

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

**GESTASYONEL DİYABETES MELLİTUS'LU İNSAN  
PLASENTALARINDA MMP-2 ve MMP-9'un  
İMMUNLOKALİZASYONU**

**Elif ÜNSAL  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof.Dr. Yusuf NERGİZ**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR  
2012**

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

**GESTASYONEL DİYABETES MELLİTUS'LU İNSAN  
PLASENTALARINDA MMP-2 ve MMP-9'un  
İMMUNLOKALİZASYONU**

**Elif ÜNSAL  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof.Dr. Yusuf NERGİZ**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR  
2012**

Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (DÜBAP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.  
(Proje No:11-TF-14)


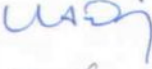

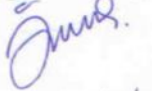

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

'Gestasyonel Diyabetes Mellitus'lu İnsan Plasentalarında MMP-2 ve MMP-9'un İmmünlökalisasyonu' isimli yüksek lisans tezi 19.06.2012 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yusuf NERGİZ  
Tezi Teslim Eden: Elif Ünsal


Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

**Başkan:** Prof. Dr. Yusuf NERGİZ   
**Üye:** Prof. Dr. M. Aydın KETANİ   
**Üye:** Doç. Dr. Engin DEVECİ   
**Üye:** Doç. Dr. Özlem BARAN   
**Üye:** Yrd. Doç. Dr. Ayfer AKTAŞ 

Yukarıdaki imzalar tasdik olunur.

19/06/2012

  
Prof. Dr. Salih HOŞOĞLU  
Dicle Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması, projelendirilmesi ve sonuçların değerlendirilmesinde göstermiş oldukları destek ve katkıları için Anabilim Dalı başkanımız ve danışman hocam Prof. Dr. Yusuf NERGİZ'e başta olmak üzere,

Tezimin oluşması ve şekillenmesinde gösterdiği emek ve çabasıyla Uzm. Dr. Ercan AYZAZ'a,

Dokuların temininde bana her türlü kolaylığı sağlayan Dicle Üniversitesi Kadın Doğum ve Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Mehmet Sıddık EVSEN'e

Bilgi ve deneyimlerine sık sık başvurduğum Uz. Dr. Selçuk TUNİK'e,

Çalışmalarım ve yüksek lisansımın ders aşamasında, bilgi birikimlerini ve de deneyimlerini paylaşan sayın hocalarım Prof. Dr. Murat AKKUŞ ve Doç. Dr. Engin DEVECİ'ye,

Tezimin laboratuvar aşamasında, yardımlarından dolayı Uğur ŞEKER'e, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji ve İmmünohistokimya laboratuvarı teknisyenlerine,

Tezim için gerekli bütçeyi ayırıp, destekleyen, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (DÜBAP) Koordinatörlüğüne,

Ve son olarak tezimin hazırlanmasında her zaman yanımda olan eşim ve kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Elif ÜNSAL**

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
TEZ ONAY SAYFASI	I
TESEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	IX
KISALTMALAR DİZİNİ	X
ÖZET	XII
ABSTRACT	XIII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diyabetes Mellitus	3
2.1.1. Tip 1 Diyabet	4
2.1.1.1. Genetik faktörler	4
2.1.1.2. Çevresel faktörler	4
2.1.1.3. Tip 1A Diyabet	5
2.1.1.4. Tip 1B Diyabet	5
2.1.2. Tip 2 Diyabet	5
2.1.3. Gestasyonel Diyabet	7
2.1.4. Gebelik ve Diyabet	10
2.2. Plasenta	12
2.2.1. Plasentanın Gelişimi	13
2.2.1.1. Pre-laküner Evre	13
2.2.1.2. Laküner Evre	14
2.2.1.3. Erken Villus Evresi	16
2.2.2. Plasentanın Bölümleri	17
2.2.2.1. Pars Fetalis	17
2.2.2.2. Pars Maternalis	17
2.2.3. Villus Ağacının Yapısı	18
2.3. Matriks Metalloproteinaz	20
2.3.1. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması	23
2.3.1.1. Kollejenazlar	23

2.3.1.2. Jelatinazlar	23
2.3.1.3. MMP-2	24
2.3.1.4. MMP-9	24
2.3.1.5. Stromelizinler	25
2.3.1.6. Matrisilinler	25
2.3.1.7. Membran Tipi Metalloproteinazlar	25
2.3.2. Matriks Metalloproteinazların Doku İnhibitörleri	25
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>27</b>
3.1. Plasentaların Elde Edilmesi	27
3.2. Işık Mikroskopik İnceleme İçin Dokuların Takibi	28
3.2.1. Hematoksilen-Eozin boyama protokolü	29
3.2.2. Masson trikrom boyama protokolü	29
3.2.3. PAS boyama protokolü	30
3.3. Histomorfometrik İncelemeler	30
3.4. İmmunohistokimyasal Yöntem	30
3.5. İstatistiksel Yöntem	32
<b>4. BULGULAR</b>	<b>33</b>
4.1. Histopatolojik bulgular	33
4.1.1. Kontrol grubu plasenta bulguları	33
4.1.2. Gestasyonel Diyabet Grubu Plasenta Bulguları	34
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	40
4.2.1. MMP-2 Bulguları	40
4.2.2. MMP-9 Bulguları	48
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>54</b>
<b>6. SONUÇ</b>	<b>58</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>59</b>
<b>8. EKLER</b>	<b>67</b>
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>68</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

		<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil.1</b>	MMP ailesinin molekül yapısının şematik gösterimi	<b>23</b>
<b>Şekil.2</b>	Plasentanın koryoamniyonik membranla kaplı fötal yüzü, koryonik elemanlar ve göbek kordonu izlenmektedir	<b>27</b>
<b>Şekil.3</b>	Plasentada kotiledonların olduğu maternal yüz	<b>28</b>
<b>Şekil.4</b>	Kontrol grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityal düğüm (sd),sinsityal köprü (sk) ve perivillöz fibrin birikimi (PF) (H-E)	<b>33</b>
<b>Şekil.5</b>	Kontrol grubu santral plasenta kesiti, kök villusu (kv), perivillöz fibrin (PF),sinsityal düğümler (sd), sinsityal köprü (sk) ve intervillöz aralık (iva) izlenmektedir. Masson trikrom,	<b>34</b>
<b>Şekil.6</b>	Kontrol grubu santral plasenta kesitinde, normal kalınlıkta izlenen trofoblast bazal membran (ok) (PAS).	<b>34</b>
<b>Şekil.7</b>	GDM grubu periferik plasenta kesiti, sinsityal düğümlerde (sd) belirgin artışın yanı sıra, perivillöz fibrin (pf) ve fötal kapillerde konjesyon (k) izlenmektedir (H-E)	<b>35</b>
<b>Şekil.8</b>	GDM grubu santral plasenta kesiti. Kök villuslarda infarkt alanı (asterisk) çevreleyen yoğun fibrinoid doku (pf) konjesyon (k) ve dilate fötal kapiller izlenmektedir (H-E)	<b>36</b>
<b>Şekil.9</b>	GDM grubu periferik plasenta kesiti. Sinsityal düğümlerde (sd) ve sinsityal köprülerde (sk) belirgin bir artış görülmektedir (H-E)	<b>36</b>
<b>Şekil.10</b>	GDM grubu periferik plasenta kesitinde terminal villus fötal kapillerinde (kap) aşırı dilatasyon ve perivillöz fibrin (pf) birikimi (Masson trikrom)	<b>37</b>
<b>Şekil.11</b>	GDM grubu santral plasenta kesitinde, infarkt alanı (asterisk) çevreleyen yoğun fibrinoid doku (pf) birikimi izlenmektedir (Masson trikrom).	<b>37</b>
<b>Şekil.12</b>	GDM grubu santral plasenta kesiti. Kök villusta (kv) yer alan fötal arter tunika mediasında asimetrik duvar kalınlaşması ve amnion epiteli (ep) izlenmektedir (Masson trikrom).	<b>38</b>

<b>Şekil.13</b>	GDM grubu periferik plasenta kesitinde kalınlaşmış trofoblast bazal membranı (ok)(PAS)	<b>38</b>
<b>Şekil.14</b>	GDM grubu santral plasenta kesiti. Desidua heterojen dağılım gösteren yoğun glikojen (g) akümüasyonu (PAS)	<b>39</b>
<b>Şekil.15</b>	Kontrol grubu santral kesitte bazal plak desidua hücrelerinde (ok başı) zayıf düzeyde ekspresyon, koryon villüs sinsityotrofoblastlarında (oklar) orta düzeyde ekspresyon görülmektedir (MMP-2 immün boyama)	<b>40</b>
<b>Şekil.16</b>	GDM grubu santral kesitte bazal plak desidual hücrelerde (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon izlenmektedir (MMP-2 immün boyama)	<b>41</b>
<b>Şekil.17</b>	Kontrol grubu santral kesitte ekstrasillöz trofoblastik hücrelerde (çift ok) ve koryon villüs sinsityotrofoblastlarında zayıf düzeyde ekspresyon, sinsityal düğümlerde (ok başı) minimal ekspresyon görülmektedir (MMP-2 immün boyama)	<b>41</b>
<b>Şekil.18</b>	GDM grubu santral kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarında (oklar) genelde zayıf ekspresyon, sinsityal düğümlerde ekspresyon olmadığı izlenmektedir (MMP-2 immün boyama)	<b>42</b>
<b>Şekil.19</b>	GDM grubu santral kesitte villüs sinsityotrofoblastlarında (ok) ve ekstrasillöz trofoblastik sinsityotrofoblastlarda (çift ok) zayıf ekspresyon, sinsityal düğümdede (ok başı) ekspresyonun olmadığı görülmekte (MMP-2 immün boyama)	<b>42</b>
<b>Şekil.20</b>	GDM grubu santral kesitte kök villüs sinsityotrofoblastlarında (oklar) ve ekstrasillöz trofoblastik sinsityotrofoblastlarda (çift ok) zayıf ekspresyon, sinsityal düğümdede (ok başı) ekspresyonun olmadığı görülmekte (MMP-2 immün boyama)	<b>43</b>
<b>Şekil.21</b>	Kontrol grubu perifer kesitte bazal plak desidual hücrelerde (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon izlenmektedir (MMP-2 immün boyama)	<b>43</b>



<b>Şekil.22</b>	GDM grubu perifer kesitte bazal plak desidual hücrelerde (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon (MMP-2 immün boyama)	<b>44</b>
<b>Şekil.23</b>	Kontrol grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarda (oklar) zayıf ekspresyon, sinsiyal düğümde (ok başı) ekspresyonun olmadığını görmekteyiz (MMP-2 immün boyama)	<b>44</b>
<b>Şekil.24</b>	Kontrol grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarda (ok) zayıf ekspresyon, sinsiyal düğümde (ok başı) ekspresyonun olmadığını görmekteyiz (MMP-2 immün boyama)	<b>45</b>
<b>Şekil.25</b>	GDM grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarda (ok) zayıf ekspresyon, sinsiyal düğümde (ok başı) minimal ekspresyon görülmekte (MMP-2 immün boyama)	<b>45</b>
<b>Şekil.26</b>	GDM grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarda (oklar) orta ekspresyon, sinsiyal düğümde (ok başı) minimal ekspresyon görülmekte (MMP-2 immün boyama)	<b>46</b>
<b>Şekil.27</b>	GDM grubu perifer kesitte kök villüsta ekstravillöz trofoblastlarda (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon izlenirken, damar duvarında (ok başı) ekspresyon görülmemekte (MMP-2 immün boyama)	<b>46</b>
<b>Şekil.28</b>	GDM grubu santral kesitte amnion epitelinde (ok) güçlü ekspresyon görülmekte (MMP-2 immün boyama, Bar: 20 µm).	<b>47</b>
<b>Şekil.29</b>	Kontrol grubu santral kesitte bazal plak desidual hücrelerde (oklar) zayıf-orta düzeyde ekspresyon izlenmektedir (MMP-9 immün boyama)	<b>48</b>
<b>Şekil.30</b>	GDM grubu santral kesitte bazal plak desidual hücrelerde (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon izlenmektedir (MMP-9 immün boyama)	<b>49</b>

<b>Şekil.31</b>	Kontrol grubu santral kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarında ve sinsityal düğümlerde orta düzeyde ekspresyon izlenmektedir (MMP-9 immün boyama)	<b>49</b>
<b>Şekil.32</b>	GDM grubu santral kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarında (oklar) orta düzeyde ekspresyon, sinsityal düğümlerde ekspresyonun olmadığı görülüyor (MMP-9 immün boyama)	<b>50</b>
<b>Şekil.33</b>	GDM grubu santral kesitte amnion epitelinde (ok) güçlü ekspresyon görülmekte (MMP-9 immün boyama)	<b>50</b>
<b>Şekil.34</b>	Kontrol grubu perifer kesitte bazal plakta desidua hücrelerinde (oklar) zayıf ekspresyon görülmekte (MMP-9 immün boyama)	<b>51</b>
<b>Şekil.35</b>	Kontrol grubu perifer kesitte bazal plakta desidua hücrelerinde (oklar) zayıf ekspresyon görülmektedir (MMP-9 immün boyama)	<b>51</b>
<b>Şekil.36</b>	Kontrol grubu prerifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarında (ok) ve sinsityal düğümdede (ok başı) zayıf ekspresyon izlenmektedir (MMP-9 immün boyama)	<b>52</b>
<b>Şekil.37</b>	GDM grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarında (oklar) orta düzeyde ekspresyon, sinsityal düğümdede (ok başı) zayıf ekspresyon görülmektedir (MMP-9 immün boyama)	<b>52</b>
<b>Şekil.38</b>	GDM grubu perifer kesitte amnion epiteli (oklar) ve mezenşiminde (yıldız) zayıf düzeyde ekspresyon görülmekte (MMP-9 immün boyama)	<b>53</b>

## TABLULAR DİZİNİ

		Sayfa No
<b>Tablo.1</b>	Diyabetes mellitusun etiyolojik sınıflandırılması	3
<b>Tablo.2</b>	Gebelik sırasında diyabetin sınıflandırılması	8
<b>Tablo.3</b>	Kontrol ve GDM'li plasentalarda MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunun skorlanması	31
<b>Tablo.4</b>	Gruplar arasında MMP-2 immünekspresyonun, santral ve perifer kesitlerde skrolama sonucu elde edilen değerlerin istatiksels analizi.	46
<b>Tablo.5</b>	Gruplar arasında MMP-9 immünekspresyonun, santral ve perifer kesitlerde skrolama sonucu elde edilen değerlerin istatiksels analizi.	53

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ESM</b>	Ekstrasellüler matriks
<b>FSD</b>	Fetal sinsityal düğüm
<b>FKVS</b>	Fetal koryon villus sinsityotrofoblast
<b>FKVStr</b>	Fetal koryon villüs stroması
<b>FP</b>	Fetal plasenta periferik kesit
<b>FS</b>	Fetal plasenta santral kesit
<b>GDM</b>	Gestasyonel Diyabetes Mellitus
<b>GH</b>	Growth hormon
<b>hCS</b>	Human koryonik somatotropin
<b>HE</b>	Hematoksilen eozin
<b>hPL</b>	Human plasental laktojen
<b>hPGH</b>	Human plasental growth hormon
<b>IGF</b>	İnsülin benzeri büyüme faktörü
<b>IVA</b>	İntervilloz aralık
<b>IDDM</b>	İnsüline bağımlı diyabetes mellitus
<b>IIV</b>	İmmatür İntermediyet villus
<b>KV</b>	Stem (Kök) villus
<b>KVS</b>	Kök villüs sinsityotrofoblast
<b>KVStr</b>	Kök villüs stroması
<b>MHC</b>	Major histocompability kompleks
<b>MMP</b>	Matriks metalloproteinaz
<b>MKVS</b>	Maternal koryon villus sinsityotrofoblast
<b>MKVStr</b>	Maternal koryon villüs stroması
<b>MP</b>	Maternal plasenta periferik kesit
<b>MS</b>	Maternal plasenta santral kesit
<b>MSD</b>	Maternal sinsityal düğüm
<b>MV</b>	Mezenşimal villus

<b>MİV</b>	Matür intermediyet villus
<b>NİDDM</b>	İnsüline bağımlı olmayan diyabetes mellitus
<b>NK</b>	Doğal öldürücü hücreler
<b>PAS</b>	Periyodik asit schiff
<b>PRL</b>	Prolaktin
<b>TİMP</b>	Metalloproteinaz doku inhibitörleri
<b>T1DM</b>	Tip 1 Diyabetes Mellitus
<b>T2DM</b>	Tip 2 Diyabetes Mellitus
<b>TV</b>	Terminal villus
<b>u-PA</b>	Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü

## ÖZET

### **Gestasyonel Diyabetes Mellituslu İnsan Plasentalarında MMP-2 ve MMP-9'un İmmunlokalizasyonu**

Gestasyonel diyabetes mellitus gebelik esnasında görülen, patogeneğinde insülin sekresyonunda, insülin etkisinde ya da her ikisindeki hasardan kaynaklanan hiperglisemiyle karakterize metabolik bir hastalıktır. Matriks metalloproteinazların (MMP) trofoblast invazyonunda önemli rol üstlendikleri bildirilmiştir. MMP-2 için en güçlü reaksiyonlar trofoblastların, maternal dokuları invaze ettikleri bölgelerde bulunmuştur. Ayrıca en yüksek MMP-9 aktiviteleri fetal ve maternal dokuların temas noktaları arasında belirlenmiştir. Bu durum MMP'lerin doğum esnasında plasentanın uterus duvarından ayrılmasında etkili olduklarını düşündürmektedir. Çalışmamızda bilgilendirilmiş onamı alınan, 15 adet gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) tanısı almış ve 15 adet herhangi bir sistemik hastalığı olmayan (kontrol grubu) gebe annelerden normal doğum ve sezeryan ile elde edilen plasentalar kullanıldı. Elde edilen plasentaların maternal ve fetal yüzlerinden, santral ve periferik kısımlarından doku örnekleri alınıp, rutin parafin takibi yapıldıktan sonra parafin bloklardan elde edilen kesitlerin bir kısmı H-E, PAS ve Trikrom Masson boyaları ile geri kalan kesitler ise MMP-2 ve MMP-9 immün boyamaları yapılarak ışık mikroskopunda değerlendirilip, görüntülendi. Bazı GDM vakalarında hem santral hem de periferik plaseenta terminal villuslarında, sinsityal düğüm ve köprülerde belirgin bir artış gözlemlendi. Fetal kapillerlerin ileri derece dilate ve sinsityotrofoblastlara oldukça yakın durumda olduğu saptandı. PAS ile boyanan GDM grubuna ait plasentaların neredeyse tamamında trofoblast bazal membranının yer yer kalınlaştığı dikkati çekti. MMP-2 reaksiyonu, maternal ve fetal kısımda zayıf düzeyde ekspresyon olurken, her iki grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. MMP-9 ekspresyonu açısından gruplararası karşılaştırma yapıldığında, diyabetik grup desidua hücrelerinde artış, sinsityal düğümlerde ise azalma dikkatleri çekti. Fetal tarafta ise koryon villüs sinsityotrofoblastlarında, koryon villüs stromasında, kök villüs sinsityotrofoblastlarında, kök villüs stromasında ve koryon plağında ekspresyon düzeyinde azalma saptandı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında GDM'li grubun plasentalarında terminal villuslarda kapiller proliferasyonu, perivillöz fibrin birikimi, sinsityal düğüm, sinsityal köprü sayısında artış izlendi. Elde ettiğimiz bulgular, gestasyonel diyabetik plasentalarda MMP-9'un, MMP-2'ye nazaran daha etkin rol oynadığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Full-term insan plasentası, gestasyonel diyabetes mellitus, MMP-2, MMP-9

## ABSTRACT

### **Immunolocalization of MMP-2 and MMP-9 in Placenta of Humans with Gestational Diabetes Mellitus**

Gestational diabetes mellitus, occurring during pregnancy, is a metabolic disorder characterized by hyperglycemia due to a defect in insulin secretion, insulin efficiency or both. It has been reported that Matrix metalloproteinases (MMPs) have undertaken an important role in trophoblast invasion. The most powerful reactions for MMP-2 were found in regions where trophoblast cells had invaded maternal tissues. In addition, the highest MMP-9 activities were detected at points of contact between fetal and maternal tissues. This situation suggests that MMPs are involved in the separation of placenta from uterus wall during birth. In our study, with signed informed consent, placentas which were obtained with normal delivery and caesarean sections from 15 gestational diabetes mellitus (GDM) diagnosed and 15 without any systemic disease (control group) pregnant mothers, were used. Following routine paraffin monitoring of tissue samples from central and peripheral parts of maternal and fetal surfaces of obtained placentas, some sections obtained from paraffin blocks were immunostained by HE, PAS, and Masson's Trichrome stains and remaining sections were immunostained for MMP-2 and MMP-9, and they were evaluated by light microscopy and viewed. In some GDM cases, a significant increase was observed in terminal villi, syncytial knot and bridges of both central and peripheral placenta. It was found that fetal capillaries were extremely dilated and were quite close to syncytiotrophoblasts. In almost all PAS-stained placentas of GDM group, trophoblast basement membrane was noticed to be thickened in some parts. MMP-2 reaction was weakly expressed in maternal and fetal surface, and no significant difference between the two groups was observed. When MMP-9 expression was compared between the groups, an increase in decidual cells of diabetic group and a decrease in syncytial nodes were noticed. In fetal surface, a decrease in expression level was detected in chorionic villus syncytiotrophoblasts, chorionic villus stroma, stem villus syncytiotrophoblasts, stem villous stroma and chorionic plate. Compared with control group, an increase was observed in number of capillary proliferation, perivillous fibrin deposition, syncytial knot and syncytial bridges in terminal villi of placentas of GDM group. Regarding our findings, MMP-9 plays a more active role than MMP-2 in gestational diabetic placentas was concluded.

**Key words:** Full-term human placenta, gestational diabetes mellitus, MMP-2, MMP-9

## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

İnsan plasentası temelde maternal ve fetal dolaşımların birbirine karışmasına izin vermeden bitişikliğine izin veren karmaşık damarlar sistemidir. Plasental fetal damarlar dışta trofoblast tabakası ve mezenseşimal çekirdekten oluşmuş koryonik villusları içerir. Villuslar maternal kan ile yıkanmaktadır. Trofoblast ve endotelyum birlikte besin ve oksijenin, maternal ve fetal dolaşımdaki transferini düzenlemektedir. Gestasyonel diyabetes mellitus ilk defa hamilelikte tanımlanan değişik derecelerdeki glukoz intoleransı olarak tanımlanmaktadır. Anormal maternal glukoz toleransı gebeliklerin % 3-10 görülür. Diyabetik gebelik, fetal büyüme ve gelişmedeki çok sayıda bozuklukla karakterizedir. İyi kontrol edilmeyen diyabette fetal makrozomi, konjenital malformasyon ve intrauterin büyüme geriliği sıklıkla gözlenmektedir (1). Diyabet ile komplike gebelikte plaseenta, genellikle normalden daha büyüktür ve çok sayıda fetal büyüme ve gelişme bozukluğuyla sonuçlanmada rolü olan yapısal anormalliklere sahiptir(2). Fetal boyut ve plasental boyut arasında tutarsızlığı, plasental boyut ve plasentanın görünen fonksiyonu arasındaki farkı açıklamak için plasentanın mikroskobik yapısının çalışması önemlidir. Diyabetik hamilelerin plasentalarında, ışık mikroskobunda, sinsityal düğümlerde fazlalık, artan vaskülosinsityal membran kalınlığı, villöz nekroz, villöz immatürite gibi villus lezyonları gözlenmektedir (3, 4, 5, 6).

Gestasyonel diyabetes mellitusun gebelikte en sık görülen metabolik hastalık olması ve hiperglisemik intrauterin ortamın varlığı ile doğan çocuklarda tip 2 DM gelişme riskinin artması gebelikte anne ve fetüste; morbidite ve perinatal mortaliteyi önemli derecede arttıran nedenler arasında ön sıralarda yer almasından dolayı araştırılması gereken önemli bir hastalıktır. Damarların gelişimi ve işleyişi diyabetik ortamdan direkt etkilenebilir. Plasental gelişiminin kritik aşamasında bozulan koşullar, vasküler sistemin vaskulogenezisini, anjiogenezisini ve olgunlaşmasını bozabilir. Plasental vaskülarizasyon, pek çok adımın organize bir şekilde birbirini izlemesiyle sonuçlanan bir işlemdir. Bu faktörler sadece vasküler yapıların teşkili için değil aynı zamanda trofoblast invazyonu ve maturasyonunda da görev alırlar. Trofoblast endometriyum etkileşmesi ve sonuçta invazyonu ile plasentasyon gelişmektedir. Matriks metalloproteinazlar; ekstrasellüler matriks ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim ailesidir. Metalloproteinazları değişik sub grupları bulunmaktadır. Esas olarak tip IV kollajeni, ayrıca ekstrasellüler matrikste (ECM)



tip I, V, VII, IX kollajen, fibronektin, lamin, elastin ve vitronektin gibi proteinleri parçalayan MMP ailesinin bir üyesi olan jelatinazlar, plasental invazyonda en çok çalışılan MMP'lerdir. Diyabetik ratlarda MMP-2 ve MMP-9'un plasentanın hem fetal hemde maternal tarafında aktivitesinin arttığı gösterilmiştir.

Amacımız; GDM'li insan plasentalarında salınımları ile ilgili plasentasyonun anjiogenez ve invazyon aşamalarında çok önemli bir yeri olan jelatinazların gösterilmemiş olan immunlokalizasyonunu ortaya koyup, normal plasentalara göre bir farkın olup olmadığı yönünde incelemek ve bu iki grup arasında histopatolojik olarak anlamlı bir farkın olup olmadığını belirlemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes mellitus; insülin sekresyonundaki, insülin etkisindeki ya da her ikisindeki hasardan kaynaklanan hiperglisemiyle karakterize metabolik bir hastalıktır. Diyabetes mellitus'taki kronik hiperglisemi zamanla başta gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları olmak üzere çeşitli organlarda zarara, fonksiyon bozukluğuna neden olur (7).

Günümüzde diyabet içerdiği patolojik süreçlere göre sınıflandırılmaktadır (8). Tip 1 diyabet mutlak insülin eksikliğiyle karakterize iken tip 2 diyabet ise bozuk insülin sekresyonu ya da direnciyle karakterizedir. İnsüline bağımlı diyabetes mellitus (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan diyabetes mellitus (NIDDM) terimleri artık kullanılmamaktadır. Sınıflandırmada artık yaş da kullanılmamaktadır, çünkü  $\beta$ -hücre yıkımı herhangi bir yaşta başlayabilir. Çoğunlukla  $\beta$ -hücre yıkımı 30 yaşından önce başlar, fakat etkilenmiş bireylerin %5-10'unda başlangıç 30 yaşından sonradır.

2010 yılında Amerikan Diyabet Birliği tarafından şu şekilde sınıflanmıştır (Tablo.1)

**Tablo.1:** Diyabetes mellitusun etiyolojik olarak sınıflandırılması.

<b>Tip-1 Diyabet</b>
<b>Tip-2 Diyabet</b>
<b>Diyabetin diğer spesifik tipleri</b>
<b>Gestasyonel diyabet</b>

**Tip-1 Diyabet** (tam insülin eksikliğine yol açan  $\beta$  hücre harabiyeti)

- a) İmmun aracılı
- b) idiyopatik

**Tip-2 Diyabet** (ağırlıklı olarak insülin direncinden, insülin direnci ile birlikte insülin salınım defekti arasında değişiklik gösterir )

**Diyabetin diğer spesifik tipleri**

- a)  $\beta$  hücre fonksiyonundaki genetik defektler,

- b) İnsülin etkisindeki genetik bozukluklar
- c) Ekzokrin pankreas hastalıkları,
- d) Endokrinopatiler
- e) İlaç ve kimyasalların indüklediği diyabet
- f) Enfeksiyonlar
- g) İmmün kaynaklı diyabetin sık görülmeyen formları
- h) Diyabetin bazen eşlik ettiği diğer genetik sendromlar

## **Gestasyonel Diyabet**

### **2.1.1. Tip 1 Diyabet**

Tip1 diyabet insülinin tam veya kısmi yokluğu sonucu oluşan kronik metabolik bir hastalıktır. İnsülin pankreasın langerhans adacıklarında bulunan  $\beta$  hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Bu hücrelerin otoimmün sebeplerden dolayı hasara uğraması veya yokluğu tip 1 diyabetin sebebidir. Tip 1 diyabetin görülme sıklığı tüm diyabetik hastalar arasında %10 civarındadır. Hastalığın etiolojisinde, çevresel ve genetik faktörler önemli rol oynamaktadır (9). Hastaların %90'ında otoimmün (Tip 1A), %10 kadarında ise non-otoimmün (Tip 1B)  $\beta$ -hücre yıkımı söz konusudur.

