

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

**NORMAL VE PATOLOJİK PLASENTALARDA  
HÜCRE SIKLUSU PROTEİNLERİNDEN  
PCNA, KI67, SIKLIN D3, P27 VE P57'NİN  
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DAĞILIMI**

**Gözde ÜNEK**

**Yüksek Lisans Tezi**

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

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2008.02.0122.008)

**“Kaynakça Gösterilerek Tezinden Yararlanılabilir”**

**Antalya, 2010**

## ÖZET

Plasenta, anne ile fetüs arasındaki birçok metabolik aktiviteyi düzenleyen bir organdır. Bu nedenle fetal gelişim, plasental gelişime bağlıdır. Plasental gelişim trofoblast hücrelerinin koordineli olarak proliferasyonuna, differensiyasyonuna ve invazyonuna bağımlı olaylar serisidir. Ancak bu olayları kontrol eden hücre siklusunda görevli proteinler hakkında bilinenler oldukça sınırlıdır.

Plasenta dokusundaki proliferasyonun preeklampsi (PE), diyabet ve intrauterin büyüme geriliği (IUGR)'nden nasıl etkilendiği henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu yüzden bu çalışmada normal, preeklamptik, diyabetik ve IUGR'lı plasentalardaki differensiyasyon, proliferasyon ve apoptoz mekanizmalarında PCNA, Ki67, siklin D3, p27 ve p57 gibi hücre siklusunda görevli proteinlerin immünohistokimyasal lokalizasyonları incelendi.

Çalışmada 3 preeklampsi, 3 diyabet, 3 IUGR ve 3 normal gebelik olgusuna ait toplam 12 insan term plasentası kullanıldı. Rutin doku takibi sonucunda dokular parafine gömüldü. Gömülen doku örneklerinden hazırlanan kesitler immünohistokimya yöntemi ile PCNA, Ki67, siklin D3, p27 ve p57 antikolarıyla boyandı ve ışık mikroskobunda incelendi.

PCNA, Ki67 ve siklin D3 boyanma yoğunlukları, PE ve diyabet gruplarının villuslarında kontrole göre anlamlı şekilde artarken, PE grubunun bazal plaklarında da anlamlı şekilde azaldı. PE plasentaların tüm bölgelerinde p27 ve p57'nin boyanma yoğunlukları anlamlı şekilde arttı. Diyabetik grubun koryonik plaklarındaki p27 ve p57'nin boyanma endeksleri ise kontrole göre anlamlı şekilde azaldı. IUGR grubuna ait plasentaların tüm bölgelerinde ise PCNA, Ki67 ve siklin D3 boyanma yoğunlukları kontrole göre anlamlı şekilde azaldı. IUGR grubunun villuslarındaki ve koryonik plaklarındaki p27 boyanma yoğunluğu anlamlı şekilde artarken p57 boyanma yoğunluğu da IUGR grubunun tüm bölgelerinde kontrole göre anlamlı şekilde fazlaydı.

Sonuç olarak hücre siklusuna ait proteinlerden PCNA, Ki67, siklin D3, p27 ve p57 normal ve patolojik plasenta gelişiminde rol almaktadır. Bu proteinlerin patolojik plasentalardaki immünoaktiviteleri ile plasentaların büyüklükleri arasında ilişki mevcuttur.

**Anahtar Kelimeler:** Plasenta, hücre siklusu, preeklampsi, diyabet, IUGR, PCNA, Ki67, siklin D3, p27, p57

## ABSTRACT

The placenta is a regulator organ for many metabolic activities between mother and fetus. Therefore fetal growth is directly related to the placental development. Placental development is a series of events that depend on the coordinated action of trophoblast cells' proliferation, differentiation and invasion. Studies on cell cycle related proteins which control these events are fairly limited.

How placental tissue proliferation is affected by preeclampsia (PE), diabetes and intrauterine growth retardation (IUGR) is not exactly known yet. Therefore in this study, the immunohistochemical localizations of cell cycle related proteins like PCNA, Ki67, cyclin D3, p27 and p57 in the differentiation, proliferation and apoptosis mechanisms of normal, preeclamptic, diabetic and IUGR placenta were investigated.

In the study, a total of 12 human term placentas consisting of 3 preeclamptic, 3 diabetic, 3 IUGR and 3 normal pregnancy placentas were used. After routine tissue processing, tissues embedded in paraffin. Tissue sections prepared from the embedded tissue samples were stained via immunohistochemistry with PCNA, Ki67, cyclin D3, p27 and p57 antibodies and were examined by light microscopy.

Comparing to control placentas, PCNA, Ki67 and cyclin D3 staining intensities were significantly increased in villous parts of PE and diabetes groups while significantly decreased in basal plates of PE group. In chorionic plates, p27 and p57 staining intensities were significantly increased in PE group whilst decreased in diabetic group. In all parts of IUGR placentas, PCNA, Ki67 and cyclin D3 staining intensities were significantly reduced. p27 staining intensity of IUGR group was significantly increased in villous and basal plates and p57 staining intensity was increased significantly in all parts of IUGR placentas as well.

In conclusion, cell cycle related proteins PCNA, Ki67, cyclin D3, p27 and p57 play roles in normal and pathological placental development and there is a relation between the immunoreactivity of these proteins and the size of placentas.

**Key words:** Placenta, cell cycle, preeclampsia, diabetes, IUGR, PCNA, Ki67, cyclin D3, p27, p57

## TEŞEKKÜR

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

Tezimin gerçekleşmesi için her türlü imkân 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, değerli araştırma görevlilerine ve çalışanlarına,

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

Dokuların temininde yardımcı olan Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümleri'ne,

Tezimin istatistiksel analiz aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen sevgili çalışma arkadaşım Arş. Gör. Aslı ÖZMEN'e,

Bana her zaman sonsuz anlayış ve sabırla destek olan ve maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen sevgili aileme en içten saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	<b>vii</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>xi</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	<b>xiv</b>
<b>GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1.    Hipotezin Temeli ve Amaç	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>5</b>
2.1.    Plasenta	<b>5</b>
2.2.    Plasentanın Gelişimi	<b>5</b>
2.2.1.    Prelaküner Evre	<b>5</b>
2.2.2.    Laküner Evre	<b>6</b>
2.2.3.    Erken Villöz Evre	<b>7</b>
2.3.    Plasentanın Bölümleri	<b>9</b>
2.3.1.    Plasentanın Fetal Kısmı	<b>9</b>
2.3.2.    Plasentanın Maternal Kısmı	<b>10</b>
2.4.    Villus Ağacının Yapısı	<b>13</b>
2.4.1.    Kök (Stem) Villus (KV)	<b>13</b>
2.4.2.    Matür İntermediyet Villus (MİV)	<b>14</b>
2.4.3.    Terminal Villus (TV)	<b>14</b>
2.4.4.    İmmatür İntermediyet Villus (İİV)	<b>15</b>
2.4.5.    Mezenşimal Villus (MV)	<b>15</b>
2.5.    Term Plasentanın Yapısı	<b>16</b>
2.6.    Hücrenin Yaşam Döngüsü (Siklus)	<b>19</b>
2.6.1.    Hücre Siklusu Fazları	<b>19</b>
2.6.1.1.    G0 Fazı	<b>20</b>
2.6.1.2.    G1 Fazı (Presentetik Faz)	<b>20</b>
2.6.1.3.    S Fazı	<b>20</b>
2.6.1.4.    G2 Fazı (Premitotik Faz)	<b>21</b>
2.6.1.5.    M Fazı	<b>21</b>
2.6.2.    Hücre Siklusu Kontrol Noktaları	<b>21</b>
2.6.3.    Siklinler ve Siklin Bağımlı Kinazlar (CDK'lar)	<b>22</b>
2.6.3.1.    Siklin Çeşitleri	<b>24</b>
2.6.4.    CDK Aktivitesinin Regülasyonu	<b>26</b>
2.6.5.    CDK İnhibitörleri (CKI)	<b>26</b>
2.6.6.    Ki67	<b>28</b>

2.6.7.	Proliferatif Hücre Nükleer Antijeni (PCNA)	28
2.7.	Preeklampsi	28
2.7.1.	Preeklampitik Plasentada Oluşan Değişiklikler	30
2.8.	Diabetes Mellitus	31
2.8.1.	Tip 1 Diabetes Mellitus	31
2.8.1.1.	Genetik Faktörler	31
2.8.1.2.	Çevresel Faktörler	32
2.8.2.	Tip 2 Diabetes Mellitus	33
2.8.2.1.	Beta Hücresinin Kütlesinde Azalma	33
2.8.2.2.	Düşük Doğum Ağırlığı	33
2.8.2.3.	Glukoz Toksisitesi	33
2.8.2.4.	Lipid Toksisitesi	33
2.8.2.5.	İnsülin Salgılanma Bozukluğunda Genetik Nedenler	34
2.8.3.	Gebelik Diyabeti (Gestasyonel Diabetes Mellitus)	34
2.8.4.	Diabetes Mellitus'un Gebeliğe Etkileri	34
2.8.5.	Diyabetik Plasentada Oluşan Değişiklikler	35
2.9.	İntrauterin Büyüme Geriliği (IUGR)	36
2.9.1.	IUGR'lı Plasentada Oluşan Değişiklikler	37
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>		<b>38</b>
3.1.	Doku Temini ve Hazırlanması	38
3.2.	İmmünohistokimya Tekniği İçin Doku Hazırlanması	38
3.3.	Rutin Işık Mikroskopik Gözlemler	39
3.4.	İmmünohistokimya Yöntemi	39
3.5.	İstatistiksel Değerlendirme	40
<b>BULGULAR</b>		<b>41</b>
4.1.	Rutin Işık Mikroskopik Gözlemlerin Sonuçları	41
4.1.1.	Kontrol Grubu Plasentalarının Gözlem Sonuçları	41
4.1.2.	Preeklampitik Grup Plasentalarının Gözlem Sonuçları	43
4.1.3.	IUGR Grubu Plasentalarının Gözlem Sonuçları	46
4.1.4.	Diyabetik Grup Plasentalarının Gözlem Sonuçları	48
4.2.	PCNA İmmün Boyanmalarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizi	50
4.3.	Ki67 İmmün Boyanmalarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizi	56
4.4.	Siklin D3 İmmün Boyanmaları Sonuçları ve İstatistiksel Analizi	62
4.5.	P27 İmmün Boyanmalarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizi	68
4.6.	P57 İmmün Boyanmalarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizi	74
<b>TARTIŞMA ve SONUÇLAR</b>		<b>81</b>
<b>KAYNAKLAR</b>		<b>90</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>		<b>103</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>BrdU</b>	:	Bromodeoksiuridin
<b>CAK</b>	:	CDK aktive edici kinaz
<b>CDK</b>	:	Siklin bağımlı kinaz
<b>Cip/Kip</b>	:	CDK inhibitör protein/Kinaz inhibitör protein
<b>CKI</b>	:	Siklin bağımlı kinaz inhibitörü
<b>DM</b>	:	Diabetes mellitus
<b>E2F</b>	:	Elangasyon Faktör 2
<b>E-kadherin</b>	:	Epitelyal kadherin
<b>EVT</b>	:	Ekstravillöz trofoblast
<b>G0</b>	:	Hücre siklusunun G0 fazı
<b>G1</b>	:	Hücre siklusunun G1 fazı
<b>G2</b>	:	Hücre siklusunun G2 fazı
<b>G6P</b>	:	Glukoz 6 fosfat
<b>GDM</b>	:	Gestasyonel diabetes mellitus
<b>GLUT</b>	:	Glukoz taşıyıcı protein
<b>hCACTH</b>	:	Human koryonik adreno-kortikotropin
<b>hCG</b>	:	Human koryonik gonadotropin
<b>hCS</b>	:	Human koryonik somatomammotropin
<b>hCT</b>	:	Human koryonik tirotropin
<b>HK-1</b>	:	Heksokinaz 1
<b>HLA</b>	:	İnsan lökosit antijeni
<b>hPL</b>	:	Human plasental laktojen
<b>IUGR</b>	:	İntrauterin büyüme geriliği
<b>İİV</b>	:	İmmatür intermediyet villus
<b>KV</b>	:	Kök villus
<b>M</b>	:	Hücre siklusunun mitoz fazı
<b>MİV</b>	:	Matür intermediyet villus
<b>MV</b>	:	Mezenşimal villus

<b>NRBC</b>	:	Çekirdekli eritrosit
<b>PCNA</b>	:	Proliferatif hücre nükleer antijeni
<b>PGE2</b>	:	Prostaglandin E2
<b>PGI2</b>	:	Prostosiklin I2
<b>pRb</b>	:	Fosforlanmış retinoblastoma
<b>Rb</b>	:	Retinoblastoma
<b>S</b>	:	Hücre siklusunun sentez fazı
<b>STZ</b>	:	Streptozotosin
<b>T1DM</b>	:	Tip 1 diabetes mellitus
<b>T2DM</b>	:	Tip 2 diabetes mellitus
<b>TGF-β</b>	:	Transforme edici büyüme faktörü-β
<b>TUNEL</b>	:	Terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUTP uç etiketi
<b>TV</b>	:	Terminal villus
<b>VE-kadherin</b>	:	Vasküler endotelyal kadherin



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.2.	Erken plasental gelişimin şematize edilmiş hali	8
2.2.3.	Villus yapılarının (primer, sekonder ve tersiyer villuslar) enine kesitleri	8
2.3.1.	Plasentanın fetal kısmının yapısı	10
2.3.	İnsan term plasentasının dış görünümünün çizimi	11
2.4.1.	Villus tiplerinin enine kesitleri	13
2.4.2.	Villus ağacının yapısı	16
2.5.1.	Termdeki bir villusta plasental bariyer yapısı	17
2.5.2.	Term plasentasındaki fibrinoid tabakaları	18
2.6.1.	Hücre siklusu evrelerinin şematik görünümü	20
2.6.3.1.	Siklin/CDK kompleksinin oluşumu ve hedef proteinin fosforilasyonunun şematize edilmiş hali	22
2.6.3.2.	Hücre siklusunun çeşitli fazlarında siklinlerin sentezlenmesi ve yıkımının şematik görünümü	23
2.6.3.3.	Memelilerdeki hücre siklusunda siklin/CDK komplekslerinin aktivitelerinin şematik görünümü	24
2.6.3.1.1.	Hücre siklusunda siklin D'nin aktivasyonu ve rolü	25
2.6.3.1.2.	Hücre siklusunun G1/S geçişinde Rb fosforilasyonunun rolü	25
2.6.4.	CDK aktivitesinin moleküler regülasyonu	26
2.6.5.	Cip/Kip ailesi üyelerinin yapısı	27
4.1.1.1.a-c.	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış kontrol grubu term plasentalarına ait kesitlerin koryonik plak görünümü	41
4.1.1.2.a-c.	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış kontrol grubu term plasentalarına ait kesitlerin villuslarının görünümü	42
4.1.1.3.a-c.	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış kontrol grubu term plasentalarına ait kesitlerin bazal plak görünümü	43
4.1.2.1.a-d.	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış PE grubu term plasentalarına ait kesitlerde intravillöz fibrinoid birikimleri ve kalsifiye alanlar	44
4.1.2.2.a-c.	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış PE grubu term plasentalarına ait kesitlerde artan sinsisyal düğümler ve intervillöz fibrinoid birikimleri	45

<b>4.1.2.3.a,b.</b>	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış PE grubu term plasentalarına ait kesitlerde artan fibrinoid birikimleri ve bazal plakta kalınlaşma	<b>45</b>
<b>4.1.3.1.a-c.</b>	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış IUGR grubu term plasenta kesitlerinde desidual nekroz	<b>46</b>
<b>4.1.3.2.a-c.</b>	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış IUGR grubu term plasenta kesitlerinde intravillöz fibrinoid birikimleri	<b>46</b>
<b>4.1.3.3.a-c.</b>	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış IUGR grubu term plasenta kesitlerinde villöz immatürite ve villus aralarında perivillöz fibrinoid birikimleri	<b>47</b>
<b>4.1.3.4.a-c.</b>	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış IUGR grubu term plasenta kesitlerinde perivillöz fibrinoid birikimleri	<b>47</b>
<b>4.1.4.1.a-c.</b>	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış diyabet grubu term plasenta kesitlerinde intervillöz fibrinoid birikimleri	<b>48</b>
<b>4.1.4.2.a-c.</b>	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış diyabetik term plasenta kesitlerinde villus nekrozu ve intervillöz fibrinoid birikimleri	<b>48</b>
<b>4.1.4.3.a-c.</b>	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış diyabetik term plasenta kesitlerinde koryonda artan proliferasyon ve nekrotik dokular	<b>49</b>
<b>4.1.4.4.a-c.</b>	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış diyabetik term plasenta kesitlerinde perivillöz fibrinoid birikimleri	<b>49</b>
<b>4.2.1.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında PCNA immün boyanmaları	<b>51</b>
<b>4.2.2.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslarındaki PCNA boyanma yoğunlukları	<b>52</b>
<b>4.2.3.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında PCNA immün boyanmaları	<b>53</b>
<b>4.2.4.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki PCNA boyanma yoğunlukları	<b>54</b>
<b>4.2.5.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında PCNA immün boyanmaları	<b>55</b>
<b>4.2.6.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki PCNA boyanma yoğunlukları	<b>56</b>
<b>4.3.1.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında Ki67 immün boyanmaları	<b>57</b>
<b>4.3.2.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslarındaki Ki67 boyanma yoğunlukları	<b>58</b>
<b>4.3.3.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında Ki67 immün boyanmaları	<b>59</b>
<b>4.3.4.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki Ki67 boyanma yoğunlukları	<b>60</b>

<b>4.3.5.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında Ki67 immün boyanmaları	<b>61</b>
<b>4.3.6.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki Ki67 boyanma yoğunlukları	<b>62</b>
<b>4.4.1.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında siklin D3 immün boyanmaları	<b>63</b>
<b>4.4.2.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslarındaki siklin D3 boyanma yoğunlukları	<b>64</b>
<b>4.4.3.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında siklin D3 immün boyanmaları	<b>65</b>
<b>4.4.4.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki siklin D3 boyanma yoğunlukları	<b>66</b>
<b>4.4.5.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında siklin D3 immün boyanmaları	<b>67</b>
<b>4.4.6.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki siklin D3 boyanma yoğunlukları	<b>68</b>
<b>4.5.1.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında p27 immün boyanmaları	<b>69</b>
<b>4.5.2.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslarındaki p27 boyanma yoğunlukları	<b>70</b>
<b>4.5.3.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında p27 immün boyanmaları	<b>71</b>
<b>4.5.4.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki p27 boyanma yoğunlukları	<b>72</b>
<b>4.5.5.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında p27 immün boyanmaları	<b>73</b>
<b>4.5.6.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki p27 boyanma yoğunlukları	<b>74</b>
<b>4.6.1.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında p57 immün boyanmaları	<b>75</b>
<b>4.6.2.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslarındaki p57 boyanma yoğunlukları	<b>76</b>
<b>4.6.3.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında p57 immün boyanmaları	<b>77</b>
<b>4.6.4.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki p57 boyanma yoğunlukları	<b>78</b>
<b>4.6.5.a-h.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında p57 immün boyanmaları	<b>79</b>
<b>4.6.6.</b>	Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki p57 boyanma yoğunlukları	<b>80</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.6.</b>	Omurgalılarda hücre döngüsünün çeşitli evrelerinde görevli siklin/CDK kompleksleri	<b>23</b>
<b>3.1.</b>	Deney gruplarındaki hastaların klinik özellikleri	<b>38</b>
<b>4.2.1.</b>	Villuslardaki PCNA boyanma yoğunluğu	<b>52</b>
<b>4.2.2.</b>	Bazal plaklardaki PCNA boyanma yoğunluğu	<b>54</b>
<b>4.2.3.</b>	Koryonik plaklardaki PCNA boyanma yoğunluğu	<b>56</b>
<b>4.3.1.</b>	Villuslardaki Ki67 boyanma yoğunluğu	<b>58</b>
<b>4.3.2.</b>	Bazal plaklardaki Ki67 boyanma yoğunluğu	<b>60</b>
<b>4.3.3.</b>	Koryonik plaklardaki Ki67 boyanma yoğunluğu	<b>62</b>
<b>4.4.1.</b>	Villuslardaki siklin D3 boyanma yoğunluğu	<b>64</b>
<b>4.4.2.</b>	Bazal plaklardaki siklin D3 boyanma yoğunluğu	<b>66</b>
<b>4.4.3.</b>	Koryonik plaklardaki siklin D3 boyanma yoğunluğu	<b>68</b>
<b>4.5.1.</b>	Villuslardaki p27 boyanma yoğunluğu	<b>70</b>
<b>4.5.2.</b>	Bazal plaklardaki p27 boyanma yoğunluğu	<b>72</b>
<b>4.5.3.</b>	Koryonik plaklardaki p27 boyanma yoğunluğu	<b>74</b>
<b>4.6.1.</b>	Villuslardaki p57 boyanma yoğunluğu	<b>76</b>
<b>4.6.2.</b>	Bazal plaklardaki p57 boyanma yoğunluğu	<b>78</b>
<b>4.6.3.</b>	Koryonik plaklardaki p57 boyanma yoğunluğu	<b>80</b>

# GİRİŞ

## 1.1. Hipotezin Temeli ve Amaç

Plasenta, anne ile fetus arasındaki birçok metabolik aktiviteyi düzenleyen bir geçiş bölgesidir ve gebeliğin sonucunu etkileyen kritik bir organdır. Fetusun sağlıklı gelişebilmesi için, doğru ve tam bir plasental gelişim gereklidir. Plasental gelişimin normal olmayışı, erken embriyonik ölümlerin en büyük nedenlerinden birini oluşturmaktadır. Plasental gelişimin sağlıklı olabilmesi, doğru ve eş zamanlı bir şekilde proliferasyonun, hücrelerin differansiyasyonunun ve invazyonun gerçekleşmesine bağlıdır (1).

Ökaryotik hücre siklusu 4 fazdan oluşur; G1, S, G2 ve M fazları. G1 ve G2 fazları ara fazlardır ve hücrenin büyümesi, protein ve organel miktarının iki katına çıkarılması ve bölünmeye hazırlanması için zaman aralığını oluştururlar. G1 fazı DNA sentezine (S fazı) ve G2 fazı da mitoz (M fazı) hazırlık fazlarıdır. Eğer şartlar uygun değilse, hücre G1'de ilerlemeyi erteleyebilir hatta G0 diye bilinen dinlenme fazına geçebilir. Şartlar uygun olduğunda ve büyüme ve bölünme için sinyaller alındığı zaman, G0'daki hücreler G1 fazına geçer (2, 3).

Ökaryotik hücre siklusu, siklinler ve onlara spesifik olan siklin bağımlı kinazların (CDK'lar) koordineli bir şekilde çalışmasıyla düzenlenir ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI) tarafından kontrol edilir (4).

Siklinler, CDK'lar için düzenleyici alt birimlerdir ve görevli oldukları hücre döngüsü evrelerine göre sırasıyla 4'e ayrılırlar: siklin D, -E, -A ve -B. Siklin D, hücre büyüme sinyali aldığı anda sentezlenir. G1 fazında sentezlenen, G0'dan G1'e geçişi ve G1/S sınır noktasından geçişi sağlayan bir siklin tipidir. Memelilerde üç tip siklin D vardır: siklin D1, D2 ve D3 (5). Bir siklin D ailesi üyesi olan siklin D3, retinoblastoma (Rb) proteinini inhibe ve Elangasyon Faktör 2 (E2F) proteinini aktive ederek, G1'den S fazına geçişi sağlar (6). Siklin E, G1 fazının sonunda sentezlenir ve hücrenin DNA replikasyonuna geçmesini sağlar. Siklin A, S fazı boyunca sentezlenir ve DNA replikasyonunun başlamasında ve G2 fazına geçişte görev alır. Siklin B ise G2'den M fazına geçişi kontrol eder ve mitoz olaylarını ilerletir (2, 7).

CDK'lar, Ser/Thr protein kinaz ailesindedir ve kendilerine spesifik olan siklinlerle birleştiklerinde aktive olurlar (4). Ökaryotik hücrelerde dört çeşit CDK vardır. Bunlar CDK1, -2, -4 ve -6'dır. Bunlardan CDK4 ve -6 siklin D ile, CDK2 siklin E veya siklin A ile ve CDK1 de siklin B ile kompleks oluşturur.

Siklinler, görevli oldukları hücre siklusu basamağı ile ilişkili olarak, bir yandan sentezlenirken bir yandan da yıkılırlar. Bunun aksine, CDK seviyeleri ise sürekli sabittir. Siklin seviyelerindeki değişiklikler, siklin/CDK komplekslerinin aktivasyonuna ve hücre siklusu olaylarının tetiklenmesine neden olur (3).

Kontrol edilemeyen siklin/CDK kompleksi aktivitesi, tümör oluşumuna neden olabilir. Bu nedenle, siklin/CDK kompleksi inhibitörleri olan CKİ'ler hücre döngüsünün negatif kontrolünden sorumludurlar (8). CKİ'ler, siklinlere, CDK'lara ya da siklin-CDK komplekslerine bağlanarak, CDK'ların aktivitelerini inhibe ederler. CKİ'ler yapısal ve fonksiyonel olarak iki gruba ayrılırlar: Ink4 ve Cip/Kip aileleri (9, 10). Ink4 ailesi 4 üyedir: p16<sup>Ink4a</sup>, p15<sup>Ink4b</sup>, p18<sup>Ink4c</sup> ve p19<sup>Ink4d</sup>. Bunlar spesifik olarak, siklin D ile kompleks oluşturan CDK4 ve CDK6'yı inhibe ederler (9). Cip/Kip ailesinde üç çeşit CKİ vardır: p21, p27 ve p57 (11). Cip/Kip ailesi üyeleri, siklin D, -E, -A veya -B/CDK komplekslerine bağlanarak aktivitelerini inhibe edebilir (10). Bazı dokularda Cip/Kip CKİ'lerin ekspresyon paterni, proliferasyon belirteçleri olan PCNA ve Ki67'nin ve BrdU-işaretli DNA'nın tam zıttını göstermiştir (12-15). P27 hücre siklusunun G1 fazında tutuklu kalmasından sorumludur (7). P27, D tip siklinler/CDK4 kompleksleriyle güçlü ve siklin E/CDK2 kompleksiyle de zayıf etkileşimdedir. p27 veya siklin D genlerini içermeyen farelerle yapılan çalışmaların sonuçlarına göre, p27 eksik olan farelerde hiperplazi ve tümör oluşumu, siklin D tipleri eksik olan farelerde ise tam aksine organların küçülmesi gözlenmiştir (16-21). P57 ise, siklin D/CDK4, siklin E/CDK2 ya da siklin A/CDK2 komplekslerini inhibe eder ve böylece, G1/S geçişini ve S fazının tamamlanmasını engeller (22). P57 geni eksik farelerde organ hiperplazisi, gelişimsel anormallikler ve ölü doğum gözlenmiştir (12, 13).

Hücre siklusunun geç G1 ve S fazlarında sentezlenen proteinlerden birisi PCNA'dır (23). PCNA, DNA sentezi, tamiri ve hücre siklusu düzenlenmesinde önemli roller oynamaktadır ve proliferasyon için yaygın kullanılan bir belirteçtir (24).

Ki67, iki izoformu olan bir hücresel proliferasyon belirteçidir. Hücre siklusu gerçekleştiren hücrelerde geç G1 fazından itibaren tüm siklus fazlarında bulunur (25). Ki67, hücrelerdeki mitoz sayısı ile iyi korelasyon gösterir ve PCNA gibi yaygın kullanılan bir proliferasyon belirteçidir (26).

Preeklampsi, gelişmekte olan ülkelerdeki maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin en önde gelen nedenlerindedir (27). Preeklampitik hastaların uteroplasental yapılarında endotel hücre hasarı, bazal membran bütünlüğünün bozulması, trombosit birikimleri, fibrinoid nekroz, intimal hücre proliferasyonu ve miyointimal hiperplazi, düz kas hücresi proliferasyonu, damar lümeninde daralmaya neden olan vazospazm gibi bulgular görülür. Preeklampitik gebeliklerdeki plasenta normal gebeliklere göre daha ufaktır ve plasenta/fetüs ağırlık oranı azalmıştır. Yetersiz intervillöz dolaşım yüzünden ölen villus dokularının oluşturduğu plasenta enfarktleri, preeklampside en çok gözlenen plasental değişimlerdedir (28). Preeklampside sinsisyotrofoblast apoptozunda ve villöz sitotrofoblastların proliferasyonunda artış görülmüştür. Preeklampitik plasentalarda iskemi sonucunda ortaya çıkan hipoksinin sinsisyumlarda oluşturduğu zedelenme sonrası, proliferasyon yeteneği olmayan bu bölgenin rejenerasyonu, villöz sitotrofoblastlardaki hiperplazi ile sağlanabilmektedir (29, 30). Ayrıca preeklampside ekstravillöz trofoblast hücreleri apoptoza uğramaktadır. Araştırmacılar PE'deki azalmış ekstravillöz trofoblast invazyonuna bu artan apoptozun neden olduğunu öne sürmektedirler (30, 31).

Diabetes Mellitus (DM) akut metabolik komplikasyonlara ve uzun dönemde vasküler, renal, retinal ya da nöropatik bozukluklara yol açan, morbidite ve mortalite riski yüksek bir hastalıktır (32-34). Diyabetik gebelikler, hem anne hem de fetüs açısından riskli gebeliklerdir. Bu risklerden bazıları; fetüste makrozomi, spontan abortus, konjenital malformasyonlar, ölü doğum, polihidramniyoz ve annede hipertansiyon, ketoasidoz, retinopati, nöropati, nefropati ve preeklampsidir (35, 36). DM'li hastaların plasentalarında en sık gözlenen anormallik villöz immatüredir (28). Villöz immatürite, plasental bariyer mesafesini arttırarak kronik fetal hipoksiye yol açmaktadır (37). Diyabetik plasentaların çoğu normal plasentalara göre daha büyüktür (38). Villusları oluşturan hücrelerin çoğunda proliferasyon artmaktadır. Örneğin, villöz stromal fibroblastlar, villöz makrofajlar, endotel hücreler ve villöz sitotrofoblastlar DM'de sayıca artmıştır (28). DM hastalarında, sitotrofoblastların sinsisyotrofoblasta farklılaşmasını uyaran epidermal büyüme faktörünün reseptörünün ekspresyonu azalmıştır. Bu nedenle, villöz sitotrofoblastlar farklılaşmaktan ziyade proliferasyon gösteriyor olabilir (39).

Intrauterin büyüme geriliği (IUGR) perinatal mortalite ve morbidite açısından önemli bir klinik problemdir. IUGR'lı bebeklerde intrauterin ölüm, nörolojik bozukluklar, konjenital malformasyonlar, hipotermi, hipoglisemi, hipokalsemi, polisitemi, trombositopeni ve enfeksiyon riski fazladır (40). IUGR'da, artmış sinsisyotrofoblast apoptozunun etkili olduğu gösterilmiştir (30). IUGR'da terminal villuslar, bilinmeyen sebeplerden dolayı gelişmemiştir. Buna bağlı olarak materno-fetal değişim yüzeyi azalmış ve materno-fetal difüzyon aralığı artmıştır. Ayrıca villöz sitotrofoblast apoptozunda artış ve stromal kapillerlerin sayılarında azalma vardır (41). IUGR'lı plasentalar normalden daha küçük ve hafiftir. IUGR'da plasentada gözlenen bu değişikliklerin, trofoblastların spiral arterlere yetersiz invazyonu ve dolayısıyla azalmış uteroplasental perfüzyon nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (28). Normalde genelde merkezi duruşlu olan göbek kordonu, IUGR'da çoğunlukla ekzentrik yerleşimlidir. Bu durum, plasental dolaşımı olumsuz yönde etkilemektedir (42).

Yapmış olduğumuz ilk trimester insan plasentası çalışmamızda PCNA proteinin plasental villöz dokuda sitotrofoblast hücrelerinde, villöz stromal hücrelerinde ve az da olsa sinsisyotrofoblast tabakasında varlığını tespit ettik. Ayrıca hücre kolonlarının hem proksimal hem de distal kısmında bulunan ekstravillöz trofoblast hücrelerinde immuno pozitif olduğunu belirledik. Ki67 proteinin PCNA'ya benzer bir boyanma gösterdiği PCNA'dan farklı olarak sadece villöz dokudaki sinsisyotrofoblast tabakasında bulunmadığı tespit edildi.

P27 proteini sinsisyotrofoblast tabakasında mevcutken p57 proteini immüno negatifti. Villöz sitotrofoblast hücrelerinde ise p27 proteini ile karşılaştırıldığında p57 proteininin daha fazla miktarda varlığı tespit edildi. Villöz stromal hücrelerde, hücre kolonlarının hem proksimal hem de distal kısmında bulunan ekstravillöz trofoblast hücrelerinde p27 ve p57 proteinlerinin varlığının aynı miktarda olduğu tespit edildi (43).

Siklin D3 ilk trimester plasentada sinsisyotrofoblast ve hücre kolonlarının distal kısmındaki ekstravillöz trofoblast hücrelerinde mevcut değilken, villöz

sitotrofoblast ve hücre kolonlarının proksimal kısmındaki ekstravillöz trofoblast hücrelerinde immüno pozitifdir. Bu hücrelerdeki ekspresyon term plasentasında görülmemiştir. Term plasentasında Ki67 ilk trimesterdekilerle aynı tip hücrelerde boyanma göstermiştir. Term plasentasında p27 ve p57 sinsisyotrofoblastta mevcut değilken, villöz sitotrofoblast hücrelerinde eksprese olmaktadır. P27 proteini hücre kolonlarının hem distal hem de proksimal kısmındaki ekstravillöz trofoblast hücrelerinde mevcut iken, p57 proteini proksimal kısmındaki ekstravillöz trofoblast hücrelerinde negatif iken, distal kısmındaki ekstra villöz hücrelerinde immün pozitifdir (1).

Preeklampitik ve IUGR'lı plasentaların trofoblast hücrelerinde normal olmayan bir hücre siklusu mekanizmasının çalıştığı ve buna bağlı olarak artan bir apoptoz mekanizmasının var olduğu bilinmektedir (44). Preeklampitik ve IUGR'lı plasentalarda Ki67 proteinin dağılımının normal plasentalara benzer olduğu yönünde hipotezler mevcuttur (45). Oysa hem preeklampitik hem de IUGR'lı plasentaların gelişimlerinde apoptozun daha fazla olması ileri sürülen hipotezin tartışılabilir olduğunu göstermektedir. Diğer yandan preeklampitik ve IUGR'lı placentaeksplantlarıyla yapılan çalışmada, trofoblast hücrelerinde aşırı bir apoptoz ve eksik proliferasyon stimülasyonu tespit edilmiştir (46).

Plasental gelişim, esasen trofoblast proliferasyonu ve differansiyasyonun koordinasyonuna bağlı olmasına rağmen, trofoblast proliferasyonunun ve differansiyasyonun senkronizasyonunu sağlayan mitotik regülatörlerin rolü hakkında çok az bilgi bulunmaktadır (1). Trofoblast proliferasyonunun differansiyasyonla nasıl koordine olduğu ve hangi faktörlerin, trofoblastların bölünmesini veya differansiye olmasını sağladığı hakkındaki bilgiler kısıtlıdır (43). Preeklampitik, diyabetik ve intrauterin büyüme geriliğine sahip plasentalar normal gelişim göstermemektedir. Bunun yanı sıra, preeklampsi, diyabet ve intrauterin büyüme geriliğinin, trofoblast proliferasyonu ve differansiyasyonun koordinasyonunu nasıl etkilediği tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle, hücre siklusu regülatörlerinin patolojik insan term plasentadaki rollerini anlamak, bize bu konuda son derece yararlı bilgiler kazandırabilir. Bu çalışmada, PCNA, Ki67, siklin D3, p27 ve p57 gibi hücre siklusu regülatörlerinin, preeklampsili, diyabetik ve intrauterin büyüme geriliği tablosu gösteren insan term plasentalarındaki immünohistokimyasal dağılımlarını belirlemek amaçlanmıştır.



## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Plasenta

Sadece memelilerde görülen plasenta, embriyo gelişimi sırasında koryon ve uterus mukozasının farklı şekillerde kaynaşması ile meydana gelen geçici bir organdır. Plasenta anne ile fetüs arasındaki bağlantıyı oluşturmaktadır. Doğum öncesi süreçte, fetüs bir anlamda parazittir ve onun gelişip büyümesine olanak sağlayan yapı plasentadır. Fetüsün yaşaması ve gelişimi için vazgeçilmez fonksiyonları vardır. Plasentanın başlıca fonksiyonları şu şekilde özetlenebilir;

- Fetüse gerekli oksijen ve besin maddelerinin sağlanması
- Metabolik artıkların ve karbondioksitin fetüsten uzaklaştırılması
- Endokrin etkisi ile annede gebelik ve doğum ile ilişkili değişikliklerin oluşturulması (Plasentadan sentezlenen hormonlar: protein hormonlardan human koryonik gonadotropin (hCG), human plasental laktojen (hPL), human koryonik tirotropin (hCT), human koryonik somatomammotropin (hCS), human koryonik adreno-kortikotropin (hCACTH) ve steroid hormonlardan progesteron ve östrojen)
- Yabancı cisim olan fetüsün reddinin önlenmesi
- Gebeliğin sağlıklı şekilde devamı için gerekli olan spiral arterlerdeki değişimlerin oluşturulması
- Özellikle gebeliğin erken dönemlerinde embriyo ve fetüs için besin ve enerji kaynağı oluşturan glikojen, kolesterol ve yağ asitlerinin sentezlenmesi
- Fetüsün zararlı etkilerden korunması

Gebeliğin devamı ve normal fetüs gelişiminin olabilmesi, bu geniş kapsamlı işlevlere bağlıdır (28, 47, 48).

### 2.2. Plasentanın Gelişimi

Plasentanın gelişimi karmaşık bir mekanizmadır ve doğru şekilde gerçekleşirse sağlıklı bir gebelik elde edilir. Plasenta gelişiminde sorunlar ortaya çıkarsa, anne ve fetüs açısından olumsuz sonuçlar doğacak ve fetüs gelişimi düzgün şekilde gerçekleşmeyecektir.

#### 2.2.1. Prelaküner Evre

Prelaküner evre, koitus sonrası (pc, post koitus) 8. güne kadar geçen evredir. Plasentanın oluşumu, blastosistin endometriyuma implantasyonu ile (insanda pc 6-7. günlerde) başlar. Bu evrede, blastosist zona pellusidadan kurtulmuştur ve 107-256 hücreden oluşmaktadır. Blastosistin periferinde dizilmiş olan ve başlangıçta tek sıra halindeki hücrelerden oluşan tabakaya trofoblast, içteki hücrelere ise embriyoblast (iç hücre kitlesi) denir. Hücre soy araştırma (lineaj) çalışmaları, plasenta ve fetal zarların büyük ölçüde trofoblastlardan, embriyo ve göbek kordonunun ise yalnızca embriyoblastlardan köken aldığını göstermektedir.

6. günde, blastosist iç hücre kitlesine yakın bölgedeki (embriyonik kutup) trofoblastlar (polar trofoblastlar) aracılığıyla endometriyal epitele yüzeyel olarak tutunur. Endometriyal epitele tutunduktan sonra, trofoblastlar hızla çoğalmaya başlar ve iki farklı tabakaya farklılaşır (sitotrofoblast ve sinsisyotrofoblast) (7. gün) (Şekil 2.2.a, b) (28, 48). Trofoblast farklılaşmasını çok hassas bir sıra ile hem hücre içi hem de hücre dışı ortam faktörleri kontrol eder (49). Sitotrofoblastlar (Langhan's hücreleri), içte yer alan, maternal dokularla temas etmeyen, mitotik olarak aktif hücrelerdir. Mitotik olarak aktif olmayıp, sitotrofoblastlardan gelişen sinsisyotrofoblast ise tek nükleuslu sitotrofoblastların kaynaşması ve hücre zarlarının kaybolması ile oluşan çok nükleuslu bir hücre kitlesidir ve dış kısımda yer alır. Böylece bu dönemde blastosistte, içte hücre sınırları net izlenebilen sitotrofoblastlardan oluşan tabaka ile dışta hücre sınırları belirgin olmayan bir hücre kitlesi şeklinde izlenen sinsisyotrofoblast tabakası izlenir (48).

Trofoblastların çoğalmaya devam etmesiyle birlikte, çok invazif olan sinsisyotrofoblast tabakası hızla embriyonik kutba doğru genişler. Sinsisyotrofoblast, blastosistin endometriyum içine gömülmesi için maternal dokuları parçalayan proteolitik enzimler salgılar. Endometriyum dokuları, kapillerler, bağ dokusu ve bezler sinsisyotrofoblast tarafından erozyona uğratılır, dolayısıyla endometriyum aşınır. Böylece, sinsisyotrofoblastların parmağa benzer uzantıları endometriyum içinde derinlere invaze olur ve blastosist endometriyal stroma içine gömülmeye başlar (50-52).

Blastosist implante olurken endometriyum desidualizasyon (desidual reaksiyon) olarak bilinen bir transformasyon geçirir. Desidualizasyon, progesterona bağlı olarak blastosistin implantasyonu ve beslenmesi için endometriyumda meydana gelen değişikliklerdir. İmplantasyon alanı etrafındaki stromal hücreler sitoplâzmalarında glikojen ve lipid biriktirir ve polihedral bir görünüm alır. Bu hücreler, desidual hücreler olarak adlandırılır. Desidualizasyon ilk olarak embriyo çevresinde görülürken daha sonra tüm endometriyuma yayılır. Desidua (gebelik endometriyumu) üç tabakadan oluşur; a) Desidua bazalis, implantasyon bölgesidir, b) Desidua kapsülaris, gelişen blastosisti çevreleyip onu uterus boşluğundan ayırır ve c) Desidua pariyetalis, geri kalan tüm endometriyumu kapsar (12-14. haftalardan sonra büyüyen fetus uterus boşluğunu doldurur ve böylece desidua kapsülaris ile pariyetalis birleşir.) (53, 54).

### **2.2.2. Laküner Evre**

Postkoitum 8. günden itibaren sinsisyotrofoblastın içerisinde sıvıyla dolu küçük vakuoller ortaya çıkmaya başlar ve bu vakuoller birleşerek lakünaları meydana getirir. Bu nedenle bu evreye "laküner evre" adı verilir. Lakünalar birbirinden sinsisyotrofoblastın oluşturduğu trabekül denilen yapılarla ayrılır (Şekil 2.2.c). 10. günde, sinsisyotrofoblast içindeki lakünalar iyice büyümüştür. 11. gün, bitişik lakünalar, laküner ağ örgüsü oluşturmak üzere birbirleriyle kaynaşırlar ve bunun sonucunda sinsisyotrofoblast süngerimsi bir görünüm kazanır. Laküner ağ örgüsünün oluşması sonucunda plasentanın tabakaları meydana gelmeye başlar: a) trofoblastların embriyoya bakan kısımları primer koryonik plağı, b) laküner ağ örgüsü intervillöz aralığı, c) trabeküller villusları ve d) trofoblastların maternal dokulara bakan kısımları primitif bazal plağı (trofoblastik kabuk) oluşturur (28, 48).

Sinsisyotrofoblast tabakası endometriyum stromasının daha derinlerine doğru ilerler ve maternal kapilleri aşındırır. Bu sayede, maternal kan lakünelara doğru akmaya başlar (55).

Gebeliğin birinci haftasının sonunda başlayan blastosist implantasyonu, ikinci haftanın sonuna doğru (12. günde) tamamlanır. Bu işlem moleküler düzeyde oluşmaktadır ve çeşitli faktörlerin etkisi altındadır. Değişik büyüme faktörleri, steroidler ve sitokinlerin etki ve düzenlemesi söz konusudur (54).

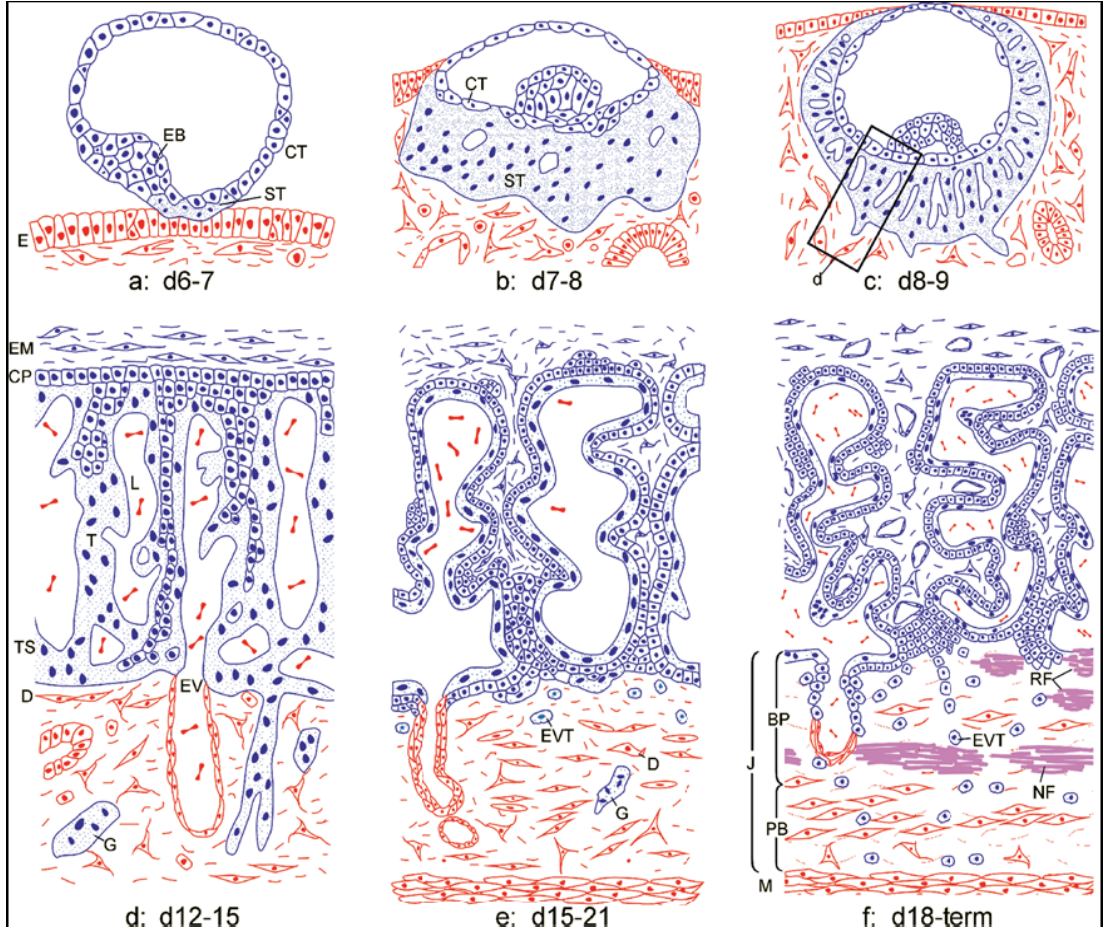
Gebelik ilerledikçe sinsisyotrofoblastik tabaka tüm blastosist yüzeyini kaplar. 12-13. günlerde endometriyum epitelinin dejenere olduğu bölge fibrin plak ile kapatılır.

12. günden itibaren sitotrofoblastlar trabeküllerin içinde ilerlemeye başlar ve 14. günde trofoblastik kabuğa ulaşır (Şekil 2.2.d). Böylece ilk defa sinsisyotrofoblast dışındaki bir embriyonik doku maternal dokularla direkt olarak temasa geçer (56, 57).

