



T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİMDALI

**KLİNİK OLARAK MODY DİYABETİ OLDUĞU DÜŞÜNÜLEN TÜRK
ÇOCUKLARINDA HEDEFE YÖNELİK YENİ NESİL DİZİ ANALİZİ
YÖNTEMİYLE MOLEKÜLER TANININ ORTAYA KONMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr.MUSTAFA DOĞAN
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. HÜSEYİN YÜCE**

Düzce 2017

TEŞEKKÜR

Eğitimimin başlangıcından şu ana kadar, tavsiyeleriyle ve zorlukların aşılmasındaki çabalarıyla rehberlik eden; insani değerleri, hoş gürüsü ile ömür boyu saygıyla anacağım, tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Hüseyin YÜCE'ye,

Tez çalışmamda bilgi ve tecrübesinin yanında değerli dostluğu ile hep desteğini hissettiğim, çalışkanlığıyla bizlere örnek olan, tezin istatistiksel çalışmalarından düzeltmelerine kadar her evresinde katkıda bulunan hocam sayın Doç. Dr. Recep Eröz'e,

Çalışmaya dahil ettikleri hastaları ile tezin yürütülmesinde sundukları eşsiz katkı ve tezin yazılması sürecinde yol gostericiliği ve yardımlarını esirgemeyen Düzce Üniversitesi Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalı Başkanı hocam sayın Prof. Dr. İlknur Arslanoğlu'na ve Uzman Dr. Semih Bolu'ya,

Yeni nesil dizi analizi yöntemi ile mutasyonların tespiti ve yorumlanması konusunda desteğini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Serdar Ceylaner'e ve Yüksek Moleküler Biyolog Haldun Doğan'a,

Asistanlık hayatım boyunca birlikte çalışmaktan ve tanımaktan mutluluk duyduğum başta Pediatri AD hoca ve asistanları olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olduklarını hissettiğim çok değerli aileme,

Sonsuz minnettarlığımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Düzce Üniversitesi BAP-2016.04.03.481 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ	V
TABLO LİSTESİ	VII
ŞEKİL LİSTESİ	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diyabetes Mellitus'un Tanımı, Epidemiyolojisi ve Önemi	3
2.1.1. Diyabetes Mellitus'un Tanımı	3
2.1.2. Diyabetes Mellitus'un Epidemiyolojisi	4
2.1.3. Diyabetes Mellitus'un Önemi	6
2.2. Diyabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri ve Sınıflandırılması	8
2.2.1. Diyabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri	9
2.2.2. Diyabetes Mellitus'un Etyolojik Sınıflandırması	9
2.3. Tip 1 Diabetes Mellitus	10
2.4. Tip 2 Diyabetes Mellitus	13
2.5. Monogenik Diyabet	14
2.5.1. Mody Diyabeti	15
2.5.1.1. MODY tip 1(HNF4A-MODY)	18
2.5.1.2. MODY tip 2 (GCK-MODY)	19
2.5.1.3. MODY tip 3(HNF1A-MODY)	20
2.5.1.4. MODY Tip 4 (PDX1 MODY)	20
2.5.1.5. MODY Tip 5 (HNF1B-MODY)	20

2.5.1.6. MODY Tip 6 (NEUROD1-MODY)	21
2.5.1.7. MODY Tip 7 (KLF11-MODY)	22
2.5.1.8. MODY Tip 8 (CEL-MODY)	22
2.5.1.9. MODY Tip 9 (PAX4 –MODY)	23
2.5.1.10. MODY Tip 10 (INS-MODY)	23
2.5.1.11. MODY Tip 11 (BLK-MODY)	23
2.5.1.12. MODY Tip 12 (ABCC8-MODY)	24
2.5.1.13. MODY Tip 13 (KCNJ11–MODY)	24
2.5.1.14. MODY Tip 14 (APPL1–MODY)	24
2.5.2. Neonatal Diyabet	24
2.5.3. Mitokondriyal Diyabet	25
2.6. NGS	26
3.GEREÇ ve YÖNTEMLER	28
3.1. Çalışmada Kullanılan Demirbaş Cihaz Listesi ve Markası	28
3.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzeme Listesi ve Markası	29
3.3.Hasta Seçimi	29
3.4.Çalışma planı	30
3.5.Moleküler Çalışmalar	31
3.5.1. DNA İzolasyonu	31
3.5.2.Gerekli primerlerin tasarımı	31
3.5.3.Örneklerin hazırlanması	37
3.5.4. PCR	38
3.5.5.PCR havuzu oluşturma	41
3.5.6.Saflaştırma	41

3.5.7.Yeni nesil sekans için örnek hazırlanması	41
3.5.8.Yeni nesil sekans	42
3.5.9.Yığınların(Cluster) oluşturulması ve Dizileme	43
3.5.10.Verilerin Analiz İşlemi	43
4. BULGULAR	49
4.1. Birinci hastaya ait bulgular	49
4.2. İkinci hastaya ait bulgular	51
4.3. Üçüncü hastaya ait bulgular	54
4.4. Dördüncü hastaya ait bulgular	56
4.5. Beşinci hastaya ait bulgular	60
4.6. Altıncı hastaya ait bulgular	62
4.7. Yedinci hastaya ait bulgular	64
4.8. Sekizinci hastaya ait bulgular	67
4.9. Dokuzuncu hastaya ait bulgular	69
4.10. Onuncu hastaya ait bulgular	74
4.11. Onbirinci hastaya ait bulgular	77
4.12. Onikinci hastaya ait bulgular	80
4.13. Onüçüncü hastaya ait bulgular	83
TARTIŞMA VE SONUÇ	96
KAYNAKLAR	121
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

GCK	:Glukokinaz
HNF1A	:Hepatosit nuklear factor-1A
HNF4A	:Hepatosit nuklear factor-4A
HNF1B	:Hepatosit nuklear factor-1B
ABCC8	:ATP bağımlı K kanalı SUR1 subuniti
KCNJ11	:ATP bağımlı K kanalı Kir6.2 subuniti
INS	:İnsülin
PDX1	:Pancreas/duodenum homeobox protein
NEUROD1	:Nörojenik farklılaşma faktörü 1
CEL	:Karbonil Ester Lipaz
KLF11	:Kruppel benzeri faktör 11
PAX4	:Paired box 4
BLK	:B-lenfosit Tirozin Kinaz
AST	:Aspartat Aminotransferaz
cDNA	:Komplementer DNA
CRP	:C-reaktif protein
ADA	:Amerikan Diyabet Birliği
ALT	:Alanin Aminotransferaz
BAG	:Bozulmuş Açlık Glikozu
BGT	:Bozulmuş Glikoz Toleransı
NDM	:Neonatal diabetes mellitus
DM	:Diabetes Mellitus
T1DM	:Tip 1 Diyabet
T2DM	:Tip 2 Diyabet
β	:Beta
NDDG	:National Diabetes Data Groups
HLA	: Human LeukocyteAntigen

TNDM	:Geçici Neonatal Diabetes Mellitus
MHC	: Major Histocompatibility Complex
LADA	:Latent Otoimmün Diyabet
IAA	İnsulin otoantikoru
GADA	Glutamik asit dekarboksilaz antikoru
ICA	Adacık hücre antikoru
ZnT8A	Çinko transporter antikoru
MR	: Magnetikrezonans
MODY	:MaturityOnsetDiabetes of theYoung
NIDDM	:İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
OGTT	:Oral Glikoz Tolerans Testi
PNDM	:Kalıcı Neonatal Diabetes Mellitus
SGLT2	: Sodium-glukoz kotransporter 2
SUR1	: Sulfonilüre reseptörü 1
NGS	: Yeni jenerasyon dizi analizi
GLUT	:Glukoz Taşıyıcı Molekül
G6P	:Glikoz 6 Fosfat
IDDM	:İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus
RT-PCR	: Reverse Transcriptase -Polymerase Chain Reaction
SNP	: Single Nucleotid Polymorphism
TURDEP	:Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Projesi
USG	: Ultrasonografi
VKİ	:Vücut Kitle İndeksi
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü
X-Ray	: X ışınları radyografisi
µl	: Mikrolitre
ng	: Nanogram

Tablo Listesi

Tablo 1: IDF Diyabet Atlası Küresel Tahminleri (2015 – 2040 yılı)

Tablo 2: Normal, Bozulmuş Açlık Glikozu (BAG), Bozulmuş Glikoz Toleransı (BGT) ve diyabet tanısında kullanılan plazma glukoz değerleri

Tablo 3:Bugüne kadar MODY’e sebep olduğu ortaya konmuş olan genleri gösteren tablo

Tablo 4: MODY Tipi Diyabetin Tanısında Kullanılan algoritma

Tablo 5: Çalışma yapılacak genler için tasarlanan primer çiftleri

Tablo 6: PCR reaksiyon miks içeriği

Tablo 7: Yapılacak olan PCR işlemi için hazırlanmış olan döngüleri ve süresini gösteren protokol

Tablo 8: PCR reaksiyonu sonunda oluşması beklenen ampliconlar ve büyüklüğü

Tablo 9: Patojenik varyantların sınıflandırılmasındaki kriterler

Tablo 10: Benign varyantların sınıflandırılmasındaki kriterler

Tablo 11: Birinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 12: Birinci hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo

Tablo 13:Birinci hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 14: İkinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 15:İkinci hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 16:Üçüncü hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 17: Üçüncü hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Tablo 18:Üçüncü hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 19: Dördüncü hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 20:Dördüncü hastada tespit edilen varyantın splicing mekanizmasına olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Tablo 21: Tespit edilen mutasyonun pozisyonu ve içeriğine ait verileri gösteren tablo.

Tablo 22:Beşinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 23:Beşinci hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Tablo 24:Altıncı hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 25: Altıncı hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Tablo 26: Yedinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 27: Yedinci hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Tablo 28: Yedinci hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 29: Sekizinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 30: Sekizinci hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo

Tablo 31: Sekizinci hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 32: Dokuzuncu hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 33: Dokuzuncu hastada tespit edilen iki varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Tablo 34: Dokuzuncu hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 35: Dokuzuncu hastada tespit edilen mutasyonun pozisyonu ve içeriğine ait verileri gösteren tablo.

Tablo 36: Onuncu hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 37: Onuncu hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Tablo 38: Onuncu hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 39: Onbirinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 40: Onbirinci hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo

Tablo 41: Onikinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 42: Onikinci hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Tablo 43: Onikinci hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 44: Onüçüncü hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 45: Onüçüncü hastada tespit edilen varyantların olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Tablo 46: Onüçüncü hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 47: Onüçüncü hastada tespit edilen HNF1A geni V462V değişimi sonucu oluşan sessiz mutasyonun patojeniteye neden olabilecek splicing'i değiştirebileceğini gösteren HSF in silico analiz verisi

Tablo 48:Onüçüncü hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 49:Hastaların Tanı Anındaki Laboratuvar bulguları ve Antropometrik Verileri

Tablo 50:MODY(+) ve MODY(-) olan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

Tablo 51: Mutasyon Pozitif olanlar hastaların tanı anındaki HBA1C ile İnsülin ihtiyacı, tanıdaki açlık kan şekeri, Trigliserit düzeyleri arasındaki polinomial regresyon analiz sonuçlarını gösterir tablo

Tablo 52: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki BMI ile tanı yaşı ve ALT düzeyleri arasındaki polinomial regresyon analiz sonuçlarını gösterir tablo

Tablo 53: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki HBA1C ile İnsülin ihtiyacı, tanıdaki açlık kan şekeri, Trigliserit ve AST düzeyleri arasındaki korelasyon sonuçlarını gösterir tablo.

Şekil Listesi

Şekil 1: Çalışılan hastalara ait jel görüntüleri

Şekil 2: Hedeflenen gen bölgelerinin amplifikasyonunun yapıldığı PCR cihazları

Şekil 3: MiSeq Reagent Sequencing Library v2 (300-cycles) (Illumina)

Şekil 4: MiSeq cihazı görüntüsü (Illumina, Inc.)

Şekil 5: Birinci hastaya ait soyağacı

Şekil 6: Birinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 7: İkinci hastaya ait soyağacı

Şekil 8: İkinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 9: Üçüncü hastaya ait soyağacı

Şekil 10: Üçüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 11: Dördüncü hastaya ait soyağacı

Şekil 12: Dördüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 13: Beşinci hastaya ait soyağacı

Şekil 14: Beşinci hastaya NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 15: Altıncı hastaya ait soyağacı

Şekil 16: Altıncı hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 17: Yedinci hastaya ait soyağacı

Şekil 18: Sekizinci hastaya ait soyağacı

Şekil 19: Sekizinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 20: Dokuzuncu hastaya ait soyağacı

Şekil 21: Dokuzuncu hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 22: Dokuzuncu hastaya ait ikinci mutasyonu gösteren NGS dizileme görüntüsü

Şekil 23: Onuncu hastaya ait soyağacı

Şekil 24: Onuncu hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 25: Onbirinci hastaya ait soyağacı

Şekil 26: Onbirinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 27: Onikinci hastaya ait soyağacı

Şekil 28: Onikinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil

Şekil 29: Onüçüncü hastaya ait soyağacı

Şekil 30: Onüçüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen birinci mutasyonu gösterir şekil

Şekil 31: Onüçüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen ikinci mutasyonu gösterir şekil

Şekil 32: Onüçüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen üçüncü mutasyonu gösterir şekil

Şekil 33: Mutasyon çeşitlerini ve bu mutasyonları taşıyan hasta sayılarını gösterir grafik

Şekil 34: Çıkan mutasyonların çeşidi ve yüzdesini gösteren pasta grafiği

Şekil 35: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki HBA1C ile İnsülin ihtiyacı arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği

Şekil 36: Mutasyon Pozitif olanlarda, tanıdaki HBA1C ile tanıdaki açlık kan şekeri arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği

Şekil 37: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki HBA1C ile trigliserit arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği

Şekil 38: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki BMI ile tanı yaşı arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği

Şekil 39: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki BMI ile ALT arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği

Şekil 40: WFS1 genindeki mutasyonların dağılımı

ÖZET

Diyabet özellikle çocukluk çağında klinik ve etyopatogenetik heterojenite gösteren ağır bir kronik hastalıktır. Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) otozomal dominant kalıtım paternine sahip ve belirgin genetik heterojenitesi olan bir diyabet tipidir. MODY'nin moleküler genetik tanısı optimal tedavi, prognoz ve genetik danışmanlık için gereklidir. Etiyolojisi genetik heterojenite gösteren hastalıklar için NGS yöntemi (yeni jenerasyon dizi analizi) uygulanması en ideal yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Biz bu çalışmamızda klinik olarak MODY diyabet şüphesiyle takipli olan hastalarımızda, NGS ile genetik etyolojiyi ortaya çıkarmak ve genotip-fenotip ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık. Klinik olarak MODY diyabet şüphesi olan 35 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Aday hastalar 400 olgunun kayıtlı olduğu Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Endokrin Bilim Dalı çocuk diyabeti veri tabanından aile öyküsü, vücut ağırlığı, ketoza yatkınlık, insülin, C-peptid ve otoantikör varlığı özelliklerine göre en uygun olanlardan seçilmiştir. Hastalardan periferik kan örneği alınarak DNA izole edilmiş ve MODY etyolojisinde ortaya konmuş olan 13 adet GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, PDX1, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK, ABCC8 ve KCNJ11 genleri NGS yöntemiyle çalışılmış, saptanan varyantlar yine NGS ile doğrulanmıştır. Saptanan varyantların biyoinformatik ve in-siliko analiz verileri, segregasyon çalışmaları ve hastaların klinik ve laboratuvar bulguları birlikte değerlendirilerek patojenitesine karar verilmiştir. 11 hastada (%31) bakılan MODY genlerinde mutasyon saptanmıştır. 2 hastada GCK, 2 hastada CEL, 1'er hastada ise HNF1A, KLF11, BLK, NEUROD1, ABCC8, 1 hastada ise HNF1A, HNF4A ve WFS1 geninde mutasyon tespit edildi. Hastaların 9'u heterozigot formda iken, 1 hasta birleşik heterozigot, 1 hasta ise kompleks genotipe sahipti. Çalışmamızda GCK geni Ekzon 5'te c.537delG ve CEL geni Ekzon 6'da IVS5-1G>A olmak üzere daha önce tanımlanmamış iki yeni değişiklik tespit ettik. Klinik olarak MODY diyabeti, tip 1 ve tip 2 diyabetten ayırt etmek zor olduğundan, monojenik form diyabeti olan birçok hastanın yanlış sınıflandırılmakta olduğunu söyleyebiliriz. Her ne kadar MODY bütün diyabet vakalarının % 1-2'sini oluştursa da, MODY'nin moleküler genetik tanısı optimal tedavi, prognoz ve genetik danışmanlık için gereklidir. Türk toplumunda MODY diyabet ile ilgili daha fazla kişiyle yapılacak olan moleküler çalışmalarla ülkemize özgü değişiklikler ortaya konabilecek, yeni mutasyonlar tanımlanacak ve genotip-fenotip ilişkilendirmeleri daha doğru yapılabilecektir.

Anahtar Kelimeler: MODY, NGS, Monogenik Diyabet, MODY Genleri

ABSTRACT

Diabetes is a severe chronic disease especially in childhood with clinical and etiopathogenetic heterogeneity. Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) is a type of diabetes with an autosomal dominant inheritance pattern and marked genetic heterogeneity. Molecular genetic diagnosis of MODY is necessary for optimal treatment, prognosis and genetic counseling. For the diseases with genetic heterogeneity, NGS method (new generation sequence analysis) is the most ideal method to apply the confusion. In this study, we aimed to establish genetic etiology with NGS and evaluate the genotype-phenotype association in our patients clinically diagnosed with MODY diabetes. Thirty-five patients with clinical suspicion of MODY diabetes were included in the study. Candidate patients were selected from among the most appropriate from the Duzce University Medical Faculty, Division of Pediatric Endocrinology database according to their family history, body weight, ketose susceptibility, insulin, C-peptide and autoantibody presence. DNA was isolated from peripheral blood samples and 13 genes named GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, PDX1, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK, ABCC8 and KCNJ11 in MODY etiology were studied by NGS method. The variants were verified with NGS. Pathogenicity was determined by evaluating together with the bioinformatics, in-silico analysis of the detected variants with segregation studies and the clinical and laboratory findings of the patients. Mutations were detected in MODY genes in 11 patients (31%). 2 mutations in GCK, 2 mutations in CEL, 1 mutation in HNF1A, KLF11, BLK, NEUROD1, ABCC8 and 1 mutation in HNF1A, HNF4A and WFS1 genes were detected. Nine of the patients were in heterozygous form, 1 patient had a compound heterozygote and 1 patient had a complex genotype. In our study, we identified two new variants that were not previously described, named c.537delG in Exon 5 of GCK gene and IVS5-1G>A in Exon 6 of CEL gene. Because it may be clinically difficult to distinguish MODY diabetes from type 1 and type 2 diabetes, we can say that many patients with monogenic form of diabetes are misclassified. Although MODY accounts for 1-2% of all diabetic cases, the molecular genetic diagnosis of MODY is necessary for optimal treatment, prognosis and genetic counseling. Molecular studies including more people with MODY diabetes in Turkish population will reveal specific changes in our country, new mutations will be identified and genotype-phenotype associations will be made more accurate.

Key Words: MODY, NGS, Monogenic Diabetes, MODY Genes

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)'nin 2015 için bildirmiş olduğu diabet atlasında Dünyada her 11 yetişkinden 1'inin diyabetli (415 milyon), 2 diyabetli yetişkinden 1'ine (%46,5) teşhis konulmadığını yani diyabetli olduğunu bilmediğini, 542,000 çocuğun ise tip1 diyabet hastası olduğunu bildirmektedir. IDF tahminlerine göre 2040'da,10 yetişkinden 1'inin diyabet hastası olacağı öngörülmektedir ki (642 milyon) bu veri 2015 için verdiği %8,4 olan küresel prevalansın %10,4'e yükseleceği anlamına gelmektedir(1).

Tip 1 ve Tip 2 diyabete göre daha nadir olmakla birlikte monogenik diyabet formlari da yaygın olarak görülmektedir. Beta hücrelerinin fonksiyonunda bozukluğa yol açan ve tek gen mutasyonu sonucu oluşan bu hastalıklar Neonatal diyabet, MODY(maturity-onsetdiabetes of theyoung) ve mitokondriyal diyabetdir. MODY tipi diğer formlardan daha sık gözükmetedir. Neonatal DM her zaman yenidoğan ve erken infant dönemde ortaya çıkarken MODY tipi çocuklarda, adolesanlarda ortaya çıkmaktadır. Monogenik diabetli vakaların çoğunluğunda mutasyonlar ailesel olarak kalıtılmaktadır ancak daha az oranda sporadik olarak da bireylerde ortaya çıkabilmektedir.

MODY tip diyabet çoğunlukla 25 yaşın altında ortaya çıkmakla beraber ortaya çıkması yetişkin dönemde de olabilmektedir. Ailesinde iki kuşakta diyabeti olan, Tip 1 diyabet için karakteristik olan otoantikör pozitifliği göstermeyen, uzun süreli takiplerinde yüksek insülin tedavisi gerekmeyen, insülin rezistansı düşündüren (obezite, acantozis nigricans) bulguları olmayan çok yüksek hiperglisemisi olmayan bireylerde MODY düşünülmelidir(2).

Fenotipi daha belirgin olan GCK-MODYli hastalar haricinde, MODY genlerine dair penetrasyon ve ekspresyon hastalar arasında büyük farklılıklar göstermekte ve çeşitli genlerdeki değişiklikler benzer fenotiplere de neden olabilmektedir. MODY ile diyabetin daha yaygın gözükken formları arasında ayırıcı tanı özellikle tip 2 diyabetle zor olabilmektedir.

Prevalansına dair kesin veriler olmamakla beraber tümdiyabetlilerin %1-2'sini monogenik diyabetlilerin oluşturdukları düşünülmektedir(3). MODY grubu diyabeti olanların daha önce Tip 1 veya Tip 2 diyabet olarak yanlış tanı almaları, geniş popülasyonlarda tarama yapılması gerekliliği gibi etmenler MODY'nin doğru olarak prevalansının ortaya konmasını zorlaştırmaktadır.

Yapılan bir çalışmada 45 yaşından önce diyabet tanısı konmuş bireylerin % 5'inin MODY diyabet olduğu ve bunların % 80'inin tip 1 veya tip 2 diyabetolarak yanlış tanı aldıklarını

belirtmektedir(4). Diyabette doğru bir klasifikasyon, doğru tanı koyulması tedavi yaklaşımlarını değiştirdiğinden önem arz etmektedir. Pihoker ve ark. 2013 yılında yayınladıkları diyabetli çocuklardan oluşan geniş bir Amerikan kohortunda MODY hastalarının moleküler tanı öncesi %24'ünün sulfonilüre veya diyet tedavisi olarak uygun tedavi edildiğini ancak HNF1A ve HNF4A ilişkili MODY olgularının yarısından fazlasında insulin veya metformin ile tedavi edildiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada GCK MODY olgularının da yarısının insulin veya oral antidiyabetik ile tedavi edildiğini ortaya koymuşlardır (5).

MODY'de hastalığa neden olan genlerin sıklığı toplumlar arası fark gösterebilmektedir. Bugüne kadar MODY 'e sebep olduğu ortaya konmuş olan OMIM veritabanında 14 adet gen tanımlanmıştır. Bu genler *GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, PDX1, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK, ABCC8, KCNJ11, APPL1* 'dir.

Yapılan çalışmalarda GCK-MODY ve HNF1A-MODY en yaygın görülen MODY tipleri olarak gözükmektedir. MODY fenotipi oluşturabilecek yeni genler tanımlanmakta ve diyabet patogenezindeki rolleri araştırılmaktadır. Birçok MODY ile ilişkili genin henüz tanımlanmamış olduğuna inanılmaktadır.

MODY tiplerinden ilk tanımlanan ilk 5 tip (tip1-5), en iyi incelenmiş ve en iyi tanımlanan tiplerdir. Diğer alt tipler nadir olup bugün itibariyle elimizde klinik özellikleri ve tedavi seçeneklerine ilişkin yeterli veri mevcut değildir.

MODY diyabet tanısına götüren kesinleşmiş klinik kriterler bulunmamakla birlikte geniş serilerde yapılacak genetik analizler sonucunda hangi klinik kriterlerin MODY için daha spesifik olduğu ortaya koyulabilecektir. Bu çalışmalar genotip-fenotip korelasyonu açısından da literatürdeki eksikliği de gidermek adına önem arz etmektedir.

Yakın zamana kadar, monogenik diyabet için moleküler genetik test olarak, kodlayan ve regülatuar bölgelerde baz değişiklikleri ve küçük indelleri (ekleme veya silinmeler) tespit etmek için yalnızca Sanger dizileme kullanılmaktaydı. Sanger diziliminde esas problem, analizin genellikle hastaların klinik öykülerine göre seçilen küçük bir gen alt kümesi ile sınırlandırılması idi. Üstelik, genlerin analizinin uzun sürmesi ve maliyetin pahalı olması nedeniyle çoğu durumda, sadece GCK ve HNF1A analiz edilmekteydi. Bu yaklaşım ile MODY için test edilen olguların sadece % 15'i genetik olarak doğrulanabilmekteydi (6,7).

Monogenik diyabet varlığı günümüzde yeni nesil dizi analizleri ile yüksek duyarlılıkla gösterilebilmektedir. Hedeflenmiş panellerle, ilişkili genlerin mutasyon varlığı açısından analizi yapılmaktadır(8,9).

Biz ise yaptığımız çalışmada klinik olarak MODY diyabet olabileceği düşünülen, birbiriyle ilişkisiz, 35 hastayı MODY diyabete sebep olduğu ortaya konmuş 13 gen(*GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, PDX1, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK, ABCC8, KCNJ11*) açısından yeni nesil sekanslama kullanarak analiz ettik ve 11 hastada mutasyon saptadık. 2 hastada *GCK*, 2 hastada *CEL*, 1'er hastada ise *HNF1A, KLF11, BLK, NEUROD1, ABCC8*, 1 hastada ise *HNF1A, HNF4A* ve *WFS1* geninde mutasyon tespit edildi. MODY diyabeti için literatürde en sık mutasyon saptanan genlerin *GCK* ve *HNF1A* olduğu düşünüldüğünde Türk toplumunda yapılacak daha geniş moleküler serilerle ülkemize özgü değişiklikler ortaya konabilecek, yeni mutasyonlar tanımlanacak ve genotip-fenotip ilişkilendirmeleri daha doğru yapılabilecektir. Bu sayede hastalığın daha erken dönemlerde tanısı konulabileceği gibi hastalığın tedavi stratejisinin yönetilmesinde daha başarılı sonuçlar elde edilebilecektir. Böylece uzayan tanı ve tedaviden kaynaklı zaman, para, sağlık personelinin harcadığı işgücü kaybı azaltılacağından hem hastaların tedaviye kısa sürede olumlu yanıt vermesi sağlanabilecek hemde ülkelerin devlet bütçelerine olumlu yönde katkılar sağlanabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus Tanımı, Epidemiyolojisi ve Önemi

2.1.1. Diyabetes Mellitus'un Tanımı

Diyabetes Mellitus (DM); insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle hiperglisemi ile karakterize olan ve organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamamasıyla sonuçlanan, sürekli tıbbi izlem gerektiren, kronik bir metabolizma hastalığıdır.

Kan şekeri yüksekliği kontrol altına alınamadığı takdirde diyabetin kronik komplikasyonları gelişmektedir. Nefropati, retinopati, nöropati gibi mikrovasküler düzeydeki komplikasyonların dışında diyabete özgü olmayan serebrovasküler hastalıklar, koroner kalp hastalıkları, periferik damar hastalıkları gibi makrovasküler komplikasyonlar da gelişmektedir. Diyabeti olan kişilerde bu komplikasyonlar daha erken yaşlarda ortaya çıkmakta ve daha agresif seyretmektedir. Tedavisi masraflı ve zahmetli olan kronik komplikasyonların azaltılması için sağlık personellerinin ve hastaların bu konuda düzenli olarak eğitilmeleri gerekmektedir.

2.1.2. Diyabetes Mellitus'un Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık örgütü (WHO) verilerine göre 18 yaş üzeri popülasyonda diyabet global prevalansı 1980 de %4,7 iken 2014 de %8,5'e çıkmıştır. 2004 yılında yayınlanan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması'nın (TURDEP-I) sonuçlarına baktığımızda ülkemizde tip 2 diyabet prevalansı yüzde 7,2, bozulmuş glukoz toleransı prevalansı ise yüzde 6,7 olarak saptanmıştı(10). Tıp Dünyasının Kronik Hastalıklara Yaklaşımına Öncülük adlı ülkemizde gerçekleştirilen TEKHARF Çalışmasının 1997/98 taramasından 2004/05 yıllarına kadar izlenen kohortuna dair 2009'da yayınlanan verilerine göre ise, Türkiye'de 35 yaş üstü nüfusta diyabet prevalansı yüzde 11 olarak öngörülmüş ve bunun 3,3 milyon kişiye karşılık geldiği hesaplanmıştı. 2010 yılında TURDEP I çalışmasının, ikincisi olarak TURDEP II çalışmasının sonuçlarına baktığımızda ise diyabet prevalansı yüzde 16,5 ve ülkemizde 6,5 milyon diyabetli kişi bulunduğu ortaya konmuştu. Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması'nın (TURDEP-II Çalışması) sonuçlarına göre Türk erişkin toplumunda kentsel ve kırsal diyabet sıklığı arasında çok anlamlı bir fark kalmadığı, bilinen diyabet ve yeni diyabet oranları da birbirine yakın olarak saptanmıştı. TURDEP-II çalışmasına göre 40-44 yaş grubundan itibaren nüfusun en az %10'unun diyabetli olduğu ortaya çıkmıştı. 1998 yılında başlanan TURDEP-I çalışmasında ise %10'nun üzerindeki diyabet sıklığı 45-49 yaş grubunda başlamaktaydı. TURDEP-II çalışmasının gerçekleştirildiği 2010 senesi için Türkiye'de diyabetin 1998 yılına göre yaklaşık olarak 5 yaş daha erken başladığı görüldü (11-14).

Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun 2009'da yayınladığı 4. baskıda diyabet prevalansı dünyada 20-79 erişkin yaş grubu için %6,6 olarak belirtilmiş ve eldeki veriler ışığında 2030 yılı için diyabet prevalansının %7,8 olacağı öngörülmüştü. Bu oranların sayısal olarak karşılığını ifade etmemiz gerekirse 2009'da 285 milyon olan diyabetli nüfusun 2030'da 438 milyona ulaşacağı anlamına gelmektedir (15).

15 yaş üzeri kişilerde diyabet öyküsü ve açlık kan glukozu değerlerini ölçerek diyabet prevalansının yüzde 11 olarak bulunduğu "Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışması"nın sonuçlarına göre ülkemizde diyabet sıklığı artarken; kadın-erkek, kır-kent oranının kapanmakta olduğu ve ülkemizde 45 yaş ve üzerindeki her beş kişiden birisinin prediyabetik olduğu ortaya konmuştu. Çalışmada ülkemizde diyabetli kişiler arasında tedavisiz olanların, kontrolde olanların ve kontrolde olmayanların dağılımının yaklaşık olarak

1/3 oranında olduğu ve diyabetli hastaların yaklaşık dörtte birinin hastalığının farkında olmadığı görülmüştü(16).

Uluslararası Diyabet Federasyonu (İDF) 6. Diyabet Atlası verilerine göre 2013 yılında Dünyadaki diyabetli sayısı 382 milyon ve diyabetli kişilerin büyük çoğunluğunun düşük-orta gelirli ülkelerde olduğu ve bunların büyük çoğunluğunun da 40-59 yaşları arasında olduğu belirtilmekteydi. 175 milyon diyabetli kişinin hasta olduğunu bilmeden yaşadığı ve özellikle ülkelerde tip 2 diyabeti olanların sayısının belirgin bir şekilde arttığı rapor edilmişti. Diyabetin neden olduğu sağlık harcamaları 2013 yılında 548 milyar dolar ve tüm sağlık harcamalarının %11'ini oluşturmaktaydı(17).

Prevalans çalışmaları göz önüne alındığında, ülkemizde diyabet sıklığı son çalışmalarda %13 civarlarında olduğu ve Türkiye'deki diyabetin artış oranının Dünya ve Avrupa genelindeki artış oranından daha fazla olduğu dikkati çekmektedir(18–20). Bu durumun başlıca sebeplerine bakacak olursak; Türkiye genelinde yaşlı nüfusun artmaya başlamış olmasıyla birlikte beslenme ve fiziksel aktivite olmak üzere yaşam tarzında meydana gelen değişikliklere dikkat çekmek gerekir. Mevcut durumda, diyabet kontrolünün ülkemiz için son derece önemli ve acil bir gereklilik olduğu sonucu açık bir şekilde ortadadır. Diyabetin önlenmesi dışında, diyabeti olan kişilerin erken dönemde tanınması ve hastalığın etkin kontrolü de sağlanmalıdır(12,14).

2015'te yayınlanan IDF Diyabet Atlası verilerine göre her 11 yetişkinden 1'inin diyabetli olduğu belirtilmişti ki bu 415 milyon kişi demek anlamına geliyordu. 2 yetişkinden 1'inin (%46,5) teşhis konulmadan yaşamını sürdürmekte olduğu rapor edilmişti. Küresel sağlık harcamalarının %12'sinin diyabete harcandığı, diyabet hastalarının dörtte üçünün (%75) düşük ve orta gelir düzeyindeki ülkelerde yaşıyor olduğu, her 7 doğumdan 1'inin gebelik diyabetinden etkilendiği, geçen her 6 saniyede 1 kişinin diyabet hastalığından hayatını kaybettiği belirtilmişti. IDF tahminlerine göre 2040'da 10 yetişkinden 1'inin diyabet hastası olacağı (642 milyon) öngörülmektedir(1) (Tablo 1).

Tablo 1:IDF Diyabet Atlası Küresel Tahminleri (2015 – 2040 yılı)(1)

	2015	2040
Toplam Dünya Nüfusu	7,3 milyar	9 milyar
Yetişkin Nüfus(20-79 aralığı)	4,72 milyar	6,16 milyar
Çocuk Nüfus(0-14 aralığı)	1,92 milyar	-
Şeker Hastalığı(20-79 aralığı)		
Küresel Prevalans	%8,8	%10,4
Diyabetli Birey Sayısı	415 milyon	642 milyon
Diyabete bağlı hayatını kaybedenlerin sayısı	5 milyon	-
Diyabete bağlı sağlık harcamaları	673 milyar dolar	802 milyar dolar
Bozulmuş Glukoz Toleransı olan kişi sayısı	318 milyon(%6,7)	481 milyon(%7,8)
Tip 1 Diyabetliler(0-14 aralığı)		
Tip 1 diyabetli çocuk sayısı	542000	-
Her yıl yeni teşhis konuların sayısı	86000	-
Gebelikte Hiperglisemi(20-49 aralığı)		
Etkilenen canlı doğumların oranı	%16,2	-
Etkilenen canlı doğumların sayısı	20.9 milyon	-

İDF atlası 7. Edisyonda İDF bölgeleri için aktarılan anahtar tespitlere baktığımızda Afrika'daki diyabetli bireylerin 3'te 2'sinden fazlasına teşhis konulmamış olduğu, Orta Doğu ve Kuzey Afrika'da, diyabetli 10 yetişkinden 4'üne teşhis konulmamış olduğu rapor edilmektedir. Diyabetli yetişkinlerin %37'sinin, Batı Pasifikte yaşamakta olduğu bunun yanında Avrupa'nın tip1 diyabetle yaşayan çocuk sayısında en yüksek prevalansa sahip olduğu not edilmiştir. Güneydoğu Asya'da, her 4 doğumdan 1'inin gebelikte kanda yüksek şekerden etkilenmekte olduğu ve 2040'a kadar, Güney ve Orta Amerika'da diyabetlilerin %65 oranında artacağı belirtilmektedir (1).

2.1.3. Diyabetes Mellitus'un Önemi

Kronik hastalıklar tüm ülkelerde demografik ve epidemiyolojik dönüşümün sonucu olarak artmaktadır. Kalp ve damar hastalıkları, kronik solunum yolu hastalıkları ve diyabet günümüzde tüm toplumları etkileyen başlıca hastalıkları oluşturmaktadır. Küresel bir sağlık sorunu olan kronik hastalıkların 2008 yılında gerçekleşen 57 milyon ölümün yüzde 63'ünden sorumlu olduğu saptanmıştır(21). Mortalite ve morbidite verileri bulaşıcı olmayan hastalıkların gelişmekte olan ülkelerde artış eğiliminde olduğunu göstermektedir. Gelişmekte olan ülkelerde bulaşıcı olmayan hastalıklara bağlı ölümlerin yüzde 29'u 60 yaş altında iken gelişmiş ülkelerde bu oran yüzde 13 olarak saptanmıştır(22). Günümüzde kronik hastalıkların önlenmesine yönelik çalışmalar daha çok gelişmiş ülkelerde yoğunluk kazanmıştır.

Gelişmekte olan ülkelerdeki sağlık hizmetleri ise kronik hastalıklardan çok, akut enfeksiyon hastalıklarıyla mücadele etmek için yapılandırılmışlardır. Kronik hastalıklar, kişiye ve topluma ekonomik ve sosyal yükü fazla olan hastalıklar olduğundan bu hastalıkların kontrolüne yönelik sağlık politikalarına ve etkin girişimlere gereksinim vardır.

Diyabet için görülme sıklığının artışı bu konunun önemini artırmaktadır; artan prevalansın yol açtığı yüksek maliyet ve akut ya da kronik dönemde oluşturduğu komplikasyonları nedeniyle iyi bir tedavi planlaması yapılması gerekmektedir. Tedavide amacımız glisemik iyi bir regülasyon sağlamak, akut komplikasyon gelişim riskinin azaltılması, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların önlenmesi, eşlik eden diğer sorunların düzeltilmesi ile birlikte diyabetli hastalarda yaşam kalitesinin artırılmasıdır(23).

Diyabet ve diyabetin komplikasyonları için yapılan harcamalar sağlık hizmetleri sistemleri üzerinde çok büyük bir yük oluşturmaktadır. Dünyanın birçok yerinde karar vericiler diyabete gerekli dikkati göstermemektedirler. Ülkelerin tahminen %25'i kendi ulusal sağlık planlarında diyabet bakımından herhangi bir özel önlem almamaktadırlar(17). Diyabet komplikasyonları maliyetinin tüm dünyada total sağlık hizmetleri harcamalarının %5-10'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir.

Diyabetin kişiye ve topluma yükünü azaltmak için hastalığın gelişiminin önlenmesi, olabildiğince erken dönemde tanınması ve uygun şekilde tedavi edilmesi şarttır. 1998'de yapılan TURDEP-I'e göre, 2010'da tamamlanan TURDEP-II çalışmasında Türkiye'de diyabetin 12 yılda sıklığının %90, obezitenin ise %44 artmış olduğunu göz önünde bulundurduğumuzda sonuçların ülkemizde obezite ve diyabetin en önemli toplum sağlığı sorunları olduğuna işaret etmekte olduğunu söylemek yanlış olmaz.

Halkımızda diyabetin gelişmesini belirleyen başlıca çevresel faktörün erkekte abdominal obezite, kadında (obezitenin önemli katkısıyla gelişen oksidasyon süreci sonucu) otoimmün etkileşim ve kusurlu işleve sahip HDL üzerindeki apoC-III ile apo A-I ve apo A-II artması olduğu TEKHARF çalışmasında ortaya konmuştur. Bağışıklık sistemindeki bu bozukluğun kadınlarda belirgin, erkeklerde daha az belirgin olduğu ortaya konmuştur. İlerisi için iyimser olmalarının sebebi, anılan immün etkileşimin geniş ölçüde dönüşümlü olabileceği görüşüdür. Çalışma sonuçlarına göre, bel çevresinde 6 cm'lik bir genişlemenin diyabet gelişme riskini erkekte %43 oranında yükselttiği beyan edilebilir (13,24,25). Halkımızda diyabet prevalansında gözlemlediğimiz hızlı artış eğilimini durdurmak amacıyla sağlıklı yaşam tarzının geniş kitlelerce benimsenmesine yönelik önlemlerin hızla yaygınlaştırılması son derece önem taşımaktadır. Diyabet hastalığının toplumda sıklaşması, halkımıza özgü bir olgu

değildir. Amerikan halkı gibi gelişmiş bir toplumda bile diyabet prevalansının açık biçimde sıklaştığı(26) bir yana, gelişme yolundaki ülkelerde prevalansın daha büyük bir hızla artacağı tahmin edilmektedir(27).

Prevalans çalışmaları değerlendirildiğinde ülkemizde diyabet sıklığı son çalışmalarda %13 civarlarında ve Türkiye'deki diyabetin artış hızının dünya ve Avrupa genelinin üzerinde olduğu dikkati çekmektedir (18–20). Bu durumun başlıca sebeplerine bakacak olursak Türkiye genelinde yaşlı nüfusun artmaya başlamış olmasıyla birlikte beslenme ve fiziksel aktivite olmak üzere yaşam tarzında meydana gelen değişiklikleri belirtmek gerekir (12,14).

Diyabet veya komplikasyonları için yapılan harcamalar sağlık hizmetleri sistemleri üzerinde büyük bir paya sahiptir; hesaplanan maliyetin, tüm Dünyada total sağlık hizmetleri harcamalarının 2013'deki yayınlanan atlasta %5-10'unu oluşturduğu tahmin edilmekte idi (548 milyar dolar). Bu rakam 2015 verisi ile 673 milyar dolara ve 2040 yılı için verilen rakam 802 milyar dolar olarak gerçekleşeceği belirtilmektedir. Görüldüğü üzere diyabet komplikasyonlarının maliyeti çok fazla ve sonuçları da ne yazık ki çok üzücüdür. Gelişmiş ülkelerde, erişkin yaş çalışma grubunda kısmi görme kaybı ve körlüğün temel nedenini diyabet oluşturmaktadır. Diyabete bağlı parmak veya bacak amputasyonları, kazalarda oluşan amputasyonlara göre daha fazladır. Diyabetli kişilerin daha fazla kalp krizi, serebrovasküler olay, böbrek hastalığı geçirme riskine sahip olduğu bilinmektedir ancak tüm bu verilere rağmen dünyanın birçok ülkesinde karar vericiler diyabete gerekli önemi göstermemektedirler.

Türkiye Endokrin ve Metabolizma Derneği'nin yayınlamış olduğu "TEMED Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu-2016" verilerine baktığımız zaman ülkemizde 40 yaş üzeri toplumun %10'dan fazlasında diyabet bulunduğu için kilosunu ne olursa olsun, 40 yaşından itibaren tüm bireylerde diyabet taraması yapılması gerektiği ortaya konmuştur. Ayrıca hangi yaşta olursa olsun, kilolu ya da obez olup ilave bir diyabet risk faktörü olan asemptomatik tüm bireylerde diyabet yönünden araştırma yapılması vurgulanmıştır(28). Mevcut durumda, diyabet kontrolü ülkemiz için son derece önemli ve acil bir gerekliliktir, gelecek kuşaklarda bu sorunların azaltılabilmesi için obezite ve diyabeti önlemeye yönelik yaşam tarzını düzenleyici bir eylem planı oluşturulması gerekliliği ortadadır.

2.2. Diyabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri ve Sınıflandırılması

Diyabet tanısı çocuk ve erişkinlerde Amerikan Diyabet Birliği'nin tanı ölçütlerine göre konmaktadır (29,30).

2.2.1. Diyabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri

1. Diyabet semptomlarına ilave olarak günün herhangi bir zamanında ölçülen plazma glikoz değerinin 200 mg/dl ve üzerinde bulunması veya,
2. Açlık plazma glukozunun 126 mg/dl ve üzerinde bulunması veya,
3. Oral glukoz testinin 2. Saatinde alınan plazma glukoz değerinin 200 mg/dl ve üzerinde bulunması veya,
4. HbA1C >%6,5 (48 mmol/mol)**olması.

**2008 yılında diyabet tanısı için A1C kesim noktası %6,5 (48 mmol/mol) olarak belirlenmiştir; ancak standardize metotlarla ölçülmelidir.

Buna göre diyabet tanısı yukarıda belirtilen dört yöntemden herhangi birisi ile konulabilir. Çok ağır diyabet semptomlarının bulunmadığı durumlar dışında, tanının daha sonraki bir gün, tercihen aynı yöntemle doğrulanması gerekmektedir.

Bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ve bozulmuş açlık glukozu (BAG) ise normal glukoz homeostazı ile diyabet arasındaki geçiş dönemidir. Bu vakaların diyabet açısından yakın izlenmesi gerekir. Plazma glukozunun normal değerleri, bozulmuş açlık hipergisemisi, bozulmuş glukoz toleransı ve diyabet için kullanılan ölçütler Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: Normal, Bozulmuş Açlık Glikozu (BAG), Bozulmuş Glikoz Toleransı (BGT) ve diyabet tanısında kullanılan plazma glukoz değerleri

Tanı	Ölçüm zamanı	Plazma glukoz(mg/dl)
Normal	Açlık	<100
	OGTT 2. Saat	<140
BAG	Açlık	100-125
BGT	Açlık	<126
	OGTT 2. Saat	≥140 ve <200
Diyabetes Mellitus	Açlık	≥126
	OGTT 2. Saat	≥200

OGTT: Oral Glukoz Tolerans Testi **BAG:**Bozulmuş Açlık Glikozu **BGT:**Bozulmuş Glikoz Toleransı

2.2.2. Diyabetes Mellitus'ın Etyolojik Sınıflandırması

- I. Tip 1 Diyabet
 - A.Otoimmün
 - B.İdyopatik
- II. Tip 2 Diyabet

- A. TipikB
 - B. Atipik
- III. Diyabetin diğer spesifik nedenleri
1. Beta hücre işlevinde bozukluğa yol açan genetik hastalıklar
 - A. Mody tip diyabet
 - B. Mitokondrial DNA mutasyonları
 - C. Wolfram Sendromu
 - D. Tiamine yanıt veren diyabet
 2. İnsülin etkisinde bozukluğa neden olan genetik hastalıklar
 - A. Tip A insülin direnci
 - B. Leprechaunism
 - C. Rabson-Mendelhall Sendromu
 - D. Lipoatrofik Diyabet
 3. Endokrinopatiler
 - A. Cushing sendromu, feokromasitoma, hipertiroidizm vb.
 4. İlaçlar ve Kimyasal Ajanlara Bağlı Diyabet
 - Glikokortikoidler, diazoksit, Beta Adrenerjik Agonistler
 5. Ekzokrin pankreas hastalıkları
 - Kistik fibrozis, hemakromatozis, pankreatit, pankreatektomi vb.
 6. İmmün aracılı diyabetin nadir tipleri
 - A. Stiff- man sendromu
 - B. Anti insülin reseptör antikoru
 - C. Poliendokrin endokrinopatiler
 7. Enfeksiyonlar
 - Konjenital rubella, CMV vb.
 8. İnsülin direnci veya eksikliği ile seyreden genetik sendromlar
 - Down, Turner, Klinefelter, Prader willi vb.
- IV. Gestasyonel Diyabet
- V. Neonatal Diyabet

2.3. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 diabetes mellitus (Tip 1 DM) çocukluk yaş grubunda sık görülen, pankreatik Langerhans adacıklarında bulunan insülin üreten beta hücrelerinin otoimmün yıkımı sonucu

gelişen, insülin eksikliği ile sonuçlanan kronik metabolik, multifaktöryel bir hastalıktır. Bu süreç genetik olarak hassas bireylerde bir veya daha fazla çevresel ajanın tetiklemesi ile oluşur ve aylarca ve yıllarca asemptomatik seyreder. Klinik diyabetin başladığı dönemde adacık hücrelerinin %80- 90'ının yıkıma uğradığı düşünülmektedir. Tip 1 DM'de insülinin mutlak eksikliği nedeniyle ekzojen insülin tedavisi gereklidir(31,32).

Tip 1 DM sıklığı için değişik çalışmalarda değişik rakamlar verilmiştir. Türkiye'de 1996 yılında 19 bölgeyi kapsayan çok merkezli bir çalışmada 0-15 yaş arası diyabet insidansı 2,52/100.000/yıl olarak bulunmuştur (33). ABD'deki çalışmalara göre sıklık 5 yaşında 1430 da 1 iken, 16 yaşında 360 da 1 oranındadır. Okul çağı çocuklarında takriben 1,9/1000'dir(34).

Tip 1 diyabetin Dünya çapındaki tüm diyabet vakalarının %5-10'undan, Amerika'da ise 19 yaş ve altı yeni tanı almış diyabetik hastaların 2/3'ünün sebebi olduğu ortaya konmuştur (35). Dünya çapında 20 yaş altı gençlerde tüm diyabet vakalarının %85 veya daha fazlasını tip 1 DM oluşturduğu rapor edilmiştir(36).

Çocukluk çağı tip 1 DM insidansı son yıllarda dünya çapında giderek artmaktadır. Yıllık artış oranı Avrupa, Orta Doğu ve Avustralya'da %2-5'tir. Artış bu hızda devam ederse Avrupa'da bazı bölgelerde 5 yaş altı yeni tanı tip 1 DM vakalarının sayısı 2005- 2020 yılları arasında ikiye katlanacağı ve 15 yaş altı DM prevalansının %70 artacağı öngörülmektedir. Yıllar içinde görülen insidanstaki bu artış bu kadar kısa sürede genetik değişiklik olmayacağı için araştırmacılar tarafından çevresel faktörlere ve gen-çevresel etkileşimdeki farklılıklara bağlanmaktadır(37,38). Düşük insidansın olduğu bir bölgeden yüksek insidansın olduğu bir bölgeye taşındığında da tip 1 DM geliştirme riski artmaktadır(39). Bu da çevresel faktörlerin tip 1 DM etiolojisinde önemli rolü olduğunu desteklemektedir.

Avrupa ülkelerinde insidans tip 1 DM'ye yatkınlık yaratan HLA genlerinin genel popülasyondaki sıklığı ile yakın ilişkili bulunmuştur. Asya ülkelerinde ise beyaz ırk ile kıyaslandığında farklı HLA ilişkileri gösterilmiştir(40). Adacık hücre antikoru (ICA), insülin otoantikoru (IAA), anti-glutamat dekarboksilaz antikoru (anti-GAD), anti-tirozin fosfataz antikoru (IA-2) klinik ve araştırma konusu olarak en çok ilgi gören 4 major diyabet otoantikoru. ZnT8A ise yeni araştırılmakta olan diyabet otoantikoru (41).

