

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
BİLİM DALI DOKTORA TEZİ**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**KADMIYUMUN GEBELİĞİN FARKLI
DÖNEMLERİNDEKİ SIÇAN PLASENTALARINDA
BULUNAN TROFOBLAST HÜCRE
PROLİFERASYONU VE APOPTOZİSİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

(Doktora Tezi)

Mustafa ERBOĞA

Referans no: 10005200

EDİRNE – 2013

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
BİLİM DALI DOKTORA TEZİ**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**KADMIYUMUN GEBELİĞİN FARKLI
DÖNEMLERİNDEKİ SIÇAN PLASENTALARINDA
BULUNAN TROFOBLAST HÜCRE
PROLİFERASYONU VE APOPTOZİSİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

(Doktora Tezi)

Mustafa ERBOĞA

Destekleyen Kurum:

Tez No :

EDİRNE – 2013

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Mehmet KANTER danışmanlığında doktora öğrencisi Mustafa ERBOĞA tarafından tez başlığı "Kadmiyumun Gebeliğin Farklı Dönemlerindeki Sıçan Plasentalarında Bulunan Trofoblast Hücre Proliferasyonu ve Apoptozisi Üzerine Etkisi" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 28/06/2013 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "Doktora Tezi" olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Mehmet KANTER

JÜRİ BAŞKANI



Doç. Dr. Turan KARACA

ÜYE



Doç. Dr. Nurettin CENGİZ

ÜYE



Doç. Dr. Selman ÇIKMAZ

ÜYE



Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ

ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Tammam SİPAHİ

Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Eğitimim süresince, yetiŐmemde büyük emeği olan ve benden hiçbir fedakârlığı esirgemeyen sevgili aileme ve eŐime minnettarım. Lisansüstü eğitimim boyunca beni yetiŐtiren, bilgi ve tecrübelerini bana aktaran, çalıŐmam sırasında bilimsel katkıları ve yardımlarını esirgemeyen, danışman hocam sayın Prof. Dr. Mehmet KANTER'e, araŐtırmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım sayın hocalarım Doç. Dr. Turan KARACA, Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ve Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ'a ve çalıŐmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji anabilim dalındaki tüm çalışma arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
PLASENTA	4
İNSAN PLASENTASININ GELİŞİMİ VE YAPISI	5
SIÇAN PLASENTASININ GELİŞİMİ VE YAPISI	8
İNSAN VE SIÇAN PLASENTASININ KIYASLANMASI	13
KADMİYUM	15
KADMİYUM KAYNAKLARI VE MARUZİYET YOLLARI	16
KADMİYUMUN METABOLİZMA ÜZERİNE ETKİLERİ	17
PROLİFERE OLAN HÜCRE NÜKLEER ANTİJENİ	20
APOPTOZİS	20
GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
BULGULAR	27
TARTIŞMA	51
SONUÇLAR	57
ÖZET	58
SUMMARY	60
KAYNAKLAR	62
ŞEKİLLER LİSTESİ	74
ÖZGEÇMİŞ	77
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
H+E	: Hematoksilen+Eosin
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HSCORE	: Histolojik skorlama
IUGR	: Uterus içi büyüme geriliği
PBS	: Fosfat Tampon Solüsyonu
PCNA	: Prolifere hücre nükleer antijen
TdT	: Terminal deoksinükleotidil transferaz
TUNEL	: Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate-biotin nick end-labeling
µm	: Mikrometre

GİRİŞ VE AMAÇ

Plasenta, anne ile fetus arasındaki birçok metabolik aktiviteyi düzenleyen ekstraembriyonik bir yapıdır ve gebeliğin sonucunu etkileyen önemli bir organdır. Embriyonunun sağlıklı bir şekilde gelişebilmesi için, plasental gelişimin tam olması gerekir. Erken embriyonik ölümlerin en büyük nedenlerinden birisi de anormal plasental gelişimlerdir. Plasental gelişim bozuklukları insanlarda düşük, preeklampsi ve fetusta büyüme geriliği gibi sonuçlar doğurmaktadır (1-3).

Plasenta, fetusun immünolojik reddi, besinlerin transportu, fetal atıkların uzaklaştırılması ve fetal, maternal ve plasental metabolizmaları etkileyen çeşitli peptid ve steroid hormonların sentezini sağlayan ve dolayısıyla uterus içinde gelişmekte olan embriyoyu koruyan çok özel bir yapıdır (4,5).

Plasental bozuklukların moleküler mekanizmasını açıklamaya yönelik deney hayvanlarında birçok genetik çalışma yapılmaktadır. Bu bozukluklar; düşükler, bazı uterus içi büyüme geriliği tipleri ve preeklampsiyi içermektedir. Türler arasındaki moleküler benzerlikleri test etmek amacıyla insan ve sıçan plasentaları arasındaki yapısal farklılık ve benzerlikleri anlamak gerekmektedir (6). İnsan ve sıçan plasentaları aralarında farklılıklar gösterse de yapısal ve gelişimsel olarak büyük benzerlikler de göstermektedir. Bu nedenle sıçan plasentasını, plasental gelişim çalışmalarında sıkça kullanılan bir modeldir (7).

Sağlıklı bir plasental gelişim esas olarak trofoblast proliferasyonu, differansiyasyonu ve apoptozisin birlikte gerçekleşmesine bağlıdır. Doku homeostazisi yani yeniden yapım ve yıkımın bir düzen içinde oluşu, apoptozis/proliferasyon dengesinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesine bağlıdır (8,9).

Plasenta çevre koşullarına bağlı olarak çeşitli zararlı maddelere maruz kalabilmektedir. Günümüzde, çeşitli endüstri kollarındaki gelişmeler, modern tekniklere dayalı tarımın yaygınlaşması ve kentleşme sonucunda kadmiyum ve benzeri ağır metallerin su ve hava ortamındaki derişimi artış göstermiştir. İnsan ve hayvanlar doğrudan solunum yolu ile veya besin zinciri aracılığıyla ağır metallere maruz kalarak önemli sağlık problemleri yaşayabilirler. Özellikle kadmiyum gibi toksik elementler, içme suları veya bu ağır metal ile kontamine besinlerin tüketilmesi sonucu hayvan ve insanlarda önemli sağlık sorunları oluşturur (10,11).

Kadmiyum endüstride geniş kullanım alanına sahip, canlılar üzerinde toksik etkileri olan ve çevre kirliliğine yol açan bir ağır metaldir. Kullanım alanlarının yaygınlığı ve sigarada da yüksek miktarlarda bulunması, bu metalin toksik etkilerinin yaygın çalışılan bir konu haline gelmesine neden olmuştur. İnsan yaşamını etkileyen önemli kadmiyum kaynakları, sigara dumanı, rafine edilmiş yiyecek maddeleri, su boruları, kahve, çay, kömürün yakılması sonucu açığa çıkan ürünler, kabuklu deniz ürünleri, kullanılan gübreler ve endüstriyel üretim aşamalarında oluşan baca gazlarıdır. Endüstriyel olarak kadmiyum zehirlenmesi, kaynak yapımı sırasında kullanılan alaşım bileşimleri, elektrokimyasal kaplamalar, kadmiyum içeren boyalar ve kadmiyumlu piller ile oluşur. Kadmiyum önemli miktarda gümüş kaynaklarda ve sprey boyalarda da kullanılmaktadır. Mesleki ve çevresel kadmiyum maruziyeti plasenta, böbrek, karaciğer, testis ve akciğer gibi dokularda ciddi hasarlara neden olmaktadır. Fakat kadmiyumun bu toksik etkilerinin mekanizması henüz tamamıyla aydınlatılamamıştır (10-13).

Hücre siklusu regülatörlerinden olan proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA), çekirdek içi bir antijendir ve deoksiribonükleik asit (DNA) polimeraz gamma'nın alt birimi olarak hücre döngüsünde rol oynar. Hücre siklusunun geç G1 evresinde, DNA replikasyonundan hemen önce, bu proteinin miktarında artış gözlenir ve bu artış S evresine kadar sürer. G2 ve M evresinde ise PCNA miktarı düşer. PCNA bu özellikleri nedeniyle bir proliferasyon işaretleyicisi olarak kullanılır. G1 evresinden S evresine geçen hücrelerde PCNA ekspresyonu çekirdekte belirlenerek bir hücrenin mitotik erki izlenebilir. Ayrıca PCNA'nın olmadığı ya da çok az olduğu durumlarda hücrenin apoptozise gittiği bildirilmiştir (14-16).

Apoptozis, plasentanın normal gelişimi için gerekli olan bir süreçtir (17). Plasentada apoptozisi düzenleyen mekanizmalardaki bazı anormalliklerin, sinsityotroblast hücrelerinin fonksiyonlarını engelleyerek materno-fetal transport mekanizmasının bozulmasına yol açtığı ve bunun sonucunda da uterus içi büyüme geriliğinin (IUGR) görüldüğü (18,19) bilinmektedir. Apoptozis trofoblast kültürlerinde indüklenebilmiş ve plasental villilerdeki

trofoblastlarda tesbit edilebilmiştir. Trofoblastlar, anne ile bebek arasındaki gaz, besin maddeleri ve artık maddelerin değiş-tokuşunu düzenlerler, bu "anahtar yüzeydeki" apoptozis ve kontrol mekanizmalarının iyi anlaşılması normal plasental gelişim ve bazı riskli gebeliklerde (preeklampsi, IUGR vb.) olan plasental disfonksiyonunun nedenini açıklayabilir (20,21)

Sonuç olarak yapılan literatür incelemelerinde, kadmiyumun plasental gelişim üzerine olan etkisini gösteren literatüre rastlanılmamıştır. Bu nedenle planladığımız çalışmada; gebeliğin farklı günlerinde, kadmiyumun plasentadaki trofoblast proliferasyonu ve differensiyasyonu ile apoptotik aktiviteyi nasıl etkilediğini, dolayısıyla plasental gelişim üzerine olan etkilerini immünohistokimyasal ve TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate-biotin nick end-labeling) teknikleriyle göstermeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

PLASENTA

Plasenta, memelilerde ve insanda gebelik sırasında gelişen, anne ile embriyo arasındaki metabolik işlevlerin gerçekleşmesine olanak sağlayan ve çeşitli endokrin aktiviteler gösteren geçici bir organdır (22). Fetusun gelişimi için çok önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Bazı hormonların (insan koryonik gonadotropin, insan plasental laktojen vs.) sentezlenmesi, maternal besinlerin ve oksijenin fetusa ulaşması ve fetal metabolik atıkların maternal dolaşıma verilmesinde de görev almaktadır (23). Miyadında plasenta, disk biçimli, 15-25 cm çapında, ortalama 3 cm kalınlığında ve 500-600 gr ağırlığındadır (24). Plasentanın oluşumu yani placentasyon, fetusun ekstraembriyonik dokuları ile anne endometriyal dokuları arasındaki karmaşık bir etkileşim sonucunda olur (25).

Plasenta Çeşitleri

Memeli hayvanlarda ve insanda dış görünüş ve morfolojilerine göre plasentalar iki gruba ayrılır: yarım plasenta ve tam plasenta.

A) Yarım plasenta (semiplasenta) : Bu tip plasentalarda uterus mukozası ile koryon villusları arasındaki bağlantı genellikle gevşektir, temas halindedir. Dolayısıyla doğum esnasında villuslar endometriyumu zedelemeyen ayrılırlar, kanama görülmez, desidua da şekillenmemiştir (adesiduata). Bu tipe tek tırnaklılarda, domuzlarda ve ruminantlarda rastlanır. Yarım plasentalar kendi içinde, uterus ile koryon arasındaki ilişki derecesine göre 'plasenta epithelio-koryalis' ve 'plasenta syndesmo-koryalis' olmak üzere iki alt gruba ayrılır (24).

B) Tam (hakiki) plasenta (euplasenta): Kedi, köpek, kemiriciler, maymun ve insanda rastlanan bu tip plasentalarda uterus mukozası ile koryon birbirine sıkı sıkıya yapışmış ve kaynaşmıştır. Desidua şekillendiğinden (desiduata), doğumda uterus mukozasında az veya çok kanama, zedelenme ve sonunda atılma görülür (24).

Tam plasentalar da uterus-koryon ilişkisine göre ‘plasenta endothelio-koryalis’ ve ‘plasenta hemo-koryalis’ olmak üzere iki alt gruba ayrılır:

Plasenta hemo-koryalis: Kemirgenlerde, primatlarda ve insanda görülür. Bu tip plasentalara villuslar koryon kesesinin belirli bir yerinde disk şeklinde bir topluluk meydana getirdikleri için diskoidal plasenta da denir. Uterus mukozasının villuslar karşısında bulunan epiteli, bağ dokusu ve kan damarlarının bütün katmanları erimiş olduğundan, villuslar serbest bir halde anne kanı ile temas halindedir (hemo-koryal ilişki) (24).

Hemokoryal plasentalar, trofoblast hücrelerinin tabaka sayısına bağlı olarak hemo-mono, hemo-di veya hemo-trikoryal olarak sınıflandırılırlar. İnsan plasentasında bir trofoblast tabakası olduğundan hemo-monokoryal, kemirgen plasentasında ise üç trofoblast tabakası olduğundan hemo-trikoryal plasenta olarak isimlendirilir (26).

İNSAN PLASENTASININ GELİŞİMİ VE YAPISI

Plasentanın oluşumu gebeliğin erken dönemlerinde, embriyo blastosist aşamasındayken başlar. Embriyo uterus duvarı içine implante olduktan sonra iç hücre kitlesi fetusu oluşturmak üzere, dış hücre kitlesi de plasentayı oluşturmak üzere farklılaşmaya başlar. Bu aşamada uterusun iç kısmını döşeyen ve endometrium adı verilen tabakada birtakım farklılaşmalar görülür ki bu tabaka bu farklılaşmalar sonucunda desidua ismini alır. Endometriumun bu değişimi ovaryumdan salgılanan hormonların etkisi ile olur. Plasenta yaklaşık olarak gebeliğin 18. haftasına kadar büyümeye devam eder. Bu döneme kadar gebeliğin sürdürülmesi için gerekli hormonal destek ovaryumlar tarafından sağlanırken daha sonra bu görevi plasenta üstlenir (27).

Plasentanın Yapısı

İnsan plasentası iki kısımdan oluşan fetomaternal bir organdır. Maternal yüzü, bazal plate olarak adlandırılır. Lobüle yapıdadır ve her bir lobüle kotiledon denir. Maternal yüzde yaklaşık 10-40 adet kotiledon vardır. Kotiledonlar fonksiyonel yapılar değildir. Fetal yüzü ise koryonik plak olarak adlandırılır ve düzgün yüzeylidir. Fetal yüzden umbilikal kordon çıkar ve plasentayı fetusa vasküler olarak bağlar (28).

Histolojik olarak değerlendirildiğinde plasentayı oluşturan yapıya villus adı verilir. Villus yapısı; implantasyondan yaklaşık 1 hafta sonra placentae ekstraembriyonik mezoderm ve trofoblast (sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast) tabakalarından oluşur. Sitotrofoblastların tek sıra sinsityotrofoblastlar ile çevrili olduğu trofoblast kolonları birincil (primer) villusları oluşturur. Başlangıçta embriyonal kutupta olan primer villuslar daha sonraları embriyonal kutbun karşısına doğru yayılarak sayılarını arttırmaya başlarlar. Primer villuslar oluşuktan kısa bir süre sonra dallanmaya başlarlar. Üçüncü haftanın başında primer villusların içine alttaki ekstraembriyonik somatik mezodermin girmesiyle ikincil (sekonder) villuslar oluşur. Sekonder villusların ortasında gevşek mezenşimal bağ dokudan oluşmuş bir öz vardır. Üçüncü haftanın sonunda sekonder villusların ortasındaki gevşek mezenşim içindeki mezodermal hücreler küçük kan kapillerlerine ve kan hücrelerine farklılaşırlar. Sekonder villuslar, içlerinde kan kapillerlerinin oluşmasıyla üçüncül (tersiyer) villus adını alır. Tersiyer villus, içinde fetal dolaşımın başladığı ve bu anlamda fonksiyonel olarak olgunluğa erişmiş villusdur ve bu dönemden sonra bütün villuslar tersiyer villus yapısındadır (29,30).

Villuslar makroskopik olarak ağaç gibi yapılanmışlardır. Her bir villöz ağacı plasentanın koryonik plağından kalın bir kök ile çıkar ve ileriye doğru gittikçe dallanır. Bunlardan çoğu intervillöz mesafede serbestçe yüzer, az bir kısmı ise maternal stroma içine girer. Serbest olanlara yüzen (floating=koryonik), maternal stroma içine girenlere ise çapalanan (anchoring) villus adı verilir. Her bir villus ağacı ve etrafındaki intervillöz mesafe fonksiyonel bir ünite oluşturur. Bu fonksiyonel üniteye “plasentome” adı verilir ve plasentada 60-70 tane plasentome bulunur. Her bir plasentome ortalama olarak 2-4 cm büyüklüğündedir ve plasental septumlarla birbirinden ayrılmıştır (31).

Plasental Dolaşım

Plasental dolaşım fetusa besin maddeleri ve oksijenin sağlanması için şarttır. Villus dallanmalarının anne kanı ile yeterince teması fetus için son derece önemlidir. Yetersiz uteroplasental dolaşım fetal hipoksi ve intrauterin gelişme geriliği ile sonuçlanır. Daha ciddi dolaşım yetersizlikleri fetal ölüme sonuçlanır. Plasentanın yapı ve fonksiyonu göz önüne alınarak, plasental kan dolaşımını fetal ve maternal dolaşım olarak iki başlık altında incelenmektedir (32).

Fetal dolaşım: Oksijenden fakir olan kan fetustan çıkar ve umbilikal arterden geçerek plasentaya gelir. Göbek bağının plasentaya temas bölgesinde bu arterler ışınsal olarak birçok dala ayrılır. Kan damarları villuslar içinde yoğun bir arteriyo kapillervenöz sistem oluşturur.

Böylelikle fetal kan anne kanı ile yoğun olarak yaklaşır. Normalde anne ile fetus kanı hiçbir zaman birbirine karışmaz. Ancak bazen plasental membranlarda oluşabilecek olan küçük defektlerden az miktarda fetus kanı anne dolaşımına geçebilir. Fetal kan ile anne kanı arasında geçiş oluştuktan sonra oksijen içeriği yüksek olan kan ince duvarlı venler aracılığı ile taşınır. Bu venler koryonik plak bölgesinde birleşerek göbek kordonunda uzanan vena umbilikalisi oluşturur. Umbilikal ven, oksijenden zengin kanı fetusa taşır (32).

Maternal dolaşım: Desidual plağı delen 80-100 adet spiral arter plasentaya maternal kan getirir. Spiral arterlerdeki kan, maternal kan basıncına bağlı olarak aralıklarla intervillöz aralığa fıskırtılır. Intervillöz aralığa giren kan, intervillöz aralıktan çok daha yüksek bir basınca sahiptir, bu nedenle koryon plağına doğru hızla fıskırır, intervillöz aralıkların derinliklerine kadar yayılarak villusları yıkar. Kanın hızı, villus dallarının civarında giderek azalır. Villus dallarını düş seklinde yıkayarak ve hızı oldukça yavaşlamış olarak aşağıya doğru süzülür. Böylece, fetal kapillerlerle madde alışverişi için uygun bir ortam oluşur. Intervillöz aralığı bu şekilde dolaşan maternal kan, desidua bazalisteki çok sayıda endometriyal venler aracılığıyla maternal dolaşıma geri döner (33).

Tam gelişmiş bir plasentada, intervillöz aralıklar 150 ml kadar kan içerir ve bu kan dakikada ortalama 3-4 kez yenilenir. Koryon villusları maternal kan içine gömülü olduğundan, fetal kan plasental bariyer oluşturan yapılarla izole edilir. Anne ile fetus dolaşımını birbirinden ayıran plasental bariyer gebeliğin ilk döneminde şu yapılardan oluşur;

1. Fetal damarların endoteli
2. Endotel bazal laminası
3. Villus bağ dokusu
4. Sitotrofoblastların bazal laminası
5. Sitotrofoblastik tabaka
6. Sinsityotrofoblastik tabaka

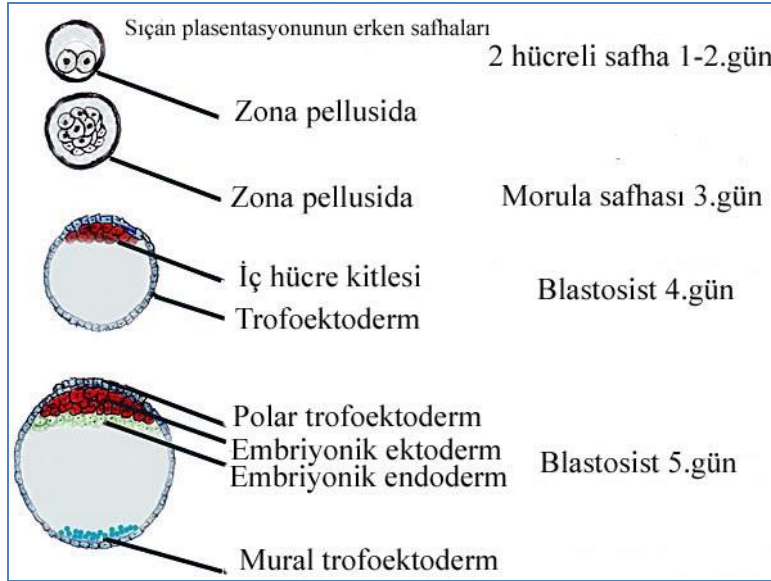
Onaltıncı haftadan sonra madde alışveriş hızını arttırmak için bir takım değişiklikler olur. Fetal damarlar villus yüzeyine, sinsityotrofoblast tabakasına doğru yaklaşır. Sitotrofoblastik katman ortadan kalkmaya başlar ve beşinci ayda tamamına yakınının kaybolmasının sonucunda plasental bariyer inceler. Olgun plasentada bu bariyer;

- 1.Sinsityotrofoblastik tabaka
- 2.Bu tabakanın bazal laminası
- 3.Fetal kapillerlerin bazal laminası
- 4.Fetal kapiller endotelinden oluşmaktadır (33-35).

SİÇAN PLASENTASININ GELİŞİMİ VE YAPISI

Kemirgen ailesinin bir üyesi olan *Rattus norvegicus* türü sıçanların ortalama ağırlıkları 250 gr'dır. Gebelik süreleri genellikle 21 gün olup yavru sayısı 14'e kadar ulaşabilir, ortalama yavru sayısı ise 7'dir (36).

Fertilizasyondan sonra 1-2. günlerde embriyo yarıklanır ve iki hücreli olur. 2-3. günde 4 hücreli evreye, 4. günde ise blastosist evresine ulaşılır. 4. günün sonunda ise blastosist, trofoektoderm ve iç hücre kitlesine farklılaşır. 5. günde trofoektoderm tabakası, trofoektoderm hücrelerinin iç hücre kitlesine komşuluk yapıp yapmamalarına göre 2 bölgeye ayrılır: İç hücre kitlesinin üzerinde yer alan polar trofoblastlar ve blastosölü çevreleyen mural trofoblastlar (Şekil 1). Yarıklanma boyunca ve morula safhasına kadar blastomerler totipotenttir. Morulada bir hücrenin kaderi bulunduğu yere göre belirlenir. Dıştaki hücreler trofoblastı ya da trofoektodermi (gelecekte plasentayı) ve içteki hücreler iç hücre kitlesini (gelecekte embriyoyu) oluşturur (37,38).



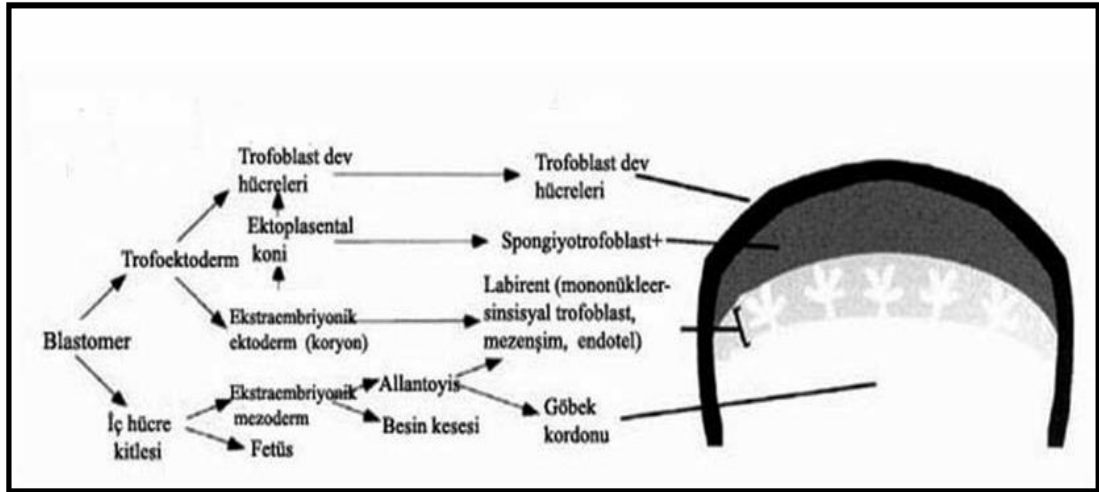
Şekil 1. Sıçan plasenta gelişiminin erken safhaları (39).

