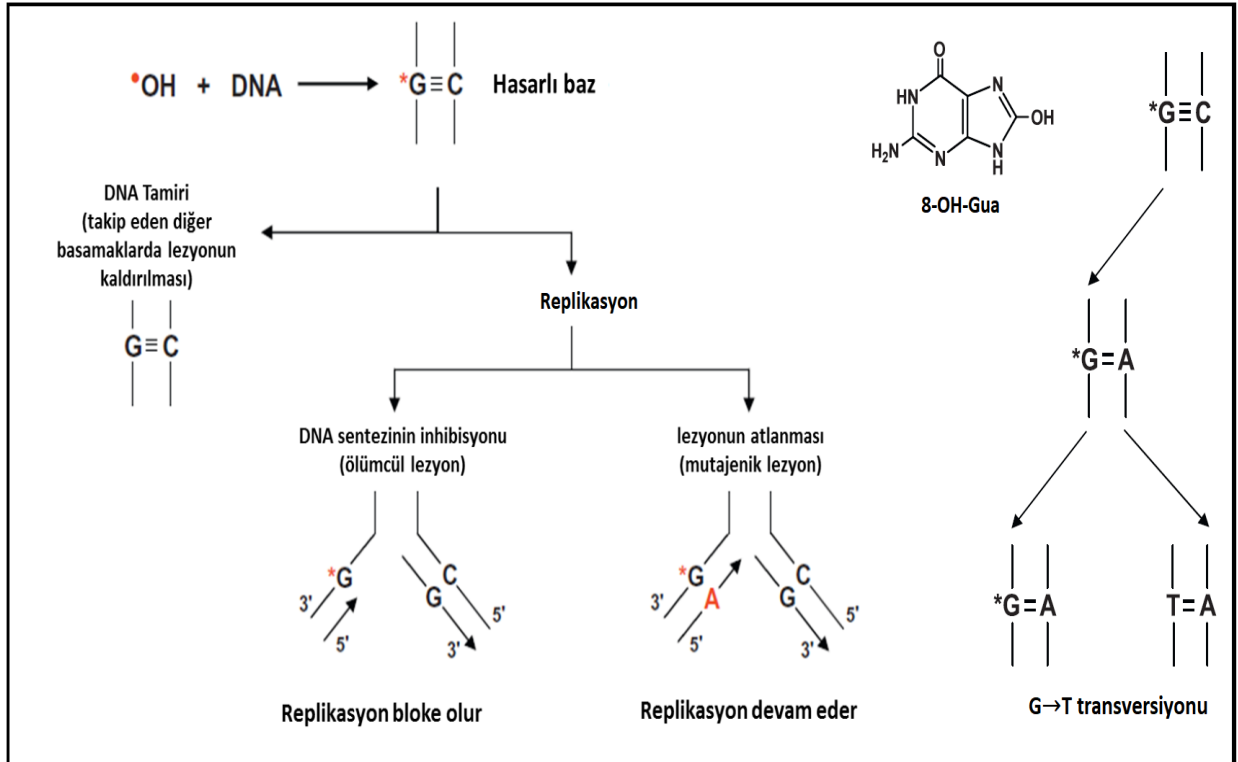
Yükselmiş idrar 8-OH-dG düzeylerinin artmış kanser, otoimmün hastalık, ateroskleroz ve diyabet ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar giderek artmaktadır (95–101). Stein ve arkadaşları erken gebelikte idrarda ölçülen artmış 8-OH-dG düzeylerinin düşük kilolu bebekler ve kısalmış gestasyon süresi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (102). Non-invaziv olarak elde edilen bir örnek olan idrardan ölçülebilmesi ve toplam oksidatif DNA hasarını yansıtmaması gibi özellikleri sebebiyle 8-OH-dG duyarlı bir oksidatif stres biyobelirtecidir (89).



Şekil 4. Oksidatif hasara uğramış DNA bazları (84)



Şekil 5. 8-OH-Gua oluşum mekanizması (84)

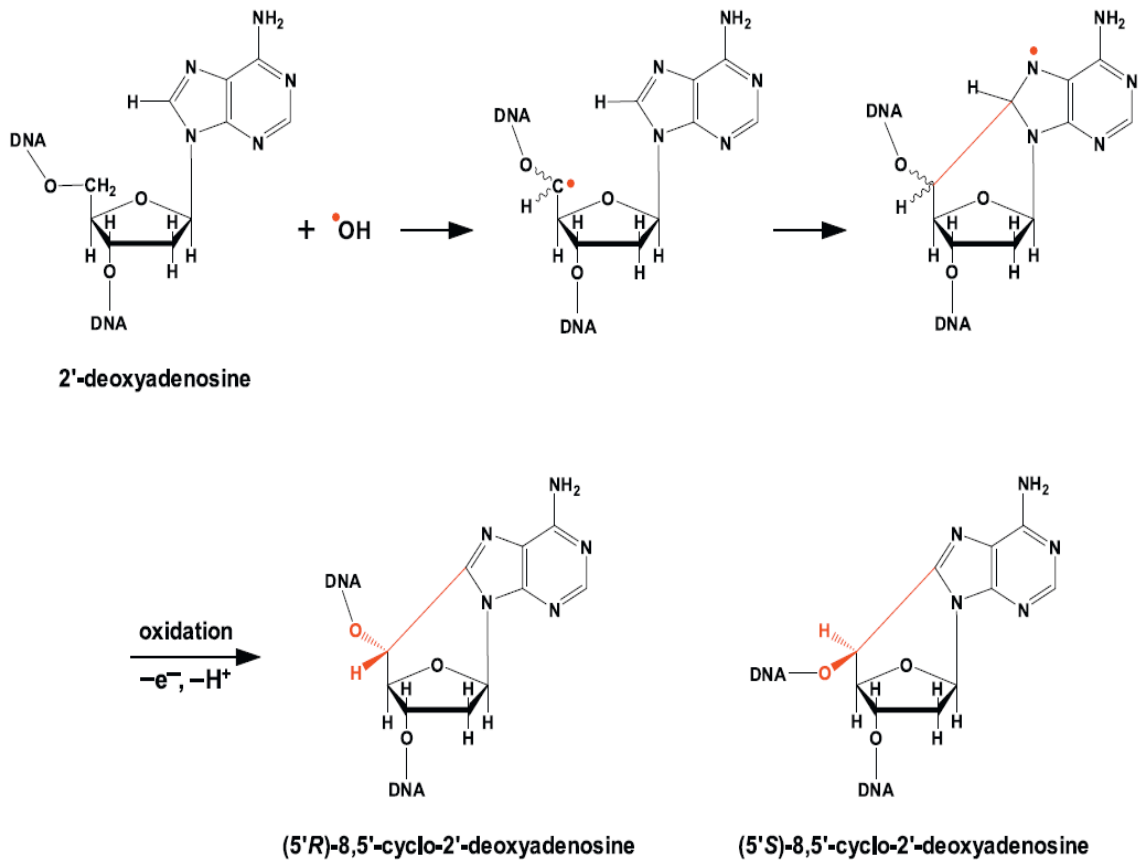


Şekil 6. 8-OH-Gua'nın replikasyona etkisi ve yanlış eşleşme sonucu $G \rightarrow T$ (84)

2.5.2 8,5'-siklo-2'-deoksiadenozinler (S-cdA ve R-cdA)

Aynı anda hem şeker hem de baz molekülünde hasarın görüldüğü bir yapı olan 8-5'-siklo-2'-deoksiadenozinler bu yönüyle tektir ve tandem lezyon olarak da isimlendirilir. 8-5'-siklo-2'-deoksiadenozin'in oluşması, oksijen yokluğunda hidroksil radikalının nükleozid içindeki şeker molekülünün 5.karbonu (C5) ve aynı nükleozidteki adenin bazının 8.karbonu arasında kovalent bağlı bir halkasal yapı oluşturması ile meydana gelmektedir (**Şekil 7**). Bu halkasal yapı DNA polimerazın ve transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasına engel olarak transkripsiyon kapasitesini azaltarak gen ekspresiyonunu düşürür (103). Oksijen varlığında ise bu reaksiyon inhibe olur ve C5'-merkezli radikeller meydana gelir (104). Hem S-diastereomeri hem de R-diastereomeri DNA'nın çift sarmal yapısını bozmaktadır (105).

R-cdA ve S-cdA'nın in vivo koşullarda düşük düzeylerde bulunması, kimyasal stabilitesi ve özgün yapısı birçok hastalığın belirlenmesinde iyi bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir (104).



Şekil 7. 8,5'-siklo-2'-deoksiadenozinlerin oluşum mekanizması (84)

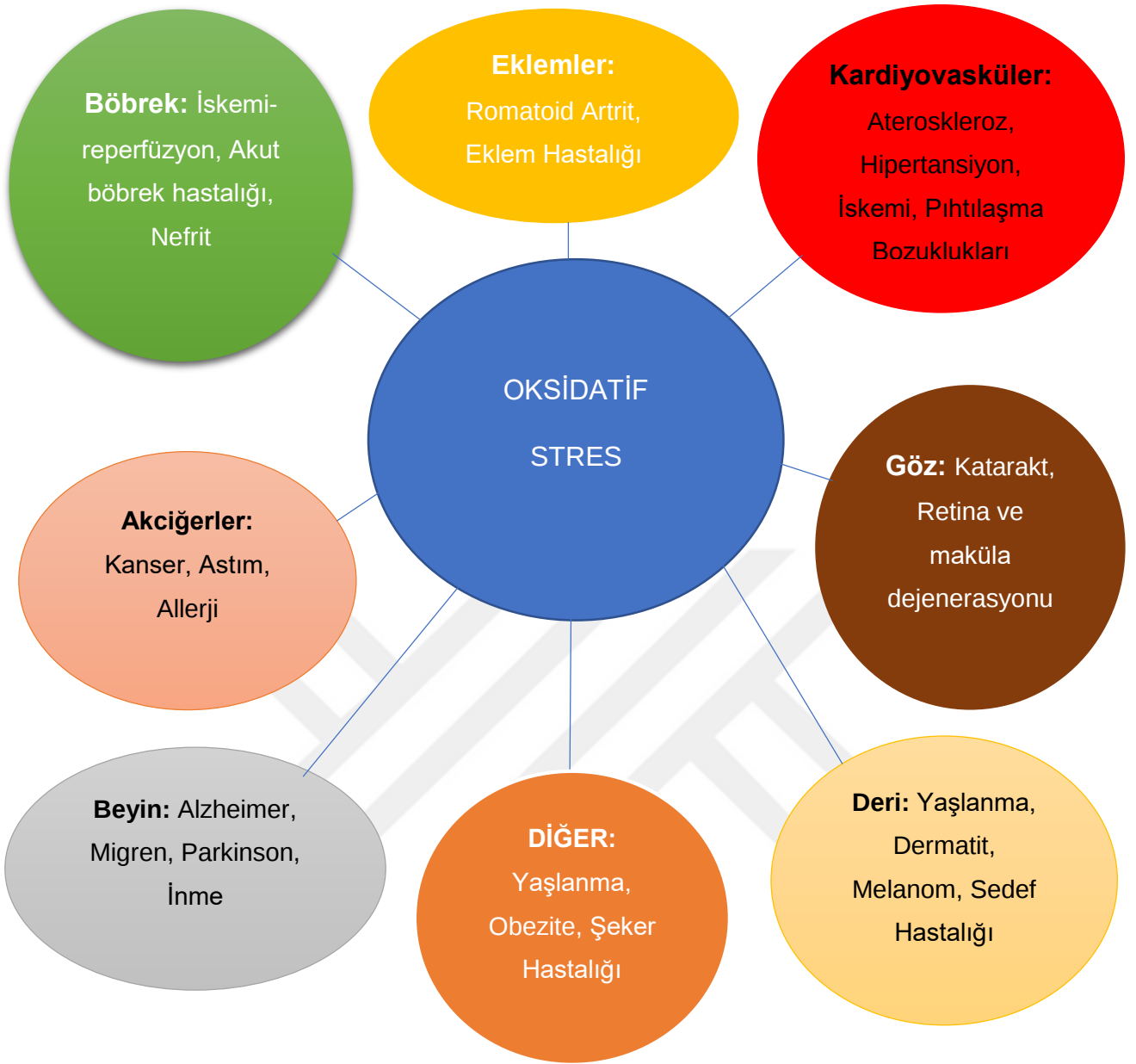
İdrar ile atılan hasarlı DNA nükleozidlerinin ölçümünde sıklıkla kullanılan yöntemler immunokimyasal teknikler, yüksek performans sıvı kromatografi (high pressure liquid chromatography, HPLC), gaz kromatografi-kütle spektrometre (gas chromatography mass spectrometry, GC-MS), sıvı kromatografi-kütle spektrometre (liquid chromatography mass spectrometry, LC-MS) ve sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometre (liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) dir. Jaruga ve ark. düşük düzeylerde bulunan DNA hasar ürünlerinin saptanması ve kantitasyonları için yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip yöntemlerin kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir (104). Avrupa Oksidatif DNA Hasarı Standartlar Komitesi (ESCODD) 8-OH-dG düzeylerinin farklı tekniklerle ölçümlerinin karşılaştırması sonucunda, en güvenilir yöntemin LC-MS/MS olduğu yönünde görüş bildirmiştir (84). Son yıllarda LC-MS/MS yöntemlerindeki gelişmeler nedeniyle 8-OH-dG'nin kantitatif ölçümünde bu yöntemin kullanımı giderek artmaktadır; yakın gelecekte de yüksek

duyarlılık, özgüllük ve güvenilirlikle aynı anda birçok analitin kantitasyonunu gerçekleştirebilme kapasitesi nedeniyle tercih edilen bir yöntem olacaktır. Biz de çalışmamızda hasarlı DNA nükleozidlerinin ölçümelerini sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometre ile gerçekleştirdik.

2.6 OKSİDATİF STRES – GDM İLİŞKİSİ

Oksidatif stres DNA, protein, lipid, karbohidrat gibi yapıları hedef alması ve hasara yol açması nedeniyle iskemik hastalıklar, Alzheimer, Parkinson, hipertansiyon, Tip 2 DM gibi birçok hastalığın patogenezinde yer almaktadır (**Şekil 8**).





Şekil 8. Oksidatif stresin ilişkili olduğu hastalıklar

Tip 2 DM'de oksidatif stres düzeyinin arttığı birçok çalışmada belirtilmiştir (87,106,107). Hastalık süresince artan glukoz düzeylerinin mitokondride reaktif oksijen türlerinin oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri, sitokrom p450, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve NADPH oksidaz ROT'un en önemli kaynaklarıdır (108). Diyabetli hastalarda oksidatif stres göstergeleri olan lipid hidroperoksidler, isoprostanlar, konjuge dienler, tiyobarbütirik asit reaktif maddeleri (TBARS) gibi molekülleri artış gösterirken; glutatyon, katalaz, süperoksit dismutaz

(SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), E ve C vitamini gibi birçok antioksidanın düzeylerinin azaldığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (109–111). Tip 2 DM’de artmış oksidatif stresin muhtemel nedenleri şu şekildedir:

- Glukozun oto-oksidasyonu
- Glukozun polyol yolağına yönlenmesi
- İleri glikasyon son ürünlerinin artışı
- Yağ asitleri ve lipid peroksidlerin artışı
- Protein kinaz C ve NADH oksidaz aktivasyonu
- Antioksidan düzeylerinin azalması veya fonksiyonlarının bozulması

2001 yılında Brownlee ve arkadaşlarının öne sürdüğü “Unifying hipotezi”ne göre, mitokondriyal elektron transport zincirinde artan $O_2^{\bullet-}$ diğer metabolik yollarda değişime sebep olmaktadır. DNA onarımında görev alan ve oksidatif DNA hasarına yanıt olarak düzeyleri artan bir protein olan poli ADP-riboz polimeraz 1 (PARP-1), glikolitik bir enzim olan gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GADPH)’ın aktivitesini inhibe ederek glikoliz ürünlerinin birikimine neden olmaktadır (112).

Hamilelik durumunda vücut, oksidatif strese daha duyarlı bir hale gelir (58). Normal gebelikte mitokondriden zengin plasenta ve dolayısıyla bol miktardaki demir ve bunun gibi geçiş elementlerinin varlığı yüksek oksidatif stres ortamına yol açmaktadır (113). Mitokondriyal DNA aynı zamanda nükleer DNA’ya kıyasla ROT gibi genotoksinlere daha duyarlıdır (114). Diyabetten etkilenen gebelerin kord kanlarında ROT ve lipid peroksidasyon ürünlerinin düzeyleri yüksek bulunmuştur (115,116). GDM’li kadınlarda hiperglisemi, reaktif oksijen türlerinin yüksek miktarda açığa çıkmasına neden olur ve diyabetin ilerlemesini hızlandırır. İnsülin üreten pankreas beta hücreleri, zayıf bir antioksidan savunmaya sahiptir ve oksidatif stresin zararlı etkilerine daha açıktır. Yüksek oksidatif stresin pankreas beta hücrelerini etkileyerek GDM oluşumunu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (117,118).

Oksidatif stresin gebelik ve gebelik dışı diyabet patogeneğinde ve komplikasyonların oluşum mekanizmasında rol oynadığı yapılan bazı çalışmalarla gösterilmiştir.

Chaudhari ve arkadaşları 20 gestasyonel diyabetli kadınla 2003 yılında yaptıkları çalışmada, GDM'li kadınlarda lipid peroksidasyon ürünlerini anlamlı olarak yüksek ve SOD aktivitesini anlamlı olarak düşük bulmuşlardır (119). Peuchant ve arkadaşları 2004'de 27 GDM'li kadınla yaptıkları çalışmada GDM'lilerde malondialdehit (MDA) düzeylerini daha yüksek bulunurken, antioksidan özelliklere sahip SOD, GPx, plazma vitamin E ve eritrosit vitamin A düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (120). Coughlan ve arkadaşlarının 2004 yılında 49 gebe plasentası üzerinde yaptıkları bir çalışmada, GDM'li gebelerde (24 gebe) plasental 8-isoprostan salınımı kontrol gebelerine göre iki kat yüksek tespit edilirken SOD aktivitesi ve protein karbonil içeriği de kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (113). Surapeni ve arkadaşları ise 2007'de 20 GDM'li gebe ile yaptıkları çalışmada, aynı sayıdaki kontrol grubu gebelerine göre GDM'lilerde MDA'yı daha yüksek bulurken, antioksidan özellikleri olan glutatyon (GSH) ve glutatyon-S-transferaz'ı (GST) anlamlı olarak daha düşük bulmuşlardır (121).

Karaçay ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları çalışmada 27 GDM'li gebenin total antioksidan kapasitesi (total antioxidant status, TAS) kontrol grubu gebelerine göre anlamlı olarak düşük bulunurken, MDA ve ileri protein oksidasyon belirteçleri (advanced oxidative protein products, AOPP) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Myeloperoksidaz (MPO) ve lipid hidroperoksitte (LHP) ise anlamlı bir fark görülmemiştir (122). Gelişgen ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları çalışmada 23 GDM'li gebede protein oksidasyon ürünlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığını ve antioksidan bir enzim olan paraoksonaz (PON1) aktivitesinin anlamlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir (123). Lopez-Tinoco ve arkadaşlarının 20 kontrole karşılık 53 GDM ile yaptıkları çalışmada lipoperoksitler (LPO) ve GPx anlamlı olarak yüksek bulunurken, antioksidan özellikteki katalaz ve SOD düşük bulunmuştur (124). Li ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları çalışmada kord kanında telomeraz revers transkriptaz üzerinden yaptıkları çalışmada GDM'li anneler (26 gebe) ve yenidoğan çocuklarda oksidatif stres düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (125).

GDM ve oksidatif stres üzerine yapılan bu çalışmalarda, Lopez-Tinoco ve Li'nin çalışmaları hariç hepsi 30'un altında GDM'li ve eşit sayıda kontrol gebeleriyle gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu çalışmaların hepsinde örnek olarak 24. gebelik haftasından sonra alınan kan örnekleri kullanılmıştır, gebeliğin ikinci trimester sonuna ve üçüncü trimesterine odaklanılmıştır.

Oksidatif stresin vücutta yarattığı hasarlardan biri olan ve bizim tezimizin de konusu olan oksidatif DNA hasarı ile GDM'nin ilişkisinin incelendiği çalışmalara değerlendirildiğinde, literatürdeki ilk çalışma olarak Qui ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları araştırma görülmektedir. Bu çalışmada 55 GDM'li ve 43 kontrol gebesinden, gebeliklerinin 16. haftasında spot idrar örneği alınmış ve örnekler enzim bağılı immün assay (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) yöntemiyle çalışılmış. Analizlerde GDM'li grubun 8-OH-dG düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bunun yanı sıra, erken dönem 8-OH-dG konsantrasyonlarının ileride GDM tanısı konan gebelerde, GDM tanısı almayacak olan gebelere göre %26 yüksek olduğunu tespit etmişler (126). Yine Qui ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptığı başka bir çalışmada ise, 19 GDM ve 21 kontrol gebesinin plasentalarında oksidatif stres düzeyleri ile mitokondriyal DNA kopya sayısının birlikteliği ve plasental oksidatif DNA hasarı (8-OH-dG) araştırılmış ve oksidatif DNA hasarı parametresi olan 8-OH-dG ile plasental mitokondriyal DNA kopya sayısı ilişkili bulunmuştur. Ancak GDM'li grup ile kontrol grubunun plasental 8-OH-dG düzeyleri arasında bir fark görülmemiştir. Bu çalışmada da 8-OH-dG düzeyleri ELISA yöntemiyle çalışılmıştır (127).

