

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**METABOLİK AÇIDAN RİSKLİ YENİDOĞANLARIN
Q-TOF LC/MS KULLANILARAK
METABOLOMİK ANALİZ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ VE
OLASI BİYOBELİRTEÇLERİN BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Özlem ÜNAL UZUN

**Biyokimya Programı
DOKTORA TEZİ**

ANKARA

2025

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**METABOLİK AÇIDAN RİSKLİ YENİDOĞANLARIN
Q-TOF LC/MS KULLANILARAK
METABOLOMİK ANALİZ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ VE
OLASI BİYOBELİRTEÇLERİN BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Özlem ÜNAL UZUN

Biyokimya Programı

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. İncilay LAY

ANKARA

2025

**METABOLİK AÇIDAN RİSKLİ YENİDOĞANLARIN Q-TOF LC/MS
KULLANILARAK METABOLOMİK ANALİZ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ
VE OLASI BİYOBELİRTEÇLERİN BELİRLENMESİ**

Özlem Ünal UZUN

Danışman: Prof. Dr. İncilay LAY

Bu tez çalışması 15.01.2025 tarihinde jürimiz tarafından

“Biyokimya Doktora Programı”nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: *Prof. Dr. Berrin İmge ERGÜDER* (imza)
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD

Üye: *Prof. Dr. Yeşim Er ÖZTAŞ* (imza)
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD

Üye: *Prof. Dr. Özden TACAL* (imza)
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya AD

Üye: *Prof. Dr. Erdinç DEVRİM* (imza)
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD

Üye: *Prof. Dr. Mustafa ÇELEBİER* (imza)
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya AD

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

13 Haziran 2025

Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA ve FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾

o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾

o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

13/06/2025

(İmza)

Özlem ÜNAL UZUN

1 “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü tezle ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkânı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir * Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğumu, Prof. Dr. İncilay LAY danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

(İmza)

Prof. Dr. Özlem ÜNAL UZUN

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimi almam konusunda beni teşvik eden, eğitimimin her aşamasında destek olan, bana ve tezime çok büyük emek veren, akademik ortamlarda birlikte çalışmak kadar, akademik yaşantı dışındaki dostluk ortamlarında da birlikte zaman geçirmekten çok büyük mutluluk duyduğum sevgili tez danışmanım Prof. Dr. İncilay Lay'a,

Tezde büyük emekleri geçen Duygu Enes, Büşra Uçar, Dr. Ufuk Obuz Bozkurt, Prof. Dr. Mustafa Çelebier'e,

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Metabolizma Bilim Dalı'nda birlikte çalıştığım ekip arkadaşlarım Dr. Gülhan Karakaya, Dr. Meral Bahar İster, Dr. Müge Çınar, Uzm. Dyt. Merve Eşgi'ye,

Verilerin toplanmasına katkıda bulunan Prof. Dr. Ayla Günlemez ve Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ndeki çalışma arkadaşlarıma,

Biyokimya doktora eğitimi aldığım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri'ne,

Çocuk Metabolizma Hastalıkları Uzmanı olarak yetişmemde ve Biyokimya alanına ilgi duymamda büyük katkıları olan, Çocuk Metabolizma Hastalıkları Uzmanlık eğitimini aldığım Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Metabolizma Bölümü Öğretim Üyelerine,

Her zaman her alanda en büyük desteklerimden Prof. Dr. Nur Arslan'a,

Bana her zaman destek olan eşim İmran Uzun'a, aileme,

Sevgili arkadaşlarım Ebru Bodur, Ebru Aypar ve Ayşe Ercan'a

Çok teşekkür ederim.

Özlem ÜNAL UZUN

ÖZET

Uzun, Ö.Ü., Metabolik Açıdan Riskli Yenidoğanların Q-TOF LC/MS Kullanılarak Metabolomik Analiz ile Değerlendirilmesi ve Olası Biyobelirteçlerin Belirlenmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Programı Doktora Tezi, Ankara, 2025. Diyabetik ve obez/fazla kilolu annelerden doğan bebeklerde metabolik değişiklikleri araştırmak amacıyla Kuadrupol Uçuş Zamanlı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (Q-TOF LC/MS) kullanılarak hedefsiz kordon kanı metabolomik analizi gerçekleştirildi. Kordon kanı örnekleri, gestasyonel diyabetli (10), obez (14), fazla kilolu (18), tip 2 diyabetli (3), tip 1 diyabetli (1) annelerden doğan toplam 46 yenidoğan ile sağlıklı annelerden doğan 20 yenidoğandan toplanmıştır. Veri işleme, MZmine 2.53 kullanılarak gerçekleştirilmiş ve potansiyel metabolitler MetaboAnalyst 6.0 aracılığıyla tanımlanmıştır. Diyabet ve kontrol grupları arasında belirgin farklı metabolit profilleri gözlemlenmiştir. Diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında kontrol grubuna kıyasla 19 metabolitte ortak bir eğilim tespit edilmiştir. Anahtar yollar arasında steroid ve safra asidi biyosentezi öne çıkmıştır. Ayrıca, artan oksidatif stres, sfingofosfolipid metabolizması ile ilgili ipuçları, yüksek dihomogamma-linolenik asit (DGLA), pantotenik asit ve TRH seviyeleri dikkat çekmiştir. Diyabet grubunda, kinurenin yolu belirgin olarak öne çıkmıştır. 16- ve 2-yolakları östrojen metabolitleri, metabolik riski işaret edebilir ve diyabetik koşullar altında artan bir alt yolak akışına işaret etmektedir. Hızlanan safra asidi sentezi, hücresel enerji düzenlenmesi ve sinyalizasyonunda önemli bir rol oynayan safra asitleri nedeniyle fetal metabolik programlamayı değiştirebilir. Koenzim A üretimi için gerekli olan pantotenik asitteki artış, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasındaki önemli değişikliklere işaret etmektedir. Yüksek serum DGLA seviyeleri, metabolik anormallikler için potansiyel bir biyobelirteç olarak öne çıkmaktadır. Artan plazma kinurenin seviyeleri ise kardiyovasküler riskleri öngörebilir. Bu metabolik profillerin ve yolakların doğrulanması için daha büyük, hedefe yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Metabolomik, Maternal Diabet, Maternal Obezite, Yüksek Riskli Yenidoğan, Q-TOF LC/MS

ABSTRACT

Uzun, Ö.Ü., Evaluation of High Risk Newborns Using Q-TOF LC/MS-Based Metabolomic Analysis and Identification of Potential Biomarkers, Hacettepe University Graduate School Health Sciences Biochemistry Department of Biochemistry Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2025. Untargeted cord blood metabolomics analysis was performed using Quadrupole Time-of-Flight Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (Q-TOF LC/MS) to investigate the metabolic alterations and pathways in high-risk newborns born to diabetic, obese/overweight mothers. Cord blood samples were collected from 46 newborns born to mothers with gestational diabetes (10), obesity (14), overweight (18), type 2 diabetes mellitus (3), type 1 diabetes mellitus (1), and 20 newborns born to healthy mothers. Q-TOF LC/MS was used to investigate the alterations in cord blood metabolomic profiles. Data processing was conducted using MZmine 2.53. Putative metabolites were identified using MetaboAnalyst 6.0. Distinct metabolite profiles were observed between diabetes and control groups. Significant identical trend in 19 metabolites were determined in both diabetes and obesity + overweight groups versus control group. Key pathways included steroid and bile acid biosynthesis. Upregulated oxidative stress, clues to sphingophospholipid metabolism, high levels of dihomo-gamma-linolenic acid (DGLA), pantothenic acid, and TRH were detected. The kynurenine pathway was prominent in the diabetes group. Estrogen metabolites from the 16- and 2-pathways may indicate metabolic risk, with increased downstream flux under diabetic conditions. Accelerated bile acid synthesis may alter fetal metabolic programming, since bile acids play crucial roles in cellular energy regulation and signaling. Elevated pantothenic acid, essential for the production of Coenzyme-A, suggests significant alterations in carbohydrate, protein, and fat metabolism. High serum DGLA levels emerge as a potential biomarker for metabolic abnormalities. Increased plasma kynurenines could predict cardiovascular risks. Larger targeted studies are required to validate these metabolic profiles and pathways.

Key Words: Metabolomics, Maternal Diabetes, Maternal Obesity,
High Risk Newborn, Q-TOF LC/MS

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA ve FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Maternal Fazla Kilo ve Obezite	2
2.2. Maternal Diabet	4
2.3. Metabolomik Analizler	8
2.4. Kuadropol Uçuş Zamanlı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi “ <i>Quadrupole Flight Time Mass Spectrometer</i> ” (Q-TOF LC/MS) Kullanarak Hedeflenmemiş Metabolomik Analiz	10
3. GEREÇ ve YÖNTEM	13
3.1. Çalışma Popülasyonu	13
3.2. Deneyler	13
3.2.1. Örneklerin Hazırlanması	13
3.2.2. Q-TOF LC/MS Analizi	14
3.2.3. Veri İşleme	15
4. BULGULAR	18
4.1. Çalışma Grubu ve Kontrol Grubunun Sosyodemografik ve Klinik Özellikleri	18
4.2. Kordon Kanı Metabolitlerinin PCA Analizi	20
5. TARTIŞMA	25
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	39
7. KAYNAKLAR	40
8. EKLER	46

EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzinleri

EK-2: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

EK-3: Turnitin Dijital Makbuz

9. ÖZGEÇMİŞ

49



SİMGELER ve KISALTMALAR

16OHE1	16 α -hidroksiestron
AA	Araşidonik asit
AGA	Gebelik yaşına uygun “ <i>All for gestational age</i> ”
COX	Siklooksijenaz
CYP7A1	Kolesterol 7 α -hidroksilaz
DGLA	Dihomo-gama-linolenik asit
DNA	Deoksiribonüklerik asit
DOHaD	Sağlık ve Hastalığın Gelişimsel Kökenleri “ <i>Developmental Origins of Health and Disease</i> ”
E1-G/S	Estron-glukuronid/sülfat
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
FGF15	Fibroblast Büyüme Faktörü 15 (<i>Fibroblast growth factor 15</i>)
FGF19	Fibroblast Büyüme Faktörü 19 (<i>Fibroblast growth factor 19</i>)
FTIR	Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi
FXR	Farnezoid X Reseptörü
GC/MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
GDM	Gestasyonel diabetes mellitus
GLP-1	Glukagon Benzeri Peptid-1 “ <i>Glucagon-Like Peptide-1</i> ”
GPBAR1	G protein bağlantılı safra asidi reseptörü 1 “ <i>G protein-coupled bile acid receptor 1</i> ”
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside glutasyon
HbA1C	Hemoglobin A1C
HMDB	İnsan Metabolom Veri Tabanı “ <i>Human Metabolome Database</i> ”
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 “ <i>Insulin-like growth factor-1</i> ”
KEGG	Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi “ <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i> ”

KoA	Koenzim A
LC/MS	Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
LGA	Gebelik yaşına göre büyük “ <i>Large for gestational age</i> ”
LysoSM	Lizosfingomiyelin
MDA	Malondialdehit
MS	Kütle spektrometresi “ <i>Mass spetrometry</i> ”
MRM	Çoklu Reaksiyon İzleme
MSI	Metabolomik Standartları İnisiyatifi
mTOR	Rapamisin protein kompleksinin memelilerdeki hedefi “ <i>Mammalian target of rapamycin</i> ”
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans
PC	Fosfatidilkolin
PCA	Temel Bileşen Analizi “ <i>Principal Component Analysis</i> ”
PG	Prostaglandin
PGE1	Prostaglandin E1
PGHS	Prostaglandin H sentaz
PLS-DA	Kısmi En Küçük Kareler Ayırıcı Analiz “ <i>Partial Least Squares Discriminant Analysis</i> ”
PPARGC1A	Peroksizom proliferatörü ile aktive edilmiş reseptör-y koaktivatörü 1 α
ROS	Reaktif oksijen radikalleri
S1P	Sfinganin 1-fosfat
Q-TOF LC/MS	Kuadrupol Uçuş Zamanlı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi “ <i>Quadrupole Flight Time Mass Spectrometer</i> ”
SGA	Gebelik yaşına göre küçük “ <i>Small for gestational age</i> ”
siRNA	küçük interfere edici RNA
T1DM	Tip 1 Diabetes mellitus
T2DM	Tip 2 Diabetes mellitus
T3	Triiodotironin
T4	Tiroksin

TGR5	Takeda G protein bağlantılı reseptör 5 (<i>Takeda G protein-coupled receptor 5</i>)
TRH	Tirotropin salgılatıcı hormon
TSH	Tiroid stimulan hormon
VIP	Projeksiyondaki Değişken Önem “ <i>Variable Importance in Projection</i> ”
VKİ	Vücut kitle indeksi



ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Q-TOF LC/MS cihazının bölümleri.	11
4.1. Çalışma grupları arasındaki metabolit profili farklılıklarını gösteren PCA skor grafikleri.	20
4.2. Kontrol, diyabet ve birleştirilmiş obezite + fazla kilolu gruplarının metabolit profillerini gösteren PCA skor grafiği.	21
4.3. Gruplar arasındaki kordon kanı metabolitlerinin dağılımını gösteren volkan grafikleri.	22
4.4. PLS-DA Analizi ile belirlenen metabolitlerin VIP skorları.	23
5.1. Steroid hormon biyosentezi, estriol-16-glukuronid, 7-alfa-hidroksi-pregnenolon, 2-metoksi-estradiol-17beta 3-glukuronid, dehidroepiandrosteron sülfat, androsteron glukuronid.	28
5.2 (a): Safra asit biyosentezi, 7-alfa-hidroksi-3-okso-4-kolestanoat.	30
5.2 (b): Safra Asit biyosentez (devamı), kolat, glikokolat.	31

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
4.1. Diyabet, obezite ve kontrol gruplarının demografik ve klinik özellikleri.	18
4.2. Diyabet ve Obezite Grubu ile Fazla Kilolu Gruplarının Her İkisinde Kontrol Grubu ile Benzer Eğilim Gösteren Metabolitler.	24



1. GİRİŞ

Fetal programlama, intrauterin çevre şartlarına maruz kalma sonucunda organ ve sistemlerin gelişiminin etkilenmesiyle bireyin uzun vadeli sağlık ve hastalık risklerinin şekillenmesini ifade eden bir kavramdır. Bu kavram, ilk kez David Barker'ın "Gelişimsel Sağlık ve Hastalık Kökenleri" (*Developmental Origins of Health and Disease*, DOHaD) hipotezi çerçevesinde ele alınmıştır. Söz konusu hipotez, olumsuz intrauterin şartlar ve erken postnatal dönemdeki elverişsiz faktörlerin, bireylerin ileri yaşamlarda kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve hipertansiyon gibi kronik rahatsızlıklara eğilim göstermelerine neden olabileceğini ileri sürmektedir (1).

Son yıllarda dünya genelinde maternal diyabet ve obezite oranlarındaki artış dikkat çekmektedir (2,3). Diyabetik ve obez annelerden doğan yenidoğanlar, çoğu benzer özellikler taşıyan uzun vadeli metabolik riskler taşımaktadır (4-6). Diyabetik annelerden doğan bireyler, obezite, tip 2 diyabet (T2DM), metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar, nörogelişimsel bozukluklar ve epigenetik değişiklikler gibi uzun vadeli riskler ile ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde, obez annelerin çocuklarında da uzun dönemde obezite, metabolik sendrom, T2DM, kardiyovasküler hastalıklar ve nörogelişimsel bozukluk riskinin arttığı gözlemlenmektedir.

Hayatın ilk 1000 günü, T2DM'nin önlenmesi için kritik bir müdahale dönemi olarak kabul edilmektedir (7). Yenidoğanların uzun vadeli komplikasyonlarla ilişkilendirilebilecek metabolik risklerinin erken dönemde belirlenmesi, erken tanı ve müdahale imkânlarını arttırmakla birlikte, kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarını desteklemektedir. Ayrıca bu durum, kritik gelişimsel dönemlerde müdahale imkânları sunarak uzun vadeli prognozunu iyileştirilmesi ve sağlık harcamalarının azaltılmasına katkı sağlayabilir.

Bu çalışma, diyabetik ve aşırı kilolu/obez annelerden doğan yüksek riskli yenidoğanlarda metabolik değişiklikleri anlamayı ve bu bireylerin uzun vadeli risklerini öngörebilecek potansiyel metabolitler ile biyokimyasal yolları tanımlamayı amaçlamaktadır. Bu amaçla, Kuadrupol Uçuş Zamanlı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (*Quadrupole Time-of-Flight Liquid Chromatography/ Mass Spectrometry*, Q-TOF LC/MS) tabanlı, hedefsiz kordon kanı metabolomik analizi gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Günümüzde, yetişkin sağlığı ve hastalıklarının gelişimsel kökenleri olduğu ve yaşamın erken dönemlerindeki metabolik dengesizliklerin yaşamın ilerleyen dönemlerinde daha fazla olumsuz hastalık riski ile sonuçlandığı bildirilmektedir. Maternal diyabet ve maternal obezite oranları, son yıllarda dünya genelinde istikrarlı bir şekilde artış göstermektedir (2,3). Bu önemli sağlık sorunları, yalnızca anne sağlığını değil, aynı zamanda doğacak çocukların sağlığını da etkilemekte, erken ve uzun dönemde sağlık sorunlarını beraberinde getirmektedir.

Fetal programlamanın beyin gelişimini ve fonksiyonunu etkilediği için intrauterin dönem kritik öneme sahiptir (8). Maternal diyabet ve obezite, fetüste insülin salgısını ve glikoz dengesini bozarak uzun vadeli komplikasyonlara yatkınlığa neden olmaktadır. Diyabetik ve obez annelerden doğan bebekler, obezite, T2DM (Tip 2 Diyabet), metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve nörogelişimsel bozukluklar geliştirme açısından daha yüksek risk altındadır. Metabolik sendrom, obezite, insülin direnci ve kardiyovasküler hastalıklar, dislipidemi ve hipertansiyon gibi ilişkili durumlarla bağlantılı risklerin erken aşamada tespit edilmesi, erken müdahale olanağı sağlamak açısından önemlidir.

2.1. Maternal Fazla Kilo ve Obezite

Obezite dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Gebelikte fazla kilo ya da obezite oranları %40'a yakındır ve maternal fazla kilo ve obezite tüm zamanların en önemli sorunları arasındadır. Maternal fazla kilo ve obezite, erken doğum da dâhil olmak üzere birçok fetal komplikasyonla ve bebek açısından uzun dönem komplikasyonlarla ilişkilidir. Obezitenin küresel olarak hızla artmasında rol oynayan faktörler arasında sistemik inflamasyonu artırma potansiyeline sahip beslenme ve çevresel maruziyetler yer almaktadır (9). Bu durum annede kalp-damar hastalıkları ve diyabet gibi hastalıkların görülme riskini artırmakla kalmamakta, aynı zamanda bu riski bebeğe de aktarmaktadır (6). En büyük risk, gebelikte yüksek kilo alımı olan obeziteli kadınlarda görülmektedir.