İmplantasyon

Fertilizasyonundan sonra 5. günde blastosist zona pellusidadan kurtulur ve 5. günün sonunda uterus lümeninin antimezometriyal bölgesine implante olur. Ancak definitif (olgun) plasenta mezometriyal bölgeye doğru oluşur ve o bölgede varlığını sürdürür. Altıncı günde blastosist büyüklüğü artar ve uzar. İmplantasyon alanındaki stromal hücrelerin

(fibroblastların) desidua hücrelerine dönüşmesiyle desidualizasyon denilen olay meydana gelir (37,38).

İmplantasyondan sonra iç hücre kitlesinin üzerindeki polar trofoblastlar prolifer olmaya devam ederler ve iç hücre kitlesini blastosölük kaviteye doğru iterek gelişimin yumurta silindiri denilen safhasını oluşturur. Daha sonra bu hücreler apikal olarak göç eder ve birbirlerinin üzerine yığılırlar. Bu yığılmanın sonucunda embriyonik 7-8. günlerde ektoplasental koni ve ekstraembriyonik ektoderm oluşmuş olur. Ektoplasental koni, önce sekonder trofoblast dev hücrelerini oluştururlar ve bu hücreler konseptusu çevrelemek üzere göç edip bağlantı zonunun maternal yüzeyini sınırlarlar. Ektoplasental koni daha sonra da koryoallantoyik plasentanın spongiyotrofoblast tabakasını oluştur (Şekil 2) (37,40).

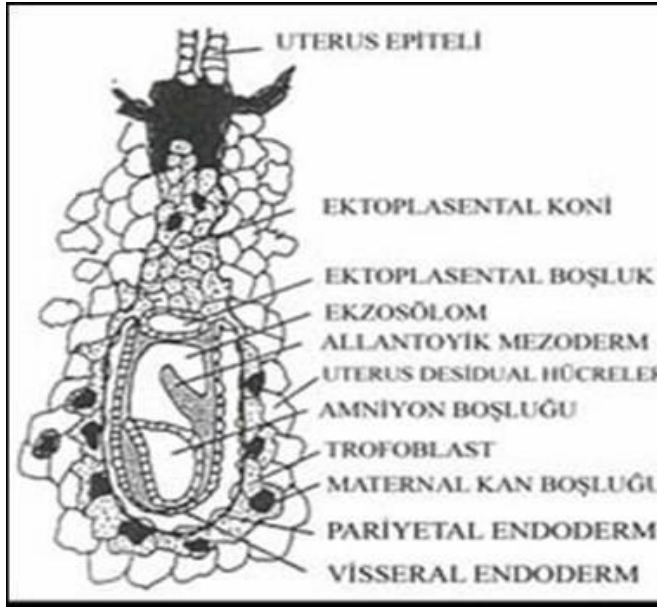


Şekil 2. Sıçan plasentasının gelişimi (41).

İç hücre kitlesi içerisinde gelişen primitif endoderm hücreleri, blastosöl boşluğunu döşemek üzere mural trofoektodermi iç yüzeyi üzerine göç ederler ve pariyetal endodermi oluştururlar. Yumurta silindirinin üzerindeki primitif endoderm hücreleri de visseral endodermi oluşturur. Bu iki hücre tipi morfolojik olarak oldukça farklıdır. Pariyetal endoderm hücreleri küçük, iğ şeklinli hücrelerken, visseral endoderm hücreleri ise prizmatik şekillidirler (Şekil 3) (42,43).

Pariyetal endoderm, Reichert membranı adı verilen ve sadece kemirgenlerde görülen kollajen, laminin ve distroglikanca zengin kalın bir bazal membran tabakası salgılar. Bu membran pariyetal endoderm hücreleri ve trofoblast dev hücreleri arasında yer alır. Bir bazal membranın tüm morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine sahip olan bu yapı koruyucu bir

membran görevi görür. Maternal/fetal yüzeyin bütünlüğünü sağlar ve erken postimplantasyon periyodunda difüzyonel maternal kökenli besinler için karşılıklı değişim tabakasını oluşturur. Trofoblast dev hücreleri, Reichert membranı ve pariyetal endodermi içeren bu yapılar pariyetal yolk salk'ı oluşturur. Pariyetal yolk salk plasental fonksiyon gören en erken yapıdır. Postimplantasyon evresindeki embriyoda pariyetal yolk salk uterus ile direkt olarak kontakt kuran ekstraembriyonik membrandır. Pariyetal yolk salk gebeliğin ilerleyen günlerinde dejenere olur (44).

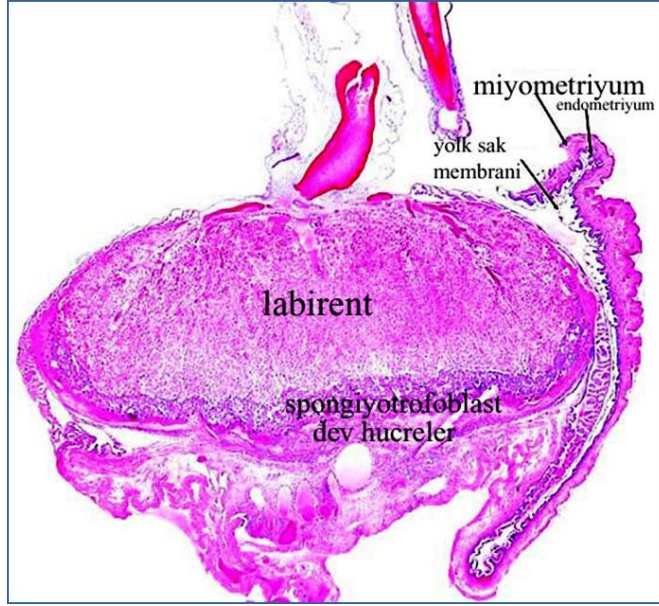


Şekil 3. Sıçanda plasental gelişim (43).

Plasentanın Yapısı

Sıçanlarda plasenta gebeliğin 12. gününde gelişmesini tamamlar ve olgun yapısına ulaşır. Olgun plasenta embriyodan maternal bölgelere doğru 4 kısımda incelenir (Şekil 4) (45).

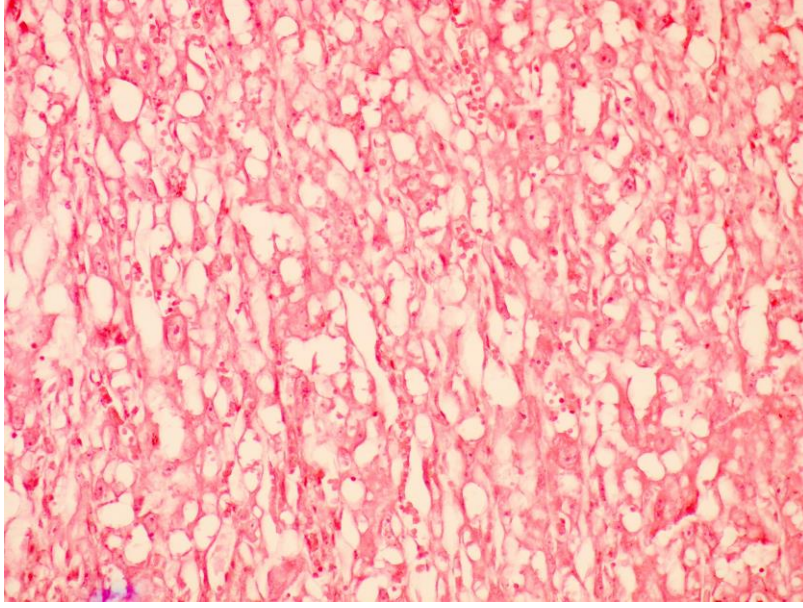
- 1-Labirent
- 2-Spongiyotrofoblast tabakası
- 3-Trofoblast dev hücre tabakası
- 4-Maternal desidual katman



Şekil 4. Sıçanlarda term plasentanın genel görünümü (39).

1-Labirent: Bu tabaka ekstraembriyonik ektodermden gelişir ve fetal ve maternal kısımlar arasında besin ve gaz değişiminin yapıldığı alandır. Labirent tabakası gebeliğin 9. gününde oluşmaya başlar ve besin ve gaz değişimi için geniş bir yüzey alanı oluşturur (Şekil 5) (46).

Fetal yüzündeki trofoblast hücreleri dallanmalar yapar ve villusları oluştururlar. Bu villuslar koryon villusları adını alır. Umbilikal kord içerdiği fetal arter ve venlerle koryon plağına dahil olur. Koryonik villusların dış yüzeyi trofoblast hücrelerinden, iç kısımları ise allantoik mezoderm ve damarlardan oluşmaktadır (47). Labirent trofoblast tabakası 3 tabakalıdır. İlk tabaka maternal kan ile doğrudan temasta bulunan sitotrofoblast hücreleri, 2. ve 3. tabaka ise sinsityotrofoblastlardan oluşur (7).



Şekil 5. Gebeliğin 19.gününde labirentin detaylı görünümü.

2-Spongiyotrofoblast (trofospongiyum) tabakası: Plasentanın maternal yüzeyini sınırlandıran ve ektoplasental kondan köken alan tabakadır. Bu tabakada fetal kan damarları bulunmaz ama maternal kan kanalları bu bölgenin içerisinde geçer. Bu tabakadaki trofoblast hücreleri prolaktin benzeri protein A, insan plasental laktojen gibi çeşitli proteinler salgılayarak maternal metabolizmayı etkilerler (48,49). Bu tabakada spongiyotrofoblastların yanında gözlenen bir diğer hücre tipi trofoblast glikojen hücreleri (glikojenik hücre)'dir (Şekil 6). Gebeliğin 13. gününden sonra glikojen trofoblast hücreleri sıçan plasentasında gruplar halinde görülmeye başlar ancak sayıları gebeliğin ilerlemesiyle azalır. Bunlar oldukça vakuollü hücrelerdir, büyük miktarlarda glikojen içerirler ve sitoplazmaları açık renkte görünür. Spongiyotrofoblast hücrelerinin karakteristiği olan genleri eksprese etmeleri (örneğin: trofoblast spesifik protein beta), bunların spongiyotrofoblast hücresinin farklılaşmış bir alt tipi olduğunu gösterir. Labirent zonda da glikojenik hücreler bulunur ancak herhangi bir fonksiyona sahip olup olmadıkları bilinmemektedir (50). Glikojen hücrelerinin, insülin benzeri büyüme faktörü gibi protein yapıdaki hormonları sentezlemeleri ve salgılamaları fetomaternal etkileşimleri etkileyebileceklerini göstermektedir (51).

3-Trofoblast dev hücre tabakası: Endoreduplikasyon sonucu oluşan poliploid hücrelerdir ve maternal desidua ile bağlantı zonu arasında sınır oluştururlar (Şekil 6) (52). Bu hücreler implantasyon zamanında invaziv hücrelere farklılaşırlar ve uterus epitel hücrelerini

invaze ederler. Uterus stromasına penetre olarak maternal kan ile vasküler bağlantılar yaparlar. Salgıladığı hormon ve büyüme faktörleriyle gebeliğin devamı için önemlidirler (53).



Şekil 6. Gebeliğin 17. gününde spongiyotrofoblast ve dev hücre tabakasının detaylı görünümü. Açık boyanan glikojenik hücreler (gh), spongiotrofoblastlar (ince oklar) ve dev hücreler (kalın oklar) görülmektedir.

4-Maternal desidual katman: Gebeliğin erken dönemlerinde endometriyumda şekillenen desidua hücreleri katmanıdır. Gebeliğin sonuna doğru atrofiye olur.

İNSAN VE SIÇAN PLASENTASININ KIYASLANMASI

1-Sınıflandırma

İnsan ve sıçan plasentaları fetal plaseenta/labirentin şekli nedeniyle her iki türde de diskoidal olarak sınıflandırılır. İnsanlar çoklu kotiledonlara sahipken sıçanlarda tek bir kotiledon vardır. Ancak insanda her ne kadar çoklu kotiledon yapısı varsa da, bu kotiledonların tümü tek bir diske benzeyen sağlam bir demet oluşturur.

İnsan ve sıçan plasentası her iki türde de koryo-allantoyik tiptedir. Aralarındaki farklılık maternal ve fetal yapılar arasındaki tabaka sayısındadır. İnsan hemomonokoryal plasentaya sahipken, sıçanlarda ise hemotrikoryal plaseenta vardır (54).

2- Fetal Plasenta ve Labirent

İnsan plasentasında fetal yarım ile kemirgen labirent tabakası, fetal ve maternal kanın fizyolojik değişimine olanak sağladıkları için fonksiyonel olarak analogturlar (54). Her iki türde de bu bölge, fetal yüzünde ekstraselüler matriks tarafından desteklenen bir trofoblast tabakası tarafından sınırlanır ve koryonik plak olarak bilinir. Göbek kordonu, içerdiği fetal arter ve venlerle, koryonik plak aracılığıyla plasentaya bağlanır. Koryonik plaktan koryonik villi olarak bilinen birçok ağaç benzeri yapı çıkar. Koryon plağının dış yüzeyi trofoblast, iç kısımları ise allantoik mezoderm ve damarlardan oluşmaktadır. Allantoik damarlar ve ilişkide olduğu fetal dolaşım, fötoplasental dolaşım sistemini oluşturur. Koryonik plağın trofoblast hücreleri, bağlantı zonu aracılığıyla labirente ulaşan maternal kan ile yıkanır. Bu alanlarda uteroplasental dolaşım gerçekleşir (51,55). Ancak bu iki yapı, koryonik plağın ana dallarından türeyen dallanmalarında farklılıklar gösterirler. İnsan plasentası villöz tiptedir ve koryonik villi sayısız dal ve alt dal içeren bir ağaca benzer. Sıçan plasentası ise labirent tiptedir ve ana koryonik çıkıntılarının dalları birbiriyle çok fazla dallanma yaparlar. Bu farklılığın bir sonucu olarak insan fetal plasentasında maternal kanın dolaştığı boşluk (intervillöz boşluk) sıçan labirent tabakasından daha geniştir (55,56).

3- Bazal Plak ve Spongiyotrofoblast Tabakası

İnsan plasentasının bazal plağı ve sıçan plasentasındaki bağlantı zonu birbirinin homologudur ve fetal plasenta/labirent oluşumunun maternal yüzünü oluşturur. Her iki yapıda da fetal kan ve kan damarları yoktur. Bu bölgede iki türde de sitotrofoblastlar vardır. İnsan bazal plağında da endovasküler ve interstisyel sitotrofoblastlar varken, sıçanlarda bağlantı zonunda spongiyotrofoblastlar ve trofoblast glikojen hücreleri vardır. (57).

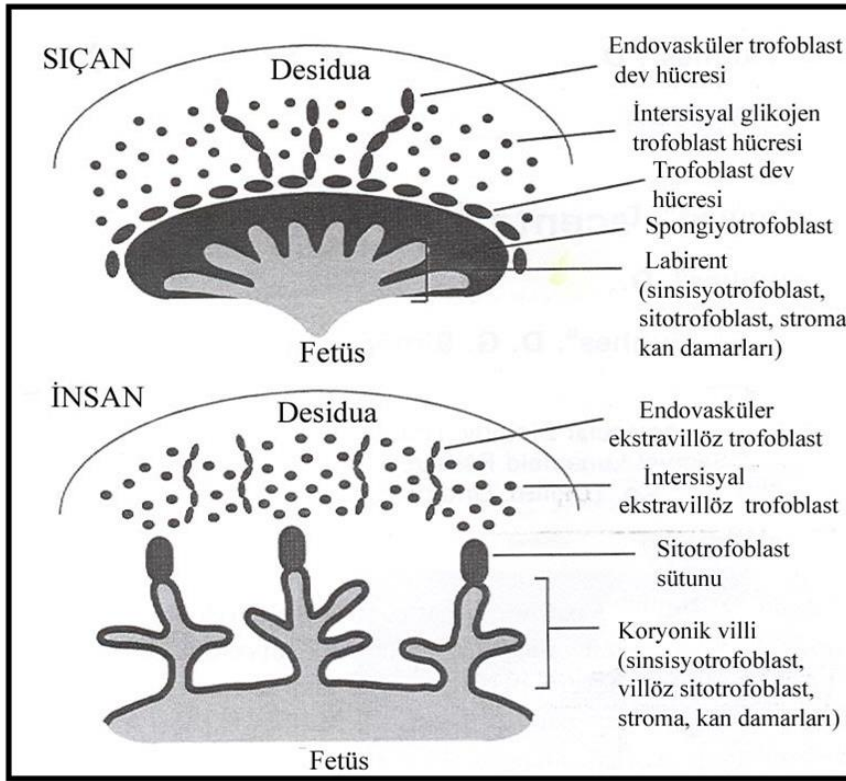
4- Ekstravillöz Trofoblastlar ve Dev Hücreler

İnsandaki ekstravillöz trofoblastlarla sıçan plasentasındaki dev hücrelerin analog olduğu kabul edilmektedir (58). Dev hücreler insanda iki ya da daha fazla çekirdeklidir ve mononükleer ekstravillöz trofoblastların birleşmesiyle ya da sitoplazmik bölünme olmaksızın çekirdek bölünmesiyle oluşur. Sıçanlardaki dev trofoblastlar ise polar trofoektodermden farklıdır. Bağlantı zonunun maternal tarafında bulunur ve poliploid büyük bir çekirdeği vardır (59).

İnsanlarda invazyon işlemi invazif ekstravillöz trofoblast hücreleri tarafından gerçekleştirilirken, sıçan plasentasında trofoblast dev hücreleri implantasyona ve invazyona aracılık eder (60).

5- Plasental Yatak ve Desidua Bazalis

İnsan desidua bazalisi ve altındaki miyometriyumu plasental yatak olarak isimlendirilir. İnsanda trofoblast invazyonu miyometriyumun 1/3' üne kadar uzanırken, sıçanda miyometriyuma kadar geçer (54). İnsan plasenta yatağı ve kemirgen desidua bazalisi maternal arter ve ven içerir. Sonuçta, insan plasental yatağı kemirgen desidua bazalisine analog olabilir (Şekil 7) (47).



Şekil 7. Sıçan ve insan plasentalarının karşılaştırılması (57).

KADMIYUM

Kadmiyum; beyaz renkli, element simgesi kadmiyum, atom numarası 48 ve atom ağırlığı 112,40 olan +2 değerlikli bir elementtir. Periyodik cetvelde II b grubunda çinko ve civa arasında yer alır. İlk olarak Friedrich Stromeyer adlı bir Alman kimyacı tarafından 1817 yılında, çinko elde etmek için yapılan çalışmalar sırasında baca tozlarında bulunmuştur (61). Canlılarda herhangi bir fizyolojik işlevi olmayan, kanserojenik ve mutajenik etkileri bilinen bir ağır metaldir (62). Doğada genellikle saf halde bulunmaz, kadmiyum-oksit, kadmiyum-klorit, kadmiyum-sülfat veya kadmiyum-sülfid şeklinde mineral bileşiği olarak bulunur. Ancak doğada çok yaygın olması sebebiyle, hemen hemen her şeyde (yiyecek, içecek, vb.) ölçülebilir miktarda mevcuttur. Kadmiyumun vücuttan atılımının az olması ve birikim

yapması nedeniyle sağlık üzerindeki olumsuz etkileri zamanla gözlenir. İnsanlarda, doğumda kadmiyum konsantrasyonu sıfırdır, fakat, biyolojik yarılanma ömrü uzun olduğu için (insanlarda yaklaşık 30 yıl), konsantrasyon yaşla birlikte gittikçe artar (63).

KADMİYUM KAYNAKLARI VE MARUZİYET YOLLARI

Kadmiyum doğada saf olarak bulunmamaktadır. Ancak 1817 yılında ilk kez saflaştırılmış olup 1900'lerin başlarında ticari öneme sahip olmuştur. Kadmiyum sıklıkla, 20 yy.'ın metali olarak kabul edilmiş ve kümülatif dünya üretiminin %65'inden fazlası son 20 yılda gerçekleştirilmiştir (64).

Kadmiyum yer kabuğu üzerinde geniş bir yayılıma sahip olup, ortalama konsantrasyonu 0.1 mg/kg civarındadır. İngiltere ve Amerika Birleşik Devletleri'nde bazı siyah kil depozitleri yüksek seviyede kadmiyum içermektedir ve bu sahalarda toprakta yüksek konsantrasyonlarda kadmiyum bulunmaktadır. Kadmiyumun atmosfere salınışının ana kaynağını ise volkanik aktiviteler oluşturmaktadır. Volkanik aktivitenin açığa çıkardığı kadmiyum miktarının yaklaşık 100-500 ton arasında olduğu düşünülmektedir. Derin denizlerdeki volkanik hareketler de doğal kadmiyum kaynaklarından birini oluşturmaktadır (65).

Dünya üzerinde her yıl yaklaşık olarak 15.000 ton kadmiyum üretilmektedir. Endüstriyel alanda, Nikel-kadmiyum pillerinde, aktif elektrot maddelerinde, plastik, seramik ve camlarda kullanılan pigmentlerde, PVC ısı ve ışığa karşı dayanıklaştırılmasında, çelik ve bazı demir içermeyen metallerin kaplanmasında, çeşitli alaşımlarda, kadmiyum içeren elemanların ve parçaların TV, ölçü gereçleri ve reaktör teknolojisinde, otomatik ve hayvancılık endüstrisinde, tarım ilaçları ve böcek ilaçlarının üretilmesinde ve dericilikte kullanılmaktadır (66).

Ayrıca, ev eşyaları, otomobiller ve kamyonlar, zirai aletler, uçak parçaları, endüstriyel aletler, el aletleri, tutturucu özelliği olan; vida somunu, civata, vida, çivi gibi malzemeler de genel olarak kadmiyumla kaplıdır. Kadmiyum, lastik tamiratında ve fotoğrafçılıkta da kullanılmaktadır. Gübreler, çürümüş organik maddeler içeren gübreler ve atık maddelerin doğrudan toprağa eklenmesiyle ağır metaller toprağa geçerler. Hatta iç lağım suyu çamuru da, kanallar veya tuvaletlerden yıkanan maddeleri içerdiklerinden ağır metallerle bulaşık halde bulunur. Örnek olarak tuvaletlere atılan sigara izmaritleri kadmiyum içerir. Otomobil tekerleklerinin caddeleri hızla geçtiği veya ezdiği zamanlarda lastikten yayılabilir veya yağmurdan sonra çamurda topladığı yerden lağım suyu sistemlerine geçer (67).

İnsanlarda kadmiyum maruziyeti, yiyecekler, inhalasyon ve ağırlıklı olarak sigara içimi aracılığıyla (68). Sigara içmeyenlerde kadmiyum maruziyeti genellikle gıda ile alıma bağlıdır. Gıdalar ile alınan günlük kadmiyum miktarı ortalama 10-25 µg kadardır, ancak çevresel kadmiyum oranları ile değişiklik gösterebilir. Örneğin, Japonya'da gıda ile alınan kadmiyum miktarı 28 µg/gün iken, Çin'de bu oran 9.9 µg/gün, Almanya'da ise 9-10 µg/gün kadardır (69). Kontamine olan sahalarda, gıda ile kadmiyum alımı günde birkaç yüz mikrograma ulaşabilmektedir. İçme suyu, genellikle düşük miktarlarda kadmiyum içermektedir ve yaklaşık miktarı, 1 µg/l ya da daha azdır (70). Pirinç, patates, soğan, domates gibi birçok besin maddesinde de kadmiyum, doğal olarak bulunmaktadır. Et, balık ve meyvelerde de kadmiyum bulunur ve bu miktar yaklaşık yaş ağırlıklarında 5-10 µg/kg kadardır (71). Tahıllardaki kadmiyum içeriği, öğütülme işlemi ile %50 azalmaktadır. Sebzeleerin yıkanmasının, doğranmasının ve pişirilmesinin de kadmiyum içeriklerinde hafif bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (72).

Sigara ile kadmiyum maruziyeti, yiyeceklerle olan maruziyetten daha fazla önem taşır. Kadmiyum özellikle yapraklı sebze ve tohumlu besinlerle alınır, tütün yaprakları önemli düzeyde kadmiyum taşıdıkları için sigara içenler besinlerle aldıkları kadmiyumdan daha fazlasını almış olurlar. Referans kan kadmiyum düzeyi sigara kullananlar için 0,30-3,92 µg/l ve kullanmayanlar için 0,3-1,2 µg/l arasında verilmektedir. Bir adet sigarada 1-2 µg kadmiyum bulunur ve % 40-60'ı akciğerler tarafından alınarak vücuda girer. Sonuç olarak, günde bir paket sigara içen bir bireyin günlük olarak fazladan aldığı kadmiyum miktarı 1-3 µg'dır. Sigara dumanının solunması ile alınan kadmiyum miktarı, sigara içilmesi ile alınan kadmiyum miktarı kadar fazla değildir (73).