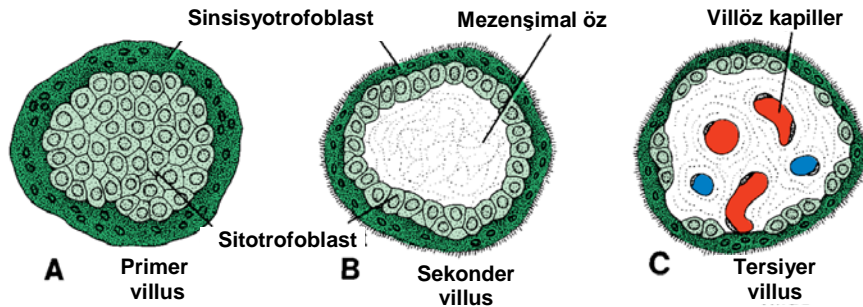
14. günde ekstraembriyonik mezenşimal hücreler sitotrofoblastların iç yüzeyine göç eder ve burada sitotrofoblastlarla birlikte koryonik plağı oluşturur (58).

### **2.2.3. Erken Villöz Evre**

13. günden itibaren trabeküllerin içindeki sitotrofoblastlar proliferasyon geçirerek lakünelara doğru parmaklı çıkıntılar oluşturur. Dışta sinsisyotrofoblasttan içte de sitotrofoblastlardan oluşan bu yapılara primer villus adı verilir (Şekil 2.2.3.A) (59, 60). Kısa bir süre sonra, koryonik plaktaki ekstraembriyonik mezenşimal hücreler sitotrofoblastları takip ederek trabeküllere ve oradan da primer villusların merkezine göç eder ve böylece sekonder villuslar oluşur (Şekil 2.2.e) (Şekil 2.2.3.B). Yaklaşık 21. gün, villus mezenşiminde mezenşimal hücrelerden farklılaşan hemanjiyoplastik prekürsör hücrelerin oluşturduğu endotel hücreler gözlenir. Villus mezenşiminde ilk fetal kapillerlerin oluşmasıyla birlikte yapı tersiyer villus adını alır (Şekil 2.2.f) (Şekil 2.2.3.C) (61, 62). Bu sırada, villuslardaki sitotrofoblastlar proliferere olur ve sinsisyotrofoblast tabakasının içine doğru genişleyerek trofoblastik kabuğa ulaşır. Bu kabuk giderek koryon kesesini sarar ve endometriyuma bağlar. Trofoblastik kabuk aracılığı ile maternal dokuya bağlanan villuslar demirleyici (anchoring) villuslar adını alır. Demirleyici villuslarda biriken sitotrofoblastik hücre yığınları hücre kolonları adını alır (63). Hücre kolonlarındaki bazı sitotrofoblastlar (intersisyal ekstravillöz trofoblastlar) trofoblastik kabuktan ilerleyerek endometriyal stromayı invaze eder ve plasental yatakta spiral arterleri çevreleyen dev hücreleri oluşturur. Bunların bir kolu (endovasküler ekstravillöz trofoblastlar) spiral arter duvarlarına geçer ve buralara invaze olur (56, 57). Spiral arterler, endovasküler trofoblastlar tarafından transforme edilir (çeperlerindeki damar düz kas hücreleri tahrip edilir ve endotelin yerine trofoblastlar geçer.) Vasküler değişiklikler intervillöz aralıktan miyometriyumun ilk üçte birine kadar uzanır. Sonuçta spiral arterlerde periferik direnç ve kan basıncı düşer (57).



**Şekil 2.2.** Erken plasental gelişimin şematize edilmiş hali. **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, maternal ve fetal fibrinoidler mor renktedir. (E: endometriyum epiteli, EB: embriyoblast, CT: sitotrofoblast, ST: sinsisyotrofoblast, EM: ekstraembriyonik mezoderm, CP: primer koryonik plak, T: trabekül ve primer villus, L: laküna, TS: trofoblastik kabuk, EV: endometriyal damar, D: desidua, RF: Rohr fibrinoidi, NF: Nitabuch fibrinoidi, G: trofoblastik dev hücre EVT: ekstravillöz trofoblast, BP: bazal plak, PB: plasental yatak, J: bağlantı zonu, M: miyometriyum) (28)



**Şekil 2.2.3.** Villus yapılarının (primer, sekonder ve tersiyer villuslar) enine kesitleri. **A:** Primer villus, **B:** Sekonder villus, **C:** Tersiyer villus (47).

Villuslardaki kapillerler arteriyokapiller ağı oluşturacak şekilde birleşir; bunlar da daha sonra, koryon ve bağlantı sapının mezenşimi içinde farklılaşan

damarlar aracılığıyla embriyonik kalp ile ilişki kurarlar. Böylece 3. haftanın sonunda kalp atımı başladığında fetal kan damarları fonksiyonel hale gelir ve plasental dolaşım başlar. Intervillöz boşluklardaki anne kanından oksijen ve besin maddeleri villusların duvarından difüzyonla embriyo kanına geçer. Karbondioksit ve metabolik artık ürünler fetal kapillerlerden difüzyonla villus duvarını geçerek anne kanına karışır. Fetoplasental dolaşım sisteminin tamamlanması, fertilizasyondan sonraki beşinci haftanın başına rastlar (64).

Villuslar sekizinci haftanın başına kadar koryon kesesini her tarafından örter. Bu kese büyürken, villuslar yakın komşuluk içinde buldukları desidua kapsülaris tarafından sıkıştırılır ve bu bölgelerde kan dolaşımı azalır. Buralardaki villuslar daha sonra atrofiye uğrayarak kısmen damarsız bir alan olan koryon leve yani düz koryonu oluşturur. Desidua bazalis ile ilişkili olan villuslar ise hızla sayılarını artırır, dallanırlar ve genişlerler. Bu saçaklanmış koryon kesesi, koryon frondozum yani villöz koryon adını alır.

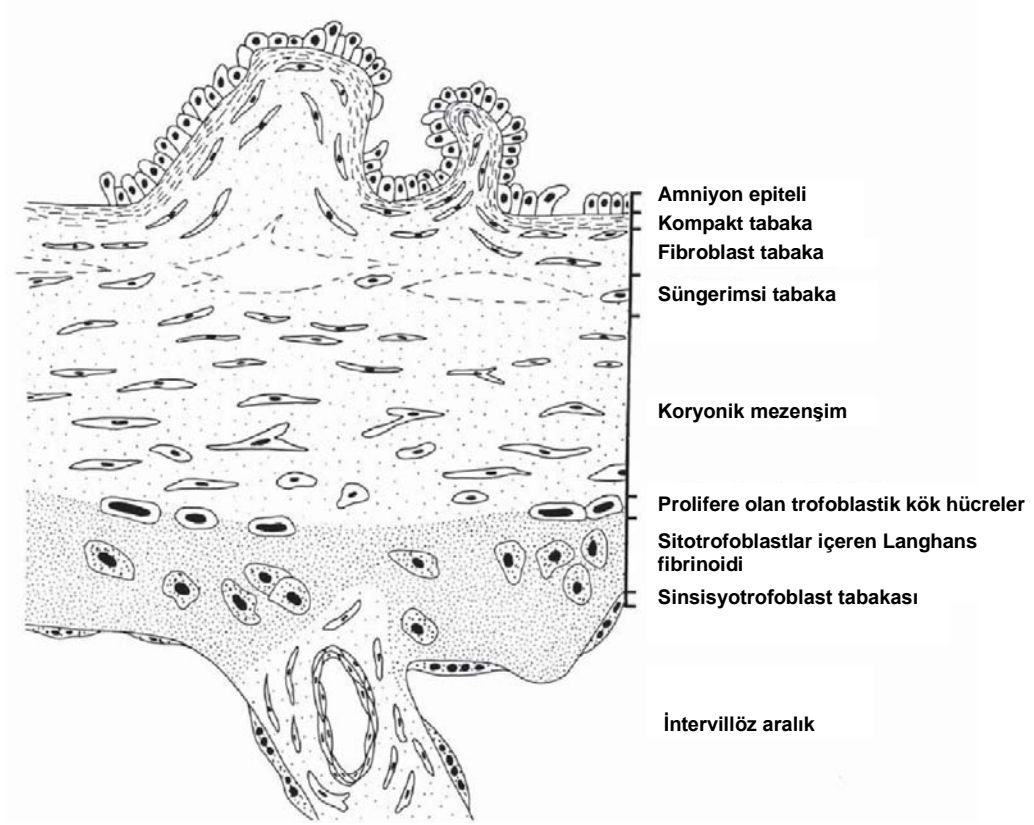
### **2.3. Plasentanın Bölümleri**

İnsan plasentası iki kısımdan oluşan feto-maternal bir organdır. Bunlar, koryon kesesinden gelişen fetal kısım (pars fetalis) ve endometriyumdan köken alan maternal kısımdır (pars materna).

#### **2.3.1. Plasentanın Fetal Kısımı**

Koryon frondozumdan gelişen koryonik plak ve bu plağa bağlı villuslardan oluşur. Villuslar, anne kanının dolaştığı lakünalar içinde uzanırlar ve direkt olarak anne kanı ile temas ederler.

Koryonik plağın fetüse bakan yüzü amniyon epiteliyle ve intervillöz boşluğa bakan yüzü de sinsisyotrofoblast tabakası ile örtülüdür. Amniyon, tek katlı epitel ve vasküler olmayan amniyon mezenşiminden oluşmaktadır. Amniyon mezenşimi, kompakt, fibroblast ve süngerimsi olmak üzere 3 tabakadan oluşmuştur. Kompakt tabaka hücrelerden yoksun retiküler ağlardan oluşan sıkı bir tabakadır. Fibroblast tabaka en kalın tabakadır ve stroma içine gömülmüş fibroblast hücrelerinden oluşur. Süngerimsi tabaka ise amniyon ile koryon arasındaki boşluklu tabakadır (Şekil 2.3.1).

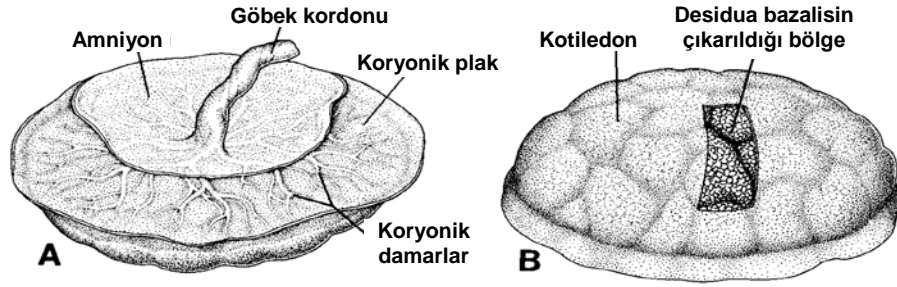


Şekil 2.3.1. Plasentanın fetal kısmının yapısı (28).

### 2.3.2. Plasentanın Maternal Kısmı

Bazal plak ve plasental septumlardan oluşur. Bazal plak, ekstrasellüler trofoblastlar, desidua stromal hücreler, Doğal öldürücü (NK) hücreler gibi maternal immün hücreler ve yoğun şekilde ekstrasellüler matriks ve fibrinoid içermektedir (52). Bazal plaktan sonraki kısım da yine maternal ve fetal dokuların karışımından oluşan plasental yataktır. Ancak, bazal plağın aksine plasental yatak doğum sırasında atılmaz. Bazal plak ve plasental yatak birlikte bağlantı zonu olarak adlandırılır (28).

Plasentanın biçimi villusların kalıcı alanlarının biçimi tarafından belirlenerek, sonuçta plasenta disk biçimini alır. Plasenta biçiminin belirlenmesi sırasında, villuslar desidua bazalise doğru yayılırken desidua dokusu intervillöz boşluğun genişlemesine izin verecek şekilde erode olur. Bunun sonucunda, plasental septumlar adı verilen çok sayıda üçgen şeklinde desidua alanları ortaya çıkar ve bu septumların uzantıları bazal plaktan koryonik plağın içine doğru uzanır. Plasental septumlar, plasentanın maternal kısmını kotiledonlar adı verilen dış bükey alanlara ayırırlar. Her bir kotiledon, iki veya daha çok kök villusu ve onun çok sayıda dallarını içerecek şekilde plasentanın maternal yüzünde görülebilir (Şekil 2.3). Dördüncü ayın sonunda desidua bazalis neredeyse tümüyle kotiledonlarla kaplanmıştır (28, 63).



**Şekil 2.3.** İnsan term plasentasının dış görünümünün çizimi. **A:** Fetal yüz. Koryonik plak ve göbek kordonu, amniyon ile örtülüdür. Şekilde amniyon, koryonik plak ve damarların görülmesi için ayrılmıştır. **B:** Maternal yüz (47).

İnsan plasentası hemokoryal tipte bir plasentadır. Hemokoryal tipteki plasentaların iki ana özelliği vardır; fetal ve maternal dolaşım biribirinden tamamen ayrıdır, birbirine karışmazlar ve intervillöz aralıktaki maternal kan direkt olarak villus yüzeyindeki trofoblastlar ile temas halindedir. Kapiller duvardaki nadir yırtılmalar dışında fetal ve maternal kan birbiri ile karışmaz. Fetal ve maternal kanın birbiri ile karışmasını engelleyen yapı daha çok fetal dokulardan oluşan plasental bariyerdir. Plasental bariyer başlangıçta şu tabakalardan oluşur; 1- sinsisyotrofoblast 2- sitotrofoblast (1. trimesterde devamlılık gösterir, 2 ve 3. trimesterde kesintilidir) 3- trofoblastik bazal membran 4- villöz bağ doku 5- fetal kapiller endotelinin bazal membranı 6- fetal kapiller endoteli. Plasental bariyer, molekül yapısı belirli büyüklükte, belirli konfigürasyonda ve belirli bir yükte olduğu zaman gerçek bir bariyer gibi hareket eder. Bazı metabolitler, toksinler ve hormonlar anne kanında bulunsalar da, embriyo ya da fetüsü etkileyecek konsantrasyonlarda plasental bariyerden geçemezler. Anne plazmasındaki pek çok ilaç ve diğer maddeler ise plasental bariyeri aşabilir ve fetüs plazmasına geçebilir (28).

Villuslar makroskopik olarak ağaç gibi yapılanmışlardır. Her bir villöz ağacı (60-70 adet) plasentanın koryonik plağından kalın bir kök ile çıkar ve ileriye doğru gittikçe dallanır. Bunların çoğu intervillöz aralıkta serbestçe yüzer ve yüzen (floating) villuslar olarak adlandırılır, geriye kalanlarsa (demirleyici villuslar) maternal stroma içine girer. Her bir villus ağacı ve etrafındaki intervillöz aralık, fonksiyonel bir üniteyi oluşturur. Bu fonksiyonel üniteye “plasentom” adı verilir ve plasentada 60-70 tane plasentom bulunur. Her bir plasentom ortalama 2-4 cm büyüklüğündedir (66).

Plasental gelişim boyunca, yapısal ve fonksiyonel özelleşmeler sergileyen birçok villus tipi ortaya çıkmaktadır. Villus tipleri yapısal ve fonksiyonel olarak farklılıklar sergilese de tüm villusların temel yapıları aynıdır:

- En dışta sürekli bir sinsisyotrofoblast tabakası vardır. Sinsisyotrofoblastın proliferatif aktiviteleri yoktur ve sitotrofoblastlardan gelişirler. Sitotrofoblast nükleuslarının kaynaşması, hücre zarlarının kaybolması ve morfolojik değişikliklere uğramalarıyla oluşan çok nükleuslu bir hücre kitlesidir. Başlangıçta büyük, ovoid ve ökromatinden zengin olan nükleuslar, küçük nükleuslu, sıkı kromatin yapısı içeren hücreler haline gelir. Sinsisyotrofoblastın intervillöz aralığa bakan yüzleri, materno-fetal etkileşim



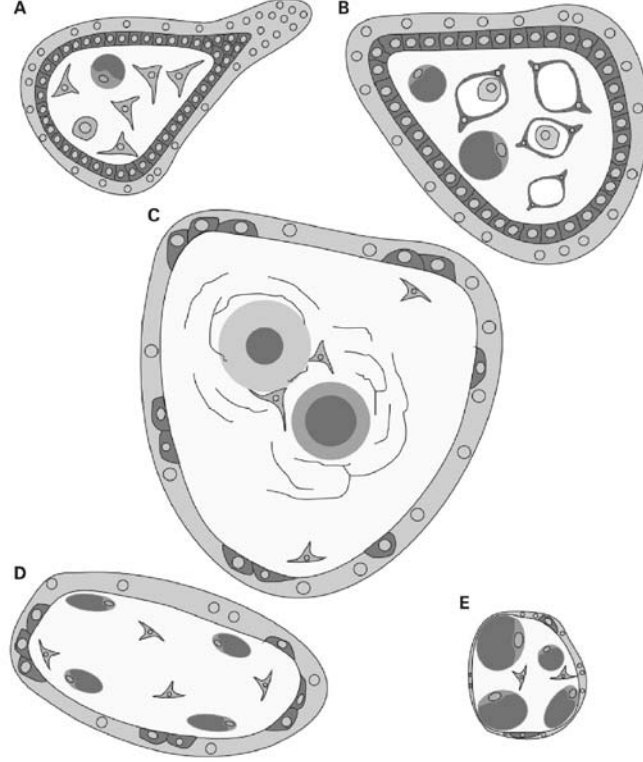
alanını artıran mikrovilluslarla kaplıdır. Bunlarla birlikte toplam villus yüzey alanı termde 7.67 kat artmaktadır. Ultrastrüktürel çalışmalar sinsisyotrofoblastın emilim ve hormon salgılanması ile ilişkili olduğunu göstermektedir. İyi gelişmiş Golgi kompleksi, yaygın granüler ve agranüler endoplazmik retikulum, bol mitokondri ve lipid damlaları içerirler. Bu tabakadan östrojen, progesteron, hCG ve laktojenler salgılanır (28).

- b) Sinsisyotrofoblastın altında çoğalma yeteneği olan hücreler olan sitotrofoblastlar (Langhan's hücreleri) bulunur. Sitotrofoblastlar, mitotik olarak aktif olan ve sinsisyotrofoblastı oluşturan tek nükleuslu hücrelerdir. Bunlar dağınık kromatin içeren büyük nükleuslu, kübik yapıda hücrelerdir. Sitoplâzmalarında glikojen, vakuoller ve az miktarda organeller vardır. Sitotrofoblastların da steroid hormonları ve hCG ürettikleri bilinmektedir.
- c) Trofoblastik bazal membran sinsisyotrofoblast ve sitotrofoblast tabakalarını villöz stromadan ayırır. Normal koşullarda, trofoblastik bazal membranın kalınlığı ortalama 20-50 nm arasındadır.
- d) Villusun ortasını kaplayan villöz stroma, villus tipine göre değişen farklı sayıda ve tiplerdeki bağ dokusu hücreleri, bağ dokusu lifleri ve fetal damarlardan oluşmaktadır. Villöz stroma, fetal mezenşim kökenlidir ve stromada damarlar, damarları çevreleyen kontraktıl hücreler, bağ doku hücreleri ve değişen sayıda fetal makrofajlar (Hofbauer hücreler) bulunur. Farklılaşmamış stromal hücreler olan mezenşimal hücreler, gebeliğin ikinci ayının sonuna kadar egemen hücre tipidir. Gebeliğin sonlarına doğru genellikle sadece kök villuslarda ve kalan az miktardaki mezenşimal ve immatür intermediyet villuslarda gözlenirler. Bu hücreler, küçük, iğsi şekilli ve az sitoplâzmalıdır. İkinci ayın sonundan itibaren stromal yapı ve içerikte büyük ölçüde değişiklikler başlar. Villusların merkezi kısımlarından başlayıp çevresine doğru yayılacak şekilde, mezenşimal hücreler retikulum hücrelerine ve fibroblastlara farklılaşmaya başlar. Retikulum hücrelerinin uzamış hücre gövdelerinden birçok uzun, ince sitoplazmik uzantılar çıkar. Bu uzantılar komşu hücrelerin uzantılarıyla birleşerek immatür intermediyet villuslardaki stromal kanalları oluşturur. Fibroblastlar ise daha çok kök villuslardaki ve az miktarda da immatür intermediyet villuslardaki büyük damarların çevrelerinde yerleşimlidir. Villöz stromanın sabit bağ dokusu hücreleridir. Retikulum hücrelerinin aksine fibroblastların kısa, kalın ve az sayıda uzantıları vardır. Gebeliğin geç evrelerinde, mezenşimal hücreler miyofibroblastlara farklılaşır (67). Fetal damarları çevreleyen bu kontraktıl hücreler, parakrin etkileriyle fetal damarların kontraksiyon ve dilatasyonunu, bu yolla da fetal dolaşımı düzenlerler. Hofbauer hücrelerinin makrofaj karakterinde olduğu yapılan morfolojik, sitokimyasal, histokimyasal, immünolojik ve immünohistokimyasal çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bunlar yuvarlağa yakın şekilli, periferik nükleuslu ve vakuollü sitoplâzmaya sahiptir. Villöz stromada az miktarda mast hücresi de bulunmaktadır. Bunların yanı sıra, villöz stroma farklı çeşit ve büyüklüklerde fetal damarlar içermektedir. Büyük kök villuslarda damarlar genellikle arter ve venler iken, periferik dallarda damarların çoğunluğu kapiller ve sinüzoiddir (28).



## 2.4. Villus Ağacının Yapısı

Bir villus ağacında bulunan yapılar, büyüklükleri, stroma karakterleri ve fetal damarların özelliklerine göre 5 tip'e ayrılabilir (Şekil 2.4.1) (28, 59, 66);



**Şekil 2.4.1.** Villus tiplerinin enine kesitleri. (A) Mezenşimal villus, (B) İmmatür intermediyet villus, (C) Kök villus, (D) Matür intermediyet villus, (E) Terminal villus. Açık gri renkli villusları çevreleyen yapı sinsisyotrofoblast, sinsisyotrofoblast yanındaki koyu gri hücreler sitotrofoblast, villusun merkezindeki beyaz kısım villöz stroma, stromadaki gri ve koyu grili hücreler stromal hücreler, B'deki stromal kanalların içindeki açık gri hücreler makrofajlar, C'deki stromanın merkezindeki gri yuvarlak yapılar kök villusun arter ve veni, içi koyu gri renkli olan oval ve yuvarlak yapılar ve bunları saran hücreler kapillerler ve endotel hücrelerdir (52).

### 2.4.1. Kök (Stem) Villus (KV)

Plasental ağacın köküdür. Çapları 80µm'den bir kaç milimetreye kadar değişir. KV'lar, villus ağacındaki yapıların mekanik desteğini sağlar. Tekdüze ve kalın bir trofoblastik örtüsü vardır. Yoğun fibröz bir stroma içerir. Stroma, içinde sıklıkla fibroblastların ve çok seyrek olarak da makrofajların bulunduğu, çok yoğun kollajen lif demetleri ile karakterizedir. Makrofajlar, stroma içinde eşit şekilde dağılmıştır. Stromadaki daha merkezi yerleşimli bağ dokusu hücreleri miyofibroblastlar iken, daha periferde yerleşenler ise kasılamayan fibroblastlardır. Miyofibroblastlar, kök villus damarları çevresinde yoğun bulunur ve bunlara perivasküler kılıf denir. Stromanın periferindeki hücreler, proliferen olan kök hücreler iken; merkezindeki hücreler ise en çok farklılaşmış hücrelerdir. Kök villusun ortasında yerleşimli olan, adventisya ve medya tabakaları izlenebilen arter, ven ve geniş arteriyol ve venüller vardır. Fetal damarlar ile intervillöz mesafedeki maternal

dolaşım arasında geniş mesafe vardır ve dolayısıyla gaz ve besin alışverişinde aktif rol almazlar. KV'lar şu yapılardan oluşur:

- a) Villus ağacının ana kökleri olan ve villus ağacını, koryonik plağa bağlayan truncus chorii,
- b) Ana kökten türeyen, 4 nesil kısa ve kalın dallanmalar (rami chorii),
- c) Villus ağacının periferine uzanan, 2 ile 30 arası (ortalama 10) nesil olan, daha ince ve düzensiz dallanmalar (ramuli chorii),
- d) Kök villusların özel bir grubu olan ve hücre kolonlarıyla bazal plağa tutunan demirleyici villuslar.

Bu yapıların çapları, 80 µm (en küçük ramuli chorii) ile 3 mm (koryonik plak yakınındaki bazı truncus chorii'ler) arasında değişir.

#### **2.4.2. Matür İntermediyet Villus (MİV)**

Uzun, ince ve çapları 60–160 µm arasında olan periferik dallardır. Stromaları, düzensiz, gevşek bağ dokusu lif demetleri ve bağ dokusu hücrelerinden oluşur. Matür intermediyet villuslarda fetal dolaşıma ait arteriyol, venül ve kapillerler bulunur. Damarlarının ışık mikroskopuyla tespit edilebilen medya ve adventisya tabakaları yoktur. İleri derecede fetal damarlanmaları ve geniş feto-maternal değişim yüzeyi sayesinde, feto-maternal madde değişiminde çok önemlidirler. 3. trimester başında, mezenşimal villusların farklılaşmasıyla oluşurlar. Terminal villusları oluştururlar.

Matür intermediyet villuslara dönüşümün gecikmesi durumunda; mezenşimal ve immatür intermediyet villuslar çoğunlukta olur, villus ağacı çok büyür ve çok büyük ama fonksiyonel olarak yetersiz bir plasentaya neden olur.

Çok erkenden matür intermediyet villuslara dönüşüm ise; villus gelişiminin zamansız olarak durmasına, prematür farklılaşmaya, çok küçük bir plasentaya ve plasentanın çok farklılaşmış olmasına rağmen yeterli madde değişimi yüzeyi sağlayamamasına yol açar.

#### **2.4.3. Terminal Villus (TV)**

MİV'ların ileri derecede damarlanmış olan ve genişlemiş sinüzoidler içeren üzüm benzeri son kısımlarıdır. MİV'lara genellikle dar bir boyun bölgesiyle bağlıdırlar. Çapları 30–40 µm arasındadır. İnce bir sinsisyotrofoblast tabakasıyla kaplıdır. Stromalarında lifler ve hücreler azdır; makrofajlar nadir bulunur. Stromasında 1-6 arasında kapiller bulunur. Damarlanmanın çok olması ve materno-fetal difüzyon mesafesinin çok kısılması (ortalama 3.7 µm) nedeniyle, anne ile fetus arasındaki madde değişiminin en etkili ve hızlı olduğu yapılardır. Terminal villuslar termde baskın konuma geçer ve villus yapısının %30-40'ını oluştururlar. Diğer villus tiplerinin aksine, TV'lar, başka yapılardan gelişen aktif oluşumlar değil, kapillerlerin ilmek oluşturmasıyla gerçekleşen pasif oluşumlardır. Terminal villusların oluşumu, MİV'lardaki kapillerlerin uzamasıyla yakından ilişkilidir. Villusların içindeki kapillerlerin uzunluğu, villusların boyunu aştığı zaman, kapillerler bükülerek ilmekler oluşturur. Bu villusların ince yapısından dolayı, ilmekler, trofoblastik yüzeyde çıkıntılar oluşturur ve intervillöz aralığa doğru, üzüm-benzeri çıkıntılar oluşturur.

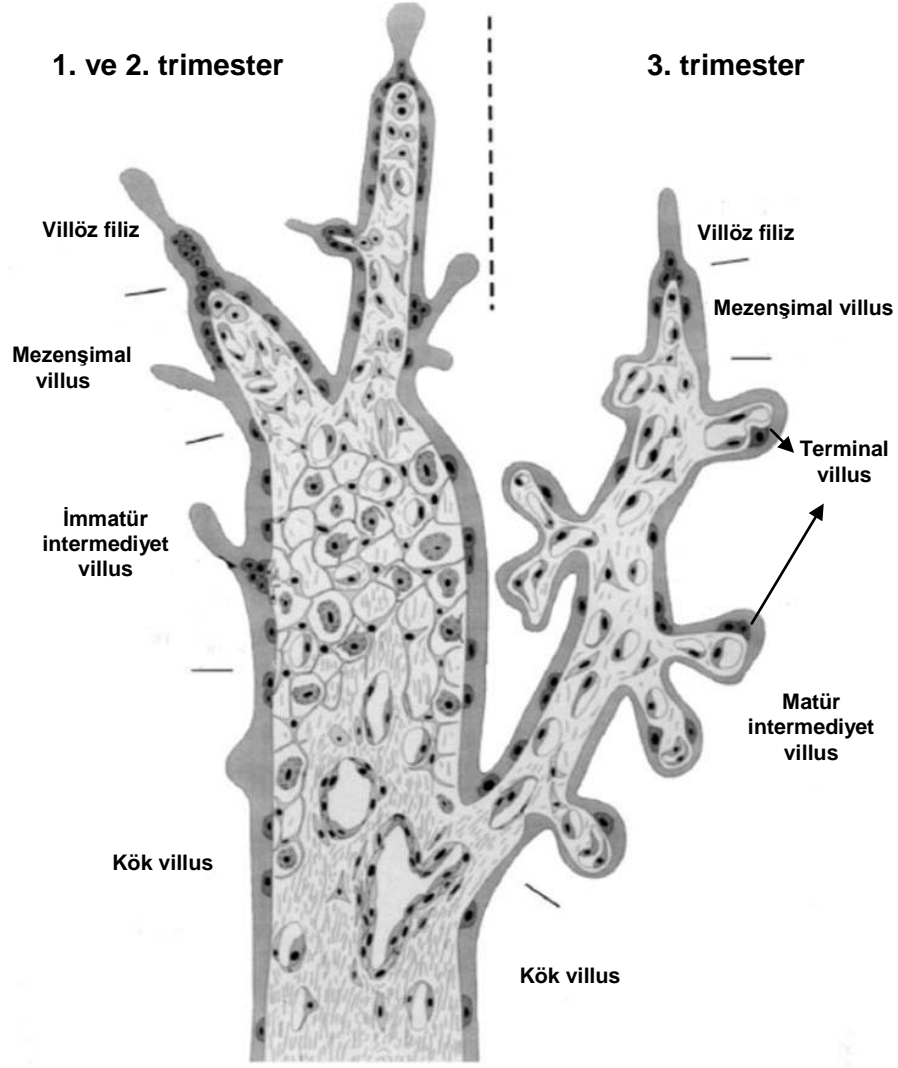
#### **2.4.4. İmmatür İntermediyet Villus (İİV)**

Kök villusların uç noktasında bulunan immatür, şişkin villuslardır. Kalın bir trofoblast tabaka ile kaplıdır. Karakteristik özelliği retiküler tipteki stromasıdır. Bu stromada yelken-benzeri stromal hücrelerle sınırlandırılan birçok stromal kanallar bulunmaktadır. Stromal kanallar içinde, Hofbauer hücreleri ve bir miktar plasental sıvı bulunur. Fetal damarlar ve kollajen lifler, stromal kanalların arasında yerleşmiştir. İİV'lar, MV'lardan kaynaklanır ve kök villuslara farklılaşırlar. 14. ile 20. haftalar arasında çok yaygındırlar. İlk iki trimester boyunca, asıl materno-fetal madde değişim bölgeleridir.

#### **2.4.5. Mezenşimal Villus (MV)**

Villus ağacının en ilkel tipleridir. Villus ağacında intermediyet villusların üzerinde tomurcuklanma şeklinde gözlenirler. İİV'ların öncülleridirler. Kalın trofoblastik yüzeyleri vardır. Trofoblastik tabakada, sinsisyum ve bazal membran arasında, çok miktarda sitotrofoblastik hücre bulunur. Primitif stromalarıyla karakterizedirler. Stromaları, gevşektir ve kollajen liflerin ağ gibi sardığı mezenşimal ve Hofbauer hücrelerini içerir. Fetal kapillerler çok az gelişmiştir. Gebeliğin erken evrelerinde daha fazla sayıda olup terme doğru azalırlar. Gebeliğin ilk haftalarında, MV'lar, sadece villus proliferasyonunun değil, ayrıca materno-fetal değişimin ve neredeyse tüm endokrin aktivitelerin gerçekleştiği yerlerdir. Gebeliğin sonraki evrelerinde, İİV'ların yüzeyleri boyunca veya MİV'ların uçlarında bulunurlar. MV'lar, villus proliferasyonunun ve dallanmaların gerçekleştiği bölgelerdir.

Gebeliğin ilk haftalarında, sadece MV'lar vardır. Birinci trimesterde villus ağacının gelişimi hızlıdır, MV'lar ve İİV'lar saptanır. Gebeliğin 20. haftasına gelmeden, belli başlı villus tipi İİV'lardır. Gebeliğin ortalarına kadar villus ağacı gelişirken, yapı olarak pek değişime uğramadan çoğalır. Fetüs gelişiminin plasenta gelişimini aştığı ve daha hızlı olduğu gebeliğin ikinci döneminden itibaren immatür villus tipleri (mezenşimal ve immatür intermediyet) matür formlarına dönüşür (66). 3. trimester plasentasında ise, MİV'lar ve özellikle TV'lar egemendir. Ufak gruplar halinde MV'lar izlenebilir (Aktif büyümenin göstergesidir) (Şekil 2.4.2). Bu plasental gelişim ve matürasyon süreçleri, plasentanın transfer kapasitesini artırmak ve optimize etmek için gerçekleşmektedir.



Şekil 2.4.2. Villus ağacının yapısı (59).

## 2.5. Term Plasentanın Yapısı

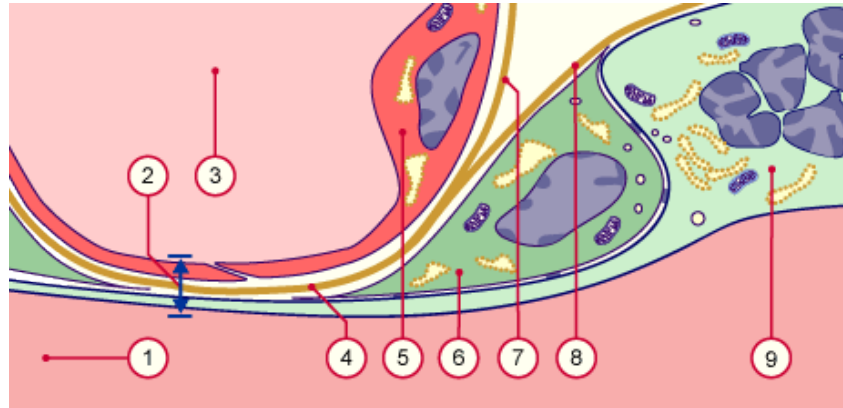
Fetüs büyüdükçe uterus, koryon kesesi ve plasenta da büyür. Plasentanın hacminin artması ve kalınlaşması, gebeliğin yaklaşık 20. haftasına kadar hızlı bir şekilde devam eder (28, 63). 4. ayda villus sistemi tamamlanır ve bu ayın sonunda plasenta tam şeklini almış olur (68). Tam gelişmiş bir plasenta desiduanın yaklaşık %15-30'unu kaplar ve ağırlığı yaklaşık olarak fetüs ağırlığının 1/6'sı kadardır. Plasenta termde yaklaşık 500 gr ağırlığında olup 18-20 cm çapında, 2-2,5 cm kalınlığındadır ve 10-20 adet kotiledon içerir (28, 63). Intervillöz aralıkların hacmi tahmini olarak 150- 250 ml'dir. Villusların toplam yüzeyi, yani anne fetüs arasında madde değişim alanı 10-15 m<sup>2</sup>'dir (64).

Plasenta büyüdükçe ve yaşlandıkça meydana gelen histolojik değişikliklerin, artan metabolik ihtiyaçları karşılamak üzere uteroplasental dolaşımın etkinliğini arttırmayı amaçladığı düşünülmektedir. Bu değişiklikler; sinsisyotrofoblast kalınlığında incelme, villöz sitotrofoblastların kısmen kaybolması, Hofbauer

hücrelerinde artış, stromada azalma ve kapillerlerin sayısının artarak sinsisyal yüzeye yaklaşmasıdır (69).

Plasental elemanların arasında trofoblastlar, yapısal, fonksiyonel ve gelişimsel olarak en fazla değişiklik gösteren elemanlardır. Gebelik ilerledikçe villöz sitotrofoblastlar villusların büyük bir bölümünde ortadan kalkar ve term plasentasında villus yüzeyinin ancak %20'sinde bulunur (66). Sinsisyotrofoblast kalınlığı da ortalama 20µm'den termde 3.5 µm'ye iner (28). Villuslar dallanmaya devam ettikçe, terminal dalların sayısı artarken, hacimleri azalır ve sitotrofoblastların baskınlığı ortadan kalkar. Sinsisyum incelendiğinde, fetal damarlar daha belirgin hale gelerek yüzeye yaklaşır (70).

Bu değişiklikler 1. trimesterde 50-100 µm olan materno-fetal difüzyon mesafesini, termde yaklaşık 4-5 µm'ye indirir. Sonuçta termde, en ince kısmındaki plasental bariyer; sinsisyotrofoblast, birbiriyle kaynaşmış trofoblastik ve fetal endotel bazal membranları ve fetal kapiller endoteli katmanlarından oluşur (Şekil 2.5.1). Böylece çoğu fetüs kapillerindeki kan, villuslararası boşluktaki anne kanı ile aşırı derecede yakınlaşır. Bütün bu değişiklikler fetüsün artan metabolik gereksinimlerini karşılamaya yöneliktir (66).



**Şekil 2.5.1.** Termdeki bir villusta plasental bariyer yapısı. 1- Intervillöz aralık, 2- Plasental bariyer, 3- Fetal kapiller, 4- Fetal kapiller ve sinsisyotrofoblastın birbiriyle kaynaşmış bazal membranları, 5- Endotel hücresi, 6- Sitotrofoblast, 7- Fetal kapillerin bazal membranı, 8- Trofoblastik bazal membran, 9- Sinsisyotrofoblast (71).

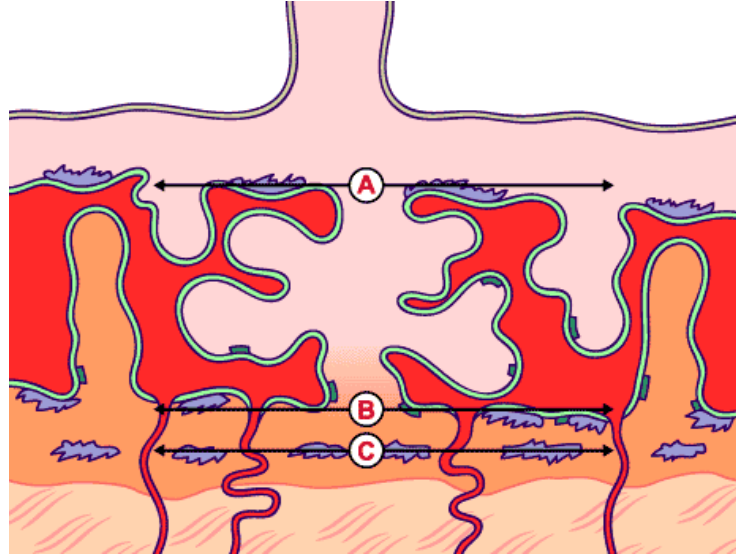
Villusların stroması da plasental yaşlanmayla birlikte değişiklik gösterir. Erken gebelik plasentasında bağ dokusu hücreleri bol miktarda gevşek intersellüler matriksle çevrelenirken, terme doğru villöz stroma yoğunlaşır ve hücreler sıkışık hale gelir. Stromadaki başka bir değişiklik de fetal makrofajlar olarak bilinen Hofbauer hücrelerinde artış görülmesidir.

Üçüncü trimester sırasında çok sayıda sinsisyotrofoblast nükleusu, sinsisyal düğüm adı verilen nükleus gruplarını oluşturmak üzere koryon villusların yüzeyinde bir araya gelirler. Bu birikimler sürekli olarak birbirinden ayrılarak, villuslararası boşluktan anne kan dolaşımına taşınırlar. Bazı sinsisyal düğümler anne akciğer kapillerlerine göç ederek oradaki enzimler etkisiyle hızlı bir şekilde yıkılırlar (28).

Gebeliğin sonlarına doğru, plasentada fibrinoid birikim oluşmaktadır. Fibrinoid; fibrin, plasental salgılar ve ölü trofoblast hücrelerinden oluşan, hücreden yoksun eozinofilik birikim anlamına gelmektedir. Maternal ve fetal elemanlarca yapıldığı belirlenmiştir. 37 haftanın üstündeki gebeliklerin %22'sinde fibrinoid birikim makroskopik olarak gözlenmektedir. Fibrinoid birikim plasentada birçok yerde izlenebilir:

- Fetal yüzde düz koryonda,
- Villusların içinde,
- Plasental septumlarda,
- Maternal ve fetal damarlarda,
- Koryonik plağın intervillöz aralığa bakan yüzünde (Langhans fibrinoid tabakası),
- Bazal plakta (Rohr ve Nitabuch fibrinoid tabakaları).

Langhans fibrinoid tabakası ve bazal plaktaki fibrinoid birikimler olan Rohr ve Nitabuch tabakaları tüm plasentalarda gözlenen yapılardır (Şekil 2.5.2). Rohr tabakası, bazal plağın yüzeysel katı olup intervillöz aralıkla temas eder. Nitabuch tabakası ise derinde maternal ve fetal hücrelerin karşı karşıya geldikleri alandadır (67).



**Şekil 2.5.2.** Term plasentasındaki fibrinoid tabakaları. **A.** Langhans fibrinoid tabakası **B.** Rohr fibrinoid tabakası **C.** Nitabuch fibrinoid tabakası. Koyu mavi renkle gösterilenler fibrinoid birikimler, açık mavi renkle gösterilen sinsisyotrofoblast tabakası, pembe renkle gösterilenler plasentanın fetal kısımları, turuncu renkle gösterilenler plasentanın maternal kısımları, kırmızı renkli alanlar ise intervillöz aralıktır (72).

Fibrinoid birikimin birkaç fonksiyonu olduğu düşünülmektedir; a) mekanik olarak destekleme, b) intervillöz dolaşımı düzenleme, c) fibrinoidin bir bileşeni olan sialik asidin fetal antijenleri maskeleyerek maternal hücrelerden koruması. Fibrinoid birikim değişen derecelerde izlenebilir ve fazla miktarda olması bir anormalliğin göstergesi olabilir (28).

## 2.6. Hücresinin Yaşam Döngüsü (Siklus)

Hücreler canlıların büyüüp gelişmesi, dokularının yenilenmesi ya da üreme faaliyetlerinin gerçekleştirilmesi amacıyla bölünür. Hücre siklusu bir bölünmeden, onu izleyen diğer bir bölünmeye kadar geçen süredir. Hücrelerin ikiye bölünmesi mitoz (veya gonadlarda mayoz) ile gerçekleşmektedir.

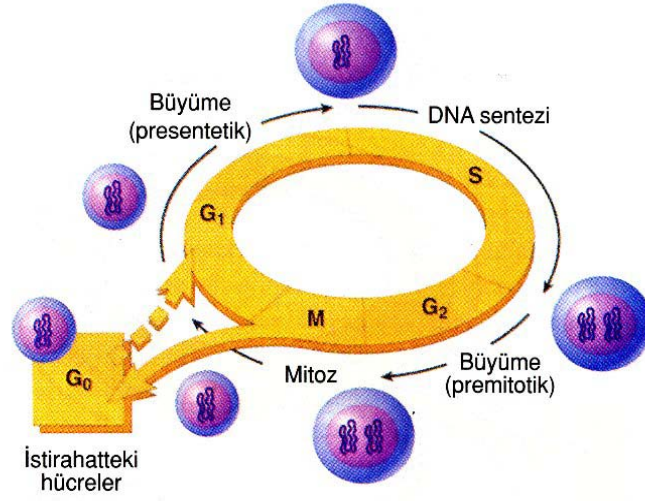
Hücre bölünmesi; gen transkripsiyonunda değişiklikler, yeni proteinlerin oluşturulması, organellerin hareketi ve çoğalması ve DNA sayısının iki katına çıkmasını içeren bir süreçtir. Ancak bu sürecin ilerlemesi oldukça iyi bir şekilde düzenlenmelidir ki, bu sayede hücre farklı durumlara kolayca adapte olabilmeli ve bu sayede zarar görmemelidir. Hücre siklusu bölünmenin yanı sıra, farklılaşma ve apoptoz gibi temel hücresel fonksiyonları da düzenlemektedir. Bu düzenlemenin olması, organizmadaki hemen hemen her tür fizyolojik ve patolojik durumda (örneğin tümör oluşumu) hücre siklusunun ne denli kritik bir öneme sahip olduğunu göstermektedir. Nitekim kanserlerde hücre siklusunun regülatör proteinlerinin düzeylerinde anormallikler saptanmaktadır (11, 73).

Hücre, büyüme faktörleri, mitojenler veya sitokinler gibi çeşitli bölünme sinyallerinin varlığında siklusa girer. Hücre siklusu çok iyi kontrol edilmektedir. Bu kontrolün proliferasyon belirteçleri olarak adlandırılan değişik tip proteinler tarafından sağlandığı bilinmektedir (74).

### 2.6.1. Hücre Siklusu Fazları

Hücre siklusu, bütün ökaryotik organizmalarda temel olarak aynıdır. Ökaryotik bir hücrenin siklusu 4 faza ayrılır. Bunlar G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub> ve M fazlarıdır. G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> kısaltmaları “gap” (ara), S sentez ve M ise mitoz kelimelerinin baş harflerini göstermektedir. Hücre siklusu süresi organizmalar arasında çeşitlilik gösterir. Organizmaların yaşam döngülerinin farklı basamakları arasında ya da aynı organizmanın farklı hücre tipleri arasında da hücre siklusu süresi farklılık gösterir (2, 3). Hücre siklusu, ökaryotik hücrelerde yaklaşık 20-24 saat sürmektedir. S fazı 6, G<sub>2</sub> fazı 4 ve M fazı 2 saat gibi bir süre içinde tamamlanmasına karşın G<sub>1</sub> süresi çok değişkendir. Örneğin, bu süre embriyonik hücrelerde 2 saate kadar düşmesine karşın erişkinlerde 12 saatten daha uzun sürebilmektedir (74). G<sub>1</sub>, S ve G<sub>2</sub> fazları hep birlikte interfaz adını almaktadır.

Mitoz–S fazı arasında G<sub>1</sub>, S fazı–mitoz arasında da G<sub>2</sub> fazı yer alır. Genel olarak, G<sub>1</sub> fazı DNA sentezine (S fazına) ve G<sub>2</sub> fazı ise mitoz (M fazına) hazırlık fazlarıdır ve hücrenin S fazına ya da mitoz girmeden önce hücre içi ve dışı koşulları kontrol etmesine izin verecek zamanı sağlarlar. (Şekil 2.6.1) (5).



Şekil 2.6.1. Hücre siklusu evrelerinin şematik görünümü (75).

### 2.6.1.1. G<sub>0</sub> Fazı

G<sub>0</sub> fazı, hücre siklusu içinde yer almayan veya siklusu tamamladıktan sonra çıkan hücrelerin bulunduğu fazdır. Yetişkin dokulardaki hücrelerin çoğu istirahat fazı da denilen G<sub>0</sub> fazında yer alır. G<sub>0</sub> fazı tamamen hareketsiz bir faz değildir. Bu hücreler sıklıkla protein sentezi ve sekresyonu ile meşguldürler ve oldukça aktif olabilirler. G<sub>0</sub> fazındaki hücreler farklılaşabilir veya apoptoza gidebilirler. Normalde hücreler zamanlarının çoğunu G<sub>0</sub> fazında geçirirler, bölünme sinyalinin etkisiyle çoğalan hücre haline geçer ve G<sub>1</sub> fazına yani hücre siklusunun ilk fazına girerler (2, 74).

### 2.6.1.2. G<sub>1</sub> Fazı (Presentetik Faz)

G<sub>1</sub> fazı siklusun en uzun süren fazıdır ve 9-16 saat kadar sürer. Mitoz ve DNA replikasyonu arasındaki süreçtir. G<sub>1</sub> fazı boyunca kromozomlar prereplikasyon komplekslerini oluşturmak üzere modifiye olurlar. Yapısal proteinler, ribozomlar, membran türevi organeller gibi pek çok sitoplazmik elemanın sentezi bu zaman süreci içerisinde yapılır (74). Hücreler bu evrede boyutlarını artırırlar. ATP üretimi artar. DNA polimeraz ve nükleotid sentezinde gerekli olan bazı enzimlerin genleri aktive olur ve G<sub>1</sub> sonuna doğru bu genlerin ürünleri artmaya başlar. G<sub>1</sub> fazı sonunda, aktive olan prereplikasyon kompleksleri kromozomlardaki replikasyonun başlayacağı replikasyon orjini denilen bölgelere tutunur (3, 75).

