

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**HAFİF PREEKLAMPSİLİ VE ŞİDDETLİ
PREEKLAMPSİLİ GEBELERİN PLASENTA VE
PLASENTA YATAKLARINDA TGF BETA 1, 2 VE 3
İZOFORMLARININ EKSPRESYONLARI VE
ULTRASTRÜKTÜREL YAPILARININ İNCELENMESİ**

TUĞÇE SEVGİ ERTEKİN

DANIŞMAN
PROF.DR.İSMAİL SEÇKİN

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI/
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2009

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

21 / 07 / 2009

Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Histoloji ve Embriyoloji
Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐
Anabilim Dalı : Histoloji ve Embriyoloji
Tez Sahibi : Tuğçe Sevgi ERTEKİN
Tez Başlığı : "Hafif preeklampsili ve şiddetli preeklampsili gebelerin plasenta ve plasenta yataklarında TGF- β 1, 2 ve 3 izoformlarının ekspresyonları ve ultrastrüktürel yapılarının incelenmesi".
Sınav Yeri : İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 21 / 07 / 2009

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. İsmail SEÇKİN İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı (Tez Danışmanı)
2. Prof. Dr. Suzan DAĞLIOĞLU, İstanbul Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
3. Prof. Dr. Okray ARDA İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı
4. Prof. Dr. Rıza MADAZLI İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı
5. Doç. Dr. Serap ŞİRVANCI Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışının olmadığını, bu tezdaki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışının olmadığını beyan ederim.

Tuğçe Sevgi ERTEKİN



İTHAF

Aydın ve değerli fikirleriyle beni yetiştiren, benim ben olmamdaki en önemli temelleri atan çok değerli “Anneme ve Babama” ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Beni sevgi, ilgi, anlayış ve güven dolu bir ortamda yetiştirdikleri ve her zaman yanımda oldukları için sevgili annem Pınar Ertekin' e ve sevgili babam Aktuğ Ertekin'e gönülden minnetlerimi sunmayı bir borç bilirim. Sevgili kardeşlerim Merve Ertekin ve Mustafa Ertekin'e de yardımları ve destekleri ile sıkılmadan yanımda oldukları için teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimime, anabilim dalımıza beni kabul ederek başlamamı sağlayan sayın hocalarım Prof.Dr. İsmail Seçkin, Prof.Dr. Oktay Arda, Prof.Dr. Faruk Alkan, Prof.Dr. Hüseyin Oktar, Prof.Dr. Şenol Ertürkoğlu ve Prof.Dr. Mustafa Taşyürekli'ye teşekkürlerimi borç bilirim. Tez konumu belirlememde ve devamını sağlamamda bilgi ve fikirleriyle yanımda olan, özellikle danışman hocam Prof.Dr. İsmail Seçkin'e, kadın doğum hekimleri Prof. Dr. A.Rıza Madazlı'ya ve Doç.Dr. A.Aktuğ Ertekin'e ve Prof.Dr. Ahmet Dirican'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisansımın ders aşamasında, bilgi birikimlerini ve deneyimlerini bizimle paylaşan sayın hocalarım Prof.Dr. Yurdagül Canberk, Prof.Dr. Leyla Tapul, Doç.Dr. Bülent Ahışhalı, Doç.Dr. Seyhun Solakoğlu ve Prof.Dr. Ayhan Bilir' e teşekkür ederim.

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji kürsümüzdeki Mehmet Türker'e, Elif Güzel'e ve Murat Başar'a bilgi ve deneyimleri ile yanımda oldukları için özellikle teşekkürlerimi sunmakla birlikte, sevgili arkadaşlarım Günseli Gecir ve Özlem Tuğçe Çilingir ile diğer tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde çalışabilmeme önayak olan Başhekim yardımcısı ve Klinik Şefi Doç.Dr. A.Aktuğ Ertekin ve diğer görevli hocalara ve doğumhanede nöbetlerde ve çalışma saatlerinde ilgi ve anlayışlarını benden esirgemeyen kadın doğum asistanlarına, uzmanlarına ve diğer Zeynep Kamil Hastanesi çalışanlarına teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1706

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
İTHAF.....	İİ
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XII
ÖZET	XIII
ABSTRACT.....	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Plasenta	4
2.1.1. Plasentanın Morfolojisi	4
2.1.2. Plasentanın Gelişimi	14
2.1.3. Plasentanın Görevleri.....	17
2.2. Plasental Yatak.....	17
2.3. Preeklampsi.....	25
2.3.1. Preeklampsiye Sebep Olan Risk Faktörleri	25
2.3.2. Tanı Kriterleri	26
2.3.3. Ağır ve Hafif Preeklampsi	27
2.4. Transforming Growth Faktör Beta (TGF-β) İzofomları.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Gereçler.....	30
3.1.1. IHK Gereçleri.....	30
3.2. Yöntemler	30
3.2.1. Doku Örneklerinin Alınması.....	30
3.2.2. Örneklerin Hazırlanması ve Takip Yöntemi	33
3.2.3. Işık Mikroskopi Yöntemi.....	34
3.2.4. İmmünohistokimya (IHK) yöntemi	35

3.2.5. Elektron Mikroskopi Yöntemi	37
3.2.5.1. Hazırlanan Gridlerin Boyanması.....	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. Işık Mikroskopi Bulguları.....	39
4.2. Elektron Mikroskopi Bulguları	54
4.3. IHK Bulguları.....	68
4.3.1. TGF- β 1 Sonuçları.....	68
4.3.2. TGF- β 2 Sonuçları	74
4.3.3. TGF- β 3 Sonuçları	82
5. TARTIŞMA	95
6. KAYNAKÇA.....	100
FORMLAR	108
ETİK KURUL KARARI	109
ÖZGEÇMİŞ	111

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Kontrol Grubu (KG) Gebeler	31
Tablo 3-2: Hafif Preeklampsili (HPE) Gebeler	32
Tablo 3-3: Ağır Preeklampsili (APE) Gebeler	32
Tablo 4-1: TGF-Beta1 değerlendirmeleri	70
Tablo 4-2: TGF-Beta 2 ekspresyonları değerlendirilmesi	76
Tablo 4-3: TGF-Beta3 ekspresyon dereceleri.....	84

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Plasentanın şematik görüntüsü	5
Şekil 2-2: Plasentanın maternal yüzüve fetal yüzü	6
Şekil 2-3: Bağlayıcı ve yüzen villi.....	7
Şekil 2-4: Stem villus ve stem villusdan doğan terminal villuslar.	9
Şekil 2-5: Plasental Villus'un IM ve EM görüntüleri.....	12
Şekil 2-6: Placenta bariyeri EM görüntüleri	13
Şekil 2-7: Plasental yatak biyopsisi	18
Şekil 2-8: İstilaya uğramamış, normal gebelikteki ve PE'li durumdaki spiral arterler. .	19
Şekil 2-9: Plasental yatak; desidua ve niyometriyumdaki hücrelerin şematik resmi	20
Şekil 2-10: Plasental yatakta Spiral Arter ve etraf dokusu	23
Şekil 2-11: Plasental yaktan alınmış spiral arterler (SA) ve etrafındaki trofoblastik dev hücreler	24
Şekil 4-1: Kontrol grubu gebeden plasental villi	41
Şekil 4-2: Kontrol grubu gebeden fotoğraflanmış plasental villi.	42
Şekil 4-3: HPE gebelerden görüntülenen plasental villi	43
Şekil 4-4: APE grubu gebeden plasental villus kesiti.....	44
Şekil 4-5: APE grubu gebeden plasental villus kesiti-2	45
Şekil 4-6: Bir kontrol grubu plasental yatak genel görüntüsü	46
Şekil 4-7: Kontrol Grubu gebeye ait sağlıklı bir plasental yatak.....	47
Şekil 4-8: Kontrol Grubu gebeden resmedilen bir spiral arter görüntüsü.....	48
Şekil 4-9: Kontrol grubu gebelerden alınan plasental yatakların miyometriyum kısımları.	49
Şekil 4-10: HPE grubun gebelerin plasental yatakları.....	50
Şekil 4-11: HPE grubu gebelerin plasental yatak kesitleri	51
Şekil 4-12: APE grubu gebeden plasental yatak görüntüleri.....	52
Şekil 4-13: APE grubundan plasental yatak ve spiral arter görüntüsü	53
Şekil 4-14: KG, HPE ve APE grubu gebelerde desiduada trofoblast hücreleri.....	54
Şekil 4-15: Kontrol grubu gebeden fotoğraflanmış sinsisyotrofoblast hücreleri.....	56
Şekil 4-16: Kontrol grubu plasentadan villus stroma görüntüsü	57
Şekil 4-17: Kontrol Grubu gebeden başarılı bir plasental bariyer	57
Şekil 4-18: Kontrol grubu gebeden plasental yatak resimleri.....	58

Şekil 4-19: HPE grubu gebeden çekilmiş sinsisyotrofoblast resimleri.....	59
Şekil 4-20: HPE grubu bir gebeye ait plasental villus resimleri.....	60
Şekil 4-21: HPE grubu gebeden resmedilmiş villus stroma	61
Şekil 4-22: HPE grubundan plasental yatak.	62
Şekil 4-23: APE grubu gebeden resmedilen bir plasental villus görüntüsü.	63
Şekil 4-24: Ağır preeklampsili gebenin plasental villöz stroması	64
Şekil 4-25: APE grubundan resmedilmiş bir plasental villus.	65
Şekil 4-26: APE grubundan bir plasental villus.....	66
Şekil 4-27: APE grubundan bir plasental yatak görüntüsü.....	67
Şekil 4-28: APE grubu gebeden plasental yatak görüntüsü.....	68
Şekil 4-29: Kontrol grubu gebelerin plasentalarında TGF- β 1 boyanması	71
Şekil 4-30: HPE grubundaki gebelerin plasentalarında TGF- β 1 boyanması	72
Şekil 4-31: APE grubu gebelerin plasental villuslarında TGF- β 1 boyanması	73
Şekil 4-32: TGF- β 1'in Placenta Yatağı Kontrol Grubu, Hafif Preeklampsisi Grubu ve Ağır Preeklampsisi Grubundaki Boyanmaları.....	74
Şekil 4-33: KG grubundaki gebelerin plasentalarından TGF- β 2 boyanması	77
Şekil 4-34: HPE grubu gebelerde plasentada TGF- β 2 boyanması	78
Şekil 4-35: APE grubu gebelerin plasentalarında TGF- β 2 boyanması	79
Şekil 4-36: KG gebelerin plasental yataklarında TGF- β 2 boyanması ve renklendirilmiş görüntüleri.....	80
Şekil 4-37: HPE grubundan plasental yatakta TGF- β 2 boyanmaları ve renklendirilmiş görüntüleri.....	81
Şekil 4-38: APE grubundan plasental yatakta TGF- β 2 boyanması.....	82
Şekil 4-39: Kontrol grubu gebelerde TGF- β 3 boyanması	85
Şekil 4-40: HPE grubu gebeye ait plasental villide TGF- β 3 boyanması-1	86
Şekil 4-41: HPE grubu gebeye ait plasental villide TGF- β 3 boyanması-2	87
Şekil 4-42: HPE grubu gebeye ait plasental villide TGF- β 3 boyanması.-3	88
Şekil 4-43: APE grubu gebeye ait plasental villide TGF - β 3 boyanması.....	89
Şekil 4-44: KG, HPE ve APE gruplarına ait desidual hücrelerdeki TGF- β 3 boyanması	90
Şekil 4-45: APE grubu gebelerden alınan örneklerde Desidual hücrelerde TGF- β 3 pozitiflik değerleri.....	91

Şekil 4-46: KG Plasental yatak kesitlerinde TGF- β 3 boyanması.....	92
Şekil 4-47: HPE'li PY'larda trofoblastlarda TGF- β 3 boyanması	93
Şekil 4-48: APE grubu PY'lardan TGF- β 3 boyanması	94

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

TGF- β 1: Transforming growth factor β -1

TGF- β 2: Transforming growth factor β -2

TGF- β 3: Transforming growth factor β -3

IHK: İmmünohistokimya

Ab: Antibody

EM: Elektron Mikroskop

İM: Işık Mikroskop

İVM: İntervillöz mesafe

DS: Distile su

Soln: Solüsyon

APE: Ağır preeklampsi

HPE: Hafif Preeklampsi

KG: Kontrol Grubu

ALT: Alanin aminotransferaz

AST: Aspartat aminotransferaz

LDH: Laktat dehidrogenaz

Pl: Plasenta

PY: Plasental Yatak

ÖZET

Hafif preeklampsili ve şiddetli preeklampsili gebelerin plasenta ve plasenta yataklarında TGF-Beta1, 2 ve 3 izoformlarının ekspresyonları ve ultrastrüktürel yapılarının incelenmesi. Ertekin, TS 2009, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji ABD. Yüksek Lisans. İstanbul.

Preeklampsia, perinatal ölümlerin ve sakatlıkların ana nedenlerinden biri olup gebelerde maternal hipertansiyon, proteinüri, artmış damar hasarı ve geçirgenliği ve yüzeysel plasenta istilası ile karakterize olan multisistemik bir bozukluktur. TGF Beta izoformlarının preeklampsia patogenezi ile alakalı olduğu düşünülmektedir. TGF-Beta1, 2 ve 3 izoformlarının maternal-fetal bir organ olan plasentada ve plasentanın altında yatan uterus kısmını oluşturan plasenta yataklarında ki ekspresyon durumlarının preeklampsia için bir belirteç olabileceğini düşündük. Örnek plasenta ve plasenta yataklarının morfolojik ve ultrastrüktürel değişimlerini gözlemlemek için ışık ve elektron mikroskop tekniklerini kullandık. Doku örnekleri 7 hafif preeklampsili, 8 ağır preeklampsili ve 14 kontrol grubunu oluşturan sağlıklı gebeden alındı. Gebelerin daha önce hastane tarafından yapılmış kan ve idrar test sonuçları, böbrek fonksiyon ve karaciğer enzim test sonuçları var ise veri olarak alındı. Yapılan ışık mikroskobisi, elektron mikroskobisi ve immünohistokimya yöntemleri ile preeklampsili hastaların ve kontrol grubu gebelerin sonuçları değerlendirildi. Işık ve elektron mikroskop çalışmaları sonucunda hafif ve ağır preeklampsili gebelerin plasenta ve plasental yatak dokularında; plasentada sitotrofoblast fazlalığı, plasental bariyerlerin başarısızlığı, villus stromasının kollajenden yoğun olması, sinsisyotrofoblast hücrelerinde mikrovilli kaybı ve vakuolleşme, sinsisyotrofoblast bazal membranında kalınlaşma ve fetal kapiller hasarları gibi birçok histolojik farklılıklara ağır preeklampsiaye doğru giderek artan bir şekilde rastlandı. Yapılan immünohistokimya değerlendirmesi sonucunda, plasentada TGF-Beta2 ekspresyonunun azaldığı, TGF-Beta3'ün ise plasental yatakta arttığı görüldü. TGF-Beta1'in plasentada ve plasental yatakta herhangi bir ekspresyon farkı göstermemesi preeklampsinin patogeneziinde bir anlam taşımadığını, TGF-Beta2 ve TGF-Beta3'ün ise patogeneze dahil olabileceğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler : Preeklampsia, Plasenta, TGF- Beta, İmmünohistokimya, Elektron mikroskop

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:1706

ABSTRACT

TGF Beta1, 2 and 3 expressions in the placentas and placental beds of women with severe and mild preeclampsia, and the ultrastructural changes of the tissues. Ertekin, TS 2009, İstanbul University, Institute of Health Science, Histology and Embryology Dept., İstanbul.

Preeclampsia is one of the current major causes of perinatal mortality and morbidity. It is characterized by maternal hypertension, proteinuria, increased vascular injury and permeability, and shallow placental invasion. It is thought that TGF Beta isoforms are related to the pathogenesis of preeclampsia; our goal is to evaluate whether the expression states of TGF-Beta1, 2, and 3 in the feto-maternal organ placenta and placental bed are indicators for preeclampsia. We have conducted light and electron microscopy techniques to observe the ultrastructural and morphological changes in placentas and placental beds. Samples have been taken from 7 and 8 pregnant with mild and severe preeclampsia, respectively, and 14 healthy pregnant. The complete hospital results for patient's blood count, urine analysis, kidney function test, and liver enzyme test have also been taken when available. We have commented on the differences between tissues from healthy and preeclamptic pregnant. According to the results from light and electron microscopy methods, placentas show increasing histological differences as the preeclampsia severs, particularly regarding (i) cytotrophoblast cell number, (ii) failures in placental barriers, (iii) collagen rich villous stroma, (iv) microvilli loss and vacuolisation in syncytiotrophoblast cells, (v) thickness in the basal membrane of syncytiotrophoblast cells, and (vi) fetal capillary defects. Following our immunohistochemical findings, TGF-Beta2 expression in preeclamptic placentas is lower, TGF-Beta3 expression in preeclamptic placental beds is higher, and TGF-Beta1 does not change significantly. We thus conclude that TGF-Beta1 and 3 may be involved in the pathogenesis of preeclampsia, but TGF-Beta1 is not related to it.

Key Words: Preeclampsia, Placenta, TGF-Beta, Immunohistochemistry, Electron Microscopy

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 1706

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Preeklampsia gebeliklerin %5-10'unda görülen, gebede maternal hipertansiyon, proteinüri, artmış damar hasarı ve geçirgenliği ve yüzeysel plasenta istilası ile karakterize olan insanlara özgü multisistematik bir sendrom olup, perinatal ölümlerin ve sakatlıkların ana nedenlerinden biridir. Farklı coğrafyalarda etnik ve sosyal karakterler ile bu oran 3 kata kadar çıkabilmektedir (1), (2), (3). Preeklampsia maternal ve perinatal ölüm ve morbiditenin önemli nedenlerinden biri olup her yıl dünyada yaklaşık 50 000 kadın ve 900 000 çocuğun bu hastalık sebebiyle ölümüne neden olmaktadır (4), (5), (6). Gelişmiş ülkelerde gebeliğe bağlı anne ölümlerinin %15-20'si preeklampsia nedeniyle olmaktadır (7). Bu sebeple preeklampsia ile ilgili çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır.

Preeklampsinin sebebi tam anlaşılamamış olsa da, trofoblast istilasının ve plasental yataktaki spiral arterlerdeki değişimlerin yetersizliği, plasentanın yetersiz perfüzyonuna ve dolayısıyla hipoksiye neden olur. Preeklampsia zayıflamış veya bozulmuş trofoblast istilası ve arter oluşumu ile ilişkilidir. Spiral arter farklılaşmasındaki ve trofoblast istilasındaki başarısızlık preeklampsia dahilinde bildirilmiştir. Bu sendromda azalmış uteroplazental perfüzyon, büyük ölçüde endotelial fonksiyon bozukluğu ve fetal gelişim geriliği ile ilgilidir (1), (8), (9), (10).

Günümüz bilgilerinin çoğu plasentanın morfolojisi ve fonksiyonu hakkında olup diyabet, preeklampsia ve büyüme geriliği gibi klinik tablolar gösteren hastaların plasental gelişimi hakkındaki bilgiler kısıtlıdır. Plasenta yüksek dallanmış yapıda olan koryonik villus ağacı, sinsisyotrofoblastlar üzerinden maternal-fetal difüzyonal değişimi sağlayan etkili bir organ olarak görev görür. İnsan plasentasının gelişiminin temeli, trofoblast olarak isimlendirilen epitel kök hücrelerinin çoğalmasına ve farklılaşmasına bağlıdır. Farklılaşan trofoblastlar, sinsisyotrofoblastları ve sitotrofoblastları oluştururlar. Sitotrofoblastlar zamanla yok olurken, sinsisyotrofoblastlar plasenta yapısını oluşturan villusları çevrelerler. Villus yapısı; dıştan sinsisyotrofoblastlarca sarılı, içinde bağ doku ve bağ doku hücrelerinin olduğu fetal kapillerleri barındıran bir yapıdır. Embriyonun başarılı gelişimi, yeterli plasental gaz ve besin değişimine bağlıdır. Bu değişim sinsisyotrofoblastlar ve villus içindeki fetal kapillerler aracılığı ile olur (11), (12)

Preeklampşik olgularda plasentada TGF- β 1'in ve TGF- β 3'ün artışı gösterilmiştir (13), (14). Farklı iki çalışmada ise TGF- β 'nın her 3 izoformunun da preeklampşik

plasentada ve plasental yatakta bir ekspresyon değişikliği göstermediği ileri sürölmüştür (15), (16). Yine başka bir çalışmada ise TGF- β 1 ve TGF- β 2'nin trofoblast istilasında rolü olduğu ancak TGF- β 3'ün bu olayla bir bağlantısı olmadığı öne sürölmüştür (17).

TGF- β izoformlarının preeklampsi patogenezi ile alakalı olduğu düşünölmektedir (18). TGF- β , EGF, Tümör nekroz faktör alfa ve interleukin-1 β gibi bir çok sitokinin trofoblast istilasını düzenlediği in vitro olarak gösterilmiştir (19). TGF- β süperaile üyelerinin faaliyetlerinin hücre çoğalmasıyla, farklılaşmayla, apoptoz ve doku yeniden modellenmesi ile bağlantılı olduğu görölür. Ayrıca menstruasyondaki hücresele olaylarda, proliferasyonda, desidualizasyonda ve gebeliğin kanıtının ayarlanmasında da önemli rolleri vardır (20), (21), (22). TGF- β 2 baskın olarak stromada bulunurken, TGF- β 1 ve TGF- β 3 hem epitelyal hücrelerde hem de stromal hücrelerde bulunur (20). Bazı çalışmalar TGF- β 'nin desidua tarafından da üretildiğini ve trofoblast istilasını düzenlediği öne sürer (23). İn vitro çalışmalar TGF- β izoformlarının implantasyon bölgesinde farklı faaliyetlerde bulunduğunu öne sürer. TGF- β 1 sitotrofoblast hücre göçünü ve istilasını inhibe eder. Buna ek olarak TGF- β 1, hepatosit büyüme faktörünün istilayı teşvik edici etkisini de inhibe eder (20). TGF- β izoformları feto-maternal arabirimlerde yerleşmiştir. TGF- β 1'in kültüre edilmiş sitotrofoblast hücreleri üzerindeki çoğalma ve istilacı karşıtı etkileri gösterilmiştir (24). Preeklampsili olgularda yukarıda bahsedildiği gibi plasenta ile TGF- β bağlantılı yayınlar bulunmasına rağmen, TGF- β 'nin preeklampsili plasental yataklardaki durumuyla ilgili fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmalardaki çoğu bulgu TGF- β 'nin trofoblast istilasında rol oynadığını doğrulamaktadır.

Preeklampitik plasenta ve yataklarında HLA sınıf 1 moleküllerinin, Insulin like-growth faktörlerin, inhibin ve aktivinlerin bolca çalışıldığı görölmüştür (25), (26), (27), (28), (29), (30). Fakat PubMed'de yapılan yayın taramalarında TGF- β 3'ün preeklampsili plasentada çalışıldığı yayın sayısının 15'i, plasental yataklarda çalışıldığı yayın sayısının ise 6'yı geçmediği görölmüştür. Yine TGF- β 2'nin preeklampitik plasentada çalışıldığı yayın sayısı 7 olup, plasental yataktaki çalışmaların sayısı ise sadece 5'dir. Bu bilgi açığına katkıda bulunmak için, TGF- β 'ların 3 önemli izoformunu aynı anda karşılaştırmalı olarak hem plasentada hem de plasental yatakta çalışmayı uygun gördük.

Preeklampsinin gebeliğin mümkün olan en erken evresinde teşhis edilebilmesi, gebelikte ve bebekte meydana gelebilecek olumsuzlukları engellemede önemlidir. Bu nedenle biz de, bu çalışmamızda TGF- β 1, 2 ve 3 izoformlarının plasentada ve plasental yataklardaki ekspresyon durumlarının preeklampsi için bir belirteç olabileceğini düşündük.

Yaptığımız yayın taramalarında bu konu ile ilgili elektron mikroskobu düzeyindeki çalışmaların azlığı da dikkat çekmektedir. Bu amaçla biz de, preeklampsili gebelerin plasenta ve plasenta yataklarının ultrastrüktürel değerlendirmeleri yanında, preeklampsiye neden olan faktörler arasında belirtilen TGF- β 1, 2 ve 3 izoformlarının oynadıkları muhtemel rolü değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Plasenta

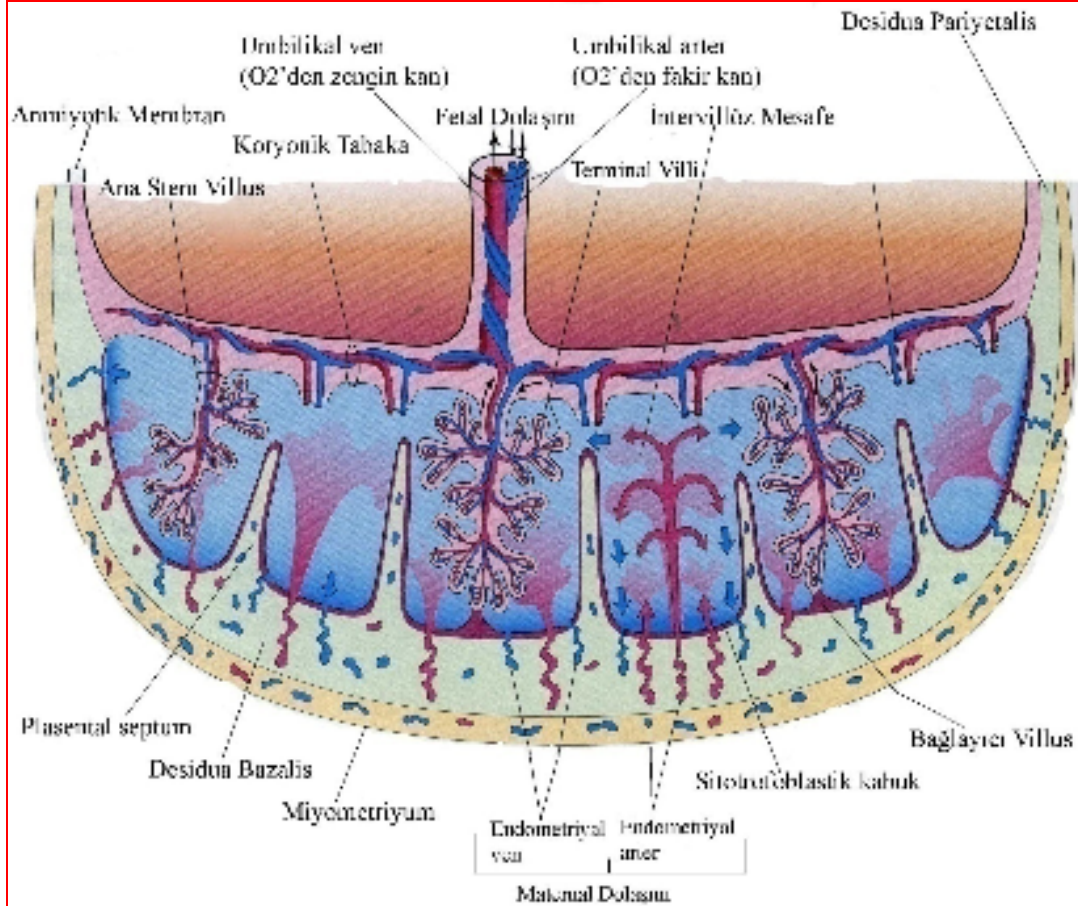
2.1.1. Plasentanın Morfolojisi

Plasenta şekil olarak sınıflandırıldığında; at ve domuzlarda görülen **diffüz**, geviş getirenlerde (ruminant) görülen **kotiledonar**, kedi ve köpek gibi karnivorlarda görülen **zonari** (bölgesel) ve primat ve kemirgenlerde görülen **diskoid** plasenta olarak sınıflandırılır. Plasentanın bir diğer sınıflandırılma şekli ise, koryon villuslarının uterus endometriyumunun hangi tabakasına temas ettiği ile alakalı olan sınıflandırmadır. Bu sınıflandırmaya göre plasenta 4 tipe ayrılır. Bunlar; atlarda ve geviş getirenlerde görülen, koryon villuslarının anneye ait uterus epitel tabakası ile temasta olduğu plasenta tipi **epiteliyokoryal plasenta**, eğer epitel tabaka yer yer ortadan kalkacak olursa o zaman koryon villusları endometriyumun bağ dokusu ile temasa geçicektir, bu tip plasentaya **plasenta sindesm-koralis** denir. Kedi ve köpeklerde görülen, koryon villuslarının anneye ait kan damarı endoteli ile temasta olduğu plasenta tipi **endoteliyokoryalidir**. İnsan ve kemirgenlerde görülen ise **hemokoryal** tip plasentadır. Bu tip plasentada anneye ait kan damarı endoteli ortadan kalkıp, koryon villusları doğrudan anne kanı ile temasa geçer (31), (32). İnsan türünde evrimin sonucu olarak beyin kapasitesi artmıştır. Diğer bütün türlerden daha ileri ve gelişmiş bir beyin yapısı için gerekli oksijen ve besinleri sağlamak amacıyla da insan plasentası maternal dokular içine daha derine gömülmüştür (23). İnsan plasentası olan hemokoryal tip plasentaların iki esas özelliği vardır; fetal ve maternal dolaşımlar birbirinden tamamen ayrıdır, birbirine karışmazlar ve maternal kan direk olarak trofoblastlar ile temas halindedir (11).

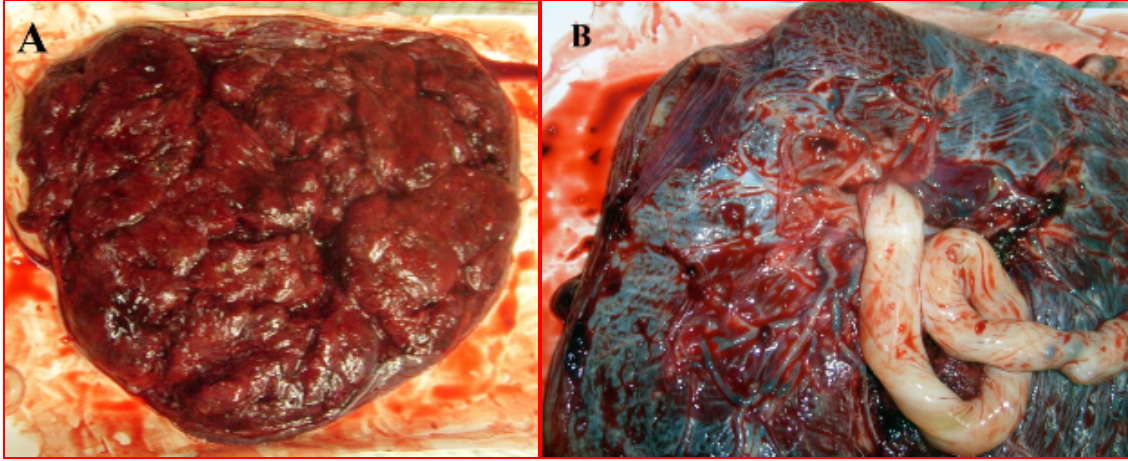
Plasenta feto-maternal bir organ olup, ayrılmış olgun plasenta disk benzeri, yassı ve yuvarlaktan ovale değişen bir şekle sahiptir. Yaklaşık %10'u plasenta bilobata, plasenta dubleks, plasenta sukcenturiata, plasenta zonaria ve plasenta membranase gibi anormal şekil gösterir (20). Ortalama çapı 22 cm, diskin merkezindeki ortalama kalınlığı 2.5 cm ve ortalama ağırlığı 470 gramdır (33). Plasentanın şematik resmi **Şekil 2-1**'de gösterilmiştir.

Plasentanın maternal ve fetal olmak üzere iki yüzü vardır. Maternal yüzü (**Şekil 2-2.A**) **bazal tabaka** -plate- olarak adlandırılır. Lobüler ve kapanmamış bir oyuklar

sistemi, plasentanın bazal yüzeyini 10-40 **maternal kotiledon** (lob veya lobül) adı verilen alana böler (33). Fetal yüz (**Şekil 2-2.B**) **koryonik (amniyonik) tabaka** olarak adlandırılır ve düzgün yüzeylidir. Fetal yüzden göbek kordonu çıkar ve plasentayı fetusa damarsal olarak bağlar.



Şekil 2-1: Plasentanın şematik görüntüsü (34)



Şekil 2-2: Plasentanın maternal yüzü -kotiledonlar- (A) ve fetal yüzü (B)

Villuslar makroskopik olarak ağaç gibi yapılanmışlardır. Her bir villus ağacı (60-70 adet) plasentanın koryonik tabakadan kalın bir kök ile çıkar ve ileriye doğru gittikçe dallanır. Bunlardan çoğu intervillöz mesafede (IVM) serbestçe yüzer, az bir kısmı ise maternal stroma içine girer. Serbest olanlara yüzen (floating), maternal stroma içine girenlere ise bağlayıcı (anchoring) villus adı verilir (**Şekil 2-3**). Maternal kanın serbest olarak dolaştığı alana intervillöz mesafe (IVM) denir Her bir villus ağacı ve etrafındaki IVM fonksiyonel bir ünite oluşturur. Bu fonksiyonel üniteye “**plasenton**” adı verilir ve plasentada 60-70 tane plasenton bulunur (24), (35). Her bir plasenton ortalama 2-4 cm büyüklüğündedir (24).



Şekil 2-3: Bağlayıcı ve yüzen villi (IVM: İntervillöz mesafe)

Bir villus ağacında bulunan yapılar, büyüklükleri, stroma karakterleri ve fetal damarların özelliklerine göre 5 tipe ayrılabilir (24);

Stem Villus; Ağacın köküdür. Kalınlıkları 100 mikrometre'den birkaç mm'ye kadar değişir. Sıkı yapılı fibröz stroma içerir ve villöz yapının mekanik desteğini sağlar. Stem villusun ortasına yerleşmiş arter, ven ve geniş arteryol ve venüller vardır. Fetal damarlar ile intervillöz mesafedeki maternal dolaşım arasında geniş mesafe vardır ve dolayısıyla gaz ve besin alışverişinde etkin rol almazlar (**Şekil 2-4**).

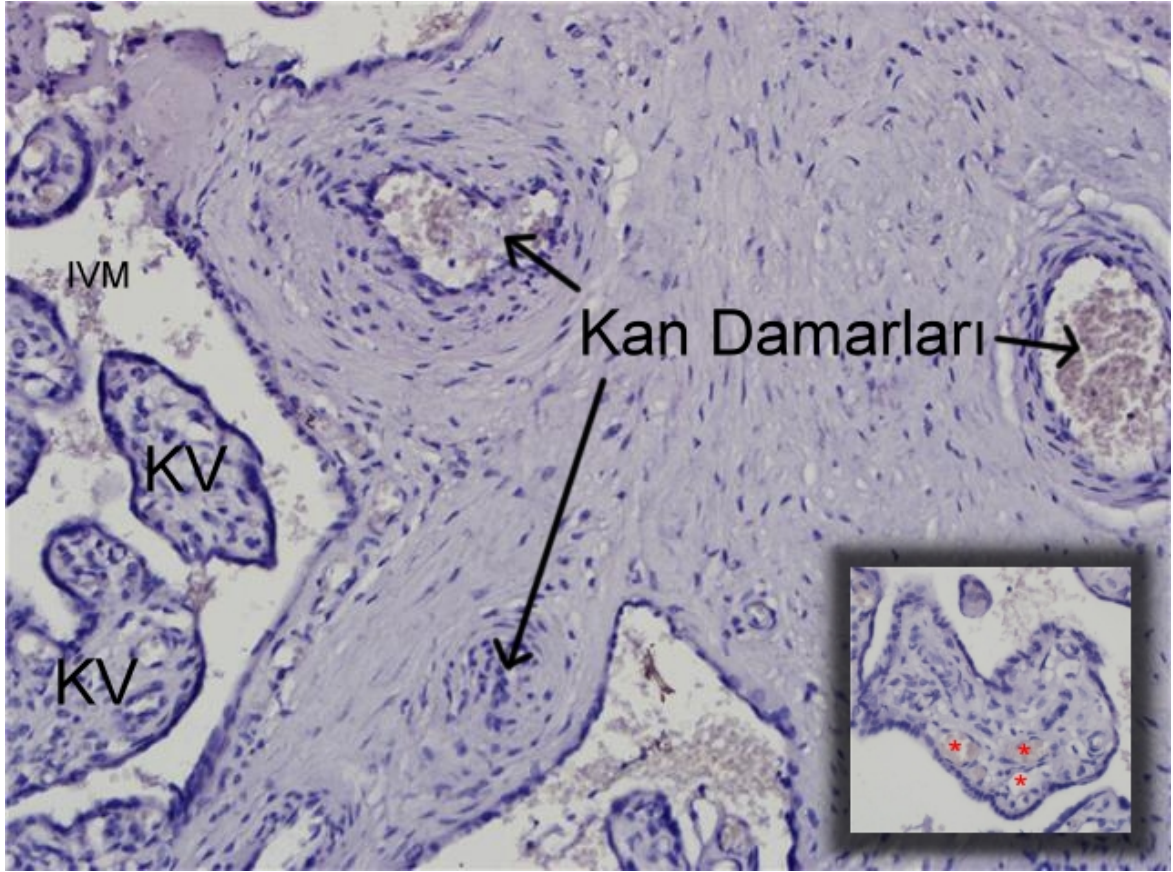
Uzun Olgun Ara Villus; Kalınlıkları 80-120 mikrometre dolayındadır ve son jenerasyon stem villuslardan çıkarlar. Ara villuslarda stroma daha gevşektir, fetal dolaşıma ait arteryol, venül ve kapillerler bulunur.

Terminal Villus; Olgun ara villusların yüzeyinden dışarı doğru çıkan tomurcuklanmalardır. Terminal villuslar ağacın en çok uç noktalarındadır, villus yapısının %30-40'ını oluştururlar. İntervillöz mesafedeki maternal dolaşım ile fetal dolaşım arasında en yakın mesafenin sağlandığı bölgelerdir. Terminal villuslarda fetal

ve maternal dolaşımlar arasındaki mesafe 0.5-2.0 mikrometreye kadar iner. Fetal dolaşım sinüzoidler haline dönüşmüştür, fetal kan göllenmiş ve akım hızı iyice azalmıştır. Besin ve gaz alışverişi başlıca, her iki dolaşımın da ileri derecede yavaşladığı ve birbirlerine en yakın mesafeye geldiği, terminal villuslarda gerçekleşmektedir (**şekil 2-4**). Koryonik villus olarak adlandırılan plasentanın genelinde görölen villus bu terminal villuslardır.

Olgunlaşmamış Ara Villus; Stem villusun uç noktasında bulunan gelişmekte olan villus yapısıdır. Çoğunlukla olgunlaşmamış plasentalarda bulunur. Olgun plasentalarda ise villus gelişiminin devam ettiği plasentonun merkezinde bulunabilirler. Gevşek bağ doku, Haufbauer hücreleri, fetal arteryol ve venöller bulunur.

Mezenşimal Villus; Bunlar da geçici yapılanmalardır ve erken gebelik haftalarında plasentalarda bulunur. Olgunlaşmamış ara villusların öncüleridir. Villus ağacında ara villusların üzerinde tomurcuklanma şeklinde gözlenirler (11).



Şekil 2-4: Büyük şekil: Bazal tabakadan köken alan stem villus ve stem villusdan doğan terminal (koryonik) villuslar. Stem villusda büyük kan damarları varken küçük villuslarda gaz ve besin değişiminin gerçekleştiği kapillerler görülmekte. Küçük Şekil: Birçok kan damarı ve ince bir sinsisyotrofoblast tabakası görülmekte (KV: koryonik villus, IVM: Intervillöz mesafe)

Birinci trimesterde villus ağacının gelişimi hızlıdır, olgunlaşmamış ara ve mezenşimal villuslar saptanır. Gebeliğin ortalarına kadar villus ağacı gelişip büyürken, yapı olarak pek değişime uğramaz. Fetus gelişiminin plasenta gelişimini aştığı ve daha hızlı olduğu gebeliğin 2. trimesterinden itibaren olgunlaşmamış villus tipleri (mesenşimal ve olgunlaşmamış ara) olgun formlarına dönüşür (24). Bu değişim ile villöz ağacın büyümesi yavaşlar, ancak buna karşılık fonksiyonel anlamda iş yapan terminal villusların oluşumu artar. Terminal villus oluşumunun, fetal kapiller gelişiminin uyarılması sonucu geliştiği düşünülmektedir (11), (36). Olgun ara villuslarda arteryoller, uzun kapillerler oluştururlar. Kapiller gelişimi kendisini çevreleyen villus yapısından hızlı olduğundan, kendi etrafında döner ve sonuç olarak da kıvrımlı sinüzoidler ortaya çıkar. Ortaya çıkan sinüzoidler de villus yüzeyinde dışarıya doğru çıkıntı oluşturarak terminal villusları oluşturur.

Villuslar merkezde bol damarlı mezoderm, bu oluşumu çeviren sitotrofoblast hücreleri ile en dışta villusu çevreleyen sinsisyotrofoblastların oluşturduğu sinsisyumdan meydana gelir. 4.ay başında sitotrofoblast hücreleri ile bağ doku hücreleri kısmen kaybolur. Daha sonra maternal ile fetal dolaşımlar arasında sadece sinsisyum ile fetal kan damarlarının endotel hücreleri bulunur. Genellikle, incelmış “sinsisyum” dan kopan, birkaç hücreli büyük parçalar intervillöz mesafeye düşer ve anne kanına karışır. Maternal dolaşıma giren, sinsisyal düğüm ismini alan bu parçalar genellikle dejenere olup kaybolurlar. Sitotrofoblastların kaybolması küçük villuslardan başlar. Daha büyük olanlar bunları takip eder. İri villuslarda kısmen sitotrofoblast hücreleri varlıklarını sürdürürler. Bu hücreler maternal ile fetal dolaşımlar arasında madde alışverişi yapmazlar (24), (37).

Plasental villus, villöz stroma ve onu çevreleyen sinsisyotrofoblast ve az sayıda sitotrofoblastlardan meydana gelir. Villöz stroma, fetal mezoderm kökenlidir ve stromada fetal damarlar, damarları çevreleyen kasılabilir hücreler, bağ doku hücreleri ve değişken sayıda fetal makrofajlar (**Hofbauer Hücreleri**) bulunur. Fetal damarları çevreleyen kasılabilir hücreler parakrin etkileriyle fetal damarların kasılma ve genişlemesini, bu yolla da fetal dolaşımı ve materno-fetal perfüzyonu düzenlerler (24), (38). 4 haftalık plasentadan itibaren plasental villide bulunan Hofbauer hücrelerinin fonsiyonları tam olarak bilinmiyor olsa da, fagositotik aktivitelerinin yanı sıra villöz stromada madde taşımada ve major histocompatibility complex (MHC) sınıf 1 ve 2 antijenlerini eksprese ettikleri için immünolojik reaksiyonlarda görev alırlar (38). En dışı saran sinsisyotrofoblastlar progesteron ve sinsisyotrofoblastik lakünalar içinde bulunan anne kanına geçen insan koryonik gonodotropin (hCG) gibi hormonların sentez bölgeleridir ve bu da gebeliğin sağlanması için kritiktir. hCG gebelik boyunca overdeki korpus luteum endokrin aktivitesinin korur ve gebelik testlerinin temelini oluşturur. Gebe, gebeliğinin farkında olmasa bile, gebelik testinin pozitif çıkması için yeterli hCG, 2.haftanın sonunda sinsisyotrofoblastlarca sentezlenir (37).