Preterm doğum, özellikle 28. haftada spontan doğum ve preeklampsi veya diyabet nedeniyle tıbbi olarak endike doğum, obez kadınlarda çok daha yaygındır. (10). Obezite, preeklampsi, gebeliğin neden olduğu hipertansiyon, gestasyonel

diyabet, trombotik olaylar, artan sezaryen doğum gelişimine katkıda bulunarak gebeliği zorlaştırır ve bu durumların birçoğu aracılığıyla anne ölümlerine katkıda bulunur (11). Maternal obezite, düşük, fetal ölüm, bebek ölümü ve nöral tüp defektleri, kardiyak ve orofasiyal anormallikler dâhil olmak üzere önemli doğuştan anomali riskini artırır (12,13). Obeziteli annelerden doğan term bebeklerde perinatal asfiksi, mekonyum aspirasyonu, neonatal nöbetler veya omuz distosisi görülme olasılığı daha yüksektir (14).

Maternal obezite, erken dönemde gebelik komplikasyonları ile ilişkili olduğu gibi bebeğin daha sonraki yaşamlarında obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalık, nörogelişimsel sorunlar geliştirme riskini artırır. Uzun dönemde serebral palsi, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, bilişsel gecikme, otizm gibi nörogelişimsel bozuklukların riskinin arttığı bildirilmektedir (15-17). Obez annelerin çocuklarının da obez olma, kardiyovasküler hastalık veya tip 2 diyabet geliştirme riski de artmıştır (18). Obez annelerden doğan çocuklar, aynı zamanda artan yağlanma ve metabolik sendrom açısından da yüksek risk altındadır (5,19), bu da obezite ve metabolik sendromun anneden çocuğa in utero aktarımından oluşan kısır bir döngüyü düşündürmektedir.

Normal vücut kitle indeksine sahip gebe kadınlarla karşılaştırıldığında, gebelikte obez olan kadınlarda daha belirgin insülin direnci, dolaşımdaki insülin, leptin, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), lipidler ve muhtemelen proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde yükseklik ve daha düşük plazma adiponektin bulunur (20). Önemli olarak, maternal obezitede, annenin besin seviyelerindeki, büyüme faktörlerindeki ve hormonlardaki değişiklikler plasenta fonksiyonunu modüle eder. Örneğin, obez hamile kadınlarda yüksek insülin, leptin, IGF-1 ve düşük adiponektin, plasentada mTOR sinyalini aktive ederek protein sentezini, mitokondriyal fonksiyonu ve besin taşınmasını artırır. Bu gebelikler ayrıca inflamatuvar sinyal yollarının aktivasyonu, oksidatif stres, oksidatif fosforilasyonun azalması ve plasentada lipid birikimi ile ilişkilidir. Son biyoinformatik yaklaşımlar, maternal obezitenin plasentayı nasıl etkilediğine dair veriler sağlamıştır, ancak, normal büyüklükte bebekler doğuran obez kadınlarda plasental işlevdeki değişiklikler ile olumsuz sonuçlar arasındaki bağlantı belirlenmemiştir (20).

Kısa ve uzun dönem komplikasyonlar tanımlanmış olmasına rağmen fazla kilolu ve obez anne gebeliklerinde ortaya çıkan ve gebelik sonuçlarını ve bebeğin sağlığını etkileyen mekanizmalar da halen belirsizliğini korumaktadır (21). Gebelik öncesi obezite, sadece yağ birikimi ile değil, aynı zamanda beslenme durumu, insülin-glukoz metabolizması ve düşük dereceli sistemik inflamasyon ile de ilişkilidir. Bu faktörlerin, fetal beslenme hipotezi ve epigenetik mekanizmalar gibi yollarla çocukta metabolik, kardiyovasküler ve nörogelişimsel sağlık üzerinde programlayıcı etkileri olabilir. Özellikle epigenetik düzenlemelerin, DNA metilasyonu gibi değişikliklerle bu programlama süreçlerinde kilit bir rol oynadığı düşünülmektedir. İnflamasyon ve oksidatif stresin, anne obezitesinin gebelik sonuçları ve çocuk üzerindeki etkisinin temel aracı mekanizmaları olmaları olasıdır. Obezitenin kronik düşük dereceli bir inflamatuvar duruma neden olduğu ve yağ dokusu tarafından reaktif oksijen radikallerinin (ROS) üretimini arttırdığı bilinmektedir (22). Normal gebelikte uygun proinflamatuvar ve antiinflamatuvar dengenin ve ROS üretiminin kontrolünün önemi geniş çapta tanımlanmıştır ve çeşitli gebelik patolojileri, proinflamatuvar immün yanıtlar veya oksidatif stres ile ilişkilidir. Plasenta, hamileliğin hormonal desteği ve büyüme için besinlerin fetüse taşınması açısından hayati öneme sahiptir. Bu nedenle inflamasyon ve oksidatif stresin plasentayı nasıl etkileyebileceğini ve annenin obezitesinin çocuk üzerindeki sonuçlarını belirlemedeki rolünü anlamak önemlidir.

2.2. Maternal Diabet

Tüm dünyada, çocuk ve ergen yaş grubunda dahi tip 2 diyabet ve obezitenin prevalansı artmakta, benzer şekilde gestasyonel diabetes mellitus (GDM) prevalansı da artmaktadır. Hamilelik sırasında diyabet, insülinin salgılanmasını ve işlevini etkileyen, hiperglisemiye yol açan bir bozukluk olarak ortaya çıkar. Bu durum anne, gelişmekte olan fetus ve yenidoğan için önemli riskler oluşturur ve potansiyel olarak ciddi morbiditeye neden olur. Diyabet, GDM olarak bilinen önceden normoglisemik bir kadında ilk kez hamilelik sırasında ortaya çıkabilir. Bunun dışında gebelik öncesinde insüline bağımlı Tip 1 diyabet (T1DM) veya Tip 2 diyabet (T2DM) olarak mevcut olabilir. Normal glukoz toleransına sahip kadınların aksine, GDM gelişimine zemin hazırlayan altta yatan patofizyolojik mekanizmalar gebelik öncesinde de mevcuttur. GDM geliştirmeye yatkın kadınlar, genellikle gebelik öncesinde insülin

duyarlılığında azalma gösterir ve bu durum genellikle fazla kilo veya obezite ile ilişkilidir. Ayrıca, bu kadınların normoglisemiyi sürdürmek için yetersiz bir insülin yanıtı sergiledikleri gözlemlenmiştir. Bu durum, tip 2 diyabetli bireylerde görülen metabolik özelliklerle benzerlik göstermektedir (23).

Dünya çapında gebeliklerin yaklaşık %14'ünün diyabet nedeniyle komplike olduğu tahmin edilmektedir, bu da diyabeti obstetrik bakımın en önemli zorluklarından biri haline getirmektedir (24). Diyabetik annenin gebeliğinden doğan bebeklerin, yenidoğan döneminden, ergenlik ve yetişkinlik dönemine kadar çok sayıda olumsuz etki için bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (25).

Diyabetik gebelikler çok sayıda erken neonatal komplikasyonla ilişkilendirilmiştir. Perinatal dönemde annenin hiperglisemisi vaskülopatiyeye neden olabilir ve potansiyel olarak fetal hipoksiye, fetal asfiksiye ve hatta intrauterin ölüme veya spontan düşüğe yol açabilir. Fetal hipoksi aynı zamanda artmış eritropoietin üretimini uyarak polisitemi, hiperviskozite, yüksek tromboz riski ve hiperbilirubinemi ile sonuçlanabilir. Ek olarak annedeki diyabet, plasental erken ayrılma ve erken doğumu tetikleyebilen polihidramnios olasılığıyla da ilişkilendirilmiştir. Diyabetli kadınlardan doğan bebeklerin genellikle daha düşük Apgar skorlarına sahip olduğu ve özellikle önceden diyabeti olanlarda neonatal hipoglisemi insidansının daha yüksek olduğu görülmüştür. Fetal hiperinsülinizm, sürfaktan üretimini engelleyebilir, kolinin lesitin içine girmesine müdahale ederek fetal akciğer olgunlaşmasını geciktirebilir, bu da solunum sıkıntısı sendromunun gelişmesine katkıda bulunabilir. İntrauterin önemde yüksek insülin düzeyleri, bebeğin makrozomik olmasına ve buna bağlı doğum travmalarına neden olabilir.

Özellikle ilk trimesterde organogenezin kritik döneminde annedeki diyabetin yeterince kontrol edilemediği ($HbA1c > \%7$) diyabetik gebeliklerde konjenital defektler üç kat daha fazla görülmektedir (26). Glisemik kontrolün yetersiz olduğu, önceden diyabeti olan gebeliklerde konjenital defekt riski önemli ölçüde artmaktadır (27) Maternal hiperglisemiyi teratojenik etkilere bağlayan kesin patofizyolojik mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak olası araçlar arasında hiperketonemi, bozulmuş araşidonik asit (AA) metabolizması, miyoinositol, prostaglandinler ve hipoksi yer alır. Maternal hiperglisemiden kaynaklanan artan oksidatif stres, hücre

apoptozunu artırdığı ve gen ekspresyonunu değiştirdiği için diyabetik embriyopatide de önemli bir rol oynar (28).

Yaşamın ilerleyen yıllarında, diyabetik annelerden doğan bireylerin obeziteye, kardiyovasküler hastalıklara, metabolik sendroma, bozulmuş glukoz toleransına, T2DM'ye, hipertansiyona ve yağlı karaciğer hastalığına karşı duyarlılığı artmaktadır (29). Annedeki diyabetin, gelecekte çocukta görülebilecek nörobilişsel ve psikiyatrik bozukluklarla da bağlantılı olduğunu gösteren giderek artan miktarda veri bulunmaktadır. Hiperglisemik intrauterin ortama maruz kalmanın fetüsteki nörogelişimsel sonuçlar üzerindeki etkisi hala araştırılmaktadır ve zaman zaman çelişkili bulgular bu alanda daha fazla araştırma yapılmasını gerektirmektedir (30,31). Gestasyonel diyabetin intrauterin dönemde fetüs üzerinde oluşturduğu hiperglisemik etkilerin, periferik inflamatuvar yanıtın ve beyin nöroinflamasyonunun artması yoluyla bir sonraki nesilde nörokognitif ve davranışsal sorunlara yol açabileceği düşünülmektedir. Epigenetik, aşırı inflamasyon ve oksidatif stres ile yapısal beyin değişiklikleri dâhil olmak üzere birçok mekanizma, anne diyabetinin gelişmekte olan beyin üzerindeki etkisinin altında yatan potansiyel faktörler olarak dikkat çekmektedir (25).

Dani ve ark., (32), gestasyonel diabetik annelerden doğan 30 term bebek ve 40 kontrolden alınan kord serumunda, en sık görülen komplikasyonların ortaya çıkışını araştıran metabolomik çalışma gerçekleştirmişlerdir. Diabetik annelerden doğan bebeklerde, kontrollere göre daha düşük glukoz düzeyi ve daha yüksek düzeyde piruvat, histidin, alanin, valin, metionin, arginin, lizin, hipoksantin, lipoprotein ve lipide sahip olduğunu göstermişlerdir ancak herhangi bir klinik farklılık bulamamışlardır. Sonuçlar, gebelik sırasında fetal hiperglisemiye uzun süre maruz kalmanın, klinik gidişatı etkilemeden doğumdaki neonatal metabolomik profili değiştirebileceğini göstermiştir.

O'Neill ve ark., (33), gestasyonel diyabetli annelerden doğan çocuğun gelişimini etkileyen metabolik faktörleri karakterize etmek için, daha sonra gestasyonel diyabet tanısı konan kadınlardan alınan ikinci trimester amniyotik sıvı metabolomunun profilini, gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS) ve sıvı kromatografisi/kütle spektrometresi (LC/MS) analizleri yoluyla bilinen 459 biyokimyasalın profili ile hedefe yönelik bir metabolomik yaklaşım kullanarak

çıkarmışlardır. İç içe geçmiş bir vaka kontrol çalışması tasarımı kullanarak, gestasyonel diabete maruz kalma nedeniyle değişen toplam 69 biyokimyasal belirlemişlerdir. Cinsiyete özgü analiz ise erkek ve kız bebeklerde sırasıyla 44 ve 58 metabolit tanımlamıştır. En önemli değişiklikler glikoz, amino asit, glutatyon, yağ asidi, sfingolipid ve safra asidi metabolizmasında bulunmuştur ve spesifik değişiklikler çocuğun cinsiyetine göre belirlenmiştir. Hedefli izotop seyreltme LC/MS doğrulayıcı analizler, dokozaheksaenoik asit ve araşidonik asitte önemli değişiklikleri göstermiştir. Gestasyonel diyabetli annelerdeki, fetüs metabolizmasındaki cinsiyete özgü değişikliklerin, uterus içinde diyabete maruz kalan bebeklerde görülen cinsiyete özgü metabolik sonuçları açıklamaya başlayabileceği sonucuna varmışlardır.

Shashikadze ve ark., (34) maternal hipergliseminin yenidoğanların karaciğeri üzerindeki olumsuz etkilerini araştırmak için genetik olarak diyabetik veya vahşi tip domuzlarda geliştirilen domuz yavrularından alınan karaciğer dokusunun multiomik analizini yapmışlardır. Çalışmalarında, obeziteden bağımsız olarak, annedeki hipergliseminin, yenidoğan bebeğin karaciğerinde belirgin moleküler değişikliklere neden olduğunu göstermişlerdir. Özellikle, de novo lipogenezden bağımsız olarak uyarılmış glukoneogenez ve hepatik lipid birikimine ilişkin kanıtlar bulmuşlardır. Fosfatidilkolin (PC) biyosentez enzimlerinin azalmış seviyeleri ve PC translokasyonu veya parçalanmasında rol oynayan proteinlerin artan seviyelerinin, annedeki yüksek PC seviyelerine karşı düzenleyici mekanizmaları temsil ediyor olabildiğini düşünmüşlerdir.

Anne karnında diyabete maruz kalmanın, uzun dönemde metabolik durumu etkilediği, daha yüksek obezite ve T2DM riski taşıdığı ve böylece gelecek nesiller için bir kısır döngü oluşturduğu anlaşılmıştır (35). Hiperglisemik bir uterus ortamı, yavrularda T2DM riskini artırmaya katkıda bulunan ve herhangi bir genetik, çevresel veya diğer risk faktörlerini bir araya getiren sayısız metabolik değişikliğe neden olabilir. Dismetabolik özelliğin arkasındaki moleküler mekanizmalar bilinmemektedir, ancak özellikle DNA metilasyonundaki farklılıklarla ilgili epigenetik değişiklikler öne sürülmüştür. Kelstrup ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (36), diyetle tedavi edilen GDM veya T1DM'li annelerden doğan yetişkinlerde, peroksizom proliferatörü ile aktive edilmiş reseptör-y koaktivatörü 1α'nın (PPARGC1A) DNA metilasyonunu incelenmiştir. PPARGC1A, iskelet kası ve

deri altı yağ dokusunda glukoz homeostazını kontrol eden yolaklarda yer alan genleri düzenleyen çok işlevli bir transkripsiyonel koaktivatördür. Çalışmada, gestasyonel diabetli annelerin çocuklarının, iskelet kasında azalmış bir PPARGC1A gen ekspresyonu olduğu bulunmuştur, ancak T1DM'li annelerin çocuklarında bu bulgu saptanmamıştır. Bu bulgular, metabolik olarak önemli diğer genlerin dâhil olabileceğini ve diğer glisemik olmayan faktörlerin iskelet kasında PPARGC1A ekspresyonunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

2.3. Metabolomik Analizler

Geçmişte, sınırlı analitik yöntemler ve metabolitlerin kimyasal veya fiziksel farklılıkları nedeniyle aynı anda az sayıda metabolit incelenebiliyordu. Ancak, modern kromatografi teknolojileri sayesinde biyolojik örneklerde daha fazla metabolitin eşzamanlı analizi mümkün hale gelmiştir. Bu ilerlemeler, metabolomik adı verilen yeni bir yaklaşımı ortaya çıkarmıştır (37).

Metabolomik, bir organizmadaki metabolik yolların ara ve son ürünleri olan düşük moleküler ağırlıklı metabolitlerin nicel analizini kapsayan bir bilim dalıdır. Genomik, proteomik ve transkriptomiklerden sonra omik bilimlerin en yeni alanlarından biri olarak, yüksek verimli analitik teknikleri biyoinformatik ile birleştirir. Bu yaklaşım, metabolitlerin niceliksel ve niteliksel değerlendirmelerini yaparak patolojik süreçlerin anlaşılmasını ve terapötik müdahalelere verilen tepkilerin öngörülmesini amaçlar. Bu analitik yaklaşım, örnek toplama, örnek hazırlama, cihaz analizi, metabolitlerin tanımlanması ve metabolik yolak analizi gibi temel adımları içerir

Metabolom terimi, belirli bir fizyolojik dönemde biyolojik bir örnekte bulunan ve devam eden metabolik aktivitelerin fonksiyonel özetini veren tüm küçük moleküllü metabolitleri ifade eder. Metabolomik analizler, normal ve patolojik yolakları ayırt ederek hastalıkların tanısı ve prognozunun belirlenmesinde önemli bir rol oynar (38,39). Metabolitlerin genom, proteom ve transkriptomda meydana gelen değişikliklerin aşağı yönlü bir ifadesi olduğu düşünüldüğünde, bu moleküller bir organizmanın herhangi bir anda fenotipik görünümünü yansıtabilir.

Metabolom, genoma kıyasla çevresel etkileri yansıtır ve bireyin mevcut patofizyolojik durumunun anlık bir görünümünü sunma avantajına sahiptir.

Metabolomik analizlerde genellikle kütle spektrometresi (MS), nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi ve Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi gibi teknikler kullanılır. Bu tekniklerle metabolomik parmak izi, metabolik profil oluşturma, metabolik ayak izi, hedef analiz ve akış analizi gibi yaklaşımlar uygulanabilir. Bu yaklaşımlar, toksikolojik mekanizmaların ve hastalık süreçlerinin anlaşılmasında önemli katkılar sağlar. Ayrıca, metabolomik, yeni ilaç keşfi ve erken hastalık tanısı için biyobelirteçlerin belirlenmesinde de değerli bir araçtır.

