



**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNTRAUTERİN BÜYÜME
GERİLİĞİNİN SIÇAN
KARACİĞERİ ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİ**

NIHAN BAYINDIR

**DOKTORA TEZİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

SIVAS-2019

**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNTRAUTERİN BÜYÜME GERİLİĞİNİN SIÇAN
KARACİĞERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

NİHAN BAYINDIR

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. H. ERAY BULUT**

SİVAS-2019

“İntrauterin Büyüme Geriliğinin Sıçan Karaciğeri Üzerindeki Etkileri” adlı **Doktora** Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji-Embriyoloji** Ana Bilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Üye

Üye

Üye

Üye

(Danışman)

ONAY

Bu tez çalışması, Tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 6.2016/14.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca manevi desteği ile yanımda olan, bana her zaman inanan ve güvenen, tezimin planlama, çalışma ve yazım aşamalarında önerileri ile bana yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. H. Eray BULUT'a,

Tezimin çalışma sürecinde bana yol gösteren, değerlendirme sürecinde fikirleri ile yardımcı olan, eğitim sürecime katkıda bulunan, çalışma disiplini ve motivasyonunu örnek aldığım hocam Bezmialem Vakıf Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mukaddes EŞREFOĞLU'na,

Lisansüstü eğitim sürecime katkıda bulunan, bana inanan ve güvenen, manevi desteği ile her zaman yanımda olan ve çalışma disiplininin örnek aldığım hocam Yüksek İhtisas Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emel KOPTAGEL'e,

Tezimin rt-PCR ile ilgili bölümünün gerçekleşmesini sağlayan Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Fahri AKBAŞ'a ve Arş. Gör. Seda SÜSGÜN'e,

Tezimin Western Blot analizlerinin yapılabilmesi için desteğini esirgemeyen Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Dr. Öğretim Üyesi Birsen ELİBOL'a, bana Western Blot yöntemini öğreten, uygulama sırasında her zaman yanımda olan ve desteğini esirgemeyen arkadaşım Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Arş. Gör. Merve KARAKAŞ BEKER'e, manevi desteği ile yanımda olan, yol gösteren arkadaşım Arş. Gör. Şule TERZİOĞLU UŞAK'a, tezimin deney aşamasında cerrahi işlemlerin uygulanmasına yardım eden Veteriner Hekim Mert ÇELİKTEN'e,

Manevi destekleri ile her zaman yanımda olan Anneme, Babama ve Eşim Sinan BAYINDIR'a, hayatıma anlam katan, yaşam enerjim ve motivasyon kaynağım olan kızım Neris'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

İNTRAUTERİN BÜYÜME GERİLİĞİNİN SIÇAN KARACİĞERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Nihan BAYINDIR

Doktora Tezi

Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. H. Eray BULUT

2019, 102 sayfa

İntrauterin büyüme geriliği fetüsün sağlıklı büyüme potansiyeline ulaşamaması olarak tanımlanan patofizyolojik bir süreçtir. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) başlıca karaciğer tarafından üretilen anabolik bir hormondur. Sekresyonu büyüme hormonu (GH) tarafından uyarılır. IGF-1, embriyonik ve postnatal gelişimde hücre proliferasyonu, sağ kalımı, doku büyümesi ve gelişmesi gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri olan anabolik bir hormondur. İntrauterin büyüme geriliği olan fetüs ve yeni doğanlarda GH/IGF-1 ekseninde ve IGF-1-PI3K/Akt sinyal yolağında aksaklıklar olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, bilateral uterin arter ligasyonu ile indüklenen intrauterin büyüme geriliğinin 2., 4., 8. Ve 16. haftalarda sıçan karaciğeri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelendi. IGF-1, IGF-1R α ekspresyonları immünohistokimyasal yöntem ile IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1, p/t-Akt, p/t-PTEN, p/tGSK3 α/β protein seviyeleri Western Blot yöntemi ile, IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1 ekspresyon seviyeleri rt-PCR yöntemi ile belirlendi ve serum IGF-1 ve GH seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. Sonuç olarak intrauterin büyüme geriliğinin sıçanda karaciğer morfolojisini etkilemediği, IGF-1R α , IGFBP1, p/t-Akt, p/t-PTEN, p/tGSK3 α/β

proteinlerinin seviyelerinde ve serum IGF-1 ve GH seviyelerinde değişime yol açtığı, IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1 ekspresyonlarına gen düzeyinde etki etmediği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: İntrauterin Büyüme Geriliği, Bilateral Uterin Arter Ligasyonu, Karaciğer, IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1, Akt, PTEN, GSK3, GH



ABSTRACT

THE EFFECTS OF INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION ON RAT LIVER

Nihan BAYINDIR

PhD Thesis

Department of Histology-Embryology

Supervisor: Professor H. Eray BULUT

2019, 102 pages

Intrauterine growth restriction is a pathophysiological process that defined as fetus cannot reach its normal growth potential. Insulin-like growth factor-1 is an anabolic hormone mainly produced by liver. The secretion of IGF-1 is stimulated by Growth hormone (GH). IGF-1 has several biological activities, such as cell proliferation, survival, tissue growth and development in embryonic and postnatal development. It is known that there are defects in the GH/IGF-1 axis and IGF-1-PI3K/Akt signaling pathway in intrauterine growth restricted fetus and neonates. In the present study, we aimed to investigate the effect of intrauterine growth restriction induced by bilaterally uterine artery ligation on rat liver at 2, 4, 8 and 16 weeks. For this purpose, liver tissues were examined histopathologically. Immunolocalization of IGF-1, IGF-1R α were determined by immunohistochemical method, IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1, p/t-Akt, p/t-PTEN, p/tGSK3 α/β protein levels were determined by Western Blot method, IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1 expression levels were determined by rt-PCR method and serum IGF-1 and GH levels were measured by ELISA.

In conclusion, intrauterine growth restriction did not affect liver morphology, caused changes in IGF-1R α , IGFBP1, p/t-Akt, p/t-PTEN, p/tGSK3 α / β protein levels and serum IGF-1 and GH levels, and did not affect IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1 expressions at gene level.

Key Words: Intrauterine Growth Restriction, Bilaterally Uterine Artery Ligation, Liver, IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1, Akt, PTEN, GSK3, GH



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
KISALTMALAR/SİMGELER.....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İntrauterin Büyüme Geriliği.....	3
2.1.1. Epidemiyoloji.....	4
2.1.2. Risk Faktörleri.....	4
2.1.2.1. Maternal Faktörler.....	4
2.1.2.2. Plasental Faktörler.....	5
2.1.2.3. Fetal Faktörler.....	5
2.1.2.4. Genetik Faktörler.....	6
2.1.2.5. Hormonal Faktörler.....	6
2.1.3. Barker (Thrifty) Hipotezi ve Metabolik Programlama.....	7
2.1.4. Büyüme Yıkama.....	8
2.1.5. İntrauterin Büyüme Geriliğinin Kısa Dönem Sonuçları.....	8
2.1.6. İntrauterin Büyüme Geriliğinin Uzun Dönem Sonuçları.....	9

2.1.7. İntrauterin Büyüme Geriliğinin Çeşitli Doku ve Organlar Üzerine Etkileri.....	9
2.1.7.1. İskelet Kası.....	9
2.1.7.2. Yağ Dokusu.....	10
2.1.7.3. Pankreas.....	11
2.1.7.4. Kalp.....	11
2.1.7.5. Beyin.....	12
2.1.7.6. Karaciğer.....	13
2.2.İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF).....	14
2.2.1. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Yapısı.....	14
2.2.2. IGF-1'in Sentezi, Salınımı ve Aktivitesi.....	15
2.2.3. İntrauterin Büyüme Geriliği ve IGF-1.....	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	19
3.1. Kullanılan Deney Hayvanları ve Deney Grupları.....	19
3.2. Histopatolojik Yöntem.....	20
3.3. İmmünohistokimyasal Yöntem.....	21
3.4. Western Blot Yöntemi.....	21
3.4.1. Protein İzolasyonu.....	21
3.4.2. Jel Elektroforezi ve Protein Transferi.....	22
3.4.3. Antikor ile İnkübasyon ve Görüntüleme.....	22
3.5. rt-PCR Yöntemi.....	23
3.5.1. RNA İzolasyonu.....	23
3.5.2. Total RNA'dan cDNA Eldesi.....	24
3.5.3. rt-PCR ile Gen İfade Düzeylerinin Belirlenmesi....	24
3.6. ELISA Yöntemi.....	26
3.7. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Doğum Ağırlıklarının Karşılaştırılması.....	27
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	28
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	30
4.3.1. IGF-1 İmmüno lokalizasyonu.....	30
4.3.2. IGF-1R α İmmüno lokalizasyonu.....	32

4.4. Western Blot Bulguları.....	34
4.4.1. IGF-1 Protein Analizi.....	34
4.4.2. IGF-1R α Protein Analizi.....	35
4.4.3. IGFBP1 Protein Analizi.....	36
4.4.4. Akt Protein Analizi.....	37
4.4.5. PTEN Protein Analizi.....	38
4.4.6. GSK3 α/β Protein Analizi.....	39
4.5. rt-PCR Bulguları.....	40
4.6. ELISA Bulguları.....	41
4.6.1. Serum IGF-1 Seviyesi.....	41
4.6.2. Serum GH Seviyesi.....	42
5. TARTIŞMA.....	43
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	53
7. KAYNAKLAR.....	54
8. EKLER.....	82
ÖZGEÇMİŞ.....	83

KISALTMALAR/SİMGELER

IUBG	İntrauterin Büyüme Geriliği
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
GH	Büyüme Hormonu
IGFBP	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein
IGF-1R	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 Reseptörü
PI3K	fosfatidilinositol-3kinaz
MAP	Mitojenle Etkileşen Protein
GSK3	Glikojen Sentez Kinaz 3
GnRH	gonadotropin-salgılatıcı hormon
Akt	Protein kinaz B
PTEN	Fosfataz ve tensin homoloğu
GSK3	Glikojen sentez kinaz 3

TABLULAR

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1: cDNA için kullanılan tepkime bileşenleri.....	24
Tablo 1.2: PCR ana karışımı.....	25
Tablo 1.3: Kullanılan primer dizileri.....	25
Tablo 1.4: PCR Reaksiyonları.....	26



ŞEKİLLER

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: IGF Sinyal Yolağı.....	17
Şekil 2: Sham ve deney gruplarına ait doğum ağırlıkları.....	27
Şekil 3: Sham grubu karaciğer dokularına ait ışık mikroskopik bulgular.....	28
Şekil 4: Deney grubu karaciğer dokularına ait ışık mikroskopik bulgular.....	29
Şekil 5: D4 grubuna ait karaciğer dokularında izole atipik hücre grupları.....	29
Şekil 6: Sham grubu karaciğer dokularında IGF-1 immünolokalizasyonu.....	30
Şekil 7: Deney grubu karaciğer dokularında IGF-1 immünolokalizasyonu.....	31
Şekil 8: Sham grubu karaciğer dokularında IGF-1R α immünolokalizasyonu.....	32
Şekil 9: Deney grubu karaciğer dokularında IGF-1R α immünolokalizasyonu.....	33
Şekil 10: IGF-1 protein seviyesi.....	34
Şekil 11: IGF-1R α protein seviyesi.....	35
Şekil 12: IGFBP1 protein seviyesi.....	36
Şekil 13: Akt protein seviyesi.....	37
Şekil 14: PTEN protein seviyesi.....	38

Şekil 15: GSK α/β protein seviyesi.....	39
Şekil 16: IGF-1, IGF-1R α ve IGFBP1 ekspresyonlarının gruplar arası kat farkları.....	40
Şekil 17: Serum IGF-1 seviyesi.....	41
Şekil 18: Serum GH seviyesi.....	42



1.GİRİŞ

İntrauterin büyüme geriliği (IUBG) fetüsün genetik olarak programlanmış büyüme potansiyeline ulaşamamasıdır (Battaglia & Lubchenco, 1967). IUBG fetal, neonatal ve erişkin dönemde çeşitli sorunlara yol açan adaptif fizyolojik bir süreçtir. Perinatal morbitide ve mortalitenin en önemli nedenlerinden biridir (Regev et al., 2003). Dünya çapında yeni doğanların %5-10'unda IUBG görülmektedir (Resnik, 2002). IUBG olan fetüs hayati organları koruma altına almak için çeşitli endokrin ve metabolik adaptasyonlar geliştirir. Bu adaptasyonların kalıcı hale gelmesi ile erişkin dönem hastalıklarının oluşumu arasında ilişki olduğu düşünülmektedir (Barker, 1992). IUBG kısa dönemde prematüre doğum, serebral palsy, prematür retinopatisi gibi çeşitli sorunlara yol açarken, uzun dönemde metabolik sendrom, tip 2 diyabet, obezite kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların gelişimleri ile yakından ilişkilidir (Longo et al., 2013). Fetal döneminde yetersiz beslenme ile erişkin dönem hastalıklarının arasındaki ilişki Barker, thrifty hipotezi ile açıklanmaktadır. Bu hipotez ileri yaşamda ortaya çıkan obezite, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar gibi metabolik bozuklukların temelini fetal dönemde yetersiz beslenme koşullarına cevaben geliştirilen adaptasyonlara dayandığını ileri sürer (Hales & Barker, 2001).

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 (IGF-1), başlıca karaciğer olmak üzere çeşitli dokularda üretilen anabolik bir hormondur (Le Roith, 1997). Hipofizden salınan Büyüme Hormonu (Growth Hormon- GH) stimülasyonu ile sentezlenir (Puche & Castilla-Cortázar, 2012). IGF-1 molekülü kanda bağlayıcı proteinler (IGFBP) ile taşınır ve reseptörü (IGF-1R) ile etkileşip fosfatidilinositol-3kinaz (PI3K)/Akt sinyal yolağını ve Mitojenle Etkileşen Protein (MAP) kinaz sinyal yolağını aktive eder. Bu aktivasyon ile hücre büyümesi, sağ kalımı, farklılaşması, proliferasyonu ve göçü ile ilgili süreçler düzenlenir (Duan, Bauchat, & Hsieh, 2000; Jones & Clemmons, 1995). Yapılan çalışmalar IGF-1' in dokularda çok çeşitli etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Beyinde nöral proliferasyonda, hücre sağ kalımı ve farklılaşmasında (Gomez, 2008), karaciğerde hepatosit proliferasyonunda ve karaciğer rejenerasyonunda (Desbois-Mouthon et al., 2006), immün sistemin gelişmesinde (Walsh, Smith,

& O'Connor, 2002), renal fonksiyonun düzenlenmesinde (Bach, 2012), kardiyovasküler gelişimde (Delafontaine, Song, & Li, 2004), kas büyümesinde, gelişmesinde ve rejenerasyonunda (Schiaffino & Mammucari, 2011) rol oynar.

İnsanda büyüme geriliği olan fetüsler dolaşımında insülin, IGF-1, IGF-2 ve IGFBP-3 seviyelerinin düşük, GH ve IGFBP-1 seviyelerinin yüksek olması ile karakterizedir (Fowden, 2003; Tzschoppe et al., 2015). IGF-1'in büyümeyi direkt olarak kontrol etmesi, normal vücut gelişiminin esas düzenleyicisi olması ve fetüste aktivitesinin glikoz desteğine bağlı olarak regüle edilmesi IGF-1 sinyal yolağının IUBG gelişimindeki rolünün belirlenmesi açısından önemlidir (D'Ercole et al., 1994). Son yıllarda IUBG sürecinde oluşan fetal programlamada GH/IGF aksında değişimlerin meydana gelmesi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (Setia & Sridhar, 2009).

Bu çalışmada bilateral uterin arter ligasyonu yöntemi (Janot, Cortes-Dubly, Rodriguez, & Huynh-Do, 2014; Wigglesworth, 1964) ile intrauterin büyüme geriliği oluşturulan sıçanlarda IUBG' nin postnatal 2., 4., 8. ve 16. haftalarda karaciğerde IGF-1 sinyal yolağında yer alan bazı moleküller (IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1, p/t-Akt, p/t-PTEN, p/tGSK3 α/β) üzerine etkisinin belirlenmesini amaçlamaktayız. Elde edilecek verilerin karaciğerin büyümesinde ve gelişiminde önemli rol oynayan IGF-1 sinyal yolağında yer alan moleküllerin IUBG' nin tanı ve tedavisinde belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağı konusuna ışık tutacağına ve IUBG'nin moleküler mekanizmalarını araştıran literatüre katkıda bulunacağına inanmaktayız. Çalışmamız IUBG'nin sıçan karaciğerinde postnatal gelişimin belirli dönemlerinde IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1, p-Akt, t-Akt, p-PTEN, t-PTEN, p-GSK3 α/β ve t-GSK3 α/β protein seviyelerinin bir arada incelendiği özgün bir çalışma niteliğindedir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İntrauterin Büyüme Geriliği

İntrauterin büyüme geriliği (IUBG) fetüsün biyolojik büyüme potansiyeline ulaşamaması olarak tanımlanır. IUBG terimi fetal dönemde görülen yetersiz beslenme ve gelişim geriliğinin klinik özelliklerini taşıyan yeni doğanlar için doğum ağırlığının yüzdesine bakılmaksızın kullanılır (Battaglia & Lubchenco, 1967). Tıp literatüründe IUBG ve “gebelik yaşına göre küçük” terimleri sıklıkla birbirlerinin yerlerine kullanılsa da aralarında farklılık vardır. Düşük doğum ağırlıklı bebek tanımı 10. persentilin altındaki yeni doğanlar için kullanılır. IUBG terimi ise doğum ağırlığından bağımsız olarak fetal dönemde gelişme geriliği görülen bebekler için kullanılır ve her düşük doğum ağırlıklı bebekte IUBG görülmez (Sharma, Farahbakhsh, Shastri, & Sharma, 2016; Sharma, Shastri, Farahbakhsh, & Sharma, 2016). IUBG maternal, plasental, fetal veya genetik faktörlerin etkisi ile gelişebilir. IUBG'nin yaklaşık olarak 1/3' ünün genetik faktörler, 2/3' ünün fetal çevre kaynaklı olduğu tanımlanmıştır (Bernstein & Divon, 1997). IUBG, perinatal morbitide ve mortalitenin önemli nedenlerinden biridir. Ayrıca büyüme geriliği ile doğan canlılarda erişkin dönemde diyabet, obezite, kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli klinik bozuklukların görülme sıklığı artar (Bamfo & Odibo, 2011; Hattersley & Tooke, 1999). IUBG 3 şekilde sınıflandırılır:

- a. **Simetrik IUBG:** Gebeliğin erken döneminde gerçekleşen bir bozukluk sonucunda oluşur. Genellikle genetik bozukluklar ve enfeksiyon kaynaklıdır. Hücre sayısında azalma vardır. Baş çevresi, karın çevresi ve femoral uzunlukta orantılı bir azalma gerçekleşir.
- b. **Asimetrik IUBG:** En sık görülen neden utero-plasental yetersizliktir. 3. trimestera kadar normal gelişim gösteren fetüs son trimesterde kilo kaybeder. Baş ve femur uzunluğu gebelik yaşı ile uyumlu olsa da vücut gelişiminin gerilemesinden dolayı başın vücuda oranı artar.
- c. **Karışık IUBG:** Daha çok gelişmiş ülkelerde görülür ve hem hücre boyutunda hem de hücre sayısında azalma gerçekleşir. Yeni doğanlar

hem asimetrik hem simetrik IUBG' nin klinik özelliklerini taşırlar (Sharma, Shastri, & Sharma, 2016).

2.1.1. Epidemiyoloji

IUBG genel popülasyoda %8 oranında görülürken, sebebi bilinmeyen ölü doğumların yaklaşık %52'sinin IUBG ile ilişkili olduğu ve IUBG'nin perinatal mortalite olgularının %10'undan sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Hattersley & Tooke, 1999). Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere oranla 6 kat daha fazla görülür. Bu oran evde doğumun fazla olduğu (doğum kaydı tutulmayan) düşük ve orta gelirli ülkelerde daha yüksek olabilir. IUBG sıklığı ülkeler, popülasyonlar ve ırklar arasında farklılık gösterir ve azalan gebelik yaşı ile birlikte artar (de Onis, Blossner, & Villar, 1998).

2.1.2. Risk Faktörleri

Fetal büyüme maternal, plasental ve fetal faktörleri içeren karmaşık bir süreçtir ve IUBG'ne yol açan faktörler maternal, plasental, fetal, genetik ve hormonal faktörler olarak özetlenebilir.

2.1.2.1. Maternal Faktörler

Annenin yetersiz beslenmesi IUBG gelişiminde önemli role sahiptir (Mitchell et al., 2004). Yetersiz beslenme koşulları fetal fizyolojik süreçleri epigenetik mekanizmalarla değiştirebilir. Bu da yalnızca kısa dönemdeki büyüme fenotipini değiştirmekle kalmaz, erişkin dönemdeki metabolik süreçleri de olumsuz etkiler (Devaskar & Chu, 2016). Gelişmekte olan ülkelerde gebelikte yetersiz beslenmenin ve gebelik başlangıç kilosunun düşük olmasının IUBG gelişimindeki rolü çok önemlidir. Gelişmiş olan ülkelerde ise IUBG gelişiminin en önemli faktörü sigara kullanımınıdır (Black et al., 2013). Sigaranın yanı sıra kan dolaşımına etki eden çeşitli maternal metabolik bozukluklar da uteroplakental kan akışında azalmaya, fetüs dolaşımında hipoksiye ve asidoza neden olur. Ayrıca hormon regülasyonunu da etkileyerek IUBG'ne yol açar. (J. Miller, Turan, & Baschat, 2008; D. J. Roberts & Post, 2008) Bu bozukluklar hipertansif hastalıklar, diyabet ilişkili vaskülopati, kronik böbrek hastalıkları, sistemik lupus eritematozus, antifosfolipid sendromu, orak hücreli anemi gibi

çeşitli hastalıkları içerir (Schieve et al., 2002). Annenin toksik alışkanlıkları (alkol, uyuşturucu, sigara) ve ilaç kullanımı (warfarin, steroidler, antikonvülzan, anti-metabolit ve folik asit antagonistleri) da IUBG sebeplerindedir (Haddon, Nesbitt, & Garcia, 1961; Yang et al., 2001). Ayrıca maternal stres, enfeksiyonlar ve parazit istilasının da (TORCH, sıtma, tüberküloz, üriner kanal enfeksiyonları, bakteriyel vajinoz) IUBG gelişimi ile ilişkili oldukları bilinmektedir (Biri et al., 2007).

2.1.2.2. Plasental Faktörler

Plasenta ağırlığının IUBG'nde önemli rolü olduğu belirlenmiştir. Heinonen ve arkadaşları (Heinonen, Taipale, & Saarikoski, 2001) gebelik yaşına göre küçük doğan bebeklerin plasenta ağırlıklarının gebelik yaşına uygun doğan bebeklerin plasenta ağırlıklarına göre %24 oranında daha küçük olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada plasentada fonksiyonel doku kaybının anne fetüs arasında oksijen ve besin taşınmasını sağlayan villöz yüzey alanı ve fetal kapiller yüzey alanını azaltarak IUBG' ne yol açtığı belirlenmiştir (Yu, 1992). Çeşitli kronik inflamatuvar hastalıklar, çoklu gebelik, anormal uteroplasental damarlanma ve plasenta dekolmanı gibi plasentanın özellikle anne ile fetüs arasındaki madde alışverişini sağlayan bölümlerini etkileyen hastalıklar IUBG gelişiminde önemli role sahiptir (Sharma, Shastri, & Sharma, 2016).

2.1.2.3.Fetal Faktörler

IUBG görülen yeni doğanların %7-19 'u fetal kromozomal anomali (trizomi 13, 18, ve 21, otozomal delesyonlar, halka kromozomu uniparental dizomi) kaynaklıdır (Anandakumar et al., 1996; Snijders, Sherrod, Gosden, & Nicolaidis, 1993; Soong et al., 2009). Bloom Sendromu, Russell-Silver Sendromu, Cornelia de Lange Sendromu, Fanconi Sendromu, Roberts Sendromu, Seckel Sendromu gibi çeşitli genetik sendromların da IUBG' ne yol açtığı bilinmektedir (Hendrix & Berghella, 2008). Bunların yanı sıra trakeo-özofajial fistül, konjenital kalp hastalıkları, konjenital diyafram hernisi, omfalosel ve gastroşizis gibi abdominal duvar defektleri, anensefali gibi nöral tüp defektleri vb. çeşitli konjenital anomaliler de IUBG ile sonuçlanabilir

(Balayla & Abenhaim, 2014; Wallenstein et al., 2012). IUBG vakalarının %5'ini konjenital enfeksiyonlar oluşturur. Gelişmiş ülkelerdeki en yaygın enfeksiyon sebepleri toksoplazma ve sitomegalovirüs iken gelişmekte olan ülkelerde sıtma, konjenital HIV enfeksiyonu, sfiliz ve rubella sık görülen enfeksiyonlardır (Khan & Kazzi, 2000; Stekete, Nahlen, Parise, & Menendez, 2001; Walker, ter Kuile, Garske, Menendez, & Ghani, 2014). Pankreas agenezi, konjenital pankreatik beta hücre agenezi, konjenital lipodistrofi, galaktozemi, Mukolipidozis tip-II, fetal fenilketonüri ve geçici neonatal diyabet gibi metabolik hastalıklar da IUBG gelişimine yol açar (Priyadarshi, Verge, Vandervliet, Mackay, & Bolisetty, 2015).

2.1.2.4. Genetik Faktörler

Protein ve hormonları kodlayan maternal, plasental ve fetal genlerde polimorfizm fetal büyümeyi etkiler. IUBG gelişiminde etkili olduğu düşünülen bazı genler şunlardır:

Plasental Genler: Homeobox genleri, Serpina3, Cullin, Sox1, Placental büyüme faktörü, trofoblastik miRNAlar, Bcl-2 ve Bax, İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 ve 2, İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein3 (IGFBP3), Epidermal büyüme faktörü (EGF)

Maternal Genler: Endotelin-1 (ET-1) ve Leptin, Visfatin, Trombofili Genleri

Fetal Genler: Protein S10B, N-terminal paratiroid hormon ilişkili protein, IGF-1, SHOX, İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü (IGF-1R) mutasyonu (Sharma, Shastri, Farahbakhsh, et al., 2016).

2.1.2.5. Hormonal Faktörler

Çeşitli hormonlar fetal dokularda metabolizmayı ve gen ekspresyonlarını etkileyerek fetal büyüme ve gelişimi yönetir. Endokrin sistem kaynaklı bozukluklar IUBG'ne yol açabilir. Fetal büyümenin en önemli endokrin düzenleyicisi IGF'dir. IGF ailesi üyeleri 1. trimesterden itibaren çeşitli dokularda ekspresse edilir ve fetal dolaşımdaki konsantrasyonları gebelik süresince artar (Gicquel & Le Bouc, 2006; Gluckman & Harding, 1997). Fetal IGF-1 ekspresyonunun ve sirkülasyonunun en önemli düzenleyicisi plasentadan

fetüse geçen glikozun miktarıdır. Göbek kordonu kanındaki IGF-1 miktarı ile doğum ağırlığının korele olduğunu, IGF-1 genindeki delesyonun şiddetli IUBG ve postnatal büyüme geriliğine yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Gluckman, 1997; Woods, Camacho-Hubner, Savage, & Clark, 1996). İnsülin, Tiroid hormonu, glukokortikoidler ve büyüme hormonu da fetal dönemdeki en önemli hormonlardandır. Bu hormonların salınımında meydana gelen aksaklıklar fetal büyümeyi doğrudan etki eder ve IUBG ile ilişkilidir. (Sharma, Shastri, Farahbakhsh, et al., 2016).