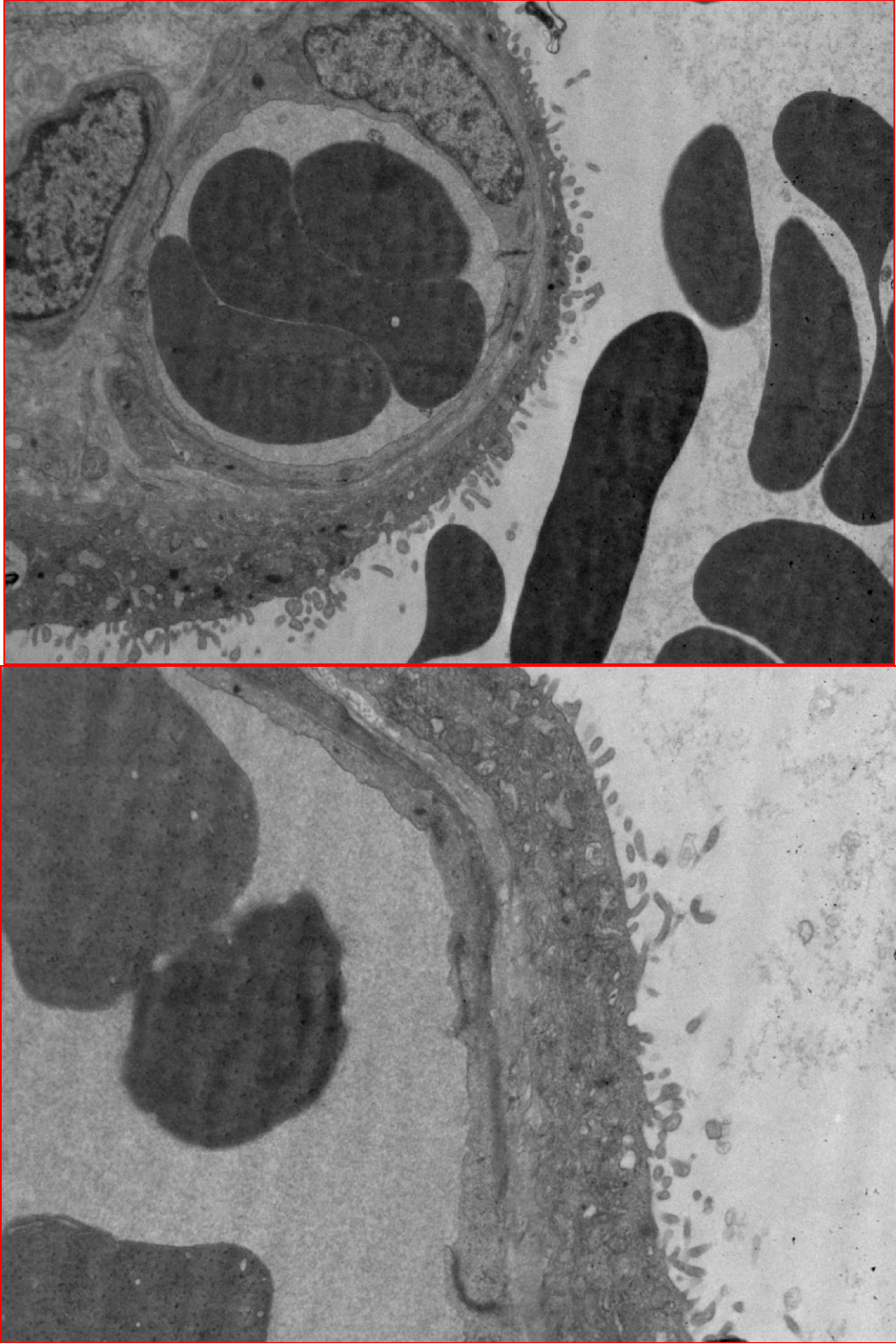
Bağ doku hücreleri heterojen bir grup oluştururlar ve bağ doku elemanlarını üreterek villusun (15) sağlamlığını sağlarlar. Hofbauer hücrelerinin fonsiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte, salgıladıkları büyüme faktörleri ve sitokinler ile villus yapısında bulunan hücrelerin büyüme ve farklılaşmasının düzenlenmesinde rol aldıkları düşünülmektedir (24), (39). Özet olarak maternal ve fetal dolaşımları ayıran villus

tabakaları şu şekilde sıralanabilir; sinsisyotrofoblastlar, trofoblast bazal laminası, ekstraembriyonik mezoderm kaynaklı fetal bağ doku ve fetal kapiller endoteldir (**Şekil 2-5**).

Olgun plasenta intervillöz mesafelerinde, 1 dakikada 3-4 defa yenilenen 150 ml kan mevcuttur. Bu kan, yüzeyi 4-14 m² li koryon villusları boyunca dolaşım gösterir. Sadece fetal damarları örten sinsisyal zar ile yakın ilişkili villuslarda madde alışverişi gerçekleşir. Diğer villuslar buna katılmazlar. 4.ay sonrası plasental zar incelenerek, damar endotellerinin, sinsisyal zarla yakın komşuluk yapmasını olağan kılar. Maternal ve fetal kan karışmadığından, maternal kandaki besin ve oksijen fetal kana; sinsisyotrofoblastlar, bağ doku ve villideki kapillerlerin endotel hücrelerinden geçerek karışırlar. İzlenen bu yol **plasental bariyeri** oluşturur (**Şekil 2-6**). Plasental bariyer içinden birçok maddeyi serbestçe geçirdiğinden dolayı gerçek bir bariyer değildir. Su, oksijen, karbondioksit ve küçük moleküller gibi maddeler ve bazı protein, lipid, hormon ve antibodiler de plasental bariyeri geçebilir. Plasental bariyer, çoğu zaman fetusu zararlara karşı koruyan bir görev yapar. Ama kızamıkçık, stomegalovirüs, koksaki, çiçek, suçiçeği ve polimiyelit virüsleri rahatça geçebilirler. Bunların hastalıkları, fetusda hücre ölümü ile doğum defektlerine neden olabilirler. Çoğu zaman ilaç ve ilaç benzeri maddeler plasentayı kolaylıkla geçerek embriyoda ciddi zararlara neden olurlar. Bunlara ek olarak eroine veya kokaine bağımlı annelerin çocuklarında fetal ilaç bağımlılığı meydana gelebilir (12), (37). Gebelik haftası ilerledikçe iki dolaşım arasındaki mesafe değişiklikler gösterir. Sinsisyotrofoblastların kalınlığı ortalama 20 mikrometreden 3.5 mikrometreye düşer (33). Fizyolojik plasentada sinsisyotrofoblast tabakası ince bir tabaka olup hücreler silindirik, çomak biçimli veya çubuk şeklinde olabilmekte ve mikrovillili yapı göstermektedir. Az sayıda sitotrofoblast gözlenlenebilmektedir (40). Kapillerler ince duvarlı ve genişlemiştir ve endotel hücreleri az organelli ve yassılaştırmışlardır (12) böylece madde ve besin alışverişine kolaylık sağlanmış olmaktadır. Plasenta anne ve “fetal doku” arasında bir immünolojik bariyer olarak görev yapar. Bu bariyer antijenik olarak farklı olan bu iki organizmanın birbirini tolere etmesine izin verir. Gebelik boyunca bu bariyer son derece ince bir hal alır, 2 mikrometreden daha az, öyle ki pulmoner alveoler kan-hava bariyerinden çok az bir kalınlığa sahip olur (12), (41).



Şekil 2-5: Plasental Villus'un IM (x40) ve EM (x3000) görüntüleri



Şekil 2-6: Plasenta bariyeri EM görüntüleri (x7500, x12 000)

Hemakoryal plasentanın bir özelliği olarak maternal kan damar içinde değil, serbest olarak villusların etrafında dolaşır. Maternal kanın serbest olarak dolaştığı alan intervillöz mesafedir. Gebeliğin ilk 2-3 haftasında spiral arterlerin lümenleri trofoblastik hücrelerin oluşturduğu bir tıkaç ile kapatılır. Gebeliğin başında intervillöz mesafede gerçek bir dolaşım ve maternal kan yoktur, maternal kandan süzülen plasma mevcuttur. Erken gebelik ürünü plazmadan oluşan bir besiyerinin içindedir (35). Bu olay öncelikle gebelik ürünün kan akımının basıncı ile mekanik anlamda süpürülüp gitmesini önler. Ayrıca gebeliğin erken döneminin (özellikle 7-13. haftalar) düşük oksijen basınçlı ve nispeten anaerobik ortamda gelişmesine olanak sağlar 10. gebelik haftasından itibaren trofoblastik tıkaçlar açılmaya başlar, geçiş dönemi olan 10-14. gebelik haftaları arasında primitif plasentanın 2/3'ü yok olur, ekstraamniyotik kavite kapanır ve intervillöz mesafede gerçek maternal kan akımı başlar (42).

Bazal tabakada IVM'ye açılan yaklaşık 100-150 spiral arter ve 50-200 maternal venöz çıkış vardır (24). Spiral arterler IVM'ye villöz ağacın (plasenton) merkezinin bulunduğu yerden açılırlar. Intervillöz mesafedeki kanın direne olduğu uterus venleri ise villöz ağacın periferine yerleşimlidir. Dolayısıyla intervillöz mesafedeki kan akımı fiskiye tarzında düzenlenmiştir. Bu şekilde düzenlenme, intervillöz mesafedeki maternal kanın, her bir atım ile perifere itilmesine neden olur. Kısmi oksijen basıncı da villöz ağacın merkezinde en fazla iken perifere doğru azalır (11), (43). Placenta öyle bir organdır ki, maternal dolaşım oksijen sağlarken, fetal dolaşım oksijeni alır. Her iki dolaşıma da ait patolojiler, placenta içindeki oksijen basıncını etkileyerek intervillöz mesafedeki mükemmel dengeyi bozabilir.

2.1.2. Plasentanın Gelişimi

Zona pellusidasından ayrılmış blastosist 5.5-6. günde genellikle embriyonal kutbu ile endometriyum epiteline temas eder. 7. günde endometriyum epiteline temas eden blastosistde, değme noktasından başlamak üzere bir farklılaşma görülür. Buradaki trofoblastlar hızlıca çoğalarak iki tabakaya farklılaşırlar. İçteki hücresel tabaka **sitotrofoblast**, bunların dış tarafındaki, hücrelerin kaynaşması sonucu (sinsisyum) ortaya çıkan ve hücre sınırları belli olmayan çok çekirdekli sitoplazma kitlesi ise **sinsisyotrofoblast** adını alır. Sitotrofoblastlar süratle çoğalırken, sinsisyotrofoblastların çoğalma yeteneği yoktur fakat çoğalan sitotrofoblastlardan bunlara yeni hücreler katılır. 1.haftanın sonunda sinsisyotrofoblastlardan oluşan parmak şeklinde çıkıntılar

endometriyum epitelini geçerek endometriyal stromaya doğru uzanır ve blastosist, endometriyumun kompakt tabakasına yüzeyel olarak implante olur. Bu blastosistin beslenmesi çevresindeki erozyona uğrattığı maternal dokudan sağlanmaktadır. Bir taraftan yeni hücrelerin katılımıyla sinsisyotrofoblastların sayıları artarken, bir taraftan da bu hücreler maternal dokuyu aşındıran proteolitik enzimler salgılayarak endometriyum içine blastosistin yerleşmesini sağlarlar (12), (37), (33).

Gelişimin 9. ve 10. gününde; blastosist endometriyum içine tamamen gömülürken, sinsisyotrofoblastların endometriyum stroması içinde, embriyonel kutuptaki yayılmaları daha da artar. Sinsisyotrofoblastlar arasında küçük vakuoller belirmiş ve bunların birleşmesi ile daha büyük laküner boşluklar oluşmuştur. Abembriyonel kutupta, sitotrofoblastlar bulunduğu ve bu kısımda henüz sinsiyotrofoblastlar fazlaca yayılmadıkları için buralarda henüz laküner boşluklar görülmez. 10. günde blastosistin endometriyum içine tamamen gömülmesi ile, bunun hasara uğrattığı endometriyal epitel bölgesinde kan pıhtısı ve hücre kalıntılardan oluşan bir fibrin tıkaç belirir. Böylece endometriyum içine tamamen implante olmuş bu blastosist, endometriyal yüzeyde uterus boşluğuna doğru, hafif bir kabartı hasıl eder. Gelişimin 11. ve 12. gününde, blastosistin endometriyum içine tamamen gömülmesi sonrasında, endometriyum epitelinde oluşan fibrin tıkaç buna yakın endometriyal epitel hücrelerinin rejenerasyonu ile ortadan kalkar ve bu bölge endometriyum epiteliyle kapatılır. Sinsisyotrofoblast tabakası içinde oluşan laküner boşluklar birbirleriyle birleşerek özellikle embriyonel kutupta belirgin olan büyük laküner ağ şebekesini oluştururlar. Böylelikle sinsisyotrofoblast tabakası süngerimsi bir görünüm alır. Özellikle embriyonik kutup civarında göze çarpan laküner ağlar, plasentanın intervillöz alanlarının öncüsüdür. İmplant olmuş blastosistin etrafındaki endometriyal kan damarları önce tıkanır ve sonra genişleyerek sinüzoidleri oluştururlar. Bu oluşan sinüzod duvarlarının sinsisyotrofoblastlar tarafından haraplanmasıyla maternal kan laküner ağ şebekesinin boşluklarına dökülür ve böylece ilkel uterosplental dolaşım kurulmuş olur. Anne kanı lakünalar içine aktığında, oksijen ve besleyici maddeler sinsisyotrofoblastların geniş yüzeyi aracılığı ile ekstraembriyonik dokular için kullanılabilir hale gelir. Oksijenlenmiş kan spiral endometriyal arterlerden lakünalara geçerken, deoksijene kan lakünalardan endometriyal venler aracılığı ile uzaklaştırılır (43), (37), (12).

Endometriyumda, endometriyal hücreler polihedral bir şekil alarak glikojen ve lipid depolayarak şişerler ve desidual hücreler olarak adlandırılırlar. Endometriyumun interselüler sahası damarlardan dışarı akan kan ile dolar ve doku ödematöz olur. Desidual reaksiyon adı verilen bu olaylar başlangıçta implantasyon bölgesinde iken giderek bütün endometriyuma yayılır. Desidual reaksiyonun öncelikli işlevi, gebelik ürünü için immünolojik olarak ayrıcalıklı bir bölge sağlamaktır (33), (37).

İmplantasyondan yaklaşık 1 hafta sonra plasenta ekstraembriyonik mesoderm ve trofoblast tabakalarından oluşur. Sitotrofoblastların tek sıra sinsisyotrofoblastlar ile çevrili olduğu trofoblast kolonları **birincil (primer) villusları** oluşturur. Başlangıçta sadece embriyonel kutupta olan bu birincil villuslar giderek abembriyonel kutba doğru yayılarak sayılarını arttıırırlar. Birincil villuslar oluştuktan kısa süre sonra dallanmaya başlarlar. 3.haftanın başında primer vilusların içine alttaki ekstraembriyonik somatik mesodermin girmesiyle **ikincil (sekonder) villuslar** oluşur. İkincil villusların ortasında gevşek mezenşimal dokudan oluşmuş bir öz vardır. 3.haftanın sonunda sekonder villusların ortasındaki gevşek mezenşim içindeki mezodermal hücreler küçük kan kapillerlerine ve kan hücrelerine farklılaşırlar. Sekonder villuslar, içlerinde kan kapillerlerinin oluşmasıyla **üçüncül (tersiyer) villus** adını alır. Üçüncül villus, içinde fetal dolaşımın başladığı ve bu anlamda foksiyonel olarak olgunluğa erişmiş villusdur. Villus yapısının fonksiyonel anlamda olgunluğa ulaşması postkonsepsiyonel 3.haftada gerçekleşir ve bu dönemden sonra bütün villuslar tersiyer villus yapısındadır. Plasentada damarlanmanın başladığı dönem yaklaşık postkonsepsiyonel 21.gün, adet 35.günü ve embriyonun 4-somit aşamasında olduğu dönemdir (18), (37). 3.hafta sonunda, üçüncül villus sitotrofoblast hücreleri çoğalarak maternal endometriyuma ulaşmak için sinsisyotrofoblast hücrelerine nüfuz ederek onların oluşturduğu tabakayı aşar. Bunlar komşu villus sistemlerinin sitotrofoblastlarından oluşan benzer hücre tabakaları ile birleşerek, bir ince dış sitotrofoblast kabuğu oluştururlar. Sitotrofoblast kabuğu başlangıçta embriyonik kutupta görülür ve sonra bütün trofoblastı örtünceye kadar abembriyonik kutba uzanır. Böylece giderek koryon kesesini saran bu yapı onu maternal endometriyuma bağlar (24), (37).

2.1.3. Plasentanın Görevleri

Plasentanın başlıca görevleri şu şekilde sayılabilir;

- fetusa gerekli oksijen ve besin maddelerinin sağlanması,
- atıkların ve karbondioksitin fetusdan uzaklaştırılması,
- endokrin etkisi ile annede gebelik ve doğum ile ilişkili değişikliklerin oluşturulması,
- yabancı cisim olan fetusun reddinin önlenmesi,
- gebeliğin sağlıklı bir şekilde devamı için, spiral arterlerde fizyolojik değişimlerin oluşturulması,
- fetusun zararlı etkilerden korunmasıdır.

2.2. Plasental Yatak

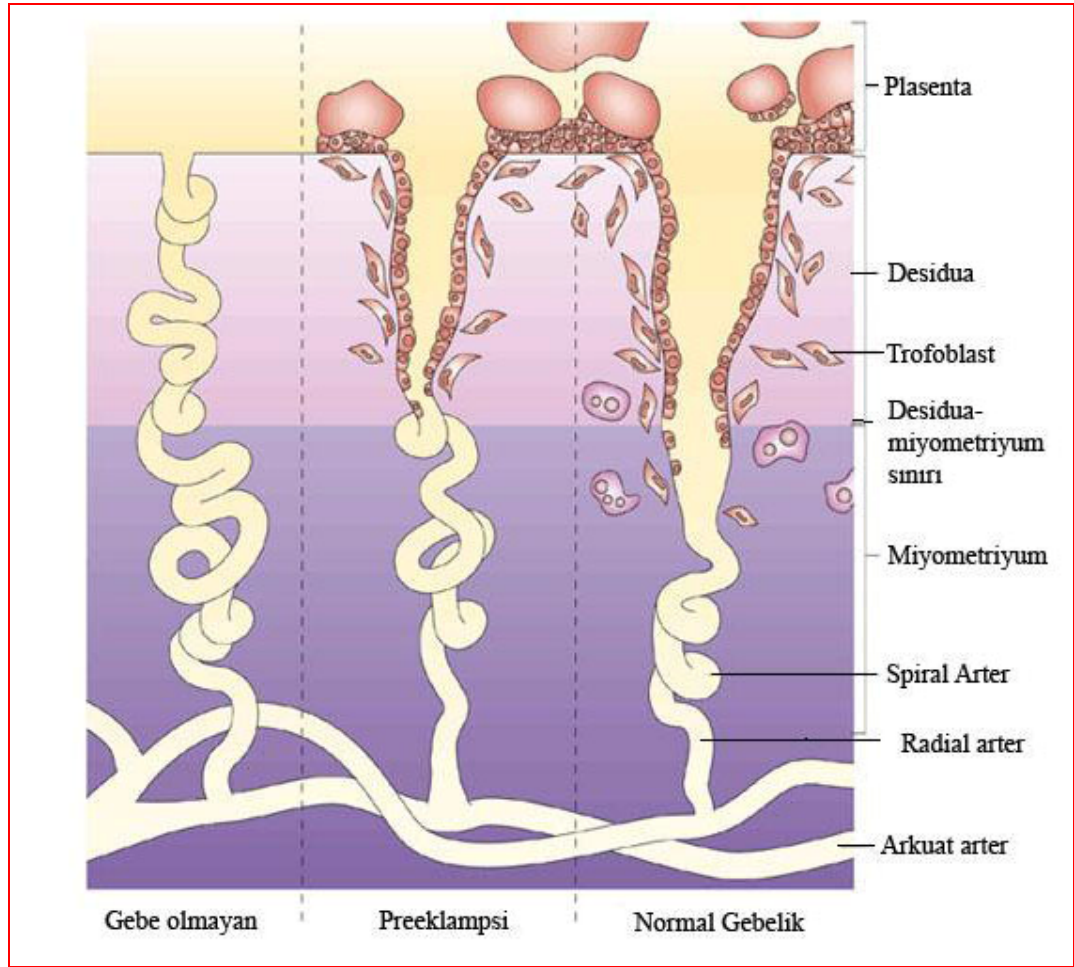
Blastosistin implantasyonu sonrasında, trofoblastların etkisiyle endometriyumda meydana gelen hücresel ve damarsal değişiklikler **desidual reaksiyonu** başlatır. Maternal kandaki progesteron artışına cevap olarak, desiduanın stromal bağ doku hücreleri **desidual hücrelere** dönüşürler. Bu hücreler sitoplazmalarında lipid ve glikojen biriktikçe daha da genişlerler ve prolaktin ve prostoglandinleri sentezlerler. Gelişen trofoblastlar, endometriyum ve çevresindeki değişiklikleri teşvik eder ve endometriyumun plasentanın maternal kısmını oluşturmasını sağlar. Bu değişen maternal doku **desidua** adını alır ve yapışma bölgesiyle alakasına göre 3 bölüme ayrılır. *Desidua Kapsülaris* desiduanın yüzeyel kısmı olup uterin lümen ve gelişen embriyonun arasına yerleşmiştir ve konseptusun üzerine örter. *Desidua Bazalis* gelişen embriyo ve miyometriyum arasına yerleşmiştir ve plasentanın maternal kısmını oluşturur. *Desidua Parietalis* ise desiduanın tüm geri kalan kısmıdır ve desiduanın dengesini sağlar. (34), (12).

Plasentanın yerleştiği kısmın altında kalan uterus kısmına plasental yatak adı verilmektedir (**Şekil 2-7**). Plasental yatak biyopsileri, desidua, miyometriyum, spiral arter ve ektravillöz trofoblastları içermelidir. Plasental yatak, spiral arterler aracılığı ile intervillöz alana oksijenli kan sağladığı için plasentanın fonksiyonunda anahtar bir role sahiptir. Plasental yatakta yaklaşık 100-150 tane spiral arter mevcuttur. Plasental yatakta bulunan spiral arterler arkuat arterlerin bir uzantısı olan radial arterlerin son

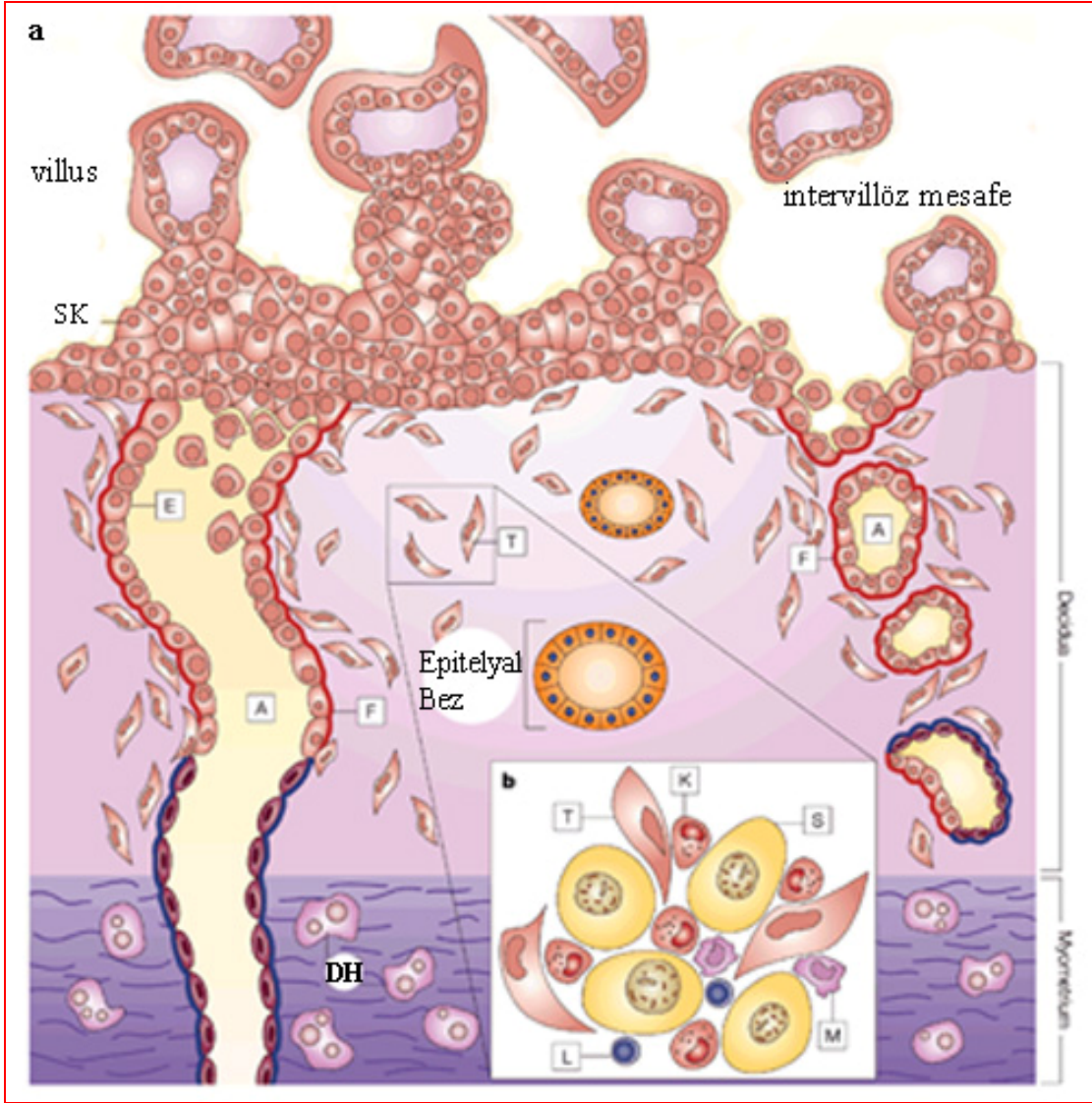
kısımlarıdır. Spiral arterler (**Şekil 2-10**), 200-300 mikrometre çapında müsküler tip arterlerdir. 100 mikrometre ve daha küçük çapta olan arterler de radial arterlerden çıkarlar ve “düz arterler” olarak adlandırılırlar (**Şekil 2-8**) (44), (45). Plasental yataktaki hücreler **Şekil 2-9**’da Şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2-7: Plasental yatak biyopsilerinin elde edildiği alanın Şematik resmi (93)



Şekil 2-8: İstilaya uğramamış arterler (gebe olmayan), normal gebelikteki arterler ve PE'li durumdaki arterler. PE'li gebelikte trofoblast istilası daha yüzeysel (46)'dan modifiye edilmiştir)



Şekil 2-9: a | Plasental villi villöz trofoblastlar ile çevrili — iç mononükleer sitotrofoblast katmanı sinsisyotrofoblastlar ile çevrili. Her bir villus gövdesinde fetal kan damarları, fibroblastlar, fetal makrofajlar (Hofbauer hücreleri) mevcuttur. Intervillöz alandaki maternal kan plasentaya uterin spiral arterler (A) ile ulaşır. Villöz sitotrofoblastların iç katmanı hücre kolonlarını (SK) oluşturmak üzere büyürler. Bunlar maternal desiduaya yapışık “bağlanan villus”larda daha belirgindir. Fetal-maternal sınırdaki kolonlar kısmen devamlı bir kabuk oluşturur. Bu kabuktan ekstravillöz trofoblast hücreleri, arteriyel mediayı kuşatıp harap ederek fibrinoid materyel (F) ile yer değiştirmek amacıyla, desiduaya interstisyel trofoblastlar (T) olarak girerler. Daha sonra, endovasküler trofoblast hücreleri (E) endotel hücrelerin yerini almak için retrograd tarzda arterler boyunca aşağı hareket ederler. Trofoblast hücreleri iç miyometriyuma kadar ilerlerler ve burada kaynaşarak plasental dev hücreleri (DH) oluştururlar. Ekstravillöz trofoblast hücreleri; sitotrofoblast hücre kolonlarını ve kabuğunu, interstisyel ve endovasküler trofoblast hücrelerini ve plasental-yatak dev hücrelerini kapsar. **b |** İmplantasyon bölgesindeki desidual stromayı gösteren şematik bir şekil. Interstisyel trofoblast hücreleri (T) geniş stromal hücrelerin (S) aralarında görülmektedir. Mevcut maternal lökositler, uterin natural killer hücreleri (K), az sayıda makrofajlar (M) ve occasional T hücreleridir (L) (46).

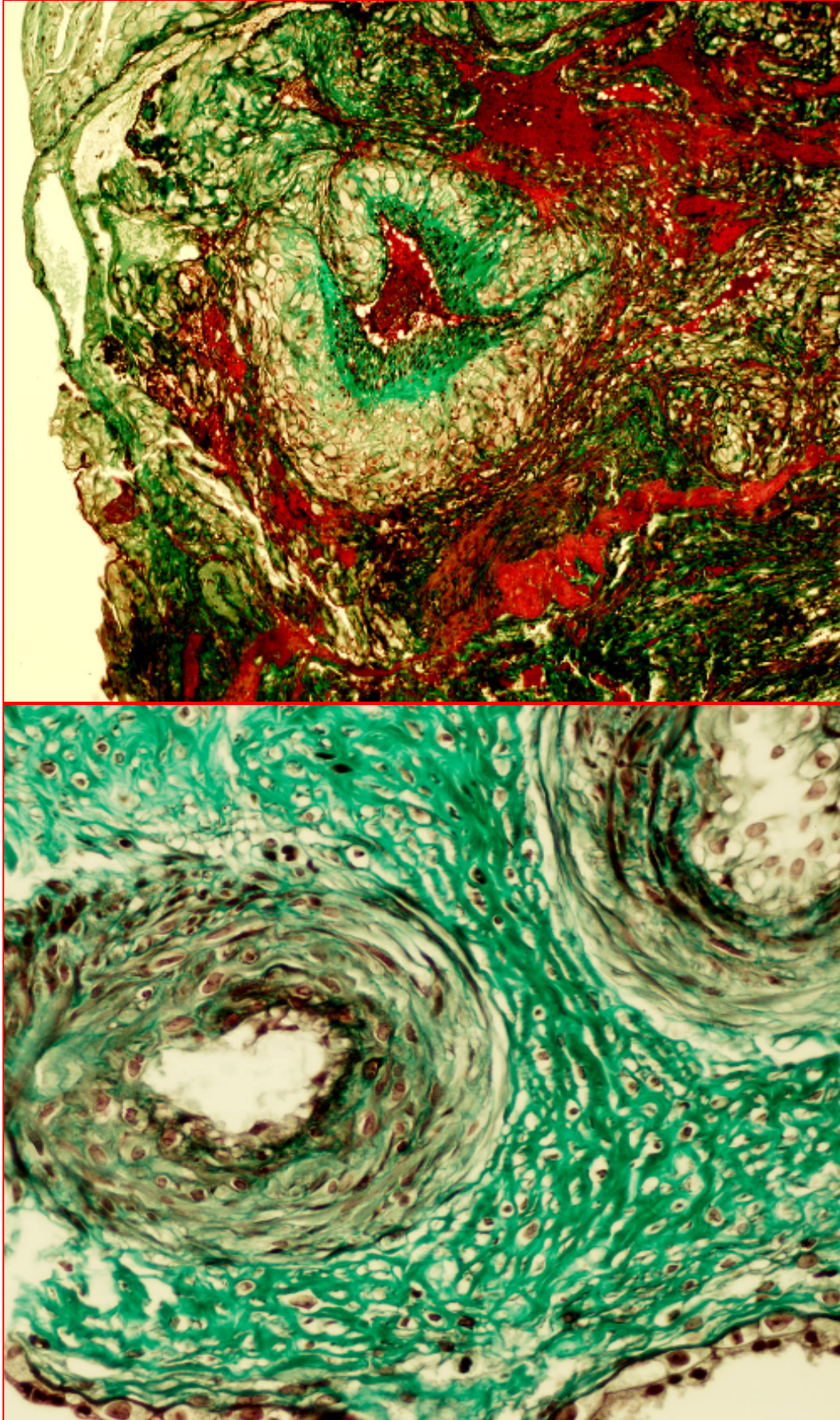
Normal gebeliklerden elde edilen plasental yatak örneklerindeki damarsal değişimler “**fizyolojik değişimler**” olarak adlandırılır. Bu ad değişimin patolojik değil de sağlıklı olduğunun tanımıdır. Genel bilginin aksine, spiral arterlerdeki değişikliklerin endovasküler istilanın başlamasından önce olduğu da bir çalışmada bildirilmiştir (44). Fakat genel görüş birliği, bu değişimlerin aşağıda da anlatılacağı gibi endovasküler trofoblastlar ile doğrudan bağlantılı olduğudur. Spiral arterlerdeki değişimler ardışık basamaklar halinde gerçekleşir. İlk basamak, endotelyum ve medianın vakuolleşmesi gibi erken değişimlerdir. Bu değişimler plasental yatağa bağlı olmadığı için, desidualleşme ile bağlantılandırılabilir. İkinci basamak, daha ileri bir media dezorganizasyonuna öncülük eder. Hücrelerarası alanlar genişleyerek, gevşek yapılı ve kesintili bir kas duvarı oluşur. Bu erken damarsal modellenme interstisiyal trofoblastların varlığı ile paraleldir. Üçüncü basamakta, trofoblastlar erken yeniden modellenme yaşayan bu damarların lümenlerine göç ederler. Bu trofoblastlar endovasküler trofoblast adını alırlar. Bu işlem muhtemelen gebeliğin en azından 4-6.haftalarında başlar ve 10.hafta itibariyle miyometriyal arterlere kadar ulaşır. Dördüncü basamakta ise; lümendeki endovasküler trofoblastlar damar endoteline penetre olarak dokunun yapısına katılırlar. Genellikle bu trofoblastların endotelin yerini aldığı belirtilse de, endotelyumun tamamen kaybolmadığını ve trofoblastların endotele hücreler arası boşluklardan penetre olduğunu öne süren durumlar da vardır. Damar düz kas duvarını oluşturan yapılar, içinde endovasküler trofoblast hücreleri bulunan fibrinoid matriks materyali ile yer değiştirir. Fizyolojik değişimlerin gelişiminin beşinci ve son basamağında, maternal endotelyum tamir edilir. Bu tamir, maternal kökenli miyo-intimal hücrelerin proliferasyonu sayesinde, tunika intimanın kalınlaşması ile bağlantılı olabilir. Basamak 4 ve 5’teki fizyolojik değişimler ilk olarak plasental yatağın merkezindeki spiral arterlerde görülmeye başlar ve kademeli olarak periferik yayılır. Spiral arterlerdeki bu fizyolojik değişim basamaklarının başarılı bir şekilde ne kadar sürede gerçekleştiği ile ilgili bir bilgi henüz yoktur. Fizyolojik değişimler müskulo-elastik damarsal elemanların kaybını kapsar ve böylece de belirgin bir genişleme oluşur. Bu da plasentaya kesintisiz bir maternal kan kaynağı sağlar (10), (45), (47), (48), (49).

Gebe olmayan kadının istila edilmemiş arterleri, normal gebelikteki arterler ve preeklampsideki patolojik durumlar karşılaştırmalı olarak resmedilmiştir. Sağlıklı gebelik ile kıyaslandığında patolojik durumdaki trofoblast istilasını daha az derin ve geniştir. Bu da spiral arterlerin yetersiz fizyolojik değişim geçirmesine neden

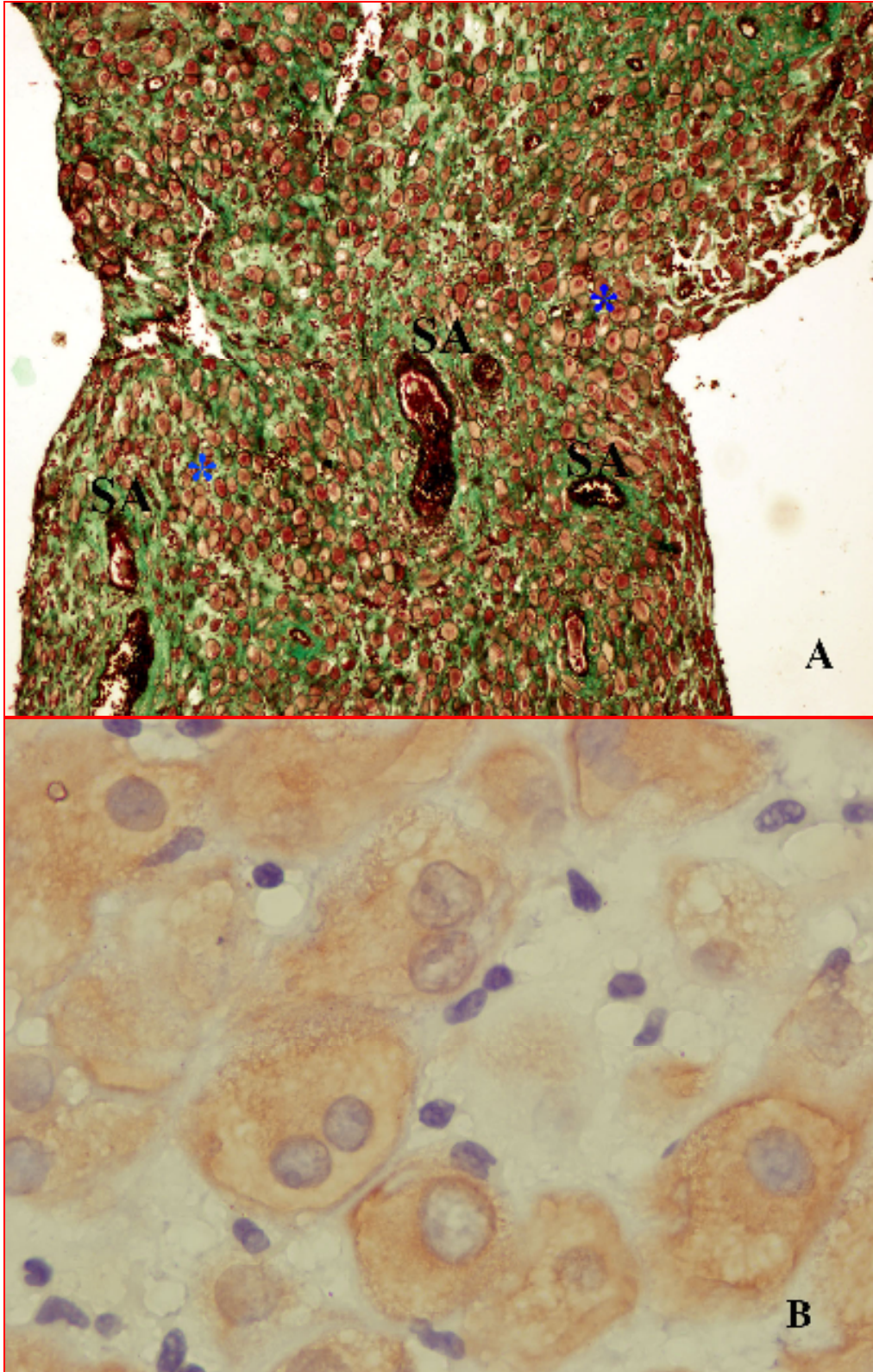
olmaktadır. Bu durum, zayıf bir fetal gelişim görülmesine öncülük eden, fetomaternal birime indirgenmiş kan akımına sebebiyet vermektedir (46) (**Şekil 2-8**).

Plasental dev hücreler (**Şekil 2-11**), implantasyon bölgesinde ekstrasvillöz trofoblastların bir alt-populasyonu olarak tanımlanmıştır. Işık mikroskop seviyesindeki morfolojik özelliklerine göre; plasental yatak dev hücreleri, komşu trofoblast hücrelerden daha geniş ve 2 veya daha fazla çekirdek ihtiva eden yüksek hacimde sitoplazmalı hücreler olarak tanımlanmaktadır (50).

Trofoblastların istilacı özellik kazanması, integrinler, VE-kaderin ve Matriks mettaloproetinazlar gibi adhezyon moleküllerinin üretiminin artması (51) ve TGF- β , Tümör nekrosis faktör-alfa (TNF- α) gibi sitokinlerin de trofoblastların istilacı özelliklerini kazanmasında etkili olduğu bilinmektedir (52), (53).



Şekil 2-10: Plasental yatakta Spiral Arter ve etraf dokusunun resimleri



Şekil 2-11: A: Plasental yataktan alınmış spiral arterler (SA) ve etrafındaki çok sayıda trofoblastik dev hücreler (*) (Molliér'in 4'lü boyası, x20) B: Trofoblastik dev hücreler x100

2.3. Preeklampsi

Preeklampsi, gebeliklerin %5-10'unda rastlanan, farklı coğrafyalarda etnik ve sosyal karakterler ile bu oranın 3 kata kadar çıkabildiği ve nedeni tam olarak anlaşılamamış olan gebeliğe özgü bir hastalıktır (1), (2), (3). Preeklampsi maternal ve perinatal ölümlerin ve morbiditenin önemli nedenlerinden biri olup her yıl dünyada yaklaşık 50 000 kadın ve 900 000 çocuğun bu hastalık sebebiyle ölümüne neden olmaktadır (4), (5), (6). Gelişmiş ülkelerde gebeliğe bağlı anne ölümlerinin %15-20'si preeklampsi nedeniyle olmaktadır (7). Preeklampsi insan türüne özgü bir hastalık olup diğer türlerde preeklampsi veya benzeri gebelik patolojileri gözlenmez (54). Günümüzde preeklampsi, perinatal ölümlerin ve sakatlıkların ana nedenlerinden biridir. Gebede maternal hipertansiyon, proteinüri, artmış damar hasarı ve geçirgenliği ve yüzeyel plasenta istilası ile karakterize olan ve tüm organ sistemlerine içine alan multisistematik karmaşık bir bozukluktur (55), (27), (26).

Preeklampsi genellikle daha önceden normotensif ve proteinürisi olmayan gebelerde, gebeliğin 20'nci haftasından sonra hipertansiyon ve proteinüri görülmesi ile tanımlanan bir sendromdur (6), (56), (57). Ancak mevcut durum hipertansiyon ve proteinüriden çok daha ötedir. Vücudun tüm sistemlerini ilgilendiren, annenin ve fetusun bir arada etkilendiği sistemik ve kompleks bir sendromdur. Annede renal, hepatik, serebral ve koagülasyon sistemlerinde bozukluklara, HELLP sendromuna (hemolizis, karaciğer enzim değerleri yükselmesi, trombositopeni), felce, karaciğer hasarına ve ölüme; fetusta ise büyüme geriliği, hipoksik nörolojik hasar, fetal distress, fetal ölüm ve gebeliğin erken sonlandırılmasına neden olabilir. Preeklampsili kadınlarda ise genellikle ilerleyen zamanlarda kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyon gelişir ki bu da morbiditenin belirgin bir kaynağıdır (1), (8).

2.3.1. Preeklampsiye Sebep Olan Risk Faktörleri

Preeklampsi genel anlamda ilk gebeliklerde ortaya çıkan bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Risk, gebelik öncesi sperm ile karşılaşma süresi kısaldıkça artmaktadır. Paternal faktör önemlidir; preeklampsili gebeliğe neden olan bir erkeğin, başka bir kadın ile olan gebeliğinde de preeklampsi riski artmaktadır (58). Preeklampsi sıklığı, gebelik öncesi ilişki süresi 4 aydan kısa olanlarda %40, 5-8 ay olanlarda %25, 9-12 ay olanlarda %15 ve 12 aydan uzun süre olanlarda %5 olarak bildirilmiştir (11), (59).

Kırk yaş üzeri gebelikler, donör inseminasyonu veya oosit donasyonu sonucu oluşan gebeliklerde risk artmaktadır (60). Maternal obezite, yüksek vücut-kitle indeksi, daha önce doğum yapmamış olmak (nulliparite), önceki gebeliğin 10 sene veya daha önce olması, hipertansiyon ve gebede veya ailesinde preeklampsisi öyküsü olması da belirgin risk faktörleridir (6), (61), (62). Gebelik öncesi diyabet, kronik hipertansiyon, kronik böbrek hastalıkları, maternal enfeksiyonlar, kalıtsal trombofili, ve çoğul gebelikler preeklampsisi riskini arttırmaktadır (60), (63), (9).

2.3.2. Tanı Kriterleri

Tarihsel olarak preeklampsisi için ortak diagnostik kriterlere ulaşmada zorluklar olmuştur (8). Fakat preeklampsinin esas özelliği gebeliğin 20inci haftasından sonra hipertansiyon ve proteinüri gözlenmesidir (6), (56), (8).

Preeklampsinin maternal sendrom klinik özellikleri şu şekilde sıralanmıştır;

Hipertansiyon: sistolik kan basıncı >140 mmHg, diastolik kan basıncı >90 mmHg (6), (56)

Proteinüri: üriner protein salgısı >300 mg/gün; belirgin proteinüride podosit ayak uzantılarının mevcudiyeti (6), (64)

Azalmış plazma hacmi: normal gebelikte kıyaslandığında %30-40 azalmış olması (65)

Ödem: interstisyel sıvı tutulması; multifaktöryel olabilir (65), normal gebeliklerin %50'sinde de gözlenmiştir

Azalmış renal kan akımı: normal gebe kadınlardan daha az renal perfüzyon olması (66)

Artmış plazma ürik asit: azalmış renal ürik asit atılımına ikincil olarak (67)

Artmış aminotransferaz ve laktat dehidrogenaz: karaciğer hücre hasarına bağlı olarak karaciğer enzimlerinin maternal kana sızması (68)

Serebral ödem: hipertansiyon ve vasküler otoregülatör disfonksiyonundan ötürü (69)

Trombositopeni: platelet sayımı $<150,000$ hücre/ mm^3 (70), Klinik olarak 100,000'nin altı korkutucu tablo olarak kabul edilir.

Koagülasyon sistem anomalileri: koagülasyon kaskadında ve fibrinolitik sistemde değişiklikler (6), (71)

Diastolik kan basıncının ≥ 110 mm Hg (herhangi bir ölçümde) veya ≥ 90 mm Hg (en az 4 saat arayla iki ayrı ölçümde) olması durumunda hipertansiyon, diastolik kan basıncının ≥ 120 mm Hg (herhangi bir ölçümde) veya ≥ 100 mm Hg (en az 4 saat arayla iki ayrı ölçümde) olması durumunda ise ağır hipertansiyon tanısı konur (23), (72), (73).

2.3.3. Ağır ve Hafif Preeklampsi

Hafif preeklampsi kriterleri; gebelik hipertansiyonu (gebeliğin 20.haftasından sonra kan basıncının yükselmesi) ile 0.3 gr/l ‘den fazla proteinüri olmasıdır.

