

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL GESTASYONEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA  
TİMOKİNONUN LEPTİN VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ VE  
KAN ŞEKERİ DÜZEYLERİNE ETKİSİ İLE UTERUS VE PANKREAS DOKUSU  
DEĞİŞİKLİKLERİNİN İNSÜLİN İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Mehmet Yıldırım KARAOĞLAN**

**Trabzon, 2018**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL GESTASYONEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA  
TİMOKİNONUN LEPTİN VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ VE  
KAN ŞEKERİ DÜZEYLERİNE ETKİSİ İLE UTERUS VE PANKREAS DOKUSU  
DEĞİŞİKLİKLERİNİN İNSÜLİN İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Mehmet Yıldırım KARAOĞLAN**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Armağan OSMANAĞAOĞLU**

**Trabzon, 2018**

## ÖNSÖZ

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle eğitimime katkıda bulunan değerli hocam, anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Hasan BOZKAYA'ya,

Tezime ve eğitimime olan katkılarından dolayı değerli tez danışmanım sayın Prof. Dr. Mehmet Armağan OSMANAĞAOĞLU'na,

Uzmanlık eğitimim süresince her yönden desteklerini gördüğüm hocalarım Prof. Dr. E. Seda GÜVENDAĞ GÜVEN, Prof. Dr. Süleyman GÜVEN, Doç. Dr. Cavit KART ve Doç. Dr. Turhan ARAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca bana emek veren hep yanımda olan, sevgilerini her zaman hissettiğim, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim anneme, babama ve kardeşlerime; bu süreçte hep yanımda olan, sevgisini ve sabrını hiç esirgemeyen değerli eşim Filiz ŞEN KARAOĞLAN'a teşekkürü borç bilirim.

Dr. Mehmet Yıldırım KARAOĞLAN

Trabzon, 2018

## ÖZET

### **Deneyisel Gestasyonel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Timokinonun; Leptin, Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü ve Kan Şekeri Düzeyleri Üzerine Etkisi ile Uterus ve Pankreas Dokusu Değişikliklerinin İnsülin ile Karşılaştırılması**

**Amaç:** Bu çalışma, deneyisel gestasyonel diyabet oluşturulmuş ratlarda timokinonun; leptin, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), kan şekeri düzeyleri, uterus ve pankreas dokusu değişiklikleri üzerine etkisini insülin ile karşılaştırmak için düzenlendi.

**Gereç ve Yöntem:** KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezinde 40 dişi rat deneyisel çalışmaya alındı. K1 adı verilen grup (n=8) sadece dişi ratlardan oluşturuldu. K2 adı verilen grup (n=8) gebe bırakılan ratlardan oluşturuldu. Kalan 24 gebe ratta streptozotosin enjeksiyonuyla gestasyonel diyabet oluşturuldu. Gestasyonel diyabet oluşturulan ratlar 3 gruba bölündü. GDM adı verilen grup (n=8) sadece gestasyonel diyabetik ratlardan oluşturuldu. GDM + Tq adı verilen grup (n=8) timokinon verilen gestasyonel diyabetik ratlardan, GDM + Ins adı verilen grup (n=8) ise insülin verilen gestasyonel diyabetik ratlardan oluşturuldu. Ratlar gebeliklerinin teyit edildiği gün, gebeliklerinin 6. ve 21. gününde tartıldı ve açlık kan şekeri ölçüldü. Tüm ratların uterus ve pankreasları gebeliklerinin 21. gününde inceleme için alındı. Elde edilen verilerle yapılan analiz sonucunda p değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Gestasyonel diyabetik ratlarda timokinonun açlık kan şekeri, vücut ağırlığı üzerine etkileri insülinle benzer ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Gestasyonel diyabetik ratlarda gebe kontrol grubuna göre VEGF düzeyi azalmış, leptin düzeyi ise artmıştır. Timokinon ve insülin benzer etki göstererek gestasyonel diyabetik ratlarda VEGF düzeylerini arttırmış, leptin düzeylerini ise azaltmıştır; fakat bu etkilerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

**Sonuç:** Timokinonun çalışmamızda leptin ve VEGF üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi saptanmamış olup antihiperglisemik etkisi insüline benzer olarak görülmektedir. Gelecekte gestasyonel diyabet tedavisi için potansiyel bir terapötik ajan olarak kullanılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Timokinon, gestasyonel diyabetik rat, vasküler endotelyal büyüme faktörü, leptin, streptozotosin

## SUMMARY

### **Comprasion of the Effect of Thymoquinone on Leptin, Vascular Endothelial Growth factor, Blood Sugar Levels and Changes in Uterine, Pancreatic tissues with Insülin in Experimental Gestational Diabetic Rats**

**Objective:** This study is designed to compare the effects of thymoquinone with insulin, on leptin, vascular endothelial growth factor, blood sugar levels, uterus and pancreatic tissue changes in experimental gestational diabetic rats.

**Materials and Methods:** 40 female rats were included in the experimental study at the KTU Surgical Application and Research Center. The group named K1 (n = 8) consisted only of female rats. The group named K2 (n = 8) was formed from pregnant rats. The remaining 24 pregnant rats were injected with streptozotocin to induce gestational diabetes. Gestational diabetic rats were divided into 3 groups. The group named GDM (n = 8) was formed only from gestational diabetic rats. The group named GDM + Tq (n = 8) was composed of gestational diabetic rats given thymoquinone and the group named GDM + Ins (n = 8) was composed of gestational diabetic rats given insulin. Rats were weighed and fasting blood sugar levels were measured on the 6th, 21st day of pregnancy and on the day the pregnancies were confirmed. Uterine and pancreatic tissues were taken for examination on the 21st day of pregnancy. Analysis was considered statistically significant when p value was below 0.05.

**Results:** In gestational diabetic rats, thymoquinone has similar effects on body weight and fasting blood sugar as insulin and this effect is statistically significant. In gestational diabetic rats, VEGF level decreased and leptin level increased compared to the pregnant control group. Thymoquinone and insulin showed similar effects, increased VEGF levels and decreased leptin levels in gestational diabetic rats, but no statistically significant difference was found.

**Conclusion:** In our study no statistically significant effect of thymoquinone was detected on leptin and VEGF but it's antihyperglycemic effect was similar to insulin. More studies are needed to be used in the future as a potent therapeutic agent for gestational diabetes mellitus treatment.

**Keywords:** Thymoquinone, gestational diabetic rat, vascular endothelial growth factor, leptin, streptozotocin

# İÇİNDEKİLER

|  |     |
|--|-----|
| <b>ÖNSÖZ</b>   |     |
| <b>ÖZET</b>  | ii  |
| <b>SUMMARY</b>   | iii |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>   | iv  |
| <b>KISALTMALAR VE SİMGE DİZİNİ</b>                               | i   |
| <b>TABLolar DİZİNİ</b>   | ii  |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>   | iii |
| <b>1. GİRİŞ</b>  | 1   |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>   | 3   |
| <b>2.1 Gestasyonel Diabetes Mellitus</b>                         | 3   |
| 2.1.1 Tanım  | 3   |
| 2.1.2 Prevalans  | 3   |
| 2.1.3 Sınıflama  | 4   |
| 2.1.4 Fیزیopatoloji  | 7   |
| 2.1.4.1 Gebelikte Karbonhidrat Metabolizması                     | 7   |
| 2.1.4.2 Gebelikte İnsülin Rezistansı                             | 8   |
| 2.1.4.3 Gestasyonel Diyabette Lipid Metabolizması ve Adipokinler | 9   |
| 2.1.4.4 Gestasyonel Diyabet ve VEGF                              | 10  |
| <b>2.2 Gestasyonel Diyabet için Tarama ve Tanı</b>               | 12  |
| <b>2.3 Gestasyonel Diyabet ile İlişkili Komplikasyonlar</b>      | 13  |
| 2.3.1 Metabolik Komplikasyonlar                                  | 13  |
| 2.3.2 Gestasyonel Komplikasyonlar                                | 14  |
| 2.3.3 Fetal Komplikasyonlar                                      | 15  |
| <b>2.4 Antepartum ve Postpartum Takip</b>                        | 16  |
| <b>2.5 Gestasyonel Diyabette Tedavi</b>                          | 17  |
| <b>2.6 Timokinon ve Antidiyabetik etkisi</b>                     | 20  |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>  | 22  |
| 3.1 Araştırmanın Yeri ve Zamanı                                  | 22  |
| 3.2 Deney Hayvanlarının Seçimi ve Bakımı                         | 22  |
| 3.3 Deney Hayvanlarının Çiftleştirilmesi                         | 22  |

|   |    |
|---|----|
| 3.4 Deneysel Gestasyonel Diyabetik Rat Modeli Oluşturma | 23 |
| 3.5 Deneysel Hayvanlarının Gruplandırılması             | 23 |
| 3.6 Doku Örneklerinin Alınması ve Yapılacak Analizler   | 24 |
| 3.7 İstatistiksel Yöntem                                | 25 |
| <b>4. BULGULAR</b>                                      | 26 |
| <b>5. TARTIşMA</b>                                      | 32 |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>                             | 38 |
| <b>KAYNAKLAR</b>  | 40 |



## KISALTMALAR VE SİMGE DİZİNİ

**DM** : Diabetes mellitus

**GDM** : Gestasyonel diabetes mellitus

**OGTT** : Oral glukoz tolerans testi

**GCT** : Glucose challenge test (50 gram glukoz yükleme testi)

**AKŞ** : Açlık kan şekeri

**IDF** : International Diabetes Federation (Uluslararası Diyabet Federasyonu)

**ADA** : American Collage of Obstetrics of Gynecology (Amerikan Diyabet Derneği)

**FDA** : U.S. Food and Drug Administration (Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi)

**ACOG** : American Collage of Obstetrics of Gynecology

(Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği)

**IADPSG** : International Association of Diabetes and Pregnancy Study Group

(Uluslararası Diyabet ve Gebelik İşbirliği Çalışma Grubu)

**HAPO** : Hyperglycaemia and Pregnancy outcome

(Hiperglisemi ve Olumsuz Gebelik Sonuçları)

**VEGF** : Vasküler endotelial büyüme faktörü

**STZ** : Streptozotosin

**TQ** : Timokinon

**IGF-I** : İnsülin benzeri büyüme faktörü I

**IGF-II** : İnsülin benzeri büyüme faktörü II

**VKİ** : Vücut kitle indeksi

**MAPK** : Mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz

**PI 3-kinaz** : Fosfatidilinositol 3-kinaz

**PGH** : Plasental büyüme hormonu

**TNF- $\alpha$**  : Tümör nekroz faktör alfa

**LGA** : Large for gestational age (Gestasyonel yaşa göre iri)

**ELISA** : Enzim Linked İmmunosorbent Assay (Enzim bağlı immnosorbent ölçümü)

**JAK / STAT** : Janus kinaz / sinyal transdüksiyonu ve transkripsiyon aktivatörü



## TABLolar DİZİNİ

**Tablo 1.** Diabetes Mellitusun etiyolojik sınıflaması

**Tablo 2.** Diyabetle komplike gebelik için 1986 ile 1994 yılları arasında kullanılan Modifiye White sınıflandırması

**Tablo 3.** Gebelikte diyabet için önerilen sınıflandırma sistemi

**Tablo 4.** Gebelikte karbonhidrat metabolizması (Gebeliğin 20. haftasından önce)

**Tablo 5.** Gebelikte karbonhidrat metabolizması (Gebeliğin 20. haftasından sonra)

**Tablo 6.** Oral glukoz tolerans testine göre gestasyonel diyabet tanısı

**Tablo 7.** Deney grupları ve sayıları

**Tablo 8.** Leptin, VEGF, açlık kan şekeri ve vücut ağırlığı düzeylerinin ortalamaları ile standart sapmalarının gruplara göre dağılımı

## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.** Timokinon ve insülinin gestasyonel diyabetik ratlarda açlık kan şekeri üzerine etkisi
- Şekil 2.** Timokinon ve insülin verilen gestasyonel diyabetik ratların kontrol gruplarına göre vücut ağırlığının karşılaştırılması
- Şekil 3.** Timokinon ve insülinin gestasyonel diyabetik ratlarda vücut ağırlığı üzerine etkisi
- Şekil 4.** Streptozotosin ile GDM oluşturulmuş ratlarda VEGF düzeyinin kontrol grupları ile karşılaştırılması
- Şekil 5.** Gestasyonel diyabet oluşturulmuş ratlarda timokinon ve insülinin VEGF düzeylerine etkisi
- Şekil 6.** Streptozotosin ile GDM oluşturulmuş ratlarda Leptin düzeyinin kontrol grupları ile karşılaştırılması
- Şekil 7.** Gestasyonel diyabet oluşturulmuş ratlarda timokinon ve insülinin Leptin düzeylerine etkisi

# 1. GİRİŞ

Gestasyonel diabetes mellitus (GDM), ilk tanısı gebelik sırasında ortaya konan veya gebelik sırasında başlayan karbonhidrat tolerans bozukluğu olarak tanımlanmaktadır (1). Dünya genelinde GDM sıklığı yaş, ırk, vücut yapısı ile tanı ve tarama kriterlerine göre değişkenlik göstermekle birlikte yaklaşık olarak tüm gebeliklerin % 1 - 14'ü civarındadır (2, 3). Birleşik Devletler'deki prevalansı % 6 - 7 olmakla birlikte Türkiyede prevalansı % 1.2 - % 4.5 arasındadır (1, 4).

Gestasyonel diyabetle komplike olmuş gebeliklerde perinatal risk artışına doğrudan sebep olan; annedeki plazma glukoz seviyesidir. Plazma glukoz seviyelerinin kontrol altına alınmasıyla diyabete bağlı birçok mortalite ve morbidite azalmaktadır. Gestasyonel diyabet tanısı almış gebeler preeklampsi, gestasyonel hipertansiyon, sezaryen ile doğum ve sezaryenle ilişkili komplikasyonlar için yüksek risk taşımaktadırlar. Diyabetik anne bebeklerinde ise makrozomi, erken doğum, omuz distosisi, fetal büyüme kısıtlılığı, ölü doğum, klinik neonatal hipoglisemi ve hiperbilirubinemi gibi perinatal komplikasyonlar görülmektedir (5).

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), diyabetik mikrovasküler komplikasyonların patofizyolojisinde rol oynayan çok fonksiyonlu bir sitokindir. Gestasyonel diyabette gelişen preeklampside, kontrolsüz hiperglisemi sonucu oluşan oksidatif radikaller doku hasarına neden olmaktadır. Ortaya çıkan doku hasarı da VEGF ekspresyonunda artışa neden olmaktadır. Preeklampside VEGF, damar gelişimi ve morfonogenezini, vasküler tonus ve permeabilityi, endotel ve inflamatuvar hücrelerin kemotaksisini modüle eder (6, 7).

Leptin, açlığı inhibe ederek enerji dengesini düzenlemeye yardımcı olan bir hormondur. Etkisini hipotalamus üzerinden gösterir ve gıda alımı ile enerji metabolizmasını düzenleyerek obezite gelişmesini engeller (8). Açlık ve diyabette azalan leptin salınımı, besin alımından sonra artmaktadır. Açlıkta leptinle birlikte insülin salınımı da düşmektedir, insülinin dışardan kronik olarak verilmesi leptin üretimini reaktifte edebilir (9).

GDM tanısı almış kontrolsüz kan şekeri regülasyonu olan ve makrozomik bebek dünyaya getiren gebe kadınlarda leptin düzeyleri, normoglisemik gebe kadınlara göre daha yüksek saptanmıştır. Sağlıklı anne bebeklerine göre diyabetik anne bebeklerinde, makrozomi gelişme riski üç kat daha fazladır. Leptinden başka

makrozomiden sorumlu diğerk faktörler epidermal büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, trombosit kökenli büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörleri I (IGF-I) ve II (IGF-II)'dir (10).

GDM'li gebelerde günümüzde diyet ile hedef glukoz düzeyleri sağlanamadığında medikal tedavi ön plana çıkmaktadır. GDM medikal tedavisinde ilk tercih insülin olmakla birlikte metformin ve gliburid gibi oral antidiyabetikler de kullanılabilir. Diyabetle komplike gebeliklerde medikal tedavide ana hedef kan şekeri regülasyonu sağlayarak komplikasyonların önüne geçmektir. Timokinon, çörek otu bitkisinin temel biyoaktif komponenti olup; antiinflamatuvar, antioksidan ve antidiyabetik etkileri saptanmıştır. Bu amaçla diyabet tedavisinde yeni etken madde olarak timokinonun etkinliği birçok çalışmada gösterilmiştir (11).

İnsan çalışmalarının etik problemleri ve intrauterin ortamı değiştirebilecek kontrol dışı değişkenlerin çokluğuna bağlı olarak araştırmamızda deneysel olarak diyabetik hayvan modelleri oluşturulmuştur. Bu amaçla, streptomyces türünden veya sentetik yollardan elde edilen bir antibiyotik olan streptozotosin (STZ), pankreasın beta hücrelerini selektif olarak tahrip etmesi nedeniyle, laboratuvar çalışmalarında intraperitoneal verilerek deneysel diyabet modeli oluşturmak için kullanılmıştır (12).

