



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DICLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**PREEKLAMPTİK GEBELERİN PLASENTALARINDA
sFlt-1 VE VEGF EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Fırat ŞAHİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Murat AKKUŞ

DİYARBAKIR

2018



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**PREEKLAMPTİK GEBELERİN PLASENTALARINDA
sFlt-1 VE VEGF EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Fırat ŞAHİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Murat AKKUŞ

DİYARBAKIR

2018



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji ve Embriyoloji** Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Fırat ŞAHİN**'in hazırladığı “**Preeklampitik Gebelerin Plasentalarında sFlt-1 ve VEGF Ekspresyonunun Değerlendirilmesi**” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 26/ 06 /2018

Danışman Prof. Dr. Murat AKKUŞ

Jüri Üyeleri

Jüri Başkanı Prof. Dr. Murat AKKUŞ

Üye Prof. Dr. Enver OZAN

Üye Prof. Dr. Yusuf NERGİZ

Üye Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Üye Prof. Dr. Engin DEVECİ

İmza

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28/06/2018 tarih ve 17/8 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

28/06/2018

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü





TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DICLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki 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 davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

22/05/2018

Fırat ŞAHİN

İmza

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Murat AKKUŞ'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum. Yine çalışmamda konu, kaynak ve yöntem açısından bana sürekli yardımda bulunarak yol gösteren Histoloji ve Embriyolojinin diğer öğretim üyeleri Prof. Dr. Yusuf NERGİZ'e, Prof. Dr. Engin DEVECİ'ye, Doç. Dr. Ayfer AKTAŞ'a, Doç. Dr. Sevda SÖKER'e, Doç. Dr. Selçuk TUNİK'e ve Doç. Dr. Cenap EKİNCİ'ye ve Doç. Dr. Elif AĞAÇAYAK'a

Lisansüstü eğitim sürecinde tanımaktan onur duyduğum her zaman yanımda olan ve beni destekleyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri çok değerli kardeşim Araştırma Görevlisi Dr. Fırat AŞIR ve Hocam Dr. Ayşegül PALA'ya, Tez çalışmalarında benden her türlü desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Uğur ŞEKER'e,

Ayrıca tezime katlılarında dolayı Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne (DÜBAP) ve Sağlık Bilimleri Enstitüsüne,

Hayatım boyunca hep yanımda olan ve varlıklarını her zaman hissettiğim, maddi manevi her açıdan desteklerini esirgemeyen başta Annem olmak üzere tüm aile bireylerime ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığınca

17.015 numaralı proje ile desteklenmiştir

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

BEYAN	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
RESİMLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	ix
1.1 TÜRKÇE ÖZET	1
1.2 ABSTRACT	3
2 GİRİŞ ve AMAÇ.....	5
3 GENEL BİLGİLER	7
3.1 Plasenta	7
3.1.1 Giriş ve tanım	7
3.1.2 Plasentanın gelişimi.....	7
3.1.3 Plasentanın yapısı	14
3.1.4 Plasental kan dolaşımı	15
3.1.5 Plasentanın görevleri	16
3.1.6 Plasentada vaskülogenez ve anjiyogenez	16
3.2 Preeklampsi.....	18
3.2.1 Giriş ve tanımı	18
3.2.2 Preeklampside etiyoloji ve patogenez	18
3.3 Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF).....	19
3.4 Soluble Fms-Benzeri Trozin Kinaz-1 (sFlt-1).....	20
4 GEREÇ VE YÖNTEM	21
4.1 Plasentaların Elde Edilmesi	21
4.2 Işık Mikroskopik İnceleme İçin Dokuların Takibi	21
4.3 Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü	22
4.4 Periyodik Asit Schiff Kiti Boyama Protokolü	22
4.5 VEGF İmmun Boyama Yöntemi	24
4.6 sFlt-1 İmmun Boyama Yöntemi	25
4.7 İstatistiksel Yöntem	26

5	BULGULAR	27
5.1	İstatistiksel bulgular	27
5.2	Histokimyasal bulgular	31
5.2.1	Hematoksilen ve Eozin boyama bulguları	32
5.2.2	Periyodik Asit Schiff boyama bulguları	36
5.3	İmmunohistokimyasal Bulgular	38
5.3.1	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) İmmun Boyanan Kesitlerde Saptanan Bulgular	38
5.3.2	Soluble Fms-Benzeri Tirozin Kinaz-1(sFlt-1) İmmun Boyanan Kesitlerde Saptanan Bulgular	41
6	TARTIŞMA.....	44
7	SONUÇ.....	50
8	KAYNAKLAR.....	51
9	ÖZGEÇMİŞ.....	57
10	EKLER.....	59
10.1	Etik kurul onayı.....	59
10.2	Gönüllü onay formu	60
11	ORJİNALLİK RAPORU	61

KISALTMALAR VE SİMGELER

sFlt-1	:	Soluble Fms Benzeri Tirozin Kinaz-1
HELLP	:	Hemoliz, Karaciğer enzim yüksekliği, düşük trombosit
VEGF	:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
HCG	:	İnsan Koryonik Gonadotropini
PIGF	:	Plasental Büyüme Faktörü
kDa	:	Kilodalton
cDNA	:	Komplementer DNA
Gr	:	Gram
Kg	:	Kilogram
VPF	:	Vasküler permeabilite faktörü
VEGFR-1	:	VEGF reseptör-1
H-E	:	Hematoksilen ve Eozin
PAS	:	Periyodik Asit Schiff

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: İnsan erkek ve dişi üreme hücreleri olan sperm ve oositin döllenmesinin aşamaları (12).....	7
Şekil 2: Fertilizasyondan, geç dönem blastosiste kadar oluşan yapılar (12).....	8
Şekil 3: Trofoblast hücrelerinin proliferasyonu sonucu oluşan Sitotrofoblast ve Sinsitiyotrofoblastların genel görünümü (12).....	9
Şekil 4: Sinsitiyotrofoblastların içerisinde görülen lakünaların ve maternal kanın görünümü (12).....	10
Şekil 5: Lakünaların ve kapiller damar endotelinin birleşmesiyle lakünalar içine maternal kanın geçişi görülmektedir (12).....	10
Şekil 6: Plasental villusların gelişimi (22). C: Sitotrofoblast, S: Sinsitiyotrofoblast, M: Mezenkim, BV: Fetal Kan Damarı.	11
Şekil 7: Gelişimin 3. haftasında tersiyer villusların ve fetüsün genel görünümü. Villöz kapillerle koryon plağı ve bağlantı sapında bulunan kapiller damarlar ile intraembriyonik damarlarla olan ilişkileri.	12
Şekil 8: Koryon villuslarının gömüldüğü yüz olan plasentanın fetal yüzü ve desidua bazalisin bulunduğu maternal yüz ve birlikteliklerinden oluşan plasentanın 4. haftadaki genel görünümü.	13
Şekil 9: Full-term plasentanın göbek kordonu ile beraber şematik görünümü (12).....	13
Şekil 10: Plasentada vaskülogenez ve anjiyogenez (28).....	17
Şekil 11: VEGF ve sFlt-1 pozitif ekspresyonun gruplara göre dağılımının grafiksel gösterimi.	30
Şekil 12: Bazal membran kalınlığının gruplara göre dağılımının grafiksel gösterimi.....	30

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: PAS boyaması.	23
Resim 2: Kontrol grubu plasentanın fetal komponenti. Normal dağılım ve görüntü izlenen villus yapıları (v), intervillöz alan (iv), Sitotrofoblastlar (ok), Sinsitiyotrofoblast (ok başı), Villus stroması (vs), Hoffbauerhücreleri (*), Kapillerler (K) izlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50µm).	32
Resim 3: Kontrol grubu plasentanın maternal komponenti. Normal dağılım ve görüntü izlenen villus yapıları (v), intervillöz alan (iv), Sitotrofoblastlar (ok), Sinsitiyotrofoblast (ok başı), Villus stroması (vs), Hoffbauer hücreleri (*), Kapillerler (K) izlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50µm).	33
Resim 4: Preeklampitik plasentaya ait fetal komponentin genel görünümü. Sinsityal düğüm (STD) ve köprülerde artış (KP) ayrıca fibronoid artışı (FB), intervillöz alanda yoğun kan odakları (*), bol miktarda dilate villöz kapiller (K), villus stromasında vakuoler yapılanmalar (ok), sinsitiyotrofoblastlarda yer yer hipetrofi (ok başı) Boyama: H&E, Bar: 50µm).	34
Resim 5: Preeklampitik plasentaya ait maternal komponentin genel görünümü. Terminal villuslarda anormal çapta değişiklikler gözlemlendi. Sinsityal düğümlerde (STD) ve köprülerde artış (KP), vasküler dilatasyon (K), damarlarda yoğun konjesyon (KJ) ve yoğun fibronoid (FB) birikimi gözlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50µm)	35
Resim 6: Kontrol grubu plasentanın fetal komponenti. Kapillerlere ait normal bazal membran görüntüsü (ok) izlenmektedir. (Boyama: PAS, Bar: 20µm).	36
Resim 7: Kontrol grubu plasentanın maternal komponenti. Kontrol maternal kesitlerinde normal bazal membran görüntüsü (ok). (Boyama: PAS, Bar: 20µm).	36
Resim 8: Preeklampsi grubu plasentanın fetal komponent bazal membranı (ok), vasküler dilatasyon (☆) ve fibronoid birikimi (*)izlenmektedir (Boyama: PAS, Bar: 50µm).	37
Resim 9: Preeklampsi grubu plasentanın maternal komponenti. Kapillerlere ait bazal membranda kalınlaşma (ok), vasküler dilatasyon (☆)ve fibronoid birikimi (*) tespit edildi (Boyama: PAS, Bar: 20µm).	37
Resim 10: Kontrol grubu fetal komponentinde VEGF ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı) (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).	38
Resim 11: Kontrol grubu maternal komponentinde VEGF ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı)(Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).	39
Resim 12: Preeklampsi grubu fetal komponentinde VEGF ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı)(Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).	39
Resim 13: Preeklampsi grubu maternal komponentinde VEGF ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı). (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).	40
Resim 14: Preeklampsi fetal komponentine ait VEGF Negatif boyama (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).	40
Resim 15: Kontrol fetal komponentinde sFlt-1 ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı)(Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).	41
Resim 16: Kontrol maternal komponentinde sFlt-1 ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı). (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).	41

Resim 17: Preeklampsi fetal komponentinde sFlt-1 ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelleri (ok başı) (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).	42
Resim 18: Preeklampsi maternal komponentinde sFlt-1 ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelleri (ok başı) (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).	42
Resim 19: Preeklampsi plasentanın maternal komponentine ait sFlt-1 negatif boyama (Boyama: sFlt-1 İmmunohistokimya, Bar:20µm).....	43



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1: Gruplar arası istatistiksel benzerlik tablosu. Sonuçlar Ort. \pm St. Sapma olarak değerlendirilmiştir. $P < 0,05$ istatistiksel yönden anlamlı kabul edilmiştir.	28
Tablo 2: Bazal membran kalınlığının gruplara göre ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri.	28
Tablo 3: VEGF ekspresyonunun gruplara göre ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri.	29
Tablo 4: sFlt-1 ekspresyonunun gruplara göre ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri.	29



Preeklampitik gebelerin plasentalarında sFlt-1 ve VEGF ekspresyonunun değerlendirilmesi

Öğrencinin adı ve soyadı: Fırat ŞAHİN

Danışman: Prof. Dr. Murat AKKUŞ

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

1.1 TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Preeklampsinin majör nedenlerinden biri olan endotel fonksiyon bozukluğunda rol alan sFlt-1 ve VEGF ekspresyonlarının preeklampitik ve normotansif gebepasentalarında histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak araştırılması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: 10 adet preeklampitik ve 10 adet normotansif gebeden toplam 20 tane plasenta toplanarak rutin histolojik doku takibine alındı. 5 mikrometrelik kesitlere Hematoksilen-Eozin ve Periyodik Asit Schiff (PAS) histokimyasal boyamaları yapıldı. VEGF ve sFlt-1 ekspresyonunu göstermek için immunohistokimyasal boyamalar yapıldı. Preparatlar değerlendirilerek resimleri çekildi.

Bulgular: Hematoksilen ve eozin ile boyanan kesitler incelendiğinde; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında preeklampitik plasentalarda sinsityal düğüm ve köprülerin sayısında artış olduğu, intervillöz alanların yoğun kan odakları barındırdığı, fibrinoid yapılanmaların olduğu ve kapiller dilatasyonun ve konjesyonun varlığı gözlemlendi. PAS ile boyanan kesitlerde ise preeklampsi grubunun maternal ve fetal villuslarında bulunan kapiller damarlarda bazal membran kalınlaşması tespit edildi.

İmmunohistokimyasal incelemede; kontrol plasentaların maternal ve fetal komponentinde VEGF ekspresyonunun arttığı, sFlt-1 ekspresyonunun ise azaldığı tespit edildi. Preeklampitik plasentaların maternal ve fetal komponentinde kontrole oranla VEGF ekspresyonunun azaldığı buna karşın sFlt-1 ekspresyonunun düzeyinin arttığı görülmüştür. Ayrıca, preeklampitik maternal yüzde fetal yüze oranla sFlt-1 ekspresyonunun daha anlamlı olduğu tespit edildi.

Sonuç: Preeklampsinin endotelyal disfonksiyonunda rol alan moleküllerden sFlt-1 ve VEGF ekspresyon düzeylerinin birbirini etkilediği; preeklampitik plasentalarda VEGF ekspresyonunun azaldığı ve buna karşın sFlt-1 ekspresyonunun özellikle maternal komponentinde olmakla beraber daha yoğun olduğu gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Plasenta, preeklampsi, sFlt-1, VEGF, immunohistokimya.



Evaluation of expression of sFlt-1 and VEGF in the placenta of preeclamptic pregnancies.

Student's surname and name: ŞAHİN Fırat

Advisor: Prof. Dr. Murat AKKUŞ

Department: Histology and Embryology

1.2 ABSTRACT

Aim: Our aim was to investigate expression levels of sFlt-1 and VEGF molecules taking role in endothelial dysfunction, which is one of the major causes of preeclampsia, in the preeclamptic and normotensive pregnant placentas.

Materials and Methods: 10 preeclamptic and 10 normotensive placentas were collected from pregnant women and processed to routine histological tissue protocol. 5-micrometer sections were stained with Hematoxylin-Eosin and Periodic Acid Schiff (PAS). To reveal VEGF and sFlt-1 expression, sections were immune-stained with anti-VEGF and anti-sFlt-1 antibodies. Slides were examined under light microscope and pictures were taken.

Results: In hematoxylin and eosin-stained sections; there was an increase in the number of syncytial knots and bridges in the preeclamptic placenta when compared with the control group. Also, intense blood accumulation in the intervillous areas, fibrinoid structures, capillary dilatation and congestion were observed. In the sections stained with PAS, basal membrane thickening was detected in the capillary vessels of the maternal and fetal villi in preeclampsia group.

Immunohistochemical examination; VEGF expression increased and sFlt-1 expression decreased in maternal and fetal components of control placenta. VEGF expression decreased in the maternal and fetal component of preeclamptic placenta compared to control, whereas the level of sFlt-1 expression increased. Furthermore, it was found that sFlt-1 expression was more significant in preeclamptic maternal face than fetal face.

Conclusion sFlt-1 and VEGF molecules take role in preeclamptic endothelial dysfunction and also their relative expression affect each other. It was observed that

VEGF expression decreased in preeclamptic placenta, whereas sFlt-1 expression was more intense, especially in the maternal component.

Keywords: Placenta, preeclampsia, sFlt-1, VEGF, immunohistochemistry.



2 GİRİŞ ve AMAÇ

Obstetrik tanı ve tedavi hizmetlerindeki gelişmelere rağmen, preeklampsi; halen tüm dünyada maternal ve fetalmorbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir (1). Gelişmekte olan ülkelerde her yıl 60 binin üzerinde anne ölümü preeklampside kaynaklanmaktadır (2). Preeklampsi gebeliği özgü, gebeliğin 20.haftasından sonra ortaya çıkan hipertansiyon ve proteinüri ile karakterize olan klinik bir sendromdur (3). Preeklampsinin potansiyel fetal komplikasyonları; düşük doğum kilosu, intrauterin gelişme geriliği (IUGR), prematur doğum ve fetal ölümdür. Maternal komplikasyonlar ise; renal yetmezlik, HELLP sendromu (H: Hemoliz EL: Yükselmiş karaciğer enzimleri, LP: Düşük trombosit sayısı), karaciğer yetmezliği, serebral ödem ve nadiren maternal ölümdür. Ayrıca preeklampsi geçirmiş olmanın, yaşamın ileriki zamanlarında metaboliksendromun çeşitli komponentleri ve sonuçları için predispozan olduğuna dair kayda değer kanıtlar vardır (4, 5). Bu doğrultuda Preeklampsinin patogenezinin aydınlatılması erken tanı ve tedavide hekime oldukça önemli avantajlar sağlayacaktır.

Preeklampsinin patogenezi hala tam olarak aydınlatılmıştır ve patogenezi ile ilgili çeşitli hipotezler ileri sürülmektedir. Preeklampsinin gelişiminin temelde plasental dokunun embriyonik gelişimdeki, histolojik yapısındaki ve işlevindeki çeşitli patojilere bağlı olduğu düşünülmektedir. En çok üzerinde durulan hipotezlerden biri de plasental anjiyogenezis ve gelişimin inkomplet oluşuna bağlı olduğu düşünülen endotelial fonksiyon bozukluğu olduğu görüşü öngörülmektedir (6). Yeterli plasantasyon çeşitli anjiyogenik ve anti anjiyogenik proteinlerin hassas dengesiyle sürdürülen vaskülogenezise ihtiyaç duyar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda preeklampside anjiyogenik ve anti anjiyogenik proteinlerin dolaşımdaki seviyelerinin değişmesinin endotelial disfonksiyonuna sebep olduğu bulunmuştur. Angiogenesis de majör role sahip olan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) ve anti anjiyogenik role sahip bir mitojen olan SolubleFms Benzeri Tirozin Kinaz-1 (Soluble Fms like Tyrosine Kinase 1, sFlt-1)'in insan plasentasında endotel hücreleri için bilenen mitojenik faktörler olduğu düşünülmektedir. Bu bilgilerden yola çıkarak majör anjiyogenik role sahip olan VEGF ve anti anjiyogenik role sahip sFlt-1

ekspresyonunun arasındaki ilişkinin preeklampitik gebelerde görülen endotel fonksiyon bozukluğunun nedenleri arasında olduğu öngörülmüş, bu doğrultuda bir takım çalışmalar yürütülmüştür. Ancak halen VEGF ve sFlt-1 ekspresyonun ve aralarındaki ilişkinin ne derece birbirini etkiledikleri ve bunun preeklampitik hastalarda görülen endotel disfonksiyonu ile ne derece ilişkili olduğu halen tartışılmaktadır (7, 8).

