

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ
DOKTORA PROGRAMI

GESTASYONEL DİYABETTE MİTOKONDRIYAL
DİSFONKSİYONUN ARAŞTIRILMASI

UMUT KEREM KOLAÇ
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Abdullah YALÇIN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-19022 proje numarası ile ve TÜBİTAK tarafından 120S283 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2021

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Umut Kerem KOLAÇ tarafından hazırlanan “Gestasyonel Diyabette Mitokondriyal Disfonksiyonun Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 01/09/2021

Üye (T.D.):	Prof. Dr. Abdullah YALÇIN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye:	Prof. Dr. Gizem DÖNMEZ YALÇIN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye:	Doç. Dr. Mustafa ÜNÜBOL	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye:	Prof. Dr. Ayşe Gaye TOMATIR	Pamukkale Üniversitesi
Üye:	Doç. Dr. Ayşegül YILDIZ	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörösünü esirgemeyen değerli danışmanım Prof. Dr. Abdullah YALÇIN' a çok teşekkür ederim. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve tez konusunun belirlenmesinde emeği olan Anabilim Dalımız öğretim üyelerinden Prof. Dr. Gizem DÖNMEZ YALÇIN' a ve destekleriyle tez deneylerinin yapılmasında katkısı olan Biyofizik Anabilim Dalı Araş. Gör. Dr. Mahmut Alp KILIÇ' a teőekkürü bir borç bilirim. Tezin istatistik analizlerinde büyük yardımı dokunan Dr. Öğr. Üyesi Muzaffer BİLGİN' e, dokuların temin edilmesinde ve hastaların teşhislerinin konulmasında emekleri olan değerli hocalarım Doç. Dr. Meryem KÜREK EKEN' e ve Doç. Dr. Mustafa ÜNÜBOL' a teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleriyle her zaman yanımda olan aileme ayrıca teşekkür ederim.

Umut Kerem KOLAÇ

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xiv
TABLOLAR DİZİNİ.....	xv
ÖZET	xvii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Diabetes Mellitus.....	4
2.2. Diyabetin Sınıflandırılması.....	5
2.2.1. Gestasyonel Diyabet.....	7
2.2.1.1. GDM' nin Patofizyolojisi	9
2.2.1.1.1. Maternal İnsülin Direnci.....	9
2.2.1.1.2. İnflamasyon	11
2.2.1.1.3. Plasental Disfonksiyon	12
2.2.1.1.4. Endotelial Hücre Disfonksiyonu	14
2.2.1.2. GDM' de Bozulan Moleküler Yolaklar.....	15
2.3. Mitokondri Yapısı ve Fonksiyonu.....	20
2.4. Plazenta ve Trofoblast Mitokondriyal Fonksiyonu	21
2.5. Mitokondriyal Hasar Sinyalleri	24
2.5.1. Mitokondri ve Oksidatif Stres	24

2.5.2. Mitokondri ve Apoptoz	26
2.5.3. Mitokondriyal Biyogenez	27
2.5.4. Mitokondriyal Katlanmamış Protein Yanıtı (mtUPR).....	28
2.5.5. Mitofaji	29
2.5.6. Mitokondriyal Dinamikler	31
2.5.6.1. Mitokondriyal Dinamiklerin Hedeflenmesi “Fisyon İnhibitörleri”	34
3.1. Gereç.....	37
3.1.1. Cihazlar.....	37
3.1.2. Kimyasal Maddeler, Primerler ve Antikorlar	38
3.2. Yöntem	41
3.2.1. Hasta Seçimi ve Plasenta Dokularının Toplanması.....	41
3.2.2. Hücre Kültürü ve İnhibitörlerin Uygulanması.....	42
3.2.2.1. Hücre Kültürü Optimizasyonu	42
3.2.2.2. İnhibitörlerin Uygulanması	44
3.2.3. Metiltiazol Difenil Tetrazolyum (MTT) Testi.....	45
3.2.4. Protein İzolasyonu	46
3.2.4.1. Dokulardan Protein İzolasyonu	46
3.2.4.2. Hücrelerden Protein İzolasyonu	47
3.2.5. Protein Miktarı Tayini	48
3.2.6. Western Blot.....	49
3.2.7. RNA İzolasyonu	51
3.2.8. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi.....	52
3.2.9. Real Time PCR.....	53
3.2.10. Mitokondriyal Potansiyelin Belirlenmesi	54
3.2.11. Oksidatif Stresin Belirlenmesi.....	56
3.2.12. İstatistiksel Analizler	57

4. BULGULAR	58
4.1. Hasta Karakteristik Özellikleri ve Biyokimyasal Değerlendirmeler	58
4.1.2. Hastaların Karaciğer Enzim Seviyeleri	65
4.2. Plasenta Dokusu mRNA Ekspresyonları	67
4.2.1. Kombine Gruplarda mRNA Ekspresyonları	67
4.2.2. Alt Gruplarda mRNA Ekspresyonları	71
4.3. Plasenta Dokusu Protein Ekspresyonları	76
4.4. Trofoblast Hücrelerinde Protein Ekspresyonları	80
4.4.1. Yüksek Glukoz Uygulamasının Füzyon ve Filyon Proteinlerine Etkisi	80
4.4.2. Filyon İnhibitörlerinin Filyon Proteinlerine Etkisi	83
4.4.3. Filyon İnhibitörlerinin İnsülin Sinyal Proteinlerine Etkisi	86
4.4.4. Filyon İnhibitörlerinin Otofaji Proteinlerine Etkisi	95
4.5. Trofoblast Hücrelerinde mRNA Ekspresyonları	98
4.5.1. Filyon İnhibitörlerinin Füzyon Belirteçleri mRNA Ekspresyonlarına Etkisi	99
4.5.2. Filyon İnhibitörlerinin mtUPR Belirteçleri mRNA Ekspresyonlarına Etkisi	102
4.5.3. Filyon İnhibitörlerinin Mitokondriyal Antioksidan Enzim mRNA Ekspresyonlarına Etkisi	105
4.5.4. Filyon İnhibitörlerinin Apoptoz Belirteçleri mRNA Ekspresyonlarına Etkisi	107
4.5.5. Filyon İnhibitörlerinin <i>Beclin1</i> mRNA Ekspresyonuna Etkisi	109
4.5.6. Filyon İnhibitörlerinin <i>Nlrp3</i> İnflamazom mRNA Ekspresyonuna Etkisi	111
4.6. Filyon İnhibitörlerinin Hücre Canlılığına Etkisi	112
4.7. Filyon İnhibitörlerinin Mitokondri Potansiyeline Etkisi	113
4.8. Filyon İnhibitörlerinin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi	115
5. TARTIŞMA	118
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	129
KAYNAKLAR	131

EKLER	163
Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi	163
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	164
ÖZ GEÇMİŞ.....	165

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADA	: Amerikan Diyabet Derneği
AKT	: Protein kinaz B
ALT	: Alanin transaminaz
AMPK	: 5'-adenozin monofosfat ile aktive edilmiş protein kinaz
AP1	: Aktivatör protein 1
ASI	: Amniyotik sıvı indeksi
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATF6	: Aktive edici transkripsiyon faktörü 6
ATG	: Otofaji ilişkili protein
BAK	: BCL-2-homolog-antagonisti
BAX	: BCL-2-ilşkili X
BCL-2	: Pro- ve anti-apoptotik B-hücre lenfoma 2
cAMP	: Siklik adenzin mono fosfat
cDNA	: Komplementer DNA
CHOP	: C/EBP β homolog protein
ClpP	: Kazeinolitik mitokondriyal matriks peptidaz proteolitik alt birimi
DHE	: Dihidroethidium
DM	: Diabetes mellitus
DRP1	: Dinamin benzeri protein 1
ER	: Endoplazmik retikulumda
ERR	: Östrojen ve östrojen ile ilgili reseptörler
ETS	: Elektron taşıma zinciri
FADH2	: Flavın adenin dinükleotit

FIS1	: Filyon 1 proteini
GABARAP	: GABA reseptörü ile ilişkili proteini
GAD65	: Glutamat dekarboksilaz 65
GDM	: Gestasyonel diabetes mellitus
GLUT4	: Glukoz taşıyıcısı 4
GPx-1	: Glutasyon peroksidaz-1
GSH	: Glutasyon
GSK3	: Glikojen sentaz kinaz 3
HDAC6	: Histon deasetilaz 6
HLA	: İnsan lökosit antijeni
HNF-4a	: Hepatosit nükleer faktör 4 α
HSP	: Isı şoku proteini
IADPSG	: Uluslararası Diyabet ve Gebelik Çalışma Grubu
ICAM-1	: Hücreler arası adezyon molekülü 1
IGF1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
IL	: İnterlökin
IPF-1	: İnsülin promoter faktör-I
IR	: İnsülin reseptörü
IRE1	: Inositol gerektiren enzim 1
IRS	: İnsülin reseptörü substratı
JNK	: c-Jun N-terminal kinaz
LADA	: Yetişkinlerde gizli otoimmün diyabet
LC3	: Mikrotübülle ilişkili proteinler 1A/1B hafif zincir 3B
LPS	: Lipopolisakkarit
MAPK	: Mitojen aktive edici protein kinaz
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein 1

Mdivi-1	: Mitokondriyal bölünme inhibitörü-1
MFF	: Mitokondriyal fisyon faktörü
MFN	: Mitofusin
MiD	: Mitokondriyal dinamik proteinleri
MnSOD	: Mitokondriyal superoksit dismutaz
MODY	: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet
mPTP	: Mitokondriyal geçirgen por
mTORC	: Rapamisin'in mekanistik hedef kompleksi
MTT	: Metiltiazol difenil tetrazolyum
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NGT	: Normal glukoz toleransı
NIX, BNIP3	: Nip3 benzeri protein X
NOD1/NOD2	: Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı içeren ½
NOS	: Reaktif nitrojen türevleri
NRF	: Nükleer solunum faktörü
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
OPA1	: Optik atrofi 1
PERK	: Pankreatik endoplazmik retikulum kinaz
PGC-1α/β	: PPAR-γ koaktivatör-1α ve β
PI3K	: Fosfoinozid 3-kinaza
PINK1	: PTEN-indüklü kinaz 1
PPAR	: Peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör
PPRE	: Peroksizom proliferatör cevap elemanları
Pre-DM	: Gebelikten önce diyabete sahip olan
ROS	: Reaktif oksijen türevleri

SIRT	: Sirtuin
StAR	: Steroidojenik akut düzenleyici protein
T2DM	: Tip 2 diabetes mellitus
TBS	: Tris-Buffered Salline
TCA	: Trikarboksilik asit
TFAM	: Mitokondriyal transkripsiyon faktörü A
TLR	: Toll benzeri reseptör
TNF-α	: Tümör nekroz faktör alfa
UCP2	: Ayrılma proteinleri
UPR	: Katlanmamış protein cevabı
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon proteini 1
VDAC1	: Voltaj bağlı anyon kanalı 1
VKİ	: Vücut kitle indeksine
WBC	: Beyaz kan hücresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İnsülin sinyali (AMPK, 5' adenozin monofosfat ile aktive edilen protein kinaz; PKC, protein kinaz C; IκK, Iκβ kinaz; PIP2/3, fosfatidil inozitol di/tri-fosfat).....	11
Şekil 2. Plasental membran yapıları ve glukoz taşıyıcıları .	13
Şekil 3. GDM' nin steril inflamasyon moleküler modeli.....	19
Şekil 4. Mitokondriyal regülasyon modeli.....	21
Şekil 5. Sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast mitokondrileri (elektron mikroskobu görüntülerinden uyarlanmıştır)	23
Şekil 6. Klasik elektron taşıma sistemi ve iç membranda kolesterolün O ₂ ile progesterona dönüşümü (CI-V, ETC kompleksleri; P450 _{scc} , kolesterol yan zincir parçalama enzimi, 3β HSD, 3-β-hidroksisteroid dehidrogenaz)	25
Şekil 7. mtUPR sinyali.....	29
Şekil 8. Mitokondriyal füzyon ve fisyonun regülasyonu	32
Şekil 9. Mitokondriyal biyogenez, mitofaji ve dinamiklerin genel şeması ile bu mekanizmaların hedeflenmesi (TZD, Tiazolidindion; SRT1720, SIRT1 aktivatörü; S3,15-okzosibiramilakton).....	35
Şekil 10. Deney grupları.....	45
Şekil 11. Standart grafik.....	49
Şekil 12. Hamile kadınların AST seviyeleri.....	65
Şekil 13. Hamile kadınların ALT seviyeleri.	66
Şekil 14. Plasenta dokularında <i>Mfn1</i> ekspresyonları.....	68
Şekil 15. Plasenta dokularında <i>Mfn2</i> ekspresyonları.....	68
Şekil 16. Plasenta dokularında <i>Opal</i> ekspresyonları.	69
Şekil 17. Plasenta dokularında <i>Pgc1α</i> ekspresyonları.....	70
Şekil 18. Plasenta dokularında <i>Pgc1β</i> ekspresyonları.....	71

Şekil 19. Alt grup plasenta dokularında <i>Mfn1</i> ekspresyonları.	72
Şekil 20. Alt grup plasenta dokularında <i>Mfn2</i> ekspresyonları.	73
Şekil 21. Alt grup plasenta dokularında <i>Opa1</i> ekspresyonları.	74
Şekil 22. Alt grup plasenta dokularında <i>Pgc1α</i> ekspresyonları.	75
Şekil 23. Alt grup plasenta dokularında <i>Pgc1β</i> ekspresyonları.	76
Şekil 24. Plasenta dokularında MFN1 ekspresyonları.	77
Şekil 25. Plasenta dokularında MFN2 ekspresyonları.	78
Şekil 26. Plasenta dokularında HSP60 ekspresyonları.	79
Şekil 27. Plasenta dokularında CLPP ekspresyonları.	80
Şekil 28. Yüksek glukoz uygulamasının füzyon ve fisyon proteinlerine etkisi.	82
Şekil 29. Fisyon inhibitörlerinin fisyon proteinlerine etkisi.	85
Şekil 30. Fisyon inhibitörlerinin insülin sinyali proteinlerine etkisi (insülin uygulanmayan gruplar).	89
Şekil 31. Fisyon inhibitörlerinin insülin sinyali proteinlerine etkisi (insülin uygulanan gruplar).	94
Şekil 32. Fisyon inhibitörlerinin otofaji proteinlerine etkisi.	98
Şekil 33. Fisyon inhibitörlerinin <i>Mfn1</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	100
Şekil 34. Fisyon inhibitörlerinin <i>Mfn2</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	101
Şekil 35. Fisyon inhibitörlerinin <i>Opa1</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	102
Şekil 36. Fisyon inhibitörlerinin <i>Hsp60</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	103
Şekil 37. Fisyon inhibitörlerinin <i>ClpP</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	104
Şekil 38. Fisyon inhibitörlerinin <i>MnSod</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	106
Şekil 39. Fisyon inhibitörlerinin <i>Gpx1</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	107
Şekil 40. Fisyon inhibitörlerinin <i>Bcl2</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	108
Şekil 41. Fisyon inhibitörlerinin <i>Bax</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	109
Şekil 42. Fisyon inhibitörlerinin <i>Beclin1</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	110
Şekil 43. Fisyon inhibitörlerinin <i>Nlrp3</i> mRNA ekspresyonlarına etkisi.	112

Şekil 44. Fisyon inhibitörlerinin hücre canlılıklarına etkisi.....	113
Şekil 45. Fisyon inhibitörlerinin mitokondri membran potansiyeline etkisi.....	115
Şekil 46. Fisyon inhibitörlerinin ROS profillerine etkisi.....	117

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Inverted mikroskop altında BeWo hücreleri.....	43
--	----

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Gestasyonel diyabet tanı kriterleri.....	9
Tablo 2. Bradford için kullanılan standart konsantrasyonları.....	48
Tablo 3. Deneyde kullanılan primer baz dizileri.	53
Tablo 4. PCR reaksiyon şartları.....	54
Tablo 5. Hamile kadınların yaşlarının çoklu karşılaştırma analizi.	58
Tablo 6. Hastaların klinik karakteristik özellikleri.	59
Tablo 7. Hamile kadınların vücut kitle indeksi (VKİ) değerlerinin çoklu karşılaştırma analizi.	60
Tablo 8. Hamile kadınların 75 g OGTT açlık kan şekeri (AKŞ) seviyelerinin çoklu karşılaştırma analizi.	61
Tablo 9. Hamile kadınların 75 g OGTT 1. saat kan şekeri seviyelerinin çoklu karşılaştırma analizi.	61
Tablo 10. Hamile kadınların 75 g OGTT 2. saat kan şekeri seviyelerinin çoklu karşılaştırma analizi.	62
Tablo 11. Hamile kadınların HbA1c değerlerinin çoklu karşılaştırma analizi.	62
Tablo 12. Hamile kadınların intrapartum amniyotik sıvı indeksi (ASI) değerlerinin çoklu karşılaştırma analizi.	63
Tablo 13. Yeni doğanların doğum ağırlıkları değerlerinin çoklu karşılaştırma analizi.....	64
Tablo 14. Hamile kadınların AST seviyelerinin karşılaştırmalı analizi.	66
Tablo 15. Hamile kadınların ALT seviyelerinin karşılaştırmalı analizi.	67
Tablo 16. <i>Mfn1</i> ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.	68
Tablo 17. <i>Mfn2</i> ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.	69
Tablo 18. <i>Opa1</i> ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.....	69
Tablo 19. <i>Pgclα</i> ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.	70

Tablo 20. <i>Pgc1β</i> ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.	71
Tablo 21. Alt grup plasenta dokularında <i>Mfn1</i> ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi. ...	72
Tablo 22. Alt grup plasenta dokularında <i>Mfn2</i> ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi. ...	73
Tablo 23. Alt grup plasenta dokularında <i>Opa1</i> ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi....	74
Tablo 24. Alt grup plasenta dokularında <i>Pgc1α</i> ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi. .	75
Tablo 25. Alt grup plasenta dokularında <i>Pgc1β</i> ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi. .	76
Tablo 26. MFN1 ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.	77
Tablo 27. MFN2 ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.	78
Tablo 28. HSP60 ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.	79
Tablo 29. CLPP ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.	80
Tablo 30. Gruplardaki hücre sağlığı profili.	114
Tablo 31. Gruplardaki hücre ROS profilleri.	116

ÖZET

GESTASYONEL DİYABETTE MİTOKONDRIYAL DİSFONKSİYONUN ARAŞTIRILMASI

Kolaç U.K. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2021.

Amaç: Çalışmada ilk olarak gestasyonel diyabetli (GDM) kadınların plasentalarında, füzyon belirteçlerinin ve mitokondriyal katlanmamış protein cevabından (mtUPR) sorumlu belirteçlerin ekspresyonlarının, sağlıklı plasentalar (kontrol) ve doğumdan önce diyabete sahip (Pre-DM) kadınların plasentaları ile karşılaştırılması amaçlandı. Daha sonra yüksek glukoz ortamındaki plasenta trofoblast hücrelerinde fisyonun kimyasal olarak inhibisyonunun, mitokondri fonksiyonlarına, apoptoza, otofajiye, inflamazom ekspresyonlarına ve insülin sinyalleme üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İlk aşamada, kontrol (n=17), GDM (n=20) ve Pre-DM (n=10) gruplarındaki plasentalarda füzyon dinamikleri ve mitokondriyal biyogenezde görevli mRNA ekspresyonları qPCR ile karşılaştırıldı. Sonra bu gruplarda vücut kitle indekslerine göre bir alt gruplandırma yapılarak gruplar “obez ve zayıf” olarak tekrar ayrıldı. Bu gruplarda yine füzyon dinamikleri ve mitokondriyal biyogenezde görevli mRNA ekspresyonları qPCR ile saptandı. Ardından füzyon belirteçleri ile mtUPR’ de görevli protein ekspresyonları western blot ile tespit edildi. İkinci aşamada trofoblast hücreleri normal (5mM) ve yüksek glukoz (25mM) ortamında 24 saat ve 48 saat kültüre edildi. Bu uygulamada hücrelerdeki fisyon ve füzyon belirteçleri western blot ile saptandı. Ardından hücrelere fisyon inhibitörleri mdivi-1, dynasore ve P-110 iki farklı dozda uygulanarak fisyonun inhibe edilmesi sağlandı. Fisyon inhibisyonuyla birlikte insülin sinyali ve otofaji yolunda görülen değişiklikler western blot ile saptandı. Daha sonra qPCR ile füzyon belirteçleri, mitokondriyal antioksidan enzim kapasiteleri, otofajide, apoptozda ve mtUPR’ de görevli mRNA ekspresyonları ile inflamazom mRNA ekspresyonları tespit edildi.

Akabinde hücrelere canlılık testi uygulandı. Son olarak akış sitometrisiyle mitokondri potansiyeli ve hücredeki reaktif oksijen türevleri (ROS) durumları belirlendi.

Bulgular: İlk kısımda GDM ve Pre-DM gruplarında kontrol grubuna kıyasla füzyon belirteçlerinde anlamlı bir azalma tespit edildi. Obez ve zayıf olarak ayrılan alt gruplarda obezitenin füzyon üzerine etkisi vardı. Fakat hastalar obez olsun ya da olmasın diyabet, mitokondri füzyonunun, mitokondri biyogenezinin ve mtUPR cevabının azalmasına neden oldu. İkinci kısımda yüksek glukoz ortamında trofoblast hücrelerinde fisyon anlamlı olarak artarken füzyon azaldı. Bu artış inhibitörlerle bloke edildiğinde insülin sinyalinde bir düzelme saptandı. Ayrıca mitokondriyal fisyonun engellenmesi ROS' un anlamlı derecede azalmasını ve mitokondriyal antioksidan enzim mRNA ekspresyonlarının artmasını sağladı. mtUPR' de görevli protein ekspresyonları fisyonun inhibe edilmesine yanıt olarak anlamlı derecede azaldı. Dahası fisyon inhibisyonu hücrelerde apoptozun önüne geçilmesine katkıda bulunurken, inflamazom mRNA ekspresyonlarını anlamlı derecede azalttı. Son olarak yüksek glukoz nedeniyle düşen mitokondri potansiyeli, fisyonun inhibisyonuyla anlamlı derecede arttı.

Sonuç: GDM ve Pre-DM plasentada mitokondri füzyonunda ve biyogenezinde bir azalmaya yol açmaktadır. Obezite bu azalmaya katkıda bulunurken diyabet etkeni bu azalmanın ana nedenidir. Benzer şekilde füzyon ve mtUPR protein seviyeleri GDM ve Pre-DM plasentalarında azalmıştır. Trofoblast hücrelerinde fisyonun inhibe edilmesini sağlayan kimyasallar, hamilelikte görülen diyabet tablolarında potansiyel terapötikler olarak; başta mitokondri fonksiyonunda iyileşmeye olanak sağlamış, insülin sinyalini düzenlemiş, apoptozun, otofajinin ve inflamazom ekspresyonlarının önüne geçilmesini sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Gestasyonel Diyabet, Mitokondriyal Disfonksiyon, Mitokondri Dinamikleri.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION ON GESTATIONAL DIABETES

Kolaç U.K. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Medical Biology Programme, Doctorate Thesis, Aydın, 2021.

Objective: In this study, the expressions of fusion markers and markers responsible for mitochondrial unfolded protein response (mtUPR) in the placentas of women with gestational diabetes (GDM) were compared with those of healthy placentas (control) and placentas of women with pregestational diabetes (Pre-DM). After, the effects of chemical inhibition of fission in placental trophoblast cells in high glucose environment on mitochondrial functions, apoptosis, autophagy, inflammasome expressions and insulin signaling were investigated.

Material and Methods: In the first stage, mRNAs involved in mitochondrial biogenesis and fusion dynamics in placentas of the control (n=17), GDM (n=20) and Pre-DM (n=10) groups were compared with qPCR analyses. According to body mass indexes groups were then divided into “obese and lean” subgroups again. In these subgroups, mRNA expressions of fusion dynamics and mitochondrial biogenesis were determined by qPCR. Protein expressions involved in fusion and mtUPR were detected by western blot. Following stage of the study, trophoblast cells were cultured in normal (5mM) and high glucose (25mM) media for 24 hours and 48 hours. Fission and fusion proteins in cells were then detected by western blot. Fission inhibitors mdivi-1, dynasore and P-110 were applied to the cells in two different doses to inhibit the fission. Changes in insulin signaling and autophagy pathway with inhibition of fission were detected by western blot. mRNA expressions involved in autophagy, apoptosis and mtUPR and inflammasome were detected by qPCR. The MTT cell viability test was then performed. Finally, mitochondrial potential and reactive oxygen derivatives (ROS) status in the cell were determined by flow cytometry.

Results: A significant decrease in fusion markers was detected in the GDM and Pre-DM groups compared to the control group. Obesity had an effect on fusion in obese and lean subgroups. But whether the patients were obese or not, diabetes resulted in decreased mitochondrial fusion, mitochondrial biogenesis, and mtUPR response. An improvement in insulin signal was detected by blocking the increased fission due to high glucose. In addition, inhibition of mitochondrial fission significantly decreased ROS and increased mitochondrial antioxidant enzyme mRNA expressions. Protein expressions involved in MtUPR were significantly reduced in response to inhibition of fission. Moreover, fission inhibition contributed to the prevention of apoptosis in cells, while significantly reducing their inflammasome mRNA expression. Finally, the mitochondrial potential, which was reduced due to high glucose, was significantly increased by inhibition of fission.

Conclusion: GDM and Pre-DM cause a decrease in mitochondrial fusion and biogenesis in the placenta. While obesity contributes to this decrease, diabetes is the main reason. Similarly, fusion and mtUPR protein levels were decreased in GDM and Pre-DM placentas. Chemicals that inhibit fission in trophoblast cells as potential therapeutics in gestational diabetes, allowed improvement in mitochondrial function, regulated insulin signaling, and prevented apoptosis, autophagy and inflammasome expressions.

Keywords: Gestational Diabetes, Mitochondrial Dysfunction, Mitochondrial Dynamics.

1. GİRİŞ

Gebelik sırasında başlayan veya ilk kez fark edilen herhangi bir derecedeki glukoz intoleransı olarak tanımlanan gestasyonel diabetes mellitus (GDM), gebeliğin en yaygın tıbbi komplikasyonlarından biridir (Association, 2014; Federation, 2015). GDM, hem annelerde hem de çocuklarda olumsuz gebelik sonuçlarıyla ilişkilidir. Maternal riskler arasında daha yüksek preeklampsi ve sezaryen doğum prevalansı gösterilebilir (Ehrenberg ve diğerleri, 2004; Yogeve ve diğerleri, 2004). Ayrıca annelerin % 50' sinde doğumdan sonraki beş ila on yıl içinde tip 2 diabetes mellitus (T2DM) geliştiği görülmüştür (Bellamy ve diğerleri, 2009). Yenidoğanlar artmış bir makrozomi, neonatal hipoglisemi, hiperbilirubinemi ve omuz distosisi riski altındadır. Ayrıca çocukluk ve erken yetişkinliklerinde daha yüksek obezite, T2DM ve otizm spektrum bozuklukları prevalansına sahiptirler (Hillier ve diğerleri, 2007; Metzger ve diğerleri, 2008).

Hamile kadınlarda gerçekleşen kısa ve uzun süreli olumsuz sonuçlar ile fetüsün yetişkin yaşamına uzanan bazı uzun süreli kronik hastalıkların, kısmen intrauterin yaşam sırasında meydana gelen süreçlerle belirlendiğine dair kanıtlar son yıllarda artmaktadır. Plasenta “intrauterin yaşamın günlüğü” olarak tanımlanmıştır ve burada gerçekleşen işlemlerin birçok yönünü aydınlatma potansiyeline sahiptir (Redline, 2008). Plasental stres; fetal büyüme kısıtlaması, preeklampsi, hamilelikte görülen diyabet tabloları ve çeşitli kanserler de olmak üzere birçok gebelik komplikasyonunun patofizyolojisine katılmıştır. Başlangıçta, hücresel boyutta oksidatif strese odaklanılsa da son zamanlarda mitokondriyal disfonksiyon ve endoplazmik retikulumda (ER) meydana gelen stresin plasental hastalıkların oluşumunda etkili olduğu bildirilmiştir (Burton ve diğerleri, 2017).

Mitokondriler, ökaryotik hücrelerde ATP üretimleri sayesinde ana enerji kaynağı olarak bilinirler. Sinsiyotrofoblast hücrelerinin mitokondrileri, steroid hormonlarının sentez yeri olmasının yanında kolesterolün taşınmasında ve metabolizmasında rol oynayan önemli fonksiyonlara sahiptirler (Martinez ve diğerleri, 2015). Ayrıca mitokondrilerin, morfolojileriyle işlevlerini değiştiren, sürekli fisyon (bölünme) ile füzyona (birleşme) uğrayan ve retiküler bir ağ oluşturan oldukça dinamik organeller olduğu bilinmektedir (Chan, 2006a). Birçok metabolik hastalıkta, preeklampside ve bozulmuş plasental perfüzyon gibi patolojik durumlarda; artmış oksidatif stres (Hubel, 1999; Myatt, 2010), mitokondri

membran potansiyel kaybı (Holland ve diğeri, 2017), mitokondriyal fisyon ve füzyon dinamiklerinde bozulmalar (Bach ve diğeri, 2005; Soriano ve diğeri, 2006; J. Yu ve diğeri, 2016) ile hücrel senesens ve apoptoz yollarının tetiklenmesi (Aires ve dos Santos, 2015) daha önce belirtilmiştir. Gerçekleşen tüm bu defektler mitokondriyal işlevlerini yerine getirememesine neden olmaktadır ve mitokondriyal disfonksiyonun belirteçleri olarak gösterilmektedir.

Mitokondriyal dinamiklerin düzenlenmesi, mitokondriyal füzyon ile fisyon arasında bir denge sağlayan ve dinaminlerle ilişkili farklı GTPaz' ları içeren karmaşık bir süreçtir. Bu dengede gerçekleşecek herhangi bir değişiklik; oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve metabolik bozulmalara yol açmaktadır. Sonuçta insülin direnci ile T2DM gibi mitokondriye bağlı hastalıkların gelişimini teşvik etmektedir (Rovira-Llopis ve diğeri, 2017). Memeli hücrelerindeki mitokondriyal füzyon (ya da birleşme); mitofusin 1, mitofusin 2 (MFN1 ve MFN2) ve optik atrofi 1 (OPA1) proteinleri ile kontrol edilmektedir. Bunlar, mitokondriyal zarlarda bulunan dinaminle ilişkili proteinlerdir ve mitokondri füzyon dinamiği için gerekli olan GTPaz aktivitesini göstermektedirler. OPA1 iç mitokondri membranının füzyonunu düzenler ve krista yapısının korunmasında görev almaktadır. MFN1 ve MFN2 ise dış mitokondriyal membran füzyonunda görev yapmaktadır (Legros ve diğeri, 2002). Öte yandan mitokondriyal fisyon (bölünme) yüksek oranda korunmuş olan iki GTPaz proteini tarafından düzenlenmektedir. Bu proteinler de dış membranda bulunan mitokondriyal fisyon 1 proteini (FIS1) ve sitozolde bulunan dinamin benzeri protein 1 (DRP1)' dir (Reddy, 2014). Hücrede ATP üretimi, füzyon ile üretilen mitokondriyal ağlar tarafından kontrol edilmektedir. Bu yol, yüksek O₂ konsantrasyonlu alanlardan düşük konsantrasyona sahip bölgelere membran potansiyelinin iletilmesiyle gerçekleştirilir (Westermann, 2010). Böylece enerjinin hücre içerisinde dağılmasına izin verilir. Bu füzyon öncesi durum, açlık, kalori kısıtlaması, egzersiz ve akut stres nedeniyle düşen enerji verimliliğini artırma gereksinimlerinden doğmakla birlikte, bu durumun tersi, hücreler obezite veya T2DM gibi fazla besin kaynağına maruz kaldığında ortaya çıkmaktadır (Liesa ve Shirihai, 2013).

Yapmış olduğumuz çalışmada ilk önce, GDM tanısı koyulmuş kadınların, gebelikten önce diyabete sahip olan (Pre-DM) kadınların ve herhangi bir metabolik hastalığı olmayan (kontrol) kadınların plasentalarında mitokondriyal füzyon belirteçlerinin ve mitokondriyal protein katlanmasına görevli belirteçlerin ekspresyonları incelendi. Daha sonra plasenta trofoblast hücrelerinde yüksek glukoz uygulamasının mitokondriyal dinamiklerde meydana

getirdiği değişiklikler araştırıldı. Ayrıca üç adet fisyon inhibitörünün glukotoksisite altındaki trofoblast hücrelerinde; mitokondriyal antioksidan savunma sistemi, mitokondriyal protein katlanma mekanizması, mitokondriyal potansiyel, mitofaji, apoptoz, inflamasyon ve insülin sinyalleme üzerine etkisi saptanarak hamilelikte ortaya çıkan diyabet tablolarında potansiyel olabilecek bu terapötik ajanlar karşılaştırılarak incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), doğrudan insülin direnci, yetersiz insülin sekresyonu veya aşırı glukagon sekresyonundan kaynaklanan ve hiperglisemi ile karakterize bir grup fizyolojik disfonksiyondur (Blair, 2016). Hastalık muhtemelen insanoğlunun bildiği en eski hastalıklardan biridir. İlk olarak yaklaşık 3000 yıl önce bir Mısır el yazmasında bildirilmiş olup kilo kaybına ilaveten poliüri ile karakterize edilmiştir (Ahmed, 2002; Kaul ve diğerleri, 2013). Bununla birlikte, diabetes mellitus terimini ilk kullanan kişi Yunan Doktor Aertaeus'dur. Yunanca' da diyabetes “arasından/içinden geçmek, nüfuz etmek” anlamına gelir ve mellitus, “bal” için Latince bir kelimedir (tatlılığa atıfta bulunur). Diyabet, uzun süreli hastalıklar ile erken ölümlerin önemli bir nedenidir ve yaklaşık 10 saniyede 1 ölümle yılda HIV-AIDS'ten daha fazla yaşam aldığı iddia edilmektedir (Kaul ve diğerleri, 2013). Dünya çapında sanayileşmenin ortaya çıkması ve obezitenin şaşırtıcı yükselişiyle diyabet, küresel bir salgın olarak kendini göstermiştir. Dünyanın farklı yerlerinde büyük ölçüde değişiklik gösteren veri toplama standartları ve yöntemlerinden ötürü doğru bir prevalans ölçüsüne ulaşmak çok zor olsa da, yetişkinlerde 1995'te % 4 olan diyabet prevalansının 2025'e kadar % 6,4'e gelmesi öngörülmekteydi (King ve diğerleri, 1998). Fakat bu öngörünün çok üzerinde olan prevalans değerleri son çalışmalarda bildirilmiştir. Orta Doğu ve Kuzey Afrika yetişkinlerde % 10,9' luk bir prevalansa sahipken çarpıcı biçimde Batı Pasifik bölgesi % 37,5' luk değeriyle en yüksek yetişkin teşhisine ve en yüksek prevalansa sahip ülkelerin bulunduğu yer olarak dikkat çekmektedir (Kharroubi ve Darwish, 2015).

Karbonhidratlar, lipidler ve proteinlerdeki metabolik anormallikler, insülinin bir anabolik hormon olarak öneminden kaynaklanmaktadır. Hedef dokuların, özellikle iskelet kaslarının, yağ dokusunun ve az ölçüde karaciğerin düşük insülin seviyelerine ve/veya insülin direncine hücresel ölçüde verdiği cevaplar bu metabolik anormalliklerden sorumludur. Hücreler tüm bu defektlere insülin reseptörleri, sinyal iletim sistemi ve efektör enzimler yoluyla yanıt verir. Semptomların ciddiyeti, diyabetin türüne ve süresine bağlıdır. Diyabet hastalarının bir kısmı, hastalığın ilk yıllarında özellikle T2DM'li olanlar asemptomatiktir. Diğerleri belirgin hiperglisemiden ve mutlak insülin eksikliği olan

çocuklar ise poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı ve bulanık görmeden muzdarip olabilir. Kontrolsüz diyabet, ketoasidoz veya nadiren nonketotik hiperozmolar sendrom nedeniyle uyuşukluğa, komaya ve tedavi edilmezse ölüme neden olabilir (Association, 2014; Craig ve diğerleri, 2014; Galtier, 2010).

Kandaki glukoz seviyelerinin düzenlenmesi, negatif bir geri besleme döngüsüyle, insülin ile glukagon salınımı kontrolündedir. Kandaki glukoz seviyeleri yüksek olduğunda, pankreastaki langerhans adacıklarının β hücreleri, disülfid köprüleriyle birbirine bağlanan iki zincirden (A ve B) oluşan 51 amino asitli bir polipeptit olan insülini serbest bırakmak için tetiklenir. İnsülin, pro-hormon dönüştürücüleri ve ekso-proteaz karboksipeptidaz tarafından pro-insülinde sentezlenir. Bu enzimlerin etkisi insülin ve C-peptid üretmektedir (Pessin ve Saltiel, 2000). İnsülin, disülfid bağlarıyla bağlanan iki α alt biriminden (hücre dışı) ve iki β alt biriminden (zar içi) oluşan tirozin kinaz insülin reseptörüne bağlanır. İnsülinin tirozin kinaz insülin reseptörünün B alt birimine bağlanması, B alt biriminin otofosforilasyonunu teşvik eder. İnsülin karaciğere fazla glukozu depolanmak üzere glikojene dönüştürmesi için sinyal verir. Aynı zamanda vücuttaki diğer hücreleri (adipoz / iskelet kası hücreleri) glukoz taşıyıcısı 4'ün (GLUT4) hücre yüzeyine taşınmasıyla daha fazla glukoz almaları için tetikler. Bu, dolaşımdaki glukoz konsantrasyonlarının normal seviyelere getirilmesine yardımcı olmaktadır. Kandaki glukoz konsantrasyonu düşük olduğunda, pankreasın α hücreleri glukagon salgılamak için uyarılır. Glukagon, homeostazı sağlamak için depolanan glikojenin kana salınan glukozla dönüştürülmesi için karaciğere işaret eder. Diyabette, tip 1 diabetes mellitusta (T1DM) görüldüğü gibi insülin sentezinde veya salgılanmasında anormallik ve pankreas kanalında darlık ya da T2DM ve belirli sekonder diyabet durumlarında olduğu gibi, insüline direnç gelişimi veya bunun normalaltı üretimi vardır (Kaul ve diğerleri, 2013).

2.2. Diyabetin Sınıflandırılması

Diyabetin sınıflandırılmasının tedavi stratejileri için çıkarımları olmasına rağmen çoğu hasta, özellikle genç yetişkinler tek bir sınıfa kolayca dahil edilememektedir (Association, 2014; Stone ve diğerleri, 2010; Thunander ve diğerleri, 2012). Bu sebeple başlangıçta sınıflandırılanların % 10' u tekrar teşhis gerektirebilir (Cakan ve diğerleri, 2012). 1997'de Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından tip 1, tip 2, diğer tipler ve gestasyonel

diabetes mellitus (GDM) olarak önerilen klasik diyabet sınıflandırması, hala en çok kabul edilen sınıflandırmadır (Association, 2014). DM' nin uzun süreli hiperglisemiye yol açan bir grup hastalık için kullanılan geniş bir terim olduğu gözden kaçmamalıdır. Farklı diyabet türlerinin gelişme mekanizmalarındaki farklılık, bunların sınıflandırmasının temelini oluşturur (Kaul ve diğerleri, 2013).

Daha önce insüline bağımlı diyabet veya genç başlangıçlı diyabet olarak bilinen T1DM, hücrelerin aktive CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri ve pankreas adacıklarına sızan makrofajlar tarafından yok edilmesini kapsayan bir otoimmün bozukluktur (Phillips ve diğerleri, 2009). T1DM' nin başlangıcı genellikle çocuklukta ve erken yetişkinlikte (<35 yaş) ortaya çıkar. Genetik ve çevresel faktörlerin bu diyabetin yatkınlığına katkıda bulunduğu bilinmektedir (Kaul ve diğerleri, 2013). Genetik çalışmalar, kromozom 6'daki HLA (insan lökosit antijeni) geninin T1DM ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. HLA proteinleri, bağışıklık sisteminin vücudun normal hücrelerini yabancı enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan ajanlardan ayırt etmesine yardımcı olan hücre yüzeylerinde bulunur. T1DM'de, HLA proteinlerindeki görülen anomaliler hücrelere karşı bir otoimmün reaksiyona yol açar. HLA çevresindeki başka bir gen olan DR, T1DM'de önemli bir rol oynamaktadır (Gorodezky ve diğerleri, 2006). T1DM' yi tetiklemede belirli virüslerin sorumlu olabileceğini gösteren kanıtlar da mevcuttur (Jun ve Yoon, 2004). Bazı hastalar, otoimmüniteyi içermeyen idiyopatik diyabet adı verilen başka bir T1DM formunu sürdürmektedir. Otoimmün T1DM' den daha az yaygın olmakla birlikte Afrika ve Asya popülasyonlarında bulunmaktadır. Etiyoloji ve patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır, ancak hastalar insülin üretiminden yoksundur ve β hücrelerine karşı antikor yokluğunda ketoasidoza eğilimlidir (Harris ve diğerleri, 1998). Fulminant tip 1 diabetes mellitus, β hücrelerinin son derece hızlı ve neredeyse tamamen yıkımının meydana geldiği T1DM 'nin başka bir alt tipidir (Kaul ve diğerleri, 2013).

T2DM, insülin direncine ek olarak yetersiz insülin sentezi ve salgılanması ile karakterizedir. Normalde yaşamın dördüncü on yılından sonra teşhis edilir ve dünya çapındaki tüm diyabetlerin yaklaşık % 90' ını oluşturur. T2DM görülme sıklığı ve prevalansının yaşla birlikte arttığı bulunmuştur (Tierna Jr ve diğerleri, 2002). T2DM hastalarının çoğu, insülin sekresyonunun devam ettiği ve insülin azalmasının nadiren meydana geldiği insüline bağımlı olmayan tiptedir. İnsüline bağımlı olmayışı, T1DM'den ayıran en büyük farklardan biridir. Diğer farklılıklar, T2DM hastalarının çoğunda ketoasidozun olmaması ve β hücrelerinin otoimmün yıkımının meydana gelmemesidir

(Kharroubi ve Darwish, 2015). Diyabete ek olarak, insülin direncinin obezite, nefropati, esansiyel hipertansiyon, dislipidemi, yumurtalık hiperandrojenizm, erken adrenarş, alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı ve sistemik inflamasyonu içeren birçok belirtisi vardır (Kraemer ve Ginsberg, 2014). T2DM, obezite ile birlikte olan ve obezite olmaksızın gerçekleşen diyabet olmak üzere iki alt gruba ayrılır. Obez T2DM hastaları, hücre reseptörlerindeki değişiklikler nedeniyle genellikle endojen insüline direnç geliştirir ve bu, abdominal yağ dağılımı ile ilişkilidir (Kaul ve diğerleri, 2013).

T2DM'nin birçok özelliğine sahip bazı hastalar, adacık hücresi otoantikörlerinin veya glutamat dekarboksilaz 65 (GAD65)' e karşı otoantikörlerin varlığı dahil olmak üzere bazı T1DM özelliklere sahiptir ve bu durum yetişkinlerde gizli otoimmün diyabet (LADA) adı verilen ayrı bir diyabet türü olarak sınıflandırılır (Pozzilli ve Di Mario, 2001).

Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet (MODY), monojenik tipte bir diyabettir. Diyabetli hastaların çok küçük bir yüzdesini temsil eder ve genellikle hastanın hayatının ikinci on yılında teşhis edilir. Altı MODY formunun gelişimi, hepatosit nükleer faktör 4 α (HNF-4a), glukokinaz geni (MODY 2) HNF-1 α , insülin promoter faktör-I (IPF-1), HNF- β ve NEUROD1 dahil olmak üzere bir dizi gendeki mutasyonla bağlantılıdır (Fajans ve diğerleri, 2001). Diğer ikincil diyabet türleri pankreatit, Cushing sendromu, Klinefelter sendromu ve hipertiroidizm tarafından indüklenmektedir. Tiazid diüretik, β -bloker, kalsinörin, proteaz inhibitörleri ve atipik antipsikotik ilaçlar gibi bazı ilaçlar ve kimyasallar da sekonder diyabete neden olabilir (Kaul ve diğerleri, 2013).

2.2.1. Gestasyonel Diyabet

GDM, ilk kez gebelik sırasında fark edilen değişken şiddette glukoz intoleransı olarak tanımlanır ve tüm gebeliklerin % 20' ye kadar etkileyebilen en yaygın gebelik komplikasyonudur (Ferrara ve diğerleri, 2002; Group, 2008). Yerli Avustralyalılar (Ishak & Petocz 2003) ve ana vatanı Çin veya Hindistan olan kadınlarda, Kafkas kökenli olanlara kıyasla yaygınlık daha fazladır (Ishak ve diğerleri, 2003). Son on yılda yayınlanan verilerin yakın tarihli bir incelemesi, en yüksek yaygınlığın % 13' lük bir ortalama prevalansla Orta Doğu ve Kuzey Afrika' da, en düşük olanın ise % 5,8' lik bir medyan prevalansla Avrupa'da olduğunu göstermiştir (Zhu ve Zhang, 2016).

GDM çok faktörlü bir hastalıktır. Risk faktörleri arasında ailede T2DM, GDM (Solomon ve diğerleri, 1997) ve polikistik over sendromu öyküsü olması bulunur (Lo ve diğerleri, 2006). Ayrıca GDM prevalansı, dünya çapında artan obezite salgını (Solomon ve diğerleri, 1997) ve gelişmiş ülkelerdeki daha yaşlı anne olma eğilimi ile artmaktadır (Wolf ve diğerleri, 2004). Annenin hem hamilelik öncesi kilosu (Chu ve diğerleri, 2007) hem de hamilelikte aldığı kilo GDM ile güçlü bir korelasyona sahiptir (Hedderson ve diğerleri, 2010).

Anne ve çocuk için GDM ile ilişkili birçok kısa ve uzun vadeli komplikasyon vardır (Dabelea ve diğerleri, 2000). Kısa vadede, GDM'li kadınlar, gebeliğin neden olduğu hipertansiyon ve hatta ağır vakalarda preeklampsi açısından daha büyük bir risk altındadır (Group, 2008). Geç gebelik sırasında hiperglisemi, makrozomi (veya gebelik yaşına göre büyük) ile ilişkilidir (Langer ve diğerleri, 2005). Makrozomik olmayan bebekler, uterusu metabolik disfonksiyonun göstergesi olarak fazla yağlı olma eğilimindedir (Catalano, Thomas, ve diğerleri, 2003). Diğer neonatal komplikasyonlar arasında hipoglisemi, hiperbilirubinemi, hipokalsemi ve bebek polisitemisi bulunur (Langer ve diğerleri, 2005). Hem anne hem de bebekte uzun vadeli komplikasyonlar arasında ise T2DM (C. Kim ve diğerleri, 2007), obezite (Catalano ve diğerleri 2003a), kardiyovasküler hastalıklar (Catalano, Kirwan, ve diğerleri, 2003) ve hayatın sonraki dönemlerinde bazı kanserlerin gelişimi yer almaktadır (Perrin ve diğerleri, 2007). Ek olarak, açlık plazma glukoz konsantrasyonları normal aralığa dönse de, annenin sonraki hamileliği sırasında tekrarlayan GDM görülmesi daha olasıdır (Bottalico, 2007). Popülasyona ve kullanılan tanı kriterlerine bağlı olarak, GDM'li kadınlarda bir yıldan sonra T2DM gelişme riski % 3 ila 38' dir (Lee ve diğerleri, 2007).

Biyokimyasal testlerde gebe kadınların seçimi, testin nasıl yapılması gerektiği ve tanısız olarak kabul edilmecek glisemik eşiklerin belirlenmesi konusunda birçok farklı uluslararası protokol kullanılmaktadır (Health ve Excellence, 2014). Amerikan Diyabet Derneği (ADA) kılavuzu, 100 g oral glukoz tolerans testi için verilen kararların, Carpenter ve Coustan eşiklerine göre GDM teşhisi konulmuş kadınların risk profillerine uyması gerektiğini 2011 yılına kadar tavsiye etmiştir. Uluslararası Diyabet ve Gebelik Çalışma Grubu (IADPSG) rehberliği, ilk prenatal vizitinde rastgele veya açlık plazma glukoz testi ile önceden diyabet teşhisi konulmamış tüm kadınlar için 24–28. haftalarda 75 g oral glukoz tolerans testi önermektedir (Diabetes ve Panel, 2010). Ülkemizde de GDM teşhisi için

“Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu” na göre hem tek aşamalı hem de çift aşamalı tanı yöntemleri kullanılmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Gestasyonel diyabet tanı kriterleri.

İki aşamalı test		APG (mg/dl)	1. PG (mg/dl)	2. PG (mg/dl)	3. PG (mg/dl)
İlk aşama	50 g glukozlu test	-	≥140	-	-
İkinci aşama	100 g glukozlu OGTT (tanı için en az 2 patolojik değer gereklidir)	≥95	≥180	≥155	≥140
Tek aşamalı test					
IADPSG kriterleri	75 g glukozlu OGTT (tanı için en az 2 patolojik değer gereklidir)	≥92	≥180	≥153	

APG, Açlık plazma glukoz; PG, plazma glukoz; OGTT, oral glukoz tolerans testi; IADPSG, Uluslararası Diyabet ve Gebelik Çalışma Grubu.

2.2.1.1. GDM' nin Patofizyolojisi

GDM patofizyolojisinin; periferik maternal insülin direnci, inflamasyon, plasental ve endotel disfonksiyon dahil olmak üzere birkaç farklı özelliği vardır.

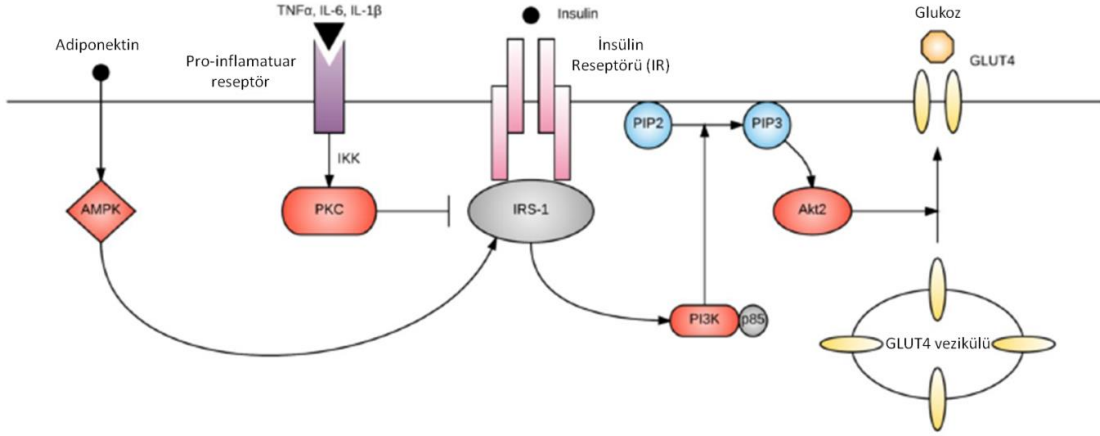
2.2.1.1.1. Maternal İnsülin Direnci

Normal hamilelik sırasında, gelişmekte olan fetüsün artan enerji taleplerini karşılamak için dolaşımdaki yağ asitleri ve glukoz seviyeleri yükselerek, insülin duyarlılığında aşamalı bir düşüş olur (Binder ve diğerleri, 2015). Progresif insülin direnci, gebeliğin ikinci trimesterinin başında ortaya çıkabilir ve üçüncü trimesterde glukoz kullanımının vücut kitle indeksine (VKİ)' ye bağlı olarak % 40-60 oranında azaldığı gösterilmiştir (Catalano ve diğerleri, 1991). Boylamsal çalışmalar, anne depolarının yağ birikimini azalttığını, dolaşımdaki leptin düzeylerindeki değişikliklere duyarlı olduğunu (Highman ve diğerleri, 1998), geç gebelikte ise lipid ve glukoz metabolizmasının engellendiğini göstermiştir (Herrera, 2000). Plazma dışı yağ asitleri özellikle hamileliğin sonlarında anneye ait tamamlayıcı enerji kaynağı haline geldiğinden, gebelik ayrıca hipertrigliseridemiye de

neden olmaktadır (Brizzi ve diğeri, 1999; Silliman ve diğeri, 1994). Bununla birlikte, pankreas β -hücreleri, daha fazla insülin üretmek için hipertrofi ve hiperplazi ile kompanse edildiğinden öglisemi elde edilir (Van Assche ve diğeri, 1978). Büyüyen fetus için glukoz ve amino asit tedarik edilmesine öncelik verilmektedir (Barbour ve diğeri, 2004).

GDM' de β hücre fonksiyonu % 30-70 oranında azalır, bu da hücrelerinin insülin direncindeki artışı telafi edemediğini ve bunun da GDM gelişimiyle sonuçlandığını göstermektedir (Lain ve Catalano, 2007; Xiang ve diğeri, 2018). GDM ile ilişkili insülin direnci, yağ dokusu ve iskelet kasında hatalı insülin sinyalleme nedeniyle yaklaşık % 56 oranında artar (Catalano ve diğeri, 1991).

GDM hastaları, normal glukoz toleransı (NGT) olan hamile kadınlara kıyasla, yağ dokusu ve iskelet kasında daha düşük insülin reseptörü (IR) - β ekspresyonu ve azalmış insülin reseptörü substratı (IRS) -1' in tirozin fosforilasyonu sergilemektedir. Bununla birlikte, GDM' li kadınlar daha büyük oranda serin fosforile IRS-1 ifade etmektedir (Barbour ve diğeri, 2004; Shao ve diğeri, 2002). IRS-1' in serin rezidüsündeki fosforilasyon, fosfoinozid 3-kinaza (PI3K) bağlanma kabiliyetini bozar ve IR- β ' nın tirozin kinaz aktivitesini inhibe eder (Aguirre ve diğeri, 2002) (Şekil 1). Gebelikte insülin direncinden sorumlu kesin mekanizma henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bununla birlikte, gebelik hormonlarının ve sitokinlerin zamansal değişikliklerinin metabolizmadaki değişimle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Progesteron düzeyindeki artışın maternal karbonhidrat metabolizması üzerinde etkisi olduğu öne sürülmüştür (Brănişteanu ve Mathieu, 2003). Benzer şekilde, insan plasental büyüme hormonu da iskelet kasında insülin direncini tetikleyebilir (Barbour ve diğeri, 2004). Bununla birlikte, Catalano ve ark., NGT hamile kadınlar ile GDM' li kadınların plazma progesteron seviyeleri arasında hiçbir farklılık olmadığını göstermiştir (Catalano ve diğeri, 2002). Öte yandan, insan plasental laktojen düzeyinin normal hamile kontrollere göre benzer, düşük veya yüksek olduğu bildirilmiş olup GDM gebeliklerinde insan plasental laktojen profilinde farklılıkların mevcut olduğu kanısına varılmıştır (Nguyen-Ngo ve diğeri, 2019).



Şekil 1. İnsülin sinyali (AMPK, 5' adozin monofosfat ile aktive edilen protein kinaz; PKC, protein kinaz C; IKK, Iκβ kinaz; PIP2/3, fosfatidil inozitol di/tri-fosfat) (Plows ve diğerleri, 2018).

2.2.1.1.2. İnflamasyon

Giderek artan "omik" temelli kanıtlar, GDM' nin plasental gen profilinde büyük değişiklikler ortaya çıkardığını göstermektedir (Binder ve diğerleri, 2015; Radaelli ve diğerleri, 2006; Y. H. Zhao ve diğerleri, 2011). Önceki çalışmaların sonuçları, gebelik sırasındaki orta dereceli inflamasyonun insülin direnci ve GDM ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Wolf ve diğerleri, 2004). Erken gebelikte proinflamatuvar sitokinlerin sekresyon artışının meydana geldiği ve bunu, üçüncü trimesterde insülin direncinin izlediği kaydedilmiştir. Bu da proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin insülin direncinin gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmüştür (Abell ve diğerleri, 2015). VKİ' den bağımsız olarak GDM' de dolaşımda artmış pro-inflamatuvar sitokin tümör nekroz faktör alfa (TNF-α) ve interlökin (IL)-6 seviyeleri ile azalmış anti-inflamatuvar sitokin seviyeleri IL-10 ve IL-4 tanımlanmıştır (Atègbo ve diğerleri, 2006).

Özellikle *in vitro* çalışmalar, maternal yağ dokusu, maternal iskelet kası ve plasentanın NGT gebeliklere kıyasla GDM' de farklı bir inflamatuvar profile katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Yağ dokusu, GDM patofizyolojisinde anahtar rol oynadığı düşünülen karmaşık bir aktif endokrin dokudur. Artan yağ dokusu derinliği, GDM riski ile önemli ölçüde ilişkili bulunmuştur. GDM gebeliklerinden izole edilen adipositler, NGT adipositlerine kıyasla artmış hücre boyutu sergilemiştir. Bu daha büyük adiposit boyutu,

artmış serum glukozu ile önemli ölçüde ilişkili olarak saptanmıştır (Rojas-Rodriguez ve diğerleri, 2015). Dahası leptin ekspresyonundaki artışın, GDM gebeliklerinde yağ asidi alımının ve taşınmasının anormal ekspresyonuna ve düzenlenmesine neden olduğuna dair kanıtlar elde edilmiştir (Martha Lappas, 2014a). Son olarak, GDM gebeliklerinden alınan yağ dokusu, NGT gebeliklerine kıyasla artmış IL-6 ve IL-8 gen ekspresyonu sergilemiştir (Bari ve diğerleri, 2014; Kleiblova ve diğerleri, 2010).