Tip 1 DM'nin görülme sıklığı 4-6 yaş arasında ve 10-14 yaş arasında erken puberte döneminde artış göstermektedir. Okul hayatı ile enfeksiyonlara maruz kalmada artış olması ve

ikinci yükseliş görülen dönem için ise pubertede artmış cinsiyet steroidleri, büyüme hormonu ve psikolojik stres etyolojide tartışılan olası sebepler konumundadır.

İrk ve etnik orijinle hastalığın yaygınlığı arasındaki ilişki araştırıldığında beyaz ırkta daha fazla, Japon ve zencilerde daha az olduğu saptanmıştır. Tip 1 diyabet beyaz ırkta özellikle Kuzey Avrupa ülkelerinde daha sık olarak görülmektedir. Buna karşılık siyah ırkta, İspanyol kökenlilerde ve sarı ırkta daha seyrektr.(39). İnsidans Finlandiya'da 100.000 de 35, Çin ve Güney Amerika ülkelerinde 100.000'de 1 oranında saptanmıştır.(31). HLA genlerinin prevalansı etnik kökene bağlı değişmekte ve bu da tip 1 DM'nin İskandinavya ve Sardunya gibi bölgelerde sık görülmesini ve Çin gibi ülkelerde nadir olmasını açıklamaktadır. Hemen tüm ülkelerde tip 1 diyabet insidansı artmakta olup, yaklaşık yıllık artışın ortalama %2-3 olduğu belirtilmektedir(31,32,42,43).

Tip 1 DM'li vakaların yaklaşık %85'inde pozitif aile öyküsü hikayesi saptanmamaktadır ancak ailesel bir kümelenme olduğu görülmektedir. Spesifik bir kalıtım paterni henüz tanımlanmamış, poligenik kalıtıma çevresel faktörlerin tetiklemesiyle hastalığın ortaya çıktığı açıklaması etyolojiyi açıklamada kabul görmektedir. Çoğu vakada tip 1 DM sporadik olarak gelişse de tip 1 DM'li bir hastanın yakın akrabalarında yine tip 1 DM geliştirme riski belirgin olarak artmıştır(44). Kardeşinde diyabet olan birinde Tip 1 diyabet geliştirme riski normal popülasyona göre 15 kat daha fazladır. Monozigotik ikizlerde diğer ikizin de tip 1 diyabet geliştirme riskinin %50-65'e ulaştığı literatür verileri mevcuttur, dizigotiklerde ise %10 civarlarında prevalanslar rapor edilmektedir(45,46).

Tip 1 DM'ye yatkınlık yaratan genleri MHC(majör histokompatibilite kompleksi) ve MHC olmayan genler olarak sınıflandırmak mümkündür. MHC genleri; Tip 1 DM'ye yatkınlığı belirleyen genler arasında en önemlisidirler ve en ilişkili olanları 6p21'de haritalandırılmış olan HLA klas II genleridir(HLA-DRB1 and HLA-DQB1)(47). Klas II alellerinden en yüksek riski oluşturan haplotipler: DR3-DQA1*0501-DQB1*0201(DR3) ve DR4-DQA1*0301-DQB1*0302(DR4) genetik açıdan tip 1 diyabet geliştirme riskinin %30-50'sini kapsar(48,49). Tip 1 DM'li vakaların %90'ından fazlası DR4, DQB*0302 ve/veya DR3, DQB*0201 taşırlar. Bu iki allelin yokluğunda ise risk çok azalır ve vaka DQB*0301, *0602, DRB*0403, *0406 gibi korucu bir alleli taşıyorsa diyabet gelişimi riski çok düşüktür. Tip 1 DM geliştirme riski yatkınlık oluşturan allellerin ve aile hikayesinin yokluğunda 1/5000 iken, yatkınlık oluşturan iki allelin ve pozitif aile hikayesinin varlığında %25'e yükselir (50).

MHC bölgesinde Non-DR/DQ lokuslarından Tip 1 Diyabet gelişimine katkıda buldukları gösterilen HLA-DP gibi lokuslar da mevcuttur. Son yıllarda gelişen teknolojiyle beraber

gerçekleştirilen SNP-genotipleme çalışmaları(GWAS çalışmaları) sayesinde artık daha fazla veri ortaya konabilmektedir. Bu çalışmalar neticesinde ortaya konan non-MHC lokuslarına bakacak olursak 11q15(INS), 2q33(CTLA4), 1p13(PTPN22), 10p15(İL2RA), 2q24(IFIH1) bilinenlerin dışında 12q13, 12q24, 16p13, 4q27, 12p13, 18p11 gibi 40'dan fazla lokus ortaya konmuştur (51–54).

2.4. Tip 2 Diyabetes Mellitus

Yaşam tarzındaki hızlı değişim ile birlikte gelişmiş ve gelişmekte olan toplumların tümünde özellikle tip 2 diyabet prevalansı hızla yükselmektedir(20). Bunun başlıca nedenleri nüfus artışı, yaşlanma ve kentleşmenin getirdiği yaşam tarzı değişimi sonucu obezite ve fiziksel inaktivitenin artmasıdır. Basit yaşam tarzı değişiklikleri ile tip 2 diyabet riskinin yüzde 58'e varan oranlarda önlenilebileceği veya ortaya çıkışının geciktirilebileceği gösterilmiştir (16,55). Tip 2 diyabet, henüz tüm yönleriyle anlaşılammış olmakla birlikte genetik yatkınlık zemininde çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkan, etiyojisi heterojen, karmaşık bir metabolik hastalıktır.

Yerleşmiş tip 2 diyabete doğru gidiş klasik olarak insülin direnci ile β -hücrelerinden insülin salgılanması eksikliğinin hakimiyetinde gelişen bir patolojik surectir. TEKHARF çalışmasından edindiğimiz bilgiler doğrultusunda klasik görüşün yanı sıra artmış yangı, yangıda hassas bazı plazma proteinlerinin hasar görmesi ve bunun sonucu koruyucu proteinlerimizin immun etkileşim meydana getirerek yangıyı artırmasının etyojide rol aldığı görülmüştür(13).

Amerikan popülasyonuna ilişkin verilere göre tip 2 diyabet en sık 14-15 yaşlarında görülmektedir (100.000'de 6-7)(56).

Tip 2 diyabet kuvvetli aile öyküsü ve kalıtım gösterir. Monozigotik ikizlerde tip 2 diyabet için %76'ya varan oranda konkordans bildirilmiştir. Genom boyu ilişkilendirme çalışmaları ile 2007'den günümüze, tip 2 diyabetle ilişkili 150'den fazla lokus tanımlanmıştır. Bununla birlikte tip 2 diyabet riski; ilişkilendirilen allelik varyantların hastalık riskine etkisinin yanında hastalardaki metabolik farklılıklarla (insülin, proinsülin, glikoz değerleri vb.) da ilişkilendirilmektedirler(57–60).

Tip 2 diyabetle ilgili olarak PPARG, KCNJ11-ABCC8, SLC30A8, GCKR, PAM, FES, TM6SF2, RREB1, PRC1, CILP2,SSR1, TSPAN8, THADA, HNF1A, HNF4A, IRS1, MTNR1B gibi kodlayan bölgelerde yer alan CNV'ler dışında çok daha fazla lokus non-coding bölgelerde ortaya konmaktadır. İlişkili olabilecek olan varyantların %90'lık bir kısmının non-coding bölgelerde tespit edilmesi hastalık riskini gen regülasyonuna etki ederek

artırdıklarını düşündürmektedir(61). Ayrıca adacık hücrelerinin fizyolojik çevresel değişikliklere, yaşlanma, sirkadiyen ritm, diyet ve yaşam şekli, oksidatif ve inflamatuvar strese maruziyet gibi faktörler karşısında oluşturduğu cevabın açıklanması, transkripsiyonel olarak düzenlenmesini aydınlatmak için de bu varyantların araştırılması yapılmaktadır(62).

GWAS tasarımının ve Tip 2 Diyabet'in genetik zemininin bir sonucu olarak, nedensel varyantlar ve genler, genetik ilişkilendirme çalışmalarından kolayca anlaşılabilir. Mevcut çalışmalarda daha çok nedensel varyantların hastalıkla ilişkili olarak modelleme yapılarak fonksiyonel etkilerine dair çalışmalar yürütülmektedir. Belirli bir nedensel mekanizmaya göre genetik verileri fonksiyonel analiz dataları eşliğinde açıklayabilmek için birtakım stratejiler ortaya çıkmıştır; bugün yetersiz olsa da ileride GWAS lokuslarına dayalı şüpheli genlerin önceliklendirilmesi ve fonksiyonel verilerin birlikte değerlendirilmesi Tip 2 DM için genetik miras ve klinik çevrenin potansiyelini açığa çıkarmak mümkün olabilecektir.

Çocuk ve gençlerde diyabetin tipi tedavi seçimlerini etkileyeceğinden ayırıcı tanı önem taşır. Diyabetin monojenik formlarında genetik tanımlama tedavi seçeneğini belirlemeye yardımcı olmaktadır. Tip 1 diyabetli çocuklarda ilk başvuruda kilo kaybı, poliüri, polidipsi yakınmaları vardır, çoğunlukla fazla kilo problemi yoktur; ancak Tip 2 diyabetli çocuklarda obezite major klinik bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Akantozis nigrikans, insülin direnci ve tip 2'ye işaret eden en önemli klinik bulgulardandır. 2016'da yayınlanan kılavuzda "2016 ADA diabetes care guideline" vücut-kitle indeksi %85 ve beraberinde eşlik eden T2DM için iki risk faktörü bulunan kişilerin (pozitif aile hikayesi, riskli etnik köken, annede gestasyonel diyabet öyküsü, insülin rezistansı bulguları) 10 yaşından itibaren 3 yılda 1 muhakkak kontrol edilmeleri gerektiği vurgulanmış, diyabetle ilişkili semptomları olanların süratle tetkik edilmeleri gerektiği belirtilmiştir(63).

2.5. Monogenik Diyabet

Tip 1 ve Tip 2 Diyabet'e göre daha nadir olmakla birlikte, monogenik diyabet formları da yaygın olarak görülmektedir. Beta hücrelerinin fonksiyonunda bozukluğa yol açan ve tek gen mutasyonu sonucu oluşan bu hastalıklar Neonatal diyabet, MODY (maturity-onset diabetes of the young) ve mitokondriyal diyabetlerdir. MODY tipi diğer formlardan daha sık gözükmektedir. Neonatal DM her zaman yenidoğan ve erken infant dönemde ortaya çıkarken MODY tipi çocuklarda, adolesanlarda ortaya çıkmaktadır. Monogenik diyabetli vakaların çoğunluğunda mutasyonlar ailesel olarak kalıtılmaktadır ancak daha az olarak sporadik olarak da bireylerde ortaya çıkabilmektedir.

2.5.1. Mody Diyabeti

Amerikan Diyabet Topluluğu ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO); diyabet için yapmış olduğu revize edilmiş etyoloji temelli klasifikasyonda MODY sendromları, “Diğer Spesifik Diyabet Tipleri” grubunda B-hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları) başlığı altında sınıflandırılmaktadır. MODY sendromları hakkında literatüre baktığımızda tanısallık amacıyla kabul görmüş ortak noktalar: Diyetin çocukluk veya genç erişkin dönemde başlaması (<25 yaş), ailede en az iki, tercihen üç nesilde otozomal dominant kalıtım paterni ile uyumlu vertikal geçişin gösterilmesi, tanıdan birkaç yıl sonra insülin gereksiniminin bulunmaması veya düşük dozlarda insülinle iyi metabolik kontrol sağlanması, hastalarda tanıdan sonra birkaç yıl geçmiş olmasına rağmen ölçülebilir düzeyde C-peptid saptanması, otoimmün sürecin olmaması, insülin rezistans bulgularının olmayışı (obezite, akantozis nigricans, dislipidemi), insülin düzeylerinin yüksek olmaması, yüksek kan şekere göre insülin düzeylerinin düşük kalmasıdır (38,64).

Epidemiyolojisine baktığımızda, herediter kalıtım diyabetli ailede ilk kez 1928 yılında belirtilmektedir (65). MODY ise ilk olarak 1974’te 25 yaşından önce başlayan insülin bağımlı olmayan diyabet ailesi olarak ortaya konmuştur (66). MODY için moleküler genetik sebebin gösterilebildiği olgular 1990’lı yıllarda olmuştur (67). MODY sendromları en sık beyaz ırkta görülmektedir. Ledermann ve ark. yaptıkları çalışmada 1995’te MODY sendromlarının prevalansını tüm diyabetlilerin içinde %1-2 olarak vermiştir. 2013 yılında yapılmış olan iki çalışmada da en az %1’inden sorumlu olduğu rapor edilmiştir (5,68,69). Günümüzde MODY Sendromları’nın dünyadaki sıklığı tam olarak ortaya konmuş olmamakla beraber, tüm diyabetlerin yaklaşık %2-5’ini oluşturduğu düşünülmektedir.

Neredeyse 40 genin moleküler anormallikleri diyabet ile ilişkilendirilmiştir ve bunlardan en az 14’ü MODY fenotipinden sorumludur (70,71). MODY vakalarının çoğunu oluşturan 6 gen vardır; bunlar glikokinaz geni olan GCK; Hepatosit nükleer faktör (HNF) transkripsiyon faktörleri olan HNF1A, HNF4A ve HNF1B; pankreas beta hücrelerindeki ATP’ye bağımlı potasyum kanalının 2 alt birimi olan ve sırasıyla SUR1 ve Kir6,2’yi kodlayan ABCC8 ve KCNJ11 genleridir (72). GCK ve HNF1A genleri en sık mutasyon saptanan iki gendir (73). Bugüne kadar MODY’ye sebep olduğu ortaya konmuş olan genler; GCK (OMIM 138079), HNF1A (OMIM 600496), HNF4A (OMIM 125850), HNF1B (OMIM 137920), PDX1 (OMIM 606392), NEUROD1 (OMIM 606394), KLF11 (OMIM 610508), CEL (OMIM 609812), PAX4 (OMIM 612225), INS (OMIM 613370), BLK (OMIM 613375), KCNJ11 (OMIM 600937), ABCC8 (OMIM 600509), APPL1 (OMIM 604299) genleridir

(Tablo 3). Klinik olarak MODY olduğu düşünölen vakaların yaklaşık %10-65'lik bir kısmında mutasyon ortaya konulamamaktadır(74,75).

Göröldüğü üzere MODY genetik heterojenite göstermektedir, altta yatan genetik defekte göre tiplere ayrılmaktadır. Bunlar:

MODY1 (MIM125850) kromozom 20 üzerinde bulunan, hepatosit nüklear faktör 4 alfa genindeki (HNF4A; 600281) heterozigot bir mutasyonla,

MODY2 (MIM125851) kromozom 7 üzerinde bulunan glikokinaz (GCK; 138079) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY3 (MIM600496) kromozom 12 üzerinde (12q24.2) bulunan hepatosit nüklear faktör 1 alfa (HNF1A; 142410) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY4 (MIM606392) kromozom 13 üzerinde(13q12.1) bulunan pankreas/duodenum homebox protein-1 (PDX1; 600733) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY5 (MIM137920) kromozom 17 üzerinde(17cen-q21.3) bulunan hepatik transkripsiyon faktör-2 (TCF2; 189907) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY6 (MIM606394) kromozom 2 üzerinde (2q32) bulunan NEUROD1(601724) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY7 (MIM610508) kromozom 2 üzerinde (2p25) bulunan KLF11(603301) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY8 (MIM609812) kromozom 9 üzerinde (9q34) bulunan CEL(114840) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY9 (MIM612225) kromozom 7 üzerinde (7q32) bulunan PAX4(167413) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY10 (MIM613370) kromozom 11 üzerinde (11p15.5) bulunan insölin (INS;176730) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY11(MIM613375) kromozom 8 üzerinde (8p23) bulunan BLK(191305) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY13 (MIM616329) kromozom 11 üzerinde (11p15) bulunan KCNJ11(600937) genindeki heterozigot bir mutasyonla,

MODY14 (MIM616511) kromozom 3 üzerinde (3p14) bulunan APPL1(604299) genindeki heterozigot bir mutasyonla ortaya çıkmaktadır.

2.5.1.1. MODY tip 1(HNF4A-MODY)

MODY tip 1'e (MIM125850) sebep olan gen olan HNF4A (hepatosit nükleer faktör-4A) 20q13.12 bölgesinde haritalandırılmıştır ve OD kalıtım paterni göstermektedir. Bunun dışında HNF4A geninin İnsulin Bağımlı Olmayan DM (MIM125853) ve Fanconi Renotubuler Sendromu tip 4 ile MODY birlikteliği (MIM 616026) olan durumların etyolojisinde de rol oynadığı ortaya konmuştur. Bu hastalarda da OD kalıtım paterni gösterilmiştir. HNF4A steroid/tiroid hormon reseptörü ailesinin bir üyesi olan gendir, çoğunlukla karaciğer, böbrek, bağırsaklarda eksprese olmaktadır. Ayrıca pankreasda adacık hücrelerinden (islet cells) ve insülinoma hücrelerinden de eksprese olduğu ortaya konmuştur. Gendeki mutasyonların penetransı değişkenlik göstermektedir.

İlk olarak Yamagata ve ark. tarafından 1996 yılında HNF4A geninde bir nonsense mutasyon ortaya konmuştur (Q268X); hastalarda diyabetin geç yaşta ortaya çıkması, insülin bağımlı olmamaları nedeniyle bu ailede NIDDM (İnsulin Bağımlı Olmayan DM) düşünülmüştür.

Daha sonra Lindner ve ark. 1997 yılında HNF4A geninde bir nonsense mutasyon (R154X) rapor etmişlerdir. Ailenin etkilenmiş 6 üyesinde insülin veya oral hipoglisemik ajanlara ihtiyaç duyulan aşikar diyabet tablosu olduğu, karaciğer veya böbrekte herhangi bir anormallik olmadığı rapor edilmiştir.

HNF4A, HNF1A transkripsiyonunda majör aktivatördür. HNF1A genindeki mutasyonlar MODY tip 3(MIM600496)'e sebep olmakta, MODY tip 1 klinik bulguları MODY 3'e benzemekte; ancak MODY tip 3'ten çok daha nadir görülmektedir. Genellikle diyabet başlama yaşı MODY tip 1'de MODY 3'den daha ileridir. HNF4A-MODY (MODY1),MODY sendromları içerisinde %5-%10'luk bir oranı kapsamaktadır (6).Diğer bir çalışmada tüm MODY olgularının %3-5'inden HNF4A gen mutasyonlarının sorumlu olduğu belirtilmektedir(76). HNF4A'nın glukoz, yağ asiti ve kolesterol metabolizmasında görev alan spesifik genlerin ekspresyonunda görev aldığı da saptanmıştır. HNF4A mutasyonu olanların trigliserid ve apolipoprotein biyosentezinde bozukluklar oluşmakta, bu hastaların trigliseridlerinde artışlar saptanmaktadır(77).

HNF4A mutasyonu olan yenidoğanların %50'sinde makrozomi,%15'inde ise hiperinsülinizmden dolayı neonatal hipoglisemi olduğu görülmüştür(73,78,79). Neonatal hipoglisemi ile başlayan bu tablo dizoksit'e hassas olup birkaç günde normale gelebileceği gibi birkaç yıl da devam edebilmektedir. Bu çocuklarda hiperinsülinizm tablosu çözüldükten sonra uzun dönem takiplerinde diyabet geliştiği görülmüştür. Ciddi neonatal hipoglisemisi olan ve aile hikayesinde benzer öyküsü olan vakalarda HNF4A MODY akılda tutulmalıdır. Yapılan çalışmalarda elde edilen veriler doğrultusunda bu hastalarda

sulfonilürelerin tedavide ilk adım olarak kullanılması gerektiği önerilmektedir(80,81).Bir diğer yandan bu hastalarda gözlemsel kanıtlara dayanarak tedavi insülden sülfonilüreye güvenli bir şekilde değiştirilebilir; ancak zamanla bu hastalarda insülin eksikliği daha belirgin hale gelebilir (73).

2.5.1.2. MODY tip 2 (GCK-MODY)

Glukokinaz pankreasın beta hücrelerinde ve hepatositlerde, beyin ve bağırsağın endokrin hücrelerinde eksprese olan, glukozun glukoz 6 P'a dönüşmesini sağlayan ve glukoz metabolizma regülasyonunda kilit rol oynayan bir enzimdir. Glukokinaz geni 7. kromozom üzerinde 7p15.3-7p15.1 bölgesinde yer almaktadır ve 12 ekzondan oluşmakta, molekül ağırlığı 52,191 Da olan 465 aminoasitten oluşan bir protein kodlamaktadır (82). Glukokinaz (GCK) pankreatik beta hücrelerinin glukoz sensörü olarak işlev görmektedir. GCK aktivitesi kandaki glukoz konsantrasyonuyla primer ilgilidir ve insülin sekresyonunun kontrolünde direkt olarak rol oynamaktadır. Glukokinaz karaciğerde glikojen sentezini, beta hücrelerde ise insülin salınımını uyarmaktadır. Gende bugüne kadar 700'e yakın varyant tespit edilmiştir ve glukoz metabolizmasını ilgilendiren 3 farklı hastalık ile ilişkilendirilmiştir. Glukokinaz geninin aktive edici mutasyonları ile yenidoğan ve süt çocukluğunda görülen Persistan Hiperinsülinemik Hipoglisemi, glukokinaz geninin heterozigot inaktive edici mutasyonları sonucu oluşan MODY tip 2 (heterozygous loss-of-function mutations) ve homozigot inaktive edici mutasyonları PNDM (Kalıcı Neonatal Diyabet) tablosu ortaya çıkmaktadır (83). Glukokinaz ilk tanımlanan MODY genidir. Yapılan çalışmalar sonucunda GCK-MODY ve HNF1AMODY en sık görülen MODY alt tipleridir. GCK geninde ilk mutasyonlar 1992 yılında Fransız ve İngiliz olgularda gösterilmiştir. Hastalığın toplumdaki gerçek sıklığı bilinmemektedir. Yapılan bir çalışmada GCK MODY için 1.1/1000 prevalans ortaya konmuştur (84).

Gen tam penetrans göstermekte, etkilenmiş aile üyelerinde hafif hiperglisemi ile seyreden bir klinik oluşmaktadır. Hastalar herhangi bir sebeple rutin laboratuvar incelemeleri yapılırken, aile MODY açısından taranırken veya gebelik sırasında glukoz metabolizması test edilirken tespit edilirler.GCK-MODY varlığının gebelik esnasında diyabet araştırması yapılırken ortaya çıkması sık karşılaşılan bir durumdur(75).

Genellikle açlık kan şekerleri 100-145 mg/dl arasında saptanmaktadır bununla da uygun olarak HbA1C düzeyleri de normale göre hafif yüksektir çoğunlukla %7,5'i geçmez, ortalama olarak %6,5 değeri ortaya konmuştur. OD kalıtım gösterdiğinden ebeveynlerinden birinde benzer bulgular ortaya konmaktadır. MODY tip 2'li bireylerin diyabetin uzun dönem

komplikasyonları açısından riskinin düşük olduğu, GCK geninde heterozigot mutasyon saptanan bireylerin sadece diyetle izlenebileceği belirtilmektedir(38,85,86).

2.5.1.3. MODY tip 3(HNF1A-MODY)

MODY Tip 3 bir transkripsiyon faktörü olan hepatosit nükleer faktör 1a geninde meydana gelen heterozigot bir mutasyona bağlı gelişmektedir. *HNF1A* geni 12. kromozomda yerleşik, 631 aminoasit kodlayan ve 10 ekzonlu bir genidir. HNF1A-MODY yetişkinlerde monogenik diyabetin en yaygın görülen formudur ve tüm MODY sendromlarının %30-60'ından sorumlu olduğu kabul edilmektedir. Bugüne kadar HNF1A geninde saptanmış 400'den fazla mutasyon hastalıkla ilişkilendirilmiştir. (p.Gly292fs) mutasyonunun ise vakaların %10-%15'inden sorumlu (87) olduğu görülmektedir. MODY tip 3, MODY 2'den daha ağır seyreden bir diyabete neden olmaktadır. Bu hastalarda insülin salınımı çok azalmıştır. Bu durum genellikle aşikar diyabet tablosuna neden olmakla birlikte sadece hafif hiperglisemi gösteren olgular da literatürde mevcuttur(88). HNF1A-MODY klinik ekspresyonu aynı aile içinde bile değişkenlik göstermektedir. Bu durum mutasyonların tipiyle ve yerleşim yeri ile açıklanmaktadır (89).

2.5.1.4. MODY Tip 4 (PDX1 MODY)

IPF-1 (Insulin promoter faktör-1) transkripsiyon faktörü, PDX-1 (pankreatik duodenal homeobox-1 protein), IDX-1 (islet duodenum homeobox -1 protein) ve STF-1 gibi farklı adlarla da anılmaktadır. PDX1'deki homozigot etkisizleştirici mutasyonlar hem insanlarda hem de farelerde pankreatik agenezi ile sonuçlanırken, heterozigot mutasyonlar fare modellerinde glukoz intoleransı ve insanlarda tip 2 diyabet ve MODY kliniği ile ilişkilendirilmiştir. Başlangıçta gelişmekte olan pankreas epitelinde görülen Pdx-1 ekspresyonu esas olarak olgun adacık hücrelerinde insülin üreten hücrelerle sınırlı olup, bu faktör insülin transkripsiyonunu direkt olarak düzenlemektedir (90).

PDX1'in heterozigot mutasyonları ise MODY tip 4'e sebep olmaktadır ve PDX1- MODY hastaları genellikle erken başlangıçlı tip 2 diyabet özelliklerine sahip bireylerdir (91). Türkiye'de bugüne kadar iki PDX1 mutasyonu taşıyan MODY olgusu bildirilmiştir (92,93).

2.5.1.5. MODY Tip 5 (HNF1B-MODY)

HNF1B-MODY (MODY5)'nin MODY sendromları arasındaki prevalansı %5-%10 arası değişmektedir. HNF1B (hepatosit nükleer faktör-1b) transkripsiyon faktörü 2 (TCF2) olarak da adlandırılmaktadır. HNF1B geni böbrekler, karaciğer, pankreas, safra kesesi, genital sistemden eksprese olmakta bu da HNF1B mutasyonlu kişilerde ortaya çıkan geniş fenotipi

açıklamaktadır (94). Ayrıca HNF-1B'nin, HNF4A transkripsiyonunu dolayısı ile HNF1A gen ekspresyonunu düzenlediği de düşünülmektedir.

HNF1B-MODY'e sahip hastaların en az %50'sinin 17q12 mikrolelesyonu sonucu oluştuğu görülmüştür. Bu bölgede 15-20 gen delesyona uğramakta ve HNF1B geni de bunlardan biridir. İlginç bir şekilde çoğu mikrolelesyonlu hastada klinik HNF1B'de tek bir nokta mutasyonu bulunan vakalardaki gibidir (94,95). Hastaların yarısından fazlasında aile hikayesi negatif bulunmakta; bu da moleküler anormalliklerin de novo geliştiğine işaret etmektedir (96). Yetişkinlerde klinik fenotip geniş bir yelpaze çizmektedir. Aynı aile bireyleri arasında bile değişkenlikler ortaya konmuştur. Hastalıkla ilişkilendirilen durumları biraz daha detaylı açıklayacak olursak; böbrekte morfolojik anormallikler, özellikle renal kist gelişimi saptanmakta hastalarda kronik böbrek yetmezliği gelişmektedir(94,96,97). Genital trakt anormalliklerinden vas deferens agenezisi, hypospadias, bicorniat uterus, Rokitansky sendromu gibi değişken fenotipler bugüne kadar tanımlanmıştır. Ekzokrin pankreasın fonksiyonel ve morfolojik anormallikleri yine HNF1B mutasyonlarıyla ilişkilendirilmiştir. Bu hastalarda karaciğerde fonksiyonel bir bozukluğa yol açmayan ancak bakılan kc testlerinde fluktuasyonlar (transaminazlarda ve gama-glutamil transferazda artış) saptanmaktadır. Ayrıca 17q12 mikrolelesyon sendromlu HNF1B-MODY hastalarında nöropskiyatrik problemler (mental retardasyon, autism spektrumu) saptanmıştır; ancak bu durumun delesyona uğrayan diğer genler dolayısıyla mı yoksa HNF1B delesyonu dolayısıyla olduğu hakkında net bir cevap ortaya konmamıştır (98).

HNF1B-MODY'li hastalar gelişebilecek organ hasarları açısından düzenli aralıklarla sistematik olarak değerlendirilmelidir. Tanı anında subklinik olarak var olup bulgu vermeyen durumlar zaman içerisinde ilerleyebilir. Bu durumlar başlıca renal ve pankreas fonksiyonlarıdır. HNF1B homozigot mutasyonu olan bir kişide kromofob hücreli renal kanser gelişimi rapor edilmiştir (99). Tedavide başlangıçta sülfonilüre, repaglinid kullanılabilir; ancak insülin salınımında defekt ve renal anormallikler progresif olduğu için insülin terapi hastaların çoğunda gerekmektedir. Çoğu zaman da düşük doz insülin ile şeker regülasyonu sağlanabilmektedir.

2.5.1.6. MODY Tip 6 (NEUROD1-MODY)

Neurod1 pankreatik endokrin, entero-endokrin ve nöronal hücrelerde dokuya spesifik olarak eksprese edilen sınıf II temel helis-loop-heliks (bHLH) transkripsiyon faktörüdür. İnsan NEUROD1 geni kromozom 2q32 üzerinde bulunur ve beta hücrelerinde bulunan bir transkripsiyon faktörü olan NEUROD1 proteini normal pankreatik gelişim için gerekli ve

insülin geninin ekspresyonunu düzenlemektedir(100). NEUROD1 endokrin pankreasın gelişiminde kilit rol üstlenmektedir. Ek olarak, NeuroD1'in sülfonilüre reseptör 1 geni transaktivasyonu ile ilişkili olduğu ve glukokinazın artmış ekspresyonuyla ilişkili olduğu bildirilmiştir(101,102). Bu durum, NEUROD1'in insülin sentezi ve sekresyonunun düzenlenmesinde çeşitli roller oynayabileceğini göstermektedir. NeuroD1'in serebellum, hipokampus, iç kulak ve retinanın oluşumunda ve fonksiyonel olarak çalışmasında rol oynadığı bildirilmektedir (103).

NEUROD1, erken başlangıçlı otozomal dominant kalıtılan diyabetin nedeni olarak çok nadir olarak tanımlanan MODY genlerinden biridir. Bugüne kadar NEUROD1 geninde heterozigot gen mutasyonları nedeniyle MODY uyumlu kliniği olan birkaç aile tanımlanmıştır(101,102,104) ve yakın zamanda MODY TİP 6 olarak literatüre girmiştir. MODY 6 çok nadir görülen bir diyabet tipidir. Erken başlangıçlı tip 2 diyabet kliniği olan az sayıda olguda bildirilmiştir; ayrıca NEUROD1 genindeki homozigot fonksiyon kaybettirici mutasyonlar kalıcı neonatal diyabetle ilişkilendirilmiştir.

2.5.1.7. MODY Tip 7 (KLF11-MODY)

Heterozigot mutasyonları Mody tip 4 ile ilişkilendirilmiş olan Pdx-1 (pankreatik-duodenal homeobox-1), organogenez sırasında ve erişkin adacık insülini üreten hücre aktivitesindeki öneminden dolayı pankreasda ana regülatör olarak görev yapmakta olan bir transkripsiyon faktörüdür. KLF11(Krüppel-like factor), PDX1 geninin aktivasyonundan sorumludur ve gendeki mutasyonlar yakın zamanda Fransız MODY olgularında tanımlanmıştır(105). KLF11-MODY çok nadir görülen bir MODY tipidir.

Krüppel benzeri faktör (KLF) ailesi, C-terminal bölgesine yakın üç tane yüksek seviyede homolog Cys2 / His2 tipi çinko parmak bölgesi varlığı ile karakterize, hücre gelişme ve farklılaşma ile ilgili bir transkripsiyon faktörüdür. Bugüne kadar KLF ailesinin 17 üyesi tanımlanmış ve her birinin memeli hücrelerinde önemli bir rol oynadığı çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur(106). KLF2, adiposit farklılaşmasının negatif bir düzenleyicisidir ve KLF5, düz kasın ve yağ dokusunun farklılaşmasını düzenlemektedir(107).

2.5.1.8. MODY Tip 8 (CEL-MODY)

CEL (karboksil ester lipaz) geni mutasyonuna bağlı gelişmektedir. CEL geni 9q34.13'te yerleşmiş 11 ekzonlu bir gendir. Bu gendeki mutasyonlar sonucu pankreasta ekzokrin ve

endokrin işlev bozukluğu ortaya çıkmaktadır. CEL geni esas olarak meme bezlerinde ve pankreatik asiner dokuda eksprese olmakta olup β -hücrelerinde ifade edilmez. Safra tuzuna bağımlı tepki veren lipaz olarak bilinen karboksil ester lipaz enzimi, safra tuzlarıyla bağırsaklara salınmadan sonra aktive edilir ve kolesterol ve yağda çözünen vitaminlerin hidrolizi ve emiliminde rol alır; ayrıca yenidoğan bebeklerde sütteki yağın sindiriminde önemli bir rol oynamaktadır. CEL MODY, çok nadir gözüken bir MODY tipidir ve MODY hastalarında sıklığı %1'den az olarak saptanmaktadır(108).

2.5.1.9. MODY Tip 9 (PAX4 –MODY)

“Paired box gene 4”(PAX4), β -hücrelerin gelişiminde rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür ve ilk olarak embriyonik yaşamın ilk evrelerinde endokrin promotor hücrelerinde eksprese olduğu, daha sonra yaşamın ilerleyen zamanlarında β -hücrelerinde seçici olarak eksprese edildiği saptanmıştır. PAX4'ün pankreas β -hücrelerinin gelişiminde rol alan PDX1 ve Nkx 6.1'in ekspresyonu için gerekli olduğu ve yetişkinlikte de β -hücrelerinin yenilenmesinde görev yaptığı çeşitli araştırmalarda ortaya konmuştur(109). Bugüne kadar literatürde Tayvanlı, Japon ailelerde PAX4 mutasyonlu MODY kliniği olan aileler bildirilmiştir (110–112). Türkiye’de bugüne kadar PAX4 geninde mutasyonu pozitif olan bilinen ilk vaka 2017’de rapor edilmiştir ve MODY olduğu düşünülen olguda PAX4 geninde p.Arg133Trp mutasyonu saptanmıştır(113).

2.5.1.10. MODY Tip 10 (INS-MODY)

MODY ile ilişkili az sayıda INS geninde heterozigot mutasyonlar bildirilmiştir. Norveç, Danimarka, Fransa, Çek Cumhuriyeti ve İngiltere'den MODY kliniği olan toplamda altı ailede INS geninde mutasyon saptanmıştır(76,114,115).Bu mutasyonların endoplazmik retikulumda proinsülin moleküllerinin katlanmasını azalttığı, stres oluşturduğu ve β -hücrelerinde apoptozise neden olduğu çeşitli yayınlarda öngörülmektedir. Ayrıca INS genindeki mutasyonlar neonatal diyabetli olgularda da bildirilmiştir(114). INS geni için mutasyonu taşıyan aynı aileden bireyler arasında dahi klinik farklılıklar olduğu, ekspressivite değişkenliği ortaya konmuştur. Kimi mutasyonu taşıyanların insülin kullanmadan metabolik iyi bir kontrol sergilediği kiminin ise insülin kullandığı bildirilmiştir(116).

2.5.1.11. MODY Tip 11 (BLK-MODY)

Bu gen, kromozom 8'in kısa kolunda 8p23.1 üzerinde yerleşik 11 ekzondan tipik olarak hücre çoğalması ve diferansiyasyonunda rol oynayan proto-onkogenlerin src ailesinin reseptör olmayan tirozin kinazını kodlar. Protein, B hücresi reseptör sinyalizasyonunda ve B hücresi

gelişiminde rol oynar. Protein aynı zamanda glikoza yanıt olarak insülin sentezi ve salgılanmasını uyarır ve önemli bazı pankreas beta-hücresi transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu artırır. Pankreas adacıklarında, beta-hücrelerin modülatörü olarak işlev gören PDX1 ve NKX6-1'in regülasyonunu arttırarak işlev görmektedir.

Bu gendeki heterozigot mutasyonlar MODY diyabet kliniği ile ilişkilendirilmiştir(117). Gendeki bazı varyantların tip 2 diyabet gelişimine katkıda bulduklarına dair de literatür verileri bulunmaktadır. BLK geni ile ilgili olarak otoimmün bazı hastalıklarla (SLE, Sistemik Skleroderma, Romatoid Artrit) ve bazı kanser türleri(lenfoma) ile ilişkili olduğuna dair yapılan çalışmalar da mevcuttur.

2.5.1.12. MODY Tip 12(ABCC8-MODY)

ABCC8 geni pankreatik beta hücrelerindeki ATP'ye duyarlı K kanallarının ikinci alt birimi olan SUR1 alt ünitesini kodlamaktadır. ATP'ye duyarlı K kanallarının kapatılmasının, beta hücrelerinde glukoz uyarımlı insülin salgılaması için gerekli olduğu bilinmektedir; oysa bu kanalların açılması insülin salınımını inhibe etmektedir. İnsanlarda ABCC8 geni, kromozom 11 üzerinde bulunmakta ve gendeki mutasyonlar MODY, tip 2 diyabet ve gestasyonel diyabet ile ilişkili bulunmuştur. ABCC8'deki bazı mutasyonlar yenidoğanlarda hiperinsülinemiye neden olur. Ayrıca, bazı ABCC8 mutasyonları yenidoğan diyabetli bireylerde saptanmaktadır.

2.5.1.13. MODY Tip 13 (KCNJ11 –MODY)

Literatürde bugüne kadar sadece 1 ailede KCNJ11 geninde saptanan p.Glu227Lys mutasyonu MODY kliniği ile ilişkilendirilmiştir(118).

2.5.1.14. MODY Tip 14 (APPL1–MODY)

3. kromozomun p kolunda yerleşen (3p14) ve APPL1 genindeki heterozigot mutasyon sonucu oluşan bir MODY tip diyabettir.

2.5.2. Neonatal Diyabet

Neonatal diyabetes mellitus (NDM), yaşamın ilk altı ayında başlayan hiperglisemi, büyüme geriliği, dehidratasyon, ketoasidoz ile karakterize bir insülin üretim bozukluğudur. Nadiren de olsa diyabete; böbrek, bağırsak, iskelet, nörolojik, kalp anormallikleri gibi eksternal pankreas bulguları eşlik etmektedir. NDM nadir bir durum olarak tanımlanmış ve bildirilen insidans önceki çalışmalarda 1/21000 ile 1/500000 arasında değişmektedir(119,120).

Klinik sonuçlara göre NDM; Geçici Neonatal Diabetes Mellitus (TNDM) ve Kalıcı Neonatal Diabetes Mellitus (PNDM) olarak sınıflandırılmaktadır. TNDM ve PNDM'nin klinik bulguları birbiriyle çakışmaktadır. Teşhis, hastaların takiplerinde klinik remisyon olup olmadığına dayanmaktadır. Yenidoğan diyabetli vakaların% 50-60'ından sorumlu olan TNDM, ortalama 12 haftalık tedavi sonrasında remisyonuna girmesine rağmen, PNDM remisyon olmadan ömür boyu devam eden bir hastalıktır (121).

PNDM, genetik olarak heterojen bir hastalıktır ve bugüne kadar 20 farklı gen içerisinde nedensel mutasyonlar tespit edilmiştir. Bu genler KCNJ11, ABCC8, FOXP3, GCK, PDX1, PTF1A, EIF2AK3, SLC2A2, GATA6, SLC19A2, WFS1, NEUROD1, NEUROG3, RFX6, WFS1, NKX2-2, MNX1, IER3IP1, INS ve GLIS3(122). Bu genler hem pankreas β hücrelerinin farklılaşması hem de fonksiyonları için gereklidir.

KCNJ11, ABCC8 ve INS genlerindeki heterozigot mutasyonların PNDM'nin en yaygın nedeni olduğu gösterilmiştir. Avrupa ve Japon popülasyonlarında, ATP'ye duyarlı potasyum kanal alt birimlerini kodlayan genlerdeki (KCNJ11 (KIR6.2 olarak da bilinir) ve ABCC8 (SUR1 olarak da bilinir)) de novo aktive edici mutasyonlar yaklaşık tüm mutasyonların% 40-60'ından sorumludur(121,123,124).

Akraba evliliği sıklığının yüksek olduğu toplumlarda EIF2AK3, INS ve GCK genlerinde homozigot veya bileşik heterozigot mutasyonlar nadir görülen PNDM vakaların büyük bir bölümünü oluşturmaktadır ve bu aileler çoğunlukla Ortadoğu kökenli ailelerdir. Hayatın ilk 6 ayı içinde ortaya çıkan diyabete neden olan moleküler bozukluğun gösterilmesi hastalığın prognozunu ve tedavi planının belirlenmesinde önemlidir. Bu nedenle bu hasta grubunda genetik çalışmaların yapılması önerilmektedir.

2.5.3. Mitokondriyal Diyabet

Primer mitokondriyal hastalıklar 1/5000 kişiyi etkileyen heterojen ve kompleks bir genetik bozukluk grubunu ifade etmektedir. Gerçek prevalansın, bebeklikten erişkinliğe kadar çoklu sistemik şikayetler ile başvuran birçok hastada tanıya ulaşmanın karmaşıklığı nedeniyle daha da yüksek olduğu öngörülmektedir. Çoğu zaman doktorlar tarafından göz ardı edilen mitokondriyal bozuklukların bir kısmında diyabet göze çarpan bir özellik olarak karşımıza çıkmaktadır. Mitokondriyal hastalıkların genetiğine bakıldığında ~16 kb'lık mitokondriyal DNA (mtDNA) ve yüzlerce nükleer kodlanmış genin (nDNA), mitokondriyal metabolizmanın mekanizmasına katkıda bulunduğunu görmekteyiz. Primer mitokondriyal hastalıklar, mtDNA veya nDNA'daki, solunum komplekslerinden birinin altbirim sentezini ve çalışmasını

etkileyen veya DNA transkripsiyon, translayon, regülasyonunu doğrudan etkileyen mutasyonlar veya kopya sayı değişikliklerinden (delesyonlar, duplikasyonlar) ortaya çıkabilmektedir.

Mitokondriyum oositler ile nesilden nesile geçtiğinden, tüm mtDNA mutasyonları maternal olarak kalıtılmaktadır. mtDNA'daki mutasyonlar, başta iskelet kası, beyin, duyuşsal organlar ve pankreas beta-hücreleri gibi yüksek enerji gereksinimi olan dokuları etkilemekte ve çeşitli sendromlara sebep olmaktadır. DIDMOAD(Diabetes insipitus, diyabet, optik atrofi,sağırılık), Kearns-Sayre sendromu, Leber'in hereditör optik atrofisi, maternal kalıtılan sağırılık ve diabetes mellitus(MIDDM), MELAS(mitokondriyal ensefalomiyopati, laktik asidoz ve stroke benzeri epizotlar) bunlardan bazılarıdır(125).

2.6. NGS

Sanger ve arkadaşları 1977 yılında, 3'OH grubu dehidroksile edilmiş olan nükleotidleri (dideoksinükleotidler (ddNTP)) kullanarak DNA zincir uzamasının durdurulması prensibine dayalı bir DNA dizileme yöntemi geliştirmişlerdir(126). Sanger dizileme ve floresan tabanlı elektroforez teknolojileri kullanılarak insan DNA dizisinin büyük çoğunluğu tanımlanmıştır. 2003 yılında sonuçları paylaşılmaya başlanan İnsan Genom Projesinin büyük bir kısmı, Sanger dizileme cihazları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İnsan genom projesinin bitirilmesi ile birlikte yeni nesil dizileme (YND) olarak adlandırılan masif paralel dizileme yöntemleri geliştirilmeye başlanmıştır. Yeni Nesil Dizileme yönteminde kullanılan ilk next generation sequencing (NGS) cihazı ise 2005 yılında kullanıma sunulmuştur (127). Bu tarihten itibaren geliştirilen NGS platformları ile birlikte moleküler genetik alanında bir çığır aşılmıştır. YND yönteminin temeli DNA'nın enzimatik reaksiyonlarla kesilerek çok sayıda DNA parçasıyla bir kütüphane oluşturulması ve kütüphaneyi oluşturan DNA fragmentlerinin amplifikasyonuna dayanmaktadır. Milyonlarca küçük DNA parçasının paralel sekanslama ile eş zamanlı olarak dizilenmesi gerçekleştirilmekte; bu sayede genomdaki her bir bazın birden çok kez okunması mümkün olmakta ve varyasyonların daha doğru bir şekilde tespiti mümkün olmaktadır(128). Günümüzde farklı sekanslama yöntemi kullanan NGS platformları mevcuttur ve en çok kullanılan YND sistemleri olan Illumina Miseq, SOLID, Ion Torrent, Roche 454, Pacific Biosciences bugün tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu platformlarda ortak olarak çalışma aşamaları DNA kütüphanesi oluşturma, dizileme, görüntüleme ve elde edilen verilerin analizi basamaklarını kapsamaktadır. Illumina platformunda, enzimatik prosesler ve görüntüleme işlemlerinin hepsi "flow cell" adı verilen kısımda gerçekleşmektedir. "Flow cell" yüzeyinde köprüleşen PCR tekniğı kullanılarak

çoğaltılan klonal DNA parçaları daha sonra LED ve filtreler yardımıyla 4 farklı floresan verecek şekilde reversibl terminatörler kullanılarak sanger dizilemeye benzer bir şekilde senteze dayalı olarak dizilenmektedir (sequencing by synthesis). Cihaz farklı dalga boylarındaki her bir rengi ayrı ayrı algılayarak incelenen DNA kısmının nükleotid dizilimini ortaya koymaktadır(128,129).

YND panelleri ile etyolojisi genetik heterojenite gösteren hastalıklar için çok sayıda gen aynı anda dizilenebilmektedir. İmmun yetmezlikler, kemik iliği yetmezliği ile giden sendromlar, nörolojik hastalıklar, renal hastalıklar, bağ doku hastalıkları, kanser yatkınlık sendromları, kardiyomiyopatiler, işitme kaybı ve körlük etyolojisi vb taramak amacıyla oluşturulan paneller günümüzde çalışılmaktadır. NGS teknolojileri prenatal çalışmalarda, serbest fetal DNA (cffDNA, cell-free fetal DNA) analizlerinde de kullanılmaktadır. Günümüzde “likit biyopsi” olarak adlandırılan yöntemle özellikle hematolojik kanserler başta olmak üzere akciğer, meme, pankreas gibi ulaşılması güç olan solid doku kanserlerinin erken tanısı, bireysel tedavi yaklaşımları ve hastaların tedaviye olan yanıtları, NGS (yeni nesil dizi analizi) temelli yapılan analizlerle neoplastik hücrelerin genetik/epigenetik özellikleri belirlenerek daha doğru bir şekilde saptanabilir hale gelmektedir(130). NGS yöntemlerinin kullanıma girmesiyle aynı anda milyonlarca kısa fragment dizilenebilmekte ve sonrasında dizi elektroforeze ihtiyaç duyulmaksızın direk olarak bu diziler tespit edilmektedir; ancak bu teknolojinin bir dezavantajı olarak göreceli olarak kısa okumalar yapması söylenebilir. Okunan bu kısa parçaların genoma doğru bir şekilde hizalanması gerekirken bu konuda özel algoritmalara ihtiyaç duyulmaktadır(131). Ayrıca aşırı guanin / sitozin (GC) içeriğinden dolayı yanlış sıralanan, hatalı dizilen bölgeler olabilmekte yine tekrar bölgelerinde cihaz okuma hataları yapılabilmektedir. Klinik kullanımda NGS'nin bir diğer temel dezavantajı da bilgisayar kapasitesi ve depolaması gibi gerekli alt yapının kurulmasını gerektirmesi ve dataları kapsamlı bir şekilde yorumlayabilecek uzman personellere ihtiyaç duyulmasıdır.

3.GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Çalışmada Kullanılan Demirbaş Cihaz Listesi ve Markası

1. Etüv (ThermoScientific)
2. Karbondioksitli (CO²) 'liinkübatör (SANYO)
3. Santrifüj (Heraeus)
3. Su banyosu (PolySciencet)
4. Vorteks (IKA MS1)
5. Bilgisayar (DELL Optiplex 3020)
6. Manyetik karıştırıcı (IKA cMAG HS7)
7. Laminarairflow kabin (NÜVE LN 120)
8. Hassas terazi (RADWAG AS 220/C/2)
9. Derin dondurucu (UgurDerby)
10. Buzdolabı (Arçelik)
11. Otomatik pipet (Socorex Swiss,1000µL)
12. Zaman ayarlayıcı
13. pH metre (InoLab)
14. Vortex (BiöCoteStaurt)
15. Bilgisayar yazıcısı (Samsung CLP-315)
16. Bidistile su cihazı (PURE LAB flex)
17. PCR (BioradInc)
18. Elektroforez takımı
18. Spektrofotometre NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc.)
19. Miseq cihazı (Illumina, Inc.)
20. Çeşitli hacimlerdeki pipetler (Pipetus marka)

21. Manyetik Balıklar (Çeşitli Boyutlardaki)

3.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzeme Listesi ve Markası

1. Glasiyal asetik asit (Merck, 247K18855556)
2. Metanol (Merck, 502K5275408)
3. Etanol (Merck, K21078586)
4. pH Universal indikatörpH 0-14 (Merck)
5. Distile su
6. Çeşitli cam laboratuvar malzemesi
7. Konik tabanlı 10ml'lik steril kültür tüpü (Grainer, polystrene)
8. Filtre kâğıdı (WhatmanFilterPapers 25mm)
9. Enjektör 2ml, 5ml, 10ml (Sterijen)
10. Pastör pipeti
11. Magnesia16 Tam Kandan Genomik DNA İzolasyon Kiti-102 (Anatolia Diagnostics and Biotechnology Products Inc.)
12. PCR ürünlerinin saflaştırılması için NucleoFast® 96 PCR kiti (MACHEREY-NAGEL GmbH) kiti
13. Yeni nesil sekanslama için illumina firmasının Nextera XT örnek hazırlama kiti
14. Sekanslama kiti olarak MiSeqReagent Kit v2 (300-cycles) (Illumina)
15. Agaraoz jel
16. TBE buffer
17. Etidyum bromür
18. DNA boyut markırı
19. Ependorf tüpleri
20. Çeşitli hacimlerde pipet uçları

3.3.Hasta Seçimi

Çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk

Endokrinoloji Bilim Dalı'nda klinik olarak MODY diyabet şüphesiyle takipli, birbiriyle ilişkisiz, 25 yaş altında diyabet tanısı almış olan bireyler dahil edilmiştir. Aşağıdaki kriterlerin en az iki tanesi pozitif olanlar çalışmaya dahil edilmiştir.

