

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**DİYABETİK VE BÜYÜME GERİLİĞİ  
OLUŞTURULMUŞ SIÇAN PLASENTALARININ  
GELİŞİMİNDE AKT VE ERK1/2 PROTEİNLERİNİN  
ROLLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYA VE WESTERN  
BLOT METODLARIYLA BELİRLENMESİ**

**Aslı ÖZMEN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Antalya, 2009**

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**DİYABETİK VE BÜYÜME GERİLİĞİ  
OLUŞTURULMUŞ SIÇAN PLASENTALARININ  
GELİŞİMİNDE AKT VE ERK1/2 PROTEİNLERİNİN  
ROLLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYA VE WESTERN  
BLOT METODLARIYLA BELİRLENMESİ**

**Aslı ÖZMEN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Emin Türkay KORGUN**

Çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2007.02.0122.013)

**“Kaynakça Gösterilerek Tezinden Yararlanılabilir”**

**Antalya, 2009**

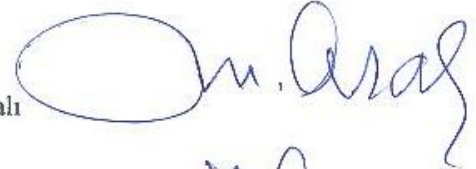
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Bu çalışma, jürimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Üreme Biyolojisi Programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. ..../...../....

**Tez Danışmanı** : **Doç. Dr. Emin Türkay KORGUN**  
Akdeniz Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı




**Üye** : **Prof. Dr. Mevlüt ASAR**  
Akdeniz Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



**Üye** : **Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL**  
Akdeniz Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



**Üye** : **Doç. Dr. Necdet DEMİR**  
Akdeniz Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



**Üye** : **Doç. Dr. Mehmet ŞİMŞEK**  
Akdeniz Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı



**ONAY:**

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..../...../..... tarih ve ..../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Plasenta maternal metabolizmada meydana gelen değişiklerden etkilenmekte ve fetüsün yaşama şansını arttırabilmek için bu değişikliklere yanıt vermektedir. Aşırı glikoz ve glukokortikoide maruz kalma çeşitli plasental ve fetal patolojilere yol açmaktadır.

Hücre içi sinyal iletim yollarında görev alan Akt ve ERK1/2 proteinleri plasental gelişimde önem taşımaktadır. Ancak diyabet ve IUGR (uterus içi büyüme geriliği) görülen plasentalarda Akt ve ERK1/2 proteinlerinin hücrel lokalizasyonları ve fosforilasyonlarının plasental gelişim üzerindeki etkilerine dair bilgiler sınırlıdır. Bu nedenle bu çalışmada diyabet ve IUGR görülen plasentalarda Akt ve ERK1/2 proteinlerinin ve bu proteinlerin fosforile formlarının hücrel dağılımları ve protein miktarları immünohistokimya ve Western Blot metodlarıyla incelendi.

Çalışmada IUGR grubunu oluşturacak olan gebe dişilere, gebeliğin 10. ve 12. günlerinde deksametazon enjeksiyonuna başlandı. 10. günde enjeksiyona başlanan grup 12. günde sakrifiye edildi. Enjeksiyona 12. günde başlanan gruplar 14, 16, 18 ve 20. günlerde sakrifiye edildiler. Enjeksiyonun yapıldığı ilk gün 100 µg/kg olacak şekilde boyun bölgesinden subkutan olarak deksametazon enjekte edildi. Sonraki günlerde 200µg/kg olacak şekilde deksametazon verilmeye devam edildi. Kontrol gruplarına aynı miktarlarda serum fizyolojik enjekte edildi. Diyabet grubunu oluşturacak olan gebe dişiler, diyabet oluşturabilmek için sakrifiye edilecekleri tarihten yedi gün önce intraperitoneal olarak tek doz 40mg/kg streptozotosin (STZ) enjeksiyonuna maruz bırakıldılar. 48 saat sonra kan şekerleri ölçüldü. Kan şekeri değeri 200mg/dl'nin üzerinde çıkan dişiler diyabetik kabul edilerek deneye dahil edildiler. Kontrol gruplarına, aynı miktarda serum fizyolojik enjekte edildi. Toplanan plasenta örnekleri immünohistokimya ve Western Blot yöntemleriyle incelendi.

Akt fosforilasyonunun kontrol grubuna kıyasla, IUGR (14. gün hariç) ve diyabet (12. gün hariç) gruplarında anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. İmmün boyanmalar özellikle bağlantı zonu hücrelerinde belirgindi. IUGR ve diyabet gruplarında immün boyanmalarda azalmalar gözlemlendi. ERK1/2 fosforilasyonunun IUGR grubunda gebeliğin 12 ve 16. gününde arttığı diğer günlerde ise azalma olduğu tespit edildi. Bu farklar 16 ve 18. günlerde anlamlı idi. Diyabet gruplarında 12. gün hariç diğer günlerde ERK1/2 fosforilasyonunun azaldığı belirlendi. Bu azalma 14 ve 16. günlerde anlamlı idi. ERK1/2 fosforilasyonu tüm gruplarda gebeliğin ortalarına doğru azalış, 18. günde itibaren tekrar artış gösterdi. Fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları bağlantı zonu hücrelerinin yanı sıra labirint zon hücrelerinde de belirgin olarak mevcuttu.

Sonuç olarak sıçan plasentalarında IUGR ve diyabet etkisi ile Akt ve ERK1/2 proteinlerinin aktivasyonlarının azaldığı dolayısıyla hiperglisemi ve aşırı maternal deksametazon maruziyette bu iki sinyal iletim yolağının etkilendiği tespit edilmiştir. IUGR plasentalarında görülen ağırlık azalmaları ile diyabetik plasenta ağırlıklarında gebeliğin ortalarına doğru azalma, 18. günden itibaren artma gözlenmesinde Akt ve ERK1/2 proteinlerinin dolayısıyla PI3K-Akt ve MAPK-ERK1/2 yollarının rol oynadığı söylenilebilir.

**Anahtar kelimeler:** IUGR, diyabet, plasenta, sıçan, Akt, ERK1/2



## ABSTRACT

Placenta is affected by the changes in maternal metabolism and give response to these changes to optimise the fetal survival. Overexposure to maternal glucose and glucocorticoids causes several placental and fetal pathologies.

Akt and ERK1/2 are signal transduction proteins and have important roles in placental development. However, there is scarce data about phosphorylation and immunolocalization of these proteins in diabetic and IUGR (Intrauterine Growth Retardation) placentas. Therefore in this study we aimed to determine to immunolocalization and phosphorylation of Akt and ERK1/2 by immunohistochemistry and western blot techniques.

In order to compose IUGR group, pregnant females were injected with 100µg/kg dexamethasone on the 10<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> day of gestation subcutaneously. Enjections continued as 200µg/kg until the day they were sacrificed. Rats that were dexamethasone injected on the 10<sup>th</sup> day of gestation were sacrificed on the day 12 of gestation. The pregnant rats, whose dexamethasone injection started on the 12<sup>th</sup> day, were sacrificed on the 14<sup>th</sup>, 16<sup>th</sup>, 18<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> day of their gestation. The control groups were injected same dose isotonic salt solution. The females that take part in diabetic group was injected 40mg/kg streptozotocin (STZ) intraperitoneally seven days before the sacrifice. After 48 hours blood glucose was measured. Rats whose blood sugar is over 200 mg/dl were included in the diabetic group. The control groups were injected same dose isotonic salt solution. Placenta samples were examined with immunohistochemical and western blot techniques

It was observed that Akt phosphorylation was reduced significantly in IUGR (except day 14) and diabetic (except day 12) placentas. Immune reactions were significant in the junctional zone of the rat placenta and decreased in the IUGR and diabetic groups. ERK1/2 phosphorylation was increased at 12<sup>th</sup> and 16<sup>th</sup> days of gestation and decreased in the other days of gestation in IUGR groups. The results were statistically significant at 16<sup>th</sup> and 18<sup>th</sup> days. In diabetic groups ERK1/2 activation was decreased in all groups except day 12. The difference was significant at 14<sup>th</sup> and 16<sup>th</sup> days. In all groups ERK1/2 phosphorylation was reduced until the mid-gestation and increased after the 18<sup>th</sup> day of gestation. Phospho-ERK1/2 immune reactions were not only significant in the junctional zone, it was also significant in the labyrinth zone of the placentas.

In conclusion, in diabetic and IUGR rats phospho-Akt and phospho-ERK1/2 expressions were reduced. It is detected that these proteins were negatively affected by over exposure to maternal hyperglycemia and dexamethasone. As a result, the small placentas in the IUGR groups and the small placentas observed on early stages and placentomegaly observed during late stages of pregnancy in the diabetic groups may be a result of disturbed PI3K-Akt and MAPK-ERK1/2 pathways.

**Key words:** IUGR, diabetes, placenta, rat, Akt, ERK1/2

## TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması, projelendirilmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesinde önemli katkılarda bulunan danışman hocam sayın Doç. Dr. Emin Türkay KORGUN'a,

Tezimin gerçekleşmesi için her türlü imkan ve desteği sağlayan başta Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Mevlüt ASAR olmak üzere Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın tüm değerli öğretim üyelerine; Prof. Dr. Ramazan DEMİR'e, Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL'e, Doç. Dr. Necdet DEMİR'e, Doç. Dr. Çiler ÇELİK ÖZENCİ'ye, Doç. Dr. Gökhan AKKOYUNLU'ya, değerli araştırma görevlilerine ve çalışanlarına,

Yardımları ile her zaman yanımda olan Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün değerli elemanlarına,

Deney hayvanları laboratuvarındaki çalışmalarında bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen laboratuvarın tüm çalışanlarına,

Tezimin yazım aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen çalışma arkadaşım sevgili Gözde ÜNEK'e,

Desteklerini daima yanımda hissettiğim anneme, babama, kardeşime ve

Son olarak her zaman anlayışla ve sabırla bana destek olan eşim Jankat ÖZMEN'e en içten saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
<b>ÖZET</b>	iv
<b>ABSTRACT</b>	v
<b>TEŞEKKÜR</b>	vi
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	vii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b>	x
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	xii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	xvi
<b>GİRİŞ</b>	
1.1.    Hipotezin Temeli ve Amaç	1
<b>GENEL BİLGİLER</b>	
2.1.    Plasenta	4
2.2.    Plasenta Tipleri	4
2.3.    İnsan Plasentasının Gelişimi ve Yapısı	8
2.3.1.    Prelaküner evre	8
2.3.2.    Laküner evre	9
2.3.3.    Erken Villus Evreleri	10
2.3.4.    Desidua	11
2.3.5.    Koryonik Plak (Koryon Plağı)	12
2.3.6.    Bazal Plak	12
2.4.    Term Plasentanın Yapısı	13
2.4.1.    Fetal kısım	14
2.4.2.    Maternal Kısım	14
2.5.    Sıçan Plasentası	15
2.5.1.    Sıçan plasentasının gelişimi	15
2.5.2.    Erken Trofoblast gelişiminde sinyal iletimi	17
2.6.    Sıçanda Olgun Plasenta Yapısı	19
2.7.    Sıçan ve İnsan Plasentası Arasındaki Benzerlikler ve Farklılıklar	23
2.7.1.    Fetal Plasenta ve Labirint	24
2.7.2.    Bazal Plak ve Bağlantı Zonu	25
2.7.3.    Dev Hücreler ve Ekstravillöz Trofoblastlar	25
2.7.4.    Plasental yatak ve desidua bazalis	26
2.8.    Hücrede Sinyal İletimi	26
2.8.1.    MAPK (Mitojenin Aktifleştirdiği Protein Kinazlar) Yolağı	26

2.8.2.	Akt Yolağı	28
2.9.	Diabetes Mellitus	30
2.9.1.	Tip 1 Diabetes Mellitus	30
2.9.2.	Tip 2 Diabetes Mellitus	31
2.9.3.	Gebelik Diyabeti (Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM))	32
2.9.4.	Diyabetik Plasenta	33
2.9.5.	Streptozotosin (STZ) İndüklü Diyabetik Ratlarda Gebelikte Diyabet Karakteristikleri	35
2.10.	İntrauterin Büyüme Geriliği (IUGR)	35

## GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.	Denekler	37
3.2.	Diyabet Modelinin Oluşturulması	37
3.3.	IUGR Modelinin Oluşturulması	37
3.4.	Doku Temini ve Hazırlanması	37
3.4.1.	Doku Temini	37
3.4.2.	İmmünohistokimya tekniği için doku hazırlanması	38
3.4.3.	Western Blot tekniği için doku hazırlanması	38
3.4.3.1.	Lizat hazırlama	38
3.4.3.2.	Protein miktarının belirlenmesi	38
3.5.	Rutin Işık Mikroskopik Gözlemler	39
3.6.	İmmünohistokimyasal Protokol	39
3.7.	SDS-PAGE Western Blot protokol	40
3.8.	İstatistiksel Analiz	40
3.8.1.	Plasenta-Embriyo Ağırlıkları	40
3.8.2.	Western Blot Analizleri	40

## BULGULAR

4.1.	Plasenta Ağırlıkları	42
4.2.	Embriyo Ağırlıkları	44
4.3.	Morfolojik Olarak Plasental Gelişim	45
4.3.1.	Gelişimin 12. günü	45
4.3.2.	Gelişimin 14. günü	47
4.3.3.	Gelişimin 16. günü	49
4.3.4.	Gelişimin 18. günü	50
4.3.5.	Gelişimin 20. günü	52
4.4.	İmmünohistokimyasal Bulgular	54
4.4.1.	Akt (PKB) İmmün Boyanmaları	54
4.4.2.	Fosfo- Akt İmmün Boyanmaları	68
4.4.3.	ERK 1/2 İmmün Boyanmaları	73
4.4.4.	Fosfo- ERK1/2 İmmün Boyanmaları	87
4.5.	Western Blot Bulguları	95
4.5.1.	Akt Ekspresyonu	95
4.5.2.	Fosfo - Akt Ekspresyonu	97
4.5.3.	ERK 1/2 Ekspresyonu	100
4.5.4.	Fosfo -ERK 1/2 Ekspresyonu	102

<b>TARTIŞMA</b>	<b>105</b>
<b>SONUÇLAR</b>	<b>111</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>112</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>125</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Akt</b>	: Hücre içi sinyal iletim molekülü
<b>cAMP</b>	: siklik Adenozin Mono Fosfat
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Karbondioksit
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>E</b>	: Embriyonik
<b>EPK</b>	: Ektoplasental Kon
<b>ERK1/2</b>	: Extracellular signal Regulated Kinase 1/2
<b>ERR<math>\beta</math></b>	: Östrojen ilişkili büyüme faktörü $\beta$
<b>FGF</b>	: Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>G<sub>0</sub></b>	: Hücre siklusunun G <sub>0</sub> fazı
<b>G<sub>1</sub></b>	: Hücre siklusunun G <sub>1</sub> fazı
<b>GDM</b>	: Gestasyonel Diabetes Mellitus
<b>GDP</b>	: Guanozin Di-Fosfat
<b>GLUT</b>	: Glikoz Taşıyıcı Protein
<b>Grb2</b>	: Growth factor receptor bound 2
<b>GSK3<math>\alpha</math></b>	: Glikojen Sentez Kinaz 3 $\alpha$
<b>GTP</b>	: Guanozin Tri-Fosfat
<b>HDL</b>	: High Density Lipoprotein
<b>HLA</b>	: İnsan Lökosit Antijeni
<b>HPL</b>	: İnsan Plasental Laktojen
<b>IGF-2</b>	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü -2
<b>IL-1</b>	: Interlökin 1
<b>IRS-1</b>	: İnsülin Reseptör Substrat-1
<b>IUGR</b>	: İntrauterin Büyüme Geriliği
<b>İHK</b>	: İç Hücre Kitlesi
<b>LGA</b>	: Gebelik yaşına göre büyük
<b>MAPK</b>	: Mitojenin Aktifleştirdiği Protein Kinaz
<b>MEK1</b>	: MAP Kinaz/ ERK Kinaz 1

<b>MHC</b>	: Major Histokompatibilite Kompleksi
<b>MMP</b>	: Matriks Metallo Proteinaz
<b>NFκB</b>	: Nükleer Faktör κB
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>OGTT</b>	: Oral Glikoz Tolerans Testi
<b>PDK1</b>	: Fosfoinositid Bağımlı Kinaz 1
<b>PGE2</b>	: Prostaglandin E2
<b>PGF-1</b>	: Plasental Büyüme Faktörü-1
<b>PH</b>	: Pleckstrin Homology Domain
<b>PI3K</b>	: Fosfotidilinositol-3-Kinaz
<b>PIP2</b>	: Fosfotidilinositol 4,5-bifosfat
<b>PIP3</b>	: Fosfotidilinositol 3,4,5-trifosfat
<b>PKB</b>	: Protein Kinaz B
<b>PLP-A</b>	: Prolaktin Benzeri Protein- A
<b>Prp</b>	: Proliferin ilişkili protein
<b>PTEN</b>	: Phosphatase and Tensin homolog deleted on chromosome Ten
<b>Rb</b>	: Retinablastoma
<b>RTK</b>	: Reseptör Tirozin Kinaz
<b>SGA</b>	: Gebelik yaşına göre küçük
<b>SHIP</b>	: Src-homology 2-containing inositol 5' phosphatase
<b>SOS</b>	: Son of Sevenless
<b>STZ</b>	: Streptozotocin
<b>T1DM</b>	: Tip 1 Diabetes Mellitus
<b>TE</b>	: Trofoektoderm
<b>uPA</b>	: Ürokinaz tip Plazminojen Aktivatör
<b>VEGF</b>	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.2.1a-d	Villus organizasyonuna göre plasenta tiplerinin şematize görüntüsü	5
2.2.2a-d	Villus organizasyonuna göre plasenta tiplerinin canlı örnekleri	5
2.2.3a-c	Plasental bariyeri oluşturan hücelere göre plasental sınıflandırma	6
2.2.4.	Plasental bariyeri oluşturan hücelere göre insan ve sıçan plasentalarının karşılaştırılması	7
2.2.5.	Maternofetal interdijitasyonlara göre plasental sınıflandırma	8
2.3.	Erken plasental gelişimin şematize edilmiş şekli	10
2.4.	İnsan term plasentanın görünümü	14
2.5.1.1.	Sıçan plasentasyonunun erken sahfa ları	15
2.5.1.2.	Sıçan plasentas ı gelişimi	17
2.5.2.	Koryoallantoik morfogenezin düzenlenmesi	19
2.6.1.	Sıçanlarda olgun plasentanın genel görünümü	20
2.6.2.	Üç sıra halinde düzenlenmiş labirint trofoblast hücreleri	20
2.6.3.	Gebeliğin 14. gününde labirint tabakanın detaylı görünümü	21
2.6.4.	Gebeliğin 14. gününde bağlant ı zonu detaylı görünümü	22
2.7.	İnsan ve sıçan plasentalarının karşılaştırılması	23
2.8.1.1.	MAPK sinyal iletim yolağı	27
2.8.1.2.	ERK1/2 aktivasyonunda rol oynayan faktörler	27
2.8.1.3.	Fosforile olan ERK1/2'nin nükleer faktörleri aktive etmesi	28
2.8.2.1.	Akt izoformlarının yapısal özellikleri	29
2.8.2.2.	Akt (PKB)'nin fosforilasyon basamakları ve hücre içindeki rolü	30
4.1.1.	Gebeliğin 12. gününe ait kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait uterus+plasenta+embriyo ağırlıkları	42
4.1.2.	Gebeliğin 14-20. günleri arası kontrol ve IUGR gruplarına ait plasenta ağırlıkları	43
4.1.3.	Gebeliğin 14-20. günleri arası kontrol ve diyabet gruplarına ait plasenta ağırlıkları	43
4.2.1.	Gebeliğin 14-20. günleri arası kontrol ve IUGR gruplarına ait embriyo ağırlıkları	44



<b>4.2.2.</b>	Gebeliğin 14-20. günleri arası kontrol ve diyabet gruplarına ait embriyo ağırlıkları	<b>45</b>
<b>4.3.1.1a-d</b>	12 günlük kontrol grubuna ait uterus+plasenta+embriyo kesitinin Hematoksilen- Eozin (H-E) boyanmalar	<b>46</b>
<b>4.3.1.2a-c</b>	12. gün kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait H-E boyanmaları	<b>46</b>
<b>4.3.1.3a-c</b>	12 günlük kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait uterus + plasenta+embriyo kesitlerinin H-E boyanmaları	<b>47</b>
<b>4.3.2.1a-f</b>	14. gün kontrol grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>48</b>
<b>4.3.2.2a-c</b>	14. gün kontrol ve deney gruplarına ait plasentaların H-E boyanmaları	<b>49</b>
<b>4.3.3.1a,b</b>	16. gün kontrol grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>49</b>
<b>4.3.3.2a,b</b>	16. gün IUGR grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>50</b>
<b>4.3.3.3a,b</b>	16. gün diyabet grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>50</b>
<b>4.3.4.1a,b</b>	18. gün kontrol grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>51</b>
<b>4.3.4.2a,b</b>	18. gün IUGR grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>51</b>
<b>4.3.4.3a,b</b>	18. gün diyabet grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>51</b>
<b>4.3.5.1a,b</b>	20. gün kontrol grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>52</b>
<b>4.3.5.2a,b</b>	20. gün IUGR grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>52</b>
<b>4.3.5.3a,b</b>	20. gün diyabet grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları	<b>53</b>
<b>4.4.1.1a,b</b>	12 günlük kontrol grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları	<b>55</b>
<b>4.4.1.2a,b</b>	12 günlük IUGR grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları	<b>55</b>
<b>4.4.1.3a,b</b>	12 günlük diyabet grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları	<b>55</b>
<b>4.4.1.4a-d</b>	14 günlük kontrol grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları	<b>56</b>
<b>4.4.1.5a-d</b>	14 günlük IUGR grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları	<b>57</b>
<b>4.4.1.6a-d</b>	14 günlük diyabet grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları	<b>58</b>
<b>4.4.1.7a-d</b>	16. gün kontrol grubuna ait Akt immün boyanmaları	<b>59</b>
<b>4.4.1.8a-d</b>	16. gün IUGR grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları	<b>60</b>
<b>4.4.1.9a-d</b>	16. gün diyabet grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları	<b>61</b>
<b>4.4.1.10a-d</b>	18. gün kontrol grubuna ait Akt immün boyanmaları	<b>62</b>

<b>4.4.1.11a-d</b>	18. gün IUGR grubuna ait Akt immün boyanmaları	<b>63</b>
<b>4.4.1.12 a-d</b>	18. gün diyabet grubuna ait Akt immün boyanmaları	<b>64</b>
<b>4.4.1.13a-d</b>	20. gün Kontrol grubuna ait Akt immün boyanmaları	<b>65</b>
<b>4.4.1.14a-d</b>	20. gün IUGR grubuna ait Akt immün boyanmaları	<b>66</b>
<b>4.4.1.15a-d</b>	20. gün diyabet grubunda Akt immün boyanmaları	<b>67</b>
<b>4.4.2.1a-c</b>	12. gün fosfo–Akt immün boyanmaları	<b>69</b>
<b>4.4.2.2a-c</b>	14. gün fosfo–Akt immün boyanmaları	<b>69</b>
<b>4.4.2.3a,b</b>	16. gün kontrol grubu fosfo–Akt immün boyanmaları	<b>70</b>
<b>4.4.2.4a,b</b>	16. gün IUGR grubu fosfo–Akt immün boyanmaları	<b>70</b>
<b>4.4.2.5a,b</b>	16. gün diyabet grubu fosfo–Akt immün boyanmaları	<b>71</b>
<b>4.4.2.6a-c</b>	18. gün fosfo–Akt immün boyanmaları	<b>71</b>
<b>4.4.2.7a-d</b>	20. gün fosfo–Akt immün boyanmaları	<b>72</b>
<b>4.4.3.1a,b</b>	12. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>74</b>
<b>4.4.3.2a,b</b>	12. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>74</b>
<b>4.4.3.3a,b</b>	12. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>74</b>
<b>4.4.3.4a-d</b>	14. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>75</b>
<b>4.4.3.5a-d</b>	14. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>76</b>
<b>4.4.3.6a-d</b>	14. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>77</b>
<b>4.4.3.7a-d</b>	16. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>78</b>
<b>4.4.3.8a-d</b>	16. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>79</b>
<b>4.4.3.9a-d</b>	16. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>80</b>
<b>4.4.3.10a-d</b>	18. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>81</b>
<b>4.4.3.11a-d</b>	18. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>82</b>
<b>4.4.3.12a-d</b>	18. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>83</b>
<b>4.4.3.13a-d</b>	20. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>84</b>
<b>4.4.3.14a-d</b>	20. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>85</b>
<b>4.4.3.15a-d</b>	20. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları	<b>86</b>
<b>4.4.4.1a,b</b>	12. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immüno pozitif boyanmaları	<b>88</b>
<b>4.4.4.2a,b</b>	12. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immüno pozitif boyanmaları	<b>88</b>
<b>4.4.4.3a,b</b>	12. gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immüno pozitif boyanmaları	<b>88</b>
<b>4.4.4.4a,b</b>	14. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	<b>89</b>
<b>4.4.4.5a,b</b>	14. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	<b>89</b>
<b>4.4.4.6a,b</b>	14. gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	<b>90</b>

4.4.4.7a,b	16. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	90
4.4.4.8a,b	16. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	91
4.4.4.9a,b	16.gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	91
4.4.4.10a,b	18. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	92
4.4.4.11a,b	18. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	92
4.4.4.12a,b	18. gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	92
4.4.4.13a,b	20. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	93
4.4.4.14a,b	20. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	93
4.4.4.15a,b	20. gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları	94
4.5.1.1.	Kontrol grubu fosfo –Akt ve Akt protein bantları	95
4.5.1.2.	IUGR grubu fosfo –Akt ve Akt protein bantları	95
4.5.1.3.	Diyabet grubu fosfo –Akt ve Akt protein bantları	95
4.5.1.4.	Gebeliğin 12-20. günleri arası kontrol ve IUGR gruplarına ait Akt/ Beta aktin protein miktarları görülmektedir	96
4.5.1.5.	Gebeliğin 12-20. günleri arası kontrol ve diyabet gruplarına ait Akt/ Beta aktin protein miktarları görülmektedir.	96
4.5.1.6.	IUGR ve diyabet gruplarına ait Akt/Beta aktin protein miktarları	97
4.5.2.1.	Kontrol ve IUGR gruplarına ait fosfo-Akt/ Akt protein miktarları	98
4.5.2.2.	Kontrol ve diyabet gruplarına ait fosfo-Akt/ Akt protein miktarları	98
4.5.2.3.	IUGR ve diyabet gruplarına ait fosfo-Akt/ Akt protein miktarları	99
4.5.3.1.	Kontrol grubu ERK1/2 ve fosfo -ERK1/2 protein bantları	100
4.5.3.2.	IUGR grubu ERK1/2 ve fosfo- ERK1/2 protein bantları	100
4.5.3.3.	Diyabet grubu ERK1/2 ve fosfo ERK1/2 protein bantları	100
4.5.3.4.	Gebeliğin 12-20. günleri arası kontrol ve IUGR gruplarına ait ERK1/2/ Beta aktin oranları görülmektedir	101
4.5.3.5.	Gebeliğin 12-20. günleri arası kontrol ve diyabet gruplarına ait ERK1/2/ Beta Aktin oranları görülmektedir	102
4.5.3.6.	IUGR ve diyabet gruplarına ait ERK1/2/ Beta aktin oranlarının birlikte görünümü	102
4.5.4.1.	Kontrol ve IUGR gruplarına ait fosfo-ERK 1/2/ ERK1/2 oranları	103
4.5.4.2.	Kontrol ve diyabet gruplarına ait fosfo-ERK 1/2/ ERK1/2 oranları	104
4.5.4.3.	IUGR ve diyabet gruplarına ait fosfo-ERK 1/2/ ERK1/2 oranları	104

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.2. İnsan ve kemirgen plasentalarının karşılaştırılması	8
2.6. Sıçan plasental gelişiminde görülen oransal değişimler	22
2.7. İnsan ve sıçan plasentalarında trofoblastların karşılaştırılması	24
4.1.1. 12. gün uterus+plasenta+ embriyo ağırlıkları	42
4.1.2. 14-20. günler arası gruplara ait plasenta ağırlıkları	44
4.2.1. 14-20. günler arası gruplara ait embriyo ağırlıkları	45
4.4.1.1. Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait sıçan plasentalarında Akt immünoboyanmasının hücresele dağılımı	54
4.4.2.1. Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait sıçan plasentalarında fosfo-Akt immüno boyanmasının hücresele dağılımı	68
4.4.3.1. Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait sıçan plasentalarında ERK1/2 immüno boyanmasının hücresele dağılımı	73
4.4.4.1. Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait sıçan plasentalarında fosfo-ERK1/2 immüno boyanmasının hücresele dağılımı	87
4.5.1.1. 12-20. günler arası gruplara ait Akt/ Beta aktin protein miktarları	97
4.5.2.1. 12-20. günler arası gruplara ait fosfo-Akt/ Akt protein miktarları	98
4.5.3.1. 12-20. günler arası gruplara ait ERK1/2/ Beta Aktin protein miktarları	101
4.5.4.1. 12-20. günler arası gruplara ait fosfo-Erk1/2/ Erk1/2 protein miktarları	103

## GİRİŞ

### 1.1. Hipotezin Temeli ve Amaç

Plasenta, yaşam ömrü gebelik ile sınırlı olan ve embriyo/fetüs gelişimini sağlayan bir organdır (1). Fetüsün immünolojik reddin korunması, besinlerin transportu, fetal atıkların uzaklaştırılması ve fetal, maternal ve plasental metabolizmaları etkileyen çeşitli peptid ve steroid hormonların sentezlenmesinde rol alır (2).

Plasenta hakkında günümüzde bilinenlerin çoğu plasentanın morfolojisi ve genel fonksiyonları ile ilgili olup diyabet, preeklampsi ve büyüme geriliği gibi klinik tablolar gösteren hastaların plasental gelişimi hakkında bilgiler sınırlıdır (3).

İnsan plasentasının gelişiminin temeli, trofoblast olarak isimlendirilen epitel hücrelerinin proliferasyonu ve diferansiyasyonuna dayanmaktadır (4). Trofoblast hücrelerinin çoğalarak anne kanı ile temas eden sinsisyotrofoblast hücrelerine veya plasentayı uterus duvarına demirleyen ekstrasvillöz sitotrofoblastlara nasıl farklılaştıkları halen tam olarak bilinmemektedir (3). Diğer taraftan maternal hiperglisemi veya maternal hipoglisemi koşullarında plasental hücrelerdeki proliferasyon mekanizmasını düzenleyen proteinler hakkında bilinenler oldukça sınırlıdır. Plasental gelişim olayının temelinde plasental hücrelerin proliferasyonu bulunmaktadır. Proliferasyon ve buna bağlı olarak plasental gelişim bir çok sinyal yolağının değişik aşamalarında rol alan proteinlerin aktivasyon veya inaktivasyonlarının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (5).

Plasental villüs en dışta sinsisyotrofoblast, sinsisyotrofoblasta komşu olan sitotrofoblast, villüs stromalar hücreler ve fetal endotel hücrelerinden oluşur. Plasental villüs yapısı, anne kanı içerisinde serbestçe yüzer ve anne kanından fetüsün ihtiyacı olan maddeleri plasental transport aracılığıyla fetüse taşır. Plasental villusdaki kök hücreler olan sitotrofoblastlar, çok nükleuslu sinsisyotrofoblastlara farklılaşırlar. Sinsisyotrofoblastlar esas olarak plasental transport olayında rol alırken sitotrofoblastlar plasental gelişimin önemli bir kısmını oluşturan proliferasyon olayında rol almaktadırlar (3).

Sıçanlarda olgun plasentada gözlenen temel tabakalar dıştan içe doğru desidual hücre tabakası, dev hücre tabakası, bağlantı zonu ve labirint tabakadır. Bağlantı zonu, spongiotrofoblast hücrelerinden oluşan ve labirint zonunu uterusu bağlayan tabakadır. Uterinal duvarı ve maternal kan damarlarını invade eden ve çeşitli hormon ve faktörlerin sentezini yapan hücrelerden oluşmaktadır. Plasentanın en iç tabakası olan labirint tabaka, yoğun olarak dallanmış villuslar aracılığıyla materno-fetal değişimin gerçekleştiği tabakadır. Maternal kan ile etkileşim halinde bulunan villusların en dış yüzeyi trofoblast hücreleri, iç kısımları ise stromal hücreler ve fetal kan damarlarından oluşmaktadır. İnsan ve sıçan plasentaları arasında

faklılıklar olsa da yapısal ve gelişimsel olarak oldukça büyük benzerlikler göstermektedir. Bu nedenle sıçan plasentası plasental gelişim çalışmalarında sıkça kullanılan bir modeldir (6).

Plasental ve fetal gelişim üzerinde maternal çevrenin oldukça büyük etkisi vardır. Plasental gelişimdeki aksaklıklar nedeniyle insanlarda düşük, preeklampsi ve fetüste büyüme geriliği oluşmaktadır (7).

Diyabetik gebelikler hem anne hem de fetus için olası riskler taşımaktadır. Diyabetik bir anneden doğan bebeklerin obezite ve diyabete yatkınlık riskleri yüksektir. Günümüzde diyabetik gebeliklerde görülen mortalite oranları normal gebeliklerdeki mortalite oranlarına yaklaşmıştır ancak hala genel popülasyondan yüksektir. Bununla birlikte diyabetik gebelikler, konjenital malformasyon, fetal makrozomi, respiratuar distress sendromu nedeniyle prematüre doğum, yenidoğanda sarılık, hipoglisemi ve polisitemi görülmesi ile karakterizedir (8).

Streptozotosin (STZ) enjekte edilmiş diyabetik sıçanların termdeki plasental ağırlığı kontrol hayvanlarına göre daha yüksektir (9). Diyabetik plasentalarda labirint zondaki trofoblast hücrelerinin dejenerasyonu gibi ultrastrüktürel değişiklikler hamileliğin 20. gününde rapor edilmiştir (10, 11). Buna zıt olarak gebeliğin 14 ve 16. günlerindeki diyabetik sıçanların plasentalarının ağırlığı ve nükleik asit içeriği istatistiksel olarak önemli derecede daha düşüktür. 18. günden sonra plaseenta ağırlığı ve nükleik asit içeriği kontrol sıçanlarından daha yüksektir (12).

IUGR (uterus içi büyüme geriliği); perinatal morbidite ve nöronal gelişimde aksaklıklar ile yetişkinlerde diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili önemli bir klinik problemdir. Bu problemin çözümü için yöntemler geliştirilemediği gibi altında yatan patofizyolojik mekanizmalar da henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir (13).

Erken doğum riski olan gebeliklerde genel bir uygulama olarak anneye sentetik glukokortikoidler uygulanmaktadır. Fetusün artan glukokortikoid seviyelerine maruz kalması IUGR'a neden olmaktadır. Deksametazon enjekte edilen sıçanlarda plasental ve fetal ağırlıklarda azalma görülmektedir (14).

Gebelik döneminde embriyo ve fetusün gelişmesinde, özellikle hücrel proliferasyon, hücrel maturasyon, diferansiyasyon, glikoz transportu ve glikojen sentez olaylarında Akt ve ERK1/2 proteinlerin oldukça önemli olduğu ileri sürülmektedir (15),(16).

Akt, PI3K sinyal yolu ile etkilerini gösterirken ERK1/2 başka bir sinyal yolu aracılığıyla etkisini göstermektedir. Her iki yolak sonucunda bu proteinlerin aktivasyonuna bağlı olarak hücrelerinin proliferasyonu ve apoptozun önlenmesi sağlanmaktadır (17). Diğer taraftan bu proteinlerin diyabet ve büyüme geriliği oluşturulmuş olan hayvanların plasental gelişiminde etkisi günümüzde hala bilinmemektedir.

Bu çalışmada normal, diyabetik ve büyüme geriliği oluşturulmuş sıçan plasentalarında, hücre içi sinyal iletim yolaklarından Akt ve ERK1/2 proteinlerinin plasental gelişimdeki lokalizasyonları, protein miktarları ve fosforilasyonlarına göre plasental gelişimi ne şekilde etkilediklerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

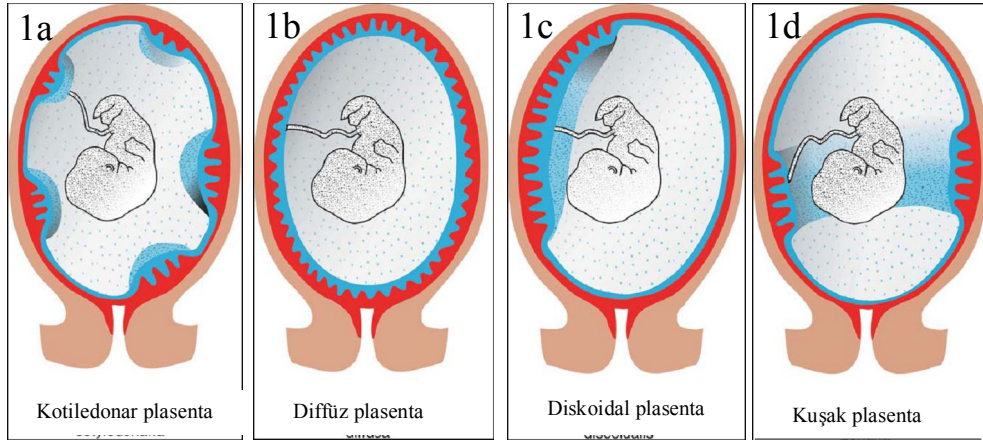
### 2.1. Plasenta

Plasenta, metabolik ve endokrin aktiviteleri henüz tam anlamıyla açıklanamamış kompleks bir organ olup ömrü sınırlıdır. Fetüsün yaşamı ve gelişimi için vazgeçilmez fonksiyonlara sahiptir. Çeşitli hormonları sentezlemenin yanı sıra, maternal besin ve oksijenin fetüse ulaşmasından ayrıca fetal metabolik atıkların maternal dolaşıma verilmesinden sorumludur. Fetüsle anne arasındaki etkileşimler, özelleşmiş fetö-maternal yüzeyin gelişimi ile mümkün hale gelir. Bu yüzeyin gelişimi plasentasyonun bir parçasıdır. Plasentasyon, plasentanın oluşumu ve gelişiminin yanısıra organı desteklemek üzere ilişkili maternal dokuların anatomik modifikasyonlarını da içerir. Plasenta ayrıca, fetüsü korucu bir bariyer olarak fonksiyon görür. Fetüs, zararlı kimyasallardan ve immunolojik reddin plasentanın varlığıyla korunur. Plasenta sadece mekanik bir bariyer ya da pasif bir transport organı değildir; iki yönlü transfer sürecini kontrol eder. Fetüse ulaştırılacak olan besinleri modifiye eder ve kendi aktivitelerini desteklemek için kendi enerji metabolizmasına sahiptir (18). Plasenta, fetüsün sağlıklı gelişimi için maternal metabolizmayı etkileyerek hormonların sentezini gerçekleştirir (19-23).

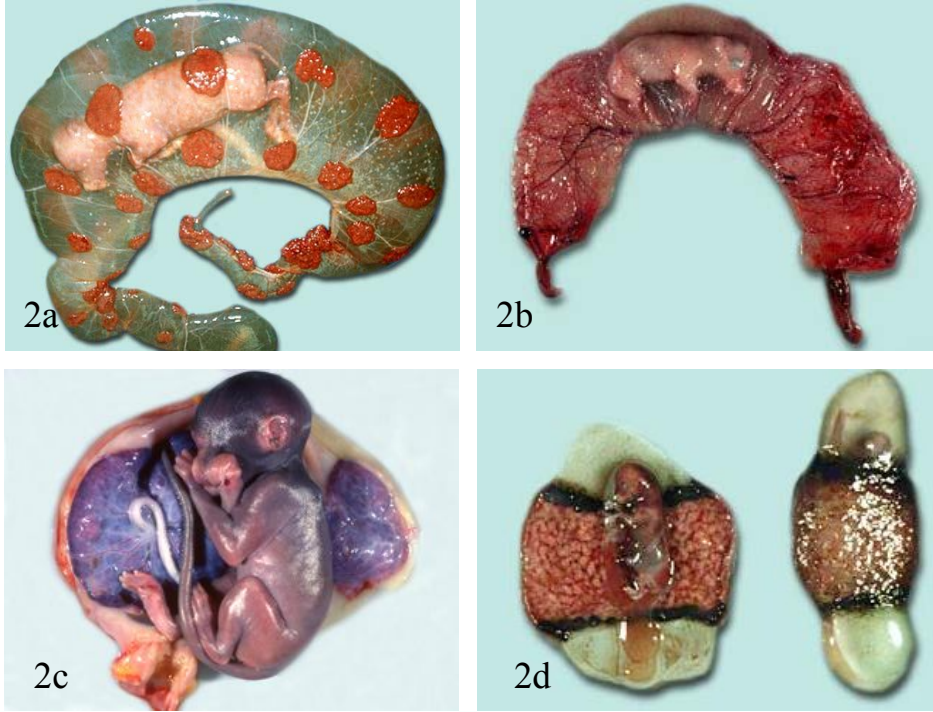
### 2.2. Plasenta Tipleri

Plasenta, türler arasında farklılıklar gösterebilir. Plasental yapıları sınıflandırmada kullanılan temel kriterlerden biri villus organizasyonudur (24). Villus yapıları kotiledon, diffüz, diskoidal ya da kuşak şeklinde düzenlenebilir. Koyun ve inek gibi geniş getiren memelilerde bulunan kotiledonar plasentada (placenta multiplex) villus yapıları topluluk şeklindedir (Şekil 2.2.1a, Şekil 2.2.2a). Bu plasenta tipinde endometriyuma birçok ayrı bölge şeklinde bağlanmış olan plasental kotiledonlar mevcuttur. İnsanlarda şu ana kadar bu tip plasenta görülmemiştir. Domuz, at ve balina gibi türlerde görülen diffüz plasentada ise (placenta membranacea) koryonik villi tüm fetal kese üzerinde dağılım gösterir (Şekil 2.2.1b, Şekil 2.2.2b). İnsanlarda bu plasenta tipi çok nadiren görülebilir. Kemirgenlerde, maymunlarda ve insanlarda diskoidal plasenta görülür. Bu plasenta tipinde villus yapıları disk benzeri şekilde organize olmuşlardır (Şekil 2.2.1c, Şekil 2.2.2c). Bazı primatlarda, villusların iki disk benzeri şekilde topluluklar oluşturması ile bidiskoidal plasenta görülür. Köpek ve kedi gibi diğer bazı türlerde kuşak plasenta (placenta annularis) görülür (Şekil 2.2.1d, Şekil 2.2.2d). Plasental tutunma tüm konseptusu saracak şekilde ekvatoryal sirküler bir band üzerinde gerçekleşir. İnsanlarda görülme insidansı %0,1'den azdır (3, 25, 26).





Şekil 2.2.1a-d Villus organizasyonuna göre plasenta tiplerinin şematize görüntüsü (3).



Şekil 2.2.2a-d Villus organizasyonuna göre plasenta tiplerinin canlı örnekleri a: kotiledonar plasenta b: diffüz plasenta c: diskoidal plasenta d: kuşak plasenta (27)

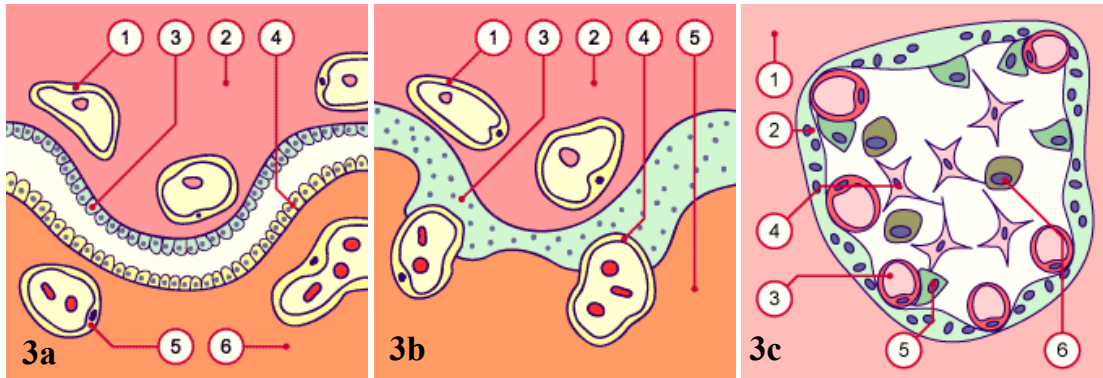
Plasenta, morfolojik görünümün yanı sıra, villusları çevreleyen trofoblast hücre tabakası ve trofoblastların doğrudan temasta olduğu maternal hücre çeşidine (24), bir diğer ifade ile maternal ve fetal dolaşimleri birbirinden ayıran materno-fetal/plasental bariyeri oluşturan hücelere göre de bir sınıflandırmaya tabi tutulabilir (3).

Koyun, keçi ve inek gibi geviş getiren memeliler, domuzlar ve atlarda endometriyum blastosist tarafından invaze olmaz; bütünlüğünü korur, bu nedenle de trofoblast hücreleri uterus epiteli ile direkt ilişkide görülür. Bu tip plasenta, epiteliyokoryal tip plasenta olup maternal ve fetal kan arasında altı hücre tabakası yer alır (Şekil 2.2.3a). Bu yüzden bu tip plasentada fetal ve maternal dokular birbirinden

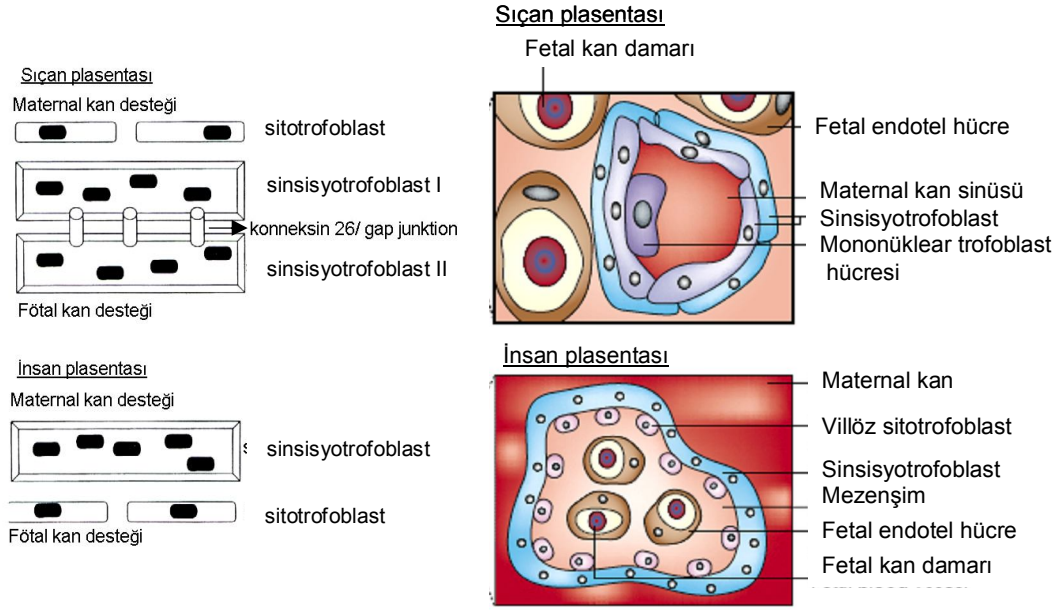
izoledir. Bu durum hem immünojik problemleri hem de fetal hücrelerin maternal organizmaya geçişini azaltır (24).

Etçil memelilerde bulunan endotelyokoryal plasentada, blastosist uterus epitelinin ve endometriyumu aşındırır. Sonuçta fetal ve maternal endotel hücreleri sadece trofoblast hücreleri ile birbirinden ayrılır (Şekil 2.2.3b). Bu tip plasentalar bir ya da iki trofoblast hücre tabakası bulunmasına göre endotelyomonokoryal ya da endotelyodikoryal olarak tanımlanabilir. Sadece uternal epitelin invade edildiği sindesmokoryal plasenta, Grosser sınıflandırmasına göre epityokoryal plasentanın bir türü olarak tanımlanmıştır (26).

Kemirgenlerde, primatlar ve insanlarda görülen hemokoryal tip plasentalarda; maternal kan trofoblast yüzeyiyle direkt temas halindedir (Şekil 2.2.3c). Bu plasentalar, plasentadaki trofoblast hücrelerinin tabaka sayısına bağlı olarak hemomono, hemodi ya da hemotrikoryal olarak sınıflandırılırlar (3, 28). İnsan plasentasında tek bir sinsisyotrofoblast tabakası olup bu yüzden de hemomonokoryal olarak sınıflandırılırken, kemirgen plasentasında trofoblast hücre sayısı üç'e çıkıp hemotrikoryal plasenta olarak isimlendirilir (Şekil 2.2.4.) (29). Boyd ve Hamilton (1970) insan plasentasını ilk trimesterde hemodikoryal, termde hemomonokoryal olarak sınıflandırmışlardır (30). Hemokoryal plasenta tipinde, O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> değişimi için maternal kan ile trofoblast arasında direkt ilişki vardır. Hemokoryal plasentanın belirgin avantajları olmasına rağmen dezavantajları da bulunur. Bu dezavantajlar; doğum esnasında aşırı kanama olması ya da eritroblastozis fetalis gibi fetüse ait kan hücrelerinin maternal dolaşıma geçişi şeklinde sıralanabilir (31-33).



**Şekil 2.2.3a-c** Plasental bariyeri oluşturan hücelere göre plasental sınıflandırma **a: Epityokoryal pasenta** (1: Fetal endotel 2: Ekstraembriyonik mezoderm 3: Sitotrofoblast 4: Uterus Epiteli 5: Maternal endotel 6: Endometriyum) **b: Endotelyokoryal pasenta** (1: Fetal endotel 2: Ekstraembriyonik mezoderm 3: Sitotrofoblast 4: Maternal endotel 5: Endometriyum) **c: Hemokoryal pasenta** (1: Intervillöz boşluk 2: Sinsisyotrofoblast 3: Fetal kapiller 4: Ekstraembriyonik mezoderm 5: Sitotrofoblast 6: Hofbauer hücreleri) (27)



**Şekil 2.2.4.** Plasental bariyeri oluşturan hücelere göre insan ve sıçan plasentalarının karşılaştırılması (29, 34).

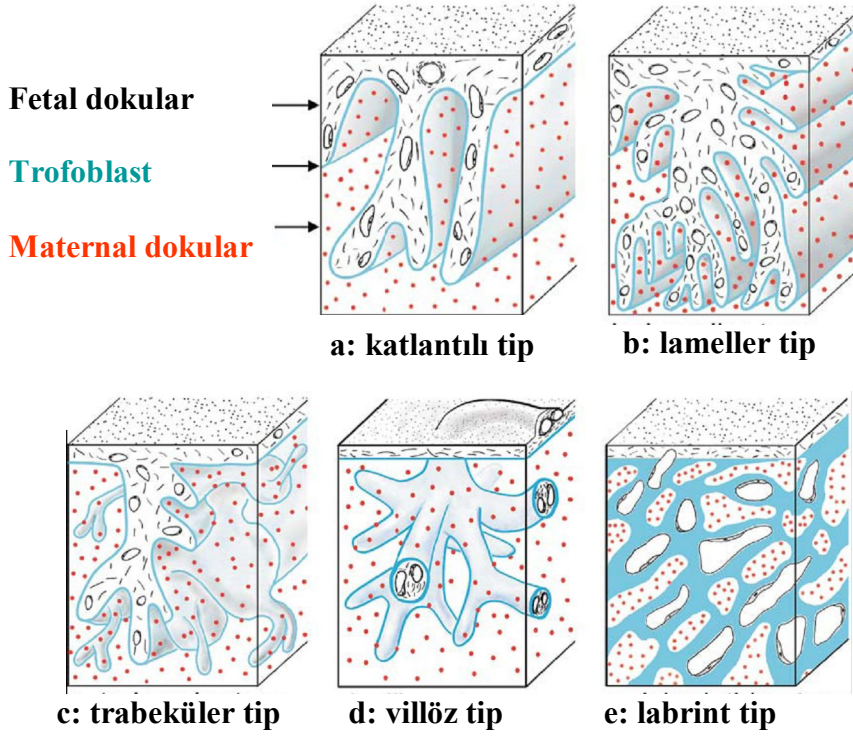
Bir diğer sınıflandırma ise koryonik yüzeyde görülen materno-fetal interdijitasyonlara göre yapılabilir. İnterdijitasyonların türüne göre plasenta; katlantılı, lameller, villöz, trabeküler ve labrint tipte olabilir. Domuzlarda ve bazı primatlarda görülen katlantılı tip plasentada en basit türde interdijitasyonlar görülür. Dallanma zayıftır, koryonun bombe benzeri katlantıları gözlenir (Şekil 2.2.5a).

Etçil memelilerde daha kompleks bir oluşum olan lameller tipte plasenta görülür. Koryonik uzantılara ait dallanmalar artmıştır ve lameller şeklinde paralel olarak düzenlenmiştir (Şekil 2.2.5b).

Lameller tip ve villöz tip plasenta arasında bir geçiş tipi olarak trabeküler plasenta mevcuttur. Bu plasenta bazı maymun türlerinde görülür. Yaprak benzeri katlantılar ve bu katlantıların uç kısımlarında parmak şeklinde uzantılarıyla ile karakterizedir (Şekil 2.2.5c).

İnsana yakın tür primatlarda ve insanlarda, materno-fetal değişim yüzeyinin daha da arttığı ağaç benzeri dallanmaların görüldüğü villöz tipte plasenta mevcuttur. Villuslar, endometriyal kriptalar içinde yerleşir ve maternal kan ile doğrudan temas halindedir (Şekil 2.2.5d) (3).

En genel ve en etkili interdijitasyonlar labrint tip plasentalarda görülür (Şekil 2.2.5e). Günümüze kadar diskoidal ve bidiskoidal tip plasentalarda tanımlanmıştır. Kemirgenlerde, yarasalarda ve bazı maymun türlerinde görülür. İnsan ve kemirgen plasentalarının karşılaştırılması Tablo 2.2.'de verilmiştir.



Şekil 2.2.5. Maternofetal interdijitasyonlara göre plasental sınıflandırma (3)

Tablo 2.2. İnsan ve kemirgen plasentalarının karşılaştırılması (3, 5)

	Gebelik süresi (gün)	Yavru sayısı	Plasental yapı	Fetomaternal İnterdijitasyon	Plasental bariyer	Fetomaternal kan akımı	Neonatal / plasental ağırlık oranı
İnsan	270	1	Diskoidal	Villöz	Hemomonokoryal	Multivillöz	6:1
Fare	19	4-8	Diskoidal	Labrint	Hemotrikoryal	Zıt akım	10:1
Sıçan	21	6-9	Diskoidal	Labrint	Hemotrikoryal	Zıt akım	10:1

## 2.3. İnsan Plasentasının Gelişimi ve Yapısı

### 2.3.1. Prelaküner evre

Postkoitum 8. güne kadar geçen evredir. Fertilizasyondan sonra zigot blastosist evresine ulaştığında 107 ila 256 hücreye sahiptir. Blastosistin dış yüzeyini saran trofoblast hücreleri plasentaya kaynaklık ederken, embriyo, iç hücre kitlesinden (embriyoblast) gelişir. İmplantasyonun ardından trofoblastik hücreler çoğalarak iki hücre tabakasını oluştururlar ve endometriyuma invaze olmaya devam ederler. İçteki hücre tabakası sitotrofoblastlar, dıştaki hücre tabakası ise sinsisyotrofoblastlardır. Sinsisyotrofoblast, sitotrofoblastik hücrelerin füzyonu ile oluşur ve maternal doku ile temas halindedir. Sitotrofoblast hücrelerinin çoğalmaya devam etmesi ile oluşan



sinsisyal kütle implantasyon alanında dallanmalar oluşturur. Parmaksı uzantıları endometriyuma invaze olur ve endometriyum ile interdigitasyonlar yapar (3, 35).

### **2.3.2. Laküner evre**

Postkoitum 8 ila 13. günler arasındaki evredir. 8. günde sinsisyotrofoblast içerisinde küçük vakuoller belirir. Vakuoller büyüyüp genişleyerek lakünaları ve laküna sistemini oluşturur (Şekil 2.3.1). Lakünalar birbirinden sinsisyotrofoblast trabekülleri ile ayrılırlar. Sinsisyotrofoblast ve laküna sistemi tüm blastosist yüzeyini çevreler. 12. günde blastosist tamamen implante olmuştur. Sitotrofoblast hücreleri, sinsisyal trabeküller içine uzanır ve 13. günde trofoblastik kabuğa ulaşır.

İmplantasyon alanındaki trofoblastik çoğalma ve sinsisyal füzyon ile buradaki trofoblast tabakası daha kalın hale gelir. Bu alan daha sonra plasental disk yapısını alacaktır. Blastosisti çevreleyen trofoblastik yapı atrofiye uğrayarak koryon leve (düz koryon) adını alır. Laküner oluşum, blastosisti çevreleyen trofoblastik yapı üç tabakaya ayırır: primer koryonik plak, trabeküller ile birlikte laküner sistem ve trofoblastik kabuk (3, 35).

#### **a) Primer koryonik plak:**

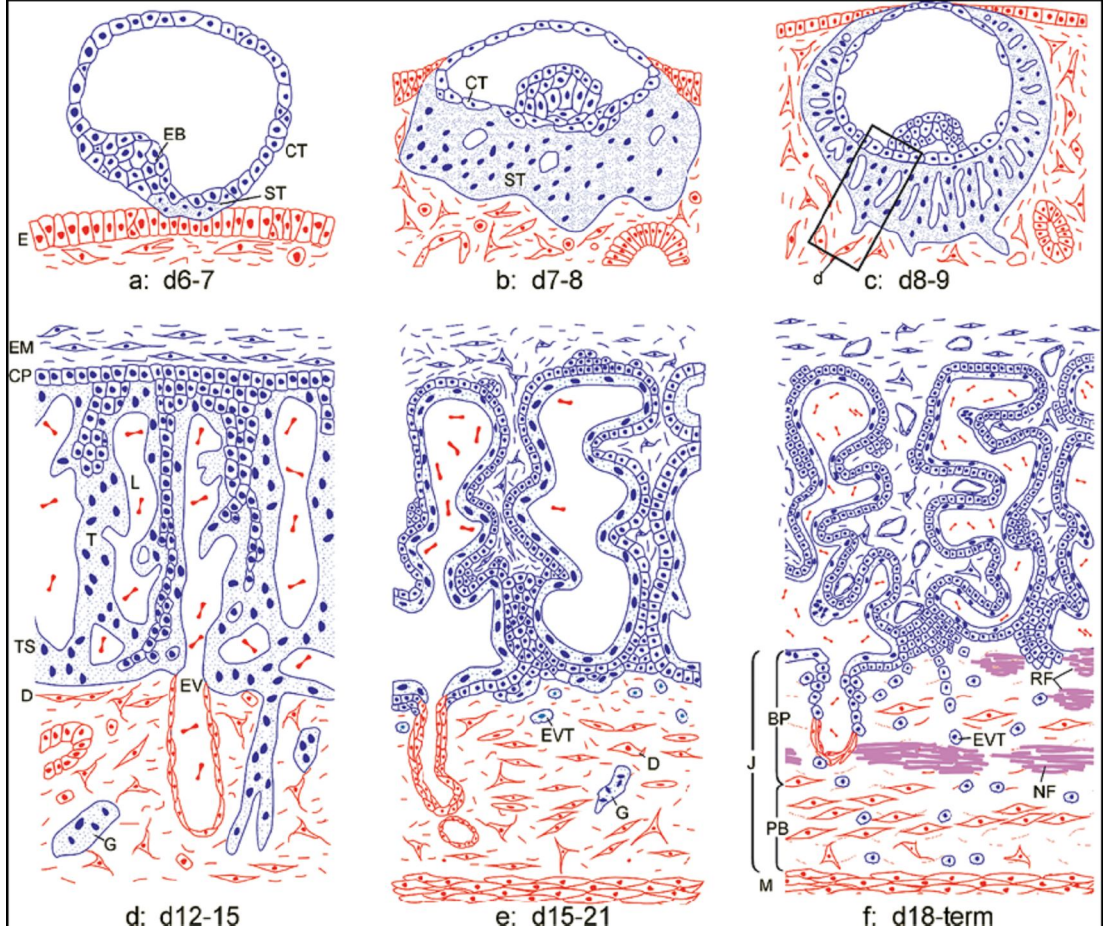
Primer koryonik plak, sinsisyotrofoblast ile çevrelenen sitotrofoblastlardan oluşur. Postkoitum 14. günde ekstraembriyonik mezoderm, blastosist kavitesinin ve sitotrofoblast hücre tabakasının iç yüzeyine yayılır. Böylelikle mezoderm, sitotrofoblast ve sinsiyotrofoblasttan oluşan üç tabakalı koryonik plak şekillenir. Aynı anda trabeküllerden ilk villus dallanmalarının olduğu gözlenir. Bu nedenle trabekülalara kök villusler denir. Laküner sistem, intervillöz boşluğa dönüşür.

