

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TİP 1 DİABETES MELLİTUS VE GESTASYONEL DİABETLİ GEBE
PLASENTALARININ NORMAL GEBE PLASENTALARI İLE KARŞILAŞTIRMALI
OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

SÜLEYMAN AKARSU

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Suna Ömeroğlu

ANKARA

2010

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TİP 1 DİABETES MELLİTUS VE GESTASYONEL DİABETLİ GEBE
PLASENTALARININ NORMAL GEBE PLASENTALARI İLE KARŞILAŞTIRMALI
OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

SÜLEYMAN AKARSU

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Suna Ömeroğlu

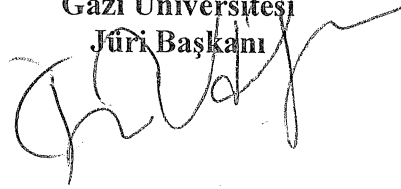
ANKARA
ŞUBAT 2010

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

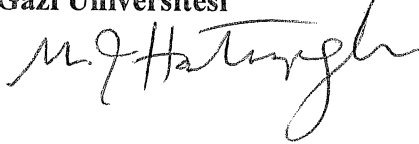
Histoji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 12/02/2010

İmza
Prof.Dr.Deniz Erdoğan
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



İmza
Prof.Dr.Tahir Hatipoğlu
Gazi Üniversitesi



İmza
Prof.Dr.Suna Ömeroğlu
Gazi Üniversitesi



İmza
Prof.Dr.Deniz Erbaş
Gazi Üniversitesi



İmza
Prof.Dr.Meryem Çam
Düzce Üniversitesi



İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Kısaltmalar Dizini	iii
Grafikler Dizini	vi
Tablolar Dizini	vii
Resimler Dizini	viii
Teşekkür	x
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Plasenta	4
2.2. Diabetes Mellitus	42
2.3.Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü	48
2.4. Apoptozis	51
3.GEREÇ ve YÖNTEM	60
3.1. İmmünohistokimyasal Yöntem	60
3.2. Elektron Mikroskopik Yöntem	62
3.3. İstatistiksel Yöntem	65
4. BULGULAR	66
4.1. Çalışma ve Kontrol Grubundaki Hastaların Klinik Bulguları	66
4.2. Işık Mikroskopik Bulgular	67
4.3. Elektron Mikroskopik Bulgular	67
4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular	69
5.TARTIŞMA	88
6.SONUÇLAR	94
7.ÖZET	95
8.SUMMARY	98
9.KAYNAKLAR	100
10.ÖZGEÇMİŞ	111

KISALTMALAR DİZİNİ

AIDS: Akkiz immünyetmezlik sendromu
ANF: Atrial natriüretik faktör
bcl-2 : Apoptozis inhibitörü
BL: Bazal lamina
BMI: Vücut kitle indeksi
CASPASE: Cysteine Aspartate Specific ProteASEs
CHM: Komplet mol hidatiform
CO2: Karbondioksit
CRH: Corticotrophine Releasing Hormone
CSF: Koloni stimule edici faktör
DM: Diabetes mellitus
EGF-R: Epithelyal büyüme faktör reseptörü
eh: Endotel hücresi
EM: Elektron mikroskop
EVT: Ekstravillöz trofoblast
GCSF: Granülosit Koloni Stimule Edici Faktör
GDM : Gestasyonel diabetes mellitus
GER: Granüllü Endoplazmik Retikulum
GMCSF: Granülosit Makrofaj Koloni Stimule Edici Faktör
GnRH: Gonadotrophine Releasing Hormone
HB-EGF: Heparin Binding Epithelial Growth Factory
hCACTH: İnsan koryonik adreno- kortikotropin
hCG: Human Choryonic Gonadotrophine
hCS: İnsan koryonik somatomamotropin
hCT: İnsan koryonik tirotropin
H.E : Hematoksilen eozin
hGHs : Human Growth Hormones
HLA: İnsan lökosit antijeni
hPL: Human Placental Laktogen
IAP: Apoptozis inhibitör proteini
ICE : İnterlökin-1-beta dönüştürücü enzim

IGF-BP: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein

IGF:İnsülin benzeri büyüme faktörü

IL : İnterlökin

INF : İnterferon

IUGR: İntrauterin gelişme geriliği

ka : Kapiller

ko: Kollagen

KV: Kök villus

LIF:Lösemi inhibe edici faktör

MA: Makrofaj

MHC: Major Histocompatibility Complex

ml : Mililitre

mm : Milimetre

mmHg: Milimetre civa

MMP: Matriks Metalloproteinaz Proteini

mRNA : Mesenger Ribonucleic Asid

MV: Mikrovillus

NK hücresi: Doğal öldürücü hücreler

NO:Nitrik oksit

O2: Oksijen

OAT4: Organic anion transporters

OGTT: Oral glukoz tolerans testi

PCO2: Parsiyel karbondioksit basıncı

PO2 :Parsiyel Oksijen basıncı

PHD: Parsiyel mol hidatiform

PRL: Prolaktin

PTHrP: Paratiroid hormon ilişkili protein

RDS: Respiratory Distress Syndrome

SD: Sinsityal düğüm

shç: Sinsityal hücre çelirdeği

SST: Sinsityotrofoblast

SV: Serbest villus

STBM: Sinsityotrofoblast mikropartikülü

TEM: Transmission elektron mikroskop

TGF:Transforming growth factor

TIMP: Metalloproteinaz Doku İnhibitörü

TNF- α :Tümör nekrotizan faktör

TUNEL: Terminal dUTP nick-end labelling

uNK: Uterusun doğal öldürücü hücreleri

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

VEGFR: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü

VPF:Vascular Permeability Factor

VS: Villus stroması

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: VEGF immünreaktivitesinin çalışma ve kontrol grupları arasındaki ilişkisini gösteren grafik	71
Grafik 2: Caspase-9 immünreaktivitesinin çalışma ve kontrol grupları arasındaki ilişkisini gösteren grafik	72

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Desiduada bulunan hücre tipleri	34
Tablo 2 : Hastaların klinik özelliklerini gösteren tablo	67
Tablo 3: Çalışma ve kontrol grupları arasındaki VEGF primer antikorunun immunreaktivitesi skorları	70
Tablo 4: Çalışma ve kontrol grupları arasındaki Caspase-9 primer antikorunun immunreaktivitesi skorları	71

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1:Kontrol grubuna ait plasentanın ışık mikroskopik resmi	75
Resim 2:Tip 1 DM grubuna ait plasentanın ışık mikroskopik resmi	75
Resim 3:Tip 1 DM grubuna ait plasentanın ışık mikroskopik resmi	76
Resim 4:GDM grubuna ait plasentanın ışık mikroskopik resmi	76
Resim 5:GDM grubuna ait plasentanın ışık mikroskopik resmi	77
Resim 6: Kontrol grubuna ait plasentanın yarı-ince kesitinin resmi	77
Resim 7: Kontrol grubuna ait plasentanın EM resmi	78
Resim 8: Kontrol grubuna ait plasentanın büyük büyölmeli EM resmi	79
Resim9,10: Tip 1 DM grubuna ait plasentanın yarı-ince resim kesitleri	80
Resim 11:Tip 1 DM grubuna ait plasentanın EM resmi	81
Resim12A-B: GDM grubuna ait plasentanın yarı-ince kesit resimleri	82
Resim13A: GDM grubuna ait plasentanın EM resmi	83
Resim 13B: GDM grubuna ait plasentanın EM resmi	84
Resim14A-B:Tip1 DM grubuna ait plasentanın VEGF ile yapılan immönohistokimyasal resimleri	85
Resim15A-B: GDM grubuna ait plasentanın VEGF ile yapılan immönohistokimyasal resimleri	85
Resim16A-B: Kontrol grubuna ait plasentanın VEGF ile yapılan immönohistokimyasal resimleri	86

Resim17: GDM grubuna ait plasentanin Caspase-9 ile yapılan immünohistokimyasal resmi	86
Resim18: Tip 1 DM grubuna ait plasentanin Caspase-9 ile yapılan immünohistokimyasal resmi	87
Resim19: Kontrol grubuna ait plasentanin Caspase-9 ile yapılan immünohistokimyasal resmi	87

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması, projelendirilmesi ve sonuçların değerlendirilmesinde önemli katkılarda bulunan danışman hocam Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU'na, gerek tez çalışmalarım gerekse doktora eğitimim boyunca destek ve anlayışlarıyla bana yardımcı olan başta değerli anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN olmak üzere diğer öğretim üyeleri Prof. Dr. Tahir HATİPOĞLU'na, Prof. Dr. Celal ILGAZ'a, Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL'a, Doç. Dr. Gülnur TAKE ve Doç. Dr. Çiğdem ELMAS 'a teşekkür ederim. Tez izleme komitesinde bulunan Prof. Dr. Deniz ERBAŞ' da katkı ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Tezimin laboratuvar aşamasında katkıda bulunan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı asistanlarına ve laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim. Tezimin hazırlanmasında yanımda olan eşim ve oğullarıma sevgilerle....

Dr.Süleyman AKARSU

1.GİRİŞ

Plasenta, gebelik süresince anne ile fötus arasındaki bağlantıyı sağlayarak fizyolojik değişimler geçiren geçici bir organdır. Anneden besin maddeleri, antikörler, koruyucu maddelerin alınması, O₂–CO₂ gaz değişimi, metabolik artıkların ftustan uzaklaştırılması yanı sıra gebelik için gerekli hormonların yapılıp, salgılandığı endokrin bir organ olarak de nitelendirilebilir. Plasenta oluşumu karmaşık bir mekanizmadır, anneye ve fötusa ait tüm faktörler (metabolik, genetik, otoimmün, çevresel v.b) normal bir işleyişde ise sağlıklı bir gebeliğin gerçekleşmesi söz konusu olabilir. Plasenta iki bölümden oluşur. Desidua bazalisten köken alan maternal parça ile, koryon frondozumdan köken alan ftal parça. Fertilizasyonu takiben, 6.5–7. günde gerçekleşen implantasyon sonucu oluşan blastokistin dış kısmını oluşturan trofoblastlar çoğalarak sitotrofoblast ve sinsityotrofoblastları oluştururlar. Sinsityotrofoblastlar plasentanın işlevsel birimi olan villuslar için kök hücre görevini oluştururlar. Koryonik villusların gevşek bağ dokusu içinde ftal dolaşımla bağlantıyı sağlayan kapiller bir aė vardır.

Plasentanın oluşumu yüksek anjiogenik aktivite ve kan damarlarının fötus, plasenta ve uterus içine doğru büyümesi ile karakterizedir. İnsan plasentası bu ereğe yönelik olarak trombosit kökenli endotel hücre büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiopoetin 1 ve anjiopoetin 2 gibi birçok bilinen anjiogenik faktörler üretir.

Diabetes mellitus (DM), karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasını etkileyen ve kronik hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Tip 1 DM, Tip 2 DM, Gestasyonel DM ve bazı özel durumlara eşlik eden Diabetes mellitus olmak üzere etiyolojik

sınıflandırması yapılabilir.¹ Gebelikte fizyolojik insülin direnci, glukoz intoleransı özellikle son trimesterde belirgin hale gelir.

Kontrol altına alınmamış ya da iyi kontrol edilemeyen diabetik gebelerde abortus, septal hipertrofik kardiyomiyopati, preeklampsi, enfeksiyon riskinde artış, organomegali ve Respiratuar distress sendromu (RDS) artışı görülmektedir.² Diabetes mellitusda görülen bu fetal komplikasyonların en olası nedenlerinden biri de plasental hasardır. Erken dönemde utero-plasental kan akımında meydana gelen değişiklikler, villus gelişimini, angiogenezis ve vaskülogenezisi de etkilemektedir.

VEGF vaskülogenezis ve angiogenezisde önemli rol oynar. Literatürde hasarlı plasental oluşumda VEGF düzeyleri tartışılmıştır.

Yunancada bir ağacın yapraklarının ya da çiçeklerinin 'kıvrılması ve sonrada düşmesi' anlamına gelen apoptozis, organizma tarafından düzenlenen enerji bağımlı programlanmış hücre ölümüdür. Doku homeostazının korunmasında kritik bir role sahiptir. Fazladan olan ve disfonksiyonel hücrelerin yok edilmesi için varolan normal bir fonksiyonu temsil etmektedir. Kaspaz adı verilen, intrasellüler proteazların; apoptozisin gerek direkt, gerekse indirekt morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerinden sorumlu olduğu ortaya konulmuştur. Apoptotik programın merkezi bileşeni kaspazlardır. Kaspaz aktivasyonu hücreye özgüdür ve kaspaz inhibitörlerinin (IAP) efektör kaspazları inhibe ederek apoptozisi engellediği gösterilmiştir.

Çalışmamızda diabetes mellitusun fetus üzerine etkisini ve bu etkiyi yaratan faktörleri açığa kavuşturmada katkı sağlayabileceği düşüncesi ile Tip 1 diabetes mellituslu ve gestasyonel diabetli gebe

plasentalarını normal plasentalarla yapısal ve immünhistokimyasal düzeyde karşılaştırmalı olarak incelemeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.PLASENTA

Plasentanın yapısı:

Plasenta geçici bir organ olup, anne ile fötüs arasında fizyolojik değişimlerin gerçekleştiği bölgedir. Fötüs ile anne arasında bağlantıyı sağlayan en önemli yapıdır.³ Sadece insan ve memeli hayvanlarda bulunur.

Anne ile embriyo arasındaki metabolizma olaylarının gerçekleşmesi için gerekli bağlantıyı sağlar. Plasenta, anneden besin maddelerinin alınmasını, embriyonun metabolizma artıklarının geri verilmesini, O₂ ve CO₂'in değiştirilmesini gerçekleştiren ve aynı zamanda gebelik için gerekli hormonları yapıp salgılayan geçici endokrin bir organdır.^{4,5}

Plasenta ortalama olarak 185 mm uzunluğunda, 497 ml hacminde, 23 mm kalınlığında ve 500 gram ağırlığındadır.⁶

Plasentanın ağırlık ve kalınlık gibi özellikleri gebelik haftasına göre değişiklikler gösterir. Son haline 36. haftada ulaşır. Plasenta 10– 38 kadar kotiledondan oluşmuştur.⁶ Kotiledonların sayısı gebelik boyunca sabit kalır. Her kotiledon arteria umbilicalis ve vena umbilicalisin bir dalı tarafından beslenir.

Plasenta fetal ve maternal olmak üzere iki yüzeyden oluşur. Fetal yüzeye koryon frondozum, maternal yüzeyine desidua bazalis denir. Plasentanın fetal yüzü maternal yüze göre düzgün yüzeyli ve soluk renktedir, bu görünümün nedeni amniyon ve koryon zarına bağlıdır.^{6,7,8,9}

İnsan plasentası hemokoryal tip plasentadır. Hemokoryal tip plasenta çeşidinde koryon villusları endometriyumla sıkı ilişki içinde olduğundan dolayı doğumda kanama olur.⁷ Hemokoryal tip plasentada değişim kabaca dairesel bir alanda sınırlanmıştır. Villuslar anne kanı ile temas halindedir. Maternal ve fetal etkileşimin en yoğun olduğu plasenta tipidir.^{10,11}

Plasenta gelişimi:

Erkek ve dişi gamet hücrelerinin birbiriyle birleşip kaynaşması anlamına gelen fertilizasyon tuba uterinaların en geniş kısmı olan ampulla bölgesinde gerçekleşir. Dişi genital üreme kanalları içine giren spermiyumların başlangıçta ovumu fertilize etme yeteneği yoktur. Bunun için spermiyum kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu denilen değişimleri geçirir.

Bu olay sperm hücresinin önce oositin korona radiata'sını ve daha sonra zona pellusida'sını geçmesi sonucunda hücre zarlarının kaynaşmasıyla gerçekleşir. Sperm ve oosit hücre zarlarının kaynaşmasıyla oluşan zigot, bir seri mitotik hücre bölünmesine girer ve bunun sonucunda hücre sayısı hızla artar.¹² Yeni oluşan tek hücreli, 0.1 mm çaplı döllenmiş hücreye zigot adı verilir.

Fertilizasyondan yaklaşık 24–36 saat sonra zigot ilk mitoz bölünmesini gerçekleştirerek iki hücreli blastomer halini alır. Sekiz hücre evresine kadar gevşek bir hücre kümesi halinde olan blastomerler, üçüncü yarıklanmanın ardından birbirleriyle daha sıkı temasa geçerek kompakt bir hücre topu haline gelirler. Kompaksiyon olarak adlandırılan bu süreçle iç hücreler dış hücrelerden ayrılırlar.

Fertilizasyondan yaklaşık 3 gün sonra kompakt haldeki embriyo tekrar bölünerek 16 hücreli dut benzeri morulayı oluştururlar. Morulanın iç hücreleri iç hücre kitlesini (embriyoblast), dış hücreler de dış hücre kitlesini (trofoblast) oluştururlar. Embriyoblastlar embriyoyu ve göbek kordonunu, trofoblastlarda ekstra embriyonik membranları ve plasentayı oluştururlar.

Morula uterusu ulaştığında, uterus boşluğundaki sıvı zona pellusidayı geçerek iç hücre kitlesinin hücrelerarası boşluğuna sızarak toplanmaya başlar. Hücrelerarası boşluk giderek genişler ve birbiriyle birleşerek blastosel denilen yapıyı oluştururlar. Bu dönemdeki embriyoya blastosist denir. Gelişimin 4. gününde gelişen bu evrede 16–64 hücreden oluşan embriyo, serbest bir şekilde uterus boşluğunda bulunur.

Gelişimin 5.günü ve 6.günü başında 128–256 hücreden oluşan blastosistin zona pellusidası dejenere olur ve endometriyuma tutunur (appozisyon) ve çapı 0,2–0,3mm kadardır. Gelişimin 6.günü sonu ile 8.günün başında blastosistin implantasyonu gerçekleşir; blastosistin embriyonik kutbu çoğunlukla, uterus posterior duvarının üst kısmına, midsagital düzlemin yakınlarına implante olur. Blastosist bu evrede 0.3x0.3x0.15mm çapında ve yassı olarak gözlenir.

İmplantasyon blastosistin uterus yüzey epiteline tutunması, bazal laminayı geçmesi ve uterus stromasına tutunması ile gerçekleşir.¹³ Tutunmada uterus epitel hücrelerinin apikal yüzeyindeki pinopot denilen sitoplazmik çıkıntılar işlev görür.

İmplantasyon, blastosistin dış tabakası trofoektodermin uterusun luminal epiteli ile etkileşime girdiği genel bir birlikteliği gerektirir.¹⁰ İmplantasyon, endometriyumun sekresyon fazında iken meydana gelir. Blastosistin uterus endometriyumuna implantasyonu iki aşamada olur.

Önce blastosist endometriyal yüzeyle bir araya gelir. Daha sonra endometriyal stromanın desidualizasyonu sonucu blastosist uterus endometriyumuna implante olur. İmplantasyon bölgesindeki endometriyal damar geçirgenliğindeki artış ve implantasyon için endometriyumdaki şartların sağlanması korpus luteum tarafından salgılanan progesteron ve östrojen arasındaki etkileşimin uyumuna bağlıdır. Zona pellusida'nın blastosistten ayrılmasıyla iç hücre kitlesinin dışındaki trofoblast hücreleri yüzey çıkıntıları oluşturur böylece blastosist uterus epiteline tutunmaya hazır hale gelir.

Luminal epitel hücrelerindeki düzenli mikrovilluslar ovulasyondan yaklaşık 6 gün sonra yerlerini pinopodlara bırakır. Bu pinopodlar insan embriyoları için önemli bir tutunma bölgeleridir.¹⁴ Trofoektodermde yüksek bağlanma kapasitesine sahip heparan sülfat proteoglikan (perselan) bölgesi bulunur. Bu bölgede epidermal büyüme faktörü reseptörleri (EGF-R) yer alır. İmplantasyon öncesinde uterusun bağlayıcı epiteli olan apikal epitelinde bazı değişiklikler olur. Apikal epitel hücrelerinin bazal polaritesi daha sıklıkla hale gelir. Hücreler daha yassılaşır ve mikrovillus sayısı azalır. Bazal membran kalınlığı önemli ölçüde azalır.¹⁵

Uterus luminal epitelindeki pinopodlarda bulunan membran bağımlı heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü (HB-EGF) ile trofoektoderm hücrelerinin apikal yüzeyindeki mikrovilluslardaki EGF-R birleşir. Bu birleşme reseptörün otofosforilasyonunu indükler. Endometriyal lümen hücrelerinin hücreler arası boşluğuna penetrasyonu gerçekleşir. Penetrasyon, endometriyal hücreleri birbirine bağlayan desmozomların sayısının apoptozis ile azalmasıyla kolaylaşır. Primer desidual bölge fibronektin, laminin, entaktin ve tip I, II, III kollagen gibi elemanlardan oluşur. Kemik morfogenetik protein-2 ve -7, fibroblast büyüme faktörü-2, wnt-4 de tanımlanan bazı proteinlerdir. Primer desidualizasyon bölgesi

prostaglandin-2 varlığında matriks metalloproteinaz (MMP) ile embriyoya ev sahipliği yapacak sekonder desidual bölgeye dönüşür.^{14,16}

Desidual stromal hücrelerden salgılanan Dönüştürücü Büyüme Faktörü (Transforming Growth Factor: TGF) metalloproteinaz doku inhibitörünü (TIMP-1) artırır. Bu da trofoblastın penetrasyonunda düzenleyici rol oynar.¹⁷ Desidua embriyonun gelişiminde immünolojik bir koruma sağlar. Endometriyum stromasındaki T lenfositlerin aktivasyonunun inhibisyonu için desidual hücreler tarafından prostaglandin gibi immünosupresifler üretilir. Desidua reaksiyonu adı verilen endometrial değişiklikler, önce implantasyon bölgesi çevresinde başlar ve sonra tüm endometriyumu ilgilendirir.¹⁴ Desidual dokudaki desidual hücreler ve makrofajlar, Granülosit Koloni Stimule Edici Faktör'ün (G-CSF) kaynağıdır. G-CSF trofoblast hücre proliferasyonunu ilerletir, fakat sitokinlerin farklılaşmasına neden olmaz.¹⁸

İmplantasyonda uterus epiteli ve trofoblastlardan salgılanan integrinler, hücre dışı matriks proteinleri, laminin, fibronektin, selektin ve troponin gibi adezyon molekülleri görev alır. Laminin reseptörleri için olanlar trofoblastların uterus duvarına tutunmalarını, fibronektin için olanlar da migrasyonu destekler. Bu moleküller aynı zamanda sinyal iletim yolları ile trofoblastların farklılaşmalarını düzenlerler.

Gelişimin 8.günü sonu ile 12.günü arasında koryon kesesinin çapı, 0.9x0.9x0.6 mm'ye çıkar. Endometriyumun stromasına kısmen gömülmüş olan blastosistin embriyonik kutbundaki trofoblastlar, gelişimin 8. gününde artık iki tabakaya farklılaşmıştır. Mitoz bölünmenin görüldüğü ve tek çekirdekli hücrelerden meydana gelen iç tabaka olan sitotrofoblastlar ile hücre sınırlarının belirgin olmadığı çok çekirdekli hücrelerden oluşan dıştabaka olan sinsityotrofoblastlardır. Sitotrofoblastlar mitoz bölünme yeteneğine sahipken sinsityotrofoblast tabakasında mitoz

bölünme görülmez. Çok çekirdekli hücrelerden oluşan sinsityal dış tabaka, tek çekirdekli hücrelerden oluşan sitotrofoblast hücrelerinin çoğalması ve birbirleriyle kaynaşmasından meydana gelir.

İmplantasyon kutbundaki sinsityotrofoblastlarda vakuoller oluşmaya başlar. Bu vakuoller, lakunaların öncülüdür. İlk lakuna implantasyonun kutbunda oluşur. Lakuner sistem endometriyal kapillerlerle temasa geçer. Lakunalarda maternal eritrositlere rastlanmaya başlar. Bu evre Lakunar evre olarak da adlandırılır.

Ekstraembriyonik mezenşimin gelişip sitotrofoblastların alt yüzünü kaplamasıyla mezenşim, sitotrofoblast ve sinsityotrofoblastlardan ise primer koryonik plak gelişir. Gelişimin 11.gününde implantasyon tamamlanır. 12.gün civarında implantasyon bölgesinde, endometriyal epiteldeki defekt kan pıhtısı ile kapanır ve üzeri epitelle örtülür. İmplantasyon bölgesinde endometriyum kalınlığı 0,5mm kadardır, bu desidualizasyonun işaretidir. Bu evreye kadar olan süre boyunca embriyo, previllöz embriyo olarak adlandırılır.¹⁹

Gelecekteki primitif çizginin en kaudal ucundan gelişen ekstraembriyonik mezoderm trofoblast duvarının iç yüzüne doğru yayılır. Trofoblast ile ekstraembriyonik mezodermin bu birliktelikleri koryon plağı olarak adlandırılır. Embriyo ve bağlantı sapı ile asılı olan amniyotik ve vitellüs kesesi içerisinde koryon, koryonik kesenin duvarını oluşturur. Ekstraembriyonik çöлом boşluğu koryonik kavite olarak adlandırılır. Amniyotik kese ile vitellus kesesi yan yana duran iki balona benzer. Koryon kesesi ise her iki keseyi dışarıdan saran daha büyük bir balon gibidir.^{10,20}

Lakünaların oluşumu ile trofoblastik manto 3 tabakaya ayrılır:

- 1– Embriyoya bakan primer koryonik plak.
- 2– Trabeküller ile birlikte laküner sistem.
- 3– Endometriuma dayanan trofoblastik kabuk.^{10,20}

Lakunalar olgun plasenta yapısında yer alan intervillöz boşluğun öncülleridir. Primer koryonik plak koryonik plağa, trofoblastik kabuk ise bazal plağa dönüşmüştür. Olgun bir plasentada bu yapılar dallanan villuslar ile temas halindedir.^{7,10,11,20}

Sinsityotrofoblast hücreleri stromanın derinliklerine doğru ilerleyerek anneye ait kapiller damarların endotellerini aşındırmaya başlarlar. İçi kan dolu geniş lümenli kapiller damarlara sinüzoid adı verilir. Daha sonra sinsityal lakunalar sinüzoidlerle birleşir ve böylece anne kanı lakunar sistem içinde dolaşmaya başlar. Trofoblastların daha çok sinüzoidin duvarını aşındırmasıyla maternal kan dolaşımı trofoblastik doku içinden geçmeye başlar ve uteroplental dolaşım kurulmuş olur. Bu süreçler de arterlerin media tabakası hasarlanır ve endotel örtüsü trofoblastlarla yer değiştirir.^{7,10,11,12,20}

Gelişimin 13. ve 14. günlerinde ilk serbest primer villuslar oluşur. Trabekülaların sitotrofoblastik merkezindeki proliferasyonun uzamalarına yol açar. 13. gün civarında trabekülalar tamamen trofoblastlardan oluşan yan dallar vererek lakünalar içine doğru uzanırlar. Bu yapılar primer villus olarak adlandırılırlar. Lakünalar da primer villus oluşumundan sonra intervillöz aralık olarak adlandırılır. Sitotrofoblastların mitozla çoğalmaları ve sinsityotrofoblastların içine penetrasyonu sonucu primer villuslar oluşmaya başlar. Ekstraembriyonik mezoderm içinde boşluklar oluşmaya başlar ve bu boşlukların birleşmesiyle koryon boşluğu

oluşur. Bağlantı sapından meydana gelen umbilikal kordon ekstraembriyonik mezodermin koryon boşluğunu katettiği bölgedir.

Gelişimin 15–18. günlerinde sekonder villuslar oluşur. Koryon plağındaki ekstraembriyonik mezoderm, implantasyon kutbundan başlayarak tüm çevre boyunca devam ederek implantasyon bölgesinin karşı kutbuna kadar villusları invaze eder, böylece sekonder villuslar oluşur.