Biyolojik sıvılarda tespit edilen metabolik profiller, gen ekspresyonu ile çevre etkileşiminin bir sonucudur. Metabolomik analiz, hastalıkları ayırt etmek ve metabolit profili varyasyonlarını belirlemek için bir temel sunar. Bu özellik, yenidoğan ve pediatrik çalışmalar için özellikle önemlidir (40). Metabolomik, biyolojik fenotipe en yakın bilgiyi sağlayarak bozulan metabolik yolların tespiti ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine imkân tanır. Yenidoğanlar için normal metabolit değerlerinin bilinmesi, hastalıkların erken tanısı ve yeni hastalıkların öngörülmesi açısından önemlidir. Son olarak, göbek kordonu kanında bulunan metabolitler, fetal beslenme ve metabolik sağlık hakkında bilgi sağlayarak yenidoğanlarda potansiyel sağlık sorunlarının erken tespiti için değerli bir aracı temsil eder.

Kütle spektrometresi tabanlı metabolomik analizler, hedefli ve hedefsiz olmak üzere iki ana başlıkta incelenir (37). Hedefli metabolomik analiz, önceden biyokimyasal olarak tanımlanmış metabolitlerin standartlar kullanılarak nicel ölçümünü içerir ve düşük çözünürlüklü tandem kütle spektrometreleri çoğu zaman yeterlidir ve çoklu reaksiyon izleme modu (MRM) kullanılarak gerçekleştirilir. Bu yöntemde, standart referans materyaller ile elde edilen kalibrasyon eğrileri sayesinde hassas ölçümler yapılabilir. Hedefli metabolomik analiz, belirli metabolitler ve bunlarla ilişkili yollara odaklanarak yüksek duyarlılık ve özgüllük sunar. Bu teknik, biyolojik süreçlerdeki spesifik metabolik yolları derinlemesine anlamayı sağlar. Hedefli metabolomik analiz, çoğu zaman hızlı ve maliyet etkin olmasıyla dikkat çeker ve hedefsiz yaklaşımlara kıyasla daha az örnek hazırlama ve veri işleme gerektirir. Ayrıca, metabolitlerin hastalıklardaki rolünü anlamada, hastalıklarda biyobelirteç metabolitler kullanılarak tanıda, prognozda ve tedavi izleminde katkı sağlamada ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine katkı sağlamada önemli bir yere sahiptir.

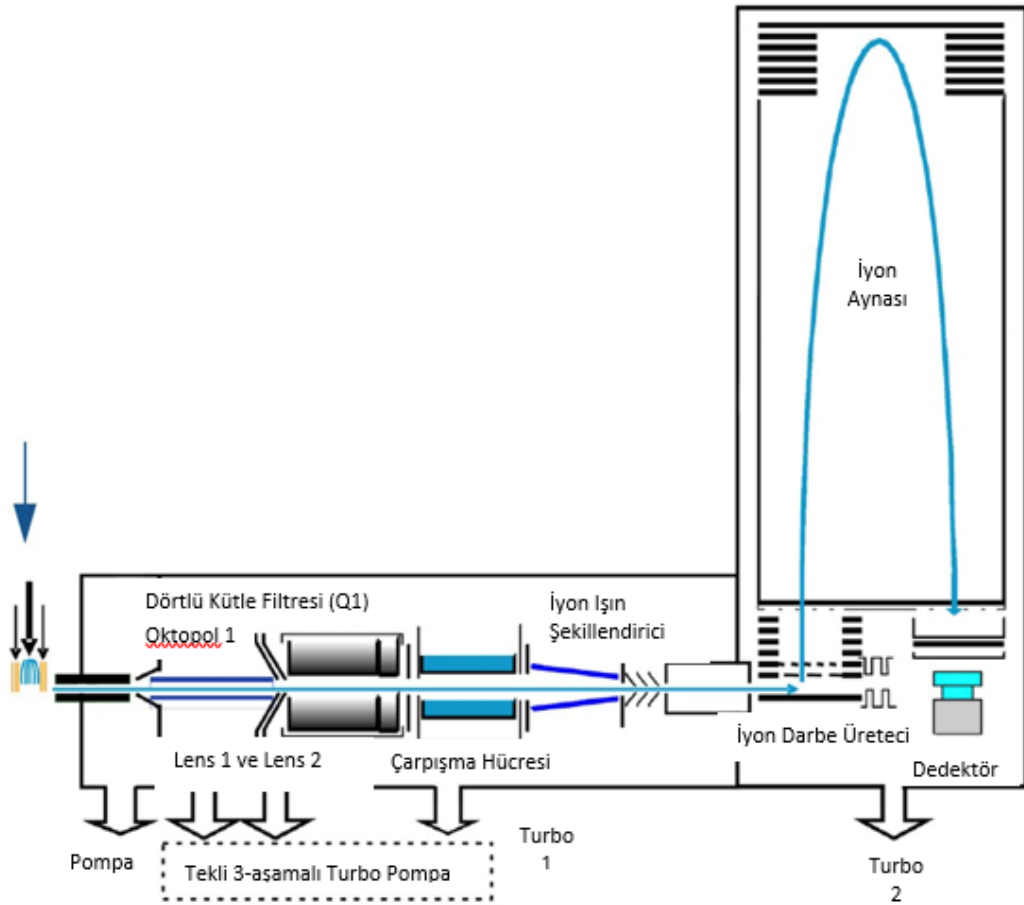
Hedefsiz metabolomik yöntemler, biyolojik örneklerden mümkün olduğunca çok sayıda metaboliti eşzamanlı olarak belirlemeyi amaçlayan kapsamlı analizlerdir. Bu yaklaşım, daha önce biyokimyasal olarak tanımlanmış ya da tanımlanmamış birçok metabolitin belirlenmesini sağlar. Ancak, hedefli metabolomik analizin aksine, bu metabolitlerin kesin miktarlarını ölçmek mümkün değildir. Hedefsiz metabolomik analizde, genellikle yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi, örneğin “quadrupole flight time” (QTOF) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi gibi teknolojiler kullanılır. Bu yöntemin avantajlarından biri, yüzlerce metabolitin aynı anda tespit edilebilmesi ve bu sayede tanı ya da tedaviye yönelik yeni hedeflerin belirlenebilmesidir. Metabolitlerin tanımlanması (anotasyonu), çeşitli kütüphanelerin kullanımına dayanır, çünkü her metabolit için standart referans malzeme mevcut değildir veya kullanımı her zaman mümkün değildir. Mevcut olanlar içinse maliyet açısından etkinlik değerlendirilmektedir. Ancak, bu yöntemle elde edilen verilerin karmaşıklığı, veri yorumlamada önemli zorluklar oluşturur. Son yıllarda çeşitli metabolomik veritabanları ve yazılımlar geliştirilmiş olsa da bu alanda daha fazla ilerlemeye ihtiyaç vardır. Ayrıca, bilinmeyen özelliklerin tanımlanması ve bunların doğrulama süreçleri, ek zaman ve çaba gerektirir.

2.4. Kuadrupol Uçuş Zamanlı Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi “Quadrupole Flight Time Mass Spectrometer” (Q-TOF LC/MS) Kullanarak Hedeflenmemiş Metabolomik Analiz

Sıvı kromatografisi ve ardışık kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile yapılan hedeflenmemiş kimyasal molekül profil analizi, örnek gruplarındaki varyasyonları anlamada değerli bir araçtır. Ancak bu yöntem, genellikle 20.000'den fazla özelliği içeren büyük veri setleri üretebilir ve bu durum zorlayıcı olabilir. Deney tasarımı, örnek gruplarındaki istatistiksel varyasyonu doğrulamada kritik bir öneme sahiptir. Bu nedenle, deney tasarımı oluşturulurken ve veri azaltma ile işleme için istatistiksel araçlar kullanılırken dikkatli olunmalıdır (41)

Kimyasal molekül analizinde, yüksek çözünürlüklü ve hassas kütle ölçüm cihazlarıyla yapılan hedeflenmemiş yaklaşımlar, örnek bileşiminin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını sağlayabilir. Hedeflenmemiş analiz, genel kimyasal molekül profillemeye odaklanan ve keşif odaklı veya hipotez oluşturucu bir yöntem olarak

kabul edilir. Ancak, bu genişletilmiş bilgi arayışının, hedeflenmiş analizlere kıyasla bazı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır.



Şekil 2.1. Q-TOF LC/MS cihazının bölümleri (42)

Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS), hedeflenmiş ve hedeflenmemiş analiz yöntemleriyle kimyasal bileşiklerin analizinde kullanılan bir tekniktir. Hedeflenmiş analiz, belirli bir analit alt grubunun doğrulama ve miktar tayinini yapar ve genellikle daha düşük çözünürlükte cihazlarla (örneğin, üçlü kuadrupol) uygulanabilir. Bu yaklaşım, pestisit tayini gibi belirli bir amaç için tasarlanmış hedef listeleri kullanır ve standartlar, tutulma zamanı, öncü ve ürün iyonlarıyla doğrulama yapılır. Buna karşın, hedeflenmemiş analiz, daha kapsamlı bir inceleme sağlayarak birçok kimyasal bileşiği bir arada analiz eder. Bu yöntem, yüksek çözünürlüklü cihazlar (örneğin, QTOF) ve büyük veri setlerini işlemeyi gerektirir. Q-TOF cihazının bölümleri Şekil 2.1’de gösterilmiştir. Hedeflenmemiş analiz, özellikle

araştırma ve geliştirme süreçlerinde çevresel etkiler veya biyolojik varyasyonları anlamak için kullanılır.

Hedeflenmemiş analiz, deneysel tasarım ve veri işleme aşamalarında detaylı planlama gerektirir. Örneğin, aynı suşun kullanılması, büyüme ortamı koşullarının sabitlenmesi ve mobil fazın tutarlılıkla hazırlanması gibi adımlar, istenmeyen değişkenlikleri en aza indirmek için önemlidir. Verilerin güvenilirliği, biyolojik ve teknik tekrar analizleri ile artırılırken, kalite kontrol örnekleriyle cihaz stabilitesi izlenir. Veri işleme aşamasında, MS-DIAL gibi yazılımlarla veri bölümlendirme, azaltma ve hizalama gerçekleştirilir. Bu süreç, istatistiksel analizlerle anlamlı özelliklerin belirlenmesini ve gereksiz verilerin azaltılmasını sağlar. İstatistiksel anlamlılık p değeri ve çoklu istatistiksel yaklaşımlar kullanılarak değerlendirilir ve ardından kilit özelliklerin tanımlanması yapılır.

Son aşamada, kimyasal bileşiklerin tanımlanması, Metabolomik Standartları İnisiyatifi'nin (MSI) belirlediği dört seviyeye göre gerçekleştirilir. Seviye 1, kimyasal standartlarla doğrulanan bileşikleri kapsarken, Seviye 4 yalnızca benzersiz spektral özelliklere dayalı bilinmeyen bileşikleri içerir. Hedeflenmemiş analiz, geniş bilgi sağlayarak örnekler arasındaki farklılıkları anlamayı ve yeni keşifler yapmayı mümkün kılar. Bu bilgiler, hedeflenmiş analizlerde Çoklu Reaksiyon İzleme (MRM) yöntemlerinin geliştirilmesine olanak tanır, böylece kimyasal analizler rutin hale getirilebilir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Popülasyonu

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde, bir yıllık süre içinde doğan, fazla kilolu/obez annelerin ve gestasyonel diyabet mellitus (GDM), tip 1 veya tip 2 diyabet tanısı almış annelerin bebekleri çalışmaya dâhil edilmiştir. Anne obezitesi, gebelik öncesi vücut kitle indeksi (VKİ) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ olarak, fazla kilo ise VKİ'nin 25–29,9 kg/m^2 arasında olması şeklinde tanımlanmıştır (43).

Çalışmaya alınma kriterleri şunlardır: 1. Obez annelerin zamanında (term) doğan bebekleri. 2. Gestasyonel diyabet, tip 1 veya tip 2 diyabeti olan annelerin zamanında doğan bebekleri. Çalışmadan dışlanma kriterleri: 1. Çalışma kriterleriyle ilgisiz hastalıklara sahip olan anneler veya bebekler. Obezitesi ve diyabeti olan anneler, diyabet grubuna alınmıştır.

Bir yıllık çalışma süresi içinde, bilgilendirilmiş onam formunu imzalayan ve dâhil edilme kriterlerini karşılayan bebekler çalışmaya dâhil edilmiştir. Kontrol grubu, anneleri sağlıklı olan (obez veya fazla kilolu olmayan ve diyabeti bulunmayan), normal doğum ağırlığına sahip 20 zamanında doğan yeni doğandan oluşmuştur. Çalışma için Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik onay alınmıştır (E-80418770-020-222989)."

3.2. Deneyler

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması

Kan örnekleri, etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren tüplere alındı ve hemen ardından 4°C'de (2000xg'de 10 dakika) santrifüj edildi. Ayrılan plazmalar analiz yapılana kadar -80°C'de saklandı. Plazmalar, deney günü çözüldü ve kullanılmadan önce vortekslendi. Her bir örnekte metabolit ekstraksiyonu, metanol ile proteinlerin çöktürülmesi yoluyla gerçekleştirildi. Her bir örnekten 100 µL alınarak, 200 µL metanol:su (95:5, v/v) karışımı eklenerek, vortekslendi ve 4°C'de 9000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Üst fazdan 200 µL alındı, vakumlu santrifüj cihazında (Labconco CentriVap Benchtop Vacuum Concentrator, Kansas City, ABD) kurutuldu ve 200 µL asetonitril:su (1:1, v/v) içinde çözüldü. Ardından, 4°C'de 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Son olarak, 100 µL alınarak vial içine eklendi. Kullanılan tüm

çözücüler LC-MS derecesinde olup Sigma-Aldrich (MO, ABD) tarafından temin edilmiştir.

3.2.2. Q-TOF LC/MS Analizi

Numuneler, Agilent 6530 Q-TOF LC/MS (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir. Enjeksiyonlar, ters faz kromatografi kolonunda (2.1 x 100 mm, 2.5 µm, *Xbridge Waters*) gradyan elüsyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Kolon 35°C'de, otomatik örnekleyici ise 4°C'de tutulmuştur. Akış hızı 0.4 mL/dak olarak ayarlanmıştır. Mobil fazlar olarak %0.1 formik asit içeren su (faz A) ve asetonitril (faz B) kullanılmıştır. Elüsyon gradyanı şu şekilde uygulanmıştır: %95 faz A ile başlanmış, 2. dakikada %65 faz A'ya, 8. dakikada %5 faz A'ya indirilmiş, 10. dakikada %95 faz A'ya geri dönmüş ve ardından 5 dakikalık bir post-run fazı uygulanmıştır. Enjeksiyon hacmi 10 µL'dir.

Kütle spektrometresinde metabolomik analiz, negatif iyon modunda 75-1200 kütle/yük (m/z) aralığında tarama yapılacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyonlar rastgele sırayla gerçekleştirilmiş olup, doğruluk ve tutarlılığı sağlamak amacıyla her altı enjeksiyonda bir kör çözeltiler ve kalite kontrol (QC) örnekleri analiz edilmiştir.

Kör çözelti hazırlama için, her bir örnek kullanımdan önce santrifüj edilmiştir. Metabolit ekstraksiyonu, proteinlerin metanol ile çöktürülmesi yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 100 µL örnek ile 200 µL metanol:su (95:5 v/v) karışımı bir Eppendorf tüpüne alınmış, vortex ile karıştırıldıktan sonra 4°C'de, 9000 RPM'de 20 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üst fazdan 200 µL alınarak vakumlu santrifüjde kurutulmuş ve ardından 200 µL asetonitril:su (1:1 v/v) karışımı ile çözdürülmüştür. Bu çözelti, tekrar 4°C'de, 5000 RPM'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Kör çözelti hazırlığı sırasında, 100 µL hacmindeki hareketli faz (asetonitril:su 1,1) doğrudan alınarak bir vial içerisine transfer edilmiştir. Kör çözelti hazırlanmasında plazma örneği kullanılmamış olup, plazma yerine hareketli faz kullanılmıştır. Daha sonra, yukarıda belirtilen tüm işlemler plazma örneklerinde olduğu gibi aynı şekilde gerçekleştirilmiştir.

Kalite kontrol çözeltilerinin hazırlanması için öncelikle havuz çözeltileri (pool çözeltileri) oluşturulmuştur. Her bir grup için, gruba ait tüm numunelerden eşit hacimde alınarak toplamda 500 µL havuz çözeltisi hazırlanmıştır. Bu havuz

çözeltilerinden her birinden 150'şer μL alınarak toplamda 450 μL hacminde bir kalite kontrol çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra, bu kalite kontrol çözeltisinden 100 μL alınmış ve metabolit ekstraksiyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Metabolit ekstraksiyonunda proteinler metanol ile çöktürülmüştür. Bu kapsamda, 100 μL örnek ile 200 μL metanol:su (95:5 v/v) karışımı bir Eppendorf tüpüne alınmış, vortex ile karıştırıldıktan sonra 4°C'de, 9000 RPM'de 20 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üst fazdan 200 μL alınarak vakumlu santrifüjde kurutulmuş ve ardından 200 μL asetonitril:su (1:1 v/v) karışımı ile çözdürülmüştür. Çözelti, 4°C'de, 5000 RPM'de 10 dakika boyunca tekrar santrifüj edilmiştir. Elde edilen çözeltilerden 100 μL alınarak vial içerisine transfer edilmiştir. Bu hazırlık işlemleri sonucunda elde edilen kalite kontrol örneği, obezite, diyabet ve kontrol gruplarına ait tüm numuneleri temsil eden bir bileşik örnek niteliği taşımaktadır.

3.2.3. Veri İşleme

Bu Q-TOF LC/MS tabanlı hedefsiz metabolomik çalışmada, veri işleme, metabolomik analiz için standart araçlardan biri olan MZmine 2.53 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kromatogramlar, örnekler arasında özelliklerin doğru bir şekilde tanımlanması ve hizalanması amacıyla pik seçimi ve gruplama işlemine tabi tutulmuştur. Pik normalizasyonu, örnek konsantrasyonlarındaki değişkenlikleri düzeltmek ve tutarlı veri yorumlamasını sağlamak için toplam pik alanları kullanılarak yapılmıştır.

Normalizasyon sonrası, istatistiksel analiz gerçekleştirilmiş ve gruplar arasındaki piklerin ortalama yoğunluklarını karşılaştırarak katlanma değişim (*fold change*) değerleri hesaplanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) ve katlanma değişim değeri 1,5'ten büyük olan pikler, gruplar arasındaki değişim büyüklüğünü ve istatistiksel anlamlılığını göstermek amacıyla volkan grafikleri kullanılarak görselleştirilmiştir.

Daha sonra, kısmi en küçük kareler ayırım analizi "*Partial Least Squares Discriminant Analysis*" (PLS-DA) modeli kullanılarak istatistiksel olarak anlamlı pikler için VIP (*Variable Importance in Projection*) skorları hesaplanmıştır. Bu skorlar, modelde grupların ayırımına her bir değişkenin katkısını nicel olarak ifade etmektedir. Bu süreçte, spektral özellikler, bilinen metabolit veritabanları ile

MetaboAnalyst 6.0 kullanılarak eşleştirilmiş ve mümkün olduğunda daha geniş kapsam için yerel kütüphanelerle desteklenmiştir.