Kadmiyumun transplasental geçişi sınırlıdır ve plasenta, kısmen de olsa bir bariyer görevi görmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda gebeye verilen kadmiyumun erken gebelik döneminde plasentadan geçtiği gösterilmiştir. Göbek kordonu kan kadmiyum düzeyi maternal kan düzeyi ile karşılaştırıldığında %40-50 civarında daha azdır. İnsan plasentasında, kadmiyum konsantrasyonunun 5-20 µg/kg yaş ağırlık olduğu ileri sürülmüştür (74,75).

Özet olarak, normal koşullarda günlük kadmiyum alımı; hava, su ve toprak gibi kaynaklardaki, yani temel olarak doğada bulunan kadmiyum konsantrasyonuna bağlıdır ve genellikle 20 µg/gün miktarını aşmamaktadır (64).

KADMIYUMUN METABOLİZMA ÜZERİNE ETKİLERİ

Kadmiyum insanlar için en etkin karsinojen metallere biridir. Kadmiyum ve bileşikleri, 1993 yılında Uluslararası Kanser Araştırmaları Örgütü tarafından insan için

karsinogenikler içinde tanımlanmıştır (76). Kadmiyum; hücredeki proliferasyonu, diferansiyasyonu, apoptozisi ve diğer hücresel aktiviteleri etkilemektedir. Kadmiyumun gen transkripsiyonu ve translasyonu üzerinde de etkileri mevcuttur (77). Uzun süreli etkilendiğinde; akciğer, prostat, testis ve böbrek kanserine neden olur. Kadmiyumun insandaki yarılanma süresi 10-30 yıl arası olduğu için, bu metalden etkilenme ortadan kalksa da karsinojik etkisini gösterebilmektedir. Kadmiyumun karsinojik etkisinin hücresel ve moleküler mekanizması; tümör baskılayan genlerin inaktivasyonu, hücre adhezyon mekanizmasının bozulması, apoptozisin tetiklenmesi, DNA onarımının baskılanması, serbest radikal üretimi ve antioksidan sistemi etkileme şeklindedir (77,78).

Kadmiyum vücutta kolayca penetre olabilir ve hücre membranlarını kalsiyum kanallarından geçerek sitoplazmaya ulaşır. Daha sonra hücre içi biyomoleküllere bağlanarak hücre içinde birikebilir, metabolik transformasyona neden olabilir veya vücuttan atılabilir. Yüksek kadmiyum miktarları, hücre içinde bulunan glutatyon, sülfidril içeriği zengin çözünür proteinler ve metallothioneinler tarafından bağlanarak hücre içi ve hücre dışı sıvılardaki düzeyi düşürülmeye çalışılır. Ağır metaller gibi birçok stres oluşturucu faktörler organizmada oksidatif strese neden olarak superoksit (O_2^-), hidroksil (OH^-), nitrik oksit ve hidrojen peroksit gibi serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasına, özellikle membran lipidlerinde peroksidasyona, antioksidan savunma sisteminin bozulmasına, proinflamatuvar (yangı teşvik edici moleküller) sitokinlerin sentezine bağlı yangının ortaya çıkışına, protein yapı bozukluklarına, nükleik asitlerin oksidasyonuna ve DNA tamir mekanizmasının olumsuz yönde etkilenmesine neden olur. Kadmiyum, serbest oksijen radikal türlerinin üretimine doğrudan olmasa da dolaylı olarak katkıda bulunan çok kuvvetli toksik bir metaldir (79). Ayrıca kadmiyum, sülfidril gruplarına etki gösteren bir metaldir. Bu etkisine bağlı olarak vücutta, farklı fizyolojik etkinliğe sahip çok sayıda sülfidril içeren enzimlerin etkinliğini engelleyerek etkili olduğu sanılmaktadır (80).

Sadece işi gereği kadmiyuma maruz kalan işçiler değil çevresel maruziyete uğrayanlarda da kadmiyum toksisitesine bağlı ciddi sağlık problemleri ortaya çıkmaktadır. Kadmiyum, böbrek tübüllerinde hasar, osteoporoz, karaciğer fonksiyon bozukluğu meydana getirirken; idrar kesesi, pankreas, akciğer, böbrek, prostat gibi organların çeşitli tipteki kanserlerini tetikler (79,81).

Kadmiyum hücre içerisine girdikten sonra, dört farklı formu bulunan ve metal bağlayıcı bir protein olan metallothionein tarafından tutulur. Metallothionein bütün hücrelerde bulunan, düşük molekül ağırlığına sahip ve sisteince zengin bir proteindir (82). Yapılan çalışmalarda kadmiyumdan etkilenen deney hayvanlarının karaciğer, böbrek, akciğer,

bağırsak ve testisinde metallotionein salgılanmasında artış olduğu bildirilmiştir (83). Bu metal vücuda girişinden sonra ilk altı saat içerisinde karaciğere ulaşır ve metallotioneine bağlanır. Karaciğerde meydana getirilen kadmiyum-metallotionein kompleksi, düşük molekül ağırlıklı olduğu için plazma içerisinde serbest hareket eder. Glomerüler membrandan kolayca taşınır ve öncelikli olarak böbrek olmak üzere diğer organlara da geçerek bu dokularda birikir ve hasar oluşturur (84).

Kadmiyumun Üreme Sistemi ve Plasenta Üzerine Etkileri

Uzun süre kadmiyuma maruz kalınması sonucu özellikle erkek ve dişi üreme sisteminde, yapısal ve fonksiyonel bozukluklar meydana gelmektedir (85,86). Memeli testisleri kadmiyuma oldukça duyarlıdır. Kadmiyum, spermilerin motilitesinde ve spermatogenez indeksinde azalmaya neden olmaktadır (87). Kadmiyumun sebep olduğu testiküler nekroz, kalıcı infertiliteye neden olabilmektedir. Kadmiyumun erkek infertilitesindeki moleküler etkileri tartışmalı olmakla birlikte, kronik kadmiyum uygulamasında, kadmiyumun sperm kromatinine katılarak fertilitede azalmaya neden olduğu ileri sürülmüştür (88). Dişi sıçanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, ovulasyona yakın zamanda kadmiyum verilmesinin ovulasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra kadmiyumun, ovarian granüloza hücrelerinde, folikül stimule edici hormon ve cAMP ile uyarılan progesteron birikimini önlediği bildirilmiştir (89,90).

Gebelikte kadmiyum toksisitesinden önemli oranda sigara içimi sorumludur. Gebeliği esnasında sigara içen kadınlarda, plasentada kadmiyum miktarının arttığı belirlenmiştir. Bu artışın, düşük bebek doğum ağırlığına neden olduğu saptanmıştır (91). Kadmiyum; gonadotropin, ovarial progesteron ve ovülasyon oranını düşürmekte, plasenta yapısını bozarak gebeliği olumsuz yönde etkilemektedir (92).

Kadmiyum anneden plasenta yoluyla fetusa geçebilir (91,93). Çinko, bakır, demir, selenyum gibi elementlerin metabolizmasını etkileyerek fetusa zarar verebilir (94). İnsan plasentası toksik kadmiyum aktivitesine duyarlıdır. Yine yapılan birçok deneysel çalışmanın sonucunda, gebeliğin geç döneminde kadmiyum tuzlarının verilmesinin plasental hasara neden olduğu ve gebeliğin erken döneminde kadmiyumun, eksensefali, hidrosefali gibi teratojenik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (74,75). Dolayısıyla plasental birikimi, plasentada hem yapısal hem de fonksiyonel değişikliklere neden olur (91).

PROLİFERE HÜCRE NÜKLEER ANTİJENİ

PCNA çekirdek içi bir antijendir ve DNA polimeraz deltanın kofaktörü olarak hücre döngüsünde rol oynar. PCNA hücre siklusu sırasında ortaya çıkan, normal proliferasyon gösteren hücreler ile tümörlerde sentez edilen, sentez hızı hücrelerin proliferasyon ve DNA sentezi hızı ile doğru orantılı olan 36 KD ağırlığında bir proteindir (95). PCNA, ilk kez 1986 yılında Bravo (96) tarafından bulunmuş ve siklin olarak adlandırılmıştır. İnsanlarda PCNA geni 20. kromozomda yerleşiktir. Bu protein hem bitkilerde hem hayvanlarda bulunur. Sığındaki aminoasit dizisi insanınkinden 261 aminoasitte sadece 4 aminoasit farklıdır. Hücrelerde başlıca DNA replikasyonu veya sentezi olan yerlerde bulunur (97).

Hücre siklusu sırasında PCNA düzeyleri oynamalar göstermekte, G1 fazının sonunda, DNA sentezinden hemen önce giderek artan miktarlarda hücrelerde belirmekte, S fazı sırasında özellikle yükselmekte ve G2 fazının başında kaybolmaktadır. Biyolojik yarı ömrü yaklaşık 20 saattir (98). İstirahattaki hücreler farklı mitojenlerle uyarıldığında aynı derecede PCNA ve DNA sentezi yapıldığı gösterilmiştir (95). Hem hücre DNA sentezi ve onarımı için, hem de hücre siklusunun ilerlemesi için PCNA' nın gerekli olduğu gösterilmiştir (99).

APOPTOZİS

Her hücre çoğalır (proliferasyon), farklılaşır (diferansiyasyon) ve ölür (apoptozis). Bütün bu olaylar doğal bir denge halinde sürer gider. Doku homeostazisi yani yeniden yapım ve yıkımın bir düzen içinde oluşu, apoptozis/proliferasyon dengesinin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesine bağlıdır. Apoptozis, hücrenin yaşamı boyunca yapım-yıkım dengesinin sürdürülmesini sağlar (8).

Apoptozis birçok gen ile ilişkili aktif bir sistem olup, Yunancada apo (=ayrı) ve ptozis (=düşen) kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşmuş sonbaharda yaprak dökümünü tanımlayan bir kelimedir (100). Apoptoz terimi ilk olarak 1972'de Kerr (101) tarafından nekrozdan farklı olarak gerçekleşen diğer bir ölüm şekli için tanımlanmıştır ve fizyolojik hücre ölümünü ifade eder.

Apoptoziste ana morfolojik olay, nukleusun yoğunlaşması ve daha sonra parçalara ayrılmasıdır. Ayrıca mitokondriyal hasar, çekirdek zarı kırılması, DNA fragmentasyonu, kromatin yoğunlaşması ve apoptotik cisimlerin şekillenmesi gibi morfolojik değişiklikler de görülür (102).

Apoptozis normal gelişimsel süreç içerisinde pek çok fizyolojik olayda görev alır. Embriyogenesis (103, 104) normal menstrual siklusda endometrial hücrelerinin yıkımı (105), bağırsak kripta epitelleri gibi sürekli çoğalan hücre gruplarında hücre sayısının dengelenmesi

(105), timusun gelişimi sırasında otoreaktif T hücrelerinin ortadan kaldırılması (106), bunlardan sadece birkaçıdır. Apoptozisin regülasyonundaki bozukluklar nörodejeneratif hastalıklara, edinilmiş yetersiz bağışıklık sistemi sendromunda görülen lenfosit yetersizliğine; azalması ise malignite ve otoimmün hastalıklara yol açabilir (106,107).

Apoptozisi etkileyen faktörler kabaca büyüme faktörlerinin geri çekilmesi, sitokinler ile hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, tümör nekroz edici faktör, transforming growth factor β , Fas/FasL sisteminin aktive olması, DNA hasarı nedeniyle bir tümör supresör gen olan p53'ün aktive olması, viral-bakteriyel enfeksiyonlar ve glukokortikoidler şeklinde sıralanabilir. Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroz oluşturabilen etkenler de hafif dozlarda apoptozis meydana getirebilirler (108).

Plasenta ve Apoptozis

Apoptozis, plasentanın normal gelişmesi için gereklidir (109). Plasentada apoptozu düzenleyen mekanizmalardaki bazı anormalliklerin sinsityotroblast hücrelerinin fonksiyonlarını engelleyerek materno-fetal transport mekanizmasının bozulmasına yol açtığı ve bunun sonunda da IUGR'nin görüldüğü bilinmektedir (19).

Gebeliğin ilk ve son trimesterında alınan normal plasenta örneklerinde tüm hücre tiplerinde apoptozis gösterilmiş ve apoptotik hücrelerin büyük kısmının (>%50) trofoblastlara ait olduğu ortaya konulmuştur. Ancak apoptozisin son trimester plasenta örneklerinde ilk trimester plasenta örneklerine göre daha fazla olduğu da gözlemlenmiştir. Sonuçta gebelik ilerledikçe gözlenen artmış apoptozisin doku yaşlanmasının doğal bir sonucu olduğu ve yaşanan dokuların apoptotik uyarılara daha hassas oldukları şeklinde bir görüş ortaya çıkmıştır (110).

Plasental villöz trofoblast içerisinde proliferasyon sitotroblastlarla sınırlıdır. Bunun tersine, normal şartlar altında plasental villusda meydana gelen apoptozis hemen hemen sadece sinsityotroblastta lokalizedir. Normal şartlar altında birinci trimesterde sitotroblastın %0,49'u apoptotik azalma ile uyumlu özellikler göstermesine rağmen, apoptozis sitotroblast hücrelerinde nadiren tanımlanır. Tersiyer villus içerisindeki apoptozisin düzeyi gebelik ile birlikte artar ve en çok 40 haftanın üzerindeki gebeliklerde görülür (111).

Apoptozisin miktarı anormal plasental yapı ve işlevi ile ilişkili olarak belli başlı klinik durumlarda değişiklik gösterebilir. Plasental apoptozis, parsiyel mol hidatiform (PHD), komplet mol hidatiform ve koryokarsinoma da dahil olmak üzere gestasyonel trofoblast hastalığının tüm formlarında artar. Apoptozis ilk trimesterde ölü fetüs ile komplike hale gelen

gebeliklerde de artar. Ayrıca apoptozis, IUGR ve preeklampsi gibi geç dönem gebeliğin klinik durumlarında da artar (111).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

DENEKLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilen, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip Wistar albino türü 64 dişi ve 16 erkek ergin sıçan kullanıldı. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimiz, optimum laboratuvar koşulları (22 ± 1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve % 21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina) beslendi. Sıçanlar iki dişiye bir erkek olacak şekilde kafeste bir gece bırakıldıktan sonra ertesi sabah sıçanlardan vajinal smear alındı. Mikroskopta bakılan smear örnekleri ile sperm taşıyan sıçanlar belirlendi ve bu hayvanların gebeliğin birinci gününde oldukları kabul edildi. Deney modeli kontrol ve kadmiyum uygulanan grup (her grupta 8 hayvan) olmak üzere plasental gelişimin gerçekleştiği gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinden oluşmaktaydı (Tablo 1). Kadmiyum grubundaki dişi sıçanlara gebeliğin başlangıcından sakrifiye edilecekleri zamana kadar olmak üzere 0,5 mg/kg kadmiyum (2 ml sodyum klorür içerisinde çözünerek) günlük tek doz olarak subkutan yoldan verildi. Gebe dişiler, gebeliklerinin 15, 17, 19 ve 21. günlerinde ketamin-xylozin anestezisi altında sakrifiye edildiler.

Tablo 1. Deney grupları

	Kontrol Grubu	Kadmiyum Grubu
Gebeliğin 15. günü	n=8	n=8
Gebeliğin 17. günü	n=8	n=8
Gebeliğin 19. günü	n=8	n=8
Gebeliğin 21. günü	n=8	n=8

Çalışma için Trakya Üniversitesi Etik Kurulu'ndan (Ek 1) 30.03.2012 tarihinde onay alındı.

DOKU TEMİNİ VE HAZIRLANMASI

Gebeliklerinin 15, 17, 19 ve 21. günlerindeki sıçanlar intraperitoneal (i.p.) yoldan 50 mg/kg ketamin (Ketalar-Eczacıbaşı/Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine (Rompun-Bayer/Türkiye) ile anestezi sağlanıp dişe edildikten sonra embriyo ve plasentaları ayrı ayrı alındı. Bu işlem sonrasında tüm gruplara ait embriyo ve plaseenta ağırlıkları hassas terazi ile ölçüldü. Alınan plaseenta örnekleri Bouin fiksatifinde (75 cc pikrik asit + 25 cc formalin + 5 cc Asetik asit) tespit edildi. Dokuların ışık mikroskopik incelemeleri için işlemlendirilmeleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

IŞIK MİKROSKOBİK İNCELEME

Işık mikroskopik incelemeler için plaseenta dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvarı'nda işlemlendirildi. Bu amaçla plaseenta dokuları Bouin fiksatoründe 4 gün fikse edildikten sonra yıkama işlemine geçildi. Dokular 2 gün %70'lik alkolde yıkanarak, dehidratasyon işlemine geçildi. Dokular artan alkol serilerinde (%70, 90, 96, 100) 2'er saat tutuldu. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 3 seri 15'er dk (dakika) toluol ile muamele edildi. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde 1 gece tutuldu. Bir sonraki gün plaseenta dokuları yumuşak parafinden alınarak 1 saat sıvı sert parafinde tutularak, bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindirli mikrotom kullanılarak 5 µm (mikrometre) kalınlığındaki kesitler alındı. Plaseentadaki histolojik yapı değişikliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler Hematoksilen+Eosin (H+E) ile boyandı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) incelenerek, bulguların fotoğrafları çekildi.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Yapılan immünohistokimyasal incelemeler Hsu ve ark. (112) tarafından açıklanan metoda göre yapıldı. İnceleme için plaseenta dokusundan 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemi takiben kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antiijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dk kaynatıldı. Oda ısısında 20 dk soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler Fosfat Tampon Solusyonu (PBS) ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidad aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Hæn 24229)

hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20 dk muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler PBS (pH 7.6) ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile 1 saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan antikor, mouse monoclonal anti-PCNA antibody (MS-106-B, Thermo LabVision, USA) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dk sekonder antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision, TM-015-BN) tutuldu. 3 kez PBS'de yıkanan kesitlere 20 dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulandı. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk 3-amino 9-etil karbazol kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dk Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapıldı. Akarsuda 5 dk yıkanan kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, LabVision, TA-060-UG) konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı.

Tüm gruplara ait kesitlerde PCNA immünoboyanması pozitif olan hücre sayılarının değerlendirilmesi HSCORE (histolojik skorum) ile yapıldı. İmmünohistokimyasal tekniklerle boyanan kesitler özel bir oküler skalası kullanılarak ışık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) değerlendirildi. Tüm gruplar için rastgele üçer kesit seçildi. Her bir kesitte beş bölge X200 büyütmede immünohistokimyasal boyanmanın analizi için değerlendirildi. Boyanmalar, kesitteki özel boyanmanın yoğunluğu temel alınarak semikantitatif olarak skorlandı. Değerlendirme yüzde olarak yapıldı ve alandaki tüm hücreler aşağıda verilen yoğunluk kategorilerinden birisine dahil edildi: 0 (boyanma yok), 1+ (zayıf fakat kontrole göre görülebilir), 2+ (boyanma belirgin), 3+ (boyanma yoğun). Her bir doku için gözlemlenen HSCORE değeri yoğunluk kategorileri ile çarpılarak toplandı [HSCORE=S Pi (i+1), i, yoğunluk skoru ve Pi, hücrelerin yüzde değerleri]. Daha sonra HSCORE değerleri grafiklendirildi. Tüm gruplara ait HSCORE değerlendirilmeleri birbirinden bağımsız iki gözlemci tarafından uygulandı.

TUNEL BOYAMA

Parafin bloklardan lam üzerine alınan 5 µm'lik kesitler 1 gece 37 °C'lik etüvde tutulduktan sonra toluolde 3x5 dk bekletilerek parafinden iyice arındırılarak azalan alkol serilerinden (%100, %95, %70) 3'er dk geçirilip distile suya indirildi. 5 dk distile suda tutulan kesitlere daha sonra antijen iyileştirme amacıyla 15 dk oda ısısında proteinaz K (20 µg/ml, Chemicon, 21627) uygulandı. Distile su ile yıkanan kesitler endojen peroksidazı bloklamak

için metanolde hazırlanan %3'lük H₂O₂'de 5 dk bekletildi. Distile su ve PBS ile çalkalandıktan sonra lam üzerinde kesitlerin etrafı hidrofobik kalem (Zymed, 00-8899) ile çizilerek havuz oluşturuldu ve kesitlere 5 dk oda ısısında dengeleme tamponu uygulandı. Daha sonra kesitler 37 °C'de TdT enziminde 1 saat bekletildikten sonra durdurma/yıkama tamponuyla 15 saniye çalkalandı ve oda ısısında 10 dk bekletildi. 3 kez PBS'de yıkanan kesitlere antidişoksijenin konjügatı uygulandı ve oda ısısında 30 dk tutuldu. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk diamin benzidin (DAB) kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 10 dk Metil green uygulanarak zıt boyama yapıldı. Distile sudan hızla geçirilen kesitler %100 N-Butanolden de hızla geçirildi. Dehidrate edilen kesitler 3x2 dk toluolde tutulduktan sonra kapatma solüsyonu konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı.

Ayrıca tüm gruplarda TUNEL pozitif hücre sayıları semikantitatif olarak saptandı. Semikantitatif değerlendirme, aşağıdaki biçimde yapıldı; yok (-), nadir (±), az(+), orta (++) , fazla (+++), çok fazla (++++).

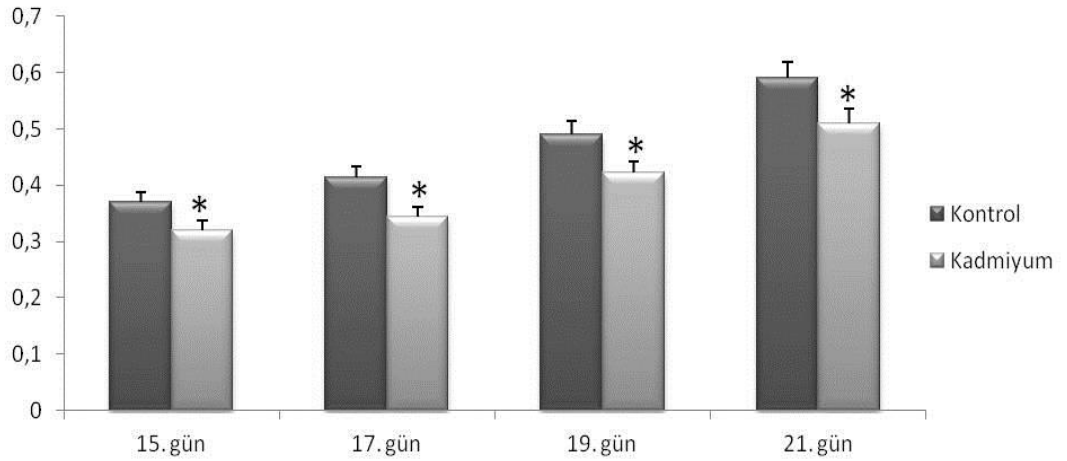
İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler için, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezi'ndeki S0064 Minitab Release 13 programı (Lisans No: WCP1331.00197) kullanıldı. Tüm veriler ortalama (±) standart sapma (S.S) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki sonuçların farklılıkları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. p<0.05 olması durumunda fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

PLASENTA AĞIRLIKLARI

Hem kontrol hem de kadmiyum grubunda gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerine ait plasentaların ağırlıkları ölçüldü. Kontrol grubu plasentalarında gebelik yaşına paralel olarak ağırlık artışı izlendi. Bununla beraber kadmiyumun gebeliğin tüm günlerinde plasentada önemli ölçüde bir ağırlık kaybına sebebiyet verdiği tesbit edildi (Şekil 8).

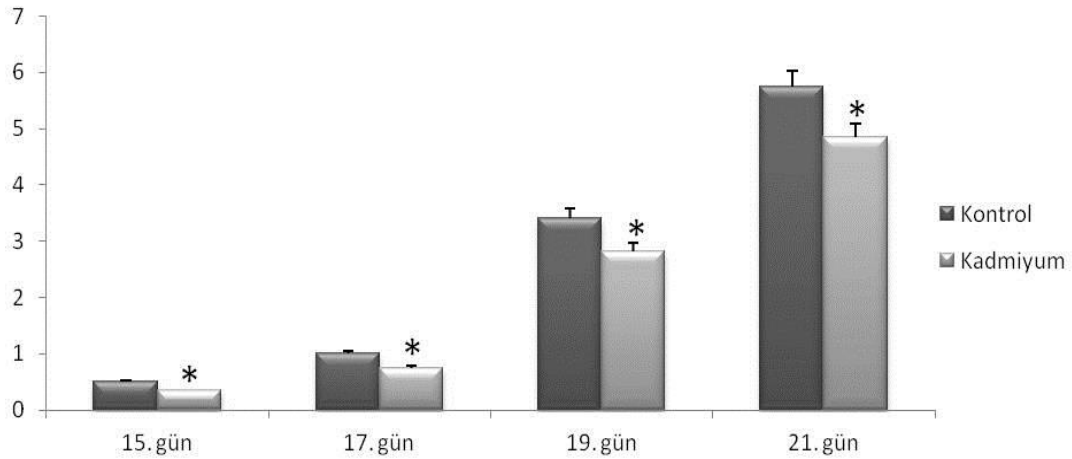


* $p < 0.05$ kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

Şekil 8. Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinde kontrol ve kadmiyum gruplarına ait plasenta ağırlıkları (gr).