#### **b) Laküner sistem:**

12. gün civarı trabekülalar, primer koryonik plağın sitotrofoblastik hücrelerince invade edilirler. Maternal yüzeyde, trofoblastik kabuğu oluşturmak üzere trabeküller birleşir. İmplantasyonun erken evrelerinde maternal dokuların erozyonu gerçekleşir. Ardından, trofoblastlarda proliferasyon ve migrasyon görülür ki bu durum endometriyumun derinlemesine ve miyometriyumun yüzeysel olarak invazyonu ile sonuçlanır. Trofoblastik kabuktan köken alan çok çekirdekli ve tek çekirdekli ekstrasvillöz trofoblastlar ile bu invazyon gerçekleşir. Bu arada endometriyal stromal hücreler, kendilerini erode eden trofoblastların mekanik ve hormonal etkileri nedeniyle desidual hücrelere dönüşürler. 12. günde invade eden trofoblastlar endometriyal damar duvarlarının bütünlüğünü bozarlar ve ekstrasvillöz trofoblastlar, kapiller endoteli erode ederek kapiller duvarın yerini alırlar.

#### **c) Trofoblastik kabuk:**

12. gün civarında trabeküllerin genişlemesi, sitotrofoblastların trabeküllerin içine girmesiyle gerçekleşir. Trabeküllerin distal uçları birleşir ve trofoblast tabakasının dış yüzeyini yani trofoblastik kabuğu oluşturur. Başlangıçta bu yapı sinsisyotrofoblastik bir yapıdır ancak 12-15. günde sitotrofoblastların trofoblastik kabuğa ulaşması ile heterojen bir yapı oluşur. Sinsisyotrofoblast lakünayı çevreler (35).



**Şekil 2.3.** Erken plasental gelişimin şematize edilmiş şekli **a,b:** Prelaküner evreler **c:** Laküner evre **d:** Laküner evreden villöz evreye geçiş **e:** Sekonder villus evresi **f:** Tersiyer villus evresi . Maternal dokular kırmızı, fetal dokular mavi, Fibrin içerikli maternal ve fetal dokular mor renktedir. (E: Endometriyal epitel, EB: Embriyoblast; CT: Sitotrofoblast, ST: Sinsisyotrofoblast, EM: Ekstraembriyonik mezoderm, CP: Primer Koryonik Plak , T: Trabeküla ve primer villus L: Laküna, TS: Trofoblastik Kabuk , EV: Endometriyal damar, D: Desidua, RF: Rohr fibrinoidi, NF: Nitabuch /uteroplasental fibrinoid, G: Trofoblastik dev hücre EVT: Ekstravillöz sitotrofoblast, BP: bazal plak , PB: Plasental yatak J:Bağlantı zonu, M: Miyometriyum) (3).

### 2.3.3. Erken Villus Evreleri

Postkoitum 13 ila 28. günler arasındaki evreyi kapsar (Şekil 2.3.1). Erken villus evresinde sitotrofoblastlar trabekülaları invade ederler ve lakünalara doğru trofoblastik filizlenmeler oluşur. Bu yapılar primer villuslardır. Primer villus dışta sinsisyotrofoblast içte sitotrofoblastik hücrelerden oluşur. Varlıkları plasantasyonun villöz evrelerinin başladığını işaret eder. Proliferasyon ve dallanma ile birlikte primitif villus ağaçları oluşur. Trofoblastik kabuk ile temasta bulunan villuslar demirleyici villus (anchoring villi) adını alır.

Primer koryonik plağın mezodermal tabakasından köken alan hücreler villus yapılarında gelişerek sekonder villus yapısını oluştururlar. Sekonder villus dışta sinsisyotrofoblast, içte sitotrofoblast ve bağ doku tabakalarından oluşur. Mezoderm

periferal olarak villöz uçlara ilerler ancak trofoblastik kabuğa tam anlamıyla ulaşamaz. Demirleyici villuslarda oluşan sitotrofoblast hücre yığınları hücre kolonları adını alır ve ekstravillöz trofoblast hücrelerine köken oluşturur. Serbest olan villus uçları mezoderm içermez ve bu villuslar trofoblastik hücre adacıkları haline gelir (3, 35).

Villuslarda ilk fetal kapillerler 18-20. günler arasında görülürler. Fetal endotel hücreleri mezodermden farklı olan hemanjiyoblastik hücrelerden köken alırlar. Villöz stromada fetal kapillerlerin görülmesi tersiyer villusların oluşumunu işaret eder. Yeterli kapiller oluşumu sağlandığında, 5. haftanın başında fetoplazental dolaşım başlar. Fetoplazental dolaşım başladıktan hemen sonra fetal ve maternal kan arasında yakın temas kurulur. İki dolaşım sistemi plazental bariyer ile daima birbirinden ayrılır. Plazental bariyer şu tabakalardan oluşur:

1. Sinsisyotrofoblast
2. Sitotrofoblast
3. Sitotrofoblastik bazal lamina
4. Bağ doku
5. Fetal endotel bazal laminası
6. Fetal endotel (3)

#### 2.3.4. Desidua

Döllenme ile birlikte, progesteronun etkisi altında endometriyum sekresyon fazı ile gebeliğe hazırlanır. Endometriyal döngünün 23. gününde desidualizasyon işaretleri belirgin hale gelir. Ancak desidualizasyonun başladığı günü tam olarak söylemek zordur.

Endometriyumda, implantasyon ve gebelik fizyolojisine yanıt olarak meydana gelen değişikliklere desidualizasyon denir. Desidualizasyon endometriyal stromal hücrelerin genişlemesi, adeta epitelooid yapı kazanması ile karakterizedir. Hücreler yuvarlak yada poligonal görünüşlüdür. Hücre sınırları belirgindir. Gebelik ilerledikçe hücre nükleusları endomitozla giderek poliploid hale gelir. Başlangıçta genişleyen desidual bezler daha sonra atrofiye gider. İmplantasyon bölgesi ile ilişkisine göre desidua üç tabaka halinde isimlendirilir (3, 35, 36).

**a) Desidua Bazalis:** İmplantasyon bölgesinde, plasentanın anneye ait bazal plak bölümünü oluşturur. Koryon frondozum üzerindeki bölüm lipid ve glikojenden zengin iri desidual hücrelerden meydana gelmiş sıkı bir tabakadır. Bezler ve kan damarlarından zengindir.

**b) Desidua Kapsülaris:** Embriyoyu kuşatan, embriyonun uterus boşluğuna bakan (abembriyonik kutup üzerindeki) desiduanın yüzeyel tabakasıdır. İçinde kan damarları ve tek tek bezler vardır. Amniyon kesesi ve koryonun giderek büyümesi ile atrofik hale gelir ve 3. ayda kalınlığı 1 mm'ye kadar iner.

**c) Desidua Parietalis (desidua vera):** İmplantasyon bölgesi haricinde geriye kalan desidua tabakasıdır. Başlangıçta tipik gebelik mukozası görünümünde olup 4. aya kadar 1 cm kalınlığa erişir.

Desidua kapsularis ve desidua parietalis 3. ayın sonuna kadar birbirlerinden uterus boşluğunun dar bir yarığı ile ayrılır. Fakat fetal büyümenin artışı sonucu birbirleriyle temas ederek yapışıklar ve uterus boşluğu ortadan kalkar. Desidua kapsularis gebeliğin son 3 ayında tamamen ortadan kalkar. Böylece amniyon ve koryonun kaynaşması ile birlikte koryoamniyotik zar oluşur. Bu da, doğumda plasenta ile birlikte atılır (3, 36).

### **2.3.5. Koryonik Plak (Koryon Plağı)**

#### **a) Gelişimi:**

Primer koryonik plak, postkoitum 8. günde sinsisyotrofoblast ve sitotrofoblasttan ibarettir. Laküner sistemi, blastosist kavitesinden ayırır. 9. günden sonra blastosist kavitesinin yüzeyi mezoderm ile sarılmaya başladığında primer koryonik plak üç tabakalı hale gelir. 3. hafta boyunca ekstraembriyonik mezoderm içerisinde ekzosöloomik kavite oluşur. Ekstraembriyonik mezoderm koryonik mezoderm haline gelir. Koryonik plağa doğru, sinsisyotrofoblastik tabaka fibrinoid ile yer değiştirmiştir. Bu fibrinoid birikimlerine Langhans' fibrinoidi denir. Intervillöz boşluğa doğru, koryonik plak fibrin ile çevrelenmiştir.

Gebeliğin 2. ayında fetal kan damarları koryonik plak ile temas kurar ve kök villuslara dahil olur. Bu damarlar umbilikal kord ile koryonik plağın temasını sağlarlar. 17. haftada amniyon zarının koryonik plağa teması ile olgun koryonik plak oluşur.

#### **b) Term yapısı:**

Termde koryonik plağın ayırt edilen tabakaları şunlardır. Amniyotik epitel ve amniyotik mezodermi içeren amniyon, koryon ve amniyonu ayıran süngersi tabaka, koryonik mezoderm, ekstravillöz trofoblastlar ve Langhans' fibrinoidi (3, 35, 36).

### **2.3.6. Bazal Plak**

#### **a) Gelişimi:**

Bazal plak, intervillöz boşluğun maternal yüzü olarak tanımlanır. Maternal ve fetal dokuların en yakın ve en önemli temas zonudur. Olgun bazal plak çeşitli bileşenlerden oluşur. Bunlar; ekstravillöz trofoblastlar, desidua, fibrinoid, dejenere olan villusların kalıntıları ve maternal damarlardır. Bazal plağın öncüsü, trofoblastik kabuktur. İmplantasyon sürecinde trofoblastik kabuk, sitotrofoblast ve sinsisyotrofoblasttan oluşur. Desiduanın derinlerine kadar invazyon ilerler; trofoblastik kabuk ile endometriyumu ayıran keskin sınır ortadan kalkar ve trofoblastik kabuk post-koitum 22. günden itibaren bazal plak olarak anılmaya başlar. Bu terim, intervillöz aralığa bakan maternal dokular ile buna yapışık tüm diğer maternal ve fetal hücreleri kapsar.

Bazal plak kalınlık olarak büyümenin yanı sıra lateral olarak da genişler. Bazal plağın lateral olarak genişlemesine uterin duvar eşlik etmediği için bu alanlarda uterus duvarı üzerinde bazal plak katlantıları oluşur. Bazal plak yapıları intervillöz aralığa çekilir; böylece plasental septalar gelişir.



## **b) Term yapısı:**

Olgun bazal plağın kalınlığı 100µm'den 1,5 mm'ye kadar değişebilir. Bazal plağın erken dönemlerinde oluşan birçok yapısal tabaka term bazal plak yapısında bulunmaz. Bulunan yapılar şunlardır:

### **I. Sinsisyotrofoblast tabaka:**

Bazal plağın intervillöz aralığa bakan iç yüzeyi, sinsisyotrofoblastik yapının izlerini taşır. Büyük ölçüde dejenere olmuş sinsisyal yamalar gözlenir. 1965'te Wanner tarafından aynı alanda maternal endotel bulunduğu bildirilmiştir (3).

### **II. Rohr'un fibrinoid tabakası:**

Sinsisyotrofoblast ve maternal endotelin yer almadığı alanlarda Rohr'un fibrinoid tabakası bazal plağın yüzeyini kaplar. Düzensiz ve kesintili bir yapıdır.

### **III. Ekstravillöz trofoblast tabaka (heterojen doku tabakası):**

Kalınlığı 50 µm'den 1 mm'ye kadar değişebilir. Ekstravillöz trofoblast, fibrinoid, bağ doku, demirleyici villus kalıntıları ve desidual hücreler içerir. Bağ dokunun çoğunluğu maternal orjinlidir. Burada maternal bağ dokusu bulunduğundan, desidualizasyon görülebilir. Bazen fetal orijinli hücrelere de rastlanılır. Desidual hücreler ve sitotrofoblastlar bir arada bulunsa da bu hücreler birbirleri ile doğrudan temas kurmazlar. Fibriler ağ ve/ veya fibrin ile birbirlerinden ayrılmışlardır.

### **IV. Nitabuch'un fibrinoid tabakası:**

Uteroplental fibrinoid olarak da adlandırılır. Ağ şeklinde yada lamellar yapıdadır. Fibrin ve fibrinoid içerir. 20µm'den 100µm'yi aşan kalınlıklara ulaşabilir. Süperfisiyal trofoblastik hücreler ve desidual hücreleri birbirinden ayırır. Dolayısıyla gerçek maternofetal sınırı bu tabaka oluşturur.

### **V. Ayrılma zonu:**

Plasentanın plasental yataktan ayrılması genellikle Nitabuch hattı boyunca olmaz, daha derinden olur. Bu nedenle bazal plağın tabanına bazı dokular eklenir ve bazal plağın dip tabakasını oluştururlar. Bu tabakayı oluşturan hücrelerin çoğunluğu desidual hücrelerdir. Bununla birlikte endometriyumun stromal diğer elemanları da yer alır. Dev hücreler de görülebilir.

Plasental kısmın derinlerde bulunan, uterus içinde kalan ve doğumdan sonra uzaklaşan tabakaları, maternal ve plasental dokuların karışımına benzemektedir. Bu nedenle plasental yatak adını alır. Plasental yatak ve bazal plak ayırımını yapmak mümkün değildir; bu iki yapı birlikte bağlantı zonunu oluştururlar (3, 35, 36).

## **2.4. Term Plasentanın Yapısı**

İmplantasyonun tamamlanmasından 7-8 gün sonra plasenta gelişmeye başlar. 5. aya kadar insan plasentasını organizasyonu, fonksiyonu, biçimi ve büyüklüğü ile tam bir olgunluğa erişir. Bu durumunu gebeliğin sonuna kadar korur. Term plasenta, %90 oranda disk benzeri, yuvarlak yada oval bir organdır. Plasentanın ortalama çapı 22cm, merkezi kısmının kalınlığı 2,5cm ve ağırlığı 470 gr'dır. 4. ayda plasenta

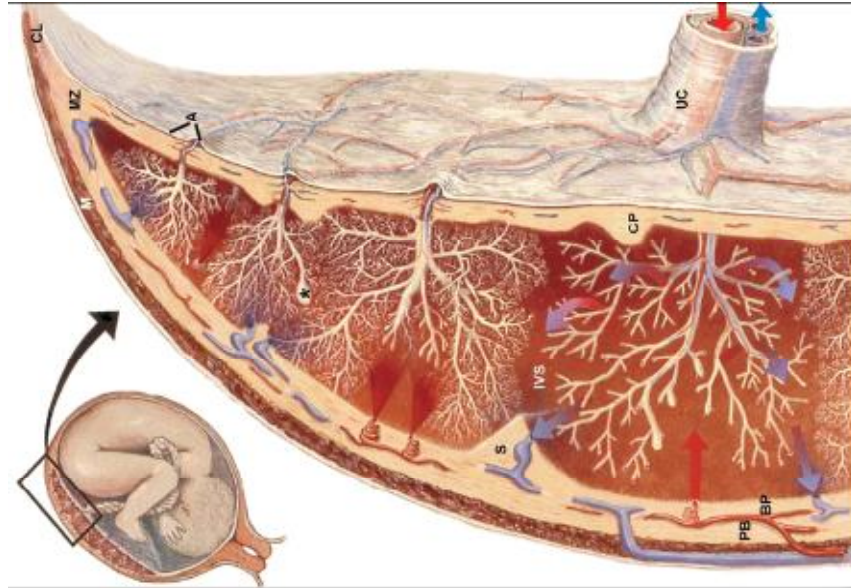
yaklaşık 100gr ağırlığındadır ve olgun yapısını kazanmıştır (Şekil 2.4). Term plasentada iki ayrı bölüm vardır:

- 1: fetal kısım
- 2: maternal kısım

#### 2.4.1. Fetal kısım

Koryon villuslarının oluşturduğu bu bölüm fetüsa ait olup koryon frondosumdan gelişir. Yapının fetal yüzü amniyon epitelini ile, intervillöz boşluğa bakan yüzü ise sinsisyotrofoblast ve sitotrofoblast hücrelerinin oluşturduğu tabaka ile örtülüdür.

Her koryon ağacındaki kan dolaşımı, bir arter ve bir venden oluşan kapalı bir sistemdir. Anneden gelen temiz kan uterusun spiral arterleri ile bazal plağa girer. Oldukça düzenli aralıklarla intervillöz boşluklara açılan bu arterlerin lümenleri açılma yerlerine doğru daralır. Temiz kan intervillöz boşluklara yüksek basınçla dökülür ve koryon ağacında bulunan küçük villuslara çarpar, villustaki kan ileri doğru itilir ve villusların dikleşmesi sağlanır (3).



Şekil 2.4. İnsan term plasentanın görünümü UC :Umbilikal kord, A: Amniyon, CP: Koryonik Plak , MZ: Marginal zon, CL: Koryon Leve, M: Miyometriyum, IVS: İntervillöz Aralık, BP: Bazal Plak, PB: Plasental Yatak, S: Plasental Septa, \*: Hücre Adacıkları (3)

#### 2.4.2. Maternal Kısım

Anneye ait olan bu kısım, intervillöz boşlukları çevreleyen trofoblastlar, plasental septumlar ve bazal plaktan (desidua bazalis) oluşur. Plasental septalar, fibrinoid ve çeşitli hücrelerden meydana gelmiş, bazal plaktan intervillöz aralığa doğru uzanan, hiçbir zaman koryonik plağa ulaşmayan ve plasental villus ağacını tam bölmeyen düzensiz yapılardır. Plasental septaların oluşması, gelişmenin 6-8. haftalarından itibaren belirir, gebelik yaşına bağlı olarak gelişirler. Bazal plak

büyümesine uterus duvarı uyum sağlayamaz, bazal plak katlantılar yaparak septaları oluşturur.

Villöz aralık içine doğru uzanan, plasental villus ağacını kısmen bölmelere ayıran septalar, aynı zamanda demirleyici villusların tutundukları çıkıntılar olarak da kabul edilir. Septaların oluşmaya başladığı 6-8. haftalarda, yapıyı oluşturan hücresel elemanlar sitotrofoblast ve onun çok nükleuslu dev hücreleri, desidual hücreler ile septaların üst kenarlarına tutunmuş, demirleyici villuslar ve onların sinsisyo ve sitotrofoblast hücreleridir (3).

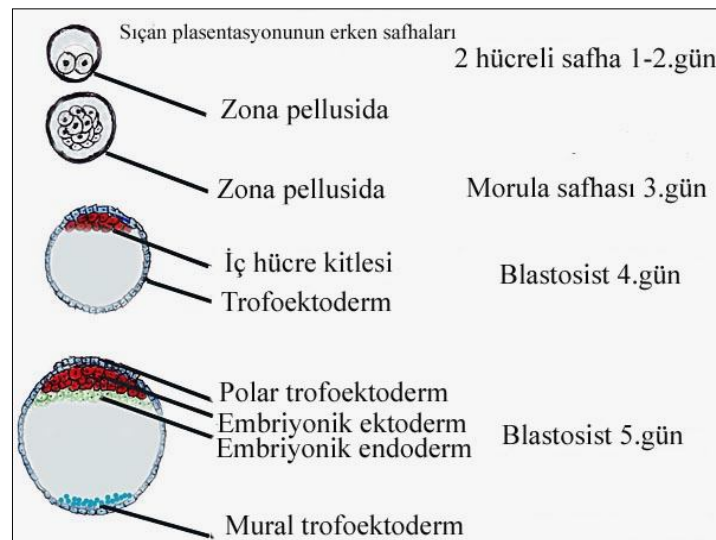
## 2.5. Sıçan Plasentası

Sıçanlar kemirgen ailesinin bir üyesidir. *Rattus norvegicus* (Norveç sıçanı) türü sıçanların ağırlıkları ortalama 250gr'dır Gebelik süresi 21 gündür. Yavru sayısı 14'e ulaşabilir, ortalama yavru sayısı 7'dir (37) .

Sıçan ve farelerde plasental gelişim büyük benzerlikler göstermektedir. Bu nedenle sıçan ve fare plasental gelişim sürecinde meydana gelen olayların aynı olduğu düşünülebilir. Sadece gebelik süreleri farklılık gösterir. Sıçanlarda gebelik 21 gün sürerken farelerde 19 gün sürmektedir (38).

### 2.5.1. Sıçan plasentasının gelişimi

Fertilizasyondan sonra ilk bölünme 23-25 saat sonra gözlenir. 4 hücreli evreye 40-70 saat sonra geçilir. 8 hücreli evreye ulaşmak 65-90 saat, blastosist evresine ulaşmak 80-110 (gelişimin 4. günü) saat sürmektedir (39). 4. günün sonunda blastosist trofoektoderm (TE) ve iç hücre kitlesine (İHK) farklılaşır. 5. günde TE tabakası, trofoektoderm hücrelerinin iç hücre kitlesine komşuluk yapıp yapmamalarına göre 2 bölgeye ayrılır; mural ve polar trofoblastlar (Şekil 2.5.1.1.). Polar trofoblastlar iç hücre kitlesinin üzerinde yer alır, mural trofoblastlar ise blastosölü çevreler. Blastosist zona pellusidadan kurtulur ve 5. günün sonunda uterus lümeninin antimezometriyal bölgesine implante olur (40).



Şekil 2.5.1.1. Sıçan plasantasyonunun erken safhaları (41).

6. günde blastosist büyüklüğü artar ve uzar. Bu esnada implantasyon alanındaki epitelyal büyüme tüp benzeri yapı kazanır. Blastosist uterus epiteline birçok noktada temas etmektedir. İmplantasyon alanındaki stromal hücrelerde desidualizasyon görülür (39, 42).

İmplantasyon sonrası iç hücre kitlesinin üzerindeki polar trofoblastlar prolifer olmaya devam ederler. Prolifere olan polar trofoektoderm, İHK'ni blastosölük kaviteye iterek gelişimin yumurta silindiri denilen safhasını oluşturur. Bu hücreler apikal olarak göçeder, birbirlerinin üzerine yığılırlar ve Embriyonik 7-8. (E7-8) günlerde ekstraembriyonik ektoderm ve ektoplasental konu (EPK) oluştururlar (Şekil 2.5.1.2.).

EPK, sekonder trofoblast dev hücreleri ve daha sonra koryoallantoyik plasentanın spongiotrofoblastını oluştururlar. Sekonder trofoblast dev hücreleri konseptusu çevrelemek üzere göç ederler ve bağlantı zonunun maternal yüzeyini sınırlarlar (E8-9. günler) (Şekil 2.5.1.2.) (39, 43, 44).

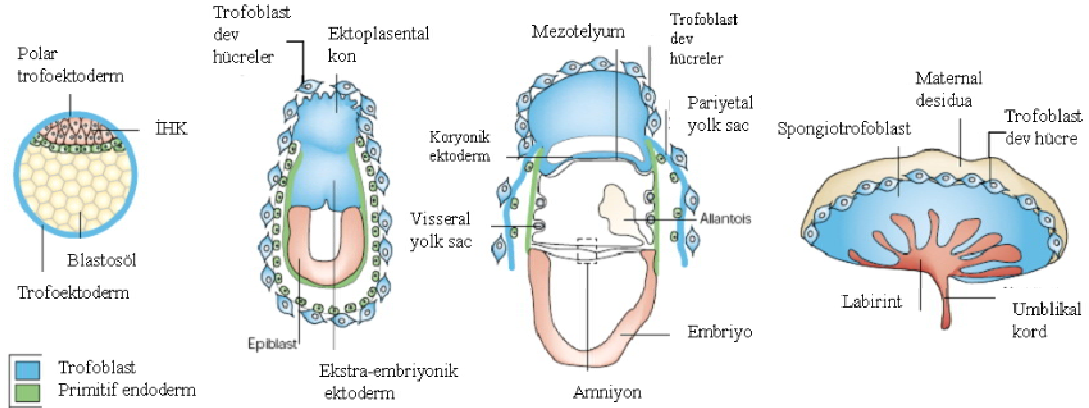
İHK içerisinde gelişen primitif endoderm hücreleri, blastosöl boşluğunu döşemek üzere mural trofoektodermi iç yüzeyi üzerine göç ederler ve pariyetal endodermi oluştururlar. Diğer taraftan yumurta silindirinin üzerindeki primitif endoderm hücreleri visseral endodermi oluşturur. Bu iki hücre tipi morfolojik olarak oldukça farklıdır. Pariyetal endoderm hücreleri küçük, iğ şekilli hücrelerdir. Bu hücreler ekstraselüler matriks salgılayarak pariyetal yolk sac üzerinde aktif olarak göç ederler. Visseral endoderm hücreleri ise yumurta silindirinin yüzeyi üzerinde prizmatik bir epitel tabakası oluştururlar (38, 45).

Pariyetal endoderm, Reichert membranı denilen sadece kemirgenlerde görülen kollajen, laminin ve distroglukanca zengin kalın bir bazal membran tabakası salgılar. Reichert membranı, pariyetal endoderm hücreleri ve trofoblast dev hücreleri arasında homojen bir membran olarak fonksiyon görür. Maternal/fetal yüzeyin bütünlüğünün sağlanması ve erken postimplantasyon periyodunda difüzyonel maternal kökenli besinler için karşılıklı değişim tabakasını oluşturur. Trofoblast dev hücreleri, Reichert membranı ve pariyetal endodermi içeren bu yapılar pariyetal yolk sac'ı oluşturur. Pariyetal yolk sac plasental fonksiyon gören en erken yapıdır. Postimplantasyon evresindeki embriyoda pariyetal yolk sac uterus ile direkt olarak kontakt kuran ekstraembriyonik membrandır. Gebeliğin geç dönemlerinde trofoblast, pariyetal endoderm ve üzerindeki maternal doku dejenere olur böylece visseral endoderm uterus lümenine açık duruma gelir (46-50).

Gelişim ilerledikçe, ekstraembriyonik ektoderm genişleyerek koryonik epitelyumu oluşturur. Embriyonun posterior kısmında mezodermden allantois gelişir ve E9-10 günde koryon ile temas kurar (43, 44, 51). Bu olay koryoallantoik temas olarak adlandırılır. Labirint gelişiminde ilk adım koryoallantoik temastır. Bu süreçteki hatalar, gebeliğin ortalarında görülen embriyonik ölümlerin en genel sebebidir (6, 34) (Şekil 2.5.1.2.).

Allantoik temastan saatler sonra koryonda katlantılar belirir. Bu katlantılar, plasental damar ağının fetal kompartmanını oluşturmak üzere allantoisten köken alan fetoplental kan damarlarının oluştuğu alanları işaret eder. Trofoblastlar, ilişkili oldukları kan damarları ile birlikte yoğun bir villöz dallanmaya giderek labirint olarak adlandırılan sıkıca paketlenmiş yapıyı oluşturur (34). Bu esnada koryonik trofoblast hücreleri iki labirint hücre tipine farklılaşmaya başlar.

1. Multinükleer sinsisyotrofoblast hücreleri, fetal endoteliumu sarar.
2. Mononükleer trofoblast hücreleri maternal kan sinüslerini çevreler (6).



Şekil 2.5.1.2. Sıçan plasentası gelişimi (34).

Labirint, gelişimi esnasında spongiotrofoblastlarca da desteklenmiştir. Spongiotrofoblastlar; dev hücreler ve labirint arasında sinsisyal olmayan sıkı bir katman olarak yer alır. Gen analizlerin sonuçlarına göre spongiotrofoblastlar ektoplasental kondan köken alırlar. Maternal kan, geniş santral arteriyel sinüsler aracılığıyla spongiotrofoblastları geçerler. Bu zonda, maternal endotelial hücreler trofoblastlarca erode edilmişlerdir. Maternal kan, labirint kompartmanının küçük ve dolambaçlı boşluklarına ulaşır ve fetal trofoblastik villi ile doğrudan temas kurar. Fetal trofoblast maternal kan ile yıkanır. İki kan sistemi arasında değişim gerçekleşir. Fetal vaskülatür, gelişmekte olan fetüse umbilikal arter ve ven ile bağlıdır (34).

Plasenta maternal ve fetal çevreler arasında basit değişimler yapmanın ötesinde pek çok fonksiyon üstlenmiştir. Trofoblast dev hücreler ve spongiotrofoblastlar çeşitli hormonları (örn: plasental laktojen (52)) ve faktörleri [örn: Anjiyogenik faktörler; proliferin (53), VEGF(54, 55) ve doku yeniden modellenme faktörleri; UPA (Ürokinaz tip plazminojen aktivatör) ve MMP (MatriksMetalloProteaz)'ları (56, 57)] salgılar. Dolayısıyla sıçan plasentası oldukça özelleşmiş bir organdır. Ayrıca yapısına ve maternal fetal değişimdeki fonksiyonuna katılan diğer hücrelerce de desteklenmektedir (34).

## 2.5.2. Erken Trofoblast gelişiminde sinyal iletimi

Yapılan deneyler göstermiştir ki trofoblast; İHK ve ilerleyen aşamalarda İHK'nin farklı yapılarından gelen çoğalma ve farklılaşma ile ilgili sinyallere

bağımlıdır. İç hücre kitlesinden uzak olan mural trofoektoderm hücreleri proliferasyon özelliklerini kaybederek terminal olarak sonlanmış bir hücre tipi olan dev hücelere farklılıklar (34).

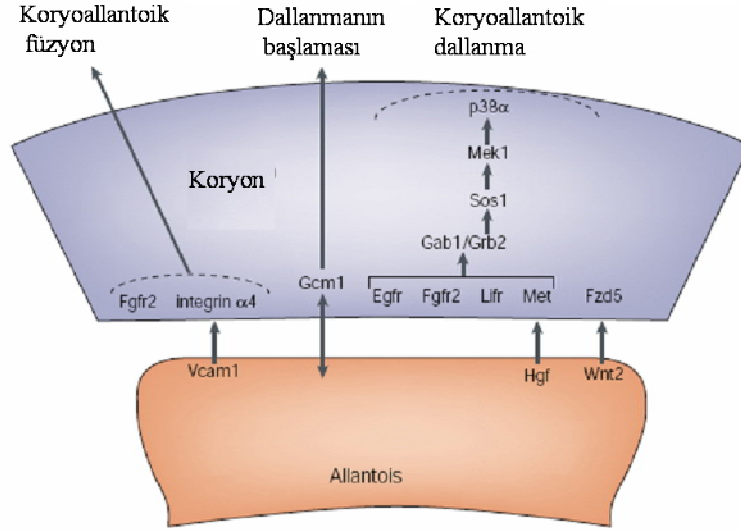
İHK üzerindeki trofoektodermal hücreler ve erken ekstra-embriyonik ektoderm, trofoblast hücre hattı için kök hücre havuzudur. Kök hücre devamlılığı embriyodan gelen sinyallere bağımlıdır. Hücreler sinyal kaynağından uzaklaştıkça aşamalı olarak ekto-plasental kon hücrelerine ve trofoblast dev hücrelerine farklılıklar. İHK ve trofoblast hücreleri arasındaki temel sinyal molekülü trofoblast gelişimini destekleyen Fibroblast büyüme faktörü (FGF)'dür. Erken trofoblast kök hücre devamlılığında ve farklılaşmasında FGF'in yanında farklı sinyal iletim yolları da yer almaktadır. Östrojen ilişkili reseptör (ERR $\beta$ ), orphan nükleer hormon reseptörüdür ve CDx2 ve Eomes ile benzer ekspresyon paterni gösterir. Esrrb geni, Err $\beta$ 'yi kodlar ve Esrrb mutant farelerde trofoblast hücre tabakası gelişmemiş olup, embriyo trofoblast dev hücrelerle çevrilidir ve bunun sonucu olarak E9. gün civarında embriyonik ölüm gerçekleşir. Daha erken günlerde, ekstraembriyonik ektoderm gelişimi mevcuttur ancak koryon oluşumu gözlenmez (58, 59).

Labirint gelişimi, basit villusların oluşumu ile başlar. Bu villuslar, koryon trofoblast yüzeyinde oluşan ve allantoik mezoderm kökenli kan damarları ile stromal hücreler içeren kıvrımlar, katlanmalardır. Bu olay sıklıkla koryonun vasküler invazyonu olarak da isimlendirilse de, trofoblastik epitel sadece basit bir katılımcı yapı değildir. Villöz dallanma noktalarına da karar verebilir. Labirint gelişimi aktif koryonik dallanma ile gerçekleşir. Bu olay dallanma ile oluşan akciğer, böbrek gibi diğer organların oluşumu ile analogtur. Koryonik plakta katlanmanın olacağı ve allantoik mezoderm evajinasyonunun başlayacağı alanlar, Gmc1 transkripsiyon faktörünü kodlayan genlerin ekspresyonu ile belirlenir. Gmc1 koryon plağında merkezi bölgelerde/ odak alanlarında allantois koryonla temas kurmadan önce eksprese olur (Şekil 2.5.2.1.). Villöz ağacın dallanması esnasında Gmc1 ekspresyonu uzayan dalların uç kısmı ile sınırlıdır. Bu alanlarda trofoblast hücreleri uzayarak birleşir ve sinsisyotrofoblast tabakasını oluşturur. Gmc1 mutant sıçanlarda koryoallantoik dallanma gerçekleşmez ve mutantların düz koryon evresinde kaldıkları gözlenmiştir. Ayrıca koryonik trofoblastlar sinsisyotrofoblastlara da farklılaşmaz. Gmc1 ekspresyonu, labirint villöz dallanmalar göstererek büyüdüğü sürece devam eder (60-62).

Gmc1 koryonik plak üzerinde, dallanmanın gerçekleşeceği ve sinsisyotrofoblastların farklılaşacağı noktaları allantoik temastan ve invazyondan önce belirler. Gmc1 ekspresyonu allantoik temastan önce başlasa da, devamlılığı allantoik tutunma ile sağlanır (63).

Fgf sinyal iletiminin koryoallantoik dallanma için önemli olduğu Fgfr2 mutant farelerdeki labirint defektleri ile gözlenmiştir. Fgfr' nin dışında diğer büyüme faktörü reseptörlerinin (Lifr, Egfr, Met..) mutasyonu da labirint defektleri göstermektedir (64). Tüm bu reseptörler intrinsik ya da reseptör ilişkili kinazlara sahiptir. Bu kinazların aktiviteleri ligand stimülasyonu ile gerçekleşir. Bu reseptörlerin downstream efektörleri olan genel sinyal iletim yollarının (Grb2, Gab1, Sos1, Mek1) mutasyonunda da spesifik labirint defektleri gözlenmiştir (65-

67). Biyokimyasal deneylerle büyüme faktörlerinin çeşitli hücre içi sinyal iletim yollarını çalıştırdığı belirlenmiştir. Ancak farklı sinyal iletim yollarının biyolojik etkilerinin önemi henüz açıklığa kavuşmamıştır (34).



**Şekil 2.5.2.** Koryoallantoik morfogenezin düzenlenmesi. Labirint oluşumunun temel basamağı olan koryoallantoik füzyonda rol oynayan bazı moleküller görülmektedir (34).

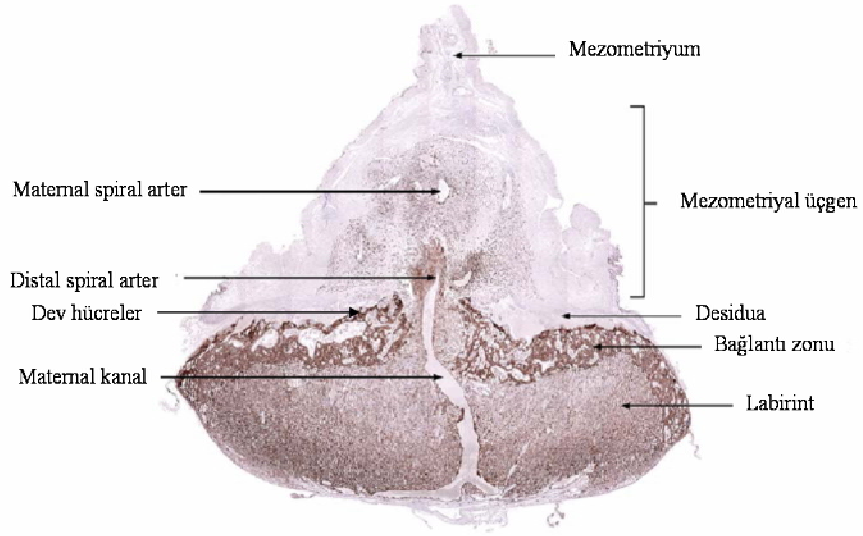
Embriyonik ölüm her ne kadar plasentanın yetersiz vaskülarizasyonu nedeni ile ortaya çıkıyor gibi görünse de çoğu fenotipte primer defekt trofoblast tabakasıdır. Trofoblast dallanması; içlerinde damarların büyüyebileceği, gelişebileceği bir çatı sağladığı için labirint vaskülarizasyonunda oldukça önemlidir. Çeşitli sinyal iletim yollarının reseptör ve/veya sinyal proteinlerinin (Fgfr2, met, Sos1, Mek1..) mezodermal/ vaskülatür alanda değil, trofoblast kompartmanında eksprese edildiği gösterilmiştir (34).

## 2.6. Sıçanda Olgun Plasenta Yapısı

Sıçanlarda 12.gün civarında plasenta artık tamamen oluşmuş ve fonksiyoneldir (Şekil 2.6.1). Gebeliğin ikinci yarısında gözlenen ve tamamen oluşmuş olan bu plasentada hücresel özelliklere bağlı olarak embriyodan maternal bölgelere doğru 4 kısım görülür (51, 68-70).

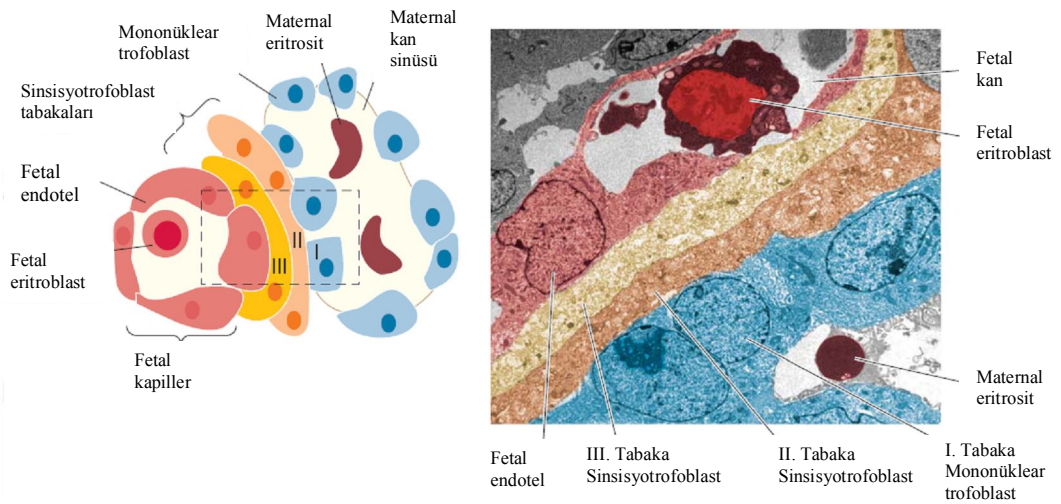
- 1-Labirint zon
- 2-Bağlantı zonu (Spongiotrofoblast)
- 3-Trofoblast dev hücreleri
- 4-Desidua





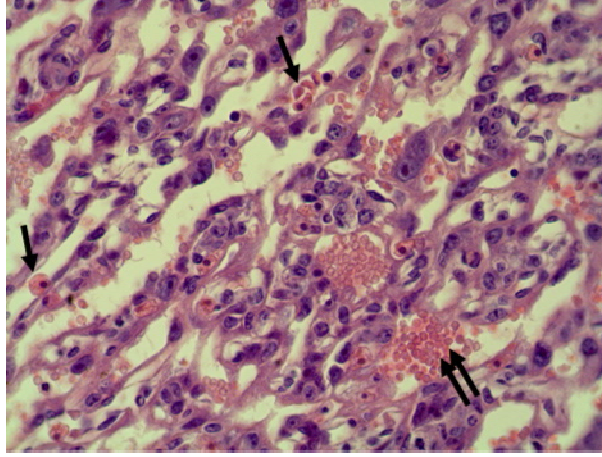
Şekil 2.6.1. Sıçanlarda olgun plasentanın genel görünümü (71).

**1-Labirint zon:** Ekstraembriyonik ektodermden gelişir ve koryo-allantoik tutunmadan sonra fonksiyonel halini alır. Bu katman koryo-allantoyik plasenta bariyerini oluşturan bölümdür (51, 68). Maternal ve fetal kan dolaşimleri arasında fizyolojik değişimin gerçekleştiği alandır (Şekil 2.6.3.) Fetal yüzeyinde ekstraselüler matriks ile desteklenen trofoblast tabakası (koryon plağı) yer almaktadır. Umbilikal kord içerdiği fetal arter ve venlerle koryon plağına dahil olur. Trofoblast hücreleri dallanmalar yaparak villusları oluştururlar. Koryonik villusların dış yüzeyi trofoblast hücrelerinden, iç kısımları ise allantoik mezoderm ve vaskülatürden oluşmaktadır (72). Labirint trofoblast tabakası 3 tabakalıdır. I. tabaka maternal kan ile doğrudan temasta bulunan sitotrofoblast hücreleridir. II. ve III. tabaka sinsisyotrofoblasttan oluşur (Şekil 2.6.2.) (51).



Şekil 2.6.2. Üç sıra halinde düzenlenmiş labirint trofoblast hücreleri (6).

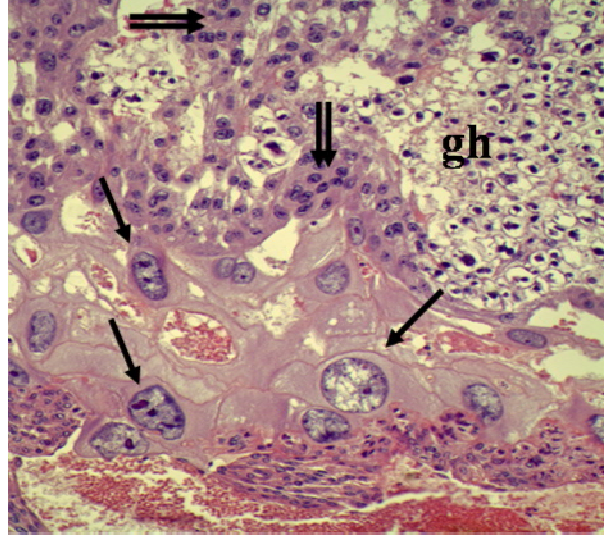




**Şekil 2.6.3.** Gebeliğin 14. gününde labirint tabakanın detaylı görünümü. Şekilde maternal kana ait eritrositler (çift ok) ve fetal kana ait eritroblastlar (tek oklar) görülmektedir.

**2-Bağlantı zonu:** Sıçan plasentasının maternal yüzeyini sınırlandırır. Ektoplasental kondan köken alan bağlantı zonu, aynı zamanda spongiotrofoblast ve trofospongiyum olarak da adlandırılır (51, 68, 69, 73). Bu bölge fetal damar içermez, sadece maternal damarlar bulunur (Şekil 2.6.4). Labirint zona maternal kan taşıyan damarlar bu bölgenin içerisinden geçer (19, 73). Bağlantı zonunda, maternal kan ile doğrudan temas halinde olan trofoblastlar çeşitli proteinler [örn: prolaktin benzeri protein A (PLP-A), insan plasental laktojen (HPL), VEGF, MMP, uPA..] salgılayarak maternal metabolizmayı etkilerler (52, 55, 56). Flt-1 ve proliferin ilişkili protein (Prp) spongiotrofoblastlar tarafından salgılanan anti-anjiyogenik proteinlerdir (74).

Bağlantı zonunda spongiotrofoblastların yanında gözlenen bir diğer hücre tipi trofoblast glikojen hücreleri (glikojenik hücre)'dir (Şekil 2.6.4.) (75). Glikojenik hücreler spongiotrofoblastlarla birlikte bağlantı zonunda gözlenirler (76, 77). Glikojenik hücrelerin spongiotrofoblastlara spesifik genleri (78) eksprese etmesi nedeniyle spongiotrofoblastlardan köken aldıkları ifade edilmektedir (72, 77).



**Şekil 2.6.4.** Gebeliğin 14. gününde bağlantı zonu detaylı görünümü. Açık boyanan glikojenik hücreler (gh), spongiotrofoblastlar (çift oklar) ve dev hücreler (tek oklar) görülmektedir.

E12.5 günde glikojenik hücreler bağlantı zonunda seçilememektedir. E14.5.günde yaklaşık 2 milyon glikojenik hücre varlığı tespit edilmiştir. Bu hücrelerin yaklaşık 500 000'ni desiduaaya göç etmiştir. Bağlantı zonundaki glikojenik hücrelerin spongiotrofoblastlara oranı 10:1'dir. E16.5. günde glikojenik hücre sayısı 6,5 milyona ulaşmıştır. Desiduaaya göç eden glikojenik hücre sayısının bir milyondan daha fazla olduğu düşünülmektedir. Spongiotrofoblastlara oranı 5:1'e yükselmiştir. E18.5 günde glikojenik hücre sayısı belirgin olarak hem desiduada hem de bağlantı zonunda azalmıştır. Glikojenik hücrelerin sayısı 3 milyondan daha azdır. Geç gebelik boyunca sayılarındaki dramatik azalmanın hücre ölümünden mi yoksa desidua bazalise dereceli olarak invazyonlarından mı ya da her ikisi nedeniyle mi olduğu henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Labrint zonda da glikojenik hücreler gözlenmektedir ancak herhangi bir fonksiyona sahip olup olmadıkları bilinmemektedir (75). Sıçan plasentası glikojen hücrelerinin IGF-2 gibi protein yapıdaki hormonları sentezlemeleri ve salgılamaları gerçeği fetö-maternal etkileşimleri etkileyebileceklerini göstermektedir (76, 79). Sıçan plasantasına ait tabakalar arasında plasental gelişim boyunca görülen oransal değişimler Tablo 2.6'da verilmiştir.

**Tablo2.6.** Sıçan plasental gelişiminde görülen oransal değişimler (51).

12. gün	20.gün
Labirint zon %20	Labirint zon %60
Bazal zon %25	Bazal zon %15
Desidua bazalis+ subplasental bölge+metriyal gland %55	Desidua bazalis+ subplasental bölge+metriyal gland %25

**3-Trofoblast Dev Hücreleri:** Maternal desidua ve bağlantı zonu arasında sınır oluşturan trofoblast dev hücreler, endoreduplikasyon sonucu oluşan poliploid

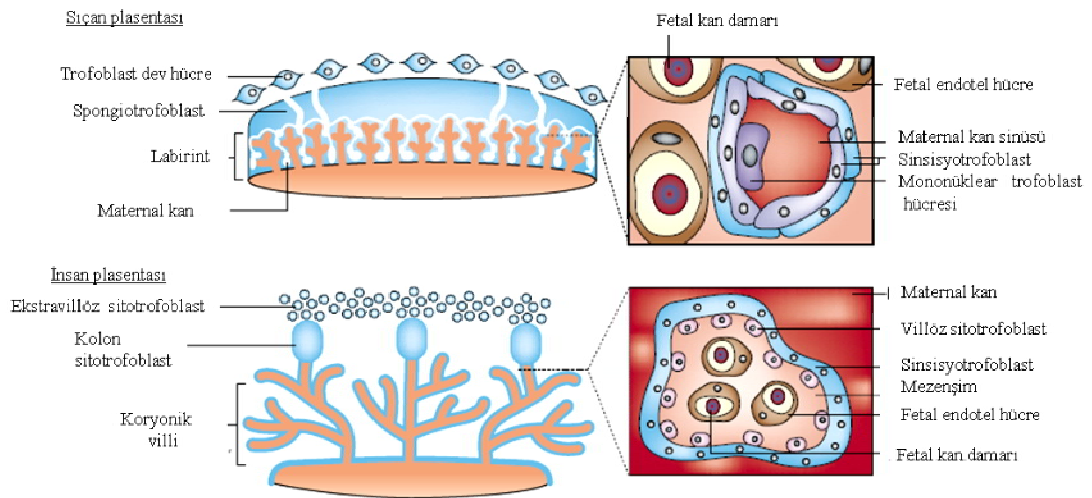
hücrelerdir. İmplantasyondan sonra mural trofoektodermden köken alanlar birincil dev hücreler, ektoplasental kon ve sonrasında spongiotrofoblastlardan köken alanlar ise ikincil dev hücrelerdir (80). Birincil dev hücreler plasenta yapısına katılmazlar. Trofoblast dev hücreleri implantasyon zamanında invaziv hücelere farklılaşırlar ve uterus epitel hücrelerini invaze ederler. Uterus stromasına penetre olarak maternal kan ile vasküler bağlantılar yaparlar (81). Blastosistin, trofoektodermden köken alan dev hücreler hem implantasyon hem de erken vaskülogenez için oldukça önemlidir (82). VEGF, proliferin gibi anjiyogenik faktörleri, adrenomedulin gibi vazodilatör molekülleri salgılayarak implantasyon alanına maternal kan akımını teşvik ederler (23).

## 2.7. Sıçan ve İnsan Plasentasındaki Benzerlikler ve Farklılıklar

Kemirgenlerde yapılan genetik çalışmaların insan plasental bozukluklarının moleküler temellerine ışık tutacağı ümit edilmektedir. Bu bozukluklar; düşükler, bazı IUGR tipleri ve preeklampsiyi içermektedir. Türler arasındaki moleküler benzerlikleri test etmek için insan ve sıçan plasentaları arasındaki yapısal farklılık ve benzerlikleri anlamak gerekmektedir. Sıçan ve insan plasentaları arasında bazı farklılıklar olsa da, gözle görülür benzerlikler mevcuttur (Şekil 2.7.) (34).

Her iki plasenta tipi de koryo-allantoyiktir. Maternal ve fetal yapılar arasındaki tabaka sayısına göre sıçan hemotrikoryal, insan ise hemomonokoryal plasentaya sahiptir. Her iki türde diskoidal plasenta görülür. Sıçanlar tek bir kotiledona sahipken insanlar çoklu kotiledonlara sahiptir. Sıçanlarda fetomaternal kan akımı zıt akım prensibine göre çalışır, insanlarda ise multivillöz akım görülür (25, 83).

Sıçanlarda yolk sac konseptüsün temel ekstraembriyonik membranı olarak tüm fetüsü çevreler. Yolk sac, koryoallantoyik plasenta olgunlaşana kadar tek değişim yapısıdır ve gebeliğin geç dönemine kadar temel değişim tabakası ve koruyucu tabaka olarak devam eder. İnsanda yolk sac fetüsü çevrelemez, sadece birkaç hafta varlığını sürdürür (25).



Şekil 2.7. İnsan ve sıçan plasentalarının karşılaştırılması (34)

İnsan ve sıçan plasentasında maternal dokuların trofoblastlarca invazyonu iki şekilde gerçekleşir. İlki intersitisyel, ikincisi endovasküler invazyondur (19, 84). İntersitisyel invazyon, trofoblastik hücrelerin desidual arter duvarına göçü veya desiduada dev hücrelere farklanması şeklinde gerçekleşir. Endovasküler invazyonda ise ekstravillöz trofoblastlar maternal arter lümenlerini ve duvarlarını erode ederek, damar yapılarının yeniden şekillenmesi gerçekleştirir. Maternal endotelin yerini ekstravillöz trofoblastlar alır (84). İnsan plasentasında trofoblast invazyonu normalde miyometriyumun iç 1/3 tabakasına kadar uzanır. Sıçan plasentasında trofoblast invazyonu desidua bazalis boyunca görülür ancak miyometriyuma kadar uzadığı bildirilmiştir (24, 85). İnsan ve sıçan plasentaları trofoblast hücrelerinin karşılaştırılması Tablo 2.7’de verilmiştir.

**Tablo 2.7.** İnsan ve sıçan plasentalarında trofoblastların karşılaştırılması (25)

	<b>İnsan</b>	<b>Sıçan</b>
<b>A. İnvaziv ve Endokrin Trofoblast</b>		
Adlandırma	Ekstravillöz Sitotrofoblast	Trofoblast Dev Hücreler
İnvaziv olma	Evet	Evet
Proliferasyon	Hayır	Hayır
DNA içeriği	Mononükleer poliploid (4N-16N)	Mononükleer poliploid (1000N’e kadar)
<b>B. Transport ve Bariyer Trofoblast</b>		
Adlandırma	Koryonik Villi	Labirint
Hemokoryal	Evet	Evet
Sinsisyotrofoblast yüzeyi	Evet	Evet
- Hücre füzyonu ile oluşma	Evet	Evet
- Nükleer DNA içeriği	Diploid	Diploid

### 2.7.1. Fetal Plasenta ve Labirint

İnsan fetal plasentası ile sıçan plasentasının labirint zonu fonksiyonel açıdan analogtur. Plasentanın bu bölgesi fetal ve maternal kanın fizyolojik değişim için yakın ilişki içinde oldukları bölgedir. Her iki türde de bu bölge, fetal yüzünde ekstraselüler matris tarafından desteklenen bir trofoblast tabakası tarafından sınırlanır ve koryonik plak olarak bilinir. Göbek kordonu içerdiği fetal arter ve venlerle, koryonik plak aracılığıyla plasentaya bağlanır. Koryonik plaktan koryonik villi olarak bilinen birçok ağaç benzeri yapı çıkar. Koryon plağın dış yüzeyi trofoblast, iç kısımları ise allantoid mezoderm ve vaskülatürden oluşmaktadır. Allantoid vaskülatür ve ilişkide olduğu fetal dolaşım, fetoplasental dolaşım sistemini oluşturur. Koryonik plağın trofoblast hücreleri, bağlantı zonu aracılığıyla labirinte ulaşan maternal kan ile yıkanır. Bu alanlarda uteroplasental dolaşım gerçekleşir.

İnsan fetal plasentası ile sıçan plasentası labirint zonu, koryonik plağın ana dallarından türeyen dallanmalarda farklılıklar gösterirler. İnsan plasentası villöz tiptedir. Koryonik villi çok sayıda dal ve alt dal içeren bir ağaca benzer. Diğer taraftan sıçan plasentasında ana koryonik çıkıntılarının dalları çok daha fazla birbirine bağlantılıdır. Sıçan plasentası labirint tiptedir. Bu farklılığın bir sonucu

olarak insan fetal plasentasında maternal kanın dolaştığı boşluk (intervillöz boşluk) sıçan labirint tabakasından daha geniştir (24, 72, 86, 87).

### **2.7.2. Bazal Plak ve Bağlantı Zonu**

İnsan bazal plağı ve bunun sıçandaki homoloğu bağlantı zonu, fetal labirint zonun maternal yüzünü sınırlar. Her iki türde de bu zon zigot kökenli sitotrofoblastlar içerir ama fetal kan ya da fetal kan damarları içermez. Bu bölgede, arteriyel ve venöz kanallar trofoblastlarca sınırlandırıldığı için sürekli bir bölgedir.

İnsan bazal plağında olduğu gibi sıçan bağlantı zonunda da vakuol ve glikojen içeriklerine göre sınıflandırılan iki tip hücre mevcuttur. İnsan endovasküler trofoblastları sıçan plasentasında maternal arterleri sınırlayan trofoblastlara, interstisyel trofoblastlar da bağlantı zonundaki herhangi bir damarı invade etmeyen trofoblastlara benzetilebilir (25).

İnsanda erken gebelik süresince çok tabakalı sitotrofoblastik sütunlar morfolojik bir gradiyent gösterirler. Desidua bazalise en yakın hücreler vakuollü ve glikojence zengindir (distal hücreler) ve kalanı (proksimal hücreler) eozinofilik bir sitoplazma ve düşük miktarda glikojen içerir. Bu durumda sıçanlardaki bağlantı zonu glikojen hücrelerinin, insan sitotrofoblastik sütunlarının distal hücrelerine analog olduğu önerilebilir. Benzer şekilde sıçan spongiotrofoblastları, insan sitotrofoblastik hücre sütunlarının proksimal trofoblastlarına analog olabilir. Bu hipotez üç kanıtla desteklenmektedir. Birincisi hem insan sitotrofoblastik hücre sütunlarının proksimal hücrelerinden hem de sıçan spongiotrofoblastlarından invaziv trofoblastların geliştiği belirtilmektedir; örneğin insanlardaki invaziv ekstravillöz trofoblast hücrelerine karşılık olarak sıçanlarda invaziv glikojen hücreleri mevcuttur. İkincisi, ilerleyen gebelikle birlikte sütunların boyutlarındaki dereceli azalma ve gebeliğin 22-36. haftaları arasında kaybolmaları, sıçan glikojen hücrelerinin geç gebelik boyunca bağlantı zonundaki dramatik düşüşlerine benzetilebilir. Bu düşüş olayı, sıçan glikojen hücrelerini oluşturan spongiotrofoblastlardaki düşüş ile ilişkili bir olaydır (25). Üçüncüsü, insan sitotrofoblastik hücre sütunlarının proksimal hücreleri erken gebelik dönemindeki sıçan spongiotrofoblastları gibi IGF-2 (76, 88) ve p57 (79, 89) ekspresyon ederler (25).