MetaboAnalyst, metabolomik verilerin analizi, görselleştirilmesi ve işlevsel yorumlanmasını kolaylaştırmak amacıyla geliştirilmiş, kapsamlı bir web tabanlı yazılım paketidir. Bu araç, işlevsel analizlere başlamadan önce Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi “*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*” (KEGG), İnsan Metabolom Veritabanı “*Human Metabolome Database*” (HMDB), ChEBI, METLIN ve PubChem gibi çeşitli veritabanlarındaki kimyasal tanımlayıcıları ortak bileşik adlarıyla eşleştirme işlemini gerçekleştirir. Ayrıca, Temel Bileşen Analizi (PCA) ve PLS-DA gibi yöntemlerle elde edilen verilerin görselleştirilmesi için etkileşimli grafikler sunar.

İnsan Metabolom Veritabanı, insan metabolitleriyle ilgili biyolojik, fizyolojik ve kimyasal özelliklerin yanı sıra bu metabolitlerle ilişkili enzimler, taşıyıcılar ve hastalık bağlantıları hakkında kapsamlı bilgiler sunan çok yönlü bir veri kaynağıdır. İlk olarak 2007 yılında yayımlanan HMDB, metabolitler hakkında analitik, moleküler ve kantitatif veriler sağlamayı hedeflemiştir. İlk sürümü (1.0), yalnızca 2.180 insan metabolitine dair sınırlı bilgi içerirken, en güncel sürüm (5.0), 217.920 açıklamalı metabolit kaydının yanı sıra GC-MS analizleri için 1.581.537 türetilmiş metabolit kaydını da içermektedir.

Önemli metabolitlerin tanımlanması ve anotasyonu tamamlandıktan sonra, kontrol ve çalışma grupları arasındaki metabolomik profil farklılıklarını daha iyi keşfetmek ve görselleştirmek amacıyla Temel Bileşen Analizi (PCA) gerçekleştirilmiştir.

PCA ve PLS-DA, verileri daha düşük boyutlu bir alana hatayı en aza indirerek dönüştüren doğrusal boyut indirgeme yöntemleridir. Bu yöntemlerde, seçilen özelliklerin yüzdesini temsil eden eşik değerler X ekseninde, bu eşik değerinde elde edilen özgülük indekslerinin toplamı ise Y ekseninde gösterilir.

PLS-DA yöntemi iki ana süreçten oluşur: (a) PLS bileşen yapısının oluşturulması (boyut indirgeme işlemi) ve (b) tahmine dayalı modelin geliştirilmesi (ayırım analizi).

Çok değişkenli analizlerde bağımsız değişkenler genellikle birbiriyle ilişkili olup, bu durum regresyon modellerinde çoklu bağlantı sorunlarına yol açabilir. Bu

sorunu çözmek için PCA kullanılır. PCA, bir veri kümesindeki ilişkili değişkenleri temsil etmek için doğrusal olarak ilişkisiz temel bileşenler oluşturur. Bu süreçte, ilk temel bileşen en yüksek varyansı açıklayan verileri içerirken, diğer bileşenler daha az varyansa sahip olacak şekilde sıralanır ve yalnızca belirli sayıda bileşen seçilir. Böylece, veri uzayının boyutu azaltılır.

PCA, çok boyutlu veri kümelerini daha az sayıda boyuta indirerek analiz için daha uygun hale getirmeyi amaçlar. Bu yöntem, veri setindeki varyansın büyük bir kısmını açıklayan alt sıradaki temel bileşenleri korurken, varyansa düşük katkıda bulunan yüksek dereceli bileşenleri göz ardı eder. Böylece, veri setinin anlamlı özellikleri korunarak boyut indirgeme gerçekleştirilir.



4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubu ve Kontrol Grubunun Sosyodemografik ve Klinik Özellikleri

Çalışma grubuna yaşları 21 ile 40 arasında değişen toplam 46 hasta (medyan yaş: 31 yıl) dahil edilmiştir. Bu hastalardan 10'u gestasyonel diyabet, 14'ü obezite, 18'i fazla kilolu, 1'i T1DM ve 3'ü T2DM tanısı almıştır. Tüm gebelikler tekil olup, yenidoğanların 38'i gebelik yaşına uygun (AGA), 6'sı gebelik yaşına göre büyük (LGA) ve 2'si gebelik yaşına göre küçük (SGA) olarak sınıflandırılmıştır. Hiçbir hastada doğum komplikasyonu gözlenmemiştir. Bebeklerden 4'ü solunum sıkıntısı nedeniyle, 1'i ise konjenital kardiyak anomali nedeniyle hastaneye yatırılmıştır. Hastaların sosyodemografik ve klinik özellikleri Tablo 4.1'de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Diyabet, obezite ve kontrol gruplarının demografik ve klinik özellikleri.

Numara	ANNE						BEBEK					
	Yaş	Gebelik öncesi VKİ	Doğum öncesi VKİ	Gebelik sayısı	Doğum sayısı	Tanı	Gebelik haftası	Doğum ağırlığı (g)	Cinsiyet	Haftasına göre ağırlık	Komplikasyon	Yatış gereksinimi
1	35	23,4	32,0	5	4	GDM	37+0	3150	E	AGA	Yok	Yok
2	36	32,0	32,7	3	2	GDM	37+2	2790	K	AGA	Yok	Yok
3	33	26,1	30,8	2	2	GDM	38+4	3800	K	AGA	Yok	Yok
4	26	23,8	29,7	2	2	GDM	38+1	3020	K	AGA	Yok	Yok
5	34	27,1	34,1	2	2	GDM	38+0	3260	E	AGA	Yok	Yok
6	34	25,9	28,5	1	1	GDM	37+4	3025	K	AGA	Yok	Yok
7	33	17,4	21,9	3	3	GDM	38+6	3020	K	AGA	Yok	Solunum sıkıntısı
8	24	17,7	26,0	2	2	GDM	38+0	3935	K	AGA	Yok	Yok
9	29	26,2	26,2	3	3	GDM	37+4	3885	E	LGA	Yok	Yok
10	40	29,3	33,1	3	2	GDM	36+5	4250	E	LGA	Yok	Yok
11	27	21,7	28,0	2	2	T1DM	36+5	2925	E	AGA	Yok	Yok
12	29	29,7	31,5	3	2	T2DM	38+1	4190	E	LGA	Yok	Solunum sıkıntısı
13	29	29,4	33,3	3	3	T2DM	38+2	3300	K	AGA	Yok	Yok
14	34	39,5	40,6	4	2	T2DM	38+2	3645	E	AGA	Yok	Yok
15	28	25,5	29,0	3	2	Fazla kilolu	38+0	3220	E	AGA	Yok	Solunum sıkıntısı
16	25	26,0	30,5	1	1	Fazla kilolu	40+0	3945	E	AGA	Yok	Yok
17	25	35,0	40,0	1	1	Obez	40+2	3992	E	AGA	Yok	Yok
18	30	26,0	32,0	1	1	Fazla kilolu	38+4	3480	K	AGA	Yok	Kalp anomali
19	25	40,0	46,7	3	3	Obez	38+0	2995	E	AGA	Yok	Yok
20	23	32,0	35,7	4	2	Obez	39+2	3800	E	AGA	Yok	Yok
21	32	32,3	33,8	2	2	Obez	37+6	3250	E	AGA	Yok	Yok
22	40	26,4	31,6	1	1	Fazla kilolu	38+1	2780	K	AGA	Yok	Yok

Tablo 4.1. (Devam) Diyabet, obezite ve kontrol gruplarının demografik ve klinik özellikleri.

ANNE							BEBEK					
Numara	Yaş	Gebelik öncesi VKİ	Doğum öncesi VKİ	Gebelik sayısı	Doğum sayısı	Tanı	Gebelik haftası	Doğum ağırlığı (g)	Cinsiyet	Haftasına göre ağırlık	Komplikasyon	Yatış gereksinimi
23	26	33,0	36,3	3	3	Fazla kilolu	38+0	3440	K	AGA	Yok	Yok
24	23	26,9	31,8	2	2	Fazla kilolu	38+0	3130	E	AGA	Yok	Solunum sıkıntısı
25	34	26,3	34,2	4	3	Fazla kilolu	38+0	3370	K	AGA	Yok	Yok
26	23	31,2	38,9	1	1	Fazla kilolu	40+1	3560	K	AGA	Yok	Yok
27	35	27,2	31,2	3	3	Fazla kilolu	37+6	3260	E	AGA	Yok	Yok
28	28	26,9	32,4	1	1	Fazla kilolu	38+2	2980	E	AGA	Yok	Yok
29	35	26,0	31,6	4	4	Fazla kilolu	38+0	3160	K	AGA	Yok	Yok
30	37	25,3	30,0	6	5	Fazla kilolu	39+1	3700	K	AGA	Yok	Yok
31	32	26,0	37,3	2	2	Fazla kilolu	39+3	4250	K	AGA	Yok	Yok
32	25	51,0	49,9	2	2	Obez	38+0	2510	K	SGA	Yok	Yok
33	34	36,2	39,5	6	3	Obez	38+0	2945	E	AGA	Yok	Yok
34	38	32,5	38,5	2	2	Obez	40+0	3780	E	AGA	Yok	Yok
35	36	37,5	40,6	5	4	Obez	38+1	3855	E	AGA	Yok	Yok
36	31	29,4	30,4	4	4	Fazla kilolu	38+6	2880	E	AGA	Yok	Yok
37	32	39,5	40,0	3	3	Obez	37+1	2350	K	SGA	Yok	Yok
38	35	36,0	44,1	2	2	Obez	37+0	3270	E	AGA	Yok	Yok
39	31	26,0	31,0	3	2	Fazla kilolu	37+2	3900	E	LGA	Yok	Yok
40	23	25,1	33,4	1	1	Fazla kilolu	38+4	3720	K	AGA	Yok	Yok
41	23	29,9	38,4	3	3	Fazla kilolu	38+1	3905	E	LGA	Yok	Yok
42	28	31,2	35,9	3	2	Obez	38+0	3480	K	AGA	Yok	Yok
43	21	31,2	35,0	1	1	Obez	39+2	4140	K	LGA	Yok	Yok
44	37	25,1	32,2	8	2	Fazla kilolu	37+4	3310	E	AGA	Yok	Yok
45	32	35,2	44,1	2	2	Obez	38+0	3710	E	AGA	Yok	Yok
46	27	30,4	36,5	1	1	Obez	40+0	4040	E	AGA	Yok	Yok
47	37	23,4	28,5	4	4	Kontrol	37+3	3300	E	AGA	Yok	Yok
48	26	28,1	33,2	2	1	Kontrol	38+1	3475	K	AGA	Yok	Yok
49	36	32,5	41,6	2	2	Kontrol	37+0	2880	K	AGA	Yok	Yok
50	35	25,2	29,4	5	3	Kontrol	38+3	3220	E	AGA	Yok	Solunum sıkıntısı
51	26	20,0	23,7	2	2	Kontrol	38+0	3325	E	AGA	Yok	Yok
52	31	21,3	24,4	2	2	Kontrol	38+1	2630	E	AGA	Yok	Yok
53	45	25,7	29,3	3	3	Kontrol	38+1	3740	E	AGA	Yok	Yok
54	24	34,7	37,6	2	2	Kontrol	38+4	3530	E	AGA	Yok	Yok
55	20	23,4	25,3	2	2	Kontrol	38+3	2800	K	AGA	Yok	Yok
56	26	19,1	25,3	1	1	Kontrol	38+3	2740	K	AGA	Yok	Yok
57	29	20,5	26,8	7	3	Kontrol	37+4	2875	E	AGA	Yok	Yok
58	25	23,1	27,4	2	2	Kontrol	38+1	3050	E	AGA	Yok	Yok
59	23	20,3	28,9	1	1	Kontrol	38+5	3500	K	AGA	Yok	Yok
60	23	16,0	22,5	4	2	Kontrol	38+2	3190	K	AGA	Yok	Yok
61	36	23,6	32,3	2	2	Kontrol	38+5	3790	K	AGA	Yok	Yok
62	25	27,6	38,1	1	1	Kontrol	39+2	3980	K	AGA	Yok	Yok
63	25	18,3	22,9	1	1	Kontrol	39+0	2695	E	AGA	Yok	Yok

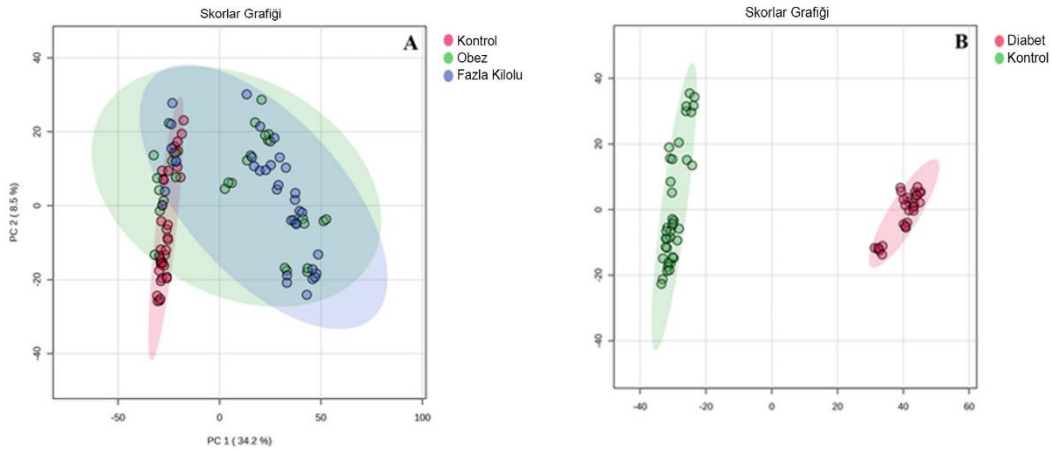
Tablo 4.1. (Devam) Diyabet, obezite ve kontrol gruplarının demografik ve klinik özellikleri.

64	23	24,6	29,2	1	1	Kontrol	38+6	2925	K	AGA	Yok	Yok
65	23	20,9	28,4	1	1	Kontrol	39+5	3050	E	AGA	Yok	Yok
66	22	19,6	24,9	1	1	Kontrol	37+6	2460	K	AGA	Yok	Yok

VKİ: Vücut kitle indeksi, GDM: Gestational diabetes mellitus, T1DM: Tip 1 Diabetes mellitus, T2DM: Tip 2 Diabetes mellitus, AGA: Gestasyon yaşına uygun “All for gestational age”, SGA: Gestasyon yaşına göre küçük “Small for gestational age”, LGA: Gestasyon yaşına göre büyük “Large for gestational age”

4.2. Kordon Kanı Metabolitlerinin PCA Analizi

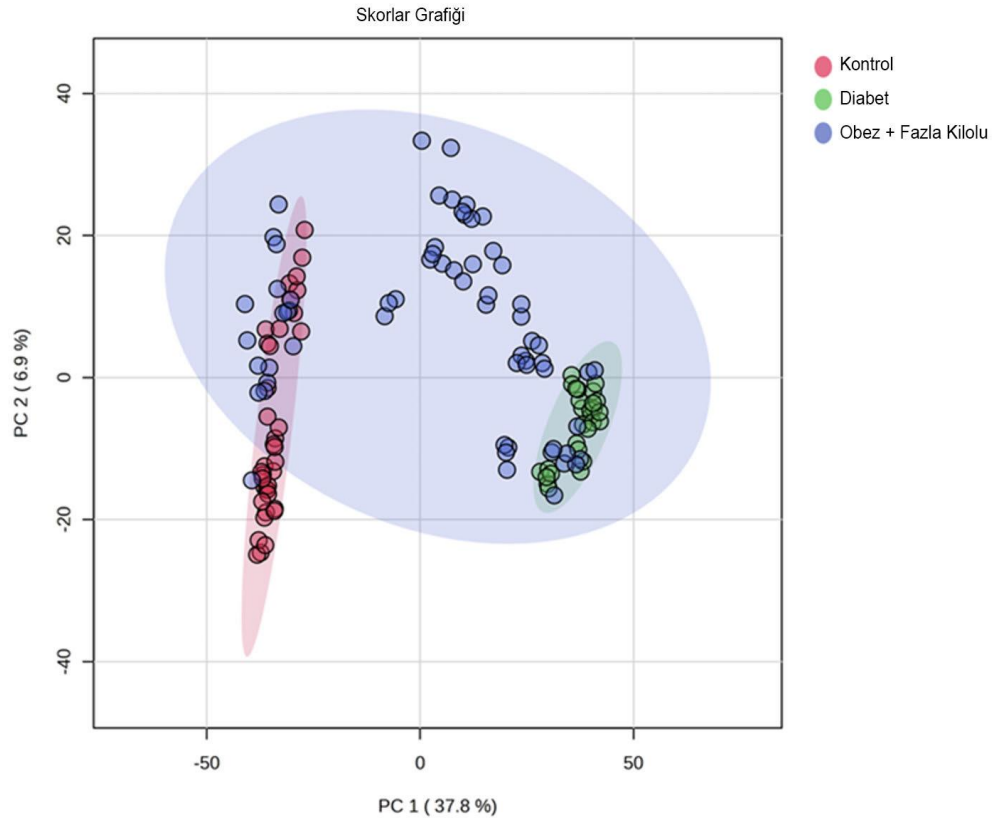
Deneyisel koşullarımızda, 12606 pik tespit edilmiş ve gruplar arasındaki verilerin karşılaştırılabilmesi için pik alanları normalize edilmiştir. Karmaşık veri setlerini basitleştiren ve sıkça kullanılan bir boyut indirgeme tekniği olan PCA, gruplar arasındaki metabolit profili farklılıklarını görselleştirmek amacıyla kullanılmıştır. Çalışmamızda, fazla kilolu ve obezite gruplarının kontrol grubuna karşı ve diyabet grubunun kontrol grubuna karşı metabolit profillerini gösteren PCA skor grafikleri, Şekil 4.1’de sunulmaktadır.



Şekil 4.1. Çalışma grupları arasındaki metabolit profili farklılıklarını gösteren PCA skor grafikleri. (A) Kontrol, fazla kilolu ve obezite grupları arasındaki metabolit profillerini karşılaştıran PCA grafiği. (B) Diyabet ve kontrol grupları arasındaki metabolit profillerini karşılaştıran PCA grafiği.