Bu deneysel çalışmada amaç, gestasyonel diabetes mellitus oluşturulmuş rat modelinde timokinonun; leptin, VEGF, kan şekeri düzeyleri ile uterus ve pankreas dokusunda meydana gelecek histopatolojik değişiklikler üzerine etkisini insüline göre karşılaştırmaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Gestasyonel Diabetes Mellitus**

#### **2.1.1 Tanım**

Gestasyonel kelimesi gebeliğin indüklediği diyabeti tarif etmekle birlikte, ilk olarak gebelik sırasında tanısı konan veya gebelik sırasında farkedilen çeşitli derecedeki karbonhidrat tolerans bozukluğu gestasyonel diabetes mellitus olarak tanımlanmaktadır. Gestasyonel diabetes mellitus terimi Jorgen Pedersen tarafından ilk defa 1913 yılında kullanılmıştır. Diyabetle komplike gebeliği olan kadınlar kabaca gebelikten önce diyabet olduğunu bilenler “Pregestasyonel veya aşikar diyabet” ve gebelik sırasında diyabet tanısı konanlar “Gestasyonel diyabet” olarak ikiye ayrılabilir. Bu diyabetik kadınların % 90’ını GDM, % 10’unu aşikar diyabet oluşturur. Doğumdan sonraki 20 yıl içinde de gestasyonel diyabetli kadınların yarısında aşikar DM gelişmektedir (13).

#### **2.1.2 Prevalans**

Dünya genelinde GDM sıklığı yaş, ırk, vücut yapısı ve tanı ile tarama kriterlerine göre değişkenlik göstermekle birlikte yaklaşık olarak tüm gebeliklerin % 1 - 14’ü arasında değişmektedir. Gebeliğin en sık görülen metabolik bozukluğu olan diyabetin Birleşik Devletler’de kullanılan güncel testler ile prevalansının % 6-7 civarında arasında olduğu ve yıllık 4 milyondan fazla doğumun yaklaşık 250.000’inin GDM’den etkilendiği tahmin edilmektedir. Gestasyonel diyabet prevalansı ispanyol, siyahi amerikalı, yerli amerikalı, asyalı ve pasifik izlandalı gibi etnik köken gruplarında artmıştır. Türkiyede prevalansı % 1.2 - % 4.5 arasındadır (4).

Görülme sıklığının bu denli değişken olmasının en önemli nedeni dünya çapında artan obezite insidansı ve tanı testlerindeki eşik değerlerin düşmesidir. Ayrıca tarama testlerinin de yaygın olarak kullanılmaya başlanması da diyabet tanısı konulan popülasyonun artmasına neden olmuştur. Bu nedenle gestasyonel diyabetli gebelerin % 5 - 10’unun aslında aşikar diyabet olduğu saptanmıştır. Gözlenen bu artışın; genel olarak diyabetik aile öyküsü, ileri maternal yaş, polikistik over

sendromu, hipertansiyon, önceden bilinen gestasyonel diyabet öyküsü, artmış vücut kitle indeksi (VKI), değişen etnik köken gibi GDM için kesin olarak bilinen risk faktörlerindeki değişiklikler ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Tüm bu risk faktörleri de son 20 yılda GDM prevalansını artırıcı yönde değiştirmiştir (3).

### 2.1.3 Sınıflama

Gebe olmayan kişilerde insülin yetmezliği tip 1 diyabeti, aksine kusurlu insülin salgınımı, insülin direnci veya artmış glukoz üretimi ise tip 2 diyabeti tanımlar. İnsüline bağımlı ya da bağımsız diyabet terimleri artık kullanılmamaktadır (14).

**Tablo 1. Diabetes Mellitusun Etiyolojik Sınıflaması**

|   |
|---|
| <b>Tip 1:</b> $\beta$ hücre yıkımı, genellikle tam insülin eksikliği<br>İmmün-aracılı<br>İdiyopatik   |
| <b>Tip 2:</b> Ağırlıklı olarak insülin direncinden insülin direnci ile birlikte insülin salgınım defekti arasında değişkenlik gösterir  |
| <b>Diğer tipler</b><br><br>$\beta$ -hücre fonksiyonundaki genetik mutasyonlar-MODY 1-6, diğerleri<br>İnsülin etkisindeki genetik defektler<br>Genetik sendromlar-Down, Klinefelter, Turner<br>Ekzokrin pankreas hastalıkları-pankreatit, kistik fibroz<br>Endokrinopatiler-Cushing sendromu, feokromasitoma, diğerleri<br>İlaç veya kimyasal nedenli-glukokortikoidler, tiazidler, beta-adrenerjik agonistler, diğerleri<br>Enfeksiyonlar-konjenital rubella, sitomegalovirüs, koksakivirüs |
| <b>Gestasyonel diyabet</b>  |
| MODY=gençlerin geç başlangıçlı diyabeti.  |

Günümüzde nadir olarak kullanılan White sınıflandırması 1990'lı yıllara kadar diyabetik gebe kadınlarda diyabet yönetiminin temelini oluşturmuştur. Bu sınıflama sistemi 1978'de Priscilla White tarafından yapılmıştır. 1986'da Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği (ACOG) sınıf A gestasyonel diyabeti açlık kan şekeri (AKŞ) düzeyi ve 2.saat kan glukoz düzeyine göre iki gruba ayırmıştır (15).

**Tablo 2. Diyabetle Komplike Gebelik için 1986 ile 1994 Yılları Arasında Kullanılan Modifiye White Sınıflandırması**

|  |                      | Plazma Glukoz Düzeyi |                         |         |
|--|----------------------|----------------------|-------------------------|---------|
| Sınıfı   | Başlangıç            | Açlık                | Postprandiyal 2. Saat   | Tedavi  |
| A <sub>1</sub>   | Gestasyonel          | < 105 mg/dL          | < 120 mg/dL             | Diyet   |
| A <sub>2</sub>   | Gestasyonel          | > 105 mg/dL          | > 120 mg/dL             | İnsülin |
| Sınıfı   | Başlangıç Yaşı (yıl) | Süre (yıl)           | Damar Hastalığı         | Tedavi  |
| B  | 20. yaşından sonra   | < 10                 | Yok                     | İnsülin |
| C  | 10-19                | 10 - 19              | Yok                     | İnsülin |
| D  | 10. yaşından önce    | > 20                 | Benign retinopati       | İnsülin |
| F  | Herhangi bir         | Herhangi bir         | Nefropati <sup>a</sup>  | İnsülin |
| R  | Herhangi bir         | Herhangi bir         | Proliferatif retinopati | İnsülin |
| H  | Herhangi bir         | Herhangi bir         | Kalp                    | İnsülin |
| <sup>a</sup> Gebelik sırasında tanı koyulduğunda: 20. Gebelik haftasından önce proteinüri $\geq 500$ mg/24 saat. |                      |                      |                         |         |

Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği birkaç yıldır White sınıflandırmasını önermemekle birlikte, birçoğu gibi Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından önerilen sınıflandırmanın kullanılmasını önermektedir (Tablo 3). Bunun nedeni ise günümüzde diyabetin gebelikten önce var olup olmadığına veya ilk kez gebelik esnasında diyabet tanısı koyulup koyulmadığına odaklanılmasıdır (5).

**Tablo 3. Gebelikte Diyabet için Önerilen Sınıflandırma Sistemi (ADA, 2017)**

|  |   |
|--|---|
| <b>Gestasyonel diyabet:</b> gebelik sırasında tanı koyulmuş aşikar (tip 1 veya 2) olmayan diyabet  |   |
| <b>Tip 1 Diyabet:</b><br>Genellikle mutlak insülin eksikliğine yol açan $\beta$ -hücre yıkımından kaynaklanan diyabet<br><br>a. Vasküler komplikasyonlar olmaksızın<br>b. Vasküler komplikasyonlarla (belirlenmiş) | <b>Tip 2 Diyabet:</b><br>Artan insülin direncine bağlı yetersiz insülin salınımından kaynaklanan diyabet<br><br>a. Vasküler komplikasyonlar olmaksızın<br>b. Vasküler komplikasyonlarla (belirlenmiş) |
| <b>Diyabetin diğer tipleri:</b> genetik kökenli, pankreatik hastalıkla ilişkili, ilaç kaynaklı veya kimyasal kaynaklı  |   |
| Amerikan Diyabet Derneği'nin verileri, 2017.   |   |

Pankreas  $\beta$ -hücre yıkımı sonucu meydana gelen insülin eksikliğinden kaynaklanan tip 1 diyabet insülin bağımlı ya da juvenil aşlangıçlı diyabet olarak da bilinmektedir. Genellikle genç yaşlarda görülmesine karşın ileri yaşlarda ve çok nadir olarak gebelikte de görülebilmektedir. Etiyolojisinde genetik, otoimmünite ve çevresel faktörler bulunmaktadır. Çevresel faktörlerde en başta gelen virütik enfeksiyonlar, pankreas langerhans adacıklarında hasar oluşturarak immün reaksiyona neden olmaktadır (16, 17).

Tip 2 diyabet; insülin bağımlı olmayan diyabet olarak da tanımlanır, hem insülin rezistansı hem de beta hücre disfonksiyonu ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. Tüm diabetli hastaların yaklaşık % 90'ını oluşturmaktadır. Genellikle 30 yaşından sonra ortaya çıkmakla birlikte tüm yaşlarda karşımıza çıkabilir. Daha çok ketotik olmayan hiperosmolar koma görülmektedir. Tedavide ilk olarak oral antidiyabetikler başlanmaktadır. Tip 2 diyabeti olan kadınlar gebelik öncesinde White sınıflamasına göre B sınıfı olarak tanımlanmaktadır. Gestasyonel diyabet tanısı alan hastaların bir çok özelliği tip 2 diyabetikler gibidir. Doğum yapan gestasyonel diyabetli kadınlarda, çalışmalar obez ve tip 2 diyabetiklerdeki glukoz metabolizma bozukluklarına neden olan insülin duyarlılığında azalma ve salınım cevabında defekt olduğunu göstermektedir (5, 14).



## 2.1.4 Fizyopatoloji

### 2.1.4.1 Gebelikte Karbonhidrat Metabolizması

Karbonhidrat metabolizmasındaki değişiklikler, gebeliğin ikinci yarısındaki fetal büyüme için, gebeliğin ilk yarısında yağ depolarında artış sağlamaya yöneliktir. Gebeliğin ilk trimesterinde pankreas  $\beta$  hücrelerindeki hiperplazi sonucu insülin salınımı artmaktadır. Gebeliğin 7 - 8. haftasından itibaren açlık kan şekeri düzeyi düşmeye başlar ve 12 - 13. gebelik haftasında en düşük seviyeye iner. Açlık ve tokluk kan şekeri düzeyleri gebelikte düşüş göstermektedir. Bunun nedeni glukozun kolaylaşmış difüzyon ve trofoblastlarda bulunan glukoz transporter-1 aracılığıyla aktif transport ile fetus tarafından kullanılmaya başlamasıdır (18).

Gebeliğin ileri evrelerinde karaciğerde glikojenez azalırken, glikojeneliz artmaktadır. Maternal açlık, ketoasidoza neden olmaktadır ve keton cisimleri plasentayı kolaylıkla geçerek fetusu etkilemektedir. Gebelik süresince açlık ve glukoz ile stimüle edilen insülin konsantrasyonu artış göstermekte ancak dokuların insülin duyarlılığı gebeliğin geç dönemlerinde yaklaşık % 50 azalmaktadır. Bu azalma tip 2 diyabette görülen seviyelerle kıyaslanabilecek düzeydedir (19). Glukoz toleransının devam ettirilebilmesi için maternal  $\beta$  hücreleri insülin cevabını son üç ayda üç katına çıkan oranda arttırmaktadır. Gebelikteki bu progresif insülin direnci fetusun yararınadır; bu sayede maternal tokluk glukoz konsantrasyonlarında artış ve fetusa glukoz transferi sağlanmaktadır (20). Maternal insülin direnci hem artmış maternal adipoz dokunun hem de plasentadan üretilen insan plasental laktojen (HPL), plasental büyüme hormonu (PGH) gibi hormonlar ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), leptin gibi insülin desensitize edici ajanların etkisiyle meydana gelmektedir. Gebelikte ortaya çıkan insülin direncine hücresel düzeyde insülin reseptörlerinin insülin tarafından aktivasyon yollarında meydana gelen çok sayıda değişikliğin neden olduğu ve gebelikte insülin duyarlılığındaki bu azalmanın % 80'e kadar ulaşabileceği gösterilmiştir (9, 21).

Gestasyonel hormonların karbonhidrat metabolizması ile ilişkileri Tablo 4 ve 5'te gösterilmiştir.

**Tablo 4. Gebelikte Karbonhidrat Metabolizması (20 haftaya kadar)**

| Hormonal değişiklik  | Etki                         | Metabolik Değişiklik   |
|----------------------|------------------------------|--|
| Östrojen ↑           | Doku glikojen depolanma ↑    | Artan seks hormonları ve hiperinsülinemiye bağlı anabolik etki |
| Progesteron ↑        | Periferik glukoz kullanımı ↑ |  |
| İnsülin sekresyonu ↑ | Açlık plazma glukozu ↓       |  |

**Tablo 5. Gebelikte Karbonhidrat Metabolizması (20 haftadan sonra)**

| Hormonal değişiklik         | Etki   | Metabolik Değişiklik   |
|-----------------------------|--|--|
| hPL ↑                       | Diyabetojenik glukoz toleransında ↓                        | Fetusa glukoz ve aminoasit sağlamak amacıyla acıkma ve kolaylaşmış katabolizma |
| Prolaktin ↑                 | Hepatik glikojen depolanmasında ↓                          |  |
| Serbest ve bağlı kortizol ↑ | Hepatik glukoz üretimi ↑<br>Periferik insülin rezistansı ↑ |  |

#### 2.1.4.2 Gebelikte İnsülin Rezistansı

İnsülin direnci gestasyonel diyabetin patofizyolojisinin temelini oluşturmaktadır. İnsülin rezistansı iskelet kasında, adipoz dokuda ve karaciğerde glukoz alımında azalma, bunun yanında başta hepatik olmak üzere endojen glukoz üretiminin baskılanmasında azalma gibi glukoz metabolizma bozuklukları ile sonuçlanmaktadır. Glukoz metabolizmasındaki bu bozukluklar  $\beta$  hücre yanıtı yetersiz olduğunda klinik olarak belirgin hale gelmektedir. İnsülin rezistansı ayrıca insülinin lipolizi ve aminoasit döngüsünü baskılama yeteneğinde azalma ile sonuçlanmaktadır (22, 23).

İnsülinin etkileri hücreseel düzeyde iki ana yol ile olmaktadır. İlki mitojen active edici protein kinaz (MAPK) yolu, ikincisi ise fosfatidilinositol 3-kinaz (PI 3-kinaz) yoludur. MAPK yolu insülinin büyüme üzerine olan etkilerinden sorumlu iken glukoz alımı, glikojenez gibi etkileri ise PI 3-kinaz yolu ile olmaktadır. İnsülin direncinde PI 3-kinaz yolu ile gerçekleşen metabolik etkilerde ciddi bozulma olmaktadır. İnsülinin bağlanması ile reseptörün üç boyutlu yapısında değişiklik meydana gelmektedir ve bu da tirozin üzerinden reseptörde otoposforilasyona neden olmaktadır. Fosforilasyonun tirozin değil de serin üzerinden olması durumunda insülinin reseptör düzeyindeki etkisi azalmaktadır. Gebelik sırasında inslin reseptör aktivitesindeki azalmanın altında serin fosforilasyonu yatmaktadır. GDM'li gebelerde serin fosforilasyonu daha fazladır. İnsülin reseptör sayısı ve aktivitesindeki azalma postpartum normal düzeylere dönerken GDM'li ve obez gebelerde postpartum dönemde de devam etmektedir (24, 25).

Gebelikteki bu insülin direncinin meydana gelmesinde adiponektin, leptin, TNF- $\alpha$  ve rezistin gibi etkenler üzerinde de durulmaktadır. Bu etkenler arasında TNF- $\alpha$  ve leptin plasentadan salgılanmakta, insülin direncinin gelişmesinde ana rol oynamaktadır. TNF- $\alpha$ 'nın gebelikte en güçlü bağımsız insülin duyarlılığı göstergesi olduğu gösterilmiştir (26).

#### **2.1.4.3 Gebelikte Lipid Metabolizması ve Adipokinler**

Gebelikte gelişen hiperlipidemi, hormon salınımındaki değişiklikler neticesinde gelişen doğal bir süreçtir. Gebelik sırasında östrojenin regülasyonu ile plasental büyümeyle orantılı olarak özellikle çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) düzeyi % 50 ve trigliserid düzeyleri ise 2-3 kat yükselmektedir. Dokulardan trigliserid serbestleşmesini ayrışmasını sağlayan lipoprotein lipaz aktivitesi fetal büyümeye paralel olarak terme yakın üç kat artış göstermektedir. Buna bağlı olarak özellikle şilomikron, trigliserid ve yağ asidi olmak üzere plasentaya ulaşan lipid miktarında artış meydana gelmektedir. Özellikle fetal santral sinir sistemi ve görme fonksiyonlarının gelişimi için esansiyel yağ asitlerinin fetusa transferi gerçekleşmektedir (27).

Adipositlerden ve adipositler arasında bulunan bağ dokusu hücrelerinden salgılanan adipokin ismi verilen bazı proteinlerin otokrin, parakrin ve endokrin

etkileri olduğu gösterilmiştir. Adiponektin, leptin, TNF- $\alpha$  ve rezistin, interlökin-6 (IL-6), interlökin-10 (IL-10), adipsin başlıca adipokinlerdir. Adiponektin adipositler tarafından salgılanan bir proteindir; hem insanlarda hem hayvanlarda insüline duyarlı dokularda glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynadığı öne sürülmüştür. Adiponektin karaciğer ve kasta insülin duyarlılığı ile yakından ilişkili olmakla birlikte başlıca yağ dokusunda üretilir. Karaciğer tarafından glukoz üretimini baskımlarken iskelet kasına glukoz alımını artırmaktadır. GDM'li hastalarda adiponektin düzeylerinin azaldığı ve bu azalmanın insülin direncinin oluşumuna katkısı olduğu saptanmıştır (28-30).