Jamil ve arkadaşlarının 2014'de 29 GDM ve 44 kontrol gebesiyle yaptıkları çalışmada gebeliğin 24. haftasında serumdan ELISA yöntemi ile ölçülen 8-OH-dG düzeyleri GDM grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (128). Aynı çalışmada serumdan ölçülen MDA düzeyi GDM'lerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ve çalışmaya katılan tüm gebelerdeki serum 8-OH-dG ile serum MDA düzeyleri arasında orta düzeyde anlamlı bir pozitif korelasyon saptanmıştır ($r=0.67$). Yine aynı çalışmada glutatyon (GSH) düzeyi GDM'lilerde anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Gelaleti ve arkadaşları 2015 yılında yürüttükleri çalışmada gebeleri kontrol (41), hafif gestasyonel hiperglisemi (24) ve GDM (46) olarak üç gruba ayırmışlardır. GDM için 75 gr OGTT Carpenter&Coustan kriterleri (açlık ≥ 95 mg/dL; 1.saat ≥ 180 mg/dL;

2.saat ≥ 155 mg/dL; tek kriter tanı için yeterlidir) kullanılırken, hafif gestasyonel hiperglisemi grubu OGTT'ten GDM tanısı alamayan ama anormal glisemik profile sahip olan gebelerden oluşmuştur. Glisemik profilde anormallik ise Gillmer ve arkadaşlarının önerdiği şekilde açlık ≥ 90 mg/dL ve/veya postprandiyal ≥ 130 mg/dL olarak tarif edilmiştir. Kan ve idrar örnekleri 34.haftadan doğuma kadar olan süreçte toplanmıştır. Pürin bazlarındaki oksidatif hasarı göstermek için formamidoprimidin DNA glikozilaz (FPG) , pirimidin bazlarındaki oksidatif hasarı göstermek için Endonükleaz 3 (Endo 3) enzimlerinin kullanıldığı çalışmada bu parametreler comet assay ile çalışılırken idrar 8-OH-dG düzeyleri ELISA ile ölçülmüştür. Çalışmanın sonuçlarına göre pürin baz hasarı GDM grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak artmışken, pirimidin baz hasarı hafif gestasyonel hiperglisemi grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İdrar 8-OH-dG düzeyleri GDM'de daha fazla olmak üzere iki hiperglisemik grupta da artmış olarak bulundu ancak bu fark anlamlı değildi (32).

Moreli ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada, gebeleri glisemik açıdan sınıflandırmada Gelaleti'nin çalışmasına benzer bir yöntem kullanmıştır. Gelaleti'nin çalışmasından farklı olarak Tip 2 DM'li gebeleri de çalışmaya alıp gebeleri dört gruba ayırmışlar ve kan örneğini gebeliğin 36. haftasında almışlardır. Ek olarak doğum sırasında umbilikal kord kanı örneğini de almışlardır. DNA hasarı polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction, PCR) yöntemi ile ölçülmüştür. 45 GDM'li gebeyi içeren bu çalışmada GDM ve Tip 2 DM grupları artmış oksidatif stres ile ilişkili bulunmuştur ve bu iki grupta da nükleer ve mitokondriyal DNA hasarı artmıştır. Umbilikal kord kanı DNA hasar miktarlarında da benzer yükseklik saptanmıştır. Bu çalışmadan çıkan bir başka sonuca göre, maternal hücreler fetal kan hücrelerine göre hiperglisemik ortamda hasar görmeye daha yatkındır. Bunun sebebi olarak da fetal hücrelerin DNA tamir cevabını sağlayacak çeşitli genleri upregule etmede farklı bir yeteneğe sahip olabileceği öne sürülmüştür (33).

Zein ve arkadaşlarının 2017 yılında 14 GDM ve 79 kontrol gebesi ile yaptıkları çalışmada DNA hasarı yüksek bulunan kadınlarda GDM gelişme riskini logistik regresyon analizine göre altı kat yüksek bulmuşlardır (66). Bu çalışmada kan örnekleri 24-28. haftalarda toplanmış ve DNA hasarı comet assay yöntemi ile saptanmıştır. Yine 2017 yılında Toljic ve arkadaşlarının 37 GDM ve 28 kontrol gebesini kıyasladıkları bir çalışmada, GDM grubunun 8-OH-dG düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur

(129). Bu çalışmada da kan örnekleri gebeliğin 24-28. haftalarında toplanmış ve 8-OH-dG parametresi ELISA ile çalışılmış.

Literatürdeki gestasyonel diabetes mellitus ve/veya hafif gestasyonel hiperglisemide oksidatif DNA hasarını inceleyen çalışmalarda GDM'li ve/veya hafif gestasyonel hiperglisemisi olan gebelerin kan, idrar ve plasenta doku örneklerinde oksidatif DNA hasarı ELISA, PCR veya comet assay yöntemleri ile incelenmiştir. Maternal kan, idrar ve kordon kanı örneklerinde oksidatif DNA hasarı düzeyleri (8-OHdG, pürin ve pirimidinler) kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış iken, plasenta dokusunda 8-OH-dG düzeyi açısından kontrol ve hasta grupları arasında fark bulunmamıştır. Ayrıca yapılan bu çalışmalar gebeliğin 16-40. haftaları arasında alınan örnekler ile gerçekleştirilmiş, erken dönem (11-14. haftalar) gebelik haftalarında oksidatif DNA hasarını inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. GDM'li hastaların idrar örnekleri ile yapılan çalışmalarda tek bir üriner 8-OHdG ölçümünün tüm gebelik boyunca zamana bağlı olarak görülebilen oksidatif stresi yansıtmada yeterli olmayacağı bildirilmiştir. Bu nedenle, belirli zaman aralıklarında ardışık üriner 8-OHdG ve ayrıca diğer nükleozidlerin de düzeylerinin ölçümleri, hamilelik sürecinde maternal oksidatif stres durumundaki değişiklikleri ve patofizyolojik sonuçları aydınlatmak için son derece önemlidir, gereklidir.

Bunun yanı sıra, gebelerdeki yüksek demir depo düzeyi veya iatrojenik demir fazlalığı ile oksidatif stres-GDM birlikteliğinin incelendiği çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Gebelerde demir takviyesinin oksidatif stresi ve GDM'yi tetiklediğinin saptanması, günümüzde rutin olarak uygulanmakta olan gebelere demir replasmanı yaklaşımının sorgulanmasına sebep olacaktır.

Bu bilgiler ışığında gebelerde prospektif bir çalışma planlayarak, gebelerden ilk trimester ve ikinci trimester sonunda topladığımız idrar örneklerinde referans yöntem olan sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometrik ile hasarlı DNA nükleozidlerini ölçümünü gerçekleştirmeyi; elde edilen bulguları gebelerdeki demir depo düzeyleri ile karşılaştırmayı amaçladık.

3 GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 ARAŞTIRMANIN TİPİ

Bu tez çalışması, prospektif bir araştırmadır.

3.2 ARAŞTIRMANIN YERİ VE ZAMANI

Bu çalışma Mart 2016 – Ağustos 2018 tarihleri arasında gebelik takipleri için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Gebe Polikliniği ve Riskli Gebe Poliklinikleri'ne başvuran gebelerde yapılmıştır.

3.3 ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 18 Şubat 2016'da onaylandıktan sonra başlatıldı (Ek-1). Çalışmaya katılmak isteyen gebelere "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" (Ek-2) okutuldu; çalışma hakkında bilgilendirildi ve yazılı onamları alındı. Çalışmaya katılan gebelerden gebeliklerinin 11-14. ve 24-28. haftalarında sabah idrarı ve kan örnekleri alındı.

3.4. ARAŞTIRMANIN EVRENİ VE ÖRNEKLEMİ

Araştırmaya dahil olan gebelere, gebeliklerinin 11-14. haftalarında çalışma hakkında bilgilendirilerek çalışmaya katıldıklarını kabul ettiklerine dair onam formu imzalatıldı ve sabah ilk idrarlarını yapıp getirmeleri için idrar kabı verildi. Aynı zamanda bu gebelerin 11-14 haftalık iken açlık kan şekeri, ferritin, kan sayımı (hemogram), HbA1c analizleri Dokuz Eylül Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Daha sonra bu gebelere gebeliklerinin 24-28. haftalarında oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapıldı ve testteki kan glukoz değerlerine göre gebeler olgu grubu ve kontrol grubu olarak ikiye ayrıldı. 11-14. haftalarda olduğu gibi 24-28. haftalarda da gebelerden ferritin, kan sayımı (hemogram), HbA1c analizleri Dokuz Eylül Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Olgu grubu Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Gebe Polikliniği'ne başvuran gebeler arasındaki GDM (n=33) hastalarından oluşmaktadır.

Kontrol grubu ise Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Gebe Polikliniği'ne başvuran gebelerde 75 gramlık şeker yükleme testinde veya açlık kan şekeri analizinde kan şekeri limit değerlerin altında çıkan gebelerden oluşturulmuştur (n=84).

Gebe Polikliniği'ne başvuran gebelerin demografik verileri (yaş, gebelik sayısı, doğum sayısı, demir takviyesi alıp almadığı, ek hastalıkları, kullandığı ilaçlar ve sigara öyküsü) kaydedildi. Vücut ağırlıkları ve kan basıncı kaydedildi.

11-14. haftalarda ve 24-28. haftalarda gebelerden toplanan sabah ilk idrar örneklerinden idrar kreatinini aynı gün Dokuz Eylül Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda çalışılırken, kalan idrar örnekleri LC-MS/MS'te gerçekleştirilecek DNA nükleozid hasarı çalışmaları başlatılana kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklandı.

Olgu ve kontrol gruplarının seçilmesinde dahil olma ve dışlanma kriterleri şu şekilde belirlenmiştir.

Araştırmaya dahil edilen GDM hastalarında kullanılacak olan kriterler:

- 75 gram glukoz yükleme testinde (OGTT);
Açlık plazma glukoz seviyesinin 92 mg/dL ve üzerinde olması
1.saat glukoz değerinin 180 mg/dL ve üzerinde olması
2. saat glukoz değerinin 153 mg/dL ve üzerinde olması

Çalışmadan dışlanma kriterleri;

- 18 yaşından küçük olmak,
- Akut ya da kronik inflamatuvar hastalığı bulunanlar (Enfeksiyonlar, romatoid artrit, bağ doku hastalıkları, spondilartropatiler, inflamatuvar barsak hastalıkları, bazı karaciğer hastalıkları vs)
- Alkol kullanmak,
- Kanseri hastalığı öyküsünün olması,
- Hemodializ hastası olması,
- Uzun süreli açlık

- Ketoasidozu bulunanlar
- Kronik obstrüktif akciğer hastalığı öyküsünün olması,
- New York Heart Association (NHYA) kriterlerine göre evre III-IV kalp yetmezliğinin olması,
- Herhangi bir sebepten dolayı steroid tedavisi alıyor olması veya son üç ay içerisinde steroid tedavi öyküsünün olması,
- İstenilen dönemde kan/idrar örneği veremeyecek gebeler
- Çoğul gebeliği olanlar

3.5 ARAŞTIRMANIN DEĞİŞKENLERİ

Araştırmadaki bağımsız değişkenler;

- Vücut Kitle İndeksi
- Glisemik profil
- Arteriyal Tansiyon
- Hastanın kanındaki demir depo düzeyleri

Araştırmadaki bağımlı değişkenler;

- Hastanın idrarındaki 8-OHdG, S-cdA ve R-cdA düzeyleri

3.6 VERİ TOPLAMA ARAÇLARI

3.6.1 Kullanılan Cihaz, Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeleri

Çalışmamız esnasında kullanılan cihazlara **Tablo 8**'de, kimyasal malzemeler ve sarf malzemelerine ise **Tablo 9** ve **Tablo 10**'da yer verilmiştir.

Tablo 8. Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz adı	Marka	Model
Otoanalizör	Beckman Coulter, ABD	AU5800
Otoanalizör	Beckman Coulter, ABD	DXI800
Otoanalizör (Kan Sayım)	Beckman Coulter, ABD	LH780
HPLC	Tosoh, Japonya	G8
HPLC	Shimadzu, Japonya	20 AD
MS/MS Tandem Kütle Spektrometre	AB SCIEX, ABD	4000 Q TRAP
Derin Dondurucu	Thermo, ABD	88000
Buzdolabı	Uğur, Türkiye	USS 748 DIKL
SpeedVac (Konsantratör Sistemi)	Savant ISS 110, ABD	SC210A SpeedVac Plus ve RVT 4104 soğutulmuş buhar tuzağı
Santrifüj	Nüve, Türkiye	NF 800R
Santrifüj	Sigma, ABD	2K15C
Otomatik Pipet	Thermo, ABD	Eppendorf Research
Otomatik Pipet	Thermo, ABD	Eppendorf Scientific
Saf Su Cihazı	Millipore Milli Q, Almanya	ZLX55003Y
Vortex	WiseMix-Wisd, Almanya	VM 10
Isıtıcı Blok	Wisd, Almanya	HB-48
pH Metre	JP selecta, İspanya	PH-2005
Hassas terazi	Precisa, İsviçre	XB 220A

Tablo 9. Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler

Kit Adı	Yöntem	Katalog Numarası	Firma
Kreatinin	Kolorimetrik	OSR6178	Beckman Coulter, ABD
Ferritin	Kemilüminesans immunoassay	33020	Beckman Coulter, ABD
Hemogram	Empedans	8547195	Beckman Coulter, ABD
HbA1c	HPLC	018431L	Tosoh, Japonya
Tris Tamponu		252859	Sigma, ABD
Sodyum asetat (CH ₃ COONa)		S8750	Sigma, ABD
Metanol		10696118	Merck, Almanya
Alkalen Fosfataz		12515221	Roche, İsviçre
Asetonitril		1622530	Merck, Almanya
Formik Asit		K42429564	Merck, Almanya

Tablo 10. Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri

Kit Adı	Marka/Model	Kullanım amacı
Polipropilen Tüp (15 mL'lik)	ISOLAB, Almanya	Hasarlı DNA Nükleozidlerinin örnek hazırlık aşaması
Eppendorf Tüp	LP Italiana, İtalya L111540	Hasarlı DNA Nükleozidlerinin örnek hazırlık aşaması
Cam vialler	Thermo Scientific, ABD Chromacol 10003264	Hasarlı DNA Nükleozidlerinin LC-MS/MS cihazına aktarımı
İnsert vialler	Fisher, ABD 401BS-530	Hasarlı DNA Nükleozidlerinin LC-MS/MS cihazına aktarımı
Filtreli Santrifüj Tüpü	Pall, ABD Nanosep 3K OMEGA	Hasarlı DNA Nükleozidlerinin örnek hazırlık aşaması
C18 HPLC	Agilent, ABD Zorbax SB Aq	LC-MS/MS
Katı Faz Ekstraksiyon Kartuşu	Waters, ABD Oasis HLB 3 cc(60 mg)	Hasarlı DNA Nükleozidlerinin örnek hazırlık aşaması
8-OH-dG Standardı	NIST, ABD	Hasarlı DNA nükleozidlerinin kantitatif analizi
8-OH-dG İnternal Standardı	NIST, ABD	Hasarlı DNA nükleozidlerinin kantitatif analizi
S-cdA Standardı	NIST, ABD	Hasarlı DNA nükleozidlerinin kantitatif analizi
S-cdA ve R-cdA İnternal Standardı	NIST, ABD	Hasarlı DNA nükleozidlerinin kantitatif analizi

3.6.2 İdrarda hasarlı DNA Nükleozidlerinin Kantitasyon Yöntemi

Çalışmada olgu ve kontrol gruplarından alınan idrar örneklerinde hasarlı DNA nükleozidlerinin düzeyleri LC-MS/MS SID-MRM (Stabil izotop dilüsyonu-Çoklu reaksiyon izleme) yöntemi ile belirlendi.

3.6.2.1 Hasarlı DNA Nükleozidlerinin Ekstraksiyon Basamakları

- DNA nükleozidlerinin analizinde sabah ilk idrarı örneği kullanıldı. Ekstraksiyon öncesinde bir miktar idrar örneğinden kreatinin ölçümü yapıldı.
- Ekstaksiyon için 1.3 mL idrar örneği içine stabil izotoplar ile işaretlenmiş internal standartlar, 8-OH-dG¹⁵N5, S-cdA¹⁵N5 ve R-cdA¹⁵N5 eklendi.
- İnternal standart (IS) eklenmiş örnekler oda ısısında 1000 g'de 15 dk santrifüjlendi.
- Süpernatantlar şırınga filtreleriyle (gözenek çapı 0.22 µm) filtrenelerek bir sonraki tüpe aktarıldı.
- Katı faz ekstaksiyon kartuşu (60 mg) 1 mL metanol ile aktive edildi, 15 dakika kuruması beklendi ve sonrasında 2 ml distile H₂O ile yıkandı.
- IS eklenmiş ve filtrelenenmiş 1 mL idrar örneği katı faz ekstraksiyon kartuşuna yüklendi ve devamında kartuş 2 mL distile H₂O ile yıkandı.
- Örnekler %30 Metanol ile ekstrakte edildi ve SpeedVac ile kurutuldu.
- Kurutulmuş örnekler 100 µL digestion buffer (10 mM Tris tamponu pH 7.5, 1 M NaAsetat) ile çözüldü ve 1 µL 22 U Alkalen Fosfataz eklenerek 37°C'de 1 saat inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında 14000 G'de 10 dakika santrifüjlenen örnekler ultrafiltrasyon membranları ile 5000 G'de 50 dk filtrelendi.
- Örnekler HPLC viallerine aktarıldı ve LC-MS/MS analizleri gerçekleştirildi.

3.6.2.2 LC-MS/MS SID-MRM

SID-MRM LC-MS/MS, ileri doğruluk ve özgüllüğe sahip bir ölçüm metotudur. Günümüzde vitamin, hormon, biyolojik aminler, metabolik hastalık taraması, toksikolojik ilaç düzeyi tayini gibi birçok alanda kullanılmaktadır.

LC-MS/MS sisteminde analizi yapılacak maddeler ilk aşamada, MS ile ardışık yer alan HPLC de ayrılır. Analitler, sıvı kromatografide sabit faz ve hareketli faz ile farklı etkileşimlere girerek kolon içerisinde farklı hızlarda hareket ederler ve kolonu farklı zamanlarda terk ederler. Kolonu terk eden maddeler bir sonraki aşama kütle spektrometresi cihazına geçerler.

Kütle spektrometresinin temel prensibi, analitleri moleküler kütlelerine ve yüklerine göre tanımlayıp kantitasyonunu yapmaktır. Analitler elektriksel bir alanda gaz fazında iyonize olur ve sonrasında bir dedektör tarafından kütle/yük (m/z) oranına göre kantite edilir. İyonizasyon kaynağı molekülleri uyararak yüklü iyonize moleküller haline getirir ve bu moleküllerin kütle/yük oranları kütle spektrometresinde ölçülür.

Elektrosprey iyonizasyon (ESI) en sık kullanılan MS iyonizasyon yöntemlerinden biridir ve biz de çalışmamızda bu iyonizasyon tekniğini kullandık. Bu yöntemde sıvı örnek bir iğne ucundan püskürtülerek nitrojen gazı ve yüksek sıcaklığın etkisiyle kararsız yüklü damlacıklar haline getirilir. Damlacıkların etrafındaki sıvı faz buharlaşır ve bu damlacıklar kütle analizörü kısmına gelir. Kütle analizöründeki elektriksel alan belirli iyonların geçişine izin verirken, istenmeyen diğer iyonları tutarak bir m/z filtresi görevi görür.

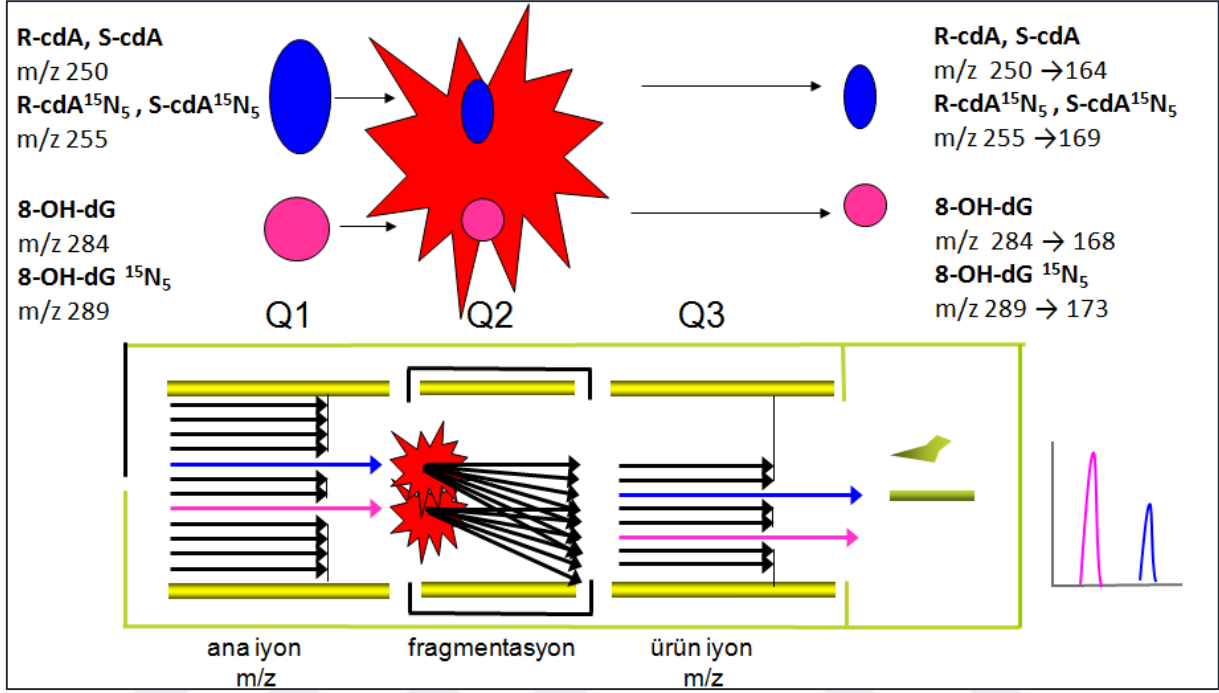
İki kütle analizörünün arka arkaya geldiği sistemelere Tandem MS ismi verilir. Tandem MS'lerde iki kütle analizörü arasından bir çarpışma odacığı yer alır. Bu ara kısımda kütle analizi yapılmaz ama fragmentasyon ve iyonların transit geçişi için gerekli ortam sağlanır.