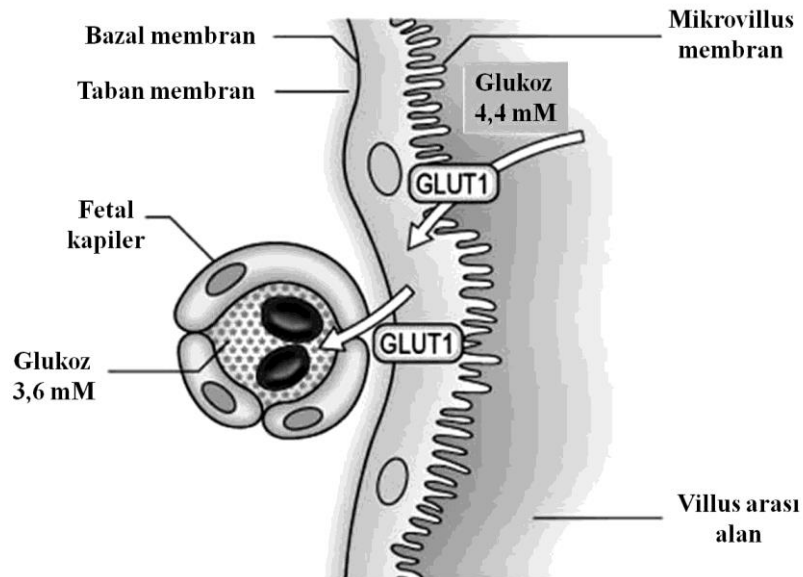
Benzer şekilde iskelet kasında TNF- α ile diğer sitokinlerin; IL-6, IL-8 ve monosit kemotaktik proteininin (MCP-1) ekspresyonunu ve salgılanmasını desteklediği bilinmektedir (Martha Lappas, 2014a). Bu pro-inflamatuar araçlar ayrıca insülin sinyal yoluna müdahale edebilmekte ve böylece iskelet kasında insülin direncini indükleyebilmektedir (Rieusset ve diğerleri, 2004).

Plasentanın bir inflamasyon kaynağı olduğu geniş çapta gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalarda, NGT plasentalarına kıyasla GDM plasentalarında leptin konsantrasyonlarının arttığı gösterilmiş, TNF- α sinyal yolağı genlerinin yanı sıra IL-1 reseptör ve IL-8 reseptör genlerinin de yukarı regüle edildiği bulunmuştur (Martha Lappas ve diğerleri, 2005a; Radaelli ve diğerleri, 2003). Buna ek olarak, GDM gebeliklerinde, erken gebelikte artmış serum makrofajik belirteç (sCD163) (Ueland ve ark. 2019) ve yine makrofajik belirteçler CD14⁺ ve CD68⁺'nin artmış plasental ekspresyonu gösterilmiştir. Tüm bunlara eşlik eden artmış TNF- α ve IL-6 mRNA ekspresyonu sergilendiği saptanmıştır (Mrizak ve diğerleri, 2014; J. Yu ve diğerleri, 2013). Önemli olarak, bu pro-inflamatuar sitokinlerin, plasentada IL-8 ve MCP-1 kemokinlerinin ekspresyonunu ve salgılanmasını teşvik ettiği bilinmektedir (M Lappas ve diğerleri, 2006).

2.2.1.1.3. Plasental Disfonksiyon

Plasenta, anneden fetüse besin aktarımının ana bölgesidir. Kayda değer bir fetal glukoneogenez olmaksızın (Kalhan ve Parimi, 2000) fetüs, plasenta yoluyla maternal dolaşımdan glukoz elde eder. Bunu sağlamak için, maternal durum insüline dirençli hale gelir ve maternal insülinin hedef dokuları tarafından glukoz alımını azaltılır. Bunun yerine plasental alım ve glukoz taşıyıcıları (GLUT'lar) aracılığıyla fetüse glukoz transferine izin verilir. Öte yandan, GLUT-3 izoformu, plasental endotel hücrelerinde lokalizedir ve fetüse glukoz transferinde rol oynadığı düşünülmektedir (Ilsley, 2000). Bazal membran (glukoz

iletimi), maternal-fetal transferi gösteren mikrovillöz membran (glukoz alımı) ile karşılaştırıldığında daha fazla sayıda GLUT-1 ifade etmektedir (Şekil 2) (T. Jansson ve diğerleri, 1993). GDM, bozulmuş plasental glukoz metabolizması, amino asit taşınması ve lipid konsantrasyonları ile ilişkilidir (T. Jansson ve diğerleri, 2002; Osmond ve diğerleri, 2001; Segura ve diğerleri, 2017). Sonuç olarak, GDM' li trofoblastlar, GLUT-1 ekspresyonunda iki kat artış ve trofoblast bazal membranının glukoz alımında % 40 artış sergilemektedir (Gaither ve diğerleri, 1999). GLUT-1 ekspresyonunda gözlemlenen bu değişiklikler, potansiyel olarak maternal dolaşımdan bazal membrana glukoz alımını artırabilmektedir. Öte yandan, GLUT-3' ün mRNA ekspresyonu GDM' li plasentada artmış olarak saptanmıştır (Dekker Nitert ve diğerleri, 2014). GLUT-3' ün glukoz için daha yüksek afinitesi ve endotel hücrelerinde lokalizasyonu göz önüne alındığında, GDM' de artan GLUT-3 ekspresyonunun fetüsün aşırı büyümesinin nedenlerinden biri olabileceği düşünülmektedir (Hay Jr, 2006).



Şekil 2. Plasental membran yapıları ve glukoz taşıyıcıları (T. Jansson ve diğerleri, 2009).

Hiperglisemik koşulların insan trofoblastlarında bir proinflamatuvar yanıtı uyardığı kaydedildiğinden, trofoblast glukoz alımında gözlemlenen bu artışın, plasentada daha fazla inflamasyon oluşumuna katkıda bulunabileceği düşüncesi oluşmuştur (Heim ve diğerleri, 2018). Metabolitlerin tetiklediği metabolik inflamasyon, sistemik insülin direncinin gelişmesine neden olmaktadır (Gregor ve Hotamisligil, 2011). Plasental TNF- α ' nın aşırı ekspresyonunun, artmış fetal adipozite ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Radaelli ve diğerleri,

2003). Fetal yağlanmanın yanı sıra, fetüse artan glukoz transferi, fetal hiperglisemiye ve fetal hiperinsülinemiye neden olmaktadır (Díaz ve diğerleri, 2017). Bazal membran GLUT-1 ekspresyonu, insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1) tarafından düzenlendiğinden, fetal hiperglisemi, bazal membran GLUT-1 ekspresyonunu bir geribildirim döngüsü şeklinde düzenleyebilen fetal IGF1 sekresyonunu indükleyebilir (Nguyen-Ngo ve diğerleri, 2019).

Plasentada IR ekspresyonu mevcuttur ve dağılımı gebelik sürecinde değişir. IR, hamileliğin erken döneminde mikrovillöz membranda bulunabilirken, ekspresyonu esas olarak endotelde lokalizedir (Desoye ve diğerleri, 1994). İnsülinin IR' ye bağlanması, reseptörün spesifik sitoplazmik tirozin kalıntıları üzerindeki otofosforilasyonunu aktive etmekte ve bu da aşağı yönde sinyal akışını sağlamaktadır (Pessin ve Saltiel, 2000). GDM plasentasının incelenmesi, IR “down-stream” molekülü protein kinaz B (AKT) 'nin azalmış fosforilasyonu ile birlikte IR ekspresyonunun azaldığını göstermiştir (Y. Li ve diğerleri, 2016).

Artmış oksidatif stres, mitokondriyal hasar ve ER stresi GDM'deki plasental disfonksiyon gelişimine katkıda bulunmaktadır (Martha Lappas, Hiden, ve diğerleri, 2011; Yung ve diğerleri, 2016).

Leptinin, GDM plasentasındaki reseptörü ile birlikte aşırı eksprese edildiği bulunmuştur ve insan trofoblast hücreleri üzerinde anti-apoptotik etkiler gösterdiği saptanmıştır (Pérez-Pérez ve diğerleri, 2013). Bu nedenle, GDM' deki hiperleptinemi, trofoblast apoptozunu baskılayarak plasentanın aşırı büyümesine neden olabilir (Kautzky-Willer ve diğerleri, 2001). Aslında, daha yüksek plasental ağırlık, GDM' de daha düşük trofoblast apoptozisi ile önemli ölçüde ilişkilendirilmiştir, bu nedenle besin transferi için mevcut yüzey alanını arttırmaktadır (Magee ve diğerleri, 2014).

2.2.1.1.4. Endotelial Hücre Disfonksiyonu

Normal gebelik, periferik vasküler direnci azaltan ve utero-plasental kan akışında artışa neden olan vazodilatasyon ile karakterizedir. Bununla birlikte GDM' de, plasentaya kan akışını kontrol eden arterlerde (uterin arterler) ve ayrıca sistemik vasküler direncin kontrol edilmesinde rol oynayan arterlerde (mezenterik arterler) endotel fonksiyonu bozulur (Mrizak ve diğerleri, 2014). GDM hamileliği sırasında endotel disfonksiyonu, doğum sonrası kardiyolojik metabolizma bozukluğuyla ilişkili olabilir (Göbl ve diğerleri, 2014).

GDM' li plasenta, endotelden türetilmiş reaktif oksijen ve nitrojen türevleri (ROS ve NOS) gibi endotel disfonksiyonunun temel belirteçlerinde önemli artışlar sergilemektedir (Casanello ve diğerleri, 2007). Hücre adezyon molekülleri, vasküler hücre adezyon proteini 1 (VCAM)-1 ve hücreler arası adezyon molekülü (ICAM)-1 gibi endotel hücre disfonksiyonu belirteçleri, maternal obezite ve GDM' ye bağlı olarak omental adipoz dokusunda artmaktadır (Martha Lappas, 2014c). Özellikle, endotel disfonksiyonundaki değişiklikler inflamatuvar durumla ilişkilidir (Mrizak ve diğerleri, 2014).

2.2.1.2. GDM' de Bozulan Moleküler Yolaklar

GDM' nin anne ve fetus üzerindeki klinik sonuçlarını belgeleyen kapsamlı literatür mevcut olmakla birlikte, GDM patogenezinin moleküler temeli açısından daha az bilgi vardır. GDM' nin gelişmesinde rol oynayan birkaç anahtar yolak, T2DM patofizyolojisi ile paylaşılmaktadır (Nguyen-Ngo ve diğerleri, 2019).

Nükleer faktör kappa B (NF- κ B) sinyal yolu, bağışıklık ve inflamasyon tepkileri için gen ekspresyonunda yer alan ana ve merkezi yolaklardan biridir. İnflamasyonun insülin direncini indüklemeye anahtar bir rol oynadığı düşünüldüğünde, NF- κ B yolağının aktivasyonu diyabetik patofizyolojilerde rol oynar (Hundal ve diğerleri, 2002). GDM plasentalarında artmış *NF- κ B* mRNA ekspresyonu bildirilmiştir (Feng ve diğerleri, 2016). GDM gebeliklerinde yağ dokusunda veya iskelet kasında ekspresyonu henüz değerlendirilmemekle birlikte, NF- κ B sezaryen döneminde hamile kadınlardan elde edilen bu dokulardaki inflamasyonun düzenlenmesi için kilit bir faktör olmaya devam etmektedir (Martha Lappas ve diğerleri, 2005b).

Toll benzeri reseptörler (TLR' ler), patojenle ilişkili moleküler modeller (PAMP' lar) olarak bilinen patojenik mikroorganizmaların korunmuş bileşenlerini tanımaktan sorumlu anahtar yüzey molekülleridir. Bu nedenle, inflamatuvar doğal bağışıklık tepkisini tetiklemeye önemli bir rol oynarlar (Vasselon ve Detmers, 2002). Bugüne kadar, insanlarda 10 fonksiyonel TLR (TLR1-10) tanımlanmıştır. Çalışmalar insan plasentasında, çoğu TLR' nin fonksiyonel olarak aktif olduğunu göstermiştir. Tüm TLR' ler plasenta tarafından eksprese edilmektedir (Tangerås ve diğerleri, 2014). GDM, plasentada artmış *TLR4* ve miyeloid farklılaşma faktörü 88 (*MYD88*) mRNA ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur (Feng ve diğerleri, 2016; Mrizak ve diğerleri, 2014). Plasentadaki bu artışın nedeni bilinmemekle

birlikte doymuş yağ asitleri ve oksitlenmiş kolesterol metabolitleri (oksisisteroller), insan birincil trofoblastlarında TLR4 ile indüklenen inflamasyonu artırmaktadır (Yang ve diğerleri, 2015). Diğer bir çalışmada, ikinci trimesterde GDM' de yükselmiş *TLR2* ve *TLR4* mRNA ekspresyonu saptanmıştır (Kuzmicki ve diğerleri, 2013).

Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı içeren 1 ve 2 (NOD1 ve NOD2), hücrenin sitoplazmasına sızan çok sayıda mikrop veya mikrobiyal bileşenin algılanmasında rol oynayan hücre içi tanıma reseptörleridir (Franchi ve diğerleri, 2009). NOD1 ve NOD2' nin inflamasyon ve insülin direncinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Winzer ve diğerleri, 2004; R. Zhou ve diğerleri, 2011). GDM' li kadınlardan elde edilen subkutan ve omental yağ dokusunda NOD1 ekspresyonunun, VKİ' ne uyumlu olarak NGT kadınlara kıyasla arttığı gösterilmiştir (Martha Lappas, 2014c).

Peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptörler (PPAR' lar), retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimerize olan ve hedef genlerin promotörlerinde peroksizom proliferatör cevap elemanlarına (PPRE) bağlanan transkripsiyon faktörleridir (Ganss, 2017). PPAR' lar (PPAR α , PPAR β/δ , PPAR γ) inflamasyon, adipogenez, oksidatif stres, insülin sinyali ve glukoz metabolizmasında rol oynayan genlerin ekspresyonunu düzenler (McCarthy ve diğerleri, 2013). GDM' li kadınlardan alınan maternal adipoz doku, plasenta ve plasental hücrelerde (sinsityotrofoblastlar ve ekstravillöz trofoblastlarda) PPAR γ ekspresyonunun normal hamile dokularındakine göre daha düşük olduğu saptanmıştır (Catalano ve diğerleri, 2002; Knabl ve diğerleri, 2014). Ayrıca, GDM' li kadınlardan alınan plasentalarda azalmış PPAR α ve RXR α ekspresyonları da tespit edilmiştir (Holdsworth-Carson ve diğerleri, 2010). Düzensiz PPAR ekspresyonunun GDM' nin bir nedeni veya sonucu olup olmadığı açık olmasa da, PPAR' ların GDM' nin önlenmesi veya tedavisi için potansiyel terapötik hedefler olabileceği düşüncesi hakimdir (Nguyen-Ngo ve diğerleri, 2019).

Memelilerde doku dağılımı, hücre altı lokalizasyonu ve substrat özgüllüğü bakımından farklılık gösteren yedi sirtuin (SIRT1-7) tanımlanmıştır (Michishita ve diğerleri, 2005). SIRT' ler ya NAD⁺ bağımlı histon deasetilaz (SIRT1, 2, 3 ve 5) ya da monoribosil-transferaz (SIRT4 ve 6) aktivitesine sahip olup, stres uyarıcılarına veya yaşlanmaya yanıt olarak belirli genlerin transkripsiyonuna katkıda bulunmaktadırlar (Nguyen-Ngo ve diğerleri, 2019). Bununla birlikte, SIRT1 ve GDM' nin rolü üzerine sınırlı sayıda çalışma vardır. Plasental SIRT1 ekspresyonundaki azalmanın sebebi tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Ancak bakteriyel endotoksin lipopolisakkarit (LPS), pro-inflamatuar sitokinler TNF- α ve IL-1 β ve oksidatif stresin insan plasentasında SIRT1 ekspresyonunu

azalttığı gösterilmiştir (Martha Lappas, Mitton, ve diğerleri, 2011). Ayrıca ilginç bir şekilde, GDM' li kadınlarda, normal glukoz toleransı olan kadınlara kıyasla lökosit *SIRT1* mRNA ekspresyonu yükselmiştir (Wójcik ve diğerleri, 2014). GDM ve obez hamile kadınlar, azalmış mitokondriyal superoksit dismutaz (MnSOD) aktivitesiyle karakterize olan antioksidan savunmada defektler göstermektedir (Boyle ve diğerleri, 2013). SIRT3, MnSOD enzimatik aktivitesinin aktivasyonundan sorumlu olan insan iskelet kasındaki birincil mitokondriyal deasetilazdır (Tao ve diğerleri, 2010). Özellikle, obez olmayan hamile kadınlara kıyasla obez normal glukoz toleranslı kadınların ve obez GDM' li kadınların, iskelet kaslarında mitokondriyal *SIRT3* mRNA ifadesi ve aktivitesi önemli ölçüde azalmış olarak saptanmıştır (Boyle ve diğerleri, 2013).

PI3K yolu, değişken besin mevcudiyetine sahip ortamlarda hayatta kalmak için gerekli birçok mekanizmadan biridir. PI3K kinaz ailesi içinde, her biri yukarı ve aşağı regülasyona farklı duyarlılık gösteren, rapamisinin mekanistik hedef kompleksi (mTORC) 1 ve mTORC2 olmak üzere iki protein kompleksi vardır (Laplante ve Sabatini, 2012). mTOR yolu, enerji kullanılabilirliği için çevresel faktörlere birincil yanıt verir ve bu da onu hücre çoğalması ve büyümesi dahil olmak üzere yüksek enerji tüketen süreçlerin çok önemli bir düzenleyicisi haline getirir (Pópulo ve diğerleri, 2012). Trofoblast hücrelerinde yapılan bir çalışmada, mTOR proteininin, özellikle L-amino asit taşıyıcısı yoluyla plasental epitelde amino asit transferini düzenlediği bulunmuştur (Roos ve diğerleri, 2007). İnsülin, leptin ve IGF-1 gibi maternal hormonlar, plasental besin taşıyıcılarının aracılardır (Karl, 1995; Karl ve diğerleri, 1992). Buna göre, obez NGT gebeliklerinde, gebeliğin sonlarında açlık insülini ve leptin düzeyinin yükseldiği ve gebelik öncesi VKİ ile pozitif korelasyon gösteren ikinci trimester insülin konsantrasyonları saptanmıştır (Clausen ve diğerleri, 2005; Ramsay ve diğerleri, 2002). Bunlardan başka yüksek doğum ağırlığının, mTOR sinyal yolunun yanı sıra plasental insülin ve IGF-1 yolları ile pozitif korelasyon gösterdiği, aynı zamanda 5'-adenozin monofosfat (AMP)- ile aktive edilmiş protein kinaz (AMPK) fosforilasyonu ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir (N. Jansson ve diğerleri, 2013). Sati ve ark., normal ve GDM plasentalarda mTOR yolunun ekspresyonunu karşılaştırmıştır. NGT gebelerde plasental villusun sinsitiyotrofoblast hücrelerinde sitoplazma içinde immünoreaktif mTOR ve ayrıca p-MTOR gösterilmiştir. Bununla birlikte, GDM plasentalarının stromal hücrelerinde ribozomal protein p-p70S6K' nin ekspresyonu artmıştır. mTOR sinyal yolunun “down-stream” bileşeni olarak p-p70S6K aşırı ekspresyonu, mTOR' un GDM

plasentası tarafından sergilenen patolojide bir rol oynadığını göstermektedir (Sati ve diğeri, 2016).

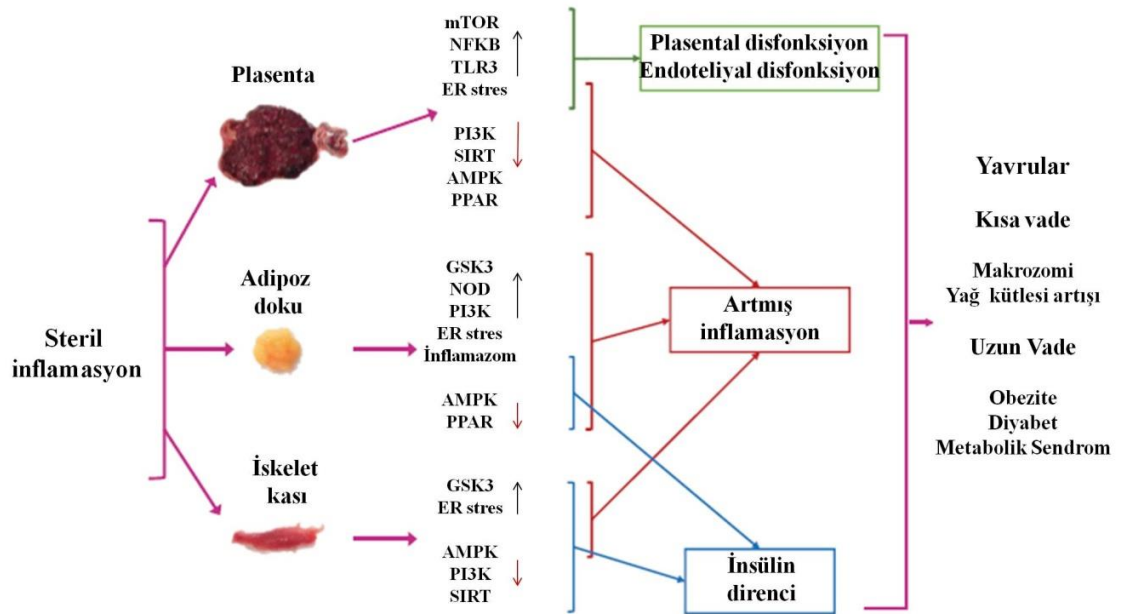
Glikojen sentaz kinaz 3 (GSK3), glukozun glikojene depolanmasında rol oynayan bir serin/treonin protein kinazdır (Woodgett, 1990). GSK3' ün obez T2DM' li bireylerin ve obez hayvanların iskelet kasında aşırı ekspresyonu, insülin direnci ile ilişkilidir. Örneğin, T2DM' de insülin direncinin erken gelişimi glikojen sentezinin bozulmasıyla gösterildiği gibi, artan GSK3 aktivitesi ile de ilişkilidir (Eldar-Finkelmann ve diğeri, 1999). İlginç bir şekilde, GSK3 α / β ' nin bastırılması, TNF- α ve IL-1 β dahil olmak üzere pro-enflamatuar uyarılarda azalmış bir inflamasyon örüntüsü göstermiştir (Martin ve diğeri, 2005). Ek olarak, GSK3 inhibisyonunun, LPS veya IL-1 β ile uyarılan adipoz doku ve iskelet kasında pro-enflamatuar mediyatörlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve MCP-1) ekspresyonunu ve salgılanmasını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Martha Lappas, 2014b).

İnflamazom, IL-1 β ' yi öncü formundan salgılanmış aktif formuna işleyen çok alt birimli büyük bir protein kompleksidir. Gebe yağ dokusunda, TLR' ler ve pro-enflamatuar sitokin sinyal yolları, inflamazom yoluyla IL-1 β salgılanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Dikkat çekici bir şekilde, inflamazomun aktivasyonu, IL-1 β üretimini önemli ölçüde artırırken aynı zamanda hamile iskelet kası ve yağ dokusunda AMPK aktivitesini azaltmaktadır. Sonuç olarak, insülin aracılı glukoz alımı ve insülin sinyal yolunun (yani IRS-1, IR- β ve GLUT-4) aktivasyonu, bazal koşullara kıyasla önemli ölçüde bozulur. Bu nedenle, GDM' li kadınların adipoz dokusunda artmış inflamazom aktivasyonu sergiledikleri bulgusu bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulduğunun göstergesidir (Martha Lappas, 2014a).

ER stresi, ER lümeninde hatalı katlanmış proteinlerin birikmesi ile karakterize edilir. Obezite ve diyabet dahil olmak üzere bir dizi metabolik hastalık ile ilişkilidir (Hotamisligil, 2010; Özcan ve diğeri, 2004). Çevresel toksinler, inflamasyon ve viral enfeksiyon dahil olmak üzere çeşitli endojen ve eksojen hücre saldırganlıklarının protein katlama ortamını bozduğu ve böylece katlanmamış protein cevabını (UPR) aktive ettiği gösterilmiştir. UPR' ye, her biri birbiri tarafından aktive edilebilen üç farklı kol aracılık eder; inositol gerektiren enzim 1 (IRE1), aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF6) veya pankreatik endoplazmik retikulum kinaz (PERK). Bu sinyalleme proteinleri aracılığıyla UPR, protein translasyonunu inhibe eder, hatalı katlanmış proteinleri ortadan kaldırır ve ER protein katlama kapasitesini artırarak ER stresini hafifletir (Nakagawa ve diğeri, 2000). ER stresinin periferik insülin direnci, obezite ve T2DM' de merkezi bir rol oynadığını gösteren kanıtlar vardır (Özcan ve

diğerleri, 2004). GDM' li ve maternal obezitesi olan kadınların yağ dokusu ve iskelet kasında ER stresinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Liong ve Lappas, 2015). Son çalışmalar, GDM gebelikleri ile ilişkili inflamasyonun yayılmasında ER stres sinyal yolunun IRE1 kolunun önemli olduğunu vurgulamıştır. Örneğin, ER stres belirteçleri ATF6 veya IRE1 α ' nın ER stres inhibitörü TUDCA veya siRNA ile susturulmasının, gebe iskelet kasında TLR' ler (TLR3, TLR4) veya sitokinler (IL-1 β) tarafından indüklenen inflamasyonu önemli ölçüde ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir (Liong ve Lappas, 2016). Ayrıca *in vivo* çalışmalar, ER stres inhibitörlerinin diyabetik farelerde inflamazom aktivasyonunu zayıflattığını da göstermiştir (Fang ve diğerleri, 2013). Son olarak, ATF6 veya IRE1 α inhibisyonunun, iskelet kasında insülin sinyal yolunu ve insülin aracılı glukoz alımını da eski haline getirdiği saptanmıştır (Liong ve Lappas, 2016).

Bir dizi sinyal yolu GDM' nin patofizyolojisinde rol oynamaktadır. T2DM araştırmalarından yola çıkarak bu yolların birbirleriyle ve birlikte etkileşim gösterdiğini söylemek mümkündür. Ne yazık ki, bu yolların GDM gelişimine katkıda bulunmak için hiyerarşik bir şekilde hareket ettiğini gösteren hiçbir kanıt bulunmamaktadır. Steril inflamatuvar sonuçların, plasenta, adipoz doku ve iskelet kasında çeşitli sinyal yollarının ekspresyonunu ve/veya aktivitesini düzensizleştirdiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Şekil 3) (Nguyen-Ngo ve diğerleri, 2019).



Şekil 3. GDM' nin steril inflamasyon moleküler modeli (Nguyen-Ngo ve diğerleri, 2019).

2.3. Mitokondri Yapısı ve Fonksiyonu

Mitokondri, ilkel ökaryotik hücrelerle ve aerobik bakterilerin simbiyozundan oluşmuş çift zarlı bir organeldir. Kendi genomlarını (mtDNA), RNA ve proteinlerini sentezleyen mekanizmaları içeren mitokondri, nükleer genom ve diğer organellerle uyum içerisinde çalışmaktadır. Metabolik homeostaz için gerekli olan temel biyokimyasal işlevleri yerine getirmekle birlikte hücre ölümü ile hayatta kalmasının arabulucusudur (Holland ve diğerleri, 2017).

Mitokondrinin biyokimyası, son 50 yıldır yoğun araştırma konusu olmuştur. Bu organeller içerisinde şekerler ve uzun zincirli yağ asitleri parçalanmakta, adenzin difosfat (ADP) tekrar adenzin trifosfata (ATP) dönüştürülmekte, steroidler, lipitler sentezlenmektedir. Mitokondrilerde atasal DNA kopyalanmakta, transkribe edilmekte ve proteinler, insan yaşamı için gerekli olan diğer birçok reaksiyonla birlikte dönüştürülmektedir. Yapısal bir perspektiften bakıldığında mitokondri; dış zar, zarlar arası boşluk, iç zar ve matriksten oluşan dört farklı bölmeyle ayrılan iki zar içerdiğinden diğer organellerden farklılık sergilemektedir. Çoğunlukla bu organelin biyokimyası, hücre dışı ve izole edilmiş sistemlerde araştırılmıştır. Bu da bizim mitokondriyi, yaşam için gereken enerjiyi sağlamak için yorulmadan çalışan hücrede yalnız bir komponent olarak hayal etmemize yol açmıştır. Geçtiğimiz 20 yılda, yeni yaklaşımlar, hücre sel sinyallere yanıt olarak dinamik mitokondriyal fonksiyon ve davranışların incelenmesine izin verdiğinden bu görüş değişmiştir (Chan, 2006b; McBride ve diğerleri, 2006).

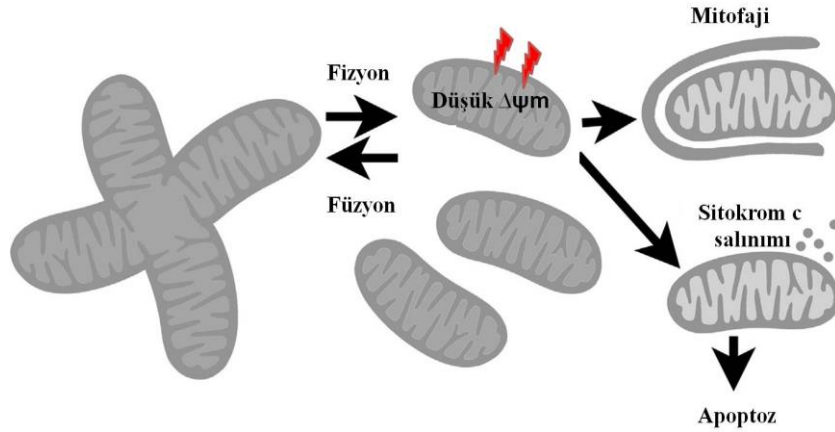
Her mitokondri, maternal olarak kalıtılan ve nükleoidler adı verilen nükleoprotein yapılarında paketlenmiş 800 ila 1000 mtDNA kopyası içermektedir. Nükleoidler mitokondriyal matriks boyunca dağılmış olsalar da genellikle oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) sistemini taşıyan krista yakınında bulunurlar. Dış ve iç mitokondriyal zarlar arasında küçük bir zarlar arası boşluk bulunmaktadır. Dış mitokondriyal membran ve intermembran boşluk, iç mitokondriyal membrandan nispeten daha geçirgendir. Buna karşılık, iç zar daha kısıtlı bir geçirgenliğe sahiptir. Elektron taşıma zinciri (ETS) ve ATP üretimi sürecine dahil olan enzimleri içerir. İç zar, mitokondriyal matriksi çevreler; burada trikarboksilik asit (TCA) döngüsü tarafından üretilen elektronlar, ATP üretimi için ETS tarafından alınır. İç membranda üretilen bir elektrokimyasal gradiyent, OXPHOS sürecini yönlendirir (Sherratt, 1991).

Ökaryotlarda mitokondri, iki ana adım kullanarak besinlerin oksidatif metabolizması yoluyla ATP formunda enerji üretir:

1) Glikoliz, TCA döngüsü veya yağ asitlerinin-oksidasyonu sırasında üretilen Nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) veya flavin adenin dinükleotit (FADH₂)' nin oksidasyonu ve

2) ATP' yi oluşturmak için gerçekleştirilen oksidatif fosforilasyon (Bhatti ve diğerleri, 2017).

Yaşlanma ve diğer birçok metabolik hastalıktaki patofizyolojik değişikliklerin, artan ROS üretimi, azalmış OXPHOS (ATP üretimi) ile mitokondri membran potansiyeli kaybı ve antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması gibi bozulmuş mitokondriyal fonksiyonlarla bağlantılı olduğu takdir edilmektedir. Ayrıca azalmış mitokondriyal biyogenez, mitokondriyal fisyon ile füzyon dinamiklerinde meydana gelen bozukluklar ve disfonksiyonel mitokondriyi ortadan kaldıran bir süreç olan mitofajinin inhibisyonunun yine nörodejeneratif ve metabolik hastalıkların oluşmasında etkili olduğu son yıllarda öne sürülmektedir (Şekil 4) (Bhatti ve diğerleri, 2017; Chistiakov ve diğerleri, 2014).



Şekil 4. Mitokondriyal regülasyon modeli (Holland ve diğerleri, 2017).

2.4. Plasenta ve Trofoblast Mitokondriyal Fonksiyonu

Dünya Sağlık Örgütü'nün temel sağlık önceliklerinden biri, gebelik komplikasyonlarının nedenlerini anlamak ve dünya çapında ölüm vakalarını azaltmak için etkili sağlık politikaları oluşturmaktır (Say ve Chou, 2018). Gebelik ve doğum sırasında

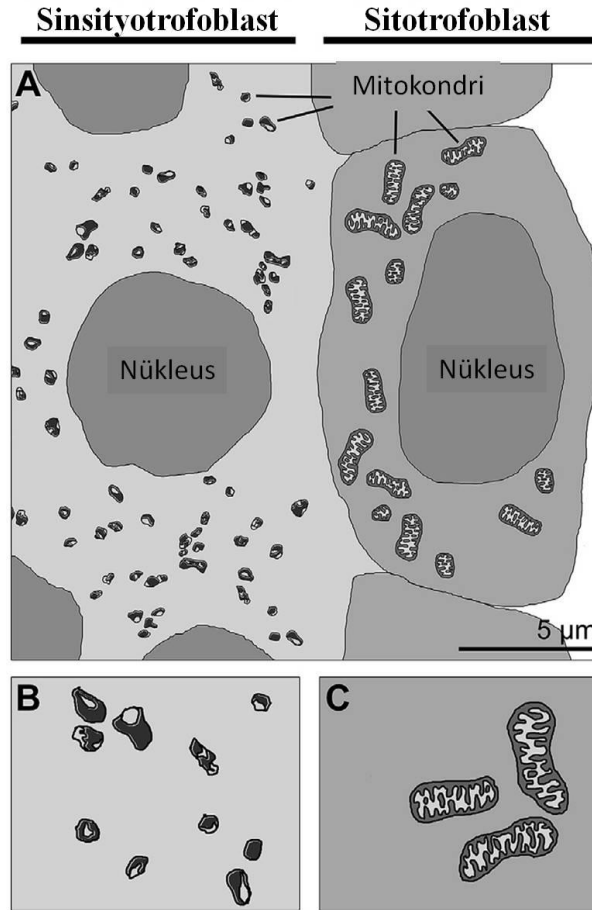
anne ve fetüs sağlığı için meydana gelebilecek doğrudan sonuçların yanı sıra, hamilelik komplikasyonlarının da uzun vadede anne ve çocuğunun sağlığı üzerinde önemli etkileri vardır. Daha önce de belirtildiği gibi GDM ve preeklampsi gibi gebelik komplikasyonları geliştiren kadınların, normal gebelik geçiren kadınlara kıyasla yaşamlarının ilerleyen dönemlerinde metabolik ve kardiyovasküler bozukluklar geliştirme olasılığı daha yüksektir (Neiger, 2017).

Anne ve fetüs arasındaki işlevsel ara faz olarak plasenta, hamileliğin sonucunu belirleyen maternal-fetal iletişime aracılık etmede merkezi bir rol oynamaktadır. Plasenta, maternal dolaşımdan besin ile oksijen sağlayarak, fetal atık ürünleri çıkararak ve fetusu maternal inflamatuvar yanıtlardan koruyarak fetal büyümeyi desteklemektedir (López-Tello ve diğerleri, 2019). Ek olarak, plasenta gebelik ortamındaki değişiklikleri algılayabilir ve bunlara yanıt verebilir ve fetal büyümeyi optimize etmek için maternal fizyolojiyi değiştiren hormonları salgılayabilir (Sandovici ve diğerleri, 2012). Bu roller göz önüne alındığında, gebelik sırasında gelişen plasental disfonksiyonun, anne ve çocuğun sağlığını olumsuz yönde etkileyen preeklampsi, fetal büyüme kısıtlaması ve GDM gibi yukarıda belirtilen gebelik komplikasyonlarıyla bağlantılı olması şaşırtıcı değildir (Desforges ve Sibley, 2009).

İnsan plasentasının sinsityotrofoblast hücreleri, başarılı bir hamileliğin sürdürülmesi ve fetüsün normal büyümesi için gerekli olan birçok işlevi gerçekleştiren oldukça dinamik hücrelerdir (Burton ve diğerleri, 2017). Bu fonksiyonlar arasında aminoasitlerin aktif taşınması, iyon pompalanması, steroid ve peptid hormon sentezi ile çok çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgılanması bulunur. Bu sebeple sinsityotrofoblast hücreleri, çok sayıda mitokondri ve bir miktar düz ER ile donatılmıştır (C.-Y. Cheng ve diğerleri, 2010). Bu organellere olan ihtiyaçlar, gebeliğin aşamasına, maternal ve fetal işaretlere yanıt olarak değişir. Mitokondriler uyarlanabilir tepkiler verebilmelidir ve rolleri göz önüne alındığında, dahil oldukları sinyalleme yolları hücre sel homeostazın sürdürülme merkezleridir (Burton ve diğerleri, 2017).

Çok ekirdekli sinsityotrofoblast, temel mononükleer sitotrofoblastların füzyonuyla oluşturulur (şekil 5). Sinsityotrofoblasta farklılaşma sırasında mitokondri, steroidogenez için oldukça özelleşmiş görünmektedir (Holland ve diğerleri, 2017). Steroidogenez, dış ve i zarların birbirine yakın olduğu çoklu protein sistemlerini içeren mitokondriyal temas bölgelerini gerektirir. Diğer steroidojenik dokularda (örn. adrenal bezler ve gonadlar), kolesterolün hücre içi mitokondriye taşınması, mitokondriyal sterol taşıyıcı protein steroidojenik akut düzenleyici protein (StAR) aracılığıyla düzenlenmektedir (Miller, 2013).

Ek olarak, mitokondriyal ısı şoku proteini (HSP) HSP60' ın plasentada STARD3 ile ilişkili olduğu ve steroidogeneze katılabildiği gösterilmiştir (Şekil 6). HSP, strese karşı hücresel yanıtta, genellikle şaperonlar olarak bilinen işlevlere sahiptir; ancak, HSP ek rollere sahip olabilir. HSP60, çeşitli otoimmün durumlarda ve aterosklerozda artmış serum kolesterolü ile ilişkilidir, bu da HSP60' ın kolesterol taşınmasında bir role sahip olabileceğini göstermektedir (Foteinos ve Xu, 2009; Olvera-Sanchez ve diğerleri, 2011). Ayrıca mitokondrinin sitotrofoblastların sinsityotrofoblasta farklılaşmasında doğrudan rol oynadığına dair kanıtlar da bulunmaktadır. Primer villüs sitotrofoblastlarda, mitokondriyal solunum zincirinin inhibisyonu, hücre füzyonunda ve hormon üretiminde (insan koryonik gonadotropin ve leptin) bir azalmaya yol açmaktadır (Poidatz ve diğerleri, 2015).

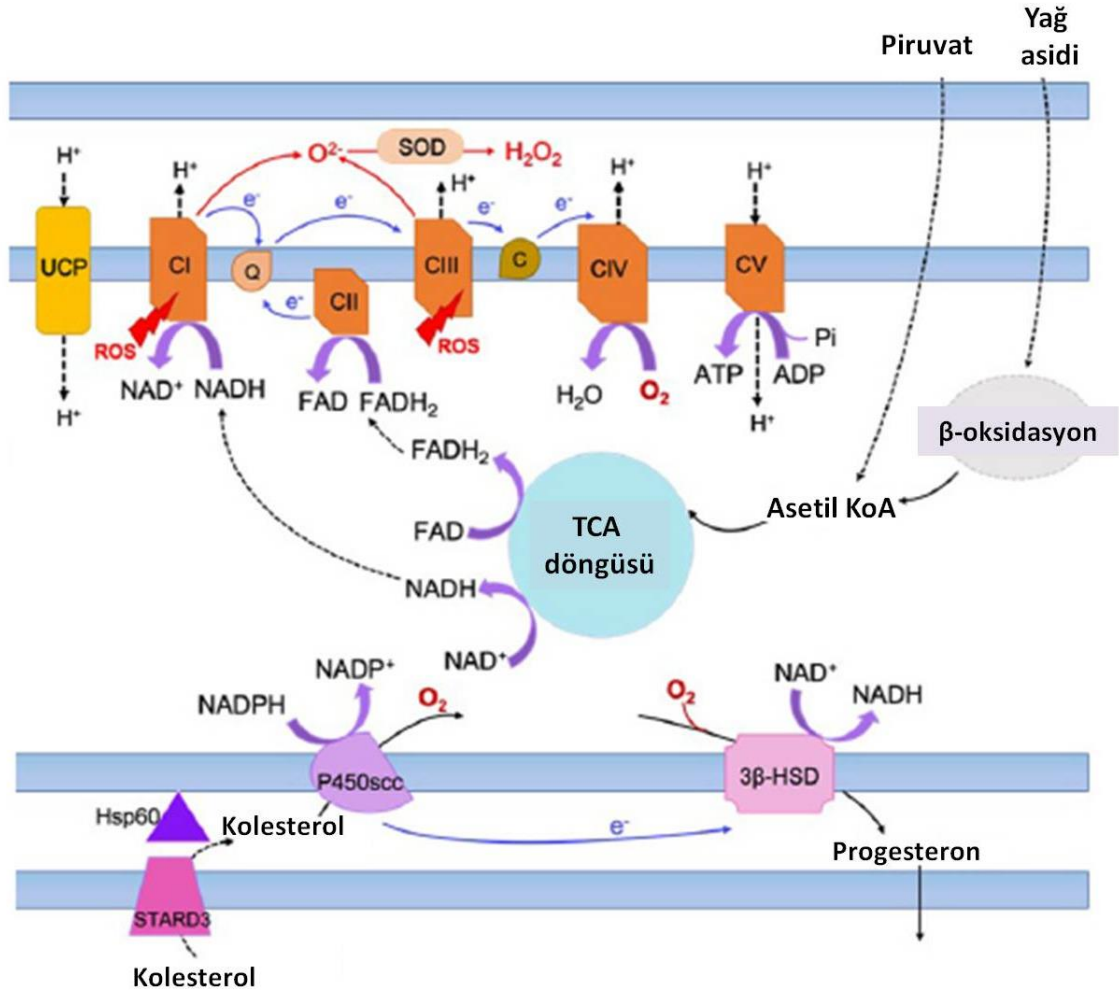


Şekil 5. Sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast mitokondrileri (elektron mikroskobu görüntülerinden uyarlanmıştır) (Holland ve diğerleri, 2017).

2.5. Mitokondriyal Hasar Sinyalleri

2.5.1. Mitokondri ve Oksidatif Stres

Elektron sızıntısı, OXPHOS' un elektron transfer adımları sırasında meydana gelir ve trofoblastlar da dahil olmak üzere tüm hücrelerde ROS üretiminin ana kaynağı olarak hizmet eder. ROS, önemli hücre içi sinyal molekülleridir, ancak fazla üretildiğinde mitokondriyal solunum verimini bozabilir. Ayrıca hücresel bileşenlerin hasarına ve hücre ölüm yollarının aktivasyonuna yol açabilir (Osellame ve diğerleri, 2012). Oksidatif solunum sırasında, oksijenin yaklaşık % 1-2' si süperoksit radikallerine dönüşür. Bu aktif radikal, SOD' lar tarafından katalize edilen bir reaksiyon sırasında H_2O_2 ' ye dönüştürülmektedir. Bu adım, H_2O_2 ' nin mitokondriden sitozole yayılmasına ve burada katalaz ile suya indirgenmesine izin verir (Alfonso-Prieto ve diğerleri, 2009). Alternatif olarak H_2O_2 , elektron vericileri olarak glutatyon (GSH) veya NADPH kullanılarak peroksidaz veya peroksiredoksin ile suya dönüştürülebilir. Ayrıca glutatyon peroksidaz-1 (GPx-1, mtGPx) tüm hücre tiplerinin sitoplazma ve mitokondrilerinde bulunan önemli bir hücre içi antioksidan enzimdir. Bir selenoprotein ve glutatyon kullanarak peroksitleri indirgeyici bir şekilde inaktive etmektedir (Handy ve diğerleri, 2009). Tioredoksin sistemi mitokondriyal proteinleri ROS aracılı hasara karşı savunmada önemli roller oynamaktadır. Kompleks I ve III, iç membranın hem matriks hem de zarlar arası taraflarında süperoksit üreten ana bölgelerdir. Kompleks II' ye özgü substrat olan süksinat, kompleks I'e bağlı süperoksit üretimini teşvik edebilirken, ubiquinone kompleks III' te süperoksit üretimine neden olan bir redoks rolü oynamaktadır (Şekil 6) (Ott ve diğerleri, 2007).



Şekil 6. Klasik elektron taşıma sistemi ve iç membranda kolesterolün O₂ ile progesterona dönüşümü (CI-V, ETC kompleksleri; P450scc, kolesterol yan zincir parçalama enzimi, 3β HSD, 3-β-hidroksisteroid dehidrogenaz) (Lu ve Sferruzzi-Perri, 2021).

Mitokondri ROS aracılı hasara karşı savunmasızdır. Bu hasar, mitokondriyal solunum disfonksiyonuna yol açan ETC ekspresyonunu ve translasyonunu bozan mtDNA modifikasyonunu içermektedir. Ayrıca ROS, sırasıyla pro-apoptotik proteinler tarafından dış membranda oluşturulan mitokondriyal geçirgenlik ile porlar yoluyla Ca⁺² dışı akışını ve sitokrom c salınımını tetikleyebilmekte dolayısıyla hücre ölümüne neden olmaktadır (Ott ve diğerleri, 2007).

Gebeliğin kendisi, oksidatif stresin artması ile karakterizedir. Bu durum genellikle rahatsızlıklarda daha da şiddetlenmektedir. Artmış plasental oksidatif stres; preeklampsi, intrauterin büyüme kısıtlaması, maternal diyabet ve maternal obezite dahil olmak üzere birçok gebelik patolojisinin bir özelliğidir (Gupta ve diğerleri, 2005). Maternal diyabet ve /

veya obeziteden etkilenen plasentalar, yüksek glukoz ve yağ asidi seviyelerinin yanı sıra inflamatuvar araçlar da dahil olmak üzere bir dizi etkene maruz kalmaktadır (Desoye ve Hauguel-de Mouzon, 2007).

2.5.2. Mitokondri ve Apoptoz

Ca^{+2} sinyali, hücre proliferasyonu ve ölümü gibi harici sinyallere yanıt olarak hücresel aktiviteleri düzenlemek için en önemli mekanizmalardan biridir. Sitosolik Ca^{+2} düzenlemesinde birçok organel yer alsa da ER, hücre içi Ca^{+2} için birincil depolama yeridir. ER ve mitokondri arasındaki yakın etkileşim ve mitokondriyal zarlarda ifade edilen Ca^{+2} taşıyıcılarının bolluğu, hücre içi ve hücre dışı sinyallere göre enerji metabolizmasını ve hücre kaderini düzenlemede Ca^{+2} sinyalinin kritik bir rolünü göstermektedir (Contreras ve diğerleri, 2010). Apoptoz, normal hücresel fonksiyonları sürdürmek için hasarlı hücrelerin yok edilmesine izin veren çok önemli bir süreçtir. Apoptoz, sırasıyla hücre dışı ölüm sinyallerine veya hücre içi streslere yanıt olarak dışsal veya içsel olarak meydana gelmektedir. Her iki yol da hücre tahribatına yol açan down-stream kırılma kademelerini başlatan kaspazların aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. Oksidatif stres gibi çevresel etmenler, mitokondriyal geçirgen porların (mPTP) açılmasını tetikleyerek Ca^{+2} homeostazını bozmakta ve hücre ölümünde bir karar adımı olan mitokondriyal geçirgenlikte artmaya yol açmaktadır. ETC' den üretilen ROS, mitokondriyal bütünlük üzerinde öldürücü etkilere neden olan lipid peroksidasyonuna ve sitokrom c' nin salınmasına neden olmaktadır. Normal koşullar altında, sitokrom c, membranlar arası alanın iç membran tarafına bağlı kalmaktadır. Oksitlendiğinde, sitokrom c iç membrandan ayrılır ve pro- ve anti-apoptotik B-hücre lenfoma 2 (BCL-2) ailesi proteinleri tarafından düzenlenen geçirgenlik kazanmış dış membran aracılığıyla sitozole salınmaktadır (Ott ve diğerleri, 2007). Sitosolik pro-apoptotik BCL-2-ilişkili X (BAX) ve mitokondriyal protein BCL-2-homolog-antagonisti (BAK) oligomerizasyonu, ölüm sinyalleri üzerine dış membranda mitokondriyal dış zar geçirgenliğinin artmasını ve sitokrom c salınımını tetiklemektedir. Sitokrom c sitozole girdikten sonra kaspaz 9' u toplayan ve aktive eden apoptozom adı verilen bir multiprotein kompleksinin oluşumunu başlatır. Aktive edilmiş kaspaz 9, daha sonra apoptozu yürütmek için bir “down-stream” kaspaz yolağını tetikler (Osellame ve diğerleri, 2012).

Mitokondrinin apoptozdaki rolü birçok dokuda iyi karakterize edilmiş olmasına rağmen, sinsityotrofoblastta apoptozun ilerleyişi tam olarak anlaşılamamıştır. Sinsityotrofoblastlar, hücre sınırlarından yoksundur ve sürekli kontrolsüz hücre ölümü tehlikesi nedeniyle apoptozun tek çekirdekli hücrelerde olduğu gibi sinsityumda ilerleyemeyeceği öne sürülmüştür (Burton ve diğerleri, 2017). Apoptozun karakteristiği olan mitokondri şişmesi, izole preeklampatik plasental mitokondride bildirilmiş ve plasenta mitokondrisinin benzer morfolojik değişiklikleri GDM vakalarında bulunmuştur (Meng ve diğerleri, 2015; Shi ve diğerleri, 2013).

2.5.3. Mitokondriyal Biyogenez

Mitokondriyal biyogenez, hem nükleer hem de mitokondriyal genomların katkısıyla mitokondrilerin sayısını ve boyutunu koruyan bir süreçtir. Fiziksel egzersiz, diyet kısıtlamaları, sıcaklık ve kas miyogenezi dahil olmak üzere fizyolojik uyarıların aracılık ettiği mitokondriyal biyogenezin düzenlenmesinde birkaç transkripsiyon faktörü rol oynamaktadır. Biyogenezin ana koaktivatörü PPAR- γ koaktivatör-1 α ve β (PGC-1 α/β); nükleer solunum faktörleri (NRF-1 ve NRF-2), mitokondriyal transkripsiyon faktörü A (TFAM), ayrılma proteinleri (UCP2), PPAR' lar, tiroid hormonu, glukokortikoid, östrojen ve östrojen ile ilgili reseptörler (ERR) α,γ gibi birçok transkripsiyon faktörü ve protein mitokondriyal biyogenez sürecini düzenlemektedir (Brown ve diğerleri, 2010; Ventura-Clapier ve diğerleri, 2008). NRF-1, NRF-2 ve TFAM, ana mitokondriyal enzimlerin ve mtDNA sentezinin transkripsiyonu üzerine görev yapmaktadır. Bu transkripsiyon faktörlerinin yanı sıra, metabolik sensörler olarak görülen iki önemli enzim olan AMPK ve SIRT1 mitokondriyal biyogenezin düzenleyicileri arasında yer almaktadır. PGC-1 α aynı zamanda siklik adenosin mono fosfat (cAMP) sinyal yolu aracılığıyla gerçekleşen enerji metabolizmasında rol oynamakta ve mitokondriyal işlevi düzenleyen UCP2 ekspresyonunu da indüklemektedir. UCP2, mitokondriyal membran potansiyelini azaltarak ROS üretimini azaltırken, proton gradiyentini dağıtan ve ATP oluşumundan substrat oksidasyonunu ayıran zarlar arası bir proteindir (Brand ve diğerleri, 2004).

Preeklampsi dahil olmak üzere plasenta yetmezliğine bağlı gebelik patolojileri, maternal diyabet ve obezite mitokondriyal içerikteki değişikliklerle ilişkilidir. Ayrıca, maternal dolaşımdaki mtDNA seviyeleri, plasental patolojilerde artabilir ve bu materyalin

plasentadan kaynaklandığı düşünölmektedir (Williams ve diğerleri, 2013). Normal fetal büyüme yi sürdürme girişiminde artmış ya da azalmış mitokondriyal biyogenez meydana gelebilmektedir. Etkisi besinsel olarak bozulmuş ortamlarda enerji çıkışını artırmak için telafi edici bir yanıt olup olmadığına bağlıdır (Cetin ve Alvino, 2009; Mandò ve diğerleri, 2014). T2DM' de PGC-1 α ve hedef genlerinin ekspresyonları azalmaktadır ve bunlar, mitokondriyal ATP üretme kabiliyetinin bozulması ve ETS ile artan ROS üretimiyle ilişkilidir (Groop, 2003).

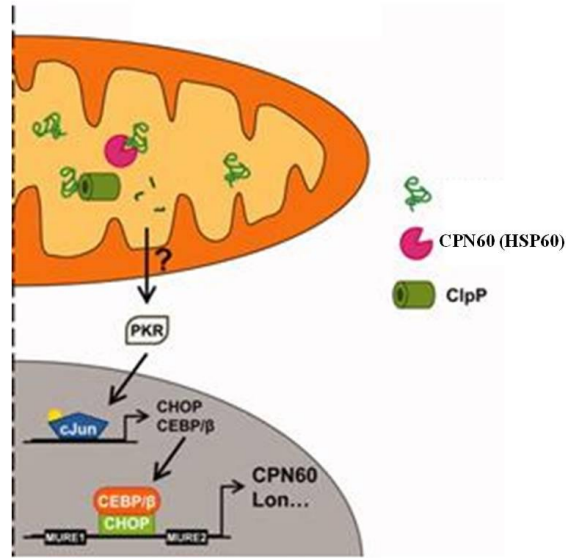
2.5.4. Mitokondriyal Katlanmamış Protein Yanıtı (mtUPR)

mtUPR ile ilgili yapılan çalışmalar, mitokondriyal protein alımı ve döngüsünün etkinliğini, hücrenin mitokondriyal fonksiyonunun kritik bir belirteci olduğunu göstermiştir. Mitokondriyal matriks, yeni import proteinlerin ve ayrıca mtDNA tarafından kodlanan 13 polipeptidin bazılarının katlanmasıyla ilgili kendi moleküler şaperon sistemini içerir (Haynes ve diğerleri, 2013). Hem dış hem de iç membranda, protein translokazlar, öncü protein translokasyonunu ve/veya zarlara entegrasyonunu mümkün kılar. Mitokondriyal matrikste yer alan evrimsel süreçte korunmuş olan şaperonlar HSP70 ve HSP60/10' dur (Ryan ve Hoogenraad, 2007). Ayrıca protein olgunlaşması ve mitokondriyal kalite kontrolü için gerekli olan ek şaperonlar ve proteazlar arasında; kazeinolitik mitokondriyal matriks peptidaz proteolitik alt birimi (ClpP), HSP40 (DnaJ) ve HSP78 bulunur (Martinus ve diğerleri, 1995).

mtDNA' dan yoksun hücrelerin kullanıldığı deneyler (etidyum bromür uygulamasıyla), bir memelinin mitokondriyal spesifik stres tepkisi için ilk kanıtı sağlamıştır. Muhtemelen oksijenli solunum kompleksi düzeneğinin bozulması ve mitokondriyal matrikste doğru alt birimlere ayrılamayan veya uygun komplekse birleştirilemeyen yeni yapılmış protein birimlerinin birikmesi nedeniyle bir HSP60 ve HSP10 indüksiyonu gözlenmiştir (Martinus ve diğerleri, 1996). Sürekli olarak, mitokondriyal matrikste kümelenmeye eğilimli kesilmiş bir proteinin aşırı ekspresyonu (kesik ornitin transkarbamilaz), ER ile ilişkili şaperonlar indüklenmediğinden mitokondriye özgü bir şekilde HSP60, HSP10 ve mitokondriyal proteaz ClpP ekspresyonunu artırmıştır (Q. Zhao ve diğerleri, 2002). Daha sonraki çalışmalar, mitokondriyal matriksteki protein agregasyonunun, transkripsiyon faktörü C/EBP β homolog protein (CHOP) ve onun

kofaktörü C/EBP β ' nin, c-Jun N-terminal kinaz (JNK) 2 ve transkripsiyon faktörü aktivatör protein 1 (AP1) aracılı transkripsiyonel aktivasyonu ile sonuçlandırıldığı bir model önermiştir (Horibe ve Hoogenraad, 2007; Q. Zhao ve diğerleri, 2002). CHOP, hem ER ilişkili UPR hem de mtUPR ile bağlantılı görünmektedir (Şekil 7). Transkripsiyonel aktivasyon için iki adet bitişik ancak farklı eleman belirlenmiş olup UPR yollarından herhangi birine yanıt olarak *Chop* geninin ayrı olarak indüklendiği gösterilmiştir (Aldridge ve diğerleri, 2007).

ClpP, GLUT4 ve GLUT1' i aktive ederek glukoz metabolizmasını düzenlemektedir. ClpP^{-/-} farelerde açlık glukozu ve insülinin, yabancıl tip farelere kıyasla azaldığı tespit edilmiştir (Becker ve diğerleri, 2018). Ayrıca bir dizi çalışma, T2DM hastalarında sistemik dolaşımda yüksek HSP60 proteini seviyeleri göstermiştir (Yuan ve diğerleri, 2011). HSP60' ın steroidogenezdeki ve diyabette gerçekleşen inflamasyondaki (Zhong ve diğerleri, 2017) rolü de göz önüne alındığında plasental mtUPR' nin metabolik hastalıklardaki etkisinin araştırılması önem arz etmektedir.



Şekil 7. mtUPR sinyali (Rath ve Haller, 2012) (PKR, Protein Kinaz R).

2.5.5. Mitofaji

Mitofaji, hasarlı, işlevsel olmayan mitokondriyi parçalayan özel bir otofaji şeklidir ve böylelikle fonksiyonel bir mitokondriyal popülasyonun korunmasını sağlar. Mitofaji, açlık, ışık hasarı, hipoksi, ROS üretimi ile indüklenen mitokondriyal depolarizasyon dahil olmak

üzere birçok koşul altında indüklenebilmektedir (I. Kim ve diğerleri, 2007; Kurihara ve diğerleri, 2012; Matsuda ve diğerleri, 2010).