### 2.6.1.3. S Fazı

S fazında, RNA sentezi G<sub>1</sub>'deki gibi devam etmekteyken, protein sentezi ise en yüksek seviyeye ulaşır. DNA replikasyonu (kendini eşleme) yoluyla, her kromozomun kopyası yapılarak kromozom sayısının ikiye katlanması sağlanır. Replikasyon, kromozomlardaki replikasyon orjini bölgelerinden başlar. Genomun transkribe bölgeleri genellikle S fazının erken döneminde replike olurken, inaktif heterokromatin bölgeleri geç dönemde replike olur (2, 3).



#### 2.6.1.4. G2 Fazı (Premitotik Faz)

G2 fazında, S fazında replike olan DNA ve kromatin proteinleri kondanse olurlar. DNA, kromatin iplikler halinden kısıp kalınlaşarak kromozom haline dönüşür ve kardeş kromatidler halinde paketlenir (3). G2 fazı, büyümenin ve sentezin ikinci dönemi olarak, mitozun başlamasına öncülük eder. Bölünme öncesi son hazırlık evresidir ve bu evrede mitoz için gerekli protein ve RNA sentezi hızlanır. Böylece hücre bölünmeye hazır hale gelir.

#### 2.6.1.5. M Fazı

Mitoz fazı, profaz, metafaz, anafaz, telofaz ve sitoplâzmanın bölünmesi (sitokinez) evrelerinden oluşmaktadır (2):

- **Profaz:** İnterfaz süresince uzayan kromozomlar kısıp kalınlaşır ve belirgin hale gelir. Her kromozom, sentromer bölgesinden birbirine bağlı iki kromatidden oluşmaktadır. Sentriyoller ayrılır ve zıt hücre kutuplarına göç etmeye başlar. Aralarında ışınsal uzantılar şeklindeki iğ iplikleri meydana gelir. Bu iğ iplikleri kromatidlere sentromer noktalarından tutunurlar. Profaz devam ederken çekirdekçik ve çekirdek zarı kaybolarak kromozomlar sitoplâzma içinde serbest duruma gelir.
- **Metafaz:** Kromatidler tutundukları iğ iplikleri tarafından hücrenin merkezine çekilerek, hücrenin ekvatoryal düzlemi üzerinde dizilirler ve sentromerler ikiye bölünür.
- **Anafaz:** Ekvator düzleminde dizili olan kromozomların kardeş kromatidleri iğ iplikçiklerinin kasılmasıyla birbirinden ayrılarak kutuplara doğru taşınır.
- **Telofaz:** Kromozomlar tekrar uzayarak inceliyor ve kromatin iplikleri haline gelirler. Kromozomların etrafında membranöz veziküller oluşmaya başlar ve çekirdekçik ve çekirdek zarını oluşturur.
- **Sitokinez:** Sitoplâzma iki çekirdek arasından boğumlanarak hücreyi tamamen ikiye ayırır. Yeni hücre zarları oluşur.

Bu süreçler sonunda ana hücreden diploid sayıda kromozom içeriği olan iki yeni yavru hücre oluşur. Oluşan yeni hücrelerin genetik materyali ana hücrenin aynısıdır. Hücre bu dönemden sonra ya tekrar bölünmeye girmek için hazırlık yapmak üzere G1 fazına girer veya dinlenme fazı olan G<sub>0</sub>'da kalarak canlılığını devam ettirir (3, 5).

#### 2.6.2. Hücre Siklusu Kontrol Noktaları

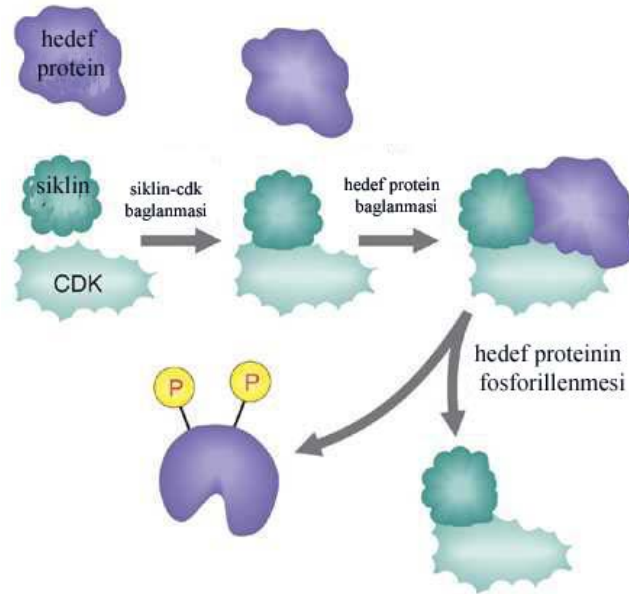
Hücre siklusu, içinde yer alan kontrol noktaları (checkpoints) tarafından düzenli olarak kontrol edilir. Hücre siklusunun farklı fazları arasındaki koordinasyon, hücre siklusunda bir fazın işlemi tamamlanmadan bir sonraki faza geçişini engelleyen kontrol noktalarına bağlıdır. Kontrol noktaları, oluşan herhangi bir kusur halinde veya daha önceki evrelerde tamamlanması gereken olaylar tamamlanmamışsa hücre siklusunu durdurur. Başlıca iki kontrol noktası G1/S ve G2/M geçişleridir (3). G1'den S fazına geçiş, hücre siklusundaki çok önemli bir kontrol noktasıdır. Bu nokta siklusun geri dönüşü olmayan bir noktadır. G1 kontrol noktasındaki hücre, bulunduğu çevre koşullarını ve DNA hasarının olup olmadığını değerlendirerek siklusa devam edilip edilmeyeceğine karar verir. Bu noktada hücre

siklusa devam edebilir, DNA'sı hasarlı ise replikasyonun yapılacağı S fazına girmeden önce hatanın onarılmasını bekleyebilir veya G0 adı verilen sessiz faza girer. G2'den M fazına geçerken, tüm DNA'nın replike edilip edilmediği ve DNA'da herhangi bir hasarın olup olmadığı kontrol edilir ve eğer bir hasar varsa giderilir. Bir diğer önemli nokta da genomun her bir hücre siklusunda sadece bir kere replike olmasıdır. G2 kontrol noktası, hücrelerin tekrar S fazına girmesini engeller ve mitozdan önce bir başka DNA replikasyon döngüsüne girmesini durdurur (3, 75).

### 2.6.3. Siklinler ve Siklin Bağımlı Kinazlar (CDK'lar)

Hücre siklusunun düzenlenmesi, siklusa özgü ökaryotik proteinler olan siklinler, siklin bağımlı kinazlar (CDK) ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKİ) tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu proteinlerin seviyeleri, hücre siklusunun çeşitli evrelerinde farklılıklar gösterir ve kompleks bir şekilde siklusun ilerlemesini düzenler.

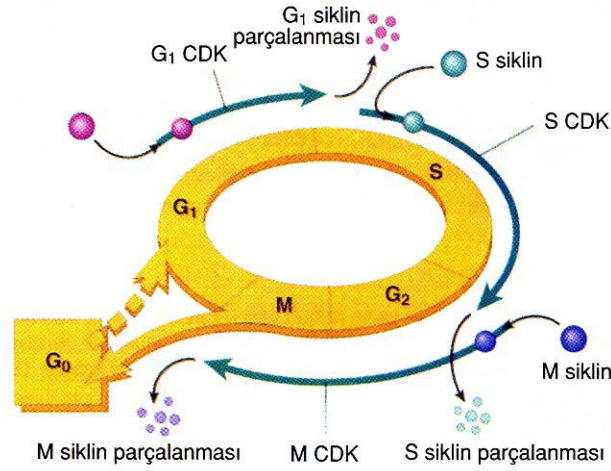
CDK'lar kendi başlarına inaktiflerken, siklinlere bağlandıklarında aktive olurlar ve siklin/CDK komplekslerini oluştururlar. Bu aktif kompleks, hücre siklusunda görevli hedef proteinlerin fosforilasyonuna yol açarak onları aktive eder, böylece siklusun devamlılığını sağlar (Şekil 2.6.3.1). Siklin/CDK kompleksinde CDK'lar katalitik alt üniteler iken, siklinler düzenleyici alt üniteler şeklinde görev yapar (3, 76). Her CDK farklı bir siklinle kompleks oluşturur ve bu kompleksdeki siklinin tipi hangi hedef proteinlerin fosforile edileceğini belirler.



**Şekil 2.6.3.1.** Siklin/CDK kompleksinin oluşumu ve hedef proteinin fosforilasyonunun şematize edilmiş hali (3).

Hücre siklusunun spesifik fazlarında çeşitli siklinler sentezlenirler ve seviyeleri pik yapar, o faz biterken ise seviyeleri hızla düşer ve böylece hücre, siklusun bir sonraki fazına girer. Siklinlerin periyodik yapım ve yıkımları, ilişkide buldukları CDK'ların aktivitelerinin düzenlenmesini sağlar. Siklinlerin ve

CDK'ların farklı kombinasyonları, hücre siklusundaki önemli geçişlerde rol oynar (Şekil 2.6.3.2) (74, 75, 77).

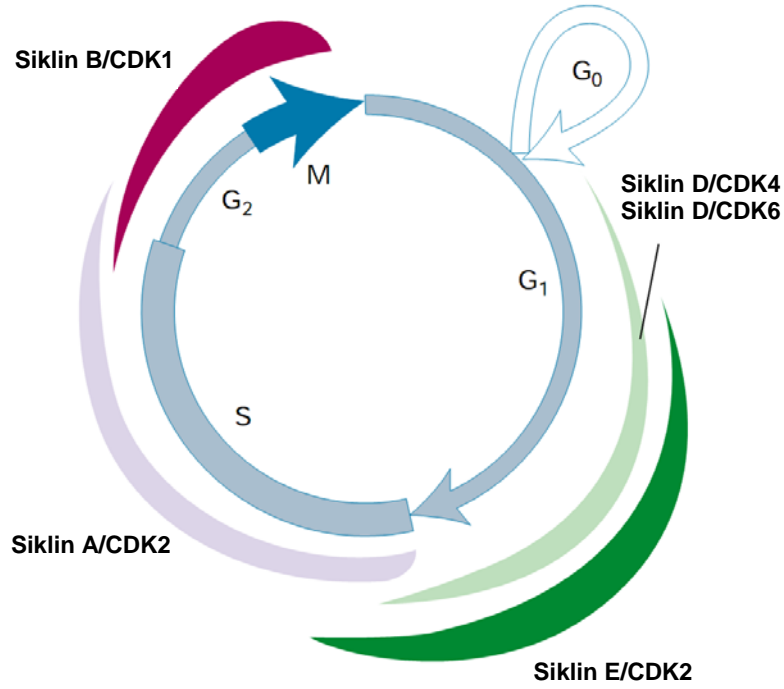


**Şekil 2.6.3.2.** Hücre siklusunun çeşitli fazlarında siklinlerin sentezlenmesi ve yıkımının şematik görünümü (75).

Omurgalılarda 4 çeşit CDK vardır. Hücre siklusu evrelerine göre siklinler ve kompleks oluşturdukları CDK'lar Tablo 2.6 ve Şekil 2.6.3.3'de gösterilmiştir (3).

**Tablo 2.6.** Omurgalılarda hücre döngüsünün çeşitli evrelerinde görevli siklin/CDK kompleksleri (3).

Hücre Siklusu Evresi	Siklin	CDK
G1 evresi, G1/S geçişi	Siklin D	CDK4, CDK6
G1/S geçişi	Siklin E	CDK2
S evresi ve G2 fazına geçiş	Siklin A	CDK2
G2/M geçişi, M evresi	Siklin B	CDK1

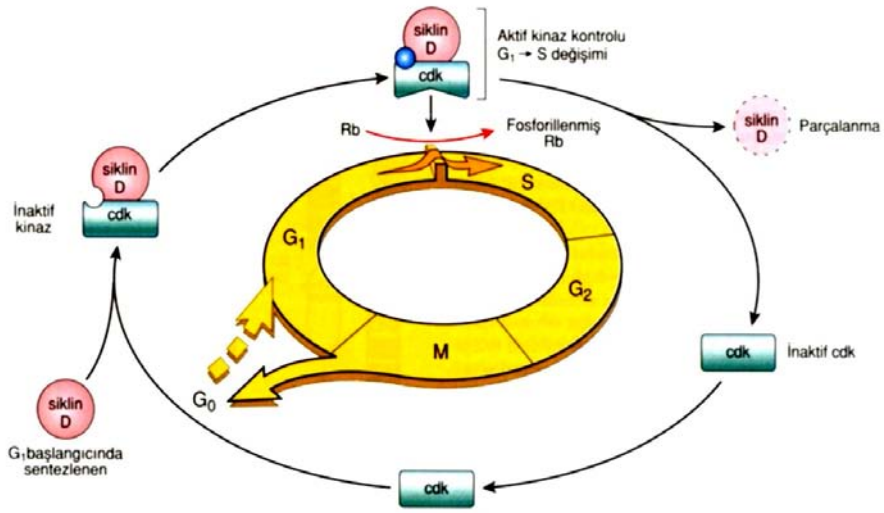


**Şekil 2.6.3.3.** Memelilerdeki hücre siklusunda siklin/CDK komplekslerinin aktivitelerinin şematik görünümü. Renkli bantların genişliği, ilgili komplekslerin protein kinaz aktivitesiyle orantılıdır. Siklin D, üç D-tip siklini de kapsamaktadır (2).

### 2.6.3.1. Siklin Çeşitleri

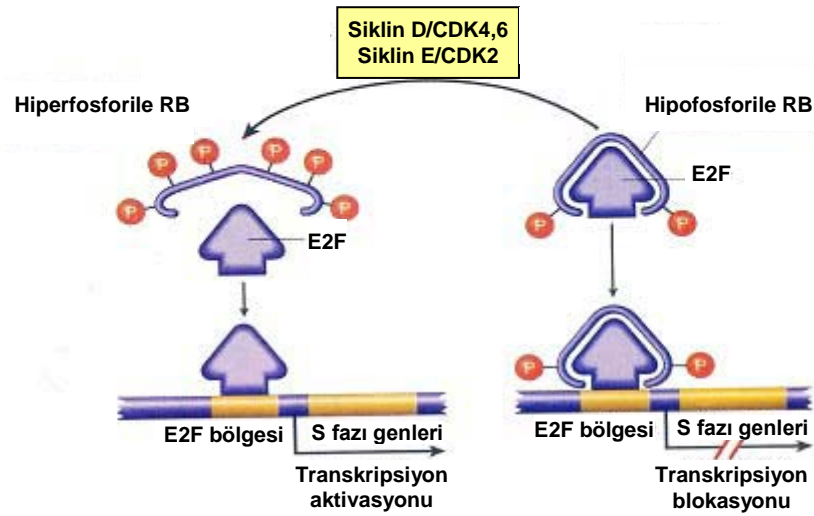
Görevli oldukları hücre döngüsü evrelerine göre sırasıyla siklinler 4'e ayrılır:

- Siklin D:** Başlama siklinleri olarak adlandırılır ve hücre büyüme sinyali alındığında sentezlenirler. D tipi siklinler çok kısa yarılanma ömrüne sahiptir (yaklaşık 30 dakika) ve sentezleri büyüme faktörlerine bağlıdır. Büyüme faktörleri olmadığında sentezleri hemen durur ve hücre dinlenme fazı olan G<sub>0</sub>'a girer. Memelilerde üç tip siklin D vardır: siklin D1, D2 ve D3 (5). Hangi tip siklin D'nin eksprese edileceği doku tipine özgüdür. Örneğin, T lenfositler daha ziyade D3 (bir miktar da D2) eksprese ederler. D tipi siklinler, G<sub>1</sub> sırasında sentezlenir ve CDK4 ve CDK6'yı aktifleştirir. Memeli hücrelerinde, siklin D izoformları ile kompleks oluşturan CDK4 veya CDK6 G<sub>0</sub>'dan G<sub>1</sub>'e geçişte etkilidir ve G<sub>1</sub> fazının ilerlemesini kontrol eder (78). Ayrıca bu komplekslerin bir rolü de retinoblastoma (Rb) proteininin fosforilasyonudur (Şekil 2.6.3.1.1). Rb, G<sub>1</sub>'den S evresine ilerleme ve S fazı genlerinin transkripsiyonu için gerekli olan bir transkripsiyon faktörünü (E2F) bağlaması ve etkisizleştirilmesi nedeniyle bir hücre döngüsü düzenleyicisidir (Şekil 2.6.3.1.2). G<sub>0</sub> veya erken G<sub>1</sub> fazlarındaki hücrelerde fosforile olmamış (hipofosforile) Rb bulunur. Bu dönemde Rb, E2F transkripsiyon faktörüne bağlanır. Serbest olmayan E2F, S fazına geçiş için gerekli genlerin transkripsiyonunu aktive edemez ve hücre siklusu devam edemez. Rb'nin siklin D/CDK4 veya siklin D/CDK6 kompleksleri tarafından fosforilasyonu; E2F'nin Rb'den ayrılmasıyla, böylece S fazı genlerinin aktivasyonu ve hücre döngüsünün ilerlemesiyle sonuçlanır (Şekil 2.6.3.1.1) (2, 5, 75).



Şekil 2.6.3.1.1. Hücre siklusunda siklin D'nin aktivasyonu ve rolü (75).

- b) **Siklin E:** G<sub>1</sub>/S geçişinde etkilidir. G<sub>1</sub>'in geç dönemlerinde sentez edilir ve hücre S fazına girdiğinde hızla yıkılır. Siklin E, CDK2'ye bağlanır. Oluşan kompleks, tıpkı siklin D kompleksleri gibi Rb fosforilasyonunu sağlar (Şekil 2.6.3.1.2). Bu kritik bir reaksiyondur çünkü bu noktadan sonra hücre S fazına girer ve DNA sentezi başlar (5, 78).



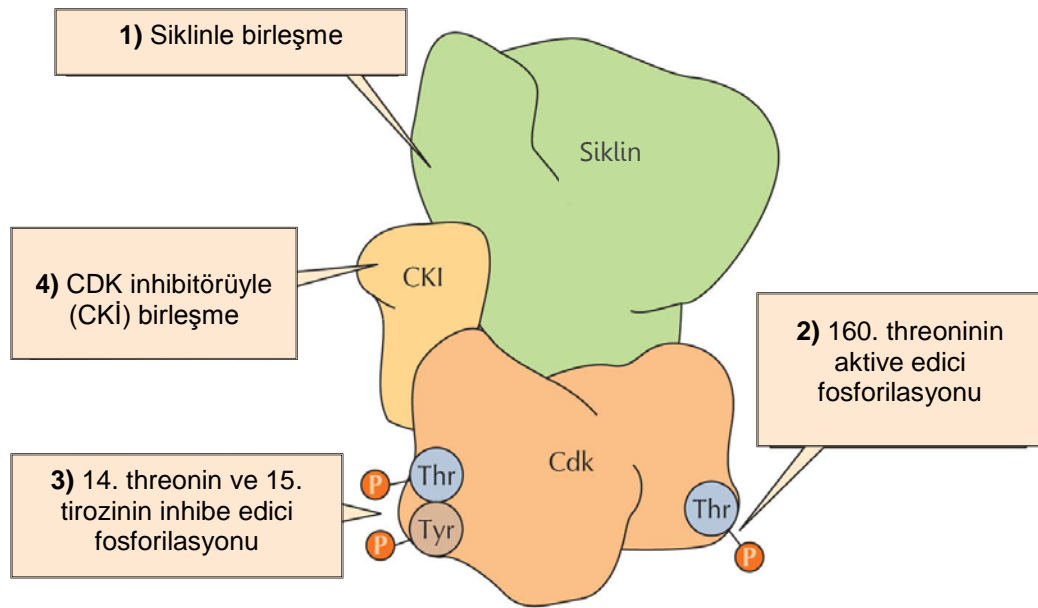
Şekil 2.6.3.1.2. Hücre siklusunun G<sub>1</sub>/S geçişinde Rb fosforilasyonunun rolü (75).

- c) **Siklin A:** S fazı ve G<sub>2</sub> fazına geçiş için gereklidir. S fazı boyunca sentez edilir. CDK2 ve CDK1 ile kompleks yapar. Siklin A/CDK2 kompleksinin fosforilasyonu ile G<sub>2</sub> fazına geçilir. Siklin A/CDK1 kompleksinin rolü tam olarak bilinmemektedir (5).
- d) **Siklin B:** G<sub>2</sub>'den M fazına geçişini kontrol eder. CDK1'e bağlanarak siklin B/CDK1 kompleksini oluşturur. Siklin B/CDK1 kompleksi S fazının geç döneminde sentez edilir ve G<sub>2</sub> fazından M fazına geçerken sentezi

maksimum düzeye erişir, ardından anafazda yıkılır. Siklin B'nin anafazda yıkılmasıyla birlikte hücre mitozdan çıkar ve G1'e tekrar geri döner (2, 7).

#### 2.6.4. CDK Aktivitesinin Regülasyonu

Hücre döngüsünün ilerlemesi esnasında CDK aktivitesi en az 4 moleküler mekanizmayla düzenlenir (Şekil 2.6.4). Düzenlemenin ilk basamağı CDK'ların kendilerine özgü siklinlerle eşleşmesidir. İkinci adım, siklin/CDK kompleksinde CDK'nın 160. pozisyonundaki threoninin fosforile edilerek aktive edilmesidir. CDK'ların fosforilasyonla aktivasyonu CAK (CDK aktive edici kinaz) ile katalizlenir. Üçüncü düzenleme CDK proteinlerinin amino ucundaki threonin ve tirozin ile gerçekleşen inhibisyonudur. Özellikle CDK1 ve CDK2, threonin 14 ve tirozin 15'in fosforilasyonu ile inhibe edilir. Son düzenleme ise siklin/CDK komplekslerine inhibitör proteinlerin (CKİ) bağlanmasıyla gerçekleştirilir (3, 5).



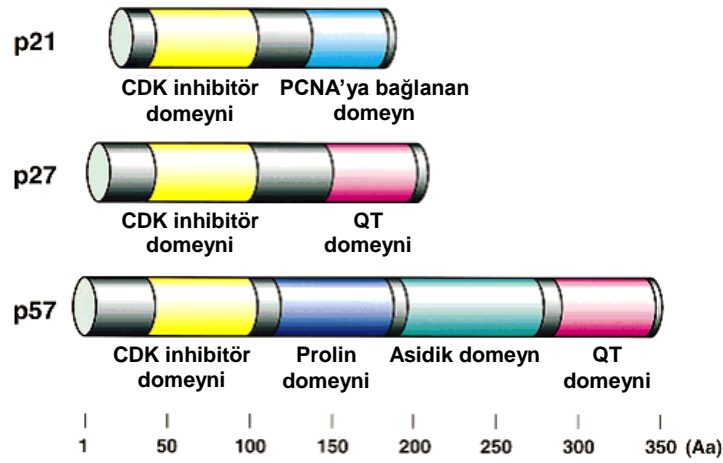
Şekil 2.6.4. CDK aktivitesinin moleküler regülasyonu (79).

#### 2.6.5. CDK İnhibitörleri (CKİ)

Düzenli olarak kontrol edilmeyen CDK aktivitesi, artmış hücre çoğalmasına ve genomik instabiliteye neden olmaktadır ve bu durum, kanserle sonuçlanabilir. CDK inhibitörleri (CKİ) hücre döngüsünün negatif kontrolünden sorumludurlar ve tümör baskılayıcı fonksiyonları vardır (8). CKİ'lerin seviyelerindeki değişiklikler, bazı tümörlerde veya hücre yaşlanmasında görülebilir (7). CKİ'ler siklinlere, CDK'ların kendisine ya da siklin/CDK komplekslerine bağlanarak CDK'ların aktivitelerini inhibe ederler. Günümüze kadar, memelilerde yedi farklı CKİ bulunmuştur ve bunlar yapısal ve fonksiyonel benzerliklerine dayanarak iki sınıfa ayrılırlar: Ink4 ve Cip/Kip aileleri (9, 10).

Ink4 ailesinin 4 üyesi vardır: p16<sup>Ink4a</sup>, p15<sup>Ink4b</sup>, p18<sup>Ink4c</sup> ve p19<sup>Ink4d</sup>. Bu proteinler spesifik olarak, siklin D ile kompleks oluşturan CDK4 ve CDK6'yı inhibe ederler (9).

Cip/Kip (CDK inhibitör protein/Kinaz inhibitör protein) ailesinde ise üç farklı CKİ tanımlanmış olup, bunlar p21<sup>Cip1</sup> (p21, cdkn1a), p27<sup>Kip1</sup> (p27, cdkn1b) ve p57<sup>Kip2</sup> (p57, cdkn1c)'dir (11). Bu proteinlerin her birinin N-terminalinde, CDK'ya bağlanan ve onu inhibe eden, aynı korunmuş domeyn vardır. Ancak proteinlerin geri kalan domeynleri birbirinden farklıdır (Şekil 2.6.5). Bu da, bu proteinlerin hücre siklusunda birbirinden farklı rollerinin olabileceğini düşündürmektedir (9). Ink4 ailesinin aksine Cip/Kip ailesi üyeleri, siklin D, -E, -A veya B/CDK komplekslerine bağlanarak aktivitelerini inhibe edebilir (10). Cip/Kip proteinleri, siklin ve CDK altbirimlerine ayrı ayrı bağlanabilseler de siklin/CDK komplekslerine daha yüksek afinite gösterirler (9). Bazı insan dokularında Cip/Kip CKİ ekspresyon paterni, proliferasyon belirteçleri olan PCNA, Ki67 ve BrdU'nun tam olarak zıttını göstermektedir. Kök hücreler gibi sürekli proliferasyon yapan hücrelerde ekspresyonları neredeyse yok iken, proliferasyon olmayan bölgelerdeki hücrelerde ise en yüksek seviyede ekspresyonları gözlenmiştir (12-15).



Şekil 2.6.5. Cip/Kip ailesi üyelerinin yapısı (9).

İlk klonlanan Cip/Kip üyesi p21'dir ve transkripsiyonel aktivasyonu p53'ün kontrolündedir. G1 ve G2 evrelerinde DNA-hasarıyla indüklenen hücre siklusu tutukluluğundan (arrest) sorumludur (80, 81). p21'in karboksil terminalindeki PCNA'ya bağlanma domeyni (143–160 aminoasitler) (Şekil 2.6.5) yoluyla DNA polimeraz-deltanın bir alt ünitesi olan PCNA'ya bağlanarak, DNA sentezini inhibe ettiği bilinmektedir (82).

P27 ise TGF- $\beta$  gibi anti-mitojenik sinyallere yanıt olarak eksprese olur ve hücre siklusunun G1 fazında tutuklu kalmasından sorumludur (7). Büyüme faktörlerinden mahrum kalan, G0 fazında bulunan veya kontakt inhibisyona maruz kalan hücrelerde p27 ekspresyonu artarken, hücre siklusuna giren hücrelerde ise azalır (10). P27'nin degradasyonu G1/S geçişi için kritik bir önem taşır. P27, D tip siklinler/CDK4 kompleksleriyle güçlü ve siklin E/CDK2 kompleksiyle de zayıf etkileşimdedir. D tip siklinler ve CDK4 kompleksleriyle etkileşime girdiğinde CDK4'ün katalitik aktivitesini ve böylece CDK4'ün Rb proteinini fosforlamasını (pRb oluşumunu) inhibe eder. Gerçekten de p27, siklin D veya pRb genlerini içermeyen farelerle yapılan bazı çalışmaların fenotipik sonuçları, p27 ve pRb eksik olan farelerde hiperplazi ve tümör oluşumu olduğunu, siklin D tipleri eksik olan



farelerde ise tam aksine organların küçüldüğünü göstermiştir (16-21). P27 geninden yoksun farelerde vücut büyüklüğünün artması, birçok organda hiperplazi ve tümör oluşumu, p27'nin büyüme sınırlamadaki ve tümör baskılanmasındaki önemine işaret etmektedir (83, 84).

P57 ise, siklin D/CDK4, siklin E/CDK2 ya da siklin A/CDK2 komplekslerine bağlanarak onları inhibe eder ve böylece, G1/S geçişini ve S fazının tamamlanmasını engeller. P57, p27 ile %40 oranında homolojiye sahiptir ve karboksil terminallerinde birbirine çok benzeyen, QT domeyni olarak adlandırılan, ancak fonksiyonu bilinmeyen bir domeyn vardır (Şekil 2.6.5) (22). P21 ve p27'nin insan dokusundaki yaygın ekspresyonunun aksine, p57 plasenta, kalp, beyin, böbrek gibi belirli dokularda eksprese edilmektedir (85). P57 geni olmayan fare embriyolarında organ hiperplazisi, birçok gelişimsel anormallikler ve ölü doğumlar gözlenmiştir (12, 13).

### **2.6.6. Ki67**

Ki67 antijeni, 345 ve 395 kDa ağırlığında iki izoformu olan, proliferen olan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir (86). Hücre siklusunun geç G1, S, G2 ve M fazlarında eksprese edilir, fakat G0 ve erken G1 evrelerindeki hücrelerde bulunmaz (25). Farklı hücre siklusu fazlarında, Ki67'nin hücre içindeki lokasyonu değişmektedir. G1'de, başlıca perinükleolar bölgede yerleşim gösterirken, sonraki fazlarda çekirdek matriksi başta olmak üzere çekirdek boyunca gözlenir (87). Ki67 antijeninin fonksiyonu bilinmemektedir ancak hücre siklusu boyunca eksprese edilmesinden dolayı, hücre proliferasyonunun sürdürülmesinde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (88). Ki67 proteinin fosforilasyonu ile defosforilasyonu in vivo olarak hücrelerin mitoz geçişi ile aynı zamana rastlar. Bu işlemler düzenleyici kompleks olan siklin B/CDK1 kompleksi tarafından kontrol edilir (89). Ki67, genel olarak mitoz sayısı ile iyi korelasyon gösterir ve rutin olarak kullanılan bir proliferasyon belirteçidir (26).

### **2.6.7. Proliferatif Hücre Nükleer Antijeni (PCNA)**

PCNA, çekirdekte bulunan 36 kDa ağırlığında bir proliferasyon belirteçidir (90). Hücre siklusunun geç G1 fazında DNA sentezi başlamadan hemen önce sentezlenmeye başlar, S fazında maksimum miktara ulaşır ve G2 ve M fazlarında ise miktarı azalır (23). PCNA, erken S fazında tanecikli dağılım sergiler ve çekirdekçikte bulunmaz ama S fazının sonunda çekirdekçiğe geçer. DNA sentezi, tamiri ve hücre siklusu kontrolünde görevli birçok protein, PCNA'ya bağlanarak görev yapar. Böylece PCNA, DNA sentezi, tamiri ve hücre siklusu düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (24). DNA polimeraz deltanın bir kofaktörü olan PCNA, bir homotrimer halka oluşturarak DNA çift sarmalını sarar. DNA replikasyonu sırasında, DNA polimeraz deltanın DNA'ya tutunmasını sağlar ve öncü iplikçik (leading strand) sentezine yardımcı olur (91). Ayrıca, DNA hasarına yanıt olarak, PCNA ubiquitinlenerek RAD6-bağımlı DNA tamirinde rol alır (92). PCNA ekspresyonu, proliferasyon için iyi ve yaygın olarak kullanılan bir belirteçtir (93).

### **2.7. Preeklampsi**

Preeklampsi klinik olarak gebeliğin 2. veya 3. trimesterinde ortaya çıkan, doğumdan hemen sonra gerileyen hipertansiyon (kan basıncının 140/90 mm Hg veya üzerinde olması durumu), proteinüri (24 saatte toplanan idrarda 300 mg/l'den fazla



protein olması), ödem, karaciğer ve böbrek gibi bazı organlarda doku hasarı ile karakterize bir sendromdur (94). Fetüsün bulunmadığı molar gebeliklerde de ortaya çıkması ve doğum sonrasında bulguların ortadan kalkması, plasental bir hastalık olduğunu göstermektedir. Hastalığın kesin tedavisinin gebeliğin sonlanması olması da bunu açıkça göstermektedir. Bunun yanı sıra, molar gebelik ve çoğul gebelik gibi hiperplasentasyon koşullarında preeklampsi riski artmakta ve bundan koryonik villöz yapılanmada oluşan artış sorumlu tutulmaktadır (95, 96). Preeklampsinin görülme sıklığı %3,7 olup, geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin en önde gelen nedenlerindedir (27). Aşağıdaki hallerde preeklampsi görülme sıklığı artmaktadır (97, 98):

- Genetik yatkınlık
- Nulliparite
- Anne yaşı (<20, >35)
- Siyah ırk
- Çoğul gebelikler
- Obezite
- Polihidramniyoz
- Molar gebelikler
- Diabetes mellitus
- Kronik hipertansiyon
- Renal hastalıklar
- Düşük sosyoekonomik durum

Preeklampsi, gebelik dönemine özgü bir multisistem hastalığıdır (99). Hakkında çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen preeklampsinin etiyojisi tam olarak aydınlatılamamıştır ancak multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir (98). Bunun yanında bazı mekanizmalar tanımlanmıştır. Bu mekanizmalara göre preeklampsinin altında yatan temel anormallik, spiral arterlere yeterli trofoblast invazyonu gerçekleşmemesi nedeniyle oluşan vazospazm ve endotel hasarıdır. Bunlara bağlı olarak da organ hipoperfüzyonu ve multisistemik bozukluklar gelişir (100).

Normal gebeliklerde, endovasküler sitotrofoblastlar (EVT'ler), bazal arterlerden çıkan ve desiduaaya kadar penetre olan spiral arterleri invaze ederler. EVT'ler, uterus spiral arterlerinin endotelinin yerine geçerler ve müskulo-elastik medya tabakasını da fibrinoid maddeyle değiştirirler. Bu olay psödo-vaskülogenez olarak adlandırılmaktadır (101). EVT'lerin psödo-vaskülogenez sırasında adhezyon reseptör fenotiplerini değiştirdikleri ve epitel hücre karakteristiği moleküller olan integrinler  $\alpha 6/\beta 4$ ,  $\alpha 5/\beta 1$  ve E-kadherin'in ekspresyonunu azaltırken, endotel hücre karakteristiği olan integrinler  $\alpha 1/\beta 1$ ,  $\alpha v/\beta 3$ , VE-kadherin, MMP-9 ve HLA-G'yi eksprese ettikleri gösterilmiştir (102). Psödo-vaskülogenez oluşumu desiduanan miyometriyumun üçte birlik iç kısmına kadar uzanır. Bu işlem, genellikle gebeliğin 20. haftasına kadar tamamlanır. Sonuçta, büyüyen fetüsün ihtiyaçlarını karşılamak için transforme olan spiral arterlerin çapları 4-6 kat artar ve yüksek akım, düşük direnç sistemi oluşur. Böylece uteroplental kan akımı ortalama on kat artar (100). Preeklampsideki temel bozukluk, spiral arterlerdeki EVT invazyonunun yetersiz

kalması veya hiç olmamasıdır (103). Bunun sonucunda, psödo-vaskülogenez ya hiç olmaz, ya da spiral arterlerin sadece desidua kısımlarıyla sınırlı kalır. Spiral arter çapı normalde yaklaşık 500 µm iken, PE'de artmaz ve ortalama 200 µm'de kalır. Ayrıca PE'de spiral arterlerin sadece %30-50'sine invazyon görülmektedir (104). Sonuçta, gebelik boyunca yaklaşık 10 kat artması beklenen uteroplasental kan akımı artışı gerçekleşemez, plasental hipoksi oluşur ve fetüse giden kan azalır (27, 98). Plasental hipoksi sonucunda plasentadan salınan faktör veya faktörler maternal endotelial disfonksiyona neden olur (105). Maternal endotelial hasarla birlikte vasodilatörlerin (prostasiklin ve nitrik oksit) üretimi azalır ve böylece vazospazm oluşur. Vazospazm, tüm maternal organlarda (özellikle böbrek, karaciğer ve beyinde) düşük perfüzyona ve periferal direncin ve kan basıncının artmasına (hipertansiyon) yol açar (106). Böbreklerde renal kan akışı ve glomerüler filtrasyon hızı azalır, glomerüler bariyer bütünlüğü bozulur ve sonuçta proteinüri oluşur. Karaciğer fonksiyonlarının bozulması sonucu HELLP sendromu (hemoliz, artmış karaciğer enzim seviyesi, trombosit azlığı) görülebilir. PE hastalarının %10-20'sinde HELLP sendromu vardır. Beyindeki azalmış serebral perfüzyon sonucu baş ağrısı ve baş dönmesi gözlenir. Fetal etkileri ise ablasyo plasenta, uteroplasental yetmezlik sonucu IUGR ve hatta intrauterin ölüm olabilir. IUGR riski, erken ortaya çıkan preeklampside artmaktadır (107, 108). Plasentasyon bozuklukları, preeklampsinin klinik bulguları ortaya çıkmadan önce, gebeliğin 10-16. haftaları arasında oluşmakta iken; klinik belirti ve bulguları ise genellikle 2. ve 3. trimesterde ortaya çıkmaktadır.

Preeklampsinin bir adım ötesi eklampsidir. Preeklampsinin bütün bulgularına ek olarak havale nöbetlerinin (konvülsiyon) eklenmesiyle eklampsi durumu gelişir. %50'si termden önce oluşmaktadır. Termde gerçekleşenlerin %75'i intrapartum veya doğumdan sonraki 48 saat içinde görülmektedir.

Preeklampsi ve eklampsi, perinatal morbidite ve mortalitede belirgin derecede artışa neden olan obstetrik olgulardır. Perinatal mortalite preeklampside %5-14 arasında iken, eklampside %13-37,9 arasında değişmektedir (109). Preeklampside maternal mortalite çok nadir olmasına karşın, eklampside bu oran %17,5'a kadar çıkmaktadır (109, 110).

### **2.7.1. Preeklampside Plasentada Oluşan Değişiklikler**

Preeklampside hastaların uteroplasental yapılarında meydana gelen belirgin histolojik değişiklikler PE için ayırt edicidir ve akut arteroz olarak adlandırılır. Bu değişiklikler; endotel hücre hasarı, bazal membran bütünlüğünün bozulması, trombosit birikimleri, fibrinoid nekroz, intimal hücre proliferasyonu ve miyointimal hiperplazi, düz kas hücresi proliferasyonu, damar lümeninde daralmaya neden olan vazospazm gibi mikroskobik bulguları içermektedir.

Preeklampside gebeliklerdeki plasenta normal gebeliklere göre daha ufaktır. Plasenta/fetüs ağırlık oranı azalmıştır. Plasenta enfarktleri, PE'de en çok gözlenen plasental değişimlerdendir. Bunlar yetersiz intervillöz dolaşım yüzünden ölen villus dokularıdır. Plasentada enfarktüs görülme sıklığı %33-60 arasındadır. Ablasyo plasenta, plasentanın desiduya yeterince tutunamamasından dolayı erken ayrılmasıdır ve preeklampside 3 kat daha sık görülmektedir. İntravillöz fibrinoid birikimi PE'de artar. Preeklampside plasentalarda ultrastrüktürel düzeyde izlenen

fokal sinsisyal nekroz ve mikrovillus kaybı, plasental iskeminin göstergeleri olarak kabul edilir (111). İskemi sonucunda ortaya çıkan hipoksinin sinsisyumlarda oluşturduğu zedelenme sonrası, proliferasyon yeteneği olmayan bu bölgenin rejenerasyonu villöz sitotrofoblastlarda ortaya çıkan hiperplazi ile sağlanabilmektedir (29). Villus trofoblastik bazal membranında kalınlaşma önemli bir histopatolojik bulgudur. Umbilikal arterlerin vazokonstriksiyonuna bağlı olarak stromal fibroz ve aşırı sinsisyal düğüm oluşumu gözlenebilir. PE’de hipoksik duruma adaptasyon olarak koranjyoz yani villuslardaki kapillerlerin sayısında artış oluşur. Histolojik olarak villus matürasyonu gebelik yaşına uygundur (28, 67).

DiFederico ve arkadaşlarının (1999) çalışmasına göre, preeklampside ekstravillöz trofoblast hücrelerinin %15 ile %50’si TUNEL pozitifdir yani apoptoza uğramaktadır. Araştırmacılar PE’deki azalmış ekstravillöz trofoblast invazyonuna bu artan apoptozun neden olduğunu öne sürmektedirler (31).

## **2.8. Diabetes Mellitus**

Diabetes mellitus (DM) tüm dünyada en sık rastlanan endokrin hastalıktır. İnsülin hormon sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli azlığı nedeniyle karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarında bozuklukların olduğu kronik hiperglisemik bir sistemik metabolizma hastalığıdır. Akut metabolik komplikasyonların yanı sıra, uzun dönemde vasküler, renal, retinal ya da nöropatik bozukluklara yol açan, morbidite ve erken mortalite riski yüksek bir hastalıktır. DM, polidipsi, poliüri, polifaji, glikozüri, açıklanamayan kilo kaybı ve bunlara eşlik eden plazma glukoz düzeyinin 200 mg/ dl üzerinde olması ve açlık plazma glukoz düzeyinin 126 mg/dl üzerinde olması ile karakterizedir. Diabetes mellitus’un sınıflandırılması şu şekildedir (32-34):

- Tip 1 (İnsüline Bağımlı) Diabetes Mellitus (T1DM)
- Tip 2 (İnsüline Bağımlı Olmayan) Diabetes Mellitus (T2DM)
- Gebelik Diyabeti (Gestasyonel Diabetes Mellitus)

### **2.8.1. Tip 1 Diabetes Mellitus**

Tip 1 diabetes mellitus (T1DM) bir anabolik hormon olan insülinin tam veya kısmi yokluğu sonucu oluşan kronik metabolik bir hastalıktır. İnsülin, pankreasın Langerhans adacıklarındaki beta hücreleri tarafından sentez edilir. Bu hücrelerin yokluğu veya otoimmün nedenlerle hasara uğraması, T1DM ile sonuçlanır. Tedavisinde mutlaka insülinin dışarıdan verilmesi gerektiğinden insüline bağımlı diabetes mellitus olarak da adlandırılır. T1DM’in görülme sıklığı bütün diyabetikler arasında %10 civarındadır ve daha çok çocuklarda görülür (32, 112). Hastalığın etiolojisinde, genetik ve çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır (32, 113):

#### **2.8.1.1. Genetik Faktörler**

T1DM’li bir bireyin birinci derece akrabalarında diyabet gelişme riskinin 15–20 kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir (114). Bir çalışmada, T1DM olgularının birinci derece akrabalarının %8,5’inde T1DM öyküsünün olduğu saptanmıştır (115).

T1DM’nin 6.kromozomun kısa kolu üzerinde bulunan HLA genleri ile %30-70 oranında yakın ilişkisi vardır (114, 116). Bu genlerin T1DM patogenezindeki

fonksiyonlarının ne olduğu tam olarak anlaşılmasına karşın immün cevabın gelişiminde (T hücrelerine antijen sunumu gibi) önemli fonksiyonlarının olduğu düşünülmektedir. Bazı HLA antijenlerinin bulunması T1DM'in ortaya çıkışını kolaylaştırıcı, bazıları ise engelleyicidir. HLA-DR3 veya DR4 antijenlerinin varlığında T1DM gelişim riski 2-3 kat, her ikisinin bulunuşunda 7-10 kat artar. DQ antijenindeki değişiklikler de diyabet çıkışını etkilemektedir. HLA-DQ B zincirinde 57. pozisyondaki aspartik asitin homozigot yokluğu, T1DM gelişimi için riski 100 kat artırır. DQ alfa zincirinde 52 pozisyonunda arginin bulunması da T1DM için yatkınlık sağlar. Dolayısıyla DQ beta zincirinin 57. pozisyonu, DQ alfa zincirinin 52. pozisyonu HLA molekülünün kritik bölgeleridir ve T hücre reseptörlerine antijen sunumunu engeller veya kolaylaştırır. DR4-DQ8 ve DR3-DQ2 haplotipleri maksimum yatkınlık sağlarken, DR2-DQ6 ve DR5 ise koruyucudur (117, 118).

T1DM'lilerin %20'sinde HLA genleri ile ilişkisi olmayan, fonksiyonları tam olarak bilinmeyen yaklaşık 20 gen ve bunların içerisinde de fonksiyonları bilinen iki gen tanımlanmıştır. Bunlar, diyabete yatkınlığın %10'undan sorumlu olan ve 11p5.5. kromozomda yer alan IDDM2 ile 2q33 kromozomda yer alan ve T hücre aktivasyonundan sorumlu olan IDDM12 genleridir (114, 119).

#### **2.8.1.2. Çevresel Faktörler**

T1DM gelişiminde önemli olan otoimmünitenin başlamasında veya baskılanmasında kimyasal maddeler, virüsler, gıdalar gibi çeşitli çevresel faktörler önemli rol oynamaktadır. Genetik yatkınlığı olan bireylerde T1DM gelişimi, çevresel faktörlere maruziyet sıklığına ve süresine de bağlıdır (114). Bu faktörlerden biri olan virüsler doğrudan sitolitik etkiyle veya otoimmüniteyi tetikleyerek  $\beta$  hücre hasarına yol açarlar. Kabakulak, rubella, sitomegalovirüs, coxsackie ve retrovirüs gibi enterovirüslerin T1DM'ye yol açabileceği gösterilmiştir. Konjenital Rubella sendromlu hastaların %10-20'sinde enfeksiyondan 5-25 yıl sonra T1DM görülmektedir. Diğer faktörler arasında tütülenmiş et gibi nitrozaminden zengin besinlerin sık tüketilmesinin ve içme sularında bulunan nitrat içeriğinin T1DM ile ilişkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (120, 121). Toprakta düşük çinko düzeyi ile T1DM'de artış ilişkisi gösterilmiş ve çinkonun immün fonksiyon için gerekli olduğu belirtilmiştir (122). Kimyasal ajanların ve ilaçların da  $\beta$  hücrelerinde haraplanma yaparak T1DM gelişimini kolaylaştırdığı bilinmektedir. Alloxan, streptozotosin, pentamidin ve vacor gibi ilaçların diyabetojenik olduğu öne sürülmüştür. Bunlardan en önemlisi, diyabetik hayvan modeli oluşturmak için kullanılan streptozotosindir. Streptozotosin,  $\beta$  hücrelerini direkt olarak ve otoimmüniteye eden olarak haraplamaktadır (123, 124).

Genetik ve çevresel faktörler, pankreasın  $\beta$  hücrelerine karşı otoimmün sürecin başlamasında tetikleyicidirler (113). Otoimmün süreç ile birlikte, pankreasın adacık hücrelerinde yavaş ilerleyen yıkım gelişir ve bununla beraber insülin sekresyonu azalmaya başlar. Önceleri, normal  $\beta$  hücrelerinin salgıladığı insülin ile karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmaları idame ettirildiğinden,  $\beta$  hücrelerinin önemli derecede hasarlanışına kadar geçirilen dönem asemptomatiktir. Pankreastaki  $\beta$  hücrelerinin %80-90'ının haraplanması durumunda diyabetin klinik bulguları ortaya çıkmaktadır (32, 114). T1DM hastalarında otoimmün süreç dört fazda

gerçekleşmektedir; 1- çevresel faktörlere maruziyet, 2- T hücrelerinin uyarılması, 3- T hücrelerinin farklılaşması, 4-  $\beta$  hücrelerinin haraplanması (32).

### **2.8.2. Tip 2 Diabetes Mellitus**

Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ya da insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus insülinin periferik etkisinde ve pankreas  $\beta$  hücrelerinin fonksiyonunda bozukluklarla seyreden bir endokrin hastalıktır. Toplumda en sık görülen diabetes mellitus tipidir. T2DM’da en önemli özellik, insülinin fizyolojik etkilerine karşı periferik dokularda, özellikle de çizgili kaslarda direnç oluşumudur. Bu direnç, insülin reseptörleri veya post insülin reseptör defektlerine bağlı olabilir. İnsülin direncini oluşturabilen veya arttırabilen birçok faktör vardır. Bunlardan bazıları arasında obezite, hipertansiyon, yüksek kolesterol, metabolik sendrom, stres ve akromegali sayılabilir (125, 126). T2DM’deki insülinin eksikliğinin nedenleri aşağıdakiler olabilir (125, 127, 128):

#### **2.8.2.1. Beta Hücresinin Kitesinde Azalma**

$\beta$  hücrelerinin sayısı pankreas tarafından salgılanan insülin miktarını belirleyen bir faktördür. Çalışmaların çoğu, uzun süreli tip 2 diyabetlilerde  $\beta$  hücre kitlesinin %20-40 oranında azaldığını göstermektedir. Bu hastaların adacıkları morfolojik olarak normal bulunmuş ve insülitis saptanmamıştır.  $\beta$  hücresindeki bu azalmanın nedeni bilinmemektedir.