Kütle analizörlerinin kullanım amaçlarına göre farklı çeşitleri vardır. Bizim çalışmamızda kullandığımız tandem kütle analizörü triple quadrupole-lineer iyon trap (QQQ/LIT) özelliğindedir. QQQ/LIT Tandem MS özelliğinde olup analitlerin mutlak kantitasyonuna ve kalitatif karakterizasyonunu belirlemeye yarayan bir hibrid kütle analizörüdür. Triple quadrupole kütle analizörlerinde çeşitli amaçlara yönelik farklı tarama modları kullanılmaktadır;

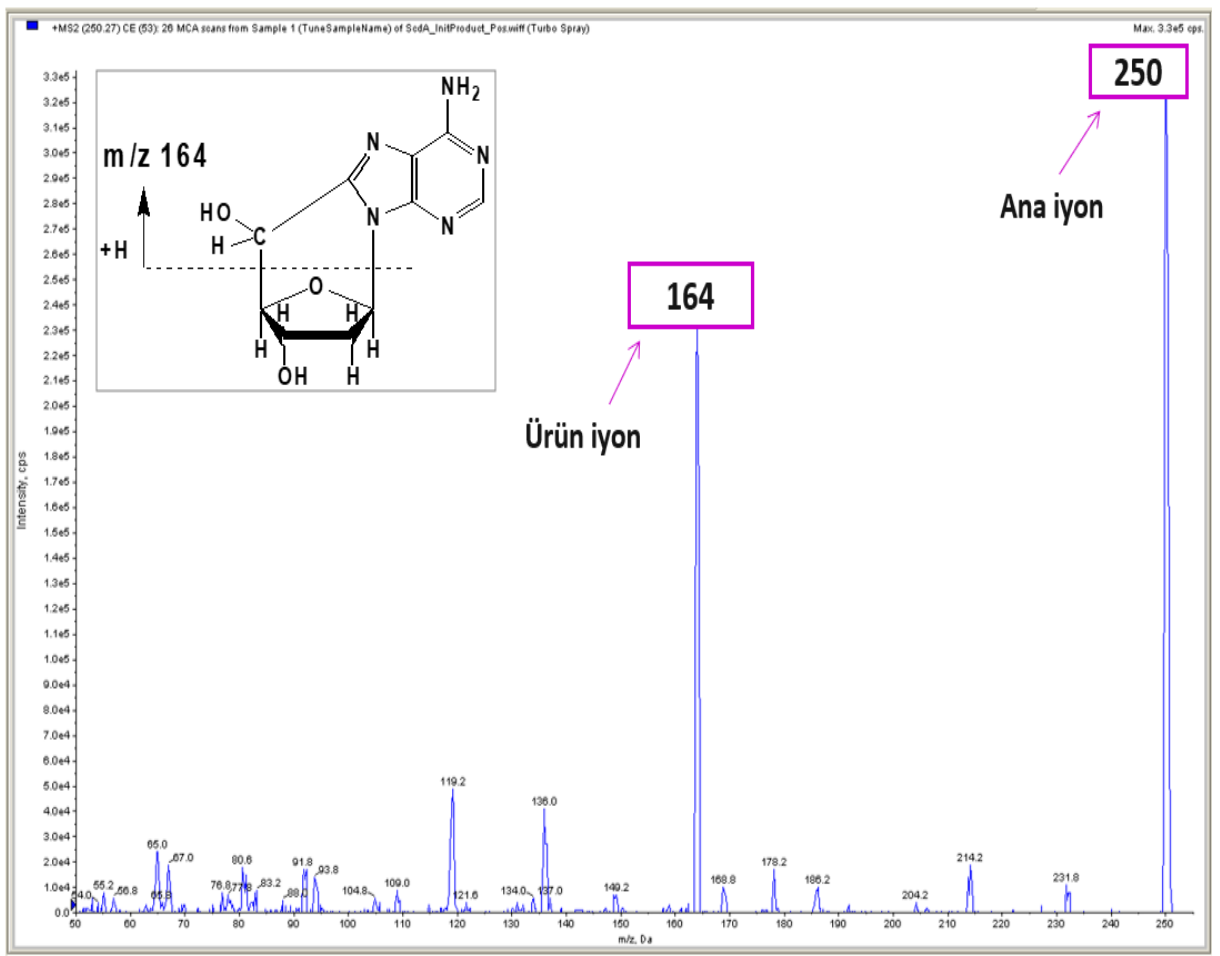
- Öncül iyon
- Ürün iyon
- Nötral kayıp
- Çoklu reaksiyon izleme (Multipl Reaction Monitoring – MRM)

Çalışmamızda çoklu reaksiyon izleme (MRM) tarama modu kullanılmıştır. MRM'de birinci quadrupolde (Q1) önceden cihaza tanımı yapılmış m/z değerindeki moleküllere ait ana iyon seçilir. İkinci quadrupol (Q2) aynı zamanda çarpışma odacığı (collision cell) adını da alır. Burada, Q1'de seçilmiş olan iyonlar N_2 , Ar, He gibi inert gazlarla

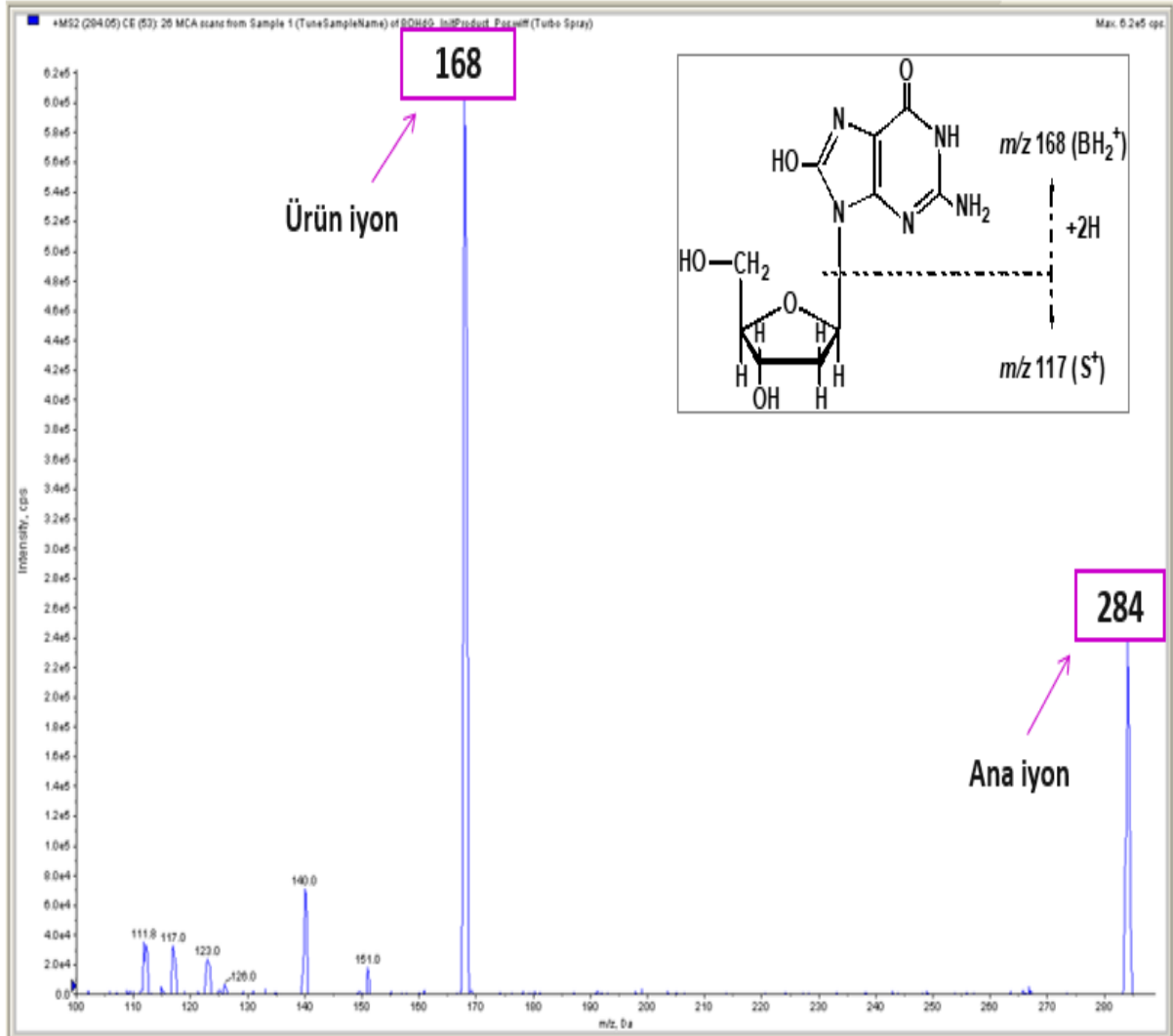
çarpıştırılır ve parçalarına ayrılır (fragmente iyon, ürün iyon oluşumu). Q2’de oluşan ürün iyonlar Q3’e geldiğinde belirlenen m/z değerindeki ürün iyonlar seçilir. Seçilen ana iyon/ürün ikilisi (transition) detektöre ulaştığında m/z değerine karşı iyonların sinyal yoğunluğu (intensite) kütle spektrumu olarak kaydedilir (**Şekil 9**).



Şekil 9. Tandem MS şematik gösterimi ve çalışmamızda ölçtüğümüz analitler



Şekil 10. R-cdA ve S-cdA fragmentasyonu



Şekil 11. 8-OH-dG fragmentasyonu

Yüksek Performans Sıvı Kromatografi Koşulları

Çalışmamızda kullanılan HPLC cihazı Shimadzu Prominence modüler sistemdir. Bu modüler sistem, pompa sistemi (LC-20AD), oto-örnekleyici (SIL-20AC HT), degasser ünitesi (DGU-20A3) ve kolon fırını (CTO-10AS) içermektedir.

İdrar örneklerinde nükleozid hasar parametreleri C18 kolonu (Agilent Zorbax SB Aq) ve guard kolonu (Agilent Eclipse XDB) ile 37°C'de 0,3 mL/dk akış hızında ayrımlandı. Mobil faz olarak % 0,1 formik asit içeren distile su (A) ve % 0.1 formik asit

içeren asetonitril (B) kullanılarak gradient analiz gerçekleştirildi. Enjeksiyon hacmi standartlar için 10 µL, idrar örnekleri için 30 µL olup toplam analiz zamanı 26 dakikadır.

Tandem Kütle Spektrometre Koşulları

Çalışmada kullanılan Tandem MS cihazı elektrosprey iyonizasyon kaynağı (Turbo V®) ile bağlı 4000 QTRAP (AB SCIEX, ABD) modelidir. Azot jeneratörü (Peak Scientific) ve vakum pompası (Oerlikon) da içermektedir.

Tandem MS'te analizler MRM modunda gerçekleştirildi ve nükleozid hasar parametreleri için pozitif iyonizasyon kullanıldı. Ölçümün güvenilirliğini arttırmak adına çalışmanın başında her bir örneğe stabil izotoplarla işaretlenmiş internal standart (IS) eklendi. Bu sayede Tandem MS öncesi (ekstraksiyon problemleri, HPLC/kolon problemleri) veya tandem MS koşullarında (iyonizasyon vb.) oluşabilecek değişiklikler normalize edildi. Stabil izotoplarla işaretli IS'lerin kimyasal özellikleri, kromatografi ile ayırılma özellikleri, iyonizasyon etkinliği ve fragment iyon dağılımları hedef analit ile aynı iken, daha yüksek moleküler kütleye sahip olması nedeniyle m/z oranı farklıdır. Biz bu çalışmamızda internal standart olarak ¹⁵N atomunu kullandık.

Çalışmamızda analizi yapılan hasarlı DNA nükleozidlerinin ve onların internal standartlarının m/z oranı ve alıkonma zamanları **Tablo 11**'de gösterilmiştir. Hasarlı DNA nükleozidlerinin düzeyleri idrar kreatinin değerleriyle oranlanarak hesaplandı (130).

Tablo 11. Hasarlı DNA nükleozidlerinin iyon çiftleri ve alıkonma zamanları

Ana iyon/ürün iyon çiftleri ve kütle/yük oranları (m/z)		Alıkonma Zamanı (dk)
8-OH-dG	284 → 168	4.32
8-OH-dG- ¹⁵ N ₅	289 → 173	4.31
R-cdA	250 → 164	2.24
R-cdA- ¹⁵ N ₅	255 → 169	2.21
S-cdA	250 → 164	3.82
S-cdA- ¹⁵ N ₅	255 → 169	3.81

3.6.3 Hemogram Ölçüm Yöntemi

Hemogram analizi tam kan numunelerinde DEÜTF Merkez Laboratuvarı'nda Beckman Coulter LH780 kan sayımı analizöründe gerçekleştirildi.

3.6.4 HbA1c Ölçüm Yöntemi

HbA1c analizi tam kan numunelerinde DEÜTF Merkez Laboratuvarı'nda Tosoh HLC-723 G8 glikohemoglobin analizöründe gerçekleştirildi. HbA1c pik alanı tüm hemoglobin pik alanlarına oranlanarak % sonucu hesaplandı.

3.6.5 Ferritin Ölçüm Yöntemi

Serum örneklerinde ferritin ölçümü DEÜTF Merkez Laboratuvarı'nda Beckman Coulter Dxl analizöründe kemilüminesans immünoassay yöntemi ile gerçekleştirildi.

3.6.6 Kreatinin Ölçüm Yöntemi

Toplanan idrar örneklerinde kreatinin ölçümü DEÜTF Merkez Laboratuvarı'nda bulunan Beckman Coulter AU-5800 analizöründe kolorimetrik yöntem (Jaffe reaksiyonu) ile gerçekleştirildi.



3.7 ARAŞTIRMA PLANI VE TAKVİMİ

Temmuz 2015 – Aralık 2015	▪ Tez önerisi hazırlanması ▪ Tez önerisi sunumu ve kabulü
Şubat 2016	▪ Etik Kurul onayı ▪ Proje önerisinin hazırlanması
Mart 2016	▪ Örnek toplama başlangıcı
Mart 2016 – Ağustos 2018	▪ Biyokimyasal analizler
Haziran 2016	▪ Projenin kabul edilmesi ▪ Malzeme alımları
Mart 2018	▪ LC-MS/MS ön çalışması
Ağustos 2018	▪ Örnek toplama aşamasının bitirilmesi ▪ LC-MS/MS analizleri
Eylül - Ekim 2018	▪ LC-MS/MS analizleri ▪ İstatistiksel analizler
Ekim 2018- Mart 2019	▪ Tez yazımı

3.8 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İstatistiksel değerlendirmeler 'SPSS for Windows 22.0'(USA) programı ile yapıldı.

Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Saphiro Wilk testleri ile değerlendirildi. Bağımsız grupların karşılaştırılmasında Bağımsız T (Independent T) testi uygulandı. Bağımlı grupların kıyaslanmasında ise Paired T testi uygulandı. Gruplar arasındaki DNA hasar parametreleri açısından farkın anlamlılığına ek hastalıkların varlığının, sigara kulanma durumunun, yaş ve VKİ'nin etki edip

etmediği kovaryans analizi (ANCOVA) ile test edildi. İki değişken arasında bağ olup olmadığını anlamak için Ki-kare testi uygulandı. Korelasyon analizleri Pearson's test ile gerçekleştirildi.

3.9 ARAŞTIRMANIN KISITLILIKLARI

Gebelerden hem birinci trimester hem de ikinci trimesterde örnek alınması ve bundan kaynaklı gebe takibi, çalışmanın ana zorluğunu oluşturdu. Gebelerin bu dönemde şehir/hastane değişikliği yapması birçok gebeye ulaşılmasını engelledi.

Bunun yanı sıra, sabah ilk idrar örneğinin istenmesi ve gebelerin bu yüzden idrarlarını o anda yapmak yerine bir sonraki randevusunun olduğu gün veya başka bir günün sabahı yapıp getirmek zorunda olması örnek alımını zorlaştırdı.

Yaklaşık olarak 3 gebeden biri şeker yükleme testini yaptırmak istemedi. Gebelerdeki eksik HbA1c sonuçları çalışmamızın etkisini bir miktar azalttı.

DNA hasar parametrelerinin ölçümünde yararlandığımız tandem kütle spektrometre cihazında yaşadığımız teknik sorunlar nedeniyle bazı gecikmeler ortaya çıktı.

4 BULGULAR

4.1 ÇALIŞMA GRUBUNU TANIMLAYICI BULGULAR

4.1.1 Yaş ve Vücut Kitle İndeksi Verileri (Demografik Veriler)

Çalışmamıza 84'ü sağlıklı, 33'ü Gestasyonel Diyabetes Mellitus'lu 117 gebe katılmıştır. Olgu ve kontrol grubunun yaş ve vücut kitle indeksi (VKİ) verileri **Tablo 12**'de mevcuttur.

Tablo 12. Gebelerin yaş ve VKİ verileri

	Kontrol grubu (n=84)	GDM grubu (n=33)	p değeri
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	
Yaş (yıl)	29,15±5,74	30,45±5,16	0,239
VKİ (kg/m ²)	25,43±4,62	25,59±3,47	0,819
Gruplar Bağımsız T Test ile karşılaştırıldığında p<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlıdır.			

Kontrol ve GDM gruplarına ait demografik veriler arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

4.1.2 Önceki Gebeliklerden GDM Varlığı

Çalışmaya dahil edilen 117 gebeden yalnızca 1'inin (%0.85) önceki gebeliklerinde GDM geçirdiği tespit edilmiştir. Sayı çok az olduğu için istatistiksel olarak ayrı bir değerlendirme yapılmamıştır.

4.1.3 Ek Hastalık

Çalışma grubumuza dahil ettiğimiz toplam 117 gebeden 19 gebede hipotiroidi, 14 gebede hafif derecede anemi, üç gebede sedef, ikişer gebede astım, mitral valv prolapsusu ve talasemi taşıyıcılığı mevcuttu. Bu gebelerin yanı sıra birer gebede preeklampsi, polikistik over, hipertroidi, eklem romatizması, aritmi, böbrek taşı bulunmaktadır. Gruplardaki ek hastalık varlığının DNA hasarı parametreleri üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

4.2 BİYOKİMYASAL ANALİZLER

4.2.1 Rutin Parametreler

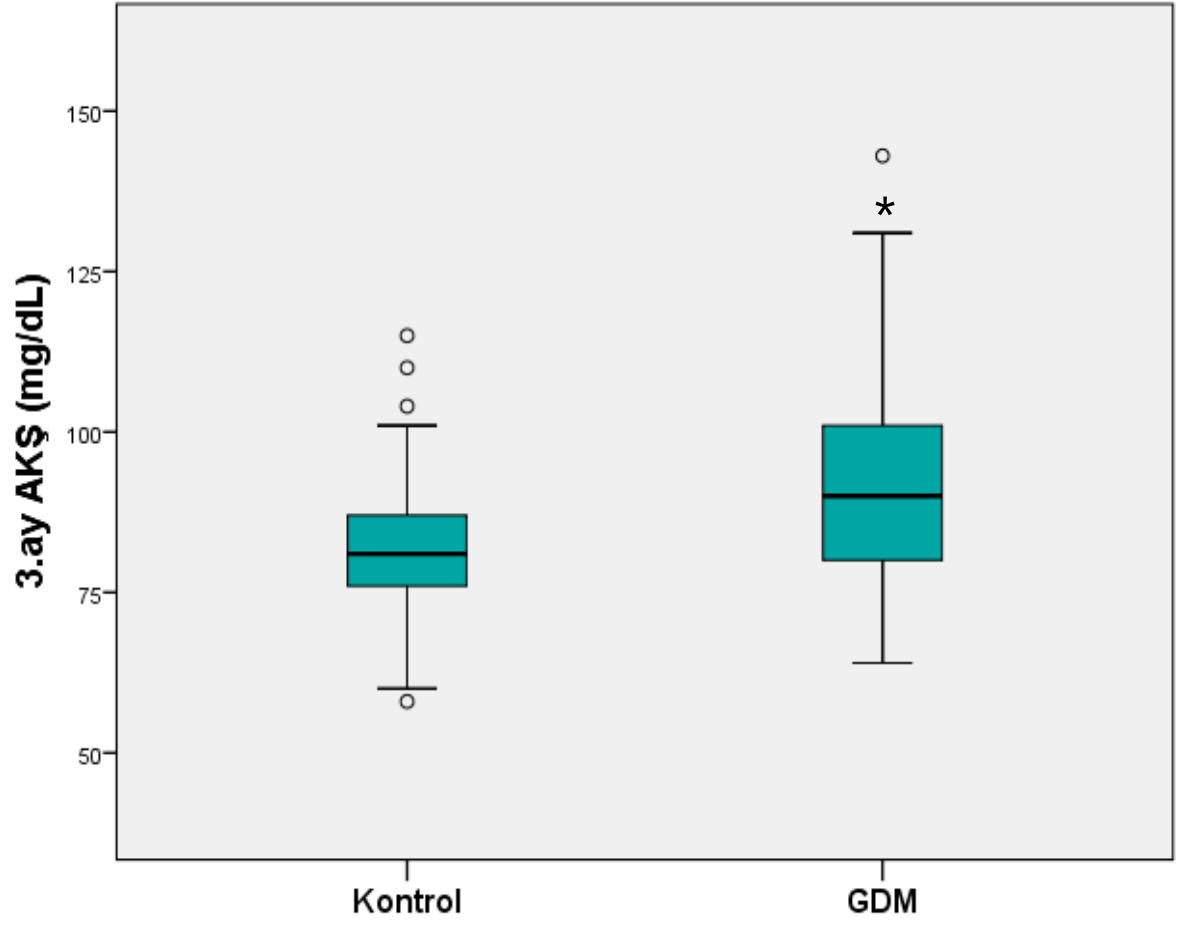
Ölçümü yapılan rutin biyokimyasal parametre sonuçları **Tablo 13**'te yer almaktadır. İlk trimester verilerine göre GDM'li grubun açlık kan şekeri, normal glukoz toleransına sahip kontrol grubu gebelerine göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$) (**Şekil 12**). GDM'li gebelerin ilk trimester ferritin ve HbA1c parametreleri kontrol grubuna göre yüksek olsa da, bir anlamlılık saptanmadı ($p=0.182$, $p=0.084$). İlk trimester hemoglobin değerleri ise iki grupta yaklaşık aynı idi ($p=0.925$).