Leptin, adipoz doku tarafından üretilen ve vücut yağ kitlesinin kontrolünü sağlayan, maternal glukoz metabolizması ve fetal büyüme üzerine etkileri olan bir hormondur. Plazma leptin düzeylerinde gebelikte artış olmaktadır. Artış ikinci trimesterden itibaren belirginleşerek son trimesterde yüksek kalmakta ve plasentanın doğumunu takiben bir gün içinde ilk trimesterdeki düzeylerine gerilemektedir. Leptin düzeylerinin umbilikal arterde umbilikal vene göre daha düşük düzeyde olması ve postpartum dönemde belirgin azalma göstermesi nedeniyle gebelikte ana kaynağının plasenta olduğu düşünülmektedir. Ayrıca kord leptin düzeyleri doğum kilosu, boy ve baş çevresiyle doğru orantılı bulunmuştur. Leptinin de adiponektin gibi insülin direncine katkıda bulunarak GDM etyopatogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. Gestasyonel diyabet ve glukoz intoleransı olan gebelerde leptin düzeyleri normal gebelere göre daha yüksek saptanmıştır. Maternal leptin düzeyleri ve açlık insülin düzeyleri arasında pozitif ve anlamlı ilişki bulunmuştur (31, 32). Fakat GDM'li gebelerin normal gebelere oranla daha düşük maternal leptin seviyelerine sahip olduğunu gösteren araştırmalar da mevcuttur (33).

#### **2.1.4.4 Gestasyonel Diyabet ve VEGF**

VEGF, endotel hücrelerden salınan, anjiyogenezden sorumlu olan, vasküler permeabilitede indükleyici olarak görev yapan ve diyabetik mikrovasküler komplikasyonların patogenezinde önemli rol oynayan homodimerik disülfid bağlı bir glikoproteindir. Ayrıca birçok dokunun vasküler endotel hücre proliferasyonunu düzenlemektedir (34, 35). VEGF aile üyeleri arasında VEGFA, VEGFB, VEGFC,

VEGFD ve memelilerde ifade edilmeyen iki üye (virüslerde eksprese edilen VEGFE ve yılan zehirinde bulunan VEGFF) bulunur (6, 36).

Hipoksi veya hiperglisemi gibi maternal hemodinamide meydana gelen herhangi bir patolojik değişiklik; VEGF ve diğer enflamatuar medyatörleri etkileyerek fetoplasental damarların büyümesini, çoğalmasını ve işlevini doğrudan etkileyebilir. Ayrıca, fetoplasental damarlardaki değişiklikler, insan GDM'sinin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (37, 38).

Fetoplasental damarlar, anne kanı içerisinde koryonik villuslarda bulunur ve bu yakınlık, maternal ve fetal dolaşım arasında çözünen çözücü ve gazların değiştirilmesine izin verir. Maternal dolaşım ile plasental dolaşım arasındaki bariyer gestasyonun 8 - 12. haftalarında plasental yataktaki uteroplental spiral arterlerin ekstravillöz trofoblastlar tarafından invazyonu ile yavaş yavaş bozulur. Plasental oksijen basıncı artar ve anjiogeneze dallanma fazı 24. haftaya kadar devam eder. Bundan sonra dallanmanın olmadığı faza geçilir ve bu fazda yüksek akımlı düşük rezistanslı fetal-plasental sirkülasyon ve hızlı fetal büyüme için gerekli olan terminal villuslar oluşur. Ekstravillöz trofoblastların uteroplental spiral arterleri invaze etmedeki yetersizliği sonucunda plasental iskemi, preeklampsi gibi obstetrik komplikasyonlar gelişir. Plasental villuslarda sıklıkla anjiogenezin dallanma fazının devam ettiğini gösteren bulgular mevcuttur. Bu yapısal değişiklikler hipoksi sonucu aktive olan VEGF'e bağlı olabilmektedir. Problemler gebeliklerde artmış VEGF ve VEGF reseptörü 1'in mRNA düzeyleri plasentadaki hipoksiyi yansıtır. VEGF gibi anjiogenik büyüme faktörleri plasenta tarafından üretilmektedir. VEGF anjiogenezin uyarılmasında majör rol oynar ve VEGF gen ekspresyonu için hipoksi potent bir stimulatördür. Diyabetle komplike gebeliklerde artmış hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres endotel hasarına neden olmakta bu da VEGF salınımını artırmaktadır (6, 39).

VEGF ekspresyonunun düzenlenmesinde hipoksi indüklenebilir faktör-1 alfa (HIF-1 $\alpha$ )'nın rolünün de olduğu bilinmektedir. Hipoksik ortamda HIF-1 $\alpha$  aktive olur ve bu protein VEGF genine bağlanarak VEGF'nin sentezini sağlar. Fizyolojik olarak HIF-1 $\alpha$ , anjiogenezi, damar tonusunu, glukoz metabolizması ve apoptozisi düzenler (40).

## 2.2 Gestasyonel Diyabet için Tarama ve Tanı

Gebelik esnasında ilk defa tanı konulan GDM, aynı zamanda gebelik öncesinde tanı koyulmamış pregestasyonel diyabet ve bozulmuş glukoz intoleransını da içine almaktadır. GDM'li hastada gebeliğin 24. haftasından önce kan glukoz artışı saptanabilir. Bu durumdaki gestasyonel diyabetli gebelikler, aşikar diyabetli gebeliklerle aynı prognoza sahiptir. Bu nedenle gebeliğin erken haftalarında tanı alan bir gestasyonel diyabetli hasta, gebelik prognozu açısından geç tanı alan hastaya göre daha kötü seyretmektedir (17).

ACOG 24 – 28. gebelik haftaları arasında tüm gebelerin gestasyonel diyabet açısından taranmasını önermektedir. Tip 2 diyabet için risk grubundaki GDM öyküsü olan, bilinen bozulmuş glukoz toleransı ve obezite tanısı alan gebelere ise diyabet taramasının ilk trimesterde yapılmasını önermektedir. GDM'nin erken gebelik haftalarında tanı alması durumunda, testin tekrar 24 - 28. gebelik haftalarında yapılmasını istemektedir (5).

İki aşamalı yaklaşımda ilk aşamada 24 - 28. gebelik haftalarında 50 g şeker yükleme testi olan glukoz challenge test (GCT) yapılmaktadır. Bu tarama testini hasta açlık ve tokluk durumuna bakmaksızın herhangi bir saatte uygulayabilir. 50 g glukoz yükleme sonrası 1.saatte ölçülen kan şekeri sınır değerinin altındaysa test negatif olarak kabul edilmektedir. 50 g GCT için sınır değer 140 mg/dl olmakla birlikte 130 mg/dl ya da 135 mg/dl kabul edenler de mevcuttur. Eğer kan şekeri düzeyini sınır değerinin üzerindeyse gestasyonel diyabet tanısını teyit etmek için ikinci aşama tanı testi olan 100 gram şeker yükleme testi olan oral glukoz tolerans testine (OGTT) geçilmelidir. Kanada Diyabet Birliği ise 50 g GCT'yi (140 mg/dl eşik değer) ilk aşama, 75 g OGTT'yi ise ikinci basamak olarak yapılmasını önermektedir (15, 17).

Bir aşamalı yaklaşım ise sadece 75 g glukoz yüklemesi sonrasındaki 2 saatlik OGTT'yi içermektedir. Bu yaklaşım Uluslararası Diyabet ve Gebelik Çalışma Grubu (IADPSG) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Amerika Diyabet Birliği (ADA) tarafından da önerilmektedir (14). ADA ve ACOG glikoz hedefleri şunlardır:

- Açlık kan şekeri konsantrasyonu: < 95 mg/dL

- Bir saatlik postprandiyal kan glukoz konsantrasyonu: < 140 mg/dL
- İki saatlik postprandiyal glukoz konsantrasyonu: < 120 mg/dL

Tablo 6’da GDM taramasında kullanılan 100 gram ve 75 gram oral glukoz tolerans testlerinin eşik değerleri gösterilmektedir (1).

**Tablo 6. Oral Glukoz Tolerans Testine göre Gestasyonel Diyabet Tanısı**

| Zaman          | Oral Glukoz Yüklemesi        |            |                             |            |
|----------------|------------------------------|------------|-----------------------------|------------|
|                | 100 gram Glukoz <sup>a</sup> |            | 75 gram Glukoz <sup>b</sup> |            |
| <b>Açlık</b>   | 95 mg/dL                     | 5,3 mmol/L | 95 mg/dL                    | 5,3 mmol/L |
| <b>1. saat</b> | 180 mg/dL                    | 10 mmol/L  | 180 mg/dL                   | 10 mmol/L  |
| <b>2. saat</b> | 155 mg/dL                    | 8,6 mmol/L | 155 mg/dL                   | 8,6 mmol/L |
| <b>3. saat</b> | 140 mg/dL                    | 7,8 mmol/L | -                           | -          |

<sup>a,b</sup> Test, en az 8 saat fakat 14 saatten daha uzun sürmeyen bir açlık ve en az 3 günlük kısıtlanmamış diyet ( $\geq 150$  gr karbonhidrat/gün) ve fiziksel aktiviteden sonra yapılmalıdır.

<sup>a</sup> Pozitif tanı için aşağıda gösterilen venöz plazma glukoz konsantrasyonlarının iki veya daha fazlası karşılanmalıdır.

<sup>b</sup> Pozitif tanı için aşağıda gösterilen venöz plazma glukoz konsantrasyonlarının bir veya daha fazlası karşılanmalıdır.

### 2.3 Gestasyonel Diyabet ile İlişkili Komplikasyonlar

Kan şekeri regülasyonu GDM’de gebelik sonuçlarını etkileyen en önemli etkidir. Fakat pregestasyonel diyabette gebelik sonuçları bir dereceye kadar kan şekeri kontrolünün sağlanmasına daha da önemlisi altta yatan kardiyovasküler veya böbrek hastalığının derecesine bağlıdır. Bundan dolayı Modifiye White sınıflamasına göre grup A1 gestasyonel diyabet komplikasyonlarının en hafif görüldüğü gruptur.

#### 2.3.1 Metabolik Komplikasyonlar

**Hipoglisemi:** Hipoglisemi genellikle insülin tedavisi alan gebelerde insülin dozunun ayarlanamamasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca gebeliğin ilk haftalarında görülen

hiperemezis gravidarumlu hastalarda yetersiz beslenme sonucunda kan şekeri 60 mg/dl altına düşebilmektedir (4).

**Hiperglisemi:** Gebelikte aç kalma hızı daha fazla olduğu için keton yapımı daha kolay olmaktadır. Gebelerde bundan dolayı diyabetik ketoasidoz daha kısa sürede oluşmakta ve daha az kan şekeri varlığında gelişebilmektedir. Diyabetik gebelerde kan glukoz düzeyi 200 mg/dl üzerindeyse ve ketonüri mevcutsa gebe yatarak tedavi almalıdır. Ani bebek ölümü diyabetik ketoasidozlu hastada %25 daha fazla olduğu için daha sık aralıklarla bebek kontrol edilmelidir (41).

**Diyabetik Retinopati:** Bozulmuş kan şekeri regülasyonu ve hiperglisemi nedeniyle oluşan mikrovasküler hasar diyabetik retinopatinin temelini oluşturmakla birlikte patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Gebelik mevcut diyabetik retinopatiyi olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle tanı almamış aşikar diyabetli hastaların varlığı göz önüne alındığında risk faktörü bulunduran her gebeye göz muayenesinin gebelik öncesinde veya gebeliğin ilk haftalarında yapılması gerekmektedir (42).

**Diyabetik Nefropati:** Nefropatinin erken bulgusu mikroalbuminüridir (30 - 300 mg/gün arasındaki proteinüri). Aşikar diyabetli gebelerde nefropati gebeliğin prognozunu etkileyen en ciddi komplikasyondur. Preeklampsi ve erken doğum bu hastalarda daha sık görülmektedir. Altta yatan kronik hipertansiyonlu olgularda preeklampsi oranı % 55'e kadar yükselmektedir. Diyabetik retinopatinin aksine gebeliğin nefropatiyi alevlendirmesi beklenmemektedir (43).

### 2.3.2 Gestasyonel Komplikasyonlar

**Preeklampsi:** Diyabetik gebelerde kronik hipertansiyonla birlikte gestasyonel hipertansiyon özellikle preeklampsi sıklığı ciddi oranda artmaktadır. Diyabet tanısı almış gebelerde preterm doğumun sık nedenlerinden birisi de preeklampsidir. Pregestasyonel diyabetli gebelerin preeklampsi sıklığı 4 kata kadar çıkmaktadır, bu oran kronik hipertansiyonu olan diyabetik gebelerde ise 10 - 12 kata kadar çıkmaktadır. Eğer GDM tanısı gebeliğin 24. haftasından önce konulmuşsa, preeklampsi görülme sıklığı glukoz intoleransı olmayan gebelere göre daha fazladır



(44). Preeklampsinin etiolojisinde tamamlanmamış trofoblast hücre invazyonu öncelikle plasentasyon sorununa yol açmaktadır. Plasentasyon sorunu, plasentadan anormal sitokin salınımı, oksidatif stres ve serbest radikallerin açığa çıkması, lökosit ve makrofajların uyarılması, kompleman sisteminin aktivasyonu, apoptozis ve mikropartiküllerin maternal dolaşıma salınımına neden olarak maternal sistemik endotelial disfonksiyon ve vasküler hasara yol açmaktadır (45, 46). Son yıllarda yapılan çalışmalar GDM'de endotel hasarına dair kanıtlar ortaya koymuştur, buna rağmen disfonksiyon mekanizması hala netleşmeye ihtiyaç duymaktadır (47).

**Preterm Eylem:** Neonatal morbiditenin en önemli nedenlerinden biri olan preterm eylem diyabetik gebelerde daha sık görülmektedir. Aşikar diyabeti olan gebelerde preterm eylem yaklaşık 5 kat artmaktadır. Tokoliz tedavisinde kullanılan beta agonist ajanlar hiperglisemi ve hiperinsülinemi nedeni olabileceğinden, bu gebelerde tokolitik ajan olarak magnezyum sülfat (MgSO<sub>4</sub>) veya kalsiyum kanal blokerleri kullanılmalıdır. Fetal akciğer maturasyonu için kullanılan deksametazon veya betametazon tedavisi verilmiş diyabetik gebelere daha sık kan şekeri takibi yapılmalıdır (48).

**Polihidroamnios:** Kötü kan şekeri regülasyonu olan diyabetik gebelerde amnion sıvısının yapımı ve miktarı artmaktadır Pregestasyonel diyabet tanısı olan gebelerde % 15 - 25 oranında görülmektedir. Diyabetik gebelerde amnion sıvı glukoz düzeyi ile amnion sıvı miktarının doğru orantılı olarak arttığı bulunmuştur. Oluşan polihidroamnios nedeninin anne kanındaki hiperglisemiye bağlı olarak gelişen fetal hiperglisemi ve fetal glukozüri olduğu düşünülmektedir (4, 49).

### 2.3.3 Fetal Komplikasyonlar

**Makrozomi:** Gestasyonel haftaya bakılmaksızın 4000 g üzerindeki fetuslar makrozomik olarak kabul edilmektedirler. Makrozomi non-diyabetik gebelere göre diyabetik gebelerde 3 kat daha sık görülmektedir. Bu bebeklerde yağ birikimi özellikle omuz ve üst gövdede olmakla birlikte omuz/baş oranı artmıştır. Diyabetik anne bebeklerinde görülen omuz takılması riski, aynı kiloda olan diyabetik olmayan anne bebeklerine göre artmıştır. Maternal kandaki hiperglisemiye karşı gelişen fetal

hiperinsülinemi fetal makrozominin temel nedenidir. Kalp, karaciğer, pankreas, böbrek üstü bezleri, yağ ve kas dokusu gibi insülin sensitif dokularda hiperplazi görülmektedir. Ayrıca diyabetik annelerdeki gelişen insülin direnci nedeniyle aminoasitler dolaşımında artmakta bu da fetüste insülin salınımını artırarak makrozomiye ortam sağlamaktadır (27).

**Açıklanamayan Fetal Ölüm:** Açıklanamayan intrauterin ölümün görülme sıklığı % 1 - 2 civarındadır. Özellikle pregestasyonel diyabetle alakalı olmasına rağmen GDM'li hastalarda da gebeliğin 35. haftasından sonra ve doğumdan önce görülmektedir. Bu nedenle kan şekerinin yakın takibi ve antenatal izlemin daha sık yapılması, GDM'li hastalarda üzerinde durulması gereken bir husustur (50).

**Abortus:** Diyabet tanısı alan ama kötü kan şekeri regülasyonu olan hastalarda spontan düşük oranı normal popülasyona göre artmıştır. Aynı zamanda White sınıflamasında grup B'den grup F'ye doğru abortus insidansı artmaktadır. Gestasyonel diyabetli gebelerden ziyade pregestasyonel diyabeti olan gebelerde görülen bu komplikasyon gebelik öncesi vizitlerdeki kan şekeri takibi ile engellenebilmektedir (51).

#### **2.4 Antepartum ve Postpartum Takip**

ACOG artmış fetal anomali riski nedeniyle pregestasyonel diyabetli gebelerde glisemik kontrolü sağlayabilmek için antepartum fetal testleri önermektedir. Bu nedenle, aslında aşikar diyabeti olan ama gebelik öncesi tanı almamış kan şekeri regüle olmayan GDM'li gebeler için yakın fetal monitorizasyon yararlı olabilmektedir. Antepartum test uygulanmasında esas etken gebenin diyabetik risk faktörleri taşıyıp taşımadığıdır. İnsülin kullanmayan, kan şekeri düzenli seyreden ve herhangi bir perinatal risk faktörü bulunmayan gebelerde antepartum tarama hususunda yeterli delil bulunmamaktadır. Eğer diyabetik gebenin kan şekeri regüle, aynı zamanda fetal bir komplikasyonu yoksa rutin olarak gebeliğin 40.haftasından önce doğurtulması önerilmemektedir (1, 52).