### **2.7.3. Dev Hücreler ve Ekstravillöz Trofoblastlar**

Sıçan plasentasında görülen dev hücrelerin insan ekstravillöz trofoblastlarına analog olduğu düşünülmektedir ancak gelişimsel olarak herhangi bir analogiye değinilmemiştir (23). Her iki hücre tipi de poliploiddir fakat insan ekstravillöz trofoblastları iki yada daha çok nükleus içerir ve mononükleer ekstravillöz trofoblastların füzyonu ya da sitoplazmik bölünme olmaksızın nükleer bölünme gerçekleşmesiyle oluşurlar (90). Bunun aksine sıçan dev hücreleri endoreduplikasyon sonucu oluşur. Sıçan dev hücreleri ile erken evrelerdeki insan ekstravillöz trofoblastları arasında bir analogi kurulabilir. Sıçanlarda, glikojenik hücreler görülünceye kadar bağlantı zonu, desidua bazalise doğru genişlemektedir (72). Her iki hücre tipi de invazivdir ve maternal kan ile temas kurarlar (23).

#### 2.7.4. Plasental yatak ve desidua bazalis

İnsan plasental yatağı 100-150 maternal spiral arter ve çok sayıda maternal ven içerir. Başlangıçta bu damarların sıkı bir vasküler duvar yapısı mevcuttur. Venler bazal plağa paralel, spiral arterler dikey olarak düzenlenmiştir. Sıçan desidua bazalisinde de benzer bir oluşum söz konusudur ancak sıçanlarda genellikle tek bir maternal arter ve periferik olarak düzenlenmiş çok sayıda ven mevcuttur (72).

#### 2.8. Hücrede Sinyal İletimi

İnsan Genom Projesinin verilerine göre, insan genomundaki yaklaşık 32.000 genin %20'si sinyal iletiminde görev alan proteinleri kodlamaktadır. Bu proteinler arasında hücre membranında yerleşen reseptörler, G-proteinler ve sinyal ileten enzimler yer almaktadır. Protein kinazlar, sinyal iletimi sırasında protein fosforilasyonunu/aktivasyonunu sağlarlar. Protein kinazlar; membran yerleşimli olanlar ve sitoplazmik tirozin kinazlar olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Bu proteinler, katalitik özelliklerine göre (fosforilasyona uğrayan aminoasit türü) tirozin ve serin/treonin kinazlar olarak da sınıflandırılır (91).

##### 2.8.1. MAPK (Mitojenin Aktiflediği Protein Kinazlar) Yolağı

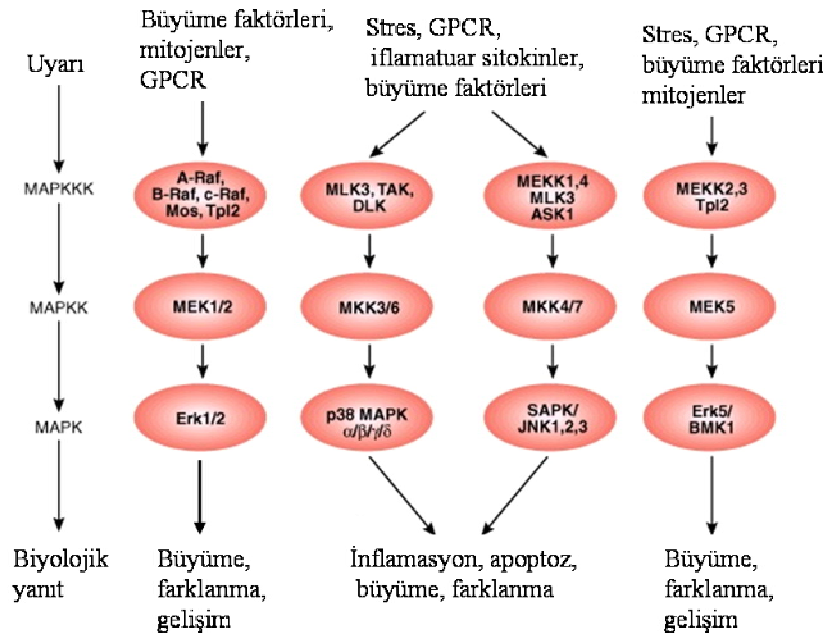
MAP kinazlar; Mitojenlerin Aktiflediği Protein Kinaz süper ailesinde yer alan protein olan serin/treonin kinazlardır. Ökaryotik hücrelerin tümünde mevcut olan bu proteinler, hücre membranından çekirdeğe bilgi aktarılmasında oldukça önem taşımaktadırlar. Bu sinyal iletimi basamakları, embriyogenez, yaşama, çoğalma, farklılaşma ve apoptoz işlevlerinin düzenlenmesinde rol alır (Şekil 2.8.1.1.) (91).

MAP kinazlar dört ana gruba ayrılır;

1. p38 MAP Kinaz ailesi ( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ ),
2. Hücre dışı sinyallerle aktive olan kinazlar ( ERK1/2)
3. c-Jun NH2- terminal kinaz ailesi (JNK1,2,3)
4. ERK5 (92).

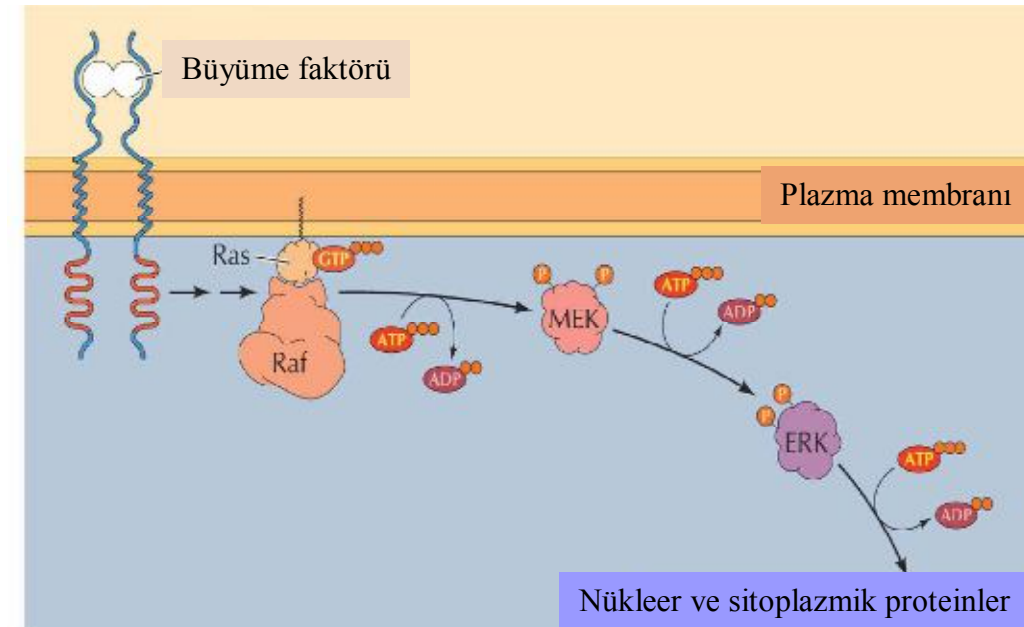
MAP kinaz yolu reseptör aracılı uyarının hücre içine iletiminden sorumlu bir kinaz basamağı olarak çalışır. MAPKKK'nın (MAP kinaz kinaz kinaz) aktivasyonundan sonra sırasıyla MAPKK (MAP kinaz kinaz) ve MAPK (MAP kinaz) aktive olur. MAPK ise diğer protein kinazları ve/veya nükleusta transkripsiyon faktörlerini fosforilasyon yoluyla aktive eder ve hücrenin biyolojik cevabı oluşur (92-96).

Sinyal iletimi Ras aktivasyonu ile başlar ve sırasıyla Raf (= MAPKKK), MEK1/2 (= MAPKK) ve ERK1/2 (= MAPK) proteinleri ile devam eder (Şekil 2.8.1.2.). Aktif olmayan hücrelerde Ras proteinleri inaktif (Ras-GDP) halde bulunurlar. Hücrenin uyarılması ile GDP'nin yerine GTP bağlanarak aktif forma (Ras-GTP) dönüşür (Şekil 2.8.1.2.). Bu aktivasyonda rol oynayan moleküller, SOS (son of sevenless) ve Grb2 (growth-factor-receptor-bound protein 2) gibi adaptör proteinlerdir (97). Fosforile ve aktive olan ERK, nükleusta çeşitli transkripsiyon faktörlerini uyararak hücrenin biyolojik cevabını oluşturur (Şekil 2.8.1.3) (98).



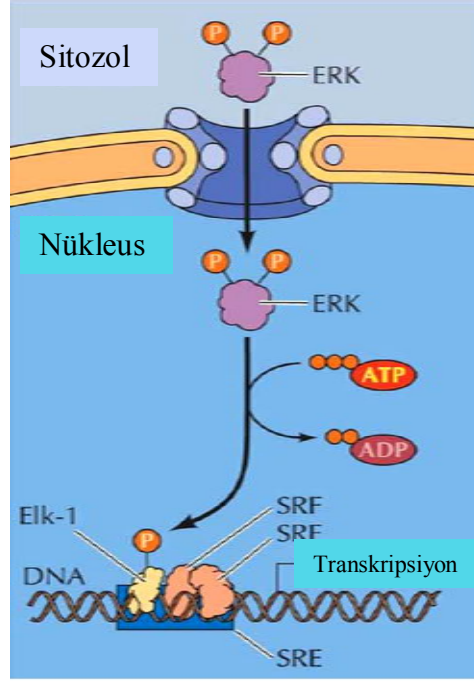
Şekil 2.8.1.1. MAPK sinyal iletim yolağı (GPCR: G protein ilişkili reseptör) (99).

Memelilerde en sık aktive olan MAP kinaz ERK1/2 dir (100). ERK1 MAPK3, ERK2 ise MAPK1 olarak da isimlendirilmektedir (101). Proliferasyonu, farklanmayı ve sinir hücrelerinde belleği/hafızayı düzenler (98). ERK1/2 yolağı ayrıca, hücre döngüsünün G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> geçişi ve hücrelerin mitoz ve mayoz geçirebilmesi için önemlidir (94).



Şekil 2.8.1.2. ERK1/2 aktivasyonunda rol oynayan faktörler (102)





Şekil 2.8.1.3. Fosforile olan ERK1/2'nin nükleer faktörleri aktive etmesi (102)

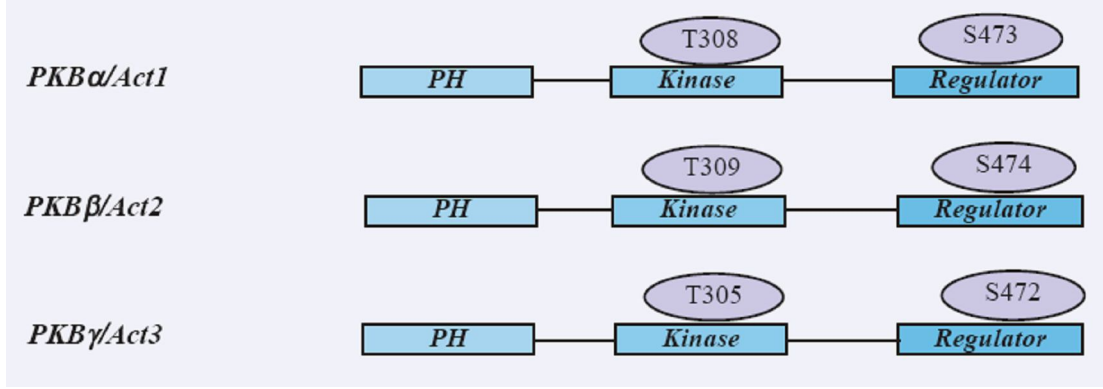
### 2.8.2. Akt Yolağı

Akt (Protein Kinaz B) bir serin/treonin kinazdır ve cAMP bağımlı protein kinaz A/ protein kinaz G/ protein kinaz C (AGC) süperailisinin bir üyesidir. Bu kinazlardan bazılarının düzenlenmesinde ortaya çıkan aksaklıklar kanser ve diyabet gibi hastalıklarla yakından ilişkilidir. Protein kinaz B (PKB), Akt1 ve Akt2 genleri tarafından kodlanan bir proteindir. Memelilerde 3 Akt/PKB geni tanımlanmıştır.

- Akt1- PKB $\alpha$ , 14q32 üzerinde
- Akt2- PKB $\beta$ , 19q13 üzerinde
- Akt3- PKB $\gamma$ , 1q44 üzerinde lokalizedir (103).

Her 3 Akt izoformu da; PH domaini (amino terminal pleckstrin homology domain), merkezi kinaz domaini, hidrofobik motif içeren karboksil terminal regülör domaini içerir (Şekil 2.8.2.1.). PH domaini fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3K) tarafından üretilen PIP3 gibi membran lipidleri ile etkileşir. Merkezi kinaz katalitik domaini, treonin rezidüsü içerir ve bu rezidünün (Treonin308) fosforilasyonu Akt1'i kısmi olarak aktive etmektedir. Karboksil terminal domain 44 aminoasitlik bir bölgeden oluşur. Bu bölge hidrofobik bir motife sahiptir. Bu hidrofobik motiftteki Serin 473 rezidülerinin fosforillenmesi Akt1'in tamamen aktivasyonu için gereklidir (103).

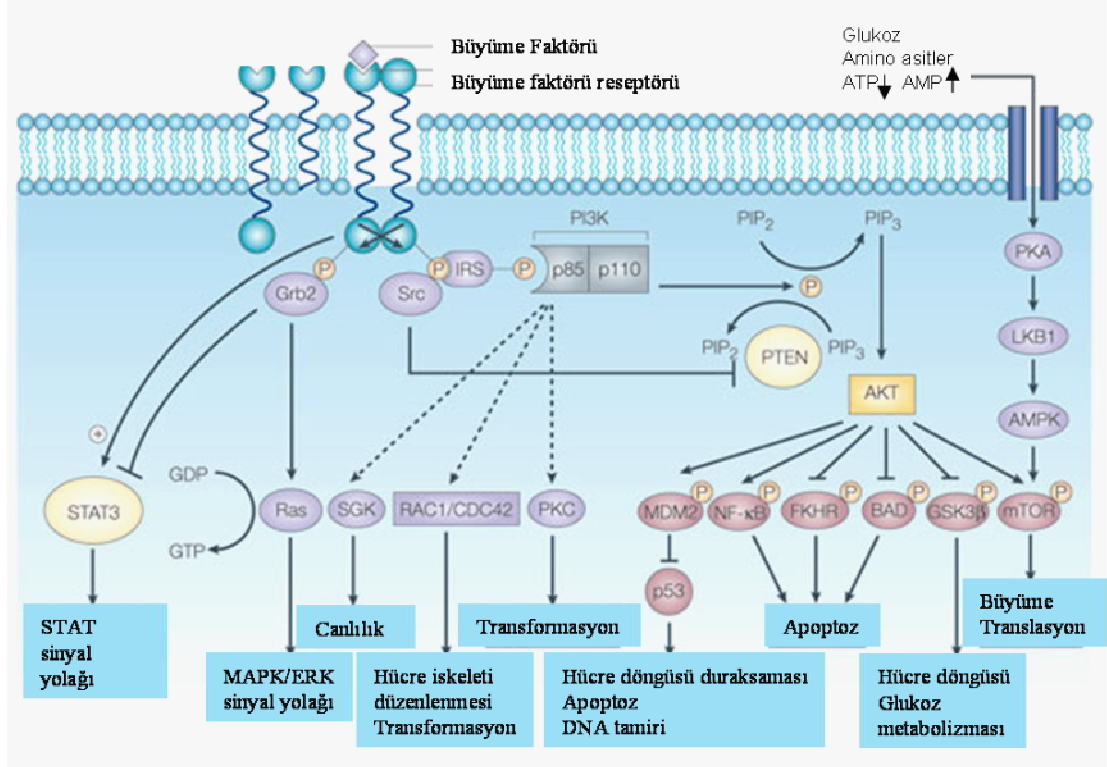




Şekil 2.8.2.1. Akt izoformlarının yapısal özellikleri (103).

Akt (PKB), hücre proliferasyonu, farklılaşması, büyümesi, hücre göçü, apoptoz ve hücre canlılığının devamının kontrolünde önemli rollere sahip düzenleyici bir proteindir (104). Akt'nin esas fonksiyonlarından bir diğeri de Glikojen Sentaz Kinaz 3 alfa (GSK-3 $\alpha$ )'nın fosforilasyonu aracılığıyla GSK-3 $\alpha$  inaktivasyonu gerçekleştirerek glikojen sentezini düzenlemektir (105). Kaspaz 9, forkhead transkripsiyon faktörleri, NF $\kappa$ B ve Bad (Bcl2 ailesi üyesi) gibi apoptotik yolların inhibisyonunu Akt aktivasyonu ile gerçekleştirir. Hücre döngüsünde (cMyc'yi aktive ederek) hücrelerin G<sub>0</sub>'dan çıkışını destekler, Retinoblastoma (Rb)'yi inhibe eder, anjiyogenezde rol alır ve GLUT1, GLUT3 ekspresyonunu artırır (106).

Akt fosforilasyonu Fosfoinozidil-3-kinaz (PI3K) aracılığıyla gerçekleşir (Şekil 2.8.2.2.). PI3K, büyüme faktörlerince aktive olan Reseptör Tirozin Kinazların (RTK) ve G-Protein ilişkili reseptörlerin temel sinyal molekülüdür. Fosforile olan RTK'lar PI3K'nin p85 alt ünitesi ile etkileşir ve enzim plazma membranına taşınır. Membranda GTPazlar PI3K'nin p110 alt ünitesine bağlanarak enzimi aktif hale getirirler. Membranda PI3K, fosfotidilinositol 4,5-bifosfat'ı (PIP2) inositol halkasının 3' pozisyonunda fosforilleyerek fosfotidilinositol 3,4,5-trifosfat'a (PIP3) dönüştürür. Akt/PKB'in PI3K tarafından aktive edilen PIP3'e bağlanabilmesi için PH domaini gereklidir. Bu nedenle PIP3 direk olarak Akt'i aktive edemez. Fosfoinositid-bağımlı kinaz 1 (PDK1) aracılığıyla Akt fosforilasyonu gerçekleşir. PIP3 düzeyleri PTEN, SHIP gibi düzenleyici moleküllerle dikkatli bir şekilde kontrol edilir (107-109).



Şekil 2.8.2.2. Akt (PKB)'nin fosforilasyon basamakları ve hücre içindeki rolü (110).

## 2.9. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) en büyük sağlık problemlerinden biridir. Diabetes ve mellitus kelimeleri yunanca akıp gitmek anlamına gelen dia + betes ve bal kadar tatlı anlamına gelen mellitus kelimelerinden türetilmiştir. DM, hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik bozukluktur. Hiperglisemi, insülin sekresyonu, insülin etkisi yada her ikisinde meydana gelen aksaklık nedeniyle oluşabilir.

Diabetes mellitus, poliüri, polidipsi, glikozüri, ketonüri ve açıklanamayan kilo kaybı ve plazma örneğinde glikoz düzeyinin 200 mg/ dl üzerinde veya açlık glikoz düzeyinin 126 mg/dl veya üzerinde bulunması ile karakterizedir. Diabetes mellitus üç ana gruba ayrılır: Tip 1 Diabetes Mellitus, Tip 2 Diabetes Mellitus ve Gebelik Diyabeti (Gestasyonel Diabetes Mellitus) (8, 111).

### 2.9.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 diabetes mellitus (T1DM) çocukluk çağında sık görülen, insülin üretiminde görev alan pankreasın beta hücrelerinin otoimmün nedenlerle hasara uğraması sonucu gelişen kronik metabolik bir hastalıktır. Etiyolojisinde genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır (112, 113).

#### 1-Genetik Faktörler:

T1DM'da genetik yatkınlıktan ve koruyuculuktan sorumlu HLA (human leukocyte antigen) genleri, insan 6p21 kromozomda yer alan major histokompatibilite kompleksine (MHC) lokalize bölgelerdir. Bu bölgeler T1DM gelişimindeki yatkınlığın %45-60'ından sorumlu tutulmaktadır (114, 115). Bu

genlerin T1DM gelişim patogenezindeki fonksiyonlarının tam olarak rolünün ne olduğunun anlaşılmasına karşın, immün cevabın gelişiminde (T hücrelerine antijen sunumu gibi) önemli fonksiyonlarının olduğu düşünülmektedir. HLA genlerinin, T1DM gelişiminde önemli rolleri olduğu kadar koruyucu rolleri de mevcuttur. HLA-DR2 geninin koruyucu özelliği mevcut iken HLADR3/DR4 genlerinin pozitif olmasının T1DM gelişimi için yatkınlaştırıcı olduğu öne sürülmüştür (114-116). T1DM ile ilişkisi gösterilen ilk genler HLA sınıf I genleri olup daha sonra yapılan çalışmalarda HLA sınıf II genlerinin T1DM ile daha yakın ilişkisinin olduğu saptanmıştır. Şu an için T1DM gelişiminde en önemli genetik faktör HLA sınıf II genleri olup bilinen en önemlileri HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP'dir. HLA-DQ antijenindeki aminoasit değişikliklerinin diyabet gelişimini etkilediği saptanmıştır. T1DM hastalarının büyük çoğunluğu HLA DR3 ve DR4 sınıf II antijenlerini taşımaktadır. HLA-DR3 veya DR4 antijenlerinin varlığında T1DM gelişme riskinin 2-3 kat, her ikisinin varlığında ise riskin 7-10 kat arttığı saptanmıştır. T1DM'da yatkınlığı sağlayan HLA genleri ile ilişkili olmayan genler de tanımlanmıştır. Bunlar, diyabete yatkınlığın %10'undan sorumlu olan ve 11p5.5 kromozomda yer alan IDDM2 ile 2q33 kromozomunda yer alan ve T hücre aktivasyonundan sorumlu olan IDDM12 genleridir (112, 114).

## **2-Çevresel Faktörler:**

Çevresel faktörler, T1DM gelişiminde önemli olan otoimmünitenin baskılanmasında, başlamasında veya başlamış olan otoimmünitenin gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Genetik yatkınlığı olan bireylerde T1DM gelişimi, çevresel faktörlere maruziyet sıklığına ve süresine de bağlıdır. Viral enfeksiyonlar, öncesinde tetiklenmiş olan otoimmün sürecin hızlanması veya enfeksiyon döneminde artan insülin ihtiyacını karşılayacak pankreatik rezervin azalması nedeniyle diyabet ile ilgili semptomların daha erken ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Perinatal dönemde veya yaşamın erken döneminde enfeksiyonlara maruziyet, riski artırmaktadır. Bugün için diyabetle ilişkisi en iyi bilinen viral enfeksiyon, konjenital rubella enfeksiyonudur. Konjenital rubella enfeksiyonlarında T1DM görülme sıklığı artmaktadır. Konjenital rubella enfeksiyonu geçiren olguların %12-20'sinde T1DM geliştiği ve %40'ında da oral glikoz tolerans testlerinin bozulduğu gösterilmiştir.

Genetik ve çevresel faktörler, pankreas adacık hücrelerine karşın otoimmün sürecin başlamasında tetikleyicidir. Otoimmün süreç ile birlikte pankreas adacık hücrelerinde süregelen ve yavaş ilerleyen yıkım ile birlikte insülin sekresyonu azalmaktadır. Pankreastaki mevcut adacık hücrelerinin %80-90'nın harabiyeti söz konusu olduğunda diyabetin klinik bulguları ortaya çıkmaktadır. T1DM'da insülin sekresyonundaki azalma iki mekanizma ile olmaktadır. Bunlardan birincisi pankreasın beta hücrelerinin harabiyeti iken diğer mekanizma ise ortamdaki sitokinlerin pankreasın beta hücrelerinden insülin sekresyonunu azaltmalarıdır (112-114, 117-119).

### **2.9.2. Tip 2 Diabetes Mellitus**

Çevre faktörleri ile genetik faktörler şu üç mekanizma ile Tip 2 DM'a yol açarlar;

- a) Periferik dokularda insülin direnci
- b) Pankreastan insülin salımlımda aksaklıklar

c) Karaciğerde glikoz üretiminin artması

Bu hastalarda temel bozukluk insülinin fizyolojik etkilerine karşı periferik dokularda, özellikle de çizgili kaslarda direnç gelişmesidir. İnsülin direncini oluşturabilen veya arttırabilen etkiler arasında yaşlanma, sedanter yaşam, obezite, stres, glukokortikoidler, seks hormonu yapısındaki ilaçlar, akromegali, Cushing hastalığı ve benzeri endokrinopatiler ile gebelik, glikoz toksisitesine yol açan uzun süreli hiperglisemi ve genetik yatkınlık bulunur. Tip 2 Diabetes Mellitus üç evreye ayrılır:

**a) Preklinik evre:** Bu evrede beta hücre fonksiyonları normal olduğundan, periferdeki insülin direnci normale göre daha fazla insülin salınarak (hiperinsülinemi) aşılmaya çalışılmakta ve böylece bir süre normal glikoz toleransı sürdürülmektedir. Bu dönemde kan glikozu normal düzeydedir. Oral glikoz tolerans testi (OGTT) normaldir.

**b) Bozulmuş glikoz toleransı dönemi:** Aşırı çalışan beta hücrelerinde bitkinlik ve salgı yetmezliği gelişir. OGTT patolojik olmuştur. Açlık glisemisi normal olduğu halde OGTT’de ikinci saat değeri 140 mg/dl’nin üstüne çıkmaktadır. Bu dönemde de hiperinsülinemi devam etmekle birlikte periferik direnci aşamamaktadır. Koroner arter hastalığı için risk faktörleri olan hipertansiyon, hipertrigliseridemi, HDL–kolesterol düşüklüğü sık görülür ve bu nedenle makrovasküler komplikasyonlar gelişebilmektedir. Preklinik ve bozulmuş glikoz toleransı evrelerinin ikisine birden “kompanse periferik insülin direnci” dönemi denir. Kompense dönemde insülin direncine sahip olan non-genetik faktörler azaltılabilirse aşikar (klinik) diyabet ortaya çıkışı da geciktirilebilir. Kompense dönemden aşikar diyabete geçişin ortalama 10-20 yıl olduğu düşünülmektedir.

**c) Aşikar diyabet:** Bu döneme geçişte üç önemli mekanizma işler. İlki ve en önemlisi beta hücre sayı ve salgı fonksiyonunda azalmadır. Bu durum genetik olarak belirlense de, hiperglisemi ve artmış yağ asitlerinin toksik etkisi de beta hücre fonksiyonlarını bozabilmektedir. İkinci mekanizma karaciğer glikoz üretiminin artmasıdır ki bu bozulmuş glikoz toleransı döneminde genellikle normaldir. Üçüncü mekanizma ise periferik insülin direncinin giderek artmasıdır (120-123).

### 2.9.3. Gebelik Diyabeti (Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM))

İlk kez gebelik esnasında tespit edilen diyabete gestasyonel diabetes mellitus (GDM) denir. Gebeliklerin %2-5’inde ise GDM’a rastlanır (124). Gestasyonel diyabetli kadınların büyük çoğunluğunda glikoz intoleransı doğum sonrasında normale dönmektedir. Ancak, ileri dönemlerde tip 2 diabetes mellitus ortaya çıkma riski oldukça fazladır. Bu riskinin normal glikoz toleransı olan kadınlara göre 6 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (125).

Gestasyonel diyabetes mellituslu gebeler, maternal ve fetal komplikasyonlar açısından yüksek riskli gebelikler grubuna girmektedir (126). İntrauterin ve yenidoğan ölümü, makrozomi, polihidramniyoz, doğum travmaları, respiratuar distress sendromu, neonatal hipoglisemi, hiperbilürubinemi, hipokalsemi ve polisitemi gelişme olasılığı GDM’lu gebeliklerde artmaktadır (126, 127).

Diyabet ile komplike olmuş gebelikler hem anne hem de fetus açısından dikkatli takip gerektiren riskli gebeliklerdir. Yeterli glisemik kontrol sağlanamadığında bebekte konjenital malformasyondan intrauterin ölüme, annede hipoglisemiden diyabetik ketoasidoz, retinopati, nöropati ve nefropatiye kadar farklı nedenlerle morbidite ve mortaliteye neden olabilen metabolik bir bozukluktur (128).

Normal gebelik, özellikle geç ikinci trimester ve üçüncü trimesterlerde, geçici insülin direnci artışının görüldüğü bir durumdur (129, 130). Yapılan birçok çalışmada, gebelerin büyük çoğunluğunun, gebelikleri süresince artmış insülin direncine rağmen normoglisemik durumlarını muhafaza ettikleri, bu durumun da insülin salgılanmasındaki bir artış nedeniyle olduğu gösterilmiştir (131). İnsülin salgısında, özellikle de ilk faz insülin salınımında yeterince artış olmayan gebelerde ise gestasyonel diyabet gelişmektedir (129).

#### **2.9.4. Diyabetik Plasenta**

Diyabetik annelere ait term plasentalar normalden daha büyük ve buna bağlı olarak daha ağırdırlar. Maternal diyabet ile ilişkili olarak artan ağırlık daha yüksek DNA içeriğinin bir yansıması olan hiperplazi nedeniyle olabilir (18). Bununla birlikte, diyabetik plasentalar maternal hiperglisemi ve fetal hipervolemiye bağlı olarak normalden daha büyük, kalın ve pletoriktir (3).

Diyabetik gebeliklerin plasentalarında en sık gözlenen anomali, plasental villusların tam olarak olgunlaşmamasıdır (3, 132). Sağlıklı gebeliklerde erken dönem plasentalarda gözlenen plasental villuslardaki sitotroblast hücrelerinin çok sayıda olması, dikkate değer bir proliferatif aktiviteyi işaret eder. Epidermal büyüme faktörü sitotroblastların sinsisyotroblastta farklanmasını uyarır. T1DM hastalarının plasentalarında epidermal büyüme faktörü reseptöründe transkript ve protein düzeyinde azalmanın gözlenmesi sitotroblastların farklanmaktan ziyade çoğalmasına neden olabilir. Dolayısıyla plasental villuslarda sitotroblastlardan zengin daha büyük plasentalar gözlenir (18). Plasental villuslarda sitotroblastların proliferasyonunda artışın yanı sıra, villöz stromal hücrelerde, villöz kapiller sayısında ve villus çaplarında da artış olmaktadır (3).

Trofoblastik bazal membranın kalınlaşması gözlenebilir. Bu kalınlaşma, enzimatik olmayan glikasyon veya kollajen artışına bağlı olabilir (%30 oranında 4-hidroksi propilen artışı) (18). Kollajen tip IV diyabetik plasentalarda daha yoğundur (3,18).

Diyabetik plasentaların karakteristik özelliklerinden biri de transport yüzey alanlarının genişlemesidir. Bu genişleme, yetersiz maternofetal transportu telafi etmek için olabilir (18). Diyabetik plasentalarda villöz yüzey alanı %30-50 oranında artmıştır. Üstelik villöz kapillerlerin uzunlukları %30 oranında, yüzey alanları %40 oranında artmıştır. Bu mekanizma, materno fetal taşınımı kısıtlanmış olan difüzyon sınırlı substratların (örn:oksijen) telafi edilmesine yönelik olabilir. Trofoblast bazal membran kalınlaşmasının ve yoğun fetal metabolizmanın bir sonucu olan fetal hipoksi, FGF-2, VEGF, PGF-1 gibi anjiyogenik faktörlerin sentezini uyarıyor

olabilir. Dolayısıyla artan hipervaskularizasyon ve yüzey değişim alanları plasentadan oksijen geçişini kolaylaştırır (133).

Villöz stroma ödemli bir yapı gösterebilir. Ödemin Hofbauer hücrelerindeki artıştan dolayı olduğu düşünülmektedir (3). Hofbauer hücrelerinin hipoglisemik bir ajan olan IL-1 salgılaya yeteneği, fetüs için normoglisemik bir ortam hazırlamaya katkıda bulunabilir (133).

Sağlıklı gebeliklere oranla diyabette uteroplental kan akımında %35-45 oranında azalma vardır. Uteroplental dolaşımında görülen bu değişim diyabette çeşitli faktörler nedeniyle ortaya çıkabilir. Bu faktörler:

1. Trofoblastların yetersiz invazyonu nedeniyle spiral arterlerin yeterince açılmaması,
2. Fibrinoid nekroz ve köpük hücre depozisyonu (akut ateros) nedeniyle plasental yatak lümeni arteriollerinde daralma,
3. Parankimal dokuda artışla beraber plasental villi de genişleme; dolayısıyla intervillöz yüzey hacminde daralma,
4. Trofoblast östrodiol üretiminde hiperglisemi indüklü azalma olarak sınıflandırılabilir (133).

Bununla birlikte umblikal ven endotel hücrelerindeki prostaglandinlerden PGI<sub>2</sub> ve PGE<sub>2</sub> ekspresyonunun diyabetik plasentalarda normale göre azaldığı görülmüştür. Bozulan plasental perfüzyonun, değişen umblikal endotel yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir (3).

Diyabetik gebeliklerde, sinsisyotrofoblastik membran sürekli olarak diyabetik bir çevreye maruz kalmaktadır. Dolayısıyla fetomaternal hormon ve besin düzeylerinde değişiklikler ortaya çıkmaktadır (3,18). Böyle bir çevrede meydana gelebilecek değişiklikler şöyle sıralanabilir:

1. Membran lipid kompozisyonu değişir. Dolayısıyla çeşitli membran proteinlerinin entegre olduğu mikroçevrede dinamik değişiklikler meydana gelir. Membran reseptörlerinin, taşıyıcıların ve enzimlerin intrinsik aktiviteleri bu değişikliklerden etkilenir.
2. Sinsiyotrofoblastın mikrovillus ve bazal membranları arasında substrat bağlanmasına olanak veren proteinlerin dağılımı değişebilir (18).

Diyabetik plasentada kalsifiye alanların artışı sıklıkla gözlenir. Villöz fibrinoid nekrozu diyabetik plasentalarda daha da artmaktadır (3). Umblikal kord, daha fazla Wharton jeli içerdiği için genellikle daha kalındır (35). Trigliserid, fosfolipid ve kolesterol içeriği, diyabetik plasentalarda daha fazladır. Diyabetik plasentalarda glikojen depolanması artmaktadır. Ancak diyabet, diğer tüm organlarda glikojen içeriğini azaltmaktadır (3).

Diyabette nefropati görülüyorsa, fetal büyüme geriliği, plasentada infarktüs, desiduanın normalden kalın olması ve plasenta ağırlığında ve büyüklüğünde azalma görülmektedir (35).

### **2.9.5. Streptozotosin (STZ) İndüklü Diyabetik Ratlarda Gebelikte Diyabet**

#### **Karakteristikleri**

STZ indüklü diyabet intravenöz yada intraperitoneal enjeksiyon sonucu gerçekleşir. STZ dozuna ve enjeksiyon süresine göre diyabetin maternal, fetal ve plasental histopatolojisinde farklılıklar gözlenmektedir. Gebeliğin 5. ve 14. günleri arasındaki STZ enjeksiyonu düşük oranda fetal malformasyona neden olmaktadır. Dolayısıyla maternal diyabetin plasenta ve fetus üzerindeki etkilerini izlemeye olanak sağlamaktadır. Enjekte edilen STZ fetal pankreası etkilememektedir. STZ plasentaya geçer ancak yarılanma ömrü çok kısadır, dolayısıyla fetal dolaşıma katılamaz (134).

Diyabette görülen hiperglisemi kemirgen plasentalarında glikojen artışına neden olan bir faktördür. Maternal insülin yetersizliğine rağmen plasental glikojen akümüülasyonu mevcuttur (134).

30mg/kg yada 50mg/kg dozlarda STZ enjeksiyonu ile orta şiddete yada şiddetli maternal diyabet yaratılmaktadır. Orta şiddette diyabetik anneler hipoinsülinemik ve hiperglisemiktir. Şiddetli maternal diyabette ise insülin eksikliği gözlenir, belirgin olarak hiperglisemik ve hiperlipidemiktirler ve vücut ağırlıkları düşüktür. Şiddetli diyabet görülen annelerin yenidoğanları mikrozomik, orta şiddette diyabetik annelerin yenidoğanları makrozomiktir (134).

Diyabetik sıçan plasentasının karakteristik özelliklerinden biri; desidua bazalis, bağlantı zonu ve labirint zonda glikojen içeren hücrelerin oldukça fazla olmasıdır. Bununla birlikte bağlantı zonu oldukça kalındır (135, 136).

Diyabetik sıçanlarda ekstraselüler matriks bileşenlerinde değişiklikler gözlenmiştir. Normal sıçan plasentalarında fibronektin sadece term plasentalarda tespit edilirken, diyabetik plasentalarda 14- 20 günler arası tüm plasentalarda labirint zonda gözlenmiştir (137).

Diyabetik sıçanlarda gebeliğin 9. gününde Ekto Plasental Kon (EPK)'un hacmi ve mitotik indeksinde azalma olduğu tespit edilmiştir (138). Diyabetik sıçan plasentası başlangıçta küçük iken 18. günden itibaren glikojenik hücre sayısı artmakta, kistler çok sayıda vakuoller, veziküller oluşmakta, trofoblast ve fetal endotelde glikojen depolanmaları artmaktadır (11, 139).

### **2.10. İntrauterin Büyüme Geriliği (IUGR)**

IUGR perinatal mortalite ve morbidite ile ilişkilidir. SGA (gebelik yaşına göre küçük olma) terimi büyüme geriliği ile doğan bebekler için kullanılan bir tanımlamadır. Doğum ağırlığında gebelik yaşına göre %10 oranında gerileme olması SGA olarak kabul edilir. Ancak SGA ve IUGR terimleri tam olarak birbirinin yerini tutmamaktadır. IUGR, sadece fetüsler için kullanılırken SGA yenidoğanlar için de kullanılmaktadır. IUGR önemli bir klinik problemdir. Genel popülasyon içinde prevalansı %8'dir. Ölü doğumların %52'si, açıklanamayan fetal ölümlerin %72'si, perinatal mortalitenin %10'u IUGR ile ilişkilidir (140).

IUGR, anatomik ve/veya fonksiyonel aksaklıklar ile fetal-plasental-maternal birimlerde bozukluklar görülmesi nedeniyle fetüsün normal büyüme potansiyeline ulaşmamasıdır. IUGR simetrik ve asimetric olarak karakterize edilir. Simetrik IUGR gebeliğin erken dönemlerinde başlayan süreçlerden kaynaklanırken asimetric IUGR gebeliğin ilerlemesiyle uteroplasental fonksiyonda aksaklıklar yada besin eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla asimetric IUGR, fetüsün intrauterin çevrede meydana gelen değişikliklere uyum sağlamaya çalışmasının bir sonucudur ve uzun süreli etkileri gözlenir. IUGR gözlenen fetüsler ileride metabolik sendrom, hipertansiyon, koroner kalp yetmezliği, dislipidemi, obezite, zayıflayan glikoz toleransı, Tip 2 diabetes mellitus ve osteoporoz gibi pek çok hastalığa yatkın hale gelmektedir (141).

Kortikosteroid hormonlar, fetus ve plasenta gelişimi için gerekli süreçleri düzenlerler. Glukokortikoidler, maternal immun yanıtı, implantasyonu, trofoblast büyümesini, invazyonu, fetus ve plasenta gelişimini etkilemektedir. Uterus içinde endometriyum, plasenta ve embriyo/fetus maternal yada fetal kaynaklı fizyolojik glukokortikoide; kortizole, maruz kalırlar. Fetus ve plasentanın uterus içi aktif glukokortikoidlerin artan konsantrasyonlarına maruz kalmalarında üç mekanizma vardır:

- I) Anneye sentetik glukokortikoidlerin uygulanması (erken-doğum riski olan gebeliklerde genel bir uygulama)
- II) Maternal kortizol konsantrasyonlarının artışı (maternal stres esnasında ortaya çıkar)
- III) Desidua, plasenta ya da fetüste kortizol metabolizmasında bozulma

Gebeliğin ortalarından sonlarına doğru fetüsün artan glukokortikoid seviyelerine maruz kalmasının olumsuz etkilere yol açacağına dair veriler giderek artmaktadır. Bu etkiler; IUGR, erken doğum riski, post-natal hipertansiyon, hipotalamus- hipofiz-adrenal aksta post-natal aktivite artışıdır (14).

IUGR görülen gebeliklerde plasenta ağırlıklarında belirgin bir azalma gözlenmektedir. Göbek kordonu normal plasentalarda genellikle merkezi olarak yer almaktadır ancak IUGR görülen plasentalarda sıklıkla ekzentrik ve membranöz duruşlu oldukları gözlenmiştir (142).

IUGR görülen plasentalarda, plasental immaturite, fetoplasental vaskülopati, villöz hiper maturite ve terminal villus eksikliği gibi çeşitli patolojiler görülmektedir. Bu patolojilerin yetersiz trofoblast invazyonu, dolayısıyla uteroplasental arterlerin yetersiz dilatasyonu nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (3, 143, 144). Bununla birlikte villöz trofoblastlarda incelleme, sitotrofoblastlarda sayısal olarak azalma, apoptotik trofoblastlarda, stromal kollajen tip I, tip IV ve lamininde artış ve villöz dallanmada azalma nedeniyle intervillöz aralıkta artış görülmektedir (145). Ayrıca villuslarda materno-fetal değişim yüzeylerinde azalma olduğu bildirilmiştir (146, 147).



## GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Denekler

Bu araştırmada Akdeniz Üniversitesi ‘Deney Hayvanları Ünitesi’nde yetiştirilen 6-8 haftalık, daha önce hiç deneye girmemiş ve ortalama ağırlıkları 250-300 gr olan *Rattus norvegicus* (Wistar) ırkı 90 dişi ve 4 adet erkek ergin sıçan kullanıldı. Erkek sıçanlar deney sonrasında deney hayvanları ünitesine geri iade edildi. Tüm sıçanlar standart laboratuvar koşullarında standart diyet ve musluk suyu ile beslendi. Sıçanlar iki dişiye bir erkek olacak şekilde kafeste bir gece bırakıldıktan sonra ertesi sabah sıçanlara vajinal simir yapıldı. Mikroskopta bakılan simir preparasyonları ile sperm taşıyan sıçanlar belirlendi ve bu hayvanların gebeliğın birinci gününde oldukları kabul edildi. Deney modeli her grupta 6 hayvan olmak üzere kontrol, diyabet ve IUGR gruplarında plasental gelişimin gerçekteşiği gebeliğın 12, 14, 16, 18 ve 20. günlerinden oluşmaktaydı. Gebe dişiler gebeliklerinin 12, 14, 16, 18 ve 20. günlerinde eter anestezisi altında sakrifiye edildiler.

### 3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması

Diyabet grubunu oluşturacak olan gebe dişiler diyabet oluşturabilmek için sakrifiye edilecekleri tarihten 7 gün önce intraperitoneal olarak tek doz 40 mg/kg STZ (Streptozotocin (N-Methyl nitrosocarbamoyl-D-glucosaminel) Sigma, Katalog No: S-0130) enjeksiyonuna maruz bırakıldılar. 48 saat sonra kan şekerleri ölçüldü. Kan şekeri değeri 200mg/dl’nin üzerinde tespit edilen dişiler diyabetik kabul edilerek deneye dahil edildiler. Kontrol gruplarına aynı miktarda serum fizyolojik enjekte edildi.

### 3.3. IUGR Modelinin Oluşturulması

Sıçanlarda deksametazonla IUGR oluşturulması için literatürde bildirilen şekil ve miktarda (148-150) deksametazon uygulandı. Gebeliğın 10. ve 12. günlerinde deksametazon (Dexamethasone acetate Sigma, Katalog No: D1881) enjeksiyonuna başlandı. 10. günde enjeksiyona başlanan grup 12. günde sakrifiye edildi. Enjeksiyona 12. günde başlanan gruplar 14, 16, 18, ve 20. günlerde sakrifiye edildiler. Enjeksiyonun yapıldığı ilk gün deney grubundan her hayvana 0,1ml’ lik %10luk etanol içinde çözülen deksametazon asetat, kilogram başına 100 mikrogram olacak şekilde boyun bölgesinden subkutan olarak enjekte edildi. Sonra ki günlerde bu hayvanlara 200mikrogram/kg olacak şekilde deksametazon verilmeye devam edildi. Kontrol gruplarına aynı miktarlarda serum fizyolojik enjekte edildi.

### 3.4. Doku Temini ve Hazırlanması

#### 3.4.1. Doku Temini

Gebeliklerinin 12, 14, 16, 18 ve 20. günlerindeki kontrol ve diyabetik sıçanlar eter anestezisi altında bayılılıp diseke edildikten sonra, 12. gündeki plasenta, uterus

ve embriyolar birlikte alınıp değerlendirildi. Diğer günlerdeki embriyo ve plasentalar ayrı ayrı alındı. 12. günde makroskopik olarak plasenta-uterus ayrımı yapılamadığından plasenta+uterus+embriyo ağırlıkları birlikte, diğer günlerde ise embriyo ve plasenta ağırlıkları ayrı ayrı ölçüldü. Alınan plasenta örneklerinin bir kısmı immünohistokimyasal tekniklerde kullanılmak üzere Holland fiksatifinde (1000 ml distile suda % 40'lık 100 ml formalin + 5 ml glasiyel asetik asit + 40 gr pikrik asit + 2,5 gr bakır asetat) 4 saat tespit edildi. Bir kısmı ise Western Blot çalışmalarında kullanılmak üzere sıvı nitrojene alındı ve muhafaza edildi.

#### **3.4.2. İmmünohistokimya tekniği için doku hazırlanması**

Fikse edilen dokular, 2-3 saat musluk suyunda yıkandı ve ardından sıra ile %70, %80, %90'lık alkol serilerinde 24'er saat ve %100'lük alkolde 3 saat tutularak dehidrasyon işleminden geçirildi. Ksilol içinde 3 defa 3'er dakika bekletilerek şeffaflaştırıldı. 58°C'ye ayarlı etüvde, dokular 3 defa 1'er saatlik parafin banyosunda tutuldu. 3. saatin sonunda içerisinde dokular bulunan temiz parafin etüvden çıkarılarak oda ısısında donması sağlandı. Daha sonra, hazırlanan parafin bloklardan alınan 5 mikrometre kalınlığındaki kesitlere rutin ışık mikroskopik ve immünohistokimyasal teknikler uygulandı.

#### **3.4.3. Western Blot tekniği için doku hazırlanması**

##### **3.4.3.1. Lizat hazırlama**

Doku temini esnasında kriyotüpler içine alınan ve sıvı nitrojende (-196°C) muhafaza edilen plasentalardan aşağıda anlatılan şekilde lizatlar hazırlandı. Plasenta örnekleri, içerisinde sıvı nitrojen bulunan havanda dövülerek dokuların tamamen parçalanması sağlandı. Toz haline gelen plasentalar eppendorf tüplerine alınarak ağırlıkları tartıldı. 0,2 gr doku başına 600 mikrolitre lizis buffer [10ml 0,1M Tris (pH 7.4), 90ml distile su, 1ml 100X Na-orthovanadate ve 1gr SDS] ve 10 mikrolitre proteaz inhibitör kokteyli (Protease inhibitor cocktail tablet, Roche, Katalog No: 1 697 498) olacak şekilde hesaplama yapılarak eppendorflara lizis buffer ve proteaz inhibitör kokteyli konuldu. Eppendorfların içindeki dokular vortekslendi ve 15.000 rpm'de 15 dakika +4°C'de santrifüj edildi. Süpernatantlar alınıp pelet kısmı atılarak lizatlar hazırlandı. Hazırlanan lizatlar -20°C de muhafaza edildi.

##### **3.4.3.2. Protein miktarının belirlenmesi**

Lizatların içerdiği protein miktarının belirlenmesi için Lowry yöntemi (151) kullanıldı. Bu yöntemde standart olarak protein içeriği 1mg/ml olan BSA (Bovine serum albumin Fraction V, Sigma Katalog No: A 9647) kullanıldı. BSA'nın (1000µg/ml), 1:1 (500µg/ml protein), 1:2 (250µg/ml), 1:3 (125µg/ml), 1:5 (62,5µg/ml) dilüsyonları yapılarak standart protein aralığı hazırlandı. Lizatlar, 1:30 ve 1:60 dilüsyonlar halinde çalışıldı. Hazırlanan standart ve lizat dilüsyonlarından 20 mikrolitre alınarak lowry tüplerine pipetlendi. Kör olarak distile su kullanıldı. Bu işlem her örnek için 2 kez tekrarlandı. Tüm lowry tüplerine 600 mikrolitre lowry solüsyonu konuldu. Lowry solüsyonu 100:1:1 oranında LowryA: LowryB: Lowry C solüsyonlarının karıştırılmasıyla hazırlandı (Lowry A: 2gr NaOH + 10.6gr Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 500ml distile su, Lowry B:1gr KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 100ml distile su, Lowry C: 1gr CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, 100 ml distile su). İlk önce Lowry B ve C solüsyonları karıştırılıp ardından Lowry A solüsyonu ilave edildi. Lowry solüsyonu ile 10 dakika

inkübasyonun ardından tüm tüplere 60 mikrolitre folin pipetlendi. Folin solüsyonu 1:1 oranında distile su ile dilüe edilerek kullanıldı. Folin eklenmiş olan tüpler 30 dakika karanlıkta inkübe edildi. Ardından tüm tüplerden 200 mikrolitre örnek 96 kuyucuklu plate'lere pipetlendi ve spektrofotometrede (BioTek, MQX200) 750nm dalga boyunda okunması sağlandı. Standartlar ile karşılaştırılarak her bir numunenin protein miktarı tespit edildi. Tüm numunelerin protein miktarlarının eşit olması sağlanarak western blot analizlerinde kullanıma hazır hale getirildi.

### **3.5. Rutin Işık Mikroskopik Gözlemler**

Her üç gruba ait plasenta örneklerinden 5 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-Eozin boyaması yapılarak ışık mikroskobu (Axioplan Zeiss, Almanya) ile incelendi.

### **3.6. İmmünohistokimyasal Protokol**

Polylizin ile kaplı lamlara alınan 5 mikrometre kalınlığındaki parafin kesitler 1 gece boyunca 56°C'de etüvde tutuldu. Deparafinizasyon için parafin kesitler 2 defa 10'ar dakika ksilolden geçirildi. Daha sonra derecesi giderek azalan alkol serilerinin her birinde 5'er dakika (%100, %90, %80, %70) bekletildi. Distile su ile 5 dakika muamele edildi. Dokudaki antijenik maskelenmenin ortadan kaldırılması için kesitler, 200 ml sitrat tamponu (pH:6.0; 1000 ml distile suda 3,57 gr sodyum sitrat (10mM)) içine alındı ve mikrodalga fırında (750 watt) üç defa 7'şer dakika tutuldu. Bu işlemden sonra sodyum sitrat solüsyonu içerisinde 30 dakika boyunca oda ısısında bekletildi. Dokuların çevresi hidrofobik kalemle çizildikten sonra 3 defa 5'er dakika Tween eklenmiş Tris tamponlu tuz çözeltisinden (TBS-T; pH: 7.4) geçirildi. Bir sonraki basamakta dokulardaki alkalin fosfataz aktivitesini ortadan kaldırmak için kesitler 30 dakika boyunca levamisol solüsyonu ile muamele edildi. Kesitler 3 defa 5'er dakika TBS-T'te yıkandıktan sonra dokulardaki özgül olmayan antikor bağlanmasını önlemek amacıyla oda sıcaklığında sekonder antikorun elde edildiği hayvan türünün serumundan oluşan bloklama solüsyonu (Ultra UV Block, LabVision Corporation TA-125UB) ile 10 dakika muamele edildi. Hemen sonrasında, serum kesitler üzerinden uzaklaştırıldı ve dokular tavşan monoklonal Akt (pan) 1:300 (4685- 11E7- Cell Signaling Technology, Inc.3 Trask Lane Danvers, MA 01923), fare monoklonal fosfo-Akt Ser473 1:100 (4051-587F11, Cell Signaling Technology, Inc.3 Trask Lane Danvers, MA 01923), tavşan monoklonal p44/42 MAP Kinaz (ERK1/2) 1:500 (4695-137F5- Cell Signaling Technology, Inc.3 Trask Lane Danvers, MA 01923), fare monoklonal fosfo ERK1/2 1:100 (E-4, sc7383, Santa Cruz Biotechnology ,Inc. 2145 Delaware Avenue Santa Cruz, CA. 95060 U.S.A. ) primer antikorlarıyla +4°C'de gece boyu inkübe edildi. Kontrol kesitlerine uygun serum ya da izotip IgG uygulandı. Kesitler primer antikorlar ile inkübasyondan sonra, 3 defa 5'er dakika TBS-T ile yıkandı. Daha sonra kesitler, biyotinle işaretlenmiş keçi anti-fare ve anti-tavşan sekonder antikor (DAKO, LSAB-2 system AP code no:K0610) ile 25 dakika ve streptavidin-alkalin fosfataz kompleksi (DAKO, LSAB-2 system AP code no:K0610) ile 25 dakika inkübe edildi. Her iki uygulama sonrasında da TBS-T ile 3 defa 5'er dakika yıkama yapıldı. Sekonder antikor ile birleştirilmiş alkalin fosfataz enzimi için substrat olan Fast Red kromojeni ile dokular 5-20 dakika muamele edildi. Enzim substrat etkileşimi sonucunda oluşan ürün renk olarak mikroskopta gözlendi. Daha sonra kesitler distile suya alındı, hematoksilen ile 5-6 saniye zıt boyama yapıldı ve akar musluk suyunda yıkandı. Kaiser's glycerol gelatine

(MERCK, OB 514196, Darmstadt, Germany) kapatma solüsyonu ile kapatılan kesitler Axioplan mikroskopunda (Zeiss, Almanya) incelendi ve fotoğraflandırdı.

### **3.7. SDS-PAGE Western Blot protokol**

İçerdikleri protein miktarları tespit edilen ve protein miktarları distile su, numune ve laemmlı buffer (Sample Buffer 2X, Laemmlı electrophoresis Reagent, Sigma, Katalog No: S-3401 ) oranları ile eşitlenen numuneler 5 dakika 95 derecede kaynatıldı. Çalışılacak olan proteinin kilo dalton ağırlığı dikkate alınarak uygun yüzdelerde jeller hazırlandı. ERK ve fosfo-ERK için %15lik , Akt ve fosfo-Akt için % 12.5'luk poliakrilamit jel hazırlandı. Her kuyucuğa 30mikrogram/ml oranında protein içeren numuneler yüklendi. Elektroforezde numuneler ilk önce 100V 30mA'de 15 dakika, sonrasında ise 80V 30mA'de jelin sonuna kadar yürütüldü. Elektroforezden sonra ise jeldeki proteinlerin membrana geçmesi için immunoblotting yapıldı. Blotlama işlemi 30V 90mA'de gece boyu +4°C'de gerçekleşti. Proteinlerin nitrosellüloz membrana (Hybond ECL Blotting Membran, Nitrocellulose, Amersham Katalog No : RPN 203D) transferinden sonra, Ponceau S (Ponceau S Solution, Sigma Katalog No:P-7170) boyaması yapılarak proteinlerin membrana transfer olup olmadığı kontrol edildi. Ponceau membrandan uzaklaşınca kadar pH'sı 7.4 olan, % 0.1 Tween-20 ilaveli Tris Buffer Solüsyonu (TBS-T ) ile yıkama yapıldı. Ardından membran 1 saat süre ile oda ısında TBS-T ile hazırlanan % 5'lik yağsız süt tozu ile bloklandı. Membran, Akt 1:1000, pAkt 1:1000, ERK1/2 1:500, pERK1/2 1:250 oranında dilüe edilmiş antikorlar ile +4°C'de gece boyu karıştırıcı üzerinde inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında TBS-T ile 3 kez 10 dakika yıkandı. Membran, sekonder antikorla oda sıcaklığında karıştırıcı üzerinde 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında TBS-T ile 3 kez 10 dakika yıkandı. Ardından SuperSignal Chemiluminisans (SuperSignal® WestPicoChemiluminescent Substrate, Pierce, Katalog No: 34080T) ile 5 dakika karanlıkta inkübe edilip karanlık odada membrandaki protein bantları hiperfilme aktarıldı. Film developer (Developer, ILFORD Multigrade, Katalog No:757855) ve fiksatiften (Rapid Fixer, ILFORD Hypam, Katalog No:1758285) geçirildi, distile su ile yıkandı ve ardından kurutuldu.

### **3.8. İstatistiksel Analiz**

#### **3.8.1. Plasenta-Embriyo Ağırlıkları**

Kontrol ve deney gruplarına ait plasenta ve embriyo ağırlıkları hassas terazi ile ölçüldükten sonra gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığını belirlemek için SigmaStat 3.5 programı kullanılarak Student t-test ve One Way ANOVA testleri uygulandı ve  $p < 0.05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### **3.8.2. Western Blot Analizleri**

Kontrol ve deney gruplarına ait bantların yoğunlukları DigiDog 1000 programında ölçüldü. Elde edilen verilere SigmaStat 3.5 programı kullanılarak Student t-test ve One Way ANOVA testleri uygulandı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı belirlendi.  $p < 0,05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### **3.8.3. Semikantitatif Değerlendirme**

Tüm deney gruplarında hücrelerin immüno boyanma yoğunlukları semikantitatif olarak [(-): Negatif, (+/-): Zayıf pozitif, (+): Pozitif, (++): Kuvvetli pozitif, (+++): Çok kuvvetli pozitif] şeklinde değerlendirildi.

## BULGULAR

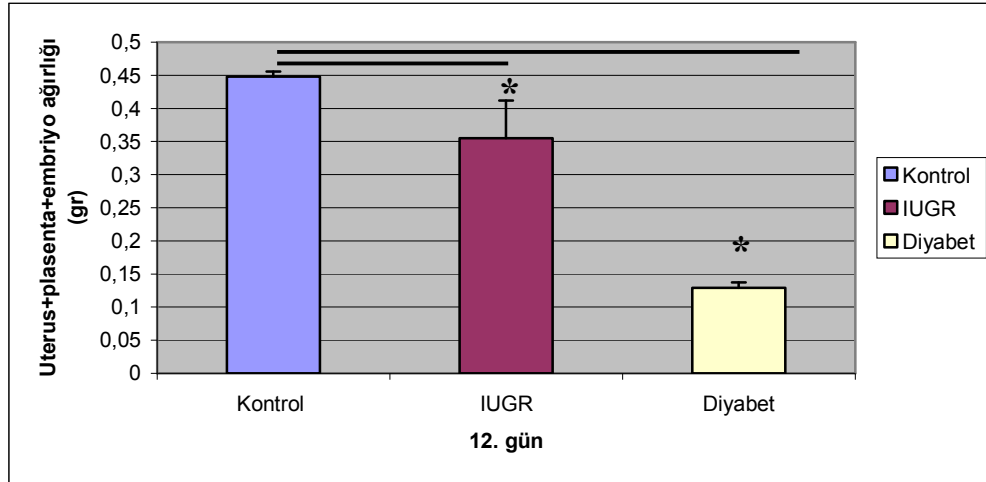
### 4.1. Plasenta Ağırlıkları

Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait plasentaların ağırlıkları ölçüldü ve gerekli değerlendirmeler yapıldı. Gebeliğin 12. gününde plasenta-uterus ayırımı mümkün olmadığı için, bu güne ait örnekler uterus+plasenta+embriyo olarak değerlendirildi.