2.1.3. Barker (Thrifty) Hipotezi ve Metabolik Programlama

IUBG olan fetüs azalan besin kaynağına karşı çeşitli adaptasyonlar geliştirir. Bu adaptasyonlar fetüsün hayatta kalabilmek için kısıtlı olan besin miktarından maksimum derecede yararlanmasını sağlar. Her organ ve dokuda farklı şekilde adaptasyon gelişir ancak bu adaptasyonların uzun dönem sonuçları henüz kesin olarak bilinmemektedir. Fetüsün oksidatif metabolizmasının ana kaynağı glikozdur (Hay, 2006). IUBG olan fetüs azalmış olan glikozdan olabildiğince yararlanmak için periferik insülin duyarlılığını artırır, kasta protein sentezi için gerekli insülin duyarlılığını, pankreas gelişimini ve anabolik hormon yapımını azaltır, hepatik glikoz üretimini artırır. Bu adaptasyonlarının asıl amacı kalp ve beyin gibi hayati organlara glikoz desteğini devam ettirebilmektir (Limesand, Rozance, Smith, & Hay, 2007; Ross, Fennessey, Wilkening, Battaglia, & Meschia, 1996; Rozance, Limesand, & Hay, 2006; Thorn et al., 2009). İntrauterin dönemde gelişen bu adaptasyonlar kalıcı hale gelirse ileri yaşamda obezite, insülin direnci ve tip 2 diyabet gibi hastalıkların oluşma potansiyelini artırır (McMillen & Robinson, 2005). Barker hipotezi (Thrifty fenotipi, fetal orijinler hipotezi), erişkin hastalıklarının kökeninin intrauterin dönemde fetüsün yetersiz intrauterin çevre koşullarına cevaben hayatta kalmak için geliştirdiği adaptasyonlara dayandığını ileri sürer (Barker, 1992). Barker hipotezine göre fetüs yetersiz beslenme koşullarında karaciğer, pankreas ve kas gibi insüline duyarlı dokularda fetal insülin ve IGF-1 duyarlılığını ve salınımını azaltıp, hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) eksenini upregüle ederek karaciğer, pankreas gibi organların zarar görmemesi pahasına beyin, kalp ve adrenal bez gibi hayati organların gelişimine öncelik verir. Fetal insülin sekresyonunun azalması ile kan

akımını düzenleyebilmek ve büyüme hızını değiştirmek için kortizol ve adrenalin seviyelerini arttırarak fetal ve plasental metabolizmayı hayati organların yararına yönlendirecek şekilde düzenler (Jaquet, Leger, Czernichow, & Levy-Marchal, 2002). Bu süreçte oluşan değişiklikler “metabolik programlama (fetal programlama, epigenetik modifikasyon)” olarak isimlendirilir ve fetal gelişimin çok kritik bir zamanında gerçekleştiği için kalıcı hale gelebilir (Barker, 2007). Bu adaptasyonlar çeşitli genlerin ekspresyonlarında değişikliğe neden olur ve hem kısa dönemde hem de uzun dönemde sonuçları vardır. Kısa dönemde glikoz metabolizması ile ilgili genlerin ifadesine değişiklik, nörogelişimin etkilenmesi gibi çeşitli sorunlara yol açarken, uzun dönemde metabolik sendrom, insülin direnci ve kardiyovasküler hastalıkların meydana gelme riskini arttırır (Barker, 1999; Hattersley & Tooke, 1999; Morsing, Asard, Ley, Stjernqvist, & Marsal, 2011).

2.1.4. Büyüme Yakalama

IUBG ile doğan canlılar doğumdan kısa bir süre sonra kilo artışını hızlandırarak büyüme yakalama dönemine girebilirler. Bu dönemde dokularda insülin duyarlılığı artar (Beltrand et al., 2009; McMillen et al., 2001). Yapılan çalışmalar erişkin dönemde görülen metabolik bozuklukların nedenlerinin sadece fetal dönemdeki adaptasyonlarla ilgili olmadığını, yakalama büyüme dönemindeki adaptasyonların da insülin direnci ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli metabolik bozukluklar ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Cosmi, Fanelli, Visentin, Trevisanuto, & Zanardo, 2011; Das & Sysyn, 2004; Martin-Gronert & Ozanne, 2007).

2.1.5. İntrauterin Büyüme Geriliğinin Kısa Dönem Sonuçları

IUBG neonatal morbitide ve mortalitenin önemli sebeplerinden biridir. Ayrıca global veriler IUBG'nin erken doğum ve sezeryan riskini arttırdığını ve ölü doğum vakalarının en güçlü risk faktörlerinden biri olduğunu göstermektedir (J. Miller et al., 2008). IUBG ile doğan bebeklerde hipoglisemi, hipotermi, respiratuar distres sendromu, nekrotizan enterokolit, mekonyum aspirasyon sendromu, prematüre retinopatisi gibi çeşitli sorunlara yol açan metabolik ve

hematolojik bozukluklar görülür (Hofmeyr, Xu, & Eke, 2014; Longo et al., 2013).

2.1.6. İntrauterin Büyüme Geriliğinin Uzun Dönem Sonuçları

Son yıllarda fetal büyüme geriliğinin canlıyı tüm yaşamı boyunca etkileyebilecek olumsuz etkileri olabileceğine dair kanıtlar giderek artmaktadır (Nicoletto & Rinaldi, 2011). İlk olarak Barker 1920-1930 yılları arasında düşük doğum ağırlığı ile doğan bebeklerde 50-70 yaşları arasında koroner kalp hastalıkları, diyabet, hiperinsülinemi ve hiperkolesterolemi insidansının yüksek olduğunu gözlemlemiştir (Barker, Bull, Osmond, & Simmonds, 1990; Barker, Osmond, Golding, Kuh, & Wadsworth, 1989). Daha sonra yapılan çalışmalarda IUBG'nin erişkinlerde tip 2 diyabet, insülin direnci, hipertansiyon, dislipidemi, obezite, kardiyovasküler hastalıklar ve metabolik sendrom gibi çeşitli kronik patolojilerle ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Bjarnegard, Morsing, Cinthio, Lanne, & Brodzki, 2013; Longo et al., 2013). İngiltere'de başlayan bu gözlem Güney Afrika, Hindistan gibi ülkelerde de doğrulanmıştır (Kanaka-Gantenbein, 2010). Bunların dışında IUBG'nin erişkin dönemde böbrek ve akciğer gelişiminde bozukluklara, nörofizyolojik ve kavramsal eksikliklere de yok açtığı bilinmektedir (S. L. Miller, Huppi, & Mallard, 2016).

2.1.7. İntrauterin Büyüme Geriliğinin Çeşitli Doku ve Organlar Üzerine Etkileri

2.1.7.1. İskelet Kası

İnsanda IUBG, fetüs ve yeni doğanda kas kitlesinin azalması ile karakterizedir (Larciprete et al., 2005; Padoan et al., 2004). Fetüsün besin desteği azaldığında iskelet kasında hem hücre bölünmesi hem de protein birikimi downregüle edilir (Greenwood, Hunt, Hermanson, & Bell, 2000; Greenwood, Slepatis, Hermanson, & Bell, 1999). Bunun yanı sıra insülin duyarlılığı da bozulur (Mericq et al., 2005; Ozanne et al., 2005). Koyunda yapılan çalışmalarda IUBG ile doğan yavrularda hipertrofik iskelet kası büyümesinin bozulduğu ve kas kütesinin azaldığı, iskelet kasında protein sentezi, aminoasit alımı ve yararlanımının azaldığı (Greenwood, Hunt, Hermanson, & Bell, 1998; Greenwood et al., 2000; Hegarty & Allen, 1978; Rozance et al., 2018), glikoz

oksidasyonunun azaldığı (Cadaret et al., 2018), laktat üretiminin arttığı (Brown et al., 2015) gösterilmiştir. Yine koyunda maternal besin miktarının azaltılması ile oluşturulan IUBG modelinde yavru da kas fibrillerinin azaldığı, primer ve sekonder miyogenezin olumsuz yönde etkilendiği belirtilmiştir (Costello et al., 2008; Fahey, Brameld, Parr, & Buttery, 2005; Zhu, Ford, Nathanielsz, & Du, 2004). IUBG glikoz ve yağ metabolizması ile ilişkili genlerin ekspresyonlarında değişikliğe yol açar. Genetik çalışmalar IUBG olan dişi sığırcılarda iskelet kasında protein ekspresyonunun azaldığını, koyunlarda ise insülin sinyal yolağında görevli INSR, IRS1, Akt2 ve GLUT4 moleküllerinin ekspresyonlarının ve insülin duyarlılığının azaldığını göstermiştir (De Blasio, Gattford, Harland, Robinson, & Owens, 2012; Thamocharan et al., 2005). Yates ve ark. (Yates et al., 2012) iskelet kasında kas hipertrofisinde ve glikoz oksidasyonunda rol alan adrenerjik reseptörlerin ekspresyonlarının değiştiğini belirtmiştir.

2.1.7.2. Yağ Dokusu

IUBG ile doğan bebeklerin kas gelişimi zayıftır ve doğumdan sonra hücre proliferasyonu gerçekleşir. Eğer çocukluk döneminde hızla kilo alırlarsa kas yerine yağ dokusu artar ve ileri yaşamda orantısız şekilde yüksek yağ kitlesi gelişir. Bu da insülin direnci gelişimi ile ilgili olabilir (Barker et al., 1993). IUBG’nde fetal adipositler çoğalma ve daha fazla yağ depolamak için genişleme kabiliyetlerini arttıran adaptasyonlar geliştirirler (Desai & Ross, 2011). IUBG olan erkek sığırcılarda adipogenez ve lipogenezin primer düzenleyicisi olan peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gamma (PPAR γ) ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Joss-Moore et al., 2010). Ayrıca yapılan çeşitli çalışmalarda yağ asidi metabolizmasında rol alan asetil KoA Karboksilaz- α , fatty acid synthase (FAS), ATP binding cassette transporter1, resistin ve visfatin ekspresyonlarının değiştiği belirtilmiştir. Yağ dokusunda meydana gelen bu değişikliklerin insülin direnci ve obezite ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Garg et al., 2013; Yee et al., 2016; Zinkhan, Yu, Callaway, & McKnight, 2018).

2.1.7.3. Pankreas

IUBG olan fetüslerde glikoz ile uyarılmış insülin sekresyonu bozular (Nicolini, Hubinont, Santolaya, Fisk, & Rodeck, 1990). İleri IUBG olan fetüsler küçük, vaksülarizasyonu ve β hücre sayısı azalmış olan pankreatik adacıklara sahiptir (Van Assche, De Prins, Aerts, & Verjans, 1977). Pankreatik β hücrelerinden insülin salınımı glikoz metabolizmasının primer düzenleyicisidir ve tüm anabolik süreçlere ve kas büyümesine de katkıda bulunur. IUBG olan sıçanlarda β hücre kaybı olduğu rapor edilmiştir (Garg et al., 2013). Yapılan bir çalışmada IUBG'nin β hücrelerinin elektron transport zincirinde bozukluğa neden olduğunu ve bunun da reaktif oksijen türlerinin üretimine, β hücre proliferasyonunda ve fonksiyonunda azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Simmons, Suponitsky-Kroyter, & Selak, 2005). β hücresi işlev bozukluğu ile plasental yetersizlik doğru orantılıdır. Koyunlarda yapılan çalışmalarda IUBG'nin fetüste β hücre sayısında ve intrasellüler insülin konsantrasyonunda azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir (Limesand et al., 2013; Limesand, Rozance, Zerbe, Hutton, & Hay, 2006).

2.1.7.4. Kalp

İntrauterin çevrenin olumsuz yönde değişmesi kalbin ve vasküler ağacın gelişimini etkileyerek miyokardın ve damar duvarının yapısını bozar (Iruetagoiena et al., 2014; Norman, 2008). IUBG olan hayvanlarda damar duvarındaki kollajen miktarının azaldığı (Thompson, Richardson, Gagnon, & Regnault, 2011), insanlarda aortun intima ve media tabakalarının kalınlığının arttığı (Cosmi, Visentin, Fanelli, Mautone, & Zanardo, 2009) gösterilmiştir. IUBG olan ölü doğanlarda aortun histolojik incelenmesi sonucunda pre-aterosklerotik lezyonların belirteci olan intima ve media kalınlığı artışı ile ilişkili inflamasyon işaretleri görülmüştür (Lo Vasco et al., 2011). Bununla birlikte yine insanda yapılan çeşitli çalışmalarda IUBG olan bebeklerde yaşamlarının ilk birkaç gününde (Koklu et al., 2006; Sehgal, Doctor, & Menahem, 2013; Skilton, Evans, Griffiths, Harmer, & Celermajer, 2005; Stergiotou et al., 2014), 6. ve 18. aylarında (Cruz-Lemini et al., 2014; Zanardo et al., 2011) aortun intima ve media tabaka kalınlıklarının sağlıklı bebeklere oranla fazla olduğu rapor edilmiştir. Bu

veriler IUBG'nin damar duvarın yapısı ve fonksiyonunda kalıcı değişikliklere yol açarak ileri yaşamda kardiyovasküler hastalıkların görölme riskini arttırabileceğini düşündürmektedir (Cohen, Wong, Horne, & Yiallourou, 2016). IUBG hayvan çalışmalarında kardiyomiyositlerin olgunlaşma sürecinin geciktiği (Bubb et al., 2007), sarkomer uzunluklarının azaldığı ve apopitoz oranının arttığı (Tintu et al., 2009) gösterilmiştir. Iruretagoyena ve ark. (Iruretagoyena et al., 2014) ileri derece büyüme geriliği olan fetüsleri postmortem inceleyerek kalpteki kardiyomiyositlerin sarkomer uzunluklarının azaldığını bunun da sistolik disfonksiyona yol açabileceğini ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde Takahashi ve ark. (Takahashi, Nishida, Arai, & Kaneda, 1995) da büyüme geriliği olan fetüslerde miyokardiyal fibrillerde hipoplazinin göstergesi olan ince kardiyomiyositlerin varlığını ve glikojen depolama kapasitelerinin azaldığını göstermişlerdir. Kalbin yapısı ve şekline meydana gelen değişiklikler kalbin fonksiyonunu olumsuz yönde etkileyebilir. Yapılan çalışmalar büyüme geriliği olan fetüslerde sistolik ve diastolik fonksiyonun değiştii ve bu değişikliklerin postnatal olarak kalıcı hale geldiğini göstermektedir (Cruz-Lemini et al., 2016; Czernik, Rhode, Metze, Buhner, & Schmitz, 2013; Gurses & Seyhan, 2013; Vijlbrief et al., 2014).

2.1.7.5. Beyin

Kronik fetal hipoksemi veya besin azlığı durumunda fetüs beynin oksijen ve besin desteğinden maksimum düzeyde yararlanabilmesi için kardiyak çıktıyı (kardiyak output) yeniden düzenleyerek beyine daha fazla kan gitmesini sağlar. Böylece beyni korumaya alır (Spinillo et al., 2014). Buna rağmen beyin olumsuz intrauterin şartlardan etkilenir ve çeşitli nöropatolojik bozukluklar gelişir. IUBG motor ve duyuşal nörogelişimsel bozukluklar, bilişsel ve öğrenme bozuklukları ve serebral palsi ile yakından ilişkilidir (Gagnon, 2003; Guellec et al., 2011; von Beckerath et al., 2013). IUBG olan yeni doğanlarda baş çapı gebelik yaşına uygun yeni doğanlara göre daha küçüktür ve bu özellik nörogelişimin zayıf olduğuna işaret eden klinik açıdan önemli bir bulgudur (Gale, O'Callaghan, Bredow, & Martyn, 2006; Padilla et al., 2011; Tolsa et al., 2004). Yapılan çalışmalar insanda IUBG'nin total beyin hacminde ve kortikal gri madde hacminde azalma ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Tolsa et al., 2004). IUBG

olan bebeklerde yapılan postmortem çalışmalarda beyinde hücre sayısında (Samuelsen et al., 2007) ve miyelin içeriğinde azalma (Chase, Welch, Dabiere, Vasan, & Butterfield, 1972) olduğu ortaya konulmuştur. Bu yapısal anomaliler, yeni doğanda dikkat kapasitende azalma (Samuelsen et al., 2007), 7 aylık bebeklerde görsel tanıma hafızasında yaşına uygun bebeklere göre zayıf olma (Gotlieb, Biasini, & Bray, 1988), 9-10 yaşlarında yaşlılarına göre nörogelişimsel eksiklikler gösterme (Leitner et al., 2007) gibi çeşitli davranışsal eksikliklerle paralel seyreder. Okul çağındaki çocuklarda yapılan çeşitli çalışmalarda fetal gelişme geriliği görülen çocuklarda sağlıklı yaşlılarına göre kaba ve ince motor becerilerinde, hafıza ve akademik yeteneklerinde azalma gibi bulguların yanı sıra dikkat eksikliği ve hiperaktivite gibi çeşitli nörofizyolojik yetersizliklerin görüldüğü belirtilmiştir (Fischi-Gomez et al., 2015; Geva, Eshel, Leitner, Fattal-Valevski, & Harel, 2006; Geva, Eshel, Leitner, Valevski, & Harel, 2006; Low et al., 1992).

2.1.7.6. Karaciğer

Hemen hemen tüm organlar fetal dönemde programlanarak morfolojilerini ve fonksiyonlarını kalıcı olarak değiştirebilirler. Fetal karaciğer dolaşımdaki kanın büyük bir kısmını alması ve metabolik regülasyonun en önemli düzenleyicisi olması nedeniyle karaciğerin IUBG'ndeki rolünün belirlenmesi çok önemlidir. İnsanda IUBG'nde plasental kan akımı azalır. Kan desteği büyük oranda beyine yönlendirilirken fetal karaciğerin kan akımı azalır ve bu da fetal büyüme geriliği oluşumu ile ilişkilidir (Nathanielsz & Hanson, 2003). Karaciğerin metabolik programlama için önemli bir hedef olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (Cianfarani et al., 2012). Lipid homeostazı büyük oranda karaciğer tarafından düzenlenir ve IUBG'nde karaciğer metabolizmasındaki adaptasyonlar metabolik bozuklukların gelişmesine yol açar (Alisi, Panera, Agostoni, & Nobili, 2011; A. Roberts, Nava, Bocconi, Salmona, & Nicolini, 1999; Thorn et al., 2009). Yapılan çalışmalar uteroplental yetersizliğin hepatik oksidatif fosforilasyonu azaltıp, karaciğere glikoz taşınmasını etkileyerek hepatik enerji üretimi ile ilgili enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonlarını değiştirdiğini göstermiştir (Lane, Crawford, Flozak, & Simmons, 1999; Lane, Flozak, Ogata, Bell, & Simmons, 1996; Ogata, Swanson, Collins, & Finley, 1990). Khattabi ve ark. (El-Khattabi,

Gregoire, Remacle, & Reusens, 2003) sıçanda diyet ile oluşturulan IUBG'nin karaciğerde hepatosit proliferasyonunu azalttığını belirtmiştir. Literatürdeki bu veriler intrauterin dönemdeki adaptasyonların karaciğerin erişkin dönemdeki fonksiyonel kapasitesinde azalmaya yol açabileceğine ve performansının etkilenebileceğine işaret etmektedir (Burns et al., 1997; Desai et al., 1997; Lane, Kelley, Gruetzmacher, & Devaskar, 2001).

2.2. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)

2.2.1. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Yapısı

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ailesi iki IGF molekülü (IGF-1 ve IGF-2), 3 ligand (insülin, IGF-1, IGF-2), 4 reseptör (insülin reseptörü, IGF-1R, IGF-2R/mannoz-6-fosfat ve hibrid insülin/IUG-1R) ve 6 adet bağlayıcı proteinden (IGFBP1-6) oluşur (Setia & Sridhar, 2009). IGF sinyal yolağı büyümede ve çeşitli hastalıkların gelişim süreçlerinde önemli rollere sahiptir. Hem fetal hem de postnatal büyümenin esas düzenleyicisi IGF sinyal yolağıdır (Randhawa & Cohen, 2005). IGF-1 başta karaciğer olmak üzere birçok dokuda üretilen anabolik bir hormondur ve hipofizden salınan GH stimülasyonu ile sentezlenir. IGF- %60 oranında IGF-2 ile, %50 oranında proinsülin ile homoloji gösterir (Le Roith, 1997). IGF-1 somatomedin olarak da bilinir ve hücre proliferasyonu (Perez et al., 2008), hücre sağ kalımı (Vincent & Feldman, 2002), doku gelişimi ve büyümesi, antioksidan (Fowden & Forhead, 2013; Garcia-Fernandez et al., 2003) aktivitesi vardır. İnsülin ile olan yapısal benzerliği dolayısı ile IGF-1 insülin reseptörünü bağlayabilir, insülin antikorlarının varlığında insülin benzeri aktiviteye sahiptir ve aynı zamanda sülfasyon faktörüdür (Daughaday et al., 1972; Froesch, Buergi, Ramseier, Bally, & Labhart, 1963; Laron, 2001). IGF-2 daha çok fetal dönemde ekspresse edilir ve fetal gelişimde rol oynar. IGF'ler kanda serbest olarak bulduklarında yarı ömürleri çok kısadır (15-20 dk). Fizyolojik aktivitelerinin çok çeşitli olması nedeniyle 6 adet bağlayıcı proteinle (IGFBP1-6) çok sıkı kontrol edilirler. Bağlayıcı proteinler dolaşımdaki IGF'ler için taşıyıcı proteinler olarak işlev görürler ve IGF'leri proteolitik degradasyondan koruyarak yarılanma ömürlerini uzatırlar (Jones & Clemmons, 1995). IGF turnoverını, taşınmasını, dokudaki dağılımını düzenleyerek IGF'lerin fizyolojik konsantrasyonlarını belirlerler (Hwa, Oh, & Rosenfeld, 1999;

Jones & Clemmons, 1995). Normal gebelik sürecinde serum IGF-1 ve IGFBP1 seviyesi düzenli olarak artar. Fetal sirkülasyonda uzayan IGFBP1 seviyesi IUBG'nin belirteçlerindedir. Bazı bağlayıcı proteinlerin IGF'leri uzaklaştırarak fetal büyümeyi kısıtladığı düşünülmektedir (Hills, English, & Chard, 1996). Bunlara ilaveten hedef dokularda IGF aktivitesini aktive veya inhibe ederek hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını, hayatta kalmasını ve göçünü düzenlerler (Firth & Baxter, 2002; Jones & Clemmons, 1995). Aynı zamanda IGF'lerin vasküler alandan dokuya taşınmasını kolaylaştırırlar. Dolaşımdaki IGF'lerin çoğu IGFBP'ler ile kompleks oluşturmuş şekilde bulunurlar. Bu kompleks IGF'ler için bir rezervuar görevi görür ve IGF-1'in yarı ömrünü arttırır (Rajaram, Baylink, & Mohan, 1997). Ek olarak IGFBP'ler hücre membranı veya ekstrasellüler matriks ile etkileşimde kalarak lokal IGF-1 seviyesini korurlar (Firth & Baxter, 2002).

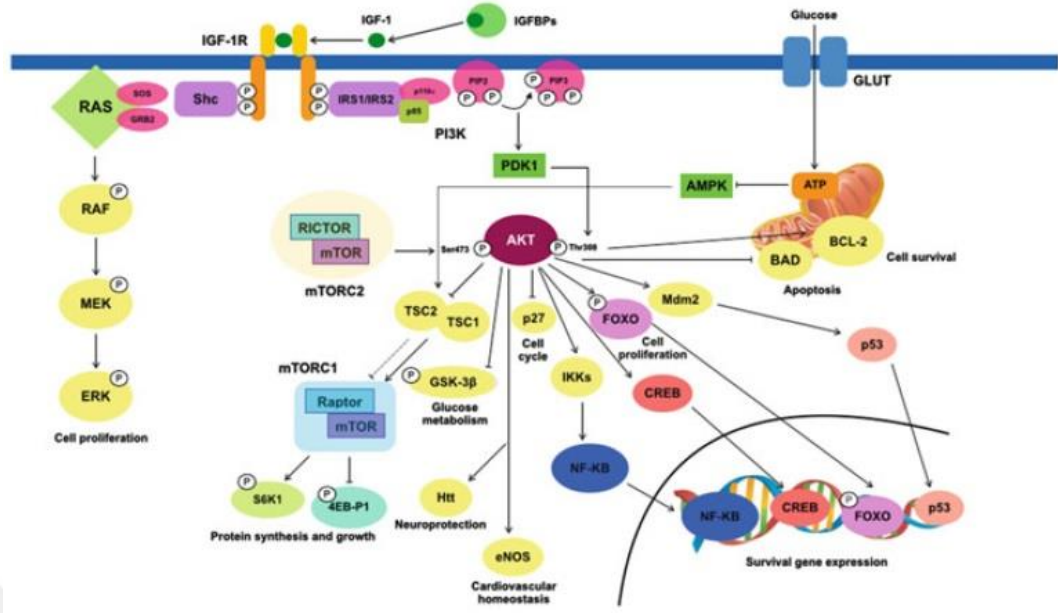
IGF-1 ve IGF-2 hedef hücre membranlarındaki reseptörlerine bağlanarak aktivite gösterirler. Üç tip IGF reseptörü vardır: İnsülin, Tip I IGF (IGF-1R) ve Tip II IGF mannoz-6-fosfat (M6F) reseptörü. IGF-1 ve IGF-2 daha çok IGF-1R ile etkileşimde bulunarak aktivite gösterir (Louvi, Accili, & Efstratiadis, 1997). IGF-1R, $\alpha_2\beta_2$ heterotetramer yapıda bir tirozin kinazdır. Ligandın bağlanması β alt ünitesinin intrasellüler domainindeki tirozin kalıntılarının fosforilasyonunu indükler ve IGF-1R aktive olur. Aktive olan IGF-1R insülin reseptör substrat 1 (IRS1) aracılığıyla hücre yaşamı, büyümesi ve proliferasyonu ile ilişkili olan PI3K (fosfotidilinozitol-3-kinaz)/Akt sinyal yolağını ve MAP-kinaz sinyal yolağını aktive eder (Annenkov, 2009; Chitnis, Yuen, Protheroe, Pollak, & Macaulay, 2008; Puche & Castilla-Cortázar, 2012). IGF tarafından aktive edilen sinyal yolları çeşitli moleküller aracılığıyla (Bcl-2, BAD, kaspaz-9, p53,...) hücrenin hayatta kalmasını sağlar (Jones & Clemmons, 1995).

2.2.2. IGF-1'in Sentezi, Salınımı ve Aktivitesi

IGF-1 bütün dokularda ekspresse edilmekle birlikte dolaşımdaki IGF-1'in esas kaynağı karaciğerdir (%75) (Ohlsson et al., 2009). IGF-1 sekresyonu hipofizden salınan Büyüme Hormonu (Growth Hormon-GH) ile stimüle edilirken, GH salınımı hipotalamustan salınan gonadotropin-salğılatıcı hormon (GnRH) ile

uyarılıp somatostatin ile inhibe edilir (Puche & Castilla-Cortázar, 2012). GH/IGF-1 eksenini IGF-1'in kendisi tarafından negatif feedback mekanizması ile düzenlenir. IGF-1, somatostatin ekspresyonunu stimüle ederek GH ekspresyonunu baskılar (Bertherat, Bluet-Pajot, & Epelbaum, 1995). Dolaşımdaki GH hem serbest olarak, hem de bağlayıcı proteinlere (GHBP) bağlı halde bulunur. Hepatik GH reseptörünün aktivasyonu IGF-1 üretimini ve kana karışmasını indükler. Prenatal IGF-1 ekspresyonu GH bağımsızdır ancak doğumdan kısa bir süre önce GH bağımlı hale gelir ve yaşam boyu da GH bağımlı kalır. IGF-1 dolaşımında serbest halde az miktarda bulunur, daha çok özellikle IGFBP3'e bağlı şekildedir. IGFBP3 dolaşımdaki IGF-1'in %90' ını bağlar (Ohlsson et al., 2009). IGF-1 ligand işlevi görür ve hücre membranındaki IGF-1R ile etkileşimde bulunur. Bu etkileşim otofosforilasyona neden olur ve IRS-1, IRS-2 ve Shc gibi adaptör proteinlerin varlığı gereklidir. Bir yandan IRS-1 ve IRS-2'nin IGF1R ile etkileşimi PI3 kinazı aktive eder ve PIP₂ PIP₃ e çevrilir. Akt sinyal yolağı PDK1 ve mTOR kompleksi tarafından aktive edilir ve GSK3 β , BAD, Bcl-2 gibi sinyal moleküllerin aktivitesi düzenlenir. Diğer yandan da ise MAP/ERK sinyal yolağı aktive olur (Şekil 1) (Martin-Estal, de la Garza, & Castilla-Cortazar, 2016).