- a) ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan ,
- b) otoantikoru negatif bulunan (anti-adacık hücre antikoru(islet cells), anti-insulin antikoru, anti GAD antikoru (glutamik asit dekarboksilaz),
- c) C-peptide düzeyi ≥ 0.59 ng/mL ve insülin rezistansı bulguları (obezite, akantozis nigrikans,vb.) olmayan,
- d) Tani almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.5 IU/kg/day)
- e) Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.

Hasta grubunu oluşturan olgular daha önce tanı almış ve düzenli aralıklarla takip edilen ve yeni tanı almış olgulardan meydana gelmektedir. Çalışmaya başlanmadan evvel ebeveynlerle görüşülerek çalışmanın kapsamı, çalışmayla ne amaçlandığı, nasıl yapılacağı konusunda bilgilendirilip yazılı onayları alındı.

3.4.Çalışma planı

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalı'nda klinik olarak MODY diyabet şüphesiyle takipli olan ve rutin amaçlı kan tahlil istenilen olguların demografik özellikleri (yaş, cinsiyet vb.), laboratuvar bulguları (hemogram, açlık kan glikozu, tedavi öncesi serum insülin ve C-peptid seviyesi, diyabet otoantikorları, idrar keton düzeyi, HbA1c, AST, ALT, üre, kreatinin, serum kolesterol, LDL, VLDL, HDL, Trigliserid düzeyleri) tespit edilmiş, hastaların medikal kayıtları incelenmiş ve en az 3 üç kuşak içeren soyağaçları çizilmiştir. Olguların hepsi tam bir fizik muayeneden geçirildikten sonra moleküler genetik tanı amacıyla hedeflenen 13 adet gen (HNF4A, GCK, HNF1A, PDX1, HNF1B, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK, KCNJ11, ABCC8) hedefe yönelik yeni nesil dizi analizi(MISEQ-Illumina) cihazında çalışılmıştır.

Önce tüm örnekler, DNA miktarları ve degradasyon durumları aynı olacak şekilde 7'li gruplara ayrılmıştır. Grup içindeki DNA izolatları birleştirilerek DNA havuzları oluşturulmuştur. Çalışmada DNA havuzları mutasyon açısından taranmış, mutasyon bulundurmeyen havuzlar içinde bulunan örneklerin tamamı negatif olarak değerlendirilmiş, mutasyon bulunan havuz içindeki örnekler ise bulunan mutasyon açısından tek tek görüntülenerek mutasyon bulunan bireyler belirlenmiştir. Yeni nesil dizi analizi çalışmaları İntergen Genetik Tanı Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

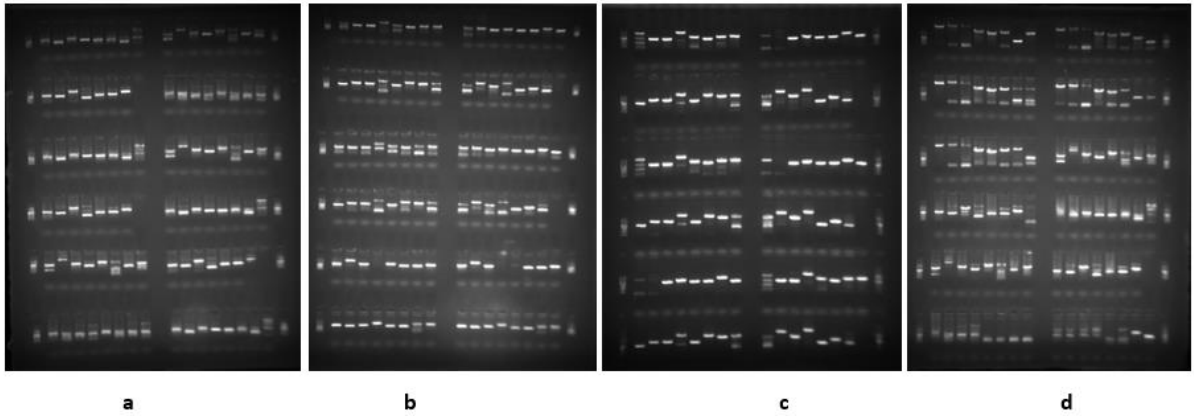
3.5.Moleküler Çalışmalar

3.5.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonları, çalışılacak bireylerin her birinden alınan 200 µl periferik kan örneklerinden, Magnesia16 Tam Kandan Genomik DNA İzolasyon Kiti-102 (Anatolia Diagnostics and Biotechnology Products Inc.) kullanılarak yapılmış ve bir sonraki aşamaya kadar -20⁰ C’de saklanmıştır.

DNA izolatlarının spektrofotometrik ölçümleri, NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc.) cihazında yapılarak izolatların miktar tayinleri yapılmıştır. İzolasyon sonrası her örnekten 100 mikrolitre, ortalama konsantrasyonları 30 ng/ µl, saflıkları (A260/280 değeri) ortalama 1,8’in üzerinde olan DNA elde edildi. Aynı zamanda DNA izolatlarının degradasyon durumu, %2’lik agaroz jel elektroforezi kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 1).

Şekil 1: Çalışılan hastalara ait jel görüntüleri



3.5.2.Gerekli primerlerin tasarımı

MODY kliniğine yol açtığı bilinen 13 geninin (HNF4A, GCK, HNF1A, PDX1, HNF1B, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK, ABCC8 ve KCNJ11) tüm kodlayan bölge ve ekzon-intron kesişim bölgelerinin amplifikasyonu için PCR primerleri tasarlanmıştır. Toplamda 123 ekzonu amplifiye eden 81 PCR ampliconu için 162 adet primer tasarlanmıştır. Primer dizileri aşağıda paylaşılmıştır (Tablo 5).

Tablo 5: Çalışma yapılacak genler için tasarlanan primer çiftleri

Gen	Primer Dizisi
ABCC8_1F	CCTCTCCCCCAGCGCACGCGTGCAT
ABCC8_1R	GATCGGGGGCACCGGGGAGTGA
ABCC8_2F	GTGTAGGTGTCACCCTCACCATGGAC
ABCC8_2R	CAGGGCCTGGGACTCACTTGCGTCCAGT
ABCC8_3F	ACCCAGCAACCCTTGTGCTTAGG
ABCC8_3R	AACATTGTCATTGCCCTACCCCTTA
ABCC8_4F	GTACGTGCGTCATCTTAGAGTCATGT
ABCC8_4R	AGTTTGGCTGAGAAGCAGGGTGGGGGC
ABCC8_5F	TTGGGGAATCCTTTTCCTGGTAATAATTA
ABCC8_5R	CTCAGTTTCCCCTCTTGTCCCACCAG
ABCC8_6F	ACTGTGCACTTGCTGATTCCATGATCTC
ABCC8_6R	AGAAGCTCTAGACACTGGACAA
ABCC8_7F	GCACAAGCCTTTGCAAGCCCAGAGGGT
ABCC8_7R	AATGGTTACTGTTTTAAAACATCGTTA
ABCC8_8F	TCTAGGGCACCATGGGGACTGTCTG
ABCC8_8R	AGGAGGGACCCAGAGGTACAGCCTGTG
ABCC8_9-10F	CTCTGCTTGCATGAGAGCCCATTAT
ABCC8_9-10R	AGAGCCAGTTTGAGGCTCCCCTACTGA
ABCC8_11F	TTCTGCCCCTAGCCTACTGGAGCTGTG
ABCC8_12R	TAAGCAAGTCCTTGCTCAGGGATGGCGAG
ABCC8_13F	TCTAATAACCCAGACTAACTAACTTCAA
ABCC8_16R	ATAATGCATGCAAAGGACTTAGCAAAGAA
ABCC8_17F	TGCTTTCTGACCCCACAGAGGCCATTT
ABCC8_17R	CTGAAAATATGTAGGCTGCACATCCC
ABCC8_18F	CATTTGTGGCTACAGACTGGGTCCAGG
ABCC8_19R	GGTGTGGGTGATCGATGGAGGGGCCCGG

ABCC8_20F	AGGCCTATTAAGCCATTGCTCACCTG
ABCC8_21R	CTCAGTTTCCCTATCACTAGGATGATAA
ABCC8_22F	AGGTTATAAAGCACCTGGAACACCAGCC
ABCC8_22R	GCCCTCAGCAGTTGCTACCAAGACA
ABCC8_23F	TGGATGAGCTGGTGGCCATTTGTAG
ABCC8_23R	ACCTGATTCTGCCCTGGGCACCTGG
ABCC8_24F	TGTGTGTCTGTCTGCCCTCCCTCAGG
ABCC8_26R	CCCACAAGCTTGTGACAGGTTGTATAT
ABCC8_27F	GATGTCTACAAATTGGCAGAGGATGCCA
ABCC8_28R	GTGTGTTGGCAGACTATTATATTAGGGC
ABCC8_29F	AGGTAAGGCCATTCACCCACACAGCG
ABCC8_29R	TTTGTCTCTTTTCATGCTCTGCCTCA
ABCC8_30F	GTAAAGGGAGGTGCCCTTATTATAAT
ABCC8_30R	GAAGCAGGAAGGCTTGGTGTCCACACG
ABCC8_31F	GGAGGCCTGGCTGAGCTGCTCTCTGCC
ABCC8_32R	CCATCCCCAGGCTCCCTTGTGGCCC
ABCC8_33F	GGGCCACAAGGGAGCCTGGGGATGG
ABCC8_33R	GTGAGAAGACAAGGCCTGAGGGCAG
ABCC8_34F	CAAAGAGAACTAGTCAGAAAACCAGGC
ABCC8_36R	CAAAGTTGGGGCAAACCTGAGACA
ABCC8_37F	CCCCAAGCCATCCCATCTGCTCCAC
ABCC8_39R	TCACAGGTAAGGAAGCAGGCTTTTG
BLK_1F	GAGCTGCCATGGACTGAGCAGGCC
BLK_1R	ATTCATGCCTCTTCCCTCCGTCTGTG
BLK_2F	CACCTGAGGACCTGGATCCACCCC
BLK_2R	CCTCTCCCCAAGCTGACCTTTTTACA
BLK_3F	CTGGGTACAGAATGTCCCTGAGC
BLK_3R	GCCGGGGCCTCTCTCAGCTTCCCC

BLK_4-5F	ATCGTGGGCAAGCAGAAGCCTGTCCTC
BLK_4-5R	AGAGAGGCCTTTCCCAGCAGAGCT
BLK_6F	CAGGGCCGACTGGGACCAGAAATGCT
BLK_6R	ATTCTTTGAGCTCCCCCTAATCCTTGA
BLK_7-8F	AGGGAGTGCTGATAATGAAGAACAG
BLK_7-8R	CTGTAAAATGAGTGTCTCGCCTCTG
BLK_9F	GACCTGGAACGCAAGGTAGGCACCA
BLK_9R	TGGCTCTGTCAGAACCACTTCACCCT
BLK_10F	GTAGGTAGATCCTTCCTGATGCAC
BLK_10R	CCCTCTCTTCCTTCGGAACAGAATA
BLK_11F	AACACAGTCACCTTTCTACTCCATCCA
BLK_11R	AAATGCTGATCTAGAGCTGTAGAAA
BLK_12F	GATGTCGTGTCTGCACTCACCTGGT
BLK_12R	GCAGCCACAGGCACCAAGCACAGGCGA
BLK_13F	ACCGGGCAGCCAGGCAACGCACGAGGC
BLK_13R	AACACCTTACTGGGGCTTAGTACTCC
CEL_1F	TGCCTGGGCATGCCCCAGGGCCTCGG
CEL_1R	TCTGAAATTCAAATGGAATTGGGCA
CEL_2-4F	GCACGCGGAGTCGGCTTGCCTTGC
CEL_2-4R	TCATGATTCTACTCCAGCTTCCGG
CEL_5-7F	CCTGGGGACCCACCCCCTCCAGCACCC
CEL_5-7R	CTAGTTGGTGACAGGACAAGACCG
CEL_8-9F	TCAACTGCACGGGCTGGACAAGCCCA
CEL_8-9R	TTACATGAAGATTTTTAATGTGGTGGT
CEL_10F	GTGGAGGTTGCAGTGAGCCGAGATT
CEL_11R	GGTGACCAGATTGGGGTCTCTAAACAC
GCK_1F	GCAGGGCCAGAGGAGGAGCCAGTCCCTGT
GCK_1R	CCTGTGCATAAAAATCAGATTCTGAG

GCK_2-3F	GTGCCACAGGGATATCGTCAGGGACA
GCK_2-3R	CAGGCCTCCAGCTGCCTCTGAGGCT
GCK_4-6F	TGGACAGGCCTGGCATTCAAGTGGCCAGG
GCK_4-6R	CCAAGACCACCCAGGCTGTAGCACCAG
GCK_7-8F	AAAGAGGACAGCCCTGAAAGCTGTCCCT
GCK_7-8R	CCCCGCCACGCCCGGAATCCCCGCCCC
GCK_9-10F	GGGGCAGTACTAACCAGTCCCTGGCG
GCK_9-10R	TGGTATGGGAGAGAAAAGGTCTCTGG
HNF1A_1F	AGTCTCACCTTGCATGTTTTCTGCC
HNF1A_1R	GGAGAGTATAAATGATCAGAGTGGCTAAA
HNF1A_2F	AGTCTATGTGTAGGCCCTGGGCTCCAT
HNF1A_2R	ATTTCAATTCATCTTTGGATGTTTCAGGA
HNF1A_3-4F	CTTGAACACAGGTTAAGAAAGTGATGG
HNF1A_3-4R	AATGGAACCAAACCTGAAGTGCAAAGAGGT
HNF1A_5-6F	AGCAGCTGACCCAGGGCTTGGCAA
HNF1A_5-6R	CTCTTCCAGCTCCTGGATTCTGCGGTTG
HNF1A_7F	AACTTTTGAACAAGTCACCGCCTG
HNF1A_7R	AAATGCATGCACAACCGATACACACCCA
HNF1A_8-9F	AGGGTCTGTCCCTTTATCTGGAGCCTC
HNF1A_8-9R	CTGAGATGTTCTTGTAAGGTGGGCCCC
HNF1A_10F	AGAACCGAGGGTAGAGGTGTGACTTTG
HNF1A_10R	TTGGGGCAGGAAGGAGTGGCCCCGGTG
HNF1B_1F	CCATCCTAGTGCCTCACCATCCTAGTGC
HNF1B_1R	CGTCCCGCTAAGGGATTGGGAAGGGT
HNF1B_2F	AGGGGCAGTCACCTTCTCCTCTGTTTA
HNF1B_2R	GCTGTGACTGAAGAACATGACAGAAGCC
HNF1B_3F	GAGCAACTGAGGTGGGCAGTAAGGG
HNF1B_3R	TCAGACTTACTGATTAATGAATTGATAT

HNF1B_4F	TGTGATTGTGTGTTTTGGCCAAGC
HNF1B_4R	AATGGCTGAACCAGGAGTTGGAGGAAAC
HNF1B_5F	GGATACATCAGTGAACAAAACAAAC
HNF1B_5R	TGGACAGCCCTCATTTCCTATGGG
HNF1B_6F	GGAAAAAGTAGAGAAACCTTATAATGGCT
HNF1B_6R	TGACCAGGATCCAAATCCATTCCACA
HNF1B_7F	GAGACTCTCAGGCTTTAATCAGATC
HNF1B_7R	GAAAAGTGACCAAGCCAATAAACTTCCG
HNF1B_8F	CTTTTATCTACCTGAGGAGATGGGAG
HNF1B_8R	TTAGTGCTCTTCTGGGGAATCTGG
HNF1B_9F	AGGTCAGCAAGTTAAGACTACTTCAAGGT
HNF1B_9R	TTCAATAGCACATGTCCTTCTCTCCTCAT
HNF4A_1F	TTGAATTTAGAATGGGGAAGGAGA
HNF4A_1R	CCTGAGATGCATTCCCAGGAAGGCCTCT
HNF4A_2F	CCAGTTTACAGATGTGAAACTGAAGCT
HNF4A_3R	TCCCTATGGTCAGATTTCCAGGCCCTCC
HNF4A_4F	TTGTGATATGTGGAAAGTTCTTCC
HNF4A_5R	CTATGAGATGGCAGTAATAATAGTA
HNF4A_6F	AGGTCTCTCAGCTCTGAGCACATGTTCT
HNF4A_7R	TTAAATGAAAACGGCCTCTCCTGGCT
HNF4A_8F	TCTTTTCTGCCTGTGTCTAGGAAAT
HNF4A_8R	CTTGTTCCCATTTTTCTGGTGAGGAAACT
HNF4A_9F	CAATATTGGATGGGCTGGTTGATTGG
HNF4A_10R	GTGGCCCTTAGGCCATGTTCTCGGGCC
INS_1F	GCCCAGGTGAGGG CTTTGCTCTCCTGG
INS_1R	CTTAACAAAACACTTGAATCTGCGG
INS_2F	ATGCTGGGGACAGGCCCTGGGGAG
INS_2R	TTCTCAGTGGCCCCACCACCCTGGCC

KCNJ11_F	GCTGAGTGCAGCCCCAGGGTGAGAAGG
KCNJ11_R	GGTTCCTGCTGAGGCCAGAAATAGCATA
KLF11_1F	TCGCTCCGACCAAAACACGTGC
KLF11_1R	CCTGTAAATGCGGGAGGTGGGG
KLF11_2F	GCTTAGTTCTGTCTGTGAAATGTTGGC
KLF11_2R	CTTATTTGCCAGCATCCCAGGGAATCTT
KLF11_3F	GAATAAGCTGAGAAAGCAGAGTGCC
KLF11_3R	GCCACACTTCCACCTTCGCCAGG
NEUROD1_1F	TCTGATCTAGACCTAGTTAACATTAG
NEUROD1_1R	ACATACAGAATATGTAGGTTTCATCAGTC
NEUROD1_2F	TTGTAATGGGCAGGTACTTTTCGCAAG
NEUROD1_2R	GCTGCCTTTTGTAAACACGACAGTCAC
PAX4_1-3F	ACAGAGACAGGGGAAGACCTCAGGGCT
PAX4_1-3R	AAGAAAGAACGAGAAAGGGCTTTGA
PAX4_4-5F	GCACATTAAGCATGCACCCCACCATGG
PAX4_4-5R	CCTCTCCACCTCATTGGAACCCAAAG
PAX4_6-7F	AGCAGGGAGGGAGGATGTCAGGCCCAA
PAX4_6-7R	GTTAGTACTTTCTTGACATGAACACTGT
PAX4_8-9F	GCAGGCAGCTCTGGGGTCCCGGCGTTCTC
PAX4_8-9R	TACTGCTGAGTGGAGGCCTCTTAAGGCT
PDX1_1F	GCCGGCCCCCGGTCCGCGCTGG
PDX1_1R	CGGGATAATCCAAGGCGCCGGGAA
PDX1_2F	TACTAGGGAAGAGCTTCGCGCGCCTA
PDX1_2R	ACTGCCAGGGCGGGTGGTCCACGCC

3.5.3.Örneklerin hazırlanması

Örnekler, DNA miktarları ve degradesyon durumları aynı olacak şekilde 7'li gruplara ayrıldıktan sonra tüp içindeki DNA izolatları birleştirilerek DNA havuzları oluşturulmuştur.

Havuzların içerisinde her bir örneğe ait eşit miktarda DNA olmasına dikkat edildi. Karışımların homojen olması için vorteks kullanıldı.

3.5.4. PCR

Hedeflenen gen bölgelerinin amplifikasyonları aşağıda verilmiş olan tabloda gösterilen her bir havuz için hazırlanmış olan PCR reaksiyon miksleri kullanılarak yapılmıştır.

Tablo 6: PCR reaksiyon miks içeriği

İçerik	Reaksiyon başına miktar (µl)
dH ₂ O	15
5x Tampon (MgCl ₂ 'li)	5
dNTP karışımı, her biri 10mM(ThermoFisherScientificInc.)	0,5
İleri Primer (5 µM)	1
Geri Primer (5 µM)	1
Phire II Taq DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific Inc.)	0,5
Kalıp DNA (20-50 ng/µl)	2
Toplam	25

PCR reaksiyonu için hazırlanmış olan mixler PCR tüplerine konularak T100 (BioradInc.) termal döngü cihazlarına (Şekil 2) yerleştirilmiş ve aşağıdaki protokol uygulanarak amplifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 7: Yapılacak olan PCR işlemi için hazırlanmış olan döngüleri ve süresini gösteren protokol

Sıcaklık (°C)	Süre (dk:sn)	Döngü
95	01:00	1
95	00:10	
60	00:10	45
72	00:20	
72	01:00	1
4	∞	1



Şekil 2: Hedeflenen gen bölgelerinin amplifikasyonunun yapıldığı PCR cihazları

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda ürün elde edilip edilemediği,%2'lik agaroz jel elektroforezi kullanılarak kontrol edilmiştir. Reaksiyon sonucu beklenen ampikon boyları aşağıdaki gibidir (Tablo 8):

Tablo 8: PCR reaksiyonu sonunda oluşması beklenen ampikonlar ve büyüklüğü

Gen	ekzon	bp
ABCC8	1	667
ABCC8	2	443
ABCC8	3	639
ABCC8	4	449
ABCC8	5	514
ABCC8	6	666
ABCC8	7	446
ABCC8	8	437
ABCC8	9-10	949
ABCC8	11-12	1769
ABCC8	13-16	2113
ABCC8	17	310
ABCC8	18-19	1054
ABCC8	20-21	1099
ABCC8	22	550
ABCC8	23	452
ABCC8	24-26	1085
ABCC8	27-28	1379
ABCC8	29	463
ABCC8	30	506
ABCC8	31-32	790
ABCC8	33	437

ABCC8	34-36	993
ABCC8	37-39	1710
BLK	1	1641
BLK	2	676
BLK	3	357
BLK	4-5	1358
BLK	6	603
BLK	7-8	1020
BLK	9	560
BLK	10	520
BLK	11	435
BLK	12	416
BLK	13	646
CEL	1	931
CEL	2-4	1057
CEL	5-7	992
CEL	8-9	1601
CEL	10-11	2257
GCK	1	1268
GCK	2-3	1659
GCK	4-6	1596
GCK	7-8	1721
GCK	9-10	1419
HNF1A	1	1564
HNF1A	2	566
HNF1A	3-4	1196
HNF1A	5-6	735
HNF1A	7	695
HNF1A	8-9	761
HNF1A	10	781
HNF1B	1	1620
HNF1B	2	521
HNF1B	3	627
HNF1B	4	513
HNF1B	5	542
HNF1B	6	808
HNF1B	7	552
HNF1B	8	444
HNF1B	9	677
HNF4A	1	1220
HNF4A	2-3	1766
HNF4A	4-5	1391
HNF4A	6-7	1792
HNF4A	8	596
HNF4A	9-10	1596

INS	1	1027
INS	2	888
KCNJ11	tüm gen	1462
KLF11	1	525
KLF12	2	591
KLF13	3	1242
NEUROD1	1	671
NEUROD1	2	1288
PAX4	1-3	1479
PAX4	4-5	728
PAX4	6-7	1408
PAX4	8-9	931
PDX1	1	695
PDX1	2	719

3.5.5.PCR havuzu oluşturma

Her bir örnek havuzu için elde edilen PCR ürünleri, ampikon boyu ve reaksiyon verimliliği göz önünde bulundurularak, her bir bölgenin yaklaşık eşit oranda temsil edileceği şekilde karıştırılarak PCR havuzları oluşturulmuştur.

3.5.6.Saflaştırma

Yeni nesil sekanslama reaksiyonundan önce oluşturulan PCR havuzları, NucleoFast® 96 PCR kiti (MACHEREY-NAGEL GmbH) kiti kullanılarak saflaştırıldı.

3.5.7.Yeni nesil sekans için örnek hazırlanması

Saflaştırma aşamasından sonra PCR ürünlerinin miktar tayini NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc.) cihazında yapılarak, örnekler 0,2 ng/μl olacak şekilde standardize edilmiştir. Standardize edilen örnekler, illumina firmasının Nextera XT örnek hazırlama kiti kullanılarak yeni nesil sekanslamaya hazır hale getirilmiştir (Tablo 9).

Tablo 9:24 Örneklik Kit İçeriği Nextera XTDNA Library Prep Kit, 24 Indexes (FC-131-1024) 24-IndexKit

Nextera XTDNA Library Prep Kit, 24 Indexes (FC-131-1024) 24-IndexKit Contents, Box 1

Quantity	Acronym	Reagent Name	Storage Temperature
1	ATM	Amplicon Tagment Mix, 24 rxn	-25°C to -15°C
1	TD	Tagment DNA Buffer	-25°C to -15°C
1	NPM	Nextera PCR Master Mix	-25°C to -15°C
1	RSB	Resuspension Buffer	-25°C to -15°C
1	LNA1	Library Normalization Additives 1	-25°C to -15°C
1	LNW1	Library Normalization Wash 1	2°C to 8°C
1	HT1	Hybridization Buffer	-25°C to -15°C

24-IndexKit Contents, Box 2

Quantity	Acronym	Reagent Name	Storage Temperature
1	NT	Neutralize Tagment Buffer	Room temperature
1	LNB1	Library Normalization Beads 1	2°C to 8°C
1	LNS1	Library Normalization Storage Buffer 1	Room temperature

IndexKit (24 Indexes) (FC-131-1001)

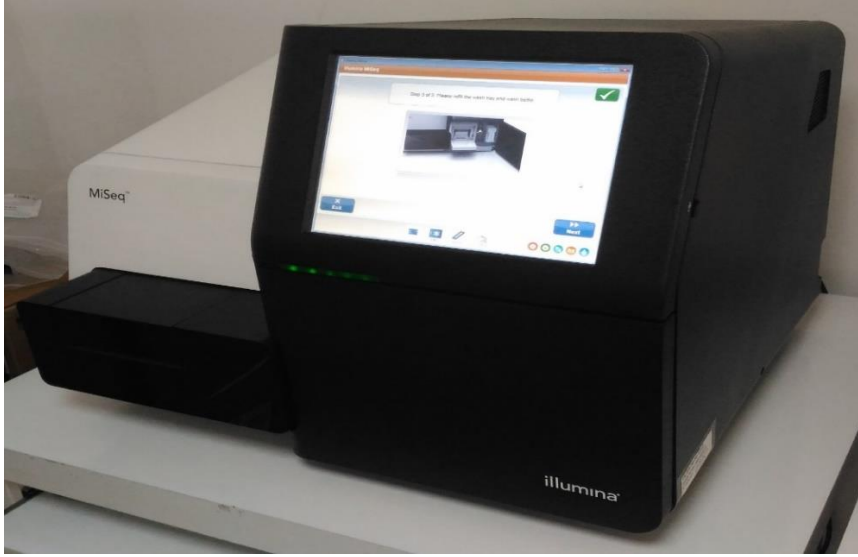
Quantity	Reagent Name	Storage Temperature
4	tubes Index Primers, S502 to S504, and S517	-25°C to -15°C
6	tubes Index Primers, N701 to N706	-25°C to -15°C

3.5.8.Yeni nesil sekans

Hedeflenmiş olan genlerin analizleri MiSeqReagent Kit v2 (300-cycles) (Illumina) Sekanslama kiti(Şekil 3)ve illumina firmasının Miseq cihazı (Illumina, Inc.) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve hedefe yönelik dizileme (Targeted resequencing) yöntemi uygulanmıştır (Şekil 4).



Şekil 3:MiSeqReagent Sekanslama kiti v2 (300-cycles) (Illumina)



Şekil 4:Miseq cihazı görüntüsü (Illumina, Inc.)

3.5.9.Yığınların(Cluster) oluşturulması ve Dizileme

Her bir DNA molekülü cihaz çalışmaya başladıktan sonra Flow Cell denilen kısma bağlanmakta ve sonrasında köprü şeklinde çoğalarak her bir parçanın çok sayıda kopyası oluşturulmaktadır. Bu kısım yığınların oluşturulması aşamasıdır(cluster generation). Bu kısım tamamlandıktan sonra bu cluster kümeleri(yığınlar) LED ve filtreler yardımıyla 4 farklı floresan verecek şekilde işaretli nükleotid için kaydedilmektedir. Cihaz her bir rengi ayrı ayrı algılayarak incelenen DNA kısmının nükleotid dizilimini ortaya koymaktadır.

3.5.10.VerilerinAnaliz İşlemi

MiSeq Reporter Analysis programı cihazdaki çalışma tamamlandığında otomatik olarak uygulamaya girmektedir. Bu sayede elde edilen diziler, veri tabanlarındaki referans kabul edilen diziler ile karşılaştırılmış, sonrasında program referans diziden farklı olan noktaları belirlemiştir. Bir sonraki aşamada hastalık nedeni olabilecek olan varyantlar sınıflandırılmıştır. Saptanan bu varyantların hastalık nedeni olup olmadığının değerlendirilmesi “verilerin analizi” kısmında detaylı olarak ele alınmıştır.

Elde edilen verilerin analizi IGV 2.3 (Broad Institute)yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Veriler analiz edilirken mutasyon eşik değeri %2 olacak şekilde incelenmiş ve mutasyon bulunan havuzlar tespit edilmiştir. Mutasyon içeren havuzları oluşturan örnekler, o mutasyon için teker teker çalışılarak mutasyonun hangi örnek veya örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Bu amaç için de yeni nesil sekanslama kullanılmıştır.

Tespit edilen sekans varyantlarının yorumlanmasında bir standardizasyon ortaya koymak amaçlı 2015 yılında American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) ve beraberindeki araştırıcılar sekanslama ile tespit edilen varyantların yorumlanması için bir rehber yayınladılar(132). Rehberde; saptanan değişiklikler yorumlanırken toplum alel frekansları, insiliko analiz verileri, fonksiyonel çalışmalar, aile bireylerini içeren segregasyon analizleri gibi datalarla birlikte yapılması tavsiye edilmektedir(Tablo 9, 10). Standart bir terminoloji oluşturmanın Mendelian hastalıklara neden olan genlerdeki mutasyonları tanımlamak için gerekli olduğu çalışmada vurgulanmıştır. Kurul oluşturulan terminolojiye göre varyantları "patojenik", "olası patojenik", "önemi bilinmeyen", "olası benign" ve "benign" olarak gruplandırmaktadır. (Tablo 11).Biz de saptanan varyantları bu standart terminolojide belirtilen kriterlere göre değerlendirdik.

Öncelikle yapılan yeni nesil dizi analizi çalışması sonunda hastalardaki tespit edilen varyantları Human Genome Mutation Database (HGMD), National Center for Biotechnology Information TheSingle Nucleotide Polymorphism Database (NCBI dbSNP Database), Pubmed gibi hastalıklarla ilişkili veri bankaları kullanılarak daha önce literatürde tespit edilip edilmediği, eğer ortaya konmuşsa hangi hastalıklarla ilişkilendirildiklerini değerlendirdik. Eski yıllarda literatüre mutasyon olarak bildirilmiş ancak üzerinde yeterli çalışmaların yapılmadığı bazı varyantların da bu database'lerde mevcut olduğu ve zamanla bu varyantların mutasyon sınıfından çıkarıldıkları, varyant listelerinin güncellendiğini görmekteyiz: bu nedenle varyantların analizini yaparken bunları da göz önünde bulundurup gerekli olan segregasyon çalışmalarını yaptık. Saptadığımız varyantlar için mutasyon ve polimorfizm ayırımı yapabilmek için Provean, Sorting Intolerant FromTolerant (SIFT), Polyhen-2, ExAC Browser, ClinVAR, Mutation Taster, Varsome, Uniprot, GERP, PhyloP, Human Splicing Finder gibi in siliko analiz sistemleri ile birlikte ailelerde segregasyon analizleri gerçekteşirildi ve mutasyon olasılıkları araştırıldı. Probandın dışında anne ve babasında genetik analizler yapılarak varyantın patojenik etkisine dair veriler, hastaların ve aile bireylerindeki klinik ve laboratuvar verileri, varyanta ait toplum alel frekansları, popülasyon verileri de göz önünde bulundurularak değerlendirildi. Ayrıca, oluşacak olan protein için kritik bir bölgede probleme yol açıp açmadığı, aminoasit düzeyinde etkilenmenin nelere yol açabileceği, farklı türden canlılarda varyantın saptandığı lokusun evrimsel açıdan korunmuş bir bölgede olup olmadığı, varyantın tespit edildiği bölgede daha önce bir mutasyonun literatürde mevcut olup olmadığı değerlendirilmiştir. Bu analizler neticesinde hastalığa neden olduğu duşunülen değişikliklerin her biri manuel olarak analiz edildi ve mutasyon olup olmadıklarına karar verildi.

Tablo 9:Patojenik varyantların sınıflandırılmasındaki kriterler(132)

Patojenitenin kanıtı	Kategori
Çok güçlü	PVS1 Fonksiyon kaybettirici mutasyonlar (nonsense, frameshift, splice site, başlangıç kodon, tek ya da birden fazla ekzon delesyonları)
Güçlü	PS1 Daha önce tanımlanmış patojenik ayniaminoasit değişikliğinin aynı kodondaki farklınükleotit değişikliğinden kaynaklanması PS2 De-novo varyant tanımlanması PS3 İn-vivo veya in vitro yapılan fonksiyonelçalışmalar PS4 Etkilenen bireylerdeki varyant sıklığının kontrolgruplara göre önemli ölçüde artmış olması
İlımlı	PM1 Mutasyonun hot spot ve/veya kritik ve iyitanımlanmış domainde yer alması PM2 Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, or Exome AggregationConsortium veritabanlarında kontrol gruplardaolmaması (resesif ise çok düşük sıklıkta olması) PM3 Resesif hastalıklar için patojenik varyantıntrans şeklinde tespit edilmesi PM4 Tekrarlamayan bölgelerde in-framedelesyon/insersiyondan kaynaklanan ya da stopkodonu değiştirerek proteinin uzunluğundedeğişmesi PM5 Patojenik missense mutasyon tespit edilenbölgede farklı bir missense değişikliğinin saptanması PM6 De-novo olduğu tahmin edilen ancak annebabanın çalışılmadığı durumlar
Destekleyici	PP1 Hastalığa neden olduğu bilinen bir gende aynıailedeki birden çok etkilenmiş bireyde segregasyon saptanması PP2 Benign missense varyant oranının düşükolduğu bir gende missense varyant tespit edilmesive hastalığın mekanizmasında missensevaryantların rol almaları PP3 Birden çok bilgisayar programlarının gen veyagen ürününün zararlı (deleterious) bir şekildeetkilendiğinin gösterilmesi (conservation,evolutionary, splicing etkisi gibi) PP4 Hastanın fenotipi ya da aile öyküsü tek birgenetik etyolojisiye sahip hastalıkla uyumlu olması PP5 Son zamanlarda güvenilir bir kaynaktapatojenik olarak rapor edilmiş ancak ispatı içinlaboratuvarda bağımsız değerlendirmegerçekleştirmek için elverişli olmayan

Tablo 10: Benign varyantların sınıflandırılmasındaki kriterler(132)

Benign kriterler	Kategori
Tek başına	BA1 Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, or Exome Aggregation Consortium veritabanlarında Allel sıklığı >%5 olması
Güçlü	BS1 Allel sıklığının hastalık için beklenenden daha yüksek olması BS2 Erken yaşlarda tam penetrans olması beklenen resesif (homozigot), heterozigot (dominant), X'e bağlı (hemizigot) hastalıklar için sağlıklı yetişkin bireylerde gözlenmesi BS3 İn vivo ve in vitro fonksiyonel çalışmalarda protein fonksiyonu ve splicing üzerine hasar verici etkisinin gösterilememesi BS4 Ailedeki etkilenmiş bireylerde segregolmaması
Destekleyici	BP1 Hastalığın sebebinin öncelikle gende proteinin erken sonlanmasına sebep olan varyantların olduğu bilinen durumlarda missense varyant tespiti BP2 Tam penetran otozomal dominant bir hastalıkta patojenik bir varyant ile trans pozisyonunda gözlenmesi ya da herhangi bir kalıtım paterninde cis durumunda patojenik varyant gözlenmesi BP3 Fonksiyonu bilinmeyen tekrarlayıcı bölgelerde in-frame delesyon ya da insersiyonsaptanması BP4 Birden çok bilgisayar programlarının gen veya gen ürününün zararlı bir şekilde etkilendiğinin gösterilmemesi (conservation, evolutionary, splicing etkisi gibi) BP5 Alternatif bir moleküler temeli olan bir hastada varyant gözlenmesi BP6 Son zamanlarda güvenilir bir kaynakta benign olarak rapor edilmiş ancak ispatı için laboratuvarında bağımsız değerlendirme gerçekleştirmek için elverişli olmayan BP7 Sinonim (sessiz) varyasyonun splicing tahmin algoritmalarında splice konsensüs dizilerine etki etmemesi ve yeni bir splice oluşturmaması ve nükleotidin yüksek korunmuş bir bölgede yer almaması

Tablo 11: Varyantların sınıflandırılmasında kullanılan kriterlerin birlikte kullanılması sonucu varyantların etkisinin belirlenmesi

Patojenik

(i) 1 Çok güçlü (PVS1) VE

a) ≥ 1 Güçlü (PS1–PS4) YA DA

b) ≥ 2 Orta (PM1–PM6) YA DA

c) 1 Orta (PM1–PM6) ve 1 destekeyici (PP1–PP5) YA DA

d) ≥ 2 Destekeyici (PP1–PP5)

(ii) ≥ 2 Güçlü (PS1–PS4) YA DA

(iii) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE

(a) ≥ 3 Orta (PM1–PM6) YA DA

(b) 2 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 2 destekeyici (PP1–PP5) YA DA

(c) 1 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 4 destekeyici (PP1–PP5)

Olası patojenik

- (i) 1 Çok güçlü (PVS1) VE 1 orta (PM1– PM6) YA DA
- (ii) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE 1–2 orta (PM1–PM6) YA DA
- (iii) 1 Güçlü (PS1–PS4) VE ≥ 2 destekeyici (PP1–PP5) YA DA
- (iv) ≥ 3 Orta (PM1–PM6) YA DA
- (v) 2 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 2 destekeyici (PP1–PP5) YA DA
- (vi) 1 Orta (PM1–PM6) VE ≥ 4 destekeyici (PP1–PP5)

Benign

- (i) 1 Tek başına (BA1) YA DA
- (ii) ≥ 2 Güçlü (BS1–BS4)

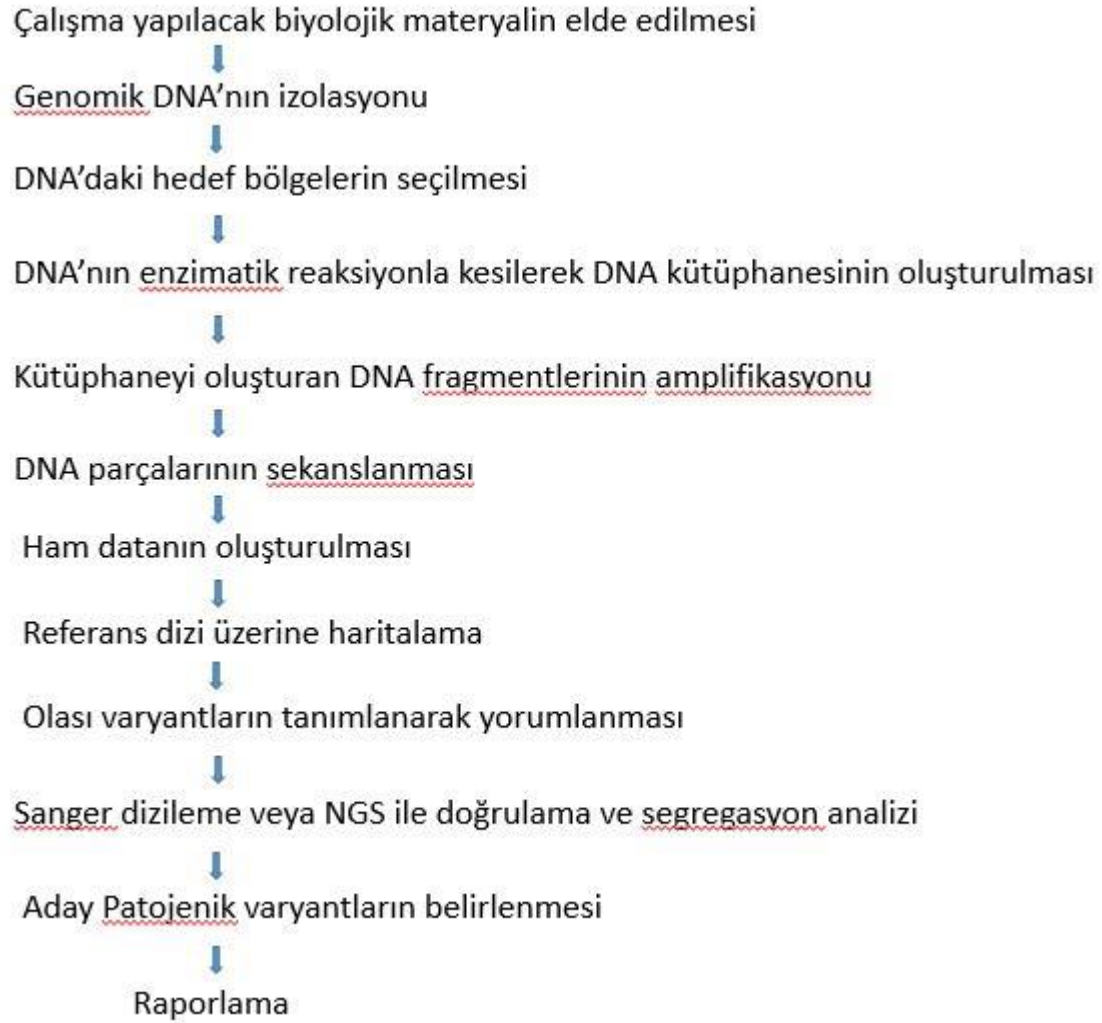
Olası Benign

- (i) 1 Güçlü (BS1–BS4) VE 1 destekeyici (BP1– BP7) YA DA
- (ii) ≥ 2 Destekeyici (BP1–BP7)

Önemi bilinmeyen

- (i) Yukarıda sırlanan kriterler bir arada değilse (karşılanmıyorsa) YA DA
- (ii) Benign ve patojenik kriterler çelişkili ise

Yeni nesil dizileme işlemi yapılırken izlenen basamaklar aşağıdaki şekilde özetlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5: Yeni nesil dizileme basamakları

4. BULGULAR

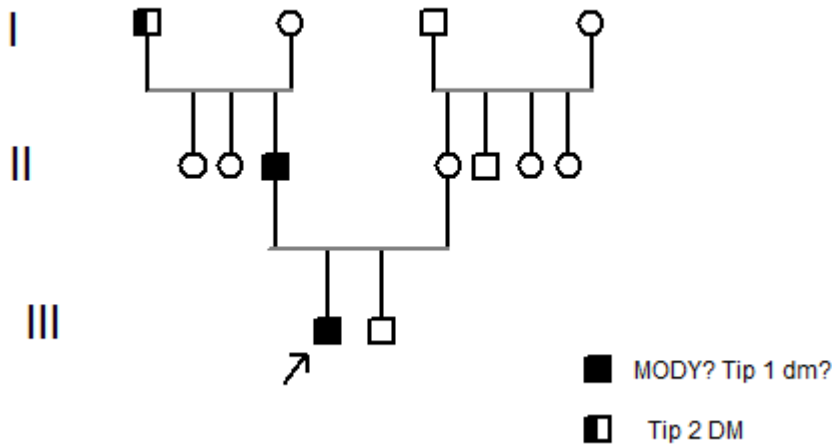
4.1. Birinci hastaya ait bulgular

Diyabet tanısı ile Pediatrik Endokrinoloji AD'ndan takipli olan 10 yaşında erkek olgu miadında 3100 gr olarak NSVD ile doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim parametreleri yaşitlarıyla uyumlu olarak devam etmiştir.

Hasta 9 yaşındayken ağızda kuruluk, aşırı susama, sık sık idrara çıkma gibi şikayetlerle dış merkeze başvurmuş ve orada yapılan tetkiklerde kan şekeri: 280 mgr /dl gelmesi sonucu ileri tetkik ve tedavisi amacıyla hastanemize başvurmuştur. Başvurudaki değerler: Açlık kan glikozu: 387 mg/dl, HbA1c: 12,6 olarak ölçülen hastada C-peptid 0,14 ng/mL, ağırlık 35 kg (75p),VKİ:23 kg/m² olarak ölçülmüştür.

Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan (Şekil 5) hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (10 yaş) ağırlık: 39 kg (71p), boy: 124,4 cm (<3p) ve BMİ:25,2 kg/m² (2,02SDS) idi. Hastanın babası Tip 1 DM tanısı ile takipliymiş. Hastamızda bakılan otoantikörler (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı.

Şekil 5: Birinci hastaya ait soyağacı



Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 90-160 mg/dl, tokluk kan şekerleri 170-190, c-peptid 0,24, BMİ:24 kg/m² ve ayrıca insülin ihtiyacı 0,57 u/kg olarak saptandı. Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir(Tablo 11).

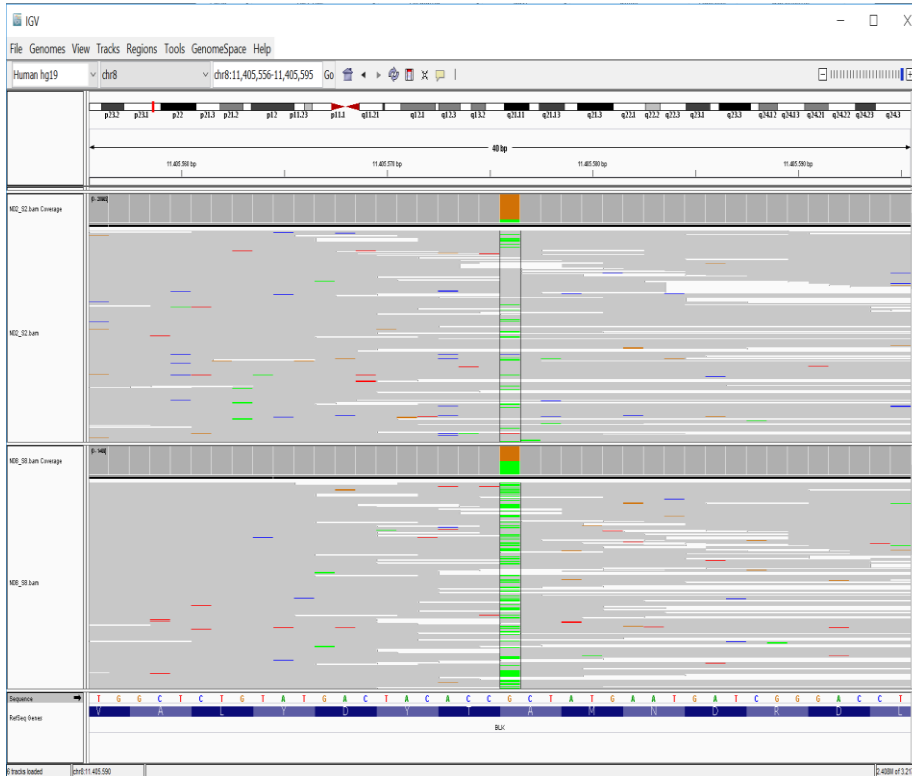
Tablo 11: Birinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptide level ≥ 0.59 ng/mL,	-
*İnsülin rezistansı bulguları (obezite,acantozisnigricans) olmayan,	-
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptit seviyesi tespit edilenler,	+
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	+

* kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir.

H1 nolu hastada BLK(B-Lenfosit Tirozin Kinaz) geni Ekzon 4'te heterozigot 211. pozisyonda yer alan Guanin nükleotidinin yerini Adenin nükleotidinin aldığı (c.211G>A) saptanmıştır. Oluşan bu değişiklik proteinin 71. aminoasidi olan Alanin'in Treonin'e (A71T) dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır. Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon analizleri tamamlanmış ve yapılan analizlerde hastanın anne ve babasının bu varyantı taşımadığı görülmüştür (Şekil 6). Bu değişiklik literatürde missense (yanlış anlamlı) mutasyon olarak daha önce tanımlanmış ve MODY ile ilişkilendirilmiştir(117). Bu varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçları tabloda gösterilmiştir (Tablo 12).

Şekil 6:Birinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



Tablo 12: Birinci hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo

Gen	BLK
Transcript ID	NM_001715.2
rs ID	RS55758736
cDNA	c.211G>A
Protein	A71T
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)
Mutation Taster	Prediction Disease causing(Hastalık Yapıcı)
Polyhen 2	0.56 ,Possibly damaging (muhtemel hastalık yapıcı)
SIFT	Damaging(Hasarlayıcı)
ExAC verisi(Alel frekansı)	0.01157 (%1.16)
Kaviar (Alel frekansı)	0.01158 (%1.16)

Ayrıca varyantın patojenik olup olmadığını değerlendirmek üzere baktığımız bir diğer veri olarak varyantın görüldüğü lokusta amino asidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu gözükmektedir(**Tablo 13**).

Tablo 13:Birinci hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

species	match	gene	aa alignment
Human			71 K H F V V A L Y D Y T A M N D R D L Q M L K G E
Mmulatta	all identical	ENSMUG00000019206	71 H F V V A L Y D Y A A M N D R D L Q M L K G
Mmusculus	all identical	ENSMUSG00000014453	65 R F V V A L F D Y A A V N D R D L Q V L K G
Ggallus	all identical	ENSGALG00000016661	67 T I V I A L Y D F A A S S D R D L E L V K G
Xtropicalis	not conserved	ENSXETG00000021626	59 N K Y V T A M Y D Y A P I N S G D L Q L H K G

4.2. İkinci hastaya ait bulgular

Diyabet tanısı ile 3 yıldır Pediatrik Endokrinoloji AD'ndan takipli olan 17 yaşında erkek olgu miadında 4000 gr olarak doğmuş. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim parametreleri yaşlarıyla uyumlu olarak devam etmiştir.