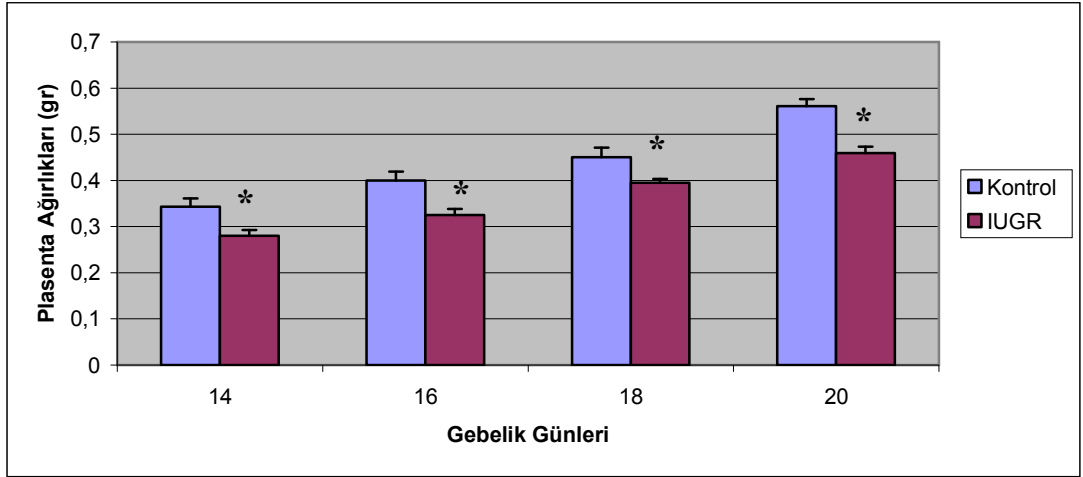
Ölçümlerin sonucunda Deksmetazon enjeksiyonu ile oluşturulan IUGR gruplarına ait plasentaların, gebeliğin tüm günlerinde kontrol gruplarına kıyasla daha küçük olduğu belirlendi. Gebeliğin 12. gününde uterus+plasenta+embriyo olarak değerlendirilen örneklerde hem IUGR ( $p \leq 0,001$ ) hem de diyabet ( $p \leq 0,001$ ) grubunda kontrole kıyasla anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1.1., Tablo 4.1.1.). IUGR gruplarına ait plasentalarda gözlenen ağırlık azalışları tüm günlerde istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.1.2., Tablo 4.1.2.).

**Tablo 4.1.1.** 12. gün uterus+plasenta+ embriyo ağırlıkları (ortama  $\pm$  standart sapma, p değerleri, n değerleri)

Uterus+ Plasenta+ Embriyo ağırlığı (gr)	Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri, n değeri
<b>Kontrol</b>	0,448 $\pm$ 0,00767 (n=32)
<b>IUGR</b>	0,355 $\pm$ 0,0569 ( $p \leq 0,001$ )* (n=30)
<b>Diyabet</b>	0,129 $\pm$ 0,00808 ( $p \leq 0,001$ )* (n=31)

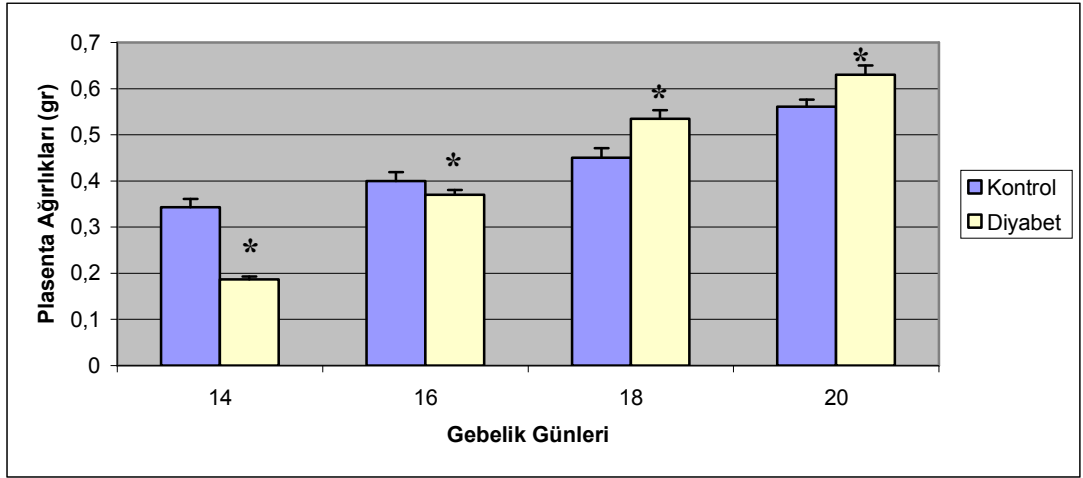


**Şekil 4.1.1.** Gebeliğin 12. gününe ait kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait uterus+plasenta+embriyo ağırlıkları. (\*  $p < 0,05$ )



**Şekil 4.1.2.** Gebeliğin 14-20. günleri arası kontrol ve IUGR gruplarına ait plasenta ağırlıkları (\* p< 0,05)

Diyabet grubuna ait plasentaların gebeliğin 14 ve 16. günlerinde kontrol grubuna kıyasla daha küçük olduğu, bununla birlikte gebeliğin 18. gününden itibaren kontrol grubundan daha büyük olduğu gözlemlendi. Plasental ağırlıklarda gözlenen bu farklar tüm günlerde anlamlı bulundu ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.1.3., Tablo 4.1.2.).



**Şekil 4.1.3.** Gebeliğin 14-20. günleri arası kontrol ve diyabet gruplarına ait plasenta ağırlıkları (\* p< 0,05)

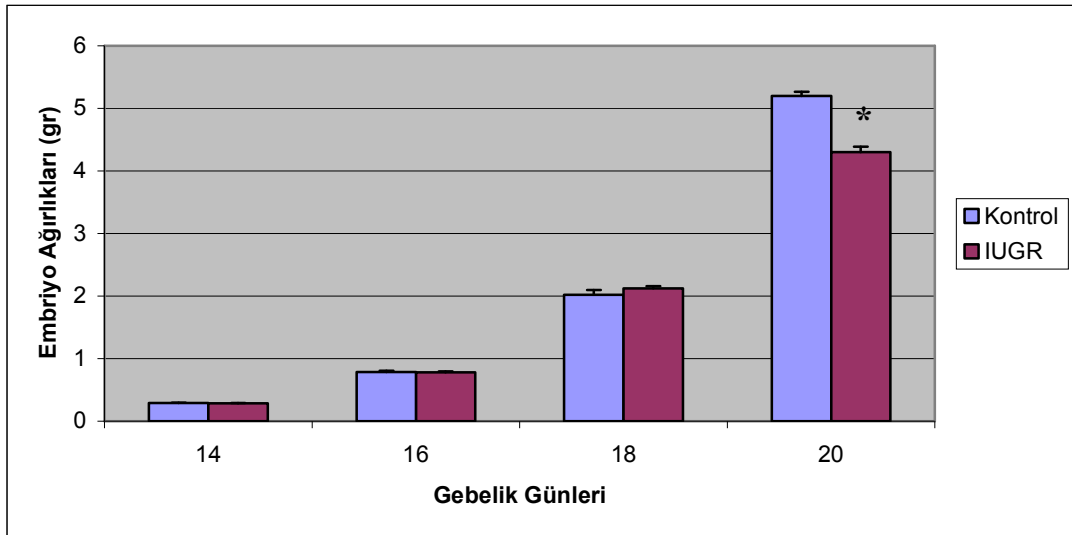
**Tablo 4.1.2.** 14-20. günler arası gruplara ait plasenta ağırlıkları (ortalama ± standart sapma, p değerleri, n değerleri)

Plasenta Ağırlıkları (gr)	Ortalama ± Standart Sapma, p değeri, n değeri		
	Gebelik Günleri	Kontrol Grubu	IUGR Grubu
14	0,343 ± 0,0184 (n= 32)	0,280 ± 0,0125 (p=0,025) * (n=35)	0,187 ± 0,00610 (p≤0,001)* (n=36)
16	0,400 ± 0,0189 (n=30)	0,325 ± 0,0134 (p=0,007)* (n=34)	0,370 ± 0,0104 (p=0,04) * (n=31)
18	0,450 ± 0,0213 (n=31)	0,395 ± 0,00800 (p=0,03) * (n=36)	0,535 ± 0,0186 (p=0,006)* (n=30)
20	0,561 ± 0,0152 (n=40)	0,459 ± 0,0140 (p≤0,001)* (n=41)	0,630 ± 0,0205 (p=0,04) * (n=34)

#### 4.2. Embriyo Ağırlıkları

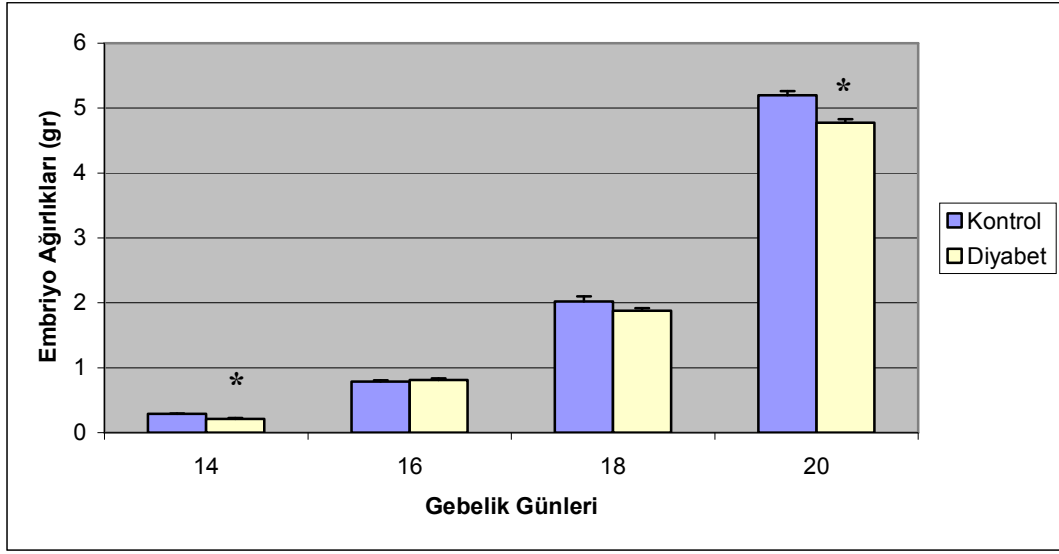
14. günden itibaren embriyoların ağırlıkları değerlendirildiğinde kontrol ve IUGR grupları arasında 14, 16 ve 18. günlerde (sırasıyla p=0,659, p=0,900, p=0,181) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken gebeliğin 20. gününde (p≤0,001) IUGR grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalış olduğu belirlendi (Şekil 4.2.1., Tablo 4.2.1.).

Kontrol ve diyabet gruplarına ait embriyo ağırlıklarının ölçümleri sonucunda 14, 18, ve 20. günlerde diyabet gruplarına ait embriyo ağırlıklarında kontrol gruplarına kıyasla azalış olduğu belirlendi. Bu farklar 14. (p≤0,001) ve 20. (p≤0,001) günlerde istatistiksel olarak anlamlı iken 18. (p=0,158) günde anlamsız bulundu. Gebeliğin 16. (p=0,691) gününde kontrol ve diyabet grupları arasındaki embriyo ağırlıklarında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı (Şekil 4.2.2., Tablo 4.2.1.).



**Şekil 4.2.1.** Gebeliğin 14-20. günleri arası kontrol ve IUGR gruplarına ait embriyo ağırlıkları (\* p< 0,05)





Şekil 4.2.2. Gebeliğin 14-20. günleri arası kontrol ve diyabet gruplarına ait embriyo ağırlıkları (\* p< 0,05)

Tablo 4.2.1. 14-20. günler arası gruplara ait embriyo ağırlıkları (ortalama ± standart sapma, p değerleri, n değerleri)

Embriyo Ağırlıkları(gr)	Ortalama ± Standart Sapma, p değeri, n değeri		
	Gebelik Günleri	Kontrol Grubu	IUGR Grubu
14	0,289 ± 0,00672 (n=32)	0,284 ± 0,00733 (n=35) (p=0,659)	0,213 ± 0,0115 (p≤0,001)* (n=36)
16	0,787 ± 0,0205 (n=30)	0,782 ± 0,0117 (n=34) (p=0,900)	0,811 ± 0,0257 (n=31) (p=0,691)
18	2,020 ± 0,0794 (n=31)	2,124 ± 0,0350 (n=36) (p=0,181)	1,879 ± 0,0413 (n=30) (p=0,158)
20	5,200 ± 0,0634 (n=40)	4,303 ± 0,0854 (n=41) (p≤0,001)*	4,773 ± 0,0582 (n=34) (p≤0,001)*

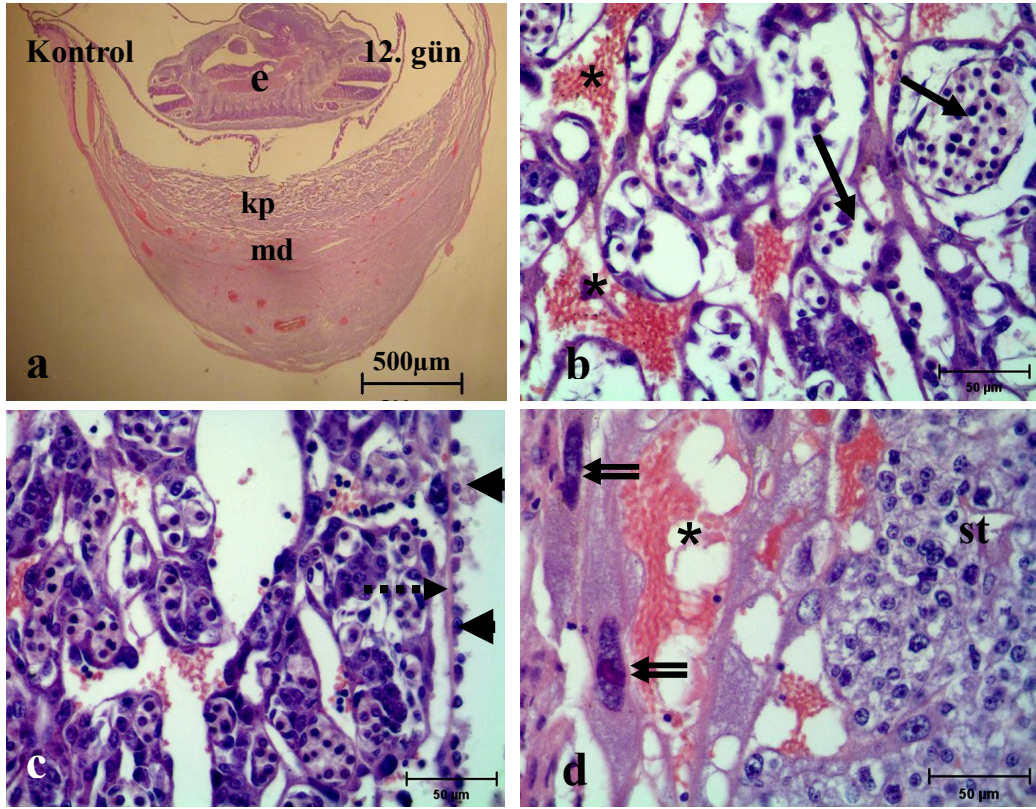
### 4.3. Morfolojik Olarak Plasental Gelişim

Gebeliğin 12, 14, 16, 18 ve 20. günlerinde kontrol, IUGR ve diyabet gruplarından elde edilen plasentaların rutin Hematoksilen-Eozin boyaması yapıldı. Işık mikroskobu altında plasentalar incelendi.

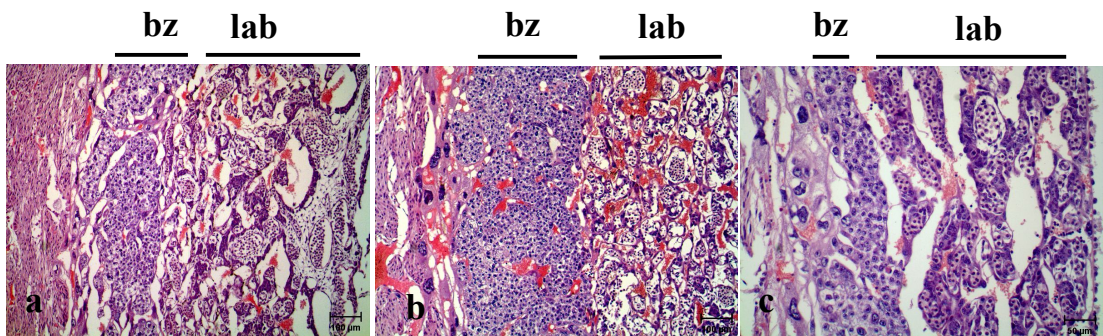
#### 4.3.1. Gelişimin 12. günü

Gebeliğin 12. günündeki kontrol grubu sıçanlarda, koryoallantoik plasentada birbirinden farklı 3 ayrı bölge (Şekil 4.3.1.1.a, Şekil 4.3.1.2.a-c) ayırt edilebiliyordu. Bu bölgeler sırasıyla maternal ve fetal kan damarlarının bir arada bulunduğu labirint tabaka (Şekil 4.3.1.1.b,c), sadece maternal damarların yer aldığı ve spongiotrofoblastlardan oluşan bağlantı zonu (Şekil 4.3.1.1.d) ve maternal desiduyayı fetal dokudan ayıran dev hücrelerin oluşturduğu trofoblast tabakası (Şekil 4.3.1.1.d) idi. Labirint tabakada fetal kan damarları, içerdiği fetal eritroblastlar (Şekil 4.3.1.1.b) ile

rahatlıkla ayırt edilebiliyordu. Labirint tabakanının en dış kısmında Reichert membranı ve bu membranın üzerinde pariyetal endodermal (Şekil 4.3.1.1.c) hücreler bulunmakta idi.

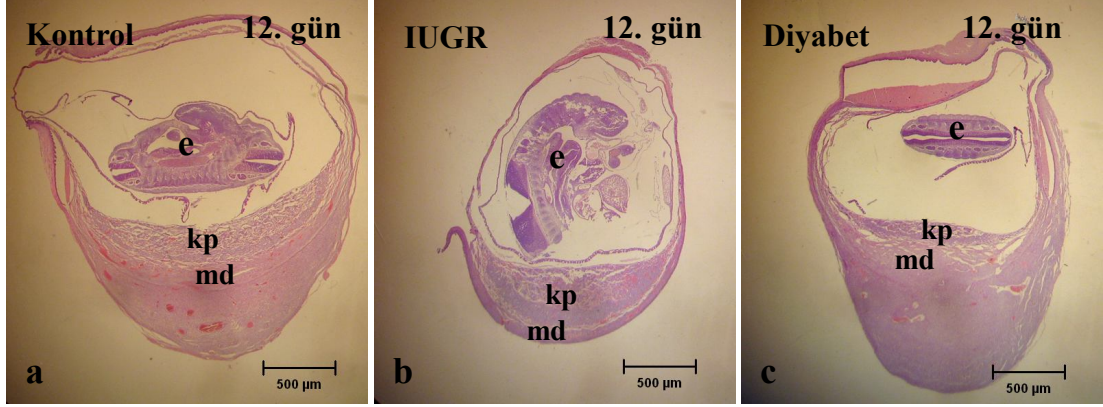


**Şekil 4.3.1.1a-d** 12 günlük kontrol grubuna ait uterus+plasenta+embriyo kesitinin Hematoksilen-Eozin (H-E) boyanmalar **a:** Total görünüm X1,6 **b:** Labirint zondaki fetal eritroblastlar ile ayırt edilen fetal kan damarları (tek oklar) eritrositlerle ayırt edilen maternal kan adacıkları (\*) X40 **c:** Labirint zondaki Reichert membranı (kesikli ok) ve pariyetal endodermal hücreler (ok başları) X40 **d:** Dev hücreler (çift oklar), bağlantı zonundaki spongiotrofoblastlar (st) ve maternal kan (\*) X40. (e: embriyo, kp: koryoallantoik plasenta, md: maternal desidua)



**Şekil 4.3.1.2a-c** 12. gün kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait H-E boyanmaları **a:** Kontrol grubuna ait bağlantı zonu (bz) ve labirint (lab) tabakası X10 **b:** IUGR grubuna ait bağlantı zonu (bz) ve labirint (lab) tabakası X10 **c:** Diyabet grubuna ait bağlantı zonu (bz) ve labirint (lab) tabakası X20

IUGR grubuna ait kesitlerde, plasentanın kontrol grubundan daha küçük olduğu gözlemlendi (Şekil 4.3.1.3b). Diyabetik gruba ait plasentada ise koryoallantoik plasentanın oldukça küçülmüş olduğu tespit edildi (Şekil 4.3.1.3c). Hem labirint hem de bağlantı zonu kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak daha küçük idi (Şekil 4.3.1.2c).

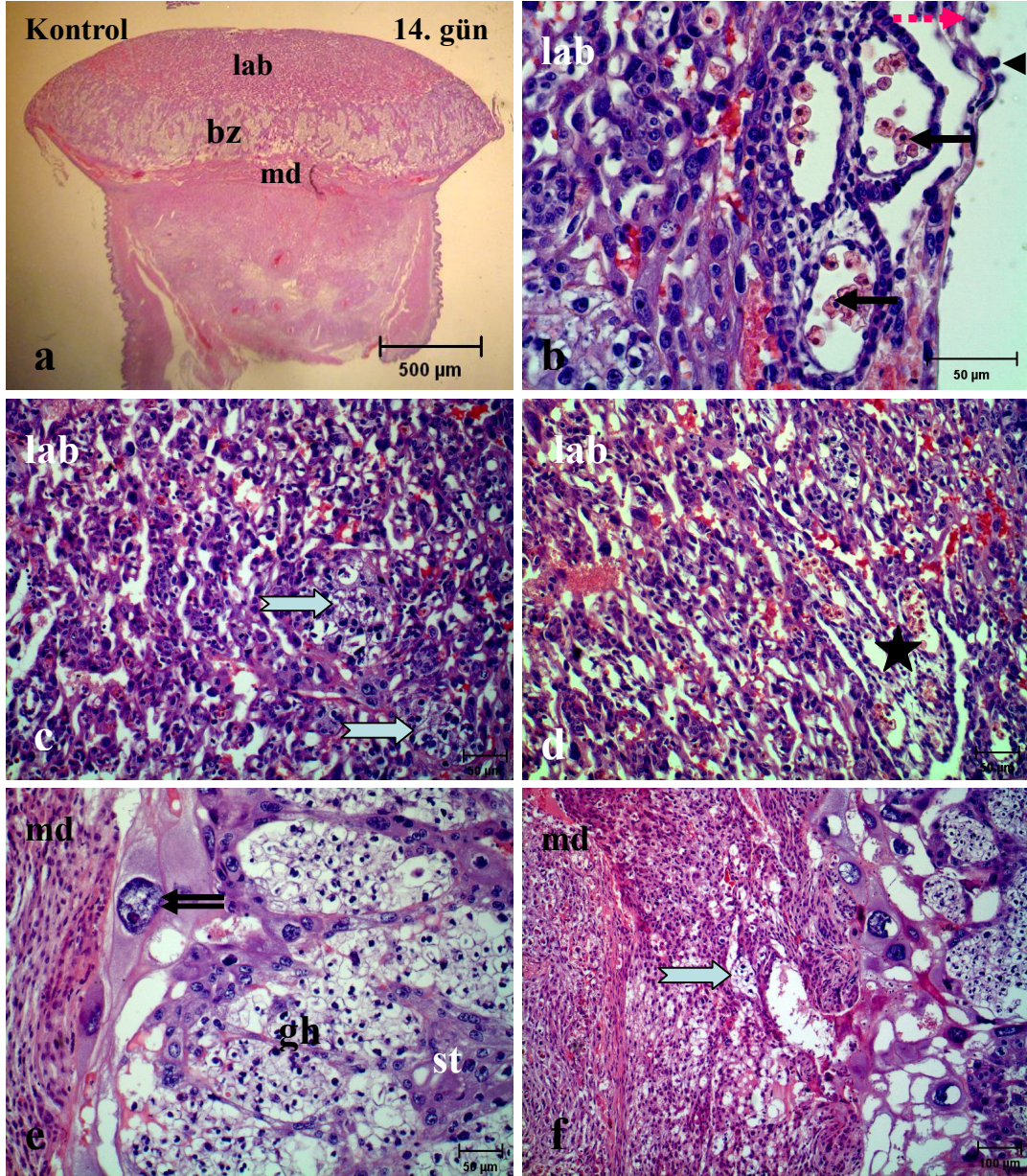


**Şekil 4.3.1.3a-c** 12 günlük kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait uterus + plasenta+embriyo kesitlerinin H-E boyanmaları **a:** Kontrol grubu genel görünüm X1,6 **b:** IUGR grubu genel görünüm X1,6 **c:** Diyabet grubu genel görünüm X1,6 (e: embriyo, kp: koryoallantoik plasenta, md: maternal desidua)

#### 4.3.2. Gelişimin 14. günü

Gelişimin 14. gününde sıçan plasentasının 12. gündeki plasentaya göre oldukça gelişmiş olduğu belirlendi (Şekil 4.3.2.1a). Labirint tabakası daha gelişmişti ve bu tabakada fetal damarlar içerdikleri eritroblastlar ile ayırt edilebiliyordu (Şekil 4.3.2.1b). Labirint tabaka içerisinde yer yer glikojenik hücrelerin yer aldığı tespit edildi (Şekil 4.3.2.1c). Aynı zamanda villuslara ait dallanmalar gözlenmekteydi (Şekil 4.3.2.1d). Bağlantı zonunda, 12. günde gözlenmeyen glikojenik hücreler oldukça fazla sayıda yer almaktaydı. Bağlantı zonunun çoğunluğunu bu hücreler oluşturmaktaydı (Şekil 4.3.2.1e). Glikojenik hücrelerin aynı zamanda maternal desidua içerisinde de yer aldığı izlendi (Şekil 4.3.2.1f).

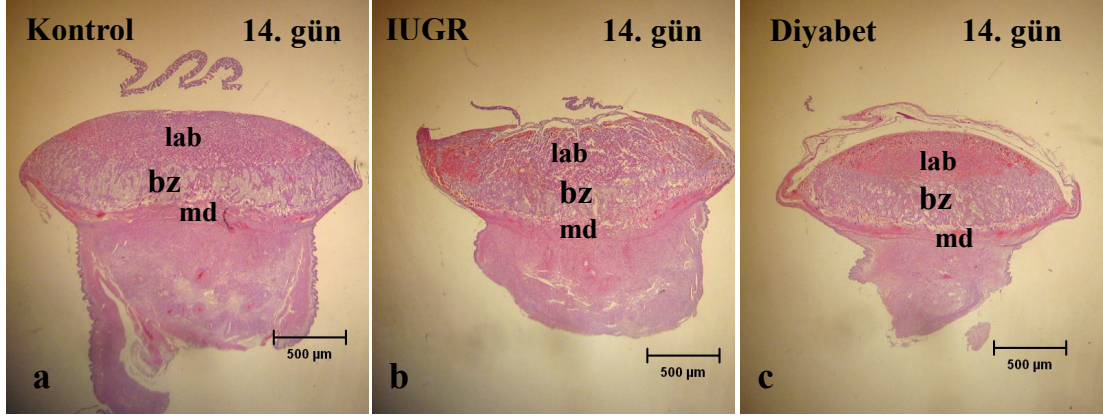




**Şekil 4.3.2.1a-f** 14. gün kontrol grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları **a:** Genel görünüm X1.6 **b:** Labirint (lab) zonda fetal eritroblastlar (tek oklar), Reichert membranı (kesikli ok) ve pariyetal endodermal hücreler (ok başı) X40 **c:** Labirint zonda glikojenik hücreler (mavi renkli oklar) X20 **d:** Labirint zonda villuslara ait dallanmalar (yıldız) X20 **e:** Maternal desidua (md), dev hücreler (çift ok), bağlantı zonundaki spongiotrofoblastlar (st) ve glikojenik hücreler (gh) X20 **f:** Maternal desidua (md) içerisinde glikojenik hücreler (mavi renkli ok) X10 (lab: labirint zon, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua)

IUGR grubuna ait plasentaların kontrol grubundan daha küçük olduğu gözlemlendi (Şekil 4.3.2.2b). Hem labirint hem de bağlantı zonu kontrol grubuna kıyasla daha küçük boyutlardaydı. Diyabet grubunda gözlenen plasentalarda kontrol grubuna kıyasla fark oldukça belirgindi (Şekil 4.3.2.2c). Diyabetik plasentalarda labirint tabakanın oldukça küçülmüş olduğu tespit edildi.

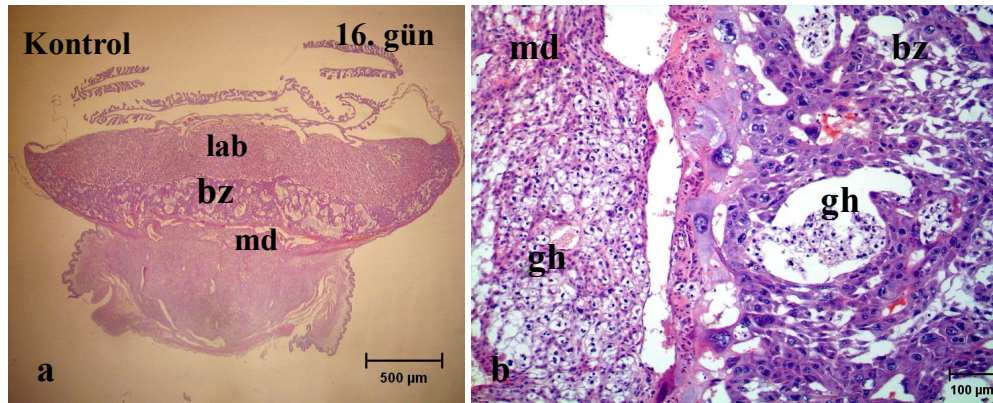




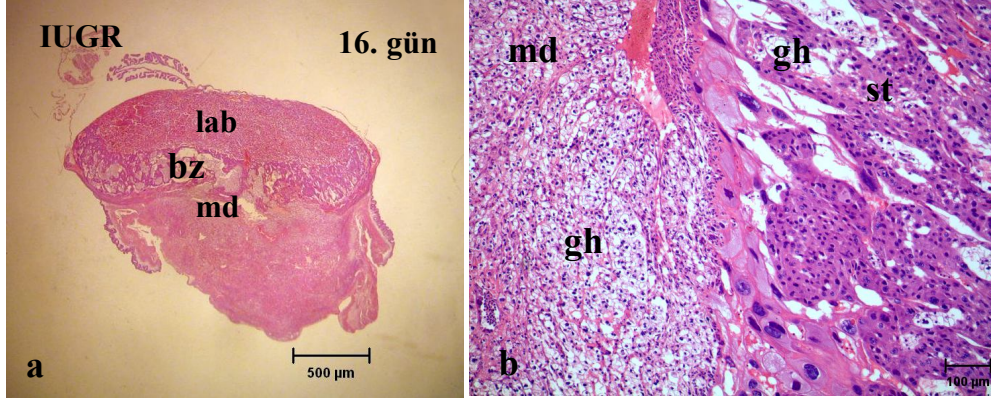
**Şekil 4.3.2.2a-c** 14. gün kontrol ve deney gruplarına ait plasentaların H-E boyanmaları **a:** Kontrol grubu genel görünüm X1,6 **b:** IUGR grubu genel görünüm X1,6 **c:** Diyabet grubu genel görünüm X1,6 (lab: labirint zon, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua).

#### 4.3.3. Gelişimin 16. günü

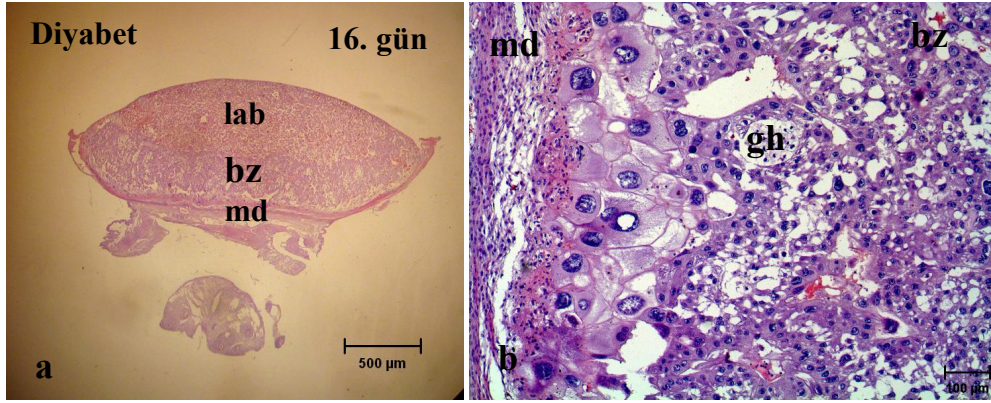
Gebeliğin 16. gününde labirint tabakanın büyümeye devam ettiği ve bağlantı zonu ile aynı büyüklüğe ulaştığı belirlendi (Şekil 4.3.3.1.a). 14. güne kıyasla, bağlantı zonunda gözlenen glikojenik hücre yoğunluğunda azalma olduğu, maternal desiduada ise 14. günden çok daha yoğun glikojenik hücre bulunduğu tespit edildi (Şekil 4.3.3.1.b). IUGR grubu ve diyabet grubuna ait plasentalar kontrol grubuna kıyasla daha küçüktü (Şekil 4.3.3.2.a, Şekil 4.3.3.3.a ). IUGR grubu plasentaların bağlantı zonunda ve maternal desiduada kontrol grubuna benzer sayıda glikojenik hücre bulunurken (Şekil 4.3.3.2.b), diyabet grubunda bu zonlarda glikojenik hücrelerin daha az olduğu gözlemlendi (Şekil 4.3.3.3.b).



**Şekil 4.3.3.1a,b** 16. gün kontrol grubuna ait plasentaların H-E boyanmaları **a:** Genel görünüm X1,6 **b:** Bağlantı zonundaki (bz) ve maternal desidudadaki (md) glikojenik hücreler (gh) görülmektedir X10. (lab: labirint zon, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua)



**Şekil 4.3.3.2a,b** 16. gün IUGR grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları **a**: Genel görünüm X1,6 **b**: Bağlantı zonundaki ve maternal desidudaki glikojenik hücreler (gh) görülmektedir X10 (lab: labirint zon, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua, st: spongiotrofoblast)



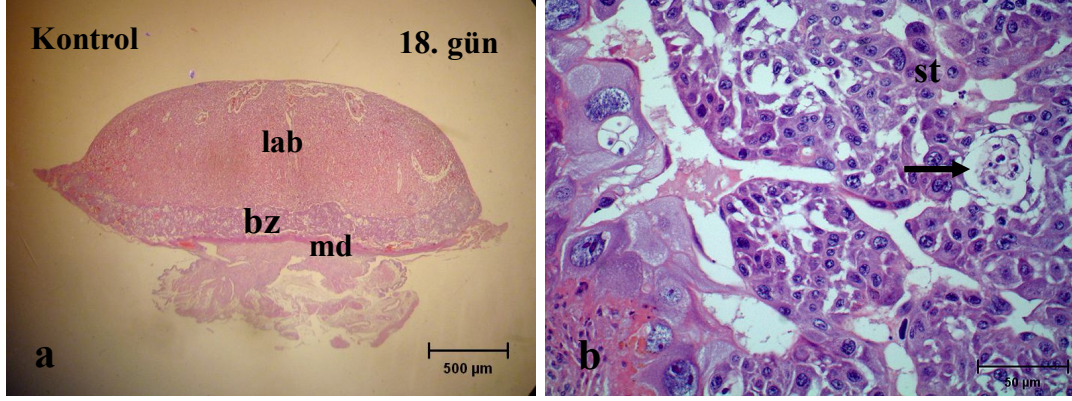
**Şekil 4.3.3.3a,b** 16. gün diyabet grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları **a**: Genel görünüm X1,6 **b**: Bağlantı zonundaki glikojenik hücreler (gh) görülmektedir X10 (lab: labirint zon, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua, st: spongiotrofoblast)

#### 4.3.4. Gelişimin 18. günü

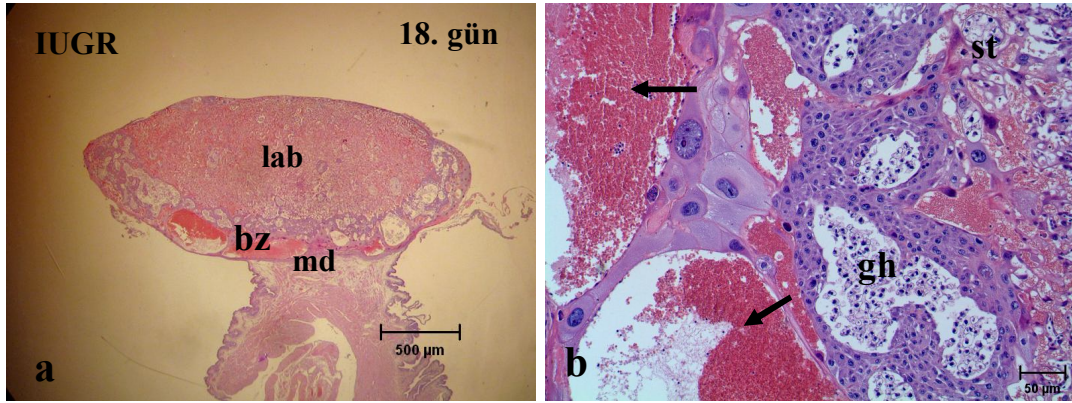
Gebeliğin 18. gününde kontrol grubuna ait plasentada labirint tabakasının büyümüş olduğu ve plasentanın büyük bir kısmını kapladığı tespit edildi (Şekil 4.3.4.1a). Spongiotrofoblast tabakası küçülmüş (Şekil 4.3.10a) ve glikojenik hücreler azalmıştı (Şekil 4.3.4.1b).

IUGR grubuna ait plasentaların kontrol grubuna göre küçük olduğu belirlendi (Şekil 4.3.4.2a). Labirint bağlantı zonu oranında belirgin bir değişiklik gözlenmedi. Bağlantı zonunda glikojenik hücrelerin kontrole göre daha yoğun olduğu tespit edildi (Şekil 4.3.4.2b). Diyabetik gruba ait plasentalarda ise aşırı bir büyüme olduğu belirlendi (Şekil 4.3.4.3a). Labirint tabakası oldukça genişti. Bununla birlikte bağlantı zonunda ve maternal desiduada yoğun glikojenik hücre varlığı gözlemlendi (Şekil 4.3.4.3b).

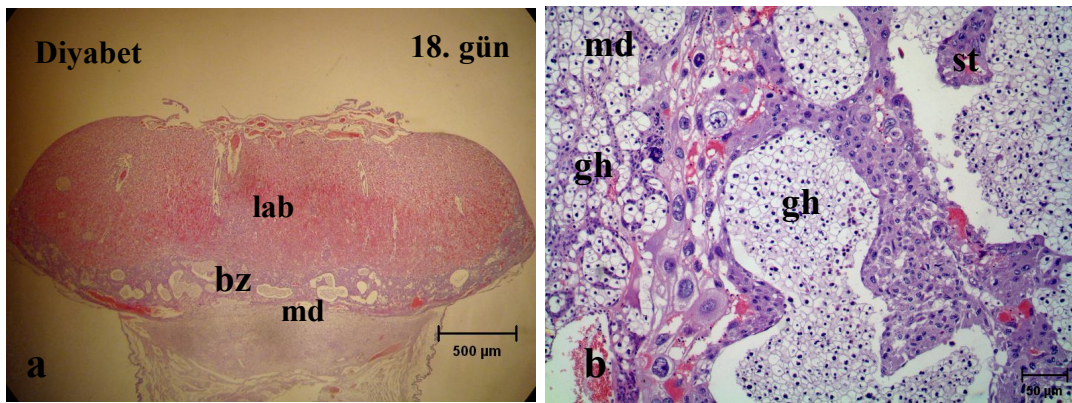




**Şekil 4.3.4.1a,b** 18. gün kontrol grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları **a:** Genel görünüm X1,6 **b:** Bağlantı zonunda glikojenik hücreler (ok ile) X40 (lab:labirint zon, bz: bağlantı zon, md: maternal desidua, st: spongiotrofoblast )



**Şekil 4.3.4.2a,b** 18. gün IUGR grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları **a:** Genel görünüm X1,6 **b:** Bağlantı zonunda glikojenik hücreler (gh), maternal kan damarları (oklar) X20 (lab: labirint zon, bz: bağlantı zon, md: maternal desidua, st: spongiotrofoblast)



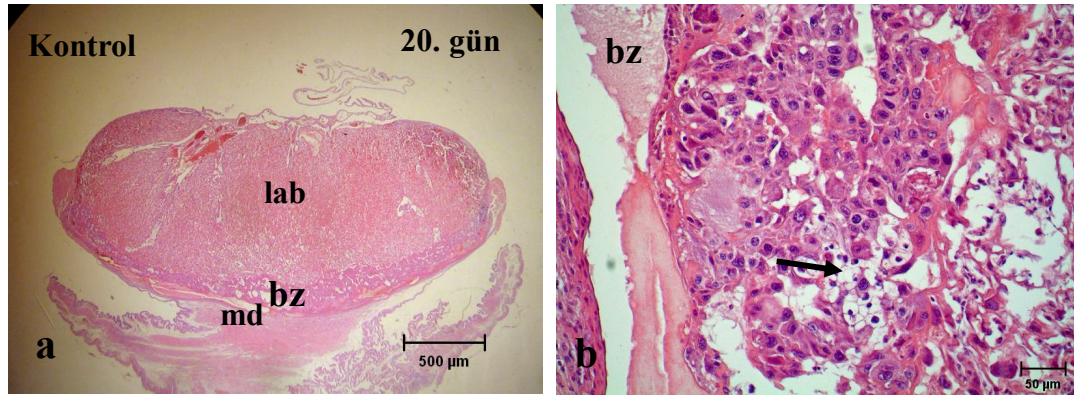
**Şekil 4.3.4.3a,b** 18. gün diyabet grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları **a:** Genel görünüm X1,6 **b:** Bağlantı zonunda ve maternal desiduada (md) glikojenik hücreler (gh) X20 (lab: labirint zon, bz: bağlantı zon, md: maternal desidua, st: spongiotrofoblast)



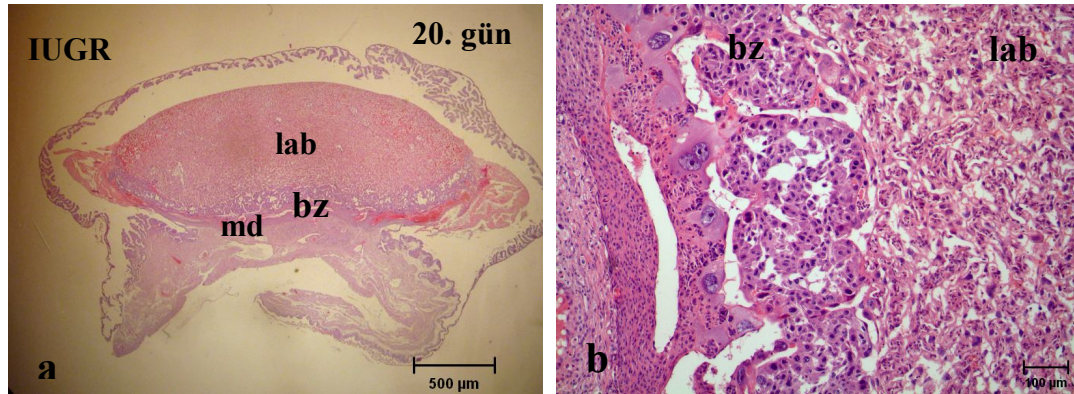
#### 4.3.5. Gelişimin 20. günü

Gelişimin 20. gününde bağlantı zonu oldukça küçülmüştü (Şekil 4.3.5.1a). Labirint tabakası adeta plasentanın tamamını oluşturmaktaydı. Glikojenik hücreler yok denecek kadar azdı (Şekil 4.3.5.1b.).

IUGR grubu plasentaların diğer günlerde olduğu gibi kontrol grubundan daha küçük olduğu gözlemlendi (Şekil 4.3.5.2a). Kontrol grubunda olduğu gibi IUGR grubu plasentaların bağlantı zonunda da glikojenik hücreler oldukça azdı. Diyabet grubuna ait plasentalar ise kontrol grubundan çok daha büyük olarak belirlendi (Şekil 4.3.5.3a). Bağlantı zonunda ve maternal desidua bol sayıda glikojenik hücre mevcuttu (Şekil 4.3.5.3b).

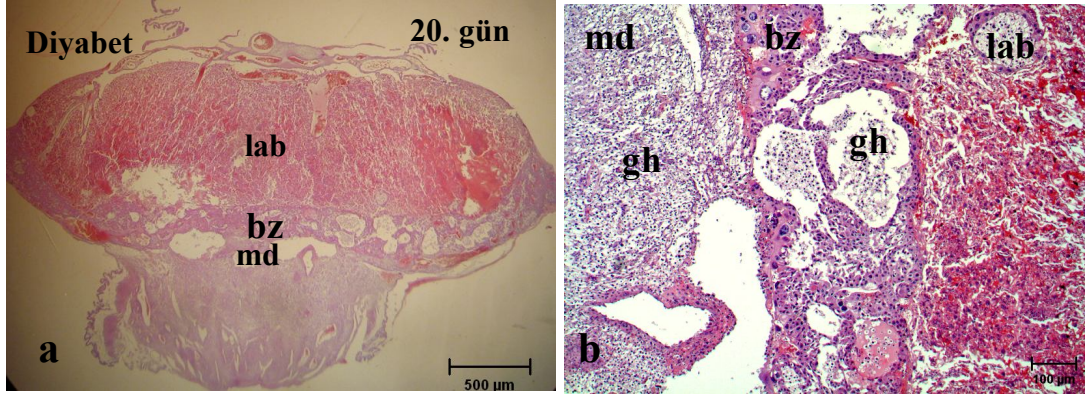


Şekil 4.3.5.1a,b 20. gün kontrol grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları **a**: Genel görünüm X1,6 **b**: Bağlantı zonundaki glikojenik hücreler (ok ile) görülmektedir X20 (lab: labirint zon, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua)



Şekil 4.3.5.2a,b 20. gün IUGR grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları **a**: Genel görünüm X1,6 **b**: Bağlantı zonu ve labirint zon görülmektedir X10 (lab: labirint zon, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua)





**Şekil 4.3.5.3a,b** 20. gün diyabet grubuna ait plasentanın H-E boyanmaları **a:** Genel görünüm X1,6 **b:** Bağlantı zonundaki ve maternal desidudaki glikojenik hücreler (gh) görülmektedir X10 (lab: labirint zon, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua)

#### 4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular

##### 4.4.1. Akt (PKB) İmmün Boyanmaları

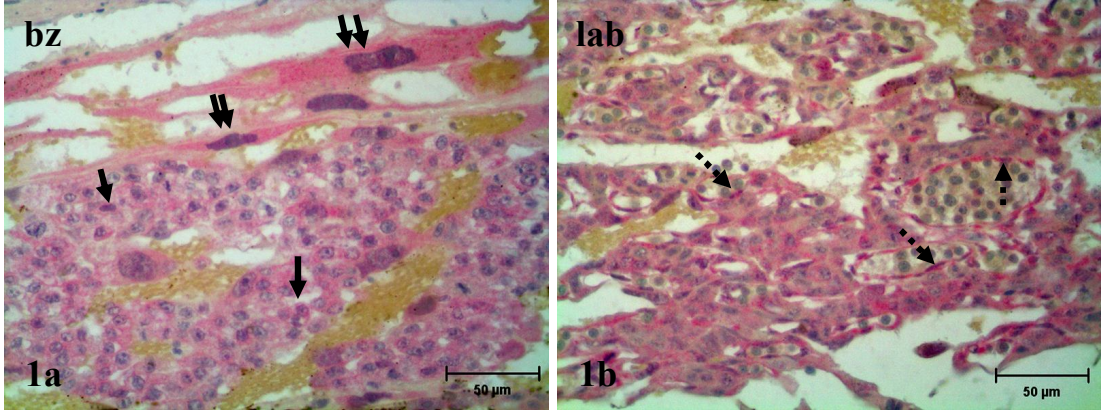
Kontrol, IUGR ve Diyabetik gruplara ait Akt immüno boyanma yoğunlukları semikantitatif olarak değerlendirildi ve Tablo 4.4.1.1’de gösterildi.

**Tablo 4.4.1.1.** Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait sıçan plasentalarında Akt immünoboyanmasının hüresel dağılımı

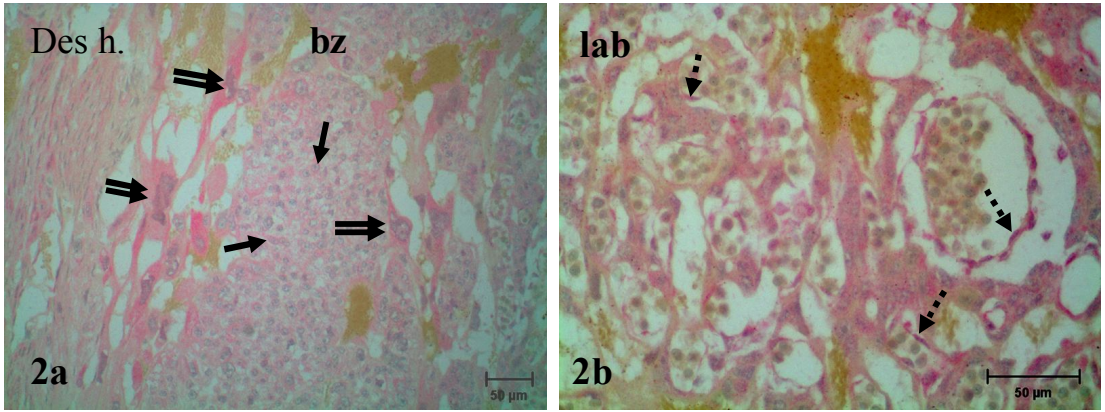
Gebelik günleri	Des H.	Dev H.	S.T.	Gli.H.	M.E.H.	L.D.H.	L.T.	P.E.H.	V.E.H.	K.M.H.	F.E.H.
Kontrol 20	+++	+++	+++	+	++	+++	+++	+	+++	+++	+++
IUGR 20	+++	++	++	+	+/-	++	++	+	+	++	++
Diyabet 20	+++	++	++	+	+	++	++	+	++	++	++
Kontrol 18	+++	+++	++	+	+++	++	+++	+	++	+++	+++
IUGR 18	+++	+++	++	+	++	+	+	+/-	+	++	++
Diyabet 18	++	+++	+++	+	+	+++	+++	+	++	+++	+++
Kontrol 16	+++	+++	+++	-	+++	++	+++	+	+++	++	+++
IUGR 16	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+/-	++	+++	++
Diyabet 16	+++	+++	+++	+	+++	++	+++	+/-	++	+++	+++
Kontrol 14	++	+++	+++	+	++	++	+++	+/-	++	++	+++
IUGR 14	++	+++	+++	+	+/-	+/-	+	-	+	+	+++
Diyabet 14	+	+++	+++	+	+	+++	+++	-	++	++	+++
Kontrol 12	++	+++	++	0	++	0	++	-	+	0	+++
IUGR 12	++	++	+	0	+	0	+	-	+/-	0	++
Diyabet 12	++	+++	++	0	++	0	++	-	+/-	0	+++

Des. H.: Desidual Hücre, Dev. H.: Dev Hücre, F.E.T.: Fetal Endotelyal Hücre, Gli.H.: Glikojenik Hücre, K.M.H.: Koryonik Mezodermal Hücre, L.D.H.: Labirint Dev Hücre, L.T.: Labirint Trofoblast, M.E.H.: Maternal Endotelyal Hücre, P.E.H.: Pariyetal Endodermal Hücre, S.T.: Spongiotrofoblast, V.E.H.: Visseral Endodermal Hücre. (-): Negatif, (+/-): Zayıf pozitif, (+): Pozitif, (++): Kuvvetli pozitif, (+++): Çok kuvvetli pozitif, (0): Hücreler mevcut değil.

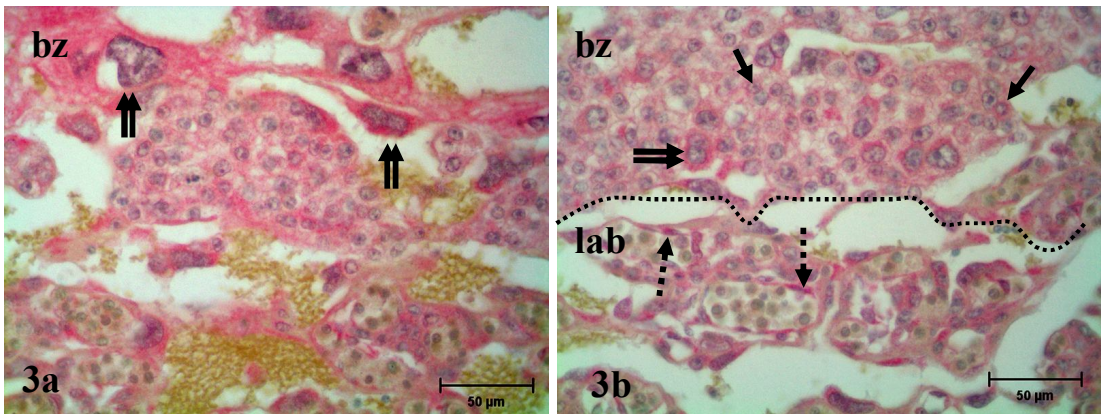
Gebeliğin 12. gününde kontrol grubuna ait sıçan plasentasında dev hücrelerde ve fetal endotelde çok yoğun immüno boyanma gözlenirken, desidual hücrelerde, spongiotrofoblastlarda ve labirint trofoblastlarda yoğun boyanma gözlemlendi. Visseral endodermal hücrelerde immün pozitif reaksiyon vardı. Akt immün boyanmaları sitoplazmik ve nükleerdi (Tablo 4.4.1.1, Şekil 4.4.1.1a,b). IUGR grubuna ait plasentalarda dev hücrelerde, spongiotrofoblastlarda, labirint trofoblastlarda ve fetal endotelde immün boyanma yoğunluğunun azaldığı tespit edildi (Tablo 4.4.1.1, Şekil 4.4.1.2a,b). Diyabet grubunda ise kontrole benzer boyanmalar elde edildi (Tablo 4.4.1.1, Şekil 4.4.1.3a,b).



**Şekil 4.4.1.1a,b** 12 günlük kontrol grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar) ve spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **b**: Fetal endotel hücreleri (kesikli oklar) X40. (bz: bağlantı zonu, lab: labirint)



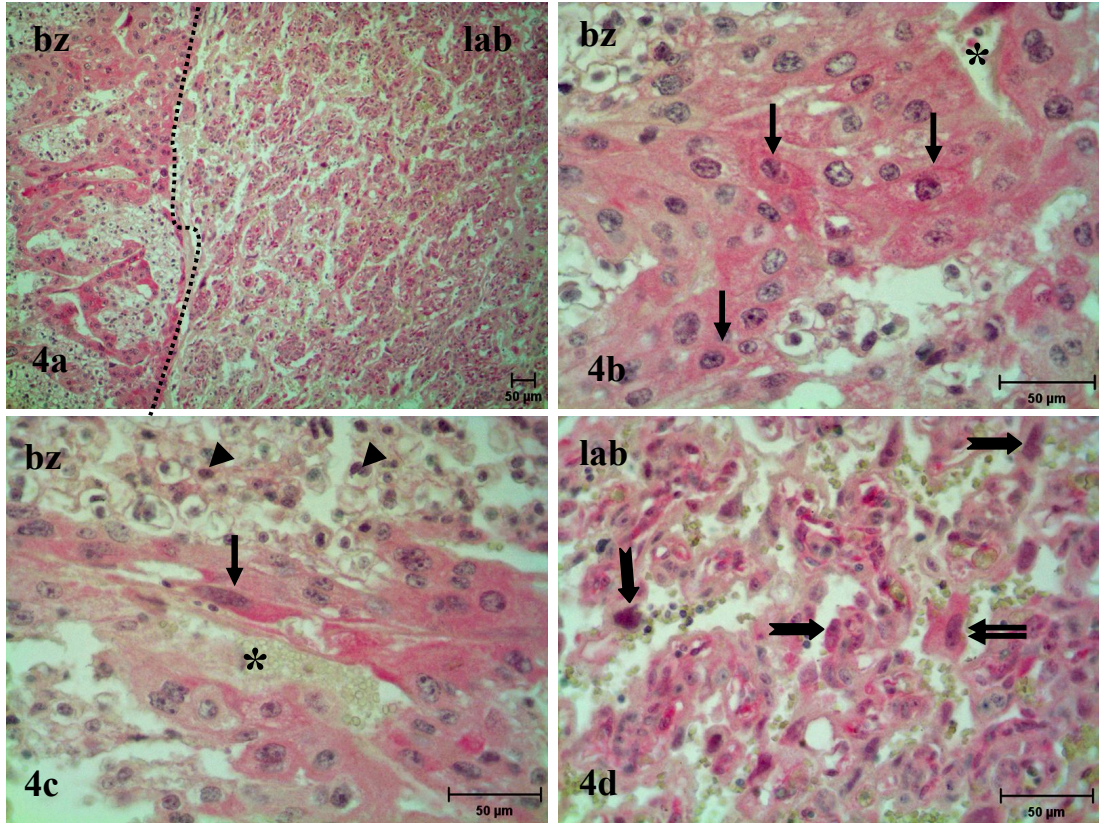
**Şekil 4.4.1.2a,b** 12 günlük IUGR grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar) ve spongiotrofoblastlar (tek oklar) X20 **b**: Fetal endotel hücreleri (kesikli oklar) X40. (Des h.: desidual hücre, bz: bağlantı zonu, lab: labirint)



**Şekil 4.4.1.3a,b** 12 günlük diyabet grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar) X40 **b**: Dev hücreler (çift oklar), spongiotrofoblastlar (tek oklar), fetal endotel (kesikli oklar) X40. (bz: bağlantı zonu, lab: labirint)

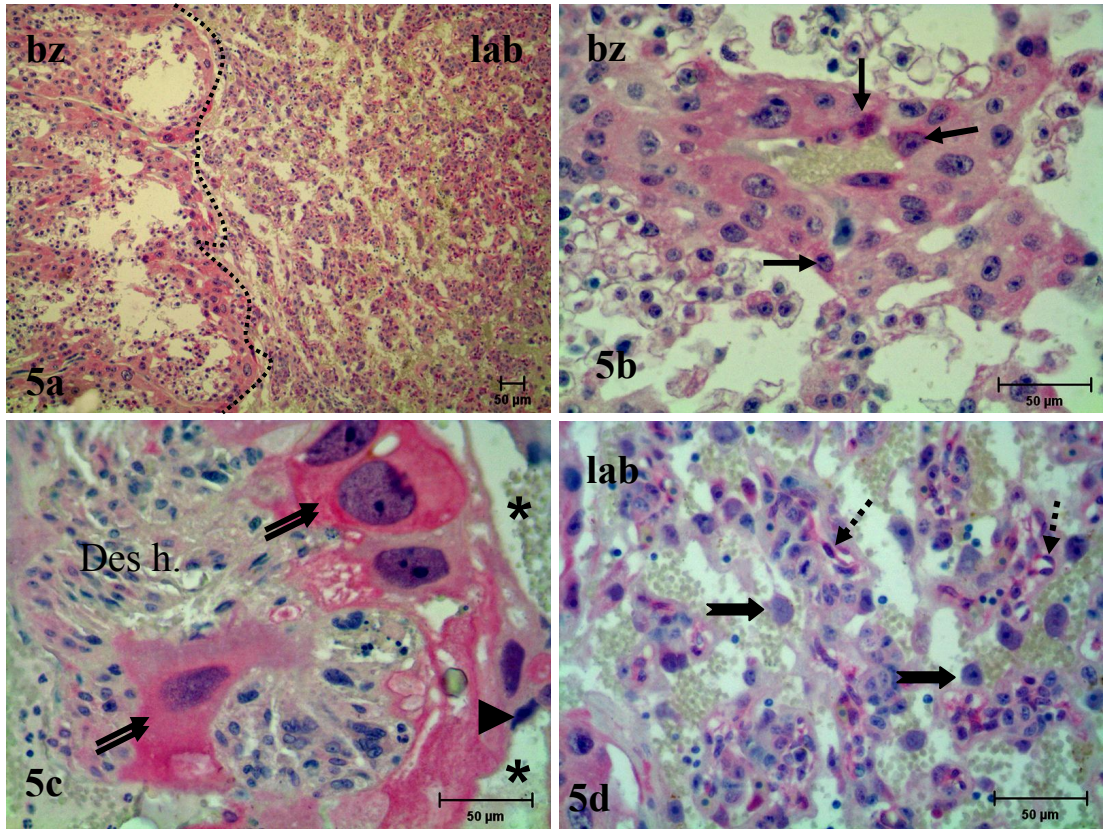


Gelişimin 14. gününde kontrol grubuna ait sıçan plasentasında dev hücreler, spongiotrofoblastlar, labirint trofoblastlar ve fetal endotelde çok yoğun Akt immün reaktivitesi gözlemlendi. Desidual hücreler, maternal endotelial hücreler, labirint dev hücreler, visseral endodermal hücreler ve koryonik mezodermal hücrelerde yoğun boyanmalar tespit edildi. Bununla birlikte maternal damarlara komşu olan spongiotrofoblastlarda çok yoğun Akt ekspresyonu gözlemlendi. Glikojenik hücrelerde immün pozitif reaksiyon vardı. Pariyetal endodermal hücreler ise zayıf boyanmıştı (Tablo 4.4.1.1, Şekil 4.4.1.4.a-d).