#### **2.8.2.2. Düşük Doğum Ağırlığı**

Düşük doğum ağırlığında doğanlarda ileriki yıllarda T2DM veya glukoz tolerans bozukluğu görülme sıklığının arttığı gösterilmiştir. Gebelik sırasındaki olumsuz çevre koşullarının neden olduğu fetüs malnutrisyonunun hem insülin duyarsızlığı hem de  $\beta$  hücresinin gelişimine, dolayısıyla kitlesine olumsuz etkileri olduğu sanılmaktadır.

#### **2.8.2.3. Glukoz Toksisitesi**

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

#### **2.8.2.4. Lipid Toksisitesi**

İnsülin sentezi ve sekresyonunun uyarılması, yalnızca glukozun  $\beta$  hücresi içine girmesi değil, aynı zamanda metabolizması ile oluşan bir olaydır. Glukoz GLUT 2 adını verilen glukoz transport molekülü aracılığıyla  $\beta$  hücresine girer girmez G6P (glukoz 6 fosfat)’a dönüşür.  $\beta$  hücresinde heksokinaz (HK -1) bulunmasına karşın glukokinaz glukozun G6P’a fosforilasyonunda yer alan major enzimdir ve birçok özelliği nedeni ile de insülin sekresyonu için  $\beta$  hücresinde bir glukoz algılayıcı olarak görev yapar. Glukozun  $\beta$  hücresindeki akıbeti glukoliz yönüyle metabolizmasıdır. %10’dan daha az oranda glukoz pentoz fosfat metabolik

yoluna girer.  $\beta$  hücresindeki uzun zincirli serbet yağ asidi CoA (Acyl-CoA) esterleri normalde insülin sekresyonunun başlamasında önemli rol oynamaktadırlar. Hiperglisemi olduğunda sitoplazmadaki serbest yağ asidi esterlerinin mitokondriye geçişini sağlayan karnitin palmitoil transferaz 1 enzimi inhibe olduğundan bu geçiş olmamakta ve serbest yağ asidi esterler  $\beta$  hücresi sitoplazmasında birikmektedirler. Bu birikim de insülin sekresyonunu uyarmaktadır. Glukoz metabolizması sırasında oluşan malonil Ko-A, bu enzimin inhibisyonunu sağlayan ara maddedir. Ancak serbest yağ asitleri ve yüksek glukoz düzeylerine kronik olarak maruz kalan hücresinde yukarıda insülin sekresyonunu uyaran olayın yavaşlamasını hatta inhibisyonuna neden olabilir.

#### **2.8.2.5. İnsülin Salgılanma Bozukluğunda Genetik Nedenler**

Glukozun  $\beta$  hücresi tarafından tanınmasında, insülinin sentez ve salgılanmasında rol oynayan spesifik proteinlerdeki mutasyonlar  $\beta$  hücresi disfonksiyonundan sorumlu olabilmektedirler. Şimdiye dek glukokinaz geni, mitokondriyal DNA geni, insülin geni ve insülin üretimindeki enzimlere ait genlerde mutasyonlar tanımlanmıştır. Bu mutasyonlar oldukça nadir olup tüm T2DM'lerin %1-2'sini oluştururlar.

#### **2.8.3. Gebelik Diyabeti (Gestasyonel Diabetes Mellitus)**

Gebelik sırasında fark edilen diyabet, gestasyonel diabetes mellitus (GDM) olarak adlandırılır. Gebelikteki diyabetlilerin %90'ını GDM'liler oluşturur. Her ne kadar GDM doğumdan sonra kaybolursa da GDM'li kadınların %30'u 7-10 yıl içinde diyabet veya bozulmuş glikoz intoleransı tanısı alır (129). GDM'nin sonraki gebeliklerde tekrar görülme oranı ilk trimesterdeki kiloya bağlı olarak %60-90 arasındadır (130).

GDM'li gebelikler, maternal ve fetal komplikasyonlar açısından yüksek riskli gebelikler grubuna girmektedir (131). GDM'de erken doğum, perinatal mortalite, fetal makrozomi, polisitemi, sarılık, hidroamniyoz, kardiomyopati, ilk trimesterde hipoglisemi ve gebeliğin ikinci yarısında hiperglisemi riski artmaktadır. GDM'li annenin bebeği, erken yaşlarda obezite gelişimi, bozulmuş glikoz intoleransı ve diyabet riski altındadır (132). GDM'li annelerde hipertansiyon ve sezaryenle doğum oranı artar (131, 133).

#### **2.8.4. Diabetes Mellitus'un Gebeliğe Etkileri**

Diyabet tanılı gebelikler hem anne hem de fetüs açısından riskli gebeliklerdir. Diyabetin gebeliğe olumsuz yönde etkilerinden bazıları; fetüste makrozomi, spontan abortus, konjenital malformasyonlar, ölü doğum, polihidramniyoz ve annede hipertansiyon, ketoasidoz, retinopati, nöropati, nefropati ve preeklampsi risklerinin artmasıdır (35, 36).

Glukoz plasentadan kolaylıkla geçerek fetüse ulaşır ve fetüs hiperglisemiye Langerhans adacıklarının hiperplazisiyle ve artan insülin salgısıyla yanıt verir. Bu da, maternal diyabette fetüste fazla kilo görülmesinin baş sebebidir. Ayrıca, sürekli hipergliseminin, fetal poliüri ve hidramniyozun sebebi olduğu düşünülmektedir.

Fetal makrozomi, organların hem hücre sayısındaki artıştan hem de hücrelerin boyut olarak büyümesinden kaynaklanmaktadır. Diyabetik anne fetüslerindeki hiperglisemi, maternal substrat artışı ve fetal hiperinsülinemi gibi multifaktöriyel etkilerle fetal makrozomi ortaya çıkar. Ayrıca insülin otoantikörünün de rolü vardır. Normalde insülin plasentadan metabolik etki gösterecek miktarlarda geçemez. Ancak insülin otoantikörüne bağlanan insülin büyük ölçüde geçebilir ve böylece fetal makrozomiye artırır. Fetüste insüline duyarlı dokular olan karaciğer, yağ dokusu, adale, kalp, dalak, timus, adrenal bezler, pankreas gibi dokular hipertrofi ve hiperplaziye uğrarken, beyin, böbrek ve femur boyunda benzer değişim görülmez.

### **2.8.5. Diyabetik Plasentada Oluşan Değişiklikler**

DM'li gebelerin plasentalarında en sık gözlenen anormallik villöz immatüritedir. Villöz immatürite, gebelik yaşına göre terminal villusların sayısında azalma ve matür ve immatür intermediyet villusların sayısında artma ile karakterizedir. Diyabetik gebeliklerin %40'ında plasentada maturasyon gebelik haftasına uygun iken %60 plasentada immatürite vardır (28). Villöz immatüritenin fetoplasental vasküler gelişim sorununun bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir (134). Ani fetal ölüm olgularının plasentalarının histolojik değerlendirilmesinde belirgin villöz immatürite göze çarpmaktadır (60). Villöz immatürite, intervillöz boşlukla fetal kapillerlerin arasındaki difüzyon mesafesini arttırarak kronik fetal hipoksiye yol açmaktadır (37).

Diyabetik gebelerin plasentaları, maternal hiperglisemi ve fetal hipervolemi'ye (dolaşımdaki kanın aşırı fazlalığı) bağlı olarak, kalın ve pletoriktir (kan hücrelerinin aşırı varlığı). Triglicerid, fosfolipid ve kolesterol içeriği, diyabetik plasentalarda daha fazladır. Diyabetik plasentalarda plasentomegali gözlenir. Bu, yüksek DNA içeriğiyle kanıtlanan parankimal doku hücreleri artışına bağlı olarak gelişmektedir. Villusları oluşturan hücrelerin neredeyse tamamında artış görülür. Villöz stromal fibroblastlar, villöz makrofajlar, endotel hücreler ve villöz sitotrofoblastlar sayıca artmıştır. Villöz hücre proliferasyonunda artışa bağlı olarak villus çaplarında artış gözlenir (28). Sitotrofoblastların sinsisyotrofoblasta farklılaşmasını uyaran epidermal büyüme faktörünün reseptörünün ekspresyonu DM hastalarında azalmıştır. Bu nedenle, villöz sitotrofoblastlar farklılaşmaktan ziyade proliferasyon gösteriyor olabilir (39).

Trofoblastik bazal membranda lokal ya da yaygın kalınlaşmalar gözlenir. Bunun, enzimatik olmayan glikozilasyon veya tip IV kollajen (bazal laminadaki en önemli kollajen) miktarındaki artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, diyabetik plasentaların mukopolisakkarit içeriğinde azalma olduğundan, dayanıklılıkları belirgin ölçüde azdır.

Umblikal ven endotel hücrelerindeki prostaglandinlerden PGI<sub>2</sub> ve PGE<sub>2</sub>'nin (etkili vazodilatörler ve umblikal damar hareketinin baş düzenleyicileri) ekspresyonlarının diyabetik plasentalarda normale göre azaldığı görülmüştür.

DM'li plasentalarda bozulan plasental perfüzyonun, trofoblastik bazal membran kalınlaşmasından ve değişen umblikal endotel yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Diyabetik plasentalarda koranjyoz sıklıkla görülür. Koranjyozun,

meydana gelen hipoksiyi kompanse etmek amacıyla anjiyogenik faktörlerin sentezinin uyarılmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Diyabetik plasentalar fetal pletor (kan toplanması) yüzünden koyu renklidir (28).

Diyabetik plasentalarda çekirdekli eritrosit (NRBC) sayısında artış, villöz ödem, villöz fibrinoid nekroz (yani villöz stromanın yerini fibrinoidin alması), kalsifiye alanların artışı, fetal ve plasental damarlarda tromboz gibi anormallikler de bildirilmektedir (135). Villöz ödemin Hofbauer hücrelerindeki artıştan dolayı olduğu düşünülmektedir (28).

Diyabete nefropati de eşlik ediyorsa, fetal büyüme geriliği, plasentalarda enfarktüs, desiduanın normalden kalın olması ve plasenta ağırlığında ve büyüklüğünde azalma görülür (67).

Diyabetik gebelerin plasentalarında saptanan anormalliklerin gebelik sürecindeki kan şekeri kontrolü ile yakın ilişkili olduğuna dair yaygın bir kanı vardır. Bu düşünceyi destekleyen çalışmalar olduğu gibi, sıkı kan şekeri kontrolünün plasentaya ait histolojik patolojileri değiştirmede gösteren çalışmalar da mevcuttur (37, 136).

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

Fetüsün, bulunduğu gebelik haftasına göre olması gereken standart ağırlıktan %10 veya daha fazla oranın altında olması IUGR olarak adlandırılır. IUGR görülme sıklığı gelişmiş ülkelerde %3 iken, gelişmekte olan ülkelere %10'un üzerindedir (137).

Malnütrisyon, fetal enfeksiyonlar (%5), trizomi 21 gibi kromozom anomalileri, kemik ve kıkırdak bozuklukları, teratojenler, preeklampsi ve hipertansiyon gibi vasküler hastalıklar, renal hastalıklar, yüksek rakımda yaşam, anemi, plasenta ve göbek kordonu anormallikleri ve çoğul gebelikler IUGR'da risk faktörleridir. IUGR'a etki eden patolojik olmayan faktörler arasında anne-babanın boyu ve kilosu, ileri yaşlarda gebe kalma, etnik köken ve fetal cinsiyet sayılabilir.

IUGR'ın klinik olarak tanımlanmış iki tipi bulunmaktadır: Erken gebelik dönemlerinden itibaren etki eden faktörlere bağlı olarak fetal hücre sayısının etkilendiği simetrik IUGR ve genellikle geç gebelik dönemlerinde etkili olan faktörlere bağlı olarak fetal hücre sayısının etkilenmeden, hücre hacminin azaldığı asimetrik IUGR (138). Simetrik IUGR'da fetal büyüme, hücresel hiperplazinin fazla olduğu gebeliğin erken dönemlerinde kimyasallara maruziyet, malnütrisyon, viral enfeksiyonlar ve kromozom anomalileri gibi nedenlerle olumsuz etkilenmiştir. Ağırlık, boy ve baş çevresi orantılı olarak küçüktür. IUGR'lı bebeklerin yaklaşık %20-30'u bu gruba girer. Asimetrik IUGR, hücre hipertrofisi, ağırlık artışı ve somatik organ büyümesinin gerçekleştiği gebeliğin geç dönemlerinde ortaya çıkar. En büyük nedeni uteroplazental yetmezliktir. Fetal başın vücuttan daha büyük olması ve karın çevresindeki büyümenin sınırlı kalmasıyla karakterizedir. IUGR'lıların %80'i asimetrik tiptedir (139).



IUGR perinatal mortalite ve morbidite açısından önemli bir klinik problemdir. IUGR'da perinatal mortalite ve morbidite, normal bebeklere göre 5-20 kat fazladır. Doğum kilosuz azaldıkça perinatal morbidite ve mortalite riski artar. IUGR'lı bebeklerde intrauterin ölüm, nörolojik bozukluklar, konjenital malformasyonlar, hipotermi, hipoglisemi, hipokalsemi, polisitemi, trombositopeni ve enfeksiyon riski fazladır. IUGR'lı bebekler %30-%50 oranında intrapartum hipoksik strese maruz kalırlar ve %50 oranında neonatal problem yaşarlar (40).

### **2.9.1. IUGR'lı Plasentada Oluşan Değişiklikler**

IUGR olgularında patolojik olarak en sık rastlanabilecek lezyon villuslarda büyük ölçüde nekroz oluşmasıdır. Nekroz plasentanın tüm kalınlığı boyunca olabileceği gibi, sıklıkla da plasental tabanda yerleşim göstermektedir (140).

IUGR plasentaları normal plasentalardan belirgin ölçüde daha küçük ve hafiftir. Normalde genelde merkezi duruşlu olan göbek kordonu, IUGR'da çoğunlukla ekzentrik yerleşimlidir. Bu durum, plasental dolaşımı olumsuz yönde etkilemektedir (42).

IUGR'lı plasentalarda perivillöz alanda yoğun olarak fibrin depolanması gözlenir. Bu durumun, uteroplasental dolaşımın zayıflığına bağlı olarak oluşan hipoksinin, sinsisyotrofoblast dejenerasyonunu indüklemesiyle meydana geldiği düşünülmektedir (28).

IUGR'da hipoksi sonucu oluşan, artmış sinsiyal düğümler ve fokal villöz ödemle karakterize iskemik bölgeler gözlenmektedir. İskemiden sonraki evre olan iskemik villitis; sinsiyal nekroz, perivillöz fibrin depolanmaları ve polimorfonükleer hücrelerin infiltrasyonunun gözlemlendiği alanlardır. İleri IUGR vakalarında iskemik villitis görülebilir. Plasentadaki spesifik insülin-bağlayan reseptörlerin sayısı, IUGR'lı plasentada azalmaktadır.

IUGR'da villöz ağacın periferik kısımları matür intermediyet villuslardan oluşmuştur ve terminal villuslar bilinmeyen sebeplerden dolayı gelişmemiştir. Buna bağlı olarak materno-fetal değişim yüzeyi azalmış ve materno-fetal difüzyon aralığı artmıştır. Ayrıca villöz sitotrofoblast apoptozunda artış ve stromal kapillerlerin sayılarında azalma vardır (41). Bunların, trofoblastların spiral arterlere yetersiz invazyonu ve dolayısıyla azalmış uteroplasental perfüzyon nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (28).

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Doku Temini ve Hazırlanması

Bu araştırmadaki çalışma grupları, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümleri'ne başvuran ve yazılı onam alınan hastalardan oluşmuştur. Preeklampsi, diyabet ve intrauterin büyüme geriliği teşhisi konulan hastaların ve herhangi bir komplikasyon saptanmayan gebelerin (kontrol grubu) plasentaları çalışmaya dahil edilmiştir. Kadın Doğum uzmanları tarafından preeklampsi (n:3), diyabet (n:3), IUGR (n:3) ve kontrol grubunun (n:3) (Tablo 3.1) term plasentaları sezaryen doğum sırasında alındı. Plasentalar doğumdan hemen sonra steril koşullarda kuru buz üzerinde laboratuvara getirildi.

**Tablo 3.1.** Deney gruplarındaki hastaların klinik özellikleri.

Hasta no	Klinik kategori	Yaş	Parite	Gestasyon (hafta)	Tansiyon	Sigara kullanımı	Neonatal doğum ağırlığı (gr), Cinsiyeti
1	PE	21	0	36	140/100	Yok	2350, K
2*	PE	42	1	31	140/95	Yok	1240, E
							1260, E
3	DM	36	2	39	120/80	Yok	4040, E
4	DM	38	3	38	140/70	Yok	3100, K
5	DM	35	2	36	120/65	Yok	2420, K
6	IUGR	28	0	43	120/70	Yok	3000, E
7	IUGR	30	1	39	110/85	Var	1995, K
8	IUGR	36	0	30	120/80	Yok	1100, K
9	Normal	31	2	40	120/85	Yok	4190, E
10	Normal	22	0	38	110/80	Yok	3060, E
11	Normal	27	1	39	120/75	Yok	3650, E

PE, preeklampsi; DM; diabetes mellitus; IUGR, intrauterin büyüme geriliği; K, kız; E, erkek  
\*: 2 nolu hasta dizigotik ikiz gebelik gerçekleştirmiştir.

### 3.2. İmmünohistokimya Tekniği İçin Doku Hazırlanması

Plasentalardan alınan örnekler önce fosfat tamponlu salin (PBS; pH:7.4) ile birkaç kere yıkanarak dokulardaki fazla kanın uzaklaştırılması sağlandı. Daha sonra, alınan plasenta örnekleri immünohistokimyasal tekniklerde kullanılmak üzere Holland fiksatifinde (1000 ml distile suda %40'lık 100 ml formalin + 5 ml glisiel asetik asit + 40 gr pikrik asit + 2,5 gr bakır asetat) 6 saat fikse edildi. Fikse edilen dokular, 6-7 saat musluk suyunda yıkandıktan sonra sırasıyla %70, %80 ve %90'lık alkol serilerinde 24'er saat ve en son %100'lük alkolde 3 saat tutularak

dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. Ksilol içinde 3 defa 3'er dakika bekletilerek şeffaflaştırma yapıldı. Dokular 58°C'lik etüvde, 3 defa 1'er saat parafinize edildi. 3. saatin sonunda, dokular temiz parafine gömülerek parafinin oda ısısında donması sağlandı. Böylece parafin bloklar oluşturuldu.

### 3.3. Rutin Işık Mikroskopik Gözlemler

Dört gruba ait plasenta örneklerinin parafin bloklarından 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-eozin boyaması yapılarak ışık mikroskobu (Axioplan Zeiss, Almanya) ile incelendi ve izlenen histopatolojik bulgular kaydedildi.

### 3.4. İmmünohistokimya Yöntemi

Deneklere ait doku bloklarından alınan 5 mikrometre kalınlığındaki kesitler superfrost plus (manyetik olarak statik) lamalar üzerine alınarak 1 gece boyunca 56°C'lik etüvde bekletildi. Deparafinizasyon aşaması için, parafin kesitler 2 defa 10'er dakika ksilolden geçirildi. Kesitler daha sonra derecesi giderek azalan alkol serilerinde (%100, %90, %80, %70) 5'er dakika bekletildi. Distile su ile 5 dakika muamele edildi. Dokudaki antijenik epitoplara ortaya çıkması için kesitler, sitrik asit tamponu (pH:6.0; 900 ml distile suda 2,1 gr sitrik asit) içine alınarak üç defa 7'şer dakika mikrodalga fırında (750 watt) tutuldu. Mikrodalga uygulamasından sonra kesitler sitrik asit içerisinde 30 dakika boyunca oda ısısında soğutuldu. Kesitler PBS'e alındıktan sonra dokuların çevresi hidrofobik kalemle çizildi. Daha sonra kesitler 2 defa 5'er dakika PBS'ten geçirildi. Kesitler endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için metanolle hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 30 dakika inkübe edildi. Kesitler PBS ile 3 kere 5'er dakika yıkandıktan sonra dokulardaki özgül olmayan antikor bağlanmasını önlemek amacıyla, bloklama solüsyonu (Ultra V Block, LabVision Corporation TA-125UB) ile 8 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Serum kesitler üzerinden uzaklaştırıldıktan sonra, kesitler tavşan poliklonal p27 (Kip1) 1:250 (RB-9019-P0 NeoMarkers, CA, USA), tavşan poliklonal p57 (C-20) 1:400 (sc-1040 Santa Cruz, CA, USA), tavşan monoklonal Ki67 (SP6) 1:50 (RM-9106-S1 NeoMarkers, CA, USA), fare monoklonal siklin D3 (D-7) 1:100 (sc-6283 Santa Cruz, CA, USA) primer antikorlarıyla +4°C'de gece boyu ve fare monoklonal PCNA (PC-10) 1:1000 (sc-56 Santa Cruz, CA, USA) primer antikoru ile 45 dakika oda sıcaklığında nemli ortamda inkübe edildi. Kontrol kesitlerine uygun serum ya da izotip IgG uygulandı. Kesitler primer antikorlar ile inkübasyondan sonra, 3 defa 5'er dakika PBS ile yıkandı. Daha sonra kesitler, biyotinleştirilmiş ve primer antikora bağlanma özelliği olan keçi anti-fare ve anti-tavşan sekonder antikoru (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent, LabVision Corporation TP-125-BN) ile 25 dakika inkübe edildi. Sonrasında 3 defa 5'er dakika PBS ile yıkanan kesitler, 25 dakika streptavidin peroksidaz kompleksi (Streptavidin Peroxidase (Ready-To-Use) LabVision Corporation TS-125-HR) ile inkübasyona bırakıldı. PBS ile tekrar 3 kez 5'er dakika yıkamadan sonra, immunoreaktiviteyi saptamak için kesitler AEC (AEC substrate system (Ready-To-Use) LabVision Corporation TA-125-SA) ile 5-20 dakika muamele edildi. Daha sonra kesitler distile suya alındı ve sonrasında Mayer'in hematoksileni ile 20 saniye zıt boyama yapılarak akar musluk suyunda yıkandı. Kesitler Kaiser'in gliserol jelatini (MERCK Darmstadt Almanya, OB514196) kapatma solüsyonu ile kapatıldı, Axioplan ışık mikroskopunda (Zeiss, Almanya) plasental kesitlerdeki PCNA, Ki67, siklin D3, p27 ve p57

proteinlerinin dağılımları ve immunoreaktiviteleri tespit edilip incelendi ve fotoğraflandı.

### **3.5. İstatistiksel Değerlendirme**

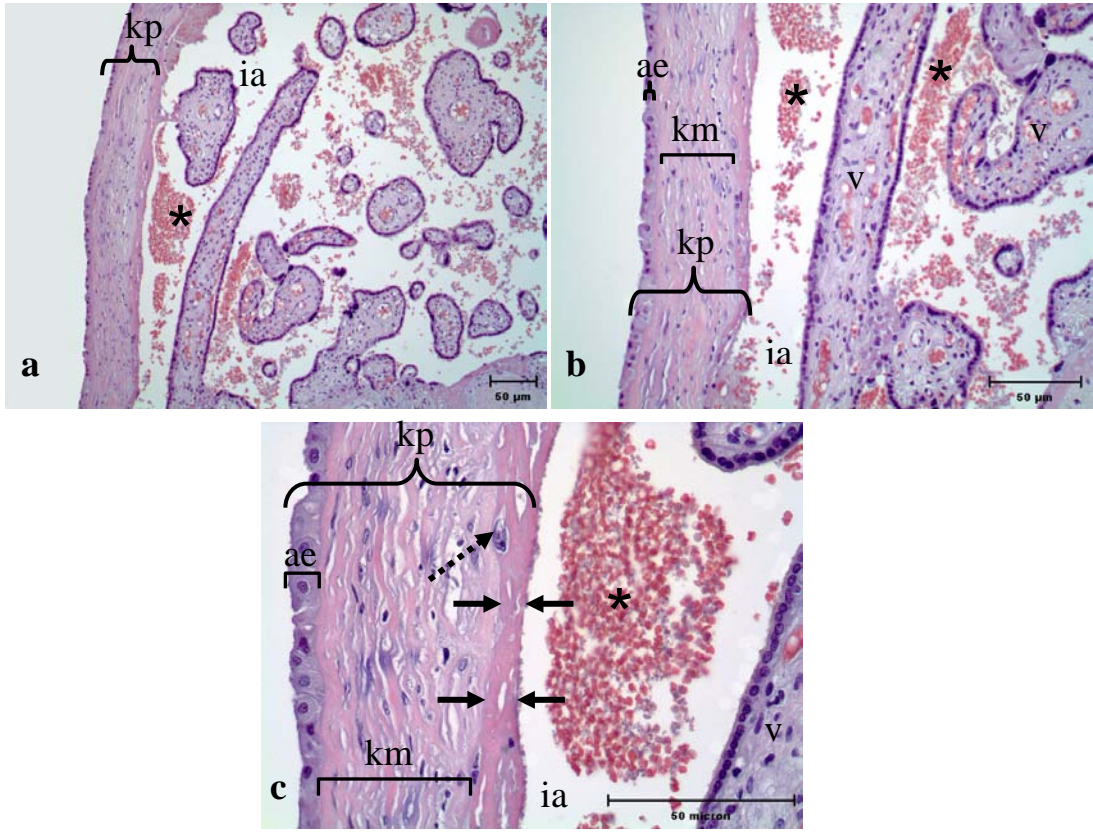
Tüm gruplara ait dokulardaki PCNA, Ki67, siklin D3, p27 ve p57 immünohistokimyasal boyanmalarının semikantitatif değerlendirilmelerinde HSCORE kullanıldı. Birbirinden bağımsız iki gözlemci tarafından her bir plasenta dokusunun villuslarındaki ve koryonik ve bazal plaklarındaki (3 ayrı bölge) 5'er değişik alandaki immüno pozitif hücrelerin sayımları X200 büyütmede yapıldı. Boyanan hücrelerin yüzdesi temel alınarak değerlendirme yapıldı. İmmüno pozitif her hücrenin boyanması, boyanma yoğunluğu temel alınarak: Boyanma mevcut değilse (-), az boyanmalarda (+), normal boyanmalarda (++) ve yoğun boyanmalarda ise (+++) olarak skorlandı. İncelenen her kesit için gözlemlenen HSCORE değeri yoğunluk kategorileri ile çarpılarak toplandı [ $HSCORE = \sum P_i (i+1)$ ,  $i$ , yoğunluk skoru ve  $P_i$ , hücrelerin yüzde değerleri]. Elde edilen HSCORE değerleri grafikleştirildi. İstatistiksel analiz olarak Mann-Whitney U rank testi yapılarak kontrol grubuyla deney grupları karşılaştırıldı.

## BULGULAR

### 4.1. Rutin Işık Mikroskopik Gözlemlerin Sonuçları

Hematoksilen-eozin boyama tekniği uygulanan kontrol, preeklampitik, IUGR ve diyabet gruplarına ait term plasenta örnekleri üç temel bölge esas alınarak ışık mikroskobu altında incelendi.

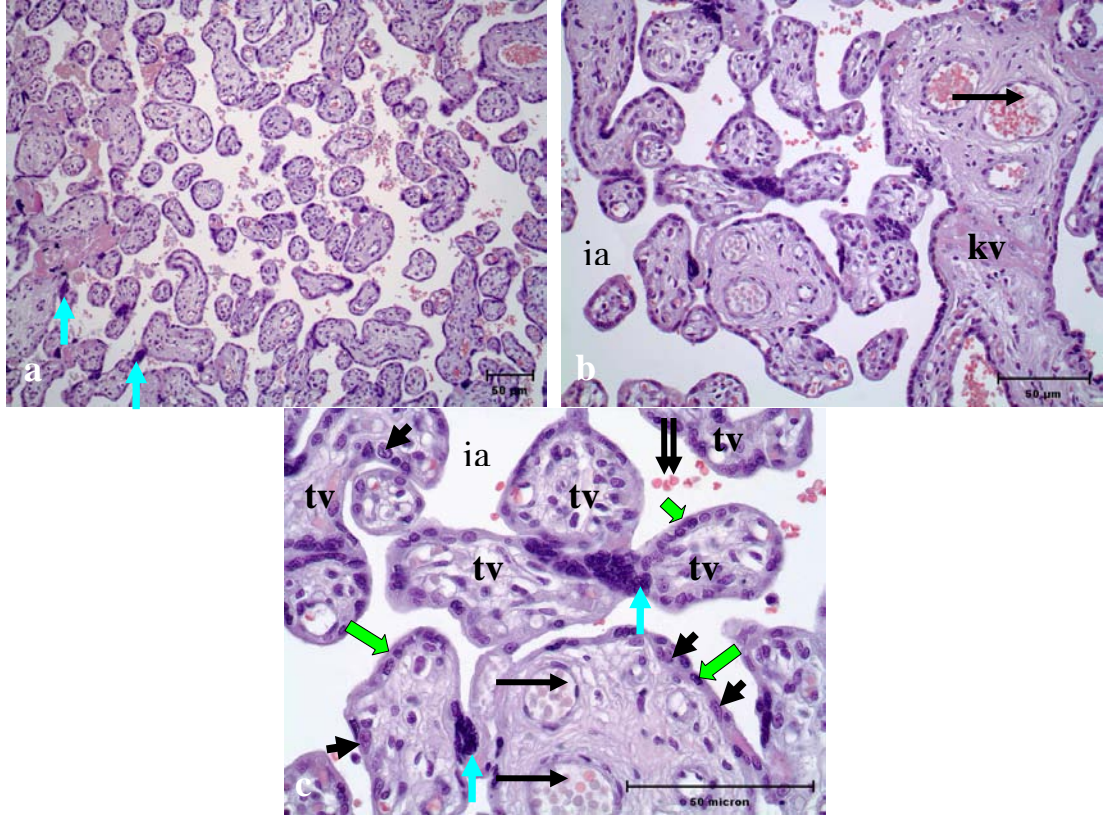
#### 4.1.1. Kontrol Grubu Plasentalarının Gözlem Sonuçları



**Şekil 4.1.1.1a-c.** Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış kontrol grubu term plasentalarına ait kesitlerin koryonik plak görünümü. **a:** X10. **b:** Intervillöz aralıktaki maternal kan adacıkları (\*) X20 **c:** Langhans fibrinoid tabakası (oklar arası) ve Langhans fibrinoid içindeki sitotrofolblast hücresi (kesikli ok) X40. (kp: koryonik plak, km: koryonik mezenşim, ae: amniyon epiteli, ia: intervillöz aralık, v: villus)

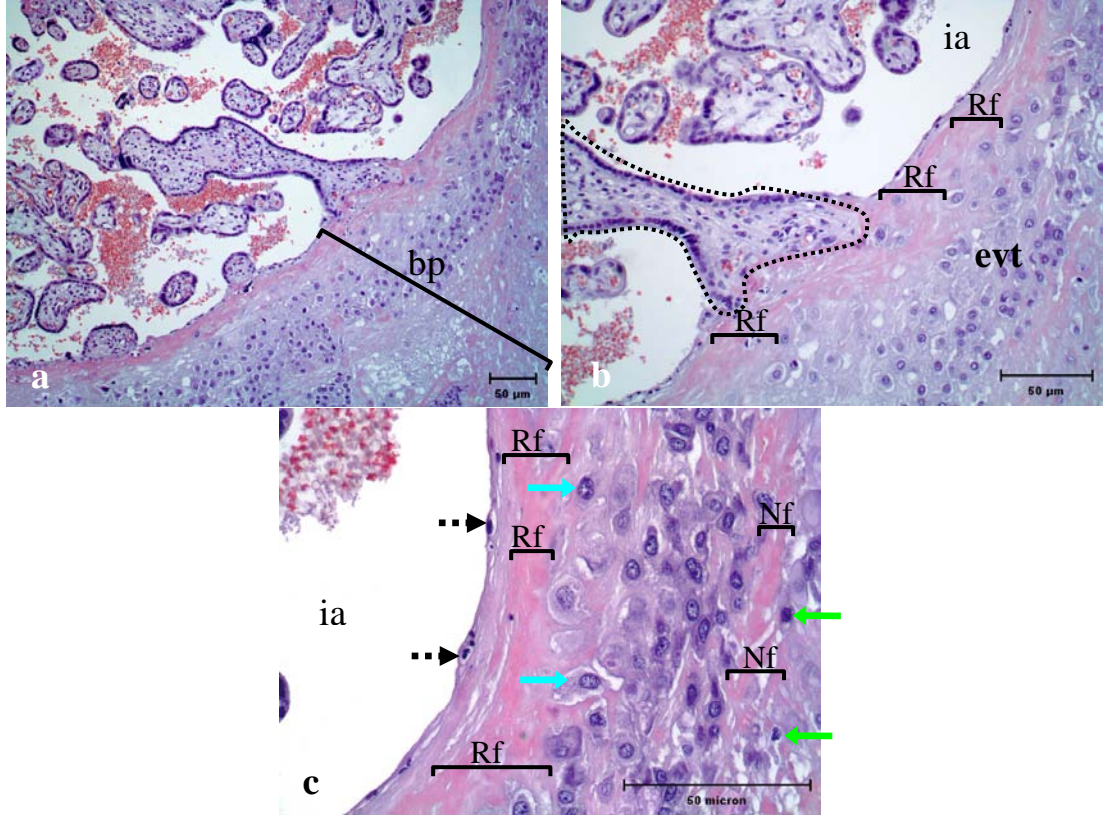
Kontrol grubu plasentalarında 3 bölge temel olarak esas alındı. Bu bölgeler, sırasıyla koryon frondozumdan gelişen koryonik plak (Şekil 4.1.1.1.a-c), intervillöz aralığa açılan ve direkt olarak anne kanı ile temas eden villuslar (Şekil 4.1.1.2.a-c) ve maternal ve fetal dokuların karışımından oluşan bazal plak (Şekil 4.1.1.3.a-c) idi. Koryonik plağın intervillöz aralığa bakan yüzündeki Langhans fibrinoid tabakası (Şekil 4.1.1.1.c) ve bazal plaktaki Rohr ve Nitabuch fibrinoid tabakaları gözlemlendi (Şekil 4.1.1.3.b,c). Rohr tabakası, bazal plağın yüzeysel katı iken Nitabuch tabakası

ise derinde maternal ve fetal hücrelerin karşı karşıya geldikleri alanda bulunuyordu (Şekil 4.1.1.3.b,c). Koryonik plakta fetal yüzden maternale doğru amnion epiteli, koryonik mezenşim ve Langhans fibrinoid tabakası ayırt edilebiliyordu (Şekil 4.1.1.1.a-c). Kontrol grubu plasentalardaki villusların çoğunluğu terminal villustu, ayrıca kök villuslar da gözlemlenebiliyordu (Şekil 4.1.1.2.a-c). Bazal plağın intervillöz aralığa bakan yüzünde sinsisyotrofoblast tabakası, hemen ardında Rohr tabakası ve sonrasında ise ekstravillöz trofoblastlar, desidual stromal hücreler ve derinde de Nitabuch fibrinoid tabakası gözlemlendi. Bazal plağa demirleyen villuslar gözlemlendi (Şekil 4.1.1.3.a-c).



**Şekil 4.1.1.2a-c.** Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış kontrol grubu term plasentalarına ait kesitlerin villuslarının görünümü. **a:** X10. **b:** X20. **c:** Fetal eritroblastlar içeren ve fetal endotel hücreleri ile çevrili fetal kan damarları (siyah oklar), villöz sitotrofoblast hücreleri (kısa oklar), sinsisyotrofoblast nükleusları (yeşil oklar), sinsisyal düğümler (mavi oklar), intervillöz aralıktaki maternal eritrositler (çift ok) X40. (ia: intervillöz aralık, kv: kök villus, tv: terminal villus)



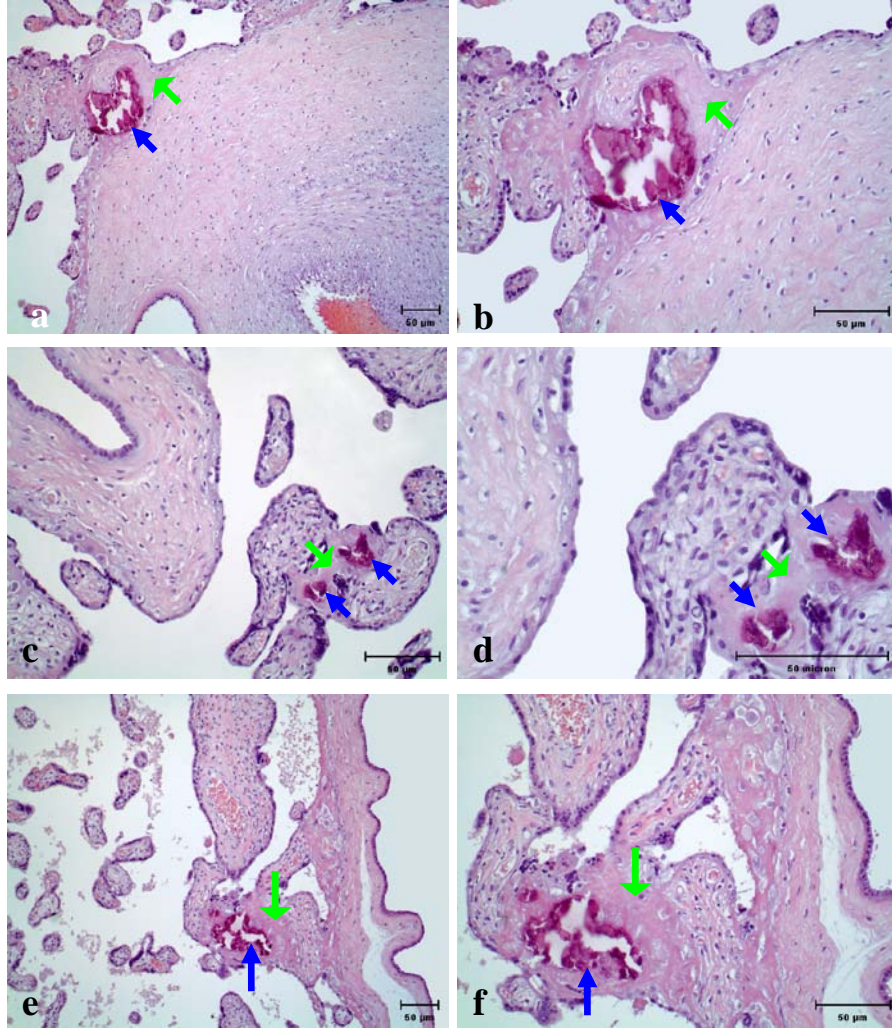


**Şekil 4.1.1.3a-c.** Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış kontrol grubu term plasentalarına ait kesitlerin bazal plak görünümü. **a:** X10. **b:** Demirleyici villus (kesikli çizgi içindeki bölge) X20. **c:** Fetal eritroblastlar içeren ve fetal endotel hücreleri ile çevrili fetal kan damarları (oklar), ekstrasvillöz trofoblast hücreleri (mavi oklar), sinsisyotrofoblast nükleusları (kesikli oklar), desidual stromal hücreler (yeşil oklar) X40. (bp: bazal plak, ia: intervillöz aralık, evt: ekstrasvillöz trofoblastlar, Rf: Rohr fibrinoid tabakası, Nf: Nitabuch fibrinoid tabakası)

Makroskopik olarak preeklampitik ve IUGR grubuna ait plasentalar kontrol grubuna göre belirgin ölçüde küçüktü. Diyabetik gruba ait plasentalar ise kontrol plasentalardan belirgin olarak daha büyüktü.

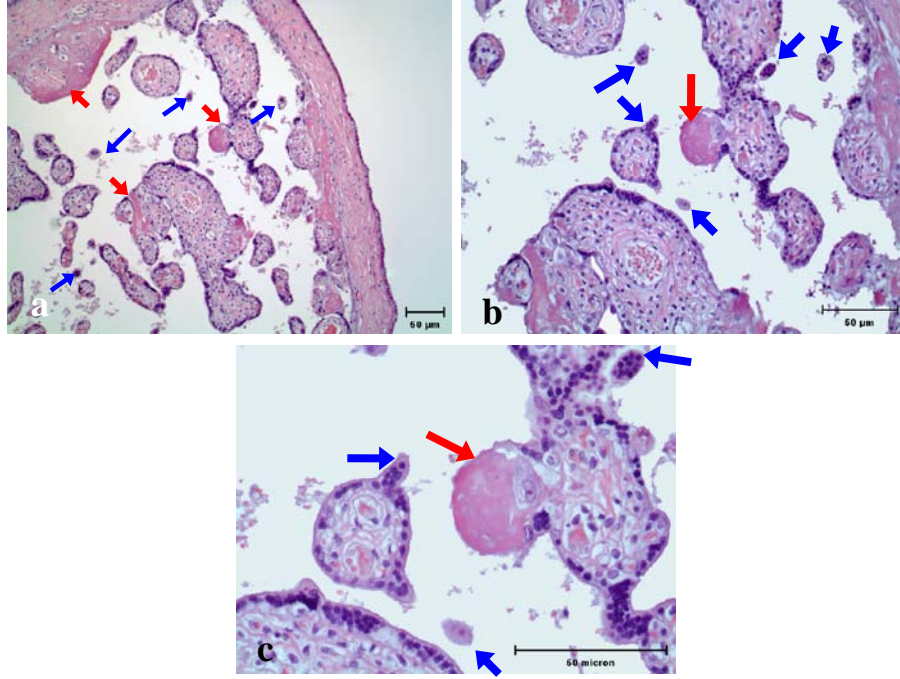
#### 4.1.2. Preeklampitik Grup Plasentalarının Gözlem Sonuçları

Preeklampitik plasentalarda kalsifiye alanlarda (Şekil 4.1.2.1.a-d) ve sinsisyal düğümlerde artış (Şekil 4.1.2.2.a-c), ayrıca intravillöz (Şekil 4.1.2.1.a-d) ve intervillöz fibrinoid birikimleri (Şekil 4.1.2.2.a-c) gözlemlendi. Ek olarak preeklampitik plasentaların bazal plaklarında normale göre kalınlaşma, fibrinoid birikimleri (Şekil 4.1.2.3.a,b) ve nekrotik alanlar vardı.

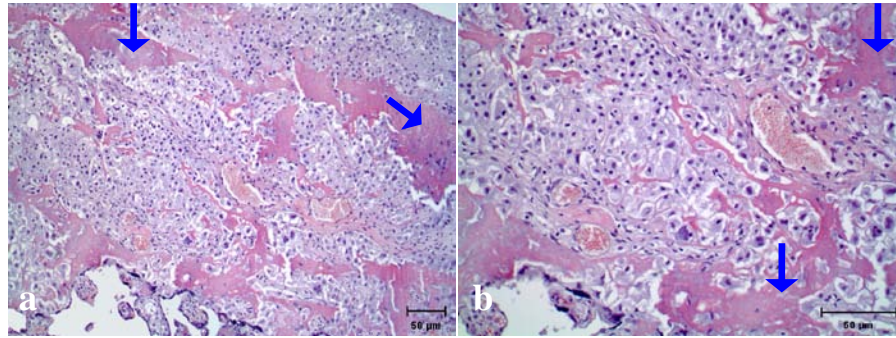


**Şekil 4.1.2.1a-d.** Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış PE grubu term plasentalarına ait kesitlerde intravillöz fibrinoid birikimleri (yeşil oklar) ve kalsifiye alanlar (mavi oklar). **a:** X10. **b:** X20. b'deki alan a'dakinin büyütülmüşüdür. **c:** X20. **d:** X40. d'deki alan c'dekinin büyütülmüşüdür. **e:** X10. **f:** X20. f'deki alan e'dekinin büyütülmüşüdür.





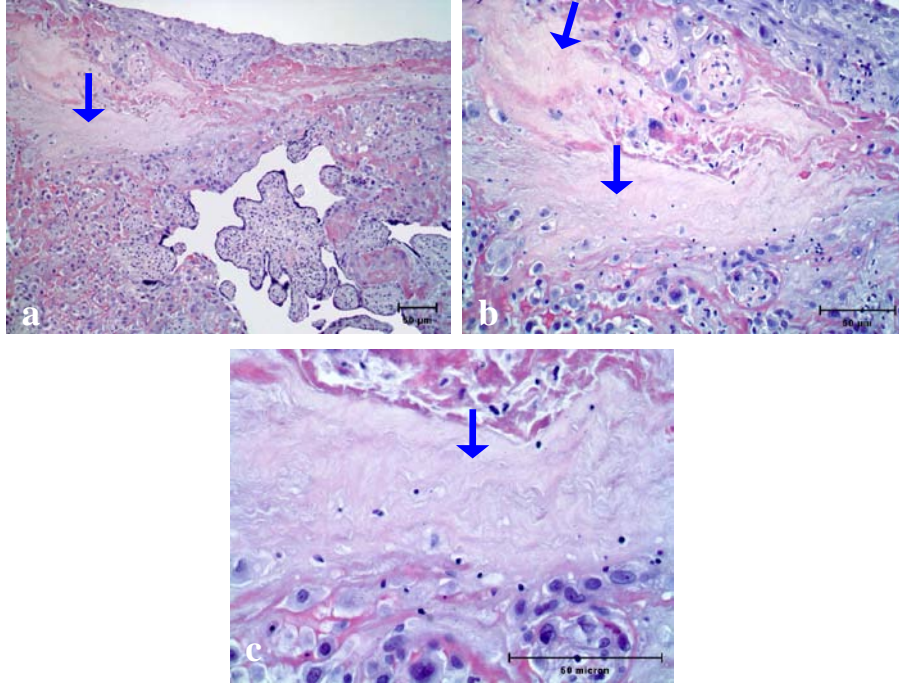
**Şekil 4.1.2.2a-c.** Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış PE grubu term plasentalarına ait kesitlerde artan sinsisyal düğümler ve intervillöz fibrinoid birikimleri. **a:** X10. **b:** X20. **c:** X40. Intervillöz fibrinoid birikimleri (kırmızı oklar), sinsisyal düğümler (mavi oklar).



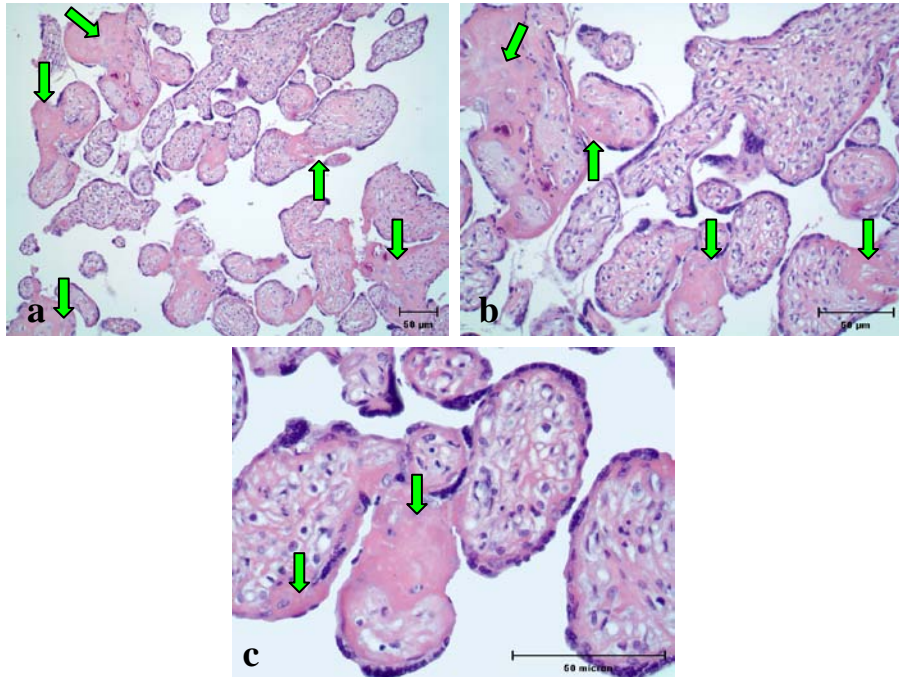
**Şekil 4.1.2.3a,b.** Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış PE grubu term plasentalarına ait kesitlerde artan fibrinoid birikimleri (mavi oklar) ve bazal plakta kalınlaşma. **a:** X10. **b:** X20.