EMBRYO AĞIRLIKLARI

Hem kontrol hem de kadmiyum grubunda gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerine ait embriyoların ağırlıkları ölçüldü. Kontrol grubuna ait embriyolarda gebelik yaşına paralel olarak ağırlık artışı izlendi. Bununla beraber kadmiyumun gebeliğin tüm günlerinde embriyo ağırlıklarını önemli ölçüde azalttığı tesbit edildi (Şekil 9).



*p<0.05 kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

Şekil 9. Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinde kontrol ve kadmiyum gruplarına ait embriyo ağırlıkları (gr).

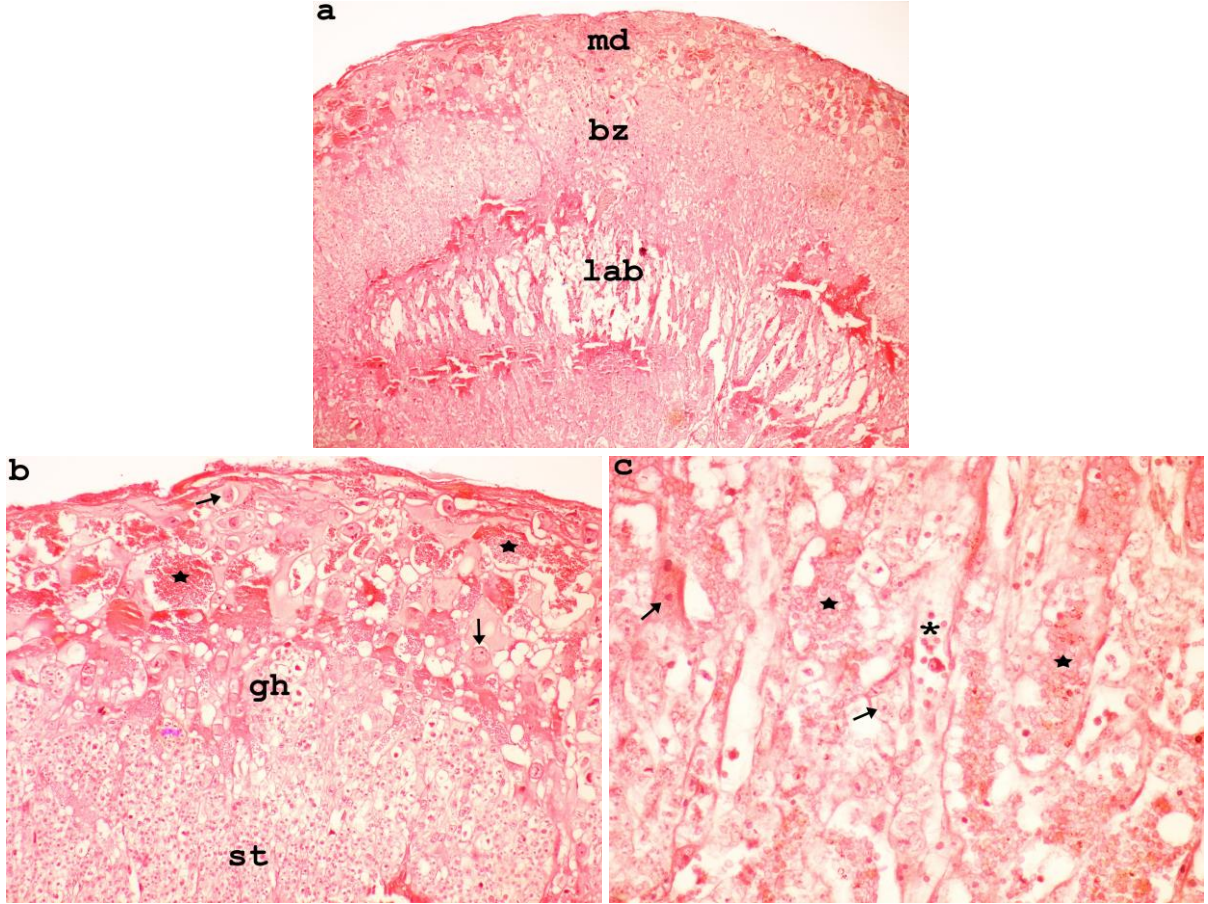
MORFOLOJİK OLARAK PLASENTAL GELİŞİM

Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinde elde edilen kontrol ve kadmiyum grubu plasentaların rutin H+E boyaması yapıldı. Işık mikroskobu altında plasentalar incelendi.

Gelişimin 15. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular

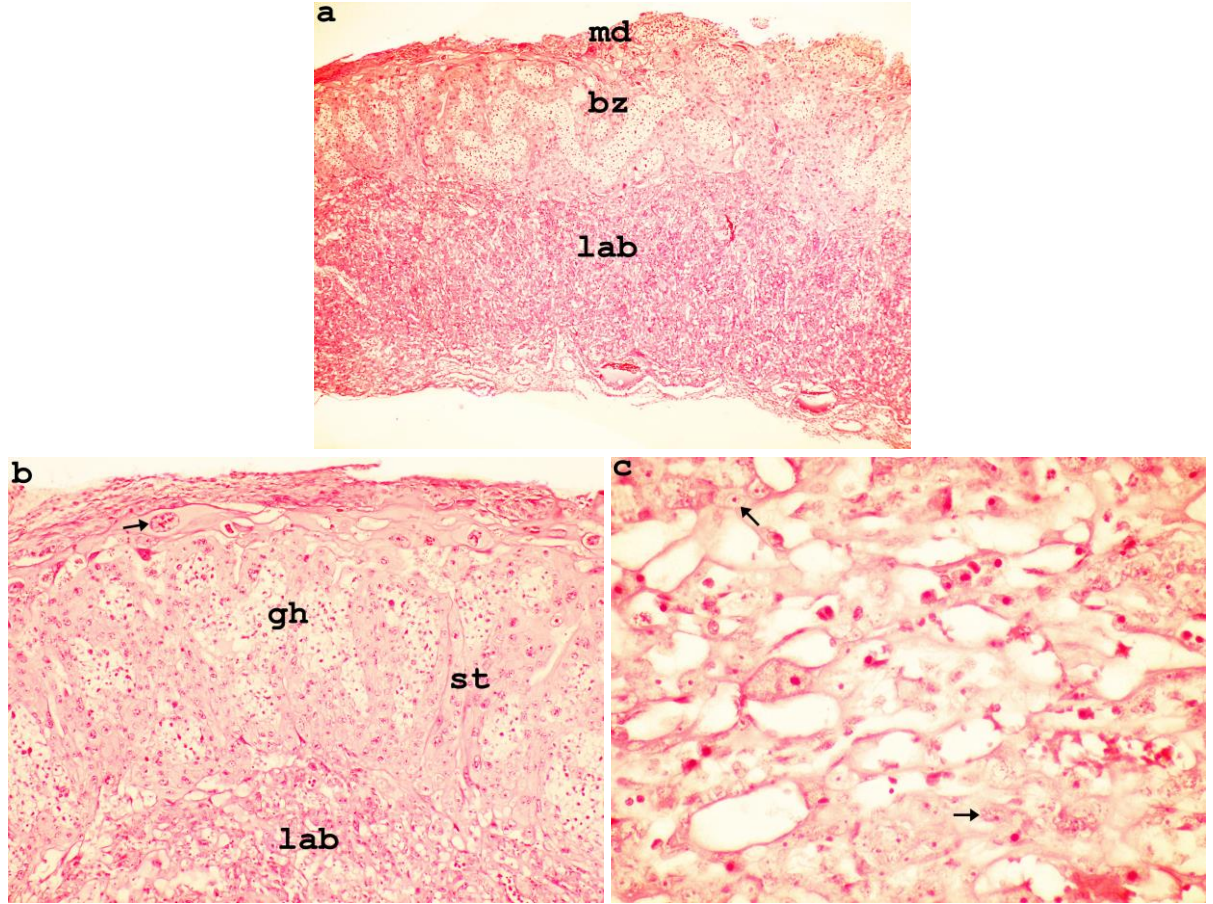
Gebeliğin 15. günündeki kontrol plasentasının çeşitli katmanlardan oluştuğu görüldü. Plasentada maternal desidual katmanın haricinde, trofoblast dev hücre tabakası, bağlantı zonu ve labirent olmak üzere 3 farklı bölge ayırt ediliyordu (Şekil 10a). Maternal desiduaya komşu trofoblast dev hücre tabakasının hemen altında bağlantı zonu yer almaktaydı. Bağlantı zonunda ise spongiyotrofoblast hücreleri ve glikojen hücreleri bulunmaktaydı (Şekil 10b). Bağlantı zonunun hemen altındaki labirent tabakasında ise kan değişiminin gerçekleştiği fetal ve maternal kan damarları ile labirent trofoblast hücreleri yer almaktaydı (Şekil 10c).



Şekil 10. Gebeliğin 15. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları. a: Total görünüm. X40. (lab: labirent tabakası, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua) b: Maternal kan adacıkları (yıldız), trofoblast dev hücreleri (ok) ve bağlantı zonunda spongiyotrofoblast (st) ile glikojen hücreleri (gh). X100. c: Labirent tabakasındaki fetal (*) ve maternal (yıldız) kan adacıkları ile labirent trofoblast hücreleri (ok). X400.

Kadmiyum grubuna ait bulgular

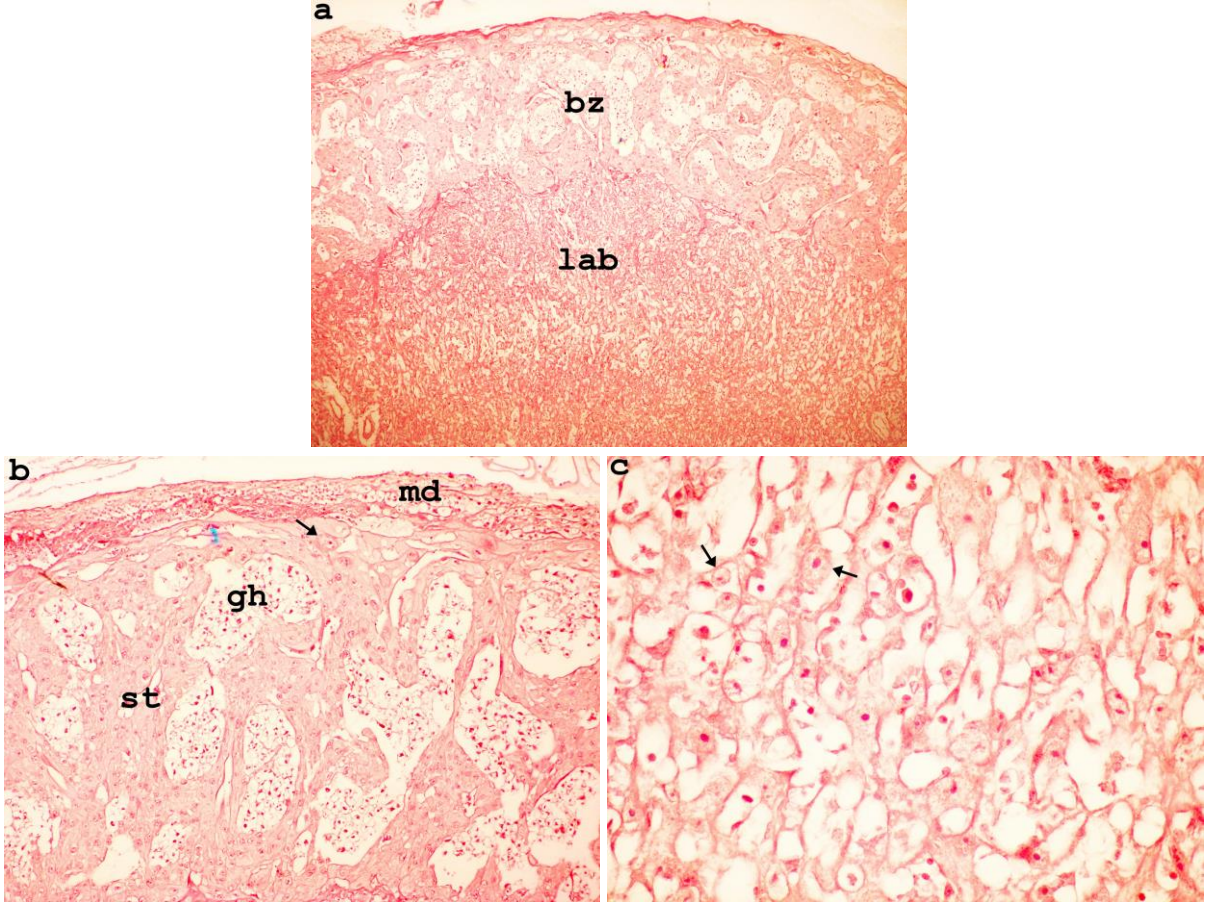
Kadmiyum verilen sıçanların plasentasında kontrol grubuna göre küçülme gözlemlendi. Özellikle bağlantı zonunda bu küçülme oldukça belirgindi (Şekil 11a). Bağlantı zonundaki glikojen hücrelerinin ise aynı gün kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi (Şekil 11b). Bağlantı zonunun hemen altındaki labirent tabakasındaki damarların ise genişleyip düzensizleştiği görüldü (Şekil 11c).



Şekil 11. Gebeliğin 15. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları. a: Total görünüm. X40. (lab: labirent tabakası, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua) b: Trofoblast dev hücreleri (ok) ile bağlantı zonundaki spongiyotrofoblast (st) ve glikojen hücreleri (gh), bu tabakaların altında ise labirent tabakası (lab). X100. c: Labirent tabakasındaki kan damarları ve labirent trofoblast hücreleri (ok). X400.

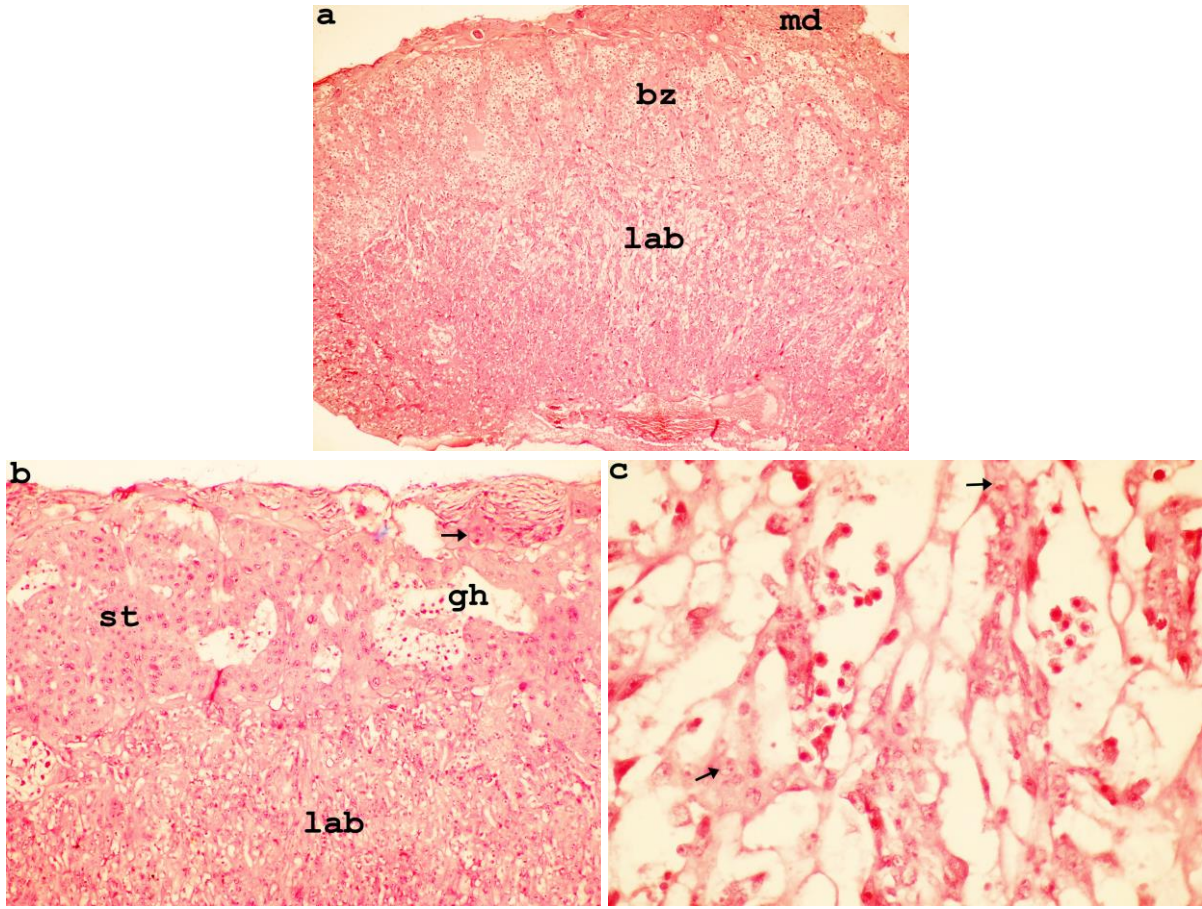
Gelişimin 17. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 17. günündeki sıçan plasentasının 15. güne göre genişlediği ve plasentadaki en geniş bölgesinin de labirent tabakasının olduğu görülmekteydi (Şekil 12a). En dışta yer alan maternal desiduaanın hemen altında dev trofoblast hücreleri yer almaktaydı. Dev trofoblast hücrelerinin hemen altında yer alan spongiyotrofoblast tabakasında yer alan glikojen hücrelerinin sayılarının gebeliğin 15. gününe göre oldukça arttığı tesbit edildi (Şekil 12b). Labirent tabakasında ise anne ve yavruya ait kan damarları ile labirent trofoblast hücreleri bulunmaktaydı (Şekil 12c).



Şekil 12. Gebeliğin 17. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları. a: Total görünüm. X40. (lab: labirent tabakası, bz: bağlantı zonu) b: Maternal desidua (md), trofoblast dev hücreleri (ok) ve bağlantı zonunda spongiyotrofoblast (st) ile glikojen hücreleri (gh). X100. c: Labirent tabakasındaki kan damarları ve labirent trofoblast hücreleri (ok). X400.

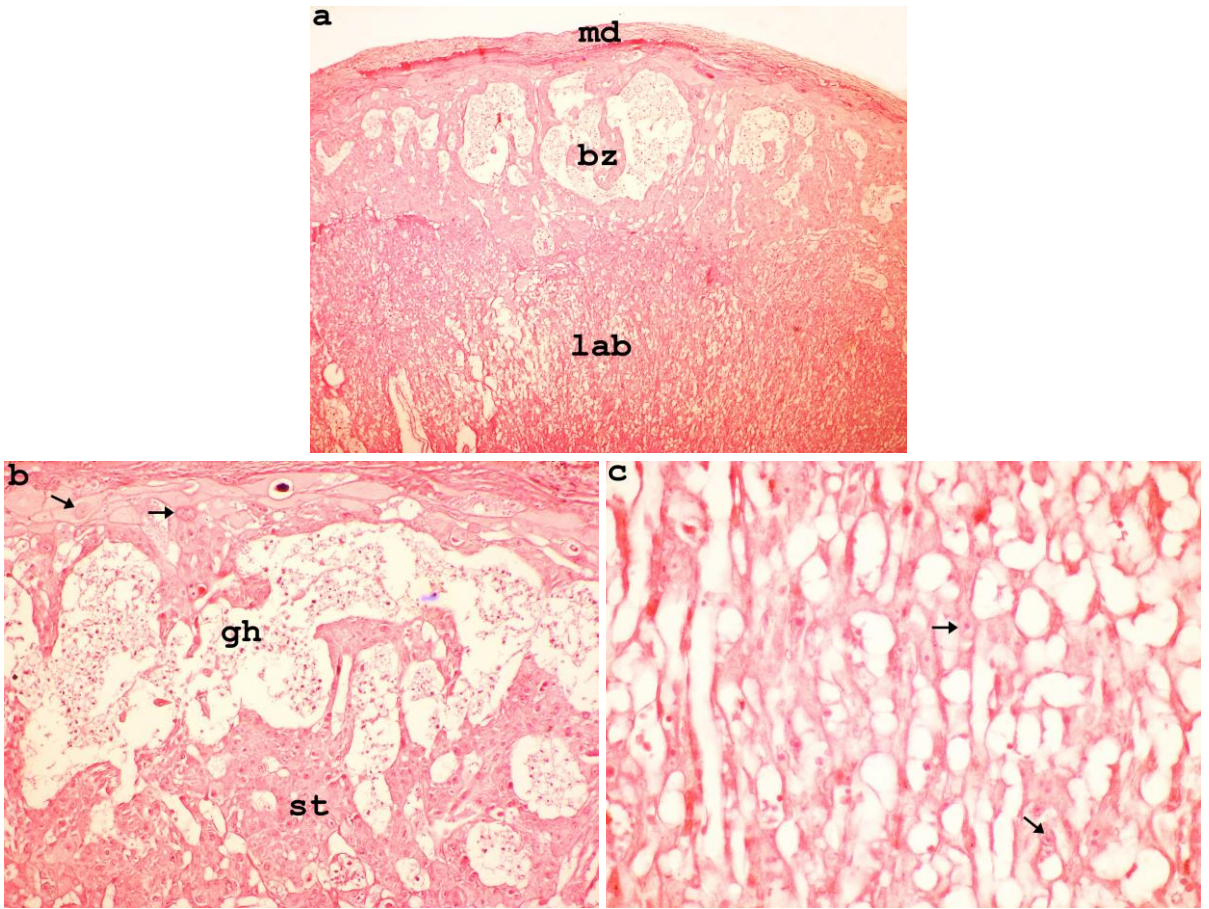
Kadmiyum grubuna ait bulgular: Gebeliğin 17. gününe ait kadmiyum grubu plasentasında kontrol grubuna göre bir küçülme söz konusuydu (Şekil 13a). Bağlantı zonundaki glikojen hücre sayısının ise 15. günün aksine kontrol grubuna oranla önemli ölçüde azaldığı tesbit edildi (Şekil 13b). Labirent tabakasındaki düzensizleşmenin ise kontrole göre oldukça belirgin olduğu fark edilmekteydi (Şekil 13c).



Şekil 13. Gebeliğin 17. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları. a: Total görünüm. X40. (lab: labirent tabakası, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua) b: Trofoblast dev hücreleri (ok) ile bağlantı zonundaki spongiyotrofoblast (st) ve glikojen hücreleri (gh), bu tabakaların altında ise labirent tabakası (lab). X100. c: Labirent tabakasındaki kan damarları ve labirent trofoblast hücreleri (ok). X400.

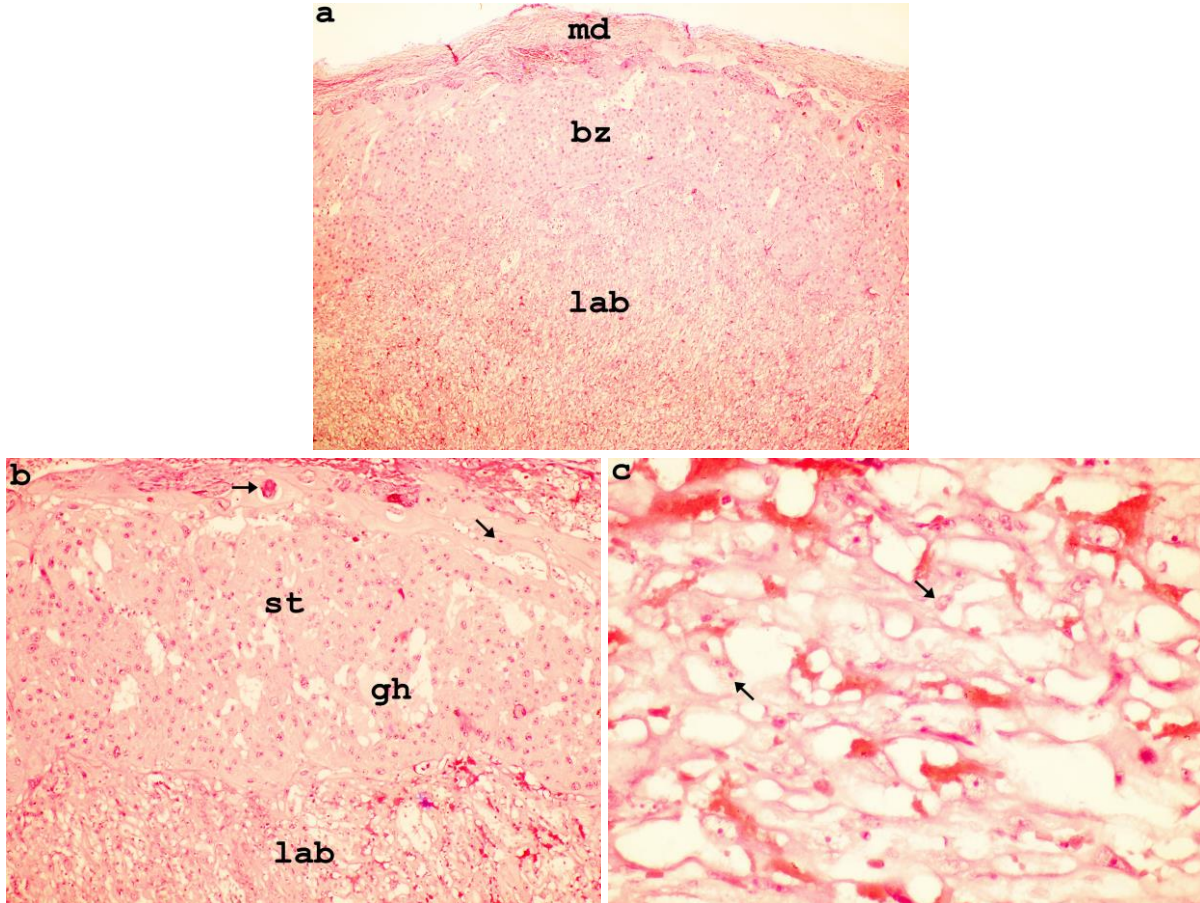
Gelişimin 19. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 19. günündeki sıçanların plasentalarında labirent tabakasının iyice büyümüş olduğu ve plasentanın büyük bir kısmını kapladığı tespit edildi (Şekil 14a). Trofoblast dev hücre tabakasının hemen altında gebeliğin 17. gününe nisbeten daha az glikojen hücre kümesi içeren spongiotrofoblast tabakası vardı (Şekil 14b). Labirent tabakasında ise yine kan damarları ve labirent trofoblast hücreleri yer almaktaydı (Şekil 14c).