#### **2.1.1.1. Genetik faktörler**

Tip 1 diyabetli bireyin birinci derece akrabalarında diyabet gelişme riskinin 15-20 kat yüksek olduğu belirtilmektedir. Tip 1 diyabetin 6. kromozomun kısa kolunda bulunan HLA genleri ile % 30- %70 oranında yakın ilişkisi vardır. Bu genlerin tip 1 diyabet patogenezindeki fonksiyonlarının ne olduğu tam olarak anlaşılmamasına rağmen immün cevabın gelişimde önemli fonksiyonlarının olduğu düşünülmektedir (10) .

#### **2.1.1.2. Çevresel Faktörler**

Tip 1 diyabetin gelişmesinde , otoimmunitenin başlamasında veya baskılanmasında kimyasal maddeler, virüsler, gıdalar gibi çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır. Genetik yatkınlığı olan bireylerde tip 1 diyabet gelişimi çevresel faktörlere maruz kalma sıklığına ve süresine de bağlıdır (10). Bu faktörlerden biri olan virüsler doğrudan sitolitik etkiyle veya otoimmunitiyi tetikleyerek  $\beta$  hücre harabiyetine yol açarlar. Kimyasal

ajanların ve ilaçların da  $\beta$  hücrelerinde harabiyet yaparak tip 1 diyabet gelişimini kolaylaştırdığı bilinmektedir (11) .

Genetik ve çevresel faktörler, pankreasın  $\beta$  hücrelerine karşı otoimmün süreci başlatmakta tetikleyicidirler. Otoimmün süreç ile birlikte pankreasın adacık hücrelerinde yavaş ilerleyen yıkım başlar. Bununla beraber insülin sekresyonu azalmaya başlar. Başlarda normal  $\beta$  hücrelerinin salgıladığı insülin ile karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmaları sürdürülebildiğinden  $\beta$  hücrelerinin önemli derecede harabiyetine kadar geçen dönem asemptomatiktir. Pankreastaki  $\beta$  hücrelerinin % 80-90 harabiyeti durumunda diyabetin klinik bulguları ortaya çıkmaktadır. Tip 1 diyabet hastalarında süreç dört fazda gerçekleşmektedir:

- 1) Çevresel faktörlere maruz kalma,
- 2) T hücrelerinin uyarılması,
- 3) T hücrelerinin farklılaşması,
- 4)  $\beta$  hücrelerinin zarar görmesi (9).

#### **2.1.1.3. Tip 1A Diyabet**

Genetik yatkınlığı bulunan kişilerde (riskli gruplar) çevresel tetikleyici faktörlerin (virüsler, toksinler, emosyonel stres) etkisiyle otoimmünite tetiklenir ve ilerleyici  $\beta$  -hücre hasarı başlar.  $\beta$  -hücre rezervi %80–90 oranında azaldığı zaman klinik diyabet semptomları ortaya çıkar. Tip 1A diyabette başlangıçta kanda adacık otoantikörleri pozitif bulunur.

#### **2.1.1.4. Tip 1B Diyabet**

Otoimmünite dışındaki bazı nedenlere bağlı mutlak insülin eksikliği sonucu gelişir. Kanda adacık otoantikörleri bulunmaz (12).

#### **2.1.2. Tip 2 Diyabet**

Tip 2 diyabet ya da insüline bağımlı olamayan diyabetes mellitus diyabetik hastaların %90-95'ini oluşturur (13). Hücre-reseptör defektine bağlı olarak organizmanın ürettiği insülinin kullanımında ortaya çıkan sorunlar nedeniyle glukoz hücre içine absorbe edilip enerji olarak kullanılamaz (12). Tip 2 diyabette en önemli özellik insülinin fizyolojik etkilerine karşı periferik dokularda özellikle de çizgili kaslarda direnç oluşumudur. Bu direnç insülin reseptörleri veya post insülin reseptör defektine bağlı olabilir. İnsülin

direncini oluşturabilen veya arttırabilen birçok faktör vardır. Bunlardan bazıları arasında obezite, hipertansiyon, yüksek kolesterol, metabolik sendrom, stres ve akromegali sayılabilir. Tip 2 diyabetteki insülin eksikliğinin nedenleri aşağıdakiler olabilir (14,15).

**Beta hücresinin kitlesinde azalma** :  $\beta$  hücrelerinin miktarı pankreas tarafından salgılanan insülin miktarını belirleyen faktördür. Çalışmaların çoğu uzun süreli tip 2 diyabetli hastalarda  $\beta$  hücre kitlesinin % 20-40 oranında azaldığını göstermektedir. Bu hastaların adacıkları morfolojik olarak normal bulunmuş ve insülitis saptanmamıştır.  $\beta$  hücrelerindeki azalmanın nedeni bilinmemektedir.

**Düşük doğum ağırlığı:** Düşük doğum ağırlığında doğanlarda ileri yıllarda tip 2 diyabet veya glukoz tolerans bozukluğu görülme sıklığının arttığı gösterilmiştir.

**Glukoz toksisitesi:** Hiperglisemi hem  $\beta$  hücresi üzerine etki ederek insülin sekresyonunu baskılar hem de periferik dokularda insülin kullanılmasının azaltır. Hipergliseminin  $\beta$  hücresi üzerine olan bu olumsuz etkisine glukoz toksisitesi denmektedir. Hiperglisemi durumunda sıkı metabolik kontrol ile (diyet ve insülin tedavisi ile) insülin salgılanmasının düzeldiğinin gözlenmesi hipergliseminin kendisinin insülin salgılanması üzerine baskılayıcı bir etkisinin olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca yüksek glukoz sürekli maruz kalan  $\beta$  hücresinde insülin gen transkripsiyonunun bozulduğu bunun da insülin sentezi ve sekresyonunu azalttığı gösterilmiştir.

**Lipid toksisitesi:** Serbest yağ asitleri yüksek glukoz düzeylerine kronik olarak maruz kalan  $\beta$  hücresinde, insülin sekresyonunu uyaran olayın yavaşlamasına hatta inhibisyonuna neden olabilir.

**İnsülin Salgılanma Bozukluğunda Genetik Nedenler:** Glukozun  $\beta$  hücresi tarafından tanınmasında, insülinin sentez ve salgılanmasında rol oynayan spesifik proteinlerdeki mutasyonlar  $\beta$  hücresi disfonksiyonundan sorumlu olabilmektedirler. Bu mutasyonlar oldukça nadir olup tüm tip 2 diyabet hastalarının %1-2'sini oluştururlar.

### 2.1.3. Gestasyonel Diyabet

Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM) gebelikte ilk kez ortaya çıkan ya da gebelikte fark edilen glukoz toleransının bozulması olarak tanımlanmıştır (16). Gebelikte en sık görülen metabolik bozukluktur (17). Değişik etiyolojik nedenlerle insülin eksikliği veya insensitivitesi sonucu organların kronik hiperglisemiye maruz kaldığı klinik bir hastalık tablosu olarak tanımlanır. Gebelik öncesi teşhis edildiyse pregestasyonel, ilk kez gebelikte teşhis edilmişse gestasyonel diyabetes mellitus olarak adlandırılır (18). Amerikan Diyabet Derneği'nin verilerine göre GDM insidansı %7 olarak bildirilmesine rağmen, bu oranın %17,8 olduğu tahmin edilmektedir (19). GDM'li kadınlarda Tip 2 Diyabetes Mellitus (Tip 2 DM) gelişme riskinin ileri yaşlarda yedi kat arttığı belirtilmektedir (20). GDM'da hiperglisemik intrauterin ortamın varlığı ile doğan çocuklarda Tip 2 DM gelişme riski fazladır (21).

Gebe kalma yaşının 25'den büyük olması, gebelik öncesi kilo fazlalığı, diyabet riski yüksek etnik gruptan olmak, ailede diyabetli öyküsü olması, önceki gebeliklerinde GDM veya glukoz toleransı bozukluğu tanısı almış olması, iri bebek doğurma veya spontan abortus hikayesi olması ve gebelik sırasında açlık ya da tesadüfen alınan kan şekeri değerinin yüksek tespit edilmesi durumu GDM tanısı koyma sıklığını arttırmaktadır (22,23).

GDM şu tip hastaları içermektedir:

- Tanı konmamış Tip 2 DM'li kadınlar
- Gebelik öncesi glukoz toleransında hafif anormallikleri olan fakat gebelikte bozukluğun ilerlediği ve insülin direncinde artışa neden olan durumlar
- Gebelik öncesi normal glukoz toleransı olup gebeliğin ilerlemesiyle glukoz toleransında anormallikler ortaya çıkan ve doğum sonrası normale dönenler
- Tanı konmamış Tip 1 DM (T1DM) gebelik oluştuğunda eş zamanlı olarak T1DM'nin prodromal fazının ortaya çıktığı ender durumlar (24).

Gestasyonel diyabet maternal ve fetal komplikasyonlar açısından yüksek riskli gebelikler grubuna girmektedir (25). Gestasyonel diyabet gebelikte anne ve fetuste morbidite ve perinatal mortaliteyi önemli derecede arttıran nedenler arasında ön sıralarda yer almaktadır. GDM de erken doğum, doğum, perinatal mortalite, fetal makrozomi,

polisitemi, sarılık, hidroamniyoz, kardiomyopati, ilk trimesterde hipoglisemi ve gebeliğin ikinci yarısında hiperglisemi riski artmaktadır. GDM’li annenin bebeği, erken yaşlarda obezite gelişimi, bozulmuş glikoz intoleransı ve diyabet riski altındadır (26).

1922 yılında insulinin keşfinden önce % 45 düzeyinde olan maternal mortalite, insulinin kullanıma başlanmasıyla % 2’ye gerilemiştir (27). Diğer taraftan perinatal mortalite,1960’lı yıllarda % 4–5 iken, günümüzde fetal iyilik halini belirleyen yöntemlerin gelişmesi, doğum öncesi tarama ve uygun tedaviler ile normal gebelerdeki düzeylere çekilmiştir (28).

GDM taranması gereken bir metabolik bozukluktur. Çünkü GDM’ li gebelerde fetal kayıp ve hastalık oranları normal gebelere kıyasla yaklaşık dört kat yükselmiştir (23). GDM’ nin taranması, anne ve fetüs açısından yarattığı sorunların uygun tedavi ile önlenabilir olması nedeniyle doğum öncesi takipte standart hale getirilmiştir (30). GDM için dünyada en yaygın tarama testi olarak kullanılan 50 gr, bir saatlik glukoz testinin alınan eşik değerlere göre GDM’u yakalama duyarlılığı %60–80 arasındadır (31). Tarama testinde eşik değer  $\geq 140$  mg/dl alınırsa GDM’li kadınların ortalama % 80’i saptanırken, eşik değer  $\geq 130$  mg/dl alınırsa GDM’li olarak tanı alacak kadınların oranı % 90’a ulaşmaktadır (13).

**Tablo 2:** Gebelik sırasında diyabetin sınıflandırılması.

SINIF	BAŞLANGIÇ	AÇLIK	POSTPRANDİYAL 2. SAAT	TEDAVİ
A1	Gestasyonel	$< 105$ mg/dL	$< 120$ mg/dL	Diyet
A2	Gestasyonel	$> 105$ mg/dL	$> 120$ mg/dL	İnsülin
SINIF	BAŞLANGIÇ YAŞI	SÜRE (YIL)	DAMAR HASTALIĞI	TEDAVİ
B	20 yaşından sonra	$< 10$	Yok	İnsülin
C	10–19	10–19	Yok	İnsülin
D	10 yaşından önce	$< 20$	Belign retinopati	İnsülin
F	Herhangi bir yaş	Herhangi bir yaş	Nefropati	İnsülin
R	Herhangi bir yaş	Herhangi bir yaş	Proliferatif retinopati	İnsülin
H	Herhangi bir yaş	Herhangi bir yaş	Kalp	İnsülin

Diyabetik gebelik fetal büyüme ve gelişimde birçok bozuklukla karakterizedir. Kötü kontrollü diyabette fetal makrozomi, konjenital malformasyonlar ve intrauterin büyüme geriliği sık görülür (32).

Genel olarak GDM, normal glikoz dengesinin sağlanmasında, doku gereksinimlerini karşılayacak insulin arzının uyumsuz olmasından kaynaklanır. Çalışmalar gösteriyor ki özellikle gebeliğin son evresinde insulin gereksinimi giderek artmaktadır. Bu durum normal ve GDM 'li gebelerde çok da farklı olmamakta, ancak farkı yaratan GDM' li gebelerde hem besinlere insulin yanıtının, hem de dokuların insuline yanıtının daha az olmasıdır (33). Gestasyonel dönemde, karakteristik olarak insülin duyarlılığı azalmış, beta hücre yanıtı artmıştır (16). İnsülin direnci, gebeliğin ilk üç ayında normal olarak bulunur ve gebeliğin ilerlemesi ile 2. ve 3. trimesterde iskelet ve kas dokusunda insülin etkisinin azalmasıyla bozukluk belirginleşir (34,35).

Gebelikte ortaya çıkan insülin direnci, annenin artmış yağ dokusu ve plasentada yapılan hormonlar ve insülini desensitize edici etkilerinin kombinasyonu sonucudur. Doğumdan sonra bu durumun hemen düzelmesi, plasental hormonlardan kaynaklandığını düşündürmektedir. Normal ve GDM grupları arasındaki insülin direnci farkı hamilelik dışında çok büyüktür. 3.trimesterde insülin seviyeleri veya sekresyonu arasındaki fark en fazladır. Gebelikte oluşan insülin direncinde, insüline duyarlı dokularda glukoz transportundaki postreseptör değişiklikler insülin duyarlılığının bozulmasında rol oynamaktadır (36).

Gebelerde insülin direnci vücut kitle indeksi ve kalıtım tarafından belirlenir.  $\beta$  hücre fonksiyonundaki değişiklik fetoplasental yapının hormon aktivitesi ile paralellik gösterir. Lokal üretilen östrojen, progesteron, kortizol, human koryonik somatotropin (hCS), human plasental laktojen (hPL), prolaktin (PRL) ve growth hormon (GH) insülin direncini arttırmaktadır (37). Gebeliğin erken dönemlerinde artan östrojen ve progesteron, maternal glukometabolik değişimde rol oynar. Östrojen, insülin salgısını ve reseptör bağlanmasını arttırırken, progesteron ters etki yaparak glukoz intoleransına yol açar.

Gebelikte kortizol miktarı iki kat artmıştır. Glukokortikoidler insülin reseptör fonksiyonunda bozulma, insülin reseptör substratı (IRS) miktarında azalmaya neden olarak insülin direnci gelişimini arttırırlar. Human plasental laktojen annede insülin benzeri büyüme faktörlerinin (IGF) üretimini arttırarak, metabolizmayı fetusun enerji ihtiyacına göre yönlendirir. Laktojen hormonlar (hPL, hGH, PRL), gebelikte gözlenen pankreas  $\beta$



hücre kitlesindeki artıştan sorumludur (35). Human plasental laktojen gebelikte 30 kata kadar artan salgısıyla, pankreastan insülin salınımını arttırmaktadır. Gebelikteki insülin direncinden sorumlu tutulan bir diğer hormon da human plasental growth hormon (hPGH)'dur. Hipofizer growth hormondan 13 aminoasiti farklıdır. Gebelik boyunca hPGH salınımı 6-8 kat artış göstererek, 20. hafta civarında annenin dolaşımındaki normal GH'un yerini alır.

#### **2.1.4.Gebelik ve Diyabet**

Gebelik süresince, anne organizması maternal ve fetoplasental dolaşımdan dolayı ilave beslenmeye ihtiyaç gösterir. Gebeliğin ilk trimesterında depolanan enerji daha sonra fetusun ihtiyaçlarının karşılanması için harcanır (37).

Gebelik diyabetojen bir olaydır. Çünkü;

- 1) Gebelikte endokrin pankreasın fonksiyonel durumu değişmiştir.
- 2) Pankreas langerhans adacık hormonları glukagon/insülin oranı değişmiştir.
- 3) Plasental hormonların (HPL, PRL, hCS, insülinaz) aktiviteleri insülin etkisini önleyici yöndedir.
- 4) Periferik dokuların insüline duyarlılığı azalmıştır.
- 5) GUT hormonlarının salınım ve aktiviteleri ile insülin sekresyonu azalmıştır.
- 6) Hedef organların insülin reseptörlerinde azalma vardır.
- 7) Proinsülin salgısı artmıştır.

Bütün bunlar normal bir gebede bile karbonhidrat metabolizmasını etkileyen ve gestasyonel diyabet durumunun ortaya çıkmasına neden olabilecek etkenlerdir.

Plasenta, gebelikte metabolizmayı etkileyen santral organdır. Diyabetik gebelerde plasentanın glikojen depolaması, anne karaciğerinde glikojen azalmasına neden olmaktadır. Diyabetik annelerde, anne diyabetinin ağırlığı ile paralel olarak fetus hepatik glikojen ve trigliserid toplanması tespit edilmektedir. Bu da fetusu metabolik bozukluğa iten çok önemli bir faktördür.

Gebeliğin erken evresinde glikoz homeostazı östrojen ve progesteron düzeylerine ve ayrıca  $\beta$  hücre hiperplazisi gereği olarak glikoza karşı insülin cevabı yüksektir. Glikozun periferik kullanımındaki artışı annede açlık kan şekerinin düşmesine neden olur.

İlk trimesterde hipoglisemi bu nedenlerle olur. Bu devre genellikle protein katabolizması ve glukoneogenezisin arttığı evredir. Erken ve orta gebelik devresi maternal protein depolamasının olduğu evredir.

Gebeliğin erken evresinde hiperinsülinizm lipogenezi artar, lipolizi durur. Normal gebelerde glukagon düzeyi süpresedir. Gebeliğin ikinci yarısında plasental laktojen hormon ve diğer plasental hormonlar etkisiyle glukoz ve aminoasit kullanımı azalır. Gebeliğin ileri evrelerinde dolaşımdaki monositlerde insülin reseptörlerinde azalma yoktur. İnsülin rezistansı postreseptör bölgededir. Fakat bu evrede insüline glukoz cevabı non-pregnant devrenin iki katı kadardır. Gebeliğin ileri evrelerinde karaciğerin glikojen depolaması azalır, mobilizasyonu artar.

Diyabetik gebelerde 3. trimesterde insülin ihtiyacı artışı, normal gebelerde aynı devredeki endojen insülin artışıyla aynı değerlerdedir.

Sınırlı  $\beta$  hücresi rezervi olan gestasyonel diyabetik hastalarda, periferik insülin rezistansı diyabetik durumu meydana çıkarır. Bu hastalarda açlıkta trigliserid, HDL, VDL lipoproteinler yüksektir.

Maternal açlık keto-asidoza neden olur. Keton maddeleri plasentayı kolayca geçer ve fetusu etkiler. Devamlı anne hiperglisemisi fetus pankreasını stimüle ederek hiperplazi ve hiperinsülinemiye neden olur. Anne diyabeti, eritrositlerin oksijen salınımını bozduğu gibi plasental kan dolaşımını da bozar. Keto-asidozda bu çok belirgin olur. Uterus kan dolaşımının bozulması, genellikle fetus büyümesini engeller. Keto-asidozdaki hipovolemi ve hipotansiyon (dehidratasyon) plasenta villusları arasındaki dolaşımı bozar.

### **1. Diyabetin Gebeliğe Etkisi**

- a) Spontan abortuslar artar.
- b) Üriner infeksiyon sıklığı artar.
- c) Preeklampsi fazladır.
- d) Polyhidramnios olur.
- e) Ölü doğum çoktur.
- f) Plasenta bozuklukları vardır.

### **2. Gebeliğin Diyabete Etkisi**

- a) Retinopatiyi arttırır.
- b) Nefropatiyi hızlandırır.
- c) Nöropatiyi arttırır.

- d) İnsülin gereksinmesi artar.
- e) Glikozüri sıklığı vardır.
- f) Keto-asidoza meyil vardır.

### **3. Önlemler**

- a) Diyetin iyi tanzimi
- b) Erken insülin tedavisi
- c) Post partum çocuk bakımı önlemleri

Gestasyonel diyabet ve periferik insülin rezistansı pankreas insülin rezervini bozan bir olaydır. Glikozun periferik dokularda kullanımı artar. Bu da annenin kan şekerinin sarfına dolayısıyla da açlık kan şekerlerinin düşmesine neden olur. Diyabetik annede gelişen keto-asidoz organizmanın oksijen konsantrasyonunun azalmasına dolayısıyla plasental dolaşımın bozulmasına neden olur. Fazla sıvı ve elektrolit kayıpları hipovolemi, hipotansiyon ve insülin etkisinin değişmesine neden olarak fetus ölümlerini hızlandırır.

Diyabetin süresi uzadıkça, özellikle genetik yatkınlığı olan gebelerde kapiller bazal membran kalınlaşması, kapiller permeabilite artışı, kan akımı ve viskozitesinde artış ve trombosit fonksiyonlarında bozulma görülür. Bu değişimlerin sonucu olarak kapiller protein sızıntısı (mikroalbuminüri ), mikrotrombüs oluşumu ve dokularda iskemik hasar oluşabilir. Kronik hiperglisemi ve yüksek HbA1c düzeyleri bu tip lezyonların oluşmasında önemli rol oynar (38).

Diyabet ile komplike olmuş gebelikler hem maternal hem fetal açıdan yakın takip gerektiren riskli gebeliklerdir. Yeterli glisemik kontrol sağlanamadığı zaman bebekte konjenital malformasyon, intrauterin ölüm, annede ise hipoglisemi, diyabetik ketoasidoz, retinopati ve nefropati gibi morbidite ve mortalite artışına neden olan metabolik bir bozukluktur (39).

### **2.2.Plasenta**

Sadece memelilerde görülen plasenta, koryon ile uterus mukozasının birbirine kaynaşmasından meydana gelmiş, yavru ile anne arasında her türlü madde alışverişini sağlayan ekstraembriyonal bir dokudur.

Plasenta embriyonun beslenmesi, solunumu, boşaltımı ve gelişimde gerekli hormonları salgılama gibi çok yönlü işlevleri yerine getirir.

İnsan plasentası interstitiel tip ve hemokoryal türdendir. İnterstitiel tip plasentada kese yavru ile birlikte uterus mukozasına tamamen gömülmüştür. Hemokoryal tür plasentada ise villuslar anne kanı ile temas halindedir. İnsan plasentası olan hemokoryal tip plasentaların iki esas özelliği vardır; fetal ve maternal dolaşım lar birbirinden tamamen ayrıdır, birbirine karışmazlar ve maternal kan direk olarak trofoblastlar ile temas halindedir (40). Bu tip plasentada koryon villusları endometriyumla sıkı ilişki içinde olduğundan dolayı doğumda kanama olur (41).

Plasenta disk şeklinde, ortalama olarak 185 mm uzunluğunda, 497 ml hacminde, 23 mm kalınlığında ve 500 gram ağırlığındadır (42)

Plasentanın anneye ait olan kısmına plasenta maternalis, yavruya ait olan kısmına ise plasenta fetalis denir. Maternal yüzü bazal tabaka olarak adlandırılır. Lobüler ve kapanmamış bir oyuklar sistemi, plasentanın bazal yüzeyini 10-40 maternal kotiledon adı verilen alana böler (43). Fetal yüz koryonik (amniyonik) tabaka olarak adlandırılır ve düzgün yüzeylidir. Fetal yüzden göbek kordonu çıkar ve plasentayı fetusa damarsal olarak bağlar.

Gebeliğin ilerlemesiyle plasentada değişiklikler meydana gelir. 30. haftadan itibaren sinsityal düğümlerin gelişmesiyle sinsityotrofoblastlar inceler. Villusların sayısı giderek artar, toplam yüzeyleri 6-7 m<sup>2</sup>' ye ulaşır ve villus çapı azalır. Villusların merkezi kısmından trofoblast tabakasına doğru kapillerlerin göçü olur. Termde fetal kapillerlerin lümeni endotel çoğalması ile kapanmış durumdadır. Villus merkezindeki bağ dokusu artar. Fetal kapiller bazal membranı kalınlaşır (44).

### **2.2.1.Plasentanın Gelişimi**

Embriyonun sağlıklı gelişimi için plasentanın da tam ve sağlıklı olarak gelişmesi gerekir. Plasentanın gelişimi "pre-laküner", "laküner" ve "erken villöz" olmak üzere 3 basamakta incelenebilir.

#### **2.2.1.1.Pre-laküner Evre**

Blastokistin implantasyonu ile plasentasyon da başlamış olur. İmplant olan blastokist 107-256 hücre içeren yassılaştırmış bir veziküldür. Blastokistik kaviteyi dıştan trofoblastlar çevreler. Genel anlamda trofoblast plasenta da dahil fetal membranların orjinini oluşturur. Blastokistin iç yüzeyinde embriyoblast denen küçük bir hücre grubu

vardır. Embriyo, amniyon ve göbek kordonu bu hücrelerden orijinlenir. Embriyoblast kökenli mezenşim ve damarlar plasentanın oluşumuna katılırlar. Blastokist embriyonik kutuptan endometriyuma tutunur.

Embriyonun varlığı ile endometriyumda belirgin değişiklikler gözlenir. En belirgin değişiklik implantasyon bölgesindedir. Blastokist etrafındaki uterus stromal hücreleri gerilir ve stoplazmaları glikojen ve lipid damlacıklarıyla dolmaya başlar. Bu değişiklik desidual reaksiyon olarak adlandırılır. Değişen stromal hücrelere ise desidual hücreler denir. Desidualizasyon gebelik boyunca sürerek trofoblast invazyonu ve plasentanın şekillenmesini düzenler. Bu düzenlemeyi metalloproteinazlar, sitokinler, yüzey integrinleri ve major histocompatibility kompleks (MHC) moleküllerinin ekspresyonlarını düzenleyerek gerçekleştirir (45).

Endometrial epitele bağlanma ve invazyonu takiben, blastokistin implante olan embriyonel kutbundaki trofoblastik hücreler iki sıralı hal alır. İki tabakanın dışında maternal doku ile direkt olarak yüzleşen trofoblastik hücrelerin kaynaşması ile oluşan, hücre sınırları belirgin olmayan çok çekirdekli sinsityotrofoblastlar bulunur. Maternal doku ile henüz ilişkisi olmayan blastokist duvarının geri kalan hücreleri geçici olarak kaynaşmaz ve sitotrofoblast olarak adlandırılır (46). Sitotrofoblast tabakasında mitoz bölünme ile çoğalan hücreler dış kata göç ederler ve burada birbirleriyle kaynaşp, hücre zarlarını yitirerek sinsityotrofoblastlara dönüşürler. Ekstraembriyonik mezenşimin gelişip sitotrofoblastların alt yüzünü kaplamasıyla mezenşim, sito- ve sinsityotrofoblastlardan primer koryonik plak şekillenir.

İmplantasyon kutbu düz bir yüzey kitlesinden ziyade endometriyumun derinliklerine nüfus eden, dallanan parmak benzeri uzantılarla kaplanmıştır. Bu dönem döllenmenin 7-8. günlerini kapsar ve prelaküner dönem olarak adlandırılır (46).

### **2.2.1.2.Laküner Evre**

Gelişimin 9. gününde embriyoblast kutbunda hızla gelişim gösteren sinsityotrofoblastlar içinde beliren vakuoller birleşerek geniş laküner boşlukları oluşturur. Bu evre laküner evre olarak adlandırılır. İlerleyen gelişim evrelerinde laküner boşluklar intervillöz aralığa dönüşecektir. Lakünaları bölen sinsityal plak ve lameller trabekül olarak isimlendirilir. 10. günde, sinsityotrofoblast içindeki lakünalar iyice büyümüştür. 11. gün, bitişik lakünalar, laküner ağ örgüsü oluşturmak üzere birbirleriyle kaynaşırlar ve bunun

sonucunda sinsityotrofoblast süngerimsi bir görünüm kazanır. Laküner ağ örgüsünün oluşması sonucunda plasentanın tabakaları meydana gelmeye başlar:

- 1) Trofoblastların embriyoya bakan kısımları primer koriyonik plağı,
- 2) Laküner ağ örgüsü intervillöz aralığı,
- 3) Trabeküller villusları
- 4) Trofoblastların maternal dokulara bakan kısımları primitif bazal plağı (trofoblastik kabuk) oluşturur (47).