Gelişimin 19–23. günlerinde, sekonder (mezanşimal) villuslarda ilk fütal kapillerler ortaya çıkar ve böylelikle ilk tersiyer villuslar oluşur. Mezoderm içinde hemanjiyoblastik ana hücreler farklanır ve gelişimin 18–20. günleri arasında ilk fetal kan kapilleri ortaya çıkar. Damarlanma ile birlikte tersiyer villus yapısı belirir. Yeni villusların oluşumu gebelik boyunca devam eder. Primer ve sekonder villus yapıları geçici yapılardır. Tersiyer villuslar ise kalıcıdır ve daha sonra plasental doku demetlerini oluşturmak üzere biraraya gelirler. Tersiyer villuslar fonksiyonel plasenta villuslarıdır. Bunlara kalıcı ya da olgun plasental villuslar adı verilir.^{7, 10, 20}

Tersiyer villusların içindeki kapillerler, daha sonra koryon plağı ve bağlantı sapı mezoderminden gelişen kapillerlerle ilişki kurarlar. Bu damarların embriyo içi dolaşım sistemiyle ağızlanmasıyla plasenta ve embriyo birbirine bağlanmış olur. Böylece gelişimin 4. haftasında kalp atımları başladığında, villöz sistem embriyonun gereksinimi olan besleyici maddeleri ve oksijeni sağlamaya hazır durumdadır.¹²

Gelişimin 23–29. günleri arası, erken tersiyer villus aşaması olarak bilinir. Gelişimin 26–29.günleri arasında koryon plağı ve trofoblast kılıfı arasındaki, kök villus öncülleri implantasyon bölgesinin karşı kutbunda 1mm, implantasyon kutbunda 2 mm kadardır. Bu kök villus

öncüllerinin merkeze yakın 2/3'luk kısmında mezanşim ve fetal kapillerler bulunur (sekonder ve tersiyer villus aşaması); periferik 1/3'luk kısım ise primer villus aşamasındadır. Bu kök villus öncüllerinde, büyük çaplı damarlarda tunika adventisya oluşmaya başlar; bu tipik kök villusların oluşmaya başladığının göstergesidir. Villus trofoblast yüzeyi, dış sinsityotrofoblast ve bütün haldeki iç sitotrofoblast tabakasından oluşur; bu iki tabaka birden, 20–30 µm kalınlıktadır.

Gelişimin 29–42. günlerinde koryon kesesinin ağırlığı 6–10gr kadardır, implantasyon kutbunda koryonun kalınlığı 6 mm, implantasyon bölgesinin karşı kutbunda koryonun kalınlığı 3 mm kadardır. Bu günlerde uterus lümeni hala mevcuttur, tümüyle dolmamıştır ve villus çapları artmaya başlar. En büyük kök villuslar, 400 µm kadar bir çapa ulaşır. 200 µm çaplı kök villuslar ve mezanşimal villuslar mevcuttur. Total plasenta villus yüzeyi 0,08 m² kadardır. Koryon plağının bağ doku tabakası bütünüyle fibrozise uğramıştır. Villus stromasının büyük kısmı halen mezanşimal villus yapısındadır. Villus sitotrofoblast tabakası bütünlüğünü kaybeder, villus yüzeyinin %85 kadarında hem sitotrofoblast hem sinsityotrofoblast bulunur. Villus trofoblast kalınlığı, 10–30 µm (ortalama 15,4 µm) kadardır. Bu devrenin sonunda pek çok mezanşimal villusta makrofaj sayısı artmaya başlar, ayrıca bu mezanşimal villusların stromalarında retikuler değişim başlar. Bu süreç, intermediyer villus yapısına doğrudur. Villus hacminin %2,7 kadarı, fetal vasküler lümenler tarafından kaplanmıştır. Ortalama maternofetal difüzyon aralığı, 50µm'den fazladır. Kök villus öncülleri, neredeyse tamamen bağ dokusu ile kaplanmıştır. Bazal segmentler primer villus aşamasında kalırlar. Bu segmentler hücre sütunları şeklinde görülürler. Villus yan dallarının kısa bölümleri, primer villus aşamasında kalırlar ve bazal plak ile koryon plağı arasında bulunurlar. Bunların boyutları hücre proliferasyonu ile artabilir ve bunu fibrinoid dejenerasyon izleyebilir. Böylelikle ilk hücre adacıkları oluşur.²¹

Gelişimin üçüncü ayında, koryon kesesinin yüzeyi villuslarla kaplıdır, henüz düz koryon ve villöz koryon olarak ayrılmamıştır. Bütün villuslarda fetal damarlar oluşmuştur. İmplantasyon kutbunun karşı kutbunda villuslarda dejeneratif değişikliklerin olması ve intervilloz boşlukta fibrinoid depolanması, düz koryon oluşumunun başlayacağını gösterir.

Üçüncü ayda villusların çapı ve villus yapılarının heterojenitesi artar. Kök villus öncüllerinin fibrozisi, 500 µm çaplı geniş villusların periferik kısımlarına doğru ilerler. 100 ila 400 µm çaplı villusların çoğu, 3.ayda, immatür intermediyer villusların retiküler görünümünü kazanır. Bu villusların stromasında çok sayıda Hofbauer hücresi bulunur. 100 µm'den küçük villuslarda mezanşimal stroma görülür. Çok sayıda trofoblast ve villus tomurcuğu görülür. Toplam villus yüzeyi 0,3 m² kadardır. Villus yüzeyinin %8 kadarı sitotrofoblastlarca örtülüdür. Fetal kan damarları, villus yüzeyinin %8 kadarını kaplar. Bazı geniş fetal damarlarda tunika adventisya gelişir, bu adventisyada fibröz stroma bulunur. Önceki günlerde, hücre adalarında ve bazal plakta görülmeye başlayan fibrinoid, bu günlerde bazı villus yüzeylerinde de görülmeye başlar. Amniyon boşluğu genişler.²¹

Gelişimin dördüncü ayında, koryon kesesinin şekli giderek daha düzensiz hale gelir, zira koryon kesesi uterus duvarı ile fetus arasında sıkışmaktadır. Koryon kesesinin maksimum çapı 68 mm'den 80–90 mm'ye çıkar. Bu büyümeyle implantasyon kutbunun karşı kutbunda, desidua kapsülaris ile ilişkili villuslar basınca maruz kalırlar, kan dolaşimleri bozulur ve böylece plasenta villuslarının sürekli dejenere olmasıyla 4. ayda artık implantasyon kutbunun karşı kutbunda villus kalmaz. Böylelikle koryon kesesi, düz koryon ve villöz koryon olmak üzere iki kısma ayrılır.

Dördüncü ayın başında plasenta iki parçadan meydana gelmiştir:

- 1) Koryon frondosum tarafından oluşturulan fetal parça,
- 2) Desidua basalis tarafından oluşan maternal parça.

Plasenta, fetal tarafta koryon plağı, maternal tarafta ise desidua basalis tarafından oluşan desidual plak ile sınırlanmıştır. Bu ikisinin birleşme yerinde trofoblast ve desidual hücreler birbirlerine karışmış durumdadırlar. Desidual plak plasentaya en yakın olan yapıdır. Koryonik ve desidual plakların arasındaki intervillöz boşluklar anne kanıyla doludur. Plasenta çapı, dördüncü ayın sonunda 50 mm'den 75 mm'ye ulaşır. Plasenta ağırlığı 30 gr'dan 70 gr'a ulaşır. Plasenta kalınlığı bu aylarda doğan örneklerde 10–12 mm olarak saptanmıştır. Dördüncü ayda çok sayıda plasental septa ortaya çıkar. Hücre sütunları, çevrelerindeki fibrinoid birikimi aracılığıyla bazal plak ile iyice birleşirler. Koryon plağı tüm yüzeyi boyunca amniyon ile yakından ilişki halindedir. Bu evrede iki tip villus tipi egemendir; çapları 300–500 µm kadar olan, tunika adventisya tabakası villus stromasının en az %75'ini oluşturan kök villuslar ve çapları 100–300 µm kadar olan immatür intermediyer villuslar. Mezanşimal villuslar 40–80 µm çapındadır, total villus hacminin küçük bir kısmını kaplarlar. İmmatür intermediyer villuslar, bu evrede karakteristik retiküler stromaya sahiptirler ve çokca bulunurlar, bu nedenle bu aşamada yoğun oranda Hofbauer hücresi görülür. Total villus yüzeyi, 0,5–0,6 m² kadardır. Fetal damarların lümenlerinin oranı %6'ya kadar artar. Bazı fetal kapillerler, trofoblastlarla temas kurarlar.^{12,21}

Dört ve beşinci aylarda desidua içinde ortaya çıkan desidual septumlar intervillöz boşlukların içine doğru büyürler ama koryon plağına kadar uzanmazlar. Septumların içte kalan temel iskeleti maternal dokudan oluşmuştur. Ancak dış yüzeyleri sinsityotrofoblastlarla örtülüdür. Böylece intervillöz kan gölcüklerinde bulunan anne kanı ile villusların fetal dokusu

arasında ayırıcı bir sinsityum tabakası bulunur. Septumların oluşmasıyla plasenta kotiledon denilen bölmelere ayrılmıştır. Desidual septumların koryon plağına kadar uzanamaması nedeniyle komşu kotiledonlar içinde bulunan intervillöz boşluklar birbiriyle olan ilişkilerini sürdürme olanağı bulurlar.¹²

Gelişimin beşinci ayında ve sonrasında, villöz koryon düz koryondan net bir biçimde ayrılır. Plasenta çapı, 75–100 mm kadardır. Plasentanın ağırlığı 70 gr'dan 120 gr'a yükselir. Plasenta kalınlığı, bu dönemde doğan örneklerde 12–15mm kadardır. Ultrasonografi ile yapılan ölçümlerde, uterus duvarı ile birlikte plasenta kalınlığı yaklaşık 28mm kadardır. Kök villusların yapısı, 4. aydakine benzer ancak kök villusların sayısı önemli oranda artar.²¹

Gelişimin 20. haftasında 300 µm'den daha büyük çaplı villusların çoğunda kök villuslarda görülen fibröz stroma ortaya çıkmıştır. 80–100 µm çaplı uzun mezanşimal villusların sayısı artar. Total villus yüzeyi 1,5 m² kadardır. Villus yüzeyindeki sitotrofoblast miktarı %60'a iner. Fötal kapillerlerin sürekli gelişimi ile maternofötal difüzyon aralığı 22 µm'ye iner. Hücre topluluklarından oluşan hücre adaları ve septalar, fibrinoid apozisyonu nedeniyle önemli ölçüde büyür. Bunların merkezlerinde sıklıkla kistlere rastlanır.²¹

Gelişimin altıncı ayında, plasentanın çapı 100–125 mm, plasentanın ağırlığı 120–190 gr kadardır. Plasenta kalınlığı bu dönemde doğan örneklerde, 15–18 mm kadardır, ultrasonografi ölçümlerinde uterus duvarıyla birlikte bu kalınlık 34 mm kadardır. Bu dönemde plasentanın histolojik özellikleri önemli ölçüde değişir. Birçok immatür intermediyer villus, büyük çaplı kök villuslara dönüşür. Kök villusların çoğu yaklaşık 200 µm kalınlığındadır, bazıları 1000 µm'den daha büyük bir çapa ulaşırlar. Kök villusların stroması, küçük, yüzeysel ve retiküler bağ doku halkası

içerir. Bu halka kök villusların yeni oluştuğunu gösterir. Daha önceki günlerden farklı olarak, artan sayıda yeni oluşan intermediyer villusların çapı küçüktür, 100–150 µm kadardır. Bu villusların bazılarının stroma yapısı kendilerini oluşturan villuslar gibi retikülerdir. Bazıları ise damardan fakir, fibröz dokudan fakir, retiküler olmayan stroması bulunan, silindir şeklinde 80–120 µm çaplı matür intermediyer villuslardır. Bu matür intermediyer villusların yüzeyinde ilk kapillerden zengin terminal villuslar oluşur. Bu villusları, küçük mezanşimal villuslardan ve villöz tomurcuklardan ayırt etmek güçtür. Bu dönemde toplam villus yüzeyi 2,8 m² kadardır. Ortalama maternofötal difüzyon aralığı 22 µm kadardır.²¹

Gelişimin yedinci ayında, gelişimin altıncı ayıyla karşılaştırıldığında, ancak niceliksel değişiklikler olduğu görülür. Plasentanın ağırlığı 190 gr'dan 260 gr'a çıkar. Bu dönemde doğan olgu örneklerinde plasenta 18–20 mm kalınlığındadır. Ultrasonografide plasenta kalınlığı, uterus duvarı ile birlikte 38 mm kadardır. Toplam villus yüzeyi 4 m²'yi geçer. Villusların yapı ve çaplarının dağılımı, gelişimin altıncı ayındakine benzerdir. Villus yüzeyinin ancak %45 kadarı sitotroblastlarca kaplanmıştır. Trofoblast kalınlığı 0,5–0,8 µm kadardır. İmmatür intermediyer villusların sayısı, kök villuslar, matür intermediyer villuslar ve terminal villuslar lehine azalır. Fötal damarların lümenleri, villus hacminin %9,1 kadarını oluşturur. Hücre sütunları artan miktarda fibrinoid ile çevrelenmiştir ve hücre sütunları bazal plağa iyice gömülürler. Koryon plağının sinsityotroblast kılıfı dejenere olmaya başlar, bu kılıfın yerini ince bir fibrinoid tabaka alır. Bu fibrinoid tabaka ilerleyen haftalarda giderek kalınlaşır ve Langhans striasını oluşturur.²¹

Gelişimin sekizinci ayında plasentanın çapı 150 ile 170 mm kadardır. Plasentanın ağırlığı 260 gr'dan 320 gr'a ulaşır. Bu dönemde doğan örneklerde plasenta kalınlığı 20–22 mm kadardır, ultrasonografi ile ölçüldüğünde uterus duvarı ile birlikte bu kalınlık 43 mm kadardır.

Gelişimin sekizinci ayında, histolojik kesitlerde milimetrekare başına villusların enine kesit sayısı oldukça artar; bunun nedeni matür intermediyer villusların ve terminal villusların sayısının oldukça artmasıdır. Toplam villus yüzeyi 7 m² kadardır. Villusların çoğunu, küçük çaplı villuslar oluşturur, ayrıca daha büyük çaplı kök villuslar bulunur. Bu dönemde villus sitotrofoblastları, villus yüzeyinin %35 kadarını oluşturur.²¹

Gelişimin dokuzuncu ayında, plasentanın çapı 170–200 mm kadardır. Plasentanın ağırlığı 320–400 gr kadardır. Bu dönemde doğan örneklerde plasenta kalınlığı 22–24 mm kadardır. Ultrasonografiyle ölçüldüğünde uterus duvarı ile birlikte plasenta kalınlığı 45 mm kadardır. Plasentanın toplam villus yüzeyi 10 m²'ye kadar yükselir. Kılcal damarların gelişmesi ve sürekli olarak sinüzoidal dilatasyona uğraması, ortalama maternofötal difüzyon aralığını 12 µm'ye kadar indirir. Sitotrofoblastlar villus yüzeyinin %25 kadarında bulunur. En büyük kök villuslar 500–1500 µm çapa ulaşırlar. Retiküler bağ dokusundan oluşan ve kök villusların yeni gelişmiş olduğuna işaret eden stromal halka ortadan kalkar ve kök villusların merkezini fibröz bir stroma kaplar. Kök villusların bazı kısımlarında sinsityotrofoblastların yerini fibrinoid alır. Villusların çoğu matür intermediyer villuslar ve terminal villuslardır. Villus ağacının merkezi kısımlarında, 100–200 µm çaplı küçük immatür intermediyer villuslar saptanabilir; bu durum plasenta gelişiminin halen aktif olduğunun göstergesidir.²¹

Gelişimin onuncu ayında, plasentanın çapı 200–220 mm kadardır. Plasentanın ağırlığı ortalama 400 gr'dan 470 gr'a çıkar. Ancak plasenta ağırlığında, çok miktarda bireysel değişiklikler bulunmaktadır. Postpartum nihai plasenta kalınlığı en fazla 25 mm kadardır. Ultrasonografi ile ölçüldüğünde uterus duvarı ile birlikte bu kalınlık 45 mm kadardır. Onuncu ayda villus tiplerinin türü ve miktarı, önceki günlerden birkaç yönden farklıdır. Bu günlerde terminal villus miktarı oldukça artar,

plasentanın toplam villus hacminin %40 kadarını terminal villuslar oluşturur. Bu terminal villuslarda, fetal kapillerler enine kesitte maksimum 40 µm'ye kadar sinüzoidal dilatasyon gösterir. İyi korunmuş ve erken zamanda fikse edilmiş plasentalarda fetal damar kollapsı gözlenmez. Villusların %20 kadarı kök villuslardır. Tam olarak olgunlaşmış plasentada kök villusların sinsityotrofoblast kılıfı çoğu yerde dejenere olmuştur ve sıklıkla fibrinoid ile yer değiştirmiştir. Villus hacminin %30–40 kadarı, matür intermediyer villuslardan oluşur. Histolojik olarak matür intermediyer villuslar, terminal villuslardan, fetal kapiller miktarlarının daha az olmasıyla; kök villuslardan ise büyük kan damarlarının olmaması ve damarlarında tunika adventisiya tabakasının gözlenmemesiyle ayırt edilirler. Onuncu ayda, toplam villus hacminin ancak %10 kadarı immatür intermediyer villus tipindedir. Bu dönemde ortalama maternofetal difüzyon aralığı 5 µm'den daha azdır. Villus yüzeylerinin ancak %20 kadarı hem sitotrofoblast hem de sinsityotrofoblast içerir. %80 kadarı ise kalınlığı oldukça değişen bir sinsityum ile kaplıdır. Sitotrofoblastların hücre gövdeleri incelmış olabilir. Toplam plaseenta villus hacminin en fazla %10'u kadar fibrinoid saptanabilir; %10'u geçen miktarlar bir patolojinin işareti olabilir.²¹

Plasental Villusların Yapısı

Plasentadaki bütün villusların temel yapısı aynı olup altı bileşenden oluşur:

- A)– Sinsityotrofoblast
- B)– Sitotrofoblast (Langhans) hücreleri
- C)– Trofoblast bazal membranı
- D)– Mezanşimal villus stroması
- E)– Fetal damarlar
- F)– Fibrinoid materyal

A–Sinsityotrofoblast

Sinsityotrofoblast her bir plasentada bir tane bulunan tek bir devamlı yapıdır. Sinsityotrofoblast içinde hücre membranı kalıntılarına rastlanabilir, bunlara intrasinsityal membranlar adı verilir. Sinsityotrofoblastın apikal fırçamsı kenarlı membranı ve bazal plazma membranı bulunur ve bu iki membranın arasında önemli farklar mevcuttur. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalar, termde, sinsityotrofoblastın apikal yüzünün yaklaşık 1milyar/cm² yoğunluğunda mikrovilluslarla kaplı olduğunu ortaya çıkarmıştır.²² Sinsityotrofoblastın şeklini korumasında sinsityum hücre iskeleti önemli rol oynar. Aktin, tubulin, sitokeratin ve desmoplakin, sinsityum hücre iskeletinin önemli bileşenlerindendir.

Dempsey ve Zergollern 1969'da ve Dempsey ve Luse 1971'de yayınladıkları çalışmalarında sinsityotrofoblastı üç zonda incelemişlerdir.

1.Dış Zon: Emilim ile ilişkili zondur. Vezikül alım sürecinde görevli organelleri ve sinsityum hücre iskeletinin büyük kısmını içerir.

2.Orta Zon: Sekresyon ile ilgili zondur, organellerin büyük kısmı bu zonda bulunur.

3.Bazal Zon: Organelden fakir bir zondur.

Sinsityotrofoblast ayrıca, Granüllü Endoplazma Retikulumundan (GER) Zengin Sinsityotrofoblast ve Granülsüz Endoplazma Retikulumundan Zengin Sinsityotrofoblast olmak üzere de ikiye ayrılır. GER'den zengin sinsityotrofoblastda, insan koryonik gonadotropini (hCG), insan büyüme hormonları (hGHs), leptin, eritropoietin, kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH), paratiroid hormon ilişkili protein (PTHrP) gibi peptid ve protein yapıda hormonlar sentezlenirken, düz yüzlü endoplazma retikulumundan zengin sinsityotrofoblastda ise steroid yapıda maddeler sentezlenir.

Plasenta villuslarında, f3tal kapillerlerin villus y3zeyine doğru çıkıntı yaptıkları b3lgelerde, sinsityum, çekirdekten yoksun ince lamellere, vask3losinsityal membrana d3n3ş3r. Vaskulosinsityal membran ilk olarak 1916'da Bremer tarafından tanımlanmış, 1960 yılında yayınlanan bir çalışmada Amstutz tarafından ayrıntılı olarak incelenmiştir. İki komşu villusu birbirine bağlayan yapılara ise sinsityal k3pr3ler adı verilir.

B–Vill3z Sitotrofoblastlar (Langhans H3creleri)

Langhans h3cre tabakası erken gebelikte bir b3t3nl3k g3steren neredeyse kesintisiz bir tabakadır; gebelik ilerledikçe kesintili hale gelir. Langhans h3crelerinin sayısı aslında gebelik ilerledikçe toplamda artar ancak sinsityotrofoblast çekirdeklerindeki artışla kıyaslandığında oranları giderek azalır.

Sitotrofoblastların 3nemli bir kısmı farklanmamış proliferasyon g3steren k3k h3crelerdir; bu t3r sitotrofoblastların b3y3k 3kromatik çekirdekleri ve az sayıda organelleri bulunur. Sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi kompleksi, birkaç mitokondriyon, genişlemiş gran3ll3 endoplazmik retikulum ve çok sayıda ribozom bulunur. Sitotrofoblastların k33k bir kısmı ise ileri derecede farklanmış aşamadadır. Bu h3crelerde bol miktarda ribozom, GER ve mitokondriyon bulunur. Bu h3creler giderek sinsityotrofoblasta benzerler. Farklanmamış sitotrofoblastlar, proliferere olup farklanarak sinsityal f3zyon d3ng3s3 adı verilen bir s3rele sinsityotrofoblasta katılırlar.²³

Sitotrofoblastların, insan koriyonik gonadotropini (hCG), insan plasental laktojen (hPL), somatostatin, kortikotropin salgılatıcı fakt3r (CRF), gonadotropin salgılatıcı fakt3r (GnRH), n3ropeptid Y ve inhibin sentezleyip salgıladıkları saptanmıştır.

Sinsityal füzyondan sonra, sitotrofoblastlarda transkripsiyon down–regüle olur; bu nedenle sinsityotrofoblast çekirdekleri sınırlı yaşam ömrüne sahiptir. Bu down–regulasyondan, apopitoz inhibitorü bcl–2, proteaz kaspaz 8 ve anyon taşıyıcı OAT4 genlerinin sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Sinsityal füzyon, sinsityumda sentezlenmeyen RNA gibi bazı gerekli maddelerin, sitotrofoblasttan sinsityuma geçmesinde de önemlidir. Bu füzyon yoluyla yenilenme süreci, sinsityotrofoblastın işlevsel olarak kalabilmesi için gereklidir.²³

Sinsityal füzyon sürecinde, öncelikle apopitozisin başlangıç aşamaları, sitotrofoblastı hücre döngüsünden çıkararak farklanma yoluna koyar. Bu sırada sitotrofoblast membranındaki fosfolipidler yer değiştirir. Ardından apopitozis inhibitörleri, apopitozisin ilerleyişini durdurur. Bu sürecin 4 hafta kadar sürdüğü düşünülmektedir. Bu 4 hafta boyunca, sinsityotrofoblasta dönüşen hücre, metabolik görevlerini yerine getirir. Görevini tamamlayan hücreler, zamanı geldikçe apopitozis düğümleri halinde intervilloz boşluğa dökülürler.

Sinsityal füzyonun oluşumunda trofoblastlar arasındaki oluklu bağlantılarında rol oynadığı saptanmıştır. Sinsityotrofoblasttaki ilerleyici apopitoz süreçleri ve bazı dejeneratif süreçler de altta bulunan sitotrofoblastın farklanarak sinsityal füzyon sürecine girmesini indükler.

C–Trofoblast Bazal Membranı

Trofoblast bazal membranı, trofoblastların epitelyum tabakasını villus stromasından ayırır. Trofoblast bazal membranı yer, yer sitotrofoblastlarla, yer, yer sinsityotrofoblastlarla temas halindedir. Kalınlığı

20–50 nanometre kadardır. Yapısında kollagen tip IV, laminin, heparan sülfat ve fibronektin saptanmıştır. Fibronektin çeşitli kollajen lifler ve proteoglikanlar için bağlanma bölgelerine sahiptir. Fibronektinin bazal laminayı bağ doku liflerine bağladığı düşünülmektedir. Trofoblast bazal membranı, maternal ve fetal dolaşım arasındaki filtrasyon bariyerinin yapısına da katılmaktadır.

D– Mezanşimal Villus Stroması

Gebeliğin ikinci ayının sonlarına kadar villus bağ dokusunda en çok bulunan hücre tipi mezanşimal hücrelerdir. Bu hücrelere, vimentin eksprese ettikleri için V hücreleri de denmektedir. V hücreleri, 10–20 µm uzunluğunda, 3–4 µm genişliğinde, iğ biçiminde sitoplazma miktarları az olan hücrelerdir. Birkaç ince uzantı aracılığıyla birbirlerine bağlanmışlardır. Poliribozomlar, V hücrelerinde en çok bulunan organellerdir. Plasenta villuslarında ayrıca, V hücrelerinin desmin de eksprese etmeye başlamalarıyla bu hücrelerden farklı olan VD Hücreleri bulunur. VD hücreleri, retikülüm hücreleri olarak da adlandırılır. VD hücreleri, gebeliğin üçüncü ayından itibaren farklılaşmaya başlayarak α-sm aktin eksprese etmeye başlarlar. Bu yeni hücrelere VDA Hücreleri adı verilir. VDA hücreleri farklılaşarak 30–100 µm uzunluğunda, 5–8 µm genişliğinde, granüllü endoplazmik retikulumdan zengin, bazal lamina ile çevrelenmiş hücrelere dönüşürler; bu hücreler vimentin, desmin ve α-sm aktin yanı sıra, γ-sm aktin de eksprese etmeye başlarlar. Bu hücreler, VDAG Hücreleri olarak adlandırılır. VDAG hücreleri, sm–myozin de eksprese etmeye başlayarak VDAGM Hücrelerini oluştururlar. VDAGM hücrelerine miyofibroblast da denir.

Villus stromasının matriks bileşenleri arasında kollagen tip 1, tip 3, tip 4, tip 6, fibronektin, tenaskin, fibrillin 1, trombospondin 1, laminin, heparan sülfat ve hyalüronanın varlığı saptanmıştır.

Plasenta villuslarındaki makrofajlar, bu hücreleri 1903 ve 1905 yılında yayınladığı çalışmalarında kapsamlı bir şekilde tanımlayan bilim adamının ismine itafen Hofbauer Hücreleri olarak da bilinirler. Hofbauer hücreleri, 10–30 µm çapında, uzantılı, yuvarlak ya da iğ biçimli hücrelerdir. Hofbauer hücreleri çok sayıda vakuol içerirler ve granüllü sitoplazmaları vardır. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda bu hücrelerde, değişik büyüklükte, membranla çevrili çok sayıda elektron geçirgen vakuoller bulunduğu ve bu vakuollerin değişik yoğunluklarda amorf madde içerdikleri gösterilmiştir. Yine EM çalışmalarında olasılıkla lizozomların oluşturduğu yoğun granülleri saptanmıştır.

Hofbauer hücrelerinin yapılan çalışmalarda üç tipi tanımlanmıştır:

1–Vakuollü Hofbauer Hücreleri; bunların sayısı gebeliğin ilk yarısında daha fazladır, bunlar sitoplazmalarında çok sayıda vakuol içerirler.

2–Granüllü Hofbauer Hücreleri; sitoplazmaları granüler olan bu hücreler gebeliğin ikinci yarısında daha fazla bulunurlar.

3–Vakuolü ve Granülü Olmayan Hofbauer Hücreleri

Hofbauer hücreleri, fagositoz yapabilen hücrelerdir; gerektiğinde villus stromasındaki bazı proteinleri ortadan kaldırabilirler. Bağışıklık sisteminde rolleri olduğu düşünülmektedir. Villus gelişiminin kontrolünde görev aldıkları düşünülmektedir. Salgıladıkları çeşitli sitokinlerle anjiyogenezde etkili oldukları, trofoblast apoptozu ve sinsityal füzyonun düzenlenmesinde rol oynadıkları düşünülmektedir.

Boyd ve Hamilton, 1970’de yayınladıkları çalışmalarında, plasenta villuslarında Hofbauer hücrelerinin gebelik boyunca ilk olarak

gelişimin 18. gününe yakın gözlemlendiğini saptamışlardır.²¹ Villus stromasında ayrıca mast hücreleri ve plazma hücreleri de saptanabilir.

E– Fötal Damarlar

İnsan plasenta villuslarındaki kapillerlerin endotel hücreleri arasında çok miktarda zonula okludens türü tıkaçıcı bağlantılar bulunur. Bu bağlantılar parasellüler geçişi kontrol altında tutarlar. Fötoplasental damar sisteminde, sinir dokusu saptanamamıştır. Fötoplasental damarların vazomotor kontrolünde, nitrik oksit (NO) önemli görev üstlenmektedir. Nitrik oksitin yanı sıra, atrial natriüretik peptid (ANF), kalsitonin geni ilişkili peptid ve endotelin-1'in de fötoplasental damarların tonusunun düzenlenmesinde görev aldığı düşünülmektedir.²¹

F– Fibrinoid Materyal

Fibrinoid, plasentada bulunan asellüler, eozinofili gösteren, homojen bir maddedir. Normal plasentada, intervillöz boşluklarda ve villus ağacında belli bir oranı aşmamak kaydıyla bulunabilir. Fibrinoid miktarının artması patolojiktir. Fibrinoid, perivillöz fibrinoid ve intravillöz fibrinoid olarak iki grupta incelenir. Bu iki tür fibrinoidin bileşimlerinin birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir.