IGF'lerin insüline benzer şekilde metabolik etkileri vardır. İskelet ve kas dokusunda kas büyümesini, gelişimini ve rejenerasyonunu kontrol eder (Florini, Ewton, & Coolican, 1996; Schiaffino & Mammucari, 2011), iskelet kasında protein sentezini stimüle eder (Velloso, 2008). IGF-1 karaciğerde lokal olarak hepatosit proliferasyonunu destekler, DNA sentezini hızlandırır ve karaciğer rejenerasyonunu tetikler (Desbois-Mouthon et al., 2006; Skrtic et al., 1997). Üreme ile ilgili süreçlerde de IGF-1' in önemli rolleri vardır. Granüloza hücrelerinin proliferasyonunu, oositin büyümesini ve steroidogenezi artırır (Silva, Figueiredo, & van den Hurk, 2009; Villalpando & Lopez-Olmos, 2003). IGF-1' in immün sistemin normal fonksiyonunu devam ettirmesi için de önemli bir moleküldür. Timus gelişiminde (Hadden, Malec, Coto, & Hadden, 1992), T lenfosit gelişiminde ve olgunlaşmasında (Walsh et al., 2002), B hücrelerinin farklılaşmasında (Landreth, Narayanan, & Dorshkind, 1992) rol alır.



Şekil 1. IGF sinyal yolağı (Martin-Estal et al., 2016)

2.2.3. İntrauterin Büyüme Geriliği ve IGF-1

Son yıllarda IUBG etkisinde gerçekleşen fetal programlamanın ve bunun uzun dönem sonuçlarının aydınlatılabilmesi için değişen GH/IGF aksının ve IGF sinyal yolağının incelenmesinin önemli olduğunu düşündüren çeşitli nedenler vardır. Birincisi IGF ve IGF-bağlayıcı proteinler (IGFBP) fetüste beslenme ile doğru orantılı olarak düzenlenir ve büyüme geriliği olan fetüs ve yeni doğanlarda GH/IGF aksında bozukluklar olduğu görülmüştür. İkinci neden erişkin dönemde düşük doğum ağırlığı ile ilişkili kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve osteoporoz gibi çeşitli hastalıkların çoğunda GH-IGF aksında ve IGF sinyal yolağındaki çeşitli moleküllerde anomaliler olduğu bilinmektedir (Holt, 2002).

İnsanda büyüme geriliği olan bir fetüsün endokrin çevresi dolaşımında düşük insülin, IGF-1, IGF-2 ve IGFBP3 seviyeleri ile karakterizedir (de Zegher, Francois, van Helvoirt, & Van den Berghe, 1997; Giudice et al., 1995). Konjenital IGF-1 eksikliği veya defekti ile doğan bebeklerde şiddetli IUBG, mental retardasyon, sağırlık, postnatal büyüme geriliği ve mikrosefali gelişimi olduğu rapor edilmiştir (Walenkamp et al., 2006; Woods, Camacho-Hubner, Barter, Clark, & Savage, 1997; Woods et al., 1996). Göbek kordonundaki IGF-

1 konsantrasyonunun da doğum ağırlığı ile körele olduğu gösterilmiştir (Gluckman, 1997).

Üçüncü trimesterin sonunda fetüste göbek kordonundaki serum IGFBP1 seviyesinin IUBG olan bebeklerde sağlıklı bebeklere oranla önemli miktarda artış olduğu gözlenmiştir. Fetal serum IGF-1 seviyesi ile doğum ağırlığı arasındaki pozitif korelasyonun aksine, IGFBP1 seviyesi doğum ağırlığı ile ters orantılıdır (Verhaeghe et al., 1993). IUBG olan bebekte IGFBP1 seviyesinin artması IGF-1' i bağlayarak fetusta büyümeyi inhibe ettiğine işaret edebilir. IUBG olan fetüste göbek kordonundan elde edilen serumunda IGFBP3' ün %50 oranında azaldığı gösterilmiştir (Giudice et al., 1995).

Bu veriler IUBG'nin oluşumunda, kısa ve uzun dönem etkilerinin ortaya çıkmasında IGF sinyal yolağının önemli bir modülatör olduğunu düşündürmektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Çalışmamızda Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yetiştirilen vücut ağırlığı yaklaşık 200-250 gram arasında değişen 4 aylık 40 adet Sprague-Dawley cinsi dişi genç sıçandan elde edilen 72 adet erkek yavru kullanılmıştır. %95 güven düzeyi %80 power ile yapılan power analizi sonucunda iki grup arası max ortalama fark 0.9, standart sapma 0.9 olduğunda her bir grupta en az 9 adet erkek yavru deneğin kullanılması gerektiği bulunmuştur. Hayvanlar deney süresince standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslendiler. Dişi ve erkek sıçanlar çiftleştirilip vajinal plak görüldüğü gün gebeliğin 0,5. günü olarak kabul edilmiştir. Deney grubundaki annelerde gebeliğin 19. gününde bilateral uterin arter ligasyonu uygulanmıştır. Sham grubundaki annelere cerrahi işlem uygulanmayıp sadece gebeliğin 19. gününde periton açılıp tekrar kapatılmıştır. Sham grubu aynı zamanda kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Sham ve deney gruplarındaki hayvanların normal doğum yapmaları beklenmiş ve doğan erkek yavrular 2., 4., 8. ve 16. hafta olarak gruplandırılmıştır. Her bir grup için belirtilen haftalarda hayvanlara intraperitoneal yolla 5 mg/kg ve 80 mg/kg ketamin verilerek anestezi altında uygun yöntemlerle kalpten kan örnekleri alınmış ve karaciğer dokuları çıkarılmıştır. Çalışma için Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 26. 05. 2016 tarih ve 2016/140 Sayılı onay belgesi alınmıştır (Ek-1).

Deney Grupları

Sham-2 (S2): Sham grubundaki annelerden doğan erkek yavrulardan rastgele 9 adet alınmış ve sham 2. hafta grubu oluşturulmuştur. 2 haftanın sonunda deney sonlandırılmıştır.

Sham-4 (S4): sham grubundaki annelerden doğan erkek yavrulardan rastgele 9 adet alınmış ve sham 4. hafta grubu oluşturulmuştur. 4 haftanın sonunda deney sonlandırılmıştır.

Sham-8 (S8): Sham grubundaki annelerden doğan erkek yavrulardan rastgele 9 adet alınmış ve sham 8. hafta grubu oluşturulmuştur. 8 haftanın sonunda deney sonlandırılmıştır.

Sham-16 (S16): Sham grubundaki annelerden doğan erkek yavrulardan rastgele 9 adet alınmış ve sham 16. hafta grubu oluşturulmuştur. 16 haftanın sonunda deney sonlandırılmıştır.

Deney-2 (D2): Deney grubundaki annelerden doğan erkek yavrulardan rastgele 9 adet alınmış ve deney 2. hafta grubu oluşturulmuştur. 2 haftanın sonunda deney sonlandırılmıştır.

Deney-4 (D4): Deney grubundaki annelerden doğan erkek yavrulardan rastgele 9 adet alınmış ve deney 4. hafta grubu oluşturulmuştur. 4 haftanın sonunda deney sonlandırılmıştır.

Deney-8 (D8): Deney grubundaki annelerden doğan erkek yavrulardan rastgele 9 adet alınmış ve deney 8. hafta grubu oluşturulmuştur. 8 haftanın sonunda deney sonlandırılmıştır.

Deney-16 (D16): Deney grubundaki annelerden doğan erkek yavrulardan rastgele 9 adet alınmış ve deney 16. hafta grubu oluşturulmuştur. 16 haftanın sonunda deney sonlandırılmıştır.

3.2. Histopatolojik Yöntem

Çıkarılan karaciğer dokularının bir parçası %10'luk tamponlanmış nötral formalin içerisinde fikse edildi. Doku takip cihazı içerisinde yoğunlukları giderek artan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilip, ksilol ile şeffaflaştırıldı. Daha sonra parafin içerisinde gömülerek elde edilen bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitlerin Hematoksilen-Eozin yöntemi ile boyanarak ışık mikroskobu (Nikon Eclipse i5 ışık mikroskobu; Nikon Instruments Inc., Tokyo, Japan) ile incelenip fotoğraflanmıştır (Nikon NIS Elements version 4.0 görüntüleme analiz sistemi; Nikon Instruments Inc., Tokyo, Japan).

3.3. İmmünohistokimyasal Yöntem

Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığında kesitler 1 gece boyunca 37°C'lik etüvde bekletilmiş, deparafinize etmek amacıyla ksilende 3x5 dakika tutulmuş, %100 alkol ve %96'lık alkolde 10 dakika bekletildikten sonra metanol ile hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletilerek endojen enzim blokajı yapılmıştır. Önce musluk suyunda sonra distile suda yıkama işleminden sonra antijen geri kazanımı için EDTA (etilen diamin tetra asetik asid) tamponda 20 dakika 200 W mikrodalgaya maruz bırakılmıştır. Kesitler oda ısısında soğutulduktan sonra PBS ile 3x5 dakika yıkanmıştır. Bloklama solüsyonunda (Histostain-Plus 3rd Gen IHC Detection Kit, Thermo Fisher Scientific) 10 dakika bekletildikten sonra IGF-1 primer antikorunda (1:100, Santa Cruz Biotechnology) ve IGF-1Rα primer antikorunda (1:100, Santa Cruz Biotechnology) 1 gece boyunca +4 °C ' de bekletilmiştir. Kesitler 3 kere 5'er dakika PBS'de yıkandıktan sonra biotinlenmiş sekonder antikorda (Histostain-Plus 3rd Gen IHC Detection Kit, Thermo Fisher Scientific) 20 dakika, PBS ile yıkamadan sonra, streptoavidin peroksidazda (Histostain-Plus 3rd Gen IHC Detection Kit, Thermo Fisher Scientific) 10 dk tutulup PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra DAB kromojende (Histostain-Plus 3rd Gen IHC Detection Kit, Thermo Fisher Scientific) 5 dk bekletilip distile su ile yıkama işleminden sonra Hematoksilen ile 30 saniye boyanmış, yıkama işlemi yapılmıştır. %100 alkol ve %96 alkolde 30 saniye, ksilende 3 dakika bekletildikten sonra jel (Histomount Mounting Solution, Thermo Fisher Scientific) ile kapatılmıştır. Boyanan kesitler ışık mikroskobu (Nikon Eclipse i5 ışık mikroskobu; Nikon Instruments Inc., Tokyo, Japan) ile incelenip fotoğraflanmıştır (Nikon NIS Elements version 4.0 görüntüleme analiz sistemi; Nikon Instruments Inc., Tokyo, Japan).

3.4. Western Blot Yöntemi

3.4.1. Protein İzolasyonu

Deney sırasında alınan taze karaciğer dokuları -80°C'de saklanmıştır. Analiz öncesi, donmuş doku örnekleri küçük parçalara ayrılıp aynı gruptaki örnekler bir araya getirilmiş ve üzerlerine 8-10 adet paslanmaz çelik boncuklar ve proteaz ve fosfataz inhibitör karışımı ilave edilmiş olan ripa tampon çözeltisi (sc-24948,

Santa Cruz) eklenerek örnekler homojenize edilmiştir. Örneklerin protein konsantrasyonları Qubit protein analiz kiti (Q33211, Invitrogen Life Technologies Corporation), ve Qubit 3.0 Fluorometer cihazı (Invitrogen Life Technologies Corporation) kullanılarak hesaplanmıştır. Protein ölçümü yapılacak olan 8 farklı grup (S2, S4, S8, S16, D2, D4, D8 ve D16) ve Qubit cihazının kalibrasyonunun yapılması için kullanılan 3 farklı standart solüsyonu olmak üzere toplam 11 örnek için Qubit tampon solüsyonu hazırlanmıştır. Örnekler 3-4 saniye vorteks yapıldıktan sonra 15 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında Qubit 3.0 cihazı ile örneklerin protein konsantrasyonları hesaplanmıştır. Protein konsantrasyonu belirlenen 8 adet örnekten her biri için 20 µg protein karışımı 2.5 ml 4X lamelli tampon solüsyonu (B0007, Thermo Fisher Scientific) ve kalanı ddH₂O olacak şekilde hazırlanan 10 µl protein karışımı 10 dk süresince 70°C' de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında örnekler jel elektroforez yapılıncaya kadar +4°C buz üzerinde bekletilmiştir.

3.4.2. Jel Elektroforezi ve Protein Transferi

Örnekler ve protein standartı (SeeBlue2 Prestained Standart, Invitrogen by Thermo Fisher Scientific) dikey jel sistemi (Novex by Life Technologies) elektroforez düzeneğinde hazır %4-12'lik Bis-Tris Gradient jeline (NW04122BOX, Invitrogen by Thermo Fisher Scientific) yüklenerek yürütme çözeltisi (NUPAGE MES SDS Running Buffer, Invitrogen by Thermo Fisher Scientific) içinde 200 volt' ta yürütülmüştür. Jel, Iblot transfer stack kullanılarak PVDF membrana (NP0321BOX, Invitrogen by Thermo Fisher Scientific) aktarılmıştır. Iblot Dry Blotting Sistem (Life Technologies) kullanılarak P3 programında 7 dakikada transfer işlemi yapılmıştır. Aktarmanın gerçekleşip gerçekleşmediğini anlamak için membranlar Ponceu S boyama çözeltisi ile boyanmıştır. Protein bantları gözlemlendikten sonra membran distile su ile yıkanmıştır.

3.4.3. Antikor ile İnkübasyon ve Görüntüleme

Membrana, TBST (137 mM NaCl, 20 mM Tris, %0.1 Tween-20) içinde çözülmüş %5'lik süt tozu eklenerek oda sıcaklığında 1 saat çalkalayıcıda

bloklama işlemi yapılmıştır. Membranlar %5 süt tozu içeren TBST içinde çözünen primer antikorlar 1: 1000 oranında dilüe edilerek (IGF-1, Santa Cruz; IGF-1R α , Santa Cruz; IGFBP1, Santa Cruz; p-AKT, Cell Signaling; t-AKT, Cell Signaling; p-PTEN, Cell Signaling; tPTEN, Cell Signaling; pGSK3- α/β , Cell Signaling; t-GSK3- α/β , Cell Signaling; β -acti, Cell Signaling) 4°C'de 16 saat boyunca çalkalayıcıda inkübe edilmiştir. Ertesi gün membranlar 3 kere beş dakika TBST ile yıkanıp, 5% süt tozu içeren TBST'de çözünen HRP bağlı sekonder antikorlar (anti-rabbit 1:5000, Advansta; anti-mouse 1:5000, Advansta) ile 1 saat oda sıcaklığında çalkalayıcıda inkübe edilmiştir. Membranlar 3 kere beş dakika TBST ile yıkanmıştır. ECL Western görüntüleme solüsyonu (Western Bright Srios K-12043-D10, Advansta) kullanılarak membran görüntüleri alınmış, elde edilen jel görüntüleri bilgisayar programı (Image J; National Institute of Health) ile analiz edilmiştir.

3.5. rt-PCR Yöntemi

3.5.1. RNA İzolasyonu

Dondurulmuş dokular 37°C su banyosunda çözdürülmüş ve ardından tartım yapılarak 30 mg'lık örnekler hazırlanmıştır. İçerisinde bilye bulunan homojenizasyon tüplerine 300 μ l lizis buffer ve tartılan 30 mg doku örneği eklenmiş, homojenizatörde 20 saniye parçalanmıştır. Elde edilen homojenat yeni 1,5 ml'lik tüpe alınmış ve üzerine 600 μ l dilüe Proteinaz K (10 μ l proteinaz K, 590 μ l TE buffer) eklenip vortekslenmiştir. Ardından oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İnkübasyondan alınan tüp 12000 g'de 10 dakika santrifüj (Hettich, Melle) edilmiştir. Elde edilen süpernatant yeni tüpe alınmış ve üzerine 450 μ l absolut etanol eklenip pipetaj yapılmıştır. Kit (GeneJET RNA Purification Kit, Thermo Scientific) içeriğinde bulunan filtreli tüp toplama tüpü içerisine yerleştirilmiş ve lizat filtreli tüpe aktararak 12000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Filtreli tüp üzerine 700 μ l yıkama tamponu 1 (Wash Buffer 1) eklenip 12000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Filtreli tüp üzerine 600 μ l yıkama tamponu 2 (Wash Buffer 2) eklenip 12000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiş ve işlem tekrarlanmıştır. Filtreli tüp yeni bir 1,5 ml'lik eppendorf tüp içerisine alınmış ve üzerine 100 μ l Nükleaz içermeyen su eklenip 12000 g'de 1

dakika santrifüj edilmiş ve total RNA alttaki tüp içerisinde toplanmıştır. RNA'ların saflığı ve konsantrasyonu spektrometrik (Thermo Scientific Multiskan GO Spektrofotometre) ölçümle kontrol edildikten sonra cDNA dönüşümü yapılarına kadar -80°C'de saklanmıştır.

3.5.2. Total RNA'dan cDNA Eldesi

Kitin içeriği (qScript cDNA Synthesis Kit, Quanta Bioscience) ve RNA buz üzerinde çözdürülmüş, kısaca vortekslenmiş (Stuart, Staffordshire) ve santrifüj edilmiştir. cDNA dönüşümü için gerekli tepkime bileşenleri Tablo 1.1' e göre hazırlanmıştır. Tepkime tüpü vortekslenmiş ve 10 saniye santrifüj yapılarak toplanmıştır. Isı döngü cihazında (Bio-Rad) sırasıyla 22°C'de 5 dakika, 42°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Ardından tepkimenin sonlanması için 85°C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Elde edilen cDNA'lar rt-PCR işlemine kadar -20°C'de saklanmıştır.

Tablo 1.1. cDNA için kullanılan tepkime bileşenleri

Reaktif	Miktar
Total RNA	1 µg
5X qScript reaksiyon mix	4 µl
qScript RT enzim	1 µl
Nükleaz içermeyen su	Toplam miktar 20 µl olacak şekilde eklenmiştir.

3.5.3. rt-PCR ile Gen İfade Düzeylerinin Belirlenmesi

PCR ana karışımı (SensiFAST™ SYBR No-ROX Kit, Biorline) Tablo 1.2' de verilen miktarlara göre hazırlanmıştır. IGF-1, IGF-1Rα ve IGFBP1 primerlerin (Sentegen Biotech) dizisi Tablo 1.3'de verilmiştir. Housekeeping gen olarak GAPDH kullanılmıştır. Hazırlanan reaksiyonlar Tablo 1.4'de verilen koşullarda

Bio-Rad CFX96 cihazında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler kat farkı yöntemi ile analiz edilmiştir.

Tablo 1.2. PCR ana karışımı

Kimyasal	Hacim
2x SensiFAST SYBR No-ROX mix	10 µl
10 µM forward primer	0,8 µl
10 µM reverse primer	0,8 µl
cDNA	5 µl
dH ₂ O	3,4 µl
Toplam hacim	20 µl

Tablo 1.3. Kullanılan primer dizileri

Amplikon	Forward Primer	Reverse Primer
<i>IGF-1</i>	5'- GCATCTCTTCTACCTGGCGC TG -3	5'-CAGGCTTGAGGGGTGCGCAATA -3'
<i>IGF1-Ra</i>	5'- GTAGCTTGCCGCCACTACTACT -3'	5'- GGAGCATCTGAGCAGAAGTAACAGA -3'
<i>IGFBP</i>	5'- ACCTCAAGAAATGGAAGGAGC C-3'	5'-CACTCCATGGGTAGACACACC-3'

Tablo 1.4. PCR reaksiyonları

Döngü Sayısı	Sıcaklık	Zaman
1	95°C	2 dakika
40	95°C	5 saniye
	57-59°C	10 saniye
	72°C	15 saniye

3.6. ELISA Yöntemi

Kalpten alınan kan örnekleri 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen serum örnekleri -80°C' de saklanmıştır. Analizden bir gece önce -20 °C'ye alınmış, analiz sabahında da +4 °C'ye alınarak kademeli olarak çözdürülmüştür. Analiz öncesinde tüm örnekler oda sıcaklığında 3-4 saniye vorteks ve spin yapılmış IGF-1 ve GH seviyeleri ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory) ile kit içerisindeki protokole göre çalışılmıştır.

3.7. İstatistiksel Analiz

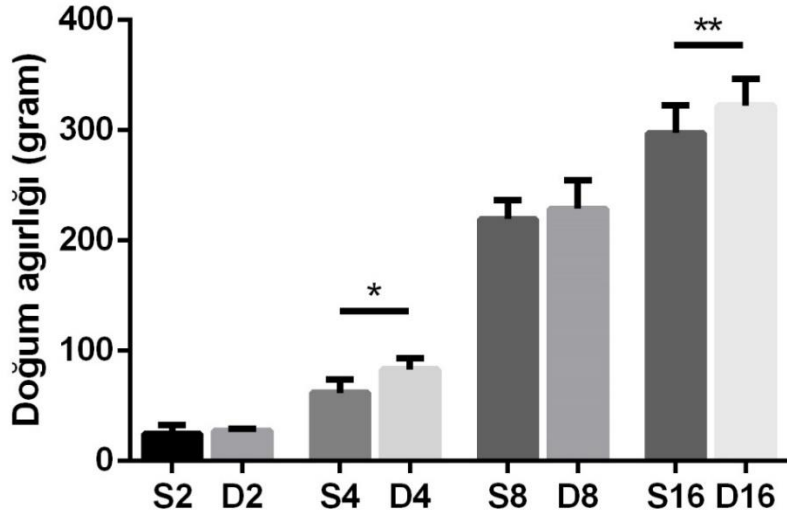
İstatistiksel analiz SPSS Version 17.0 programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analizler için One-Way ANOVA yöntemi ve Fisher's Exact testi kullanılmıştır. P<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada gebeliğin 19. gününde bilateral uterin arter ligasyonu uygulanarak IUBG modeli oluşturulan sıçanlardan ve kontrol grubu olarak kullanılan sham grubu gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların postnatal 2., 4., 8. ve 16. haftalarda karaciğer dokularında genel histopatolojik inceleme yapılmış, IGF-1 ve IGF-1R α moleküllerinin immünohistokimyasal yöntem ile lokalizasyonları belirlenmiş, IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1, Akt, PTEN ve GSK3 α/β proteinlerinin western blot yöntemi ile analizi gerçekleştirilmiş, IGF-1, IGF-1R α ve IGFBP1 moleküllerinin protein ekspresyonları rt-PCR yöntemi ile belirlenmiş ve serum IGF-1 ve GH seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Tüm veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4.1. Doğum Ağırlıklarının Karşılaştırılması

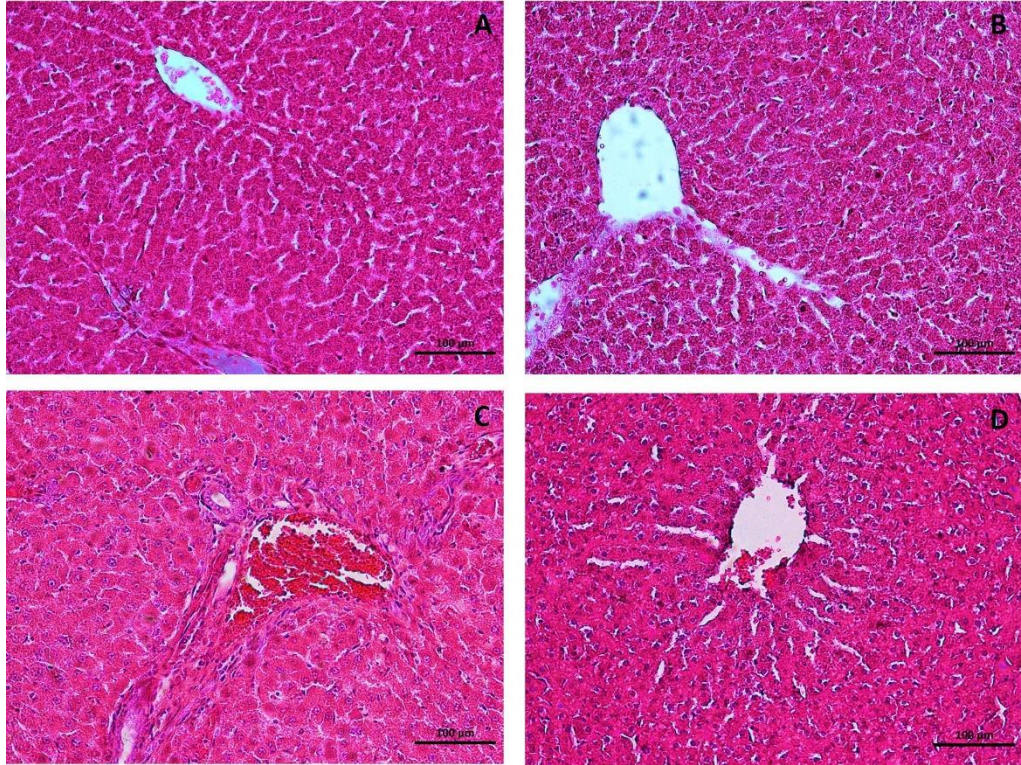
Çalışmamızda 2. haftada sham ve deney grupları arasında fark görülmemiştir. 4., 8. ve 16. haftalarda ise deney grubunda sham grubuna oranla doğum ağırlıklarının arttığı gözlemlenmiştir. 4. ve 8. haftalar arasındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (*p<0.05, **p<0.01) (Şekil 2).