Buna karşılık daha ince olan kısımda aynı yapısal değişiklik görülürken, daha sonraları gerileyerek düz koriyon ve membranlara dönüşür (46).

Laküner oluşumu blastokistin trofoblastik örtüsünü üç tabakaya ayırır:

- 1) Blastokistik kaviteye karşılık gelen primer koriyonik plak
- 2) Trabeküller ile birlikte laküner sistem
- 3) Endometriumla karşı karşıya olan trofoblastik kabuk

Primer koriyonik plak sitotrofoblastik tabakadan oluşur. Döllenmenin 14. gününde sitotrofoblastik tabakanın iç yüzeyine mezankimal hücreler dağılmıştır. Bunlar dallanarak ekstraembriyonik mezenşim denilen gevşek bir ağ yapısı oluşturur. Primer koriyonik plağın altında laküner sistem mevcuttur. Lakünalar birbirinden trabekül denilen sinsityotrofoblast plikaları ya da septalarla ayrılmışlardır. Döllenmenin 12. günü civarında bunlar sitotrofoblastik hücrelerce işgal edilir. Birkaç gün içinde trofoblast trabekül uzunluğu boyunca uzanır. Trabekülün periferik uçları birbirleriyle birleşerek trofoblastın en üst tabakasını oluşturur. Buna trofoblastik kabuk denir. Sinsityotrofoblast lakünaların alt kısmındadır ve bunu arada sırada kesintiye uğrayan sitotrofoblast takip eder. Sitotrofoblastın proliferatif aktivitesi ve endometriumun derinliklerine olan hızlı göçü, invazyonun ilerlemesinden ve implantasyon alanının genişlemesinden sorumludur. Bu gelişmelere paralel olarak mekanik bir uyaran ve hormonal aktivite endometrial stroma hücrelerinde proliferasyona ve büyümeye yol açarak desidual hücrelerin oluşumunu sağlar(46).

Bazal sinsityotrofoblastların invaziv aktivitesi döllenmenin 12. gününde mevcut olan maternal endometrial damar duvarlarının bütünlüğünü kaybetmesine neden olur.

Böylece maternal kan hücreleri sızarak lakünelara dolar. Gelişimin ilk basamakları boyunca lakünelardaki anne kan basıncı düşüktür. İnvazyonun endometriumun derinliklerine inmesiyle uterin spiral arterler erode olur, intralaküner kan basıncı artar ve lakünelar içinde gerçek anlamda maternal dolaşım başlar.

### **2.2.1.3. Erken Villus Evresi**

Döllenmenin 13. gününde laküneların içinde ilk kez maternal eritrositlerin gözlenmesiyle sinsityal füzyon gerçekleşir. Hem longitudinal trabeküller gelişir hem de sinsityal yan dalların kör uçları oluşarak laküna içine filizlenir. Bunlar uzunluk ve çapca artarak primer villusları oluşturur ve sitotrofoblastlarca işgal edilir (46).

Döllenmenin 15. gününde primer koriyonik plağın ekstraembriyonik mezenşiminden köken alan mezenşim hücreleri villusları işgal etmeye başlar ve oluşan bu yeni tip villuslar sekonder villuslar olarak adlandırılır (13,31). Döllenmenin 18-20. günleri arasında başlayarak ilk fetal kapillerlerin oluşumu mezenşimde görülür. Villus stroması içinde kapillerlerin enine kesitlerinin görülmesi ilk tersiyer villus oluşumunu işaret eder. (40). Bu sırada, villuslardaki sitotrofoblastlar proliferer olur ve sinsityotrofoblast tabakasının içine doğru genişleyerek trofoblastik kabuğa ulaşır. Bu kabuk giderek koryon kesesini sarar ve endometriyuma bağlar. Trofoblastik kabuk aracılığı ile maternal dokuya bağlanan villuslar demirleyici (anchoring) villuslar adını alır. Demirleyici villuslarda biriken sitotrofoblastik hücre yığınları hücre kolonları adını alır (48).

Hücre kolonlarındaki bazı sitotrofoblastlar (intersityal ekstravillöz trofoblastlar) trofoblastik kabuktan ilerleyerek endometriyal stromayı invaze eder ve plasental yatakta spiral arterleri çevreleyen dev hücreleri oluşturur. Bunların bir kolu (endovasküler ekstravillöz trofoblastlar) spiral arter duvarlarına geçer ve buralara invaze olur (49). Spiral arterler, endovasküler trofoblastlar tarafından transforme edilir (çeperlerindeki damar düz kas hücreleri tahrip edilir ve endotelin yerine trofoblastlar geçer.) Vasküler değişiklikler intervillöz aralıktan miyometriyumun ilk üçte birlik kısmına kadar uzanır. Sonuçta spiral arterlerde periferik direnç ve kan basıncı düşer. Villuslardaki kapillerler arteriyokapiller ağı oluşturacak şekilde birleşir; bunlar da daha sonra, koryon ve bağlantı sapının mezenşimi içinde farklılaşan damarlar aracılığıyla embriyonik kalp ile ilişki kurarlar. Böylece 3. haftanın sonunda kalp atımı başladığında fetal kan damarları fonksiyonel hale gelir ve plasental dolaşım başlar.

İntervillöz fetal dolaşım başladığında maternal kan ile fetal kan bu düzeyde karşı karşıya geçer. Her iki kan akımı birbirinden plasental bariyer ile ayrılmıştır (46).

Plasental bariyeri oluşturan tabakalar:

- a) Hem villus yüzeyini hem de intervillöz aralığı kaplayan, kesintisiz sinsityotrofoblast tabakası,
- b) Birinci trimesterde tam, daha sonra kesintili olan sitotrofoblast tabakası,
- c) Trofoblastik bazal membran,
- d) Villus bağ dokusu,
- e) Fetal endotelyum.

### **2.2.2. Plasentanın Bölümleri**

İnsan plasentası koryon kesesinden gelişen fetal kısım (pars fetalis) ve endometriyumdan köken alan maternal kısım (pars materna) olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır.

#### **2.2.2.1. Pars Fetalis**

Fetal yüzeye göbek kordonu tutunmuştur. Epiteli plasentanın fetal yüzüne tutunan amniyon epiteli ile devamlılık gösterir.

Pars fetalis koryon frondozumdan gelişen koryonik plak ve bu plağa bağlı villuslardan oluşur. Koryonik plağın fetüse bakan yüzü amniyon epiteliyle ve intervillöz boşluğa bakan yüzü de sinsityotrofoblast tabakası ile örtülüdür. Amniyon, tek katlı epitel ve vasküler olmayan amniyon mezenşiminden oluşmaktadır. Amniyon mezenşimi, 3 tabakadan oluşmuştur. 1- kompakt, 2-fibroblast ve 3-süngerimsi tabaka. Kompakt tabaka hücrelerden yoksun retiküler ağlardan oluşan sıkı bir tabakadır. Fibroblast tabaka en kalın tabakadır ve stroma içine gömülmüş fibroblast hücrelerinden oluşur. Süngerimsi tabaka ise amniyon ile koryon arasındaki boşluklu tabakadır. Fetal plasenta, maternal plasentaya sitotrofoblastik kabuk ile bağlanır.

#### **2.2.2.2. Pars Maternalis**

Desidua bazalisten gelişir. Bazal plak ve plasental septumlardan oluşur. Kompakt yapıdaki desidua bazalise desidual plak denir.



Bazal plak, ekstrasellüler trofoblastlar, desidual stromal hücreler, doğal öldürücü hücreler (NK) gibi maternal immün hücreler ve yoğun şekilde ekstrasellüler matriks ve fibrinoid içermektedir(50).

Plasentanın şekli koryon villuslarının şekliyle belirlenir. Bu sirküler bölgeler plasentaya diskoidal bir şekil verirler. Plasenta biçiminin belirlenmesi sırasında, villuslar desidua bazalisine doğru yayılırken desidua dokusu intervillöz boşluğun genişlemesine izin verecek şekilde erode olur. Bunun sonucunda, plasental septumlar adı verilen çok sayıda üçgen şeklinde desidua alanları ortaya çıkar ve bu septumların uzantıları bazal plaktan koryonik plağın içine doğru uzanır. Plasental septumlar, plasentanın maternal kısmını kotiledonlar adı verilen dış bükey alanlara ayırırlar. Dördüncü ayın sonunda desidua bazalis neredeyse tümüyle kotiledonlarla kaplanmıştır (51).

Villuslar makroskopik olarak ağaç gibi yapılanmışlardır. Her bir villus ağacı (60-70 adet) plasentanın koryonik tabakadan kalın bir kök ile çıkar ve ileriye doğru gittikçe dallanır. Bunlardan çoğu intervilloz mesafede (IVM) serbestçe yüzer, az bir kısmı ise maternal stroma içine girer. Serbest olanlara yüzen (floating), maternal stroma içine girenlere ise bağlayıcı (anchoring) villus adı verilir. Maternal kanın serbest olarak dolaştığı alana intervilloz mesafe (IVM) denir. Her bir villus ağacı ve etrafındaki IVM fonksiyonel bir unite oluşturur. Bu fonksiyonel üniteye "plasenton" adı verilir ve plasentada 60-70 tane plasenton bulunur. Her bir plasenton ortalama 2-4 cm büyüklüğündedir (51).

### **2.2.3. Villus Ağacının Yapısı**

Plasenta villus ağacı anne ve fetal dolaşım ile ilişkili iki taraflı bir yapı olup tüm plasentanın % 45-55'ini oluşturur.

Plasental yapı makro düzeyde oluşturan kotiledonlar, koryon plağından türeyip anne kanı içine uzanan villus ağacı demetleri ile bunların arasından uterus spiral arterleri aracılığıyla fışkıran maternal kan gölcüklerinden oluşur. Bu kotiledonların arasını plasental septalar böler. Plasental gelişim boyunca aynı temel yapıya sahip ancak farklı fonksiyonlara sahip villuslar bu yapının çeşitliliğini oluşturur.

Villusun tüm yüzeyi trofoblast adı verilen bir epitelle kaplıdır ve maternal kan ile temas halindedir. Diğer epitellerden farkı tek başına görev yapan, süreklilik gösteren ve çok nükleusu bulunan sinsityotrofoblasttan oluşmasıdır. Sinsityotrofoblastlara kaynaklık eden ve onun yenilenmesini sağlayan ve yine sinsityum ile bazal membran arasında

bulunan sitotrofoblast hücreleri vardır. Troblastik bazal membran trofoblastı villus bağ dokusundan ayırır. Villus stroması bağ dokusu hücre tipleri ve fibriller elemanlardan oluşur. Büyük villuslarda damarlar arter, arteriol, kapiller, venül ve ven şeklinde bulunur (37).

Bir villus ağacında bulunan yapılar büyüklükleri, stroma karakterleri ve fetal damarların özelliklerine göre 5 çeşide ayrılabilir (52).

- 1) **Stem (Kök) Villus (KV):** Plasental ağacın köküdür. KV'lar, sıkı yapılı fibroz stroma içerir ve villus ağacındaki yapıların mekanik desteğini sağlar. KV'un ortasına yerleşmiş arter, ven ve geniş arteryol ve venüller vardır. Fetal damarlar ile intervillöz mesafedeki maternal dolaşım arasında geniş mesafe vardır ve dolayısıyla gaz ve besin alışverişinde aktif rol almazlar.
- 2) **Matür İntermediyet Villus (MİV) :** Uzun, ince ve çapları 60–160 µm arasında olan periferik dallardır. Stromaları, düzensiz, gevşek bağ dokusu lif demetleri ve bağ dokusu hücrelerinden oluşur. Matür intermediyet villuslarda fetal dolaşıma ait arteryol, venül ve kapillerler bulunur.
- 3) **Terminal Villus (TV):** Olgun ara villusların yüzeyinden dışarı doğru çıkan tomurcuklanmalardır. Terminal villuslar ağacın en çok uç noktalarında bulunmaktadır. Villus yapısının %30-40'ını oluştururlar. İntervilloz mesafedeki maternal dolaşım ile fetal dolaşım arasında en yakın mesafenin sağlandığı bölgelerdir. Fetal dolaşım sinuzoidler haline dönüşmüştür, fetal kan göllenmiş ve akım hızı iyice azalmıştır. Besin ve gaz alışverişi başlıca, her iki dolaşımın da ileri derecede yavaşladığı ve birbirlerine en yakın mesafeye geldiği, terminal villuslarda gerçekleşmektedir.
- 4) **İmmatür İntermediyet Villus (İİV):** Kök villusların uç noktasında bulunan immatür, şişkin villuslardır. Karakteristik özelliği retiküler tipteki stromasıdır. Çoğunlukla olgunlaşmamış plasentalarda bulunur. Olgun plasentalarda ise villus gelişiminin devam ettiği plasentonun merkezinde bulunabilirler. Gevşek bağ doku, haufbauer hücreleri, fetal arteryol ve venüller bulunur.
- 5) **Mezenşimal Villus (MV):** Villus ağacının en ilkel tipleridir. Erken gebelik haftalarında plasentalarda bulunur. Olgunlaşmamış ara villusların öncüleridir. Villus ağacında ara villusların üzerinde tomurcuklanma şeklinde gözlenirler (51).

### 2.3.Matriks Metalloproteinaz

Matriksinler olarak da adlandırılan matriks metalloproteinazlar hücre dışı matriks proteinlerini ve bazal membranı yıkımı ve yeniden yapılanmasından sorumlu metal bağlayıcı endopeptidaz ailesidir. Tüm MMP'lar katalitik bölgelerinde  $Zn^{+2}$  içerir. Aktivitelerinin stabilitesi için  $Ca^{+2}$  gereklidir (53).

Enzimlerin isminde bulunan "metallo" aktif merkezlerindeki katalitik fonksiyonları için çinkoya bağımlı olmasından dolayıdır. Bu enzimler büyük benzerlikler gösterebilirler de etkiledikleri substratlarının ve transkripsiyon regülasyonlarının farklı olmasından dolayı birbirlerinden ayrılırlar.

MMP'ler parçalayabildikleri matriks komponentlerine göre: 1-kollajenazlar, 2-jelatinazlar, 3-stromelisinler, 4-matrisilinler, 5-membran-tipi MMP'ler ve 6-diğer MMP'ler olmak üzere 6 altgruptan oluşur. Bunlar:

- 1) Kollajenazlar: —MMP-1 İnterstisyel kollajenaz  
—MMP-8 Nötrofil kollajenaz  
—MMP-13 Rodent interstisyel kollajenaz
- 2) Jelatinazlar: —MMP-2 Jelatinaz A  
—MMP-9 Jelatinaz B
- 3) Stromelisinler: —MMP-3 Stromelisin-1  
—MMP-10 Stromelisin-2  
—MMP-11 Stromelisin-3
- 4) Membran tip MMP'ler: —MMP-14 MT-MMP-1  
—MMP-15 MT-MMP-2  
—MMP-16 MT-MMP-3  
—MMP-17 MT-MMP-4  
—MMP-24 MT-MMP-5  
—MMP-25 MT-MMP-6
- 5) Matrilisinler: —MMP-7 Matrisilin-1  
—MMP-26 Matrisilin-2  
—MMP-12 Metalloelastaz
- 6) Diğerleri: —MMP-18,-23,-27,-28

Tüm MMP'lar yapısal olarak 3 bölge içerir: predomain, prodomain ve katalitik domain. Predomain, hücre içinde sentezlenen enzimin membrana transferi için gereklidir. Sellüler sekresyondan sonra hızla ayrılır. Prodomain, enzimatinin latent formda tutulmasını sağlar. Katalitik bölgedeki sistein rezidüsü içeren peptid zinciri ile etkileşir. MMP'lerin çoğunda, karboksi-terminal pozisyonda dördüncü bir bölge daha vardır. Bu yapısal bölge vitronektin ve hemopeksinle homoloji gösterir ve MMP'lerin substrat tanınmasıyla ilişkilidir (54).

En basit yapı matrilizinlerde bulunur ve sinyal peptid, propeptid bölgesi, çinko bağlayan katalitik aktiviteden sorumlu bölgelerden oluşur (55). Diğer alt gruplar ise farklı yapıların bu temel yapıya eklenmesi ile oluşmaktadır.

MMP'ların tümü latent pro-enzim olarak üretilirler. Aktif merkezde bulunan bir çinko atomu katalitik aktiviteden sorumludur. Bu metal, propeptiddeki eşlenmemiş sistein rezidusunu koordine eder. Her enzim amino terminalindeki propeptid ile beraber salgılanır ve bu bölgenin proteolizi sonucu aktif hale gelir. Sistein-çinko bağlantısının fiziksel ya da kimyasal yollarla bozulması MMP'ların ilk aktivasyon basamağıdır. Sistein-çinko etkileşiminin bozulması sonucu çinko aktif merkezde açıkta kalarak substratlardaki duyarlı bağları hidrolize eder. Bu süreç "sistein değişimi" olarak adlandırılmaktadır. Son derece potent olan bu endopeptidazların regülasyonunda çeşitli sitokinler, büyüme hormonları, perisellüler ortam, hücre matriksi ilişkisi ve ekstraselüler matriks rol oynar. Bu enzimlerin ekstraselüler aktivasyonlarının kontrolünde endojen inhibitörleriyle olan ilişkisi de oldukça önemlidir. Özgül doku inhibitörleri olan bu moleküller (TIMP-1, -2, -3, -4) metalloproteinazların aktif ve inaktif formlarına sıkı bir şekilde bire bir bağlanırlar (56)

Matriks metalloproteinazlar, lökositler, keratinositler, fibroblastlar, makrofajlar, kondrositler, düz kas hücreleri gibi epitelyal ve mezenkimal kökenli hücreler tarafından sentezlenirler. Pek çok MMP embriyogenez aşamasında yaygın olarak eksprese edilir. Yetişkinlerde ise plasentada, endometriyumda, meme bezlerinin involusyonu esnasında ve inflamasyonda hızla eksprese edilirler. Matriks metalloproteinazlar fetal doku gelişimi, blastokist implantasyonu, organ morfogenezi, uterus ovulasyonu, kemik rezorpsiyonu, yara iyileşmesi ve programlanmış hücre ölümü gibi pek çok fizyolojik olayda rol almalarının yanı sıra periodental hastalıklar, otoimmün deri hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, nefrit, nörolojik hastalıklar, kan-beyin bariyerinin yıkılması, osteoartrit gibi patolojik olaylarda da önemli yer tutarlar (57).

MMP aktivitesi en az 3 seviyede sıkı bir şekilde kontrol edilir:

- 1) Transkripsiyon
- 2) Zimojen enzim formunun proteolitik aktivasyonu
- 3) Aktif enzimin doğal inhibitörler aracılığıyla inhibisyonu

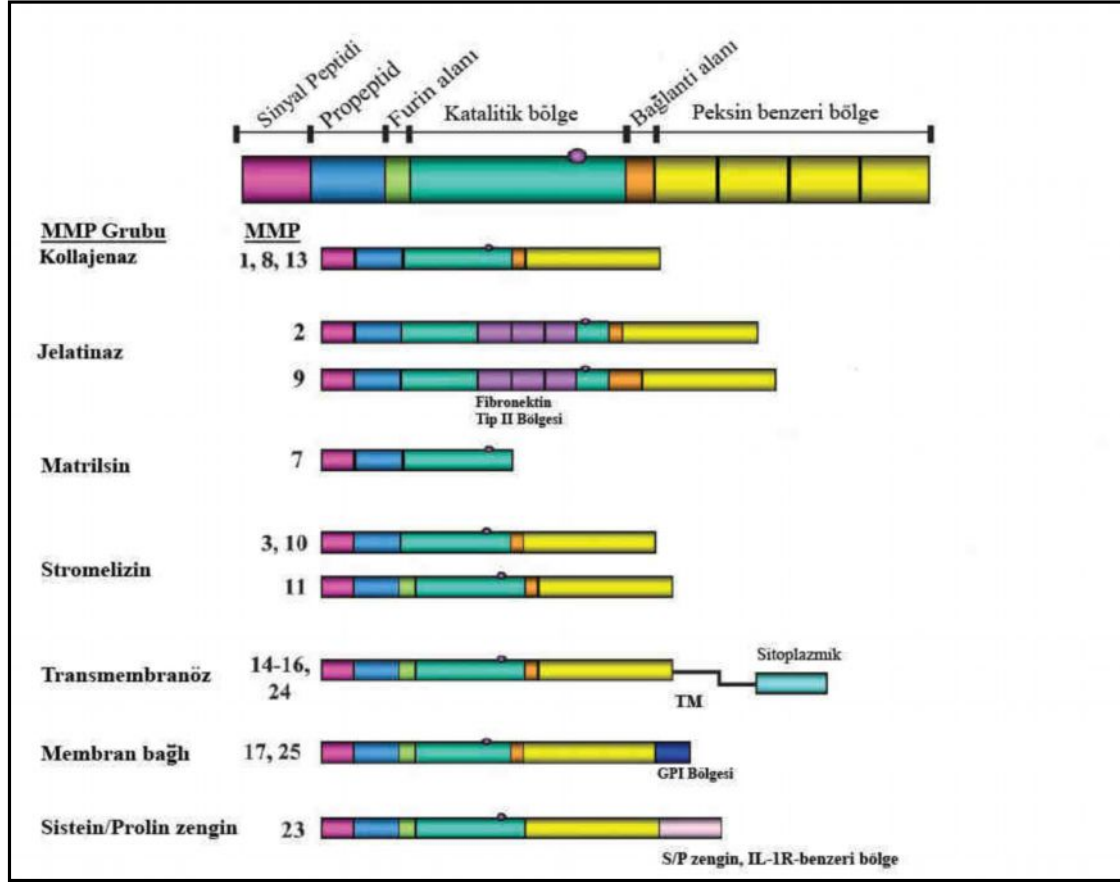
Birçok büyüme faktörü, sitokinler ve hormonlar MMP ekspresyonunu transkripsiyon seviyesinde düzenlerler. Proinflamatuvar sitokinler MMP üretimini indükleyebilirken, interlökin-10 (IL-10), retinoik asit, glukokortikoidler ve steroidler bazı MMP'lerin ekspresyonunu negatif yönde etkiler (58). MMP'ler, in vivo olarak yeniden yapılanma olayları sırasında dokuyu invaze eden majör hücre tipleri yanısıra, o bölgede bulunan konnektif doku hücreleri tarafından eksprese edilir (59).

MMP aktivitesinin ikinci kontrol yolu olan enzim aktivitesinin regülasyonu hücre içinde veya dışında meydana gelebilir. Pro-MMP'lerin ekstrasellüler olarak başlıca aktivatörü plazmindir. u-PA'nın (ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü) sellüler reseptörlere bağlanması yoluyla plazminojenin plazmine, pro-MMP'lerin aktif formlarına hızlı aktivasyonu sağlanır(60). MMP aktivitesinin daha sonraki seviyeleri, bir MMP aktivasyonunun diğerine yol açması şeklinde bir geri iletim mekanizması oluşturur. Bu yolla, plazmin pro-MMP-1,-3 ve -9'u aktif formlarına çevirir. MMP-1, pro-MMP-9'u aktive edebilir. MT-MMP 'ler (membran tipi matriks metalloproteinaz)de özellikle MMP-2 olmak üzere birçok pro-MMP'nin aktivatörüdürler (60).

Doğal endojen inhibitörler aracılığıyla MMP aktivitesinin düzenlenmesi noktasında doku sıvılarındaki başlıca MMP inhibitörü alfa2-makroglobülin dir. MMP'lere bağlanarak irreversibl bir kompleks oluşturan alfa2-makroglobulin, çöpçü reseptörler aracılığıyla MMP'lerin ortamdaki uzaklaştırılmalarının sağlar (61).

Metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP'ler) MMP'lerin spesifik inhibitörleri olup normal bağ dokusu metabolizmasının regülasyonu için gereklidirler. Net proteinaz aktivitesi düzeyi aktif MMP ve TIMP lerin relatif konsantrasyonlarına bağlıdır. TIMP-1 mezangial hücreler ve makrofajlar dahil olmak üzere çoğu bağ dokusu hücrelerinde sentezlenir. TIMP-1 MT-MMP'ler dışında çoğu MMP'ye karşı geniş etki spektrumuna sahiptir. Ayrıca TIMP 2, 3, 4 de tanımlanmıştır. MMP-2 ve -9'un glomerüllerde yüksek derecede ekspresyonu söz konusu iken promoter bölgelerindeki genlerde önemli

farklılıklardan dolayı gen transkripsiyonu seviyesinde farklı olarak regüle edilirler (62).



Şekil 1: MMP ailesinin molekül yapısının şematik görünümü(63)

### 2.3.1.Matriks Metalloproteinazları Sınıflandırılması

#### 2.3.1.1.Kollajenazlar

Kollajenazlar kollajen yıkımı yapan metalloproteinaz ailesi üyesidirler. İnterstisyel kollajenaz (kollajenaz-1 ya da MMP-1), nötrofil kollajenaz (kollajenaz-2 ya da MMP-8) ve kollajenaz-3 (MMP-13) olmak üzere bu gruba ait üç üye tanımlanmıştır (64). Kollajenaz-4 (MMP-18) Xenopus'ta bulunmuştur, ancak insanda bunun benzeri olan bir enzim tanımlanmamıştır (65). Makrofaj, nötrofil, fibroblast ve keratinositler tarafından salgılanmaktadır.

#### 2.3.1.2.Jelatinazlar

Jelatinazlar, Tip IV kollajenazlar olarak da isimlendirilirler. Bu grupta 72 kDa ağırlığında jelatinaz A (MMP-2) ve 92 kDa ağırlığında jelatinaz B (MMP-9) olmak üzere

iki enzim bulunmaktadır (66). Jelatinaz enzimleri, diğer MMP'lerden farklı olarak katalitik bölgede 3 tane fibronektin tip II benzeri ilave bir domain bulundurlar. Bu kısım jelatin ve kollajene yüksek afinite ile bağlanmayı sağlayarak proteolitik aktiviteyi artırır. Jelatinazlar, ESM yıkımı, angiogenez, doku remodeling ve hücre migrasyonu süreçlerinde önemli rol oynarlar. Ayrıca birçok sitokin ve kemokin üzerinde etkileri vardır.

MMP-2 ve MMP-9, MMP ailesinde tümör gelişiminde etkin olduğu bilinen önemli enzimlerden ikisidir. MMP-2 ve MMP-9 bazal membranın ana öğelerinden biri olan IV. tip kollojenleri ve denatüre olmuş kollajeni yani jelatinleri degrades eder (67). MMP'ler gelişim ve doku rejenerasyonu sırasında öncelikle mezenkim, ağırlıklı olarak fibroblast hücrelerinden salgılanır. İlk olarak habis fare tümörlerinden izole edilmiştir ve metastatik tümörlerin gelişmekte olan yüzeylerini çevreleyen stromal hücrelerinde yüksek seviyede eksprese olduğu bulunmuştur (68). Bu metastaz olmakta olan tümörler tarafından metastaz sırasında bazal membranın doku bağlarının değiştirilmesi ve kan damarlarına ihtiyaç duyulduğunda, MMP-2 ve MMP-9'un tip IV kollojenik aktivitesinin kullanıldığını göstermektedir. Bu yüzden bu enzimler antitümör ilaçların geliştirilmesi için önemli bir hedeftir.

### **2.3.1.3.Matriks Metalloproteinaz-2 (Jelatinaz A)**

Özellikle, fibroblastlar, keratinositler, kondrositler, monositler, osteoblastlar ve endotelyal hücreleri olmak üzere birçok hücre tarafından sentezlenir (69). Akciğerde bronş epitel hücreleri, bronş düz kas hücreleri ve fibroblastları MMP-2 üretir (70). MMP-2, jelatin, kollajen IV, V, VII, X, elastin, fibronektini parçalar (71). MMP-2 aynı zamanda tip 1 kollajeni yıkarak ESM'in "remodeling" olayında önemli rol üstlenir (72). MMP-2 kolon (73), pankreas (74), meme (75), over (76), prostat (77) ve akciğer (78) kanserlerinde tümör dokusunda ekspresyonu artmış olarak saptanmış ve kötü prognostik faktör olarak değerlendirilmiştir.