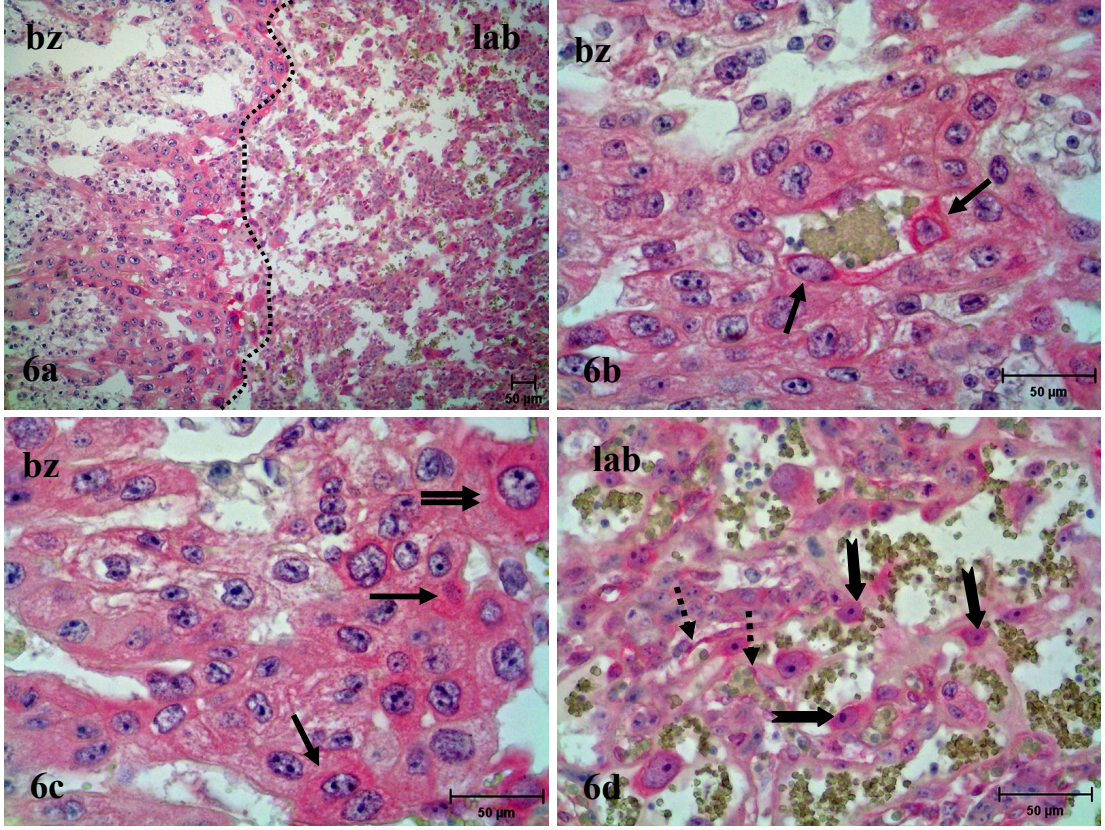
**Şekil 4.4.1.4a-d** 14 günlük kontrol grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları  
**a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirint zonda (lab) Akt immün boyanmaları X10 **b:** Bağlantı zonunda spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c:** Bağlantı zonunda maternal kan damarına komşu olan spongiotrofoblastlar (tek ok) ve glikojenik hücreler (ok başları) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) ve labirint dev hücreler (çift ok) X40. (\*: maternal kan)

14. gün IUGR grubuna ait sıçan plasentasında dev hücreler, spongiotrofoblastlar ve fetal endotelde kontrol grubuna benzer yoğunlukta boyanmalar gözlenirken desidual hücreler, maternal endotelial hücreler, labirint dev hücreler, labirint trofoblastlar, visseral endodermal hücreler ve koryonik mezodermal hücrelerde Akt yoğunluğunun azaldığı gözlemlendi. Özellikle maternal endotelial hücrelerde ve labirint trofoblastlarda boyanmanın belirgin olarak azaldığı tespit edildi (Tablo 4.4.1.1, Şekil 4.4.1.5a-d.). Diyabet grubu sıçan plasentasına ait immün boyanmalar kontrol grubuna benzerdi (Tablo 4.4.1.1, Şekil 4.4.1.6a-d.). IUGR (Şekil 4.4.1.5b) ve diyabet grubu (Şekil 4.4.1.6b) sıçan plasentalarında maternal damara komşu olan spongiotrofoblastlarda, kontrol grubunda olduğu gibi yoğun Akt ekspresyonu gözlemlendi.



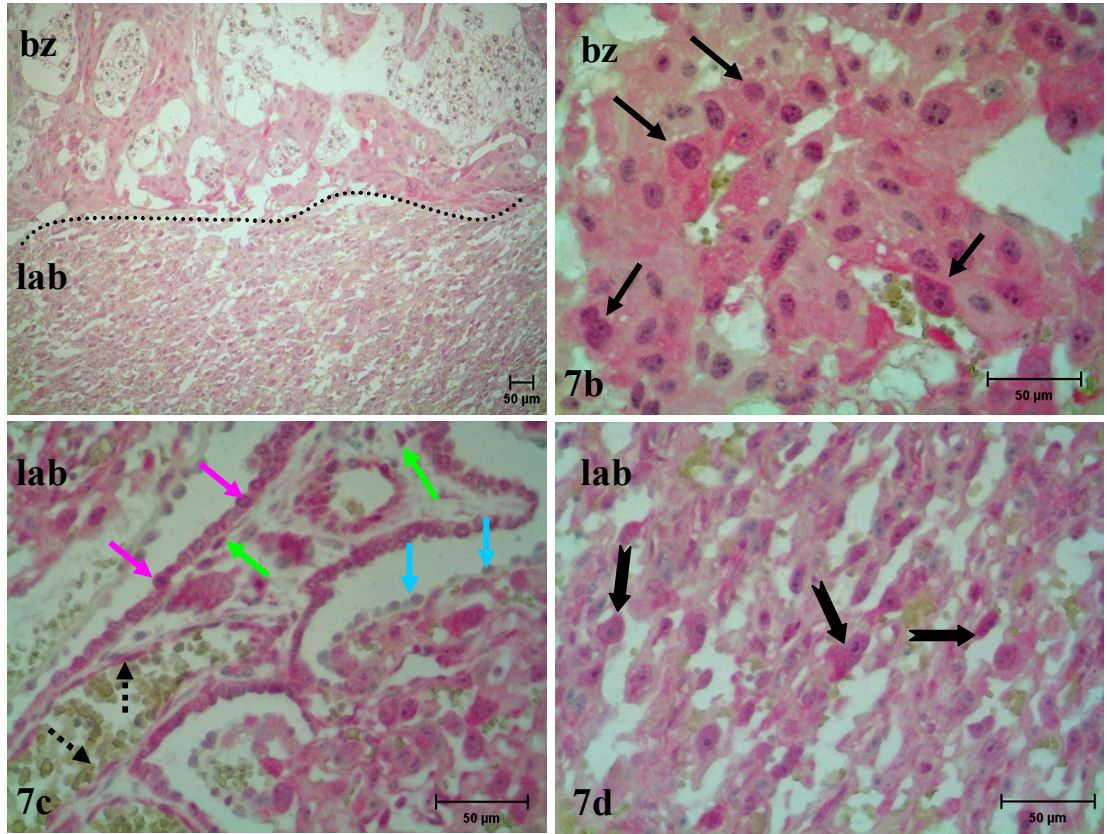
**Şekil 4.4.1.5a-d** 14 günlük IUGR grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirint zonda (lab) Akt immün boyanmaları X10 **b:** Bağlantı zonunda spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c:** Dev hücreler (çift oklar) ve maternal endotel (ok başı) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) ve fetal endotelial hücreler (kesikli oklar) X40. (Des h: desidual hücreler, \*: maternal kan)





**Şekil 4.4.1.6a-d** 14 günlük diyabet grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları  
**a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirint zonda (lab) Akt immün boyanmaları X10 **b:** Bağlantı zonunda maternal damara komşu olan spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40  
**c:** Dev hücreler (çift oklar) ve spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) ve fetal endotelial hücreler (kesikli oklar) X40.

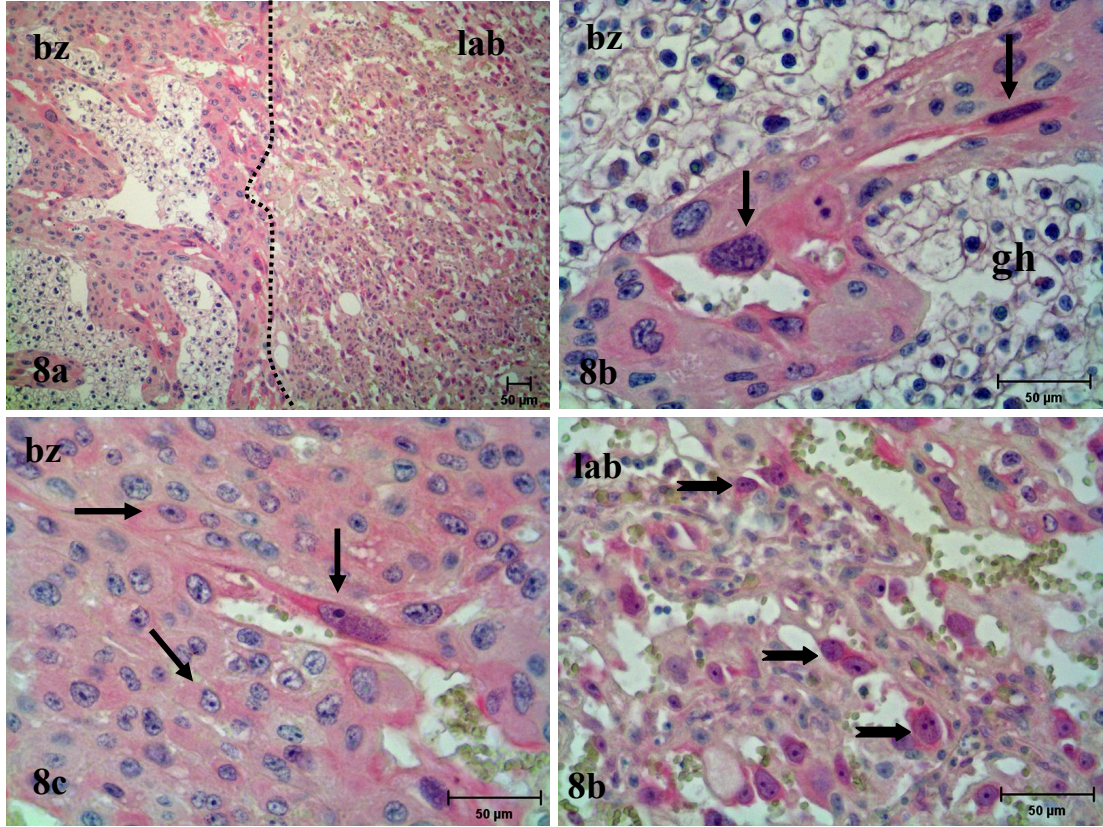
Gebeliğin 16. gününde kontrol gruplarında Akt immün boyanmaları, desidual hücre, dev hücre, spongiotrofoblast, maternal endotel, labirint trofoblast, visseral endodermal hücre ve fetal endotelde çok yoğun olarak gözlemlendi. 14. gün gruplarında olduğu gibi 16. günde de maternal kan damarına yakın olan spongiotrofoblastlarda Akt ekspresyonunun çok yoğun olduğu tespit edildi. Labirint dev hücre ve koryonik mezodermal hücrelerde immün boyanmalar yoğundu. Pariyetal endodermal hücrelerde immunpozitif reaksiyon vardı (Tablo 4.4.1.1, Şekil 4.4.1.7a-d).



**Şekil 4.4.1.7a-d** 16. gün kontrol grubuna ait Akt immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirintte (lab) Akt immün boyanmaları X10 **b:** Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **c:** Fetal endotel (kesikli oklar), visseral endodermal hücreler (pembe oklar), koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar), pariyetal endodermal hücreler (mavi oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40.

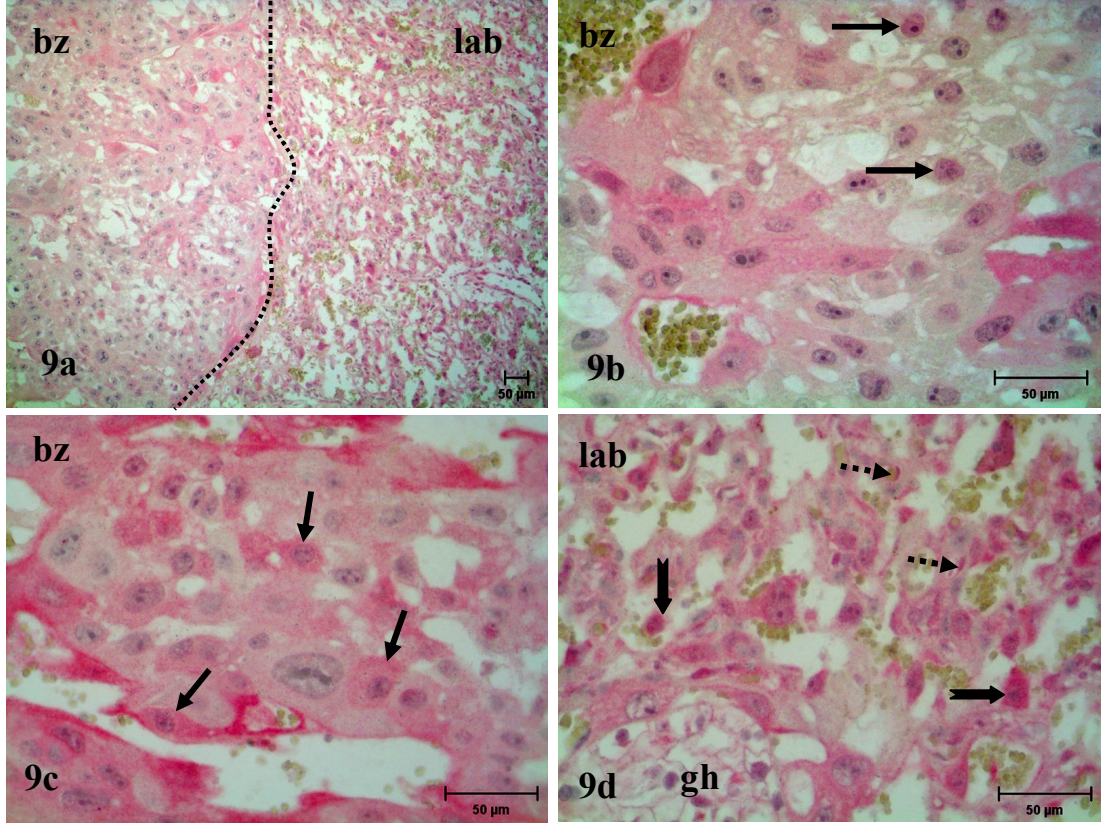


16. gün IUGR grubunda labirint dev hücrelerde ve koryonik mezodermal hücrelerde Akt ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla yoğunlaşırken pariyetal ve visseral endodermal hücreler ile fetal endotelde boyanma yoğunluğunun azaldığı tespit edildi (Tablo 4.4.1.1., Şekil 4.4.1.8a-d). Diyabet grubunda kontrol grubuna benzer boyanmalar tespit edildi (Tablo 4.4.1.1., Şekil 4.4.1.9a-d).



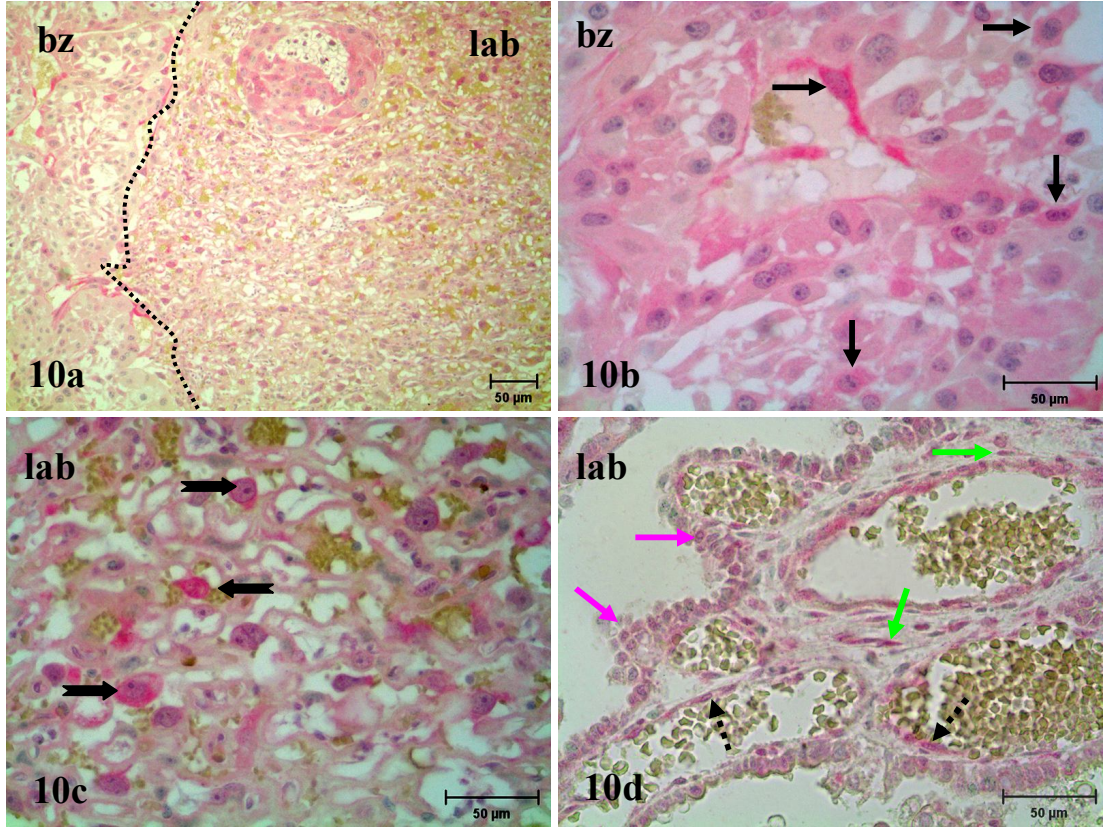
**Şekil 4.4.1.8a-d** 16. gün IUGR grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları **a**: Bağlantı zonu (bz) ve labirintte (lab) Akt immün reaksiyonu X10 **b**: Spongiotroblastlar (tek oklar) X40 **c**: Spongiotroblastlar (tek oklar) X40 **d**: Labirint troblastlar (kalın oklar) X40.





**Şekil 4.4.1.9a-d** 16. gün diyabet grubuna ait sıçan plasentasında Akt immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirintte (lab) Akt immün reaksiyonu X10 **b:** Nükleer boyanan spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40. **c:** Sitoplazmik ve nükleer boyanan spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar), fetal endotel (kesikli oklar), glikojenik hücreler (gh) X40

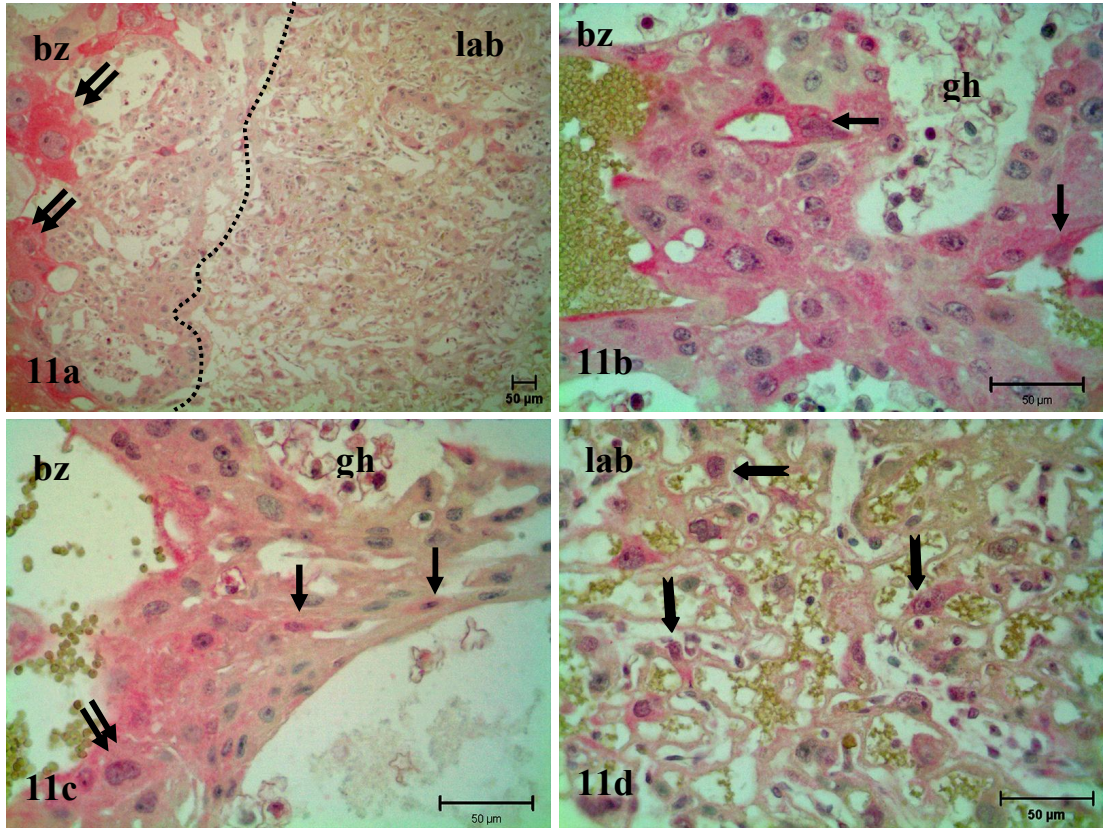
Gelişim 18. gününde kontrol grubuna ait sıçan plasentasında, desidual hücreler, dev hücreler, maternal endotelial hücreler, labirint trofoblastlar, koryonik mezodermal hücreler ve fetal endotelde çok yoğun Akt ekspresyonu gözlemlendi. Spongiotrofoblastlar, labirint dev hücreler ve visseral endodermal hücrelerde boyanma yoğun. Glikojenik hücrelerde ve pariyetal endodermal hücrelerde pozitif immün boyanma vardı (Tablo 4.4.1.1., Şekil 4.4.1.10a-d).



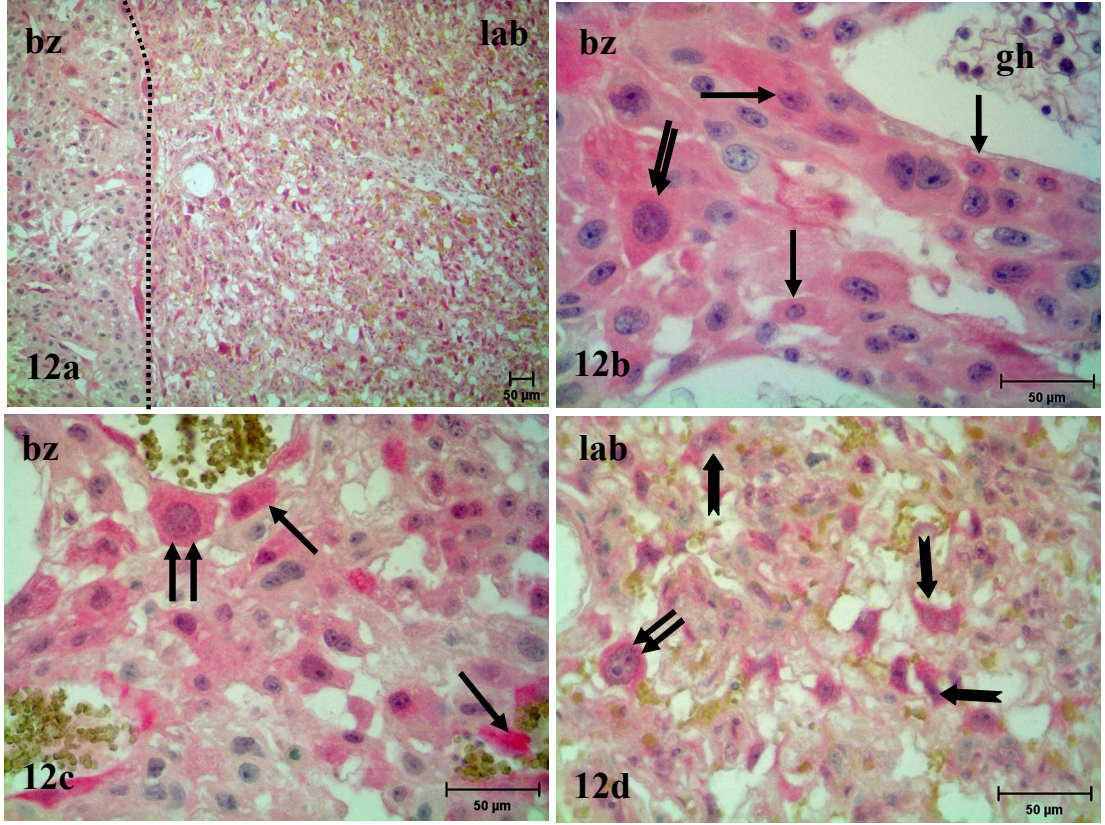
**Şekil 4.4.1.10a-d** 18. gün kontrol grubuna ait Akt immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirinte (lab) Akt immün reaksiyonu X10 **b:** Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **c:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40 **d:** Visseral endodermal hücreler (pembe oklar), koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar), fetal endotel (kesikli oklar) X40.



18. gün IUGR grubunda maternal endotelial hücrelerde, labirint zondaki tüm hücrelerde Akt ekspresyonunda azalma tespit edildi. Bu azalma özellikle labirint trofoblastlarda idi (Tablo 4.4.1.1., Şekil 4.4.1.11a-d). Aynı gün diyabet grubuna ait immün boyanmalarda spongiotrofoblastlarda ve labirint dev hücrelerde Akt ekspresyonunun arttığı, diğer hücre türlerinde kontrol grupları ile benzer boyanmalar olduğu belirlendi (Tablo 4.4.1.1., Şekil 4.4.1.12a-d).



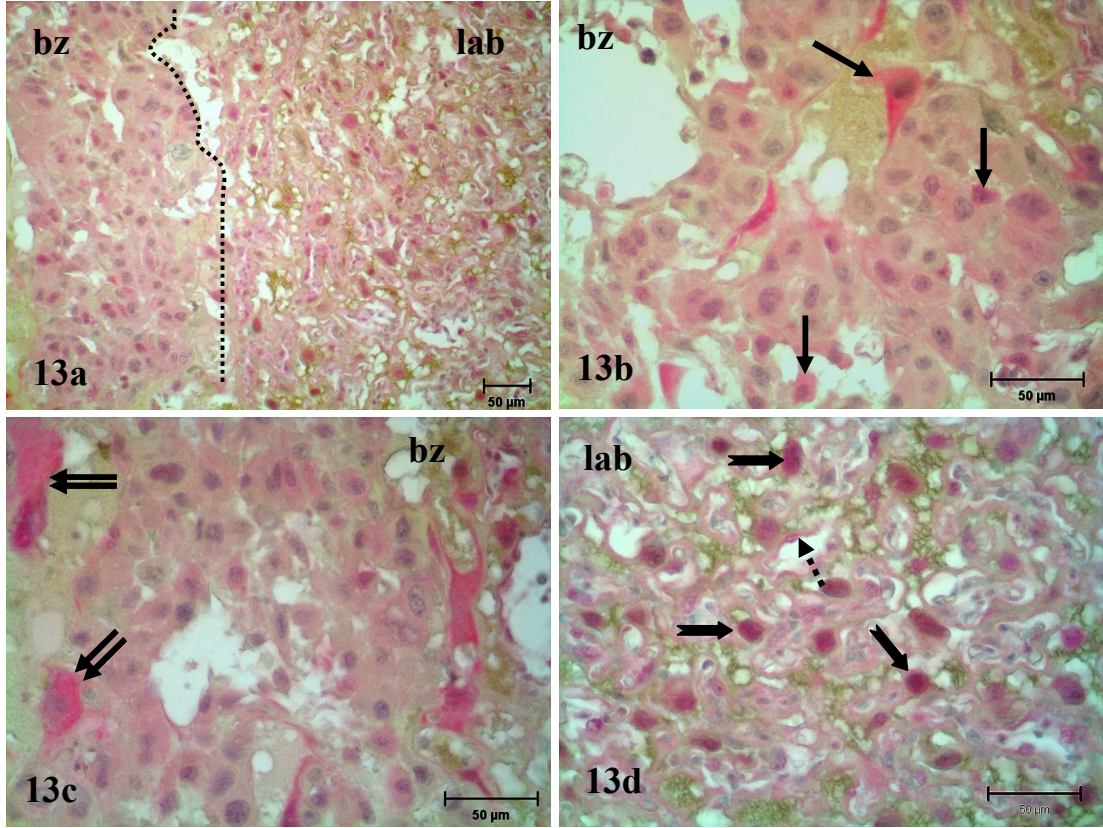
**Şekil4.4.1.11a-d** 18. gün IUGR grubuna ait Akt immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirintte (lab) Akt immün reaksiyonu, dev hücreler ( çift oklar) X10 **b:** Maternal kan damarına komşu olan spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c:** Dev hücreler (çift oklar), spongiotrofoblastlar ( tek oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40 (gh: glikojenik hücre)



**Şekil 4.4.1.12 a-d** 18. gün diyabet grubuna ait Akt immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirintte (lab) Akt immün reaksiyonu X10 **b:** Dev hücreler (çift ok), spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c:** Maternal damara komşu olan dev hücreler (çift ok) ve spongiotrofoblastlar ( tek oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar), labirint dev hücreler (çift ok) X40 (gh: glikojik hücre)

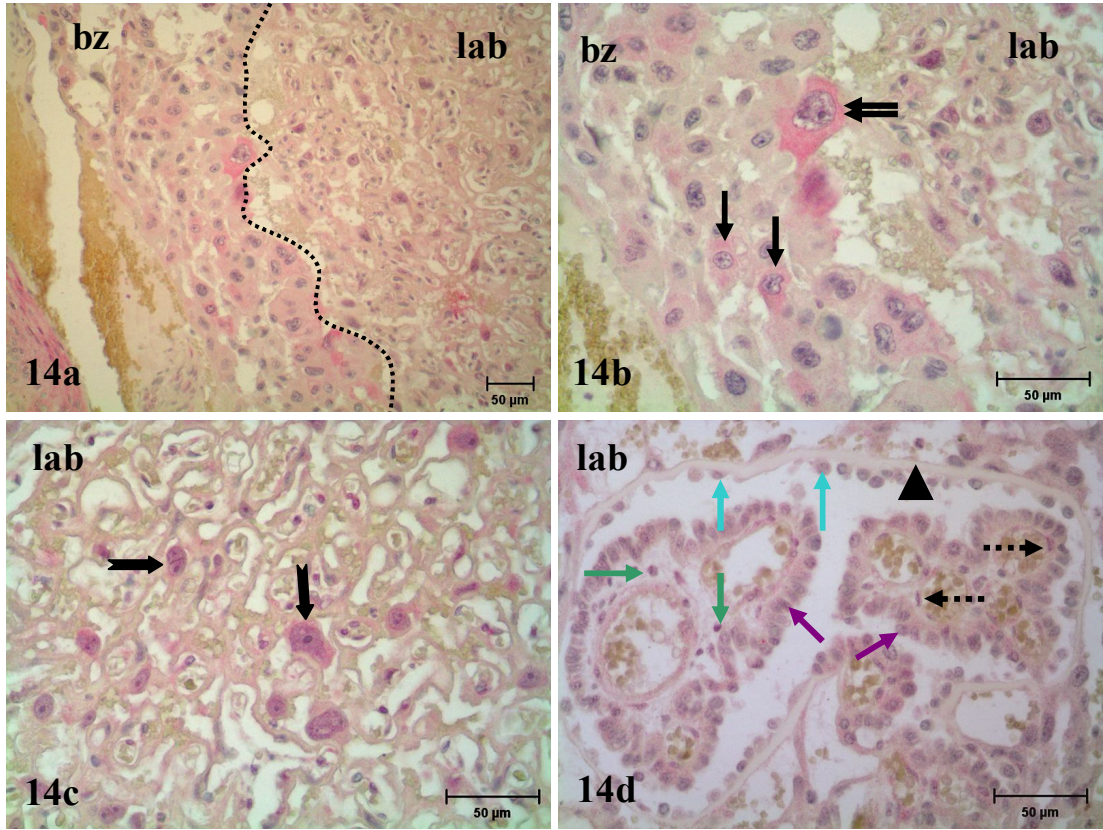


Gebeliğin 20. gününde Akt proteinini kontrol grubu sıçan plasentalarında desidual hücreler, dev hücreler, spongiotrofoblastlar, labirint dev hücreler, labirint trofoblastlar, visseral endodermal hücreler, koryonik mezodermal hücreler ve fetal endotelde çok yoğun olarak boyandı. Maternal endotelde Akt immün reaktivitesi yoğun, maternal damarlara komşu olan spongiotrofoblastlarda çok yoğun olarak gözlendi. Glikojenik hücreler ve pariyetal endodermal hücrelerde immün reaksiyon pozitifliği (Tablo 4.4.1.1, Şekil 4.4.1.13.a-d).



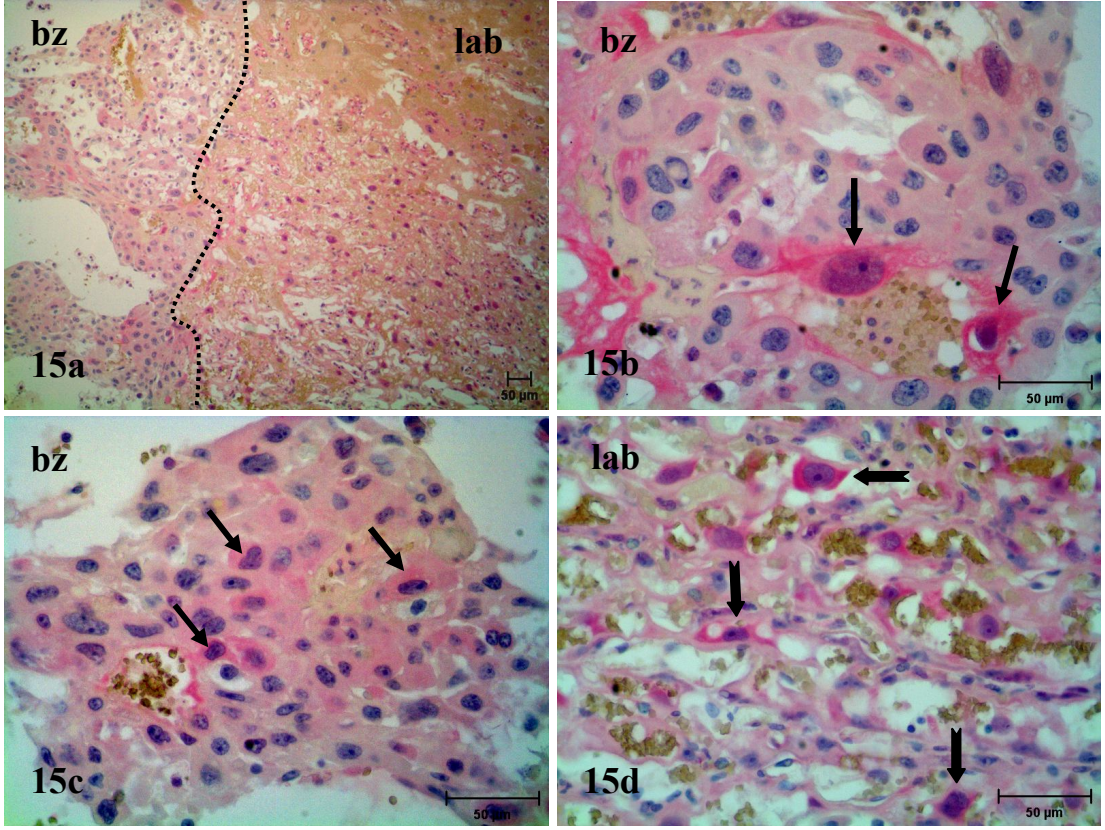
Şekil 4.4.1.13a-d 20. gün Kontrol grubuna ait Akt immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirintte (lab) Akt immün reaksiyonu X20 **b:** Spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c:** Dev hücreler (çift oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) ve fetal endotel (kesikli ok) X40.

20. gün IUGR grubu plasentalarda dev hücrelerde, spongiotrofoblastlarda, maternal endotelde, labirint dev hücrelerde, labirint trofoblastlarda, visseral endodermal hücrelerde, koryonik mezodermal hücrelerde ve fetal endotelde kontrol grubuna kıyasla Akt ekspresyonunda azalma olduğu tespit edildi (Tablo 4.4.1.1., Şekil 4.4.1.14.a-d). Diyabet grubu plasentalarda IUGR grubunda olduğu gibi Akt immün boyanmalarında azalmalar olduğu gözlemlendi (Tablo 4.4.1.1., Şekil 4.4.1.15.a-d).



Şekil 4.4.1.14a-d 20. gün IUGR grubuna ait Akt immün boyanmaları **a**: Bağlantı zonu (bz) ve labirintte (lab) Akt immün reaksiyonu X20 **b**: Spongiotrofoblastlar (tek oklar) ve dev hücreler (çift ok) X40 **c**: Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40 **d**: Fetal endotel (kesikli oklar), visseral endodermal hücreler (pembe oklar), pariyetal endodermal hücreler (mavi oklar), koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar), Reichert membranı (ok başı) X40.





**Şekil 4.4.1.15a-d** 20. gün diyabet grubunda Akt immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonu (bz) ve labirintte (lab) Akt immün reaksiyonu X10 **b:** Maternal damara komşu olan spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **c:** Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40.

#### 4.4.2. Fosfo- Akt İmmün Boyanmaları

Kontrol, IUGR ve diyabetik gruplara ait fosfo-Akt immüno boyanma yoğunlukları semikantitatif olarak değerlendirildi ve Tablo 4.4.2.1’de gösterildi.

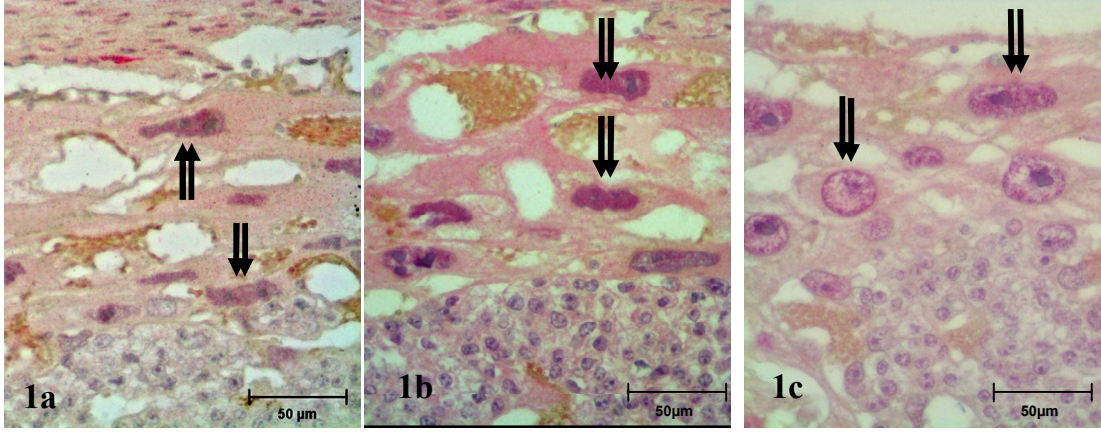
**Tablo 4.4.2.1.** Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait sıçan plasentalarında fosfo-Akt immünoboyanmasının hücrel dağılımı

Gebelik günleri	Des H.	Dev. H.	S.T.	Gli. H.	M.E.H	L.D.H	L.T.	P.E.H.	V.E.H	K.M. H.	F.E.H.
Kontrol 20	+	++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
IUGR 20	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Diyabet 20	+	++	++	-	-	-	+	-	-	+	+
Kontrol 18	+	+++	+++	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+
IUGR 18	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Diyabet 18	+	+++	++	-	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-
Kontrol 16	+	++	++	-	-	-	++	+	+/-	++	+
IUGR 16	+	++	+	-	-	-	+	+	+	+	+/-
Diyabet 16	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Kontrol 14	+	++	++	-	-	-	-	+/-	-	-	+/-
IUGR 14	+	++	+	-	-	-	-	-	-	-	+/-
Diyabet 14	+	+	+/-	-	-	-	-	-	-	+	+
Kontrol 12	++	++	-	0	-	0	-	-	-	0	-
IUGR 12	++	++	-	0	-	0	-	-	-	0	-
Diyabet 12	++	++	-	0	-	0	-	-	-	0	-

Des. H.: Desidual Hücre, Dev. H.: Dev Hücre, F.E.T.: Fetal Endotelial Hücre, Gli.H.: Glikojenik Hücre, K.M.H.: Koryonik Mezodermal Hücre, L.D.H.: Labirint Dev Hücre, L.T.: Labirint Trofoblast, M.E.H.: Maternal Endotelial Hücre, P.E.H.: Parietal Endodermal Hücre, S.T.: Spongiotrofoblast, V.E.H.: Visseral Endodermal Hücre. (-): Negatif, (+/-): Zayıf pozitif, (+): Pozitif, (++) : Kuvvetli pozitif, (+++): Çok kuvvetli pozitif, (0): Hücreler mevcut değil.

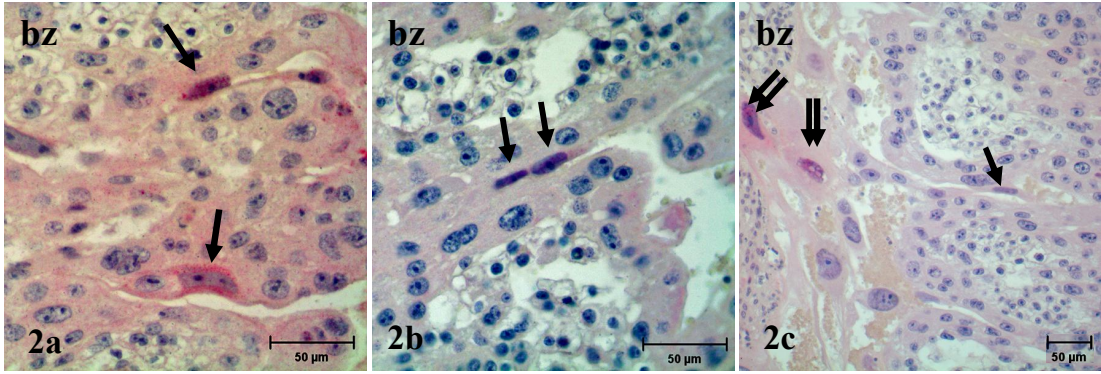
Gebeliğin 12. gününde kontrol grubuna ait sıçan plasentasında desidual hücrelerde ve dev hücrelerde yoğun fosfo-Akt ekspresyonu gözlenirken diğer hücrelerde ekspresyon gözlenmedi (Tablo 4.4.2.1., Şekil 4.4.2.1.a) Boyanmaların nükleer olduğu görüldü. IUGR ve diyabet grubuna ait plasentalarda kontrol grubuna benzer boyanmalar tespit edildi (Şekil 4.4.2.2.b, Şekil 4.4.2.3.c).





**Şekil 4.4.2.1a-c** 12. gün fosfo-Akt immün boyanmaları **a:** Kontrol grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 **b:** IUGR grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 **c:** Diyabet grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 , Dev hücreler ( çift oklar).

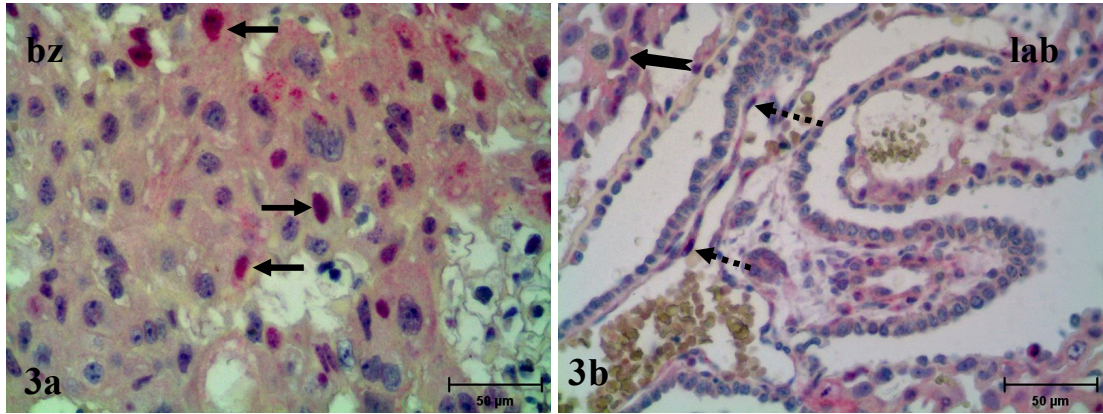
Gebeliğin 14. gününde kontrol grubu sıçan plasentasında dev hücrelerde ve spongiotrofoblastlarda yoğun fosfo-Akt ekspresyonu gözlemlendi (Tablo 4.4.2.1., Şekil 4.4.2.2.a). Desidual hücrelerde immün boyanma pozitif idi. Pariyetal endodermal hücrelerde ve fetal endotelde zayıf immün reaksiyon vardı (Tablo 4.4.2.1). IUGR grubu plasentalarda kontrol grubuna kıyasla spongiotrofoblastlarda fosfo-Akt ekspresyonu azalmıştı (Tablo 4.4.2.1., Şekil 4.4.2.2.b). Fetal endotelde zayıf boyanma gözlenirken labirint zonda diğer hücre gruplarında boyanma gözlenmedi. Diyabet grubu fosfo-Akt ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak azalmıştı. Dev hücrelerde boyanan hücre sayısı oldukça azdı ve spongiotrofoblastlarda boyanmalar zayıftı (Tablo 4.4.2.1., Şekil 4.4.2.2.c). Koryonik mezodermal hücrelerde ve fetal endotelde reaksiyon olduğu gözlemlendi.



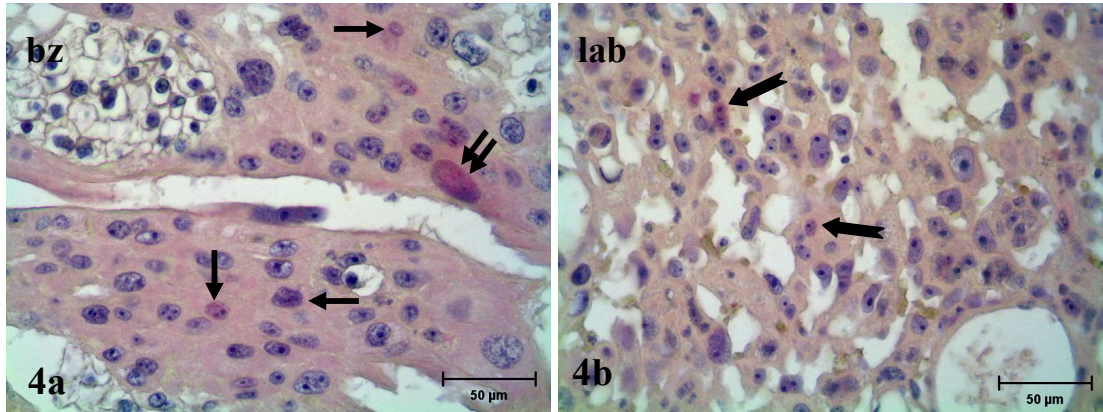
**Şekil 4.4.2.2a-c** 14. gün fosfo-Akt immün boyanmaları **a:** Kontrol grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 **b:** IUGR grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 **c:** Diyabet grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X20, Dev hücreler (çift oklar), spongiotrofoblastlar (tek oklar) (bz: bağlantı zonu)

Gelişimin 16. gününde kontrol grubunda (Tablo 4.4.2.1., Şekil 4.4.2.3a,b), dev hücreler, spongiotrofoblastlar, labirint trofoblastlar ve koryonik mezodermal hücrelerde fosfo-Akt ekspresyonu kuvvetli pozitif idi. Desidual hücre, fetal endotel ve pariyetal endodermal hücrelerde pozitif reaksiyon olduğu tespit edildi. Visseral endodermal hücrelerde ise reaksiyon zayıf pozitif idi. IUGR grubu plasentalarda

kontrol grubuna kıyasla fosfo Akt ekspresyonunda azalmalar olduğu izlendi. Spongiotrofoblastlarda, labirint trofoblastlarda, koryonik mezodermal hücrelerde ve fetal endotelde fosfo-Akt ekspresyonunun azaldığı gözlemlendi. Dev hücrelerde, desidial hücrelerde ve pariyetal hücrelerde kontrol grubu ile benzer boyanmalar vardı (Tablo 4.4.2.1, Şekil 4.4.2.4.a,b). Diyabet grubuna ait plasentalarda desidial hücrelerde, dev hücrelerde ve spongiotrofoblastlarda pozitif reaksiyon gözlenirken labirint zona ait hücrelerde fosfo-Akt ekspresyonu gözlenmedi (Tablo 4.4.2.1., Şekil 4.4.2.5a,b).

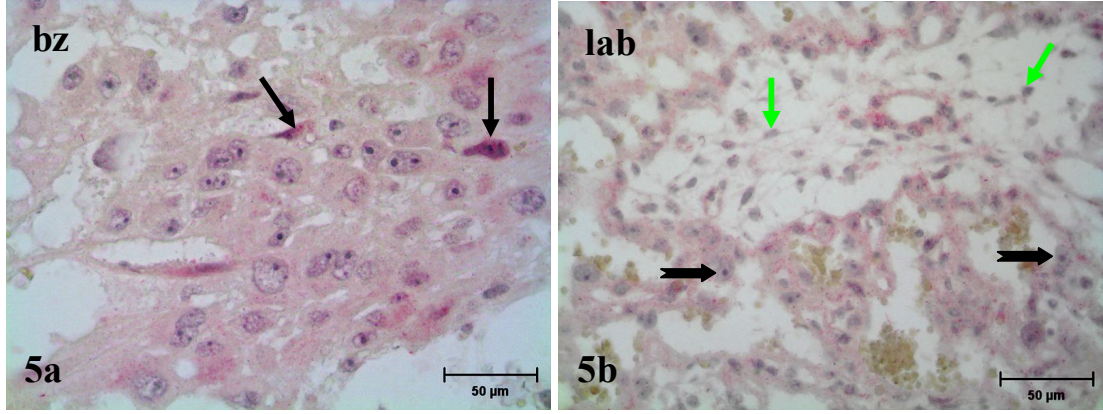


**Şekil 4.4.2.3a,b** 16. gün kontrol grubu fosfo-Akt immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **b**: Labirint trofoblastlar (kalın ok) ve fetal endotel (kesikli oklar) X40. ( bz: bağlantı zonu, lab: labirint)



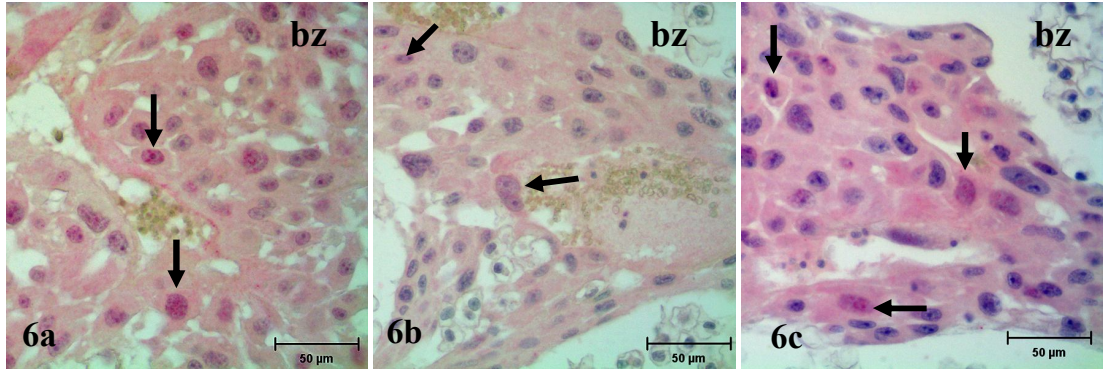
**Şekil 4.4.2.4a,b** 16. gün IUGR grubu fosfo-Akt immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (tek oklar), dev hücre (çift ok) X40 **b**: Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40. (bz: bağlantı zonu, lab: labirint)





**Şekil 4.4.2.5a,b** 16. gün diyabet grubu fosfo–Akt immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (tek oklar), X40 **b**: Labirint trofoblastlar (kalın oklar), koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar) X40. (bz: bağlantı zonu, lab: labirint)

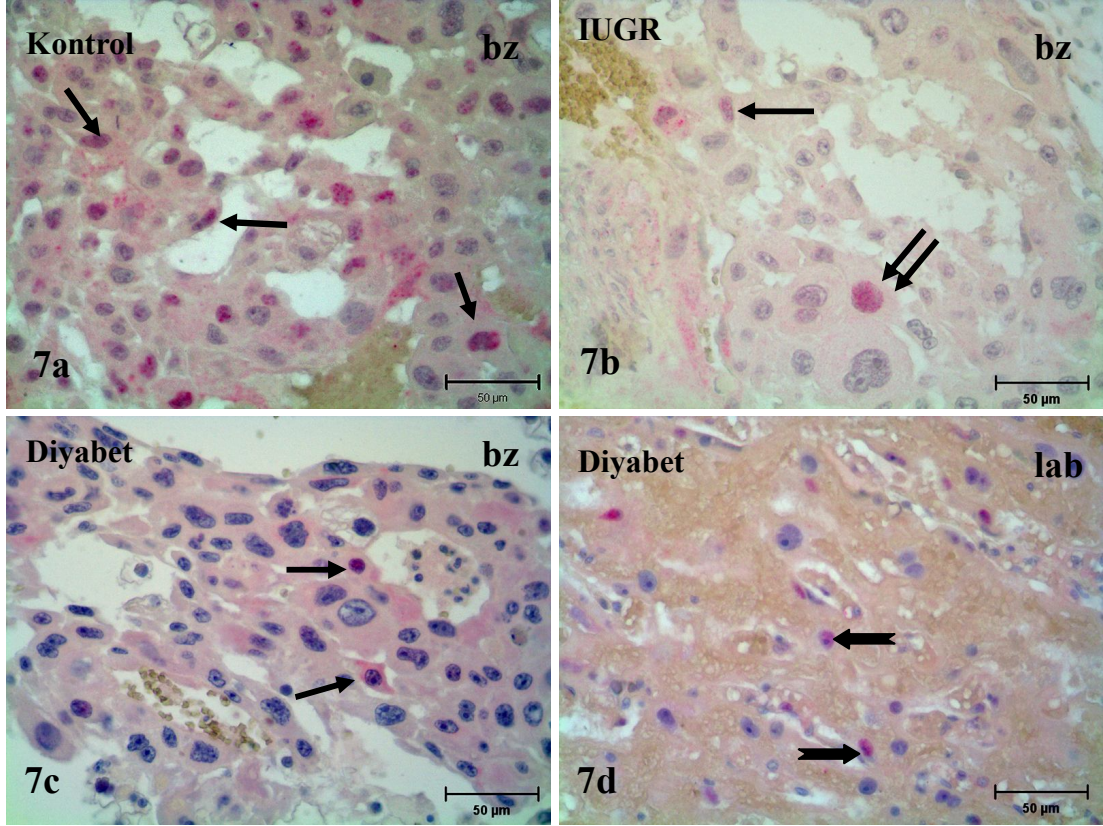
18. günde kontrol grubunda spongiotrofoblastların ve dev hücrelerin kuvvetli immünopozitif olduğu gözlemlendi (Tablo 4.4.2.1, Şekil 4.4.2.6a). Desidual hücreler, koryonik mezodermal hücreler ve fetal endotelde pozitif, labirint trofoblastlarda, pariyetal ve visseral endodermal hücrelerde zayıf pozitif fosfo-Akt ekspresyonu mevcuttu (Tablo 4.4.2.1). IUGR grubunda kontrol grubuna kıyasla belirgin bir azalma olduğu izlendi. Dev hücrelerde ve spongiotrofoblastlarda pozitif ekspresyon mevcutken diğer hücre türlerinde ekspresyon gözlenmedi (Tablo 4.4.2.1, Şekil 4.4.2.6b). Diyabet grubunda spongiotrofoblastlarda ve koryonik mezodermal hücrelerde ve fetal endotelde kontrol grubuna kıyasla fosfo-Akt ekspresyonunda azalma olduğu tespit edildi (Tablo 4.4.2.1, Şekil 4.4.2.6c.).



**Şekil 4.4.2.6a-c** 18. gün fosfo–Akt immün boyanmaları **a**: Kontrol grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 **b**: IUGR grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 **c**: Diyabet grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 , spongiotrofoblastlar (tek oklar), bz: bağlantı zonu.