GDM'li gebelerde altıncı ayda yapılan OGTT 0, 60 ve 120. dk glukoz değerleri normal glukoz toleransına sahip gebelere göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$) (**Şekil 13**). GDM'li gebelerde ikinci trimester sonu ferritin ve HbA1c değerleri kontrolere göre yüksek olsa da, anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.256$, $p=0.182$). 6. ay hemoglobin değerleri ise iki grupta aynı bulundu.

Tablo 13. GDM’li ve normal glukoz toleransına sahip gebelerin rutin biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması

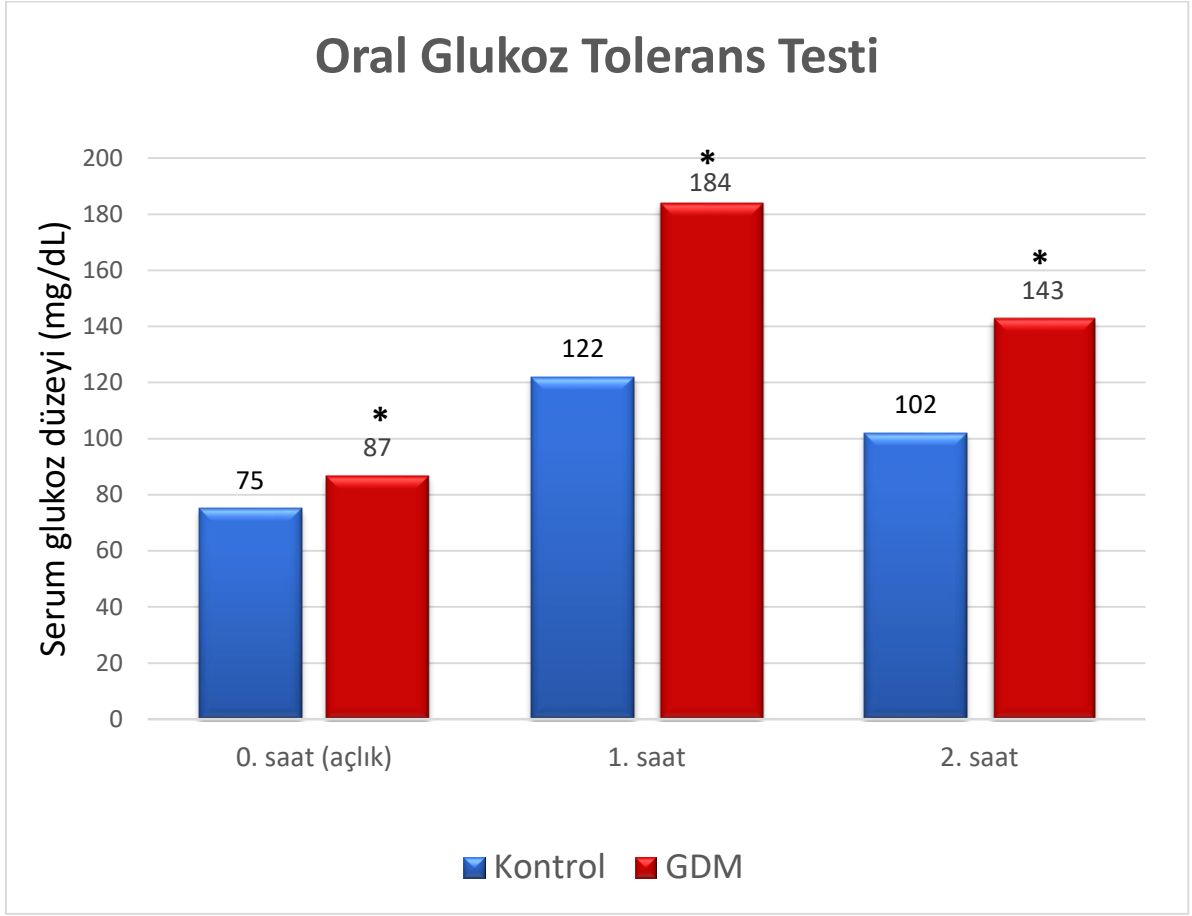
		Normal glukoz toleransına sahip gebeler (n=84)	GDM’li gebeler (n=33)	p değeri
		Ortalama±SS	Ortalama±SS	
3. A Y	AKŞ mg/dL	81,79±10,29	92,97±19,46	<0,001*
	Ferritin ng/mL	15,30±10,67	20,01±19,07	0,182
	Hemoglobin g/dL	12,13±0,95	12,15±0,96	0,925
	Hemoglobin A1c%	5,13±0,31	5,28±0,42	0,084
6. A Y	OGTT Glukoz (0. dk) mg/dL	75,82±7,21	87,39±10,27	<0,001*
	OGTT Glukoz (60.dk) mg/dL	122,61±27,21	184,68±23,32	<0,001*
	OGTT Glukoz (120. dk) mg/dL	102,89±17,91	143,34±24,62	<0,001*
	Ferritin ng/mL	9,93±7,85	12,80±17,80	0,256
	Hemoglobin g/dL	11,31±0,98	11,32±1,24	0,974
	Hemoglobin A1c%	5,06±0,31	5,24±0,51	0,182

*Gruplar Bağımsız T Test ile karşılaştırıldığında p<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlıdır.



Şekil 12. Kontrol ve GDM grubunun 3. ay açlık kan şekeri düzeyleri

* $p < 0.001$, Kontrol grubunun serum açlık kan şekeri düzeyleri ile karşılaştırıldığında



Şekil 13. Kontrol ve GDM grubunun 6. ay OGTT serum glukoz düzeyleri

* $p < 0.001$, Kontrol grubunun aynı saat OGTT serum glukoz düzeyleri ile karşılaştırıldığında

Çalışmamıza katılan gebelerin rutin biyokimyasal parametrelerinin üçüncü ve altıncı ay değerleri karşılaştırıldığında; hem GDM hem de kontrol grubunun hemoglobin değerlerinin 3. aydan 6. aya anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır ($p<0,001$). Bunun yanı sıra kontrol grubunda AKŞ, ferritin ve HbA1c düzeyleri 3. aydan 6. aya anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,001$, $p=0,035$) (**Tablo 14**) (**Tablo 15**).

Tablo 14. GDM grubunun rutin biyokimyasal parametrelerinin 3. ve 6. ay sonuçları karşılaştırılması

	GDM grubu 3. ay	GDM grubu 6. ay	p değeri
	Ortalama $\pm$ SS	Ortalama $\pm$ SS	
AKŞ mg/dL	92,97 $\pm$ 19,46	87,39 $\pm$ 10,27	0,188
Ferritin ng/mL	20,01 $\pm$ 19,07	12,80 $\pm$ 17,80	0,101
Hemoglobin g/dL	12,15 $\pm$ 0,96	11,32 $\pm$ 1,24	<0,001*
Hemoglobin A1c%	5,28 $\pm$ 0,42	5,24 $\pm$ 0,51	0,369

*Gruplar Paired T testi ile karşılaştırıldığında $p<0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlıdır.

Tablo 15. Kontrol grubunun rutin biyokimyasal parametrelerinin 3. ve 6. ay sonuçları karşılaştırılması

	Kontrol grubu 3. ay	Kontrol grubu 6. ay	p değeri
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	
AKŞ mg/dL	81,79±10,29	75,82±7,21	<0,001**
Ferritin ng/mL	15,30±10,67	9,93±7,85	<0,001**
Hemoglobin g/dL	12,13±0,95	11,31±0,98	<0,001**
Hemoglobin A1c%	5,13±0,31	5,06±0,31	0,035*

*, **Gruplar Paired T testi ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlıdır.

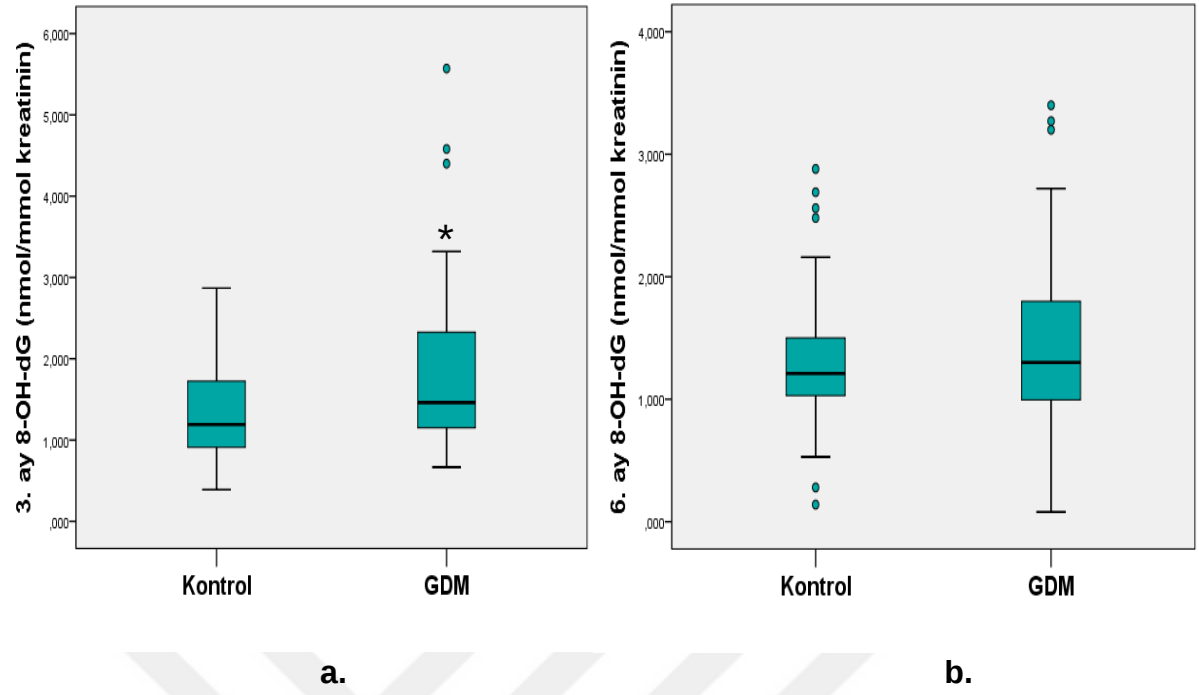
4.2.2 Oksidatif DNA Hasarı Belirteçleri

Kontrol ve GDM gruplarından toplanan idrar örneklerinde;

- 8-OH-dG
- S-cdA
- R-cdA'ın kantitatif analizleri LC-MS/MS SID-MRM yöntemi ile gerçekleştirildi. Ölçümü yapılan oksidatif DNA hasarı belirteçleri sonuçları **Tablo 16**'da yer almaktadır. Otuz üç GDM'li ve 84 kontrol gebenin verilerini kıyasladığımızda, GDM grubunun 3. ay 8-OH-dG düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,006$). GDM'li gebelerin 6. ay 8-OH-dG düzeyleri de kontrol grubuna göre yüksek bulunmakla birlikte istatistiksel bir anlamlılık göstermedi ($p>0.05$) (**Şekil 14**). Diğer nükleozid hasar parametreleri açısından iki grup arasında fark bulunmadı.

Tablo 16. GDM'li ve kontrol grubu gebelerin oksidatif DNA hasarı idrar belirteç düzeylerinin karşılaştırılması

		Kontrol grubu (n=84)	GDM grubu (n=33)	p değeri
		Ortalama±SS	Ortalama±SS	
3. A Y	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,355±0,581	1,847±1,178	0,006*
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,037±0,035	0,038±0,032	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,014±0,007	0,014±0,004	8
6. A Y	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,317±0,557	1,487±0,821	8
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,050±0,059	0,040±0,025	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,016±0,008	0,014±0,005	8
* Gruplar Bağımsız T Test ile karşılaştırıldığında p<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlıdır.				
8 p>0,05				



Şekil 14. Kontrol ve GDM grubunun idrar 8-OH-dG düzeylerinin karşılaştırılması (a:Üçüncü ay, b:Altıncı ay)

* $p < 0.05$, Kontrol grubu üçüncü ay idrar 8-OH-dG düzeyleri ile kıyaslandığında

Gebelerde 8-OH-dG için belirlenmiş bir referans aralık bulunmamaktadır. Biz çalışmamızda kontrol grubu gebelerini 3. ay 8-OH-dG düzeylerine göre düşükten yükseğe göre sıralayıp, 50 persantili 8-OH-dG için eşik değer (8-OH-dG>1,190 nmol/mmol kreatinin) olarak belirledik. Tüm gebeleri bu eşik değere göre değerlendirdiğimizde, 3. ay 8-OH-dG'si düşük çıkan 51 gebenin %17,6'sı ikinci trimester sonunda GDM tanısı alırken, yüksek çıkan 66 gebenin %36,3'ü GDM tanısı almıştır. 3. ay 8-OH-dG düzeyleri yüksek çıkan gebelerde GDM gelişme oranı düşük çıkan gebelere göre anlamlı olarak yüksek olarak bulunmuştur (p=0,038) (**Tablo 17**).

Tablo 17. Üçüncü ay 8-OH-dG eşik değer düzeyine göre gebelerde GDM gelişimi

		GDM	Tüm gebeler
3. ay 8-OH-dG düzeyine göre [□]	Düşük	9 (%17,6)	51
	Yüksek	24 (%36,3)	66
[□] 1,190 nmol/mmol kreatinin eşik değer olarak alındığında *p=0,038 Gruplar arasındaki fark Ki-kare testi ile karşılaştırılmıştır.			

Bizim çalışmamızda eşik değer olarak kontrol grubunun hem 50 persantili hem de 3. ay median değeri olan 81 mg/dL baz alındığında, üçüncü ay AKŞ'i düşük (81 mg/dl ve daha düşük) çıkan 58 gebenin %18,9'u ikinci trimester sonunda GDM tanısı alırken, yüksek (>81 mg/dL) çıkan 59 gebenin %37,2'si GDM tanısı almıştır. 3. ay AKŞ düzeyleri yüksek çıkan gebelerde GDM gelişme oranı düşük çıkan gebelere göre anlamlı olarak yüksek olarak bulunmuştur (p=0,039) (**Tablo 18**).

Tablo 18. Üçüncü ay açlık kan şekeri eşik değer düzeyine (81 mg/dL) göre gebelerde GDM gelişimi

		GDM	Tüm gebeler
3. ay AKŞ düzeyine göre [□]	Düşük	11 (%18,9)	58
	Yüksek	22 (%37,2)	59
[□] 81 mg/dL kan şekeri eşik değer olarak alındığında *p=0,039 Gruplar arasındaki fark Ki-kare testi ile karşılaştırılmıştır.			

Gebeliğin ilk aylarında çoğu merkezde AKŞ üst sınırı olarak erişkinlerde olduğu gibi 100 mg/dL kullanılmaktadır. 92 mg/dL ise gebelerde OGTT açlık kan şekeri üst sınırıdır. Biz bu çalışmamızda tüm gebeleri 3. ay AKŞ açısından 92 mg/dL'ye göre gruplandırdığımızda, üçüncü ay AKŞ'i düşük çıkan 92 gebenin %22'si ikinci trimester sonunda GDM tanısı alırken, yüksek çıkan 25 gebenin %48'i GDM tanısı almıştır. Üçüncü ay AKŞ düzeyleri 92 mg/dL eşik değerine göre yüksek çıkan gebelerde GDM gelişme oranı düşük çıkan gebelere göre anlamlı olarak yüksek olarak bulunmuştur ($p=0,022$) (**Tablo 19**).

Tablo 19. Üçüncü ay açlık kan şekeri eşik değer düzeyine (92 mg/dL) göre gebelerde GDM gelişimi

		GDM	Tüm gebeler
3. ay AKŞ düzeyine göre [□]	Düşük	21 (%22,8)	92
	Yüksek	12 (%48,0)	25
[□] 92 mg/dL kan şekeri eşik değer olarak alındığında * $p=0,022$ Gruplar arasındaki fark Ki-kare testi ile karşılaştırılmıştır.			

Çalışmamızda incelediğimiz oksidatif DNA hasar parametrelerinin üçüncü ay ve altıncı aylar arasındaki değişimleri değerlendirildiğinde, 8-OH-dG düzeyleri hem kontrol hem de GDM grubunda üçüncü aya kıyasla altıncı ayda düşüş gösterse de, bir anlamlılık saptanmamıştır. İncelenen diğer oksidatif hasar belirteçleri açısından, gerek kontrol gerekse GDM gruplarına ait 3. ay ve 6. ay sonuçları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (**Tablo 20**) (**Tablo 21**).

Tablo 20. GDM grubunun idrar 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin 3. ve 6. ay sonuçları

	GDM grubu 3. ay	GDM grubu 6. ay	p değeri
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	
8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,942±1,267	1,487±0,821	0,140
S-cdA (nmol/mmol kr)	0,040±0,035	0,040±0,025	0,711
R-cdA (nmol/mmol kr)	0,014±0,005	0,014±0,005	0,611
Gruplar Paired-Samples T ile karşılaştırıldığında p<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlıdır.			

Tablo 21. Kontrol grubunun idrar 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin 3. ve 6. ay sonuçları

	Kontrol grubu 3. ay	Kontrol grubu 6. ay	p değeri
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	
8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,413±0,608	1,317±0,557	0,334
S-cdA (nmol/mmol kr)	0,037±0,034	0,050±0,059	0,175
R-cdA (nmol/mmol kr)	0,015±0,006	0,016±0,008	0,262
Gruplar Paired-Samples T ile karşılaştırıldığında p<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlıdır.			

Çalışmamız sonuçları ferritin düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, her iki trimester için GDM'li gebeler ile kontrol grubu arasında bir fark saptanmazken, tüm

gebeler 3. ay ferritin düzeylerine göre düşükten yükseğe göre sıralandığında, 50 persantilin üzerindeki gebelerin (ferritin $\geq 13,0$ ng/mL) 3. ay 8-OH-dG ve R-cdA değerleri 50 persantil altındaki gebelere göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,034$, $p=0,009$) (Tablo 22) (Şekil 15) (Şekil 16).

Tablo 22. Tüm gebelerde üçüncü ay ferritin 50 persantil değerlerine göre idrar nükleozid hasar sonuçları

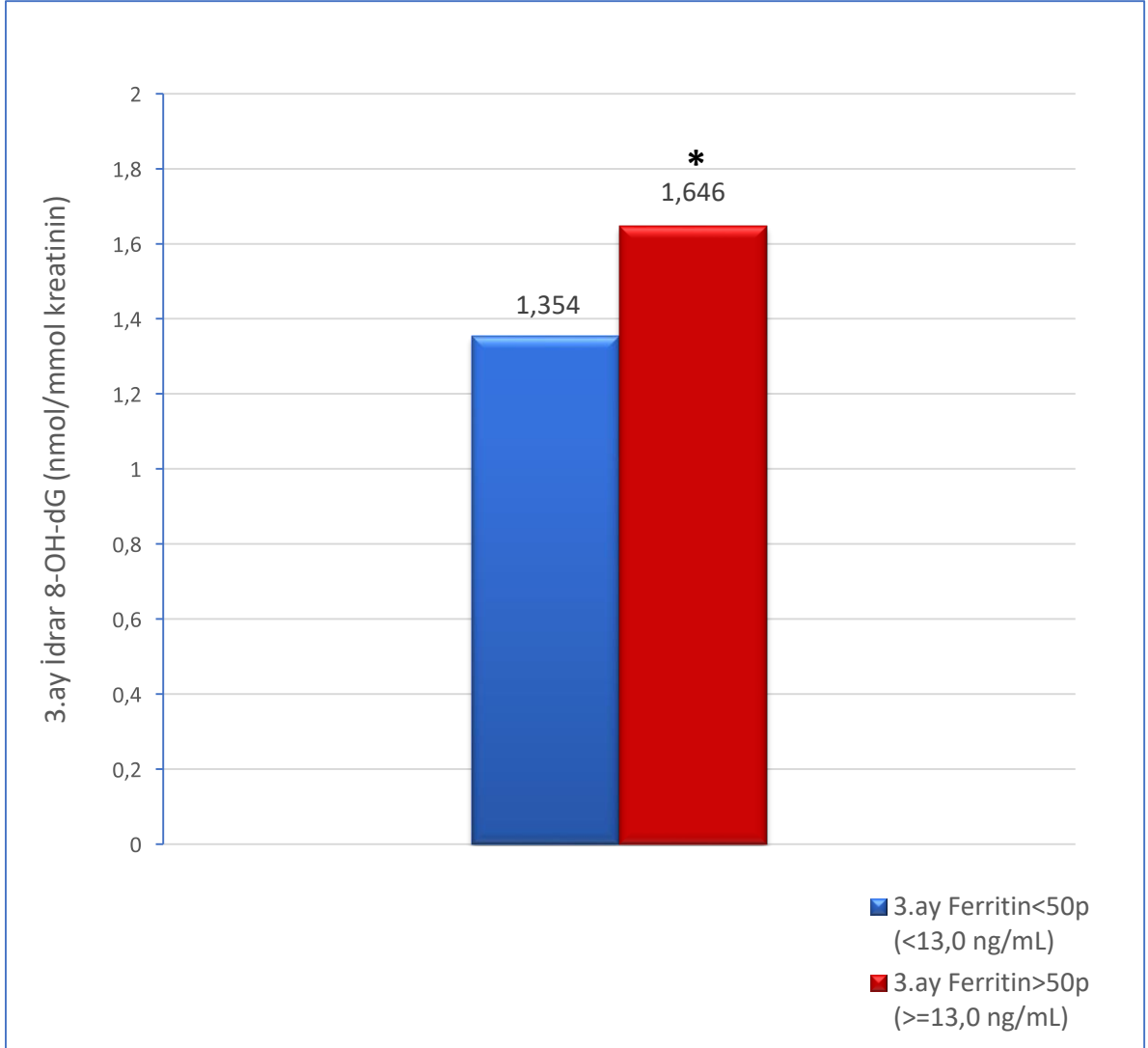
		Tüm gebelerde 3. ay Ferritini 13,0 ng/mL'nin altında olanlar ¥	Tüm gebelerde 3. ay Ferritini 13,0 ng/mL ve üzerinde olanlar $^{\circ}$	p değeri
		Ortalama+SS	Ortalama+SS	
3. AY	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,354 $\pm$ 0,774	1,646 $\pm$ 0,848	0,034*
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,032 $\pm$ 0,025	0,042 $\pm$ 0,041	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,013 $\pm$ 0,006	0,016 $\pm$ 0,006	0,009*
6. AY	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,428 $\pm$ 0,738	1,320 $\pm$ 0,569	8
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,056 $\pm$ 0,068	0,039 $\pm$ 0,026	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,016 $\pm$ 0,009	0,015 $\pm$ 0,006	8

*Gruplar Bağımsız T Test ile karşılaştırıldığında $p<0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlıdır.