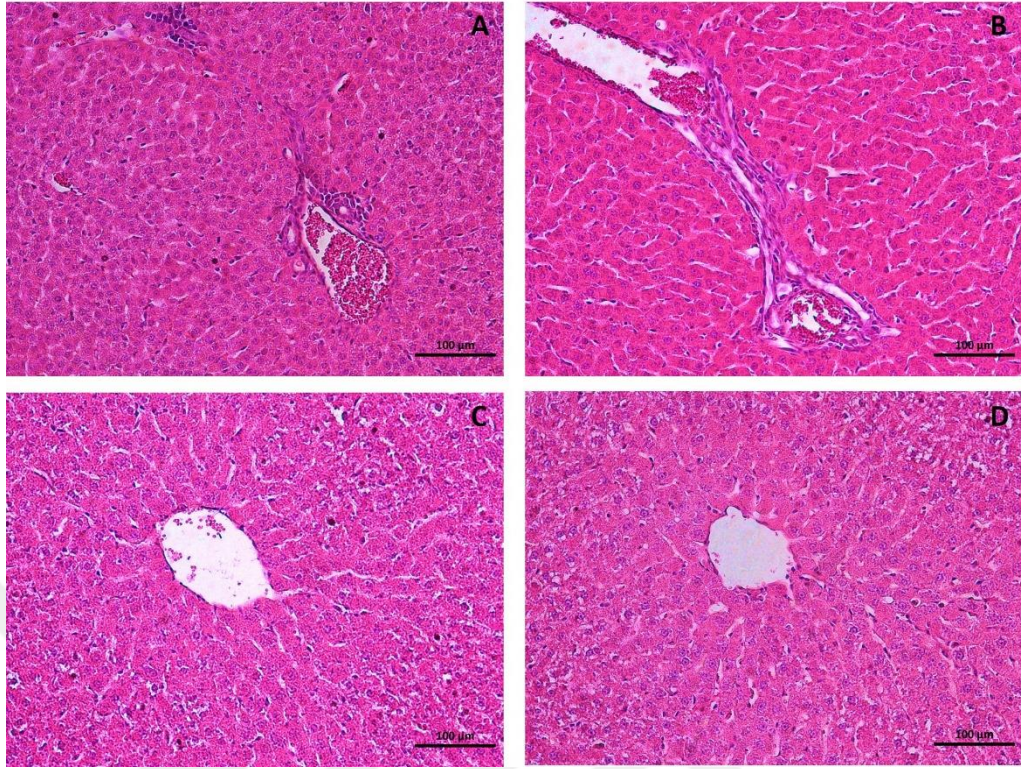
Şekil 2. Sham ve deney gruplarına ait doğum ağırlıkları (*p<0.05, **p<0.01)

4.2. Histopatolojik Bulgular

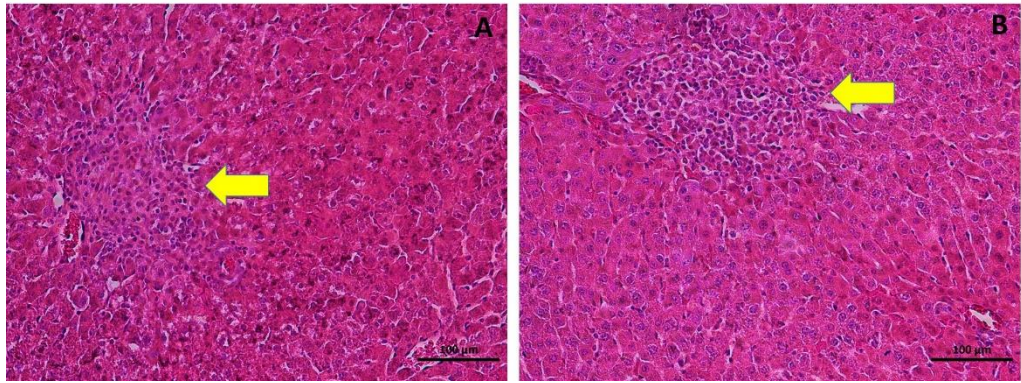
Sham gruplarında (S2, S4, S8 ve S16) (Şekil 3-A,B, C, D) ve deney gruplarında (D2, D4, D8 ve D16) (Şekil 4-A, B, C, D) karaciğer dokuları normal histopatolojik görünümdeydi. D4 grubundaki karaciğer dokularında genel olarak normal histopatolojik görünüm olmakla birlikte 2 adet hayvanda az sayıda izole atipik hücre grupları bulunduğu görüldü (Şekil 5-A, B).



Şekil 3. Sham grubu karaciğer dokularına ait ışık mikroskopik bulgular. A:S2 grubu, B; S4 grubu, C: S8 Grubu, D: S16 grubu. H-E, 20X.



Şekil 4. Deney grubu karaciğer dokularına ait ışık mikroskopik bulgular. A:D2 grubu, B; D4 grubu, C: D8 Grubu, D: D16 grubu. H-E, 20X.

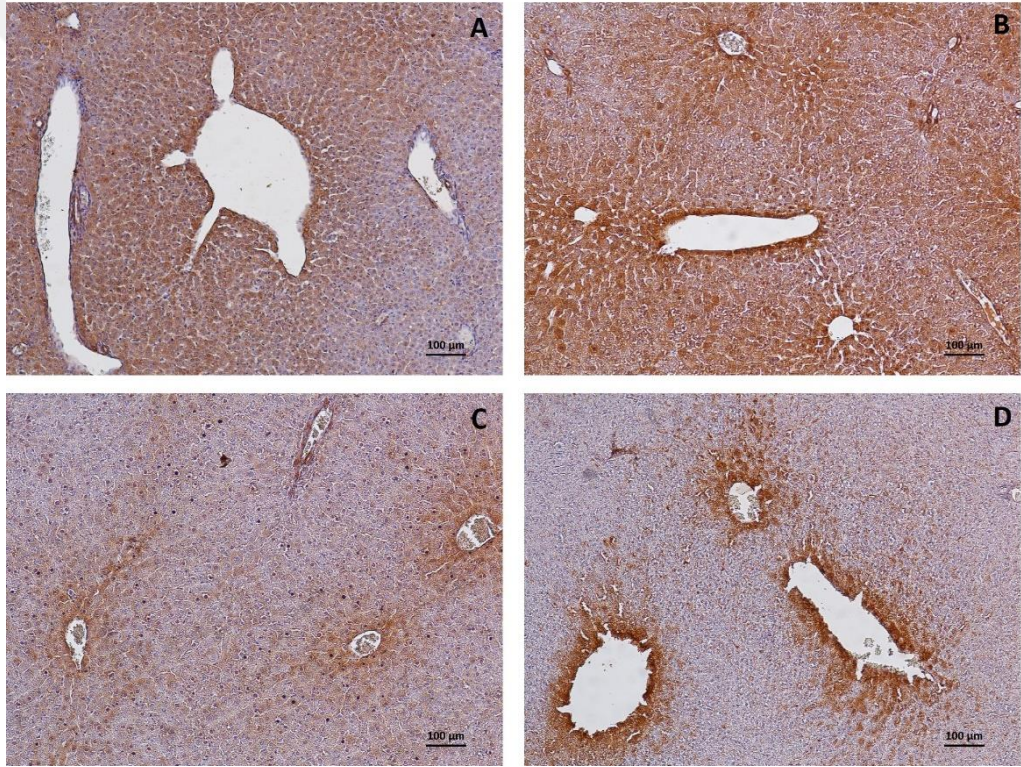


Şekil 5. D4 grubuna ait karaciğer dokularında izole atipik hücre grupları (sarı ok). H-E, 20X.

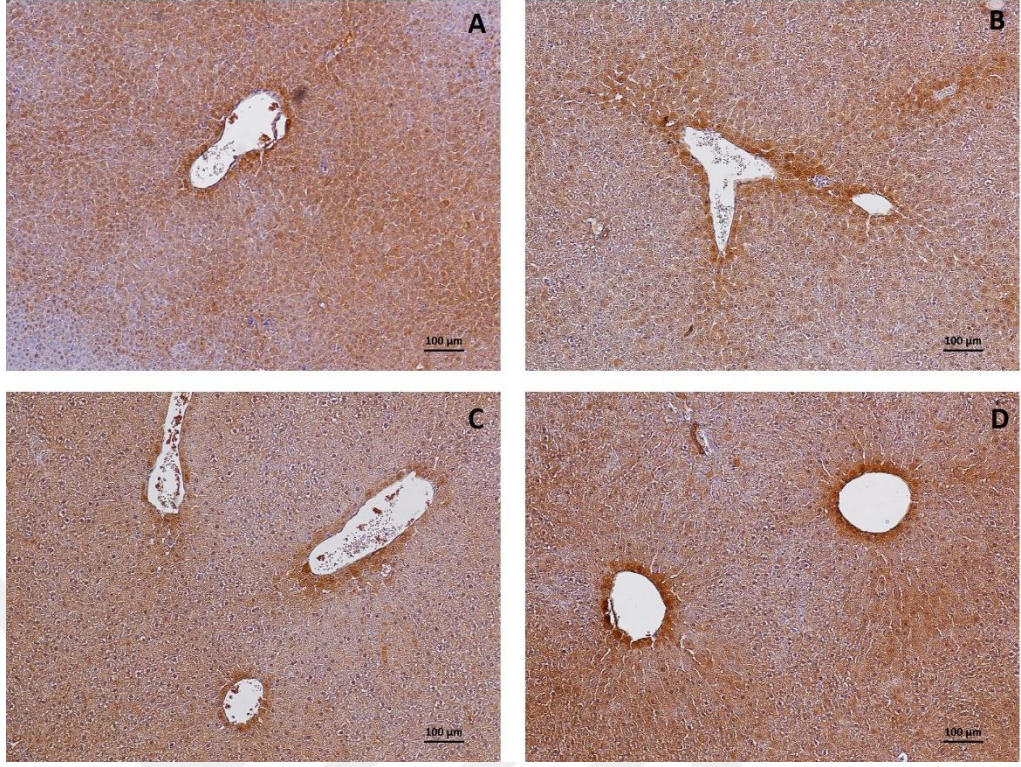
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.3.1. IGF-1 İmmüno lokalizasyonu

Sham grubunda 2. ve 4. haftalarda alandaki tüm hepatositlerde yoğun bir boyanma olduğu gözlemlendi (Şekil 6-A, B). Sham grubu 8. ve 16. haftalarda ise hepatositlerde orta derecede boyanma olduğu, periportal ve perivenöz alanlardaki hepatositlerde boyanmanın yoğunluğunun daha fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 6-C, D). Deney grubunda 2., 4. 8. ve 16. haftalarda tüm hepatositlerde orta yoğunlukta boyanma olduğu (Şekil 7-A, B), periportal ve perivenöz alanlardaki hepatositlerde ise boyanma yoğunluğunun daha fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 7-C, D).



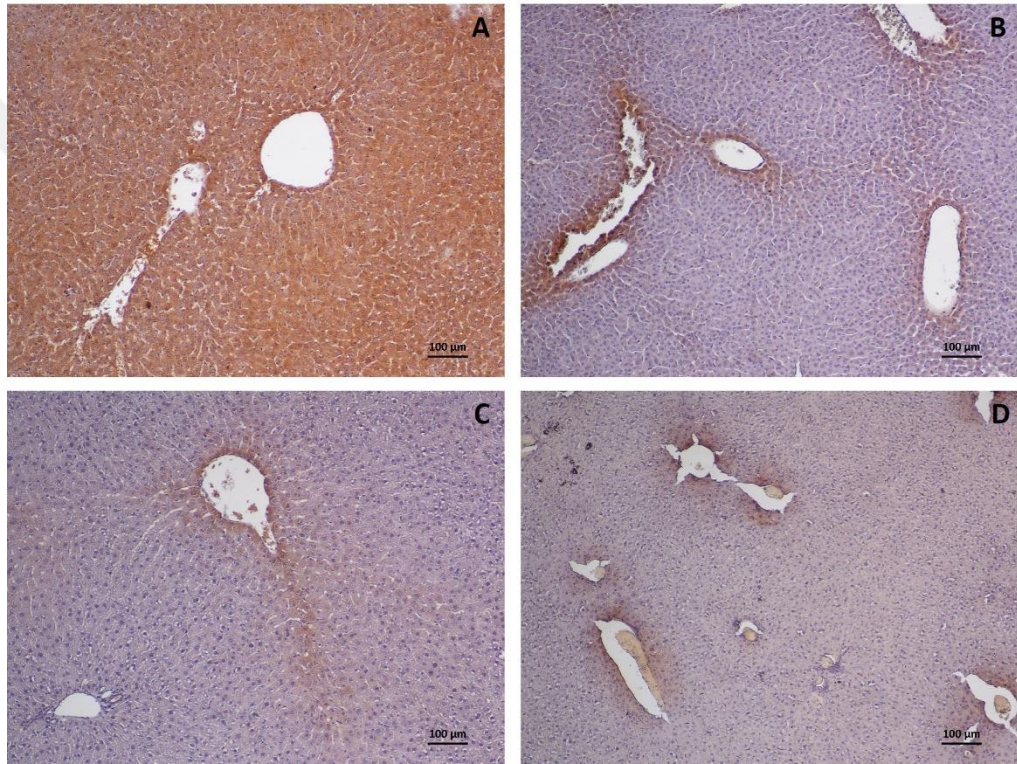
Şekil 6: Sham grubu karaciğer dokularında IGF-1 immüno lokalizasyonu. A: S2 grubu, B: S4 grubu, C: S8 Grubu, D: S16 grubu. 10X.



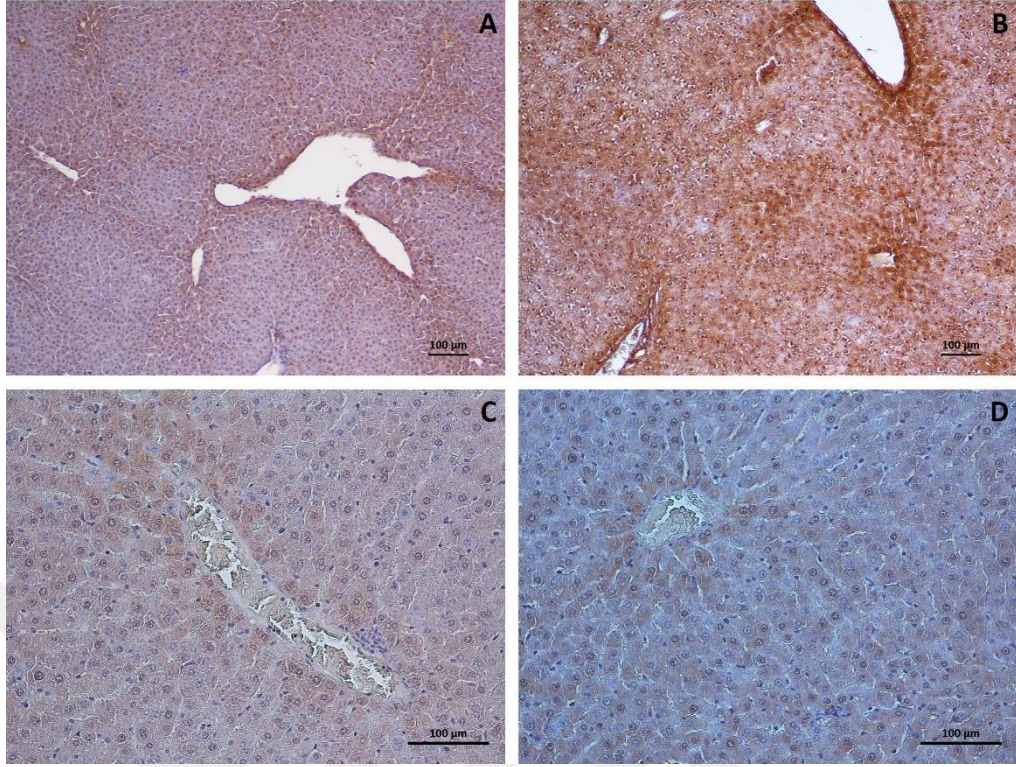
Şekil 7: Deney grubu karaciğer dokularına IGF-1 immünolokalizasyonu. A: D2 grubu, B; D4 grubu, C: D8 Grubu, D: D16 grubu. 10X.

4.3.2. IGF-1R α İmmüno­lokalizasyonu

Sham 2. hafta grubunda alandaki tüm hepatositlerde çok yoğun bir boyanma olduğu göz­lendi (Şekil 8-A). Sham 4., 8. ve 16. hafta gruplarında hepatositlerde zayıf boyanma olduğu, periportal ve perivenöz alandaki hepatositlerde çok yoğun boyanma olduğu göz­lendi (Şekil 8-B, C, D). Deney 2. ve 4. haftalarda hepatositlerde yoğun boyanma göz­lenirken (Şekil 9-A, B), 8. ve 16. haftalarda boyanma yoğunluğunun az miktarda periportal ve perivenöz olduğu göz­lemlendi (Şekil 9-C, D).



Şekil 8. Sham grubu karaciğer dokularında IGF-1R α immüno­lokalizasyonu. A:S2 grubu, B; S4 grubu, C: S8 Grubu, D: S16 grubu. 10X.

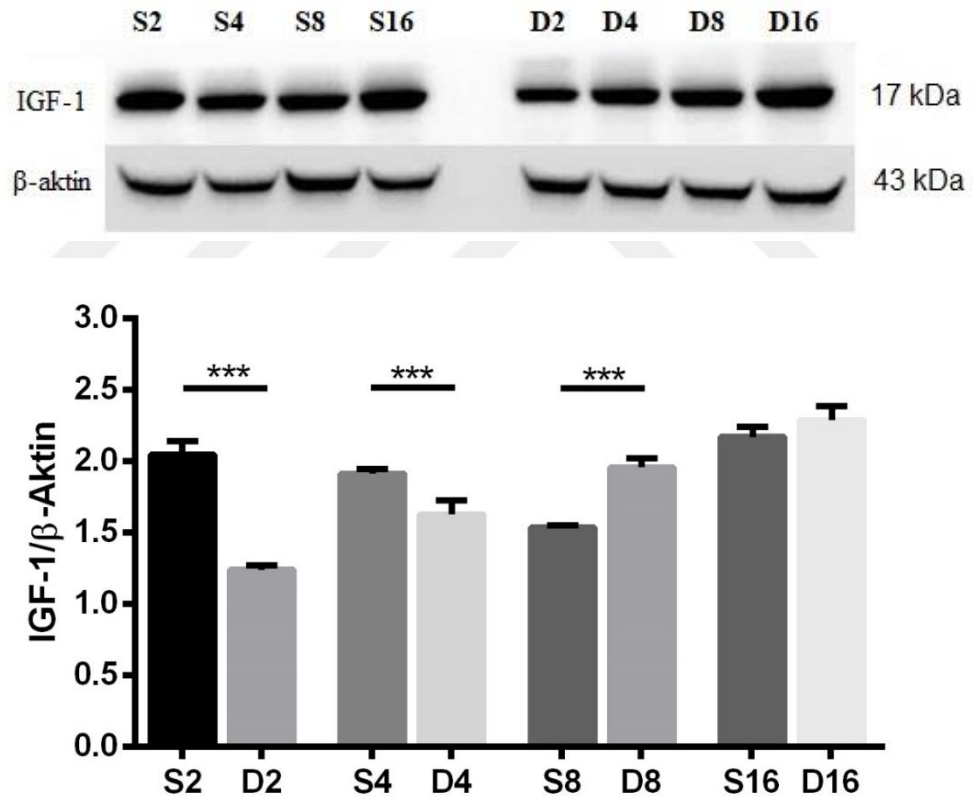


Şekil 9. Deney grubu karaciğer dokularında IGF-1R α immünolokalizasyonu. A:D2 grubu, B; D4 grubu, C: D8 Grubu, D: D16 grubu. (A, B 10X; C, D 20X).

4.4. Western Blot Bulguları

4.4.1. IGF-1 protein analizi

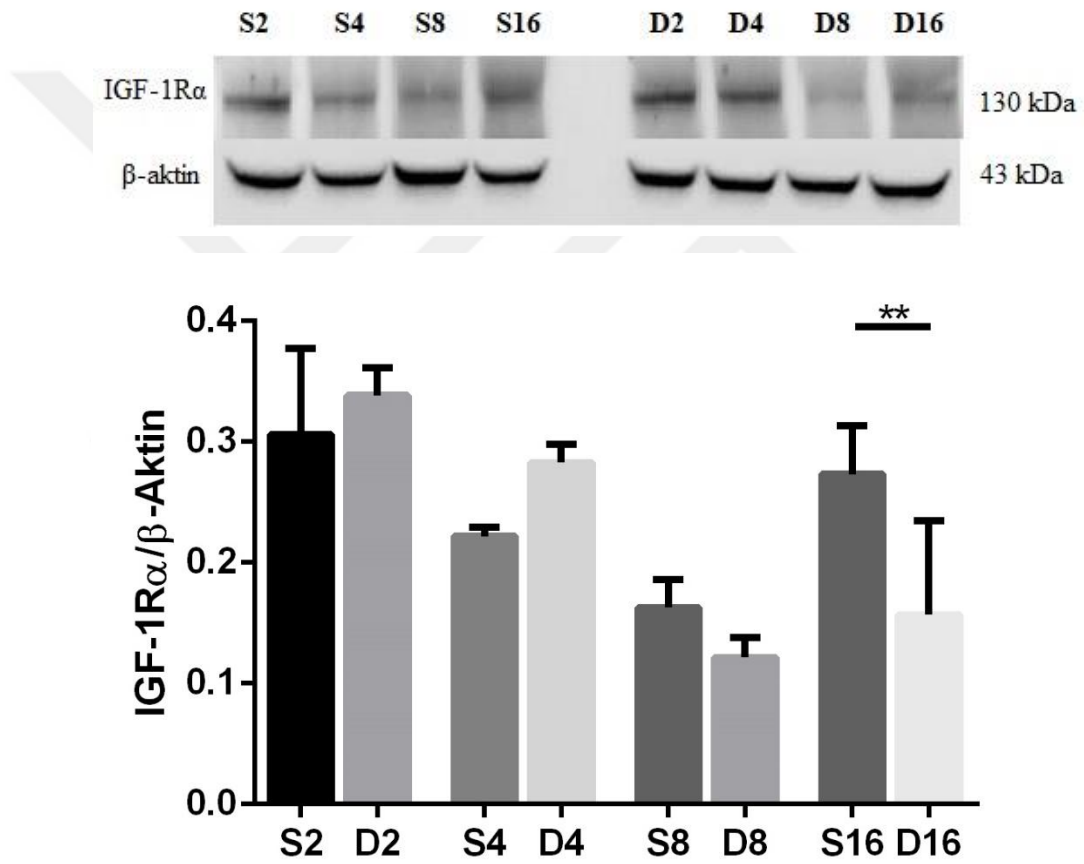
Deney gruplarında IGF-1 proteini miktarı Western Blot yöntemi ile değerlendirilmiştir. Protein miktarı kontrolü β -aktin proteini kullanılarak yapılmıştır. 2. ve 4. haftalarda sham gruplarında IGF-1 seviyesinin deney gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0.001$ S2-D2 ve S4-D4 arasında). 8. haftada D8 grubunda S8 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış olduğu ($p < 0.001$) gözlemlenmiştir. 16. haftada ise D16 grubunda S16 grubuna oranla az miktarda artış olduğu gözlemlenmiştir fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 10).



Şekil 10. IGF-1 protein seviyesi. *** $p < 0.001$.

4.4.2. IGF-1R α protein analizi

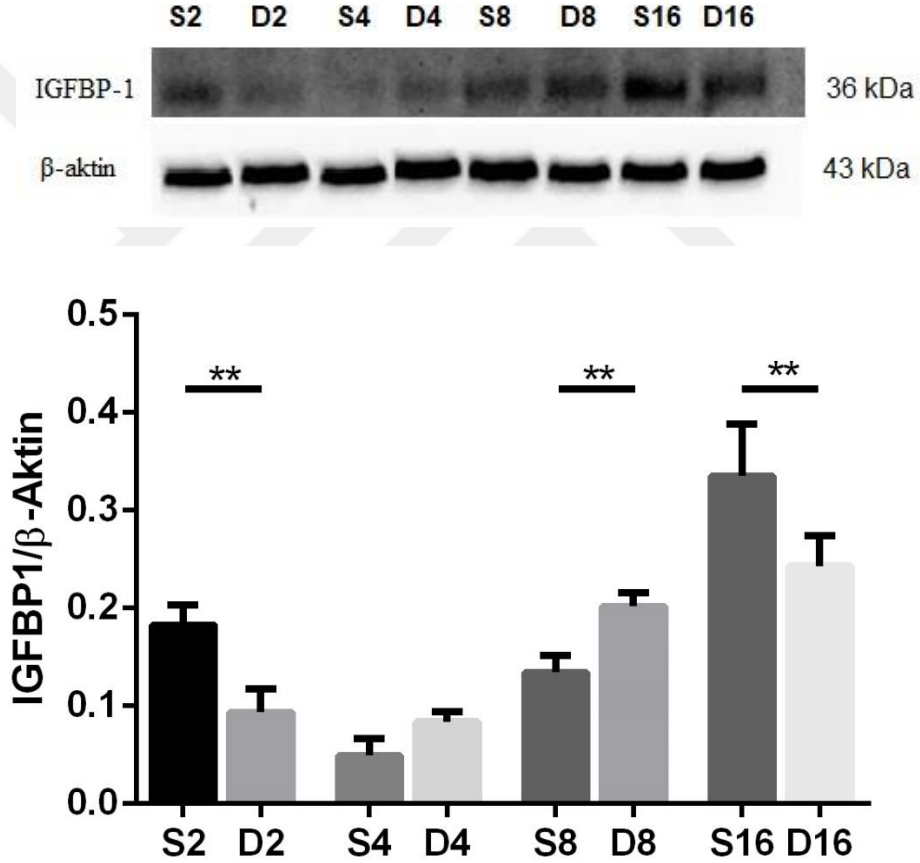
Deney gruplarında IGF-1R α proteini miktarı Western Blot yöntemi ile değerlendirilmiştir. Protein miktarı kontrolü β -aktin proteini kullanılarak yapılmıştır. S2 ve S4 gruplarında D2 ve D4 gruplarına oranla IGF-1R α seviyesinin azaldığı gözlemlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildir. S8 grubunda D8 grubuna göre IGF-1R α seviyesinde artış gözlemlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir. S16 grubunda D16 grubuna göre IGF-1R α seviyesi istatistiksel olarak anlamlı seviyede artmıştır ($p < 0.01$) (Şekil 11).



Şekil 11. IGF-1R α protein seviyesi. ** $p < 0.01$.

4.4.3. IGFBP1 protein analizi

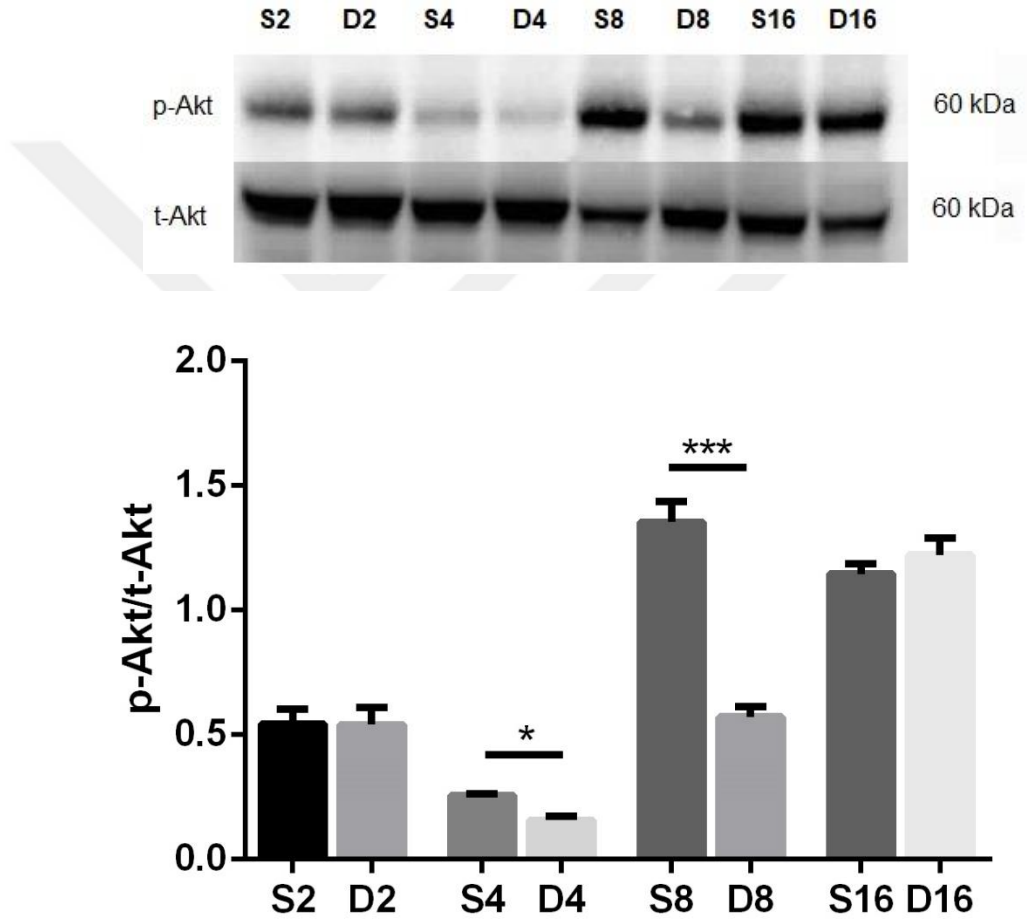
Deney gruplarında IGFBP1 proteini miktarı Western Blot yöntemi ile değerlendirilmiştir. Protein miktarı kontrolü β -aktin proteini kullanılarak yapılmıştır. S2 grubunda D2 grubuna oranla IGFBP1 seviyesi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır ($p<0.01$). S4 grubunda D4 grubuna göre IGFBP1 seviyesi azalmıştır fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir. S8 grubunda D8 grubuna oranla IGFBP1 seviyesi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalmıştır ($p<0.01$). S16 grubunda IGFBP1 seviyesi D16 grubuna göre istatistiksel olarak artış gözlemlenmiştir ($p<0.01$) (Şekil 12).