Mayada otofaji için mitokondrinin seçici olarak hedeflenmesinde, otofaji ilişkili protein (ATG32), kargo adaptör proteini (ATG11) görev alırken, memelilerde ise retikülosit farklılaşmasında, Nip3 benzeri protein X (NIX, BNIP3I olarak da bilinir) gibi çeşitli faktörler yer almaktadır (Youle ve Narendra, 2011). NIX, dış membranda lokalizedir. Memeli ATG8 ortoloğu mitokondrinin sitozole bakan yüzünde, mikrotübülle ilişkili proteinler 1A/1B hafif zincir 3B (LC3)' ü ve LC3 homologu GABA reseptörü ile ilişkili proteini (GABARAP) bağlayan bir motif içermektedir (Schwarten ve diğerleri, 2009). Ek olarak, PINK1-PARK2 yolu, memelilerde hasarlı mitokondrinin ortadan kaldırılmasından sorumludur. Mitokondriyal hasar meydana geldiğinde, PTEN-indüklü kinaz 1 (PINK1), ubiquitin ligazlar PARK2/PARKIN' i özellikle hasarlı mitokondriye biriktirir, toplar ve böylece mitofajiyi başlatır (Geisler ve diğerleri, 2010). Aktive edilmiş PARKIN daha sonra voltaj bağlı anyon kanalı 1 (VDAC1), mitofusin (MFN1) ve MFN2 dahil mitokondriyal proteinleri ubiquitinler (Tanaka, 2010). Bu ubiquitinlenmiş mitokondri, ubiquitin bağlama domaini yoluyla p62 ve histon deasetilaz 6 (HDAC6)' ya bağlanır ve perinükleer bölgede kümelenmek üzere mikrotübüller boyunca taşınır (Okatsu ve diğerleri, 2010). p62 daha sonra LC3 aracılığıyla otofagozomal membranları toplayarak lizozomda mitokondriyal temizlenmeye yol açar (Geisler ve diğerleri, 2010).

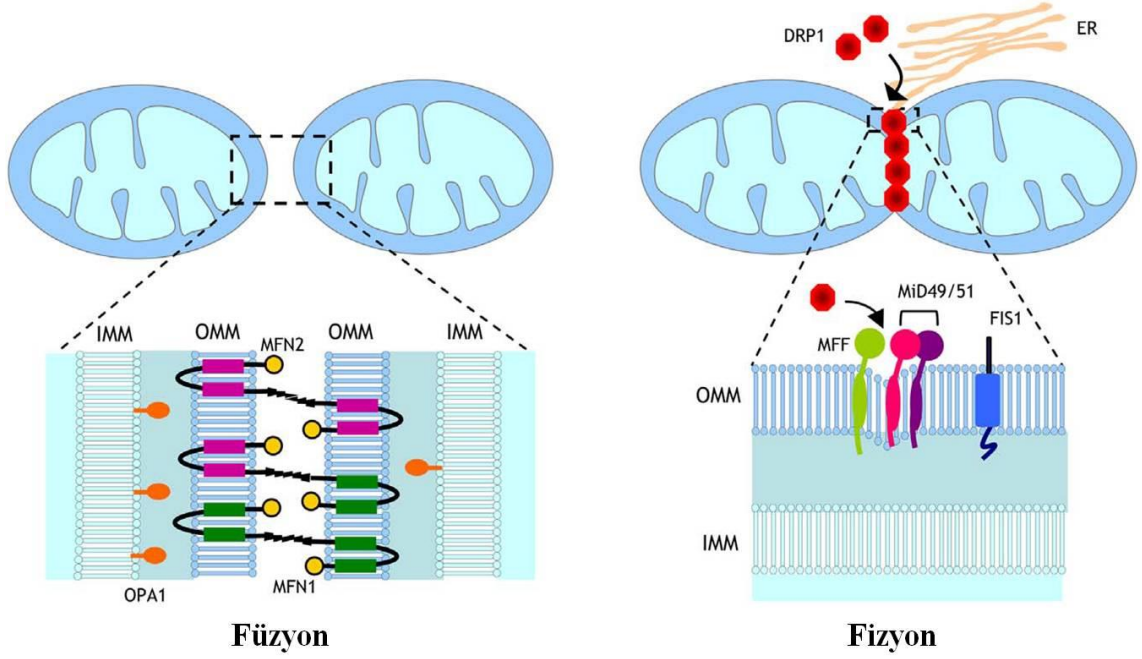
Tanımlanan ilk memeli otofaji proteini olan BECLIN1 (BECN1), otofajide merkezi bir rol oynamaktadır. BECN1' in otofaji için zorunlu bir protein olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar BECN1 varyantlarının esas olarak mitokondrinin dış zarı ile ilişkili olduğunu ve PINK1 için güçlü bir bağlanma afinitesine sahip olduğunu göstermiştir, bu da BECN1 varyantının PINK1 ile etkileşim yoluyla mitofajiyi başlattığını düşündürmektedir (B. Cheng ve diğerleri, 2015).

Mitofaji, büyük mitokondriyi daha küçük yavru mitokondrilere ayıran bir süreç olan mitokondriyal fisyon yakından ilişkilidir. Esas olarak dinamin ile ilgili protein 1 (DRP1) tarafından kontrol edilen mitokondriyal fisyon olayları, mitokondrinin hasarlı bölümlerini ayırır ve mitofaji ile bunların uzaklaştırılmasını kolaylaştırır (Twig, Elorza, ve diğerleri, 2008). Mitofaji dokuların fonksiyonlarının tam olarak sağlanması ve bütünlüğün gerçekleştirilmesi için şarttır (Tong ve diğerleri, 2019). Fakat hücrel ve çevresel etmenlere bağlı olarak hücrel bileşenlerin aşırı bozunması yoluyla hücre ölümünü teşvik edebileceği unutulmamalıdır (Levine ve Yuan, 2005).

2.5.6. Mitokondriyal Dinamikler

Fizyolojik koşullar sırasında mitokondri, hücrel enerji taleplerine uyum sağlamak için morfolojik değişikliklere uğramaktadır. Bu değişiklikler, hücreler içinde yeterli mitokondri dağılımına izin veren mitokondriyal füzyon (birleşme) ve fisyon (bölünme) döngüleri yoluyla sürekli meydana gelmektedir. Bu nedenle mitokondriler, statik organeller değildir. Fizyolojik uyarılara bağlı olarak şekillerini ve yerlerini değiştirmektedirler. Mitokondriyal fisyon, küçük bireysel mitokondriler üretirken, birbirine bağlı büyük mitokondri ağları füzyon yoluyla üretilir. Mitokondrinin morfolojisi, farklı hücre tipleri arasında büyük ölçüde değişir; örneğin hepatositler küçük küresel veya oval mitokondriye sahipken, fibroblast mitokondrileri uzun filamentler şeklindedir (Westermann, 2010; Youle ve Van Der Bliek, 2012).

Dinamin ile ilgili birkaç GTPaz, mitokondriyal füzyon/fisyon işlemlerinin temel mekanizmasını oluşturmaktadır. Mitofusin (MFN) 1 ve 2, dış mitokondriyal membran füzyonundan sorumludur. MFN1 proteinleri, iki karşıt mitokondriyi HR2 alanları aracılığıyla bağlayarak inter-mitokondriyal olarak etkileşime girebilmektedirler (Galloway ve Yoon, 2013). MFN2 proteinleri kendi aralarında etkileşime girerken aynı zamanda mitokondriyal füzyonu desteklemek için MFN1 ile de heterooligomerize olmaktadır (Detmer ve Chan, 2007). MFN2 ayrıca Ca^{+2} sinyallemesi için gerekli olan ER ve mitokondri arasındaki fiziksel etkileşime de katılmaktadır (De Brito ve Scorrano, 2008). Mitofusinler dış membran füzyonuna aracılık ederken, iç mitokondriyal membranın füzyonu, mitokondriyal krista yapısının korunmasında da rol alan optik atrofi 1 (OPA1) proteini tarafından gerçekleştirilmektedir (Otera ve Mihara, 2011). Öte yandan, fisyon proteinleri arasında DRP1 ve fisyon proteini 1 (FIS1) bulunmaktadır. DRP1 molekülleri, mitokondriyal zarları GTP' ye bağlı bir şekilde daraltmak için halka benzeri bir yapı içinde toplanırken, FIS1 dış membrana sabitlenmekte ve DRP1' in sitozolik alanı aracılığıyla toplanmasına aracılık etmektedir (Yoon ve diğerleri, 2011). DRP1' in toplanmasına aracılık eden diğer dış membran proteinleri mitokondriyal fisyon faktörü (MFF), mitokondriyal dinamik proteinleri 49 (MiD49) ve 51 kDa (MiD51)' dir (Şekil 8). MiD49 ve 51, FIS1 veya MFF yokluğunda fisyon aracılığı için yeterli olmaktadır (Losón ve diğerleri, 2013).



Şekil 8. Mitokondriyal füzyon ve fisyonun regülasyonu (Rovira-Llopis ve diğerleri, 2017).

Füzyon ve fisyon süreçleri; mitokondriyal solunum aktivitesi, mtDNA dağılımı, apoptoz, hücre hayatta kalması veya kalsiyum sinyali gibi önemli hücre fonksiyonlarının sürdürülmesi için gereklidir. Yapılan birçok çalışma, mitokondriyal dinamiklerin glukoz metabolizmasında, insülin sinyalinin düzenlenmesinde dolayısıyla obezite ve T2DM gelişiminde önemli rolünü vurgulamaktadır (L. Wang ve diğerleri, 2015). Son kanıtlar, karaciğerdeki DRP1 veya MFN1' in genetik ablasyonunun fareleri yüksek yağlı diyetin neden olduğu obezite ve insülin direncine karşı koruduğunu göstermektedir (L. Wang ve diğerleri, 2015). T2DM esnasında β -hücrelerinde mitokondri füzyon ve fisyon süreçlerinin sürekli olarak değiştiği, hiperglisemi ile artmış palmitat seviyelerinin füzyonu azalttığı ve mitokondriyal oksijen tüketimini engellediğini göstermiştir (Cerqueira ve diğerleri, 2016). Yine T2DM' nin, iskelet kasındaki mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak azalmış bir MFN2 ekspresyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Zorzano ve diğerleri, 2009). Başka bir çalışmada ise T2DM' li hastaların lökositlerinde anlamlı derecede azalmış bir mitokondriyal füzyon kapasitesi ve artmış bir fisyon örüntüsü bildirmiştir (Diaz-Morales ve diğerleri, 2016). Ayrıca insülin direnci olan hastalarda yapılan diğer çalışmalar egzersizin, yağ oksidasyonu ve insülin duyarlılığında bir iyileşmenin yanı sıra DRP1'de bir azalmayı ve MFN1 ile MFN2 ekspresyonunda bir artışı teşvik ettiğini saptamıştır (Fealy ve diğerleri, 2014). Tüm bunların yanında obezitede olduğu gibi aşırı besin ortamına maruz kalmanın mitokondriyal fisyonu arttırdığı ve verimsiz solunum ile ilgili olan mitokondriyal füzyonu

azalttığı gösterilmiştir (Wai ve Langer, 2016). Başka bir çalışma, FIS1' in pankreas β hücrelerinin önemli bir düzenleyicisi olduğunu doğrulamıştır. Araştırmacılar, hem glukozla uyarılan insülin sekresyonunun hem de mitokondriyal dinamiklerin, bu fisyon proteininin belirli ekspresyon seviyelerini üretmek için açıkça uyarlandığını bulmuşlardır (Schultz ve diğerleri, 2016).

Mitofaji düzenlemesinin önemi, hasarlı bir mitokondri sağlıklı olanla birleştiğinde, sonucun daha büyük ve sağlıklı bir organel değil, daha ziyade yüksek miktarda ROS salgılayarak hasarı artırabilecek daha hasarlı bir mitokondri oluşturması gerçeğine dayanmaktadır (Dorn ve Kitsis, 2015). Bu bağlamda mitokondriyal fisyon merkezi bir rol oynar. Çünkü mitofajiden önce kapsül oluşumu için yönetilebilir büyüklükte bireysel mitokondriyal fragmanlar oluşturan mitokondriyal bölünme gerekmektedir (Youle ve Narendra, 2011). Bu profisyon durumuna ulaşmak için, füzyon proteinleri MFN1 ve MFN2, mitofajinin indüksiyonu sırasında ubiquitin proteazom sistemi tarafından yıkılırken, OPA1, dış membran çinko metalloproteazı OMA1 ve AAA proteazları tarafından bozunmaktadır (Stotland ve Gottlieb, 2015).

Mitokondriyal dinamikler, hiperglisemik koşullar altında yoğun ROS üretimi ile ilişkilidir (Gerber ve Rutter, 2017). Aslında, yüksek glukoz seviyeleri ROS üretimi ile parçalanmayı tetiklemekte ve ROS konsantrasyonları azaldığında mitokondriler aktivitelerini geri kazanmaktadır. Yu ve ark. yaptıkları çalışmada yüksek glukoz ortamında, mitokondrinin morfolojik değişikliklerinin ROS üretiminde nedensel bir faktör olduğunu göstermiştir. Böylece mitokondriyal dinamiklerin, mitokondriyal aktivitenin ana düzenleyicisi olarak anahtar rolleri vurgulanmıştır (T. Yu ve diğerleri, 2006). Ayrıca, anormal glukoz homeostazının her zaman bir neden olmayabileceğini, daha ziyade değişen mitokondriyal dinamiklerin bir sonucu olabileceğini, çeşitli çalışmaların önerdiği gibi not etmek önemli gözükmektedir (Quirós ve diğerleri, 2012; Sebastián ve diğerleri, 2012; L. Wang ve diğerleri, 2015).

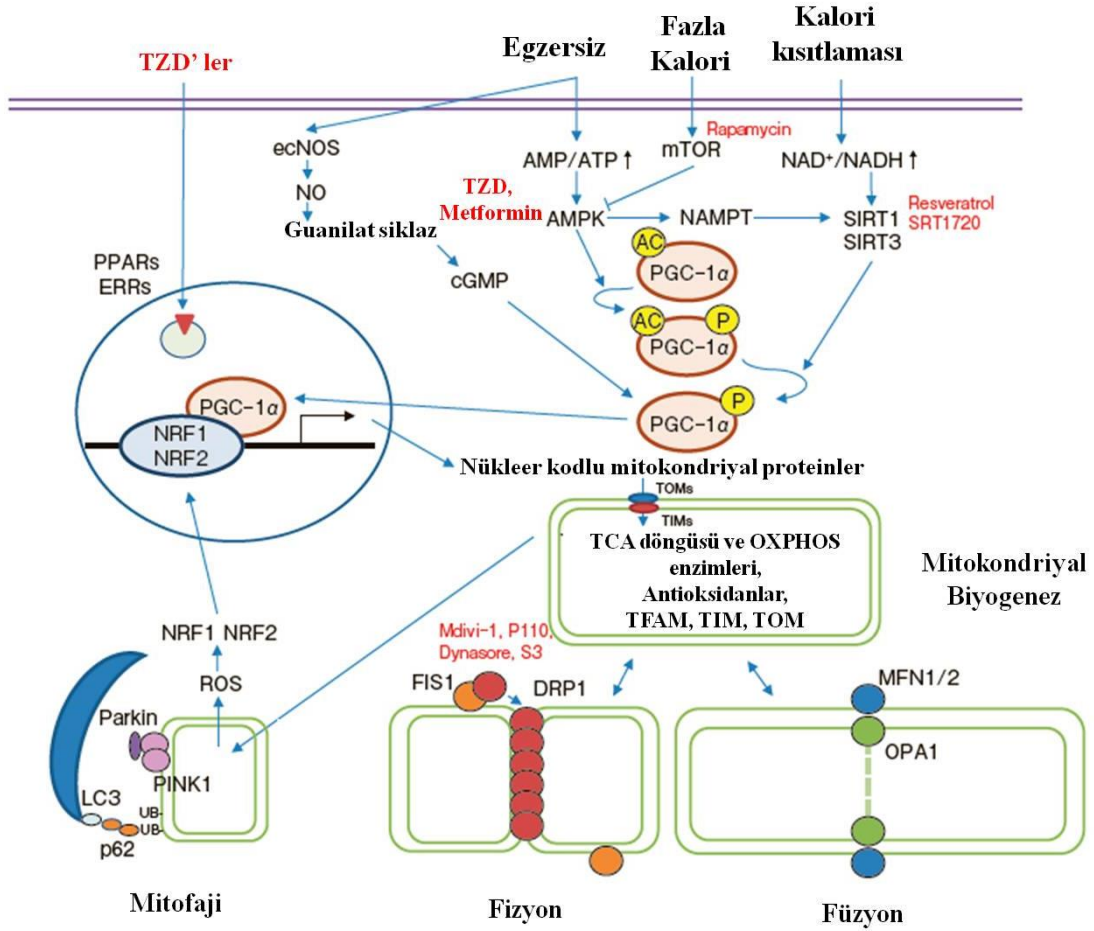
Sıçanlarda maternal diyetin neden olduğu obezite, sırasıyla PGC-1 α ve MFN1 / 2 dahil olmak üzere genlerin azalmış ekspresyonunu gösterdiği gibi, risk altındaki mitokondriyal biyogenez ve füzyon ile bağlantılıdır. Bunlar plasental yetmezlik ile uyumlu olarak saptanmıştır (Borengasser ve diğerleri, 2014).

Mitokondriyal dinamiklerin düzenlenmesi, mitokondriyal füzyon ile fisyon arasında bir denge sağlayan ve dinaminlerle ilişkili farklı GTPazları içeren karmaşık bir süreçtir. Bu

dengede gerçekleşecek herhangi bir değişiklik; oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve metabolik bozulmalara yol açabilir. Sonuçta insülin direnci ile T2DM gibi mitokondriye bağlı hastalıkların gelişimini teşvik edebilir (Rovira-Llopis ve diğerleri, 2017).

2.5.6.1. Mitokondriyal Dinamiklerin Hedeflenmesi “Fisyon İnhibitörleri”

Akut stres, açlık gibi artan enerji talepleri ve azalmış kaynaklar ile ilgili çeşitli fizyolojik koşullar, ATP sentezi ve mitokondriyal füzyonu destekler. Aksine azalan enerji ihtiyacı ve artan kaynakların oluşturduğu koşullar, dinamikleri mitokondriyal fisyon yönüne çekmektedir (Liesa ve Shirihai, 2013). Yaşam tarzı değişikliği obezite ve T2DM’ li hastalarda en temel tedavi olmasına rağmen, mitokondriyal biyogenez ile füzyon ve fisyon dinamikleri dahil mitokondri kalite kontrollerini hedefleyen farmakolojik müdahaleler, değişik farmasötiklerin geliştirilmesinde umut verici bir alandır (Şekil 9) (Wada ve Nakatsuka, 2016). Mitokondriyal füzyon, fisyon ve mitofajiye yönelik bileşiklerin geliştirilmesine duyulan ilgi son yıllarda katlanarak artmış ve bu hedeflerin birçok hastalığın tedavisi için önemi vurgulanmıştır (H. F. Jheng ve diğerleri, 2015).



Şekil 9. Mitokondriyal biyogenez, mitofaji ve dinamiklerin genel şeması ile bu mekanizmaların hedeflenmesi (TZD, Tiazolidindion; SRT1720, SIRT1 aktivatörü; S3,15-okzosibiramilakton) (Wada ve Nakatsuka, 2016).

Mitokondriyal bölünme inhibitörü-1 (mdivi-1), maya ve memeli hücrelerinde DRP1' in bir araya gelmesini ve GTPaz aktivitesini seçici olarak inhibe ederek mitokondriyal fragmentasyonu durdurmaktadır (Cassidy-Stone ve diğerleri, 2008). Mdivi-1' nin HeLa hücrelerinde sitokrom c salınımını bloke ederek apoptozu inhibe ettiği ve iskemi durumunda böbrek hasarını ve miyokard enfarktüsünü iyileştirebildiği saptanmıştır (Ong ve diğerleri, 2010). Başka bir çalışma, mdivi-1' in, DRP1' i inhibe ederek palmitik asit tarafından indüklenen mitokondriyal hasarı ve ROS üretimini tersine çevirebileceğini göstermiştir (H.-F. Jheng ve diğerleri, 2012). Mdivi-1 ayrıca insülin direnci koşullarında insülin duyarlılığını artırabilmektedir. Bazı yazarlar, mdivi-1' in diyabetik farelerde mitokondriyal parçalanmayı, oksidatif stresi, inflamasyonu, ateroskleroza azalttığını ve endotel fonksiyonunu iyileştirdiğini tespit etmiştir (Q. Wang ve diğerleri, 2017). Bununla birlikte, diğer çalışmalar, bu bileşik ile uzun süreli tedavinin mitokondriyal işlevi inhibe edebileceğini

göstermiştir (Kim ve diğerleri, 2013). Yirmi dört saatten fazla mdivi-1 ile tedavinin mitokondriyal kütleyi azalttığı, apoptozu indüklediği ve miyojenik farklılaşma sırasında vasküler hücre biyoenerjetiklerini ve hücre proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Salabei ve Hill, 2013). Hücre bölünmesi üzerindeki inhibitör etkisi nedeniyle, mdivi-1, kanser için bir tedavi olma potansiyeline işaret ederek, kanser hücrelerinde hücre ölümünü tetikleme kapasitesine sahiptir (J. Wang ve diğerleri, 2015).

Dinaminin GTPaz aktivitesine müdahale eden başka bir bileşik, dinamine bağlı endositik yolları inhibe eden küçük bir molekül olan “dynasore” dur (Macia ve diğerleri, 2006). Aslında, dynasore, DRP1 bir dinamin benzeri protein olduğu için mitokondriyal bölünmeyi engellemektedir. Oksidatif stresi ile mitokondriyal fisyonu önlediği ve iskemi / reperfüzyon koşulları altında kardiyomiyosit sağkalımını artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca oksidatif stres koşulları altında mitokondriyal fonksiyonu, morfolojiyi ve ATP seviyelerini koruyarak kardiyak lusitropiye karşı koruma sağlayabilmektedir (Gao ve diğerleri, 2013).

Sitozolik DRP1, mitokondriyal fisyon olayında mitokondriye bağlanmak için MFF ve FIS1 gibi adaptörlere ihtiyaç duymaktadır. “P110”, DRP1 enzim aktivitesini azaltan ve nöronlarda DRP1 / FIS1 etkileşimlerini bloke edebilen küçük bir peptid inhibitörüdür. P110 ayrıca nörit kaybını azaltarak Parkinson hastalığında nöroprotektif etkiler de göstermiştir (Qi ve diğerleri, 2013). Dahası, beyin iskemi / reperfüzyon hasarının bir modelinde, DRP1 ve p53 arasındaki etkileşimi engellediği, böylece beyin enfarktüsünü ve mitokondri ile ilişkili nekrozu azalttığı gösterilmiştir (Guo ve diğerleri, 2014). Bunlarda başka DRP1 Thr595 fosforilasyonunu ve mitokondriyal disfonksiyonu azalttığı ayrıca otofajiyi inhibe ettiği de tespit edilmiştir (Su ve Qi, 2013). Başka bir çalışmada, araştırmacılar, p53 ve NF-κB yolları arasındaki çapraz etkileşimin mitokondriyal fisyon aracılı hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde rol oynadığını gösterdi ve DRP1 aracılı mitokondriyal fisyonunun hücre döngüsü ilerlemesinde ve kanser hücresi proliferasyonunda kritik bir rol oynadığı sonucuna vardı (Zhan ve diğerleri, 2016). Özetle, P110’ un nörodejeneratif hastalıklarda ve kanserde mitokondriyal hasar üzerinde faydalı etkiler göstermiştir. Fakat metabolik hastalıklar üzerindeki etkileri araştırılmayı beklemektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihaz listesi:

- Hassas terazi (Shimadzu)
- Sıcak su banyosu (Memmert)
- İnkübatör (Nuaire)
- Hücre sayım cihazı (İnvitrogen countess)
- Isı bloğu (Lab companion)
- Ultra saf su cihazı (Millipore)
- Vorteks (İsolab)
- -80° C buz dolabı (Nuaire)
- -20° C buz dolabı (Samsung)
- pH metre (Mettler toledo)
- Sıvı azot tankı (-196 °C)
- Hücre kültür kabini (Labronco)
- Distile su cihazı (Nüve)
- Buz cihazı (Uğur buzaL60)
- Santrifüj (Hettich zentrifugen)
- Soğutmalı santrifüj (Eppendorf centrifuge 5415 R)
- Otoklav (Hirayama)
- Nanodrop (Nabi)

- Orbital çalkalayıcı (IKA KS 130)
- Plate okuyucu (Epoch)
- UV görüntüleme cihazı (G:Box Syngene)
- İnvart mikroskop (Olympus CK40)
- Western blot seti (yürütme, transfer tankı, güç kaynağı, Biorad, Criterion)
- Boncuklu homojenizatör
- Real-Time PCR (Thermo Fischer Step One Plus)
- Pipet seti (10 µl, 100 µl, 1000 µl, Eppendorf)
- Muse hücre analizörü (Guava)

3.1.2. Kimyasal Maddeler, Primerler ve Antikorlar

Çalışmada kullanılan kimyasal listesi:

- BeWo hücre hattı (ECACC, Acc No: 86082803)
- DMEM high glucose, DMEM no glucose besi yeri (Capricorn)
- Ham's F-12 besi yeri (Sigma)
- Fetal sığır serumu (FBS, 500 ml, Sigma)
- L-Glutamin solüsyonu (200 mM, 100 ml, Capricorn)
- Penisilin/Streptomisin (100 ml, Capricorn)
- 10 cm' lik petri kabı (Biologix)
- Tek kullanımlık steril pipet (5ml, 10 ml, Biologix)
- Pastör pipeti (VWR)
- Sodyum pirüvat (Gibco)
- Tripsin-EDTA (% 0,05, Capricorn)
- Dulbecco's PBS (1x, Sigma)

- 6 well plate (Biologix)
- 10 ml şırınga (BD-Luer-Lok™ Tip)
- 15 ml' lik falkon (İsolab)
- 50 ml' lik steril falkon (İsolab)
- Cryotube (İsolab)
- 1,5 ml'lik vial (Tarsons)
- Enjektör filtresi (İsolab)
- Dimetil Sülfoksit (DMSO, Merck)
- Etanol (Merck)
- RNase içermeyen su (GeneAll)
- RIPA lizis tamponu (ABT)
- Doku lizis tamponu (ProteinEx, GeneAll)
- 1 ml' lik steril enjektör (Beybi)
- Protein kuantifikasyon kiti (Bradford testi, Abcam)
- Proteaz ve fosfataz inhibitörü (100x, MedChem Express)
- Tripan mavisi (İnvitrogen)
- Tris Hidroklorid (Sigma)
- Sodyum Klorür (Merck Millipore Emsure)
- Tris Base (Nzytech)
- Glisin (Nzytech)
- Yağsız süt tozu (Pınar)
- β -Merkaptoetanol (Merck Millipore)
- Metanol (Merck Millipore)
- SDS-PAGE yükleme boyası (5x, Nzytech)
- SDS-PAGE jeli (Biorad, Criterion midi)

- Whatman Kağıdı (Filtre kağıdı, Whatman)
- Hücre sayım slaytı (Countess™)
- SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) (BioShop)
- Nitro seluloz membran (Santa Cruz)
- Tween 20 (Sigma)
- MTT testi kiti (Biotum)
- Protein marker (SeeBlue Plus2)
- ECL (Biorad)
- RiboEx trizol (GeneAll)
- cDNA sentez kiti (WizScript)
- qPCR mastermix (SYBR) (WizPure)
- *Opal*, *Pgc1 α* , *Pgc1 β* , *Mfn1*, *Mfn2*, *Aktin β* forward / reverse primerleri (Sentebiolab)
- *Drp1*, *Fis1*, *Sod2*, *Gpx1*, *ClpP*, *Hsp60*, *Beclin1*, *Bcl2*, *Bax*, *Nlrp3* forward / reverse primerleri (ABT)
- Anti-Rabbit IgG-HRP sekonder antikor (Elabscience)
- Tubulin antikor (Elabscience)
- HSP60, pIRS1(s323), pAKT(s473), MFN2 primer antikor (Bioassay technology lab.)
- MFN1, pDRP1, CLPP, LC3a/b, AKT, IRS, FIS1 primer antikor (FineTest)
- Mdivi-1 (Kat. no: A14316, Adooq), Dynasore (Kat. no: A12726, Adooq)
- P110 (Kat. no: 6897, Tocris)
- Muse MitoPotential Kit (Kat. no: MCH100110), Muse Oxidative Stress Kit (Kat. no: MCH100111) (Luminex Guava)

3.2. Yöntem

3.2.1. Hasta Seçimi ve Plasenta Dokularının Toplanması

Çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile yapılmıştır (Tarih: 02/08/2019, Belge no: E.8554, Protokol no: 2019/20, Aydın, TÜRKİYE). Plasental doku örnekleri Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği' nde gerçekleşen sezaryen doğumlardan belirtilen etik ilkelere uygun olarak alınmıştır.

Gebe kadınlar üç ana gruba ayrılmıştır:

- **Herhangi bir metabolik hastalığı olmayan kontrol grubu (n = 17),**
- **Gebelik öncesi diyabet tanısı almış Pre-DM grubu (n = 10)**
- **Gebelik sırasında glukoz intoleransı nedeniyle GDM tanısı alan kadınlar (n = 20).**

Gebelik öncesi dönemde yapılan boy / kilo ölçümlerine göre, obez ($VKİ \geq 30 \text{ kg / m}^2$) ve zayıf gebeler ($VKİ < 25 \text{ kg / m}^2$) olmak üzere bu ana gruplar arasında iki alt grup daha oluşturulmuştur. Bu durumda gruplar ve her gruptaki örnek sayısı şu şekilde olmuştur:

- **Kontrol zayıf (n=9), Kontrol obez (n=8)**
- **Pre-DM zayıf (n=5), Pre-DM obez (n=5)**
- **GDM zayıf (n=10), Pre-DM (n=10).**

Amerikan Diyabet Birliği kriterlerine göre hamile kadınlara yaklaşık 28. haftada 2 saatlik 75 g OGTT uygulanmıştır. GDM, ölçülen üç glukoz seviyesinden ikisi eşit veya büyük olduğunda teşhis edilmiştir:

- Açlık kan şekeri $\geq 92 \text{ mg / dl}$,
- 1. saat $\geq 180 \text{ mg / dl}$ ve
- 2. saat $\geq 153 \text{ mg / dl}$.

Pre-DM' li hastalar, ilk trimesterde glikolize hemoglobin (HbA1c) değerlerine göre belirlenmiştir. Kronik hastalığı olan (T2DM hariç), kardiyovasküler hastalıklara sahip olan

veya önceden kanser öyküsü olan kadınlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Ayrıca çalışma grubundaki hamile kadınların hiçbirinde herhangi bir otoimmün hastalık veya diğer kronik rahatsızlıklar (preeklampsi, koryoamnionitis, akut fetal distres, vasküler / renal komplikasyonlar gibi) da yoktur.

Aspartat aminotransferaz (AST) ile alanin transaminaz (ALT) karaciğer enzim seviyeleri ölçülmüş ve her katılımcı için gebeliğin üçüncü trimesterinde beyaz kan hücresi (WBC) sayısı değerlendirilmiştir. Ayrıca tüm gruplardaki gebelerin amniyotik sıvı indeksleri (ASI) belirlenmiştir. Son olarak yeni doğanların doğum ağırlıkları ölçülmüş ve APGAR skorlama testi yapılmıştır.

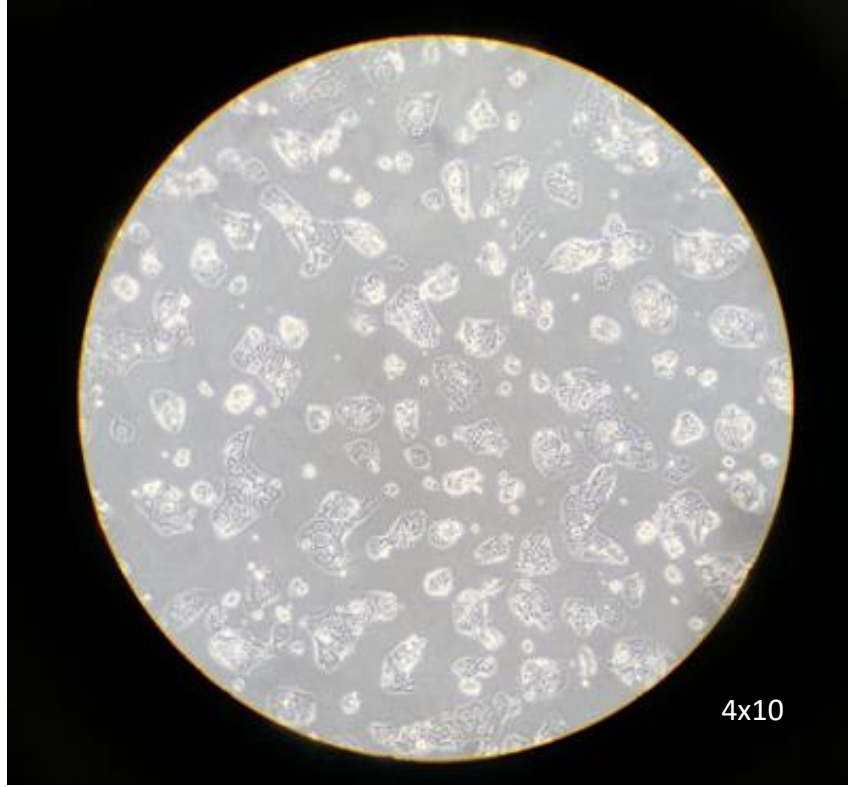
Plasenta doku örnekleri, tekil gebeliklerden sezaryen doğum sırasında alınmıştır. Doğumdan hemen sonra fetal tarafın orta bölgesinden eksize edilmiş, desidial ve amniyotik membran kısımları ekarte edilmiştir. Dokular daha sonra PBS ile yıkanmış ve çalışma başlayana dek -80 °C' de tutulmuştur.

3.2.2. Hücre Kültürü ve İnhibitörlerin Uygulanması

3.2.2.1. Hücre Kültürü Optimizasyonu

Çalışmada insan plasental trofoblast hücreleri kullanılmıştır (BeWo). Hücrelerin optimum besiyeri Ham's F12' tir. Tüm büyüme ortamını hazırlamak için, ortama % 10' luk bir nihai konsantrasyonda FBS, ayrıca % 1 penisilin / streptomisin, % 1 sodyum piruvat ile % 1 glutamin ilave edilmiştir. Donuk halde satın alınan hücreler, 10 cm çapındaki petrilere 10 ml yukarıda tarif edilen besi yeri içerisine alınarak; 37 °C' de ve % 5 CO₂ konsantrasyonu olan inkübatörde çoğalmaları sağlanmıştır. Uygulamalar optimize olana kadar iki günde bir besi yerleri taze besi yeriyle değiştirilmiş ve mikroskop altında büyümeleri takip edilmiştir. Hücre yoğunlukları 4-5 milyona (yaklaşık % 60-70) ulaştığında besi yeri atılarak PBS ile yıkandıktan sonra 5 dk Tripsin-EDTA solüsyonuna maruz bırakılmış ve petrilere kaldırılmıştır (Resim 1). Kaldırılan hücreler besi yeri içerisinde 5 dk 1200 rpm' de santrifüj edilerek çökmeleri sağlanmıştır. Daha sonra hücreler yoğunluklarına göre 10 ml' lik taze besi yeri içerisinde yeni petrilere pasajlanmıştır. Deney için kullanılmayan hücre peletleri ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere dondurma besi yeri

(% 20 FBS, % 10 DMSO ve % 70 FBS içermeyen besi yeri) içerisinde kademeli olarak önce 5 dk buz üzerinde, 20 dk -20 °C' de ve 1 gece -80 °C' de tutulduktan sonra sıvı azota alınarak saklanmıştır.

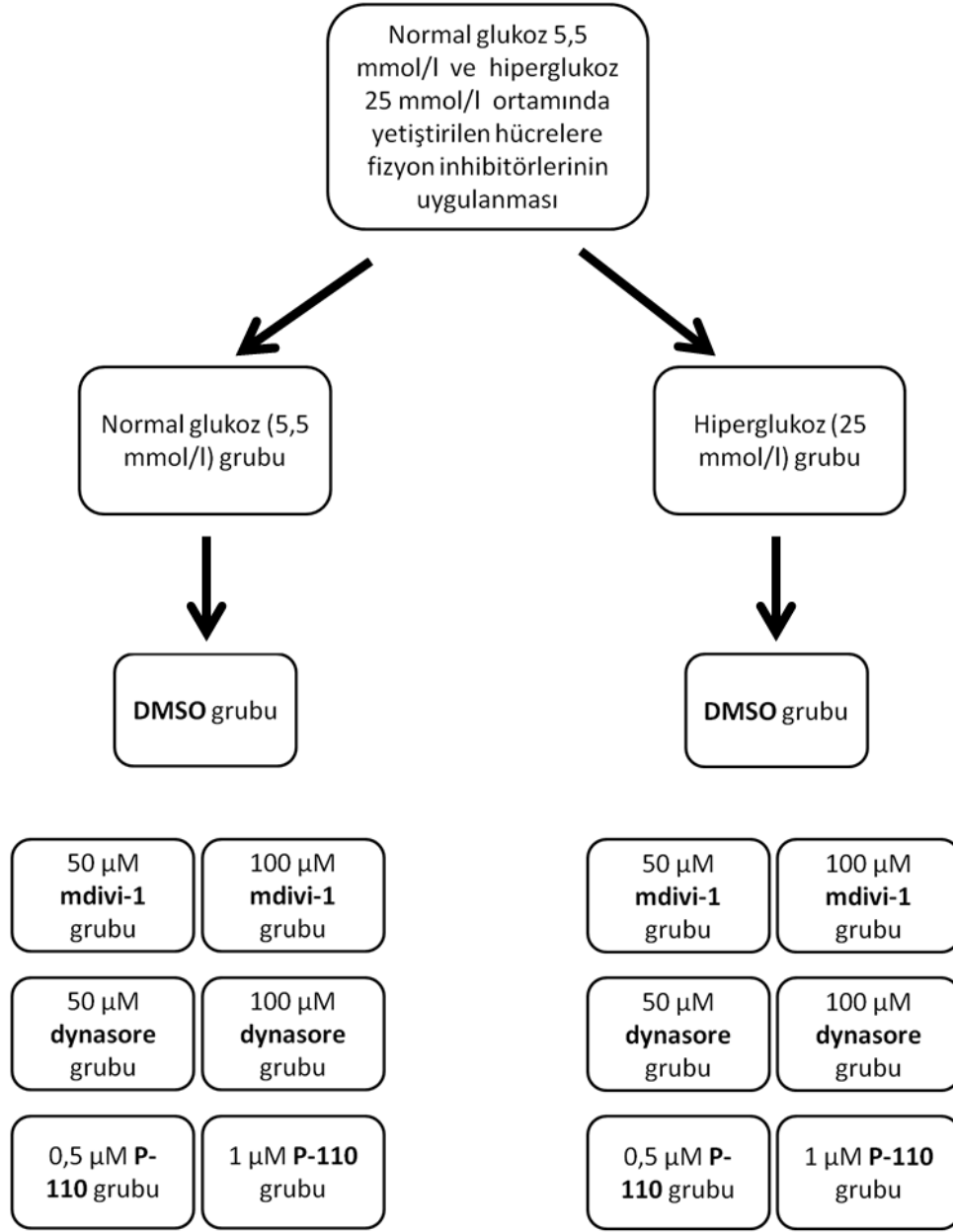


Resim 1. Inverted mikroskop altında BeWo hücreleri.

Kültür optimizasyonu sağlandıktan sonra hücreler yüksek glukoz uygulamasının ne kadar süre ile gerçekleştirileceğini saptamak, uygulamanın hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini belirlemek ve fisyon ile füzyon belirteçlerinin *in vitro* şartlarda durumunu tespit etmek amacıyla 5,5 mM glukoz (normal glukoz) içeren DMEM (% 10 FBS, % 1 penisilin / streptomisin, % 1 sodyum piruvat ve % 1 glutamin) besi yerinde altı kuyucuklu hücre plakalarına ekilmiştir. Daha önceki çalışmamızda olduğu gibi 24 saat sonra hücreler 2 saat boyunca glukoz içermeyen besi yeri (DMEM) ile inkübe edilmiştir (Yalcin ve diğerleri, 2020). Ardından bir grup hücre 25 mM' lık yüksek glukoz içeren DMEM ile 24 ve 48 saat; diğer grup hücre ise normal glukoz ortamında (5,5 mM) 24 ve 48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Yüksek glukoz uygulamasının 48 saatte daha uygun olduğuna karar verilmiş ve deneyin ileriki kısımları bu şekilde sürdürülmüştür.

3.2.2.2. İnhibitörlerin Uygulanması

Kırk sekiz saatlik glukoz uygulamasından sonra normal (5,5 mM) ve hiperglisemik (25 mM) ortamda 6 kuyucuklu hücre plakalarında inkübe edilen hücrelere; 50 µM ve 100 µM'lık 2 farklı dozda **mdivi-1**, DMSO içerisinde çözülerek 3 saat uygulanmıştır (Bordt ve diğerleri, 2017; Wappler ve diğerleri, 2013). Aynı şekilde normal ve hiperglisemik ortamda inkübe edilen hücrelere 50 µM ve 100 µM'lık iki farklı dozda **dynasore**, DMSO içerisinde çözülerek 3 saat uygulanmıştır (Chung ve diğerleri, 2009; Girard ve diğerleri, 2011). Son olarak hücrelere 0,5 µM ve 1 µM dozlarında **P-110**, DMSO içerisinde çözülerek 24 saat uygulanmıştır (Joshi ve diğerleri, 2018). Bu uygulamalardan sonra deney grupları Şekil 10'daki gibi olmuştur.



Şekil 10. Deney grupları.

3.2.3. Metiltiazol Difenil Tetrazolyum (MTT) Testi

MTT testi hücrenin mitokondrilere bağlı metabolik aktivitesinin belirlenmesi ve dolayısıyla hücre canlılığının kontrolü amacıyla yapılan kolorimetrik bir uygulamadır. Bu kolorimetrik deney, sarı bir tetrazolyum tuzu olan MTT' nin metabolik olarak aktif hücreler tarafından mor formazan kristallerine indirgenmesine dayanmaktadır. Canlı hücreler, MTT' yi formazana indirgeyen NAD(P)H' ye bağımlı oksidoredüktaz enzimlerini içermektedirler.

Her kuyuya yüklenecek hücre sayısı hücre sayım cihazının protokolüne uygun olarak yapılmıştır.

- Hücreler 10 cm' lik petrilere tripsinizasyon işlemiyle kaldırılıp falkon tüplerine aktarılmıştır.
- Solüsyondaki hücrelerden 50 µl alınarak üzerine 50 µl tripan mavisi eklenip karıştırılmıştır. Ardından 10 µl hücre solüsyonu ve tripan mavisi karışımı hücre sayım lamına yüklenmiş üç tekrarlı olarak hücre sayım cihazında ölçüm yapılmıştır.
- Deney sistemi şekilde verilen grupları kapsayacak biçimde 96 kuyucuklu plakalarda kuyu başına 5000 hücre olacak şekilde, her grupta üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.
- Tüm gruplara ilgili dozda inhibitör ve glukoz işleminin uygulanmasının ardından her kuyuya 5 µl MTT solüsyonu aktarılmış ve 1,5 saat inkübe edilmiştir.
- Ardından plakaların tabanındaki tetrazolyum tuzlarına zarar vermeyecek şekilde besi yerleri kaldırılmış ve her kuyucuğa 200 µl DMSO eklenmiştir.
- Son olarak kuyucukların absorbansları 570 nm' de ve referans olarak da 630 nm' de ölçülmüştür.

3.2.4. Protein İzolasyonu

3.2.4.1. Dokulardan Protein İzolasyonu

- Plasental dokular buz üzerinde, görünür bağ dokusunu ve kalsiyum birikintilerini gidermek için küt olarak kesilmiştir.
- Her doku yaklaşık 100 mg olacak şekilde tartılmış ve 1,5 ml 'lik boncuklu santrifüj tüplerine aktarılmıştır.
- Tüplere % 1 fosfataz ve % 1 proteaz inhibitör kokteyli içeren 1 ml ProteinEx (GeneAll) homojenizasyon tamponu eklenmiştir.
- Dokular boncuklu tüpler yardımıyla tampon içerisinde 30 sn. yüksek devirde homojenizatörde homojenize edilmiştir.

- Ardından örnekler 5 dk buzda inkübe edilmiştir.
- Daha sonra 4 °C' de 16000 g' de 10 dk santrifüj edilmiş ve supernatant kısmı temiz tüplere aktarılmıştır.
- Örnekler dondurma-çözme işleminden kaçınmak için eşit hacimlerde olacak şekilde tüplere paylaştırılmış ve -80 °C' de deney yapılana kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.4.2. Hücrelerden Protein İzolasyonu

- Altı kuyucuklu plakalarda işlem uygulanan hücreler üzerinden besi yeri çekilmiştir.
- Ardından hücreler, çekilen besi yerine eşit hacimli (2 ml) soğuk PBS ile iki kez yıkanmış PBS uzaklaştırılmıştır.
- 4 °C' de saklanan ve içeriğinde % 1 fosfataz ve % 1 proteaz inhibitör kokteyli içeren RIPA tampon stoğundan her kuyuya 350-500 µl (5 x 10⁶ hücre başına 1 ml) eklenmiştir.
- Plakalar tabanları tamamen kaplanana kadar hafifçe çalkalanmış ve 15 dk buz üzerinde inkübe edilmiştir.
- Hücre kazıyıcı yardımıyla lizatlar plakalardan kaldırılmış ve pipetaj yapılarak homojenliği sağlanmıştır.
- Lizatlar 1,5 ml' lik santrifüj tüplerine aktarılarak 20 dk -80 °C' de ve ardından 20 dk buz üzerinde bekletilmiştir (işlem üç kez uygulanmıştır).
- Lizatlar 4 °C' de, 14000 g' de 15 dk boyunca santrifüj edilmiş ve supernatant kısımları temiz tüplere aktarılmıştır.
- Örnekler dondurma-çözme işleminden kaçınmak için eşit hacimlerde olacak şekilde tüplere paylaştırılmış ve -80 °C' de deney yapılana kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.5. Protein Miktarı Tayini

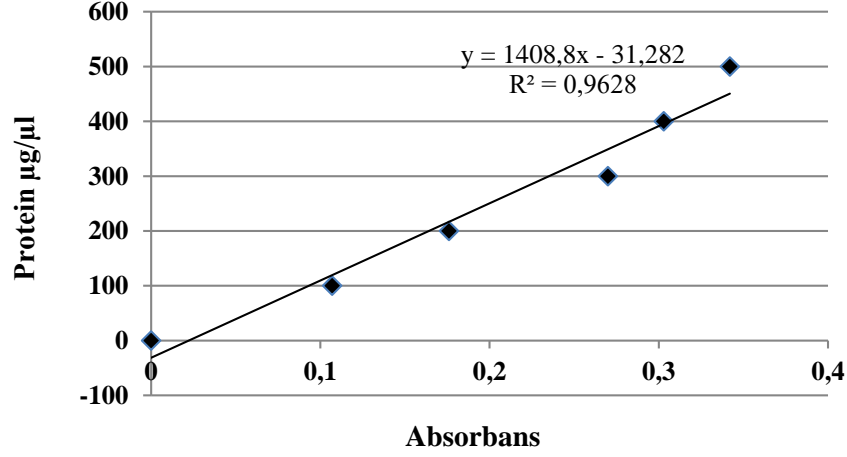
Proteinler izole edildikten sonra doku homojenatları 1:10 oranında ve hücre lizatları 1:5 oranında sulandırılarak protein miktarı ölçümü işlemine geçilmiştir. Protein standardının oluşturulması için kullanılan BSA konsantrasyonları kit protokolüne (Abcam Bradford Assay Kit, ab102535) uygun olarak Tablo 2’ de verildiği gibi hazırlanmıştır.

Tablo 2. Bradford için kullanılan standart konsantrasyonları.

BSA standart (µl)	H ₂ O (µl)	Konsantrasyon (µg/µl)
0	50	0
5	45	100
10	40	200
15	35	300
20	30	400
25	25	500

• Çalışma solüsyonu (5x) distile su ile 1:5 oranında sulandırılarak deneyde kullanılmak üzere 1x konsantrasyona getirilmiştir. Hazırlanan çalışma solüsyonu test yapılmadan önce oda sıcaklığında tutulmuştur.

- 96’ lık plakalarda standart ve örnek kuyularına (üç tekrarlı olacak şekilde) 100 µl çalışma solüsyonu aktarılmıştır.
- Ardından her kuyucuğa ilgili 10 µl standart ve 10 µl örnek eklenmiş ve dikkatlice karıştırılmıştır.
- Plaka 5 dk oda sıcaklığında çalkalanarak inkübe edilmiştir.
- Daha sonra plaka okuyucuda 595 nm’ de absorbans değerleri okunmuştur.



Şekil 11. Standart grafik.

Örneklerdeki protein konsantrasyonları standart grafiğe uygun olarak hesaplanmıştır (Şekil 11).

3.2.6. Western Blot

Kullanılan Tampon çözeltiler:

- TBS (Tris-Buffered Salline-1 lt); 6,05 gr Tris-HCl ve 8,76 gr NaCl 1 lt dH₂O içerisinde çözdürülmüştür (pH 7,6).
- Yıkama Tamponu (TBS + %0,1 Tween20); 100 ml TBS çözeltilisine 100 µl Tween20 eklenerek karıştırılmıştır.
- Transfer Tamponu; 3,03 gr Tris-Base, 14,4 gr glisin, 200 ml metanol ve 2 ml %10 SDS 1 L dH₂O içerisinde çözdürülmüştür.
- 10X Yürütme Tamponu; 30,3 gr Tris-Base, 144 gr glisin ve 10 gr SDS 1 lt dH₂O' da çözdürülmüştür.
- Bloklama Solüsyonu (% 5 Süt tozu + TBS) için; gerekli miktarda bloklama solüsyonu her seferinde % 5 süt tozu içerecek şekilde TBS ile hazırlanmıştır.
- Strip Tamponu; 200 ml % 10 SDS, 62,5 ml 1 M Tris (pH: 6,7) ile dH₂O ile 1 lt 'ye tamamlanmıştır. Strip aşamasından önce 50 ml strip tamponu içerisine 350 µl β-merkaptoethanol eklenmiştir.

Western Blot protokolü:

- Örnekler jele yüklenmek üzere her kuyuda 50 µg protein ve toplamda 30 µl hacimde olacak şekilde hazırlanmıştır. Bunun için 5x' lik yükleme tamponundan 6 µl ve 24 µl örnek + lizat tamponu örneklerin içerdikleri protein konsantrasyonlarına göre 1,5 ml' lik santrifüj tüplerine alınmıştır. Tüm malzemeler dondurucudan çıkarıldıktan sonra kısa bir santrifüj işlemine tabi tutulmuştur.
- Tüpler 5 dk 95 °C' de inkübe edilmiştir.
- Ardından jel kuyucuklarına marker (5 µl) ve örnekler (30 µl) yüklenmiştir ve 1,5 saat kadar 90 V' ta yürütülmüştür.
- Örnekler yürütüldükten sonra transfer tamponu içerisinde transfer sandviçi hazırlanmıştır (aşağıdan yukarıya; sünger, whatman kağıdı, jel, membran, whatman kağıdı, sünger) ve transfer tankında 2 saat 70 V' ta transfer gerçekleştirilmiştir.
- Transferden sonra membran, bloklama solüsyonu ile 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- Bloklamanın ardından membran, bloklama solüsyonu içerisinde 1:1000 konsantrasyonda primer antikor ile gece boyunca 4 °C' de inkübe edilmiştir.
- Ardından membran yıkama tamponu ile 3 kere 5 dk yıkanmıştır.
- Yıkama işlemini takiben membran 2 saat oda sıcaklığında bloklama solüsyonu içerisinde 1:5000 konsantrasyonda sekonder antikor ile muamele edilmiştir.
- Daha sonra tekrar yıkama tamponu ile 3 kere 10 dk yıkanmıştır.
- Yıkamanın ardından membran 1 ml ECL ile 2 dk muamele edilmiş ve görüntüleme cihazında görüntü alınmıştır.
- Görüntülemeden sonra membran strip solüsyonu ile 1,5 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- Strip işlemini takiben membran üç kere 5 dk yıkama tamponu ile yıkanmıştır.
- Tekrar bloklama solüsyonu ile 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve bloklama solüsyonu içerisinde β-Tubulin (1:5000) ya da diğer bir primer antikorla (1:1000) gece boyu muamele edilerek basamaklar tekrar edilmiştir.

- Elde edilen bant görüntüleri ImageJ (NIH, USA) programı ile analiz edilmiş ve miktarları belirlenmiştir. Bantlar, her grup için β -Tubulin' e göre normalize edilmiş ve kat değişiklikleri hesaplanmıştır.

3.2.7. RNA İzolasyonu

- Plazenta dokularından ~100 mg tartılarak 1,5 ml' lik boncuklu tüplere alınmıştır. Daha sonra üzerlerine 1 ml RiboEx solüsyonu eklenerek yüksek devirde homojenizatörde 30 sn. homojenize edilmiştir.
- Hücreler için $\sim 5 \times 10^6$ hücre içeren 10 cm' lik petrilardan besiyeri çekilmiş ve ardından 1 ml RiboEx solüsyonu eklenmiştir. Hücre lizatı birkaç kez pipetten geçirilerek karıştırılmıştır.
- Hem doku örnekleri hem de hücre lizatları 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- Ardından 4 °C' de 12000 g' de 10 dk santrifüj edilmiş ve supernatant kısmı temiz tüplere aktarılmıştır.
- 0,2 ml kloroform tüplere eklenmiş ve 15 sn vortekslenmiştir. Daha sonra 2 dk oda sıcaklığında tutulmuştur.
- İnkübasyonu takiben tüpler 4 °C' de 12000 g' de 15 dk santrifüjlenmiş sonrasında oluşan 3 fazdan üstteki sıvı faz temiz tüplere aktarılmıştır.
- Bu işlemi takiben tüplere 0,5 ml izopropanol eklenmiş ve 4-5 kez yavaşça karıştırılmıştır.
- Karışım 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir (RNA miktarının artırılması için - 20 °C' de gece boyu da bekletilebilir).
- Daha sonra tüpler 4 °C' de 12000 g' de 10 dk santrifüj edilmiş ve supernatant kısımları atılmıştır.
- Ardından 1 ml % 75' lik etanol ilave edilerek RNA pelleti yıkanmıştır.
- 4 °C' de 7500 g' de 5 dk santrifüj edilmiş ve sonrasında etanol dikkatlice pelete zarar vermeden uzaklaştırılmıştır. Tüm etanolün uçması için tüpler bekletilmiştir.

- Son olarak RNA peletleri, 50 µl dietil pirokarbonat (DEPC, RNAaz içermeyen) içeren suda 56 °C' de 10 dk bekletilerek çözülmüştür.
- RNA örnekleri ileriki aşamalar için -80 °C' de muhafaza edilmiştir.

3.2.8. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

- İzole edilen RNA örneklerinin miktarları nanodrop aracılığıyla belirlenmiş ve cDNA sentezi için her örnekten 100 ng / µl RNA olacak şekilde hacimler hesaplanmıştır.
- cDNA sentezi için WizScript kiti kullanılmıştır. Toplamda 10 µl master mix için gerekli malzemeler hazırlanmıştır;
 - 10x Reaksiyon tamponu 2 µl
 - 20x dNTP karışımı 1 µl
 - Random hekzamer primer 2 µl
 - Revers transkriptaz 1 µl
 - RNAaz inhibitör 0,5 µl
 - RNAaz içermeyen su 3,5 µl.
- Master miks buz üzerine alınmış ve yavaşça karıştırılmıştır.
- Master miksten 10 µl mikro santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Üzerine 10 µl RNA örnekleri eklenmiş ve karıştırılmıştır.
- Hava kabarcığı kalmaması için kısa bir santrifüjleme yapılmıştır ve tüpler buz üzerine alınmıştır.
- Revers transkripsiyon işlemi için PCR cihazında aşağıdaki aşamalar uygulanmıştır:
 - 10 dk 25 °C
 - 120 dk 37 °C
 - 5 dk 85 °C
 - ∞ 4 °C
- cDNA sentezinin ardından örnekler – 80 °C' de saklanmıştır.

3.2.9. Real Time PCR

RT-PCR reaksiyonu WizPure qPCR kiti ile gerçekleştirilmiştir.

- Kit içerisindeki reaktifler oda sıcaklığında çözülmüş, santrifüj edilmiş ve buz üzerine koyulmuştur.
- Primerler üretici firma tarafından belirtilen hacimlerde nükleaz içermeyen su ile çözülerek 100 µM konsantrasyonluk stoklar hazırlanmıştır. Reaksiyonda kullanılan primerlerin baz dizileri Tablo 3' te verilmiştir.

Tablo 3. Deneyde kullanılan primer baz dizileri.

Gen	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')
<i>Mfn1</i>	CCTGTTTCTCCACTGAAGCAC	CCTCACCAATGATGGAAAGC
<i>Mfn2</i>	ACACATGGCTGAGGTGAATG	CGTCCAGAACCTGTTCTTCTG
<i>Opa1</i>	GGATTGTGCCTGACATTGTG	AAGGCTTCAACAATCTTGTC
<i>Pgc1a</i>	GACTGGCGTCATTCAGGAG	TCAGGAAGATCTGGGCAAAG
<i>Pgc1β</i>	AGCTCTCCTCCTTCTTCTCA	TGGGAGAGGTCAAGTTCTGG
<i>β-aktin</i>	AACTGGGACGACATGGAGAA	GAAGGTCTCAAACATGATCTGG
<i>Drp1</i>	CAGTGTGCCAAAGGCAGTAA	GATGAGTCTCCCGGATTTCA
<i>Fis1</i>	CTTGCTGTGTCCAAGTCCAA	GCTGAAGGACGAATCTCAGG
<i>Sod2</i>	AAGGGAGATGTTACAGCCCAGATA	TCCAGAAAATGCTATGATT
<i>Gpx1</i>	GGGACTACACCCAGATGAA	TCTCTTCGTTCTTGGCGTTC
<i>ClpP</i>	GCCAAGCACACCAAACAGA	GGACCAGAACCTTGTCTAAG
<i>Hsp60</i>	CACCGTAAGCCTTTGGTTCAT	CTTGACTGCCACAACCTGAA
<i>Beclin1</i>	GGCTGAGAGACTGGATCAGG	CTGCGTCTGGGCATAACG
<i>Bcl-2</i>	CATGTGTGTGGAGAGCGTCAA	GCCGGTTCAGG TACTCAGTCA
<i>Bax</i>	TCGCCCTTTTCTACTTTGCC	AGTCTCACCCAACCACCCT
<i>Nrlp3</i>	GTGTTTCGAATCCCCTGTG	TCTGCTTCTCACGTACTTTCTG

- 20 µl reaksiyon koşulları 100 µl strip tüplerde şu şekilde gerçekleştirilmiştir;
 - qPCR SYBR master mix 10 µl
 - ROX boyası 0,4 µl
 - 10 µM forward primer 0,5 µl
 - 10 µM reverse primer 0,5 µl
 - cDNA 5 µl
 - RNAaz içermeyen su 3,6 µl.