Bu çalışmada; preeklampitik gebelerin plasentalarının hem maternal hem de fetal yüzeylerinde histolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle majör anjiyogenik ve anti anjiyogenik rolleri bulunan VEGF ve sFlt-1 ekspresyonun değerlendirilip karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

3 GENEL BİLGİLER

3.1 Plasenta

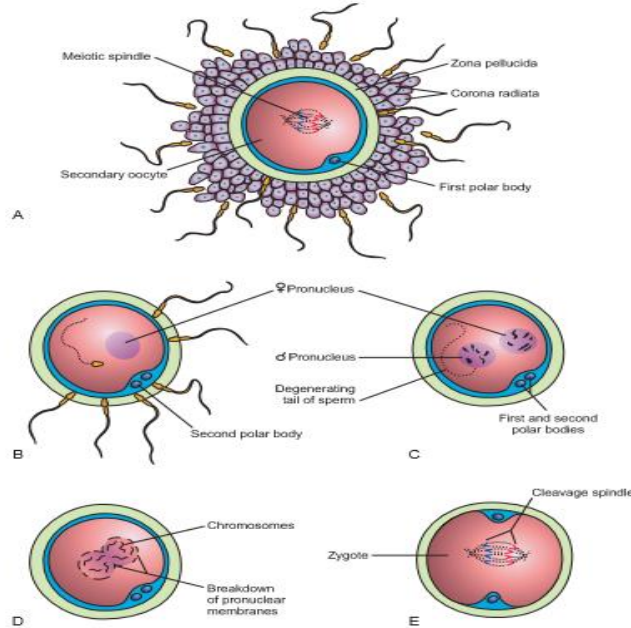
3.1.1 Giriş ve tanım

Plasenta, anne ile fetüsün arasındaki dolaşımı, fetüsün beslenmesini, birçok metabolik aktiviteyi düzenleyen ve gebeliğin devamı için gerekli olan hormonlar üreten maternal ve fetal kaynaklı yapıları içeren, gebeliğin bitmesiyle işlevinde son bulan geçici bir organdır (9). Plasentanın genellikle çapı 22 cm, kalınlığı 2,0 ile 2,5 cm ve ağırlığı ise yaklaşık olarak 470-500 gr ağırlığındadır. Ancak bunlarla birlikte ölçüleri değişkenlik gösterebilir (10).

Plasenta anneye bebek arasında besin, oksijen ve diğer maddelerin değiş tokuşunu sağlayan bir organdır. Bu organın özellikle gebeliğin dokuzuncu haftasıyla birlikte fetüsün artan besin ihtiyacını karşılamak için zamanla yapısında önemli değişiklikler meydana gelmektedir (11).

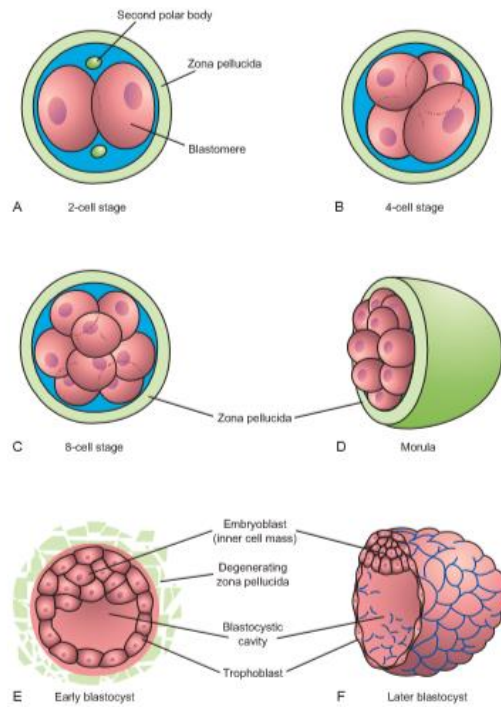
3.1.2 Plasentanın gelişimi

İnsanoğlunun gelişimi, erkek ve dişi gametler olan sperm ve oositin birleşerek zigot oluşturması anlamına gelen fertilizasyon (döllenme) ile başlar (Şekil.1) (11).



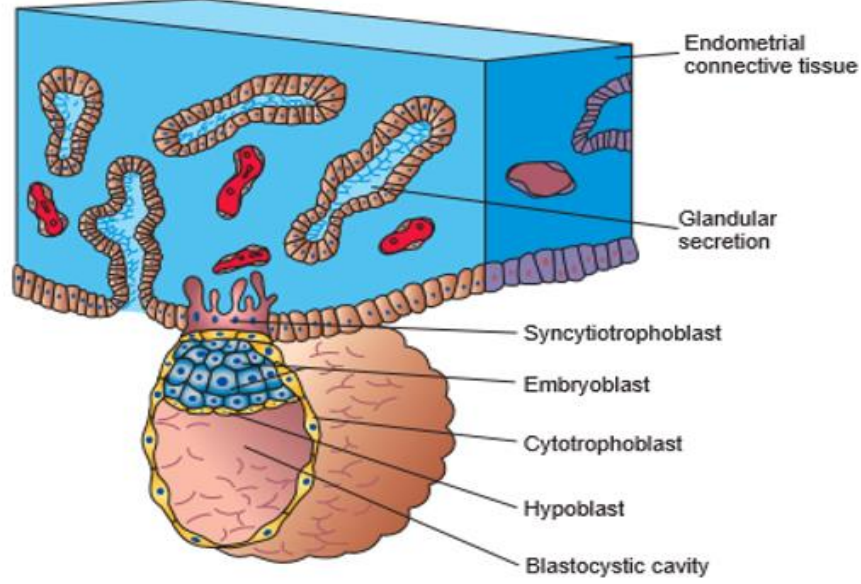
Şekil 1: İnsan erkek ve dişi üreme hücreleri olan sperm ve oositin döllenmesinin aşamaları (12).

Zigot, fertilizasyondan yaklaşık 24-36 saat sonra bölünme gerçekleştirerek blastomer adını alır (13, 14). Fertilizasyondan yaklaşık 3 gün sonra, kompakt haldeki embriyo yeniden bölünerek 16-hücreli morula (dut) haline dönüşür. Morulanın iç hücre külesinden embriyonun dokuları olan embriyoblast, dış hücre külesinden de daha sonra plasentaya katılacak olan trofoblastlar gelişir (Şekil2) (11).



Şekil 2:Fertilizasyondan, geç dönem blastosiste kadar oluşan yapılar (12).

İmplantasyonun ilk adımı 6-7 günde cereyan eden apozisyon olarak tanımlanır. İlerleyen günlerde implantasyon olayının hemen ardından trofoblast hücreleri proliferasyon olarak endometriyum içine invaze olan iki hücre tabakasını oluşturur. İçte yer alan hücre tabakası maternal dokuya temas etmeden sitotrofoblastlar adını alır. Dışta yer alan ve maternal dokuya temas halinde bulunan hücreler ise sinsitiotrofoblast hücreleri adını alır (15, 16).

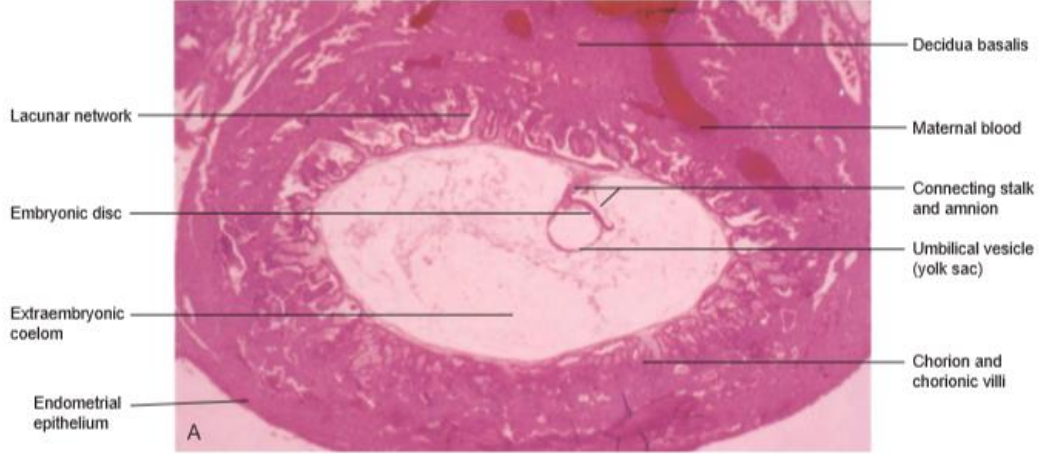


Şekil 3: Trofoblast hücrelerinin proliferasyonu sonucu oluşan Sinitrofoblast ve Sinsitiyotrofoblastların genel görünümü (12).

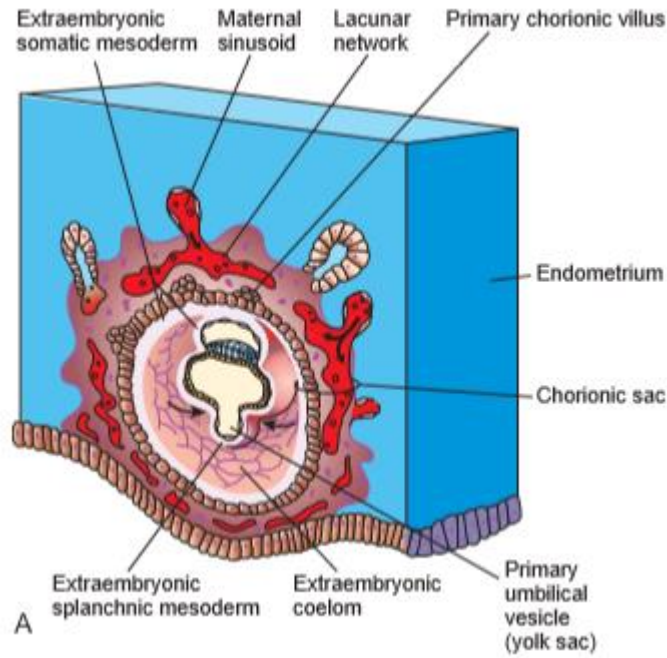
Fertilizasyondan sonraki yaklaşık olarak 13.günde sitotrofoblast hücreleri yer yer profillere olarak sinsitiyotrofoblast tabakasına doğru uzanan hücre kümelerini oluşturmaya başlar. Böylece bu dönemde hücre sınırları belirgin olan sitotrofoblastlar ve sınırları belirgin olmayan bir hücre kütlesi olan sinsitiyotrofoblast tabakası görülür (17). Trofoblastlar tarafından sentezlenen homeobox genleri (HLX ve DLX3) plasentanın gelişmesi esnasında kan damarlarının düzenlenmesinde rol oynar (12). Sinsitiyotrofoblastlar oldukça iyi gelişmiş golgi kompleksi, bol miktarda mitokondriyon ve lipid damlaları içerir. Ayrıca östrojen, progesteron, hCG ve laktojenleri salgılar. Sinitrofoblastlar ayrıca hCG ve steroid hormonu sentezlemektedir (18).

Sinsitiyotrofoblastlar devamlı olarak endometriyuma doğru göç ederek, uterusu yerleşmeyi hedeflemektedir. Bu sırada sinsitiyotrofoblastlarda belirginleşen vakuoller gözlenir. Buvakuollerin birleşmesiyle laküna denilen geniş boşuklu yapılar gözlenir. Sinsitiyotrofoblastlar stroma tabakasının derinliklerine inerek anneye ait olan kapiller damarın endotelini aşındırmaya başlarlar. İçi kanla dolu bu geniş lümenli kapiller damarlara sinuzoid adı verilir. Daha sonra bu lakünalar ve geniş lümene sahip

sinuzoidlerin birleşmesiyle trofoblastların içine anneye ait maternal kan akmaya başlar ve böylelikle uteroplental dolaşım teessüs etmiş olur (11, 18)(Şekil 4,5).

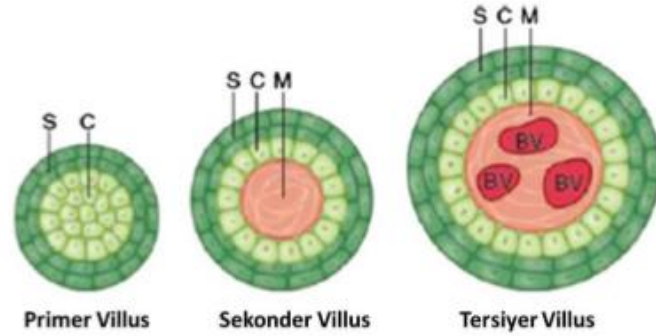


Şekil 4: Sinsitiyotrofoblastların içerisinde görülen lakünaların ve maternal kanın görünümü (12).



Şekil 5: Lakünaların ve kapiller damar endotelinin birleşmesiyle lakünalar içine maternal kanın geçişi görülmektedir (12).

Bu sırada sinsitiyotrofoblastlarendometriyuma doğru uzanarak içte sitotrofoblastlar, dışta sinsitiyotrofoblastlardan oluşan primer villuslar oluşur (2.haftanın sonu – 3.haftanın başı). Gelişimin daha ilerki dönemlerinde ekstraembriyonik mezodermden kaynaklanan mezenkimal bağ dokusu villus içine girer ve sekonder villuslar oluşur. Üçüncü haftanın sonunda, en içte yer alan mezodermal hücreler, kan damarları ve kan hücrelerine farklılaşarak villöz kapiller sistemi oluşturur. Bu yapı artık tersiyer veya kalıcı plasental villus adını alır. Gelişimin 13.gününde sinsitiyotrofoblastların içerisinde ayrıca ekstraembriyonik bir boşluk oluşur. Bu boşluğun oluşturan tabakalar sinsitiyotrofblast, sitotrofoblastlar ve ekstraembriyonik somatik mezodermden oluşur. Bu şekilde oluşan toplu yapıya koryon adı verilir. Koryon villusları ise dışta sinsitiyotrofblast, içte tek katlı sitotrofoblastik kök hücreler ve kan damarlarında bulunur. Anneye ve fetüse ait kan koryon villuslarına ait plasenta zarı ile birbirlerinden ayrılmışlardır. Plasenta zarı başlangıçta kalın iken gittikçe incelir ve doğuma yakın 2-4 mikrona iner (11, 18)(Şekil 6,7).

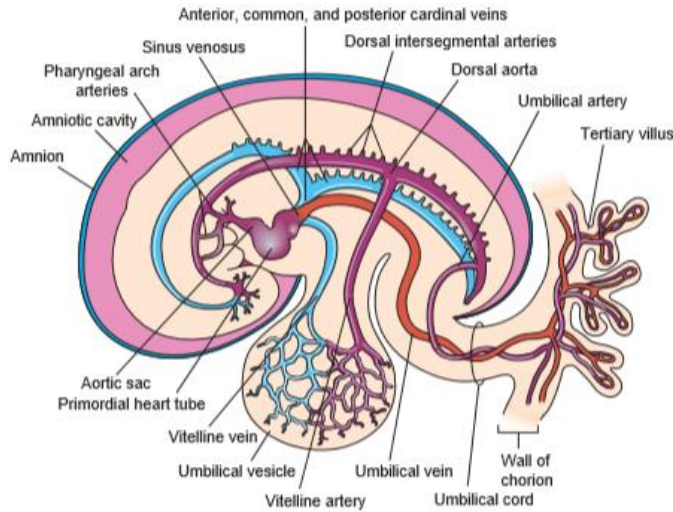


Şekil 6: Plasental villusların gelişimi (22). C: Sitotrofoblast, S: Sinsitiyotrofoblast, M: Mezenkim, BV: Fetal Kan Damarı.

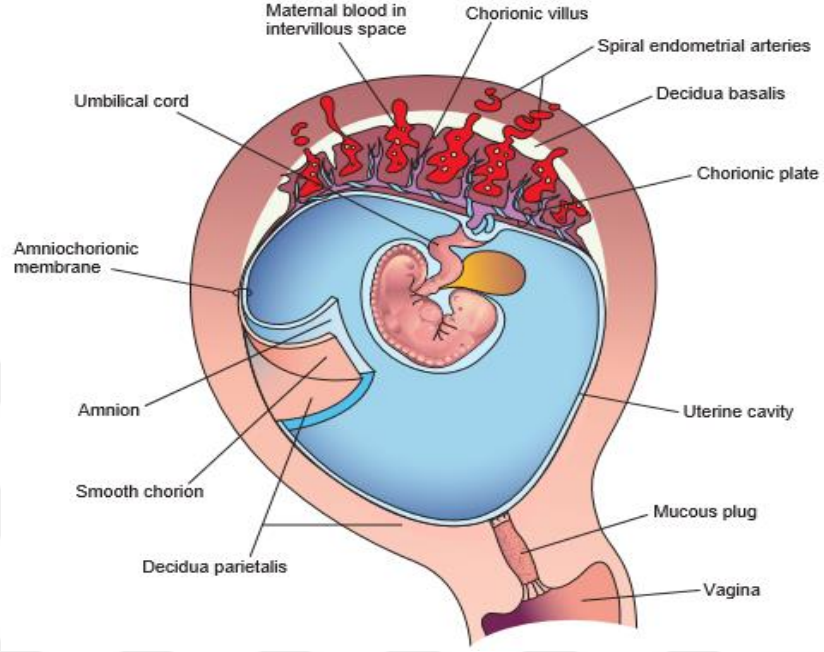
Zamanla tersiyer villusların içinde yer alan kapillerler, koryon plağı ve bağlantı sapı mezodermi ile ilişki kurarlar (Şekil.7). Gebelik ilerledikçe, embriyonik kutupta villuslar büyüyüp gelişerek koryon frondozumu oluştururular. Üçüncü aydan itibaren tersiyer villuslar endometriyum içine doğru devam ederek fetal plasentayı oluşturur. Koryonun embriyonik ve abemriyonik kutuplarında gösterdiği bu yapısal değişiklik,

endometriyumun fonksiyonel tabakası olan ve doğumla birlikte dökülen desiduanın yapısına da görülür. Koryon frondozum üstünde yer alan desidubazalis bölümü lipid ve glikojenden zengin iri desidual hücrelerden meydana gelmiş yoğun bir tabakadır. Fetal plasentanın gelişimi sırasında koryon villuslarının uterusun endometriyum (desidua bazalis) tabakasına gömüldüğü sahada ise fonksiyonel değişiklikler meydana gelmesiyle maternal plasenta meydana gelir. Böylelikle maternal ve fetal plasenta yüzlerinin oluşturduğu koryon frondozum ve desidua bazalisten plasenta meydana gelmiş olur (11, 18) (Şekil8,9).