### 4.1.3. IUGR Grubu Plasentalarının Gözlem Sonuçları

IUGR grubuna ait plasentalarda, bazal plakta nekrotik bölgeler (Şekil 4.1.3.1.a-c), intravillöz (Şekil 4.1.3.2.a-c) ve perivillöz (Şekiller 4.1.3.3.a-b ve 4.1.3.4.a-c) fibrinoid birikimlerinde artış, villöz immatürite (Şekil 4.1.3.3.a-c) ve kalsifiye alanlarda artış gözlemlendi.

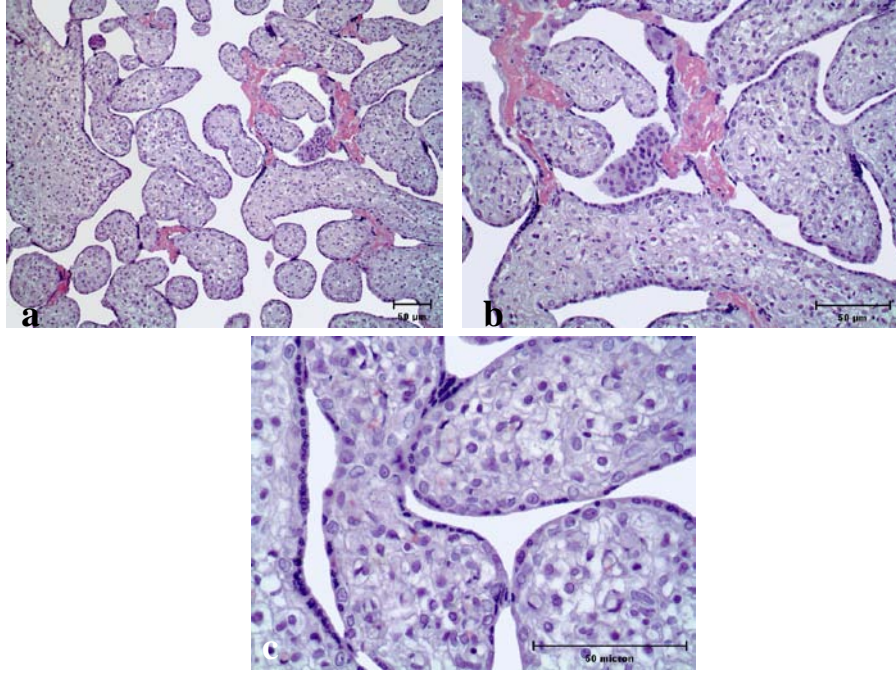


Şekil 4.1.3.1a-c. Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış IUGR grubu term plasenta kesitlerinde desidual nekroz. **a:** X10. **b:** X20. **c:** X40. Desiduada nekrotik alanlar (mavi oklar).

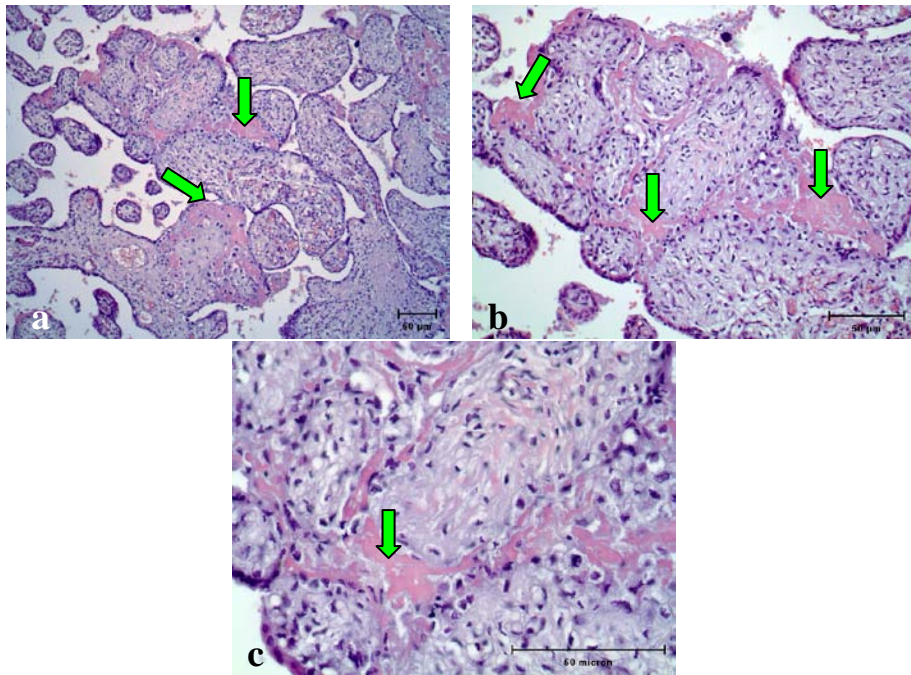


Şekil 4.1.3.2a-c. Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış IUGR grubu term plasenta kesitlerinde intravillöz fibrinoid birikimleri (yeşil oklar). **a:** X10. **b:** X20. **c:** X40.





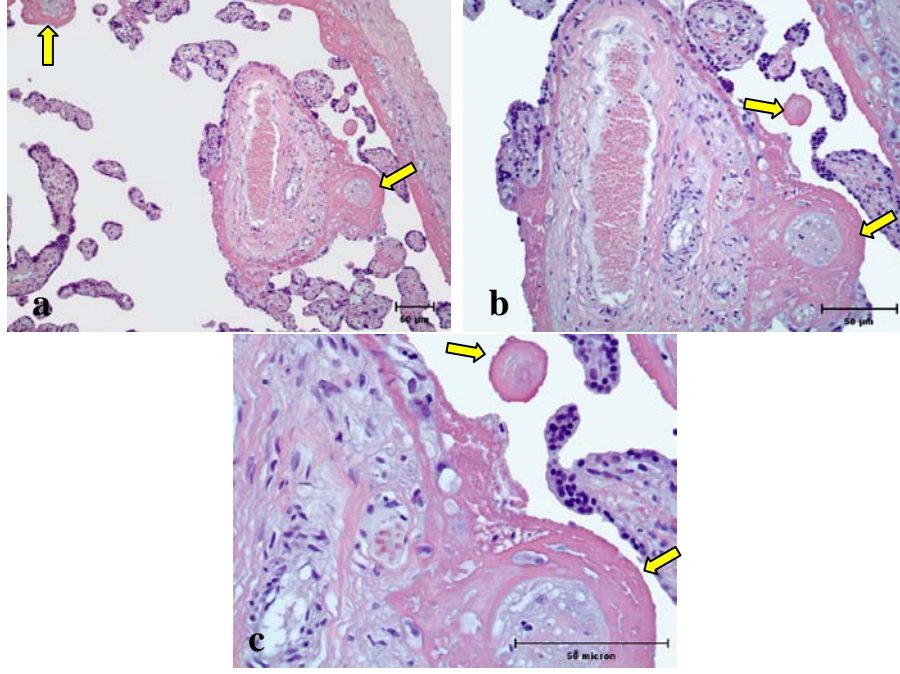
Şekil 4.1.3.3a-c. Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış IUGR grubu term plasenta kesitlerinde villöz immatürite ve villus aralarında perivillöz fibrinoid birikimleri. **a:** X10. **b:** X20. **c:** X40.



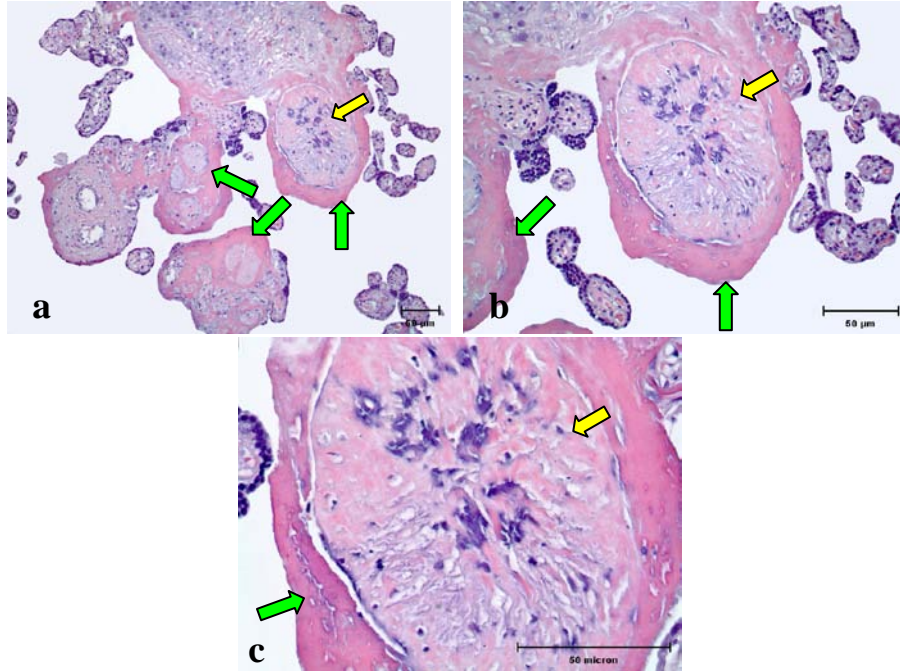
Şekil 4.1.3.4a-c. Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış IUGR grubu term plasenta kesitlerinde perivillöz fibrinoid birikimleri (yeşil oklar). **a:** X10. **b:** X20. **c:** X40.

#### 4.1.4. Diyabetik Grup Plasentalarının Gözlem Sonuçları

Diyabetik plasentalarda intervillöz (Şekiller 4.1.4.1.a-c ve 4.1.4.2.a-c) ve perivillöz (Şekil 4.1.4.4.a-c) fibrinoid birikimleri, villöz ödem, villus çaplarında artış, villuslarda nekrotik bölgeler (Şekil 4.1.4.2.a-c), koryonik plakta artan proliferasyon (Şekil 4.1.4.3.a-c) ve nekroz (Şekil 4.1.4.3.a-c) tespit edildi.

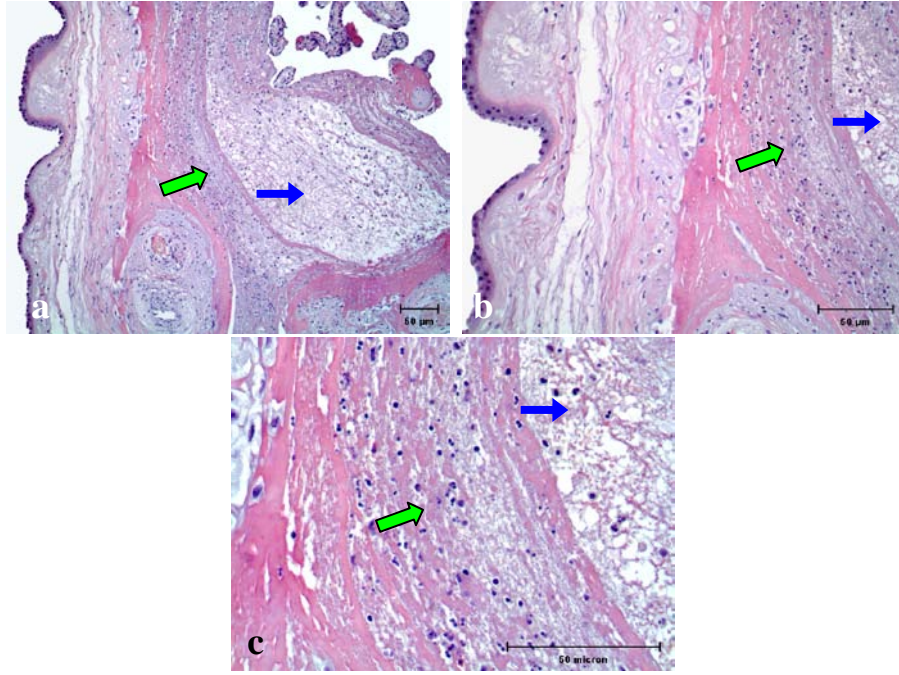


Şekil 4.1.4.1a-c. Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış diyabet grubu term plasenta kesitlerinde intervillöz fibrinoid birikimleri (sarı oklar). a: X10. b: X20. c: X40.

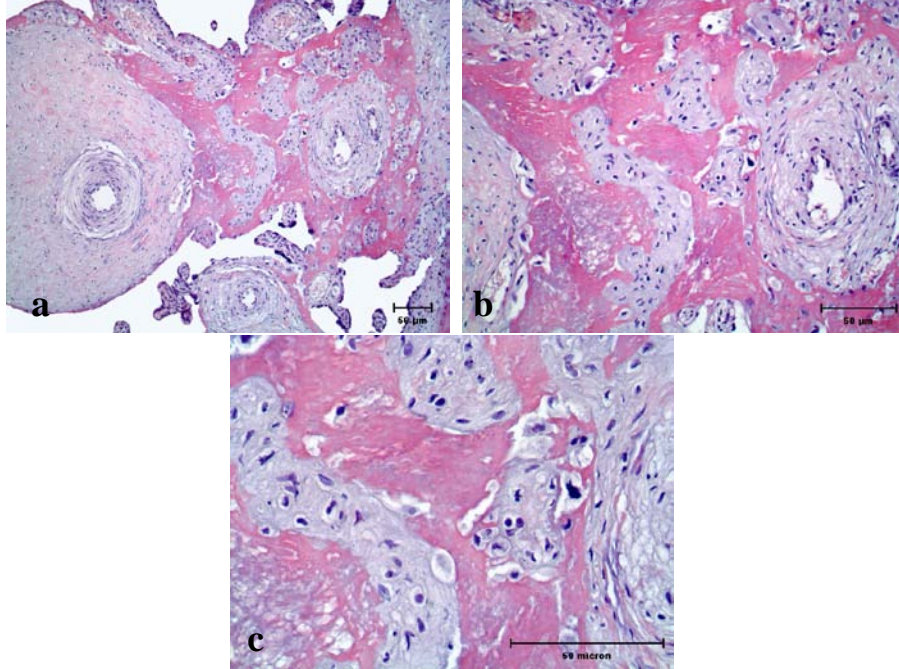


Şekil 4.1.4.2a-c. Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış diyabetik term plasenta kesitlerinde villus nekrozu (sarı oklar) ve intervillöz fibrinoid birikimleri (yeşil oklar). a: X10. b: X20. c: X40.





**Şekil 4.1.4.3a-c.** Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış diyabetik term plasenta kesitlerinde koryonda artan proliferasyon (yeşil oklar) ve nekrotik dokular (mavi oklar). **a:** X10. **b:** X20. **c:** X40.

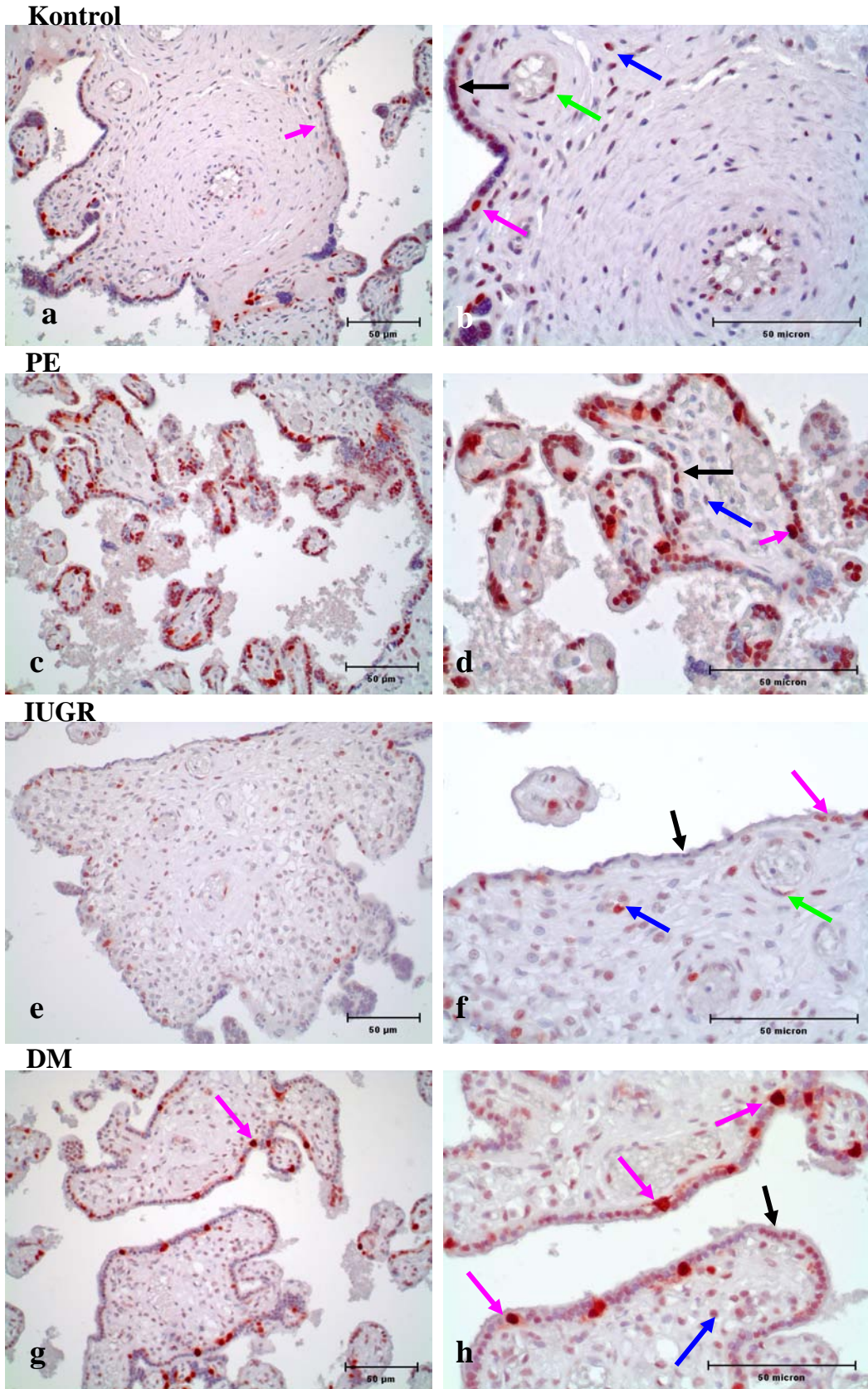


**Şekil 4.1.4.4a-c.** Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış diyabetik term plasenta kesitlerinde perivillöz fibrinoid birikimleri (villuslararasıdaki pembe alanlar). **a:** X10. **b:** X20. **c:** X40.

#### **4.2. PCNA İmmün Boyanmalarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizi**

İmmünohistokimyasal boyanma sonuçlarına göre, PCNA immünoaktivitesi plasental hücre tiplerinin tümünde gözlemlendi (Şekiller 4.2.1.a-h, 4.2.3.a-h ve 4.2.5.a-h).

PE grubunun villöz sitotrofoblastlarındaki PCNA pozitif immünoaktivitesi kontrole göre belirgin şekilde daha yüksekti (Şekil 4.2.1.c,d). Villuslardaki PCNA immün boyanması, IUGR'lı plasentaların villöz sitotrofoblastlarda ve sinsisyotrofoblast nükleuslarında kontrole göre azaldı (Şekil 4.2.1.e,f). Diyabetik plasentalarda ise villöz sitotrofoblastlarındaki, sinsisyotrofoblasttaki, villöz stromal hücrelerdeki ve fetal endotel hücrelerdeki PCNA immünoaktivitesi kontrole göre arttı (Şekil 4.2.1.g,h).



**Şekil 4.2.1.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında PCNA immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Villöz sitotroblastlar (pembe oklar), sinsiyotroblast nükleusları (siyah oklar), fetal endotel hücreleri (yeşil oklar), villöz stromal hücreler (mavi oklar).

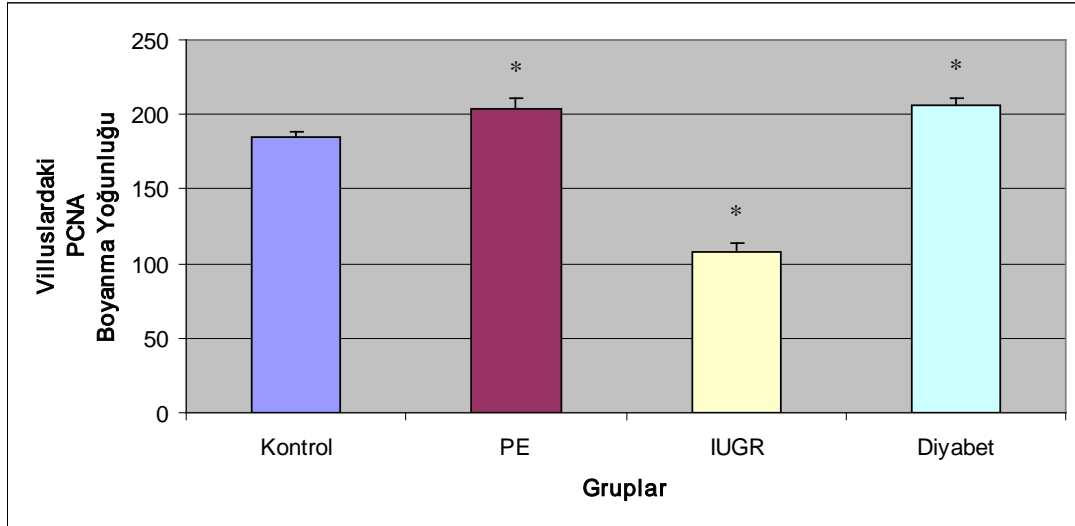


Villuslardaki PCNA boyanmasının H-SCORE sonuçlarının istatistiksel analizinde, kontrol grubuyla PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslardaki PCNA immünopozitif reaksiyon endeksleri arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,05$ ) (Tablo 4.2.1).

Hem PE ( $p=0,020$ ) hem de diyabet ( $p\leq 0,001$ ) grubunda villuslardaki PCNA boyanma yoğunluğu kontrole göre anlamlı şekilde arttı (Şekil 4.2.2, Tablo 4.2.1). IUGR grubuna ait plasentalarda ise PCNA endeksi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı ( $p\leq 0,001$ ) (Şekil 4.2.2, Tablo 4.2.1).

**Tablo 4.2.1.** Villuslardaki PCNA boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

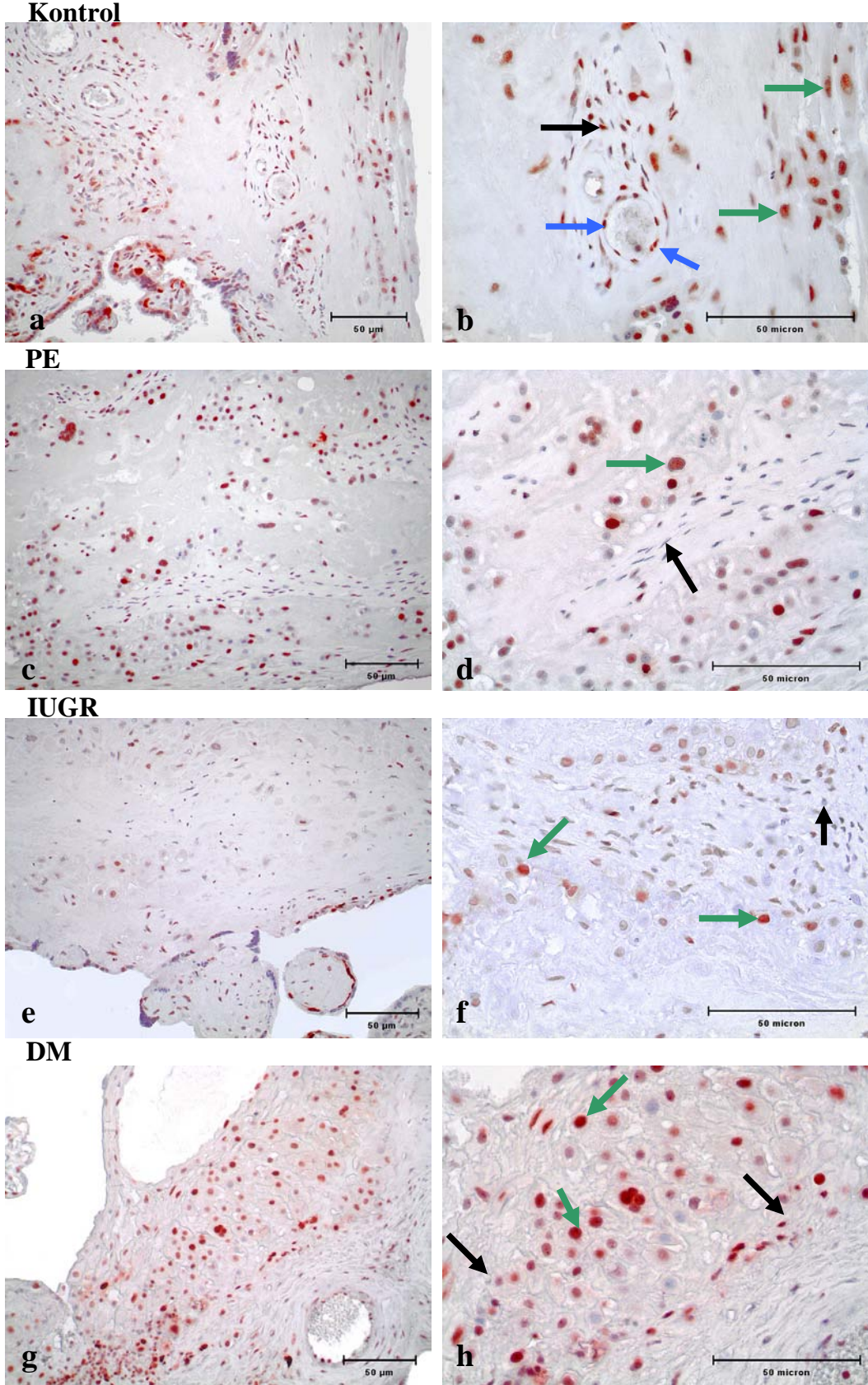
Gruplar	Villuslardaki PCNA boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	185,167 $\pm$ 3,112
PE grubu	203,889 $\pm$ 6,55 ( $p=0,020$ )*
IUGR grubu	108,056 $\pm$ 5,242 ( $p\leq 0,001$ )*
Diyabet grubu	205,75 $\pm$ 5,069 ( $p\leq 0,001$ )*



**Şekil 4.2.2.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslardaki PCNA boyanma yoğunlukları. (\*  $p<0,05$ )

Preeklampitik plasentaların bazal plaklarındaki PCNA boyanma yoğunluğu özellikle ektravillöz trofoblastlarda ve desidual hücrelerde kontrole göre azaldı (Şekil 4.2.3.c,d). IUGR grubunun bazal plaklarında da tüm hücrelerde PCNA reaksiyonu azaldı (Şekil 4.2.3.e,f). Diyabetik grubun bazal plaklarında ise kontrole göre belirgin bir fark yoktu (Şekil 4.2.3.g,h).



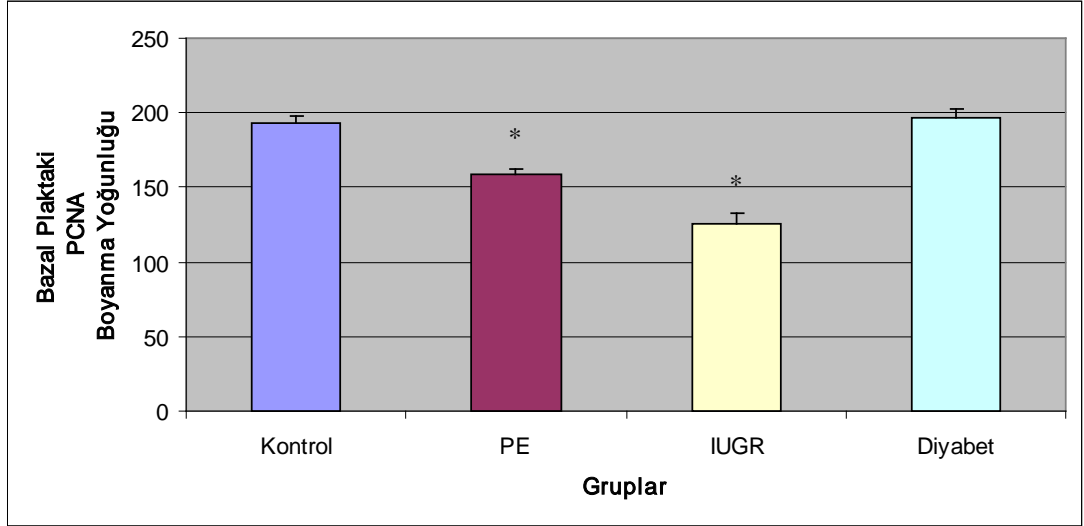


**Şekil 4.2.3.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında PCNA immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Ekstravillöz sitotrofolblastlar (yeşil oklar), desidual hücreler (siyah oklar), fetal endotel hücreleri (mavi oklar).

Kontrol grubuyla PE ve IUGR gruplarının bazal plaklarındaki PCNA boyanma endeksleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0,05$ ) (Tablo 4.2.2). Kontrol grubunun bazal plaklarındaki PCNA immün boyanma yoğunluğu, PE ve IUGR gruplarına göre anlamlı şekilde daha fazla bulundu. Ancak kontrol grubun bazal plaklarındaki PCNA boyanması yoğunluğunda diyabetik gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir düşüş tespit edildi (Şekil 4.2.4, Tablo 4.2.2).

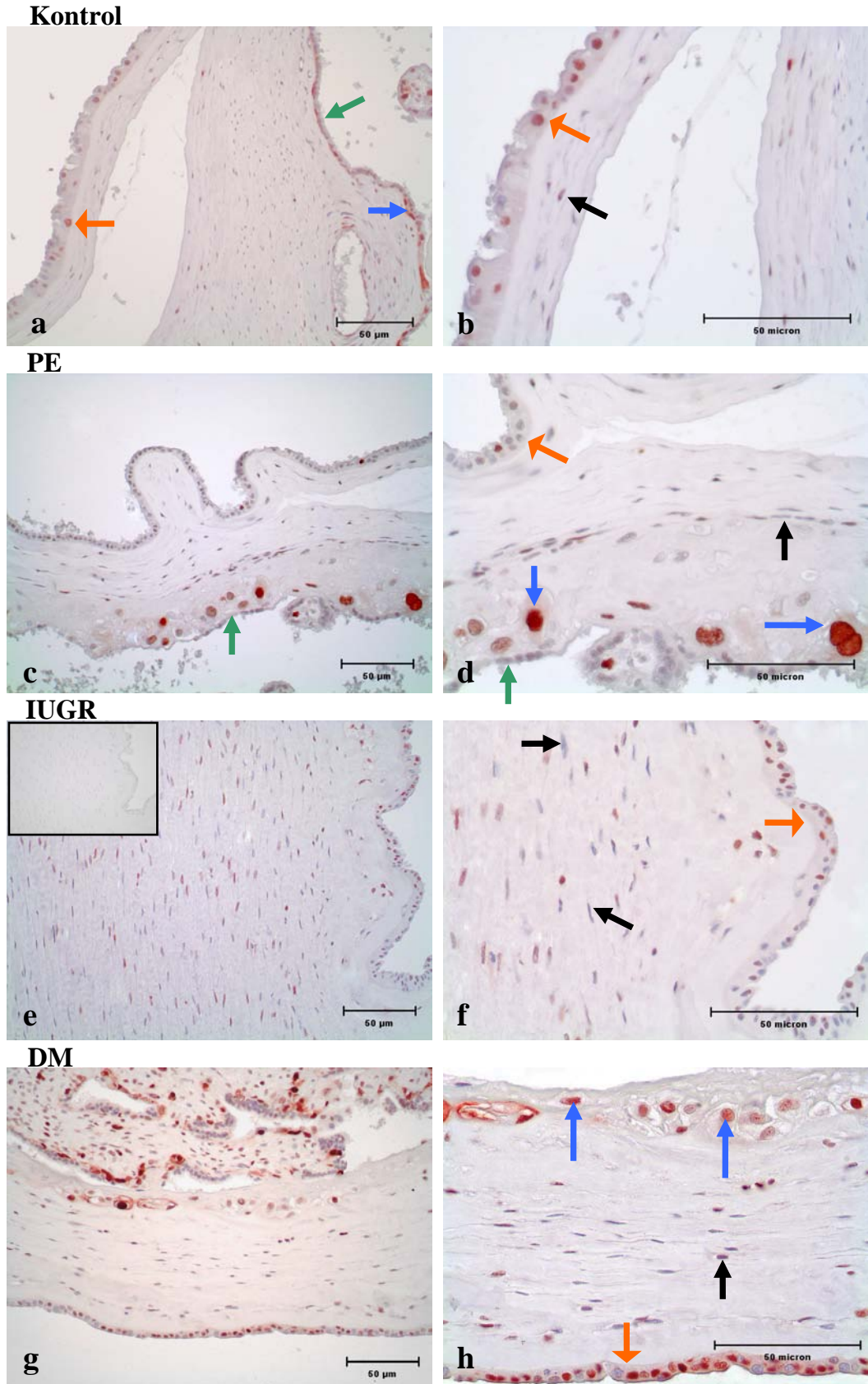
**Tablo 4.2.2.** Bazal plaklardaki PCNA boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

Gruplar	Bazal plaklardaki PCNA boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	192,833 $\pm$ 4,578
PE grubu	158,333 $\pm$ 3,792 ( $p < 0,001$ )*
IUGR grubu	125,278 $\pm$ 6,984 ( $p < 0,001$ )*
Diyabet grubu	196,944 $\pm$ 5,632 ( $p = 0,822$ )



**Şekil 4.2.4.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki PCNA boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

Preeklampitik koryonik plaklardaki PCNA immün boyanması kontrolle karşılaştırıldığında amniyon epitelinde boyanma azalırken, sitotrofoblast hücrelerinde ise boyanmada artış tespit edildi (Şekil 4.2.5.c,d). IUGR grubunda ise kontrole göre tüm hücrelerin boyanmasında azalma vardı (Şekil 4.2.5.e,f). Kontrole kıyasla diyabetik plasentaların amniyon epiteli ve koryonik plak sitotrofoblast hücreleri PCNA ile daha yoğun boyandı (Şekil 4.2.5.g,h).



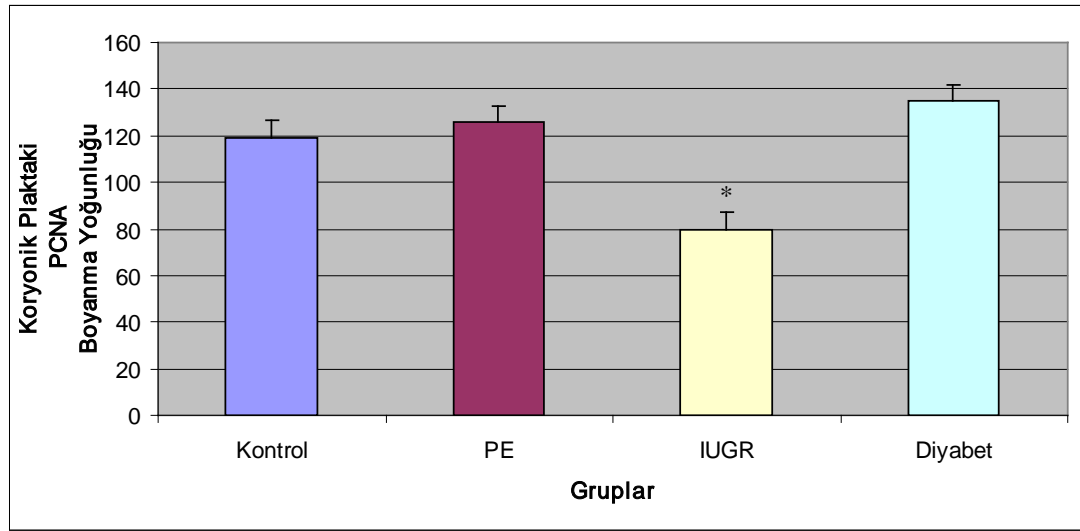
**Şekil 4.2.5.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında PCNA immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. Küçük resim negatif kontrol. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Koryonik plaktaki sitotrofoblastlar (mavi oklar), sinsisyotrofoblast nükleusları (yeşil oklar), amniyon epiteli (turuncu oklar), koryonik mezenşimal hücreler (siyah oklar).



Koryonik plaklardaki PCNA boyanma yoğunlukları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, sadece kontrolle IUGR gruplarının arasında anlamlı fark vardı ve IUGR grubunun koryonik plaklarındaki PCNA boyanması yoğunluğu, kontrole göre anlamlı şekilde daha az idi ( $p \leq 0,001$ ) (Şekil 4.2.6, Tablo 4.2.3).

**Tablo 4.2.3.** Koryonik plaklardaki PCNA boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

Gruplar	Koryonik plaklardaki PCNA boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	119,167 $\pm$ 7,319
PE grubu	125,556 $\pm$ 6,859 (p=0,559)
IUGR grubu	80 $\pm$ 7,41 ( $p \leq 0,001$ )*
Diyabet grubu	135 $\pm$ 6,896 (p=0,152)

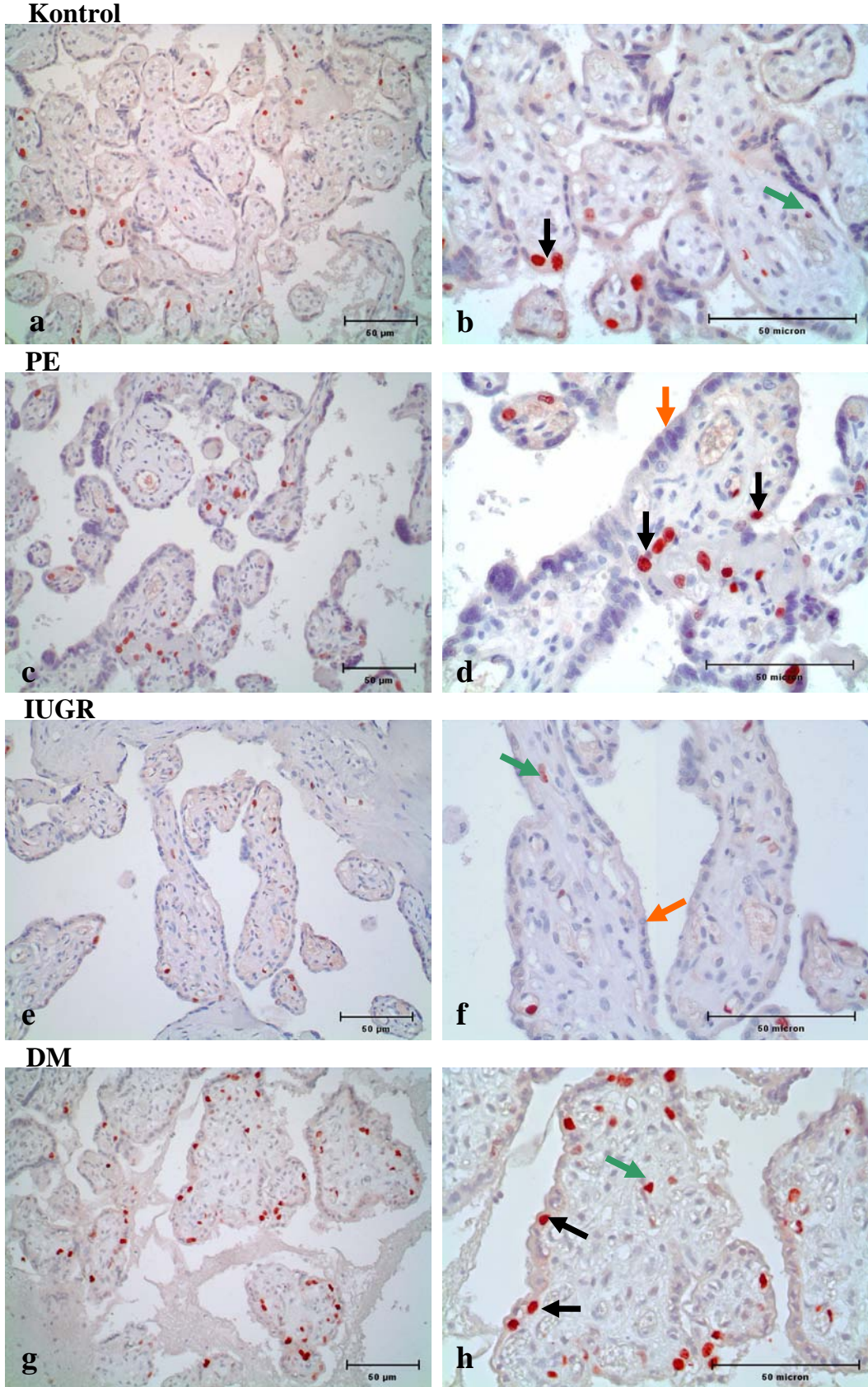


**Şekil 4.2.6.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki PCNA boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

### 4.3. Ki67 İmmün Boyanmalarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizi

Ki67 ise plasentaların villöz sitotrofoblast hücrelerinde, villöz stromal hücrelerde ve koryonik ve bazal plaklardaki hücrelerde immün pozitif reaksiyon gösterdi. PCNA'nın aksine sinsiyotrofoblast tabakasında ve endotel hücrelerinde boyanma tespit edilmedi (Şekiller 4.3.1.a-h, 4.3.3.a-h ve 4.3.5.a-h).

Preeklampitik plasentaların villöz sitotrofoblastlarındaki Ki67 immünoreaktivitesi kontrole göre belirgin şekilde arttı (Şekil 4.3.1.c,d). IUGR'lı plasentalarda kontrole göre villus sitotrofoblast boyanmasında belirgin şekilde azalma vardı (Şekil 4.3.1.e,f). Kontrolle karşılaştırıldığında diyabetik plasentaların villöz sitotrofoblastları ve villöz stromal hücreleri, Ki67 ile daha yoğun immünopozitif reaksiyon gösterdi (Şekil 4.3.1.g,h).

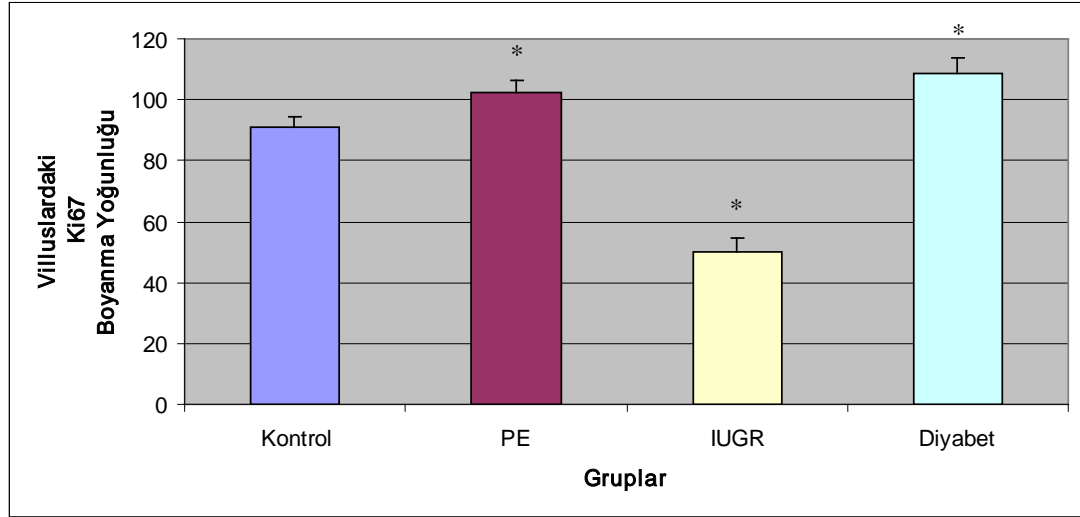


**Şekil 4.3.1.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında Ki67 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Villöz sitotrofoblastlar (siyah oklar), sinsiyotrofoblast nükleusları (turuncu oklar), villöz stromal hücreleri (yeşil oklar).

Kontrol grubuyla PE, IUGR ve diyabet grupları arasında plasental villuslardaki Ki67 boyanma yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ) (Tablo 4.3.1). PE ( $p = 0,020$ ) ve diyabet ( $p \leq 0,001$ ) gruplarının villuslarındaki Ki67 boyanma yoğunluğu kontrole göre anlamlı şekilde arttı (Şekil 4.3.2, Tablo 4.3.1). IUGR grubunda ise PCNA endeksi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı ( $p \leq 0,001$ ) (Şekil 4.3.2, Tablo 4.3.1).

**Tablo 4.3.1.** Villuslardaki Ki67 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

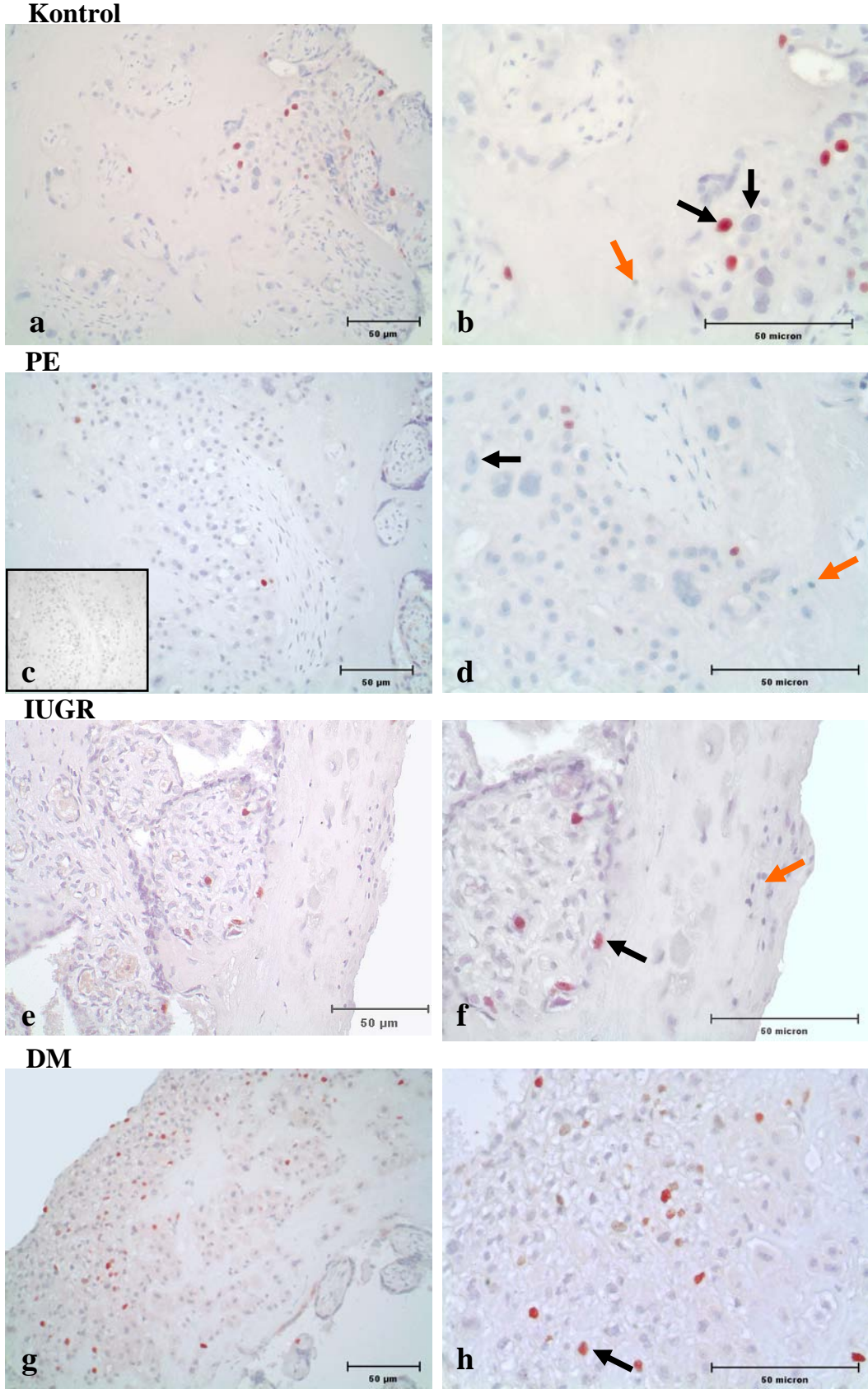
Gruplar	Villuslardaki Ki67 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	90,909 $\pm$ 3,76
PE grubu	102,520 $\pm$ 3,66 ( $p = 0,044$ )*
IUGR grubu	50,278 $\pm$ 4,229 ( $p \leq 0,001$ )*
Diyabet grubu	108,611 $\pm$ 5,252 ( $p = 0,013$ )*



**Şekil 4.3.2.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslarındaki Ki67 boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

Bazal plaktaki Ki67 ekspresyonu preeklampitik (Şekil 4.3.3.c,d) ve IUGR (Şekil 4.3.3.e,f) plasentalarında özellikle ekstrasvillöz trofoblast hücrelerinde kontrole göre büyük ölçüde azaldı. Diyabetik plasentaların bazal plaklarındaki desidual hücrelerin ve invazif trofoblastların Ki67 boyanması kontrol plasenta grubuna göre arttı (Şekil 4.3.3.g,h).