- Tüm reaktifler hazırlandıktan sonra yavaşça karıştırılmış ve hızlı biçimde santrifüj edilmiştir.
- Karışımlar RT-PCR cihazına alınmış ve PCR şartları Tablo 4' teki gibi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4. PCR reaksiyon şartları.

Sıcaklık	Zaman	Döngü
95 °C	5 dk	1
95 °C	15 sn.	40
60 °C	20 sn.	40
72 °C	30 sn.	40

Reaksiyonda belirlenen döngü eşik (CT) değerleri β -aktin' e göre normalize edilmiş ve Thermo Fisher Scientific Step One Plus Real-Time PCR cihazı ile $2^{-\Delta\Delta CT}$ formülüne göre göreceli ifadeleri belirlenmiştir. Her numune, üç kopya halinde çalışılmıştır.

3.2.10. Mitokondriyal Potansiyelin Belirlenmesi

Hücrelerdeki mitokondri potansiyeli Muse MitoPotential Kit (Part Numarası: MCH100110) ile Muse Cell Analyzer' da belirlenmiştir. Bu protokol apoptozun erken bir işareti olarak kabul edilen mitokondriyal potansiyeldeki değişiklik ve hücre plazma zarı geçirgenliği veya hücre ölümü olmak üzere iki önemli hücre sağlığı parametresinin eş zamanlı olarak belirlenmesine olanak sağlamaktadır.

Yüksek membran potansiyeli, bozulmamış mitokondrinin iç zarı içinde yüksek floresan ile sonuçlanan MitoPotential boya (katyonik ve lipofilik bir boyadır) birikimini tetiklemektedir. Depolarize mitokondrili hücreler, floresanda bir azalma göstermektedir. Bir ölü hücre belirteci olan (7-AAD), hücre zarı yapısal bütünlüğünün ve hücre ölümünün bir göstergesi olarak da kullanılmaktadır. Canlı, sağlıklı hücrelerin yanı sıra erken apoptotik hücrelerin de ayrılmasını sağlamaktadır. Ölü hücreler bu nedenle artan floresan yoğunluk göstermektedir.

Deney sonunda dört grup hücre profili belirlenmektedir:

- Depolarize mitokondriyal membrana sahip canlı hücreler: MitoPotential (-) ve 7-AAD (-)
- Sağlam mitokondriyal membrana sahip canlı hücreler: MitoPotential (+) ve 7-AAD (-)
- Depolarize mitokondriyal membrana sahip ölü hücreler: MitoPotential (+) ve 7-AAD (+)
- Sağlam mitokondriyal membrana sahip ölü hücreler: MitoPotential (-) ve 7-AAD (+).

Deney protokolü kit içeriğine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm deney grupları 6 kuyulu hücre plaklarında oluşturulmuştur. Hücreler her kuyuda 5×10^5 hücre / 1 ml olacak şekilde kültüre edilmiştir. Hücrelere gruplara uygun şekilde ilgili uygulamalar yapılmıştır (yüksek / normal glukoz ortamı ve inhibitör uygulamaları).

•Deneye başlamadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına alınmış ve çözünmeleri sağlanmıştır.

•MitoPotential çalışma solüsyonu; MitoPotential boyası ve 1x assay tamponu ile 1:1000 oranında karıştırılarak hazırlanmıştır. Deneyde 20 örneklilik çalışma solüsyonu; 5 µl MitoPotential boyası ile 1998 µl assay tamponu karıştırılarak oluşturulmuştur. Hazırlanan çalışma solüsyonu oda sıcaklığında ve karanlık ortamda tutulmuştur.

- Hücrelerin üzerinden besi yeri çekilmiş sonra tripsinizasyon işlemi ile kuyulardan kaldırılmıştır.
- Kaldırılan hücreler ile çekilen besi yeri (ölü hücreleri içermektedir) falkonlara alınmış ve 5 dk 1200 rpm' de santrifüj edilerek çöktürülmüştür.
- Hücre peletleri 100 µl 1x assay tamponunda çözülerek 1,5 ml' lik tüplere aktarılmıştır.
- Tüplere 95 µl MitoPotential çalışma solüsyonu eklenmiş ve yavaşça vortekslenerek karıştırılmıştır.
- Tüpler 37 °C' de 20 dk inkübe edilmiştir.
- Daha sonra tüplere 5 µl 7-AAD reaktifi eklenerek tekrar yavaşça vortekslenmiştir.
- Ardından hücreler 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.

- Son olarak hücre popülasyon yüzdeleri Muse Cell Analyzer ile belirlenmiş ve cihazın paket programında analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.11. Oksidatif Stresin Belirlenmesi

Hücrelerdeki oksidatif stres Muse Oksidatif Stres Kiti (Part numarası: MCH100111) ile belirlenmiştir. Kit süperoksit radikallerinin hücre içi tespitine dayalı olarak oksidatif strese maruz kalan hücrelerin sayısını ve yüzdesini aynı anda tespit etmektedir. Muse oksidatif stres reaktifi, hücre popülasyonlarda ROS' ları tespit etmek için yaygın olarak kullanılan iyi karakterize edilmiş bir reaktif olan dihidroethidium (DHE) içermektedir. Reaktif hücre geçirgendir. DHE, uzun süre süperoksit anyonları ile reaksiyona girdiğinde oksidasyona uğrayarak DNA' ya bağlanan florofor etidyum bromürü veya DNA ile birleşen yapısal olarak benzer bir ürünü kırmızı floresan ışımaya uğratar.

Protokol sonunda;

- ROS (-) canlı hücreler,
- ROS (+) sergileyen hücreler akış sitometrisi ile olarak saptanmaktadır.

Deney protokolü kit içeriğine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm deney grupları 6 kuyulu hücre plaklarında oluşturulmuştur. Hücreler her kuyuda 5×10^5 hücre / 1 ml olacak şekilde kültüre edilmiştir. Hücrelere gruplara uygun şekilde ilgili uygulamalar yapılmıştır (yüksek / normal glukoz ortamı ve inhibitör uygulamaları).

Deneye başlamadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına alınmış ve çözünmeleri sağlanmıştır.

- Muse Oksidatif Stres Reaktifi stok solüsyonu 1x assay tamponun ile 1:100 oranında seyreltilmiştir (1 µl reaktif, 99 µl assay tamponu).
- Daha sonra seyreltilen reaktif oda sıcaklığında karanlık ortamda 1:80 oranında tekrar 1x assay tamponu ile seyreltilip çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.
- Hücrelerin üzerinden besi yeri çekilmiş sonra tripsinizasyon işlemi ile kuyulardan kaldırılmıştır.
- Kaldırılan hücreler ile çekilen besi yeri (ölü hücreleri içermektedir) falkonlara alınmış ve 5 dk 1200 rpm' de santrifüj edilerek çöktürülmüştür.

- Hücre peletleri (5 x 10⁵) 100 µl 1x assay tamponunda çözülmüştür (son konsantrasyon 5 x 10⁶ hücre / ml).
- Çözülen hücrelerden 10 µl alınıp 1,5 ml' lik tüplere aktarılmıştır.
- Her tüpe 190 µl çalışma solüsyonu eklenmiş ve tüpler yavaşça vortekslenmiştir.
- Daha sonra tüpler 37 °C' de 30 dk inkübe edilmiştir.
- Son olarak hücre popülasyon yüzdeleri Muse Cell Analyzer ile belirlenmiş ve cihazın paket programında analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.12. İstatistiksel Analizler

Sürekli veriler Ortalama \pm Standart Sapma veya Ortalama \pm Standart Hata olarak verilmiştir (her bölümde ayrıntılı olarak anlatılmıştır). Kategorik veriler ise yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun araştırılmasında Shapiro Wilk testinden yararlanılmıştır. Normal dağılım gösteren grupların karşılaştırılmasında grup sayısı üç ve üzerinde olan durumlar için tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanılmıştır. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen grupların karşılaştırılmasında grup sayısı üç ve üzerinde olan durumlar için Kruskal-Wallis H testi kullanılmıştır. Analizlerin uygulanmasında IBM SPSS Statistics 21.0 (SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp. IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics) programından yararlanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ değeri kriter kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hasta Karakteristik Özellikleri ve Biyokimyasal Değerlendirmeler

Çalışmaya dahil edilen kadınların yaşları ortalama \pm standart sapma olarak verilmiş olup, zayıf kontrol grubunda $30,8 \pm 3,93$, zayıf Pre-DM grubunda $33,0 \pm 3,94$, zayıf GDM grubunda $33,9 \pm 4,82$, obez kontrol grubunda $32,1 \pm 3,27$, obez Pre-DM grubunda $33,8 \pm 4,66$ ve obez GDM grubunda $34,3 \pm 4,30$ yıldır. Yaş değişkeni hamilelikte diyabet vakaları görülme sıklığını değiştiren bir faktör olduğundan gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark yoktur (Tablo 5).

Çalışmaya alınan hamile kadınların demografik verileri Tablo 6' da verilmiştir. Tüm gruplarda (kontrol, Pre-DM ve GDM) gebeler VKİ değerlerine göre obez ve zayıf olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır.

Tablo 5. Hamile kadınların yaşlarının çoklu karşılaştırma analizi.

Yaş p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	0,931	0,591	0,985	0,788	0,461
	Pre-DM n=5		-	0,999	0,999	1,000	0,993
	GDM n=10			-	0,946	1,000	1,000
Obez	Kontrol n=8				-	0,981	0,882
	Pre-DM n=5					-	1,000
	GDM n=10						-

Tablo 6. Hastaların klinik karakteristik özellikleri.

	Zayıf			Obez		
	Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Yaş (yıl)	30,8 ± 3,93	33,0 ± 3,94	33,9 ± 4,82	32,1 ± 3,27	33,8 ± 4,66	34,3 ± 4,30
Hamilelik öncesi VKİ (kg / m ²)	23,6 ± 2,01	23,7 ± 1,31 ^{††}	23,1 ± 1,14 ^{††}	32,0 ± 2,77 ^{***}	32,7 ± 2,55 ^{***}	33,6 ± 4,55 ^{***}
Doğum haftası	37,4 ± 0,88	37,0 ± 0,71	37,9 ± 0,74	37,1 ± 0,99	38,0 ± 0	37,9 ± 0,74
75 g OGTT (hamileliğin ~28. haftası)						
Açlık (mg / dl)	82,6 ± 7,04	-	101,7 ± 12,80 ^{***}	89,8 ± 10,80	-	102 ± 6,17 ^{***}
1. saat (mg / dl)	128 ± 9,64	-	190 ± 7,40 ^{***}	129 ± 15,70	-	193 ± 5,85 ^{***}
2. saat (mg / dl)	108 ± 9,50	-	159 ± 5,03 ^{***}	107 ± 12,90	-	165 ± 4,63 ^{***}
1. trimester HbA1c (%)	4,68 ± 0,36	6,96 ± 0,30 ^{***}	4,94 ± 0,58	4,84 ± 0,37	7,20 ± 0,49 ^{***}	4,99 ± 0,46
Beyaz Kan Hücresi (x 10 ⁹ / l)	9,67±1,91	10,08 ± 2,01	10,43 ± 1,13	9,58 ± 1,98	9,54 ± 0,730	9,71 ± 2,203
Intrapartum Amniyotik Sıvı İndeksi (ASI) (cm)	9,44 ± 2,55	10,0 ± 4,00	11,5 ± 3,92	9,75 ± 2,71	13,0 ± 3,46	12,4 ± 4,38
Doğum Ağırlığı (g)	2810 ± 464	3470 ± 526	3210 ± 444	3210 ± 441	3590 ± 446*	3370 ± 393
Apgar (1 dk)	8,33 ± 0,86	8,20 ± 0,83	7,70 ± 0,82	8,25 ± 0,46	7,80 ± 0,83	7,90 ± 0,73
Apgar (5 dk)	9,00 ± 0,71	9,20 ± 0,83	8,80 ± 0,78	9,25 ± 0,46	8,80 ± 0,83	8,90 ± 0,73
Gravida	2,56 ± 1,24	2,80 ± 1,64	2,50 ± 1,72	2,63 ± 1,41	3,20 ± 2,28	3,70 ± 1,70
Parite	1,22 ± 1,20	1,60 ± 0,89	1,20 ± 1,03	1,38 ± 0,92	1,40 ± 0,89	2,10 ± 1,20

Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiş olup, *** $p < 0,001$, * $p < 0,05$ zayıf kontrole göre, †† $p < 0,01$ obez kontrole göre anlamlı farkları göstermektedir.

Çalışmaya dahil edilen kadınların hamilelik öncesi VKİ' leri ortalama \pm standart sapma olarak verilmiş olup, zayıf kontrol grubunda $23,6 \pm 2,01$, zayıf Pre-DM grubunda $23,7 \pm 1,31$, zayıf GDM grubunda $23,1 \pm 1,14$, obez kontrol grubunda $32,0 \pm 2,77$, obez Pre-DM grubunda $32,7 \pm 2,55$ ve obez GDM grubunda $33,6 \pm 4,55$ kg / m²' dir. Tüm obez gruplarla zayıf gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. Gruplar arasında yapılan çoklu karşılaştırma analizi sonucu Tablo 7' de verilmiştir.

Tablo 7. Hamile kadınların vücut kitle indeksi (VKİ) değerlerinin çoklu karşılaştırma analizi.

VKİ p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	1,000	0,995	<0,001	<0,001	<0,001
	Pre-DM n=5		-	0,980	0,002	0,002	<0,001
	GDM n=10			-	0,002	0,003	<0,001
Obez	Kontrol n=8				-	0,999	0,881
	Pre-DM n=5					-	0,994
	GDM n=10						-

Çalışmaya dahil edilen kadınların doğum haftaları ortalama \pm standart sapma olarak verilmiş olup, zayıf kontrol grubunda $37,4 \pm 0,88$, zayıf Pre-DM grubunda $37,0 \pm 0,71$, zayıf GDM grubunda $37,9 \pm 0,74$, obez kontrol grubunda $37,1 \pm 0,99$, obez Pre-DM grubunda $38,0 \pm 0$ ve obez GDM grubunda $37,9 \pm 0,74$ haftadır. Gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark yoktur.

Çalışmaya dahil edilen kadınların 75 g OGTT değerleri ortalama \pm standart sapma olarak verilmiş olup Pre-DM grubuna test uygulanmamıştır. Buna göre açlık kan şekeri değerleri zayıf kontrol grubunda $82,6 \pm 7,04$, zayıf GDM grubunda $102 \pm 12,80$, obez kontrol grubunda $89,8 \pm 10,80$ ve obez GDM grubunda $102 \pm 6,17$ mg / dl' dir. 1. saat kan şekeri değerleri zayıf kontrol grubunda $128 \pm 9,64$, zayıf GDM grubunda $190 \pm 7,40$, obez kontrol grubunda $129 \pm 15,70$ ve obez GDM grubunda $193 \pm 5,85$ mg / dl' dir. 2. saat kan

şekeri değerleri ise zayıf kontrol grubunda $108 \pm 9,50$, zayıf GDM grubunda $159 \pm 5,03$, obez kontrol grubunda $107 \pm 12,90$ ve obez GDM grubunda $165 \pm 4,63$ mg / dl olarak tespit edilmiştir. Zayıf GDM ve obez GDM grubu değerleri, zayıf kontrol ve obez kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede fazladır (Tablo 8-10).

Tablo 8. Hamile kadınların 75 g OGTT açlık kan şekeri (AKŞ) seviyelerinin çoklu karşılaştırma analizi.

AKŞ p değerleri		Zayıf		Obez	
		Kontrol n=9	GDM n=10	Kontrol n=8	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	<0,001	0,525	<0,001
	GDM n=10		-	0,048	1,000
Obez	Kontrol n=8			-	0,049
	GDM n=10				-

Tablo 9. Hamile kadınların 75 g OGTT 1. saat kan şekeri seviyelerinin çoklu karşılaştırma analizi.

1. saat OGTT p değerleri		Zayıf		Obez	
		Kontrol n=9	GDM n=10	Kontrol n=8	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	<0,001	1,000	<0,001
	GDM n=10		-	<0,001	0,981
Obez	Kontrol n=8			-	<0,001
	GDM n=10				-

Tablo 10. Hamile kadınların 75 g OGTT 2. saat kan şekeri seviyelerinin çoklu karşılaştırma analizi.

2. saat OGTT p değerleri		Zayıf		Obez	
		Kontrol n=9	GDM n=10	Kontrol n=8	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	<0,001	0,999	<0,001
	GDM n=10		-	<0,001	0,557
Obez	Kontrol n=8			-	<0,001
	GDM n=10				-

Çalışmaya dahil edilen kadınların HbA1c değerleri ortalama \pm standart sapma olarak % cinsinden verilmiş olup, zayıf kontrol grubunda $4,68 \pm 0,36$, zayıf Pre-DM grubunda $6,96 \pm 0,30$, zayıf GDM grubunda $4,94 \pm 0,58$, obez kontrol grubunda $4,84 \pm 0,37$, obez Pre-DM grubunda $7,20 \pm 0,49$ ve obez GDM grubunda $4,99 \pm 0,46$ ' dır. Zayıf Pre-DM ve obez Pre-DM grubu değerleri diğer tüm gruplardan anlamlı derecede fazladır. Fakat bu iki grup arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark yoktur (Tablo 11).

Tablo 11. Hamile kadınların HbA1c değerlerinin çoklu karşılaştırma analizi.

HbA1c p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	<0,001	0,802	0,977	<0,001	0,663
	Pre-DM n=5		-	<0,001	<0,001	0,958	<0,001
	GDM n=10			-	0,997	<0,001	1,000
Obez	Kontrol n=8				-	<0,001	0,979
	Pre-DM n=5					-	<0,001
	GDM n=10						-

Amniyotik sıvı hacmi, fetal sağlığı değerlendirmek için kullanılan özel bir ultrason türü olan fetal biyofiziksel profilin bir parçasıdır. Biyofiziksel profil, her biri ultrason başlatıldıktan sonra 30 dakika içinde görülmesi gereken dört sonografik bileşene sahiptir:

- Fetal solunum (en az 30 sn boyunca fetal diyaframın sürekli hareketi),

- Fetal hareket (fetal gövdenin veya uzuvların en az üç ayrı hareketi),
- Fetal tonus (fleksiyona geri dönen veya fetal elin açılıp kapanmasıyla birlikte bir fetal uzvun en az bir aktif uzantısı),
- Amniyotik sıvı hacmi (en az 2 cm'lik tek derin cep).

Normal bir amniyotik sıvı indeksi, standart değerlendirme yöntemi kullanılarak 5 cm ila 25 cm olarak belirlenir. İndeks, 5 cm' den azı oligohidramnios, 25 cm' den büyük ise polihidramnios olarak kabul edilir (Lord ve Kole, 2017).

Çalışmaya dahil edilen kadınların intrapartum amniyotik sıvı indeksi ortalama \pm standart sapma olarak verilmiş olup, zayıf kontrol grubunda $9,44 \pm 2,55$, zayıf Pre-DM grubunda $10,0 \pm 4,00$, zayıf GDM grubunda $11,5 \pm 3,92$, obez kontrol grubunda $9,75 \pm 2,71$, obez Pre-DM grubunda $13,0 \pm 3,46$ ve obez GDM grubunda $12,4 \pm 4,38$ cm' dir. Gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark bulunmamaktadır (Tablo 12).

Tablo 12. Hamile kadınların intrapartum amniyotik sıvı indeksi (ASI) değerlerinin çoklu karşılaştırma analizi.

ASI p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	1,000	0,810	1,000	0,609	0,480
	Pre-DM n=5		-	0,972	1,000	0,770	0,823
	GDM n=10			-	0,905	0,972	0,993
Obez	Kontrol n=8				-	0,609	0,629
	Pre-DM n=5					-	1,000
	GDM n=10						-

Çalışmaya dahil edilen kadınların gravida ve parite değerleri ortalama \pm standart sapma olarak verilmiş olup, zayıf kontrol grubunda $2,56 \pm 1,24$, zayıf Pre-DM grubunda $2,80 \pm 1,64$, zayıf GDM grubunda $2,50 \pm 1,72$, obez kontrol grubunda $2,63 \pm 1,41$, obez Pre-DM grubunda $3,20 \pm 2,28$ ve obez GDM grubunda $3,70 \pm 1,70$ ' dir. Parite değerleri zayıf kontrol grubunda $1,22 \pm 1,20$, zayıf Pre-DM grubunda $1,60 \pm 0,89$, zayıf GDM grubunda $1,20 \pm 1,03$, obez kontrol grubunda $1,38 \pm 0,92$, obez Pre-DM grubunda $1,40 \pm$

0,89 ve obez GDM grubunda $2,10 \pm 1,20$ ' dir. Her iki değişken için de gruplar arasında herhangi bir fark yoktur.

Çalışmaya dahil edilen kadınların bebek ağırlıkları ortalama \pm standart sapma olarak verilmiş olup, zayıf kontrol grubunda 2810 ± 464 , zayıf Pre-DM grubunda 3470 ± 526 , zayıf GDM grubunda 3210 ± 444 , obez kontrol grubunda 3210 ± 441 , obez Pre-DM grubunda 3590 ± 446 ve obez GDM grubunda 3370 ± 393 g' dir. Obez Pre-DM grubu doğum ağırlıkları zayıf kontrol grubundakilerden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 13).

Tablo 13. Yeni doğanların doğum ağırlıkları değerlerinin çoklu karşılaştırma analizi.

Yeni doğan ağırlıkları p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	0,111	0,413	0,465	0,035	0,098
	Pre-DM n=5		-	0,884	0,906	0,998	0,998
	GDM n=10			-	1,000	0,608	0,964
Obez	Kontrol n=8				-	0,656	0,974
	Pre-DM n=5					-	0,936
	GDM n=10						-

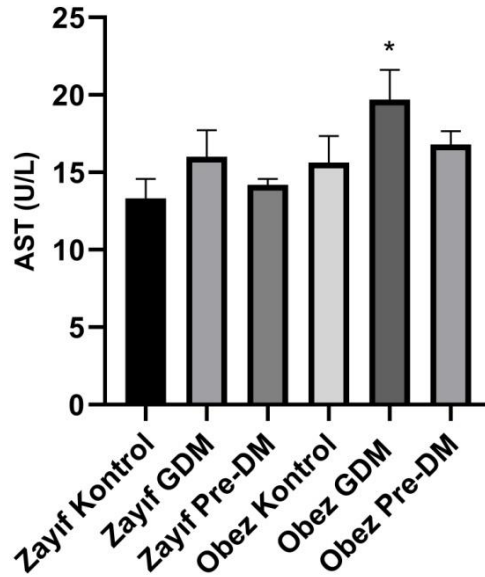
Apgar skoru, 1952 yılında Virginia APGAR tarafından doğumda ilgilenilmeye ve acil resüsitasyona ihtiyaç duyanların belirlenmesi amacıyla yenidoğanın sağlığını değerlendirmek için geliştirilmiştir. Bu puanlar hayatın 1. ve 5. dakikalarında belirlenmektedir. Skorlamayı belirleyen kriterler; nefes alma çabası, kalp atış hızı, kas tonusu, refleksler ve ten rengi olarak belirlenmiştir. Her kategori 0 ile 2 arasında değerlendirilmektedir. Normal bir Apgar skoru 7 ve 10 arasındadır ve yenidoğanın iyi ila mükemmel durumda olduğu anlamına gelmektedir. Genellikle sadece doğum sonrası rutin bakım gerektirir. Puanları 4 ile 6 arasında olan bebekler iyi durumdadır ve bazı önlemler gerektirebilir. Apgar puanı 4' ün altında olanlar kötü durumda olup acil tıbbi müdahaleye ihtiyaç duymaktadırlar (Finster ve diğerleri, 2005).

Çalışmaya dahil edilen kadınların bebeklerinin 1. dk Apgar skorları ortalama \pm standart sapma olarak verilmiş olup, zayıf kontrol grubunda $8,33 \pm 0,86$, zayıf Pre-DM

grubunda $8,20 \pm 0,83$, zayıf GDM grubunda $7,70 \pm 0,82$, obez kontrol grubunda $8,25 \pm 0,46$, obez Pre-DM grubunda $7,80 \pm 0,83$ ve obez GDM grubunda $7,90 \pm 0,73$ ’ dır. 5. dk Apgar skorları ise $9,00 \pm 0,71$, zayıf Pre-DM grubunda $9,20 \pm 0,83$, zayıf GDM grubunda $8,80 \pm 0,78$, obez kontrol grubunda $9,25 \pm 0,46$, obez Pre-DM grubunda $8,80 \pm 0,83$ ve obez GDM grubunda $78,90 \pm 0,73$ olarak tespit edilmiştir. İki zaman diliminde yapılan skorlamada gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmamıştır.

4.1.2. Hastaların Karaciğer Enzim Seviyeleri

Çalışmaya dahil edilen kadınların karaciğer enzimleri; aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) seviyeleri ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. AST seviyeleri zayıf kontrol grubunda $13,33 \pm 1,23$, zayıf Pre-DM grubunda $14,20 \pm 0,34$, zayıf GDM grubunda $16,0 \pm 1,72$, obez kontrol grubunda $15,63 \pm 1,72$, obez Pre-DM grubunda $16,80 \pm 0,86$ ve obez GDM grubunda $19,70 \pm 1,93$ U / L olarak tespit edilmiştir. $*p < 0,05$ zayıf kontrole göre, $^{\dagger} p < 0,05$ obez kontrole göre anlamlı farkları göstermektedir.



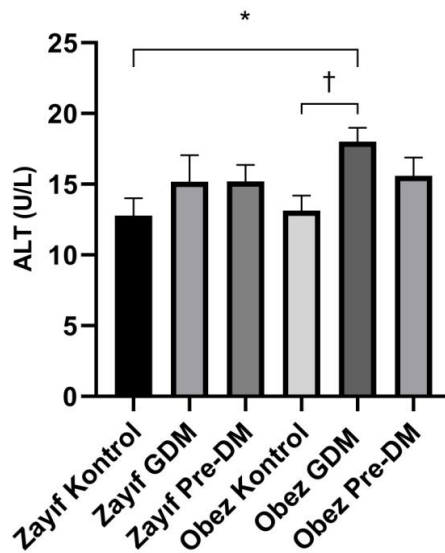
Şekil 12. Hamile kadınların AST seviyeleri.

Tablo 14. Hamile kadınların AST seviyelerinin karşılaştırmalı analizi.

AST seviyeleri p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	0,999	0,812	0,911	0,765	0,041
	Pre-DM n=5		-	0,980	0,994	0,949	0,281
	GDM n=10			-	1,000	1,000	0,493
Obez	Kontrol n=8				-	0,998	0,451
	Pre-DM n=5					-	0,864
	GDM n=10						-

Obez GDM grubu AST seviyeleri zayıf kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olarak tespit edilmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 12, Tablo 14).

ALT seviyeleri ise zayıf kontrol grubunda $12,78 \pm 1,23$, zayıf Pre-DM grubunda $15,20 \pm 1,15$, zayıf GDM grubunda $15,17 \pm 1,87$, obez kontrol grubunda $13,13 \pm 1,07$, obez Pre-DM grubunda $15,60 \pm 1,28$ ve obez GDM grubunda $18,00 \pm 0,99$ U / L olarak tespit edilmiştir. Obez GDM grubu ALT seviyeleri zayıf kontrol ve obez kontrol gruplarından anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 13, Tablo 15).



Şekil 13. Hamile kadınların ALT seviyeleri.

Tablo 15. Hamile kadınların ALT seviyelerinin karşılaştırmalı analizi.

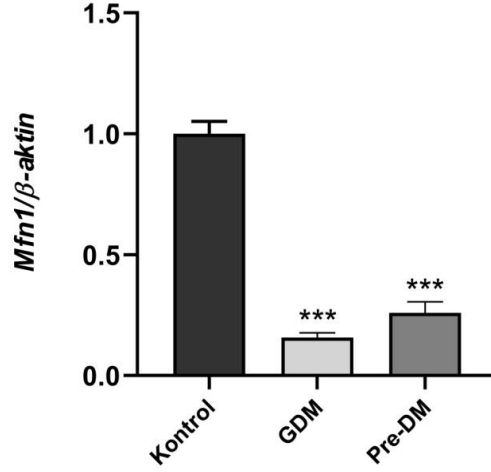
ALT seviyeleri p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	0,879	0,773	1,000	0,793	0,045
	Pre-DM n=5		-	1,000	0,939	1,000	0,786
	GDM n=10			-	0,882	1,000	0,602
Obez	Kontrol n=8				-	0,879	0,048
	Pre-DM n=5					-	0,875
	GDM n=10						-

4.2. Plasenta Dokusu mRNA Ekspresyonları

4.2.1. Kombine Gruplarda mRNA Ekspresyonları

Grupların plasenta dokularında saptanan mRNA ekspresyonları β -aktine göre normalize edilmiş, kontrol grubuna göre göreceli kat değişimleri şeklinde verilmiştir. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. Şekillerde kontrol grubuna göre anlamlı farklar $***p < 0,001$, $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ olacak şekilde gösterilmiştir.

Tespit edilen *Mfn1* ekspresyonları kontrol grubunda $1 \pm 0,051$, GDM grubunda $0,156 \pm 0,012$ ve Pre-DM grubunda $0,259 \pm 0,045$ ' tir. GDM ve Pre-DM grubu göreceli *Mfn1* ekspresyonları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Pre-DM ve GDM grupları arasında ise fark yoktur (Şekil 14, Tablo 16).

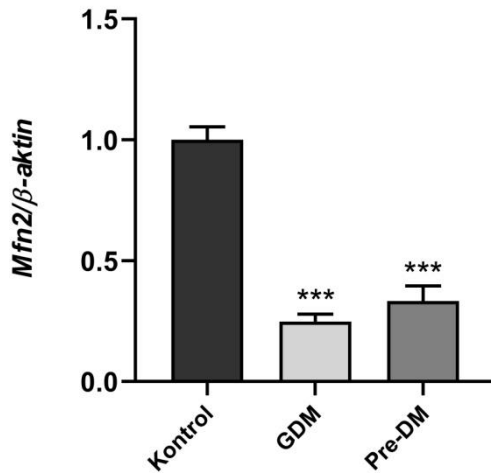


Şekil 14. Plasenta dokularında *Mfn1* ekspresyonları.

Tablo 16. *Mfn1* ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.

<i>Mfn1</i> p değerleri	Kontrol (n=17)	GDM (n=20)	Pre-DM (n=10)
Kontrol	-	<0,001	<0,001
GDM		-	0,212
Pre-DM			-

Tespit edilen *Mfn2* ekspresyonları ise kontrol grubunda $1 \pm 0,053$, GDM grubunda $0,248 \pm 0,030$ ve Pre-DM grubunda $0,333 \pm 0,062$ ' tir. Aynı şekilde GDM ve Pre-DM grubu göreceli *Mfn2* ekspresyonları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Pre-DM ve GDM grupları arasında ise fark yoktur (Şekil 15, Tablo 17).

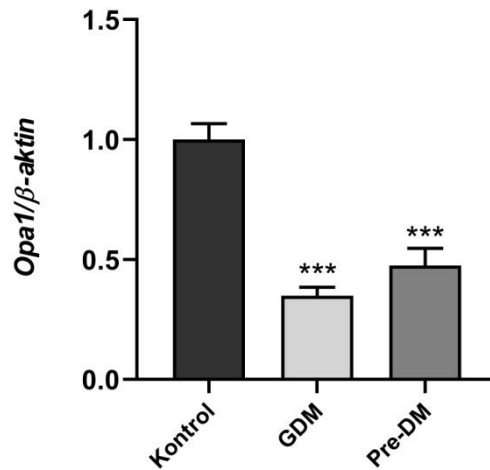


Şekil 15. Plasenta dokularında *Mfn2* ekspresyonları.

Tablo 17. *Mfn2* ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.

<i>Mfn2</i> p değerleri	Kontrol (n=17)	GDM (n=20)	Pre-DM (n=10)
Kontrol	-	<0,001	<0,001
GDM		-	0,461
Pre-DM			-

Plasenta dokularında saptanan göreceli *Opal* mRNA ekspresyonları, kontrol grubunda $1 \pm 0,066$, GDM grubunda $0,348 \pm 0,035$ ve Pre-DM grubunda $0,474 \pm 0,072$ tir. Aynı şekilde GDM ve Pre-DM grubu göreceli *Opal* ekspresyonları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Pre-DM ve GDM grupları arasında ise fark yoktur (Şekil 16, Tablo 18).



Şekil 16. Plasenta dokularında *Opal* ekspresyonları.

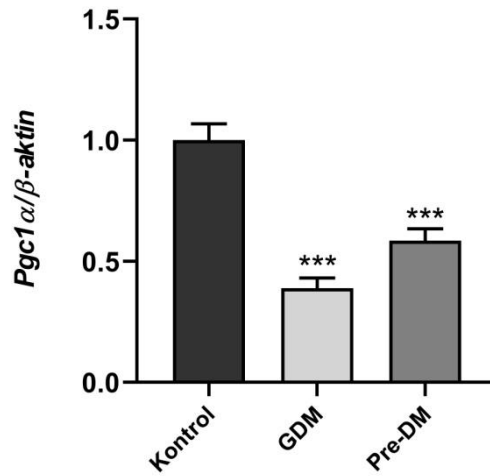
Tablo 18. *Opal* ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.

<i>Opal</i> p değerleri	Kontrol (n=17)	GDM (n=20)	Pre-DM (n=10)
Kontrol	-	<0,001	<0,001
GDM		-	0,314
Pre-DM			-

Plasenta dokularında saptanan *Pgclα* mRNA ekspresyonları, kontrol grubunda $1 \pm 0,067$, GDM grubunda $0,388 \pm 0,042$ ve Pre-DM grubunda $0,585 \pm 0,048$ tir. Füzyon belirteçlerine benzer biçimde GDM ve Pre-DM grubu göreceli *Pgclα* ekspresyonları kontrol

grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Pre-DM ve GDM grupları arasında ise fark yoktur (Şekil 17, Tablo 19).

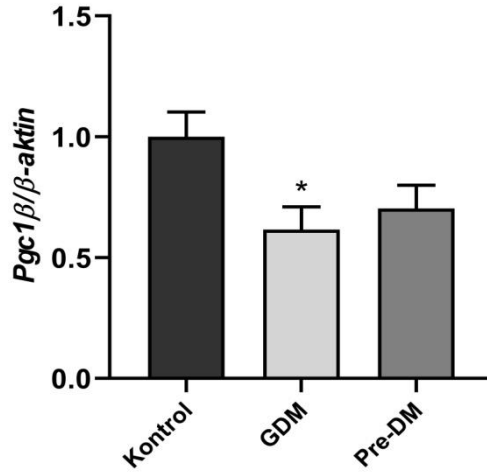
Pgc1β mRNA ekspresyonları ise kontrol grubunda $1 \pm 0,102$, GDM grubunda $0,615 \pm 0,093$ ve Pre-DM grubunda $0,702 \pm 0,097$ tir. GDM grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Fakat Pre-DM ile kontrol grubu arasında ve Pre-DM ile GDM grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Şekil 18, Tablo 20).



Şekil 17. Plasenta dokularında *Pgc1α* ekspresyonları.

Tablo 19. *Pgc1α* ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.

<i>Pgc1α</i> p değerleri	Kontrol (n=17)	GDM (n=20)	Pre-DM (n=10)
Kontrol	-	<0,001	<0,001
GDM		-	0,065
Pre-DM			-



Şekil 18. Plasenta dokularında *Pgc1β* ekspresyonları.

Tablo 20. *Pgc1β* ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.

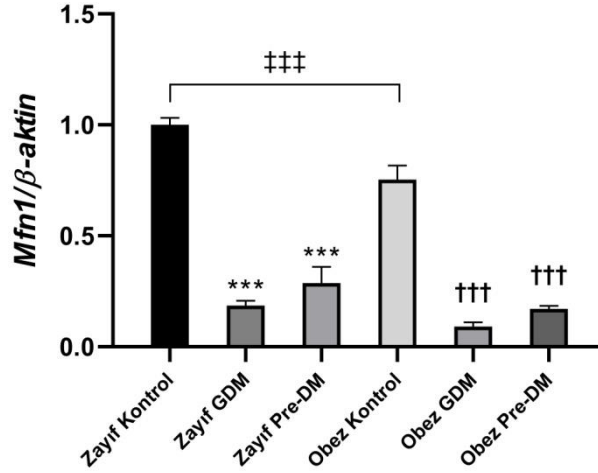
<i>Pgc1β</i> p değerleri	Kontrol (n=17)	GDM (n=20)	Pre-DM (n=10)
Kontrol	-	0,015	0,162
GDM		-	0,841
Pre-DM			-

4.2.2. Alt Gruplarda mRNA Ekspresyonları

Alt grupların plasenta dokularında saptanan mRNA ekspresyonları β -aktine göre normalize edilmiş, zayıf kontrol grubuna göre göreceli kat değişimleri şeklinde verilmiştir. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. Şekillerde anlamlı farklar $***p < 0,001$, $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ zayıf kontrol grubuna göre, $†††p < 0,001$, $††p < 0,01$, $†p < 0,05$ obez kontrol grubuna göre gösterilmiştir. $†††p < 0,001$, $††p < 0,01$, $†p < 0,05$ zayıf kontrol ile obez kontrol karşılaştırılması için ve $§p < 0,05$ zayıf Pre-DM ile obez Pre-DM karşılaştırılması için kullanılmıştır.

Plasenta göreceli *Mfn1* ekspresyonları zayıf kontrol grubunda $1 \pm 0,032$, zayıf Pre-DM grubunda $0,286 \pm 0,073$, zayıf GDM grubunda $0,185 \pm 0,021$, obez kontrol grubunda $0,753 \pm 0,063$, obez Pre-DM grubunda $0,171 \pm 0,012$ ve obez GDM grubunda $0,091 \pm 0,018$ olarak saptanmıştır. Zayıf kontrol grubu *Mfn1* ekspresyonları zayıf Pre-DM ve zayıf GDM gruplarından anlamlı olarak daha yüksektir. Obez kontrol grubunda zayıf kontrole göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Ayrıca obez kontrol grubu ekspresyonları, obez Pre-DM ve

obez GDM grubundan istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha yüksek olarak tespit edilmiştir (Şekil 19, Tablo 21).



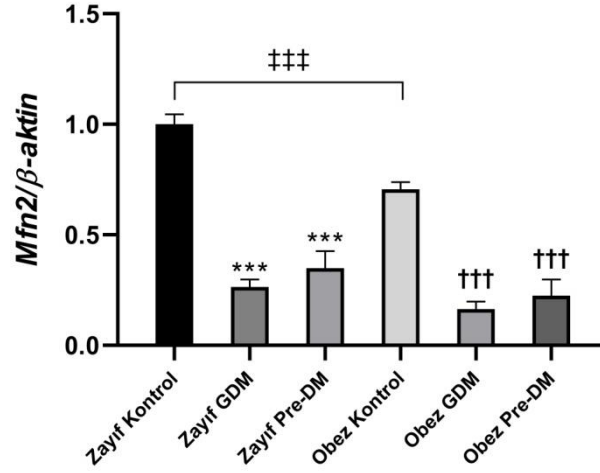
Şekil 19. Alt grup plasenta dokularında *Mfn1* ekspresyonları.

Tablo 21. Alt grup plasenta dokularında *Mfn1* ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi.

<i>Mfn1</i> p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Pre-DM n=5		-	0,539	<0,001	0,554	0,025
	GDM n=10			-	<0,001	1,000	0,401
Obez	Kontrol n=8				-	<0,001	<0,001
	Pre-DM n=5					-	0,763
	GDM n=10						-

Plasenta göreceli *Mfn2* ekspresyonları zayıf kontrol grubunda $1 \pm 0,044$, zayıf Pre-DM grubunda $0,348 \pm 0,077$, zayıf GDM grubunda $0,263 \pm 0,034$, obez kontrol grubunda $0,706 \pm 0,032$, obez Pre-DM grubunda $0,225 \pm 0,073$ ve obez GDM grubunda $0,164 \pm 0,033$ olarak saptanmıştır. *Mfn1* ile benzer şekilde, zayıf kontrol grubu *Mfn2* ekspresyonları zayıf Pre-DM ve zayıf GDM gruplarından anlamlı olarak daha yüksektir. Obez kontrol grubunda zayıf kontrole göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Ayrıca obez kontrol grubu

ekspresyonları, obez Pre-DM ve obez GDM grubundan istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha yüksek olarak tespit edilmiştir (Şekil 20, Tablo 22).



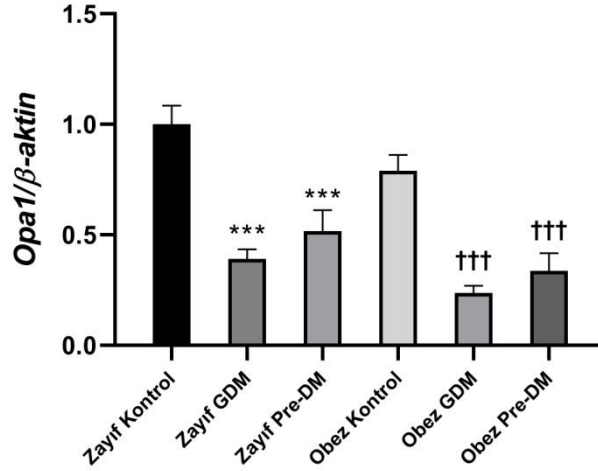
Şekil 20. Alt grup plasenta dokularında *Mfn2* ekspresyonları.

Tablo 22. Alt grup plasenta dokularında *Mfn2* ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi.

<i>Mfn2</i> p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Pre-DM n=5		-	0,812	<0,001	0,622	0,096
	GDM n=10			-	<0,001	0,993	0,484
Obez	Kontrol n=8				-	<0,001	<0,001
	Pre-DM n=5					-	0,946
	GDM n=10						-

Plasenta göreceli *Opal* ekspresyonları zayıf kontrol grubunda $1 \pm 0,084$, zayıf Pre-DM grubunda $0,517 \pm 0,093$, zayıf GDM grubunda $0,390 \pm 0,044$, obez kontrol grubunda $0,790 \pm 0,070$, obez Pre-DM grubunda $0,337 \pm 0,079$ ve obez GDM grubunda $0,237 \pm 0,032$ olarak saptanmıştır. Diğer füzyon belirteçleriyle benzer şekilde, zayıf kontrol grubu *Opal* ekspresyonları zayıf Pre-DM ve zayıf GDM gruplarından anlamlı olarak daha yüksektir.

Obez kontrol grubunda zayıf kontrole göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır (Şekil 21, Tablo 23).



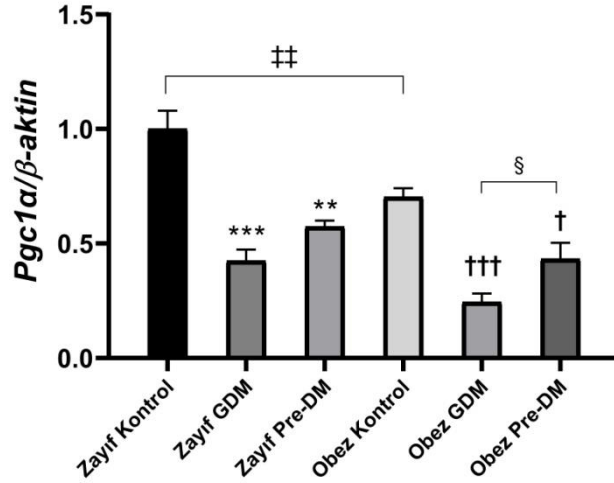
Şekil 21. Alt grup plasenta dokularında *Opa1* ekspresyonları.

Tablo 23. Alt grup plasenta dokularında *Opa1* ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi.

<i>Opa1</i> p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	<0,001	<0,001	0,193	<0,001	<0,001
	Pre-DM n=5		-	0,801	0,113	0,630	0,076
	GDM n=10			-	<0,001	0,995	0,424
Obez	Kontrol n=8				-	<0,001	<0,001
	Pre-DM n=5					-	0,913
	GDM n=10						-

Plasenta göreceli *Pgclα* ekspresyonları zayıf kontrol grubunda $1 \pm 0,079$, zayıf Pre-DM grubunda $0,573 \pm 0,025$, zayıf GDM grubunda $0,424 \pm 0,048$, obez kontrol grubunda $0,703 \pm 0,038$, obez Pre-DM grubunda $0,433 \pm 0,069$ ve obez GDM grubunda $0,244 \pm 0,036$ olarak saptanmıştır. Zayıf kontrol grubu *Pgclα* ekspresyonları zayıf Pre-DM ve zayıf GDM gruplarından anlamlı olarak daha yüksektir. Obez kontrol grubunda zayıf kontrole göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Ayrıca obez kontrol grubu ekspresyonları, obez Pre-DM ve

obez GDM grubundan istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Dahası obez GDM ekspresyonları obez Pre-DM ekspresyonlarından anlamlı derece düşük bulunmuştur (Şekil 22, Tablo 24).

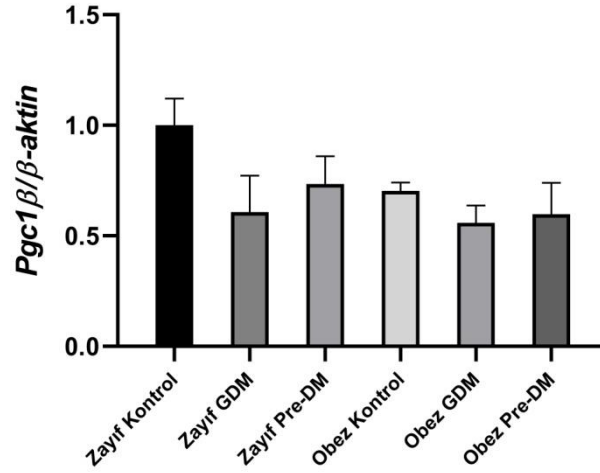


Şekil 22. Alt grup plasenta dokularında *Pgc1α* ekspresyonları.

Tablo 24. Alt grup plasenta dokularında *Pgc1α* ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi.

<i>Pgc1α</i> p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	0,001	<0,001	0,004	<0,001	<0,001
	Pre-DM n=5		-	0,504	0,685	0,706	0,005
	GDM n=10			-	0,006	1,000	0,118
Obez	Kontrol n=8				-	0,042	<0,001
	Pre-DM n=5					-	0,048
	GDM n=10						-

Plasenta göreceli *Pgc1β* ekspresyonları zayıf kontrol grubunda $1 \pm 0,120$, zayıf Pre-DM grubunda $0,734 \pm 0,125$, zayıf GDM grubunda $0,608 \pm 0,164$, obez kontrol grubunda $0,889 \pm 0,162$, obez Pre-DM grubunda $0,597 \pm 0,141$ ve obez GDM grubunda $0,558 \pm 0,078$ olarak saptanmıştır. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir (Şekil 23, Tablo 25).



Şekil 23. Alt grup plasenta dokularında *Pgc1β* ekspresyonları.

Tablo 25. Alt grup plasenta dokularında *Pgc1β* ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi.

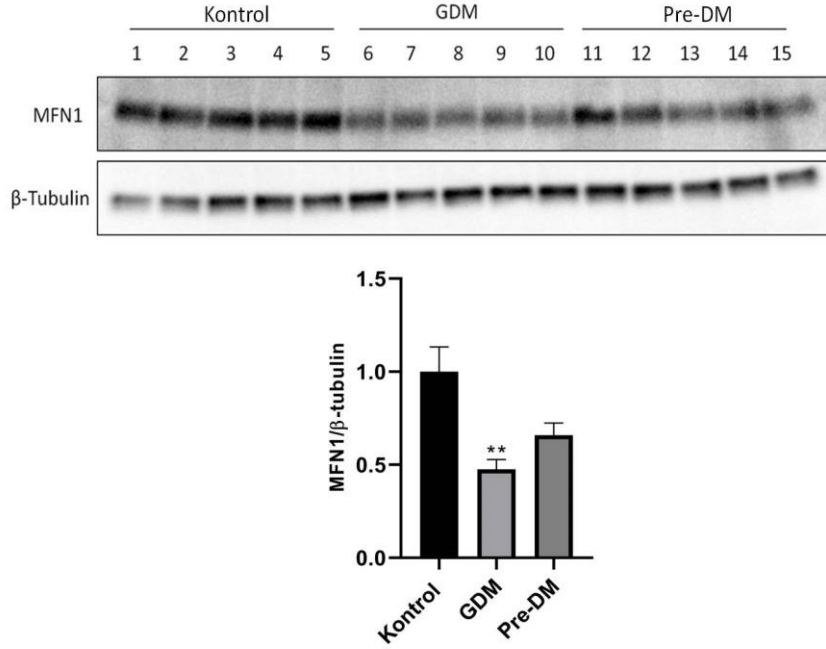
<i>Pgc1β</i> p değerleri		Zayıf			Obez		
		Kontrol n=9	Pre-DM n=5	GDM n=10	Kontrol n=8	Pre-DM n=5	GDM n=10
Zayıf	Kontrol n=9	-	0,824	0,265	0,992	0,446	0,159
	Pre-DM n=5		-	0,991	0,981	0,993	0,962
	GDM n=10			-	0,653	1,000	1,000
Obez	Kontrol n=8				-	0,776	0,485
	Pre-DM n=5					-	1,000
	GDM n=10						-

4.3. Plasenta Dokusu Protein Ekspresyonları

Grupların plasenta dokularında saptanan protein ekspresyonları β -Tubuline göre normalize edilmiş, kontrol grubuna göre göreceli kat değişimleri şeklinde verilmiştir. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. Şekillerde anlamlı farklar kontrol grubuna göre, *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ olacak şekilde gösterilmiştir.

Tespit edilen MFN1 ekspresyonları kontrol grubunda $1 \pm 0,133$, GDM grubunda $0,476 \pm 0,052$ ve Pre-DM grubunda $0,659 \pm 0,065$ ' tir. GDM grubu MFN1 ekspresyonları

kontrol grubundan anlamlı derecede düşük olarak saptanmıştır. Pre-DM ile GDM ve Pre-DM ile kontrol grupları arasında fark yoktur (Şekil 24, Tablo 26).

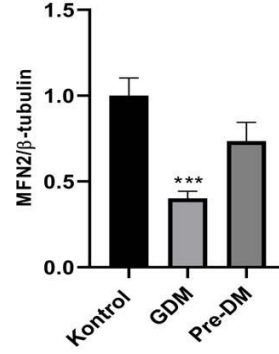
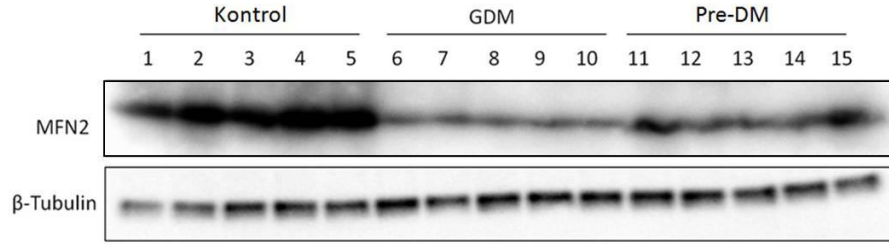


Şekil 24. Plasenta dokularında MFN1 ekspresyonları.

Tablo 26. MFN1 ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.

MFN1 p değerleri	Kontrol (n=10)	GDM (n=10)	Pre-DM (n=10)
Kontrol	-	0,004	0,052
GDM		-	0,361
Pre-DM			-

Tespit edilen MFN2 ekspresyonları kontrol grubunda $1 \pm 0,103$, GDM grubunda $0,402 \pm 0,041$ ve Pre-DM grubunda $0,735 \pm 0,109$ dur. GDM grubu MFN2 ekspresyonları kontrol grubundan anlamlı derecede düşük olarak saptanmıştır. Pre-DM ile GDM ve Pre-DM ile kontrol grupları arasında fark yoktur (Şekil 25, Tablo 27).

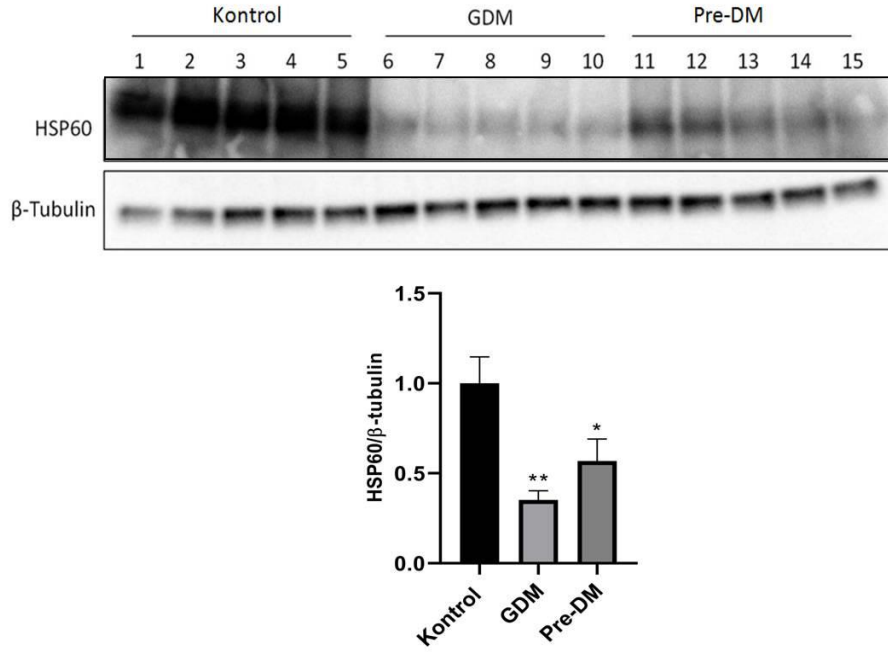


Şekil 25. Plasenta dokularında MFN2 ekspresyonları.

Tablo 27. MFN2 ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.

MFN2 p değerleri	Kontrol (n=10)	GDM (n=10)	Pre-DM (n=10)
Kontrol	-	<0,001	0,136
GDM		-	0,055
Pre-DM			-

Tespit edilen HSP60 ekspresyonları kontrol grubunda $1 \pm 0,147$, GDM grubunda $0,352 \pm 0,051$ ve Pre-DM grubunda $0,568 \pm 0,122$ ' dir. GDM grubu HSP60 ekspresyonları kontrol grubundan anlamlı derecede düşük olarak saptanmıştır. Ayrıca Pre-DM grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük HSP60 ekspresyonları belirlenmiştir. Fakat Pre-DM ile GDM grupları arasında herhangi bir fark yoktur (Şekil 26, Tablo 28).

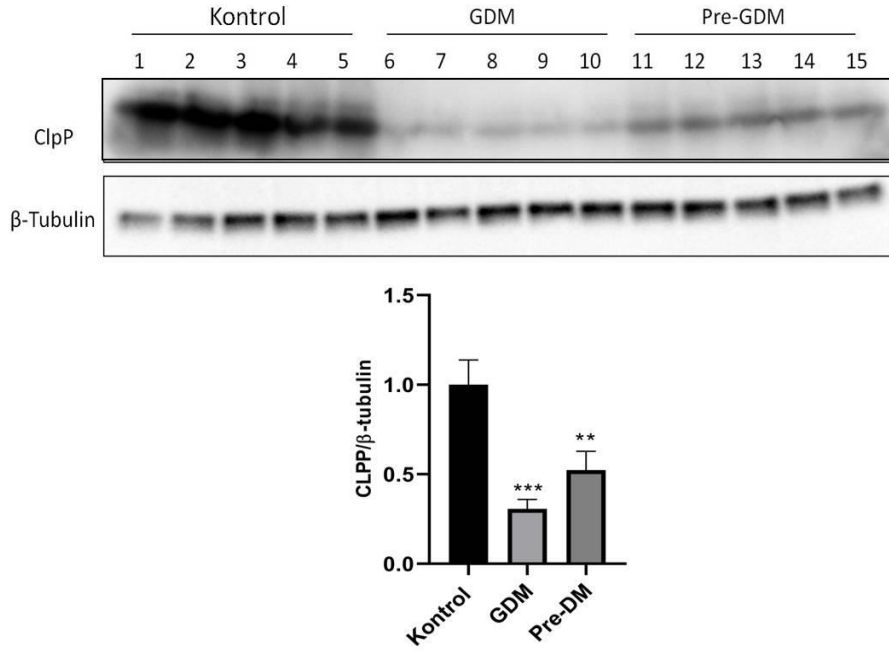


Şekil 26. Plasenta dokularında HSP60 ekspresyonları.

Tablo 28. HSP60 ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.

HSP60 p değerleri	Kontrol (n=10)	GDM (n=10)	Pre-DM (n=10)
Kontrol	-	0,005	0,048
GDM		-	0,404
Pre-DM			-

Tespit edilen CLPP ekspresyonları kontrol grubunda $1 \pm 0,137$, GDM grubunda $0,307 \pm 0,051$ ve Pre-DM grubunda $0,523 \pm 0,104$ tir. GDM grubu CLPP ekspresyonları kontrol grubundan anlamlı derecede düşük olarak saptanmıştır. Ayrıca Pre-DM grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük CLPP ekspresyonları belirlenmiştir. Fakat Pre-DM ile GDM grupları arasında herhangi bir fark yoktur (Şekil 27, Tablo 29).



Şekil 27. Plasenta dokularında CLPP ekspresyonları.

Tablo 29. CLPP ekspresyonları çoklu karşılaştırma analizi.

CLPP p değerleri	Kontrol (n=10)	GDM (n=10)	Pre-DM (n=10)
Kontrol	-	<0,001	0,008
GDM		-	0,342
Pre-DM			-

4.4. Trofoblast Hücrelerinde Protein Ekspresyonları

4.4.1. Yüksek Glukoz Uygulamasının Füzyon ve Fisyon Proteinlerine Etkisi

Trofoblast hücrelerinde 24 ve 48 saatlik 5,5 mM / 25 mM glukoz uygulaması sonucu saptanan füzyon ve fisyon proteinlerinin ekspresyonları β-Tubuline göre normalize edilmiştir. Gruplar; 24 saat 5,5 mM glukoz, 24 saat 25 mM glukoz, 48 saat 5,5 mM glukoz ve 48 saat 25 mM glukoz olarak verilmiştir. Değerler ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. Şekillerde anlamlı farklar *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$; 24 saat 5,5 mM glukoz grubuna göre ve ††† $p < 0,001$, †† $p < 0,01$, † $p < 0,05$ ise 48 saat 5,5 mM glukoz grubuna göre olacak şekilde gösterilmiştir.