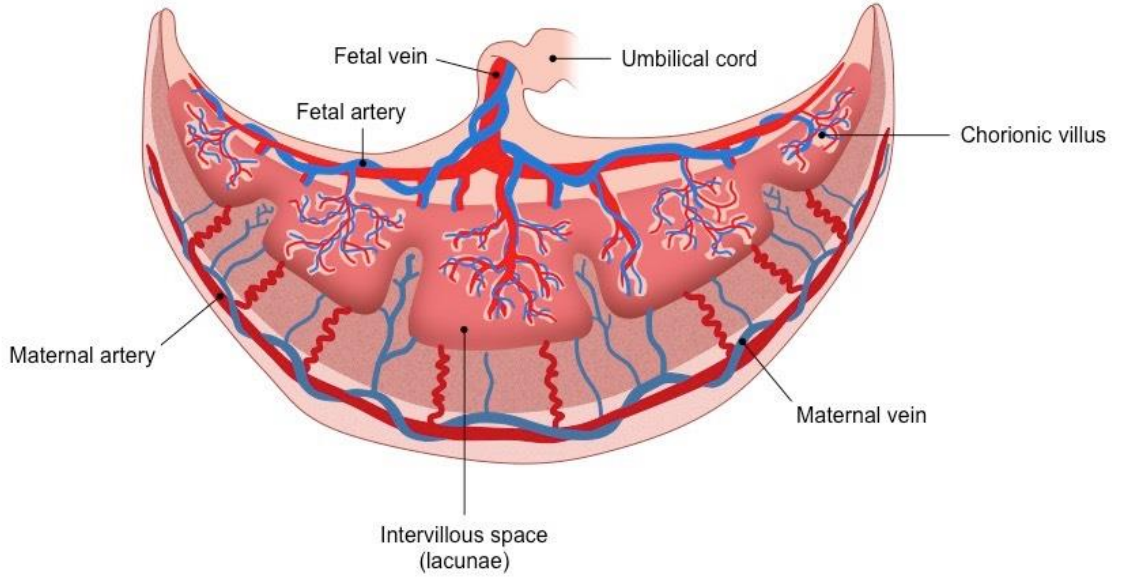
Plasenta gebeliğin sonuna doğru yapısal olarak birçok değişikliğe uğrar. Gebeliğin sonlarına doğru ortaya çıkan bir takım yapısal değişikliklerden kaynaklı olarak fetal ve maternal kan dolaşımı arasında madde alışverişinde azalma gösterir. Aynı şekilde villusların göbeğinde fibröz dokunun artması, fetal kapillerlerin bazal membranının kalınlaşması koryon plağı ve birleşme bölgesindeki villusların yüzeyinde fibronoid birikmesi gibi değişiklikler görülür.



Şekil 7: Gelişimin 3. haftasında tersiyer villusların ve fetüsün genel görünümü. Villöz kapillerle koryon plağı ve bağlantı sapında bulunan kapiller damarlar ile intraembriyonik damarlarla olan ilişkileri.



Şekil 8: Koryon villuslarının gömüldüğü yüz olan plasentanın fetal yüzü ve desidua bazalisin bulunduğu maternal yüz ve birlikteliklerinden oluşan plasentanın 4. haftadaki genel görünümü.



Şekil 9: Full-term plasentanın göbek kordonu ile beraber şematik görünümü (12).

3.1.3 Plasentanın yapısı

Fetüsün beslenmesini ve gelişimini sağlayan ve geçici bir organ olarak işlev gösteren plasenta maternal ve fetal kaynaklı iki ögeden oluşur. Plasentanın fetal bölümü koryonfrondozum, maternal bölümü ise desidua bazaliden oluşur. İkisinin birleşme bölgesinde trofoblast ve desidual hücreler birbirine karışmış durumdadır (19).

3.1.3.1 Plasentanın fetal komponenti

Plasentayı oluşturan fetal bölüm koryon plağı ve bu plakla ilişkili villuslardan oluşmaktadır. Villuslar anne kanının dolaştığı lakünalar içinde uzanırlar. Üçüncü aydan itibaren villuslardan yoksun bir koryon olan koryon laeve (düz koryon) oluşur. Düz koryonun oluşumu sayesinde desidua bazalis ile ilişkili olan villusların sayısı artar ve artık villöz koryon ya da koryon frondozum adını alır. Plasentanın fetal komponenti olan koryon frondozum ile desidua bazalis birlikte plasentayı oluşturur. Ayrıca amniyon ile koryon kaynaşmasıyla oluşan amniyo koryonik membranı oluştururlar. Bu membran doğumla birlikte yırtılır. Koryon villusları, desidua bazalise sitotrofoblastik kabukla bağlanırlar. Sitotrofoblastik kabuk koryon kesesi ve plasentayı desidua bazalise bağlar (19, 20).

3.1.3.2 Plasentanın maternal komponenti

Gebelik ile birlikte anne kanında artan progesteron düzeyine yanıt olarak endometriyumdaki bağ dokusu hücrelerinde glikojen ve lipid birikmeye başlar. Zamanla genişleyen ve soluk olarak boyanan bu hücrelere ‘desidua hücreleri’ adını alır. Desidua hücrelerinin, hormon salınımıyla ilgili görevleri olduğu bilinmekle beraber önemi hala tartışılmaktadır.

Gebelik döneminde uterusun endometriyum tabakası olduğundan maternal plasenta da bu hücrelerden oluşan tabakadan gelişir. Desidua gebelik döneminde konseptusa yakınlığına göre desidua bazalis, desidua kapsülaris ve desidua pariyetalis olmak üzere üç bölüme ayrılır. Plasentanın maternal komponenti desidua bazalis oluşturur. 4. aydan itibaren desiduadan kaynaklanan desidual septumlar intervillöz mesafeye uzanmasına rağmen koryonik plağa ulaşmazlar. Septumlar maternal doku içerir, ancak yüzeyleri sinsitiyal hücrelerden bir tabaka oluşturur. Bu septumların varlığı ile plasenta birçok

bölüme (kotiledon, lob) ayrılmış olur. Herbir kotiledon ana bir kök villus ve dallarını içerir. Endometriyumdan kaynaklanan damarlar intervillöz mesafeyi kanlandırır. Fetal ve maternal kanın birbirine karışmasını engelleyen yapı daha çok fetal dokulardan oluşan plasenta bariyeridir. Dördüncü ayın başından itibaren seçici geçirgenlik özelliğilikte ki bu bariyer ürünleri geçişini kolaylaştırır (19, 21).

Plasenta bariyeri tabakalarını oluşturan yapılar;

- Sinsityotrofoblastlar
- Kesintili seyreden sitotrofoblastlar
- Trofoblastların bazal laminası
- Villusun bağ dokusu
- Endotelin bazal laminası
- Tersiyer villus içindeki fetalplasentalkapillerlerinendoteli

3.1.4 Plasental kan dolaşımı

Kan kotiledonlara, desidual plağı düzenli denilebilecek aralıklarla delerek intervillöz boşluklara ulaşan 80 ile 100 adet spiral arter aracılığıyla gelir. Spiral arterlerin içindeki yüksek basınç, kanı intervillöz boşlukların derinliklerine doğru pompalar ve villöz ağacın sayısız küçük villusların oksijenli kanla yıkanmasını sağlar. Basıncın azalmasıyla da kan koryon plağından desiduaya geri döner ve endometriyal venlere boşalır. Böylece intervillöz kan gölcüklerindeki kan endometriyal venler aracılığıyla maternal dolaşıma geri döner (22).

Olgunlaşmamış bir plasentada, intervillöz boşluklarda dakikada ortalama 3-4 kez yenilenen 150 ml kadar kan bulunur. Bu kan, yüzey alanı 4- 14 m² arasında değişen koryonikvilluslar boyunca dolaşır. Ancak, plasental değış tokuş bu villusların hepsinde gerçekleşmez, yalnızcas insitiyal membranla yakın ilişkide bulunan fetal damarlar içeren villuslarda gerçekleşir. Bu tip villusların sinsityumunda yüzey alanını genişleterek maternal-fetal dolaşım arasındaki alışveriş hızını büyük ölçüde artıran fırçalı kenara sahip sayısız mikrovilluslar yer alır. Maternal ve fetal dolaşımı birbirinden ayıran plasental zar başlangıçta dört tabakadan oluşur: (1) fetal damarların endoteli, (2) villusların

göbeğindeki bağ dokusu, (3) sitotrofoblastik tabaka ve (4) sinsityum. Dördüncü aydan sonra plasental zar iyice incelendiğinden fetal damarların endoteli ile sinsityal zar doğrudan ilişkili hale gelir ve bu değişiklik madde alışveriş hızının artmasını sağlar (23).

Bazen plasental bariyer adıyla da anılan plasenta zar, içinde çok sayıda madde serbestçe geçebildiğinden aslında gerçek bir bariyer değildir. İntervillöz boşluklardaki anne kanı fetal kandan koryonik kökenli yapılarla ayrıldığından, insan plasentasının hemokoryal tip olduğu kabul edilir. Normalde anne kanı ile fetüsün kanı birbirine karışmaz. Ama bazen plasental membrandaki mikroskobik defektlerden az sayıda fetal kan hücresi dışarı kaçabilir (22, 23).

3.1.5 Plasentanın görevleri

Plasenta başlıca taşıma, metabolik, koruma ve endokrin fonksiyonlar olmak üzere birçok görev üstlenmektedir. Plasenta steroid yapıda hormonları, peptidleri, prostoglandinler benzeri pek çok maddeyi kan dolaşıma salgılayarak embriyo için gerekli besin maddelerini sağlayan endokrin bir organdır.

Plasentanın gaz alışverişi, anneden fetüse oksijen, fetüstende anneye karbondioksit taşınmasıyla gerçekleşmektedir. Fetüs için gerekli olan maddeler basit difüzyon, kolaylaştırılmış difüzyon, aktif transport ve pinositoz mekanizmaları ile plasenta membranını geçerler. Plasenta fetüsün metabolik atıklarının annenin böbreği ile atılmasında rol oynar. Ayrıca immunoglobulin-G (IgG) plasenta aracılığıyla fetüse geçerek fetüsün bağışıklık kazanmasında rol oynar.

Gebeliğin başlangıçta östrojen ve progesteron kaynağı korpusluteum iken, gebeliğin ilerlemesiyle bu görevi plasenta üstlenmektedir. Östrojen ve progesteronlar gebeliğin devamı için gerekli primer hormonlardır. Plasenta endotel büyüme faktörü, relaksin, fibroblast büyüme faktörü, kloni stimüle edici faktör, interlökin, leptin gibi oldukça önemli molekülleri salgılanır (17).

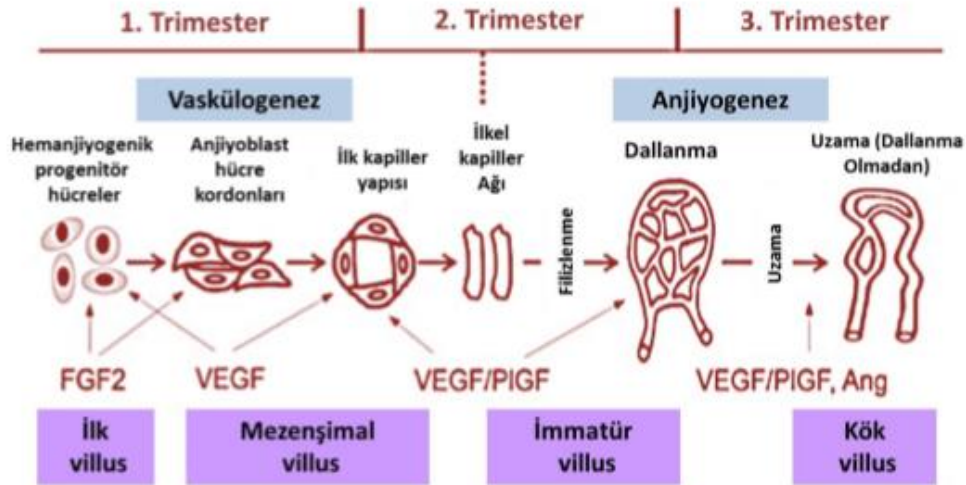
3.1.6 Plasentada vaskülogenez ve anjiyogenez

İnsan plasentası oldukça damarlanma gösteren yapıda bir organdır. Doğum sonrası plasentada 15 m² yüzey alanı ve 550 km uzunluğa sahip bir kapiller ağ mevcuttur (17).

Plasentada villus ağacının gelişiminde oldukça önemli bir role sahip olan vaskülojen ve devamında gerçekleşen anjiyogeneze bağlı oluşabilecek hatalar, hem annede hem de bebekte obstetrik hastalıklara neden olabilir (24, 25).

Vaskülojen, erken embriyonik dönemde sınırlı olan ve immatür olan mezenseşimal hücrelerden kan damarların gelişmesi olarak tanımlanmaktadır. Anjiyogen daha önceden var olan damardan yeni damarların oluşması olarak tanımlanabilir. Anjiyogen teriminin tarihçesine bakıldığında ise ilk olarak 1787 yılında John Hunter kullanılmıştır ancak, 1935 yılında Herting anjiyogen terimini plasentadaki kan damarlarının gelişimi için öne sürmüştür (26).

Plasentada görülen anjiyogen dallanma(branching) ve dallanma olmayan; uzama(non-branching) yoluyla gerçekleşmektedir. Vaskülojen ve anjiyogen farklı büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir. Bunlar arasında VEGF vasküler gelişimin neredeyse her aşamalarında oldukça önemli bir faktördür. Bunun yanında plasental büyüme faktörü (PIGF) özellikle villöz ağacının gelişiminde VEGF ile benzer roller üstlenmektedir (16, 27).



Şekil 10: Plasentada vaskülojen ve anjiyogen (28)

3.2 Preeklampsi

3.2.1 Giriş ve tanımı

Preeklampsi, maternal ve fetalmorbidite ve mortaliteye neden olan, gebeliğe özgü yüksek tansiyon ve proteinüri ile karakterize olan bir sendromudur. Yapılan araştırmalar sonucunda preeklampsinin insana özgü bir hastalık olduğu sonucuna varılmıştır(3).

American College of Obstetrics and Gynecology (ACOG) göre preeklampsi klinik olarak hafif ve şiddetli olmak üzere iki farklı tablo şeklinde görülmektedir. Bu klinik tablolara bağlı olarak hala günümüzde preeklampitik gebelerde ölüm ve erken doğum gibi komplikasyonlara sebep olur (29).

3.2.2 Preeklampside etiyoloji ve patogenez

Preeklampsi, gebeliğe bağlı olarak plasenta kaynaklı bir hastalıktır. Bu hastalığın akraba evliliklerinden kaynaklı olup olmamasının hikayesi olmamasına karşın, birinci derece akrabalarda arasında görülen evliliklerden kaynaklı preeklampsinin riski 2-4 kat arasında arttığı sonuçlarına varılmıştır (30). Preeklampsinin etiyopatogenezi halen tam aydınlatılamamış ve bu doğrultuda sebepleri arasında ortaya birçok hipotez atılmıştır. Bu hipotezler beş başlık altında özetlenebilir (31).

Bunlar;

- Endotel Hücre Disfonksiyonu ve İnflamasyon Teorisi
- Plasentasyon Yetersizliği ve Anormal Trofoblastİnvazyonu Teorisi
- İmmunolojik Teori
- Koagülasyon Aktivasyonu Teorisi
- Genetik Predispozisyon Teorisi

Bu teoriler arasından endotel disfonksiyonu ve plasentaysan yetersizliği teorisi, üzerinde durulan en önemli teoriler arasında yer almaktadır. Plasentanın gelişimi sırasında anjiyogenez mekanizmasında rol oynayan vasküler endotelyal büyüme (VEGF) ve plasental büyüme faktörü (PlGF) uygun ve sağlıklı endotel hücrelerinin yapılanmasında ve işlevinde önemli bir rol üstlenmektedir (32).

2003 yılında Maryard ve arkadaşlarının yapmış oldukları deneyde açıkça soluble fms-benzeri tirozin kinaz-1 (sFlt-1) artışının VEGF ve PlGF sinyalizasyonunda azalma gösterdiğini ve bu bağlamda sFlt-1 artışının preeklampitik hastalarda görülen endotel disfonksiyonu ile ilişkili olabileceğini sonucuna varmışlardır (8). Yine aynı şekilde preeklampsinin genetik olabileceği gösteren çalışmalarda yürütülmüştü ve sonuç olarak da anne ve ya kız kardeşten birinin preeklampsi geçirmiş olması, preeklampsi riskini arttırdığı sonucuna varılmıştır (33).

Esasen halen preeklampsinin patofizyolojisinin net olarak aydınlatılmamış olması tedavi aşamasında birtakım sorunları beraberinden getirmektedir. Ancak en net olarak bilinen etyopatogenezde, endoteyaldisfonksiyon majör rol üstlenmektedir.

Patofizyolojisinin halen net olarak bilinmemesinden kaynaklı olarak preeklampsinin tedavisi için en kesin yöntem hem bebekte hem de annede oluşacak komplikasyonları önlemek amacıyla olabilecek en erken doğumdur (34, 35).