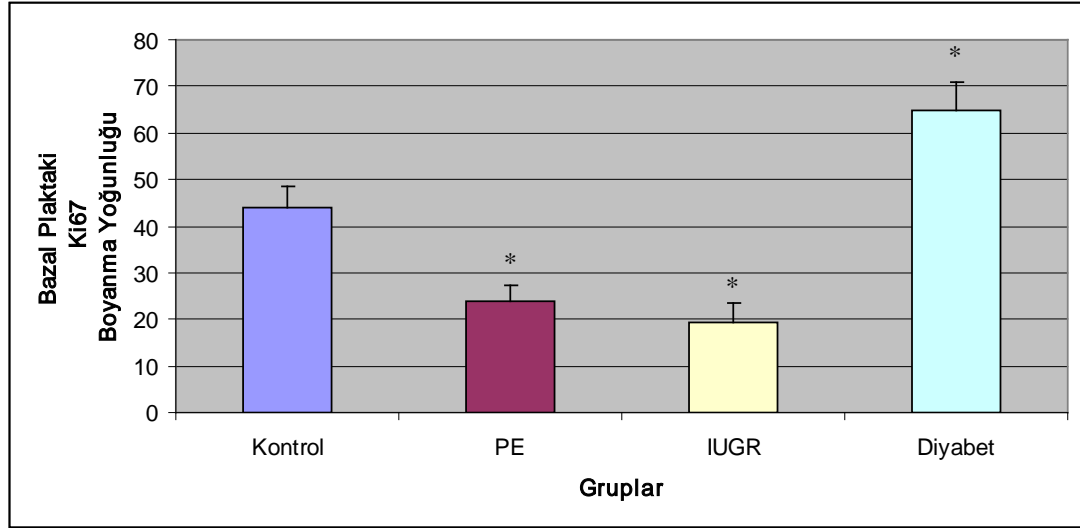


**Şekil 4.3.3.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında Ki67 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. Küçük resim negatif kontrol. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Ekstravillöz trofoblastlar (siyah oklar), desidual hücreler (turuncu oklar).

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında diğer tüm grupların bazal plaklarındaki Ki67 boyanma endeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p < 0,05$ ) (Tablo 4.3.2). PE ve IUGR gruplarının bazal plaklarındaki Ki67 boyanma yoğunluğu, kontrol grubundan anlamlı şekilde daha az tespit edildi. Diyabetik grupta ise bazal plaklardaki Ki67 boyanması yoğunluğu kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldi (Şekil 4.3.4, Tablo 4.3.2).

**Tablo 4.3.2.** Bazal plaklardaki Ki67 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değeri)

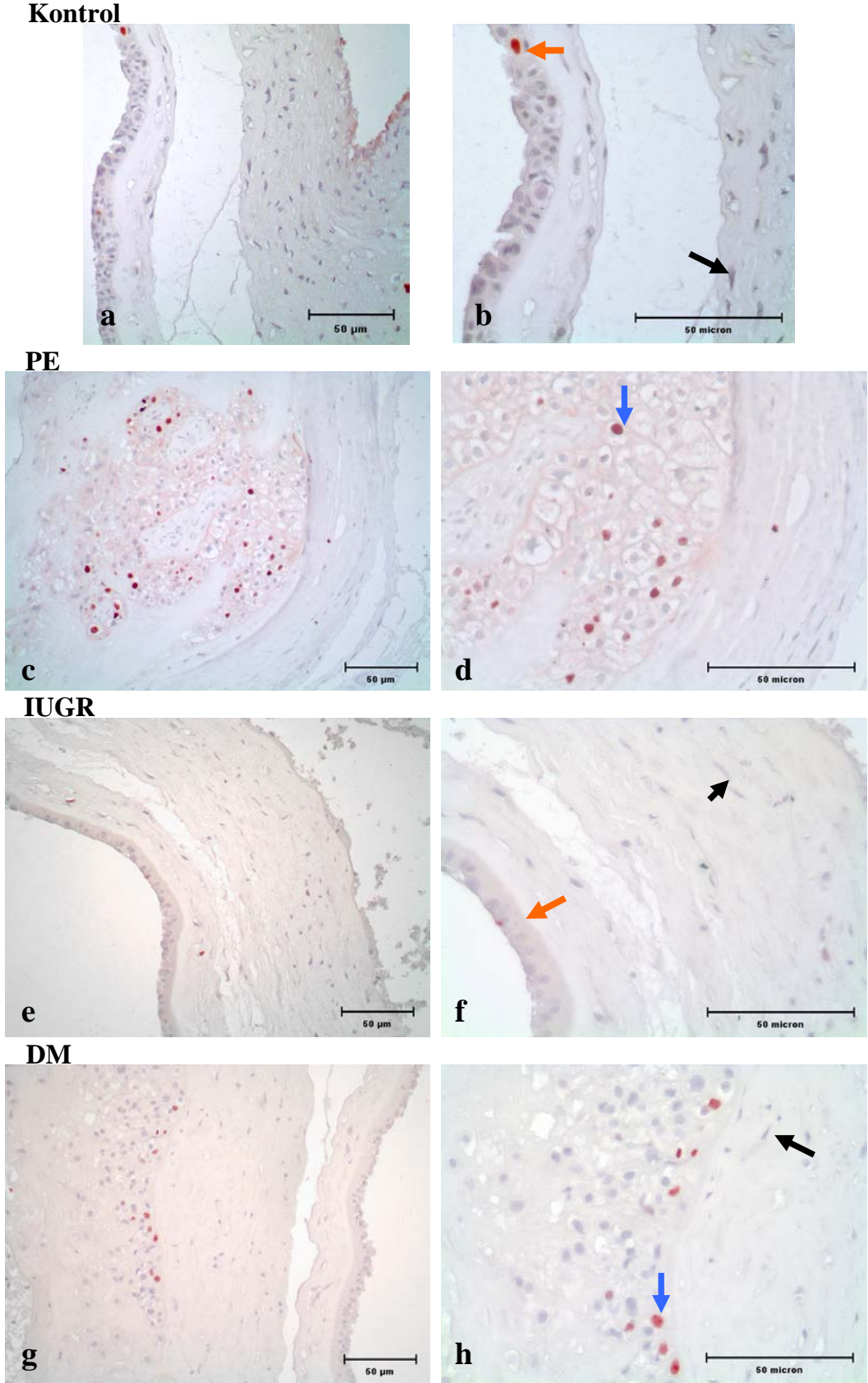
Gruplar	Bazal plaklardaki Ki67 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	43,864 $\pm$ 4,709
PE grubu	23,929 $\pm$ 3,523 ( $p=0,005$ )*
IUGR grubu	19,412 $\pm$ 4,198 ( $p < 0,001$ )*
Diyabet grubu	65 $\pm$ 5,913 ( $p=0,006$ )*



**Şekil 4.3.4.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki Ki67 boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

Koryonik plakta PE'deki Ki67 boyanması sitotrofblast hücrelerinde belirgin ölçüde artarken diğer hücrelerde azaldı (Şekil 4.3.5.c,d). IUGR plasentalarının koryonik plaklarında Ki67 reaktivitesi tüm hücrelerde özellikle de sitotrofblast hücrelerinde azaldı (Şekil 4.3.5.e,f). Diyabetik grubun koryonik plaklarındaki Ki67 boyanması sitotrofblast hücrelerinde arttı (Şekil 4.3.5.g,h).



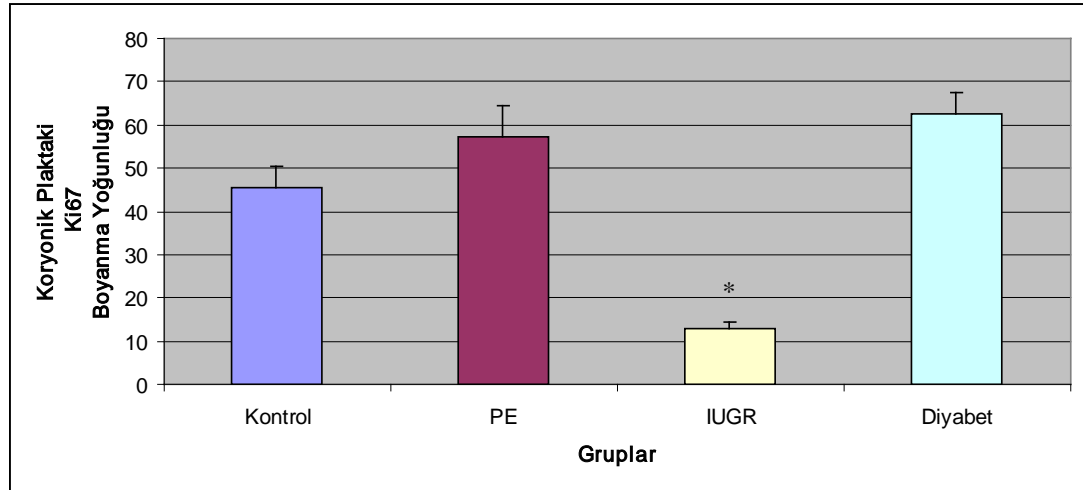


**Şekil 4.3.5.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında Ki67 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Koryonik sitotroblastlar (mavi oklar), koryonik mezenşim hücreleri (siyah oklar), amniyon epiteli (turuncu oklar).

PCNA'dakine benzer şekilde sadece kontrolle IUGR gruplarının koryonik plaklarındaki Ki67 boyanma yoğunlukları arasında anlamlı bir fark vardı ve IUGR grubunda boyanma yoğunluğu, kontrole göre anlamlı şekilde azaldı ( $p \leq 0,001$ ) (Şekil 4.3.6, Tablo 4.3.3).

**Tablo 4.3.3.** Koryonik plaktaki Ki67 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

Gruplar	Koryonik plaktaki Ki67 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	45,682 $\pm$ 4,771
PE grubu	57,188 $\pm$ 7,187 (p=0,174)
IUGR grubu	12,895 $\pm$ 1,342 (p $\leq$ 0,001)*
Diyabet grubu	62,5 $\pm$ 5,117 (p=0,061)

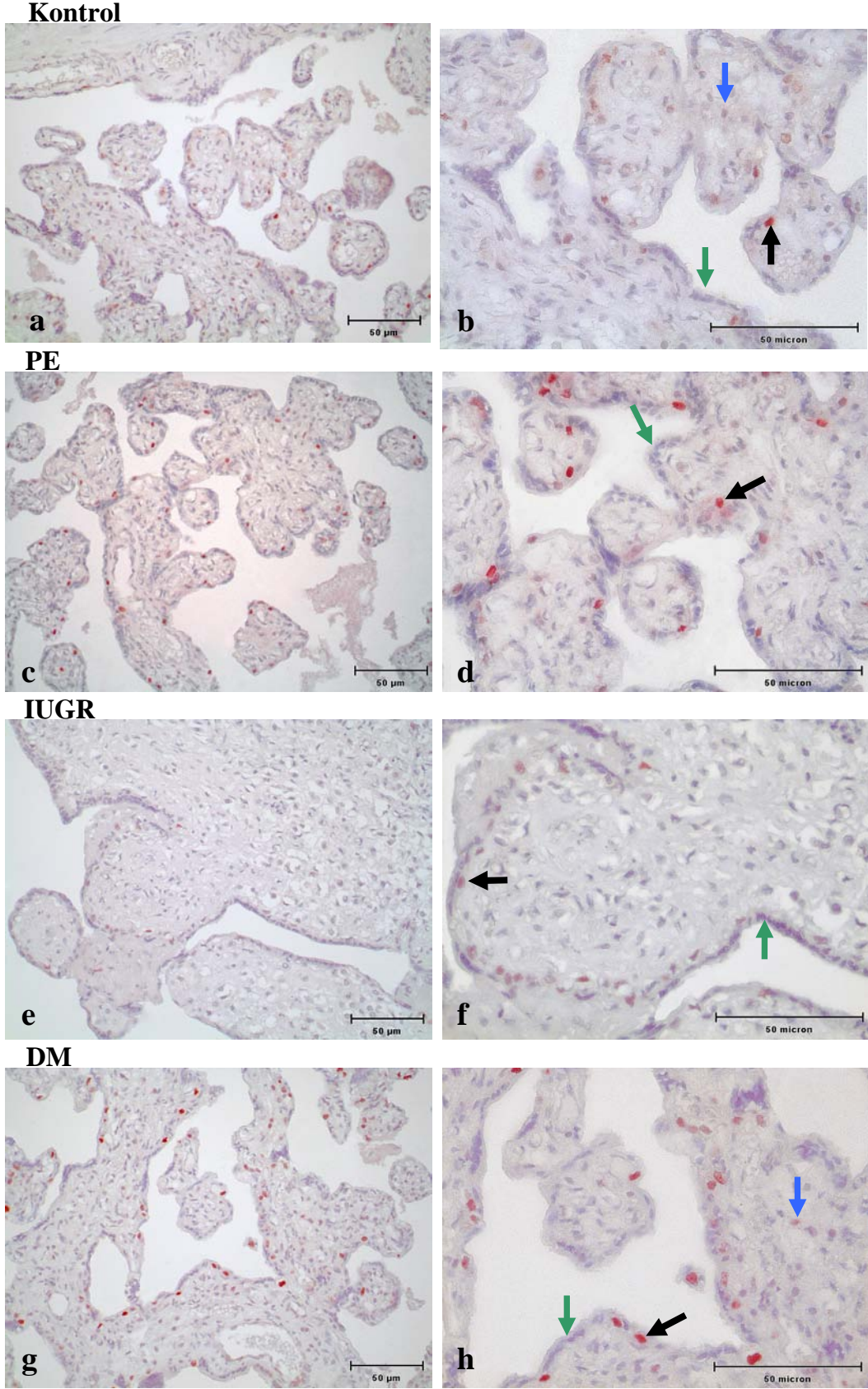


**Şekil 4.3.6.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki Ki67 boyanma yoğunlukları. (\* p<0,05)

#### 4.4. Siklin D3 İmmün Boyanmalarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizi

Siklin D3 plasentaların villöz sitotrofoblast hücrelerinde, villöz stromal hücrelerde ve koryonik ve bazal plaktaki hücrelerde immün pozitif reaksiyon gösterdi. Ki67'ye benzer şekilde sinsiyotrofoblastta ve endotel hücrelerinde boyanmadı (Şekiller 4.4.1.a-h, 4.4.3.a-h ve 4.4.5.a-h).

Siklin D3 immünoreaktivitesi PE grubunun villöz sitotrofoblastlarında kontrole göre daha fazlaydı (Şekil 4.4.1.c,d). IUGR grubunda ise başta villöz sitotrofoblastlar olmak üzere tüm hücrelerde siklin D3 boyanması kontrole göre azaldı (Şekil 4.4.1.e,f). Kontrole göre diyabetik plasentaların villöz sitotrofoblastlarında ve villöz stromal hücrelerindeki siklin D3 immünoreaksiyonu arttı (Şekil 4.4.1.g,h).

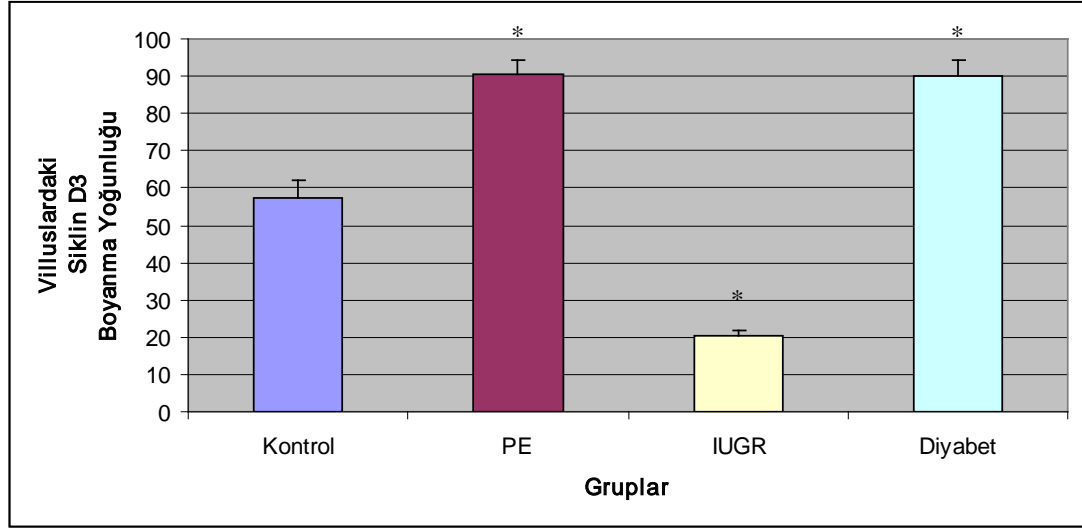


**Şekil 4.4.1.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında siklin D3 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Villöz sitotroblastlar (siyah oklar), sinsiyotroblast nükleusları (yeşil oklar), villöz stromal hücreleri (mavi oklar).

Villuslardaki siklin D3 boyanma yoğunluğu karşılaştırıldığında, kontrol grubunun tüm gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ( $p \leq 0,001$ ) (Tablo 4.4.1). PE diyabette kontrole göre anlamlı şekilde artış var iken (Şekil 4.4.2, Tablo 4.4.1) IUGR grubunda da kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma tespit edildi (Şekil 4.4.2, Tablo 4.4.1).

**Tablo 4.4.1.** Villuslardaki siklin D3 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

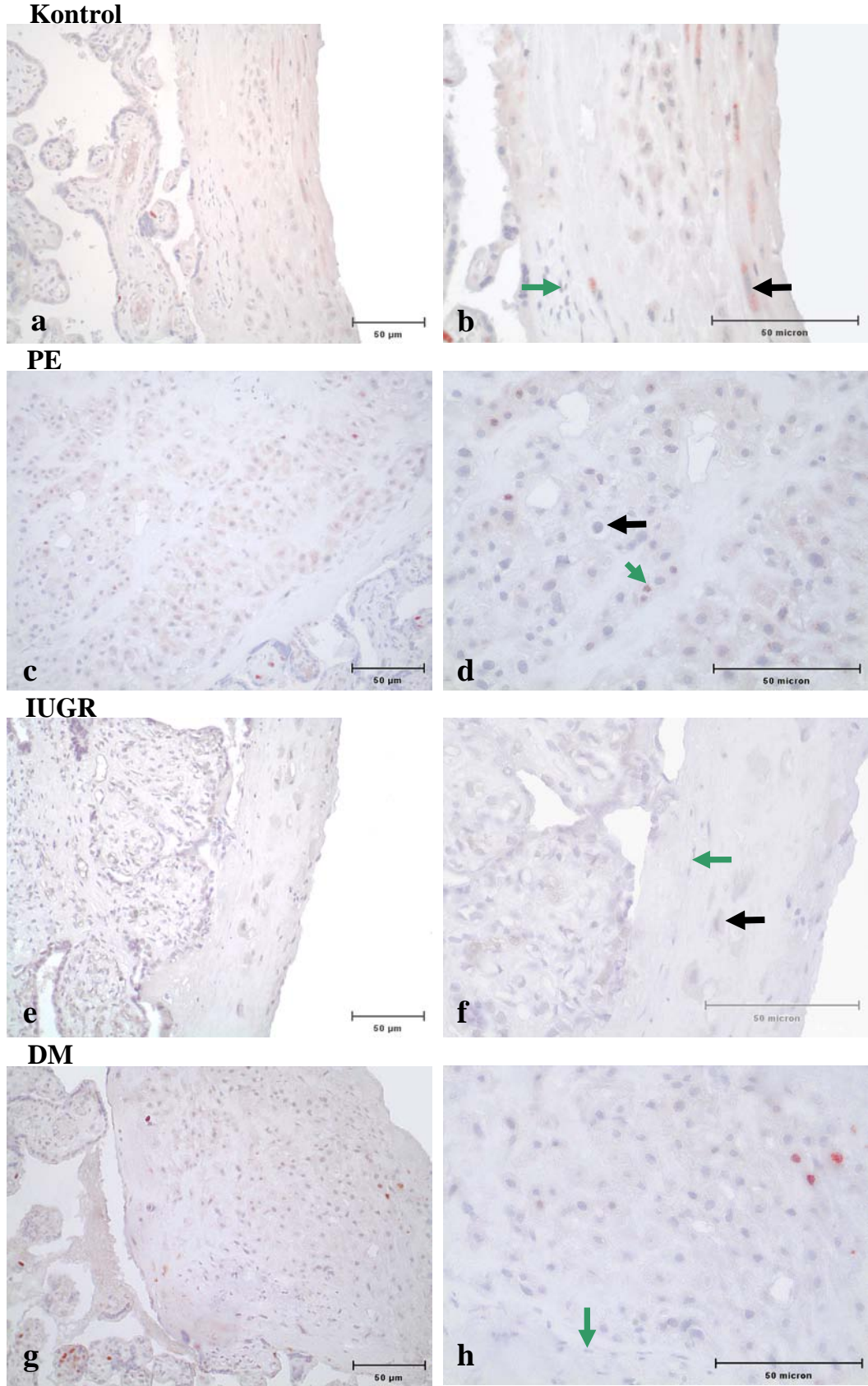
Gruplar	Villuslardaki siklin D3 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	57,5 $\pm$ 4,787
PE grubu	90,417 $\pm$ 4,104 ( $p \leq 0,001$ )*
IUGR grubu	20,417 $\pm$ 1,564 ( $p \leq 0,001$ )*
Diyabet grubu	90 $\pm$ 4,478 ( $p \leq 0,001$ )*



**Şekil 4.4.2.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslarındaki siklin D3 boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

Bazal plaktaki siklin D3 ekspresyonu, PE ve IUGR'da kontrole kıyasla büyük ölçüde azaldı, her iki grupta da sadece az sayıda desidual hücre pozitif (Şekil 4.4.3.c-f). Diyabetik plasentalarda ise kontrole karşılaştırıldığında siklin D3 boyanması ekstravillöz trofoblastlarda arttı (Şekil 4.4.3.g,h).



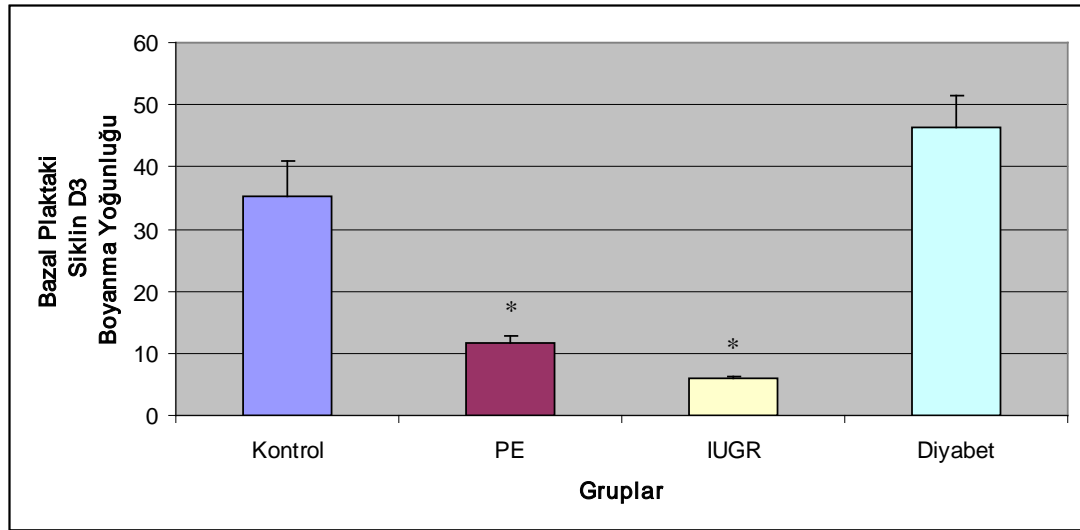


**Şekil 4.4.3.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında siklin D3 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Ekstravillöz trofoblastlar (siyah oklar), desidual hücreler (yeşil oklar).

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, PE ve IUGR gruplarının bazal plaklarındaki siklin D3 boyanma endeksleri istatistiksel olarak azalmıştı ( $p \leq 0,001$ ) (Tablo 4.4.2). Diyabetik grupta ise bazal plaklardaki siklin D3 boyanması yoğunluğu kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan şekilde yükseldi (Şekil 4.4.4, Tablo 4.4.2).

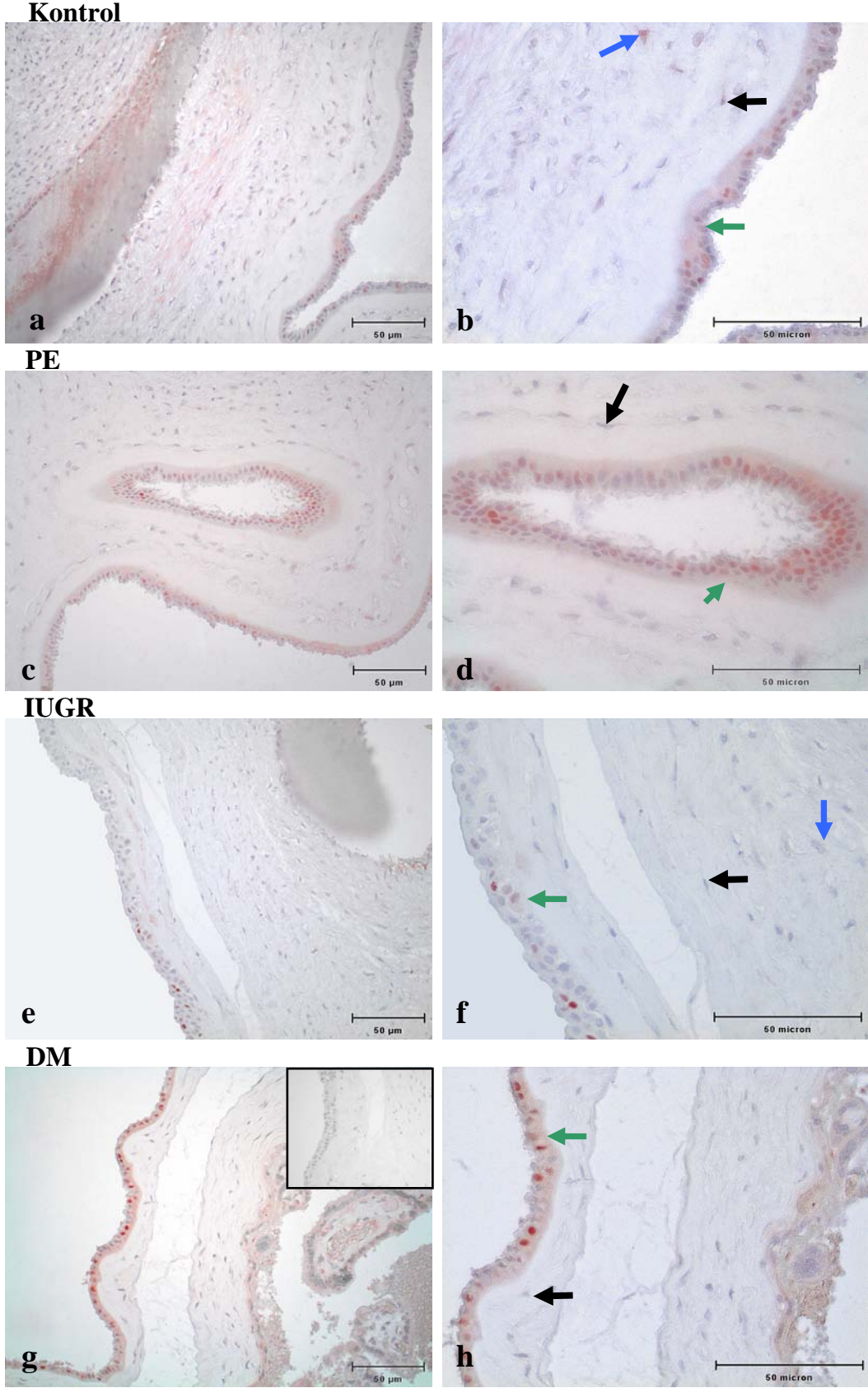
**Tablo 4.4.2.** Bazal plaklardaki siklin D3 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

Gruplar	Bazal plaklardaki Siklin D3 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	35,313 $\pm$ 5,505
PE grubu	11,667 $\pm$ 1,124 ( $p \leq 0,001$ )*
IUGR grubu	5,833 $\pm$ 0,562 ( $p \leq 0,001$ )*
Diyabet grubu	46,429 $\pm$ 5,012 ( $p=0,161$ )



**Şekil 4.4.4.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki siklin D3 boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

PE grubunun koryonik plaktaki siklin D3 boyanması ise amniyon epitelinde kontrole göre büyük ölçüde artarken, diğer hücrelerde kontrole göre azaldı (Şekil 4.4.5.c,d). IUGR'da koryonik plaktaki tüm hücrelerde kontrole göre siklin D3 ekspresyonu azaldı (Şekil 4.4.5.e,f). Diyabetik grupta kontrole göre siklin D3 boyanması amniyon epitelinde arttı (Şekil 4.4.5.g,h).

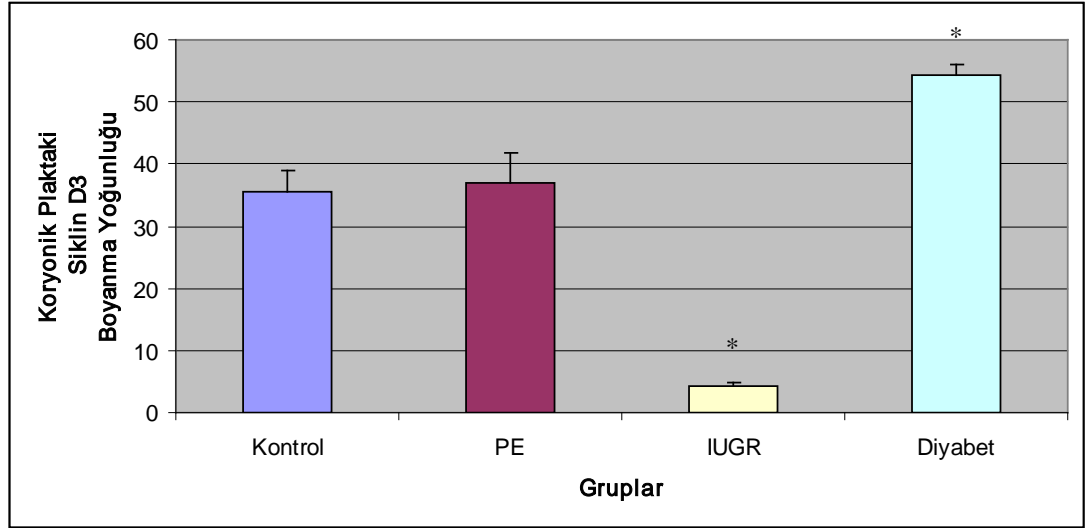


**Şekil 4.4.5.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında siklin D3 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. Küçük resim negatif kontrol. **h:** Diyabet X40. Koryonik sitotroblastlar (mavi oklar), koryonik mezensim hücreleri (siyah oklar), amniyon epiteli (yeşil oklar).

Kontrol grubu ile IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki siklin D3 boyanma yoğunlukları arasında anlamlı bir fark vardı ve IUGR grubunda boyanma yoğunluğu, kontrole göre anlamlı şekilde azalmış iken diyabetik grupta ise arttığı tespit edildi ( $p \leq 0,001$ ) (Şekil 4.4.6, Tablo 4.4.3).

**Tablo 4.4.3.** Koryonik plaktaki siklin D3 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

Gruplar	Koryonik plaktaki siklin D3 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	35,625 $\pm$ 3,256
PE grubu	37,083 $\pm$ 4,785 ( $p=0,944$ )
IUGR grubu	4,167 $\pm$ 0,562 ( $p \leq 0,001$ )*
Diyabet grubu	54,375 $\pm$ 1,7 ( $p \leq 0,001$ )*



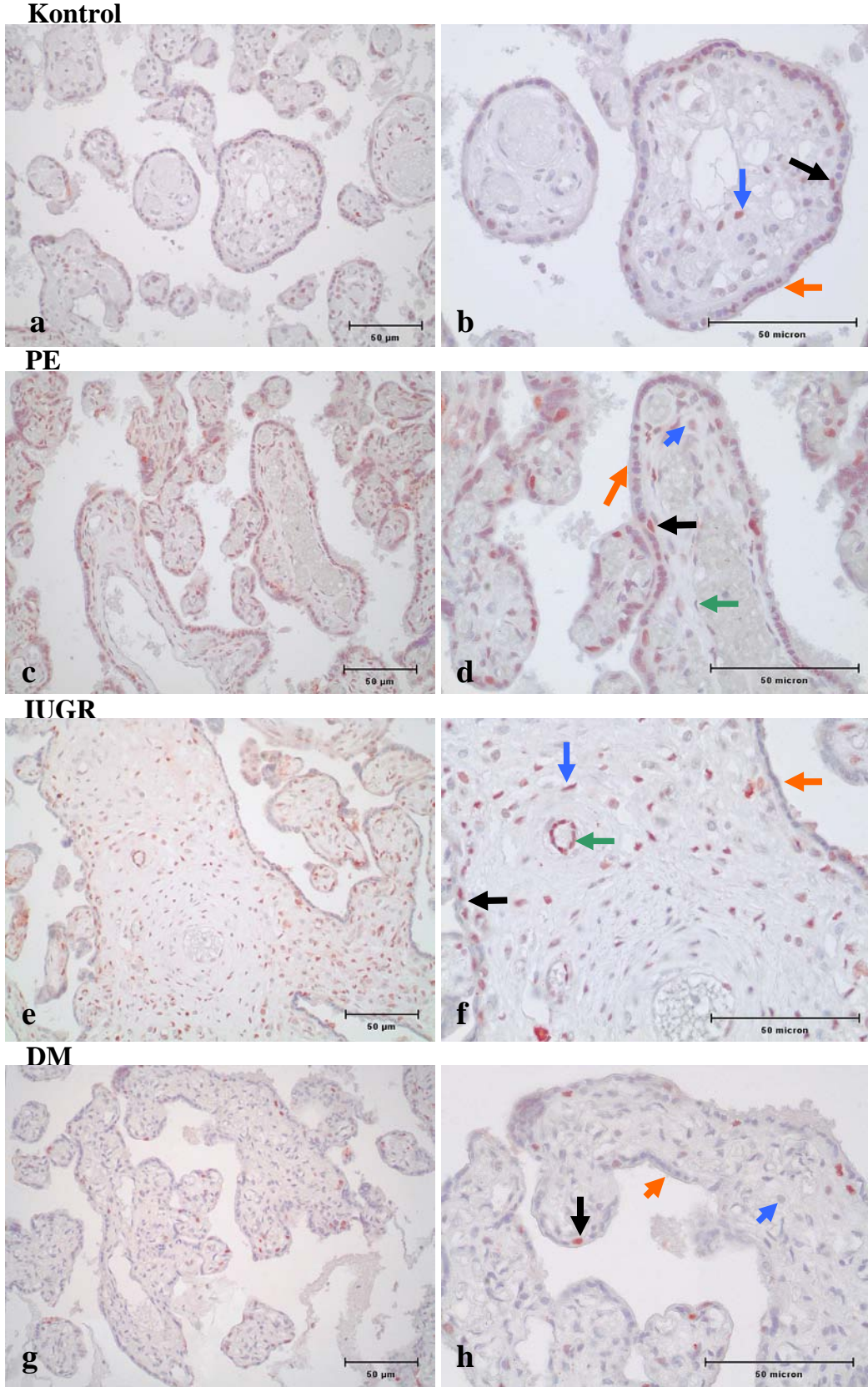
**Şekil 4.4.6.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki siklin D3 boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

#### 4.5. P27 İmmün Boyanmalarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizi

P27, plasentalardaki tüm hücrelerde immüno pozitif reaksiyon gösterdi (Şekiller 4.5.1.a-h, 4.5.3.a-h ve 4.5.5.a-h).

Preeklampitik plasentaların villuslarındaki başta villöz sitotrofoblastlar ve sinsisyotrofoblastlarda ayrıca da villöz stromal hücrelerde p27 ekspresyonu arttı (Şekil 4.5.1.c,d). IUGR'lı plasentaların villöz sitotrofoblastlarındaki, villöz stromal hücrelerindeki ve fetal endotel hücrelerindeki p27 ekspresyonu kontrol grubuna göre artış gösterdi (Şekil 4.5.1.e,f). P27, kontrole kıyasla diyabetik plasentaların villöz sitotrofoblastlarında daha fazla boyanırken, sinsisyotrofoblastlarda ise daha az boyandı (Şekil 4.5.1.g,h).



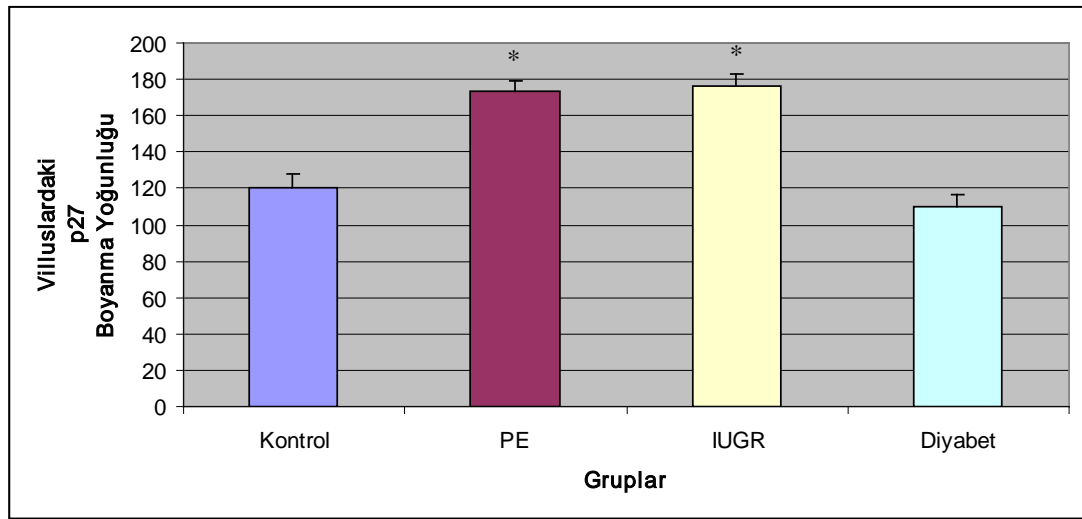


**Şekil 4.5.1.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında p27 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Villöz sitotrofoblastlar (siyah oklar), sinsiyotrofoblast nükleusları (turuncu oklar), fetal endotel hücreleri (yeşil oklar), villöz stromal hücreleri (mavi oklar).

Kontrol grubunun villuslarındaki p27 boyanma yoğunluğu PE ve IUGR gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla idi ( $p \leq 0,001$ ) ( Tablo 4.5.1). Kontrol grubu ile diyabet arasında ise anlamlı bir fark tespit edilmedi (Şekil 4.5.2, Tablo 4.5.1).

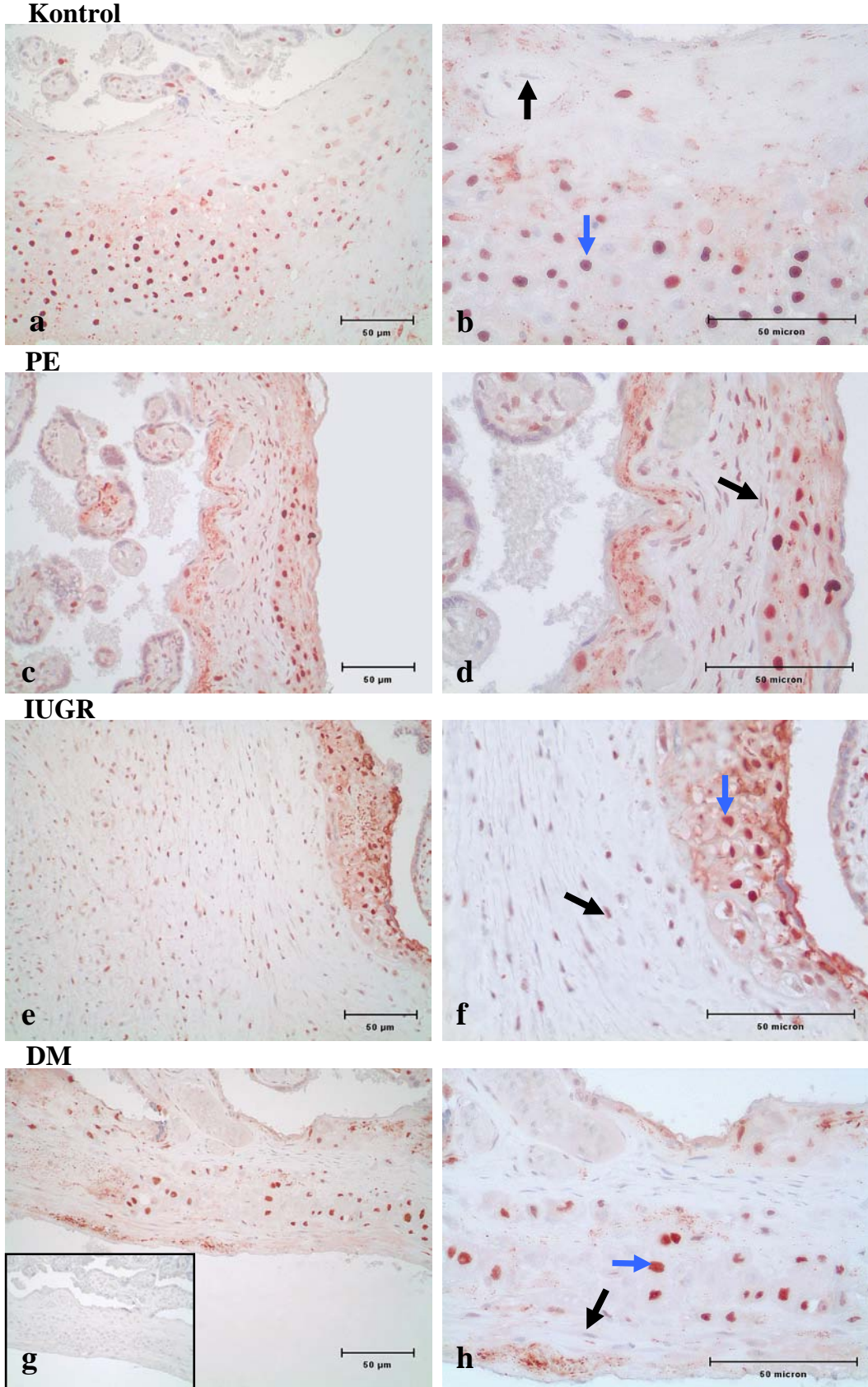
**Tablo 4.5.1.** Villuslardaki p27 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

Gruplar	Villuslardaki p27 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	120,278 $\pm$ 7,225
PE grubu	173,611 $\pm$ 5,48 ( $p \leq 0,001$ )*
IUGR grubu	176,389 $\pm$ 6,35 ( $p \leq 0,001$ )*
Diyabet grubu	110,278 $\pm$ 6,15 ( $p=0,273$ )



**Şekil 4.5.2.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslarındaki p27 boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

Bazal plaktaki p27 ekspresyonu preeklampitik plasentaların ekstrasvillöz trofoblastlarında kontrole göre yoğun biçimde artış gösterdi (Şekil 4.5.3.c,d). IUGR plasentalarında ise desidual hücrelerinde kontrole kıyasla artan ve ekstrasvillöz trofoblastlarda ise değişmeyen ekspresyon gözlemlendi (Şekil 4.5.3.e,f). Diyabetik plasentalarda bazal plaktaki hücrelerin p27 ekspresyonu kontrole göre değişmedi (Şekil 4.5.3.g,h).



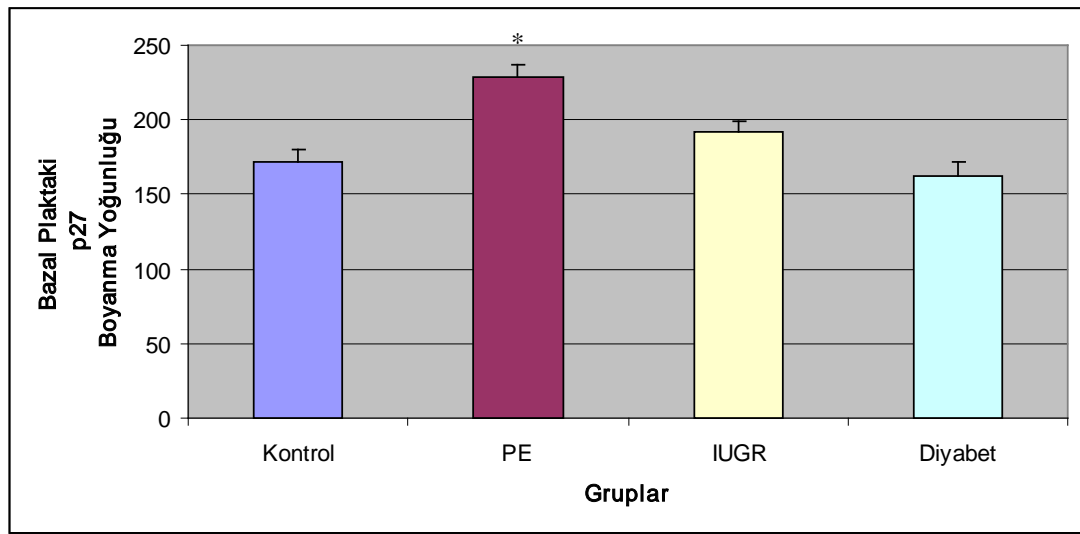
**Şekil 4.5.3.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında p27 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. Küçük resim negatif kontrol. **h:** Diyabet X40. Ekstravillöz sitotroblastlar (mavi oklar), desidual hücreler (siyah oklar).



Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, sadece PE grubunun bazal plaklarındaki p27 boyanma endeksi istatistiksel olarak arttı ( $p=0,001$ ) ( Tablo 4.5.2). Diğerlerinde ise kontrole göre anlamlı fark yoktu (Şekil 4.5.4, Tablo 4.5.2).