GDM'li gebelerde de aşikar diyabeti olan hastalarda olduğu gibi antepartum ve intrapartum yönetimin amacı, maternal glukoz yüksekliğinden kaçınarak postpartum yenidoğan hipoglisemi riskini en aza indirmektir.

İntrapartum dönemde tüm hastalara % 5 dekstroz, ringer-laktat solüsyonu veya bir kristaloid çözelti içinde verilerek kontrollü glukoz infüzyonu sağlanmalıdır. İnfüzyon hızı diyabetik gebe fazlasına ihtiyaç duymadığı müddetçe 125 ml/saat'i aşmamalıdır. Doğumun erken evrelerinde her 3-4 saatte bir, eyleme yakın dönemlerde saat başı kan şekeri takibi yapılmalıdır. GDM tanısı almış ve insülin kullanan hastalar 250 ml salin içerisinde 25 U (0,1 ünite/ml) regüler insülini sürekli infüzyon şeklinde almalıdırlar (53).

GDM'li gebelerde postpartum dönemde insüline olan gereksinim azalacaktır. Postpartum dönemdeki tedavi gebelik sürecindeki dozlar dikkate alınarak hastanın kan şekeri takiplerine göre yeniden belirlenir. Doğum sonrası laktasyon en kısa sürede başlanmalıdır. Günlük enerji ihtiyacı artışından dolayı günde alınacak kalori miktarı yeniden hesaplanmalıdır. Kan şekeri regülasyonu sağlanamayan GDM'li gebelerde diyet, egzersiz gibi yaşam tarzı düzenlemelerinin yetersiz kalması durumunda, emzirme devam ettiği müddetçe insülin kullanımına devam edilmelidir. GDM li gebelerde glukoz tolerans bozukluğu postpartum dönemde genellikle düzelmesine rağmen etkilenen gebelerin yarısına yakınında doğum sonrası 20 yıl içerisinde tip 2 diyabet gibi karbonhidrat metabolizma bozukluğunun görülmesi beklenmektedir. Gestasyonel diyabet tanısı almış gebelerde tanı almayanlara göre tip 2 diyabet riski yaklaşık 7 kat artmıştır (54, 55).

Gestasyonel diyabetli gebelerde daha önceden farkedilmemiş tip 2 diabetes mellitus olabileceğinden dolayı devam eden hiperglisemiye dışlamak için doğumdan 24 ve 72 saat sonra glukoz konsantrasyonlarını kontrol etmek gerekmektedir. Açlık kan şekeri  $126 \geq \text{mg/dl}$  veya rastgele glukoz ölçümü  $\geq 200 \text{ mg/dl}$  ise doğum sonrası da tedavi önerilmektedir. Doğumdan sonra açlık glukoz düzeyleri  $126 \text{ mg/dl}$ 'nin altında olan kadınların doğumdan 6-12 hafta sonra diyabet tanısı için 2 saatlik 75 g oral glukoz tolerans testi yapılmalı, normal çıkarsa 3 yılda bir oral glukoz tolerans testi tekrarlanmalıdır (56).

## **2.5 Gestasyonel Diyabette Tedavi**

GDM'li gebelerin belirlenmesi ve tedavi edilmesi, maternal ve neonatal morbiditeyi en aza indirmek için önemlidir. ABD Önleyici Hizmetler Birimi tarafından 2013 tarihli sistematik gözden geçirme ve randomize çalışmaların meta-

analizi sonucunda GDM'nin uygun yönetiminin (beslenme tedavisi, kendi kendine kan glukozunun izlenmesi, hedef kan glukoz konsantrasyonlarının tek başına diyetle karşılanmaması halinde insülin uygulanmasının) preeklampsi, makrozomik doğum ve omuz distosisinin insidansını azaltmada anlamlı olduğu vurgulanmaktadır (55).

Gestasyonel diyabette öncelikle yaşam tarzı değişikliği ve diyet tedavisi başlanmalı ve kan şekeri takipleri düzenli olarak yapılmalıdır. Gestasyonel diyabetli kadınlarda kan şekeri takibinin hangi sıklıkta yapılacağına dair kesin kanıtlar yetersizdir. Önerilen yaklaşım açlık ve postprandiyal 1. saat veya 2. saat olarak günde dört defa kan şekeri takibi yapılması şeklindedir. Eğer hastanın diyetle kan şekeri ölçümleri normal sınırlarda gidiyorsa sıklık azaltılabilmektedir (57).

Açlık kan şekeri takibi gebe olmayan kadınlarda diyabet tanısı ve takibi için önemli olmasına karşın gebelikte yükselmiş tokluk kan şekeri düzeyleri fetal makrozomi ve diğer morbiditeler açısından daha çok önem kazanmaktadır. Bundan dolayı GDM'li gebelerde tedaviyi belirlemede tek başına açlık kan şekeri takibi yeterli olmamakla birlikte tokluk kan şekeri takiplerinin de yapılması tedavinin etkinliğini artırmaktadır (53).

GDM'li gebelerin bir diyetisyen tarafından diyetinin düzenlenmesi gerekmektedir. Beslenme tedavisinin hedefleri; normogliseminin sağlanması, ketozisin önlenmesi, ve anne vücut kitle indeksine dayalı yeterli kilo alımının sağlanmasıdır. GDM'li gebelerin % 75'i tek başına beslenme tedavisi ile normoglisemi sağlayabilmektedir (58).

Hamilelik sırasında ideal vücut ağırlığı olan gebeler için kalori alımı 30 kcal/kg/gün, fazla kilolu gebeler için kalorik gereksinim 22 - 25 kcal/kg/gün ve morbid obez gebeler için kalori ihtiyacı 12 - 14 kcal/kg/gün olmalıdır. Ancak obez gebeler ketozisi önlemek için günde en az 1800 kalori tüketmelidir . Kilolu olan gebeler için kilo önerileri, kan şekeri hedefleri ve besin alımını sağlamak için kalori miktarı 40 kcal/kg/gün'e kadar çıkabilir (15).

Egzersiz, kas kütlesini artırarak insüline karşı olan doku direncini azaltarak glisemik kontrolün sağlanmasında önemli bir etkidir. Sonuç olarak, hem açlık hem de postprandiyal kan glukoz konsantrasyonları egzersizle azaltılabilmektedir (59, 60). Gestasyonel diabetes mellituslu bazı gebelerde insülin ihtiyacı bu şekilde ortadan kaldırılabilir (23, 61).

Normoglisemi diyet tedavisi ile sağlanamıyorsa, anti-hiperglisemik ajanlar başlatılmalıdır. Farmakolojik tedaviyi başlatmak için optimum eşik belirlenmemekle birlikte aşağıdaki eşik değerlerin herhangi birinde tedaviye başlanması önerilmektedir (62).

- Açlık kan glukozu konsantrasyonu > 95 mg/dL (5.3 mmol/L)
- Bir saatlik yemek sonrası kan şekeri konsantrasyonu > 140 mg/dL (7.8 mmol/L)
- İki saatlik postprandiyal glukoz konsantrasyonu > 120 mg/dL (6.7 mmol/L)

Kan glukozunu kontrol altına almak için medikal tedaviye ihtiyaç duyan gebelerde iki farmakolojik seçenek vardır; insülin (ilk tercih) ve seçilmiş oral antihyperglisemik ajanlar. Oral antihyperglisemik ajanlar, beslenme tedavisi başarısız olan, insülin tedavisini kabul etmeyen veya bunlara uymayan kadınlar için makul bir alternatif olmaktadır. ACOG (5) ve ADA (58), hamilelik sırasında diyabet tedavisi için insülin kullanmayı tercih etmekteyken, belirli durumlarda oral antihyperglisemik ajanların (metformin veya gliburid) kullanımını onaylamışlardır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, böyle bir tedavi FDA tarafından gestasyonel diabetes mellitus tedavisi için özel olarak onaylanmamıştır. ACOG, insülin tedavisini reddeden kadınlar için ya da sağlık hizmeti sağlayıcısı hastanın insülini karşılayamayacağı ya da güvenli bir şekilde uygulayamayacağına inandığında bir oral ajan önermektedir. Ayrıca tercih edilen oral antihyperglisemik ajan olarak metformini gliburide tercih etmektedir (11).

Hospitalizasyon insülin tedavisini başlatmak için gerekli değildir. Fakat insülin tekniğinin öğretilmesi, çoklu insülin dozlarının ayarlanması, kendi kendine kan şekeri ölçümlerinin yapılabilir olması her zaman mümkün olmadığından hospitalizasyon gerekebilir. GDM'li gebelerde insülin pompaları kullanılmamaktadır, çünkü yeterli konvansiyonel terapiden daha gerekli veya daha etkili olduklarını gösteren bir veri bulunmamaktadır (54, 63).

Gestasyonel diyabetli gebeler için genel uygulama, beslenme tedavisine rağmen hedef glukoz seviyeleri aşıldığında insülin tedavisine başlatmaktır. İnsülin dozu, obezite, etnik özellikler, hiperglisemi derecesi ve diğer demografik kriterler nedeniyle değişmektedir. Ancak çalışmaların çoğunluğu hamilelerde insülin dozunu kilograma 0.7 – 2 U (ünite) arasında rapor etmiştir. Kullanılan insülinin dozuna ve tipine kan glukoz takibi yapıldıktan sonra karar verilmelidir (54).

Glukoz seviyeleri iyi kontrol edilemeyen bireyler için muhtemelen en uygun insülin tedavi yaklaşımı aşağıda açıklanmıştır:

1. Açlık kan glikozu konsantrasyonu yüksek olduğu için insülin gerekiyorsa, NPH insülin gibi orta etkili bir insülin yatmadan önce verilir; 0.2 U/kg vücut ağırlığı başlangıç dozu kullanılır.

2. Postprandiyal kan glukoz konsantrasyonları yüksekse, insülin aspart veya insülin lispro gibi hızlı etkili insülin analogları, öğün öncesi, kahvaltı için 10 g karbonhidrat başına 1.5 U ve öğle ve akşam yemekleri için 10 g karbonhidrat başına 1 U olarak hesaplanan bir dozda verilir..

3. Hem preprandiyal hem de postprandiyal kan glukoz konsantrasyonları yüksekse günde altı enjeksiyon uygulanmalıdır. Toplam başlangıç dozu, 12. gebelik haftasına kadar 0.7 U/kg, 13 - 26. gebelik haftaları için 0.8 U/kg, 26 - 36. gebelik haftaları için 0.9 U/kg ve 36. gebelik haftasından sonra 1 U/kg'dır. Şiddetli obez bir kadında, insülinin başlangıç dozunun, gebeliğin ve obezitenin birleşik insülin direncinin üstesinden gelebilmesi için 1.5 - 2.0 U/kg'a yükseltilmesi gerekebilir (54, 62).

Antijen özelliği düşük insülin preparatlarının kullanılması, insülin antikörlerinin transplental taşınmasını en aza indirebilir. Üç hızlı etkili insülin analogu (lispro, aspart, glulisin) insan insüline karşı immünojenik olarak karşılaştırılmıştır, ancak sadece lispro ve aspart gebelikte araştırılmış ve kabul edilebilir güvenlik profillerine, plasenta boyunca minimum transfer olduğuna ve teratojen olmadığına dair kanıt bulunmuştur. Yenidoğan sonuçları, düzenli insülin ile tedavi edilen kadınlara benzerdir (56).

Oral antihiperglisemik ajanlar veya insülin ile tedavi edilen gestasyonel diabetes mellituslu gebelerde gebelik sonucu çalışmalarının sistematik olarak gözden geçirilmesi genellikle her iki yaklaşımın da etkili olabileceğini göstermiştir (54, 62, 63).

## **2.6 Timokinon ve Antidiyabetik Etkisi**

Çörek otu, *Ranunculacea (Düğünçiçeğigiller)* familyasının *Nigella sativa* türü olup, siyah tohum ya da siyah kimyon olarak da bilinmektedir. *Nigella Sativanın* farmakolojik olarak aktif temel bileşenleri başlıca timokinon, ditimokinon,

timohidrokinon ve timoldan oluşmaktadır. Bununla birlikte timokinon (TQ) çörek otunun en biyoaktif bileşenidir (64, 65). TQ'nun (2-İzopropil-5-metilbenzo-1, 4-kinon) moleküler formülü  $C_{10}H_{12}O_2$  olup molar kitlesi 164.20 gr/mol'dür. TQ enol, keto ve karışım formlarından oluşur. Keto formu, TQ'nun farmakolojik etkilerinde rol oynayan başlıca formdur. TQ'nun hidrofobik özelliği, biyoyararlanımını ve ilaç formülasyonunu sınırlar. Deneysel çalışmalarda TQ'nun intravenöz (i.v.), intraperitoneal (i.p.) ve oral uygulamalarda etkileri gösterilmiştir (66-68).

TQ; diyabet, solunum sistemi ve koroner arter hastalıkları, üriner sistem bozuklukları, hipertansiyon, nörodejeneratif hastalıklar, apoptozis, inflamasyon ve oksidatif strese karşı koruyucudur (68). TQ'nun antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteleri, çeşitli hastalıklara karşı klinik etkilere neden olmaktadır (69). TQ'nun antiinflamatuvar etkisi siklooksijenaz ve 5-lipoksijenazı inhibe etmesi ve antioksidan etkisi ise reaktif oksijen radikallerini azaltması ile ilişkilidir (70).

Deney hayvanlarında yapılan araştırmalar TQ'nun hipoglisemik ve antidiyabetik etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. İnsülin salınımı üzerindeki etki mekanizması halen tam olarak bilinmemekle birlikte, insülin salınımını artırıp glukozun hücre içine alınmasını sağlayarak ve glukoneogenezi engelleyerek kan glukozunun düşmesine neden olduğu belirtilmektedir (65, 70-72).

STZ ile oluşturulan diyabetik rat modellerinde gebelik esnasında TQ verilmesinin embriyoların maturasyonu ve büyüklüklerinde artışa neden olduğu ve serbest oksijen radikalleri azaltıp embriyo malformasyon oranlarını düşürdüğü bildirilmektedir. TQ'nun diyabet nedeniyle oluşan oksidatif stres sonucu meydana gelen radikalleri azaltarak pankreastaki  $\beta$ -hücrelerde sitoprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda da TQ'nun oksidatif strese karşı  $\beta$ -hücrelerinin korunmasında klinik olarak kullanımının faydalı olabileceği belirtilmektedir (64, 73).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1 Araştırmanın Yeri ve Zamanı**

Araştırma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 53488718/580 sayılı ve 26/10/2017 tarihli onayı alındıktan sonra KTÜ Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurul Yönergesi kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi. Araştırma bütçesi, KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2017-7246 proje kodu ve 13/12/2017 tarihli komisyon onayıyla sağlandı. Deneylee kullanılan hayvanlar KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi üretim ünitesinden temin edildi. Deneyleel araştırma KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde, Ocak 2018'de gerçekleştirildi.

#### **3.2 Deneylee Hayvanlarının Seçimi ve Bakımı**

Deneylee hayvanı olarak laboratuvar şartlarına kolay uyum sağlamaları, kısa sürede (21-23 gün) fazla döl vermeleri ve dayanıklı olmaları sebebiyle ratlar seçildi. Toplam 40 dişi rat (8-12 haftalık, Sprague Dawley, ağırlıkları 180-220 g arasında) KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezinde çalışmaya alındı. Ratlar 12 saat aydınlık (07:00- 19:00), 12 saat karanlık (19:00- 07:00) olan ve otomatik olarak klima ile havalandırılan 21±2 °C lik çevrede kontrollü şartlarda barındırıldı. Standart rat yemi ve su oral yolla verildi. Çalışma sürecinde sıçanlar ad libitum şeklinde beslendi. Tüm ratlar bu çevre şartlarında deneylee öncesi bir hafta süreyle barındırıldı.

#### **3.3 Deneylee Hayvanlarının Çiftleştirilmesi**

Ratların 8 tanesi kontrol grubu olarak kullanılacakları için çiftleştirilmeyerek ayrıldı. Kalan 32 dişi rat çiftleştirilmek üzere herbir kafese 4 dişi rat ve bir erkek rat olacak şekilde konuldu. Gebelik tayini için dişi ratlar günlük olarak vaginal irrigasyon işlemine tabi tutuldu. Lastik puar ve pipet ucu kullanılarak steril distile su ile irrigasyonlar yapılarak irrigasyon sonrası elde edilen sıvı lam üzerine konuldu ve ışık mikroskopunda 40X büyütmede incelendi. Vaginal irrigasyonla hazırlanan preparatlarda spermatozoit görülen hayvanlar çiftleşmiş olarak kabul edilerek bu tarih gebeliğin 0. günü olarak belirlendi.



### 3.4 Deneysel Gestasyonel Diyabetik Rat Modeli Oluşturulması

İnsan çalışmalarının etik problemleri ve intrauterin ortamı değiştirebilecek kontrol dışı değişkenlerin çokluğuna bağlı olarak araştırmamızda deneysel olarak diyabetik hayvan modelleri oluşturuldu. Bu amaçla, streptomycetes türünden veya sentetik yollardan elde edilen bir antibiyotik olan streptozotosin, pankreasın beta hücrelerini selektif olarak tahrip etmesi nedeniyle, intraperitoneal verilerek deneysel diyabet modeli oluşturmak için kullanıldı (12). iftleştirilerek gebelik oluşturulmuş 24 rata gebeliklerinin 3.gününde her bir hayvana 40 mg/kg vct ağırlığı dozu olacak şekilde streptozotosin intraperitoneal yolla uygulandı. Streptozotosin (Sigma-Aldrich®, S0130-500MG, USA) -20°C'de saklandı ve 0,1 M Sitrata tamponu (pH:4,5) içerisinde hazırlanarak intraperitoneal olarak uygulandı. Uygulamadan 72 saat sonra hayvanların açlık kan şekerleri kuyruk venlerinden alınan kandan Accu Chek Performa Nano® (Roche Diagnostics) glikometre cihazı ile ölçülerek açlık kan şekeri düzeyi 300 mg/dL ve üzerinde olan ratlar gestasyonel diyabetli olarak kabul edildi (71, 74, 75).