3.3 Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF, damar oluşumunda oldukça kritik role sahip bir faktördür. 1938 yılında Senger ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, endotel geçirgenlik potansiyeli yüksek olan bir protein izole ederek, bu proteini Vasküler Permeability Faktör (VPF) adıyla tanımlamıştır (36). İlerleyen zamanlarda Ferrara ile Henzel ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada damar endotel hücreleri büyümesini sağlayan ve aktivite edici özelliği olan bu proteini izole ettikten sonra bu proteine Vascular Endothelial Growth Faktör (VEGF) olarak tanımlamışlardır. Daha sonraları yapılan çalışmalarla her iki proteinin aynı yapıda olduğu sonucuna varılmış ve bu protein VEGF (veya VEGF-A) olarak isimlendirilmiştir (36).

VEGF ailesinin VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve PlGF olmak üzere toplamda 6 üyesi mevcuttur. VEGF ailesinin üyeleri üzerinde yapılan çalışmalarda özellikle embriyonik dönemde progenitor hücrelerden kan damarlarını yapımında rol oynayan protein olarak bilinen vaskülogenez ve anjiyogenez mekanizmasında rol oynadıkları sonucuna varılmıştır (37). Plasentanın damarlanması sırasında özellikle Plasental Growth Faktör (PlGF) aşırı derece eksprese olup, sadece Vasküler Endotelyal

Büyüme Faktör Reseptör-1'e bağlanarak etkinlik gösterir. Yapılan çalışmalar PlGF' in plasentada endotel hücrelerinin proliferasyon üzerinde etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır (38).

Embriyonal dönemde embriyoda ve plasentada rol oynayan en önemli VEGF ailesi üyesi VEGF-A'dır. VEGF-A özellikle embriyogenez esnasında endotel özgü-teşvik edici bir büyüme faktörü olarak da tanımlanmakta ve anjiyogenez de oldukça kritik rol oynamaktadır (37).

3.4 Soluble Fms-Benzeri Trozin Kinaz-1 (sFlt-1)

Vasküler Endotelyal Growth Faktör Reseptör-1 olarak da bilinen Soluble Fms Benzeri Tirozin kinaz-1 (sFlt-1), PlGF ve VEGF için endotelyal bir reseptördür. sFlt-1'in keşfi insan plasentasında cDNA kütüphanesinin taranması sonucunda olmuştur. sFlt-1, Flt'in ekstraselüler ligand-bağlayıcı bir parçasından oluşur ve dolaşıma VEGF ve PlGF bağlandığında antagonize eder. Yapılan araştırmalar neticesinde sFlt-1 terminal kısmı farklı olup preeklampatik gebelerin plasentalarında fazla seviyelerde olduğu görülmüştür. sFlt-1 seviyesinin plasentada artması sonucu olarak anne kanında da, sFlt-1 düzeyinin artmış olmasının buna bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu durumun endotel fonksiyon bozukluğuyla olan ilişkisi üzerinde durulmaktadır (39, 40).

Anjiyojenik süreçte halen tartışma yaratan konular biriside sFlt-1'in rolüdür. Esasen sFlt-1 seviyesinin insan plasentasında artışına paralel olarak endotel disfonksiyonuna neden olduğu ve bu da preeklampsnini nedeni olduğu dair fikirler tartışmalar arasında yerini almaktadır. sFlt-1 ve PlGF ekspresyon seviyelerinin hastalığın şiddetine paralel olarak değiştiği görülmüştür (41, 42).

4 GEREÇ VE YÖNTEM

4.1 Plasentaların Elde Edilmesi

Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 08.09.2017 tarih ve 166 sayılı onayı alınarak çalışmaya başlandı. Çalışmamızda 10 preeklampatik ve 10 normotansif gebe hasta olmak üzere toplamda 20 gebe (yaş farkı gözetmeksizin) hastadan bilgilendirme onam formu onayı alınarak plasentalar elde edilmiştir. (Bilgilendirme Onay Formu için; Bakınız Ekler).

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran söz konusu annelerden doğum sonrası onay formu alındı. Plasentalar serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra doku takibi için ameliyathanede uygun koşullar altında %10'luk tamponlanmış nötralformaline alınarak Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına alındı.

4.2 Işık Mikroskopik İnceleme İçin Dokuların Takibi

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına alınan plasentalar (Şekil.1) doku takibi için plasentanın hem santral maternal hem de santral fetal yüzlerinden ayrı ayrı 1x1cm³ boyutlarında kesitler alınarak numaralandırılmış şeffaf cam numune şişelerinde tekrardan tamponlanmış %10'luk nötralformaline içine alındı. Santral maternal ve fetal yüzlerinden alınan doku parçaları şeffaf cam numune şişelerinin içinde tespit işlemi için 16 saat bekletildi. Tespit aşamasından sonra doku parçalarından formalin solüsyonunun uzaklaştırılması için 12 saat akar çeşme suyu altından bekletildi. Daha sonra doku parçaları dehidrasyon işlemi için %50, %70, %80, %90 ve %96'luk alkollerde toplamda 8 saat bekletildikten sonra son olarak absöüt alkol (%99,9) içerisinde 2x20 dakika bekletilerek dehidrasyon işlemi tamamlandı. Alkolü uzaklaştırma işlemi için dokular 2x15 dakika ksilolde bekletilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. İnfiltrasyon için 58°C'de ayarlanmış etüvde 2x1 saat parafin içinde bekletildikten sonra bloklama işlemi için doku parçaları parafin bloklara gömüldü (12). Gömme işleminden sonra her bir parafin bloktan, tam otomatik, rotari mikrotom (Leice RM2265, Germany) yardımıyla 5µm kalınlığında kesitler alındı.

Elde edilmiş olan kesitlere Hematoksilen-Eozin (H-E)ve Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama yöntemlerinin yanında VEGF ve sFlt-1 immün boyamalar uygulandı. Preparatlar Zeiss Imager A2 ışık ve Zen 3.00 yazılım programı kullanılarak ışık mikroskobunda incelendi.

4.3 Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü

1. Parafin kesitler ksilolde 2x15 dakika bekletildi,
2. Azalan alkol derecelerinden sırasıyla 8,6 ve 4 dakika bekletildikten sonra distile suya kadar getirildi.
3. Harris hematoksilen solüsyonunda 8 dakika kadar bekletildi.
4. Kesitler 5 dakika akarçeşme suyu altında bekletildi.
5. Çeşme suyundan alınan kesitler dinlenmesi için birkaç dakika distile suda bekletildi.
6. Zıt boyama için kesitler Eozin solüsyonunda 2 dakika bekletildi.
7. Kesitler dehidratasyon işlemi için yükselen derecelerde etil alkol dizisinde geçirildi
8. Son olarak da parlatma işlemi için 2x15 dakika ksilolde geçirildi ve kesitler entellan ile kapatıldı.

4.4 Periyodik Asit Schiff Kiti Boyama Protokolü

1. Kesitler deparafinize işlemi için öncelikle ksilolde bekletildi.
2. Daha sonra azalan alkol dizisinden geçirilerek distile suda bekletildi.
3. Kesitler distile sudan alınan kesitler sonra 10 damla solüsyon A damlatılarak 30 dakika bekletildi.
4. Yıkamaya alınmadan üzerindeki solüsyonu A dökülerek, 15 damla solüsyon B damlatılarak 10 dakika bekletildi.
5. 5 dakika akar çeşme suyu altında yıkandıktan daha sonra 2 dakika distile suda bekletildi.
6. 10 damla solüsyon C damlatılarak 10 dakika bekletildi.
7. Distile suya yıkandı.
8. 10 damla solüsyon D damlatılarak 20 dakika bekletildi.

9. Distile suda yıkandı.
10. 10 damla solüsyon E damlatılarak 2 dakika bekletildi.
11. Yıkanmadan solüsyon E preparatların üzerinden dökülerek. 10 damla solüsyon F damlatılarak 2 dakika bekletildi.
12. Distile suda yıkandı.
13. 10 damla solüsyon G damlatılarak 2 dakika bekletildi.
14. 5 dakika akar çeşme suyunda yıkandı.
15. Dehidratasyon işlemi için kesitler artan alkol dizisinden geçirildi
16. Parlatma için ksilolden bekletildi ve son olarakta entellan ile kapatıldı.



Resim 1: PAS boyaması.

4.5 VEGF İmmun Boyama Yöntemi

1. 4-6 μm kalınlığından alınan doku kesitler 2x15 dakika boyunca ksilolde bekletildi.
2. 8,6 ve 4 'ar dakika boyunca kesitler artanalkol dizisinden geçirildi.
3. Distile suda bir müddet bekletildikten sonra antijen retrieval işlemi yapılması için 3 dakika boyunca EDTA solüsyonuna mikrodalga fırında bekletildi.
4. Mikrodalga fırından alınan kesitler, soğuma işlemi için 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
5. Distile suya alınan kesitler kurutulduktan sonra, İmmunohistokimya kutusundan alındı kesitlerde dokunun olduğu yer hidrofobik kalem ile çizildi.
6. İmmunohistokimya kutusuna alınmış olan kesitlerin üzerine 3x5 dakika boyunca dokulara Phosphate Buffer Saline (PBS) ilave edildi.
7. Bu aşamalarda immunohistokimya kutusunun nemli olması için hazırlanan sıcak kutuya ilave edildi.
8. Kesitler üzerindeki PBS alınarak Hidrojen peroksit solüsyonudamlatılıp 20 dakika bekletildi.
9. VEGF primer antikoru (1/100, Abcam) sınırları çizilmiş dokuların üzerinde pipet yardımıyla damlatıldı ve kesitler bir gece +4 C⁰ de overnight edildi.
10. Sonraki gün PBS' de 3x5 dakika yıkanan kesitler bekletildi,
11. Biotinylated sekonder antikor ile 14 dakika boyunca bekletildi.
12. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
13. Streptavidin-peroxidase damlatılarak 15 dakika bekletildi.
14. PBS 3x5 dakika yıkandı.
15. Daha sonra hidrofobik kalemle sınırları belirlenmiş olan kesitlerin DAB damlatılıp 10-15 dakika boyunca bekletildi.
16. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
17. Kesitler Mayerhematoksilen ile 45 saniye kadar zıt boyama yapıldıktan sonra, çeşme suyunda 5 dakika kadar yıkanır.
18. Son olarak kesitler artan alkol serisinden hızlı geçirilip, ksilolde 2x15 dakika kadar bekletilip entellan ile kapatıldı.

19. Preparatlar Zeiss Imager A2 ışık ve Zen 3.00 yazılım programı kullanılarak ışık mikroskopunda incelendi.

4.6 sFlt-1 İmmun Boyama Yöntemi

1. 4-6 um kalınlığından alınan doku kesitler 2x15 dakika boyunca ksilolden bekletildi.
2. 8,6 ve 4 'ar dakika boyunca kesitler artanalkol dizisinden geçirildi.
3. Distile suda bir müddet bekletildikten sonra antijen retrieval işlemi yapılması için 3 dakika boyunca EDTA solüsyonunda mikrodalga fırında bekletildi.
4. Mikrodalga fırından alınan kesitler, soğusı için 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
5. Distile suya alınan kesitler kurutulduktan sonra, İmmunohistokimya kutusunda alındı kesitlerde dokunun olduğu yer hidrofobik kalem ile çizildi.
6. İmmunohistokimya kutusuna alınmış olan kesitler üzerine 3x5 dakika boyunca Phosphate Buffer Saline (PBS) ilave edildi.
7. Bu aşamalarda immunohistokimya kutusunun nemli olması için hazırlanan sıcak kutuya ilave edildi.
8. Kesitler üzerindeki PBS alınarak Hidrojen peroksit solüsyonudamlatılıp 20 dakika bekletildi.
9. sFlt-1 primer antikoru (1/100, Abcam) sınırları çizilmiş dokuların üzerinde pipet yardımıyla damlatıldı ve kesitler bir gece +4 C⁰ de overnight edildi.
10. Sonraki gün PBS ile 3x5 dakika yıkanan kesitler bekletildi,
11. Biotinylated sekonder antikor ile 14 dakika boyunca bekletildi.
12. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
13. Streptavidin-peroxidase damlatılarak 15 dakika bekletildi.
14. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
15. Daha sonra hidrofobik kalemle sınırları belirlenmiş olan kesitlere DAB damlatılıp 10-15 dakika boyunca bekletildi.
16. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.

17. Kesitler Mayerhematoksilin ile 45 saniye kadar zıt boyama yapıldıktan sonra, çeşme suyunda 5 dakika kadar yıkanır.
18. Son olarak kesitler artan alkol serisinden hızlı geçirilip, ksilolde 2x15 dakika kadar bekletilip entellan ile kapatıldı.
19. Preparatlar Zeiss Imager A2 ışık ve Zen 3.00 yazılım programı kullanılarak ışık mikroskopunda incelendi.

4.7 İstatistiksel Yöntem

Toplamda 10 adet preeklampsi ve 10 adet kontrol plasenta olmak üzere toplamda 20 hastadan elde edilen bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitlere sFlt-1 ve VEGF immunohistokimya yöntemleri uygulandıktan sonra her preparattan seçilen villuslarda yer alan kapiller endotellerdeki ekspresyon analizi yapıldı. Analiz yapılırken plasentaların hem maternal hem de fetal komponentinde ayrı ayrı incelendi ve kapillerlerde yer alan endotellerin sFlt-1 ve VEGF pozitif ve negatif olarak değerlendirildi. Toplamda 100 villusta yer alan kapiller damar için toplam endotel sayımından sonra sFlt-1 pozitif hücre yüzdesi elde edildi. Bu işlem aynı şekilde VEGF pozitif yüzdesinin elde edilmesi için VEGF immün boyanan preparatlarda da yapıldı.

PAS ile boyanan kesitlerde ise hazırlanan preparatlarda plasentanın maternal ve fetal kısmında yer alan kapillerlerin seçilmiş olan 10 preparata seçilen toplamda 100 villusta yer alan kapiller damarların endotel hücrelerin kalınlıkları hesaplandı.

Yapılan ölçümler sonucu elde edilen sFlt-1 ve VEGF pozitif yüzdeleri ve kapiller bazal membran kalınlıkları Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 24, IBM Corporation, USA) programında analiz edildi. Verilen her üç ölçüm içinde Non-parametrik Kruskal Wallis testi 'ne göre değerlendirildi. Yapılan analiz sonucunda $P < 0,05$ istatistiksel yönden anlamlı kabul edildi.

5 BULGULAR

5.1 İstatistiksel bulgular

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, endotel hücrelerinde VEGF pozitif ekspresyon gösteren hücre yüzdesine bakıldığında kontrol grubuna ait maternal ve fetal komponentleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi ($P>0,05$). Ancak hem maternal hem de fetal preeklampsi hastalara ait preparatlar incelendiğinde VEGF pozitif ekspresyon yüzdesinde anlamlı derecede bir azalma olduğu tespit edildi ($P<0,05$) (Tablo1).

sFlt-1 immun boyanmış preparatlar incelendiğinde pozitif ekspresyon gösteren hücrelerin kontrol maternal ve fetal arasında anlamlı bir ekspresyon farkının olmadığı ($P>0,05$). Preeklampsi grubu fetal komponentinde anlamlı bir artış olduğu tespit edildi ($P>0,05$). Kontrol grubu maternal ve preeklampsi grubu maternal hastalara ait preparatlar incelendiğinde ise anlamlı derecede bir artış olduğu tespit edildi ($P=0,00$) (Tablo1).

Bazal membran kalınlığı değerlendirildiğinde, kontrol fetal ve maternal hastalara ait preparatlar arasında fark olduğu tespit edildi ($P<0,05$). Kontrol grubu ile preeklampsi grubu karşılaştırıldığında preeklampsi hastalarda bazal membran kalınlaşmasının artmış olduğu tespit edildi ($P=0,05$). Ancak preeklampsi grupların kendi aralarında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$) (Tablo1).

Tablo 1: Gruplar arası istatistiksel benzerlik tablosu. Sonuçlar Ort. \pm St. Sapma olarak değerlendirilmiştir. $P < 0,05$ istatistiksel yönden anlamlı kabul edilmiştir.

(Values with different superscripts in the same column are significantly different (bc, c; $p > 0,05$, bc, b; $p > 0,05$, b,c; $p = 0,00$, b-a; $p = 0,00$ | d,e $p < 0,05$, e,f; $p = 0,00$ | g,h; $p < 0,01$, gh, h; $p > 0,05$, h,i; $p < 0,05$)

Grup	Grup Adı	VEGF Pozitiflik Yüzdesi (%)	sFlt-1 Pozitif Yüzdesi (%)	Bazal Membran Kalınlığı (μm)
1	Kontrol Fetal	47,23 \pm 7,81 ^{ab}	34,08 \pm 4,71 ^d	8,03 \pm 2,86 ^g
2	Kontrol Maternal	54,75 \pm 4,01 ^a	40,93 \pm 10,27 ^d	13,45 \pm 2,21 ^h
3	Preeklampsi Fetal	46,65 \pm 2,57 ^b	54,58 \pm 3,76 ^c	12,73 \pm 1,90 ^h
4	Preeklampsi Maternal	35,05 \pm 4,69 ^c	228,27 \pm 29,10 ^f	13,22 \pm 3,73 ^h

Tablo 2: Bazal membran kalınlığının gruplara göre ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri.