8 $p>0,05$

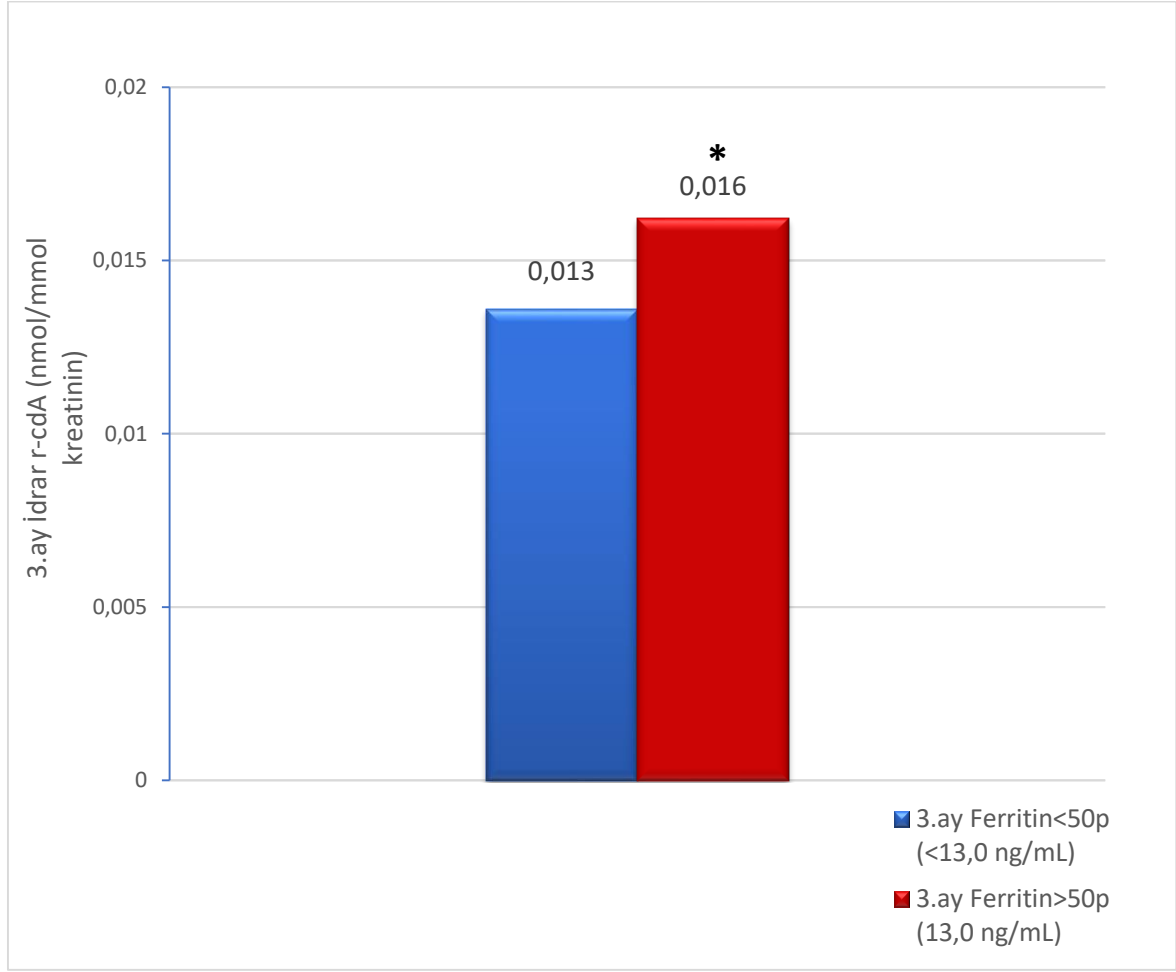
¥ Tüm gebeler ferritin düzeylerine göre sıralandığında 50 persantilin altında olanlar ($n=58$)

$^{\circ}$ Tüm gebeler ferritin düzeylerine göre sıralandığında 50 persantilin üzerinde olanlar ($n=58$)



Şekil 15. Üçüncü ay ferritin düzeylerine göre tüm gebelerde idrar 8-OH-dG düzeylerinin karşılaştırılması (50 persantil esas alınarak)

*p<0.05, Tüm gebelerde 3. ay Ferritin < 50 persantil olanların 3. ay idrar 8-OH-dG düzeyleri ile kıyaslandığında



Şekil 16. Üçüncü ay ferritin düzeylerine göre tüm gebelerde idrar R-cdA düzeylerinin karşılaştırılması (50 persantil esas alınarak)

* $p < 0.05$, Tüm gebelerde 3. ay Ferritin < 50 persantil olanların 3. ay idrar R-cdA düzeyleri ile kıyaslandığında

GDM grubu gebeleri 3. ay ferritin düzeylerine göre düşükten yükseğe göre sıralandığında, 50 persantilin üzerindeki gebelerin (ferritin $\geq 14,8$ ng/mL) 6. ay R-cdA değerleri yüksek bulunsa da anlamlılık göstermedi ($p = 0,093$) (**Tablo 23**). İncelenen diğer oksidatif hasar belirteçlerinde anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 23. GDM’li gebelerde üçüncü ay ferritin 50 persantil değerlerine göre idrar nükleozid hasar sonuçları

		GDM’lilerde 3. ay Ferritini 14,8 ng/mL’nin altında olanlar [¥]	GDM’lilerde 3. ay Ferritini 14,8 ng/mL ve üzerinde olanlar [°]	p değeri
		Ortalama+SS	Ortalama+SS	
3. A Y	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,723±1,666	1,979±1,214	8
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,041±0,043	0,035±,016	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,013±0,005	0,014±,003	8
6. A Y	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,465±0,830	1,511±0,843	8
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,036±0,023	0,045±0,028	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,013±0,005	0,016±0,005	0,093

*Gruplar Bağımsız T Test ile karşılaştırıldığında p<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlıdır.

8 p>0,05

¥GDM’li gebelerde ferritin düzeylerine göre sıralandığında 50 persantilin altındakiler (n=41)

°GDM’li gebelerde ferritin düzeylerine göre sıralandığında 50 persantilin üzerindeki (n=42)

Kontrol grubu gebeleri 3. ay ferritin düzeylerine göre düşükten yükseğe göre sıralandığında, 50 persantilin üzerindeki gebelerin (ferritin $\geq$ 11,9 ng/mL) 3. ay 8-OH-dG değerleri anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0,017) (**Şekil 17**). 3. ay R-cdA değerleri de yüksek bulunsa da anlamlılık göstermedi (p=0,053) (**Tablo 24**).

Tablo 24. Kontrol gebelerinde 3. ay Ferritin 50 persantile göre idrar nükleozid hasar sonuçları

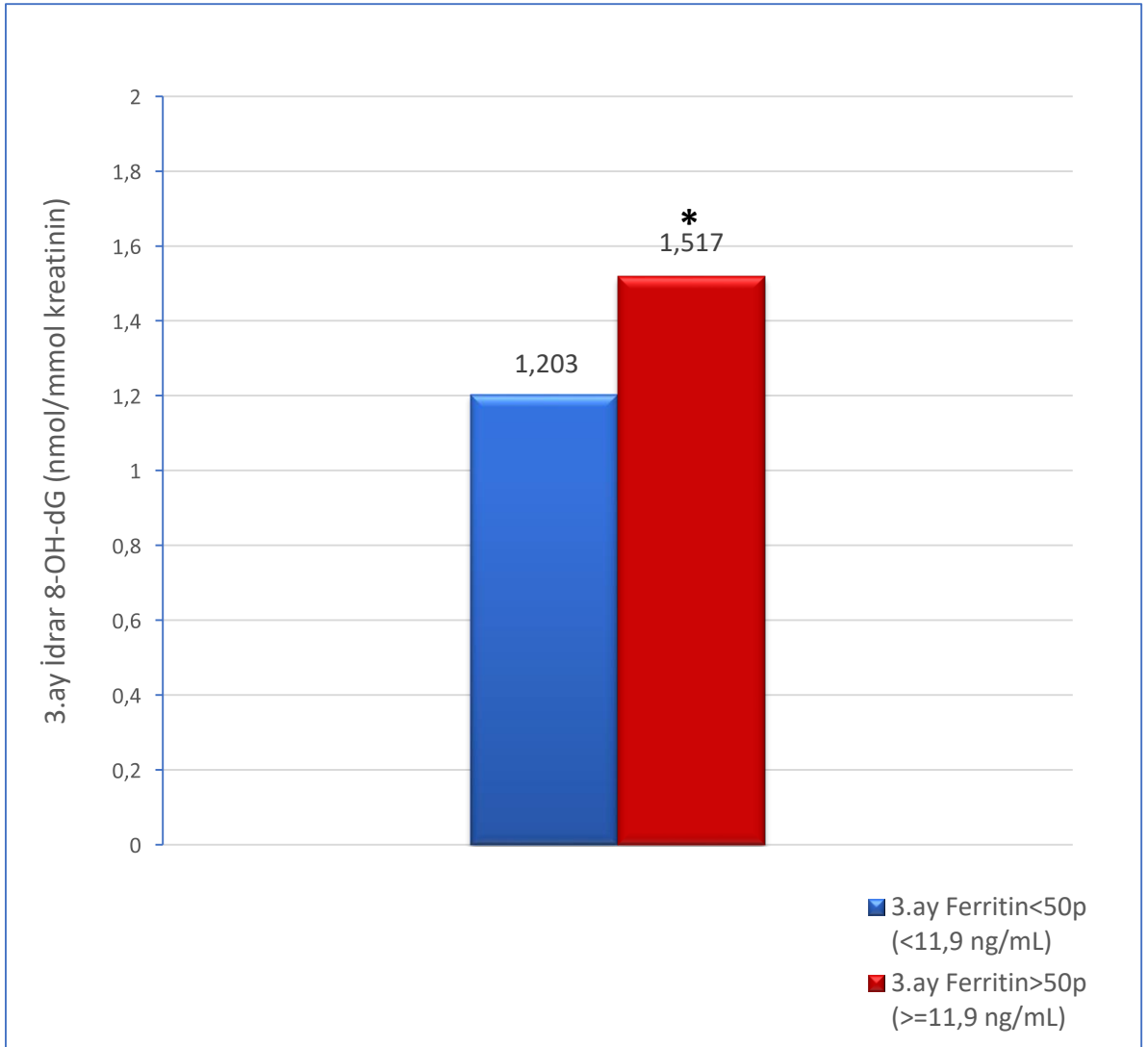
		Kontrol gebelerinde 3. ay Ferritini 11,9 ng/mL'nin altında olanlar $\neq$	Kontrol gebelerinde 3. ay Ferritini 11,9 ng/mL ve üzerinde olanlar $^{\circ}$	p değeri
		Ortalama+SS	Ortalama+SS	
3. AY	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,203 $\pm$ 0,477	1,517 $\pm$ 0,635	0,017*
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,031 $\pm$ 0,019	0,042 $\pm$ 0,045	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,013 $\pm$ 0,006	0,016 $\pm$ 0,007	0,053
6. AY	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,396 $\pm$ 0,690	1,248 $\pm$ 0,409	8
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,065 $\pm$ 0,081	0,037 $\pm$ 0,026	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,018 $\pm$ 0,010	0,015 $\pm$ 0,007	8

*Gruplar Bağımsız T Test ile karşılaştırıldığında p<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlıdır.

8 p>0,05

$\neq$ Kontrol gebeleri ferritin düzeylerine göre sıralandığında 50 persantilin altındakiler (n=41)

$^{\circ}$ Kontrol gebeleri ferritin düzeylerine göre sıralandığında 50 persantilin üzerindeki (n=42)



Şekil 17. Üçüncü ay ferritin düzeylerine göre kontrol grubu gebelerde idrar 8-OH-dG düzeylerinin karşılaştırılması (50 persantil esas alınarak)

*p<0.05, Kontrol gebelerinde 3. ay Ferritin < 50 persantil olanların 3. ay idrar 8-OH-dG düzeyleri ile kıyaslandığında

Çalışmamıza katılan gebelerden 24'ü ilk trimesterde düzenli demir takviyesi aldığını belirtmiştir. Bu 24 gebenin nükleozid hasar parametreleri ile ilk trimesterde demir takviyesi almadığını belirten 72 gebenin nükleozid hasar parametreleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (**Tablo 25**). Bu 24 gebenin, gebeliklerinin ikinci trimesterinde GDM gelişme oranı, demir takviyesi almayan gruba oranla yüksek bulunsa da, bu fark istatistiksel bir anlam teşkil etmemiştir (**Tablo 26**).

Tablo 25. İlk trimesterde demir takviyesi alanlar ile almayanların idrar nükleozid hasar belirteç düzeylerinin karşılaştırılması

		İlk trimesterde demir takviyesi alanlar (n=24)	İlk trimesterde demir takviyesi almayanlar (n=72)	p değeri
		Ortalama+SS	Ortalama+SS	
3. A Y	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,394±0,984	1,564±0,832	8
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,030±0,026	0,040±0,039	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,015±0,009	0,014±,005	8
6. A Y	8-OH-dG (nmol/mmol kr)	1,435±0,798	1,390±0,614	8
	S-cdA (nmol/mmol kr)	0,044±0,053	0,041±0,024	8
	R-cdA (nmol/mmol kr)	0,016±0,009	0,016±0,006	8

*Gruplar Bağımsız T Test ile karşılaştırıldığında p<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlıdır.

8 p>0,05

Tablo 26. İlk trimesterde demir takviyesi alımına göre GDM gelişimi

	GDM	Tüm gebeler
İlk trimesterde demir takviyesi alan gebeler	8 (%33,3)	24
İlk trimesterde demir takviyesi almayan gebeler	19 (%26,3)	72
p>0,05 Gruplar arasındaki fark Ki-kare testi ile karşılaştırılmıştır.		

4.3 KORELASYON ANALİZLERİ

Çalışma grubumuza dahil ettiğimiz gebelerde idrar DNA nükleozid hasarı verileri ile rutin biyokimyasal parametrelere ait korelasyon analizleri **Tablo 27, 28 ve 29**'da gösterilmiştir.

Tüm gebelerde; 3. ay R-cdA'nın 3. ay S-cdA, 8-OH-dG, ferritin ile ve 6. ay R-cdA ile zayıf düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu saptandı. 6. ay R-cdA'nın 6. ay S-cdA ile orta düzeyde, 6. ay 8-OH-dG ile zayıf düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu belirlendi. 6. ay ferritin'in 6. ay 8-OH-dG ve 3. ay ferritin ile zayıf düzeyde anlamlı korelasyonu bulundu. 3. ay AKŞ'nin 6. ayda yapılan OGTT'nin 0. , 1. ve 2. saat kan şekerleri ile zayıf düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu tespit edildi. OGTT 0. saat kan şekerinin OGTT 1. ve 2. saat kan şekerleri ile zayıf düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu saptandı. OGTT 1. saat kan şekerinin OGTT 2. saat kan şekeri ile orta düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu tespit edildi.

GDM grubu gebelerde; 6. ay R-cdA'nın, 6. ay S-cdA ile orta düzeyde, 3. ay hemoglobin ile ise zayıf düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu saptandı. 6. ay 8-OH-dG'nin 6. ay S-cdA, 6. ay Ferritin ve OGTT 1. saat glukoz değerleri ile zayıf düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu bulundu.

Kontrol grubu gebelerde; Üçüncü ay R-cdA'nın, 3. ay S-cdA, 8-OH-dG ve ferritin ile zayıf düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu belirlendi. Altıncı ay R-cdA'nın 6. ay S-cdA ile orta düzeyde, 8-OH-dG ile zayıf düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu saptandı. Altıncı ay S-cdA'nın OGTT 2. saat kan şekeri ile zayıf düzeyde anlamlı pozitif, 3. ay ferritin ile ise zayıf düzeyde anlamlı negatif korelasyonu tespit edildi. Üçüncü ay ferritin'in 3. ay 8-OH-dG ile zayıf düzeyde anlamlı pozitif korelasyonu bulundu.

Tablo 27. Tüm gebelerde korelasyon analizi sonuçları

		R-cdA 3. ay	S-cdA 3. ay	8-OH-dG 3. ay	R-cdA 6. ay	S-cdA 6. ay	8-OH-dG 6. ay	AKŞ 3. ay	6. ay OGTT Glukoz 0.saat	6. ay OGTT Glukoz 1. saat	6. ay OGTT Glukoz 2.saat	Ferritin 3. ay	Ferritin 6. ay
R-cdA 3. ay	r =												
S-cdA 3. ay	r =	,387*											
8-OH-dG 3. ay	r =	,319*	,143										
R-cdA 6. ay	r =	,285*	,039	-,002									
S-cdA 6. ay	r =	,092	,005	,013	,514**								
8-OH-dG 6. ay	r =	,052	-,098	,088	,365*	,133							
AKŞ 3. ay	r =	-,045	-,141	,071	-,040	-,066	,016						
6. ay OGTT Glukoz 0.saat	r =	-,011	,057	,127	-,021	,066	,009	,339*					
6. ay OGTT Glukoz 1. saat	r =	-,085	-,058	,076	,044	,045	,102	,301*	,383*				
6. ay OGTT Glukoz 2.saat	r =	-,113	-,011	,070	-,019	,050	,034	,337*	,454*	,657**			
Ferritin 3. ay	r =	,264*	,112	,185	-,093	-,215	-,123	,118	,042	,019	-,038		
Ferritin 6. ay	r =	-,059	-,070	,016	,077	-,141	,302*	,037	-,074	,029	,077	,353*	

*p<0,05, **p<0,05

Tablo 28. GDM grubu gebelerde korelasyon analizi sonuçları

		R-cdA 3. ay	S-cdA 3. ay	8-OH-dG 3. ay	R-cdA 6. ay	S-cdA 6. ay	8-OH-dG 6. ay	6. ay OGTT Glukoz 0.saat	6. ay OGTT Glukoz 1. saat	Ferritin 6. ay	Hb 3. ay
R-cdA 3. ay	r =										
S-cdA 3. ay	r =	,154									
8-OH-dG 3. ay	r =	,343	,269								
R-cdA 6. ay	r =	,357	,021	,160							
S-cdA 6. ay	r =	,202	,067	,179	,549**						
8-OH-dG 6. ay	r =	-,082	-,285	-,065	,333	,387*					
6. ay OGTT Glukoz 0.saat	r =	-,021	,232	,217	,068	,192	,170				
6. ay OGTT Glukoz 1. saat	r =	-,087	-,167	-,169	-,031	,241	,452*	-,003			
Ferritin 6. ay	r =	-,079	-,197	-,133	,369	-,057	,466*	,100	,103		
Hb 3. ay	r =	,330	,004	-,058	,394*	,368	,071	,345	,056	,370	

*p<0,05, **p<0,05

Tablo 29. Kontrol grubu gebelerde korelasyon analizi sonuçları

		R-cdA 3. ay	S-cdA 3. ay	8-OH-dG 3. ay	R-cdA 6. ay	S-cdA 6. ay	8-OH-dG 6. ay	6. ay OGTT Glukoz 2.saat	Ferritin 3. ay
R-cdA 3. ay	r =								
S-cdA 3. ay	r =	,456*							
8-OH-dG 3. ay	r =	,364*	,071						
R-cdA 6. ay	r =	,256	,051	-,040					
S-cdA 6. ay	r =	,057	-,013	-,041	,504**				
8-OH-dG 6. ay	r =	,141	,023	,199	,422*	,048			
6. ay OGTT Glukoz 2.saat	r =	-,093	-,116	-,093	,228	,297*	-,151		
Ferritin 3. ay	r =	,279*	,203	,256*	-,233	-,263*	-,182	-,082	

*p<0,05, **p<0,05

5 TARTIŞMA

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) ilk kez gebelik sırasında ortaya çıkan glukoz tolerans bozukluğu olarak tanımlanmaktadır. Yüksek maternal ve fetal morbidite riski ile ortaya çıkan gebelik komplikasyonlarının %3-5'inden sorumludur ve gebelikte en çok rastlanan metabolik komplikasyondur. Diyabetik gebelerin bebeklerinde makrozomi, polisitemi, hipoglisemi, hiperbilirubinemi, hipokalsemi, Respiratuvar Distress Sendromu (RDS) gibi neonatal morbiditeler normal gebelerin bebeklerine göre daha sık rastlanmaktadır. Annede ise doğum sırasında genital bölge hasarı, uterin atoni, preeklampsi, polihidroamnios, preterm doğum ve üriner enfeksiyon gibi durumlarla ilişkilendirilmiştir (15). Aynı zamanda GDM'li kadınların ve çocuklarının ileride Tip 2 DM gelişimi açısından risk altında oldukları bildirilmiştir.