Şekil 4.1’de görüldüğü üzere, kontrol grubu ile diyabet grubunun metabolit profilleri açıkça farklılık göstermektedir. Ancak, obezite ve fazla kilolu gruplarının metabolit profillerinde geniş bir dağılım gözlemlenmiştir. Ayrıca, obezite ve fazla

kilolu gruplarının metabolit profilleri arasında belirgin bir örtüşme bulunmaktadır. Bu nedenle, çalışmanın geri kalanında obezite ve fazla kilolu grupları aynı grup olarak değerlendirilmiş ve "obezite + fazla kilolu" olarak adlandırılan tek bir grup halinde birleştirilmiştir. Kontrol, diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarının metabolit profillerini gösteren PCA skor grafiği Şekil 4.2'de sunulmaktadır.

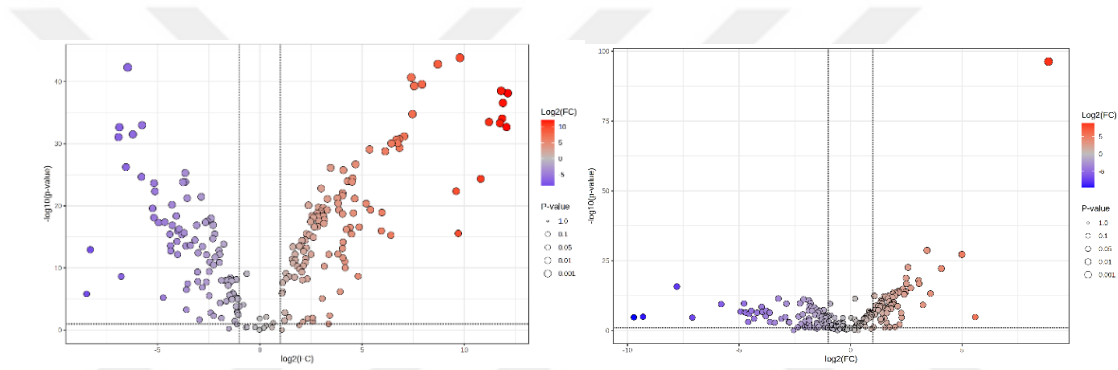


Şekil 4.2. Kontrol, diyabet ve birleştirilmiş obezite + fazla kilolu gruplarının metabolit profillerini gösteren PCA skor grafiği.

Grafik, kontrol ve diyabet grupları arasında net bir ayrım olduğunu göstermekte ve bu gruplar arasındaki belirgin metabolik farklılıkları vurgulamaktadır. Obezite + fazla kilolu grubu, metabolit profillerinde daha geniş bir dağılım sergileyerek bu gruptaki metabolik çeşitliliğin daha yüksek olduğunu yansıtmaktadır. Diyabet ve obezite + fazla kilolu grupları arasındaki kısmi örtüşme, bu gruplar arasında paylaşılan metabolik özelliklerin varlığını işaret etmektedir. Kontrol grubunun diğer iki gruba kıyasla belirgin bir şekilde kümelenmesi, diyabet ve obezite ile ilişkili koşulların neden olduğu önemli metabolik değişikliklere dikkat

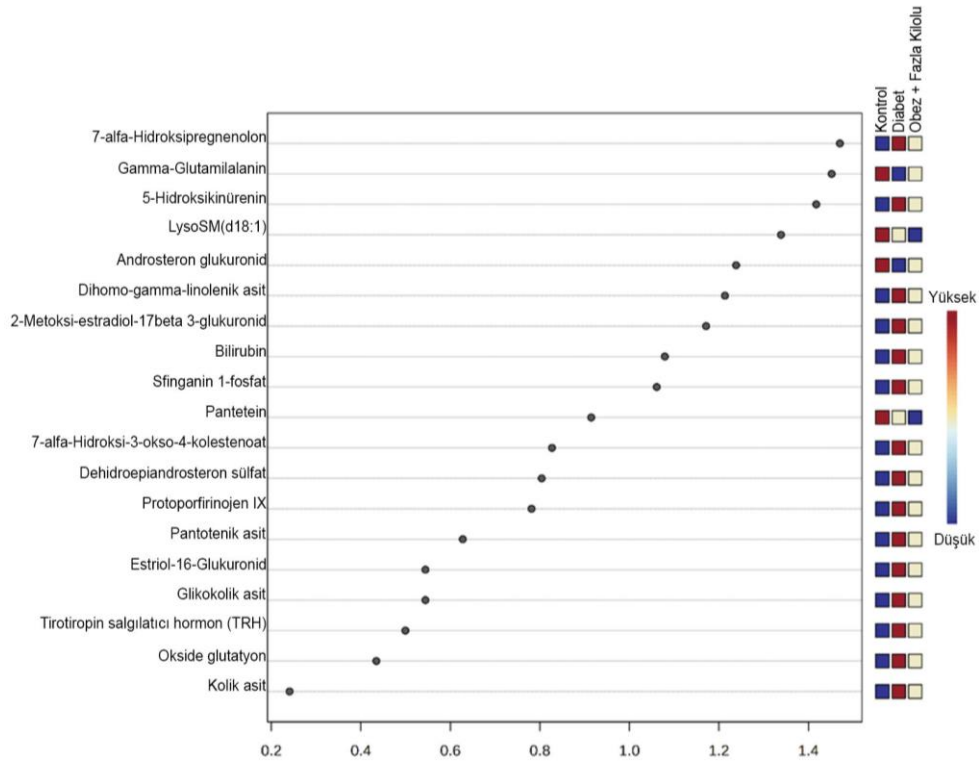
çekmektedir. Bu bulgular, PCA'nın grup spesifik metabolik farklılıkları yakalama ve görselleştirmedeki etkinliğini ortaya koymaktadır.

Gruplar arasındaki metabolomik piklerin dağılımını ve önemini görselleştirmek amacıyla, diyabet-kontrol ve obezite + fazla kilolu-kontrol karşılaştırmaları için volkan grafikleri oluşturulmuştur. Bu grafikler, istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) ve katlanma değişim değeri 1,5'ten büyük olan metabolitleri vurgulamıştır. Volkan grafikleri, maternal diyabet ve obezite ile ilişkili spesifik metabolik değişiklikleri gösteren metabolit ekspresyonunda belirgin görünümeler ortaya koymuştur. Sonuçlar Şekil 4.3'te sunulmaktadır.



Şekil 4.3. Gruplar arasındaki kordon kanı metabolitlerinin dağılımını gösteren volkan grafikleri. Soldaki grafik, diyabet grubu ile kontrol grubunun karşılaştırmasını, sağdaki grafik ise obezite + fazla kilolu grubu ile kontrol grubunun karşılaştırmasını temsil etmektedir.

Şekil 4.4.PLS-DA ile belirlenen metabolitlerin VIP skorlarını göstermektedir. Grafik, bu metabolitleri kontrol, diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarının ayırımına katkılarına göre sıralamaktadır. VIP skorlarına dayanarak, diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarının her ikisinde, kontrol grubuna kıyasla benzer bir eğilim sergileyen metabolitler Tablo 4.2.'de listelenmiştir.



Şekil 4.4. PLS-DA Analizi ile belirlenen metabolitlerin VIP skorları. Sol tarafta, VIP skorlarına göre sıralanmış metabolitler azalan sırayla listelenmiştir; en yüksek VIP skoruna sahip metabolitler, grup farklılaşmasına en fazla katkı sağlayanları temsil etmektedir. Sağ tarafta ise, bu metabolitlerin üç grup arasındaki göreceli bolluklarını gösteren bir ısı haritası bulunmaktadır. Renk gradyanı, metabolit seviyelerini ifade etmekte olup, kırmızı yüksek bolluğu, mavi ise düşük bolluğu göstermektedir.

Tablo 4.2. Diyabet ve obezite grubu ile fazla kilolu gruplarının her ikisinde kontrol grubu ile benzer eğilim gösteren metabolitler.

Metabolit	Yolak	HMDB Kodu	KEGG Kodu	Diabet	Obezite+ Fazla kilo
Estriol-16-Glukuronid	Steroid hormon biyosentezi	HMDB0006766	C05504	↑↑	↑
7-alfa-Hidroksipregnenolon	Steroid hormon biyosentezi	HMDB0060424	C18038	↑↑	↑
2-Metoksi-estradiol-17beta 3-glukuronid	Steroid hormon biyosentezi	HMDB0006765	C11131	↑↑	↑
Dehidroepiandrosteron sülfat	Steroid hormon biyosentezi	HMDB0001032	C04555	↑↑	↑
Kolik asit	Safra asit biyosentezi Safra sekresyonu Kolesterol metabolizması	HMDB0000619	C00695	↑↑	↑
Glikolik asit	Safra asit biyosentezi Safra sekresyonu Kolesterol metabolizması	HMDB0000138	C01921	↑↑	↑
7-alfa-Hidroksi-3-okso-4-kolestenoat	Safra asit biyosentezi Safra sekresyonu	HMDB0012458	C17337	↑↑	↑
5-Hidroksikinürenin	Triptofan metabolizması Kinürenine yolağı	HMDB0012819	C05651	↑↑	↑
Dihomo-gamma-linolenik asit	Linoleik asit metabolizması Ansüre yağ asitleri biyosentezi	HMDB0002925	C03242	↑↑	↑
Sfinganin 1-fosfat	Sfingolipid metabolizması Neuroaktif ligand-reseptör etkileşimi	HMDB0001383	C01120	↑↑	↑
Bilirubin	Porfirin metabolizması Safra sekresyonu	HMDB0000054	C00486	↑↑	↑
Pantotenik asit	Pantotenat and Koenzim A biyosentezi Beta-Alanin metabolizması	HMDB0000210	C00864	↑↑	↑
Protoporfirinojen IX	Hem biyosentezi Porfirin metabolizması	HMDB0001097	C01079	↑↑	↑
Oksidize glutatyon	Glutatyon metabolizması	HMDB0003337	C00127	↑↑	↑
Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH)	Hipotalamus-hipofiz-tiroid aksı Steroid hormon	HMDB0060080	C03958	↑↑	↑
Gamma-Glutamilalanin	Glutatyon metabolizması yolağı	HMDB0006248	C03740	↓↓	↓
Androsteron glukuronid	Steroid hormone biyosentezi	HMDB0002829	C11135	↓↓	↓
LysoSM(d18:1)	Eter lipid metabolizması	HMDB0011154	C03640	↓	↓↓
Pantetein	Pantotenat ve KoA biosentezi	HMDB0003426	C00831	↓	↓↓

5. TARTIŞMA

İntrauterin ortam, fetüsün hem kısa hem de uzun vadeli gelişimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Maternal obezite ve gestasyonel diyabet insidansları, tüm dünyada giderek artmaktadır. Her iki durum da olumsuz bir intrauterin ortam yaratan, fetal aşırı büyüme ve özellikle yağ dokusu artışıyla ilişkili en yaygın metabolik komplikasyonlardır. Gestasyonel diyabetli kadınlar, benzer ağırlıktaki kontrol gruplarına kıyasla artmış insülin direnci ve yetersiz insülin yanıtı göstermektedir. Gestasyonel diyabetli annelerin bebekleri, normoglisemik annelerin bebeklerine kıyasla çocukluk çağı obezitesi ve glukoz intoleransı açısından daha yüksek risk taşımaktadır. Obez kadınlar da gebelik öncesi ve sırasında artmış insülin direnci, inflamatuvar sitokinler ve metabolik sendrom benzeri bozukluklar ile karşı karşıyadır. Obez annelerden doğan bebeklerde, yağ dokusu artışı ortaya çıkar ve bu çocuklarda da çocukluk çağı obezitesi ve metabolik sendrom riski yüksektir. Çalışmamızda, bu bebeklerde değişen metabolik yolları anlamak ve uzun vadeli komplikasyonların patogenezi belirlemek amaçlanmıştır. Bu amaçla, diyabetli, fazla kilolu veya obez annelerden doğan ve uzun vadeli komplikasyonlar açısından benzer metabolik riskler taşıyan bebeklerin kordon kanı örnekleri Q-TOF LC/MS tabanlı hedefsiz metabolomik yaklaşım kullanılarak analiz edilmiştir.

Analizlerde, Q-TOF LC/MS kromatogramları, MZMine 2.53 ile işlenmiş olup, kontrol ve diyabet gruplarının karşılaştırılmasında 1322 potansiyel pik, kontrol ve obezite + fazla kilolu gruplarının karşılaştırılmasında ise 952 potansiyel pik elde edilmiştir. Bu pikler arasında, en az bir grup arasında normalize edilmiş alanlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren ($p < 0,05$) ve katlanma değişimi $> 1,5$ olan pikleri odak noktasına aldık. Bu pikler, MetaboAnalyst 6.0 kullanılarak olası metabolitler olarak tanımlandı ve doğrulama için kurum içi retansiyon zamanı kütüphanemiz ile desteklendi. Potansiyel olarak tanımlanan metabolitler, hamilelikle ilişkili metabolik değişiklikler açısından incelenmek üzere bir literatür taraması ile daha da filtrelendi. Bu kapsamlı analiz, anne diyabeti ve obezitesi ile ilişkili metabolik değişikliklere dair değerli bilgiler sağlayarak, bu durumların çocuklarındaki uzun vadeli komplikasyonların olası mekanizmalarının anlaşılmasına katkıda bulunmuştur.

Steroid biyosentezi ve safra asidi sentezi öne çıkan yollar olarak belirlenmiştir. Ayrıca, artan oksidatif stres ve sfingolipitler ile fosfolipitlerin önemi gözlemlenmiştir.

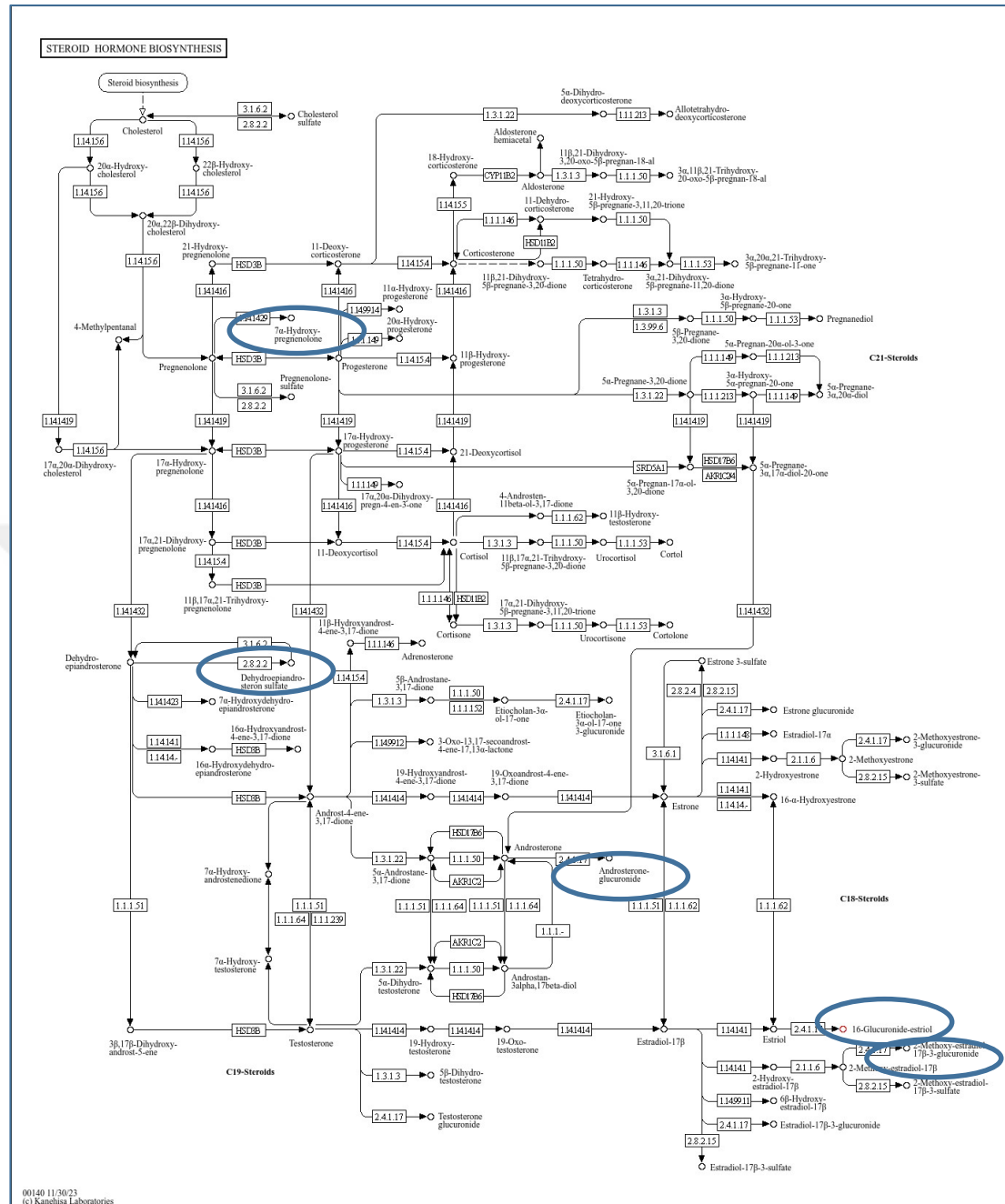
Diyabet grubunda özellikle kinürenin yolu dikkat çekmiştir. Literatürle tutarlı olarak, dihomo-gamma-linolenik asit (DGLA), diyabetli ve obez annelerden doğan bebeklerdeki metabolik anormallikler için umut vadeden bir biyobelirteç olarak öne çıkmaktadır. Hem obezite ve fazla kilolu gruplarında hem de diyabet grubunda Koenzim A (KoA) oluşumu için gerekli olan pantotenik asidin ortak bir şekilde artması, karbonhidrat, protein ve yağların metabolizması ve sentezinde önemli değişiklikler olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda, kordon kanında steroid hormon biyosentezinde değişikliklere işaret eden kanıtlar bulduk. Özellikle, estriol-16-glukuronid, 7 α -hidroksipregnenolon, 2-metoksi-estradiol-17 β -3-glukuronid ve dehidroepiandrosteron sülfat seviyelerinde diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında artış gözlemlendi. Bu bileşikler, sırasıyla estriol, pregnenolon, estradiol ve dehidroepiandrosterondan türeyen steroid hormon biyosentezi metabolitleridir. Steroid hormon biyosentezinin üst basamağındaki metabolitlerden biri olan 7 α -hidroksipregnenolon seviyesindeki artış, diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında östrojenler, progestinler, androjenler ve kortikosteroidler dahil olmak üzere tüm steroid hormon gruplarında değişikliklere işaret etmektedir. Ayrıca, 7 α -hidroksipregnenolon, lokomotor aktiviteyi uyaran nöroaktif bir steroid olarak da bilinmektedir (44).