Gebeliğin 20. gününde kontrol grubu sıçan plasentasında spongiotrofoblastlarda çok yoğun, dev hücrelerde yoğun fosfo-Akt ekspresyonunun olduğu tespit edildi ( Tablo 4.4.2.1, Şekil 4.4.2.7a). Labirint zonda fosfo-Akt boyanması gözlenmedi. IUGR grubunda kontrole kıyasla belirgin bir azalma vardı. Dev hücreler ve spongiotrofoblastlarda pozitif fosfo-Akt boyanmaları tespit edildi (Tablo 4.4.2.1, Şekil 4.4.2.7b). Kontrol grubu labirint tabakada olduğu gibi IUGR grubu labirint

tabakada da immün reaksiyon mevcut değildi. Diyabet grubunda da kontrol grubuna kıyasla fosfo-Akt ekspresyonunda azalma olduğu gözlemlendi. Spongiotrofoblastlar ve dev hücrelerde kuvvetli immüno pozitif reaksiyon vardı. Fetal endotel ve koryonik mezodermal hücrelerin immüno pozitif reaksiyon gösterdiği izlendi (Tablo 4.4.2.1, Şekil 4.4.2.7c,d).



**Şekil 4.4.2.7a-d** 20. gün fosfo-Akt immün boyanmaları **a**: Kontrol grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 **b**: IUGR grubu fosfo-Akt immün boyanmaları X40 **c,d**: Diyabet grubu fosfo-Akt immün boyanmaları, spongiotrofoblastlar (tek oklar), dev hücre (çift ok), labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40, bz: bağlantı zonu, lab: labirint.

#### 4.4.3. ERK 1/2 İmmün Boyanmaları

Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait ERK1/2 immüno boyanma yoğunlukları semikantitatif olarak değerlendirildi ve Tablo 4.4.3.1’de gösterildi.

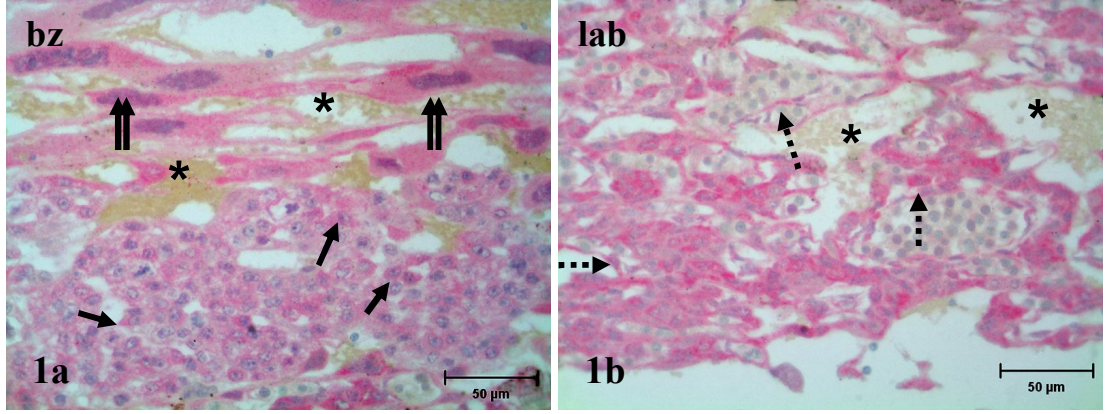
**Tablo 4.4.3.1.** Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait sıçan plasentalarında ERK1/2 immüno boyanmasının hüresel dağılımı

Gebelik günleri	Des. H.	Dev H.	S.T.	Gli.H.	M.E.H	L.D.H	L.T.	P.E. H	V.E.H	K.M.H	F.E.H
Kontrol 20	+++	+++	+++	+/-	++	++	+++	+	+++	++	++
IUGR 20	+++	+++	+++	+/-	++	++	+++	+	+++	++	++
Diyabet 20	+++	+++	+++	+	++	++	+++	+	+++	++	++
Kontrol 18	+++	+++	+++	+/-	++	++	+++	++	+++	++	+++
IUGR 18	+++	+++	+++	+/-	++	++	+++	++	+++	++	+++
Diyabet 18	+++	+++	+++	+/-	++	++	+++	++	+++	++	+++
Kontrol 16	+++	+++	+++	+/-	++	++	+++	++	+++	+	+++
IUGR 16	+++	+++	+++	-	+/-	++	+++	++	+++	+	+++
Diyabet 16	+++	+++	+++	+/-	++	++	+++	++	+++	+	+++
Kontrol 14	+++	+++	+++	+/-	+	++	+++	+++	+++	++	+++
IUGR 14	+++	+++	+++	+/-	+/-	+	++	+	+++	+	+++
Diyabet 14	+++	+++	+++	+/-	++	++	+++	++	+++	++	+++
Kontrol 12	+++	+++	++	0	+	0	+++	++	++	0	+++
IUGR 12	+++	++	++	0	+/-	0	+++	++	++	0	+++
Diyabet 12	++	++	++	0	+	0	+++	++	++	0	++

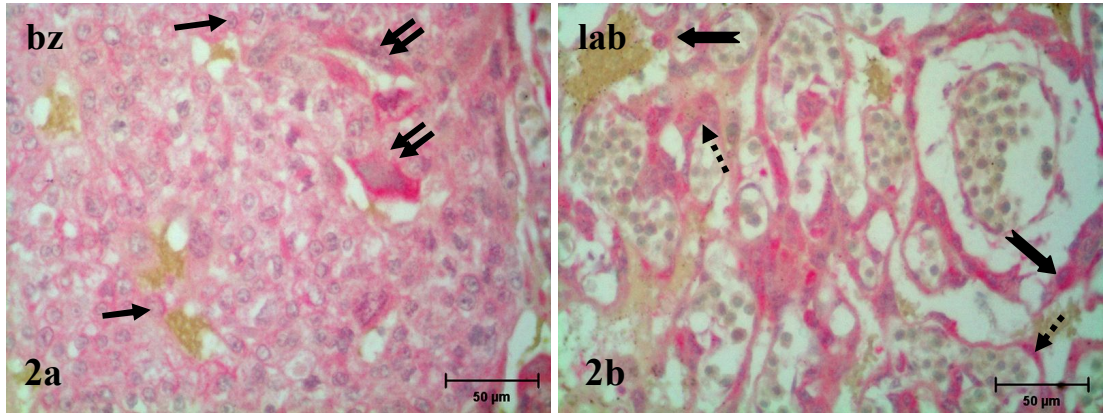
Des. H.: Desidual Hücre, Dev. H.: Dev Hücre, F.E.T.: Fetal Endotelial Hücre, Gli.H.: Glikojenik Hücre, K.M.H.: Koryonik Mezodermal Hücre, L.D.H.: Labirint Dev Hücre, L.T.: Labirint Trofoblast, M.E.H.: Maternal Endotelial Hücre, P.E.H.: Pariyetal Endodermal Hücre, S.T.: Spongiotrofoblast, V.E.H.: Visseral Endodermal Hücre. (-): Negatif, (+/-): Zayıf pozitif, (+): Pozitif, (++) : Kuvvetli pozitif, (+++): Çok kuvvetli pozitif, (0): Hücreler mevcut değil.

Gebeliğin 12. gününde kontrol grubuna ait sıçan plasentasında desidual hücrelerde, dev hücrelerde, labirint trofoblastlarda ve fetal endotelde ERK1/2 boyanmalarının çok kuvvetli pozitif olduğu gözlemlendi. Pariyetal endodermal hücrelerde ve visseral endodermal hücrelerde kuvvetli pozitif reaksiyon gözlenirken, maternal endotelde pozitif immün boyanmalar tespit edildi (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.1a,b). Boyanmalar sitoplazmik ve nükleerdi. IUGR grubu sıçan plasentasında dev hücrelerde ve maternal endotelial hücrelerde kontrol grubuna kıyasla boyanan hücre sayısı ve boyanma şiddeti dikkate alındığında ERK1/2 ekspresyonunda azalma olduğu tespit edildi. Diğer hücre gruplarında kontrol ile benzer boyanmalar vardı (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.2a,b). Diyabet grubunda desidual hücrelerde, dev hücrelerde, labirint trofoblastlarda ve fetal endotelde ERK1/2 ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla azaldığı belirlendi (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.3a,b).

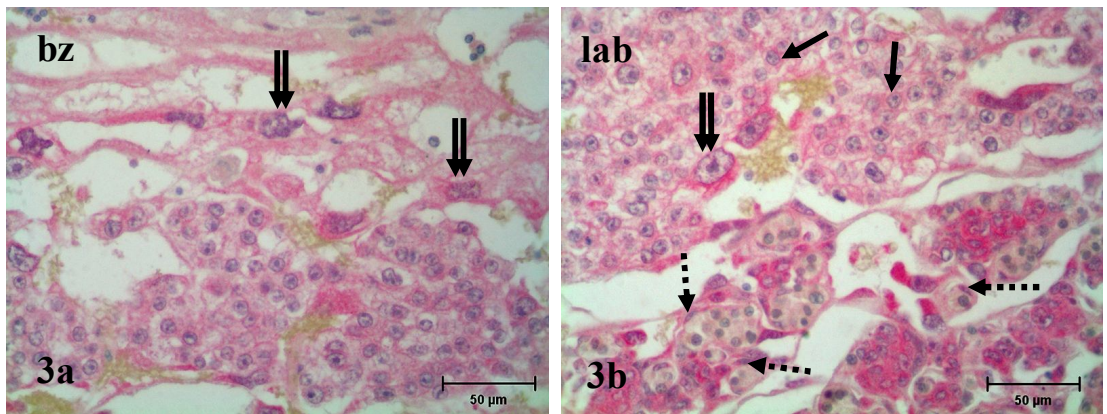




**Şekil 4.4.3.1a,b** 12. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar), spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **b**: Fetal endotel (kesikli oklar) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint, X40. \*: maternal kan )

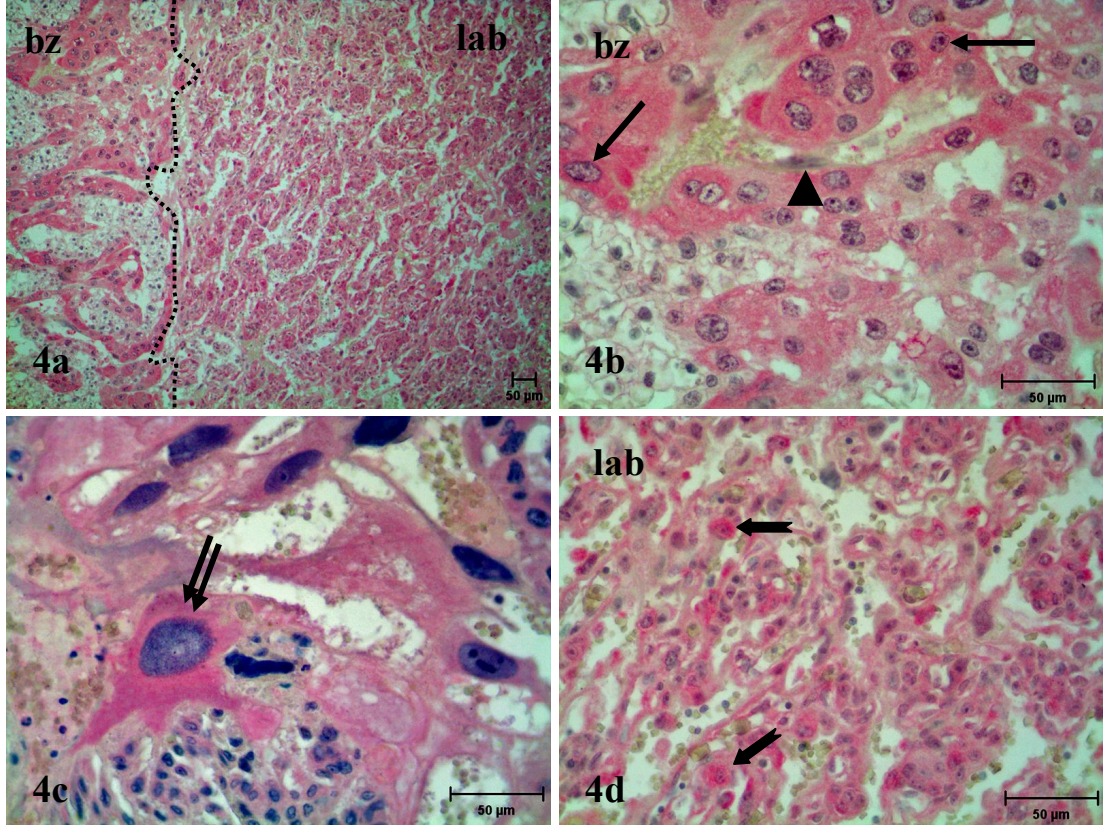


**Şekil 4.4.3.2a,b** 12. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar), spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **b**: Labirint trofoblastlar (kalın oklar), fetal endotel (kesikli oklar) X40. (bz: bağlantı zonu, lab: labirint, X40. \*: maternal kan )



**Şekil 4.4.3.3a,b** 12. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar) X40 **b**: Dev hücreler (çift ok), spongiotrofoblastlar (tek oklar), fetal endotel (kesikli oklar) X40. (bz: bağlantı zonu, lab: labirint, X40. \*: maternal kan )

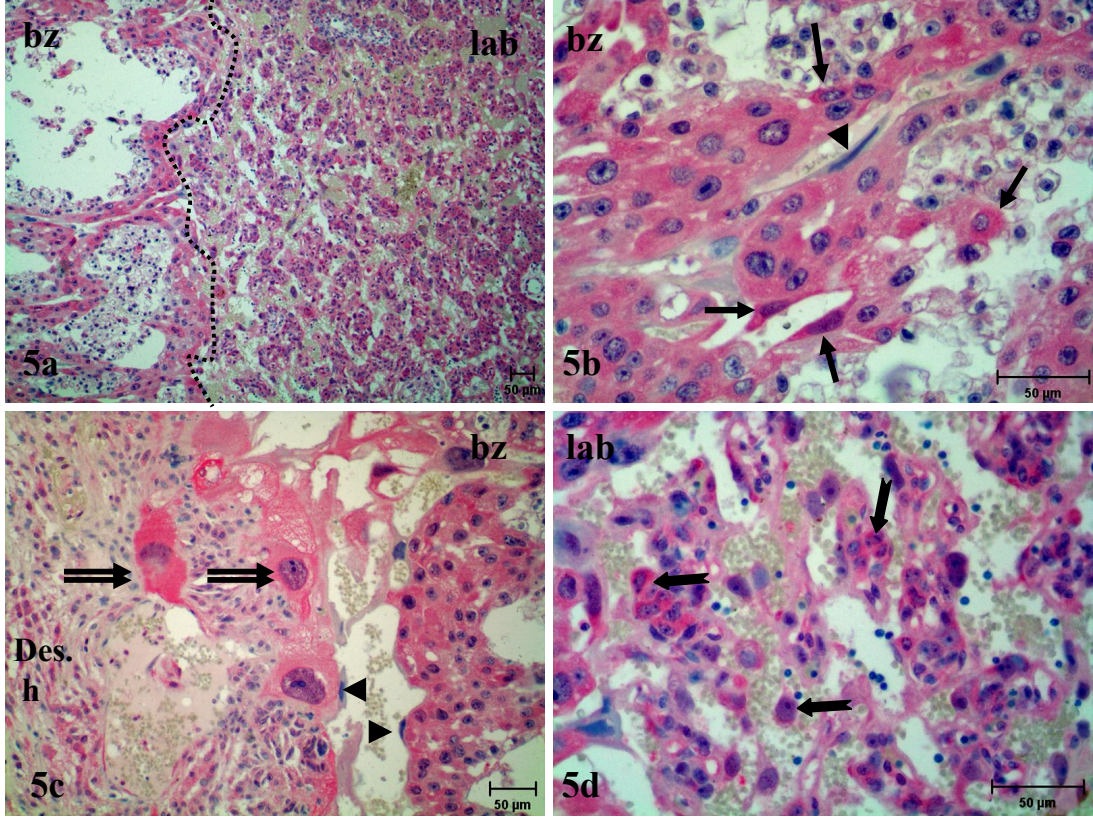
14. günde kontrol grubu sıçan plasentasında ERK1/2 ekspresyonunun desidual hücrelerde, dev hücrelerde, spongiotroblastlarda, labirint trofoblastlarda, pariyetal endodermal hücrelerde, visseral endodermal hücrelerde ve fetal endotelde çok kuvvetli pozitif olduğu gözlemlendi. Koryonik mezodermal hücrelerde ve labirint dev hücrelerde kuvvetli pozitif olan immün reaksiyon maternal endotelde pozitif, glikojenik hücrelerde zayıf pozitif idi (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.4a-d).



**Şekil 4.4.3.4a-d** 14. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b**: Spongiotroblastlar (tek oklar), maternal endotel (ok başı) X40 **c**: Dev hücreler (çift ok) X40 **d**: Labirint trofoblastlar (kalm oklar) X40.

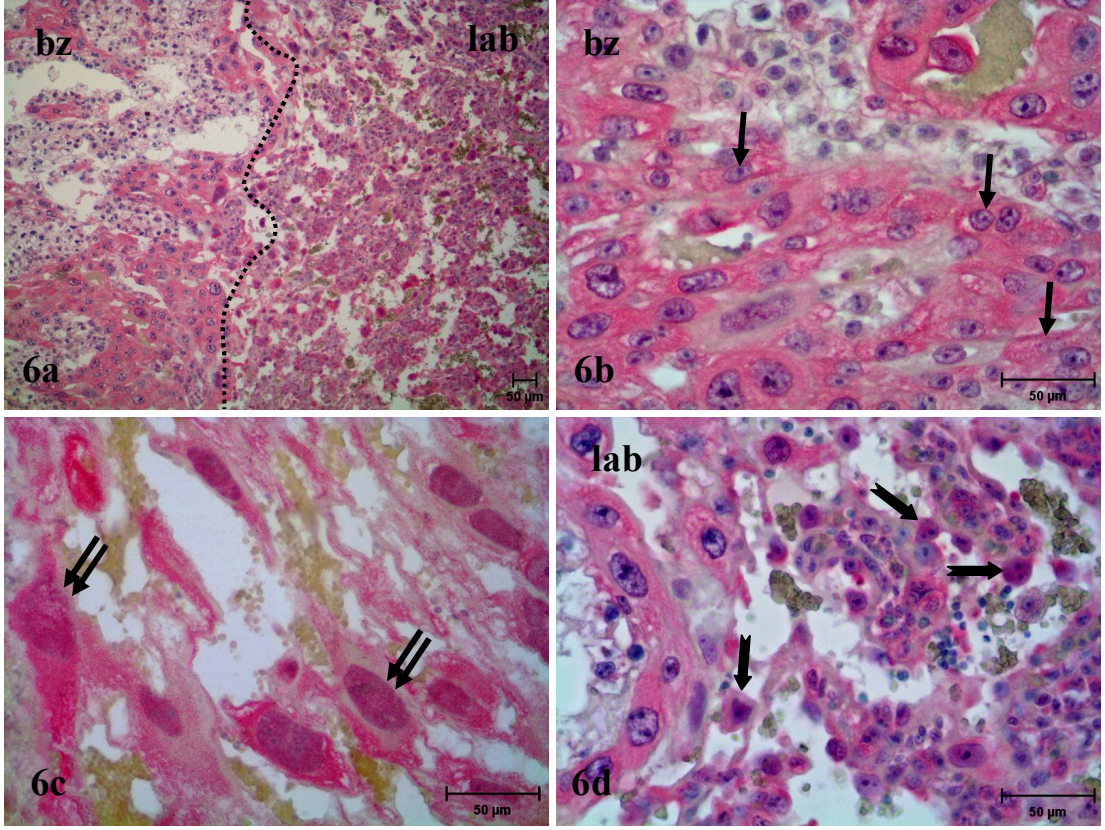


14. gün IUGR grubunda maternal endotelde ERK1/2 boyanmasının zayıf pozitif olduğu, çoğu maternal endotel hücresinin boyanmadığı izlendi. Fetal endotel ve visseral endodermal hücreler dışında diğer labirint zon hücrelerinde IUGR grubunda kontrole kıyasla ERK1/2 boyanmasında azalma vardı (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.5a-d). Diyabet grubunda kontrol grubuna benzer boyanmalar tespit edildi (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.6a-d).



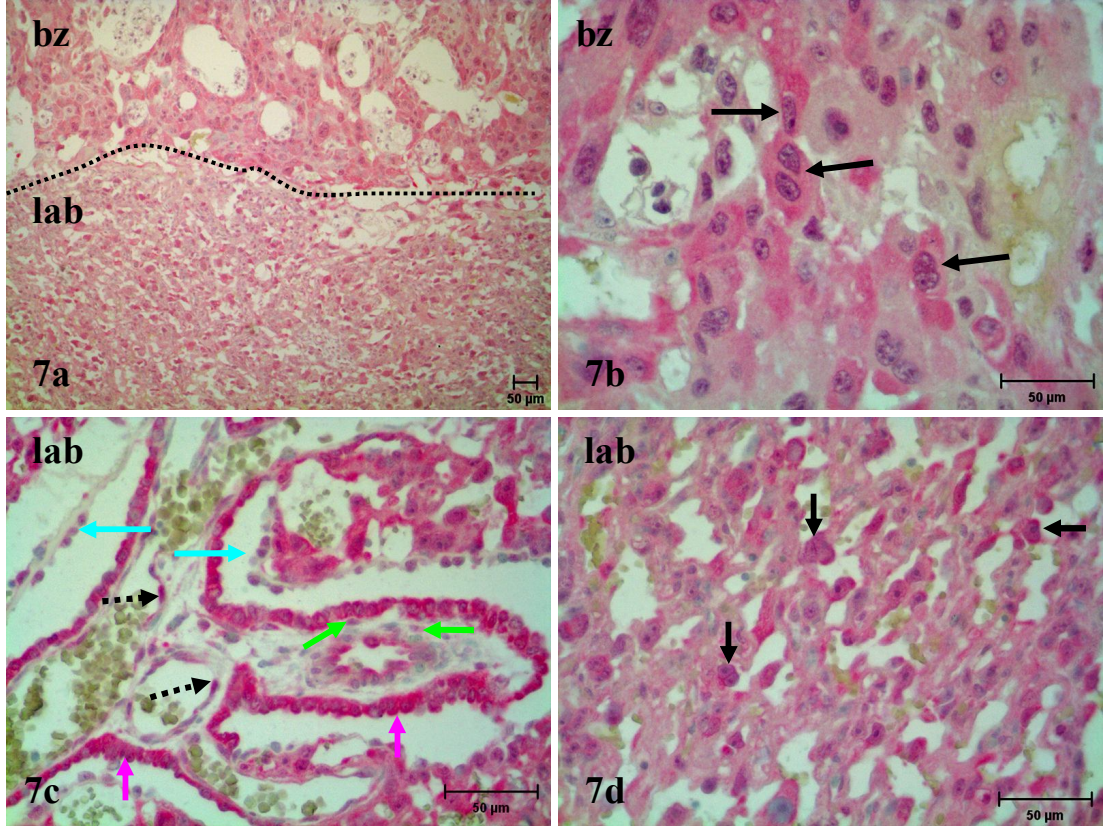
**Şekil 4.4.3.5a-d** 14. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b**: Spongiotroblastlar (tek oklar), maternal endotel (ok başı) X40 **c**: Dev hücreler (çift oklar), maternal endotel (ok başları) X20 **d**: Labirint troblastlar (kalın oklar) X40 (Des h: desidual hücre).





**Şekil 4.4.3.6a-d** 14. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b:** Spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c:** Dev hücreler (çift oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40

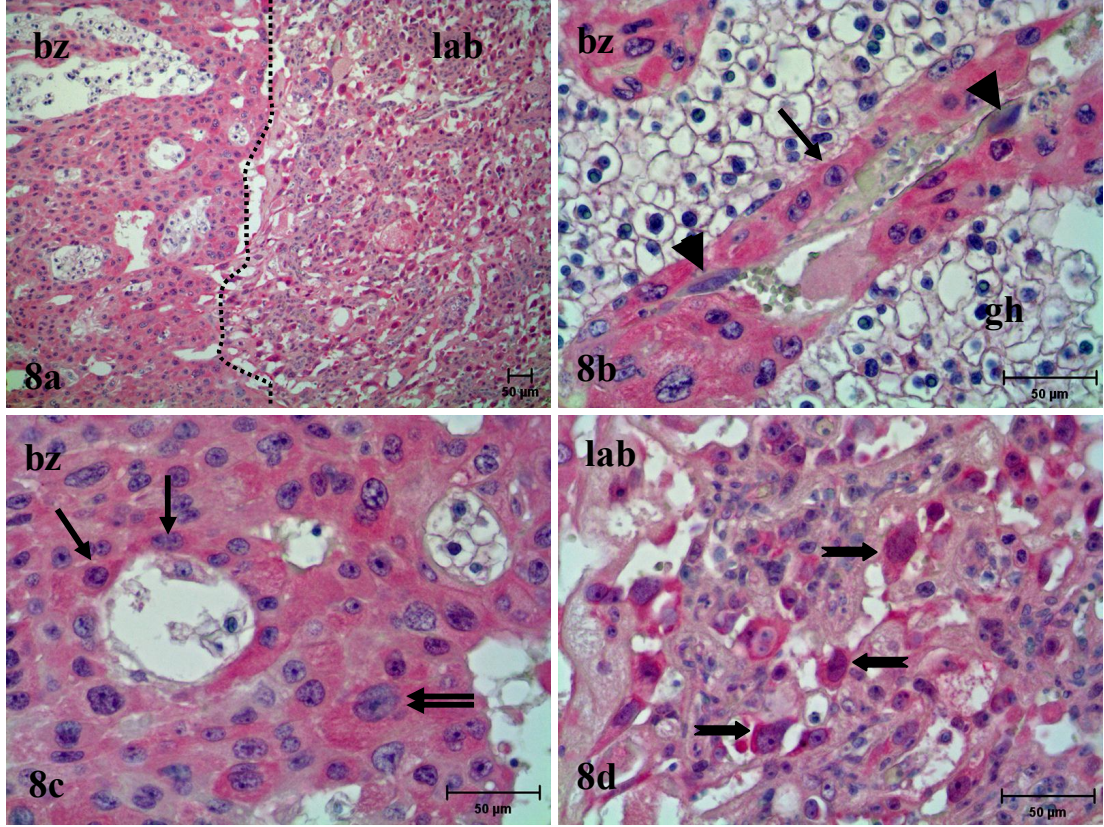
Gebeliğin 16. gününde ERK1/2 ekspresyonunun desidual hücrelerde, dev hücrelerde, spongiotrofoblastlarda, labirint trofoblastlarda, visseral endodermal hücrelerde ve fetal endotelde çok kuvvetli pozitif olduğu gözlemlendi. Maternal endotelde, pariyetal endodermal hücrelerde ve labirint dev hücrelerde kuvvetli pozitif olan ERK1/2 ekspresyonu koryonik mezodermal hücrelerde pozitif, glikojenik hücrelerde zayıf pozitif idi (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.7a-d).



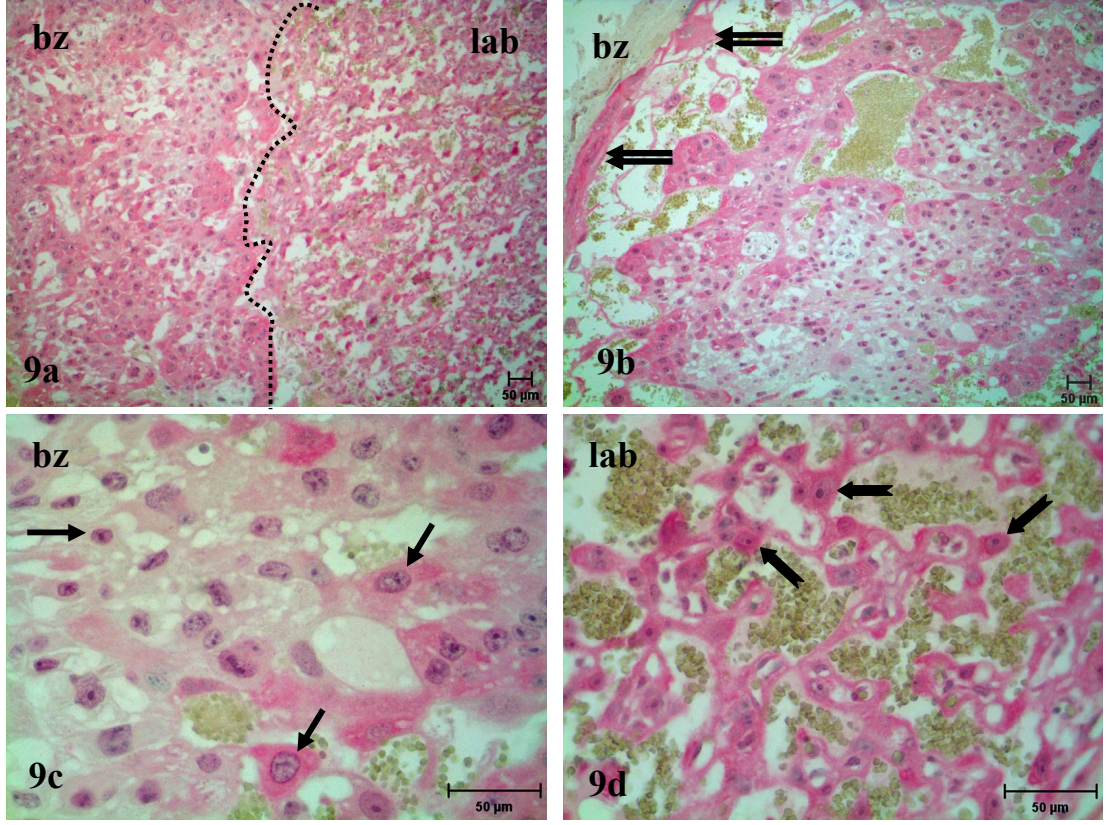
**Şekil 4.4.3.7a-d** 16. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b:** Spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c:** Koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar), fetal endotel (kesikli oklar), visseral endodermal hücreler (pembe oklar), pariyetal endodermal hücreler (mavi oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40.



16. gün IUGR grubunda maternal endotelde ERK1/2 boyanmasının zayıf pozitif olduğu gözlemlendi (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.8a-d). Diyabet grubundaki boyanmalar kontrol grubuna benzemektedir (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.9a-d).



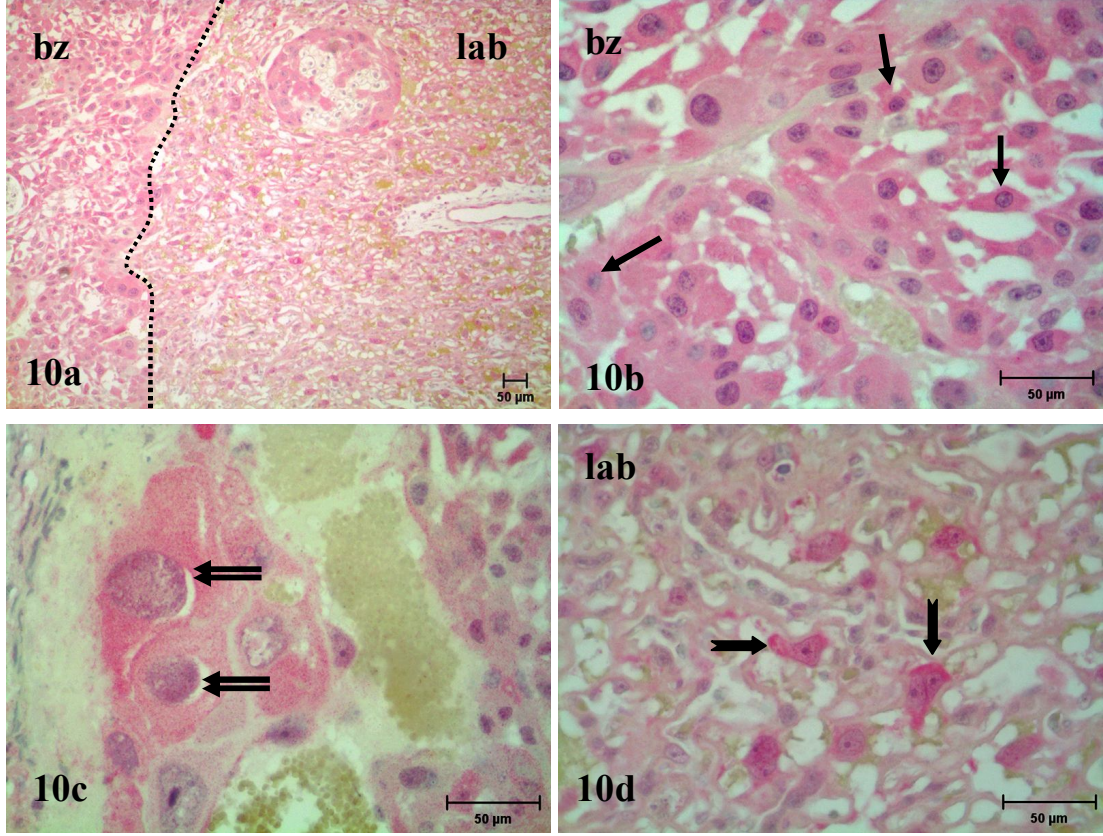
**Şekil 4.4.3.8a-d** 16. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonunda (bz) ve labirinte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b:** Spongiotrofoblastlar (tek ok), maternal endotel (ok başları) X40 **c:** Dev hücreler (çift ok), spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalmın oklar) X40 (gh: glikojenik hücre).



**Şekil 4.4.3.9a-d** 16. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b:** Dev hücreler (çift oklar) X10 **c:** Spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40.



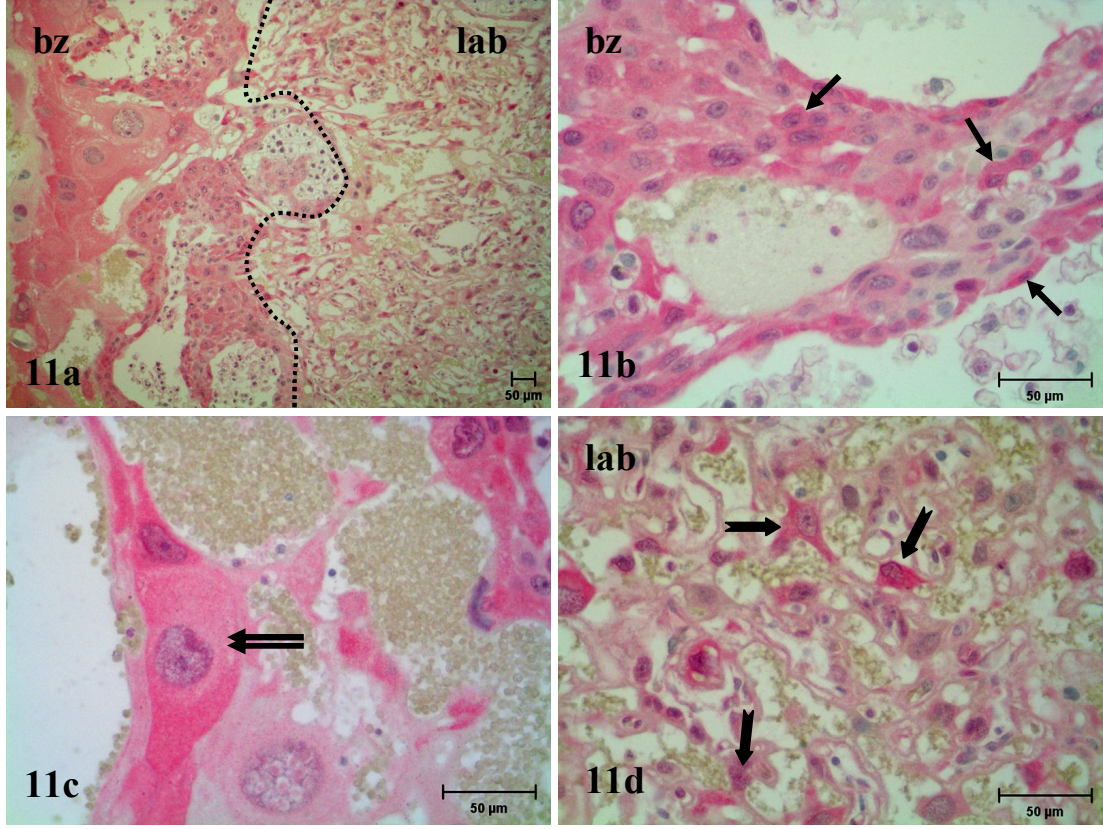
Gelişimin 18. gününde kontrol grubu ERK1/2 ekspresyonunun 16. gün kontrol grubunda olduğu gibi desidual hücreler, dev hücreler, spongiotrofoblastlar, labirint trofoblastlar, visseral endodermal hücreler ve fetal endotelde çok kuvvetli pozitif olduğu izlendi. Maternal endotelde, labirint dev hücrelerde, pariyetal endodermal ve koryonik mezodermal hücrelerde immün reaksiyon kuvvetli pozitif idi (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.10a-d).



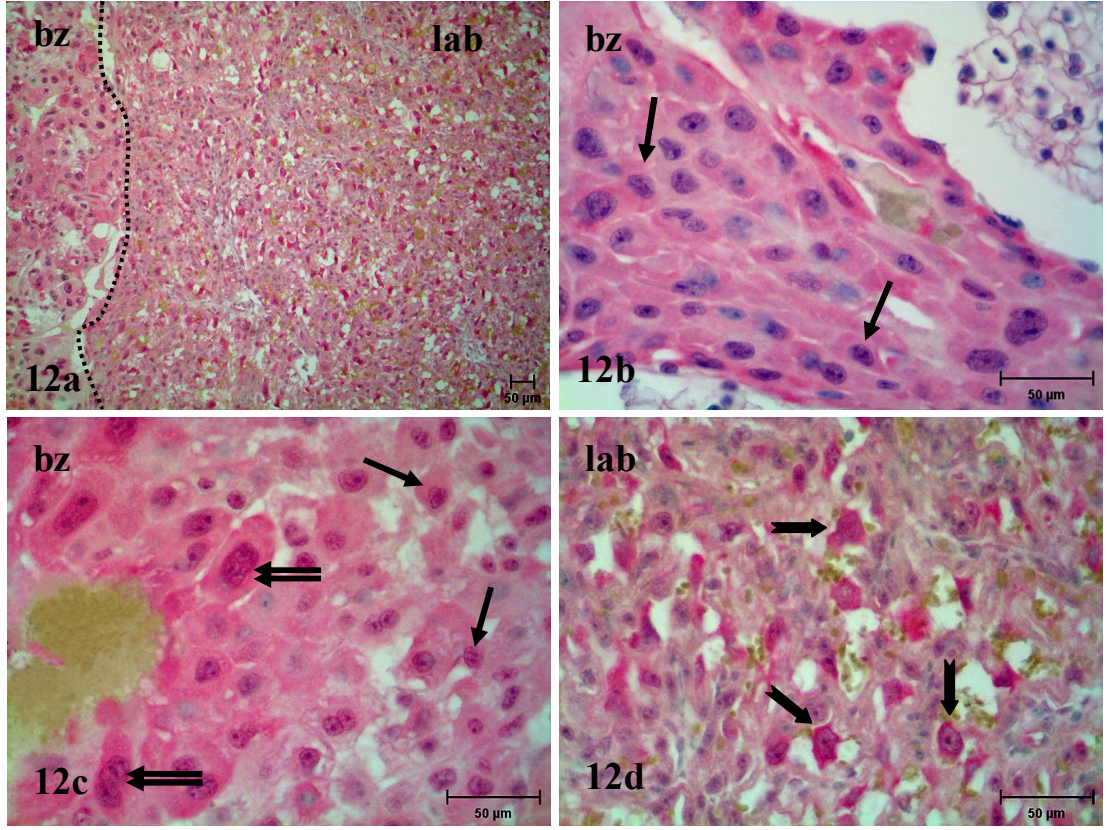
Şekil 4.4.3.10a-d18. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b:** Spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c:** Dev hücreler (çift oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40.



18. gün IUGR grubunda (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.11a-d) ve diyabet grubunda (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.12a-d) kontrol grubuna benzer boyanmalar gözlemlendi.



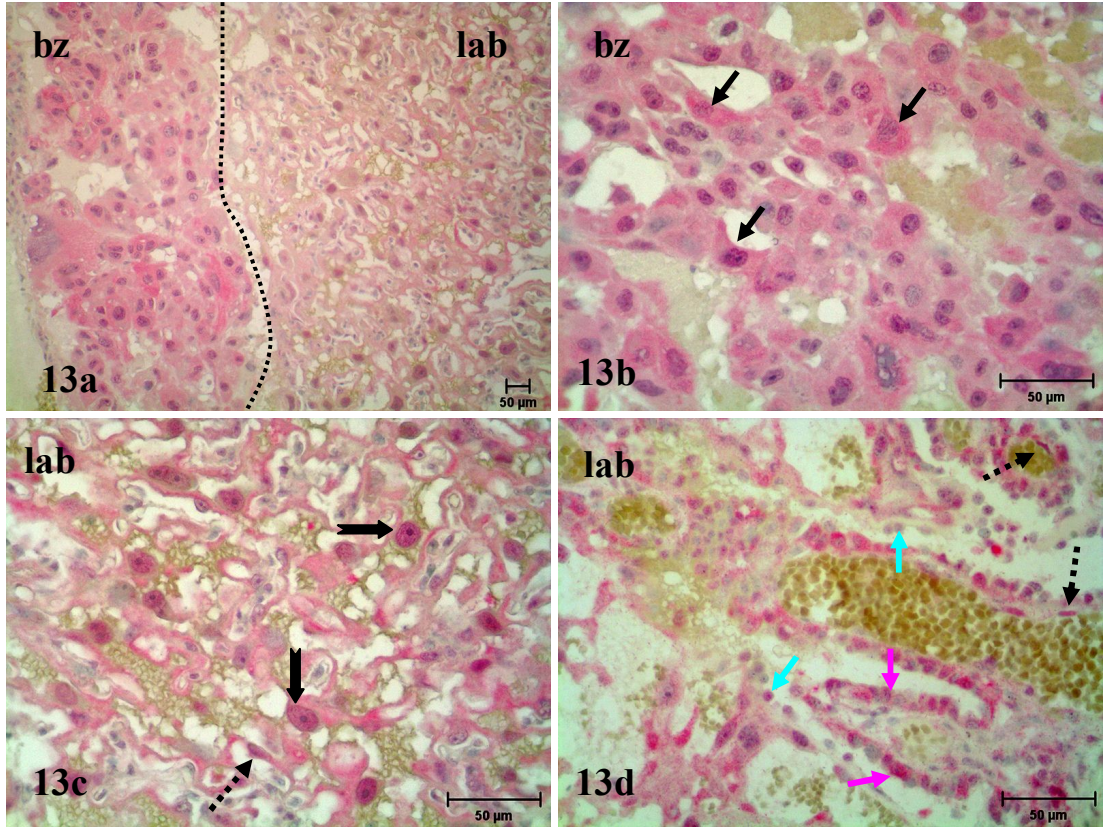
Şekil 4.4.3.11a-d 18. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b**: Spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c**: Dev hücreler (çift ok) X40 **d**: Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40.



**Şekil 4.4.3.12a-d** 18. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b:** Spongiotroblastlar (tek oklar) X40 **c:** Dev hücreler (çift oklar) ve spongiotroblastlar (tek oklar) X40 **d:** Labirint troblastlar (kalın oklar) X40

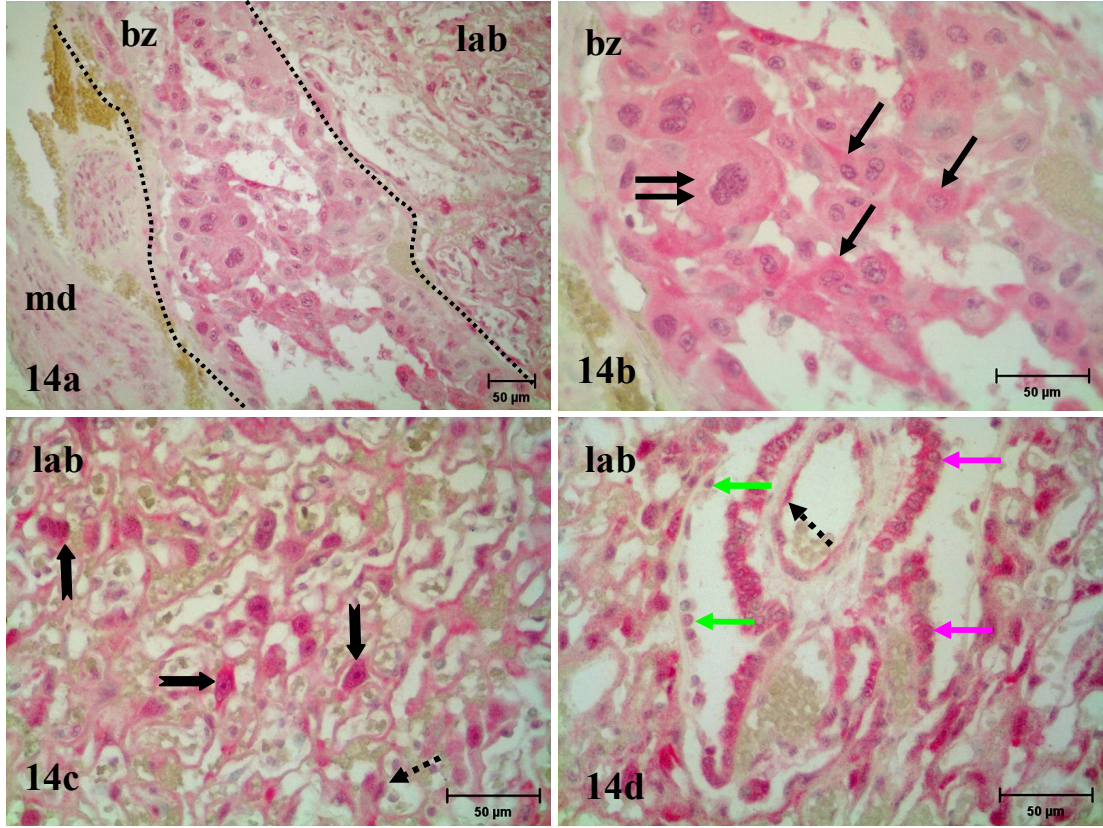


20. gün kontrol grubu ERK1/2 ekspresyonunun desidual hücreler, dev hücreler, spongiotrofoblastlar, labirint trofoblastlar ve visseral endodermal hücrelerde çok kuvvetli pozitif olduğu, maternal endotelde, labirint dev hücrelerde, koryonik mezodermal hücrelerde ve fetal endotelde kuvvetli pozitif olduğu belirlendi (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.13a-d).



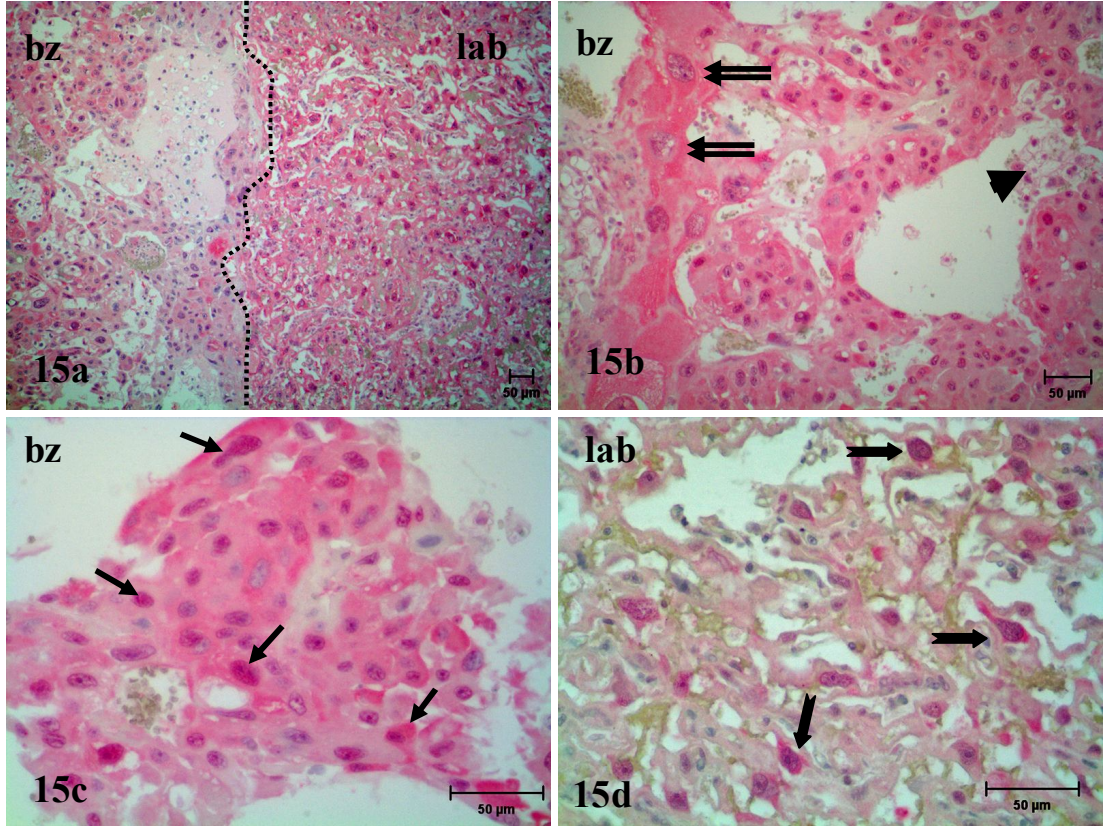
**Şekil 4.4.3.13a-d** 20. gün kontrol grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b:** Spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **c:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) ve fetal endotel (kesikli ok) X40 **d:** Visseral endodermal hücreler (pembe oklar), pariyetal endodermal hücreler (mavi oklar) ve fetal endotel (kesikli oklar) X40.

IUGR ve diyabet grubu sıçan plasentasında ERK1/2 immün boyanmaları kontrol grubuna benzerdi (Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.14a-d, Tablo 4.4.3.1, Şekil 4.4.3.15a-d).



Şekil 4.4.3.14a-d 20. gün IUGR grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b**: Spongiotrofoblastlar (tek oklar) ve dev hücreler (çift ok) X40 **c**: Labirint trofoblastlar (kalın oklar) ve fetal endotel (kesikli ok) X40 **d**: Visseral endodermal hücreler (pembe oklar), pariyetal endodermal hücreler (mavi oklar) ve fetal endotel (kesikli ok) X40 (md: maternal desidua)





**Şekil 4.4.3.15a-d** 20. gün diyabet grubu ERK1/2 immün boyanmaları **a:** Bağlantı zonunda (bz) ve labirintte (lab) ERK1/2 immün boyanmaları X10 **b:** Dev hücreler (çift oklar) ve glikojenik hücreler (ok başı) X20 **c:** Spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **d:** Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40.

#### 4.4.4. Fosfo- ERK1/2 İmmün Boyanmaları

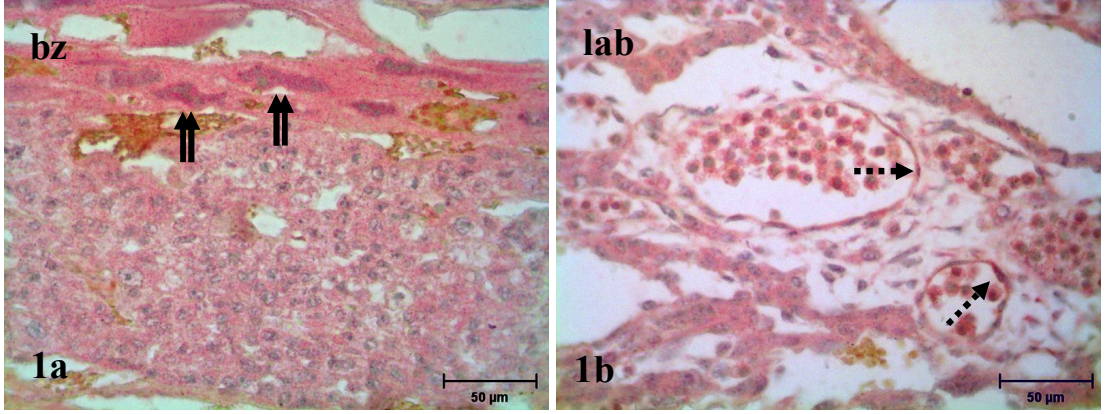
Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait fosfo-ERK1/2 immüno boyanma yoğunlukları semikantitatif olarak değerlendirildi ve Tablo 4.4.4.1’de gösterildi.

**Tablo 4.4.4.1.** Kontrol, IUGR ve diyabet gruplarına ait sıçan plasentalarında fosfo-ERK1/2 immüno boyanmasının hüresel dağılımı

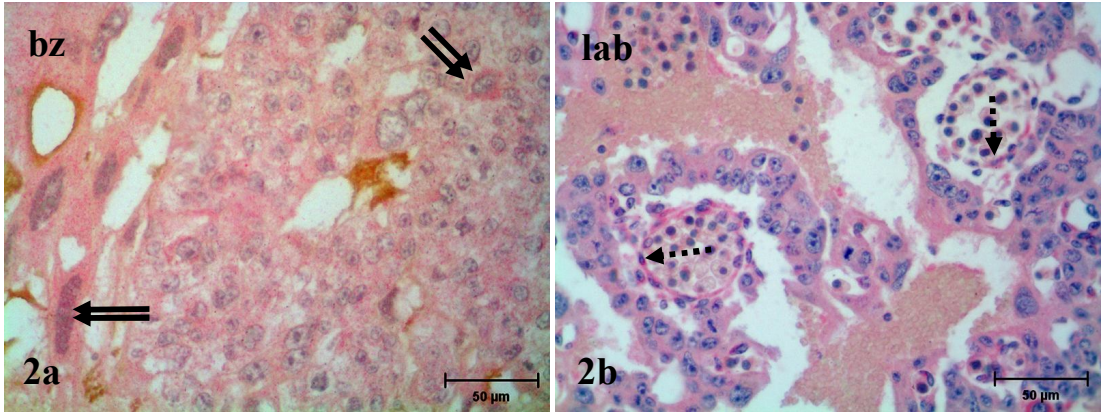
Gebelik günleri	Des. H.	Dev H.	S.T.	Gli. H.	M.E. H.	L.D.H.	L.T.	P.E.H.	V.E.H.	K.M.H.	F.E.H.
Kontrol 20	+++	+++	+++	-	+/-	-	+/-	+/-	+/-	+++	+++
IUGR 20	+++	++	++	-	-	-	-	-	-	+/-	+
Diyabet 20	+++	+++	+++	-	+	-	+	++	++	++	+++
Kontrol 18	+++	++	++	-	+/-	-	+/-	-	-	++	+++
IUGR 18	+++	++	++	-	-	-	-	-	-	+/-	++
Diyabet 18	+++	+++	+++	-	+/-	+	+	+	++	+	++
Kontrol 16	+++	+++	+++	-	+/-	-	+	+/-	+/-	++	+++
IUGR 16	+++	+++	+++	-	-	+	++	++	++	++	++
Diyabet 16	+++	+++	+++	-	+	-	+	+	++	++	+++
Kontrol 14	+++	+++	++	-	+/-	-	+/-	+	++	++	+++
IUGR 14	++	+++	++	-	-	-	+/-	+	0	+/-	+++
Diyabet 14	+++	+++	++	-	+/-	-	+	+/-	+/-	+	+++
Kontrol 12	++	++	+/-	0	+/-	0	-	-	-	0	++
IUGR 12	++	++	+/-	0	-	0	-	-	-	0	++
Diyabet 12	++	++	+/-	0	+/-	0	-	-	-	0	++

Des. H.: Desidual Hücre, Dev. H.: Dev Hücre, F.E.T.: Fetal Endotelial Hücre, Gli.H.: Glikojenik Hücre, K.M.H.: Koryonik Mezodermal Hücre, L.D.H.: Labirint Dev Hücre, L.T.: Labirint Trofoblast, M.E.H.: Maternal Endotelial Hücre, P.E.H.: Parietal Endodermal Hücre, S.T.: Spongiotrofoblast, V.E.H.: Visseral Endodermal Hücre. (-): Negatif, (+/-): Zayıf pozitif, (+): Pozitif, (++) : Kuvvetli pozitif, (+++): Çok kuvvetli pozitif, (0): Hücreler mevcut değil.

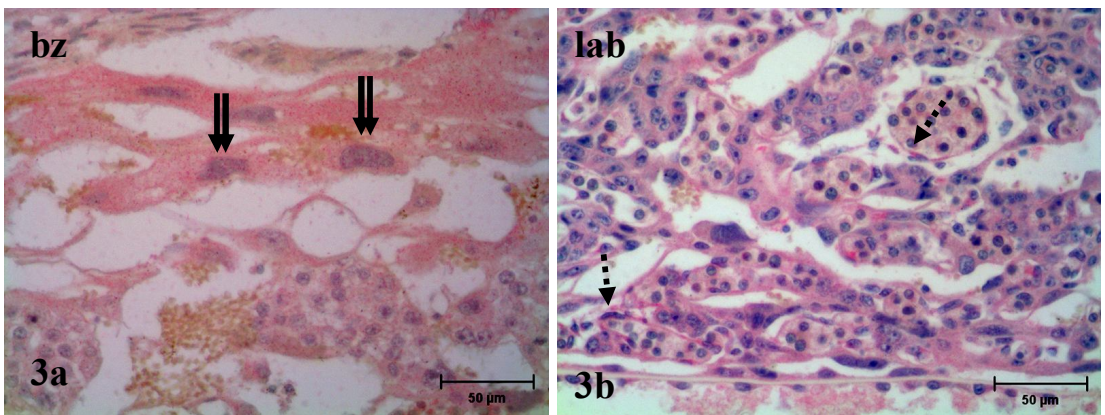
Gebeliğin 12. gününde kontrol grubu sıçan plasentasında fosfo- ERK1/2 ekspresyonunun desidual hücreler, dev hücreler ve fetal endotelde kuvvetli pozitif olduğu gözlemlendi. Spongiotrofoblastlarda ve maternal endotelde zayıf pozitif reaksiyon vardı (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.1.a,b). IUGR ve diyabet gruplarında kontrol grubuna benzer boyanmalar tespit edildi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.2a,b, Şekil 4.4.4.3.a,b). Boyanmalar sitoplazmik ve nükleerdi.