### 3.5 Deneysel Hayvanlarının Gruplandırılması

Araştırmaya alınan 40 dişi rattan 8 tanesi ilk aşamada iftleştirilmedi. iftleştirilmeyen 8 adet dişi rat ile **K1** (n=8) adı verilen ilk kontrol grubu oluşturuldu. iftleştirilerek gebelik elde edilen 32 rattan 8 tane gebe rata hiçbir etken madde verilmeyerek **K2** (n=8) adı verilen ikinci kontrol grubu oluşturuldu.

STZ ile gestasyonel diyabet oluşturulan 24 rat, gebeliklerinin 7. gününden itibaren kendi aralarında 3'e ayrıldı. **GDM** (n=8) adı verilen grup hiçbir etken madde verilmeyen gestasyonel diyabet oluşturulmuş ratlardan oluşturuldu. **GDM+Tq** (n=8) adı verilen gruba etken madde olarak timokinon (Sigma-Aldrich®, 274666-1G, USA) verildi. Timokinon ratlara % 10'luk etanol ozeltisi içerisinde ozldkten sonra orogastrik tüple 50 mg/kg dozunda gebelikleri boyunca 14 gün, her gün sabah saat 08:00'de verildi (75). **GDM+Ins** (n=8) adı verilen gruba ise etken madde olarak uzun etkili insülin olan insülin glarjin (Lantus®, Sanofi İlaç) subkutan 0.1 ml/kg dozunda gebelik süresince 14 gün hergün sabah saat 08:00'de uygulandı (76, 77). Bütün grupların açlık kan şekerleri ve ağırlıkları deneye başlamadan önce, gebeliğin 6.gününde ve gebeliğin 21. gününde ölçülerek kayıt altına alındı (Tablo 7).

**Tablo 7 .Deney grupları ve sayıları**

| <b>Deney ve kontrol grupları</b>   | <b>Grup başına hayvan adedi</b> |
|--|---------------------------------|
| <b>K1</b> (Çiftleştirilmemiş ve etken madde verilmemiş kontrol grubu)                        | 8 adet                          |
| <b>K2</b> (Çiftleştirilmiş fakat etken madde verilmemiş gebe rat grubu)                      | 8 adet                          |
| <b>GDM</b> (Etken madde verilmemiş streptozotosinle indüklenmiş gestasyonel diabetik ratlar) | 8 adet                          |
| <b>GDM+Tq</b> (Timokinon verilen streptozotosinle indüklenmiş gestasyonel diabetik ratlar)   | 8 adet                          |
| <b>GDM+Ins</b> (İnsülin verilen streptozotosinle indüklenmiş gestasyonel diabetik ratlar)    | 8 adet                          |

### **3.6 Doku Örneklerinin Alınması ve Yapılacak Analizler**

Streptozotosin uygulamasından sonraki 18. günde (gebeliğin 21. günü) tüm gruplardaki hayvanların açlık kan şekerleri ölçüldükten sonra, ksilazin (Rompun®, Bayer İlaç) - ketamin (Ketalar®, Pfizer İlaç) anestezisi altında (50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin hidroklorürün intraperitoneal verilmesi ile) servikal dislokasyonla ötenazi yapıldıktan sonra uterus ve pankreasları çıkarıldı. Pankreas ve uterustan alınan örnekler %10 formaldehidde en az 12 saat süreyle fikse edildi. Örnekler histopatolojik inceleme için parafine gömülerek ve 5 µm lik kesitler halinde kesildi. Kesitler hematoksilin ve eosin ile boyanarak ve ışık mikroskobu altında histopatolojik incelemeye alındı.

Uterusun histopatolojik incelenmesinde skorlama sistemi olarak 3 kategori ele alındı; vaskularite artışı, glikojen hücre ve plasentada trofoblastik dev hücre varlığı. Gruplar her 3 kategoride var ya da yok şeklinde istatistiki analize sokularak skorlama yapıldı. Pankreasın histopatolojik incelenmesinde skorlama sistemi olarak insülin skoru kullanılmıştır. İnsülinin şiddeti, önceden bildirilen yöntem (Citro ve ark, 2015; Pujol ve ark, 2013) göre 0-4 arasında bir ölçek kullanılarak yarı kantitatif olarak ölçülmüştür (78, 79). Buradaki 0, pankreas adacıklarında hiçbir patolojik değişiklik olmadığını, 1 peri-insülit (sadece adacıkların çevresiyle sınırlı patolojik

infiltrasyon) işaret etmekte, 2 insülin hafif kanıtı (adacıkların % 25'inden daha azında patolojik infiltrasyon), 3 ciddi insülit (adacıkların % 25 ve % 75'i arasındaki patolojik infiltrasyon) ve 4 yıkıcı insülin (adacıkların % 75'inden fazlasında patolojik infiltrasyon) belirgin kanıtlarına karşılık gelmektedir. Adacık infiltrasyonunun analizi, deney koşullarına kör olan iki bağımsız gözlemci tarafından yapıldı.

Uterustan alınan doku örneklerinin bir kısmı (Enzim bağlı immnosorbent ölçümü) ELISA kitleri (Elabscience® ,Rat LEP, E-EL-R0582 ve Rat VEGF-A, E-EL-R2603) ile VEGF ve Leptin saptanması için -80°C'de dondurularak saklandı.

### **3.7 İstatistiksel Yöntem**

Tüm istatistiksel hesaplama ve analizler için SPSS Windows Version 23.00 (SPSS Inc. Chicago, IL. USA) paket programı kullanıldı.

Parametreler için grupların normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro-Wilk testiyle bulunduktan sonra, VEGF ve Leptin için gruplar normal dağılım gösterdiğinden dolayı Tek yönlü ANOVA ile istatistiksel analizleri yapılmıştır. Varyanslar arasında homojenite olup olmamasına göre Tukey ve Tamhane testi gibi post-hoc testlerle gruplar arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı tespit edildi. Gruplardaki açlık kan şekeri ve ağırlıkların bir defadan fazla ölçülmesi nedeniyle Wilcoxon testi ile gruplar arasındaki farkın anlamlı olup olmadığına bakıldı.

Çalışmamızın tüm sonuçları % 95'lik güven aralığında değerlendirildi ve  $p < 0.05$  olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Gebelik elde edilmiş K2, GDM, GDM+Tq, GDM+Ins grupları, gebe olmayan K1 grubuna göre karşılaştırıldığında gebelikte leptin düzeyinde anlamlı bir azalma görülmektedir ( $p<0.05$ ). TQ ve insülin, gestasyonel diyabetik ratlarda leptin miktarını azaltmıştır; fakat bu azalma istatistiki olarak anlamlı değildir. VEGF düzeylerinde ise Tablo 8’de de görüldüğü üzere gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).

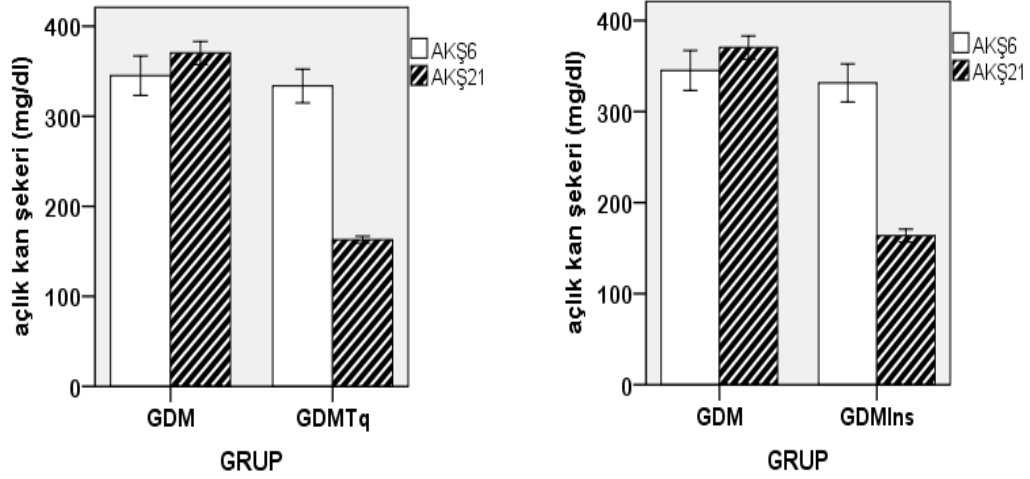
**Tablo 8. Leptin, VEGF, açlık kan şekeri ve vücut ağırlığı düzeylerinin ortalamaları ile standart sapmalarının gruplara göre dağılımı**

|  | <b>K1<br/>(n=8)</b>      | <b>K2<br/>(n=8)</b>     | <b>GDM<br/>(n=8)</b>    | <b>GDM+Tq<br/>(n=8)</b> | <b>GDM+Ins<br/>(n=8)</b> |
|--|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| <b>LEPTİN (ng/ml)</b>                      | 8,73 ± 1,12 <sup>a</sup> | 4,16 ± 0,6 <sup>b</sup> | 4,74 ± 2,9 <sup>b</sup> | 3,63 ± 0,8 <sup>b</sup> | 3,54 ± 1,4 <sup>b</sup>  |
| <b>VEGF (pg/ml)</b>                        | 415 ± 345 <sup>a</sup>   | 280 ± 346 <sup>a</sup>  | 78 ± 36 <sup>a</sup>    | 112 ± 34 <sup>a</sup>   | 151 ± 89 <sup>a</sup>    |
| <b>Açlık kan şekeri<br/>21.gün (mg/dl)</b> | 104 ± 10 <sup>a</sup>    | 100 ± 8 <sup>a</sup>    | 334 ± 14 <sup>b</sup>   | 151 ± 20 <sup>c</sup>   | 150 ± 15 <sup>cd</sup>   |
| <b>Vücut ağırlığı<br/>21.gün (g)</b>       | 229 ± 7 <sup>a</sup>     | 230 ± 5 <sup>a</sup>    | 198 ± 7 <sup>b</sup>    | 230 ± 6 <sup>ac</sup>   | 229 ± 5 <sup>ac</sup>    |

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü.

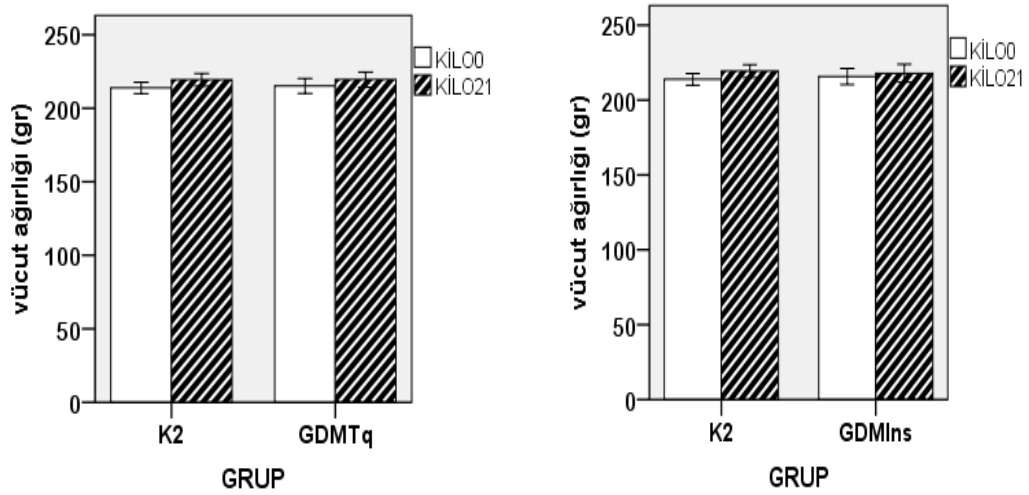
Tek yönlü ANOVA varyans analizi: Her satır için grupların ortalama değer ve standart sapmalarının üzeri a, b, c, d olarak harflendirilmiştir. Bir grubun içerisinde bulunan harf, diğer grup içerisinde bulunuyorsa ( $p>0.05$  olduğu) gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını, grup içerisinde bulunan harf diğer grup içerisinde bulunmuyorsa ( $p<0.05$  olduğu) gruplar arasındaki anlamlı farklılığı göstermektedir.

Gestasyonel diyabet oluşturulan ratlarda timokinon ve insülinin açlık kan şekeri üzerine etkisini saptayabilmek için, ratların gebeliklerinin 6. ve 21. günlerindeki kan şekeri GDM, GDM+Tq ve GDM+Ins gruplarında bakılarak her grup kendi içerisinde ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır (Şekil 1). Timokinon ve insülin verilen gruplardaki açlık kan şekeri GDM grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

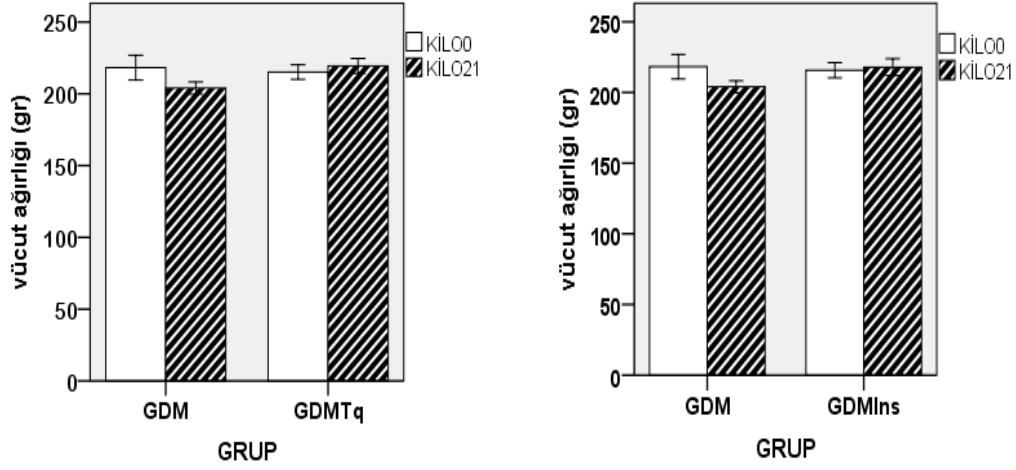


**Şekil 1. Timokinon ve insülinin gestasyonel diyabetik ratlarda açlık kan şekeri üzerine etkisi**

Vücut ağırlıklarına bakıldığında GDM grubundaki ratlarda gebeliğin başlangıcıyla 21. günü arasında istatistiki olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır. TQ ve insülin verilen gruplardaki ratlarda ise vücut ağırlıkları kontrol gruplarındaki ratlara benzer nitelikte korunmuş hatta artmıştır (Şekil 2). Şekil 3'te görüldüğü üzere TQ ve insülin verilen ratların vücut ağırlıklarındaki bu değişim GDM li ratlarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olarak yorumlanmıştır ( $p < 0.05$ ).

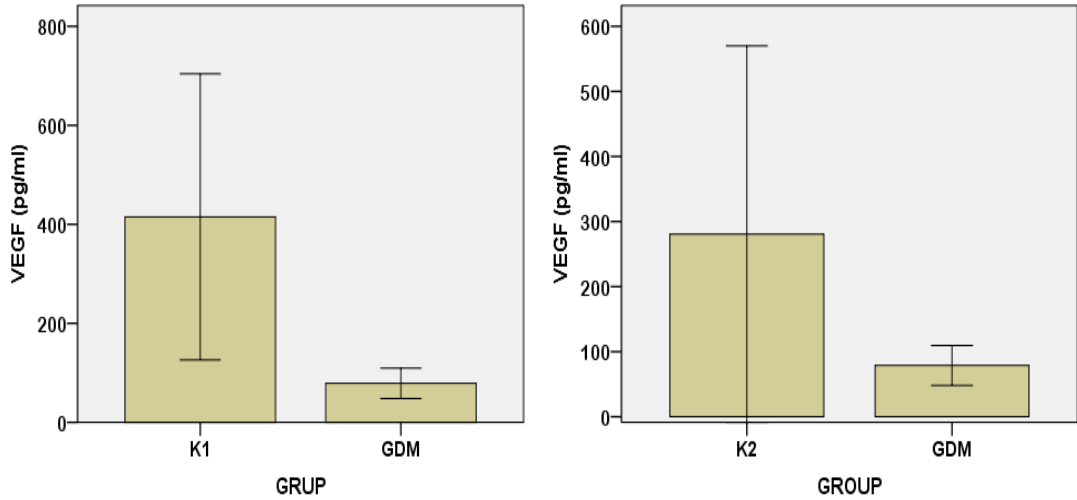


**Şekil 2. Timokinon ve insülin verilen gestasyonel diyabetik ratların kontrol gruplarına göre vücut ağırlığının karşılaştırılması**