Şekil 14. Gebeliğin 19. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları. a: Total görünüm. X40. (lab: labirent tabakası, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua) b: Trofoblastik dev hücreler (ok), spongiyotrofoblast hücreleri (st) ve glikojen hücreleri (gh) görülmekte. X100. c: Labirent tabakası içindeki kan damarları ve labirent trofoblast hücreleri (ok). X400.

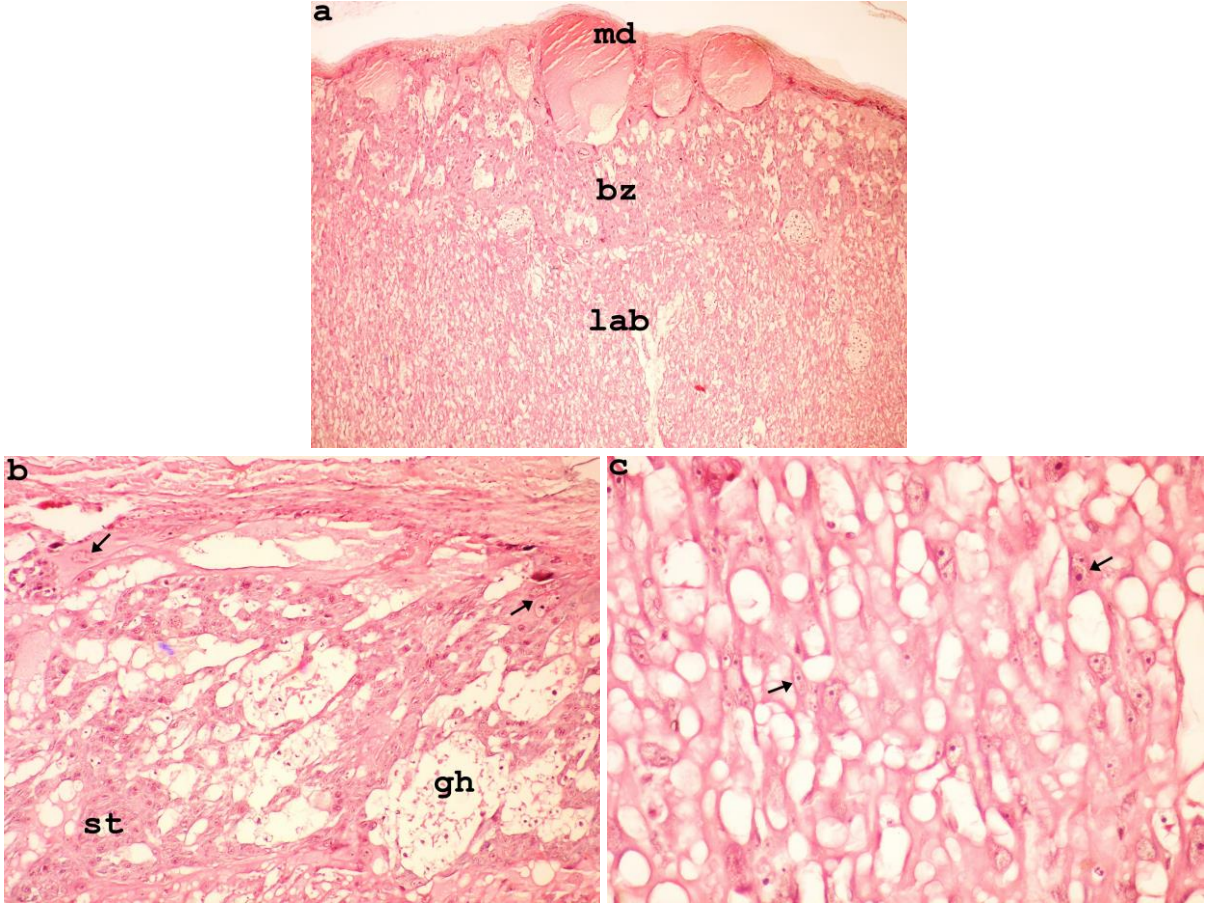
Kadmiyum grubuna ait bulgular: Gebeliğin 19. gününe ait kadmiyum grubu plasentasında kontrol grubuna oranla önceki günlerdeki küçülme devam etmekteydi (Şekil 15a). Glikojen hücre sayısının kontrol grubuna göre iyice azaldığı görüldü ki glikojen hücreleri yok denecek kadar azdı (Şekil 15b). Labirent tabakasındaki düzensizlik ise devam etmekteydi (Şekil 15c).



Şekil 15. Gebeliğin 19. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları. a: Total görünüm. X40. (lab: labirent tabakası, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua) b: Trofoblast dev hücreleri (ok) ile bağlantı zonundaki spongiyotrofoblast (st) ve glikojen hücreleri (gh), bu tabakaların altında ise labirent tabakası (lab). X100. c: Labirent tabakasındaki kan damarları ve labirent trofoblast hücreleri (ok). X400.

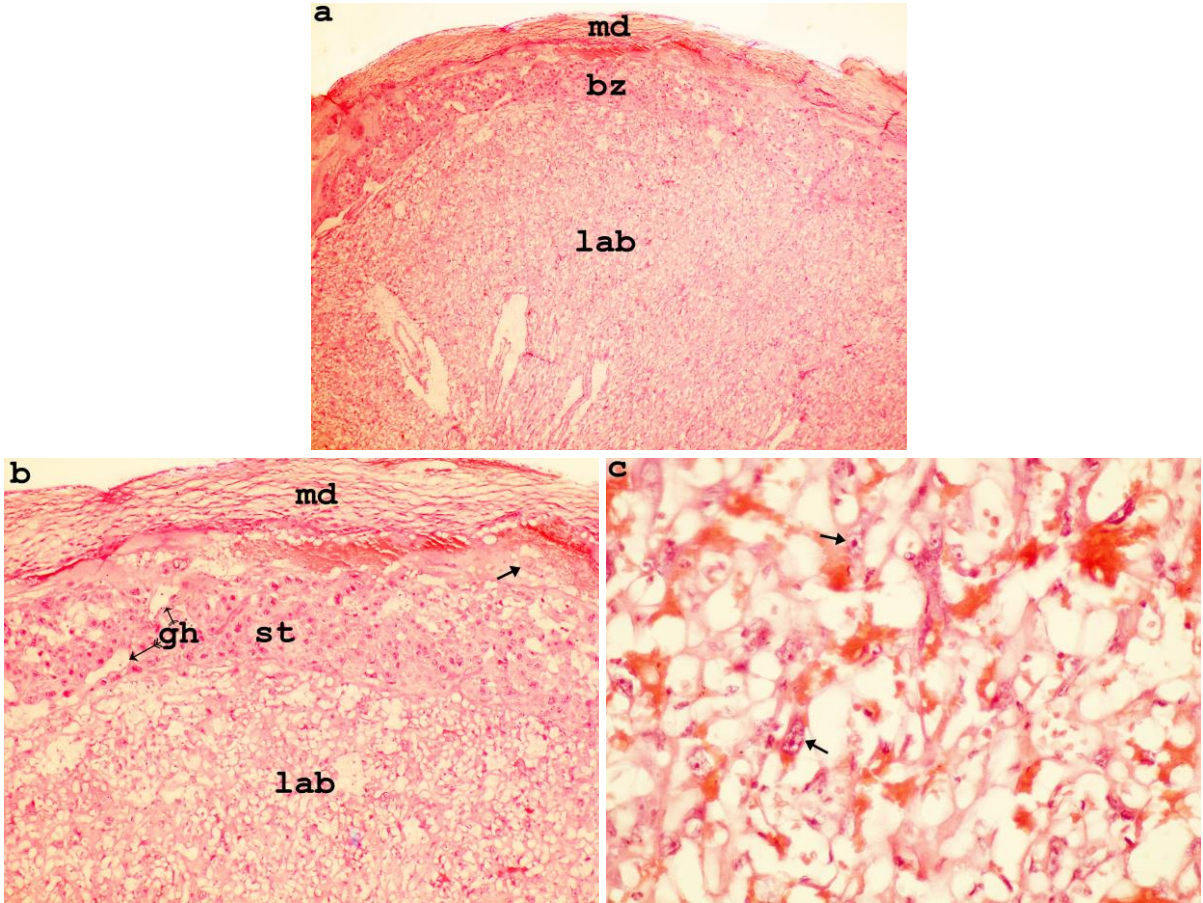
Gelişimin 21. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 21. günündeki sıçan plasentasının önceki günlere göre oldukça büyüdüğü gözlemlendi. Bağlantı zonu küçülmüş, labirent tabakası da daha fazla genişlemişti (Şekil 16a). Spongiyotrofoblast tabakasında glikojen hücreleri yok denecek kadar azdı ve küçük kümeler halinde bulunmaktaydı. Maternal desidua ile spongiyotrofoblast tabakası arasında trofoblast dev hücreleri yer almaktaydı (Şekil 16b). Labirent tabakasındaki damarların düzgün yapıda olduğu ve bu tabakanın labirent trofoblast hücrelerini içerdiği görülmekteydi (Şekil 16c).



Şekil 16. Gebeliğin 21. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları. a: Total görünüm. X40. (lab: labirent tabakası, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua) b: Trofoblastik dev hücreler (ok), spongiyotrofoblast hücreleri (st) ve glikojen hücreleri (gh) görülmekte. X100. c: Labirent tabakası içinde kan damarları ve labirent trofoblast hücreleri (ok) görülmekte. X400.

Kadmiyum grubuna ait bulgular: Kadmiyum uygulamasıyla birlikte gebeliğin 21. gününe ait kadmiyum grubu plasentasındaki kontrol grubuna göre olan küçülme devam etmekteydi (Şekil 17a). Bağlantı zonunun oldukça ince olduğu gözlemlendi ve bu tabakadaki glikojen hücrelerinin oldukça azaldığı görüldü (Şekil 17b). Fetal ve maternal kan damarları içeren labirent tabakası ise düzensiz bir şekilde görülmekteydi (Şekil 17c).



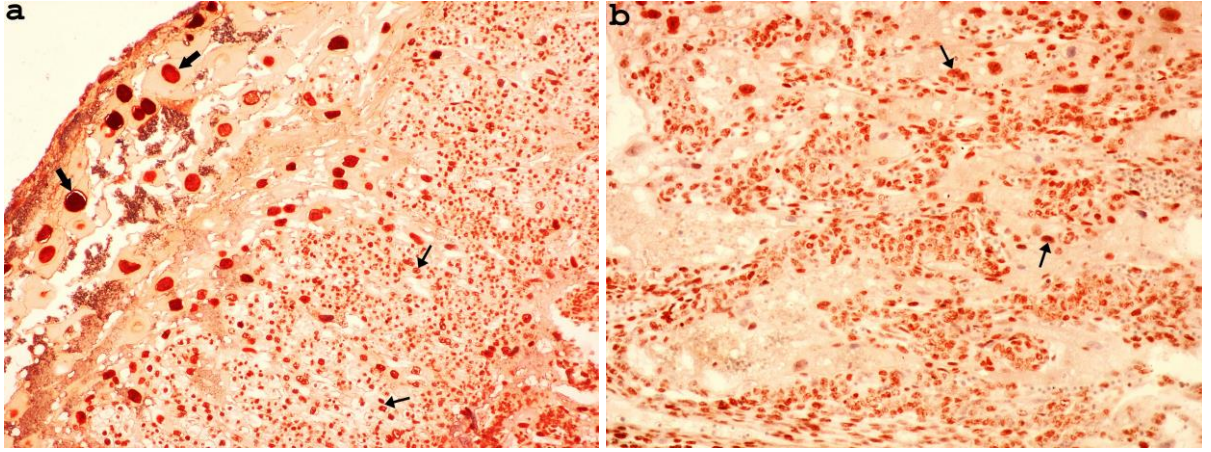
Şekil 17. Gebeliğin 21. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları. a: Total görünüm. X40. (lab: labirent tabakası, bz: bağlantı zonu, md: maternal desidua) b: Maternal desidua (md), trofoblast dev hücreleri (ok), bağlantı zonundaki spongiyotrofoblast (st), glikojen hücreleri (gh) ve labirent tabakası (lab). X100. c: Labirent tabakasındaki kan damarları ve labirent trofoblast hücreleri (ok). X400.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

PCNA İmmünboyanması

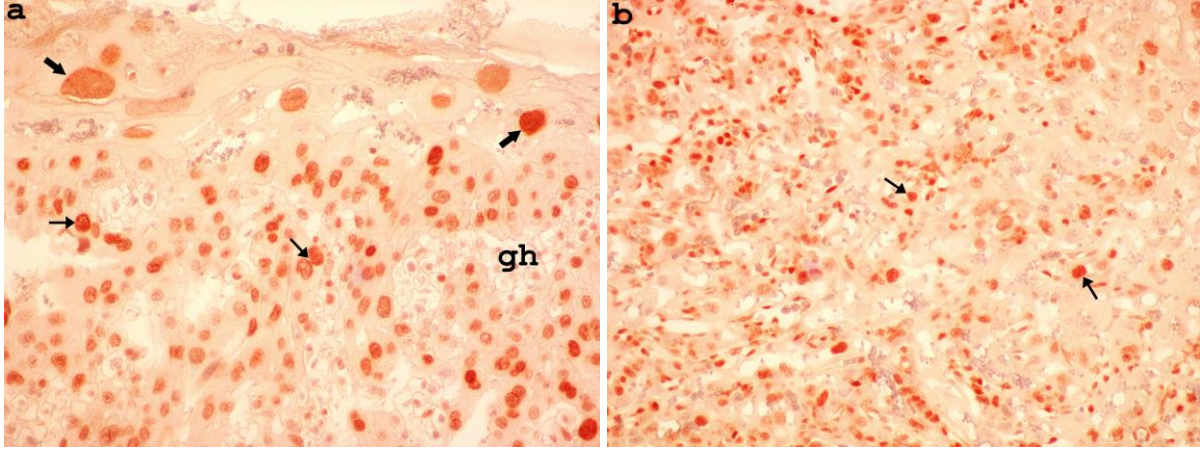
Gelişimin 15. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 15. gününe ait kontrol grubundaki PCNA immünboyanmasında, spongiyotrofoblastlar, dev hücreler, labirent trofoblast hücrelerinde pozitivite görüldü (Şekil 18a,b ve 26).



Şekil 18. Gebeliğin 15. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyanması. a: Bağlantı zonundaki PCNA pozitif trofoblastik dev hücreler (kalın ok) ve spongiyotrofoblastlar (ince ok). X100. b: Bağlantı zonundaki PCNA pozitif boyanan spongiyotrofoblastların daha büyük büyütmede (ok) görülmekte. X200. İmmünoperoksidaz, hematoxilen zıt boyaması.

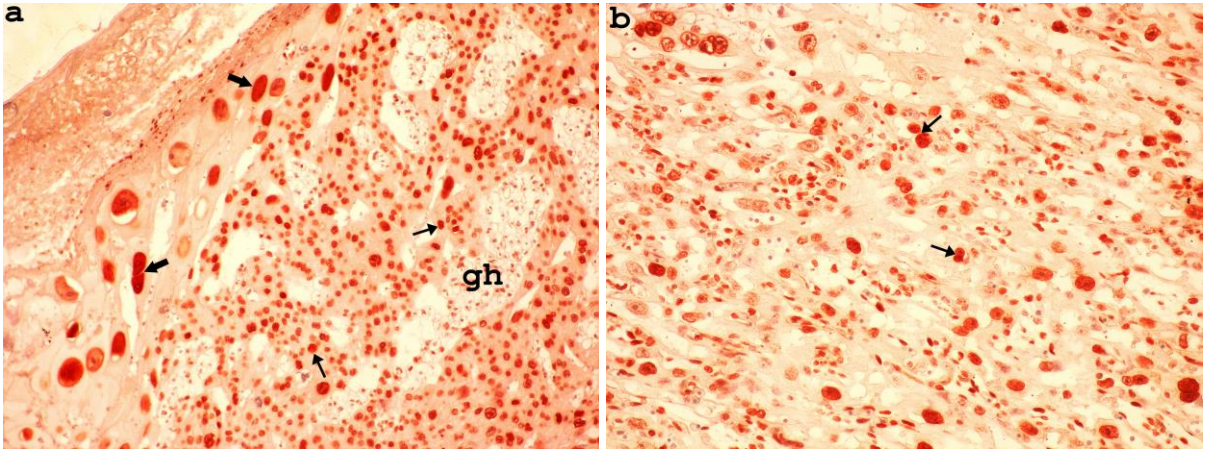
Kadmiyum grubuna ait bulgular: Gebeliğin 15. gününe ait kadmiyum grubundaki PCNA immünboyanmasında, spongiyotrofoblastlar, dev hücreler, labirent trofoblast hücrelerindeki pozitifitenin aynı gebelik günündeki kontrol grubuna göre azalmış olduğu görüldü ($p<0.001$), (Şekil 19a,b ve 26).



Şekil 19. Gebeliğin 15. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyanması. a: Bağlantı zonundaki PCNA pozitif trofoblastik dev hücreler (kalın ok) ve spongiyotrofoblastlar (ince ok). X100. b: Labirent tabakasındaki PCNA pozitif boyanan labirent trofoblastlar (ok) görülmekte. X200. (gh: glikojen hücreleri) İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.

Gelişimin 17. Gününe Ait Bulgular

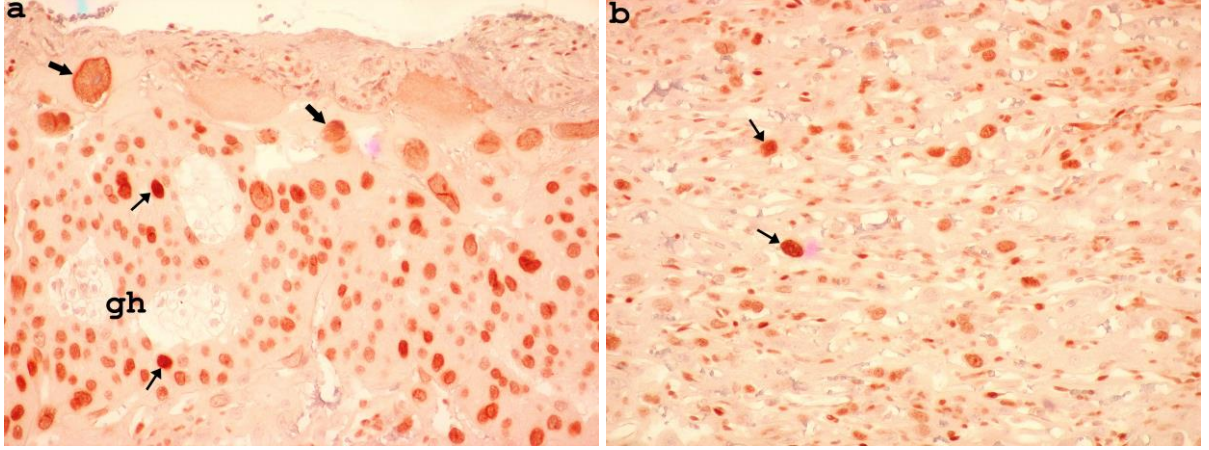
Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 17. gününe ait kontrol grubundaki PCNA immünboyanması dev hücreler, spongiyotrofoblastlar, labirent trofoblast hücreleri ve glikojen hücrelerinde gözlemlendi. Ancak bu pozitivitenin gebeliğin 15. günündeki kontrol plasentasına göre daha az olduğu belirlendi (Şekil 20a,b ve 26).



Şekil 20. Gebeliğin 17. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyanması. a: Bağlantı zonundaki PCNA pozitif trofoblastik dev hücreler (kalın ok) ve spongiyotrofoblastlar (ince ok). X100. b: Labirent tabakasındaki PCNA pozitif boyanan labirent trofoblastlar (ok) görülmekte. X200. (gh: glikojen hücreleri). İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.

Kadmiyum grubuna ait bulgular:

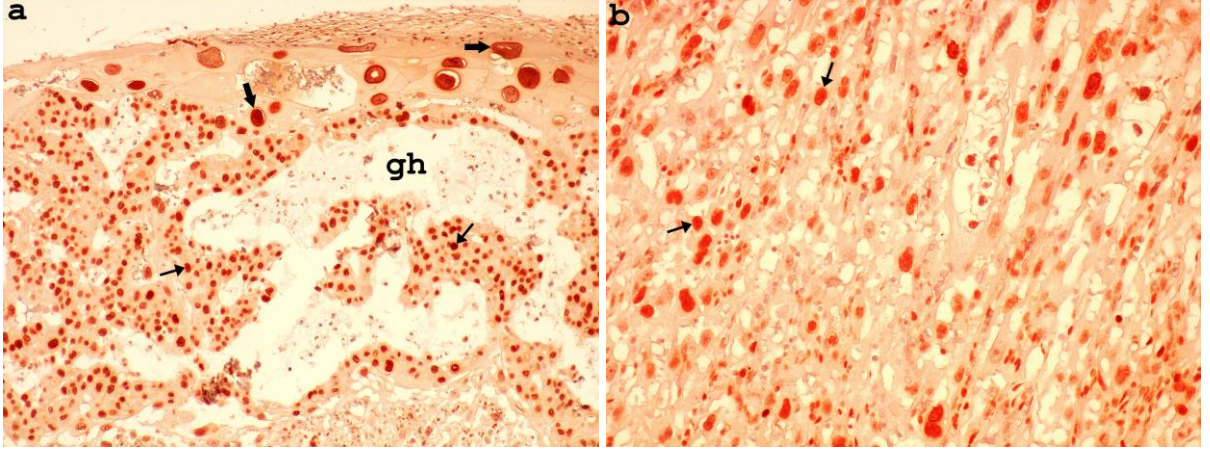
Gebeliğin 17. gününde kadmiyum uygulaması sonucunda spongiyotrofoblastlar, dev hücreler, labirent trofoblast hücreleri ve glikojen hücrelerindeki PCNA pozitivitesinin aynı gebelik günündeki kontrol grubuna göre azalmış olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$), (Şekil 21a,b ve 26).



Şekil 21. Gebeliğin 17. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyanması. a: Bağlantı zonundaki PCNA pozitif trofoblastik dev hücreler (kalın ok) ve spongiyotrofoblastlar (ince ok). X100. b: Labirent tabakasındaki PCNA pozitif boyanan labirent trofoblastlar (ok) görülmekte. X200. (gh: glikojen hücreleri) İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.

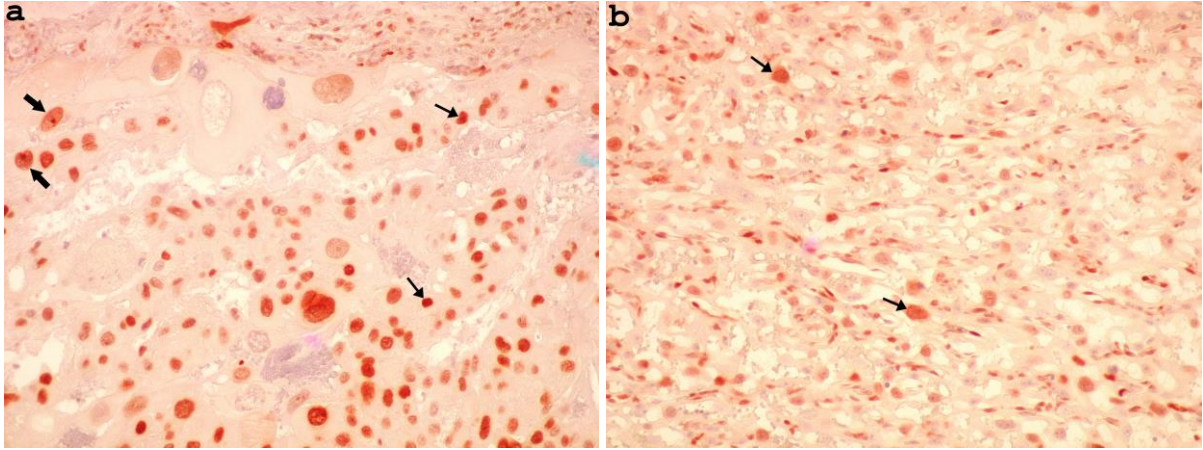
Gelişimin 19. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 19. gününe ait kontrol grubundaki PCNA immünboyanması dev hücreler, spongiyotrofoblastlar, labirent trofoblast hücreleri ve glikojen hücrelerinde gözlemlendi. Ancak bu pozitivitenin gebeliğin 17. günündeki kontrol plasentasına göre daha az olduğu saptandı (Şekil 22a,b ve 26).



