

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GEBE KADINLARIN PLASENTA DOKUSUNDA BAZİK FİBROBLAST
BÜYÜME FAKTÖRÜNÜN İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE
İNCELENMESİ

EBRU ESRA DEMİR
YÜSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Doç. Dr. Hakan KOCAMIŞ

2010

KARS

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmada; Gebe kadınların Plasenta Dokusunda Bazik Fibroblast Büyüme Faktörünün İmmunohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmiştir.

Tez konumun seçiminde, tezimin hazırlanmasında ve sonuçlandırılmasında yol gösterici olan, yoğun çalışmalarından bana zaman ayırarak engin tecrübe ve birikimlerinden yararlanma fırsatı veren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum değerli bilim insanı ve yönetici danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hakan KOCAMIŞ'a , Prof. Dr. Nurhayat YECAN GÜLMEZ'e , Prof. Dr. Şahin ASLAN'a , Prof. Dr. Mümtaz NAZLI'ya , Doç. Dr. Mahmut SÖZMEN'e , Yrd. Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI'ya , Yard. Doç. Dr. Turgay DEPREM'e ve maddi desteğinden dolayı Kafkas Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Yönetim Kurulu Başkanlığı' na , maddi ve manevi desteğini eksik etmeyen aileme ve emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Kars-2010

Ebru Esra DEMİR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Tablo Listesi	I
Şekil Listesi	II
Simge ve Kısaltmalar	IV
Önsöz	V
1.GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER	1
1.1. Plasenta	3
1.1.1. Plasentanın tarihçesi	3
1.1.2. Fetal zarlar ve plasenta	3
1.1.3. Plasentanın yapısı	4
1.1.4. Korion frondozum ve desidua bazalis	6
1.1.5. Miyadında (Full-Term) plasenta	7
1.1.6. Plasentanın gelişimi	7
1.1.7. Plasentanın kan dolaşımı	8
1.1.8. Plasenta fonksiyonu	9
1.1.9. Gazların değişimi	10
1.1.10. Besin madderi ve elektrolitlerin değişimi	11
1.1.11. Maternal antikorların geçişi	11
1.1.12. Hormon üretimi	11
1.2. Büyüme faktörleri	12
1.2.1. Fibroblast büyüme faktörleri	12
1.2.2. Bazik fibroblast büyüme faktörü	13

1.2.3. FGF-2 nin etki ettiği dokular	13
1.2.3.1. Mezoderm oluşumu	13
1.2.3.2. Anjiyogenezis	14
1.2.3.3. Damar duvarları	14
1.2.3.4. Akciğer	14
1.2.3.5. Hematopoiezis	15
1.2.3.6. Sinir sistemi	15
1.2.3.7. Üreme sistemi	15
1.2.3.8. Deri	15
1.2.3.9. Göz	16
1.2.3.10. Kas iskelet sistemi	16
1.2.3.11. Sindirim sistemi	16
1.2.4. Anjiyogenezis ve FGF-2	17
2. MATERYAL VE METOD	22
2.1. Materyal	22
2.2. Metot	22
3. BULGULAR	25
3.1. Genel bulgular	25
3.2. İmmunohistokimyasal bulgular	25
4. TARTIşMA VE SONUÇ	34
5. ÖZET	37
6. KAYNAKLAR	39

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. FGF-2'nin farklı organ sistemleri üzerindeki Fonksiyonları	17
Tablo 2 . Gebeliği normal olarak sonlanmış kadınlara ait genel bulgular	27
Tablo 3. Hipertansif kadınlara ait genel bulgular	27
Tablo 4. FGF-2 'nin plasentanın desiduada, villus trofoblast ve villusların kapillar endotelindeki immunoreaktivitesini değerlendirilmesi	27

ŞEKİL LİSTESİ

		<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.	Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis ve koriyon villusları	29
Şekil 2.	Hipertansif bir plasentaya ait desidua bazalis ve koriyon villusları	29
Şekil 3.	Miyadında bir plasentaya ait koriyon villusları ve intervillöz aralıklar	30
Şekil 4.	Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında kan damarları, sinsityotrofoblast hücreleri ve bağ dokusu	30
Şekil 5.	Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis ve bağ dokusu hücreleri	31
Şekil 6.	Hipertansif bir plasentaya ait desidua bazalis ve bağ dokusu hücreleri	31
Şekil 7.	Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmındaki desidua hücrelerinde FGF-2 immunoreaktivitesi	32
Şekil 8.	Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarının koriyon mezenşimi ve damar endotellerindeki kuvvetli FGF-2 immunoreaktivitesi	32

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 9. Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarının mezenşimindeki FGF-2 immunoreaktivitesi ve sinsityotrofoblast hücrelerindeki FGF-2 immunoreaktivitesi yokluğu	33
Şekil 10. Hipertansif bir plasentaya ait desidua hücrelerinde FGF-2 immunoreaktivitesi	33
Şekil 11. Hipertansif bir plasentaya ait koriyon villuslarındaki koriyon mezenşimi ve damar endotellerinde FGF-2 immunoreaktivitesi, Sinsityotrofoblast hücrelerindeki reaktivite yokluğu	34
Şekil 12. Gebeliği miyadında sonlanmış bir kadının plasentasında koriyon villuslarında FGF-2 immunoreaktivitesi yokluğu (Negatif kontrol).	34

SİMGELER VE KISALMALAR

ABC: Avidin-Bioitin-Peroksidaz Kompleks

aFGF: Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü

bFGF: Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

IgG: İmmunglobulin G

IUGR: İnter Uterin Büyüme Geriliği

NGF: Sinir Büyüme Faktörü

PDGF: Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü

PBS: Fosfat Buffered Salin

sFLT-1: Soluble fms-like Tirozine Kinase

sKDR: Soluble Kinase Domain Reseptör

SPSS: Statistical Packoge for Social Sciences

TGF- β : Dönüştüren Büyüme Faktörü- β

uPA: Ürokinaz Tip Plazminojen Aktivatörü

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

Plasenta embriyonal hayatın dördüncü haftasında başlayıp on ikinci haftasında son bulan chorion ile uterus mukozasının (endometrium) birbirine kaynaşmasından meydana gelmiş, anne ile fötüs arasında metabolik ve hormonal ilişkiyi sağlayan ekstraembriyonal bir dokudur. Başarılı bir gebelik plasenta büyümesi ve gelişmesine bağlıdır. Plasentanın gelişimi ise, plasental vasküler yapının gelişimini sağlayan yaygın bir damarlaşmaya (anjiyogenezise) ihtiyaç duyar (1). Anjiyogenezis yeni kapillar damar gelişimi olup embriyonik gelişme, yara iyileşmesi ve organ hipertrofisi gibi fizyolojik olaylar döneminde görülmektedir (2). Plasental vaskülarizasyonun oluşumunu sağlayan anjiyogeneziste birçok faktör rol oynamakla beraber, yapılan son çalışmalar göstermektedir ki, VEGF (Vasküler Endotelial Growth Factor) ve bFGF/FGF-2 (Basic Fibroblast Growth Factor) gibi büyüme faktörleri en önemlileri arasında yer almaktadır (3,4).