Yang ve ark. (45), GDM tanısı alan kadınlarda kortikosteroidler, progestinler, androjenler ve östrojenlerin alt yolaklarındaki metabolitler dâhil olmak üzere 36 farklı steroid hormonun dolaşımdaki seviyelerindeki değişiklikleri inceledikleri bir vaka-kontrol çalışmasında, GDM'li kadınlarda sağlıklı kontrollere kıyasla kortikosteroidler, progestinler ve çoğu östrojen metabolitinin (16-yolağı üzerinden) serum seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. Özellikle, 16 α -hidroksiestron (16OHE1) ve estron-glukuronid/sülfat (E1-G/S), GDM gelişme riski ile ilişkili önemli göstergeler olarak tanımlanmıştır. Bu bulguları destekler şekilde, çalışmamızda estriol-16-glukuronid seviyelerinde diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında artış saptanmış olup, en belirgin artış diyabet grubunda gözlenmiştir. Ayrıca, östrojenlerin 2-hidroksilasyon yolunda yer alan 2-metoksi-estradiol-17 β -3-glukuronid seviyelerinde anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Diyabet grubumuzda dehidroepiandrosteron sülfat 3-glukuronid seviyesindeki artış, hem östrojen hem de androjen yolaklarındaki değişiklikleri yansıtmaktadır. Özellikle 16-yolağına dâhil olan östrojen metabolitlerinin, diyabetik

ve obez annelerde daha ayrıntılı olarak incelenmesi gerektiği açıktır. Bu metabolitlerin, patolojik süreçler üzerinde önemli etkileri olabileceği ve diyabetik ve obez annelerden doğan yenidoğanlar üzerinde uzun vadeli etkiler yaratabileceği düşünülmektedir. Buna karşılık, her iki grupta da androsteron glukuronid seviyelerinde bir azalma gözlenmiştir. Bu bulgu, başka bir steroide yönelik metabolik bir kaymayla ilişkili olabilir. Yang ve ark.'nın bulgularıyla uyumlu olarak, diyabetik koşullarda östrojenlerin alt metabolitlerine yönelik metabolik akışın arttığını sonucuna vardık.





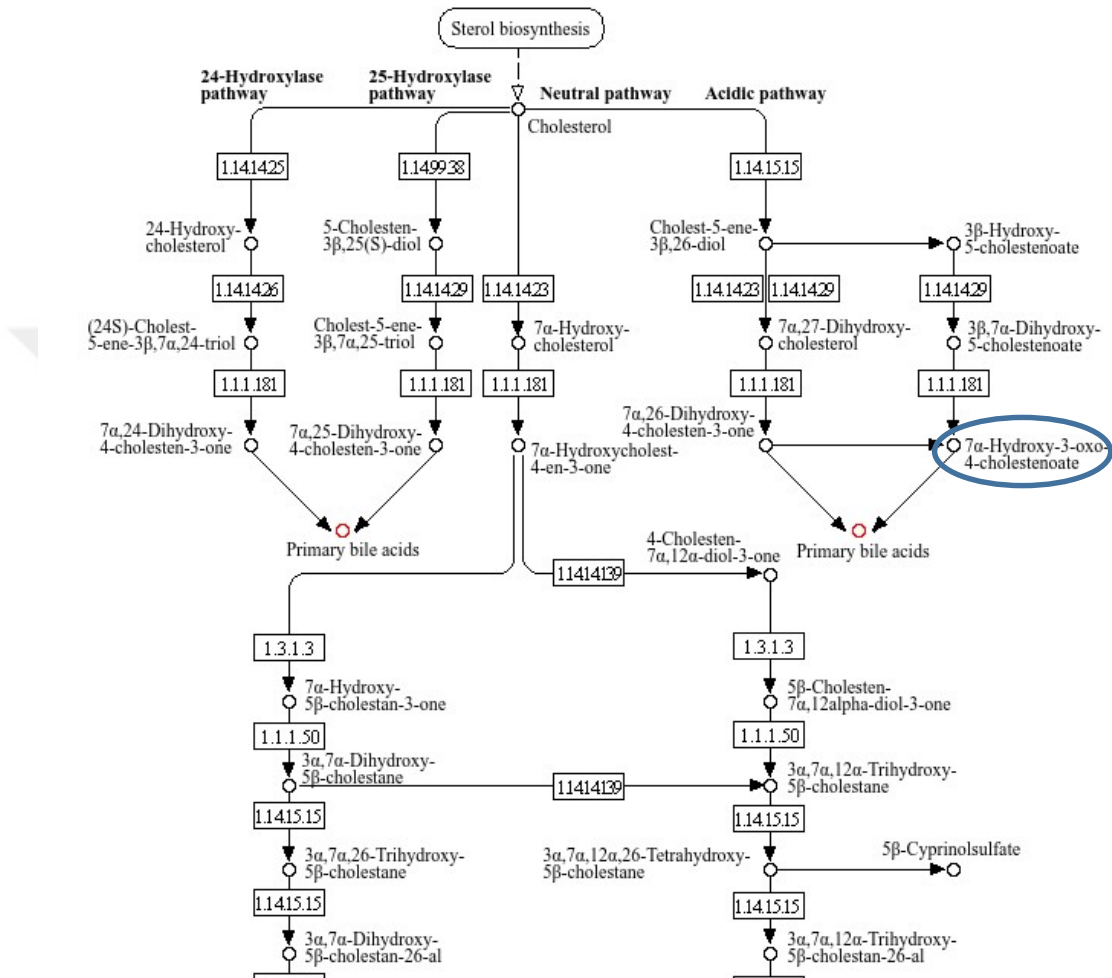
Şekil 5.1. Steroid hormon biyosentezi, estriol-16-glukuronid, 7-alfa-hidroksi-pregnenolon, 2-metoksi-estradiol-17beta 3-glukuronid, dehidroepiandrosteron sülfat, androsteron glukuronid (46). (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

Safra asidi biyosentez yolunun hızlandığını gösteren metabolitler, hem diyabet hem de obezite + fazla kilolu gruplarında bulunmuştur. Safra asitleri öncelikli olarak kolesterolden sentezlenir ve çalışmamız, steroid biyosentezinin de hızlanmış olabileceğini, bunun da gözlenen safra asidi biyosentezindeki artışa katkıda bulunabileceğini öne sürmektedir. Safra asitleri arasında kolik asit ve glikolik asit her iki grupta da artış göstermiş olup, bu artış diyabet grubunda daha belirgin olmuştur. Karaciğerde üretilen ana birincil safra asitlerinden biri olan kolik asit, genellikle glisin veya taurin ile konjuge edilir. Anne diyabeti grubunda, 7 α -hidroksi-3-okso-4-kolestenolat seviyelerinde, CYP7A1 (Kolesterol 7 α -hidroksilaz) aktivitesinin arttığını gösteren bir belirteç olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. CYP7A1, safra asidi biyosentezinin hız sınırlayıcı ilk basamağını katalizler.

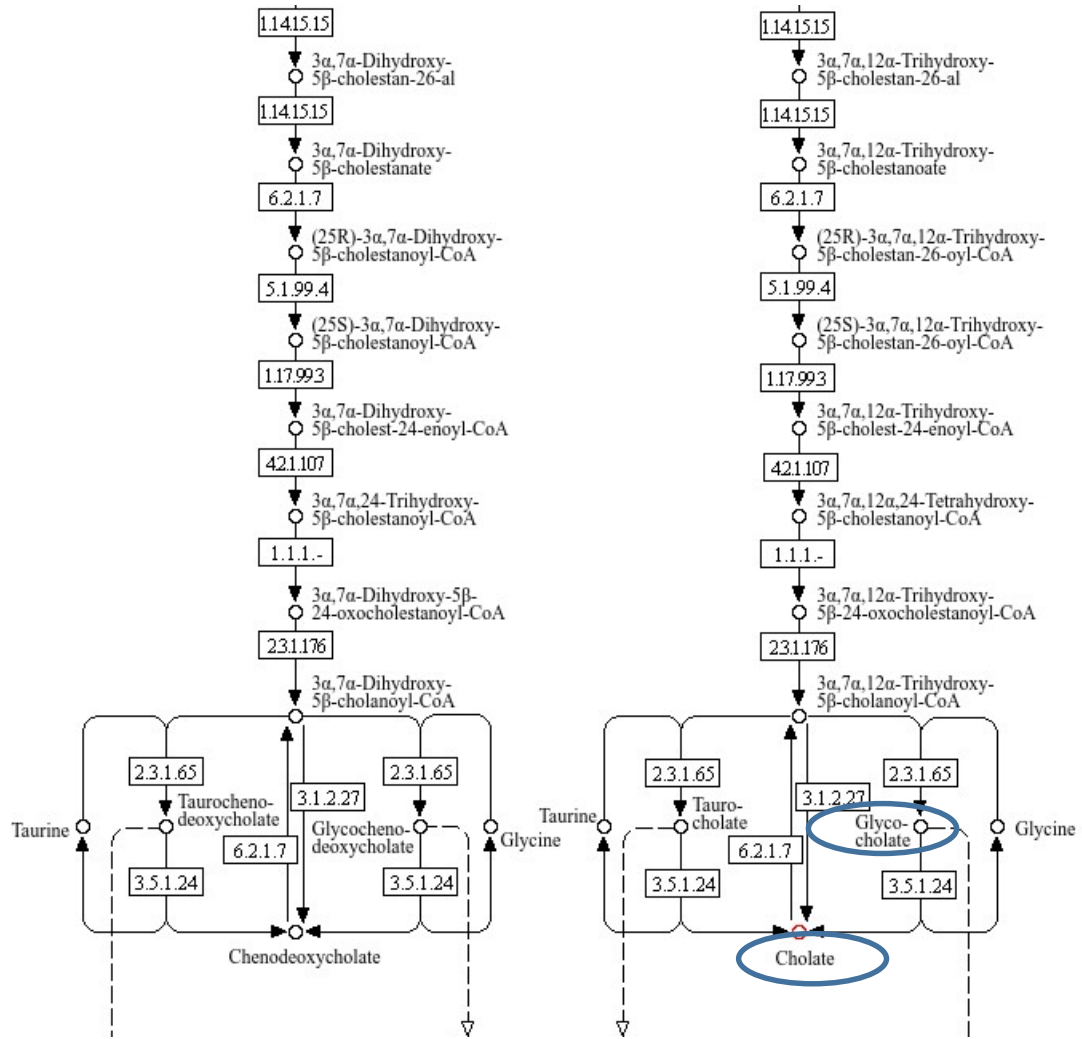
Safra asitleri, yalnızca yağ emilimi ve safra oluşumunda değil, aynı zamanda glukoz ve lipid metabolizmasını düzenleyen sinyal molekülleri olarak da kritik bir rol oynar. Bu düzenleyici etkiler, temel olarak iki reseptör üzerinden gerçekleştirilir: Farnezoit X Reseptörü (FXR) ve G Protein Bağlantılı Safra Asidi Reseptörü 1 (GPBAR1 veya TGR5). FXR aktivasyonu, karaciğerde glukoneogenezi ve lipogenezi baskılayan FGF15/19 salgısını uyarır. TGR5 aktivasyonu ise GLP-1 salgısını artırarak insülin salınımını destekler ve glukoz dengesini iyileştirir. Bu mekanizmalar, safra asitlerinin enerji dengesi, insülin duyarlılığı ve lipid profilleri üzerindeki geniş etkilerini vurgular. Bu nedenle, safra asitleri ve ilişkili sinyal yolları, metabolik hastalıklar için potansiyel terapötik hedefler olarak değerlendirilmektedir (47).

Gagnon ve ark. (48), 78 gebe kadını trimesterler boyunca izledikleri bir çalışmada, hamilelik sürecinde safra asidi metabolizmasındaki değişiklikleri ve bunların glukoz regülasyonu ile ilişkisini araştırmıştır. Çalışma, toplam safra asidi seviyelerinin ilk trimesterden hamileliğin ilerleyen dönemlerine kadar arttığını, bunun yanı sıra kolik asit/kenodeoksikolik asit oranının ve konjuge safra asitlerinin oranının da yükseldiğini göstermiştir. Bu değişiklikler, artan periferik ve hepatik insülin direnci indeksleri ile ve trimesterlere özgü değişikliklerle pozitif ilişki göstermiştir. Hızlanan safra asidi metabolizması, anne üzerindeki etkilerine benzer şekilde fetüsün enerji metabolizması ve lipid homeostazını da etkileyebilir. Safra asitleri, hücresel enerji, mitokondriyal fonksiyon ve hücre proliferasyonunun önemli düzenleyicileri olduğundan, bu değişiklikler fetal metabolik programlamayı etkileyerek tip 2 diyabet,

obezite, dislipidemi ve kardiyovasküler risklere yatkınlığı artırabilir. Ayrıca, bağırsak mikrobiyotasını şekillendirmede önemli bir rol oynayan yüksek safra asidi seviyeleri, mikrobiyotada olumsuz değişikliklere neden olabilir ve bu durum uzun vadeli komplikasyonlara katkıda bulunabilir.



Şekil 5.2 (a): Safra asit biyosentezi, 7-alfa-hidroksi-3-okso-4-kolestanoat (46).



Şekil 5.2 (b): Safra Asit biyosentez (devamı), kolat, glikokolat.

Çalışmamızda, diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında okside glutatyon (GSSG) seviyelerinde artış ve gama-glutamilalanin seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir. Bu değişiklikler diyabet grubunda daha belirgin olmuştur. GSSG, indirgenmiş glutatyonun (GSH) oksidasyona uğradığında oluşturduğu bir glutatyon dimeridir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonu sırasında GSH, GSSG'ye dönüştürülür. Hücre içindeki oksidatif stresin güvenilir bir göstergesi olarak indirgenmiş glutatyon/okside glutatyon oranı (GSH/GSSG oranı) kullanılmaktadır (49). Diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarındaki yüksek GSSG seviyeleri, bu gruplardan doğan bebeklerin artan oksidatif strese maruz kaldığını göstermektedir.

GSH, iyi bilinen bir redoks düzenleyicisi olup, glutamat, sistein ve glisin kullanılarak γ -glutamil döngüsü yoluyla sentezlenir (50). Bu döngüde, gama-glutamilalanin, L-5-okzoprolin üretmek için gama-glutamilsiklotransferaz enzimi

tarafından parçalanarak doğal bir substrattır. Diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında gözlenen düşük gama-glutamilalanin seviyeleri, γ -glutamil döngüsü yoluyla GSH sentez kapasitesinde bir azalmaya işaret etmektedir. Bu bulguyu destekleyen önceki çalışmalar, diyabetli bireylerde GSH seviyelerinin daha düşük olduğunu göstermiştir. Örneğin, tip 2 diyabet tanısının ilk iki yılı içinde kandaki GSH seviyelerinin %25, plazmadaki seviyelerin ise %50 oranında azaldığını gösterilmiştir (51).

GSH, oksidatif strese karşı koruma sağlayan küçük redoks enzimleri olan glutaredoksinler için bir kofaktör olarak işlev görür. Bu enzimler, GSH varlığında protein karışık disülfidlerini azaltarak protein inaktivasyonunu önler ve genel redoks sinyalizasyonunda önemli bir rol oynar (52). Ayrıca, GSH, en önemli antioksidan enzimlerden biri olan glutatyon peroksidaz için kritik bir kofaktördür. Bu enzim, lipid hidroperoksitleri ve çözünabilir peroksitleri, GSH'yi substrat olarak kullanarak karşılık gelen alkol formlarına indirger ve bu süreçte GSSG'ye dönüştürür (53). GSH seviyelerindeki azalma, artan lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres ile yakından ilişkilidir ve hücrel redoks homeostazında merkezi rolünü vurgulamaktadır.

GSH'nin dâhil olduğu bir diğer metabolik süreç, löktrien ve prostaglandin sentezidir (50). Tsikas ve ark. (54), GSH'nin prostaglandin sentezindeki rolünü, prostaglandin H sentazlar (PGHS) veya siklooksijenazlar (COX) aracılığıyla gerçekleştirilen enzimatik ve kimyasal reaksiyonlarda yer aldığını göstererek vurgulamıştır. GSH, arakidonik asitten (AA) malondialdehit (MDA) ve 15(S)-8-izo-prostaglandin F₂ α gibi oksidatif stres biyobelirteçlerinin üretimini kolaylaştırır. Prostaglandinler, güçlü yerel vazodilatörler olarak işlev görür ve kan platelet agregasyonunu önlemede kritik bir rol oynar (55). GSH metabolizmasındaki bozulmalar, prostaglandin sentezi için gerekli enzimatik reaksiyonları olumsuz etkileyebilir. Genel olarak, GSH, antioksidan savunmada ve gen ekspresyonu, DNA sentezi, hücre büyümesi, apoptoz ve bağışıklık yanıtları gibi hücrel süreçlerde hayati roller oynar. GSH eksikliği oksidatif strese yol açar ve yaşlanma ile kalp krizi, felç ve diyabet gibi hastalıkların gelişimine katkıda bulunur.

Çalışmamızda, diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında kontrol grubuna kıyasla gama-glutamilalanin seviyelerindeki azalma, dolayısıyla GSH seviyelerindeki azalma ve GSSG seviyelerindeki artış, bu gruplarda antioksidan sistemlerin

yetersizliğini ve artan oksidatif stres düzeylerini güçlü bir şekilde göstermektedir. Ayrıca, GSSG'nin hücre dışına taşınmasının artması, hücre içindeki GSH depolarını tüketerek antioksidan savunmayı daha da zayıflatmaktadır. Bu tüketim, diyabetik ve obez annelerden doğan bebeklerde oksidatif strese bağlı uzun vadeli komplikasyonların oluşabileceği potansiyel bir yolak olarak dikkat çekmektedir.

Hem biyosentezinde bir ara ürün olan protoporfirinogen IX, diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında artış göstermiştir. Benzer şekilde, hem katabolizmasının bir ürünü olan bilirubin, her iki grupta da anlamlı derecede artmıştır. Oksidatif stres koşullarında porfirin sentezi artabilir ve bu artış, strese karşı bir adaptif mekanizma olarak değerlendirilebilir. Protoporfirinogen IX, hem üretiminde kritik bir role sahip olan protoporfirin IX'un doğrudan bir öncüsüdür. Öte yandan, bilirubin, endojen bir antioksidan olarak işlev görür. Kordon kanında protoporfirinogen IX ve bilirubin seviyelerindeki eşzamanlı artış, hem biyosentezi ve hem katabolizmasındaki artan aktiviteyi işaret etmekte ve bu durumun, artan oksidatif stresin bir yansıması olduğu düşünülmektedir.

Diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında anlamlı bir şekilde artış gösteren metabolitlerden biri sfinganin 1-fosfat (S1P) olmuştur. Sfinganin, sfingofosfolipid metabolik yolunda sfingozin'in üst basamağında yer alır. Güncel bulgular, sfinganin'in fosfatidilkolin (PC) üretimi için bir yapı taşı olarak işlev gördüğünü göstermektedir (56). Diyabet grubunda S1P seviyelerindeki artış, sfingofosfolipid biyosentezine olan talebin arttığını işaret edebilir.