### **2.3.1.4.Matriks Metalloproteinaz-9 (Jelatinaz B)**

Jelatinaz-B MMP'lerin en büyüğüdür ve üç fibronektin benzeri bölge ile bir kollojen tip-V benzeri bölge içermektedir. Moleküler ağırlığı 92,000 Dalton olduğu için 92 kDa jelatinaz olarak da adlandırılır.

Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) akciğer alveoler makrofajları, monositler,

lenfositler, polimorfonukleer lökositler ve keratinositler tarafından sekrete edilir. Makrofaj ve lökositler bu enzimi göçleri sırasında vücuttaki farklı doku kompartmanlarına penetre olabilmek için kullanırlar. Jelatinaz B (MMP-9), jelatin ve Tip IV bazal membran kollajeni için substrat özgüdür. Ayrıca MMP-9 Tip III, Tip V kollajen, elastin ve fibronektini parçalar (79).

### **2.3.1.5. Stromelizinler**

Stromelizinler (MMP-3, MMP-7, MMP-10 ve MMP-11) ESM bileşenlerinin birçoğuna etki edebilmektedir. Kuvvetli proteoglikanazlardır. Stromelizin-1 (MMP-3) ve stromelizin-2 (MMP-10)'nin katalitik aktiviteleri birbirine çok benzer, ancak gen düzenlenmeleri farklıdır (80). Stromelizin-3 ise yapısı diğerlerin benzediği için bu gruba dahil edilmekle birlikte yapısal ve fonksiyonel özellikler açısından farklılık göstermektedir. Stromelizin-3 daha çok özgül olmayan metalloproteinaz substratı olan  $\beta$ -kazein ve alfa2-makroglobin üzerinde proteolitik aktivite gösterir (81).

### **2.3.1.6. Matrisilinler**

Matrilizin (MMP-7) en düşük molekül ağırlıklı metalloproteinazdır. Substrat özgülüğü açısından MMP-3'e benzemektedir, fakat aktivitesi daha kuvvetlidir (82).

### **2.3.1.7. Membran tipi Metalloproteinazlar**

Bu grupta MT-MMP-1 (MMP-14), MT-MMP-2 (MMP-15), MT-MMP-3 (MMP-16), MT-MMP-4 (MMP-17), MT-MMP-5 (MMP-24), MT-MMP-6 (MMP-25) olmak üzere tanımlanmış altı üyesi vardır (83).

Membrana bağlı oldukları için hücrenin yakın çevresindeki matriks parçalanmasından sorumlu oldukları düşünülmektedir (83). Bunlar özellikle pro MMP-2 ve kollajenaz-3 gibi invazyon ve metastazda önemli görevleri olan enzimlerin aktivasyonunda rol olarak indirekt matriks parçalanmasına katkıda bulunurlar (81).

### **2.3.2. Matriks Metalloproteinazların Doku İnhibitörleri**

Matriks metalloproteinazların katalitik aktivitesi doku matriks metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) tarafından kontrol edilmektedir. TIMP'ler multifonksiyonel proteinlerdir. İnhibitör etkileri dışında büyüme faktörlerine benzer etki ve anjiyojenezisi



inhibe edici etki gibi başka fonksiyonları da bulunur (84).

TIMP ailesi, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 olmak üzere bugüne kadar tanımlanmış dört üyeden oluşmaktadır. Bunların içinde en geniş dağılım gösteren TIMP-1'dir ve tüm aktif MMP'leri geri dönebilir nonkovalan bağlar oluşturarak inhibe eder (83). Aralarında yaklaşık olarak %41-52 sekans benzerliği bulunur. Bunların ortak özellikleri 12 tane korunmuş sistein rezidüsüne sahip olmaları ve metalloproteinazlar ile nonkovalent kompleksler oluşturarak inhibe etmeleridir (84).

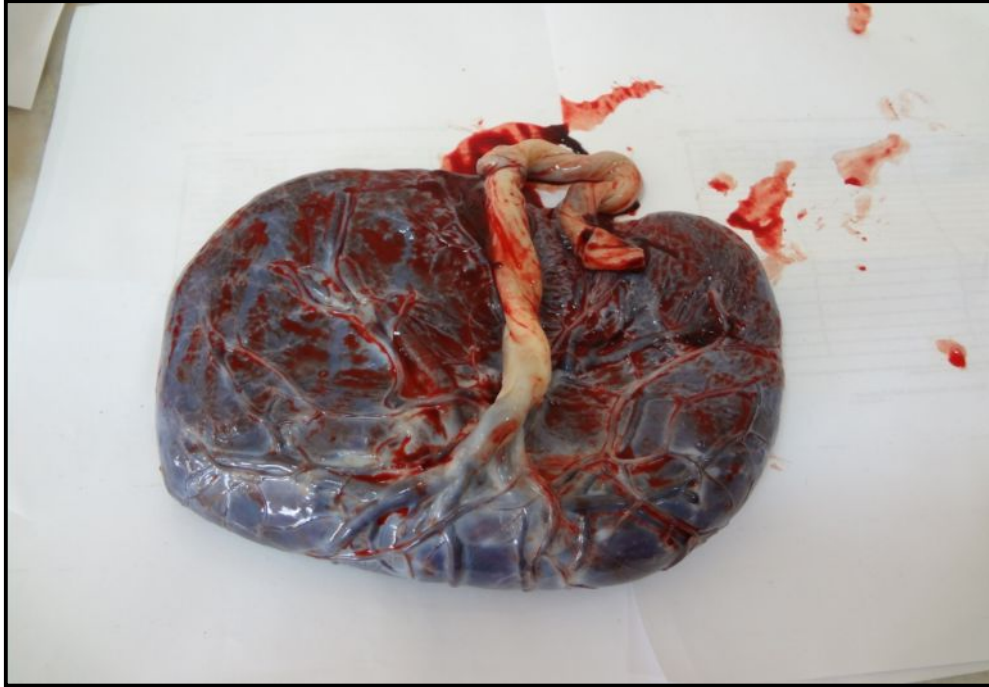
TIMP'lerin en önemli fonksiyonları, metalloproteinazların etkisi ile oluşan bazal membran ve ECM parçalanmasını inhibe etmeleridir. TIMP'ler bu fonksiyonların aktif metalloproteinazlara nonkovalent bağlarla bağlanıp kompleks oluşturarak gösterir. TIMP'ler de MMP'ler gibi vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilirler (85).

MMP'ların ve bu özgül doku inhibitörlerinin arasındaki denge birçok fizyolojik ve patolojik olayda merkezi rol üstlenmektedir.

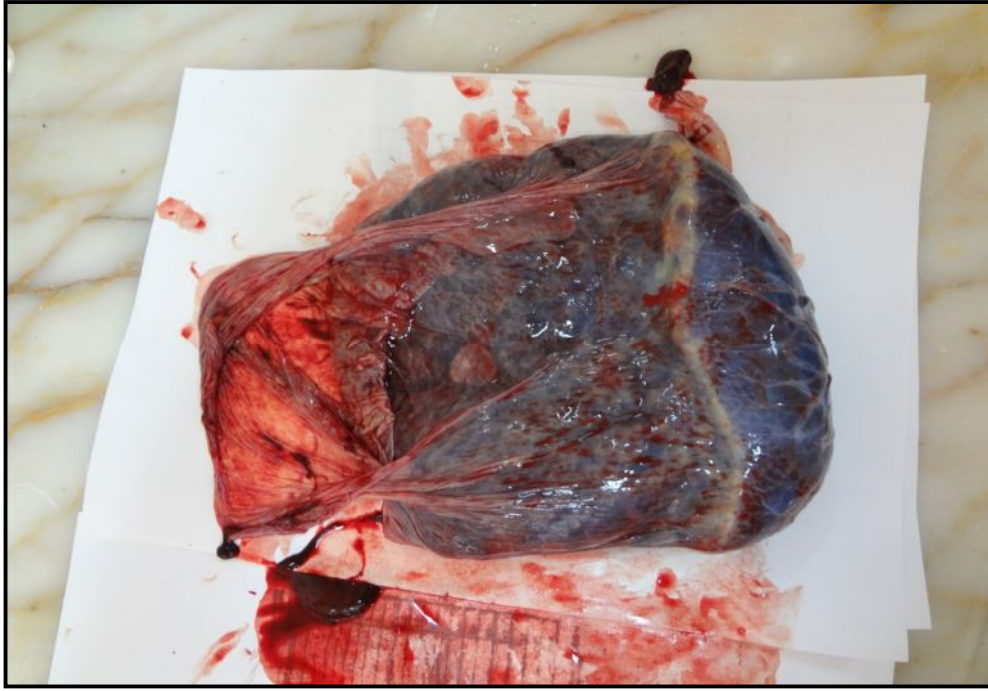
### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Plasentaların Elde Edilmesi

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 03.03.2011 tarih ve 23 sayılı onay alınarak yapılmıştır. Çalışmamıza katılan 15 GDM tanısı konmuş gebe kadın ile 15 herhangi bir sistemik hastalığı olmayan kontrol grubunu oluşturan gebe kadınlar bilgilendirilip ardından bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır (Ek.1). Dicle Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Doğum ve Hastalıkları Kliniğine başvuran söz konusu annelerden doğum sonrası elde ettiğimiz plasentaları serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra maternal ve fetal yüzlerinden, maternal plasenta santral kesit (MS), maternal plasenta periferik kesit (MP), fetal plasenta santral kesit (FS), fetal plasenta periferik kesit (FP), olmak üzere 4 farklı bölgeden yaklaşık 1x1x1 cm<sup>3</sup>'lük doku örnekleri alındı. Santral örnekleme, plasental diskin merkezi baz alınarak, plasental kesit diskin merkezinden 3cm uzaklıktan yapıldı. Periferik örnekleme ise plasental diskin kenarından 2 cm içeriden alınarak yapıldı.



**Şekil 2:** Plasentanın koryoamniyonik membranla kaplı fetal yüzü, koryonik elemanları ve göbek kordonu izlenmektedir.



**Şekil 3.** Plasentada kotiledonların olduğu maternal yüz izlenmektedir.

### **3.2. Işık Mikroskopik İnceleme İçin Dokuların Takibi**

Çalışmada kullanılan plasentaların maternal yüzünden (Şekil.3) hem periferden, hem de santraldan olmak üzere iki doku parçası 1x1x1 cm<sup>3</sup> boyutlarında alınmıştır. Bununla birlikte fetal yüzden de hem santraldan hem de periferden aynı boyutlarda doku parçası alınıp %10'luk tamponlanmış nötral formalin içine alınıp 16 saat bekletilip tespit işlemi gerçekleştirildi. Tespit edilen dokular 12 saat akarsu altında yıkanarak formalin solüsyonundan arındırıldı. Daha sonra sırasıyla, %30, %50, %70, %80, %90 ve %96'lık alkollerde 8 saat bekletilen dokular saf alkol (%99.9) içerisinde 2x20 dakika bekletilerek dehidratasyon işlemi tamamlandı. Şeffaflaştırma ve alkolü dokudan uzaklaştırmak için 2x15 dakika ksilolde bekletilen dokular 1/1 hacimde parafin/ksilol içerisinde 1 saat bekletildikten sonra, saf parafin içine alınıp 4 saat kadar daha bekletildi. İnfiltrasyon işleminin ardından parafin bloklara gömme işlemi gerçekleştirildi. Her bir parafin bloktan, tam otomatik, rotary mikrotom (Leica RM 2265,Germany) yardımıyla 4-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitlere Hematoksilen-Eosin (H-E), PAS ve Masson Trikrom boyama yöntemlerinin yanında, MMP-2 ve MMP-9 immün boyamaları uygulandı (86).

Preparatlar Nikon DS-2MV dijital kamera ve NIS elements 3.00 yazılım programı kullanılarak ışık mikroskobunda incelendi.

### **3.2.1.Hematoksilen-Eozin boyama protokolü**

- 1) Parafin kesitler ksilolde deparafinize edilerek, azalan alkol derecelerinden geçirilip distile suya kadar getirildi.
- 2) Filtre edilmiş Harris hematoksisen solüsyonunda yaklaşık olarak 8 dakika kadar bekletildi.
- 3) Kesitler 5 dakika akarsuda bekletilerek, Hematoksisen artıklarından arındırıldı.
- 4) Differensiyasyonu sağlamak için % 1'lik asit-alkol solüsyonuna bir kez batırılıp çıkarılan dokular tekrar çeşme suyundan geçirilerek yıkanmaları sağlandı.
- 5) Amonyaklı suda çekirdekler parlak mavi oluncaya kadar bekletildi.
- 6) 10 dakika çeşme suyunda yıkandı ve %80'lik etil alkolde 1-2 dakika bekletildi.
- 7) Zıt boyama için eozin-floksin solusyonunda 2 dakika bekletildi.
- 8) Dehidratasyon ve parlatma için yükselen derecelerde etil alkol serilerinden ve ksilolden geçirilerek, entellan ile kapatıldı.

### **3.2.2.Masson trikrom boyama protokolü**

- 1) Parafin kesitler ksilolde deparafinize edilerek, azalan alkol derecelerinden geçirilip distile suya kadar getirildi.
- 2) Bouin solüsyonunda 56 C<sup>0</sup>'de 1 saat bekletildikten sonra çıkarılıp oda sıcaklığına gelmesi beklendi.
- 3) Çeşme suyunun altında boin çıkıncaya kadar bekletildi.
- 4) Weigert solusyonunda 10 dakika bekletildi.
- 5) Distile suyunda çalkalandı.
- 6) Trikromda Gomori'de 11 dakika bekletildi.
- 7) %0,5 Asetik Asit solüsyonuna batırılıp çıkarıldı.
- 8) Dehidratasyon ve parlatma için yükselen derecelerde etil alkol serilerinden ve ksilolden geçirilerek, entellan ile kapatıldı.

### 3.2.3.PAS boyama protokolü

- 1) Parafin kesitler ksilolde deparafinize edilerek, azalan alkol derecelerinden geçirilip distile suya kadar getirildi.
- 2) Peryodik asitte 5 dakika bekletildi.
- 3) Distile suda çalkalandı.
- 4) Coleman schiff'de 8 dakika bekletildi.
- 5) Akarsuda 5 dakika yıkandı.
- 6) Harris Hematoksilende 3 dakika bekletildi.
- 7) Çeşme suyunda çalkalandı.
- 8) %1'lik Asit alkole batırılıp çıkarıldı.
- 9) Çeşme suyunda yıkandı.
- 10) Dehidratasyon ve parlatma için yükselen derecelerde etil alkol serilerinden ve ksilolden geçirilerek, entellan ile kapatıldı.

### 3.3.Histomorfometrik İncelemeler

Kontrol ve GDM vakalarından elde edilen kesitlerde sinsityal düğüm sayısını rastgele seçilen 5 alanda ışık mikroskopunda x40 objektifte sayılarak belirlendi ve ayrıca bazal membran kalınlığı da ölçülerek karşılaştırıldı. Boyanan kesitlerde plasentadaki terminal villuslar aşağıda belirtilen kriterlere göre değerlendirildi.

**Trofoblast:** Sinsityotrofoblastlar, sinsityal düğümler ve sitotrofoblastların çekirdeklerinin lokalizasyonu incelendi (87).

**Villus stroma:** Fibriller materyalin yoğunluğu ve kollajen liflerin mevcudiyeti yönünden villöz stromanın yoğunluğu izlendi (88,89).

**Fötal kapiller:** Her bir vaka, kapiller lümenindeki obstriksiyon ve kapiller proliferasyonu yönünden değerlendirildi.

### 3.4. İmmunohistokimyasal Yöntem

4-6µm kalınlığında elde edilen kesitler, poli-lizinle kaplı lamaların üzerine alındı. Ardından 12 saat 37°C etüvde bekletilen dokulardeparafinizasyonu kolaylaştırmak için 58°C ye ayarlanmış etüve alınıp bir saat kadar daha bekletildi. Daha sonra 2x15 dakika ksilolden geçirilerek deparafinize edilen kesitler, 10'ar dakika sırasıyla %100, %96 ve %80'lik alkol serilerinden geçirildi. Dehidrate edilen dokuları alkolden arındırmak için 2x5

dakika distile sudan geçirildi. Daha sonra formaldehitin kapattığı reseptör böldelerin açığa çıkarılması sağlamak için antijen retrieval işlemi etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) (pH:8.0) solüsyonunda yapıldı. Mikrodalga içine alınan kesitler 700 Watt'ta 7+5+5 dakika ışınlandı. Fırından çıkarılan kesitler, doğrudan oda sıcaklığında soğumaları için 30 dakika kadar bekletildi. Dokularo EDTA'dan arındırmak için 2x5 dakika distile sudan geçirildikten sonra, kurulanıp, dokunun olduğu yer silikon kalem vasıtasıyla çevrelenip sınırlandı. İmmunohistokimya barına dizilen, kesitlerin üzerine 3x3 dakika Phosphate Buffer Saline (PBS) damlatıldı. Bu sırada immünohistokimya barına nemliliği sağlamak için daha önceden hazırlanan sıcak su koyuldu. Kesitlerin üzerindeki PBS alınıp üzerine Hidrojen peroksit blokaj solüsyonu (1ml %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 9ml metanol) damlatılıp 20 dakika inkübe edildi. Böylece endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Özgün olmayan bağlanmaları engellemek için Ultra V Block (keçi, non-immün serum) solüsyonunda 10 dakikalık bekletmenin ardından yıkanmaksızın, MMP-2 (mouse monoclonal, 1/200, Santa Cruz Biotechnology), MMP-9 (mouse monoclonal, 1/200, Santa Cruz Biotechnology), damlatılıp bir gece +4C° de inkübe edildi. Sonraki gün PBS solüsyonunda 3X3 dakika yıkanan kesitler, sekonder antikorla 20 dakika inkübe edilerek primer antikora bağlanması sağlandı. Enzimin biyotine bağlanması amacıyla streptavidin-peroksidaz damlatılıp 10 dakika beklendikten sonra PBS ile yıkandı. Daha sonra kesitlerin üzerine 3,3' Diaminobenzidine (DAB) damlatılıp, yukarıda sayılan söz konusu antikorlar için 10'ar dakika beklendi. Böylece gözle görünen immun tepkimenin ortaya çıkması sağlandı. PBS ile reaksiyon durdurulup Harris hematoksilen ile zıt boyama yapıldıktan sonra kesitler artan alkol derecelerinden geçirildikten sonra entellan ile kapatıldı. Nikon DS-2MV dijital kamera ve NIS elements 3.00 yazılım programı kullanılarak mikrografları çekildi.

**Tablo 3:** Kontrol ve GDM'li plasentalarda MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonun skorlanması.

<b>-(0)</b>	<b>Ekspresyon yok</b>
<b>+(1)</b>	<b>Zayıf Ekspresyon</b>
<b>++(2)</b>	<b>Orta Ekspresyon</b>
<b>+++ (3)</b>	<b>Kuvvetli Ekspresyon</b>

İmmünohistokimyasal analizde,  $\times 40$ 'lık büyütmeye rastgele seçilen 3 mikroskobik alanda, sinsiyo trofoblastlar, sitotrofoblastlar, ekstras trofoblastlar ve desidual stromal hücrelerin sitoplazmik boyamalarına negatif (0), %25'in altı zayıf (1), %25-%50 arasında boyanma orta (2), %50'den fazla kuvvetli (3) olarak derecelendirmişlerdir.

### **3.5. İstatistiksel Yöntem**

Çalışmada elde edilen verilerin, aritmetik ortalaması ve standart sapma değerleri hesaplandı. İstatistiksel analizde SPSS 11.0 (Chicago IL, USA) programı kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi tercih edildikten sonra,  $p < 0.05$  olması durumunda veriler arasındaki farklılığın anlamlı olduğu sonucuna varıldı.

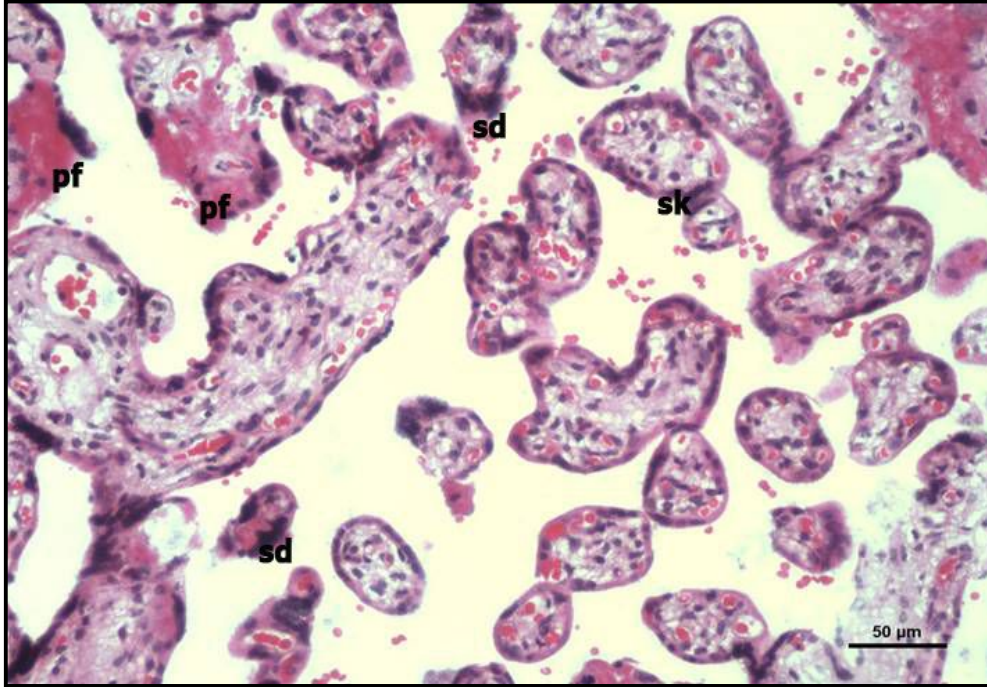
## 4.BULGULAR

### 4.1.Histopatolojik bulgular

#### 4.1.1. Kontrol grubu plasenta bulguları

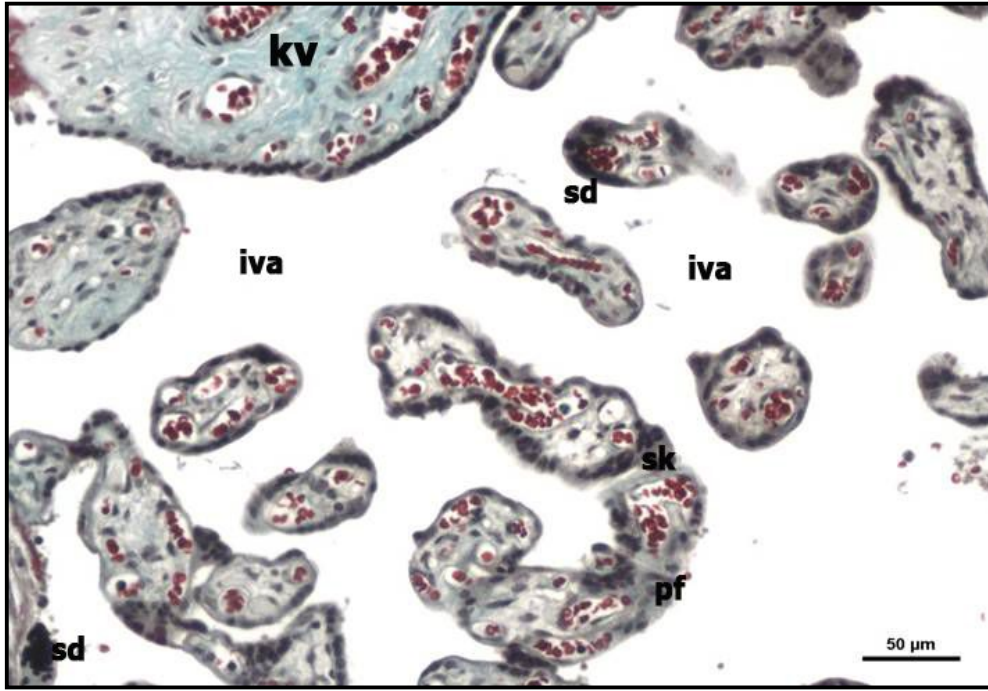
H-E ve Masson trikrom ile boyanan kontrol grubu plasenta kök villuslarında fetal damarlar, terminal villuslarındaki fetal kapillerler, sinsityal düğümler, sinsityal köprüler, perivillöz fibrin ile intervillöz aralıklar normal yapıda izlendi (Şekil.4-5).

PAS yöntemi ile boyanan kontrol grubu plasenta kesitlerinde, trofoblast bazal membranı ve vaskülosinsityal bazal membranlar normal kalınlıkta, maternal desiduada glikojen birikimi normal olarak izlendi (Şekil.6).

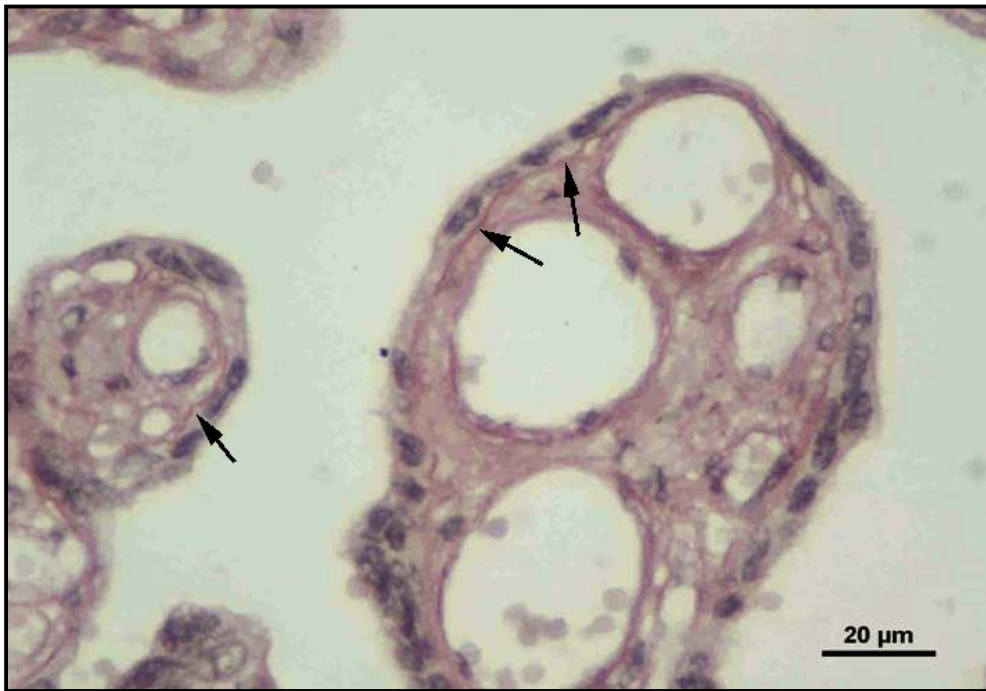


**Şekil.4:** Kontrol grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityal düğüm (sd), sinsityal köprü (sk) ve perivillöz fibrin birikimi(pf). (H-E,Bar çubuğu: 50µm).





**Şekil.5:** Kontrol grubu santral plasenta kesiti, kök villusu (kv), perivillöz fibrin (pf), sinsityal düğümler (sd), sinsityal köprü (sk) ve intervillöz aralık (iva) izlenmektedir. (Masson trikrom Bar çubuğu: 50µm).



**Şekil.6:** Kontrol grubu santral plasenta kesitinde, normal kalınlıkta izlenen trofoblast bazal membranı (ok). (PAS, Bar çubuğu: 20µm).