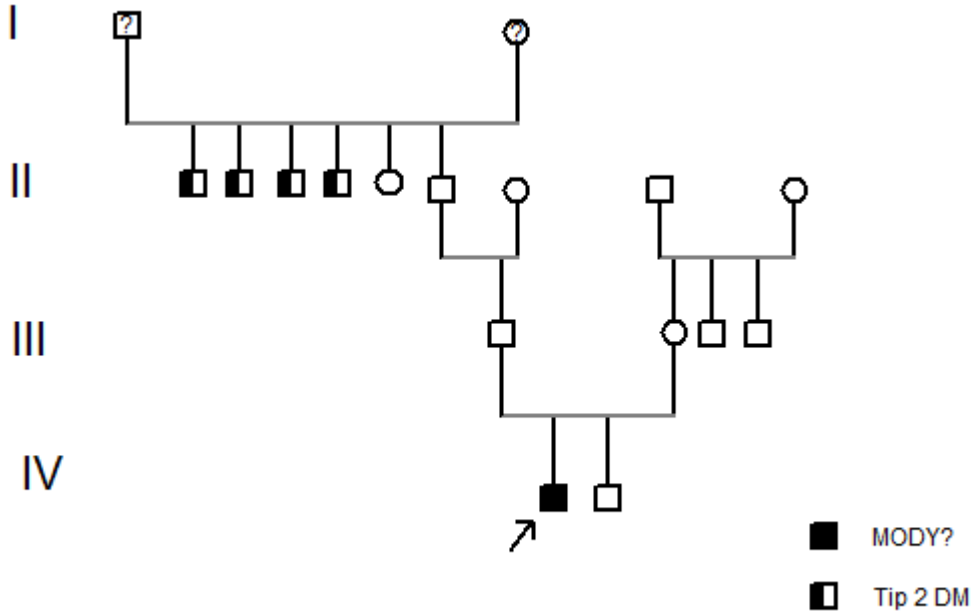
14 yaşında iken kısa süre içinde kilo kaybı olması, çok su içme ve çok idrara çıkma gibi şikayetleri nedeniyle dış merkeze başvurmuştur. Hastanın orada yapılan tetkiklerinde kan şekeri yüksek çıkması üzerine çocuk endokrinoloji polikliniğine yönlendirilmiştir.

Başvurudaki değerler: Açlık kan glikozu: 408 mg/dl, HbA1c: 12,2 olarak ölçülen hastada C-peptid 0,59 ng/mL, ağırlık 67,2 kg (75-90p), boy:183 cm(>97p) olarak ölçülmüştür.

Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (16 yaş) ağırlık:78,9 kg (82p) boy:187 cm (97p) BMİ:22,6 kg/m² (0,02SDS)'dı. Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır (**Şekil 7**). Hastamızda bakılan otoantikörler (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı.

Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 80-130 mg/dl, tokluk kan şekerleri 90-150mg/dl ayrıca insülin ihtiyacı 0,66 u/kg olarak saptandı. Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir (Tablo: 14).

Şekil 7: İkinci hastaya ait soyağacı



Tablo 14: İkinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptide düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	+
*insülin rezistansı bulguları (obezite,acantozisniğricans) olmayan,	-
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptit seviyesi tespit edilenler,	+
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	+

* kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir

H2 nolu hastada HNF1A(Hepatosit nüklear faktör 1alfa) geni Ekzon 4'te heterozigot 862. pozisyonda yer alan Guanin nükleotidinin yerini Adenin nükleotidinin aldığı (c.862G>A) saptanmıştır. Oluşan bu değişiklik proteinin 288. aminoasidi olan Glisin'in Arginin'e (G288R) dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır(Şekil 8). Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon analizleri tamamlanmış ve yapılan analizlerde hastanın anne ve babasının bu varyantı taşımadığı görülmüştür. Varyantin yerleştiği lokasyonda aminoasidin-evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu görülmüştür(Tablo 15). Tespit edilen varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo aşağıda verilmiştir (Tablo 16).

Şekil 8: İkinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



species	match	gene	aa alignment
Human			288 F R H K L A M D T Y S G P P P G P G P G P A L P
Ptrogodytes	all identical	ENSPTRG00000005551	288 F R H K L A M D T Y S C P P P G P G P G P A L
Fcatus	all identical	ENSFCAG00000009638	289 F R H K L A M D T Y S C P P P G P G P G P A L
Mmusculus	all identical	ENSMUSG00000029556	288 F R H K L A M D T Y N C P P P G P G P G P A L
Ggallus	all identical	ENSGALG00000006968	291 F R H K L A M D N F S C P Q P T S

Tablo 15: İkinci hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

Tablo 16: Tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Gen	HNF1A
Transcript ID	ENST00000257555.10 NM_000545
dbSNP	rs539507291
cDNA	c.862G>A
Protein	G288R
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)
Mutation Taster	Prediction Disease causing (Hastalık Yapıcı)
Provean	neutral)
SIFT	Damaging (Hasarlayıcı)
ExAC verisi(Alel frekansı)	0.0001011
Kaviar (Alel frekansı)	0.00005145 (1/19438)

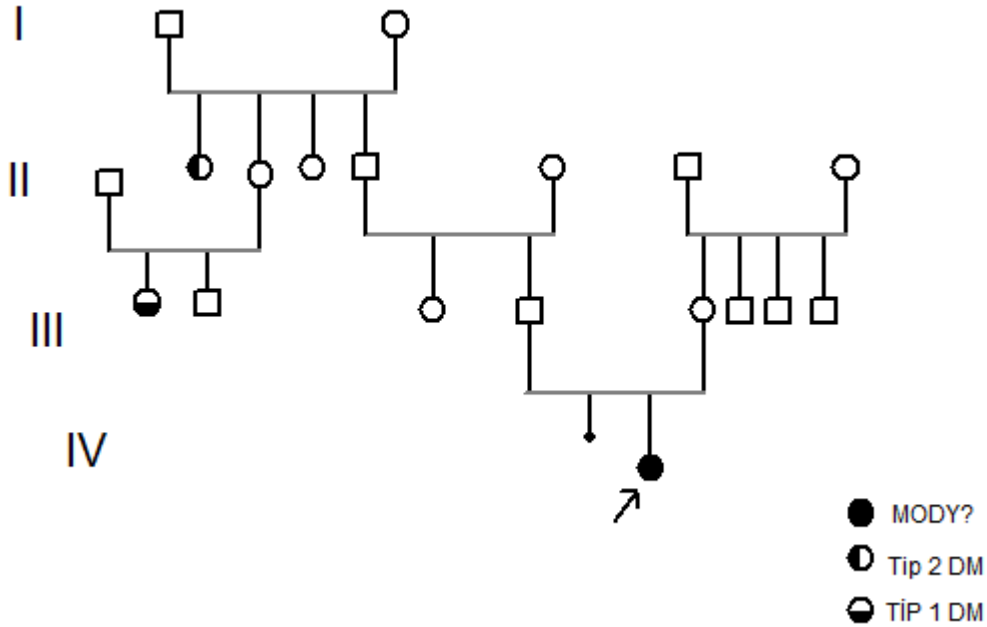
4.3. Üçüncü

hastaya ait bulgular

Hastanın 13 yaşında iken çok su içme, çok idrara çıkma, kilo kaybı gibi şikâyetleri nedeniyle dış merkezde rutin tetkikleri yapılmış ve kan şekeri 580 gelen hasta, tarafımıza tip 1 dm ön tanısı ile yönlendirilmiştir. 2 yıldır Pediatrik Endokrinoloji AD'ndan takipli olan 15 yaşında kız olgu miadında 3300 gr olarak sezeryan ile doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim süreçleri yaşitlarıyla uyumlu olarak devam etmiştir. Başvurudaki değerleri: Açlık kan glikozu: 325 mg/dl, HbA1c:14 olarak ölçülen hastada C-peptid 0,38 ng/mL, ağırlık 51 kg (50-75p), boy:156,8 cm (50-75p), BMİ:20,9 kg/m²'idi. Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene ve laboratuvar bulguları (15,5 yaş) BMİ:24 kg/m² (1,61SDS), HbA1c:7,9 C-peptid:0,627 ng/ML. Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır (**Şekil 9**). Hastamızda bakılan otoantikörler (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı.

Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 100-150 mg/dl, tokluk kan şekerleri 100-200 ve ayrıca insülin ihtiyacı 0,76 u/kg olarak saptandı. Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir (**Tablo 16**).

Şekil 9:Üçüncü hastaya ait soyağacı



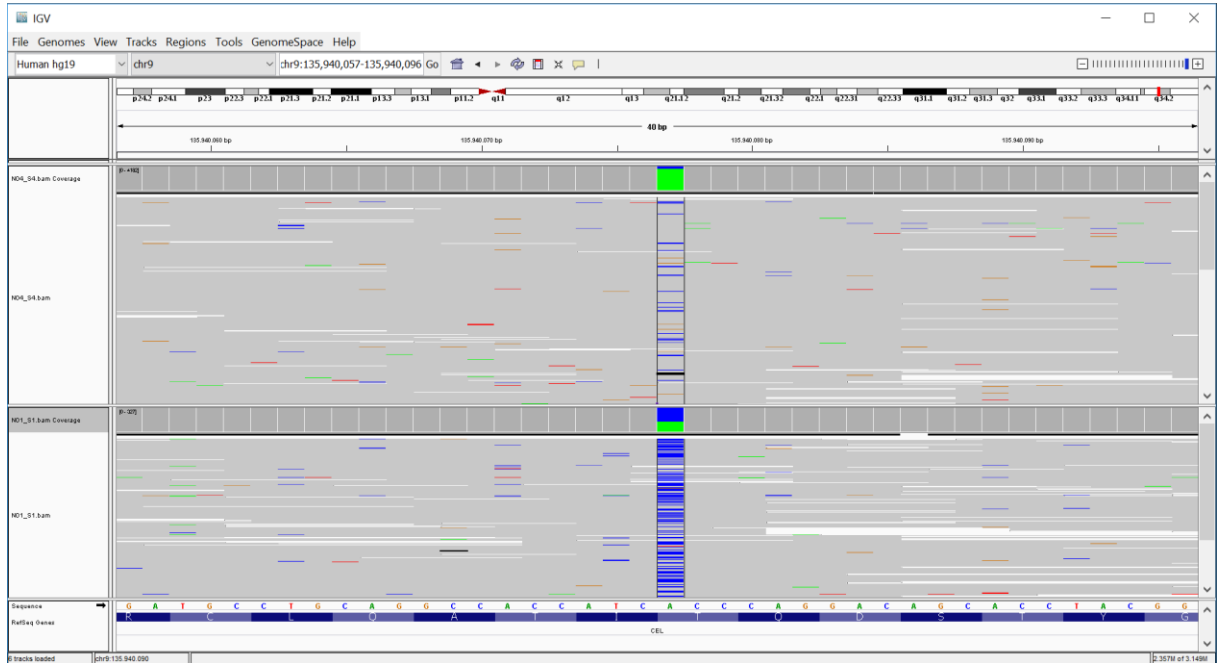
Tablo 16: Üçüncü hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptid düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	-
*İnsülin rezistansı bulguları (obezite, acantozisnigricans) olmayan,	+
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar (<0,59IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptit seviyesi tespit edilenler,	+
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	+

* kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir.

H3 nolu hastada; CEL(Carboxyl Ester Lipase) geni Ekzon 3'te heterozigot 277. pozisyonda yer alan Adenin nükleotidinin yerini Sitozin nükleotidinin aldığı (c.277A>C) varyantı saptanmıştır. Oluşan bu değişiklik proteinin 93. Aminoasidi olan Treonin'in Prolin'e (T93P) dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır (**Şekil 10**). Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon analizleri tamamlanmış ve yapılan analizlerde hastanın annesinin de aynı değişikliği taşıdığı, babanın ise bu varyantı taşımadığı görülmüştür. Hastanın annesinde diyabet öyküsü sorgulanmış anlamlı bir hikaye saptanmamış, yapılan kan değerleri kontrollerinde de şeker açısından bir anormallik bulunmamış olup annede kilo problemi mevcut değildi. Varyantın olası patojenik etkisine dair dair in silico analiz programları sonuçları tabloda gösterilmiştir.

Şekil 10: Üçüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



Tablo 17:Üçüncü hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Gen	CEL
Transcript ID	ENST00000372080 NM_001807.4
dbSNP	rs756184460
cDNA	c.277A>C
Protein	T93P
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)
Mutation Taster	Polimorfizm
Provean	neutral
SIFT	Tolerated(ılımlı) 0.23
ExAC verisi(Alel frekansı)	0.0001162
Kaviar (Alel frekansı)	0.00009003 (1/11107)
ClinVAR	-
DANN score	0,986
GERP	GERP NR 5.2699 GERP RS 2.7999

Varyantın yerleştiği lokasyonda aminoasidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu görülmüştür(Tablo 18).

Tablo 18:Üçüncü hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

species	match	gene	aa alignment
Human			93 N F K K R C L Q A T I T Q D S T Y G D E D C L Y
Ptroglydotes	all identical	ENSPTRG00000021507	93 N F K N R C L Q A T I T Q D S T Y G D E D C L
Mmulatta	all identical	ENSMUG00000001272	92 S F K K R C L Q A T I T Q D S T Y G D E D C L
Mmusculus	all identical	ENSMUSG00000026818	90 N F K K R C L Q A T I T Q D N T Y G Q E D C L
Ggallus	all identical	ENSGALG00000003471	93 K F K N R C M Q M T L T Q T D V R G K E D C L
Xtropicalis	all identical	ENSXETG00000006265	90 D Y K P R C L Q A T I T Q D N V F G S L D C L

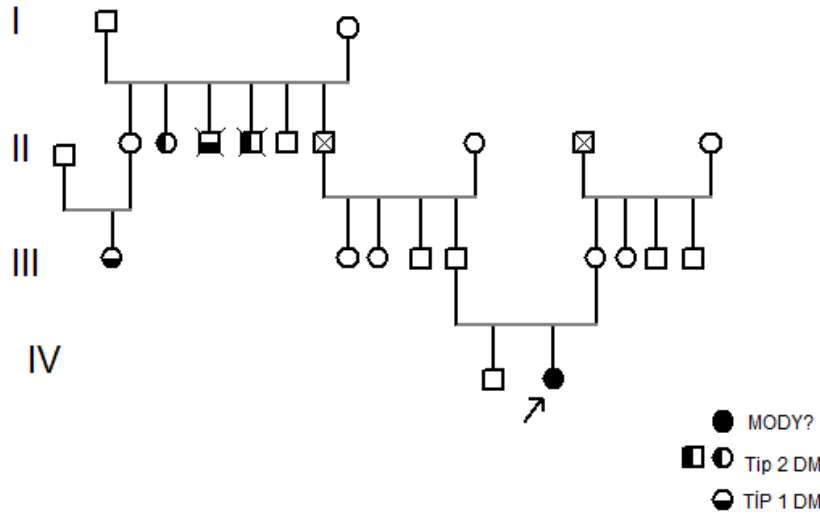
4.4. Dördüncü hastaya ait bulgular

9 yaşında iken çok su içme, çok idrara çıkma, kilo kaybı, idrar kaçırma gibi şikayetleri nedeniyle dış merkezde tetkik edilen hastanın tokluk kan şekeri 252, HbA1c: 12,4 gelmesi üzerine hastanemize yönlendirilmiştir. 3 yıldır Pediatrik Endokrinoloji AD'ndan takipli olan 12 yaşında kız olgu miadında 3700 gr olarak sezeryan ile doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim süreçleri yaşlılarıyla uyumlu olarak devam etmiştir.

Başvurudaki değerleri(9 yaş): C-peptit: 0,73ng/mL, HbA1c: 12,8 olarak ölçülen hastada, ağırlık:36 kg (90p), boy:134cm (50-75p) BMİ:20 Kg/M² olarak tespit edilmiştir. Hastamızda bakılan otoantikörler (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı.

Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (11yaş) ağırlık: 48 kg (88p) boy: 150 cm (75p) BMİ:21,3 kg/m² (1,08SDS) olarak tespit edilmiştir. Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır (Şekil 11). Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 122-449 mg/dl, tokluk kan şekerleri 122-206 mg/dl ve C-peptid 0,19 ng/mL ayrıca insülin ihtiyacı 1,45 u/kg olarak saptandı. Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir (Tablo 19).

Şekil 11:Dördüncü hastaya ait soyağacı



Tablo 19: Dördüncü hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptid düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	+
*İnsülin rezistansı bulguları (obezite, acantozis nigricans) olmayan,	-
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar (<0.59 IU/kg/day) veya insülin alan hastalarda anlamlı C-peptid seviyesi tespit edilenler ,	-
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	-
*Kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir.	

H4 nolu hastada CEL(Carboxyl Ester Lipase) geni İtron 5'te IVS5-1G>A değişikliği heterozigot olarak saptanmıştır. 5.intronun son bazı olan Guanin nükleotidinin yerini Adenin

nükleotidi almıştır (c.679-1G>A)(Şekil 12). Bu varyant daha önce literatürde saptanmamıştır. Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon analizleri tamamlanmış ve yapılan analizlerde hastanın babasının da aynı değişikliği taşıdığı, annenin ise bu varyantı taşımadığı görülmüştür. Hastanın babası 52 yaşında ve bilinen diyabet öyküsü yoktu. Yapılan kan kontrollerinde açlık kan glikozu 120 mg/dL ve HbA1c: 6 olarak saptandı ve takipleri planlandı.

Şekil 12:Dördüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



Varyantın, “splicing” mekanizmasına olası etkileri Human Splicing Finder insiliko analiz programı ile değerlendirilmiş ve sonuçlara dair veriler aşağıda sunulmuştur (Tablo 20).

Tablo 20: Dördüncü hastada tespit edilen varyantin splicing mekanizmasına olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

CEL geni c.679-1G>A

Reference sequence CEL Gene > ENST00000372080 Transcript > Exon number: 6 (108 bp) + 100 intronic nucleotides at exon ends

```

1 gagcgtggag ctggggctgt ggtgctgggg tgtccttgtc ccagcgtggg gtgggcagag tggggagcgg
  ccttggtgac gggatttctg ggtcccgtag
101 ACCCTCTCCC CCTACAACAA GGGCTCATC CGGCGAGCCA TCAGCCAGAG CGGCGTGGCC CTGAGTCCCT
  GGGTCATCCA GAAAAACCCA CTCTTCTGGG
201 CCAAAAAGgt aaacggagga gggcagggct gggcgggggtg ggggctgtcc acatttcogt tctttatcct
  ggaccccatc cttgccttca aatggttctg
301 agccctga
  
```

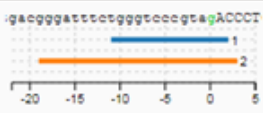
Mutant sequence

```

1 gagcgtggag ctggggctgt ggtgctgggg tgtccttgtc ccagcgtggg gtgggcagag tggggagcgg
  ccttggtgac gggatttctg ggtcccgtaa
101 ACCCTCTCCC CCTACAACAA GGGCTCATC CGGCGAGCCA TCAGCCAGAG CGGCGTGGCC CTGAGTCCCT
  GGGTCATCCA GAAAAACCCA CTCTTCTGGG
201 CCAAAAAGgt aaacggagga gggcagggct gggcgggggtg ggggctgtcc acatttcogt tctttatcct
  ggaccccatc cttgccttca aatggttctg
301 agccctga
  
```

Aşağıdaki tablolar mutasyon pozisyonu ve içeriğine ait veriler sunmaktadır. Mutasyon geç intronik bölgede oluşmuş, mutasyon sonucu etkilenen akseptör splice site tabloda gösterilmektedir (Tablo 21).

Tablo 21: Tespit edilen mutasyonun pozisyonu ve içeriğine ait verilerigösteren tablo.

Predicted signal	Prediction algorithm	cDNA Position	Interpretation
Broken-WT Acceptor Site	1-HSF Matrices 2-MaxEnt		Alteration of the WT acceptor site, most probably affecting splicing.

Sequence Position	cDNA Position	Splice site type	Motif	New splice sites	Wild Type	Mutant	If cryptic site use, exon length variation	Variation (%)
89	-12	Acceptor	gggtcccgtagAC	gggtcccgtaaAC	76.38	47.43	0	WT site broken -37.9
94	-7	Donor	cccgtagAC	CCCgtaaac	61.56	69.9	-5	New site +13.55

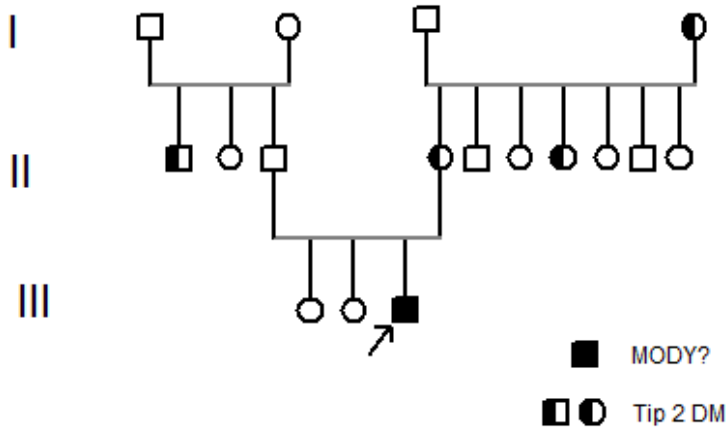
4.5. Beşinci hastaya ait bulgular

Diyabet öyküsü ile 1 yıldır Pediatrik Endokrinoloji AD'ndan takipli olan 17 yaşındaki erkek olgu. Gebelikte eklampsi öyküsü mevcut olup, 32 haftalıkken 3000 gr olarak NSVD ile doğmuştur. Asfiksi öyküsü olmayıp, ilk 6 ay anne sütü almıştır. Olgunun nöromotor gelişim parametreleri yaşitlarıyla uyumlu olarak devam etmiştir.

Başvurudaki değerler (16yaş): Açlık kan glikozu: 338 mg/dl, HbA1c: 14,2 olarak ölçülen hastada C-peptid 0,609 ng/mL, ağırlık 105 kg (>97p), boy:180 cm (75-90p) olarak ölçülmüştür.

Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (16 yaş) ağırlık: 112kg (>97p) boy: 181 cm (75-90p) BMİ:34,4 kg/m² (2,6 SDS). Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır (Şekil 13).

Şekil 13:Beşinci hastaya ait soyağacı



Hastamızda bakılan otoantikorlar (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı. Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 70-130 mg/dl, tokluk kan şekerleri 200-450 mg/dl ve ayrıca insülin ihtiyacı 1,12 u/kg olarak saptandı. Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir (Tablo 22).

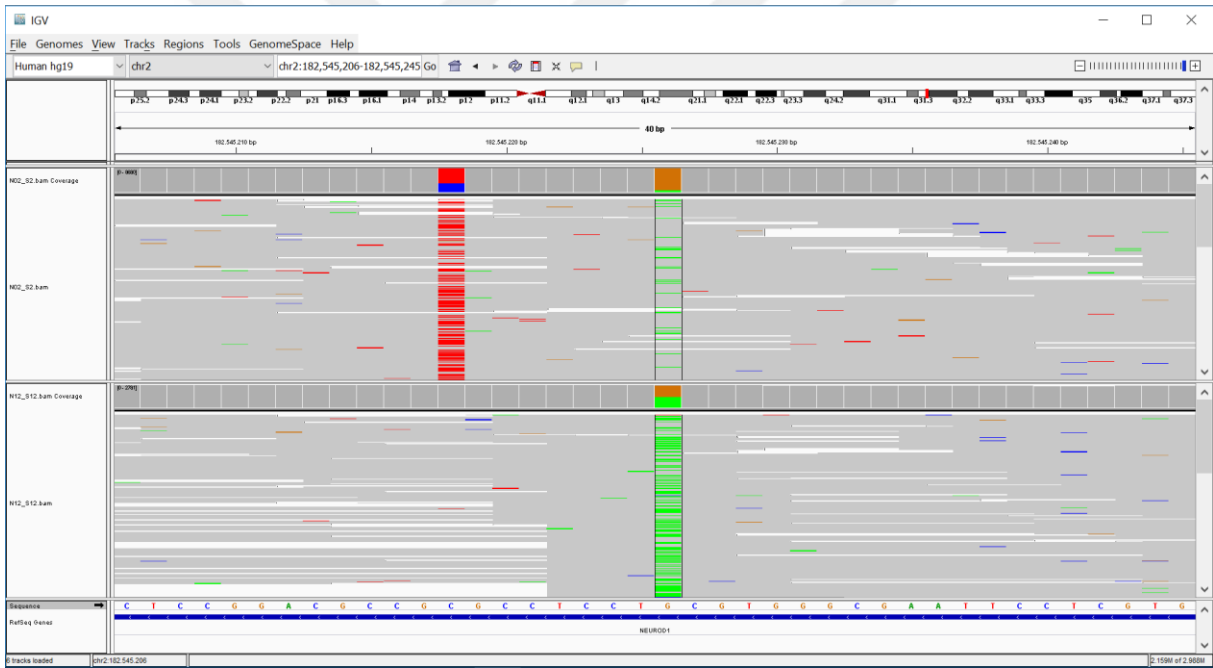
Tablo 22:Beşinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptide düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	+
*İnsülin rezistansı bulguları (obezite,acantozisnigricans) olmayan,	-
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptid seviyesi tespit edilenler,	+
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	-

*kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir

H5 nolu hastada NEUROD1 geni 5'UTR'de yerleşik heterozigot 81. pozisyonda yer alan Sitozin nükleotidinin yerini Adenin nükleotidinin aldığı (c.-81C>A) dönüşümü saptanmıştır(Şekil 14).

Şekil 14:Beşinci hastaya NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon analizleri tamamlanmış ve yapılan analizlerde hastanın anne ve babasının bu varyantı taşımadığı görülmüştür. Bu varyantla ilgili bilgiler tabloda gösterilmiştir (Tablo 23).

Tablo 23:Beşinci hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

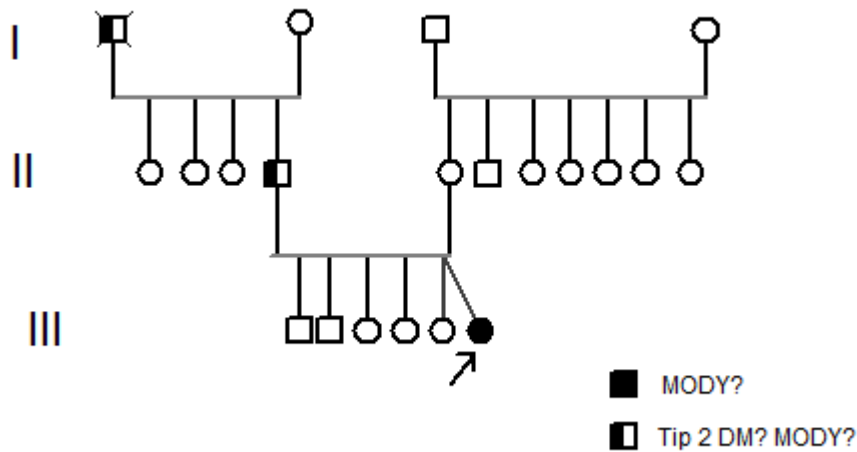
Gen	NEUROD1
Transcript ID	ENST00000295108NM_002500.4
dbSNP	rs567688779
Mutation	c.-81C>A
Variant Location	5'UTR
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)
ExAC verisi(Alel frekansı)	-
Kaviar (Alel frekansı)	0.00019
ClinVAR	-
DANN score	0,9366
GERP	GERP NR 4.46 GERP RS4.46

4.6. Altıncı hastaya ait bulgular

9,5 yaşında kız çocuğu 1,5 sene önce acıktığı zaman titremesi olması nedeniyle tetkik edilirken açlık kan şekeri 153 saptanmış ve çocuk endokrin polikliniğine yönlendirilmiştir. Hasta miadında 3300 gr olarak doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim süreçleri yaşlılarıyla uyumlu olarak devam etmiştir. Başvurudaki değerleri(8,5 yas): C-peptit: 0,725 ng/mL, HbA1c: 7,2 olarak ölçülen hastada, ağırlık 30 kg (56p), boy:131cm (42p)'dir.

Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (9yıl 4 ay) ağırlık: 32 kg (60p) boy: 133 cm (38p) BMİ:18,1 kg/m² (0,51SDS)'dir. Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır(Şekil 15).

Şekil 15:Altıncı hastaya ait soyağacı



Hastamızda bakılan otoantikorlar (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı. Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 110-250 mg/dl, tokluk kan şekerleri 230-580 mg/dl arasında ve insülin ihtiyacı 0,62 u/kg olarak saptandı.

Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir (Tablo 24).

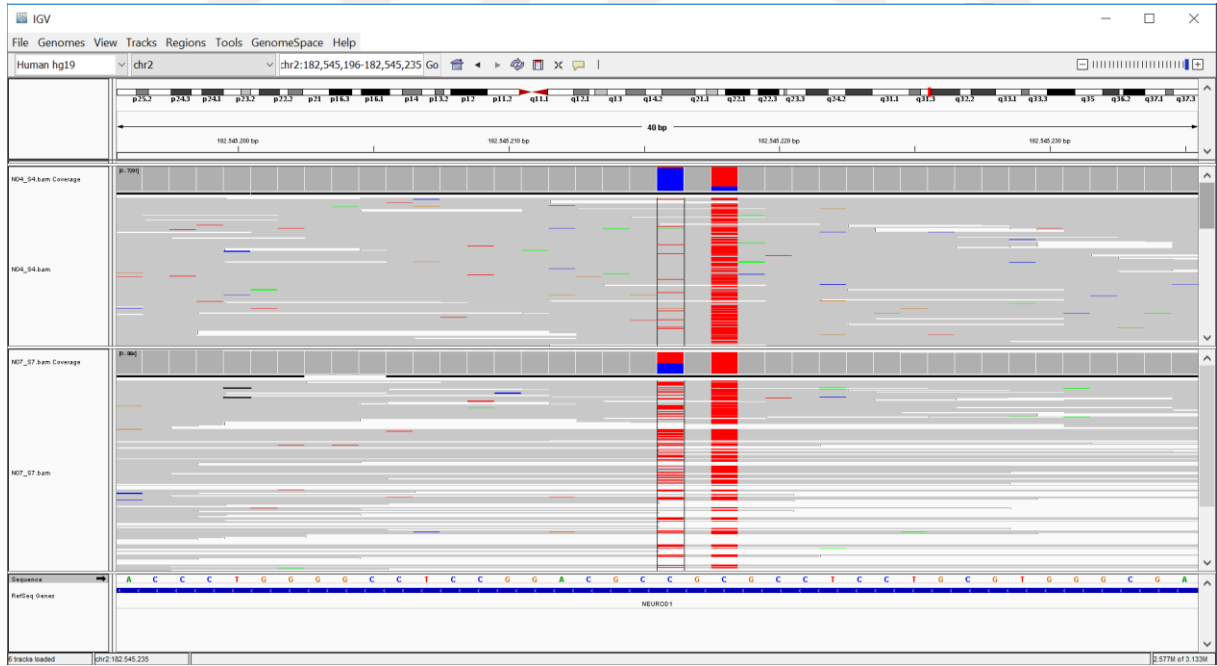
Tablo 24:Altıncı hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptidedüzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	+
*insülin rezistansı bulguları (obezite,acantozisnigricans) olmayan,	+
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptit seviyesi tespit edilenler,	-
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	-

* kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir.

H6 nolu hastada NEUROD1 geni 5'UTR'de yerleşik heterozigot71. pozisyonda yer alan Guanin nükleotidinin yerini Adenin nükleotidinin aldığı (c.-71G>A) saptanmıştır (Şekil 16).

Şekil 16:Altıncı hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon çalışmalarında hastanın annesinin bu varyantı taşımadığı görülmüştür. Hastanın babasında analiz yapma şansı bulamadık; ancak anne tarafından verilen öyküde hastanın babasında 35 yaş civarı başlayan şeker öyküsü mevcuttu

ve oral antidiyabetik kullandığı belirtildi. Bu değişiklik literatürde daha önce tanımlanmıştır(rs528005664) ancak patojenik etkisine dair net veriler ortaya konmamıştır. Bu varyantla ilgili bilgiler tabloda gösterilmiştir (Tablo 25).

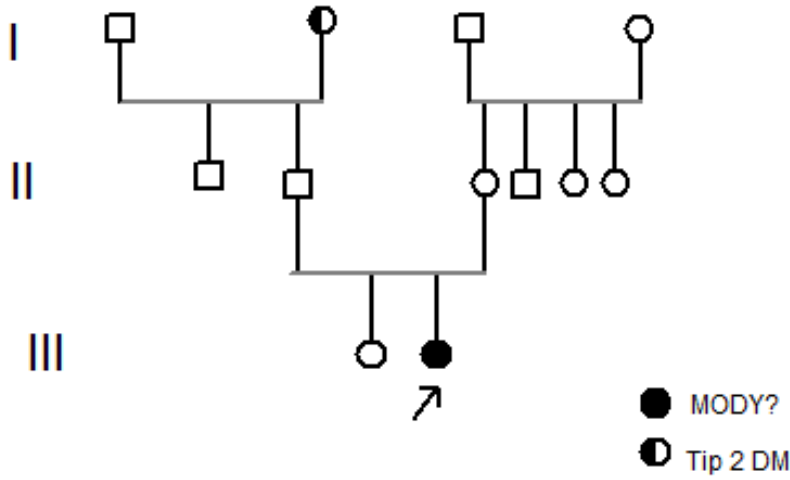
Tablo 25:Altıncı hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Gen	NEUROD1
Transcript ID	ENST00000295108 NM_002500.4
dbSNP	rs528005664
Mutation	c.-71G>A
Variant Location	5'UTR
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)
GenomAD genomes (Alel frekansı)	0.00006458(1/15485)
Kaviar (Alel frekansı)	0.0001516
ClinVAR	-
DANN score	0,9197
GERP	GERP NR 4.46 GERP RS1.50

4.7. Yedinci hastaya ait bulgular

1,5 sene önce çok su içme, çok idrar çıkma, kilo kaybı, idrar kaçırma gibi şikayetleri nedeniyle tetkik edilen hastada açlık kan şekeri 430 tespit edilmiştir. Pediatrik Endokrinoloji AD'ndan takipli olan 9 yaşında kız olgu miadında 2800 gr olarak doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim süreçleri yaşlılarıyla uyumlu olarak devam etmiştir. Başvurudaki değerleri (7,5 yaş): C-peptit: 0,43 ng/mL, HbA1c: 13,8 olarak ölçülen hastada, ağırlık 28,2 kg (70p), boy:130cm (71p)'dir. Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (9 yaş) ağırlık: 27,1 kg (36p) boy: 133,8 cm (62p) BMİ:15,1 kg/m² (-0,64SDS)'dir. Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır (Şekil 17).

Şekil 17:Yedinci hastaya ait soyağacı



Hastamızda bakılan otoantikorlar (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı. Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 100-200 mg/dl, tokluk kan şekerleri 150-250 mg/dl, insülin ihtiyacı 0,88 u/kg olarak saptandı. Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir (Tablo 26).

Tablo 26:Yedinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptide düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	-
*İnsülin rezistansı bulguları (obezite,acantozisnigricans) olmayan,	+
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptit seviyesi tespit edilenler,	-
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	-

* kriterleri tanı amındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir.

H7 nolu hastada NEUROD1geni Ekzon 2’de heterozigot 590. pozisyonda yer alan Sitozin nükleotidinin yerini Adenin nükleotidinin aldığı (c.590C>A) saptanmıştır. Oluşan bu değişiklik proteinin 197. Aminoasidi olan Prolin’in Histidin’e (P197H) dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır(Şekil 18).

Şekil 18:Yedinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon analizleri tamamlanmış ve yapılan analizlerde hastanın anne ve babasının bu varyantı taşımadığı görülmüştür. Hastanın anne ve babasında şeker öyküsü saptanmamış, yapılan kan değerleri kontrollerinde de şeker açısından bir anormallik bulunmamıştır. Bu değişiklik literatürde daha önce tanımlanmıştır(rs8192556) ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamıştır. Bu varyantin olası patojenik etkisine dair dair in silico analiz programları sonuçları tabloda gösterilmiştir (Tablo 27).

Tablo 27:Yedinci hastada tespit edilen varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Gen	NEUROD1
Transcript ID	ENST00000295108 NM_002500.4
dbSNP	rs8192556
Mutation	c.590C>A
Variant Location	Ekzon 2
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)
Mutation Taster	Disease causing(Hastalık Yapıcı)
Provean	Damaging(Hasarlayıcı)
SIFT	Damaging(Hasarlayıcı)
Polyhen-2	Possibly damaging (skor: 0.467)
ExAC(Alel frekansı)	0.01896
Kaviar (Alel frekansı)	0.01869
ClinVAR	Benign/Likely benign
DANN score	0.9772
GERP	GERP NR 6.0199 GERP RS6.0199

Varyantın yerleştiği lokasyonda aminoasidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu görülmüştür(**Tablo 28**).

Tablo 28: Yedinci hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

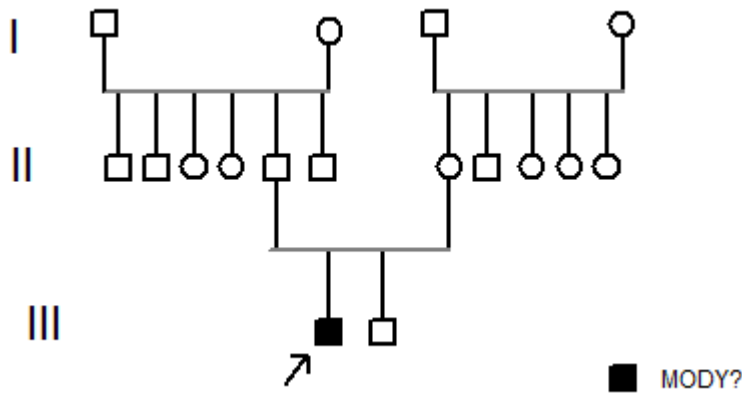
Human	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFL	PEQNQDMPPHLPTASASFPVH
Mouse	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFL	PEQNPDMPPHLPTASASFPVH
Rat	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFL	PEQNPDMPPHLPTASASFPVH
Chicken	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFL	PEQSADAAPHLPPAGAPFAPP
Xenopus laevis	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFL	PEQSQDIQSHMQTASSSFPLQ
Zebrafish	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFL	PEQSQEMPPHMQTASASFSAL

4.8. Sekizinci hastaya ait bulgular

Hasta, öncesinde Ocak 2016 ‘da açlık şekeri 518 mg/dl gelmesi nedeniyle Sakarya’da tetkik edilmiştir. Mart 2016’dan itibaren Düzce’de Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı tarafından takip edilmekte olan 14,5 yaşında erkek olgu miadında 2800 gr olarak doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim süreçleri yaşitlarıyla uyumlu olarak devam etmiştir. Başvurudaki değerleri(13 yaş): C-peptit: 1,33 ng/mL, HbA1c: 6 olarak ölçülen hastada, ağırlık 61 kg (50-75p), boy:172cm (75-90p)’dir.

Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (14 yaş), ağırlık: 62,4 kg (50-75p), boy: 175,3 cm (75-90p) ve BMİ:20,3 kg/m2 (-0,8 SDS)’dir. Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır (**Şekil 18**).

Şekil 18: Sekizinci hastaya ait soyağacı



Hastamızda bakılan otoantikorlar (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı. Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekeri 121-532 mg/dl, tokluk kan şekeri 140-577 mg/dl insülin ihtiyacı 0,44 u/kg olarak saptandı. Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir(**Tablo 29**).

Tablo 29:Sekizinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	-
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptide düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	+
*İnsülin rezistansı bulguları (obezite,acantozisnigricans) olmayan,	+
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptit seviyesi tespit edilenler,	+
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	-

* kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir.

Hastada NEUROD1(Neurogenic differentiation 1) geni Ekzon 2’de heterozigot 590. pozisyonda yer alan Sitozin nükleotidinin yerini Adenin nükleotidinin aldığı (c.590C>A) değişimi saptanmıştır. Oluşan bu değişiklik proteinin 197. Aminoasidi olan Prolin’in Histidin’e (P197H) dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır (Şekil 19).

Şekil 19: Sekizinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon analizleri tamamlanmış ve yapılan analizlerde hastanın anne ve babasının bu varyantı taşımadığı görülmüştür. Hastanın anne ve babasında şeker öyküsü saptanmamış, yapılan kan değerleri kontrollerinde de şeker açısından bir anormallik bulunmamıştır. Bu değişiklik literatürde daha önce tanımlanmıştır(rs8192556)

ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamıştır. Bu varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçları tabloda gösterilmiştir (Tablo 30).

Tablo 30:Sekizinci hastada tespit edilen varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo

Gen	NEUROD1
Transcript ID	ENST00000295108 NM_002500.4
dbSNP	rs8192556
Mutation	c.590C>A
Variant Location	Ekzon 2
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)
Mutation Taster	Disease causing(Hastalık Yapıcı)
Provean	Damaging(Hasarlayıcı)
SIFT	Damaging(Hasarlayıcı)
Polyhen-2	Possibly damaging (skor: 0.467)
ExAC (Alel frekansı)	0.01896
Kaviar (Alel frekansı)	0.01869
ClinVAR	Benign/Likely benign
DANN score	0.9772
GERP	GERP NR 6.0199 GERP RS 6.0199

Varyantin yerleştiği lokasyonda aminoasidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu görülmüştür(Tablo 31).

Tablo 31:Sekizinci hastada tespit edilen varyantin korunmuşluğunu gösteren tablo

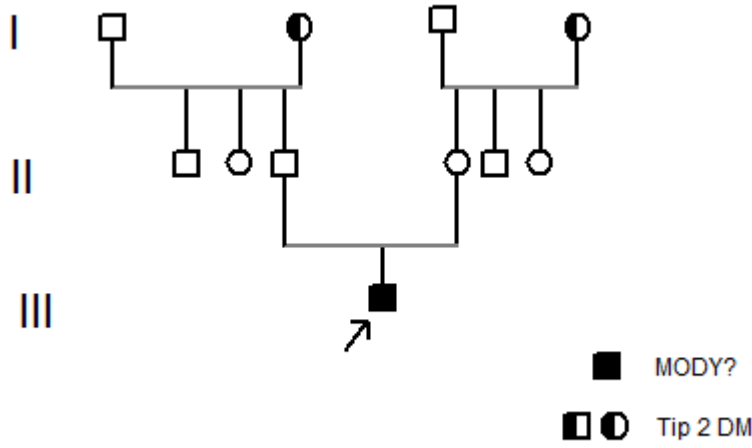
Human	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFLPEQNQDMPPHLPTASASFPV
Mouse	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFLPEQNPDMPHLPTASASFPVH
Rat	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFLPEQNPDMPHLPTASASFPVH
Chicken	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFLPEQSADAAPHLPPAGAPFAPP
Xenopus laevis	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFLPEQSQDIQSHMQTASSFPLQ
Zebrafish	SQPTTNLVAGCLQLNPRTFLPEQSQEMPPHMQTASASFSAL

4.9. Dokuzuncu hastaya ait bulgular

Tip 1 DM nedenli İstanbul'dan takip edilen hasta Mart 2016'da tanı almıştır. Şu anda 7 yaşında olan erkek hastanın Temmuz 2016 Düzce Üniversitesi Pediatrik Endokrinoloji AD'ndaki ilk tetkik sonuçları; açlık kan glikozu 91 mg/dl, HbA1c: 6,1, C-peptid 0,87ng/mL, ağırlık 25,7 kg (86 p), boy:124,6 cm (89 p).BMİ: 16,6 kg/m². 1 yıldır Düzce Üniversitesi Pediatrik Endokrinoloji AD'ndan da takipli olan olgu miadında 3300 gr olarak doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim süreçleri yaşlılarıyla uyumlu olarak devam etmiştir.

Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (7 yaş), ağırlık: 30 kg (93p), boy: 130 cm (86p) ve BMİ:17,7 kg/m² (0,96SDS). Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır (Şekil 20). Hastamızda bakılan otoantikorlar (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı. Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 90-130 mg/dl, tokluk kan şekerleri 130-200 mg/dL ve ayrıca insülin ihtiyacı 0,5 u/kg olarak saptandı.

Şekil 20:Dokuzuncu hastaya ait soyağacı



Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir (Tablo 32).

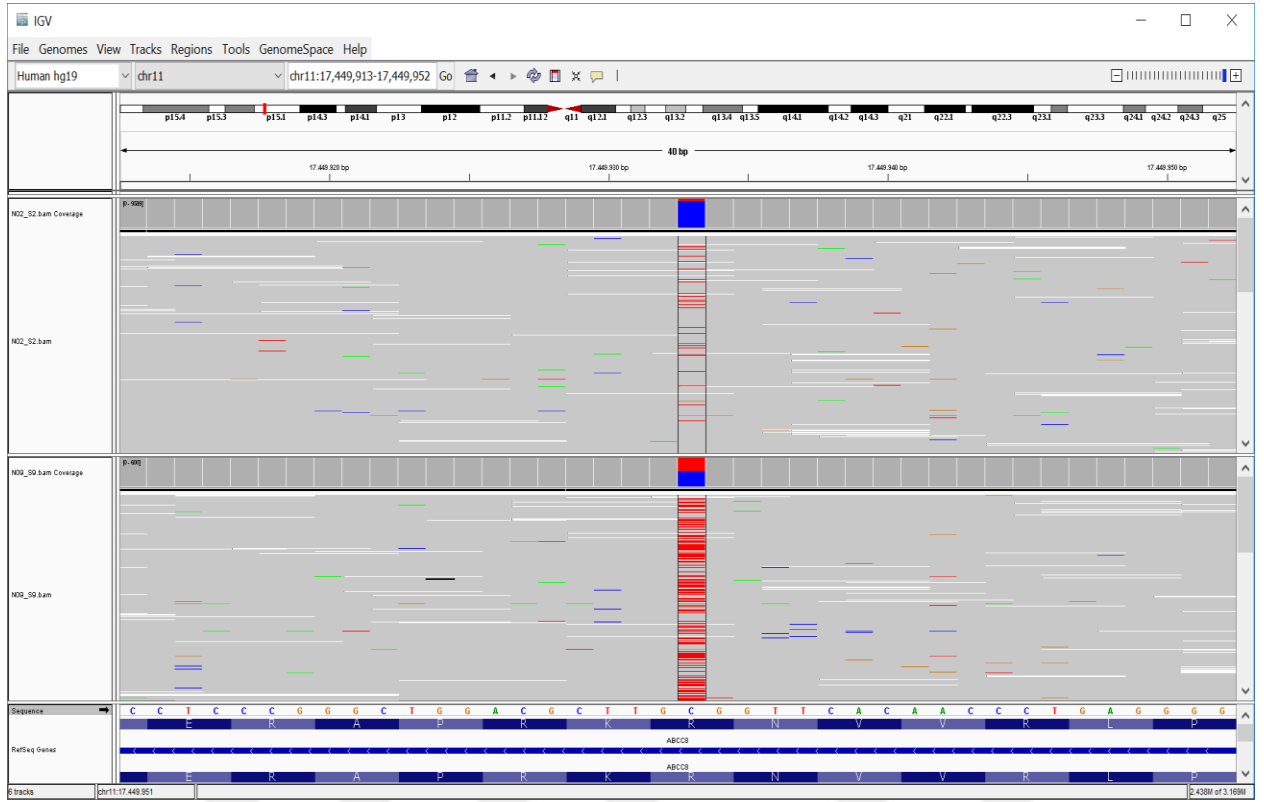
Tablo 32:Dokuzuncu hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptide düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	+
*İnsülin rezistansı bulguları (obezite,acantozisnigricans) olmayan,	-
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptit seviyesi tespit edilenler,	+
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	+

* kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir.

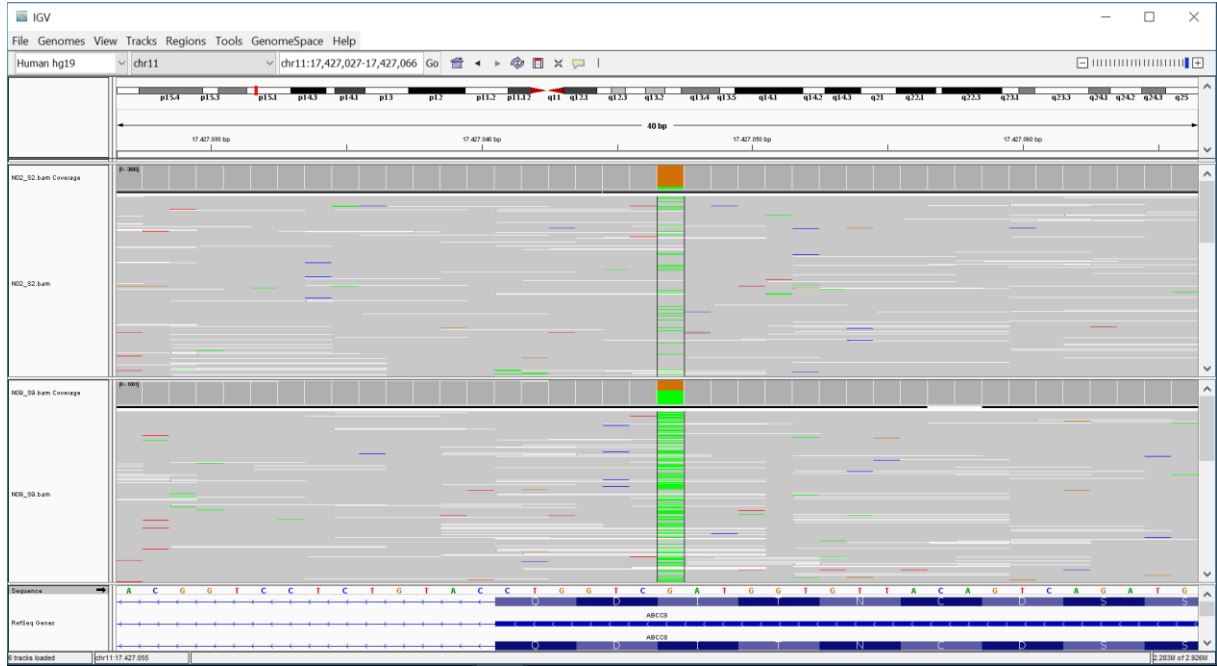
H9 nolu hastada ABCC8 geninde compound heterozigot formda iki varyant saptadık. İlk varyant Ekzon 14'te heterozigot 1943. pozisyonda yer alan Guanin nükleotidinin yerini Adenin nükleotidinin aldığı (c.1943G>A) değişiklik saptanmış olup oluşan bu değişiklik proteinin 648. Aminoasidi olan Arjinin'in Histidin'e (R648H) dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır (Şekil 21).

Şekil 21: Dokuzuncu hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



İkinci olarak tespit edilen varyant Ekzon 27’de heterozigot 3393. pozisyonda yer alan Sitozin nükleotidinin yerini Timin nükleotidinin aldığı (c.3393C>T) değişimi saptandı ve oluşan değişiklik proteinin 1131. Aminoasidi olan İzolosin aminoasidinde sessiz bir mutasyon oluşturmaktadır (Şekil 22).