Buna karşılık, lizosfingomiyelin (LysoSM) seviyeleri hem diyabet hem de obezite + fazla kilolu gruplarında daha düşük bulunmuş ve bu azalma obezite + fazla kilolu grubunda daha belirgin olmuştur. LysoSM, sfingomiyelin (SM) sentezinde son basamak ara ürünü olup, esas olarak hücre zarlarında, özellikle de sinir hücre aksonlarını çevreleyen miyelin kılıfta bulunur. Sfingofosfolipidler, miyelin sentezinde ve nöronlar arasındaki sinyal iletiminde kritik roller oynar (57). Ayrıca, lizofosfolipidler, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarla yakından ilişkili önemli biyobelirteçler olarak giderek daha fazla tanınmaktadır (58). Çalışmamızda gözlemlenen LysoSM seviyelerindeki azalma ve S1P seviyelerindeki artış, özellikle obezite + fazla kilolu grubunda, sfingolipid metabolizmasındaki bozulmalara işaret

etmektedir. Bu durum, fetal nöronal ve kardiyovasküler gelişim açısından potansiyel riskler oluşturabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda, diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında gözlemlenen dihomogamma-linolenik asit (DGLA) seviyelerindeki artış, O'Neil ve ark. (33)'in bulgularıyla uyumludur. O'Neil ve ark. gestasyonel diyabet tanısı alan kadınların amniyotik sıvısında metabolomik profillemeye yaparak DGLA seviyelerinde artış olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, çalışmaları, yüksek çözünürlüklü hedefe yönelik LC/MS analizleri kullanarak temel linolenik asit metabolitlerinin varlığını doğrulamıştır.

Yüksek serum DGLA seviyeleri, obezite, vücut yağ birikimi ve tip 2 diyabet (T2DM) ile hepatik steatoz gelişimi riskiyle ilişkilendirilmiştir (59,60). DGLA, 20 karbon zincirine sahip bir omega-6 yağ asidi olup, 18 karbonlu gamma-linolenik asidin uzama ürünüdür. Esansiyel bir yağ asidi olan linoleik asit, DGLA'ya metabolize edilmekte ve bu asit, nöronal membran fosfolipitlerinin önemli bir bileşeni olarak görev yapmaktadır. Diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarındaki DGLA seviyelerindeki artış, linoleik asidin artan yıkımını yansıtabilir.

DGLA, doğrudan prostaglandin E1 (PGE1) gibi anti-enflamatuar etkili eikozanoidler üretir ve bu moleküller, inflamasyonu düzenlemede etkili bir rol oynar (61). Ayrıca, DGLA metabolizması, daha güçlü pro-enflamatuar moleküller olan araşidonik asit (AA) üretimini baskılayabilir. Bu süreç, inflamasyonun baskılanmasına, hücre membranı akışkanlığının/permeabilitesinin düzenlenmesine ve bağışıklık fonksiyonlarının desteklenmesine katkıda bulunur. Literatürle uyumlu olarak, yüksek serum DGLA seviyeleri, diyabetik ve obez annelerden doğan bebeklerdeki potansiyel metabolik anormallikler için umut vadeden bir biyobelirteç olabilir (62,63). Esansiyel linolenik asit metabolizmasının uzun vadeli komplikasyonların patogenezinde rol oynayabileceği ve bu mekanizmaların daha fazla araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, 5-hidroksikinurenin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla diyabet grubunda en yüksek, obezite + fazla kilolu grubunda ise bunu takiben yüksek olduğu gözlemlendi. 5-hidroksikinurenin, triptofan metabolizmasında kinurenin yolları üzerinden oluşan bir alkil-fenilketondur. Bu metabolitin artışı, triptofan-kinurenin metabolik yolunda bir bozulmaya veya aktivasyona işaret eder. 5-

hidroksikinurenin, triptofanın katabolik bir ürünü olup, kinurenin yollarında bir ara ürün olarak spesifik biyolojik durumlar hakkında önemli bilgiler sunar.

Matsuoka ve ark. (64), diyabetik hastalarda triptofan metabolitlerini araştırmış ve 5-hidroksikinurenin seviyelerinin daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Kinurenin yolu, koroner kalp hastalığının erken gelişiminde önemli bir role sahiptir ve plazma kinureninlerindeki artışın akut miyokard enfarktüsü riskini artırabileceği gösterilmiştir (65). Ayrıca, kinurenin yolu, oksidatif stresin ve nöroenflamasyonun düzenlenmesinde kritik bir rol oynar; bu süreçler, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı ve multipl skleroz gibi nörodejeneratif hastalıkların temelinde yer alır. Bu yolak üzerinden üretilen önemli metabolitlerden kinürenik asit nöroprotektif ve antioksidan özellikler sergilerken, kinolinik asit nörotoksik olup oksidatif hasarı teşvik eder (66). Diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında gözlemlenen 5-hidroksikinurenin seviyelerindeki artış, oksidatif hasara katkıda bulunabilir. Bu metabolit, nörogelişimsel bozukluklar ve kardiyovasküler hastalıklar için potansiyel bir risk belirteci olarak değerlendirilebilir.

Pantotenik asit (vitamin B5), her iki grupta da artış gösteren metabolitlerden biri olup, diyabet grubunda daha belirgin bir artış sergilemiştir. Buna karşılık, vitamin B5'in en etkili formu olarak kabul edilen pantetein, maternal diyabet grubunda azalmış ve maternal obezite + fazla kilolu grubunda daha düşük seviyelerde bulunmuştur. Suda çözünür B vitamini olan pantotenik asit, Koenzim A (KoA) ve açıl taşıyıcı protein (ACP) üretiminde kritik bir rol oynar. Pantotenik asit, KoA'nın bir bileşeni olarak karbonhidrat, yağ asidi ve protein metabolizması ile glukoneogenezde hayati önem taşır ve çeşitli reaksiyonlar için bir kofaktör olarak görev yapar (67). Benzer şekilde, ACP, yağ asidi sentezini destekleyen bir işlev görür.

Tian ve ark. (68), gebeliğin erken döneminde maternal serum metabolitleri ile GDM arasındaki ilişkiyi araştırmak için metabolomik bir yaklaşım kullanmıştır. GDM grubunda, L-piroglutamik asit, L-glutamik asit, fenilasetik asit, pantotenik asit ve ksantin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek, 1,5-anhidro-D-glukitol, kalsitriol ve 4-oksoprolin seviyelerinin ise daha düşük olduğunu bildirmiştir. Çalışmada, amino asit, karbonhidrat, lipid, enerji, nükleotid, kofaktör ve vitamin metabolizması gibi birçok metabolik yolda yer alan bu moleküllerin, GDM için potansiyel göstergeler olduğu belirlenmiştir. Serum pantotenik asit seviyelerinin,

T2DM ve yüksek vücut kitle indeksi olan bireylerde, normal kontrollere kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir (69). Bu nedenle, çalışmamızda gözlemlenen pantotenik asit artışı, insülin duyarlılığı ve direncinde değişikliklere katkıda bulunabilir ve GDM riskini artırabilir.

Tranidou ve ark. (70), maternal mikro besin alımı ve diyet alışkanlıklarının GDM üzerindeki etkilerini incelemiştir. 797 hamile kadın üzerinde yapılan analizde, biyotin, folat, niasin ve pantotenik asit gibi mikro besinlerin yanı sıra bazı minerallerin alımının GDM grubunda anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu besinler metabolik sağlık için gerekli olsa da, gebelik sırasında aşırı alımları glukoz metabolizmasını ve insülin duyarlılığını olumsuz etkileyebilir. Özellikle, yüksek pantotenik asit seviyeleri, artan GDM riski ile ilişkilendirilmiş ve bu durum, GDM riski taşıyan hamile kadınlarda mikro besin alımını yönetmek için hedefe yönelik diyet müdahalelerinin önemini vurgulamıştır. Çalışmamızda, maternal diyabet ve maternal obezite/fazla kilolu annelerden doğan bebeklerin kordon kanında pantotenik asit seviyelerindeki artış, gebelik sırasında yüksek pantotenik asit seviyelerinin maternal insülin direnci için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, bu bulgu, obezite ve tip 2 diyabet gibi uzun vadeli komplikasyonlar açısından da bu metabolitin çocuklar için bir risk faktörü olabileceği olasılığını gündeme getirmektedir. Pantotenik asit seviyelerindeki artış ile pantotein seviyelerindeki azalma, pantotenik asidin panteteine dönüşümünde bir bozulmaya işaret edebilir. Pantetein, Koenzim A (KoA) biyosentezinde bir ara ürün olduğundan, bu azalmanın diyabet ve obeziteye bağlı artan metabolik stresle ilişkili olduğu ve panteteinin hızla KoA'ya dönüştürülmesine yol açabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, diyabetik ve fazla kilolu/obez annelerde tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu ve bu artışın özellikle diyabet grubunda daha belirgin olduğu saptanmıştır. Ötiroid durumdaki hamile bir kadında fetüs genellikle normal bir gelişim gösterir. Ancak, araştırmalar, maternal tiroid hormonlarının (T3, T4 ve TSH) fetal dolaşıma geçiş yapabildiğini ve bu hormonların fetal gelişimde önemli bir rol oynadığını vurgulamaktadır. Maternal TRH, plasentayı geçerek gebeliğin orta döneminden itibaren fetal TSH salgısını uyarır. Son çalışmalar, TRH'nin yalnızca hipotalamik kökenli olmadığını, pankreas ve diğer ektranöral/ekstrahipotalamik organlar gibi maternal kaynakların da TRH varyantları

üretebildiğini ortaya koymuştur (71). Bu varyantlar plasentayı geçerek fetal tiroid fonksiyonunu etkiler ve maternal-fetal hormonal etkileşimin karmaşıklığını gösterir. Landa ve ark. (72), TRH'nin aşırı ekspresyonunun metabolik ve kardiyovasküler parametreler üzerindeki etkilerini transgenik fareler üzerinde incelemiştir. Bu çalışmada, TRH aşırı ekspresyonunun kan basıncını artırdığı, idrarda katekolamin seviyelerini yükselttiği ve metabolik parametrelerde değişikliklere neden olduğu gözlemlenmiştir. Bu fareler, daha fazla yemek yemelerine rağmen düşük vücut ağırlığı sergilemiştir. Bu etkilerin, diensefalonda TRH ekspresyonunun artışı ile ilişkili olduğu ve spesifik bir küçük interfere edici RNA (siRNA) uygulanmasıyla tersine döndüğü bildirilmiştir. Çalışma, TRH'nin metabolik ve kardiyovasküler sistemler üzerindeki etkilerini vurgularken, hipertansiyon ve obezite gibi yaygın komorbiditelere yönelik yeni mekanizmalar sunmaktadır. Çalışmamızda kordon kanında saptanan yüksek TRH seviyeleri, maternal diyabet ve fazla kilo/obezitenin fetal hormonal dengeleri etkilediğini göstermektedir. Yüksek TRH seviyeleri, olası metabolik ve kardiyovasküler risklerin erken tespiti için önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabilir.

Bu çalışmanın gücü, maternal diyabet ve fazla kilo/obezite gibi benzer uzun vadeli riskler taşıyan durumların ortak metabolik bozukluklarını inceleyerek, bu iki durumun sonuçlarını karşılaştırma yaklaşımında yatmaktadır. Çalışmada sunulan metabolit tanımlamaları, doğru kütle ölçümleri ve veritabanı eşleştirmelerine dayalı olarak yapılmış olup, literatür taraması ve klinik önem kriterlerine göre en olası eşleşmeler seçilmiştir. Ancak, bu tanımlamalar referans standartların kullanıldığı hedefli analizlerle doğrulanmamış olup, bulguların doğrulanması için daha hedefe yönelik analizlere ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, örneklem büyüklüğünün artırılması, istatistiksel gücü ve sonuçların genelleştirilebilirliğini artırabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma, diyabetik ve obez/fazla kilolu annelerden doğan bebeklerde potansiyel metabolik bozukluklara işaret etmekte ve maternal metabolik sağlığın fetal programlama üzerindeki etkisini vurgulamaktadır. Hedefsiz kordon kanı metabolomik profillemeye yoluyla, steroid ve safra asidi biyosentezi, oksidatif stres belirteçleri ve lipid metabolizması gibi yolların bozulduğu gözlemlenmiştir. Bu bozulmalar, bu bebeklerde uzun vadeli risk faktörleri olabileceğini düşündürmektedir. Steroid metabolizmasında alt yolak östrojenlere yönelik bir kayma ve hızlanmış safra

asidi sentezi, enerji dengesi ve lipid regülasyonundaki bozulmaları yansıtarak, bu bebeklerin metabolik ve kardiyovasküler zorluklara yatkınlığını artırabilir.

Pantotenik asit seviyelerindeki artış ve CoA metabolizmasındaki değişiklikler, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında olası değişimlere işaret etmektedir. Ayrıca, maternal diyabet grubunda belirgin olan kinurenin yolu, oksidatif stres, nöroenflamasyon ve kardiyovasküler risklerle ilişkili olabilir. DGLA'nın potansiyel bir biyobelirteç olarak belirlenmesi, erken risk değerlendirme ve izleme için temel sağlayabilir. Ancak, metabolit tanımlamalarının varsayımsal doğası ve sınırlı örneklem büyüklüğü, daha büyük ve hedefe yönelik çalışmalarla doğrulama gerekliliğini ortaya koymaktadır.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Çalışmada, gestasyonel diyabetli, obez veya fazla kilolu annelerden doğan bebeklerde, kontrol grubuna kıyasla belirgin metabolik profil değişiklikleri gözlemlenmiştir. Diyabet ve obezite + fazla kilolu gruplarında ortak bir eğilim gösteren 19 metabolit belirlenmiştir.
2. Steroid ve safra asidi biyosentezi yollarında artış gözlenmiştir.
3. 16- ve 2-yollarında yer alan östrojen metabolitlerinin, artan metabolik riske işaret ettiği düşünülmüştür.
4. Hızlanmış safra asidi biyosentezi, fetal metabolik programlamada bozulmalara neden olabilir.
5. Diyabet grubunda, kinurenin yolunun belirgin bir şekilde öne çıktığı tespit edilmiştir.
6. Dihomo-gamma-linolenik asit (DGLA), metabolik anormalliklerin potansiyel bir biyobelirteci olarak belirlenmiştir.
7. Pantotenik asit seviyelerindeki artış, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında önemli değişikliklere işaret etmektedir.
8. Artan oksidatif stres belirteçleri, sfingofosfolipid metabolizmasındaki bozulmalar ve plazma kinurenin seviyelerindeki artış, kardiyovasküler ve nörogelişimsel risklerin erken göstergeleri olarak değerlendirilebilir.
9. Yüksek TRH seviyeleri, olası metabolik ve kardiyovasküler risklerin erken tespiti için önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabilir.
10. Bu çalışmada tespit edilen metabolik değişikliklerin ve biyobelirteçlerin klinik önemini doğrulamak için daha geniş katılımcı gruplarında hedefe yönelik metabolomik çalışmalar yapılmalıdır. Referans standartlar kullanılarak metabolit tanımlamalarının doğruluğu artırılmalıdır.
11. Diyabetik ve obez/fazla kilolu annelerden doğan bebeklerde, doğum sonrası erken dönemde metabolik ve kardiyovasküler risklerin değerlendirilmesi için uzun süreli izlem programları geliştirilebilir.
12. Gebelik sürecinde maternal metabolik sağlığı desteklemek amacıyla beslenme ve yaşam tarzı müdahaleleri yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond)*. 1998;95(2):115-28.
2. Sweeting A, Hannah W, Backman H, Catalano P, Feghali M, Herman WH, et al. Epidemiology and management of gestational diabetes. *Lancet*. 2024;404(10448):175-192.
3. Poston L, Caleyachetty R, Cnattingius S, Corvalán C, Uauy R, Herring S, et al. Preconceptional and maternal obesity: epidemiology and health consequences. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016;4(12):1025-1036.
4. Nolan CJ. Normal long-term health for infants of diabetic mothers: can we achieve it? *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(9):3592-4.
5. Scheidl TB, Brightwell AL, Easson SH, Thompson JA. Maternal obesity and programming of metabolic syndrome in the offspring: searching for mechanisms in the adipocyte progenitor pool. *BMC Med*. 2023;21(1):50.
6. Alves FCR, Moreira A, Moutinho O. Maternal and long-term offspring outcomes of obesity during pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*. 2024;309(6):2315-2321.
7. Rughani A, Friedman JE, Tryggstad JB. Type 2 Diabetes in Youth: the Role of Early Life Exposures. *Curr Diab Rep*. 2020;20(9):45.
8. Buss C, Entringer S, Wadhwa PD. Fetal programming of brain development: intrauterine stress and susceptibility to psychopathology. *Sci Signal*. 2012;5(245):pt7.
9. Harmon HM, Hannon TS. Maternal obesity: a serious pediatric health crisis. *Pediatr Res*. 2018;83(6):1087-1089.
10. Kim SS, Mendola P, Zhu Y, Hwang BS, Grantz KL. Spontaneous and indicated preterm delivery risk is increased among overweight and obese women without prepregnancy chronic disease. *BJOG* 2017;124:1708–16.
11. Athukorala C, Rumbold AR, Willson KJ, Crowther CA. The risk of adverse pregnancy outcomes in women who are overweight or obese. *BMC Pregnancy Childbirth* 2010;10:56.
12. Stothard KJ, Tennant PW, Bell R, Rankin J. Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2009;301:636–50.
13. Johansson S, Villamor E, Altman M, Bonamy AK, Granath F, Cnattingius S. Maternal overweight and obesity in early pregnancy and risk of infant mortality: a population based cohort study in Sweden. *BMJ* 2014;349:g6572.
14. Persson M, Johansson S, Villamor E, Cnattingius S. Maternal overweight and obesity and risks of severe birth-asphyxia-related complications in term infants: a population-based cohort study in Sweden. *PLoS Med* 2014;11:e1001648.