Ağır preeklampsi ise aşağıdaki maddelerden en az 2 tanesinin aynı anda olması durumunda ortaya çıkan sendromdur;

- diastolik kan basıncının 110 mmHg’dan, sistolik kan basıncının 160 mmHg’dan yüksek olması,
- 24 saatlik idrarda 3 gr/l veya daha fazla proteinüri olması,
- oligüri (24 saatte 500 ml’den az)
- şiddetli baş ağrısı, skotom, bilinç bulanıklığı, net görememe gibi serebral veya görme bozukluklarının olması,
- pulmoner ödem, siyanoz, sağ üst kadranda ağrısı,
- HELLP sendromu (hemoliz, karaciğer enzimlerinde artış, trombositopeni-100 000 / μ l’den az olması-)
- Fetal büyüme geriliği (6), (74)

2.4. Transforming Growth Faktör Beta (TGF- β) İzoformları

TGF betalar pek çok hücre tipinin çoğalmasını ve fonksiyonlarını düzenleyen yerel mediatörler ailesini oluştururlar. Bu ailenin 5 üyesi (TGF- β 1-5) benzer yapı ve fonksiyonları olan proteinlerdir. Bununla birlikte hücreler üzerindeki etkileri farklıdır. Hücre tipine bağlı olarak, proliferasyonu baskılayabilir, yara iyileşmesine katkıda bulunabilir, hücre dışı matriks sentezini uyarabilir, kemik yapısını uyarabilir, hücre

ölümünü indükleyebilir ve hücreleri kemotaksi ile belli bir bölgeye çekebilirler. TGF betalara büyük öncüller şeklinde sentezlenir ve faal olmayan kompleksler halinde sekrete edilirler ve bunlar daha sonra proteolitik işlemle faal hale geçirilirler.

TGF betalara yapısal olarak benzerlik gösteren birkaç başka hücre dışı sinyal proteini vardır. Bunlar, omurgalı gelişiminde ve mezodermal indüksiyonda önemli bir rol oynayan aktivinler ve kemik yapımını uyaran kemik morfogenetik proteinleridir. Bu proteinler hep birlikte TGF Beta süperailesini oluştururlar. Kemik morfogenetik proteinleri bu ailenini en geniş üyesidir (75), (76).

İmplantasyon bölgesindeki TGF- β 'nın, allojenik konseptusa karşı maternal immüntolerans sağlanmasında önemli rolü olduğu düşünülmüştür. TGF β 'nın immün cevabı düzenlemesi; kemotaksiden, makrofaj ve T hücre faaliyetini baskılamasına kadar çeşitlilik gösterir (77).

TGF- β ailesinin hücre proliferasyonu ve farklılaşması, hücre dışı matriks modifikasyonu, doku yeniden modellenmesi, anjiyogenez ve (75) uterinal endometriyumun implantasyonda desidualize olması gibi olaylara dahil olduğu gün geçtikçe netleşmektedir (15). Birçok çalışmada TGF- β süperaile üyesinin hızlı bir gelişim ve yeniden modellenme gösteren plasenta organında da eksprese edildiği gösterilmiştir (21). TGF- β süperaile üyeleri endometriyumda yüksek oranda eksprese edilir. Bunun yanında hücre proliferasyonunda, farklılaşmasında, apoptozda ve doku yeniden modellenmede de ortaya çıkarlar. Menstruasyonda, proliferasyonda, desidualizasyonda ve gebeliğin sağlanmasındaki hücresel olaylarda da anahtar roller üstlenirler.

TGF- β süperailesinin birçok üyesi insan endometriyumunda menstrüel döngünün farklı evrelerinde eksprese edilirler. Üç TGF- β izoformu endometriyumda farklı eksprese edilirler; TGF- β 2 baskın olarak stromada bulunurken , TGF- β 1 ve TGF- β 3 hem epitelyal hem de stromal hücrelerde bulunur (28), (77).

TGF'ler in vitro ortamda tümör hücrelerinin çoğalmasını uyaran yapısal olarak benzer polipeptidlerdir. TGF'ler genel anlamda implantasyon üzerine pozitif ve kolaylaştırıcı etkiye sahiptir. Bilinen 5 farklı TGF- β grubuna ilave olarak inhibitörler, aktivinler ve kemik morfogenetik peptidler bulunmaktadır. TGF- β plasenta ve desiduaya ek olarak trofoblast ve fetal membranlarda da sentezlenebilmektedir (78).

Trofoblastlarda TGF- β üretimi tüm gebelik sürecinde devam etmekle birlikte, özellikle istilacı karakter gösterdikleri erken gebelik haftalarında daha belirgindir (79), (80). Plasentada TGF ekspresyonu ise gebeliğin ilerleyen haftalarında en üst seviyeye ulaşır (81). Desidua'daki ekspresyon miktarları ise gebelik haftalarına göre farklılık göstermekle birlikte özellikle 1. ve 3. trimesterde artmaktadır (82).

İnsan plasentasında TGF- β 1' i kodlayan mRNA ekspresyonunun, gestasyonun 17. ve 34. haftalarında pik yaptığının gözlenmesi ve bu zaman dilimlerinin ise sırasıyla trofoblast istilasının ve mutlak trofoblast büyümesinin durduğu zamanlara denk düşüyor olmasından yola çıkılarak, TGF- β 1'in trofoblast istilasını ve proliferasyonunu düzenlediği ileri sürülmüştür (77).

TGF- β 1, implantasyonun erken dönemlerindeki olaylara ve maternal endometriyumdaki doğal öldürücü (natural killer) hücrelerin modifikasyonlarına dahil olan bir büyüme faktörüdür (83), (84). TGF- β 1'in endometrial bezlerden apikal olarak salgılandığı ve uterinal sıvısında bulunduğu gösterilmiştir (22). TGF- β 'ların üretiminin ve salgılanmasının sekretuar fazda epitelyal bezlerden olması iki şey düşündürmektedir; TGF- β 'ların endometriyumu implantasyona hazırlaması veya pre-implant embriyo üzerine, implantasyon için gelişim veya farklılaşma sağlayarak, doğrudan etkisi olması.

Aynı zamanda TGF- β 1'in ekstravillöz trofoblast istilasında ve maternal immün adaptasyonda düzenleyici görevi vardır (26). TGF- β 1 ve TGF- β 2 sitotrofoblast kolonlarında daha fazla bulunmakta fakat TGF- β 1 istilacı ekstravillöz trofoblastlarda baskılanmaktadır. TGF- β 2 ve TGF- β 3 maternal dokularda mevcut olup, TGF- β 2'nin desidual hücrelerde kuvvetli ekspresyonu varken TGF- β 3 özellikle immün hücrelerde mevcuttur (21). TGF- β 3 fibroblastlarda ve endotelyal hücrelerde geniş hücresel faaliyetler göstermektedir. Fibroblastlar için bir kemoatraktan olup, Platelet-kaynaklı büyüme faktörü'nün (PDGF) salınımını ve kollajen sentezini teşvik edici özelliğe sahiptir. Bütün bunlar da TGF- β 3'ün preeklampside görülen olaylarla bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir (15), (85).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. IHK Gereçleri

- Poly-L-Lizin solüsyonu (Sigma-Aldrich, Cat No:P 8920)
- Sitrik asit tamponu (Zymed, Cat No: 00-5000)
- %3'lük hidrojen peroksit (Zymed, Cat No: 00-2015)
- Pap-Pen (Beckman Coulter, IM3580)
- Ultra Ab Diluent (Lab Vision, Cat No: TA-125-UD)
- TGF- β 1 (Santa Cruz, sc-146)
- TGF- β 2 (Santa Cruz, sc-90)
- TGF- β 3 (Santa Cruz, sc-83)
- Sekonder antikor (Santa Cruz, sc 2004)
- AEC Kromojen (Zymed, Cat No:00-2007)
- Mayer'in Hematoksileni (Bio-Optica, 05-06002/L)
- Kapatma medyum (Santa Cruz, sc-24942)

3.2. Yöntemler

Çalışma, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür. Çalışmada Zeynep Kamil Araştırma ve Eğitim Hastanesi Doğum Kliniği'nde sezaryen doğum yapan gebelerden elde edilen 14 adet sağlıklı, 7 adet hafif preeklampsili ve 8 adet ağır preeklampsili gebenin plasenta ve plasental yatakları kullanılmıştır. Çalışma için İstanbul Üniversitesi Etik Kurulu ve Zeynep Kamil Araştırma ve Eğitim Hastanesi Etik Kurulu onayları alınmıştır ve bütün çalışmalar Etik Kurul Yönetmeliği esaslarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Doku Örneklerinin Alınması

1-2 preeklampitik hastanın acil normal doğuma alınması sebebiyle plasenta yatakları elde edilememiştir. Dokuları alınan hastaların özellikleri Tablo 3.1, Tablo 3.2 ve Tablo 3.3' de gösterilmiştir. Gebelerin sınıflandırılması; klinik muayeneler ve

yapılmış kan, idrar ve karaciğer enzim test sonuçları doğrultusunda Zeynep Kamil Araştırma ve Eğitim Hastanesi kadın doğum hekimlerinin tanılarına göre yapılmıştır. Tablolarda boş kalan yerler testleri yapılmamış veya yapıp sonuçları doğumhaneye ve dolayısıyla bize ulaşmamış hastalardır, fakat bu hastaların ağır veya hafif preeklampsi veya sağlıklı tanısı hekimler tarafından konulmuş ve onaylanmıştır.

Ameliyathanede sezaryen doğum esnasında içeride kendim bulunmuş olup, ayrılan plasentalar tarafımdan alınmıştır, plasental yataklar ise ameliyata katılan doktorlar tarafından steril aletler ile endometriyumdan kesilmiş ve bana verilmiştir.

KG	Gebe Yaşı	Gravida sayısı	Gravida Yaşı	Proteinüri	Platelet	ALT	AST	LDH
H1	24				248	21	19	241
H3	37				237	27	27	248
H6	37	3	40H 1G	Negatif	302	33	39	296
H7	35	3	41H 6G		166	25	37	345
H9	24	2	40H 2G	Negatif	297	20	32	388
H10	22	1	40H 2G		314			
H11	31	1	39H	Negatif		33	34	269
H14	20	1	38H 4G			38	30	304
H18	21	2	39H		250-264			
H20	27	1	42H	Negatif	210			
H21	31	3	36H 3G		275			
H22	19	3	40H 5G		414	20	19	367
H24	27	1	38H 4G	Negatif	278			
H25	20	1	38H 1G					

Tablo 3-1: Kontrol Grubu (KG) Gebeler

HPE	Gebe Yaşı	Gravida sayısı	Gravida Yaşı	Proteinüri	Platelet	ALT	AST	LDH
H4	36			1		18	20	224
H8	24	1	38H 2G	ESER	239	64	48	359
H15	29			ESER	172	27	29	334
H16	31	3	33H 6G	2	203	30	32	359
H23	27	2		1		20	16	191
H29	28	1	40H	POS	194	23	16	405
H30	28			NEG	241	21	35	147
H32	41	2	36H	1	220			410

Tablo 3-2: Hafif Preeklampsili (HPE) Gebeler

APE	Gebe Yaşı	Gravida Sayısı	Gravida Yaşı	Proteinüri	Platelet	ALT	AST	LDH
H5	23	1	31H 3G		222	26	25	400
H12	25		33H 3G	3		23	24	266
H13	29	1	31H 4G		103	59	55	465
H19	35	3			251			
H26	29	1	26H 3G	3		31	29	359
H27	21	3	40H 4G	4		18	43	551
H28	24	2				23	34	402
H31		4	38H 6G	4		25	24	297

Tablo 3-3: Ağır Preeklampsili (APE) Gebeler

Hasta: H olarak kısaltılmıştır, H19; 19 numaralı hasta gibi

Gebe Yaşı: Gebenin dokularının alındığı tarihteki yaşı

Gravida Sayısı: Gebenin kaçınıcı doğumu olduğu

Gravida Yaşı: Gebenin gebelik haftası, H: Hafta, G: Gün

Proteinüri: Yapılmış ise idrar testindeki proteinüri sonucu

Platelet sayımı: Yapılmış ise kan testindeki platelet sayım sonucu

ALT: Yapılmış ise karaciğer enzimlerinden “Alanin aminotransferaz” sonucu

AST: Yapılmış ise karaciğer enzimlerinden “Aspartat aminotransferaz” sonucu

LDH: Yapılmış ise karaciğer enzimlerinden “Laktat dehidrogenaz” sonucu

3.2.2. Örneklerin Hazırlanması ve Takip Yöntemi

Araştırmamızda alınan örneklerin değerlendirilmesinde 3 farklı yöntem kullanılmıştır. Her 3 yöntemde de amaç; fizyolojik ve hastalıklı dokularda protein ekspresyon farkları ve dokuda oluşan veya eksilen durumların gözlenmesidir.

Işık mikroskopi için Mollier’in 4’lü boyası (modifiye edilmiştir) kullanılmıştır. Bu boyalar ile dokulara genel bakış sağlanmak ve ince yapıya fazla inmeden gözlenebilecek değişiklikler saptanmak istenmiştir. Bu iki boya ile damar etrafındaki elastik lifler, bağ doku lifleri (kollajen), kas tabakası, sitoplazma ve çekirdek renklendirilmiştir.

IHK yöntemi ile; çalışmayı amaçladığımız 3 proteinin ekspresyon dereceleri ve bölgeleri gözlenmiştir.

Son yöntem olan elektron mikroskopi yöntemi ile de hücre ince yapısının, varsa hasarların veya değişikliklerin gözlenmesi amaçlanmıştır.

Alınan plasenta ve plasental yataklardan 1-1.5 cm’lik kesilen örnekler süratlice fosfat tampon ile yıkanarak, yine fosfat tampon ile hazırlanmış %10’luk nötral formalin içine alınmıştır. Parçanın en az 10 katı fiksatifte koyulması kuralına uyulmuştur. Parçalar formalinde ortalama 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra parçalar akar musluk suyunda 5-6 saat formolünden arındırılmak için yıkanmıştır. Yıkama aşamasından sonra %70 alkol, %80 alkol, %90 alkollerde 1’er gece ve %100 Absolut Alkolde yarım gün olmak üzere, suyu giderilmek için yükselen alkol serilerinden geçirilmiştir. Daha sonra parçalar 1. Toluolde 5 dakika, 2. Toluolde 3 ve 3. Toluolde 1-2 dakika olmak üzere 3 temiz toluolden geçirilmiştir. Bu işlemi takiben parçalar 1 saat yumuşak parafinde, 1 saat sert parafinde bekletilmiş ve bu parçalardan metal kafes veya L bloklarda sert parafin içine gömülerek parafin bloklar elde edilmiştir.

Bloklar bir gece soğumaya bırakılmış ve daha sonra mikrotomda, ışık mikroskopi için 4 mikron, IHK için 3 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır. Işık mikroskop kesitleri için önceden albümin-gliserin ile kaplanmış lamalar, IHK için ise poly-L-lizin ile kaplanmış lamalar kullanılmıştır.

3.2.3. Işık Mikroskopi Yöntemi

Işık mikroskopi için hazırlanan kesitlere Mollier'in 4'lü boyası uygulanmıştır. Aşağıda her 2 boyanın da protokolleri verilmiştir.

Mollier'in 4'lü boyama protokolü:

Lamlar üzerindeki kesitler toluole alınmış ve 30-60 dakika tutulmuştur. Parafini giderilen parçalar alçalan alkol serisinden geçirilerek %70'lik alkole indirilmiştir. Orsein solüsyonunda *(Soln A) 16 saat tutulmuştur. Fazla boyana gidene kadar distile suda yıkanmıştır. Çekirdek boyası olan Weigert'in demirli hematoksisleninde 40 dakika tutulmuştur. Çekirdek boyasından çıkan lamalar distile suda yıkanmıştır. %1 oranında HCl eklenmiş %70 alkolde tutularak diferensiye edilmiş ve böylece orsein fazlası uzaklaştırılmış ve çekirdek netleştirilmiştir. Akar suda 6 dakika tutulmuş ve Azocarmin G'de **(Soln B) oda sıcaklığında 20-25 dakika mikroskop altında kontrol edilerek boyanmıştır. Fazla boyanın giderilmesi için distile suda çalkalanmıştır. %5'lik fosfotungustik asit solüsyonunda kollajenöz dokular tamamen netleşinceye kadar 2-3 defa değiştirilerek 20-25 dakika tutulmuştur. Lamalar distile suda yıkanmıştır. Işık yeşilinde (Light Green) 30 dakika kontrol edilerek tutulmuştur. Kesitler doğrudan %96'lık alkole alınmış ve 30 saniye çalkalanmıştır. Mutlak alkolden geçirilen lamalar toluolde şeffaflaştırılmıştır. Şeffaflaşan parçalar kapatma solüsyonu ile kapatılmıştır.

Boya sonucunda elastik lifler siyaha, kollajen lifler yeşile, iskelet kası parlak kırmızıya, düz kaslar soluk kırmızıya, epitel kırmızıya ve çekirdek siyah-mora boyanır.

***Solüsyon A:** 1 gr Orsein 100 ml %70 alkol içinde çözülür ve 1 ml konsantre HCl eklenir. Solüsyon hemen kullanıma hazırdır.

****Solüsyon B:** 0.1 gr Azocarmin G, 100 ml distile suda çözülür, kaynatılır ve oda ısısına soğutulur. Filtre kağıdı ile süzülür. En sonunda 1 ml glasial asetik asit eklenir.

3.2.4. İmmünohistokimya (IHK) yöntemi

1/10 distile su (DS) ile sulandırılarak hazırlanmış Poly-L-Lizin solüsyonu ile kaplanan lamlara 3 mikron kalınlığında parafin kesitler alınmıştır. Alınan kesitler immünohistokimya yapılmadan önceki gece, parafinin yumuşaması ve kesitin lama daha iyi yapışması için 56 derecelik etüvde tutulmuştur. Sabah, kesitler etüvden çıkarılmış ve soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan kesitler 3 defa 20'şer dakika toluolde tutulmuştur. Daha sonra 10'ar dakika %100 Absolut Alkol, %90 Alkol, %80 Alkol ve %70 Alkolde tutulmuştur. Son olarak distile suya indirilen kesitler 5 dakika burada bekletilmiştir.

Hazırlanan sitrik asit tamponu ve su karışımı, plastik şaleye koyulmuş ve kesitler içine yerleştirilmiştir. Mikrodalgada kaynayana kadar beklenmiş ve kaynamaya başladığı an mikrodalga durdurulmuş ve 5 dakika beklenmiştir. Bu işlem 3 kere tekrarlanmıştır. Bu işlem ile, tespit sıvısı sebebiyle çapraz bağlar kurmuş olan proteinlerin bağları açılıp, bağlanma bölgesi -epitop- ortaya çıkarılmıştır. Kesitler soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan kesitler 3 defa Fosfat Tamponda 5'şer dakika yıkanmıştır. Yıkanan kesitler %3'lük hidrojen peroksitte 5 dakika oda sıcaklığında tutulmuştur. Kesitler tekrar 3 kere fosfat tamponda 5'şer dakika yıkanmıştır. Son yıkamada parçaların etrafı "Pap-Pen" ile dokuya temas etmeden çizilmiştir. Böylece hem gereksiz malzeme kaybı hem de solüsyonların birbirine karışması önlenmiştir. Çizilen parçalar siyah, ışık geçirmeyen, su kanallı IHK kabına dizilmiş ve blokama solüsyonu damlatılıp, 30 dakika oda sıcaklığında tutulmuştur. Bu esnada her üçü de tavşan poliklonal Ig-G olan primer antikorlar hazırlanmıştır. TGF- β 1 1/150 oranında Ultra Ab Diluent ile seyreltilmiş, TGF- β -2 yine 1/150 oranında ve TGF- β -3 1/100 oranında seyreltilmiştir.

Bloklamadan çıkan kesitler, fosfat tamponda yıkanmaksızın, 2 gruba ayrılmıştır. Bir gruba primer antikorları damlatılmıştır. Diğer grubun ise negatif kontrol olarak kullanılmak üzere primer antikor damlatılmadan sadece kurummasını önlemek için üzerileri fosfat tamponla kaplanmıştır. Kesitler IHK kabında, buharlaşmayı en aza indirmek için oluklarına su koyularak, 1 gece +4 derecelik buzdolabında tutulmuştur.

Ertesi sabah kutu buzdolabından çıkarılmış ve 3 kere 5'şer dakika fosfat tamponda yıkanmıştır. Yıkama esnasında Sekonder antikor hazırlanmıştır. 1/400 oranında fosfat tamponda seyreltilen sekonder antikor her iki gruptaki, primer antikorlu

ve primer antikorsuz, kesitler üzerine damlatılmıştır. Sekonder antikordaki kesitler 30 dakika oda sıcaklığında bırakılmıştır. Sekonder antikordan çıkan kesitler 3 defa fosfat tamponda 5'er dakika yıkanmıştır. Bu kesitlerden TGF- β 1 damlatılanlara 4 dakika boyunca, TGF- β 2 damlatılanlara 5 dakika boyunca, TGF- β 3 damlatılanlara 10 dakika boyunca oda sıcaklığında ve loş ışıktaki AEC Kromojen uygulanmıştır. Her bir antikorun bu optimum boyanma süreleri daha önce mikroskop altında kontrol edilerek yapılan deneyler sonucu belirlenmiştir. Boyanma, kesitlerin fosfat tampona indirilmesiyle durdurulmuştur.

İmmün boyanması biten kesitlere Mayer'in Hematoksileni ile çekirdek boyası yapılmıştır. Hematoksilen içinde 20 saniye tutulan kesitler distile suya indirilmiş ve çekirdek morarması için 5 dakika bekletilmiştir. Moraran kesitler dışarıda kurumaya bırakılmış ve suyu kuruyan kesitler kapatma medyumunu ile kapatılmıştır. Işıktan uzak kapalı bir kutu içinde muhafaza edilmişlerdir.

Fotoğraflar Olympus BX61 Araştırma Mikroskop'u ile çekilmiştir. İHK değerlendirilmesi plasenta için her gruptaki mevcut hastaların preperatlarından 40'lık büyütmede fotoğraflar çekilerek yapılmıştır. Örneğin; APE grubundaki 13 numaralı hastanın (H13) TGF- β 1 boyanması değerlendirilecektir. Hazırlanan boyanmış preperattan birbirlerinin aynı olmayan -preperat koordinatları belirtilerek ayırt edilmiştir- rastgele 10 villi resmi çekilmiştir. Fotoğraflan villusların çoğu yüzen villus, az sayıda bir kısmı ise stem villuslardır. Her bir villus kendi içinde kapiller endoteli ve villöz stroma olarak değerlendirilmiştir. Çekilen 10 villus resminin ortalaması alınarak 13 numaralı ağır preeklampatik hastanın (H13) kapiller endotel ve villöz stroma boyanması değerlendirilmiştir. Her gruptaki her hasta için aynı işlem tekrarlanmıştır. Böylece elimizde bir gruptaki tüm hastaların 10'ar villus resmi bulunmaktadır, değerlendirmeler bu yöntem üzerinden tüm gruplara ve tüm hastalara ve her 3 protein izoformuna aynı şekilde uygulanmıştır. Çekilen bazı resimlerde pozitifliğin daha rahat seçilebilmesi ve doku ile kontrast oluşturma amacı ile, fotoğraf sibirbazı programı ile pozitif alanlara renklendirme yapılmıştır.

3.2.5. Elektron Mikroskopi Yöntemi

Gönüllülerden alınan plasenta ve plasental yatak doku örnekleri ön tespit işlemi için 1 mm³ civarında küçültülerek **Milloning'in fosfat tamponu* ile hazırlanmış %4'lük glutraldehit tespit sıvısı içinde bekletilmiştir. Tespit sıvısı içinde bekleyen bu parçalar bir gün önce, yıkanıp tespit sıvısından arındırılması için Milloning'in fosfat tamponuna alınmış ve 1 gece boyunca +4 derecede bekletilmiştir. Ertesi sabah tampondan çıkarılan parçalar son tespit için yine *Milloning'in fosfat tamponu* ile hazırlanmış %1'lik osmiyumtetraoksit içinde oda ısısında 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra bu işlemi takiben, aynı fosfat tamponda 15 dakika yıkanmış, suyundan arındırmak için sırasıyla %30, %50, %70, %80, %96 ve %100 alkolde 10'ar dakika tutulmuştur. Alkolden geçirilen parçalar propilen oksitte 10 dakika iki sefer tutulmuştur. Daha sonra hazırlanan ***saf araldit* (Araldit M+Araldit Harter+Akseleratör) 1/1 oranında propilen oksitle karıştırılarak 45 dakika-1 saat arası ve 1/3 oranında hazırlanan propilen oksit-araldit karışımlarında 1 saat bekletilmiştir. Ve son olarak da saf araldite alınıp 1 gece bırakılmıştır. Ertesi gün parçalar saf araldit dolu kapsüllere yerleştirilmiş ve böylece gömme işlemi de gerçekleşmiştir. Kapsüller polimerizasyon amaçlı 1 gün 45 derecelik etüvde, 2 gün boyunca da 60 derecelik etüvde tutulmuştur. Polimerizasyon aşamasını tamamlayan parçalar kesime hazırdır.

Bloklar bir jilet vasıtasıyla trimlenmiş ve Zeiss UM3 ultramikrotomu ile özel cam bıçaklar kullanılarak kesitler alınmıştır. Su dolu havuzda toplanan kesitler önceden temizlenmiş 100 ve 200 meshlik gridlere alınmış ve kurumaya bırakılmıştır.

***Milloning'in Fosfat Tamponunun Hazırlanışı:**

Solüsyon A: NaH₂ PO₄ H₂O 2.26 gr + 100 cc distile su (DS)

Solüsyon B: NaOH 2.52 gr + 100 cc DS

Solüsyon C: Glukoz 5.40 gr + 100 cc DS

Solüsyon D; toplamda 50 cc olmak üzere solüsyon A ve B'nin aşağıdaki oranda karıştırılmasıyla elde edilmiştir.

Soln A: 41.5 ml + Soln B: 8.5 ml .

pH değeri 7.3-7.4 olacak şekilde tampon C solüsyonundan 5 ml ve D solüsyonundan 45 ml koyularak hazırlanmıştır. Eğer pH yüksek olursa A solüsyonundan, pH düşük olursa B solüsyonundan eklenmiştir.

****Saf Araldit Hazırlanışı :**

Araldit M 10cc

Araldit HARTER 10cc

Akseleratör 0.5cc

3.2.5.1. Hazırlanan Gridlerin Boyanması

200 ve 100 meshlik gridlere alınan ince kesitler boyanmak için uranil asetat boyasına (100cc %50 Alkol + 3 gr uranil asetat) alınmış ve 30 dakika karanlık ortamda bekletilmiştir. Sonra bir kez %50 alkolden ve 2 kez distile sudan geçirilerek kuruması için temiz bir petri kabına konmuştur. Kuruyan gridler ikinci boya olan kurşun sitrata (1.33 gr Kurşun sitrat+1.76 gr Sodium sitrat+ 30 ml DS) alınmış ve 15 dakika da bu boyada tutulmuştur. Boyadan çıkarılan gridler 2 kez distile suda yıkanmış ve kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan gridler JEOL-Jem 1011 Transmisyon Elektron Mikroskobu ile incelenerek, fotoğraflanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Işık Mikroskopi Bulguları

Mollier'in 4'lü boyası ile boyanan kesitlerde plasenta koryon villusları ve plasental yataklar incelenmiştir.

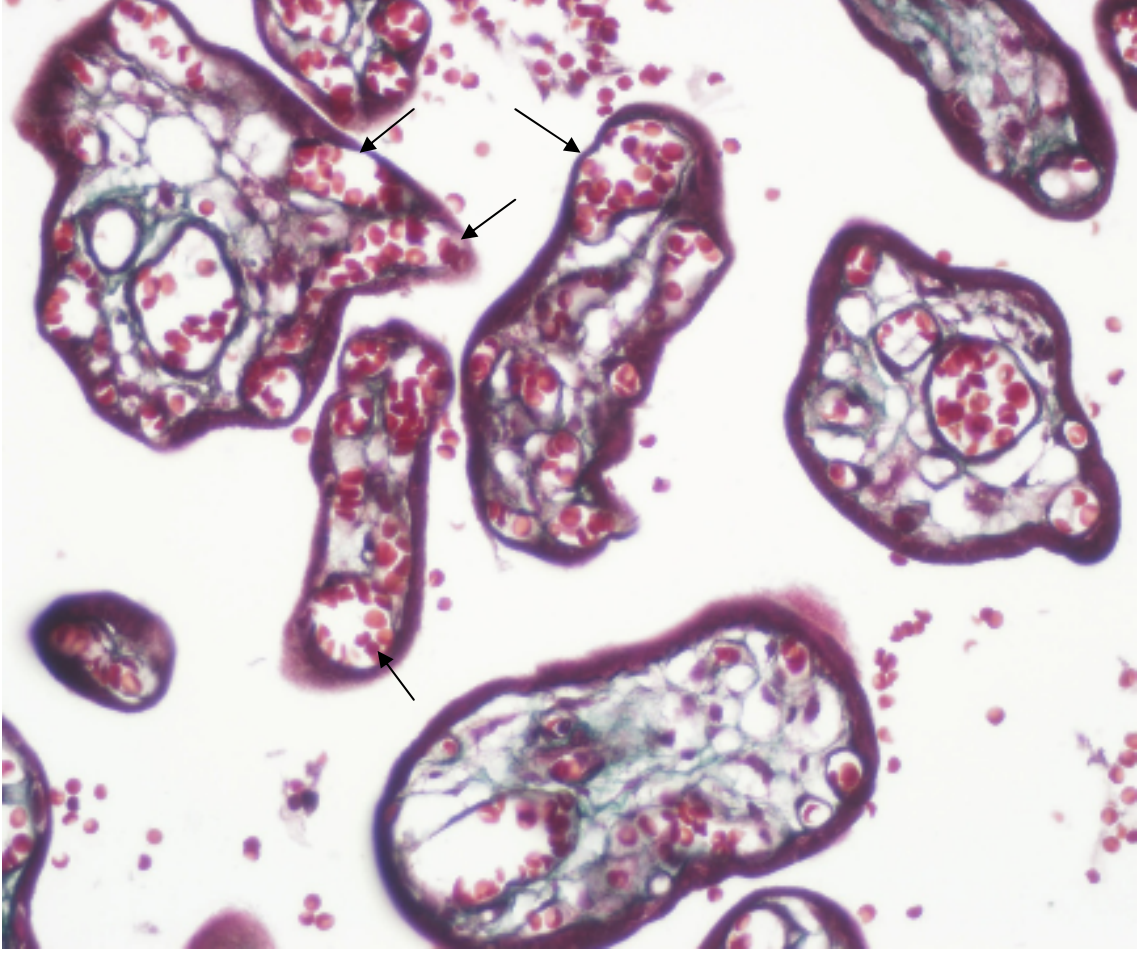
Örnekler karşılaştırıldığında, kontrol grubu gebelerin plasental villus dış duvarını saran sinsisyotrofoblastlar; düzenli, tek sıralı ve ince bir tabaka olarak görülmüştür. Sinsisyotrofoblast kümelenmelerine veya yığılmalarına fazlaca rastlanmamıştır. Sitotrofoblast hücrelerine çok az sayıda rastlanmıştır. Villöz stromada çok sayıda ince duvarlı fetal kapiller görülmüştür. Kapillerlerden bazıları villus dış duvarına yakın olup, plasental bariyeri sağlamak amacıyla düzgün bir şekilde yerleşmiştir. Villus stromasındaki kollajen ise dağınık ve gevşek halde görülmüştür (**Şekil 4-1**), (**Şekil 4-2**).

Hafif preeklampsi ve özellikle ağır preeklampsi gruplarında ise villus yapısında farklılıklara rastlanmıştır. Villöz stroma kollajenden zengin görülmüştür. Fetal kapiller sayısının azaldığı, mevcut olanlarda ise kontrol grubuna kıyasla damar duvarlarının kalınlaştığı ve lümenlerinin daha dar olduğu görülmüştür. Villus içindeki kapillerler genellikle villus merkezine doğru yerleşmişlerdir. Dış duvarı saran sinsisyotrofoblastlar ise düzensiz yapı ve yığılmalar göstermiştir. Ayrıca ağır preeklampsili gebelerin bir çok plasental villusunda sinsisyotrofoblast tabakasının altında fazlaca sitotrofoblast hücrelerine rastlanmıştır. Her ne kadar istatistiki bir değer elimizde olmasa da preeklampsili plasental villuslar belirgin şekilde görüntü olarak daha küçük ve oldukça seyrek görülmüşlerdir. Sağlıklı plasental villuslar ise daha büyük boyda ve daha fazla fetal kapillerli olarak göze çarpmıştır. Ağır preeklampsi gruplarında bazı plasental villusdaki sinsisyotrofoblast hücre tabakasının altında yoğun dejeneratif, stroma içine doğru yayılan sitotrofoblast kümelerine rastlanmıştır. Bu kümelerin sinsisyotrofoblastların hemen altında işgal ettiği yoğun alan nedeniyle de stromanın villus merkezinde daha yoğunlaştığı ve stromanın daha merkezinde konumlanmış küçük kapillerlerin görüldüğü bir villus tipine rastlanmıştır (**Şekil 4-3**), (**Şekil 4-4**), (**Şekil 4-5**).

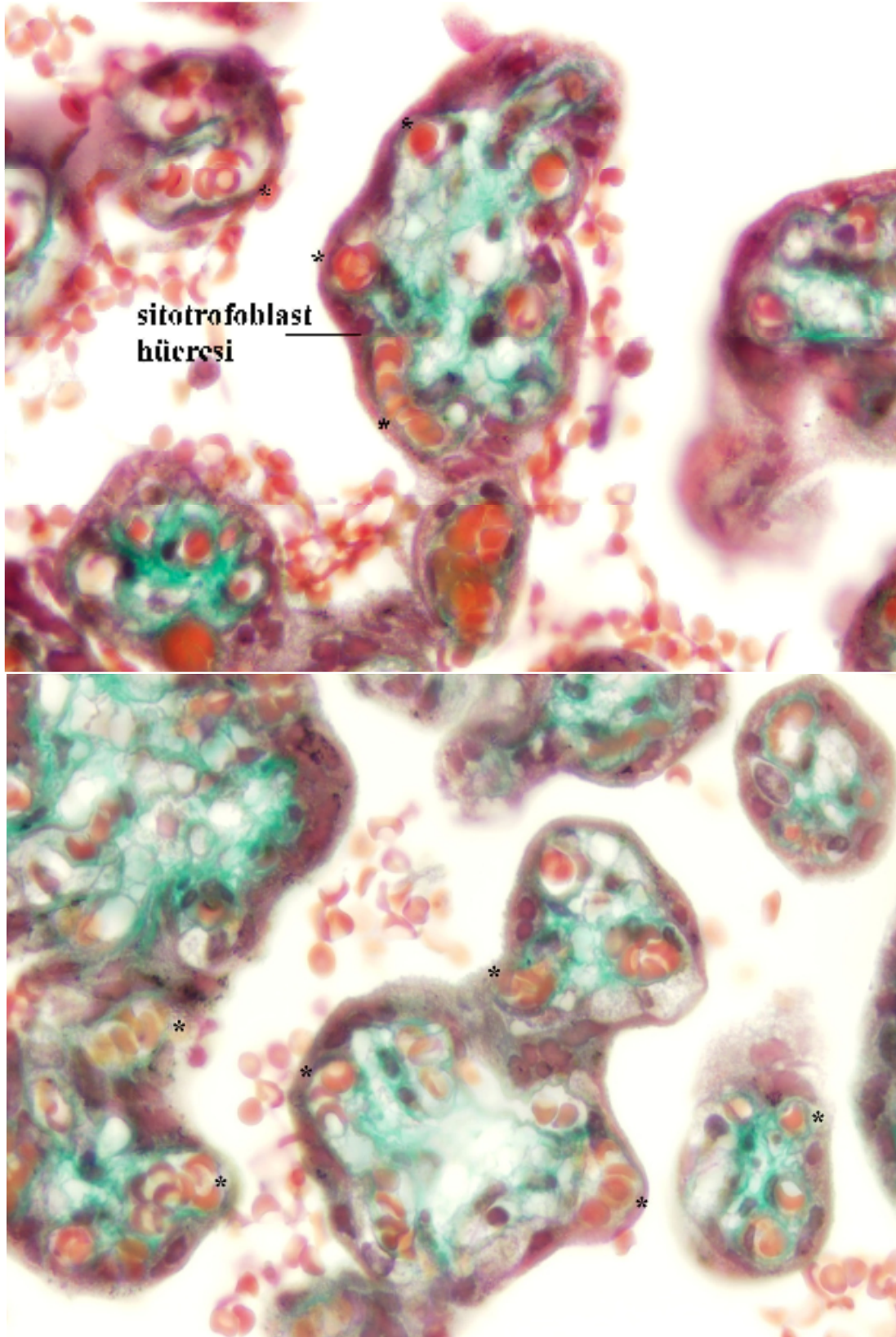
Plasental yataklara bakıldığında kontrol grubunu oluşturan gebelerde spiral arterlerin fizyolojik değişimlere uygun olarak şekil değiştirdiği görülmüştür. Spiral arter

lümenlerinin etraflarında damar duvarını istila etmiş çok sayıda trofoblast hücresine rastlanmıştır. Bazı spiral arter endotel hücrelerinin arasında, yine fizyolojik değışimlerin doğru gerçekleştiğinin bir kanıtı olarak, endovasküler trofoblast hücreleri saptanmıştır. Plasental yatağın miyometriyum kısmı incelendiğinde miyometriyumdaki spiral arterlerinin çaplarının daha küçük olduğu fakat yine duvarlarının trofoblast hücrelerince istila edildiği, miyometriyumu oluşturan kas demetlerinin spiral arter duvarlarının etrafında olmadığı görülmüştür **(şekil 4-6), (şekil 4-7), (şekil 4-8), (şekil 4-9).**

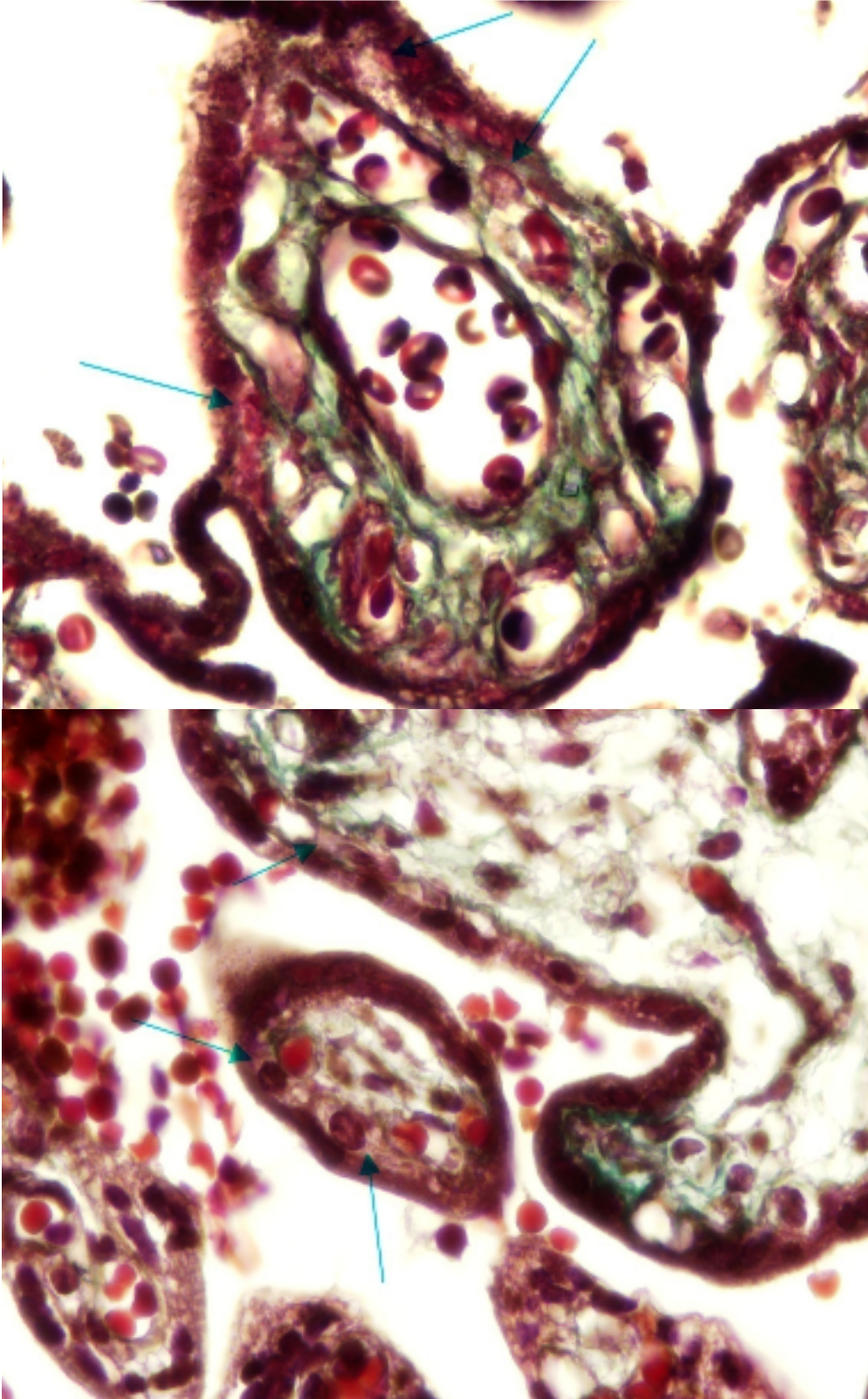
Hafif ve ağır preeklampsili plasental yataklara bakıldığında spiral arterlerin giderek artan şekilde çevresindeki fazlaca düz kas istilasını nedeniyle kalın duvarlı olduğu göze çarpmaktadır. Buna zıt bir şekilde de yine damar duvarlarında ağır preeklampsiye doğru giderek azalan bir şekilde çok az sayıda trofoblast hücresi görülmüştür. Ayrıca mevcut trofoblast hücreleri ise spiral arterlerden uzakta görülmüştür. Spiral arter lümenleri daha dar görülmüş ve bazılarında lümen içinde kan hücresi yığılmalarına rastlanmıştır **(şekil 4-10), (şekil 4-11), (şekil 4-13).** Yine endometriyum stromasında her 3 grupta da dağınık olarak desidual hücreler görülmüştür. Fakat desiduada kontrol grubunda daha az sayıda trofoblast hücresi görülmüştür. Hafif preeklampsiden ağır preeklampsiye gidildikçe desiduadaki trofoblast sayısında bir artış göze çarpmıştır **(şekil 4-14).**



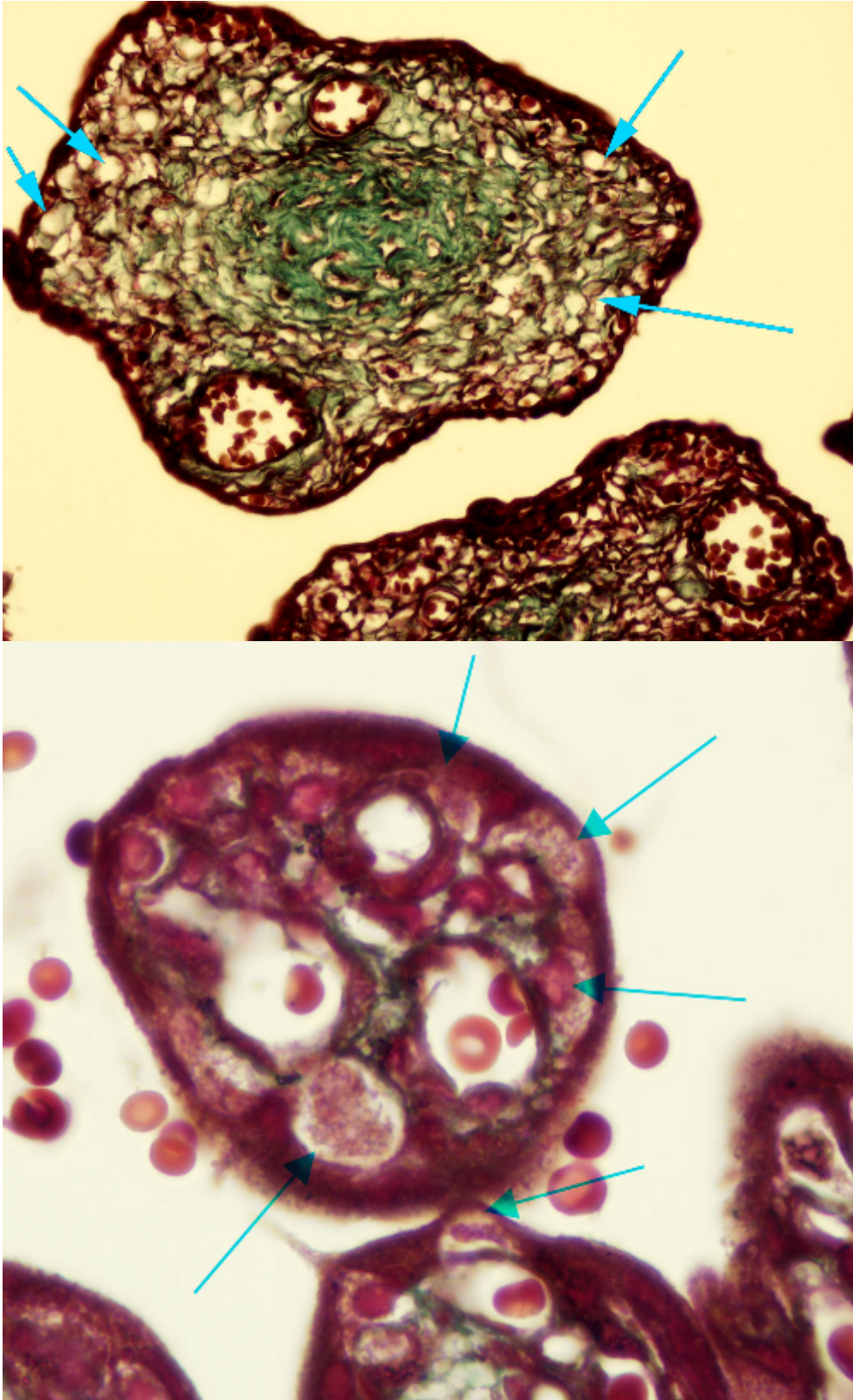
Şekil 4-1: Kontrol grubu gebeden plasental villi. İnce sinsisyotrofoblast tabakası, başarılı plasental bariyerler (oklar), dağınık ve gevşek villöz stroma ve çok sayıda fetal kapillerler dikkat çekmekte (x40)