Perivillöz fibrinoid materyal lameller yapıda olup immünohistokimyasal olarak, yüzeyel tabakası, fibrin-tip fibrinoid yapısındadır ve bir kan pıhtısı ürünüdür. Perivillöz fibrin-tip fibrinoidi, matriks tip fibrinoid ile devam edebilir.

İntravillöz fibrinoid ilk olarak 1968'de, Fox tarafından tanımlanmıştır. Fox, subtrofoblast alanında ortaya çıkıp tüm villus stromasını kaplayan fibrinoidi, intravillöz fibrinoid olarak tanımlamıştır.

Fox'a göre, sağlıklı gebeliklerde, plasenta villuslarının enine kesitlerinin %3 kadarı intravillöz fibrinoid içermektedir. İntravillöz fibrinoid, onkofötal fibronektin, laminin ve tip IV kollagen içermektedir.²¹

Plasental Villus Tipleri

Plasentada çaplarına, stromal yapılarına, damar yapılarına ve lokalizasyonlarına göre 5 villus tipi tanımlanmıştır. Bu beş villus tipinin hepsinin kökeni erken plasenta oluşumu aşamasındaki tersiyer villustur.

Bu beş villus tipi şunlardır:

- A)–Kök villuslar
- B)–İmmatür intermediyer villuslar
- C)–Matur intermediyer villuslar
- D)–Terminal villuslar
- E)–Mezanşimal villuslar

A)–Kök Villuslar

Kök villusların çapları 80 ila 3000 µm kadardır ve yoğun fibröz stromaları bulunur. Stromalarında büyük, yoğun kollagen lif demetleri, mezanşimal hücreler, retikulum hücreleri, fibroblastlar, miyofibroblastlar, düz kas hücreleri, Hofbauer hücreleri ve yer, yer mast hücreleri gözlenir.²⁴

Arter, ven, arteriyol ve venüller içerirler. Bu damarların çevresinde tunika adventisya bulunur. Tutundurucu (anchoring) villuslar, kök villusların özel bir türüdür. Kök villuslar, villus ağacını mekanik olarak destekler; fötomaternal alışveriş ve endokrin salgı işlevlerindeki rolleri ihmal edilebilir düzeydedir.

B)–İmmatür İntermediyer Villuslar

İmmatür intermediyer villuslar, mezanşimal villusların ilk iki trimestirde olgunlaşmasıyla oluşur. İmmatür intermediyer villuslar gelişerek kök villusları oluşturur.

İmmatür intermediyer villuslarda kalın bir trofoblast tabakası bulunur. Sinsityumun altında erken gebelikte %50, geç gebelikte %20 oranında sitotrofoblastlar (Langhans hücreleri) bulunur. Bu villuslar retiküler bir stromaya sahiptir. Bu villuslar ancak ilk iki trimestirde fötomaternal alışverişte önemlidirler.

C)–Matür İntermediyer Villuslar

Matür intermediyer villuslar, mezanşimal villusların üçüncü trimestirde olgunlaşmasıyla oluşur. Matür intermediyer villuslar gelişerek terminal villusları oluşturur.

Matür intermediyer villuslar 60–150 µm çaplı, uzun, silindirik biçiminde dallardır. Stroması gevşek bağ doku lifleri ve bağ dokusu hücrelerinden oluşmuştur. Bu tip villuslarda kapillerler, küçük terminal arteriyoller ve toplayıcı venüller bulunabilir. Matür intermediyer villuslar, fötomaternal alışverişte önemlidirler. Plasental hormon üretiminde de etkindirler.

D)–Terminal Villuslar

Terminal villuslar, villus ağacının son trimestirde meydana gelen son dallanmalarıdır. Matür intermediyer villusların üzüm biçiminde dallarıdır. Sıklıkla bir boyun kısmı ile matür intermediyer villusa bağlanmışlardır. Çapları 30–80 µm kadardır. Çok miktarda kılcak damar

içerirler. Terminal villuslar oldukça damarlı yapılar oldukları ve maternofötal diffüzyon aralıkları 3–7 µm kadar olduğundan fötomaternal değişim süreci başlıca terminal villuslarda gerçekleşir.²¹

Terminal villusların uzunluğu, kalınlığı, içerdikleri kapiller sayısı ve mikrovillus yoğunluğunun sağlıklı bir fötüs gelişimi için önemli olduğu düşünülmektedir.²⁵

E)–Mezanşimal Villuslar

Mezanşimal villuslar, tersiyer villuslardan ilk oluşan villuslardır. Her bir yeni villus ağacı oluşumu mezanşimal villus aşamasından başlar. Gebelik ilerledikçe mezanşimal villus sayısı giderek azalır ancak termde bile bir miktar mezanşimal villus halen mevcuttur. Termde, mezanşimal villus oranı %1'lerin altına iner. Mezanşimal villuslarda Langhans hücrelerinin oranı ve bu hücrelerde mitoz bölünme oranları diğer villuslara göre daha fazladır.²¹

Ovaryum steroidlerinin, insülin hormonunun ve tiroid hormonlarının insanda plasenta villuslarının gelişimi üzerinde etkileri olduğu düşünülmektedir.²¹

Plasental Villuslarda Vaskülogenezis ve Angiogenezis

Villuslarda, arterler, arteriyoller, kapillerler, venüller ve venler gözlenebilir. Plasenta villuslarında damar oluşumu, mekanizmaları ve kontrol süreçleri birbirinden farklı, vaskülogenezis ve anjiyogenezis adı verilen iki şekilde gerçekleşir. Vaskülogenezis, pluripotent mezanşimal kökenli öncül hücrelerden, yeni kan damarı oluşması demektir. Plasentanın oluşumu sırasında sekonder villuslardan tersiyer villus oluşumunda ilk villus damarlarının gelişimi bu şekilde gerçekleşir.

Anjiyogenezis ise, önceden var olan bir damar yatağının genişlemesi, longitidüal olarak uzaması ve bu damardan yeni damar dallarının oluşmasıyla karakterizedir. Plamenta gelişiminin erken dönemlerinde vaskülogenezis ve anjiyogenezisin gerçekleşmesinde sitotrofoblastlar önemli rol oynarken, plamenta gelişiminin daha geç dönemlerinde bu görevi temelde Hofbauer hücrelerinin üstlendiği bildirilmiştir.²⁶

Plasental vaskülogenezis ve anjiyogenezisde, lümen oluşumu gibi fizyolojik olaylarda apoptozisin rol oynadığı düşünülmektedir.²⁷

Plasentanin Villöz olmayan kısımları

Plasentanin villöz olmayan kısımları koryon plağı, hücre adacıkları, hücre sütunları, plamenta septaları, bazal plak, marjinal zon ve organın bütün kısımlarındaki fibrinoid birikimlerden oluşur.

Plasentanin villöz olmayan kısımları maternofötal değiş tokuşa katılmazlar, çünkü maternal ve fötal dolaşımın her ikisiyle birden ilişkileri yoktur. Plasentanin villöz olmayan kısımları, heterojen yerleşimleri ve yapılarına rağmen aynı temel bileşenlere sahiptir. Plasentanin villöz olmayan kısımlarının temel bileşenleri şunlardır:

- A)– Ekstravillöz Trofoblast (EVT)
- B)– Desidualize Olmuş Endometriyum Stroması
- C)– Fibrinoid

A)– Ekstravillöz Trofoblast

Ekstravillöz trofoblastlar, blastosistin trofoblast duvarından köken alırlar. Bir bazal lamina üzerinde oturan kök hücre grubunun

proliferasyonuyla oluşurlar. Ekstravillöz trofoblastlar bazal laminadan ayrıldıklarında hücre döngüsünden de ayrılırlar ve interstisyel apolar bir görünüm kazanırlar.

Düz koryon, koryon plağı, hücre adaları, hücre sütunları ve villusların bazal laminasında dinlenme halinde bulunan trofoblast kök hücreleri, fibrin ya da diğer ekstrasellüler matriks elemanlarıyla temas ederlerse ekstravillöz trofoblastları (EVT) oluştururlar; bu kök hücreler, maternal kan ile temas ederlerse villöz trofoblastları oluştururlar.

Küçük iç biçimli EVT'ler, çeşitli proteazlar içeren invaziv hücrelerdir. Bu tip EVT'ler gebeliğin birinci ve ikinci trimestirinde bulunurlar. Termde nadiren vardır. Belli bir tabakada yoğunlaşmamışlardır, hücre sütunlarının distal kısımlarından miyometriyumun ilk 1/3'lük kısmına kadar dağılmışlardır.

Büyük poligonal EVT'ler, düzensiz şekilde, hiperkromatik çekirdeğe ve bazofilik hücre gövdesine sahiplerdir. X-hücreleri olarak da bilinirler. X-hücrelerinin sayıları gebelik ilerledikçe artar. X-hücreleri bazal plağın yüzeysel tabakalarında birikirler. Term gebeliklerde, bazal plakta açık arayla en fazla bulunan hücrelerdir. X-hücreleri, kendilerini başlıca laminin, tip 4 kollajen, vitronektin, heparan sülfat ve fibronektinlerden oluşan bir ekstrasellüler matrikse gömerler. Doğumdan yıllar sonra bile uterus duvarının derinlerinde X-hücreleri saptanabilmektedir.

Çok çekirdekli trofoblastik dev hücreler, bazal plağın derinlerinde yerleşmişlerdir. Sıklıkla endometriyum ve myometriyum sınırının yakınında ince bir tabaka oluştururlar. Gebelik ilerledikçe sayıları azalır.

İntramural endovasküler EVT'ler, uteroplakental arter ve venlerde, tunika mediyayı invaze ederler; intraarteriyal endovasküler EVT'ler ise yeni bir yüzey oluşturarak uteroplakental arterlerin lümenlerini yeniden inşa ederler ya da büyük multisellüler tıkaçlar oluşturarak arteriyal lümenleri tıkarlar.

Günümüzde, EVT'lerin farklanması üzerinde etkili oldukları düşünülen başlıca sitokinler ve hormonlar şunlardır:

Epidermal büyüme faktörü, Heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü, TGF- α , TNF- α , Hepatosit büyüme faktörü, İnsülin benzeri büyüme faktörü, Vasküler endoteliyal büyüme faktörü, Plakental büyüme faktörü, Anjiopöietin-2, Triiyodotironin.²¹

EVT'ler türlerine göre farklı tiplerde ve miktarlarda ekstrasellüler matriks sentezleyip salgırlar ve bu ekstrasellüler matrikse uygun ekstrasellüler matriks reseptörleri salarlar.

Ekstravillöz trofoblastlar, maternal dokulara invazyonda ve plasentanın maternal dokulara tutunmasında görev alırlar. İnvazyon süreci, çeşitli proteinazların maternal ekstrasellüler matriksi yıkmasıyla başarılı; plasentanın maternal dokulara tutunması ise trofoblast ekstrasellüler matriksinin sürekli salgılanması ve maternal dokular ile fetal dokular arasında bir tutkal görevi görmesiyle başarılı. Ekstrasellüler matriks sürekli yıkılıp yapılmalıdır. Bu işten başlıca Matriks Metalloproteinazlar (MMP) sorumludur. MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MMP-14, MMP-15, trofoblastlarda saptanan belli başlı matriks metalloproteinazlardır. Matriks metalloproteinazlarının, doğumun başlangıcında ve plasentanın uterus duvarından ayrılmasında da rolleri olabileceği düşünülmektedir.

Villöz trofoblastlar, MHC-I ve MHC-II antijenlerini eksprese etmezler. Hücre sütunlarındaki proliferatif kök hücre tipi EVT'ler de MHC-I ve MHC-II antijenleri açısından negatiftirler. Diğer bazı EVT'ler ise klasik olmayan MHCSınıf-I antijeni, HLA-G, HLA-C ve HLA-E eksprese edebilirler. Bu antijenlerin, EVT'lerin desidual natural killer hücreleriyle olan ilişkilerin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir.

Proliferatif ve erken postproliferatif aşamadaki ekstravillöz trofoblastlar, fetal stromal bazal lamina üzerine oturmuşlardır ya da bazal laminaya yakın bir bölgede yerleşmişlerdir. Bu tipdeki, EVT'ler, MIB-1/Ki-67 gibi proliferasyon belirteçleri açısından pozitiflerdir. EGFR(c-erb B1) eksprese ederler. A β 4 ve α 3 β 1 integrinlerini eksprese ederler. Proliferatif ve erken postproliferatif EVT'ler, bazal lamina sentezlerler; bunun dışında anlamlı miktarda ekstrasellüler matriks sentezlemezler.

İnvaziv özellikteki EVT'ler, iç biçimli hücrelerdir. Bazal laminadan uzaktadırlar. Hücre döngüsünden ayrılmışlardır. Protoonkogen c-erb-2 eksprese ederler; α 5 β 1, α 1 β 1, α v β 3, α v β 5 gibi farklı integrinleri eksprese ederler. Apolar ekstrasellüler matriks salgırlar. MMP-2, MMP-11 gibi matriks metalloproteinazları bulunur.

Sağlıklı bir plasenta oluşumu sırasında, bir ekstravillöz trofoblast hücrelerinde hem proliferasyon hem de invazyon özelliği aynı anda, bir arada bulunmaz. Hücreler proliferasyon aşamasından, postproliferasyon aşamasına ve sonra invazyon aşamasına geçerler ve daha sonra sinsityal füzyonla büyük poligonal EVT'leri ya da çok çekirdekli dev hücre biçimindeki EVT'leri oluştururlar. Bu özellikler nedeniyle, plasenta invazyonu tümörlerde olduğu gibi kontrolsüz değildir; kontrollü ve sınırlıdır.

İntervillöz boşluklardaki, f3tal damarlardaki ve villus stromasındaki oksijen miktarının ve pH'nın ekstravill3z trofoblastların proliferasyon ve invazyonunda rolü olduğu d3ř3n3lmektedir.²¹ Ekstravill3z trofoblastlarda endokrin aktivite varlığı da g3sterilmiştir.

B)– Desidualize Olmuş Endometriyum Stroması

İnsan endometriyum dokusunun, blastosistin fizyolojik uyarımına verdiği yanıt olarak ortaya çıkan değişikliklere desidualizasyon adı verilir. Desidua, řu h3crelerden oluşmuştur:

1. Endometriyal stromal h3creler (Desidual Hucreler)
2. Uterus Doğal 3ld3r3c3 H3creleri (B3y3k Gran3ler Lenfositler–NK H3creleri)
3. T– lenfositler
4. B–lenfositler ve Plazma h3creleri
5. Makrofajlar
6. Gran3lositler
7. Desidual H3crelerarası Matriks

Desidua Desidua (Latince deciduus; d3şen, d3k3len) gebe endometriumuna karşılık gelir. Gebe kadındaki fonksiyonel endometrium tabakasıdır. Doğumdan sonra uterustan bu kısmın ayrılması nedeni ile desidua kelimesi uygun bir terimdir. Gebelikle birlikte artan progesteron seviyesi, endometrium bağ dokusu h3crelerinin (stromal h3cre) genişleyerek soluk boyanan desidual h3crelere d3n3şmesine yol açar. Gebelikte endometriumdaki h3cresel ve vask3ler değişiklikler desidual reaksiyon olarak adlandırılır. İmplantasyon sırasında endometriumdaki uterus bezleri artar, daha sonra bu bezlerin atrofiye olması ile Arias– stella h3creleri ortaya çıkar. Bunun sebebinin fibroblastların desidua h3crelerine d3n3ř3m3 ve h3cre sayısındaki artışı ile ilgili olduğu d3ř3n3lmektedir.

Ayrıca implantasyonu takiben yükselen progesteron seviyesinin de fibroblastlardan böyle bir değişimi başlattığı kabul edilmektedir. Bu hücrelerdeki büyüme ile bol miktarda glikojen ve lipid depolanır ve sentez yapma özelliği de kazanılır. Hücre etrafında oluşan fibriller yapı içinde desidua hücrelerinden sitoplazmik çıkıntılar uzanır. Bu hücrelerin granüllerinde glikoz-6 fosfat dehidrogenaz, izositrat dehidrogenaz ve steroid enzim progesteron aktivitesi bulunmuştur.^{10,11,28,29,30}

Hücrelerarası matrikste laminin, tip IV kollagen, fibronektin, heparan sülfat proteoglikanın bulunması da desidua hücrelerden salındığını göstermektedir. Trofoblastik invazyona karşı rol aldığı düşünülmektedir. Desidua hücreler, lenfosit proliferasyonu, fötusa karşı antikorların üretimini durdurarak gelişmekte olan canlıyı immün reaksiyonun olumsuz etkilerine karşı korur. Ayrıca insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein (IGF-BP) fibroblastlarla ilişkilidir. Desidua hücreleri, enzimleri ile kan damarları endoteline etki ederek kanın serbest kalmasını sağlayarak fetal beslenme için zengin bir kaynak oluştururlar.

Uterus duvarında uterusun doğal öldürücü hücreleri (uNK), B lenfositler ve makrofajlar gibi çok çeşitli lökosit tipleri vardır. Fenotip ve işlev olarak uNK hücreleri dolaşımda bulunan doğal öldürücü hücrelerden sitotoksik özellikler olmaması bakımından ayrılırlar. Aynı zamanda desiduaaya göç ve yerleşimi sağlayan integrinler salgırlar. uNK hücrelerinin gebeliğin ikinci yarısında azalmaları ve doğumdan sonra kaybolmaları esas rollerinin erken gebelikte implantasyon ve desidua trofoblast etkileşimi sırasında olduğunu düşündürür. Lökositlerden salınan interlökin-2 embriyonun maternal doku reddini önlemede görev alır.^{31, 32, 33}

İmplantasyon bölgesi ile ilişkili olarak desidua 3 tabaka halinde isimlendirilir.

Desidua bazalis: Gebelik materyalinin (embriyo) anneye ait plasentayı oluşturan desidua tabakası.

Desidua kapsülaris: Gebelik materyalini kuşatan desiduanın yüzeyel tabakasıdır.

Desidua paryetalis (desidua vera): Geriye kalan desidua tabakasıdır.

Tablo 1: Desiduada bulunan hücre tipleri

DESİDUADA BULUNAN HÜCRE TİPİ	1.TRİMESTİR (%)	3.TRİMESTİR (%)
Desidual Hücreler (Endometriyum Stroma Hücreleri)	30	35–55
Uterus Doğal Öldürücü Hücreleri (Büyük Granüler Lenfositler)	40	4–9
T–lenfositler	8–10	8–17
B–lenfositler ve Plazma Hücreleri	1	1
Makrofajlar	20	20–40
Granülositler	2	3–4

Desidualizasyon, endometriyum stroma hücrelerinin büyüyüp epitel hücre görünümü kazanmasıyla karakterizedir. Stromal hücreler hipertrofiye uğrar, GER ve Golgi kompleksi gelişir, hücrenin sentez ve salgı aktivitesi artar. Hücreler glikojen ve lipid biriktirirler. Hücrelerde

vimentin pozitif perinükleer ara filaman lifleri ortaya çıkar. Çekirdekçik belirgin hale gelir. 1 ila 3 adet ökromatik çekirdek ortaya çıkar. Desidual hücreler arasında oluklu bağlantılar (gap junctionlar) gelişebilir; bu bağlantıların desidual işlevin ve gelişimin eş zamanlı olarak ortaya çıkmasında rol oynayabilecekleri düşünülmektedir.²¹

Progesteron, desidualizasyon sürecinin en güçlü uyarıcısıdır. İnsulin benzeri büyüme faktörünün (IGF) desidualizasyonda uyarıcı rolü olduğu düşünülmektedir. Kearns ve Lala, 1983'te yayınladıkları çalışmalarında desiduayı oluşturan hücrelerin kökeninin kemik iliği olduğunu ortaya koymuşlardır.

İnsan desiduasının, prolaktin, prostoglandin E2, prostoglandin F2 α , TGF- β ve endotelin-1 ürettiği saptanmıştır. Desiduanın, implante olan embriyoya besin sağlamada ve trofoblast invazyonunu kontrol etmede görevli olduğu düşünülmektedir.²²

Endometriyal doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), büyük granüler lenfositler, Körnchenzellen hücreleri ve K hücreleri olarak da adlandırılırlar. K hücreleri, yaklaşık 10 μ m çaplı, yuvarlak, mononükleer hücrelerdir. Eksantrik, böbrek şeklinde çekirdekleri vardır. CD56 pozitiflerdir. Ancak kandaki doğal öldürücü hücrelerden farklı olarak CD57 ve CD16 negatiftirler. K hücrelerinde, CSF, GMCSF, CSF-1, TNF- α , TGF- β , Lösemi inhibe edici faktör (LIF), IL-8, ve INF- γ gibi çeşitli sitokinlerin mRNA'sı saptanmıştır.

C)– Fibrinoid

İlk olarak 1877 yılında, Langhans tarafından tanımlanan fibrinoid, insan plasentasında en çok bulunan bileşenlerden biridir. Parafin

kesitler ve H.E. boyamalarda fibrinoid, hafif pembeden yoğun kırmızıya kadar çeşitli renklerde görülebilir.

İlk olarak 1925 yılında Grosser, fibrinoid ile fibrin arasındaki farkı tanımlamaya çalışmıştır. Grosser'e göre, fibrin, fibrinojenin kan ve doku sıvılarında çökmesiyle oluşur; fibrinoid ise hücre salgılar, hücre salı dejenereasyon ürünleri gibi heterojen kaynaklıdır.

Fibrin-tip fibrinoid ve matriks-tip fibrinoid olmak üzere iki tip fibrinoid tanımlanmıştır. Fibrin-tip fibrinoid başlıca koagülasyon kaskadı aracılığıyla fibrinden oluşur; matriks-tip fibrinoid ise ekstrasvillöz trofoblast hücrelerinin salgısal ürünüdür ve başlıca tip IV kollagen ve hücrelerarası matriks glikoproteinlerini içerir.

Fibrinoidin plasentaya yapısal destek sağladığı düşünülmektedir. Fibrinoidin plasentayı uterus duvarına bağlayan, tutkal benzeri bir görevi olduğu düşünülmektedir. Fibrinoid, trofoblast invazyonuna karşı bir bariyer görevi görüyor olabilir; trofoblast invazyonunu düzenliyor olabilir. Fibrinoidin içerdiği, tenascin glikoproteinini ile embriyonun oluşum sürecinde, özellikle de epitel hücre göçünde rol oynadığı düşünülmektedir.

Sağlıklı gebeliklerde trofoblast invazyonu sıkı bir şekilde kontrol edilir; öyle ki trofoblast hücreleri miyometriyumun iç 1/3'lük kısmının ötesine geçemezler.

Term plasentanın bazal plağında sıklıkla kalsiyum tuzlarının birikimine rastlanır.

Bazal Plak:

Maternal ve f3tal dokuların temas ettiği 3nemli bir zondur. Yapısı oldukça karmaşıktır. Bazal plak, ekstrasvill3z trofoblastlar, gebeliğe 3zg3 endometriyal stroma, fibrinoid, dejenere olan villus kalıntıları ve maternal damarlar içerir.

Bazal plağın erken 3nc3s3, dış trofoblast kabuğudur. Trofoblast kabuğu, blastosist implantasyonu sırasında lak3ner sistemi endometriyal dokulardan ayırır. Trofoblast kabuğunun endometriyal bağ dokusu ile birbirine giren d3zensiz bir y3zeyi vardır.

Doğum sırasında plasenta, Nitabuch fibrinoid tabakasının bir miktar derininden, uterusun plasental yatağından ayrılır; bu ayrılmanın desidual dokunun varlığına ve uterus kasılmalarının mekanik etkilerine bağlı olduğu d3ř3n3lmektedir.

Uteroplasental Damarlar:

Uteroplasental arterler miyometriyal arterlerin devamıdır. Desiduaya girdiklerinde, spiral şeklinde bir seyir izlediklerinden spiral arteriyol olarak adlandırılırlar. Sağlıklı bir plasentada 80 ila 100 kadar spiral arter bulunur.²²

Gebelikte uteroplasental arterler fizyolojik bir değişim geğirerek yeniden şekillenirler ve d3ř3k direnęli, genişlemiş damarlara d3n3ř3rlar. Bu d3n3ř3m sırasında, uteroplasental damarların tunika intima ve tunika medyası invaziv trofoblastlarca kaplanır. Uteroplasental damarlar, elastikiyetlerini kaybeder ve dilate olurlar, vazomotor kontrolleri ortadan kalkar.

Plasental Bariyer: Yirminci haftaya kadar plasental bariyer 4 tabaka içerir.

1. Sinsityotrofoblast
2. Sitotrofoblast
3. Koryon villusların bağ dokusu
4. Fötal kapiller damar endoteli

Yirminci haftadan sonra villuslarda histolojik değişiklikler olur. Villusların büyük bölümündeki sitotrofoblastlar inceler, zamanla ortadan kalkar sadece ince sinsityotrofoblast sırası kalır. Çoğu alanda plasental bariyer 3 sıraya düşer.^{10, 11, 30}

Plasenta membran permeabilitesi ve difüzyon ile ileti:

Plasentanın başta gelen fonksiyonu anne kanından fötusa besinlerin, fötustan anneye artık ürünlerin difüzyonunu sağlamaktır. Gebeliğin ilk aylarında plasenta membranı yeterince gelişmediğinden kalındır ve geçirgenliği düşüktür. Gebeliğin ilerleyen dönemlerinde geçirgenliği artar. Membranda difüzyon tabakaları inceler, yüzey alanı gelişir.³⁴

Plasenta membranında oksijen difüzyonu:

Geniş maternal sinuslarda bulunan erimiş oksijenin fötal kana geçişi basit difüzyonla olur. Difüzyon basınç farkına bağlı olarak anne kanından fötus kanına doğrudur. Gebeliğin sonuna doğru maternal sinuslarda PO₂ değeri yaklaşık 50 mm Hg' dır. Fötal kanın PO₂ plasentada oksijenlendikten sonra ortalama 30 mm Hg' dır. Basınç farkı yaklaşık 20 mm Hg'dır.³⁴

Plasenta membranında karbondioksit difüzyonu:

Fetal dokularda sürekli CO₂ oluşmaktadır. Fötal kanda PCO₂ anne kanındakine oranla 2–3 mmHg daha yüksektir. Küçük basınç farkı CO₂ difüzyonunu sağlar.³⁴

Plasenta membranında besinlerin difüzyonu:

Yağ asitleri, keton cisimleri, potasyum, sodyum ve klorür iyonları maternal kandan difüzyonla geçer. Plasenta villuslarındaki trofoblastlar glukozu kolaylaştırılmış difüzyonla taşınmasına yardım eder. Trofoblastlar bu işi membranlarında bulunan bir taşıyıcı molekül ile yapmaktadır.³⁴ Bu moleküller protein yapısında glukoz taşıyıcısı (Glucose transporter, GLUT– 1) transport molekülleridir.⁹

Artık ürünlerin plasenta yolu ile atılımı:

Üre, ürik asit, kreatin difüzyon yolu ile fötal kandan anne kanına geçer. Atık maddelerin konsantrasyonu fötal kanda anne kanından daha yüksektir.^{7, 10, 11}

Plasentanın İşlevleri: Plasentanın 3 temel görevi vardır.

1– Metabolizma: Plasenta erken gebelik döneminde embriyo ve fötüs için besin ve enerji kaynağı oluşturan glikojen, kolesterol ve yağ asitlerini sentezler.

2– Transport: Gazlar, su, vitamin (A,C,D), elektrolitler, hormonlar (testesteron, bazı sentetik progesteronlar), artık ürünler

(karbondioksit, üre, ürik asit), bazı ilaçlar ve enfeksiyon ajanları plasentadan geçebilir.

3– Endokrin işlevi: Sinsityotrofoblastlar protein ve steroid yapısında çeşitli hormonları sentezler.^{7, 10}

Protein yapısındaki hormonlar:

1– İnsan koryonik gonadotropin (hCG)

Sinsityotrofoblastlar tarafından hCG ilk kez 2. haftada salgılanır. Corpus luteumun varlığını sürdürmesini sağlar.

2– İnsan koryonik somatomotropin (hCS) (İnsan plasental laktojen)

3– İnsan koryonik tirotropin (hCT)

4– İnsan koryonik adreno– kortikotropin (hCACTH)⁷

Steroid yapısındaki hormonlar:

1– Progesteron: Gebeliğin ilk haftasında corpus luteum tarafından sentezlenir. Daha sonra ise bu işlevi plasenta üstlenir.