Şekil 12. IGFBP1 protein seviyesi. ** $p<0.01$.

4.4.4. Akt protein analizi

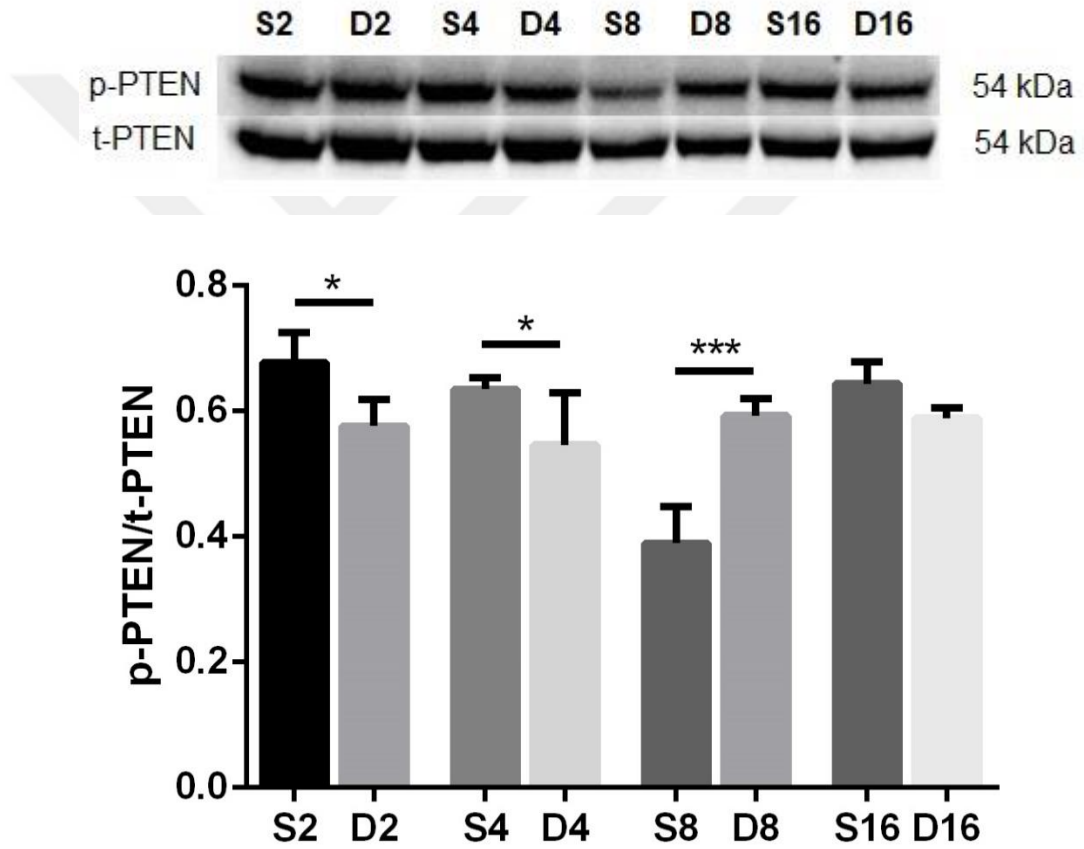
Deney gruplarında p-Akt/t-Akt proteini miktarı Western Blot yöntemi ile değerlendirilmiştir. S2 grubunda p-Akt/t-Akt protein seviyesi D2 grubu ile yaklaşık olarak aynıdır. S4 grubunda D4 grubuna oranla, S8 grubunda D8 grubuna oranla p-Akt/t-Akt protein seviyesi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.001$). S16 grubunda p-Akt/t-Akt protein seviyesi az miktarda azalmış olup istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 13).



Şekil 13. Akt protein seviyesi. * $p<0.05$, *** $p<0.001$.

4.4.5. PTEN protein analizi

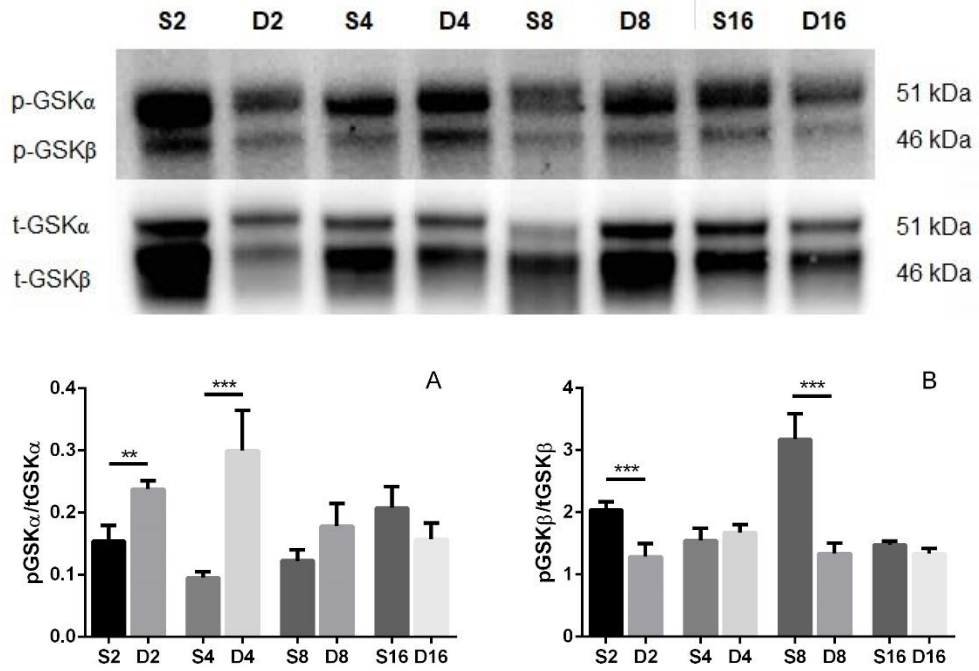
Deney gruplarında p-PTEN/t-PTEN proteini miktarı Western Blot yöntemi ile değerlendirilmiştir. S2 ve S4 grupların D2 ve D4 gruplarına oranla p-PTEN/t-PTEN seviyesi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır (* $p < 0.05$). S8 grubunda p-PTEN/t-PTEN seviyesi D8 grubuna göre istatistiksel olarak önemli oranda azalmıştır (** $p < 0.001$). S16 grubunda p-PTEN/t-PTEN seviyesi D16 grubuna göre az miktarda artış gözlemlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamaktadır (Şekil 14).



Şekil 14. PTEN protein seviyesi. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

4.4.6. GSK3 α/β protein analizi

Deney gruplarında p-GSK3 α /t-GSK3 α ve p-GSK3 β /t-GSK3 β protein miktarları Western Blot yöntemi ile değerlendirilmiştir. p-GSK3 α /t-GSK3 α protein seviyesi S2 grubunda D2 grubuna (**p<0.01), S4 grubunda D4 grubuna (p<0.001), S8 grubunda D8 grubuna oranla (anlamlılık yok) artış gözlemlenmiştir. S16 grubunda ise D16 grubuna göre bir miktar azalma görülmüş olup istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. p-GSK3 β /t-GSK3 β protein seviyesi S2 grubunda D2 grubuna göre artış göstermiştir (**p<0.001). S4 grubunda D4 grubuna göre az miktarda azalma gözlemlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir. S8 grubunda D8 grubuna oranla artış gözlemlenmiştir (**p<0.001). S16 grubunda D16 grubuna oranla artış göstermekle birlikte istatistiksel olarak anlamlılık yoktur (Şekil 15).



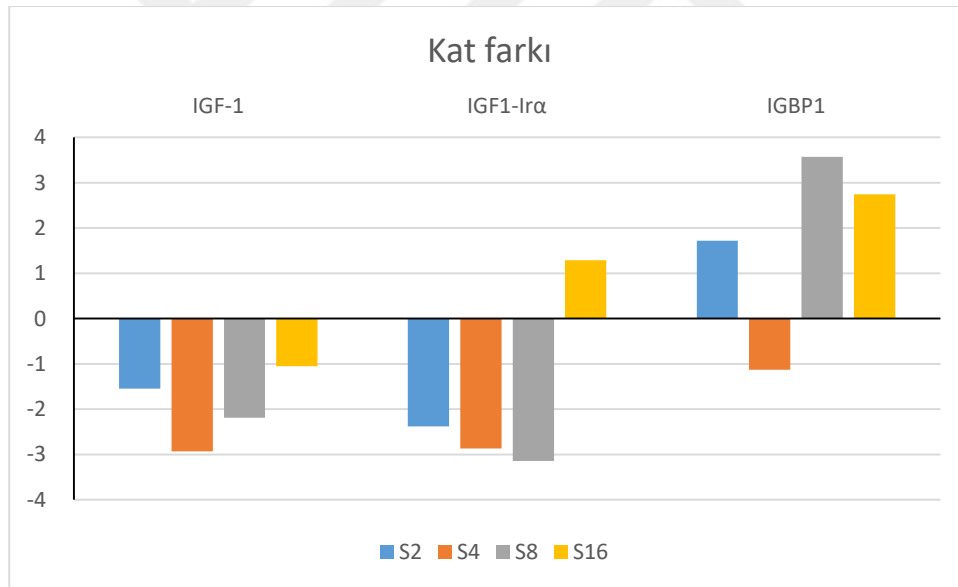
Şekil 15. GSK α/β protein seviyesi. **p<0.01, ***p<0.001.

4.5. rt-PCR Bulguları

Çalışmamızda IGF-1 ekspresyonunun S2 grubunda D2 grubuna oranla 1,54 kat, S4 grubunda D4 grubuna oranla 2,93 kat, S8 grubunda D8 grubuna oranla 2,19 kat, S16 grubunda D16 grubuna oranla 1,05 kat arttığı gözlemlenmiştir. Veriler arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

IGF-1R α ekspresyonunun S2 grubunda D2 grubuna oranla 2,38 kat, S4 grubunda D4 grubuna oranla 2,87 kat, S8 grubunda D8 grubuna oranla 3,14 kat arttığı, S16 grubunda D16 grubuna oranla 1,29 kat azaldığı gözlemlenmiştir. Veriler arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır.

IGFBP1 ekspresyonunun S2 grubunda D2 grubuna oranla 1,72 kat arttığı, S4 grubunda D4 grubuna oranla 1,13 kat azaldığı, S8 grubunda D8 grubuna oranla 3,57 kat, S16 grubunda D16 grubuna oranla 2,74 kat arttığı gözlemlenmiştir. Veriler arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamıştır. Gruplar arasındaki kat farkı Şekil 16'de gösterilmiştir.

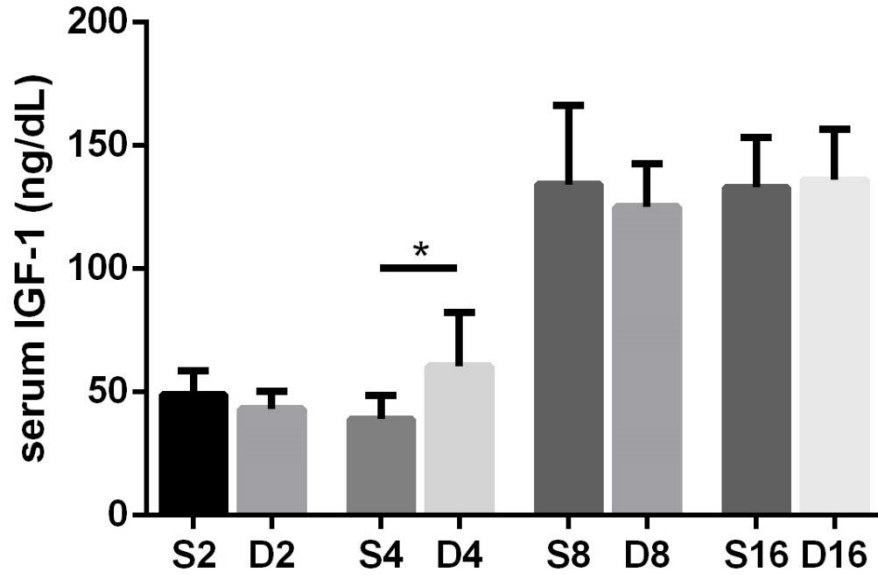


Şekil 16. IGF-1, IGF-1R α ve IGFBP1 ekspresyonlarının gruplar arası kat farkları.

4.6. ELISA Bulguları

4.6.1. Serum IGF-1 Seviyesi

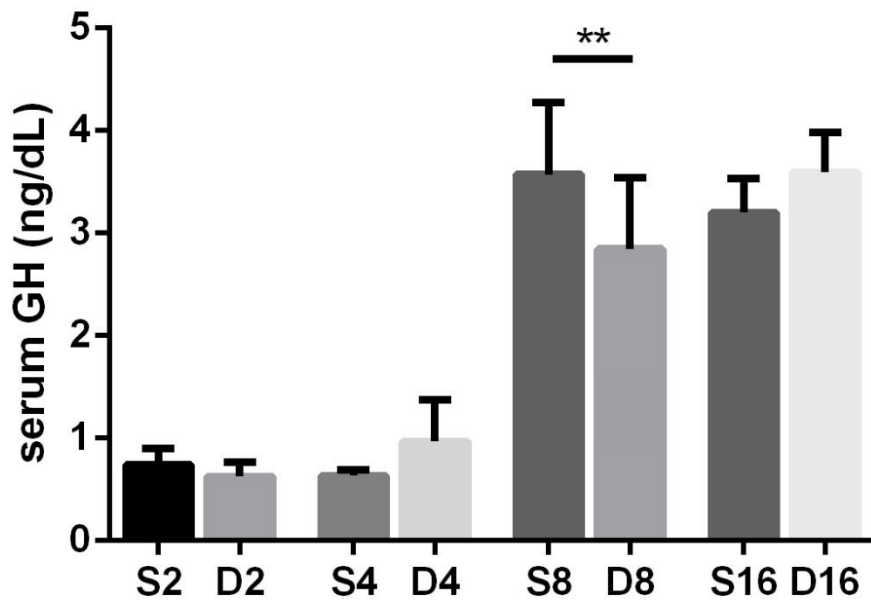
Deney gruplarında serum IGF-1 miktarları ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir. S2 grubunda D2 grubuna göre az miktarda bir artış gözlemlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlılık yoktur. S4 grubunda D4 grubuna göre azalma gözlemlenmiştir (* $p < 0.05$). S8 grubunda D8 grubuna göre artış, S16 grubunda D16 grubuna göre az miktarda azalma gözlemlenmiştir fakat istatistiksel anlamlılık yoktur (Şekil 17).



Şekil 17. Serum IGF-1 seviyesi. * $p < 0.05$.

4.6.2. Serum GH Seviyesi

Deney gruplarında serum GH miktarları ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir. S2 grubunda D2 grubuna göre çok az miktarda artış, S4 grubunda D4 grubuna göre azalma gözlemlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlılık yoktur. S8 grubunda D8 grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış gözlemlenmiştir ($p<0,01$). S16 grubunda D16 grubuna göre azalma gözlemlenmiştir fakat istatistiksel olarak anlamlılık yoktur (Şekil 18).



Şekil 18. Serum GH seviyesi. **p<0.01

5. TARTIŞMA

İntrauterin büyüme geriliği fetüsün genetik olarak programlanmış büyüme potansiyeline ulaşamaması olarak tanımlanmıştır (Brodsky & Christou, 2004). IUBG neonatal morbitide ve mortalitenin önemli nedenlerinden biridir (McIntire, Bloom, Casey, & Leveno, 1999). En yaygın ve bilinen nedeni plasental yetersizlik olmakla birlikte çeşitli maternal, fetal, plasental, genetik ve hormonal sebepleri vardır (McMillen et al., 2001; Sharma, Shastri, Farahbakhsh, et al., 2016). Fetal çevre koşulları optimal şartların dışına çıktığında fetüs hayatta kalmak için çeşitli adaptasyonlar geliştirir ve thrifty fenotipi ortaya çıkar. Thrifty fenotipine göre fetüs beyin ve kalp gibi hayati organların gelişimlerinin devam etmesi için karaciğer, pankreas, bağırsaklar gibi organların büyümelerini azaltır (Hales & Barker, 1992). Barker (Barker, 1992, 1998) intrauterin dönemde fetüsün olumsuz çevre şartlarına cevaben geliştirdiği adaptasyonların kalıcı hale gelerek ileri yaşamındaki ikincil hastalıkların (obezite, insülin direnci, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar vb.) ortaya çıkmasına zemin hazırladığı hipotezini ileri sürmüştür. Literatürde deney hayvanlarında oluşturulan intrauterin büyüme geriliği modellerinde ve insanda yapılan çalışmalarda da bu hipotezi destekleyecek çok sayıda çalışma mevcuttur.

IGF-1, hipofizden salınan GH stimülasyonu ile başlıca karaciğerde sentezlenen ve esas olarak büyüme plağındaki kıkırdak hücre proliferasyonunu aktive ederek longitudinal büyümeyi sağlayan bir büyüme faktörüdür. IGF sinyal yolağı hem fetal hem de postnatal dönemde hemen hemen tüm dokularda protein dönüşümünün düzenlenmesinde rol oynar ve birçok hücre tipi üzerinde mitojenik ve dönüştürücü etkiye sahiptir (Dupont & Holzenberger, 2003). IGF-1 insanda Laron sendromu, karaciğer sirozu, yaşlanma, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar ve intrauterin büyüme geriliği gibi çok çeşitli hastalıkların oluşumu ile ilişkilidir.

Bu çalışmada intrauterin büyüme geriliğinin postnatal 2., 4., 8., ve 16. haftalarda sıçan karaciğerinde IGF-1-PI3K/Akt sinyal yolağında yer alan bazı moleküllerin ekspresyonları üzerine etkisi incelenmiştir. IUBG olan sıçanlarda karaciğerde yaşamın 2., 4., 8. ve 16. haftalarında IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1, p-Akt, t-Akt, p-

PTEN, t-PTEN, p-GSK3 α/β ve t- GSK3 α/β moleküllerinin ekspresyonlarındaki değişimin bir arada incelendiği literatürdeki ilk çalışmadır. Ayrıca bu tez kapsamında elde edilen bulguların intrauterin büyüme geriliği sürecinde rol alan faktörlerin belirlenmesine ve tedavi amaçlı yeni yöntemlerin geliştirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çalışmamızda sham ve deney gruplarının karaciğerlerinin normal histolojik yapıda olduğu gözlenmiştir. Yalnızca D4 grubunda 2 adet hayvanın karaciğerinde atipik hücre grupları bulunduğu belirlenmiştir. Bu hücre gruplarının daha detaylı olarak incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Çalışmamız kapsamında elde edilen histopatolojik bulgulara göre intrauterin büyüme geriliğinde protein seviyesinde meydana gelen değişimlerin yaşamın erken ve erişkin dönemlerinde karaciğer morfolojisine yansımadağı söylenebilir.

Çalışmamızda doğum ağırlığı seviyelerinde 2. haftada deney ve sham grupları arasında bir fark gözlenmemiştir. 4. haftada ise deney grubunda doğum ağırlığının arttığı gözlenmiştir. Bu artışın intrauterin büyüme geriliği olan hayvanların postnatal 4. haftada büyümeyi yakalama dönemine girdiklerine işaret olabileceğini düşünmekteyiz. D8 ve D16 gruplarında da bu artışın devam etmesi büyüme geriliği olan hayvanlarda telafi mekanizmasının bir sonucu olarak büyümenin hızlandığını düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda büyümeyi yakalama dönemindeki kilo artışının ileri dönemde insülin direnci, kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet ve obezitenin ortaya çıkması için bir risk oluşturduğu belirtilmiştir (Berends, Fernandez-Twinn, Martin-Gronert, Cripps, & Ozanne, 2013; Ibanez et al., 2008; Soto et al., 2003). Çalışmamızda erişkin dönem olan 16. haftada deney grubunda doğum ağırlığının sham grubuna oranla yüksek olması gözlemine dayanarak obezite, insülin direnci ve tip 2 diyabet gibi çeşitli metabolik hastalıkların gelişimi açısından yaşamın yaşlılık dönemlerinin de araştırılması gerektiği söylenebilir.

Karaciğer GH için önemli bir hedef organdır ve hepatik IGF-1 üretiminin başlıca düzenleyicisidir. IGF-1 başlıca karaciğerde sentezlenir fakat esas etkisini hepatositlerde değil vücuttaki kemik, kas, beyin gibi diğer organ ve dokular üzerinde gösterir. Başlıca karaciğerden salınan IGF-1 kana verilerek tüm vücut

metabolizmasını ve büyümesini etkiler (Ohlsson et al., 2009). Çalışmamızda IGF-1 immüno lokalizasyonu sham 2. ve 4. hafta gruplarında tüm hücrelerde görülürken, 8. ve 16. haftalarda da periportal ve perivasküler alandaki hücrelerde daha yoğun olduğu görülmüştür. Deney grubunda ise 2., 4., 8. ve 16. haftalarda da periportal ve perivenöz alandaki hücrelerde daha yoğun boyanma gözlenmiştir. Periportal alandaki hücreler oksijen ve besin yönünden zengin olan kanı ilk alan hücrelerdir. IGF-1 sentezi insülin ve glikoz miktarı ile doğru orantılı olarak arttığından periportal alandaki hücrelerde IGF-1 sinyal yolağı aktivasyonunun gerçekleştiği ve boyanma yoğunluğunun arttığı düşünülebilir. Klasik karaciğer lobülünde kan akım yönü portal alandan santral vene doğrudur. Çalışmamızda görülen perivenöz alandaki hücrelerde yoğun IGF-1 lokalizasyonunun sebebi hepatositlerde üretilen IGF-1' in kana salınarak periferel organlara gönderilmek üzere perivenöz alanlardaki hücrelerde toplanması olabilir. Sham grubunda görülen 2. ve 4. haftalarda tüm hücrelerde, 8. ve 16. haftalarda ise periportal ve perivasküler alandaki hücrelerde daha yoğun IGF-1 lokalizasyonunu baz alıp deney grubu ile karşılaştırdığımızda deney grubunda tüm haftalarda perivenöz hücrelerin boyanma yoğunluğunun fazla olması IUBG olan canlıda hepatositlerde üretilen IGF-1'in 2. haftadan itibaren periferel organlara yönlendirilmek üzere perivenöz alandaki hücrelerde toplandığını, bunun da vücut büyümesini arttırmak amaçlı bir telafi mekanizması olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca bu veriler çalışmamızda büyümeyi yakalama döneminin işareti olan doğum ağırlığının IUBG grubunda sham grubuna oranla artması verileri ile uyumludur.

Benzer şekilde Hazel ve ark. (Hazel, Nordqvist, Hall, Nilsson, & Schalling, 1998) düşük protein diyeti uygulanan sıçanlarda karaciğerde IGF-1 ekspresyonunun azaldığını, IGFBP1 ekspresyonunun arttığını ve IGF-1'in periportal alanda perivenöz alandan daha yoğun olarak ekspresse edildiği göstermişlerdir. Normal protein içerikli diyetle beslenen grupta zonlar arasında farklılık görülmezken, yüksek protein içerikli diyet ile beslenen grupta hem perivenöz hem de periportal alanda IGF-1 ekspresyonunun az miktarda arttığını göstermişlerdir. Karaciğerde IGF-1 ekspresyonu insülin ve glikoz miktarı ile pozitif olarak düzenlenir (Jones & Clemmons, 1995). Bu bilgi doğrultusunda

düşük protein içerikli beslenmenin periportal alanlarda IGF-1 ekspresyonunun azalmasına, hepatik IGF-1 ekspresyonu azaldığından periferel organlara gönderilmek üzere perivenöz alandaki hücrelerde toplanan IGF-1 miktarının azalmasına neden olduğu söylenebilir. Yüksek protein içerikli diyet ile beslenmenin ise glikoz miktarında artış dolayısı ile periportal alandaki hücrelerde IGF-1 ekspresyonunun artışına neden olduğu söylenebilir. IUBG'nde karaciğerin farklı alanlarında IGF-1 lokalizasyonun değişmesinin altında yatan mekanizmalarının belirlenebilmesi için karaciğer ve serum insülin miktarının belirlenmesi ve hepatik insülin lokalizasyonunun incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Ayrıca periportal ve perivenöz alanlardaki IGF-1 boyanma yoğunluğunun daha çok hangi tip hücre (hepatosit, Kupffer,...) kaynaklı olduğunun belirlenmesi için eş zamanlı immünohistokimyasal boyama yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda IGF-1R α molekülünün sham 2. hafta grubunda alandaki tüm hepatositlerde çok yoğun boyandığı, sham 4., 8. ve 16. hafta gruplarında hepatositlerde zayıf boyandığı, periportal ve perivenöz alandaki hepatositlerde daha yoğun boyanma olduğu gözlemlendi. Deney 2. ve 4. haftalarda hepatositlerde yoğun boyanma gözlenirken (Şekil 9-A, B), 8. ve 16. haftalarda boyanma yoğunluğunun az miktarda periportal ve perivenöz alanlarda arttığı gözlemlendi (Şekil 9-C, D). IGF-1 hücre membranındaki reseptörüne bağlanarak etkisini gösterir. Dolayısı ile IGF-1 lokalizasyonu ve aktivasyonu olan perivenöz ve periportal alanlarda IGF-1 ile eş zamanlı IGF-1R α immüno lokalizasyonu olması beklenen bir durumdur.

Çalışmamız kapsamında karaciğerde IUBG grubunda kontrol grubuna oranla IGF-1 protein seviyesinin yaşamın erken dönemi olan 2. ve 4. haftalarda azaldığı, 8. ve 16. haftalarda ise arttığı gözlemlenmiştir. IGF-1 geninde hasar oluşturulan transgenik hayvanlarda yapılan çalışmalarda IGF-1'in fetal büyüme, siroz, insülin direnci, anjiyogenez ve nörogenezde anahtar role sahip olduğu, IGF-1 delesyonunun ileri derecede büyüme geriliğine yol açtığı ve doğan yavrularda ölüm oranının çok yüksek olduğu rapor edilmiştir (Baker, Liu, Robertson, & Efstratiadis, 1993; Liu, Baker, Perkins, Robertson, & Efstratiadis, 1993; Lopez, Dikkes, Zurakowski, & Villa-Komaroff, 1996; Lopez, Dikkes, Zurakowski, Villa-Komaroff, & Majzoub, 1999). Muaku ve ark. (Muaku et al.,

1995) sıçanda diyet ile oluşturulan IUBG modelinde yeni doğanlarda karaciğerde IGF-1 ekspresyonunun önemli oranda azaldığını göstermişlerdir. Yine koyunda yapılan bir çalışmada da hipoksi ile indüklenen IUBG modelinde fetüslerde karaciğer IGF-1 ekspresyonunun azaldığı rapor edilmiştir (Gentili, Morrison, & McMillen, 2009). Bu bulguların aksine koyunda bilateral uterin arter embolizasyonu ile indüklenen IUBG modelinde yavrularda hem sağ hem de sol hepatik lobta IGF-1 ve IGF-1R ekspresyonunun gen düzeyinde arttığı, gebeliğin son döneminde uygulanan IGF-1 tedavisinin iki molekülün seviyesini de önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Darp et al., 2010). İntrauterin büyüme geriliğinin deney hayvanlarında ve insanda sistemik IGF-1 homeostazını etkilediği bilinmektedir. Fakat bu etkinin altında yatan mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılammıştır. Fu ve arkadaşları (Fu et al., 2015) IUBG'nin epigenetik mekanizmalarla hepatik IGF-1 gen ekspresyonunu değiştirdiğini göstermişlerdir. IUBG sürecinde IGF-1 protein seviyesinde meydana gelen değişimlerin altında yatan nedenlerin aydınlatılabilmesi için ileri düzey moleküler araştırmalara ihtiyaç vardır.