FGF-2 bilinen 18 büyüme ve farklılaşma faktöründen biri olup, FGF-2 olarak da isimlendirilir (5). FGF-2; gebelikte anjiyogenezisi uyaran anjiyogenik bir faktör olmasının yanı sıra çok sayıda hücre, doku ve organların, fonksiyon ve gelişiminde etkili olan bir büyüme faktörüdür (6, 1). Hem in vivo hem de in vitro ortamlarda anjiyogenik bir potansiyele sahip olan FGF-2, düz kas hücre gelişimini, yara iyileşmesini ve doku hasarlarının tamirini uyarır. Buna ek olarak FGF-2;

hematopoiezisi uyarabilmesinin yanı sıra iskelet sistemi, göz ile sinir sisteminin farklılaşması ve/veya fonksiyonlarında önemli roller oynamaktadır (7).

FGF-2'ye cevap veren tüm hücre tipleri FGF'ye özgü spesifik hücre yüzey reseptörleri taşımaktadır ve FGF-2 bu reseptörleri aktive ederek etkinlik göstermektedir. FGF-2 tirozin kinaz aktiviteli reseptörlere yüksek bir affinite ile bağlanmalarının yanı sıra düşük affinite ile diğer FGF reseptörlerine de bağlanabilmektedir.

Plasentanın gelişimi için hem maternal desidua hem de fetal koriyonik vaskuler yapının gelişimini sağlayan yaygın bir anjiyogenezis gereklidir. Günümüzde, FGF-2'nin anjiyogenik faktör olarak trophoblastlarda var olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (1). FGF-2'nin gebelikteki önemi, özellikle erken dönemlerde plasenta üzerine gösterdiği anjiyogenik etkinlikten kaynaklanmaktadır. Yeterli plasental vaskuler yapının oluşmaması plasentada iskemiye neden olabilmektedir. Bu durum pre-eklempsi, plasental disfonksiyon ve intrauterin fetal ölümler gibi istenmeyen komplikasyonlara yol açabilir (1).

Tüm bu bilgilerin ışığında, sağlıklı bir gebelik ile plasental FGF-2'nin varlığı arasında önemli bir ilişkinin varlığı açıkça görülmektedir.

1.1. Plasenta

Hamilelik süresince fetus tüm gereksinimlerini annesi yardımıyla sağlar (8). Çok erken dönemlerde embriyo çok küçük olduğundan gereksinimleri ve atık ürünleri de son derece azdır ve bu gereksinimlerini rahim boşluğu salgıları

yardımla giderebilir. Ancak bu durum çok çabuk değişkenlik gösterir. Embriyo büyüme devam edip dolaşım sistemi oluştuktan sonra besin maddesi ile gaz alışverişini sağlayacak daha etkili bir sisteme gerek duyar. Bebeğin dolaşımı ile annenin dolaşımı arasında bu alış veriş sağlayan plasentadır (9).

1.1.1. Plasentanın tarihçesi

İlk kez 1559 yılında Realdus Columbus bu geçici organa "yuvarlak kek" anlamına gelen placentia adını vermiştir. 1796 yılında oksijenin keşfinden sadece 22 yıl sonra Erasmus Darwin plasentanın görevinin insanlardaki akciğer ve balıklardaki solungaçlar ile benzer olduğunu ileri sürmüştür (9).

1.1.2. Fetal zarlar ve placentia

Gebeliğin ikinci ayında trofoblast, radyal şekilde yerleşmiş sekonder ve tersiyer villuslarla çevrelenmiştir. Korion plağının mezoderminden köken alan villuslar periferde dış sitotrofoblastik kabuk aracılığıyla maternal desiduaya tutunurlar. Villuslar, ortada bol damarlı bir mezoderm, onu dıştan çevreleyen sitotrofoblast hücreleri ve en dışta villusu saran sinsityumdan oluşmuştur. Villusların orta kısımlarında gelişmeye başlayan kapiller sistem kısa bir süre sonra korion plağı ve bağlantı sapı içinde gelişen kapillarlarla birleşir. Böylece ekstraembriyonik vasküler sistem meydana gelmiş olur (10).

Daha sonraki aylarda, ana villuslardan sayısız uzantılar çevredeki laküner veya intervillöz aralıklara doğru büyür. Yeni oluşan villusların yapısı başlangıçta

çok ilkedir. Ancak 4. ayın başlarında sitotrofoblast hücreleri ve bağ dokusu hücrelerinin bir kısmı kaybolur. Bundan sonra maternal ve fetal dolaşım arasında yalnızca sinsityum ve fetal kan damarlarının endotel hücreleri yer alır. Sıklıkla, çok incelenen sinsityumdan kopan ve birkaç hücre çekirdeği içeren iri parçalar, intervillöz aralıklara düşüp anne kanına karışır. Maternal dolaşıma katılan ve sinsitiyal düğüm adı verilen bu parçalar genellikle herhangi bir semptom vermeden dejenere olup kaybolurlar. Sitotrofoblast hücrelerinin kaybolması ufak villuslardan başlar; bunu daha iri olanlar izler. Büyük villuslarda bir kısım sitotrofoblast hücreleri yok olmayarak varlıklarını sürdürebilirler. Ancak bunlar maternal ve fetal dolaşım arasında madde alışverişinde rol oynamazlar (10).

1.1.3. Plasentanın yapısı

Dördüncü ayın başında, plasenta iki kısımdan oluşur. Bunlar; (a) koriyon frondozum tarafından oluşturulan fetal kısım, (b) desidua bazalisten oluşan maternal kısımdır. Plasenta, fetal tarafta koriyon bağı, maternal tarafta ise desidua bazalisin plasentaya en yakın kısmı olan desidual plak ile sınırlanmıştır. Bu ikisinin birleşme bölgesinde trofoblast ve desidua hücreleri birbirlerine karışırlar. Bu bölge, desidual ve sinsitiyal dev hücreler ve bunların arasını dolduran zengin şekilsiz bir ara madde ile karakterizedir. Bu dönemde, sitotrofoblast hücrelerinin çoğu dejenere olmuştur. Koriyonik ve desidual plaklar arasında, anne kanı ile dolu intravillöz boşluklar yer alır. Sinsitiotrofoblastik lakünlardan köken alan intravillöz boşluklar fetal kökenli sinsitium ile döşelidir. Dallanan villuslar bu aralıkları dolduran kan gölcüklerinin içine doğru büyürler.

Fetal plasenta maternal plasentaya sitotrofoblastik kabuk ile bağıdır. Ana villuslar bu kabuk aracılığı ile desiduaya sıkıca tutunmuşlardır (11). 4 ve 5. aylarda, desidua'dan köken alan ve 'desidual septa' adı verilen bağ dokusu bölmeleri, intravillöz aralıkların içine doğru büyür. Bu bölmeler korion plağına kadar uzanmazlar (10). Kan intervillöz boşluğa desidua bazalisteki spiral arterlerden girer. Bu arterler kanı sitotrofoblastik kabuktaki deliklerden intervillöz boşluklara boşaltırlar. Buradaki kanı drene eden spiral venler de sitotrofoblastik kabuktan köken alır (11). Orta kısmı maternal dokudan oluşan bu septaların dış yüzeyleri bir sinsitiyal hücre tabakasıyla örtülüdür. Bu sayede, intravillöz gölcüklerdeki anne kanı ile villusların fetal dokusu arasında daima ayırıcı bir sinsitium tabakası yer alır. Bu oluşumun bir sonucu olarak, plasenta kotiledon adı verilen kompartmanlara ayrılmıştır. Desidual septalar, korion plağına kadar ulaşamadıklarında, değişik kotiledonlar içindeki intravillöz boşluklar birbirleriyle olan temaslarını sürdürebilirler (10).