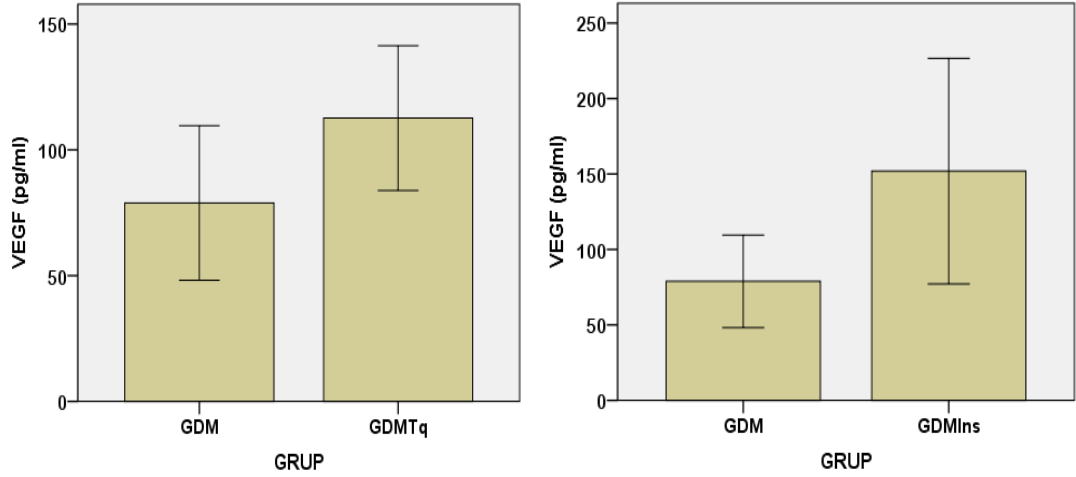


**Şekil 3. Timokinon ve insülinin gestasyonel diyabetik ratlarda vücut ağırlığı üzerine etkisi**

Gebelik elde edilmiş ratlarda gebe bırakılmayan dişi ratlara göre VEGF düzeyleri azalmıştır ( $p>0.05$ ). Şekil 4'te görüldüğü gibi STZ ile gestasyonel diyabet elde edilmiş ratlarda ise VEGF düzeyleri dişi ve gebe ratlara göre azalmıştır. ( $p>0.05$ ). Timokinon ve insülin verilen gestasyonel diyabetik ratlarda ise VEGF düzeyleri birbirine benzer etki göstererek artış eğilimi göstermektedir (Şekil 5), fakat timokinon ve insülinin bu etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

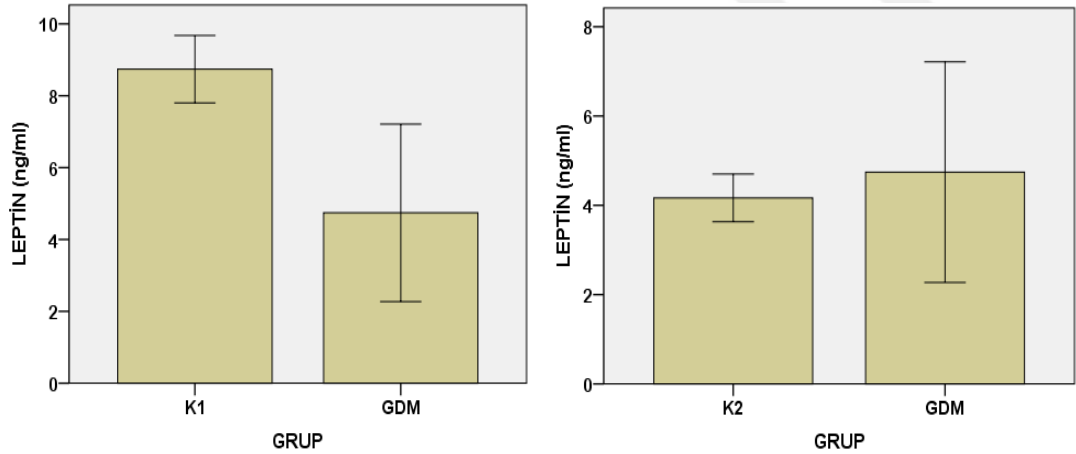


**Şekil 4. Streptozotosin ile GDM oluşturulmuş ratlarda VEGF düzeyinin kontrol grupları ile karşılaştırılması**



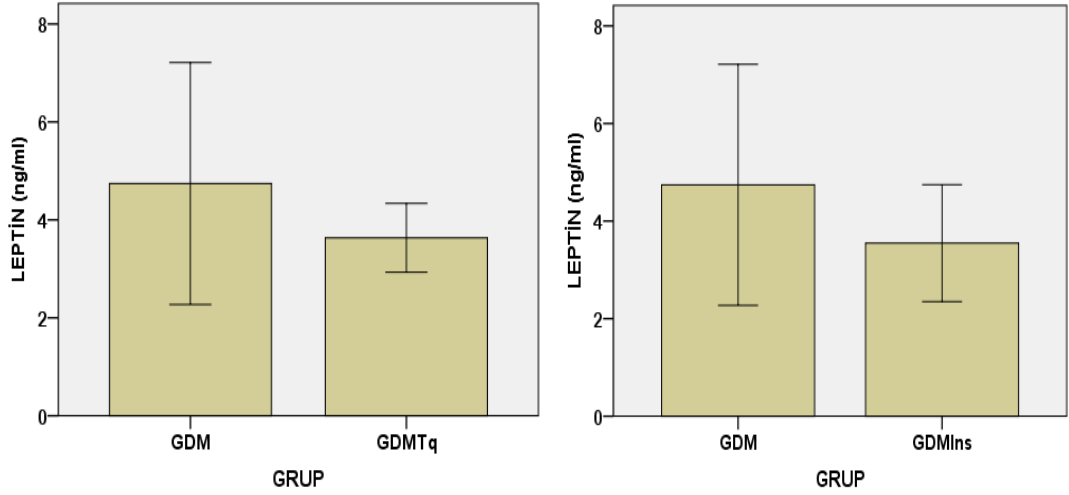
**Şekil 5. Gestasyonel diyabet oluşturulmuş ratlarda timokinon ve insülinin VEGF düzeylerine etkisi**

Şekil 6'ya görüldüğü üzere gestasyonel diyabetik ratlardaki leptin düzeyinde gebe olmayan dişi ratlara göre azalma saptanmıştır ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.05$ ). Gebelik leptin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden olmaktadır.



**Şekil 6. Streptozotosin ile GDM oluşturulmuş ratlarda Leptin düzeyinin kontrol grupları ile karşılaştırılması**

Şekil 7'de timokinon ve insülinin, GDM'li ratlarda leptin düzeyini azalttığı görülmektedir. Timokinon ve insülinin GDM'li ratlara olan bu etkisi istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0.05$ ).



**Şekil 7. Gestasyonel diyabet oluşturulmuş ratlarda timokinon ve insülinin Leptin düzeylerine etkisi**

Rat uterusunda plasenta üç bölümden oluşur: Desidua (D), birleşme bölgesi (Junctional Zone) ve labirent bölgesi (Labyrinth Zone). JZ'de trofoblastik dev hücre dahil olmak üzere üç farklı hücre tipi gözlenmektedir. Bu hücreler; trofoblastik dev hücreler (TGC), spongiotrofoblast hücreleri (STC) ve glikojen hücreleri (GC)'dir. Trofoblast dev hücreleri (TGC'ler) embriyogenez sırasında terminal olarak farklılaşan ilk hücre tipi olup implantasyon ve implantasyon sonrası plasentasyonun modülasyonu için hayati öneme sahiptir. Dev hücreler, en önemli endokrin hücrelerden biridir ve plasentada çeşitli proteinazlar, hücre adezyon molekülleri, hormonlar ve sitokinleri sentezleyip ve salgılamaktadırlar (80).

Uterusun histopatolojik incelenmesinde vaskularite artışı, glikojen hücre ve plasentada trofoblastik dev hücre varlığı ele alınarak yapılan skorlama sistemine göre gruplar arası anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Fakat her 3 kategoride timokinon verilen grupta insüline göre artış gözlenmiştir.

Pankreasın histopatolojik incelemesinde skorlama sistemi olarak kullanılan insülit skorunda gruplar normal dağılım göstermediğinden dolayı Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır ve gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ). İnsülinin streptozotosin ile oluşturulmuş gestasyonel diabetes mellitusta oluşan insülitis üzerine antiinflamatuvar etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,005$ ). Timokinonun streptozotosin ile oluşturulmuş gestasyonel diabetes mellitusta oluşan insülitis üzerine antiinflamatuvar etkisi istatistiksel olarak anlamlı



bulunmuştur ( $p=0,002$ ). Timokinon insüline göre streptozosin ile oluşturulmuş gestasyonel diabetes mellitusta oluşan insülitis üzerine daha belirgin anti-inflamatuar etkiye sahiptir.



## 5. TARTIŞMA

Klinik ve hayvan çalışmaları timokinonun immünomodülatif, antibakteriyel, hepatoprotektif ve antidiyabetik etkileri ve lipid peroksidasyonuna karşı inhibe edici özellikleri gibi birçok terapötik etkisini göstermiştir (71, 81, 82). Darakhshan ve ark.nın yapmış olduğu çalışma TQ'nun kan glukoz seviyeleri üzerine düşürücü etkisi daha önce bildirilen verilerle uyumlu saptanmıştır (64). Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel araştırmalar TQ'nun hipoglisemik (Badary ve ark. Hawsawi ve ark. El-Mahmoudy ve ark.) ve antidiyabetik (Fararh ve ark. 2005) etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır (70, 83, 84). Bizim çalışmamızda da TQ'nun açlık kan şekerini düşürücü etkisi GDM'li ratlarda insüline benzer nitelikte saptanmıştır.

Pari ve Sankaranarayanan'a göre timokinonun insülin sekresyonu üzerindeki moleküler mekanizması henüz aydınlatılmış olmamakla birlikte, insülin sekresyonunu artırarak glikoz kullanımında artışa ve glukoneogenezi engelleyerek kan glukozunun düşmesine neden olduğunu belirtilmektedir (85, 86). Diyabetik hamster modeli üzerinde yapılan bir çalışmada TQ'nun hipoglisemik etkisinin hepatik glukoneogenez ve glukoz üretimindeki azalma sonucu meydana geldiği gösterilmiştir (83). Hawsawi ve ark (2001) ratlarda farklı dozlarda (0.5, 1, 2, 4, 6 ve 8 mg/kg) intraperitoneal yolla verilen TQ'nun açlık kan şekeri düzeylerini düşürdüğünü bildirmektedir (87). Buna karşın yapılan başka bir çalışmada diyabet olmayan normal ratlara (50 mg/kg/gün, gavaj) TQ verilmesinin diyabetlilerdekinin aksine kontrol gruba göre plazma insülin düzeyini azalttığı bildirilmektedir (88). Çalışmamızda da ratlarda gestasyonel diyabet teyidinin yapıldığı gebeliğin 6. günü ve deneyin sonlandığı gebeliğin 21. günü bakılan açlık kan şekerlerinde TQ'nun antihiperglisemik etkisi insüline benzer ve istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur.

STZ ile gestasyonel diyabet oluşturulan ratlarda gebelik esnasında TQ verilmesinin fetus maturasyonu ve büyüklüklerinde artışa neden olduğu ve serbest oksijen radikallerini azaltıp fetal malformasyon oranlarını düşürdüğü bildirilmektedir. Böylece gestasyonel diyabetik gebe ratlarda kullanılan TQ'nun faydalı olduğu ortaya konmaktadır (89). Başka bir çalışmada ise STZ ile diyabet oluşturulan erkek ratlara enjeksiyondan 3 gün önce başlanarak 4 hafta boyunca 50 mg/kg/gün dozunda TQ'nun gavaj ile verildiği, sonrasında ise TQ'nun yüksek olan serum glukoz seviyesini düşürdüğü, serum insülin konsantrasyonunu ise arttırdığı

bildirilmektedir (71). TQ'nun STZ'nin neden olduğu pankreastaki beta hücrelerindeki hasarın azalmasında ve beta hücre bütünlüğünün korunmasında tedavi edici etki gösterdiği, beta hücreleri için immünolojik inflamatuvar aktivitenin aşağı regülasyonu yoluyla, küçük bir STZ dozunun ardından insüline bağımlı DM'nin önlenmesi bunun sonucunda da TQ'nun oksidatif strese karşı beta hücrelerinin korunmasında da klinik olarak kullanımının faydalı olabileceği belirtilmektedir (90, 91). Çalışmamızda da TQ gestasyonel diyabetik ratlarda pankreasta adacık hücre hasarını azaltarak beta hücre koruyucu etki göstermiş böylece açlık kan şekerlerini düşürmüştür.

El Mahmoudy ve ark. yaptığı araştırmada timokinonun insüline bağlı tip 1 diyabette STZ'nin pankreas dokusuna zararlı etkisini azaltarak inflamatuvar cevabı azaltmada etkili olabileceğini, insüline bağlı olmayan tip 2 diyabette ise yüksek glukoz düzeylerini düşürerek iyileştirici etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Timokinonun bu etkisini indüklenebilir nitrik oksit (NO) sentaz ve NO üretiminin transkripsiyon mekanizmasına katkıda bulunan p44 / 42 ve p38 mitojen ile aktive edilmiş protein kinazları (MAPK) önemli ölçüde inhibe ederek gerçekleştirdiğini bildirmektedirler (91).

Timokinonun polimerik nanokapsüllerinin kullanıldığı antihiperglisemik ve lipid profili üzerine etkilerinin metforminle karşılaştırıldığı Rani ve ark. yaptığı bir çalışmada, TQ, metformin ve bunların nanoförmülasyonlarının oral uygulamasının, kan glukoz düzeyini ve glikolize hemoglobin miktarını önemli ölçüde azalttığı ve diyabetik kontrol ratlara kıyasla diyabetik ratların lipid profilini iyileştirdiği saptanmıştır. Metformin (150 mg/kg), TQ (20, 40, 80 mg/kg) ve nanokapsüllerinin (20, 40, 80 mg/kg timokinon için, 80 mg/kg metformin için) 21 günlük uygulanmasıyla, ratlarda meydana gelen diyabetin neden olduğu kilo kaybının önemli ölçüde tersine çevrildiği bildirilmektedir (92). Çalışmamızda da TQ ve insülin verilen gruptaki ratların gestasyonel diyabetik grup ratları ile karşılaştırıldığında, TQ'nun insüline benzer etki göstererek GDM'nin neden olduğu kilo kaybını anlamlı ölçüde azaltarak kontrol gruplarındaki rat ağırlıklarına yaklaştıklarını görmekteyiz.

Sonuçlar tartışmalı olmasına rağmen, çoğu çalışma GDM'de artmış leptin göstermiştir (28, 31, 32, 93). Simmons ve ark. ile Mokhtari ve ark. yaptıkları

çalışmalarda ise GDM'li gebeler, tanı almamış gebeler ile karşılaştırıldığında serum leptin düzeyleri açasından anlamlı farklılık göstermemektedirler (30, 94, 95). Festa ve ark. ile McLachlan ve ark. ise GDM'li gebelerde serum leptin düzeylerinin normal gebelere göre daha düşük olduğunu göstermiştir (33, 96). Gebelik leptin için dirençli bir durum olarak kabul edilir. Leptin düzeylerinin adipoz doku kitlesi ile ilişkili olduğu ve hem gebe olmayan hem de gebe kadınlarda vücut yağ kitlesi ve VKI ile korele olduğu bilinmektedir (97, 98). Leptin, gebelik boyunca insan koriogonadotropini ile yakından ilişkilidir (99).

Perez ve ark. leptin ve leptin reseptör ekspresyonlarının GDM'de plasentada arttığını bulmuşlardır (100, 101). Powe ise leptini GDM'nin ilk trimester biyokimyasal belirleyicisi olarak kullanılabileceğini belirtmektedirler (102). Ayrıca hiperinsülineminin fetal homeostazı kontrol etmek için dolaşımdaki bir sinyal gibi davranan plasental leptin üretimini düzenleyebileceği öne sürülmüştür (103, 104). Dahası, maternal glukozun kordon kanı leptin seviyelerini düzenlediği ve bu durum GDM'ye maruz kalan yeni doğanların obezite riskinin artmış olduğunu açıklayabilir (105). Normal ve diyabetik gebelikler arasında plasental gen ekspresyon profilinin karşılaştırılması, GDM'deki artmış leptin sentezinin, IL-6 ve TNF-a gibi proinflamatuvar sitokinlerin daha yüksek üretimi ile ilişkili olduğunu ve leptin üretimini artıran kronik bir inflamatuvar ortama neden olduğunu göstermektedir (21). Perez ve ark. leptin ve insülinin, janus kinaz 2/sinyal transdüksiyonu ve transkripsiyon aktivatörü-3 (JAK2/STAT-3), MAPK ve PI 3-Kinaz gibi birkaç sinyal yolunu paylaştığını bildirmektedir (106). Dahası, GDM'nin plasentada STAT-3, MAPK-1/3 ve protein kinaz B nin bazal fosforilasyonunu arttırdığını, plasentanın leptin veya insülin ile stimülasyona daha fazla direnç gösterdiğini ve bu sinerjistik etkileşimin insülin ile leptin sinyalleri arasındaki çapraz bağ ile oluştuklarını ifade etmektedirler (100).

Çalışmamızda gebelik elde edilmiş grupların, gebe olmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında leptin düzeylerinin anlamlı olarak düştüğu görülmektedir. Aynı zamanda gestasyonel diyabetik ratlarda leptin seviyesinin gebe kontrol grubuna göre bir miktar arttığı saptanmış, fakat bu artış istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. TQ insüline benzer şekilde GDM'li ratlarda bir miktar leptin düzeyinde artışa neden olmuştur, fakat bu istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. TQ'nun leptin

düzelelerine etkisi ile ilgili yeterli çalışma bulunmamakla birlikte, çörek otu yağının ve kolesterollü diyetle TQ ilave edilmesinin besin alımını azalttığı ve canlı ağırlığın düşmesine neden olduğu bildirilmektedir (107). TQ'nun çalışmamızda leptin düzeylerinde neden olduğu bu hafif artışın nedeni olarak canlı ağırlığını bir miktar düşürerek insülin direncini azaltması ve antioksidan etkisi sayesinde insülin salınımında artışa neden olmuş olabileceği düşünülebilir.