Normal gebelik, plasental hormonlara bağlı olarak özellikle ikinci trimesterde insülin duyarlılığının bozulmasından dolayı "diyabetojenik bir durum" olarak kabul edilir (9). Gebelikte vücudun enerji ihtiyacı artmıştır. Bebeğin gelişimi için gerekli enerjiyi sağlamak için daha fazla glukoz gereksinim duyulur. Bu nedenle gebeliğin ilk aylarında açlık kan şekeri normale göre düşük düzeydedir. İkinci trimester başında yükselmeye başlayan İnsan Plasental Laktojen (hPL), İnsülin Reseptör Substrat-1 (IRS-1) fosforilasyonunda azalmaya ve bundan dolayı belirgin insülin direncine yol açar. hPL'nin yanı sıra, gebelik ilerledikçe anne kanındaki miktarları artan prolaktin, kortizol ve leptin gibi insülin antagonisti hormonların da etkisi ile insülin duyarlılığı azalır (9,11). Söz konusu hormonlar ve progesteron, insüline duyarlı hücrelerin glukoz alımını bozarak etki gösterirler ve gebeliğin diyabetojen bir durum olmasından sorumlu ana hormonlardır.

Gebelikte vücut, oksidatif strese daha duyarlı bir hale gelmektedir (58). Normal gebelikte mitokondriden zengin plasenta ve dolayısıyla bol miktardaki demir ve bunun gibi geçiş elementlerinin varlığı yüksek oksidatif stres ortamına yol açmaktadır (113). GDM'li kadınlarda hiperglisemi, reaktif oksijen türlerinin yüksek miktarda açığa çıkmasına neden olur ve diyabetin ilerlemesini hızlandırır. İnsülin üreten pankreas beta hücreleri, zayıf bir antioksidan savunmaya sahiptir ve oksidatif stresin zararlı etkilerine daha açıktır. Yüksek oksidatif stresin pankreas beta hücrelerini etkileyerek GDM oluşumunu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (117,118).

Gebe kadınlarda artan eritropoezin etkisi ile vücudun demir ihtiyacı artmış durumdadır. Dünya Sağlık Örgütü tüm gebelere gebelik boyunca 30-60 mg elemental elemental demir takviyesi önermektedir (43). Gebelikte artan demir ihtiyacı ve gebelikte görülen demir eksikliği anemisinin ileride yol açabileceği ciddi sorunların da göz önünde bulundurulmasıyla gebelere 1. trimesterden itibaren demir takviyesine başlansa da, ilk trimesterdeki nispeten düşük ihtiyaç nedeniyle bu durum gebede teorik olarak demir birikimine neden olabilir.

Demir vücutta serbest şekilde kalırsa serbest radikaller oluşumuna sebep olarak doku hasarı oluşturabilir. Teorik olarak hücre içinde serbest demir bulunmaz. Ancak in vivo ortamda artmış süperoksit radikal ($O_2^{\bullet-}$) düzeyleri demir depo proteini olan ferritinden az miktarda demirin serbestleşmesine neden olabilir (44). Serbestleşen bu demir (Fe^{2+}) bilinen en güçlü serbest radikaldır olan hidroksil radikali ($\bullet OH$) oluşumuna yol açan Fenton reaksiyonunu katalizler. $O_2^{\bullet-}$ radikalleri ayrıca H_2O_2 ile reaksiyona girerek de oksidatif strese yol açabilmektedir (Haber-Weiss reaksiyonu). Hidroksil radikali DNA, lipid, protein gibi hücrede görevli olan makromoleküllerin yapılarına zarar verebilecek reaksiyonlara girerek pek çok hastalığa (kanser, ateroskleroz, iskemi-reperfüzyon hasarı) neden olmaktadır. Artmış demir depolarının oksidatif stres ve GDM ile ilişkili bulunan yayınlar giderek artmaktadır.

Bu bilgiler ışığında, bu tez çalışmasında GDM'li ve normal glukoz toleransı olan gebelerde, gebeliğin 11-14. haftaları ve 24-28. haftalarında alınan idrar örneklerinde kümülatif oksidatif stresin duyarlı göstergesi olan DNA hasarının referans yöntem olan sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometri yöntemi ile değerlendirmeyi ve vücut demir depo düzeyleri ile ilişkisini incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızı örnek seçimi açısından değerlendirdiğimizde; gebelikte oksidatif DNA hasarını inceleyen geçmişteki çalışmalar daha çok gebeliğin ilerleyen dönemlerine (26-30. hafta ve sonrası) ait idi. Qui ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları çalışmada, çalışmalarda tek bir üriner 8-OH-dG ölçümünün tüm gebelik boyunca zamana bağlı olarak görülebilen oksidatif stresi yansıtmada yeterli olmayacağını bildirilmişlerdir. Gebeliğin iki farklı döneminde DNA hasarının ölçüldüğü başka bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamız bu anlamda bir ilkti.

Geçmişte Qui ve arkadaşlarının 2011 ve 2013 yıllarında yaptıkları çalışmalarda ve Moreli ve arkadaşlarının 2016'daki çalışmasında GDM grubu ile kontrol grubunun hem VKİ'leri hem de yaşları arasında anlamlı fark vardı. Jamil ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada da GDM grubunun VKİ'si anlamlı olarak yüksekti. Bunların yanı sıra Moreli ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptığı ve Gelaleti ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptığı çalışmalarda birçok gebede gestasyonel hipertansiyon vardı. Üstelik Gelaleti'nin çalışmasında hafif gestasyonel hiperglisemili grupta gestasyonel hipertansiyon oranı diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek idi. Bizim çalışmamız; hem iki grubun VKİ ve yaş bakımından birbirlerinden anlamlı olarak farklı olmaması, hem de sadece bir adet gestasyonel hipertansiyonlu gebe içermesi bakımından diğer çalışmalara oranla daha iyi seçilmiş bir çalışma grubuna sahiptir.

Çalışmamız kullanılan yöntemler açısından değerlendirildiğinde; literatürde yapılmış birçok çalışmaya üstünlük göstermektedir. LC-MS/MS SID-MRM, oksidatif DNA hasarının incelenmesinde ESCODD tarafından referans yöntem olarak kabul edilmiştir. Yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip bu yöntem birden fazla analitin miktarının aynı anda belirlenmesi, kısa analiz süresi ve düşük konsantrasyonlardaki analitlerin ölçülebilmesi gibi özellikleri nedeniyle üstündür.

Gebelerde 8-OH-dG ile yapılan çalışmaların çoğunda ELISA yöntemi kullanılmıştır. ELISA yöntemi pratik bir yöntem olsa da çapraz reaksiyonlar verebilen, güvenilirliği ve hassasiyeti düşük bir yöntemdir. Bu sebeple, bizim çalışmamız ELISA ile yapılan çalışmalara kıyasla daha üstündür.

8-OH-dG, oksidatif DNA hasarının en duyarlı biyobelirteci olup total sistemik oksidatif stresin in vivo olarak yansıtmaktadır. 8-OH-dG'nin idrarda serumla göre daha stabil bir halde olmasının yanı sıra, idrar örnek alımının non-invaziv bir işlem olmasının da etkisiyle çalışmamızda oksidatif DNA hasar parametrelerini idrar örneklerinde çalıştık.

Çalışmamız oksidatif DNA hasarı parametrelerinin sonuçları açısından değerlendirildiğinde; literatürde oksidatif stres ile GDM arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma olsa da, oksidatif DNA hasarı ile GDM ilişkisinin incelendiği az sayıda çalışma bulduk. Bu az sayıdaki çalışmalarda da gebeliğin iki farklı döneminde oksidatif DNA hasarını inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. Biz bu araştırmamızda

GDM'li ve normal glukoz toleransı olan gebelerde, gebeliğin 11-14. haftaları ve 24-28. haftalarında alınan idrar ve kan örneklerinde kümülatif oksidatif stresin duyarlı göstergesi olan oksidatif DNA hasarının referans yöntem olan sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometri yöntemi ile değerlendirmeyi ve vücut demir depo düzeylerini incelemeyi amaçladık.

Otuz üç GDM ve 84 kontrol gebesinin verilerini kıyasladığımız çalışmamızda, GDM grubunun 3. ay 8-OH-dG düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,006$). GDM grubunun 6. ay 8-OH-dG düzeyleri de kontrol grubuna göre yüksek bulundu ama istatistiksel bir anlamlılık göstermedi ($p=0,414$). Gebelerde 8-OH-dG için belirlenmiş bir referans aralık bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda eşik değer olarak 3. ay kontrol grubunun 8-OH-dG 50 persantil değeri olan 1,190 nmol/mmol kreatinin 8-OH-dG baz alındığında, 3.ay 8-OH-dG'si düşük çıkan 51 gebenin %17,6'sı ileride GDM olurken, yüksek çıkan 66 gebenin %36,3'ü ileride GDM tanısı almıştır 3. ay 8-OH-dG düzeyleri yüksek çıkan gebelerde GDM gelişme oranı düşük çıkan gebelere göre anlamlı olarak artmıştır ($p=0,038$).

Bu konuda daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında Qui ve arkadaşları 2011 yılında yaptığı çalışmada 55 GDM'li ve 43 kontrol gebesinden, gebeliklerinin 16. haftasında spot idrar örneği almış ve örnekleri ELISA yöntemiyle çalışmışlardır. Analizlerde GDM'li grubun 8-OH-dG düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,002$). Bunun yanı sıra, erken dönem 8-OH-dG konsantrasyonlarının ileride GDM tanısı konan gebelerde, GDM tanısı almayacak olan gebelere göre %26 yüksek olduğunu tespit etmişler (126). Çalışmaya katılan gebeleri 8-OH-dG düzeylerine göre düşükten yükseğe göre sıralayıp dört gruba ayırmışlardır. 8-OH-dG düzeyi en yüksek olan gruptaki gebelerde GDM gelişme tahmini rölatif riski, 8-OH-dG düzeyi en düşük gruba göre 3,79 kat yüksek olarak bulunmuştur.

Qui ve arkadaşlarına göre mitokondri, oksidatif stresin hem major hücre içi kaynağıdır, hem de hedefidir. Daha önceki yayınlarda oksidatif strese maruz kalan hücrelerin daha fazla mitokondriyal DNA sentez ettiklerini ve mitokondri yoğunluklarını arttırdıkları bildirilmiştir (131). Bunu hasarı kompanse etmek için, reaktif oksijen türlerini temizlemek için artan respiratuar talebi karşılamak üzere gerçekleştirirler. Buna karşılık, artmış mitokondri sayısı da oksidatif stres aracılı zarara katkıda bulunabilir.

Qui ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları başka bir çalışmada, 19 GDM ve 21 kontrol gebesinin plasentalarında oksidatif stres düzeyleri ile mitokondriyal DNA kopya sayısının birlikteliği ve plasental oksidatif DNA hasarını (8-OH-dG) araştırmışlardır. Oksidatif DNA hasarı parametresi olan 8-OH-dG düzeyleri ELISA yöntemiyle çalışılmıştır ve 8-OH-dG ile plasental mitokondriyal DNA kopya sayısı ilişkili bulunmuştur ($r=0.56$, $p=0.01$). Bu sonuç, araştırmacıların 'mitokondriyal DNA yoğunluğu(kopya sayısı) ve plasentadaki oksidatif stres arasında ilişki' olabileceği hipotezini doğrulamıştır. 8-OHdG ile mitokondriyal DNA kopya sayısı arasındaki ilişki daha önce Liu tarafından insan lökosit hücrelerinde, Len ve arkadaşları tarafından ise kanserli lökosit hücrelerinde de gösterilmiştir (132,133). Ancak bu çalışmada GDM'li grup ile kontrol grubunun plasental 8-OH-dG düzeyleri arasında bir fark görülmemiştir (127).

Jamil ve arkadaşlarının 2014'de 29 GDM ve 44 kontrol gebesiyle yaptıkları çalışmada gebeliğin 24. haftasında serumdan ELISA yöntemi ile ölçülen 8-OH-dG düzeyleri GDM grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (128). Aynı çalışmada serumdan ölçülen ve lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyi GDM'lerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ve çalışmaya katılan tüm gebelerdeki serum 8-OH-dG ile serum MDA düzeyleri arasında orta düzeyde anlamlı bir pozitif korelasyon saptanmıştır ($r=0.67$). Yine aynı çalışmada glutatyon (GSH) düzeyi GDM'lilerde anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu çalışmanın zayıf yanı olarak GDM'li grubun VKİ'nin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olması (sırasıyla 27,5 ve 25,8, $p=0.05$) ve GDM'li grupta kalp damar/renal hastalığa göre herhangi bir dışlama yapılmaması gösterilebilir.

Gestasyonel Diyabetes Mellitus'un tanı konma tarihçesine bakıldığında, 1980'li yıllardan itibaren tanı eşik değerlerinin düşme eğiliminde olduğu görülmektedir. Buradaki amaç, hiperglisemiye maruz kalan daha fazla gebenin tanı ve tedavi programına alınması ile anne ve bebekteki sonuçları iyileştirmektir. Sonuçları 2008 yılında açıklanan ve 23 binin üzerinde gebe ile yapılan HAPO çalışması maternal hipergliseminin, diyabet için tanı koydurucu değerlerin altında olsa bile önemli perinatal riskleri olduğunu göz önüne sermiştir. HAPO çalışmasından çıkan sonuçlara göre, GDM tanı kriterleri bebeklerdeki komplikasyonların anlamlı olarak arttığı kan glukoz seviyelerine göre modifiye edilmiştir. Yine de eşik değerlerin hemen altındaki gebelerde de makrozomi ve preeklampsi oranlarının normoglisemik gebelere kıyasla

arttığı görülmüştür. Bu nedenle eşik değerlerinin hemen altındaki gebelerin de takibi önemlidir. Rudge ve arkadaşları 1990 yılından yaptıkları çalışmada iki tanı testini (100 gr OGTT ve glisemik profil) birleştirerek hafif gestasyonel hiperglisemi (MGH)'li kadınları tanımlamaya çalışmışlardır. Bu grup, 50 gramlık GDM taraması için pozitif, 100 gramlık OGTT'de GDM tanısı için negatif ve glisemik profilde hiperglisemili kadınları ifade etmektedir. Bu çalışmada MGH'li grup GDM için taranan hamile kadınların %13,8 lik bir kısmını oluşturdu. Diyabetin komplike ettiği gebeliklerin oranını %7, gebelikte meydana gelen hiperglisemik bozuklukların oranını ise %20 artırdı. İlk gebeliklerinden 10-12 yıl sonra, gebeliği sırasında MGH'si olan kadınların %16,7'si Tip 2 DM tanısı almıştır. Bu gebelerde makrozomili bebek oranı %53,8 (GDM'lilerde %51.9), perinatal mortalite oranı ise %41 (diyabetik kadınlarda gözlenene yakın ve normal hamile kadınlardan 10 kat fazla) olarak bulunmuştur.

Gelaleti ve arkadaşları 2015 yılında yürüttükleri çalışmada gebeleri kontrol (41), hafif gestasyonel hiperglisemi (24) ve GDM (46) olarak üç gruba ayırmışlardır. GDM için 75 gr OGTT Carpenter&Coustan kriterleri (açlık ≥ 95 mg/dL; 1.saat ≥ 180 mg/dL; 2.saat ≥ 155 mg/dL; tek kriter tanı için yeterlidir) kullanılırken, hafif gestasyonel hiperglisemi grubu OGTT'ten GDM tanısı alamayan ama anormal glisemik profile sahip olan gebelerden oluşmuştur. Glisemik profilde anormallik ise Gillmer ve arkadaşlarının önerdiği şekilde açlık ≥ 90 mg/dL ve/veya postprandiyal ≥ 130 mg/dL olarak tarif edilmiştir. Kan ve idrar örnekleri 34.haftadan doğuma kadar olan süreçte toplanmıştır. Pürin bazlarındaki oksidatif hasarı göstermek için formamidoprimidin DNA glikozilaz (FPG) , pirimidin bazlarındaki oksidatif hasarı göstermek için Endonükleaz 3 (Endo 3) enzimlerinin kullanıldığı çalışmada bu parametreler comet assay ile çalışılırken idrar 8-OH-dG düzeyleri ELISA ile ölçülmüştür. Çalışmanın sonuçlarına göre pürin baz hasarı GDM grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak artmışken, pirimidin baz hasarı hafif gestasyonel hiperglisemi grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. İdrar 8-OH-dG düzeyleri GDM'de daha fazla olmak üzere iki hiperglisemik grupta da artmış olarak bulundu ancak bu fark anlamlı değildi (32). Bu çalışmada MGH grubu, diğer gruplarla kıyaslandığında daha fazla gebelik hipertansiyonu olan birey sayısına sahipti (%66) ($p < 0.05$). Bu da MGH'li gruptaki artmış pirimidin bazı oksidatif DNA hasarının gebelik hipertansiyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Moreli ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada, gebeleri glisemik açıdan sınıflandırmada Gelaleti'nin çalışmasına benzer bir yöntem kullanmıştır. Gelaleti'nin çalışmasından farklı olarak Tip 2 DM'li gebeleri de çalışmaya alıp gebeleri dört gruba ayırmışlar ve kan örneğini gebeliğin 36. haftasında almışlardır. Ek olarak doğum sırasında umbilikal kord kanı örneğini de almışlardır. DNA hasarı PCR yöntemi ile ölçülmüştür. 45 GDM'li gebeyi içeren bu çalışmada GDM ve Tip 2 DM grupları artmış oksidatif stres ile ilişkili bulunmuştur ve bu iki grupta da nükleer ve mitokondriyal DNA hasarı artmıştır. Umbilikal kord kanı DNA hasar miktarlarında da benzer yükseklik saptanmıştır. Bu çalışmadan çıkan bir başka sonuca göre, maternal hücreler fetal kan hücrelerine göre hiperglisemik ortamda hasar görmeye daha yatkındır. Bunun sebebi olarak da fetal hücrelerin DNA tamir cevabını sağlayacak çeşitli genleri upregule etmede farklı bir yeteneğe sahip olabileceği öne sürülmüştür (33).

Zein ve arkadaşlarının 2017 yılında 14 GDM ve 79 kontrol gebesi ile yaptıkları çalışmada DNA hasarı yüksek bulunan kadınlarda GDM gelişme riskini logistik regresyon analizine göre altı kat yüksek bulmuşlardır (66). Bu çalışmada kan örnekleri 24-28. haftalarda toplanıp DNA hasarı comet assay yöntemi ile saptanmıştır ve hem ilk trimester, hem de OGTT sırasında alınan açlık kan şekeri ile DNA hasar düzeyi arasında hafif derecede anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır (sırasıyla $r=0,24$ ve $r=0,33$). Bu çalışmada GDM grubu ile kontrol grubunun ilk trimesterde yapılan açlık kan şekeri analizinde GDM grubunun AKŞ'si anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,013$). Bizim çalışmamızda da buna benzer şekilde GDM grubunun ilk trimester AKŞ kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek çıkmıştı ($p=0,003$). GDM tanısı gebeliğin 24-28. haftalarında konuyor olsa da gebeliğin erken dönemlerinde ölçülen yüksek kan değerleri bu konuda bir uyarıcı olabilir veya OGTT'nin daha erken haftalarda yapılması düşünülebilir.

2017 yılında Toljic ve arkadaşlarının 37 GDM ve 28 kontrol gebesini kıyasladıkları çalışmalarında, GDM grubunun 8-OH-dG düzeylerini anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (129). Bu çalışmada da kan örnekleri gebeliğin 24-28. haftalarında toplanmış ve 8-OH-dG parametresi ELISA ile çalışılmıştır.

Qui ve arkadaşlarının 2011 yılında gebeliğin 16. haftasında yaptıkları çalışma hariç, daha önceki çalışmalarda hep gebeliğin geç dönemlerine odaklanılmıştı.

Çalışmamız gebeliğin hem erken döneminde hem geç döneminde oksidatif DNA hasarının ölçülmesi bakımından ilktir. Bizim çalışmamızda iki grupta da 3. aydan 6. aya 8-OH-dG seviyeleri düşüş göstermiştir ama bu düşüş bir anlamlılığa sahip değildi. 3. ayda saptadığımız gruplar arası anlamlı farklılığın 6. ayda ortadan kalkması, vücudun artan oksidatif strese karşı antioksidan ve/veya DNA hasarını önleyici mekanizmalarını devreye soktuğunu düşündürmektedir.

Çalışmamız demir depo parametresi sonuçları açısından değerlendirildiğinde; GDM'li gebelerin hem birinci hem de ikinci trimester ferritin düzeylerini kontrol grubuna göre yüksek bulsak da, bir anlamlılık saptamadık ($p=0.182$, $p=0.256$). Çalışmamıza katılan tüm gebeler 3. ay ferritin seviyelerine göre düşükten yükseğe göre sıralandığında, 50 persantilin üzerindeki gebelerde (ferritin $\geq$ 13,0 ng/mL, 58 gebe) GDM görülme oranı %5 daha fazla bulunsa da anlamlı bir fark tespit edilmedi. Ancak 50 persantilin üzerindeki bu gebelerde 3. ay R-cdA ve 3. ay 8-OH-dG değerleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.009$, $p=0.034$). Buna benzer şekilde sadece kontrol grubu gebelerinde 3. ay ferritin seviyelerine göre düşükten yükseğe göre sıralandığında, 50 persantilin üzerindeki gebelerin (ferritin $\geq$ 11,9 ng/mL, 42 gebe) 3. ay 8-OH-dG değerleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.017$).

Çalışmamıza katılan gebelerden 24'ü ilk trimesterde düzenli demir takviyesi aldığını belirtmiştir. Bu 24 gebenin nükleozid hasar parametreleri ile ilk trimesterde demir takviyesi almadığını belirten 72 gebenin nükleozid hasar parametreleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. İlk trimesterde demir takviyesi alan bu 24 gebenin gebeliklerinin ikinci trimesterinde GDM gelişme oranı (%33), demir takviyesi almayan gruba (%26) oranla yüksek bulunsa da, istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmamıştır.

GDM'li gebelerde demir durumunu inceleyen geçmişteki birçok çalışmada serum ferritin konsantrasyonlarının diyabetik olmayan kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Afkhami-Ardekani ve arkadaşları 2009 yılında 34 GDM ve kontrol gebesi ile yaptıkları çalışmada 24-28. haftalarda alınan kan örneklerinde GDM grubunun ferritin, hemoglobin, demir ve transferrin saturasyonu gibi parametrelerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuştur (59). Chen ve arkadaşları 2012 yılında 1456 gebe üzerinden yürüttükleri

çalışmada gebeleri ferritin düzeylerine göre 5 gruba ayırmışlardır. Kan örneklerinin gebeliğin 14-18. haftalarında toplandığı bu çalışmada ferritin düzeyleri en yüksek olan grubun (Ferritin $\geq$ 58,6 ng/mL) ileride GDM geliştirme tahmini rölatif riskini 2.05 olarak bulunmuştur.