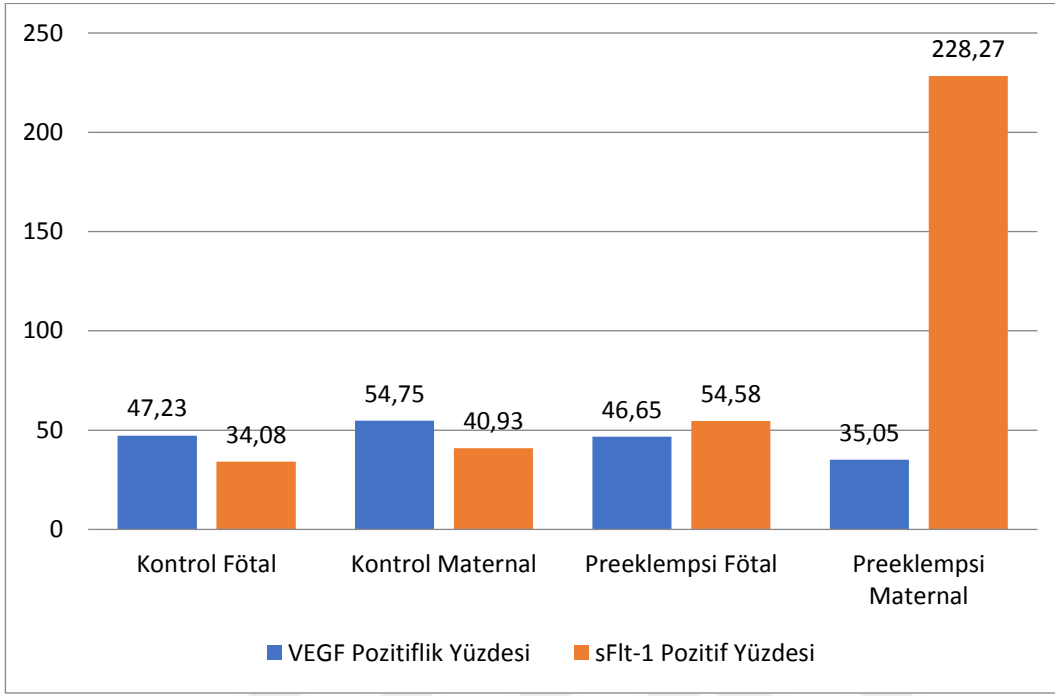
	Gruplar	Ortalama	Min.	Max.	Standart Sapma
Bazal Membran Kalınlığı	Kontrol Fetal	0,80	0,13	1,22	0,29
	Kontrol Maternal	1,35	1,04	1,70	0,22
	Preeklampsi Fetal	1,27	1,02	1,61	0,19
	Preeklampsi Maternal	1,59	0,88	2,36	0,40

Tablo 3: VEGF ekspresyonunun gruplara göre ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri.

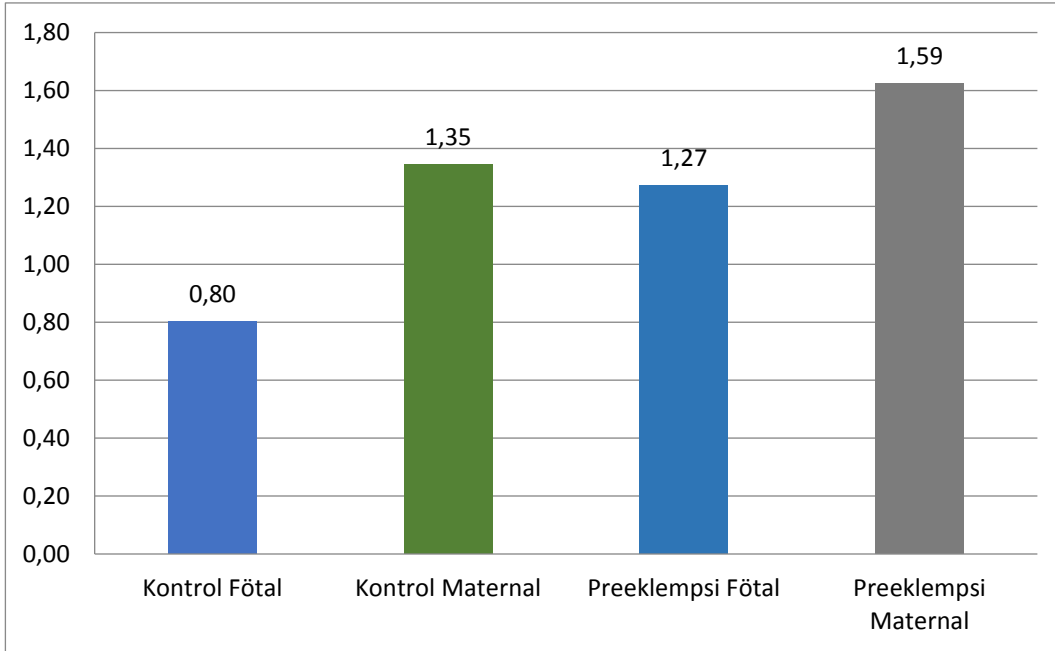
	Gruplar	Ortalama	Min.	Max.	Standart Sapma
VEGF Ekspresyonu	Kontrol Fetal	47,23	36,80	58,50	7,81
	Kontrol Maternal	54,75	47,37	60,00	4,01
	Preeklampsi Fetal	46,65	41,70	50,00	2,57
	Preeklampsi Maternal	35,05	28,57	42,86	4,69

Tablo 4: sFlt-1 ekspresyonunun gruplara göre ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri.

	Gruplar	Ortalama	Min.	Max.	Standart Sapma
sFlt-1 Ekspresyonu	Kontrol Fetal	34,08	28,90	46,20	4,71
	Kontrol maternal	40,93	31,25	66,67	10,27
	Preeklampsi Fetal	54,58	50,00	61,10	3,76
	Preeklampsi Maternal	228,27	180,00	285,71	29,10



Şekil11: VEGF ve sFlt-1 pozitif ekspresyonun gruplara göre dağılımının grafiksel gösterimi.



Şekil 12: Bazal membran kalınlığının gruplara göre dağılımının grafiksel gösterimi.

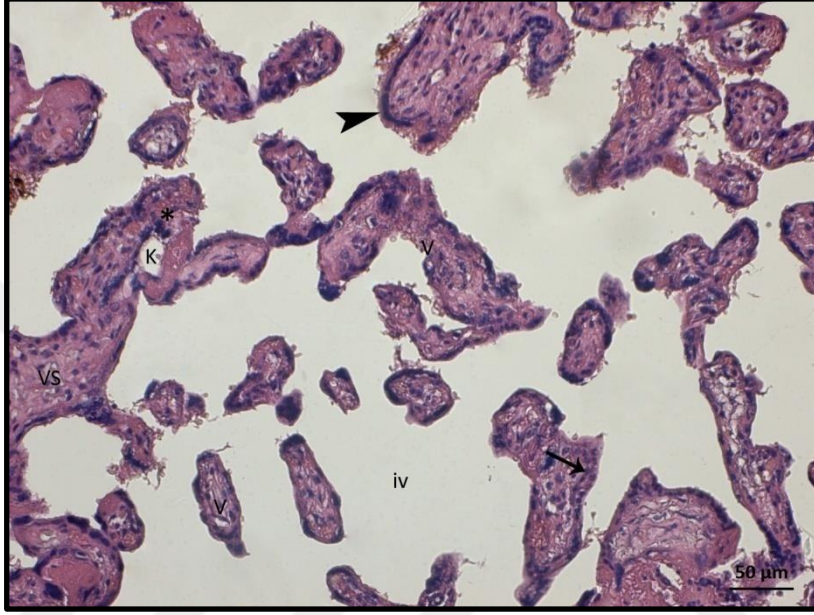
5.2 Histokimyasal bulgular

Hematoksilen-Eozin ve Periyodik-Asit Schiff ile histokimyasal olarak boyanan preeklampitik ve normotansif plasentalara ait histolojik kesitler ışık mikroskopik olarak incelendi (Şekil 1-5).

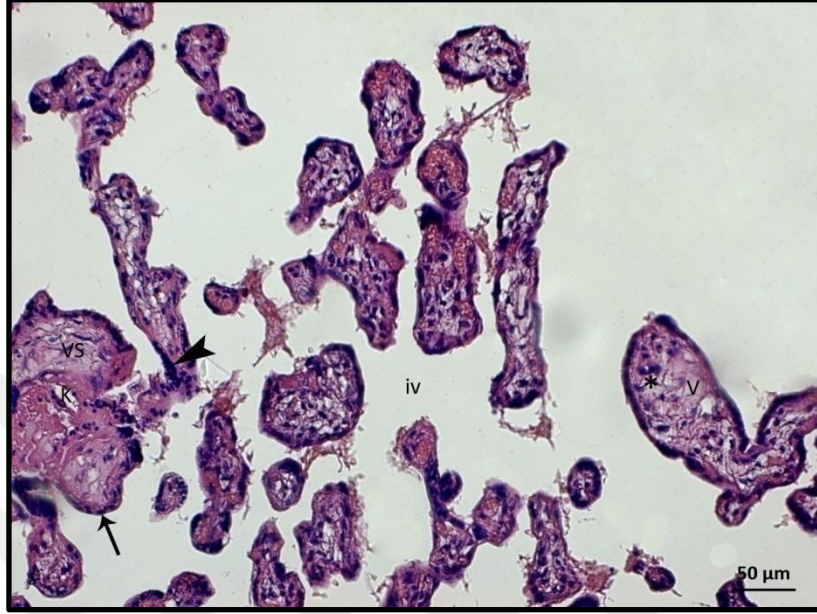
Hematoksilen ve Eozin boyanan kontrol grubu örneklerinde fetal ve maternal komponentlerde herhangi bir patolojiye rastlanmadı. Plasental villusların normal, kapillerlerin düzenli olduğu ve doku bütünlüğünün mevcut olduğu tespit edildi (Şekil2,3). Preeklampsi grubu fetal ve maternal komponentlerinde sinsityal düğüm ve köprülerin sayısında artış olduğu, intervillöz alanların yoğun kan odakları barındırdığı, fibrinoid yapılanmaların olduğu ve villus stromasında vaküoler yapıların olduğu tespit edildi. Ayrıca bu grubun sinsityotroblastlarında yer yer hipertrofi, kapiller dilatasyon ve konjesyon izlendi (Şekil 4,5).

Periyodik-Asit Schiff ile boyanan plasentalar incelendiğinde ise bazal membranın kontrol grubu maternal komponentinde fetal komponente oranla daha kalın olduğu tespit edildi ($P<0,01$). Kontrol maternal bazal membran kalınlığının preeklampsi fetalbazal membran kalınlığıyla anlamlı bir farkının olmadığı gözlemlendi ($P>0,05$). Bazal membran kalınlaşmasının en çok preeklampsi maternal komponentte olduğu ve diğer gruplardan istatistiksel yönden anlamlı olduğu tespit edildi ($P<0,05$).

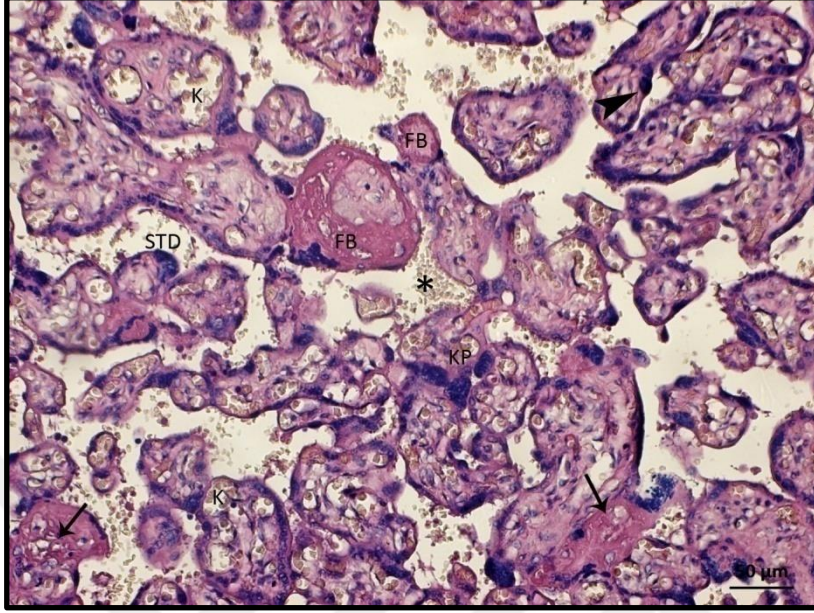
5.2.1 Hematoksilen ve Eozin boyama bulguları



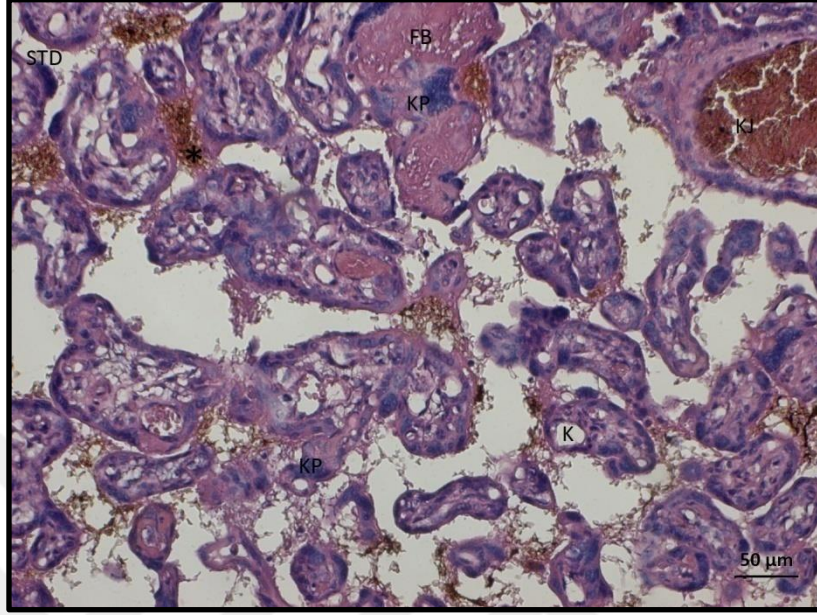
Resim 2: Kontrol grubu plasentanın fetal komponenti. Normal dağılım ve görüntü izlenen villus yapıları (v), intervillöz alan (iv), Sitotroblastlar (ok), Sinsitiyotroblast (ok başı), Villus stroması (vs), Hoffbauer hücreleri (*), Kapillerler (K) izlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50µm).



Resim 3:Kontrol grubu plasentanin maternal komponenti. Normal dağılım ve görüntü izlenen villus yapıları (v), intervillöz alan (iv), Sitotrofoblastlar (ok), Sinsitiyotrofoblast (ok başı), Villus stroması (vs), Hoffbauer hücreleri (*), Kapillerler (K) izlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50μm).

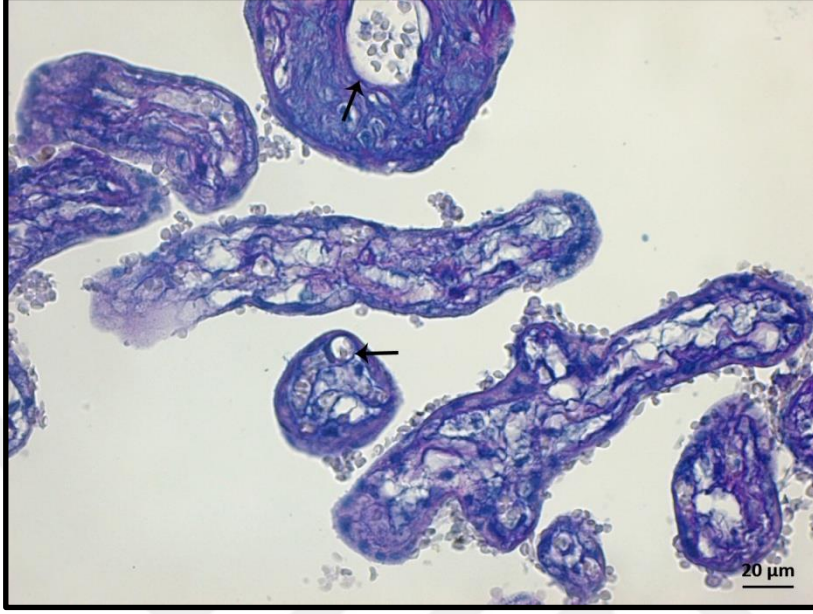


Resim 4: Preeklamptik plasentaya ait fetal komponentin genel görünümü. Sinsityal düğüm (STD) ve köprülerde artış (KP) ayrıca fibronoid artışı (FB), intervillöz alanda yoğun kan odakları (*), bol miktarda dilate villöz kapiller (K), villus stromasında vakuoler yapılanmalar (ok), sinsitiyotrofoblastlarda yer yer hipertrofi (ok başı) Boyama: H&E, Bar: 50µm).