**Şekil 4.4.4.1a,b** 12. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immüno pozitif boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar) X40 **b**: Fetal endotel hücresi (kesikli oklar) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint)



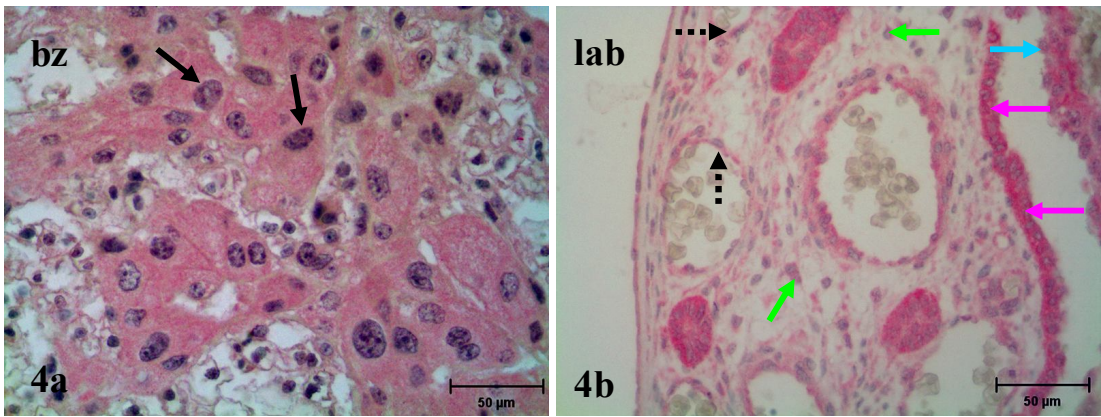
**Şekil 4.4.4.2a,b** 12. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immüno pozitif boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar) X40 **b**: Fetal endotel hücresi (kesikli oklar) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint)



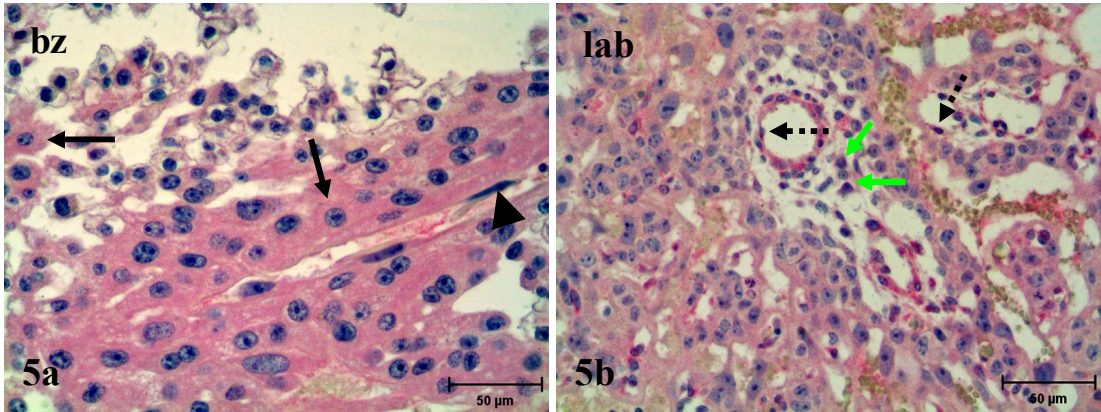
**Şekil 4.4.4.3a,b** 12. gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immüno pozitif boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar) X40 **b**: Fetal endotel hücresi (kesikli oklar) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint)



Gebeliğin 14. gününde kontrol grubunda desidual hücreler, dev hücreler ve fetal endotelde çok kuvvetli pozitif fosfo-ERK1/2 ekspresyonu olduğu izlendi. Spongiotrofoblastlarda, visseral endodermal hücrelerde ve koryonik mezodermal hücrelerde kuvvetli immün pozitif reaksiyon vardı. Pariyetal endodermal hücrelerde pozitif, maternal endotelial hücrelerde ve labirint trofoblastlarda zayıf immün pozitif reaksiyon olduğu belirlendi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.4a,b). IUGR grubunda maternal endotelial hücrelerde ve koryonik mezodermal hücrelerde kontrol grubuna kıyasla fosfo-ERK1/2 ekspresyonunda azalma vardı (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.5a,b). Diyabet grubunda bağlantı zonunda kontrol grubu ile benzer boyanmalar gözlenirken pariyetal endodermal, visseral endodermal ve koryonik mezodermal hücrelerde kontrole kıyasla fosfo-ERK1/2 ekspresyonunda azalma olduğu tespit edildi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.6a,b).

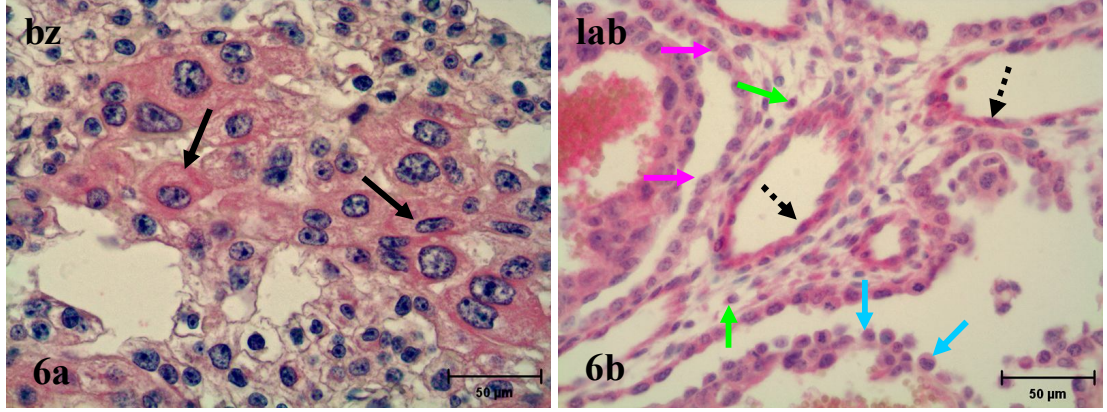


**Şekil 4.4.4.4a,b** 14. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **b**: Fetal endotel (kesikli oklar), koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar), visseral endodermal hücreler (pembe oklar), pariyetal endodermal hücreler (mavi ok) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint).



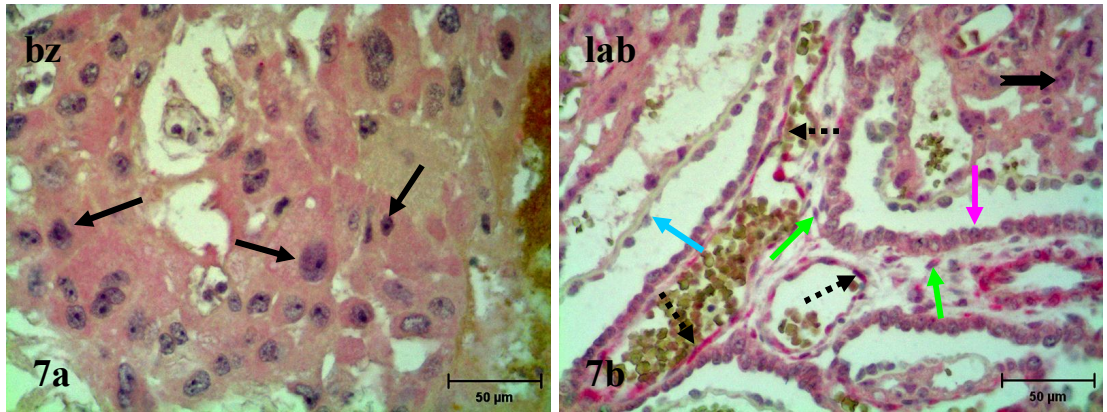
**Şekil 4.4.4.5a,b** 14. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (oklar), maternal endotel (ok başı) X40 **b**: Fetal endotel (kesikli oklar), koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint).



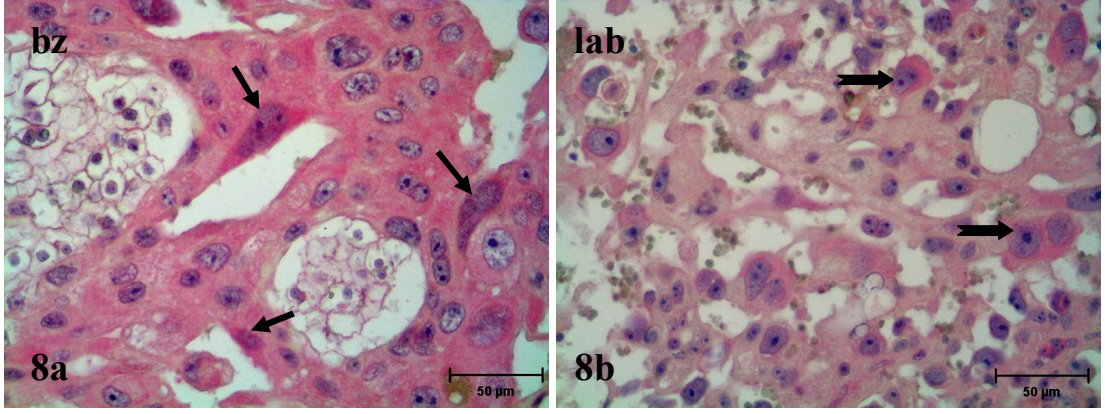


**Şekil 4.4.4.6a,b** 14. gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **b**: Fetal endotel (kesikli oklar), koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar), visseral endodermal hücreler (pembe oklar), pariyetal endodermal hücreler (mavi oklar) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint).

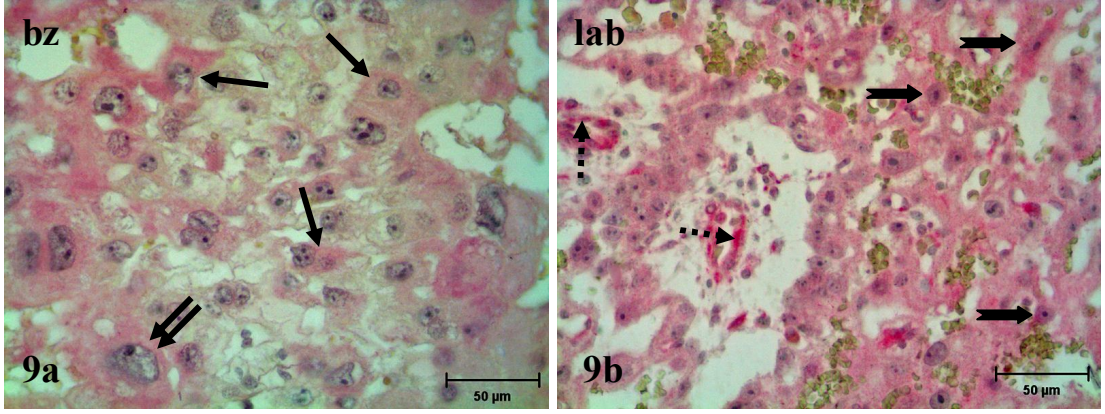
16. günde desidual hücreler, dev hücreler, spongiotrofoblastlar ve fetal endotelde çok kuvvetli pozitif, koryonik mezodermal hücrelerde kuvvetli immün pozitif fosfo-ERK1/2 reaksiyonu olduğu tespit edildi. Maternal endotelde, labirint trofoblastlarda, visseral ve pariyetal endodermal hücrelerde immün reaksiyon zayıf pozitif idi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.7a,b). IUGR grubu bağlantı zonu hücrelerinde kontrol grubuna benzer şiddette boyanma olduğu tespit edilse de boyanan hücre sayısı daha fazla idi. Bununla birlikte IUGR grubu labirint dev hücrelerinde, labirint trofoblastlarda, pariyetal ve visseral endoermal hücrelerde kontrol grubuna kıyasla fosfo-ERK1/2 ekspresyonunda belirgin bir artış vardı (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.8a,b). Diyabet grubunda maternal endotelde ve labirint trofoblastlarda kontrol grubuna oranla fosfo-ERK1/2 immün boyanmasının daha yoğun ve boyanan hücre sayısının daha fazla olduğu gözlemlendi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.9a,b).



**Şekil 4.4.4.7a,b** 16. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Bağlantı zonunda (bz) spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **b**: Labirint (lab) zonda fetal endotel (kesikli oklar), labirint trofoblastlar (kalın ok), koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar), visseral endodermal hücreler (pembe ok), pariyetal endodermal hücreler (mavi ok) X40.



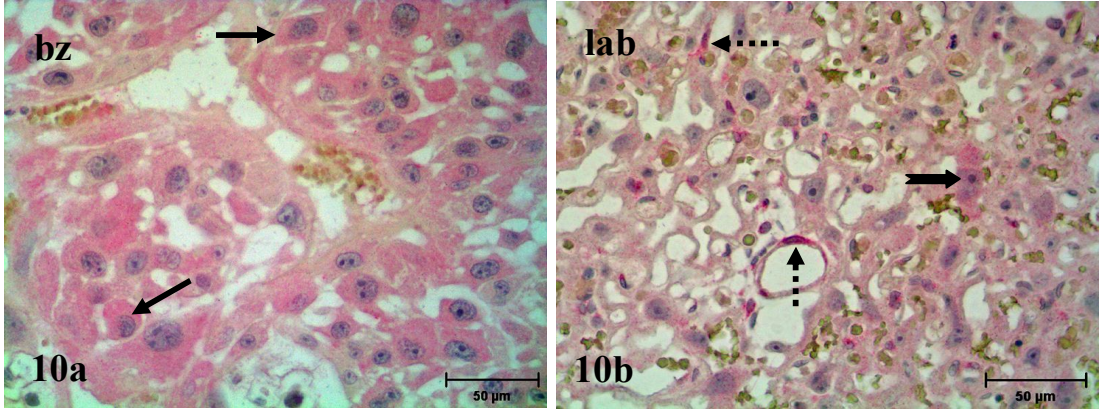
**Şekil 4.4.4.8a,b** 16. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **b**: Labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint)



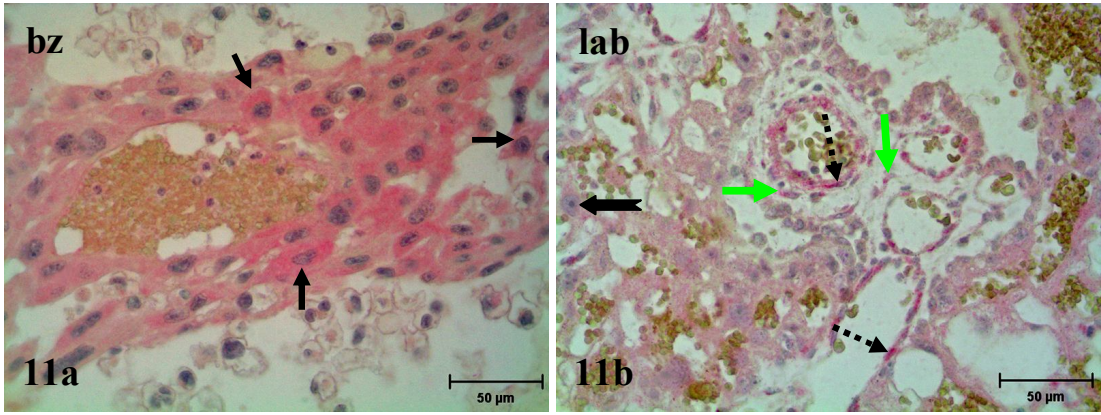
**Şekil4.4.4.9a,b** 16.gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Bağlantı zonunda (bz) dev hücreler (çift ok), spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **b**: Labirint (lab) zonda fetal endotel (kesikli oklar) ve labirint trofoblastlar (kalın oklar) X40.

Gebeliğin 18. gününde fosfo-ERK1/2 ekspresyonunun desidual hücrelerde ve fetal endotelde çok kuvvetli immün pozitif olduğu gözlemlendi. Dev hücrelerde, spongiotrofoblastlarda ve koryonik mezodermal hücrelerde kuvvetli pozitif boyanma gözlenirken labirint trofoblastlarda ve maternal endotelde zayıf immün pozitif boyanma tespit edildi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.10a,b). IUGR grubunda kontrol grubuna kıyasla fosfo-ERK1/2 ekspresyonunda azalma olduğu gözlemlendi. Fetal endotelde kontrol grubuna kıyasla ekspresyon azalırken, koryonik mezodermal hücrelerdeki fosfo-ERK1/2 ekspresyonundaki azalma belirgindi. Maternal endotel ve labirint trofoblastlarda ise fosfo-ERK1/2 ekspresyonu belirlenmedi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.11a,b). Diyabet grubunda koryonik mezodermal hücrelerde ve fetal endotelde kontrol grubuna kıyasla azalma olduğu tespit edildi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.12a,b).

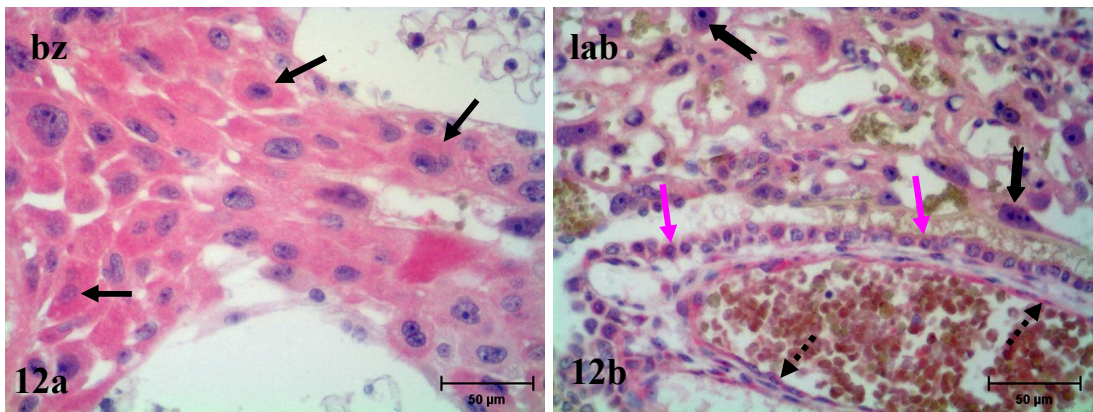




**Şekil 4.4.4.10a,b** 18. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **b**: Fetal endotel (kesikli oklar), labirint trofoblastlar (kalın ok) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint).



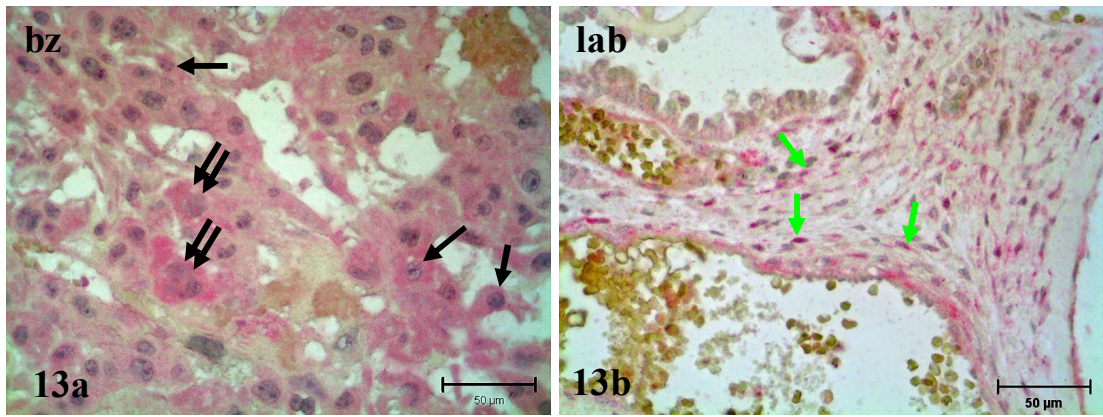
**Şekil 4.4.4.11a,b** 18. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **b**: Fetal endotel (kesikli oklar), labirint trofoblastlar (kalın ok), koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar) X40 (bz: bağlantı zonu ,lab: labirint).



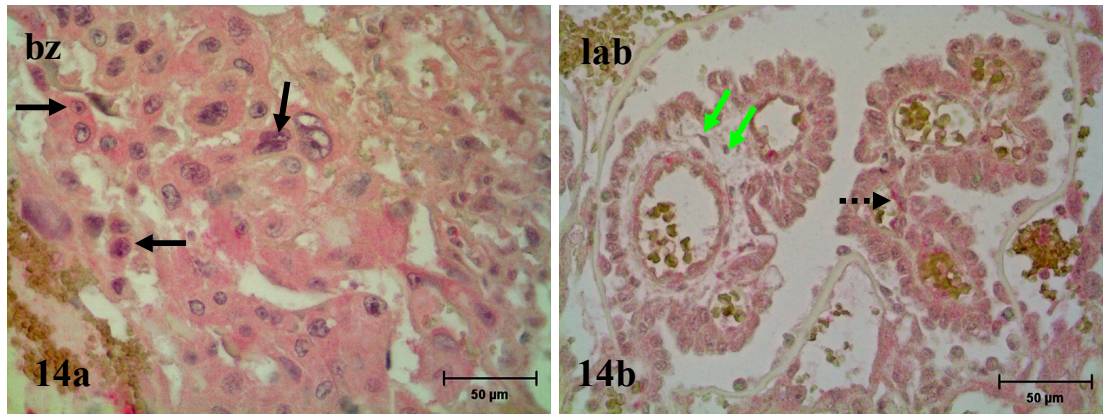
**Şekil 4.4.4.12a,b** 18. gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (oklar) X40 **b**: Fetal endotel (kesikli oklar), labirint trofoblastlar (kalmn oklar), visseral endodermal hücreler (pembe oklar) X40 (bz: bağlantı zonu ,lab: labirint).



20. gün kontrol grubunda desidual hücreler, spongiotrofoblastlar, dev hücreler, koryonik mezodermal hücreler ve fetal endotelde çok kuvvetli pozitif fosfo-ERK1/2 boyanması gözlemlendi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.13a,b). Maternal endotel, labirint trofoblastlar, pariyetal ve visseral endodermal hücrelerde ise zayıf immün pozitif boyanma vardı. IUGR grubunda dev hücrelerde ve spongiotrofoblastlarda kontrol grubuna kıyasla fosfo-ERK1/2 immün boyanmasında azalma olduğu tespit edildi. Bununla birlikte koryonik mezodermal hücrelerde ve fetal endotelde gözlenen fark belirgindi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.14a,b). Diyabet grubunda kontrol grubuna benzer boyanmalar olmakla birlikte pariyetal ve visseral endodermal hücrelerde kuvvetli pozitif reaksiyon olduğu tespit edildi (Tablo 4.4.4.1, Şekil 4.4.4.15a,b).

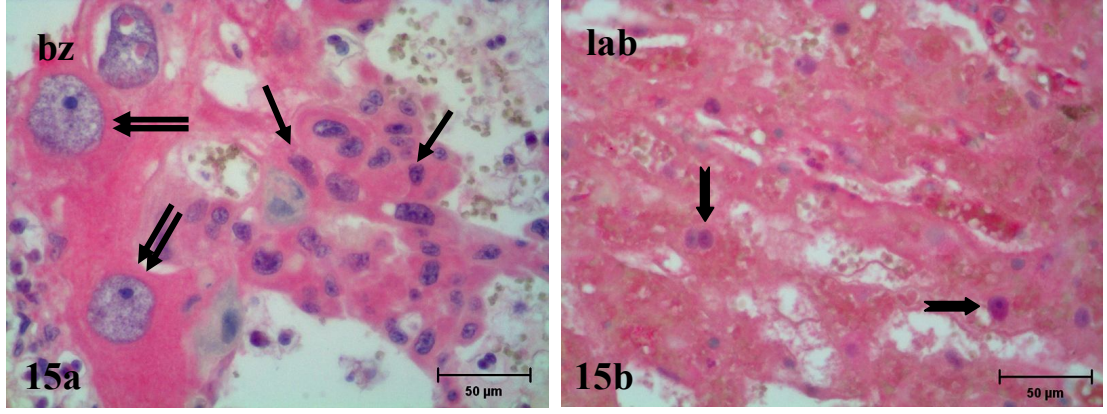


Şekil 4.4.4.13a,b 20. gün kontrol grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Dev hücreler (çift oklar) ve spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **b**: Koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint).



Şekil 4.4.4.14a,b 20. gün IUGR grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a**: Spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **b**: Koryonik mezodermal hücreler (yeşil oklar) ve fetal endotel (kesikli ok) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint).

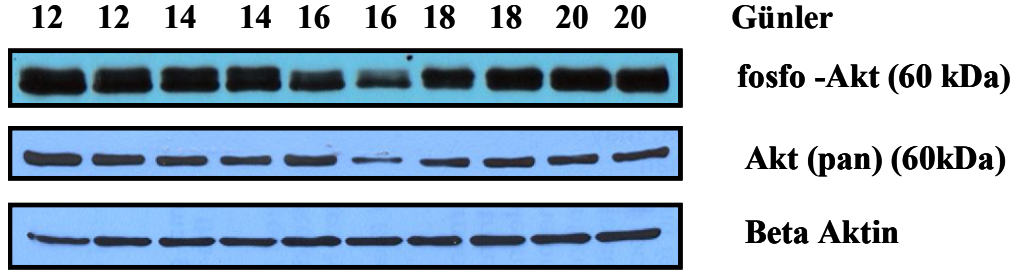




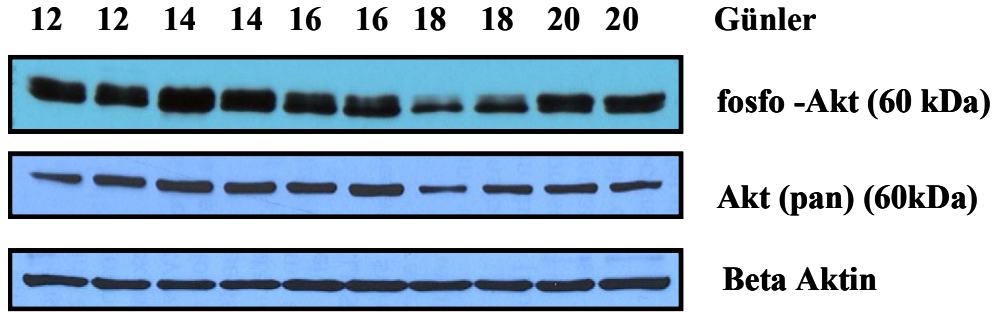
**Şekil 4.4.4.15a,b** 20. gün diyabet grubu fosfo-ERK1/2 immün boyanmaları **a:** Dev hücreler (çift oklar) ve spongiotrofoblastlar (tek oklar) X40 **b:** Labirint trofoblastlar (kalm oklar) X40 (bz: bağlantı zonu, lab: labirint)

## 4.5. Western Blot Bulguları

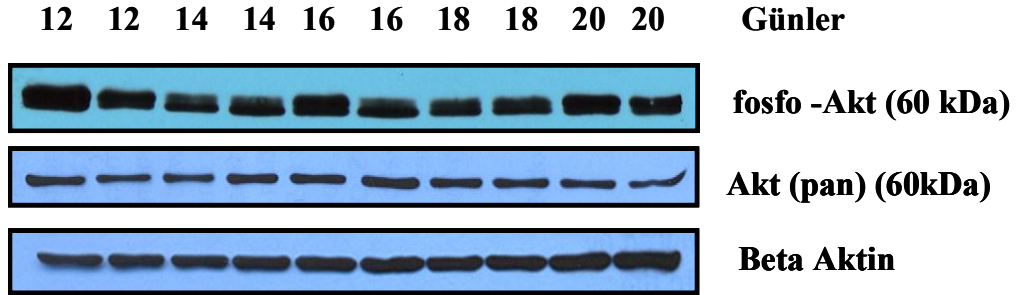
### 4.5.1. Akt Ekspresyonu



Şekil 4.5.1.1. Kontrol grubu fosfo -Akt ve Akt protein bantları

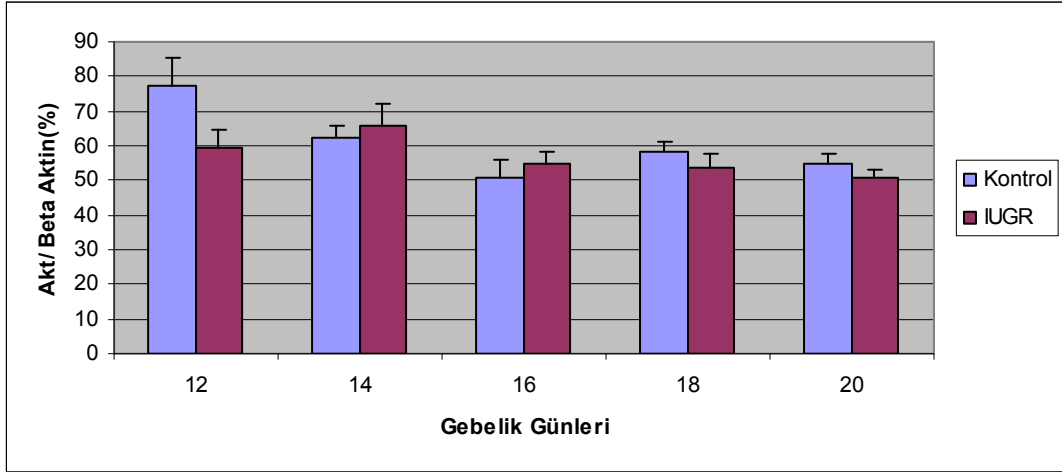


Şekil 4.5.1.2. IUGR grubu fosfo -Akt ve Akt protein bantları



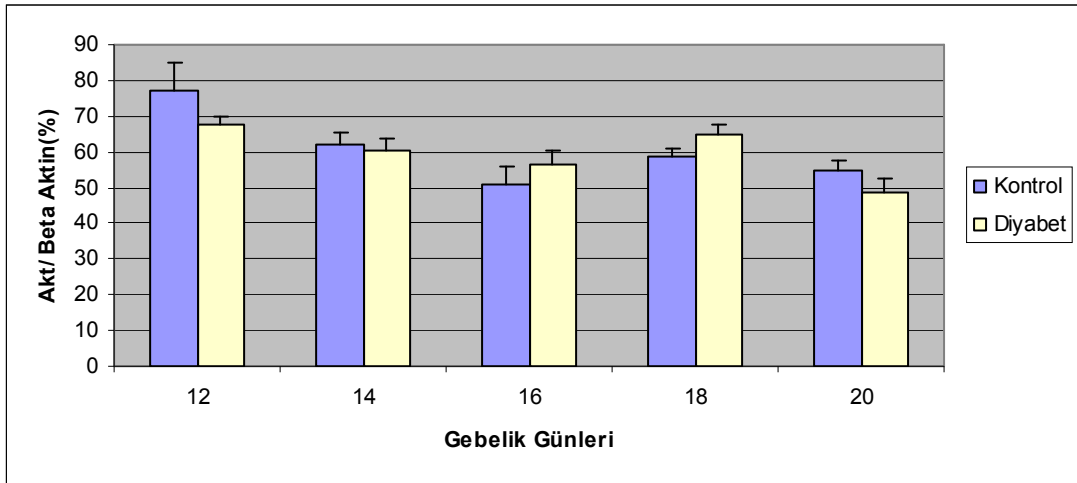
Şekil 4.5.1.3. Diyabet grubu fosfo -Akt ve Akt protein bantları

Kontrol gruplarında gebeliğin ilerlemesiyle birlikte Akt ekspresyonunda bir azalma olduğu gözlemlendi. 18. ve 20. günlerde 16. güne nazaran bir miktar yükselme olsa da bu yükseliş 12. ve 14. günlerdeki ekspresyondan daha düşük seviyede kalmaktadır (Şekil 4.5.1.1.). Kontrol ve IUGR gruplarına ait Akt ekspresyonu karşılaştırıldığında 12 (p=0,086), 18 (p=0,342) ve 20. (p=0,287) günlerde IUGR grubu plasentalarda kontrol grubuna kıyasla bir azalma olduğu belirlendi. Gebeliğin 14 (p=0.597) ve 16. (p=0,520) günlerinde IUGR grubunda Akt ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla arttığı tespit edildi (Şekil 4.5.1.2., Şekil 4.5.1.4.).



Şekil 4.5.1.4. Gebeliğin 12-20. günleri arası kontrol ve IUGR gruplarına ait Akt/ Beta aktin protein miktarları görülmektedir.

Diyabet gruplarına ait plasentalarda ise günler arasında farklı sonuçlar elde edildi. Gebeliğin 12. ( $p=0,269$ ) ve 20. ( $p=0,203$ ) günlerinde Akt ekspresyonunda kontrol grubuna kıyasla bir düşüş gözlenirken 16 ( $p=0,274$ ) ve 18. ( $p=0,115$ ) günlerde artış gözlemlendi. 14. günde ( $p=0,735$ ) ise gruplar arasında belirgin bir fark yoktu (Şekil 4.5.1.3., Şekil 4.5.1.5.).

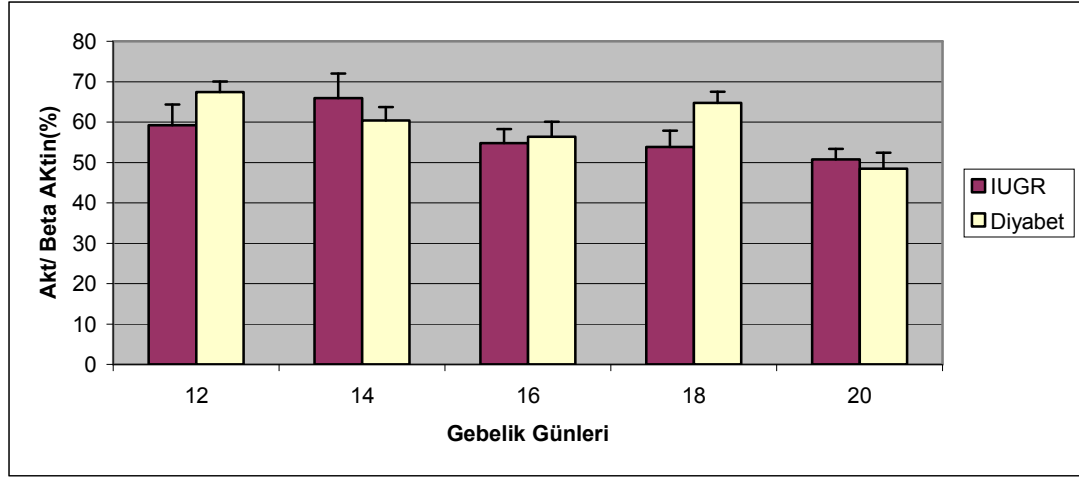


Şekil 4.5.1.5. Gebeliğin 12-20. günleri arası kontrol ve diyabet gruplarına ait Akt/ Beta aktin protein miktarları görülmektedir.

Gruplara ara istatistiksel veriler Tablo 4.5.1.1.'de, IUGR ve diyabet gruplarına ait Akt/Beta aktin protein miktarları Şekil 4.5.1.6.'da verilmiştir.

**Tablo 4.5.1.1.** 12-20. günler arası gruplara ait Akt/ Beta aktin protein miktarları (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değeri)

Akt/ Beta Aktin (%)	Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p Değeri		
Gebelik Günleri	Kontrol Grubu	IUGR Grubu	Diyabet Grubu
12	77,721 $\pm$ 7,937	59,173 $\pm$ 5,209 (p=0,086)	67,442 $\pm$ 2,596 (p=0,269)
14	62,059 $\pm$ 3,448	65,898 $\pm$ 6,135 (p=0,597)	60,408 $\pm$ 3,269 (p=0,735)
16	50,617 $\pm$ 5,167	54,769 $\pm$ 3,465 (p=0,520)	56,363 $\pm$ 3,749 (p=0,274)
18	58,481 $\pm$ 2,388	53,815 $\pm$ 4,027 (p=0,342)	64,754 $\pm$ 2,731 (p=0,115)
20	54,976 $\pm$ 2,719	50,725 $\pm$ 2,621 (p=0,287)	48,495 $\pm$ 3,900 (p=0,203)



**Şekil 4.5.1.6.** IUGR ve diyabet gruplarına ait Akt/Beta aktin protein miktarları

#### 4.5.2. Fosfo - Akt Ekspresyonu

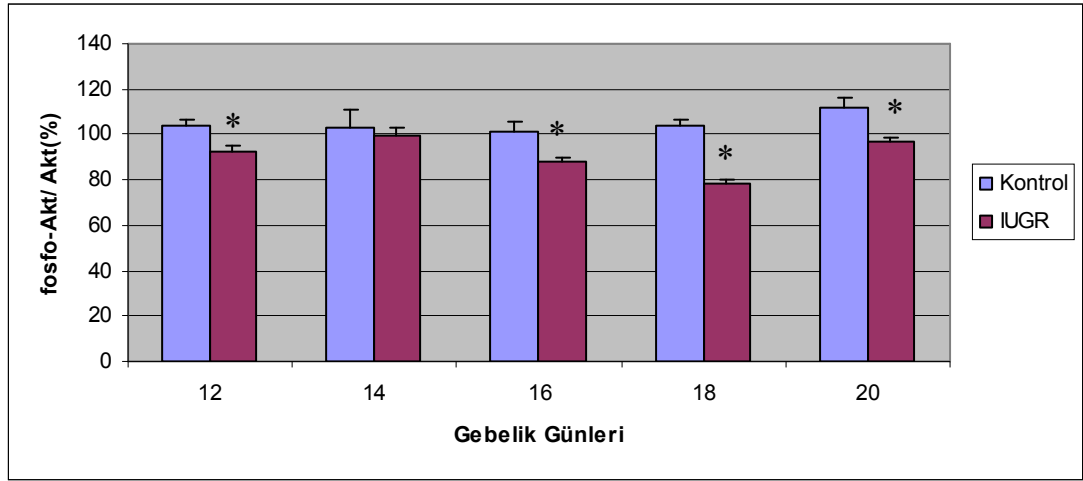
Akt proteinin fosforile formunun ekspresyonu incelendiğinde gebeliğin tüm günlerinde kontrol grubuna (Şekil 4.5.1.1.) kıyasla IUGR (Şekil 4.5.1.2.) ve diyabet (Şekil 4.5.1.3.) gruplarında azalma olduğu gözlemlendi. Bu azalma IUGR grubunda 14. günde istatistiksel olarak anlamlı değil iken (p=0,690) diğer tüm günlerde anlamlı idi (Şekil 4.5.2.1.). Diyabet grubunda 12. gün (p=0,151) hariç tüm günlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Şekil 4.5.2.2.).

Gruplara ara istatistiksel veriler Tablo 4.5.2.1.'de, IUGR ve diyabet gruplarına ait fosfo-Akt/Akt protein miktarları Şekil 4.5.2.3.'de verilmiştir.

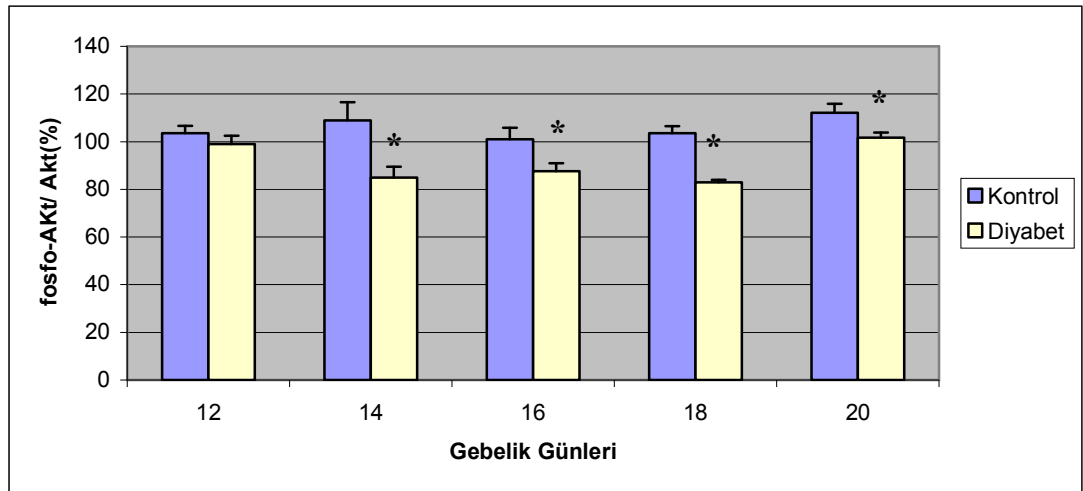


**Tablo 4.5.2.1.** 12-20. günler arası gruplara ait fosfo-Akt/ Akt protein miktarları (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

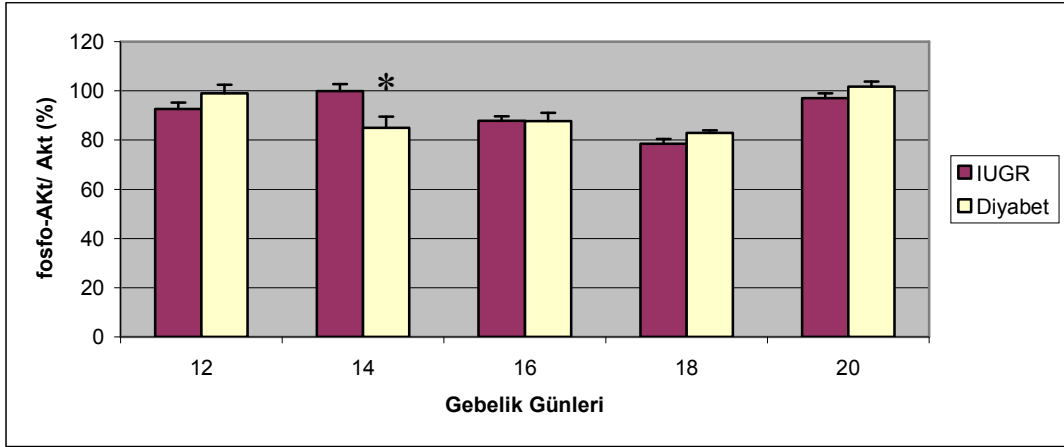
Fosfo-Akt/ Akt (%)	Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p Değeri		
Gebelik Günleri	Kontrol Grubu	IUGR Grubu	Diyabet Grubu
12	103,509 $\pm$ 3,089	92,654 $\pm$ 2,608 (p=0,005) *	98,980 $\pm$ 3,469 (p=0,151)
14	103,428 $\pm$ 7,722	99,839 $\pm$ 2,868 (p=0,690)	84,981 $\pm$ 4,469 (p=0,047)*
16	101,026 $\pm$ 4,758	87,769 $\pm$ 1,869 (p $\leq$ 0,001)*	86,647 $\pm$ 4,364 (p=0,022)*
18	103,608 $\pm$ 2,914	78,435 $\pm$ 2,046 (p $\leq$ 0,001)*	82,895 $\pm$ 1,097 (p $\leq$ 0,001)*
20	112,197 $\pm$ 3,671	97,021 $\pm$ 1,982 (p=0,007)*	101,685 $\pm$ 2,119 (p=0,025)*



**Şekil 4.5.2.1.** Kontrol ve IUGR gruplarına ait fosfo-Akt/ Akt protein miktarları (\*p<0,05)

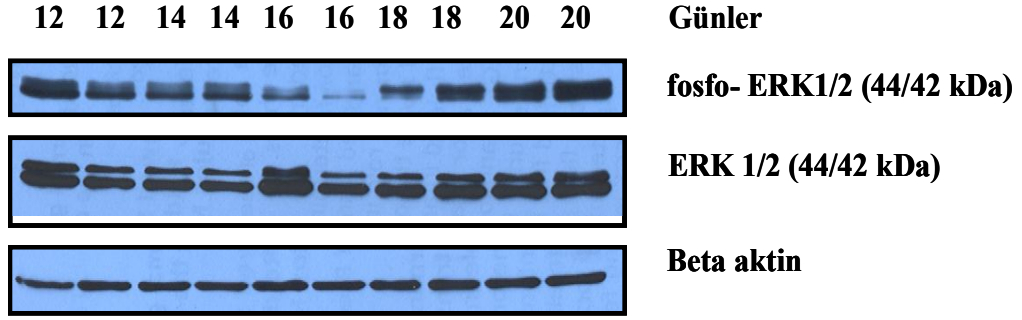


**Şekil 4.5.2.2.** Kontrol ve diyabet gruplarına ait fosfo-Akt/ Akt protein miktarları (\*p<0,05)

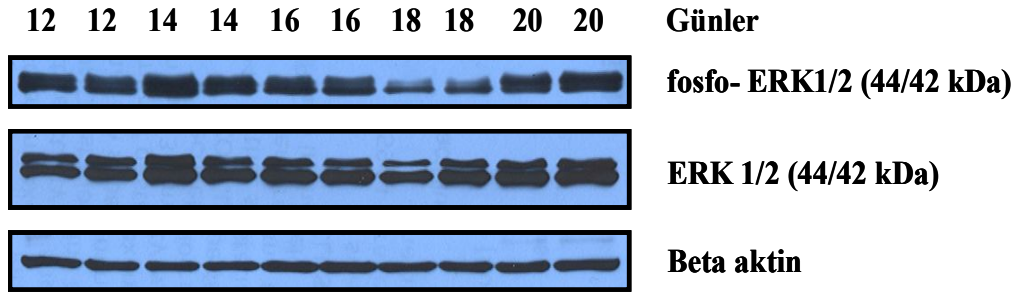


Şekil 4.5.2.3. IUGR ve diyabet gruplarına ait fosfo-Akt/ Akt protein miktarları (\*p<0,05).

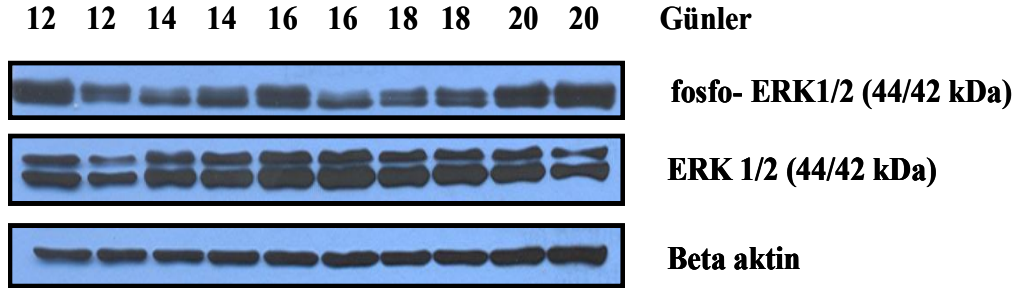
### 4.5.3. ERK 1/2 Ekspresyonu



Şekil 4.5.3.1. Kontrol grubu ERK1/2 ve fosfo -ERK1/2 protein bantları



Şekil 4.5.3.2. IUGR grubu ERK1/2 ve fosfo- ERK1/2 protein bantları

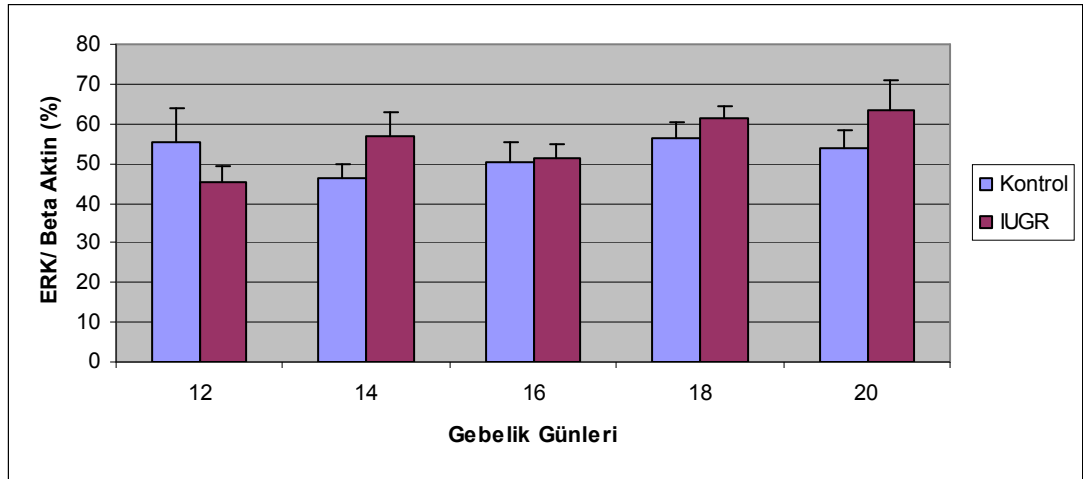


Şekil 4.5.3.3. Diyabet grubu ERK1/2 ve fosfo ERK1/2 protein bantları

ERK1/2 protein miktarları değerlendirildiğinde, gebeliğin 12. günü hariç incelenen tüm günlerde IUGR grubu (Şekil 4.5.3.2.) plasentalarda kontrol grubuna (4.5.3.1.) kıyasla bir artış olduğu belirlendi. IUGR grubunda tespit edilen bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 4.5.3.1., Şekil 4.5.3.4.).

**Tablo 4.5.3.1.** 12-20. günler arası gruplara ait ERK1/2/ Beta Aktin protein miktarları (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

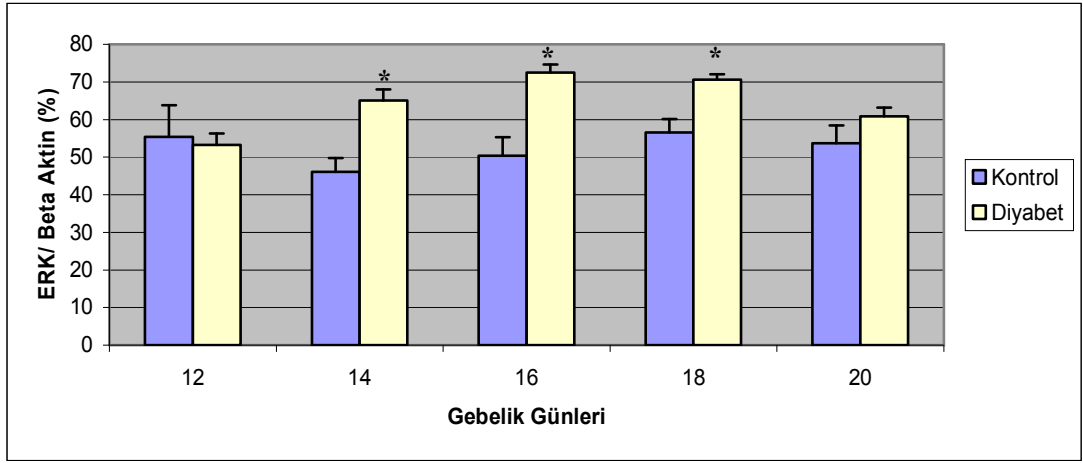
ERK/ Beta Aktin (%)	Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p Değeri		
Gebelik Günleri	Kontrol Grubu	IUGR Grubu	Diyabet Grubu
12	55,382 $\pm$ 8,433	45,060 $\pm$ 4,494 (p=0,509)	53,218 $\pm$ 3,045 (p=0,899)
14	46,051 $\pm$ 3,686	56,944 $\pm$ 6,111 (p=0,140)	65,068 $\pm$ 2,979 (p=0,044)*
16	50,394 $\pm$ 4,905	51,499 $\pm$ 3,241 (p=0,921)	72,508 $\pm$ 2,147 (p=0,036)*
18	56,564 $\pm$ 3,578	61,330 $\pm$ 3,212 (p=0,555)	70,587 $\pm$ 1,415 (p=0,042)*
20	53,727 $\pm$ 4,728	63,514 $\pm$ 7,190 (p=0,488)	60,817 $\pm$ 2,363 (p=0,392)



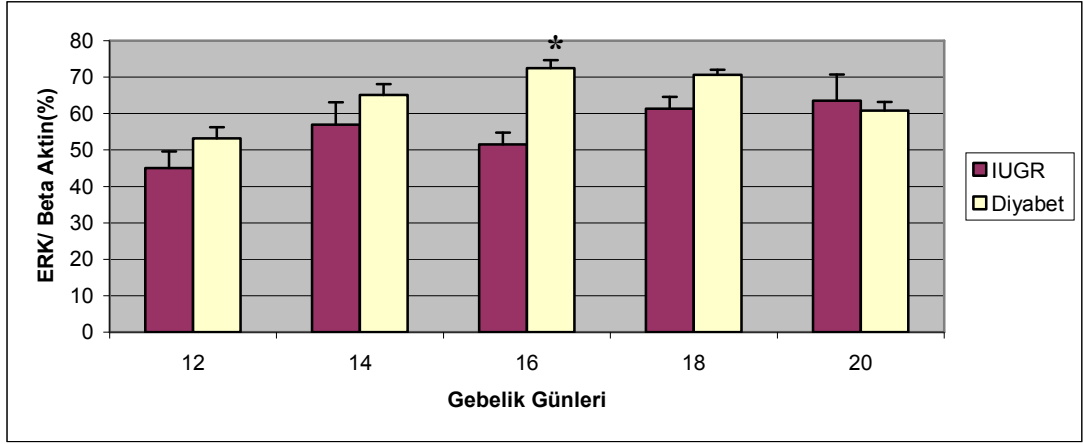
**Şekil 4.5.3.4.** Gebeliğin 12-20. günleri arası kontrol ve IUGR gruplarına ait ERK1/2/ Beta aktin oranları görülmektedir.

Diyabet grubuna ait ERK1/2 ekspresyonu (Şekil 4.5.3.3.) değerlendirildiğinde 12. günde kontrol grubuna kıyasla azalma olduğu gözlenirken, 14. günden itibaren bir artış olduğu gözlemlendi. 14, 16 ve 18. günlerdeki artışlar istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 4.5.3.1., Şekil 4.5.3.5). IUGR ve diyabet gruplarına ait ERK1/2/ Beta aktin yoğunlukları Şekil 4.5.3.6.'da verilmiştir.





Şekil 4.5.3.5. Gebeliğin 12-20. günleri arası kontrol ve diyabet gruplarına ait ERK1/2/ Beta Aktin oranları görülmektedir (\*p<0,05).



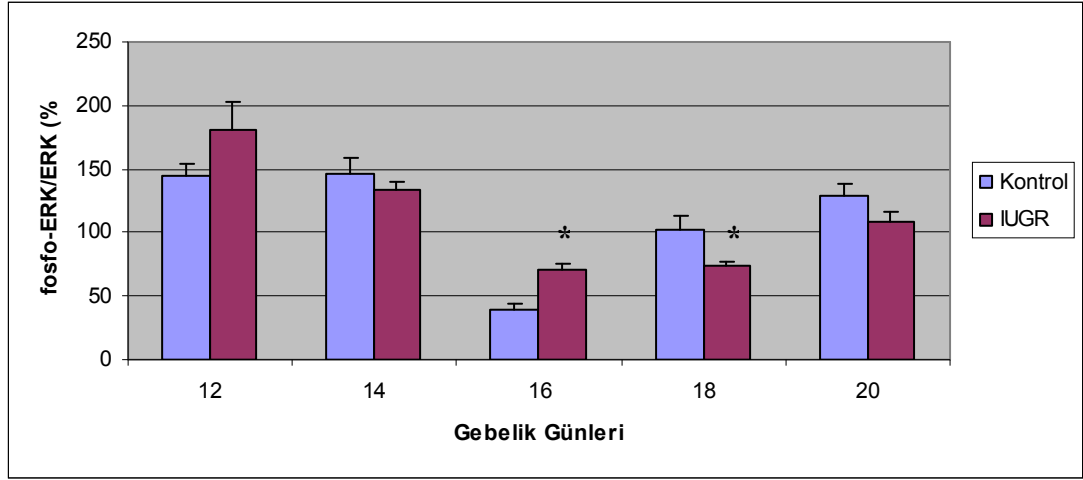
Şekil 4.5.3.6. IUGR ve diyabet gruplarına ait ERK1/2/ Beta aktin oranlarının birlikte görünümü (\*p<0,05).

#### 4.5.4. Fosfo -ERK 1/2 Ekspresyonu

Kontrol (Şekil 4.5.3.1.) ve IUGR (Şekil 4.5.3.2.) gruplarına ait plasentalarda fosforile ERK1/2 protein miktarları incelendiğinde 14, 18, ve 20. günlerde IUGR grubunda fosfo-ERK1/2 miktarının daha düşük olduğu belirlendi (Şekil 5.5.4.1.). Bununla birlikte gebeliğin 12. ve 16. gününde IUGR grubunda kontrol grubundan daha yüksek bir fosfo-ERK1/2 miktarı olduğu gözlemlendi. 16. ve 18. günlerdeki gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 4.5.4.1.).

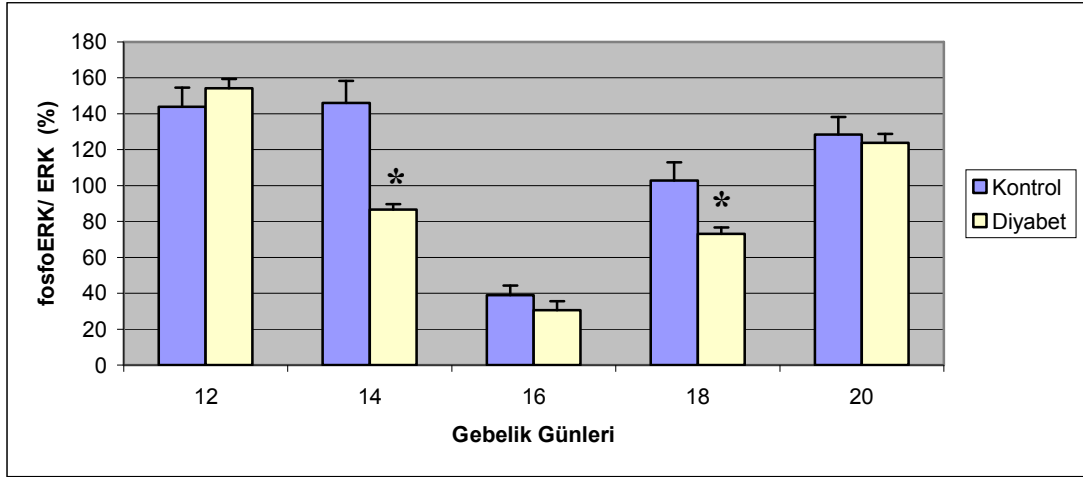
**Tablo 4.5.4.1.** 12-20. günler arası gruplara ait fosfo-Erk1/2/ Erk1/2 protein miktarları (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

Fosfo-ERK/ ERK (%)	Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p Değeri			
	Gebelik Günleri	Kontrol Grubu	IUGR Grubu	Diyabet Grubu
12		143,912 $\pm$ 10,595	181,363 $\pm$ 20,985 (p=0,441)	154,237 $\pm$ 5,128 (p=0,642)
14		146,049 $\pm$ 12,173	134,049 $\pm$ 6,505 (p=0,642)	86,600 $\pm$ 3,093 (p=0,031)*
16		38,899 $\pm$ 5,338	78,602 $\pm$ 5,109 (p $\leq$ 0,001)*	30,649 $\pm$ 4,998 (p=0,486)
18		102,771 $\pm$ 9,137	73,140 $\pm$ 4,475 (p=0,048)*	73,081 $\pm$ 3,607 (p=0,042)*
20		128,490 $\pm$ 9,708	108,078 $\pm$ 8,448 (p=0,347)	123,809 $\pm$ 5,011 (p=0,831)

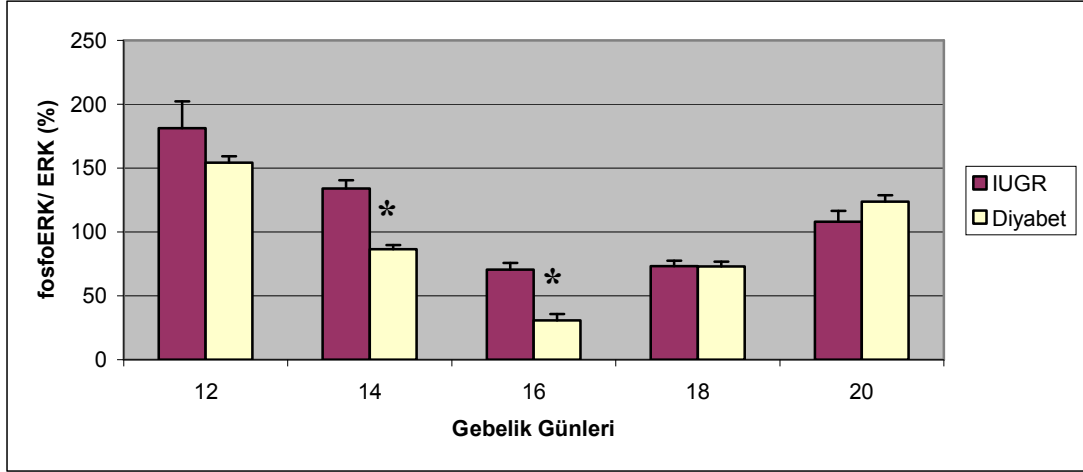


**Şekil 4.5.4.1.** Kontrol ve IUGR gruplarına ait fosfo -ERK 1/2/ ERK1/2 oranları. (\*p<0,05)

Diyabet grubunda fosfo- ERK1/2 ekspresyonu (Şekil 4.5.3.3.) incelendiğinde IUGR grubuna benzer şekilde gebeliğin 12. günde artış gözlenirken, gebeliğin diğer günlerinde azalma olduğu tespit edildi. Bu fark 14 ve 18. günlerde istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 4.5.4.1., Şekil 4.5.4.2.). IUGR ve diyabet gruplarına ait fosfo-ERK1/2/ ERK1/2 yoğunlukları Şekil 4.5.4.3.'de verilmiştir.