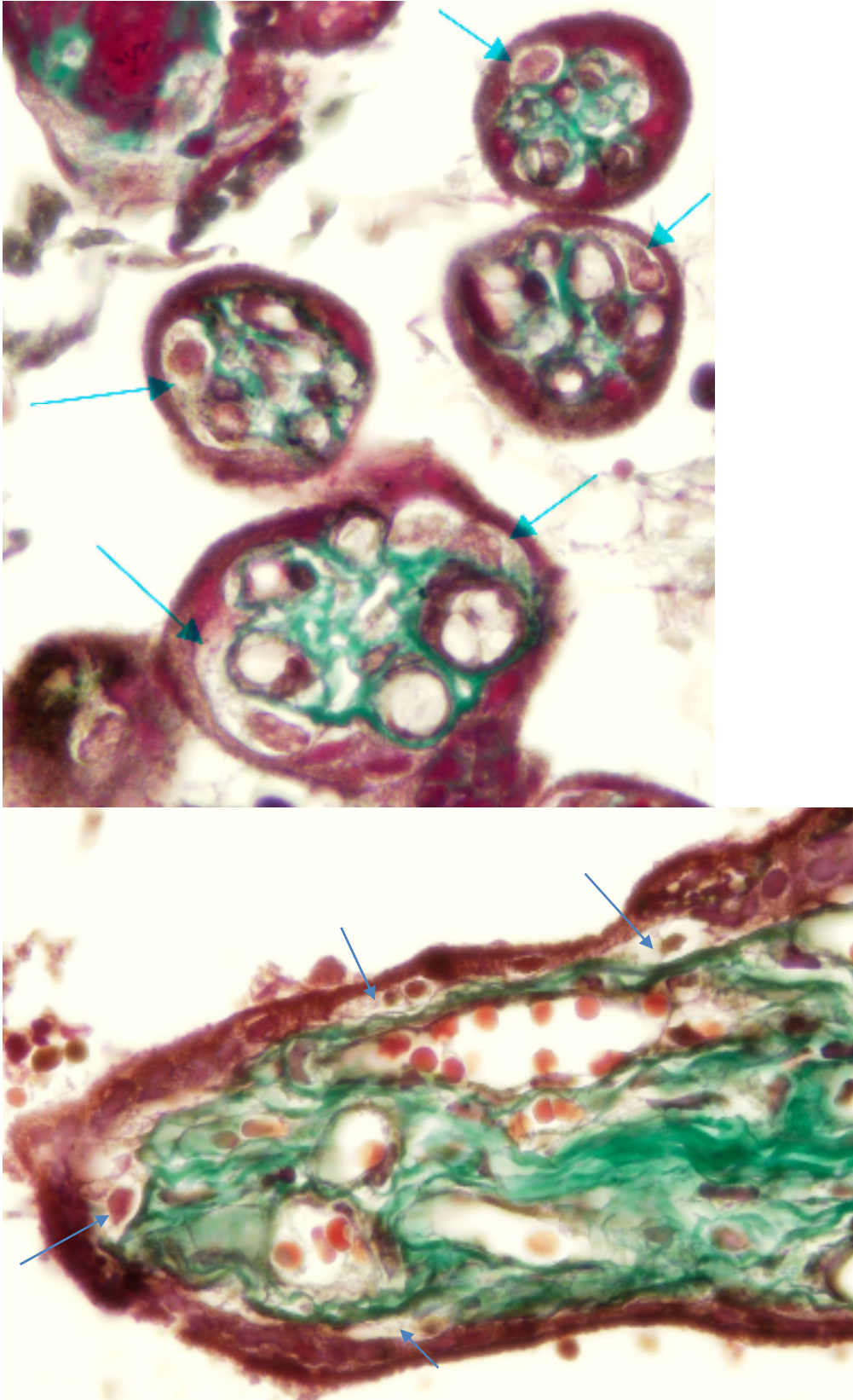
Şekil 4-2: Kontrol grubu gebeden fotoğraflanmış plasental villi. Bir çok başarılı plasental bariyer (*) ve çok az sayıda sitotrofoblast görülmektedir (x100)



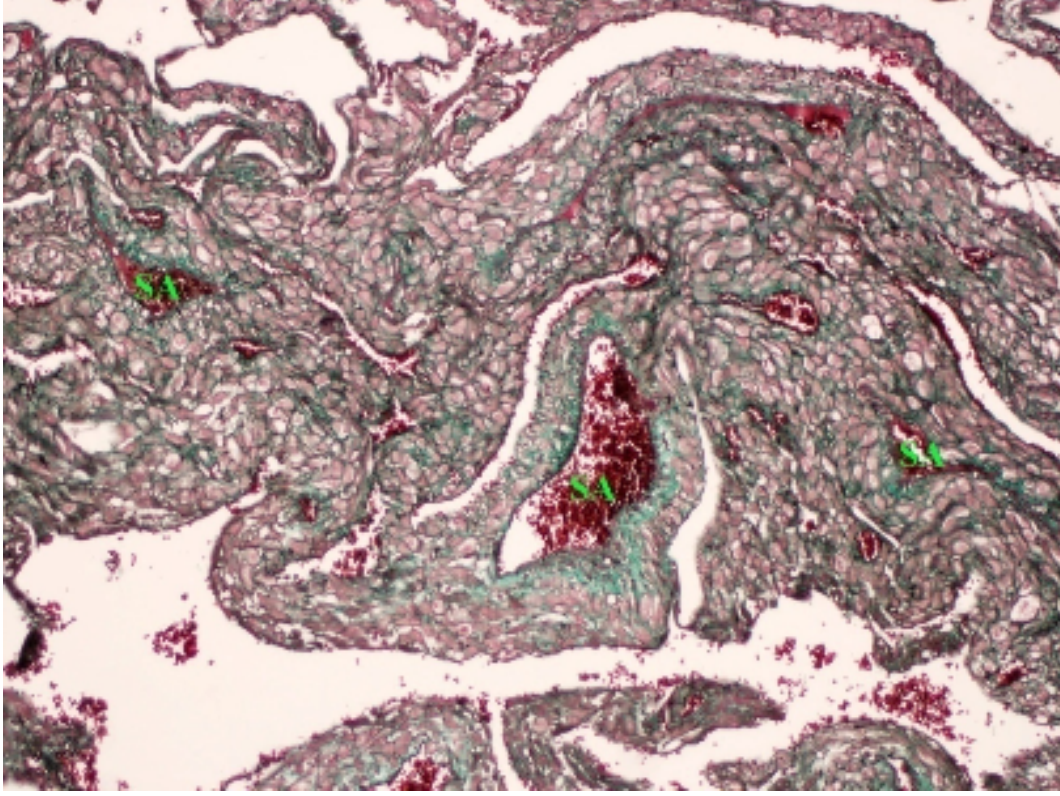
Şekil 4-3: HPE gebelerden görüntülenen plasental villi örneklerinde, sitotrofoblast hücreleri okla gösterilmiştir. Vilöz kollojen yoğun olarak görülmekte. Başarılı plasental bariyerlere ek olarak başarısız plasental bariyerler de göze çarpmakta (x100)



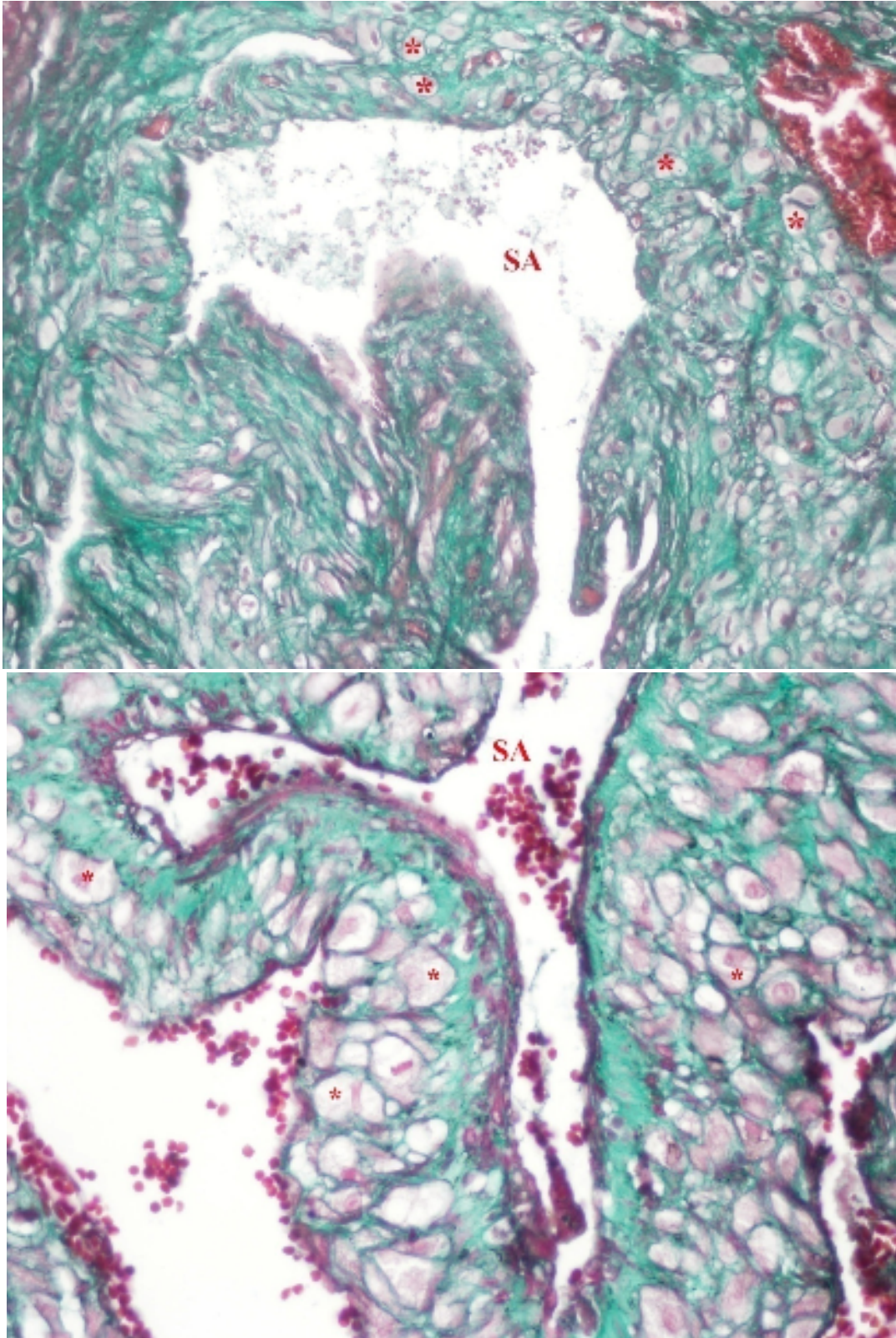
Şekil 4-4: APE grubu gebeden plasental villus kesiti. Üst şekilde oklarla gösterilen hücreler dejenere olmuş sitotrofoblastlardır Alttaki şekilde oklarla gösterilenler sitotrofoblast hücreleridir. Her iki şekilde de birçok başarısız plasental bariyer görülmekte (x20, x100)



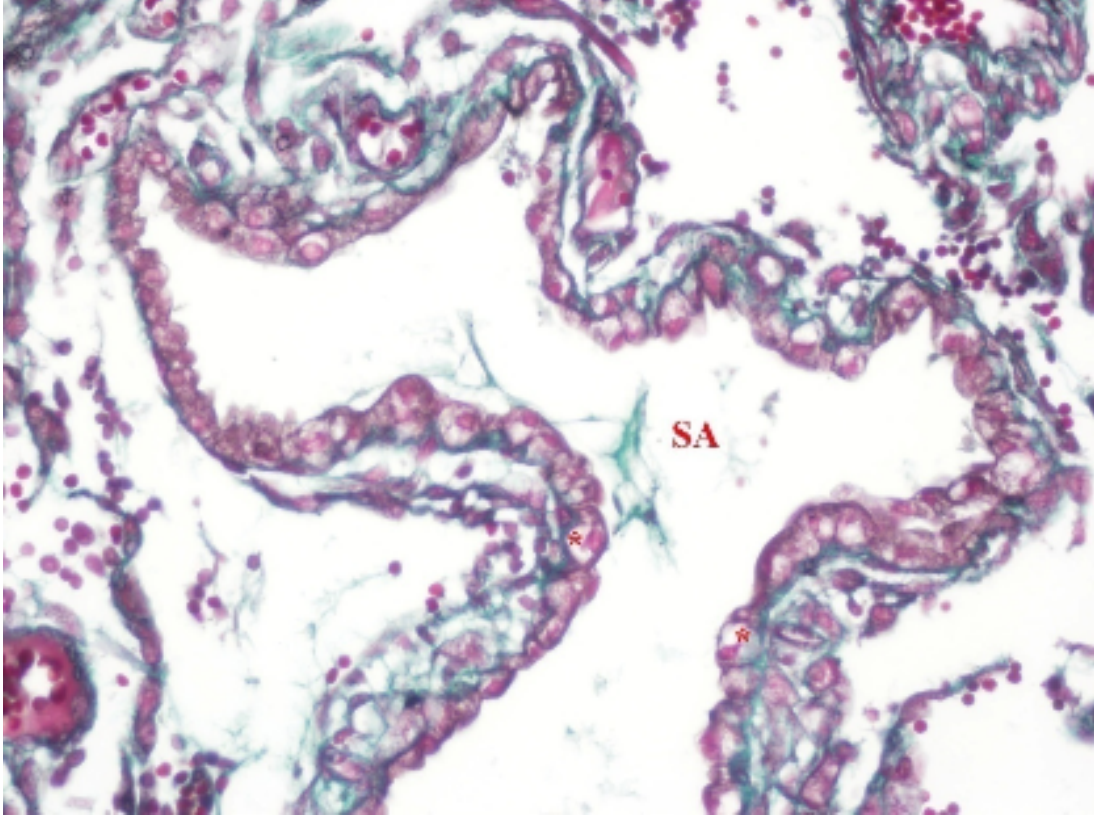
Şekil 4-5: APE grubu gebede çok sayıda sitotrofoblast hücreleri (oklar) görülmekte. Sitotrofoblast hücreleri plasental bariyer oluşumunu engelleyecek şekilde kapiller endotel ve sinsisyotrofoblast tabakası arasına yerleşmiştir (x100)



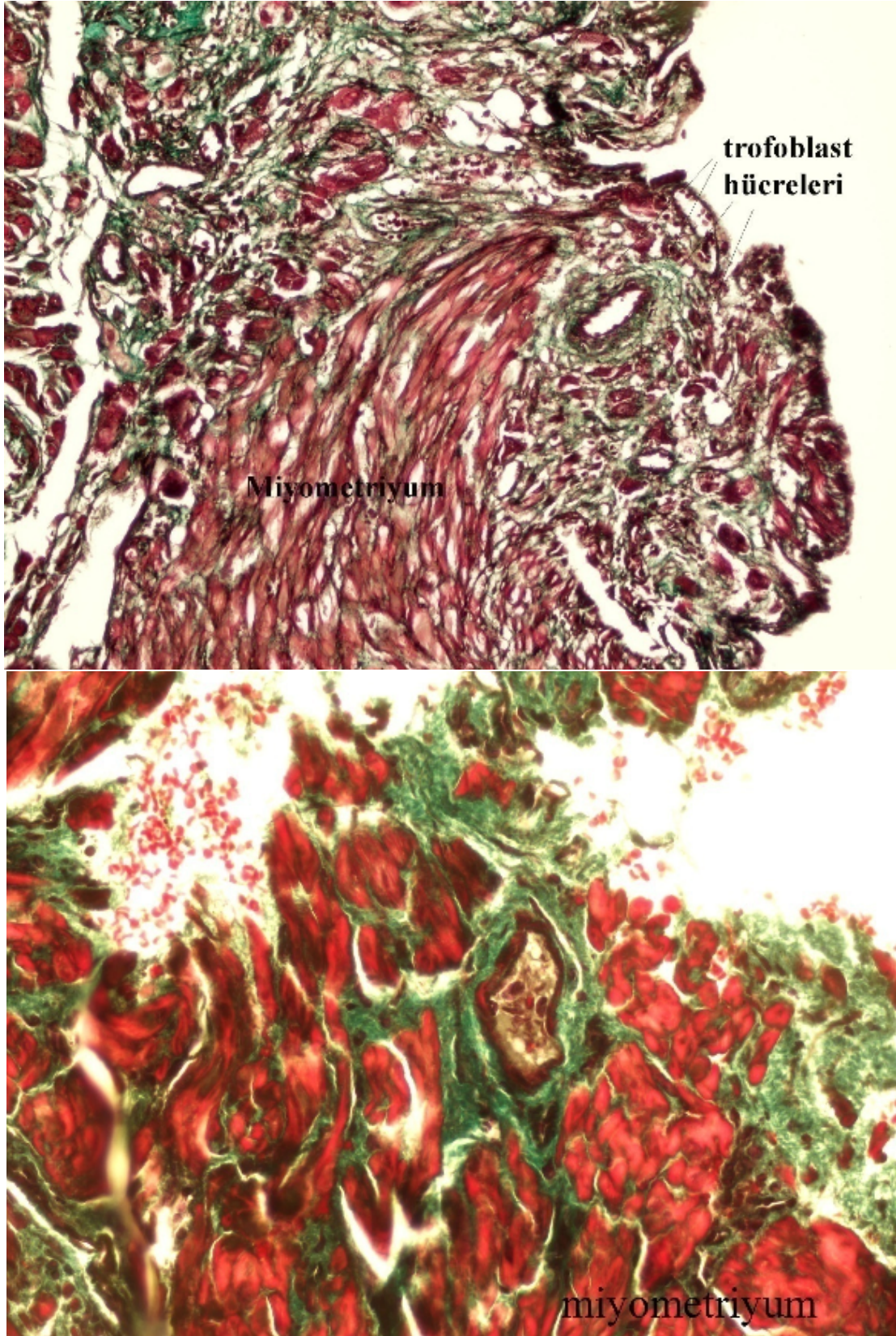
Şekil 4-6: Bir kontrol grubu plasental yatak genel görüntüsü. Birçok spiral arter ve etraflarında onu kuşatan trofoblast hücreleri görülmekte (x10)



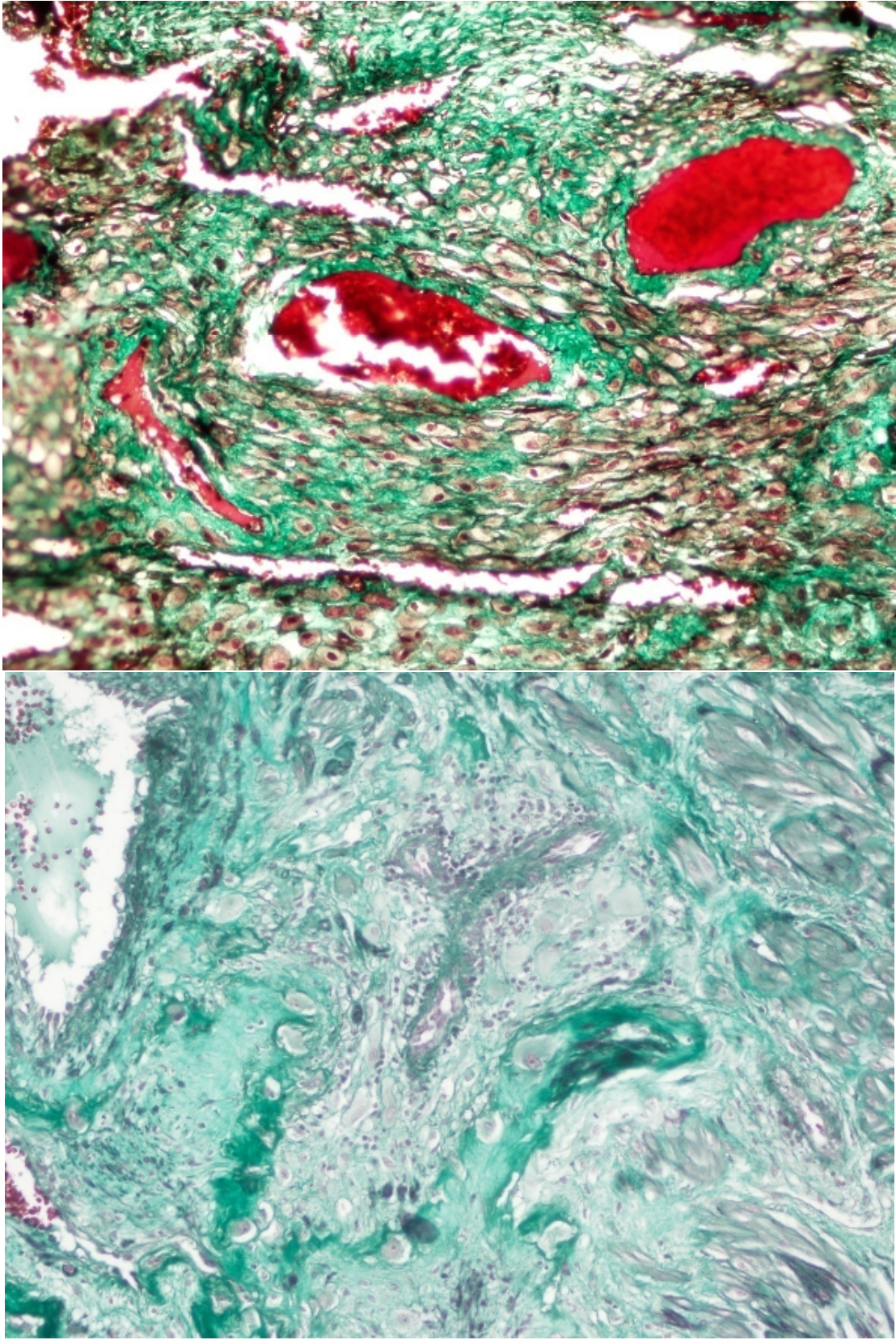
Şekil 4-7: Kontrol Grubu gebeye ait sağlıklı bir plasental yatak (SA: Spiral arter) Damar duvarlarını istila etmiş olan sitotrofoblast hücreleri (*) (üstteki şekil x20, alttaki şekil x40)



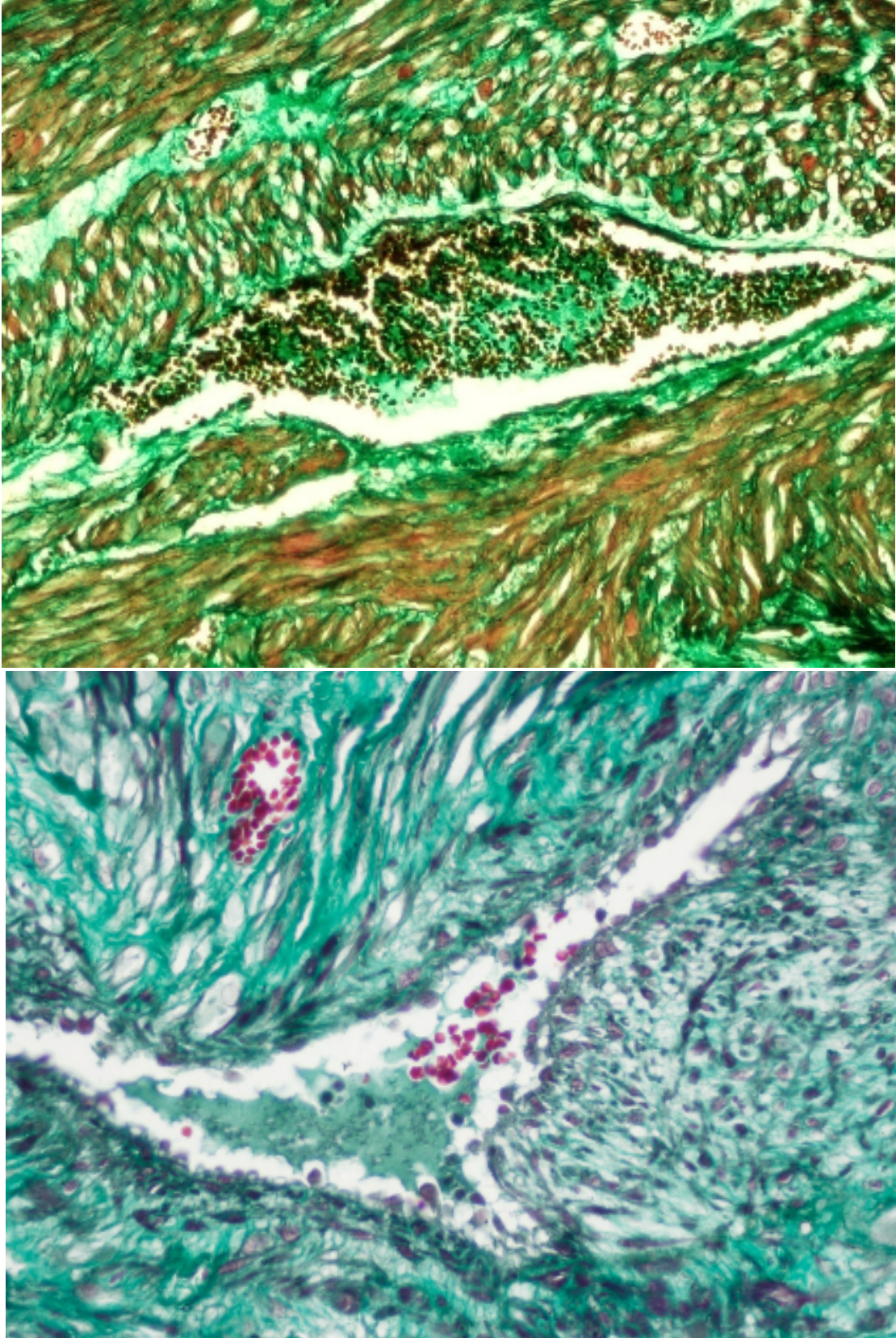
Şekil 4-8: Kontrol Grubu gebeden resmedilen bir spiral arter görüntüsü. Yıldızla işaretli hücreler endotel hücrelerinin arasına yerleşmiş endovasküler trofoblast hücreleridir. Bu hücreleri orada görmemiz ise istilanın başarıyla gerçekleştiğinin bir kanıtıdır (x40).



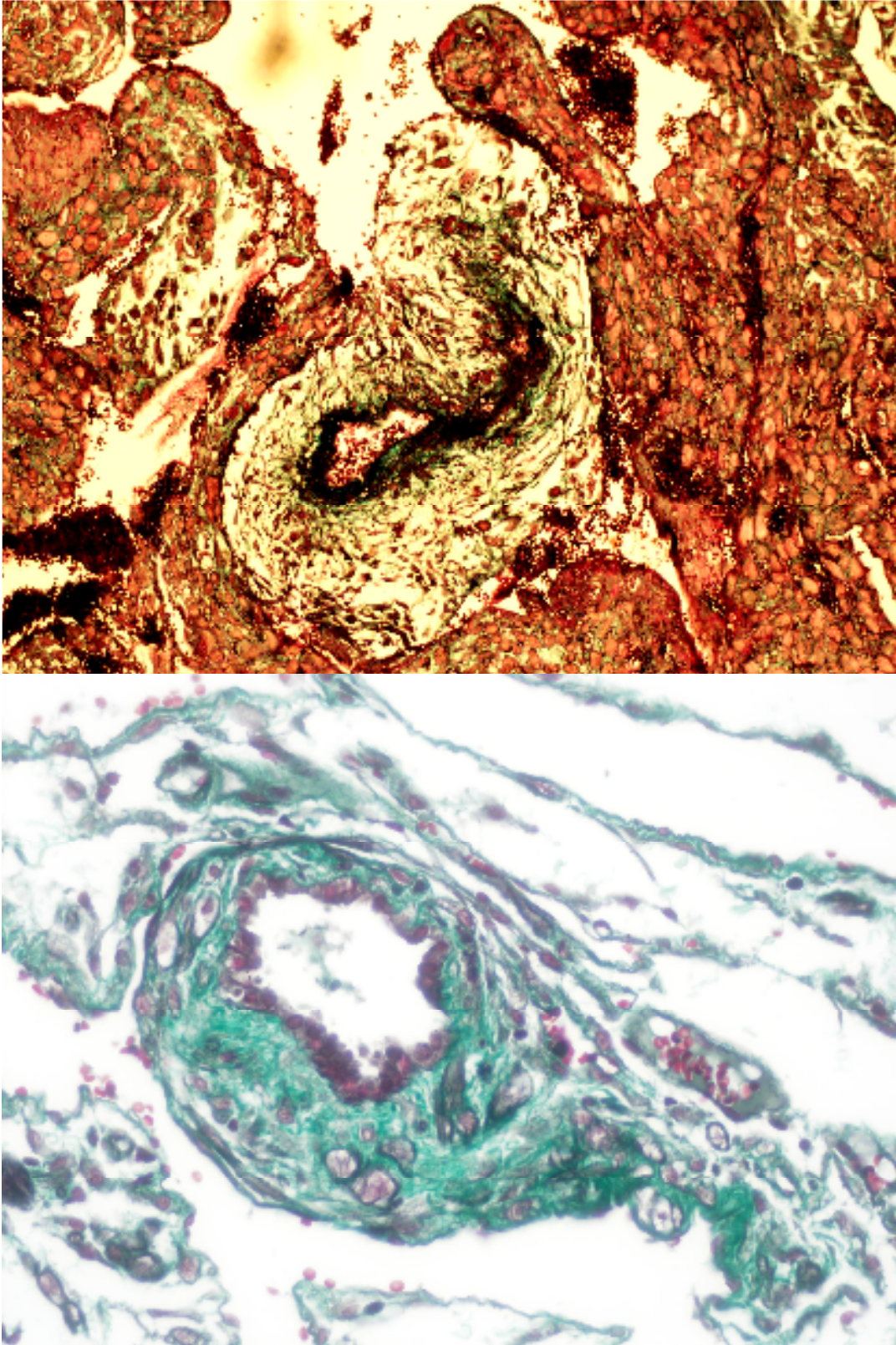
Şekil 4-9: Kontrol grubu gebelerden alınan plasental yatakların miyometriyum kısımları. Spiral arter etrafında kas dokusu azalmış ve damar etrafında trofoblastlar ve bağ doku görülmekte (üstteki şekil x20, alttaki şekil x40)



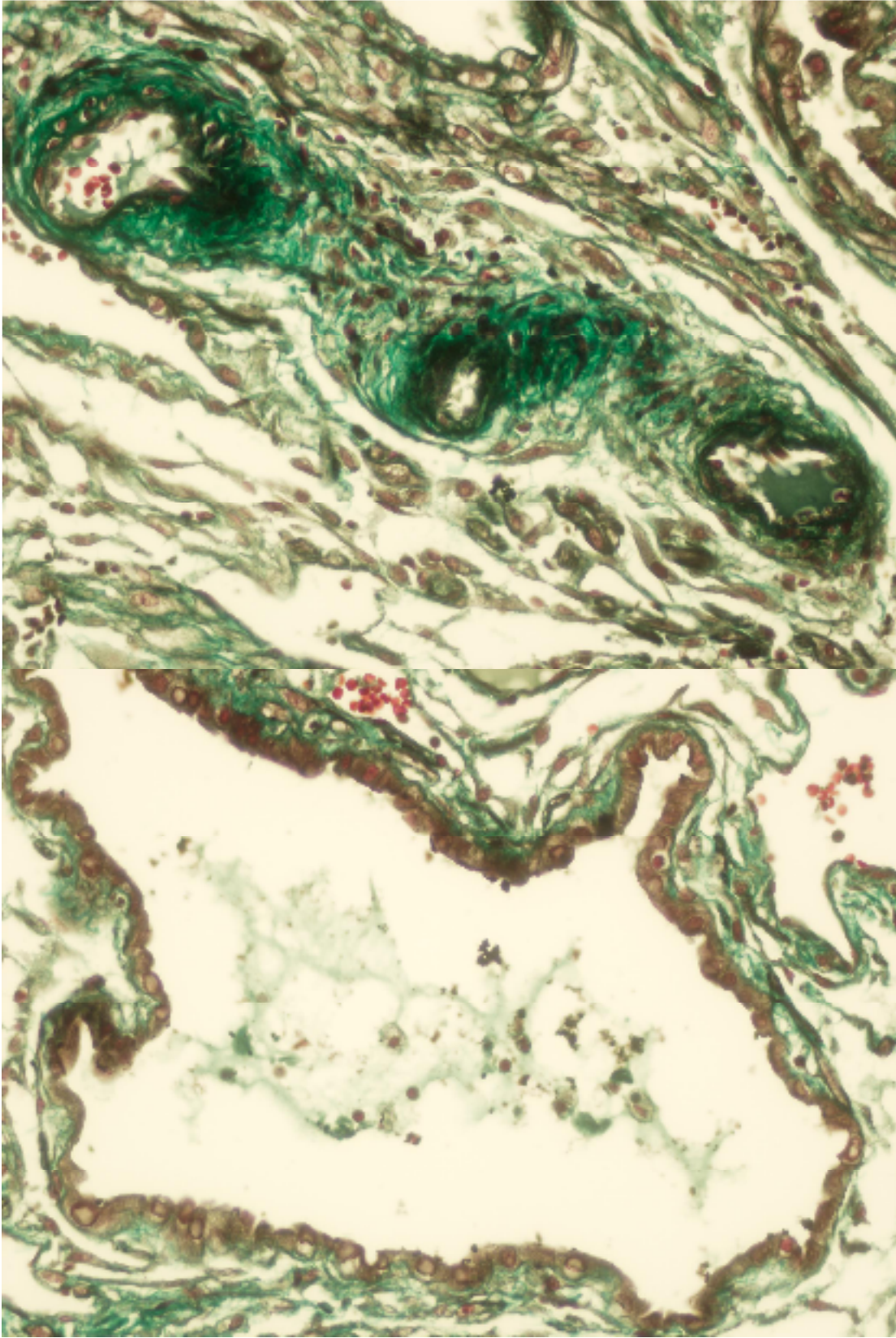
Şekil 4-10: HPE grubun gebelerin plasental yatakları. Resimlerde spiral arterlerin etraflarında KG'ye kıyasla daha az sayıda trofoblast ve daha fazla kas dokusu göze çarpmakta (x20)



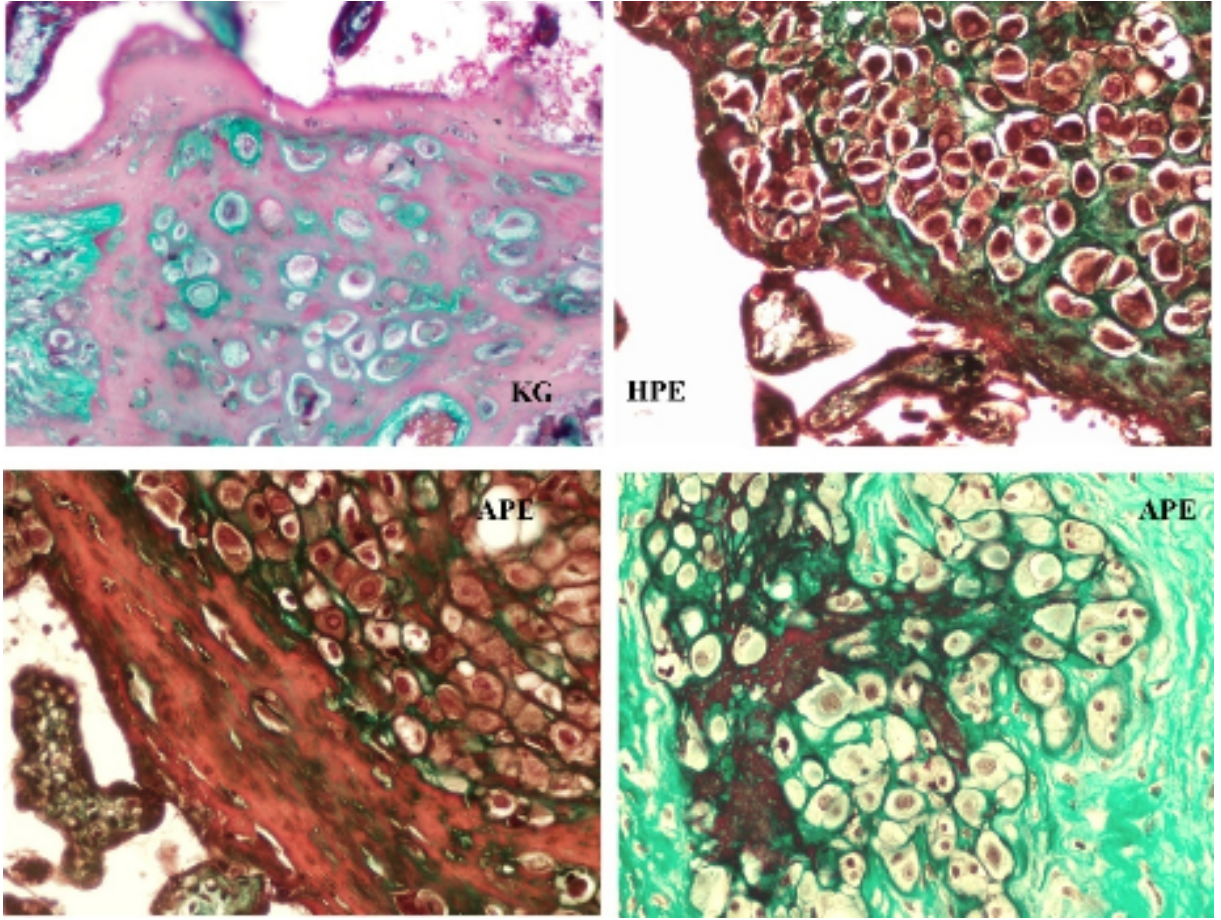
Şekil 4-11: HPE grubu gebelerin plasental yatak kesitleri (x40)



Şekil 4-12: APE grubu gebeden plasental yatak görüntüleri . Dar bir damar lümeni ve çok az sayıda trofoblast hücresi görülmekte (x20)



Şekil 4-13: APE grubundan plasental yatak ve spiral arter görüntüsü. Damar duvarında trofoblast hücrelerinin azlığı göze çarpmakta (x40)



Şekil 4-14: KG, HPE ve APE gruplarında anneye ait kısımdaki desidua bazalisden itibaren sitotrofoblastların endometriyumun derin kısımlarına doğru göç edecek kümeler şeklinde yönelişlerini gösteren görüntüler.

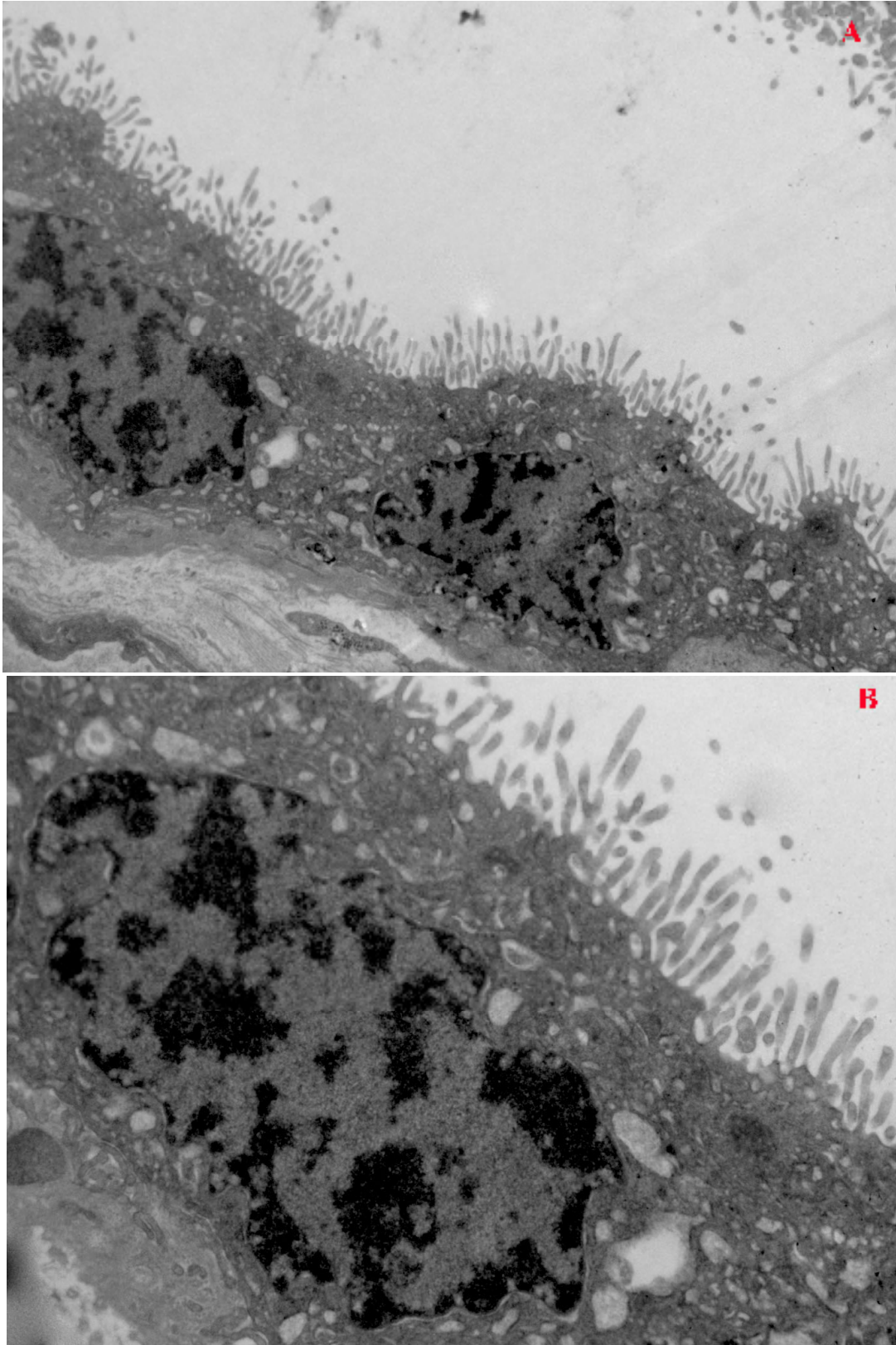
4.2. Elektron Mikroskopi Bulguları

Elektron mikroskop kesitleri incelendiğinde, ışık mikroskopi bulguları ile paralel bulgulara rastlanmıştır. Işık mikroskobide görülemeyen sinsisyotrofoblastların mikrovillili yapıları, elektron mikroskobide kolayca görülmüştür. Örnekler karşılaştırıldığında, kontrol grubu gebelerin plasental villus dış duvarını saran sinsisyotrofoblastlar uzun, çok sayıda ve düzgün şekilli mikrovilliye sahip hücreler olarak görülmüştür. Sinsisyotrofoblast sitoplazmalarında küçük GER sisternalarına, irili ufaklı vesiküllere ve mitokondriumlara rastlanmıştır. Fizyolojik plasentaya kıyasla preeklampsili plasental villide; dış yüzeyi döşeyen sinsisyotrofoblastlarda hafif ve ağır preeklampside giderek artan şekilde mikrovilli azalması, boyca kısalması ve hatta hastalık şiddetliye doğru ilerledikçe ciddi yok olmalar gözlenmiştir. Preeklampsili sinsisyotrofoblast hücrelerinin sitoplazmalarında hafif ve ağır preeklampsili olgularda

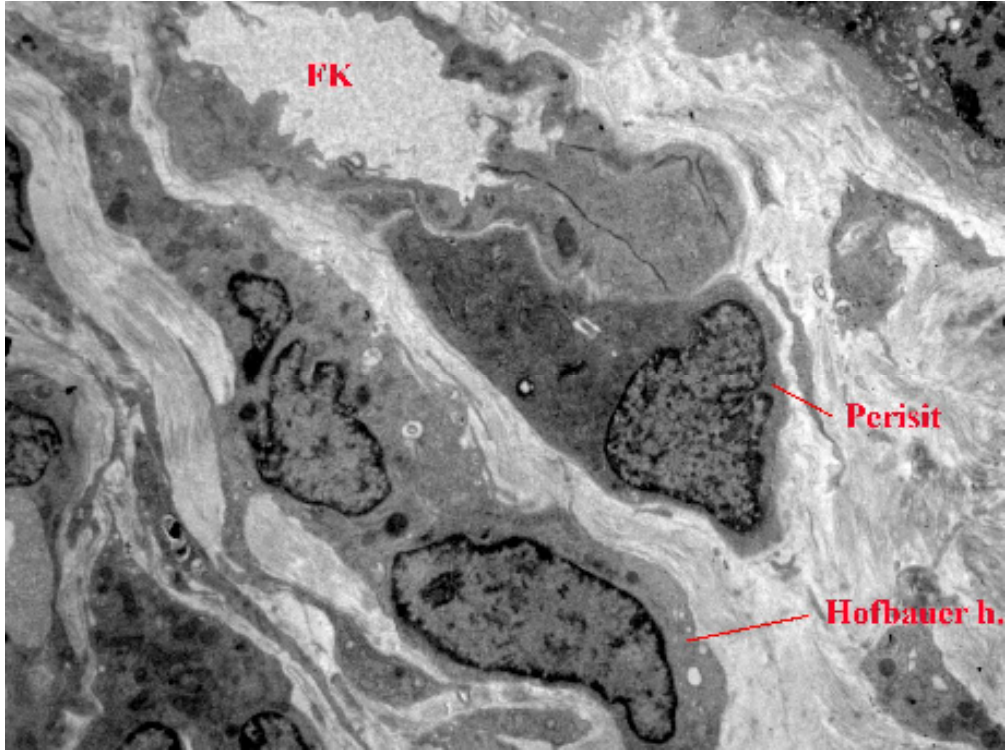
giderek artan bir vakuolleşme ve genişlemiş ve içi elektron az yoğun madde içeren GER sisternaları gözlenmiştir. Aynı zamanda sinsisyotrofoblastların bazal membranlarında da farklılıklar göze çarpmıştır. Kontrol grubundaki bazal membranlar daha ince ve düzgün iken, hafif ve ağır preeklampsili plasental villusdaki sinsisyotrofoblastda giderek artan şekilde bazal membranları daha kalın ve girintili–çıkıntılı olarak görülmüştür (Şekil 4-15), (Şekil 4-19), (Şekil 4-20), (Şekil 4-25).