2012 yılında 399 gebede yürütülen prospektif bir araştırmada, gebelik sırasında yüksek demir alımının özellikle anemik olmayan gebelerde GDM riskini arttırdığı saptanmıştır ve gebelerde rutin demir suplementasyonunu sorgulamıştır (61). Bao ve arkadaşlarının önceden GDM tanısı almış 3976 gebeyi gelecekte Tip 2 DM gelişimi açısından takip ettikleri çalışmada 641 gebe (%16,1) ilerleyen yıllarda Tip 2 DM tanısı almıştır. Bu çalışmaya göre daha yüksek total demir alımı, diyet hem demiri ve suplemental demir alımı Tip 2 DM gelişme riskini arttırmıştır (62). Bu çalışmaların yanı sıra iki çalışmada ise flebotomi, demir şelasyon terapisi gibi yöntemlerle vücut demir miktarı düşürüldüğünde insülin duyarlılığının ve glukoz toleransının daha iyi hale geldiği tespit edilmiştir (63,64). Tarım ve arkadaşları 20 GDM ve 233 kontrol gebesi ile yaptıkları çalışmada GDM'li gebelerin ferritin düzeyleri ile kontrol grubunun ferritin düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulamamışken, ferritin düzeyleri kendi çalışma gruplarında 50 persantilin üzerinde olan gebelerde (ferritin $\geq$ 19,7 μ g/L) GDM görülme sıklığını ferritini düşük olan gebe grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (65).

Zein ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları çalışmada 104 non-anemik gebe, 1. trimesterdeki ferritin düzeylerine göre 4 gruba ayrılmış ve erken gebelik dönemindeki yüksek ferritin düzeylerinin non-anemik kadınlarda gebelik şekerinin prediktörü olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ayrıca yüksek ferritin düzeyleri ile 75 gr OGTT 2. saat kan şekeri yüksekliği arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır. Yine Zein ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları çalışmada ferritin düzeyi GDM olan grupta kontrol grubuna göre yüksek bulunsa da anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak, oksidatif stres ve glukoz intoleransı arasındaki korelasyonda modifiye edici faktör olarak bulunmuştur (66).

Gebelerde demir fazlalığı ile GDM ilişkisini araştıran çalışmaların büyük çoğunluğunda gebenin diyetine, diyet ile aldığı hem/non-hem demir durumuna dikkat edilmemiştir. 23 çalışmanın derlendiği bir meta-analiz çalışmasındaki sonuçlara göre,

non-hem demir alımı ve demir takviyesi ile GDM arasında bir ilişki bulunamamışken, hem demir alımı ve serum ferritin düzeyleri ile GDM gelişimi arasında anlamlı ilişkili bulunmuştur (78). Hem demir ile non-hem demir arasındaki bu farkın barsaklardaki absorpsiyon durumlarındaki farklılıklardan olabileceği belirtilmektedir. Hem demir hayvansal kaynaklı iken ve barsaklardan %15-%35 i emilip kalsiyum dışında önemli bir inhibitöre sahip değil iken non-hem demir bitkisel kaynaklı olup absorpsiyon oranı %2-%20 arasında değişmektedir ve diyetteki diğer birçok içerikten etkilenmektedir.

İnflamasyon markerı olan C-Reaktif Protein (CRP) GDM ile ilişkili bulunmuştur. Ferritin ve CRP'nin GDM ile ilişkisini eşzamanlı olarak inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır (67–70). Chen ve arkadaşları GDM'nin, Jiang ve arkadaşları ise Tip 2 DM'nin yüksek ferritin ve CRP düzeyine sahip olan bireylerde daha sık görüldüğünü belirtmiştir (71,72). Bu bulgular, inflamasyonun GDM gelişimine aracılık edebileceğini göstermektedir. Fakat yapılmış başka çalışmalarda akut faz reaktanı olmayan demir, hemoglobin gibi parametreler de GDM ile ilişkili bulunmuştur.

Diğer yandan, yapılan in vitro çalışmalarda yüksek glukoza maruz bırakılmış β hücrelerinde artmış ferritin düzeylerinin temel nedeninin, ferritinin aynı zamanda antioksidan özellik göstermesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (79,80). GDM'li gebelerde ferritin düzeylerinin daha yüksek olmasına böyle bir açıklama da getirilebilir. Nitekim 1164 gebede yapılan randomize plasebo kontrollü başka bir çalışmada ise demir takviyesinin GDM riskini arttırmadığı bildirilmiştir (81)

Birçok çalışmada ferritin konsantrasyonları istikrarlı bir şekilde GDM ile ilişki göstermiştir ve düşük-yüksek ferritin düzeylerinde de bu ilişki devam etmiştir. (75–77). Fakat demir yüksekliği için hangi eşik değerin kullanılması gerektiği henüz belirsizdir.

Literatürde vücut demir seviyeleri yüksekliğinin GDM ve oksidatif hasarı arttırdığını gösteren birçok çalışma vardır. Ama bu çalışmaların her birinde demir yüksekliği için belirtilen eşik değer farklıdır, çalışmaya özgüdür. Biz de çalışmamızda demir seviyeleri yüksek olan grupla düşük olan grubu karşılaştırdığımızda, yüksek olan grubun nükleozid hasar seviyelerini daha yüksek bulduk. Ama yüksek olarak nitelendirilen bu grupların eşik değerleri (11,9 ve 13,0 ng/mL) hastanemizde kullanılan alt referans değerin (11 ng/mL) yalnızca hemen üstündeydi. Ayrıca yapılan diğer çalışmalarla kıyasladığımızda bizim çalışmamızdaki gebelerde ferritin seviyeleri bir hayli düşüktü.

Gebelerde artan demir ihtiyacı ile birlikte demir depo seviyelerinin düştüğü düşünülürse, ferritin referans aralığının gebelere göre yeniden düzenlenmesi faydalı olabilir.

Çalışmamızı incelediğimiz parametrelerin birbirleriyle ilişkisi açısından değerlendirdiğimizde; oksidatif DNA hasarı parametrelerinin gebeliğin 3. ayında ve 6. ayında birbirleri ile olan anlamlı korelasyonları bu parametrelerin güvenilirliğini arttırmıştır. GDM grubunda ferritin 6. ayda, kontrol grubunda ise 3. ayda aynı dönem 8-OH-dG seviyeleri ile anlamlı korele bulunmuştur. Ayrıca kontrol grubunda 3. ay R-cdA düzeyleri ile 3. ay ferritin ilişkili saptanmıştır. Bu veriler çalışmamızın hipotezini destekler niteliktedir. GDM grubunda 6. ay 8-OH-dG OGTT 1. saat glukoz düzeyleri ile, kontrol grubunda ise 6. ay S-cdA OGTT 2. saat glukoz düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur. Bu bulgular hiperglisemi ile oksidatif DNA hasarı arasındaki ilişkinin varlığını desteklemektedir.

Çalışmamız diğer laboratuvar verileri açısından değerlendirildiğinde; prospektif olarak gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda gebelerin rutin biyokimyasal parametrelerinin üçüncü ve altıncı ay değerlerini kıyasladığımızda hem GDM hem de kontrol grubunun hemoglobin değerlerinin 3. aydan 6. aya anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Bunun yanı sıra kontrol grubunda AKŞ, ferritin ve HbA1c düzeyleri 3. aydan 6. aya anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,001$, $p<0,001$ ve $p=0,035$). AKŞ'nin 3. aydan 6. aya azalmasında 3. ayda kan veren gebelerin bir kısmının kan vermeye tok gelmelerinin etkisi olduğu düşünmekteyiz. Ferritin ve hemoglobinin azalmasının, gebelikte artan eritropoez nedeniyle yükselen gereksinim artışı ve hemodilüsyon gibi sebeplerle ilgili olması muhtemeldir. HbA1c düzeyleri, hem ilk trimesterde hem de ikinci trimesterde GDM grubunda kontrol grubuna göre yüksek olsa da, bir anlamlılık saptanmadı ($p=0,084$, $p=0,182$). HbA1c son 2-3 aylık glisemik durumu yansıtmaya açısından iyi bir biyobelirteç olsa da, gebelikte eritropoezin artması, eritrosit turnover hızının değişmesi gibi etkenler sebebiyle HbA1c'nin gebelikte kullanımı özellikle ikinci trimesterden itibaren önerilmemektedir.

Tüm gebeleri ilk trimesterde kontrol grubunun AKŞ 50 persantili ve aynı zamanda median değeri olan 81 mg/dL'ye göre gruplandırdığımızda, üçüncü ay AKŞ'i düşük (81 mg/dl ve daha düşük) çıkan 58 gebenin %18,9'u ikinci trimester sonunda GDM tanısı

alırken, yüksek (>81 mg/dL) çıkan 59 gebenin %37,2'si GDM tanısı almıştır. 3. ay AKŞ düzeyleri yüksek çıkan gebelerde GDM gelişme oranı düşük çıkan gebelere göre anlamlı olarak yüksek olarak bulunmuştur (p=0,039)

Gebeliğin ilk aylarında birçok merkezde AKŞ üst sınırı olarak erişkinlerde olduğu gibi 100 mg/dL kullanılmaktadır. 92 mg/dL ise gebelerde OGTT açlık kan şekeri üst sınırıdır. Çalışmamızda tüm gebeleri 3. ay AKŞ açısından 92 mg/dL'ye göre gruplandırdığımızda, üçüncü ay AKŞ'i düşük çıkan 92 gebenin %21'i ikinci trimester sonunda GDM tanısı alırken, yüksek çıkan 25 gebenin %48'i GDM tanısı almıştır. Üçüncü ay AKŞ düzeyleri 92 mg/dL eşik değerine göre yüksek çıkan gebelerde GDM gelişme oranı düşük çıkan gebelere göre anlamlı olarak yüksek olarak bulunmuştur (p=0,022). Gebeliğin erken döneminde AKŞ ve 8-OH-dG'nin birlikte kullanımı ile ileride birçok gebede GDM gelişimi olup olmayacağının tahmin edilebileceği düşüncesindeyiz.

Çalışmamızın sınırlılıkları:

- Gebelerin ikili tarama döneminden sonra şehir/hastane değişikliği yapması, ikinci trimester sonunda birçok gebeye ulaşılmasını engelledi. Ayrıca sabah ilk idrar örneğinin istenmesi ve gebelerin bu yüzden idrarlarını o anda yapmak yerine bir sonraki randevusunun olduğu gün veya başka bir günün sabahı yapıp getirmek zorunda olması örnek alımını zorlaştırdı.
- Gebelerin bir kısmı ilk trimesterde AKŞ için kan vermeye aç gelmemiş olabilir.
- Yaklaşık olarak 3 gebeden biri şeker yükleme testini yaptırmak istemedi. Gebelerdeki eksik HbA1c sonuçları çalışmamızın etkisini bir miktar azalttı.
- Gebelerin diyeti, hem demir/non hem demiri alımı dikkate alınmadı.

6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız gebelerde oksidatif DNA hasarının ortaya konulması ve GDM'li gebelerle normal gebeleri bu açıdan kıyaslamak adına literatürdeki boşluğu doldurmaya katkı yapmış ve bazı yeni bilgiler sağlamıştır.

Bu yeni bilgiler ve çalışmamızın literatüre katkıları şu maddelerle özetlenebilir:

- GDM hastalarında gebeliğin erken döneminde oksidatif DNA hasar parametresi olan 8-OH-dG'nin arttığı gözlenmiştir. Geçmişte gebeliğin erken dönemlerinde bu konuda yapılan tek çalışma ile sonuçlarımız örtüşmektedir.
- Gebelerde 8-OH-dG için belirlenmiş bir referans aralık bulunmamaktadır. Çalışmamızda eşik değer olarak kontrol grubunun 3. ay 8-OH-dG 50 persantil değeri olan 1,190 nmol/mmol kreatinin 8-OH-dG baz alındığında, 3. ay 8-OH-dG'si yüksek çıkan gebelerde GDM gelişme oranı düşük çıkan gebelere göre anlamlı olarak artmıştır. Çalışmamız gebelerde erken dönemde yapılacak non-invaziv idrar DNA hasar ölçümlerinin ileri dönem GDM öngörüsünde yararlı olabileceğini ortaya koymaktadır.
- Çalışmamız gebeliğin hem erken döneminde, hem de geç döneminde oksidatif DNA hasarının ölçüldüğü ilk çalışmadır. Gebeliğin geç dönemindeki (ikinci trimester sonu) 8-OH-dG düzeylerinin her iki grupta da gebeliğin erken dönemine (ilk trimester sonu) göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. 3. ayda saptadığımız gruplar arası anlamlı farklılığın 6. ayda ortadan kalkması, vücudun artan oksidatif strese karşı savunma mekanizmalarını devreye soktuğunu düşündürmektedir.
- Çalışmamızdaki gebeleri 3. ayda 81 ve 92 mg/dL AKŞ'ye göre gruplandırdığımızda, AKŞ yüksek grupta ileride GDM gelişme riskini daha yüksek olarak bulduk. Gebeliğin erken döneminde AKŞ ve 8-OH-dG'nin birlikte kullanımı ile ileride birçok gebede GDM gelişimi olup olmayacağının tahmin edilebileceği düşüncesindeyiz.
- GDM grubunun demir depo düzeyleri kontrol grubunun demir depo düzeylerine kıyasla her iki trimesterde de yüksek bulunsa da anlamlı bir fark

saptanmamıştır. Ancak çalışmamıza katılan tüm gebeleri 3. ay ferritin seviyelerine göre düşükten yükseğe göre sıraladığımızda, 50 persantilin üzerindeki gebelerde 3. ay R-cdA ve 3. ay 8-OH-dG değerlerini anlamlı olarak yüksek bulduk. Aynı gruplandırmayı sadece kontrol grubuna uyguladığımızda da 3. ay 8-OH-dG değerleri anlamlı olarak yüksek bulduk. Bu bulgular görece yüksek demir depo düzeyleri ile oksidatif DNA hasarı arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir.

- Çalışmamıza katılan gebelerde ilk trimesterde düzenli demir takviyesi alan 24 gebe ile diğer gebeler arasına nükleozid hasar parametreleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu 24 gebenin gebeliklerinin ikinci trimesterinde GDM gelişme oranı, demir takviyesi almayan gruba oranla yüksek bulunsa da, bu fark istatistiksel bir anlam teşkil etmemiştir. Geçmişte yapılan çalışmalardan çıkan sonuçlar da göz önüne alındığında, gebeliğin erken döneminde oral demir takviyesinden ziyade demir depo düzeyi yüksek olan gebelerin, GDM gelişim riski ile daha ilişkili olabileceğini düşünüyoruz.

Geleceğe yönelik planlanan diğer çalışmalar:

- Daha fazla gestasyonel diyabetli gebeyi içeren bir çalışma ile çalışmamızda çıkan sonuçlar desteklenebilir.
- Gebelerde yapılacak prospektif çalışmalar ile nükleozid hasar parametrelerine dair veriler arttırılabilir.

7 KAYNAKLAR

1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2014;37(1):S81.
2. Riddle MC, Bakris G, Blonde L, Boulton AJM, D 'alessio D, De Groot M, et al. Standard medical care in diabetes 2018. Diabetes Care. 2018;41(1):S13–27.
3. Nathan DM, Balkau B, Bonora E, Borch-Johnsen K, Buse JB, Colagiuri S, et al. International expert committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. CPD Bull Clin Biochem. 2010;10(1):25–33.
4. ADA. Diabetes Mellitus and Other Categories of Description of Diabetes. Diabetes Care. 2004;27(1):S5–10.
5. Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KGMM. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycaemia: The current status on definition and intervention. Diabet Med. 2002;19(9):708–23.
6. Wong MS, Gu K, Heng D, Chew SK, Chew LS TE. The Singapore Impaired Glucose Tolerance Follow-Up Study. 2003;26(11):3024–30.
7. American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus. Diabetes Care. 2004;27(1):88–90.
8. Enquobahrie DA, Williams MA, Qiu C, Luthy DA. Early pregnancy lipid concentrations and the risk of gestational diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract. 2005;70(2):134–42.
9. Hod M, Yogev Y. Goals of metabolic management of gestational diabetes: Is it all about the sugar? Diabetes Care. 2007;30(2):180–7.
10. Herrera E, Lasuncion MA, Palacin M, Zorzano A. Intermediary Metabolism in Pregnancy First Theme of the Freinkel Era. Diabetes. 1991;40(2):83–8.
11. Cianni G Di, Miccoli R, Volpe L, Lencioni C, Prato S Del. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. Diabetes Metab Res Rev. 2003;19:259–70.
12. Catalano PM, Tyzbir ED, Roman NM, Amini SB, Sims EAH. Longitudinal

- changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;165(6):1667–72.
13. Biri A, Onan A, Devrim E, Babacan F, Kavutcu M, Durak I. Oxidant status in maternal and cord plasma and placental tissue in gestational diabetes. *Placenta.* 2006;27:327–32.
 14. Forsbach-Sanchez G, Tamez-Perez H, Vazquez-Lara J. Diabetes and pregnancy. *Arch Med Res.* 2005;36(10):291–9.
 15. Kamana K, Shakya S, Zhang H. Macrosomic fetuses in diabetic pregnancies develop a unique pattern of overgrowth , involving the central deposition of subcutaneous fat in the Gestational Diabetes Mellitus and Macrosomia : A Literature Review Gestational Diabetes Mellitus and Macrosomia. *Ann Nutr Metab.* 2015;66(2):14–20.
 16. Buchanan TA, Xiang AH. Science in medicine Gestational diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 2005;115(3):485–91.
 17. Kim, C., Newton, K. M., & Knopp RH. Gestational Diabetes and the Incidence of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2002;25(10):1862–8.
 18. Garner P. Type I diabetes mellitus and pregnancy. *Lancet.* 1995;346:157–68.
 19. Piper LK, Stewart Z, Murphy HR. Gestational diabetes. *Obstet Gynaecol Reprod Med.* 2017;27(6):171–6.
 20. Wang YA, Nikravan R, Smith HC, Sullivan EA. Higher prevalence of gestational diabetes mellitus following assisted reproduction technology treatment. *Hum Reprod.* 2013;28(9):2554–61.
 21. Kjerulff LE, Sanchez-Ramos L, Duffy D. Pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome: A metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(6):558.e1-558.e6.
 22. Makgoba M, Savvidou MD, Steer PJ. An analysis of the interrelationship between maternal age, body mass index and racial origin in the development of gestational diabetes mellitus. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2012;119(3):276–

82.

23. Ryan EA. Diagnosing gestational diabetes. *Diabetologia*. 2011;54(3):480–6.
24. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı,Tedavi ve İzlem Klavuzu. 2018. 18 p.
25. Karagiannis T, Bekiari E, Manolopoulos K, Paletas K, Tsapas A. Gestational diabetes mellitus: Why screen and how to diagnose. *Hippokratia*. 2010;14(3):151–4.
26. Standards of Medical Care in Diabetes—2011. *Diabetes Care*. 2011 Jan 1;34(Supplement 1):S11 LP-S61.
27. Y. Handelsman, J. Mechanick, L. Blonde GG. AACE Guidelines. *Endocr Pract*. 2011;17(2):1–53.
28. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı,Tedavi ve İzlem Klavuzu. 2018. 19 p.
29. Sermer M, Hanley AJG, Zinman B, Retnakaran R, Connelly PW. Impaired Glucose Tolerance of Pregnancy Is a Heterogeneous Metabolic Disorder as Defined by the Glycemic Response to the Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes Care*. 2006;29(1):57–62.
30. Retnakaran R, Hanley AJG, Raif N, Hirning CR, Connelly PW, Sermer M, et al. Adiponectin and beta cell dysfunction in gestational diabetes: Pathophysiological implications. *Diabetologia*. 2005;48:993–1001.
31. Ergin T, Lembet A, Kuscu E, Duran H, Batioglu S, Bagis T, et al. Does insulin secretion in patients with one abnormal glucose tolerance test value mimic gestational diabetes mellitus? *Am J Obstet Gynecol*. 2002;186(2):204–9.
32. Gelaleti RB, Damasceno DC, Lima PHO, Salvadori DMF, Calderon IDMP, Peraçoli JC, et al. Oxidative DNA damage in diabetic and mild gestational hyperglycemic pregnant women. *Diabetol Metab Syndr*. 2015;7(1):1–7.
33. Moreli JB, Santos JH, Lorenzon-Ojea AR, Corrêa-Silva S, Fortunato RS, Rocha CR, et al. Hyperglycemia differentially affects maternal and fetal DNA integrity

- and DNA damage response. *Int J Biol Sci.* 2016;12(4):466–77.
34. Bothwell TH. Iron Requirements in Pregnancy and Strategies. *Am J Clin Nutr.* 2008;72:257–64.
 35. Klemm RD, Sommerfelt AE, Boyo A, Barba C, Kotecha P, Mona S, et al. Are We Making Progress on Reducing Anemia in Women? *Usaid.* 2011;(July):2.
 36. World Health Organisation. Worldwide prevalence of anaemia: Who Global Database on Anaemia. *WHO Glob Database Anaemia.* 2008;29.
 37. Scholl TO, Reilly T. Anemia, Iron and Pregnancy Outcome. *J Nutr.* 2000;130(2):443–7.
 38. Milman N. Iron in pregnancy - How do we secure an appropriate iron status in the mother and child? *Ann Nutr Metab.* 2011;59(1):50–4.
 39. Haider BA, Olofin I, Wang M. Anaemia , prenatal iron use , and risk of adverse pregnancy outcomes : systematic review and. *BMJ.* 2013;3443(June):1–19.
 40. SAĞLIK BAKANLIĞI TC. Gebelerde Demir Destek Programı Uygulaması Genelgesi 2007 / 6.
 41. Scholl TO. Iron status during pregnancy: Setting the stage for mother and infant. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(5):1218–22.
 42. Weinberg ED. Are iron supplements appropriate for iron replete pregnant women? *Med Hypotheses.* 2009;73(5):714–5.
 43. World health organisation. Guideline: daily iron and folic acid supplementation in pregnant women. Geneva WHO. 2012;46:323–9.
 44. Bolann BJ, Ulvik RJ. On the limited ability of superoxide to release iron from ferritin. *Eur J Biochem.* 1990;193(3):899–904.
 45. Pastor N, Weinstein H, Jamison E, Brenowitz M. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in mechanism of sequence-specific binding. *J Mol Biol.* 2000;304(1):55–68.
 46. Adam Slivka JK and GC. Hydroxyl radicals and the toxicity of oral iron. *Biochem*