Fetusun sürekli büyümesi ve uterusun gelişmesiyle birlikte plasentada büyür. Plasentanın yüzey alanındaki artış kabaca uterusun genişlemesine paralel gider ve gebelik süresince plasenta uterusun iç yüzeyinin ortalama %15 ila 30 'unu kaplar. Plasentanın kalınlığının artması, penetrasyonun maternal dokular içine doğru daha fazla devam etmesinden değil, villusların dallanması sonucu olur (10).

1.1.4. Koryon frondozum ve desidua bazalis

Gelişmenin ilk haftalarında, koryonun çevresi tamamen villuslarla kaplıdır. Gebelik ilerledikçe, embriyonik kutuptaki villuslar, büyüyüp gelişerek koryon frondozumunu oluştururlar. Abembriyonik (blastosistte, embriyoblastı içeren kutbun karşısındaki kutup) kutuptaki villuslar dejenere olup kaybolduklarından, 3. ay dolaylarında koryonun bu kısmı iyice düzleşir ve koryon leve olarak adlandırılır.

Koryonun embriyonik ve abembriyonik kutuplarında gösterdiği bu yapı değişikliği endometriyumun fonksiyonel tabakası olan ve doğumda atılan desiduanın yapısını da etkiler. Desiduanın korion frondozuma komşu olan bölümü desidua bazalis olarak adlandırılır. Desidua bazalis sıkıca bir araya gelmiş, lipid ve glikojenden zengin desidual hücrelerden oluşur. Desidual plak olarak da adlandırılan bu kısım koriona sıkıca tutunmuş haldedir. Abembriyonik kutubun üzerindeki desidua, desidua kapsüllaris adıyla bilinir. Korion boşluğunun büyümesiyle basınç altında kalan desidua kapsüllaris dejenere olup kaybolur. Sonuçta, koryon leve karşı taraftaki uterus duvarı (desidua paryetalis) ile temas ederek kaynaşır. Böylece uterus lumeni kapanır. Korionun madde alışverişinde işlev gören tek yeri koryon frondozum'dur. Koryon frondosum, desidua bazalis ile birlikte plasentayı oluşturur. Diğer yandan amniyon ile korion kaynaşarak amniyokorionik zarı oluştururlar. Böylece koryon boşluğuda kaybolur. Doğum sırasında yırtılan zar bu zardır (10).

1.1.5. Miyadında (Full-Term) plasenta

Miyadında plasenta, disk biçimli, 15-25 cm çapında, ortalama 3 cm kalınlığında ve 500-600 gr ağırlığındadır. Doğumda uterus duvarından ayrılır ve bebeğin doğumundan 30 dk kadar sonra uterus boşluğundan dışarı atılır. Doğumdan sonra maternal yüzden bakıldığında, üstü ince bir desidua bazalis tabakasıyla kaplı 15-20 adet, yüzeyleri hafifçe kabarık kotiledonlar seçilebilir. Kotiledonlar arasındaki oluklarda desidual septalar yer alır. Desiduanın uterus içerisinde kalan kısmı doğumdan sonra devam eden kanamalarla atılır (10).

Plasentanın fetal yüzü tümüyle koryon plağı ile örtülüdür. Bu yüzde koryonik damarları oluşturan büyük arter ve venlerin göbek kordonuna doğru uzandıkları görülür. Koryon içten amniyon ile döşelidir. Göbek kordonu çoğunlukla plasenta üzerinde merkezi, nadiren de bir kenarına yakın bir yerleşim gösterir. Ayrıca bazı durumlarda göbek kordonu, plasenta dışında koryon zarlarına da yapışabilir (10).

1.1.6. Plasentanın gelişimi

Plasentanın oluşumu gebeliğin çok erken dönemlerinde, embriyo daha blastosist aşamasındayken başlar. Embriyo uterus duvarı içine yerleştikten sonra (implantasyon) bazı hücreler ayrışarak bebeği oluştururken diğer hücreler plasentayı oluşturmak üzere farklılaşmaya başlar. Bu aşamada uterusun iç kısmını döşeyen ve endometrium adı verilen tabaka da farklılaşır. Bu tabaka artık desidua

olarak adlandırılır. Endometriumun bu değişimi yumurtalıklardan salgılanan hormonların etkisi ile olur (9).

Plasenta gebeliğin yaklaşık 18 haftasına kadar büyümeye devam eder. Bu döneme kadar gebeliğin sürdürülmesi için gerekli hormonal destek yumurtalıklar tarafından salgılanır. Daha sonra ise bu görevi plasenta üstlenir (9).

1.1.7. Plasentanın kan dolaşımı

Kotiledonlar kanı, desidual plağı geçerek intravillöz boşluklara oldukça düzgün aralıklarla giren 80-100 kadar spiral arterler yoluyla alırlar. Spiral arterlerin lümenleri dardır. Bu özellik, kanın intravillöz boşluklara yüksek bir basınçla akmasına neden olur. Bu yüksek basınç kanın, intervillöz boşlukların en derin kısımlarına kadar yayılmasını ve böylece villöz ağacın sayısız küçük villuslarının oksijenli kanla dolmasını sağlar. Kan basıncı düştükçe kan; koryon plağından desiduaya geri döner ve endometriyal venlere boşalır. Böylece intervillöz kan gölcüklerindeki kan, endometriyal venler aracılığı ile maternal dolaşıma dönmüş olur (10).

Olgunlaşmış bir plasentanın intervillöz aralıklarında, dakikada ortalama 3-4 kez yenilenen 150 ml kadar kan bulunur. Bu kan , yüzey alanı 4-14 m² kadar olan koryonvillusları boyunca dolaşır. Ancak plasentada madde alışverişi bu villusların hepsinde değil, yalnızca fetal damarların yüzeyini örten sinsityal zar ile yakın ilişkide bulunduğu villuslarda olur. Bu villuslarda sinsityum, yüzey alanını artırarak sonuçta maternal-fetal dolaşımlar arasındaki alış veriş hızının önemli

ölçüde artmasını sağlayan, çok sayıda villustan oluşmuş bir fırçalı kenara sahiptir. Plasental zar; maternal ve fetal dolaşımı birbirinden ayırır ve başlangıçta dört tabakadan oluşmuştur.

- Fetal damarların endotel örtüsü
- Villusların göbeğini dolduran bağ dokusu
- Sitotrofoblast tabakası
- Sinsityum

Dördüncü aydan sonra plasental zar daha ince hale gelerek, damarların endotelinin, sinsityal zar ile daha yakın bir temasa geçmelerini sağlar; bu durum madde alışverişini daha da hızlandırır. Bazen, plasental bariyer de denilen plasental zar, içinden çok sayıda madde serbestçe geçebildiğinden aslında gerçek bir bariyer değildir. Intervillöz boşluklardaki anne kanı, fetal kandan plasentanın hemokoryal özelliği sayesinde ayrılır.

1.1.8. Plasenta fonksiyonu

Plasentanın temel görevi gelişmekte olan fetusun gereksinim duyduğu besin maddelerini anneden bebeğe aktarmak, fetusun metabolizma neticesi ürettiği atık ürünleri annenin dolaşımına aktarmak ve yine anne ile bebek arasında oksijen ve karbondioksit alışverişini sağlamaktır (9).

Zannedilenin aksine bebeğin kanı ile annenin kanı asla birbiriyle temas etmezler. Bebeğin kanı ile annenin kanı arasında pekçok tabaka bulunur. Kandaki maddeler bu tabakalar yardımıyla değiştirilir (9). İnsanlar tam plasentaya sahip

olup, anne ile yavru arasındaki ilişki kuvvetlidir. Bundan dolayı plasenta bariyerini oluşturan katmanlardan anneye ait kısım (uterus epiteli, uterus mezenşimi ve uterus endoteli) erimiştir. Fötal plasentaya ait katmanlar ise korion epiteli, korion mezenşimi ve korion endotelidir.