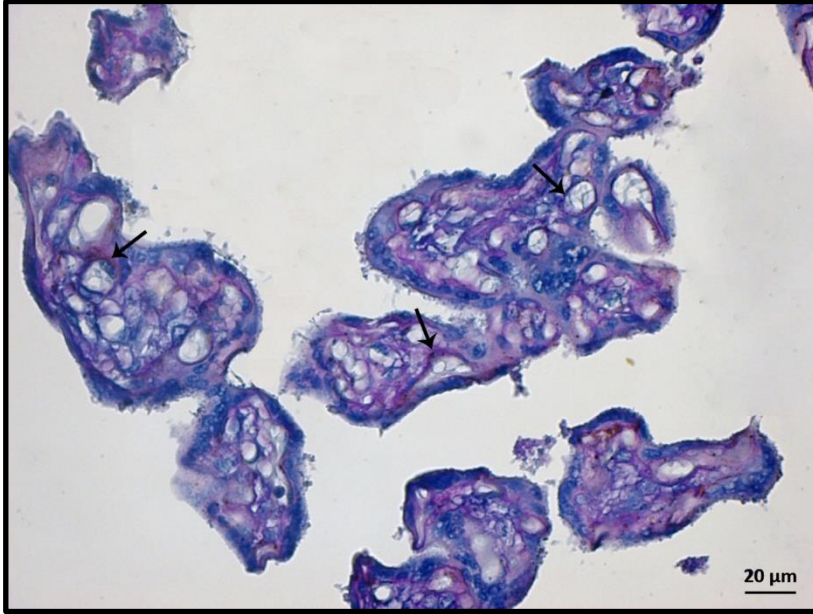


Resim 5: Preeklampitik plasentaya ait maternal komponentin genel görünümü. Terminal villuslarda anormal çapta değişiklikler gözlemlendi. Sinsityal düğümlerde (STD) ve köprülerde artış (KP), vasküler dilatasyon (K), damarlarda yoğun konjesyon (KJ) ve yoğun fibronoid (FB) birikimi gözlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50µm)

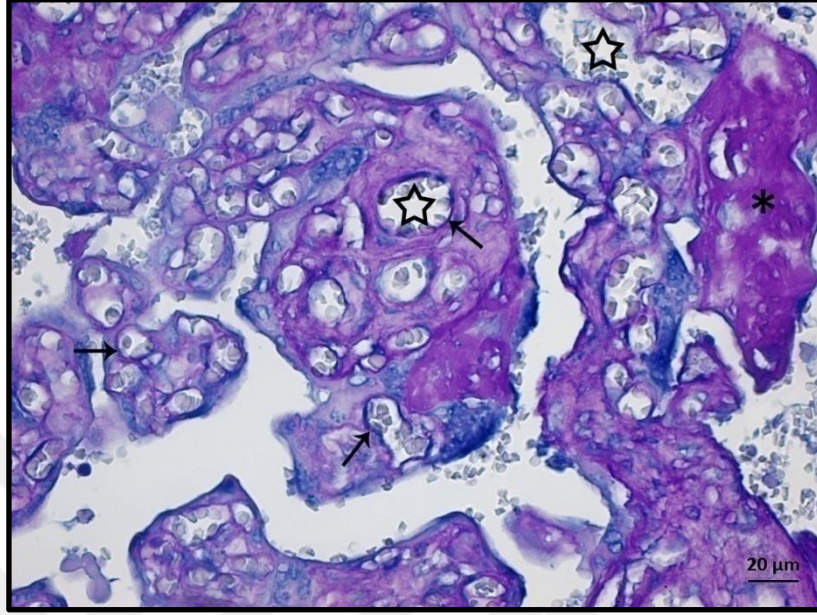
5.2.2 Periyodik Asit Schiff boyama bulguları



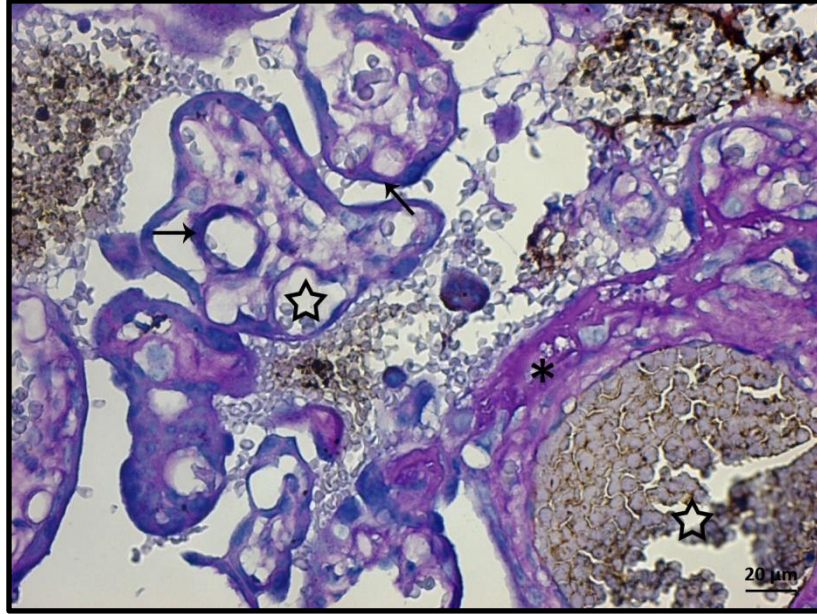
Resim 6: Kontrol grubu plasentanın fetal komponenti. Kapillerlere ait normal bazal membran görüntüsü (ok) izlenmektedir. (Boyama: PAS, Bar: 20µm).



Resim 7: Kontrol grubu plasentanın maternal komponenti. Kontrol maternal kesitlerinde normal bazal membran görüntüsü (ok). (Boyama: PAS, Bar: 20µm).



Resim 8: Preeklampsi grubu plasentanın fetal komponent bazal membranı (ok), vasküler dilatasyon (☆) ve fibronoid birikimi (*) izlenmektedir (Boyama: PAS, Bar: 50μm).

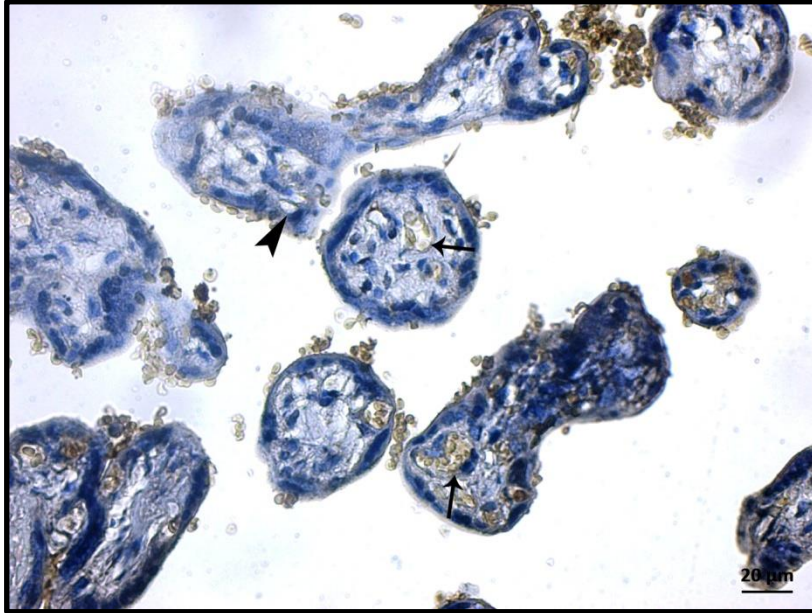


Resim 9: Preeklampsi grubu plasentanın maternal komponenti. Kapillerlere ait bazal membranda kalınlaşma (ok), vasküler dilatasyon (☆) ve fibronoid birikimi (*) tespit edildi (Boyama: PAS, Bar: 20μm).

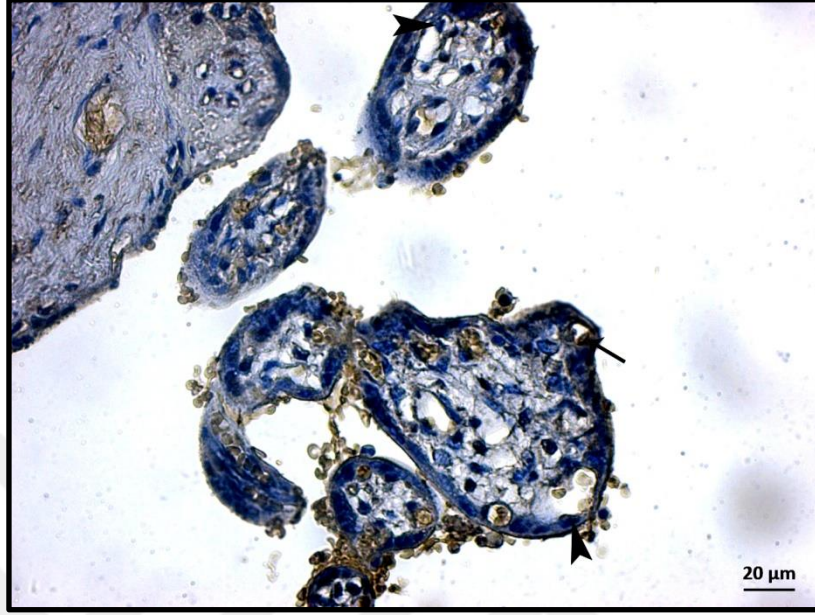
5.3 İmmunohistokimyasal Bulgular

Vasküler endotelial büyüme faktörü immün boyanan kesitler incelendiğinde VEGF ekspresyon kontrol grubu hem maternal hemde fetal gruplarına oranla daha yoğun olduğu tespit edildi ($P<0,05$). VEGF immün boyanan preeklampsi maternal grubuna ait kesitlerin, kontrol gruplarına oranla istatistiksel olarak ekspresyonunda anlamlı derecede azalma olduğu tespit edildi ($P<0,05$). Soluble fms benzeri Tirozin kinaz-1 ekspresyonu preeklampsi grubunun kontrol grubuna oranla oldukça anlamlı derece artışı ($P<0,05$). Özellikle preeklampsinin maternal komponentinde bu oranın diğer üç gruba oranla daha anlamlı olduğu tespit edildi ($P=0,05$) (Tablo1).

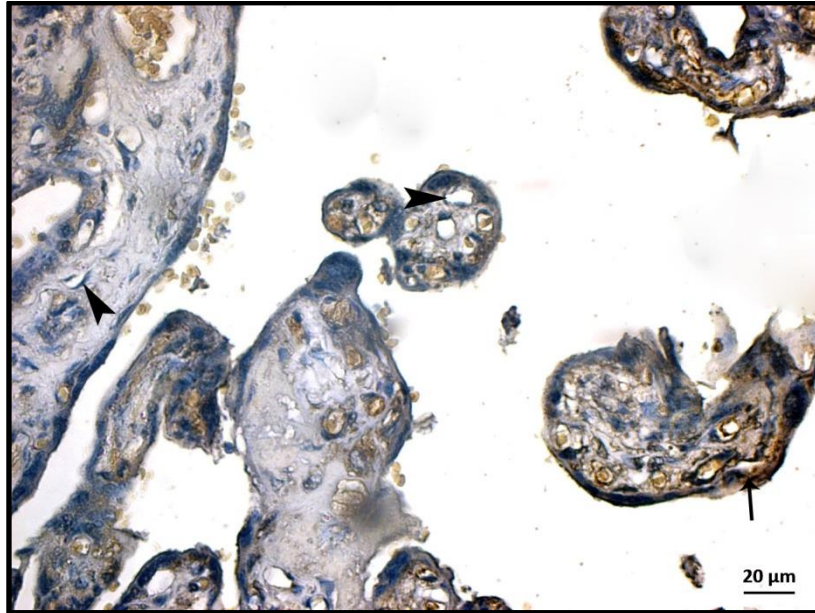
5.3.1 Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) İmmün Boyanan Kesitlerde Saptanan Bulgular



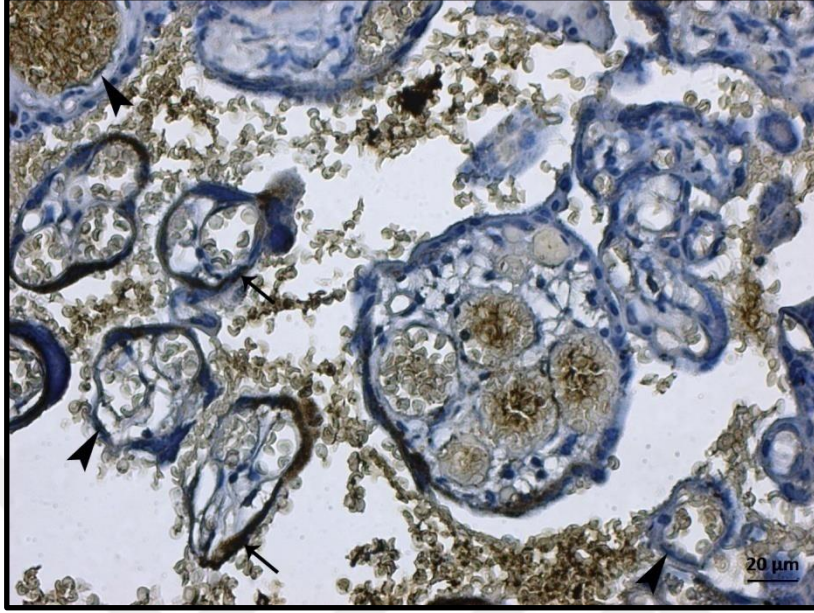
Resim 10: Kontrol grubu fetal komponentinde VEGF ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı) (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).



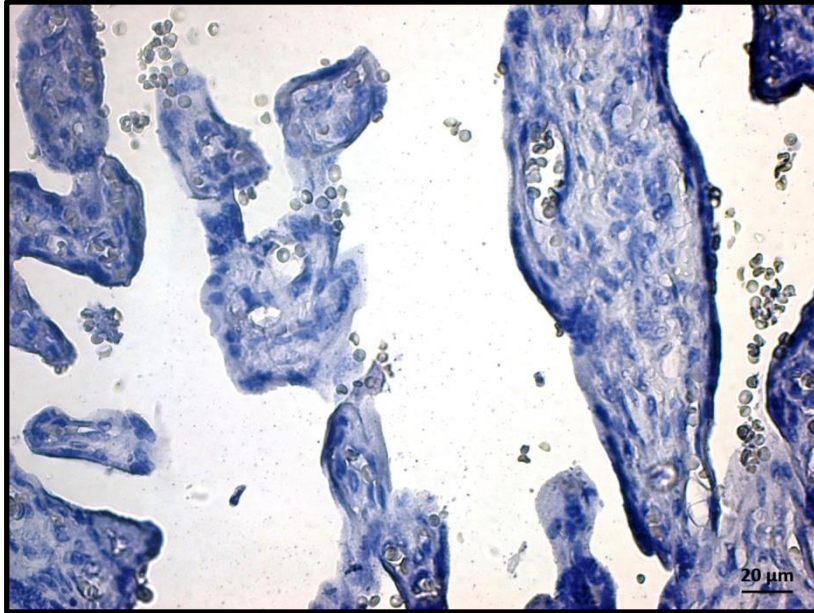
Resim 11: Kontrol grubu maternal komponentinde VEGF ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelleri (ok başı) (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).



Resim 12: Preeklampsi grubu fetal komponentinde VEGF ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelleri (ok başı) (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).

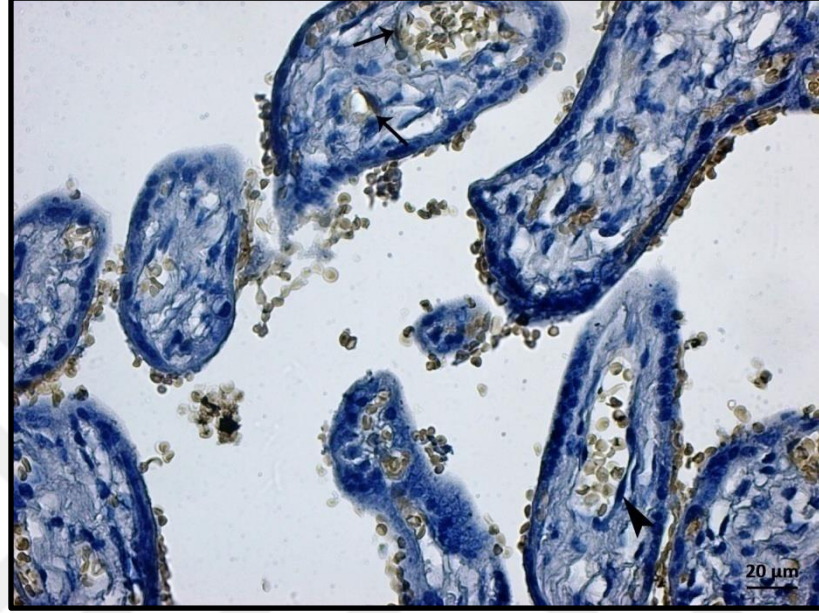


Resim 13: Preeklampsi grubu maternal componentinde VEGF ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelleri (ok başı). (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20μm).

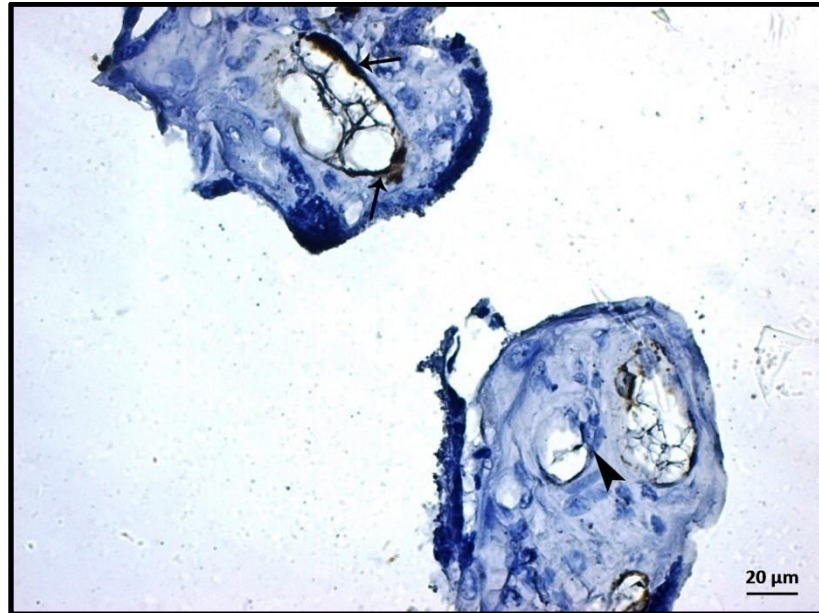


Resim 14: Preeklampsi fetal componentine ait VEGF Negatif boyama (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20μm).

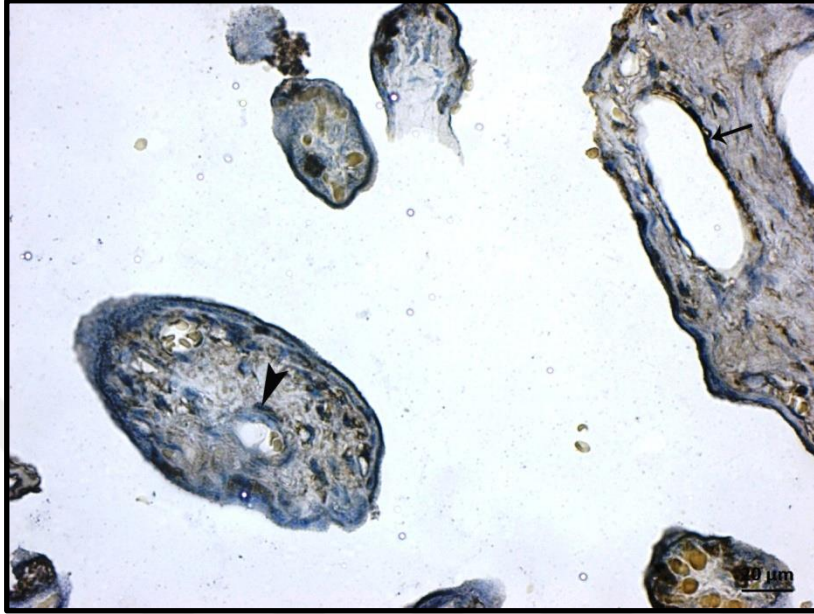
5.3.2 Soluble Fms-Benzeri Tirozin Kinaz-1(sFlt-1) İmmun Boyanan Kesitlerde Saptanan Bulgular



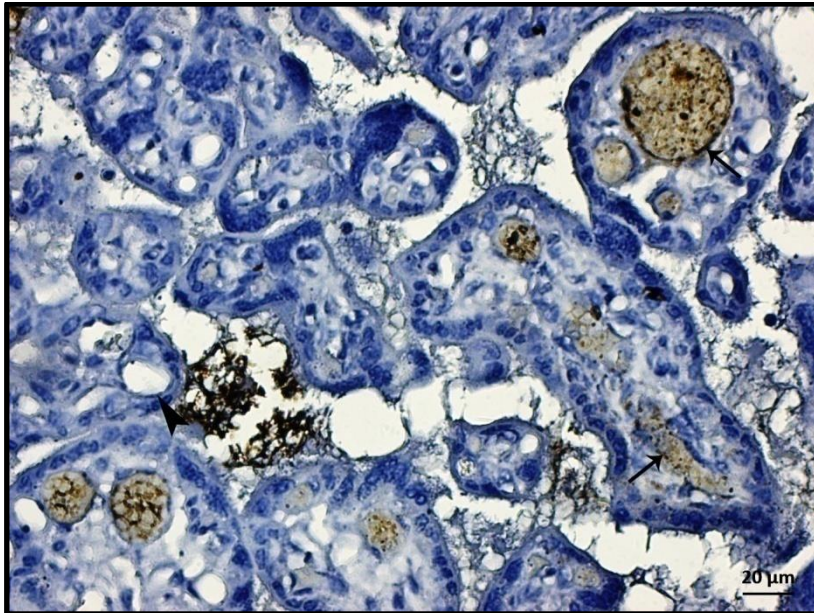
Resim 15: Kontrol fetal komponentinde sFlt-1 ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı)(Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm).