IGF-1 molekülü aktivitesini IGF-1R'üne bağlı olarak gerçekleştirir (LeRoith, Werner, Beitner-Johnson, & Roberts, 1995). IGF-1R'ünde meydana gelen mutasyonların IUBG'ne yol açtığı bilinmektedir (Liu et al., 1993). Karaciğerde IGF-1R'ünün baskılanması IGF-1 ekspresyonunu indükler (Laron, 2001). Çalışmamızda IGF-1R α proteininin IGF-1 proteininin tam tersine deney grubunda 2. ve 4. haftalarda arttığı, 8. ve 16. haftalarda ise azaldığı belirlenmiştir. Kalori alımının kısıtlandığı durumlarda lokal IGF-1 seviyesinin azaldığı, IGF-1R seviyesinin arttığı bilinmektedir (Thissen, Ketelslegers, & Underwood, 1994). Benzer şekilde Laron sendromu gibi büyüme ile ilişkili bazı hastalıklarda dolaşımda IGF-1 seviyesinin azalması IGF-1R mRNA seviyesinin artışına neden olduğu bilinmektedir (Eshet et al., 1993). Deney hayvanlarında yapılan açlık ve deneysel diyabet çalışmalarında da IGF-1 seviyesinde azalmanın IGF-1R seviyesinde artış ile seyrettiği rapor edilmiştir. (Lowe, Adamo, Werner, Roberts, & LeRoith, 1989; Werner et al., 1990). Bizim çalışmamızda karaciğerde IGF-1R α ve IGF-1 protein seviyelerinin ters orantılı seyretmesi literatür verileri ile uyumludur.

Çalışmamızda IGFBP1 proteininin 2. haftada deney grubunda azaldığı, 4. ve 8. haftalarda arttığı, 16. haftada ise azaldığı gözlemlenmiştir. Farede IGFBP-1'in aşırı ekspresse edilmesinin perinatal mortalite veya postnatal büyüme geriliği ile sonuçlandığı bilinmektedir (Doublier, Duyckaerts, Seurin, & Binoux, 2000; Murphy, 2000). Sıçanda düşük protein içerikli diyet ile beslenen gebe hayvanların 21,5 günlük fetüslerinde karaciğerde IGFBP1 seviyelerinin azaldığı belirtilmiştir. Bizim bulgularımızda da deney grubunda erken gelişim dönemi olan 2. Haftada IGFBP1 seviyesinin azaldığı gözlemlenmiştir. İnsanda IUBG olan fetüsün dolaşımında insülin, IGF-1, IGF-2 ve IGFBP3 seviyelerinin azalması, GH ve IGFBP1 seviyelerinin artması ile karakterizedir (Han & Carter, 2001; Setia & Sridhar, 2009; Tzschope et al., 2015). Bu veriler çalışmamızdaki 4. ve 8. haftalarda gözlemlenen IGFBP1 artışı ile uyumludur. Çalışma kapsamında 16. haftada IGFBP1 protein seviyesinin deney grubunda azalması, önceki haftalarda deney grubunda artmaya başlayan protein seviyesinin erişkin döneme ulaştığında normalize olması ile açıklanabilir.

IGF-1 molekülü IGF-1R ile etkileşimde bulunur ve PI3K/Akt sinyal yolağını aktive eder (Wang, Ijuin, Itoh, & Takenawa, 2011). Akt çeşitli mekanizmalar aracılığıyla hücre metabolizmasını, sağ kalımını ve proliferasyonunu düzenleyen bir moleküldür. Ayrıca PI3K/Akt sinyal yolağının karaciğer rejenerasyon sürecinde antiapoptotik rolü olduğu bilinmektedir (Murata et al., 2007). Çalışmamızda pAkt/tAkt protein seviyesinin 2. haftada sham ve deney gruplarında hemen hemen aynı olduğu, 4. ve 8. haftalarda deney grubunda azaldığı, 16. haftada ise çok az miktarda arttığı gözlemlenmiştir. Akt'nin fosforile olması aynı zamanda aktive olması anlamına geldiğinden çalışma bulgularını intrauterin büyüme geriliğinin 2. haftada Akt aktivasyonuna etki etmediği, 4. ve 8. haftalarda Akt protein aktivasyonunu azalttığı, 16. Haftada ise az miktarda arttırdığı şeklinde ifade edebiliriz. Transgenik diyabetik farede yapılan bir çalışmada karaciğerde Akt fosforilasyonunun azaldığı rapor edilmiştir (Standaert et al., 2004). Farklı bir çalışmada diyet uygulanan farelerde karaciğerde pAkt/tAkt oranının 9 aylık farelerde 1 aylık farelere oranla arttığı, 21 aylık farede ise tekrar azaldığı gösterilmiştir. Diğer bir deyişle erişkin dönemde artış gösteren pAkt/tAkt oranının yaşlılık döneminde tekrar azaldığı

belirtmiştir (Hadem & Sharma, 2016). Bu veriler bizim çalışmamızda IUBG grubunda pAkt/tAkt oranının 4 ve 8. haftalarda azalması ile uyumludur. 16. haftada deney grubunda gözlenen az miktardaki artışın erişkin sıçanda pAkt/tAkt oranının normalize olması anlamına gelebileceğini düşünmekteyiz. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda IUBG'nin genç sıçanda hücre sağ kalımı ve metabolizmasını düzenleyen Akt molekülünü baskılayarak hücre metabolizmasını olumsuz etkilediği fakat erişkin dönemde molekül ekspresyonunun normal seviyeye ulaştığı söylenebilir. Fakat literatürde aksini gösteren çalışmalar da mevcuttur; Camm ve ark. (Camm et al., 2011) maternal dönemde yetersiz beslenme modelinde 16 haftalık yavruda karaciğer Akt1 ve Akt2 protein seviyesinin ve Akt fosforilasyonunun, maternal dönemde hipoksi oluşturulan modelde ise yalnızca Akt fosforilasyonunun deney gruplarında azaldığını belirtmiştir. IUBG'nde Akt molekül seviyesinde meydana gelen değişimlerin aydınlatılabilmesi için olgunluk ve yaşlılık dönemlerindeki ekspresyonlarının incelenmesi gerekmektedir.

PTEN tümör baskılayıcı özelliği olan bir moleküldür. Hücre proliferasyonunu düzenler ve hücre göçünü engeller. Akt fosforilasyonunu, aktivasyonunu veya inaktivasyonunu inhibe ederek Akt aktivitesini azaltır veya artırır (Leslie & Downes, 2004). PTEN fosforilasyonu molekülün aktivasyonunu ve stabilizasyonunu sağlar (Gericke, Munson, & Ross, 2006). Çalışmamızda deney grubunda 2. ve 4. haftalarda pPTEN/tPTEN oranının, yani PTEN aktivasyonunun azaldığı, 8. haftada arttığı, 16. haftada ise az miktarda azaldığı belirlenmiştir. İntrauterin büyüme geriliği olan canlılar doğumdan kısa bir süre sonra bir telafi mekanizması olarak büyümeyi yakalama dönemine girebilirler. Çalışmamızda deney grubunda 2. ve 4. haftalarda PTEN aktivasyonunun azalması yavruların büyümeyi yakalama döneminde olabileceği ve bu nedenle hücre proliferasyonu ve göçünü inhibe eden PTEN molekülünün baskılandığına işaret olabilir. 8. haftada ise PTEN aktivitesinin deney grubunda sham grubuna oranla artmasının nedeni aslında sham grubunda 8. haftada ani bir düşüş gözlenmesidir. Deney 2. ve 4. Hafta grupları ile kıyaslandığında 8. haftada da PTEN seviyesinin arttığını görmekteyiz. 16. haftada PTEN aktivasyonunun az miktarda düşüşünün molekül seviyesinin normalize olması anlamına

gelebileceğini düşünmekteyiz. İntrauterin büyüme geriliği olan yeni doğan sıçanda kas dokusunda PTEN protein seviyesinin arttığı bilinmektedir (Xing et al., 2019). Bu veri bizim çalışmamızdaki 2. ve 4. haftalarda p-PTEN seviyesinin azalıp, tPTEN seviyesi artması ile uyumludur. PTEN ekspresyonu artışının insülin direnci ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (Li, Qiu, Zhou, Wang, & Guo, 2017). PTEN her ne kadar yaygın olarak PI3K/Akt sinyal yolağı üzerine etki etse de molekülün Akt'den bağımsız yolakları da düzenlediği bilinmektedir. Örneğin yapılan bir çalışmada PTEN kaybından sonra Akt'den bağımsız olarak JNK sinyal yolağının aktive olduğu belirtilmiştir (Vivanco et al., 2007). Çalışmamızda PTEN seviyesi ile Akt seviyesi arasında bir ilişki olmaması intrauterin büyüme geriliğinde PTEN molekülünün JNK veya başka bir sinyal yolağı üzerinden etki gösterdiğini düşündürebilir. Çalışmamızda karaciğer PTEN seviyesi IGF-1 seviyesi ile pozitif korelasyon gösterirken, IGF-1R seviyesi ile negatif korelasyon göstermektedir. Verilerimize benzer şekilde prostat kanseri hücrelerinde yapılan çalışmalarda IGF-1R protein seviyesi ile PTEN protein seviyesi arasında ters orantı olduğu belirtilmiştir (Rochester, Riedemann, Hellowell, Brewster, & Macaulay, 2005; Zu et al., 2013). Bizim çalışmamızdaki IGF-1 ile PTEN seviyesi arasındaki pozitif ilişkinin aksine kolon kanserinde yapılan bir çalışmada IGF-1 seviyesi artışının PTEN aktivitesinin baskılanmasını indüklediği ve dolayısı ile kanser hücrelerinin invazyonunu ve hayatta kalmasını arttırdığı belirtilmiştir. Bu da bize intrauterin büyüme geriliğinde PTEN aktivitesinin IGF-1' den farklı bir molekül üzerinden kontrol edildiğini düşündürmektedir.

GSK3 glikojen sentezini düzenler ve α ve β olmak üzere 2 adet izoformu vardır (Rayasam, Tulasi, Sodhi, Davis, & Ray, 2009). GSK3 dinlenme halindeki hücrelerde aktiftir ve hücre aktivasyonu, farklılaşması ve sağ kalımını düzenler (Kaidanovich-Beilin & Woodgett, 2011). GSK3 α ve GSK3 β molekülleri aktive moleküllerdir ve fosforile olduklarında aktivasyonları baskılanır (McCubrey et al., 2014). Çalışmamızda GSK3 α aktivitesi deney grubunda 2., 4. ve 8. haftalarda sham grubuna oranla azaldığı (fosforilasyonları artmıştır), 16. haftada ise az miktarda arttığı belirlenmiştir. Bu veriler 2., 4. ve 8. haftalarda IUBG olan canlılarda büyümeyi yakalamak için hücrelerinin dinlenme halinden çıkıp aktif

hale gelerek proliferasyona gittiklerini düşündürebilir. 16. haftadaki düşüş ise artık erişkin döneme ulaşan hayvanlarda molekül seviyesinin normalize olduğu anlamına gelebilir.

Farede genetik olarak GSK3 β delesyonunun embriyonik dönemde şiddetli karaciğer dejenerasyonu kaynaklı ölümle sonuçlandığı (Hoeflich et al., 2000) ve GSK3 β aktivitesinin artmasının karaciğerde hepatositlerin TNF α ile indüklenen apoptozdan koruduğu (Schwabe & Brenner, 2002) rapor edilmiştir. Çalışmamızda GSK3 β aktivitesinin deney grubunda 2. haftada arttığı (fosforilasyonu azalmıştır), 4. haftada geçici bir süre azaldığı, 8. haftada arttığı ve 16. haftada sham grubu ile hemen hemen aynı seviyeye ulaşarak normalize olduğu belirlenmiştir. GSK molekülünün genel olarak fosforilasyon ile inaktive olduğu bilinmesine rağmen farklı inaktivasyon mekanizmalarının da olduğu bilinmektedir (Jope & Johnson, 2004). Bu durum çalışmamızdaki GSK3 β aktivitesinin 4. haftada geçici olarak azalmasının dışında genel olarak GSK3 α aktivitesi ile ters orantılı seyretmesinin ve Akt protein seviyesi ile ilişkili olmamasının altında molekül GSK3 aktivasyonuna fosforilasyondan farklı mekanizmaların etki ettiğini düşündürmektedir. Bu mekanizmanın aydınlatılabilmesi için ileri düzeyde moleküler analizlerin yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamız kapsamında rt-PCR yöntemi ile belirlenen IGF-1, IGF-1R α ve IGFBP1 ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış ya da azalma görülmemiştir. İntrauterin büyüme geriliğinin bu moleküller üzerine gen düzeyinde bir etkisi olmadığı söylenebilir.

Çalışmamızda serum IGF-1 ve GH seviyelerinin benzer şekilde seyrettiği gözlemlenmiştir. IGF-1 ve GH seviyeleri D2 grubunda S2 grubu ile hemen hemen aynıdır. D4 grubunda S4 grubuna oranla arttığı, S8 grubunda D8 grubuna oranla azaldığı ve D16 grubunda S16 grubuna oranla arttığı belirlenmiştir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda diyet ile indüklenen IUBG modelinde fetüste ve yeni doğanda plazma IGF-1 seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (Muaku et al., 1995; Woodall, Breier, Johnston, & Gluckman, 1996). İnsanda yapılan bir çalışmada IUBG olan fetüste 2. trimesterde plazma IGF-1 seviyesinin

azaldığı, GH seviyesinin değişmediği gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada yaşamın ilk 3 ayında plazma IGF-1 seviyesinin kilo artışı ile doğru oranda artış gösterdiği belirtilmiştir (Leger, Oury, et al., 1996). Setia ve ark. (Setia, Sridhar, Bhat, & Chaturvedula, 2007) insanda IUBG olan yeni doğanlarda sağlıklı bireylere oranla serum GH seviyesinin arttığını rapor etmişlerdir. Yine insanda yapılan bir çalışmada IUBG olan yeni doğanda serumda IGF-1 seviyesinin azaldığı, GH seviyesinin arttığı, doğum sonrası 3. Günde ise GH seviyesinin değişmediği, IGF-1 seviyesinin azaldığı rapor edilmiştir (Leger, Noel, Limal, & Czernichow, 1996). Ayrıca yapılan çalışmalar serum IGF-1 seviyesinin kilo kazanımı ile doğru orantılı olarak arttığını göstermektedir. Ancak bizim çalışmamızda doğum ağırlığı ile serum IGF-1 seviyesi karşılaştırıldığında böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Diğer yandan IGF-1 kanda esas olarak IGFBP3 ile bağlanır ve böylece IGF-1 havuzu korunurken, IGFBP1 ile bağlanarak sirkülasyondan periferel dokulara taşınır (Jones & Clemmons, 1995). Çalışmamızda IUBG olan hayvanlarda serumda IGF-1 seviyesinin 4. haftada azalmasının nedeni IGF-1'in hızla kandan periferel organlara taşınması olabilir. Serum IGF-1 seviyesi 8. haftada geçici bir süre azalmakla birlikte 16. haftada normalize olmuştur. Normal şartlar altında IGF-1 hormonu GH stimülasyonu ile sentezlenir ve IGF-1'in dolaşımında artması GH'ı baskılar. Fakat yapılan bir çalışmada karaciğerde nonalkolik steatohepatitisin engellenmesinde IGF-1'in GH'dan bağımsız rol oynadığı belirtilmiştir (Nishizawa et al., 2012). Bu veriler çalışmamızda IUBG sürecinde serum IGF-1 seviyesinin GH' tan bağımsız farklı mekanizmaların etkisi ile değişim gösterebileceği düşüncesini akla getirmektedir. Çalışmamızdaki serum IGF-1 ve GH seviyesi değişiminin altında yatan mekanizmaların aydınlatılabilmesi için serum insülin, IGFBP1 ve IGFBP3 seviyelerinin belirlenmesi ve kemik, kas gibi hedef organlarda IGF-1 seviyesinin incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamız kapsamında elde edilen verilere göre intrauterin büyüme geriliğinin postnatal 4., 8. ve 16 haftalarda doğum ağırlığını arttırdığını, karaciğer dokusunda gelişimin 2., 4., 8., ve 16. haftalarında IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1, p-Akt, t-Akt, p-PTEN, t-PTEN, p-GSK α/β , t-GSK α/β proteinlerinin seviyelerini değiştirdiği, IGF-1, IGF-1R α , IGFBP1 moleküllerinin ekspresyonlarına gen düzeyinde etki etmediği ve moleküler düzeydeki değişimlerin karaciğere morfolojik düzeyde yansımadağı söylenebilir. Elde ettiğimiz verilerin IGF-PI3K/Akt sinyal yolağında yer alan moleküllerin IUBG sürecinde biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağı konusuna ışık tutacağına ve IUBG sürecinde etki eden moleküler mekanizmaların aydınlatılabilmesi için literatüre katkıda bulunacağına inanmaktayız. Ek olarak çalışma kapsamında incelenen moleküllerin yaşamın yaşlılık dönemine tekabül eden evrelerdeki değişimlerinin ve serum insülin, IGFBP1 ve IGFBP3 miktarlarındaki değişimlerin incelenmesi gerektiğini, deney grubu 4. haftada az sayıda hayvanda rastlanan atipik hücre grubunun belirlenmesi için ileri düzey araştırmalar yapılması gerektiğini, ayrıca kemik, kas gibi hedef organlarda IGF-1 sinyal yolağında yer alan moleküllerde meydana gelen değişimlerin incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- Alisi, A., Panera, N., Agostoni, C., & Nobili, V. (2011). Intrauterine growth retardation and nonalcoholic Fatty liver disease in children. *Int J Endocrinol*, 2011, 269853. doi:10.1155/2011/269853
- Anandakumar, C., Chew, S., Wong, Y. C., Malarvisy, G., Po, L. U., & Ratnam, S. S. (1996). Early asymmetric IUGR and aneuploidy. *J Obstet Gynaecol Res*, 22(4), 365-370.
- Annenkov, A. (2009). The insulin-like growth factor (IGF) receptor type 1 (IGF1R) as an essential component of the signalling network regulating neurogenesis. *Mol Neurobiol*, 40(3), 195-215. doi:10.1007/s12035-009-8081-0
- Bach, L. A. (2012). The insulin-like growth factor system in kidney disease and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 21(1), 86-91. doi:10.1097/MNH.0b013e32834dc1a2
- Baker, J., Liu, J. P., Robertson, E. J., & Efstratiadis, A. (1993). Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell*, 75(1), 73-82.
- Balayla, J., & Abenhaim, H. A. (2014). Incidence, predictors and outcomes of congenital diaphragmatic hernia: a population-based study of 32 million births in the United States. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 27(14), 1438-1444. doi:10.3109/14767058.2013.858691
- Bamfo, J. E., & Odibo, A. O. (2011). Diagnosis and management of fetal growth restriction. *J Pregnancy*, 2011, 640715. doi:10.1155/2011/640715
- Barker, D. J. (1992). The fetal origins of diseases of old age. *Eur J Clin Nutr*, 46 Suppl 3, S3-9.
- Barker, D. J. (1998). In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond)*, 95(2), 115-128.
- Barker, D. J. (1999). Fetal origins of cardiovascular disease. *Ann Med*, 31 Suppl 1, 3-6.
- Barker, D. J. (2007). The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med*, 261(5), 412-417. doi:10.1111/j.1365-2796.2007.01809.x

- Barker, D. J., Bull, A. R., Osmond, C., & Simmonds, S. J. (1990). Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *Bmj*, 301(6746), 259-262. doi:10.1136/bmj.301.6746.259
- Barker, D. J., Hales, C. N., Fall, C. H., Osmond, C., Phipps, K., & Clark, P. M. (1993). Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia*, 36(1), 62-67. doi:10.1007/bf00399095
- Barker, D. J., Osmond, C., Golding, J., Kuh, D., & Wadsworth, M. E. (1989). Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *Bmj*, 298(6673), 564-567. doi:10.1136/bmj.298.6673.564
- Battaglia, F. C., & Lubchenco, L. O. (1967). A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr*, 71(2), 159-163. doi:10.1016/s0022-3476(67)80066-0
- Beltrand, J., Nicolescu, R., Kaguelidou, F., Verkauskiene, R., Sibony, O., Chevenne, D., . . . Levy-Marchal, C. (2009). Catch-up growth following fetal growth restriction promotes rapid restoration of fat mass but without metabolic consequences at one year of age. *PLoS One*, 4(4), e5343. doi:10.1371/journal.pone.0005343
- Berends, L. M., Fernandez-Twinn, D. S., Martin-Gronert, M. S., Cripps, R. L., & Ozanne, S. E. (2013). Catch-up growth following intra-uterine growth-restriction programmes an insulin-resistant phenotype in adipose tissue. *Int J Obes (Lond)*, 37(8), 1051-1057. doi:10.1038/ijo.2012.196
- Bernstein, P. S., & Divon, M. Y. (1997). Etiologies of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol*, 40(4), 723-729. doi:10.1097/00003081-199712000-00006
- Bertherat, J., Bluet-Pajot, M. T., & Epelbaum, J. (1995). Neuroendocrine regulation of growth hormone. *Eur J Endocrinol*, 132(1), 12-24. doi:10.1530/eje.0.1320012
- Biri, A., Bozkurt, N., Turp, A., Kavutcu, M., Himmetoglu, O., & Durak, I. (2007). Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. *Gynecol Obstet Invest*, 64(4), 187-192. doi:10.1159/000106488

- Bjarnegard, N., Morsing, E., Cinthio, M., Lanne, T., & Brodzski, J. (2013). Cardiovascular function in adulthood following intrauterine growth restriction with abnormal fetal blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 41(2), 177-184. doi:10.1002/uog.12314
- Black, R. E., Victora, C. G., Walker, S. P., Bhutta, Z. A., Christian, P., de Onis, M., . . . Uauy, R. (2013). Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *Lancet*, 382(9890), 427-451. doi:10.1016/s0140-6736(13)60937-x
- Brodsky, D., & Christou, H. (2004). Current concepts in intrauterine growth restriction. *J Intensive Care Med*, 19(6), 307-319. doi:10.1177/0885066604269663
- Brown, L. D., Rozance, P. J., Bruce, J. L., Friedman, J. E., Hay, W. W., Jr., & Wesolowski, S. R. (2015). Limited capacity for glucose oxidation in fetal sheep with intrauterine growth restriction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 309(8), R920-928. doi:10.1152/ajpregu.00197.2015
- Bubb, K. J., Cock, M. L., Black, M. J., Dodic, M., Boon, W. M., Parkington, H. C., . . . Tare, M. (2007). Intrauterine growth restriction delays cardiomyocyte maturation and alters coronary artery function in the fetal sheep. *J Physiol*, 578(Pt 3), 871-881. doi:10.1113/jphysiol.2006.121160
- Burns, S. P., Desai, M., Cohen, R. D., Hales, C. N., Iles, R. A., Germain, J. P., . . . Bailey, R. A. (1997). Gluconeogenesis, glucose handling, and structural changes in livers of the adult offspring of rats partially deprived of protein during pregnancy and lactation. *J Clin Invest*, 100(7), 1768-1774. doi:10.1172/jci119703
- Cadaret, C. N., Merrick, E. M., Barnes, T. L., Beede, K. A., Posont, R. J., Petersen, J. L., & Yates, D. T. (2018). Sustained maternal inflammation during the early third trimester yields fetal adaptations that impair subsequent skeletal muscle growth and glucose metabolism in sheep. *Transl Anim Sci*, 2(Suppl 1), S14-s18. doi:10.1093/tas/txy047
- Camm, E. J., Martin-Gronert, M. S., Wright, N. L., Hansell, J. A., Ozanne, S. E., & Giussani, D. A. (2011). Prenatal hypoxia independent of

- undernutrition promotes molecular markers of insulin resistance in adult offspring. *Faseb j*, 25(1), 420-427. doi:10.1096/fj.10-158188
- Chase, H. P., Welch, N. N., Dabiere, C. S., Vasan, N. S., & Butterfield, L. J. (1972). Alterations in human brain biochemistry following intrauterine growth retardation. *Pediatrics*, 50(3), 403-411.
- Chitnis, M. M., Yuen, J. S., Protheroe, A. S., Pollak, M., & Macaulay, V. M. (2008). The type 1 insulin-like growth factor receptor pathway. *Clin Cancer Res*, 14(20), 6364-6370. doi:10.1158/1078-0432.ccr-07-4879
- Cianfarani, S., Agostoni, C., Bedogni, G., Berni Canani, R., Brambilla, P., Nobili, V., & Pietrobelli, A. (2012). Effect of intrauterine growth retardation on liver and long-term metabolic risk. *Int J Obes (Lond)*, 36(10), 1270-1277. doi:10.1038/ijo.2012.54
- Cohen, E., Wong, F. Y., Horne, R. S., & Yiallourou, S. R. (2016). Intrauterine growth restriction: impact on cardiovascular development and function throughout infancy. *Pediatr Res*, 79(6), 821-830. doi:10.1038/pr.2016.24
- Cosmi, E., Fanelli, T., Visentin, S., Trevisanuto, D., & Zanardo, V. (2011). Consequences in infants that were intrauterine growth restricted. *J Pregnancy*, 2011, 364381. doi:10.1155/2011/364381
- Cosmi, E., Visentin, S., Fanelli, T., Mautone, A. J., & Zanardo, V. (2009). Aortic intima media thickness in fetuses and children with intrauterine growth restriction. *Obstet Gynecol*, 114(5), 1109-1114. doi:10.1097/AOG.0b013e3181bb23d3
- Costello, P. M., Rowleson, A., Astaman, N. A., Anthony, F. E., Sayer, A. A., Cooper, C., . . . Green, L. R. (2008). Peri-implantation and late gestation maternal undernutrition differentially affect fetal sheep skeletal muscle development. *J Physiol*, 586(9), 2371-2379. doi:10.1113/jphysiol.2008.150987
- Cruz-Lemini, M., Crispi, F., Valenzuela-Alcaraz, B., Figueras, F., Gomez, O., Sitges, M., . . . Gratacos, E. (2014). A fetal cardiovascular score to predict infant hypertension and arterial remodeling in intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*, 210(6), 552.e551-552.e522. doi:10.1016/j.ajog.2013.12.031

- Cruz-Lemini, M., Crispi, F., Valenzuela-Alcaraz, B., Figueras, F., Sitges, M., Bijmens, B., & Gratacos, E. (2016). Fetal cardiovascular remodeling persists at 6 months in infants with intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 48(3), 349-356. doi:10.1002/uog.15767
- Czernik, C., Rhode, S., Metze, B., Buhner, C., & Schmitz, L. (2013). Comparison of left ventricular cardiac dimensions between small and appropriate for gestational age preterm infants below 30 weeks of gestation. *J Perinat Med*, 41(2), 219-226. doi:10.1515/jpm-2012-0032
- D'Ercole, A. J., Dai, Z., Xing, Y., Boney, C., Wilkie, M. B., Lauder, J. M., . . . Clemmons, D. R. (1994). Brain growth retardation due to the expression of human insulin like growth factor binding protein-1 in transgenic mice: an in vivo model for the analysis of igf function in the brain. *Brain Res Dev Brain Res*, 82(1-2), 213-222. doi:10.1016/0165-3806(94)90164-3
- Darp, R. A., de Boo, H. A., Phua, H. H., Oliver, M. H., Derraik, J. G., Harding, J. E., & Bloomfield, F. H. (2010). Differential regulation of igf1 and igf1r mRNA levels in the two hepatic lobes following intrauterine growth restriction and its treatment with intra-amniotic insulin-like growth factor-1 in ovine fetuses. *Reprod Fertil Dev*, 22(8), 1188-1197. doi:10.1071/rd09292
- Das, U. G., & Sysyn, G. D. (2004). Abnormal fetal growth: intrauterine growth retardation, small for gestational age, large for gestational age. *Pediatr Clin North Am*, 51(3), 639-654, viii. doi:10.1016/j.pcl.2004.01.004
- Daughaday, W. H., Hall, K., Raben, M. S., Salmon, W. D., Jr., van den Brande, J. L., & van Wyk, J. J. (1972). Somatomedin: proposed designation for sulphation factor. *Nature*, 235(5333), 107. doi:10.1038/235107a0
- De Blasio, M. J., Gatford, K. L., Harland, M. L., Robinson, J. S., & Owens, J. A. (2012). Placental restriction reduces insulin sensitivity and expression of insulin signaling and glucose transporter genes in skeletal muscle, but not liver, in young sheep. *Endocrinology*, 153(5), 2142-2151. doi:10.1210/en.2011-1955