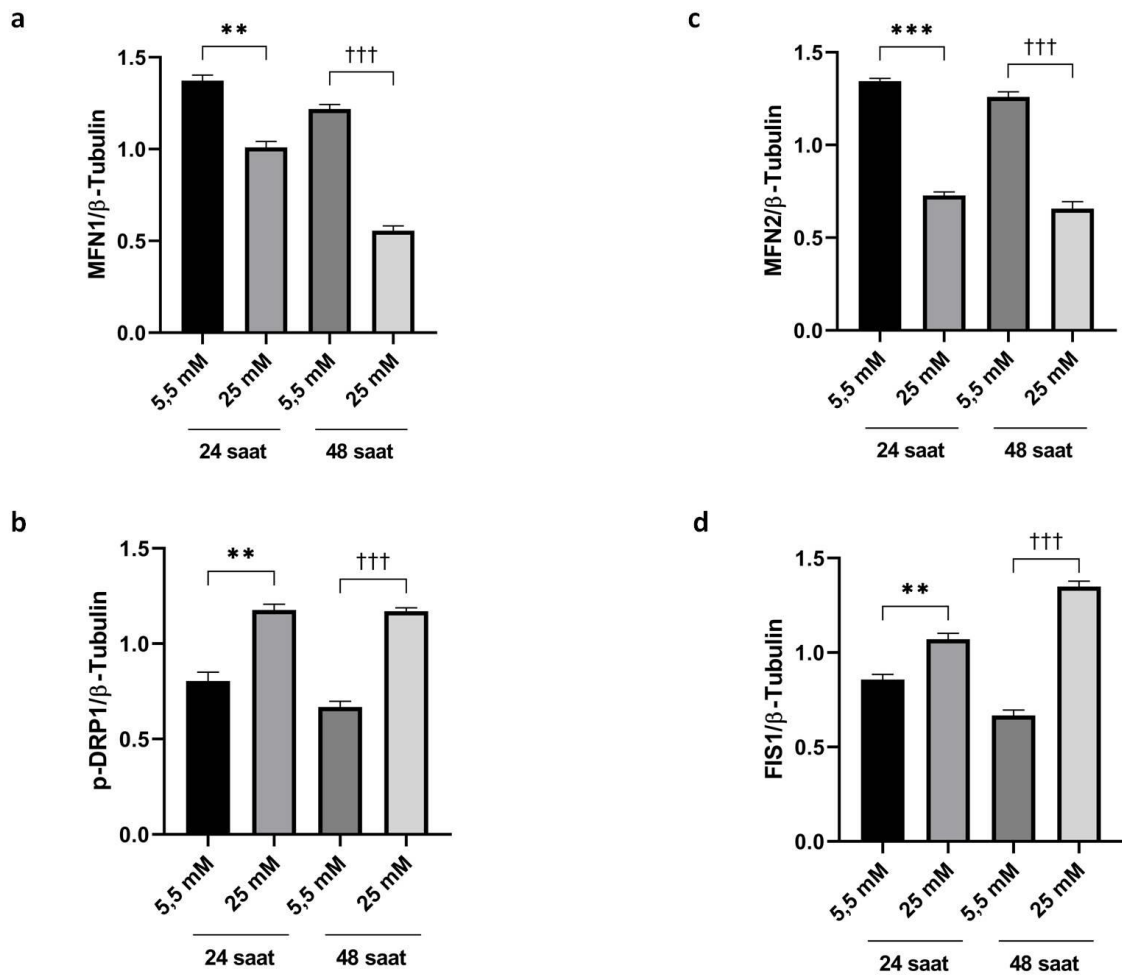
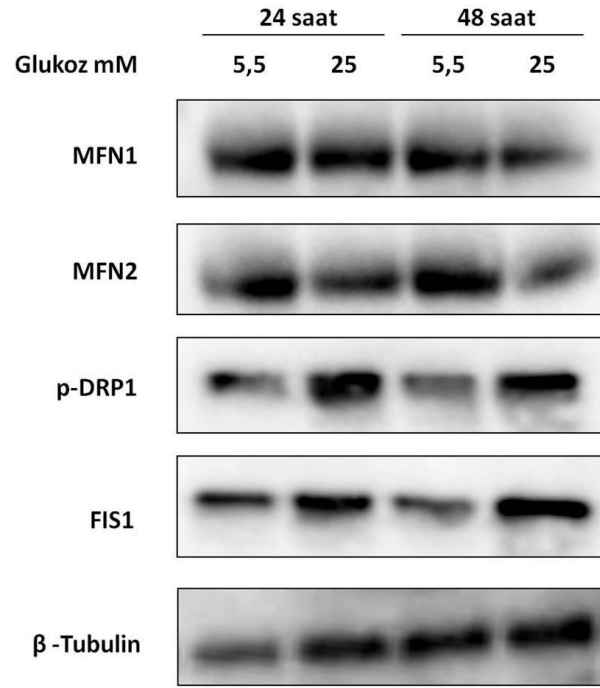
Hücrelerde tespit edilen göreceli MFN1 ekspresyonları 24 saatlik gruplardan; 5,5 mM glukoz grubunda $1,372 \pm 0,029$ ve 25 mM glukoz grubunda $1,009 \pm 0,033$ 'tür. 48 saatlik gruplardan; 5,5 mM glukoz grubunda $1,218 \pm 0,025$ ve 25 mM glukoz grubunda $0,555 \pm 0,026$ ' dır. 24 saatlik uygulamada 25 mM grubu, 5,5 mM grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p = 0,0013$). 48 saatlik uygulamada ise 25 mM grubu MFN1 ekspresyonları da aynı şekilde 5,5 mM grubundan anlamlı derecede düşük olarak saptanmıştır ($p < 0,001$; Şekil 28 a).

MFN2 ekspresyonları ise 24 saatlik gruplardan; 5,5 mM glukoz grubunda $1,344 \pm 0,014$ ve 25 mM glukoz grubunda $0,728 \pm 0,018$ ' dir. 48 saatlik gruplardan; 5,5 mM glukoz grubunda $1,259 \pm 0,028$ ve 25 mM glukoz grubunda ise $0,656 \pm 0,037$ ' dir. 24 saatlik uygulamada 25 mM grubu, 5,5 mM grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,001$). 48 saatlik uygulamada ise 25 mM grubu MFN2 ekspresyonları da aynı şekilde 5,5 mM grubundan anlamlı derecede düşük olarak saptanmıştır ($p < 0,001$; Şekil 28 b).

p-DRP1 ekspresyonları 24 saatlik gruplardan; 5,5 mM glukoz grubunda $0,804 \pm 0,045$ ve 25 mM glukoz grubunda $1,177 \pm 0,029$ ' dur. 48 saatlik gruplardan; 5,5 mM glukoz grubunda $0,668 \pm 0,029$ ve 25 mM glukoz grubunda ise $1,170 \pm 0,016$ ' dir. 24 saatlik uygulamada 25 mM grubu, 5,5 mM grubundan anlamlı derecede yüksektir ($p = 0,0041$). 48 saatlik uygulamada ise 25 mM grubu aynı şekilde 5,5 mM grubundan anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır ($p < 0,001$; Şekil 28 c).

Son olarak FIS1 ekspresyonları 24 saatlik gruplardan; 5,5 mM glukoz grubunda $0,856 \pm 0,027$ ve 25 mM glukoz grubunda $1,070 \pm 0,031$ ' dir. 48 saatlik gruplardan; 5,5 mM glukoz grubunda $0,667 \pm 0,028$ ve ve 25 mM glukoz grubunda ise $1,349 \pm 0,029$ ' dur. 24 saatlik uygulamada 25 mM grubu, 5,5 mM grubundan anlamlı derecede yüksektir ($p = 0,0072$). 48 saatlik uygulamada ise 25 mM grubu aynı şekilde 5,5 mM grubundan anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır ($p < 0,001$; Şekil 28 d).

Sonuçlar deneyin kalan kısmının 48 saat yüksek glukoz uygulamasıyla gerçekleştirilmesinin daha uygun olduğunu göstermiştir.



Şekil 28. Yüksek glukoz uygulamasının füzyon ve fisyon proteinlerine etkisi.

4.4.2. Fisyon İnhibitörlerinin Fisyon Proteinlerine Etkisi

48 saatlik normal / yüksek (5,5 mM / 25 mM) glukoz ortamında tutulan trofoblast hücrelerine fisyon inhibitörlerinin uygulanması sonucu oluşan fisyon protein ekspresyonları β -Tubuline göre normalize edilmiştir.

Gruplar, 48 saat normal ve yüksek glukoz ortamında inkübe edilen hücrelerde:

- DMSO (Kontrol, K),
- 50 μ M ve 100 μ M mdivi-1 uygulanan,
- 50 μ M ve 100 μ M dynasore uygulanan,
- 0,5 μ M ve 1 μ M p-110 uygulanan olarak belirlenmiştir.

Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. Şekillerde anlamlı farklar $***p < 0,001$, $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ normal glukoz (5,5 mM) kontrol grubuna karşı, $†††p < 0,001$, $††p < 0,01$, $†p < 0,05$ ise yüksek glukoz (25 mM) kontrol grubuna karşı olacak şekilde gösterilmiştir.

Tespit edilen göreceli p-DRP1 ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,279 \pm 0,057$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $0,876 \pm 0,081$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $0,402 \pm 0,045$, 50 μ M dynasore grubunda $1,128 \pm 0,069$, 100 μ M dynasore grubunda $0,604 \pm 0,027$, 0,5 μ M p-110 grubunda $0,625 \pm 0,056$ ve 1 μ M p-110 grubunda $0,153 \pm 0,015$ tir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $2,364 \pm 0,133$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $1,588 \pm 0,131$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $0,562 \pm 0,058$, 50 μ M dynasore $1,405 \pm 0,116$, 100 μ M dynasore $0,441 \pm 0,028$, 0,5 μ M p-110 grubunda $1,738 \pm 0,109$ ve 1 μ M p-110 grubunda $0,647 \pm 0,055$ olarak belirlenmiştir (Şekil 29).

Normal glukoz uygulanan gruplardan; 50 μ M mdivi-1 grubunda p-DRP1 ekspresyonu K grubuna göre anlamlı derecede düşmüştür ($p = 0,009$). Aynı şekilde 100 μ M mdivi-1 grubunda da K grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından; 50 μ M mdivi-1 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p = 0,006$). Benzer olarak 100 μ M mdivi-1 grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).

Normal glukoz ortamında 50 μ M dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark yoktur. 100 μ M dynasore grubunda ise K grubundan anlamlı olarak daha düşük bir p-

DRP1 ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından; 50 μM dynasore grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p = 0,0015$). Benzer olarak 100 μM dynasore grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).

Normal glukoz uygulanan gruplardan; 0,5 μM p-110 grubunda p-DRP1 ekspresyonu K grubuna göre anlamlı derecede düşmüştür ($p < 0,001$). Aynı şekilde 1 μM p-110 grubunda da K grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından; 0,5 μM p-110 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p = 0,012$). Benzer olarak 1 μM p-110 grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).

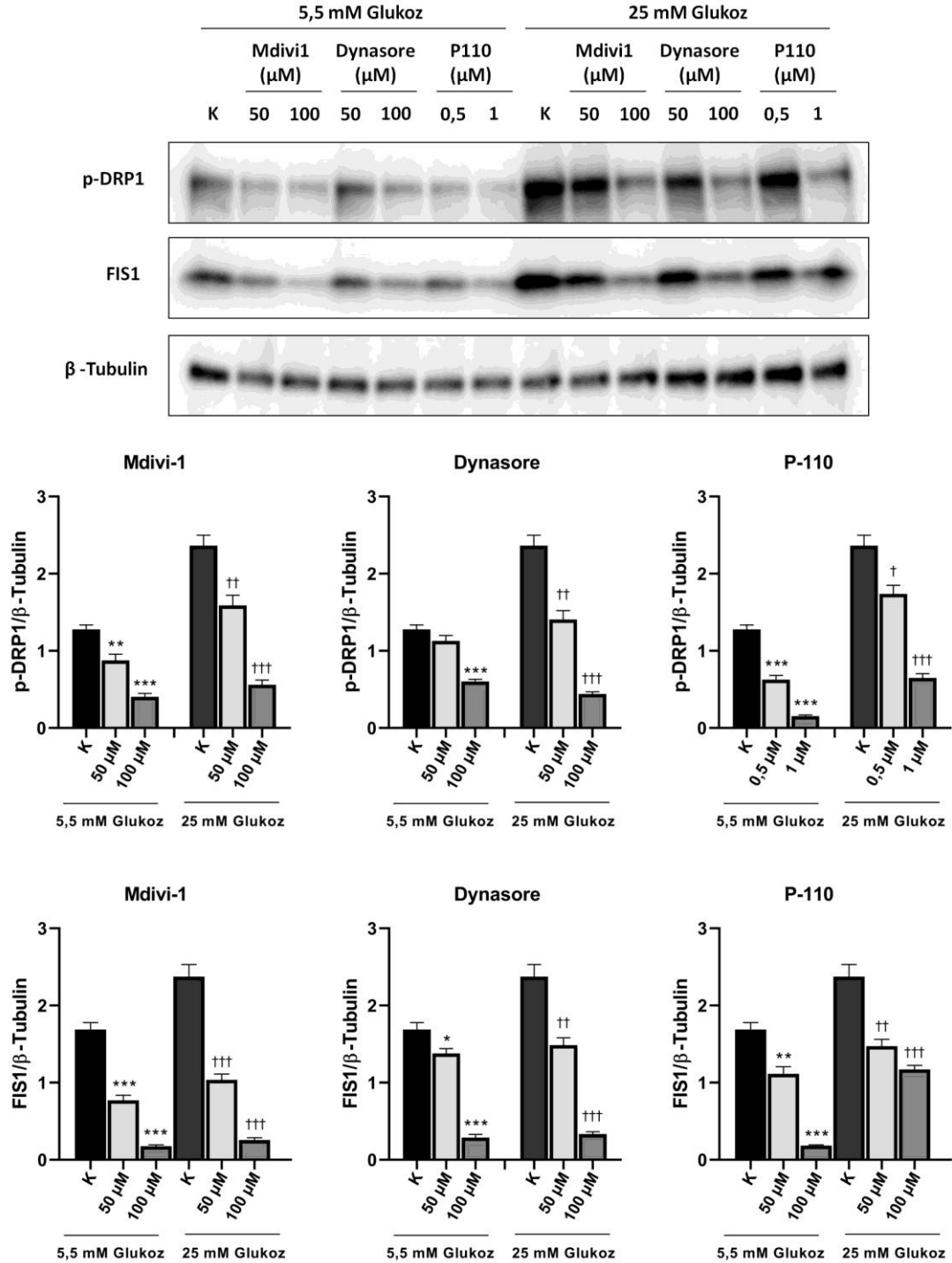
Tespit edilen göreceli FIS1 ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,687 \pm 0,090$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,771 \pm 0,065$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,176 \pm 0,016$, 50 μM dynasore grubunda $1,379 \pm 0,061$, 100 μM dynasore grubunda $0,287 \pm 0,039$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,113 \pm 0,092$ ve 1 μM p-110 grubunda $0,184 \pm 0,009$ dur. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $2,364 \pm 0,133$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,037 \pm 0,073$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,256 \pm 0,030$, 50 μM dynasore grubunda $1,485 \pm 0,096$, 100 μM dynasore grubunda $0,333 \pm 0,030$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,473 \pm 0,087$ ve 1 μM p-110 grubunda $1,171 \pm 0,052$ olarak belirlenmiştir (Şekil 29).

Normal glukoz uygulanan gruplardan; 50 μM mdivi-1 grubunda FIS1 ekspresyonu K grubuna göre anlamlı derecede düşmüştür ($p < 0,001$). Aynı şekilde 100 μM mdivi-1 grubunda da K grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından; 50 μM mdivi-1 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Benzer olarak 100 μM mdivi-1 grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).

Normal glukoz ortamında 50 μM dynasore grubu, K grubundan FIS1 ekspresyonu bakımından daha düşüktür ($p = 0,040$). 100 μM dynasore grubunda da K grubundan anlamlı olarak daha düşük bir FIS1 ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından; 50 μM dynasore grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p = 0,002$). Benzer olarak 100 μM dynasore grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).

Normal glukoz uygulanan gruplardan; 0,5 μM p-110 grubunda FIS1 ekspresyonu K grubuna göre anlamlı derecede düşmüştür ($p = 0,004$). Aynı şekilde 1 μM p-110 grubunda

da K grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından; 0,5 μM p-110 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p = 0,020$). Benzer olarak 1 μM p-110 grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).



Şekil 29. Fisyon inhibitörlerinin fisyon proteinlerine etkisi.

4.4.3. Fisyon İnhibitörlerinin İnsülin Sinyal Proteinlerine Etkisi

48 saatlik normal / yüksek glukoz ortamında tutulan trofoblast hücrelerine fisyon inhibitörlerinin uygulanması sonucu oluşan insülin sinyali belirteçlerinden p-IRS1 (s323), IRS1' e ve β -Tubuline göre ayrıca p-AKT (s473) ise AKT' ye ve β -Tubuline göre normalize edilmiştir. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. Şekillerde anlamlı farklar $***p < 0,001$, $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ normal glukoz kontrol grubuna karşı, $†††p < 0,001$, $††p < 0,01$, $†p < 0,05$ ise yüksek glukoz kontrol grubuna karşı olacak şekilde gösterilmiştir.

Tespit edilen p-IRS1/IRS1 ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $0,699 \pm 0,127$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $0,586 \pm 0,058$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $0,314 \pm 0,011$, 50 μ M dynasore grubunda $0,542 \pm 0,078$, 100 μ M dynasore grubunda $0,250 \pm 0,005$, 0,5 μ M p-110 grubunda $0,478 \pm 0,016$ ve 1 μ M p-110 grubunda $0,332 \pm 0,033$ tür. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,300 \pm 0,075$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $1,006 \pm 0,025$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $0,223 \pm 0,051$, 50 μ M dynasore grubunda $0,912 \pm 0,083$, 100 μ M dynasore grubunda $0,218 \pm 0,073$, 0,5 μ M p-110 grubunda $0,897 \pm 0,037$ ve 1 μ M p-110 grubunda ise $0,229 \pm 0,062$ olarak belirlenmiştir (Şekil 30).

Normal glukoz uygulanan gruplardan; 50 μ M mdivi-1 grubu p-IRS1 ekspresyonu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. 100 μ M mdivi-1 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p = 0,035$). Yüksek glukoz gruplarından; 50 μ M mdivi-1 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p = 0,021$). Benzer olarak 100 μ M mdivi-1 grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).

Normal glukoz ortamında 50 μ M dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. 100 μ M dynasore grubunda K grubundan anlamlı olarak daha düşük bir p-IRS1 ekspresyonu saptanmıştır ($p = 0,024$). Yüksek glukoz gruplarından; 50 μ M dynasore grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p = 0,029$). Benzer olarak 100 μ M dynasore grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).

Normal glukoz uygulanan gruplardan; 0,5 μ M p-110 grubu p-IRS1 ekspresyonu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. 1 μ M p-110 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p = 0,034$). Yüksek glukoz gruplarından; 0,5 μ M p-110 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p = 0,007$). Benzer olarak 1

μM p-110 grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).

Tespit edilen p-IRS1/ β -Tubulin ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $0,504 \pm 0,014$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,246 \pm 0,012$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,175 \pm 0,029$, 50 μM dynasore grubunda $0,573 \pm 0,053$, 100 μM dynasore grubunda $0,228 \pm 0,019$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,289 \pm 0,032$ ve 1 μM p-110 grubunda $0,247 \pm 0,021$ dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,266 \pm 0,123$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,586 \pm 0,006$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,284 \pm 0,076$, 50 μM dynasore grubunda $1,425 \pm 0,225$, 100 μM dynasore grubunda $0,257 \pm 0,085$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,366 \pm 0,054$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $0,424 \pm 0,115$ olarak belirlenmiştir (Şekil 30).

Normal glukoz uygulanan gruplardan; 50 μM mdivi-1 grubu p-IRS1 ekspresyonu K grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,001$). 100 μM mdivi-1 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından; 50 μM mdivi-1 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($p = 0,002$). Benzer olarak 100 μM mdivi-1 grubu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p < 0,001$).

Normal glukoz ortamında 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. 100 μM dynasore grubunda K grubundan anlamlı olarak daha düşük bir p-IRS1 ekspresyonu saptanmıştır ($p = 0,002$). Yüksek glukoz gruplarından; 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark yoktur. 100 μM dynasore grubu K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p = 0,009$).

Normal glukoz uygulanan gruplardan; 0,5 μM p-110 grubu p-IRS1 ekspresyonu K grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p = 0,0017$). 1 μM p-110 grubunda K grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından; 0,5 μM p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark yoktur. 1 μM p-110 grubunda ise K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüktür ($p = 0,0028$).

Tespit edilen p-AKT/AKT ekspresyonları, normal glukoz gruplarından normal glukoz gruplarından K grubunda $1,353 \pm 0,101$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,098 \pm 0,114$, 100 μM mdivi-1 grubunda $1,118 \pm 0,051$, 50 μM dynasore grubunda $0,982 \pm 0,051$, 100 μM dynasore grubunda $1,428 \pm 0,058$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,160 \pm 0,057$ ve 1 μM p-110 grubunda $1,309 \pm 0,100$ dür. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $0,523 \pm 0,041$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,563 \pm 0,049$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,879 \pm 0,066$, 50 μM

dynasore grubunda $0,494 \pm 0,088$, 100 μM dynasore grubunda $0,881 \pm 0,070$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,454 \pm 0,068$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $0,559 \pm 0,045$ olarak belirlenmiştir (Şekil 30).

Normal glukoz gruplarından K grubu ile 50 μM mdivi-1 ve K grubu ile 100 μM mdivi-1 grubunda aralarında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. Yüksek glukoz gruplarından 100 μM mdivi-1 grubu p-AKT ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,007$).

Dynasore uygulanan gruplarda ise bulunan tek anlamlı fark yüksek glukoz K ile yüksek glukoz 100 μM dynasore grubundadır ($p = 0,025$).

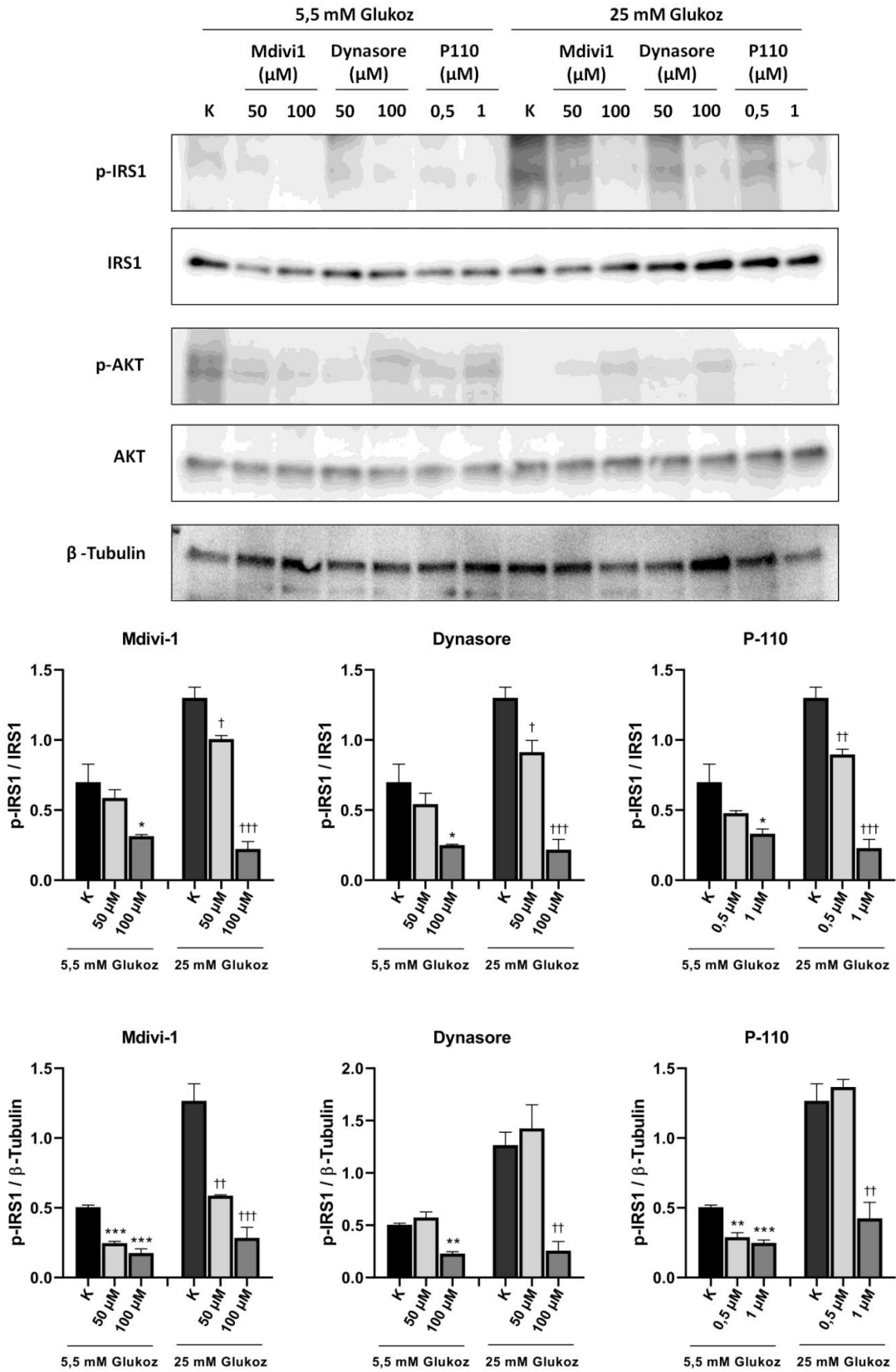
P-110 uygulanan gruplarda anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

Tespit edilen p-AKT/ β -Tubulin ekspresyonları normal glukoz gruplarından K grubunda $1,049 \pm 0,154$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,887 \pm 0,091$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,898 \pm 0,060$, 50 μM dynasore grubunda $0,844 \pm 0,029$, 100 μM dynasore grubunda $1,092 \pm 0,096$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,819 \pm 0,051$ ve 1 μM p-110 grubunda $0,951 \pm 0,032$ dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $0,569 \pm 0,072$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,485 \pm 0,022$, 100 μM mdivi-1 grubunda $1,225 \pm 0,202$, 50 μM dynasore grubunda $0,695 \pm 0,020$, 100 μM dynasore grubunda $0,722 \pm 0,030$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,638 \pm 0,037$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $1,012 \pm 0,083$ olarak belirlenmiştir (Şekil 30).

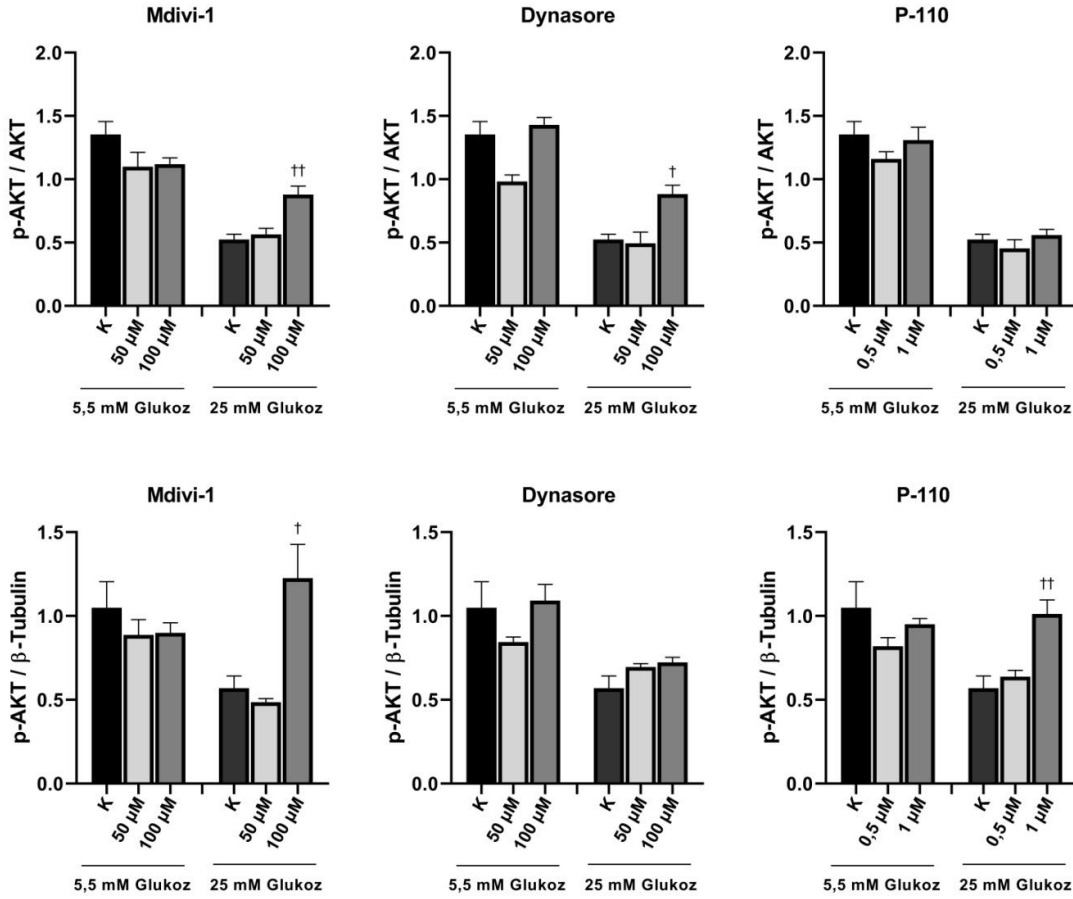
Mdivi-1 uygulanan gruplarda, yüksek glukoz 100 μM mdivi-1 grubu p-AKT ekspresyonu, yüksek glukoz K grubundan anlamlı derecede yüksektir ($p = 0,023$).

Dynasore uygulanan gruplar arasında herhangi bir fark tespit edilmemiştir.

P-110 uygulanan gruplarda ise yüksek glukoz 1 μM p-110 grubunda yüksek glukoz K grubuna göre artmış bir p-AKT ekspresyonu saptanmıştır ($p = 0,008$).



Şekil 30. Fiyon inhibitörlerinin insülin sinyali proteinlerine etkisi (insülin uygulanmayan gruplar).



Şekil 30. Fisyon inhibitörlerinin insülin sinyali proteinlerine etkisi (insülin uygulanmayan gruplar) (Devamı).

Aynı belirteçler için deney, inhibitör uygulamasının ardından tüm gruplara 20 dk 100 nM insülin uygulanarak tekrarlanmıştır. İnsülin uygulanan gruplarda belirteçler aynı şekilde; p-IRS1 (s323), IRS1' e ve β-Tubuline göre ayrıca p-AKT (s473) ise AKT' ye ve β-Tubuline göre normalize edilmiştir. Değerler ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. Şekillerde anlamlı farklar $***p < 0,001$, $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ normal glukoz kontrol grubuna karşı, $†††p < 0,001$, $††p < 0,01$, $†p < 0,05$ ise yüksek glukoz kontrol grubuna karşı olacak şekilde gösterilmiştir.

Tespit edilen p-IRS1/IRS1 ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,408 \pm 0,175$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,981 \pm 0,027$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,234 \pm 0,035$, 50 μM dynasore grubunda $0,926 \pm 0,116$, 100 μM dynasore grubunda $0,715 \pm 0,021$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,498 \pm 0,025$ ve 1 μM p-110 grubunda $0,185 \pm 0,021$ ' dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,974 \pm 0,102$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,345 \pm 0,032$,

100 µM mdivi-1 grubunda $0,557 \pm 0,043$, 50 µM dynasore grubunda $1,605 \pm 0,103$, 100 µM dynasore grubunda $0,629 \pm 0,029$, 0,5 µM p-110 grubunda $1,113 \pm 0,103$ ve 1 µM p-110 grubunda ise $0,798 \pm 0,055$ olarak belirlenmiştir (Şekil 31).

Normal glukoz gruplarından K grubu ile 50 µM mdivi-1 grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Fakat 100 µM mdivi-1 grubunda K grubuna göre p-IRS1 ekspresyonu anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 50 µM mdivi-1 grubu, K grubundan düşük olarak tespit edilmiştir ($p = 0,0014$). Aynı şekilde 100 µM mdivi-1 grubunda da K grubuna göre azalmış bir p-IRS1 ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından K grubu ile 50 µM dynasore grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Fakat 100 µM dynasore grubunda K grubuna göre p-IRS1 ekspresyonu anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,016$). Yüksek glukoz gruplarından 50 µM dynasore grubu ile K grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Fakat 100 µM dynasore grubunda K grubuna göre azalmış bir p-IRS1 ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 µM p-110 grubunda K grubuna göre azalmış bir p-IRS1 ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,002$). Aynı şekilde 1 µM p-110 grubunda da p-IRS1 ekspresyonu K grubundan düşüktür ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 µM p-110 grubu, K grubundan düşük olarak tespit edilmiştir ($p = 0,0012$). Benzer şekilde 1 µM p-110 grubunda da p-IRS1 ekspresyonu K grubundan düşüktür ($p < 0,001$).

Tespit edilen p-IRS1/β-Tubulin ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,417 \pm 0,055$, 50 µM mdivi-1 grubunda $0,805 \pm 0,093$, 100 µM mdivi-1 grubunda $0,232 \pm 0,043$, 50 µM dynasore grubunda $0,601 \pm 0,048$, 100 µM dynasore grubunda $0,691 \pm 0,042$, 0,5 µM p-110 grubunda $0,629 \pm 0,067$ ve 1 µM p-110 grubunda $0,195 \pm 0,034$ tür. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,925 \pm 0,126$, 50 µM mdivi-1 grubunda $1,817 \pm 0,158$, 100 µM mdivi-1 grubunda $0,989 \pm 0,084$, 50 µM dynasore grubunda $1,871 \pm 0,124$, 100 µM dynasore grubunda $0,694 \pm 0,081$, 0,5 µM p-110 grubunda $0,744 \pm 0,034$ ve 1 µM p-110 grubunda ise $0,722 \pm 0,033$ olarak belirlenmiştir (Şekil 31).

Normal glukoz gruplarından 50 µM mdivi-1 grubu K grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p = 0,0017$). Benzer biçimde 100 µM mdivi-1 grubunda K grubuna göre p-IRS1 ekspresyonu anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 50 µM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Tersine, 100 µM mdivi-1 grubunda K grubuna göre azalmış bir p-IRS1 ekspresyonu saptanmıştır ($p = 0,005$).

Normal glukoz gruplarından 50 µM dynasore grubunda K grubundan anlamlı derecede düşük p-IRS1 ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$). Aynı şekilde 100 µM dynasore grubu K grubuna göre anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 50 µM dynasore grubu ile K grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Fakat 100 µM dynasore grubunda K grubuna göre azalmış bir p-IRS1 ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 µM p-110 grubunda K grubuna göre azalmış bir p-IRS1 ekspresyonu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Aynı şekilde 1 µM p-110 grubunda da p-IRS1 ekspresyonu K grubundan düşüktür ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 µM p-110 grubu, K grubundan düşük olarak tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Benzer şekilde 1 µM p-110 grubunda da p-IRS1 ekspresyonu K grubundan düşüktür ($p < 0,001$).

Tespit edilen p-AKT/AKT ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $0,859 \pm 0,041$, 50 µM mdivi-1 grubunda $1,000 \pm 0,079$, 100 µM mdivi-1 grubunda $1,040 \pm 0,071$, 50 µM dynasore grubunda $0,815 \pm 0,092$, 100 µM dynasore grubunda $2,728 \pm 0,108$, 0,5 µM p-110 grubunda $1,857 \pm 0,128$ ve 1 µM p-110 grubunda $2,634 \pm 0,299$ dur. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $0,251 \pm 0,024$, 50 µM mdivi-1 grubunda $0,976 \pm 0,170$, 100 µM mdivi-1 grubunda $1,410 \pm 0,060$, 50 µM dynasore grubunda $0,373 \pm 0,031$, 100 µM dynasore grubunda $0,701 \pm 0,041$, 0,5 µM p-110 grubunda $0,225 \pm 0,014$ ve 1 µM p-110 grubunda ise $1,209 \pm 0,074$ olarak belirlenmiştir (Şekil 31).

Normal glukoz gruplarından K grubu ile 50 µM mdivi-1 grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Benzer şekilde K grubu ile 100 µM mdivi-1 grubu arasında da herhangi bir fark yoktur. Yüksek glukoz gruplarında ise 50 µM mdivi-1 grubu K grubundan anlamlı derecede fazladır ($p = 0,006$). Aynı şekilde 100 µM mdivi-1 grubu p-AKT ekspresyonu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından K grubu ile 50 µM dynasore grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Fakat 100 µM dynasore grubunda K grubuna göre artmış bir p-AKT ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 50 µM dynasore grubu ile K grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Fakat 100 µM dynasore grubunda K grubuna göre artmış bir p-AKT ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 µM p-110 grubu K grubundan anlamlı derecede yüksektir ($p = 0,022$). Benzer şekilde 1 µM p-110 grubunda da p-AKT ekspresyonu K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,0014$). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 µM

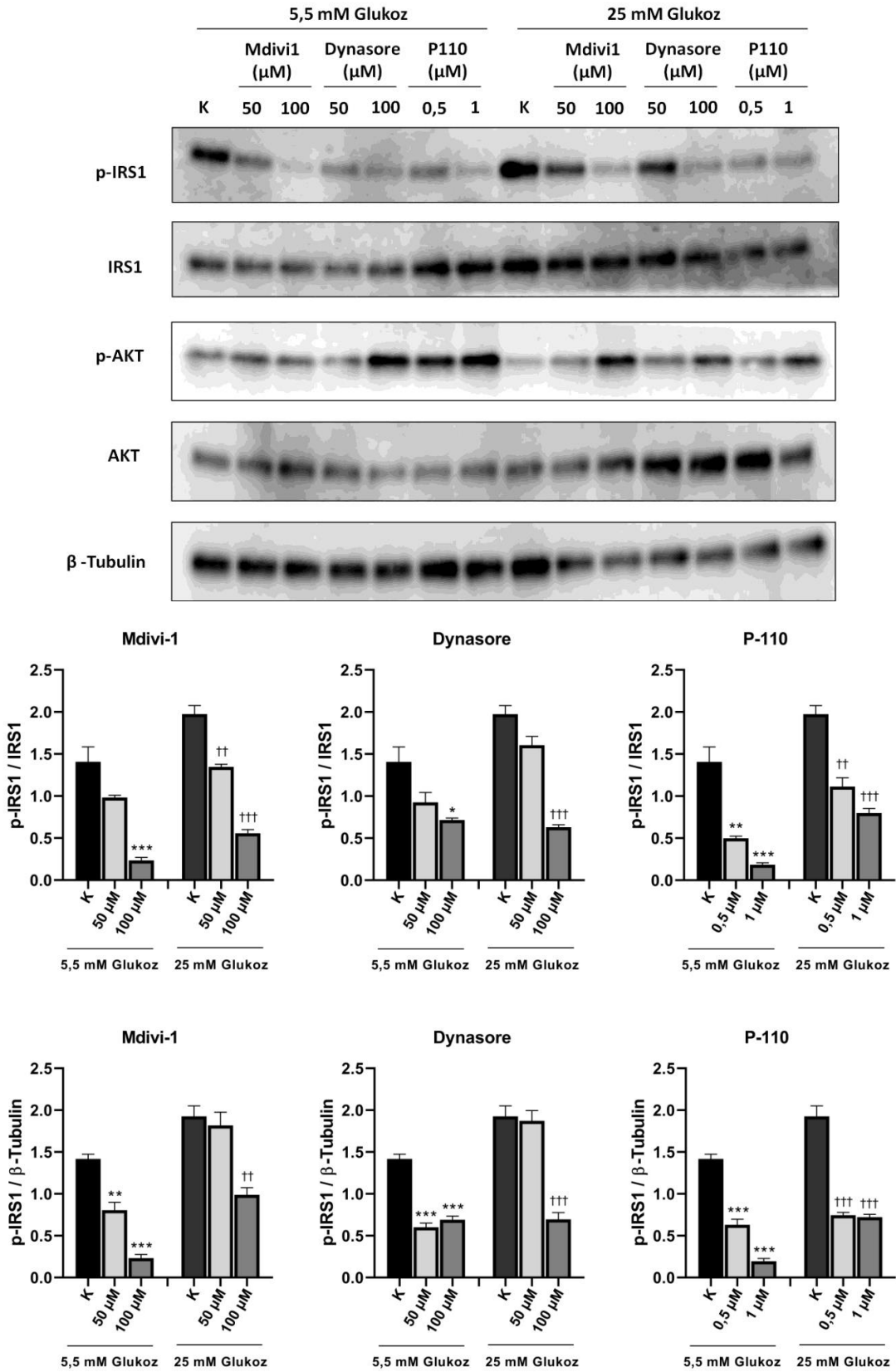
p-110 grubu ile K grubu arasında anlamlı bir fark yoktur. Aksine 1 μ M p-110 grubunda p-AKT ekspresyonu K grubuna göre anlamlı derecede yüksektir ($p < 0,001$).

Tespit edilen p-AKT/ β -Tubulin ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $0,541 \pm 0,044$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $0,974 \pm 0,015$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $0,986 \pm 0,031$, 50 μ M dynasore grubunda $0,659 \pm 0,026$, 100 μ M dynasore grubunda $1,894 \pm 0,088$, 0,5 μ M p-110 grubunda $0,918 \pm 0,036$ ve 1 μ M p-110 grubunda $1,872 \pm 0,080$ dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $0,135 \pm 0,011$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $0,961 \pm 0,090$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $2,465 \pm 0,137$, 50 μ M dynasore grubunda $0,638 \pm 0,075$, 100 μ M dynasore grubunda $1,562 \pm 0,055$, 0,5 μ M p-110 grubunda $0,416 \pm 0,036$ ve 1 μ M p-110 grubunda ise $1,445 \pm 0,072$ olarak belirlenmiştir (Şekil 31).

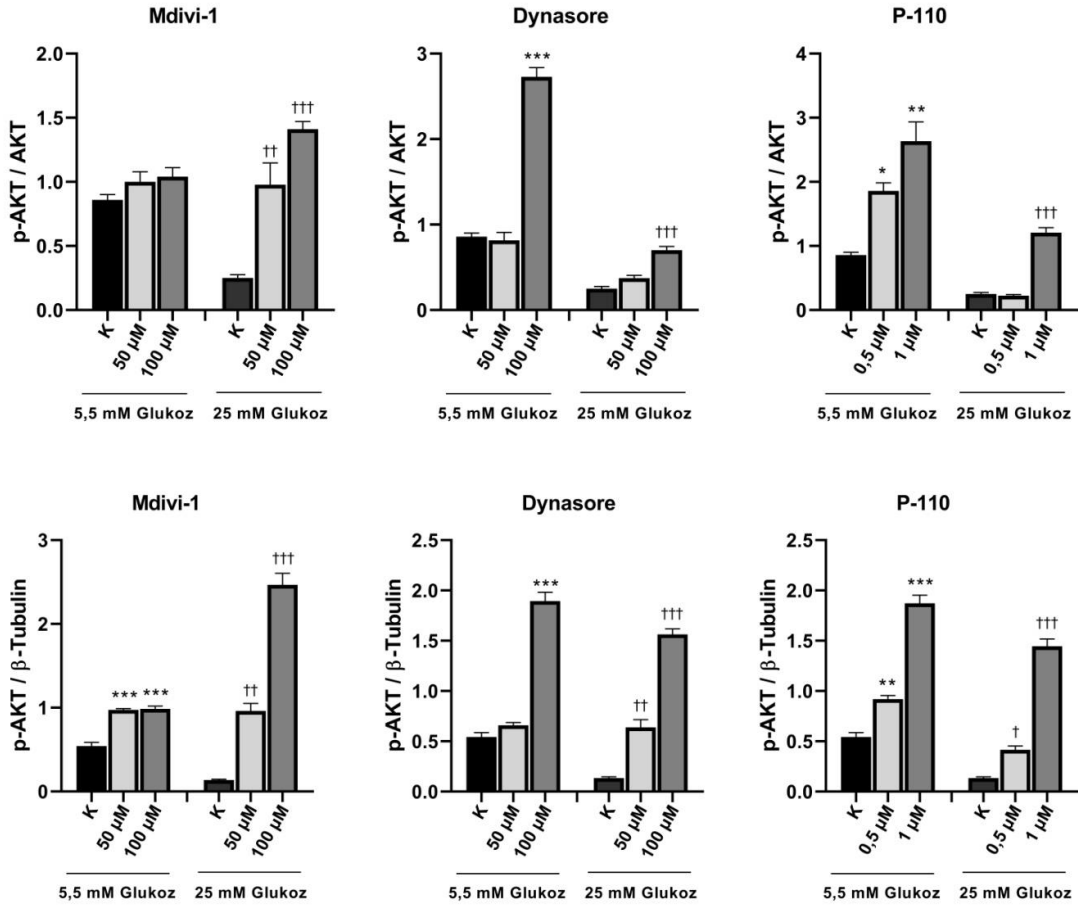
Normal glukoz gruplarından 50 μ M mdivi-1 grubu K grubundan anlamlı derecede yüksektir ($p < 0,001$). Benzer biçimde 100 μ M mdivi-1 grubunda K grubuna göre p-AKT ekspresyonu anlamlı derecede artmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarında ise 50 μ M mdivi-1 grubu K grubundan anlamlı derecede fazladır ($p = 0,002$). Aynı şekilde 100 μ M mdivi-1 grubu p-AKT ekspresyonu da K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından K grubu ile 50 μ M dynasore grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Fakat 100 μ M dynasore grubunda K grubuna göre artmış bir p-AKT ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μ M dynasore grubu K grubundan anlamlı derecede fazladır ($p = 0,0015$). Aynı şekilde 100 μ M dynasore grubunda da K grubuna göre artmış bir p-AKT ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μ M p-110 grubu K grubundan anlamlı derecede yüksektir ($p = 0,008$). Benzer şekilde 1 μ M p-110 grubunda da p-AKT ekspresyonu K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μ M p-110 grubu K grubundan anlamlı derecede yüksektir ($p = 0,013$). Aynı şekilde 1 μ M p-110 grubunda p-AKT ekspresyonu K grubuna göre anlamlı derecede yüksektir ($p < 0,001$).



Şekil 31. Fisyon inhibitörlerinin insülin sinyali proteinlerine etkisi (insülin uygulanan gruplar).



Şekil 31. Fisyon inhibitörlerinin insülin sinyali proteinlerine etkisi (insülin uygulanan gruplar) (Devamı).

4.4.4. Fisyon İnhibitörlerinin Otofaji Proteinlerine Etkisi

48 saatlik normal / yüksek glukoz ortamında tutulan trofoblast hücrelerine fisyon inhibitörlerinin uygulanması sonucu oluşan otofaji belirteçlerinden BECLIN1, β -Tubuline göre normalize edilmiştir. Ayrıca LC3-II / LC3-I oranları her grup için belirlenmiştir. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. Şekillerde anlamlı farklar $***p < 0,001$, $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ normal glukoz kontrol grubuna karşı, $†††p < 0,001$, $††p < 0,01$, $†p < 0,05$ ise yüksek glukoz kontrol grubuna karşı olacak şekilde gösterilmiştir.

Tespit edilen LC3 II / LC3 I ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $0,829 \pm 0,048$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $0,825 \pm 0,077$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $0,777 \pm 0,052$, 50 μ M dynasore grubunda $0,799 \pm 0,041$, 100 μ M dynasore grubunda $0,758 \pm 0,041$,

0,5 µM p-110 grubunda $0,774 \pm 0,099$ ve 1 µM p-110 grubunda $0,689 \pm 0,053$ tür. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,061 \pm 0,084$, 50 µM mdivi-1 grubunda $1,009 \pm 0,101$, 100 µM mdivi-1 grubunda $0,701 \pm 0,058$, 50 µM dynasore grubunda $0,960 \pm 0,095$, 100 µM dynasore grubunda $0,788 \pm 0,019$, 0,5 µM p-110 grubunda $0,842 \pm 0,023$ ve 1 µM p-110 grubunda ise $0,727 \pm 0,029$ olarak belirlenmiştir (Şekil 32).

Mdivi-1 uygulanan gruplarda K gruplarına göre, hem normal hem de yüksek glukoz ortamında LC3 II ekspresyonlarında mdivi-1 dozu arttıkça bir azalma olduğu fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Aynı şekilde dynasore uygulanan gruplarda da hem normal glukoz hem de yüksek glukoz gruplarında dynasore dozu arttıkça LC3 II ekspresyonunda bir azalma olduğu fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir.

P-110 uygulanan gruplarda normal glukoz ortamında K grubuna göre anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Fakat yüksek glukoz grubu 1 µM p-110 grubunda K grubuna göre anlamlı olarak azalmış bir LC3 II ekspresyonu saptanmıştır ($p = 0,0105$).

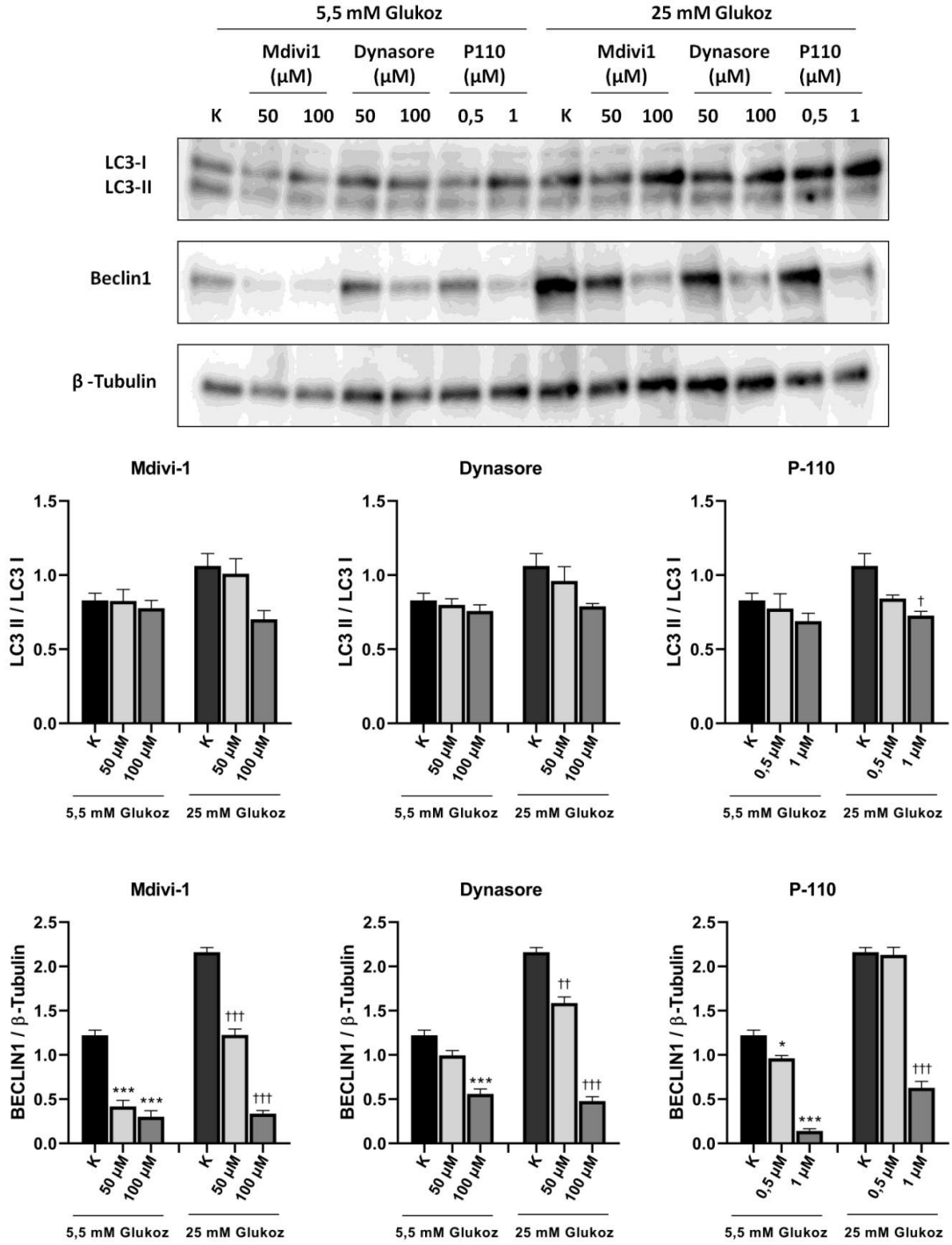
Tespit edilen BECLIN1 / β -Tubulin ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,221 \pm 0,059$, 50 µM mdivi-1 grubunda $0,417 \pm 0,068$, 100 µM mdivi-1 grubunda $0,301 \pm 0,067$, 50 µM dynasore grubunda $0,995 \pm 0,052$, 100 µM dynasore grubunda $0,558 \pm 0,056$, 0,5 µM p-110 grubunda $0,961 \pm 0,030$ ve 1 µM p-110 grubunda $0,139 \pm 0,026$ dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $2,161 \pm 0,052$, 50 µM mdivi-1 grubunda $1,226 \pm 0,065$, 100 µM mdivi-1 grubunda $0,336 \pm 0,035$, 50 µM dynasore grubunda $1,586 \pm 0,069$, 100 µM dynasore grubunda $0,478 \pm 0,048$, 0,5 µM p-110 grubunda $2,129 \pm 0,085$ ve 1 µM p-110 grubunda ise $0,628 \pm 0,072$ olarak belirlenmiştir (Şekil 32).

Normal glukoz gruplarından 50 µM mdivi-1 grubu, K grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,001$). Benzer biçimde 100 µM mdivi-1 grubunda K grubuna göre BECLIN1 ekspresyonu anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarında da aynı şekilde 50 µM ve 100 µM mdivi-1 grupları K grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 50 µM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Fakat 100 µM dynasore grubu BECLIN1 ekspresyonu, K grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 50 µM dynasore grubunda K grubuna göre azalmış bir BECLIN1 ekspresyonu tespit edilmiştir ($p = 0,001$).

Aynı şekilde 100 μM dynasore grubunda da K grubuna kıyasla daha düşük olarak belirlenmiştir ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu, K grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,010$). Benzer biçimde 1 μM p-110 grubunda K grubuna göre BECLIN1 ekspresyonu anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Aksine 1 μM p-110 grubunda K grubuna göre düşük bir BECLIN1 ekspresyonu saptanmıştır ($p < 0,001$).



Şekil 32. Fisyon inhibitörlerinin otofaji proteinlerine etkisi.

4.5. Trofoblast Hücrelerinde mRNA Ekspresyonları

Trofoblast hücrelerinde saptanan mRNA ekspresyonları β -aktine göre normalize edilmiş, normal glukoz kontrol grubuna göre göreceli kat değişimleri şeklinde verilmiştir.

Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. Şekillerde anlamlı farklar $***p < 0,001$, $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ normal glukoz kontrol grubuna karşı, $†††p < 0,001$, $††p < 0,01$, $†p < 0,05$ ise yüksek glukoz kontrol grubuna karşı olacak şekilde gösterilmiştir.

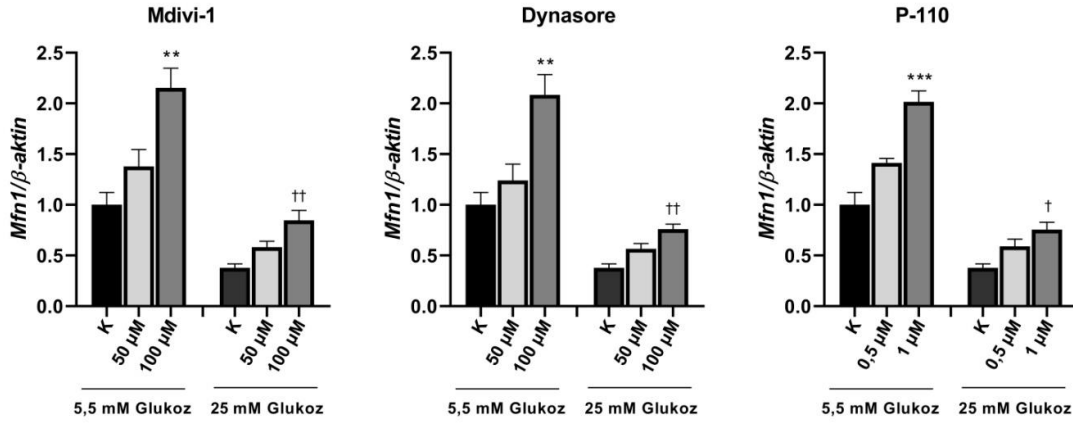
4.5.1. Fisyon İnhibitörlerinin Füzyon Belirteçleri mRNA Ekspresyonlarına Etkisi

Trofoblast göreceli *Mfn1* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,121$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,377 \pm 0,168$, 100 μM mdivi-1 grubunda $2,153 \pm 0,194$, 50 μM dynasore grubunda $1,241 \pm 0,158$, 100 μM dynasore grubunda $2,084 \pm 0,201$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,414 \pm 0,043$ ve 1 μM p-110 grubunda $2,015 \pm 0,109$ dur. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $0,377 \pm 0,041$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,581 \pm 0,058$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,846 \pm 0,099$, 50 μM dynasore grubunda $0,565 \pm 0,076$, 100 μM dynasore grubunda $0,760 \pm 0,049$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,590 \pm 0,071$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $0,755 \pm 0,072$ olarak belirlenmiştir (Şekil 33).

Normal glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μM mdivi-1 grubunda K grubuna göre artmış bir *Mfn1* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,006$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Fakat 100 μM mdivi-1 grubu *Mfn1* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,008$).

Normal glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μM dynasore grubunda K grubuna göre artmış bir *Mfn1* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,008$). Yüksek glukoz gruplarında aynı şekilde 50 μM dynasore ile K grubu arasında herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Fakat 100 μM dynasore grubu *Mfn1* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,003$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 1 μM p-110 grubunda K grubuna göre artmış bir *Mfn1* ekspresyonu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Yüksek glukoz gruplarında aynı şekilde 0,5 μM p-110 ile K grubu arasında herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Fakat 1 μM p-110 grubu *Mfn1* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,013$).