#### 4.1.2. Gestasyonel diyabet grubu plasenta bulguları

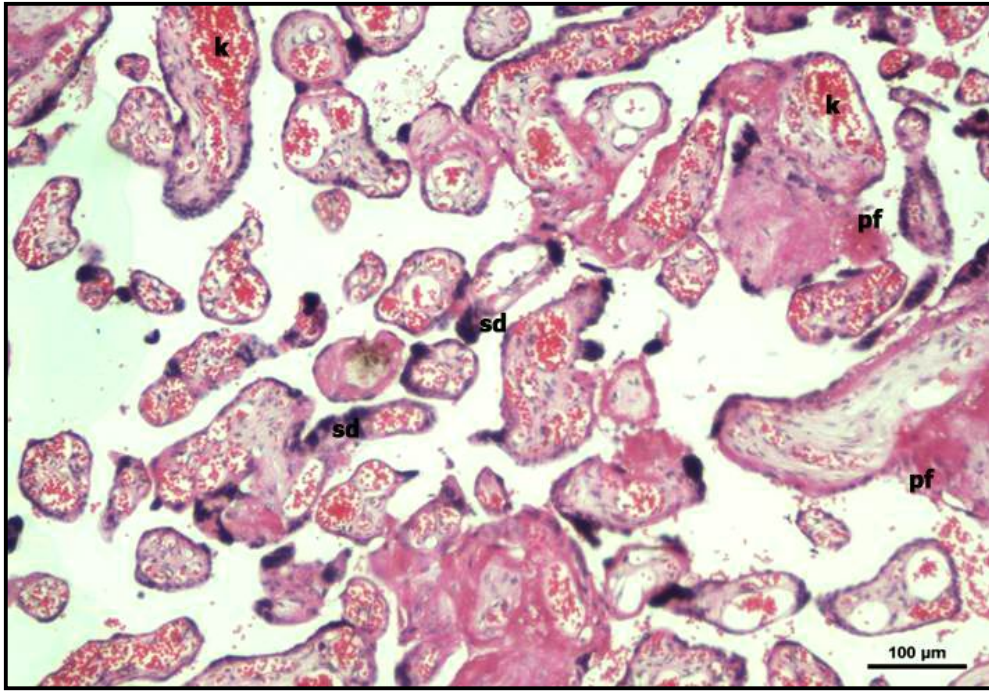
GDM vakalarının pek çoğunda, santral plasenta kesitlerinde belirgin perivillöz fibrin birikimi infarkt alanlar ile yer yer intervillöz aralıkta daralma gözlemlendi (Şekil.7-8,11). Bazı GDM vakalarında hem santral hem de periferik plasenta örnekleri terminal

villuslarında, sinsityal düğüm sayılarında (Şekil.7-9) ve sinsityal köprülerde (Şekil.7-9) belirgin bir artış gözlemlendi.

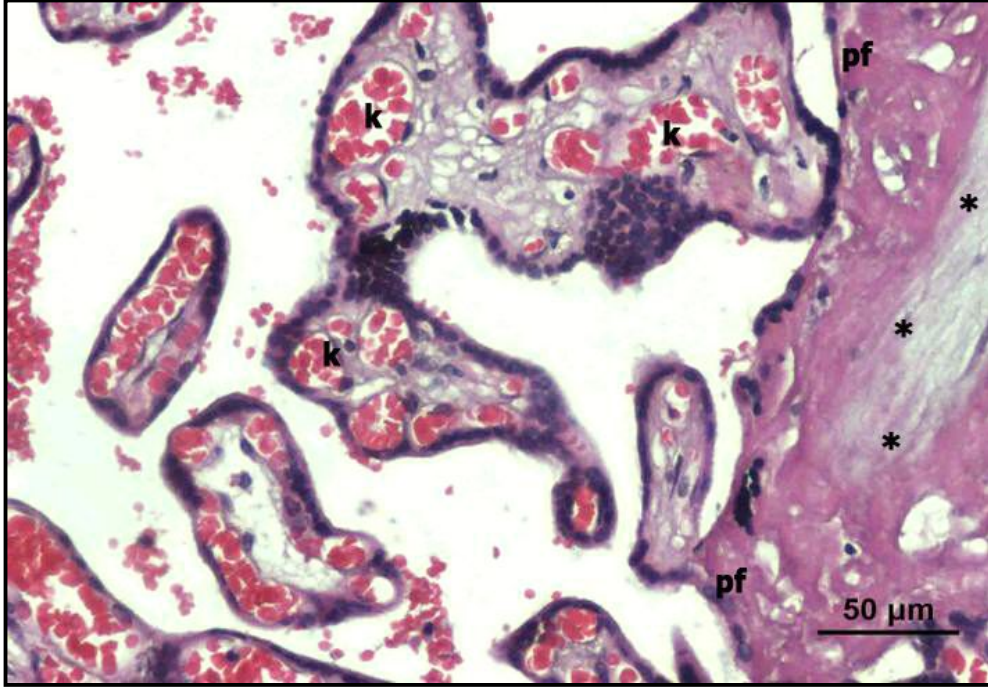
Fetal kapillerlerin ileri derece dilate ve sinsityotrofoblastlara oldukça yakın durumda olduğu gözlemlendi (Şekil.10). GDM'lu vakaların plasenta kesitlerinin pek çoğunda, terminal villus kapillerlerinde proliferasyon, konjesyon ve ödem belirgindi (Şekil.10).

Bazı santral plasenta kök villüs fetal arter duvarının tunika mediasında ileri derecede asimetrik kalınlaşma, kısmen damar lümeninde obliterasyon gözlemlendi (Şekil-12).

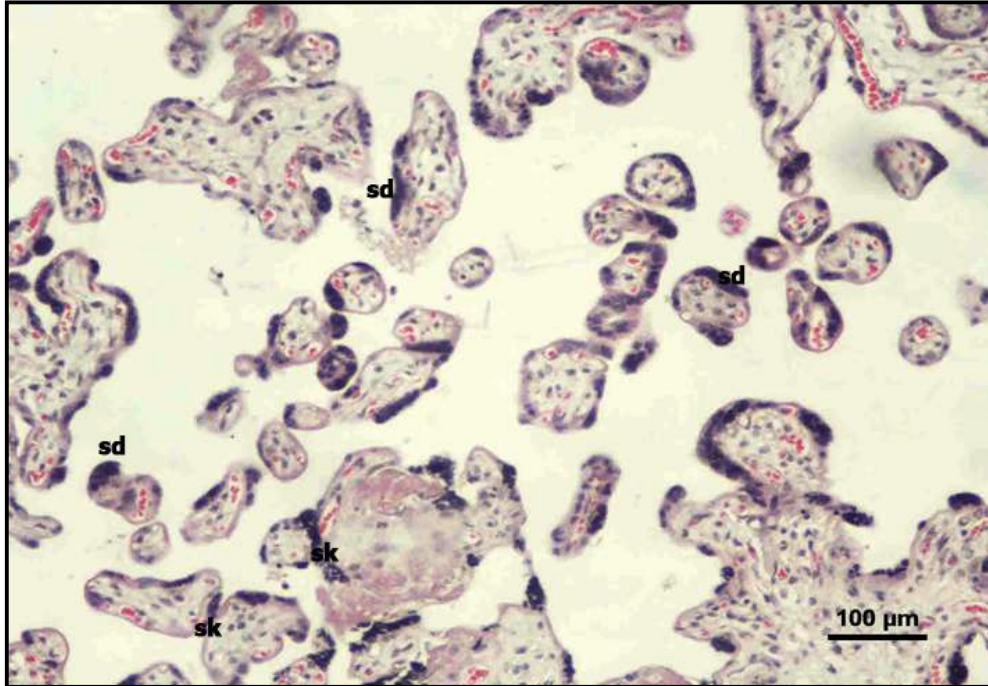
PAS ile boyanan GDM grubuna ait plasentaların tümünde, trofoblast bazal membranı kontrol grubuna göre yer yer daha kalın olarak izlendi (Şekil-13). Aynı grubun diğer bir kesitinde desiduada heterojen bir dağılımı gösteren yoğun glikojen birikimi gözlemlendi (Şekil-14).



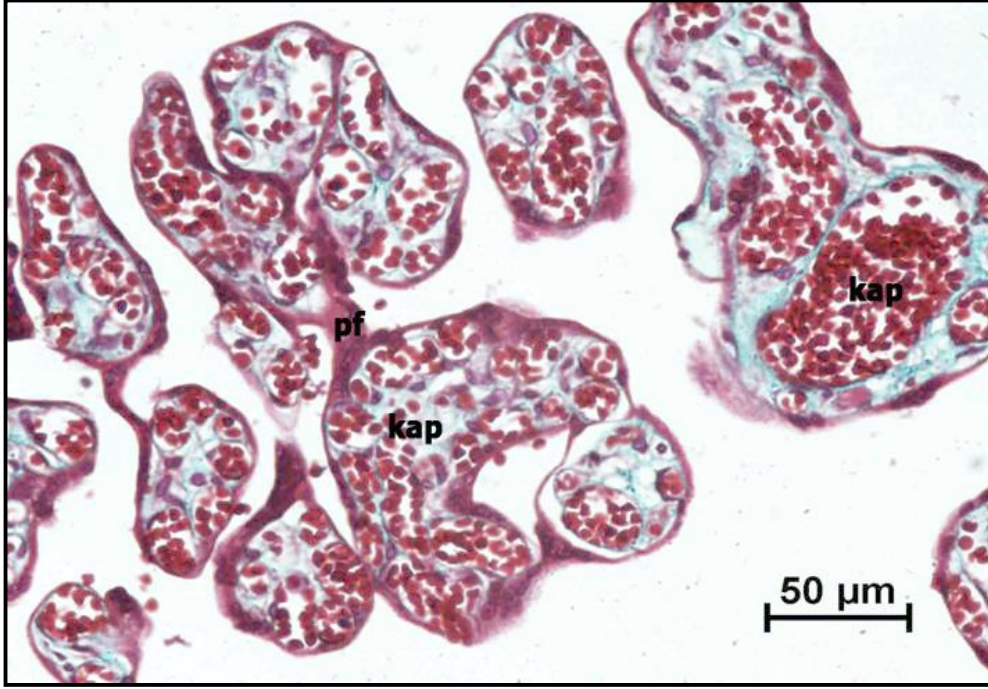
**Şekil.7:** GDM grubu periferik plasenta kesiti, sinsityal düğümlerde (sd) belirgin artışın yanı sıra, perivillöz fibrin (pf) ve fetal kapillerde konjesyon (k) izlenmektedir. (H-E, Bar çubuğu: 100µm).



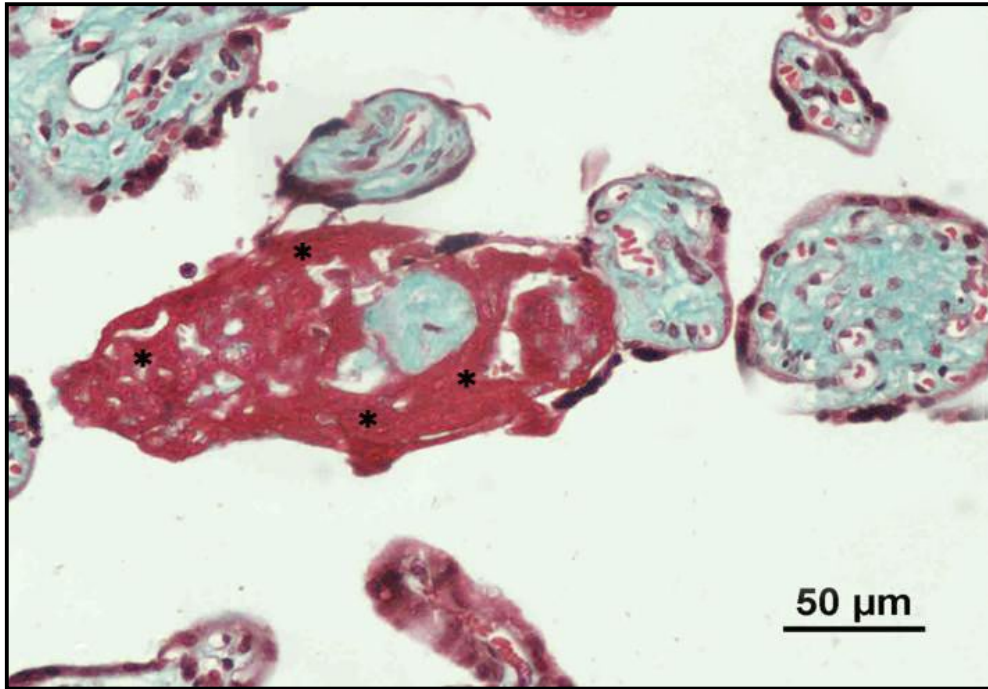
**Şekil.8:** GDM grubu santral plasenta kesiti, kök villuslarda infarkt alanı (asterisk) çevreleyen yoğun fibrinoid doku (pf) konjesyon (k) ve dilate fõtal kapiller izlenmektedir. (H-E, Bar çubuğu: 50µm).



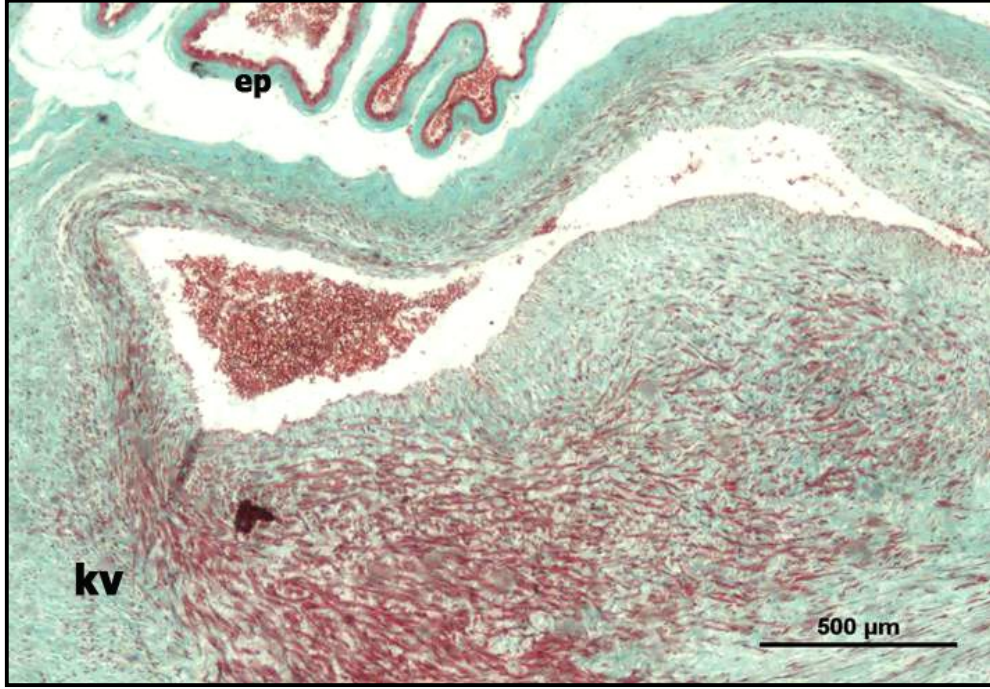
**Şekil.9:** GDM grubu periferik plasenta kesiti. Sinsityal düğümlerde (sd) ve sinsityal köprülerde (sk) belirgin bir artış görölmektedir. (H-E, Bar çubuğu: 100µm).



**Şekil.10:**GDM grubu periferik plasenta kesinde terminal villus fötal kapillerinde (kap) aşırı dilatasyon ve perivillöz fibrin (pf) birikimi. (Masson trikrom Bar ubuęu: 50µm).



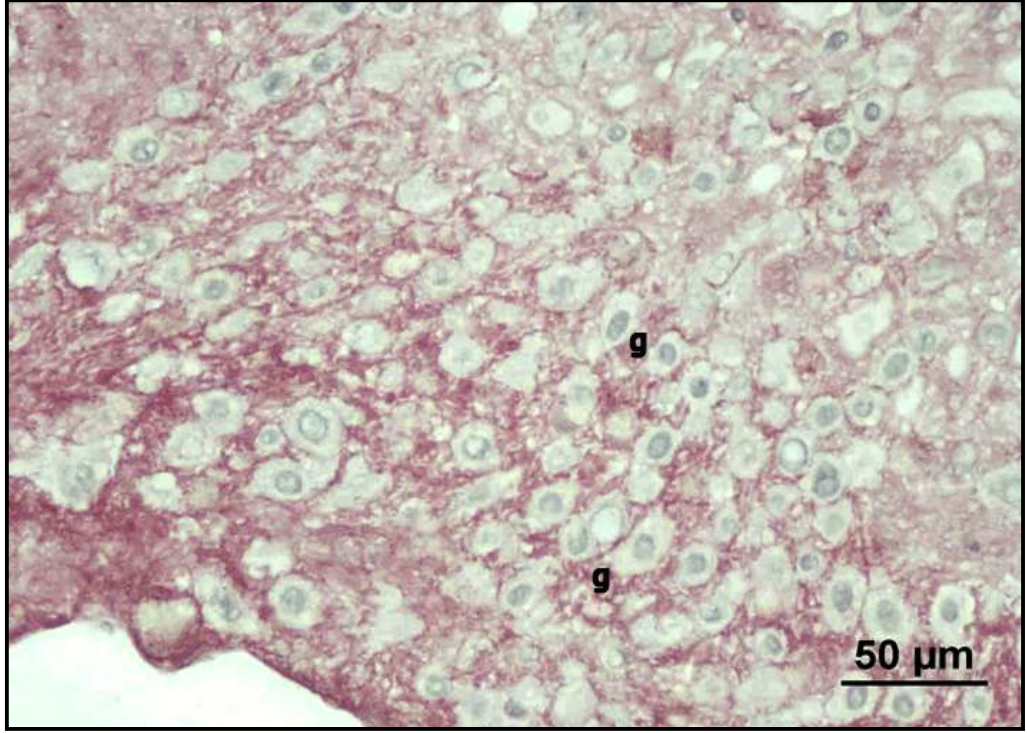
**Şekil-11:** GDM grubu santral plasenta kesitinde, infarkt alanı çevreleyen yoğun fibrinoid doku (asteriks) birikimi izlenmektedir. (Masson trikrom, Bar ubuęu: 50µm).



**Şekil-12:** GDM grubu santral plasenta kesiti kök villusta (kv) yer alan fötal arter tunika mediasında asimetrik duvar kalınlaşması ve amnion epiteli (ep) izlenmektedir. (Masson trikrom Bar ubuęu: 500µm).



**Şekil.13:** GDM grubu periferik plasenta kesitinde kalınlaşmış trofoblast bazal membranı (ok). (PAS, Bar ubuęu: 20µm).



**Şekil-14:** GDM grubu santral plasenta kesiti. Desiduada heterojen dağılım gösteren yoğun glikojen (g) akümülyasyonu. (PAS, Bar çubuğu: 50µm)

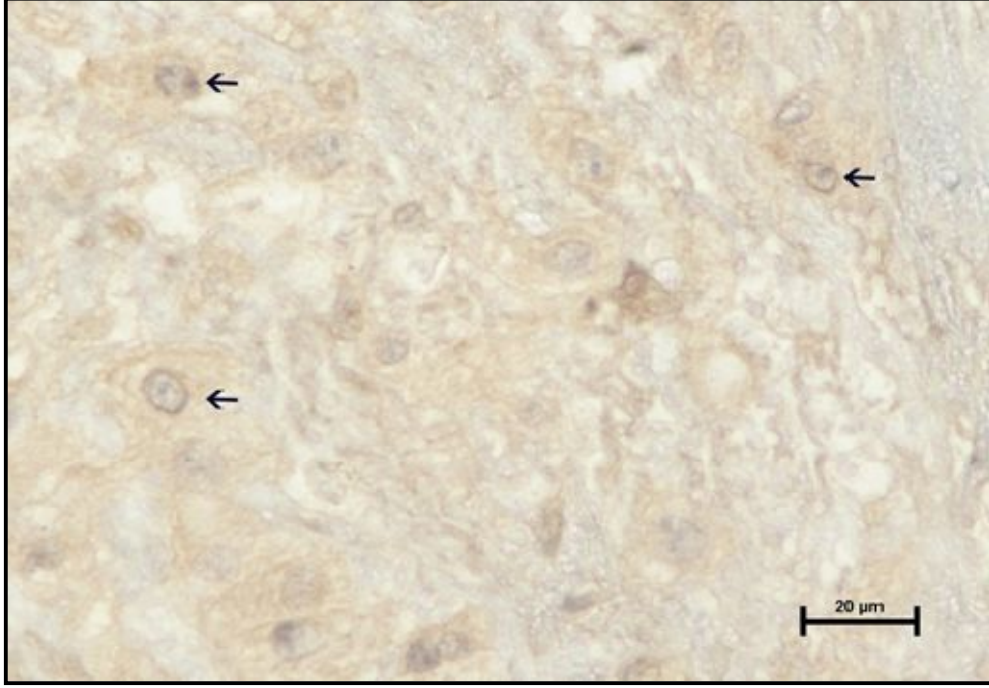
## 4.2.İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

### 4.2.1. MMP-2 Bulguları

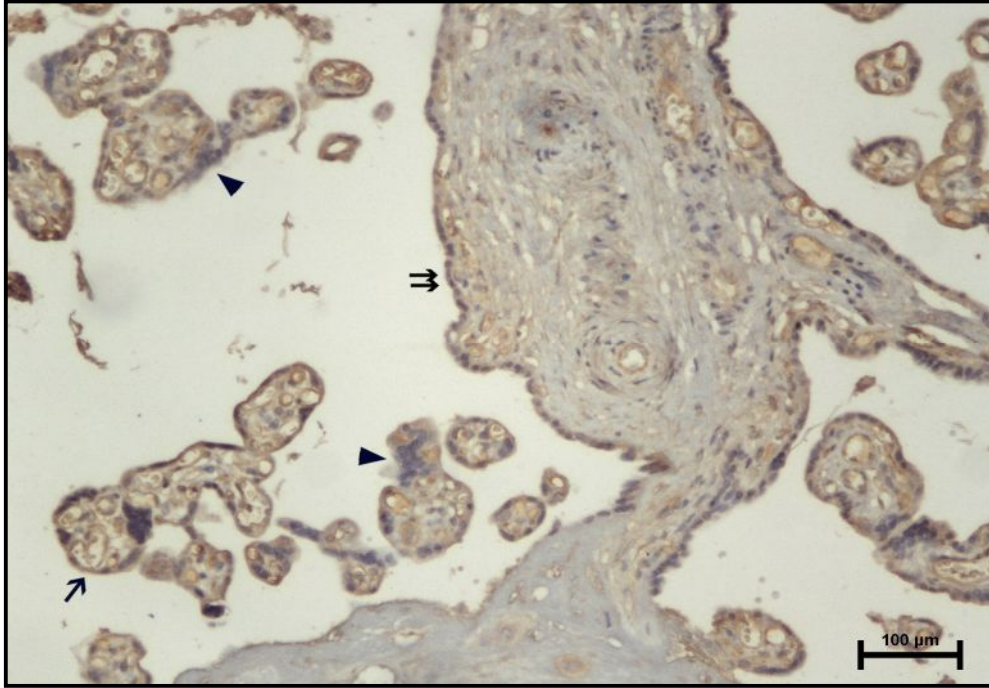
MMP-2 ekspresyonu açısından değerlendirilen santral kesitlerin maternal kısmında genelde zayıf düzeyde ekspresyon mevcutken bazı bölgelerde orta düzeyde ekspresyon olduğu görüldü. İki grup karşılaştırıldığında herhangi bir farkın olmadığı tespit edildi. Fetal kısımda da zayıf-orta düzeyde ekspresyon mevcuttu. GDM'lilerde kök villüs sinsityotrofoblastlarında ekspresyonda artış, sinsityal düğümlerde ekspresyonda azalma belirlendi.MMP-2 perifer kesitlerinde hem maternal hemde fetal tarafta zayıf düzeyde immün reaksiyon mevcuttu ve gruplar arasında ekspresyon farkı izlenmedi.



**Şekil 15:** Kontrol grubu santral kesitte bazal plak desidua hücrelerinde (ok başı) zayıf düzeyde ekspresyon, koryon villüs sinsityotrofoblastlarında (oklar) orta düzeyde ekspresyon görülmekte (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu:100µm).

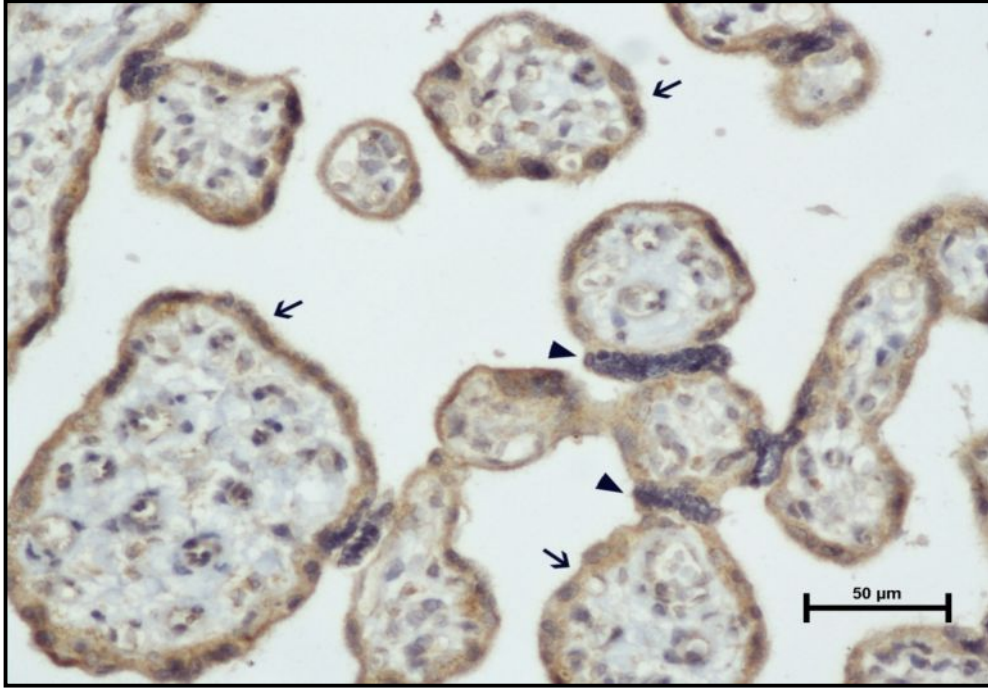


**Şekil.16:** GDM grubu santral kesitte bazal plak desidual hücrelerde (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 20  $\mu$ m).

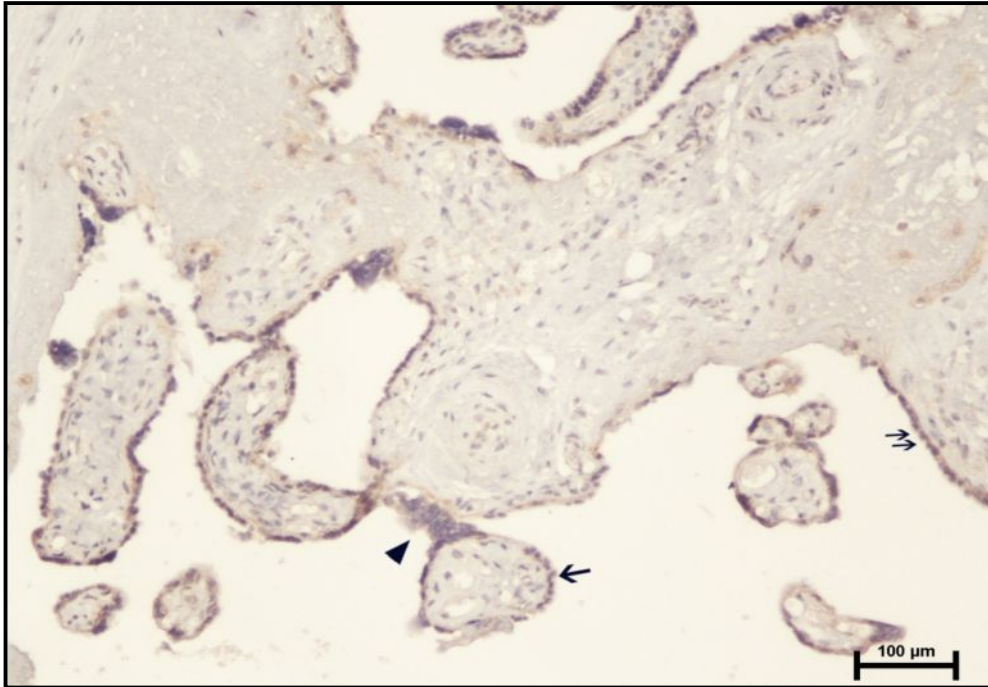


**Şekil.17:** Kontrol grubu santral kesitte ektravillöz trofoblastik hücrelerde (çift ok) ve koryon villüs sinsiyo trofoblastlarında zayıf düzeyde ekspresyon, sinsiyo düğümlerde (ok başı) minimal ekspresyon görülmektedir (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 100  $\mu$ m).