Şekil 22. Gebeliğin 19. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyanması. a: Bağlantı zonundaki PCNA pozitif trofoblastik dev hücreler (kalın ok) ve spongiyotrofoblastlar (ince ok). X100. b: Labirent tabakasındaki PCNA pozitif boyanan labirent trofoblastlar (ok) görülmekte. X200. (gh: glikojen hücreleri). İmmünoperoksidaz, hematoxilen zıt boyaması.

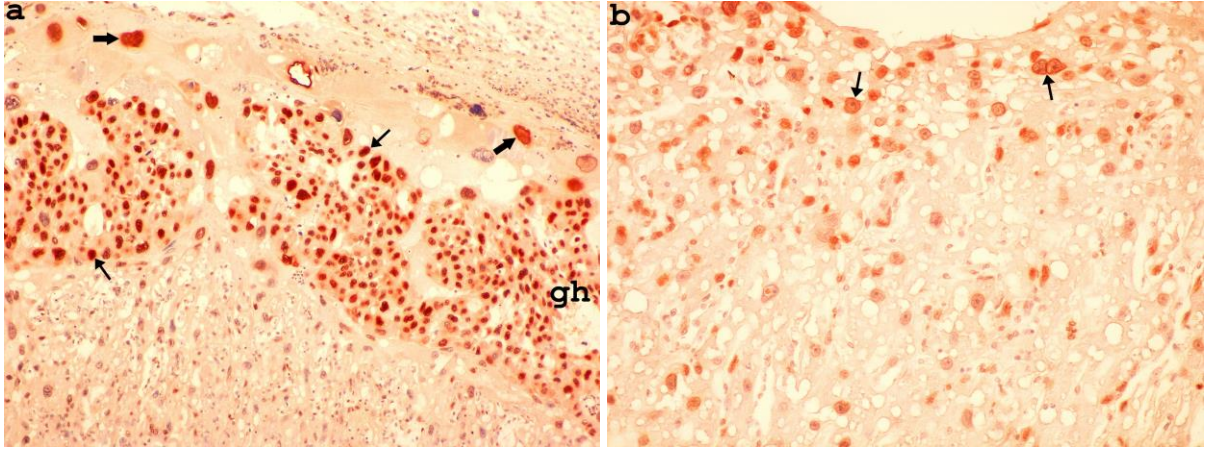
Kadmiyum grubuna ait bulgular: Gebeliğin 19. gününe ait kadmiyum grubundaki PCNA immünboyanmasında, spongiyotrofoblastlar, dev hücreler, labirent trofoblast hücreleri ve glikojen hücrelerindeki pozitivitenin aynı gebelik günündeki kontrol grubuna göre azalmış olduğu görüldü ($p < 0.001$), (Şekil 23a,b ve 26).



Şekil 23. Gebeliğin 19. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyanması. a: Bağlantı zonundaki PCNA pozitif trofoblastik dev hücreler (kalın ok) ve spongiyotrofoblastlar (ince ok). X100. b: Labirent tabakasındaki PCNA pozitif boyanan labirent trofoblastlar (ok) görülmekte. X200. İmmünoperoksidaz, hematoxilen zıt boyaması.

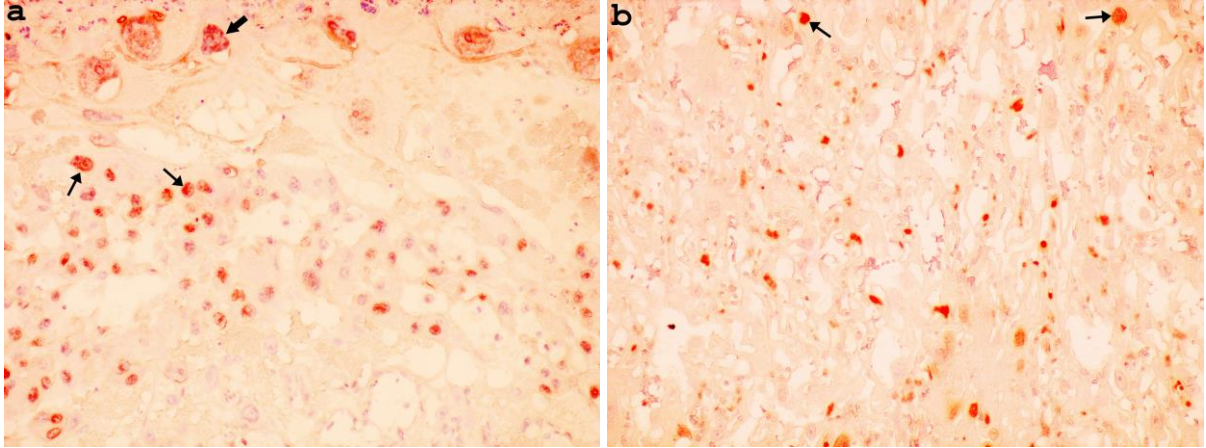
Gelişimin 21. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 21. gününe ait kontrol grubundaki PCNA immünboyanması dev hücreler, spongiyotrofoblastlar, labirent trofoblast hücreleri ve glikojen hücrelerinde gözlemlendi. Ancak bu pozitivitenin gebeliğin 19. günündeki kontrol plasentasına göre daha az olduğu belirlendi (Şekil 24a,b ve 26).



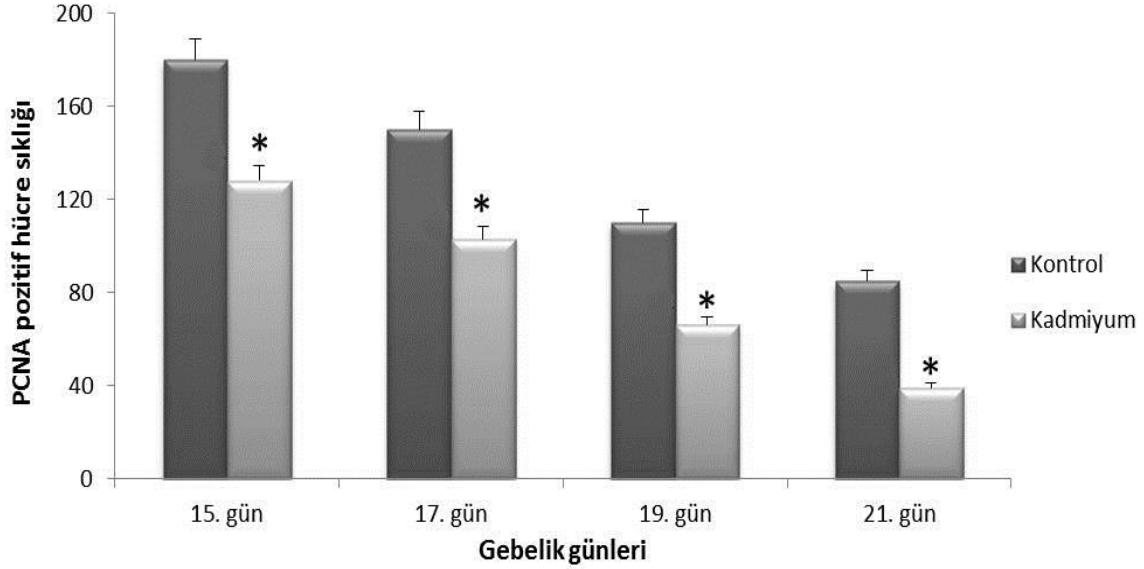
Şekil 24. Gebeliğin 21. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyanması. a: Bağlantı zonundaki PCNA pozitif trofoblastik dev hücreler (kalın ok) ve spongiyotrofoblastlar (ince ok). X100. b: Labirent tabakasındaki PCNA pozitif boyanan labirent trofoblastlar (ok) görülmekte. X200. (gh: glikojen hücreleri). İmmünoperoksidaz, hematoxilen zıt boyaması.

Kadmiyum grubuna ait bulgular: Gebeliğin 21. gününde kadmiyum uygulaması sonucunda spongiyotrofoblastlar, dev hücreler, labirent trofoblast hücreleri ve glikojen hücrelerindeki PCNA pozitivitesinin aynı gebelik günündeki kontrol grubuna göre azalmış olduğu görülmekte ($p<0.001$), (Şekil 25a,b ve 26).



Şekil 25. Gebeliğin 21. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyaması. a: Bağlantı zonundaki PCNA pozitif trofoblastik dev hücreler (kalın ok) ve spongiyotrofoblastlar (ince ok). X100. b: Labirent tabakasındaki PCNA pozitif boyanan labirent trofoblastlar (ok) görülmekte. X200. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması.

PCNA immünboyanma pozitif hücre sıklığı HSCORE analizine göre değerlendirildiğinde kontrol grubu plasentalarında gebelik yaşına paralel bir azalma gösterdiği, kadmiyum uygulamasının ise PCNA pozitif hücre sayısını daha da azalttığı gözlemlendi. (Şekil 26).



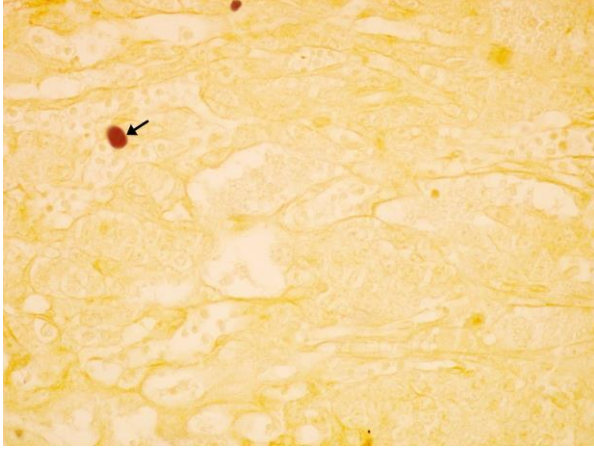
*p<0.001 kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

Şekil 26. Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerindeki kontrol ve kadmiyum grubu sıçan plasentalarında PCNA pozitif hücre sıklığı

TUNEL BOYAMASI

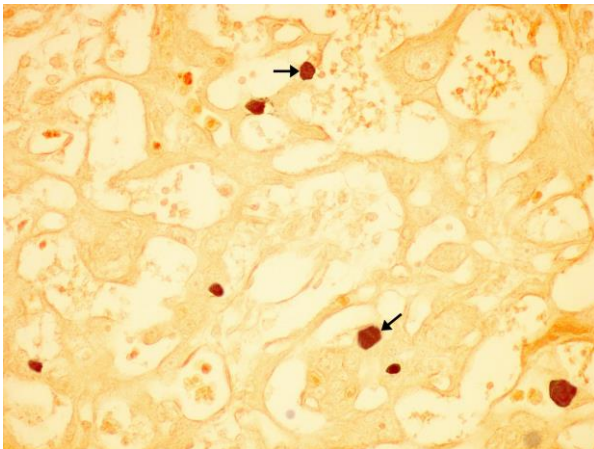
Gelişimin 15. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 15. günündeki kontrol grubuna ait sıçan plasentasında nadir sayıda TUNEL pozitif hücre görüldü (Şekil 27) (Tablo 2).



Şekil 27. Gebeliğin 15. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması. Labirent tabakasındaki (lab) TUNEL pozitif hücreler (ok). X400.

Kadmiyum grubuna ait bulgular: Gebeliğin 15. gününde kadmiyum uygulaması sonucunda sıçan plasentasındaki TUNEL pozitif hücre sayısının aynı gebelik günündeki kontrol grubuna göre artmış olduğu görüldü (Şekil 28) (Tablo 2).



Şekil 28. Gebeliğin 15. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması. Labirent tabakasındaki (lab) TUNEL pozitif hücreler (ok). X400.

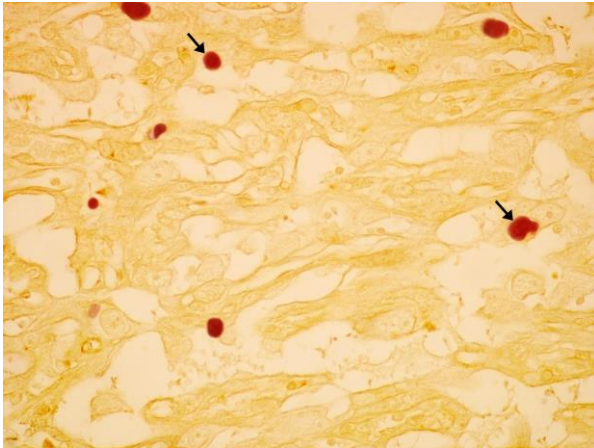
Gelişimin 17. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 17. günündeki kontrol grubuna ait sıçan plasentasında nadir sayıda TUNEL pozitif hücre görüldü (Şekil 29) (Tablo 2).



Şekil 29. Gebeliğin 17. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması. Labirent tabakasındaki (lab) TUNEL pozitif hücreler (ok). X400.

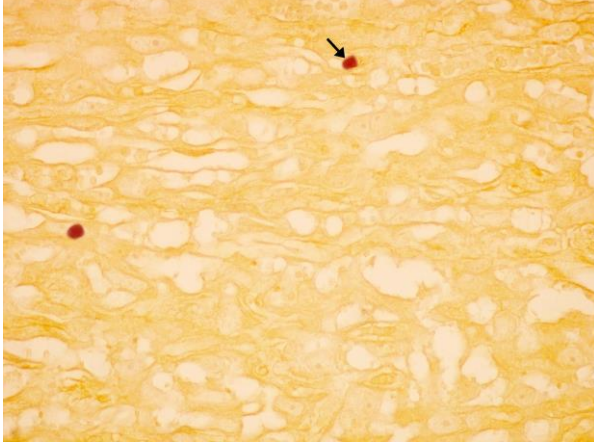
Kadmiyum grubuna ait bulgular: Gebeliğin 17. gününde kadmiyum uygulaması sonucunda sıçan plasentasındaki TUNEL pozitif hücre sayısının aynı gebelik günündeki kontrol grubuna göre artmış olduğu izlenmekte (Şekil 30) (Tablo 2).



Şekil 30. Gebeliğin 17. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması. Labirent tabakasındaki (lab) TUNEL pozitif hücreler (ok). X400.

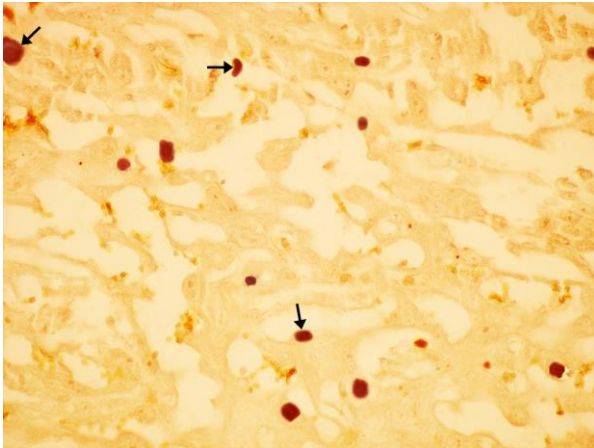
Gelişimin 19. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 19. günündeki kontrol grubuna ait sıçan plasentasında nadir sayıda TUNEL pozitif hücre görüldü (Şekil 31) (Tablo 2).



Şekil 31. Gebeliğin 19. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması. Labirent tabakasındaki (lab) TUNEL pozitif hücreler (ok). X400.

Kadmiyum grubuna ait bulgular: Gebeliğin 19. gününde kadmiyum uygulaması sonucunda sıçan plasentasındaki TUNEL pozitif hücre sayısının aynı gebelik günündeki kontrol grubuna göre artmış olduğu saptandı (Şekil 32) (Tablo 2).



Şekil 32. Gebeliğin 19. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması. Labirent tabakasındaki (lab) TUNEL pozitif hücreler (ok). X400.

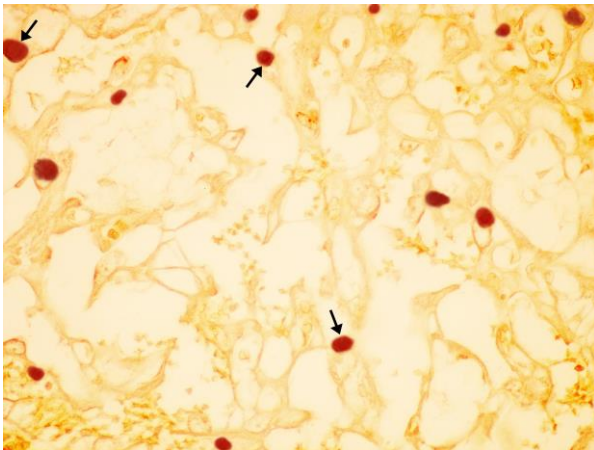
Gelişimin 21. Gününe Ait Bulgular

Kontrol grubuna ait bulgular: Gebeliğin 21. günündeki kontrol grubuna ait sıçan plasentasında nadir sayıda TUNEL pozitif hücre görüldü (Şekil 33) (Tablo 2).



Şekil 33. Gebeliğin 21. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması. Labirent tabakasındaki (lab) TUNEL pozitif hücreler (ok). X400.

Kadmiyum grubuna ait bulgular: Gebeliğin 21. gününde kadmiyum uygulaması sonucunda sıçan plasentasındaki TUNEL pozitif hücre sayısının aynı gebelik günündeki kontrol grubuna göre artmış olduğu görülmekte (Şekil 34) (Tablo 2).



Şekil 34. Gebeliğin 21. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması. Labirent tabakasındaki (lab) TUNEL pozitif hücreler (ok). X400.

Kontrol ve kadmiyum gruplarına ait plasenta dokularında TUNEL pozitif hücre sayıları semikantitatif olarak saptandı (Tablo 2).

Tablo 2. Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerindeki kontrol ve kadmiyum grubu sıçan plasentalarında TUNEL pozitif hücrelerin semikantitatif değerlendirmesi

Gebelik günleri	Kontrol grubu TUNEL pozitif hücreler	Kadmiyum grubu TUNEL pozitif hücreler
15	±	++
17	±	++
19	±	+++
21	±	+++

Hücre sayısı: yok (-), nadir (±), az(+), orta (++) , fazla (+++), çok fazla (++++).

TARTIŞMA

Plasenta, fetüsü koruyan ve gelişmesinde önemli roller oynayan çok yönlü bir organdır. Plasenta fetusa gerekli oksijen ve besin maddelerinin sağlanması, atıkların ve karbondioksitin fetustan uzaklaştırılmasını, endokrin etkisi ile annede gebelik ve doğum ile ilişkili değişikliklerin oluşturulmasını, yabancı cisim olan fetusun reddinin önlenmesini, gebeliğin sağlıklı olarak devamı için gerekli spiral arterlerdeki değişimlerin oluşturulmasını, fetusun zararlı etkilerden korunmasını sağlar (113).

Plasenta gebelik süresince anne ile fetus arasında fonksiyon görür. Bu nedenle anne ya da fetusu etkileyen herhangi bir patolojik olay plasentanın normal fonksiyonlarını etkileyerek morfolojik değişikliklere yol açar. Plasentada gelişen bazı lezyonlar fetal yaşamı olumsuz etkileyebilir. Anneyi ve fetüsü etkileyen çeşitli istenmeyen olumsuz faktörler plasentada hasarlar meydana getirebilir. Bazen plasentanın kendi yapısal değişiklikleri de fetal durumun kötüye gitmesinde etken olabilir (114).

Maternal ve fetal yapılarıdaki gebeliğe bağlı düzenlenmeler trofoblast hücrelerinin endokrin fonksiyonu tarafından organize edilir, trofoblast hücreleri farklılaştıkça hormonları, sitokinleri ve büyüme faktörlerini üretme kapasitesi kazanırlar (115,116).

Plasentanın işlevlerini bir arada ya da ayrı ayrı olarak etkileyen fetal, maternal, çevresel ya da bilinmeyen etkenler fetal büyümeyi ve yeni doğanın doğum kilosunu etkiler. Beklenen ağırlığının %10 altında kiloya sahip yeni doğanlar uterus içi büyüme geriliği ya da gebelik yaşına göre küçük bebekler olarak adlandırılır (117). Aynı zamanda plasentanın yetersiz gelişimi uterus içi büyüme geriliği, preeklampsi ve diğer gebelik patolojilerine sebebiyet verir (118-121).

Çevre kirliliği dünyanın büyük bir kısmında olduğu gibi Türkiye’de de önemli bir sorundur. Endüstrinin gelişmesi ile birçok kimyasal madde; hava, su ve toprağı kirletmekte bu da insanları olumsuz etkilemektedir. Bu kimyasalların başında ağır metaller gelmektedir. Uzun yıllar boyunca yerkabuğunun derinliklerinde aktif olmayan bir şekilde bulunan ağır metaller endüstride kullanılmaya başlandığı 20.yüzyıldan itibaren yoğun bir şekilde çevreye yayılmaktadır (122). Ağır metaller her zaman her yerde bulunmakta ve proteinlerin sülfidril gruplarına bağlanarak protein ve enzimlerin yapısını değiştirerek organizmaya toksik etki yapmaktadırlar (123).

Toksik metallere maruziyet gelişen fetus yönünden önem taşımakta olup, plasentada metal düzeylerinin belirlenmesinin çevresel metal maruziyeti yönünden iyi bir gösterge olduğu da düşünülmektedir (124). Plasenta anne ve fetal dolaşımın temas alanını oluşturur, bir taraftan fetus için gerekli maddeleri sağlarken diğer taraftan da aralarında metallerin de bulunduğu toksik maddelerin fetusa geçişini engeller. Metallerin plasenta tarafından tutulması plasental fonksiyonların etkilenmesine, özellikle fetal büyüme ve gelişim için gerekli iz elementlerin taşınmasını engelleyecektir (125).

Endüstriyel ve çevresel kirleticilerden biri olan ve canlılar üzerindeki toksik etkileri bilinen kadmiyum, atmosfere genellikle yaygın endüstriyel kullanımı sonucu yayılır ve özellikle hava, su ve toprağı kirletir. Bitkilerde biriken ağır metaller ise besin zinciri ile insan ve hayvanlara geçerek toksik etkilerini meydana getirir. Topraktaki kadmiyumun esas kaynağı ise sanayi atıklarının gübre olarak kullanılmasıdır (83,126). Kadmiyumun çevreye yayıldığı başlıca kaynaklar; maden ocakları, rafineriler, sanayi atıkları, fosfatlı gübreler, bazı haşere ilaçları ve motor yağlarıdır (127).

Kadmiyumun birincil maruziyet kaynakları, endüstriyel kirlilik, besinler ve sigara kullanımınıdır (128). Sigara başına düşen, 120 ng’dan 2 µg’a kadar kadmiyum miktarı göz önünde bulundurulduğunda, bir sigara içicisi her gün 1,5-60 µg’lık kadmiyuma maruz kalabilmektedir (129,130). Çoğu karaciğer ve böbrekteki sisteince zengin bir protein olan metallotioneine bağlanan kadmiyumun inhalasyon yoluyla alınması durumunda %50’si, besin yoluyla alınması durumunda %6’sı absorblanmaktadır (128).

Maternal dolaşımın yüksek konsantrasyonlarda kadmiyum ile perfüzyonunun stromal ödeme, 6-8 saat içinde sinsityotrofoblastik vezikülasyon ile vakuolizasyon ve plasental nekroza neden olduğu bildirilmiştir (74,75). Dolayısıyla, bu metalin plasental birikimi, plasentada hem yapısal hem de fonksiyonel değişikliklere neden olur. Kadmiyum; çinko, bakır, demir, selenyum gibi diğer elementlerin metabolizmasını etkileyerek fetusa zarar verebilir (73,131).

Hayvan deneylerinde kadmiyumun teratojenik ve gelişimsel etkileri olduğu gözlenmiştir (93,131). Bu deneylerde, kadmiyuma gebelik öncesinde ve gebelik boyunca maruziyet sonrasında doğan bebeklerde düşük doğum ağırlığı gösterilmiştir (132-134). Huel ve ark. (135) 1984'te kadmiyumla karşılaşan annelerin bebeklerinde düşük doğum ağırlığı görüldüğünü bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada gebeliği esnasında sigara içen kadınlarda plasental kadmiyum konsantrasyonunda artış olduğu gösterilmiştir. Bu artışın, düşük doğum ağırlığı ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (91,136). Gebelik sırasında herhangi bir kaynaktan kadmiyumla karşılaşma sonucunda kadmiyum kolostrum yoluyla yenidoğan bebeğe de geçebilir (93,131,137). Yine diğer bir çalışmada, kadmiyumun böbrek, bağırsak ve plasentadaki kalsiyum adsorbsiyonunu ve taşınımını bozduğu gösterilmiştir (138).