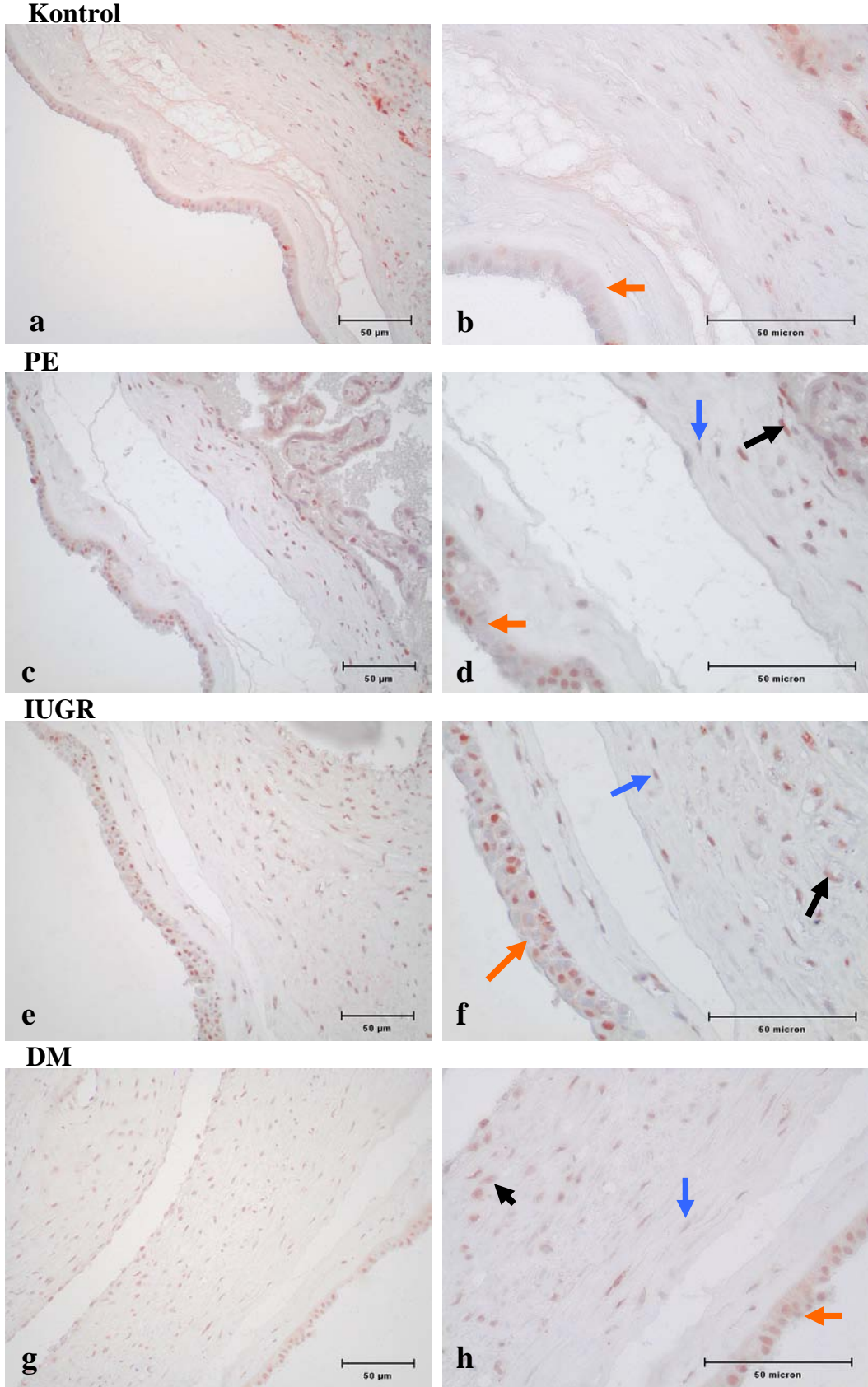
**Tablo 4.5.2.** Bazal plaklardaki p27 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değeri)

Gruplar	Bazal plaklardaki p27 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	171,389 $\pm$ 9,295
PE grubu	228,611 $\pm$ 8,143 ( $p \leq 0,001$ )*
IUGR grubu	192,5 $\pm$ 7,101 ( $p=0,086$ )
Diyabet grubu	162,778 $\pm$ 9,533 ( $p=0,358$ )



**Şekil 4.5.4.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki p27 boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

Koryonik plakta p27 immünoaktivitesi preeklampitik ve IUGR plasentalarının amniyon epitelinde ve koryonik stromal hücrelerinde kontrol grubuna göre artış gösterdi. (Şekil 4.5.5.c-f). Diyabetik plasentaların koryonik plaklarındaki p27 boyanması kontrole göre amniyon epitel ve koryonik stromal hücrelerde artış gösterdi (Şekil 4.5.5.g,h).

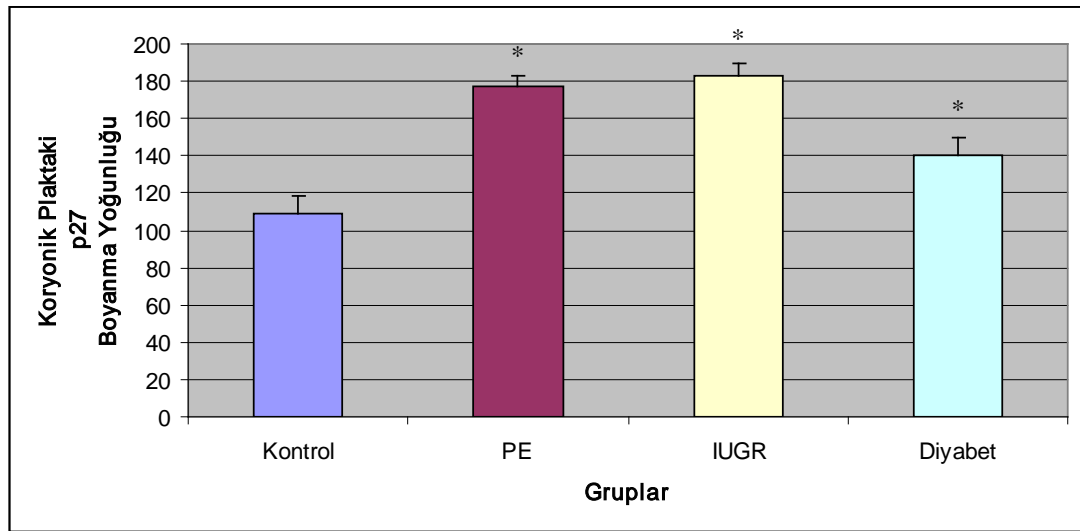


**Şekil 4.5.5.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında p27 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Koryonik sitotrofoblastlar (siyah oklar), koryonik mezenşim hücreleri (mavi oklar), amniyon epiteli (turuncu oklar).

Kontrolle tüm grupların koryonik plaklarındaki p27 boyanma yoğunlukları arasında anlamlı bir fark vardı ve hepsinde de boyanma yoğunluğu kontrole göre anlamlı şekilde arttı ( $p \leq 0,005$ ) (Şekil 4.5.6, Tablo 4.5.3).

**Tablo 4.5.3.** Koryonik plaklardaki p27 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

Gruplar	Koryonik plaklardaki p27 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	108,611 $\pm$ 10,023
PE grubu	177,5 $\pm$ 5,502 ( $p \leq 0,001$ )*
IUGR grubu	182,5 $\pm$ 6,934 ( $p \leq 0,001$ )*
Diyabet grubu	140,556 $\pm$ 8,79 ( $p = 0,022$ )*

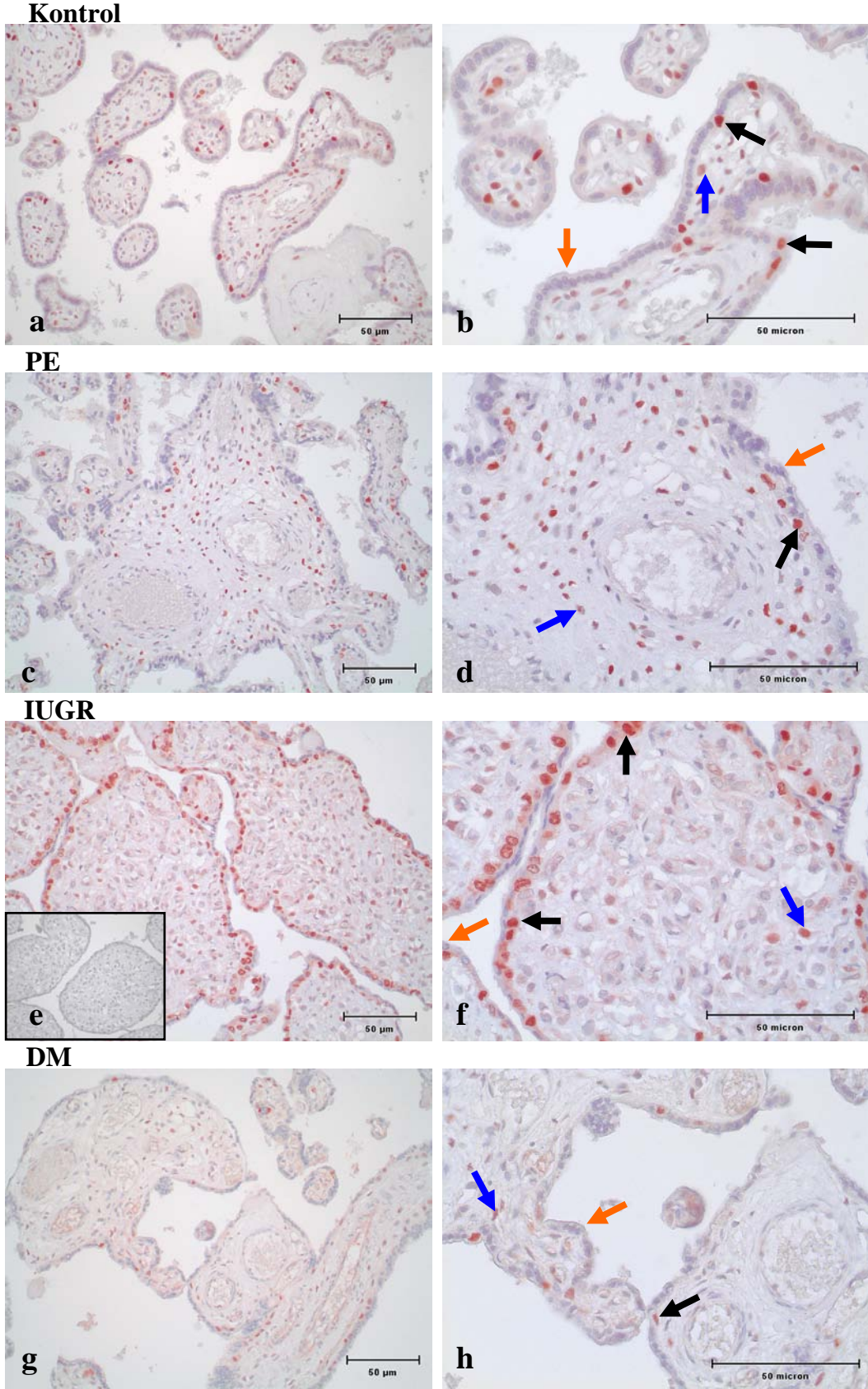


**Şekil 4.5.6.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki p27 boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

#### 4.6. P57 İmmün Boyanmalarının Sonuçları ve İstatistiksel Analizi

P57, sinsisyotrofoblast ve endotel hücreleri hariç plasentadaki diğer tüm hücreler ile reaksiyon gösterdi (Şekiller 4.6.1.a-h, 4.6.3.a-h ve 4.6.5.a-h).

Preeklampitik villusların villöz stromal hücrelerindeki p57 ekspresyonu kontrole göre arttı (Şekil 4.6.1.c,d). Kontrol grubuyla mukayese edildiğinde IUGR plasentalarının villöz sitotrofoblastları daha yoğun immünoreaksiyon gösterdi. Ayrıca villöz stromal hücrelerde p57 immüno boyanması kontrol grubuna göre büyük ölçüde arttı (Şekil 4.6.1.e,f). Diyabetik plasentaların villuslarındaki villöz stromal hücrelerin immüno boyanması kontrol grubuna göre azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.6.1.g,h).



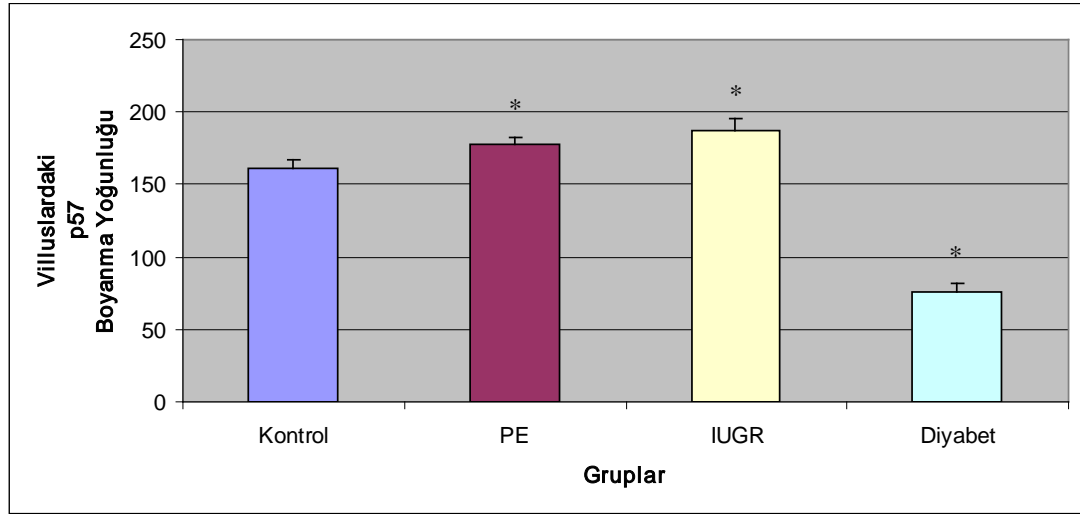
**Şekil 4.6.1.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta villuslarında p57 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. Küçük resim negatif kontrol. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Villöz sitotroblastlar (siyah oklar), sinsiyotroblast tabakası (turuncu oklar), villöz stromal hücreleri (mavi oklar).



Kontrol grubuyla diğer grupların villuslarındaki p57 boyanma yoğunluğu arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0,05$ ) (Tablo 4.6.1). PE ve IUGR gruplarının villuslarındaki P57 immün boyanma yoğunluğu kontrole göre anlamlı şekilde arttı (Şekil 4.6.2, Tablo 4.6.1). Diyabetik grupta ise kontrole göre anlamlı şekilde azaldı ( $p \leq 0,001$ ) (Şekil 4.6.2, Tablo 4.6.1).

**Tablo 4.6.1.** Villuslardaki p57 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

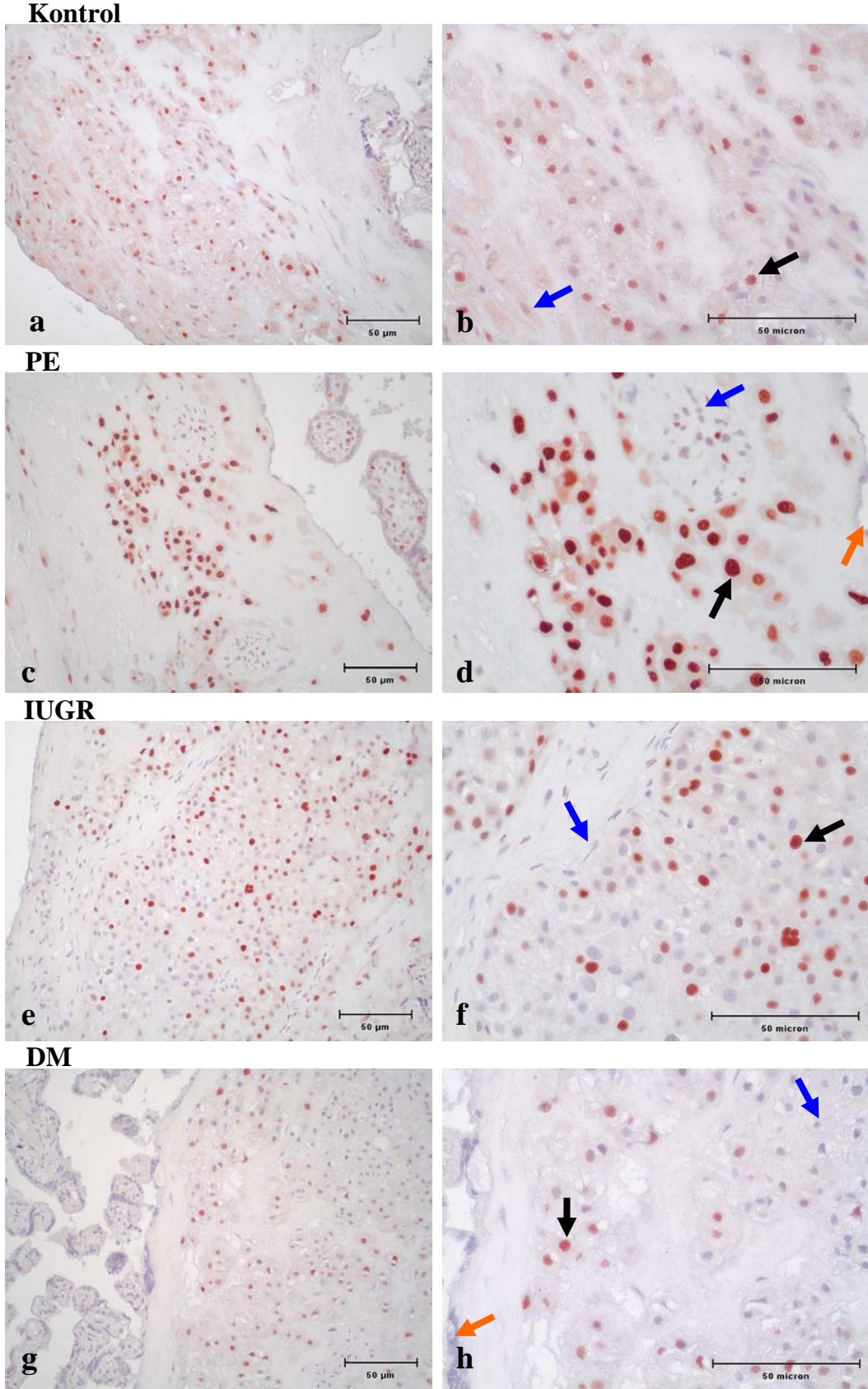
Gruplar	Villuslardaki p57 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	161,667 $\pm$ 4,868
PE grubu	177,778 $\pm$ 4,523 ( $p=0,012$ )*
IUGR grubu	186,944 $\pm$ 8,931 ( $p=0,038$ )*
Diyabet grubu	75,278 $\pm$ 6,056 ( $p \leq 0,001$ )*



**Şekil 4.6.2.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının villuslarındaki p57 boyanma yoğunlukları. (\*  $p < 0,05$ )

Bazal plaktaki p57 ekspresyonu, preeklampitik plasentaların ekstravillöz trofoblastlarında kontrole göre büyük ölçüde artış gösterdi (Şekil 4.6.3.c,d). IUGR plasentalarında da ekstravillöz trofoblastların p57 boyanması kontrole göre fazlaydı (Şekil 4.6.3.e,f). Diyabetik plasentaların bazal plaklarındaki p57 ekspresyonu ise kontrole göre değişmedi (Şekil 4.6.3.g,h).



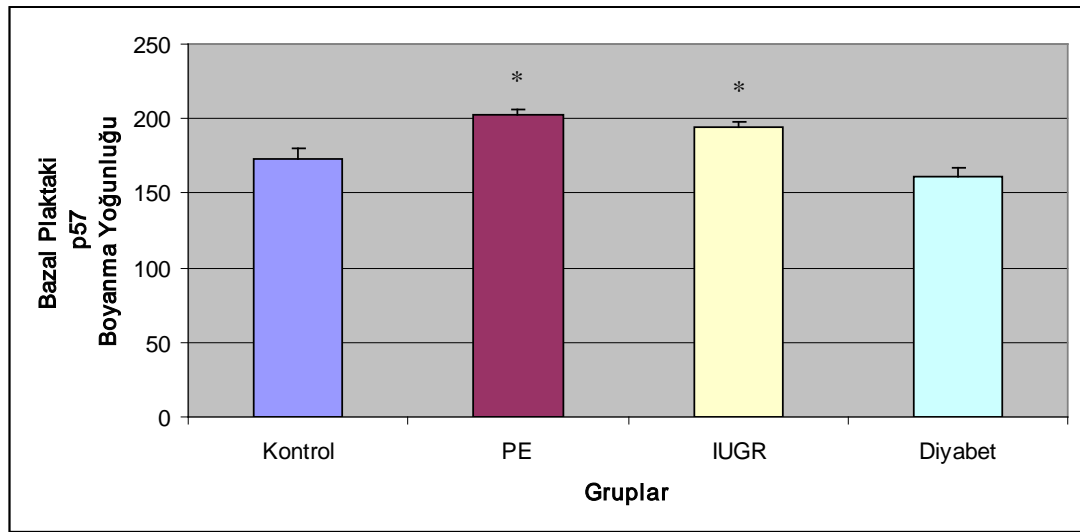


**Şekil 4.6.3.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta bazal plaklarında p57 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Ekstravillöz sitotroblastlar (siyah oklar), desidual hücreler (mavi oklar), sinsiyotroblast tabakası (turuncu oklar).

Kontrol grubuyla PE ve IUGR gruplarının bazal plaklarındaki p57 boyanma endeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (Tablo 4.6.2). PE ve IUGR gruplarının bazal plaklarındaki p57 boyanma yoğunluğu, kontrol grubundan anlamlı şekilde daha fazlaydı (Şekil 4.6.4, Tablo 4.6.2).

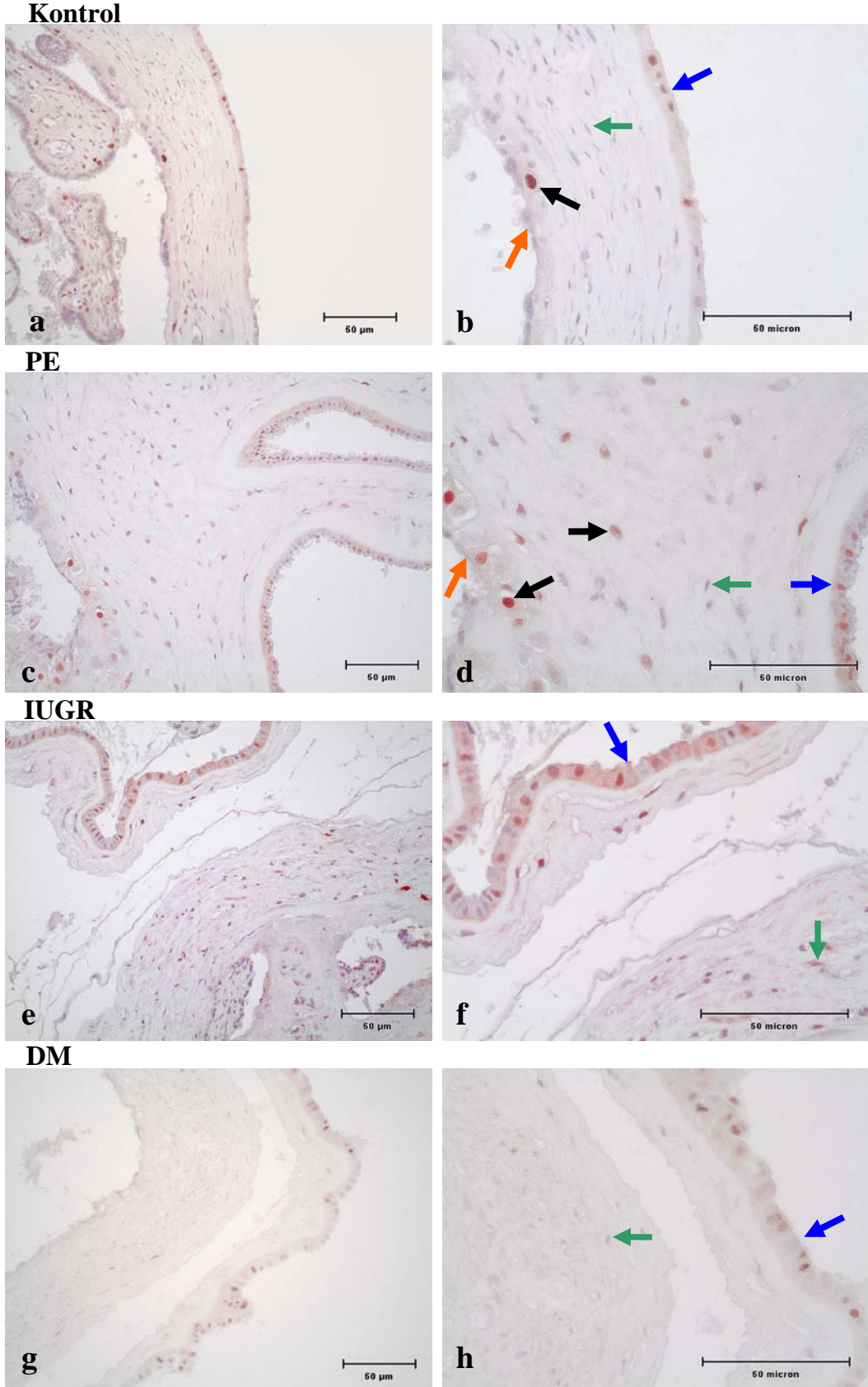
**Tablo 4.6.2.** Bazal plaklardaki p57 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değeri)

Gruplar	Bazal plaklardaki p57 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	172,5 $\pm$ 7,5
PE grubu	202,222 $\pm$ 4,395 (p=0,011)*
IUGR grubu	193,889 $\pm$ 4,013 (p=0,035)*
Diyabet grubu	160,556 $\pm$ 6,377 (p=0,233)



**Şekil 4.6.4.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının bazal plaklarındaki p57 boyanma yoğunlukları. (\* p<0,05)

Preeklampitik plasentaların koryonik plaklarındaki p57 immüno pozitif reaksiyon, amniyon epitelinde ve koryonik stromal hücrelerde kontrol grubuna göre daha fazla olduğu tespit edildi (Şekil 4.6.5.c,d). IUGR'lı grupta ise koryonik plaklardaki hücrelerin tamamında kontrol grubuna göre immüno reaksiyonda artış gözlemlendi (Şekil 4.6.5.e,f). Diyabetik grupta kontrole göre p57 boyanması amniyon epitelinde arttı, koryonik stromal hücrelerde ve sitotrofoblastlarda azaldı (Şekil 4.6.5.g,h).

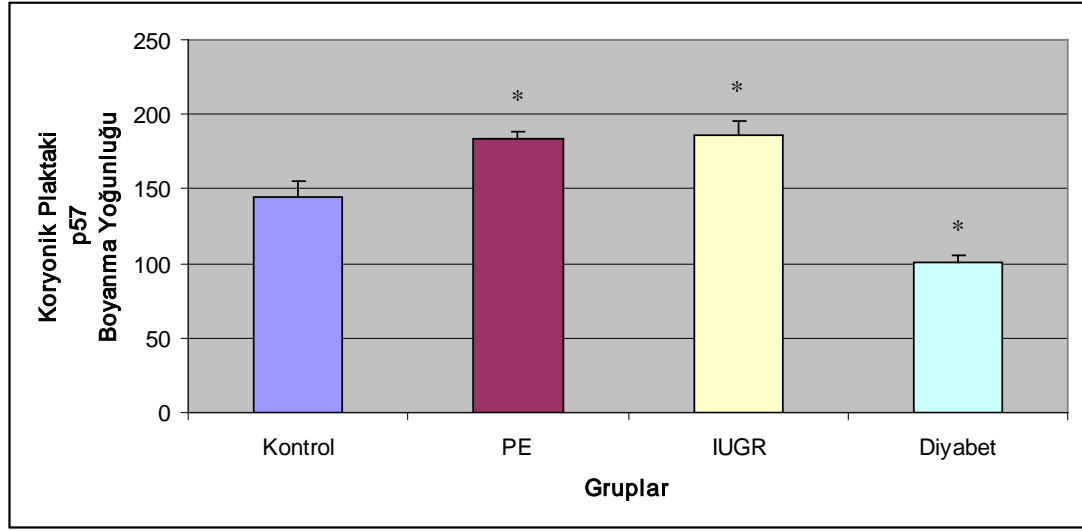


**Şekil 4.6.5.a-h.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabetik gruplara ait term plasenta koryonik plaklarında p57 immün boyanmaları. **a:** Kontrol X20. **b:** Kontrol X40. **c:** PE X20. **d:** PE X40. **e:** IUGR X20. **f:** IUGR X40. **g:** Diyabet X20. **h:** Diyabet X40. Koryonik sitotrofolblastlar (siyah oklar), sinsiyotrofolblast tabakası (mavi oklar), koryonik mezenşim hücreleri (yeşil oklar).

Kontrolle tüm grupların koryonik plaklarındaki p57 boyanma yoğunlukları arasında anlamlı fark vardı. PE ve IUGR gruplarında boyanma yoğunluğu, kontrole göre anlamlı şekilde artarken, diyabetik grupta ise anlamlı olarak azaldı (Tablo 4.6.3, Şekil 4.6.6).

**Tablo 4.6.3.** Koryonik plaklardaki p57 boyanma yoğunluğu (ortalama  $\pm$  standart sapma, p değerleri)

Gruplar	Koryonik plaklardaki p57 boyanma yoğunluğu (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, p değeri)
Kontrol grubu	145 $\pm$ 10,33
PE grubu	183,333 $\pm$ 5,332 (p=0,012)*
IUGR grubu	185,556 $\pm$ 9,867 (p=0,008)*
Diyabet grubu	100,278 $\pm$ 5,505 (p=0,011)*



**Şekil 4.6.6.** Kontrol, PE, IUGR ve diyabet gruplarının koryonik plaklarındaki p57 boyanma yoğunlukları. (\* p<0,05)

## TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Proliferasyon belirteci PCNA, hücre siklusunun yanı sıra DNA tamirinde de rol aldığı için siklusta olmayan DNA'sı hasarlanmış hücrelerde de ekspresyonu gerçekleşmektedir (141, 142). Sonuç olarak PCNA'nın hücrede immüno-histokimyasal olarak saptanması, o hücrenin ya siklusta olduğunu ya da hasarlı DNA'sının tamir edilmekte olduğunu göstermektedir (143). İnsan plasentasında PCNA ekspresyonu en yoğun olarak villöz ve invazif sitotrofoblastlarda tespit edilmiştir. Ayrıca sinsisyotrofoblastta, villöz stromal hücrelerde, desidual hücrelerde ve desidual bez hücrelerinde PCNA ekspresyonu mevcuttur (43). PCNA ekspresyonu, 1. trimesterde yoğun şekilde gözlenirken terme doğru giderek azalır (144-146). İnsan plasentasının 1. trimesterinde PCNA eksprese eden hücre yüzdesi 13.4 iken termde ise bu yüzdenin sadece 1.9 olduğu hesaplanmıştır (147). Ayrıca, sıçan plasentalarındaki PCNA ekspresyonunun da gebeliğin ilerleyen günlerinde azaldığı saptanmıştır (148).

1. trimester insan plasentalarındaki Ki67 ekspresyonu villöz sitotrofoblastlarda, villöz stromal hücrelerde, invazif sitotrofoblastlarda ve desidual hücrelerde görülmüştür. Sinsisyotrofoblastta ve endometriyal bez hücrelerinde ekspresyonu tespit edilmemiştir (43). Birçok çalışmada (1, 4, 147, 149-151) 1. trimester plasentaların villöz sitotrofoblastlarındaki Ki67 ekspresyonu yoğun bulunmuştur. PCNA ekspresyonuna paralel olarak Ki67 ekspresyonu da 1. trimesterde en fazla iken terme doğru giderek azalır (1, 4, 144, 146, 149, 150). Fare plasentalarında da bağlantı zonundaki Ki67 ekspresyonunun gebeliğin ilerleyen evrelerinde azaldığı belirtilmiştir (152). Normal term plasentasındaki Ki67 immünopozitif reaktivitesi, sinsisyotrofoblastta ve ekstravillöz trofoblastlarda (EVT) gözlenmemiştir (45).

Siklin D tipleri arasında, en yaygın eksprese edilen ve çoğu hücre tipinde sadece tek başına ekspresyon gösteren siklin D3'tür (153). Kültüre edilmiş villöz sitotrofoblastlarda siklin D1'in eksprese edilmediği, siklin D2 ve D3'ün ise ekspresyon gerçekleştirdiği ancak farklılaşma ile birlikte seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (154). Siklin D3'ün plasentaların villöz sitotrofoblastlarında eksprese edildikleri ancak sinsisyotrofoblastta ve invazif sitotrofoblastlarda ekspresyon gerçekleştirmedikleri rapor edilmiştir. Normal plasental gelişimde PCNA ve Ki67'ye benzer şekilde, villöz sitotrofoblastlardaki siklin D3 ekspresyonunun birinci trimesterden terme kadar giderek azaldığı bilinmektedir. Bu proteinler 1. trimesterde başlıca villöz sitotrofoblastlarda ekspresyon gösterirken, bizim çalışmamızın aksine termde plasentanın hiçbir bölgesinde eksprese edilmedikleri rapor edilmiştir (1).

Normal insan plasentasındaki p27 ekspresyonunun lokalizasyonu ve miktarı hakkında birbiriyle çelişen çalışmalar vardır. Bir çalışmada 1. trimester normal plasentalarında p27 ekspresyonu yoğun olarak farklılaşmış ve bölünme gerçekleştirilmeyen tabaka olan sinsisyotrofoblastta gözlenmekte iken villöz



sitotrofoblast hücrelerinde ise orta seviyededir (149, 150). Ancak başka bir çalışmada, 1. trimester plasentaların villöz sitotrofoblastlarında düşük düzeyde immünopozitif reaksiyon var iken sinsisyotrofoblastta immün reaktivite tespit edilmemiştir. Termde ise sinsisyotrofoblastta zayıf ekspresyon gözlenmiştir (1). P27 ekspresyonun termde doğru arttığını (1, 149) veya azaldığını (150) gösteren çalışmalar mevcuttur. Fare plasentalarında yapılan bir çalışmada gebeliğin 12. gününde, desidual hücrelerde, spongiyotrofoblastlarda ve labirint zonda orta düzeyde p27 ekspresyonu gözlenirken gebelik ilerledikçe, bu bölgelerdeki ekspresyon artmıştır (158).

P27 genini içermeyen farelerle yapılan çalışmalarda ise bu farelerde hücre proliferasyonunda artışa bağlı olarak makrozomi, organlarda hiperplazi ve tümör oluşumu görülmüştür (16-19, 155, 156).

Normal plasentalardaki p57 ekspresyonu villöz sitotrofoblastlarda, villöz stromal hücrelerde, amniyon epitelinde, invazif sitotrofoblastlarda ve desidual hücrelerde tespit edilmiştir. Fakat sinsisyotrofoblastta ve endometriyal bez hücrelerinde ise tespit edilmemiştir (1, 43, 157). İnsan plasentalarında p57 ekspresyonu en fazla invazif sitotrofoblastlarda eksprese edildi ve termde kadar pozitif immünoreaktivitesini devam ettirdi (1). Fare plasentalarında, gebeliğin 12. gününde, desidual hücrelerde ve spongiyotrofoblastlarda yüksek ve labirint zonda orta düzeyde p57 ekspresyonu gözlenirken 14. günde ekspresyon maksimuma ulaşmış ve gebelik ilerledikçe tekrar azalmıştır (158).

p57 geni yok edilmiş (knock out) farelerin plasentalarında da labirent zon ve spongiyotrofoblastlarda hiperplaziye bağlı olarak plasentomegali gözlenmiştir. Bu verilere göre, p57 farelerdeki labirent ve spongiyotrofoblast proliferasyonunu düzenleyici role sahiptir (159). P57 geninin bir aleli silinmiş olan gebe farelerde hipertansiyon, proteinüri gibi preeklamps benzeri semptomlar ortaya çıkmaktadır. Bu fareler, preeklamps için model oluşturan tek fare modelidir (160).

Tüm CKİ'ler içinde sadece p57 embriyonik gelişimde rol oynamaktadır (12, 13, 155, 156, 161, 162). P57 geni olmayan fare embriyolarında organ hiperplazisi, birçok gelişimsel anormallikler ve ölü doğumlar gözlenmiştir (12, 13).

Hücrelerin farklılaşabilmeleri için hücre siklusundan çıkmaları gerekmektedir. Bu da, CKİ'lerin indüklenmesiyle başarılabilir. CKİ'ler terminal farklılaşmada önemli roller oynamaktadır (163). Kültüre edilmiş villöz sitotrofoblastların terminal farklılaşmasında p27 mRNA'larının upregüle oldukları bulunmuştur (154).

Bir çalışmada, p27 ve p57'nin fare plasentalarındaki trofoblast farklılaşmasının kontrolünde rol oynadıkları ve p27 ve p57 genleri mutant farelerin plasentalarında gelişimsel bozukluklar görüldüğü bildirilmiştir. Bu farelerin plasentalarındaki labirint zonun normalden daha az damarlandığı ve daha fazla trofoblast içerdiği belirtilmiştir. (163). P27 ve p57'nin in vivo fonksiyonlarını analiz eden başka bir fare modelinde de, p57 geni uzaklaştırılarak yerine p27 geni konmuştur. Sonuç olarak, p57 vahşi tipi, fare plasentalarının bazal ve labirint zon



trofoblastlarında ekspresyon gösterirken, p27 geniyle yer değiştiren plasentalarda ise plasentadaki trofoblastlarda büyük ölçüde azaldı. Aynı zamanda, p57 geni silinmiş olan veya p27 geniyle yer değiştiren plasentalarda nekrotik bölgeler ve plasental displazi gelişti (164).

Preeklampsi, maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin en önde gelen nedenlerinden olan gebelik dönemine özgü bir multisistemik hastalıktır (27). Preeklampsinin etiyojisi tam olarak aydınlatılamamıştır (103). Preeklampside gebelik boyunca yaklaşık 10 kat artması beklenen uteroplasental kan akımı artışı gerçekleşemez, sonuçta plasental hipoksi oluşur ve fetüse giden kan azalır (27, 98).

Preeklampside ekstrasvillöz trofoblast hücrelerinin %15-%50'sinin apoptoza uğradığı görülmüştür. Preeklampsideki azalmış ekstrasvillöz trofoblast invazyonuna bu artan apoptozun neden olduğu düşünülmektedir (31). Ablasyo plasenta yani plasentanın desiduaya yeterince tutunamamasından dolayı erken ayrılması, preeklampside 3 kat daha sık görülmektedir (111). Bu da ekstrasvillöz trofoblast hücrelerinde artan apoptozdan kaynaklanıyor olabilir.

Preeklampitik plasentaların normalden daha küçük olduğu ve plasenta/fetüs ağırlık oranının azaldığı bilinmektedir (111). Çalışmamızda da, preeklampitik gruba ait plasentalar makroskobik olarak kontrol grubundakilere göre belirgin ölçüde küçüktü.

Preeklampitik hastaların uteroplasental yapılarında belirgin histolojik değişiklikler oluşur ve bunlar akut arteroz olarak adlandırılır. Bu değişikliklerden bazıları, intravillöz fibrinoid birikiminde artış, damar çeperindeki hücrelerde proliferasyon artışı, düz kas hücresi proliferasyonu gibi mikroskobik bulgulardır. Yetersiz kan akımı sonucu oluşan plasental hipoksi, preeklampside en çok gözlenen plasental değişimlerden olan nekrotik bölgeleri meydana getirir (111). Çalışmamızda preeklampitik gruba ait plasentalarda kalsifiye alanlarda ve sinsisyal düğümlerde artış, intravillöz fibrinoid birikimleri ve bazal plaklarda nekrotik alanlar ve fibrinoid birikimlerindeki artışa bağlı olarak normale göre kalınlaşma gözlemlendi. Bu bulgular, preeklampitik plasentalarda gözlenen bulgularla uyumludur.

Preeklampitik plasentaların villöz sitotrofoblastlarında PCNA ve Ki67 pozitif immünoaktivitelerindeki artış, normale göre artmış proliferatif aktiviteyi göstermektedir (29, 165-168). Villöz sitotrofoblastlardaki artan proliferasyonun, iskemi sonucunda ortaya çıkan hipoksinin sinsisyumlarda oluşturduğu zedelenme sonrasında proliferasyon yeteneği olmayan sinsisyotrofoblast tabakasının rejenerasyonunu sağladığı düşünülmektedir (29). Preeklampside villöz sitotrofoblast sayısının normal gebeliklerden daha fazla olduğunu gösteren morfometrik veriler vardır (31, 169, 170).

Preeklampside villöz sitotrofoblast apoptozunun da normale göre arttığı rapor edilmiştir (171). Bunun yanı sıra, normal term plasentalarına göre preeklampitik plasentalarda sinsisyotrofoblastta apoptoz daha fazla bulunmuştur (30, 172). Bu bulgulara dayanarak, preeklampside villöz sitotrofoblastların proliferasyonu, füzyonu ve apoptozu kapsayan devrinin (turnover) normale göre arttığı

teorisi ortaya atılmıştır (173). Bunlara ek olarak, invazif sitotrofoblastlardaki apoptozun, normale göre preeklampside arttığı TUNEL metoduyla gösterilmiştir (31).

İmmünohistokimyasal bulgularımıza göre, PE grubunun villöz sitotrofoblastlarındaki proliferatif belirteçler olan PCNA, Ki67 ve siklin D3 immünoaktiviteleri kontrole göre daha yüksekti. Bulgularımız diğer araştırmacıların bulgularıyla uyumludur.

Preeklamptik plasentaların bazal plaklarında proliferatif belirteçlerin (PCNA, Ki67 ve siklin D3) ekspresyonları özellikle ekstravillöz trofoblastlarda yoğun ölçüde azaldı. Bu azalmada invazif sitotrofoblastlarda artan apoptozun etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Preeklamptik koryonik plaklardaki proliferatif belirteçlerin immün boyanması kontrole karşılaştırıldığında da, PCNA ve Ki67 boyanmalarının koryonik sitotrofoblast hücrelerinde belirgin ölçüde artarken diğer hücrelerde azaldığını tespit ettik. PE'de koryonik sitotrofoblast hücrelerindeki proliferatif artışın, sitotrofoblastların artmış devrinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Siklin D3 immün boyanmalarının koryondaki sitotrofoblast hücrelerinde kontrole göre azaldığını tespit ettik. G1 fazında görevli olan siklin D'nin bulgularının PCNA ve Ki67 ile örtüşmemesi, proliferasyon gösteren koryonik sitotrofoblast hücrelerinin çoğunluğunun siklusun G1 fazında olmamasından kaynaklanıyor olabilir.

Preeklamptik plasentaların villuslarında siklus inhibitörlerinden p57'nin villöz stromal hücrelerinde ve p27'nin de bu hücrelere ek olarak villöz sitotrofoblastlar ve sinsisyotrofoblast hücrelerinde immün boyanmaları kontrol grubuna göre artış gösterdi. Bu bulgular, preeklamptik plasentalarda sitotrofoblastlar ve sinsisyotrofoblast hücrelerindeki apoptozun normalden fazla olduğu bulgusuyla örtüşmektedir. Ayrıca, villöz stromal hücrelerindeki siklus inhibitörleri boyanması artışı da preeklamptik plasentaların normale göre küçük olmasının nedenlerinden biri olabilir.

Bazal plakta ise preeklamptik plasentaların ekstravillöz trofoblastlarında siklus inhibitörlerinin boyanmaları kontrol grubuna göre büyük ölçüde artış gösterdi. Bu artışta da invazif sitotrofoblastlarda artan apoptozun etkili olduğunu düşünmekteyiz.

PE plasenta koryonik plağındaki p27 ve p57 immünoaktivitelerinin amniyon epitelinde ve koryonik stromal hücrelerde kontrole göre artması, koryonik plağın küçülmesine neden olup PE plasentaların normalden küçük olmasına katkı sağlıyor olabilir.

Çalışmamızdaki H-SCORE analizi sonuçlarına göre, proliferatif belirteçler olan PCNA, Ki67 ve siklin D3 boyanma yoğunlukları PE grubunun villuslarında kontrole göre anlamlı şekilde artarken, PE grubunun bazal plaklarında da anlamlı şekilde azaldı. PE'de villuslardaki proliferatif belirteç boyanması artışının primer olarak villöz sitotrofoblast proliferasyonundaki artıştan kaynaklandığını

düşünmekteyiz. Bazal plaktaki proliferatif belirteç boyanma yoğunluğu azalmasında ise, preeklampside artan ekstrasvillöz trofoblast apoptozunun etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Kontrol grubuyla kıyaslandığında, PE grubunun tüm bölgelerinde siklus inhibitörleri olan p27 ve p57'nin boyanma yoğunlukları istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı. Villuslardaki p27 boyanma yoğunluğundaki artışın nedenleri ise preeklampside gözlenen villöz sitotrofoblast ve sinsisyotrofoblast hücrelerinde apoptoz artışı olabilir. PE grubunun bazal plaklarındaki p27 ve p57 ekspresyonu artışı, invazif sitotrofoblastlardaki apoptozun, normale göre preeklampside artmasından kaynaklanıyor olabilir.

İntrauterin büyüme geriliği (IUGR) perinatal mortalite ve morbidite riski açısından önemli bir obstetrik problemdir. IUGR'lı bebeklerde intrauterin ölüm, nörolojik bozukluklar, konjenital malformasyonlar, hipotermi, hipoglisemi, hipokalsemi, polisitemi, trombositopeni ve enfeksiyon riski fazladır (40). Günümüzde, doğum dışında, IUGR'nin progresif sürecini durduracak veya geri döndürecek etkin bir tedavi yoktur. IUGR, gebelik sürecinde hayati organların korunması amacıyla oluşan dolaşımın yeniden düzenlenmesiyle ve bir süre sonra da hipoperfüzyona bağlı olarak fetal organ hasarıyla sonuçlanmaktadır.

IUGR'a neden olan plasental yetmezliğin erken dönemdeki klinik bulgusu, umbilikal arterde direnç artımıdır (174). Bu dönemde fetal hipoksi söz konusudur (175). IUGR'lı bebeklerin %30-%50'si intrapartum hipoksik strese maruz kalırlar (40). Kronik fetal hipokside, hayati organlara yeterli oksijen sağlayabilmek amacıyla fetal dolaşım yeniden düzenlenir ve sonuçta beyin gibi hayati organlara kan akımı artarken, gastrointestinal sistem, böbrekler ve periferik giden kan akımı azalır (176).

IUGR patogenezi plasental hiper- ve hipooksijenasyon şeklinde iki gruba ayrılabilir. Bu gruplar trofoblastik proliferatif aktivite yönünden değişiklik göstermektedir (177, 178). Plasental hiperoksijenasyonda azalmış proliferatif aktivite varken, plasental hipooksijenasyonda ise preeklampside de gözlemlendiği gibi düşük maternal kan akışına bağlı olarak trofoblastik proliferatif aktivite artar. IUGR olgularının %84'ünde düşük veya orta seviyede proliferatif endeks görülür (179). Çalışmamıza dahil olan IUGR olgularının hepsinde de proliferatif belirteçler olan PCNA, Ki67 ve siklin D3 endekslerinin kontrol grubuna göre azaldığı görüldü.

IUGR plasentaları normal plasentalardan belirgin ölçüde daha küçüktür (42). Çalışmamızdaki IUGR plasentaları makroskopik olarak kontrol grubundakilerden daha küçüktü.

IUGR plasentalarında en sık rastlanan lezyon villuslarda nekrozdur. Nekroz plasentanın tüm kalınlığı boyunca olabileceği gibi, çoğunlukla bazal plakta yerleşim göstermektedir (140). IUGR'lı plasentalarda perivillöz alanda yoğun fibrin depolanması gözlenir (28). IUGR'da terminal villuslar bilinmeyen sebeplerden dolayı gelişmemiştir ve bunların yerinde matür intermediyet villuslar vardır (41). Çalışmamızda IUGR grubuna ait plasentalarda villöz immatürite, kalsifiye alanlarda

artış, perivillöz fibrinoid birikimleri ve desiduada nekrotik bölgeler gözlemlendi. Bu bulgular IUGR'lı plasenta bulgularıyla örtüşmektedir.