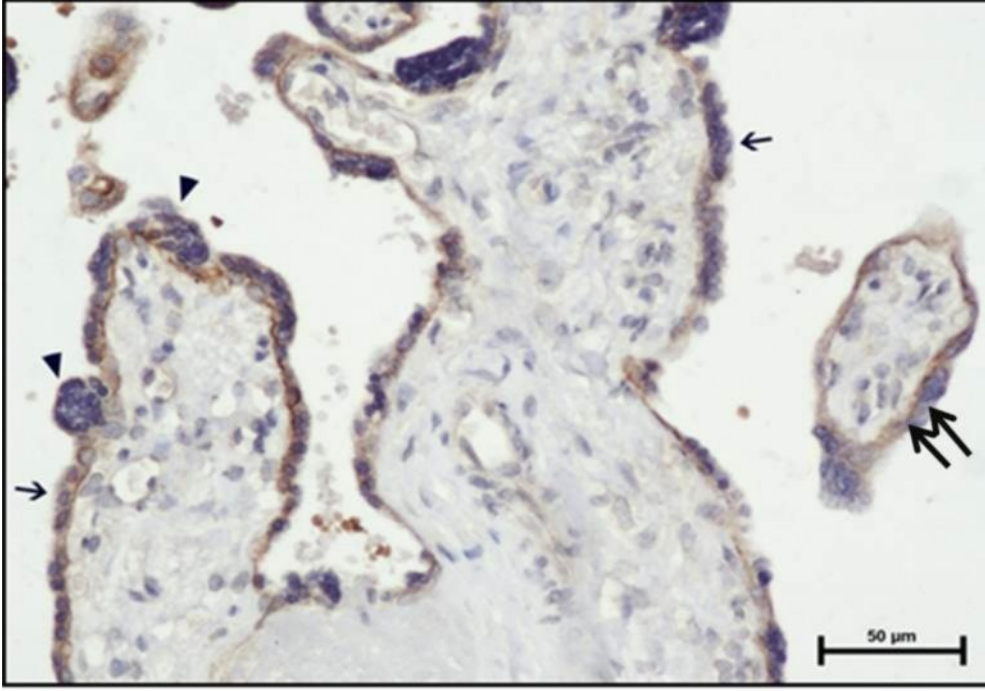




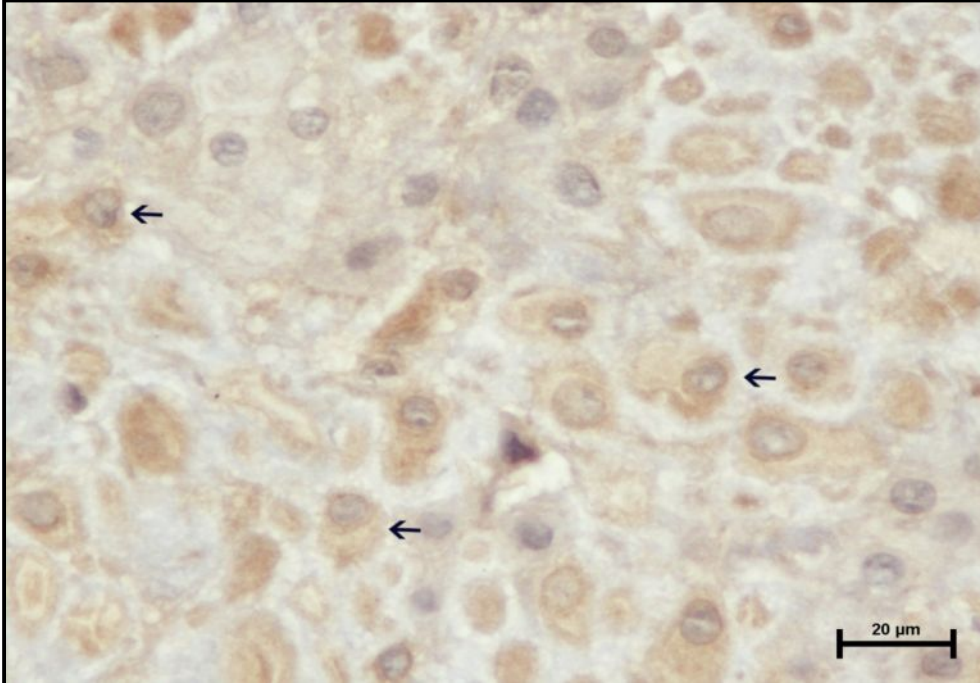
**Şekil.18:** GDM grubu santral kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarında (oklar) genelde zayıf ekspresyon, sinsityal düğümlerde ekspresyon olmadığı izlenmektedir (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 50 µm).



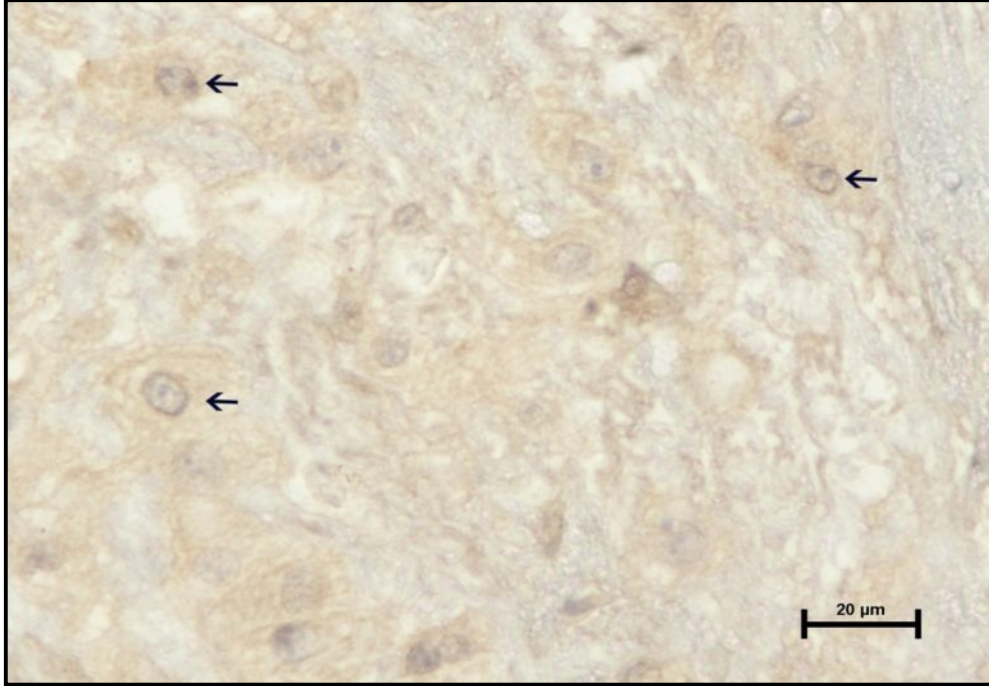
**Şekil.19:** GDM grubu santral kesitte villus sinsityotrofoblastlarında (ok) ve ektravillöz trofoblastik sinsityotrofoblastlarda (çift ok) zayıf ekspresyon, sinsityal düğümlerde (ok başı) ekspresyonun olmadığı görülmektedir. (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 100 µm).



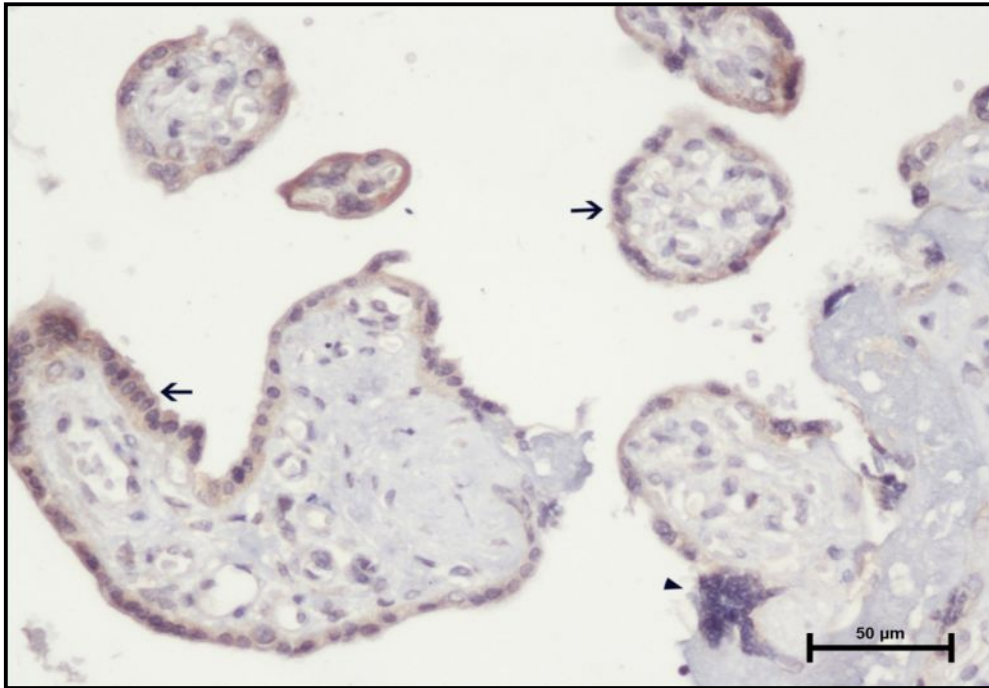
**Şekil.20:** GDM grubu santral kesitte kök villüs sinsityotrofoblastlarında (oklar) ve ekstrasitofoblastik sinsityotrofoblastlarda (çift ok) zayıf ekspresyon, sinsityal düğümde (ok başı) ekspresyonun olmadığı görülmekte (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 50 µm).



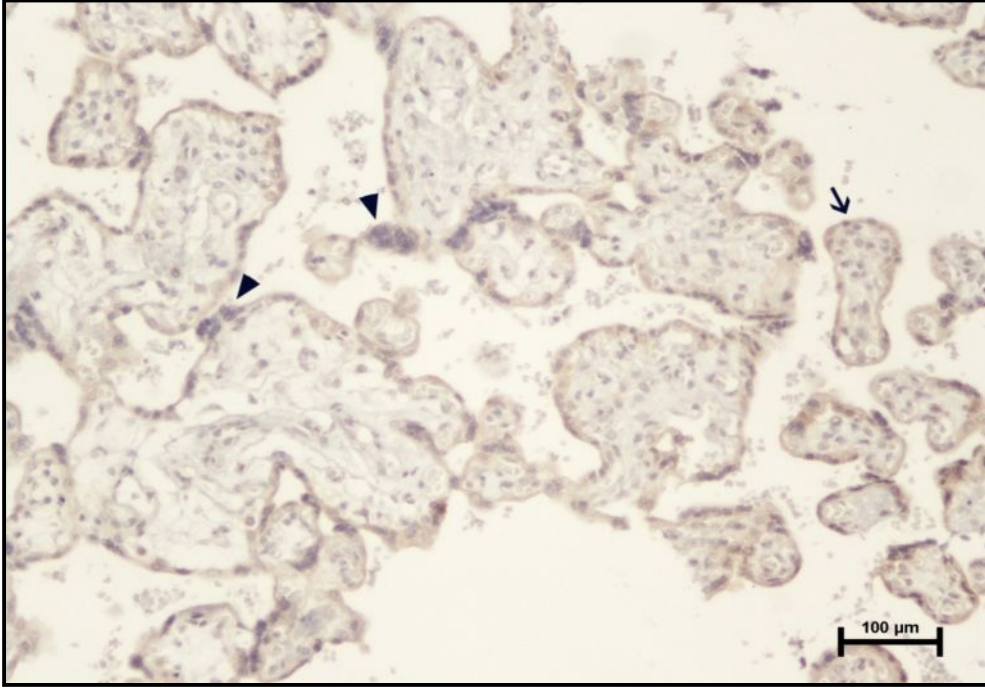
**Şekil 21:** Kontrol grubu perifer kesitte bazal plak desidual hücrelerde (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon izlenmektedir (MMP-2 immün boyama, Bar: 20 µm).



**Şekil.22:** GDM grubu perifer kesitte bazal plak desidual hücrelerde (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 20 µm).



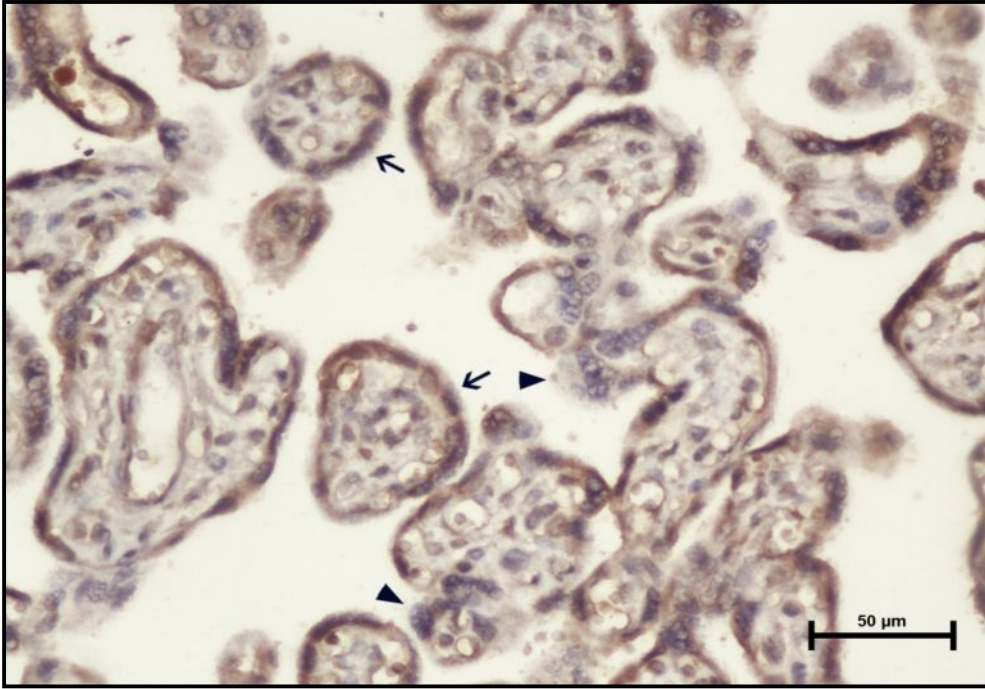
**Şekil.23:** Kontrol grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotroblastlarda (oklar) zayıf ekspresyon, sinsityal düğümde (ok başı) ekspresyonun olmadığını izlenmektedir (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 50 µm).



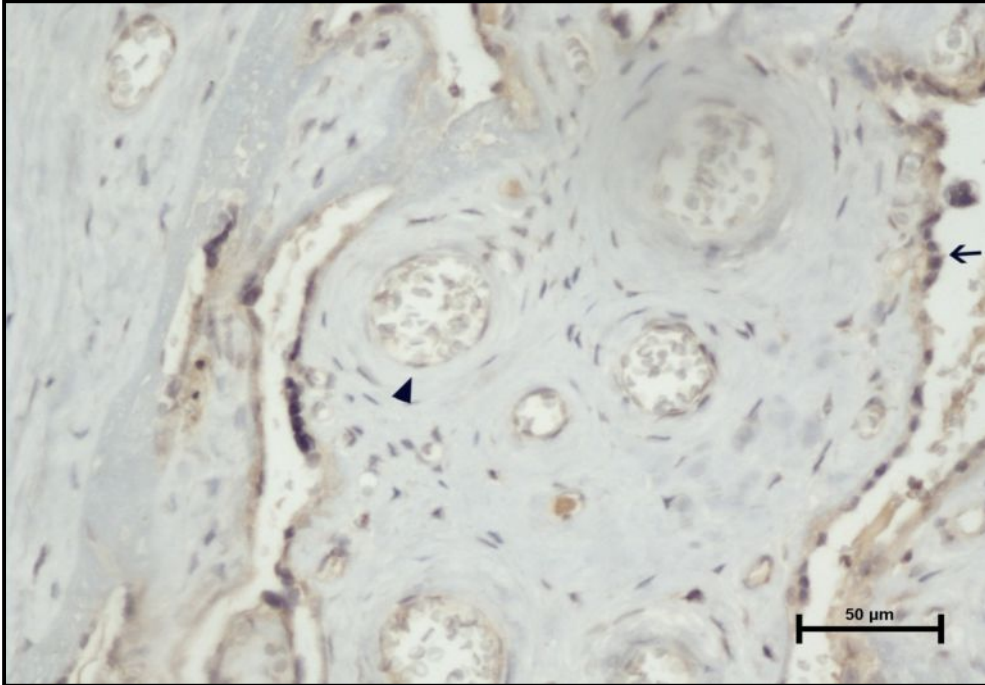
**Şekil.24:** Kontrol grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarda (ok) zayıf ekspresyon, sinsityal düğümde (ok başı) ekspresyonun olmadığını izlemekteyiz (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 100 µm).



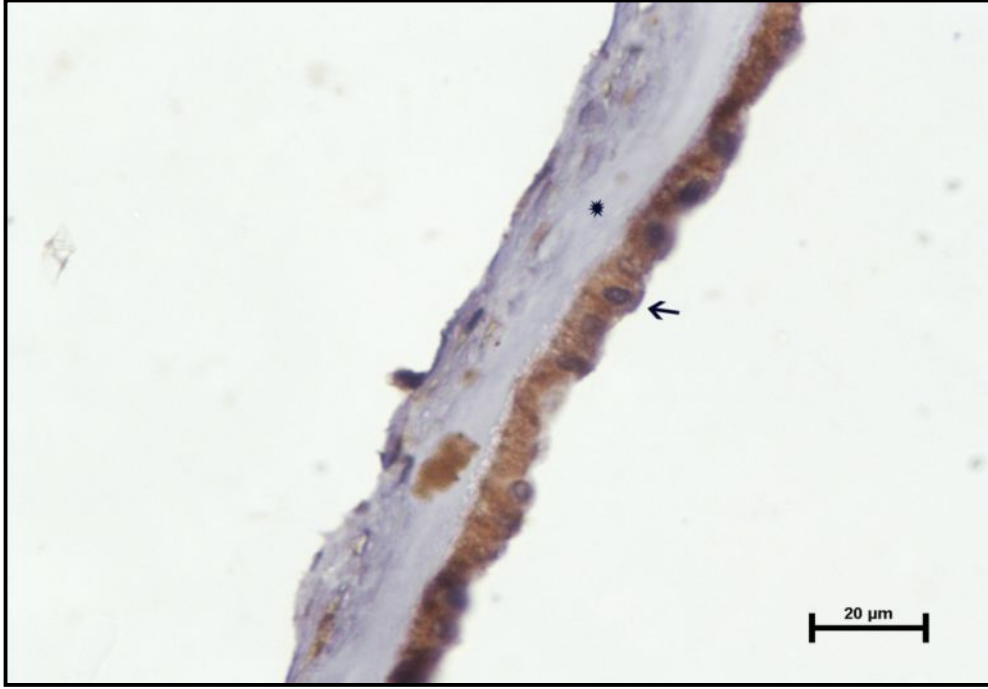
**Şekil.25:** GDM grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarda (ok) zayıf ekspresyon, sinsityal düğümde (ok başı) minimal ekspresyon görülmektedir (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 50 µm).



**Şekil.26:** GDM grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarda (oklar) orta ekspresyon, sinsityal düğümde (ok başı) minimal ekspresyon izlenmektedir(MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 50 µm).



**Şekil.27:** GDM grubu perifer kesitte kök villüsta ekstravillöz trofoblastlarda (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon izlenirken, damar duvarında (ok başı) ekspresyon izlenmemektedir (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 50 µm).



**Şekil.28:** GDM grubu santral kesitte amnion epitelinde (ok) güçlü ekspresyon görülmekte (MMP-2 immün boyama, Bar çubuğu: 20 µm).

**Tablo 4:** Gruplar arasında MMP-2 immünekspresyonunun, santral ve perifer kesitlerde skora sonucunda elde edilen değerlerin istatistiksel analizi.

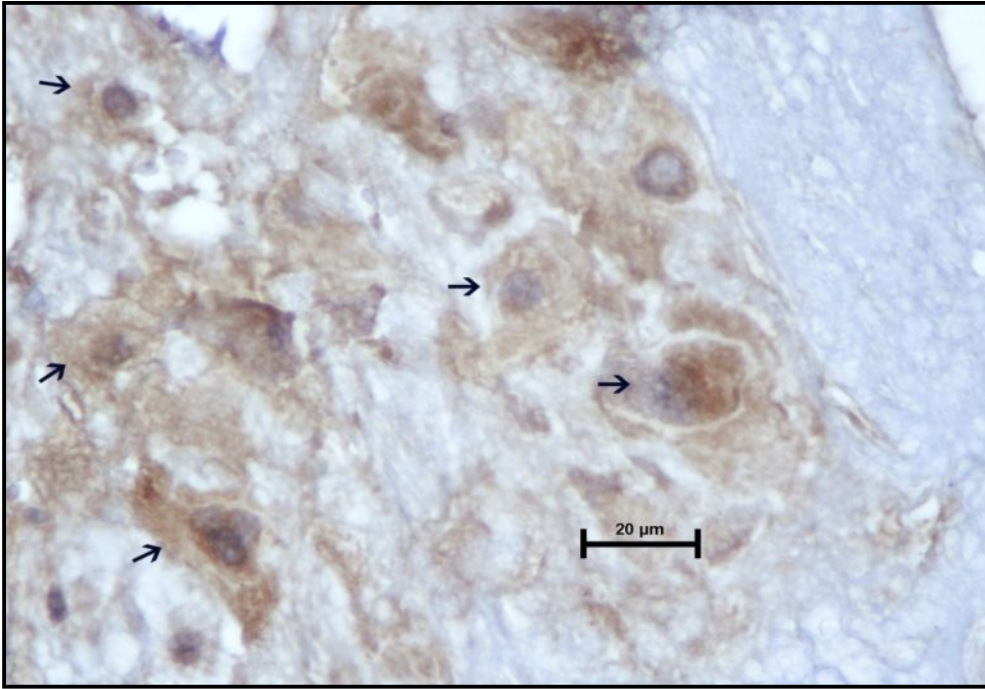
MMP-2	Santral (n:15)			Perifer (n:15)		
	Kontrol	GDM	p	Kontrol	GDM	p
Desidua hücresi	0,93±0,16	0,86±0,11	>0.05	0,83±0,17	0,88±0,21	>0.05
Bazal plak	0,81±0,12	0,87±0,08	>0.05	0,96±0,09	0,99±0,12	>0.05
M.K.V.S	1,50±0,19	1,46±0,11	>0.05	1,02±0,21	0,98±0,17	>0.05
M.K.V.Str.	1,0±0,19	0,98±0,17	>0.05	0,47±0,13	0,56±0,07	>0.05
M.S. D.	0,60±0,09	0,59±0,07	>0.05	0,94±0,32	0,98±0,24	>0.05
F.S. D.	1,12±0,14	0,60±0,11	<0.05	0,29±0,08	0,310,12	>0.05
F.K.V.Str.	0,88±0,14	0,95±0,20	>0.05	0,41±0,12	0,43±0,17	>0.05
F.K.V.S	1,21±0,09	1,15±0,12	>0.05	1,17±0,24	1,22±0,27	>0.05
K.V.S.	0,94±0,17	1,40±0,15	<0.05	1,05±0,23	1,02±0,16	>0.05
K.V.Str.	0,98±0,17	0,97±0,17	>0.05	0,92±0,14	0,94±0,16	>0.05
Koryon plağı	0,72±0,11	0,78±0,07	>0.05	0,27±0,09	0,29±0,14	>0.05

Amnion epiteli	0,42±0,10	0,46±0,16	>0.05	0,54±0,16	0,55±0,10	>0.05
----------------	-----------	-----------	-------	-----------	-----------	-------

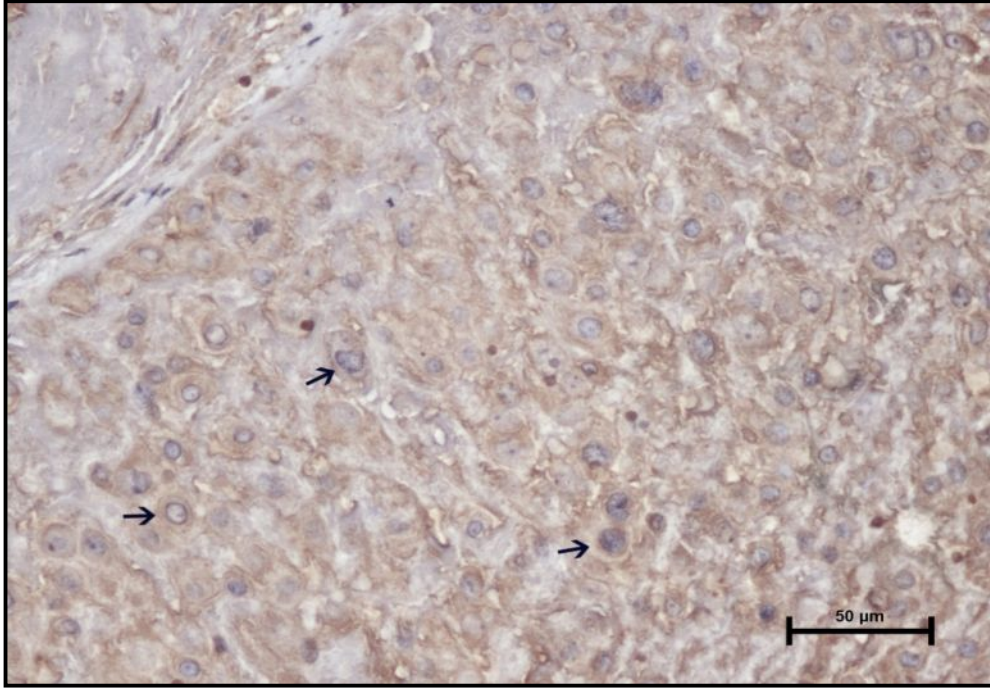
#### 4.2.2. MMP-9 Bulguları

MMP-9 ekspresyonu açısından değerlendirildiğinde MMP-2'ye göre biraz daha yoğun immün reaksiyon görülürken genelde orta düzeyde bir ekspresyon hakimiyeti mevcuttu. Santral kesitler incelendiğinde maternal yüzde, sinsityal düğüm ve köprülerde ekspresyon azalması tespit edildi. Amnion epitelinde gruplar arasında fark olmayıp güçlü ekspresyon izlendi. Fetal yüzde genelde orta düzeyde ekspresyon mevcuttu ve gruplar arasında ekspresyon farkı yoktu.

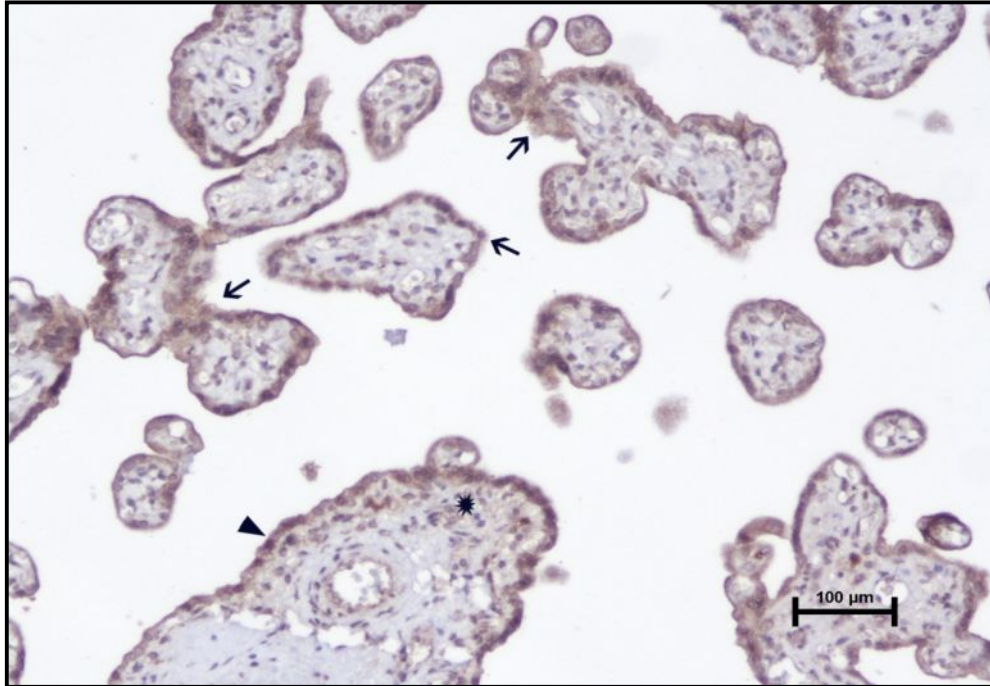
Periferal kesitlerde ise maternal taraf ele alındığında desidua hücrelerinde ekspresyon artışı, sinsityal düğümlerde ekspresyon azalması tespit edildi. Fetal tarafta ise koryon villüs sinsityotrofoblastlarında, koryon villüs stromasında, kök villüs sinsityotrofoblastlarında, kök villüs stromasında ve koryon plağında ekspresyon azalması mevcuttu.