Hafif preeklampsisi ve özellikle ağır preeklampsisi gruplarında villus yapısında da farklılıklara rastlanmıştır. Villöz stroma, sağlıklı plasental villus stromasına göre kollajenden daha zengin görülmüştür. Preeklampsili villus stroma içerisinde genişlemiş ve içi az yoğun materyel yada şekillenmiş sekret aşamasında kollajen içeren aktif fibroblastlara ve bunların kollajen lif sekret eden görüntülerine sıklıkla rastlanmıştır. Ayrıca ağır preeklampsili gebelerin bir çok plasental villusunda sinsisyotrofoblast tabakasının altında kontrol grubuna kıyasla daha sıklıkla sitotrofoblast hücrelerine rastlanmıştır. Bu sitotrofoblast hücrelerinin, ince uzun uzantılarının sinsisyotrofoblast hücreleri altında uzun mesafeler boyunca plasental bariyer oluşumunu engelleyecek şekilde seyrettiği görülmüştür. Preeklampsili plasental villideki kapillerlerde de bir takım dejenerasyonlar göze çarpmıştır. Bazı villuslarda fetal kapiller duvarındaki endotelde lümeneye doğru şişkinlikler gözlenmiştir. Stroma üzerinde yer yer serbest şekilde kan hücreleri de görülmüştür (Şekil 4-16), (Şekil 4-17), (Şekil 4-20), (Şekil 4-21), (Şekil 4-23), (Şekil 4-24), (Şekil 4-25), (Şekil 4-26).

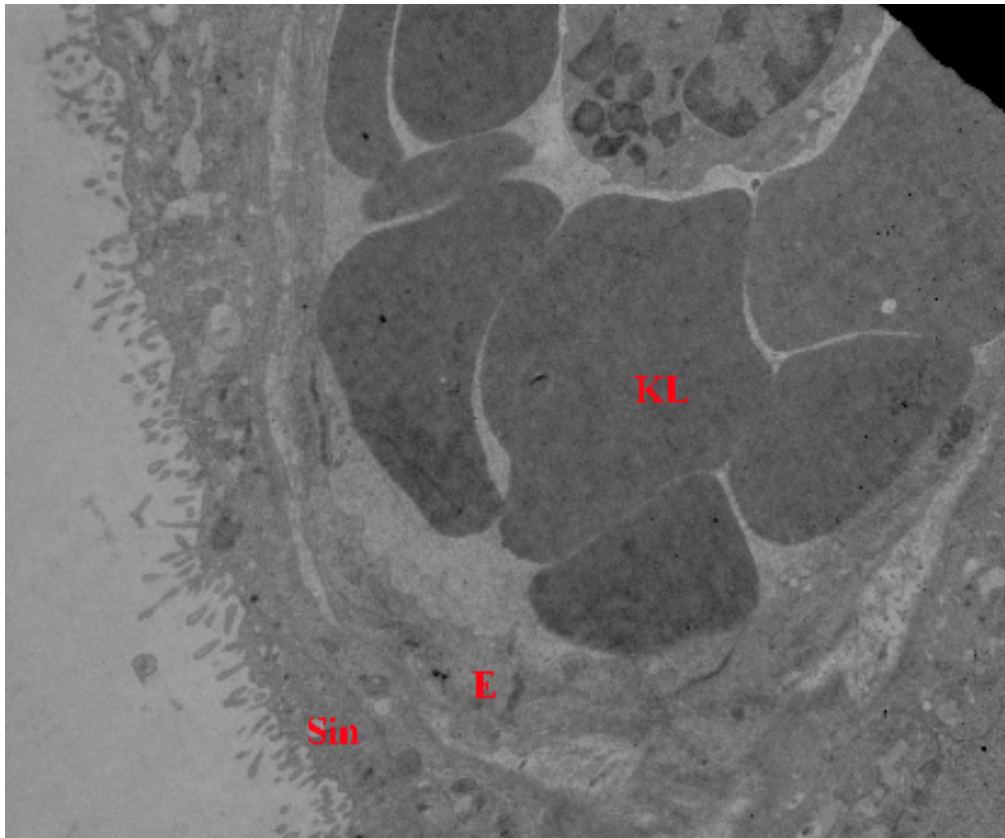
Plasental yataklara bakıldığında kontrol grubunu oluşturan gebelerde spiral arterlerin lümenlerinin etraflarında damar duvarını istila etmiş trofoblast hücrelerine rastlanmıştır. Bazı spiral arter endotel hücrelerinin arasında, yine fizyolojik değişimlerin doğru gerçekleştiğinin bir kanıtı olarak, endovasküler trofoblast hücreleri saptanmıştır. Hafif ve ağır preeklampsili plasental yataklara bakıldığında, spiral arterlerin damar duvarlarında ağır preeklampsie doğru giderek azalan bir şekilde az sayıda trofoblast hücresi görülmüştür. Preeklampsili bazı damar duvarlarının etraflarında trofoblastik hücrelerin biraraya gelerek oluşturdukları trofoblastik dev hücrelere de rastlanmıştır (Şekil 4-18), (Şekil 4-22), (Şekil 4-27), (Şekil 4-28).



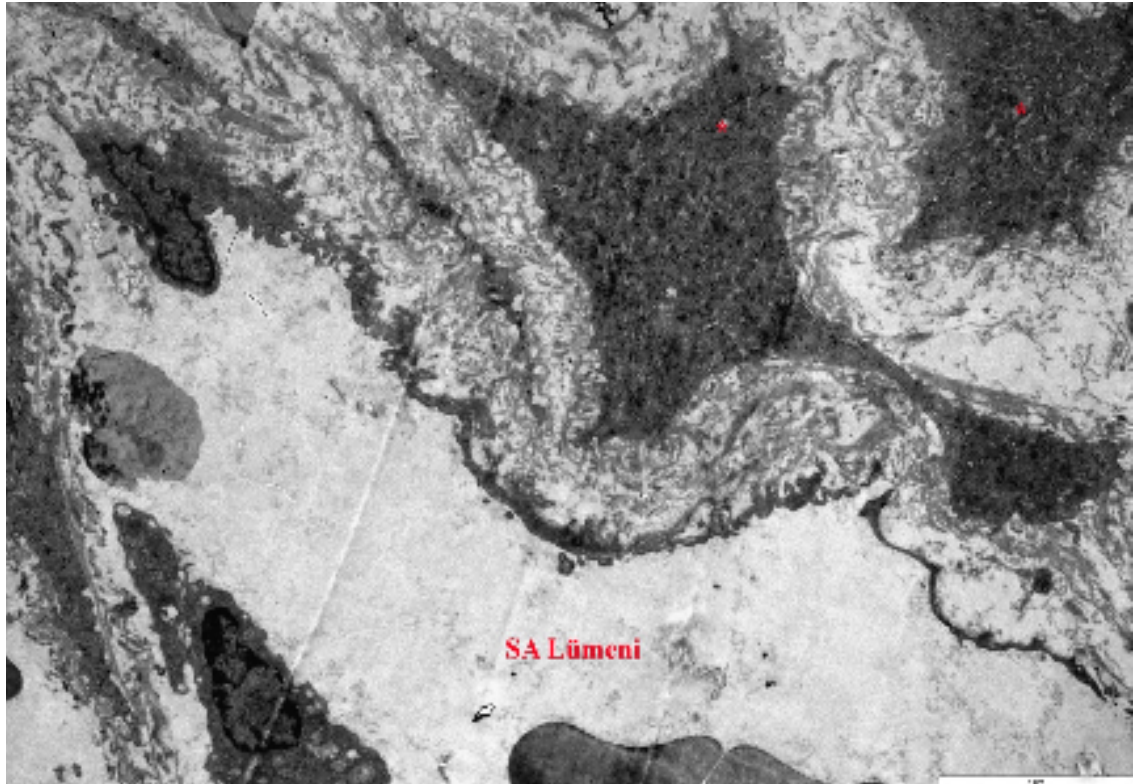
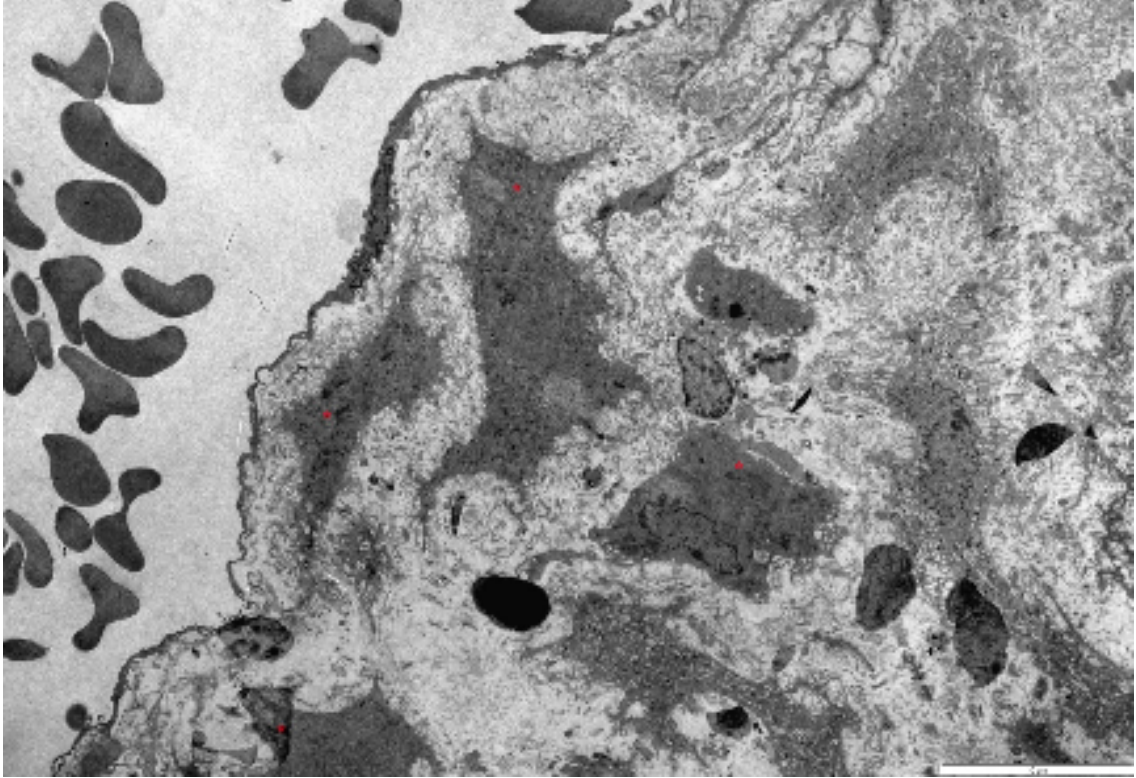
Şekil 4-15: Kontrol grubu koryon villuslarında sinsisiotrofoblast hücresinden bir bölge. Hücre apikalinde sık mikrovilluslar, apikal sitoplazma içinde yeni oluşan yada oluşmuş pekçok endositotik vesiküller ile sitoplazmanın değişik bölgelerinde irili ufaklı vesiküller ve GER sisternaları dikkat çekmektedir .(A: x7500, B: x15 000)



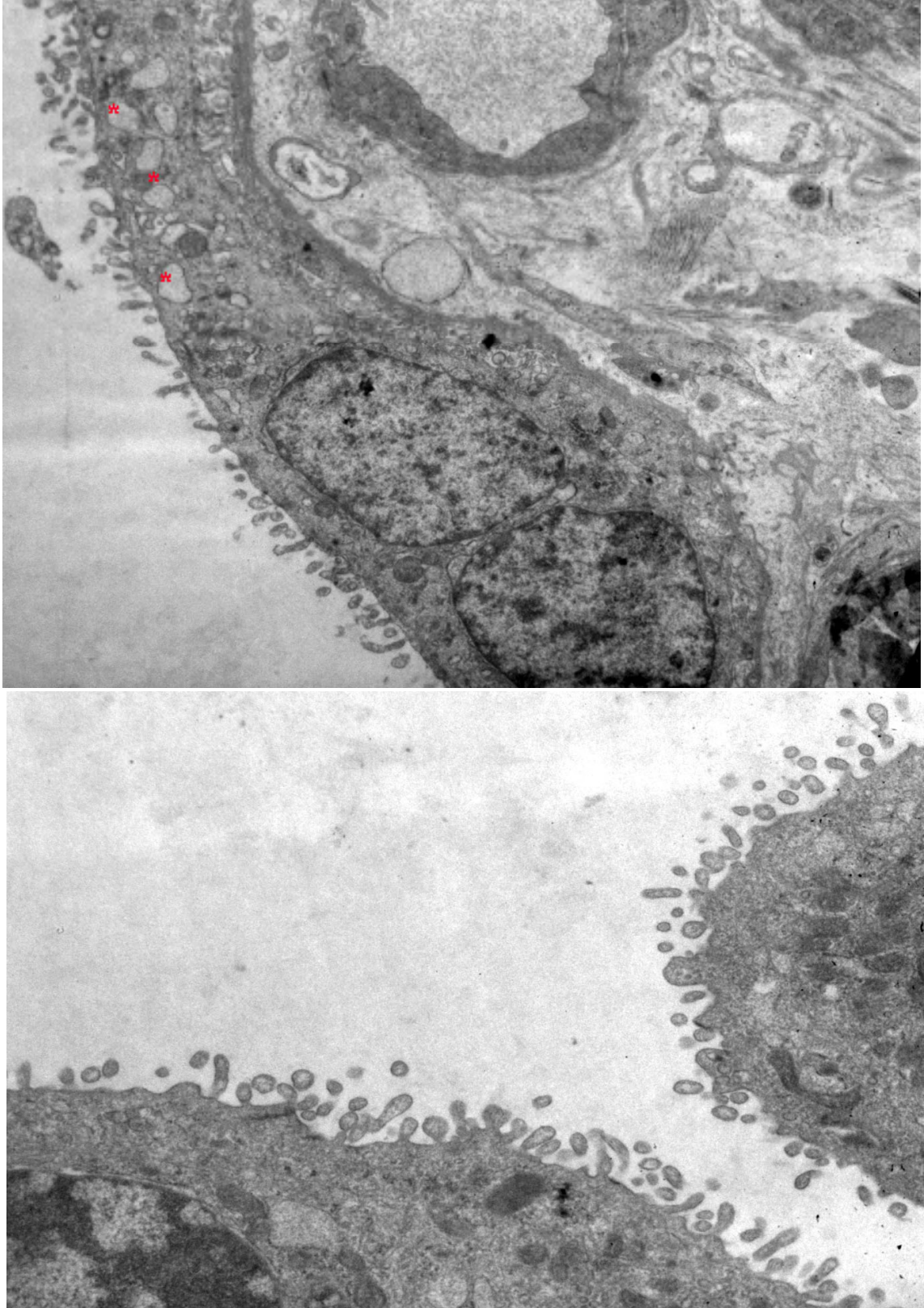
Şekil 4-16: Kontrol grubu plasentadan villus stroma görüntüsü (x5000) FK: Fetal Kapiller



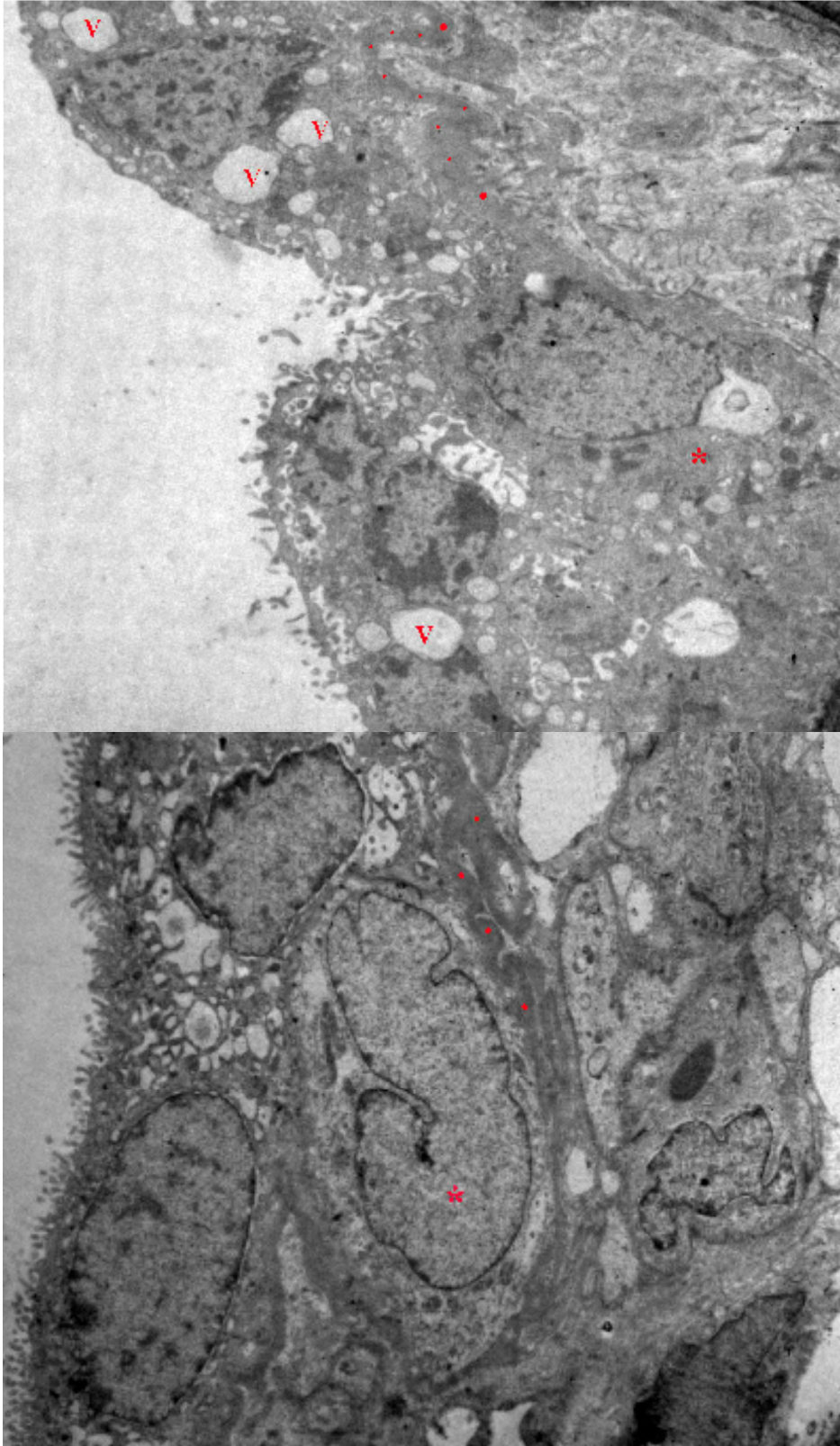
Şekil 4-17: Kontrol Grubu gebeden başarılı bir plasental bariyer. Sin: Sinsityotrofoblast, E: Endotel, KL:Kapiller lümeni(x7500)



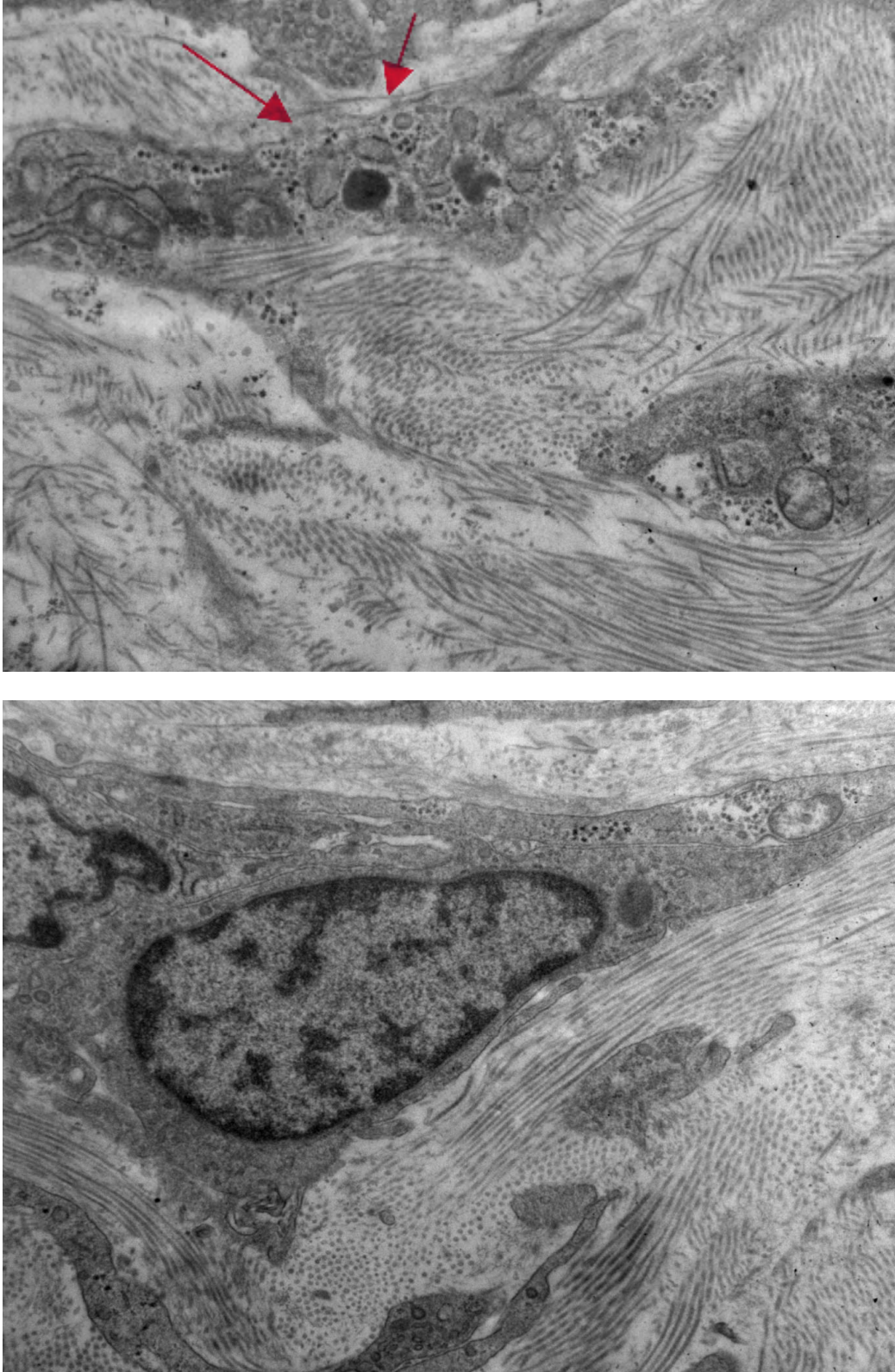
Şekil 4-18: Kontrol grubu gebeden plasental yatak resimleri. Başarılı fizyolojik değişim gösteren spiral arterler Endotel hücrelerine yaklaşmış ve göçü gerçekleştirmiş endovasküler trofoblast hücreleri *'lar ile gösterilmekte (x3000, x6000)



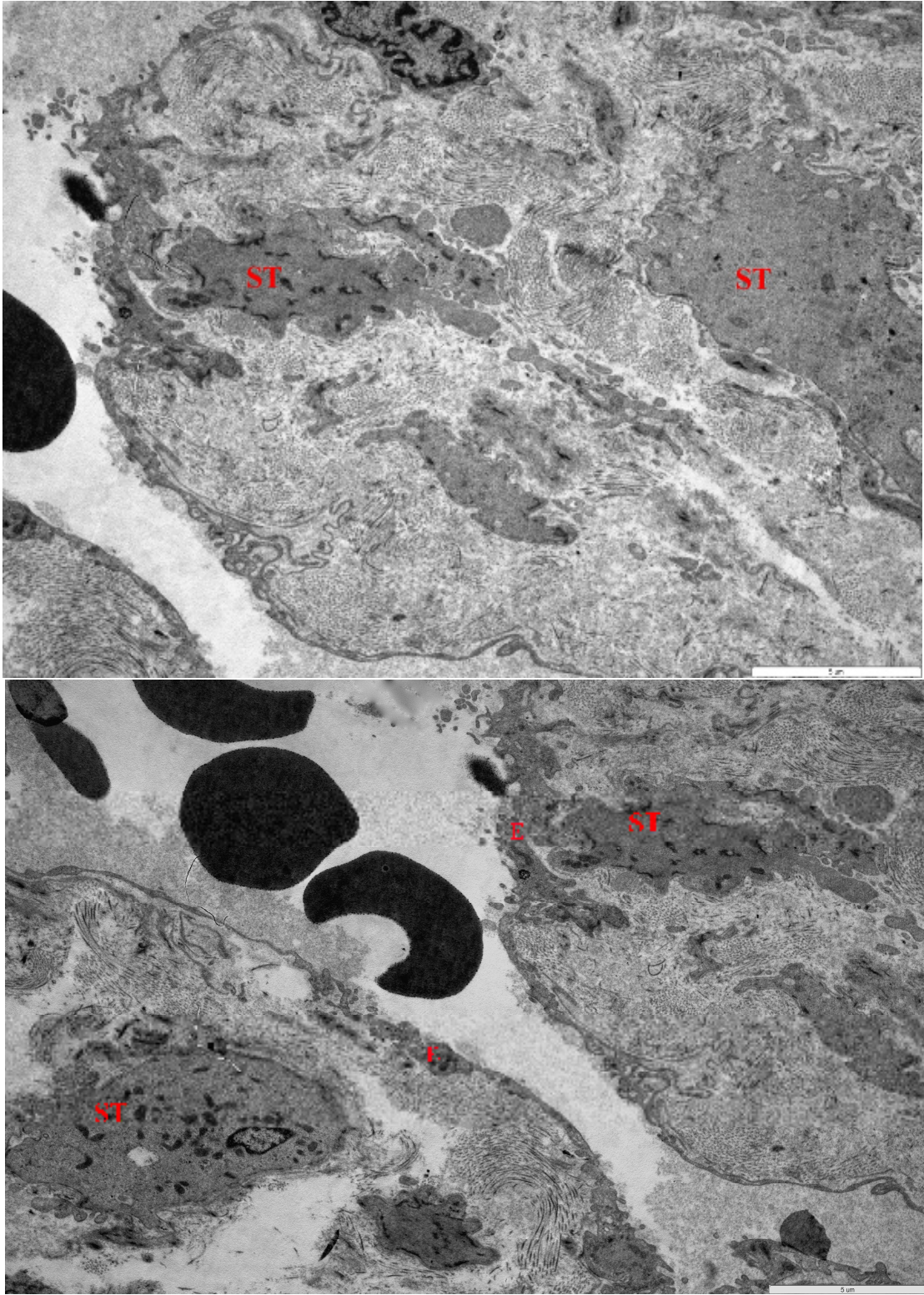
Şekil 4-19: HPE grubu korion villuslarında sinsisyotrofoblasttan bir bölge. Apikalde kısa, küt anomali gösteren, sayıca azalmış mikrovilli, apikal sitoplazma içinde azalmış endositotik vesiküller ve içleri az elektron yoğun madde içeren genişlemiş GER sisternaları (*) görülmektedir (üst resim x7500, alt resim x15 000)



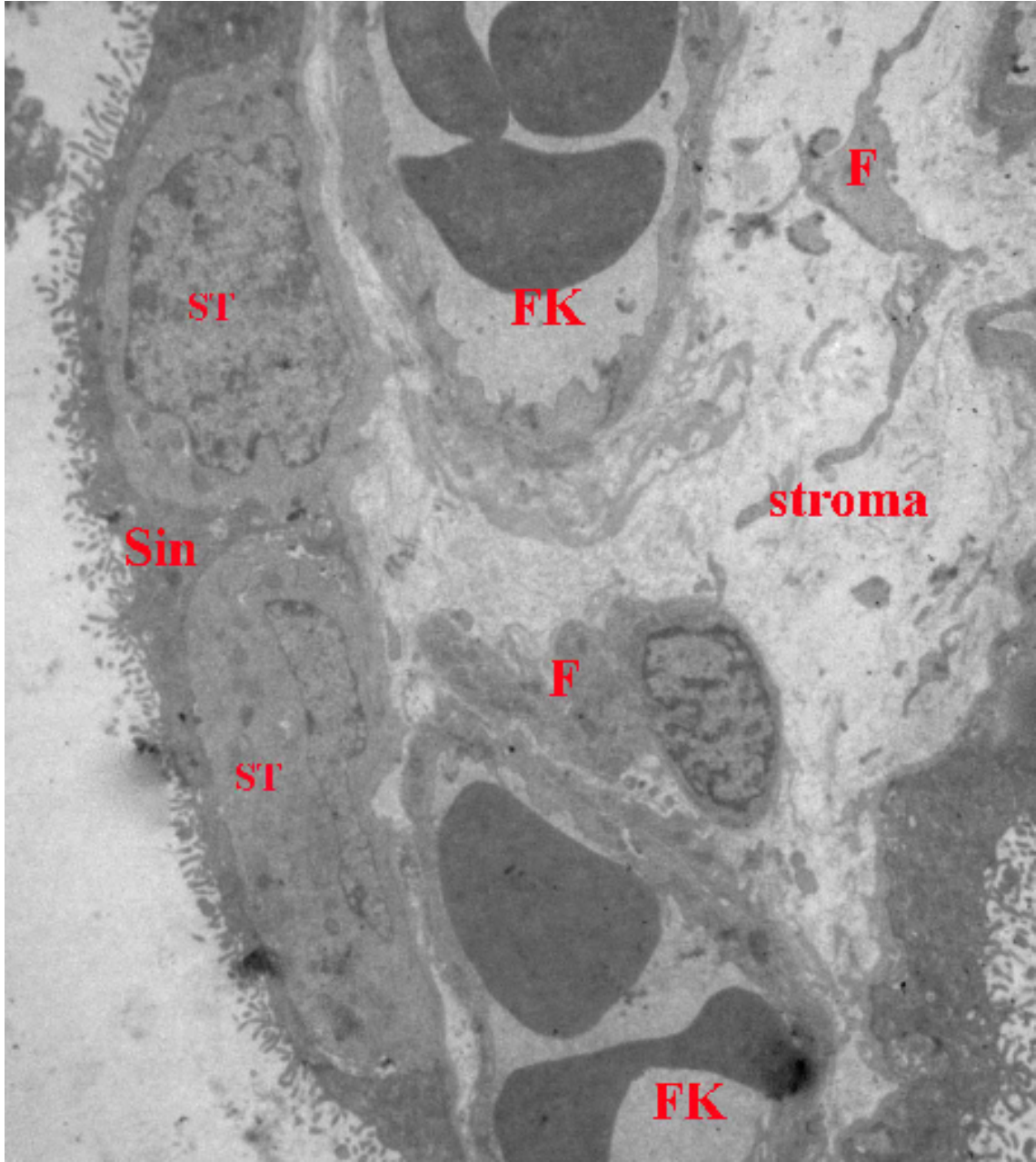
Şekil 4-20: HPE grubu gebelerden plasental villus resimleri. Dejenaratif mikrovilliye, şişmiş GER sisternalarına, iri vakuollere (V) sahip sinsisyotrofoblast ve altında sitotrofoblast hücreleri (*) görülmekte. Sinsisyotrofoblast hücrelerinin bazal membranlarında kalınlaşma ve kıvrımlar (kırmızı noktalar) dikkat çekmekte (x4000, x5000)



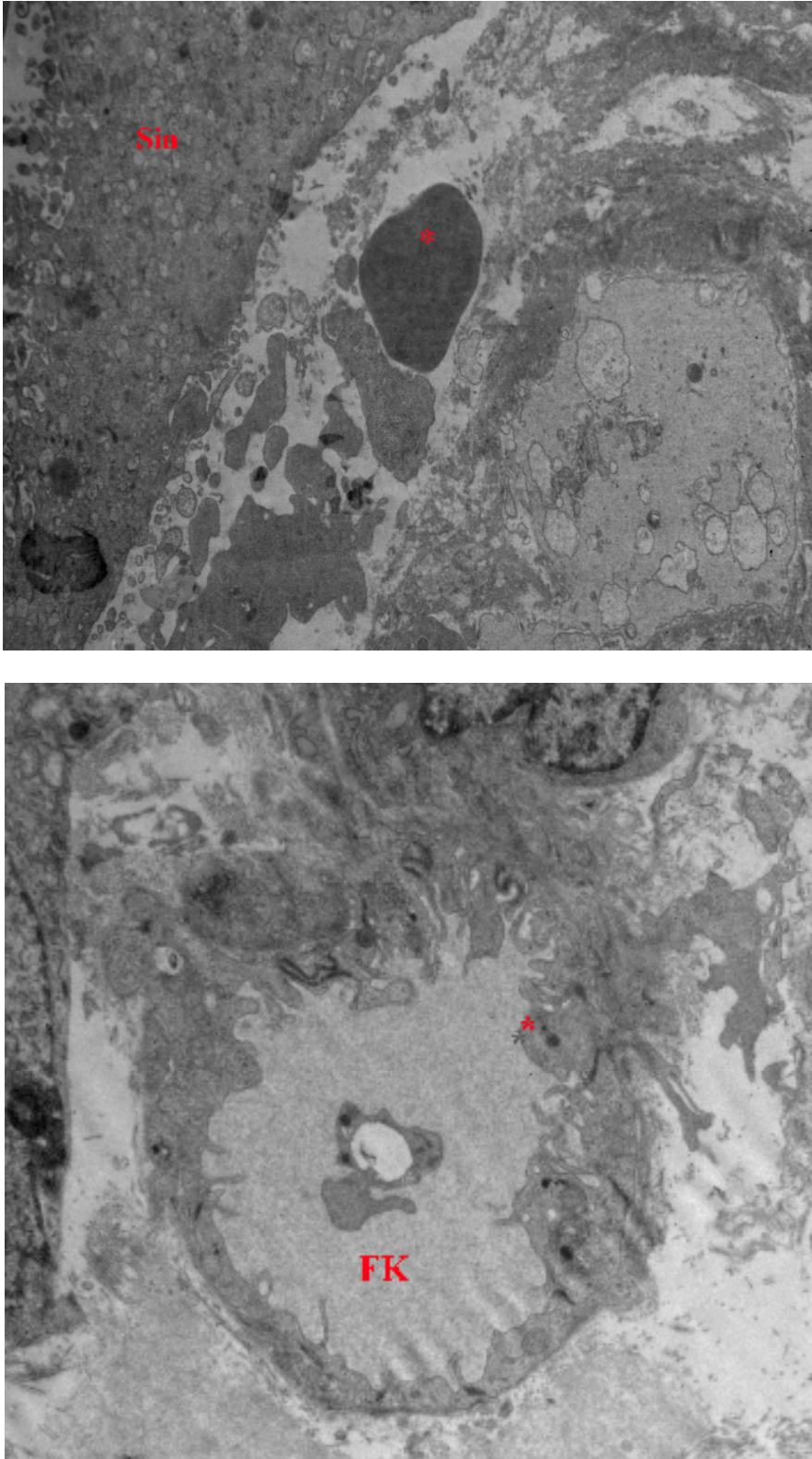
Şekil 4-21: HPE grubunda korion villus stromasından bir bölge. Yoğun kollogen lif kesitleri arasında genişlemiş GER sisternaları içinde yer yer şekillenmiş kollajen lif içeren fibroblastlar görülmekte. Her iki resimde de fibroblastlar içindeki kollajenin interselüler alana atıldığı görüntüler dikkat çekicidir (Ok) (x15 000)



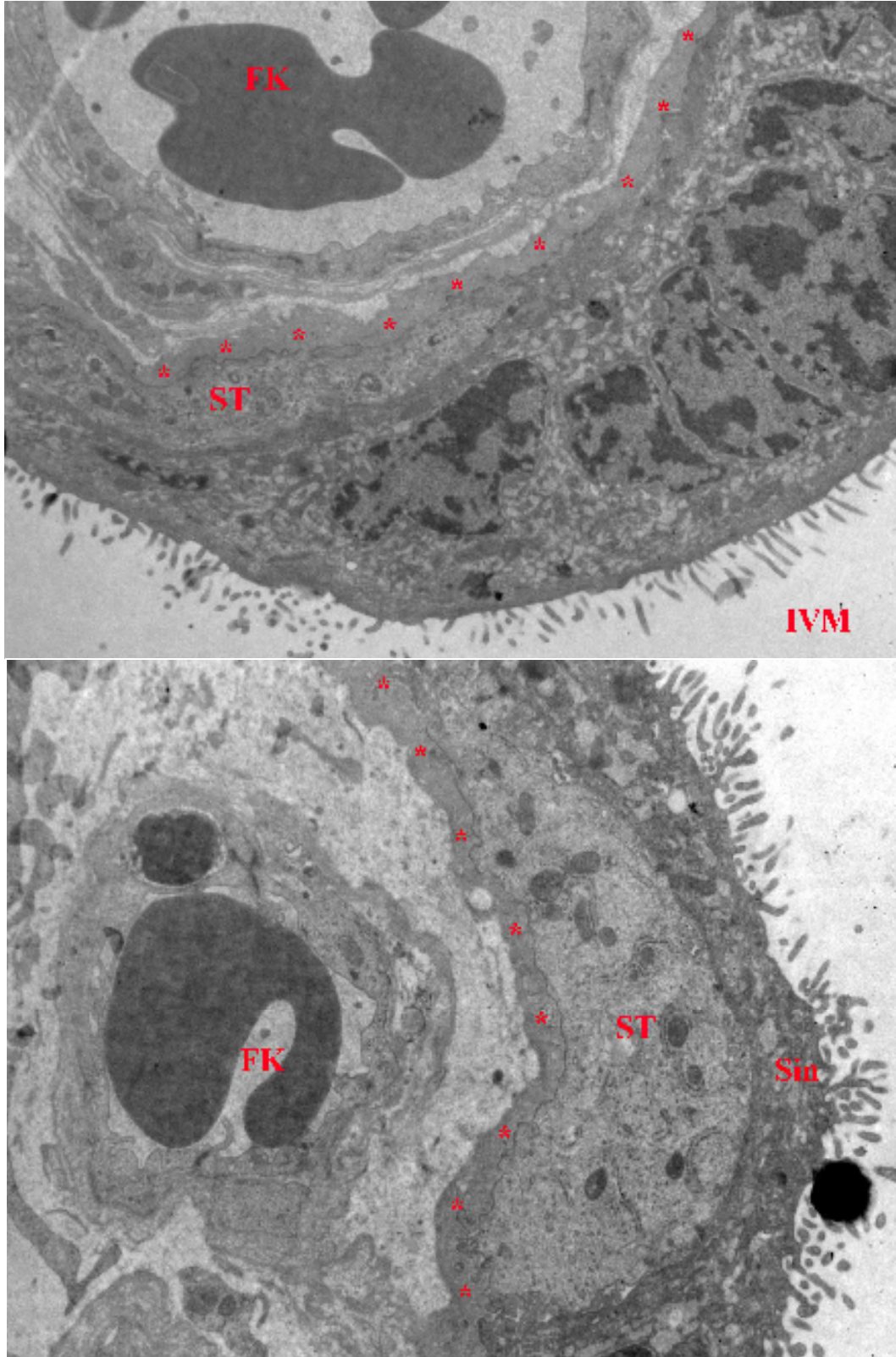
Şekil 4-22: HPE grubundan plasental yatak. KG'na kıyasla daha az, fakat APE grubuna kıyasla SA duvarında oldukça fazla miktarda sitotrofoblast hücresi (ST) görülmekte. E: Endotel (x6000)



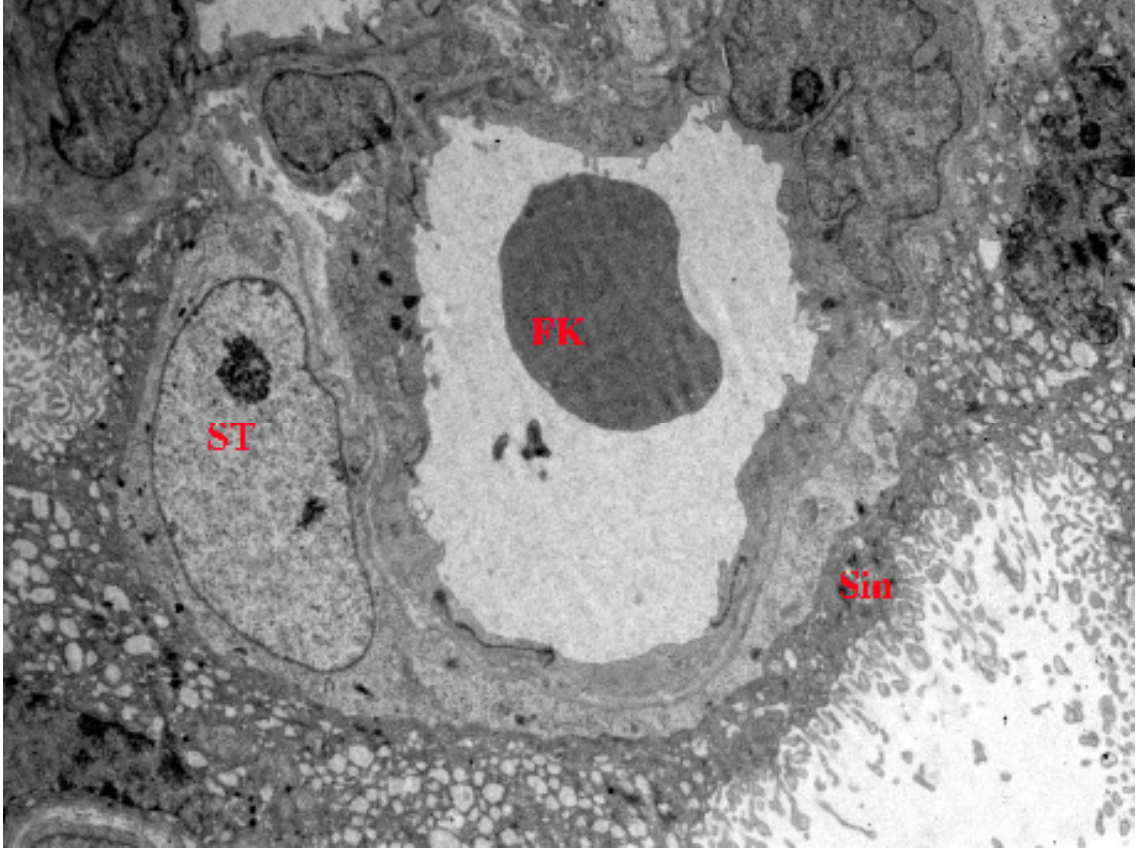
Şekil 4-23: APE grubu plasental villustan bir bölge. Sitotrofoblastların (ST) çokluğu dikkat çekmekte Sin: Sinsisyotrofoblast FK: fetal kapiller F: Fibrosit (x4000)