VEGF birçok dokunun vasküler endotelial hücre proliferasyonunu düzenlemektedir. VEGF ve VEGF reseptörleri (VEGFR) plasentada damar gelişimi ve çoğalmasından sorumludurlar. Pietro ve ark. artan VEGF/VEGFR ekspresyonu ve villus anjiyogenezini hiperglisemiye yanıt olarak belgelemişlerdir (38). Başka bir çalışmada da Marini ve ark. gebelikteki bozulmuş glukoz intoleransının plasentada VEGFR ekspresyonunda artışa neden olduğunu göstermişlerdir (108). Pinter ve ark. ise gebelikte kontrolsüz hipergliseminin anormal VEGF ekspresyonu ve VEGF/VEGFR sinyal etkileşimindeki bozulma sonucunda; gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi ve GDM gibi komplikasyonlara neden olabileceğini bildirmektedir (109).

Plasental anjiyogenezin yanı sıra, terminal villus başına düşen ortalama kılcak damar sayısı ve vasküler hiperplazi insidansı, GDM'de daha belirgin bir kılcak dallanma olduğunu düşündürmektedir (110). GDM'nin bir özelliği, Huynh ve ark. (111) tarafından yakın zamanda gözden geçirilen plasentadaki villöz olgunlaşmamışlığı ve artmış anjiyogenez ölçümleridir. Troncoso ve ark. GDM'de artmış plasental anjiyogenez olduğunu doğrulamaktadır (112).

Fetusun viabilitesi yeterli miktarda oksijen sağlanmasına bağlıdır. GDM'de fetal hiperinsülinemi fetal aerobik metabolizmayı uyarır (41) ve böylece fetal oksijen ihtiyacını artırır. Bu, glikozile edilmemiş HbA1'den daha yüksek oksijen afinitesine sahip olan, HbA1c'nin yükselmiş maternal seviyeleri ile ortaya çıkar. Oksijen arzında ve talebinde ortaya çıkan bu dengesizlik, fetal oksijen seviyelerinin geçici olarak azalmasına yol açabilir ve bu durum hiperinsülinemi ile birlikte plasental anjiyogenez için tetikleyici olarak rol almaktadır (22). Bu nedenle, GDM'de artmış vaskülarizasyon, kalıcı fetal hipoksiye karşı koymak için fetusun telafi edici bir mekanizmasını temsil edebilir (113). Bununla birlikte, GDM plasentalarında oksijen

iletkenliği artsa da, GDM plasentasındaki plasental hipervaskularizasyonun fetüse daha fazla oksijen iletimi ile ilişkili olup olmadığı belirsizdir (114).

Plasental vaskularizasyonun yapılan 3D modellemesinde, kılcal dilatasyon ile ilişkili yüksek kılcal sinüzite nedeniyle azalan vasküler direncin etkili oksijen alımına yol açtığını ortaya koymaktadır (115). Farklı bir yorum, villusta daha fazla sayıda damarın fetusun oksijen difüzyonunu azaltabildiğini öne sürmektedir (39, 113). Madazlı ve ark. ile Lassus ve ark. yaptığı çalışmalarda GDM'li gebelerden doğan fetusların umbilikal kord kanındaki VEGF konsantrasyonları, sağlıklı dönem fetusları ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur (37, 116). Lappas'ın yapmış olduğu çalışmada ise plasenta dokusunda VEGF mRNA düzeyleri ise; GDM'li gebelerde değişmemiştir (117).

Yükselmiş VEGF seviyeleri GDM'deki proanjiojenik duruma katkıda bulunmazken, miktar veya aktivasyonda veya her ikisinde de reseptör seviyesindeki değişiklikler VEGF etkilerini artırabilir. Bununla birlikte, GDM'deki insan plasentalarında VEGF reseptörü seviyeleri ile ilgili raporlar yetersizdir ve yapılan birçok çalışmaların sonuçları değişkenlik göstermektedir (108, 117, 118).

Meng ve ark. GDM'li kadınlardan elde edilen plasental dokularda VEGFA ve VEGFR2'nin azaltılmış ekspresyonlarını ortaya çıkarmıştır (7). GDM'de maternal ve kord plazmasındaki VEGF konsantrasyonunun azaldığı konusunda tutarlı kanıtlar vardır (116). VEGF mRNA ekspresyonu ve protein üretimi, hipoksiyle artış göstermektedir. Gestasyonel diyabetin sonucu olarak kronik fetal hipoksi, plasenta ve fetustaki büyüme faktörleri ekspresyonunu arttırarak plasental anjiogenezi uyurabilir. Oksijene göre düzenlemesine paralel olarak plasental VEGF'nin ilk trimesterde oksijen seviyelerinin düşük olduğu dönemlerde yüksek düzeyde olduğu ve gestasyon döneminin sonlarına doğru azaldığı belirtilmektedir (118, 119), Bu etkiye hipoksiden başka hipergliseminin de katkıda bulunabileceği belirtilmiştir. Son trimesterde GDM'ye bağlı fetal hipoksinin VEGF artışına neden olmaması kontrolsüz kan şekeri artışına bağlanmaktadır. Kontrolsüz hiperglisemi GDM'de ciddi hipoksi/iskemiye neden olmakta, VEGF/VEGFR2 bağlanmasını inhibe etmekte ve hiperkapillarizasyonu azaltarak VEGF ekspresyonunu azaltmaktadır (120). Bizim alışmamızda da VEGF gestasyonel diyabetik ratlarda normal gebe ratlara göre azalmıştır, fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Timokinon ve

insülin verilmesi benzer etki göstererek GDM'li ratlarda VEGF'nin artışına neden olmuştur. Bu artışı, timokinon ve insülinin kan şekerini regüle ederek VEGF ekspresyonuna katkı sağlamasına bağlayabiliriz. Çalışmamızda VEGF düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bulunmama nedeni olarak örneklem büyüklüğünün az olması düşünülebilir. Aynı zamanda çalışmamızda VEGF ölçümü için kullanılan ELISA yöntemi dokulardaki protein ekspresyonlarını göstermektedir. Daha doğru VEGF ölçümü için VEGF'nin dokulardaki gen ekspresyonu düzeyinde araştırılması gerekmektedir.

GDM ile ilişkili olarak çalışılan histopatolojik incelemelerde plasental histomorfometrik anormallikler önemli ölçüde değişiklik göstermektedir. Zabihi ve ark. plasental morfoloji üzerine yaptıkları incelemede diyabetik rat plasentalarında dev trofoblastik ve glikojen hücrelerinde artış saptamışlardır (80). Çalışmamızda dev trofoblastik hücre ve glikojen hücre değişikliği istatistiki olarak anlamlı saptanmamış olup, timokinon verilen grupta gestasyonel diyabetik ratlara oranla artış saptanmıştır. Bu da timokinonun antidiyabetik etkisini göstermektedir. Huynh ve arkadaşları yaptığı sistematik derlemede birkaç makalede anjiyogenez ölçümlerini araştırmıştır (111). İki çalışma “yedek kılcacık bağlantılar” terimini, villöz kılcacık yataktan ayrılmadan çıkarılabilen bağlantıları kabul etmiştir (16, 116). Jirkovska ve ark. ise GDM'li gebelerde terminal villus başına ortalama sayıdaki artmış bağlantı sayısı ile anjiyogenezin artan ölçümlerini bildirmiştir (110). Çalışmamızda vaskülarite açısından timokinon ve insülin verilen gruplarda GDM'li gruplara göre anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır.

Pujol ve ark. ile Citro ve ark. yaptıkları çalışmalarda diyabetik rat modellerinde pankreas adacık hücrelerinde artmış infiltratif hücreleri göstermişlerdir (78, 79). Çalışmamızda insülin skorlama sistemi sonucu yapılan istatistiksel analiz sonucunda timokinonun insüline göre streptozosin ile oluşturulmuş gestasyonel diabetes mellitusta oluşan insülitis üzerine daha belirgin anti-inflamatuar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu da timokinonun antidiyabetik etkinliğini göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

K1, K2, GDM ve GDM+Tq, GDM+Ins gruplarından oluşan çalışmamızda, TQ'nun leptin, VEGF, açlık kan şekeri, vücut ağırlıkları, uterus ve pankreas dokusu histopatolojik değişikliklerine olan etkisi insüline göre araştırılmış ve şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Timokinonun gestasyonel diyabetik ratlarda açlık kan şekerini düşürücü ve vücut ağırlığını koruyucu etkisi çalışmamızda gösterilmiştir. Timokinonun bu etkisi insülin verilen rat grubuyla benzer özellik göstermektedir. Timokinon antihiperglisemik ve antidiyabetik özelliğini, anti-inflamatuar ve antioksidan etkisiyle pankreastaki beta hücrelerinden insülin salınımı artırarak sağlamaktadır.

2. Gebelik elde edilmiş ratlarda leptinin gebe olmayan kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşmesi gebeliğin leptin için dirençli bir durum olmasında kaynaklanmaktadır. GDM'li ratlarda hiperinsülinemik ortam nedeniyle leptin, gebe kontrol grubuna göre bir miktar artmıştır.

3. VEGF düzeyleri gestasyonel diyabetik ratlarda gebe ratlara göre azalmıştır. Timokinon ve insülin verilen GDM'li ratlarda VEGF düzeyleri artış göstermiştir. TQ'nun VEGF'yi artırıcı etkisi antioksidan ve antihiperglisemik etkisiyle açıklanabilir. Grupların kendi içindeki değerlerinin standart sapmaları yüksek ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu farkın nedeni olarak gruplara dahil edilen hayvan sayılarının az olması ve örneklem büyüklüğünün yeterli olmaması gösterilebilir. Ayrıca ELISA ile sadece protein ekspresyonu sonucu oluşan VEGF düzeyleri saptanmaktadır. Gen ekspresyon düzeyinde VEGF çalışılması durumunda değişiklikler daha doğru ve objektif saptanacaktır.

4. Timokinon GDM'li ratlarda uterusu histopatolojik olarak plasentada vaskülarite, gilokojen ve trofoblastik dev hücrelerde artışa neden olmuştur. TQ'nun bu etkileri antidiyabetik özelliğini yansıtmakla birlikte sitoprotektif özelliğini de göstermektedir. Histopatolojik incelemede TQ pankreastaki adacık hücre hasarını anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Timokinonun bu etkisi antidiyabetik ve anti-inflamatuar etkisiyle açıklanabilir.

Sonuç olarak timokinon antihiperglisemik, antidiyabetik ve anti-inflamatuar etkisiyle gelecekte GDM tedavisinde terapötik ajan olarak kullanılabilen potansiyel bir etken maddedir. Timokinonun diabetes mellitus üzerinde etkilerini



gösteren birçok yayın mevcuttur, fakat GDM üzerine etkileri konusunda bu kadar çeşitlilik bulunmamaktadır. Bu bağlamda dokular üzerindeki etkisini göstermek açısından immünohistokimyasal ve gen ekspresyon düzeyindeki çalışmalara da ihtiyaç vardır. Timokinonun GDM tedavisinde etkin bir ajan olarak kullanılması için hayvan deneyi çalışmaları çeşitlendirilmeli, insanlar üzerinde klinik araştırmalar da yapılmalıdır.



## KAYNAKLAR

1. Practice Bulletin No. 180 Summary: Gestational Diabetes Mellitus. *Obstetrics & Gynecology*. 2017;130(1):244-6.
2. Hartling L, Dryden DM, Guthrie A, Muise M, Vandermeer B, Aktary WM, et al. Screening and diagnosing gestational diabetes mellitus. Evidence report/technology assessment. 2012(210):1-327.
3. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*. 2018.
4. Aktun HL, Uyan D, Yorgunlar B, Acet M. Gestational diabetes mellitus screening and outcomes. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*. 2015;16(1):25-9.
5. ACOG Practice Bulletin No. 190: Gestational Diabetes Mellitus. *Obstetrics and gynecology*. 2018;131(2):e49-e64.
6. Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2005;109(3):227-41.
7. Meng Q, Shao L, Luo X, Mu Y, Xu W, Gao L, et al. Expressions of VEGF-A and VEGFR-2 in placentae from GDM pregnancies. *Reproductive Biology and Endocrinology : RB&E*. 2016;14:61.
8. Roujeau C, Jockers R, Dam J. New pharmacological perspectives for the leptin receptor in the treatment of obesity. *Frontiers in endocrinology*. 2014;5:167.
9. Girard J. Is leptin the link between obesity and insulin resistance? *Diabetes & metabolism*. 1997;23 Suppl 3:16-24.
10. Farias DR, Poston L, Franco-Sena AB, Moura da Silva AA, Pinto T, de Oliveira LC, et al. Maternal lipids and leptin concentrations are associated with large-for-gestational-age births: a prospective cohort study. *Scientific Reports*. 2017;7:804.
11. Nicholson W, Bolen S, Witkop CT, Neale D, Wilson L, Bass E. Benefits and risks of oral diabetes agents compared with insulin in women with gestational diabetes: a systematic review. *Obstetrics and gynecology*. 2009;113(1):193-205.
12. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2005;22(4):359-70.
13. Serlin DC, Lash RW. Diagnosis and management of gestational diabetes mellitus. *American family physician*. 2009;80(1):57-62.
14. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care*. 2018;41(Suppl 1):S13-s27.
15. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2004;27 Suppl 1:S88-90.
16. Daskalakis G, Marinopoulos S, Krielesi V, Papapanagiotou A, Papantoniou N, Mesogitis S, et al. Placental pathology in women with gestational diabetes. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2008;87(4):403-7.
17. National Institutes of Health consensus development conference statement: diagnosing gestational diabetes mellitus, March 4-6, 2013. *Obstetrics and gynecology*. 2013;122(2 Pt 1):358-69.
18. Mills JL, Jovanovic L, Knopp R, Aarons J, Conley M, Park E, et al. Physiological reduction in fasting plasma glucose concentration in the first trimester

of normal pregnancy: the diabetes in early pregnancy study. *Metabolism: clinical and experimental*. 1998;47(9):1140-4.

19. Desoye G, Nolan CJ. The fetal glucose steal: an underappreciated phenomenon in diabetic pregnancy. *Diabetologia*. 2016;59(6):1089-94.
20. Negrato CA, Jovanovic L, Tambascia MA, Geloneze B, Dias A, Calderon Ide M, et al. Association between insulin resistance, glucose intolerance, and hypertension in pregnancy. *Metabolic syndrome and related disorders*. 2009;7(1):53-9.
21. Miehle K, Stepan H, Fasshauer M. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Clinical endocrinology*. 2012;76(1):2-11.
22. Hiden U, Lang I, Ghaffari-Tabrizi N, Gauster M, Lang U, Desoye G. Insulin action on the human placental endothelium in normal and diabetic pregnancy. *Current vascular pharmacology*. 2009;7(4):460-6.
23. Artal R, Wiswell R, Romem Y. Hormonal responses to exercise in diabetic and nondiabetic pregnant patients. *Diabetes*. 1985;34 Suppl 2:78-80.
24. Westermeier F, Salomon C, Farias M, Arroyo P, Fuenzalida B, Saez T, et al. Insulin requires normal expression and signaling of insulin receptor A to reverse gestational diabetes-reduced adenosine transport in human umbilical vein endothelium. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2015;29(1):37-49.
25. Zhang J, Chi H, Xiao H, Tian X, Wang Y, Yun X, et al. Interleukin 6 (IL-6) and Tumor Necrosis Factor alpha (TNF-alpha) Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), Inflammation and Metabolism in Gestational Diabetes Mellitus in Inner Mongolia. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2017;23:4149-57.
26. Maged AM, Moety GA, Mostafa WA, Hamed DA. Comparative study between different biomarkers for early prediction of gestational diabetes mellitus. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet*. 2014;27(11):1108-12.
27. Yue CY, Ying CM. Epidemiological analysis of maternal lipid levels during the second trimester in pregnancy and the risk of adverse pregnancy outcome adjusted by pregnancy BMI. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2018:e22568.
28. Ategbro JM, Grissa O, Yessoufou A, Hichami A, Dramane KL, Moutairou K, et al. Modulation of adipokines and cytokines in gestational diabetes and macrosomia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(10):4137-43.
29. Kim C, Christophi CA, Goldberg RB, Perreault L, Dabelea D, Marcovina SM, et al. Adiponectin, C-reactive protein, fibrinogen and tissue plasminogen activator antigen levels among glucose-intolerant women with and without histories of gestational diabetes. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2016;33(1):32-8.
30. Horosz E, Bomba-Opon DA, Szymanska M, Wielgos M. Third trimester plasma adiponectin and leptin in gestational diabetes and normal pregnancies. *Diabetes research and clinical practice*. 2011;93(3):350-6.