**Şekil.29:** Kontrol grubu santral kesitte bazal plak desidua hücrelerinde (oklar) zayıf-orta düzeyde ekspresyon izlenmektedir (MMP-9, immün boyama, Bar çubuğu: 20 µm).

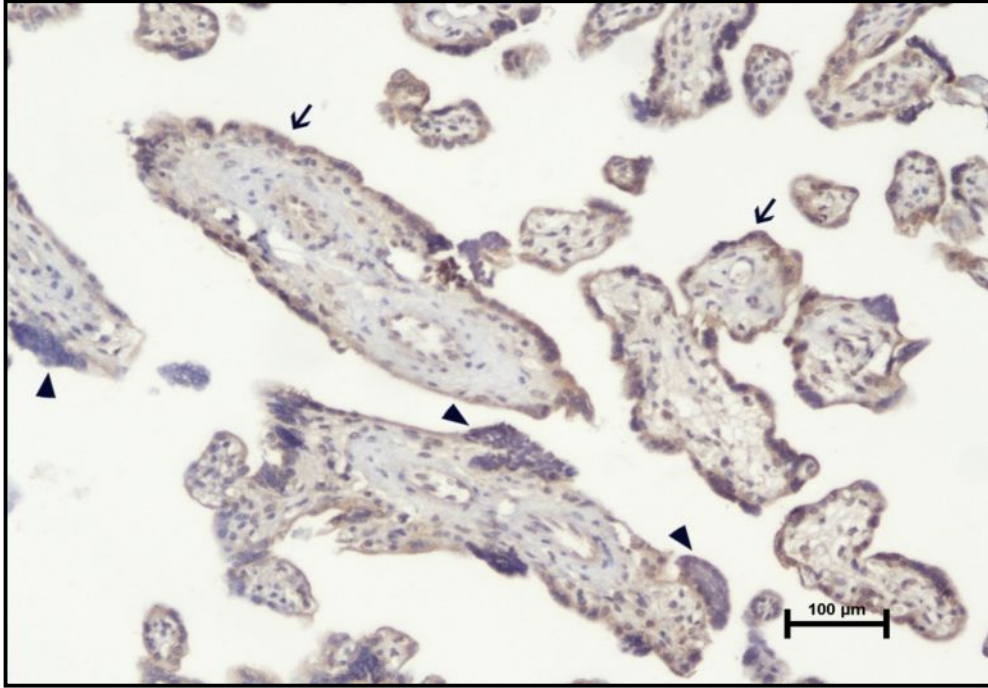


**Şekil.30:** GDM grubu santral kesitte bazal plak desidual hücrelerde (oklar) zayıf düzeyde ekspresyon izlenmektedir (MMP-9 immün boyama, Bar çubuğu: 50 µm).

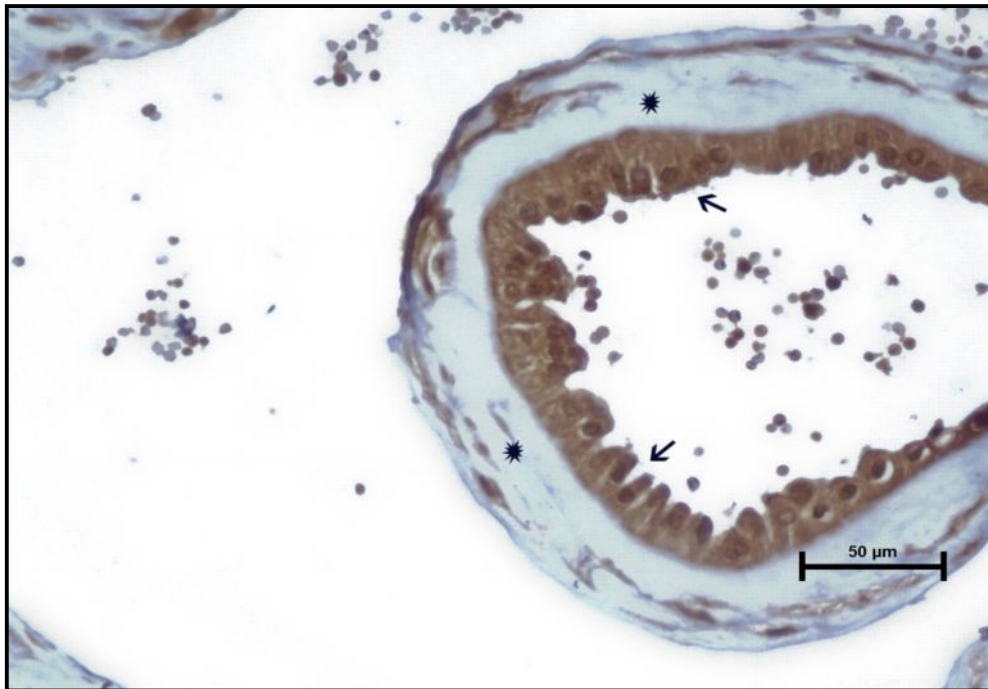


**Şekil.31:** Kontrol grubu santral kesitte koryon villüs sinsityotroblastlarında (ok başı) ve sinsityal düğümlerde (ok) orta düzeyde ekspresyon izlenmektedir (MMP-9 immün boyama, Bar çubuğu: 100 µm).

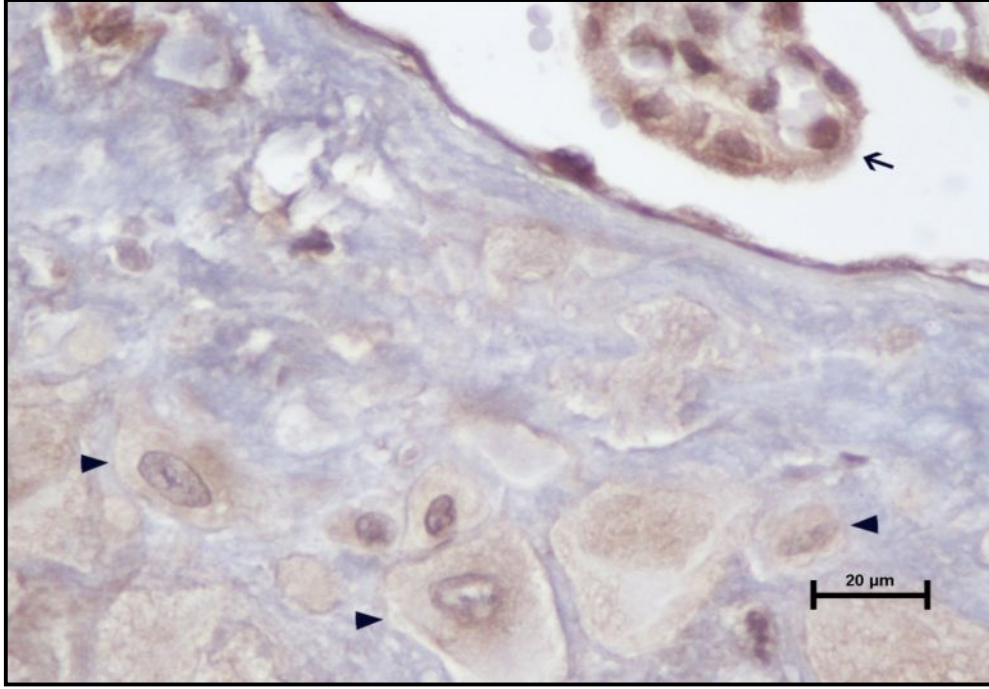




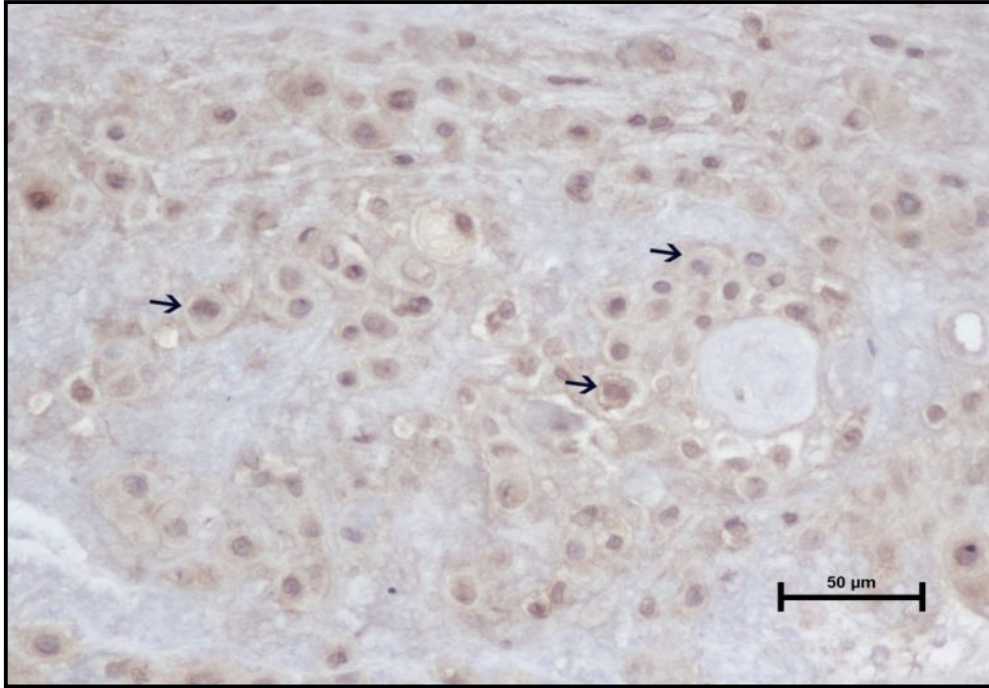
**Şekil.32:**GDM grubu santral kesitte koryon villüs sinsityotroblastlarında (oklar) orta düzeyde ekspresyon, sinsityal düğümlerde (ok başı) ekspresyonun olmadığı görülüyor (MMP-9 immün boyama, Bar çubuğu: 100 µm).



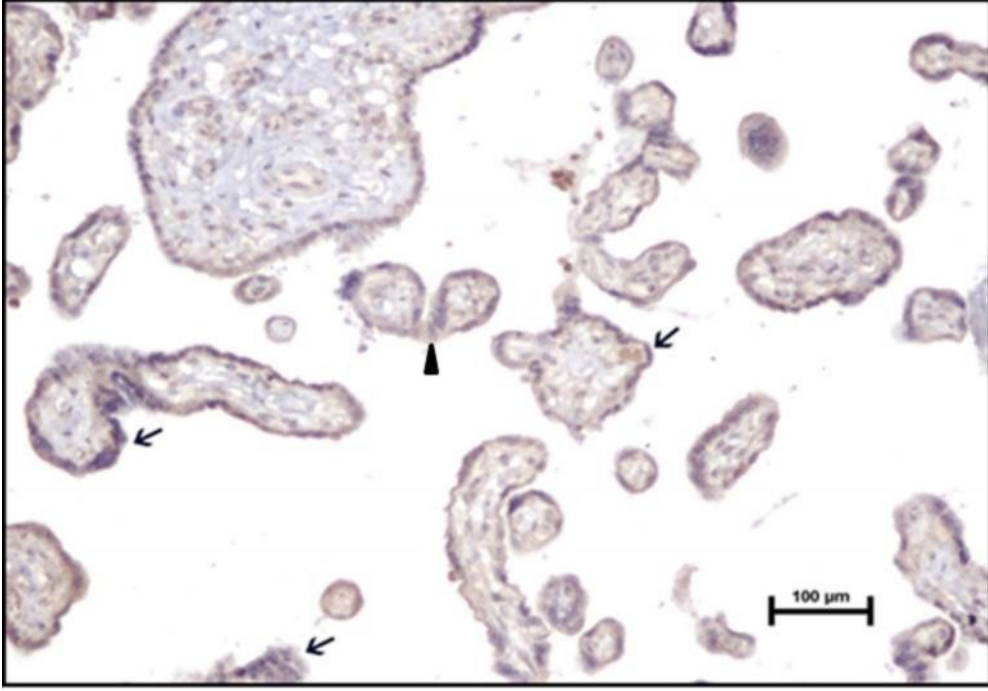
**Şekil.33:** GDM grubu santral kesitte amnion epitelinde (ok) güçlü ekspresyon görülmekte (MMP-9 immün boyama, Bar çubuğu: 50 µm).



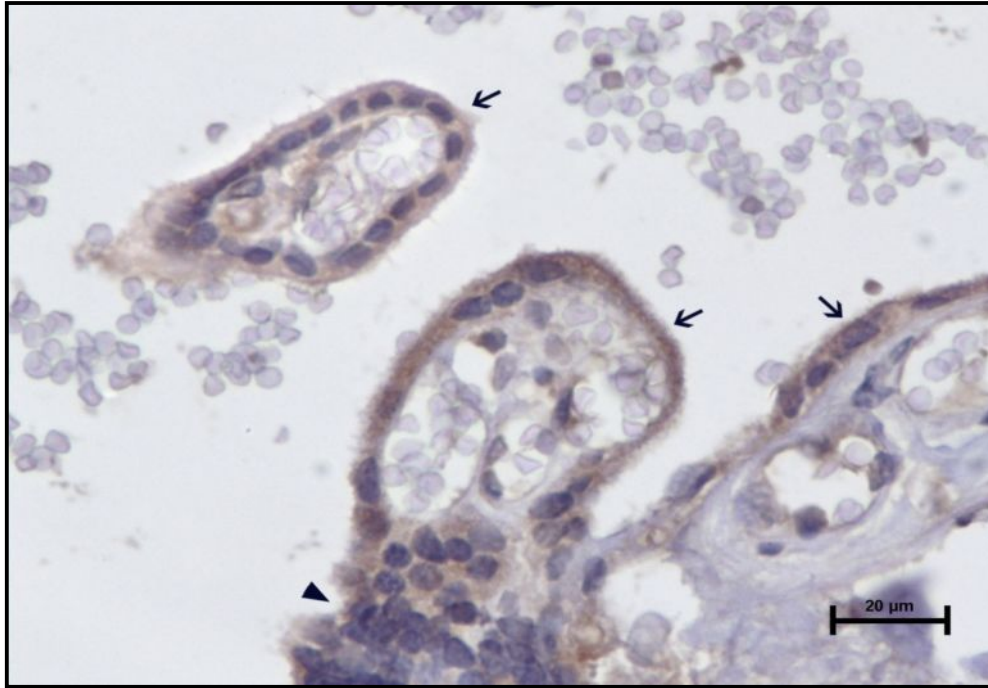
**Şekil.34:** Kontrol grubu perifer kesitte bazal plakta desidua hücrelerinde (ok/okbaşı) zayıf ekspresyon (MMP-9 immün boyama, Bar çubuğu: 20 µm).



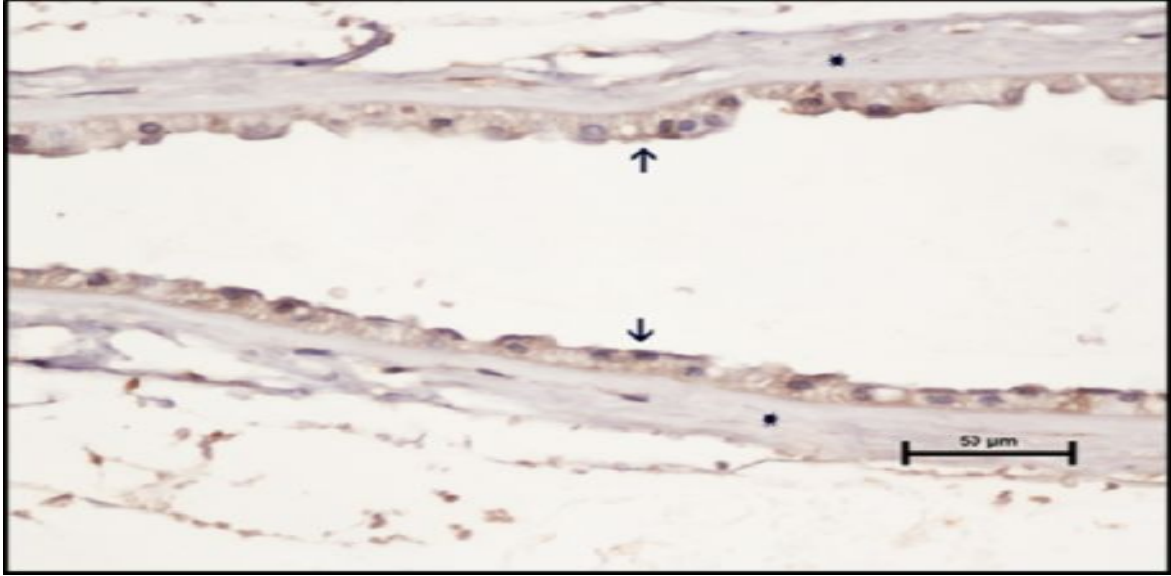
**Şekil.35:** Kontrol grubu perifer kesitte bazal plakta desidua hücrelerinde (oklar) zayıf ekspresyon(MMP-9 immün boyama, Bar çubuğu: 50 µm).



**Şekil.36:**Kontrol grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarında (ok) ve sinsityal düğümde (ok başı) zayıf ekspresyon izlenmektedir (MMP-9 immün boyama, Bar çubuğu: 100 µm).



**Şekil.37:** GDM grubu perifer kesitte koryon villüs sinsityotrofoblastlarında (oklar) orta düzeyde ekspresyon, sinsityal düğümde (ok başı) zayıf ekspresyon (MMP-9, immün boyama, Bar çubuğu: 20 µm).



**Şekil.38:** GDM grubu perifer kesitte amnion epiteli (oklar) ve mezensiminde (yıldız) zayıf düzeyde ekspresyon (MMP-9 immün boyama, Bar çubuğu: 50  $\mu$ m).

**Tablo 5:** Gruplar arasında MMP-9 immünekspresyonun, santral ve perifer kesitlerde skora sonucunda elde edilen değerlerin istatistiksel analizi.

MMP-9	Santral (n:15)			Perifer (n:15)		
	Kontrol	GDM	p	Kontrol	GDM	p
<b>Desidua hücresi</b>	1,17 $\pm$ 0,17	1,04 $\pm$ 0,21	>0.05	1,19 $\pm$ 0,10	1,79 $\pm$ 0,14	<0.05
<b>Bazal plak</b>	1,02 $\pm$ 0,15	1,03 $\pm$ 0,16	>0.05	0,96 $\pm$ 0,18	1,05 $\pm$ 0,17	>0.05
<b>M.K.V.S</b>	1.69 $\pm$ 0,07	1.61 $\pm$ 0,19	>0.05	1,51 $\pm$ 0,15	1,49 $\pm$ 0,19	>0.05
<b>M.K.V.Str.</b>	1,11 $\pm$ 0,14	1,20 $\pm$ 0,16	>0.05	0,88 $\pm$ 0,14	0,82 $\pm$ 0,10	>0.05
<b>M.S. D.</b>	1,50 $\pm$ 0,22	0,53 $\pm$ 0,13	<0.05	1,50 $\pm$ 0,17	1,01 $\pm$ 0,14	<0.05
<b>F.S. D.</b>	1,50 $\pm$ 0,16	1,59 $\pm$ 0,19	>0.05	1,35 $\pm$ 0,17	1,41 $\pm$ 0,11	>0.05
<b>F.K.V.Str.</b>	1,16 $\pm$ 0,18	1,26 $\pm$ 0,16	>0.05	1,40 $\pm$ 0,29	0,99 $\pm$ 0,19	<0.05
<b>F.K.V.S</b>	1,49 $\pm$ 0,18	1,41 $\pm$ 0,14	>0.05	1,47 $\pm$ 0,17	0,96 $\pm$ 0,14	<0.05
<b>K.V.S.</b>	1,60 $\pm$ 0,15	1,54 $\pm$ 0,14	>0.05	1,50 $\pm$ 0,19	1,10 $\pm$ 0,16	<0.05
<b>K.V.Str.</b>	1,27 $\pm$ 0,15	1,23 $\pm$ 0,13	>0.05	1,48 $\pm$ 0,18	1,0 $\pm$ 0,16	<0.05
<b>Koryon plağı</b>	0,89 $\pm$ 0,21	1,0 $\pm$ 0,14	>0.05	1,40 $\pm$ 0,24	0,67 $\pm$ 0,23	<0.05
<b>Amnion epiteli</b>	2,22 $\pm$ 0,10	2,27 $\pm$ 0,12	>0.05	1.50 $\pm$ 0,16	1.48 $\pm$ 0,19	>0.05

## 5.TARTIŞMA

Diyabet, kan şeker düzeyinin yüksekliği ve çeşitli anomalilerle karakterize bir metabolik hastalıktır. Diamant ve arkadaşları (90) GDM ve tip 1 diyabetik gebeliklerden elde edilen plasentalarda, trigliserid ve fosfolipidlerde artışın meydana geldiğini rapor etmişlerdir.

Pathmaperuma ve arkadaşları (91) hipergliseminin intrasellüler glikojen akümülyasyonunu arttırdığı buna karşın lipid birikimini azatlığını saptamışlar. Jones ve Desoye, (92) maternal diyabetlerde plasental damarların etrafında glikojen akümülyasyonunda artış olduğunu kaydetmişlerdir. GDM'li plasentalardan elde edilen terminal villusların ışık mikroskopik incelemelerinde sinsityal düğümlerde artış, fibrinoid nekrozis, villöz ödem ve kapiller proliferasyonu tanımlanmıştır. Çalışmamızda benzer bulgulara ilaveten sinsityal köprü ve yer yer fokal nekrotik olanlar saptadık(Şekil7-9).

Matriks metalloproteinazlar; ekstrasellüler matriks ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim ailesidir. Bu enzimler doku yeniden yapılanması, morfogenezis, yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik durumlarda önemli bir rol oynadıkları gibi tümör hücreleri invazyonu, anjiyogenezis ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de yer alırlar (93).

Çoğu çalışmalarda MMP'lerin plasental invazyonda daha çok kollajen IV olmak üzere, kollajen I,V,VII,IX, fibronektin, laminin, elastin ve vitronektin gibi proteinleri Jelatinazların (jelatinaz A: MMP-2, Jelatinaz B: MMP-9) degrade ettiği görülmüştür. Jelatinazların sekresyon profilleri gestasyon yaşına bağlıdır. İlk trimesterde MMP-2'ler EVT'lerde, MMP-9'lar ise en çok villus sinsityotrofoblastlarında sekrete olurlar. Bilindiği üzere in vitro çalışmalarda insan sinsityotrofoblast hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9' ün ekspresyonu olduğu görülmüştür (94).

MMP'lerin çoğu inaktif proenzim şeklinde sekrete edilirler ve prodomeyni proteolitik işlem sonucu ayrılmasından sonra aktif forma dönüşür. Diyabetes mellitusun sonucu oluşan yapısal plasental anormallikler, embriyo malformasyonları ve embriyo-plasental metabolik bozukluklar patolojiler ile ilişkilidir. Gestasyonel diyabette ECM değişiklikleri bu embriyonik dokularda tanımlanmıştır. Ekstrasellüler matriksin komponentlerindeki değişim MMP'lerin aktivitelerinin regülasyonundaki bozuklukla ilişkilidir. (93).

Plasentada MMP'ler insan gebeliğinin ve doğumunun fizyolojik süreçlerinde yer alır ve çoğunluğu trofoblast hücreleri tarafından üretilir (95). MMP'lerde meydana gelen değişiklikler plasenta anomalileriyle ve membranların erken rüptürüyle sonuçlanabilmektedir. MMP ve inhibitörlerinin dengesizliği nedeniyle ekstraselüler matrikste parçalanmada artma ya da akümülyasyon gerçekleşmesi diyabette nöropati, retinopati ve dejeneratif aort hastalığı gibi patolojik komplikasyonlara neden olduğu belirtilmektedir (96).

İnsan term plasentalarında jelatinaz'ların immulokalizasyonu gösteren bir çalışmada; MMP-2 amnion epitelinde, koryon plağında, ekstratrofoblastlarda, kök villüslarda zayıf düzeyde iken bazal plakta desidua hücrelerinde ve ekstratrofoblastlarda orta düzeyde ekspresyon kaydedilmiştir. MMP-9'da MMP-2'ye benzer ekspresyon bulgular görülmüştür. Amnion epiteli, amnion mezenşimi, koryon plağı mezenşimi, ankoranik villüsları, koryon villüslerinin damar duvarlarında zayıf ekspresyon varken MMP-2'den farklı olarak ekstratrofoblastlarda güçlü ekspresyon tespit etmişlerdir (91). Bu çalışmayı kontrol grubumuzla kıyasladığımız zaman MMP-2 açısından genelde paralel bulgular tespit etmişken; MMP-9'da ise amnion epitelinde güçlü bir ekspresyon varlığı dikkatimizi çekerken diğer bölgelerde genelde orta düzeyde bir ekspresyon tespit ettik (Şekil.28).

Yapılan bir çalışmada (97) zimografik ölçümlerde MMP-2'nin aktif formu desidua, koryon leve ve umbilikal kordada yüksek iken amnion ve koryon villüslerinde düşük bulunmuştur. Pro MMP-9 ölçümünde en belirgin bant Nitabuch çizgisinde bulunmuştur. Bunun yanı sıra neredeyse aynı entegre optik yoğunluğa sahip desidua, koryon plağı, koryon leve, bazal plak gelmekte olduğu görülmüş. Plasenta villüsünde ve amnionda zayıf görülmüş ve umbilikal kordda tespit edilememiştir.

Yapılan başka bir çalışmada da önceden var olan diyabetli ve gestasyonel diyabetli hastaların plasentalarında MMP-9 aktivitesini normal gebe plasentalarla karşılaştırılmış ve zimografik ölçüm yapılmıştır. Sonuç olarak önceden diyabeti olan kişilerdeki plasental MMP-9 aktivitede artış, gestasyonel diyabeti olanlarda ise MMP-9 aktivitesinde azalma tespit edilmiştir (92). Bizde çalışmamızda; MMP-9 ekspresyonunun gestasyonel diyabette bazı yerlerin hücre ve alanlarında azaldığını gördük.

Stanovic ve arkadaşları 26. ve 28. gebelik haftalarında olan 20 Kontrol ve 16 Gestational Diyabetes Mellitus'lu gebe serumlarında ELİSA yöntemiyle MMP-2, MMP-9

ve TIMP yaptıkları ölçümlerde gruplar arasında MMP-2 ve MMP-9 arasında istatistiksel bir fark görmemişlerdir (99).

Sağlam ve arkadaşları(100) MMP-9 ekspresyonu ile Preterm Prematür Membran Rüptürü (PPROM) arasındaki ilişkiyi, 26 ve 37. haftalar arasında enfeksiyon bulgusu olmayan, aktif doğum eylemi olmayan 8 hasta ve bir takım obstetrik endikasyon nedeniyle sezeryan ile doğumları gerçekleştirilen aynı hafta aralığında olan 8 kontrol gebede yaptıkları çalışmada MMP-9 servikal, midzon, periplasental bölgelerden alınan örnekler ELİSA yöntemiyle ölçümünde servikal bölgede PPRÖM'lularda kontrole göre MMP-9'un 4 kat arttığını tespit etmişler. Buna karşın diğer bölgelerde gruplar arasında fark bulunmamıştır.

Gyorgy ve arkadaşları (101) Matriks Metalloproteinazları ve İnhibitörlerinin Trofoblastik hastalıklarda ve Kontrol 1. Trimester plasentalarda MMP-2 ve MMP-9 immün boyama yapmışlardır. Yapılan çalışmada 11 kontrol vakasının plasentalarında genel zayıf bir ekspresyon tespit edildiği belirtilmiş. Ekstravillüstrofoblastlarda zayıf ekspresyon ve yarısına yakın diğer bir kısmında ise güçlü ekspresyon tespit etmişlerdir.