Plasenta karmaşık bir yapı olup sadece geçirgen bir zar değildir. Bazı maddeler plasentadan olduğu gibi geçerken bazıları geçiş sırasında metabolize olur bazıları ise hiç geçemezler. Öte yandan, glukoz ve oksijen gibi bazı maddelerin bir kısmı geçiş sırasında plasenta tarafından kullanılır (8). Madde alışverişi dışında plasentanın bir başka görevi ise ana endokrin organlardan birisi olmasıdır. Östrojen ve progesteron gibi steroid hormonlar ile bazı protein hormonların salgılanmasından sorumludur (8).

1.1.9. Gazların değişimi

Oksijen ve karbon dioksit gibi gazların değişimi basit difüzyonla gerçekleşir. Doğuma yakın fetus, anne kanından dakikada 20-30 ml kadar oksijen alır. Bu nedenle, oksijenin kısa bir zaman içinde olsa kesilmesi, fetusun ölmesine yol açabilir. Plasental kan akımı oksijen desteği açısından hayati öneme sahiptir, çünkü fetusa ulaşan oksijenin miktarı esas olarak difüzyona bağlı değil, difüzyondan geçmek için oraya ne miktarda oksijen ulaştığına bağlıdır (10).

1.1.10. Besin maddeleri ve elektrolitlerin değişimi

Aminoasitler, serbest yağ asitleri, karbonhidratlar gibi besin maddeleri ile elektrolit ve vitaminler plasentadan hızla geçerler. Bu maddelerin geçişi gebelik ilerledikçe artar (10).

1.1.11. Maternal antikorların geçişi

Maternal antikorlar, sinsityotrofoblastlar tarafından pinositozla alınıp fetal kapillarlara taşınırlar. Fetus değişik enfeksiyon hastalıklarına karşı immunoglobulin G (IgG) sınıfı antikorları bu yolla elde eder ve difteri, iek, kızamık, suçiçeği ve boğmaca dışındaki diğer hastalıklara karşı pasif bir bağışıklık oluşturur. Fetus doğum sonrasına kadar kendi antikorlarını oluşturma kapasitesinde olmadığından pasif immünizasyon çok önemlidir (10).

1.1.12. Hormon retimi

Dördüncü ayın sonlarında plasenta, korpus luteumu çıkarılmış veya yeterli işlev göremez halde olsa dahi gebeliğin devamını sağlayacak kadar progesteron salgılar. Plasentada hormonlar sinsityal trofoblastlar tarafından sentezlenir. Plasenta progesterondan başka, başta stradiyol olmak üzere östrojenik hormonlarda salgılar. Bunların miktarı gittikçe artarak, gebeliğin sonunda maksimum düzeye erişir. Yüksek düzeydeki östrojen uterusun büyümesini ve meme bezlerinin gelişmesini uyarır (10).

Sinsityotrofoblastlar aynı zamanda, hipofiz n lobundan salgılanan luteinleştirici hormonlara benzer etkisi olan gonadotropinleri de salgılar. Annenin idrarına geçen bu hormon gebeliğin erken dönemlerinde gebelik tayini için kullanılır. Plasentadan salgılanan bir başka protein hormonda somatomammotropin'dir. Büyüme hormonuna benzer etkiye sahip olan bu hormon, fetusun anne kanındaki glukozu öncelikle kullanmasını sağlayarak anneyi diyabete eğilimli bir duruma getirir (10).

Plasentadan salınan ve fetal büyüme üzerine etki eden birçok faktör vardır. Fetal büyüme anneye ait faktörler, çevresel faktörler, plasental faktörler, genetik faktörler, hormonal faktörler, büyüme faktörleri gibi birçok etkenin kontrolü altındadır (22).

1.2. Büyüme faktörleri

1. EGF (epidermal growth factor - epidermal büyüme faktörü)
2. TGF- β (transforming growth factor- β - dönüştüren büyüme faktörü- β)
3. PDGF(platelet-derived growth factor - trombosit kökenli büyüme faktörü)
4. NGF(nerve growth factor - sinir büyüme faktörü)
5. IGF(insulin-like growth factor - insülin benzeri büyüme faktörü)
6. FGF(fibroblast growth factor - fibroblast büyüme faktörü)

1.2.1. Fibroblast büyüme faktörleri

Hücre büyümesi ve çoğalması olaylarının başlamasında büyüme faktörleri temel rolü oynamaktadırlar (6). Fibroblast büyüme faktörleri geniş bir polipeptit ailesinin üyeleridirler ve hücrelerin büyüme ve farklılaşmasının düzenlenmesinde önemli rol alırlar (12). Bu aile içinde öne çıkan iki üye FGF-1(ya da; GF-asidik fibroblast büyüme faktörü) ve FGF-2 (ya da; bFGF-bazik fibroblast büyüme faktörü) dir (12). Anjiogenezis oluşumunda önemli rolleri olan büyüme faktörleri aFGF ve bFGF ilk olarak 1980'li yıllarda hipofizden izole edilmiş olan 146 aminoasitli bir proteindir (7,13).

1.2.2. Bazik fibroblast büyüme faktörü (bazik fibroblast growth faktor, bFGF, FGF-2)

Fibroblast büyüme faktörü-2 (basic FGF, bFGF, FGF-2), FGF ailesinin kapsadığı 9 büyüme faktöründen bir tanesidir (7). bFGF , insan periodontal ligamentindeki fibroblastlardan ve endotelyal hücrelerde üretilir (12). Mezankimal hücreler için mitojen görevi gören ve anjiogenezi uyaran fibroblast büyüme faktörünün özellikle bazik formunun damarlaşmayı uyarıcı etkisi aFGF' e göre 10 kat daha fazladır (14,15). Farelerin embriyolarında yapılan çalışmalarda, bFGF nin vasküler gelişimin başlaması için esas olduğu gösterilmiştir (2). bFGF literatürlerde yaygın olarak kabul gören işaret iletim yolu ile salınmaz (6). Hem in vivo hem de in vitro ortamlarda anjiyogenik bir potansiyele sahip olan bFGF, düz kas hücre gelişimini, yara iyileşmesini ve doku hasarlarının tamirini uyardığı belirtilmiştir. Ayrıca, bFGF hematopoiezisi uyarabilmekte ve iskelet sistemi, göz ile sinir sisteminin farklılaşması ve/veya fonksiyonlarında önemli roller oynamaktadır (7).

1.2.3. FGF-2 nin etki ettiği dokular

Memeli organizmasında yaygın bir dağılım gösteren FGF-2 çok sayıda organın fonksiyonlarında ve gelişiminde önemli roller oynamaktadır (7). FGF2'nin etkileri dokulara göre aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

1.2.3.1. Mezoderm oluşumu : FGF, mezoderm oluşumunda kritik bir rol oynar. FGF sinyalleri activin aracılığı ile mezoderm oluşumu için gereklidir (7).

1.2.3.2. Anjiyogenezis: FGF-2 in vitro şartlarda endotelial hücre proliferasyonunu, migrasyonunu ve anjiyogenezisini uyarır. FGF-2 anjiyogenezis esnasında kritik adımlara aracılık eden birkaç molekülün regülasyonunu sağlar. Bunlar arasında interstisyel kollajenez, ürokinaz tip plazminojen aktivatörü (uPA), plazminojen aktivatör inhibitörü ve uPA reseptörü sayılabilir. Bunlara ek olarak, FGF-2 aktive edilmiş endotel hücrelerin kapillar ağ formasyonuna olanak sağlar. FGF-2 sağlıklı dokuların yanı sıra tümör dokularında da bulunmakta ve buradaki anjiyogenezise de aracılık etmektedir. Farklı tümör hastalarının izlendiği bir çalışmada, bu hastaların idrar FGF2 oranlarında artış görülmüştür (7).