Şekil 33. Fisyon inhibitörlerinin *Mfn1* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

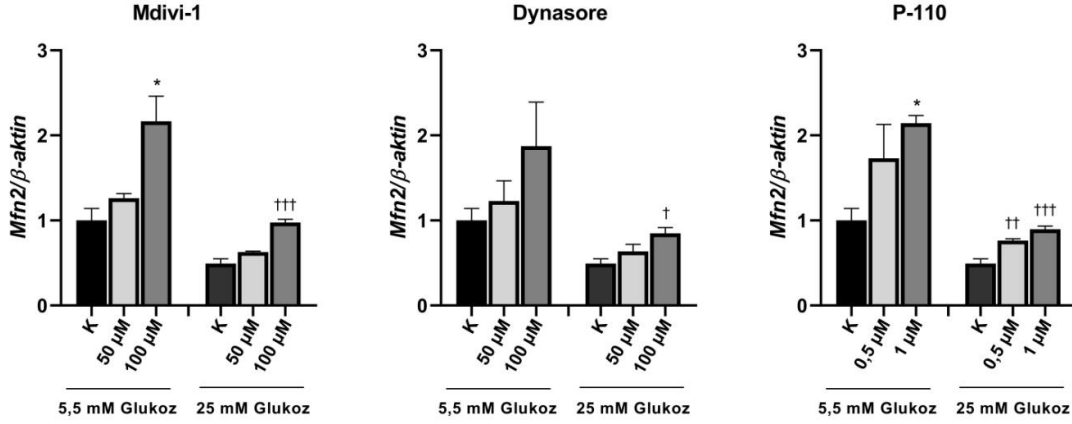
Trofoblast göreceli *Mfn2* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,140$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,262 \pm 0,055$, 100 μM mdivi-1 grubunda $2,167 \pm 0,292$, 50 μM dynasore grubunda $1,229 \pm 0,236$, 100 μM dynasore grubunda $1,873 \pm 0,518$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,731 \pm 0,396$ ve 1 μM p-110 grubunda $2,145 \pm 0,089$ ' dur. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $0,494 \pm 0,054$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,628 \pm 0,010$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,976 \pm 0,037$, 50 μM dynasore grubunda $0,637 \pm 0,082$, 100 μM dynasore grubunda $0,849 \pm 0,065$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,762 \pm 0,020$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $0,896 \pm 0,038$ olarak belirlenmiştir (Şekil 34).

Normal glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μM mdivi-1 grubunda K grubuna göre artmış bir *Mfn2* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,011$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Fakat 100 μM mdivi-1 grubu *Mfn2* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aynı şekilde 100 μM dynasore grubu ile K grubu arasında da herhangi bir fark yoktur. Yüksek glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Fakat 100 μM dynasore grubu *Mfn2* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,024$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 1 μM p-110 grubunda K grubuna göre artmış bir *Mfn2* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,039$). Yüksek glukoz gruplarında *Mfn2* ekspresyonu hem

0,5 μM p-110 grubunda ($p = 0,007$) hem de 1 μM p-110 grubunda K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p < 0,001$).



Şekil 34. Fisyon inhibitörlerinin *Mfn2* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

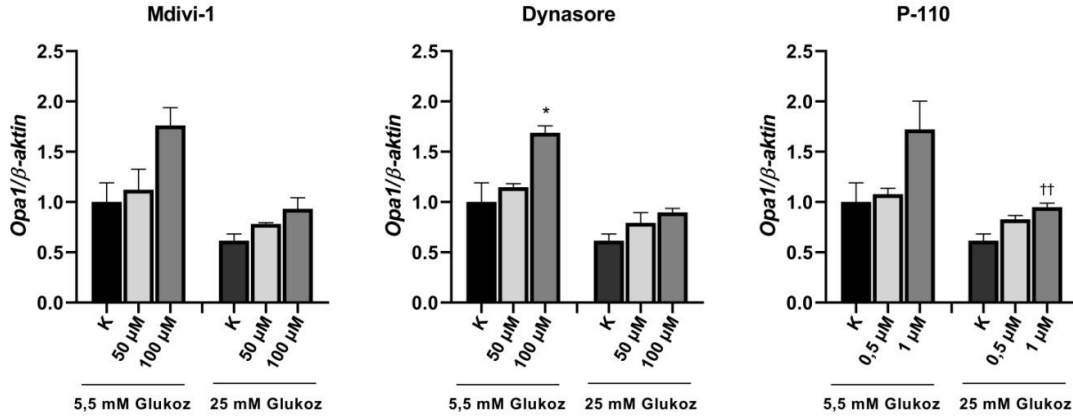
Trofoblast göreceli *Opal* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,190$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,122 \pm 0,204$, 100 μM mdivi-1 grubunda $1,760 \pm 0,178$, 50 μM dynasore grubunda $1,147 \pm 0,034$, 100 μM dynasore grubunda $1,689 \pm 0,068$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,079 \pm 0,057$ ve 1 μM p-110 grubunda $1,721 \pm 0,282$ dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $0,615 \pm 0,067$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,782 \pm 0,012$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,932 \pm 0,109$, 50 μM dynasore grubunda $0,792 \pm 0,895$, 100 μM dynasore grubunda $0,102 \pm 0,041$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,827 \pm 0,037$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $0,948 \pm 0,039$ olarak belirlenmiştir (Şekil 35).

Normal glukoz gruplarından hem 50 μM mdivi-1 grubu hem de 100 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Yüksek glukoz gruplarından hem 50 μM mdivi-1 grubu hem de 100 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında da anlamlı bir fark yoktur.

Normal glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μM dynasore grubunda K grubuna göre artmış bir *Opal* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,014$). Yüksek glukoz gruplarından hem 50 μM dynasore grubu hem de 100 μM dynasore grubu ile K grubu arasında da anlamlı bir fark yoktur.

Normal glukoz gruplarından hem 0,5 μM p-110 grubu hem de 1 μM p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μM p-

110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. 1 μ M p-110 grubu *Opa1* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede fazladır ($p = 0,007$).



Şekil 35. Fisyon inhibitörlerinin *Opa1* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

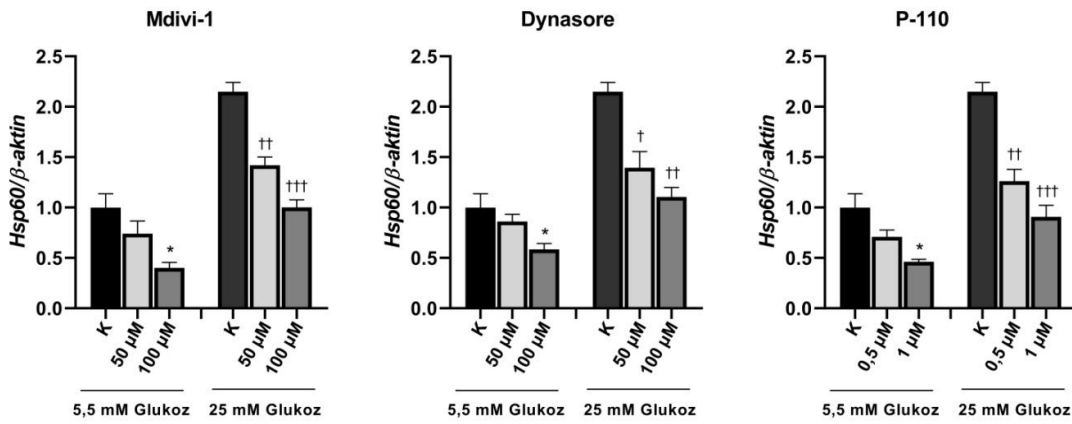
4.5.2. Fisyon İnhibitörlerinin mtUPR Belirteçleri mRNA Ekspresyonlarına Etkisi

Trofoblast göreceli *Hsp60* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,136$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $0,740 \pm 0,124$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $0,401 \pm 0,054$, 50 μ M dynasore grubunda $0,861 \pm 0,071$, 100 μ M dynasore grubunda $0,583 \pm 0,060$, 0,5 μ M p-110 grubunda $0,708 \pm 0,066$ ve 1 μ M p-110 grubunda $0,461 \pm 0,025$ dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $2,148 \pm 0,091$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $1,419 \pm 0,082$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $1,000 \pm 0,075$, 50 μ M dynasore grubunda $1,394 \pm 0,160$, 100 μ M dynasore grubunda $1,105 \pm 0,093$, 0,5 μ M p-110 grubunda $1,262 \pm 0,116$ ve 1 μ M p-110 grubunda ise $0,908 \pm 0,113$ olarak belirlenmiştir (Şekil 36).

Normal glukoz gruplarından 50 μ M mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μ M mdivi-1 grubunda K grubuna göre azalmış bir *Hsp60* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,020$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μ M mdivi-1 grubunda K grubuna göre anlamlı derecede düşük bir *Hsp60* ekspresyonu vardır ($p = 0,002$). Aynı şekilde 100 μ M mdivi-1 grubu *Hsp60* ekspresyonları da K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μM dynasore grubunda K grubuna göre azalmış bir *Hsp60* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,048$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubunda K grubuna göre anlamlı derecede düşük bir *Hsp60* ekspresyonu vardır ($p = 0,010$). Aynı şekilde 100 μM dynasore grubu *Hsp60* ekspresyonları da K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,002$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 1 μM p-110 grubunda K grubuna göre azalmış bir *Hsp60* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,012$). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubunda K grubuna göre anlamlı derecede düşük bir *Hsp60* ekspresyonu vardır ($p = 0,002$). Aynı şekilde 1 μM p-110 grubu *Hsp60* ekspresyonları da K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0,001$).



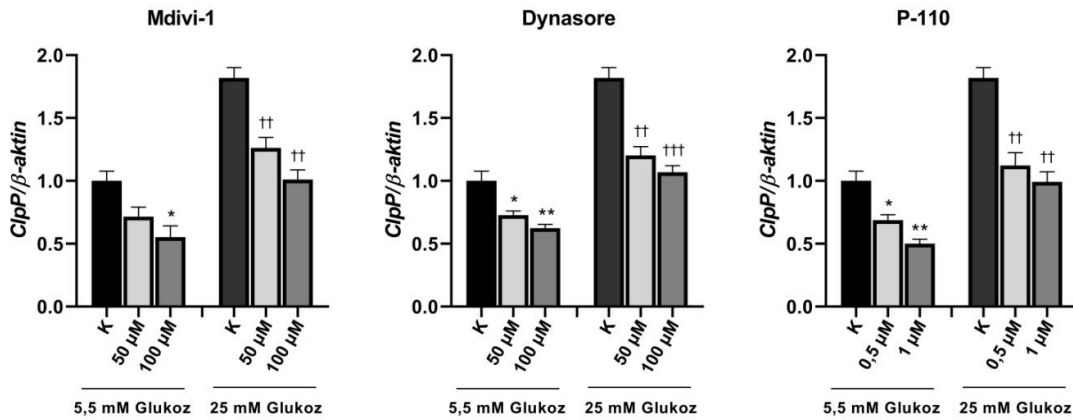
Şekil 36. Fisyon inhibitörlerinin *Hsp60* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

Trofoblast göreceli *ClpP* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,077$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,715 \pm 0,076$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,552 \pm 0,090$, 50 μM dynasore grubunda $0,728 \pm 0,032$, 100 μM dynasore grubunda $0,624 \pm 0,030$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,687 \pm 0,043$ ve 1 μM p-110 grubunda $0,500 \pm 0,034$ ’dür. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,818 \pm 0,082$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,262 \pm 0,084$, 100 μM mdivi-1 grubunda $1,010 \pm 0,076$, 50 μM dynasore grubunda $1,203 \pm 0,069$, 100 μM dynasore grubunda $1,070 \pm 0,051$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,122 \pm 0,102$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $0,993 \pm 0,079$ olarak belirlenmiştir (Şekil 37).

Normal glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μM mdivi-1 grubunda K grubuna göre azalmış bir *ClpP* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,019$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubunda K grubuna göre anlamlı derecede düşük bir *ClpP* ekspresyonu vardır ($p = 0,007$). Aynı şekilde 100 μM mdivi-1 grubu *ClpP* ekspresyonları da K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu K grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p = 0,022$). Benzer biçimde 100 μM dynasore grubunda K grubuna göre azalmış bir *ClpP* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,005$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubunda K grubuna göre anlamlı derecede düşük bir *ClpP* ekspresyonu vardır ($p = 0,002$). Aynı şekilde 100 μM dynasore grubu *ClpP* ekspresyonları da K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu K grubundan anlamlı derecede düşüktür ($p = 0,016$). Benzer biçimde 1 μM p-110 grubunda K grubuna göre azalmış bir *ClpP* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,0016$). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubunda K grubuna göre anlamlı derecede düşük bir *ClpP* ekspresyonu vardır ($p = 0,003$). Aynı şekilde 1 μM p-110 grubu *ClpP* ekspresyonları da K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,0014$).



Şekil 37. Fisyon inhibitörlerinin *ClpP* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

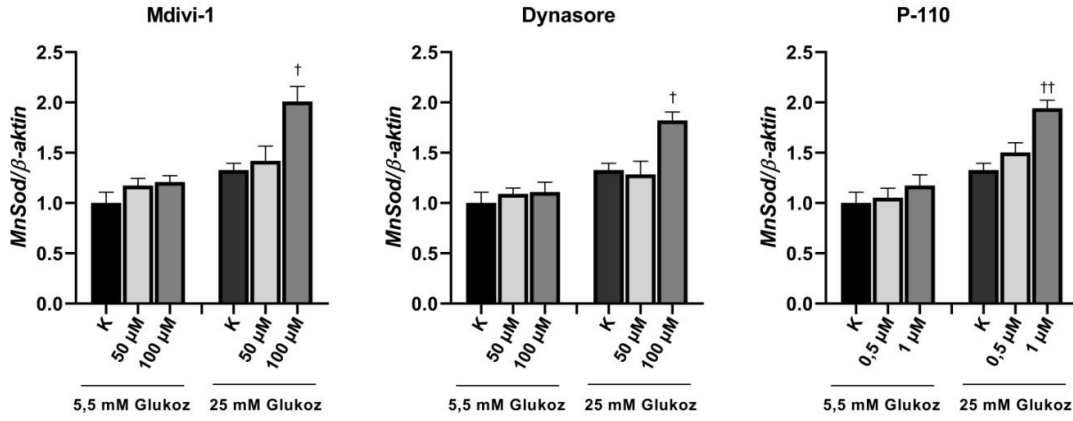
4.5.3. Fisyon İnhibitörlerinin Mitokondriyal Antioksidan Enzim mRNA Ekspresyonlarına Etkisi

Trofoblast göreceli *MnSod* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,107$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,173 \pm 0,070$, 100 μM mdivi-1 grubunda $1,210 \pm 0,062$, 50 μM dynasore grubunda $1,090 \pm 0,059$, 100 μM dynasore grubunda $1,109 \pm 0,098$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,054 \pm 0,092$ ve 1 μM p-110 grubunda $1,173 \pm 0,105$ dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,329 \pm 0,065$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,420 \pm 0,146$, 100 μM mdivi-1 grubunda $2,009 \pm 0,149$, 50 μM dynasore grubunda $1,284 \pm 0,131$, 100 μM dynasore grubunda $1,822 \pm 0,082$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,504 \pm 0,095$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $1,942 \pm 0,079$ olarak belirlenmiştir (Şekil 38).

Normal glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aynı şekilde 100 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında da anlamlı bir fark yoktur. Yüksek glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. 100 μM mdivi-1 grubu *MnSod* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,020$).

Normal glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aynı şekilde 100 μM dynasore grubu ile K grubu arasında da anlamlı bir fark yoktur. Yüksek glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. 100 μM dynasore grubu *MnSod* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,027$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aynı şekilde 1 μM p-110 grubu ile K grubu arasında da anlamlı bir fark yoktur. Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. 1 μM p-110 grubu *MnSod* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,004$).



Şekil 38. Fisyon inhibitörlerinin *MnSod* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

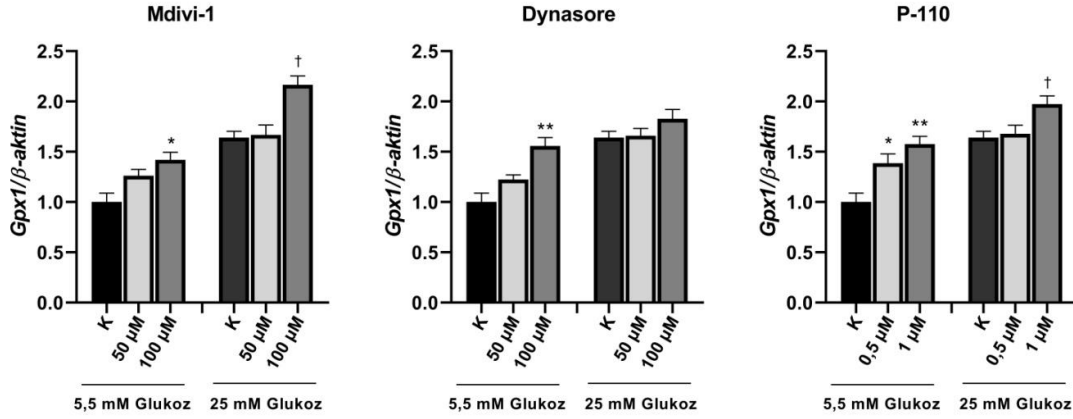
Trofoblast göreceli *Gpx1* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,089$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,261 \pm 0,062$, 100 μM mdivi-1 grubunda $1,419 \pm 0,075$, 50 μM dynasore grubunda $1,225 \pm 0,045$, 100 μM dynasore grubunda $1,557 \pm 0,082$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,387 \pm 0,090$ ve 1 μM p-110 grubunda $1,576 \pm 0,077$ dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,640 \pm 0,063$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,668 \pm 0,098$, 100 μM mdivi-1 grubunda $2,166 \pm 0,086$, 50 μM dynasore grubunda $1,659 \pm 0,074$, 100 μM dynasore grubunda $1,829 \pm 0,090$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,679 \pm 0,085$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $1,974 \pm 0,079$ olarak belirlenmiştir (Şekil 39).

Normal glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μM mdivi-1 grubu *Gpx1* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,019$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. 100 μM mdivi-1 grubu *Gpx1* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p = 0,010$).

Normal glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. 100 μM dynasore grubunda ise K grubuna göre artmış bir *Gpx1* ekspresyonu belirlenmiştir ($p = 0,004$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. Aynı şekilde 100 μM dynasore grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark yoktur.

Normal glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu *Gpx1* ekspresyonu K grubuna göre anlamlı derecede yüksektir ($p = 0,043$). Aynı şekilde 1 μM p-110 grubunda da K grubuna göre anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p = 0,007$). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μM p-110

grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. 1 μ M p-110 grubu *Gpx1* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (p = 0,049).



Şekil 39. Fisyon inhibitörlerinin *Gpx1* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

4.5.4. Fisyon İnhibitörlerinin Apoptoz Belirteçleri mRNA Ekspresyonlarına Etkisi

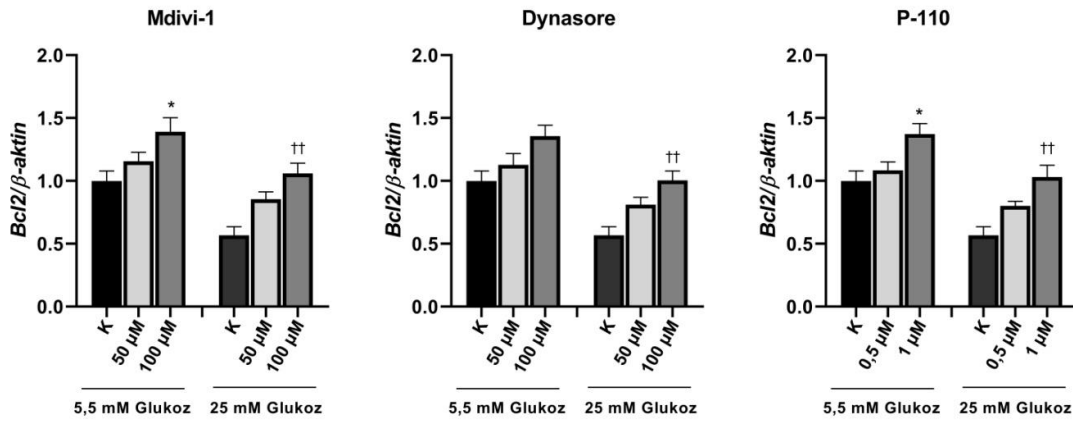
Trofoblast göreceli *Bcl2* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,078$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $1,156 \pm 0,070$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $1,391 \pm 0,110$, 50 μ M dynasore grubunda $1,127 \pm 0,090$, 100 μ M dynasore grubunda $1,355 \pm 0,086$, 0,5 μ M p-110 grubunda $1,083 \pm 0,067$ ve 1 μ M p-110 grubunda $1,372 \pm 0,083$ tür. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $0,566 \pm 0,069$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $0,853 \pm 0,059$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $1,060 \pm 0,081$, 50 μ M dynasore grubunda $0,810 \pm 0,058$, 100 μ M dynasore grubunda $1,005 \pm 0,073$, 0,5 μ M p-110 grubunda $0,801 \pm 0,037$ ve 1 μ M p-110 grubunda ise $1,031 \pm 0,092$ olarak belirlenmiştir (Şekil 40).

Normal glukoz gruplarından 50 μ M mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μ M mdivi-1 grubu *Bcl2* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (p = 0,046). Yüksek glukoz gruplarından 50 μ M mdivi-1 grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. 100 μ M mdivi-1 grubu *Bcl2* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (p = 0,006).

Normal glukoz gruplarından 50 μ M dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aynı şekilde 100 μ M dynasore grubunda da K grubuna göre anlamlı

bir fark yoktur. Yüksek glukoz gruplarından 50 μ M dynasore grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. Fakat 100 μ M dynasore grubu *Bcl2* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (p = 0,009).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μ M p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 1 μ M p-110 grubu *Bcl2* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (p = 0,032). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μ M p-110 grubu ile K grubu arasında da herhangi bir anlamlı fark tespit edilmemiştir. 1 μ M p-110 grubu *Bcl2* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (p = 0,008).



Şekil 40. Fisyon inhibitörlerinin *Bcl2* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

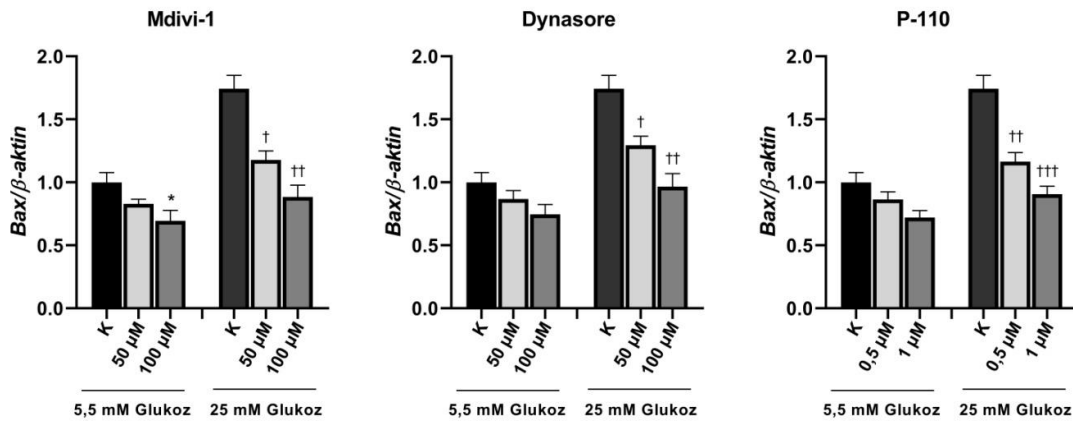
Trofoblast göreceli *Bax* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,077$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $0,828 \pm 0,036$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $0,694 \pm 0,082$, 50 μ M dynasore grubunda $0,867 \pm 0,066$, 100 μ M dynasore grubunda $0,745 \pm 0,078$, 0,5 μ M p-110 grubunda $0,864 \pm 0,059$ ve 1 μ M p-110 grubunda $0,720 \pm 0,055$ tir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,743 \pm 0,106$, 50 μ M mdivi-1 grubunda $1,178 \pm 0,072$, 100 μ M mdivi-1 grubunda $0,884 \pm 0,093$, 50 μ M dynasore grubunda $1,293 \pm 0,072$, 100 μ M dynasore grubunda $0,966 \pm 0,102$, 0,5 μ M p-110 grubunda $1,163 \pm 0,072$ ve 1 μ M p-110 grubunda ise $0,905 \pm 0,063$ olarak belirlenmiştir (Şekil 41).

Normal glukoz gruplarından 50 μ M mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μ M mdivi-1 grubu *Bax* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (p = 0,045). Yüksek glukoz gruplarından 50 μ M mdivi-1 grubunda, K grubundan anlamlı derecede düşük olarak belirlenmiştir (p = 0,011). Aynı

şekilde 100 µM mdivi-1 grubu *Bax* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (p = 0,0014).

Normal glukoz gruplarından 50 µM dynasore grubu ile K grubu arasında ve 100 µM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Yüksek glukoz gruplarından 50 µM dynasore grubunda, K grubundan anlamlı derecede düşük olarak belirlenmiştir (p = 0,035). Aynı şekilde 100 µM dynasore grubu *Bax* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (p = 0,002).

Normal glukoz gruplarından 0,5 µM p-110 grubu ile K grubu arasında ve 1 µM p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Yüksek glukoz gruplarından 0,5 µM p-110 grubunda, K grubundan anlamlı derecede düşük olarak belirlenmiştir (p = 0,006). Aynı şekilde 1 µM p-110 grubunda *Bax* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (p < 0,001).



Şekil 41. Fisyon inhibitörlerinin *Bax* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

4.5.5. Fisyon İnhibitörlerinin *Beclin1* mRNA Ekspresyonuna Etkisi

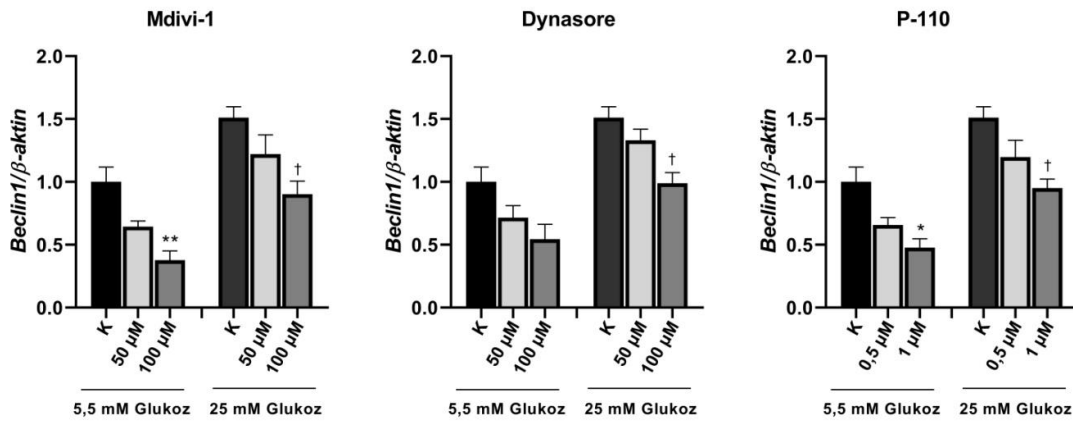
Trofoblast göreceli *Beclin1* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,117$, 50 µM mdivi-1 grubunda $0,644 \pm 0,044$, 100 µM mdivi-1 grubunda $0,378 \pm 0,072$, 50 µM dynasore grubunda $0,715 \pm 0,095$, 100 µM dynasore grubunda $0,544 \pm 0,117$, 0,5 µM p-110 grubunda $0,657 \pm 0,058$ ve 1 µM p-110 grubunda $0,478 \pm 0,070$ dir. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $1,511 \pm 0,086$, 50 µM mdivi-1 grubunda $1,220 \pm 0,153$,

100 μ M mdivi-1 grubunda $0,902 \pm 0,103$, 50 μ M dynasore grubunda $1,331 \pm 0,087$, 100 μ M dynasore grubunda $0,989 \pm 0,085$, 0,5 μ M p-110 grubunda $1,197 \pm 0,132$ ve 1 μ M p-110 grubunda ise $0,950 \pm 0,071$ olarak belirlenmiştir (Şekil 42).

Normal glukoz gruplarından 50 μ M mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 100 μ M mdivi-1 grubu *Beclin1* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,004$). Yüksek glukoz gruplarından 50 μ M mdivi-1 grubu ile K grubu arasında anlamlı bir fark yoktur. Fakat 100 μ M mdivi-1 grubunda tespit edilen *Beclin1* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede düşüktür ($p = 0,024$).

Normal glukoz gruplarından 50 μ M dynasore grubu ile K grubu arasında ve 100 μ M dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Yüksek glukoz gruplarından 50 μ M dynasore grubu ile K grubu arasında anlamlı bir fark yoktur. Aksine 100 μ M dynasore grubu *Beclin1* ekspresyonları ise K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,012$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μ M p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Aksine 1 μ M p-110 grubu grubu *Beclin1* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,012$). Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μ M p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark yoktur. Fakat 1 μ M p-110 grubu grubu *Beclin1* ekspresyonları K grubuna göre anlamlı derecede düşüktür ($p = 0,017$).



Şekil 42. Fisyon inhibitörlerinin *Beclin1* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

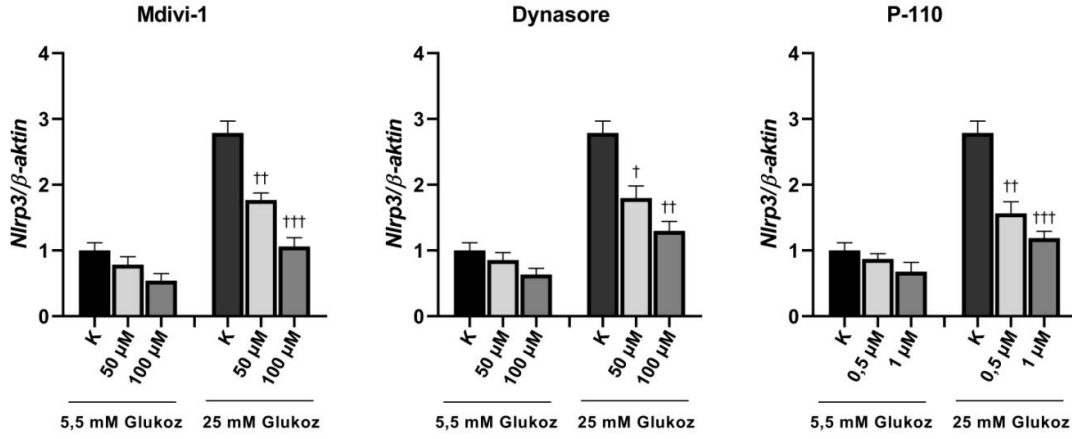
4.5.6. Fisyon İnhibitörlerinin *Nlrp3* İnflamazom mRNA Ekspresyonuna Etkisi

Trofoblast göreceli *Nlrp3* ekspresyonları, normal glukoz gruplarından K grubunda $1,000 \pm 0,117$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,784 \pm 0,119$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,542 \pm 0,106$, 50 μM dynasore grubunda $0,854 \pm 0,112$, 100 μM dynasore grubunda $0,635 \pm 0,092$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,870 \pm 0,080$ ve 1 μM p-110 grubunda $0,678 \pm 0,139$ dur. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $2,789 \pm 0,180$, 50 μM mdivi-1 grubunda $1,768 \pm 0,106$, 100 μM mdivi-1 grubunda $1,063 \pm 0,131$, 50 μM dynasore grubunda $1,800 \pm 0,182$, 100 μM dynasore grubunda $1,299 \pm 0,143$, 0,5 μM p-110 grubunda $1,566 \pm 0,175$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $1,188 \pm 0,102$ olarak belirlenmiştir (Şekil 43).

Normal glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında ve 100 μM mdivi-1 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Yüksek glukoz gruplarından 50 μM mdivi-1 grubu K grubundan anlamlı biçimde azdır ($p = 0,005$). Aynı şekilde 100 μM mdivi-1 grubunda tespit edilen *Nlrp3* ekspresyonları da K grubuna göre anlamlı derecede düşüktür ($p < 0,001$).

Normal glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu ile K grubu arasında ve 100 μM dynasore grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Yüksek glukoz gruplarından 50 μM dynasore grubu K grubundan anlamlı biçimde azdır ($p = 0,014$). Aynı şekilde 100 μM dynasore grubu *Nlrp3* ekspresyonları da K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p = 0,002$).

Normal glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu ile K grubu arasında ve 1 μM p-110 grubu ile K grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Yüksek glukoz gruplarından 0,5 μM p-110 grubu K grubundan anlamlı biçimde azdır ($p = 0,003$). Aynı şekilde 1 μM p-110 grubu *Nlrp3* ekspresyonları da K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0,001$).

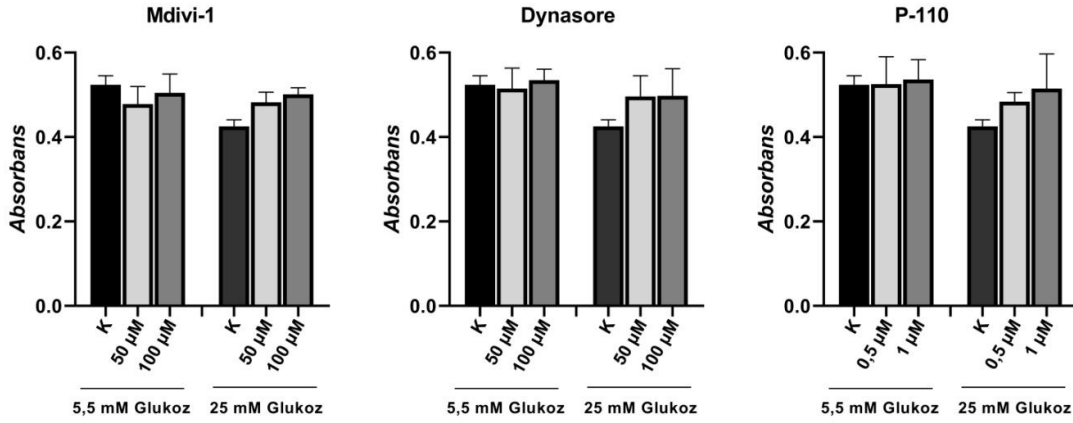


Şekil 43. Fiyon inhibitörlerinin *Nlrp3* mRNA ekspresyonlarına etkisi.

4.6. Fiyon İnhibitörlerinin Hücre Canlılığına Etkisi

Gruplardaki absorbans değerleri ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. Saptanan absorbans değerleri normal glukoz gruplarından K grubunda $0,523 \pm 0,021$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,478 \pm 0,041$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,505 \pm 0,044$, 50 μM dynasore grubunda $0,515 \pm 0,048$, 100 μM dynasore grubunda $0,535 \pm 0,025$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,525 \pm 0,065$ ve 1 μM p-110 grubunda $0,536 \pm 0,046$ dur. Yüksek glukoz gruplarından K grubunda $0,425 \pm 0,015$, 50 μM mdivi-1 grubunda $0,482 \pm 0,023$, 100 μM mdivi-1 grubunda $0,501 \pm 0,015$, 50 μM dynasore grubunda $0,496 \pm 0,049$, 100 μM dynasore grubunda $0,498 \pm 0,063$, 0,5 μM p-110 grubunda $0,483 \pm 0,021$ ve 1 μM p-110 grubunda ise $0,514 \pm 0,082$ olarak belirlenmiştir (Şekil 44).

Yüksek glukoz K grubunda absorbans değerleri normal glukoz K grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (T test, $p = 0,024$). Fakat diğer gruplar arasında herhangi bir anlamlı fark saptanmamıştır.



Şekil 44. Fisyon inhibitörlerinin hücre canlılıklarına etkisi.

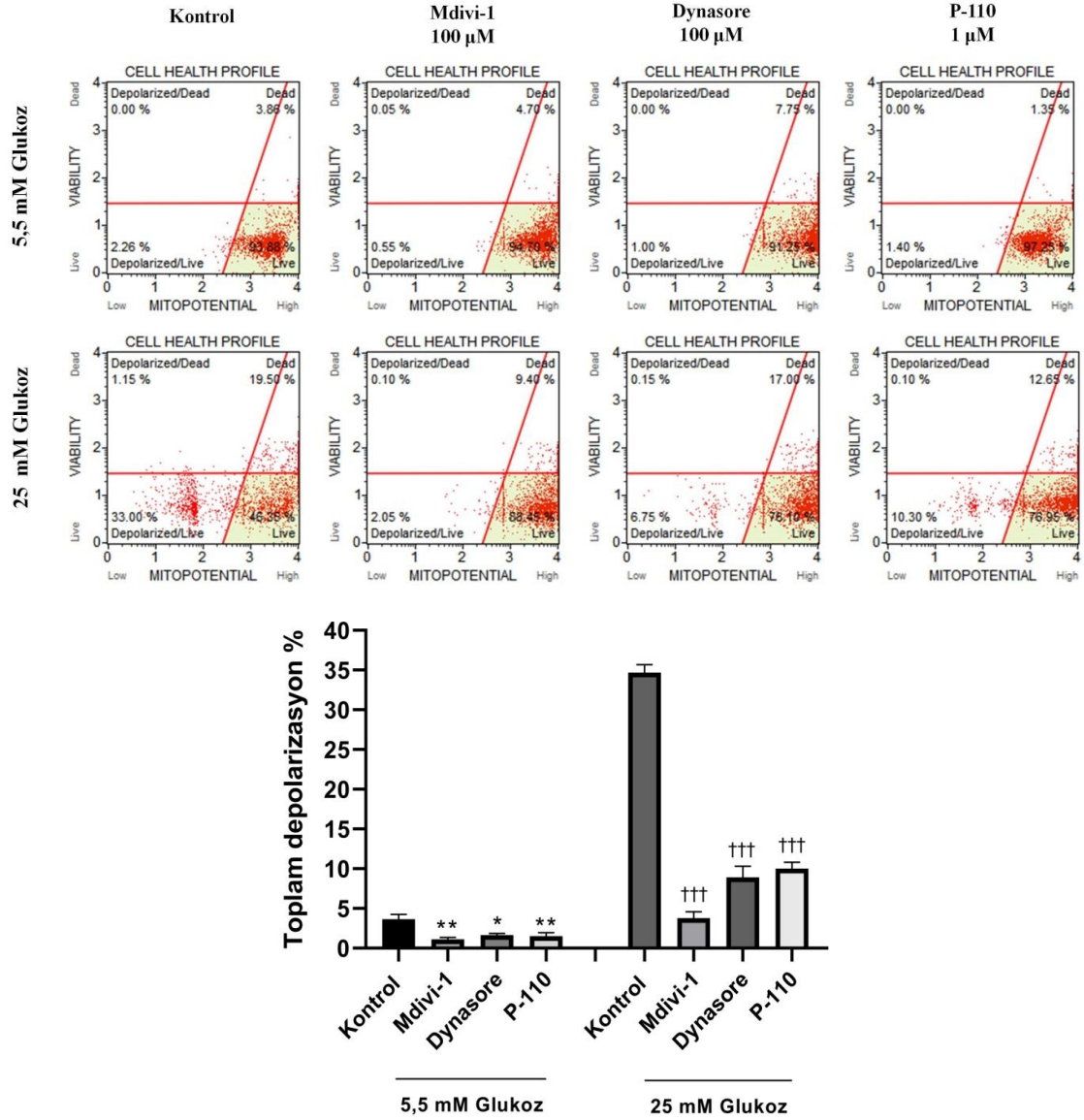
4.7. Fisyon İnhibitörlerinin Mitokondri Potansiyeline Etkisi

Gruplardaki hücre sağlığı profilleri “ % ortalama \pm standart hata ” olarak verilmiş olup, saptanan değerler Tablo 30’ da gösterilmiştir. Şekil 45, hücrelerde görülen dört ayrı profilin nokta grafiğini göstermektedir. Gruplardaki total depolarize olmuş hücreler kontrole göre karşılaştırılmıştır. Şekillerde anlamlı farklar $***p < 0,001$, $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ normal glukoz kontrol grubuna karşı, $†††p < 0,001$, $††p < 0,01$, $†p < 0,05$ ise yüksek glukoz kontrol grubuna karşı olacak şekilde gösterilmiştir.

Normal glukoz kontrol grubu total depolarize hücre oranı, mdivi-1 ($p = 0,0015$), dynasore ($p = 0,012$) ve p-110 gruplarından ($p = 0,007$) anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır. Yüksek glukoz kontrol grubu total depolarize hücre oranı ise aynı şekilde mdivi-1 ($p < 0,001$), dynasore ($p < 0,001$) ve p-110 gruplarından ($p < 0,001$) anlamlı derecede yüksektir (Şekil 45).

Tablo 30. Gruplardaki hücre sağlığı profili.

	5,5 mM Glukoz				25 mM Glukoz			
	Kontrol	Mdivi-1	Dynasore	P-110	Kontrol	Mdivi-1	Dynasore	P-110
Canlı	91,98 ± 1,17	94,56 ± 0,70	90,36 ± 1,04	96,51 ± 0,74	46,60 ± 1,72	88,06 ± 1,11	74,84 ± 1,65	73,97 ± 2,03
Canlı Depolarize	2,96 ± 0,44	0,89 ± 0,21	1,30 ± 0,21	1,41 ± 0,41	33,22 ± 1,04	2,95 ± 0,45	8,15 ± 1,34	9,58 ± 0,86
Ölü	4,37 ± 0,67	4,33 ± 0,60	7,98 ± 0,93	1,96 ± 0,46	18,73 ± 1,63	8,14 ± 0,64	16,23 ± 0,75	16,87 ± 2,08
Ölü Depolarize	0,68 ± 0,27	0,21 ± 0,07	0,34 ± 0,11	0,10 ± 0,06	1,43 ± 0,21	0,83 ± 0,37	0,76 ± 0,37	0,43 ± 0,30



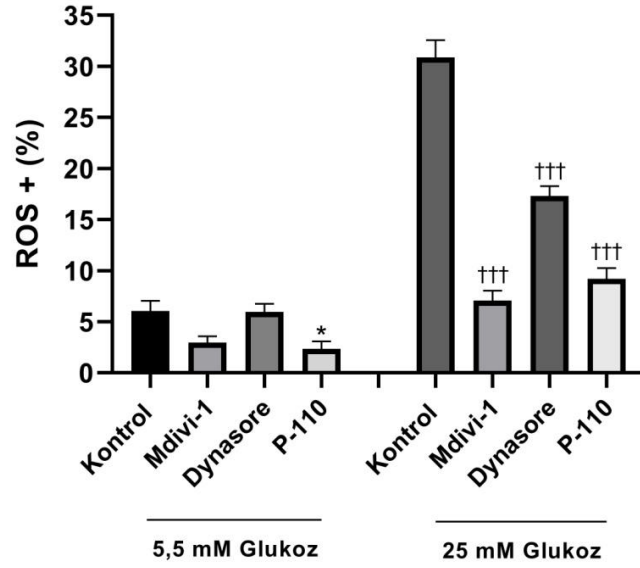
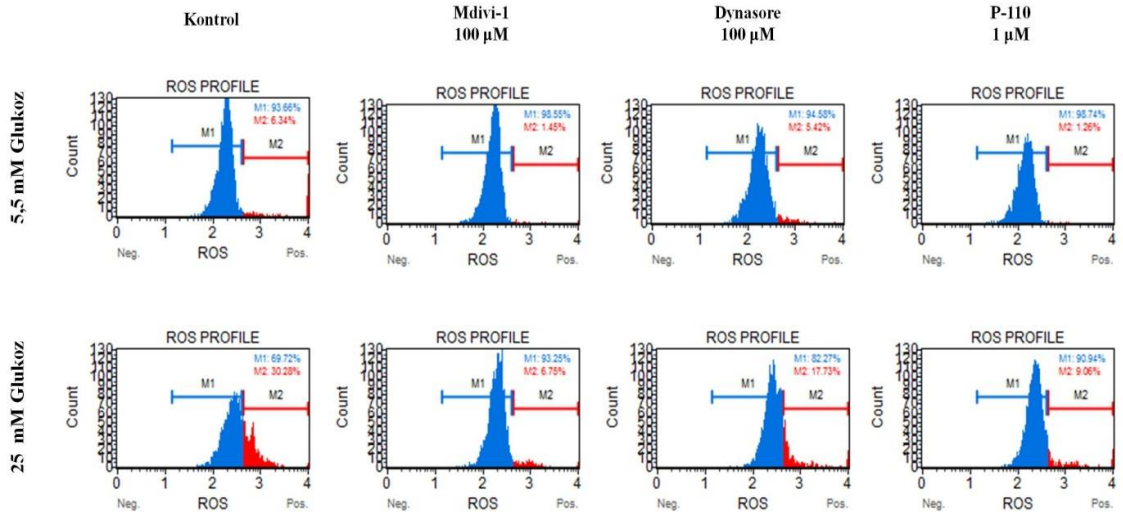
Şekil 45. Fisyon inhibitörlerinin mitokondri membran potansiyeline etkisi.

4.8. Fisyon İnhibitörlerinin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Gruplardaki ROS profilleri “ % ortalama \pm standart hata ” olarak verilmiş olup, saptanan değerler Tablo 31’ da gösterilmiştir. Şekil 46, hücrelerde görülen ROS profili grafiğini ve grupların kontrol grubuna göre karşılaştırılmasını göstermektedir.

Tablo 31. Gruplardaki hücre ROS profilleri.

	5,5 mM Glukoz				25 mM Glukoz			
	Kontrol	Mdivi-1	Dynasore	P-110	Kontrol	Mdivi-1	Dynasore	P-110
ROS (+)	6,05 ± 0,98	2,95 ± 0,63	5,95 ± 0,79	2,34 ± 0,73	30,88 ± 1,67	7,07 ± 0,96	17,32 ± 0,94	9,20 ± 1,03
ROS (-)	93,95 ± 0,98	97,05 ± 0,63	94,05 ± 0,79	97,66 ± 0,73	69,12 ± 1,67	92,93 ± 0,96	82,68 ± 0,94	90,79 ± 1,03



Şekil 46. Fisyon inhibitörlerinin ROS profillerine etkisi.

Normal glukoz kontrol grubu ROS (+) oranları p-110 grubu oranlarından anlamlı derecede yüksektir ($p = 0,017$). Diğer gruplarla kontrol grubu arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Yüksek glukoz kontrol grubu ROS (+) oranları tüm inhibitör gruplarından anlamlı derecede yüksek olarak tespit edilmiştir ($p < 0,001$).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın ilk aşamasında GDM' nin plasenta dokusunda oluşturduğu mitokondriyal fonksiyon üzerindeki zararlı etkileri, özellikle mitokondriyal dinamikler çerçevesinden belirlenmiştir. Daha da önemlisi, diyabetik kadınlarda kusurlu maternal glisemik kontrolün zararlı etkilerinin önceden diyabeti olan (Pre-DM) kadınlar ile gebelik sırasında diyabet gelişen (GDM) kadınlar arasında karşılaştırılabilir olup olmadığı analiz edilmiştir.

Daha önce bildirildiği gibi (Chen ve diğerleri, 2018), diyabetik kadınların plasental dokusunda mitokondriyal füzyonla ilgili MFN2 ekspresyonları büyük ölçüde azalmaktadır. Bu da gebelikle ilişkili diyabetin plasental hücrelerdeki kusurlu mitokondriyal fonksiyonla bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir. Sonuçlarımız, gebelik sırasında diyabet gelişen gebe kadınlarda benzer bir etkinin gözlemlendiğini doğrulamıştır. İlginç bir şekilde, diyabetin zararlı etkisinin GDM hastalarında Pre-DM kadınlara kıyasla daha belirgin olması, bu hastalıkların patofizyolojisi veya mekanizmaları arasında tanımlanamayan farklılıklar olabileceğini düşündürmektedir. Obezitenin gözlemlerimize etkisini belirlemek için gebelik başlamadan önce hastaların VKİ' lerini inceledik. Mitokondriyal disfonksiyon, hastaların obezite durumu ne olursa olsun Pre-DM ile karşılaştırıldığında GDM grubunda sürekli olarak daha şiddetliydi. Bu da gruplar arasında gözlenen farkın obeziteden kaynaklanmadığını düşündürmektedir.

Maternal glisemik kontrolün plasental anormalliklere ne ölçüde katkıda bulunduğu henüz belirlenmemiştir. Maternal glukoz seviyeleri iyi kontrol edildiğinde, diyabetten etkilenen kadınların plasentaları, ışık mikroskobu değerlendirmelerinde normal görünmektedir (Mayhew ve Jairam, 2000; Mooney ve diğerleri, 2009). Bununla birlikte, birçok çalışma Pre-GDM' li ve GDM' li kadınlarda histopatolojik plasental anormallikleri tanımlamıştır (Daskalakis ve diğerleri, 2008; Teasdale, 1981). Fakat maternal diyabet ile ilişkili plasental anormallikler ikna edici bir şekilde bildirilememiştir. Bunun nedenleri, örneklem büyüklüğündeki ve çalışmalarda kullanılan popülasyonlar arasındaki farklılıklar (Teasdale, 1983), gebelik sırasında glisemik kontrolün oluşup oluşmadığı (Boyd ve diğerleri, 1986), çalışma metodolojisindeki farklılıklar (Higgins ve diğerleri, 2011; Taricco ve diğerleri, 2003) ve doğum öncesi bakım kalitesindeki değişikliklerdir (Beauharnais ve

diğerleri, 2012; Bentley-Lewis ve diğerleri, 2014). Ayrıca, geniş kohort çalışmaları, GDM ve Pre-GDM' li hastaların diyabeti olmayan kadınlara kıyasla artan bir olumsuz sonuç modeline ve daha yüksek mortalite ile morbidite oranlarına sahip olduğunu göstermiştir. Ölü doğum oranlarında da büyük farklılıklar vardır (Shand ve diğerleri, 2008). Dahası maternal diyabetli kadınların çocuklarında makrozomi ve hipoglisemi riskinin oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Preeklampsi gibi komplikasyonların görülme sıklığının da arttığı vurgulanmıştır (El Mallah ve diğerleri, 1997). Tüm bunlara ek olarak, ileri yaşlarda anne olmanın GDM prevalansı ile ilişkili olduğu daha önce ortaya konmuştur (Lao ve diğerleri, 2006). Çalışmamızda gruplar, anne yaşları arasında fark olmayacak şekilde belirlenmiştir. Aynı zamanda demografik verilere göre çalışmaya dahil edilen gebelerin parite ve gravida durumları arasında herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir.

Obezite, gebeliklerde olumsuz sonuçlarla ilişkili başka bir risk faktörüdür (Dennedy ve Dunne, 2010; Wahabi ve diğerleri, 2014). Obezitenin gebelikte GDM insidansını artıran bir faktör olduğu ve VKİ ≥ 30 olan kadınlarda postpartum dönemde T2DM gelişme riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Glazer ve diğerleri, 2004; Sheiner ve diğerleri, 2004). Maternal obezite ve GDM arasındaki bu zararlı geribildirim durumunun olumsuz sonuçları daha önce gösterilmiştir (Sheiner ve diğerleri, 2004; Wahabi ve diğerleri, 2014). Sonuçlarımız, mitokondriyal fonksiyonlar için gerçekleşen değişimlerin ilk etmen olarak obeziteden kaynaklanmadığını gösterse de obezitenin tüm gebelerde diyabetin zararlı etkilerini arttırdığını doğrulamıştır.

Hamilelikten önce diyabeti olan kadınlarda HbA1c seviyeleri sürekli olarak izlenmektedir. Ancak GDM tanısı için belirlenen HbA1c düzeyleri halen tartışmalıdır (Capula ve diğerleri, 2013). HbA1c testi daha az zararlı olsa da OGTT' nin GDM tanısında HbA1c analizine göre daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (Claesson ve diğerleri, 2017). Daha önce yapılan çalışmalarda üçüncü trimesterde belirlenen HbA1c düzeylerinin GDM tanısında kullanılabilmesi öne sürülmüş ve gebelik sonrası diyabet gelişiminin de bir göstergesi olabileceği saptanmıştır (Megia ve diğerleri, 2012; Picón ve diğerleri, 2012). Bu nedenle çalışmamızda birinci trimesterdeki HbA1c düzeylerinin Pre-DM gebeleri, GDM ve kontrol grubundakilerden ayıracağını öngördük. Sonuçlarımız da beklentilerimizi karşılamış ve GDM' li kadınların ilk trimester HbA1c düzeylerinin kontrole göre farklı olmadığını, Pre-DM gebe kadınlarınkinin ise diğer iki gruptan anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir.

Çalışmalar, fetal glukoz intoleransını tetikleyen maternal hipergliseminin sonuçlarından birinin, artmış ASI olduğunu göstermiştir (Vink ve diğerleri, 2006). Bunun nedeni, birçok çalışmada göre yüksek glukoz seviyelerine ek olarak artan idrara çıkma nedeniyle gerçekleşen poliüri olarak bildirilmiştir (Dashe ve diğerleri, 2000; Yasuhi ve diğerleri, 1994). Bizim bulgularımızda Pre-DM ve GDM' li kadınlarda elde edilen ASI değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen (özellikle obez Pre-DM ve obez GDM gruplarında) gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur.

Yapılan bir çok çalışma, maternal diyabetin doğum ağırlığında artışa neden olduğunu göstermiştir (Boney ve diğerleri, 2005; Gillman ve diğerleri, 2003; Schaefer-Graf ve diğerleri, 2005). Ayrıca VKİ' si yüksek olan annelerin çocuklarında, ergenlikte gözlenen obezite ve metabolik sendrom riskinin arttığı vurgulanmıştır (Schaefer-Graf ve diğerleri, 2005). Çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre obez Pre-DM grubunda doğum ağırlıkları, zayıf kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir. Ancak gebelerin VKİ değerleri ile doğum ağırlıkları arasında ilişki bulunamamıştır.

GDM ve karaciğer enzimleri (AST ve ALT) arasındaki bağlantı oldukça çelişkilidir. Birçok araştırmacı, maternal diyabet ile yüksek karaciğer enzim seviyeleri arasında herhangi bir ilişki bulamamıştır (Tan ve diğerleri, 2012; White ve diğerleri, 2017; W. Zhao ve diğerleri, 2020). Aksine, Erdoğan ve ark. GDM' li kadınların AST ve ALT düzeylerinin kontrol grubundakilere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir (Erdoğan ve diğerleri, 2014). Karaciğer yağlanmasıdaki hasarın belirteçleri olan bu enzimlerin özellikle obezite ile ilişkili olduğu bilinen bir gerçektir. Hamileliklerinde GDM geçirmiş kadınlar üzerinde yapılan önceki bir çalışmada, AST ve ALT düzeyleri, alkolik yağlı karaciğer hastalığı olan ve olmayan kadınlarda önemli ölçüde farklı bulunmuştur (Foghsgaard ve diğerleri, 2017). Biz de çalışmamızda GDM ve Pre-DM (özellikle obez) olan kadınların AST ve ALT düzeylerinin daha yüksek olduğunu gözlemledik. Ancak asıl etki, kadınlarda hem maternal diyabet hem de obezite birlikte var olduğunda daha yüksektir. Obez GDM grubundaki ALT düzeylerinin obez kontrol grubundakilerden anlamlı farklı olması GDM' nin ALT düzeylerini arttırdığına dair kanıt sağlamıştır.

Hamilelikte gözlenen birçok metabolik hastalığın, preeklampsi gibi patolojik durumların ve plasental disfonksiyon tablolarının, hücrel senesens ve apoptoz yolaklarını tetiklediği (Aires ve dos Santos, 2015) ve oksidatif strese artış meydana getirdiği gösterilmiştir (Hubel, 1999; Myatt, 2010). Ayrıca meydana gelen plasental bozuklukların mitokondriyal membran potansiyelinde kayıplara (Holland ve diğerleri, 2017), fisyon ve

füzyon dinamiklerinde bozulmalara neden olduğu saptanmıştır (Bach ve diğerleri, 2003; Soriano ve diğerleri, 2006; J. Yu ve diğerleri, 2016). Tüm bu kusurlar mitokondrilerin çalışmamasına neden olmakta ve mitokondriyal disfonksiyonun belirteçleri olarak gösterilmektedir. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda, füzyon proteinlerinin genetik ablasyonunun farelerde glukoz homeostazını değiştirdiği, insülin direncini ve obezite riskini arttırdığı gösterilmiştir (Quirós ve diğerleri, 2012; Sebastián ve diğerleri, 2012). Ayrıca β hücrelerinin mitokondriyal füzyon ve fisyon süreçlerinin T2DM sırasında sürekli değiştiği saptanmıştır. Bu bağlamda hiperglisemi ve artan palmitat seviyelerinin füzyonu azalttığı ve mitokondriyal oksijen tüketimini engellediği tespit edilmiştir (Cerqueira ve diğerleri, 2016; Molina ve diğerleri, 2009). Ek olarak, T2DM' nin, iskelet kasındaki mitokondriyal disfonksiyon nedeniyle azalmış bir MFN2 ekspresyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Liesa ve Shrihai, 2013). Başka bir çalışma, T2DM' li hastaların lökositlerinde önemli ölçüde azalmış bir mitokondriyal füzyon kapasitesi ve artan bir fisyon örüntüsü bildirmiştir (Diaz-Morales ve diğerleri, 2016). Ayrıca, egzersizin, insülin direnci olan hastalarda yağ oksidasyonu ve insülin duyarlılığında bir iyileşmenin yanı sıra fisyon proteini DRP1 fosforilasyonunda bir azalma ile MFN1 ve MFN2 ekspresyonunda bir artışa yol açtığı tespit edilmiştir (Fealy ve diğerleri, 2014). Çalışmamızda, GDM' li ve Pre-DM' li kadınlarda plasental mitokondriyal füzyon kapasitesinin önemli ölçüde azaldığını saptadık. Mitokondriyal biyogenezde rol oynayan ve hücre enerji metabolizmasının kontrolüne katılan bir transkripsiyonel düzenleyici olan PGC1 α ekspresyonları da maternal diyabette (hem Pre-GDM hem de GDM) azalmıştır.