15. Sanchez CE, Barry C, Sabhlok A, et al. Maternal pre-pregnancy obesity and child neurodevelopmental outcomes: a meta-analysis. *Obes Rev* 2017;19:464–84.
16. Forthun I, Wilcox AJ, Strandberg-Larsen K, et al. Maternal prepregnancy BMI and risk of cerebral palsy in offspring. *Pediatrics* 2016;138:e20160874.
17. Wang Y, Tang S, Xu S, Weng S, Liu Z. Maternal body mass index and risk of autism spectrum disorders in offspring: a meta-analysis. *Sci Rep* 2016;6:34248.
18. Godfrey KM, Reynolds RM, Prescott SL, Nyirenda M, Jaddoe VW, Eriksson JG, et al. Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017;5(1):53-64.
19. Mannino A, Sarapis K, Moschonis G. The Effect of Maternal Overweight and Obesity Pre-Pregnancy and During Childhood in the Development of Obesity in Children and Adolescents: A Systematic Literature Review. *Nutrients.* 2022;14(23):5125.
20. Kelly AC, Powell TL, Jansson T. Placental function in maternal obesity. *Clin Sci (Lond).* 2020;134(8):961-984.
21. Zhang CXW, Candia AA, Sferruzzi-Perri AN. Placental inflammation, oxidative stress, and fetal outcomes in maternal obesity. *Trends Endocrinol Metab.* 2024;35(7):638-647.
22. Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, Nicotera A, Parisi E, Di Rosa G, et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *Int J Mol Sci.* 2014;16(1):378-400.
23. Catalano PM. The impact of gestational diabetes and maternal obesity on the mother and her offspring. *J Dev Orig Health Dis.* 2010;1(4):208-15.
24. Wang H, Li N, Chivese T, Werfalli M, Sun H, Yuen L, et al; IDF Diabetes Atlas Committee Hyperglycaemia in Pregnancy Special Interest Group. IDF Diabetes Atlas: Estimation of Global and Regional Gestational Diabetes Mellitus Prevalence for 2021 by International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group's Criteria. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022;183:109050.
25. Rodolaki K, Pergialiotis V, Iakovidou N, Boutsikou T, Iliodromiti Z, Kanaka-Gantenbein C. The impact of maternal diabetes on the future health and neurodevelopment of the offspring: a review of the evidence. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023;14:1125628.
26. Tinker SC, Gilboa SM, Moore CA, Waller DK, Simeone RM, Kim SY, et al; National Birth Defects Prevention Study. Specific birth defects in pregnancies of women with diabetes: National Birth Defects Prevention Study, 1997-2011. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;222(2):176.e1-176.e11.
27. Wu Y, Liu B, Sun Y, Du Y, Santillan MK, Santillan DA, et al. Association of Maternal Prepregnancy Diabetes and Gestational Diabetes Mellitus With Congenital Anomalies of the Newborn. *Diabetes Care.* 2020;43(12):2983-2990.
28. Ornoy A, Becker M, Weinstein-Fudim L, Ergaz Z. Diabetes during Pregnancy: A Maternal Disease Complicating the Course of Pregnancy with Long-Term

- Deleterious Effects on the Offspring. A Clinical Review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(6):2965.
29. Bianco ME, Josefson JL. Hyperglycemia During Pregnancy and Long-Term Offspring Outcomes. *Curr Diab Rep.* 2019;19(12):143.
 30. Nahum Sacks K, Friger M, Shoham-Vardi I, Abokaf H, Spiegel E, Sergienko R, et al. Prenatal exposure to gestational diabetes mellitus as an independent risk factor for long-term neuropsychiatric morbidity of the offspring. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(3):380.e1-7.
 31. Camprubi Robles M, Campoy C, Garcia Fernandez L, Lopez-Pedrosa JM, Rueda R, Martin MJ. Maternal Diabetes and Cognitive Performance in the Offspring: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015;10(11):e0142583.
 32. Dani C, Bresci C, Berti E, Ottanelli S, Mello G, Mecacci F, et al. Metabolomic profile of term infants of gestational diabetic mothers. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;27(6):537-42.
 33. O'Neill K, Alexander J, Azuma R, Xiao R, Snyder NW, Mesaros CA, et al. Gestational Diabetes Alters the Metabolomic Profile in 2nd Trimester Amniotic Fluid in a Sex-Specific Manner. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9):2696.
 34. Shashikadze B, Valla L, Lombardo SD, Prehn C, Haid M, Riols F, et al. Maternal hyperglycemia induces alterations in hepatic amino acid, glucose and lipid metabolism of neonatal offspring: Multi-omics insights from a diabetic pig model. *Mol Metab.* 2023;75:101768.
 35. Burlina S, Dalfrà MG, Lapolla A. Short- and long-term consequences for offspring exposed to maternal diabetes: a review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019;32(4):687-694.
 36. Kelstrup L, Hjort L, Houshmand-Oeregaard A, Clausen TD, Hansen NS, Broholm C, et al. Gene Expression and DNA Methylation of PPARGC1A in Muscle and Adipose Tissue From Adult Offspring of Women With Diabetes in Pregnancy. *Diabetes.* 2016;65(10):2900-10.
 37. Doğan HO. Metabolomics: a review of liquid chromatography mass spectrometry-based methods and clinical applications. *Turkish Journal of Biochemistry,* 2024;49:1(4):1-14.
 38. Aderemi AV, Ayeleso AO, Oyedapo OO, Mukwevho E. Metabolomics: A Scoping Review of Its Role as a Tool for Disease Biomarker Discovery in Selected Non-Communicable Diseases. *Metabolites.* 2021;11(7):418.
 39. Zhang A, Sun H, Yan G, Wang P, Wang X. Metabolomics for Biomarker Discovery: Moving to the Clinic. *Biomed Res Int.* 2015;2015:354671.
 40. Noto A, Fanos V, Dessì A. Metabolomics in Newborns. *Adv Clin Chem.* 2016;74:35-61.
 41. Liden T, Wang E, Schug K. An Overview of the Untargeted Analysis Using LC–MS (QTOF): Experimental Process and Design Considerations. *LCGC North America.* 2023;8-12.

42. <https://www.creative-proteomics.com/support/agilent-6540-uhd-quadrupole-time-of-flight-accurate-mass-mass-spectrometer.htm>
43. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
44. Haraguchi S, Tsutsui K. Pineal Neurosteroids: Biosynthesis and Physiological Functions. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Aug 11;11:549. doi: 10.3389/fendo.2020.00549. PMID: 32849313; PMCID: PMC7431617.
45. Yang N, Zhang W, Ji C, Ge J, Zhang X, Li M, Wang M, Zhang T, He J, Zhu H. Metabolic alteration of circulating steroid hormones in women with gestational diabetes mellitus and the related risk factors. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1196935.
46. <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html> (Son erişim: 13.05.2025)
47. Yu H, Nie R, Shen C. The role of bile acids in regulating glucose and lipid metabolism. *Endocr J*. 2023;70(4):359-374.
48. Gagnon M, Trottier J, Weisnagel SJ, Gagnon C, Carreau AM, Barbier O, Morisset AS. Bile acids during pregnancy: Trimester variations and associations with glucose homeostasis. *Health Sci Rep*. 2021;4(1):e243.
49. Pastore A, Piemonte F, Locatelli M, Lo Russo A, Gaeta LM, Tozzi G, Federici G. Determination of blood total, reduced, and oxidized glutathione in pediatric subjects. *Clin Chem*. 2001;47(8):1467-9.
50. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr*. 2004;134(3):489-92.
51. Zaltzberg H, Kanter Y, Aviram M, Levy Y. Increased plasma oxidizability and decreased erythrocyte and plasma antioxidative capacity in patients with NIDDM. *Isr Med Assoc J*. 1999;1(4):228-31.
52. Johar DR, Bernstein LH. Biomarkers of stress-mediated metabolic deregulation in diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2017;126:222-229.
53. Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci (Lond)*. 1996;90(4):255-60.
54. Tsikas D, Suchy MT, Niemann J, Tossios P, Schneider Y, Rothmann S, Gutzki FM, Frölich JC, Stichtenoth DO. Glutathione promotes prostaglandin H synthase (cyclooxygenase)-dependent formation of malondialdehyde and 15(S)-8-iso-prostaglandin F2 α . *FEBS Lett*. 2012;586(20):3723-30.
55. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(5):986-1000.
56. Farley S, Stein F, Haberkant P, Tafesse FG, Schultz C. Trifunctional Sphinganine: A New Tool to Dissect Sphingolipid Function. *ACS Chem Biol*. 2024;19(2):336-347.
57. Quinville BM, Deschenes NM, Ryckman AE, Walia JS. A Comprehensive Review: Sphingolipid Metabolism and Implications of Disruption in Sphingolipid Homeostasis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5793.

58. Law SH, Chan ML, Marathe GK, Parveen F, Chen CH, Ke LY. An Updated Review of Lysophosphatidylcholine Metabolism in Human Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;20(5):1149.
59. Tsurutani Y, Inoue K, Sugisawa C, Saito J, Omura M, Nishikawa T. Increased Serum Dihomo- γ -linolenic Acid Levels Are Associated with Obesity, Body Fat Accumulation, and Insulin Resistance in Japanese Patients with Type 2 Diabetes. *Intern Med.* 2018;57(20):2929-2935.
60. Akter S, Kurotani K, Sato M, Hayashi T, Kuwahara K, Matsushita Y, et al. High Serum Phospholipid Dihomo- γ -Linoleic Acid Concentration and Low Δ 5-Desaturase Activity Are Associated with Increased Risk of Type 2 Diabetes among Japanese Adults in the Hitachi Health Study. *J Nutr.* 2017;147(8):1558-1566.
61. Ferreira I, Falcato F, Bandarra N, Rauter AP. Resolvins, Protectins, and Maresins: DHA-Derived Specialized Pro-Resolving Mediators, Biosynthetic Pathways, Synthetic Approaches, and Their Role in Inflammation. *Molecules.* 2022;27(5):1677.
62. Lei S, Huang F, Zhao A, Chen T, Chen W, Xie G, et al. The ratio of dihomomath>\gamma-linolenic acid to deoxycholic acid species is a potential biomarker for the metabolic abnormalities in obesity. *FASEB J.* 2017;31(9):3904-3912.
63. Matsuda M, Kawamoto T, Tamura R. Predictive value of serum dihomomath>\gamma-linolenic acid level and estimated Δ -5 desaturase activity in patients with hepatic steatosis. *Obes Res Clin Pract.* 2017;11(1):34-43.
64. Matsuoka K, Kato K, Takao T, Ogawa M, Ishii Y, Shimizu F, et al. Concentrations of various tryptophan metabolites are higher in patients with diabetes mellitus than in healthy aged male adults. *Diabetol Int.* 2016;8(1):69-75.
65. Pedersen ER, Tuseth N, Eussen SJ, Ueland PM, Strand E, Svingen GF, et al. Associations of plasma kynurenines with risk of acute myocardial infarction in patients with stable angina pectoris. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(2):455-62.
66. Mor A, Tankiewicz-Kwedlo A, Krupa A, Pawlak D. Role of Kynurenine Pathway in Oxidative Stress during Neurodegenerative Disorders. *Cells.* 2021;10(7):1603.
67. Tahiliani AG, Beinlich CJ. Pantothenic acid in health and disease. *Vitam Horm.* 1991;46:165-228.
68. Tian M, Ma S, You Y, Long S, Zhang J, Guo C, Wang X, Tan H. Serum Metabolites as an Indicator of Developing Gestational Diabetes Mellitus Later in the Pregnancy: A Prospective Cohort of a Chinese Population. *J Diabetes Res.* 2021;2021:8885954.
69. Gogna N, Krishna M, Oommen AM, Dorai K. Investigating correlations in the altered metabolic profiles of obese and diabetic subjects in a South Indian Asian population using an NMR-based metabolomic approach. *Mol Biosyst.* 2015;11(2):595-606.

70. Tranidou A, Magriplis E, Apostolopoulou A, Tsakiridis I, Chroni V, Tsekitsidi E, et al. Impact of Maternal Micronutrient Intake on Gestational Diabetes Risk: Results from Greece's BORN2020 Prospective Cohort Study. *Nutrients*. 2024;16(9):1375.
71. Vrachnis N, Tsonis O, Vrachnis D, Antonakopoulos N, Paltoglou G, Barbounaki S, et al. The Effect of Thyrotropin-Releasing Hormone and Antithyroid Drugs on Fetal Thyroid Function. *Children (Basel)*. 2021;8(6):454.
72. Landa MS, García SI, Schuman ML, Peres Diaz LS, Aisicovich M, Pirola CJ. Cardiovascular and body weight regulation changes in transgenic mice overexpressing thyrotropin-releasing hormone (TRH). *J Physiol Biochem*. 2020;76(4):599-608.



8. EKLER

EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzinleri

	T.C. KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ Tıp Fakültesi Dekanlığı	 
Sayı : E-80418770-020-222989 Konu : Etik kurul başvurunuz <u>hkk</u>.	25.04.2022	
Sayın <u>Doç.Dr. Özlem ÜNAL UZUN</u>		
GOKAEK-2022/08.11 GOKAEK 10. Subat 2021 tarihli toplantısında görüşülen Doç. Dr. Özlem ÜNAL UZUN sorumluluğunda yürütülmesi planlanan 2022/49 proje numaralı "Metabolik açıdan riskli yenidoğanlarda metabolomik analiz değerlendirilmesi ve olası biyobelirteçlerin belirlenmesi" başlıklı proje değerlendirilmiş aşağıdaki düzeltmelerin yapılması ve/veya eksikliklerin giderilmesinin ardından yeniden değerlendirilmesine karar verilmiştir: (1) Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Laboratuvar sorumlusundan uygunluk onayı alınmalıdır. (2) Araştırma bütçesi açıklanmalı, değerlendirmelerin nasıl karşılanacağı belirtilmelidir. (3) Biyolojik Materyal Transfer Formu hazırlanmalıdır. (4) Olgu Rapor Formu hazırlanmalıdır. Olgu Rapor Formu'nda (ORF) hasta adı soyadı/kimlik numarası/dosya numarası gibi kimliğine işaret edecek bilgiler yer almamalı, yalnızca araştırmacı tarafından ulaşılabilecek ayrı bir yerde kodlanmalı ve ORF'na kod yazılmalıdır. (5) Araştırma başlığının "Metabolik Açıdan Riskli Yenidoğanların Metabolomik Yönden Değerlendirilmesi" gibi daha anlaşılır bir şekilde düzenlenmesi önerilmiştir. Sorumlu araştırmacı tarafından 08.04.2022 tarih ve 08.04.2022-E.214709 sayılı dilekçeyle gönderilen düzeltme metnine göre gerekli değişikliklerin yapıldığı görülmektedir. Projenin yürütülmesi uygun bulunmuştur.		
KARAR: KABUL, PROJENİN YÜRÜTÜLMESİ UYGUNDUR.		
Projenizin yürütülmesi uygun bulunmuştur, çoklu imza formu ekte sunulmaktadır. Araştırmaya Etik Kurul onay tarihinden sonra en geç 90 gün içinde başlamanız, (i) Başlayamadığınızda veya protokolda bildirdiğiniz hususlarda herhangi bir değişiklik yaptığınızda Değişiklik Bilgi Formu ile, (ii) Araştırmanızı onay aldığınız şekilde tamamladığınızda Sonuç Raporu ile Etik Kurul'a başvurunuz gerekmektedir.		
Prof.Dr. Nurettin Özgür DOĞAN Kurul Başkanı		
EK : Karar formu		
Belge Doğrulama Adresi : https://turkiye.gov.tr/kocaeli-universitesi-etkys		
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi 41380 <u>Unuttepe</u>, KOCAELİ		Bilgi için: Ayşegül Poyraz
Tel:90 262 303 70 04 Faks:90 262 303 70 03 E-Posta : tipdek@kocaeli.edu.tr Elektronik AĖ : http://tip.kocaeli.edu.tr/ Kep Adresi: kocaeliuniversitesi@hs01.kep.tr		Bilgisayar İşletmeni Telefon No: 3037450

EK-2: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

Turnitin Orijinallik Raporu İşleme tarihi: 13-Eki-2023 13:58 +03 KURUM: 268820266 Kalite Sayısı: 13479 Gönderildi: 1		
tez Özlem Ünal Uzun tarafından		
4% eşleşme (01-Eki-2023 tarihli internet) http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/26371/Kadriye%20Tayrak_DOktORA%20TEZ.pdf?isAllowed=y&sequence=1	Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik İnternet Kaynakları: %12 Yayınlar: %9 Öğrenci Ödevleri: %6
2% eşleşme (15-Nis-2025 tarihli internet) https://www.dggruytarbril.com/document/doi/10.1515/dggr-2024-0505/html	%13	
< 1% eşleşme (23-Oca-2020 tarihli internet) http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/21728/TunaB%20%4%b0smay%4%b11ov-d%3%b5n%3%bc%2%9ft%3%bcr%3%bdc%3%bc.pdf?isAllowed=y&sequence=5		
< 1% eşleşme (02-Mar-2020 tarihli internet) http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/22190/10328234.pdf?isAllowed=y&sequence=1		
< 1% eşleşme (24-Oca-2022 tarihli internet) http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/23315/10377153.pdf?isAllowed=y&sequence=4		
< 1% eşleşme (01-Eki-2023 tarihli internet) http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/26535/cemil_cen_ozlem_tez_inpas%4%b1z%20%4%b3%bct%3%bcbane.pdf?isAllowed=y&sequence=5		
< 1% eşleşme (16-Mar-2023 tarihli internet) http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/27174/Nesliye%4%b88i_Chech%88edemir_doktora.pdf?isAllowed=y&sequence=1		
< 1% eşleşme (15-Tem-2019 tarihli internet) http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/3213/10141160.pdf?isAllowed=y&sequence=5		
< 1% eşleşme (24-Nis-2023 tarihli internet) http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/29373/10310732.pdf?isAllowed=y&sequence=1		
< 1% eşleşme (28-Eki-2022 tarihli internet) http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/1682/965c0c3b-384f-4113-9289-05a162150218.pdf		
< 1% eşleşme (15-Tem-2019 tarihli internet) http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/5249/abdulemet_sardis_tez_teslim.pdf?isAllowed=y&sequence=3		
< 1% eşleşme (22-Kas-2022 tarihli internet) http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/23096/onay%20sayfas%4%b1z...pdf?isAllowed=y&sequence=3		
< 1% eşleşme (26-Haz-2019 tarihli internet) http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/4814/10209797.pdf?isAllowed=y&sequence=1		
< 1% eşleşme (23-Eyl-2022 tarihli internet) https://ackbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/351780/yokAckBilim_10284185.pdf?isAllowed=y&sequence=1		
< 1% eşleşme (02-Ara-2024 tarihli internet) https://ackbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/365763/yokAckBilim_10031223.pdf?sequence=1		
< 1% eşleşme (02-Ara-2024 tarihli internet) https://ackbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/353439/yokAckBilim_10145558.pdf?		

EK-3: Turnitin Dijital Makbuz



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Özlem Ünal Uzun
Ödev başlığı:	Metabolomiks
Gönderi Başlığı:	tez
Dosya adı:	Prof._Dr._Özlem_ÜNAL_UZUN_Tez_Düzeltilme.docx
Dosya boyutu:	1.75M
Sayfa sayısı:	64
Kelime sayısı:	13,470
Karakter sayısı:	92,150
Gönderim Tarihi:	13-Haz-2025 01:57ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	2698283266



Copyright 2025 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.

9. ÖZGEÇMİŞ