Ping Xu ve arkadaşlarının (102) 2002'de yaptıkları çalışmada insan plasentalarında ve fetal membranlarda MMP-2 ve MMP-9 termde ekspresyonunun incelendiği çalışmada MMP-2 için amnion mezenkiminde yer yer ekspresyon görülmüşken, koryon leve trofoblastlarında, desidua paryetalis ve plasenta villüslerin damarlarında güçlü boyanma, amnion epitelinde ve plasenta sinsityotrofoblastlarında zayıf boyanma tespit edilmiştir. MMP-9 için ise amnion epitelinde, koryon leve trofoblastlarında, desidua paryetalis ve plasenta sinsityotrofoblastlarında güçlü boyanma kaydetmişlerdir.

Çalışmamızda da amnion mezenkiminde yer yer zayıf ekspresyonunun olduğunu tespit ettik. MMP-9 ve MMP-2 için plasenta sinsityotrofoblastlarındaki ekspresyon düzeyi bizim çalışmamızla paralel izlendi.

Shokry ve arkadaşlarının (103) 2009'da yaptıkları bir çalışmada preeklampitik ve normal insan plasentalarında MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunun incelendiği çalışmada, kontrol plasentalarında MMP-9 trofoblastik hücrelerde, desidual hücrelerde güçlü ekspresyon mevcutken stromal hücrelerde zayıf ekspresyon görüldü. MMP-2'de ise trofoblastik hücrelerde, desidual hücrelerde orta seviyede ekspresyon izlenirken stromal hücrelerde güçlü ekspresyon görülmüştür.

Çalışmamız bu çalışmanın MMP-9 bulguları ile paralellik gösterirken, trofoblastik

hücrelerde, desidual hücrelerde ve stromal hücrelerde MMP-2 ekspresyonunun zayıf olduğunu gördük.

Huppertz ve arkadaşları (104) 1998 yılında yaptıkları çalışmada MMP-2 için term plasentaların parafin kesitlerin tüm ekstravillöz trofoblastlarında ve etrafındaki matrikste ayrıca desidual hücrelerde daha belirgin bir şekilde immünreaktivitenin görüldüğünü ifade etmişlerdir. Çalışmanın MMP-9'la ilgili kısmında ise gebeliğin sonundaki durumun o kadar net olmadığını, kriyostat kesitlerinde invaziv fenotipik bütün ekstratrofoblastlarda intrasellüler ve ekstrasellüler immünreaktivite varken, parafin kesitlerde ekstratrofoblastlarda immünreaktivitenin tümüyle kaybolduğunu belirtmişlerdir.

Pustovrh ve arkadaşlarının (105) 2005'te yayınladıkları çalışmada 6 adet kontrol ve deneysel diyabet oluşturulan gebe ratların gebelik ortasındaki MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunu gösteren çalışmada yapılan immün boyamada labirent zon ve bağlantı zonu trofoblastlarında plasentalın hem fetal hem de maternal yüzünde kontrole göre immünreaktivitenin arttığı gösterilmiştir.

Mauro ve arkadaşlarının (106) 2010 yılında yaptıkları çalışmada umbilikal kord epitel hücrelerinde ve Wharton jeli fibroblastlarında MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu yoğun şekilde görülmüştür.

Doğumda trofoblastlardan, desidüadan ve makrofajlardan MMP-9 üretimi artar ve fetal membranların yırtılmasına yardımcı olur. MMP-9 term plasentada desidüanın ve fetal membranların yeniden şekillenmesi ile ilgili durumlarda yer alır (93). MMP'lerin aktivitesinin yüksekliği doku hasarının yüksek olmasından dolayıdır. Aşırı şiddetli, önceden bilinen diyabetik gebelerdeki artan MMP-9 aktivitesi belirgin diyabetin yol açtığı plasentaldaki yapı ve fonksiyon anormalliklerinin oluşturduğu fetal ve neonatal rahatsızlıklarla muhtemelen ilgidir. Gestasyonel Diyabetes Mellitus'ta MMP-9 aktivitesinin azalması intertisiyel matriksin akümülyasyonuna neden olabildiği gibi plasental anormalliklerle de alakalı olabilir. Gerçekten de, MMP'lerin aktivite artışı ve azalışı değişik patolojilerde doku anormallikleri ile ilgili olduğu ileri sürülmüştür (107).

Bu bilgiler ışığında MMP-9'un trofoblastik invazyonda MMP-2'ye göre daha önemli rol oynadığı vurgulanmıştır(94).

Bu çalışmada doku düzeyinde immünohistokimyasal yöntemler kullanılmış ve gruplar arası karşılaştırılma yapıldığında iki grup arasında anlamlı farklılıklar izlenmiştir. Bu durum serum ve doku düzeyinde yapılan çalışmalar ile açıklığa kavuşturulabilir.



## 6.SONUÇ

GDM'li insan plasentalarında matriks metalloproteinazların immunlokalizasyonunu ve etkisini göstermeyi amaçladığımız çalışmamızın aşağıda sıralanan sonuç ve önerileri ortaya çıkmıştır;

- GDM'li insan plasentalarında MMP-2 ve MMP-9 immunlokalizasyonun belirlenmesi amacıyla yapılmış olan bu çalışma, MMP-2 ekspresyonunun genel olarak zayıf kaldığı, fetal santral kısımda yer alan kök villus sinsityotroblastlarında ekspresyonun artışının olduğu, sinsityal düğümlerde ise bir azalmanın olduğu dikkatleri çekti.
- MMP-9 ekspresyonu açısından değerlendirilen kesitlerde genelde orta düzeyde bir ekspresyonun olduğu saptandı.
- Maternal kısmın santral kesitlerinde sinsityal düğüm ve köprülerde ekspresyonun azaldığı izlendi. Maternal kısım, periferal kesitlerinde ise desidua hücrelerinde ekspresyonun arttığı, sinsityal düğümlerde azaldığı tespit edildi.
- Fetal tarafta ise koryon villüs sinsityotroblastlarında, koryon villüs stromasında, kök villüs sinsityotroblastlarında, kök villüs stromasında ve koryon plağında ekspresyon azalması mevcuttu.
- Bununla birlikte, MMP'lerin daha çok sinsityotroblastlarda ve desidua hücrelerinde ekspresyon olması MMP'lerin insan gebeliğinin ve doğumunun fizyolojik süreçlerinde yer aldığı ve çoğunluğunun trofoblast hücrelerince üretildiğini desteklemektedir.
- Elde ettiğimiz bulgular ışığında başta MMP-9 olmak üzere MMP'lerin gestasyonel diyabetin patofizyolojisinde önemli rol oynayabileceği, ancak MMP'lerin gestasyonel diyabetteki etkinliklerini tam olarak aydınlatmaya yönelik ileri düzey moleküler tekniklerin kullanılması gerektiği kanaatine varıldı.

## 7. KAYNAKLAR

1. Fletcher, A. B. The infant of diabetic mother. In: Neonatology Pathophysiology and Management of the Newborn. Philadelphia, Lippincott, 287-302, 1981
2. Sani, G. & Bottigliani, F. Studio isto funzionale della placenta nel diabete mellito. Riv. Ital. Ginec., 48:283, 1964.
3. Dashkevich, O. V. & Sechonov, I. M. The morphology of placenta in diabetes mellitus. Arkh. Pat., 26:7, 1964.
4. Holzner, H. J. & Thalhammer, O. Zur Histologie und Histochemie der Placenta bei Diabetes Mellitus und Schwangerschaftglykosurie. Wein Klin. Wschr., 77:1024, 1965.
5. Burstein, R.; Soule, S. D. & Blumenthal, H. T. Histogenesis of pathological processes in placentas of metabolic disease in pregnancy. II. The diabetic state. Am. J. Obstet. Gynecol., 74(1):96-104, 1963.
6. Horky, Z. Die quantitativen veränderungen der Vaskularisation der Zotten in der diabetischen Placenta. Zbl. Gynaek., 86:8, 1964
7. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus ;Diabetes Care, Volume 33, Supplement 1, 2010
8. Powers AC: Diabetes Mellitus. In Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, et al (eds): Harrison's Principles of International Medicine, 17th ed. New York, McGraw-Hill, 2008, p 2275
9. Alemzadeh R, Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Nelson Textbook of Pediatrics. 17th ed. Elsevier Saunders, Pennsylvania, 2004
10. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. Pediatr Clin North Am. 52(6):1553-78. 2005
11. Haglund B, Ryckenberg K, Selinus O, Dahlquist G. Evidence of a relationship between childhood-onset type I diabetes and low groundwater concentration of zinc. Diabetes Care. 19(8):873-5. 1996
12. TEMD Diabetes Mellitus Çalışma Grubu. Diabetes Mellitus Tanı, İzlem ve Tedavi Kılavuzu. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2009
13. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care; 29 Suppl 1:43-8. 2006
14. Lovejoy JC. The influence of dietary fat on insulin resistance. Curr Diab Rep. 2(5):435-40. 2002
15. Hu FB. Sedentary lifestyle and risk of obesity and type 2 diabetes. Lipids. 38(2):103-

8.2003

16. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*.33: 11-61. 2010
17. King H. Epidemiology of glucose intolerance and gestational diabetes in women of childbearing age. *Diabetes care*,21,9-13.1998
18. İsmail d, Özlem ö. Diabetes mellitus ve gebelik. *Kadın hastalıkları ve doğum bilgisi*. 1 . baskı. Güneş kitabevi. Ankara, 435-450,2006
19. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care*. 33: 676-682, 2010
20. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams D. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 373: 1773-1779, 2009.
21. Clausen TD, Mathiesen ER, Hansen T, Pedersen O, Jensen DM, Lauenborg J, et al. High prevalence of type 2 diabetes and prediabetes in adult offspring of women with gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes: the role of intrauterine hyperglycemia. *Diabetes Care*. 31: 340-346.2008
22. Buchanan, T.A., Xiang, A.H., Gestational Diabetes Mellitus, *J Clin Invest.*, 115, 3, 485-491, 2005.
23. Damm, P., Handberg, A., Kuhl, C., Beck-Nielsen, H., Molsted-Pedersen, L., Insulin Receptor Binding and Tyrosine Kinase Activity in Skeletal Muscle From Normal Pregnant Women and Women with Gestational Diabetes, *Obstet Gynecol.*, 82, 251-259, 1993.
24. Maresh, M., Screening for Gestational Diabetes Mellitus, *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 10, 317-323, 2005.
25. Casey BM, Lucas MJ, McIntire DD, Leveno KJ. Pregnancy outcomes in women with gestational diabetes compared with the general obstetric population. *Obstet Gynecol*. 90(6):869-73.1997
26. Silverman BL, Rizzo T, Green OC, Cho NH, Winter RJ, Ogata ES. Long-term prospective evaluation of offspring of diabetic mothers. *Diabetes*. 40 Suppl 2:121-5.1991
27. O'Sullivan JB, Mahan CM. Criteria for oral glucose tolerance test in pregnancy. *Diabetes*. 13:278-85.1964
28. U.S. Preventive Services Task Force. Guide to clinical preventive services. 2nd ed. Baltimore MD: Williams and Wilkins,193-208.1996

29. Coustan DR. Making the diagnosis of gestational diabetes mellitus. Clin Obstet Gynecol, 43:99-105.2000
30. Coustan DR. Making the diagnosis of gestational diabetes mellitus. Clin Obstet Gynecol. 43:99-105. 2000
31. Carpenter MW, Coustan DR. Criteria for screening tests for gestational diabetes. Am J Obstet Gynecol. 144: 768–773. 1982
32. Fletcher, A. B. The infant of diabetic mother. In: Neonatology Pathophysiology and Management of the Newborn. Philadelphia, Lippincott, 287-302.1981
33. Catalano, P.M., Huston, L., Amini, S.B., and Kalhan,S.C.. Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes. Am. J. Obstet. Gynecol. 180:903–916. 1999
34. Ryan, E.A., Enns, L., Role of Gestational Hormones in the Induction of Insulin Resistance, J Clin Endocrinol Metab., 67,341- 347, 1988.
35. Buchanan, T.A., Xiang, A.H., Gestational Diabetes Mellitus, J Clin Invest.,115, 3, 485-491, 2005.
36. Buchanan, T.A., Xiang, A., Kjos, S.L., Watanabe, R., What is Gestational Diabetes?, Diabetes Care, 30, Suppl.2, 105-111, 2007.
37. Kim C., Newton K.M., Knopp R.H. (2002) Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes : a systematic review. Diabetes Care, 25:1862-1868.
38. Bakris G.L. Microalbuminuria: marker of vascular dysfunction, risk factor for cardiovascular disease. Vasc Med, 7:35–43.2002
39. Standarts of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care, 2008
40. Madazlı, R. Plasenta. Nobel Tıp Kitabevleri, 978-975-420-631-9.2008
41. Demir R. İnsan Gelişimi ve İmplantasyon Biyolojisi. 1. Baskı Ankara: Palme Yayıncılık, 219–179.1995
42. Çiçek M.N, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 1.Baskı Ankara: Güneş kitapevi, 2004; 153–491.
43. Benirschke, K, Kaufmann, P ve Baerge, R. Pathology of the human Placenta. s.l.: Springer, 2006. 26742-5
44. Tekelioğlu, M.: Embriyonun dışında gelişen organlar, ‘İnsanın Üremesi ve Gelişmesi’”Dumat Ofset,Ankara,1995,105-116

45. Hess A.P., Hamilton AE, Talbi S, Dosiou C, Nyegard M, Nayak N, Genbecev- Krtolica O, Mavrogianis P, Ferrer K, Kruessel J, Fazleabas AT, Fisher SJ, Giudice LC. Decidual stromal cell response to paracrine signals from the trophoblast: amplification of immune and angiogenic modulators. *Biol Reprod* 2006.
46. Demir R. İnsanın Gelişimi ve İmplantasyon Biyolojisi. 1.baskı Ankara: Palme Yayıncılık; 1995.179-251.
47. Burton GJ, Kaufmann P, Huppertz B. Anatomy and genesis of the placenta. *Physiology of Reproduction*. 3rd ed. Elsevier, New York, 2006.
48. Benirschke K. Implantation, placental development, uteroplacental blood flow. *Principles and Management of Human Reproduction*. 1st ed. WB Saunders, Philadelphia, 1972.
49. Pijnenborg R. Trophoblast invasion and placentation in the human: Morphological aspects. *Trophoblast Res*. 4:33–47,1990
50. Huppertz B. The anatomy of the normal placenta. *J Clin Pathol*. 2008;61(12):1296-302.
51. Burton, G ve Jauniaux, E. Placental oxidative stress: *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 2004. 11(6):342-352 44
52. Kaufmann, P. ve Kingdom, J. Development of the placenta and its circulation. *Fetal Medicine*, 2008.420-631
53. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*. 90(3):251-62.2002
54. Michael S. Pepper: Role of the matrix metalloproteinase and plasminogen activator-Plasmin systems in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 21:1104-1117,2001
55. Bode W, Maskos K: Structural basis of the matrix metalloproteinases and their physiological inhibitors, the tissue inhibitors of metalloproteinases. *Biol Chem* 384:863-872, 2003
56. Nagase, H.; Woessner, J.F.: “Matrix metalloproteinases”, *J. Biol. Chem.*, 274 21491-21494.1999
57. Verspaget-Hein W. Proteases as prognostic markers in cancer. *BMJ*. 316:790-794. 1998
58. Smutzer G: Matrix metalloproteinases and their inhibitors play key roles in tissue remodelling and pathogenesis of metastatic and inflammatory diseases. *The Scientist*; 16(4):34-37, 2002
53. Souza A., Line S.: The biology of matrix metalloproteinases. *FOB Rev*. 10(1):1-6,

(2002)

**60.** Beadeux J., Giral P., Bruckert E.: Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med.*; 42(2):121-131, 2004

**61.** Stamenkovic I: Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol*;200:448-464,2003

**62.** Sato H, Seiki M. Regulatory mechanisms of 92 kDa type IV collagenase gene expression which is associated with invasiveness of tumour cells.*Oncogene*.8:395-405.1993

**63.** Curry TE, Osteen KG. The matrix metalloproteinase system: Changes, regulation, and impact through the ovarian and uterine reproductive cycle. *Endocrine Reviews* 24: 428-465,2003

**64.** Leeman MF, Curran S, Murray GI: The structure, regulation, and function of human matrix metalloproteinase-13. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 37:149-166, 2002

**65.** Visse R, Nagase H: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 92:827-839, 2003

**66.** Murphy G, Stanton H, Cowell S, Butler G, Knauper V, Atkinson S, Gavrilovic J: Mechanisms for pro matrix metalloproteinase activation. *APMIS* 107:38-44, 1999

**67.** Mook, O.R.F.; Frederiks, W.M.; Noorden, C.: "The role of gelatinases in colorectal cancer progression and metastasis" *Biochim. et Biophys. Acta* 1705,69–89.2005

**68.** Bode, W.; Fernandez-Catalan, C.; Tschesche, H.; Grams, F.; Nagase, H.; Maskos, K.: "Structural properties of matrix metalloproteinases", *Cell Mol. Life Sci.*, 55, 639-652.1999

**69.** Beadeux JL, Giral P, Bruckert E, Foglietti MJ, Chapman MJ. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: Therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med.* 42: 121-31.2004

**70.** Xu J, Benyon RC, Leir SH, Zhang S, Holgate ST, Lackie PM. Matrix metalloproteinase-2 from bronchial epithelial cells induces the proliferation of subepithelial fibroblasts. *Clin Exp Allergy* 32(6):881-8.2002

**71.** Nagase H, Fields GB. Human matrix metalloproteinase specificity studies using collagen sequence-based synthetic peptides. *Biopolymers* 40(4):399-416.1996

**72.** Opdenakker G, Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Van Coillie E, Masure S, et al. Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J Leukoc Biol* 69(6):851-9.2001

- 73.** Sundov Z, Tomic S, Vilovic K, Kunac N, Kalebic M, Bezic J. Immunohistochemically detected high expression of matrix metalloproteinase-2 as predictor of poor prognosis in Duke's B colon cancer. *Croat Med J.*49(5):636-42.2008
- 74.** Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion* 58(6):520-8.1997
- 75.** Talvensaari-Mattila A, Paakko P, Hoyhtya M, Blanco-Sequeiros G, Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-2 immunoreactive protein: a marker of aggressiveness in breast carcinoma. *Cancer.* 83(6):1153-62.1998
- 76.** Perigny M, Bairati I, Harvey I, Beauchemin M, Harel F, Plante M, et al. Role of immunohistochemical overexpression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP- 11 in the prognosis of death by ovarian cancer. *Am J Clin Pathol* 129(2):226-31.2008
- 77.**Trudel D, Fradet Y, Meyer F, Harel F, Tetu B. Membrane-type-1 matrix metalloproteinase, matrix metalloproteinase 2, and tissue inhibitor of matrix proteinase 2 in prostate cancer: identification of patients with poor prognosis by immunohistochemistry. *Hum Pathol* 39(5):731-9.2008
- 78.** Leinonen T, Pirinen R, Bohm J, Johansson R, Kosma VM. Increased expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) predicts tumour recurrence and unfavourable outcome in non-small cell lung cancer. *Histol Histopathol* 23(6):693-700.2008
- 79.**Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NH. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 84(6):654-66.2000
- 80.**Wiesen JF, Werb Z: The role of stromelysin-1 in stromal-epithelial interactions and cancer. *Enzyme Protein* 49:174-181, 1996
- 81.**Murphy G, Stanton H, Cowell S, Butler G, Knauper V, Atkinson S, Gavrilovic J: Mechanisms for pro matrix metalloproteinase activation. *APMIS* 107:38-44, 1999
- 82.** Ii M, Yamamoto H, Adachi Y, Maruyama Y, Shinomura Y: Role of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human cancer invasion, apoptosis, growth, and angiogenesis. *Exp Biol Med* 231:20-7, 2006
- 83.**Zucker S, Pei D, Cao J, Lopez-Otin C: Membrane type-matrix metalloproteinases (MTMMP). *Curr Top Dev Biol* 54:1-74, 2003
- 84.** Brew K, Dinakarandian D, Nagase H: Tissue inhibitors of metalloproteinases: Evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 1477:267-283, 2000
- 85.** Reel B. Matriks metalloproteinaz enzimleri ve ateroskleroz *T Klin J Med Sci* 26: 527-

537.2006

86. Reynolds G, Handbook of histological techniques, 2nd edition, Department of Histology, London: 5-36, 1990
87. Jones, C.J. & Fox, H. Syncytial knots and intervillous bridges in the human placenta: an ultrastructural study. *J. Anat.*, 124(2):275-86, 1977
88. Jones, C.J. & Fox, H. Ultrastructure of the normal human placenta. *Electron. Microsc. Rev.*, 4(1):129-78, 1991
89. Castellucci, M. & Kaufmann, P. A three dimensional study of the normal human placental villous core II Stromal architecture. *Placenta*, 3(3):296-85, 1982
90. Diamant YZ, Metzger BE, Freinkel N, Shafrir E. Placental lipid and glycogen content in human and experimental diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 144:5-11, 1982
91. Pathmaperuma AN, Mana p, Cheung SN, Kugathas K, Josiah A, Koina ME, et al. Fatty acids alter glycerolipid metabolism and induce lipid droplet formation, syncytialisation and cytokine production in human trophoblasts with minimal glucose effect or interaction. *Placenta*. 230-239, 2010.
92. Jone CJ, Desoye G. Glycogen distribution in the capillaries of placental villus in normal, overt and gestational diabetic pregnancies. *Placenta* 505-517, 1993
93. M. C. Pustovrh, E. Capobianco, N. Martí'nez, R. Higa, V. White and A. Jawerbaum, MMP/TIMP balance is modulated in vitro by 15dPGJ2 in fetuses and placentas from diabetic rats, *Eur J Clin Invest* 39(12): 1082–1090, 2009
94. M. Cohen, A. Meisser and P. Bischof, Metalloproteinases and Human Placental Invasiveness, *Placenta*, 27, 783-793 2006.
95. Vettrano, I. M., Roby, J., Tolley, T., Parks, W. C., Collagenase-1, stromelysin-1, and matrilysin are expressed within the placenta during multiple stages of human pregnancy. *Placenta*. 17, 557–63. 1996
96. Valdillo-Ortega, F., Hernandez, A., Gonzalez-Avila, G., Bremejo, L., Iwata, K., and Strauss J. Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinases-1 levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 174, 1371–6. 1996
97. Demir-Weusten AY, Seval Y, Kaufmann P, Demir R, Yucel G, Huppertz B. Matrix metalloproteinases-2, -3 and -9 in human term placenta, *Acta histochemica* 109.403-412, 2007.



- 98.** Pustovrh C, Jawerbaum A, Sinner D, Pesaresi M, Baier M, Micone P, Gimeno M, Elida T. Gonzalez AC, Membrane-type matrix metalloproteinase-9 activity in placental tissue from patients with pre-existing and gestational diabetes mellitus, *Reprod. Fertil. Dev*, 12, 269–275, 2000
- 99.** Stojanovic N, Lewandowski K, Salata I, Bienkiewicz M, Tuck S, Prevelic G, Press M Serum levels of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 and their inhibitors in women with glucose intolerance in pregnancy and normal controls, *Gynecological Endocrinology*, 26(3): 201–207, 2010
- 100.** Saglam A, Unlu BS, Mungan T, Iskender C, Misirlioglu M, Canturk F, Koc E, Tapan S, Matriks Metalloproteinaz-9 Ekspresyonunun Preterm Prematür Membran Ruptürü ile İlişkinin İncelenmesi, *Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst*, 16, 2006
- 101.** Gyorgy L. Vegh, Z. Selcuk Tuncer, Vilmos Fulop, David R. Genest, Samuel C. Mok, Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Gestational Trophoblastic Diseases and Normal Placenta *Gynecologic Oncology* 75, 248–253, 1999
- 102.** Xu P, Alfaidy N, Challis JRG. Expression of Matrix Metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in Human Placenta and Fetal Membranes in Relation to Preterm and Term Labor, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87(3):1353–1361, 2002
- 103.** Mahmoud Shokry, Ola M. Omran, Howyda Ismail Hassan, Ghada O. Elsedfy, Mahmoud Rezk A. Hussein, Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in human trophoblasts of normal and preeclamptic placentas: Preliminary findings, *Experimental and Molecular Pathology* 87. 219–225, 2009
- 104.** Kertschanska BHS, Demir AY, Frank HG, Kaufmann P. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases (MMP), their substrates, and their inhibitors (TIMP) during trophoblast invasion in the human placenta, *Cell Tissue Res* 291:133,148, 1998
- 105.** M. C. Pustovrh, A. Jawerbaum, E. Capobianco, V. White, J. J. Lopez-Costa, Increased Matrix Metalloproteinases 2 and 9 in Placenta of Diabetic Rats at Midgestation, *Placenta* 26, 339-348, 2005
- 106.** Mauro A, Buscemi M, Gerbino A. Immunohistochemical and transcriptional expression of matrix metalloproteinases in full-term human umbilical cord and Human Umbilical Vein Endothelial Cells, *J Mol Hist* 41:367–377, 2010
- 107.** Ries, C., and Petrides, P. E. Cytokine regulation of matrix metalloproteinase activity and its regulation in disease. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 376, 345–55. 1995

## 8. EKLER

### Ek-1

#### Değerli anne adayı;

Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM) gebelikte ilk kez ortaya çıkan ya da gebelikte fark edilen kan şekeri seviyesinin normalin üzerinde olması olarak tanımlanır. Gebelikte en sık görülen metabolik bozukluktur. Amerikan Diyabet Derneği'nin verilerine göre GDM insidansı %7 olmasına rağmen, bu oranın %17.8 olduğu tahmin edilmektedir.

Doğum döneminde annenin ve fetusun hastalanması dahası ölümlerini önemli derecede arttıran nedenler arasında ön sıralarda yer almaktadır. GDM'li gebelerde fetal kayıp ve hastalık oranları normal gebelere kıyasla yaklaşık dört kat yüksektir. Diyabetik gebelik fetal büyüme ve gelişimde birçok bozuklukla karakterizedir.

Anne ve bebek arasındaki ilişkiyi sağlayan ve gebelik boyunca hayati önemi olan plasenta onun gelişmesi çok önemlidir. Plasentanın oluşması için bir dizi olayların ve oluşum basamaklarının sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi gerekmektedir. Gestasyonel diyabet gibi bir hastalıkta plasentada bazı önemli hasarların olduğuna dair tespitler mevcuttur. Bunların nedenlerini anlamak ve öğrenmek hayati öneme sahiptir.

Amacımız; GDM'li plasentalarda jelatinaz diye adlandırılan plasentanın gelişiminde kritik rolü olan bu proteinlerin salınımında bir farklılığın olup olmadığını ortaya koymaktır. Bu işlemler için size ek bir uygulama yapılmayacak olmasından dolayı size veya bebeğinize herhangi bir risk oluşturmamaktadır. Çalışmaya dâhil olmayı kabul ettiğiniz takdirde, sadece doğumdan sonra plasentanızdan, bir kaç doku örneği alınacaktır.

Bu çalışma için Dicle Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde doğum yapan aşağıda adı, soyadı, adresi ve telefon no'su yazılı kişi olarak çalışma hakkında bilgilendirilmiş olup ayrıca istediğim anda çalışmadan çıkabileceğimi ve/veya kendisime ait bilgilerimin kullanılması iznimi geri çekebileceğimi de belirterek bu çalışmada kullanılmak üzere doğumdan sonra plasentamdan doku örneği alınmasını kabul edip imzam ile tasdik ediyorum.

<b>GÖNÜLLÜ HASTANIN</b>	:		<b>ŞAHİTİN</b>	:	
<b>Adı, SOYADI</b>	:		<b>Adı, SOYADI</b>	:	
<b>Adresi</b>	:		<b>Adresi</b>	:	
<b>Tel</b>	:		<b>Tel</b>	:	
<b>Tarih</b>	:		<b>Tarih</b>	:	
<b>İMZA</b>	:		<b>İMZA</b>	:	

**Bilgi edinme için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.**

Eposta: eliferen59@hotmail.com

## 9.ÖZGEÇMİŞ

Tekirdağ'da 1980 yılında doğdum. Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2004 yılında mezun oldum. 2009 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Embriyoloji ve Histoloji Anabilim Dalına yüksek lisans öğrencisi olarak başladım. Özel bir laboratuvarında biyolog olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.