Memeli hücrelerinde mitokondri ve çekirdek kodlu proteinlerin stokiyometrisi değiştiğinde mtUPR, mitokondriyal protein birikimini en aza indirerek hem ClpP hem de ısı şok proteini HSP60' ın pozitif regülasyonunu sağlamaktadır (Haynes ve diğerleri, 2013; Houtkooper ve diğerleri, 2013). Daha önce yapılan bir çalışma, ClpP ekspresyonundaki azalmanın mitokondriyal morfolojiyi değiştirdiğini, mtUPR indüksiyonunu azalttığını ve mitokondriyal fisyon proteinlerinin ekspresyon seviyesini dolaylı olarak değiştirdiğini göstermiştir (Deepa ve diğerleri, 2016). Yine kardiyomiyositlerle yapılan bir araştırma, yüksek glukozun miR-1/miR-206 aracılığıyla HSP60 ve IGF1 ekspresyonlarını düşürdüğünü göstermiştir. Yolak mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) üzerinden yürümekte ve PI3K/AKT aktivasyonunu da engellemektedir (Shan ve diğerleri, 2010). Mitokondriyal stres ve mtUPR ile ilgili proteinleri analiz ettiğimizde, GDM ve Pre-DM' li kadınlarla kontrol grubu arasındaki fark doğrulanmıştır. Bu da mitokondriyal strese verilen

cevabın maternal diyabetli plasental dokularda yeterince karşılanamadığı görüşünü akıllara getirmiştir. Verilerimiz azalmış mitokondriyal füzyon belirteçlerinin mitokondriyal işlev bozukluğu ve strese bağlı olabileceğini, ancak mitokondriyal morfoloji ve stres belirteçlerinin plasental dokuların immünohistokimyasal analizi ile daha fazla analiz edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Çalışmanın ikinci bölümünde, ilk bölümde elde edilen veriler ışığında bozulmuş mitokondri dinamiklerinin tekrar dengeye gelmesini sağlamak amacıyla geliştirilecek terapötik hedeflerden biri olarak gebelik diyabeti olgularında mitokondri füzyonunun inhibe edilebileceği düşüncesinden yola çıkılmıştır. Bu bölümde, plasenta trofoblast hücreleri yüksek glukoz (25 mM) ortamında tutulmuş ve bir gebelik diyabeti modeli oluşturulmuştur. Daha sonra hücrelere füzyon inhibitörleri uygulanmış ve hücrelerdeki insülin sinyal moleküllerinin, apoptoz ve otofaji belirteçlerinin, mitokondriyal antioksidan enzim ekspresyonları ile mtUPR belirteçlerinin durumu ve son olarak da inflamazom ekspresyonları saptanmıştır. Ayrıca hücre canlılık testi yapılmış, hücrelerdeki mitokondriyal potansiyel ve oksidatif stresin durumu belirlenmiştir.

Mitokondriler, hücrenin "enerji santrali" rolüne ek olarak, mitokondriyal biyogenezin indüklenmesi yoluyla da enerji dengesinin düzenlenmesinde görev yapmaktadır. Kalori kısıtlaması ve egzersiz, sırasıyla NAD^+ / $NADH$ ve AMP / ATP oranlarında artışa neden olmaktadır. Nükleotid olarak NAD^+ gerektiren SIRT 1/3, bir ko-substrattır ve deasetilasyon yoluyla $PGC-1\alpha$ ' yi aktive etmektedir. AMP / ATP oranındaki artış, doğrudan AMP ile aktive olan $AMPK$ ' yi aktive etmekte ve ayrıca $PGC-1\alpha$ fosforilasyonunu indüklemektedir. Fosforile ve deasetile olmuş $PGC-1\alpha$, NRF , $PPAR$ ve östrojen ilişkili transkripsiyon faktörü (ERR) gibi transkripsiyon faktörleri yoluyla çekirdek tarafından kodlanmış genlerin aktive olmasını sağlamaktadır. Bu transkripsiyon faktörleri, mtDNA transkripsiyonunu, translasyonunu ve replikasyonunu, OXPHOS alt birimlerinin üretimini, TCA döngüsü enzimlerini ve yağ asidi oksidasyon enzimlerini aktive etmektedir (Wada ve Nakatsuka, 2016). Diyabetli hastalarda hiperglisemi, $NADH$ ve piruvat üreten hücre içi glukoz oksidasyonunu indüklemekte ve mitokondriye piruvatın akışını arttırmaktadır. Piruvat, iç zarla ilişkili enzim kompleksleri tarafından oluşturulan mitokondriyal ETS boyunca akan elektron vericileri $NADH$ ve $FADH_2$ ' yi üretmek için TCA döngüsü tarafından oksitlenmektedir. Yüksek glukoz koşulları altında elektrokimyasal potansiyel farkı çok yüksekse, ROS 'un kompleks I' de ve ubiquinon ile kompleks III arasındaki arayüzde yüksek miktarda üretildiği gösterilmiştir (Nishikawa ve diğerleri, 2000). Mitokondrinin kalite

kontrolü, mitokondriyal fonksiyonun sürdürülmesi için kritik öneme sahiptir ve mitokondri disfonksiyonu diyabet ve obezite gelişiminde kritik rol oynamaktadır. Mitokondri, dinamik yapılarında yüksek plastisiteye sahip olan, sürekli füzyon ve fisyon süreçlerinden geçen retiküler organellerdir; bu plastisite, mitokondrinin kalite kontrolü için önemlidir (Ni ve diğerleri, 2015).

Yüksek glukoz maruziyetinin dokularda ve yüksek glukoz uygulamasının ise hücrelerde mitokondri dinamiklerini etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir. Kültüre edilmiş pankreatik β hücre hattında yüksek seviyelerde glukoz ve palmitatın mitokondriyal füzyonu durdurduğu ve hücrelerde solunum fonksiyonunu azalttığı saptanmıştır (Cerqueira ve diğerleri, 2016). Yapılan başka bir çalışmada, reperfüzyon sırasında yüksek glukoz uygulamasının farelerde füzyon proteinleri OPA1 ve MFN2' de bir düşüşe ve fisyon proteinleri DPR1 ve FIS1' de ise bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Kumari ve diğerleri, 2012). Hiperglisemi nedenli kardiyovasküler hastalıkların incelendiği bir çalışmada ise mitokondriyal tübüllerin fisyon aracılı parçalanmasının, hiperglisemik koşullarda artan mitokondriyal ROS üretimi ve kardiyovasküler hücre hasarı ile nedensel olarak ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (T. Yu ve diğerleri, 2008). Ayrıca yüksek glukozun HepG2 hücrelerinde mitokondri kaynaklı ROS üretiminin artmasının yanında fisyon belirteçlerinde bir yükselme ve mitokondri füzyonunda ise bir düşüş gösterdiği belirlenmiştir (Xu ve diğerleri, 2015). Artan veriler, mitokondriyal parçalanma artışı ile karakterize edilen mitokondriyal fisyonun diyabetik durumda arttığını göstermektedir (Shenouda ve diğerleri, 2011; Q. Wang ve diğerleri, 2017). Bununla ilgili yapılan bir çalışma, insan göbek kordonu hücrelerinde bir diyabet terapötüğü olan vildagliptinin yüksek glukoz kaynaklı DRP1 fosforilasyonunu ve FIS1 ekspresyonunu inhibe ettiğini ayrıca DRP1' in hücre içi konumunu sınırlandırarak (mitokondriye translokasyonunu engelleyerek) endotel mitokondri disfonksiyonunun önüne geçildiğini göstermiştir (H. Liu ve diğerleri, 2019). Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda, yüksek glukoz uygulamasının hem 24 hem de 48 saatte, MFN1 ve MFN2 protein ekspresyonlarında bir düşüş gerçekleştirirken, DRP1 fosforilasyonu ile FIS1 ekspresyonunda ise bir artışa neden olduğu saptanmıştır.

Mitokondriyal füzyon ve fisyon arasındaki hassas denge, besin stresi ve simüle edilmiş iskemi dahil olmak üzere çeşitli stres tepkileriyle bozulabilmektedir. Ayrıca, dengesiz mitokondriyal dinamiklerin iyileştirilmesi, hücresel hasarı ve hastalık şiddetlerini azaltarak, mitokondriyal dinamiklerin nöron, kalp, böbrek ve β hücre hastalıklarının

patogenezindeki önemini vurgulamaktadır (H.-F. Jheng ve diğerleri, 2012). Kalite kontrolü, mitokondriyal dinamikler tarafından yürütülen tek görev olmayabilir (Chan, 2012). Son çalışmalar, mitokondriyal dinamiklerin hücredeki enerji talebi ve besin kaynağı arasındaki dengenin sağlanmasında kritik rol oynadığını göstermektedir (Liesa ve Shirohahi, 2013). Mitokondriyal dinamikler, mitokondriyal disfonksiyon ile T2DM patogenezinde yer alan insülin direnci arasında bir köprü olarak önerilmektedir (Lin ve diğerleri, 2018). Bu konuda yapılan çalışmaların bir tanesi özellikle bu bağlantının açığa çıkarılmasında önemlidir. Çalışmada MFN1 ve MFN2' nin aşırı ekspresyonunun mtROS üretiminin azalmasını ve IRS ile AKT fosforilasyonunun artmasını sağladığı bildirilmiştir. Aynı zamanda fisyon inhibitörü mdivi-1' in de aynı etkileri gösterdiği saptanmıştır (Lin ve diğerleri, 2018). Diğer bir çalışma da obez farelerde mdivi-1 uygulamasıyla bozulan insülin sinyalinde düzelme sağladığını göstermiştir (H.-F. Jheng ve diğerleri, 2012). Bizim çalışmamızda trofoblast hücrelerinde yüksek glukoz kaynaklı insülin direncinin fisyon inhibitörleri ile hafifletildiği saptanmıştır. Literatürle de uyumlu olarak yüksek glukoz kaynaklı mitokondriyal dinamiklerin fisyon tarafına çekilmesi, artan ROS miktarının da etkisiyle inhibe edici IRS fosforilasyonunu arttırmış ve aktive edici AKT fosforilasyonunu azaltmıştır. Bu değişim fisyonun inhibe edilmesiyle hem insülin uygulanan gruplarda hem de uygulanmayan gruplarda normal düzeylere çekilmiştir. Beklendiği gibi insülin uygulanmayan gruplarda normal glukoz uygulanmasında AKT fosforilasyonu gerçekleşmemiştir. Kontrol grubu ile inhibitör uygulanan gruplar arasında herhangi bir fark yoktur. Şaşırtıcı şekilde yüksek glukoz gruplarında yüksek doz inhibitör uygulamasının AKT fosforilasyonunu (pAKT/AKT için yüksek doz mdivi-1 ve dynasore gruplarında, pAKT/ β -Tubulin için ise yüksek doz mdivi-1 ile P-110 gruplarında) kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttırdığı saptanmıştır. Bu durum akıllara fisyon dinamikleriyle AKT sinyalinin mekanistik olarak bağlantılı olduğu görüşünü akla getirmektedir. Aynı durum IRS1 ifadelerinde daha bariz bir şekilde gözlenmiştir. Hem normal glukoz hem de yüksek glukoz ortamında inhibitör uygulamalarının, hücreler insülinle uyarılmamasına rağmen inhibe edici IRS1 fosforilasyonunda düşüşe neden olduğu saptanmıştır. Bu durum IRS1/AKT sinyalinin trofoblast hücrelerinde mitokondri fisyonu ile kontrol edildiğini göstermektedir. Bu görüşün desteklenmesinde yapılacak ileri mekanistik çalışmalara ihtiyaç olduğu aşikardır. İnsülin uygulanan hücrelerde ise durum daha beklendiği gibi olmuştur ve bulgular hem pIRS1/IRS1 ve pIRS1/ β -Tubulin ekspresyonlarında hem de p-AKT/AKT ve p-AKT/ β -Tubulin ekspresyonlarında oldukça paraleldir. İnhibitör dozunun artması insülin sinyalinde daha

kuvvetli bir düzelme sağlamıştır. Mitokondriyal dinamikler ile insülin sinyali arasında bağlantı olduğu yönünde kurduğumuz hipotezi desteklemiştir.

Füzyon, hücreyel ağlar boyunca metabolitlerin, proteinin ve DNA'nın yayılmasına izin vererek mitokondriyal fonksiyona fayda sağlayabilirken, fisyonun fonksiyonel faydası o kadar sezgisel değildir. Dikkat çekici bir şekilde, mitokondrideki dinamikleri izleyen çalışmalar, iki olayın eşleştiğini ve hatta füzyonun fisyonu neden olduğunu göstermiştir. Ortalama olarak, her mitokondri, her saat ~ 5 füzyon : fisyon döngüsüne girmektedir. Tek füzyon ve fisyon döngüsü sırasında yapılan $\Delta\psi_m$ ölçümleri göstermiştir ki fisyonun eşit olmayan depolarize yavru mitokondri üretmesi sonrası, bu yavrunun bir sonraki füzyona dahil olma olasılığı oldukça düşüktür. Aksine otofajiye yönlendirilme ihtimali de fazladır (Twig, Hyde, ve diğerleri, 2008). Yapılan çalışmalar FIS1' in siRNA ile susturulmasının veya baskın bir negatif DRP1 izoformunun (DRP1K38A) aşırı ekspresyonunun, mitokondriyal otofajiyi azalttığını göstermiştir (I. Kim ve diğerleri, 2007; Twig, Elorza, ve diğerleri, 2008). Diğer bir çalışmada hFis1'in aşırı ekspresyonunun, mitokondriyal otofaji ile tutarlı olarak mitokondriyal (ancak ER değil) kütleli seçici olarak azalttığı tespit edilmiştir (Frieden ve diğerleri, 2004). Ayrıca başka bir çalışmada ise DRP1'in aşırı ekspresyonunun, çeşitli proapoptotik uyarılar altında mitokondriyal eliminasyonu kolaylaştırdığı saptanmıştır (Arnoult ve diğerleri, 2005). Bu çalışmada literatürle uyumlu olarak mitokondri fisyonunun inhibe edilmesiyle, yüksek glukozla bağlı olarak artan otofaji belirteçleri ekspresyonlarının hem protein hem de mRNA düzeyinde düştüğü görülmüştür (BECLIN1' de). LC3 I / LC3 II ekspresyonlarının yüksek glukoz uygulamasına bağlı olarak arttığı saptanmış bu sonuç BECLIN1' de saptanan ile paraleldir. İnhibitör uygulamalarında doza göre ekspresyon düşüşleri saptanmış fakat yüksek glukoz uygulanan gruplardan yüksek doz P-110 hariç diğer inhibitör ve uygulamalar anlamlı olarak etkili görülmemektedir. Otofaji belirteçlerinin benzer uygulamalarda kullanımları konusunda tartışmalar sürmektedir. Otofaji gibi dinamik süreçlerin özellikle vezikül oluşumunda etkili proteinler ile belirlenmesi konusundaki zorluklar, bu oluşumların hücre içerisinde oldukça hızlı bir dönüşüm potansiyeline sahip olmasından ileri gelmektedir. Bu tip zorlukların birkaç belirtecin aynı anda kullanılmasıyla çözülmesi olası olduğundan LC3 I / LC3 II ekspresyonlarında daha şiddetsiz görülen etki BECLIN1 ekspresyonlarının deneye dahil edilmesiyle çözülmeye çalışılmıştır.

mtUPR' nin aktivasyonu nispeten yoğun çevresel stresle uyarılmaktadır. Yüksek glukoz ve yüksek yağ, mitokondride katlanmamış ve hatalı katlanmış proteinlerin artmasına

ve birikmesine neden olabilmekte, bu da mtUPR' yi aktive eden mito-nükleer protein dengesizliğine neden olmaktadır (Wu ve diğerleri, 2019). CLPP, glukoz metabolizması sürecinde de yer alır. CLPP' nin yıkılması, CLPP eksikliği olan farelerin farklı dokularında bozulan glukoz metabolizmasının düzelmesine yol açmaktadır. GLUT4' ün artan ekspresyonu sayesinde meydana gelen bu iyileşme AMPK' nin aktivasyonu ile ilişkilendirilebilir (Kurth-Kraczek ve diğerleri, 1999). Yapılan bir çalışma mitokondriyal dinamiklerle CLPP ekspresyonları arasındaki bağlantıyı aydınlatması açısından önemlidir. Bu çalışmada yüksek glukoz aracılığıyla artan mitokondriyal fisyonun, CLPP' nin siRNA aracılığıyla susturulması sonrası anlamlı olarak yükseldiği gösterilmiştir (Wu ve diğerleri, 2019). Yapılan başka bir çalışmada, insan HeLa hücrelerinin mitokondriyal inhibitörlerin (hidrojen peroksit ve yüksek glukoz gibi) varlığında büyütüldüğü zaman, protein seviyesinde önemli bir HSP60 artışı olduğunu gösteren kanıtlar belgelenmiştir (Hall ve Martinus, 2013). Biz de çalışmamızda yüksek glukozun trofoblast hücrelerinde CLPP ve HSP60 seviyelerini arttırdığını gösterdik. Ayrıca fisyonun inhibe edilmesinin bu artan mtUPR belirteçlerinde anlamlı bir düşüşe neden olduğunu tespit ettik.

ATP üretim sürecinde, mitokondriyal solunum zinciri yoluyla elektron transferi, kaçınılmaz olarak ROS üretimi ile ilişkilidir. ROS için çeşitli fizyolojik roller tanımlanmıştır. Ancak antioksidan savunmadan fazla üretilen ROS zararlıdır. DNA, lipidler, proteinler ve organellerde hasar oluşturmaktadır (Goldstein ve diğerleri, 2005). Hiperglisemi, mitokondriyal ve mitokondriyal olmayan seviyelerde artan ROS üretimi yoluyla güçlü bir oksidatif stres indükleyicisidir ve oksidatif stres tarafından aktive edilen yollar, diyabet komplikasyonlarının patogeneğinde önemli bir role sahiptir. Ek olarak aşırı mitokondriyal ROS üretiminin, çoğu raporda akut ve kronik olarak kas insülin direncine neden olduğu gösterilmiştir (Anderson ve diğerleri, 2009; Sivitz ve Yorek, 2010). Ayrıca artan mitokondriyal fisyonun, karaciğer ve kas hücrelerinde hipergliseminin neden olduğu aşırı ROS üretimine nedensel olarak dahil olduğu gösterilmiştir (T. Yu ve diğerleri, 2006). Böylece değişen mitokondriyal dinamikler ve diyabetik oksidatif stres arasında nedensel bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, DRP1' in negatif bir mutan yoluyla mitokondriyal fisyonun inhibisyonunun, diyabetik oksidatif stres üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini bildirmiştir. Çalışmadaki *in vitro* modelde ise hepatositlerde fisyonun inhibe edilmesiyle, mitokondriyal membran boyunca proton sızıntısının azalması, dolayısıyla ATP sentaz aktivitesinden bağımsız olarak mitokondriyal membran potansiyelinin dağılımı gösterilmiştir (Galloway ve diğerleri, 2012). Bunların dışında,

diyabetik farelerde miyokardiyal hasarın önlenmesine yönelik yapılan bir araştırmada mdivi-1 uygulamasının MnSOD ekspresyonlarını artırdığına dair kanıtlar elde edilmiştir (Ding ve diğerleri, 2017). Bu çalışmada yüksek glukoz maruziyetinin, trofoblast hücrelerinde artan ROS' la paralel olarak mitokondri antioksidan enzim mRNA ekspresyonlarında bir artışa sebep olduğu gösterilmiştir. Fisyonun inhibe edilmesinin ise bu artışa daha fazla katkıda bulunduğu ve özellikle yüksek doz inhibitör uygulanan gruplarda anlamlı bir enzim ekspresyon regülasyonu olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde akış sitometrisi analizleri de yüksek glukoz uygulanan grupta anlamlı olarak artmış bir ROS profili sergilendiğini göstermiştir. Artan ROS profili fisyonun inhibe edilmesiyle hafifletilmiştir.

Apoptoz ile mitokondri dinamikleri arasındaki sıkı bağ birçok çalışmada araştırılmış ve birçok deney modeliyle açıklığa kavuşturulmuştur. Apoptozun indüklenmesi üzerine, dış mitokondri membranı, DRP1' in sitozolden mitokondriye translokasyonu ile parçalanmakta ve burada tercihen organel bölünme bölgesine lokalize olmaktadır (Frank ve diğerleri, 2001). DRP1, apoptoz sırasında BAX / BAK kaynaklı sitokrom c salınımını daha da ilerletmektedir (Clerc ve diğerleri, 2014). Bu konuda yapılan bir çalışma mitokondriyal fisyon sırasında, UV ışınlanması gibi apoptotik uyarıların Ser (637) üzerindeki sitoplazmik ve mitokondriyal DRP1 fosforilasyonunda bir azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Ayrıca DRP1 ile MFF arasındaki etkileşim artarken, DRP1 ve MiD51 arasındaki etkileşimin azaldığı gösterilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2016). Mitokondriyal füzyon ve krista yeniden şekillenmesinde rol alan OPA1 aşırı eksprese olduğunda aşırı sitokrom c salımının önüne geçildiğine dair kanıtlar sunulmuştur. Ayrıca, OPA1' nin susturulması veya mitokondriyal füzyonun inhibisyonu dolayısıyla mitokondriyal ağın parçalanması hücre ölümünü tetiklemektedir (Alavi ve Fuhrmann, 2013). MFN1 ve MFN2, sitokrom c salınımını, BAX translokasyonunu ve apoptotik uyarıların neden olduğu oligomerizasyonu engellemektedir. Buna bağlı olarak BAX ve BAK da MFN1 ve MFN2 dahil diğer dış membran proteinlerinin de fonksiyonel aktivitesi yoluyla uzun mitokondrilerin fizyolojik füzyonu için gereklidir (Sugioka ve diğerleri, 2004). Bu çalışmada yüksek glukoz uygulamasının trofoblast hücrelerinde apoptozu uyarıcı etkisi gösterilmiştir. Literatürle de uyumlu olarak fisyonun baskılanmasının antiapoptotik *Bcl-2* mRNA ekspresyonlarında özellikle yüksek doz inhibitör uygulanan gruplarda anlamlı bir artışa ve pro-apoptotik *Bax* ekspresyonlarında ise anlamlı bir azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir.

Regüle edilmemiş NLRP3 inflamazom aktivasyonunun kronik inflamatuvar veya metabolik bozuklukların patogeneze katkıda bulunduğu bilmesine rağmen, NLRP3

inflamazom sinyalleşmesinin başlatılmasında veya güçlendirilmesinde altta yatan mekanizma tam olarak anlaşılammıştır. NLRP3 aktivasyonunun düzenleyicisi olarak mitokondriler dikkat çekmektedir fakat inflamazom yolağı için mitokondriyal dinamiklerin rolü hakkında çok az şey bilinmektedir (Park ve diğerleri, 2015). Ayrıca, son çalışmalar, mtROS üretimi, mtDNA' nın sitozolik salınımı ve mitokondriyal membran potansiyelinin düşmesi gibi mitokondriyal hasar göstergelerinin, NLRP3 aktivasyonunu tetiklemek için çok önemli ortak faktörler olduğunu öne sürmektedir (Nakahira ve diğerleri, 2011; R. Zhou ve diğerleri, 2011). Bu konuda yapılan bir araştırma, RNA viral enfeksiyonunun, DRP1' i fosforile eden mitokondriyal fisyonu ve ardından NLRP3' ün aktivasyonuna yol açtığını göstermiştir (X. Wang ve diğerleri, 2014). Yakın zamanda yapılan çalışmalardan biri, sepsis modelinde mdivi-1' nin NLRP3 aracılı piroptoz yolunun aktivasyonunu azalttığını ve mitokondriyal fonksiyonu iyileştirdiğini bildirmiştir (R. Liu ve diğerleri, 2020). Yine başka bir çalışmada mdivi-1 tedavisinin, mitokondri hasarını ve ROS oluşumunu azalttığı, NLRP3 inflamasyonunu inhibe ettiği, beyin ödemi ve nörolojik defisitleri iyileştirdiği saptanmıştır (K. Zhou ve diğerleri, 2017). Son olarak mdivi-1' nin, atopik dermatit benzeri inflamasyon altında keratinositlerde NLRP3, kaspaz-1, IL-1 β ve IL-18' in ekspresyonlarını azalttığı ve piroptozu inhibe ettiği tespit edilmiştir (L. Li ve diğerleri, 2021). Bu çalışmada yüksek glukozun tetiklediği *Nlrp3* mRNA ekspresyonlarının özellikle yüksek glukoz gruplarında fisyon inhibitörleriyle (hem düşük hem yüksek dozda) anlamlı olarak düşürüldüğü saptanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışma, gebelik döneminde diyabet gelişiminin önlenmesi, hem annenin sağlıklı bir hamilelik geçirmesi hem de fetüsün maruz kaldığı yoğun glukoz toksisitesinin indirgenmesi açısından önem teşkil etmektedir. Çalışmanın ilk aşamasında gebelik diyabetine sahip olan farklı grupların (GDM ve Pre-DM) plasenta dokuları; mitokondriyal dinamikler, mitokondriyal biyogenez ve mtUPR belirteçleri açısından değerlendirilmiş ve bu grupların patofizyolojik durumunda paylaşılmayan hücresel etkiler olabileceğine dair kanıtlar elde edilmiştir. Pre-DM hastalarına göre GDM’ de görülen bu artmış etki, hastalığın gelişiminin ani olmasına ve Pre-DM hastalarının gebelik sürecine daha kontrollü olarak girmesinin bir göstergesi olmasına bağlanabilir. Bilindiği gibi mitokondriyal dinamiklerin dengeleri hücresel şartlara bağlı olarak sürekli değişmektedir. GDM teşhisi koyulmuş kadınlar genellikle diyet uygulaması ile hamileliklerini sürdürmektedir ve az bir kısmı insülin tedavisi görmektedir. GDM’ li olan ve özellikle obez olan alt gruba dahil kadınların verilen diyet ve/veya insülin tedavisini uygulama konusunda ne derece etkili oldukları göreceli olabilmektedir. Yapılan çalışma daha kontrollü olarak diyet ve ilaç programları takip edilerek tekrarlanabilir. Ayrıca plasenta dokularında görülen mitokondriyal disfonksiyonun belirteçleri farklı uygulamalar (immünohistokimyasal analizler vs.) kullanılarak da ileriki süreçlerde genişletilebilir. Çalışmanın ikinci bölümünde trofoblast hücreleri yüksek glukoz ortamında yetiştirilmiş ve deneyin ilk aşamasında yüksek glukozun 24 ve 48 saatlik uygulamasının füzyon ve fisyon belirteçleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Beklendiği gibi yüksek glukoz, her iki saat uygulamada da füzyon proteinleri (MFN1 ve MFN2) ekspresyonlarında bir düşüş ve fisyon proteinleri (p-DRP1 ve FIS1) ekspresyonlarında ise bir artış saptanmıştır. Çalışmaya 48 saatlik yüksek glukoz uygulamasıyla devam edilmiştir. Daha sonra hücrelere fisyon inhibitörleri uygulanarak fisyon proteinlerinin ekspresyonları tayin edilmiştir. Hem p-DRP1 hem de FIS1 inhibitörler tarafından inhibe edilmiştir. Bu uygulama sonrası inhibitörlerin, insülin sinyal yolağındaki IRS1, p-IRS1, AKT ve p-AKT proteinlerine olan etkisi incelenmiştir. Bu deney sonunda inhibitörlerin, IRS1 inhibisyonuna neden olan fosforilasyonu azalttığı ve AKT aktivasyonunu sağlayan fosforilasyonu ise arttırdığı tespit edilmiştir. Bu sonuç, fisyonun inhibisyonunun trofoblast hücrelerinde bozulan insülin sinyalinin düzelmesini sağlayabileceği yönündeki görüşümüzü desteklemiştir. Ardından fisyonun otofaji

belirteçleriyle ilgisinin kurulduğu deney gerçekleştirilmiş ve literatürle de uyumlu olarak fisyonun inhibe edilmesinin, parçalanmış mitokondrilerin azalmasıyla hücrede otofaji sinyalini hafiflettiğini gösterilmiştir. Glukotoksisite kaynaklı ROS, mitokondriyal dinamikler fisyon tarafında kaydığında artma eğilimi göstermektedir. Trofoblast hücrelerinde fisyonunun inhibe edilmesi yüksek glukoz uygulamasıyla artan ROS ile paralel olarak mitokondriyal antioksidan enzim mRNA ekspresyonlarının daha fazla artmasına neden olmuştur. Diğer bir deneyimizde ise fisyon inhibitörleri, yüksek glukoz uygulamasıyla artan mtUPR belirteçlerinin anlamlı derecede azalmasına neden olmuş ve mitokondrilerdeki hatalı katlanmış protein stresinin hafifletilmesine yardımcı olmuştur. Apoptozun mitokondri fisyonu ile ilişkisi bir çok çalışmada gösterilmiştir. Mitokondrilerin parçalanması sitokrom c' nin salınımına neden olmakta, membran potansiyelini düşürmekte ve ROS' un artmasıyla sonuçlanmaktadır. Çalışmamızda fisyonun inhibisyonu, trofoblast hücrelerinde apoptozun önüne geçilmesine yardımcı olmuştur. Aynı şekilde yüksek glukoz ve artan ROS nedeniyle piropitozla sonuçlanan inflamazom aktivitesi fisyonun inhibe edilmesiyle azaltılmıştır. Steril inflamasyonun metabolik hastalıklardaki rolü göz önüne alındığında bu konuda yapılacak ileri çalışmalar önem kazanmaktadır.

Çalışma ilerleyen süreçte çeşitli görüntüleme teknikleriyle zengileştirilebilir. Elektron mikroskopuyla mitokondrilerin hücrelerdeki durumu görüntülenebilir. Floresan boyalarla mitokondriler boyanabilir ve mitokondri dinamiklerine katılan proteinlerin lokalizasyonu konfokal mikroskop analizlerinde gösterilebilir. Ayrıca mitokondri dinamiklerine katılan proteinlerin diğer proteinlerle olan ilişkisinin immünopresipitasyon deneyleriyle açıklığa kavuşturulabileceği önerilerimiz arasında yer almaktadır.

Çalışmamız gebelik diyabetinde mitokondriyal fonksiyonların aydınlatıldığı ender çalışmalardan birisidir. Mitokondriyal fisyonun engellemesi için kullanılan kimyasallar, metabolik hastalıklara karşı geliştirilebilecek yeni potansiyel terapötiklerin etkilerinin aydınlatılması açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- Abell, S. K., De Courten, B., Boyle, J. A., Teede, H. J. (2015). Inflammatory and other biomarkers: role in pathophysiology and prediction of gestational diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*, 16(6), 13442-13473.
- Aguirre, V., Werner, E. D., Giraud, J., Lee, Y. H., Shoelson, S. E., White, M. F. (2002). Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action. *Journal of Biological Chemistry*, 277(2), 1531-1537.
- Ahmed, A. M. (2002). History of diabetes mellitus. *Saudi medical journal*, 23(4), 373-378.
- Aires, M. B., dos Santos, A. C. V. (2015). Effects of maternal diabetes on trophoblast cells. *World journal of diabetes*, 6(2), 338.
- Alavi, M. V., Fuhrmann, N. (2013). Dominant optic atrophy, OPA1, and mitochondrial quality control: understanding mitochondrial network dynamics. *Molecular neurodegeneration*, 8(1), 1-12.
- Aldridge, J. E., Horibe, T., Hoogenraad, N. J. (2007). Discovery of genes activated by the mitochondrial unfolded protein response (mtUPR) and cognate promoter elements. *PLoS One*, 2(9), e874.
- Alfonso-Prieto, M., Biarnés, X., Vidossich, P., Rovira, C. (2009). The molecular mechanism of the catalase reaction. *Journal of the American Chemical Society*, 131(33), 11751-11761.
- Anderson, E. J., Lustig, M. E., Boyle, K. E., Woodlief, T. L., Kane, D. A., Lin, C.-T., Szeto, H. H. (2009). Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *The Journal of clinical investigation*, 119(3), 573-581.
- Arnoult, D., Rismanchi, N., Grodet, A., Roberts, R. G., Seeburg, D. P., Estaquier, J., Blackstone, C. (2005). Bax/Bak-dependent release of DDP/TIMM8a promotes Drp1-mediated mitochondrial fission and mitoptosis during programmed cell death. *Current biology*, 15(23), 2112-2118.

- Association, A. D. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(Supplement 1), S81-S90.
- Atègbo, J.-M., Grissa, O., Yessoufou, A., Hichami, A., Dramane, K., Moutairou, K., Tabka, Z. (2006). Modulation of adipokines and cytokines in gestational diabetes and macrosomia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(10), 4137-4143.
- Bach, D., Naon, D., Pich, S., Soriano, F. X., Vega, N., Rieusset, J., Wallberg-Henriksson, H. (2005). Expression of Mfn2, the Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A gene, in human skeletal muscle: effects of type 2 diabetes, obesity, weight loss, and the regulatory role of tumor necrosis factor α and interleukin-6. *Diabetes*, 54(9), 2685-2693.
- Bach, D., Pich, S., Soriano, F. X., Vega, N., Baumgartner, B., Oriola, J., Zierath, J. R. (2003). Mitofusin-2 determines mitochondrial network architecture and mitochondrial metabolism A novel regulatory mechanism altered in obesity. *Journal of Biological Chemistry*, 278(19), 17190-17197.
- Barbour, L. A., Shao, J., Qiao, L., Leitner, W., Anderson, M., Friedman, J. E., Draznin, B. (2004). Human placental growth hormone increases expression of the p85 regulatory unit of phosphatidylinositol 3-kinase and triggers severe insulin resistance in skeletal muscle. *Endocrinology*, 145(3), 1144-1150.
- Bari, M. F., Weickert, M. O., Sivakumar, K., James, S. G., Snead, D. R., Tan, B. K., Vatish, M. (2014). Elevated soluble CD163 in gestational diabetes mellitus: secretion from human placenta and adipose tissue. *PLoS One*, 9(7), e101327.
- Beauharnais, C. C., Roberts, D. J., Wexler, D. J. (2012). High rate of placental infarcts in type 2 compared with type 1 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(7), E1160-E1164.
- Becker, C., Kukat, A., Szczepanowska, K., Hermans, S., Senft, K., Brandscheid, C. P., Trifunovic, A. (2018). CLPP deficiency protects against metabolic syndrome but hinders adaptive thermogenesis. *EMBO reports*, 19(5), e45126.
- Bellamy, L., Casas, J.-P., Hingorani, A. D., Williams, D. (2009). Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 373(9677), 1773-1779.

- Bentley-Lewis, R., Dawson, D. L., Wenger, J. B., Thadhani, R. I., Roberts, D. J. (2014). Placental histomorphometry in gestational diabetes mellitus: the relationship between subsequent type 2 diabetes mellitus and race/ethnicity. *American journal of clinical pathology*, 141(4), 587-592.
- Bhatti, J. S., Bhatti, G. K., Reddy, P. H. (2017). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders—A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1066-1077.
- Binder, A. M., LaRocca, J., Lesueur, C., Marsit, C. J., Michels, K. B. (2015). Epigenome-wide and transcriptome-wide analyses reveal gestational diabetes is associated with alterations in the human leukocyte antigen complex. *Clinical epigenetics*, 7(1), 1-12.
- Blair, M. (2016). Diabetes Mellitus Review. *Urologic nursing*, 36(1).
- Boney, C. M., Verma, A., Tucker, R., Vohr, B. R. (2005). Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics*, 115(3), e290-e296.
- Bordt, E. A., Clerc, P., Roelofs, B. A., Saladino, A. J., Tretter, L., Adam-Vizi, V., Shealinn, X. G. (2017). The putative Drp1 inhibitor mdivi-1 is a reversible mitochondrial complex I inhibitor that modulates reactive oxygen species. *Developmental cell*, 40(6), 583-594. e586.
- Borengasser, S. J., Faske, J., Kang, P., Blackburn, M. L., Badger, T. M., Shankar, K. (2014). In utero exposure to prepregnancy maternal obesity and postweaning high-fat diet impair regulators of mitochondrial dynamics in rat placenta and offspring. *Physiological genomics*, 46(23), 841-850.
- Bottalico, J. N. (2007). *Recurrent gestational diabetes: risk factors, diagnosis, management, and implications*. Paper presented at the Seminars in Perinatology.
- BOYD, P. A., SCOTT, A., KEELING, J. W. (1986). Quantitative structural studies on placentas from pregnancies complicated by diabetes mellitus. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 93(1), 31-35.
- Boyle, K. E., Newsom, S. A., Janssen, R. C., Lappas, M., Friedman, J. E. (2013). Skeletal muscle MnSOD, mitochondrial complex II, and SIRT3 enzyme activities are decreased in maternal obesity during human pregnancy and gestational diabetes

- mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(10), E1601-E1609.
- Brand, M. D., Affourtit, C., Esteves, T. C., Green, K., Lambert, A. J., Miwa, S., . Parker, N. (2004). Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(6), 755-767.
- Brănișteanu, D. D., Mathieu, C. (2003). Progesterone in gestational diabetes mellitus: guilty or not guilty? *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 14(2), 54-56.
- Brizzi, P., Tonolo, G., Esposito, F., Puddu, L., Dessole, S., Maioli, M., Milia, S. (1999). Lipoprotein metabolism during normal pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*, 181(2), 430-434.
- Brown, G. C., Murphy, M. P., Jornayvaz, F. R., Shulman, G. I. (2010). Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays in biochemistry*, 47, 69-84.
- Burton, G. J., Yung, H. W., Murray, A. J. (2017). Mitochondrial–endoplasmic reticulum interactions in the trophoblast: stress and senescence. *Placenta*, 52, 146-155.
- Cakan, N., Kizilbash, S., Kamat, D. (2012). Changing spectrum of diabetes mellitus in children: challenges with initial classification. *Clinical pediatrics*, 51(10), 939-944.
- Capula, C., Mazza, T., Vero, R., Costante, G. (2013). HbA1c levels in patients with gestational diabetes mellitus: Relationship with pre-pregnancy BMI and pregnancy outcome. *Journal of Endocrinological Investigation*, 36(11), 1038-1045.
- Casanello, P., Escudero, C., Sobrevia, L. (2007). Equilibrative nucleoside (ENTs) and cationic amino acid (CATs) transporters: implications in foetal endothelial dysfunction in human pregnancy diseases. *Current vascular pharmacology*, 5(1), 69-84.
- Cassidy-Stone, A., Chipuk, J. E., Ingerman, E., Song, C., Yoo, C., Kuwana, T., Green, D. R. (2008). Chemical inhibition of the mitochondrial division dynamin reveals its role in Bax/Bak-dependent mitochondrial outer membrane permeabilization. *Developmental cell*, 14(2), 193-204.
- Catalano, P. M., Kirwan, J. P., Haugel-de Mouzon, S., King, J. (2003). Gestational diabetes and insulin resistance: role in short-and long-term implications for mother and fetus. *The Journal of nutrition*, 133(5), 1674S-1683S.

- Catalano, P. M., Nizielski, S. E., Shao, J., Preston, L., Qiao, L., Friedman, J. E. (2002). Downregulated IRS-1 and PPAR γ in obese women with gestational diabetes: relationship to FFA during pregnancy. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 282(3), E522-E533.
- Catalano, P. M., Thomas, A., Huston-Presley, L., Amini, S. B. (2003). Increased fetal adiposity: a very sensitive marker of abnormal in utero development. *American journal of obstetrics and gynecology*, 189(6), 1698-1704.
- Catalano, P. M., Tyzbit, E. D., Roman, N. M., Amini, S. B., Sims, E. A. (1991). Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *American journal of obstetrics and gynecology*, 165(6), 1667-1672.
- Cerqueira, F. M., Chausse, B., Baranovski, B. M., Liesa, M., Lewis, E. C., Shirihai, O. S., Kowaltowski, A. J. (2016). Diluted serum from calorie-restricted animals promotes mitochondrial β -cell adaptations and protect against glucolipotoxicity. *The FEBS journal*, 283(5), 822-833.
- Cetin, I., Alvino, G. (2009). Intrauterine growth restriction: implications for placental metabolism and transport. A review. *Placenta*, 30, 77-82.
- Chan, D. C. (2006a). Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development. *Cell*, 125(7), 1241-1252.
- Chan, D. C. (2006b). Mitochondrial fusion and fission in mammals. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 22, 79-99.
- Chan, D. C. (2012). Fusion and fission: interlinked processes critical for mitochondrial health. *Annual review of genetics*, 46, 265-287.
- Chen, B., Ge, Y., Wang, H., Zhu, H., Xu, J., Wu, Z., Tang, S. (2018). Expression of mitofusin 2 in placentae of women with gestational diabetes mellitus. *Journal of genetics*, 97(5), 1289-1294.
- Cheng, B., Xu, A., Qiao, M., Wu, Q., Wang, W., Mei, Y., Wu, M. (2015). BECN1s, a short splice variant of BECN1, functions in mitophagy. *Autophagy*, 11(11), 2048-2056.
- Cheng, C.-Y., Lin, Y.-H., Su, C.-C. (2010). Curcumin inhibits the proliferation of human hepatocellular carcinoma J5 cells by inducing endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction. *International journal of molecular medicine*, 26(5), 673-678.

- Chistiakov, D. A., Sobenin, I. A., Revin, V. V., Orekhov, A. N., Bobryshev, Y. V. (2014). Mitochondrial aging and age-related dysfunction of mitochondria. *BioMed research international*, 2014.
- Chu, S. Y., Callaghan, W. M., Kim, S. Y., Schmid, C. H., Lau, J., England, L. J., Dietz, P. M. (2007). Maternal obesity and risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 30(8), 2070-2076.
- Chung, C.-L., Sheu, J.-R., Liu, H.-E., Chang, S.-C., Chou, Y.-C., Chen, W.-L., Hsiao, G. (2009). Dynasore, a dynamin inhibitor, induces PAI-1 expression in MeT-5A human pleural mesothelial cells. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 40(6), 692-700.
- Claesson, R., Ignell, C., Shaat, N., Berntorp, K. (2017). HbA1c as a predictor of diabetes after gestational diabetes mellitus. *Primary care diabetes*, 11(1), 46-51.
- Clausen, T., Burski, T., Øyen, N., Godang, K., Bollerslev, J., Henriksen, T. (2005). Maternal anthropometric and metabolic factors in the first half of pregnancy and risk of neonatal macrosomia in term pregnancies. A prospective study. *European journal of endocrinology*, 153(6), 887-894.
- Clerc, P., Ge, S., Hwang, H., Waddell, J., Roelofs, B., Karbowski, M., Polster, B. (2014). Drp 1 is dispensable for apoptotic cytochrome c release in primed MCF 10 A and fibroblast cells but affects Bcl-2 antagonist-induced respiratory changes. *British journal of pharmacology*, 171(8), 1988-1999.
- Contreras, L., Drago, I., Zampese, E., Pozzan, T. (2010). Mitochondria: the calcium connection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1797(6-7), 607-618.
- Craig, M. E., Jefferies, C., Dabelea, D., Balde, N., Seth, A., Donaghue, K. C. (2014). Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric diabetes*, 15(S20), 4-17.
- Dabelea, D., Hanson, R. L., Lindsay, R. S., Pettitt, D. J., Imperatore, G., Gabir, M. M., Knowler, W. C. (2000). Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes*, 49(12), 2208-2211.
- Dashe, J. S., Nathan, L., McIntire, D. D., Leveno, K. J. (2000). Correlation between amniotic fluid glucose concentration and amniotic fluid volume in pregnancy

complicated by diabetes. *American journal of obstetrics and gynecology*, 182(4), 901-904.

- Daskalakis, G., Marinopoulos, S., Krielesi, V., Papapanagiotou, A., Papantoniou, N., Mesogitis, S., Antsaklis, A. (2008). Placental pathology in women with gestational diabetes. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 87(4), 403-407.
- De Brito, O. M., Scorrano, L. (2008). Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*, 456(7222), 605-610.
- Deepa, S. S., Bhaskaran, S., Ranjit, R., Qaisar, R., Nair, B. C., Liu, Y., Van Remmen, H. (2016). Down-regulation of the mitochondrial matrix peptidase ClpP in muscle cells causes mitochondrial dysfunction and decreases cell proliferation. *Free Radical Biology and Medicine*, 91, 281-292.
- Dekker Nitert, M., Barrett, H. L., Kubala, M. H., Scholz Romero, K., Denny, K. J., Woodruff, T. M., Callaway, L. K. (2014). Increased placental expression of fibroblast growth factor 21 in gestational diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(4), E591-E598.
- Dennedy, M. C., Dunne, F. (2010). The maternal and fetal impacts of obesity and gestational diabetes on pregnancy outcome. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 24(4), 573-589.
- Desforges, M., Sibley, C. P. (2009). Placental nutrient supply and fetal growth. *International Journal of Developmental Biology*, 54(2-3), 377-390.
- Desoye, G., Hahn, T., Hartmann, M., Blaschitz, A., Dohr, G., Kohnen, G., Kaufmann, P. (1994). Insulin receptors in syncytiotrophoblast and fetal endothelium of human placenta. Immunohistochemical evidence for developmental changes in distribution pattern. *Histochemistry*, 101(4), 277-285.
- Desoye, G., Hauguel-de Mouzon, S. (2007). The human placenta in gestational diabetes mellitus: the insulin and cytokine network. *Diabetes Care*, 30(Supplement 2), S120-S126.
- Detmer, S. A., Chan, D. C. (2007). Complementation between mouse Mfn1 and Mfn2 protects mitochondrial fusion defects caused by CMT2A disease mutations. *The Journal of cell biology*, 176(4), 405-414.

- Diabetes, I. A. o., Panel, P. S. G. C. (2010). International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care*, *33*(3), 676-682.
- Díaz, P., Dimasuay, K. G., Koele-Schmidt, L., Jang, B., Barbour, L. A., Jansson, T., Powell, T. L. (2017). Glyburide treatment in gestational diabetes is associated with increased placental glucose transporter 1 expression and higher birth weight. *Placenta*, *57*, 52-59.
- Diaz-Morales, N., Rovira-Llopis, S., Banuls, C., Escribano-Lopez, I., de Maranon, A. M., Lopez-Domenech, S., Veses, S. (2016). Are mitochondrial fusion and fission impaired in leukocytes of type 2 diabetic patients? : Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA.
- Ding, M., Dong, Q., Liu, Z., Liu, Z., Qu, Y., Li, X., Wang, X. (2017). Inhibition of dynamin-related protein 1 protects against myocardial ischemia–reperfusion injury in diabetic mice. *Cardiovascular diabetology*, *16*(1), 1-11.
- Dorn, G. W., Kitsis, R. N. (2015). The mitochondrial dynamism-mitophagy-cell death interactome: multiple roles performed by members of a mitochondrial molecular ensemble. *Circ Res*, *116*(1), 167-182.
- Ehrenberg, H. M., Durnwald, C. P., Catalano, P., Mercer, B. M. (2004). The influence of obesity and diabetes on the risk of cesarean delivery. *American journal of obstetrics and gynecology*, *191*(3), 969-974.
- El Mallah, K., Narchi, H., Kulaylat, N., Shaban, M. (1997). Gestational and pre-gestational diabetes: comparison of maternal and fetal characteristics and outcome. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, *58*(2), 203-209.
- Eldar-Finkelman, H., Schreyer, S. A., Shinohara, M. M., LeBoeuf, R. C., Krebs, E. G. (1999). Increased glycogen synthase kinase-3 activity in diabetes-and obesity-prone C57BL/6J mice. *Diabetes*, *48*(8), 1662-1666.
- ERDOĞAN, S., ÖZDEMİR, Ö., DOĞAN, H. O., Sezer, S., ATALAY, C. R., Yilmaz, F. M., KOCA, Y. (2014). Liver enzymes, mean platelet volume, and red cell distribution width in gestational diabetes. *Turkish journal of medical sciences*, *44*(1), 121-125.

- Fajans, S. S., Bell, G. I., Polonsky, K. S. (2001). Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *New England Journal of Medicine*, 345(13), 971-980.
- Fang, L., Xie, D., Wu, X., Cao, H., Su, W., Yang, J. (2013). Involvement of endoplasmic reticulum stress in albuminuria induced inflammasome activation in renal proximal tubular cells. *PLoS One*, 8(8), e72344.
- Fealy, C. E., Mulya, A., Lai, N., Kirwan, J. P. (2014). Exercise training decreases activation of the mitochondrial fission protein dynamin-related protein-1 in insulin-resistant human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*, 117(3), 239-245.
- Federation, I. D. (2015). IDF Diabetes Atlas 6th.
- Feng, H., Su, R., Song, Y., Wang, C., Lin, L., Ma, J., Yang, H. (2016). Positive correlation between enhanced expression of TLR4/MyD88/NF- κ B with insulin resistance in placentae of gestational diabetes mellitus. *PLoS One*, 11(6), e0157185.
- Ferrara, A., Hedderon, M. M., Quesenberry, C. P., Selby, J. V. (2002). Prevalence of gestational diabetes mellitus detected by the national diabetes data group or the carpenter and coustan plasma glucose thresholds. *Diabetes Care*, 25(9), 1625-1630.
- Finster, M., Wood, M., Raja, S. N. (2005). The Apgar score has survived the test of time. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 102(4), 855-857.
- Foghsgaard, S., Andreasen, C., Vedtofte, L., Andersen, E. S., Bahne, E., Strandberg, C., Clausen, T. D. (2017). Nonalcoholic fatty liver disease is prevalent in women with prior gestational diabetes mellitus and independently associated with insulin resistance and waist circumference. *Diabetes Care*, 40(1), 109-116.
- Foteinos, G., Xu, Q. (2009). Immune-mediated mechanisms of endothelial damage in atherosclerosis. *Autoimmunity*, 42(7), 627-633.
- Franchi, L., Warner, N., Viani, K., Nuñez, G. (2009). Function of Nod-like receptors in microbial recognition and host defense. *Immunological reviews*, 227(1), 106-128.
- Frank, S., Gaume, B., Bergmann-Leitner, E. S., Leitner, W. W., Robert, E. G., Catez, F., Youle, R. J. (2001). The role of dynamin-related protein 1, a mediator of mitochondrial fission, in apoptosis. *Developmental cell*, 1(4), 515-525.

- Frieden, M., James, D., Castelbou, C., Danckaert, A., Martinou, J.-C., Demaurex, N. (2004). Ca²⁺ homeostasis during mitochondrial fragmentation and perinuclear clustering induced by hFis1. *Journal of Biological Chemistry*, 279(21), 22704-22714.
- Gaither, K., Quraishi, A. N., Illsley, N. P. (1999). Diabetes alters the expression and activity of the human placental GLUT1 glucose transporter. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(2), 695-701.
- Galloway, C. A., Lee, H., Nejjar, S., Jhun, B. S., Yu, T., Hsu, W., Yoon, Y. (2012). Transgenic control of mitochondrial fission induces mitochondrial uncoupling and relieves diabetic oxidative stress. *Diabetes*, 61(8), 2093-2104.
- Galloway, C. A., Yoon, Y. (2013). Mitochondrial morphology in metabolic diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 19(4), 415-430.
- Galtier, F. (2010). Definition, epidemiology, risk factors. *Diabetes & metabolism*, 36(6 Pt 2), 628-651.
- Ganss, R. (2017). Maternal metabolism and vascular adaptation in pregnancy: the PPAR link. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 28(1), 73-84.
- Gao, D., Zhang, L., Dhillon, R., Hong, T.-T., Shaw, R. M., Zhu, J. (2013). Dynasore protects mitochondria and improves cardiac lusitropy in Langendorff perfused mouse heart. *PLoS One*, 8(4).
- Geisler, S., Holmström, K. M., Skujat, D., Fiesel, F. C., Rothfuss, O. C., Kahle, P. J., Springer, W. (2010). PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nature cell biology*, 12(2), 119-131.
- Gerber, P. A., Rutter, G. A. (2017). The role of oxidative stress and hypoxia in pancreatic beta-cell dysfunction in diabetes mellitus. *Antioxidants & Redox Signaling*, 26(10), 501-518.
- Gillman, M. W., Rifas-Shiman, S., Berkey, C. S., Field, A. E., Colditz, G. A. (2003). Maternal gestational diabetes, birth weight, and adolescent obesity. *Pediatrics*, 111(3), e221-e226.
- Girard, E., Paul, J. L., Fournier, N., Beaune, P., Johannes, L., Lamaze, C., Védie, B. (2011). The dynamin chemical inhibitor dynasore impairs cholesterol trafficking and sterol-sensitive genes transcription in human HeLa cells and macrophages. *PLoS One*, 6(12).

- Glazer, N. L., Hendrickson, A. F., Schellenbaum, G. D., Mueller, B. A. (2004). Weight change and the risk of gestational diabetes in obese women. *Epidemiology*, 733-737.
- Göbl, C. S., Bozkurt, L., Yarragudi, R., Prikoszovich, T., Tura, A., Pacini, G., Kautzky-Willer, A. (2014). Biomarkers of endothelial dysfunction in relation to impaired carbohydrate metabolism following pregnancy with gestational diabetes mellitus. *Cardiovascular diabetology*, 13(1), 1-9.
- Goldstein, B. J., Mahadev, K., Wu, X. (2005). Redox paradox: insulin action is facilitated by insulin-stimulated reactive oxygen species with multiple potential signaling targets. *Diabetes*, 54(2), 311-321.
- Gorodezky, C., Alaez, C., Murguía, A., Rodríguez, A., Balladares, S., Vazquez, M., Robles, C. (2006). HLA and autoimmune diseases: Type 1 diabetes (T1D) as an example. *Autoimmunity Reviews*, 5(3), 187-194.
- Gregor, M. F., Hotamisligil, G. S. (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. *Annual review of immunology*, 29, 415-445.
- Groop, L. (2003). PGC-1alpha-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes: Nat.
- Group, H. S. C. R. (2008). Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *New England Journal of Medicine*, 358(19), 1991-2002.
- Guo, X., Sesaki, H., Qi, X. (2014). Drp1 stabilizes p53 on the mitochondria to trigger necrosis under oxidative stress conditions in vitro and in vivo. *Biochemical Journal*, 461(1), 137-146.
- Gupta, S., Agarwal, A., Sharma, R. K. (2005). The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia. *Obstetrical & gynecological survey*, 60(12), 807-816.
- Hall, L., Martinus, R. D. (2013). Hyperglycaemia and oxidative stress upregulate HSP60 & HSP70 expression in HeLa cells. *SpringerPlus*, 2(1), 1-10.
- Handy, D. E., Lubos, E., Yang, Y., Galbraith, J. D., Kelly, N., Zhang, Y.-Y., Loscalzo, J. (2009). Glutathione peroxidase-1 regulates mitochondrial function to modulate redox-dependent cellular responses. *Journal of Biological Chemistry*, 284(18), 11913-11921.

- Harris, M. I., Flegal, K. M., Cowie, C. C., Eberhardt, M. S., Goldstein, D. E., Little, R. R., Byrd-Holt, D. D. (1998). Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in US adults: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *Diabetes Care*, 21(4), 518-524.
- Hay Jr, W. W. (2006). Placental-fetal glucose exchange and fetal glucose metabolism. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, 117, 321.
- Haynes, C. M., Fiorese, C. J., Lin, Y.-F. (2013). Evaluating and responding to mitochondrial dysfunction: the mitochondrial unfolded-protein response and beyond. *Trends in cell biology*, 23(7), 311-318.
- Health, N. I. f., Excellence, C. (2014). *Diabetes in pregnancy: management of diabetes and its complications from pre-conception to the postnatal period*: National Institute for Health and Care Excellence (NICE).
- Hedderson, M. M., Gunderson, E. P., Ferrara, A. (2010). Gestational weight gain and risk of gestational diabetes mellitus. *Obstetrics and gynecology*, 115(3), 597.
- Heim, K. R., Mulla, M. J., Potter, J. A., Han, C. S., Guller, S., Abrahams, V. M. (2018). Excess glucose induce trophoblast inflammation and limit cell migration through HMGB 1 activation of Toll-Like receptor 4. *American Journal of Reproductive Immunology*, 80(5), e13044.
- Herrera, E. (2000). Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. *European journal of clinical nutrition*, 54(1), S47-S51.
- Higgins, M., Felle, P., Mooney, E., Bannigan, J., McAuliffe, F. (2011). Stereology of the placenta in type 1 and type 2 diabetes. *Placenta*, 32(8), 564-569.
- Highman, T. J., Friedman, J. E., Huston, L. P., Wong, W. W., Catalano, P. M. (1998). Longitudinal changes in maternal serum leptin concentrations, body composition, and resting metabolic rate in pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*, 178(5), 1010-1015.
- Hillier, T. A., Pedula, K. L., Schmidt, M. M., Mullen, J. A., Charles, M.-A., Pettitt, D. J. (2007). Childhood obesity and metabolic imprinting: the ongoing effects of maternal hyperglycemia. *Diabetes Care*, 30(9), 2287-2292.

- Holdsworth-Carson, S., Lim, R., Mitton, A., Whitehead, C., Rice, G. E., Permezel, M., Lappas, M. (2010). Peroxisome proliferator-activated receptors are altered in pathologies of the human placenta: gestational diabetes mellitus, intrauterine growth restriction and preeclampsia. *Placenta*, 31(3), 222-229.
- Holland, O., Nitert, M. D., Gallo, L. A., Vejzovic, M., Fisher, J. J., Perkins, A. V. (2017). Placental mitochondrial function and structure in gestational disorders. *Placenta*, 54, 2-9.
- Horibe, T., Hoogenraad, N. J. (2007). The chop gene contains an element for the positive regulation of the mitochondrial unfolded protein response. *PLoS One*, 2(9), e835.
- Hotamisligil, G. S. (2010). Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*, 140(6), 900-917.
- Houtkooper, R. H., Mouchiroud, L., Ryu, D., Moullan, N., Katsyuba, E., Knott, G., Auwerx, J. (2013). Mitonuclear protein imbalance as a conserved longevity mechanism. *Nature*, 497(7450), 451.
- Hubel, C. A. (1999). Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 222(3), 222-235.
- Hundal, R. S., Petersen, K. F., Mayerson, A. B., Randhawa, P. S., Inzucchi, S., Shoelson, S. E., Shulman, G. I. (2002). Mechanism by which high-dose aspirin improves glucose metabolism in type 2 diabetes. *The Journal of clinical investigation*, 109(10), 1321-1326.
- Illsley, N. (2000). Current topic: glucose transporters in the human placenta. *Placenta*, 21(1), 14-22.
- Ishak, M., Petocz, P., Ishak, M., Petocz, P. (2003). Gestational diabetes among Aboriginal Australians: prevalence, time trend, and comparisons with non-Aboriginal Australians. *Ethnicity & disease*, 13(1), 55-60.
- Jansson, N., Rosario, F. J., Gaccioli, F., Lager, S., Jones, H. N., Roos, S., Powell, T. L. (2013). Activation of placental mTOR signaling and amino acid transporters in obese women giving birth to large babies. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(1), 105-113.