Şekil 22: Dokuzuncu hastaya ait ikinci mutasyonu gösteren NGS dizileme görüntüsü



Varyantların patojenik etkilerine dair insiliko analiz verileri aşağıda paylaşılmıştır(**Tablo 33**).
Tablo 33: Dokuzuncu hastada tespit edilen iki varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Gen	ABCC8	ABCC8
chromosome	11	11
position	17449933	17427047
Transcript ID	ENST00000389817	ENST00000389817
	NM_000352.4	NM_000352.4
dbSNP	rs773168707	rs776975807
cDNA	c.1943G>A	c.3393C>T
Protein	R648H	I1131I
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)	Silent(sessiz)
Mutation Taster	Disease causing Score: 0.9999	-
Provean	neutral	-
SIFT	Damaging Score: 0.04, 0.041	-
Human Splicing Finder	-	Alteration of an exonicESE site. Potential alteration of splicing
ExAC verisi(Alel frekansı)	0.00002494	0.0002471
Kaviar (Alel frekansı)	-	0.0001929 (1/5183)
gnomAD exomes	0.00001627(1/61459)	0.0001868(1/5353)
gnomAD genome(Alel frekansı)	0.0002262(1/4420)	-
ClinVAR	-	-
DANN score	0.9995	0.7578
GERP	GERP NR 5.0799	GERP NR 5.75
	GERP RS 5.0799	GERP RS -0.49

Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon analizleri tamamlanmış ve yapılan analizlerde hastanın annesinin c.1943G>A ve c.3393C>T değişikliğini heterozigot olarak taşıdığı, babada ise ABCC8 geninde herhangi bir varyant olmadığı saptanmıştır. Hastanın annesinde diyabet öyküsü sorgulandı ancak anlamlı bir hikaye saptanmadı. Yapılan kan değerleri kontrollerinde de açlık kan glikozu, kan insülin düzeyi normaldi. İki varyantı da annesinden kalıtıldığı ortaya koyulan hastanın annesinde şeker değerleri açısından bir anormallik saptanmadı ancak bir dönem normalden yüksek saptanan şeker değerleri öyküsü olması nedeniyle takipleri planlandı. Hastanın anneannesinde 40 yaş civarı başlayan geç başlangıçlı diyabet öyküsü olduğu not edildi. Anne otoimmün hepatit öyküsü mevcuttu ayrıca alınan hikayede annede neonatal dönemden itibaren olan şeker düşüklüğü veya yüksekliği öyküsüne rastlanmadı.

(c.1943G>A) değişikliği literatürde daha önce tanımlanmıştır(rs773168707) ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamıştır. Varyantin yerleştiği lokasyonda aminoasidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu görülmüştür(**Tablo 34**).

c.3393C>T, I1131I değişikliği ise (rs776975807) literatürde tanımlanmış ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamıştır. Hastamızda annesinden kalıtıldığını ortaya koyduğumuz bu varyant sessiz bir mutasyon olmasına rağmen değişiklik sonucunda potansiyel olarak genin kodlayan ekzonları için splicing mekanizmasının etkilenme olasılığı mevcuttur. İnsiliko analiz verileri aşağıda paylaşılmıştır.(Human Splicing Finder, http://www.umd.be/HSF3/4DACTION/AW3_input_ChoixGene).

Tablo 34:Dokuzuncu hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

species	match	gene	aa alignment
Human			648 K Y Q A V P L R V V N R K R P A R E D C R G L T
Ptrogodytes	all identical	ENSPTRG00000003403	599 K Y Q A V P L R V V N R K R P A R E D C R G L
Mmulatta	all identical	ENSMUG00000023581	647 K Y Q A V P L K V V N R K R P A R E D C W G L
Fetus	all identical	ENSFCAG00000004967	598 K Y Q A V P L K V V N R K H
Mmusculus	all identical	ENSMUSG00000040136	648 K Y Q A V P L K V V N R K R P A R E E V R D L
Ggallus	all identical	ENSGALG00000006172	648 K Y Q A V P L K V V N R K R P A R E D W N N Y
Trubripes	all identical	ENSTRUG00000005978	648 R Y Q A L P L K V V N R K R P P R D D W

Tespit edilen mutasyonun pozisyonu ve içeriğine ait verileri gösteren tablo aşağıda verilmiştir (**Tablo 35**).

Tablo 35: Dokuzuncu hastada tespit edilen mutasyonun pozisyonu ve içeriğine ait verileri gösteren tablo.

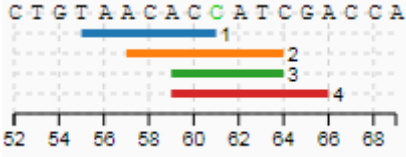
Reference sequence

ABCC8 Gene > ENST00000302539 Transcript > Exon number: **27**

```
1 actccagaga cacttacatg aaataattaa ctatctcatt cagtaaacag
  gaagtaaadc aatggacaaa tgagtaactc ttcctctggc tgcctcttag
  GTTTTTTGAG ACCACGCCCC TTGGGAGCAT CCTGAACAGA TTTTCATCTG
101 ACTGTAACAC CATCGACCAG gtacagagga ccgtgccaca ctatccccc
  ttccagagac acctcggacc cctgggggct tctcctgtct gaggetgggt
201 tccccagatc aggtgatcac
```

Mutant sequence

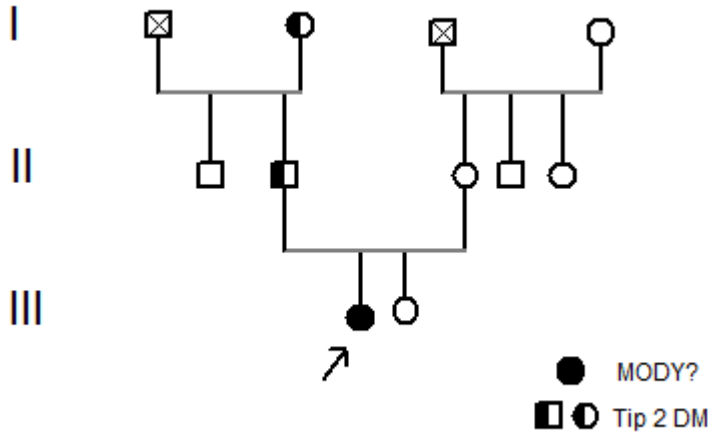
```
1 actccagaga cacttacatg aaataattaa ctatctcatt cagtaaacag
  gaagtaaadc aatggacaaa tgagtaactc ttcctctggc tgcctcttag
  GTTTTTTGAG ACCACGCCCC TTGGGAGCAT CCTGAACAGA TTTTCATCTG
101 ACTGTAACAC TATCGACCAG gtacagagga ccgtgccaca ctatccccc
  ttccagagac acctcggacc cctgggggct tctcctgtct gaggetgggt
201 tccccagatc aggtgatcac
```

Predicted signal	Prediction algorithm	cDNA Position	Interpretation
ESE Site Broken	1 - ESE-Finder - SRp40 2 - PESE Octamers from Zhang & Chasin 3 - ESR Sequences from Goren et al. 4 - EIEs from Zhang et al.		Alteration of an exonic ESE site. Potential alteration of splicing.

4.10. Onuncu hastaya ait bulgular

Diyabet tanısı ile Pediatrik Endokrinoloji AD'ndan takipli olan 12 yaşında kız olgu miadında 3450 gr olarak sezeryan ile doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim parametreleri yaşlarıyla uyumlu olarak devam etmiştir. Hasta 7 yaşındayken ağızında kuruluk, çok su içme, sık sık idrara çıkma, kilo kaybı gibi şikayetlerle dış merkeze başvurmuş ve hiperglisemi nedeniyle ileri tetkik ve tedavisi amacıyla hastanemize yönlendirilmiştir. Başvurudaki değerler: Açlık kan glikozu: 773 mg/dl, HbA1c: 17,6 olarak ölçülen hastada C-peptid 0,29 ng/mL, ağırlık 21 kg (3-10p) olarak ölçülmüştür. Hastaya ait soy ağacı aşağıda verilmiştir (**Şekil 23**).

Şekil 23:Onuncu hastaya ait soyağacı



Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (11,5 yaş), ağırlık: 39 kg (36p), boy: 150 cm (52p) BMI: 17,4 kg/m² (-0,41 SDS)'dir. Hastanın babası Tip 1 DM tanısı ile takipliymiş. Hastamızda bakılan otoantikörler (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı. Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 100-180 mg/dl, tokluk kan şekerleri 200-300 ve ayrıca insülin ihtiyacı 0,58 u/kg olarak saptandı. Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 36).

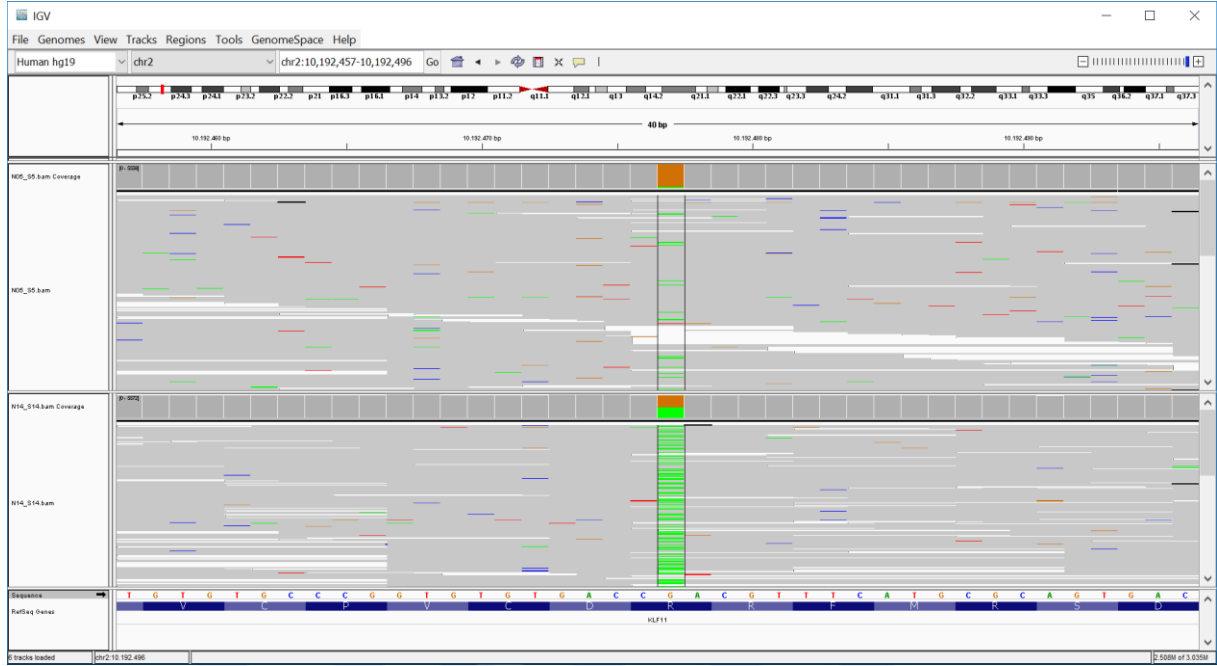
Tablo 36:Onuncu hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
otoantikörü negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptide düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	-
*İnsülin rezistansı bulguları (obezite,acantozisnigricans) olmayan,	+
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptid seviyesi tespit edilenler,	+
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	+

*kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir.

H10 nolu hastada KLF11(Kruppel-like factor 11) geni Ekzon 4'te heterozigot 1382. pozisyonda yer alan Guanin nükleotidinin yerini Adenin nükleotidinin aldığı (c.1382G>A) saptanmıştır. Oluşan bu değişiklik proteinin 461. Aminoasidi olan Arjinin'in Glutamin'e (R461Q) dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır (Şekil 24).

Şekil 24: Onuncu hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



Hastanın ebeveynlerinden analiz yapma imkanı bulamadık. Annede şeker öyküsü yoktu ancak babada ve babaannede diyabet öyküsü mevcuttu. Babanın düzenli kan şekeri kontrollerini yaptırmadığı, açlık kan şekeri değerlerinin 300mg/dl'yi aşmadığı, insülin kullanmadığı not edildi. Bu değişiklik literatürde daha önce tanımlanmıştır(rs199770737) ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamıştır. Bu varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçları tabloda gösterilmiştir(Tablo 37).

Tablo 37:Onuncu hastada tespit edilen varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Gen	KLF11
Chromosomal location	2p25
Transcript ID	NM_003597.4ENST00000305883
rs ID	rs199770737
cDNA	c.1382G>A
Protein	R461Q
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)
Mutation Taster	Prediction Disease causing(Hastalık Yapıcı)Accuracy: 1
Provean	Damagingconverted rankscore 0.7311
SIFT	Damaging (Hasarlayıcı)converted rankscore 0.9122
ExAC verisi(Alel frekansı)	0.0004119
GnomAD exomes (Alel frekansı)	0.0004954 (1/2018)
gnomAD genomes	0.0002585 (1/ 3867)
Kaviar (Alel frekansı)	0.0003987 (1/2508)
Clinvar	-
DANN skor	0.9995
GERP skor	GERP NR 6.0799GERP RS 5.1999

Ayrıca mutasyonun etkisini değerlendirmek için baktığımız bir diğer veri olarak aminoasidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu belirlenmiştir (Tablo 38).

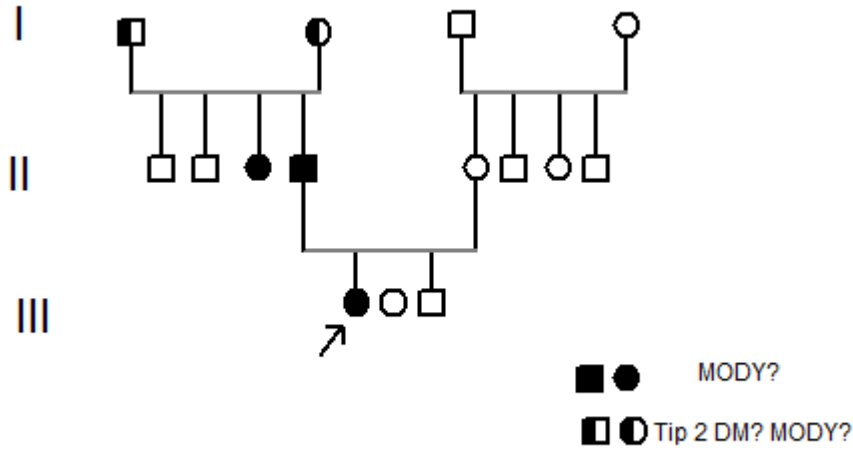
Tablo 38:Onuncu hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

species	match	gene	aa	alignment
Human			461	G E K K F V C P V C D R R F M R S D H L T K H A
Ptrogodytes	all identical	ENSPTRG00000011645	461	G E K K F V C P V C D R R F M R S D H L T K H
Mmulatta	all identical	ENSMUG0000002054	447	G E K K F V C P V C D R R F M R S D H L T K H
Mmusculus	all identical	ENSMUSG00000020653	451	G E K K F V C P V C D R R F M R S D H L T K H
Ggallus	all identical	ENSGALG00000016440	471	G E K K F A C P V C E R R F M R S D H L T K H
Trubripes	all identical	ENSTRUG00000013598	445	G E K K F V C P V C D R R F M R S D H L T K H
Drerio	all identical	ENSDARG00000013794	410	G E K K F V C P V C E R R F M R S D H L T K H
Celegans	all identical	F56F11.3	481	G D R P F K C S Q C S R A F S R S D H L S L H
Xtropicalis	all identical	ENSXETG00000007013	442	G E K K F A C P V C D R R F M R S D H L T K H

4.11. Onbirinci hastaya ait bulgular

Rutin tetkikler esnasında saptanmış asemptomatik şeker yüksekliği öyküsü olan, 1 senedir Düzce’de Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı tarafından takip edilen 9 yaşında kız çocuğu miadında 2740 gr olarak doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim süreçleri yaşlılarıyla uyumlu olarak devam etmiştir. Başvurudaki değerleri(8 yaş): C-peptit: 8,08 ng/mL, HbA1c: 7,4 olarak ölçülen hastada, ağırlık 39,7 kg (95p), boy:136,5cm (80p)’dir. Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olmayan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (9 yaş) ağırlık: 39,5 kg (90p), boy: 137,8cm (75-90p), BMİ:21 kg/m2 (1,5SDS)’dir. Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır (Şekil 25). Hastamızda bakılan otoantikorlar (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı. Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 100-150 mg/dl arasında gelmekte, hasta insülin kullanmıyor ve şeker açısından diyet önerileriyle şu anda takipleri yapılmaktadır.

Şekil 25: Onbirinci hastaya ait soyağacı



Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri aşağıdaki tabloda işaretlenmiştir (Tablo 39).

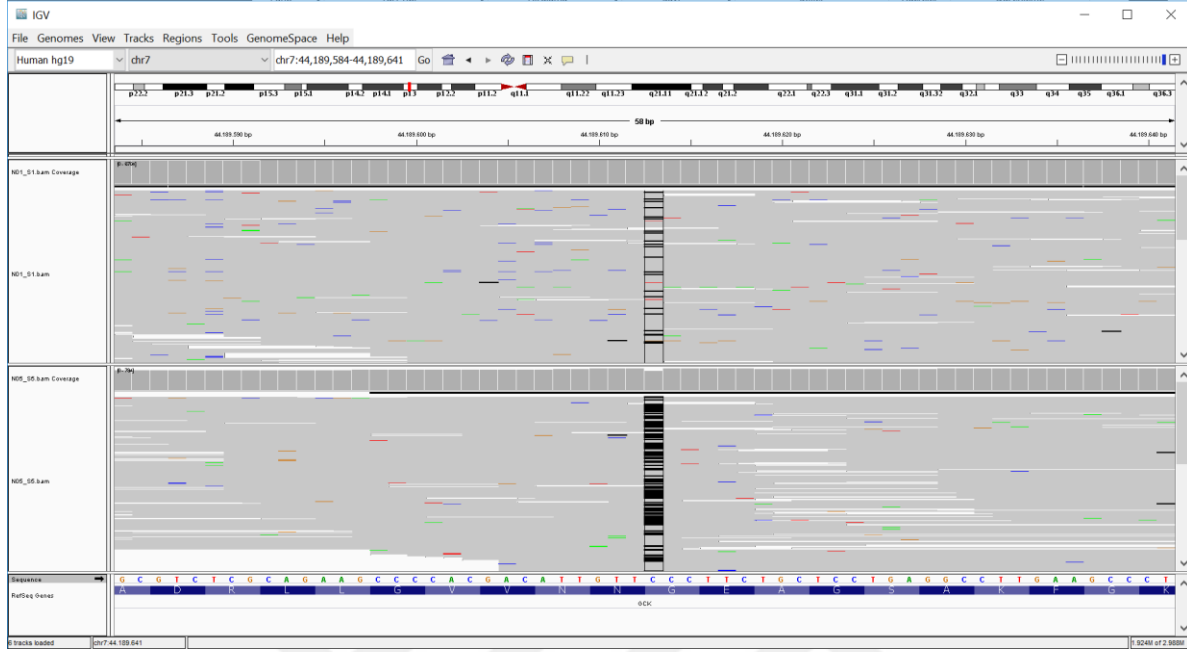
Tablo 39: Onbirinci hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptide düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	+
*İnsülin rezistansı bulguları (obezite, acantozis nigricans) olmayan,	-
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar (<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptit seviyesi tespit edilenler,	+
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	+

* kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir.

H11 nolu hastada GCK geni Ekzon 5'te heterozigot 537. pozisyonda yer alan Guanin nükleotidinin delesyona uğradığı (c.537delG) değişimi saptanmıştır. Oluşan bu değişiklik frameshift bir mutasyondur ve stop kodon oluşumuna sebep olmaktadır (p.Asn180ThrfsTer25) (Şekil 26).

Şekil 26: Onbirinci hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen mutasyonu gösterir şekil



Hastanın ebeveynlerini içeren segregasyon analizleri tamamlanmış ve yapılan analizlerde hastanın babasının aynı varyantı taşıdığı görülmüştür. Annede GSK geninde herhangi bir varyant tespit edilmemiştir. Hastanın babasında 25 yaş civarı başlayan açlık kan şekerlerinin 150-160 civarı seyrettiği bir şeker öyküsü mevcuttu, baba oral antidiyabetik kullanmaktaydı(diaformin). Bu değişiklik literatürde daha önce tanımlanmamıştır.

Bu varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçları tabloda gösterilmiştir(Tablo 40).

Tablo 40:Onbirinci hastada tespit edilen varyantın olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

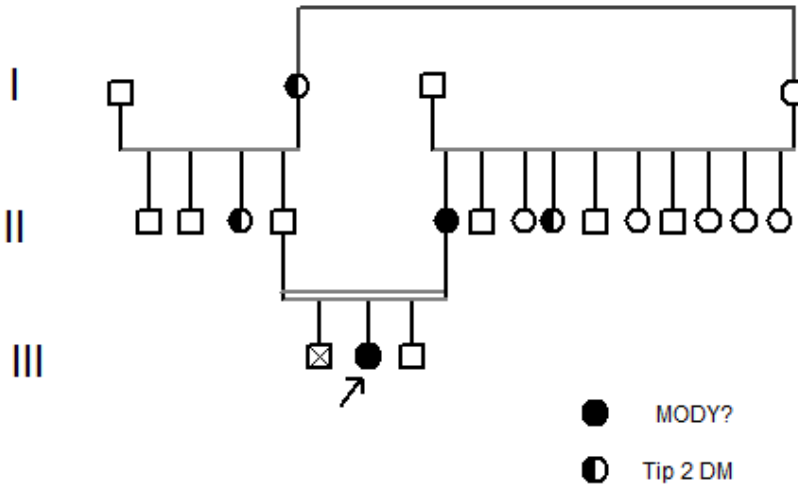
Gen	GSK
Chromosomal Location	7p15.3-p15.1
Transcript ID	ENST00000345378.6 NM_033507
dbSNP	-
Mutation	c.537delG
Variant Location	Ekzon 5
Mutasyon Cinsi	Frameshift (çerçeve kaydırıcı)
Mutation Taster	Disease causing(Hastalık Yapıcı)
Provean	-
SIFT	-
Polyhen-2	-
ExAC (Alel frekansı)	-
ClinVAR	-
DANN score	-
GERP	GERP NR 5.73 GERP RS-0,442

4.12. Onikinci hastaya ait bulgular

3,5 yaşında kız olgu, ilk olarak 1,5 yaşındayken dış merkezde bakılan AKŞ'nin 119 tespit edilmesi üzerine hastanemize yönlendirilmiştir. Başvurudaki değerleri(8 yaş): HbA1c: 6,2, C-peptit: 0,1 ng/mL olarak ölçülen hastada, ağırlık 10,5 kg (10p), boy:84cm (25-50p)'dir. 2,5 senedir Düzce'de Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı tarafından takip edilmekte olan hasta miadında 2970 gr olarak doğmuştur. Prenatal, natal öyküsünde bir özellik olmayan olgunun nöromotor gelişim süreçleri yaşitlarıyla uyumlu olarak devam etmiştir.

Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (3,5 yaş) ağırlık: 14,2 kg (23p), boy: 97,6cm (23p), BMI:14,9 kg/m² (-0,44SDS)'dir. Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır (Şekil 27).

Şekil 27:Onikinci hastaya ait soyağacı



Hastamızda bakılan otoantikorlar (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatif olarak saptandı. Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde çok su içme, çok idrara çıkmak gibi problemleri yoktu. Hasta şu anda insülin kullanmıyor ve diyet önerileriyle beraber rutin kontrollerle takipleri yapılmaktadır. Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir(Tablo 41).

113mg/dl, 2016 içerisinde 141 mg/dl değerleri mevcuttu. Hastanın ebeveynlerinden moleküler analiz yapma imkanı bulamadık. Bu varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçları tabloda gösterilmiştir (Tablo 42).

Tablo 42: Onikinci hastada tespit edilen varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Gen	GCK
Chromosomal Location	7p15.3-p15.1
Transcript ID	ENST00000403799 NM_000162
dbSNP	-
Mutation	p.150delF
Variant Location	Ekzon 4
Mutasyon Cinsi	delesyon mutasyonu
Mutation Taster	Disease causing(Hastalık Yapıcı)
SIFT	-
Polyhen-2	-
ExAC (Alel frekansı)	-
ClinVAR	-

Varyantin yerleştiği lokasyonda aminoasidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu görülmüştür (Tablo 43).

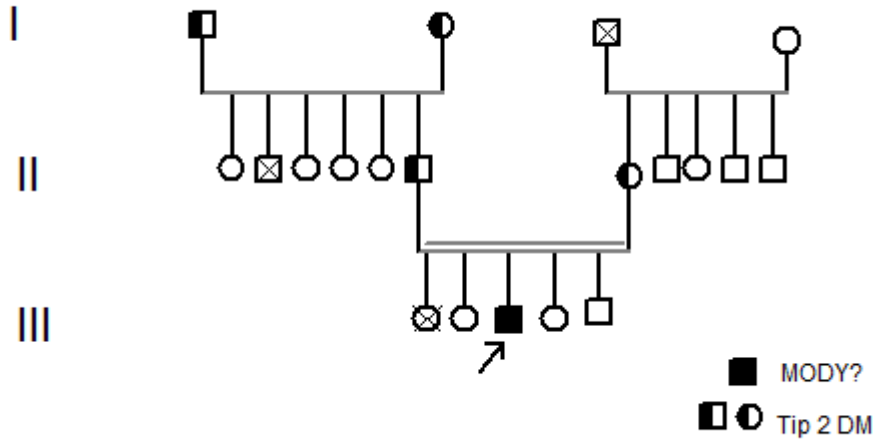
Tablo 43: Onikinci hastada tespit edilen varyantin korunmuşluğunu gösteren tablo

species	match	gene	aa	alignment
Human			150	M K H K K L P L G F T F S F P V R H E D I D K G
Ptrododytes	all identical	ENSPTRG00000019140	149	M K H K K L P L G F T F S F P V R H E D I D K
Mmulatta	all identical	ENSMMUG00000002427	151	M K H K K L P L G F T F S F P V R H E D I D K
Fcatus	all identical	ENSFCAG00000014361	135	M K H K K L P L G F T F S F P V R H E D I D K
Mmusculus	all identical	ENSMUSG00000041798	150	M K H K K L P L G F T F S F P V R H E D I D K
Drerio	all identical	ENSDARG00000068006	160	L K H K K L P L G F T F S F P V R H E D L D K
Dmelanogaster	all identical	FBgn0001186	225	V Y K E R L P L G F T F S F P L R Q L G L T K
Celegans	all identical	F14B4.2	167	L K D A Q K L P L G F T F S F P C E Q E G L T K
Xtropicalis	all identical	ENSXETG00000019003	150	M K H K K L P L G F T F S F P V R H E D I D K

4.13. Onüçüncü hastaya ait bulgular

28 yaşında erkek diyabet öyküsüyle İstanbul'dan takipli olan hastanın Aralık 2014'te Düzce Üniversitesi'nde bakılan değerlerinde açlık kan şekeri 175 mg/dl, tokluk 230 mg/dl ve HbA1C 7,5 olarak ölçülmüştür. Olgu miadında 3000 gr olarak doğmuş, doğuştan saptanmış görme problemi hikayesi mevcuttu. Öyküsünde nöromotor gelişim süreçlerinin yaşitlarına göre biraz geriden geldiği not edildi. Mental açıdan anlama geriliği saptanmadı. Anne ve babası arasında akrabalık öyküsü olan hastanın son ölçülen fiziki muayene bulguları (28 yaş) ağırlık: 73 kg (25-50p), boy: 177 cm (50-75p), BMI: 23,3 kg/m²'dir. Hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır(Şekil 29).

Şekil 29: Onüçüncü hastaya ait soyağacı



Hastamızda bakılan otoantikorlar (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD) negatifti. Hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde; açlık kan şekeri 90-137 mg/dl, HbA1C: 7,6 ve insülin ihtiyacının 0,5 u/kg olduğu saptandı.

Göz muayene sonucunda Patern VEP incelemesinde bilateral göz P100 latansı uzun ve bilateral optik atrofi nedeniyle göz bölümünden takipli olan hastada bakılan EMG, EKG, Serum T4, TSH, vit B12 değerleri normaldi. Hafif işitme kaybı olan hastada ebeveynler arasındaki akraba evliliği hikayesi de göz önünde bulundurularak Wolfram Sendromu açısından da moleküler analiz planlandı ve WFS1 geni dizilendi.

Hastamızın çalışmaya dahil edilme kriterleri tabloda işaretlenmiştir (Tablo 44).

Tablo 44:Onüçüncü hastanın çalışmaya dahil edilme kriterleri

25 yaş altında tanı alması,	+
Ailesinde en az iki jenerasyonda diyabeti olan,	+
Otoantikoru negatif bulunan (adacık hücreli, anti-insulin ve anti-GAD),	+
*C-peptide düzeyi ≥ 0.59 ng/mL,	-
*insülin rezistansı bulguları (obezite,acantozisniagricans) olmayan,	+
Tanı almasından sonra 1 yıl geçmiş olmasına rağmen düşük insülin ihtiyacı olanlar(<0.59 IU/kg/day) veya insulin alan hastalarda anlamlı C-peptit seviyesi tespit edilenler,	+
Glikoz düzeyleri normalin üstünde ancak nonprogresif seyreden.	+

* kriterleri tanı anındaki değerleri baz alınarak belirlenmiştir

Hastada HNF4A ve HNF1A ve WFS1 genlerinde değişiklik saptadık.

İlk varyant: HNF4A Ekzon 2’de heterozigot 83. pozisyonda yer alan Sitozin nükleotidinin yerini Timin nükleotidinin aldığı (c.83C>T) değişimi olup oluşan bu değişiklikle proteinin 28. Aminoasidi olan Alanin’in Valin’e (A28V) dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır (Şekil 30). Bu değişiklik literatürde daha önce tanımlanmıştır(rs140143857) ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamıştır.

Şekil 30:Onüçüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen birinci mutasyonu gösterir şekil



Varyantın patojenik etkisine dair insiliko analiz verileri aşağıda paylaşılmıştır(Tablo 45).

Tablo 45: Onüçüncü hastada tespit edilen varyantların olası patojenik etkisine dair in silico analiz programları sonuçlarını gösteren tablo.

Gen	HNF4A	HNF1A	WFS1
chromosome	20	12	4
Transcript ID	ENST00000316673	ENST00000257555	ENST00000226760
	NM_175914.4	NM_000545.6	NM_006005.3
dbSNP	rs140143857	rs143015301	-
cDNA	c.83C>T	c.1386C>T	c.2168T>C
	Heterozygote	Heterozygote	Homozygote
Protein	A28V	V462V	L723P
Mutasyon Cinsi	Missense (yanlış anlamlı)	Silent(sessiz)	Missense
Mutation Taster	Disease causing	Disease causing	Disease causing
	Score: 0.9299, 0.553	Score:0.999999999979831	Score: 1
Provean	neutral	-	damaging
SIFT	Tolerated Score: 0.489, 0.426, 0.388, 0.367, 0.418	-	Damaging score:0.001 converted rankscore 0.7842
ExAC verisi(Alel frekansı)	2/121190	0.0002032	-
Kaviar (Alel frekansı)	-	0.0002186(1/4573)	-
gnomAD exomes	0.00001626 (1/61484)	0.0001552(1/6444)	-
gnomAD genome (Alel frekansı)	0.00003229 (1/30963)	0.0002261(1/4422)	-
ClinVAR	-	-	-
DANN score	0.9953	0.8168	0.9984
GERP	GERP NR 5.17 GERP RS 5.17	GERP NR 4.59 GERP RS -1.8099	GERP NR 5.4899 GERP RS 5.4899

İkinci varyant HNF1A'da Ekzon 7'de heterozigot 1386. pozisyonda yer alan Sitozin nükleotidinin yerini Timin nükleotidinin aldığı (c.1386C>T) değişimi olup, oluşan bu değişiklik proteinin 462. Aminoasidi olan Valin'de sessiz bir mutasyon oluşturmaktadır (**Şekil 31**). Bu değişiklikliteratürde daha önce tanımlanmıştır(rs539507291) ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamıştır. Sessiz bir mutasyon olmasına rağmen değişiklik sonucu potansiyel olarak splicing etkilenebileceği, yeni bir ekzonik kırılma bölgesi oluşturabileceği insiliko araçlarda gözükmemektedir (Human Splicing Finder). Mutasyonun klinik etkinliğinin daha kesin değerlendirilebilmesi için bu konuda daha fazla vaka tanımlanması, ek çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Şekil 31:Onüçüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen ikinci mutasyonu gösterir şekil



Hastanın anne ve babasından analiz yapma imkanı bulamadık ancak her ikisinin de tip 2 diyabet tanısı ile takipli olup oral antidiyabetik kullandıkları not edildi.

Varyantın yerleştiği lokasyonda aminoasidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu görülmüştür (Tablo 46).

Tablo 46:Onüçüncü hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

VARYANT1

species	match	gene	aa	alignment
Human			28	D T S P S E G T N L N A P N S L G V S A L C A I
Ptrogodytes	all identical	ENSPTRG00000013519	147	- T S P V S G I N G D I R A K K I A S I A D V C
Mmulatta	all identical	ENSMUG00000006464	71	D T S P S E G T N L N A P N S L G V S A L C A
Fcatus	all identical	ENSFCAG00000008178	74	D T S P S E G A N L N A P N S L G V S A L C A
Mmusculus	all conserved	ENSMUSG00000017950	50	D T S P S E G A N L N S S N S L G V S A L C A
Ggallus	not conserved	ENSGALG00000004285	41	D T S P S E A A N L N T S N S I G V S A L C A
Trubripes	all identical	ENSTRUG00000009982	50	D S S P A E T A N M N A S S H L G A G S L C A
Drerio	all identical	ENSDARG00000021494	50	D S S P Q E S A N M N A A N H L G A G T L C A

VARYAT2

Human	S	S	L	T	T	L	Q	P	V	Q	F	S	Q	P	L	H	P		
Rhesus	S	S	L	T	T	L	Q	P	V	Q	F	S	Q	P	L	H	P		
Mouse	S	S	L	T	T	L	Q	P	V	Q	F	S	Q	P	L	H	P		
Dog	S	S	L	T	T	L	Q	P	V	Q	F	S	Q	P	L	H	P		
Elephant	S	S	L	T	T	L	Q	P	V	Q	F	S	Q	S	L	H	P		
Chicken	S	S	L	T	T	L	Q	P	V	Q	F	S	Q	-	C	G	L	H	P
X_tropicalis	S	S	L	T	T	L	Q	S	V	Q	F	S	Q	-	C	G	L	H	P
Zebrafish	G	S	L	A	A	L	Q	P	V	Q	F	S	Q	-	C	G	L	N	S
Lamprey	G	S	L	T	T	L	Q	P	M	Q	L	S	Q	-	C	A	L	H	G

Onüçüncü hastada tespit edilen HNF1A genindeki V462V değişiminin patojeniteye neden olabileceği görülmüştür (Tablo 47).

Tablo 47: Onüçüncü hastada tespit edilen HNF1A geni V462V değişimi sonucu oluşan sessiz mutasyonun patojeniteye neden olabilecek splicing'i değiştirebileceğini gösteren HSF in silico analiz verisi

Reference sequence¶

HNF1A*Gene ->ENST00000257555*Transcript -> Exon number: 7(192 bp)+100intrinsic nucleotides at exon ends¶

1	ccacgggctc tgggaaggag aggtggtgcc cttgggaagt cttgggcagg gttgggatat aactgggggg cccagctgat tccctcccct tccactccag
101	GCCTGGCCTC·CACGCAGGCA·CAGAGTGTGC·CGGTCATCAA·CAGCATGGGC·AGCAGCCTGA·CCACCCTGCA·GCCCCTCCAG·TTCTCCCAGC·CGCTGCACCC
201	CTCCTACCAG·CAGCCGCTCA·TGCCACCTGT·GCAGAGCCAT·GTGACCCAGA·GCCCCTTCAT·GGCCACCATG·GCTCAGCTGC·AGAGCCCCCA·CGgtgagcgc
301	cctgtgcccc acacagcagg agatgatgat agaggttggc tgcfaatgga tgcaggggaa aggggtgcct gccaggcatt gcagtctgca tg

Mutant sequence¶

1	ccacgggctc tgggaaggag aggtggtgcc cttgggaagt cttgggcagg gttgggatat aactgggggg cccagctgat tccctcccct tccactccag
101	GCCTGGCCTC·CACGCAGGCA·CAGAGTGTGC·CGGTCATCAA·CAGCATGGGC·AGCAGCCTGA·CCACCCTGCA·GCCCCTCCAG·TTCTCCCAGC·CGCTGCACCC
201	CTCCTACCAG·CAGCCGCTCA·TGCCACCTGT·GCAGAGCCAT·GTGACCCAGA·GCCCCTTCAT·GGCCACCATG·GCTCAGCTGC·AGAGCCCCCA·CGgtgagcgc
301	cctgtgcccc acacagcagg agatgatgat agaggttggc tgcfaatgga tgcaggggaa aggggtgcct gccaggcatt gcagtctgca tg

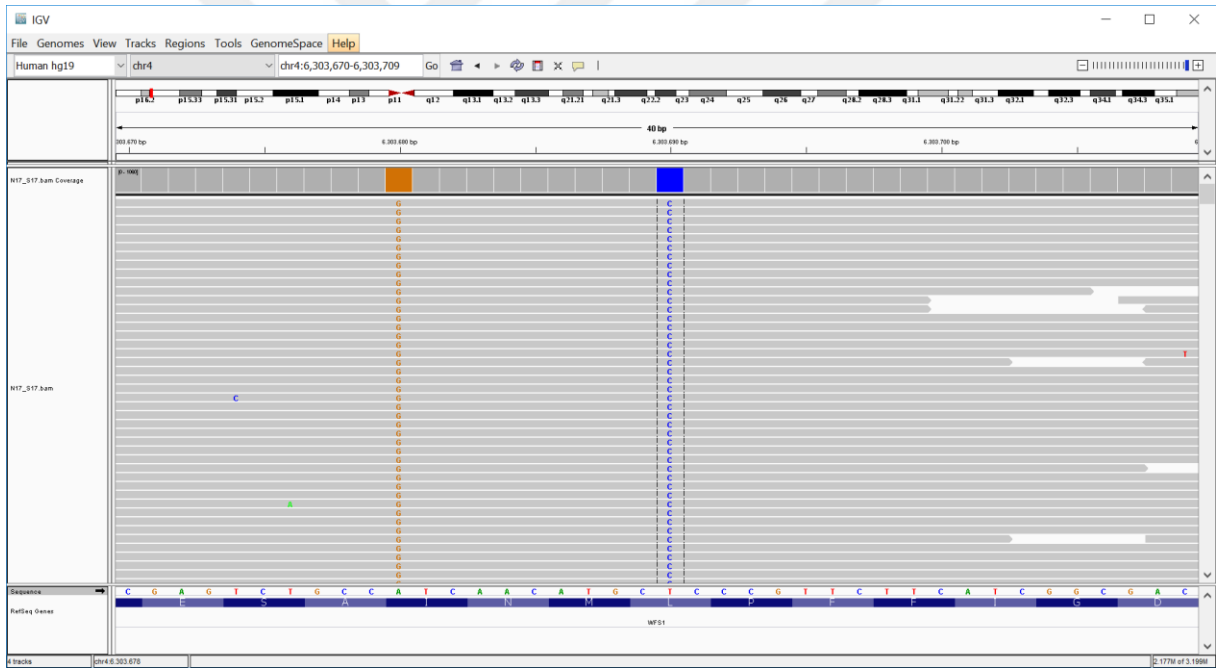
Predicted-signal¶	Prediction-algorithm¶	cDNA-Position¶	Interpretation¶
New-ESS-Site¶	1--Fas-ESS-hexamers¶ 2--JEs from Zhang et al.¶		Creation of an axonic-ESS-site. Potential alteration of splicing.

Yorum: Mutasyon ekzon sonuna yakın bölgede meydana gelmiş, tabloda mutasyon tarafından etkilenmesi muhtemel donör splice site'lar gösterilmiş, yeni bir ekzonik ESS site bölgesi oluşumu sonucu potansiyel olarak splicing'in etkileneceği öngörülmüştür.

Varyant 3

WFS1 geni Ekzon 'de homozigot 2168. pozisyonda yer alan Timin nükleotidinin yerini Sitozin nükleotidinin aldığı (c.2168T>C) ve oluşan bu değişiklikle proteinin 723. Aminoasidi olan Lözin'in Prolin'e (L723P) dönüşmesi ile sonuçlanmaktadır (Şekil 32). Bu değişiklik literatürde daha önce hastalıkla ilişkili bir mutasyon olarak tanımlanmıştır ve Wolfram Sendromu ile ilişkilendirilmiştir.(HGMD:CM112219).

Şekil 32:Onüçüncü hastaya ait NGS dizileme görüntüsü ve tespit edilen üçüncü mutasyonu gösterir şekil



Varyantın patojenik etkisine dair insiliko analiz verileri ve hastanın soyağacı aşağıda paylaşılmıştır. Varyantin yerleştiği lokasyonda aminoasidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olduğu görülmüştür(Tablo 48).

Tablo 48:Onüçüncü hastada tespit edilen varyantın korunmuşluğunu gösteren tablo

species	match	gene	aa	alignment
Human			723	I D N S A E S A I N M L P F F I G D W M R C L Y
Mmulatta	all identical	ENSMMUG00000013414	723	N M P P F F I G D W M R C L
Featus	all identical	ENSFCAG00000009675	644	I D N S A E S A V N M P V F I G D W M R C L
Mmusculus	all identical	ENSMUSG000000039474	725	S A I N M P P F F L G D W M R C L
Drerio	all identical	ENSDARG000000062341	875	K E N G A Q S V I N M P V F M G D
Dmelanogaster	all identical	FBgn0039003	697	V S N F L E D T I A N Y P V W L G R M L R C L
Xtropicalis	all identical	ENSXETG00000011603	663	I D N S A E S A I N M P L L I G N W M R C

Çalışmaya dahil edilen hastaların tanı anındaki antropometrik ölçümleri ve laboratuvar bulgularına ait olan minimum-maksimum değerleri, ortalama ve standart sapmaları ile birlikte **tablo 49**'da verilmiştir.

Tablo 49:Hastaların Tanı Anındaki Laboratuvar bulguları ve Antropometrik Verileri

	Ortalama±SS	Minimum-Maksimum
Yaş (yıl)	11,8 _± 4,9*	(3,5-28)**
Tanı yaşı (yıl)	9,07 _± 4,01	(1,5-16,5)
Ağırlık (kg)	47,6 _± 11,4	(10,5-111)
Boy (cm)	138,3 _± 22,4	(88-183)
VKİ (kg/m ²)	18,28 _± 4,87	(13,8-34,5)
Açlık Kan Glukozu (mg/dl) (tanıdaki)	322 _± 180	108-773
HbA1c (%) (tanıdaki)	10,8 _± 3,3	(5,8-17,6)
C-peptit (ng/ml) (tanıdaki)	0,58 _± 0,486	(0,1-2,4)
insülin (µIU/ml) (tanıdaki)	5,08 _± 4,65	(0,915-21)
İnsülin ihtiyacı (U/kg)	0,71 _± 0,50	(0-1,55)
HBA1C son bakılan değeri	8,97 _± 1,73	(5,4-13,8)
LDL (mg/dl)	89,2 _± 35,1	(17,4-206)
HDL (mg/dl)	46 _± 15,9	(22-95)
Kolesterol (mg/dl)	164,7 _± 40,4	(64-274)
Trigliserit (mg/dl)	172,33 _± 187	(29-883)
Ph (tanıdaki)	7,304 _± 0,085	(7,115-7,44)
HCO ₃	17,64 _± 4,69	(9-28)
ALT	13,5 _± 5,8	(6-39)
AST	19,04 _± 4,7	(12-32)

SS: Standart sapma VKİ: Vücut kitle indeksi

Hastalar klinik ve moleküler sonuçlara göre MODY(+) ve MODY(-) olarak değerlendirildiğinde hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri **tablo 50**'de verilmiştir. Buna göre tanıdaki hem VKİ indeksi, hemde Kolesterol düzeyi MODY(+) olan hastalarda (23,2_±10,1 ve 183,7_±40,5), MODY(-) (16_±1,9 ve 152,2_±34,4) olan hastalara oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek iken (sırasıyla Z=-2,129; p=0,035 ve Z=-1,891; p=0,050), diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (**Tablo 50**).

Tablo 50:MODY(+) ve MODY(-) olan Hastaların Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

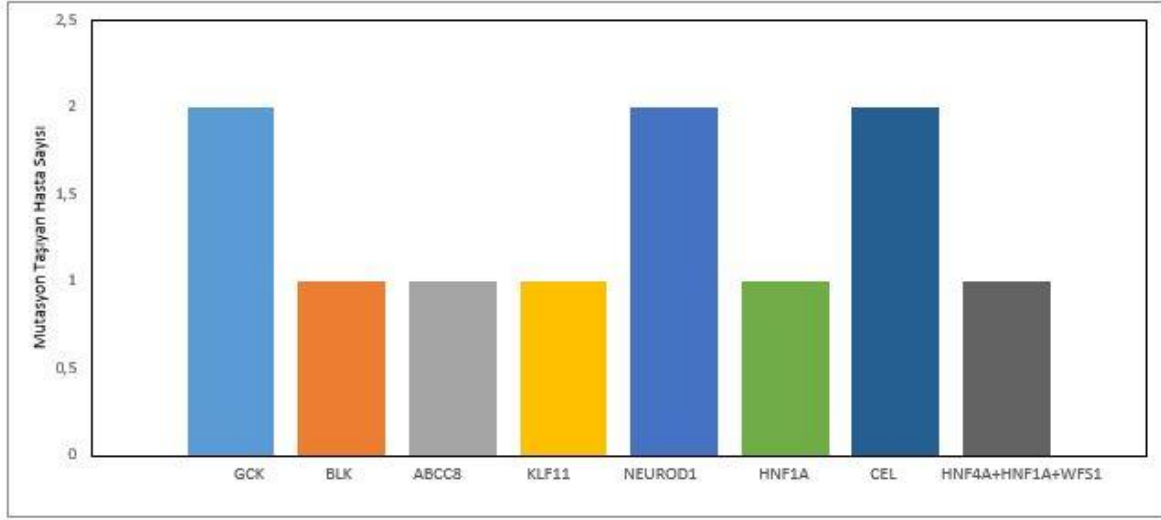
	MODY(+)	MODY(-)	Z* değeri	P* değeri
Yaş (yıl)	10,85±4,10	12,83±3,32	-0,36	0,986
Tanı yaşı (yıl)	9,05±4,14	11,83±3,88	-0,189	0,867
Tanıdaki Ağırlık (kg)	67,7±43,3	25,46±7,88	-1,117	0,269
Tanıdaki Boy (cm)	164,1±29,6	124,6±11,2	-0,059	0,954
TanıdakiVKİ (kg/m ²)	23,2±10,1	16±1,9	-2,129	0,035
Tanıdaki Açlık Kan Glukozu (mg/dl)	506±233	460±105	-0,924	0,370
HbA1c (%)tanıda	14,6±2,7	11,1±2,3	-0,431	0,686
C-peptit (ng/ml)	0,497±0,26	0,699±0,49	-0,022	0,983
insulin (µIU/ml)	3,72±2,26	5,80±5,32	-0,566	0,592
Tanıdaki ph	7,274±0,434	7,283±0,119	-0,778	0,470
Tanıdaki HCO ₃	16,7±3,1	16,1±6,5	-0,093	0,964
HDL (mg/dl)	41,8±17,6	47,1±14,8	-1,529	0,133
LDL (mg/dl)	94,7±28,5	86,5±38,5	-0,783	0,440
Kolesterol (mg/dl)	183,7±40,5	152,2±34,4	-1,891	0,050
Trigliserit (mg/dl)	276,9±297	117,8±84,8	-1,337	0,191
HbA1c Son Bakılan Değer(%)	8,63±2,12	9,38±2,61	-1,173	0,252
İnsülin İhtiyacı	0,62±0,44	0,44±0,44	-1,217	0,238
ALT	16,7±9,23	12,0±3,09	-1,431	0,155
AST	20,1±6,1	17,8±3,26	-0,491	0,642

veriler ortalama ±SS olarak verilmiştir

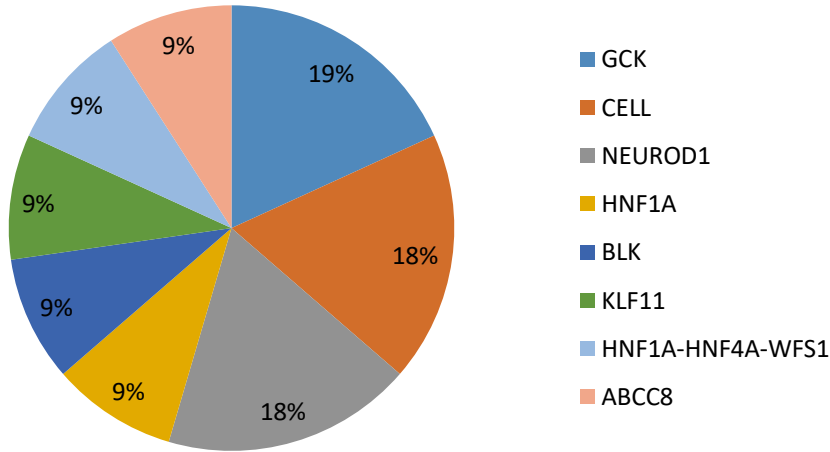
Cinsiyet açısından bakıldığında 18 bayanda mutasyon yok iken 6 bayanda mutasyon vardı. Erkekler açısından 6 erkekte mutasyon yok iken 5 erkekte mutasyon vardı. Cinsiyete göre mutasyon grupları arasında kıyaslama yapıldığında, bayan ve erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($X^2=1,464$; $p=0,205$). Bakılan diyabet otoantikörleri, en az iki kuşakta diyabet olup olmaması, glikoz düzeylerinin progresif olup olmadığına göre mutasyon grupları arasında kıyaslama yapıldığında, mutasyonu olan ve olmayanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Yaptığımız yeni nesil dizileme sonucu, GCK (2), NEUROD1 (2) ve CELL (2), HNF1A (1), BLK (1), KLF11 (1), HNF1A-HNF4A-WFS1 (1) ve ABCC8 geninde (1) olmak üzere toplamda 11 hastada MODY geninde değişiklik tespit ettik (**Şekil 33**). Buna göre en fazladan en aza doğru tespit edilen mutasyon oranı; GCK (%18), NEUROD1 (%18) ve CELL (%18), HNF1A (%9), BLK (%9), KLF11 (%9), HNF1A-HNF4A-WFS1 (%9) ve ABCC8 geninde (%9) oranında tespit edilmiştir (**Şekil 34**).