1.2.3.3. Damar Duvarları: FGF2 yumuşak doku hücre proliferasyonunu stimüle eder. Bu alanda yapılan araştırmalar, FGF-2'nin damar yaralanmaları sonrasında yumuşak doku hücrelerinde iyileşme yönünde düzenleyici rolü olduğunu göstermektedir (7).

1.2.3.4. Akciğer: FGF2 ve Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörleri (FGFR) morfogeneziste akciğer gelişiminde rol oynarlar ve fetal rat akciğerlerinde varlıkları gösterilmiştir. Akciğer gelişiminin embriyonik ve pseudoglandular (yalancı bez) aşamalarında FGFR'lerin miktarlarında artış görülmüştür. Sakküler (kese benzeri) aşamada ise FGFR'lere rastlanmamıştır. Postnatal gelişim esnasında ise havayolu endoteli taban membranında FGF'ler bulunmuştur. Akciğer yaralanmasının ardından oluşan akut intra alveolar granülasyon dokusunda, makrofajlarda FGF2 mRNA ve proteini tespit edilmiştir (7).

1.2.3.5. Hematopoiezis: Birçok araştırma grubu tarafından FGF-1 kadar FGF2'nin de *in vitro* sistemlerde hematopoiezisi stimule ettiği rapor edilmiştir (7). Bu nedenle, bu faktörlerin normal ve patolojik hematopoieziste önemli roller oynadıkları düşünülmektedir. FGF-2'nin *in vitro* düşük konsantrasyonları (0,2-2 ng/ml) stroma hücreleri, granulositler ve nötrofil-granulosit serisi hücrelerde sayısal artış sağlamıştır (7).

1.2.3.6. Sinir Sistemi: FGF-2 ve FGF reseptörlerinin merkezi sinir sisteminde dağılımı ve fonksiyonları ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Buna rağmen, FGF-2 veya FGF reseptörlerinin dağılımı ile ilgili olarak henüz bir görüş birliğine varılamamıştır. Ancak, FGF-2 ve FGFR'lerin sinir gelişiminde, yetişkin sinir sisteminde değişik fonksiyonları ve nöropatolojide potansiyel rolleri olduğu düşünülmektedir (7).

1.2.3.7. Üreme Sistemi: FGF-2'nin sertoli ve leydig hücre fonksiyonlarına aracılık ettiği bildirilmiştir (7).

1.2.3.8. Deri : normal insan melanositlerinin proliferasyonu ve farklılaşması FGF-2'ye bağlıdır. FGF-2 bağımlı tirozin kinazın aktivasyonu ve FGF-2'nin fazla miktarlarının melanom hücrelerinde hızlı büyümeyi sağladığı gösterilmiştir (7).

1.2.3.9. Göz : FGF-2 gözde, retina, lens, fotoreseptörler, akuoz ve vitröz okular ortamda ve korneal epitelde lokalizedir. Oküler FGF-2 retinal rejenerasyonu indüklemeye, ışığın hasarlarına karşı fotoreseptörleri koruma, lens epitelyal hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu ve fiber hücrelere farklılaşmasını sağlamak gibi farklı fonksiyonlara sahiptir (7).

1.2.3.10. Kas iskelet sistemi: FGF-2 iskelet kaslarının gelişimi ve farklılaşmasında rol oynar. Yapılan çalışmalar kas gelişiminde FGF-2 nin önemli roller üstlendiğini göstermektedir (7).

1.2.3.11. Sindirim Sistemi: FGF-2 bazı intestinal hücre dizilerinin proliferasyonunu stimüle eder. Ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş duodenal ülserlerin iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür. Kronik duodenal ülser bulunan ratlara günde iki kez verilen FGF-2 nin iyileşmeyi %83 oranında hızlandırdığı görülmüştür (7).

FGF-2'nin farklı organ sistemleri üzerindeki fonksiyonları tablo 1'de özetlenmiştir.

Organ	Fonksiyonlar
Beyin	Sinir hücre farklılaşması ve yaşaması
Kan damarı	Damar gelişimi (anjiogenez), düz kas hücre çoğalması (atherogenez), kan basınç kontrolü
Akciğer	Solunum yollarının morfogenezi ve fibrozit
Kol ve bacaklar	Kol ve bacak gelişimi
Kas	Miyogenez
Kemik	Kemik iyileşmesi, kırık dokunun oluşumu
Hematopoez	Granülositlerin oluşum ve gelişimi, megakaryosit oluşumu ve kök hücre gelişiminin uyarılması
Üreme sistemi	Spermatogenez
Göz	Fotoreseptör yaşamı
Deri	Melanogenez, doku tamiri, keratinosit morfogenezi

Tablo 1. FGF-2'nin farklı organ sistemleri üzerindeki fonksiyonları (6).