Villöz sitotrofoblastlardaki Ki67 ekspresyonunun IUGR'lı plasentalarda azaldığı gösterilmiştir (45, 180-181). IUGR'lı plasentalarda apoptozun özellikle villöz sitotrofoblastlarda ve stromal dokuda normalden fazla olduğu gösterilmiştir (30, 172, 182-184). Apoptoza uğrayan sinsisyotrofoblast nükleusu sayısı da IUGR'lı term plasentalarda normale göre daha yüksektir (30). Ayrıca IUGR koryonik mezenşimindeki trofoblast hücrelerinde de normale göre artan apoptoz gözlenmiştir (185).

İmmünohistokimyasal sonuçlarımıza göre, IUGR villuslarındaki proliferatif belirteçlerden Ki67 ve siklin D3 boyanmaları en fazla villöz sitotrofoblastlarda olmak üzere tüm hücrelerde kontrole göre azaldı. PCNA'da da benzer şekilde IUGR'lı plasentaların villöz sitotrofoblastlarında ve sinsisyotrofoblastta kontrole göre azalmış immün boyanması vardı. Bulgularımız yukarıda belirttiğimiz çalışmalarla paralellik göstermektedir.

IUGR grubunun bazal plaklarındaki tüm hücrelerde PCNA reaksiyonu azalırken bazal plaktaki Ki67 ekspresyonu da, özellikle ekstrasvillöz trofoblastlar yönünden kontrole göre yoğun ölçüde azaldı. Bazal plaktaki siklin D3 ekspresyonu da PCNA ve Ki67'ye paralel şekilde kontrol grubuna kıyasla büyük ölçüde azaldı.

IUGR plasentalarının koryonik plaklarındaki PCNA, Ki67 ve siklin D3 pozitif reaktiviteleri tüm hücrelerde azalırken, Ki67 ekspresyonu özellikle sitotrofoblast hücrelerinde belirgin şekilde azaldı. Koryonik sitotrofoblast hücrelerindeki proliferasyon düşüşü, IUGR koryonik trofoblast hücrelerindeki normale göre artan apoptozdan kaynaklanıyor olabilir. Koryonik stromal hücrelerinin proliferasyonlarında azalma da IUGR plasentaların normalden küçük olmasına katkı sağlıyor olabilir.

IUGR'lı plasentaların villuslarının villöz sitotrofoblastlarındaki ve villöz stromal hücrelerindeki p27 ve p57 ekspresyonları kontrole göre artarken bunlara ek olarak p27 boyanması fetal endotel hücrelerinde de arttı.

IUGR plasentalarının bazal plaklarında ise p27 ve p57 ekspresyonlarında değişiklikler vardı. P27 için desidual hücrelerde kontrole kıyasla artan ve ekstrasvillöz trofoblastlarda ise değişmeyen ekspresyon gözlenirken p57'de ise ekstrasvillöz trofoblastların boyanması kontrole göre fazlaydı. IUGR bazal plaklarında p27 ve p57'nin farklı paternlerde reaksiyon göstermeleri, bu iki proteinin yapısal olarak benzer olmalarına rağmen IUGR ekstrasvillöz trofoblastlarında farklı fonksiyonları olabileceğine işaret etmektedir.

IUGR'lı plasentaların koryonik plaklarında p27 immünoreaktivitesi amniyon epitelinde ve koryonik stromal hücrelerinde kontrole göre arttı. P57'de ise bunlara ek olarak sitotrofoblastlarda da boyanma artışı olmuştur. IUGR'lı plasentaların koryonik trofoblast hücrelerinde artan p57 immün boyanmasında, IUGR'da bu hücrelerde normale göre artan apoptoz etkili olabilir.

H-SCORE analizi sonuçlarımıza göre, IUGR grubuna ait plasentaların tüm bölgelerinde PCNA, Ki67 ve siklin D3 boyanma yoğunlukları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı. Villuslardaki boyanma yoğunluğu azalmasında IUGR plasentalarının villöz sitotrofoblastlarında azalan proliferasyonun ve ayrıca villus sitotrofoblastlarda, sinsisyotrofoblastta ve villöz stromal dokuda artan apoptozun etkili olduğunu düşünüyoruz. IUGR koryonik plaklarındaki boyanma yoğunluğu azalmasında da IUGR koryonik trofoblast hücrelerinde normale göre artan apoptozun etkisi olabilir.

Kontrol grubuna göre, IUGR grubunun villuslarındaki ve koryonik plaklarındaki p27 boyanma yoğunluğu anlamlı şekilde artarken p57 boyanma yoğunluğu da IUGR grubunun tüm bölgelerinde kontrole göre anlamlı şekilde fazlaydı. IUGR villuslarında siklus inhibitörleri olan p27 ve p57'nin boyanma yoğunluklarının artmasında villöz sitotrofoblastlarda azalan proliferasyon ve ayrıca villus sitotrofoblastlarda, sinsisyotrofoblastta ve villöz stromal dokuda artan apoptoz etkili olabilir. IUGR koryonik plaklarındaki p57 boyanma artışı da IUGR koryonik trofoblast hücrelerindeki normale göre artan apoptozdan kaynaklanıyor olabilir.

Diyabet dünyada en sık görülen endokrin hastalıktır. Diyabet tanılı gebelikler hem anne hem de fetüs açısından riskli gebeliklerdir. Bu risklerden bazıları; fetüste spontan abortus, konjenital malformasyonlar, ölü doğum, makrozomi, polihidramniyoz ve annede hipertansiyon, ketoasidoz, retinopati, nöropati, nefropati ve preeklampsidir (35, 36).

Diyabetik plasentalarda plasentomegali gözlenmektedir. Plasental makrozomi, hem hücre sayısındaki artıştan hem de hücrelerin boyut olarak büyümesinden kaynaklanmaktadır. Diyabetik gebelerin plasentaları, maternal hiperglisemi ve fetal hipervolemi'ye bağlı olarak normalden kalındır (39). Çalışmamızdaki diyabetik gruba ait plasentalar da makroskobik olarak kontrol plasentalardan belirgin ölçüde daha büyüktü.

Diyabetik plasentalarda parankimal doku hücrelerinde artış gerçekleşmektedir. Villöz stromal fibroblastlar, villöz makrofajlar, endotel hücreleri ve villöz sitotrofoblastlar sayıca artmıştır. Villöz hücre proliferasyonunda artışa bağlı olarak villus çaplarında artış gözlenir (28). Diyabetik plasentalarda villöz ödem, villöz fibrinoid nekroz, kalsifiye alanlarda artış gibi anormallikler de bildirilmektedir (135). Çalışmamızda diyabetik plasentalarda yaptığımız rutin ışık mikroskobik incelemeler sonucunda intra- ve perivillöz fibrinoid birikimleri, villus çaplarında artış, villöz ödem, nekrotik alanlar ve koryonik plakta artan proliferasyon ve nekroz tespit edildi. Bu bulgular literatür bilgisiyle paralellik göstermektedir.

Diyabetik plasentaların villöz sitotrofoblastlarında normale göre artmış proliferatif aktivite bildirilmiştir (39, 186). Diyabetik plasentalarda villus sitotrofoblastların sayısı normalden fazla gözlenmiştir (39, 187). Sitotrofoblastların sinsisyotrofoblastta farklılaşmasını uyaran epidermal büyüme faktörünün reseptörünün ekspresyonu DM hastalarında azalmıştır. Bu nedenle, villöz sitotrofoblastlar farklılaşmaktan ziyade proliferasyon gösteriyor olabilir (39). Diyabetik sıçan plasentalarında da PCNA ekspresyonunun normal plasentalara göre

daha fazla olduğu bulunmuştur (148). Ayrıca DM'li plasentaların villus stromal fibroblast, villus makrofaj, endotel hücresi ve sinsisyotrofoblast nükleus sayıları da normalden fazla bulunmuştur (39, 188). Diyabetik plasentaların endotel hücrelerindeki PCNA immünoreaktivitesi normalden 5 kat daha fazladır (189). Diyabetik sıçanlarda yapılan bir çalışmaya göre, diyabetik sıçanların plasentaları gebeliğin erken dönemlerinde kontrollere göre daha az protein, DNA, RNA ve hücreye içerirken 18. günden itibaren ise daha fazla DNA, RNA ve daha fazla hücre içeriyordu (190). Villöz stromadaki hücrelerin apoptozunun da diyabetik plasentalarda normale göre daha az olduğu gösterilmiştir (191). Bunların yanı sıra, diyabetik plasentaların villöz sitotrofoblastlarında ve sinsisyotrofoblast nükleuslarında normalden daha fazla apoptoz görülmüştür (192).

İmmünohistokimyasal boyanmalarımızın sonuçlarına göre, diyabetik plasentaların villuslarının villöz sitotrofoblastlarında, sinsisyotrofoblastlarında, villöz stromal hücrelerinde ve fetal endotel hücrelerindeki PCNA boyanması kontrole göre artış gösterdi. Villuslarda Ki67 ve siklin D3 de PCNA'ya paralel şekilde boyandı ancak sinsisyotrofoblast hücrelerinde boyanmalar gözlenmedi. Bu bulgular diyabetik villustaki hücrelerde artmış proliferasyon ve azalmış apoptoz ile uyumludur.

Diyabetik grubun bazal plaklarında ise PCNA boyanması kuvvetliydi ancak kontrole göre belirgin bir fark yoktu. Ki67 boyanmasının desidual hücrelerde ve invazif trofoblastlarda kontrole göre arttığı tespit edildi. İki proliferasyon belirteci olan PCNA ve Ki67'nin birbiriyle paralel sonuçlar vermemesi, PCNA'nın kontrol grubunda fazla ekspresyon göstermesinden ve böylece diyabet ile kontrol grupları arasındaki PCNA ekspresyon farkının azalmasından ileri geliyor olabilir. Ki67'nin yarılanma ömrü (yaklaşık 2 saat) (26) ile karşılaştırıldığında PCNA'nın yarılanma ömrü çok uzundur (yaklaşık 20 saat). Bu yüzden, hücreler hücre siklusunu daha önceden tamamlamış ve siklustan çıkmış olsalar bile PCNA immünopozitif olabilirler. Böylece PCNA immünoreaktivitesi, proliferasyonun gerçekte olduğundan fazla görünmesine neden olabilir (193). Ayrıca, daha önce belirtildiği gibi, PCNA sadece siklustaki hücrelerde değil ayrıca hasarlı DNA'sı tamir edilmekte olan hücrelerde de ekspresyon göstermektedir.

Siklin D3 boyanması da Ki67'ye paralel olarak kontrol grubuna göre diyabetik plasentaların ekstravillöz trofoblastlarında arttı.

Kontrol grubuna kıyasla diyabetik plasentaların amniyon epiteli ve koryonik plak sitotrofoblast hücreleri PCNA ile daha yoğun boyanırken, Ki67 boyanması koryonik plaklarındaki sitotrofoblast hücrelerinde ve siklin D3 boyanması da amniyon epitelinde kontrole göre artış gösterdi. Diyabetik plasentaların koryonik plaklarındaki proliferasyon artışının, diyabetik plasentaların normalden büyük olmasında payı olabilir.

Villuslarda p27, kontrole kıyasla diyabetik plasentaların villöz sitotrofoblastlarında daha fazla boyanırken, sinsisyotrofoblastlarda ise daha az boyandı. P57 boyanmasının ise diyabetik plasentaların villuslarındaki villöz stromal hücrelerde kontrole göre azaldığı gözlemlendi. Diyabetik plasentaların koryonik plaklarında ise p27 boyanması kontrole göre amniyon epiteli ve koryonik stromal



hücrelerde arttı. Koryonik plakta ise diyabetik grupta kontrole göre p57 boyanması amniyon epitelinde arttı, koryonik stromal hücrelerinde ve sitotrofoblastlarda ise azaldı. P27 ve p57'nin diyabetik villuslarda ve koryonik plakta birbirinden farklı şekilde lokalizasyonları, bu proteinlerin diyabetik villuslardaki ve koryonik plaktaki farklı hücre tiplerinin proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz mekanizmalarında düzenleyici rol oynadıklarını düşündürmektedir.

Diyabetik plasentaların bazal plaklarındaki hücrelerin hem p27 hem de p57 ekspresyonları kontrol grubuna göre değişmedi.

H-SCORE analizi sonuçlarımıza göre, diyabetik grubun villuslarındaki PCNA, Ki67 ve siklin D3 boyanma yoğunlukları kontrole göre anlamlı şekilde arttı. Bunlara zıt şekilde villuslardaki p57 boyanma endeksi kontrole göre anlamlı şekilde azaldı. Bu bulgular, diyabetik villuslarda artan proliferasyonun ve azalan apoptozun göstergesidir.

Diyabetik grubun bazal plaklarındaki Ki67 boyanması yoğunluğu kontrole göre anlamlı şekilde yüksekti. Diyabette artan plasentomegalide, artan bazal plak proliferasyonunun rolü olabilir.

Koryonik plaklardaki siklin D3 boyanma yoğunluğu diyabette kontrole göre anlamlı şekilde arttı. Bunun zıttı olarak, siklin D/CDK4 kompleksini inhibe eden p27 ve p57'nin boyanma endeksleri ise koryonik plaklarda kontrole göre anlamlı şekilde azaldı. Diyabetik plasentaların koryonik plaklarında azalan p27 ve p57 ekspresyonlarının etkisiyle siklin D3 ekspresyonu indüklenmiş olabilir.

Sonuç olarak özetle hücre siklusuna ait proteinlerden PCNA, Ki67, siklin D3, p27 ve p57 normal ve patolojik plasenta gelişiminde rol almaktadır. Bu proteinler hücreye spesifiktir. Ayrıca, bu proteinlerin patolojik plasentalardaki immünoaktiviteleri ile plasentaların büyüklükleri arasında ilişki mevcuttur. Patolojik plasentalarda gözlenen bazı morfolojik değişikliklerin, PCNA, Ki67, siklin D3, p27 ve p57 gibi hücre siklusu düzenleyicilerinin miktarlarında normal plasentalardakine göre farklılıklar bulunmasından dolayı gerçekleştiğini düşünmekteyiz. Ancak bu konunun daha iyi anlaşılabilmesi için, hücre siklus düzenleyicilerinin normal ve patolojik insan plasenta dokularındaki ekspresyonları ve plasental gelişim boyunca değişen miktarları ile ilgili daha ileri moleküler çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Genbacev O, McMaster MT, Fisher SJ. A repertoire of cell cycle regulators whose expression is coordinated with human cytotrophoblast differentiation. *Am J Pathol.* 2000;157(4):1337-51.
2. Lodish H, Berk A, Kaiser A, Krieger M, Scott P, Bretscher A, Ploegh H, Matsudaira P. *Molecular Cell Biology.* 5th ed. Freeman, New York, 2002.
3. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell.* 4th ed. Garland Science, New York, 2002.
4. De Falco M, Fedele V, Cobellis L, Mastrogiacomo A, Giraldi D, Leone S. Pattern of expression of cyclin D1/CDK4 complex in human placenta during gestation. *Cell Tissue Res.* 2004;317(2):187-94.
5. Kumar V, Fausto N. Neoplasia. In: Robbins and Cotran *Pathologic Basis of Disease.* 7th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2005.
6. Mendelsohn AR, Hamer JD, Wang ZB, Brent R. Cyclin D3 activates Caspase 2, connecting cell proliferation with cell death. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99(10):6871-6.
7. Pollard D, Earnshaw C. *Cell Biology.* 1st ed. Saunders, Philadelphia, 2002.
8. Tsihlias J, Kapusta L, Slingerland J. The prognostic significance of altered cyclin-dependent kinase inhibitors in human cancer. *Annu Rev Med.* 1999;50:401-23.
9. Nakayama K. Cip/Kip cyclin-dependent kinase inhibitors: brakes of the cell cycle engine during development. *Bioessays.* 1998;20(12):1020-9.
10. Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev.* 1999;13(12):1501-12.
11. Zieske JD. Expression of cyclin-dependent kinase inhibitors during corneal wound repair. *Prog Retin Eye Res.* 2000;19(3):257-70.
12. Zhang P, Liegeois NJ, Wong C, Finegold M, Hou H, Thompson JC. Altered cell differentiation and proliferation in mice lacking p57Kip2 indicates a role in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Nature.* 1997;387(6629):151-8.
13. Yan Y, Frisen J, Lee MH, Massague J, Barbacid M. Ablation of the CDK inhibitor p57Kip2 results in increased apoptosis and delayed differentiation during mouse development. *Genes Dev.* 1997;11(8):973-83.
14. El-Deiry WS, Tokino T, Waldman T, Oliner JD, Velculescu VE, Burrell M. Topological control of p21WAF1/CIP1 expression in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res.* 1995;55(13):2910-9.

15. Fredersdorf S, Milne AW, Hall PA, Lu X. Characterization of a panel of novel anti-p21Waf1/Cip1 monoclonal antibodies and immunochemical analysis of p21Waf1/Cip1 expression in normal human tissues. *Am J Pathol.* 1996;148(3):825-35.
16. Weinberg RA. Tumor suppressor genes. *Science.* 1991;254(5035):1138-46.
17. Jacks T, Fazeli A, Schmitt EM, Bronson RT, Goodell MA, Weinberg RA. Effects of an Rb mutation in the mouse. *Nature.* 1992;359(6393):295-300.
18. Williams BO, Schmitt EM, Remington L, Bronson RT, Albert DM, Weinberg RA. Extensive contribution of Rb-deficient cells to adult chimeric mice with limited histopathological consequences. *EMBO J.* 1994;13(18):4251-9.
19. Fantl V, Stamp G, Andrews A, Rosewell I, Dickson C. Mice lacking cyclin D1 are small and show defects in eye and mammary gland development. *Genes Dev.* 1995;9(19):2364-72.
20. Sicinski P, Donaher JL, Parker SB, Li T, Fazeli A, Gardner H. Cyclin D1 provides a link between development and oncogenesis in the retina and breast. *Cell.* 1995;82(4):621-30.
21. Sicinski P, Donaher JL, Geng Y, Parker SB, Gardner H, Park MY. Cyclin D2 is an FSH-responsive gene involved in gonadal cell proliferation and oncogenesis. *Nature.* 1996;384(6608):470-4.
22. Matsuoka S, Edwards MC, Bai C, Parker S, Zhang P, Baldini A. p57Kip2, a structurally distinct member of the p21CIP1 Cdk inhibitor family, is a candidate tumor suppressor gene. *Genes Dev.* 1995;9(6):650-62.
23. Takahashi T, Caviness VS. PCNA-binding to DNA at the G1/S transition in proliferating cells of the developing cerebral wall. *J Neurocytol.* 1993;22(12):1096-102.
24. Start RD, Cross SS, Clelland C, Silcocks PB, Rogers K, Smith JH. Delay in fixation does not affect the immunoreactivity of proliferating cell nuclear antigen (PCNA). *J Pathol.* 1992;168(2):197-9.
25. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol.* 1984;133(4):1710-5.
26. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000;182(3):311-22.
27. Papageorghiou AT, Yu CK, Bindra R, Pandis G, Nicolaides KH. Multicenter screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by transvaginal uterine artery Doppler at 23 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;18(5):441-9.
28. Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. *Pathology of the Human Placenta.* 5th ed. Springer, New York, 2006.

29. Arnholdt H, Meisel F, Fandrey K, Lohrs U. Proliferation of villous trophoblast of the human placenta in normal and abnormal pregnancies. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 1991;60(6):365-72.
30. Ishihara N, Matsuo H, Murakoshi H, Laoag-Fernandez JB, Samoto T, Maruo T. Increased apoptosis in the syncytiotrophoblast in human term placentas complicated by either preeclampsia or intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;186(1):158-66.
31. DiFederico E, Genbacev O, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with widespread apoptosis of placental cytotrophoblasts within the uterine wall. *Am J Pathol*. 1999;155(1):293-301.
32. Alemzadeh R. Diabetes mellitus. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17th ed. Elsevier Saunders, Pennsylvania, 2004.
33. Burant CF. *Medical Management of Type Two Diabetes*. 5th ed. American Diabetes Association, 2004.
34. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2004;27 Suppl 1:S5-S10.
35. 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):709-19.
36. Pickup JC, Williams G. *Textbook of Diabetes*. 2nd ed. Blackwell Science Oxford, 1997.
37. Laurini RN, Visser GH, van Ballegooie E, Schoots CJ. Morphological findings in placentae of insulin-dependent diabetic patients treated with continuous subcutaneous insulin infusion (CSII). *Placenta*. 1987;8(2):153-65.
38. Padmanabhan R, Shafiullah M. Intrauterine growth retardation in experimental diabetes: possible role of the placenta. *Arch Physiol Biochem*. 2001;109(3):260-71.
39. Desoye G. The Human Placenta in Diabetic Pregnancy. *Diabetes Reviews*, 1996;4(1):70-89.
40. Manning FA. *Fetal Medicine. Principles and Practice*. 1st ed. Appleton & Lange, Norwalk, 1995.
41. Mayhew TM, Manwani R, Ohadike C, Wijsekara J, Baker PN. 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):233-8.
42. Biswas S, Ghosh SK. Gross morphological changes of placentas associated with intrauterine growth restriction of fetuses: a case control study. *Early Hum Dev*. 2008;84(6):357-62.

43. Korgun ET, Celik-Ozenci C, Acar N, Cayli S, Desoye G, Demir R. Location of cell cycle regulators cyclin B1, cyclin A, PCNA, Ki67 and cell cycle inhibitors p21, p27 and p57 in human first trimester placenta and deciduas. *Histochem Cell Biol.* 2006;125(6):615-24.
44. Heazell AE, Lacey HA, Jones CJ, Huppertz B, Baker PN, Crocker IP. Effects of oxygen on cell turnover and expression of regulators of apoptosis in human placental trophoblast. *Placenta.* 2008;29(2):175-86.
45. Jeschke U, Schiessl B, Mylonas I, Kunze S, Kuhn C, Schulze S. Expression of the proliferation marker Ki-67 and of p53 tumor protein in trophoblastic tissue of preeclamptic, HELLP, and intrauterine growth-restricted pregnancies. *Int J Gynecol Pathol.* 2006;25(4):354-60.
46. Crocker IP, Tansinda DM, Baker PN. Altered cell kinetics in cultured placental villous explants in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *J Pathol.* 2004;204(1):11-8.
47. Sadler TW. *Langman's Medical Embryology.* 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2004.
48. Burton GJ, Kaufmann P, Huppertz B. Anatomy and genesis of the placenta. In: Knobil E & Neil JD. *Physiology of Reproduction.* 3rd ed. Elsevier, New York, 2006.
49. Aplin JD. Implantation, trophoblast differentiation and haemochorial placentation: mechanistic evidence in vivo and in vitro. *J Cell Sci.* 1991;99 (Pt 4):681-92.
50. Lindenberg S, Hyttel P, Sjogren A, Greve T. A comparative study of attachment of human, bovine and mouse blastocysts to uterine epithelial monolayer. *Hum Reprod.* 1989;4(4):446-56.
51. Chapman MG, Grudzinskas JG, Chard T. *Implantation: Biological and Clinical Aspects.* 1st ed. Springer Verlag, Berlin, 1988.
52. Huppertz B. The anatomy of the normal placenta. *J Clin Pathol.* 2008;61(12):1296-302.
53. Carlson BM. *Human Embryology and Developmental Biology.* 3rd ed. Elsevier, New York, 2004.
54. Loke YW, King A, Burrows TD. Decidua in human implantation. *Hum Reprod.* 1995;10 Suppl 2:14-21.
55. Carter AM. When is the maternal placental circulation established in man? 1941. *Placenta.* 1997;18(1):83-7.
56. Pijnenborg R. Trophoblast invasion and placentation in the human: morphological aspects. *Trophoblast Res.* 1990;4:33-47.
57. Kaufmann P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod.* 2003;69(1):1-7.

58. Enders AC, King BF. Formation and differentiation of extraembryonic mesoderm in the rhesus monkey. *Am J Anat.* 1988;181(4):327-40.
59. Castellucci M, Kosanke G, Verdenelli F, Huppertz B, Kaufmann P. Villous sprouting: fundamental mechanisms of human placental development. *Hum Reprod Update.* 2000;6(5):485-94.
60. Kingdom J, Huppertz B, Seaward G, Kaufmann P. Development of the placental villous tree and its consequences for fetal growth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000;92(1):35-43.
61. Demir R, Kaufmann P, Castellucci M, Erben T, Kotowski A. Fetal vasculogenesis and angiogenesis in human placental villi. *Acta Anat (Basel).* 1989;136(3):190-203.
62. Fox H. Current topic: trophoblastic pathology. *Placenta.* 1991;12(5):479-86.
63. Benirschke K. Implantation, placental development, uteroplacental blood flow. In: Reid DE, Ryan KJ, Benirschke K. *Principles and Management of Human Reproduction.* 1st ed. WB Saunders, Philadelphia, 1972.
64. Fox H: General pathology of the placenta In: Haines and Taylor's *Obstetrical and Gynecological Pathology.* 4th ed. Churchill Livingstone, New York, 1995.
65. Gabbe S, Niebyl J, Simpson J. *Obstetrics: Normal and Problem Pregnancies,* 5th ed. Elsevier, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2007.
66. Kingdom JC, Kaufmann P. Oxygen and placental vascular development. *Adv Exp Med Biol.* 1999;474:259-75.
67. Baergen RN. *Manual of Benirschke and Kaufmann's Pathology of the Human Placenta.* 1st ed. Springer, New York, 2005.
68. De Wolf F, De Wolf-Peeters C, Brosens I, Robertson WB. The human placental bed: electron microscopic study of trophoblastic invasion of spiral arteries. *Am J Obstet Gynecol.* 1980;137(1):58-70.
69. Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF. The placenta and fetal membranes. In: *Williams Obstetrics.* 19th ed. Norwalk, Appleton & Lange, Philadelphia, 1994.
70. Mayhew TM, Simpson RA. Quantitative evidence for the spatial dispersal of trophoblast nuclei in human placental villi during gestation. *Placenta.* 1994;15(8):837-44.
71. <http://www.embryology.ch/anglais/fplacenta/circulplac01.html#placentaire>.
72. <http://www.embryology.ch/anglais/fplacenta/villosite05.html>.
73. Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science.* 1996;274(5293):1672-7.
74. Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Prolif.* 2003;36(3):131-49.



75. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Temel Patoloji*. çev. 7. baskı, Nobel yayımları, İstanbul, 2003.
76. Galderisi U, Jori FP, Giordano A. Cell cycle regulation and neural differentiation. *Oncogene*. 2003;22(33):5208-19.
77. Pines J. Cyclins and cyclin-dependent kinases: theme and variations. *Adv Cancer Res*. 1995;66:181-212.
78. Hardwick JM. Cyclin' on the viral path to destruction. *Nat Cell Biol*. 2000;2(11):203-4.
79. Cooper GM, Hausman RE. *The Cell: A Molecular Approach*. 4th ed. Sinauer Associates, 2006.
80. Gartel AL, Serfas MS, Tyner AL. p21-negative regulator of the cell cycle. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1996;213(2):138-49.
81. Nakanishi M, Kaneko Y, Matsushime H, Ikeda K. Direct interaction of p21 cyclin-dependent kinase inhibitor with the retinoblastoma tumor suppressor protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;263(1):35-40.
82. Waga S, Hannon GJ, Beach D, Stillman B. The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA. *Nature*. 1994;369(6481):574-8.
83. Besson A, Hwang HC, Cicero S, Donovan SL, Gurian-West M, Johnson D. Discovery of an oncogenic activity in p27Kip1 that causes stem cell expansion and a multiple tumor phenotype. *Genes Dev*. 2007;21(14):1731-46.
84. Pagano M, Tam SW, Theodoras AM, Beer-Romero P, Del Sal G, Chau V. Role of the ubiquitin-proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. *Science*. 1995;269(5224):682-5.
85. Lee MH, Williams BO, Mulligan G, Mukai S, Bronson RT, Dyson N. Targeted disruption of p107: functional overlap between p107 and Rb. *Genes Dev*. 1996;10(13):1621-32.
86. Mighell AJ, Robinson PA, Hume WJ. PCNA and Ki-67 immunoreactivity in multinucleated cells of giant cell fibroma and peripheral giant cell granuloma. *J Oral Pathol Med*. 1996;25(5):193-9.
87. Gerdes J. Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnostic and prognostic evaluations in human malignancies. *Semin Cancer Biol*. 1990;1(3):199-206.
88. Falini B, Flenghi L, Fagioli M, Stein H, Schwarting R, Riccardi C. Evolutionary conservation in various mammalian species of the human proliferation-associated epitope recognized by the Ki-67 monoclonal antibody. *J Histochem Cytochem*. 1989;37(10):1471-8.
89. Duchrow M, Gerdes J, Schluter C. The proliferation-associated Ki-67 protein: definition in molecular terms. *Cell Prolif*. 1994;27(5):235-42.

90. Waseem NH, Lane DP. Monoclonal antibody analysis of the proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Structural conservation and the detection of a nucleolar form. *J Cell Sci.* 1990;96(Pt 1):121-9.
91. Travali S, Ku DH, Rizzo MG, Ottavio L, Baserga R, Calabretta B. Structure of the human gene for the proliferating cell nuclear antigen. *J Biol Chem.* 1989;264(13):7466-72.
92. Hoege C, Pfander B, Moldovan GL, Pyrowolakis G, Jentsch S. RAD6-dependent DNA repair is linked to modification of PCNA by ubiquitin and SUMO. *Nature.* 2002;419(6903):135-41.
93. Wolf HK, Dittrich KL. Detection of proliferating cell nuclear antigen in diagnostic histopathology. *J Histochem Cytochem.* 1992;40(9):1269-73.
94. Brosens IA. Morphological changes in the utero-placental bed in pregnancy hypertension. *Clin Obstet Gynaecol.* 1977;4(3):573-93.
95. Chesley LC, Cooper DW. Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. *Br J Obstet Gynaecol.* 1986;93(9):898-908.
96. Piering WF, Garancis JG, Becker CG, Beres JA, Lemann J. Preeclampsia related to a functioning extrauterine placenta: report of a case and 25-year follow-up. *Am J Kidney Dis.* 1993;21(3):310-3.
97. Hauth JC, Ewell MG, Levine RJ, Esterlitz JR, Sibai B, Curet LB. Pregnancy outcomes in healthy nulliparas who developed hypertension. Calcium for Preeclampsia Prevention Study Group. *Obstet Gynecol.* 2000;95(1):24-8.
98. Salafia C, Shiverick K. Cigarette smoking and pregnancy II: vascular effects. *Placenta.* 1999;20(4):273-9.
99. Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *Br J Obstet Gynaecol.* 1986;93(10):1049-59.
100. Nilsson E, Salonen Ros H, Cnattingius S, Lichtenstein P. The importance of genetic and environmental effects for pre-eclampsia and gestational hypertension: a family study. *BJOG.* 2004;111(3):200-6.
101. Zhou Y, Damsky CH, Chiu K, Roberts JM, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. *J Clin Invest.* 1993;91(3):950-60.
102. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest.* 1997;99(9):2152-64.
103. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161(5):1200-4.

104. Gerretsen G, Huisjes HJ, Elema JD. Morphological changes of the spiral arteries in the placental bed in relation to pre-eclampsia and fetal growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1981;88(9):876-81.
105. Redman CW. Immunological aspects of pre-eclampsia. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1992;6(3):601-15.
106. Roberts JM, Lain KY. Recent insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta.* 2002;23(5):359-72.
107. Moran P, Lindheimer MD, Davison JM. The renal response to preeclampsia. *Semin Nephrol.* 2004;24(6):588-95.
108. Shiba Y, Fukui F, Ichikawa K, Serizawa N, Yoshikawa H. Process development for high-level secretory production of carboxypeptidase Y by *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 1998;50(1):34-41.
109. Pritchard JA, Mac Donald PC, Gant NF. *Williams Obstetrics.* 19th ed. Norwalk, Appleton & Lange, Philadelphia, 1994.
110. Dennis EJ, Mc Farland KF, Hester LL. *Obstetrics and Gynecology.* 4th ed. Harper and Row Publishers, Philadelphia, 1982.
111. Bulmer JN. Immune aspects of pathology of the placental bed contributing to pregnancy pathology. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1992;6(3):461-88.
112. Norris SL. Health-related quality of life among adults with diabetes. *Curr Diab Rep.* 2005;5(2):124-30.
113. Fiallo-Scharer R. Pathophysiology of insulin-dependent diabetes. In *Pediatric Endocrinology.* 1st ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2004; 411-26.
114. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am.* 2005;52(6):1553-78.
115. Douek IF, Gillespie KM, Bingley PJ, Gale EA. Diabetes in the parents of children with type I diabetes. *Diabetologia.* 2002;45(4):495-501.
116. Redondo MJ, Fain PR, Eisenbarth GS. Genetics of type 1A diabetes. *Recent Prog Horm Res.* 2001;56:69-89.
117. Kelly MA, Mijovic CH, Barnett AH. Genetics of type 1 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2001;15(3):279-91.
118. Buzzetti R, Quattrocchi CC, Nistico L. Dissecting the genetics of type 1 diabetes: relevance for familial clustering and differences in incidence. *Diabetes Metab Rev.* 1998;14(2):111-28.
119. Anjos SM, Tessier MC, Polychronakos C. Association of the cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 gene with type 1 diabetes: evidence for independent effects of two polymorphisms on the same haplotype block. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(12):6257-65.
120. Dahlquist GG, Blom LG, Persson LA, Sandstrom AI, Wall SG. Dietary factors and the risk of developing insulin dependent diabetes in childhood. *BMJ.* 1990;300(6735):1302-6.

121. Virtanen SM, Jaakkola L, Rasanen L, Ylonen K, Aro A, Lounamaa R. Nitrate and nitrite intake and the risk for type 1 diabetes in Finnish children. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabet Med.* 1994;11(7):656-62.
122. Haglund B, Ryckenberg K, Selinus O, Dahlquist G. Evidence of a relationship between childhood-onset type I diabetes and low groundwater concentration of zinc. *Diabetes Care.* 1996;19(8):873-5.
123. Collins J, Pien FD, Houk JH. Insulin-dependent diabetes mellitus associated with pentamidine. *Am J Med Sci.* 1989;297(3):174-5.
124. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2005;22(4):359-70.
125. Kahn SE. The importance of the beta-cell in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Am J Med.* 2000;108 Suppl 6a:2S-8S.
126. Lovejoy JC. The influence of dietary fat on insulin resistance. *Curr Diab Rep.* 2002;2(5):435-40.
127. Hu FB. Sedentary lifestyle and risk of obesity and type 2 diabetes. *Lipids.* 2003;38(2):103-8.
128. Inzucchi SE, Sherwin RS. The prevention of type 2 diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2005;34(1):199-219.
129. Coustan D. Gestational diabetes. In *Diabetes In America*. 2nd ed. National Institutes of Health, Maryland, 1995; 703–16.
130. Lupo VR, Stys SJ. Recurrence of gestational diabetes in subsequent pregnancies. In Weiss PAM, Coustan DR. *Gestational Diabetes*, 1988; 123-26.
131. Casey BM, Lucas MJ, McIntire DD, Leveno KJ. Pregnancy outcomes in women with gestational diabetes compared with the general obstetric population. *Obstet Gynecol.* 1997;90(6):869-73.
132. Silverman BL, Rizzo T, Green OC, Cho NH, Winter RJ, Ogata ES. Long-term prospective evaluation of offspring of diabetic mothers. *Diabetes.* 1991;40 Suppl 2:121-5.
133. Persson B, Hanson U. Neonatal morbidities in gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1998;21 Suppl 2:B79-84.
134. Charnock-Jones DS, Kaufmann P, Mayhew TM. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. I. Molecular regulation. *Placenta.* 2004;25(2-3):103-13.
135. Evers IM, Nikkels PG, Sikkema JM, Visser GH. Placental pathology in women with type 1 diabetes and in a control group with normal and large-for-gestational-age infants. *Placenta.* 2003;24(8-9):819-25.
136. Desoye G, Korgun ET, Ghaffari-Tabrizi N, Hahn T. Is fetal macrosomia in adequately controlled diabetic women the result of a placental defect?--a hypothesis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002;11(4):258-61.

137. Creasy RK, Resnik R. Intrauterine growth restriction. In: *Maternal Fetal Medicine Principles and Practice*. 3rd ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 1994.
138. Seeds JW. Impaired fetal growth: definition and clinical diagnosis. *Obstet Gynecol*. 1984;64(3):303-10.
139. Dağoğlu T, Samancı N. *Neonatoloji: Yenidoğanın Muayenesi*. 1. baskı. Nobel tıp yayınları, İstanbul, 2000.
140. Rolschau J. The relationship between some disorders of the umbilical cord and intrauterine growth retardation. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl*. 1978;72:15-21.
141. Jaskulski D, Gatti C, Travali S, Calabretta B, Baserga R. Regulation of the proliferating cell nuclear antigen cyclin and thymidine kinase mRNA levels by growth factors. *J Biol Chem*. 1988;263(21):10175-9.
142. Scott M, Bonnefin P, Vieyra D, Boisvert FM, Young D, Bazett-Jones DP. UV-induced binding of ING1 to PCNA regulates the induction of apoptosis. *J Cell Sci*. 2001;114(Pt 19):3455-62.
143. Andre F, Fizazi K, Culine S, Droz JP, Gatineau M, Takahashi Y. Peritoneal carcinomatosis in germ-cell tumor: relations with retroperitoneal lymph node dissection. *Am J Clin Oncol*. 2000;23(5):460-2.
144. Smith SC, Price E, Hewitt MJ, Symonds EM, Baker PN. Cellular proliferation in the placenta in normal human pregnancy and pregnancy complicated by intrauterine growth restriction. *J Soc Gynecol Investig*. 1998;5(6):317-23.
145. Maruo T, Ishihara N, Samoto T, Murakoshi H, Laoag-Fernandez JB, Matsuo H. Regulation of human trophoblast proliferation and apoptosis during pregnancy. *Early Pregnancy*. 2001;5(1):28-9.
146. Danihel L, Gomolcak P, Korbel M, Pruzinec J, Vojtassak J, Janik P. Expression of proliferation and apoptotic markers in human placenta during pregnancy. *Acta Histochem*. 2002;104(4):335-8.
147. Xue WC, Feng HC, Tsao SW, Chan KY, Ngan HY, Chiu PM. Methylation status and expression of E-cadherin and cadherin-11 in gestational trophoblastic diseases. *Int J Gynecol Cancer*. 2003;13(6):879-88.
148. Acar N, Korgun ET, Cayli S, Sahin Z, Demir R, Ustunel I. Is there a relationship between PCNA expression and diabetic placental development during pregnancy? *Acta Histochem*. 2008;110(5):408-17.
149. Bamberger A, Sudahl S, Bamberger CM, Schulte HM, Loning T. Expression patterns of the cell-cycle inhibitor p27 and the cell-cycle promoter cyclin E in the human placenta throughout gestation: implications for the control of proliferation. *Placenta*. 1999;20(5-6):401-6.
150. Olvera M, Harris S, Amezcua CA, McCourty A, Rezk S, Koo C. Immunohistochemical expression of cell cycle proteins E2F-1, Cdk-2, Cyclin

- E, p27(Kip1), and Ki-67 in normal placenta and gestational trophoblastic disease. *Mod Pathol.* 2001;14(10):1036-42.
151. Ichikawa N, Zhai YL, Shiozawa T, Toki T, Noguchi H, Nikaido T. Immunohistochemical analysis of cell cycle regulatory gene products in normal trophoblast and placental site trophoblastic tumor. *Int J Gynecol Pathol.* 1998;17(3):235-40.
  152. Coan PM, Conroy N, Burton GJ, Ferguson-Smith AC. Origin and characteristics of glycogen cells in the developing murine placenta. *Dev Dyn.* 2006;235(12):3280-94.
  153. Bartkova J, Lukas J, Strauss M, Bartek J. Cyclin D3: requirement for G1/S transition and high abundance in quiescent tissues suggest a dual role in proliferation and differentiation. *Oncogene.* 1998;17(8):1027-37.
  154. McKenzie PP, Foster JS, House S, Bukovsky A, Caudle MR, Wimalasena J. Expression of G1 cyclins and cyclin-dependent kinase-2 activity during terminal differentiation of cultured human trophoblast. *Biol Reprod.* 1998;58(5):1283-9.
  155. Kiyokawa H, Kineman RD, Manova-Todorova KO, Soares VC, Hoffman ES, Ono M. Enhanced growth of mice lacking the cyclin-dependent kinase inhibitor function of p27(Kip1). *Cell.* 1996;85(5):721-32.
  156. Nakayama K, Ishida N, Shirane M, Inomata A, Inoue T, Shishido N. Mice lacking p27(Kip1) display increased body size, multiple organ hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors. *Cell.* 1996;85(5):707-20.
  157. Fukunaga M. Immunohistochemical characterization of p57(Kip2) expression in early hydatidiform moles. *Hum Pathol.* 2002;33(12):1188-92.
  158. Kim ST, Lee SK, Gye MC. The expression of Cdk inhibitors p27Kip1 and p57Kip2 in mouse placenta and human choriocarcinoma JEG-3 cells. *Placenta.* 2005;26(1):73-80.
  159. Takahashi K, Kobayashi T, Kanayama N. p57(Kip2) regulates the proper development of labyrinthine and spongiotrophoblasts. *Mol Hum Reprod.* 2000;6(11):1019-25.
  160. Kanayama N, Takahashi K, Matsuura T, Sugimura M, Kobayashi T, Moniwa N. Deficiency in p57Kip2 expression induces preeclampsia-like symptoms in mice. *Mol Hum Reprod.* 2002;8(12):1129-35.
  161. Deng C, Zhang P, Harper JW, Elledge SJ, Leder P. Mice lacking p21CIP1/WAF1 undergo normal development, but are defective in G1 checkpoint control. *Cell.* 1995;82(4):675-84.
  162. Serrano M, Lee H, Chin L, Cordon-Cardo C, Beach D, DePinho RA. Role of the INK4a locus in tumor suppression and cell mortality. *Cell.* 1996;85(1):27-37.
  163. Zhang P, Wong C, DePinho RA, Harper W, Elledge SJ. Cooperation between the cdk inhibitors p27Kip1 and p57Kip2 in the control of tissue growth and development. *Genes & Development.* 1998;12(20):3162-7.



164. Susaki E, Nakayama K, Yamasaki L, Nakayama KI. Common and specific roles of the related CDK inhibitors p27 and p57 revealed by a knock-in mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(13):5192-7.
165. Jones CJ, Fox H. An ultrastructural and ultrahistochemical study of the human placenta in maternal pre-eclampsia. *Placenta*. 1980;1(1):61-76.
166. Hustin J, Foidart JM, Lambotte R. Cellular proliferation in villi of normal and pathological pregnancies. *Gynecol Obstet Invest*. 1984;17(1):1-9.
167. Redline RW, Patterson P. Pre-eclampsia is associated with an excess of proliferative immature intermediate trophoblast. *Hum Pathol*. 1995;26(6):594-600.
168. Lyall F, Myatt L. The role of the placenta in pre-eclampsia-a workshop report. *Placenta*. 2002;23 Suppl A:S142-5.
169. Soma H, Yoshida K, Mukaida T, Tabuchi Y. Morphologic changes in the hypertensive placenta. *Contrib Gynecol Obstet*. 1982;9:58-75.
170. Teasdale F. Histomorphometry of the human placenta in maternal preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1985;152(1):25-31.
171. Allaire AD, Ballenger KA, Wells SR, McMahon MJ, Lessey BA. Placental apoptosis in preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2000;96(2):271-6.
172. Levy R, Smith SD, Yusuf K, Huettner PC, Kraus FT, Sadovsky Y. Trophoblast apoptosis from pregnancies complicated by fetal growth restriction is associated with enhanced p53 expression. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;186(5):1056-61.
173. Huppertz B, Kingdom JC. Apoptosis in the trophoblast-role of apoptosis in placental morphogenesis. *J Soc Gynecol Investig*. 2004;11(6):353-62.
174. Fleischer A, Schulman H, Farmakides G, Bracero L, Blattner P, Randolph G. Umbilical artery velocity waveforms and intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol*. 1985;151(4):502-5.
175. Nicolaides KH, Economides DL, Soothill PW. Blood gases, pH, and lactate in appropriate- and small-for-gestational-age fetuses. *Am J Obstet Gynecol*. 1989;161(4):996-1001.
176. Behrman RE, Lees MH, Peterson EN, De Lannoy CW, Seeds AE. Distribution of the circulation in the normal and asphyxiated fetal primate. *Am J Obstet Gynecol*. 1970;108(6):956-69.
177. Blankenship TN, King BF. Developmental expression of Ki-67 antigen and proliferating cell nuclear antigen in macaque placentas. *Dev Dyn*. 1994;201(4):324-33.
178. Chan CC, Lao TT, Cheung AN. Apoptotic and proliferative activities in first trimester placentae. *Placenta*. 1999;20(2-3):223-7.
179. Garnica AD, Chan WY. The role of the placenta in fetal nutrition and growth. *J Am Coll Nutr*. 1996;15(3):206-22.

180. Chen CP, Bajoria R, Aplin JD. Decreased vascularization and cell proliferation in placentas of intrauterine growth-restricted fetuses with abnormal umbilical artery flow velocity waveforms. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(3):764-9.
181. Gurel D, Ozer E, Altunyurt S, Guclu S, Demir N. Expression of IGR-IR and VEGF and trophoblastic proliferative activity in placentas from pregnancies complicated by IUGR. *Pathol Res Pract.* 2003;199(12):803-9.
182. Axt R, Kordina AC, Meyberg R, Reitnauer K, Mink D, Schmidt W. Immunohistochemical evaluation of apoptosis in placentae from normal and intrauterine growth-restricted pregnancies. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 1999;26(3-4):195-8.
183. Erel CT, Dane B, Calay Z, Kaleli S, Aydinli K. Apoptosis in the placenta of pregnancies complicated with IUGR. *Int J Gynaecol Obstet.* 2001;73(3):229-35.
184. Endo H, Okamoto A, Yamada K, Nikaido T, Tanaka T. Frequent apoptosis in placental villi from pregnancies complicated with intrauterine growth restriction and without maternal symptoms. *Int J Mol Med.* 2005;16(1):79-84.
185. Murthi P, Kee MW, Gude NM, Brennecke SP, Kalionis B. Fetal growth restriction is associated with increased apoptosis in the chorionic trophoblast cells of human fetal membranes. *Placenta.* 2005;26(4):329-38.
186. Jones CJ, Fox H. An ultrastructural and ultrahistochemical study of the placenta of the diabetic woman. *J Pathol.* 1976;119(2):91-9.
187. Fox H. Pathology of the placenta in maternal diabetes mellitus. *Obstet Gynecol.* 1969;34(6):792-8.
188. Teasdale F. Histomorphometry of the placenta of the diabetic women: class A diabetes mellitus. *Placenta.* 1981;2(3):241-51.
189. Leach L, Gray C, Staton S, Babawale MO, Gruchy A, Foster C. Vascular endothelial cadherin and beta-catenin in human fetoplacental vessels of pregnancies complicated by Type 1 diabetes: associations with angiogenesis and perturbed barrier function. *Diabetologia.* 2004;47(4):695-709.
190. Robinson J, Canavan JP, el Haj AJ, Goldspink DF. Maternal diabetes in rats. I. Effects on placental growth and protein turnover. *Diabetes.* 1988;37(12):1665-70.
191. Burleigh DW, Stewart K, Grindle KM, Kay HH, Golos TG. Influence of maternal diabetes on placental fibroblast growth factor-2 expression, proliferation, and apoptosis. *J Soc Gynecol Investig.* 2004;11(1):36-41.
192. Sgarbosa F, Barbisan LF, Brasil MA, Costa E, Calderon IM, Goncalves CR. Changes in apoptosis and Bcl-2 expression in human hyperglycemic, term placental trophoblast. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006;73(2):143-9.
193. Bravo R, Macdonald-Bravo H. Existence of two populations of cyclin/proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle: association with DNA replication sites. *J Cell Biol.* 1987;105(4):1549-54.

## ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Antalya’da doğdu. İlköğrenimini 1994 yılında Akdeniz Koleji’nin ilk kısmında, ortaöğrenimini 1997 yılında Kamile Çömlekçiođlu Ortaokulu’nda ve liseöğrenimini 2000 yılında Akdeniz Koleji Fen Lisesi’nde tamamladı. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü’nden 2006 yılında mezun olarak lisans eğitimini tamamladı. 2007 yılında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda Üreme Biyolojisi Programı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. İngilizce bilmektedir.