Şekil 4.5.4.2. Kontrol ve diyabet gruplarına ait fosfo-ERK 1/2/ ERK1/2 oranları (\*p<0,05)



Şekil 4.5.4.3. IUGR ve diyabet gruplarına ait fosfo-ERK 1/2/ ERK1/2 oranları (\*p<0,05)

## TARTIŞMA

IUGR, perinatal morbidite ve nöronal gelişimde aksaklıklar ile yetişkinlerde diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili önemli bir klinik problemdir. Bu problemin çözümü için kesin tedaviler geliştirilemediği gibi altında yatan patofizyolojik mekanizmalar da henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir (13, 152).

Fetüse, oksijen ve besin sağlayan maternal mekanizmaların normal olmaması intrauterin büyüme geriliğine neden olabilir. İntrauterin çevreye yanıt olarak, fetal büyüme ve gelişimde görülen değişiklikler postnatal hayatta fetüse optimal yaşama şansını vermek için ortaya çıkan sonuçlardır. Bununla birlikte olumsuz etkiler de görülebilir (153).

Hayvan modellerinde genetik etkenler kontrol edilebildiği için, gebelik esnasında, erken postnatal hayatta yada ileriki evrelerde, çevresel etmenleri deneysel olarak çalışmak mümkündür. En sık kullanılan IUGR modelleri, kalori ve protein kısıtlaması, uteroplasental yetersizliğin indüklenmesi ve fetüsün aşırı maternal glukokortikoide maruz bırakılmasıdır (153).

Hem maternal hem de umbilikal ölçümler göstermiştir ki, uterus içi büyüme geriliği görülen gebeliklerde, plasental değişim bariyerinin her iki yanındaki kan akımı azalmıştır. IUGR fetüslerde belirli amino asitlerde azalma olduğu gözlenmiştir. Amino asitler, glikoz ile birlikte fetal insülin salınımı için primer uyarandır. IUGR da aynı zamanda serbest yağ asitlerinin transportu da azalmıştır (13, 154).

IUGR gibi amino asitlerin fetal plazma konsantrasyonunun düştüğü bir durumda, plasental taşıyıcı proteinlerin transportu arttırmak için up-regüle olması beklenir. Benzer şekilde maternal/ fetal hiperglisemi koşullarında plasental glikoz taşıyıcılarının down-regüle olması normal görünmektedir. Ancak tam tersini gösteren veriler mevcuttur. Placenta bir besin sensörü gibi davranabilir ve maternal besin varlığına göre taşıyıcı fonksiyonlarını kontrol edebilir. Bu hipoteze göre placenta, maternal beslenme ve maternal kandaki substrat ve oksijen düzeylerine göre plasental besin taşıyıcılarını düzenlemektedir. IUGR durumunda plasental kan akımında azalma ve maternal kötü beslenme algılandığında fetal büyümeyi azaltmak için plasental taşıyıcılarda bir azalma olur. Benzer şekilde hiperglisemi gibi iyi bir beslenme işareti algılandığında placenta taşıyıcılarını up-regüle eder (13).

Kortikosteroid hormonlar, başarılı embriyo implantasyonu ve sonrasında fetus ve placenta gelişimi için gerekli süreçleri düzenlerler. Uterus içinde endometriyum, placenta ve embriyo/fetüs maternal yada fetal kaynaklı fizyolojik glukokortikoide; kortizole maruz kalırlar. Fetüs ve plasentanın uterus içi aktif glukokortikoidlerin artan konsantrasyonlarına maruz kalmalarındaki mekanizmalardan biri erken doğum riski olan gebeliklerde genel bir uygulama olarak



anneye sentetik glukokortikoidlerin uygulanmasıdır (14). Gebeliğin ortalarından sonlarına doğru fetüsün artan glukokortikoid seviyelerine maruz kalmasının IUGR'a yol açacağına dair veriler giderek artmaktadır (148-150, 155-158).

Gebeliklerinin ilerleyen dönemlerinde koyunlara Betametazon uygulanması IUGR'a neden olmuştur (159, 160). Benzer şekilde gebeliğin ikinci yarısında sıçanlara maternal deksametazon uygulaması fetal ağırlıkta 23% azalma, plasental ağırlıkta 51% azalma ile sonuçlanmıştır (161).

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre IUGR grubu 12. ve 20. günlerde embriyo ağırlıklarında kontrole kıyasla anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi. Diğer taraftan IUGR gruplarına ait plasenta ağırlıklarında da tüm deney günlerinde anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi. Bu bulgularımız daha önce yapılan, aşırı maternal glukokortikoide maruz kalma sonucu fetal ve plasental ağırlıklarda azalma olduğunu belirten çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (148, 150, 161-164).

Diyabetik gebelikler hem anne hem de fetüs için olası riskler taşımaktadır. Diyabetik bir anneden doğan bebeklerin obezite ve diyabete yatkınlık riskleri yüksektir. Günümüzde diyabetik gebeliklerde görülen mortalite oranları normal gebeliklerdeki mortalite oranlarına yaklaşmıştır ancak hala genel popülasyondan yüksektir. Bununla birlikte diyabetik gebelikler, konjenital malformasyon, fetal makrozomi, respiratuar distress sendromu nedeniyle prematüre doğum, yenidoğanda sarılık, hipoglisemi ve polisitemi görülmesi ile karakterizedir. Kontrol edilmeyen diyabetik gebelikler spontan düşüklere neden olmaktadır. Konjenital malformasyonların oranı %4-10'dur ve bu oran genel popülasyonda görülenden 3-5 kat daha fazladır. Diyabetik malformasyonlara genetik ve çevresel faktörler neden olmaktadır. Çevresel faktörlerin başında henüz açıklanamayan bir mekanizmayla temel teratojen olarak glikoz yer almaktadır (8).

Gestasyonel diabetes mellitus (GDM), gebelikte ortaya çıkan glikoz intoleransıdır. Genellikle 2. trimesterin ortalarında ortaya çıkar. Artan maternal hiperglisemi ile birlikte perinatal morbidite oranları da artar. Morbidite oranlarındaki bu artış gebelik yaşına göre iri bebek (LGA = large for gestational age) doğumları ile ilişkilidir (8). Bununla birlikte, insanlarda 1. trimester boyunca fetal büyüme geriliği gözlenmesinin ardından 3. trimesterde makrozomi ortaya çıktığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (165, 166).

Diyabetik kadınların çocuklarında makrozomi görülürken spontan diyabet gözlenen ya da deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanların yavrularında büyüme geriliği gözlenmektedir. Diyabetik sıçan fetüslerinde oluşan büyüme geriliğinin ne zaman başladığı ve plasental patolojinin fetal gelişimi nasıl etkilediği açık değildir (136).

STZ enjeksiyonu yapılarak deneysel diyabet oluşturulan sıçanlar maternal diyabetin patofizyolojik etkilerini çalışmak için bir model olarak kullanılmaktadır. Fetal büyüme geriliği bu gebeliklerin bir özelliğidir (11, 167). STZ indüklü diyabet doz bağımlıdır; yüksek dozlar ciddi maternal hiperglisemiye dolayısıyla fetal hiperglisemi ve IUGR'lı yavruların doğmasına neden olurken düşük dozlar orta

şiddette gebelik diyabetini indükleyerek fetal hiperinsülinemi ve makrozomiye yol açar (134, 168). Bu nedenle oluşturulan diyabetik sıçan modeli insan diyabetik gebeliklerinde erken evreleri daha yakından yansıtabilir ve fetal büyüme geriliğinin nedenleri ile ilgili çalışmalar için yararlı olabilir.

Çalışmamızda oluşturduğumuz diyabetik sıçan modeli sonucunda literatür bilgilerine uyumlu veriler elde edildi (136, 169-173). Gebeliğin 12, 14, 18 ve 20. günlerinde diyabetik embriyo ağırlıklarında kontrol gruplarına kıyasla azalma olduğu tespit edildi. Bu azalmalar 12, 14 ve 20. günlerde istatistiksel olarak anlamlı idi.

Diyabetik sıçan plasentalarının gebeliğin 14. ve 16. günlerinde normal plasentalara göre daha küçük olduğu, 18. günden sonra plaseenta ağırlığının kontrol gruplarına kıyasla arttığı literatürde bildirilmiştir (12, 174). 18. günden itibaren kistler, çok sayıda vakuoller, veziküller oluşmakta, glikojenik hücre sayısı, trofoblast ve fetal endotelde glikojen depolanmaları artmaktadır (139).

Elde ettiğimiz bulgular göre gebeliğin 12, 14 ve 16. günlerinde diyabetik sıçan plasentaları kontrol gruplarına kıyasla daha küçüktü. 18. günden itibaren diyabetik plaseenta ağırlıklarının arttığı gözlemlendi. Çalışmamızda incelenen tüm günlerde plasental ağırlıklarda gözlenen farklar istatistiksel olarak anlamlı idi.

Gebelik döneminde plaseenta, embriyo ve fetüsün gelişmesinde, özellikle hücrel proliferasyon, hücrel maturasyon, diferansiyasyon, glikoz transportu ve glikojen sentez olaylarında Akt ve ERK1/2 proteinlerin oldukça önemli olduğu ileri sürülmektedir (7, 16, 175-180).

PI3K'in hücre canlılığı için önemli olduğu çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir. PI3K'in P110 $\beta$  alt ünitesinin silinmesi embriyonik ölüm ile sonuçlanmıştır. İn vitro koşullarda PI3K inhibisyonu, morulaya kadar gelişebilen embriyo sayısında azalma ve apoptoz indüksiyonu ile sonuç vermiştir. Üstelik PI3K aktivitesinin baskılanması, blastosistin zona pellusidadan kurtulmasını geciktirmiştir (181).

Transgenik ve knock-out fare modellerinde PKB $\alpha$ 'nın hücre proliferasyonu ve büyümesini teşvik ettiği gösterilmiştir. PKB $\alpha$  eksik farelerde ve PKB $\alpha$  inaktivasyonunda hipotrofi ve plasentada yapısal anormallikler gözlenmiştir. PKB $\beta$  knock out fareler insülin dirençlidirler ve diabetes mellitus benzeri semptomlar gösterir. Bu da PKB $\beta$ 'nin glikoz metabolizması ve insülin sinyal iletimi için önemli olduğunu işaret eder (182).

Plasental büyümedeki gerileme özellikle bağlantı zonundaki prolaktin benzeri protein-B ve IGF-II ekspresyonlarındaki azalma ile karakterizedir. Deksametazona maruziyetten sonra plasental Akt fosforilasyonunda azalma gözlenmesi ile PI3K-Akt yolunun bu sentetik glukokortikoid etkisi ile fonksiyonunun azaldığı gözlenmiştir (161). Ayrıca deksametazon uygulaması plasental Akt aktivasyonunda ve pro-apoptotik protein olan BAD'ın fosforilasyonunda azalma dolayısıyla poli ADP-riboz polimeraz (PARP)'in yarıklanmasında artış ile sonuçlanmıştır (161, 162).

İmmünohistokimya çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgulara göre, Akt (PKB) proteininin immün reaksiyonu 12. günden 20. güne kadar yoğun olarak devam etti. Tüm hücre tiplerinde Akt ekspresyonu mevcuttu ancak dev hücreler, spongiotrofoblastlar, labirint trofoblastlar ve fetal endotel hücrelerinde oldukça belirgin idi. Bununla birlikte maternal kan damarlarına komşu olan spongiotrofoblastlarda Akt ekspresyonu, bağlantı zonundaki diğer spongiotrofoblastlara oranla daha yoğun idi. Western Blot bulguları sonucunda gruplar arasında Akt ekspresyonu açısından belirgin bir fark olmadığı gözlemlendi.

Ancak Akt fosforilasyonunda gruplar arasında belirgin farklar vardı. Western Blot bulgularımıza göre IUGR ve diyabet gruplarında Akt fosforilasyonunun incelenen tüm günlerde azaldığı tespit edildi. Akt fosforilasyonundaki azalma IUGR grubunda 12, 16, 18 ve 20. günlerde, diyabet grubunda ise 14, 16, 18 ve 20. günlerde istatistiksel olarak anlamlı idi. Fosfo-Akt immün reaksiyonları özellikle bağlantı zonunda, dev hücrelerde ve spongiotrofoblastlarda belirgin olarak gözlemlendi. Gebeliğin 14, 16, 18 ve 20. günlerinde spongiotrofoblastlarda ve dev hücrelerde deney gruplarında fosfo-Akt ekspresyonunun azaldığı tespit edildi. 12. günde sadece dev hücrelerde ve desidual hücrelerde fosfo-Akt immün boyanması gerçekleşti ve gruplar arasında fark belirlenmedi. Labirint zonda 14. günden itibaren fosfo-Akt ekspresyonu izlendi. 16. ve 18. günlerde deney gruplarında fosfo-Akt ekspresyonu azalmıştı. 20. günde kontrol ve IUGR grubunda labirint zonda Akt fosforilasyonu gözlenmezken diyabet grubunda labirint trofoblastlarda ve fetal endotelde immün reaksiyon gözlemlendi. Elde ettiğimiz bulgular deksametazona maruziyetten sonra Akt fosforilasyonunda azalma olduğunu belirten çalışmalar ile uyumludur (161). Hücre proliferasyonunu ve anti-apoptotik yolları indükleyen Akt fosforilasyonundaki azalmanın IUGR gruplarında görülen plasental küçülme ile ilişkili olduğu düşünülebilir. Akt fosforilasyonunun spongiotrofoblastlar ve dev hücrelerde diğer plasental hücre tiplerine oranla daha belirgin olması bu hücrelerin literatürde belirtilen çeşitli hormonları salgılayarak (52, 54, 55) plasental gelişimi destekledikleri bilgisi ile uyumlu olduğu söylenebilir.

Gestasyonel Diabetes Mellitusda hiperglisemik koşullar altında IRS-1'de dolayısıyla insülin aktiveli PI3K-Akt aktivasyonunda azalma olduğu gözlemlenmiştir (183, 184). Bir diğer çalışmada ise IRS-2'de azalma sonucu PI3K'da mRNA ve protein düzeyinde azalma olduğu bildirilmiştir (185). Artan glikoz düzeylerinde Akt aktivasyonunun azalması (186) HTR-8/SV neo hücre hattında invazyonunun azalmasına neden olmuştur (187). Bir başka çalışmada hiperglisemik ve hipoinsülinemik koşullarda insan plasentasında sinsisyotrofoblastlarda (188) ve in vitro koşullarda (189) ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir. Bu bilgiler dikkate alındığında oluşturduğumuz diyabetik modelde fosfo-Akt ekspresyonundaki azalmanın gebeliğin ortalarına kadar görülen plasental ağırlık azalmaları ile uyumlu olduğu görülmektedir. Hiperglisemik koşullarda Akt fosforilasyonu azalmakta bunun sonucu olarak plasental ve fetal gelişimin temel enerji kaynağı olan glikozun hücre içine alınımı yeterli düzeyde gerçekleşmemektedir.

İnsan plasentasında ERK1/2 ekspresyonu villöz sitotrofoblastlarda tespit edilmiştir. ERK1/2'nin gebelik boyunca villöz sitotrofoblastlarda ve ekstrasitotrofoblastlarda yer aldığı ancak sinsisyotrofoblastta yer almadığı bildirilmiştir (190).

Bir diğerk çalışmada ERK1/2 fosforilasyonunun invaziv trofoblastlarda ve preeklemptik plasentalarda azaldığı belirtilmiştir (191). Kemirgen plasentası gelişiminde ERK yolağının önemi, çeşitli mutant fare modellerinin kullanıldığı deneylerle gösterilmiştir. FGFR, HGF, EGFR, Met, Grb2, Gab1, SOS1, MEK1 null ya da hipomorfik farelerde labirint tabakada küçülme gözlenmiştir (66, 67, 192). ERK1 eksik fareler hayatta kalabilmişler ve fertildirler. Ancak ERK2 eksik fareler zayıf fetal vaskülarizasyon gösteren küçük bir labirinte sahiptirler. Yine aynı çalışmada ERK2 eksik farelerde ciddi labirint defektleri gözlenmiştir (193). 2006 yılında Bissonauth ve ark. tarafından yapılan çalışmada MEK1 knock-out farelerde embriyonik ölüm ve labirint defektleri gözlenmiştir (101). Fosfo-ERK1/2 immün boyanmasının allantoik hücrelerde, bazı labirint trofoblastlarda ve sinsisyotrofoblastlarda yer aldığı tespit edilmiştir.

İmmünohistokimya bulgularımıza göre ERK1/2 ekspresyonu plasental hücre tiplerinin tümünde gözlendi. Özellikle dev hücrelerde, spongiotrofoblastlarda, labirint trofoblastlarda, visseral endodermal hücrelerde ve fetal endotel hücrelerde ERK1/2 immün boyanması belirgindi. İmmünohistokimyasal olarak gruplar arasında fark tespit edilmedi. Western Blot bulguları dikkate alındığında IUGR grubunda anlamlı bir fark bulunmazken diyabet grubunda 14-20. günler arasında kontrol gruplarından daha yoğun ERK1/2 ekspresyonu olduğu ortaya kondu. Gruplar arasındaki bu fark 14, 16 ve 18. günlerde istatistiksel olarak anlamlı idi.

Kontrol gruplarına ait bulgularımıza göre gebeliğin 12. gününden 16. gününe kadar fosfo-ERK1/2 ekspresyonunda azalma olduğu ve 18. günden itibaren artış olduğu tespit edildi. IUGR ve diyabet gruplarında da benzer ekspresyon özellikleri gözlendi ancak deney gruplarında çalışmamıza dahil olan günlerde (IUGR grubu 16. gün hariç) kontrol grubuna kıyasla ERK1/2 aktivasyonu daha azdı.

ERK1/2 fosforilasyonunda gebeliğin ortalarına doğru azalmanın gözlenmesi ve 18. günden itibaren tekrar artışın olması Hiden ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı çalışma ile paraleldir (194). Bu çalışmada, insülin etkisi ile fonksiyon gösteren genlerin kontrolünün gebelik ilerledikçe aniden fetüse geçtiğini belirtmişlerdir. Plasentada insülin reseptörleri ilk trimesterde sinsisyotrofoblastlarda, term de ise fetal endotel hücrelerinde bulunmaktadır (195). Bu durum, gebeliğin başlangıcında insülinin baskın olarak trofoblastlar üzerinde mitojenik etki göstermesini ve gebeliğin ikinci yarısında ise fetal insülinin endotel üzerindeki metabolik etkilerini açıklayabilir. T1DM ve deneysel diyabette görülen plasentanın bifazik büyümesi buna bağlı olarak açıklanabilir (196).

ERK1/2 fosforilasyonu özellikle dev hücreler, spongiotrofoblastlar ve fetal endotel hücrelerinde belirgindi. Gebeliğin 14, 18 ve 20. günlerinde IUGR gruplarında kontrole oranla fosfo-ERK1/2 ekspresyonunun azaldığı gözlendi. Bu fark özellikle labirint tabakadaki hücrelerde gözlendi. Çalışmamızda, Bissonauth ve arkadaşlarının (101) bulgularına benzer olarak allantoik hücrelerde ve bazı labirint trofoblastlarda fosfo-ERK1/2 immün boyanması gözlendi ancak sinsisyotrofoblastlarda immün boyanma tespit edilmedi.



Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular glukokortikoidlerin ERK yolağını inhibe ettiğini belirten veriler ile uyumludur (197). Bir diğer çalışmada diyabetik sıçanlarda yolk sac hücrelerinde fosfo-ERK1/2 ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (198).

Daha önce yapılan çalışmalar incelediğinde sıçan plasentasında PI3K-Akt ve ERK yolaklarına dair bilgilerin oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Mevcut çalışmalar ERK yolağı üzerinde ve knock-out fare modellerinde yoğunlaşmaktadır. Sıçanlarda, normal plasental gelişim sürecinde Akt ve ERK1/2 proteinlerinin hücre düzeyindeki dağılımlarını gösteren çalışmalar mevcut değildir. Bunun yanı sıra IUGR ve diyabetik sıçan plasentalarında bu proteinlerinin aktivasyonuna dair veriler oldukça azdır. Dolayısıyla bizim çalışmamız, sıçan plasentasında Akt ve ERK1/2 proteinlerinin normal gelişim sürecindeki hücresel dağılımlarını ve aynı zamanda aşırı maternal deksametazona maruziyette ve hiperglisemik koşullarda bu proteinlerin aktivasyonunda meydana gelen değişimleri göstermesi açısından önemlidir. Yaptığımız çalışmanın sonucuna göre aşırı maternal deksametazona maruz kalma ve diyabetik koşullar, sıçan plasentasında Akt ve ERK1/2 proteinlerinin fosforilasyonunda azalmaya neden olmuştur. Bu sonuçlar göz önüne alındığında IUGR ve diyabet grubu plasentalarda görülen ağırlık azalmalarının Akt ve ERK1/2 fosforilasyonlarındaki azalma ile ilişkili olduğu söylenebilir. Diyabetik plasentalarda 18. günden itibaren görülen plasental ağırlık artışı, literatürde belirtildiği üzere gebeliğin ilerleyen evrelerinde insülin ile aktive olan plasental genlerin fetüs tarafından kontrol edilmeye başlamasıyla ilişkili olabilir. Hücre proliferasyonunda ve yaşamsallığında oldukça önemli proteinler olan Akt ve ERK1/2 fosforilasyonlarında azalmanın görülmesine yanıt olan hücre farklı sinyal moleküllerini devreye sokarak bu aksaklığı gidermeye çalışmış olabilir. Hücre içi sinyal iletim mekanizmaların daha iyi anlaşılabilmesi için daha detaylı çalışmalara gereksinim duyulduğu açıktır.

## SONUÇLAR

Bu çalışmada gebeliğin 12, 14, 16, 18 ve 20. günlerindeki kontrol, IUGR ve diyabetik sıçan plasentalarında Akt, fosfo-Akt, ERK1/2 ve fosfo-ERK1/2'nin hücrel dağılımları immünohistokimya, protein miktarları Western Blot tekniği ile belirlendi ve aşağıdaki sonuçlara varıldı:

- 1- IUGR grubunda plasenta ağırlıklarının kontrol grubundan daha düşük olduğu,
- 2- Diyabet grubunda plasenta ağırlıklarının gebeliğin 16. gününe kadar kontrol grubundan daha düşük , 18. günden sonra ise daha büyük olduğu,
- 3- Her iki deney grubunda da embriyo ağırlıklarının 20. günde kontrol grubundan daha düşük olduğu,
- 4- Kontrol grubuna kıyasla IUGR ve diyabet gruplarında Akt fosforilasyonunda azalma olduğu,
- 5- Fosfo-ERK1/2 ekspresyonunun IUGR ve diyabet gruplarında azaldığı,
- 6- Fosfo-Akt ekspresyonunun özellikle bağlantı zonunda, spongiotrofoblastlarda ve dev hücrelerde olduğu,
- 7- Fosfo-ERK1/2 ekspresyonunun bağlantı zonu hücrelerinin yanı sıra labirint tabaya ait hücrelerde de mevcut olduğu sonuçlarına varıldı.

## KAYNAKLAR

1. Page, N.M., et al., Placental peptides as markers of gestational disease. *Reproduction*, 2002. 123(4): p. 487-95.
2. Myatt, L., Placental adaptive responses and fetal programming. *J Physiol*, 2006. 572(Pt 1): p. 25-30.
3. Kurt Benirschke, P.K., Rebecca N. Baergen, *Pathology of The Human placenta*. Fifth Edition ed. 2006, New York: Springer.
4. Fisher, S.J. and C.H. Damsky, Human cytotrophoblast invasion. *Semin Cell Biol*, 1993. 4(3): p. 183-8.
5. Desoye, G. and E. Shafir, Placental metabolism and its regulation in health and diabetes. *Mol Aspects Med*, 1994. 15(6): p. 505-682.
6. Watson, E.D. and J.C. Cross, Development of structures and transport functions in the mouse placenta. *Physiology (Bethesda)*, 2005. 20: p. 180-93.
7. Forbes, K. and M. Westwood, The IGF axis and placental function. a mini review. *Horm Res*, 2008. 69(3): p. 129-37.
8. Scobie, I.N., Diabetes and Pregnancy, in *Atlas of DIABETES MELLITUS*. 2007, Informa UK Ltd: Abingdon, OXON. p. 111-114.
9. Aerts, L., K. Holemans, and F.A. Van Assche, Maternal diabetes during pregnancy: consequences for the offspring. *Diabetes Metab Rev*, 1990. 6(3): p. 147-67.
10. Padmanabhan, R. and A.G. al-Zuhair, Ultrastructural studies on the placentae of streptozotocin induced maternal diabetes in the rat. *Z Mikrosk Anat Forsch*, 1990. 104(2): p. 212-30.
11. Prager, R., et al., Histopathological changes in the placenta of streptozotocin induced diabetic rats. *Diabetologia*, 1974. 10(1): p. 89-91.
12. Robinson, J., et al., Maternal diabetes in rats. I. Effects on placental growth and protein turnover. *Diabetes*, 1988. 37(12): p. 1665-70.
13. Jansson, T. and T.L. Powell, IFPA 2005 Award in Placentology Lecture. Human placental transport in altered fetal growth: does the placenta function as a nutrient sensor? -- a review. *Placenta*, 2006. 27 Suppl A: p. S91-7.
14. Michael, A.E. and A.T. Papageorghiou, Potential significance of physiological and pharmacological glucocorticoids in early pregnancy. *Hum Reprod Update*, 2008. 14(5): p. 497-517.

15. Santos A N, T.S., Kirstein M, Pantaleon M, Kaye P, Fischer B, Insulin acts via mitogen-activated protein kinase phosphorylation in rabbit blastocysts. *Reproduction*, 2004. 128: p. 517-526.
16. Riley, J.K., et al., The PI3K/Akt pathway is present and functional in the preimplantation mouse embryo. *Dev Biol*, 2005. 284(2): p. 377-86.
17. Qiu, Q., et al., Both mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signalling are required in epidermal growth factor-induced human trophoblast migration. *Mol Hum Reprod*, 2004. 10(9): p. 677-84.
18. Desoye, G.S., E., *The Human Placenta in Diabetic Pregnancy*. *Diabetes Reviews*, 1996. 4(1): p. 70-89.
19. Pijnenborg R, R.W., Brosen I&Dickson G., Trophoblastic invasion and the establishment of haemochorial placentation in man and laboratory animals. *Placenta*, 1981. 2(1): p. 71-92.
20. McParland, P. and J.M. Pearce, Doppler blood flow in pregnancy. *Placenta*, 1988. 9(4): p. 427-50.
21. Kam, E.P., et al., The role of trophoblast in the physiological change in decidual spiral arteries. *Hum Reprod*, 1999. 14(8): p. 2131-8.
22. S Handwerger, M.F., The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *Pediatr Endocrinol Metab*, 2000. 4: p. 343-356.
23. Cross, J.C., Genetic insights into trophoblast differentiation and placental morphogenesis. *Semin Cell Dev Biol*, 2000. 11(2): p. 105-13.
24. Wooding FBP, F.A., Placentation. Fourth Edition ed. In *Marshall's Physiology Reproductin*. 1994, New York: Chapman and Hall. 233-460.
25. Cross, J.C., et al., Genes, development and evolution of the placenta. *Placenta*, 2003. 24(2-3): p. 123-30.
26. Page, K.R., *The physiology of the human placenta*. 1993, London: UCL Press.
27. [www.embryology.ch](http://www.embryology.ch).
28. Enders, A., A comparative study of the fine structure of the trophoblast in several hemochorial placentas. *Am J Anat*, 1965. 116: p. 29-68.
29. Knipp, G.T., K.L. Audus, and M.J. Soares, Nutrient transport across the placenta. *Adv Drug Deliv Rev*, 1999. 38(1): p. 41-58.
30. Boyd, J.D.a.H., W.J., *The Human Placenta*. First Edition ed. 1970, Heffer, Cambridge.
31. Bianchi DW, L.Y., Fetomaternal cellular and plasma DNA trafficking: the Ying and Yang. *Ann Y Acad Sci*, 2001. 945(119-121).
32. Nelson, J.L., Microchimerism in human health and disease. *Autoimmunity*, 2003. 36(1): p. 5-9.



33. Enders, A.M., Carter, A.C., Comparative aspects of trophoblast development and placentation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2004. 2(46): p. 1-15.
34. Rossant, J. and Cross, J.C., Placental development: lessons from mouse mutants. *Nat Rev Genet*, 2001. 2(7): p. 538-48.
35. Baergen, R.N., *Manual of Benirschke and Kaufmann's Pathology of the Human Placenta*. 2005, New York: Springer.
36. Demir, R., *İnsanın Gelişimi ve İmplantasyon biyolojisi*. 1995, Ankara: Palme Yayıncılık.
37. LJ Grota , R.A., Continuous recording of maternal behaviour in *Rattus norvegicus*. *Animal Behaviour*, 1969. 17(4): p. 722-729.
38. Enders, A.C. and T.N. Blankenship, Comparative placental structure. *Adv Drug Deliv Rev*, 1999. 38(1): p. 3-15.
39. Rudolf Hebel, M.W.S., *Anatomy and Embryology of The Laboratory Rat*. 1986, BioMed Verlag. p. 231-252.
40. Brigdman, J., A morphology study of the development of the rat placenta I. An outline of the development of the white rat. *J Morphology*, 1948. 83: p. 195-224.
41. [www.medicine.uscd.edu/cpa/rat](http://www.medicine.uscd.edu/cpa/rat).
42. Enders, A.C., Schlafke, S., and Welsh, A.O., Trophoblastic and uterine luminal epithelial surfaces at the time of blastocyst adhesion in the rat. *Am J Anat*, 1980. 159(1): p. 59-72.
43. Metz, J., On the developing rat placenta. I. Differentiation and junctional alterations of labyrinthine layers II and III. *Anat Embryol (Berl)*, 1980. 159(3): p. 289-305.
44. Pijnenborg, R. and L. Vercruyssen, Mathias Duval on placental development in mice and rats. *Placenta*, 2006. 27(2-3): p. 109-18.
45. Parast, M.M., S. Aeder, and A.E. Sutherland, Trophoblast giant-cell differentiation involves changes in cytoskeleton and cell motility. *Dev Biol*, 2001. 230(1): p. 43-60.
46. Hogan, B.L., D.P. Barlow, and M. Kurkinen, Reichert's membrane as a model for studying the biosynthesis and assembly of basement membrane components. *Ciba Found Symp*, 1984. 108: p. 60-74.
47. Clark, C.C., et al., The embryonic rat parietal yolk sac. Changes in the morphology and composition of its basement membrane during development. *Dev Biol*, 1975. 46(2): p. 243-61.
48. Kulay, L., Jr. and F.F. de Moraes, A histochemical study on the Reichert membrane of the rat's placenta. *Acta Histochem*, 1965. 22(5): p. 309-21.
49. Wislocki, G.B. and H.A. Padykula, Reichert's membrane and the yolk sac of the rat investigated by histochemical means. *Am J Anat*, 1953. 92(1): p. 117-50.

50. Muntener, M. and Y.C. Hsu, Development of trophoblast and placenta of the mouse. A reinvestigation with regard to the in vitro culture of mouse trophoblast and placenta. *Acta Anat (Basel)*, 1977. 98(3): p. 241-52.
51. Davies, J. and S.R. Glasser, Histological and fine structural observations on the placenta of the rat. *Acta Anat (Basel)*, 1968. 69(4): p. 542-608.
52. Soares, M.J., et al., Differentiation of trophoblast endocrine cells. *Placenta*, 1996. 17(5-6): p. 277-89.
53. Groskopf, J.C., et al., Proliferin induces endothelial cell chemotaxis through a G protein-coupled, mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. *Endocrinology*, 1997. 138(7): p. 2835-40.
54. Vuorela, P., et al., Expression of vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in human placenta. *Biol Reprod*, 1997. 56(2): p. 489-94.
55. Achen, M.G., et al., Placenta growth factor and vascular endothelial growth factor are co-expressed during early embryonic development. *Growth Factors*, 1997. 15(1): p. 69-80.
56. Teesalu, T., et al., Expression of matrix metalloproteinases during murine chorioallantoic placenta maturation. *Dev Dyn*, 1999. 214(3): p. 248-58.
57. Teesalu, T., F. Blasi, and D. Talarico, Expression and function of the urokinase type plasminogen activator during mouse hemochorial placental development. *Dev Dyn*, 1998. 213(1): p. 27-38.
58. Pettersson, K., et al., Expression of a novel member of estrogen response element-binding nuclear receptors is restricted to the early stages of chorion formation during mouse embryogenesis. *Mech Dev*, 1996. 54(2): p. 211-23.
59. Luo, J., et al., Placental abnormalities in mouse embryos lacking the orphan nuclear receptor ERR-beta. *Nature*, 1997. 388(6644): p. 778-82.
60. Anson-Cartwright, L., et al., The glial cells missing-1 protein is essential for branching morphogenesis in the chorioallantoic placenta. *Nat Genet*, 2000. 25(3): p. 311-4.
61. Schreiber, J., et al., Placental failure in mice lacking the mammalian homolog of glial cells missing, GCMa. *Mol Cell Biol*, 2000. 20(7): p. 2466-74.
62. Basyuk, E., et al., Murine Gcm1 gene is expressed in a subset of placental trophoblast cells. *Dev Dyn*, 1999. 214(4): p. 303-11.
63. Hernandez-Verdun, D., Morphogenesis of the syncytium in the mouse placenta. Ultrastructural study. *Cell Tissue Res*, 1974. 148(3): p. 381-96.
64. Hemberger, M. and J.C. Cross, Genes governing placental development. *Trends Endocrinol Metab*, 2001. 12(4): p. 162-8.
65. Itoh, M., et al., Role of Gab1 in heart, placenta, and skin development and growth factor- and cytokine-induced extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase activation. *Mol Cell Biol*, 2000. 20(10): p. 3695-704.

66. Qian, X., et al., The Sos1 and Sos2 Ras-specific exchange factors: differences in placental expression and signaling properties. *Embo J*, 2000. 19(4): p. 642-54.
67. Giroux, S., et al., Embryonic death of Mek1-deficient mice reveals a role for this kinase in angiogenesis in the labyrinthine region of the placenta. *Curr Biol*, 1999. 9(7): p. 369-72.
68. Jollie, W.P. and S.S. Craig, The fine structure of placental junctional zone cells during prolonged pregnancy in rats. *Acta Anat (Basel)*, 1979. 105(4): p. 386-400.
69. Padykula, H.A. and D. Richardson, A correlated histochemical and biochemical study of glycogen storage in the rat placenta. *Am J Anat*, 1963. 112: p. 215-41.
70. Soares, M.J., The prolactin and growth hormone families: pregnancy-specific hormones/cytokines at the maternal-fetal interface. *Reprod Biol Endocrinol*, 2004. 2: p. 51.
71. Vercruyse, L., et al., Interstitial trophoblast invasion in the decidua and mesometrial triangle during the last third of pregnancy in the rat. *Placenta*, 2006. 27(1): p. 22-33.
72. Georgiades, P., A.C. Ferguson-Smith, and G.J. Burton, Comparative developmental anatomy of the murine and human definitive placentae. *Placenta*, 2002. 23(1): p. 3-19.
73. Brosens, I., W.B. Robertson, and H.G. Dixon, The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. *J Pathol Bacteriol*, 1967. 93(2): p. 569-79.
74. He Y, S.S., Alternative splicing of vascular endothelial growth factor (VEGF)-R1 (FLT-1) pre-mRNA is important for the regulation of VEGF activity. *Mol Endocrinol*, 1999. 13(4): p. 537-545.
75. Coan, P.M., et al., Origin and characteristics of glycogen cells in the developing murine placenta. *Dev Dyn*, 2006. 235(12): p. 3280-94.
76. Redline, R.W., et al., Differential expression of insulin-like growth factor-II in specific regions of the late (post day 9.5) murine placenta. *Mol Reprod Dev*, 1993. 36(2): p. 121-9.
77. Adamson, S.L., et al., Interactions between trophoblast cells and the maternal and fetal circulation in the mouse placenta. *Dev Biol*, 2002. 250(2): p. 358-73.
78. Lescisin, K.R., S. Varmuza, and J. Rossant, Isolation and characterization of a novel trophoblast-specific cDNA in the mouse. *Genes Dev*, 1988. 2(12A): p. 1639-46.
79. Georgiades, P., et al., Roles for genomic imprinting and the zygotic genome in placental development. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. 98(8): p. 4522-7.

80. Simmons, D.G., A.L. Fortier, and J.C. Cross, Diverse subtypes and developmental origins of trophoblast giant cells in the mouse placenta. *Dev Biol*, 2007. 304(2): p. 567-78.
81. Cross, J.C., Z. Werb, and S.J. Fisher, Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. *Science*, 1994. 266(5190): p. 1508-18.
82. Sutherland, A., Mechanisms of implantation in the mouse: differentiation and functional importance of trophoblast giant cell behavior. *Dev Biol*, 2003. 258(2): p. 241-51.
83. Enders, A.C., Carter, A.M., What Can Comparative Studies of Placental Structure Tell Us?—A Review. *Placenta*, 2004. 18(25): p. S3-S9.
84. Malassine, A., J.L. Frendo, and D. Evain-Brion, A comparison of placental development and endocrine functions between the human and mouse model. *Hum Reprod Update*, 2003. 9(6): p. 531-9.
85. Pijnenborg R, The placental bed. *Hypertens Pregn*, 1996. 15: p. 7-23.
86. Carter, A.M., Placental Circulation. In *Comparative Placentation*. 2000, Academic Press: London. p. 108-160.
87. Steven, D., Anatomy of the Placental Barrier. In *Comparative Placentation*. 2000, Academic Press: London. p. 25-57.
88. Leiser, R., et al., Placental vascular corrosion cast studies: a comparison between ruminants and humans. *Microsc Res Tech*, 1997. 38(1-2): p. 76-87.
89. Chilosi, M., et al., Differential expression of p57kip2, a maternally imprinted cdk inhibitor, in normal human placenta and gestational trophoblastic disease. *Lab Invest*, 1998. 78(3): p. 269-76.
90. al-Lamki RS, S.J.B.G., Are human placental bed giant cells merely aggregates of small mononuclear trophoblasts cells? An ultrastructural and immunocytochemical study. *Human Reproduction*, 1999. 13: p. 496-504.
91. Doğan, A.L., Sinyal İletimi Mekanizmaları ve Kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2004. 35: p. 34-42.
92. Binetruy, B., et al., Concise review: regulation of embryonic stem cell lineage commitment by mitogen-activated protein kinases. *Stem Cells*, 2007. 25(5): p. 1090-5.
93. Dickinson, R.J. and S.M. Keyse, Diverse physiological functions for dual-specificity MAP kinase phosphatases. *J Cell Sci*, 2006. 119(Pt 22): p. 4607-15.
94. Luttrell, L.M., 'Location, location, location': activation and targeting of MAP kinases by G protein-coupled receptors. *J Mol Endocrinol*, 2003. 30(2): p. 117-26.
95. Kolch, W., Meaningful relationships: the regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *Biochem J*, 2000. 351 Pt 2: p. 289-305.



96. Pollheimer, J. and M. Knofler, Signalling pathways regulating the invasive differentiation of human trophoblasts: a review. *Placenta*, 2005. 26 Suppl A: p. S21-30.
97. Krauss, G., *Biochemistry of Signal Transduction and Regulation*. Second Edition ed. 2001, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH.
98. Qi, M. and E.A. Elion, MAP kinase pathways. *J Cell Sci*, 2005. 118(Pt 16): p. 3569-72.
99. [www.cellsignall.com](http://www.cellsignall.com).
100. Pawson, T., Regulation and targets of receptor tyrosine kinases. *Eur J Cancer*, 2002. 38 Suppl 5: p. S3-10.
101. Bissonauth, V., et al., Requirement for Map2k1 (Mek1) in extra-embryonic ectoderm during placentogenesis. *Development*, 2006. 133(17): p. 3429-40.
102. [www.istanbul.edu.tr/fen/mbg/notlar/122699712.pdf](http://www.istanbul.edu.tr/fen/mbg/notlar/122699712.pdf).
103. Song, G., G. Ouyang, and S. Bao, The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *J Cell Mol Med*, 2005. 9(1): p. 59-71.
104. Franke, T.F., D.R. Kaplan, and L.C. Cantley, PI3K: downstream AKTion blocks apoptosis. *Cell*, 1997. 88(4): p. 435-7.
105. Hajdуч, E., G.J. Litherland, and H.S. Hundal, Protein kinase B (PKB/Akt)-- a key regulator of glucose transport? *FEBS Lett*, 2001. 492(3): p. 199-203.
106. Kim, D. and J. Chung, Akt: versatile mediator of cell survival and beyond. *J Biochem Mol Biol*, 2002. 35(1): p. 106-15.
107. Liang, J. and J.M. Slingerland, Multiple roles of the PI3K/PKB (Akt) pathway in cell cycle progression. *Cell Cycle*, 2003. 2(4): p. 339-45.
108. Garcia, Z., et al., Phosphoinositide 3-kinase controls early and late events in mammalian cell division. *Embo J*, 2006. 25(4): p. 655-61.
109. Jiang, B.H. and L.Z. Liu, PI3K/PTEN signaling in tumorigenesis and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta*, 2008. 1784(1): p. 150-8.
110. [www.nature.com/nrd/journal/v4/n12/images/nrd1902-fl.jpg](http://www.nature.com/nrd/journal/v4/n12/images/nrd1902-fl.jpg).
111. Özbey N, O.Y., *Diabetes Mellitus*. 2002, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
112. Alemzadeh R, W.D.T., *Diabetes Mellitus*. 17th Edition. ed. Nelson Textbook of Pediatrics, ed. K.R.M. Behrman R.E, Jenson H.B. 2004., Pennsylvania: Elsevier Saunders.
113. Norris A.W., W.J.I., *Diabetes Mellitus*. 5th Edition ed. Clinical Pediatric Endocrinology, ed. C.P.E. Brook G.D.C, Brown RS, Savage M.O. 2005, Massachussetts: Blackwell Publishing Ltd.
114. Haller, M.J., M.A. Atkinson, and D. Schatz, Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am*, 2005. 52(6): p. 1553-78.
115. Redondo, M.J., P.R. Fain, and G.S. Eisenbarth, Genetics of type 1A diabetes. *Recent Prog Horm Res*, 2001. 56: p. 69-89.

116. Kelly, M.A., C.H. Mijovic, and A.H. Barnett, Genetics of type 1 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2001. 15(3): p. 279-91.
117. Rosenbloom A.I, S.J.H., *Diabetes in the Child and Adolescent*. 4th Edition ed. *Pediatric Endocrinology*, ed. L. F. 2003, New York: Marcel Decker.
118. Fiallo-Scharer R, E.G.S., *Patophysiology of Insulin-Dependent Diabetes*. First Edition ed. *Pediatric Endocrinology*, ed. E.E.A. Pescovitz O.H. 2004, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
119. Larsson, K., et al., Genetic and perinatal factors as risk for childhood type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 2004. 20(6): p. 429-37.
120. Pickup JC., W.G., *Textbook of diabetes*. 2nd Edition ed. Vol. 1. 1997: Blackwell science DLD.
121. Gündoğdu S, A.O., Tip 2 diabetin evreleri ve takip kriterleri. *Aktüel tıp Dergisi*, 1996. 8: p. 557-559.
122. Isselbacher DL., B.E., Wilson JD, Martin JB et al. . *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 13th Edition ed. Vol. 2. 1994: Mc Graw Hill.
123. Buyuran, A., Tip II Diabetes Mellituslu Hastalarda Diabet Başlangıç Yaşının Komplikasyon Gelişme Süresine Etkisi, in *Ok Meydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi*. 2007: Istanbul. p. 46.
124. Coustan DR, C.M., The diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 1998. 21: p. B5-8.
125. Cheung, N.W. and K. Byth, Population health significance of gestational diabetes. *Diabetes Care*, 2003. 26(7): p. 2005-9.
126. Casey, B.M., et al., Pregnancy outcomes in women with gestational diabetes compared with the general obstetric population. *Obstet Gynecol*, 1997. 90(6): p. 869-73.
127. Persson, B. and U. Hanson, Neonatal morbidities in gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 1998. 21 Suppl 2: p. B79-84.
128. Kuhl, C., Glucose metabolism during and after pregnancy in normal and gestational diabetic women. 1. Influence of normal pregnancy on serum glucose and insulin concentration during basal fasting conditions and after a challenge with glucose. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 1975. 79(4): p. 709-19.
129. Buchanan, T.A., et al., Insulin sensitivity and B-cell responsiveness to glucose during late pregnancy in lean and moderately obese women with normal glucose tolerance or mild gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*, 1990. 162(4): p. 1008-14.
130. Catalano, P.M., et al., Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes. *Am J Physiol*, 1993. 264(1 Pt 1): p. E60-7.
131. Kuhl, C., Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM. Implications for diagnosis and management. *Diabetes*, 1991. 40 Suppl 2: p. 18-24.

132. Yu, Y., et al., Influence of murine maternal diabetes on placental morphology, gene expression, and function. *Arch Physiol Biochem*, 2008. 114(2): p. 99-110.
133. Moshe Hod, L.J., Gian Carlo Di Renzo, Alberto de Leiva, Oded Langer, The Placenta in Diabetic Pregnancy, in *Text Book of Diabetes and Pregnancy*, S.H.-d.M. Gernot Desoye, Eleazar Shafrir, Editor. 2003, Martin Dunitz Taylor&Francis Group: United Kingdom. p. 126-147.
134. Moshe Hod, L.J., Gian Carlo Di Renzo, Alberto de Leiva, Oded Langer., Pregnancy in Diabetic Animals, in *Textbook of Diabetes and Pregnancy*, G.D. Eleazar Shafrir, Editor. 2003, Martin Dunitz Taylor&Francis Group: United Kingdom. p. 90-112.
135. Gewolb, I.H., C. Barrett, and J.B. Warshaw, Placental growth and glycogen metabolism in streptozotocin diabetic rats. *Pediatr Res*, 1983. 17(7): p. 587-91.
136. Padmanabhan, R. and M. Shafiullah, Intrauterine growth retardation in experimental diabetes: possible role of the placenta. *Arch Physiol Biochem*, 2001. 109(3): p. 260-71.
137. Giachini, F.R., et al., Maternal diabetes affects specific extracellular matrix components during placentation. *J Anat*, 2008. 212(1): p. 31-41.
138. Caluwaerts, S., et al., Growth characteristics of diabetic rat ectoplacental cones in vivo and in vitro. *Diabetologia*, 2000. 43(7): p. 939-45.
139. Schneider H, D.G., Strukturelle und funktionelle veränderungen in der plazenta bei diabetes in der schwangerschaft. *Gynakologe*, 1998. 31: p. 173-181.
140. Mandruzzato, G., et al., Intrauterine restriction (IUGR). *J Perinat Med*, 2008. 36(4): p. 277-81.
141. Briana, D.D. and A. Malamitsi-Puchner, Intrauterine growth restriction and adult disease: the role of adipocytokines. *Eur J Endocrinol*, 2009. 160(3): p. 337-47.
142. Biswas, S. and S.K. Ghosh, Gross morphological changes of placentas associated with intrauterine growth restriction of fetuses: a case control study. *Early Hum Dev*, 2008. 84(6): p. 357-62.
143. Kaufmann, P., S. Black, and B. Huppertz, Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod*, 2003. 69(1): p. 1-7.
144. Mandl, M., et al., Differential glucocorticoid effects on proliferation and invasion of human trophoblast cell lines. *Reproduction*, 2006. 132(1): p. 159-67.
145. Macara, L., et al., Structural analysis of placental terminal villi from growth-restricted pregnancies with abnormal umbilical artery Doppler waveforms. *Placenta*, 1996. 17(1): p. 37-48.

146. Biswas, S., S.K. Ghosh, and S. Chhabra, Surface area of chorionic villi of placentas: an index of intrauterine growth restriction of fetuses. *J Obstet Gynaecol Res*, 2008. 34(4): p. 487-93.
147. Mayhew, T.M., et al., The placenta in pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: studies on exchange surface areas, diffusion distances and villous membrane diffusive conductances. *Placenta*, 2007. 28(2-3): p. 233-8.
148. Benediktsson, R., et al., Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. *Lancet*, 1993. 341(8841): p. 339-41.
149. Levitt, N.S., et al., Dexamethasone in the last week of pregnancy attenuates hippocampal glucocorticoid receptor gene expression and elevates blood pressure in the adult offspring in the rat. *Neuroendocrinology*, 1996. 64(6): p. 412-8.
150. Sugden, M.C., et al., Maternal glucocorticoid treatment modulates placental leptin and leptin receptor expression and materno-fetal leptin physiology during late pregnancy, and elicits hypertension associated with hyperleptinaemia in the early-growth-retarded adult offspring. *Eur J Endocrinol*, 2001. 145(4): p. 529-39.
151. Lowry, O.H., et al., Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 1951. 193(1): p. 265-75.
152. Romo, A., R. Carceller, and J. Tobajas, Intrauterine growth retardation (IUGR): epidemiology and etiology. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2009. 6 Suppl 3: p. 332-6.
153. Martin-Gronert, M.S. and S.E. Ozanne, Experimental IUGR and later diabetes. *J Intern Med*, 2007. 261(5): p. 437-52.
154. Cetin, I. and G. Alvino, Intrauterine growth restriction: implications for placental metabolism and transport. A review. *Placenta*, 2009. 30 Suppl A: p. S77-82.
155. Huang, W.L., et al., Effect of corticosteroids on brain growth in fetal sheep. *Obstet Gynecol*, 1999. 94(2): p. 213-8.
156. Bloom, S.L., et al., Antenatal dexamethasone and decreased birth weight. *Obstet Gynecol*, 2001. 97(4): p. 485-90.
157. Jensen, E.C., et al., The effect of a chronic maternal cortisol infusion on the late-gestation fetal sheep. *J Endocrinol*, 2002. 174(1): p. 27-36.
158. Martins, J.P., J.C. Monteiro, and A.D. Paixao, Renal function in adult rats subjected to prenatal dexamethasone. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2003. 30(1-2): p. 32-7.
159. Newnham, J.P., et al., Maternal, but not fetal, administration of corticosteroids restricts fetal growth. *J Matern Fetal Med*, 1999. 8(3): p. 81-7.
160. Braun, T., et al., Maternal betamethasone administration reduces binucleate cell number and placental lactogen in sheep. *J Endocrinol*, 2007. 194(2): p. 337-47.



161. Ain, R., L.N. Canham, and M.J. Soares, Dexamethasone-induced intrauterine growth restriction impacts the placental prolactin family, insulin-like growth factor-II and the Akt signaling pathway. *J Endocrinol*, 2005. 185(2): p. 253-63.
162. Waddell, B.J., et al., Apoptosis in rat placenta is zone-dependent and stimulated by glucocorticoids. *Biol Reprod*, 2000. 63(6): p. 1913-7.
163. ER, H., Normal ve deksametazon verilen sıçan plasentasında hücre siklusu proteinlerinden Siklin-E, PCNA ve p27'nin dağılımı, in *Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı*. 2007, Akdeniz Üniversitesi: Antalya.
164. McDonald, T.J., et al., Betamethasone in the last week of pregnancy causes fetal growth retardation but not adult hypertension in rats. *J Soc Gynecol Investig*, 2003. 10(8): p. 469-73.
165. Beard, R., In *Medical Disorders In Obstetric Practice*, D.S. M, Editor. 1984, Oxford, Blackwell. p. 347-384.
166. Pedersen, J.F. and L. Molsted-Pedersen, Early growth retardation in diabetic pregnancy. *Br Med J*, 1979. 1(6155): p. 18-9.
167. Canavan, J.P. and D.F. Goldspink, Maternal diabetes in rats. II. Effects on fetal growth and protein turnover. *Diabetes*, 1988. 37(12): p. 1671-7.
168. Oh, W., N.L. Gelardi, and C.J. Cha, Maternal hyperglycemia in pregnant rats: its effect on growth and carbohydrate metabolism in the offspring. *Metabolism*, 1988. 37(12): p. 1146-51.
169. Gewolb, I.H., et al., Fine structural abnormalities of the placenta in diabetic rats. *Diabetes*, 1986. 35(11): p. 1254-61.
170. Padmanabhan, R. and A.G. al-Zuhair, Congenital malformations and intrauterine growth retardation in streptozotocin induced diabetes during gestation in the rat. *Reprod Toxicol*, 1987. 1(2): p. 117-25.
171. Freinkel, N., Diabetic embryopathy and fuel-mediated organ teratogenesis: lessons from animal models. *Horm Metab Res*, 1988. 20(8): p. 463-75.
172. Kalter, H., Reproductive toxicology in animals with induced and spontaneous diabetes. *Reprod Toxicol*, 1996. 10(6): p. 417-38.
173. Husain, S.M., R. Frost, and Z.M. Mughal, Effect of diabetes mellitus on rat placenta cellularity. *Early Hum Dev*, 2001. 60(3): p. 207-14.
174. Acar, N., et al., Is there a relationship between PCNA expression and diabetic placental development during pregnancy? *Acta Histochem*, 2008. 110(5): p. 408-17.
175. Navarrete Santos, A., et al., Insulin acts via mitogen-activated protein kinase phosphorylation in rabbit blastocysts. *Reproduction*, 2004. 128(5): p. 517-26.
176. Meloche, S., et al., Erk2 signaling and early embryo stem cell self-renewal. *Cell Cycle*, 2004. 3(3): p. 241-3.

177. Forbes, K., et al., Insulin-like growth factor I and II regulate the life cycle of trophoblast in the developing human placenta. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008. 294(6): p. C1313-22.
178. Daoud, G., et al., ERK1/2 and p38 regulate trophoblasts differentiation in human term placenta. *J Physiol*, 2005. 566(Pt 2): p. 409-23.
179. Laviola, L., et al., Intrauterine growth restriction in humans is associated with abnormalities in placental insulin-like growth factor signaling. *Endocrinology*, 2005. 146(3): p. 1498-505.
180. Prast, J., et al., Human chorionic gonadotropin stimulates trophoblast invasion through extracellularly regulated kinase and AKT signaling. *Endocrinology*, 2008. 149(3): p. 979-87.
181. Riley, J.K., et al., Phosphatidylinositol 3-kinase activity is critical for glucose metabolism and embryo survival in murine blastocysts. *J Biol Chem*, 2006. 281(9): p. 6010-9.
182. Yang, Z.Z., et al., Protein kinase B alpha/Akt1 regulates placental development and fetal growth. *J Biol Chem*, 2003. 278(34): p. 32124-31.
183. Farese, R.V., M.P. Sajan, and M.L. Standaert, Insulin-sensitive protein kinases (atypical protein kinase C and protein kinase B/Akt): actions and defects in obesity and type II diabetes. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2005. 230(9): p. 593-605.
184. Barbour, L.A., et al., Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care*, 2007. 30 Suppl 2: p. S112-9.
185. Colomiere, M., et al., Defective insulin signaling in placenta from pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*, 2009. 160(4): p. 567-78.
186. Zdychova, J. and R. Komers, Emerging role of Akt kinase/protein kinase B signaling in pathophysiology of diabetes and its complications. *Physiol Res*, 2005. 54(1): p. 1-16.
187. Belkacemi, L., et al., Inhibition of human trophoblast invasiveness by high glucose concentrations. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005. 90(8): p. 4846-51.
188. Gaither, K., A.N. Quraishi, and N.P. Illsley, Diabetes alters the expression and activity of the human placental GLUT1 glucose transporter. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999. 84(2): p. 695-701.
189. Hahn, T., et al., Hyperglycaemia-induced subcellular redistribution of GLUT1 glucose transporters in cultured human term placental trophoblast cells. *Diabetologia*, 2000. 43(2): p. 173-80.
190. Kita, N., et al., Expression and activation of MAP kinases, ERK1/2, in the human villous trophoblasts. *Placenta*, 2003. 24(2-3): p. 164-72.
191. Moon, K.C., et al., Expression of extracellular signal-regulated kinase1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase in the invasive trophoblasts at the human placental bed. *Placenta*, 2008. 29(5): p. 391-5.

192. Mikula, M., et al., Embryonic lethality and fetal liver apoptosis in mice lacking the c-raf-1 gene. *Embo J*, 2001. 20(8): p. 1952-62.
193. Hatano, N., et al., Essential role for ERK2 mitogen-activated protein kinase in placental development. *Genes Cells*, 2003. 8(11): p. 847-56.
194. Hiden, U., et al., Insulin control of placental gene expression shifts from mother to foetus over the course of pregnancy. *Diabetologia*, 2006. 49(1): p. 123-31.
195. Desoye, G., et al., Insulin receptors in syncytiotrophoblast and fetal endothelium of human placenta. Immunohistochemical evidence for developmental changes in distribution pattern. *Histochemistry*, 1994. 101(4): p. 277-85.
196. Desoye, G. and S. Hauguel-de Mouzon, The human placenta in gestational diabetes mellitus. The insulin and cytokine network. *Diabetes Care*, 2007. 30 Suppl 2: p. S120-6.
197. Clark, A.R. and M. Lasa, Crosstalk between glucocorticoids and mitogen-activated protein kinase signalling pathways. *Curr Opin Pharmacol*, 2003. 3(4): p. 404-11.
198. Chen, B.L., et al., [MAP kinase signal pathway in hyperglycemia-induced congenital neural tube defects.]. *Yi Chuan*, 2004. 26(5): p. 615-9.

## ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Antalya’da doğdu. 1991 yılında Merkez Aşağıoba Köyü İlkokulu’ndan, 1995 ve 1998 yıllarında Antalya Koleji Orta ve Lise Bölümlerinden mezun oldu. 2003 yılında Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden mezun olarak lisans eğitimini tamamladı. 2004 yılında Yörükoğlu Süt ve Ürünleri Ltd. Şti’nde kalite kontrol laboratuvarında çalıştı. 2006 yılında Anadolu Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsünde Tezsiz Yüksek Lisans eğitimini tamamlayarak Ortaöğretim Alan Öğretmenliği diplomasını aldı. 2006 yılında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda Üreme Biyolojisi Programında yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Aslı ÖZMEN evli ve İngilizce bilmektedir.