- Pharmacol. 1986;35(4):553–6.
47. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: Induction, repair and significance. Vol. 567, Mutation Research - Reviews in Mutation Research. 2004. 1-61 p.
 48. Rice-Evans C, Baysal E. Iron-mediated oxidative stress in erythrocytes. *Biochem J.* 1987;244:191–6.
 49. Backe MB, Moen IW, Ellervik C, Hansen JB, Mandrup-Poulsen T. Iron Regulation of Pancreatic Beta-Cell Functions and Oxidative Stress. *Annu Rev Nutr.* 2016;36(1):241–73.
 50. Cejvanovic V, Kjær LK, Bergholdt HKM, Torp-Pedersen A, Henriksen T, Weimann A, et al. Iron induced RNA-oxidation in the general population and in mouse tissue. *Free Radic Biol Med.* 2018;115(May 2017):127–35.
 51. Fridlyand LE, Philipson LH. Does the glucose-dependent insulin secretion mechanism itself cause oxidative stress in pancreatic Beta-Cells? *Diabetes.* 2004;53(8):1942–8.
 52. Hansen JB, Moen IW, Mandrup-Poulsen T. Iron: The hard player in diabetes pathophysiology. *Acta Physiol.* 2014;210(4):717–32.
 53. Cooksey RC, Jouihan HA, Ajioka RS, Hazel MW, Jones DL, Kushner JP, et al. Oxidative stress, β -cell apoptosis, and decreased insulin secretory capacity in mouse models of hemochromatosis. *Endocrinology.* 2004;145(11):5305–12.
 54. Huang J, Jones D, Luo B, Sanderson M, Soto J, Abel ED, et al. Iron Overload and Diabetes Risk : A Shift From Glucose. *Diabetes.* 2011;60(January):80–7.
 55. Green A, Basile R, Rumberger JM. Transferrin and iron induce insulin resistance of glucose transport in adipocytes. *Metabolism.* 2006;55(8):1042–5.
 56. Zein S, Rachidi S, Hininger-Favier I. Is oxidative stress induced by iron status associated with gestational diabetes mellitus? *J Trace Elem Med Biol.* 2014;28(1):65–9.
 57. Dongiovanni P, Valenti L, Fracanzani AL, Gatti S, Cairo G, Fargion S. Iron

- depletion by deferoxamine up-regulates glucose uptake and insulin signaling in hepatoma cells and in rat liver. *Am J Pathol.* 2008;172(3):738–47.
58. Casanueva E, Viteri FE. Iron and Oxidative Stress in Pregnancy. *J Nutr.* 2003;133:1700–8.
 59. Afkhami-Ardekani M, Rashidi M. Iron status in women with and without gestational diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2009;23(3):194–8.
 60. Lao TT, Tam KF. Maternal serum ferritin and gestational impaired glucose tolerance. *Diabetes Care.* 1997;20(9):1368–9.
 61. Helin A, Kinnunen TI, Raitanen J, Ahonen S, Virtanen SM, Luoto R. Iron intake, haemoglobin and risk of gestational diabetes: A prospective cohort study. *BMJ Open.* 2012;2(5):1–8.
 62. Bao W, Chavarro JE, Tobias DK, Bowers K, Li S, Hu FB, et al. Long-term risk of type 2 diabetes in relation to habitual iron intake in women with a history of gestational diabetes: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2016;103(2):375–81.
 63. Effect of Phlebotomy on Plasma Glucose and Insulin Concentrations. *Diabetes Care.* 1998;21(12):2190–2190.
 64. Fernández-Real JM, Penarroja G, Castro A, García-Bragado F, López-Bermejo A, Ricart W. Blood letting in high-ferritin type 2 diabetes: effects on insulin sensitivity and beta-cell function. *Diabetes.* 2002;51:1000–4.
 65. Tarim E, Kilicdag E, Bagis T, Ergin T. High maternal hemoglobin and ferritin values as risk factors for gestational diabetes. *Int J Gynecol Obstet.* 2004;84(3):259–61.
 66. Zein S, Rachidi S, Shami N, Sharara I, Cheikh-Ali K, Gauchez AS, et al. Association between iron level, glucose impairment and increased DNA damage during pregnancy. *J Trace Elem Med Biol.* 2017;43:52–7.
 67. Rawal S, Hinkle SN, Bao W, Zhu Y, Grewal J, Albert PS, et al. A longitudinal study of iron status during pregnancy and the risk of gestational diabetes:

- findings from a prospective, multiracial cohort. *Diabetologia*. 2017;60(2):249–57.
68. Bowers KA, Olsen SF, Bao W, Halldorsson TI, Strøm M, Zhang C. Plasma Concentrations of Ferritin in Early Pregnancy Are Associated with Risk of Gestational Diabetes Mellitus in Women in the Danish National Birth Cohort. *J Nutr*. 2016;146(9):1756–61.
 69. Zein S, Rachidi S, Awada S, Osman M, Al-Hajje A, Shami N, et al. High iron level in early pregnancy increased glucose intolerance. *J Trace Elem Med Biol*. 2015;30:220–5.
 70. Khambalia AZ, Collins CE, Roberts CL, Morris JM, Powell KL, Tasevski V, et al. Iron deficiency in early pregnancy using serum ferritin and soluble transferrin receptor concentrations are associated with pregnancy and birth outcomes. *Eur J Clin Nutr*. 2016;70(3):358–63.
 71. Chen X, Scholl TO, Stein TP. Association of elevated serum ferritin levels and the risk of gestational diabetes mellitus in pregnant women: The Camden study. *Diabetes Care*. 2006;29(5):1077–82.
 72. Jiang R, Manson JE, Meigs JB, Ma J, Rifai N, Hu FB. Body Iron Stores in Relation to Risk of Type 2. *J Am Med Assoc*. 2004;291(6):711–7.
 73. Sivitskaya L. HFE Gene Mutation Associated with the Severity of Gestational Diabetes Mellitus in Belarusian Women. *Open J Endocr Metab Dis*. 2013;03(01):13–7.
 74. Barke TL, Goldstein JA, Sundermann AC, Reddy AP, Linder JE, Correa H, et al. Gestational diabetes mellitus is associated with increased CD163 expression and iron storage in the placenta. *Am J Reprod Immunol*. 2018;80(4):1–13.
 75. Fernández-Cao JC, Aranda N, Ribot B, Tous M, Arijia V. Elevated iron status and risk of gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Matern Child Nutr*. 2017;13(4):1–12.
 76. Fu S, Li F, Zhou J, Liu Z. The relationship between body iron status, iron intake and gestational diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Med (United States)*. 2016;95(2):1–8.

77. Zhang C, Rawal S. Dietary iron intake, iron status, and gestational diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2017;106:1672S–1680S.
78. Zhao L, Lian J, Tian J, Shen Y, Ping Z, Fang X, et al. Dietary intake of heme iron and body iron status are associated with the risk of gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2017;26(6):1092–106.
79. MacDonald MJ, Cook JD, Epstein ML FC. Large amount of (apo)ferritin in the pancreatic insulin cell and its stimulation by glucose. *FASEB J.* 1994;8:777–81.
80. Rahier J, Loozen S, Goebbels RM, Abraham M. The haemochromatotic human pancreas: a quantitative immunohistochemical and ultrastructural study. *Diabetologia.* 1987;30(1):5–12.
81. Chan KKL, Chan BCP, Lam KF, Tam S, Lao TT. Iron supplement in pregnancy and development of gestational diabetes - A randomised placebo-controlled trial. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2009;116(6):789–97.
82. Sies H. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015;4:180–3.
83. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44–84.
84. Dizdaroglu M. Oxidatively induced DNA damage: Mechanisms, repair and disease. *Cancer Lett.* 2012;327(1–2):26–47.
85. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:1–44.
86. Avendaño C, Menéndez JC. Anticancer Drugs Acting via Radical Species. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs.* 2008. 93-138 p.
87. Broedbaek K, Siersma V, Henriksen T, Weimann A, Petersen M, Andersen JT, et al. Urinary markers of nucleic acid oxidation and long-term mortality of newly

- diagnosed type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2011;34(12):2594–6.
88. Chernikov A V., Gudkov S V., Usacheva AM, Bruskov VI. Exogenous 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine: Biomedical properties, mechanisms of action, and therapeutic potential. *Biochem*. 2017;82(13):1686–701.
 89. Kaneko T, Tahara S, Matsuo M. Non-linear accumulation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidized DNA damage, during aging. *Mutat Res - DNAGing Genet Instab Aging*. 1996;316(5–6):277–85.
 90. Kawanishi S, Hiraku Y, Oikawa S. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutat Res - Rev Mutat Res*. 2001;488(1):65–76.
 91. Keith C. Cheng, David S. Cahill, Hiroshi Kasai, Susumu Nishimura and LAL. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G----T and A----C substitutions. *Journel Biol Chem*. 1992;267(1):166–72.
 92. Fleming AM, Alshykhly O, Zhu J, Muller JG, Burrows CJ. Rates of Chemical Cleavage of DNA and RNA Oligomers Containing Guanine Oxidation Products. *Chem Res Toxicol*. 2015;28(6):1292–300.
 93. Dizdaroglu M, Jaruga P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res*. 2012;46(4):382–419.
 94. Guo C, Ding P, Xie C, Ye C, Ye M, Pan C, et al. Potential application of the oxidative nucleic acid damage biomarkers in detection of diseases. *Oncotarget*. 2017;8(43):75767–77.
 95. Chuma M, Hige S, Nakanishi M, Ogawa K, Natsuizaka M, Yamamoto Y, et al. 8-Hydroxy-2'-deoxy-guanosine is a risk factor for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;23(9):1431–6.
 96. Kageyama Y, Takahashi M, Ichikawa T, Torikai E, Nagano A. Reduction of oxidative stress marker levels by anti-TNF- α antibody, infliximab, in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26(1):73–80.

97. Mahmoudi M, Mercer J, Bennett M. DNA damage and repair in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2006;71(2):259–68.
98. Satoh M, Ishikawa Y, Takahashi Y, Itoh T, Minami Y, Nakamura M. Association between oxidative DNA damage and telomere shortening in circulating endothelial progenitor cells obtained from metabolic syndrome patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2008;198(2):347–53.
99. Nishikawa T, Sasahara T, Kiritoshi S, Sonoda K, Senokuchi T, Matsuo T, et al. Evaluation of urinary 8-hydroxydeoxy-guanosine as a novel biomarker of macrovascular complications in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2003;26(5):1507–12.
100. Nakanishi S, Suzuki G, Kusunoki Y, Yamane K, Egusa G, Kohno N. Increasing of oxidative stress from mitochondria in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab Res Rev.* 2004;20(5):399–404.
101. Endo K, Miyashita Y, Sasaki H, Ebisuno M, Ohira M, Saiki A, et al. Probucol and Atorvastatin Decrease Urinary 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine in Patients with Diabetes and Hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb.* 2006;13(1):68–75.
102. Stein TP, Scholl TO, Schluter MD, Leskiw MJ, Chen X, Spur BW, et al. Oxidative stress early in pregnancy and pregnancy outcome. *Free Radic Res.* 2008;42(10):841–8.
103. Brooks PJ, Wise DS, Berry DA, Kosmoski J V., Smerdon MJ, Somers RL, et al. The oxidative DNA lesion 8,5'-(S)-cyclo-2'-deoxyadenosine is repaired by the nucleotide excision repair pathway and blocks gene expression in mammalian cells. *J Biol Chem.* 2000;275(29):22355–62.
104. Jaruga P, Xiao Y, Nelson BC, Dizdaroglu M. Measurement of (5'R)- and (5'S)-8,5'-cyclo-2'-deoxyadenosines in DNA in vivo by liquid chromatography/isotope-dilution tandem mass spectrometry. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;386(4):656–60.
105. Dirksen ML, Blakely WF, Holwitt E, Dizdaroglu M. Effect of DNA conformation on the hydroxyl radical-induced formation of 8,5'-cyclopurine

- 2'deoxyribonucleoside residues in DNA. *Int J Radiat Biol.* 1988;54(2):195–204.
106. Tabak O, Gelisgen R, Erman H, Erdenen F, Muderrisoglu C, Aral H, et al. Oxidative lipid, protein, and DNA damage as oxidative stress markers in vascular complications of diabetes mellitus. *Clin Investig Med.* 2011;34(3):163–71.
 107. Zengi A, Ercan G, Caglayan O, Tamsel S, Karadeniz M, Simsir I, et al. Increased oxidative DNA damage in lean normoglycemic offspring of type 2 diabetic patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2011;119(8):467–71.
 108. Schaffer SW, Jong CJ, Mozaffari M. Role of oxidative stress in diabetes-mediated vascular dysfunction: Unifying hypothesis of diabetes revisited. *Vascul Pharmacol.* 2012;57:139–49.
 109. Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct.* 2003;21(3):291–6.
 110. Östenson CG. The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: An overview. *Acta Physiol Scand.* 2001;171(3):241–7.
 111. Lipinski B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2001;15(4):203–10.
 112. Van Den Oever IAM, Raterman HG, Nurmohamed MT, Simsek S. Endothelial dysfunction, inflammation, and apoptosis in diabetes mellitus. *Mediators Inflamm.* 2010;2010.
 113. Coughlan MT, Vervaart PP, Permezel M, Georgiou HM, Rice GE. Altered placental oxidative stress status in gestational diabetes mellitus. *Placenta.* 2004;25(1):78–84.
 114. Yakes FM, Van Houten B. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci.* 1997;94:514–9.
 115. Hiroyuki S, Akazawa S, Ishibashi M, Izumino K. Significance of Glutathione-Dependent Antioxidant System in Diabetes-Induced Embryonic Malformations. *Diabetes.* 1999;48:1138–44.

116. Rajdl D, Racek J, Steinerova A, Novotny Z, Stozicky F, Trefil L, et al. Markers of oxidative stress in diabetic mothers and their infants during delivery. *Physiol Res*. 2005;54(4):429–36.
117. Marfella R, Quagliaro L, Nappo F, Ceriello A, Giugliano D, Pennathur S, et al. Acute hyperglycemia induces an oxidative stress in healthy subjects. *J Clin Invest*. 2001;108(4):635–6.
118. Omu AE, Al-Azemi MK, Omu FE, Fatinikun T, Mahnazhath N, Abraham S, et al. Butyrylcholinesterase activity in women with diabetes mellitus in pregnancy: Correlation with antioxidant activity. *J Obstet Gynaecol (Lahore)*. 2010;30(2):122–6.
119. Chaudhari L, Tandon OP, Vaney N, Agarwal N. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in gestational diabetics. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2003;47(4):441–6.
120. Peuchant E, Brun JL, Rigalleau V, Dubourg L, Thomas MJ, Daniel JY, et al. Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes. *Clin Biochem*. 2004;37(4):293–8.
121. Surapaneni KM. Oxidant–Antioxidant Status in Gestational Diabetes Patients. *J Clin DIAGNOSTIC Res*. 2007;1(4):235–8.
122. Karacay Ö, Sepici-Dincel A, Karcaaltincaba D, Sahin D, Yalvaç S, Akyol M, et al. A quantitative evaluation of total antioxidant status and oxidative stress markers in preeclampsia and gestational diabetic patients in 24-36 weeks of gestation. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010;89(3):231–8.
123. Gelisgen R, Genc H, Kayali R, Oncul M, Albayrak M, Uludag S, et al. Protein oxidation markers in women with and without gestational diabetes mellitus: A possible relation with paraoxonase activity. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;94(3):404–9.
124. López-Tinoco C, Roca M, García-Valero A, Murri M, Tinahones FJ, Segundo C, et al. Oxidative stress and antioxidant status in patients with late-onset gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2013;50(2):201–8.

125. Li P, Tong Y, Yang H, Zhou S, Xiong F, Huo T, et al. Mitochondrial translocation of human telomerase reverse transcriptase in cord blood mononuclear cells of newborns with gestational diabetes mellitus mothers. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;103(2):310–8.
126. 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):804–8.
127. Qiu C, Hevner K, Abetew D, Sedensky M, Philip M, Enquobahrie DA, et al. Mitochondrial DNA copy number and oxidative DNA damage in placental tissues from gestational diabetes and control pregnancies: A pilot study. *Clin Lab.* 2013;59(5–6):655–60.
128. Jamil D, Al-aubaidy H, Smith L, Jelinek H. Oxidative DNA Damage in Gestational Diabetes Mellitus: Correlation with Antioxidants in an Iraqi Cohort. 2014;4(5):410–9.
129. Toljic M, Egic A, Munjas J, Karadzov Orlic N, Milovanovic Z, Radenkovic A, et al. Increased oxidative stress and cytokinesis-block micronucleus cytome assay parameters in pregnant women with gestational diabetes mellitus and gestational arterial hypertension. *Reprod Toxicol.* 2017;71:55–62.
130. Jaruga P, Rodriguez H, Dizdaroglu M. Measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyadenosine in DNA by liquid chromatography/mass spectrometry. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(3):336–44.
131. Lee HC, Wei YH. Mitochondrial role in life and death of the cell. *J Biomed Sci.* 2000;7(1):2–15.
132. Liu C-S, Wei Y-H, Chen H-W, Ma Y-S, Kuo C-L, Lii C-K, et al. Oxidative Stress-related Alteration of the Copy Number of Mitochondrial DNA in Human Leukocytes. *Free Radic Res.* 2003;37(12):1307–17.
133. Lin C-S, Wang L-S, Tsai C-M, Wei Y-H. Low copy number and low oxidative damage of mitochondrial DNA are associated with tumor progression in lung cancer tissues after neoadjuvant chemotherapy. *Interact Cardiovasc Thorac*

Surg. 2008;7(6):954–8.



8 EKLER

EK 1: ETİK KURUL ONAYI

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2016/05-37	Tarih:18.02.2016			
	Prof.Dr.Hüseyin İŞLEKEL'in sorumlusu olduğu "Gestasyonel Diyabetes Mellitus ve Bozulmuş Glukoz Toleransı Olan Gebelerde Oksidatif DNA Hasarının Demir Düzeyleri ile İlişkisinin İncelenmesi" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.				
ETİK KURUL BİLGİLERİ					
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu				
ETİK KURUL ÜYELERİ					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsi yet	Araştırma ile ilişkili mi?	İmza
Prof.Dr.Banu ÖNVURAL (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Ş.Reyhan UÇKU (Başkan Yardımcısı)	Halk Sağlığı	DEU Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.	Kadın	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Nejat SARIOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Ece BÖBER	Pediyatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Vesile ÖZTÜRK	Nöroloji	DEU Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Sevinç ERASLAN	Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Mukaddes GÜMÜŞTEKİN	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Nihal GELECEK	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Müge KIRAY	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	
Doç.Dr.Şeyda SEREN İNTEPELER	Hemşirelik Yönetimi	DEU Hemşirelik Fakültesi Hemşirelik Yönetimi A.D.	Kadın	E ☐ H ☒	
Doç.Dr.Sefa KIZILDAĞ	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D.	Erkek	E ☐ H ☒	
Prof.Dr.Sevda ÖZKARDEŞLER	Anesteziyoloji	DEU Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.	Kadın	E ☐ H ☒	
Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN	Hukuk	DEU Tıp Tarihi ve Etik A.D.	Erkek	E ☐ H ☒	
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐ H ☒	

EK 2: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nde gebelik durumu nedeniyle takiplerinizi yaptırmaktasınız. Bu amaçla gebeliğinizin 11-14. haftalarında ve 24-28. haftalarında rutin tarama amaçlı sizden kan ve tam idrar örneği alınmaktadır. 24-28. Haftalarda sizden alınacak olan kan örneğinde, tüm dünyada rutin olarak uygulanan şeker yükleme testi size de uygulanacaktır. Şeker yükleme, gebelik takibinde uzun yıllardır var olan standart bir taramadır. Biz de bu çalışmada sizden rutin dışı bir inceleme için kan almayacağız ve ek bir inceleme yapmayacağız. Sizden alınan kandan bakılan şeker düzeylerini değerlendirmeye alacağız ve vücut depo demir durumunu yansıtan ferritin parametresinin düzeylerini inceleyeceğiz. İdrar örneğinizde ise oksidatif stres parametreleri olan 8-OHdG ve S-cdA incelemesi yapılacaktır.

Bu örnekler sizin izniniz dışında başka bir çalışma için kullanılmayacak, çalışma sonrası imha edilecektir.

Çalışmadan elde edilecek bilgilerle gebeye yönelik bir tedavi değişikliği uygulanmayacaktır. Rutin takip devam edecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Bağlı olduğunuz sosyal güvenlik kurumundan da bir ödeme istenmeyecektir. Tüm çalışma masrafları araştırma ile ilgili bütçeden karşılanacaktır. Size ilave kan veya görüntüleme testleri de yapılmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde de gebelik takiplerinizi olağan şekilde devam edecektir. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Dokuz Eylöl Üniğersitesi Tıp Faköltesi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

Araştırmanın rutin alınmış olan kan örneklerinden ilave bir, rutin alınmış idrar örneklerinden ilave 2 madde çalışılması ile ilgili olduğu tarafıma ifade edildi. Aklıma takılan herhangi bir soru olur ise Dr. M.Oğuz Erbağcı 02324122559, 05533075951 no'lu telefonlardan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adı, soyadı:

Adres:

Adres:

Tel. :

Tel. :

Tarih:

Tarih:

İmza:

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı, soyadı:

Adres:

Tel. :

Tarih:

İmza:

X X X X