- de Onis, M., Blossner, M., & Villar, J. (1998). Levels and patterns of intrauterine growth retardation in developing countries. *Eur J Clin Nutr*, 52 Suppl 1, S5-15.
- de Zegher, F., Franco, I., van Helvoirt, M., & Van den Berghe, G. (1997). Clinical review 89: Small as fetus and short as child: from endogenous to exogenous growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab*, 82(7), 2021-2026. doi:10.1210/jcem.82.7.4007
- Delafontaine, P., Song, Y. H., & Li, Y. (2004). Expression, regulation, and function of IGF-1, IGF-1R, and IGF-1 binding proteins in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24(3), 435-444. doi:10.1161/01.atv.0000105902.89459.09
- Desai, M., Byrne, C. D., Meeran, K., Martenz, N. D., Bloom, S. R., & Hales, C. N. (1997). Regulation of hepatic enzymes and insulin levels in offspring of rat dams fed a reduced-protein diet. *Am J Physiol*, 273(4), G899-904. doi:10.1152/ajpgi.1997.273.4.G899
- Desai, M., & Ross, M. G. (2011). Fetal programming of adipose tissue: effects of intrauterine growth restriction and maternal obesity/high-fat diet. *Semin Reprod Med*, 29(3), 237-245. doi:10.1055/s-0031-1275517
- Desbois-Mouthon, C., Wendum, D., Cadoret, A., Rey, C., Leneuve, P., Blaise, A., . . . Holzenberger, M. (2006). Hepatocyte proliferation during liver regeneration is impaired in mice with liver-specific IGF-1R knockout. *Faseb j*, 20(6), 773-775. doi:10.1096/fj.05-4704fje
- Devaskar, S. U., & Chu, A. (2016). Intrauterine Growth Restriction: Hungry for an Answer. *Physiology (Bethesda)*, 31(2), 131-146. doi:10.1152/physiol.00033.2015
- Doublier, S., Duyckaerts, C., Seurin, D., & Binoux, M. (2000). Impaired brain development and hydrocephalus in a line of transgenic mice with liver-specific expression of human insulin-like growth factor binding protein-1. *Growth Horm IGF Res*, 10(5), 267-274. doi:10.1054/ghir.2000.0168
- Duan, C., Bauchat, J. R., & Hsieh, T. (2000). Phosphatidylinositol 3-kinase is required for insulin-like growth factor-I-induced vascular smooth muscle

cell proliferation and migration. *Circ Res*, 86(1), 15-23.
doi:10.1161/01.res.86.1.15

Dupont, J., & Holzenberger, M. (2003). Biology of insulin-like growth factors in development. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 69(4), 257-271.
doi:10.1002/bdrc.10022

El-Khattabi, I., Gregoire, F., Remacle, C., & Reusens, B. (2003). Isocaloric maternal low-protein diet alters IGF-I, IGFBPs, and hepatocyte proliferation in the fetal rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 285(5), E991-e1000. doi:10.1152/ajpendo.00037.2003

Eshet, R., Werner, H., Klinger, B., Silbergeld, A., Laron, Z., LeRoith, D., & Roberts, C. T., Jr. (1993). Up-regulation of insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptor gene expression in patients with reduced serum IGF-I levels. *J Mol Endocrinol*, 10(2), 115-120. doi:10.1677/jme.0.0100115

Fahey, A. J., Brameld, J. M., Parr, T., & Buttery, P. J. (2005). The effect of maternal undernutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb. *J Anim Sci*, 83(11), 2564-2571.
doi:10.2527/2005.83112564x

Firth, S. M., & Baxter, R. C. (2002). Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. *Endocr Rev*, 23(6), 824-854.
doi:10.1210/er.2001-0033

Fischi-Gomez, E., Vasung, L., Meskaldji, D. E., Lazeyras, F., Borradori-Tolsa, C., Hagmann, P., . . . Huppi, P. S. (2015). Structural Brain Connectivity in School-Age Preterm Infants Provides Evidence for Impaired Networks Relevant for Higher Order Cognitive Skills and Social Cognition. *Cereb Cortex*, 25(9), 2793-2805. doi:10.1093/cercor/bhu073

Florini, J. R., Ewton, D. Z., & Coolican, S. A. (1996). Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. *Endocr Rev*, 17(5), 481-517. doi:10.1210/edrv-17-5-481

Fowden, A. L. (2003). The insulin-like growth factors and fetoplacental growth. *Placenta*, 24(8-9), 803-812. doi:10.1016/s0143-4004(03)00080-8

- Fowden, A. L., & Forhead, A. J. (2013). Endocrine interactions in the control of fetal growth. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, 74, 91-102. doi:10.1159/000348417
- Froesch, E. R., Buergi, H., Ramseier, E. B., Bally, P., & Labhart, A. (1963). ANTIBODY-SUPPRESSIBLE AND NONSUPPRESSIBLE INSULIN-LIKE ACTIVITIES IN HUMAN SERUM AND THEIR PHYSIOLOGIC SIGNIFICANCE. AN INSULIN ASSAY WITH ADIPOSE TISSUE OF INCREASED PRECISION AND SPECIFICITY. *J Clin Invest*, 42, 1816-1834. doi:10.1172/jci104866
- Fu, Q., McKnight, R. A., Callaway, C. W., Yu, X., Lane, R. H., & Majnik, A. V. (2015). Intrauterine growth restriction disrupts developmental epigenetics around distal growth hormone response elements on the rat hepatic IGF-1 gene. *Faseb j*, 29(4), 1176-1184. doi:10.1096/fj.14-258442
- Gagnon, R. (2003). Placental insufficiency and its consequences. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 110 Suppl 1, S99-107. doi:10.1016/s0301-2115(03)00179-9
- Gale, C. R., O'Callaghan, F. J., Bredow, M., & Martyn, C. N. (2006). The influence of head growth in fetal life, infancy, and childhood on intelligence at the ages of 4 and 8 years. *Pediatrics*, 118(4), 1486-1492. doi:10.1542/peds.2005-2629
- Garcia-Fernandez, M., Castilla-Cortazar, I., Diaz-Sanchez, M., Diez Caballero, F., Castilla, A., Diaz Casares, A., . . . Gonzalez-Baron, S. (2003). Effect of IGF-I on total serum antioxidant status in cirrhotic rats. *J Physiol Biochem*, 59(2), 145-146.
- Garg, M., Thamocharan, M., Dai, Y., Lagishetty, V., Matveyenko, A. V., Lee, W. N., & Devaskar, S. U. (2013). Glucose intolerance and lipid metabolic adaptations in response to intrauterine and postnatal calorie restriction in male adult rats. *Endocrinology*, 154(1), 102-113. doi:10.1210/en.2012-1640
- Gentili, S., Morrison, J. L., & McMillen, I. C. (2009). Intrauterine Growth Restriction and Differential Patterns of Hepatic Growth and Expression

- of IGF1, PCK2, and HSDL1 mRNA in the Sheep Fetus in Late Gestation1. *Biol Reprod*, 80(6), 1121-1127. doi:10.1095/biolreprod.108.073569
- Gericke, A., Munson, M., & Ross, A. (2006). Regulation of the PTEN phosphatase. *Gene*, 374, 1-9.
- Geva, R., Eshel, R., Leitner, Y., Fattal-Valevski, A., & Harel, S. (2006). Memory functions of children born with asymmetric intrauterine growth restriction. *Brain Res*, 1117(1), 186-194. doi:10.1016/j.brainres.2006.08.004
- Geva, R., Eshel, R., Leitner, Y., Valevski, A. F., & Harel, S. (2006). Neuropsychological outcome of children with intrauterine growth restriction: a 9-year prospective study. *Pediatrics*, 118(1), 91-100. doi:10.1542/peds.2005-2343
- Gicquel, C., & Le Bouc, Y. (2006). Hormonal regulation of fetal growth. *Horm Res*, 65 Suppl 3, 28-33. doi:10.1159/000091503
- Giudice, L. C., de Zegher, F., Gargosky, S. E., Dsupin, B. A., de las Fuentes, L., Crystal, R. A., . . . Rosenfeld, R. G. (1995). Insulin-like growth factors and their binding proteins in the term and preterm human fetus and neonate with normal and extremes of intrauterine growth. *J Clin Endocrinol Metab*, 80(5), 1548-1555. doi:10.1210/jcem.80.5.7538146
- Gluckman, P. D. (1997). Endocrine and nutritional regulation of prenatal growth. *Acta Paediatr Suppl*, 423, 153-157; discussion 158.
- Gluckman, P. D., & Harding, J. E. (1997). The physiology and pathophysiology of intrauterine growth retardation. *Horm Res*, 48 Suppl 1, 11-16. doi:10.1159/000191257
- Gomez, J. M. (2008). Growth hormone and insulin-like growth factor-I as an endocrine axis in Alzheimer's disease. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 8(2), 143-151.
- Gotlieb, S. J., Biasini, F. J., & Bray, N. W. (1988). Visual recognition memory in IUGR and normal birth-weight infants. *Infant Behavior and Development*, 11(2), 223-228. doi:https://doi.org/10.1016/S0163-6383(88)80007-9

- Greenwood, P. L., Hunt, A. S., Hermanson, J. W., & Bell, A. W. (1998). Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep: I. Body growth and composition, and some aspects of energetic efficiency. *J Anim Sci*, 76(9), 2354-2367. doi:10.2527/1998.7692354x
- Greenwood, P. L., Hunt, A. S., Hermanson, J. W., & Bell, A. W. (2000). Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep: II. Skeletal muscle growth and development. *J Anim Sci*, 78(1), 50-61. doi:10.2527/2000.78150x
- Greenwood, P. L., Slepatis, R. M., Hermanson, J. W., & Bell, A. W. (1999). Intrauterine growth retardation is associated with reduced cell cycle activity, but not myofibre number, in ovine fetal muscle. *Reprod Fertil Dev*, 11(4-5), 281-291. doi:10.1071/rd99054
- Guellec, I., Lapillonne, A., Renolleau, S., Charlaluk, M. L., Roze, J. C., Marret, S., . . . Ancel, P. Y. (2011). Neurologic outcomes at school age in very preterm infants born with severe or mild growth restriction. *Pediatrics*, 127(4), e883-891. doi:10.1542/peds.2010-2442
- Gurses, D., & Seyhan, B. (2013). Evaluation of cardiac systolic and diastolic functions in small for gestational age babies during the first months of life: a prospective follow-up study. *Cardiol Young*, 23(4), 597-605. doi:10.1017/s1047951112001679
- Hadden, J. W., Malec, P. H., Coto, J., & Hadden, E. M. (1992). Thymic involution in aging. Prospects for correction. *Ann N Y Acad Sci*, 673, 231-239. doi:10.1111/j.1749-6632.1992.tb27458.x
- Haddon, W., Jr., Nesbitt, R. E., & Garcia, R. (1961). Smoking and pregnancy: carbon monoxide in blood during gestation and at term. *Obstet Gynecol*, 18, 262-267.
- Hadem, I. K., & Sharma, R. (2016). Age- and Tissue-Dependent Modulation of IGF-1/PI3K/Akt Protein Expression by Dietary Restriction in Mice. *Horm Metab Res*, 48(3), 201-206. doi:10.1055/s-0035-1559770
- Hales, C. N., & Barker, D. J. (1992). Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*, 35(7), 595-601. doi:10.1007/bf00400248

- Hales, C. N., & Barker, D. J. (2001). The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull*, 60, 5-20. doi:10.1093/bmb/60.1.5
- Han, V. K., & Carter, A. M. (2001). Control of growth and development of the fetoplacental unit. *Curr Opin Pharmacol*, 1(6), 632-640. doi:10.1016/s1471-4892(01)00108-4
- Hattersley, A. T., & Tooke, J. E. (1999). The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease. *Lancet*, 353(9166), 1789-1792. doi:10.1016/s0140-6736(98)07546-1
- Hay, W. W., Jr. (2006). Recent observations on the regulation of fetal metabolism by glucose. *J Physiol*, 572(Pt 1), 17-24. doi:10.1113/jphysiol.2006.105072
- Hazel, S., Nordqvist, A., Hall, K., Nilsson, M., & Schalling, M. (1998). Differential expression of IGF-I and IGF-binding protein-1 and -2 in periportal and perivenous zones of rat liver. *J Hepatol*, 157(2), 285. doi:10.1677/joe.0.1570285
- Hegarty, P. V., & Allen, C. E. (1978). Effect of pre-natal runtting on the post-natal development of skeletal muscles in swine and rats. *J Anim Sci*, 46(6), 1634-1640. doi:10.2527/jas1978.4661634x
- Heinonen, S., Taipale, P., & Saarikoski, S. (2001). Weights of placentae from small-for-gestational age infants revisited. *Placenta*, 22(5), 399-404. doi:10.1053/plac.2001.0630
- Hendrix, N., & Berghella, V. (2008). Non-placental causes of intrauterine growth restriction. *Semin Perinatol*, 32(3), 161-165. doi:10.1053/j.semperi.2008.02.004
- Hills, F. A., English, J., & Chard, T. (1996). Circulating levels of IGF-I and IGF-binding protein-1 throughout pregnancy: relation to birthweight and maternal weight. *J Endocrinol*, 148(2), 303-309. doi:10.1677/joe.0.1480303
- Hoeflich, K. P., Luo, J., Rubie, E. A., Tsao, M. S., Jin, O., & Woodgett, J. R. (2000). Requirement for glycogen synthase kinase-3beta in cell survival

and NF-kappaB activation. *Nature*, 406(6791), 86-90.
doi:10.1038/35017574

Hofmeyr, G. J., Xu, H., & Eke, A. C. (2014). Amnioinfusion for meconium-stained liquor in labour. *Cochrane Database Syst Rev*(1), Cd000014.
doi:10.1002/14651858.CD000014.pub4

Holt, R. I. (2002). Fetal programming of the growth hormone-insulin-like growth factor axis. *Trends Endocrinol Metab*, 13(9), 392-397.

Hwa, V., Oh, Y., & Rosenfeld, R. G. (1999). The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. *Endocr Rev*, 20(6), 761-787.
doi:10.1210/edrv.20.6.0382

Ibanez, L., Suarez, L., Lopez-Bermejo, A., Diaz, M., Valls, C., & de Zegher, F. (2008). Early development of visceral fat excess after spontaneous catch-up growth in children with low birth weight. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(3), 925-928. doi:10.1210/jc.2007-1618

Iruetagoiena, J. I., Gonzalez-Tendero, A., Garcia-Canadilla, P., Amat-Roldan, I., Torre, I., Nadal, A., . . . Gratacos, E. (2014). Cardiac dysfunction is associated with altered sarcomere ultrastructure in intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*, 210(6), 550.e551-557.
doi:10.1016/j.ajog.2014.01.023

Janot, M., Cortes-Dubly, M. L., Rodriguez, S., & Huynh-Do, U. (2014). Bilateral uterine vessel ligation as a model of intrauterine growth restriction in mice. *Reprod Biol Endocrinol*, 12, 62. doi:10.1186/1477-7827-12-62

Jaquet, D., Leger, J., Czernichow, P., & Levy-Marchal, C. (2002). The effect of in-utero undernutrition on the insulin resistance syndrome. *Curr Diab Rep*, 2(1), 77-82.

Jones, J. I., & Clemmons, D. R. (1995). Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev*, 16(1), 3-34.
doi:10.1210/edrv-16-1-3

Jope, R. S., & Johnson, G. V. (2004). The glamour and gloom of glycogen synthase kinase-3. *Trends Biochem Sci*, 29(2), 95-102.
doi:10.1016/j.tibs.2003.12.004

- Joss-Moore, L. A., Wang, Y., Campbell, M. S., Moore, B., Yu, X., Callaway, C. W., . . . Lane, R. H. (2010). Uteroplacental insufficiency increases visceral adiposity and visceral adipose PPARgamma2 expression in male rat offspring prior to the onset of obesity. *Early Hum Dev*, 86(3), 179-185. doi:10.1016/j.earlhumdev.2010.02.006
- Kaidanovich-Beilin, O., & Woodgett, J. R. (2011). GSK-3: Functional Insights from Cell Biology and Animal Models. *Front Mol Neurosci*, 4, 40. doi:10.3389/fnmol.2011.00040
- Kanaka-Gantenbein, C. (2010). Fetal origins of adult diabetes. *Ann N Y Acad Sci*, 1205, 99-105. doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05683.x
- Khan, N. A., & Kazzi, S. N. (2000). Yield and costs of screening growth-retarded infants for torch infections. *Am J Perinatol*, 17(3), 131-135. doi:10.1055/s-2000-9288
- Koklu, E., Kurtoglu, S., Akcakus, M., Koklu, S., Buyukkayhan, D., Gumus, H., & Yikilmaz, A. (2006). Increased aortic intima-media thickness is related to lipid profile in newborns with intrauterine growth restriction. *Horm Res*, 65(6), 269-275. doi:10.1159/000092536
- Landreth, K. S., Narayanan, R., & Dorshkind, K. (1992). Insulin-like growth factor-I regulates pro-B cell differentiation. *Blood*, 80(5), 1207-1212.
- Lane, R. H., Crawford, S. E., Flozak, A. S., & Simmons, R. A. (1999). Localization and quantification of glucose transporters in liver of growth-retarded fetal and neonatal rats. *Am J Physiol*, 276(1), E135-142. doi:10.1152/ajpendo.1999.276.1.E135
- Lane, R. H., Flozak, A. S., Ogata, E. S., Bell, G. I., & Simmons, R. A. (1996). Altered hepatic gene expression of enzymes involved in energy metabolism in the growth-retarded fetal rat. *Pediatr Res*, 39(3), 390-394. doi:10.1203/00006450-199603000-00003
- Lane, R. H., Kelley, D. E., Gruetzmacher, E. M., & Devaskar, S. U. (2001). Uteroplacental insufficiency alters hepatic fatty acid-metabolizing enzymes in juvenile and adult rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 280(1), R183-190. doi:10.1152/ajpregu.2001.280.1.R183

- Larciprete, G., Valensise, H., Di Pierro, G., Vasapollo, B., Casalino, B., Arduini, D., . . . Cirese, E. (2005). Intrauterine growth restriction and fetal body composition. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 26(3), 258-262. doi:10.1002/uog.1980
- Laron, Z. (2001). Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. *Mol Pathol*, 54(5), 311-316. doi:10.1136/mp.54.5.311
- Le Roith, D. (1997). Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center. Insulin-like growth factors. *N Engl J Med*, 336(9), 633-640. doi:10.1056/nejm199702273360907
- Leger, J., Noel, M., Limal, J. M., & Czernichow, P. (1996). Growth Factors and Intrauterine Growth Retardation. II. Serum Growth Hormone, Insulin-Like Growth Factor (IGF) I, and IGF-Binding Protein 3 Levels in Children with Intrauterine Growth Retardation. *Pediatr Res*, 40(1), 101-107. doi:10.1203/00006450-199607000-00018
- Leger, J., Oury, J. F., Noel, M., Baron, S., Benali, K., Blot, P., & Czernichow, P. (1996). Growth Factors and Intrauterine Growth Retardation. I. Serum Growth Hormone, Insulin-Like Growth Factor (IGF)-I, IGF-II, and IGF Binding Protein 3 Levels in Normally Grown and Gestation. *Pediatr Res*, 40(1), 94-100. doi:10.1203/00006450-199607000-00017
- Leitner, Y., Fattal-Valevski, A., Geva, R., Eshel, R., Toledano-Alhadeef, H., Rotstein, M., . . . Harel, S. (2007). Neurodevelopmental outcome of children with intrauterine growth retardation: a longitudinal, 10-year prospective study. *J Child Neurol*, 22(5), 580-587. doi:10.1177/0883073807302605
- LeRoith, D., Werner, H., Beitner-Johnson, D., & Roberts, C. T., Jr. (1995). Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocr Rev*, 16(2), 143-163. doi:10.1210/edrv-16-2-143
- Leslie, N., & Downes, C. (2004). PTEN function: how normal cells control it and tumour cells lose it. *Biochemical Journal*, 382, 1-11.
- Li, A., Qiu, M., Zhou, H., Wang, T., & Guo, W. (2017). PTEN, Insulin Resistance and Cancer. *Curr Pharm Des*, 23(25), 3667-3676. doi:10.2174/1381612823666170704124611

- Limesand, S. W., Rozance, P. J., Macko, A. R., Anderson, M. J., Kelly, A. C., & Hay, W. W., Jr. (2013). Reductions in insulin concentrations and β -cell mass precede growth restriction in sheep fetuses with placental insufficiency. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 304(5), E516-523. doi:10.1152/ajpendo.00435.2012
- Limesand, S. W., Rozance, P. J., Smith, D., & Hay, W. W., Jr. (2007). Increased insulin sensitivity and maintenance of glucose utilization rates in fetal sheep with placental insufficiency and intrauterine growth restriction. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293(6), E1716-1725. doi:10.1152/ajpendo.00459.2007
- Limesand, S. W., Rozance, P. J., Zerbe, G. O., Hutton, J. C., & Hay, W. W., Jr. (2006). Attenuated insulin release and storage in fetal sheep pancreatic islets with intrauterine growth restriction. *Endocrinology*, 147(3), 1488-1497. doi:10.1210/en.2005-0900
- Liu, J. P., Baker, J., Perkins, A. S., Robertson, E. J., & Efstratiadis, A. (1993). Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell*, 75(1), 59-72.
- Lo Vasco, V. R., Salmaso, R., Zanardo, V., Businaro, R., Visentin, S., Trevisanuto, D., & Cosmi, E. (2011). Fetal aorta wall inflammation in ultrasound-detected aortic intima/media thickness and growth retardation. *J Reprod Immunol*, 91(1-2), 103-107. doi:10.1016/j.jri.2011.03.010
- Longo, S., Bollani, L., Decembrino, L., Di Comite, A., Angelini, M., & Stronati, M. (2013). Short-term and long-term sequelae in intrauterine growth retardation (IUGR). *J Matern Fetal Neonatal Med*, 26(3), 222-225. doi:10.3109/14767058.2012.715006
- Lopez, M. F., Dikkes, P., Zurakowski, D., & Villa-Komaroff, L. (1996). Insulin-like growth factor II affects the appearance and glycogen content of glycogen cells in the murine placenta. *Endocrinology*, 137(5), 2100-2108. doi:10.1210/endo.137.5.8612553
- Lopez, M. F., Dikkes, P., Zurakowski, D., Villa-Komaroff, L., & Majzoub, J. A. (1999). Regulation of hepatic glycogen in the insulin-like growth factor

- II-deficient mouse. *Endocrinology*, 140(3), 1442-1448. doi:10.1210/endo.140.3.6602
- Louvi, A., Accili, D., & Efstratiadis, A. (1997). Growth-promoting interaction of IGF-II with the insulin receptor during mouse embryonic development. *Dev Biol*, 189(1), 33-48. doi:10.1006/dbio.1997.8666
- Low, J. A., Handley-Derry, M. H., Burke, S. O., Peters, R. D., Pater, E. A., Killen, H. L., & Derrick, E. J. (1992). Association of intrauterine fetal growth retardation and learning deficits at age 9 to 11 years. *Am J Obstet Gynecol*, 167(6), 1499-1505. doi:10.1016/0002-9378(92)91727-r
- Lowe, W. L., Jr., Adamo, M., Werner, H., Roberts, C. T., Jr., & LeRoith, D. (1989). Regulation by fasting of rat insulin-like growth factor I and its receptor. Effects on gene expression and binding. *J Clin Invest*, 84(2), 619-626. doi:10.1172/jci114207
- Martin-Estal, I., de la Garza, R. G., & Castilla-Cortazar, I. (2016). Intrauterine Growth Retardation (IUGR) as a Novel Condition of Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) Deficiency. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 170, 1-35. doi:10.1007/112_2015_5001
- Martin-Gronert, M. S., & Ozanne, S. E. (2007). Experimental IUGR and later diabetes. *J Intern Med*, 261(5), 437-452. doi:10.1111/j.1365-2796.2007.01800.x
- McCubrey, J. A., Steelman, L. S., Bertrand, F. E., Davis, N. M., Abrams, S. L., Montalto, G., . . . Martelli, A. M. (2014). Multifaceted roles of GSK-3 and Wnt/beta-catenin in hematopoiesis and leukemogenesis: opportunities for therapeutic intervention. *Leukemia*, 28(1), 15-33. doi:10.1038/leu.2013.184
- McIntire, D. D., Bloom, S. L., Casey, B. M., & Leveno, K. J. (1999). Birth weight in relation to morbidity and mortality among newborn infants. *N Engl J Med*, 340(16), 1234-1238. doi:10.1056/nejm199904223401603
- McMillen, I. C., Adams, M. B., Ross, J. T., Coulter, C. L., Simonetta, G., Owens, J. A., . . . Edwards, L. J. (2001). Fetal growth restriction: adaptations and consequences. *Reproduction*, 122(2), 195-204. doi:10.1530/rep.0.1220195

- McMillen, I. C., & Robinson, J. S. (2005). Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev*, 85(2), 571-633. doi:10.1152/physrev.00053.2003
- Mericq, V., Ong, K. K., Bazaes, R., Pena, V., Avila, A., Salazar, T., . . . Dunger, D. B. (2005). Longitudinal changes in insulin sensitivity and secretion from birth to age three years in small- and appropriate-for-gestational-age children. *Diabetologia*, 48(12), 2609-2614. doi:10.1007/s00125-005-0036-z
- Miller, J., Turan, S., & Baschat, A. A. (2008). Fetal growth restriction. *Semin Perinatol*, 32(4), 274-280. doi:10.1053/j.semperi.2008.04.010
- Miller, S. L., Huppi, P. S., & Mallard, C. (2016). The consequences of fetal growth restriction on brain structure and neurodevelopmental outcome. *J Physiol*, 594(4), 807-823. doi:10.1113/jp271402
- Mitchell, E. A., Robinson, E., Clark, P. M., Becroft, D. M. O., Glavish, N., Pattison, N. S., . . . Wild, C. J. (2004). Maternal nutritional risk factors for small for gestational age babies in a developed country: a case-control study. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, 89(5), F431-F435. doi:10.1136/adc.2003.036970
- Morsing, E., Asard, M., Ley, D., Stjernqvist, K., & Marsal, K. (2011). Cognitive function after intrauterine growth restriction and very preterm birth. *Pediatrics*, 127(4), e874-882. doi:10.1542/peds.2010-1821
- Muaku, S. M., Beauloye, V., Thissen, J. P., Underwood, L. E., Ketelslegers, J. M., & Maiter, D. (1995). Effects of maternal protein malnutrition on fetal growth, plasma insulin-like growth factors, insulin-like growth factor binding proteins, and liver insulin-like growth factor gene expression in the rat. *Pediatr Res*, 37(3), 334-342. doi:10.1203/00006450-199503000-00014
- Murata, S., Ohkohchi, N., Matsuo, R., Ikeda, O., Myronovych, A., & Hoshi, R. (2007). Platelets promote liver regeneration in early period after hepatectomy in mice. *World J Surg*, 31(4), 808-816. doi:10.1007/s00268-006-0772-3