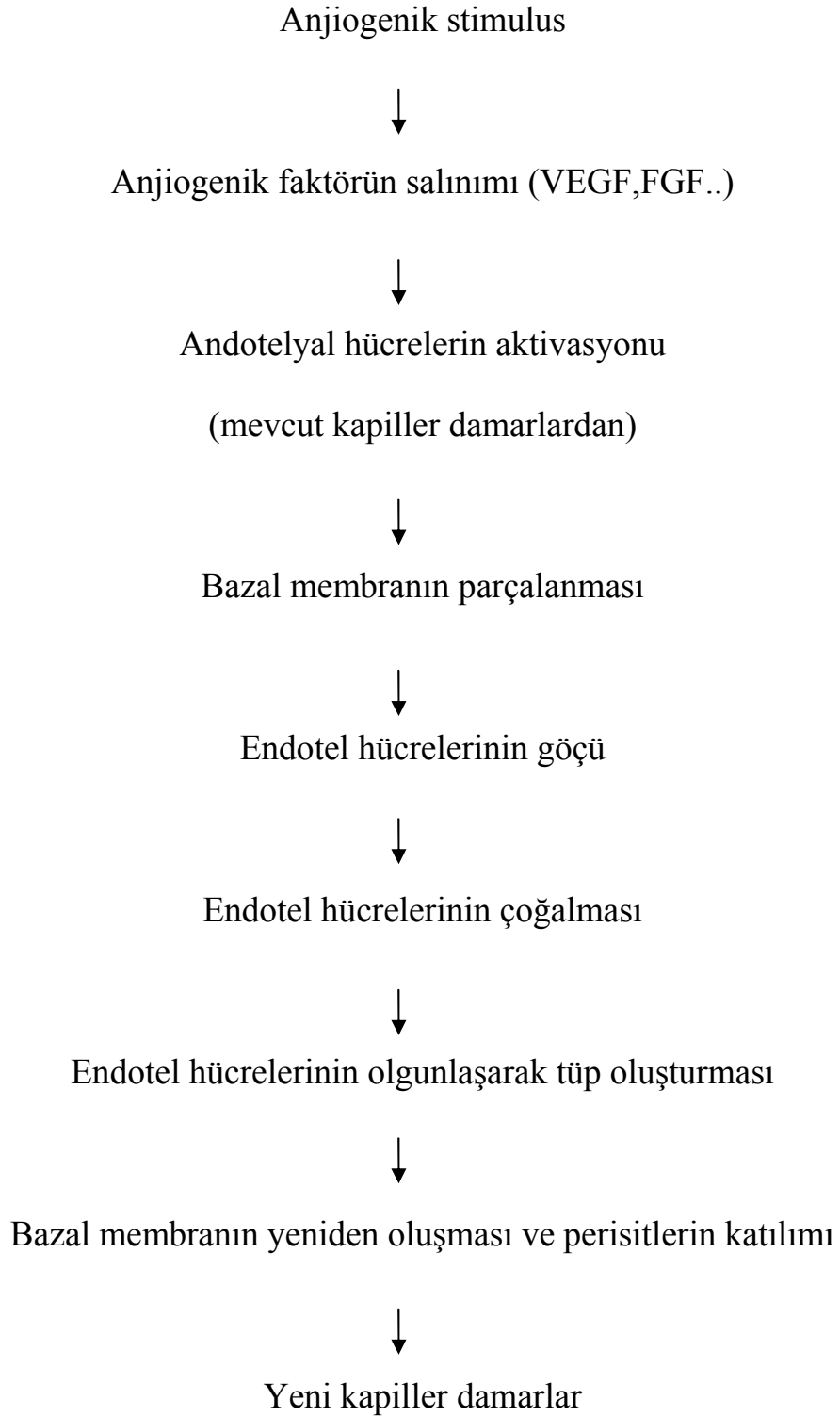
1.2.4. Anjiyogenezis ve FGF-2

Anjiyogenezis daha önceden var olan damarların çoğalması ile yeni kapillarların gelişmesi şeklinde tanımlanır (13,4). Çoğu embriyonik ve yetişkin dokularda değişik koşullarda kapillar ağın çoğalmasından sorumludur (13). Normal koşullarda anjiyogenezis endotel hücrelerinin poliferasyonu ve aktivasyonunu sağlayan faktörler ile buna karşı gelen antianjiyogenik faktörler arasında oluşan bir denge ile gerçekleşir (2). Yeni kan damarlarının oluşması yaşam boyunca birçok fizyolojik işlev için önem arzeder (13). Bunlar; embriyonik gelişme, yara iyileşmesi ve organ hipertrofisi gibi fizyolojik olaylar ın yaşandığı dönemlerdir (2). Ayrıca, normal gelişim, ovulasyon ve özellikle kalpte yeni kollateral damarların gelişmesi açısından yaşamın devamı için çok önemlidir (13). Embriyonel yaşamda kan damarlarının çoğalması bu yolla mümkündür (13).

Anjiyogenez oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir (14). Anjiyogenezisde kapiller tüpün iç kısmını örten endotel hücreleri göçe müsait olup fenotipik özellik kazanarak etrafındaki dokuya yayılır, orada çoğalır, yeni tübüler yapı oluşturur ve böylece mevcut kapiller yatak arttırılır (13).

Ekstraselüler matriks ve matriksi çevreleyen hücrelerden salınan pek çok büyüme faktörü, sitokinler ve bunların reseptörleri anjiyogenezde temel rol oynar (14). anjiyogenezin düzenlenme evreleri pek çok büyüme faktörü ve düzenleyici proteinin kontrolü altındadır (14).

Anjiyogenezisin şematik gösterimi aşağıdaki gibidir.



Yukarıdaki şemadan (13) da anlaşılacağı üzere anjiyogenezisin oluşum mekanizması fibroblast büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir.

Plasental anjiyogenezis ve FGF-2'nin üzerine etkilerini gösteren araştırmalar mevcuttur.

Redmer ve arkadaşları (16) yaptıkları bir çalışmada fetal büyümenin en hızlı fazının başlangıcında plasentada majör anjiogenik faktörlerin ve onların reseptörlerinin ekspresyonunu sorgulamışlardır. Çalışmada büyüme faktörleri ile beslenmenin ilişkisi ve plasental vaskülarizasyon üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler göstermektedir ki, annenin aşırı beslenmesi gebeliğin orta döneminde plasental anjiogenik faktör/reseptör ekspresyonu üzerinde negatif bir etki oluşturmaktadır. Bu, plasental vaskülariteye zarar vererek ve ileri gebelik döneminde uteroplasental kitle, kan akımı ve besin alımının azalmasının yol açtığı düşük doğum ağırlıklı yavrulara neden olmaktadır. Ancak FGF2'nin aşırı beslenmeden fazla etkilenmediği görülmüştür. Bu durum sekonder mekanizmalarla FGF2 sentezinin sürdürüldüğünü göstermekle beraber (16) FGF2'nin diğer büyüme faktörleri ile olan ilişkisine örnek olarak gösterilebilir.

Wallner ve arkadaşları (17) alışmalarında doğum anında anne ve fetüs anjiogenik büyüme faktörleri serum düzeylerinin; normal gebelik grubu ile intra uterin büyüme geriliği (IUGR) olan gebeliklerin arasındaki farkını araştırmışlardır. 15 gebe kadın ve 16 kontrol (normal gebe) anne periferal veni, umblikal ven ve umblikal arterlerden alınan serumlarda VEGF, PlGF, sFLT-1 (soluble fms-like tiroşine kinase), sKDR (soluble kinase domain reseptör) ve bFGF düzeyleri ölçülmüştür. IUGR olan gebelik grubunda, hem anne serumu hem umblikal venden alınan serumda, sFLT-1'nin arttığını, sKDR'nin ise azaldığını belirlemişlerdir. Ek

olarak, IUGR komplikasyonuna sahip gebe kadınların umbilikal veninden alınan serumlarda, bFGF’de artış tespit edilmiştir. Umbilikal arterlerden alınan serum örneklerinde , gruplar arasında büyüme faktörleri konsantrasyonları açısından anlamlı bir fark bulunmazken, her iki grupta umbilikal ven ve arterlerden alınan serumlarda VEGF ve sFLT-1 düzeyleri, anne serumuna kıyasla yüksek bulunmuştur. Umbilikal venden alınan serumda PIGF düzeyleri, anne serumuna kıyasla, her iki grupta düşük bulunurken; umbilikal arterlerden alınan serumdaki PIGF düzeyleri, yalnızca kontrol grubunda anlamlı derecede düşük bulunmuştur (17).

Bu bulgular IUGR’de anjiogenik ve anti-anjiogenik faktörler arasında bir dengesizliğe; anne kanında anti-anjiogenik, umbilikal vende ise daha az düzeyde olmakla birlikte yine anti-anjiogenik bir meyile işaret etmektedir. Anne kanı ve umbilikal damarlara sFLT-1 salınımında, plasenta merkezi bir rol oynuyor görünmektedir. Umbilikal arter kanı IUGR de etkilenmemiş görünmektedir ki, bu durum da fötüsün anjiogenik büyüme faktörü düzeyindeki değişikliklere katkıda bulunmadığını göstermektedir (17). Araştırmanın sonuçları da göstermektedir ki; FGF-2 gebeliğin normal seyrinde önemli roller oynamaktadır.

Tüm bu bilgilerin ışığında sağlıklı bir gebelik ile plasental bFGF’nin varlığı arasında önemli bir ilişkinin varlığı açıkça görülmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda immunohistokimyasal metodlar aracılığıyla plasental bFGF’nin dağılımının ortaya konması amaçlanmaktadır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Çalışma örnekleri; Kars Doğum ve Çocuk Bakım Evi Hastanesi'ne başvuran, kendiliğinden vajinal yolla doğum yapan (normal doğum), gebelik süresine erişmiş (termde) , herhangi sistemik bir hastalığı bulunmayan 12 gebe kadının plasentası ve hipertansif 4 gebe kadının plasentasından oluşturuldu.