Çalışmamızda, deneye dahil olan gebelik günlerinde placentada ve embriyo ağırlıklarının kadmiyum uygulaması sonucunda kontrole göre anlamlı ölçüde azaldığını tespit ettik. Bu bulgularımız, daha önce yapılan çalışmaların bulgularıyla da uyumluluk göstermektedir (139,140).

Daha önce yapılan çalışmalarda gebeliğin 12. gününden itibaren sıçan plasentasında, dev trofoblast hücre tabakası, bağlantı zonu ve labirent tabakası olmak üzere 3 tabaka şekillendiği bildirilmiştir (141,142). Bu çalışmada ise gruplarımız arasındaki en erken gelişim günü olan gebeliğin 15. günündeki plasentada aynı tabakaların bulunduğu gösterilmiştir. Witlin ve ark. (143) yaptıkları çalışmada, sıçan plasentasında 15 ve 17. günde maternal desiduanın altında bulunan trofoblast dev hücreleri ve bağlantı zonu ile plasentanın içteki tabakası olan labirent tabakasını göstermişlerdir. Sunulan bu çalışmada da, gebeliğin 15 ve 17. günlerinde literatürle uyumlu olarak plasental tabakalar tespit edildi. Yine sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada (144), gebeliğin son günleri olan 19, 20 ve 21. günlerde bağlantı zonunun oldukça küçüldüğü, plasentanın neredeyse tamamını labirent tabakasının oluşturduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda da, literatüre uygun olarak gebeliğin son günlerinde labirent tabakasının plasentanın büyük bir kısmını oluşturduğu ve labirent tabakasındaki fetal damarlara ait eritrositlerin çekirdeklerini kaybettikleri tesbit edildi. Plasentadaki glikojenik hücre varlığı Özmen (121) tarafından ilk olarak gebeliğin 14. gününde tesbit edilmiş ve gebelik ilerledikçe de glikojen hücre sayısında azalma olduğu rapor edilmiştir. Yapılan başka çalışmalarda da gebeliğin ilerlemesiyle glikojen hücre sayısının azaldığı gösterilmiştir (50,140,141). Bu çalışmada da literatüre uyumlu olarak gebeliğin 15. gününde glikojenik hücre varlığı tespit edilmiştir. Ancak önceki çalışmalarla farklı olarak glikojenik hücreler en yoğun olarak 17. günde görülmüştür. Onyedinci günden sonra ise sayılarında düzenli bir azalmanın olduğu gösterilmiştir. Daha önce yaptığımız çalışmada da plasentanın 15. günden

sonra devamlı bir büyüme içerisinde olduğunu ve glikojen hücre sayısının 17. günden sonra düşüş gösterdiğini tespit etmiştik (145).

Bazı patolojik durumlarda plasental yapının bozulduğu literatürde gösterilmiştir. Witlin ve ark. (143) yaptıkları çalışmada adrenomedullin antagonisti uygulanmış sıçan plasentasının labirent tabakasında nekrotik alanların oluştuğunu göstermiştir. Ayrıca labirent yapısının bozulup damarların aşırı miktarda genişlediğini bildirmiştir. Katayama ve ark. (146) yaptığı çalışmada, alkilleyici bir ajan olan etil nitrozoüre'nin sıçan plasentasında bağlantı zonunun ve labirent tabakasının incelmeye, kan damarlarının genişlemesine sebebiyet verdiğini rapor etmiştir. Bir başka çalışmada ise (147) hipertermi sonucunda plasentada glikojen hücrelerinin dejenere olduğu, dev hücre sayısının arttığı, labirent tabakasında hiyalinizasyon olduğu ve damar yapısının bozulup hücresel bütünlüğün ortadan kalktığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda, kontrol grubundaki normal yapı ve gelişim kadmiyum uygulaması sonrası bozulmuştur. Kadmiyum uygulamasının plasentanın boyutunu küçülttüğü ve özellikle bağlantı zonunda belirgin bir incelmeye yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca bağlantı zonundaki glikojen hücre sayılarında 15. gün haricinde belirgin olarak bir azalmaya sebebiyet verdiği saptanmıştır. Bunun yanı sıra labirent tabakasında normal yapının bozulmasına yol açmıştır, bu tabakadaki kan damarlarında kontrol grubuna göre düzensizlik ve genişleme görülmüştür.

İnsan vücudundaki başka organlarda olduğu gibi plasentada da hücre gelişimi ve fonksiyonu, hücre proliferasyonu ve hücre ölümü arasındaki dengeye dayalıdır. PCNA'nın insan plasentasında erken gebelik döneminde en fazla, orta gebelik döneminde daha az ve termde de en az düzeyde eksprese edildiği bildirilmiştir (148). İnsan plasentasında PCNA ekspresyonu en yoğun olarak villöz ve invaziv sitotrofoblastlarda tespit edilmiştir. Ayrıca sinsisyotrofoblastta, villöz stromal hücrelerde, desidual hücrelerde ve desidual bez hücrelerinde PCNA ekspresyonu mevcuttur (149). İnsan plasentasının 1. trimesterinde PCNA eksprese eden hücre yüzdesi 13.4 iken, termde bu yüzdenin sadece 1.9 olduğu hesaplanmıştır (150). Ayrıca, sıçan plasentalarındaki PCNA ekspresyonunun da gebeliğin ilerleyen günlerinde azaldığı saptanmıştır. Plasentada gebeliğin 11 ve 13. günündeki yoğun PCNA pozitivitesinin 17 ve 21. günlerde azaldığı rapor edilmiştir (151). Bizim daha önceki çalışmamızda da (145), erken gebelik döneminden geç gebelik dönemine doğru sıçan plasentasındaki PCNA pozitivitesindeki azalma gösterilmiştir. Plasentanın normal gelişimi için gerekli olan trofoblast proliferasyonu bazı patolojik durumlar sonucunda azalma göstermiştir. Er (144) yaptığı çalışmada, IUGR oluşturulmuş sıçanların plasentasında PCNA pozitivitesinin kontrole göre anlamlı derecede azaldığını göstermiştir. Acar'ın yaptığı

çalışmada ise (141), PCNA immünopozitif hücre sıklığının, diyabet grubu sıçan plasentalarında kontrol grubuna göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak bu pozitivitenin gebelik yaşına paralel olarak bir azalma gösterdiği tesbit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise, plasentadaki PCNA immunopozitif hücre sayısının gebelik yaşına paralel olarak azalma gösterdiği görüldü. Bu bulgularımız, plasentanın terme yaklaştıkça proliferatif özelliğinin azaldığı bilgisini destekliyordu (148). Kadmiyum uygulamasından sonra ise PCNA pozitivitesinin kontrole göre anlamlı derecede azaldığı görüldü.

Apoptozis; gelişmiş organizmalarda hücreler arası ilişkilerin gereği olarak gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerin, çevreye zarar vermeden programlı ölümüdür. Embriyo döneminden başlayarak tüm yaşam boyunca apoptotik mekanizma ve programlı hücre ölümü vardır. Bazı hücreler yıllarca yaşarken bir kısmı sadece birkaç saat yaşarlar. Deri, gastrointestinal sistem ve immün sistem gibi pek çok dokuda devamlılık apoptozis ve hücre yenilenmesine bağlıdır (105).

Normal gebeliklerde ekstrasvillöz trofoblast hücreler maternal uterin dokusunu invaze ederler. İnterstisyel trofoblastlar desidual dokuyu myometriumun üçte birine kadar penetre ederler. İnterstisyel trofoblastlar, intramural, endovasküler trofoblastlar, plasenta ve fetusa yeterli oksijen ve besin maddesi taşınabilmesi için uterin spiral arterleri büyük kanallara dönüştürürler. Bununla birlikte, trofoblastların apoptoza uğraması için bir maruziyetin olması gerekir. Dolayısıyla dışarıdan aktive edilmeden önce trofoblastların kendi içindeki intrinsik programın aktive edilmesi gerekir. Yapılan çalışmalarda apoptoz miktarının ölçülmesi interstisyel trofoblastlardaki apoptozisin patolojik invazyonda son nokta olmadığını göstermiştir. Öte yandan, intramural, endovasküler trofoblastlardaki apoptozis spiral arterlerin doğru transformasyonu için gereklidir (20).

İnsanda ilk ve son trimesterdaki normal gebeliklerden alınan plasenta örneklerinde tüm hücre tiplerinde apoptozis gösterilmiş ve apoptotik hücrelerin büyük kısmının (>%50) trofoblastlara ait olduğu ortaya konulmuştur. Yine ilk trimester plasenta örnekleri ile kıyaslandığında son trimester örneklerinde apoptozis insidansının anlamlı oranda arttığı farkedilmektedir. Gebelik ilerledikçe gözlenen artmış apoptozisin doku yaşlanmasının doğal bir sonucu olduğu ve yaşlanan dokuların apoptotik uyarılara daha hassas oldukları şeklinde bir görüş belirmiştir (152).

Yapılan bir çalışmada gebeliğin 20. gününde plasentanın fetal ve maternal kısmında TUNEL pozitif hücreler sayılmıştır ve maternal kısımdaki apoptotik hücre sayısının fetal kısımdan daha fazla olduğu rapor edilmiştir (144). Bir başka çalışmada (153) ise gebeliğin 18. günündeki sıçan plasentasında apoptotik hücrelerin çok nadir bulunduğu bildirilmektedir.

Bizim daha önce yaptığımız çalışmada da, gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinde plasentada az sayıda apoptotik hücre gözlenmiştir (145). Yine sıçan plasentası ile yapılan başka çalışmalarda gebeliğin son günlerinde plasentanın labirent ve bağlantı zonu tabakalarında p53 immün boyanması ile apoptotik hücreler gösterilmiştir (2,154,155).

Plasentanın normal gelişimi için gerekli olan apoptozisin dışarıdan yapılan uygulamalar sonucu ya da plasenta ve embriyonun sağlığını etkileyen olaylar sonucunda aşırı miktarda arttığı çalışmalarda bildirilmiştir (146,156-158). Jeon ve ark. (159) insan plasentasındaki trofoblastlarda, hipoksiden sonra apoptozisin arttığını göstermişlerdir. Furukawa ve ark. (157) busulfan enjeksiyonu sonucunda sıçan plasentasında apoptozisin arttığını bildirmiştir. Gebeliğin 13.5, 14.5, 15 ve 16. günlerde labirent tabakası ve bazal bölgedeki apoptotik aktivite gösterilmiştir. Labirent tabakasındaki apoptotik hücre sayısının bazal bölgeye göre daha fazla olduğu tesbit edilmiştir. Başka bir çalışmada da, etil-nitrozoüre'nin sıçan plasentası labirent tabakasında apoptosize sebebiyet verdiği gösterilmiştir (146). Gündoğan ve ark. (160) ethanol maruziyeti sonrasında sıçan plasentasında apoptik hücre sayısının arttığını tesbit etmiştir. Taki ve ark. (161) ise, kanser tedavisinde kullanılan ilaçların enjeksiyonu sonrasında 15 günlük sıçan plasentasında apoptozisin arttığını caspase-3 immünboyaması ile göstermişlerdir. Suzuki ve ark. (162) sıçanlara nitrik oksit inhibitörü verilmek suretiyle gebeliğin 13.5, 17.5 ve 21.5 günlerinde TUNEL tekniği ile apoptozisin arttığını göstermiştir. Sharma ve ark. (163) fare gebeliğin 10. gününde *Plasmodium berghei* enfekte etmişler ve sonraki gebelik günlerinde plasentadaki apoptozise bakmışlardır. *Plasmodium berghei* enfektesinden 2 gün sonra apoptotik hücre sayısı kontrol plasentasındaki kadarken, 4 ve 6 gün sonra yani gebeliğin 14 ve 16. günlerindeki apoptotik hücre sayısının kontrole kıyasla ciddi oranda arttığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda, literetüre uygun olarak, gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerindeki kontrol grubu plasentalarında nadir sayıda apoptotik hücre tesbit ettik. Kadmiyum uygulaması sonucunda ise labirent tabakasında apoptotik TUNEL pozitif hücre sayısının önemli ölçüde arttığını, bu artışın 17 ve 19. günlerde 15 ve 17. günlere oranla daha fazla olduğu saptanmıştır.

SONUÇLAR

Bu çalışmada; gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinde, kadmiyumun plasentadaki trofoblast proliferasyonu ve differensiyasyonu ile apoptotik aktiviteyi nasıl etkilediğini, dolayısıyla kadmiyumun plasental gelişim üzerine olan etkileri immünohistokimyasal ve TUNEL teknikleriyle gösterildi.

Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerindeki kontrol grubu plasentalarının normal yapıda olduğunu tespit ettik. Kadmiyum uygulamasının plasentada boyut olarak küçülmenin yanı sıra özellikle labirent tabakasında olmak üzere düzensizliklere sebep olduğu gözlemlendi. Ayrıca kadmiyuma bağlı olarak plasentada incelenen tüm gebelik günlerinde PCNA pozitif hücre sıklığının azalma gösterdiği, apoptotik hücre sayısının ise arttığı saptandı.

Sonuç olarak çalışmamız; gebelik boyunca verilen kadmiyumun plasentanın normal yapısını bozarak, trofoblast proliferasyonunu engelleyerek ve apoptotik trofoblast hücre sayısını arttırarak anormal plasental gelişime sebebiyet verdiğini göstermiştir. Çalışmamızdan elde edilen verilerin literatüre kazandırılmasının sonraki yapılacak çalışmalara da katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

ÖZET

Plasenta, anne ile fetüs arasındaki birçok metabolik aktiviteyi düzenleyen bir geçiş bölgesidir ve gebeliğin sonucunu etkileyen kritik bir organdır. Embriyonunun sağlıklı bir şekilde gelişebilmesi için plasental gelişimin tam olması gerekir. Nitekim erken embriyonik ölümlerin en büyük nedenlerinden birisi de anormal plasental gelişimlerdir.

Bu çalışmada, gebeliğin farklı günlerinde kadmiyumun plasentadaki trofoblast proliferasyonu ve differensiyasyonu ile apoptotik aktiviteyi nasıl etkilediğini, dolayısıyla plasental gelişim üzerine olan etkilerini immünohistokimyasal ve TUNEL teknikleriyle göstermeyi amaçladık.

Çalışmamızda deney modeli, kontrol ve kadmiyum grubu olmak üzere plasental gelişimin gerçekleştiği gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinden oluşmaktaydı. Kadmiyum grubundaki dişi sıçanlara gebeliğin başlangıcından sakrifiye edilecekleri zamana kadar olmak üzere 0,5 mg/kg kadmiyum (2 ml sodyum klorür içerisinde çözünerek) günlük tek doz olarak subkutan yoldan verildi. Gebe dişilerin plasental gelişimin gerçekleştiği gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinde embriyo ve plasentaları ayrı ayrı alındı ve alınan plasentalar mikroskopik incelemeler için işlemlendirildi.

Gebeliğin 15. günündeki kontrol grubu plasentalarda tüm katmanların oluşmuş olduğu gözlemlendi ve bu günden sonra da plasentanın devamlı bir büyüme içerisinde olduğu görüldü. Kadmiyum grubunda da 15. günden itibaren plasentada tüm katmanların varlığı gözlemlendi. Ancak boyut olarak kontrol grubuna göre daha küçük olduğu gözlemlendi. Özellikle bağlantı zonundaki küçülme dikkat çekiciydi. Kadmiyum grubu labirent tabakasında düzensizlikler ve kan damarlarında genişleme görüldü. Glikojen hücre sayısında ise 15. günden sonra kontrol grubuna göre bir azalma izlendi. Kadmiyuma bağlı olarak plasentada tüm gebelik günlerinde

prolifere hücre nükleer antijen pozitif hücre sıklığının azalma gösterdiği, apoptotik hücre sayısının ise arttığı saptandı.

Sonuç olarak; gebelik boyunca verilen kadmiyumun plasentanın normal yapısını bozduğu, trofoblast proliferasyonunu engellediği ve apoptotik trofoblast hücre sayısını da arttırarak anormal plasental gelişime sebebiyet verdiği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Kadmiyum, plasental gelişim, trofoblast, apoptozis, PCNA, sıçan.

**EFFECTS OF CADMIUM ON THE TROPHOBLASTIC CELL
PROLIFERATION AND APOPTOSIS IN THE DEVELOPING RAT
PLACENTA**

SUMMARY

Placenta is a transition area regulating many metabolic activities between the mother and fetus and a critical organ influencing the outcome of pregnancy. Placental development must be completed in order the embryo to develop in a healthy way. Indeed, one of the biggest causes of early embryonic death is abnormal development of the placenta.

In this study, we aimed to show how cadmium affects the trophoblast proliferation and differentiation in the placenta and the apoptotic activity in different gestational days and hence, its effects of the placental development with immunohistochemical and TUNEL techniques.

Experimental model of our study consisted of placental development of control and cadmium groups on 15, 17, 19 and 21th days of the gestation. Female rats in cadmium groups were subcutaneously administered a single dose of 0.5 mg cadmium/kg/d dissolved in sodium chloride as 2 mL/kg cadmium chloride until the day they sacrificed. Embryo and placenta of the female rats were seperately removed on 15, 17, 19 and 21th days of the gestation in which the placental development takes place and the placentas were processed for microscopic examinations.

In the placentas of the control group, all the layers were observed to be formed on the 15th gestational day and thereafter a continuous growth was monitored. In cadmium group

also all the layers were existed from the 15th gestational day. However they were smaller in size than the controls. It was noteworthy especially the reduction in the connection zone. In the cadmium group, irregularities in the labyrinth layer and dilation of the blood vessels were observed. The number of glycogen cells were significantly decreased after the 15th day compared to the controls. Frequency of proliferating cell nuclear antigen positive cells was decreased and the number of apoptotic cells was increased in all the gestational days related to cadmium.

In conclusion; cadmium administered during the pregnancy was observed to cause abnormal placental development by disrupting the normal structure of placenta, inhibiting the proliferation of trophoblast and increasing the number of apoptotic trophoblast cells.

Keywords: Cadmium, placental development, trophoblast, apoptosis, PCNA, rat

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. Waddell BJ, Hisheh S, Dharmarajan AM, Burton PJ. Apoptosis in rat placenta is zone-dependent and stimulated by glucocorticoids. *Biol Reprod* 2000;63(6):1913–7.
3. Forbes K, Westwood M. The IGF axis and placental function [a mini review]. *Horm Res* 2008;69(3):129-37.
4. Pijnenborg R, Robertson WB, Brosens I, Dixon G. Review article: trophoblast invasion and the establishment of haemochorial placentation in man and laboratory animals. *Placenta* 1981;2(1):71-91.
5. Myatt L. Placental adaptive responses and fetal programming [Review]. *J Physiol* 2006;572(Pt 1):25-30.
6. Rossant J, Cross JC. Placental development: lessons from Mouse mutants. *Nat Rev Genet* 2001;2(7):538-48.
7. Watson ED, Cross JC. Development of structures and transport functions in the mouse placenta. *Physiology (Bethesda)* 2005;20:180-93.
8. Erdoğan BB, Uzaslan EK. Apoptozis mekanizmaları: Tümör gelişiminde fas-fas1 bağımlı apoptozis. *Akciğer Arşivi* 2003;4:165-74.
9. Hikim AP, Wang C, Leung A, Swerdloff RS. Involvement of apoptosis in the induction of germ cell degeneration in adult rats after gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment. *Endocrinology* 1995;136(6):2770-5.
10. Güler Ç, Çobanoğlu Z, Çevresel Etkenlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Hastalıklar, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Ankara: Çevre Sağlığı Kaynak Dizisi, No. 6, 1. 1994:20-21.

11. Kalay M, Karataş S. Kadmiyumun *Tilapia nilotica*'da kas, beyin ve kemik (omurga kemiği) dokularındaki birikimi. *Turk J Zool* 1999;23:985-91.
12. Satarug S, Moore MR. Adverse health effects of chronic exposure to low level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environ Health Persp* 2004;112(10): 1099-103.
13. Satoh M, Koyama H, Kaji T, Kito H, Tohyama C. Perspectives on cadmium toxicity research. *Tohoku. J Exp Med* 2002;196(1): 23-32.
14. Coğulu Ö, Alpman A., Durmaz B., Özkınay F. Mitoz ve mayozun moleküler temelleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007;27:725-37.
15. Güneş H. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. *Tr J of Biology* 1999;23: 283-92.
16. Kelman Z. PCNA: structure, functions and interactions. *Oncogene* 1997;14(6):629-40.
17. Sugden MC, Langdown ML. Possible involvement of PKC isoforms in signalling placental apoptosis in intrauterine growth retardation. *Mol Cell Endocrinol* 2001;185(1-2):119-26.
18. Yui J, Garcia-Lloret M, Wegmann TG, Guilbert LJ. Cytotoxicity of tumour necrosis factor-alpha and gamma interferon against primary human placental trophoblasts. *Placenta* 1994;15(8):819-35.
19. Pridjian G. Fetomaternal interactions: placental physiology and its role as a go-between. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG, eds. *Neonatology: Pathophysiology and Management of the Newborn*, 5th Ed. Philadelphia: Lippincott Co; 1994. p.126-43.
20. Huppertz B, Hemmings D, Renaud SJ, Bulmer JN, Dash P, Chamley LW. Extravillous trophoblast apoptosis a workshop report. *Placenta* 2005;26 Suppl A:46-8
21. Huppertz B, Kadyrov M, Kingdom JC. Apoptosis and its role in the trophoblast. *Am J Obstet and Gynecol* 2006;195(1):29-39.
22. Handwerger S, Freemark M. The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000;13(4):343-56.
23. Desoye G, Hauguel-de Mauzon S. The human placenta in gestational diabetes mellitus. The insulin and cytokine network. *Diabetes Care* 2007;30,Suppl:2:120-26.
24. Hassa O ve Aştı RN. Embriyoloji. Ankara, 1997. s.77-93.
25. Spencer TE, Bazer FW. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;5:2:49.
26. Knipp GT, Audus KL, Soares MJ. Nutrient transport across the placenta. *Adv Drug Deliv Rev* 1999;38(1):41-58.

27. <http://www.mumcu.com/html/article.php?sid=259> adlı web sayfasından yararlanılmıştır. (Haziran, 2012)
28. Benirschke K, Kaufmann P. The Pathology of the Human Placenta, 3rd Ed. New York: Springer-Verlag; 1995.
29. Demir R, Kaufmann P, Castellucci M, Erbeni T, Kotowski A. Fetal vasculogenesis and angiogenesis in human placental villi. *Acta Anat* 1989;136:190-203.
30. <http://www.embryology.ch/anglais/fplacenta/villosite07.html> adlı web sayfasından yararlanılmıştır. (Haziran, 2012)
31. Kaufmann P, Kingdom J. Development of the placenta and its circulation. In Rodeck CH ve Whittle MJ (eds). *Fetal Medicine Basic Science and Clinical Practice*. London: Churchill and Livingstone; 1999. p 93-110.
32. Gürsoy E, Koptagel E. *Embriyoloji Atlası*. İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evleri, 2000:95-107.
33. Sadler TW. *Langman's Medical Embryology*. 10th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Chapter 7, 2006:89-110.
34. Moore KM, Persaud TVN. Klinik yönleri ile insan embriyolojisi. 6. İngilizce Baskıdan Çeviri. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2002. s: 47-59, 129-164, 230-233.
35. Carlson B.M. *Human embryology and developmental biology*. Third edition. USA Philadelphia: Mosby Inc; 2004a.
36. Grota LJ, Ader R. Continuous recording of maternal behaviour in *Rattus norvegicus*. *Animal Behaviour*, 1969;17(4):722-29.
37. Hebel RS, Stromberg MW. *Anatomy and embryology of the laboratory Rat*. BioMed Verlag, Wörthsee 1986; pp 231-252.
38. Enders AC, Schlafke S, Welsh AO. Trophoblastic and uterine luminal epithelial surfaces at the time of blastocyst adhesion in the rat. *Am J Anat* 1980;159(1):59-72.
39. <http://placentation.ucsd.edu/rat.html> adlı web sayfasından yararlanılmıştır. (Haziran, 2012)
40. Pijnenborg R, Vercruyse L. Mathias Duval on placental development in mice and rats. *Placenta* 2006;27(2-3):109-18.
41. Cross JC, Hemberger M, Lu Y, Nozaki T, Whiteley K, Masutani M et al. Trophoblast functions, angiogenesis and remodeling of the maternal vasculature in the placenta. *Mol Cell Endocrinol* 2002;187(1-2):207-12.
42. Parast MM, Aeder S, Sutherland AE. Trophoblast giant-cell differentiation involves changes in cytoskeleton and cell motility. *Dev Biol* 2001;230(1):43-60.
43. Enders AC, Blankenship TN. Comparative placental structure. *Adv Drug Deliv Rev* 1999;38(1):3-15.