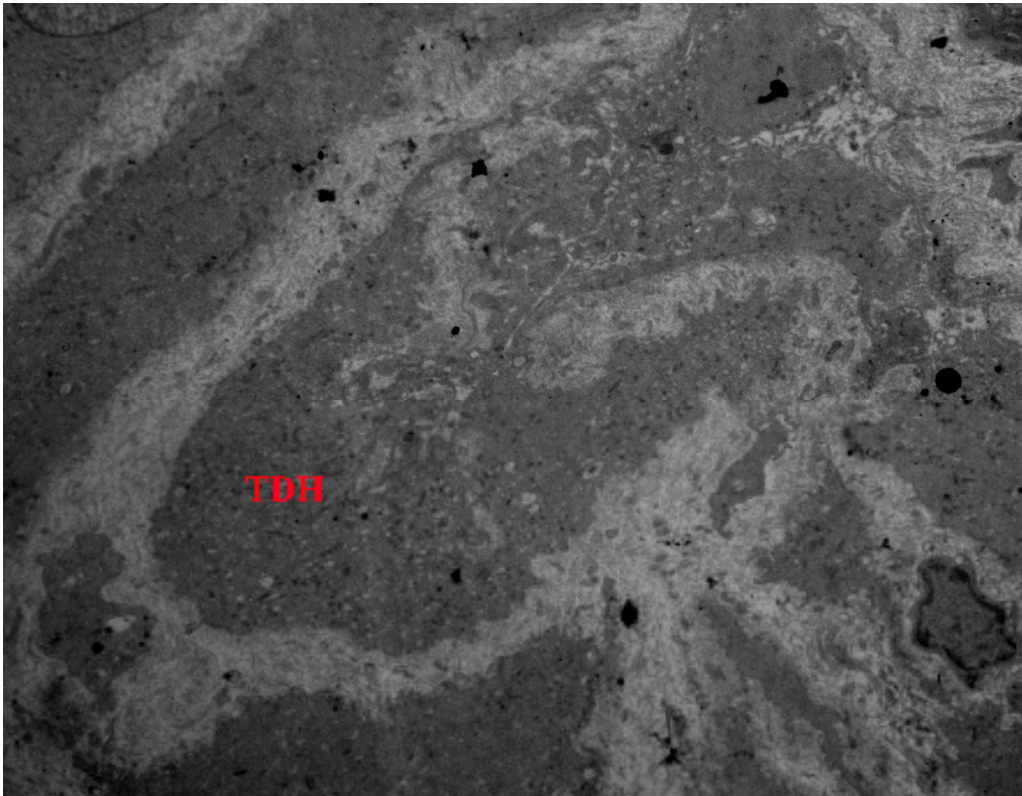
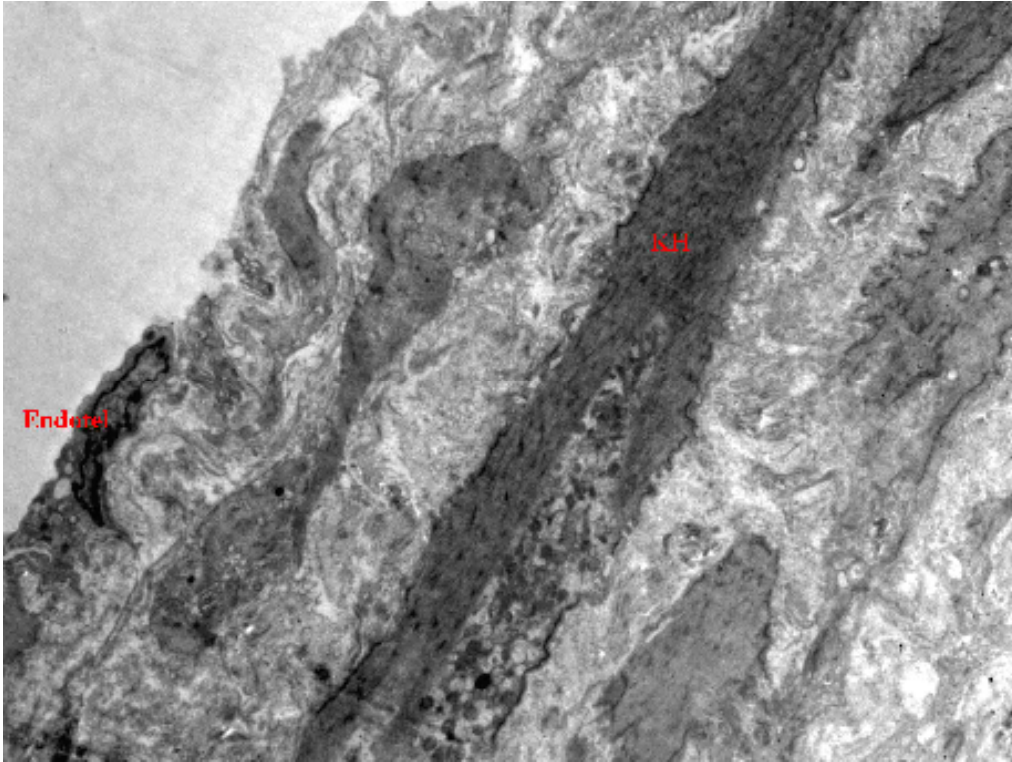
Şekil 4-24: Üst resim: Ağır preeklampsili plasental villöz stromasında serbest kan hücresi (*) Sinsisyotrofoblast (Sin) mikrovillilerinde azalmış ve anormallikler gösteren mikrovilli yapısı, azalmış endositotik aktivite ve genişlemiş GER sisternaları dikkat çekmektedir. Alt resim: APE plasental villus stromasında bir fetal kapiller (FK), endotelde lümene doğru şişkinlikler ve çıkıntılar görülmekte (x7500)



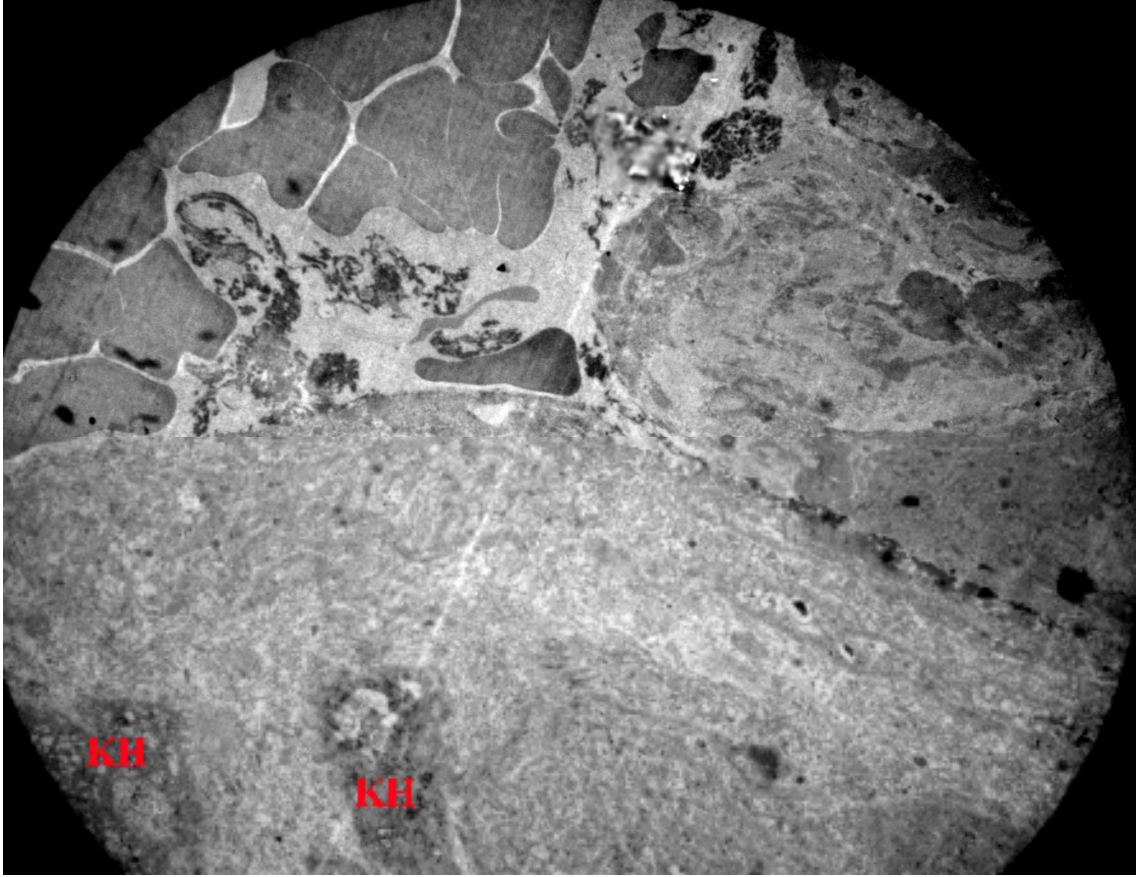
Şekil 4-25: APE grubundan bir plasental villus bölgesi. Sitotrofoblast (ST) hücresi ve uzantısı endotelinde şişkinlikler gösteren fetal kapiller (FK) ile kalınlaşmış bazal membranı (*), genişlemiş içi yoğun GER sisternaları ve seyrelmiş mikrovillisi ile sinsisyotrofoblast (Sin) arasında görülmekte. (x7500, x10 000) (IVM: İntervillöz mesafe)



Şekil 4-26: APE grubundan bir plasental villus bölgesi. Sitotrofoblast (ST) hücre gövdesi ve fazlaca uzun uzantısı ile sinsisyotrofoblastlar ve fetal kapiller (FK) duvarı arasına yerleşmiş olarak görülmektedir. Sinsisyotrofoblastlar (Sin) içinde çok sayıda iri vakuoller, genişlemiş GER sisternaları ve apikal yüzde anormal yapılı mikrovilli görülmekte (x4000)



Şekil 4-27: APE grubundan bir plasental yatakta damar duvarından bir bölge. Üst resimde endotelin altında, damar duvarında kas hücreleri (KH) ve kollajen lifler görülmekte (x5000). Alt resimde plasental yatak stroması içinde trofoblastik dev hücreler (TDH) görülmekte (x3000)



Şekil 4-28: APE grubu gebeden plasental yatakta damar duvarından bir bölge. Bu bölge içinde hiç sitotrofoblast hücresi görülmemekte KH: Kas Hücresi (x3000).

4.3. IHK Bulguları

IHK bulguları mikroskopta tayin edilmiştir, sonuçlara istatistiksel veri elde etmek için Kruskal Wallis testi uygulanmıştır.

4.3.1. TGF- β 1 Sonuçları

Kontrol grubu, hafif preeklampsisi grubu ve ağır preeklampsisi grubundaki gebelerin plasentalarında; plasental stroma ve fetal kapiller duvarı ve ayrıca kök villus kalın damar duvarlarında herhangi bir anlamlı ekspresyon farkına rastlanmamıştır. Plasental yataklarda da aynı şekilde her 3 grupta dokunun hiçbir yerinde anlamlı bir TGF- β 1 boyanma farkı görülmemiştir. Ekspresyon değerlerinin rakamsal pozitiflikleri aşağıda Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

KG-PL	V.STROMA	KAP-END	DES-HÜC	DES-STRO
PL-14	0	2 (++)	0	0
PL-17	0	0	0	0
PL-21	0	0		
PL-22	0	1 (+)	0	0

HPE-PL	V.STROMA	KAP-END	DES-HÜC	DES-STRO
PL-4	0	1 (+)	0	1 (+)
PL-8	0	2 (++)	0	1 (+)
PL-15	0	0	0	1 (+)
PL-23	0	0		
PL-30	0	0	0	0
PL-32	0	1 (+)	0	1 (+)
PL-16	1 (+)	0	0	0

APE-PL	V.STROMA	KAP-END	DES-HÜC	DES-STRO
PL-13	0	2 (++)		
PL-31	1 (+)	1 (+)	0	2 (+)
PL-19	0	1 (+)		
PL-26	0	1 (+)		
PL-27	0	1 (+)	0	1 (+)

KG-PY	TROFO	SA-ENDO	STROMA
PY-25	0	0	0
PY-24	0	0	0
PY-21	0	1 (+)	0
PY-22	1 (+)	0	0
PY-14	0	0	0
PY-17	0	0	0

HPE-PY	TROFO	SA-ENDO	STROMA
PY-8	0	0	0
PY-15	0	0	1 (+)
PY-29	0	0	1 (+)
PY-30	0	0	1 (+)
PY-32	0	0	0

APE-PY	TROFO	SA-ENDO	STROMA
PY-5	0	0	0
PY-12	0	0	0
PY-19	0	0	0
PY-27	0	0	0
PY-28	0	0	1 (+)

Tablo 4-1: TGF-Beta1 değerlendirmeleri

TROFO: Trofoblast hücreleri

SA-ENDO: Spiral Arter Endoteli

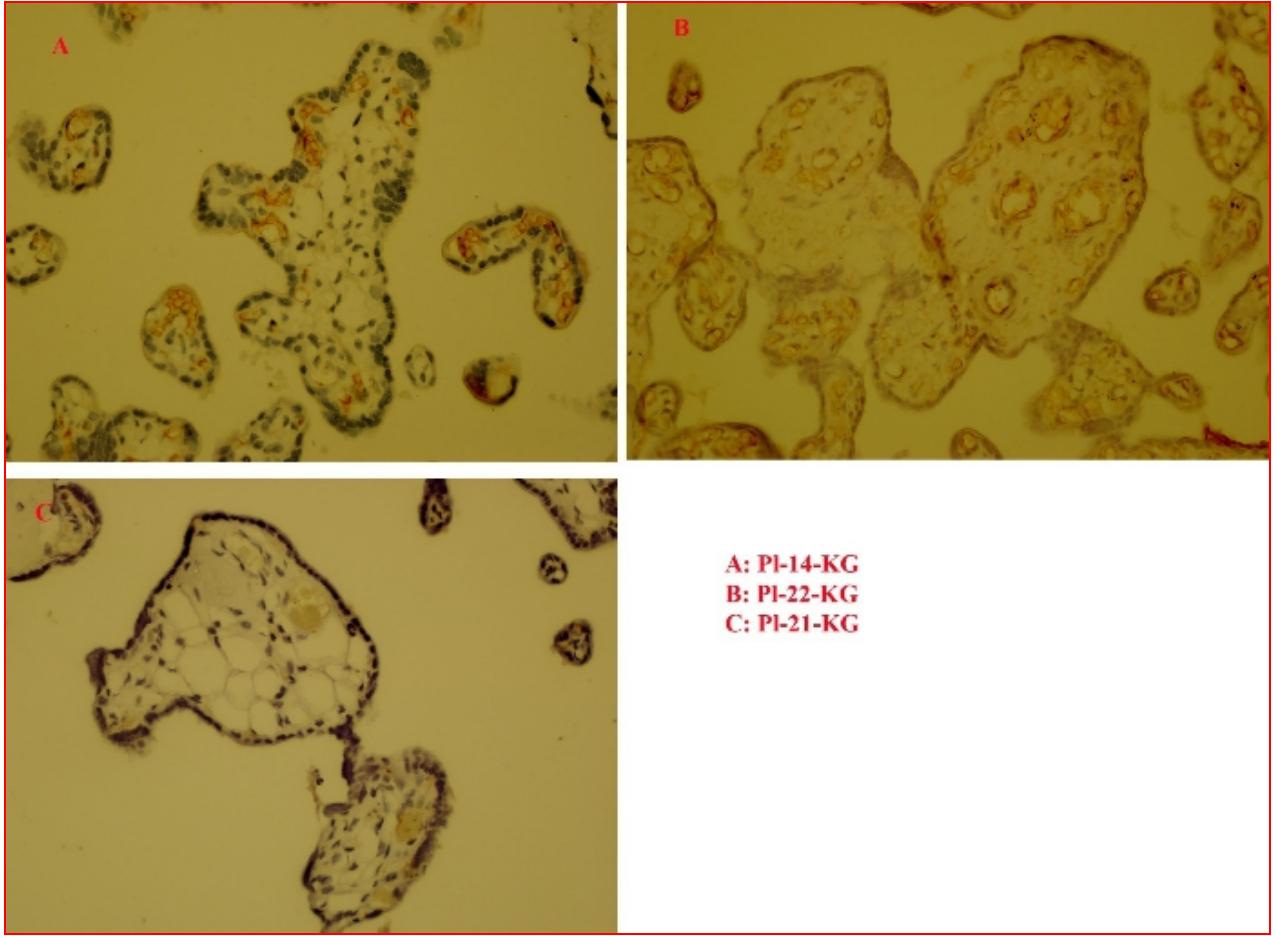
STROMA: Plasental yatak genel stroması

DES HÜC: Desidual hücre

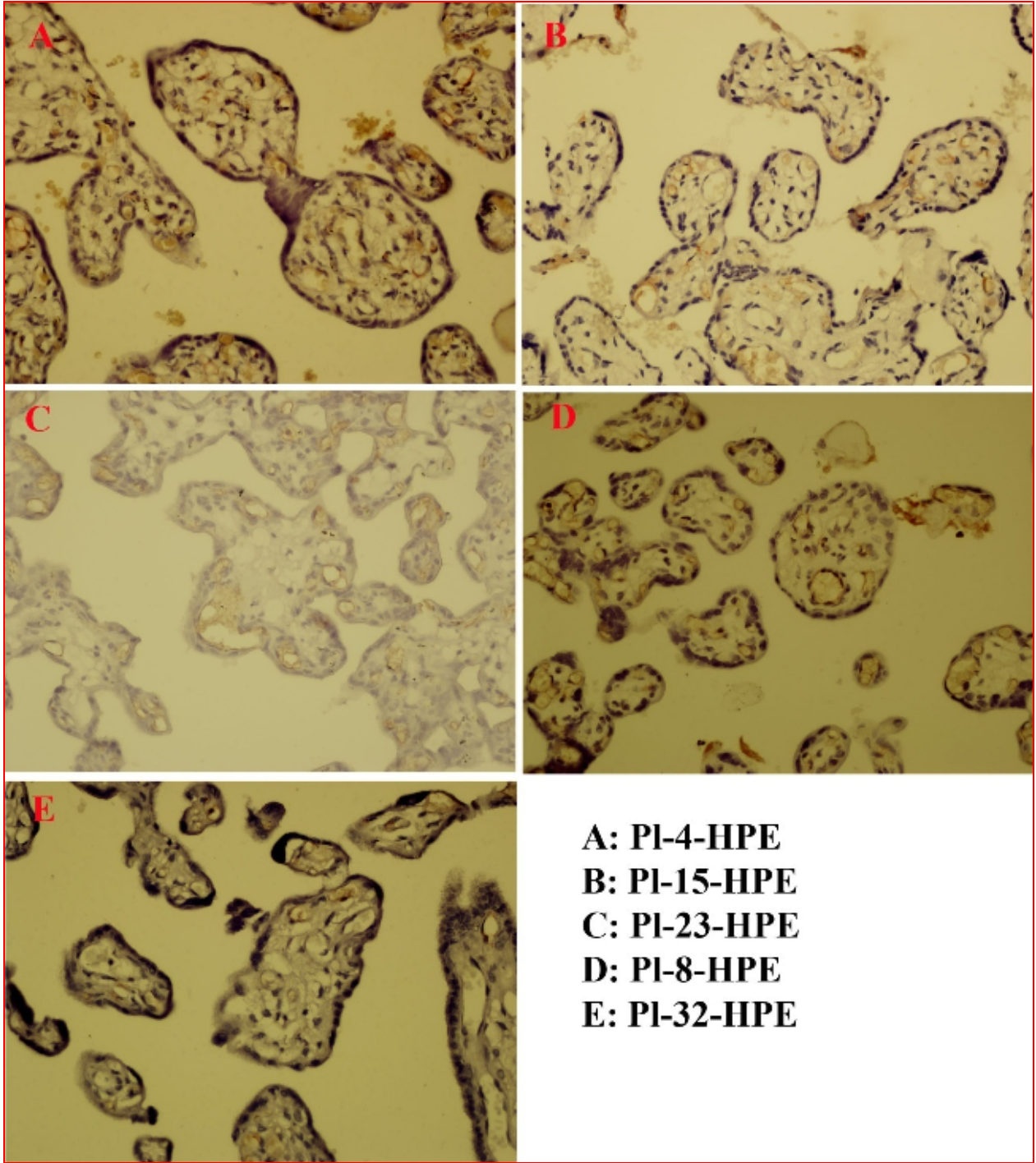
DES STRO: Desidual stroma

V.STROMA: Villus stroması

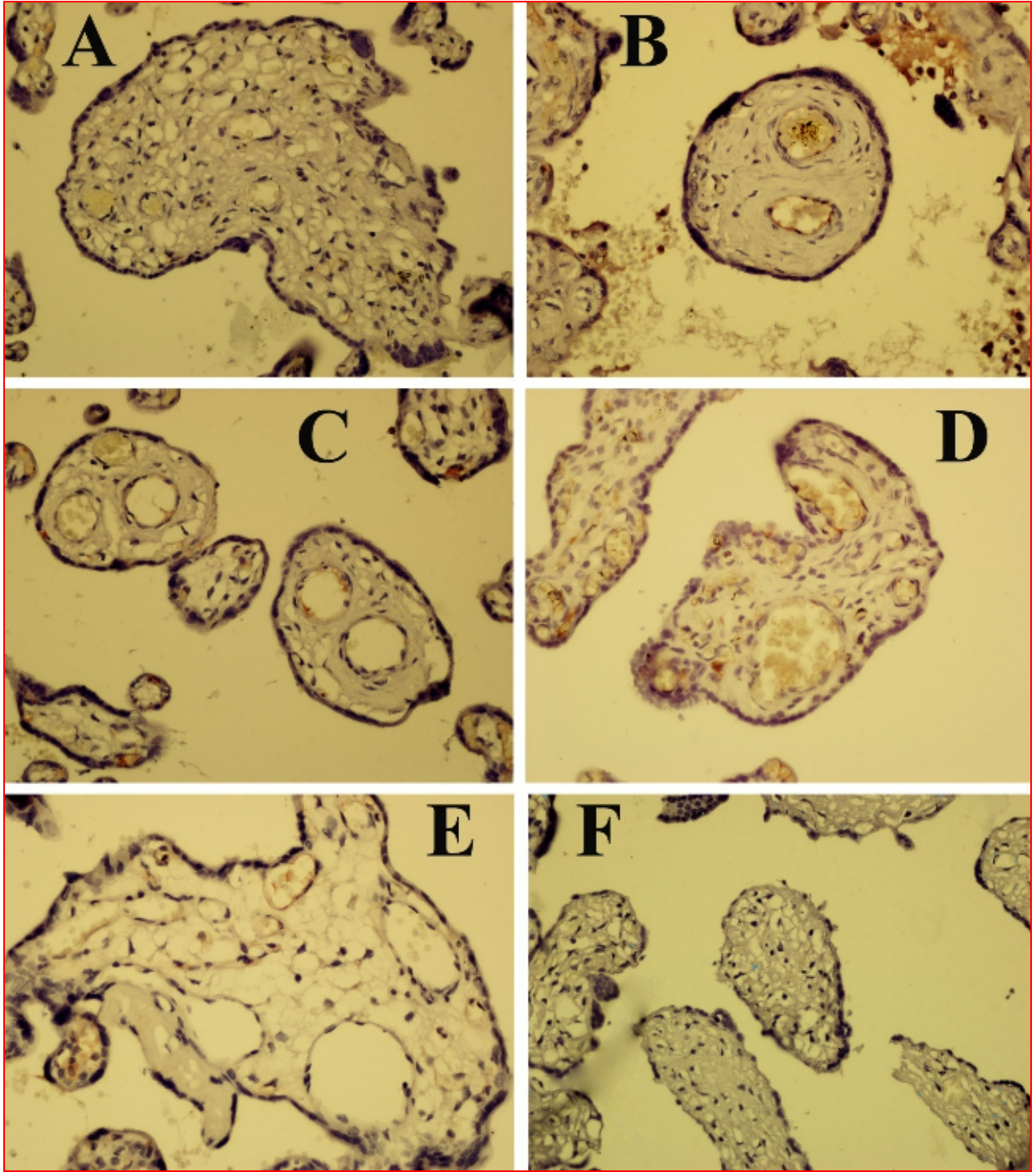
KAP-END : Fetal Kapiller Endoteli



Şekil 4-29: Kontrol grubu (KG) gebelerin plasentalarında TGF- β 1 ekspresyonu (x40)

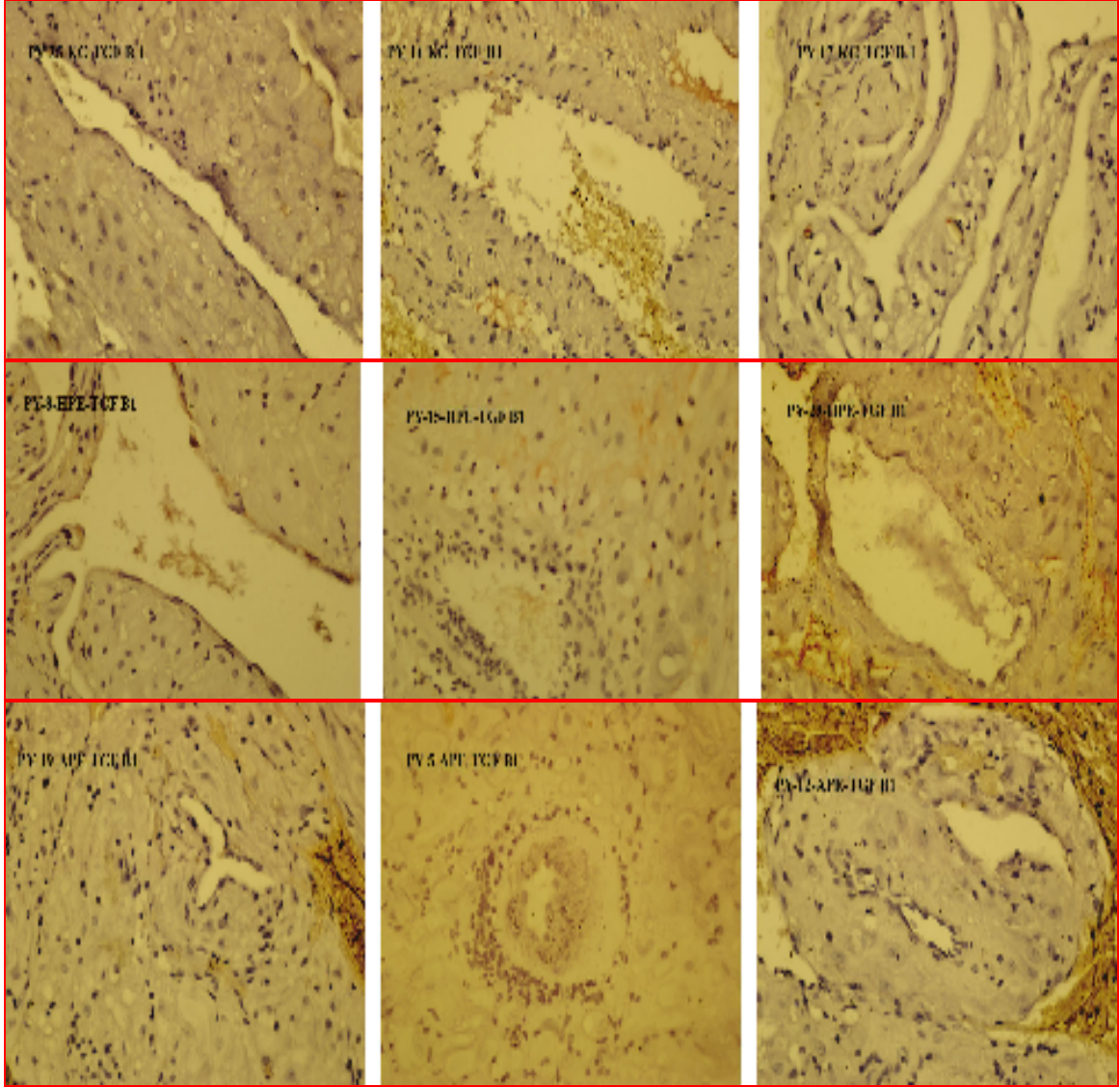


Şekil 4-30: HPE grubundaki gebelerin plasentalarında TGF- β 1 boyanması (x40)



Şekil 4-31: APE grubu gebelerin plasental villuslarında TGF- β 1 boyanması (x40)

A,C: PI-19, B:PI-13, D:PI-27, E:PI-26, F:PI-31



Şekil 4-32: TGF-β1'in Plazenta Yatağı Kontrol Grubu (KG), Hafif Preeklampsisi Grubu (HPE) ve Ağır Preeklampsisi Grubundaki (APE) Boyanmaları (x40)

4.3.2. TGF-β2 Sonuçları

Plasentada kontrol grubunda villus kapiller endotelinde hafif (+) TGF-β2 boyanması görülürken HPE ve APE gruplarında bu boyanma giderek azalmış ve hatta yok olmuştur. Yapılan gözlem Kruskal Wallis istatistik testi ile de doğrulanmıştır ($p=0.08$). Plasental villus stroması kontrol grubu gebelerde, ortalama olarak hafif (+) pozitiflik gösterirken, HPE ve APE gruplarında boyanma görülmemiştir. Bu bulgular istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p=0.017$). Kök villuslardaki büyük damarların etraflarında ise tüm gruplarda hafif (+) boyanma görülmüştür.

Plasental yataklarda ise trofoblast hücrelerinde kontrol grubunda orta (++) boyanma görülmüştür. HPE ve APE gruplarında bu boyanma orta (++) ve hafif (+) karışık olarak görülmesine rağmen, istatistiki bir anlam farkına rastlanmamıştır. Ekspresyon değerleri rakamsal olarak Tablo 4-2’de verilmiştir.

KG-PL	V.STROMA	KAP-END
PL-14	1 (+)	2 (++)
PL-17	1 (+)	1 (+)
PL-21	0	0
PL-22	1 (+)	1 (+)
PL-25	1 (+)	1 (+)

HPE-PL	V.STROMA	KAP-END
PL-4	0	0
PL-8	1 (+)	0
PL-15	0	0
PL-23	0	0
PL-29	0	0
PL-30	0	0
PL-32	0	0
PL-16	0	0

APE-PL	V.STROMA	KAP-END
PL-13	0	0
PL-12	1 (+)	0
PL-19	0	0
PL-26	0	0
PL-27	0	0
PL-28	0	0
PL-31	0	0
PL-5	0	0

KG-PY	TROFO	SA-ENDO	STROMA
PY-25	1 (+)	0	0
PY-24	1 (+)	0	0
PY-21	2 (++)	1 (+)	1 (+)
PY-22	1 (+)	0	1 (+)
PY-14	1 (+)	0	0
PY-17	3 (+++)	1 (+)	0

HPE-PY	TROFO	SA-ENDO	STROMA
PY-8	2 (++)	0	1 (+)
PY-15	0	0	0
PY-29	3 (+++)	1 (+)	0
PY-30	3 (+++)	0	1 (+)
PY-32	0	0	1 (+)
PY-16	0	0	1 (+)

APE-PY	TROFO	SA-ENDO	STROMA
PY-5	3 (+++)	0	0
PY-12	2 (++)	0	1 (+)
PY-28	1 (+)	0	1 (+)
PY-27	1 (+)	0	0

Tablo 4-2: TGF-Beta 2 ekspresyonları değerlendirilmesi

TROFO: Trofoblast hücreleri

SA-ENDO: Spiral Arter Endoteli

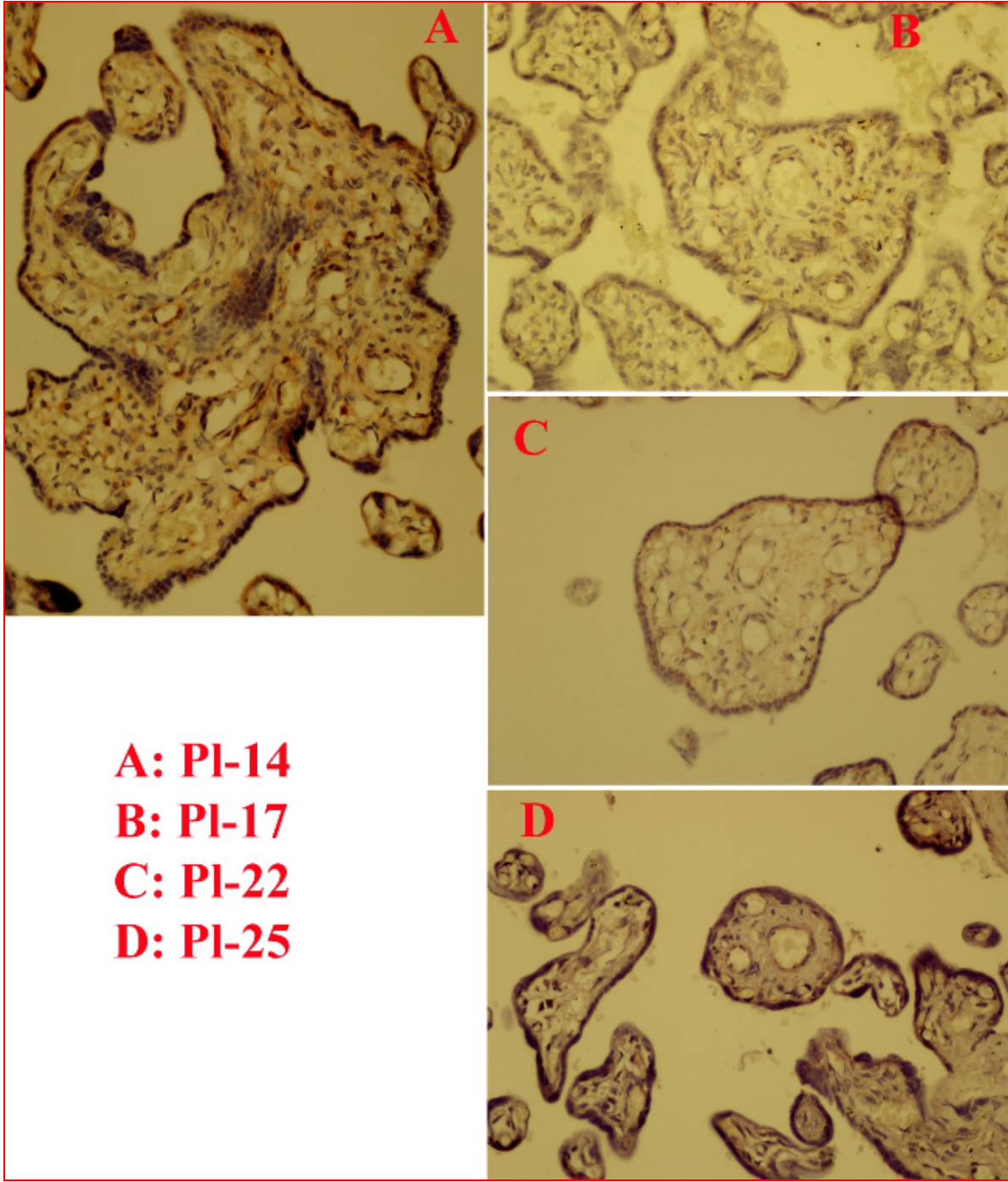
STROMA: Plasental yatak genel stroması

DES HÜC: Desidual hücre

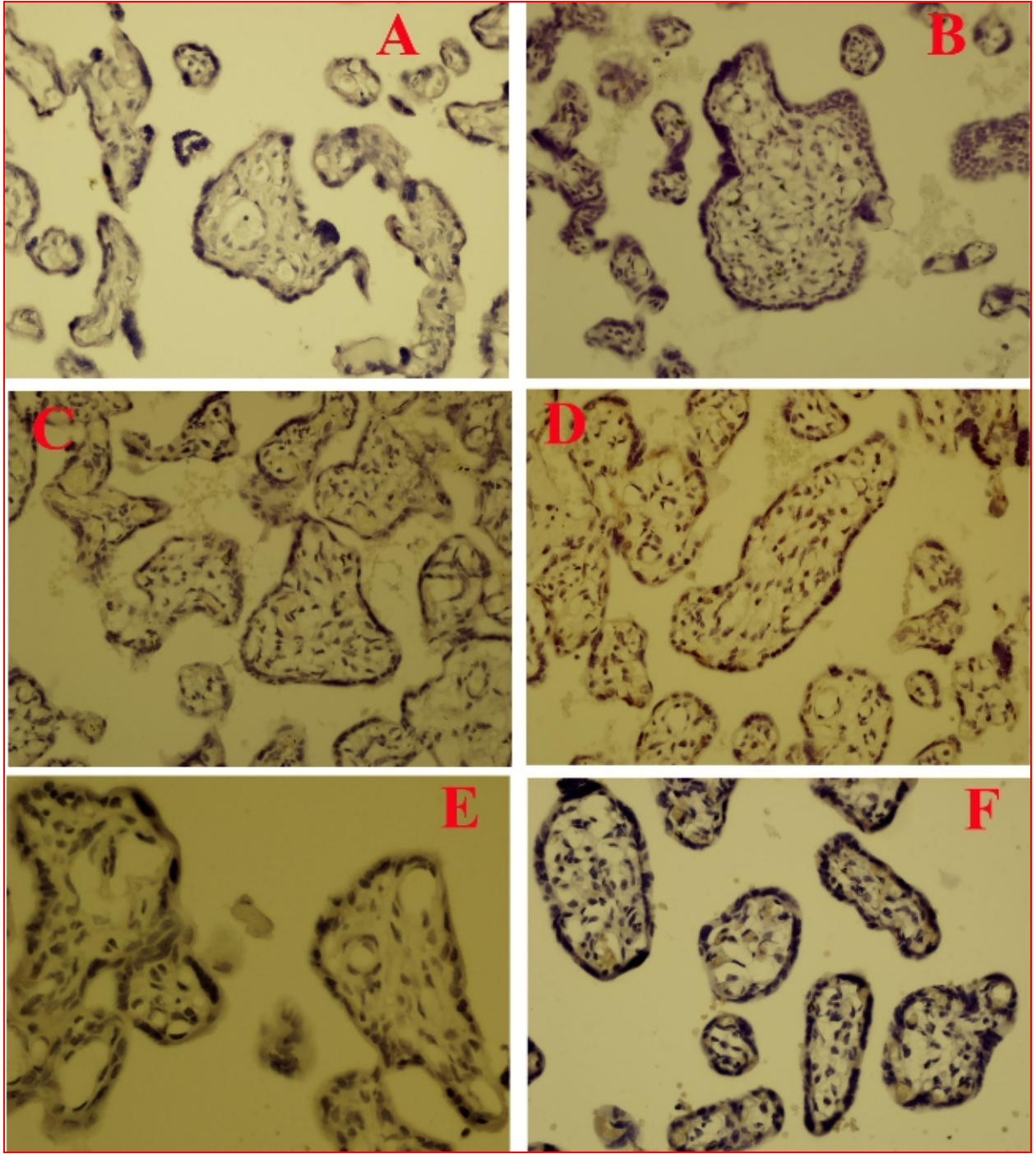
DES STRO: Desidual stroma

V.STROMA: Villus stroması

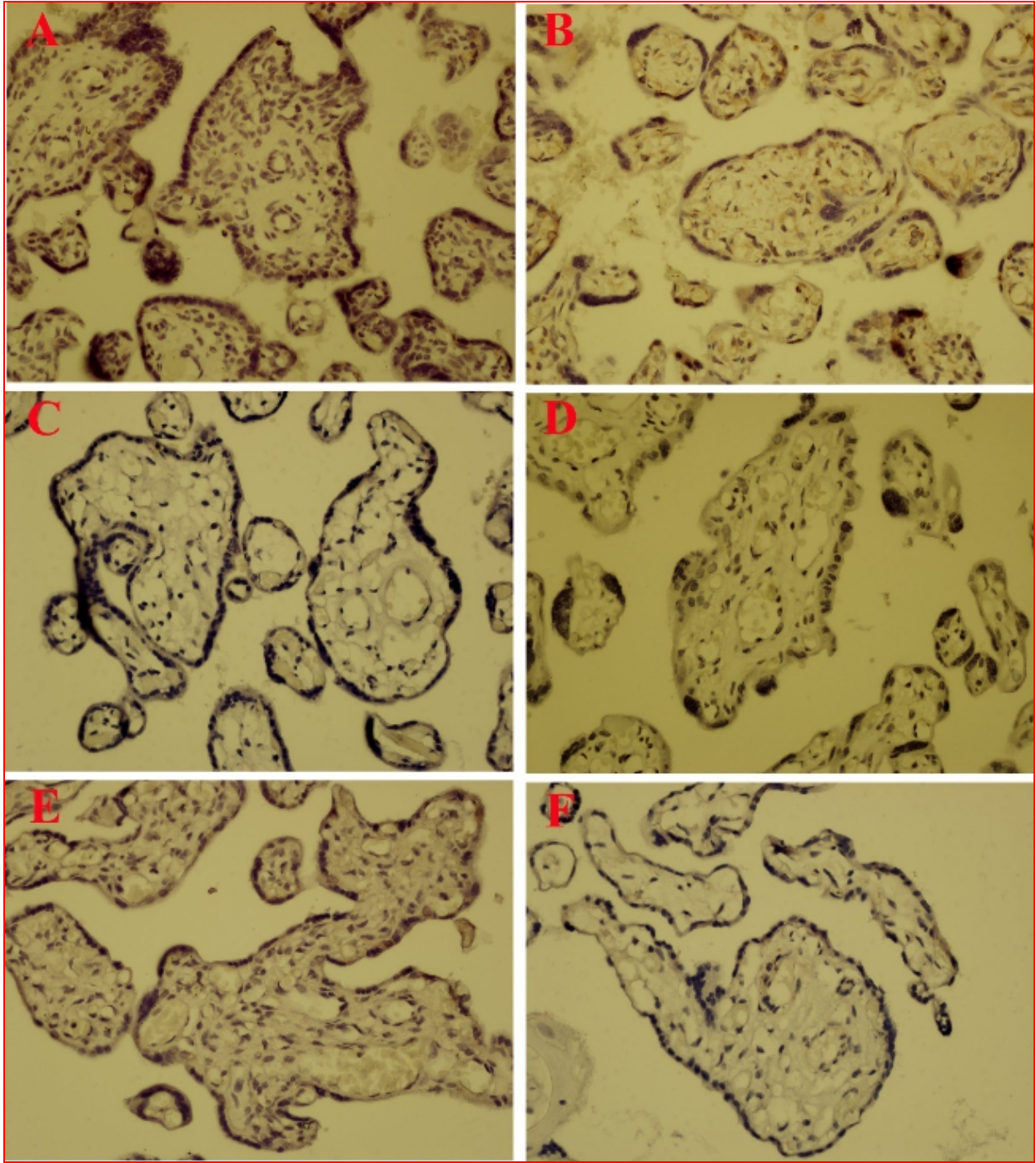
KAP-END : Fetal Kapiller Endoteli



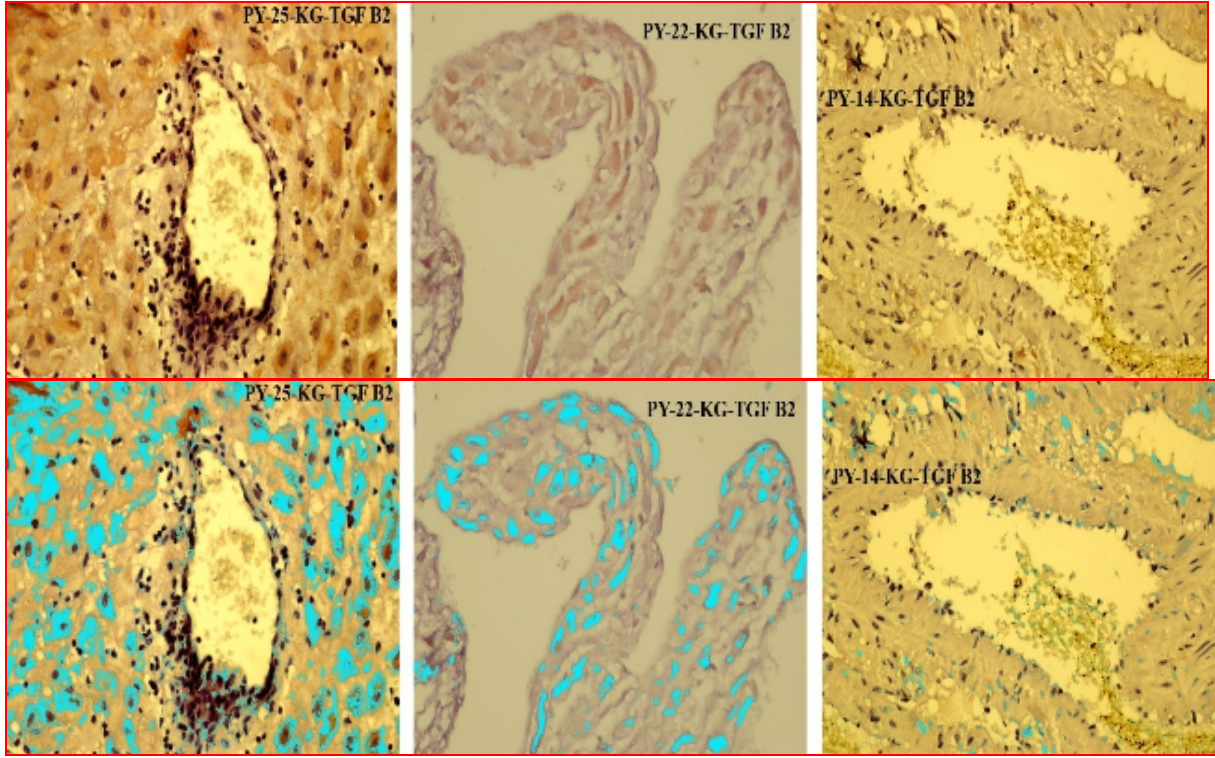
Şekil 4-33: KG grubundaki gebelerin plasentalarından TGF- β 2 boyanmaları (x40)