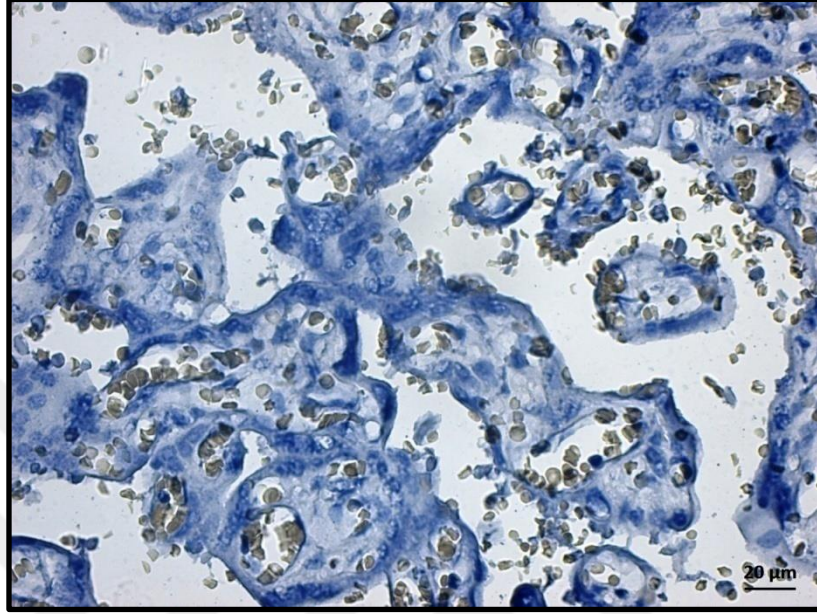
Resim 16: Kontrol maternal komponentinde sFlt-1 ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı). (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20µm)



Resim 17: Preeklampsi fetal componentinde sFlt-1 ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı) (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20μm).



Resim 18: Preeklampsi maternal componentinde sFlt-1 ekspresyonu alanları (ok) ve ekspresyon negatif kapiller endotelileri (ok başı) (Boyama: VEGF İmmunohistokimya, Bar:20μm).



Resim 19: Preeklampsi plasentanin maternal komponentine ait sFlt-1 negatif boyama (Boyama: sFlt-1 İmmunohistokimya, Bar:20μm).

6 TARTIŞMA

Plasenta, anne ile fetüs arasında gaz değişimi ve birçok metabolik faaliyet üstlenmektedir. Fetüsün gelişimi için plasenta oldukça önemli bir organdır. Sağlıklı bir plasentayon sürecinin gerçekleşmemesi preeklampsi gibi ödem ve proteinüri ile karakterize bir takım hastalıkları beraberinde getirmektedir (1). Hipertansiyon, ödem ve proteinüri gibi semptomlarlakarşılaşılan bu durum daha ileriki zamanlarda büyük organların damarlarında hasara neden olduğu ve obstetrik olanakların yetersiz olduğu ülkelerde ölümcül vakalarla sonuçlandığı görülmüştür. Tüm bilimler çalışmalara rağmen preeklampsinin patofizyolojisi altında yatan nedenleri hala tartışılmaktadır. Bu durumdan kaynaklı olarak preeklampsi için bir teoriler hastalığı tanımı oldukça sık kullanılmaktadır. Mevcut şartlarda preeklampsi için uygun görülen tedavi yöntemi erken doğum hala yerini korumaktır (43).

Yapılan son çalışmalar preeklampside izlenen ve endotel hücreleri gelişiminde rol oynayan ve birbirinin antagonisti olan sFlt-1 ve VEGF arasında ilişkiden kaynaklı olabileceği iddia edilmektedir (44). Preeklampside önde gelen teorileri arasında yer alan endotel fonksiyon bozukluğu araştırılması için çalışmamızda 10 adet normotansif,10 adette preeklampsi hasta olmak üzere toplamda 20 hastadan alınan plasentalar toplanmıştır. Toplanan plasentalarda hem maternal hem de fetal yüzleri histokimyasal olarak Hematoksilen-Eozin ve PAS boyama yöntemi ile immunohistokimyasal olarak da anti sFlt-1 ve anti-VEGF antikoları uygulanıp sonuçların tartışılması hedeflenmiştir.

Literatür bilgileri ışığında, çalışmamızda histokimyasal boyanan kesitler incelendiğinde Hematoksilen ve Eozin boyanan histolojik kesitler incelendiğinde çalışmamızdaki preeklampsili plasentalardaki kapillerlerin sayıca arttığı, dilatasyon ve Hofbauer hücrelerinde ve sinsityal düğüm ve köprülerin sayısında artış olduğu, intervillöz alanların yoğun kan odakları barındırdığı, fibrinoid yapılanmaların oluştuğu ve villus stromasında vaküoler yapıların olduğu tespit edildi (Resim 2-5) (45). Ayrıca kesitlerde incelenen fetal damarlarda konjesyon, aynı şekilde Correa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonucuyla paralellik göstermektedir (46).

Periyodik Asit Schiff ile boyanan kesitler incelendiğinde ise preeklampsi grubunun maternal ve fetalkomponentlerinde bazal membran kalınlaşmasının arttığı tespit edildi ($P<0,05$).

Histokimyasal boyanan kesitlerde incelendiğin preeklampsi grubu hastalara ait hem maternal hem de fetal kesitler görülen fibrinoid birikimin preeklampsi dışında yaş ile ilişkili olduğuna dair görüşler mevcuttur (47)(48).

Bonnie K.Dwyer ve arkadaşları çalışmalarına bakıldığında, preeklampsi hastaları gelişmiş risk grubu ve gelişmemiş risk grubu hastalar arasında sFlt-1 düzeylerini karşılaştırmış ve bu hastalar arasında 15-20 haftalık hasatlarda sFlt-1 düzeyleri arasında anlamlı bir artış görülmüştür (49).

Reuvekamp-Velsing-Poulina ve arkadaşları (50) 1999 yılındaki çalışmalarında sFlt-1'in antagonisti olan serbest VEGF'in seviyesinin kandaki düzeyinin preeklampsi ve aynı gebelik haftasına denk gelen sağlıklı gebelere göre daha düşük seviyede olduğunu tespit etmişlerdir.

2001 yılında preeklampsi üzerine yapılan bir çalışmaya göre Bosio-Wheeler-Anthony ve arkadaşları (51) sFlt-1'in dolaşımdaki düzeyi yüksek olduğundan serbest halde gezen VEGF düzeyinin azaldığını raporlamışlardır.

J.C.Cooper ve arkadaşları VEGF 'in bir reseptörü olan Flt düzeyinin plasentada term döneminde ve birinci trimestir döneminde lokalizasyonu gösteren bir çalışma sonucunda immunohistokimyasal olarak, Flt reseptörünün ekspresyon düzeyine bakıldığında; term plasentalarda fetal endotel hücrelerinde ve fetal villöz makrofaj hücrelerinde de ekspresyon tespit edilmiştir (52).

Maynard ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, gebe ratlarda sFlt-1 adenovirüsün uygulanarak elde ettikleri veriler ile preeklampsili hastalara benzer böbrekte patolojik değişikliklerin olduğunu tespit etmişlerdir (8).

Fan ve arkadaşları 20-35 gebelik haftaları arasındaki toplamda 120 sağlıklı ve preeklampsi grubu gebe kadınlar arasında yapmış olduğu çalışma, preeklampsi grubunda

sFlt-1 düzeyinin yüksek düzeylerde olduğu ve VEGF düzeyinin ise düşük olduğu tespit edilmiştir (53).

VEGF ve sFlt-1 üzerine birçok çalışmaları bulunan Levine (54), Karumanchi ve arkadaşlarının (55) yapmış oldukları bir çalışma sonucunda, preeklampitik gebelere ait plasentalarda sFlt-1 oranının arttığı ve buna bağlı olarak da VEGF seviyesinde ise azalma olduğu sonucuna varmışlardır. Başka bir çalışmada, sıçanlara dışarıdan sFlt-1 uygulandığında ise preeklampsi benzer bir hastalığın olabileceği sonucuna varmışlardır. VEGF, anjiyogenez mekanizmasında rol oynayan endotele özgü majör bir mitojendir. Aktivitesi temelde 2 yüksek afiniteli reseptör tirozin kinazla etkileşimi sonucu düzenlenir: Bunlardan biri kinazın insert domain bölgesi (KDR) diğeri ise fms benzeri tirozin kinaz-1 (Flt-1)'dir; selektif olarak vasküler endotel hücre yüzeyinde eksprese olduğu yapılan araştırmalar sonucunda görülmüştür. Ayrıca Flt-1, sitoplazmik ve transmembranal domainlerini kaybettikten sonra ligand bağlayıcı domaini kaldığında dolaşıma endojen salıverilen bir protein olan sFlt-1 (sVEGFR-1 olarak da bilinir) oluşur. Bu molekül hücre zarına bağlanamaz ve maternal kana salıverilir; dolasındaki VEGF'e bağlanıp endojen reseptörlerle etkileşimini önüne geçebilmektedir. sFlt-1, ayrıca esas olarak plasenta tarafından üretilen ve VEGF ailesinin bir üyesi olan plasental büyüme faktörüne (PlGF) de bağlanarak, PlGF'antagoniz etmektedir. Birçok çalışmaları ile preeklampsinin en önemli teorileri arasında yer alan endotel fonksiyon bozukluğu Levine ile Karumanchi ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmalar ile büyük ilerlemeler kazanmış bu, özellikle normotansif hastalar ile preeklampitik hastalarda VEGF azaldığı, sFlt-1'in ise arttığı tespit edilmiştir.

Levine, Karumanchi ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalar neticesinde; preeklampitik plasentalarda sFlt-1 ekspresyonunun artmasını sonucunda PlGF ve VEGF'i azaltarak bir antianjiyogenik durum oluşmasına neden olarak plasentasyon sürecinde preeklampsiye neden olduğunu vurgulayarak önemli tespitlerde bulunmuşlardır (56).

2006 yılında Wathen ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada, 49 hastanın daha sonradan preeklampsi bulgusu gösteren ve toplamda 124 hastada 12-15. ve 16-20. hamilelik haftalarında sFlt-1 ekspresyon derecelerini araştırmışlardır. Araştırmanın

sonucunda 16-20. haftalık gebelerde serum sFlt-1 seviyelerinin yükselmesi ve bu durumunun sonradan bile olsa preeklampsiye neden olabileceği sonucuna varmışlardır (57).

2005 yılında Park'ın yapmış olduğu bir çalışmada preeklampitik ve sağlıklı gebelere ait amniyotik sıvıda, maternal serumda sFlt-1 seviyelerini araştırmışlardır ve sonuç olarak 700pg/ml' den yüksek maternal serum sFlt-1'in seviyesinin preeklampsi için önemli bir risk olduğunu tespit etmişlerdir (58).

2003 yılında Koga-Osuga ve arkadaşlarının yapmış oldukları araştırmaya sonucunda (59) 31 preeklampitik ve 52 sağlıklı gebeleye ait toplamda 73 hastaya ait serum seviyelerini karşılaştırdıklarında preeklampitik hastalarda serum sFlt-1 düzeyleri, sağlıklı kontrollere grubuna oranla daha yüksek bir seviyede olduğunu tespit etmişlerdir. Preeklampsi nedenleri arasında sFlt-1'in maternal endotelial hücrelerde VEGF' i antagonize ettiğine dair sonuca varılmıştır.

Tidwell ve ekibinin (60), yapmış oldukları bir çalışmada 14 preeklampitik ve 25 normotansif gebe hastalarda serum PIGF düzeylerinin normotansif gebelerin plasentalarında artmış olduğunu, preeklampitik hastalarda ise aynı gebelik haftalarında serum PIGF seviyesinin azaldığını tespit etmişlerdir.

2003 yılında Polliotti-Fry ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (61); 20 preeklampitik hasta ve 60 sağlıklı gebeyi değerlendirdikleri çalışma sonucunda, preeklampitik hastalara ait serum PIGF ve VEGF seviyelerinin sağlıklı gebelere oranla düşük seviyelerde olduğu tespit edilmiştir.

VEGF ve sFlt-1 alanında yapılan diğer çalışmalara bakıldığında ise 2007 yılında Lee-Oh-Jung (62) tarafından yapılmış olan bir çalışmada preeklampitik hastalara ait serum VEGF düzeyleri sağlıklı gebelere göre anlamlı derecede düşük tespit edilmiştir. Serum sFlt-1 seviyesini bakıldığında preeklampitik hastaların sağlıklı gebelere oranla anlamlı derecede artış olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar aynı şekilde yapmış olduğumuz çalışma için de paralellik göstermektedir.

Hirokoshi-Maeshima-Kobayashi ve arkadaşlarının (62) yapmış olduğu bir çalışmada preeklampitik gebelerde serum sFlt-1 düzeyinin, VEGF 'i antagonize ettiğini tespit etmişlerdir.

Baumwell ve arkadaşlarının (63) preeklampsinin klinik bulguları ve moleküler mekanizmalarına ilişkin değerlendirilmelerinde dolaşımda sFlt-1 düzeyinin preeklampitik hastalarda yükseldiği tespit etmiş ve VEGF'in sadece anjiyogenez için değil aynı zamanda endotel hücrelerinin normal yaşamsal faaliyetleri için de gerekli olduğu sonucuna varmışlardır.

Ye-Liu-Zhan ve arkadaşlarının (64) 2006 yılında gerçekleştirdiği bir çalışmada, 30 preeklampitik hasta ve 45 sağlıklı kontrol grubu gebe hastalar olmak üzere toplamda 75 hastada yapılan araştırma sonucunda preeklampitik hastalarda serum VEGF seviyesinin sağlıklı gebelere oranla daha düşük bir seviyede olduğu, sFlt-1 seviyesinin ise anlamlı olarak yükseldiği tespit edilmiştir. Söz konusu çalışma sonucunda elde edilen veriler yapmış olduğumuz çalışma ile paralellik göstermektedir.

McKeeman ve arkadaşlarının (65) 2005 yılında yapmış oldukları bir araştırmadan preeklampitik hastalarda ölçülen serum örneklerinde sFlt-1 düzeyi anlamlı olarak yükseldiği tespit edilmiş ve sFlt-1 molekülünün preeklampsinin temel nedenlerinden biri olabileceğini üzerinde tespitlerde bulunmuşlardır. Bizde burada birbirinin antagonisti olan sFlt-1 ve VEGF preeklampsideki rollerinin endotel fonksiyon bozukluğunu etkilediğini ve bu iki proteinin özellikle plasentanın şekillenmesi sırasında seviyelerin takip edilmesinin hastalar açısından preeklampsiyi önleme adına önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda preeklampsi ve sağlıklı arasında yapılan immunohistokimyasal yöntem ile sFlt-1 düzeyinin özellikle preeklampsi grubu hastalar ile sağlıklı hastalar arasında anlamlı bir fark olduğu sonucuna varılmıştır (Tablo1). İstatistiksel veriler incelendiğinde özellikle preeklampsi hastalara ait maternal yüzde sFlt-1 ekspresyonun yüzdelik olarak daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır. Bu durum yapılmış olan çalışmalarla birlikte preeklampsinin maternal kaynaklı olabileceği tartışmalarını da beraberinde getirmektedir.

sFlt-1 plasenta tarafından üretilen endojen bir proteindir. sFlt-1'in PlGF, VEGF ve anjiyojenik büyüme faktörlere bağlanma özelliği ile bunların anjiyojenik fonksiyonlarını nötralize ettiğine düşünülmektedir (66).

Yapılan çalışmalar doğrultusunda çalışmamız incelendiğinde normotansif kontrol grubu hastalar ile preeklampsi grubu hastalar arasında plasentanın hem maternal hem de fetal yüzlerindeki ekspresyon yüzdesi istatistiksel olarak incelendiğinde sağlıklı hastalarda VEGF ekspresyonunun preeklampsi grubu hastalara oranla daha yoğun olduğu sonucuna varılmıştır (Tablo 1).

Çalışmamızda birbirinin antagonisti olan VEGF ve sFlt-1 düzeylerinin ekspresyon oranları karşılaştırıldığında birbirinin antagonisti oldukları ve özellikle plasentaysan sürecince maternal ve fetal yüzlerin her ikisinde de VEGF ve sFlt-1 düzeyleri arasında bir ters orantı olduğu ancak özellikle plasentanın maternal yüzünde anjiyogenez ve vaskülogenezde rol oynayan VEGF ve sFlt-1 arasında ilişkinin anlamlı olduğu görülmüştür.