44. Hogan BL, Barlow DP, Kurkinen M. Reichert's membrane as a model for studying the biosynthesis and assembly of basement membrane components. *Ciba Found Symp* 1984;108:60-74.
45. Jollie WP, Craig SS. The fine structure of placental junctional zone cells during prolonged pregnancy in rats. *Acta Anat* 1979;105:386-400.
46. Davies J, Glasser SR. Histological and fine structure observations on the placenta of the rat. *Acta Anat* 1968;69:542-608.
47. Georgiades P, Ferguson-Smith AC, Burton GJ. Comparative developmental anatomy of the murine and human definitive placentae. *Placenta* 2002;23(1):3-19.
48. Achen MG, Gad JM, Stacker SA, Wilks AF. Placenta growth factor and vascular endothelial growth factor are co-expressed during early embryonic development. *Growth Factors* 1997;15(1):69-80.
49. Teesalu T, Masson R, Basset P, Blasi F, Talarico D. Expression of matrix metalloproteinases during murine chorioallantoic placenta maturation. *Dev Dyn* 1999;214(3):248-58.
50. 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.
51. Georgiades P, Watkins M, Burton GJ, Ferguson-Smith AC. Roles for genomic imprinting and the zygotic genome in placental development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(8):4522-7.
52. Simmons DG, Fortier AL, Cross JC. Diverse subtypes and developmental origins of trophoblast giant cells in the mouse placenta. *Dev Biol* 2007;304(2):567-78.
53. Zybina EV, Zybina TG. Polytene chromosomes in mammalian cells. *Int Rev Cytol* 1996;165:53-119.
54. Wooding FBP, Filint APF. Placentation. Fourth Edition ed. In *Marshall's Physiology Reproductin*. New York: Chapman and Hall; 1994. p.25-30.
55. Carter AM. Placental circulation. In *comparative placentation*. Academic Press: London; 2000. p.108-60.
56. Steven D. Anatomy of the Placental Barrier. In *comparative placentation*. Academic Press: London; 2000. p.25-57.
57. Cross J, Baczyk D, Dobric N, Hemberger M, Hughes M, Simmons DG et al. Genes, development and evolution of the placenta. *Placenta* 2003;24(2-3):123-30.
58. Cross JC. Genetic insights into trophoblast differentiation and placental morphogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 2000;11(2):105-13.
59. al-Lamki RS, Skepper JN, Burton GJ. Are human placental bed giant cells merely aggregates of small mononuclear trophoblast cells? An ultrastructural and immunocytochemical study. *Hum Reprod* 1999;14(2):496-04.

60. Nakayama H, Scott IC, Cross JC. The transition to endoreduplication in trophoblast giant cells is regulated by the mSNA zinc finger transcription factor. *Dev Biol* 1998;199(1):150-63.
61. Jackson A, Alloway B. The transfer of cadmium from agricultural soils to the human food chain. In: *Biogeochemistry of trace metals*. London: Lewis Publisher, Boca Raton, 1992:109-58.
62. Tort L, Torres, P. The effects of sublethal concentrations of cadmium on haematological parameters in the dogfish, *Schyliorhinus canicula*. *J Fish Biol* 1988;32(2):277-82.
63. Thompson J, Bannigan J. Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reprod Toxicol* 2008;25(3):304–15.
64. Tsalev DL. Cadmium. Chapter 2. In: *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice, Vol. I*, Ed:Tsalev DL. Florida: CRC Pres Inc, 1993.
65. Nriagu JO. Global inventory of natural and anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. *Nature* 1979;279(5712):409-11.
66. The International Agency for Research on Cancer (IARC). Tobacco Smoking. *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*. 38. Lyon, France: IARC, 1986.
67. Kirkham MB. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments. *Geoderma* 2006;137(1-2):19-32.
68. Bishop ML. *Clinical chemistry principles, procedures, correlations*. 4. edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000:659.
69. Kikuchi Y, Nomiyama T, Kumagai N, Dekio F, Uemura T, Takebayashi T et al. Uptake of cadmium in meals from the digestive tract of young non-smoking Japanese female volunteers. *J Occup Health* 2003;45(1):43-52.
70. Meranger JC, Subramanian KS, Chalifoux C. Survey for cadmium, cobalt, chromium, copper, nickel, lead, zinc, calcium, and magnesium in Canadian drinking-water supplies. *J Assoc Off Anal Chem* 1981; 64(1):44-53.
71. Wolnik KA, Fricke FL, Capar SG, Braude GL, Meyer MW, Satzger RD et al. Elements in major raw agricultural crops in the United States. 1. Cadmium and lead in lettuce, peanuts, potatoes, soybeans, sweet corn, and wheat. *J Agric Food Chem* 1983; 31(6):1240-4.
72. Linnman L, Andersson A, Nilsson KO, Lind B, Kjellström T, Frberg L. Cadmium uptake by wheat from sewage sludge used as a plant nutrient source. A comparative study using flameless atomic absorption and neutron activation analysis. *Arch Environ Health* 1973;27(1):45-7.
73. World Health Organization (WHO). Cadmium. Geneva. *Environmental Health Criteria* 1992:92-205.

74. Jiang HM, Han GA, Gao HF, Shi W, Dong YL. The correlation studies of maternal zinc level and fetal malformation. I. Study on the antagonism of compound zinc preparation to cadmium-induced fetal malformation. *Acta Academ Medi Shandong* 1995;33(2):115-118.
75. Koçak M. Kronik Kadmiyum Toksisitesinin Hemostatik Sisteme Etkileri (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; (2004)
76. Verougstraete V, Lison D, Hotz P. Cadmium lung and prostate cancer: a systematic review of recent epidemiological data. *J Toxicol Environ Health B Crit* 2003;6(3):227-55.
77. Waisberg M, Joseph P, Hale B, Beyersmann D. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicol* 2003;192(2-3):95-117.
78. Il'yasova D, Schwartz GG. Cadmium and renal cancer. *Toxicol Appl Pharm* 2005;207(2):179-86.
79. Rencüzoğulları N. Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Kadmiyum Toksikasyonu Üzerine Likopenin Etkilerinin Araştırılması (tez). Hatay: Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2006.
80. Goyer R. Metals,. In: Amdur Ed, Casarett and Doull's Toxicology, 4th. Ed, New York: Mc Graw-Hill, Hinc, 1991:633-80.
81. Thijssen S, Cuypers A, Maringwa J, Smeets K, Horemans N, Lambrichts I et al. Low cadmium exposure triggers a biphasic oxidative stress response in mice kidneys. *Toxicology* 2007;236(1-2):29-41
82. Katakai K., Liu J, Nakajima K, Keefer LK., Waalkes MP. nitric oxide induces metallothionein (MT) gene expression apparently by displacing zinc bound to MT. *Toxicol Lett* 2001;119(2):103-8.
83. Karabulut-Bulan Ö, Koyutürk M, Bolkent Ş, Tabakoğlu-Oğuz A, Yanardağ R. Sıçan tiroid bezinde kadmiyum hasarına karşı c vitamini, e vitamini ve selenyumun kombine kullanımının etkileri. *Cerrahpasa Tıp Dergisi* 2004;35(4):174-80.
84. Kara H, Karatas F, Canatan H, Effect of single dose cadmium chloride administration on oxidative stress in male and female rats. *Turk J Vet Anim Sci* 2005;29(1):37-42.
85. Koyuturk M, Yanardag R, Bolkent S, Tunali S. Influence of combined antioxidants against cadmium induced testicular damage. *Environ Toxicol Pharmacol* 2006;21(3): 235-40.
86. The Developmental and Reproductive Toxicant (DART) Identification Committee Draft, Evidence um Developmental and Reproductive Toxicity of Cadmium, Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section (RCHAS), October, 1996.
87. Bench G, Corzett MH, Martinelli R, Balhorn R. Cadmium concentrations in the testes, sperm, and spermatids of mice subjected to long- term cadmium chloride exposure. *Cytometry* 1999;35(1):30-6.

88. Gunnarsson D, Svensson M., Selstam G, Nordberg G. Pronounced induction of testicular PGF (2 alpha) and suppression of testosterone by cadmium-prevention by zinc. *Toxicology* 2004;200(1):49-58.
89. Massanyi P, Uhrin V, Toman R, Pivko J, Luka N, Forgacs ZS et al. Ultrastructural changes of ovaries in rabbits following cadmium administration. *Acta Vet Brno* 2005;74:29-35.
90. Prasad AS, Bao B, Beck FW, Kucuk O, Sarkar FH. Antioxidant effect of zinc in humans, *Free Radic Biolo Med* 2004;37(8):1182-90.
91. Kuhnert B, Kuhnert PM, Zarlingo TJ. Associations between placental cadmium and zinc and age and parity in pregnant woman who smoke. *Obstet Gynecol* 1988;71(1):67-70.
92. Wier PJ, Miller RK, Maulik D. Toxicity of cadmium in the perfused human placent. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990;105(1):156-71.
93. Schoeters G, Den Hond E, Zuurbier M, et al. Cadmium and children: exposure and health effects. *Acta Paediatr Suppl* 2006;95(453):50-4.
94. Järup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health* 1998;24:1-51.
95. Bravo R. Synthesis of the nuclear protein cyclin (PCNA) and its relationship with DNA replication. *Exp Cell Res* 1986;163(2):287-93.
96. Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo H. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. *Nature* 1987;326 (6112):515-7.
97. Fernandez EB, Sesterhenn IA, McCarthy WF, Mostofi FK, Moul JW. Proliferating cell nuclear antigen expression to predict occult disease in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors. *J Urol* 1994;152(4):1133-8.
98. 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.
99. Jaskulski D, deRiel JK, Mercer WE, Calabretta B, Baserga R. Inhibition of cellular proliferation by antisense oligodeoxynucleotides to PCNA cyclin. *Science* 1988;240(4858):1544-6.
100. Özvaran MK. Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi* 2004;5(2): 110-5.
101. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26(4):239-57.
102. Galle PR. Apoptosis in liver disease. *J Hepatol* 1997;27:405-12.
103. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *AmJPathol.*1995Jan;146(1):3-15

104. Hopwood D, Levison DA. Atrophy and apoptosis in the cyclical human endometrium. *Pathol.* 1976Jul;119(3):159–66.
105. Cohen JJ. Apoptosis: Mechanisms of life and death in the immune system. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103(4):548-54.
106. Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *BMJ* 2001;322(7301):1536-8.
107. Sjöström J, Bergh J. How apoptosis is regulated, and what goes wrong in cancer? *BMJ* 2001;322(7301):1538-9.
108. Tomatır AG. Apoptoz: programlı hücre ölümü. *T Klin Tıp Bilimleri* 2003;23:499-508.
109. Stephen CS, Philip N. Baker DM, E. Malcolm Symonds: Placental apoptosis in normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:57-65.
110. Rogers BB, Bloom SL, Leveno KJ: Atherosclerosis Revisited: Current Concepts On The Pathophysiology Of Implantation Site Disorders. *J. Obstet Gynecol Survey* March 1999;54(3):189-95.
111. Heazell AE, Crocker IP. Live and let die—regulation of villous trophoblast in normal and abnormal pregnancies. *Placenta*, 2008; 29(9):772-83
112. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidinbiotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;29:577-80.
113. Madazlı R. Placenta. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008:4.
114. Schuler-Maloney D. Placental triage of the singleton placenta. *Journal of Midwifery & Women's Health*. 2000;45(2):104-13.
115. Soares, M. Linzer D. Rodent prolactin family and pregnancy. Norwell, MA: Kluwer Academic Publishers. 2001;139-67.
116. Soares MJ. The prolactin and growth hormone families: pregnancy-specific hormones/cytokines at the maternal-fetal interface. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;2:51.
117. Battistelli M, Burattini S, Pomini F, Scavo M, Caruso A, Falcieri E. Ultrastructural study on human placenta from intrauterine growth retardation cases. *Microsc Res Tech* 2004;65(3):150-8.
118. Brosens JJ, PijnenborgR, Brosens IA. The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies: a review of the literature. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1416- 23.
119. Romo A, Carceller R, Tobajas J. Intrauterine growth retardation (IUGR): epidemiology and etiology. *Pediatr Endocrinol Rev* 2009;6 Suppl 3:332-6.

120. Jansson T, Powell TL. IFPA 2005 Award in Placentology Lecture. Human placental transport in altered fetal growth: does the placenta function as a nutrient sensor? [a review]. *Placenta* 2006;27 Suppl A:91-7.
121. Özmen A. Diyabetik ve Büyüme Geriliği Oluşturulmuş Sıçan Plasentalarının Gelişiminde Akt ve Erk1/2 Proteinlerinin Rollerinin İmmünohistokimya ve Western Blot Metodlarıyla Belirlenmesi (tez). Antalya: Akdeniz Üniversitesi; 2009.
122. Isikli B, Demir TA, Urer SM, Berber A, Akar T, Kalyoncu C. Effects of chromium exposure from a cement factory. *Environ Res* 2001;91:113–18.
123. Hodson PV. The effect of metal metabolism on uptake, disposal and toxicity in fish. *Aquatic Toxicol* 1988;11:3-18.
124. Baglan RJ, Brill AB, Schulert A, Wilson D, Larsen K, Dyer N et al. Utility of placental tissue as an indicator of trace element exposure to adult and fetus. *Environ Res* 1974;8:64-70.
125. Osman K, Akesson A, Berglund M, Bremme K, Schütz A, Ask K et al. Toxic and essential elements in placentas of swedish women. *Clin Biochem* 2000;33(2):131-8.
126. Olsuik P, Gundersen P, Andersen R, Zachariassen K. Metal accumulation and MT in two populations of brown, trout, *salmo trutta*, exposed to different natural water environments during a run-off episode, comparative biochemistry and physiology. *Toxicol Pharm* 2001;128 (2):189-201.
127. Baldwin DR, Marshall WJ. Heavy metal poisoning and it's laboratory investigation. *Ann Clin Biochem* 1999;36:267-300.
128. PHILP RB. Environmental hazards and human health. CRC Lewis Publishers Boca Raton, FL 1995.
129. Norman V. An overview of the vapor phase, semivolatile and non-volatile components of cigarette smoke. *Recent Adv Tob Sci* 1977;3:28.
130. Elinder CG, Kjellstrom T, Lind B, Linnman L, Piscator M, Sundstredt K. Cadmium exposure from smoking cigarettes. Variations with time and country where purchased. *Environ Res* 1983;32:220-7.
131. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Toxicological Profile for Cadmium, Draft for Public Comment (update). Public Health Service, US Department of Health and Human Service 1997.
132. Kostial K, Blanusa M, Schönwald N, Arezina R, Piasek M, Jones MM et al. Organ cadmium deposits in orally exposed female rats and their pups and the depleting efficiency of sodium N-4- (methoxybenzyl) -d-glucamine-N-carbodithioate monohydrate (MeOBDCG). *Appl Toxicol* 1993;13:203-7.
133. Petering HG, Choudhury H, Stemmer KL. Some effects of oral ingestion of cadmium on zinc, copper and iron metabolism. *Environ Health Perspect* 1979;28:97-106.

134. Whelton BD, Bhattacharyya MH, Carnes BA, Moretti ES, Peterson DP. Female reproduction and pup survival and growth for mice fed a cadmium-containing purified diet through six consecutive rounds of gestation and lactation. *J Toxicol Environ Health* 1988;24:321-43.
135. Huel G, Everson RB, Menger I. Increased hair cadmium in newborns of women occupationally exposed to heavy metals. *Environ Res* 1984;35:115-21.
136. Huel G, Boudene C, Ibrahim MA. Cadmium and lead content of maternal and newborn hair: relationship to parity, birth weight, and hypertension. *Arch Environ Health* 1981;36:221-227.
137. Oskarsson A, Palminger HI, Sundberg J. Risk assessment in relation to neonatal metal exposure. *Analyst* 1998;123:19-23.
138. Ando M, Matsui S. Effect of cadmium on vitamin D non-stimulated intestinal calcium absorption in rats. *Toxicology* 1987;45:1-11.
139. Yoruk M, Kanter M, Meral I, Agaoglu Z. Localization of glycogen in the placenta and fetal and maternal livers of cadmium-exposed diabetic pregnant rats. *Biol Trace Elem Res* 2003;96(1-3):217-26.
140. Kanter M, Yoruk M, Koc A, Meral I, Karaca T. Effects of cadmium exposure on morphological aspects of pancreas, weights of fetus and placenta in streptozotocin-induced diabetic pregnant rats. *Biol Trace Elem Res* 2003;93(1-3):189-200.
141. Acar N. Gebeliğin Belirli Evrelerinde Normal ve Diyabetik Sıçan Plasentasında Hücre Siklusu Regülatörlerinin Dağılımı (tez). Antalya: Akdeniz Üniversitesi; 2005.
142. Vercauysse L, Caluwaerts S, Luyten C, Pijnenborg R. Interstitial trophoblast invasion in the decidua and mesometrial triangle during the last third of pregnancy in the rat. *Placenta* 2006;27:22-33.
143. Witlin AG, Li ZY, Wimalawansa SJ, Grady JJ, Grafe MR, Yallampalli C. Placental and fetal growth and development in late rat gestation is dependent on adrenomedullin. *Biol Reprod* 2002;67:1025-31.
144. Er H. Normal Ve Dekametazon Verilen Sıçan Plasentasında Hücre Siklusu Proteinlerinden Siklin-E, PCNA ve P27' nin Dağılımı (tez). Antalya: Akdeniz Üniversitesi; 2007.
145. Erboğa M. Sıçanlarda Placenta Gelişiminin Morfolojik Olarak İncelenmesi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi; 2010.
146. Katayama K, Ueno M, Takai H, Ejiri N, Uetsuka K, Nakayama H et al. Ethylnitrosourea induces apoptosis and growth arrest in the trophoblastic cells of rat placenta. *Biol Reprod* 2002;67(2):431-5.
147. Padmanabhan R, Al-Menhali NM, Ahmed I, Kataya HH, Ayoub MA. Histological, histochemical and electron microscopic changes of the placenta induced by maternal exposure to hyperthermia in the rat. *Int J Hypertherm* 2005;21(1):29-44.

148. 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):28-29.
149. 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.
150. 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.
151. 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.
152. Attanasio A, Schiffer D. Ultrastructural detection of DNA strand breaks by in situ end-labelling techniques. *J Pathol* 1990;176:27-35.
153. Chauhan M, Yallampalli U, Reed L, Yallampalli C. Adrenomedullin antagonist infusion to rats during midgestation causes fetoplacental growth restriction through apoptosis. *Biol Reprod* 2006;75(6):940-7.
154. Yamauchi H, Katayama K, Ueno M, He XJ, Mikami T, Uetsuka K et al. Essential role of p53 in trophoblastic apoptosis induced in the developing rodent placenta by treatment with a DNA-damaging agent. *Apoptosis.* 2007;12:1743–54.
155. Korgun ET, Unek G, Herrera E, Jones CJ, Wadsack C, Korgun DK et al. Mapping of CIP/KIP inhibitors, G1 cyclins D1, D3, E and p53 proteins in the rat term placenta. *Histochem Cell Biol.* 2011;136:267–78.
156. Antipatis C, Ashworth CJ, Riley SC, Hannah L, Hoggard N, Lea RG. Vitamin a deficiency during rat pregnancy alters placental tnf- α signalling and apoptosis. *Am J Reprod Immunol* 2002;47(3):151-8.
157. Furukawa S, Usuda K, Abe M, Hayashi S, Ogawa I. Busulfan-induced apoptosis in rat placenta. *Exp Toxicol Pathol* 2007;59(2):97-103.
158. Yamauchi H, Katayama K, Ueno M, Uetsuka K, Nakayama H, Doi K. Involvement of p53 in 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine-induced trophoblastic cell apoptosis and impaired proliferation in rat placenta. *Biol Reprod* 2004;70(6):1762-7.
159. Jeon SY, Lee HJ, Na KH, Cha DH, Kim JK, Park JW et al. Hypoxia-induced downregulation of XIAP in trophoblasts mediates apoptosis via interaction with IMUP-2: Implications for placental development during pre-eclampsia. *J Cell Biochemistry* 2013;114:89–98.
160. Gundogan F, Elwood G, Mark P, Feijoo A, Longato L, Tong M et al. Ethanol-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in rat placenta: Relevance to pregnancy loss. *Alcohol Clin Exp Res* 2010;34(3):415–23.

161. Taki K, Fukushima T, Ise R, Horii I, Yoshida T. Mercaptopurine-induced histopathological changes and xanthine oxidase expression in rat placenta. *J Toxicol Sci* 2012;37(3):607-15.
162. Suzuki T, Nagamatsu C, Kushima T, Miyakoshi R, Tanaka K, Morita H et al. Apoptosis caused by an inhibitor of NO production in the decidua of rat from mid-gestation. *Exp Biol Med* 2010;235:455-62.
163. Sharma L, Kaur J, Shukla G. Role of oxidative stress and apoptosis in the placental pathology of *Plasmodium berghei* infected mice. *PLoS One* 2012;7(3):1-8.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Sıçan plasenta gelişiminin erken safhaları.....	8
Şekil 2. Sıçan plasentasının gelişimi.....	9
Şekil 3. Sıçanda plasental gelişim.....	10
Şekil 4. Sıçanlarda term plasentanın genel görünümü.....	11
Şekil 5. Gebeliğin 19.gününde labirentin detaylı görünümü.....	12
Şekil 6. Gebeliğin 17. gününde spongiyotrofoblast ve dev hücre tabakasının detaylı görünümü	13
Şekil 7. Sıçan ve insan plasentalarının karşılaştırılması.....	15
Şekil 8. Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinde kontrol ve kadmiyum gruplarına ait plasenta ağırlıkları.....	27
Şekil 9. Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerinde kontrol ve kadmiyum gruplarına ait embriyo ağırlıkları.....	28
Şekil 10. Gebeliğin 15. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları görünümleri.....	29

Şekil 11. Gebeliğin 15. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları görünüşleri.....	30
Şekil 12. Gebeliğin 17. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları görünüşleri.....	31
Şekil 13. Gebeliğin 17. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları görünüşleri.....	32
Şekil 14. Gebeliğin 19. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları görünüşleri.....	33
Şekil 15. Gebeliğin 19. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları görünüşleri.....	34
Şekil 16. Gebeliğin 21. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları görünüşleri.....	35
Şekil 17. Gebeliğin 21. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait H+E boyanmaları görünüşleri.....	36
Şekil 18. Gebeliğin 15. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması	37
Şekil 19. Gebeliğin 15. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması	38
Şekil 20. Gebeliğin 17. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması	39
Şekil 21. Gebeliğin 17. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması	40
Şekil 22. Gebeliğin 19. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması	41
Şekil 23. Gebeliğin 19. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması	42

Şekil 24. Gebeliğin 21. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması	43
Şekil 25. Gebeliğin 21. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait PCNA immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması	44
Şekil 26. Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerindeki kontrol ve kadmiyum grubu sıçan plasentalarında PCNA pozitif hücre sıklığı.....	45
Şekil 27. Gebeliğin 15. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması.....	46
Şekil 28. Gebeliğin 15. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması	46
Şekil 29. Gebeliğin 17. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması.....	47
Şekil 30. Gebeliğin 17. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması	47
Şekil 31. Gebeliğin 19. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması.....	48
Şekil 32. Gebeliğin 19. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması	48
Şekil 33. Gebeliğin 21. günündeki kontrol grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması.....	49
Şekil 34. Gebeliğin 21. günündeki kadmiyum grubu plasenta kesitine ait TUNEL boyaması	49

Tablolar

Tablo 1. Deney grupları.....	23
Tablo 2. Gebeliğin 15, 17, 19 ve 21. günlerindeki kontrol ve kadmiyum grubu sıçan plasentalarında TUNEL pozitif hücrelerin semikantitatif değerlendirilmesi.....	50

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Ankara'da doğdum. Ortaöğretimimi İstanbul Bahçelievler Anadolu Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2004 yılında Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimime başladım. 2008 yılında Biyolog ünvanımı alarak mezun oldum ve aynı yıl Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 2010 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamlayıp doktora programına başladım. Halen aynı Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime devam etmekteyim.

EKLER

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

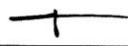
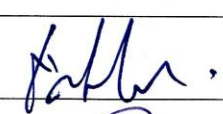
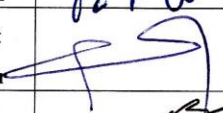
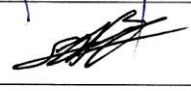
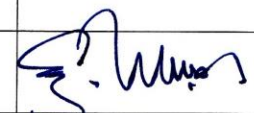
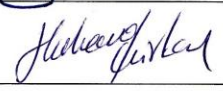
EDİRNE

Oturum Sayısı: 02

Karar Tarihi: 30.03.2012

KARAR NO: 2012.02.06

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet Kanter'in yaptığı Mustafa Erboğa'nın Doktora tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2012/21 protokol nolu "Kadmiyumun Gebeliğin Farklı Dönemlerindeki Siçan Plasentalarında Bulunan Trofoblast Hücre Proliferasyonu ve Apoptozisi Üzerine Etkisi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Yrd.Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr.Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	