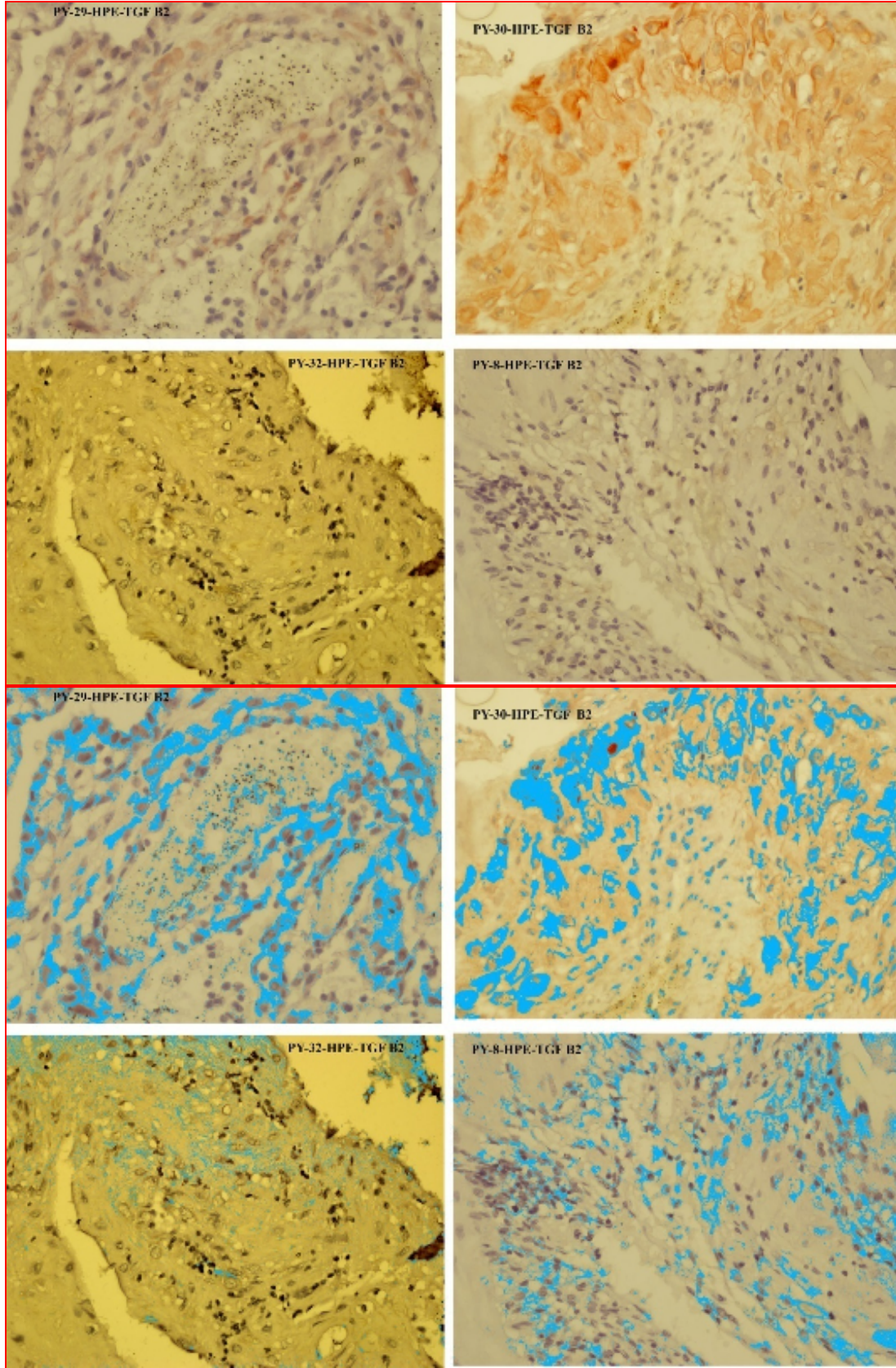
Şekil 4-34: HPE grubu gebelerde plasentada TGF- β 2 boyanması A: Pl-32, B: Pl-29, C: Pl-15, D: Pl-8, E: Pl-30, F: Pl-4 (x40)



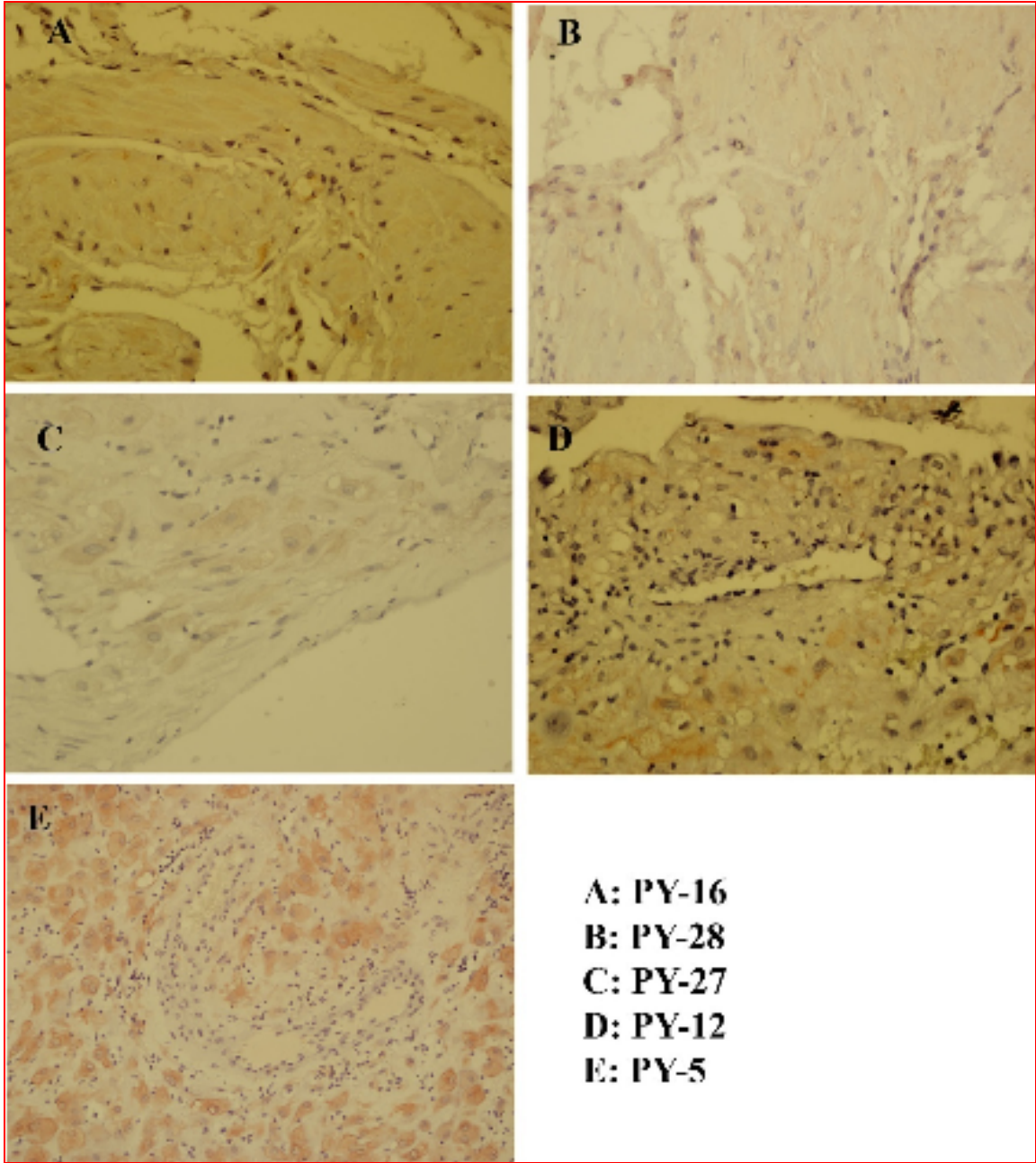
Şekil 4-35: APE grubu gebelerin plasentalarında TGF- β 2 boyanması; A:PI-5, B: PI-12, C: PI-19, D: PI-26, E: PI-27, F:PI-31 (x40)



Şekil 4-36: KG gebelerin plasental yataklarında TGF- β 2 ekspresyonları ve renklendirilmiş görüntüleri (x40)



Şekil 4-37: HPE grubundan plasental yatakta TGF- β 2 boyanmaları ve renklendirilmiş görüntüleri (x40)



Şekil 4-38: APE grubundan plasental yatakta TGF-β2 ekspresyonları Trofoblastlardaki boyanma dağınık görülmekte. D ve E resimlerinde trofoblast boyanması daha yoğun görülürken A, B ve C’de boyanma zayıftır. (x40)

4.3.3. TGF-β3 Sonuçları

Kontrol grubunda plasental villus stromasında ve kapiller endotelde boyanma dengesiz olup şiddetliden (+++) 0 boyanmaya kadar değişiklikler göstermiştir. HPE grubunda villus stromasında ve kapiller endotelde hafif (+), orta (++) ve 0 boyanmaya rastlanmıştır. APE grubunda ise plasental villus stromada ve kapiller endotelde

boyanma artmıştır (++, +++). 3 gruptaki plasental vilus stromalarında istatistiksel olarak anlamlı bir ekspresyon farkı bulunmamıştır. Stem villuslardaki büyük fetal damarlarda ise her 3 grupta da kuvvetli boyanma (+++) görülmüştür.

Kontrol grubu gebelerin plasental yataklarındaki trofoblast hücrelerinde ve spiral arter (SA) endotelinde şiddetli (+++) TGF- β 3 boyanması görülürken, bu boyanma HPE grubu gebelerin trofoblastlarında ve endotellerinde orta (++) ve zayıf (+) boyanmaya düşmüştür. APE grubu gebelerde boyanma şiddetli (+++) ve orta (++) olarak görülmüştür. Boyanma farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Desidual stromada ise her 3 grupta da boyanma olmamasına rağmen, KG'dan HPE ve APE'ye doğru geçildikçe desidual hücrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir boyanma artışı saptanmıştır ($p=0.08$). Ekspresyon değerlerinin tablosu aşağıda Tablo 4-3'de verilmiştir.

KG-PL	V.STROMA	KAP-END	DES-HÜC	DES-STRO
PL-14	2 (++)	3 (+++)	1 (+)	0
PL-21	0	0	0	0
PL-22	1 (+)	1 (+)		
PL-25	1 (+)	1 (+)	1 (+)	0

HPE-PL	V.STROMA	KAP-END	DES-HÜC	DES-STRO
PL-32	1 (+)	1 (+)	1 (+)	0
PL-8	2 (++)	1 (+)	0	1 (+)
PL-15	0	2 (++)		
PL-23	0	0	0	0
PL-29	0	1 (+)	1 (+)	0
PL-30	0	1 (+)	1 (+)	0
PL-16	0	0		

APE-PL	V.STROMA	KAP-END	DES-HÜC	DES-STRO
PL-13	2 (++)	3 (+++)	1 (+)	0
PL-12	2 (++)	3 (+++)	3 (+++)	0
PL-19	1 (+)	3 (+++)		
PL-26	1 (+)	0	2 (++)	0
PL-27	2 (++)	1 (+)	2 (++)	0
PL-28	0	3 (+++)	2 (++)	0
PL-31	1 (+)	3 (+++)	2 (++)	0
PL-5	2 (++)	2 (++)	2 (+)	0

KG-PY	TROFO	SA-ENDO	STROMA
PY-25	3 (+++)	2 (++)	1 (+)
PY-24	1 (+)	1 (+)	1 (+)
PY-21	3 (+++)	3 (+++)	1 (+)
PY-22	3 (+++)	1 (+)	1 (+)
PY-14	3 (+++)	2 (++)	1 (+)
PY-17	3 (+++)	1 (+)	1 (+)

HPE-PY	TROFO	SA-ENDO	STROMA
PY-8	2(++)	1 (+)	1 (+)
PY-32	3 (+++)	1 (+)	0
PY-29	1 (+)	1 (+)	0
PY-30	3 (+++)	3 (+++)	1 (+)
PY-16	3 (+++)	1 (+)	1 (+)

APE-PY	TROFO	SA-ENDO	STROMA
PY-5	2 (++)	0	0
PY-12	3 (+++)	2 (++)	0
PY-28	1 (+)	1 (+)	0
PY-27	2 (++)	2 (++)	1 (+)

Tablo 4-3: TGF-Beta3 ekspresyon dereceleri

TROFO: Trofoblast hücreleri

SA-ENDO: Spiral Arter Endoteli

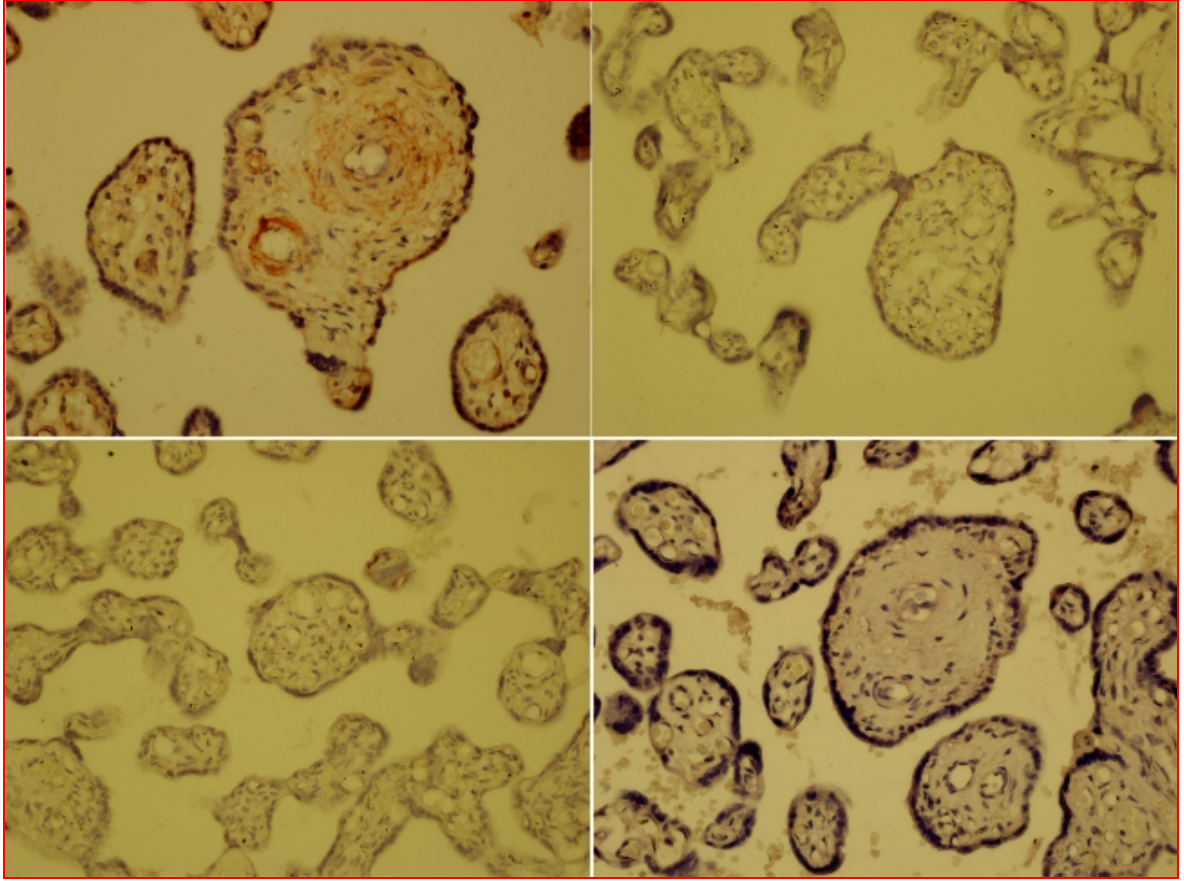
STROMA: Plasental yatak genel stroması

DES HÜC: Desidual hücre

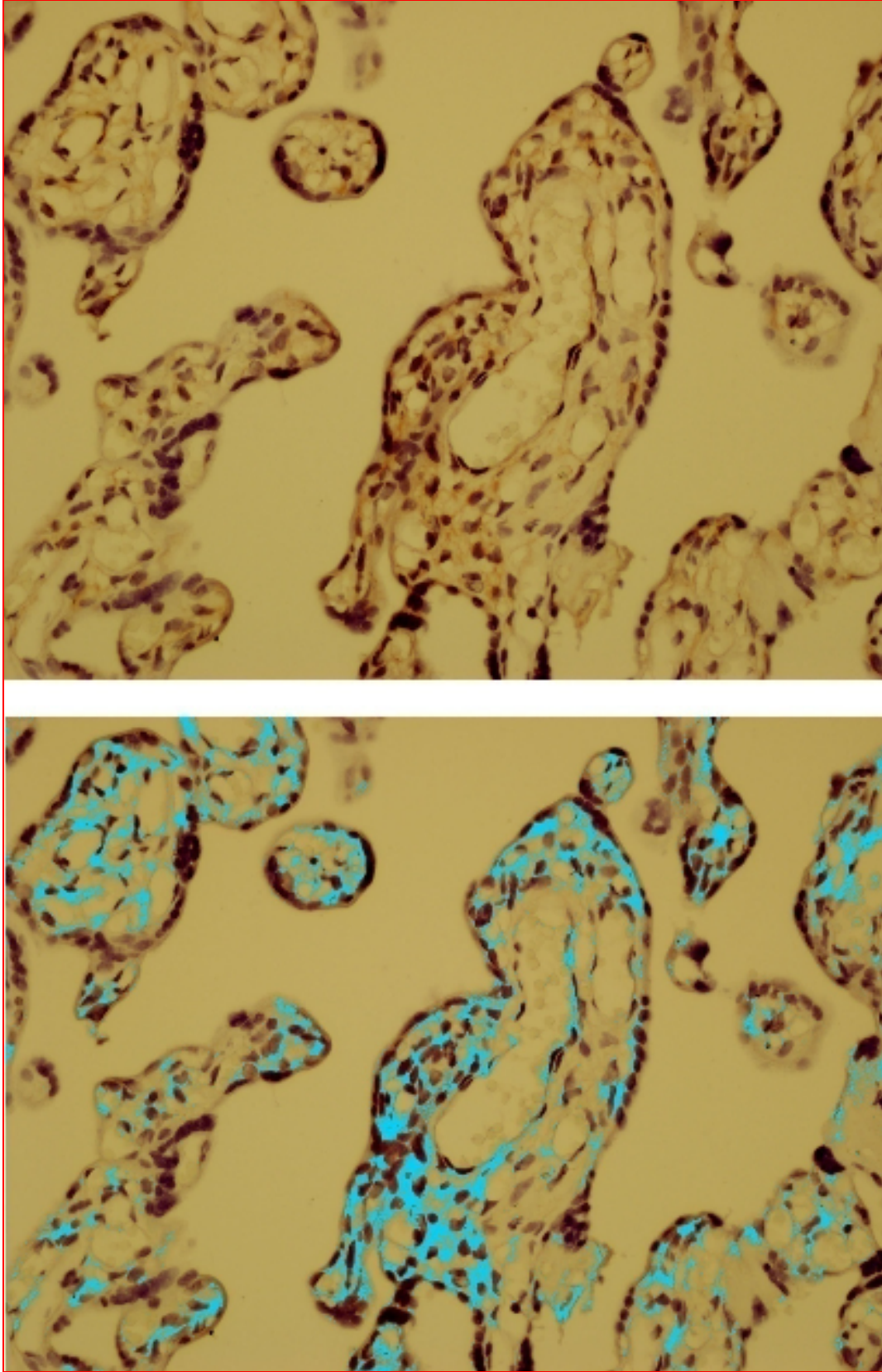
DES STRO: Desidual stroma

V.STROMA: Villus stroması

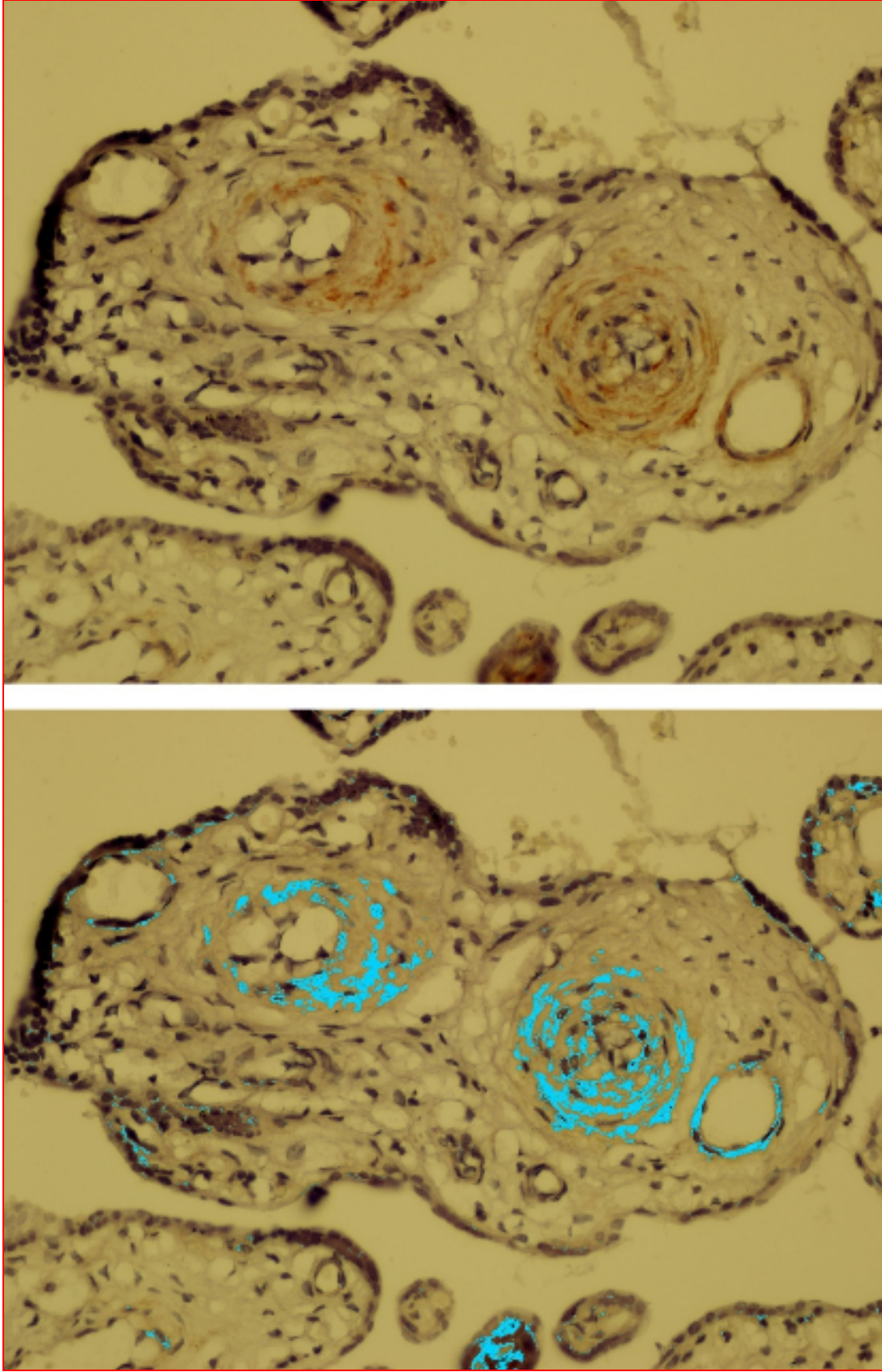
KAP-END : Fetal Kapiller Endoteli



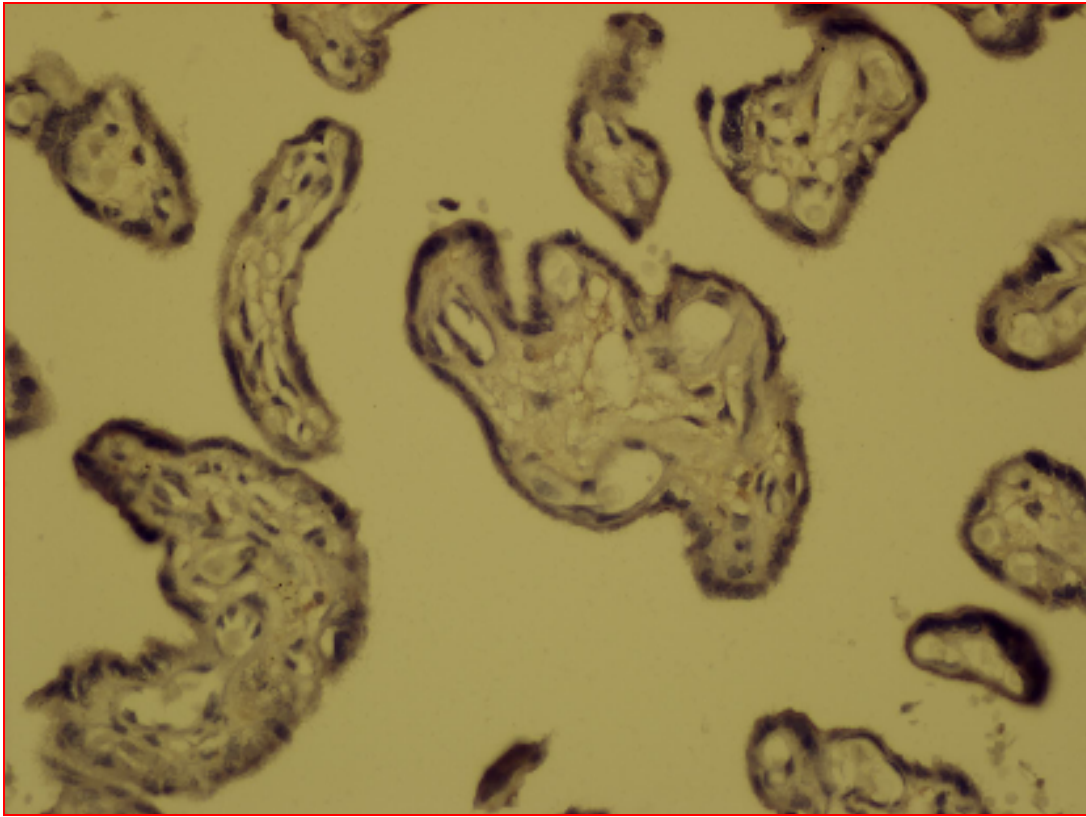
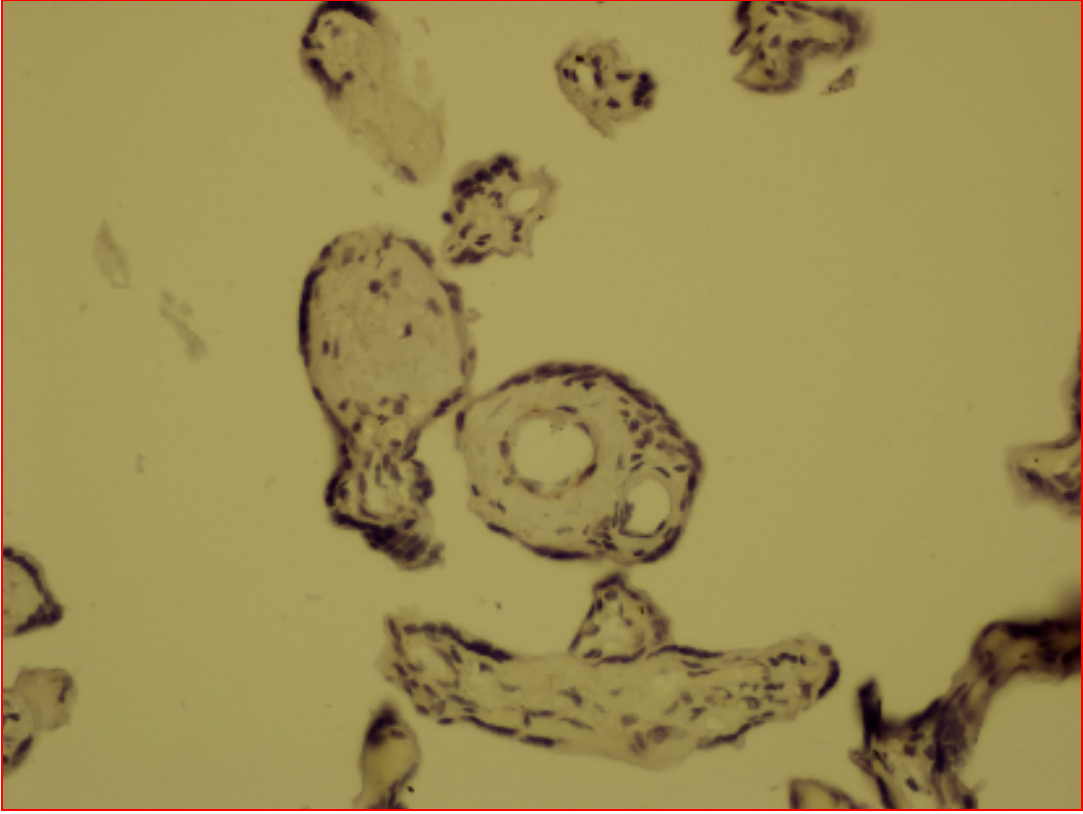
Şekil 4-39: Kontrol grubu gebelerde TGF- β 3 boyanması. 0 boyanmadan kuvvetli boyanmaya kadar derecelenmeler görülmekte (x40)



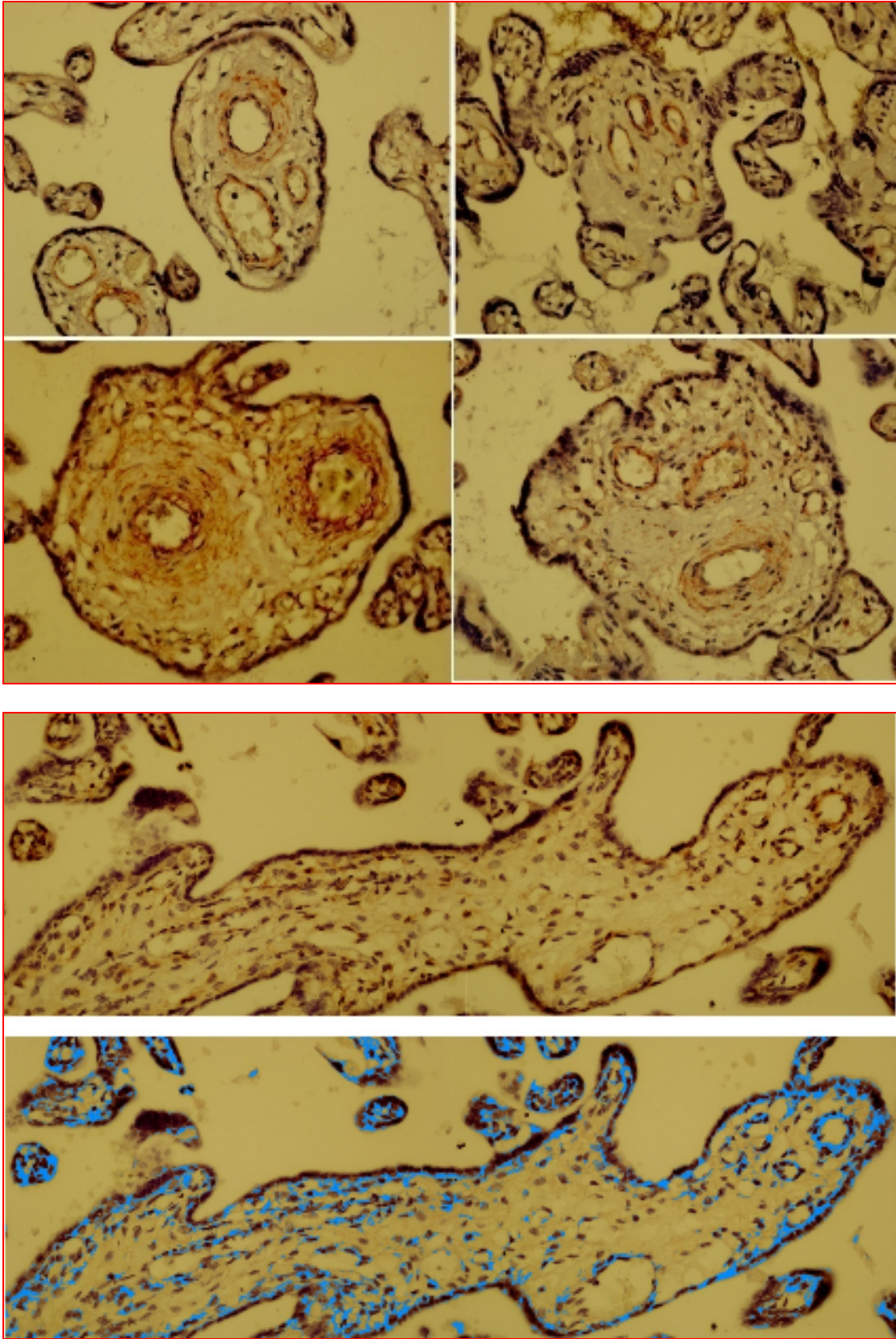
Şekil 4-40: HPE grubu gebeye ait plasental villi. Fetal endotelde ve plasental villöz stromada hafif (+) TGF- β 3 boyanması görülmekte (x40).



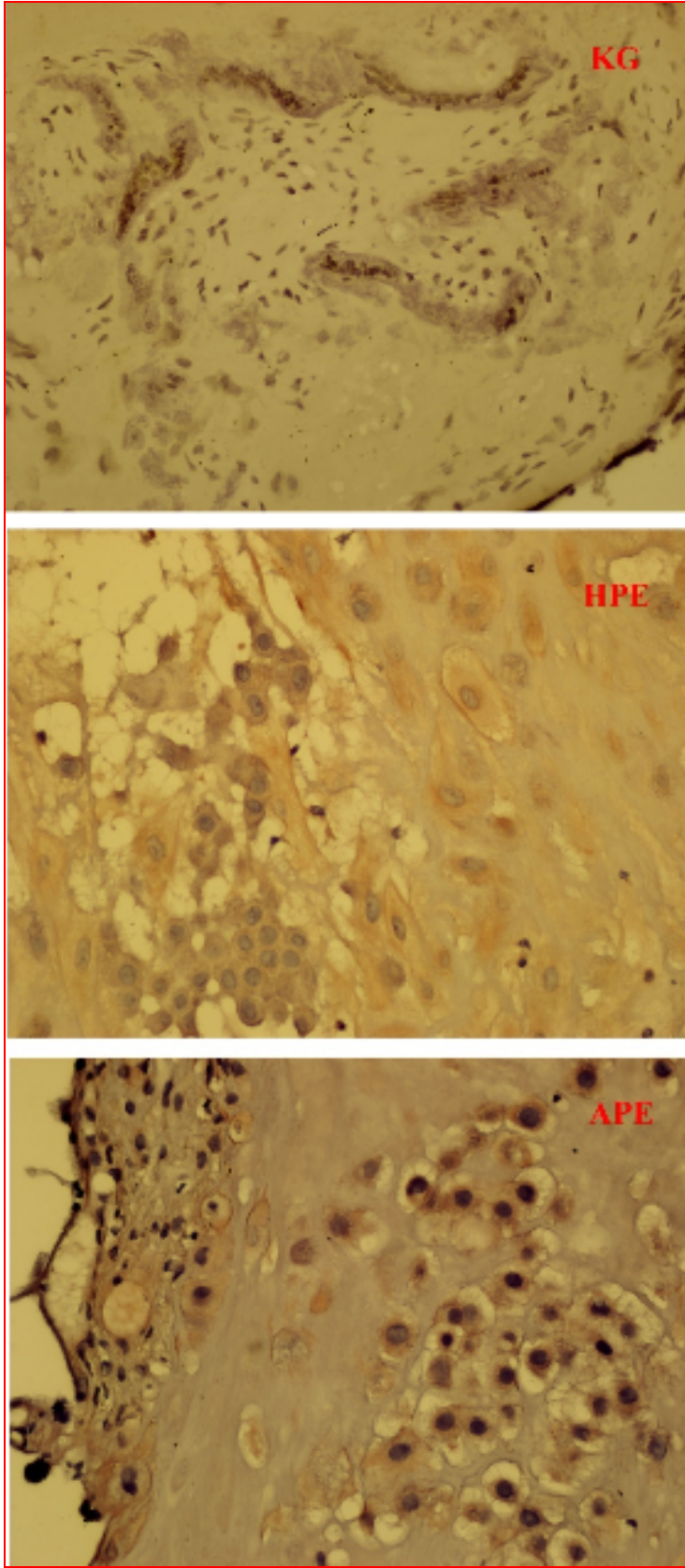
Şekil 4-41: HPE grubu gebeden plasental villi resmi Endotelde ve kalın damarların duvarlarında orta (++), stromada ise TGF- β 3 boyanması görülmemekte. (x40).



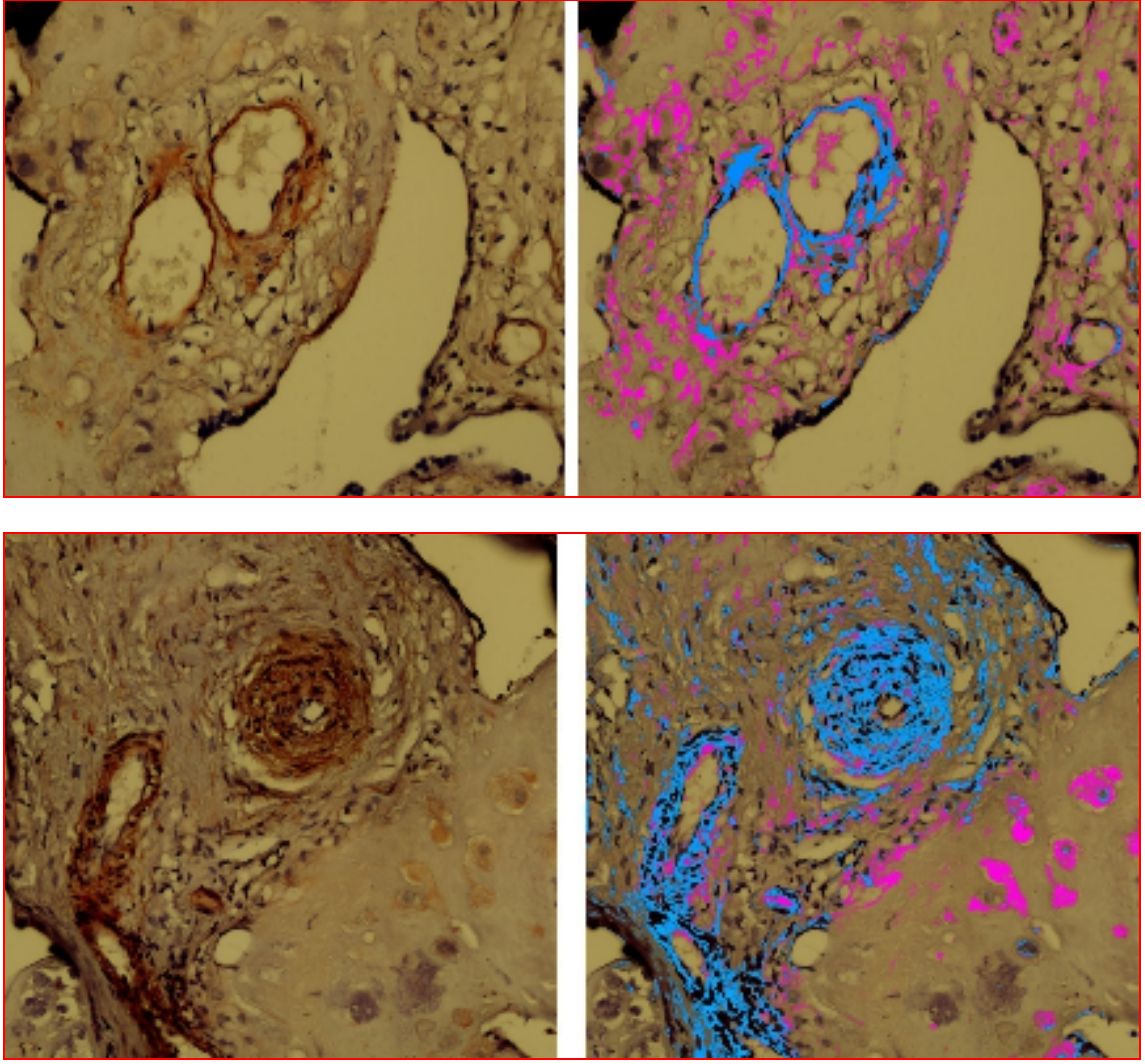
Şekil 4-42: HPE grubu gebeden fotoğraflanmış plasental villi. Stromada ve kapiller endotelde TGF- β 3 boyanması görülmemekte (x40).