2– Östrojen⁷

Bu temel görevlerinden başka plasenta ve/ veya fetal kaynaklı olan maddelerde salgılanır:

Büyüme faktörleri:

1– Insulin–like growth factor I – II (IGF 1, IGF 2).

2– İnhibin

3– Aktivin

4– Follistatin

5– Transforming growth factor (TGF)

6– Epidermal growth factor (EGF)

Sitokinler:

1– İnterlökin

2– İnterferon⁶

Plasenta zarı:

Anne ve fötüs kanını ayıran fötüs dışı dokulardan oluşan birleşik bir zardır. 20. haftaya kadar plasenta zarı 4 tabaka içerir.

1. Sinsityotrofoblast
2. Sitotrofoblast
3. Koryon villusların bağ dokusu
4. Fetus kapiller damar endoteli

Yirminci haftadan sonra koryon villus dallarında histolojik değişiklikler olur. Zamanla sitotrofoblastlar villusların büyük bir bölümünde kalkarlar. Plasenta zarı; molekül yapısı belirli büyüklükte, belirli konfigürasyonda ve heparin ile bakteri gibi belirli yüklerde olduğu zaman gerçek bir bariyer gibi görev yapar. Bazı metabolitler, toksinler ve hormonlar anne kanında bulunsalar da embriyo ya da fötusu etkileyecek konsantrasyonda plasenta zarından geçemezler.^{10, 11}

Gelişimini tamamlamış plasenta

Gelişimini tamamlamış plasenta yaklaşık 22 cm çapında, 2–2.5 cm kalınlığında ve 500–600 gr ağırlığında disk biçiminde geçici bir organdır. Plasentanın en küçük yapısal ve işlevsel birimi kotiledondur. Her bir kotiledon tek bir spiral arterin terminal dalı ile kanlanır. İki veya daha fazla kotiledonun bir araya gelmesiyle lobüller oluşur. 15–20 adet lobül vardır. Plasenta maternal ve fötal kısımdan oluşur. Maternal yüzünde desidua bazalisle kaplı lobüller mevcuttur. Plasentanın fötal yüzü koryon plağı ile kaplıdır. Koryon içten amniyon ile döşelidir.^{35,36}

2.2.DİABETES MELLİTUS

Diabetes mellitus, insülin sekresyonunda veya insülin etkisindeki yetersizlik sonucunda ortaya çıkan, belirgin biyokimyasal özelliği hiperglisemi olan, kronik seyirli endokrin ve metabolik bir hastalıktır.³⁷

Diabet gelişiminde β -hücrelerinin otoimmün hasarından insülin direncine dek farklı patolojik süreçler söz konusudur. Birçok araştırmacıya göre diabet otoimmün, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle gelişen otoimmün bir hastalıktır.³⁸ Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarındaki bozukluğun temelinde, insülinin etkisindeki

yetersizlik, azalmış sekresyon veya insüline verilen doku yanıtında azalma yatmaktadır.³⁷

Tanı Kriterleri

Diabetes mellitus tanısı koymak için aşağıda sıralanan kriterlerden herhangi birinin bulunması yeterlidir:

1– Rastgele ölçülen plazma glukoz konsantrasyonunun 200 mg/dl veya üstünde bulunması ve yanısıra poliüri, polidipsi, kilo kaybı, yorgunluk gibi klasik semptomların eşlik etmesi,

2– En az 8 saat açlık sonrası bakılan plazma glukoz değerinin 126 mg/dl veya üstünde bulunması,

3– Oral glukoz tolerans testinde anormallik saptanması ve glukoz yüklemesi sonundaki glukoz değerinin 200 mg/dl bulunması.

Karbonhidrat metabolizmasındaki bozulma olayı kesintisiz bir süreçtir.

Diabetes mellitus tablosuna doğru yavaş bir gelişim görülmektedir.³⁷ Buna göre:

Normoglisemi: açlık kan glukoz değeri <110 mg/dl

Hiperglisemi: açlık kan glukoz değeri >126 mg/dl

Bozulmuş glukoz toleransı: açlık kan glukoz değeri 110–126 mg/dl şeklinde tanımlanmıştır.

Oral glukoz tolerans testi değerlendirilirken:

≤140 mg/dl: normal değer;

>200 mg/dl: diabetes mellitus;

140–199 mg/dl: bozulmuş glukoz toleransı olarak belirlenmektedir.³⁷

Bozulmuş glukoz toleransı saptanan kişiler, ileri dönemde belirgin diabetes mellitus hastalığı gelişimi açısından yüksek risk altındadırlar. Bunların arasında yılda %1,5 ila %7,3 oranında yeni diabet olgusu ortaya çıkmaktadır.³⁷

Diabetes Mellitus Sınıflandırması

Diabetin Etiyolojik Sınıflandırması³⁷

I–Tip 1 DM (genellikle tam insülin eksikliğine yol açan β hücre harabiyeti)

A–İmmün mekanizmaya bağlı diabet (T1P1A)

B–İdiyopatik diabet (T1P1B)

II–Tip 2 DM

III– Gestasyonel Diabetes Mellitus

IV–Diğer nedenler

Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 diabetes mellitus beta hücrelerinin yıkımına neden olmaktadır. Bu hasar genellikle HLA tipleri ile bağlantılı olarak hücre aracılıklı otoimmün süreç nedeniyle olmaktadır ve beta hücrelerine karşı oluşan otoantikorların kanda ölçülmesi ile gösterilebilir. Diabetin bu formu

çocukluk döneminde başladığı bilinmekle birlikte her yaşta oluşabilir. İnsülin eksikliği katabolik metabolizmaya eğilim, kilo kaybı ve diabetik ketoasidoza neden olur. Bu hastalar ilk tanı aldıkları dönemde nadiren obez olurlar. Bununla beraber obezite çelişki yaratmaz.³⁹

Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 1 diabetes mellitusa oranla 10 kat daha sık görülmektedir. Erişkin dönem başlangıçlı diabetes mellitus olarak tarif edilmiştir ancak çocuklarda ve adolesanlarda gitgide artan sıklıkta görülmektedir. Güçlü bir genetik predispozisyon söz konusudur. Tip 2 diabetes mellitus insülin direnci ile insülin salgısında bozukluk sonucu oluşmaktadır. İnsulin direncinin belirtileri: vücudun kıvrım yerlerinde oluşan hiperpigmente alanlar olarak tanımlanan akantozis nigrikans, ensede ve intertriginöz bölgelerde derinin kalınlaşmasıdır. Tip 2 diabetes mellitusta insülin düzeyleri oldukça yüksek seviyelerde ölçülebilmektedir.

Hastalarda akut stres sırasında sadece hiperglisemi veya diabetik ketoasidoz görülebilir. Bununla birlikte prezantasyon sırasında diabetik ketoasidoz tablosu görülmesi Tip 2 diabet tanısını ekarte ettirmez.⁴⁰

Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM), ilk kez gebelik sırasında tanı alan veya ortaya çıkan glukoz intoleransıdır. Gebelik sırasında ortaya çıkan bu durum GDM olabileceği gibi daha önce tanı almamış glukoz intoleransı, daha önce tanı almamış Tip 2 DM veya latent evredeki Tip 1 DM (GDM'li gebelerin %10'unda pankreatik ada hücrelerine karşı antikor saptanmıştır) olabilir.⁴¹ Amerikan verilerine göre, ırksal

farklılıklarda insidansı %1.4–14 arasındadır. Tüm toplumlarda insidansı ortalama %2–5 arasında değişmektedir.^{42, 43}

Gebelikte Ortaya Çıkan Endokrinolojik Değişiklikler

Fötal büyüme, glukoz kullanımı ve fötal insülin sekresyonu; maternal glukoz kontrolü ve plasental fonksiyonlar tarafından düzenlenmektedir. Fetal insülin 8–10. haftalarda salgılanmaya başlar ve giderek artar. Glukagon ve insülin plasentayı geçemez. Pankreatik gelişim; transkripsiyon faktörleri tarafından, beta hücrelerinin farklılaşması ve proliferasyonu ise 'insülin benzeri büyüme faktörü' gibi faktörler tarafından düzenlenmektedir.

Gebelikte karbonhidrat metabolizmasında özellikle gebeliğin erken ikinci trimesterinde fötusa glukoz ve aminoasit sağlanması temel hedeftir. Maternal enerji için ise serbest yağ asitleri, keton ve gliserol kullanılır. Normal gebelik pankreatik beta hücrelerinde hiperplazi, artmış insülin sekresyonu, erken dönemde artan insülin duyarlılığı, geç dönemde artan insülin direnci ile karakterizedir. Gebelikte insülin düzeyi hem açlıkta hem de postprandial dönemde normale göre yüksek seyretmektedir. Açlık kan şekeri düzeyleri gebelikte %10–20 oranında daha düşük seyreder. Buna sebep olarak; artmış glikojen depolanması, artmış periferik glukoz kullanımı, azalmış hepatik glukoz sentezi, fötus tarafından özellikle gebeliğin ikinci bölümünde artan gereksinim sayılabilir.

Normal gebelik diabete yatkınlık yaratan bir durumdur. İnsülin sekresyonundaki ve duyarlılığındaki değişiklik bundan sorumlu tutulmaktadır. İlk trimestir ve erken ikinci trimestir başlarında rölatif olarak artan östrojen düzeyleri nedeniyle insülin sensitivitesi artarken, erken 2. trimester ve 3. trimester başlarında ise plasentadan salınan Human Plasental Laktojen (hPL), Kortikotropin Serbestleştirici Hormon (CRH), Prolaktin (PRL) ve kortizol etkisiyle insülin sensitivitesi azalmakta böylece

kan şekeri düzeyi fötusun yararlanabilmesi amacıyla yüksek tutulmaktadır. Normal bir gebelikte insülin sensitivitesindeki değişiklikler beta hücrelerinin uyumu ile kontrol edilebilirken bu mekanizmanın yeterince etkin olmadığı durumlarda GDM gelişmektedir.⁴⁴

GDM komplikasyonları arasında; preeklampsi, polihidramnios, makrozomi, uzamış doğum eylemi ve doğum travması, operatif doğum, perinatal mortalite, neonatal metabolik komplikasyonlar (hipoglisemi, hiperbilirübinemi, hipokalsemi) sayılabilir. Bunun yanı sıra yenidoğanda ortaya çıkan diğer istenmeyen durumlar arasında obezite, çocuklukta ortaya çıkan DM, dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu gibi durumlar da maternal GDM ile ilişkilendirilmiştir. GDM gebeliklerinde makrozomi riski 5 kat, Tip 1 DM olan gebelerde 10 kat artmıştır.⁴⁵

Risk faktörleri arasında, ailede birinci derece akrabalarda DM öyküsü, ideal vücut ağırlığının %110'dan fazlası veya 30 kg/m² üzerinde Vücut Kitle İndeksi (BMI), 25 yaş üstü anne yaşı, 4000 gr üzerinde doğum öyküsü, kişisel anormal glukoz toleransı öyküsü, açıklanamayan perinatal kayıp öyküsü veya konjenital malformasyonlu çocuk öyküsü, annenin 4 kg'dan fazla 2.7 kg'dan az doğum ağırlığında doğmuş olması, ilk prenatal vizitte glukozüri, polikistik over sendromu, aktif glukokortikoid kullanımı, kronik hipertansiyon veya gebeliğin indüklediği hipertansiyon sayılabilir.

2.3.VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF)

Anjiojenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulana Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü'dür ve Vascular Permeability Factor (VPF) olarak da bilinmektedir. 45 kDa molekül ağırlığında, disülfid bağları ile bağlı glikoproteindir. Önceleri iki ayrı yapı zannedilirken aynı protein oldukları gösterilmiştir ve daha çok VEGF olarak adlandırılmaktadır. VEGF homodimerik, heparin-binding glikoprotein yapısında bir molekül olup çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. VEGF A, B, C, D, E ya da aminoasit sayılarına göre VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206 ve VEGF145 gibi izoformları bulunmaktadır.⁴⁶

VEGF anjiyogenezde rol oynayan faktörlerden biridir. VEGF nin post-natal damarlanma, yara iyileşmesi, kanser, romatoid artrit, retinada yeni damarlanma ve kalp-damar hastalıkları dahil olmak üzere çok sayıdaki patofizyolojik durumda önem taşımaktadır. VEGF, başlangıçta damar geçirgenliğini artıran bir faktör olarak tanımlanmakla birlikte endotel hücrelerinin çok sayıdaki biyolojik fonksiyonunu, sitokin sentezi ve salınımı, trombolitik ve pıhtılaşma yollarında yer alan moleküllerin tutulumunu ve düz kas hücre hiperplazisini de düzenlemektedir.^{47, 51}

VEGF biyolojik aktivitesini temel olarak üç reseptörü ile gerçekleştirmektedir. Tirozin kinaz yapısında olan bu reseptörleri VEGFR1 (flt-1), VEGF-R2 (flk-1/KDR) ve VEGF-R3 (flt-4) olarak sıralanabilir. Bunlardan VEGF-R1 ve R2 endotel hücreleri üzerinde iken VEGF-R3 lenf damarları üzerinde bulunmaktadır.^{52, 53, 54}

VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; fosfolipaz-C, fosfoinositol-3 kinaz ve ras GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre

içi sinyal iletim proteinlerini fosforile ederek endotel hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve diferansiyasyonunu sağlamaktadır.⁵⁵

Endotel hücreleri için migratuar özelliğinin yanı sıra VEGF; hücre dışı matriks yıkımından sorumlu olan matriks metalloproteazlar ile ürokinaz ve doku- tipi plazminojen aktivatörlerinin salınımını da uyarmakta ve böylelikle invazyon ve metastazı da kolaylaştırmaktadır.⁵⁶

ANJİOGENEZİS

Mevcut kan damarlarından yeni kan damarlarının gelişmesi anlamına gelen anjiyogenezis, vücutta doğal olarak ortaya çıkan bir süreç olup, bazı durumlarda patolojik de olabilmektedir. Fizyolojik anjiyogenezis; embriyogenezis, yara iyileşmesi ve kadın üreme sisteminde gözlenmektedir.⁵⁷ Proanjiojenik ve anti anjiogenik faktörler arasındaki denge bozulduğunda anjiogenez kontrol edilememektedir. İnflamatuar hastalıklarda (artrit, kronik inflamasyon, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, psöriazis), çeşitli kanserlerde (meme, mesane, kolon, akciğer, nöroblastom, melanom, böbrek, pankreas, uterus, serviks, glioblastom) ve göz hastalıklarında (yaşla ilişkili maküler dejenerasyon, proliferatif retinopati) anjiyogenez patolojik olarak ortaya çıkmaktadır. Periferik arter hastalıklarında ve gecikmiş yara iyileşmesinde ise anjiyogenezisin yetersizliği söz konusu olmaktadır.^{58,59,60,61,62,63}

Primordial damarsal sistemin gelişimi vaskülogenez olarak tanımlanmakta ve ilkel damarsal ağı oluşturmak üzere endotelial progenitor hücrelerin embriyo ve embriyo dışı mezoderm içerisinde farklılaşmasını kapsamaktadır. Damarsal ağlarının uzanması ve değişimi için yeni kapillerlerin oluşması, tomurcuklanma ve önceden oluşan damar ağının yeniden düzenlenerek küçük ve büyük damarları oluşturması gerekmektedir.⁶⁴

Gelişen damarsal yapıların birbiri ardı sıra olgunlaşmaları ise perivasküler hücrelerin yeniden yapılanmasına ve bazal membran üzerinde yapılaşmasını sağlayan faktörlerin varlığına bağlıdır. Embriyonik damarsal sistemin gelişmesi esnasında meydana gelen olaylar ve embriyonun oksijen ve besin ihtiyacı, aynen erişkin bir organizmada anjiyogenez oluşumunda, özellikle hipoksinin aktive ettiği metabolik yanıtlarla benzerlik göstermektedir.^{65,66} Anjiyogenezis oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşmekte, hücrelerarası madde ve onu çevreleyen hücrelerden salınan pek çok büyüme faktörü, sitokinler ve bunların reseptörleri anjiyogenezde temel rol oynamaktadır.^{67,68,69,70} Damar endotelini oluşturan endotel hücreleri, anjiyogenez süreci içinde yer alan temel hücrelerdir. Perisitler ile birlikte kapiller damar duvarlarını oluşturarak ana damarları, dalları ve kapiller ağı oluşturunca genetik bilgileri içermektedir.⁷¹

Erişkin insanlardaki vasküler endotelial hücreler tipik olarak düşük turnover hızında olmalarına rağmen, yaşamları boyunca yeni kan damarları oluşturacak çoğalma kapasitesine sahiptirler. 70 kg'lık bir insanda bir trilyondan fazla endotelial hücre, kan damarlarının içini döşer ve bu da yaklaşık 1000 metrekarelik bir alana eşittir. Endotelial hücrelerin yaşam siklusu (yenilenme süresi) 1000 günü geçmektedir. Anjiyogenezisin sıkı denetlendiği kadın üreme sistemi ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik durumlar dışında anjiyogenezis organizmada oldukça sınırlı oluşmaktadır.⁷²

Anjiyogenezisin düzenlenme evreleri pek çok büyüme faktörünün ve düzenleyici proteinin kontrolü altındadır. Henüz tüm anjiyogenik etkileşimlerin niteliği açıklığa kavuşmamıştır. En büyük olasılık anjiyogenik uyarıcılar ve anjiyogenez inhibitörleri arasındaki dengenin, normalde damarsal bileşenlerin sessiz halde kalmalarını sağlıyor olmasıdır.

Yeni damar oluşumu aşağıda belirtilen olayları kapsayan çok basamaklı bir süreçtir:

- Bazal membranın proteolitik enzimler tarafından yıkılması
- Endotel hücre aktivasyonu, proliferasyonu ve göçü
- Tübül oluşumu ve olgunlaşma, damar stabilizasyonu ve ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesi

2.4.APOPTOZİS

Apoptozis, organizma tarafından düzenlenen enerji bağımlı hücre ölümüdür. Programlı hücre ölümü olarak da adlandırılan bu süreç, doku homeostazının korunmasında kritik bir role sahip olduğu gibi, fetal gelişim ve erişkin dokulardaki pekçok fizyolojik olayda da önemli rollere sahiptir. Fazladan olan ve disfonksiyonel hücrelerin yok edilmesi için varolan normal bir fonksiyonu temsil etmektedir. Apoptozis terimi ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır.⁷³ Kerr, fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını gözlemlemiş ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır. Apoptozis Yunanca'da "düşmek" anlamına gelmektedir ve Homer tarafından ağaçların sonbaharda yaprak dökümünü andırdığı için, hücre kaybını belirtmek amacı ile kullanılmıştır. Bunun yanı sıra, kanser, otoimmün hastalıklar, AIDS, viral enfeksiyon, dejeneratif nöral hastalıklar gibi çok çeşitli hastalıklarda apoptozis mekanizmasının kontrolünde bozukluklar olduğu bilinmektedir.^{74,75}

Apoptotik ölüm sinyali alan hücrenin kromatini yoğunlaşmaya başlar. Benzer şekilde sitoplazma da yoğunlaşmaya ve hücrenin boyutları küçülmeye başlamıştır. Bir süre sonra hücre apoptotik cisimcik denilen daha küçük parçalara bölünür. Bu parçacıkların en büyük özelliği, fragmente olmuş çekirdeklerin ve parçalanmış hücreye ait tüm yapıların

plazma membranı ile kaplanarak immün sistemi inflamasyon yönünde uyarmamasıdır. Apoptotik cisimcikler, yüzeylerinde yeni sinyal yapıları ortaya çıkarır ve bu sinyalin uyarısı ile yandaki hücre tarafından fagosit edilerek ortadan kaldırılır.^{76,77}

Apoptozis normal gelişimsel süreç içerisinde pek çok fizyolojik olayda görev alır. Embriyogenesis^{78, 79} normal menstruel siklusda endometrial hücrelerinin yıkımı⁷⁹, bağırsak kriptta epitelleri gibi sürekli çoğalan hücre gruplarında hücre sayısının dengelenmesi⁸⁰, timusun gelişimi sırasında otoreaktif T hücrelerinin ortadan kaldırılması⁸⁰, bunlardan sadece birkaçıdır. Apoptotik hücre ölümü regülasyonundaki bozukluklar hücre birikiminin olduğu kanser, restenoz gibi hastalıklara yol açabildiği gibi, hücre yıkımının arttığı otoimmün rahatsızlıklar, nörodejeneratif hastalıklar, Alzheimer gibi rahatsızlıklara da yol açabilmektedir.^{81, 82}

Son yıllarda yürütülen araştırmalar sonucunda, apoptozisten sorumlu moleküler mekanizmalar açıklığa kavuşmuştur. Bu çalışmalar sonucunda, kaspaz adı verilen, intrasellüler proteazların; apoptosisin gerek direkt, gerekse indirekt yapısal ve biyokimyasal değişikliklerinden sorumlu olduğu ortaya konulmuştur. Kaspazların apoptozla ilk ilişkisi bir nematod olan *Caenorhabditis Elegans*'ın genetik analizi sırasında ortaya çıkmıştır.⁸³

Kaspazlar apoptotik hücre ölümü esnasında önemli rol oynayan multigen ailesinden oluşan sistein–proteaz grubu enzimlerdir. Sözcük olarak "Cysteine Aspartate Specific ProteASEs– CASPASE" olarak türetilmiştir. Öncelikle inaktif proteinler olarak sentezlenen bu enzimler çeşitli yollarla aktive edilmelerinin ardından hücresel hedeflerdeki tetrapeptitleri tanır ve substratı, bir aspartat rezidüsünün karboksil tarafından ayırır. Hücre ölümü sırasında meydana gelen pek çok hücresel

ve yapısal değişimler, bu enzimlerin rol oynadığı birtakım süreçler neticesinde gelişir.⁸⁴

Kaspaz-1, kaspaz ailesinin prototipidir ve önceleri prointerlökin-1-beta'nın biyolojik aktif formuna dönüşümünden sorumlu, ICE (interlökin-1-beta dönüştürücü enzim) olarak da adlandırılan, bir sistein proteaz olarak tanımlanmıştır.^{85, 86} Daha sonraları ise ICE'nin diğer sistein-proteazlardan farklı olarak amid bağının N-terminalindeki p1 pozisyonu olarak bilinen ucunda aspartik asitin mutlak gerekliliğini gerektiren farklı bir sistein-proteaz olduğu keşfedilmiştir.

ICE'nin enflamasyondaki rolü geniş bir şekilde aydınlatılırken bir taraftan da hücre ölümünden sorumlu genetik yoldaki rolü ortaya konmuştur.⁸⁷ Bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*'ın üzerinde yapılan bu çalışmada, hücre ölümü sırasında görev alan genetik yolda ced-3 isimli bir genin kodladığı proteinin hermafroditin gelişimi esnasındaki tüm programlı hücre ölümlerinden sorumlu olduğu görülmüştür. Daha sonraları ise ced-3'ün memelilerdeki ICE'nin bir homoloğu olduğu gözlenmiştir.^{88,89} Tüm bu bilgilerin ışığında apoptotik hücre ölümleri esnasında meydana gelen özellikli proteolizler ve bu yıkımlar sonucu oluşan biyokimyasal olaylar aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Memelilerde en az 14 kaspaz tanımlanmıştır.⁸⁹ Filogenetik analiz sonucunda gen ailesinin ICE (kaspaz-1) ile ilişkili ve ced-3 benzeri olmak üzere iki subgrubu olduğu görülür. Proenzimlerin kısa (kaspaz 3, 6, 7) veya uzun zincir barındırmalarına göre de kaspazları daha alt gruplara ayırmak mümkündür. Alternatif olarak bu proteazlar, substrat spesifitelerine göre de gruplandırılabilir.^{90,91} Günümüzdeki modern yaklaşım ise proteazları üç gruba ayırmaktadırlar.⁸⁴

Grup 1: Sitokin matürasyonuna aracılık edenler (caspase–1, 4, 5, 13) ICE ailesi,

Grup 2: Apoptotik hücre ölümü sürecinde efektör görevi üstlenenler (kaspaz–2, 3,7)

Grup 3: Apoptotik hücre ölümünde aktivatörler (kaspaz–6, 8, 9, 10) – ced 3.⁸⁸

Kaspazlar tetrapeptit motiflerini aminoasit spesifitelerine göre tanır ve p4 pozisyonundaki aminoasitlere göre üç spesifik gruba ayrılır:

Grup 1 kaspazlar (kaspaz–1, 4, 5, 13) P4 pozisyonunda hidrofobik aminoasitleri tanır ve sitokinlerin maturasyonuna aracılık ederler.

Grup 2 kaspazların yeğledikleri ayırma noktası hücre ölümü sırasındaki pek çok proteinlerde gözlenir ve bununla ilintili olarak da grup 2 kaspazlar (kaspaz–2, 3, 7) apoptosisin major efektörleri olarak bilinirler.

Grup 3 kaspazlar (kaspaz–6, 8, 9, 10) ise P4 pozisyonunda alifatik aminoasitleri tanır ve grup 2 kaspazların aktivasyonunda görev alır.

Kaspazlara ek olarak bir serin proteaz olan granzim–B gibi başka proteazlar da kaspaz aktivasyonunda görev alarak ve bazen de kaspazların yerine fonksiyon görerek apoptotik hücre ölümüne katkıda bulunur.

Bu sıralanmanın istisnaları da mevcuttur. Örneğin kaspaz–2 kendiliğinden aktive olabilir. Kaspaz–6 efektör proteaz olarak görev alabilir.⁸⁴

Kaspazlar inaktif üç parçalı proenzimler olarak sentez edilirler. Aktivasyonları sırasında aspartat (P1) – X (P2) bağının ayrılması ile proenzimden, küçük ve büyük subüniteleri içeren aktif enzim oluşur. Ayrılma noktasında aspartatın bulunması kaspazın oto–aktif ya da aktive edilebilir olmasıyla uyumludur. Ayrılma işleminden sonra 2 büyük ve 2 küçük alt üniteden oluşan tetramer yapısına sahip kaspaz yapısı izlenir. Kaspazların tetramer yapısı 2 adet büyük (dışta) ve 2 adet küçük alt üniteden (içte) oluşmuştur.⁹²

Kaspaz aracılı apoptozisin aktivasyonunda üç ayrı yolun varlığı bilinmektedir;

- 1.Mitokondri/Sitokrom–C aracılı apoptozis
- 2.Hücre yüzey reseptörleri aracılığı ile tetiklenen apoptozis
3. Endoplazmik retikulum aracılı apoptozis

NORMAL VE ANORMAL GEBELİKTE APOPTOZİS

Terminal villus, bağ dokusu matriksi ve kan damarlarını içeren trofoblastın dış tabakasından oluşur. Bu villöz trofoblast tabakası çoğalan, hücre siklusundan çıkan ve sonra çok çekirdekli sinsityotrofoblasta yol açmak için füzyona giren sitotrofoblast hücrelerinden oluşur. Sinsityotrofoblastlar içindeki çekirdek kromatin yoğunlaşmasının işaretlerini ve maternal dolaşımda kaybedilecek olan ‘sinsityal düğümlerin’ çekirdek agregat oranını gösterir. Sinsityotrofoblastların oluşumu apoptozis ile yani fosfotidilserinin eksternalizasyonu, caspaz–8 aktivasyonu ve DNAaz aktivasyonu ile benzerlik gösterir. Kaspaz aktivasyonu sinsityotrofoblastın anabolik aktivasyonundan önce meydana gelir ve sonrasında azalır. Kaspazların

aktivasyonu özellikle çevredeki sinsityal düğümlerde olmak üzere sinsityotrofoblastın degenerasyonunda da rol oynayabilir. Kaspaz-3'ün etkileri M30 neo-epidotunu oluşturmak için sitokeratin-18'in ayrılmasıyla sinsityotrofoblastta tanımlanabilir.

Villöz trofoblast içerisinde proliferasyon sitotrofoblastlarla sınırlıdır. Bunun tersine, normal şartlar altında plasental villusda meydana gelen apoptozis hemen hemen sadece sinsityotrofoblastta lokalizedir. Normal şartlar altında birinci trimestirde sitotrofoblastın yüzde 0,49'u apoptotik azalma ile uyumlu özellikler göstermesine rağmen, apoptozis sitotrofoblast hücrelerinde nadiren tanımlanır. Sinsityotrofoblastta, çekirdek dejenerasyonun başlangıcının sitotrofoblast füzyonu ile aynı zamanda olduğu görünmektedir. Apoptozis ile uyumlu olan, piknotik çekirdek, sitoplazmik yoğunlaşma ve membran blebbing'in dahil olduğu, ilave morfolojik özellikler sinsityotrofoblast içinde mevcuttur. Sitokeratin M30 ve terminal dUTP nick-end labelling için (TUNEL) immünohistokimyasal yöntemler kullanarak, hem birinci hem de üçüncü trimestirdeki normal plasental dokunun sinsityotrofoblastında apoptozis belirlenmiştir. Tersiyer villus içerisindeki apoptozisin düzeyi gebelik ile birlikte artar ve en çok 40 haftanın üzerindeki gebeliklerde görünür. Apoptozis aynı zamanda, maternal kan akımının akışına tepki olarak birinci trimestirde meydana gelen koryon leave'in regresyonu gibi plasental gelişmenin belli başlı özelliklerine de karışabilir.