Şekil 33: Mutasyon çeşitlerini ve bu mutasyonları taşıyan hasta sayılarını gösterir grafik



Şekil 34: Çıkan mutasyonların çeşidi ve yüzdesini gösteren pasta grafiği

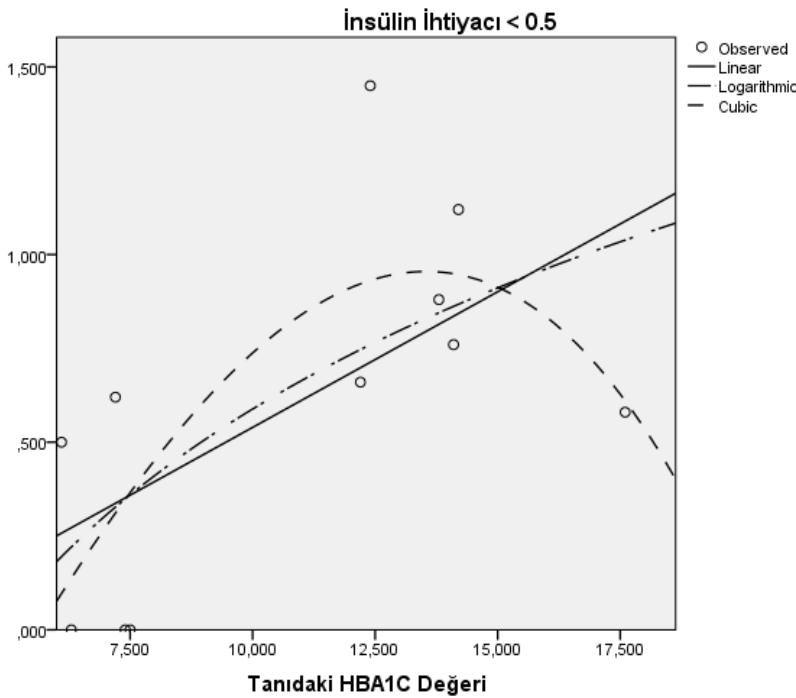


Mutasyon Pozitif olanlar hastaların tanı anındaki HBA1C ile İnsülin ihtiyacı, tanıdaki açlık kan şekeri, Trigliserit arasındaki ilişkiye polinomial regresyon analizi ile baktığımızda tanıdaki HBA1C ve İnsülin ihtiyacı (Şekil 35) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki varken ($p<0,05$), diğer değişkenler açısından anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($p>0,05$) (Şekil 36 ve 37) (Tablo 51).

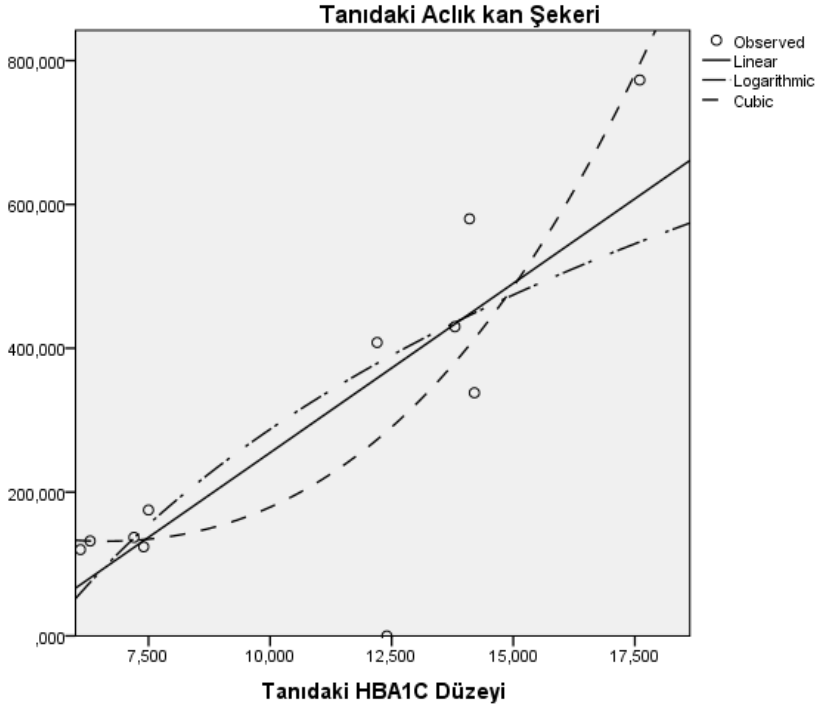
Tablo 51: Mutasyon Pozitif olanlar hastaların tanı anındaki HBA1C ile İnsülin ihtiyacı, tanıdaki açlık kan şekeri, Trigliserit düzeyleri arasındaki polinomial regresyon analiz sonuçlarını gösterir tablo

	Equation	R	F	df1	df2	p	Constant	b1	b2	b3
		Square								
Tanıdaki HBA1C ve İnsülin ihtiyacı	Linear	0,381	5,549	1	9	0,043	-,183	0,072		
	Logarithmic	0,430	6,802	1	9	0,028	-1,245	0,796		
	Cubic	0,570	5,310	2	8	0,034	-1,365	0,257	0,000	0,000
Tanıdaki HBA1C ve açlık kan şekeri	Linear	0,638	15,891	1	9	0,003	-215,981	47,077		
	Logarithmic	0,569	11,888	1	9	0,007	-773,859	460,875		
	Cubic	0,747	11,819	2	8	0,004	235,383	-23,485	0,000	0,179
Tanıdaki HBA1C ve Trigliserit	Linear	0,479	8,263	1	9	0,018	-183,081	35,134		
	Logarithmic	0,403	6,074	1	9	0,036	-576,929	334,227		
	Cubic	0,764	12,941	2	8	0,003	228,500	0,000	-5,606	0,404
	Logarithmic	0,391	5,144	1	8	0,053	41,752	-8,940		
	Cubic	0,390	2,233	2	7	0,178	31,333	-1,052	0,008	0,000

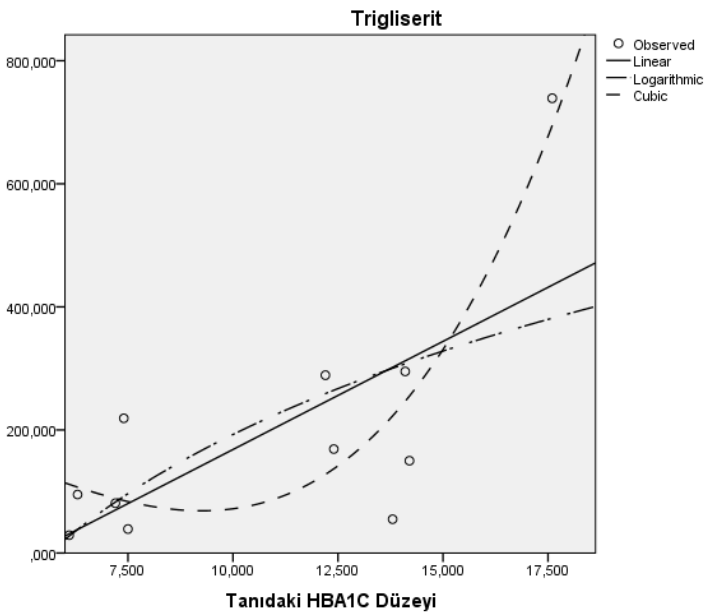
Şekil 35: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki HBA1C ile İnsülin ihtiyacı arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği



Şekil 36: Mutasyon Pozitif olanlarda, tanıdaki HBA1C ile tanıdaki açlık kan şekeri arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği



Şekil 37: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki HBA1C ile trigliserit arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği

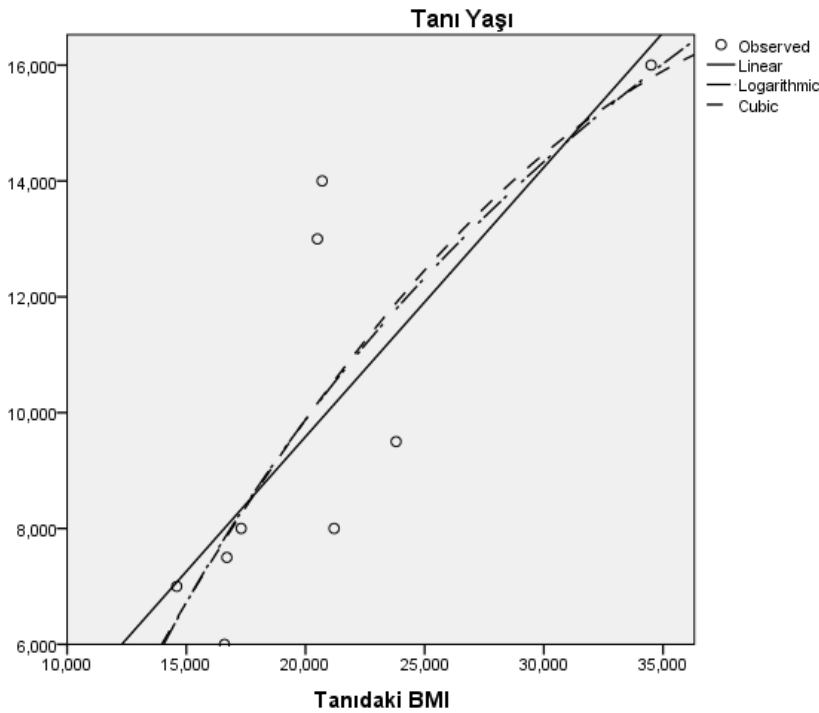


Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki BMI ile tanı yaşı ve ALT düzeyleri arasındaki ilişkiyi tespit etmek için polinomial regresyon analizine bakıldığında, BMI ile ALT arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,019$) bir ilişki tespit edilmiştir (Şekil 39) (Tablo 52).

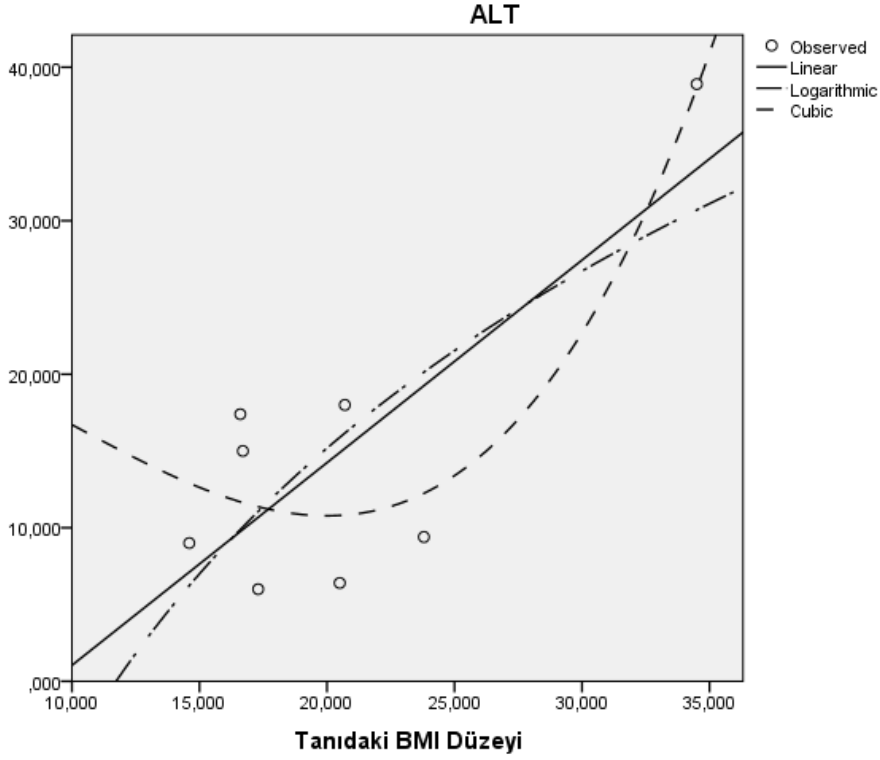
Tablo 52: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki BMI ile tanı yaşı ve ALT düzeyleri arasındaki polinomial regresyon analiz sonuçlarını gösterir tablo

	Equation	R Square	F	df1	df2	p	Constant	b1	b2	b3
Tanıdaki BMI ve tanı yaşı	Linear	0,607	9,251	1	6	0,023	-12,154	1,320		
	Logarithmic	0,517	6,432	1	6	0,044	-70,071	28,459		
	Cubic	0,793	9,604	2	5	0,019	22,648	0,000	-0,089	0,003
Tanıdaki BMI ve ALT	Linear	0,607	9,251	1	6	0,023	-12,154	1,320		
	Logarithmic	0,517	6,432	1	6	0,044	-70,071	28,459		
	Cubic	0,793	9,604	2	5	0,019	22,648	,000	-0,089	0,003

Şekil 38: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki BMI ile tanı yaşı arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği



Şekil 39: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki BMI ile ALT arasındaki ilişkiyi gösteren polinomial regresyon grafiği



Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki HBA1C ile İnsülin ihtiyacı ($p=0,048$; $r=0,606$), tanıdaki açlık kan şekeri ($p=0,013$; $r=0,718$), Trigliserit ($p=0,047$; $r=0,609$) ve AST ($p=0,033$; $r=-0,673$) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (Tablo 53).

Tablo 53: Mutasyon Pozitif olanlardaki tanıdaki HBA1C ile İnsülin ihtiyacı, tanıdaki açlık kan şekeri, Trigliserit ve AST düzeyleri arasındaki korelasyon sonuçlarını gösterir tablo.

Mutasyonu olan grubun kan değerleri	İnsülin ihtiyacı		Tanıdaki açlık kan şekeri		Trigliserit		AST		HDL		Yaş	
	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r
HBA1C	0,048	0,606	0,013	0,718	0,047	0,609	0,033	-0,67	0,066	-,057	0,040	0,624

TARTIŞMA ve SONUÇ

Hastaların tanı anındaki antropometrik ölçümleri ve laboratuvar bulguları minimum-maksimum değerleri, ortalama ve standart sapmaları ile birlikte **tablo 49**'da verildi. Bu bulgular ve moleküler analiz sonuçları dikkate alınarak çalışmaya dahil edilen hastalar MODY(+) ve MODY(-) olarak gruplandırılmış ve bunlara ait olan klinik ve laboratuvar özellikler **tablo 50**'de verilmiştir. Buna göre tanıdaki hem VKİ indeksi, hemde Kolesterol düzeyi MODY(+) olan hastalarda ($23,2 \pm 10,1$ ve $183,7 \pm 40,5$), MODY(-) ($16 \pm 1,9$ ve $152,2 \pm 34,4$) olan hastalara oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek iken (sırasıyla $Z=-2,129$; $p=0,035$ ve $Z=-1,891$; $p=0,050$), diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (**Tablo 50**). 2014 yılında ülkemizde yapılmış olan benzer bir çalışmada MODY(+) ve MODY(-) hastalar arasında klinik ve laboratuvar bulgusu olarak bir farklılık saptanmamıştır(133). 2009 yılında Schober ve ark. tarafından 20 yaş altı Alman ve Avusturyalı 40.757 diyabetli çocuğu içeren geniş bir çalışma sonunda tip 2 diyabetli olanlarda daha fazla olmakla birlikte MODY olanların %23'ünde dislipidemi, %10'unda hipertansiyon olduğu görülmüş ve makrovasküler komplikasyon riski nedeniyle bu hastalarda lipit düşürücü tedaviye erken dönemde başlanması gerektiği ortaya konmuştur (134). Hastalarımızın lipit profilleri düzenli aralıklarla kontrol edilmektedir. MODY(+) saptanan vakalarımızda ortalama VKİ: 23 kg/m^2 ve MODY(-) saptanan grubun ortalaması 16 kg/m^2 olması MODY(-) saptanan olguların çoğunlukla tip 1 diyabete benzer klinik gösterdiğini düşündürmekte ,birkaç hasta hariç hastaların laboratuvar verileri de bunu desteklemektedir. Literatürde MODY oldukları moleküler olarak doğrulanan olgularla MODY oldukları düşünülen ancak moleküler anormallik saptanmayan olguların klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırıldığı çalışmalarda her iki grup arasında fark saptanmayan çalışmalar olduğu gibi MODY(-) olan olguların MODY(+) olan olgulara göre daha fazla vücut kitle indexine ve c-peptid değerine sahip olduklarını belirten çalışmalar da mevcuttur(5,134). Bu durumu açıklamak adına MODY(-) saptanan vakaların aslında tip 2 diyabetli oldukları veya tip 2 diyabete benzer bir fenotip gösterdikleri öne sürülebilir. Bu konuda literatürde sınırlı sayıda yapılmış olan çalışma mevcuttur.

Çalışmamızda bakılan diyabet otoantikörleri, en az iki kuşakta diyabet olup olmaması, glikoz düzeylerinin progresif olup olmaması ve cinsiyete göre mutasyon grupları arasında kıyaslama yapıldığında, mutasyonu olan ve olmayanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Erken başlangıçlı şeker hastalığı olan hastalarda obezite ve metabolik sendrom gibi klinik bulguların yokluğunun T2DM'ye kıyasla MODY tanısını desteklediği kabul edilmektedir (135). Bununla birlikte , genç yetişkinler arasındaki obezite prevalansının artmasıyla birlikte obez olmalarına rağmen MODY düşünülen vaka sayılarında artışlar göze çarpmaktadır. Birleşik Krallık ve Fransa'da yapılan bir araştırmada, HNF1A - MODY çalışılmak üzere genetik analiz için yönlendirilen vakaların en az %10'unu obez hastaların oluşturduğu rapor edilmiştir(87). Benzer şekilde, daha önce MODY'li bireylerde akantozis nigrikans prevalansının çok düşük olduğu bildirilmiş olsa da, pediatrik yaşta olan MODY hastaları ile yapılan yeni bir çalışmada, moleküler olarak doğrulanmış vakaların% 40'ında akantozis nigrikans gözlenmiştir (5,136). Erken başlangıçlı diyabeti olup sulfonilüreye cevap veren diyabetik çocuklarda obezite ve akantozis nigrikans varlığında dahi MODY için moleküler çalışma yapılmalıdır diyen yayınlar literatürde mevcuttur(87). Çalışmamızda hastaların vücut kitle indeksi göz önünde bulundurulduğunda mutasyon tespit edilen 11 kişiden 1'inin VKİ>25 kg/m² olduğu görülmektedir. Bununla birlikte mutasyon tespit edilen hastaların ortalama VKİ değerinin 23,2 kg/m² olması, hastalarımızın fazla kilolu diyebileceğimiz sınıra yakın olduklarını göstermektedir. Çalışmamızda mutasyon tespit edilen hastalarda akantozis nigrikans bulgusu saptanmadı. Bu konuda; Tip 1 diyabetli, Tip 2 diyabetli ve MODY olduğu düşünülen hastalarda geniş serilerde yapılacak olan genotip-fenotip çalışmaları ile daha doğru veriler ortaya konabilecektir.

Çalışmada mutasyon pozitif olanlardaki tanıdaki BMI ile ALT düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı (p=0,019) bir ilişki tespit edilmiştir. Obezite veya fazla kilolu olmanın başlı başına karaciğer hastalık riskini artırdığı bilinmektedir. 2003 yılında Amerika'da Constance ve ark. tarafından gerçekleştirilen geniş bir popülasyon temelli çalışmada fazla kilolu ve serum ALT değeri yüksek saptanan hastalarda etyolojide majör etkenler hiperinsülinemi, hiperleptinemi, santal adipozite olarak saptanmıştır(137). Hastalarımızda serum ALT değerleri normal aralıkta olmakla birlikte rutin takiplerinde vücut kitle indexi, karaciğer fonksiyon testleri takip edilmektedir.

Çalışmada mutasyon pozitif olanlardaki tanıdaki HbA1C ile İnsülin ihtiyacı (p=0,048; r=0,606), tanıdaki açlık kan şekeri (p=0,013; r=0,718), Trigliserit (p=0,047; r=0,609) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir.

HbA1C testi glikoza bağlanmış hemoglobin (a1c) bileşenini ölçmektedir. Glikozillenmiş hemoglobin ve fruktozamin gün-içi değişim, açlık-tokluk, egzersiz ya da kan glukozundaki geçici değişikliklerden etkilenmeden geriye dönük olarak kan glukoz düzeyi hakkında fikir

veren parametrelerdir(138). HbA1c 2-3 ay boyunca maruz kalınan ortalama glukoz düzeyini gösterir. HbA1C'nin normal değerleri 3,5%-5,7% arasında olmalıdır. Bu değerler tüm hemoglobinler arasındaki HbA1C yüzdesini vermektedir. Glisemik kontrol, kan glukoz düzeyi ve glikozillenmiş proteinlerin ölçülmesi ile sağlanır. Kötü glisemik kontrol varlığında ise bozulmuş lipit profili değerleri beklenmektedir(134,139,140). Diyabet ve dislipidemi birlikte yüksek kardiyovasküler risk oluşturduklarından bu hastaların sık aralıklarla izlenmeleri gerekmektedir.

Monogenik diyabet fenotipleri, neonatal diabet, MODY diyabeti ve mitokondrial diyabetten oluşur. Monogenik diyabetin en sık nedeni olan MODY diyabeti, çeşitli genlerdeki heterozigot mutasyonlardan kaynaklanan heterojen bir hastalık grubudur. MODY hastalarında beta hücre fonksiyon bozukluğu olması nedeni ile primer insülin salgımları defektiftir. Bu genlerden bazıları pankreas ve beta-hücrelerinin gelişmesi ile ilgili iken diğerleri beta hücrelerindeki glikoz metabolizması veya ATP-bağımlı potasyum kanal aktivasyonu gibi insülin sekresyonunun çeşitli adımlarında çok önemli roller oynamaktadırlar. Monogen diyabetin geniş spektrumunu oluşturan MODY diyabeti grubunda diyabet tek veya ana semptom olabileceği gibi eşlik eden çeşitli pankreas dışı bulgularla da seyredebilmektedir(72). Fenotipi daha belirgin olan GCK-MODY'li hastalar haricinde, MODY genlerine dair penetrasyon ve ekspresyon hastalar arasında büyük farklılıklar göstermekte ve çeşitli genlerdeki değişiklikler benzer fenotiplere de neden olabilmektedir. MODY ile diyabetin daha yaygın gözükten formları arasında ayırıcı tanı özellikle tip 2 diyabetle zor olabilmektedir. Erken başlangıçlı diyabetli bireyler arasında monojen diyabetin minimal prevalansı% 1 olarak tahmin edilmektedir (4,73). MODY, monogenik diyabetin en yaygın şekli olarak rapor edilmekte ve Avrupa'daki tüm diyabetik hastaların% 1 - 2'sini etkilemektedir(68). Yapılan çalışmalarda monogenik diyabet prevalansı tüm diyabetli çocuklarda % 1-5 arasında değişmekle birlikte(5,141,142), ülke çaplarında nüfus temelli bir kohortu sistematik bir şekilde taramaya yönelik yapılmış bir çalışma da yoktur. MODY'in gerçek prevalansı bilinmemektedir.

MODY sendromlarının diğer diyabet tipleri ile ortak özellikleri bulunmasından dolayı çoğu MODY vakasının Tip 1 veya Tip 2 diyabet olarak yanlış tanı alması MODY için popülasyon temelli prevalans çalışmalarını güçleştirmektedir. İngiltere'de bir prevalans çalışmasında 1 yaş üzerinde minimum 10,8/100.000 olarak rapor edilmiş(6); Amerika'da ise 20 yaş altında minimum 2,1/100.000 olarak belirtilmiştir(5).Yapılan bir çalışmada 45 yaşından önce diyabet tanısı konmuş bireylerin % 5'inin MODY diyabet olduğu ve bunların % 80'inin tip 1 veya tip 2 diyabet olarak yanlış tanı aldıklarını belirtmektedir(4).

MODY’de hastalığa neden olan genlerin sıklığı toplumlar arası fark gösterebilmektedir. Bugüne kadar MODY ‘e sebep olduğu ortaya konmuş olan OMIM veritabanında 14 adet gen tanımlanmıştır. Bu genler *GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, PDX1, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK, ABCC8, KCNJ11, APPL1*’dir.

Kanada’da yapılmış olan bir çalışmada vakaların çoğunluğunu *GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, ABCC8* ve *KCNJ11* genlerindeki mutasyonların oluşturduğu ancak %20’sinde bu 6 gende mutasyon saptanmadığı bildirilmiştir(72).Yapılan çalışmalarda *GCK-MODY* ve *HNF1A-MODY* en yaygın görülen MODY tipleri olarak gözükmektedir. MODY fenotipi oluşturabilecek yeni genler tanımlanmakta ve diyabet patogenezindeki rolleri araştırılmaktadır. Birçok MODY ile ilişkili genin henüz tanımlanmamış olduğuna inanılmaktadır.

Türkiye’de bugüne kadar MODY diyabetin moleküler genetik tanısı ile ilgili yayınlanmış iki çalışma bulunmaktadır. Çalışmalardan birinde Anık ve ark. tarafından(92), MODY için uygun klinik ve laboratuvar kriterlerini taşıyan 42 Türk çocuk, MODY’e neden olduğu bilinen 11 gen (*GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, PDX1, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK*) açısından analiz edilmiş, toplamda 15 hastada (%36) olmak üzere, 8 hastada *GCK*, 2 hastada *HNF1B*, 1 ‘er hastada ise *HNF1A, IPF1, PAX4, INS* ve *BLK* mutasyonu tespit edilmiştir. Diğer çalışmada ise Ağladioğlu ve ark.(93) MODY diyabet düşündükleri 43 hastayı MODY’e neden olduğu bilinen 11 gen(*GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, PDX1, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK*) açısından analiz etmişler ve 28(%64) hastada mutasyon saptamışlardır. Bunların 18 tanesinde *GCK*, 4 hastada *HNF1A*, 2 hastada *NEUROD1*, 1 hastada *HNF1A* ve *HNF4A*, 1’er hastada ise *HNF1B, HNF4A, PDX1* mutasyonu saptamışlardır.

Biz ise yaptığımız çalışmada klinik olarak MODY diyabet olabileceği düşünülen, birbiriyle ilişkisiz, 35 hastayı MODY diyabete sebep olduğu ortaya konmuş 13 gen(*GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, PDX1, NEUROD1, KLF11, CEL, PAX4, INS, BLK, ABCC8, KCNJ11*) açısından analiz ettik ve 11 hastada mutasyon saptadık. 2 hastada *GCK*, 2 hastada *CEL*,1’er hastada ise *HNF1A,KLF11,BLK,NEUROD1,ABCC8*,1 hastada ise *HNF1A,HNF4A* ve *WFS1* geninde mutasyon tespit edildi.

Bazı Avrupa ülkelerinde yapılan çalışmalarda İngiltere, Hollanda, Danimarka, Norveç’te en sık mutasyon saptanan MODY geni *HNF1A* iken; İspanya, İtalya, Fransa, Almanya ve Çek Cumhuriyeti’nde en sık *GCK* geninde mutasyon saptandığı görülmektedir(6,143).

MODY tiplerinden ilk tanımlanan ilk 5 tip (tip1-5), en iyi incelenmiş ve en iyi tanımlanan tiplerdir. Diğer alt tipler nadir olup bugün itibariyle elimizde klinik özellikleri ve tedavi seçeneklerine ilişkin yeterli veri mevcut değildir. Çalışmalarda çocuklarda ve yetişkin yaş grubundaki bireylerde mutasyon saptanan genlerin frekansı arasında fark olduğu görülmektedir; bunun yanında hastalık başlama yaşı ve insülin gereksinimleri aynı aile bireyleri arasında bile değişkenlik göstermektedir(144,145). Dördüncü ve beşinci dekatlarda başlayan MODY vakaları literatürde mevcuttur(146).

Çalışmamızda ise mutasyon saptanan 11 hastanın tamamında en az iki kuşakta diyabet öyküsü mevcuttu.3 hastamızda BLK,HNF1A ve NEUROD1 geninde de novo mutasyon geliştiği saptandı; bunun dışında 3 ailede ise KLF11,NEUROD1,GCK genlerini içeren segregasyon analizleri sürmektedir. Slovakya ve Çek Cumhuriyeti kohortundan yakın zamanda yayınlanmış olan bir çalışmada aile öyküsü olmayan MODY'lerin %7,3'ünde, tüm MODY'lerin ise %1,2'sinde *de novo* mutasyon olduğu rapor edilmiştir (147).

MODY ile Tip 1 DM, Tip 2 DM klinik bulgularında benzerlikler olmasından ötürü bu hastalar arasında ayırıcı tanı yapılması gerekmektedir(148). Başvuru yaşı özellikle küçük çocuklar için ayırıcı tanı yardımcıdır. Bilindiği gibi dünya genelinde tip 1 diyabetin başvuru yaşı küçülmekte, 0-4 yaşta başvuru sıklığında artış gözlenmektedir. Buna karşılık tip 2 diyabet 10 yaş altında nadir olarak saptanmaktadır ancak bu konuda şu an için sınırlı çalışmalar mevcuttur(56,149). Çocukluk çağında tip 2 diyabet MODY ile de karışabilmektedir. MODY için hastalarda obezite olması çok beklenmemesine rağmen bazı MODY hastalarında obezite saptanmıştır. MODYli çocuklarda obezite, tip 2 diyabete göre daha az görülmekte, ebeveynlerinden birisinin diyabetli olma olasılığı ise daha yüksek saptanmaktadır. Tip 2 DM olan hastaların akrabalarında %84'e varan oranlarda diyabet öyküsü pozitifliği rapor edilmiştir. Yine İngiltere'de yapılan çalışmada MODY hastalarının %50'sinde fazla kilo olduğu rapor edilmiştir. Ayrımda fikir verse de obezite ve aile hikayesi tek başlarına tip 2 diyabet ve MODY ayırıcı tanısında kesin bir gösterge olmaktan uzaktırlar(38,56,150).

Thanabalasingham ve ark. 30 yaş altında diyabet tanısı almış olanlarda; hastanın aile öyküsüne, otoimmün durumuna ve insülin rezistansı bulguları varlığına bakılmaksızın tanı almasından 3 yıl geçmesine rağmen rezidüel insülin sekresyonu olan (tespit edilebilir c-peptid) bireylerde moleküler çalışma yapılmasını önermiştir. Ayrıca klasik MODY düşündürülen kriterlere ek olarak C-peptid varlığı ve metabolik sendrom yokluğunun eklenmesinin tanı hassasiyetini iki kat artırdığını belirtmişlerdir(148).

MODY diyabet tanısına götüren kesinleşmiş klinik kriterler bulunmama ile birlikte geniş serilerde yapılacak genetik analizler sonucunda hangi klinik kriterlerin MODY için daha

spesifik olduğu ortaya koyulabilecektir. Bu çalışmalar genotip-fenotip korelasyonu açısından da literatürdeki eksikliği de gidermek adına önem arz etmektedir.

2010 yılında İngiltere’de yapılan bir çalışmada MODY hastalarının moleküler genetik nedenin gösterilerek tanı almalarının diyabet tanısı aldıktan ortalama 13 sene sonra olduğu saptanmıştır; yine aynı çalışmada MODY hastalarının %80’den fazlasının Tip 1 diyabet veya Tip 2 diyabet olarak yanlış tanı aldığını ortaya koymuştur(6). Genellikle insülin kullanan hastalar Tip 1, kullanmayan hastalar Tip 2 diyabet tanısı almaktadır. Bakılan otoantikörlerin negatif olması, diyabet tanısı konduktan 3 yıl geçmiş olmasına karşın(diyabetin balayı dönemi dışında) C-peptid düzeyi 0,2 mmol/l’nin üzerinde saptanıyorsa Tip 1 diyabet tanısından uzaklaşmak gerekir. İnsülin direnci bulguları olmayan, ailesinde normal vücut ağırlığına sahip diyabeti olan kişiler varlığında da Tip 2 diyabet tanısı varsa tekrar gözden geçirilmelidir(38,136).

Yeni tanı konulan tip 1 diyabette %80-90 gibi oldukça yüksek oranda çocuk olguda ICA(adacık hücre antikoru) pozitif bulunur. Bir hastada ICA titresinin yüksek bulunması, halen bir miktar beta hücresinin mevcut olduğunun ve bu hücrelerin destrüksiyonunun devam ettiğinin göstergesidir. Zaman içinde hedef dokunun iyice azalması ile titre düşer ve tip 1 diyabet tanısından 10 yıl sonra vakaların çok azında (<%5) ölçülebilir değerde kalmaktadır. İnsülin otoantikörleri(IAA) β -hücresine spesifik otoantikördür. Yeni tanı konulan tip 1 diyabetli çocukların %50- 70’inde insülin otoantikoru (IAA) pozitif bulunur. Buna karşılık erişkin hastalarda sadece %20-30 olguda insüline karşı otoantikör vardır. Hasta dışardan insülin alıyorsa bu test sağlıklı sonuç vermez.GAD65 sadece β -hücreleri değil, tüm pankreas adacık hücrelerinden ekprese edilmektedir, bu nedenle GADA pozitif olan hastada gelişen antikör tüm adacık hücrelerine karşıdır. Yeni tanı tip 1 diyabetlilerin %70-80 gibi önemli bir kısmında GADA pozitif bulunur ancak normal popülasyonda bulunma oranı ICA’ya kıyasla daha fazla olarak saptanmaktadır (%2-3)(151). Diyabete özgü otoimmün antikörler, tip 1 diyabetin erken tip 2 diyabet ve MODY diyabet ayırımında, erişkinde gizli otoimmün diyabet (LADA) vakalarının tesbitinde yarar sağlamaktadırlar. Yeni tanı alan T1DM hastalarının %87-94’ünde anti-GAD ve/veya anti-IA-2 antikörleri pozitif saptanırken, moleküler olarak tanısı doğrulanmış MODY hastalarında bu antikörlerin pozitifliği, normal toplumla benzer şekilde %1’in altında olarak saptanmaktadır (92,152). Çalışmamızda da mutasyon tespit edilen 11 hastada antikör pozitifliği mevcut değildi. Daha önce yapılan bir çalışmada genetik analiz ile konfirme edilmiş olan 508 MODY hastasında otoantikör pozitifliği %1’den daha azında saptanmıştır(152), bir diğer yayında ise klinik anlamlı MODY diyabet şüphesi olan

otoantikor (+) olan hastaların MODY açısından analiz edilmesi gerektiği hakkında görüş belirtilmiştir(4).

Yakın zamanda, literatürde MODY kliniği gösterip sonrasında Tip 1 DM geliştiren aileler de rapor edilmiştir. GCK MODY ve HNF1A MODY olarak izlenen iki ayrı vakada zaman içinde otoantikor pozitifliği gelişip insülin tedavisine ihtiyaç duydukları ortaya konmuştur(153). Başka bir çalışmada Urbanova ve ark. (154) HNF1A-MODY ailesinde ICA pozitifliği göstermişlerdir. MODY tanısı, Tip 1 diyabet geliştirme riskini dışlamamaktadır. Bu nedenle sıradan tedaviler başarısız olduğunda ve metabolik kontrol beklenmedik şekilde kötüye gittiğinde hastalarda otoimmünite araştırılmalıdır.

McKinney ve ark. (155), diyabetli hastalarda otoimmünite ve monogenik diyabetin en sık gözükken iki tipini (MODY 2 ve 3) araştırdığı çalışmasının sonunda, MODY 3'e sahip herhangi bir hasta tespit edememiş; ancak LADA grubundaki 37 hastanın 1'inde (% 2,7) ve T2DM grubundaki 54 hastanın 1'inde (1,9 %) GCK geninde mutasyon saptamışlardır. Çalışmacılar, MODY ile otoantikor ilişkisinin gösterilebilmesi için farklı MODY kohortlarında yapılan moleküler çalışmalarda otoantikor titresi ve prevalansına bakılması gerektiğini ve ICA pozitifliği olan hastaların izleminde ICA antikor kinetiğinin değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamışlardır(154).

Çalışmamızda hastaların tamamında otoantikorlar çalışılmış ve 1 hastada ICA pozitifliği, 1 hastada da ICA ve anti-insülin antikorları birlikte pozitif olarak saptanmış ancak bu iki hastada MODY ile ilişkili genlerde bir mutasyon saptanmamıştır. Bu iki hasta dışında hastalarımızın tamamında diyabet otoantikorları negatif olarak saptanmıştır.

Otoantikor (+) MODY mutasyonlu olan olgular için otoimmüniteye karşı bir genetik yatkınlığa sahip olma ihtimalinin yanında, MODY genlerindeki bazı mutasyonların, β hücre enzimlerinin yapısal ayarlamalarına karşı otoimmünite gelişimiyle ilişkili olabileceğini veya transkripsiyon yolağını otoimmünitedeki rolleri bilinmeyen genlerle paylaştığı ve bunun sonucunda otoimmünite gelişebileceği bu sayede T1DM gelişiminde de etkili olabileceklerine dair yayınlarda görüşler mevcuttur (153).

2017'de Norveç'te yapılan bir çalışmada 15 yaş altında diyabet başlangıcı olan 469 otoantikorları negatif olan (GAD and IA-2 autoantibodies)ve 469 otoantikorları (+) olan diyabetli çocuklarda MODY genlerinden HNF1A, HNF4A, HNF1B, GCK and INS taranmış ve antikor(-) çocuklardan oluşan grupta MODY'nin sıklığını % 6,5 olarak saptanmış olup, bu MODY vakalarının üçte birinin ise klinisyenler tarafından tanınmadığı ortaya konmuştur. Kesin tanının tedavi ve genetik danışmanlık için önem taşımasından dolayı, rutin teşhislerde

tüm antikor negatif çocukların moleküler taramaları düşünülmesi gerektiği ifade edilmiştir(142).

Daha önce klinik olarak Tip 2 diyabet tanısı konmuş olan bir hasta grubunda yapılan bir çalışmada ise insülin rezistansı bulguları olmayan 15 hastanın 2 tanesinde HNF1A(MODY3) mutasyonu saptanmıştır(152). Bir diğer çalışmada da erken başlangıçlı tip 2 diyabet olarak sınıflandırılmış olan 291 hastanın 12'sinde (%4) HNF1A(MODY3) ve HNF4A(MODY1) mutasyonu saptanmıştır(156). Buradan hareketle başlangıç yaşı ve hastalarda insülin rezistans bulgularının olup olmamasının tanı koyarken dikkatle değerlendirilmesi gerektiğini söyleyebiliriz.

Diyabette doğru bir klasifikasyon, doğru tanı koyulması tedavi yaklaşımlarını değiştirdiğinden önem arz etmektedir. .MODY tanısı aldıktan sonra uygun tiplerde kullandığı insülin sonlandırılıp, oral antidiyabetik kullanımından fayda gören bir hastada hayat konforundaki değişim dikkate değer boyuttadır. Pihoker ve ark. 2013 yılında yayınladıkları diyabetli çocuklardan oluşan geniş bir Amerikan kohortunda MODY hastalarının moleküler tanı öncesi %24'ünün sulfonilüre veya diyet tedavisi olarak uygun tedavi edildiğini ancak HNF1A ve HNF4A ilişkili MODY olgularının yarısından fazlasında insulin veya metformin ile tedavi edildiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada GCK MODY olgularının da yarısının insulin veya oral antidiyabetik ile tedavi edildiğini ortaya koymuşlardır(5). Tedavi yaklaşımlarında olabilecek değişiklikler açısından bakacak olursak MODY'nin en sık görülen tipi olan HNF1A gen mutasyonlarında sulfonilüreler son derece etkinken tip 2 diyabette metformin daha iyi bir tedavi seçeneği oluşturabilir. GCK gen mutasyonlarına bağlı MODY olgularında hiperglisemi hafiftir, çoğunlukla başka nedenler yüzünden incelenirken farkedilmektedir, komplikasyon riski düşüktür, bu nedenle diyet tedavisi çoğu zaman yeterli olmaktadır. KCNJ11 ve ABCC8 gen mutasyonlarına bağlı neonatal diyabeti olan çocukların önemli bölümü sulfonilüre tedavisine iyi yanıt verir, HNF1B-MODY'e sahip hastalar genellikle sulfonilüreye cevap vermez ve tipik olarak insülin tedavisi gerektirir. Dahası, bu hastalardan mikrovasküler komplikasyonlar geliştiği bildirilmiştir(157). Bu sebeple bu formların genetik incelemelerle ayırt edilmesi önem arz etmektedir. Nadir görülen MODY tiplerinin fenotipik karakteristikleri, klinik progresyonları hakkında yeterli bilgi henüz ortaya konmadığından bu gruplarda spesifik tedavi yaklaşımları önerilmemektedir. Tip 2 diyabette ise genetik bulgular henüz tedavi yaklaşımını belirleyecek düzeyde değildir, ancak MODY ile arada kalan vakalarda genetik analiz yapılması önerilmektedir(38).

Yakın zamana kadar, monogenik diyabet için moleküler genetik test olarak, kodlayan ve regülatuar bölgelerde baz substitüsyonları ve küçük indelleri (ekleme veya silinmeler) tespit etmek için yalnızca Sanger dizileme kullanılmaktaydı. Sanger diziliminde esas problem, analizin genellikle hastaların klinik öykülerine göre seçilen küçük bir gen alt kümesi ile sınırlandırılması idi. Üstelik, genlerin analizin uzun sürmesi ve maliyetin pahalı olması nedeniyle çoğu durumda, sadece GCK ve HNF1A analiz edilmekteydi. Bu yaklaşım ile MODY için test edilen olguların sadece % 15'i genetik olarak doğrulanabilmekteydi (6,7).

Monogenik diyabet varlığı günümüzde yeni nesil dizi analizleri ile yüksek duyarlılıkla gösterilebilmektedir. Hedeflenmiş panellerle, ilişkili genlerin mutasyon varlığı açısından analizi yapılmaktadır. Yeni nesil dizi analizi çalışmalarında farklı algoritmalar kullanılarak delesyonların da tespiti mümkün hale gelmektedir. 2007 yılında yapılan bir çalışmada MODY hastalarının %1-3'lük kısmında delesyon mutasyonu pozitifliği olduğu bildirilmiştir(158).Mody ilişki genlerden GCK, HNF1A, HNF1B ve INS geninde delesyon saptanan olgular literatürde tanımlanmıştır. HNF1B geninde saptanan mutasyonların yarısının delesyon mutasyonu olduğunu vurgulamakla birlikte GCK genindeki mutasyonların %15lik kısmını delesyon mutasyonları oluşturmaktadır (96,159). HNF1A ve INS geninde ise çok nadir olarak delesyon mutasyonu pozitifliği rapor edilmiştir. Delesyonların araştırılması için bugün en yaygın kullanılan yöntem Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) yöntemidir; ancak çalışmamızda kullanılan yeni nesil dizi analizi ve Long Range PCR kombinasyonu yöntemiyle birçok intron da dahil incelemeler yapma şansı olduğundan delesyonların yakalanması olasılığı fazladır. Bununla birlikte MODY genlerinin delesyonlarının da literatürde nadir olması nedeniyle çalışmamızda mutasyon saptamadığımız olgularda delesyon olma ihtimalinin zayıf olduğunu düşünüyoruz.

Prematür stop kodon oluşumu ile sonuçlanan bir “nonsense”veya küçük insersiyon ve delesyon mutasyonları veya korunmuş bir “splice site”etkilenmesiyle sonuçlanan bir varyant olduğunda yüksek ihtimalle hastalık nedeni patolojik bir varyant olarak değerlendirilmektedir. Bunun dışında missense(yanlış anlamlı) mutasyonların hastalık yapıcı olduğunu öngörmek fonksiyonel analizler olmadığında çok da kolay olmamaktadır. Yeni tanımlanan bir varyantın patojenitesini belirlemede altın standart yöntem fonksiyonel çalışmalar olsa da ailede segregasyonun gösterilmesi, biyoinformatik tahmin yazılımları (insiliko analizler) da bu amaçla kullanılabilen ve varyantların patojenitesini değerlendirmede fikir vermektedir (132,160,161).

Bugüne değin 14 genin MODY'e neden olduğu gösterilmiştir. Tayland'da yapılan bir çalışmada ise 6 bilinen MODY geninin (HNF-4 α , GCK, HNF-1 α , IPF-1, HNF-1 β , NeuroD1) olası patojenik mutasyonları klasik MODY (% 19) ve erken başlangıçlı tip 2 diyabetin (% 10) yalnızca küçük bir bölümünü oluşturduğu, tanımlanamayan genlerin MODY ve erken başlangıçlı tip 2 diyabetli Taylandlı hastaların çoğunda keşfi beklediği ortaya konmuştur (162).

GCK ve HNF1A MODY birlikte Avrupa genelinde MODY olgularının büyük çoğunluğunu oluşturmakta ise de Lorini ve ark. İtalya'da yaptıkları çok merkezli bir çalışmada MODY olabileceği düşünülen hastaların % 15-65'inde bu iki gende mutasyon saptamadıklarını rapor etmişlerdir(75). Biz yaptığımız çalışmamızda da Mody etyolojisinde ortaya konmuş bu 14 genin 13'ünü taradık; ancak hastaların hastaların %64'lük bir kısmında mutasyon saptanmamıştır. Literatürde yapılmış benzer çalışmalarla uyumlu olarak diyebiliriz ki bu sonuçlar monogenik diyabete neden olan henüz tanımlanmamış genlerin olduğunu bizlere göstermektedir.

GCK MODY

Glikokinaz, glikolitik yolağın ilk reaksiyonunu katalize eden GCK geni tarafından kodlanan, glikozun G6P'a (glikoz-6-fosfat) dönüşümü yapan heksokinaz ailesine ait bir enzimdir.7p15.3-p15.1 bölgesinde yer alan GCK geni, glikoz metabolizmasının anahtar düzenleyicisidir ve pankreatik beta hücrelerinde glukoz bağımlı insülin sekresyonu ve karaciğer hepatositlerinde glikojen sentezi üzerinde merkezi bir rol oynamaktadır. GCK katalitik aktivitesinin yetersizliği, anormal glikoz seviyelerine yol açar(163).

Bugüne kadar GCK geninde 700'den fazla mutasyon rapor edilmiştir(missense, nonsense, frameshift, splice site, promoter mutasyonları ve delesyonlar)(159).Bu mutasyonların büyük bir çoğunluğu ise İngiltere,Fransa ve İspanya'dan rapor edilmiştir.

GCK geninde heterozigot fonksiyon kaybettirici olan mutasyonlar MODY tip 2'ye yol açarken, homozigot veya birleşik heterozigot mutasyonlar neonatal diyabet kliniğine yol açmaktadır(164). Ayrıca GCK geninde aktive eden heterozigot mutasyonlar bebeklik döneminde hiperinsülinemik hipoglisemi tablosu ile ilişkilendirilmiştir.

GCK geninde ilk mutasyon MODY tip 2 olgusu araştırılırken saptanmıştır. MODY 2 veya GCK-MODY olguları çoğunlukla hafif açlık hiperglisemisi ile saptanmaktadır. Rutin kontroller sırasında tesadüfen saptanan hafif, genellikle asemptomatik açlık hiperglisemisi ile karakterizedir. GCK-MODY hastalarında çoğunlukla müdahale gerektirmeyen hiperglisemi

ile ilgili bir aile öyküsü vardır. MODY tip 2'nin bir yaygın prezentasyonu da sağlıklı genç bayanlarda gestasyonel diyabettir ve hamilelikten sonra da devam edebilir.

Sadece hafif hiperglisemi ile seyretmesi, eşlik eden klinik anormallikler bulunmaması nedeni ile toplumda pek çok hasta tanı alamamaktadır. GCK MODY için 1.1/1000 prevalans ortaya konmuştur ve gen tam penetrans göstermektedir(165). GCK-MODY varlığının gebelik esnasında diyabet araştırması yapılırken ortaya çıkması sık karşılaşılan bir durumdur. Gestasyonel diyabetes mellitus tanısı almış bayanlarda GCK-MODY tahmini prevalansı 9/1000 olarak ortaya konmuştur(165). Bu hastalarda poligenik Tip 2 DM gelişim riski de literatürde normal popülasyondaki bireylerle eşit risk taşıdıkları şeklinde belirtilmektedir ve gebelik esnasında da herhangi bir tedaviye çoğunlukla ihtiyaç duymadıkları, diyabete bağlı gelişecek komplikasyonlar açısından da herhangi bir risk taşımadıkları belirtilmektedir; ancak fetal aşırı büyüme gibi bir durum olduğunda gebelerde insülin kullanılabilir. Literatürde MODY ve eşlik eden tip 1 diyabeti olan olgular nadir bildirilmiştir. Bildirilen bir olgu 4 yaşındaki kız olgudur. Ailesinde GCK MODY kliniği ve moleküler tanı almış bireyler olan, otoantikörleri negatif olan kız çocuğunda birkaç ay sonra ICA(adacık hücreli antikor) ve anti-GAD antikor pozitifliği gelişmiş ve hasta insülin tedavisi gerektirmiştir. İnsülin tedavisi başladıktan 6 sene sonra insülin ihtiyacı 0.8 U/Kg ve HbA1C: 6.7% olarak belirtilmiştir(153). Ortega ve ark. tarafından bildirilen diğer bir olguda bir GCK-MODY ailesinde bir bireyde otoantikör pozitifliği olduğu ancak insülin kullanımı veya oral antidiyabetik bir ajan kullanımı gerektirmediği rapor edilmiştir(166). Mody, klasik olarak β hücresi otoimmünitesi ile ilişkili değildir ve GCK geninin diyabette otoimmünite ile bir ilişkisi yoktur. Bu olgularda otoimmüniteye karşı bir genetik yatkınlığı miras almış olma ihtimalinin yanında, MODY genlerindeki bazı heterozigot mutasyonların sonucu olarak β -hücreli enzimlerin yapısal ayarlamalarına karşı otoimmünitenin gelişimi ile sonuçlanmış da olabileceği tartışılmakta olan görüşlerdir(166). Asemptomatik hiperglisemisi olan çocuklarda MODY sıklığının Tip 1 DM'den daha fazla olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur. Rastlantısal olarak şeker yüksekliği saptanan çocuklarda yapılan araştırmalarda %11-43'e varan oranlarda GCK geninde mutasyonlar olduğu rapor edilmiştir(75).