Kars Doğum ve Çocuk Bakım Evi Hastanesi'nden alınan onay yazısı ile çalışmaya başlandı. Bu olgulara yönelik olarak yaş, gebelik, canlı, düşük ve çoğul çocuk sayısı, kan basıncı, önceden veya gebelik süresince tanısı konmuş herhangi bir hastalığın ve devamlı kullanılan ilaçları olup olmadığını belirlemek amacıyla 8 sorudan oluşan bir anket formu uygulandı.

2.2. Metot

Termde doğum yapmış normal hastalardan alınan plasenta örnekleri bekletilmeden takibe alınıp, bouin solüsyonunda tespit edildi. Sonrasında doku örnekleri %70'lik alkolde + 4°C de muhafaza edildi. Örnekler dereceli alkoller, metil benzoat ve benzollerden geçirilerek parafinde bloklandı. Krom alüm jelatin ile kaplanmış lamlara, parafinle hazırlanan bloklardan 6 µm kalınlığında seri kesitler alındı. İlk olarak plasentanın histolojik olarak yapısını incelemek için

normal ve hipertansif olarak doğum yapmış kadınların plasentasından alınan kesitlere Crossmann üçlü boyaması (Tripple Boyama) uygulandı.

Fibroblast büyüme faktörü-2 reseptör immünoaktivitesinin varlığını belirlemek amacıyla olgu plasentalardan alınan doku örnekleri deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirildi. Daha sonra, 0,1M olarak ve pH 7,2 'de hazırlanan Fosfat Buffered Salin (PBS)'de yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 0,1 M'lık PBS'te hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) te 15 dk. inkube edildi. PBS ile yıkama yapıldıktan sonra antijenleri açığa çıkarmak amacıyla, 10 dk. mikrodalgada (citrate-buffer solüsyonu içerisinde) tutuldu. Daha sonra tekrar PBS ile yıkandı (3x5 dk.). Spesifik olmayan bağlanmaları engellemek için sekonder antikorların üretildiği türe uygun serumda (%10) inkube edildi. Primer ve sekonder antikorlar ile streptavidin horse radish peroksidaz'ı dilüe etmek amacıyla PBS solüsyonunda hazırlanan ve içerisinde %2,5 sığır serum albumin, %25 sodyum azid ve %2 Triton X-100 kullanıldı. Sonra kesitler üzerinde oda sıcaklığında 1 saat süreyle FGF-2 antikoruna (Santa Cruz Biotechnology, Inc. USA) (1:500'lük dilüsyon oranında hazırlanmış anti rabbit FGF-2) inkube edildi. Fosfat buffer salinde yıkandıktan sonra kesitlere immunohistokimyanın indirekt yöntemlerinden biri olan Avidin-Bioitin-Peroksidaz kompleks (ABC) tekniği uygulandı (18). Bu amaçla primer antikorun üretildiği türe karşı olan biotinlenmiş sekonder antikor kesitler üzerine ilave edilerek, 30 dk. oda ısısında tutuldu. Fosfat buffer salinde yıkandıktan sonra kesitlere streptavidin horse radish peroksidaz ilave edilip oda ısısında 15 dk. süre ile bekletildi. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen uygulaması için DAB-H₂O₂ tekniği uygulandı (19). Kesitlere kromojen

solüsyonu uygulandıktan sonra ışık mikroskopunda kontrol edilerek immunoreaktivitenin olma durumuna göre reaksiyon PBS ile durduruldu. Distile su ile yıkama işleminden ve rutin histolojik işlemlerden (dehidrasyon, saydamlaştırma) geçirildikten sonra dokular üzerine entallen damlatılıp lamelle kapatıldı. Işık mikroskobu altında preparatlar incelendi ve fotoğrafları çekildi.

FGF-2 immunoreaktivitesinin spesifik olup olmadığını belirlemek amacıyla gebeliği normal olarak sonlanmış olguların plasentalarından alınan kesitlere bütün işlemler aynı olmak kaydıyla sadece primer antikor ilave edilmeksizin (negatif control) PBS'te tutuldu ve diğer işlemler aynen sırasıyla uygulandı. Dokuların üzerine entallen damlatılıp kapatılmasının ardından ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi. FGF-2 'nin plasentanın desiduada, villus trofoblast ve villusların kapillar endotelindeki immunoreaktivitesinin değerlendirilmesi 4 karegoride yapıldı: 0 (reaksiyon yok), 1 (minimal derece), 2 (orta derecede reaksiyon), 3 (kuvvetli reaksiyon).

Hastaların yaş ortalamasının istatistiksel olarak tespitinde 'Statistical Package for Social Sciences' (SPSS for Windows Release 10.0) bilgisayar programından yararlanıldı.

3. BULGULAR

3.1. Genel Bulgular

Çalışmamızda Kars Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesi'nde doğum yapmış, hipertansif hastalığı olan 4 olgu ile normal gebelik süresine erişmiş 12 olgunun plasentaları incelendi. Gebeliği normal olarak sonlanmış kadınların yaş ortalaması $24,58 \pm 3,94$, hipertansif kadınların yaş ortalaması ise $29,50 \pm 11,03$ 'dir. Gebeliği normal olarak sonlanmış kadınlara ait genel bulgular tablo 2' de ve hipertansif kadınların bulguları ise tablo 3' de gösterildi.

Gebeliği normal olarak sonlanmış (term) plasentalar ile hipertansif (preeklampitik) plasentalara ait desidua bazalis ve korion villusları şekil 1 ve 2 de gösterildi. Gebeliği normal olarak sonlanmış bir kadının plasentasında koryon villusları arasında belirgin intervillöz aralıklar tespit edildi (Şekil 3). Koryon villuslarında kan damarları, sinsityotrofoblast hücreleri ve bağdokusu görüldü (Şekil 4). Normal miyadında bir plasentaya (Şekil 5) ve hipertansif bir plasentaya (şekil 6) ait desidua bazalide bağ doku görüldü.

3.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Miyadında ve hipertansif plasentalara ait doku örneklerinde FGF-2 immunoreaktivitesi görüldü. Miyadındaki plasentalarda FGF-2 immunoreaktivitesi bölgelere göre bariz farklılıklar gösterdi. Miyadındaki plasentalara ait desidua bazalis kısmındaki desidua hücrelerinde hafif derecede FGF-2 immunoreaktivitesi görülürken, aynı bölge üzerinde diğer desidua hücrelerinde herhangi bir immunoreaktivite görülmedi (Şekil 7). Miyadındaki plasentalara ait koryon villuslarının bazılarında koryon mezenşim dokusu yüksek derecede FGF-2

immunoreaktivitesi gösterirken bazı koriyon villuslarında immunoreaktivite görülmedi (Şekil 8). Miyadındaki plasentalara ait koriyon villuslarındaki sinsityotrofoblast hücrelerinde herhangi bir FGF-2 immunoreaktivitesi görülmedi (Şekil 9). Miyadındaki bir plasentalara ait koriyon villusları içerisindeki damar endotellerinde yüksek derecede FGF-2 immunoreaktivitesi görüldü (Şekil 8).

Hipertansif kadınların placentada dokularındaki FGF-2 immunoreaktivitesi incelendiğinde tıpkı miyadında kadınların placentada dokusundaki gibi farklı bölgelerde farklı derecelerde immunoreaktivite olduğu görüldü. Hipertansif kadınların plasentasına ait desidua bazalis kısmının desidua hücrelerinin bazılarında FGF-2 immunoreaktivitesi hafif derecede görülürken aynı bölgedeki diğer desidua hücrelerinde herhangi bir immunoreaktivite görülmedi (Şekil 10).