Apoptozisin miktarı anormal plasental yapı ve işlevi ile ilişkili olarak belli başlı klinik durumlarda değişiklik gösterebilir. Ne yazık ki, bu çalışmaların çoğu bu değişikliklerden etkilenen hücre tiplerini kesin olarak belirtmez. Plasental apoptozis, parsiyel mol hidatiform (PHD), komplet mol hidatiform (CHM) ve koryokarsinoma da dahil olmak üzere gestasyonel trofoblast hastalığının tüm formlarında artar. PHM, CHM ve koryokarsinomada apoptozisteki artış, trofoblast proliferasyonundaki artış

ile beraber olur, ki bu da hücre döngüsündeki toplam bir artışı tanımlar. Apoptozis ilk trimestirde missed abortus ile komplike hale gelen gebeliklerde de artar. Ek olarak, apoptozis intrauterin gelişme geriliği (IUGR) ve pre-eklampsi gibi geç dönem gebeliğin klinik durumlarında da artar.

Sürekli bir tabaka olmasına rağmen, fibrin-tip fibrinoid birikimi ile gösterildiği gibi, özellikle hücre hasarına yanıt olarak, sinsityotrofoblastın farklı bölgelerinde apoptozis meydana gelir. Preeklampsi ve idiopatik IUGR'de artan apoptozis sinsityotrofoblastta lokalize olur, ancak sadece preeklampside bu sinsityotrofoblast bölgesindeki azalma ile ilişkilidir. Artan apoptozise ek olarak, preeklampsi ve IUGR'de artan sayıda sinsityal düğümlerde vardır, termde normal gebelikte tersiyer villusların % 10–50 ile onlara sahiptir ve hemen hemen tüm terminal villus onları preeklampside gösterir. Villöz trofoblast döngüsündeki değişikliklere ek olarak, preeklampsi ve IUGR ile komplike hale gelmiş olan gebeliklerden alınan plasental villöz dokular TNFalfa ve hipoksiye etkin bırakıldığında artan bir apoptotik yanıtı sahiptir ve bu belkide intrasellüler düzenleyicilerin değişen ekspresyonundan kaynaklanarak apoptozise daha yüksek bir duyarlılık göstermektedir.⁹³

PLASENTAL PATOLOJİDE VİLLÖZ TROFOBLASTLARDAKİ APOPTOZİS DÜZENLEYİCİLERİ

Anormal trofoblast döngüsüyle ilişkili olan şartlardaki intrensek apoptotik metabolik yolun unsurlarının değişik ekspresyonlarını gösteren birçok araştırmalar vardır.

Intrauterin gelişme kısıtlılığı (IUGR) villöz trofoblasttaki artan p53 ile ilişkilidir. Ancak bu her zaman semikantatif immünohistokimya

tarafından doğrulanmamıştır. IUGR nedeniyle komplike hale gelen gebeliklerde plasentalarda p53'ün gerileme etkisindeki farklılıkları hiçbir araştırma tanımlamamıştır. Bcl-2 ekspresyonunun semikantatif analizi ile ilgili bir makalede preeklampsi ve IUGR'deki Bcl-2 'deki bir azalmayı tarif etmiştir, ancak diğer araştırmalar IUGR ve maternal diabette hiçbir farklılık belirtmemektedir. Bax veya Bak ekspresyonunun hiçbir değişikliği GTD, IUGR veya preeklampside bildirilmemiştir. Aksine Mtd ekspresyonu şiddetli erken başlangıçlı preeklampside artar ve sinsityal düğümlere lokalizedir. Son zamanlarda Mcl-1 ekspresyonu preeklampsideki villöz trofoblastta değişik görünmektedir ve pro-apoptotik kısa formda artış ve anti-apoptotik uzun formda kayıp vardır. Beklentilerin aksine pro-apoptotik Nix ve BNip3 proteinlerin ekspresyonu IUGR ve preeklampsi nedeniyle komplike hale gelmiş gebeliklerde azalmaktadır. IUGR 'deki artan apoptozis artan caspaz-3 tutulumuyla gösterilmiştir.⁹³

PLASENTAL PATOLOJİNİN GELİŞMESİNDEKİ APOPTOZİSİN POTANSİYEL ROLÜ

IUGR ve preeklampsideki apoptozis villusdaki normal sitotrofoblast hücre döngüsünü bozarak sinsityotrofoblast için mRNA'nın normal yenilenmesini engelleyecektir, ki bu da plasental fonksiyonu daha da azaltabilir ve bu plasental komplikasyonlar arasındaki ilişkiyi açıklayabilir. Hem intrinsek hem de ekstrinsek metabolik yolların uyarılmasının in vitro trofoblasttaki apoptozise yol açtığının kanıtı vardır. Daha da spesifik olarak, hipoksi ve hipoksi-reoksijenizasyon yaralanması gibi, preeklampsi ve IUGR gelişmesinden kaynaklanan sıkıntılar kültüre edilmiş villöz trofoblastta apoptozise yol açabilir. Bazı deneyler trofoblastın hipoksiye etkin bırakılması ve arkasından p53 ve Mtd-1'in artan ekspresyonu arasında ya da Bcl ekspresyonundaki azalmayı tanımlamaktadır; benzer değişiklikler preeklampsi ve IUGR nedeniyle komplike hale gelen gebeliklerde plasentalarda gözlenmiştir. Bu deneyler

in vivo villöz trofoblasttaki gözlenen artan apoptozisin hipoksi ve oksidatif stres gibi zararlı bir uyarıcıya maruz kalmanın sonucu olarak meydana geldiğini göstermektedir.

IUGR değil, fakat preeklampsi maternal dolaşımdaki apoptozisin özelliklerini yansıtan, sinsityotrofoblast parçaları–sinsityotrofoblast mikropartiküllerinin (STBM) artan mevcudiyeti ile ilişkilidir. Ek olarak, fetal kökenli serbest hücre DNA'sı preeklampsideki maternal dolaşımda artar ama IUGR'de artmaz. Hem STBM'lerin hem de cell-free fetal DNA'nın apoptotik hücre ölümü sonucu olarak salınabileceği hipotezi ileri sürülmüştür. Bu STBM'lerin ve serbest hücre DNA'nın hipoksi ve hipoksi–reoksijenasyondaki yapay trofoblastta arttığı gözlemi ile desteklenmektedir. Son zamanlarda, STBM partiküllerinin makrofajların davranışlarını değiştirerek immün toleransına yol açtığı gösterilmiştir. STBM'nin ve serbest hücre fetal DNA'nın aşırı miktarlarının aşırı maternal inflamatuvar yanıtı yol açabileceği hipotezi ileri sürülmüştür.⁹³

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde zamanında sonlanmış tekil gebeliklerden elde edilen plasentalar kullanıldı. Kronik hipertansiyonu, böbrek hastalığı, preeklampsi, intrauterin gelişme kısıtlılığı, fetal anomalisi olan ve intrauterin ölüm olguları çalışma dışı bırakıldı. GDM tanısı gebeliğin 24–28. haftaları arasında yapılan 50 gr Glikoz yükleme testi ve sonrasında yapılan 100 gr Oral Glikoz Tolerans Testi ile konuldu. Bütün GDM'lu hastaların kan glukoz düzeyi diyetle regüle edildi. Tip 1 DM'lu hastalar insülin tedavisi alıyordu.

Gebeliği öncesinde Tip 1 DM tanısı almış 6 gebe plasentası, gebeliği sırasında yapılan testlerle GDM tanısı almış 6 gebe plasentası ve hiçbir sağlık sorunu olmayan 6 gebe plasentası Sezeryan doğumla alınarak gruplar oluşturuldu. Plasentalar olası anomaliler açısından değerlendirildi. Plasentaların sağlıklı görünen kotiledonlarının maternal yüzlerinden elde edilen doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için %10'luk nötral formalin ve elektron mikroskopik inceleme için pH 7.4'de 1/15 M fosfat tamponlu % 2.5'lik glüteraldehit tespit solusyonu içine konuldular. Işık mikroskopik inceleme için kesilen doku örnekleri %10'luk nötral formalinde 72 saat tespit edildiler. Daha sonra alışlagelmiş izleme yöntemlerinden geçirilerek parafine gömüldüler. Parafin bloklardan elde edilen kesitler Hematoksilen-eozin ile boyanarak Leica DM 2000B ışık mikroskopta incelenerek, resimlendirildiler.

3.1. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

% 10'luk Nötral Formalin ile tespit edilen kontrol ve hasta gruplarına ait dokular alışlagelmiş ışık mikroskop izleme yönteminden

geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan bloklardan polizinli lamlara, 4 µm kalınlığında kesitler alındı.

Çalışmada Tip 1 DM ve GDM'lu gebe plasentaları ile sağlıklı gebe plasentalarını apoptozisi belirleyebilmek ereğiyle Neomarkers Caspase-9 tavşan poliklonal antikoru (Cat: RB- 1205-P, Lot:1205P306) ve damarsal değişimleri göstermek ereğiyle VEGF (Cat: AP-9004, Lab Vision, Fremont, USA) kullanıldı.

Kesitler 37°C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15'er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla %100'lük, %96'lık ve %80'lik alkol serilerinden 10'ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilerek alkolden kurtarıldı.

Kesitler, doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılması ereğiyle mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6. 0) (Cat: AP- 9003- 500, Lot: 9003CT13610, Lab Vision) etkin bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra 15 dakika % 3'lük hidrojen peroksit (Lot: K32805897 403, Merck) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (Lab Vision) (pH: 7.4) ile yıkandı.

Yıkanan camlara 5 dakika Ultra V Block (Cat: TA- 125- UB, Lot: AUB81223, Thermo) uygulanarak özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan primer antikor aşamasına geçildi. Bu amaçla kesitler poliklonal primer antikoruna etkin bırakılarak 60 dakika oda ısısında bekletildi.

Camlar 60 dakikanın sonunda 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikor (Cat: TM- 125- BN, Lot: MBN80811, Thermo) uygulandı ve sekonder antikorum primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması ereğiyle 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat: TS- 125- HR, Lot: SHR80508, Thermo) etkin bırakıldı.

Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) (Cat: TA- 125- HA, Lot: HA15141, Thermo) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Mayer'in Hematoksileni (Lot: OB524092, Merck) kullanıldı ve camlar Ultramount (Cat: TA-125-UG, Lot: VM13518, Lab Vision) ile kapatıldı. Kesitler Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

3.2. ELEKTRON MİKROSKOBİK YÖNTEM

Tespit:

Sorenson' un fosfat solüsyonu:

Sol. A: Potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4)..... 0.908 g
Distile su.....100 ml
Sol. B: Sodyum fosfat dibazik ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)....1.188 g
Distile su.....100 ml
18.2 ml Sol. A + 81.8 ml Sol. B = 100 ml (pH: 7.4)

Gluteraldehit tespit solüsyonunun hazırlanması:

9.2 cc Sorenson fosfat tamponu+0.8 cc Gluteraldehit = 10 cc

Dokular, bu solüsyona 30 dakika etkin bırakılıp sertleşmeleri sağlandıktan sonra, bir çift bistüri yardımıyla 1 mm³'lük parçalara halinde ayrıldı. Bir saat daha gluteraldehit solüsyonunda bekletilerek ilk tespitleri sağlandı.

Osmiyum Tetroksit tespiti:

Osmiyum tetroksit (O_sO₄).....0.1 g

Distile su.....5 cc

1 kısım Sorenson fosfat tamponu + 1 kısım osmiyum tetroksit

Dokular bu şekilde hazırlanmış %1'lik osmiyum tetroksit solüsyonuna 1 saat etkin bırakıldı. Böylece tespitleri ve boyanmaları sağlanmış oldu.

Dehidratasyon ve blok oluşturulması:

Dokular osmiyumla ikinci kez tespit edildikten sonra, doku içindeki fazla suyun uzaklaştırılması için, artan derecelerdeki alkol serilerinden geçirildi.

% 50'lik alkol10 dakika

% 60'lık alkol10 dakika

% 70'lık alkol10 dakika

Uranil asetat30 dakika (1 g uranil asetat + 50 ml % 80' lik alkol karışımı hazırlandıktan sonra süzülerek 10 dakika bekletilip süzülerek uygulandı.)

% 80' lik alkol2 kez yıkandı ve 10 dakika bekletildi.

% 90'lık alkol10 dakika

% 96'lık alkol10 dakika

% 100'lük alkol15 dakika

Propilen oksit30 dakika

Propilen oksit + 1. gömme materyali.....30 dakika
(gömme materyalinin doku içine geçişi sağlandı.)

1. Gömme materyali.....1 gece 40 °C' de bekletildi.

1. Gömme materyali:

Araldit CY 212.....10 cc

DDSA.....10 cc

1. Gömme materyali.....2 saat rotatorda oda ısısında

2. Gömme materyali..... 2 saat 40 °C 'de bekletildiler.

2. Gömme materyali:

Araldit CY 212.....10cc

DDSA.....10cc

BDMA.....0.4cc

Dibütil fitalat.....1cc

Daha sonra dokular, içinde aynı gömme materyali bulunan 00 numara jelatin kapsüle gömüldü. Blok içindeki havanın çıkması için 1 saat oda ısısında bekletilen dokular, polimerizasyon için 24 saat 45 °C' de, 48 saat 60 °C' de etüvde bekletildi. Süre sonunda etüv kapatılarak dokular etüv içinde kendi hallerinde soğumaya bırakıldı.

Hazırlanan bloklardan LKB Leica ultramikrotom (Dechert Supernova) ile 1 µ kalınlığında kesitler alındı ve toluidin mavisi ile boyandı. Bilgisayar donanımlı foto-ışık mikroskobu (DCM 4000, Leica, Germany) ile incelenen kalın kesitlerin resimleri çekildi ve bu bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0.2–0.5 µ'luk ince kesitleri alındı. Kontrast sağlamak ereğiyle, alınan kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EVO LS 10+ ED transmission elektron mikroskopta (TEM) değerlendirilerek fotoğraflandı.

3.3. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Tip 1 DM ve GDM'lu gebe ile sağlıklı gebelere ait plasenta kesitlerinde VEGF ve Caspase-9 primer antikorları ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarda her bir camda X400 büyültmede rasgele beş alan seçilerek tutulumlar yoğunluk ve tutulum miktar yüzdesi olarak değerlendirildi. Tutulum yoğunluğu semi kantitatif olarak 0 (0,tutulum yok), 1 (+, zayıf immünreaktivite), 2 (+ + , orta düzeyde immünreaktivite), 3 (+ + +, kuvvetli düzeyde immünreaktivite) olarak skorlandırıldı.

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Gruplar arasında VEGF ve Caspase-9 immünreaktivite skorları yönünden farkın önemliliği Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. $p<0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun önemli bulunması halinde anlamlı farka neden olan durumları tespit etmek amacıyla Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. $p<0,017$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1.HASTALARIN KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Tip 1 diabetes mellitus grubu, Gestasyonel diabet grubu ve normal sağlıklı gebe grubu arasında yaş, gebelik haftası, doğum ağırlığı, plasenta ağırlığı ve Umbilikal arter Doppler incelemesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. HbA1C değeri açısından Tip 1 DM 'lu grup ile Gestasyonel diabet grubu arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık saptandı (6.3 ± 1 , 2.5 ± 1 , sırasıyla).

Tablo 2: Hastaların klinik özelliklerini gösteren tablo

	Normal (n=6)	Tip 1 DM (n=6)	GDM (n=6)
Maternal yaş (yıl)	29±5	28±5	29±4
Gebelik haftası	40±1	37±2	39±2
Doğum ağırlığı (gram)	3320±290	3175±235	3630±325
Plasenta ağırlığı (gram)	632±112	620±146	645±124
HbA1C (%)	Bakılmadı	6.3±1	2.5±1
Umbilikal arter Doppleri (*PI/RI)	1.75±0.84	2.25±1.23	1.96±0.92

*PI: Pulsalite indeksi

RI: Rezistans indeksi

4.2.İŞIK MİKROSKOBİK BULGULAR

Kontrol grubuna ait plasentanın ışık mikroskopik resimlerinde, serbest villuslarda tek sıra halinde dizilim gösteren sinsityotrofoblastik hücre çekirdekleri, villus stroması içinde stromal hücre çekirdekleri, kapillerler, perivillöz alan normal yapı ve düzenlenimde görüldü (Resim 1).

Tip 1 DM grubuna ait plasentanın ışık mikroskopik resimlerinde serbest villuslar, kök villuslar ve villus stroması görülürken sinsityal düğümlerin artmış olduğu, perivillöz alanda belirgin konjesyonun varlığı dikkat çekti (Resim 2,3).

Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentanın ışık mikroskopik incelemesinde sinsityal düğümlerde artış, endovillöz hiperkapillerizasyon, intervillöz bölgede ileri derecede konjesyon görüldü (Resim 4,5).

4.3.ELEKTRON MİKROSKOBİK BULGULAR

Kontrol grubuna ait plasentanın yarı-ince kesitinde serbest villuslar, villus stroması, kapillerler, sinsityotrofoblast hücrelerinin tek sıra halinde dizilen çekirdekleri ve perivillöz alan normal yapıda izlendi (Resim 6).

Kontrol grubunun elektron mikroskopik resimlerinde, villus yüzeyindeki mikrovilluslar gelişkin yapıdaydı. Piknotik, heterokromatini çekirdek zarı altında yoğunlaşmış ve orta bölgesi ökromatik yapıdaki SST hücre çekirdekleri görülüyordu. SST hücre katmanını stromadan ayıran

SST katmanı bazal laminası belirgindi. Villus stromasında stromal hücreler, çentikli çekirdekli makrofaj benzeri hücreler, ayrıca kollagen lif enine ve boyuna kesitleri normal yapıda gözlenmekteydi. SST hücre stoplazmasında madde geçişimini simgeleyen irili ufaklı vakuoller dikkati çekiyordu. Ayrıca kapillerler belirgindi (Resim 7).

Aynı gruba ait büyük büyütmeli resimde SST hücreleri özgün çekirdek yapılarıyla gözleniyordu. Çekirdek zarı altında birikmiş heterokromatin yığınakları ve ortada ökromatin dikkati çekiyordu. Bazal laminanın gelişkin olduğu ilgiyi çekiyordu. Çentikli çekirdeğiyle makrofaj benzeri hücre belirgindi. Stromal hücreler ve kollagen lifler ayırt ediliyordu (Resim 8).

Tip 1 DM grubuna ait plasentanın yarı–ince kesitlerinde serbest ve kök villuslardaki vasküler oluşumların belirgin hale geldiği ve perivillöz konjestif alanların varlığı dikkati çekti (Resim 9,10).

Aynı grubun elektron mikroskopik resminde, kontrol grubuna karşın bu grupta serbest villus yüzeyindeki mikrovillusların oldukça gelişkin olduğu ve SST hücreleri çekirdeklerinde heterokromatin dağılımının değişim gösterdiği belliydi. Kromatin çekirdek içersinde genelde tek düze ve ökromatik yapıda izleniyordu. Yer yer çekirdek zarı altında heterokromatin yığınaklarının olduğu ayırt ediliyordu. Tüm stromayı dolduracak şekilde damar yapılarının geliştiği ilgiyi çekiyordu. Kontrol grubunda olduğu gibi SST hücre stoplazmasında madde geçişimini simgeleyen vakuoler boşluklar ve bunların içinde irili ufaklı, yoğun az yoğun granüler yapılar belirgindi. SST hücresi ile bazal lamina katmanı arasında içi fibrin ya da partiküllerle dolu ödematöz alanlar ayırt ediliyordu. Tip 1 DM grubunda kontrol grubuna karşın bazal laminanın daha ince olduğu dikkati çekiyordu. Yarı–ince kesitlerde dikkati çektiği üzere kontrol

grubu ile karşılaştırıldığında villus stromasının büyük bir kısmını kaplayan vasküler oluşumlar dikkati çekti (Resim 11).

Gestasyonel diabet grubuna ait plasentanın yarı–ince kesitinde serbest ve kök villuslarda, değişik boyutlarda, çok sayıda kapiller yapının kontrol ve Tip 1 DM grubuna göre varlığı dikkati çekti (Resim 12).

Aynı grubun elektron mikroskopik resimlerinde sinsityotrofoblastik hücre katında multipl vakuoler oluşumlar, villus stromasındaki kollagen liflerin seyrekleşmesi, villusun hemen tamamını kaplayan vasküler oluşumlar dikkati çekmekteydi. Villus yüzeyindeki mikrovilluslarda diğer iki gruba karşın düzensizlik, azalma ve kütleleşme izleniyordu. SST hücrelerinin stoplazmasında izlenen yaygın vakuol ve veziküllerin varlığı dikkat çekiciydi. Bunların hızlı madde geçişinde rol alabileceği düşünüldü. Yine bu grupta da bazal laminanın Tip 1 DM grubu gibi kontrol grubuna karşın oldukça incelendiği belgindi (Resim 13a,13b).

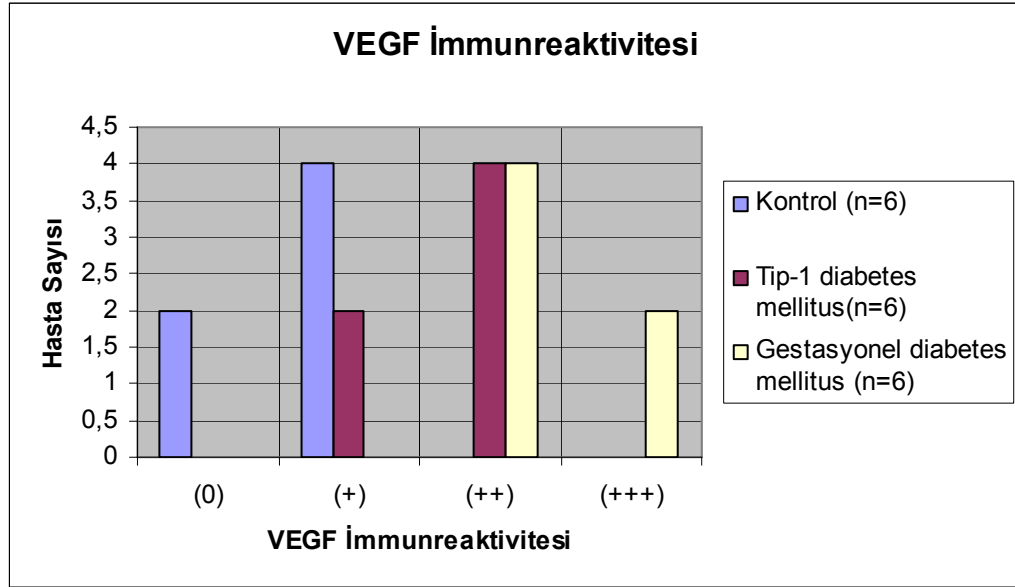
4.4.İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Gruplar arasında VEGF immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,002$; Kruskal Wallis testi). Kontrol grubu ile Tip 1 DM grubu arasında VEGF immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,026$; Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi). Kontrol grubuna göre GDM grubunun VEGF immünreaktivite skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,002$; Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi). Tip 1 DM grubu ile GDM grupları arasında da VEGF immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,132$; Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi).

Gruplar arasında Caspase–9 immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,008$; Kruskal Wallis testi). Kontrol grubuna göre Tip 1 DM grubunun Caspase–9 immünreaktivite skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,009$; Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi). Kontrol grubuna göre GDM grubunun Caspase–9 immünreaktivite skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,009$; Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi). Tip 1 DM grubu ile GDM grupları arasında da Caspase–9 immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,699$; Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi).

Tablo 3: Çalışma ve kontrol grupları arasındaki VEGF primer antikoru immünreaktivitesi skorları

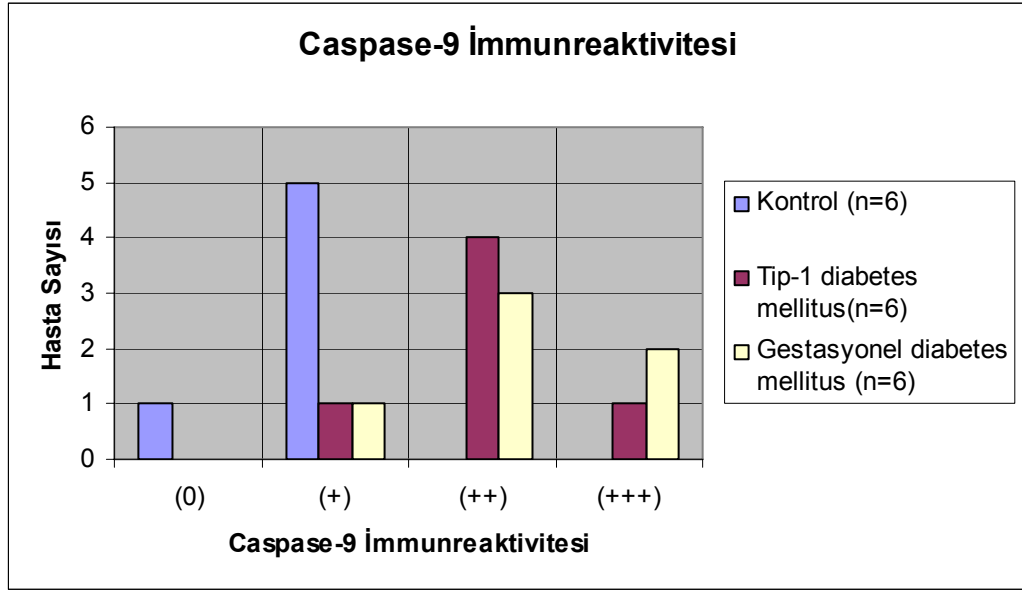
		VEGF İmmunreaktivite			
		(0)	(+)	(++)	(+++)
Gruplar	Kontrol (n=6)	2	4	–	–
	Tip–1 diabetes mellitus(n=6)	–	2	4	–
	Gestasyonel diabetes mellitus (n=6)	–	–	4	2



Grafik 1: VEGF immünreaktivitesinin çalışma ve kontrol grupları arasındaki ilişki.

Tablo 4: Çalışma ve kontrol grupları arasındaki Caspase-9 primer antikoru immünreaktivitesi skorları

		Caspase-9 İmmünreaktivite			
		(0)	(+)	(++)	(+++)
Gruplar	Kontrol (n=6)	1	5	–	–
	Tip-1 diabetes mellitus (n=6)	–	1	4	1
	Gestasyonel diabetes mellitus (n=6)	–	1	3	2



Grafik 2: Caspase–9 immünreaktivitesinin çalışma ve kontrol grupları arasındaki ilişki.

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ile Tip 1 diabetes mellitus grubuna ait plasentada yapılan immünohistokimyasal boyamada, villus içindeki vasküler oluşumlar ve endotelial hücrelerde kontrol grubuna göre daha kuvvetli ancak gestasyonel diabetes mellitus grubuna göre daha zayıf bir immün reaktivite izlendi (Resim 14).

Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentanın VEGF antikoruna ile yapılan immünohistokimyasal boyamasında gerek kök villuslar, gerek serbest villuslar içindeki kapillerler ve onlara ait endotel hücrelerinde kontrol ve Tip 1 diabetes mellitus grubuna göre artmış immün reaktivite gözlemlendi. Artmış immünreaktivitenin sinsityotrofoblastik hücre çekirdeklerindeki varlığı da dikkati çekti (Resim 15).

Kontrol grubunun ise VEGF antikoruna ile yapılan immünohistokimyasal boyamasında villuslar içindeki kapiller yapıları ait endotelial hücrelerde Tip 1 diabetes mellitus ve gestasyonel diabetes

mellitus grubuna göre oldukça zayıf bir immünreaktivite gözlemlendi (Resim 16).

Caspase-9 antikoruna ile immünohistokimyasal boyama yapılan Tip 1 diabetes mellitus grubuna ait plasentanın incelemesinde özellikle sinsityotrofoblastik hücre çekirdeklerinde, artmış stromal hücre çekirdek apoptozisi işaret eden immünreaktivite izlendi (Resim 17).