Çalışmamızda iki hastada GCK geninde mutasyon tespit ettik. Bunlardan bir tanesi daha önce literatürde tanımlanmamış olan GCK geni Ekzon 5'te heterozigot c.537delG (p.Asn180ThrfsTer25) mutasyonu, diğeri ise GCK geni Ekzon 4'te heterozigot c.448-450delTTC (p.150delF) mutasyonudur. c.537delG varyantının frameshift etkiye sebep olması, ebeveynleri içeren segregasyon analizleri ve aile bireylerinde klinik ve laboratuvar sonuçlar beraber değerlendirildiğinde patojenik bir varyant olarak değerlendirdik. Hastanın babasında

ilk olarak 25 yaş civarı başka nedenlerle tetkik edilirken saptanan, açlık kan şekerlerinin 150-160 mg/dl civarı seyrettiği ve oral antidiyabetik (metformin) kullanmakta olduğu not edildi. Segregasyon analizleri sonucu hastanın varyantı babadan kalıtıldığı saptandı. Hastamızda şu anda insülin gerektirmeyen açlık kan şekerlerinin 100-150mg/dL arasında seyrettiği ve diyet önerileriyle takip edilen bir şeker öyküsü mevcuttur. Hastamızın ve babasının kliniği GCK-MODY ile uyumlu olarak değerlendirildi.

Tespit edilen diğer mutasyon (p.150delF) literatürde daha önce tanımlanmıştır ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamıştır. 2001 yılında İtalya’da yapılan bir çalışmada p.150delF olan bir olgu MODY diyabet fenotipi ile ilişkilendirilmiştir(167). HGMD’de aynı lokasyonda ortaya konmuş mutasyonlar mevcuttur.(CM030442, CM097114, CM980893) ve bu mutasyonlar MODY ve hiperglisemi ile ilişkilendirilmiştir. Hastanın ebeveynlerinden moleküler analiz yapma imkanı bulamadık. Hastanın babasında şeker öyküsü yoktu annede ise GCK-MODY ile uyumlu olarak açlık kan şekerlerinin 160mg/dL’yi geçmediği ve şeker yüksekliği için herhangi bir ilaç kullanmadığı not edildi. Eldeki insülin analiz verileri, varyantın yerleştiği lokasyonda aminoasidin evrimsel süreçte iyi korunmuş olması, aile bireylerindeki klinik ve laboratuvar sonuçlar beraber değerlendirildiğinde hastanın annesinden kalıtıldığını düşündüğümüz p.150delF varyantını patojenik olarak değerlendirdik. Hastanın ebeveynlerinden moleküler analiz yapılması ve klinik ve laboratuvar değerlerinin rutin takiplerle kontrol edilmesi planlanmıştır.

Türkiye’de yeni nesil dizi analizi ile yakın zamanda yapılmış olan iki çalışmada da GCK-MODY en sık gözükten MODY tipi olarak görülmektedir(92,93). Neonatal diyabet vakalarının çoğunluğunu monogenik defektler oluşturmaktadır. Türkiye’den yayınlanan bir çalışmada 22 neonatal diyabetli olgunun 6’sında homozigot GCK mutasyonu saptanmıştır ve yıllık kalıcı neonatal diyabet insidansını 48000 canlı doğumda 1 olarak ortaya koymuşlardır(168). Bu çalışmanın sonuçlarına göre GCK-PNDM, Türkiye’deki neonatal diyabetli vakaların %25’ten fazlasını teşkil etmektedir. Neonatal diyabetlilerde geniş serilerde yapılmış moleküler genetik çalışmalar fazla olmamakla birlikte bu oran GCK-PNDM için literatürdeki bugüne kadar bildirilen en yüksek orandır. Üniversitemiz Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalında aralarında akrabalık bulunan bir ailede kalıcı neonatal diyabet nedeniyle takipli olan bir olguda GCK geninde homozigot c.1255delT (p.Phe419Serfs*12) mutasyonu saptanmış ve şu anda takipleri rutin kontrollerle devam etmektedir(164). Türkiye’den bildirilen bir başka kalıcı neonatal diyabetli bir olguda ise GCK geninde homozigot T168A mutasyonu saptanmıştır(169). Ülkemizde ve akraba evliliğinin sık olduğu toplumlarda kalıcı

neonatal diyabet etyolojisi araştırılırken GCK geninde homozigot mutasyon kaynaklı olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Yapılan bir çalışmada düzenli insülin veya oral antidiyabetik ilaç tedavisi alan 20 kişide MODY tip 2 tanısı aldıktan sonra tedavi stoplanmış ve uzun dönem takiplerinde HbA1c değerlerinde anlamlı bir yükselik göze çarpmamıştır(170). Bu durumda yapılmış geniş vaka serili bir çalışma ortaya konmamış olmakla birlikte genellikle GCK-MODY'li hastalarda hafif bir HbA1C yüksekliği saptanmaktadır(171).Yapılan çalışmalarda GCK-MODY'li hastalarda ilaçların glisemik kontrole çok bir etkilerinin olmadığı belirtilmekte ve çoğu hastada antidiyabetik ajanların kullanımının gerekmediğine dair bir konsensüs mevcuttur(38,172).

GCK-MODY olgularının tip 1 veya tip 2 diyabet tanısı olarak gereksiz insülin veya oral antidiyabetik ajanlarla tedavi edildiklerine dair yayınlar mevcuttur(173). Bu hastalar diyabetin vasküler komplikasyonları açısından düşük risk altında olduklarından takipleri tip 1 veya tip 2 diyabete göre daha az katı olarak planlanabilir(86). Aile bireylerinin de taraması açlık kan şekeri ve HbA1C değerleri ile kolaylıkla yapılabilir. Hastaların moleküler tanı almaları daha doğru takip edilebilmelerine olanak sağladığı gibi işe başvuru ve sigorta ile ilgili konularda da önem arz etmektedir.

HNF1A-MODY

Yapılan bir çalışmada HNF1A-MODY'li vakaların %40'ının 25 yaş üstünde oldukları ortaya konmuştur (174). Buradan hareketle geç başlangıçlı olgularda öncelikle düşünülmesi gereken klinik ekspresivite farklılıklarının da olduğu bir MODY tipidir. HNF1A geni mutasyonları için aynı ailede bile klinik farklılıklar görüldüğü ortaya konmaktadır. Mutasyon tiplerinin ve genin hangi bölgesinde yerleştiğinin de diyabetin gelişme yaşı, vücut kitle indexi gibi faktörleri etkilediği çalışmalarda belirtilmektedir(89).

MODY tip 3 için penetrans yaş arttıkça artmaktadır ve bir çalışmada 50 yaş civarında ise tam penetransa ulaşmakta olduğu (175), diğer bir çalışmada ise mutasyon taşıyanların %63'ünde 25 yaşından önce diyabet geliştiği; 55 yaşından önce ise %96'sında diyabet geliştiği ortaya konmuştur(71). Hastalarda ketoasidoz nadir gözükmesine rağmen bir kısım HNF1A MODY hastası, klinik özellikler ortaya çıktığı zamanlarda Tip 1 DM tanısı almaktadır. Bu hastalarda doğru tanı için otoantikörlerin negatif olması ve aile öyküsü yönlendirici olmalıdır. HNF1A böbreklerde de eksprese olmaktadır ve mutasyon taşıyan bireylerde glukozun böbreklerden reabsorbsiyonu bozulmuştur bu nedenle tetkikler yapılırken bu açıdan hastalar

değerlendirilmelidir. Makrovasküler komplikasyonlar açısından MODY3'lü hastaların genel popülasyona göre daha fazla risk altında oldukları belirtilmektedir(176).

Diğer diyabet çeşitlerinde olduğu gibi diyabetik retinopati ve nefropati gelişimi açısından takip edilmeleri gerekmektedir. HNF1A-MODY olgularının büyük bir kısmı erken başlangıçlı tip 2 diyabet gibi prezente olmaktadır. HNF1A-MODY hastalarının% 30'unda vücut ağırlığı normalden fazla saptanmaktadır ve ailesel, erken başlangıçlı T2D ile ayırıcı tanı yapılması güçtür. Dahası, vakaların yarısında HNF1A-MODY 25 yaşın üstündeki hastalarda teşhis edilmektedir. Tüm bunları göz önüne aldığımızda HNF1A-MODY tanısında kullanılan klasik ölçütler HNF1A-MODY hastalarını tanımlamak için ne hassas, ne de spesifik gibi görünmektedir. Yapılan bir çalışmada güçlü bir HNF1A-MODY klinik saptaması ile toplamda olguların %15'inin saptanabildiği ortaya konmuştur. Son zamanlarda, hs-CRP(yüksek duyarlıklı C-reaktif protein)'nin HNF1A için yeni bir biyolojik belirteç olabileceği saptanmıştır(177). HNF1A-MODY hastalarında, yüksek sensitiviteli C-reaktif protein (hs-CRP) düzeylerinin, tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, HNF4A-MODY ve GCK-MODY olmak üzere diğer diyabet tiplerinden daha düşük olduğu gösterilmiştir ve hs-CRP, HNF1A-MODY'li hastaların tanımlanmasına izin verebilir denilmektedir(177-179); ancak erken başlangıçlı tip 2 diyabet olgularını HNF1A-MODY hastalarından klinik uygulamada ayırım yapmak için yeterli olmadığını belirten çalışmalar da mevcuttur(179).

Asemptomatik HNF1A mutasyonu olan kişiler ise rutin aralıklarla izlenmeli bu hastalara obezite diyabet gelişimini hızlandırdığından kilolarını normal sınırlar arasında tutmaları gerektiği belirtilmelidir.

Çalışmamızda HNF1A-MODY olgusunda ekzon 4'te daha önce literatürde tanımlanmış ve MODY diyabet ile ilişkilendirilmiş c.862G>A, p.G288R (rs539507291) missense mutasyonunun de novo olarak geliştiğini saptadık. Hastada tespit edilen varyantin olası patojenik etkisine dair in silico analiz verilerine baktığımızda Mutation Taster' göre "prediction disease causing" hastalık nedeni olduğu, SIFT skoru ise hastalık yapıcı olduğunu göstermektedir. Varyantin yerleştiği lokasyonda aminoasidin evrimsel süreçte korunmuş olduğu; farelerde, şempanze, Rhesus maymunu, ve tavuklarda korunmuş bölgede yerleşen bir değişiklik olduğu görülmektedir. Bu bulgularla birlikte değişikliğin patojenik bir varyant olduğu düşünülmüştür.

HNF1A geninde germline heterozigot mutasyon taşıyan bir bireyde ikinci alelinde gerçekleşecek bir somatik inaktivasyon sonucu %5-10 oranında karaciğerde adenom geliştirme riski rapor edilmiştir(180).Bu riskten dolayı bu hastalarda karaciğer ultrasonla

düzenli görüntülenmelidir; ayrıca östrojen içeren kontraseptifler de karaciğerde adenom gelişimini hızlandırdığından östrojen içerikli kontraseptiflerden kaçınılmalıdır.

MODY3 için genellikle düşük doz insülin kullanımı ile iyi bir kan şekeri regülasyonu sağlanabilmektedir. Ayrıca MODY 3 hastaları sulfonilüre tedavisine de yanıt vermektedirler. Yapılan bir çalışmada daha önce diyabet tanısı ile takipliyken moleküler analiz sonucunda HNF1A-MODY tanısı alan 43 hastanın 34'ünde tanı aldıktan sonra aldığı insülin stoplanıp sulfonilüreyle tedaviye devam edilmiştir. Bu hastaların 24'ünde 3sene geçmesine rağmen glikoz regülasyonunda herhangi bir problem gözlenmediği rapor edilmiştir(81).Yapılan çalışmalarda elde edilen veriler doğrultusunda bu hastalarda sulfonilüre'nin tedavide ilk adım olarak kullanılması gerektiği önerilmektedir(81).Diğer bir çalışmada da Tip 2 diyabetli hastalarda kullanılan dozlardan çok daha düşük sulfonilüre dozları ile kan şekerini kontrol etmek olası olduğu ortaya konmuştur(181).Yakın zamanda yapılmış olan bir çalışmada ise HNF1A-MODY tanısı almış olan pediatrik hastaların %40'ının hala insülinle tedavi edildiğini ortaya koymaktadır(182).

ABCC8-MODY

ABCC8 ve KCNJ11 genlerindeki mutasyonlar sonucu insülin sekresyon anormallikleri oluşmaktadır. Her iki genin fonksiyon kazandırıcı mutasyonları neonatal diyabetle (kalıcı veya geçici) ilişkilendirilmiştir ve sonrasında da çoğunlukla ilerleyen zamanlarda bu hastalarda diyabet geliştiği görülmektedir(183). Aynı genlerin fonksiyon kaybettiren mutasyonları çocuklarda hiperinsülinemik hipoglisemi tablosu oluşturmaktadır. Bu çocukların bazılarında medikal tedaviyle hiperinsülinemi tablosu düzelmekte ancak yıllar içerisinde diyabet geliştirdikleri ortaya konmuştur. Bu genlerdeki mutasyonlar ile hafif seyirli tip 2 diyabetli vakalar, gestasyonel diyabet ve sadece glukoz tolerans testinin bozuk saptandığı vakalar da ortaya konmuştur(184,185).

Ailesinde diyabet öyküsü ve neonatal dönemde şeker yüksekliği veya düşüklüğü hikayesi olmayan sadece hafif hiperglisemisi olan bazı olgularda ABCC8 geninde mutasyon saptanan vakalar literatürde tanımlanmıştır. ABCC8 gen mutasyonları sonucu bu kadar yaygın klinik ekspresyona sebep olan mekanizmalar bilinmemektedir. Bununla birlikte ABCC8/KCNJ11 mutasyonu olan bireyler sulfonilüre tedavisine oldukça hassastırlar, literatürde neonatal diyabet geliştikten sonra onlarca yıl insülin kullanan ABCC8 mutasyonu pozitif vakalarda dahi sulfonilüre tedavisiyle başarılı bir şekilde tedavi edildiği olgular mevcuttur(186).

Literatürde ABCC8 geninde p.(Ala1457Thr) mutasyonu saptanmış dört kuşakta da geç başlangıçlı diyabet öyküsü olan bir ailede şeker düzeylerinin zamanla diyetle regüle

olmadığından insülin veya sülfonilüre tedavisi gerektiren bireyler saptanmıştır. Bu ailede 4. ve 5. Dekatlarda diyabet geliştiren mutasyonu pozitif bireyler de saptanmıştır. Yetişkinlikte başlayan ABCC8 ilişkili diyabet olgularında sülfonilürelerle birlikte SGLT2 inhibitörlerinin birlikte kullanımının tedavide bir seçenek olabileceği yayınlarda belirtilmektedir.

Bir başka yayında ABCC8 geninde üç kuşakta da mutasyon taşıyan bireyler olan bir ailede fenotipin hafif bir hiperglisemi ile seyrettiği, ilaç tedavisi gerekmediği ve bu şekilde GCK-MODY gibi prezente olduğu bildirilmiştir(187).

ABCC8 genindeki değişken ekspressiviteyi açıklamak adına mutasyon tipi ve lokasyonu, genin ifadesini etkileyecek olan modifier genetik faktörler ve çevresel faktörlerin etkisi tartışılmaktadır(188).

Çalışmamızda ABCC8 geninde compound heterozigot formda iki varyant saptadığımız hastada c.1943G>A ve c.3393C>T değişikliklerinin her ikisi de insiliko analiz verileri, alel frekansı, evrimsel korunmuşluk durumu göz önüne alındığında patojenik varyantlar oldukları düşünülmüştür. Son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 90-130 mg/dl, tokluk kan şekerleri 130-200 mg/dL aralıklarında değişmekte ve insülin ihtiyacı 0,5 u/kg olarak saptanan vakamızda vücut kitle indeksi:17,7 kg/m²,c-peptid:0,87 olarak not edildi. Klinik ve laboratuvar bulguları MODY ile uyumlu olan hastadaki her iki varyant "Bulgular" bölümünde daha detaylı olarak irdelenmiştir. İki varyantı da annesinden kalıtıldığı ortaya koyulan hastanın annesinde şeker değerleri açısından bir anormallik saptanmadı ancak bir dönem normalden yüksek saptanan şeker değerleri öyküsü olması nedeniyle takipleri planlandı. Hastanın anneannesinde 40 yaş civarı başlayan geç başlangıçlı diyabet öyküsü olması, insülin gerektirmeyen oral antidiyabetiklerle regüle olması ABCC8-MODY liresetatür bilgileriyle uyumludur. Daha fazla veriye ulaşabilmek için ailede segregasyon analizleri devam etmektedir.

CEL-MODY

CEL-MODY terimi ilk kez Raeder ve ark. TarafındanNorveçli bir ailede otozomal dominant olarak kalıtılan ve çocuklukta ekzokrin pankreas disfonksiyonu erişkinlikte ise diyabet ile karakterize kalıtsal bir hastalık olarak tanımlanmıştır(189).CEL-MODY(MODY tip 8)tüm MODY diyabetli olguların %1'inden daha azında görülmektedir.CEL-MODY'nin erken safhalarında görülen ekzokrin pankreatik disfonksiyonun patogenezi bilinmemektedir.

Çalışmamızda 2 hastada CEL geninde mutasyon tespit ettik. Bunlardan biri literatürde daha önce tanımlanmış(rs756184460)olan c.277A>C (p.T93P) değişikliğidir.Bu değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamış olup insilico verilerde Mutation Taster

polimorfizm,SIFT ise tolerated(ılımlı) bir değişiklik olabileceğini öngörmektedir.ExAC veri tabanında alel frekansı 0.0001162 olan varyantın yerleştii lokasyonun evrimsel süreçte korunmuş bir bölge olduğu görölmektedir. Varyanti taşıyan annede şeker yüksekliği öyküsü saptanmaması,hastada son kontrolünde vücut kitle indeksinin 24 kg/m2 saptanması,otoantikörlerin negatif olması bu varyantın tip 2 diyabete katkıda bulunan nadir bir polimorfizm olabileceğini de düşündürmektedir.Diğer yandan CEL geninin penetrans düşüklüğü, ekspressivite değişkenliği görülen bir gen olması,kontrollerindeki laboratuvar bulgularının tip 2 diyabeti tam olarak desteklemiyor oluşu nedeniyle bu varyantın patojenitesini daha net değerlendirebilmek için ek çalışmalara gereksinim vardır.

Diğer hastada CEL geni intron 5'teIVS5-1G>A değişikliği heterozigot olarak saptanmıştır. Bu varyant daha önce literatürde saptanmamış olup yapılan segregasyon çalışmasında babanın aynı varyantı taşıdığı tespit edilmiştir. Human Splicing Finder insilico analiz programı varyantın splicing mekanizmasına etkisini patojenik olarak öngörmektedir. Hastanın klinik ve laboratuvar bulgularıyla tip 1 diyabet ile uyumlu gözükmesi muhtemelen CEL geni dışında başka lokuslarda da eşlik eden değişiklikler olduğu ile açıklanmıştır. Babanın yapılan kan kontrollerinde açlık kan glikozu 120 mg/dL ve HbA1c: 6.0 olarak saptanması hastada tespit edilen varyantın MODY mutasyonu olabileceğini desteklemektedir.Bu değişikliğin patojenitesi ile ilgili olarak daha fazla veri ortaya koymak üzere diğer aile bireylerini de içeren analizler sürmektedir.

BLK-MODY

B hücreli lenfosit kinaz (BLK), birçok otoimmün hastalık üzerinde önemli bir etkiye sahip olan B hücrelerinin bir inhibitörüdür, ancak otoimmün hastalıklarla olan bağlantısıyla ilgili kapsamlı analizi yapılmış değildir. Yapılan bir meta-analiz çalışmasında BLK (rs13277113, rs2736340, rs4840568) polimorfizmlerinin özellikle Asya popülasyonları ve SLE için otoimmün hastalıkların gelişimi için bir risk faktörü olabileceğini göstermektedir(190).

Bugüne kadar BLK geninde MODY ile ilişkilendirilmiş 5 nadir mutasyon saptanmıştır ve bunlardan bir tanesi non-synonymous bir varyant olan p.A71T mutasyonudur, diğer varyantlar 3'UTR bölgesinde tanımlanmıştır(117). BLK geni ekzon 4'te bulunup.A71T mutasyonunun daha önce 3 MODY ailesinde segregasyonu ortaya konmuştur. Borowiec ve ark. yapmış olduğu çalışmada mutasyonu taşıyan; ancak normoglisemik seyreden bireyler için tam olarak nedenin belli olmadığı; ancak MODY de dahil olmak üzere monogenik bozukluklar için değişken mutasyon penetrasyonu ve ekspresyonun çevresel ve genetik modifikatörlerden etkilendiği düşünülmektedir olarak yorumlamışlardır(117,191). 1000

Genom Projesi ve NHLBI Exom Dizileme Projesi verilerine göre, Avrupalılarda BLK c.211G> A / p.A71T(rs55758736) mutasyonu için minimum alel frekansı 0,012-0,013 olarak listelenmiştir. ExAC veritabanında ise minimum alel frekansı %1,16 olarak verilmiştir.

Fransa'da 2012 yılında yapılan bir çalışmada BLK-p.A71T fonksiyon kaybettirici mutasyonu araştırılmış, genotip-fenotip ilişkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada 64 MODY tanılı hasta ve 4901 tip 2 diyabetli birey ve 4280 kişiden oluşan kontrol grubunda mutasyon taranmış; MODY vakalarında mutasyon saptanmamış, kontrol grubunda %0,95, tip 2 diyabetli olan grupta ise alel frekansı %1,27 olarak saptanmıştır. Çalışma sonucunda p.A71T mutasyonu için MODY'ye neden olmasının pek muhtemel olmadığı, obezite ile olan etkileşimi ile tip 2 diyabet riskini ılımlı bir şekilde etkileyebileceği ancak daha doğru veriler için ek araştırmaların yapılmasının gerektiği belirtilmiştir(192).

Çalışmamızda bir hastada saptanan A71T mutasyonunun diyabete etkisinin değerlendirilebilmesi için ailedeki bireylerin klinik, laboratuvar değerleri ile birlikte değerlendirilmesi planlanmıştır, analizler devam etmektedir.

KLF11-MODY

KLF11,PDX1 geninin aktivasyonundan sorumludur ve gendeki mutasyonlar yakın zamanda Fransız MODY olgularında tanımlanmıştır. KLF11-MODY çok nadir görülen bir MODY tipidir(105). Fernandez ve ark. yaptıkları çalışmada KLF11'in MODY tip 7 ile ilişkilendirdikleri hastalık varyantlarının, Pdx-1'in bozulmuş transaktivasyonu sonucu oluştuğunu; ayrıca MODY genleri arasındaki etkileşimlerin tip 2 diyabetin oluşumuna katkıda bulduklarını belirtmişlerdir(105). Dahası, yapılan kapsamlı çalışmalarda, KLF11'in kolestrol, prostaglandin, nörotransmitter, yağ ve şeker metabolizmasına katılan birçok gen promotörüne bağlandığı ve onu regüle ettiği gösterilmiştir(193).

KLF11 geninde bugüne kadar delesyon, insersiyon ve missense(yanlış anlamlı) mutasyonlar da dahil olmak üzere çeşitli homozigot ve heterozigot varyantlar saptanmış ve özellikle Q62R (rs35927125)varyantı, Kuzey Avrupa popülasyonlarında Tip 2 diyabetle anlamlı şekilde ilişkili olarak saptanmıştır (194). Bunun üzerine KLF11'in insülin sekresyonunu etkileyen diyabet yatkınlığı için anahtar genlerden biri olması ihtimali daha fazla araştırılmaya başlanmıştır.

KLF11'deki genetik varyantların, Kuzey Avrupa popülasyonlarında Tip 2 diyabet ile önemli derecede ilişkili bulunmasına rağmen, Japon popülasyonunda yapılan çalışmada herhangi bir

ilişki saptanmamıştır(195). Florez ve ark. da yaptıkları çalışmada Kuzey Avrupa kökenli kişilerde anlamlı bir ilişki saptamamışlardır(196). Lijun ve ark. da pima Hintli kökenli kişilerde yaptıkları çalışmada herhangi bir KLF11 genindeki varyantla tip 2 diyabet gelişimi arasında bir ilişki ortaya koyamamıştır(197).

Çalışmamızda 1 hastada KLF11 geninde mutasyon tespit ettik. Bu değişiklik literatürde daha önce tanımlanmış(rs199770737) ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamış olup insilico verilerde Mutation Taster “hastalık yapıcı”, SIFT ise “hasarlayıcı” bir değişiklik olarak öngörmektedir. ExAC veri tabanında alel frekansı 0.0001162 olan varyantın yerleştiği lokasyonun evrimsel süreçte korunmuş bir bölge olduğu görülmektedir. Hastanın ebeveynlerinden analiz yapma imkanı bulamadık. Annede şeker öyküsü yoktu ancak babada ve babaannede diyabet öyküsü mevcuttu. Babanın düzenli kan şekeri kontrollerini yaptırmadığı, açlık kan şekeri değerlerinin 300mg/dl’yi aşmadığı, insülin kullanmadığı not edildi. Eldeki verilerle birlikte patojenik olduğunu düşündüğümüz bu varyantla ilgili olarak daha fazla veri ortaya koymak üzere diğer aile bireylerini de içeren çalışmalar devam etmektedir.

NEUROD1-MODY

Bugüne kadar, NEUROD1 gen mutasyonları erken başlangıçlı otozomal diyabetli sadece birkaç aile tespit edilmiştir. Bunların bir kısmı MODY kriterlerine uymaktadır. Bazı ailelerde, MODY'den ziyade geç başlangıç yaşı ve obezite ile birlikte tip 2 diabetes mellitus kliniği gözükmemektedir(198). Yeni nesil dizi analizi teknolojisinin klinikte kullanımının artmasından sonra, bu gende daha fazla patojenik mutasyon saptanmaya başlamıştır. NEUROD1-MODY oluşumu oldukça nadirdir ve hastalığın fenotipik ayrıntıları net olarak ortaya konmamıştır. Penetrans eksikliği muhtemelen gözden kaçan bazı vakaları açıklayabilir. Szopa ve ark. yaptıkları bir çalışmada MODY diyabeti ile uyumlu bireylerin olduğu bir ailede NEUROD1 geninde p.Arg103Pro mutasyonu saptamışlardır(199). Benzer şekilde MODY uyumlu kliniği olan birkaç aile daha literatürde rapor edilmiştir(101,200,201).

NEUROD1 geninde mutasyon olan az vaka tanımlanmış, hastalarda görülebilecek fenotipik ayrıntılar net olarak ortaya konmamıştır. Çalışmamızda 2 hastada NEUROD1 geninde mutasyon tespit ettik. Bunlardan ilkinde NEUROD1 geni 5’UTR’de yerleşik (c.-81C>A) değişikliği heterozigot formda ve de novo olarak geliştiği saptandı. Literatürde bu varyant daha önce tanımlanmış(rs567688779); ancak değişimin patojenitesi net olarak ortaya konmamış olup Kaviar veritabanında alel frekansı 0.00019 olan varyantın yerleştiği

lokasyonunun evrimsel süreçte korunmuş bir bölge olduğu görülmektedir. Hastanın son kontrolünde vücut kitle indeksinin 27 kg/m² saptanması, C-peptid değerinin 1,79 ve HbA1C: 11 ve otoantikörlerin negatif olması bu varyantın tip 2 diyabete katkıda bulunan nadir bir polimorfizm olabileceğini de düşündürmektedir.

Diğer hastada *NEUROD1* geni 5'UTR'de c.-71G>A değişikliği heterozigot olarak saptanmıştır. Bu varyant daha önce literatürde saptanmış (rs528005664) ancak patojenik etkisine dair net veriler ortaya konmamıştır. Alel frekansı Kaviar veritabanında 0.0001516 olarak verilen bu varyanta dair yapılan segregasyon çalışmalarında hastanın annesinin bu varyantı taşımadığı görülmüş ve diyabet öyküsü de olmadığı not edildi. Hastanın babasında analiz yapma şansı bulamadık; ancak anne tarafından verilen öyküde hastanın babasında 35 yaş civarı başlayan şeker öyküsü mevcut olduğu ve oral antidiyabetik kullandığı belirtildi. Yapılan son kontrollerinde c-peptid:0.1, hba1c: 9 ve bmi:19 ve diyabet başlangıcından beri otoantikörleri negatif olan hastada öncelikle babanın varyantı taşıyıp taşımadığının ve diyabet verilerinin ortaya konması ve ailedeki diğer bireyleri de içeren klinik ve laboratuvar verilerinin değerlendirilmesi planlandı. Bu değişikliğin patojenitesi ile ilgili olarak daha fazla veri ortaya koymak üzere analizler sürmektedir.

Ayrıca iki hastada *NEUROD1* geninde c.590C>A (p.Pro197His) değişikliği saptandı. Her iki hastanın ebeveynlerinin moleküler analizi yapıldı ve hiçbirinde p.P197H değişikliği saptanmadı. Alel frekansı %2 'ye yakın olan, literatürde daha önce likely benign/benign olarak değerlendirilmiş çalışmalar olan bu değişikliği patojenik bir varyant olarak değerlendirmedik ancak tanımlanan vaka sayısının artmasıyla, toplum alel frekans verileri hakkında daha detaylı bilgiler ortaya kondukça daha sağlıklı bilgilere ulaşabileceğiz. Özellikle tip 2 diyabetli bireylerde, MODY olduğu düşünülen bireylerde ve sağlıklı kontrol grubunda yapılacak olan bir çalışmayla bu değişikliğin frekansı araştırılarak genotip-fenotip değerlendirmeleri sonucu bu varyant hakkında daha fazla veri ortaya konabileceğini düşünmekteyiz.

WOLFRAM SENDROMU

Ailesinde 3 kuşakta da diyabet öyküsü olan, insülin rezistansı bulguları olmayan, glikoz düzeyleri nonprogresif seyreden, diyabet otoantikörleri negatif olan hastanın son kontrolündeki alınan hikayesinde: Açlık kan şekerleri 90-150 mg/dl arasında seyrettiği, HbA1C: 7.6, insülin ihtiyacı 0,5 u/kg olduğu saptandı. Bu hastada MODY genleri çalışmaya

alındı. Doğumundan itibaren bilateral optik atrofi nedeniyle göz bölümünden takipli olan hastanın eşlik eden hafif işitme kaybı olması, ebeveynler arasındaki akraba evliliği hikayesi de göz önünde bulundurularak Wolfram Sendromu açısından da moleküler analiz planlandı ve WFS1 geni dizilendi. Hastanın anne ve babasından henüz analiz yapma imkanı bulamadık ancak her ikisi de tip 2 diyabet tanısı ile takipli olup oral antidiyabetik kullanıyorlarmış. Hastada bakılan MODY genlerinden HNF4A geni Ekzon 2'de heterozigot c.83C>T(A28V) değişikliği ve HNF1A geni Ekzon 7'de heterozigot c.1386C>T (V462V) değişikliği saptandı. Her iki varyant da literatürde daha önce tanımlanmış; ancak değişimlerin patojenitesine dair net veriler ortaya konmamıştır. Eldeki insiliko analiz verileri, hastanın klinik ve laboratuvar verileri, varyantların alel frekansları birlikte değerlendirildiğinde her iki değişikliğin patojenik olması olasıdır; daha fazla veriye ulaşabilmek adına aile bireylerinde segregasyon analizleri planlandı ve bu konuda analizler sürmektedir. Varyantlara dair veriler “Bulgular” bölümünde detaylı olarak mevcuttur. Ayrıca hastada WFS1 geni Ekzon 'de homozigot c.2168T>C (L723P) değişikliği saptanmıştır. Bu değişiklik daha önce literatürde tanımlanmış ve Wolfram Sendromu ile ilişkilendirilmiştir (HGMD:CM112219). Tespit edilen bu varyantın alel frekansına dair bir veri mevcut değildi ancak bildiğimiz kadarıyla literatürde sadece 2 yayında bu varyant tespit edilmiştir. Hastanın anne ve babasından analiz yapma imkanı bulamadık ancak; eldeki insiliko analiz verileri, literatür verileri, hastanın klinik ve moleküler sonuçlarının uyumlu olması hep birlikte değerlendirildiğinde bu değişikliğin patojenik olduğu düşünülmüştür. Öncelikle anne babada taşıyıcılık tespiti gerektiği, tekrar bir çocuk düşünmeyen aileye eğer düşünürlerse preimplantasyon genetik tanı, prenatal tanı imkanları hakkında bilgi verildi. Anne ve baba tarafında özellikle akraba evliliği yapmış kişilerden moleküler analiz yapılması gerektiği aileye anlatıldı.

İlk kez 1938'de Wolfram ve Wagener tarafından 8 kardeşli bir ailenin 4'ünde JuvenilDiabetesmellitus ve optik sinir atrofisi birlikteliği ile tariflenmiştir(202). Wolfram Sendromu (MIM606201) diyabetes mellitus, optik atrofi, diabetes insipitus ve sağırlıkla giden, OR kalıtılan, progresif seyreden nörodejeneratif nadir bir hastalıktır. Morbidite ve mortalitenin yüksek olduğu bir hastalıktır. Hastalığın en yüksek prevalansı 1/68000 olarak akraba evliliğinin sık olduğu Lübnan popülasyonundan bildirilmiştir(203). Bir çalışmada taşıyıcılık frekansı 354 kişide 1 olarak verilmiştir(204). Şimdiye kadar Wolfram sendromunun prevalansı hakkında güvenilir bir veri bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada, diyabetli Polonya çocukları arasında Wolfram sendromunun yaygınlığı yaklaşık% 0,12 olarak verilmiştir(205). Ayırıcı tanısında mitokondriyal hastalıklar, mutant WFS1 geni ilişkili olan

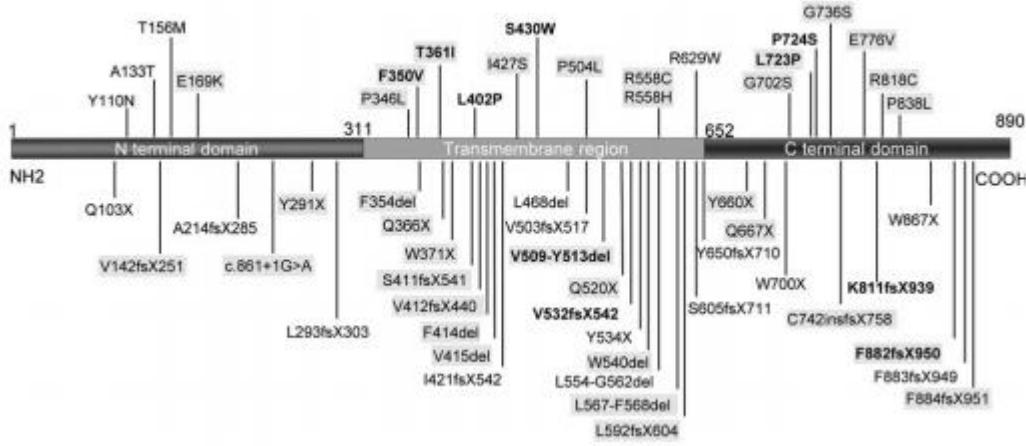
sağrlık, otozomal dominant optik sinir atrofisi, Friedreich ataksisi, Bardet-Biedl sendromu ve Alstrom sendromu bulunmaktadır. En yaygın olarak 16 yaşın altında, diabetesmellitus tanısı konduktan sonra optik sinir atrofisi gözlemlenmesi ile şüphelenilmektedir. Optik sinir atrofisi görme keskinliğinde kayba neden olur ve Wolframsendromunun temel bir özelliğidir. Wolfram sendromunda optik sinir atrofisi için şu anda kanıtlanmış etkili tıbbi tedaviler yoktur.

Wolframsendromu başlangıçta, semptomları ve mitokondriyal mutasyonlarla ilgili birçok rapor nedeniyle mitokondriyal bir hastalık olarak sınıflandırıldı. Bununla birlikte, Wolfram sendromunun endoplazmikretikulum hastalığının bir prototipi olduğu artık ortaya çıkmıştır. ER, protein sentezi, kalsiyum depolaması, redoks regülasyonu, steroid sentezi, hücre sinyal iletimindeve hücre ölümünde işlev görerek hücreler arasında bir membran network ağı gibi çalışmaktadır. Önceki çalışmalar, pankreatik β hücrelerinin ve nöronların, muhtemelen yüksek protein sentezi oranları nedeniyle ER disfonksiyonuna duyarlı olduğunu göstermiştir Wolfram sendromunda pankreas β hücreleri ve nöronal hücreler, WFS1 genindeki mutasyonların bir sonucu olarak seçici olarak tahrip edilmektedir.WFS1 geni ER'de lokalize olan bir transmembran proteini kodlar.WFS1 mutasyonları, artan ER stres düzeyleri, pankreatik β hücresi disfonksiyonu ile strese bağılı hücre ölümünün başlatılmasına neden olur (206).

Wolfram sendromlu hastaların %60'ından fazlası nörolojik belirtiler geliştirir, bunlar çoğunlukla erişkinlik döneminde başlayan denge ve koordinasyon problemleri olarak ortaya çıkar. Beyin sapı atrofisi santralapneyesekonder ölüm bu hastalarda gelişebilmektedir. .Bunun dışında otonom disfonksiyon ve nöropati, epilepsi, nörojenik mesane bu hastalarda gözlenmektedir. Anksiyete ve depresyon yaygındır, kognitif bir etkilenme beklenmemektedir. Sensorinöral işitme kaybı, Wolfram sendromunun sık görülen semptomlarından biridir ve hastaların yaklaşık% 70'inde görülür. İşitme kaybı önce yüksek frekansları etkiler ve nispeten yavaş ilerler(207).

Hastaların cilt hücrelerini kullanarak uyarılmış pluripotentstem (iPS) hücreleri oluşturarak, genom düzenleme teknolojisi ile WFS1 gen mutasyonlarını düzeltmek ve bu iPS hücrelerinininsülin üreten β hücrelerine, retinal hücrelere ve nöron hücrelerine farklılaşmalarını sağlamak bugün araştırma aşamasında olan çalışmalardır(208). Ayrıca astrositlerden saflaştırılmış rejenerasyon faktörü olan mesencefalikastrozit türevi nörotrofik

faktörün (MANF) hücrelerin ölümünü önleyebileceği ve hasar gören dokuları yenileme kabiliyetinde bugün araştırma aşamasındadır (209).



Şekil 40: WFS1 genindeki mutasyonların dağılımı

2011 yılında Chaussenot et al. moleküler olarak tanı almış 59 wolfram sendromlu hastada genotip-fenotip korelasyon çalışması yapmış ve “Transmembran region” ve “c-terminal domain”de yerleşen mutasyonların “N-terminal domain”de yerleşen mutasyonlara göre daha çok nörolojik bulgularla seyrettikleri ortaya konmuştur. Bilinenin aksine bu hastalarda nörolojik problemlerin 15 yaş gibi daha erken bir zamanda ortaya çıktığı ve nörolojik problemleri olan hastaların %32’sinde de kognitif fonksiyonların da etkilendiği saptanmıştır(210).

2015 yılında Chaussenot ve arkadaşlarının yayınlamış oldu 96 kişilik kohortta p.Glu776Val/p.Leu723Pro mutasyonlarını compound heterozigot formda taşıyan 32 yaşında bir erkek olgunun geç başlangıçlı bir wolfram sendromu olduğu belirtilmiştir. Hastada diyabet gelişiminin 16 yaş, optik atrofi ve diyabetes insipidus gelişimininse 17 yaşta başladığı ayrıca hipogonadizm açısından 23 yaşından beri takipli olduğu belirtilmiştir(211).

Hastamızda WFS1 geninin C-terminal domain’inde yerleşik L723P mutasyonu mevcuttu. Hastamız şu anda 30 yaşında ve kognitif etkilenme saptanmadı, otonom disfonksiyon olarak terleme artışı problemi olduğu not edildi, yürüyüş ve denge bozukluğu yoktu. Verilen hikayede işitme kaybı öyküsü yoktu ancak kontrol muayenesi planlandı. Bilateral optik atrofi doğuştan beridir mevcut olan, diyabet gelişimi 1 yaş olan hastanın eşlik eden HNF1A ve HNF4A genlerinde heterozigot mutasyonu olması bu problemlerin gelişimini öne çekmiş

olabilir. Hastamızda diyabetes insipitus öyküsü yoktu. Hastanın bugün itibariyle şeker regülasyonu için kullandığı insülin 0.5U/kg olarak not edildi. Hastanın endokrinoloji, nöroloji, göz, kulak-burun-boğaz ve genetik bölümlerince kontrolleri devam etmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1- Çalışmamızda MODY olabileceği düşünülen hastaların %31'inde genetik neden saptanabilmiş, 2 hastada GCK, 2 hastada CEL, 1'er hastada ise HNF1A, KLF11, BLK, NEUROD1, ABCC8, 1 hastada ise HNF1A, HNF4A ve WFS1 geninde mutasyon tespit edilmiştir. Saptanan mutasyonların 2 tanesi daha önce literatürde bildirilmemişti. MODY diyabeti için literatürde en sık mutasyon saptanan genlerin GCK ve HNF1A olduğu düşünüldüğünde Türk toplumunda yapılacak daha geniş molekuler serilerle ülkemize özgü değişiklikler ortaya konabilecek, yeni mutasyonlar tanımlanacak ve genotip-fenotip ilişkilendirmeleri daha doğru yapılabilecektir.
- 2- Monogenik diyabet tanısı hastalar ve aileleri için birçok veri sunmaktadır. Öncelikle doğru teşhis hastalığın en iyi şekilde tedavi edilmesini sağlayacaktır. Genetik teste ihtiyaç duyanların seçiminde hastaların ve yakınlarının klinik öykülerinin dikkatle değerlendirilmesi zorunludur.
- 3- Klinik olarak MODY diyabeti, tip 1 ve tip 2 diyabetten ayırt etmek zor olabilir. Bu nedenledir ki aslında monojenik form diyabeti olan birçok hastanın yanlış sınıflandırılmakta olduğunu söyleyebiliriz. Her ne kadar MODY, bütün diyabet vakalarının %1 - 2'sini oluştursa da, MODY'in molekuler genetik tanısı optimal tedavi, prognoz ve genetik danışmanlık için gereklidir. Molekuler tanı, bireylerde pankreas ve genitoüriner anormallikler gibi eşlik eden anormalliklerin de tanınmasında yol gösterici olacaktır.
- 4- NGS (yeni nesil dizi analizi) teknikleri sayesinde mutasyonların saptanma oranı artmıştır, ancak sonuçlarının doğru biçimde yorumlanması ilgili klinik branşların genetikçilerle birlikte yakın etkileşimini gerektirmektedir. MODY teşhisi konarak, aile üyeleri taşıyıcılık durumları için taranabilecek ve yanlış tanıları engellenebilecektir.
- 5- Çocuk doktorları ve pediyatrik endokrinologlar, otoimmün olmayan tip 1 diabetes mellitus, erken kardeş ölüm öyküsü, ailesinde Wolfram sendromu öyküsü olan olgularda veya tip 1 diabetes mellitus ve sağırılık ile ebeveyn akrabalığı öyküsü olan hastalarda Wolfram sendromundan şüphelenmeli ve hastaları molekuler genetik tanısı konmak üzere Tıbbi Genetik Anabilim Dallarına yönlendirmelidirler. Wolfram

sendromunun birçok komplikasyonunun muhtemelen uzun süredir asemptomatik kaldığını vurgulamak yerinde olacaktır. Genetik analiz ile preimplantasyon genetik tanı(PGD) ve prenatal tanı imkanları yapabilmek mümkün ayrıca; asemptomatik bireylerin erken tanı almaları da mümkün hale gelmiştir.



KAYNAKLAR

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas-7th Edition. 2015.
2. Rubio-Cabezas O. The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 15 (Suppl 20) 47–64. 2014;
3. Fajans SS BG. MODY: history, genetics, pathophysiology, and clinical decision making. *Diabetes* 15(Suppl 20):47-64. 2014;
4. Thanabalasingham G, Owen KR. CLINICAL REVIEW Diagnosis and management of maturity onset diabetes of the young (MODY). *BMJ* [Internet]. 2011 [cited 2017 Nov 2];343:d6099. Available from: http://www.bmj.com/bmj/section-pdf/187360?path=/bmj/343/7828/Clinical_Review.full.pdf
5. Pihoker C, Gilliam LK, Ellard S, Dabelea D, Davis C, Dolan LM, et al. Prevalence, Characteristics and Clinical Diagnosis of Maturity Onset Diabetes of the Young Due to Mutations in HNF1A, HNF4A, and Glucokinase: Results From the SEARCH for Diabetes in Youth. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2013 Oct 1 [cited 2017 Nov 2];98(10):4055–62. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2013-1279>
6. Shields BM, Hicks S, Shepherd MH, Colclough K, Hattersley AT, Ellard S. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): how many cases are we missing? *Diabetologia* [Internet]. 2010 Dec 25 [cited 2017 Nov 4];53(12):2504–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20499044>
7. Colclough K, Saint-Martin C, Timsit J, Ellard S, Bellanné-Chantelot C. Clinical utility gene card for: Maturity-onset diabetes of the young. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2014 Sep [cited 2017 Nov 3];22(9). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24518839>
8. Ellard S, Lango Allen H, De Franco E, Flanagan SE, Hysenaj G, Colclough K, et al. Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing. *Diabetologia* [Internet]. 2013 Sep 15 [cited 2017 Nov 5];56(9):1958–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23771172>
9. Phenotypic heterogeneity in monogenic diabetes: The clinical and diagnostic utility of a gene panel-based next-generation sequencing approach. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2017 Nov 3];113(4):315–20. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096719214003023>
10. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care* [Internet]. 2002 Sep 1 [cited 2017 Nov 3];25(9):1551–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12196426>
11. Onat A, Uğur M, Çiçek G, Ayhan E, Doğan Y, Kaya H, et al. TEKHARF 2009 taraması: Kırsal kesim ve kentlerde benzer kardiyovasküler ölüm riski. *Türk Kardiyol Dern Arş -Arch Turk Soc Cardiol* [Internet]. 2010 [cited 2017 Nov 3];38(3):159–63. Available from: https://www.journalagent.com/tkd/pdfs/TKDA_38_3_159_163.pdf
12. T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI TEMEL SAĞLIK HİZMETLERİ GENEL MÜDÜRLÜĞÜ. Türkiye Diyabet Önleme ve Kontrol Programı , ANKARA. 2011 [cited 2017 Nov 3]; Available from: http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/sb/halksag/belge/mevzuat/turkiye_diyabet_onleme_kontrol_prg.pdf
13. Altan ONAT Yazarlar Altan ONAT E, Günay CAN D, YüKseI H, ADEmOğlu E, ERGiNEL-

- üNAITuNA N, Ayşem KAYA D, et al. Tıp Dünyasının Kronik Hastalıklara Yaklaşımına Öncülük, TEKHARF Çalışma. 2017 [cited 2017 Nov 3]; Available from: <http://file.tkd.org.tr/PDFs/TEKHARF-2017.pdf>
14. Üniversitesi H. Ulusal Hastalık Yüğü Çalışması ve Çözüm Önerileri. 2017.
 15. The International Diabetes Federation (IDF). Diabetes Atlas 4th Edition [Internet]. 2009 [cited 2017 Nov 3]. Available from: <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/21-atlas-4th-edition.html>
 16. Ünal B, Ergör G. Türkiye kronik hastalıklar ve risk faktörleri sıklığı çalışması. 2013 [cited 2017 Nov 3]; Available from: www.thsk.gov.tr
 17. The International Diabetes Federation (IDF). Diabetes Atlas 6th Edition. 2013;
 18. The International Diabetes Federation (IDF). Diabetes Atlas 2nd edition. 2003.
 19. The International Diabetes Federation (IDF). Diabetes Atlas 3rd Edition. 2006.
 20. International Diabetes Federation. IDF Diabetes [Internet]. 2009. Available from: <http://www.diabetesatlas.org>
 21. Alwan A, Maclean DR, Riley LM, d'Espaignet ET, Mathers CD, Stevens GA, et al. Monitoring and surveillance of chronic non-communicable diseases: progress and capacity in high-burden countries. Lancet (London, England) [Internet]. 2010 Nov 27 [cited 2017 Nov 3];376(9755):1861–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21074258>
 22. WHO. Global status report on noncommunicable diseases 2010. WHO. 2015;
 23. DİNÇÇAĞ PDN. Diabetes Mellitus Tanı ve Tedavisinde Güncel Durum. 2011;
 24. Onat A, Hergenç G, Ayhan E, Uğur M, Kaya H, Tuncer M, et al. Serum apolipoprotein C-III in high-density lipoprotein: a key diabetogenic risk factor in Turks. Diabet Med [Internet]. 2009 Oct [cited 2017 Nov 3];26(10):981–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19900229>
 25. Onat A, Hergenç G, Keleş İ, Doğan Y, Türkmen S, Sansoy V. Sex difference in development of diabetes and cardiovascular disease on the way from obesity and metabolic syndrome. Metabolism [Internet]. 2005 Jun [cited 2017 Nov 3];54(6):800–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15931618>
 26. Medicine I of. Control of Cardiovascular Diseases in Developing Countries [Internet]. Washington, D.C.: National Academies Press; 1998 [cited 2017 Nov 3]. Available from: <http://www.nap.edu/catalog/6218>
 27. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4·4 million participants. Lancet [Internet]. 2016 Apr 9 [cited 2017 Nov 3];387(10027):1513–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27061677>
 28. TEMD DİABETES MELLİTUS VE KOMPLİKASYONLARININ TANI, TEDAVİ VE İZLEM KILAVUZU. 2016.
 29. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care [Internet]. 1997 Jul [cited 2017 Nov 3];20(7):1183–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9203460>
 30. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the

- expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Jan [cited 2017 Nov 3];26 Suppl 1:S5-20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12502614>
31. Sperling MA, Weinzimer SA TW. Diabetes mellitus. In: Sterling MA, editor. , ed. *Pediatric Endocrinolog*. Elsevier. 2008;374–421.
 32. American Diabetes Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2017 Nov 3];30 Suppl 1(suppl 1):S42-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17192378>
 33. Günöz H, İşgüven P the NWG for C and A diabetics. The incidence of type 1 diabetes in 0-15 year age group in Turkey in 1996. *Diabetes, Nutr Metab*. 1999;(3(12):232).
 34. Kyllö CJ, Nuttall FQ. Prevalence of diabetes mellitus in school-age children in Minnesota. *Diabetes* [Internet]. 1978 Jan [cited 2017 Nov 3];27(1):57–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/620881>
 35. Lipton RB, Drum M, Burnet D, Rich B, Cooper A, Baumann E, et al. Obesity at the Onset of Diabetes in an Ethnically Diverse Population of Children: What Does It Mean for Epidemiologists and Clinicians? *Pediatrics* [Internet]. 2005 May 1 [cited 2017 Nov 3];115(5):e553–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15867020>
 36. SEARCH for Diabetes in Youth Study Group S for D in YS, Liese AD, D'Agostino RB, Hamman RF, Kilgo PD, Lawrence JM, et al. The burden of diabetes mellitus among US youth: prevalence estimates from the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics* [Internet]. 2006 Oct 1 [cited 2017 Nov 3];118(4):1510–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17015542>
 37. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, Green A, Soltész G, EURODIAB Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2009 Jun 13 [cited 2017 Nov 3];373(9680):2027–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19481249>
 38. Prof. Dr. Peyami Cinaz , Prof. Dr. Feyza Darendeliler , Prof. Dr. Ayşehan Akıncı , Prof. Dr. Behzat Özkan , Prof. Dr. Bumin N. Dündar , Doç Dr. Ayhan Abacı DDTA. *COCUK ENDOKRİNOLOJİSİ, Nobel Tıp Kitabevleri*. 2013.
 39. Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte R, Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. *Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group*. *Diabetes Care* [Internet]. 2000 Oct [cited 2017 Nov 3];23(10):1516–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11023146>
 40. Craig ME, Hattersley A, Donaghue KC. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2009 Sep [cited 2017 Nov 3];10:3–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19754613>
 41. Wenzlau JM, Moua O, Sarkar SA, Yu L, Rewers M, Eisenbarth GS, et al. SIC30A8 Is a Major Target of Humoral Autoimmunity in Type 1 Diabetes and a Predictive Marker in Prediabetes. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2008 Dec [cited 2017 Nov 3];1150(1):256–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19120307>
 42. P. Onkamo, S. Väänänen, M. Karvonen JT. Worldwide increase in incidence of Type I diabetes ± the analysis of the data on published incidence trends. *Diabetologia*. 1999;(42(12):1395±1403.
 43. ATAŞ DA. TİP 1 DİYABETLİ ÇOCUKLARDA SERUM ADİPONEKTİN DÜZEYİNİN

METABOLİK KONTROL VE PUBERTE İLE İLİŞKİSİ. 9 Eylül Üniversitesi; 2010.