Yapmış olduğumuz çalışma gösteriyor ki teoriler hastalığı olarak adlandırılan preeklampside endotel fonksiyon bozukluğunun VEGF ve sFlt-1 ekspresyon oranlarının tespit edilmesi yapılmış olan çalışmalar ile paralellik gösterdiği açıktır. Osbtetrik tedavi yöntemlerin gelişmesine rağmen halen birçok teori ile yeri doldurulamamış bu hastalığın daha çok hasta ile ve tüm teorilerin ortak bir şekilde göz önünde bulundurulması daha geniş imkânlarda ve daha çok moleküler teknikler ile desteklenmesini gerektiğini düşünmekteyiz.

7 SONUÇ

Sonuç olarak histokimyasal boyamalarda preeklampsi hastalarla normotansif hastalar karşılaştırıldığında preeklampsi grubu hastaların hem maternal hem de fetal komponentlerinde patolojik değişimlerin görüldüğü sonucunavarılmıştır. PAS ile boyanan kesitler normotansif kontrol grubu hastalar ile preeklampsi grubu hastalar arasında bazal membran kalınlaşmasının hem maternal hem de fetal komponentlerinde artığı tespit edilmiştir.

İmmonohistokimyasal olarak boyanan sFlt-1 ve VEGF immün boyalar karşılaştırıldığında; sFlt-1 oranının preeklampsi hastalarda artış gözlendiği, VEGF ekspresyonun düzeyinin ise azaldığı sonucuna varılmıştır. sFl-1 ekspresyonun özellikle preeklampsinin maternal komponentinde daha yoğun olduğu ve bu durumun endotel fonksiyon bozukluğun maternal kaynaklı olma olasılığını artırdığını düşünmekteyiz. Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda angiogenezde rol oynayan VEGF ve antagonisti olan sFlt-1 düzeyleri arasında ilişki olduğunu ve endotel fonksiyon bozukluğunun sFlt-1 ve VEGF'in önemli rollere sahip olduğunun sonucuna varılmıştır.

8 KAYNAKLAR

1. Roberts, J.M. and D.W. Cooper, Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet*, 2001. 357(9249): p. 53-6.
2. Högberg, U., The World Health Report 2005: "Make every mother and child count" — including Africans. *Scandinavian Journal of Public Health*, 2005. 33(6): p. 409-411.
3. Walker, J.J., Pre-eclampsia. *Lancet*, 2000. 356(9237): p. 1260-5.
4. Zhang, J., et al., Blood pressure dynamics during pregnancy and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 2007. 197(2): p. 162 e1-6.
5. Mutter, W.P. and S.A. Karumanchi, Molecular mechanisms of preeclampsia. *Microvasc Res*, 2008. 75(1): p. 1-8.
6. Teran, E., A. Calle, and C. Escudero, Endothelial dysfunction and preeclampsia. *Am J Hypertens*, 2007. 20(9): p. 1026-7; author reply 1027.
7. Palei, A.C., et al., Pathophysiology of hypertension in pre-eclampsia: a lesson in integrative physiology. *Acta Physiol (Oxf)*, 2013. 208(3): p. 224-33.
8. Maynard, S.E., et al., Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*, 2003. 111(5): p. 649-58.
9. Handwerger, S. and M. Freemark, The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2000. 13(4): p. 343-56.
10. Yetter, J.F., 3rd, Examination of the placenta. *Am Fam Physician*, 1998. 57(5): p. 1045-54.
11. Sadler, T.W. and J. Langman, *Langman's medical embryology*. 2012, Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
12. Moore, K.L., T.V.N. Persaud, and M.G. Torchia, *The developing human : clinically oriented embryology*. 2013.

13. Schoolcraft, W.B., et al., Blastocyst culture and transfer: analysis of results and parameters affecting outcome in two in vitro fertilization programs. *Fertil Steril*, 1999. 72(4): p. 604-9.
14. Balaban, B., D. Sakkas, and D.K. Gardner, Laboratory procedures for human in vitro fertilization. *Semin Reprod Med*, 2014. 32(4): p. 272-82.
15. Baergen, R., *Manual of Pathology of the Human Placenta*. 2011.
16. Robboy, S.J. and R.S. Hoda, *Pathology of the Human Placenta*. 4th Edition. *International Journal of Gynecological Pathology*, 2000. 19(4): p. 401.
17. Koestenbauer, S., et al., Embryonic stem cells: similarities and differences between human and murine embryonic stem cells. *Am J Reprod Immunol*, 2006. 55(3): p. 169-80.
18. Ross, M.H. and W. Pawlina, *Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology*. 6th ed. ed. 2011: Philadelphia : Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health.
19. Griffiths, S.K. and J.P. Campbell, Placental structure, function and drug transfer. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*, 2015. 15(2): p. 84-89.
20. Rutherford, J.N., Fetal signaling through placental structure and endocrine function: illustrations and implications from a non-human primate model. *American Journal of Human Biology*, 2009. 21(6): p. 745-753.
21. Guttmacher, A.E., Y.T. Maddox, and C.Y. Spong, *The Human Placenta Project: Placental Structure, Development, and Function in Real Time*. *Placenta*, 2014. 35(5): p. 303-304.
22. Carter, A.M., Regulation of maternal placental blood flow: A review. *Placenta*, 1999. 20: p. 271-291.
23. Duncan, S.L.B. and B.V. Lewis, Maternal placental and myometrial blood flow in the pregnant rabbit. *The Journal of Physiology*, 1969. 202(2): p. 471-481.
24. Burton, G.J. and E. Jauniaux, Sonographic, stereological and Doppler flow velocimetric assessments of placental maturity. *Br J Obstet Gynaecol*, 1995. 102(10): p. 818-25.

25. Forbes, K. and M. Westwood, The IGF axis and placental function. a mini review. *Horm Res*, 2008. 69(3): p. 129-37.
26. Folkman, J. and M. Klagsbrun, Angiogenic factors. *Science*, 1987. 235(4787): p. 442-7.
27. Levine, R.J., et al., Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*, 2004. 350(7): p. 672-83.
28. Chen, D.B. and J. Zheng, Regulation of placental angiogenesis. *Microcirculation*, 2014. 21(1): p. 15-25.
29. Bulletins--Obstetrics, A.C.o.P., ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. *Obstet Gynecol*, 2002. 99(1): p. 159-67.
30. Carr, D.B., et al., A sister's risk: family history as a predictor of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2005. 193(3 Pt 2): p. 965-72.
31. Desoye, G. and S. Hauguel-de Mouzon, The Human Placenta in Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 2007. 30(Supplement 2): p. S120.
32. Nyberg, P., L. Xie, and R. Kalluri, Endogenous inhibitors of angiogenesis. *Cancer Res*, 2005. 65(10): p. 3967-79.
33. Roberts, J.M. and D.W. Cooper, Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *The Lancet*. 357(9249): p. 53-56.
34. Dietl, J., The pathogenesis of pre-eclampsia: new aspects, in *Journal of Perinatal Medicine*. 2000. p. 464.
35. Alvarez Navascues, R. and R. Marin, [Severe maternal complications associated with pre-eclampsia: an almost forgotten pathology?]. *Nefrologia*, 2001. 21(6): p. 565-73.
36. Keck, P., et al., Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science*, 1989. 246(4935): p. 1309-1312.
37. Ferrara, N. and T. Davis-Smyth, The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*, 1997. 18(1): p. 4-25.

38. Carmeliet, P., et al., Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Vol. 7. 2001. 575-83.*
39. Shibuya, M., et al., Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (flt) closely related to the fms family. *Oncogene, 1990. 5(4): p. 519-24.*
40. Kendall, R.L., G. Wang, and K.A. Thomas, Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Biophys Res Commun, 1996. 226(2): p. 324-8.*
41. Kendall, R.L. and K.A. Thomas, Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. 90(22): p. 10705-9.*
42. Fong, G.H., et al., Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature, 1995. 376(6535): p. 66-70.*
43. Granger, J.P., et al., Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Hypertension, 2001. 38(3 Pt 2): p. 718-22.*
44. Dechend, R. and F.C. Luft, Angiogenesis factors and preeclampsia. *Nat Med, 2008. 14(11): p. 1187-8.*
45. E P Heazell, A., et al., Formation of Syncytial Knots is Increased by Hyperoxia, Hypoxia and Reactive Oxygen Species. *Vol. 28 Suppl A. 2007. S33-40.*
46. Correa, R.R., et al., Placental morphometrical and histopathology changes in the different clinical presentations of hypertensive syndromes in pregnancy. *Arch Gynecol Obstet, 2008. 277(3): p. 201-6.*
47. de Luca Brunori, I., et al., Placental barrier breakage in preeclampsia: ultrastructural evidence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2005. 118(2): p. 182-9.*

48. Heidari, Z., et al., Stereological Analysis of Human Placenta in Cases of Placenta Previa in Comparison with Normally Implanted Controls. *Journal of Reproduction & Infertility*, 2015. 16(2): p. 90-95.
49. Dwyer, B.K., et al., Variable expression of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in patients at high risk for preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2010. 23(7): p. 705-11.
50. Reuvekamp, A., et al., Selective deficit of angiogenic growth factors characterises pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol*, 1999. 106(10): p. 1019-22.
51. Bosio, P.M., et al., Maternal plasma vascular endothelial growth factor concentrations in normal and hypertensive pregnancies and their relationship to peripheral vascular resistance. *Am J Obstet Gynecol*, 2001. 184(2): p. 146-52.
52. Cooper, J.C., et al., Localization of vascular endothelial growth factor and its receptor, flt, in human placenta and decidua by immunohistochemistry. *J Reprod Fertil*, 1995. 105(2): p. 205-13.
53. Fan, X., et al., Endometrial VEGF induces placental sFLT1 and leads to pregnancy complications. *The Journal of Clinical Investigation*, 2014. 124(11): p. 4941-4952.
54. Levine, R.J., et al., Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med*, 2006. 355(10): p. 992-1005.
55. Young, B.C., R.J. Levine, and S.A. Karumanchi, Pathogenesis of preeclampsia. *Annu Rev Pathol*, 2010. 5: p. 173-92.
56. Young, B.C., R.J. Levine, and S.A. Karumanchi, Pathogenesis of Preeclampsia. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2010. 5(1): p. 173-192.
57. Wathen, K.A., et al., Maternal serum-soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 in early pregnancy ending in preeclampsia or intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. 91(1): p. 180-4.
58. Park, C.W., et al., An elevated maternal plasma, but not amniotic fluid, soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) at the time of mid-trimester genetic

- amniocentesis is a risk factor for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2005. 193(3 Pt 2): p. 984-9.
59. Koga, K., et al., Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003. 88(5): p. 2348-51.
 60. Tidwell, S.C., et al., Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2001. 184(6): p. 1267-72.
 61. Polliotti, B.M., et al., Second-trimester maternal serum placental growth factor and vascular endothelial growth factor for predicting severe, early-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol*, 2003. 101(6): p. 1266-74.
 62. Lee, E.S., et al., The levels of circulating vascular endothelial growth factor and soluble Flt-1 in pregnancies complicated by preeclampsia. *J Korean Med Sci*, 2007. 22(1): p. 94-8.
 63. Baumwell, S. and S.A. Karumanchi, Pre-eclampsia: clinical manifestations and molecular mechanisms. *Nephron Clin Pract*, 2007. 106(2): p. c72-81.
 64. Ye, Y.H., et al., [Expression and significance of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia placenta]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 2006. 41(8): p. 521-4.
 65. McKeeman, G.C., et al., Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout gestation in patients who have preeclampsia develop. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 191(4): p. 1240-1246.
 66. Tjoa, M.L., R.J. Levine, and S.A. Karumanchi, Angiogenic factors and preeclampsia. *Front Biosci*, 2007. 12: p. 2395-402.



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



9 ÖZGEÇMİŞ

Adı	Fırat	Soyadı	ŞAHİN
Doğum Yeri	Kulp	Doğum Tarihi	07.09.1992
Uyruğu	T.C	Tel	+90 543 345 77 02
E-posta	sfirat9021@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Tezli Yüksek Lisans	Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	20..
Tezsiz Yüksek Lisans		
Lisans	Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi /Biyoloji Bölümü	2016
Lise	Kayapınar Lisesi	2011

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	60 (2017/Haziran)							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı (2017/ilkbahar)	67,48955	68,00655	64,17489
(Diğer) Puanı			

10 EKLER

10.1 Etik kurul onayı

**DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR
NONINTERVENTIONAL STUDIES**

166

KARAR

Prof. Dr. Murat AKKUŞ, Fırat ŞAHİN, Yrd. Doç. Dr. Elif AĞAÇAYAK, Doç. Dr. Sevdâ SÖKER, Prof. Dr. Aşkın Ender TOPAL, Arş. Gör. Fırat AŞİR, Arş. Gör. Ayşegül PALA, Prof. Dr. Ömer SATICI isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Preeklampşik Gebelerin Plasentalarında sFlt-1 ve VEGF Ekspresyonunun Değerlendirilmesi" başlıklı araştırmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir.

Klinik araştırma tamamlandı yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.


DECISION

The project titled as "Evaluation of sFlt-1 and VEGF expression in the placentas of preeclamptic pregnancies" planned by Murat AKKUŞ, Fırat ŞAHİN, Elif AĞAÇAYAK, Sevdâ SÖKER, Aşkın Ender TOPAL, Fırat AŞİR, Ayşegül PALA, Ömer SATICI has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.

Oturum No (Meeting number) : Tarih (Date): 08.09.2017 Saat (Hour): 11:00-12:00

KURUL BAŞKANI (CHIEF) Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM

KURUL ÜYELERİ / MEMBERS

	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Hüseyin BÜYÜKBAYRAM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
2	Prof. Dr.	Levent ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
3	Doç. Dr.	Aziz KARADULLU	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
4	Doç. Dr.	İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
5	Doç. Dr.	Hüsnü KARAMAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
6	Doç. Dr.	Zülfükar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
7	Doç. Dr.	Cemil GÜYA	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
8	Doç. Dr.	Ezeli AZARKAN	Dicle Üniversitesi Hukuk Fakültesi	Öğretim Üyesi	
9	Yrd. Doç. Dr.	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	
10	Yrd. Doç. Dr.	M. Veyal BAHADİR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
11	Yrd. Doç. Dr.	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat. 21280 Kampüsü/DIYARBAKIR
Telefon:+90.412. 248 80 01-1674631 Faks: 90.412. 248 84 40 kuruletikdiyar@gmail.com

10.2Gönüllü onay formu

Gönüllü Bilgilendirme ve Onay Formu

Prof. Dr. Murat AKKUŞ tarafından yürütülen ve yüksek lisans öğrenci Fırat ŞAHİN' in yüksek lisans tezi olan "Preeklampitik Gebelerin Plasentalarında sFlt-1 ve VEGF Ekspresyonun Değerlendirilmesi" tez çalışması hakkında bana bilgi verildi. Bu çalışmada problemlili gebeliklerde, bebek ile anne arasında kan vasıtası ile madde alışverişinde rolü olan plasenta adı verilen dokudaki çeşitli hücrelerin yoğunluğuna ve bu dokudaki sFlt-1 ve VEGF rolünün araştırma yapılacağı bana anlatıldı.

Bu çalışma kapsamında elde edilen plasentanın çeşitli işlemlerden geçirilerek incelemeye tabi tutulacağı detaylı bir şekilde ifade edildi. Bu çalışmadaki işlemlerin çalışma kapsamında olmayan diğer gebeliklere uygulanan işlemler arasında bir farklılık oluşturmayacağı, tek farkın tüm doğumlardan sonra zaten ubbi atık olarak değerlendirilen plasentaların bu çalışma kapsamında incelenecek olması açık bir şekilde ifade edildi. Yapılacak işlemlerin doğum sonrası gerçekleşecek olması nedeniyle bana ve bebeğime zarar verecek hiç bir durumun söz konusu olmadığı ifade edildi. Çalışma için alınan plasenta örneklerinin sadece bu çalışma için kullanılacağı ve herhangi bir şekilde bebeğin ve ailenin kimlik bilgilerini açığa çıkaran bir çalışmada kullanılmayacağı belirtildi. İstedğim anda çalışmamdan çıkabileceğim ve/veya bana ait bilgilerin kullanılmasi iznini geri çekebileceğim konusunda bilgilendirildim.

Bana verilen bu bilgiler ile çalışmanın amacını anladığımı ve çalışmanın şartlarını kabul ettiğimi bildiririm.

Adı Soyadı

Telefon No

İmzası

Katılımcı:

Doktor: Doç. Dr. Elif AĞAÇAYAK

Tanık:

11 ORJİNALLİK RAPORU

07.05.2018

Tumitin

Doküman Görüntüleyici

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 07-May-2018 09:56 +03
NUMARA: 960062050
Kelime Sayısı: 6365
Gönderildi: 1

yüksek lisans tezi Fırat Şahin tarafından

[yenile](#)

3% match (18-Oca-2016 tarihli internet)

Benzerlik Endeksi
%6

Kaynağa göre Benzerlik

İnternet Sources:	%6
Yayımlar:	%1
Öğrenci Ödevleri:	%1

<http://kutuphane.pamukkale.edu.tr>

1% match (12-Ağu-2017 tarihli internet)

<http://www.halkdilindetiyo.com>

<1% match (10-Kas-2016 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Mehmet Akif Ersoy Aniversitesi on 2016-11-10](#)

<1% match (12-Haz-2017 tarihli internet)

<http://www.freepatentsonline.com>

<1% match (09-Tem-2016 tarihli internet)

<http://readgur.com>

<1% match (21-Ağu-2015 tarihli internet)

<http://ocean.kisti.re.kr>

<1% match (29-May-2016 tarihli internet)

<http://asheducationbook.hematologylibrary.org>

<1% match (09-Tem-2016 tarihli internet)

<http://readgur.com>

<1% match (23-Kas-2016 tarihli internet)

<http://www.uask2016.com>

<1% match (21-Tem-2010 tarihli internet)

<http://firattjodergisi.com>

<1% match (10-Ara-2016 tarihli internet)

<http://www.sqarbilim.com>

<1% match (10-Tem-2014 tarihli internet)

<http://tahudegitsel.org>

<1% match (08-Eki-2010 tarihli internet)

<http://www.stereoloji.org>

https://turnitin.com/newreport_classic.asp?lang=tr&old=960062050&ft=1&bypass_cv=1

1/14