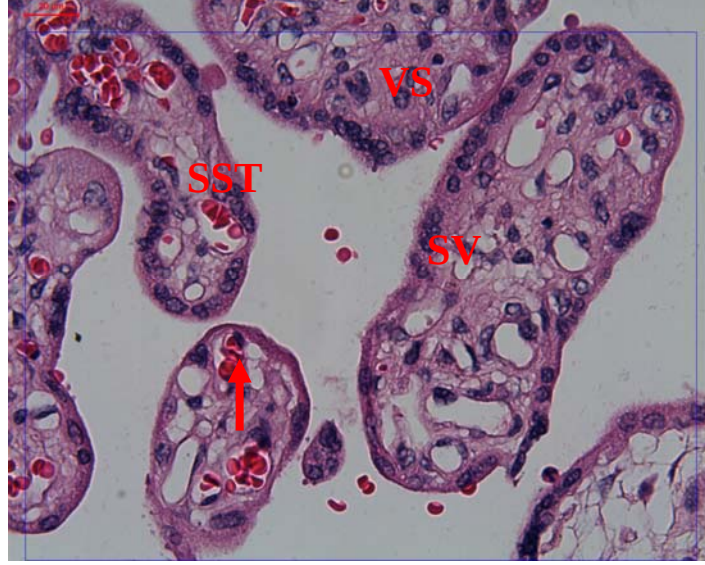
Gestasyonel diabet grubunun Caspase-9 antikoruna ile yapılan immünohistokimyasal incelemesinde ise kontrol grubuna göre sinsityotrofoblast hücre çekirdeklerinde, villus stromasına ait hücre çekirdeklerinde apoptozisi işaret eden immün reaktivite artışı daha belirgin olarak izlendi. Ancak Tip 1 diabetes mellitus ile immünreaktivite yönünden belirgin fark saptanamadı (Resim 18).

Kontrol grubunun Caspase-9 antikoruna ile yapılan immünohistokimyasal boyamasında ise sinsityotrofoblast hücre çekirdeklerinde, villus stromasına ait hücre çekirdeklerinde immünreaktivite yokluğu dikkati çekti (Resim 19).

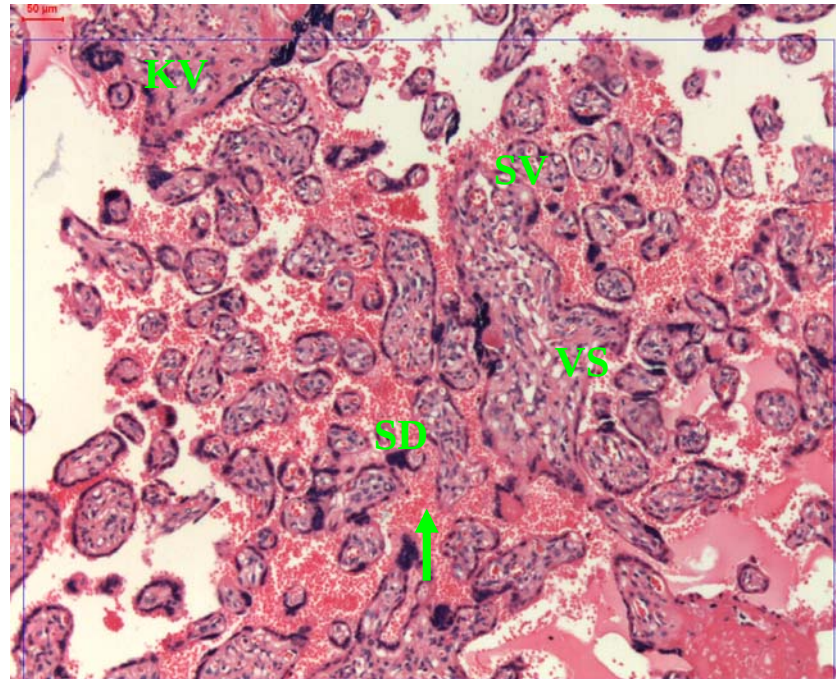
Sonuç olarak gerek Tip 1 diabetes mellitus, gerek gestasyonel diabetes mellitusta hasarlanmış plasental fonksiyon, plasental yapı ve gelişen plasental hipoksi-iskemi sonucu kompensatuar olarak villuslarda hiperkapillerizasyon sonucunda immünohistokimyasal olarak da VEGF immünreaktivitesinde artışa neden olmuştur. Plasental hipoksi-iskeminin bir diğer bulgusu da sinsityal düğümlerde artıştır. Gerek Tip 1 diabetes mellitus gerek gestasyonel diabetes mellitus grubunda sinsityal düğümler artmış olarak gözlemlenmiştir.

Plasental hipoksi-iskemi anormal plasental yapılanmaya yol açar. Bu da apoptozise zemin hazırlayan faktörlerden biridir. Apoptotik

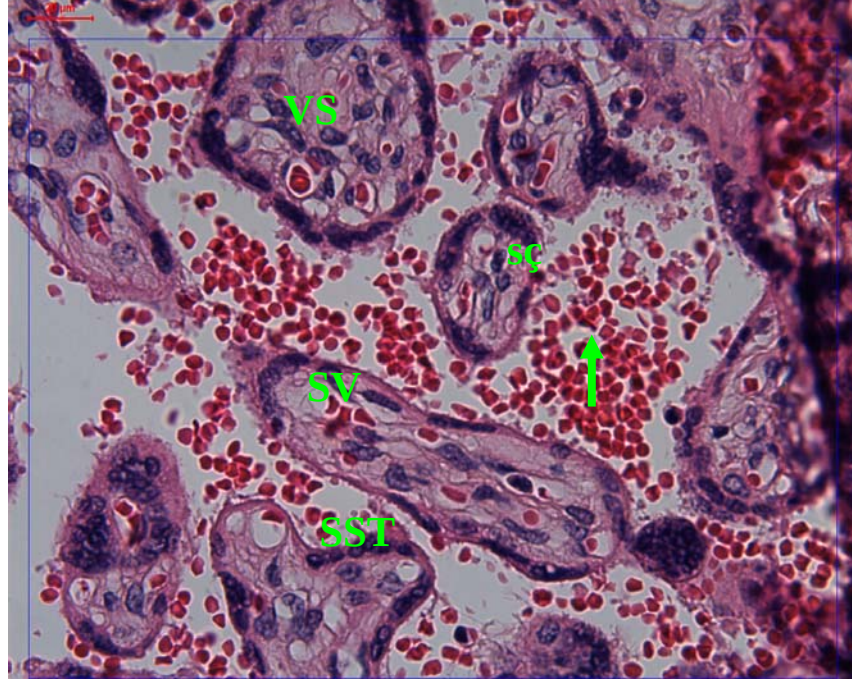
oluşumların artışı, maternal dolaşıma geçişi sistemik endotelyal toksisite yoluyla gelişmeyi engeller. Bu da diabetik gebeliklerdeki IUGR (İntrauterin Gelişme Kısıtlılığı) ve ftal komplikasyonları açıklamada bir gerekçedir.



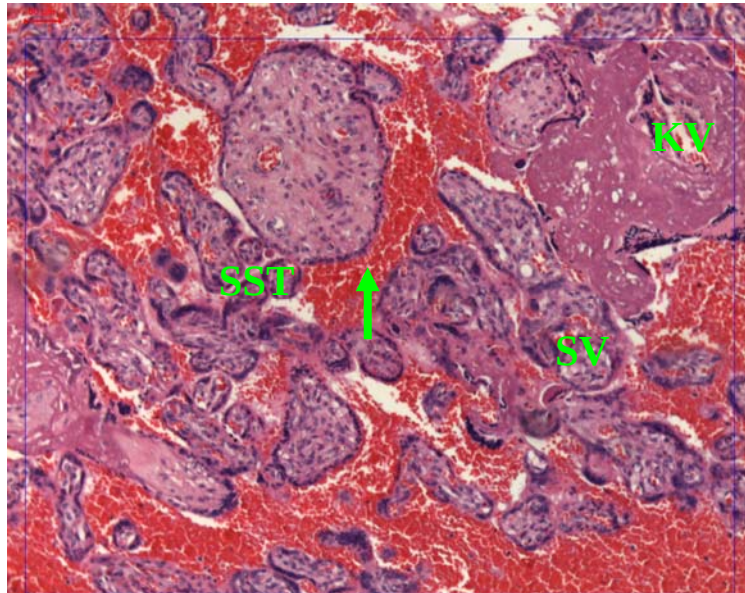
Resim-1: Kontrol grubuna ait plasentada, serbest villuslar (SV), villus stroması (VS), stromal hücre çekirdekleri, sinsityotrofoblastlar (SST), perivillöz alan (↑) görülmekte (Hematoksilen-eozin, x40).



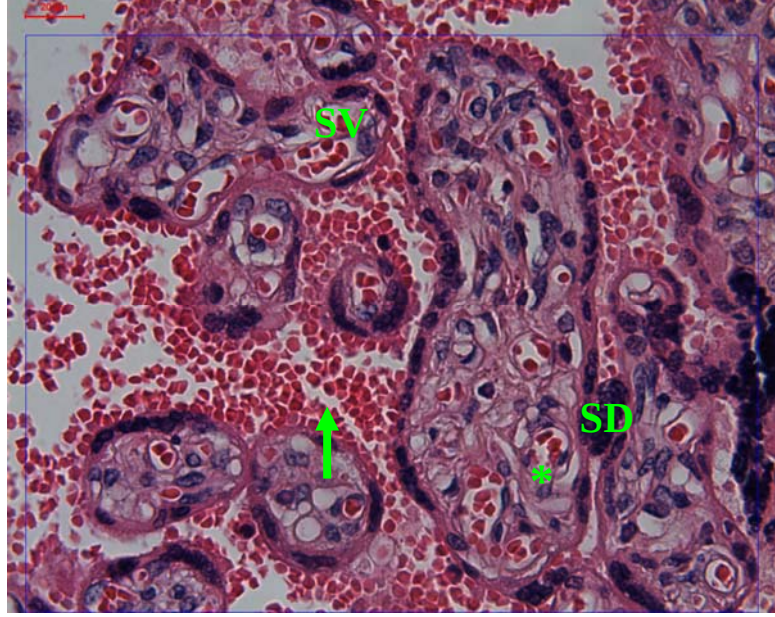
Resim-2: Tip 1 diabetes mellitus grubuna ait plasentada, serbest villuslar (SV), kök villuslar (KV), villus stroması (VS), sinsityal düğümler (SD) ve perivillöz alanda konjesyon görülmekte (↑) (Hematoksilen-eozin, x4).



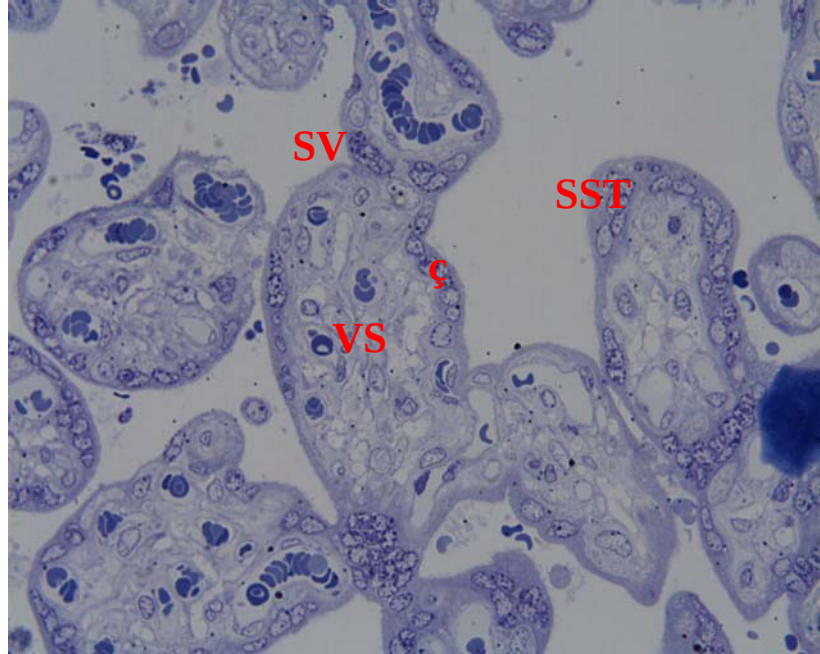
Resim-3:Tip 1 diabetes mellitus grubuna ait plasentanın daha büyük büyültmesinde, serbest villuslar (SV),villus stroması (VS), stromal hücre çekirdeği (sç), sinsityotrofoblastlar (SST) ve perivillöz konjesyon (↑) dikkati çekmekte (Hematoksilen–eozin, x40).



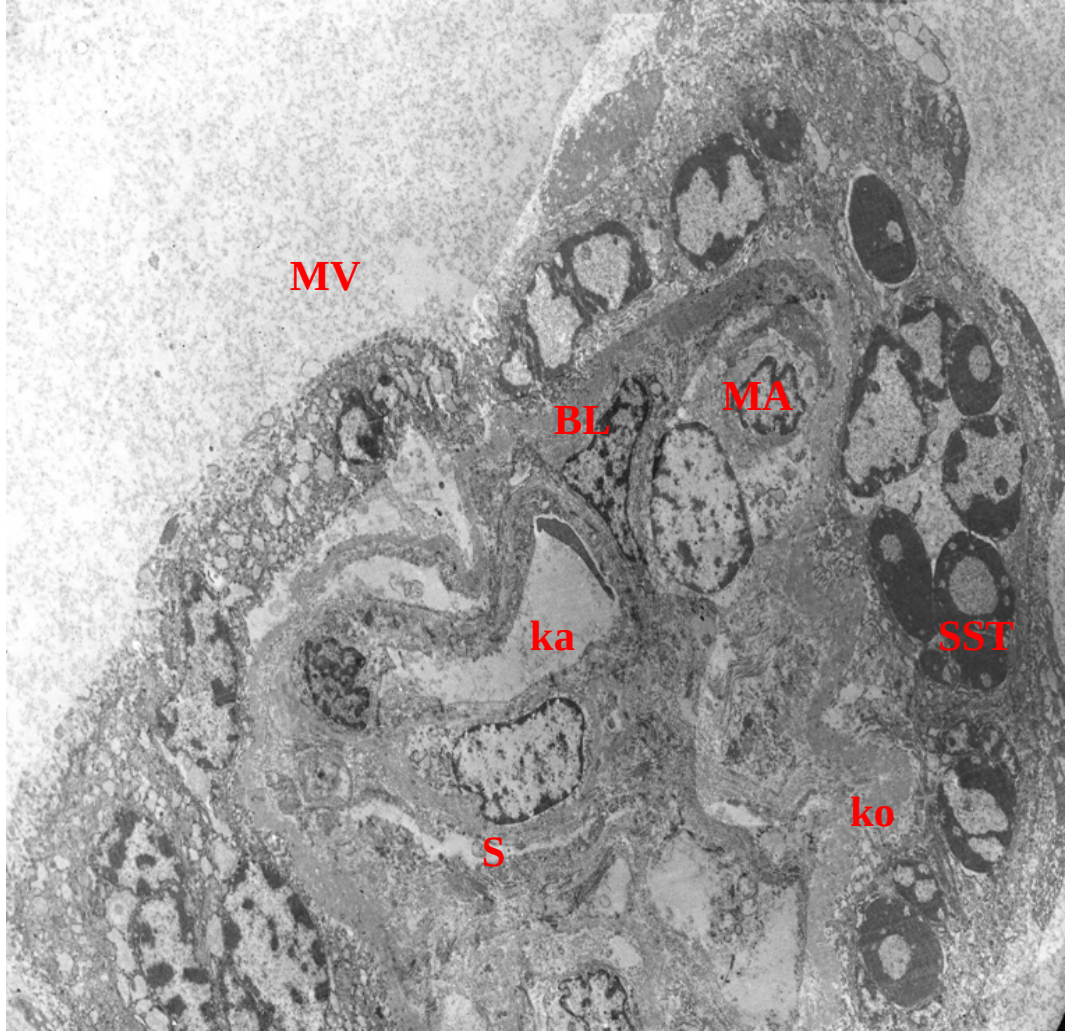
Resim-4: Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentada, serbest villuslar (SV), kök villuslar (KV), sinsityotrofoblastlar (SST) ve perivillöz konjesyon (↑) (Hematoksilen–eozin, x10).



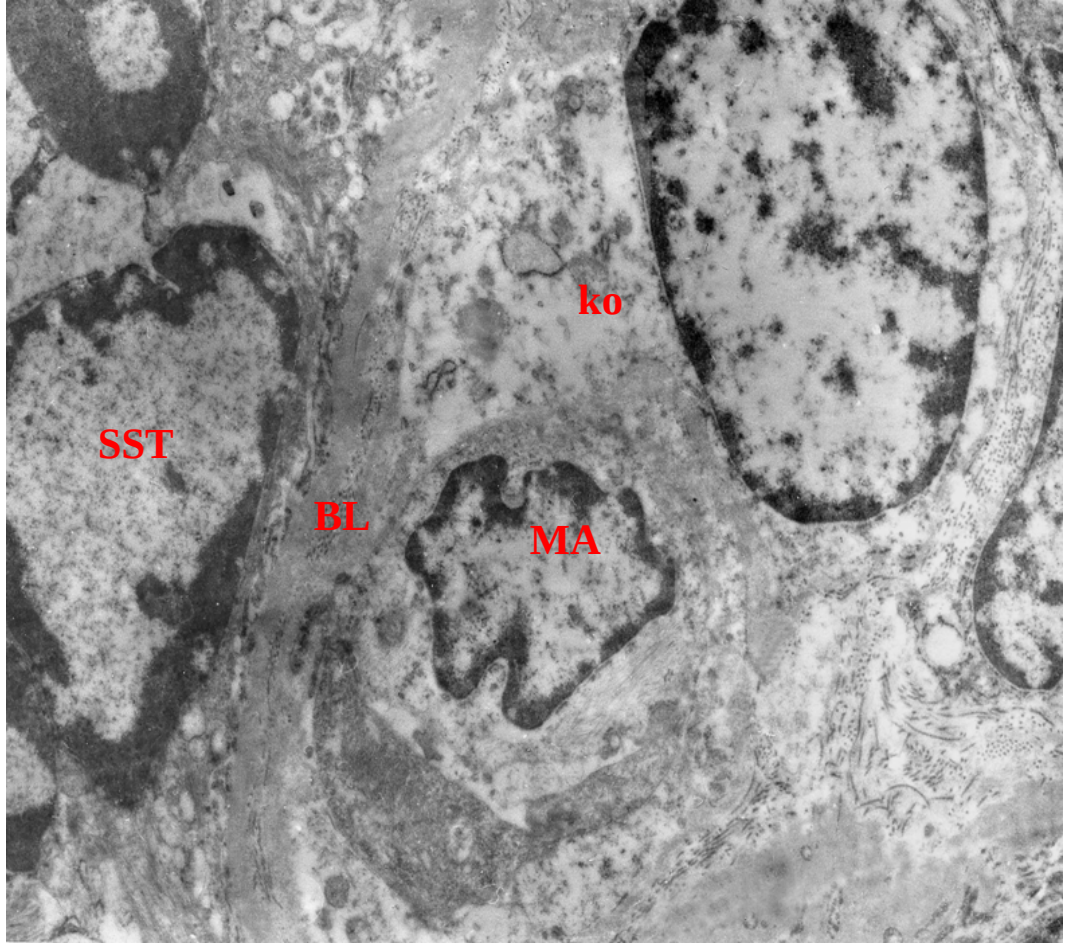
Resim-5: Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentada, serbest villuslar (SV), endovillöz hiperkapillerizasyon (*), sinsityal düğümler (SD) ve perivillöz konjesyon (ok) belirgin olarak görülmekte (Hematoksilen-eozin, x40).



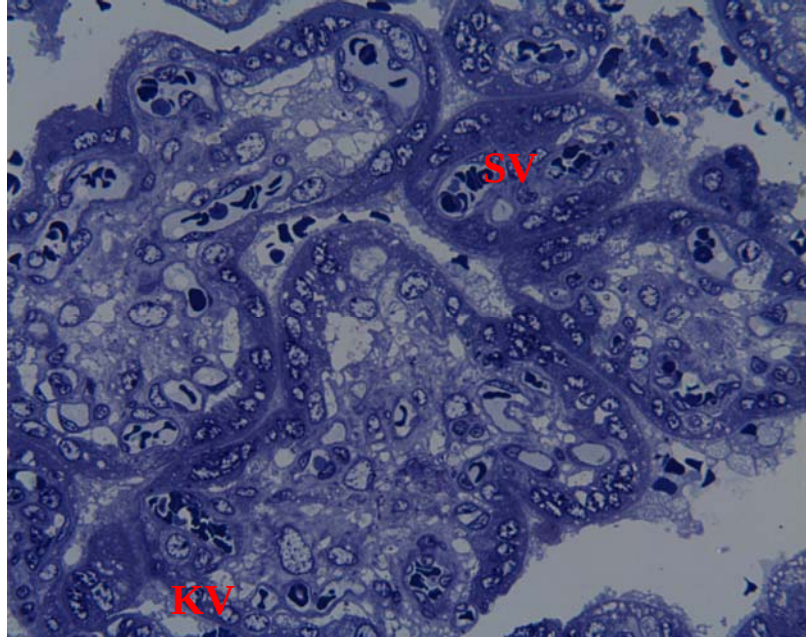
Resim-6: Kontrol grubuna ait plasentanin yarı-ince kesitinde serbest villuslar (SV), villus stroması (VS), sinsityotrofoblast hücre çekirdekleri (ç) görülmekte (Toluidin blue, x40).



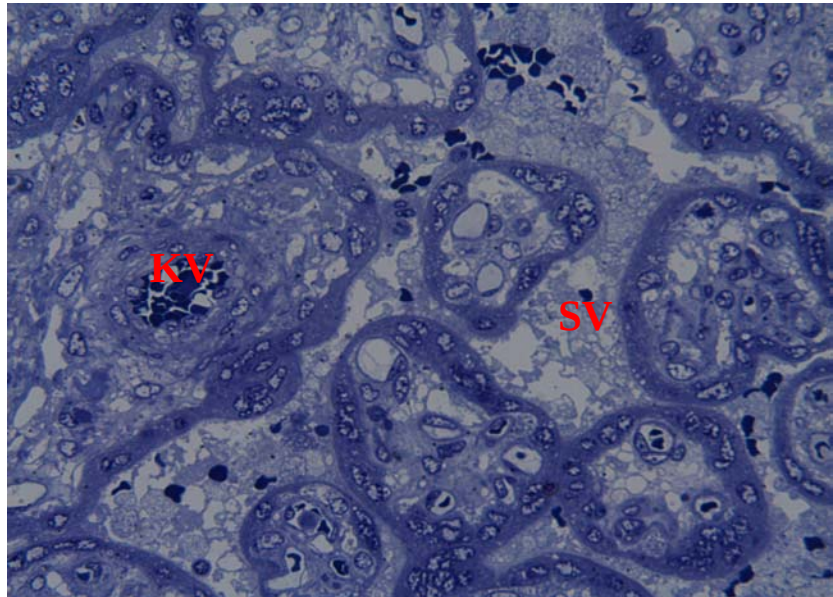
Resim-7: Kontrol grubuna ait plasentada, sinsityotrofoblastik hücre çekirdekleri (SST), sinsityotrofoblastik bazal lamina (BL), mikrovilluslar (MV), villus stroması (VS) ve içindeki kollagen liflerin (ko) enine ve boyuna kesitleri ve makrofajlar (MA), kapillerler(ka) görülmekte (Kurşun sitrat-uranil asetat, x1670).



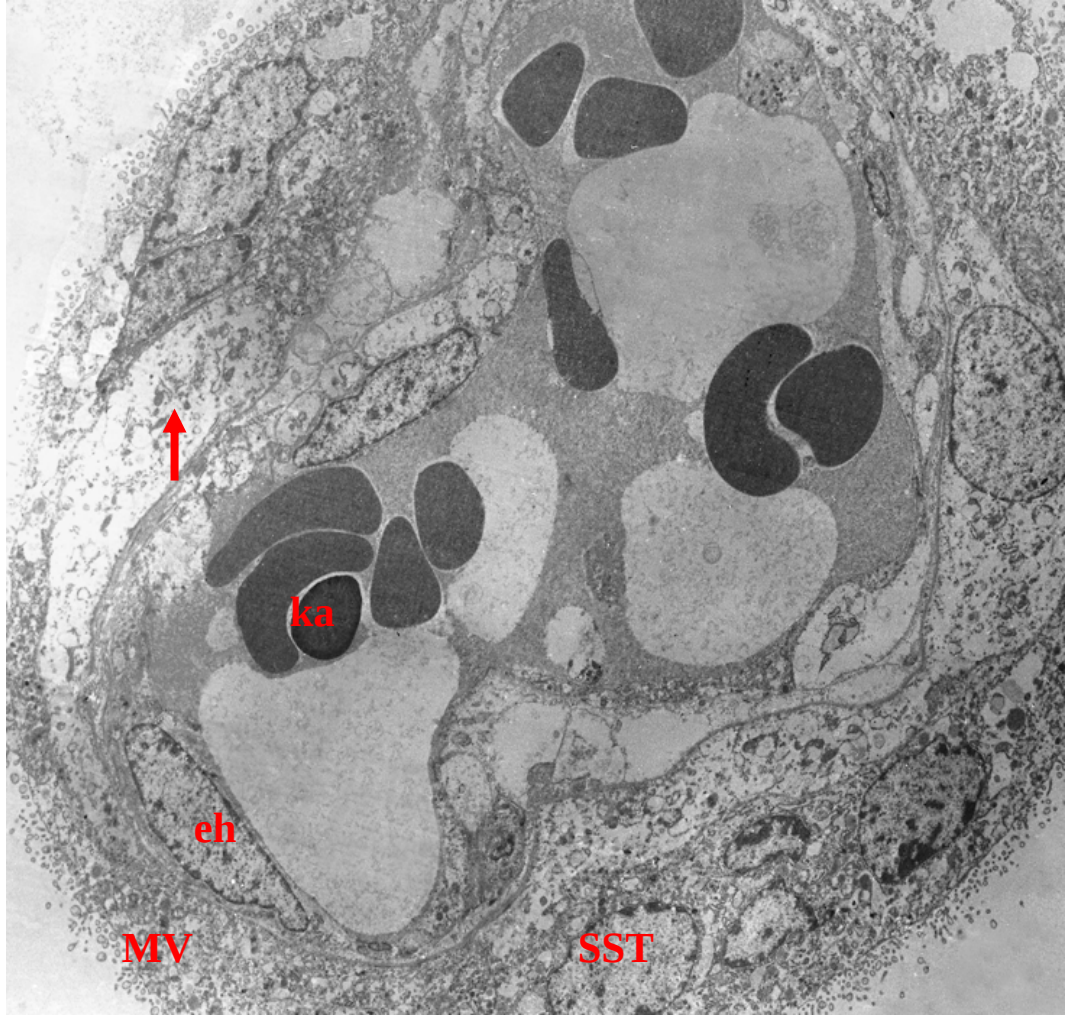
Resim-8: Kontrol grubuna ait plasentanin büyük büyültmesinde, piknotik, heterokromatik görünümlü sinsityotrofoblastik hücre çekirdeği (SST), sinsityotrofoblastik bazal lamina (BL), makrofaj (MA) ve villus stromasına ait hücreler, kollagen liflerin (ko) enine ve boyuna kesitleri ayrıntılı olarak görülmekte (Kurşun sitrat–uranil asetat, x6000).



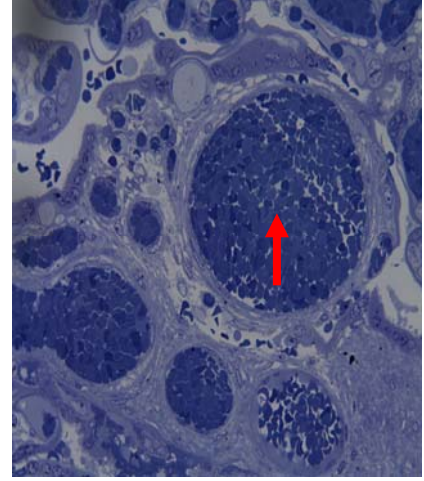
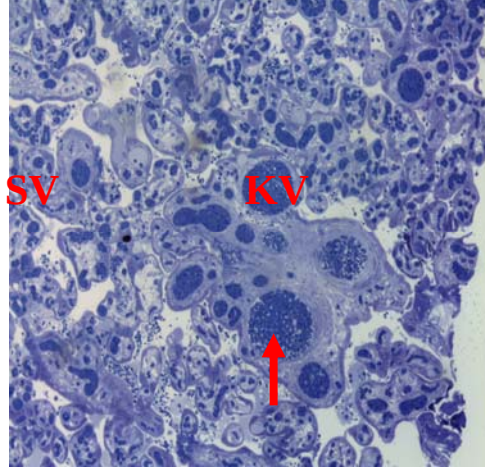
Resim-9: Tip 1 diabetes mellitus grubuna ait plasentanın yarı-ince kesitinde, serbest villuslar (SV), kök villuslar (KV), serbest ve kök villuslardaki vasküler oluşumlar dikkati çekmekte (Toluidin blue, x10).