44. Tillil H, Köbberling J. Age-corrected empirical genetic risk estimates for first-degree relatives of IDDM patients. *Diabetes* [Internet]. 1987 Jan [cited 2017 Nov 3];36(1):93–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3792666>
45. Hyttinen V, Kaprio J, Kinnunen L, Koskenvuo M, Tuomilehto J. Genetic liability of type 1 diabetes and the onset age among 22,650 young Finnish twin pairs: a nationwide follow-up study. *Diabetes* [Internet]. 2003 Apr [cited 2017 Nov 3];52(4):1052–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12663480>
46. Redondo MJ, Jeffrey J, Fain PR, Eisenbarth GS, Orban T. Concordance for Islet Autoimmunity among Monozygotic Twins. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Dec 25 [cited 2017 Nov 4];359(26):2849–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19109586>
47. Tisch R, McDevitt H. Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell* [Internet]. 1996 May 3 [cited 2017 Nov 4];85(3):291–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8616883>
48. Noble JA, Valdes AM, Cook M, Klitz W, Thomson G, Erlich HA. The role of HLA class II genes in insulin-dependent diabetes mellitus: molecular analysis of 180 Caucasian, multiplex families. *Am J Hum Genet* [Internet]. 1996 Nov [cited 2017 Nov 4];59(5):1134–48. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8900244>
49. Aly TA, Ide A, Jahromi MM, Barker JM, Fernando MS, Babu SR, et al. Extreme genetic risk for type 1A diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2006 Sep 19 [cited 2017 Nov 4];103(38):14074–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16966600>
50. G. N. NMHC and autoimmune diseases. *Immunol Ser.* 1993;59: 143-64.
51. Todd JA, Walker NM, Cooper JD, Smyth DJ, Downes K, Plagnol V, et al. Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes. *Nat Genet* [Internet]. 2007 Jul 6 [cited 2017 Nov 4];39(7):857–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17554260>
52. Cooper JD, Smyth DJ, Smiles AM, Plagnol V, Walker NM, Allen JE, et al. Meta-analysis of genome-wide association study data identifies additional type 1 diabetes risk loci. *Nat Genet* [Internet]. 2008 Dec 2 [cited 2017 Nov 4];40(12):1399–401. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18978792>
53. Barrett JC, Clayton DG, Concannon P, Akolkar B, Cooper JD, Erlich HA, et al. Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. *Nat Genet* [Internet]. 2009 Jun 10 [cited 2017 Nov 4];41(6):703–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19430480>
54. Steck AK, Rewers MJ. Genetics of type 1 diabetes. *Clin Chem* [Internet]. 2011 Feb [cited 2017 Nov 4];57(2):176–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21205883>
55. Group DPPR. Reduction in the Incidence of Type 2 Diabetes with Lifestyle Intervention or Metformin. *N Engl J Med* [Internet]. 2002 Feb 7 [cited 2017 Nov 4];346(6):393–403. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa012512>
56. Bell RA, Mayer-Davis EJ, Beyer JW, D’Agostino RB, Lawrence JM, Linder B, et al. Diabetes in Non-Hispanic White Youth: Prevalence, incidence, and clinical characteristics: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care* [Internet]. 2009 Mar 1 [cited 2017 Nov 4];32(Supplement_2):S102–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19246575>
57. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, et al. A genome-wide association

- study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* [Internet]. 2007 Feb 22 [cited 2017 Nov 4];445(7130):881–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17293876>
58. Mohlke KL, Boehnke M. Recent advances in understanding the genetic architecture of type 2 diabetes. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2015 Oct 15 [cited 2017 Nov 4];24(R1):R85–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26160912>
59. Burton PR, Clayton DG, Cardon LR, Craddock N, Deloukas P, Duncanson A, et al. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* [Internet]. 2007 Jun 7 [cited 2017 Nov 4];447(7145):661–78. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature05911>
60. Hutchins J, Barajas RA, Hale D, Escaname E, Lynch J. Type 2 diabetes in a 5-year-old and single center experience of type 2 diabetes in youth under 10. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2017 Nov 5];18(7):674–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pedi.12463>
61. Quang DX, Erdos MR, Parker SCJ, Collins FS. Motif signatures in stretch enhancers are enriched for disease-associated genetic variants. *Epigenetics Chromatin* [Internet]. 2015 Dec 16 [cited 2017 Nov 4];8(1):23. Available from: <http://www.epigeneticsandchromatin.com/content/8/1/23>
62. Aouacheri O, Saka S, Krim M, Messaadia A, Maida I. The Investigation of the Oxidative Stress-Related Parameters in Type 2 Diabetes Mellitus. *Can J Diabetes* [Internet]. 2015 Feb [cited 2017 Nov 4];39(1):44–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25065473>
63. Association AD. Standards of Medical Care in Diabetes—2016 Abridged for Primary Care Providers. *Clin Diabetes* [Internet]. 2016 Jan 15 [cited 2017 Nov 4];34(1):3–21. Available from: <http://clinical.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/diaclin.34.1.3>
64. Vaxillaire M, Froguel P. Genetic Basis of Maturity-Onset Diabetes of the Young. *Endocrinol Metab Clin North Am* [Internet]. 2006 Jun [cited 2017 Nov 4];35(2):371–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16632099>
65. Cammidge PJ. DIABETES MELLITUS AND HEREDITY. *BMJ* [Internet]. 1928 Oct 27 [cited 2017 Nov 4];2(3538):738–41. Available from: <http://www.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bmj.2.3538.738>
66. Tattersall RB. Mild familial diabetes with dominant inheritance. *Q J Med* [Internet]. 1974 Apr [cited 2017 Nov 4];43(170):339–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4212169>
67. Ledermann HM. Is maturity onset diabetes at young age (MODY) more common in Europe than previously assumed? *Lancet (London, England)* [Internet]. 1995 Mar 11 [cited 2017 Nov 4];345(8950):648. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7898196>
68. Ledermann HM. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) at least ten times more common in Europe than previously assumed? *Diabetologia* [Internet]. 1995 Dec [cited 2017 Nov 5];38(12):1482. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8786024>
69. Irgens HU, Molnes J, Johansson BB, Ringdal M, Skrivarhaug T, Undlien DE, et al. Prevalence of monogenic diabetes in the population-based Norwegian Childhood Diabetes Registry. *Diabetologia* [Internet]. 2013 Jul 27 [cited 2017 Nov 4];56(7):1512–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23624530>
70. Schwitzgebel VM. Many faces of monogenic diabetes. *J Diabetes Investig* [Internet]. 2014 Mar 1 [cited 2017 Nov 4];5(2):121–33. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jdi.12197>

71. Murphy R, Ellard S, Hattersley AT. Clinical implications of a molecular genetic classification of monogenic β -cell diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Apr 26 [cited 2017 Nov 4];4(4):200–13. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/ncpendmet0778>
72. Timsit J, Saint-Martin C, Dubois-Laforgue D, Bellanné-Chantelot C. Searching for Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY): When and What for? *Can J Diabetes* [Internet]. 2016 Oct [cited 2017 Nov 4];40(5):455–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27103109>
73. Ellard S, Bellanné-Chantelot C, Hattersley AT, European Molecular Genetics Quality Network (EMQN) MODY group EMGQN (EMQN) M. Best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia* [Internet]. 2008 Apr [cited 2017 Nov 4];51(4):546–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18297260>
74. Molven A, Njølstad PR. Role of molecular genetics in transforming diagnosis of diabetes mellitus. *Expert Rev Mol Diagn* [Internet]. 2011 Apr [cited 2017 Nov 4];11(3):313–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21463240>
75. Lorini R, Klersy C, d'Annunzio G, Massa O, Minuto N ID. Maturity-onset diabetes of the young in children with incidental hyperglycemia: a multicenter Italian study of 172 families. *Diabetes Care*. 2009;32:1864–6.
76. McDonald TJ, Ellard S. Maturity onset diabetes of the young: identification and diagnosis. *Ann Clin Biochem An Int J Biochem Lab Med* [Internet]. 2013 Sep 1 [cited 2017 Nov 4];50(5):403–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23878349>
77. Love-Gregory L, Permutt MA. HNF4A genetic variants: role in diabetes. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* [Internet]. 2007 Jul [cited 2017 Nov 4];10(4):397–402. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17563455>
78. Pearson ER, Boj SF, Steele AM, Barrett T, Stals K, Shield JP, et al. Macrosomia and Hyperinsulinaemic Hypoglycaemia in Patients with Heterozygous Mutations in the HNF4A Gene. Groop LC, editor. *PLoS Med* [Internet]. 2007 Apr 3 [cited 2017 Nov 4];4(4):e118. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17407387>
79. Kapoor RR, Locke J, Colclough K, Wales J, Conn JJ, Hattersley AT, et al. Persistent Hyperinsulinemic Hypoglycemia and Maturity-Onset Diabetes of the Young Due to Heterozygous HNF4A Mutations. *Diabetes* [Internet]. 2008 Jun 1 [cited 2017 Nov 4];57(6):1659–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18268044>
80. Pearson ER, Pruhova S, Tack CJ, Johansen A, Castleden HAJ, Lumb PJ, et al. Molecular genetics and phenotypic characteristics of MODY caused by hepatocyte nuclear factor 4 α mutations in a large European collection. *Diabetologia* [Internet]. 2005 May 14 [cited 2017 Nov 4];48(5):878–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15830177>
81. Shepherd M, Shields B, Ellard S, Rubio-Cabezas O, Hattersley AT. A genetic diagnosis of *HNF1A* diabetes alters treatment and improves glycaemic control in the majority of insulin-treated patients. *Diabet Med* [Internet]. 2009 Apr [cited 2017 Nov 4];26(4):437–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19388975>
82. Iafusco D, Stazi M, Cotichini R, Cotellessa M, Martinucci M, Mazzella M, et al. Permanent diabetes mellitus in the first year of life. *Diabetologia* [Internet]. 2002 Jun 3 [cited 2017 Nov 4];45(6):798–804. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12107723>
83. Osbak KK, Colclough K, Saint-Martin C, Beer NL, Bellanné-Chantelot C, Ellard S, et al.

- Update on mutations in glucokinase (*GCK*), which cause maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Hum Mutat* [Internet]. 2009 Nov [cited 2017 Nov 4];30(11):1512–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19790256>
84. Chakera AJ, Spyer G, Vincent N, Ellard S, Hattersley AT, Dunne FP. The 0.1% of the Population With Glucokinase Monogenic Diabetes Can Be Recognized by Clinical Characteristics in Pregnancy: The Atlantic Diabetes in Pregnancy Cohort. *Diabetes Care* [Internet]. 2014 May [cited 2017 Nov 5];37(5):1230–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24550216>
 85. Steele AM, Shields BM, Wensley KJ, Colclough K, Ellard S, Hattersley AT. Prevalence of Vascular Complications Among Patients With Glucokinase Mutations and Prolonged, Mild Hyperglycemia. *JAMA* [Internet]. 2014 Jan 15 [cited 2017 Nov 4];311(3):279. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24430320>
 86. Chakera AJ, Steele AM, Gloyn AL, Shepherd MH, Shields B, Ellard S, et al. Recognition and Management of Individuals With Hyperglycemia Because of a Heterozygous Glucokinase Mutation. *Diabetes Care* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2017 Nov 4];38(7):1383–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26106223>
 87. Colclough K, Bellanne-Chantelot C, Saint-Martin C, Flanagan SE, Ellard S. Mutations in the Genes Encoding the Transcription Factors Hepatocyte Nuclear Factor 1 Alpha and 4 Alpha in Maturity-Onset Diabetes of the Young and Hyperinsulinemic Hypoglycemia. *Hum Mutat* [Internet]. 2013 May [cited 2017 Nov 4];34(5):669–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23348805>
 88. Giuffrida FMA, Reis AF. Genetic and clinical characteristics of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetes, Obes Metab* [Internet]. 2005 Jul [cited 2017 Nov 4];7(4):318–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15955117>
 89. Bellanne-Chantelot C, Carette C, Riveline J-P, Valero R, Gautier J-F, Larger E, et al. The Type and the Position of HNF1A Mutation Modulate Age at Diagnosis of Diabetes in Patients with Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY)-3. *Diabetes* [Internet]. 2008 Feb 1 [cited 2017 Nov 4];57(2):503–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18003757>
 90. Keller DM, McWeeney S, Arsenlis A, Drouin J, Wright CVE, Wang H, et al. Characterization of pancreatic transcription factor Pdx-1 binding sites using promoter microarray and serial analysis of chromatin occupancy. *J Biol Chem* [Internet]. 2007 Nov 2 [cited 2017 Nov 4];282(44):32084–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17761679>
 91. Winter WE. Molecular and biochemical analysis of the MODY syndromes. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2000 Jun [cited 2017 Nov 4];1(2):88–117. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15016234>
 92. Anık A, Çatlı G, Abacı A, Sarı E, Yeşilkaya E, Korkmaz HA, et al. Molecular diagnosis of maturity-onset diabetes of the young (MODY) in Turkish children by using targeted next-generation sequencing. *J Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2017 Nov 4];28(11–12):1265–71. Available from: <https://www.degruyter.com/view/j/jpem.2015.28.issue-11-12/jpem-2014-0430/jpem-2014-0430.xml>
 93. Ağladioğlu SY, Aycan Z, Çetinkaya S, Baş VN, Önder A, Peltek Kendirci HN, et al. Maturity onset diabetes of youth (MODY) in Turkish children: sequence analysis of 11 causative genes by next generation sequencing. *J Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2017 Nov 4];29(4):487–96. Available from: <https://www.degruyter.com/view/j/jpem.2016.29.issue-4/jpem-2015-0039/jpem-2015-0039.xml>

94. Clissold RL, Hamilton AJ, Hattersley AT, Ellard S, Bingham C. HNF1B-associated renal and extra-renal disease-an expanding clinical spectrum. *Nat Rev Nephrol* [Internet]. 2015 Feb 23 [cited 2017 Nov 4];11(2):102–12. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrneph.2014.232>
95. Bellanné-Chantelot C, Clauin S, Chauveau D, Collin P, Daumont M, Douillard C, et al. Large genomic rearrangements in the hepatocyte nuclear factor-1beta (TCF2) gene are the most frequent cause of maturity-onset diabetes of the young type 5. *Diabetes* [Internet]. 2005 Nov [cited 2017 Nov 4];54(11):3126–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16249435>
96. Chen Y-Z, Gao Q, Zhao X-Z, Chen Y-Z, Bennett CL, Xiong X-S, et al. Systematic review of TCF2 anomalies in renal cysts and diabetes syndrome/maturity onset diabetes of the young type 5. *Chin Med J (Engl)* [Internet]. 2010 Nov [cited 2017 Nov 4];123(22):3326–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21163139>
97. Faguer S, Decramer S, Chassaing N, Bellanné-Chantelot C, Calvas P, Beaufile S, et al. Diagnosis, management, and prognosis of HNF1B nephropathy in adulthood. *Kidney Int* [Internet]. 2011 Oct [cited 2017 Nov 4];80(7):768–76. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815551223>
98. Loirat C, Bellanné-Chantelot C, Husson I, Deschênes G, Guignon V, Chabane N. Autism in three patients with cystic or hyperechogenic kidneys and chromosome 17q12 deletion. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2010 Oct [cited 2017 Nov 4];25(10):3430–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20587423>
99. Rebouissou S, Vasiliu V, Thomas C, Bellanné-Chantelot C, Bui H, Chrétien Y, et al. Germline hepatocyte nuclear factor 1 α and 1 β mutations in renal cell carcinomas. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2005 Mar 1 [cited 2017 Nov 4];14(5):603–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15649945>
100. Huang H, Chu K, Nemoz-Gaillard E, Elberg D, Tsai M-J. Neogenesis of beta-cells in adult BETA2/NeuroD-deficient mice. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2002 Mar [cited 2017 Nov 4];16(3):541–51. Available from: <https://academic.oup.com/mend/article-lookup/doi/10.1210/mend.16.3.0784>
101. Chapla A, Mruthyunjaya MD, Asha HS, Varghese D, Varshney M, Vasani SK, et al. Maturity onset diabetes of the young in India - a distinctive mutation pattern identified through targeted next-generation sequencing. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Apr;82(4):533–42.
102. Gonsorčíková L, Průhová Š, Cinek O, Ek J, Pelikánová T, Jørgensen T, et al. Autosomal inheritance of diabetes in two families characterized by obesity and a novel H241Q mutation in *NEUROD1*. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2008 Aug [cited 2017 Nov 4];9(4pt2):367–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18331410>
103. Lee J-K, Cho J-H, Hwang W-S, Lee Y-D, Reu D-S, Suh-Kim H. Expression of neuroD/BETA2 in mitotic and postmitotic neuronal cells during the development of nervous system. *Dev Dyn* [Internet]. 2000 Apr [cited 2017 Nov 4];217(4):361–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10767080>
104. Liu L, Furuta H, Minami A, Zheng T, Jia W, Nanjo K, et al. A novel mutation, Ser159Pro in the NeuroD1/BETA2 gene contributes to the development of diabetes in a Chinese potential MODY family. *Mol Cell Biochem* [Internet]. 2007 Sep 8 [cited 2017 Nov 4];303(1–2):115–20. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11010-007-9463-0>
105. Fernandez-Zapico ME, van Velkinburgh JC, Gutiérrez-Aguilar R, Neve B, Froguel P, Urrutia R, et al. *MODY7* Gene, *KLF11*, Is a Novel p300-dependent Regulator of *Pdx-1* (MODY4)

- Transcription in Pancreatic Islet β Cells. *J Biol Chem* [Internet]. 2009 Dec 25 [cited 2017 Nov 4];284(52):36482–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19843526>
106. van Vliet J, Crofts LA, Quinlan KGR, Czolij R, Perkins AC, Crossley M. Human KLF17 is a new member of the Sp/KLF family of transcription factors. *Genomics* [Internet]. 2006 Apr [cited 2017 Nov 4];87(4):474–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16460907>
 107. Banerjee S, Sen, Feinberg MW, Watanabe M, Gray S, Haspel RL, Denking DJ, et al. The Krüppel-like Factor KLF2 Inhibits Peroxisome Proliferator-activated Receptor- γ Expression and Adipogenesis. *J Biol Chem* [Internet]. 2003 Jan 24 [cited 2017 Nov 4];278(4):2581–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12426306>
 108. Johansson BB, Torsvik J, Bjørkhaug L, Vesterhus M, Ragvin A, Tjora E, et al. Diabetes and Pancreatic Exocrine Dysfunction Due to Mutations in the Carboxyl Ester Lipase Gene- Maturity Onset Diabetes of the Young (*CEL* -MODY). *J Biol Chem* [Internet]. 2011 Oct 7 [cited 2017 Nov 4];286(40):34593–605. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21784842>
 109. Habener JF, Kemp DM, Thomas MK. Minireview: Transcriptional Regulation in Pancreatic Development. *Endocrinology* [Internet]. 2005 Mar [cited 2017 Nov 4];146(3):1025–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15604203>
 110. Sujitjoo J, Kooptiwut S, Chongjaroen N, Tangjittipokin W, Plengvidhya N, Yenchitsomanus P-T. Aberrant mRNA splicing of paired box 4 (PAX4) IVS7-1G>A mutation causing maturity-onset diabetes of the young, type 9. *Acta Diabetol* [Internet]. 2016 Apr [cited 2017 Nov 4];53(2):205–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25951767>
 111. Tajima T, Jo W, Endo M, Ishizu K, Nakamura A. A Loss-of-Function Mutation of PAX4 A Novel PAX4 Mutation in a Japanese Patient with Maturity- Onset Diabetes of the Young. *Tohoku J Exp Med* [Internet]. 2011 [cited 2017 Nov 4];223(2232):113–8. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/tjem/223/2/223_2_113/_pdf
 112. Plengvidhya N, Kooptiwut S, Songtawee N, Doi A, Furuta H, Nishi M, et al. *PAX4* Mutations in Thais with Maturity Onset Diabetes of the Young. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2007 Jul [cited 2017 Nov 4];92(7):2821–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17426099>
 113. Eröz1 R, Doğan1 M, Arslanoğlu2 İ, Yücel H. Evaluation of mutation analysis results of 38 cases who admitted to Duzce University Research and Application Hospital Because of MODY Diabetes in the Western Blacksea Region. In XV. National medical biology&genetic congress,Mugla,Turkey; p. PS-099.
 114. Edghill EL, Flanagan SE, Patch A-M, Boustred C, Parrish A, Shields B, et al. Insulin Mutation Screening in 1,044 Patients With Diabetes: Mutations in the *INS* Gene Are a Common Cause of Neonatal Diabetes but a Rare Cause of Diabetes Diagnosed in Childhood or Adulthood. *Diabetes* [Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2017 Nov 5];57(4):1034–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18162506>
 115. Molven A, Ringdal M, Nordbø AM, Raeder H, Støy J, Lipkind GM, et al. Mutations in the insulin gene can cause MODY and autoantibody-negative type 1 diabetes. *Diabetes* [Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2017 Nov 5];57(4):1131–5. Available from: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db07-1467>
 116. Meur G, Simon A, Harun N, Virally M, Dechaume A, Bonnefond A, et al. Insulin Gene Mutations Resulting in Early-Onset Diabetes: Marked Differences in Clinical Presentation, Metabolic Status, and Pathogenic Effect Through Endoplasmic Reticulum Retention. *Diabetes*

- [Internet]. 2010 Mar 1 [cited 2017 Nov 8];59(3):653–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20007936>
117. Borowiec M, Liew CW, Thompson R, Boonyasrisawat W, Hu J, Mlynarski WM, et al. Mutations at the BLK locus linked to maturity onset diabetes of the young and -cell dysfunction. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2009 Aug 25 [cited 2017 Nov 5];106(34):14460–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19667185>
 118. Bonnefond A, Philippe J, Durand E, Dechaume A, Huyvaert M, Montagne L, et al. Whole-exome sequencing and high throughput genotyping identified KCNJ11 as the thirteenth MODY gene. Brusgaard K, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Jun 11 [cited 2017 Nov 5];7(6):e37423. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0037423>
 119. Polak M, Shield J. Neonatal and very-early-onset diabetes mellitus. *Semin Neonatol* [Internet]. 2004 Feb [cited 2017 Nov 5];9(1):59–65. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1084275603000642>
 120. Habeb AM, Al-Magamsi MS, Eid IM, Ali MI, Hattersley AT, Hussain K, et al. Incidence, genetics, and clinical phenotype of permanent neonatal diabetes mellitus in northwest Saudi Arabia. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2012 Sep 1 [cited 2017 Nov 5];13(6):499–505. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-5448.2011.00828.x>
 121. Cao B, Gong C, Wu D, Lu C, Liu F, Liu X, et al. Genetic Analysis and Follow-Up of 25 Neonatal Diabetes Mellitus Patients in China. *J Diabetes Res* [Internet]. 2016 Dec 29 [cited 2017 Nov 5];2016:1–9. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2016/6314368/>
 122. Ellard S, Lango Allen H, De Franco E, Flanagan SE, Hysenaj G, Colclough K, et al. Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing. *Diabetologia* [Internet]. 2013 Sep 15 [cited 2017 Nov 3];56(9):1958–63. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-013-2962-5>
 123. Vaxillaire M, Bonnefond A, Froguel P. The lessons of early-onset monogenic diabetes for the understanding of diabetes pathogenesis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2012 Apr 1 [cited 2017 Nov 5];26(2):171–87. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521690X11001588>
 124. Babenko AP, Polak M, Cavé H, Pharm D, Busiah K, Czernichow P, et al. Activating Mutations in the ABCC8 Gene in Neonatal Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 [cited 2017 Nov 5];355:456–66. Available from: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa055068>
 125. Karaa A, Goldstein A. The spectrum of clinical presentation, diagnosis, and management of mitochondrial forms of diabetes. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2015 Feb 1 [cited 2017 Nov 5];16(1):1–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pedi.12223>
 126. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1977 Dec [cited 2017 Nov 7];74(12):5463–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/271968>
 127. Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bemben LA, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* [Internet]. 2005 Jul 31 [cited 2017 Nov 7];437(7057):376–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16056220>
 128. Next generation sequencing technology: Advances and applications. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2017 Nov 7];1842(10):1932–41. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092544391400180X>
 129. Liu L, Li Y, Li S, Hu N, He Y, Pong R, et al. Comparison of Next-Generation Sequencing

- Systems. *J Biomed Biotechnol* [Internet]. 2012 Jul 5 [cited 2017 Nov 7];2012:1–11. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2012/251364/>
130. Thompson JC, Yee SS, Troxel AB, Savitch SL, Fan R, Balli D, et al. Detection of Therapeutically Targetable Driver and Resistance Mutations in Lung Cancer Patients by Next-Generation Sequencing of Cell-Free Circulating Tumor DNA. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2017 Nov 7];22(23):5772–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27601595>
 131. H. T. Mental Retardasyon Ve/Veya Multipl Konjenital Anomali'li Olguların Yeni Nesil Dizileme Tekniği İle Genetik Etiyolojisinin Araştırılması. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2016.
 132. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* [Internet]. 2015 May 5 [cited 2017 Nov 5];17(5):405–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25741868>
 133. Anık A. GENÇLİKTE ORTAYA ÇIKAN ERİŞKİN TİP DİYABET (MODY) TANISI İLE İZLENEN ÇOCUKLARDA YENİ NESİL DİZİ ANALİZİ YÖNTEMİ İLE TANIMLANMIŞ TÜM GENLERİN ARAŞTIRILMASI, YAN DAL UZMANLIK TEZİ. 9 Eylül Üniversitesi, İzmir; 2014.
 134. Schober E, Rami B, Grabert M, Thon A, Kapellen T, Reinehr T, et al. Phenotypical aspects of maturity-onset diabetes of the young (MODY diabetes) in comparison with Type 2 diabetes mellitus (T2DM) in children and adolescents: experience from a large multicentre database. *Diabet Med* [Internet]. 2009 May [cited 2017 Nov 8];26(5):466–73. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1464-5491.2009.02720.x>
 135. Anık A, Çatlı G, Abacı A, Böber E. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): an update. *J Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2017 Nov 9];28(3–4). Available from: <https://www.degruyter.com/view/j/jpem.2015.28.issue-3-4/jpem-2014-0384/jpem-2014-0384.xml>
 136. Slingerland AS. Monogenic diabetes in children and young adults: Challenges for researcher, clinician and patient. *Rev Endocr Metab Disord* [Internet]. 2006 Sep [cited 2017 Nov 5];7(3):171–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17186387>
 137. Ruhl CE, Everhart JE. Determinants of the association of overweight with elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. *Gastroenterology* [Internet]. 2003 Jan [cited 2017 Nov 10];124(1):71–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508503500208>
 138. Thomas L. Glycohemoglobins. Christoph MN HR. *Clinical Laboratory Diagnostics*, first edition. Marburg, Germany; 1998.
 139. Hancu A, Radulian G. Changes in Fasting Plasma Glucose, HbA1c and Triglycerides Are Related to Changes in Body Composition in Patients with Type 2 Diabetes. *Maedica -a J Clin Med* [Internet]. 2016 [cited 2017 Nov 9];11(115):32–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5394492/pdf/maedica-11-32.pdf>
 140. Millán J, Alegría E, Guijarro C, Lozano J V., Vitale GC, González-Timón B, et al. Dislipemia en población diabética tratada con estatinas. Resultados del estudio DYSIS en España. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2013 Nov 16 [cited 2017 Nov 9];141(10):430–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23246165>

141. Shepherd M, Shields B, Hammersley S, Hudson M, McDonald TJ, Colclough K, et al. Systematic Population Screening, Using Biomarkers and Genetic Testing, Identifies 2.5% of the U.K. Pediatric Diabetes Population With Monogenic Diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2016 Nov [cited 2017 Nov 5];39(11):1879–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27271189>
142. Johansson BB, Irgens HU, Molnes J, Sztromwasser P, Aukrust I, Juliusson PB, et al. Targeted next-generation sequencing reveals MODY in up to 6.5% of antibody-negative diabetes cases listed in the Norwegian Childhood Diabetes Registry. *Diabetologia* [Internet]. 2017 Apr 2 [cited 2017 Nov 5];60(4):625–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27913849>
143. Kavvoura FK, Owen KR. Maturity onset diabetes of the young: clinical characteristics, diagnosis and management. *Pediatr Endocrinol Rev* [Internet]. 2012 [cited 2017 Nov 5];10(2):234–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23539835>
144. Ellard S, Bellanné-Chantelot C, Hattersley AT. Best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. 2008 [cited 2017 Nov 5]; Available from: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.772.1324&rep=rep1&type=pdf>
145. Vaxillaire M, Froguel P. Monogenic Diabetes in the Young, Pharmacogenetics and Relevance to Multifactorial Forms of Type 2 Diabetes. *Endocr Rev* [Internet]. 2008 May [cited 2017 Nov 5];29(3):254–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18436708>
146. Owen KR. Monogenic diabetes: old and new approaches to diagnosis. *Clin Med (Northfield Il)* [Internet]. 2013 Jun 1 [cited 2017 Nov 5];13(3):278–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23760703>
147. Stanik J, Dusatkova P, Cinek O, Valentinova L, Huckova M, Skopkova M, et al. De novo mutations of GCK, HNF1A and HNF4A may be more frequent in MODY than previously assumed. *Diabetologia* [Internet]. 2014 Mar 10 [cited 2017 Nov 5];57(3):480–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24323243>
148. Thanabalasingham G, Pal A, Selwood MP, Dudley C, Fisher K, Bingley PJ, et al. Systematic Assessment of Etiology in Adults With a Clinical Diagnosis of Young-Onset Type 2 Diabetes Is a Successful Strategy for Identifying Maturity-Onset Diabetes of the Young. *Diabetes Care* [Internet]. 2012 Jun 1 [cited 2017 Nov 5];35(6):1206–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22432108>
149. Hutchins J, Barajas RA, Hale D, Escaname E, Lynch J. Type 2 diabetes in a 5-year-old and single center experience of type 2 diabetes in youth under 10. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2017 Nov 4];18(7):674–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pedi.12463>
150. Ehtisham S, Hattersley AT, Dunger DB, Barrett TG, British Society for Paediatric Endocrinology and Diabetes Clinical Trials Group. First UK survey of paediatric type 2 diabetes and MODY. *Arch Dis Child* [Internet]. 2004 Jun [cited 2017 Nov 5];89(6):526–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15155395>
151. Seissler J, Scherbaum WA. Autoimmune diagnostics in diabetes mellitus. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2006 [cited 2017 Nov 5];44(2):133–7. Available from: <https://www.degruyter.com/downloadpdf/j/cclm.2006.44.issue-2/cclm.2006.025/cclm.2006.025.pdf>
152. McDonald TJ, Colclough K, Brown R, Shields B, Shepherd M, Bingley P, et al. Islet autoantibodies can discriminate maturity-onset diabetes of the young (MODY) from Type 1

- diabetes. *Diabet Med* [Internet]. 2011 Sep [cited 2017 Nov 5];28(9):1028–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21395678>
153. Maltoni G, Zucchini S, Scipione M, Mantovani V, Salardi S, Cicognani A. Onset of type 1 diabetes mellitus in two patients with maturity onset diabetes of the young. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2012 Mar [cited 2017 Nov 5];13(2):208–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21696527>
 154. Urbanová J, Rypáčková B, Kučera P, Anděl M, Heneberg P. Should the Negativity for Islet Cell Autoantibodies Be Used in a Prescreening for Genetic Testing in Maturity-Onset Diabetes of the Young? The Case of Autoimmunity-Associated Destruction of Pancreatic β -Cells in a Family of HNF1A-MODY Subjects. *Int Arch Allergy Immunol* [Internet]. 2013 [cited 2017 Nov 8];161(3):279–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23548576>
 155. McKinney J, Cao H, Behme MT, Mahon JL, Hegele RA. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) mutation in type 2 diabetes and latent autoimmune diabetes of the adult. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Dec 1 [cited 2017 Nov 5];26(12):3358–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14633836>
 156. Thanabalasingham G, Pal A, Farmer AJ, Ellard S, McCarthy MI OK. Extending criteria for genetic testing increases diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. In: *Diabetologia*. 2010.
 157. Pearson ER, Badman MK, Lockwood CR, Clark PM, Ellard S, Bingham C, et al. Contrasting diabetes phenotypes associated with hepatocyte nuclear factor-1alpha and -1beta mutations. *Diabetes Care* [Internet]. 2004 May 1 [cited 2017 Nov 5];27(5):1102–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15111528>
 158. Ellard S, Thomas K, Edghill EL, Owens M, Ambye L, Cropper J, et al. Partial and whole gene deletion mutations of the GCK and HNF1A genes in maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia* [Internet]. 2007 Oct 1 [cited 2017 Nov 8];50(11):2313–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17828387>
 159. <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=GCK>.
 160. Amendola LM, Jarvik GP, Leo MC, McLaughlin HM, Akkari Y, Amaral MD, et al. Performance of ACMG-AMP Variant-Interpretation Guidelines among Nine Laboratories in the Clinical Sequencing Exploratory Research Consortium. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2016 Jun 2 [cited 2017 Nov 5];98(6):1067–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27181684>
 161. Nykamp K, Anderson M, Powers M, Garcia J, Herrera B, Ho Y-Y, et al. Sherlock: a comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria. *Genet Med* [Internet]. 2017 Oct 11 [cited 2017 Nov 5];19(10):1105–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28492532>
 162. Plengvidhya N, Boonyasrisawat W, Chongjaroen N, Jungtrakoon P, Sriussadaporn S, Vannaseang S, et al. Mutations of maturity-onset diabetes of the young (MODY) genes in Thais with early-onset type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2009 Jun [cited 2017 Nov 5];70(6):847–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18811724>
 163. Naylor RN, Greeley SAW, Bell GI, Philipson LH. Genetics and pathophysiology of neonatal diabetes mellitus. *J Diabetes Investig* [Internet]. 2011 Jun 5 [cited 2017 Nov 5];2(3):158–69. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24843477>
 164. Bolu S, Arslanoglu I, Eroz R, Uzun H, Timur F DM. Glukokinaz Geninde Homozigot İnaktive

Edici Mutasyona Bağlı Nadir Görülen Bir Neonatal Diyabet Öyküsü. In Adana: Çocuk Endokrinoloji Olgu Sunumları Kongresi; 2010.

165. Chakera AJ, Spyer G, Vincent N, Ellard S, Hattersley AT, Dunne FP. The 0.1% of the Population With Glucokinase Monogenic Diabetes Can Be Recognized by Clinical Characteristics in Pregnancy: The Atlantic Diabetes in Pregnancy Cohort. *Diabetes Care* [Internet]. 2014 May [cited 2017 Nov 4];37(5):1230–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24550216>
166. Ortega-Rodriguez E, Levy-Marchal C, Guillermine S PM. b-Cell autoimmunity in a child with M.O.D.Y. (Maturity Onset Diabetes in the Young). *Diabetes Metab.* 2001;27: 59.
167. O.Mossa., F.Meschi., A.Cuesta Munoz, A. Caumo FC. High prevalence of glucokinase mutations in Italian children with MODY. Influence on glucose tolerance, first-phase insulin response, insulin sensitivity and BMI. *Diabetologia.* 2001;44:898-905.
168. Demirbilek H, Arya VB, Ozbek MN, Houghton JAL, Baran RT, Akar M, et al. Clinical characteristics and molecular genetic analysis of 22 patients with neonatal diabetes from the South-Eastern region of Turkey: predominance of non-KATP channel mutations. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2015 Apr 24 [cited 2017 Nov 8];172(6):697–705. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25755231>
169. Turkkahraman D, Bircan I, Tribble ND, Akçurum S, Ellard S, Gloyn AL. Permanent neonatal diabetes mellitus caused by a novel homozygous (T168A) glucokinase (GCK) mutation: initial response to oral sulphonylurea therapy. *J Pediatr* [Internet]. 2008 Jul 1 [cited 2017 Nov 5];153(1):122–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18571549>
170. Gill-Carey OJ, Shields B, Colclough K, Ellard S HA. Finding a glucokinase mutation alters treatment. In: *Diabet Med.* 2007. p. 24(suppl 1):A6-A20.
171. Martin D, Bellanné-Chantelot C, Deschamps I, Froguel P, Robert J-J, Velho G. Long-term follow-up of oral glucose tolerance test-derived glucose tolerance and insulin secretion and insulin sensitivity indexes in subjects with glucokinase mutations (MODY2). *Diabetes Care* [Internet]. 2008 Jul [cited 2017 Nov 5];31(7):1321–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18411240>
172. Hattersley A, Bruining J, Shield J, Njolstad P, Donaghue KC. The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2009 Sep 1 [cited 2017 Nov 5];10(s12):33–42. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-5448.2009.00571.x>
173. Stride A, Shields B, Gill-Carey O, Chakera AJ, Colclough K, Ellard S, et al. Cross-sectional and longitudinal studies suggest pharmacological treatment used in patients with glucokinase mutations does not alter glycaemia. *Diabetologia* [Internet]. 2014 Jan 4 [cited 2017 Nov 5];57(1):54–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24092492>
174. Bellanné-Chantelot C, Lévy DJ, Carette C, Saint-Martin C, Riveline J-P, Larger E, et al. Clinical Characteristics and Diagnostic Criteria of Maturity-Onset Diabetes Of The Young (MODY) due to Molecular Anomalies of the *HNF1A* Gene. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2011 Aug [cited 2017 Nov 5];96(8):E1346–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21677039>
175. Shepherd M, Sparkes AC, Hattersley AT. Genetic testing in maturity onset diabetes of the young (MODY): a new challenge for the diabetic clinic. *Pract Diabetes Int* [Internet]. 2001 Jan 1 [cited 2017 Nov 5];18(1):16–21. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pdi.108>
176. Steele AM, Shields BM, Shepherd M, Ellard S, Hattersley AT, Pearson ER. Increased all-cause

- and cardiovascular mortality in monogenic diabetes as a result of mutations in the HNF1A gene. *Diabet Med* [Internet]. 2010 Feb [cited 2017 Nov 5];27(2):157–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20546258>
177. McDonald TJ, Shields BM, Lawry J, Owen KR, Gloyn AL, Ellard S, et al. High-sensitivity CRP discriminates HNF1A-MODY from other subtypes of diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2011 Aug 1 [cited 2017 Nov 5];34(8):1860–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21700917>
 178. Thanabalasingham G, Shah N, Vaxillaire M, Hansen T, Tuomi T, Gašperíková D, et al. A large multi-centre European study validates high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) as a clinical biomarker for the diagnosis of diabetes subtypes. *Diabetologia* [Internet]. 2011 Nov 4 [cited 2017 Nov 5];54(11):2801–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21814873>
 179. Bellanné-Chantelot C, Coste J, Ciangura C, Fonfrède M, Saint-Martin C, Bouché C, et al. High-sensitivity C-reactive protein does not improve the differential diagnosis of HNF1A-MODY and familial young-onset type 2 diabetes: A grey zone analysis. *Diabetes Metab* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2017 Nov 5];42(1):33–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25753245>
 180. Jeannot E, Mellottee L, Bioulac-Sage P, Balabaud C, Scoazec J-Y, Tran Van Nhieu J, et al. Spectrum of HNF1A somatic mutations in hepatocellular adenoma differs from that in patients with MODY3 and suggests genotoxic damage. *Diabetes* [Internet]. 2010 Jul [cited 2017 Nov 8];59(7):1836–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20393147>
 181. Pearson ER, Starkey BJ, Powell RJ, Gribble FM, Clark PM, Hattersley AT. Genetic cause of hyperglycaemia and response to treatment in diabetes. *Lancet* [Internet]. 2003 Oct 18 [cited 2017 Nov 5];362(9392):1275–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14575972>
 182. Raile K, Schober E, Konrad K, Thon A, Grulich-Henn J, Meissner T, et al. Treatment of young patients with HNF1A mutations (HNF1A-MODY). *Diabet Med* [Internet]. 2015 Apr [cited 2017 Nov 5];32(4):526–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25483937>
 183. Flanagan SE, Patch A-M, Mackay DJG, Edghill EL, Gloyn AL, Robinson D, et al. Mutations in ATP-Sensitive K⁺ Channel Genes Cause Transient Neonatal Diabetes and Permanent Diabetes in Childhood or Adulthood. *Diabetes* [Internet]. 2007 Jul 1 [cited 2017 Nov 5];56(7):1930–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17446535>
 184. Babenko AP, Polak M, Cavé H, Busiah K, Czernichow P, Scharfmann R, et al. Activating Mutations in the *ABCC8* Gene in Neonatal Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 Aug 3 [cited 2017 Nov 5];355(5):456–66. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa055068>
 185. Yorifuji T, Nagashima K, Kurokawa K, Kawai M, Oishi M, Akazawa Y, et al. The C42R mutation in the Kir6.2 (KCNJ11) gene as a cause of transient neonatal diabetes, childhood diabetes, or later-onset, apparently type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2005 Jun [cited 2017 Nov 5];90(6):3174–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15784703>
 186. Rafiq M, Flanagan SE, Patch A-M, Shields BM, Ellard S, Hattersley AT, et al. Effective treatment with oral sulfonylureas in patients with diabetes due to sulfonylurea receptor 1 (SUR1) mutations. *Diabetes Care* [Internet]. 2008 Feb 1 [cited 2017 Nov 5];31(2):204–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18025408>
 187. Gonsorcikova L, Vaxillaire M, Pruhova S, Dechaume A, Dusatkova P, Cinek O, et al. Familial mild hyperglycemia associated with a novel *ABCC8*-V84I mutation within three generations.

- Pediatr Diabetes [Internet]. 2011 May [cited 2017 Nov 5];12(3pt2):266–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21214702>
188. Riveline J-P, Rousseau E, Reznik Y, Fetita S, Philippe J, Dechaume A, et al. Clinical and metabolic features of adult-onset diabetes caused by ABCC8 mutations. *Diabetes Care* [Internet]. 2012 Feb 1 [cited 2017 Nov 5];35(2):248–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22210575>
189. Ræder H, Johansson S, Holm PI, Haldorsen IS, Mas E, Sbarra V, et al. Mutations in the CEL VNTR cause a syndrome of diabetes and pancreatic exocrine dysfunction. *Nat Genet* [Internet]. 2006 Jan 20 [cited 2017 Nov 5];38(1):54–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16369531>
190. Zeng C, Fang C, Weng H, Xu X, Wu T, Li W. B-cell lymphocyte kinase polymorphisms rs13277113, rs2736340, and rs4840568 and risk of autoimmune diseases. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2017 Sep [cited 2017 Nov 5];96(36):e7855. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28885337>
191. Kim S-H, Ma X, Klupa T, Powers C, Pezzolesi M, Warram JH, et al. Genetic modifiers of the age at diagnosis of diabetes (MODY3) in carriers of hepatocyte nuclear factor-1alpha mutations map to chromosomes 5p15, 9q22, and 14q24. *Diabetes* [Internet]. 2003 Aug [cited 2017 Nov 5];52(8):2182–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12882939>
192. Bonnefond A, Yengo L, Philippe J, Dechaume A, Ezzidi I, Vaillant E, et al. Reassessment of the putative role of BLK-p.A71T loss-of-function mutation in MODY and type 2 diabetes. *Diabetologia* [Internet]. 2013 Mar 6 [cited 2017 Nov 5];56(3):492–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23224494>
193. Mathison A, Escande C, Calvo E, Seo S, White T, Salmonson A, et al. Phenotypic Characterization of Mice Carrying Homozygous Deletion of KLF11, a Gene in Which Mutations Cause Human Neonatal and MODY VII Diabetes. *Endocrinology* [Internet]. 2015 Oct [cited 2017 Nov 5];156(10):3581–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26248217>
194. Neve B, Fernandez-Zapico ME, Ashkenazi-Katalan V, Dina C, Hamid YH, Joly E, et al. Role of transcription factor KLF11 and its diabetes-associated gene variants in pancreatic beta cell function. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2005 Mar 29 [cited 2017 Nov 5];102(13):4807–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15774581>
195. Tanahashi T, Shinohara K, Keshavarz P, Yamaguchi Y, Miyawaki K, Kunika K, et al. The association of genetic variants in Krüppel-like factor 11 and Type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabet Med* [Internet]. 2008 Jan [cited 2017 Nov 5];25(1):19–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18199129>
196. Florez JC, Saxena R, Winckler W, Burtt NP, Almgren P, Bengtsson Bostrom K, et al. The Kruppel-Like Factor 11 (KLF11) Q62R Polymorphism Is Not Associated With Type 2 Diabetes in 8,676 People. *Diabetes* [Internet]. 2006 Dec 1 [cited 2017 Nov 5];55(12):3620–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17130512>
197. Ma L, Hanson RL, Que LN, Mack JL, Franks PW, Infante AM, et al. Association analysis of Krüppel-like factor 11 variants with type 2 diabetes in Pima Indians. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Sep [cited 2017 Nov 5];93(9):3644–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18593768>
198. Gonsorčíková L, Průhová Š, Cinek O, Ek J, Pelikánová T, Jørgensen T, et al. Autosomal inheritance of diabetes in two families characterized by obesity and a novel H241Q mutation in *NEUROD1*. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2008 Aug [cited 2017 Nov 5];9(4pt2):367–72.

Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18331410>

199. A family with the Arg103Pro mutation in the NEUROD1 gene detected by next-generation sequencing – Clinical characteristics of mutation carriers. *Eur J Med Genet* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2017 Nov 5];59(2):75–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1769721216300027>
200. Liu L, Furuta H, Minami A, Zheng T, Jia W, Nanjo K, et al. A novel mutation, Ser159Pro in the NeuroD1/BETA2 gene contributes to the development of diabetes in a Chinese potential MODY family. *Mol Cell Biochem* [Internet]. 2007 Aug 8 [cited 2017 Nov 5];303(1–2):115–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17440689>
201. Horikawa Y, Enya M, Mabe H, Fukushima K, Takubo N, Ohashi M, et al. NEUROD1-deficient diabetes (MODY6): Identification of the first cases in Japanese and the clinical features. *Pediatr Diabetes* [Internet]. 2017 Jun 30 [cited 2017 Nov 5]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/pedi.12553>
202. Wolfram DJ WH. Wolfram DJ, Wagener HP. Diabetes mellitus and simple optic atrophy among siblings: report of four cases. *Mayo Clin Proc*. 1938;13:715–718.
203. Medlej R, Wasson J, Baz P, Azar S, Salti I, Loiselet J, et al. Diabetes Mellitus and Optic Atrophy: A Study of Wolfram Syndrome in the Lebanese Population. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2004 Apr [cited 2017 Nov 8];89(4):1656–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15070927>
204. Barrett TG, Bunday SE, Macleod AF. Neurodegeneration and diabetes: UK nationwide study of Wolfram (DIDMOAD) syndrome. *Lancet (London, England)* [Internet]. 1995 Dec 2 [cited 2017 Nov 8];346(8988):1458–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7490992>
205. Zmysłowska A, Borowiec M, Fendler W, Jarosz-Chobot P, Myśliwiec M, Szadkowska A, et al. Ocena częstości występowania zespołu Wolframa w populacji dzieci z cukrzycą. *Endokrynol Pol* [Internet]. 2014 Aug 29 [cited 2017 Nov 5];65(4):295–7. Available from: https://journals.viamedica.pl/endokrynologia_polska/article/view/39348
206. Fonseca SG, Gromada J, Urano F. Endoplasmic reticulum stress and pancreatic β -cell death. *Trends Endocrinol Metab* [Internet]. 2011 Mar [cited 2017 Nov 5];22(7):266–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21458293>
207. Karzon RK, Hullar TE. Audiologic and Vestibular Findings in Wolfram Syndrome. *Ear Hear* [Internet]. 2013 [cited 2017 Nov 5];34(6):809–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23698626>
208. Urano F. Wolfram syndrome iPS cells: the first human cell model of endoplasmic reticulum disease. *Diabetes* [Internet]. 2014 Mar [cited 2017 Nov 5];63(3):844–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24556864>
209. Lindahl M, Danilova T, Palm E, Lindholm P, Vöikar V, Hakonen E, et al. MANF Is Indispensable for the Proliferation and Survival of Pancreatic β Cells. *Cell Rep* [Internet]. 2014 Apr 24 [cited 2017 Nov 5];7(2):366–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24726366>
210. Chausseot A, Bannwarth S, Rouzier C, Vialettes B, Mkadem SA El, Chabrol B, et al. Neurologic features and genotype-phenotype correlation in Wolfram syndrome. *Ann Neurol* [Internet]. 2011 Mar 1 [cited 2017 Nov 5];69(3):501–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ana.22160>
211. Chausseot A, Rouzier C, Quere M, Plutino M, Ait-El-Mkadem S, Bannwarth S, et al.

Mutation update and uncommon phenotypes in a French cohort of 96 patients with *WFS1* - related disorders. Clin Genet [Internet]. 2015 May [cited 2017 Nov 5];87(5):430–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24890733>