- Murphy, L. J. (2000). Overexpression of insulin-like growth factor binding protein-1 in transgenic mice. *Pediatr Nephrol*, 14(7), 567-571. doi:10.1007/s004670000347
- Nathanielsz, P. W., & Hanson, M. A. (2003). The fetal dilemma: spare the brain and spoil the liver. *J Physiol*, 548(Pt 2), 333. doi:10.1113/jphysiol.2003.040527
- Nicoletto, S. F., & Rinaldi, A. (2011). In the womb's shadow. The theory of prenatal programming as the fetal origin of various adult diseases is increasingly supported by a wealth of evidence. *EMBO Rep*, 12(1), 30-34. doi:10.1038/embor.2010.199
- Nicolini, U., Hubinont, C., Santolaya, J., Fisk, N. M., & Rodeck, C. H. (1990). Effects of fetal intravenous glucose challenge in normal and growth retarded fetuses. *Horm Metab Res*, 22(8), 426-430. doi:10.1055/s-2007-1004939
- Nishizawa, H., Takahashi, M., Fukuoka, H., Iguchi, G., Kitazawa, R., & Takahashi, Y. (2012). GH-independent IGF-I action is essential to prevent the development of nonalcoholic steatohepatitis in a GH-deficient rat model. *Biochem Biophys Res Commun*, 423(2), 295-300. doi:10.1016/j.bbrc.2012.05.115
- Norman, M. (2008). Low birth weight and the developing vascular tree: a systematic review. *Acta Paediatr*, 97(9), 1165-1172. doi:10.1111/j.1651-2227.2008.00904.x
- Ogata, E. S., Swanson, S. L., Collins, J. W., Jr., & Finley, S. L. (1990). Intrauterine growth retardation: altered hepatic energy and redox states in the fetal rat. *Pediatr Res*, 27(1), 56-63. doi:10.1203/00006450-199001000-00017
- Ohlsson, C., Mohan, S., Sjogren, K., Tivesten, A., Isgaard, J., Isaksson, O., . . . Svensson, J. (2009). The role of liver-derived insulin-like growth factor-I. *Endocr Rev*, 30(5), 494-535. doi:10.1210/er.2009-0010
- Ozanne, S. E., Jensen, C. B., Tingey, K. J., Storgaard, H., Madsbad, S., & Vaag, A. A. (2005). Low birthweight is associated with specific changes in

muscle insulin-signalling protein expression. *Diabetologia*, 48(3), 547-552. doi:10.1007/s00125-005-1669-7

Padilla, N., Falcon, C., Sanz-Cortes, M., Figueras, F., Bargallo, N., Crispi, F., . . . Gratacos, E. (2011). Differential effects of intrauterine growth restriction on brain structure and development in preterm infants: a magnetic resonance imaging study. *Brain Res*, 1382, 98-108. doi:10.1016/j.brainres.2011.01.032

Padoan, A., Rigano, S., Ferrazzi, E., Beaty, B. L., Battaglia, F. C., & Galan, H. L. (2004). Differences in fat and lean mass proportions in normal and growth-restricted fetuses. *Am J Obstet Gynecol*, 191(4), 1459-1464. doi:10.1016/j.ajog.2004.06.045

Perez, R., Garcia-Fernandez, M., Diaz-Sanchez, M., Puche, J. E., Delgado, G., Conchillo, M., . . . Castilla-Cortazar, I. (2008). Mitochondrial protection by low doses of insulin-like growth factor- I in experimental cirrhosis. *World J Gastroenterol*, 14(17), 2731-2739. doi:10.3748/wjg.14.2731

Priyadarshi, A., Verge, C. F., Vandervliet, L., Mackay, D. J., & Bolisetty, S. (2015). Transient Neonatal Diabetes Mellitus followed by recurrent asymptomatic hypoglycaemia: a case report. *BMC Pediatr*, 15, 200. doi:10.1186/s12887-015-0512-7

Puche, J. E., & Castilla-Cortázar, I. (2012). Human conditions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) deficiency. *J Transl Med*, 10, 224. doi:10.1186/1479-5876-10-224

Rajaram, S., Baylink, D. J., & Mohan, S. (1997). Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocr Rev*, 18(6), 801-831. doi:10.1210/edrv.18.6.0321

Randhawa, R., & Cohen, P. (2005). The role of the insulin-like growth factor system in prenatal growth. *Mol Genet Metab*, 86(1-2), 84-90. doi:10.1016/j.ymgme.2005.07.028

Rayasam, G. V., Tulasi, V. K., Sodhi, R., Davis, J. A., & Ray, A. (2009). Glycogen synthase kinase 3: more than a namesake. *Br J Pharmacol*, 156(6), 885-898. doi:10.1111/j.1476-5381.2008.00085.x

- Regev, R. H., Lusky, A., Dolfín, T., Litmanovitz, I., Arnon, S., & Reichman, B. (2003). Excess mortality and morbidity among small-for-gestational-age premature infants: a population-based study. *J Pediatr*, 143(2), 186-191. doi:10.1067/s0022-3476(03)00181-1
- Resnik, R. (2002). Intrauterine growth restriction. *Obstet Gynecol*, 99(3), 490-496. doi:10.1016/s0029-7844(01)01780-x
- Roberts, A., Nava, S., Bocconi, L., Salmona, S., & Nicolini, U. (1999). Liver function tests and glucose and lipid metabolism in growth-restricted fetuses. *Obstet Gynecol*, 94(2), 290-294. doi:10.1016/s0029-7844(99)00235-5
- Roberts, D. J., & Post, M. D. (2008). The placenta in pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *J Clin Pathol*, 61(12), 1254-1260. doi:10.1136/jcp.2008.055236
- Rochester, M. A., Riedemann, J., Hellawell, G. O., Brewster, S. F., & Macaulay, V. M. (2005). Silencing of the IGF1R gene enhances sensitivity to DNA-damaging agents in both PTEN wild-type and mutant human prostate cancer. *Cancer Gene Therapy*, 12(1), 90-100. doi:10.1038/sj.cgt.7700775
- Ross, J. C., Fennessey, P. V., Wilkening, R. B., Battaglia, F. C., & Meschia, G. (1996). Placental transport and fetal utilization of leucine in a model of fetal growth retardation. *Am J Physiol*, 270(3 Pt 1), E491-503. doi:10.1152/ajpendo.1996.270.3.E491
- Rozance, P. J., Limesand, S. W., & Hay, W. W., Jr. (2006). Decreased nutrient-stimulated insulin secretion in chronically hypoglycemic late-gestation fetal sheep is due to an intrinsic islet defect. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 291(2), E404-411. doi:10.1152/ajpendo.00643.2005
- Rozance, P. J., Zastoupil, L., Wesolowski, S. R., Goldstrohm, D. A., Strahan, B., Cree-Green, M., . . . Brown, L. D. (2018). Skeletal muscle protein accretion rates and hindlimb growth are reduced in late gestation intrauterine growth-restricted fetal sheep. *J Physiol*, 596(1), 67-82. doi:10.1113/jp275230

- Samuelsen, G. B., Pakkenberg, B., Bogdanovic, N., Gundersen, H. J., Larsen, J. F., Graem, N., & Laursen, H. (2007). Severe cell reduction in the future brain cortex in human growth-restricted fetuses and infants. *Am J Obstet Gynecol*, 197(1), 56.e51-57. doi:10.1016/j.ajog.2007.02.011
- Schiaffino, S., & Mammucari, C. (2011). Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. *Skeletal Muscle*, 1(1), 4. doi:10.1186/2044-5040-1-4
- Schieve, L. A., Meikle, S. F., Ferre, C., Peterson, H. B., Jeng, G., & Wilcox, L. S. (2002). Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med*, 346(10), 731-737. doi:10.1056/NEJMoa010806
- Schwabe, R. F., & Brenner, D. A. (2002). Role of glycogen synthase kinase-3 in TNF-alpha-induced NF-kappaB activation and apoptosis in hepatocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 283(1), G204-211. doi:10.1152/ajpgi.00016.2002
- Sehgal, A., Doctor, T., & Menahem, S. (2013). Cardiac function and arterial biophysical properties in small for gestational age infants: postnatal manifestations of fetal programming. *J Pediatr*, 163(5), 1296-1300. doi:10.1016/j.jpeds.2013.06.030
- Setia, S., & Sridhar, M. G. (2009). Changes in GH/IGF-1 axis in intrauterine growth retardation: consequences of fetal programming? *Horm Metab Res*, 41(11), 791-798. doi:10.1055/s-0029-1231026
- Setia, S., Sridhar, M. G., Bhat, V., & Chaturvedula, L. (2007). Growth hormone in intra-uterine growth retarded newborns. *Indian J Pediatr*, 74(11), 991-994. doi:10.1007/s12098-007-0182-z
- Sharma, D., Farahbakhsh, N., Shastri, S., & Sharma, P. (2016). Intrauterine growth restriction - part 2. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 29(24), 4037-4048. doi:10.3109/14767058.2016.1154525
- Sharma, D., Shastri, S., Farahbakhsh, N., & Sharma, P. (2016). Intrauterine growth restriction - part 1. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 29(24), 3977-3987. doi:10.3109/14767058.2016.1152249

- Sharma, D., Shastri, S., & Sharma, P. (2016). Intrauterine Growth Restriction: Antenatal and Postnatal Aspects. *Clinical medicine insights. Pediatrics*, 10, 67-83. doi:10.4137/CMPed.S40070
- Silva, J. R., Figueiredo, J. R., & van den Hurk, R. (2009). Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. *Theriogenology*, 71(8), 1193-1208. doi:10.1016/j.theriogenology.2008.12.015
- Simmons, R. A., Suponitsky-Kroyter, I., & Selak, M. A. (2005). Progressive accumulation of mitochondrial DNA mutations and decline in mitochondrial function lead to beta-cell failure. *J Biol Chem*, 280(31), 28785-28791. doi:10.1074/jbc.M505695200
- Skilton, M. R., Evans, N., Griffiths, K. A., Harmer, J. A., & Celermajer, D. S. (2005). Aortic wall thickness in newborns with intrauterine growth restriction. *Lancet*, 365(9469), 1484-1486. doi:10.1016/s0140-6736(05)66419-7
- Skrtic, S., Wallenius, V., Ekberg, S., Brenzel, A., Gressner, A. M., & Jansson, J. O. (1997). Insulin-like growth factors stimulate expression of hepatocyte growth factor but not transforming growth factor beta1 in cultured hepatic stellate cells. *Endocrinology*, 138(11), 4683-4689. doi:10.1210/endo.138.11.5540
- Snijders, R. J., Sherrod, C., Gosden, C. M., & Nicolaidis, K. H. (1993). Fetal growth retardation: associated malformations and chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol*, 168(2), 547-555. doi:10.1016/0002-9378(93)90491-z
- Soong, Y. K., Wang, T. H., Lee, Y. S., Chen, C. P., Chang, C. L., Ho, S. Y., . . . Chang, S. D. (2009). Genome-wide detection of uniparental disomy in a fetus with intrauterine growth restriction using genotyping microarrays. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 48(2), 152-158. doi:10.1016/s1028-4559(09)60277-1
- Soto, N., Bazaes, R. A., Pena, V., Salazar, T., Avila, A., Iniguez, G., . . . Mericq, M. V. (2003). Insulin sensitivity and secretion are related to catch-up growth in small-for-gestational-age infants at age 1 year: results from a

- prospective cohort. *J Clin Endocrinol Metab*, 88(8), 3645-3650.
doi:10.1210/jc.2002-030031
- Spinillo, A., Gardella, B., Bariselli, S., Alfei, A., Silini, E. M., & Bello, B. D. (2014). Cerebroplacental Doppler ratio and placental histopathological features in pregnancies complicated by fetal growth restriction. *J Perinat Med*, 42(3), 321-328. doi:10.1515/jpm-2013-0128
- Standaert, M. L., Sajan, M. P., Miura, A., Kanoh, Y., Chen, H. C., Farese, R. V., Jr., & Farese, R. V. (2004). Insulin-induced activation of atypical protein kinase C, but not protein kinase B, is maintained in diabetic (ob/ob and Goto-Kakazaki) liver. Contrasting insulin signaling patterns in liver versus muscle define phenotypes of type 2 diabetic and high fat-induced insulin-resistant states. *J Biol Chem*, 279(24), 24929-24934. doi:10.1074/jbc.M402440200
- Steketee, R. W., Nahlen, B. L., Parise, M. E., & Menendez, C. (2001). The burden of malaria in pregnancy in malaria-endemic areas. *Am J Trop Med Hyg*, 64(1-2 Suppl), 28-35. doi:10.4269/ajtmh.2001.64.28
- Stergiotou, I., Crispi, F., Valenzuela-Alcaraz, B., Cruz-Lemini, M., Bijmens, B., & Gratacos, E. (2014). Aortic and carotid intima-media thickness in term small-for-gestational-age newborns and relationship with prenatal signs of severity. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 43(6), 625-631. doi:10.1002/uog.13245
- Takahashi, N., Nishida, H., Arai, T., & Kaneda, Y. (1995). Abnormal cardiac histology in severe intrauterine growth retardation infants. *Acta Paediatr Jpn*, 37(3), 341-346. doi:10.1111/j.1442-200x.1995.tb03326.x
- Thamotharan, M., Shin, B. C., Suddirikku, D. T., Thamotharan, S., Garg, M., & Devaskar, S. U. (2005). GLUT4 expression and subcellular localization in the intrauterine growth-restricted adult rat female offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 288(5), E935-947. doi:10.1152/ajpendo.00342.2004
- Thissen, J. P., Ketelslegers, J. M., & Underwood, L. E. (1994). Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocr Rev*, 15(1), 80-101. doi:10.1210/edrv-15-1-80

- Thompson, J. A., Richardson, B. S., Gagnon, R., & Regnault, T. R. (2011). Chronic intrauterine hypoxia interferes with aortic development in the late gestation ovine fetus. *J Physiol*, 589(Pt 13), 3319-3332. doi:10.1113/jphysiol.2011.210625
- Thorn, S. R., Regnault, T. R. H., Brown, L. D., Rozance, P. J., Keng, J., Roper, M., . . . Friedman, J. E. (2009). Intrauterine Growth Restriction Increases Fetal Hepatic Gluconeogenic Capacity and Reduces Messenger Ribonucleic Acid Translation Initiation and Nutrient Sensing in Fetal Liver and Skeletal Muscle. *Endocrinology*, 150(7), 3021-3030. doi:10.1210/en.2008-1789
- Tintu, A., Rouwet, E., Verlohren, S., Brinkmann, J., Ahmad, S., Crispi, F., . . . le Noble, F. (2009). Hypoxia induces dilated cardiomyopathy in the chick embryo: mechanism, intervention, and long-term consequences. *PLoS One*, 4(4), e5155. doi:10.1371/journal.pone.0005155
- Tolsa, C. B., Zimine, S., Warfield, S. K., Freschi, M., Sancho Rossignol, A., Lazeyras, F., . . . Huppi, P. S. (2004). Early alteration of structural and functional brain development in premature infants born with intrauterine growth restriction. *Pediatr Res*, 56(1), 132-138. doi:10.1203/01.pdr.0000128983.54614.7e
- Tzschoppe, A., Riedel, C., von Kries, R., Struwe, E., Rascher, W., Dorr, H. G., . . . Dotsch, J. (2015). Differential effects of low birthweight and intrauterine growth restriction on umbilical cord blood insulin-like growth factor concentrations. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 83(5), 739-745. doi:10.1111/cen.12844
- Van Assche, F. A., De Prins, F., Aerts, L., & Verjans, M. (1977). The endocrine pancreas in small-for-dates infants. *Br J Obstet Gynaecol*, 84(10), 751-753. doi:10.1111/j.1471-0528.1977.tb12486.x
- Velloso, C. P. (2008). Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-I. *Br J Pharmacol*, 154(3), 557-568. doi:10.1038/bjp.2008.153
- Verhaeghe, J., Van Bree, R., Van Herck, E., Laureys, J., Bouillon, R., & Van Assche, F. A. (1993). C-peptide, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor binding protein-1 in umbilical cord serum:

correlations with birth weight. *Am J Obstet Gynecol*, 169(1), 89-97.
doi:10.1016/0002-9378(93)90137-8

Vijlbrief, D. C., van Bel, F., Molenschot, M. C., Benders, M. J., Pistorius, L. R., Kemperman, H., & de Vries, W. B. (2014). Early detection of prenatal cardiocirculatory compromise in small for gestational age infants. *Neonatology*, 105(4), 256-262. doi:10.1159/000357552

Villalpando, I., & Lopez-Olmos, V. (2003). Insulin-like growth factor I (IGF-I) regulates endocrine activity of the embryonic testis in the mouse. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 86(2), 151-158. doi:10.1016/s0960-0760(03)00265-6

Vincent, A. M., & Feldman, E. L. (2002). Control of cell survival by IGF signaling pathways. *Growth Horm IGF Res*, 12(4), 193-197.

Vivanco, I., Palaskas, N., Tran, C., Finn, S. P., Getz, G., Kennedy, N. J., . . . Sawyers, C. L. (2007). Identification of the JNK signaling pathway as a functional target of the tumor suppressor PTEN. *Cancer Cell*, 11(6), 555-569. doi:10.1016/j.ccr.2007.04.021

von Beckerath, A. K., Kollmann, M., Rotky-Fast, C., Karpf, E., Lang, U., & Klaritsch, P. (2013). Perinatal complications and long-term neurodevelopmental outcome of infants with intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*, 208(2), 130.e131-136. doi:10.1016/j.ajog.2012.11.014

Walenkamp, M. J., van der Kamp, H. J., Pereira, A. M., Kant, S. G., van Duyvenvoorde, H. A., Kruithof, M. F., . . . Wit, J. M. (2006). A variable degree of intrauterine and postnatal growth retardation in a family with a missense mutation in the insulin-like growth factor I receptor. *J Clin Endocrinol Metab*, 91(8), 3062-3070. doi:10.1210/jc.2005-1597

Walker, P. G., ter Kuile, F. O., Garske, T., Menendez, C., & Ghani, A. C. (2014). Estimated risk of placental infection and low birthweight attributable to *Plasmodium falciparum* malaria in Africa in 2010: a modelling study. *Lancet Glob Health*, 2(8), e460-467. doi:10.1016/s2214-109x(14)70256-6

- Wallenstein, M. B., Harper, L. M., Odibo, A. O., Roehl, K. A., Longman, R. E., Macones, G. A., & Cahill, A. G. (2012). Fetal congenital heart disease and intrauterine growth restriction: a retrospective cohort study. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 25(6), 662-665. doi:10.3109/14767058.2011.597900
- Walsh, P. T., Smith, L. M., & O'Connor, R. (2002). Insulin-like growth factor-1 activates Akt and Jun N-terminal kinases (JNKs) in promoting the survival of T lymphocytes. *Immunology*, 107(4), 461-471. doi:10.1046/j.1365-2567.2002.01525.x
- Wang, F., Ijuin, T., Itoh, T., & Takenawa, T. (2011). Regulation of IGF-1/PI3K/Akt signalling by the phosphoinositide phosphatase pharbin. *J Biochem*, 150(1), 83-93. doi:10.1093/jb/mvr037
- Werner, H., Shen-Orr, Z., Stannard, B., Burguera, B., Roberts, C. T., Jr., & LeRoith, D. (1990). Experimental diabetes increases insulinlike growth factor I and II receptor concentration and gene expression in kidney. *Diabetes*, 39(12), 1490-1497. doi:10.2337/diab.39.12.1490
- Wigglesworth, J. S. (1964). EXPERIMENTAL GROWTH RETARDATION IN THE FOETAL RAT. *J Pathol Bacteriol*, 88, 1-13.
- Woodall, S. M., Breier, B. H., Johnston, B. M., & Gluckman, P. D. (1996). A model of intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the somatotrophic axis and postnatal growth. *J Endocrinol*, 150(2), 231-242. doi:10.1677/joe.0.1500231
- Woods, K. A., Camacho-Hubner, C., Barter, D., Clark, A. J., & Savage, M. O. (1997). Insulin-like growth factor I gene deletion causing intrauterine growth retardation and severe short stature. *Acta Paediatr Suppl*, 423, 39-45.
- Woods, K. A., Camacho-Hubner, C., Savage, M. O., & Clark, A. J. (1996). Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. *N Engl J Med*, 335(18), 1363-1367. doi:10.1056/nejm199610313351805
- Xing, Y., Zhang, J., Wei, H., Zhang, H., Guan, Y., Wang, X., & Tong, X. (2019). Reduction of the PI3K/Akt related signaling activities in skeletal muscle

- tissues involves insulin resistance in intrauterine growth restriction rats with catch-up growth. *PLoS One*, 14(5), e0216665. doi:10.1371/journal.pone.0216665
- Yang, Q., Witkiewicz, B. B., Olney, R. S., Liu, Y., Davis, M., Khoury, M. J., . . . Erickson, J. D. (2001). A case-control study of maternal alcohol consumption and intrauterine growth retardation. *Ann Epidemiol*, 11(7), 497-503.
- Yates, D. T., Macko, A. R., Nearing, M., Chen, X., Rhoads, R. P., & Limesand, S. W. (2012). Developmental programming in response to intrauterine growth restriction impairs myoblast function and skeletal muscle metabolism. *J Pregnancy*, 2012, 631038. doi:10.1155/2012/631038
- Yee, J. K., Han, G., Vega, J., Lee, W. P., Ross, M. G., & Desai, M. (2016). Fatty Acid de Novo Synthesis in Adult Intrauterine Growth-Restricted Offspring, and Adult Male Response to a High Fat Diet. *Lipids*, 51(12), 1339-1351. doi:10.1007/s11745-016-4199-9
- Yu, K. M. (1992). [Relation between placental morphometry and fetal growth]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 27(4), 217-219, 250.
- Zanardo, V., Fanelli, T., Weiner, G., Fanos, V., Zaninotto, M., Visentin, S., . . . Cosmi, E. (2011). Intrauterine growth restriction is associated with persistent aortic wall thickening and glomerular proteinuria during infancy. *Kidney Int*, 80(1), 119-123. doi:10.1038/ki.2011.99
- Zhu, M. J., Ford, S. P., Nathanielsz, P. W., & Du, M. (2004). Effect of maternal nutrient restriction in sheep on the development of fetal skeletal muscle. *Biol Reprod*, 71(6), 1968-1973. doi:10.1095/biolreprod.104.034561
- Zinkhan, E. K., Yu, B., Callaway, C. W., & McKnight, R. A. (2018). Intrauterine growth restriction combined with a maternal high-fat diet increased adiposity and serum corticosterone levels in adult rat offspring. *J Dev Orig Health Dis*, 9(3), 315-328. doi:10.1017/s2040174418000016
- Zu, K., Martin, N. E., Fiorentino, M., Flavin, R., Lis, R. T., Sinnott, J. A., . . . Giovannucci, E. (2013). Protein expression of PTEN, insulin-like growth factor I receptor (IGF-IR), and lethal prostate cancer: a prospective study.

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 22(11), 1984-1993.
doi:10.1158/1055-9965.epi-13-0349



8. EKLER



ÖZGEÇMİŞ

1. Kişisel Bilgiler

Adı	Nihan	Soyadı	Bayındır
Doğ.Yeri	Sivas	Doğ.Tar.	09.08.1986
Email	bayindirnihan@gmail.com	Tel	05075360570

2. Öğrenim Durumu

	Üniversite	Fakülte	Anabilim dalı/Bölüm	Mezuniyet Yılı
Lisans	Cumhuriyet Üniv.	Fen-Edebiyat Fak.	Biyoloji	2009
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniv.	Tıp Fak.	Histoloji ve Embriyoloji Ab D	2012
Doktora	Cumhuriyet Üniv.	Tıp Fak.	Histoloji ve Embriyoloji Ab D	Devam ediyor

3. İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Araştırma Görevlisi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	2014-2018

4. Yayınlar

4.1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities)

1. Uckaya F, Bektay Y, Yilmaz A, Bayindir N, Selek Ş, Topcu G, et al. Therapeutic effects of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) on colitis through its antioxidant properties and biochemical analyses. ANTI-CANCER DRUGS, cilt.26, 2015
2. Soyman Z, Kelekçi S, Sal V, Şevket O, Bayındır N, Uzun H. Effects of Apigenin on Experimental Ischemia/Reperfusion Injury in the Rat Ovary. Balkan Med J. 2017 Sep 29;34(5):444-449. doi: 10.4274/balkanmedj.2016.1386. Epub 2017 Apr 13.
3. Soyman Z, Uzun H, Bayindir N, Esrefoglu M, Boran B. Can ebselen prevent cisplatin-induced ovarian damage? Arch Gynecol Obstet. 2018 Jun;297(6):1549-1555. doi: 10.1007/s00404-018-4750-4. Epub 2018 Mar 29.
4. Saygın B., Esrefoglu M. , Bayindir N. , Tok O. E. , Selek S. , Bulut H. , et al. Protection with thymoquinone against formaldehyde-induced neurotoxicity in the rats. Bratislavske lekarske listy, cilt.119, ss.726-730, 2018
5. Meydan S, Esrefoglu M, Selek S, Akbas Tosunoglu E, Ozturk O, Kurbetli N, Bayındır N, Bulut H, Meral I. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester and thymoquinone on toluene induced liver toxicity. Biotech Histochem. 2019 May;94(4):277-282. doi: 10.1080/10520295.2018.1554825. Epub 2019 Mar 1.
6. Selek S, Esrefoglu M, Meral I, Bulut H, Caglar HG, Sonuc G, Yildiz C, Teloglu ES, Dogan N, Yuce B, Tiftik E, Bayindir N. Effects of *Oenothera biennis* L. and *Hypericum perforatum* L. extracts on some central nervous system myelin proteins, brain histopathology and oxidative stress in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. Biotech Histochem. 2019 Feb;94(2):75-83. doi: 10.1080/10520295.2018.1482001. Epub 2019 Apr 8.

4.2. Diğer Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Kumas M. , Esrefoglu M. , Bayindir N. , Iraz M., Ayhan S., Meydan S. Protective Effects of Curcumin on Cadmium-Induced Renal Injury in Young and Aged Rats. BEZMIALEM SCIENCE, cilt.4, ss.92-98, 2016
2. Bayindir N. , Esrefoglu M. An Overwiev of the Neural Crest Cells and Tumor Metastasis. BEZMIALEM SCIENCE, cilt.4, ss.65-69, 2016

4.3. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

1. Ünver Saraydın S, Şahin İnan D, Çınar N. Biyomateryal yapımında kullanılan akrilamid ve türevlerinin rat böbrek dokusu morfolojisi üzerine etkileri. Yayın Yeri: 4. Ulusal Bilim ve Teknoloji Kongresi

4.4. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

1. Bektay MY, Üçkaya F, Topçu G, Eşrefoğlu M, Bayındır N. Investigation of In-Vitro and In-Vivo Anti-Oxidant Effects of Matricaria chamomilla Extract on Rat Model of Ulcerative Colitis. 1st International Conference on Natural Products for Cancer Prevention and Therapy, 2015 İstanbul, Türkiye.
2. Bayindir N, Esrefoglu M, Tok OE, Aydın MS, Iraz M, Kesgin S, Kocyigit A. Protective effects of β glucan on hepatic injury induced by renal ischemia and reperfusion in rats. pp. 367-369. 12th Multinational Congress on Microscopy, 2015, Eger, Hungary.
3. Bektay MY, Uçkaya F, Bayındır N, Topçu G, Eşrefoğlu M. Investigation of Anti-Oxidant and Toxicological Effects Of Methanolic Extract of Rosmarinus officinalis. ss.65. International Multidisciplinary Symposium on Drug Research & Development, 15 October 2015, Eskişehir, Türkiye.
4. Bayındır N, Tok OE, Eşrefoğlu M, Kılıç E, Bulut H. Shea Yağının Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi. ss.720-721. Uluslararası Katılımlı XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 30 April 2016, İzmir, Türkiye.
5. Bektay MY, Uckaya F, Guler E.M, Bayindir N, Kocyigit A, Esrefoglu M, et al. Antioxidant and toxicological in-vivo and in-vitro examination of licorice extract. 41st FEBS Congress on Molecular and Systems

Biology for a Better Life, , cilt.283, ss.144, 3 - 08 September 2016, Kusadası, Türkiye.

6. Bayındır N, Eşrefoğlu M, Ercan Ç, Akbaş F, Kılıç F. The effect of oral administration of shea butter on liver damage caused by lipopolysaccharide-induced sepsis in rats. 13th Multinational Congress on Microscopy24, September 2017, ss.15, Rovinj, Hırvatistan.