31. Soheilykhah S, Mojibian M, Rahimi-Saghand S, Rashidi M, Hadinedoushan H. Maternal serum leptin concentration in gestational diabetes. *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology*. 2011;50(2):149-53.
32. Vitoratos N, Salamalekis E, Kassanos D, Loghis C, Panayotopoulos N, Kouskouni E, et al. Maternal plasma leptin levels and their relationship to insulin and glucose in gestational-onset diabetes. *Gynecologic and obstetric investigation*. 2001;51(1):17-21.
33. Festa A, Shnawa N, Krugluger W, Hopmeier P, Schernthaner G, Haffner SM. Relative hypoleptinaemia in women with mild gestational diabetes mellitus. *Diabet Med*. 1999;16(8):656-62.
34. Connolly DT. Vascular permeability factor: a unique regulator of blood vessel function. *Journal of cellular biochemistry*. 1991;47(3):219-23.
35. Nagy JA, Dvorak AM, Dvorak HF. VEGF-A(164/165) and PlGF: roles in angiogenesis and arteriogenesis. *Trends in cardiovascular medicine*. 2003;13(5):169-75.
36. Shibuya M, Claesson-Welsh L. Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Experimental cell research*. 2006;312(5):549-60.
37. Lassus P, Teramo K, Nupponen I, Markkanen H, Cederqvist K, Andersson S. Vascular endothelial growth factor and angiogenin levels during fetal development and in maternal diabetes. *Biology of the neonate*. 2003;84(4):287-92.
38. Pietro L, Daher S, Rudge MV, Calderon IM, Damasceno DC, Sinzato YK, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-receptor expression in placenta of hyperglycemic pregnant women. *Placenta*. 2010;31(9):770-80.
39. Escudero C, Celis C, Saez T, San Martin S, Valenzuela FJ, Aguayo C, et al. Increased placental angiogenesis in late and early onset pre-eclampsia is associated with differential activation of vascular endothelial growth factor receptor 2. *Placenta*. 2014;35(3):207-15.
40. Verma S, Pillay P, Naicker T, Moodley J, Mackraj I. Placental hypoxia inducible factor -1alpha & CHOP immuno-histochemical expression relative to maternal circulatory syncytiotrophoblast micro-vesicles in preeclamptic and normotensive pregnancies. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2018;220:18-24.
41. Desoye G, van Poppel M. The feto-placental dialogue and diabetes. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2015;29(1):15-23.
42. Makwana T, Takkar B, Venkatesh P, Sharma JB, Gupta Y, Chawla R, et al. Prevalence, progression, and outcomes of diabetic retinopathy during pregnancy in Indian scenario. *Indian journal of ophthalmology*. 2018;66(4):541-6.
43. Azzoug S, Chentli F. Microangiopathy and pregnancy. *JPMA The Journal of the Pakistan Medical Association*. 2016;66(9 Suppl 1):S52-5.
44. Thompson ML, Ananth CV, Jaddoe VWV, Miller RS, Williams MA. The association of maternal adult weight trajectory with preeclampsia and gestational diabetes mellitus. *Paediatric and perinatal epidemiology*. 2014;28(4):287-96.
45. Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Annual review of pathology*. 2010;5:173-92.
46. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of

defective endovascular invasion in this syndrome? The Journal of clinical investigation. 1997;99(9):2152-64.

47. Guimaraes MF, Brandao AH, Rezende CA, Cabral AC, Brum AP, Leite HV, et al. Assessment of endothelial function in pregnant women with preeclampsia and gestational diabetes mellitus by flow-mediated dilation of brachial artery. Archives of gynecology and obstetrics. 2014;290(3):441-7.
48. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Requejo JH, et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. Bulletin of the World Health Organization. 2010;88(1):31-8.
49. Hamza A, Herr D, Solomayer EF, Meyberg-Solomayer G. Polyhydramnios: Causes, Diagnosis and Therapy. Geburtshilfe und Frauenheilkunde. 2013;73(12):1241-6.
50. Goedegebure EAR, Koning SH, Hoogenberg K, Korteweg FJ, Lutgers HL, Diekman MJM, et al. Pregnancy outcomes in women with gestational diabetes mellitus diagnosed according to the WHO-2013 and WHO-1999 diagnostic criteria: a multicentre retrospective cohort study. BMC Pregnancy Childbirth. 2018;18(1):152.
51. Evrenos AN, Cakir Gungor AN, Gulerman C, Cosar E. Obstetric outcomes of patients with abortus imminens in the first trimester. Archives of gynecology and obstetrics. 2014;289(3):499-504.
52. Worda K, Bancher-Todesca D, Husslein P, Worda C, Leipold H. Randomized controlled trial of induction at 38 weeks versus 40 weeks gestation on maternal and infant outcomes in women with insulin-controlled gestational diabetes. Wiener klinische Wochenschrift. 2017;129(17-18):618-24.
53. de Veciana M, Major CA, Morgan MA, Asrat T, Toohey JS, Lien JM, et al. Postprandial versus preprandial blood glucose monitoring in women with gestational diabetes mellitus requiring insulin therapy. The New England journal of medicine. 1995;333(19):1237-41.
54. Brown J, Grzeskowiak L, Williamson K, Downie MR, Crowther CA. Insulin for the treatment of women with gestational diabetes. The Cochrane database of systematic reviews. 2017;11:Cd012037.
55. Hartling L, Dryden DM, Guthrie A, Muise M, Vandermeer B, Donovan L. Benefits and harms of treating gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force and the National Institutes of Health Office of Medical Applications of Research. Annals of internal medicine. 2013;159(2):123-9.
56. Nicholson WK, Wilson LM, Witkop CT, Baptiste-Roberts K, Bennett WL, Bolen S, et al. Therapeutic management, delivery, and postpartum risk assessment and screening in gestational diabetes. Evidence report/technology assessment. 2008(162):1-96.
57. Masood SN, Masood Y, Naim U, Razzak SA. Antenatal management of pregnancy complicated by diabetes. JPMA The Journal of the Pakistan Medical Association. 2016;66(9 Suppl 1):S69-73.
58. 13. Management of Diabetes in Pregnancy: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. Diabetes Care. 2018;41(Suppl 1):S137-s43.
59. Pedersen O, Beck-Nielsen H, Heding L. Increased insulin receptors after exercise in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. The New England journal of medicine. 1980;302(16):886-92.

60. Horton ES. Exercise in the treatment of NIDDM. Applications for GDM? *Diabetes*. 1991;40 Suppl 2:175-8.
61. Jovanovic-Peterson L, Durak EP, Peterson CM. Randomized trial of diet versus diet plus cardiovascular conditioning on glucose levels in gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*. 1989;161(2):415-9.
62. Balsells M, Garcia-Patterson A, Sola I, Roque M, Gich I, Corcoy R. Glibenclamide, metformin, and insulin for the treatment of gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed)*. 2015;350:h102.
63. Dhulkotia JS, Ola B, Fraser R, Farrell T. Oral hypoglycemic agents vs insulin in management of gestational diabetes: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;203(5):457.e1-9.
64. Darakhshan S, Bidmeshki Pour A, Hosseinzadeh Colagar A, Sisakhtnezhad S. Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacological research*. 2015;95-96:138-58.
65. Eid AM, Elmarzugi NA, Abu Ayyash LM, Sawafta MN, Daana HI. A Review on the Cosmeceutical and External Applications of *Nigella sativa*. *Journal of tropical medicine*. 2017;2017:7092514.
66. Abdel-Fattah AM, Matsumoto K, Watanabe H. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. *European journal of pharmacology*. 2000;400(1):89-97.
67. Alkharfy KM, Ahmad A, Khan RM, Al-Shagha WM. Pharmacokinetic plasma behaviors of intravenous and oral bioavailability of thymoquinone in a rabbit model. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*. 2015;40(3):319-23.
68. Farkhondeh T, Samarghandian S, Borji A. An overview on cardioprotective and anti-diabetic effects of thymoquinone. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 2017;10(9):849-54.
69. Mansour MA, Nagi MN, El-Khatib AS, Al-Bekairi AM. Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: a possible mechanism of action. *Cell biochemistry and function*. 2002;20(2):143-51.
70. Badary OA, Taha RA, Gamal el-Din AM, Abdel-Wahab MH. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and chemical toxicology*. 2003;26(2):87-98.
71. Kanter M. Protective effects of thymoquinone on streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Journal of molecular histology*. 2009;40(2):107-15.
72. Bargi R, Asgharzadeh F, Beheshti F, Hosseini M, Sadeghnia HR, Khazaei M. The effects of thymoquinone on hippocampal cytokine level, brain oxidative stress status and memory deficits induced by lipopolysaccharide in rats. *Cytokine*. 2017;96(Supplement C):173-84.
73. Gray JP, Zayasbazan Burgos D, Yuan T, Seeram N, Rebar R, Follmer R, et al. Thymoquinone, a bioactive component of *Nigella sativa*, normalizes insulin secretion from pancreatic  $\beta$ -cells under glucose overload via regulation of malonyl-CoA. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. 2016;310(6):E394-E404.
74. Al Wafai RJ. *Nigella sativa* and thymoquinone suppress cyclooxygenase-2 and oxidative stress in pancreatic tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *Pancreas*. 2013;42(5):841-9.

75. Chen L, Li B, Chen B, Shao Y, Luo Q, Shi X, et al. Thymoquinone Alleviates the Experimental Diabetic Peripheral Neuropathy by Modulation of Inflammation. *Sci Rep.* 2016;6:31656.
76. Luippold G, Bedenik J, Voigt A, Grempler R. Short- and Longterm Glycemic Control of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Using Different Insulin Preparations. *PLoS One.* 2016;11(6):e0156346.
77. Schaschkow A, Mura C, Dal S, Langlois A, Seyfritz E, Sookhareea C, et al. Impact of the Type of Continuous Insulin Administration on Metabolism in a Diabetic Rat Model. *Journal of diabetes research.* 2016;2016:8310516.
78. Citro A, Valle A, Cantarelli E, Mercuri A, Pellegrini S, Liberati D, et al. CXCR1/2 inhibition blocks and reverses type 1 diabetes in mice. *Diabetes.* 2015;64(4):1329-40.
79. Pujol-Autonell I, Ampudia RM, Monge P, Lucas AM, Carrascal J, Verdagner J, et al. Immunotherapy with Tolerogenic Dendritic Cells Alone or in Combination with Rapamycin Does Not Reverse Diabetes in NOD Mice. *ISRN endocrinology.* 2013;2013:346987.
80. Zabihi S, Wentzel P, Eriksson UJ. Altered uterine perfusion is involved in fetal outcome of diabetic rats. *Placenta.* 2008;29(5):413-21.
81. Kanter M, Meral I, Yener Z, Ozbek H, Demir H. Partial Regeneration/Proliferation of the  $\beta$ -Cells in the Islets of Langerhans by *Nigella sativa* L. in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine.* 2003;201(4):213-9.
82. Hanafy MSM, Hatem ME. Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *Journal of Ethnopharmacology.* 1991;34(2):275-8.
83. Fararh KM, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Ghanem MM, Takewaki T. Thymoquinone reduces hepatic glucose production in diabetic hamsters. *Research in Veterinary Science.* 2005;79(3):219-23.
84. El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiina T, Matsuyama H, El-Sayed M, Takewaki T. Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism. *International Immunopharmacology.* 2005;5(1):195-207.
85. Pari L, Sankaranarayanan C. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life sciences.* 2009;85(23-26):830-4.
86. Sankaranarayanan C, Pari L. Thymoquinone ameliorates chemical induced oxidative stress and beta-cell damage in experimental hyperglycemic rats. *Chemico-biological interactions.* 2011;190(2-3):148-54.
87. Hawsawi ZA, Ali BA, Bamosa AO. Effect of *Nigella sativa* (Black Seed) and thymoquinone on blood glucose in albino rats. *Annals of Saudi medicine.* 2001;21(3-4):242-4.
88. G B. Yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda timokinon'un plazma leptin, karnitin, paraoksanaz, tiroid hormonları, insülin ve glikoz ile lipid profiline etkilerinin araştırılması. AKÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tez no: 2010-005, Afyonkarahisar. 2010.
89. Al-Enazi MM. Effect of thymoquinone on malformations and oxidative stress-induced diabetic mice. *Pakistan journal of biological sciences : PJBS.* 2007;10(18):3115-9.

90. Gray JP, Burgos DZ, Yuan T, Seeram N, Rebar R, Follmer R, et al. Thymoquinone, a bioactive component of *Nigella sativa*, normalizes insulin secretion from pancreatic beta-cells under glucose overload via regulation of malonyl-CoA. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2016;310(6):E394-404.
91. El-Mahmoudy A, Shimizu Y, Shiina T, Matsuyama H, El-Sayed M, Takewaki T. Successful abrogation by thymoquinone against induction of diabetes mellitus with streptozotocin via nitric oxide inhibitory mechanism. *Int Immunopharmacol*. 2005;5(1):195-207.
92. Rani R, Dahiya S, Dhingra D, Dilbaghi N, Kim KH, Kumar S. Improvement of antihyperglycemic activity of nano-thymoquinone in rat model of type-2 diabetes. *Chemico-biological interactions*. 2018.
93. Gao XL, Yang HX, Zhao Y. Variations of tumor necrosis factor-alpha, leptin and adiponectin in mid-trimester of gestational diabetes mellitus. *Chinese medical journal*. 2008;121(8):701-5.
94. Simmons D, Breier BH. Fetal overnutrition in polynesian pregnancies and in gestational diabetes may lead to dysregulation of the adipoinular axis in offspring. *Diabetes Care*. 2002;25(9):1539-44.
95. Mokhtari M, Hashemi M, Yaghmaei M, Naderi M, Shikhezadeh A, Ghavami S. Evaluation of the serum leptin in normal pregnancy and gestational diabetes mellitus in Zahedan, southeast Iran. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2011;284(3):539-42.
96. McLachlan KA, O'Neal D, Jenkins A, Alford FP. Do adiponectin, TNFalpha, leptin and CRP relate to insulin resistance in pregnancy? Studies in women with and without gestational diabetes, during and after pregnancy. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2006;22(2):131-8.
97. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *The New England journal of medicine*. 1996;334(5):292-5.
98. Misra VK, Trudeau S. The influence of overweight and obesity on longitudinal trends in maternal serum leptin levels during pregnancy. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2011;19(2):416-21.
99. Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clinical endocrinology*. 1997;47(1):101-6.
100. Perez-Perez A, Guadix P, Maymo J, Duenas JL, Varone C, Fernandez-Sanchez M, et al. Insulin and Leptin Signaling in Placenta from Gestational Diabetic Subjects. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*. 2016;48(1):62-9.
101. Perez-Perez A, Maymo JL, Gambino YP, Guadix P, Duenas JL, Varone CL, et al. Activated translation signaling in placenta from pregnant women with gestational diabetes mellitus: possible role of leptin. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*. 2013;45(6):436-42.
102. Powe CE. Early Pregnancy Biochemical Predictors of Gestational Diabetes Mellitus. *Current diabetes reports*. 2017;17(2):12.



103. Lepercq J, Cauzac M, Lahlou N, Timsit J, Girard J, Auwerx J, et al. Overexpression of placental leptin in diabetic pregnancy: a critical role for insulin. *Diabetes*. 1998;47(5):847-50.
104. Uzelac PS, Li X, Lin J, Neese LD, Lin L, Nakajima ST, et al. Dysregulation of leptin and testosterone production and their receptor expression in the human placenta with gestational diabetes mellitus. *Placenta*. 2010;31(7):581-8.
105. Cote S, Gagne-Ouellet V, Guay SP, Allard C, Houde AA, Perron P, et al. PPARGC1alpha gene DNA methylation variations in human placenta mediate the link between maternal hyperglycemia and leptin levels in newborns. *Clinical epigenetics*. 2016;8:72.
106. Perez-Perez A, Maymo J, Gambino Y, Guadix P, Duenas JL, Varone C, et al. Insulin enhances leptin expression in human trophoblastic cells. *Biology of reproduction*. 2013;89(1):20.
107. Ismail M, Al-Naqeep G, Chan KW. Nigella sativa thymoquinone-rich fraction greatly improves plasma antioxidant capacity and expression of antioxidant genes in hypercholesterolemic rats. *Free radical biology & medicine*. 2010;48(5):664-72.
108. Marini M, Vichi D, Toscano A, Thyriion GD, Bonaccini L, Parretti E, et al. Effect of impaired glucose tolerance during pregnancy on the expression of VEGF receptors in human placenta. *Reproduction, fertility, and development*. 2008;20(7):789-801.
109. Pinter E, Haigh J, Nagy A, Madri JA. Hyperglycemia-induced vasculopathy in the murine conceptus is mediated via reductions of VEGF-A expression and VEGF receptor activation. *The American journal of pathology*. 2001;158(4):1199-206.
110. Jirkovska M, Kubinova L, Janacek J, Moravcova M, Krejci V, Karen P. Topological properties and spatial organization of villous capillaries in normal and diabetic placentas. *Journal of vascular research*. 2002;39(3):268-78.
111. Huynh J, Dawson D, Roberts D, Bentley-Lewis R. A systematic review of placental pathology in maternal diabetes mellitus. *Placenta*. 2015;36(2):101-14.
112. Troncoso F, Acurio J, Herlitz K, Aguayo C, Bertoglia P, Guzman-Gutierrez E, et al. Gestational diabetes mellitus is associated with increased pro-migratory activation of vascular endothelial growth factor receptor 2 and reduced expression of vascular endothelial growth factor receptor 1. *PLoS One*. 2017;12(8):e0182509.
113. Gill JS, Salafia CM, Grebenkov D, Vvedensky DD. Modeling oxygen transport in human placental terminal villi. *Journal of theoretical biology*. 2011;291:33-41.
114. Mayhew TM, Sorensen FB, Klebe JG, Jackson MR. Oxygen diffusive conductance in placentae from control and diabetic women. *Diabetologia*. 1993;36(10):955-60.
115. Plitman Mayo R, Olsthoorn J, Charnock-Jones DS, Burton GJ, Oyen ML. Computational modeling of the structure-function relationship in human placental terminal villi. *Journal of biomechanics*. 2016;49(16):3780-7.
116. Madazli R, Tuten A, Calay Z, Uzun H, Uludag S, Ocak V. The incidence of placental abnormalities, maternal and cord plasma malondialdehyde and vascular endothelial growth factor levels in women with gestational diabetes mellitus and nondiabetic controls. *Gynecologic and obstetric investigation*. 2008;65(4):227-32.

117. Lappas M. Markers of endothelial cell dysfunction are increased in human omental adipose tissue from women with pre-existing maternal obesity and gestational diabetes. *Metabolism: clinical and experimental*. 2014;63(6):860-73.
118. Helske S, Vuorela P, Carpen O, Hornig C, Weich H, Halmesmaki E. Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. *Molecular human reproduction*. 2001;7(2):205-10.
119. Ahmed A, Li XF, Dunk C, Whittle MJ, Rushton DI, Rollason T. Colocalisation of vascular endothelial growth factor and its Flt-1 receptor in human placenta. *Growth factors (Chur, Switzerland)*. 1995;12(3):235-43.
120. Chang SC, Vivian Yang WC. Hyperglycemia induces altered expressions of angiogenesis associated molecules in the trophoblast. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*. 2013;2013:457971.