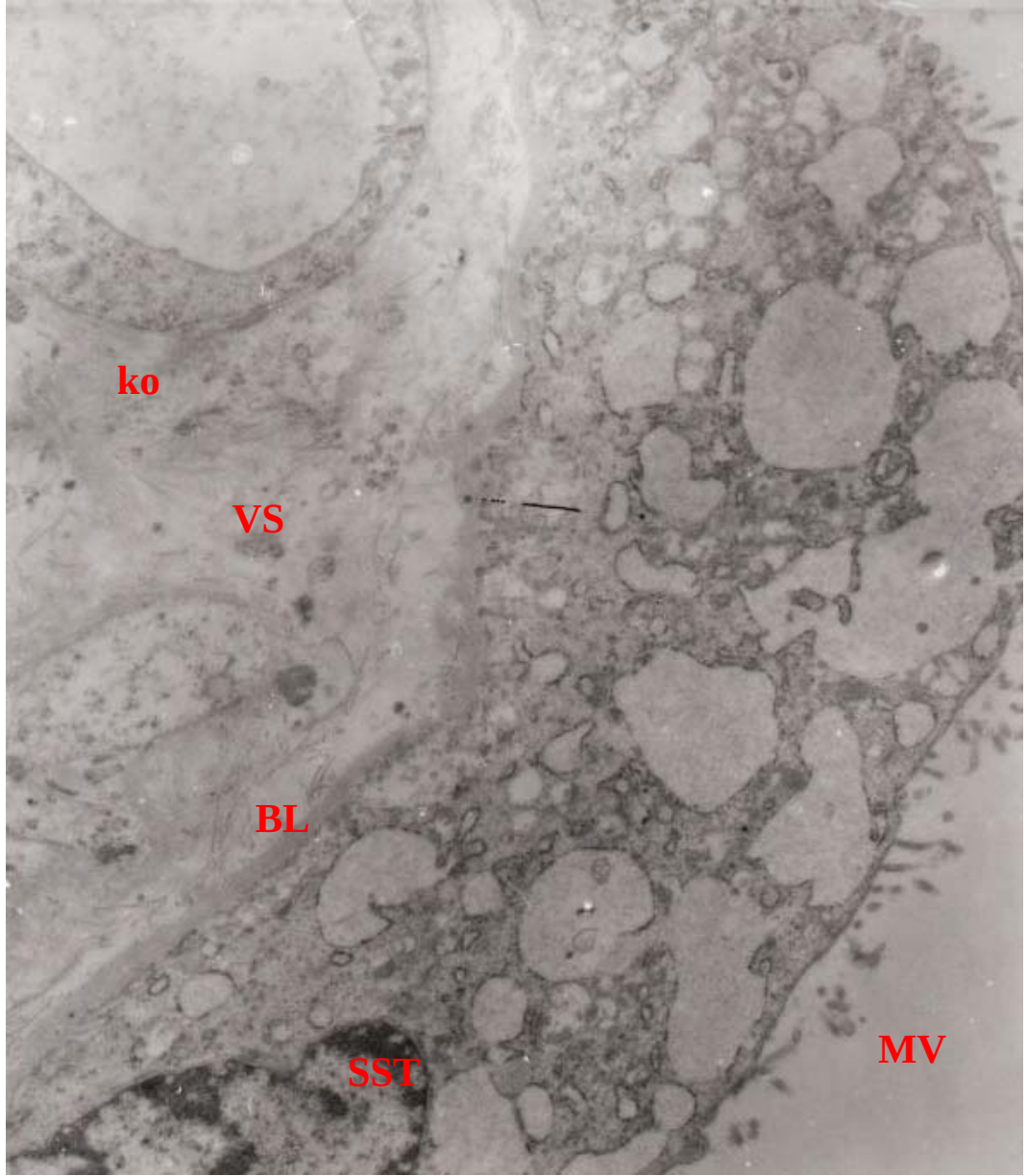
Resim-10: Tip 1 diabetes mellitus grubuna ait plasentanın büyük büyültmedeki yarı ince kesitinde, serbest ve kök villuslardaki vasküler oluşumlar ve perivillöz konjestif alanlar belirgin olarak dikkati çekmekte (Toluidin blue, x40).



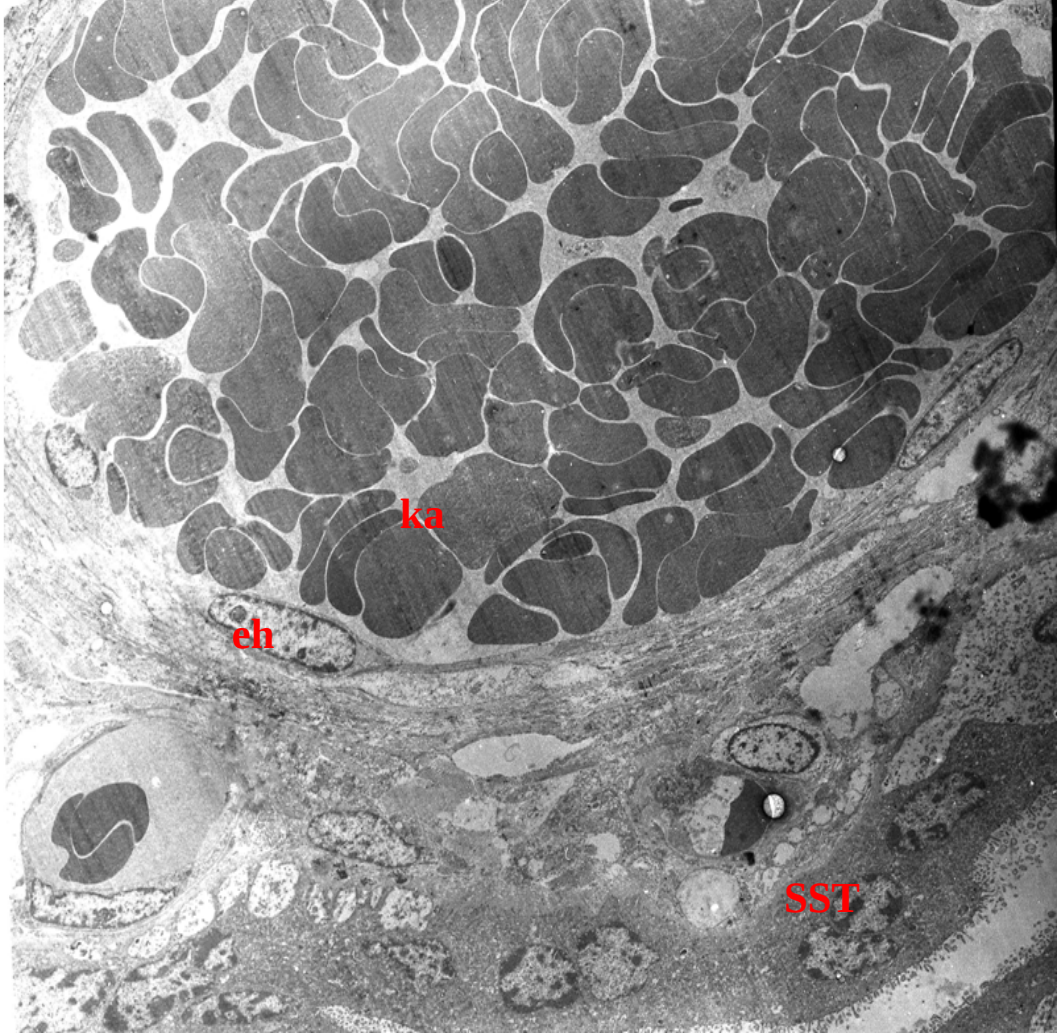
Resim-11 Tip 1 diabetes mellitus grubuna ait plasentada, sinsityotrofoblast (SST) hücre çekirdekleri, mikrovilluslar (MV), kapillerler (ka), endotel hücreleri (eh), villus stroması içinde ödematöz oluşumlar (↑) (Kurşun sitrat-uranil asetat, x1670).



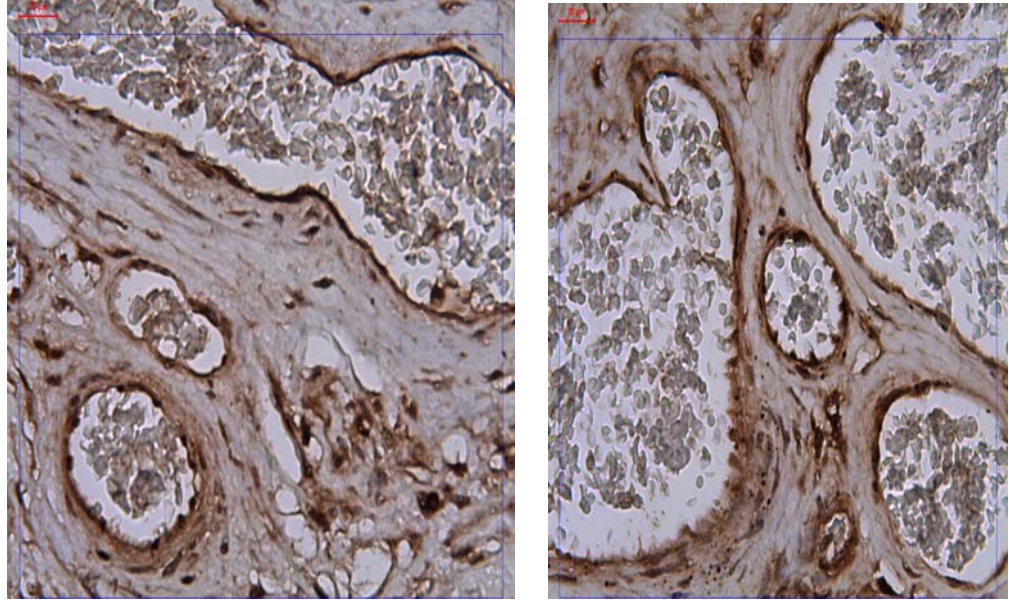
Resim-12: A–Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentanın yarı ince kesitinde serbest villuslar (SV), kök villus (KV) ve villus stroması içi yoğun vasküler oluşumlar (↑) (Toluidin blue, x4). B–Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentanın yarı–ince kesitinin büyük büyültmesinde kök villus stroması içindeki vasküler oluşumlar (Toluidin blue, x40).



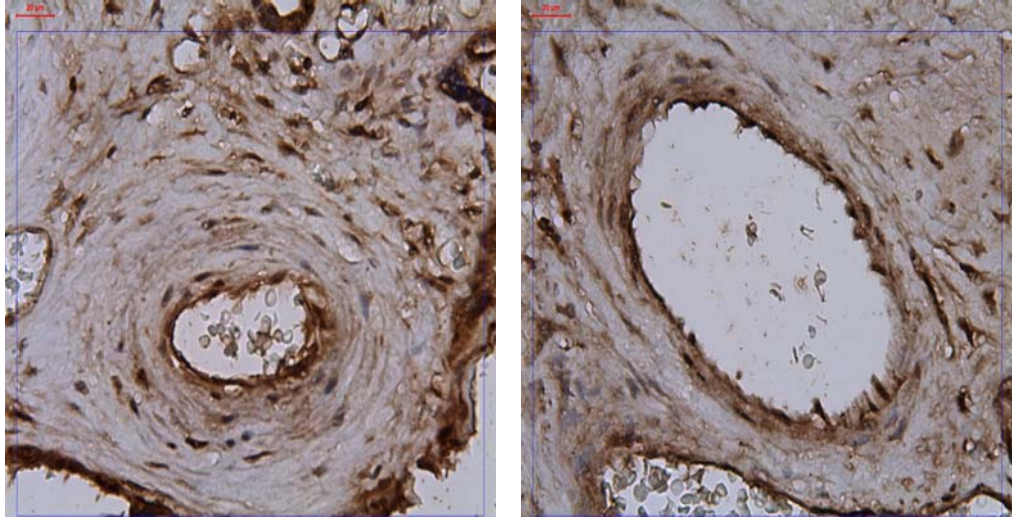
Resim-13a: Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentada, mikrovilluslar (MV), sinsityotrofoblast çekirdeği (SST), multipl vakuoler oluşumlar (↑), sinsityotrofoblastik bazal lamina (BL), villus stroması (VS), stromadaki kollagen lifler (ko), (Kurşun sitrat-uranil asetat, x4646).



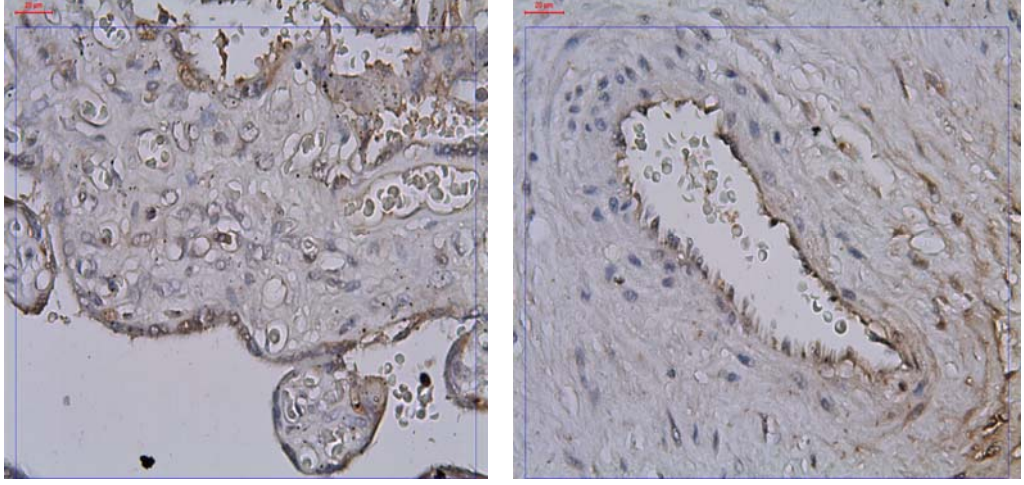
Resim-13b: Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentada, sinsityotrofoblast hücre çekirdekleri (SST), mikrovilluslar (MV), sinsityotrofoblastik bazal lamina (BL), villus stromasının büyük bir bölümünü kaplayan vasküler oluşumlar (ka), endotel hücre çekirdekleri (eh) (Kurşun sitrat-uranil asetat, x1293).



Resim-14: VEGF boyaması yapılan Tip 1 diabetes mellitus grubuna ait plasentada, villuslardaki vasküler oluşumlar ve endotelial hücrelerdeki immünreaktivite görülmektedir (İmmünperoksidaz-Hematoksilenx40).



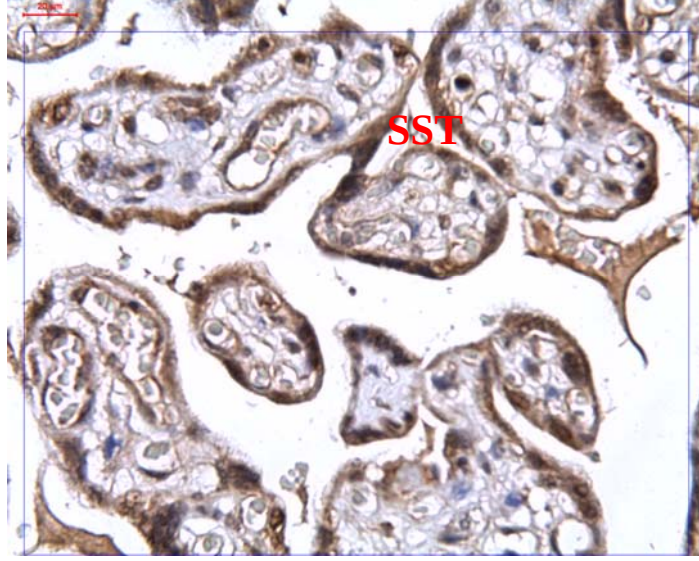
Resim-15: VEGF boyaması yapılan Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentada, kök villus içindeki vasküler oluşumlar ve endotelial hücrelerdeki immünreaktivite görülmektedir (15Ax10, 15Bx40, İmmünoperoksidaz-Hematoksilen).



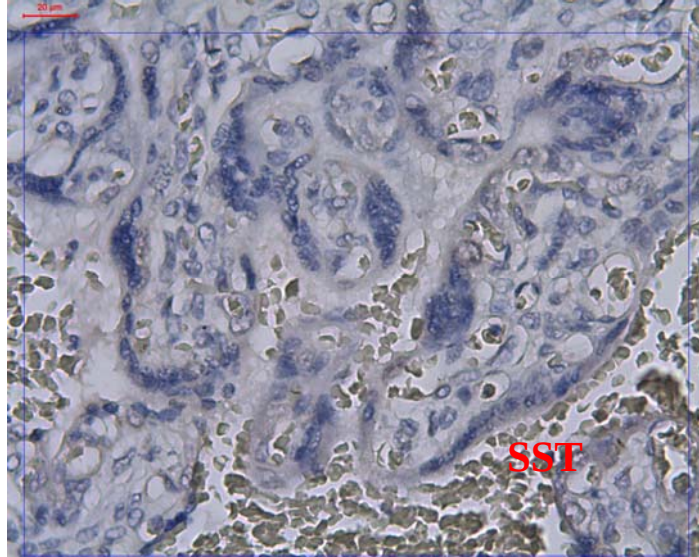
Resim–16: VEGF boyaması yapılan Kontrol grubuna ait plasentada, küçük ve büyük büyültmelerde vasküler oluşumlardaki immünreaktivitenin diğer gruplara göre daha zayıf olduğu dikkati çekmekte (16aX10, 16bX40, İmmünoperoksidaz–Hematoksilen)



Resim–17: Caspase–9 boyaması yapılan Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentada, sinsityotrofoblastlardaki (SST) immünreaktivite görülmekte (İmmünoperoksidaz–Hematoksilen x10).



Resim-18: Caspase-9 boyaması yapılan Tip 1 diabetes mellitus grubuna ait plasentada, sinsityotrofoblastlardaki (SST) immünreaktivite izlenmekte (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen x10).



Resim-19: Caspase-9 boyaması yapılan kontrol grubuna ait plasentada, gestasyonel diabetes mellitus ve Tip 1 diabetes mellitus gruplarına göre sinsityotrofoblastlarda immünreaktivite yokluğu dikkati çekmektedir (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen x40).

5.TARTIŞMA

Plasenta anne ile fötus arasında bağlantıyı sağlayan, fizyolojik değişimler yapan, hormon üreten geçici bir organdır. Fötal ve maternal olmak üzere iki kısımdan oluşur. Fötal kısmını koryon, maternal kısmını desidua bazalis oluşturur. Koryonun madde alış-verişinde işlev gören tek yeri koryon frondozumdur. Plasentanın gelişimi süresince trofoblastan çıkan uzantılar dışta sinsisyotrofoblast, ite sitotrofoblast hücrelerinden oluşan primer villusları, daha sonra bu villusların içini ekstraembriyonik mezenşim dokusunun doldurmasıyla sekonder villusları ve bu mezenşim dokusunun vaskülarizasyonu ile tersiyer villusları oluşturur. Gelişimini tamamlamış plasenta tersiyer villuslardan oluşur.^{18,4}

Fötal büyüme, glukoz kullanımı ve ftal insülin sekresyonu; maternal glukoz kontrolü ve plasental fonksiyonlar tarafından düzenlenmektedir. Fetal insülin 8–10. haftalarda salgılanmaya başlar ve giderek artar. Glukagon ve insülin plasentayı geçemez. Pankreatik gelişim; transkripsiyon faktörleri tarafından, beta hücrelerinin farklılaşması ve proliferasyonu ise ‘insülin benzeri büyüme faktörü’ gibi faktörler tarafından düzenlenmektedir.

Normal gebelik diabete yatkınlık yaratan bir durumdur. İnsülin sekresyonundaki ve duyarlılığındaki değişiklik bundan sorumlu tutulmaktadır. İlk trimestir ve erken ikinci trimestir başlarında rölatif olarak artan östrojen düzeyleri nedeniyle insülin sensitivitesi artarken, erken 2. trimester ve 3. trimester başlarında ise plasentadan salınan Human Plasental Laktojen (hPL), Kortikotropin Serbestleştirici Hormon (CRH), Prolaktin (PRL) ve kortizol etkisiyle insülin sensitivitesi azalmakta böylece kan şekeri düzeyi fötusun yararlanabilmesi amacıyla yüksek tutulmaktadır. Normal bir gebelikte insülin sensitivitesindeki değişiklikler beta hücrelerinin

uyumu ile kontrol edilebilirken bu mekanizmanın yeterince etkin olmadığı durumlarda GDM gelişmektedir.⁷¹

Bu çalışmamızda daha önceden Tip 1 diabetes mellitus tanısı almış gebelerin, gebelikleri sırasında yapılan inceleme sonucu Gestasyonel diabet tanısı almış gebelerin ve hiçbir sağlık sorunu olmayan normal gebelerin zamanında sonlanmış gebeliklerinden elde edilen plasentalarında anti-VEGF ve anti-Caspase-9 antikorlarının dağılımı immünohistokimyasal olarak değerlendirilirken aynı zamanda bu plasenta örnekleri ince yapı düzeyinde de incelenerek karşılaştırıldı.

Normal insan plasentasında VEGF, PlGF ve reseptörlerini gösteren çok sayıda çalışma vardır. Ancak bu moleküllerin patolojik koşullardaki ekspresyonu tartışmalıdır ya da az bilinmektedir.⁹⁴

Heske ve ark. (2001) plasantanın gelişim ve işlevleri için VEGF, PlGF ve bunların reseptörlerini immünohistokimyasal olarak ve Western blot tekniği ile plasenta örneklerinde ve maternal serumda çalışmışlardır. Çalışmaya preeklampitik, diabetik, fetal gelişim kısıtlılığı olan ve Fetal alkol sendromlu gebeler dahil edilmiştir. VEGFR-1 ve VEGFR-3'ün sinsityotrofoblastlarda, VEGFR-2'ninse plasantanın vasküler endotel tabakasında tutulumunu gösterdiler. VEGFR-1'in ciddi preeklampsi ve fetal gelişim kısıtlılığı olan gebelerde normal gebelerle karşılaştırıldığında sinsityotrofoblastlarda ekspresyonunun artmış olduğunu göstermişlerdir.⁹⁵

Madazlı ve ark. 2008 yılında yaptıkları çalışmada maternal ve kordon kanında Malondialdehit (MDA) ve VEGF düzeylerinin gestasyonel diabetli ve kontrol gruplarında gebelerin plasentasında ne gibi değişikliklere neden olduğunu araştırmışlar. Plasentaları histolojik olarak incelemişler ve villöz immatüriteye, koryonik villusların vasküler

hiperplazisi anlamına gelen choriangiozis, lenfositik villitise, villöz fibrinoid nekroza, iskemiye, infarkte alana ve çekirdekli eritrosit varlığına bakmışlar. MDA düzeylerini hem maternal serum hemde kord kanında GDM'lu gebelerde belirgin olarak yüksek bulmuşlardır. VEGF düzeyleri arasında fark gösterememişlerdir. Eritropoetin ve çekirdekli eritrosit düzeyleri GDM'lu gebelerde belirgin olarak yüksek bulmuşlardır. Histolojik olarak villöz immatürite, chorangiozis ve iskemiye diabetik gebelerde yüksek bulmuşlardır. Bu sonuçlar gestasyonel diabette fetal oksijenlenmenin azaldığını göstermektedir. Madazlı ve ark. yaptıkları çalışmada villöz gelişme ve olgunlaşmanın anjiogenik ve oksidatif ortamdan etkilendiğini belirtmişler, fetal hipoksida plasental anjiogenezisde anomaliler gelişebileceğini söylemişlerdir. Gestasyonel diabetli gebelere ait plasentanın kontrol grupları ile karşılaştırıldığında villöz immatürite, chorangiozis ve iskeminin belirgin olarak arttığını dikkat çekmişlerdir.⁹⁶

Kumazaki ve ark. Normal insan plasentasında VEGF, PIGF ve reseptörlerinin ekspresyonunu gösteren çok sayıda çalışma olduğunu, ancak bu moleküllerin patolojik koşullardaki ekspresyonunun az bilindiğini belirtmişlerdir. Plasental hipoksi ve iskemi durumlarında hiperkapillarizasyon olduğunu bunun da VEGF ekspresyonunun artışı ile vurgulanabileceğini ifade etmişlerdir.⁹⁴

Çalışmamızda bu bulgularla uyumlu olarak bizde gerek Tip 1 DM, gerek GDM'lu hastaların plasentalarında villus içi kapillarizasyonun belirgin hale geldiğini, immünohistokimyasal çalışmalarımızda ise VEGF tutulumundaki artışın belirgin olduğunu saptadık.

Buna karşılık Vuerola ve ark. ise büyük damar ve villus kapillerlerinin endotel hücrelerinde VEGF benzeri immün tutulum olduğunu tanımlamışlardır. Tutulumun lokalizasyonu açısından normal ve komplike gebelikler arasında belirgin bir fark görememişlerdir.⁹⁷

Daskalakis ve ark 2008 de yaptıkları çalışmada gestasyonel diabetli gebelerin plasentalarıyla normal sağlıklı gebelerin plasentalarını makroskopik ve mikroskopik olarak karşılaştırmışlardır. Fötal damarlarda trombozise, villöz immatüriteye, korangiozise, çekirdekli fötal eritrosit bulunmasına, enfarkt olup olmamasına, hidropik yada avasküler villus olmasına, lenfohistiositik villitis olup olmamasına ve villöz fibrinoid nekroz olup olmamasına bakmışlar. Fibrinoid nekroz korangiozis gibi dejeneratif lezyonları diabetli grupta saptamışlar. Kronik fötal hipoksinin bir belirtisi olan villöz immatürite ve çekirdekli fötal eritrosit varlığını yine diabetik grupta belirgin olarak artmış bulmuşlar. Makroskopik olarak fötus/plasenta ağırlık oranını diabet grubunda belirgin olarak azalmış bulmuşlar. Diabetik hasta grubunda fötal komplikasyonların artma nedenlerinden birisi olarak bu bulguları göstermişler. Bizim çalışmamızda fötus/plasenta ağırlık oranı açısından gruplar arasında bir farklılık saptanmadı.⁹⁸

Maly ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada preeklampitik ve Tip 1 DM 'lu gebe plasentalarında histomorfometrik çalışma ile plasental villusların vasküler volümünü normal gebe plasentaları ile karşılaştırmışlardır. Preeklampitik grupta sinsityal düğüm ve angiogenezin olduğu bölgede iskemik değişiklikler bulmuşlar. Gebelerin çoğunda yine fibrinoid nekroz ve uterin damarların duvarında intramural lipid birikimini gözlemişler. Diabetik grupta ise fokal ödem ve dismatürite, matür ve immatür intermedier villus artmıştır. Sinsityal düğüm formasyonunda terminal villus sayısında azalma gözlemişler. Villöz kapiller volümde Tip 1 DM gebeler ile karşılaştırıldığında 5 katlık azalma göstermişlerdir.⁹⁹

Çalışmamızda gerek Tip 1 DM, gerek GDM'lu hasta plasentalarında ışık mikroskopik ve yarı ince kesitlerde sinsityal düğümlerde artış olduğunu belirgin olarak gözlemledik.

El-Bassioni ve ark. 2005 yılında yaptıkları deneysel bir çalışmada, streptozotosinle diabet oluşturulan ratların embriyolarında PGE2 düzeyine, sikloksijenaz gen ekspresyonu ve Kaspaz 3 ile apoptozise bakmışlar. Embriyo anomalisi ile bu bulgular arasındaki ilişkiye bakmışlar. Diabetik gruptaki anomalili embriyolarda Kaspaz 3 tutulumu en yüksek olarak bulunmuş.¹⁰⁰

Yang ve ark. 2008 yılında yaptıkları deneysel bir çalışmada streptozotosinle diabet oluşturdukları farelerde; osidatif stresin neden olduğu apoptozisde anahtar rol oynayan fosforile JNK1/2 ve apoptozis belirteci olan Kaspaz 3'e bakmışlar. Malformasyon oranını diabetli grupta 3 kat daha fazla bulmuşlar. JNK1/2 tutulumunu diabetik embriyolarda ve onlara ait zarlarda daha fazla bulmuşlar. Kaspaz 3 tutulumunu ise malforme diabetik grupta görmüşler.¹⁰¹

Çalışmamızda Tip 1 DM ve GDM grubunda Caspase-9 ile sinsityotrofoblastlarda, villus stromal hücrelerinde kontrol grubuna göre apoptozisin artmış olduğunu gördük.