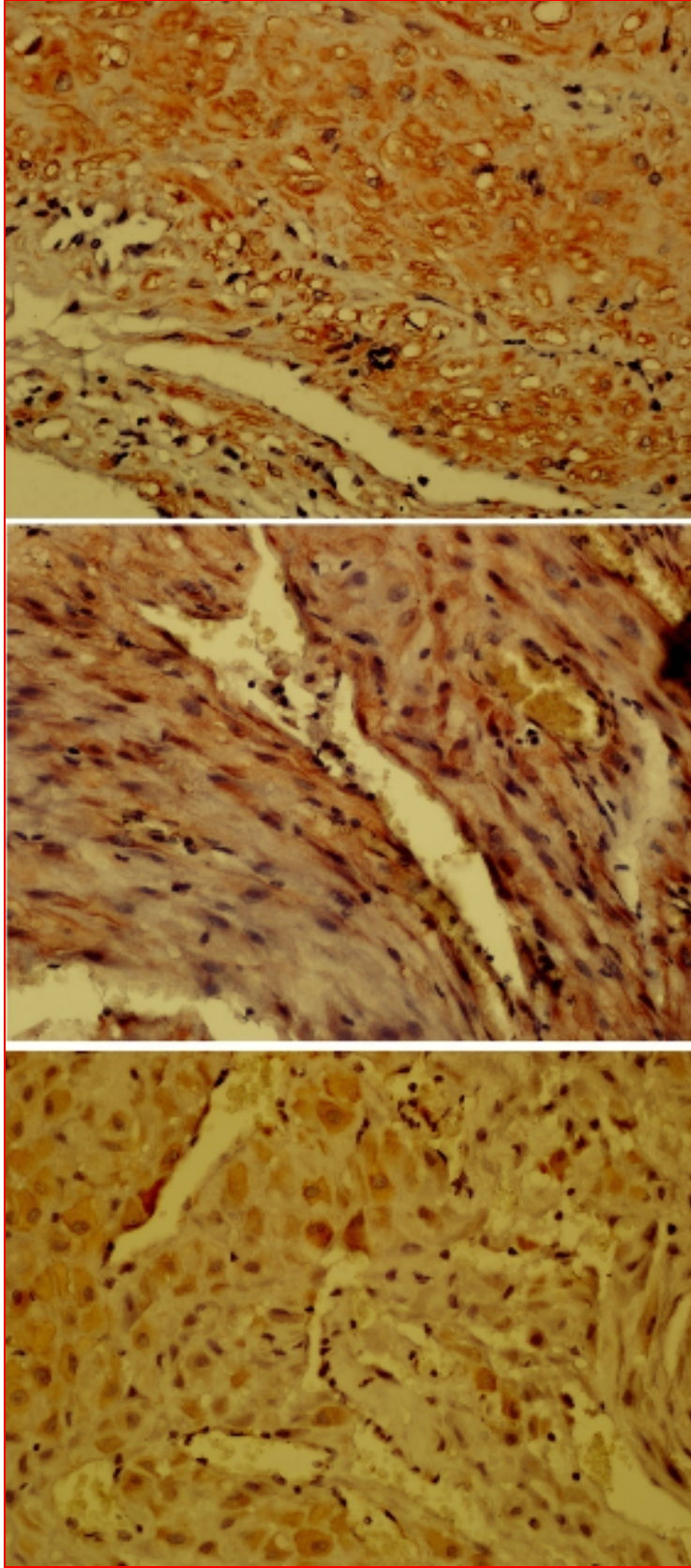
Şekil 4-43: APE grubu gebelerin plasental vilisinden görüntüler. Endotelde şiddetli (+++), bazı villus stromalarında hafif (+) ve orta (++), bazılarında ise hiç TGF- β 3 boyanması görülmemekte (x40)



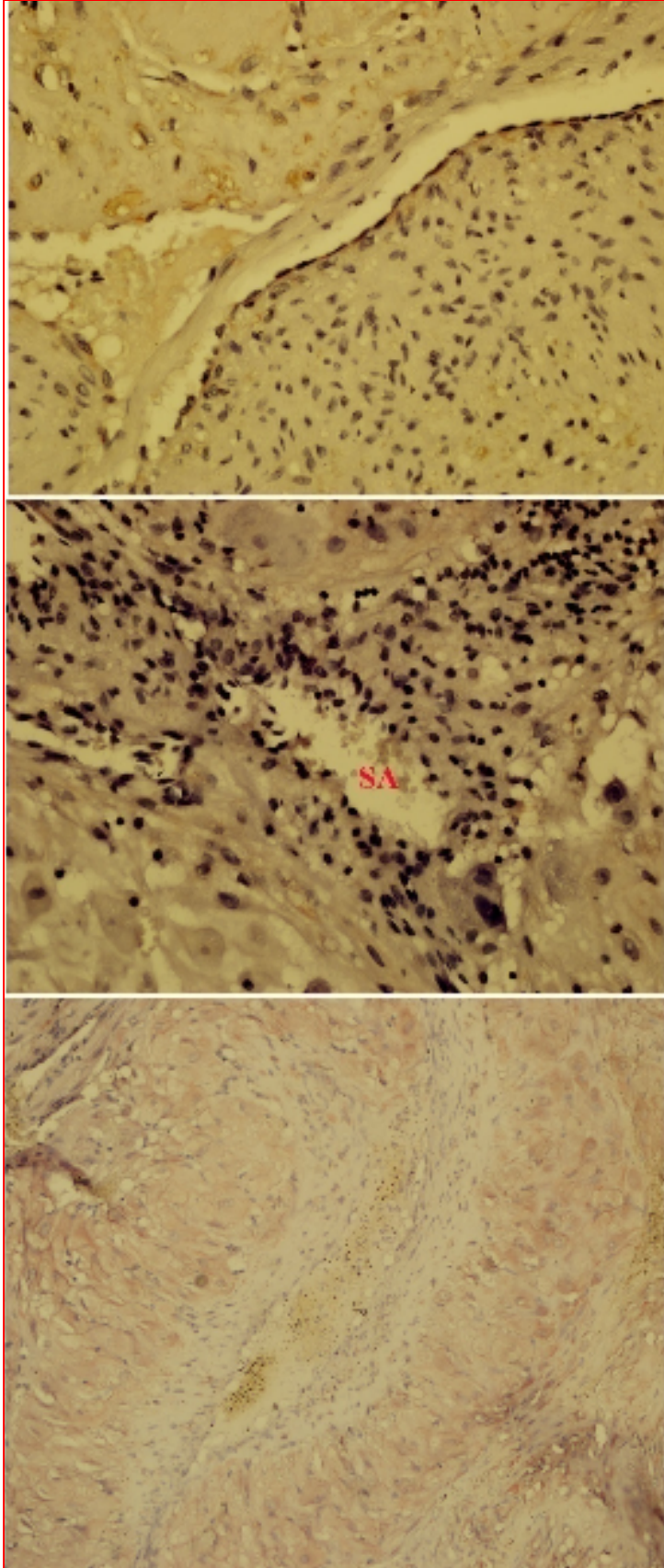
Şekil 4-44: KG, HPE ve APE gruplarına ait desidual hücrelerdeki TGF- β 3 boyanması. Desidual hücrelerdeki boyanmanın Kontrol grubundan ağır preeklampsiye doğru arttığı görülmekte (x40)



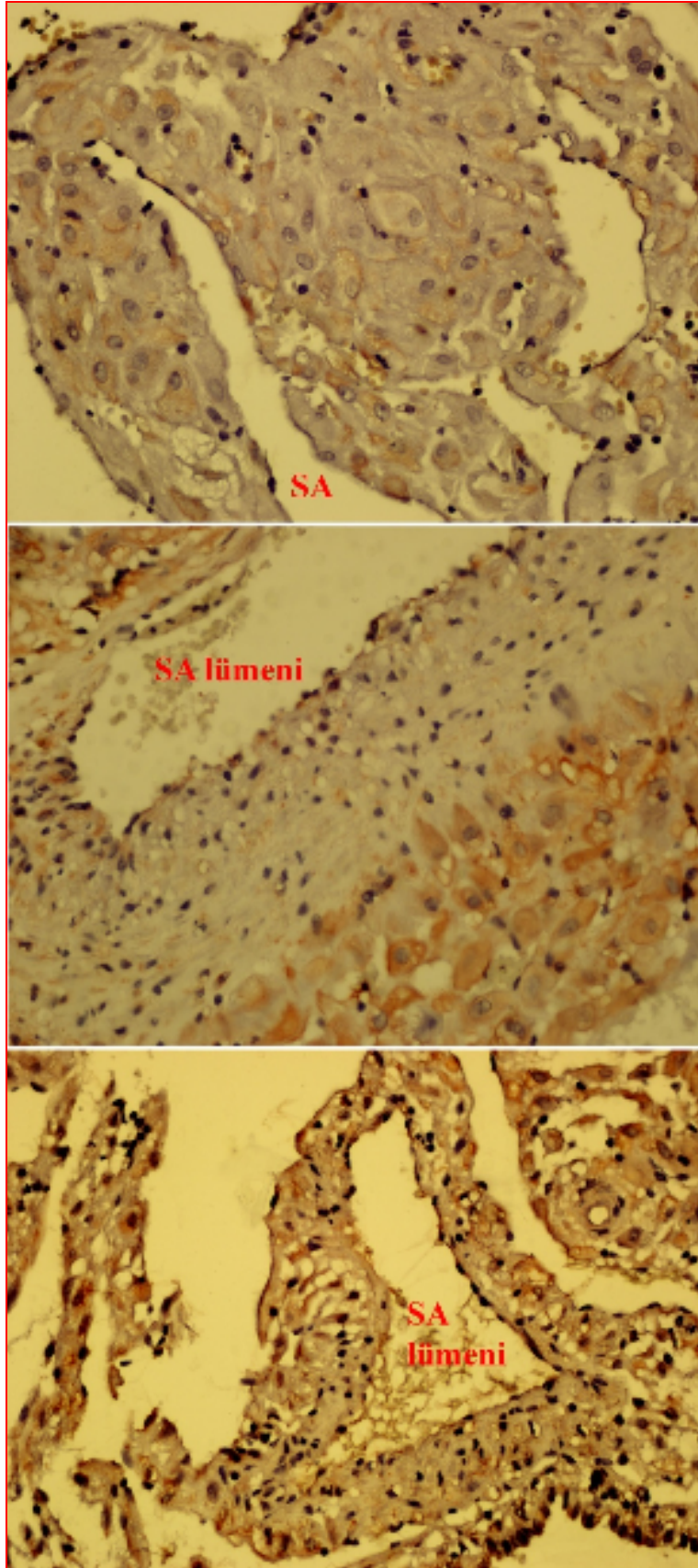
Şekil 4-45: APE grubu gebelerden alınan örneklerde TGF- β 3 pozitiflik değerleri. Desidual hücrelerde pozitiflik belirgin şekilde göze çarpmaktadır (en alttaki resim).



Şekil 4-46: KG Plasental yatak kesitlerinde TGF- β 3 boyanması (x40). Trofoblast hücrelerinde ve endotelde boyanma görülmekte



Şekil 4-47: HPE’li PY’larda trofoblastlarda orta ve zayıf boyanma görülmekte. Başarısız SA istilası nedeniyle trofoblastlar damar duvarının dışındadır (x40, x40, x20)



Şekil 4-48: APE grubu PY'lardan TGF-β3 ekspresyon görüntüleri. Trofoblastlarda orta ve şiddetli boyanma görülmekte (x40)

5. TARTIŞMA

Preeklampside görülen yüksek tansiyon ve proteinüri gibi klinik tablolara göre derecelendirilen hafif ve ağır preeklampsisi gruplarında, bu durumlarla ilişkili olan ve giderek artan morfolojik farklılıklar görülmüştür. Bu bulgular yapılan başka çalışmalar ile paralellik göstermiştir. Hafif ve ağır preeklampsili gebelerin sinsisyotrofoblastlarının, giderek arttığını gözlediğimiz belirgin mikrovilli kaybı göstermeleri, maternal kandan daha az emilim yapılmasına ve dolayısıyla fetusun yetersiz beslenmesine sebep olduğunu düşündürmektedir. Preeklampsili gruplarımızda sinsisyotrofoblast sitoplazmalarında giderek artan iri vakuoller ve azalan pinositotik vesiküller görmemiz, sinsisyotrofoblastların transport özelliğinin de giderek azaldığını düşündürmektedir. Yine bu olgularımızda fazlaca gözlediğimiz GER sisternalarındaki genişlemelerin ve içlerinde az elektron-yoğun madde birikiminin, özellikle ağır preeklampsili olgularda fazlaca kalınlaşmış bazal membran oluşumundan sorumlu olduğunu ve kalınlaşan bazal membranın da plasental bariyer fonksiyonunu azaltıcı bir etki oluşturduğunu düşündürmektedir. Bizim bu bulgumuzu destekler şekilde, başka bir çalışmada yine birçok sinsisyotrofoblast hücresinde düz yüzlü ve granüllü endoplazma retikulum sisternaları çok genişlemiş olarak görülmüştür (86).

Preeklampsisi olgularında başarılı plasental bariyer sayılarının azlığı da göze çarpan farklılıklar arasındadır. Preeklampsili annelerin bebeklerinin normalden daha küçük doğmaları onların yetersiz beslenmeleri ile alakalıdır. Sinsisyotrofoblastların altında fizyolojik plasental villusa kıyasla daha fazla sayıda sitotrofoblast gözlenmesi, sitotrofoblastların kaybolmasında bir başarısızlık olduğunun göstergesidir. Kaybolmayan bu sitotrofoblast hücrelerinin bazıları doğrudan hücre gövdeleri veya hücre uzantılarıyla plasental bariyer tabakaları arasına girmiş ve daha az işlevsel bariyerler yaratmıştır. Preeklampsili plasental villus stromalarının bazılarının yoğun kollajen demetleri içermesi, bebek ile anne arasındaki gaz ve besin alışverişinin yetersiz olması ile alakalı olabileceğini ve bu yoğun kollajen içeriğinin, yer yer plasental bariyer oluşturan bölgelere de yerleşerek plasental bariyer fonksiyonlarında azalmalara neden olabileceğini düşündürmüştür. Özellikle ağır preeklampsisi olgularının bazı koryon villuslarında rastladığımız fazlaca sitotrofoblast proliferasyonu ve bunların yaygın bir epiteliyal kitle olarak stroma içerisine invaginasyonu ve böylelikle stromanın son derece

dar bir merkezi bölgede toplanmasına neden olan görüntüler, bu villuslarda son derece azalmış ve hatta belki tamamıyla kaybolmuş bir plasental bariyer fonksiyonunu düşündürmektedir. Halbuki, sağlıklı plasental villusda kollajen doku oldukça yaygın ve ince görülmektedir. Bu sebeple de fetus beslenmesi daha kolaydır. Plasental villus kollajen miktarlarının daha detaylı bir çalışmayı gerektirebilecek önemde olduğu düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada TGF- β 3'ün çok çeşitli görevlerinin yanı sıra kollajen üreten fibroblastlar için kemoatraktan olduğu ve kollajen sentezini indükleyebileceği ve böylelikle kollajen artışının preeklampsi grubundaki TGF- β 3 ekspresyonunun artışı ile alakalı olabileceği ileri sürülmüştür (15). Biz de bunları destekler şekilde, hafif ve ağır preeklampsi gruplarında fazlaca aktive olmuş, içlerinde vesiküller içerisinde kollajen lif öncüllerini taşıyan ve yer yer eksositoz ile bunları interstisyel dokuya sekret eden, genişlemiş GER sisternalarına sahip fibroblastlara, koryon villus stroması içerisinde giderek artan şekilde rastladık. Böylelikle, ekstravillöz trofoblastların uterin plasental yatağı ve spiral arterleri istilası, arterial muskulo-elastik medianın kaybına ve fibrinoid ile yer değiştirmesine öncülük ettiği ve bunun da başarılı bir gebelik için gerekli olduğu desteklenmiştir (17). Preeklampsi plasental yataklarda ise spiral arterlerde gözlenmesi beklenen fizyolojik değişimler gözlenememiştir. Trofoblast hücreleri hafif ve ağır preeklampsi olgularımızda giderek artan şekilde, spiral arter damar duvarının dışında lümeninden uzakta görülmüşlerdir. Böylelikle de trofoblast göçünün engellenmesi ve onların yerini düz kasların alması nedeniyle preeklampsi spiral arterler daha müköler yapılı ve daha kalın duvarlı görülmüşlerdir. Bu da plasentaya olan kan akışını azaltmıştır (10), (11), (16), (48).

Yapılan bir çalışmada araştırmacılar; preeklampside, spiral arter duvarlarında yetersiz trofoblastik istila, damar çevresindeki intersitisyel dokuda çok çekirdekli dev hücrelerde artış, kalın duvarlı sprial arterler ve lümen içinde tromboz ve ateron plaklar gözlemişlerdir (87). Bu dev hücrelerin erken olgunlaşan ve dolayısıyla damar duvarını istila edemeyen trofoblastlar oldukları kabul edilmiştir (88). Plasental yatak çalışmalarında preeklampside görülen temel plasental yatak lezyonunun, maternal spiral arterlere eksik ve tamamlanmamış trofoblast istilası olduğu söylenmektedir (24). Bu araştırmacıların preeklampsi olgularındaki sitotrofoblastik istilada azalma bulguları bizim bulgularımız ile paralellik göstermektedir. Ancak biz mevcut kesitlerimizde hafif ve ağır preeklampsi olgularımızda damar çevresinde iri sitoplazmalı büyük

sitotrofoblastlar gözlememize rağmen spiral arter lümeni içinde tromboz ve ateron plak oluşumlarına rastlamadık.

Yapılan bir plasental yatak biyopsi çalışmasında 25 fizyolojik, 16 hafif preeklampitik, 16 ağır preeklampitik ve 3 eklampitik olgunun sırasıyla %0, %40, %69 ve %100'ünde patolojik plasental yatak biyopsi bulguları saptanmıştır. Bu çalışma preeklampitik olgularda klinik ağırlaştıkça plasental yataktaki problemin de ağırlaştığını göstermektedir (11). Bu durumda preeklampside plasental yatak çalışmalarının daha fazlaca olması gerektiği ve farklı bakış açılarından yararlanılarak preeklampsile olan diğer bağlantılarının da çalışılması gerektiğini düşündürmektedir.

Yapılan bir çalışmada, TGF beta izoformlarının maternal-fetal ara yüzde tayinleri, TGF Beta'nın proliferasyonun düzenlenmesindeki, farklılaşmadaki, hücre dışı üretimindeki ve göçteki bilinen rolleri ile birlikte ele alındığında, bunun implantasyonun matriks altında yatan hücresel olaylar ile bağlantısı olduğunu açıkça ortaya koyduğu ileri sürülmektedir (90). Normal olguyla kıyaslandığında preeklampside değişmiş plasental sitokin üretiminin varlığı, plasental faktörlerin hastalığın patolojik sürecine dahil olduğunu ileri sürmektedir (29), (91).

Yaptığımız IHK çalışmalarında da özellikle TGF-Beta3'ün plasental yataktaki desidual hücrelerde arttığı gözlemlenmiş ve bu artan protein miktarının da göç olayını inhibe edici bir faktör olduğu düşünülmüştür. Ancak bu konu ile ilgili yapılan TGF-beta 3 çalışmalarında tam bir fikir birliğine varılamamıştır (2), (15), (16).

Yapılan farklı çalışmalarda, TGF Beta'nın her 3 izoformuyla ilgili birbirinden bağımsız ve çok farklı sonuçlar bulunmuştur. TGF- β 1'in insan endometriyal stromal hücreleri de dahil birçok hücre tipinde otoindüktif olduğu ve diğer büyüme faktörleri tarafından etkilendiği bilinmektedir (77). Yapılan bir çalışmada preeklampitik gebelerin plazmalarında ve plasental dokularında sağlıklı ile kıyaslandığında belirgin bir TGF- β 1 artışı görülmüştür. Bu da çalışmayı yapanların, TGF Beta süperailisi üyelerinin trofoblastların istilacı bir fenotipe farklılaşmasını inhibe ederek, preeklampsi patogenezinin dahil olabileceğini öne sürmelerini sağlamıştır (26). Bu çalışmayı destekleyen başka bir çalışmada da preeklampitik olgularda plasentada TGF- β 1'in ve TGF- β 3'ün arttığı gösterilmiştir (13), (14). Fakat farklı iki çalışmada ise TGF- β 'nın her 3 izoformunun da preeklampitik plasentada ve plasental yatakta bir ekspresyon değişikliği göstermediği ileri sürülmüştür (15), (16). Yine başka bir çalışmada ise TGF-

$\beta 1$ ve TGF- $\beta 2$ 'nin trofoblast istilasında rolü olduğu ancak TGF- $\beta 3$ 'ün bu olayla bir bağlantısı olmadığı öne sürülmüştür (2). Bunun aksine başka bir çalışmada ise TGF- $\beta 3$ 'ün preeklampitik plasentalarda fazla eksprese olduğu bulunmuş ve bunun preeklampsideki yüzeyel istila ile bağlantılı olabileceği öne sürülmüştür (15). TGF- $\beta 1$ 'in preeklampsili ve normal gebeliklerde herhangi bir boyanma göstermediği ve hem villusda hem de ekstrasvillöz trofoblastlarda belirgin bir plasental TGF- $\beta 1$ üretiminin olmadığı söylenmiştir. Yapılan bir çalışmada, sağlıklı ve preeklampsili gebelerde serumda ve plasental dokuda TGF- $\beta 1$ 'e bakılmış ve iki sonucun birbirine paralel olduğu görülmüştür. Hastaların kan basınçları oranları ile ekspresyon oranları da karşılaştırılmıştır. Fakat TGF- $\beta 1$ 'in herhangi bir değişiklik göstermemesi, preeklampsideki hipertansiyonun TGF- $\beta 1$ ile bir bağlantısı olmadığını öne sürmelerini sağlamıştır. Çalışmada TGF- $\beta 1$ 'in preeklampsideki hipertansiyon ve endotel disfonksiyonu ile alakası olmadığı söylenmiştir (89). Görüldüğü gibi preeklampside TGF-Beta izoformları ile yapılan çalışmalarda tam bir fikir birliğine varılamamıştır. Bizim sonuçlarımızda da TGF- $\beta 1$ 'in kontrol grubumuzda ve preeklampsili grubumuzda bir ekspresyon farkı göstermemesi bu proteinin preeklampsi patogenezi ile bir alakası olmadığını düşünmemizi sağlamıştır. Bu düşüncemizi destekleyen yukarıda açıklanan başka çalışmalar da mevcuttur (15), (16), (89). TGF-Beta2 ile yapılan çalışmalar diğer izoformlar ile yapılan çalışmalara göre daha azdır. Bu sebeple kendi bulgularımız doğrultusunda, TGF-Beta2'nin preeklampsili plasentada artması sonucu, bu proteinin de tıpkı TGF-Beta3 gibi preeklampsi patogeneze dahil olabileceğini düşündürmüştür. Bulgularımız TGF- $\beta 1$ ve TGF- $\beta 3$ 'ün aksine, TGF- $\beta 2$ 'nin 3. trimester plasentadaki esas izoformu olduğunu desteklemektedir. Bu düşüncemizi destekleyen bir çalışma da mevcuttur (16).

Preeklampsili plasentada TGF- $\beta 3$ 'ün aşırı ekspresyonun önlenmesi, istilacı özelliklerini tekrar kazandırır ve bu da TGF- $\beta 3$ 'ün preeklampsi patogenezinde rolü olduğunu destekler (21). İnflamatuar sitokinler içerisinde, preeklampitik plasentalarda TGF- $\beta 3$ aşırı eksprese edilmiştir ve bunun villöz eksplant kültürlerinde antisense oligonükleotidler kullanılarak inhibisyonu, trofoblast hücrelerinin istilacı yeteneklerini geri kazanmasını sağlamıştır. Böylece TGF- $\beta 3$ 'ün aşırı ekspresyonu, preeklampside ifade edilen yüzeyel plasental istilasına sebep olan nedenlerden birine dahil olabilmektedir (15). Biz ise TGF-Beta3 çalışmalarımızda preeklampsi olgularımızda

kontrol gruba göre plasental koryon villuslarda yer yer artış gözlememize rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi, plasental yatak çalışmalarımızda ise TGF-Beta3 değerlerinde anlamlı bir artış gözledik.

Bulgularımız hafif ve ağır preeklampsi olgularımızda, plasental yatakta sitotrofoblast göçünün engellendiğini ve damar duvarında onların yerini düz kas istilasına uğrayarak müsküler bir kalınlaşmanın aldığını ve bu durumun da preeklampsili gebelerdeki hipertansiyona ve preeklampsi patogenezinin neden olabileceğini, görülen bu patolojik değişikliklerden de özellikle TGF-Beta2 ve TGF-Beta3'ün sorumlu olabileceğini, koryon villuslarında ise hafif ve ağır preeklampsi olgularımızda giderek azalan mikrovillinin, endositotik vesiküller ile fazlaca genişlemiş iri vakuollerin sinsisyotrofoblastlarda azalan bir endositotik aktivitenin oluştuğunu, kalınlaşmış bazal membran görüntüleri ile sinsisyotrofoblastların altında sıklıkla rastlanan sitotrofoblast hücre gövdesi ve ince uzun uzantılarının ve bunun yanında stromada artan fibroblastik aktivite neticesi oluşan kollajen lif yoğunluğu artışının da plasental bariyerdeki madde geçişini büyük ölçüde engelleyerek böyle bir fonksiyon değişikliğini düzenlediğini ve koryon villus patogenezinde gelişen bu değişikliklerden de TGF-Beta1 ve TGF-Beta3'den ziyade azalan TGF-Beta2'nin etkili olduğunu desteklemektedir. Bu bulgularımız bize gelecek çalışmalarımız için şu soruları düşündürmüştür; Trofoblastik göçü engelleme yeteneği olan ve kollajen sentezini arttıran TGF-Beta3'ün maternal tarafta azaltılması preeklampsi için bir klinik iyileştirme olabilir mi? Dolayısıyla TGF-Beta3 inhibisyonu tedavi edici bir etken olabilir mi?

6. KAYNAKÇA

1. **Sibai, B, Dekker, G ve Kupferminc, M.** *Pre-eclampsia*. s.l. : Lancet, 2005.
2. *Eclampsia and pre-eclampsia: a health problem for 2000 years.* **Villar, K ve ark.** [dÜ.] Critchley H et al. London : RCOG Press, 2003, Preeclampsia, s. 189-207.
3. *Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia.* **Sibai, BM.** 2003, Obstet Gynecol, s. 102:181–192.
4. *Molecular aspects of preeclampsia.* **Mohaupt.** 2007, Mol Aspects Med, s. 28(2):169-91.
5. *Eclampsia: A 13-year experience at a United States tertiary care center.* **Mahmoudi, N ve ark.** 1999, J Womens Health Gender Based Med, s. 8:495-500.
6. *Mechanisms of Disease: pre-eclapmsia.* **Noris, M, Perico, N ve Remuzzi, G.** 2006, Nature Clinical Practice Nephrology, s. 1:98-114.
7. *Report on High Blood Pressure in Pregnancy.* **National High Blood Pressure Education Program Working Group.** 1990, Am J Obstet Gynecol, s. 163(5 Pt 1):1691-712.
8. *Pre-eclampsia: Clinical Manifestations and Molecular Mechanisms.* **Baumwell, S ve Karumanchi, A.** 2007, Nephron Clin Pract, s. 106(2):c72-81.
9. *Preeclampsia recurrence and prevention.* **Dildy, GA, Belfort, MA ve Smulian, JC.** 2007, Semin Perinatol, s. 31(3):135-41.
10. **Lyall, F ve Belfort, M.** *Pre-eclampsia: Etiology and Clinical Practice.* s.l. : Cambridge University Press, 2007.
11. **Madazlı, R.** *Plasenta.* [dÜ.] Rıza Madazlı. s.l. : Nobel Tıp Kitabevleri, 2008. 978-975-420-631-9.
12. **Gartner, Leslie P. ve Hiatt, James L.** *Color Textbook of Histology.* 2nd. s.l. : Elsevier, 2001. 0-7216-8806-3.
13. *Expression of transforming growth factor-beta 1, vascular cell adhesion molecule-1 and endothelium-selectin in placenta of patients with pre-eclampsia.* **Wang, Y, et al.** 2006, Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, s. 41(8):514-7.
14. *Effective prediction of preeclampsia by a combined ratio of angiogenesis-related factors.* **Lim, JH, et al.** 2008, Obstet Gynecol, s. 111(6):1403-9.

15. *Placental Overexpression of Transforming Growth Factor Beta-3 in the HELLP Syndrome.* **Emanuelli, M, Giannubilo, SR ve Landi, B ve ark.** 1-5, Ancona, Italy : Gynecol Obstet Invest, 2008, Gynecol Obstet Invest, Cilt 65, s. 65:1–5.
16. *Transforming growth factor-beta expression in human placenta and placental bed in third trimester normal pregnancy, preeclampsia, and fetal growth restriction.* **Lyall, F, et al.** 2001, Am J Pathol, s. 159(5):1827-38.
17. *Expression of TGF beta in the placental bed is not altered in sporadic miscarriage.* **Ball, E ve ark.** 2007, Placenta, s. 28(8-9):965-971. 10.1016/j.placenta.2007.03.004.
18. *Fetal vasculogenesis and angiogenesis in human placental villi.* **Demir, R, Kaufmann, P ve Casstelluci, M.** 1989, Acta Anal, s. 136:190-203.
19. *Expression of insulin-like growth factor binding protein-1 in the placental basal plate from pre-eclamptic pregnancies.* **J.C. Shin, J.H. Lee, D.E. Yang, H.B. Moon, J.G. Rha, S.P. Kim.** Issue 3, s.l. : International Journal of Gynecology & Obstetrics,, 2003 June, Cilt Volume 81. 273-280.
20. *The Human Placenta: its shape, form, origin, and development.* **Torpin R, Thomas.** Springfield, IL : s.n., 1969.
21. *TGF-beta superfamily expression and actions in the endometrium and placenta, Society for Reproduction and Fertility 1470-1626(paper) 1741-7899.* **Jones, R, et al.** 2006, Reproduction, s. 132(2):177-8.
22. *Transforming growth factor-beta 1 in the human endometrium.* **Polli, V, Bulletti, C ve Galassi, A ve ark.** 1996, Gynecological Endocrinology, s. 10:297–302.
23. *Increased cranial capacity in hominid evolution and preeclampsia.* **Chaline, J. 2,** 2003, J Reprod Immunol, Cilt 59, s. 137-52.
24. *Development of the placenta and its circulation.* **Kaufmann, P. ve Kingdom, J.** London : s.n., 1999, Fetal Medicine, s. 93-110.
25. *Expression of inhibins, activins, IGF-I and steroidogenic enzymes in the equine placenta.* **Arai KY, Tanaka Y, Taniyama H, Tsunoda N, Nambo Y, Nagamine N, Watanabe G, Taya K.** s.l. : Domest Anim Endocrinol., 2006 Jul, Cilt 31(1):19-34.
26. *Plasma and placental levels of Interleukin-10, Transforming growth factor beta 1 and Epithelial-Cadherin in preeclampsia.* **Benian, A, et al.** 2002, Obstet Gynecol, s. 100(2):327-31.
27. *Insulin-like growth factor binding protein-1 at the maternal-fetal interface and insulin-like growth factor-1, insulin like growth factor binding protein -1 in the*

- circulation of women with severe preeclampsia. Giudice, L, et al.* 1997, American Journal of Obstetrics & Gynecology, s. 176(4):751-758.
28. *Increased expression of transforming growth factor beta isoforms and basic fibroblast growth factor in complex hyperplasia and adenocarcinoma of the endometrium: evidence for paracrine and autocrine action. Gold, LI, Saxena, B ve Mittal, KR ve ark.* 1994, Advances in Cancer Research, s. 54:2347–2358.
29. *A deficiency of interleukin-10 in preeclampsia. Hennessy A, Simmons L, Pilmore HP, Painter DM.* 3491–5, s.l. : J. Immunol., 1999, Cilt 361.
30. *Expression of HLA class I molecules in human first trimester and term placenta trophoblast. Hutter H, Hammer A, Blaschitz A, Hartmann M, Ebbesen P, Dohr G, Ziegler A, Uchanska-Ziegler B.* 439-47, s.l. : Cell Tissue Res., 1996 Dec, Cilt 286(3).
31. **Bowen, RA, Austgen, L ve Rouge, M.** Pathophysiology of the reproductive system. *Biomedical Hypertexts.* [Çevrimiçi] 2006. <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/placenta/structure.html>.
32. **H. Kayalı, G.Şatıroğlu M.Taşıyürekli.** *İnsan embriyolojisi 6.Baskı.* İstanbul : Evrim Basım Yayım Dağıtım, 1989.
33. **Benirschke, K, Kaufmann, P ve Baerge, R.** *Pathology of the human Placenta.* s.l. : Springer, 2006. 10.1007/0-387-26742-5_2.
34. **Moore ve Persaud.** *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology.* 7th. s.l. : Elsevier, 2003. 0-7216-9412-8.
35. *Placental oxidative stress: From miscarriage to preeclampsia. Burton, G ve Jauniaux, E.* 2004, Journal of the Society for Gynecologic Investigation, s. 11(6):342-352.
36. *The fetal vascularisation of term human placental villi. II intermedier and terminal villi. Kaufmann, P ve ark.* Berlin-Heidelberg : Springer, 1985, Journal Anatomy and Embryology, s. 173:71-80.
37. **Seçkin, İ ve ark.** *Embriyoloji Ders Kitabı.* s.l. : İstanbul Üniversitesi Yayın, 2008. No: 4797. 978-975-404-830-8.
38. *Isolation of macrophages (Hofbauer cells) from human term placenta and their prostaglandin E2 and thromboxane production. Wetzka, B, et al.* 1997, Human Reproduction, s. 12(4):847-852.

39. *Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate, A strategy for successful endovascular invasion?* **Zhou, Y., et al.** 1997, Journal of Clinical Investigation, Cilt 99, s. 2139–2151.
40. *Placental barrier breakage in preeclampsia: ultrastructural evidence.* **de Luca Brunori, I., et al.** 2005, European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, Cilt 118, s. 182–189.
41. *Ultrastructure of the normal human placenta.* **Jones, CJP ve Fox, H.** 1991, Electron Microsc Rev, Cilt 4, s. 129–78.
42. *Trophoblastic oxidative stress in relation to temporal and regional differences in maternal placental blood flow in normal and abnormal early pregnancies.* **Jauniaux, E, et al.** 2003, American Journal of Pathology, s. 162:115-125.
43. *Vascular biology in implantation and placentation.* **Hupberts, B ve Peeters, LLH.** 2005, Angiogenesis, s. 8:157-167.
44. *Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy - A Review.* **Lyall, F.** 2005, Placenta, , s. 19:26-34.
45. *The human placental bed revisited Placenta.* **Lyall, F.** 2002, s. 23:555–562.
46. *Natural killer cells and pregnancy.* **Moffett-King, Ashley.** 656-663, s.l. : Nature Reviews Immunology , 2002, September, Cilt 2.
47. *Trophoblast invasion in pre-eclampsia and other pregnancy disorders.* **Pijnenborg, R, et al.** s.l. : Cambridge University Press, 2007, Pre-eclampsia - etiology and clinical practice, s. 3-19. 978-0-521-83189-5.
48. *The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy.* **Brosens, I, Robertson, WB ve Dixon, HG.** 1967, J Pathol Bacteriol, s. 93:569–579.
49. *Trophoblastic invasion and modification of uterine veins during placental development macaques.* **Blankenship, TN, Enders, AC ve King, BF.** 1993, Cell Tissue Res, s. 274:135–244.
50. *Are human placental bed giant cells merely aggregates of small mononuclear trophoblast cells? An ultrastructural and immunocytochemical study.* **Al-Lamki, RS, Skepper, JN ve Burton, GJ.** 1999, Human Reproduction, s. 496-504.
51. *Normal nonmetastatic human trophoblast cells share in vitro invasive properties of malignant cells.* **Yagel, S, et al.** 1988, J Cell Physiol, s. 136:455-462.

52. *Resistance of malignant trophoblast cells to both the anti-proliferative and anti-invasive effects of transforming growth factor-beta.* **Graham, CH, Connelly, I ve MacDougall, JR ve ark.** 1994, Exp Cell Res, s. 214:94-99.
53. *Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic women.* **Reister, F, Frank, HG ve Kingdom, JC ve ark.** 2001, Lab Invest, s. 81:1143-1152.
54. *An anthropological perspective on the evolutionary context of preeclampsia in humans.* **Rosenberg, KR ve Trevathan, WR.** 2007, J Reprod Immunol, s. 76(1-2):91-7.
55. *Expression of insulin-like growth factor-II and insulin-like growth factor binding protein-1 in the placental basal plate from pre-eclamptic pregnancies.* **J.H. Lee, D.E. Yang, H.B. Moon, J.G. Rha, S.P. Kim.** 3, s.l. : J Gynecology and Obstetrics, 2003 June, Cilt Volume 81. 273-280.
56. *Report on High Pressure in Pregnancy.* **National High Blood Pressure Education Program Working Group.** 2000, Am J Obstet Gynecol, s. 183(1):S1-S22.
57. *Blood pressure measurement and classification in pregnancy.* **Higgins ve Swiet.** 2001, Lancet, s. 357(9250):131-5.
58. *The role of immune system in preeclampsia.* **Saito, S, Shiozaki, A ve Nakashima, A ve ark.** 2007, Mol Aspec Med, s. 28(2):192-209.
59. *Association of pregnancy-induced-hypertension, pre-eclampsia, and eclampsia with duration of sexual cohabitation before conception.* **Robillard, PY ve Hulsey, TC.** 1996, Lancet, s. 347(9001):619.
60. *Magnesium sulfate prophylaxis in preeclampsia: evidence from randomized trials.* **Sibai, BM.** 2005, Clin Obstet Gynecol, s. 48(2):478-88.
61. *Maternal body mass index and the risk of preeclampsia: a systematic overview.* **O'Brien, TE, Ray, JG ve Chan, WS.** 2004, Epidemiology, s. 15(2):252-3.
62. *Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies.* **Duckitt, K ve Harrington, D.** 2005, BMJ, s. 330(7491):549-50.
63. *Hypertension in pregnancy.* **F Soydemir, L Kenny.** s.l. : Elsevier, 2006, Current Obstetrics & Gynaecology, s. 16(6):315-320.
64. *Preeclamptic nephropathy. An electron microscopic study.* **Mautner, W ve ark.** 1962, Lab Invest, s. 11:518-30.

65. *Pathology and pathophysiology of preeclampsia: Alterations in volume homeostasis.* **Gallery, E ve Lindheimer, M.** [dö.] M ve ark Lindheimer. 1999, Hypertensive Disorders in Pregnancy, s. 327–347.
66. *Hemodynamic changes in pregnancy.* **McLaughlin, MK ve Roberts, JM.** 1999, Hypertensive Disorders in Pregnancy, s. 92-95.
67. *Uric acid and endogenous creatinine clearance studies in normal pregnancy and toxemias of pregnancy.* **Hayashi, T.** 1956, Am J Obstet Gynecol, s. 71:859–870.
68. *Hepatic infarction in preeclampsia as part of the HELLP syndrome: CT appearance.* **Zissin, R ve ark.** 1999, Abdom Imaging, s. 24:594–596.
69. *Reversible intracerebral pathologic entities mediated by vascular autoregulatory dysfunction.* **Port, J ve Beauchamp, NJ.** 1998, Radiographics, s. 18:353–367.
70. *Markers for endothelial injury, clotting and platelet activation in preeclampsia.* **Saleh, A ve ark.** 1992, Arch Gynecol Obstet, s. 251:105–110.
71. *Evidence of accelerated platelet production and consumption in non thrombocytopenic preeclampsia.* **Stubbs, T ve ark.** 1986, Am J Obstet Gynecol, s. 155:263–265.
72. *The preeclampsia community guideline (PRE-COG): how to screen for and detect onset of preeclampsia in the community.* **Milne, F, Redman, C ve Walker, J ve ark.** 2005, BMJ, s. 576-580.
73. *Chitotriosidase and YKL-40 in normal and pre-eclamptic pregnancies.* **Madazlı, R, et al.** 2008, International Journal of Gynecology and Obstetrics, s. 100(3):239.
74. *Lipid peroxidation and antioxidants in preeclampsia.* **Madazlı, R, Benian, A ve Gümüştas, K ve ark.** 1999, Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, s. 85:205-208.
75. **Alberts, Bruce, et al.** *Molecular Biology of the Cell.* New York and London : Garland Science, 2002.
76. **Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson D.J.** *Molecular Biology of the Cell, 3rd Edition.* New York, USA : Garland Publisher, 1994.
77. *Transforming growth factor beta and the endometrium.* **Godkin, JD ve Dore, JJ.** 1998, Reviews of Reproduction, s. 3:1-6.
78. *Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: biosynthesis, secretion and roles in establishment of pregnancy in women.* **Bowen, JM, et al.** 2002, Placenta, s. 23:239-256.

79. *Localization of transforming growth factor-beta at the human fetal-maternal interface: Role in trophoblast growth and differentiation.* **Graham, CH, et al.** 1992, Biol Reprod, s. 46:561-572.
80. *Immunohistochemical localization of transforming growth factor beta in human implantation sites.* **Selick, C, Horowitz, G ve Gratch, M.** 1994, J Clin Endocrinol Metab, s. 78:592-596.
81. *Transforming growth factor-beta 1 expression during placental development.* **Dungy, LJ, Siddiqi, TA ve Khan, S.** 1991, Am J Obstet Gynecol, s. 165:853-857.
82. *Soluble mediators and cytokines produced by human CD3-leucocyte clones from decidualised endometrium.* **Deniz, G, Christmas, SE ve Johnson, PM.** 1996, Immunology, s. 87:92-98.
83. *Differential gene expression of TGF-beta isoforms and TGF-beta receptors during the first trimester of pregnancy and at the human maternal-fetal interface.* **Ando, N, Hirahara, F ve Fukushima, J ve ark.** 1998, Am. J. Reprod. Immunol, s. 40:48-56.
84. *Regulation of NK cell functions by TGF-beta1.* **Bellone, G, Aste-Amerzaga, M ve Trinchieri, G ve ark.** 1995, J Immunol, s. 155:1066-73.
85. *Latent transforming growth factor beta 1 associates to fibroblast extracellular matrix via latent TGF-binding protein.* **Taipale, J, et al.** 1994, J Cell Biol, s. 124:171-181.
86. *Placental barrier breakage in preeclampsia: ultrastructural evidence.* **I. de Luca Brunoria, L. Battinic, E. Brunoric, P. Lenzic, A. Paparelli.** 182-189, s.l. : European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2005, Cilt 118.
87. *Correlation between placental bed biopsy findings, vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) and fibronectin levels in preeclampsia and fetal growth restriction.* **Madazli R., Somunkiran A., Calay Z., Aksu M.F.** 107, s.l. : BJOG, 2000. 514-518.
88. *Morphological changes of the spiral arteries in the placental bed in relation to preeclampsia and fetal growth retardation.* **Gerretsen O, Huisjes HJ, Elema JD.,** 88:876-881, s.l. : Br J Obstet Gynaecol, 1981.
89. *Transforming growth factor beta 1 does not relate to hypertension in pre-eclampsia.* **Hennessy A., Orange S., Willis N., Painter M.D., Child A., Horvath S.J.** 29, s.l. : Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 2002. 968-971.
90. *The Role of Growth Factors and Cytokines.* **Güzeloğlu-Kayışlı Ö., Kayışlı Ü.A., Taylor S.H.** 1, s.l. : Seminars in reproductive medicine, 2009, Cilt 27.

91. *TNF_α concentration and mRNA expression are increased in preeclamptic placentas*. **Wang Y, Walsh SW.** 157-69, s.l. : J. Reprod. Immunol., 1996, Cilt 32.
92. *A distinct cohort of the TGF Beta superfamily members expressed in human endometrium regulate decidualization*. **Stoikos J.C., Harrison A.C., Salamonsen A.L., Dimitriadis E.** 6, s.l. : Human Reproduction, 2008, Cilt 23. 1447-1456.
93. *Microvessel density in the placental bed among preeclampsia patient*. **Coelho, TM, et al.** 2006, Sao Paulo Med J, s. 124(2):96-100.

FORMLAR

Bilgilendirilmiş Gönüllü Onay Formu

Yapacağımız yüksek lisans tez çalışmasında sezaryen doğumlarda gönüllü vericilerden alınacak olan plasenta ve plasenta yatak parçaları kullanılacaktır. Plasenta ve plasenta yatak parçaları alınırken vericilere hiçbir şekilde farklı cerrahi bir müdahalede bulunulmayacaktır. Bu nedenle çalışmamızın neden olacağı herhangi bir hastalık riski veya hayati tehlike bulunmamaktadır. Gönüllü vericiden ve bağlı olduğu sosyal sağlık kurumundan hiçbir şekilde maddi talepte bulunulmayacaktır.

Gönüllü vericilerden alınacak plasenta ve plasenta yatak parçalarında hastalıklarının ağırlığına göre TGF- β 1, 2 ve 3 izoformlarının ekspresyonlarının değerlendirilmesini immunohistokimyasal yöntemle yapacağız. Elektron ve ışık mikroskop ile de alınan parçaların yapılarında bir değişim olup olmadığını araştıracağız. Alınan parçalar ile tamamen etik kurallar çerçevesinde bir çalışma yürütülecek olup başka amaçlar için kullanılmayacaktır. Çalışmamıza dahil olacak gönüllülerin, hastaneden önceden yapılmış kan ve idrar test sonuçlarının kopyaları da alınacaktır.

Vericiler izin belgesini imzalamış olsalar dahi, çalışmanın herhangi bir evresinde izinlerini iptal etme hakkına sahiptirler.

Bilgilendirilmiş Gönüllü olur Formundaki tüm açıklamaları okudum, dinledim, anladım. İstediğim soruları sordum ve cevaplarını aldım. Bu klinik araştırmaya gönüllü olarak hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Hastanın Adı-Soyadı:

İmzası:

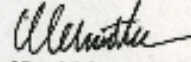
Tarih

Araştırmacının Adı-Soyadı: Bio. Tuğçe Sevgi ERTEKİN

İmzası:

Tarih:

ETİK KURUL KARARI

	T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI	
Sayı: 27041	Tıbbi Tıp Bilimleri Bölümü Başkanlığına	09 Ekim 2007 İstanbul : ...
Konu: İLGİ:07.09.2007 tarihli,629 sayılı yazınıza:		
Bölgemünüze bağlı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.İSMAIL SEÇKİN'in danışmanlığında Yüksek Lisans Öğr.TUĞÇE SEVGİ ERTEKİN'in yürüteceği "Hafif Preeklampsili ve Şiddetli Preeklampsili Gebelerin Plasente ve Placenta Yataklarında TGF BETA 1, 2 ve 3 İzofomlarının Ekspresyonları ve Ultrastrüktürel Yapılarının İncelenmesi" başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri 18 Eylül 2007 tarihinde toplanan Fakültemiz Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.		
Bilgilerinizi durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini saygılarımla rica ederim.		
EKİ: 1 dosya	 Prof.Dr. Mehmet YILDIRIM Dekan Yardımcısı ve Etik Kurul Başkanı	
C. Saydınaz Eylül 2007 S. SİPAHIOĞLU		
Not: Yanıtlarda yazınızın göp sayısına belirtilmesi rica olunur. Tel:(0212)4143000		

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları
Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Sayı : B.104.İSM.4340014/ 6330
Konu :

02 Ekim 2007

Bio.Tuğçe Sevgi ERTEKİN

Hastanemizde yapılması planlanan 01/10/2007 tarih ve 9872 Etik No:45 sayılı
"Hafif preeklampsili ve şiddetli preeklampsili gebelerin placentası ve placentası yataklarında
TGF Beta 1,2 ve 3 izoformlarının ekspresyonları ve ultrastrüktürel yapılarının
incelenmesi" konulu çalışmanız etik kurulumuzca değerlendirilmiş olup, çalışmanın
başlatılması etik kurulumuzca uygun görülmüştür.

Bilgilerinize rica ederiz.

Doç.Dr.Aysenur Celayir
Başhekim V.
Etik Kurul Başkanı

Doç.Dr.Atilla Karaalp
Farmakolog

Doç.Dr.Zeki Şahinoğlu
Kadın Hast.ve Doğ.Uzmanı
Üye

Op.Dr.Vedat Dayıcioğlu
Kadın Hast.ve Doğ.Kl.Şefi
Üye
(Katılmadı)

Doç.Dr.Aysu Say
Çocuk Sağ.ve Hast.Kl.Şefi
Üye

Uzm.Dr.Ayşen Özkoral
Biyokimya Uzmanı
Üye

Dr.Suna Cesur
Patoloji Uzmanı
Üye

Ecz.Ayhan Altanlar
Başeczacı
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Tuğçe Sevgi	Soyadı	ERTEKİN
Doğ.Yeri	Ankara	Doğ.Tar.	23.06.1983
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	40570297622
Email	tugcesevgi@hotmail.com	Tel	0535 329 16 86

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi-Histoloji ve Embriyoloji AbD.	2009
Lisans	İ.Ü. Fen Fakültesi- Biyoloji	2006
Lise	Özel Eyüboğlu Lisesi	2001

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	80	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	75.73	75.94	76.39

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi
Adobe Photoshop	Orta

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):