- Jansson, T., Ekstrand, Y., Björn, C., Wennergren, M., Powell, T. L. (2002). Alterations in the activity of placental amino acid transporters in pregnancies complicated by diabetes. *Diabetes*, 51(7), 2214-2219.
- Jansson, T., Myatt, L., Powell, T. L. (2009). The role of trophoblast nutrient and ion transporters in the development of pregnancy complications and adult disease. *Current vascular pharmacology*, 7(4), 521-533.
- Jansson, T., Wennergren, M., Illsley, N. P. (1993). Glucose transporter protein expression in human placenta throughout gestation and in intrauterine growth retardation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 77(6), 1554-1562.
- Jheng, H. F., Huang, S. H., Kuo, H. M., Hughes, M. W., Tsai, Y. S. (2015). Molecular insight and pharmacological approaches targeting mitochondrial dynamics in skeletal muscle during obesity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1350(1), 82-94.
- Jheng, H.-F., Tsai, P.-J., Guo, S.-M., Kuo, L.-H., Chang, C.-S., Su, I.-J., Tsai, Y.-S. (2012). Mitochondrial fission contributes to mitochondrial dysfunction and insulin resistance in skeletal muscle. *Molecular and cellular biology*, 32(2), 309-319.
- Joshi, A. U., Saw, N. L., Vogel, H., Cunnigham, A. D., Shamloo, M., Mochly-Rosen, D. (2018). Inhibition of Drp1/Fis1 interaction slows progression of amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO molecular medicine*, 10(3).
- Jun, H.-S., Yoon, J.-W. (2004). A new look at viruses in type 1 diabetes. *ILAR journal*, 45(3), 349-374.
- Kalhan, S., Parimi, P. (2000). *Gluconeogenesis in the fetus and neonate*. Paper presented at the Seminars in perinatology.
- Karl, P. I. (1995). Insulin-like growth factor-1 stimulates amino acid uptake by the cultured human placental trophoblast. *J Cell Physiol*, 165(1), 83-88.
- Karl, P. I., Alpy, K. L., Fisher, S. E. (1992). Amino acid transport by the cultured human placental trophoblast: effect of insulin on AIB transport. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 262(4), C834-C839.
- Kaul, K., Tarr, J. M., Ahmad, S. I., Kohner, E. M., Chibber, R. (2013). Introduction to diabetes mellitus. *Diabetes*, 1-11.

- Kautzky-Willer, A., Pacini, G., Tura, A., Biegelmayer, C., Schneider, B., Ludvik, B., Waldhäusl, W. (2001). Increased plasma leptin in gestational diabetes. *Diabetologia*, 44(2), 164-172.
- Kharroubi, A. T., Darwish, H. M. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World journal of diabetes*, 6(6), 850.
- Kim, B., Kim, J.-S., Yoon, Y., Santiago, M. C., Brown, M. D., Park, J.-Y. (2013). Inhibition of Drp1-dependent mitochondrial division impairs myogenic differentiation. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 305(8), R927-R938.
- Kim, C., Berger, D. K., Chamany, S. (2007). Recurrence of gestational diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*.
- Kim, I., Rodriguez-Enriquez, S., Lemasters, J. J. (2007). Selective degradation of mitochondria by mitophagy. *Archives of biochemistry and biophysics*, 462(2), 245-253.
- King, H., Aubert, R. E., Herman, W. H. (1998). Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care*, 21(9), 1414-1431.
- Kleiblova, P., Dostalova, I., Bartlova, M., Lacinova, Z., Ticha, I., Krejci, V., Haluzik, M. (2010). Expression of adipokines and estrogen receptors in adipose tissue and placenta of patients with gestational diabetes mellitus. *Molecular and cellular endocrinology*, 314(1), 150-156.
- Knabl, J., Hüttenbrenner, R., Hutter, S., Günthner-Biller, M., Vrekoussis, T., Karl, K., Jeschke, U. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR γ) is down regulated in trophoblast cells of gestational diabetes mellitus (GDM) and in trophoblast tumour cells BeWo in vitro after stimulation with PPAR γ agonists. *Journal of perinatal medicine*, 42(2), 179-187.
- Kraemer, F. B., Ginsberg, H. N. (2014). Gerald M. Reaven, MD: Demonstration of the central role of insulin resistance in type 2 diabetes and cardiovascular disease: Am Diabetes Assoc.
- Kumari, S., Anderson, L., Farmer, S., Mehta, S. L., Li, P. A. (2012). Hyperglycemia alters mitochondrial fission and fusion proteins in mice subjected to cerebral ischemia and reperfusion. *Translational stroke research*, 3(2), 296-304.

- Kurihara, Y., Kanki, T., Aoki, Y., Hirota, Y., Saigusa, T., Uchiumi, T., Kang, D. (2012). Mitophagy plays an essential role in reducing mitochondrial production of reactive oxygen species and mutation of mitochondrial DNA by maintaining mitochondrial quantity and quality in yeast. *Journal of Biological Chemistry*, 287(5), 3265-3272.
- Kurth-Kraczek, E. J., Hirshman, M. F., Goodyear, L. J., Winder, W. W. (1999). 5'AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle. *Diabetes*, 48(8), 1667-1671.
- Kuzmicki, M., Telejko, B., Wawrusiewicz-Kurylonek, N., Lipinska, D., Pliszka, J., Wilk, J., Kretowski, A. (2013). The expression of genes involved in NF- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells of patients with gestational diabetes. *Eur J Endocrin*, 168, 419-427.
- Lain, K. Y., Catalano, P. M. (2007). Metabolic changes in pregnancy. *Clinical obstetrics and gynecology*, 50(4), 938-948.
- Langer, O., Yogev, Y., Most, O., Xenakis, E. M. (2005). Gestational diabetes: the consequences of not treating. *American journal of obstetrics and gynecology*, 192(4), 989-997.
- Lao, T. T., Ho, L.-F., Chan, B. C., Leung, W.-C. (2006). Maternal age and prevalence of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 29(4), 948-949.
- Laplante, M., Sabatini, D. M. (2012). mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, 149(2), 274-293.
- Lappas, M. (2014a). Activation of inflammasomes in adipose tissue of women with gestational diabetes. *Molecular and cellular endocrinology*, 382(1), 74-83.
- Lappas, M. (2014b). GSK3 β is increased in adipose tissue and skeletal muscle from women with gestational diabetes where it regulates the inflammatory response. *PLoS One*, 9(12), e115854.
- Lappas, M. (2014c). Markers of endothelial cell dysfunction are increased in human omental adipose tissue from women with pre-existing maternal obesity and gestational diabetes. *Metabolism*, 63(6), 860-873.
- Lappas, M., Hiden, U., Desoye, G., Froehlich, J., Mouzon, S. H.-d., Jaberbaum, A. (2011). The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(12), 3061-3100.

- Lappas, M., Mitton, A., Lim, R., Barker, G., Riley, C., Permezel, M. (2011). SIRT1 is a novel regulator of key pathways of human labor. *Biology of reproduction*, 84(1), 167-178.
- Lappas, M., Yee, K., Permezel, M., Rice, G. (2006). Lipopolysaccharide and TNF- α activate the nuclear factor kappa B pathway in the human placental JEG-3 cells. *Placenta*, 27(6-7), 568-575.
- Lappas, M., Yee, K., Permezel, M., Rice, G. E. (2005a). Release and regulation of leptin, resistin and adiponectin from human placenta, fetal membranes, and maternal adipose tissue and skeletal muscle from normal and gestational diabetes mellitus-complicated pregnancies. *Journal of Endocrinology*, 186(3), 457-465.
- Lappas, M., Yee, K., Permezel, M., Rice, G. E. (2005b). Sulfasalazine and BAY 11-7082 interfere with the nuclear factor- κ B and I κ B kinase pathway to regulate the release of proinflammatory cytokines from human adipose tissue and skeletal muscle in vitro. *Endocrinology*, 146(3), 1491-1497.
- Lee, A. J., Hiscock, R. J., Wein, P., Walker, S. P., Permezel, M. (2007). Gestational diabetes mellitus: clinical predictors and long-term risk of developing type 2 diabetes: a retrospective cohort study using survival analysis. *Diabetes Care*, 30(4), 878-883.
- Legros, F., Lombès, A., Frachon, P., Rojo, M. (2002). Mitochondrial fusion in human cells is efficient, requires the inner membrane potential, and is mediated by mitofusins. *Molecular biology of the cell*, 13(12), 4343-4354.
- Levine, B., Yuan, J. (2005). Autophagy in cell death: an innocent convict? *The Journal of clinical investigation*, 115(10), 2679-2688.
- Li, L., Mu, Z., Liu, P., Wang, Y., Yang, F., Han, X. (2021). Mdivi-1 alleviates atopic dermatitis through the inhibition of NLRP3 inflammasome. *Experimental Dermatology*.
- Li, Y., Cooper, A., Odibo, I. N., Ahmed, A., Murphy, P., Koonce, R., Maroteaux, L. (2016). Discrepancy in insulin regulation between gestational diabetes mellitus (GDM) platelets and placenta: Elsevier.
- Liesa, M., Shirihai, O. S. (2013). Mitochondrial dynamics in the regulation of nutrient utilization and energy expenditure. *Cell metabolism*, 17(4), 491-506.

- Lin, H.-Y., Weng, S.-W., Chang, Y.-H., Su, Y.-J., Chang, C.-M., Tsai, C.-J., Liou, C.-W. (2018). The causal role of mitochondrial dynamics in regulating insulin resistance in diabetes: link through mitochondrial reactive oxygen species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Liong, S., Lappas, M. (2015). Endoplasmic reticulum stress is increased in adipose tissue of women with gestational diabetes. *PLoS One*, 10(4), e0122633.
- Liong, S., Lappas, M. (2016). Endoplasmic reticulum stress regulates inflammation and insulin resistance in skeletal muscle from pregnant women. *Molecular and cellular endocrinology*, 425, 11-25.
- Liu, H., Xiang, H., Zhao, S., Sang, H., Lv, F., Chen, R., Lu, H. (2019). Vildagliptin improves high glucose-induced endothelial mitochondrial dysfunction via inhibiting mitochondrial fission. *Journal of cellular and molecular medicine*, 23(2), 798-810.
- Liu, R., Wang, S.-c., Li, M., Ma, X.-h., Jia, X.-n., Bu, Y., Yu, K.-j. (2020). An inhibitor of DRP1 (Mdivi-1) alleviates LPS-induced septic AKI by inhibiting NLRP3 inflammasome activation. *BioMed research international*, 2020.
- Lo, J. C., Feigenbaum, S. L., Escobar, G. J., Yang, J., Crites, Y. M., Ferrara, A. (2006). Increased prevalence of gestational diabetes mellitus among women with diagnosed polycystic ovary syndrome: a population-based study. *Diabetes Care*, 29(8), 1915-1917.
- López-Tello, J., Pérez-García, V., Khaira, J., Kusinski, L. C., Cooper, W. N., Andreani, A., Hemberger, M. (2019). Fetal and trophoblast PI3K p110 α have distinct roles in regulating resource supply to the growing fetus in mice. *Elife*, 8, e45282.
- Lord, M., Kole, M. (2017). Amniotic Fluid Index (AFI).
- Losón, O. C., Song, Z., Chen, H., Chan, D. C. (2013). Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission. *Molecular biology of the cell*, 24(5), 659-667.
- Lu, M., Sferruzzi-Perri, A. N. (2021). Placental mitochondrial function in response to gestational exposures. *Placenta*, 104, 124-137.
- Macia, E., Ehrlich, M., Massol, R., Boucrot, E., Brunner, C., Kirchhausen, T. (2006). Dynasore, a cell-permeable inhibitor of dynamin. *Developmental cell*, 10(6), 839-850.

- Magee, T. R., Ross, M. G., Wedekind, L., Desai, M., Kjos, S., Belkacemi, L. (2014). Gestational diabetes mellitus alters apoptotic and inflammatory gene expression of trophoblasts from human term placenta. *Journal of Diabetes and its Complications*, 28(4), 448-459.
- Mandò, C., De Palma, C., Stampalija, T., Anelli, G. M., Figus, M., Novielli, C., Cetin, I. (2014). Placental mitochondrial content and function in intrauterine growth restriction and preeclampsia. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 306(4), E404-E413.
- Martin, M., Rehani, K., Jope, R. S., Michalek, S. M. (2005). Toll-like receptor-mediated cytokine production is differentially regulated by glycogen synthase kinase 3. *Nature immunology*, 6(8), 777-784.
- Martinez, F., Olvera-Sanchez, S., Esparza-Perusquia, M., Gomez-Chang, E., Flores-Herrera, O. (2015). Multiple functions of syncytiotrophoblast mitochondria. *Steroids*, 103, 11-22.
- Martinus, R. D., Garth, G. P., Webster, T. L., Cartwright, P., Naylor, D. J., Høj, P. B., Hoogenraad, N. J. (1996). Selective induction of mitochondrial chaperones in response to loss of the mitochondrial genome. *European Journal of Biochemistry*, 240(1), 98-103.
- Martinus, R. D., Ryan, M. T., Naylor, D. J., Herd, S. M., Hoogenraad, N. J., Høj, P. B. (1995). Role of chaperones in the biogenesis and maintenance of the mitochondrion. *The FASEB Journal*, 9(5), 371-378.
- Matsuda, N., Sato, S., Shiba, K., Okatsu, K., Saisho, K., Gautier, C. A., Sato, F. (2010). PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *Journal of Cell Biology*, 189(2), 211-221.
- MAYHEW, T. M., JAIRAM, I. C. (2000). Stereological comparison of 3D spatial relationships involving villi and intervillous pores in human placentas from control and diabetic pregnancies. *The Journal of Anatomy*, 197(2), 263-274.
- McBride, H. M., Neuspiel, M., Wasiak, S. (2006). Mitochondria: more than just a powerhouse. *Current biology*, 16(14), R551-R560.

- McCarthy, F. P., Delany, A. C., Kenny, L. C., Walsh, S. K. (2013). PPAR- γ —a possible drug target for complicated pregnancies. *British journal of pharmacology*, 168(5), 1074-1085.
- Megia, A., Näf, S., Herranz, L., Serrat, N., Yanez, R., Simon, I., Vendrell, J. (2012). The usefulness of HbA1c in postpartum reclassification of gestational diabetes. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 119(7), 891-894.
- Meng, Q., Shao, L., Luo, X., Mu, Y., Xu, W., Gao, C., Cui, Y. (2015). Ultrastructure of placenta of gravidas with gestational diabetes mellitus. *Obstetrics and gynecology international*, 2015.
- Metzger, B. E., Contreras, M., Sacks, D., Watson, W., Dooley, S., Foderaro, M., Dierker, L. (2008). Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *New England Journal of Medicine*, 358(19), 1991-2002.
- Michishita, E., Park, J. Y., Burneskis, J. M., Barrett, J. C., Horikawa, I. (2005). Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Molecular biology of the cell*, 16(10), 4623-4635.
- Miller, W. L. (2013). Steroid hormone synthesis in mitochondria. *Molecular and cellular endocrinology*, 379(1-2), 62-73.
- Molina, A. J., Wikstrom, J. D., Stiles, L., Las, G., Mohamed, H., Elorza, A., Corkey, B. E. (2009). Mitochondrial networking protects β -cells from nutrient-induced apoptosis. *Diabetes*, 58(10), 2303-2315.
- Mooney, E., Doyle, E., Gearhart, P., Robboy, S. (2009). Placenta: Clinical Scenarios. *Robboy's Pathology of the Female Reproductive Tract, 2nd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone Elsevier*, 863-880.
- Mrizak, I., Grissa, O., Henault, B., Fekih, M., Bouslema, A., Boumaiza, I., Khan, N. A. (2014). Placental infiltration of inflammatory markers in gestational diabetic women. *Gen Physiol Biophys*, 33(2), 169-176.
- Myatt, L. (2010). Reactive oxygen and nitrogen species and functional adaptation of the placenta. *Placenta*, 31, S66-S69.
- Nakagawa, T., Zhu, H., Morishima, N., Li, E., Xu, J., Yankner, B. A., Yuan, J. (2000). Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- β . *Nature*, 403(6765), 98-103.

- Nakahira, K., Haspel, J. A., Rathinam, V. A., Lee, S.-J., Dolinay, T., Lam, H. C., Kim, H. P. (2011). Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nature immunology*, 12(3), 222-230.
- Neiger, R. (2017). Long-term effects of pregnancy complications on maternal health: a review. *Journal of clinical medicine*, 6(8), 76.
- Nguyen-Ngo, C., Jayabalan, N., Salomon, C., Lappas, M. (2019). Molecular pathways disrupted by gestational diabetes mellitus. *Journal of molecular endocrinology*, 63(3), R51-R72.
- Ni, H.-M., Williams, J. A., Ding, W.-X. (2015). Mitochondrial dynamics and mitochondrial quality control. *Redox biology*, 4, 6-13.
- Nishikawa, T., Edelstein, D., Du, X. L., Yamagishi, S.-i., Matsumura, T., Kaneda, Y., Hammes, H.-P. (2000). Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*, 404(6779), 787-790.
- Okatsu, K., Saisho, K., Shimanuki, M., Nakada, K., Shitara, H., Sou, Y. s., Komatsu, M. (2010). p62/SQSTM1 cooperates with Parkin for perinuclear clustering of depolarized mitochondria. *Genes to Cells*, 15(8), 887-900.
- Olvera-Sanchez, S., Espinosa-Garcia, M., Monreal, J., Flores-Herrera, O., Martinez, F. (2011). Mitochondrial heat shock protein participates in placental steroidogenesis. *Placenta*, 32(3), 222-229.
- Ong, S.-B., Subrayan, S., Lim, S. Y., Yellon, D. M., Davidson, S. M., Hausenloy, D. J. (2010). Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia/reperfusion injury. *Circulation*, 121(18), 2012.
- Osellame, L. D., Blacker, T. S., Duchon, M. R. (2012). Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 26(6), 711-723.
- Osmond, D., King, R. G., Brennecke, S. P., Gude, N. M. (2001). Placental glucose transport and utilisation is altered at term in insulin-treated, gestational-diabetic patients. *Diabetologia*, 44(9), 1133-1139.
- Otera, H., Mihara, K. (2011). Molecular mechanisms and physiologic functions of mitochondrial dynamics. *The Journal of Biochemistry*, 149(3), 241-251.

- Ott, M., Gogvadze, V., Orrenius, S., Zhivotovsky, B. (2007). Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis*, 12(5), 913-922.
- Özcan, U., Cao, Q., Yilmaz, E., Lee, A.-H., Iwakoshi, N. N., Özdelen, E., Hotamisligil, G. S. (2004). Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*, 306(5695), 457-461.
- Park, S., Won, J.-H., Hwang, I., Hong, S., Lee, H. K., Yu, J.-W. (2015). Defective mitochondrial fission augments NLRP3 inflammasome activation. *Scientific reports*, 5(1), 1-14.
- Pérez-Pérez, A., Maymó, J., Gambino, Y., Guadix, P., Dueñas, J. L., Varone, C., Sánchez-Margalet, V. (2013). Insulin enhances leptin expression in human trophoblastic cells. *Biology of reproduction*, 89(1), 20, 21-28.
- Perrin, M., Terry, M. B., Kleinhaus, K., Deutsch, L., Yanetz, R., Tiram, E., Harlap, S. (2007). Gestational diabetes as a risk factor for pancreatic cancer: a prospective cohort study. *BMC medicine*, 5(1), 1-7.
- Pessin, J. E., Saltiel, A. R. (2000). Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, 106(2), 165-169.
- Phillips, J. M., Parish, N. M., Raine, T., Bland, C., Sawyer, Y., De La Peña, H., Cooke, A. (2009). Type 1 diabetes development requires both CD4+ and CD8+ T cells and can be reversed by non-depleting antibodies targeting both T cell populations. *The review of diabetic studies: RDS*, 6(2), 97.
- Picón, M. J., Murri, M., Muñoz, A., Fernández-García, J. C., Gomez-Huelgas, R., Tinahones, F. J. (2012). Hemoglobin A1c versus oral glucose tolerance test in postpartum diabetes screening. *Diabetes Care*, 35(8), 1648-1653.
- Plows, J. F., Stanley, J. L., Baker, P. N., Reynolds, C. M., Vickers, M. H. (2018). The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*, 19(11), 3342.
- Poidatz, D., Dos Santos, E., Gronier, H., Vialard, F., Maury, B., De Mazancourt, P., Dieudonné, M.-N. (2015). Trophoblast syncytialisation necessitates mitochondrial function through estrogen-related receptor- γ activation. *Mhr: Basic science of reproductive medicine*, 21(2), 206-216.

- Pópulo, H., Lopes, J. M., Soares, P. (2012). The mTOR signalling pathway in human cancer. *International journal of molecular sciences*, 13(2), 1886-1918.
- Pozzilli, P., Di Mario, U. (2001). Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis (latent autoimmune diabetes of the adult): definition, characterization, and potential prevention. *Diabetes Care*, 24(8), 1460-1467.
- Qi, X., Qvit, N., Su, Y.-C., Mochly-Rosen, D. (2013). A novel Drp1 inhibitor diminishes aberrant mitochondrial fission and neurotoxicity. *Journal of cell science*, 126(3), 789-802.
- Quirós, P. M., Ramsay, A. J., Sala, D., Fernández-Vizarra, E., Rodríguez, F., Peinado, J. R., Zorzano, A. (2012). Loss of mitochondrial protease OMA1 alters processing of the GTPase OPA1 and causes obesity and defective thermogenesis in mice. *The EMBO journal*, 31(9), 2117-2133.
- Radaelli, T., Uvena-Celebrezze, J., Minium, J., Huston-Presley, L., Catalano, P., Hauguel-de Mouzon, S. (2006). Maternal interleukin-6: marker of fetal growth and adiposity. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 13(1), 53-57.
- Radaelli, T., Varastehpour, A., Catalano, P., Hauguel-de Mouzon, S. (2003). Gestational diabetes induces placental genes for chronic stress and inflammatory pathways. *Diabetes*, 52(12), 2951-2958.
- Ramsay, J. E., Ferrell, W. R., Crawford, L., Wallace, A. M., Greer, I. A., Sattar, N. (2002). Maternal obesity is associated with dysregulation of metabolic, vascular, and inflammatory pathways. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(9), 4231-4237.
- Rath, E., Haller, D. (2012). Mitochondria at the interface between danger signaling and metabolism: role of unfolded protein responses in chronic inflammation. *Inflammatory bowel diseases*, 18(7), 1364-1377.
- Reddy, P. H. (2014). Inhibitors of mitochondrial fission as a therapeutic strategy for diseases with oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Journal of Alzheimer's Disease*, 40(2), 245-256.
- Redline, R. (2008). Placental pathology: a systematic approach with clinical correlations. *Placenta*, 29, 86-91.

- Rieusset, J., Bouzakri, K., Chevillotte, E., Ricard, N., Jacquet, D., Bastard, J.-P., Vidal, H. (2004). Suppressor of cytokine signaling 3 expression and insulin resistance in skeletal muscle of obese and type 2 diabetic patients. *Diabetes*, 53(9), 2232-2241.
- Rojas-Rodriguez, R., Lifshitz, L. M., Bellve, K. D., Min, S. Y., Pires, J., Leung, K., Corvera, S. (2015). Human adipose tissue expansion in pregnancy is impaired in gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*, 58(9), 2106-2114.
- Roos, S., Jansson, N., Palmberg, I., Säljö, K., Powell, T. L., Jansson, T. (2007). Mammalian target of rapamycin in the human placenta regulates leucine transport and is down-regulated in restricted fetal growth. *The Journal of physiology*, 582(1), 449-459.
- Rovira-Llopis, S., Bañuls, C., Diaz-Morales, N., Hernandez-Mijares, A., Rocha, M., Victor, V. M. (2017). Mitochondrial dynamics in type 2 diabetes: Pathophysiological implications. *Redox biology*, 11, 637-645.
- Ryan, M. T., Hoogenraad, N. J. (2007). Mitochondrial-nuclear communications. *Annu. Rev. Biochem.*, 76, 701-722.
- Salabei, J. K., Hill, B. G. (2013). Mitochondrial fission induced by platelet-derived growth factor regulates vascular smooth muscle cell bioenergetics and cell proliferation. *Redox biology*, 1(1), 542-551.
- Sandovici, I., Hoelle, K., Angiolini, E., Constância, M. (2012). Placental adaptations to the maternal–fetal environment: implications for fetal growth and developmental programming. *Reproductive biomedicine online*, 25(1), 68-89.
- Sati, L., Soygur, B., Celik-Ozenci, C. (2016). Expression of mammalian target of rapamycin and downstream targets in normal and gestational diabetic human term placenta. *Reproductive Sciences*, 23(3), 324-332.
- Say, L., Chou, D. (2018). Global Causes of Maternal Death: AWHO Systematic Analysis. *Lancet Glob Health*. 2014 June Vol. 2 No. 6: e323-e333.[Internet]. 2014.
- Schaefer-Graf, U. M., Pawliczak, J., Passow, D., Hartmann, R., Rossi, R., Bühner, C., Kordonouri, O. (2005). Birth weight and parental BMI predict overweight in children from mothers with gestational diabetes. *Diabetes Care*, 28(7), 1745-1750.
- Schultz, J., Waterstradt, R., Kantowski, T., Rickmann, A., Reinhardt, F., Sharoyko, V., Baltrusch, S. (2016). Precise expression of Fis1 is important for glucose responsiveness of beta cells. *J. Endocrinol.*, 230(1), 81-91.

- Schwarten, M., Mohrlüder, J., Ma, P., Stoldt, M., Thielmann, Y., Stangler, T., Willbold, D. (2009). Nix directly binds to GABARAP: a possible crosstalk between apoptosis and autophagy. *Autophagy*, 5(5), 690-698.
- Sebastián, D., Hernández-Alvarez, M. I., Segalés, J., Sorianello, E., Muñoz, J. P., Sala, D., Gopalacharyulu, P. (2012). Mitofusin 2 (Mfn2) links mitochondrial and endoplasmic reticulum function with insulin signaling and is essential for normal glucose homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(14), 5523-5528.
- Segura, M. T., Demmelmair, H., Krauss-Etschmann, S., Nathan, P., Dehmel, S., Padilla, M. C., Campoy, C. (2017). Maternal BMI and gestational diabetes alter placental lipid transporters and fatty acid composition. *Placenta*, 57, 144-151.
- Shan, Z.-X., Lin, Q.-X., Deng, C.-Y., Zhu, J.-N., Mai, L.-P., Liu, J.-L., Zhang, Y.-Y. (2010). miR-1/miR-206 regulate Hsp60 expression contributing to glucose-mediated apoptosis in cardiomyocytes. *FEBS letters*, 584(16), 3592-3600.
- Shand, A., Bell, J., McElduff, A., Morris, J., Roberts, C. (2008). Outcomes of pregnancies in women with pre-gestational diabetes mellitus and gestational diabetes mellitus; a population-based study in New South Wales, Australia, 1998–2002. *Diabetic Medicine*, 25(6), 708-715.
- Shao, J., Yamashita, H., Qiao, L., Draznin, B., Friedman, J. E. (2002). Phosphatidylinositol 3-kinase redistribution is associated with skeletal muscle insulin resistance in gestational diabetes mellitus. *Diabetes*, 51(1), 19-29.
- Sheiner, E., Levy, A., Menes, T. S., Silverberg, D., Katz, M., Mazor, M. (2004). Maternal obesity as an independent risk factor for caesarean delivery. *Paediatric and perinatal epidemiology*, 18(3), 196-201.
- Shenouda, S. M., Widlansky, M. E., Chen, K., Xu, G., Holbrook, M., Tabit, C. E., Kluge, M. A. (2011). Altered mitochondrial dynamics contributes to endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circulation*, 124(4), 444-453.
- Sherratt, H. (1991). Mitochondria: structure and function. *Revue neurologique*, 147(6-7), 417-430.
- Shi, Z., Long, W., Zhao, C., Guo, X., Shen, R., Ding, H. (2013). Comparative proteomics analysis suggests that placental mitochondria are involved in the development of pre-eclampsia. *PLoS One*, 8(5), e64351.

- Silliman, K., Shore, V., Forte, T. M. (1994). Hypertriglyceridemia during late pregnancy is associated with the formation of small dense low-density lipoproteins and the presence of large buoyant high-density lipoproteins. *Metabolism*, 43(8), 1035-1041.
- Sivitz, W. I., Yorek, M. A. (2010). Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, 12(4), 537-577.
- Solomon, C. G., Willett, W. C., Carey, V. J., Rich-Edwards, J., Hunter, D. J., Colditz, G. A., Manson, J. E. (1997). A prospective study of pregravid determinants of gestational diabetes mellitus. *Jama*, 278(13), 1078-1083.
- Soriano, F. X., Liesa, M., Bach, D., Chan, D. C., Palacín, M., Zorzano, A. (2006). Evidence for a mitochondrial regulatory pathway defined by peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , estrogen-related receptor- α , and mitofusin 2. *Diabetes*, 55(6), 1783-1791.
- Stone, M., Camosso-Stefinovic, J., Wilkinson, J., De Lusignan, S., Hattersley, A., Khunti, K. (2010). Incorrect and incomplete coding and classification of diabetes: a systematic review. *Diabetic Medicine*, 27(5), 491-497.
- Stotland, A., Gottlieb, R. A. (2015). Mitochondrial quality control: easy come, easy go. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1853(10), 2802-2811.
- Su, Y.-C., Qi, X. (2013). Inhibition of excessive mitochondrial fission reduced aberrant autophagy and neuronal damage caused by LRRK2 G2019S mutation. *Human molecular genetics*, 22(22), 4545-4561.
- Sugioka, R., Shimizu, S., Tsujimoto, Y. (2004). Fzo1, a protein involved in mitochondrial fusion, inhibits apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 279(50), 52726-52734.
- Tan, P. C., Aziz, A. Z., Ismail, I. S., Omar, S. Z. (2012). Gamma-glutamyltransferase, alanine transaminase and aspartate transaminase levels and the diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry*, 45(15), 1192-1196.
- Tanaka, A. (2010). Parkin-mediated selective mitochondrial autophagy, mitophagy: Parkin purges damaged organelles from the vital mitochondrial network. *FEBS letters*, 584(7), 1386-1392.

- Tangerås, L. H., Stødle, G. S., Olsen, G. D., Leknes, A.-H., Gundersen, A. S., Skei, B., Myklebost, M. F. (2014). Functional Toll-like receptors in primary first-trimester trophoblasts. *Journal of reproductive immunology*, 106, 89-99.
- Tao, R., Coleman, M. C., Pennington, J. D., Ozden, O., Park, S.-H., Jiang, H., McDonald, W. H. (2010). Sirt3-mediated deacetylation of evolutionarily conserved lysine 122 regulates MnSOD activity in response to stress. *Molecular cell*, 40(6), 893-904.
- Taricco, E., Radaelli, T., De Santis, M. N., Cetin, I. (2003). Foetal and placental weights in relation to maternal characteristics in gestational diabetes. *Placenta*, 24(4), 343-347.
- Teasdale, F. (1981). Histomorphometry of the placenta of the diabetic woman: class A diabetes mellitus. *Placenta*, 2(3), 241-251.
- Teasdale, F. (1983). Histomorphometry of the human placenta in class B diabetes mellitus. *Placenta*, 4(1), 1-12.
- Thunander, M., Törn, C., Petersson, C., Ossiansson, B., Fornander, J., Landin-Olsson, M. (2012). Levels of C-peptide, body mass index and age, and their usefulness in classification of diabetes in relation to autoimmunity, in adults with newly diagnosed diabetes in Kronoberg, Sweden. *European journal of endocrinology*, 166(6), 1021-1029.
- Tierna Jr, L., Mephee, S., Papadakis, M. (2002). Diabetes mellitus and hypoglycemia. Current medical diagnosis and treatment: New York: McGraw Hill.
- Tong, M., Saito, T., Zhai, P., Oka, S.-i., Mizushima, W., Nakamura, M., Sadoshima, J. (2019). Mitophagy is essential for maintaining cardiac function during high fat diet-induced diabetic cardiomyopathy. *Circ Res*, 124(9), 1360-1371.
- Twig, G., Elorza, A., Molina, A. J., Mohamed, H., Wikstrom, J. D., Walzer, G., Las, G. (2008). Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *The EMBO journal*, 27(2), 433-446.
- Twig, G., Hyde, B., Shirihai, O. S. (2008). Mitochondrial fusion, fission and autophagy as a quality control axis: the bioenergetic view. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1777(9), 1092-1097.
- Van Assche, F., Aerts, L., Prins, F. D. (1978). A morphological study of the endocrine pancreas in human pregnancy. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 85(11), 818-820.

- Vasselon, T., Detmers, P. A. (2002). Toll receptors: a central element in innate immune responses. *Infect Immun*, 70(3), 1033-1041.
- Ventura-Clapier, R., Garnier, A., Veksler, V. (2008). Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: the central role of PGC-1 α . *Cardiovascular research*, 79(2), 208-217.
- Vink, J. Y., Poggi, S. H., Ghidini, A., Spong, C. Y. (2006). Amniotic fluid index and birth weight: is there a relationship in diabetics with poor glycemic control? *American journal of obstetrics and gynecology*, 195(3), 848-850.
- Wada, J., Nakatsuka, A. (2016). Mitochondrial dynamics and mitochondrial dysfunction in diabetes. *Acta Medica Okayama*, 70(3), 151-158.
- Wahabi, H. A., Fayed, A. A., Alzeidan, R. A., Mandil, A. A. (2014). The independent effects of maternal obesity and gestational diabetes on the pregnancy outcomes. *BMC endocrine disorders*, 14(1), 47.
- Wai, T., Langer, T. (2016). Mitochondrial dynamics and metabolic regulation. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 27(2), 105-117.
- Wang, J., Li, J., Santana-Santos, L., Shuda, M., Sobol, R. W., Van Houten, B., Qian, W. (2015). A novel strategy for targeted killing of tumor cells: induction of multipolar acentrosomal mitotic spindles with a quinazolinone derivative mdivi-1. *Molecular oncology*, 9(2), 488-502.
- Wang, L., Ishihara, T., Ibayashi, Y., Tatsushima, K., Setoyama, D., Hanada, Y., Mihara, K. (2015). Disruption of mitochondrial fission in the liver protects mice from diet-induced obesity and metabolic deterioration. *Diabetologia*, 58(10), 2371-2380.
- Wang, Q., Zhang, M., Torres, G., Wu, S., Ouyang, C., Xie, Z., Zou, M.-H. (2017). Metformin suppresses diabetes-accelerated atherosclerosis via the inhibition of Drp1-mediated mitochondrial fission. *Diabetes*, 66(1), 193-205.
- Wang, X., Jiang, W., Yan, Y., Gong, T., Han, J., Tian, Z., Zhou, R. (2014). RNA viruses promote activation of the NLRP3 inflammasome through a RIP1-RIP3-DRP1 signaling pathway. *Nature immunology*, 15(12), 1126-1133.
- Wappler, E. A., Institoris, A., Dutta, S., Katakam, P. V., Busija, D. W. (2013). Mitochondrial dynamics associated with oxygen-glucose deprivation in rat primary neuronal cultures. *PLoS One*, 8(5).

- Westermann, B. (2010). Mitochondrial fusion and fission in cell life and death. *Nature reviews Molecular cell biology*, 11(12), 872-884.
- White, S. L., Pasupathy, D., Sattar, N., Nelson, S. M., Lawlor, D. A., Briley, A. L., Consortium, U. (2017). Metabolic profiling of gestational diabetes in obese women during pregnancy. *Diabetologia*, 60(10), 1903-1912.
- Williams, M. A., Sanchez, S. E., Ananth, C. V., Hevner, K., Qiu, C., Enquobahrie, D. A. (2013). Maternal blood mitochondrial DNA copy number and placental abruption risk: results from a preliminary study. *International journal of molecular epidemiology and genetics*, 4(2), 120.
- Winzer, C., Wagner, O., Festa, A., Schneider, B., Roden, M., Bancher-Todesca, D., Kautzky-Willer, A. (2004). Plasma adiponectin, insulin sensitivity, and subclinical inflammation in women with prior gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 27(7), 1721-1727.
- Wójcik, M., Mac-Marcjanek, K., Woźniak, L. A., Nadel, I., Lewiński, A., Cypryk, K. (2014). The association of leukocyte phosphatidylinositol 3-kinase delta overexpression with gestational diabetes mellitus (GDM). *Endokrynologia Polska*, 65(1), 17-24.
- Wolf, M., Sauk, J., Shah, A., Smirnakis, K. V., Jimenez-Kimble, R., Ecker, J. L., Thadhani, R. (2004). Inflammation and glucose intolerance: a prospective study of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 27(1), 21-27.
- Woodgett, J. R. (1990). Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3/factor A. *The EMBO journal*, 9(8), 2431-2438.
- Wu, G., Xiong, Q., Wei, X., Wang, Y., Hu, X., He, G., Anushesh, D. (2019). Mitochondrial unfolded protein response gene CLPP changes mitochondrial dynamics and affects mitochondrial function. *PeerJ*, 7, e7209.
- Xiang, A. H., Wang, X., Martinez, M. P., Getahun, D., Page, K. A., Buchanan, T. A., Feldman, K. (2018). Maternal gestational diabetes mellitus, type 1 diabetes, and type 2 diabetes during pregnancy and risk of ADHD in offspring. *Diabetes Care*, 41(12), 2502-2508.
- Xu, Z., Zhang, L., Li, X., Jiang, Z., Sun, L., Zhao, G., Wang, T. (2015). Mitochondrial fusion/fission process involved in the improvement of catalpol on high glucose-

induced hepatic mitochondrial dysfunction. *Acta biochimica et biophysica sinica*, 47(9), 730-740.

- Yalcin, A., Şarkici, G., Kolaç, U. K. (2020). PKR inhibitors suppress endoplasmic reticulum stress and subdue glucolipotoxicity-mediated impairment of insulin secretion in pancreatic beta cells. *Turkish Journal of Biology*, 44(2), 93-102.
- Yang, X., Haghiac, M., Glazebrook, P., Minium, J., Catalano, P. M., Hauguel-de Mouzon, S. (2015). Saturated fatty acids enhance TLR4 immune pathways in human trophoblasts. *Human Reproduction*, 30(9), 2152-2159.
- Yasuhi, I., Ishimaru, T., Hirai, M., Yamabe, T. (1994). Hourly fetal urine production rate in the fasting and the postprandial state of normal and diabetic pregnant women. *Obstetrics and gynecology*, 84(1), 64-68.
- Yogev, Y., Xenakis, E. M., Langer, O. (2004). The association between preeclampsia and the severity of gestational diabetes: the impact of glycemic control. *American journal of obstetrics and gynecology*, 191(5), 1655-1660.
- Yoon, Y., Galloway, C. A., Jhun, B. S., Yu, T. (2011). Mitochondrial dynamics in diabetes. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14(3), 439-457.
- Youle, R. J., Narendra, D. P. (2011). Mechanisms of mitophagy. *Nature reviews Molecular cell biology*, 12(1), 9-14.
- Youle, R. J., Van Der Blik, A. M. (2012). Mitochondrial fission, fusion, and stress. *Science*, 337(6098), 1062-1065.
- Yu, J., Guo, X., Chen, R., Feng, L. (2016). Downregulation of mitofusin 2 in placenta is related to preeclampsia. *BioMed research international*, 2016.
- Yu, J., Zhou, Y., Gui, J., Li, A.-z., Su, X.-l., Feng, L. (2013). Assessment of the number and function of macrophages in the placenta of gestational diabetes mellitus patients. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 33(5), 725-729.
- Yu, T., Robotham, J. L., Yoon, Y. (2006). Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(8), 2653-2658.

- Yu, T., Sheu, S.-S., Robotham, J. L., Yoon, Y. (2008). Mitochondrial fission mediates high glucose-induced cell death through elevated production of reactive oxygen species. *Cardiovascular research*, 79(2), 341-351.
- Yuan, J., Dunn, P., Martinus, R. D. (2011). Detection of Hsp60 in saliva and serum from type 2 diabetic and non-diabetic control subjects. *Cell Stress and Chaperones*, 16(6), 689-693.
- Yung, H.-w., Alnæs-Katjavivi, P., Jones, C. J., El-Bacha, T., Golic, M., Staff, A.-C., Burton, G. J. (2016). Placental endoplasmic reticulum stress in gestational diabetes: the potential for therapeutic intervention with chemical chaperones and antioxidants. *Diabetologia*, 59(10), 2240-2250.
- Zhan, L., Cao, H., Wang, G., Lyu, Y., Sun, X., An, J., Xing, J. (2016). Drp1-mediated mitochondrial fission promotes cell proliferation through crosstalk of p53 and NF- κ B pathways in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 7(40), 65001.
- Zhang, Z., Liu, L., Wu, S., Xing, D. (2016). Drp1, Mff, Fis1, and MiD51 are coordinated to mediate mitochondrial fission during UV irradiation-induced apoptosis. *The FASEB Journal*, 30(1), 466-476.
- Zhao, Q., Wang, J., Levichkin, I. V., Stasinopoulos, S., Ryan, M. T., Hoogenraad, N. J. (2002). A mitochondrial specific stress response in mammalian cells. *The EMBO journal*, 21(17), 4411-4419.
- Zhao, W., Zhang, L., Zhang, G., Varkaneh, H. K., Rahmani, J., Clark, C., Salehisahlabadi, A. (2020). The association of plasma levels of liver enzymes and risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review and dose–response meta-analysis of observational studies. *Acta diabetologica*, 57(6), 635-644.
- Zhao, Y. H., Wang, D. P., Zhang, L. L., Zhang, F., Wang, D. M., Zhang, W. Y. (2011). Genomic expression profiles of blood and placenta reveal significant immune-related pathways and categories in Chinese women with gestational diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, 28(2), 237-246.
- Zhong, J., Gong, Q., Mima, A. (2017). Inflammatory regulation in diabetes and metabolic dysfunction: Hindawi.

- Zhou, K., Shi, L., Wang, Z., Zhou, J., Manaenko, A., Reis, C., Zhang, J. (2017). RIP1-RIP3-DRP1 pathway regulates NLRP3 inflammasome activation following subarachnoid hemorrhage. *Experimental neurology*, 295, 116-124.
- Zhou, R., Yazdi, A. S., Menu, P., Tschopp, J. (2011). A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 469(7329), 221.
- Zhu, Y., Zhang, C. (2016). Prevalence of gestational diabetes and risk of progression to type 2 diabetes: a global perspective. *Current diabetes reports*, 16(1), 7.
- Zorzano, A., Liesa, M., Palacín, M. (2009). Mitochondrial dynamics as a bridge between mitochondrial dysfunction and insulin resistance. *Archives of physiology and biochemistry*, 115(1), 1-12.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 08/02/2019-E.8554



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 53043469-050.04.04
Konu : Kararlar

Sayın Doç.Dr. Abdullah YALÇIN
Anabilim Dalı Başkanı

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 07.02.2019 tarihinde yapılan olağan toplantısında çalışmanıza ilgili alınan 18 nolu karar aşağıda sunulmuştur.
Bilgilerinize sunarım.

e-izmalıdır

Doç.Dr. Tolga ÜNÜVAR
Kurul Başkan Yardımcısı

KARAR: 18

Protokol No : 2019/20
Sorumlu Yürütücü Doç.Dr. Abdullah YALÇIN
Tıbbi Biyoloji AD

Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Abdullah YALÇIN'ın "**Gestasyonel diyabette mitokondriyal disfonksiyonun araştırılması**" başlıklı klinik araştırmasının 23.01.2019 tarihli kurul kararında eksiklikler saptanmıştı. 06.02.2019 tarihli gelen dilekçesi ve ekleri görüşüldü.

Sonuçta, klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde (**ADÜBAP başvuru onay belgesinin alınıp dosyaya konulmak üzere gelmesi şartıyla**) gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Yine sorumlu araştırmacıya; **Form 2'nin 14.1'in son bölümünde taahhüt edilen çalışma bittikten sonra nihai raporun, [Sonuç Raporu (web'te) ve ORF (Olgu Rapor Formu/Anket)] gönderilmesi gerektiğinin hatırlatılmasına** ve sorumlu yürütücülerinin bu hususa özen göstermesi gerektiğinin bir kez daha vurgulanmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Evrakı Doğrulamak İçin: <https://ebys.adu.edu.tr/enVision/Dogrula/NF4TOKH>

Aydın Menderes Üniversitesi Merkez Kampüs Tıp Fakültesi Merkez Kampüs Kepez
Mevki 09010 Efeler/Aydın

Telefon No: 0256 225 31 66 / 4506 Faks No: 0256 212 31 69

E-Posta: goetik@adu.edu.tr İnternet Adresi:

<http://www.akademik.adu.edu.tr/fakulte/med/>

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununa göre Güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır

Bilgi İçin: Necla Yıldız

Unvan: Memur

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Gestasyonel Diyabette Mitokondriyal Disfonksiyonun Araştırılması” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Umut Kerem KOLAÇ

01 / 09 / 2021

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : KOLAÇ, Umut Kerem
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara / 16.12.1986
Telefon : 0 555 611 88 45
E-posta : umutkolac@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Doktora		
Y. Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi / Tıbbi Biyoloji	2016
Lisans	Hacettepe Üniversitesi / Biyoloji	2010

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2013-2018	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2018-halen	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

1. ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, TANRIKUT CİHAN, AKYILDIZ ÜSTÜNER DERYA, KOLAÇ UMUT KEREM, KÖROĞLU ZEYNEP ÖZDEMİR, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, ENTOK EMRE (2021). The effect of baicalein on

endoplasmic reticulum stress and autophagy on liver damage. *Human & Experimental Toxicology*, Doi: 10.1177/09603271211003634 (Yayın No: 7008280).

2. TEKİN NESLİHAN, KOLAÇ UMUT KEREM, TANRIKUT CİHAN, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, ENTOK EMRE, AKYÜZ FAHRETTİN, ALATAŞ İBRAHİM ÖZKAN (2020). The Effects of S-Allyl Cysteine on Inflammatory Cascade in Lipopolysaccharide Induced Rat Sepsis Model. *Osmangazi Tıp dergisi* (Yayın No: 6586875).
3. YALÇIN ABDULLAH, ŞARKICI GÜLÇİN, KOLAÇ UMUT KEREM (2020). PKR inhibitors suppress endoplasmic reticulum stress and subdue glucolipototoxicity-mediated impairment of insulin secretion in pancreatic beta cells. *TURKISH JOURNAL OF BIOLOGY*, 44(2), 93-102. (Yayın No: 6249864).
4. AKYILDIZ ÜSTÜNER DERYA, KOLAÇ UMUT KEREM, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, TANRIKUT CİHAN, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, ÖZEN HÜLYA, ÖZDEN HİLMİ (2020). Naringenin Ameliorate Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Damage Through Inhibition of Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy in Rats. *Journal of Medicinal Food*, 23(11), 1192-1200., Doi: 10.1089/jmf.2019.0265 (Yayın No: 5522538).
5. SOYOCAK AHU, KURT HÜLYAM, TURGUT COŞAN DİDEM, SAYDAM FARUK, ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, KOLAÇ UMUT KEREM, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, DEĞİRMENCİ İRFAN, MUTLU FEZAN, GÜNEŞ HASAN VEYSİ (2019). Tannic acid exhibits anti-inflammatory effects on formalin-induced paw edema model of inflammation in rats. *Human Experimental Toxicology*, 38(11), 1296-1301., Doi: 10.1177/0960327119864154 (Yayın No: 5722808).
6. YANGI BERAT, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, DİNÇER MURAT, ÖZBAYER CANSU, TEKİN NESLİHAN, ÜSTÜNER DERYA, ÇOLAK EMİNE, KOLAÇ UMUT KEREM, ENTOK EMRE (2018). Propolis Protects Endotoxin Induced Acute Lung and Liver Inflammation Through Attenuating Inflammatory Responses and Oxidative Stress. *Journal of Medicinal Food*, 21(11), 1096-1105., Doi: 10.1089/jmf.2017.0151 (Yayın No: 4209173).
7. AKYILDIZ ÜSTÜNER DERYA, ÇOLAK EMİNE, DİNÇER MURAT, TEKİN NESLİHAN, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, AKYÜZ FAHRETTİN, ÇOLAK ERTUĞRUL, KOLAÇ UMUT KEREM, ENTOK EMRE, ÜSTÜNER MEHMET

CENGİZ (2018). Posttreatment Effects of Olea Europaea L. Leaf Extract on Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury and Oxidative Stress in Rats. Journal of Medicinal Food, 21(9), 899-904., Doi: 10.1089/jmf.2017.0143 (Yayın No: 4886761).

8. KOLAÇ UMUT KEREM, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, TEKİN NESLİHAN, ÜSTÜNER DERYA, ÇOLAK EMİNE, ENTOK EMRE (2017). The Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of Salvia officinalis Lipopolysaccharide-Induced Inflammation in Rats. Journal of Medicinal Food, 20(12), 1193-1200., Doi: 10.1089/jmf.2017.0035 (Yayın No: 4210658).
9. ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, TURGUT COŞAN DİDEM, SAYDAM FARUK, KOLAÇ UMUT KEREM, SOYOCAK AHU, KURT HÜLYAM, GÜNEŞ HASAN VEYSİ, ŞAHİNTÜRK VAROL, MUTLU FEZAN, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, Değirmenci İrfan (2016). The Effects of Monosodium Glutamate and Tannic Acid on Adult Rats. Iranian Red Crescent Medical Journal, 18(10), Doi: 10.5812/ircmj.37912 (Yayın No: 3465084).

2. PROJELER

1. Ratlarda Etilen Glikol ve Hidroksi-L-Prolin ile İndüklenmiş Böbrek Taşı Modelinde Baicaleinin Koruyucu ve Tedavi Edici Etkisinin Araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü: BAŞESKİOĞLU ALİ BARBAROS, Araştırmacı: TANRIKUT CİHAN, Araştırmacı: KOLAÇ UMUT KEREM, Araştırmacı: ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, Araştırmacı: YOLDAŞ EMRE, , 31/01/2018 - 10/02/2020 (ULUSAL)
2. Ratlarda Karbontetraklorür CCL4 ile İndüklenmiş Karaciğer Hasarında Naringenin Endoplasmik Retikulum Stresi Üzerine Etkileri, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı: TANRIKUT CİHAN, Yürütücü: ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, Araştırmacı: AKYILDIZ ÜSTÜNER DERYA, Araştırmacı: ÖZEN HÜLYA, Araştırmacı: BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, Araştırmacı: KOLAÇ UMUT KEREM, Araştırmacı: ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, , 24/07/2017 - 17/08/2018 (ULUSAL)
3. Salvia officinalis Ekstresinin Deneysel İnflamasyon ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, , 20/10/2014 - 20/10/2015 (ULUSAL)

4. Deneysel Sepsis Modeli Oluşturulan Ratlarda S-Allil Sistein'in İnflamatuar Yolak Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı: TEKİN NESLİHAN, Araştırmacı: KOLAÇ UMUT KEREM, Danışman: AKYÜZ FAHRETTİN, Araştırmacı: ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, Araştırmacı: ENTOK EMRE, 30/06/2016
5. Sıçanlarda topikal melatonin uygulamasının otolog yağ greftlerinin sağkalımı üzerine etkinliğinin araştırılması: deneysel çalışma, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı: Uzuner Mehmet, Araştırmacı: SÖZTUTAR ERDEM, Araştırmacı: KÖSE AYDAN AYŞE, Araştırmacı: ÇETİN CENGİZ, Araştırmacı: KOLAÇ UMUT KEREM, Araştırmacı: ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, Yürütücü: KOÇMAN ATACAN EMRE, 05/11/2016 - 01/03/2018 (ULUSAL)
6. Ratlarda Karbontetraklorür (CCl₄) ile İndüklenmiş Karaciğer Hasarında Baicaleinin Otofaji Üzerine Etkileri, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü: ENTOK EMRE, Araştırmacı: ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, Araştırmacı: TANRIKUT CİHAN, Araştırmacı: ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, Araştırmacı: ÜSTÜNER DERYA, Araştırmacı: BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, Araştırmacı: KOLAÇ UMUT KEREM, 01/08/2017 - 28/09/2018 (ULUSAL)

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler

1. AKYILDIZ ÜSTÜNER DERYA, KOLAÇ UMUT KEREM, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, TANRIKUT CİHAN, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, ÖZEN HÜLYA, ÖZDEN HİLMİ (2019). The Effect of Naringenin on Hepatic Damage Through Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy in Rats. 5. International Congress on Natural and Health Sciences-ICNHS 2019, 493-493. (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5522578)
2. ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, TANRIKUT CİHAN, AKYILDIZ ÜSTÜNER DERYA, KOLAÇ UMUT KEREM, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, ENTOK EMRE (2019). The Effects of Baicalin on Autophagy on Liver Damage Induced by Carbon Tetrachloride (CCL₄). 5. International Congress on Natural and Health Sciences-ICNHS 2019, 495-495. (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5522593)

3. AKYILDIZ ÜSTÜNER DERYA, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, KOLAÇ UMUT KEREM, TANRIKUT CİHAN, BURUKOĞLU DÖNMEZ DİLEK, ÖZDEN HİLMİ (2019). The Role of Lavandula angustifolia Oil in Endoplasmic Reticulum Stress Responses on Carbon Tetrachloride (CCL4) Induced hepatotoxicity in Rats.. V. International Congress on Natural and Health Sciences (ICNHS-2019), 467-468. (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5908897)
4. TEKİN NESLİHAN, AKYÜZ FAHRETTİN, TANRIKURT CİHAN, KOLAÇ UMUT KEREM, ENTOK EMRE, AKYILDIZ ÜSTÜNER DERYA, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ (2018). Effect of S- Allyl Cysteine on Inflammatory Cascade at Lipopolysaccharide Induced Experimental Sepsis Rats. 4th INTERNATIONAL CONGRESS ON APPLIED BIOLOGICAL SCIENCES (ICABS) (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:5186233)
5. TANRIKUT CİHAN, KOLAÇ UMUT KEREM, ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR (2017). A Review on Women s Theses Published Between 2011-2016 Dependent on the Institute of Health Sciences at the National Center for Theses. 1st International Women Research Symposium (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3644693)
6. ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, TANRIKUT CİHAN, KOLAÇ UMUT KEREM (2017). Burnout Syndrome in Women Healthcare Sector Workers. 1st International Women Research Symposium (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3644681)
7. KOLAÇ UMUT KEREM, ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, TANRIKUT CİHAN (2017). Exposure to Mobbing in Women Working at Healthcare. 1st International Women Research Symposium (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3644689)
8. KOLAÇ UMUT KEREM, ERDOĞAN ORHAN İLKAY, ÖZEN HÜLYA, ÇAĞLAR SELİM SÜALP (2017). Insecticidal Activities of Different Salvia Species. 3rd International Congress on Applied Biological Sciences (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3572708)
9. KOLAÇ UMUT KEREM, TANRIKUT CİHAN, ENTOK EMRE, ÜSTÜNER DERYA, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ (2017). Effect of Salvia officinalis Extract on NO, TNF- α and NF- κ B Levels in LPS induced Experimental Inflammation Model. 3rd INTERNATIONAL CONGRESS on APPLIED BIOLOGICAL SCIENCES (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3575130)

10. KOLAÇ UMUT KEREM, ENTOK EMRE, ÜSTÜNER DERYA, TEKİN NESLİHAN, Çolak Emine, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ (2016). The Effect of *Salvia officinalis* on experimental inflammation and antioxidant system. 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channels (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3465099)
11. ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, TURGUT COŞAN DİDEM, SAYDAM FARUK, KOLAÇ UMUT KEREM, SOYOCAK AHU, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, KURT HÜLYAM, GÜNEŞ HASAN VEYSİ, MUTLU FEZAN, İrfan Değirmenci (2014). The Effect of Tannic Acid in the Monosodium Glutamate Induced Oxidative Stress in Rats. 5. Uluslararası Hücre Zarları ve Oksidatif Stres Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3465090)
12. SOYOCAK AHU, KURT HÜLYAM, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, SAYDAM FARUK, ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, KOLAÇ UMUT KEREM, TURGUT COŞAN DİDEM, İrfan Değirmenci, MUTLU FEZAN, GÜNEŞ HASAN VEYSİ (2014). The Relationship Between Tannic Acid and Myeloperoxidase Enzyme Activity in the Inflamed Paw Tissue Formed by Formalin Injection in Rats. 5. Uluslararası Hücre Zarları ve Oksidatif Stres Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3465087)

B) Ulusal Kongrelerde Sunulan Bildiriler

1. YALÇIN ABDULLAH, KOLAÇ UMUT KEREM, Şarkıcı Gülçin (2019). The effect of PKR kinase inhibitors on pancreatic beta cell insulin secretion under ER stress. 16. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5599715).
2. KOLAÇ UMUT KEREM, ÜSTÜNER MEHMET CENGİZ, Çolak Emine, ENTOK EMRE, Dinçer Murat, TEKİN NESLİHAN, AKYILDIZ ÜSTÜNER DERYA, ÖZDEN HİLMİ (2015). *Salvia officinalis* Ekstresinin Karaciğer Antioksidan Sistemi Üzerine Etkisi. XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3465131)
3. ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, TURGUT COŞAN DİDEM, SAYDAM FARUK, KOLAÇ UMUT KEREM, SOYOCAK AHU, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, KURT HÜLYAM, GÜNEŞ HASAN VEYSİ, MUTLU FEZAN, İrfan Değirmenci (2014). Oksidatif Hasara Çin Tuzu ve Tannik Asitin Etkileri. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3465118)

4. SOYOCAK AHU, KURT HÜLYAM, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, SAYDAM FARUK, ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, KOLAÇ UMUT KEREM, TURGUT COŞAN DİDEM, İrfan Değirmenci, MUTLU FEZAN, GÜNEŞ HASAN VEYSİ (2014). Ödem İnhibisyonunda Tannik Asidin Önemi. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3465124)
5. ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, TURGUT COŞAN DİDEM, SAYDAM FARUK, KOLAÇ UMUT KEREM, SOYOCAK AHU, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, KURT HÜLYAM, GÜNEŞ HASAN VEYSİ, MUTLU FEZAN, İrfan Değirmenci (2013). Monosodyum glutamat kan glukozu ve tannik asit. XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3465111)
6. SOYOCAK AHU, KURT HÜLYAM, ÖZDEMİR KÖROĞLU ZEYNEP, SAYDAM FARUK, ÇALIŞ İBRAHİM UĞUR, KOLAÇ UMUT KEREM, TURGUT COŞAN DİDEM, İrfan Değirmenci, MUTLU FEZAN, GÜNEŞ HASAN VEYSİ (2013). Formalin indüklü pence ödeminde tannik asidin miyeloperoksidaz enzim aktivitesi etkisi. XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3465106)