Charles A.K. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada plasental oluşumlarda apoptozis sonucu apoptotik fagmanların dolaşıma geçerek sistemik endotelyal toksisiteye yol açtığını bunun da fetal gelişmeyi etkilediğini belirtmişlerdir.¹⁰²

Pietryga ve ark. 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada, diabetik gebelerde fetal hipoksinin neden olduğu plasental vasküler ağı araştırmak için plasentaları EM ve ışık mikroskopisinde incelemişler. Terminal villusların vasküler yüzeyi ile total yüzeyi arasındaki ilişkiyi, endotel yapısını, perivasküler boşluğu ve trofoblastların bazal membranını değerlendirmişler. Diabetik grupta terminal villusların vasküler yüzeyinde azalma saptamışlar. Yine bu grupta bazal kapillerlerin bazal

membranlarında ayrılma, endotel hücrelerinde proliferasyon ve distansiyon, perivasküler boşlukta bozulma saptamışlar. Trofoblastların bazal membranlarında belirgin kalınlaşma, perivasküler boşlukta yapısal değişiklikler ve terminal villuslarda kollagen proliferasyonu saptamışlar.¹⁰³

Maly ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada pregestasyonel DM'da terminal villuslarda ve sinsityal düğümlerde artış olduğunu, iyi kontrol edilmiş DM'da bile anjiogenezisde anomaliler olduğunu vurgulamışlardır.¹⁰⁴

Suwaki ve ark. yaptıkları çalışmada diabetik gebeliklerde anormal fetal gelişme, fetal malformasyonlar, plasental disfonksiyon, hasarlı utero-plasental kan akımının meydana geldiğini belirtmişlerdir. Trofoblastik farklanmadaki hasar sonucu plasentomegali ya da dismatürasyonun oluşacağını ifade etmişlerdir.¹⁰⁵

6. SONUÇLAR

Tip1 DM ve GDM plasentalarında kontrol grubu plasentalarına göre, villus stromasında artan kapillarizasyonun, VEGF tutulumunda artışın, sinsityal düğümlerde artışın plasental hipoksi-iskemiye sekonder gelişen bir durum olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca özellikle sinsityotrofoblast hücrelerinde kontrol grubuna göre artan apoptozis gözlemlendi. Bütün bu bulguların plasentanın yapısal ve işlevsel birimi olan villus gelişimi, anjiogenezis ve plasental gelişimde hasara neden olduğu, gerek Tip 1, gerek GDM'da gelişebilecek fetal komplikasyonların, IUGR'nin bu bulgularla bağdaştırılabileceği sonucuna varıldı.

Tip 1DM ve GDM'un plasenta yapısının gelişiminde önemli etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Plasenta oluşumundaki yapısal bozukluklar fetal gelişimdeki ve yeni doğanda görülen morbidite ve mortaliteden sorumlu olabilir. Bu nedenle gebelik öncesi ve gebelik döneminde hastalar iyi değerlendirilerek anne ve yenidoğanı gelişebilecek zararlardan uygun tedavi ve yaklaşımla koruyabiliriz.

7.ÖZET

Bu çalışmanın amacı diabetes mellitusun fötüs üzerine etkisini ve bu etkiyi yaratan faktörleri açığa kavuşturmada katkı sağlayabileceği düşüncesi ile Tip 1 diabetes mellituslu ve gestasyonel diabetli gebe plasentalarını normal plasentalarla immünohistokimyasal ve ince yapı düzeyinde karşılaştırmalı olarak incelemektir.

Bu çalışmada Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde zamanında sonlanmış tekil gebeliklerden elde edilen plasentalar kullanıldı. Gebeliği öncesinde Tip 1 DM tanısı almış 6 hasta plasentas, gebeliği sırasında yapılan testlerle GDM tanısı almış 6 hasta plasentas ve hiçbir sağlık sorunu olmayan 6 gebe plasentas Sezaryen doğumla alınarak gruplar oluşturuldu. Plasentaların sağlıklı görünen kotiledonlarının maternal yüzlerinden elde edilen doku örnekleri ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik inceleme ile immünohistokimyasal olarak plasental apoptozisi belirleyebilmek için Caspase-9 ve damarsal değişimleri gösterebilmek için VEGF primer antikoları ile boyanarak aralarındaki farklılıklar araştırıldı.

Tip 1 DM grubuna ait plasentanın ışık mikroskopik incelemesinde serbest villuslar, kök villuslar ve villus stroması görülürken sinsityal düğümlerin artmış olduğu, perivillöz alanda belirgin konjesyonun varlığı, Gestasyonel diabetes mellitus grubunda ise sinsityal düğümlerde artış, endovillöz hiperkapillerizasyon, intervillöz bölgede ileri derecede konjesyon görüldü. Tip 1 DM grubuna ait plasentanın yarı-ince kesitlerinde serbest ve kök villuslardaki vasküler oluşumların belirgin hale geldiği ve perivillöz konjestif alanların varlığı, aynı grubun elektronmikroskopik incelemesinde serbest villus yüzeyindeki mikrovilluslar altta sinsityotrofoblast hücrelerinin kromatin dağılımının

homojen görünümü izlendi. Yarı–ince kesitler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında villus stromasının büyük bir kısmını kaplayan vasküler oluşumlar görüldü. Gestasyonel diabetes mellitus grubuna ait plasentanın yarı–ince kesitinde serbest ve kök villuslarda değişik boyutlarda çok sayıda kontrol ve Tip 1 DM grubuna göre vaskülarizasyonun ileri derecede arttığı görüldü. Aynı grubun elektron mikroskopik incelemesinde sinsityotrofoblastik hücre katında multipl vakuoler oluşumlar, villus stromasındaki kollagen liflerin seyrekleşmesi, villusun hemen tamamını kaplayan vasküler oluşumlar dikkati çekmekteydi. Gruplar arasında VEGF immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,002$). Kontrol grubu ile Tip 1 DM grubu arasında VEGF immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,026$). Kontrol grubuna göre GDM grubunun VEGF immünreaktivite skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,002$). Tip 1 DM grubu ile GDM grupları arasında da VEGF immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,132$). Gruplar arasında Caspase–9 immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,008$). Kontrol grubuna göre Tip 1 DM grubunun Caspase–9 immünreaktivite skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,009$). Kontrol grubuna göre GDM grubunun Caspase–9 immünreaktivite skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,009$). Tip 1 DM grubu ile GDM grupları arasında da Caspase–9 immünreaktivite skorları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,699$).

Gerek Tip 1 diabetes mellitus, gerekse Gestasyonel diabetes mellitusta gelişen plasental hipoksi–iskemi, kompanse olarak villuslarda hiperkapillerizasyona, bunun sonucunda da immünohistokimyasal olarak VEGF immünreaktivitesinde artışa neden olmuştur. Plasental hipoksi–iskeminin bir diğer bulgusu olan sinsityal düğümlerde artış hem Tip 1 diabetes mellitusda, hem de gestasyonel

diabetes mellitus grubunda artmış olarak gözlenmiştir. Plasental hipoksi–iskemi aynı zamanda apoptozise zemin hazırlayan faktörlerden biridir. Apoptotik oluşumların artışı, maternal dolaşıma geçişi sistemik endotelyal toksisite yoluyla fetal gelişmeyi engeller. Bu da diabetik gebeliklerdeki IUGR (İntrauterin Gelişme Kısıtlılığı) ve fetal komplikasyonları açıklamada bir gerekçe olabilir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Plasenta, DM, Gestasyonel diabetes mellitus, VEGF, Caspase–9

8.SUMMARY

Clarification of possible factors that build effects of diabetes mellitus on fetus is aimed in this study and immunohistochemical comparison of placentas of Type 1 DM, GDM and control group pregnancies was held for this purpose.

Placentas of single term pregnancies in Obstetrics and Gynecology Department in Keçiören Research and Training Hospital is used in this study. All placentas were taken during cesarian section of which; 6 Type 1 DM, 6 GDM and 6 control group pregnancies. Specimens were taken from healthy cotyledons of maternal site. Specimens were evaluated in comparison under light microscope and electronmicroscope both; after staining with caspase-9 antibodies to show placental apoptosis and VEGF antibodies to show vascular changes.

Free villi, root villi and stroma of villi were observed accompanied with increased syncytial knots and prominent perivillous congestion in Type 1 DM group placentas. Placentas of GDM patients revealed increase in syncytial knots, endovillous hypercapillarisation and congestion in intervillous space. Half-fine specimens of Type 1 DM group showed that vascularity was increased in free and root villi and there were perivillous congestive areas.

Electron microscopic examination of same group revealed that chromatin distribution was homogeneous in microvilli over free villi and syncytiotrophoblasts. In fine specimens, villi stroma contained a large number of vascular formations which was obviously increased when compared with control group. Fine specimens of GDM group showed that, vascularisation was increased in free and root villi compared with control and DM groups. Electron microcopic evaluation of same group revealed,

multiple vacuolar formations in syncytiotrophoblast level, thinning of collagen fibres in villi stroma and vascular formations which were overspread the villi.

VEGF immünoactivity scores were statistically different among groups ($p=0,002$). But difference between DM and control groups' immünohistochemical VEGF scores was statistically insignificant ($p=0,026$). GDM group VEGF immünohistochemical scores were significantly higher than control group ($p=0,002$). There was not statistically significant difference in VEGF scores between DM and GDM groups ($p=0,132$). Immünoactive caspase-9 scores were statistically different among groups ($p=0,008$). Immünoactive caspase-9 scores were statistically higher than control group, in both DM ($p=0,009$) and GDM ($p=0,009$) groups but there was not a significant difference in between two groups ($p=0,699$).

Placental hypoxia– ischemia in both Type 1 DM and GDM were shown to result with hypercapillarisation and increase in VEGF immünoactivity immünohistochemically. Another finding of placental hypoxia– ischemia which is increase in syncytial knots was also detected in both DM and GDM group placentas. Placental hypoxia–ischemia is one of the factors that cause apoptosis. Increase in apoptotic factors and passage to maternal circulation, inhibit fetal growth by systemic endothelial toxicity. This may be one of the causative factors that result with IUGR and fetal complications in diabetic pregnancies.

Key words: Placenta, DM, GDM, VEGF, Caspase-9

9.KAYNAKLAR

1. Cecil Essentials of Medicine, Fifth edition, s 583–598
2. Sistemik Hastalıklar ve Gebelik, Catherine Nelson–Piercy, Nobel Tıp Kitabevi, 2003, s82–99.
3. Junqueira L. C, Carneiro J, Kelley R. O. Temel Histoloji. 1. Baskı İstanbul: Barış Kitabevi, 1998; 441– 38.
4. Pijnenborg, R., et al., Review article: trophoblast invasion and the establishment of haemochorial placentation in man and laboratory animals. Placenta, 1981. 2(1): p. 71–91
5. Handwerger, S. and M. Freemark, The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. J Pediatr Endocrinol Metab, 2000. 13(4): p.343–56.
6. Çiçek M.N, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 1.Baskı Ankara: Güneş kitapevi, 2004; 491– 87 , 155–4, 153–49.
7. Demir R. İnsan Gelişimi ve İmplantasyon Biyolojisi. 1. Baskı Ankara: Palme Yayıncılık, 1995; 209–179.
8. Creasy R.K, Resnik R. Maternal– Fetal Medicine. 4. Baskı Philadelphia, Pennsylvania: W. B. Saunders, 1999: 1140–35.
9. Bektaş S, Demir N, Koç A, Yüksel A. Maternal– Fetal Tıp & Perinatoloji. 1. Baskı İstanbul: Nobel tıp kitapevi, 2001; 60– 58.
- 10..Gürsoy E, Koptagel E. Embriyoloji Atlası. 1. Baskı Sivas: Esnaf ofset matbaacılık, 1997; 98– 4.
- 11..Moore K, Persaud T.V.N. İnsan Embriyolojisi. 1. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002; 139– 30.
- 12..Langman’s medikal embriyoloji. 9. Baskı. 2005. ss 31–61, 113– 143.

- 13.**Lunghi L, Ferretti ME, Medici S, Biondi C, Vesce F. Control of human trophoblast function. *Reprod Biol Endocrinol*. Feb 8;5:6, 2007.
- 14.**Kierszenbaum AL. Histology and cell biology an introduction to pathology. *Mol Develop Hum* 2002. p.586–601
- 15.**Bentin–Ley U, Sjögren A, Nilsson L, Hamberge L, Lamrson JF, Horn T. Presence of uterine pinepodes at the embryo–endometrial interface during human implantasyon in vitro. *Hum Reproductive*. 1999; 14: 515–520
- 16.**Bryant–Greenwood GD, and Yamamoto SY. Control of peripartal collagenolysis in the human chorion–desidua. *American J. Obstetict Gynecology*. 1995; 172: 63–70
- 17.**Bischof P, Meisser A, Campana A. Involment of Trophoblast in Embryo Implantation: Regulation by Pacrine Factors. *Journal of the Reproductive İmmünology*. 1998; 39(1–2): 167–177
- 18.**Umesaki N, Tanaka T, Miyama M, Mizuno K, Ogita S. Identification of the granulocyte colony stimulating factor (G–CSF) producing cell population in human decidua and its biological action on trofoblats. Dep. Of Obstet&Gynecol, Osaca City University Medical School, Osaka 545–8585, Japan, 4th. IFPA Conferance, Workshop
- 19.**Carlson, B. M. (2004). *Human Embryology and Developmental Biology*. 3.Baskı, Elsevier Mosby.
- 20.**Drewes U. *Renkli Embriyoloji Atlası*. 1.Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000; 128–18.
- 21.**Benirschke, K., Kaufmann, P., Baergen, R.N. (2006). *Pathology of the Human Placenta*. Fifth Edition. Springer Science + Business Media, Inc.
- 22.**Moore, K.L., Persaud, T.V.N., Torchia, M.G. (2008). *The Developing Human, Clinically Oriented Embryology*, 8.Baskı, International Edition, Saunders Elsevier.

- 23.**Gauster, M., Moser, G., Orendi, K., Huppertz, B.(2009). Factors Involved in Regulating Trophoblast Fusion: Potential Role in the Development of Preeclampsia. *Placenta* (2009) Mar;30 Suppl A:S49–54.
- 24.**Sati, L., Seval, Y., Demir, A.Y., Kosanke,G., Kohnen, G., Demir,R. (2007).Cellular diversity of human placental stem villi: An ultrastructural and İmmünohistochemical study. *Acta histochemica* 109:468–479.
- 25.**Battistelli, M., Burattini, S., Pomini, F., Scavo, M., Caruso, A., Falcieri,E.(2004). Ultrastructural Study on Human Placenta From İntrauterin Growth Reterdation Cases. *Microscopy Research and Technique* 65:150–158.
- 26.**Demir, R., Seval, Y., Huppertz, B. (2007). Vasculogenesis and angiogenesis in the early human placenta. *Acta histochemica* 109:257-265.
- 27.**Tertemiz, F., Kayışlı, U.A., Arıcı, A., Demir, R. (2005). Apoptosis Contributes to Vascular Lumen Formation and Vascular Branching in Human Placental Vasculogenesis. *Biology of Reproduction* 72:727–735.
- 28.**Moore K.M., Persaud T.V.N.:Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. 6.İngilizce Baskıdan Çeviri.S:47–59,129–164,230–233. Nobel tıp Kitabevi, İstanbul,2002.
- 29.**Gürsoy E, Ergin K. Dişi Üreme Sistemi. 1 Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2007: 13– 3
- 30.**Drewes U. Renkli Embriyoloji Atlası. 1.Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000; 128–18.
- 31.**Anin SA,Vince G, Quenby S.Trophoblast invasion. *Hum Fertil (Camb)*. Sep;7(3):169–74, 2004
- 32.**Parham P. NK cells and trophoblasts:patners in pregnancy. *J Exp Med* 2004, 200:951–955.

33. King A. Uterine leukocytes and decidualisation. *Human Reprod Update* 2000, 6:28–36.
34. Guyton A, Hall J. *Tıbbi Fizyoloji*. 10. Baskı: Philadelphia, Pennsylvania: W. B. Saunders, 2001; 950– 48.
35. Sadler TW. *Langman's medikal embriyoloji*. 7. Baskı. 1995. ss 27–63, 98–109
36. Katsuyoshi Seki, Hideo Matsui, Souei Sekiya. Advances in the clinical laboratory detection of gestational trophoblastic disease. Elsevier, *Clinica Chimica Acta* 2004; 349: 1–13
37. Rosenbloom A, Silverstein J. Diabetes in the child and adolescent. In *Pediatric Endocrinology*. 4th ed. Lifshitz F, Ed. New York, Marcel Dekker, 2004;(25–27) p. 611–651.
38. Prazny M, Skrha J, Limanova Z, Vanickova Z, Higertova J, Prazna J, Jaresova M, Strize Đ. Screening for Associated Autoimmunity in Type 1 DM With Respect to Diabetes Control. *Physiol. Res.* 2005; 54: 41–48.
39. Dunger DB, Sperling MA, Acerini CL, Bohn DJ, Daneman D, Danne TPA, Glaser NS, Hanas R, Hintz RL, Levitsky LL, Savage MO, Tasker RC. Wolfsburg JI ESPE / LWPES consensus statement on diabetic ketoacidosis in children and adolescents. *Arch Dis Child.* 2004; 89: 188 194.
40. Vivian EM. Type 2 diabetes in children and adolescents — the next epidemic?. *Curr Med Res Opin.* 2006 Feb; 22 (2): 297 – 306.
41. Mauricio D, Balsells M, Morales J, Corcoy R, Puig–Domingo M, de Leiva A. (1996) Islet cell autoimmunity in women with gestational diabetes and risk of progression to insulin–dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev* 12 (4):275–85
42. Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, McPhee AJ, Jeffries WS, Robinson JS (2005); Australian Carbohydrate Intolerance Study in Pregnant Women (ACHOIS) Trial Group. Effect of treatment of

- gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes. *N Engl J Med.* 16;352 (24):2477–86.
43. Dodd, JM, Crowther, CA, Antoniou, G, et al. (2007) Screening for gestational diabetes: The effect of varying blood glucose definitions in the prediction of adverse maternal and infant health outcomes. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 47:307.
 44. Hod M, Yogev Y. (2007) Goals of Metabolic Management of Gestational Diabetes Is it all about the sugar? *Diabetes Care* 30 Supp:2.
 45. Correa A, Gilboa SM, Besser LM, Botto LD, Moore CA, Hobbs CA, Cleves MA, Riehle–Colarusso TJ, Waller DK, Reece EA, (2008) The National Birth Defects Prevention Study Diabetes mellitus and birth defects *Am J Obstet Gynecol* 199:237.e1–237
 46. Ferrara N. VEGF: An update on biological and therapeutic aspects. *Curr Opin Biotechnol* 2000; 11: 517–24.
 47. Stone J, Itin A, Alon T, Pe'er J, Gnessin H, Chan–Ling T, Keshet E. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia–induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci.* 1995; 15: 4738–4747.
 48. Zachary I, Mathur A, Yla–Herttuala S, Martin J. Vascular protection: A novel nonangiogenic cardiovascular role for vascular endothelial growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 1512–1520.
 49. Servos S, Zachary I, Martin JF. VEGF modulates NO production: The basis of a cytoprotective effect? *Cardiovasc Res.* 1999; 41: 509–510.
 50. Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor– 1 in microvascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991; 181: 902– 906.

- 51.**Turhan MS. Meme tümörlü hastalarda vasküler endotelial büyüme faktörü, nitrik oksit ve ürokinaz plazminojen aktivator. _Ü Cerrahpasa Tıp Fakültesi Tıpta Uzmanlık tezi, 2004.
- 52.**Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME et al. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics. *Nat Med* 2001; 7: 186–91.
- 53.**Skobe M, Hawighorst T, Jackson DG et al. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis.
- 54.**Kliche S, Waltenberger J. VEGF receptor signaling and endothelial function. *JUBMB Life* 2001; 52(1–2): 61–6.
- 55.**Dvorak HF, Brown LF, Detmar M et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995; 146: 1029–39.
- 56.**Ferrara N, Davis–Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrin Rev* 1997; 18: 4–25.
- 57.**Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med.* 2003; 9: 653– 660.
- 58.**Issa R, Krupinski J, Bujny T, Kumar S, Kaluza J, Kumar P. Vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, in human brain tissue after ischemic stroke. *LabInvest.* 1999; 9: 417–425.
- 59.**Slevin M, West D, Kumar P, Rooney P, Kumar S. Hyaluronan, angiogenesis and malignant disease. *Int JCancer.* 2004; 109: 793–794.
- 60.**Luttun A, Dewerchin M, Collen D, Carmeliet P. The role of proteinases in angiogenesis, heart development, restenosis, atherosclerosis, myocardial ischemia, and stroke: insights from genetic studies. *Curr Atheroscler Rep.* 2000; 2: 407– 416.
- 61.**Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3: 401– 410.

62. Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis*. 2000; 21: 505– 515.
63. Yin G, Liu W, An P, Li P, Ding I, Planelles V, Schwarz EM, Min W. Endostatin gene transfer inhibits joint angiogenesis and pannus formation in inflammatory arthritis. *Mol Ther*. 2002; 5: 547– 554.
64. Folkman Y, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem*. 1992; 267: 10931–10934.
65. Folkman J. Angiogenesis and angiogenesis inhibition: An overview. *EXS Regul Angiogenesis*. 1997; 79: 1–7.
66. Intaglietta M, Johnson PC, Winslow RM. Microvascular and tissue oxygen distribution. *Cardiovasc Res*. 1996; 32: 632–643.
67. Lawrence WT, Diegelmann RF. Growth factors in wound healing. *Clin Dermatol*. 1994; 12:157–169.
68. Goodsell DS. The molecular perspective: VEGF and angiogenesis. *Stem Cells*. 2003; 21: 118–119.
69. Brooks PC. Role of integrins in angiogenesis. *Eur J Cancer* .1996; 32A: 2423–2429.
70. Hu DE, Hori Y, Fan TP. _Interleukin–8 stimulates angiogenesis in rats. *Inflammation*. 1993; 17: 135– 143.
71. Cleaver O, Melton DA Endothelial signalling during development. *Nat Med*. 2003; 9: 661– 668.
72. Allure R. Basement membranes: Structure, assembly and role in tumor angiogenesis. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3: 422– 433.
73. Kerr J.F., Wyllie A.H, Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26 (4): 239–245.
74. Levine, A.J., Monmand, J. ve Finlay, C.A., Oncogene and cell death, *Nature*, 351, 453–456 (1991).
75. Mattson, M.P., Cheng, B., Davis, D., Bryant, K., Leibenburg, I. ve Roydel, R.E., beta–amyloid peptides destabilize calcium

- homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity, *J. Neurosci*, 12, 376–389 (1992).
76. Lipponen P, Aaltomaa S, Kosma VM, Syrjänen K. Apoptosis in breast cancer as related to histopathological characteristics and prognosis. *Eur J Cancer*. 1994; 30A(14):2068–73.
 77. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol*. 1980;68:251–306.
 78. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol*. 1995 Jan;146(1):3–15
 79. Hopwood D, Levison DA. Atrophy and apoptosis in the cyclical human endometrium. *Pathol*. 1976 Jul;119(3):159–66.
 80. Cohen JJ. Apoptosis: mechanisms of life and death in the immune system. *J Allergy Clin Immunol*. 1999 Apr;103(4):548–54.
 81. Kiess W, Gallaher B. Hormonal control of programmed cell death/apoptosis. *Eur J Endocrinol*. 1998 May;138(5):482–91.
 82. Hetts SW. To die or not to die: an overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA*. 1998 Jan 28;279(4):300–7.
 83. Nicholson DW, Thornberry NA. Caspases: killer proteases. *Trends Biochem Sci*. 1997 Aug;22(8):299–306.
 84. Nicholson DW. Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death. *Cell Death Differ* 1999; 6:1028–1042.
 85. Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD, Kostura MJ, et al. A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 beta processing in monocytes. *Nature* 1992; 356: 768 – 774.
 86. Cerretti DP, Kozlosky CJ, Mosley B, Nelson N, Van Ness K, Greenstreet TA, et al. Molecular cloning of the interleukin1 beta converting enzyme. *Science*;256:97–100.
 87. Ellis RE, Yuan JY and Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu. Rev. Cell. Biol*. 1991;7:663–698.

88. Xue D, Shaham S and Horvitz HR. The *Caenorhabditis elegans* cell death protein CED-3 is a cysteine protease with substrate specificities similar to those of the human CPP32 protease. *Genes. Dev.* 1996; 10: 1073 – 1083.
89. Yuan J, Shaham S, Ledoux S, Ellis HM and Horvitz HR. The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. *Cell* 1993; 75: 641–652.
90. Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW and et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell* 1996; 87(2): 171.
91. Thornberry NA, Rano TA, Peterson EP, Rasper DM, Timkey T, Garcia-Calvo M, et al. A combinatorial approach defines specificities of members of the caspase family and granzyme B. Functional relationships established for key mediators of apoptosis. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 17907–17911.
92. Grell M, Krammer PH, Scheurich P. Segregation of APO-1/Fas antigen- and tumor necrosis factor receptor-mediated apoptosis. *Eur J Immunol.* 1994 Oct; 24(10): 2563–6.
93. Heazell AE, Crocker IP. Live and let die—regulation of villous trophoblast in normal and abnormal pregnancies. *Placenta.* 2008 Sep; 29(9): 772–83. Epub 2008 Aug 15. Review
94. Kumazaki K, Nakayama M, Suehara N. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor, Placental Growth Factor, and Their Receptors Flt-1 and KDR in Human Placenta Under Pathologic Conditions. *Hum Pat.* Volume 33. No 11. Nov 2002.
95. Satu Helske ve ark. Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2, and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. *Mol Hum Repro* Vol 7, No 2 s: 205–210, 2001.

96. 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. *Gynecol Obstet Invest.* 2008 Jan 14. ;65(4):227–32. Epub
97. Vuorela P, Hatva E, Lymboussaki A, Kaipainen A, Joukov V, Persico MG, Alitalo K, Halmesmäki E. Expression of vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in human placenta. *Biol Reprod.* 1997 Feb;56(2):489–94..
98. Daskalakis G, Marinopoulos S, Krielesi V, Papapanagiotou A, Papantoniou N, Mesogitis S, Antsaklis A. Placental pathology in women with gestational diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008;87(4):403–7.
99. Maly A, Goshen G, Sela J, Pinelis A, Stark M, Maly B. Histomorphometric study of placental villi vascular volume in toxemia and diabetes. *Hum Pathol.* 2005 Oct;36(10):1074–9.
100. El-Bassiouni EA, Helmy MH, Abou Rawash N, El-Zoghby SM, Kamel MA, Abou Raya AN. Embryopathy in experimental diabetic gestation: assessment of PGE2 level, gene expression of cyclooxygenases and apoptosis. *Br J Biomed Sci.* 2005;62(4):161–5.
101. Yang P, Zhao Z, Reece EA. Activation of oxidative stress signaling that is implicated in apoptosis with a mouse model of diabetic embryopathy. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Jan;198(1):130.e1–7.
102. Charles AK, Hisheh S, Liu D, Rao RM, Waddell BJ, Dickinson JE, Rao AJ, Dharmarajan AM. The expression of apoptosis related genes in the first trimester human placenta using a short term in vitro model. *Apoptosis.* 2005 Jan;10(1):135–40.
103. Pietryga M, Biczysko W, Wender-Ozegowska E, Brazert J, Biegańska E, Biczysko R. Ultrastructural examination of the

placenta in pregnancy complicated by diabetes mellitus. *Ginekol Pol.* 2004 Feb;75(2):111–8.

- 104.** Maly A, Goshen G, Sela J, Pinelis A, Stark M, Maly B. Histomorphometric study of placental villi vascular volume in toxemia and diabetes. *Hum Pathol.* 2005 Oct;36(10):1074–9.
- 105.** Suwaki N, Masuyama H, Masumoto A, Takamoto N, Hiramatsu Y. Expression and potential role of peroxisome proliferator–activated receptor gamma in the placenta of diabetic pregnancy. *Placenta.* 2007 Apr;28(4):315–23. Epub 2006 Jun 6.

10.ÖZGEÇMİŞ

Adı: Süleyman

Soyadı: Akarsu

Doğum Yeri ve Tarihi: 01.01.1969, Diyarbakır

Eğitimi: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora öğrenimi, GATA Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Üremeye Yardımcı Tedavi Yöntemleri Eğitimi, Ankara Zekai Tahir Burak Kadın Hastanesi'nde Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde Uzmanlık Eğitimi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara Kalaba Lisesi, Ankara Kalaba Ortaokulu ve İlkokulu.

Yabancı Dili: İngilizce, Almanca

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Türk Jinekoloji Derneği, Üreme Tıbbı Derneği, TSRM, ASRM (American Society Reproductive Medicine), ESHRE (European Society of Human Reproductive Endocrinology)