Hipertansif kadınların plasentasına ait koriyon villuslarının FGF-2 immunoreaktivitesi incelendiğinde, bazı koriyon villuslarında koriyon mezenşiminde yüksek derecede immunoreaktivite görülürken bazılarında hafif derecede görüldü (Şekil 11). Hipertansif kadınların plasentasına ait koriyon villuslarının sinsityotrofoblast hücrelerinde herhangi bir FGF-2 immunoreaktivitesi gözlenmezken bazı villuslar içerisindeki damar endotellerinde hafif derecede immunoreaksiyon görüldü (Şekil 11).

FGF-2 immunoreaktivitelerinin spesifik olup olmadığını kontrol edebilmek için miyadında kadınların plasentalarından alınmış doku örneklerinde primer antikor kullanmaksızın PBS varlığı ile yapılan negatif kontrollerde herhangi bir reaksiyona rastlanmadı (Şekil 12).

Tablo 2. Gebeliği normal olarak sonlanmış kadınlara ait genel bulgular

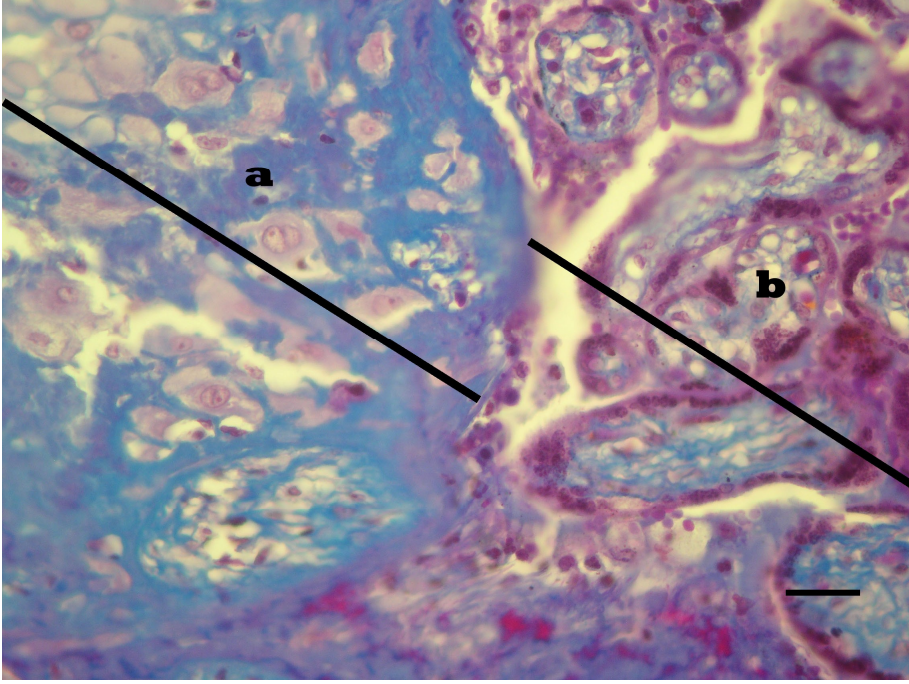
Vaka No	Yaşı	Gebelik Sayısı	Canlı Çocuk Sayısı	Düşük Sayısı	Kan Basıncı	Tanı Konmuş Herhangi Bir Hastalığın Varlığı	Sürekli Kullanılan İlaçların Varlığı
1	22	2	2	-	120/80 mmHg	Yok	Yok
2	29	3	2	1	120/80 mmHg	Yok	Yok
3	20	3	3	-	110/70 mmHg	Yok	Yok
4	18	1	1	-	120/80 mmHg	Yok	Yok
5	25	2	2	-	100/60 mmHg	Yok	Yok
6	30	4	3	1	110/80 mmHg	Yok	Yok
7	24	2	2	-	120/70 mmHg	Yok	Yok
8	19	2	2	-	110/70 mmHg	Yok	Yok
9	25	1	1	-	110/60 mmHg	Yok	Yok
10	27	3	3	-	120/70 mmHg	Yok	Yok
11	23	1	1	-	110/70 mmHg	Yok	Yok
12	32	5	3	2	120/80 mmHg	Yok	Yok

Tablo 3. Hipertansif kadınlara ait genel bulgular

Vaka No	Yaşı	Gebelik Sayısı	Canlı Çocuk Sayısı	Düşük Sayısı	Kan Basıncı	Tanı Konmuş Herhangi Bir Hastalığın Varlığı	Sürekli Kullanılan İlaçların Varlığı
1	29	3	2	1	150/90 mmHg	Yok	Yok
2	40	5	4	1	160/90 mmHg	Yok	Yok
3	25	2	2	-	150/80 mmHg	Yok	Yok
4	37	5	3	2	140/90 mmHg	Yok	Yok

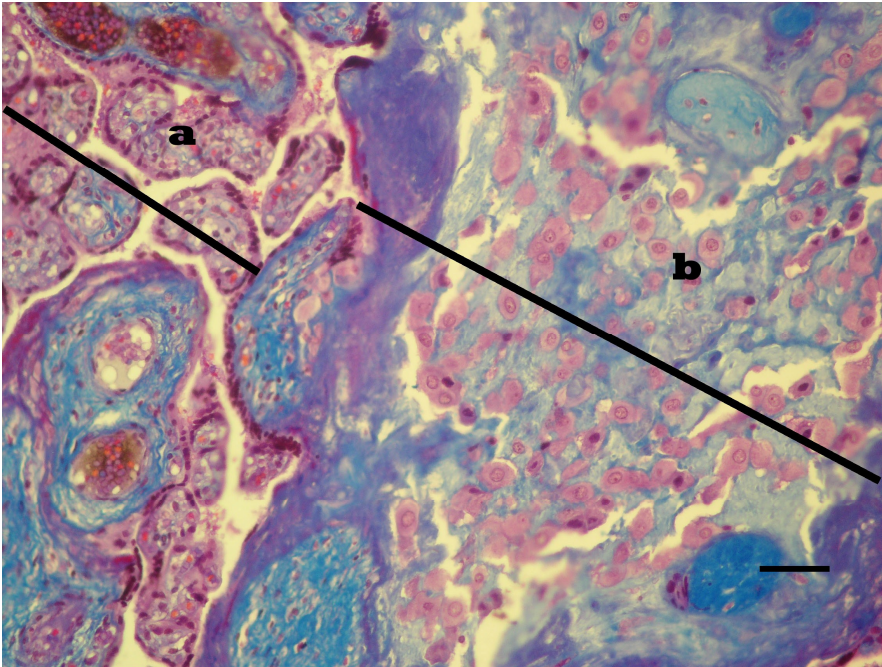
Tablo 4. FGF-2 'nin plasentanın desiduada, villus trofoblast ve villusların kapillar endotelindeki immunoreaktivitesinin değerlendirilmesi

Reaksiyon dereceleri	Desiduada	Trofoblast hücreleri	Koryon mezenşimi	Villusların kapillar endoteli
0 (reaksiyon yok)	// 2	//////////////// 16	0	0
1 (minimal derece)	// 2	0	// 2	0
2 (orta derecede reaksiyon)	//// 4	0	//// 4	//// 5
3 (kuvvetli reaksiyon)	//////// 8	0	//////// 10	//////// 11



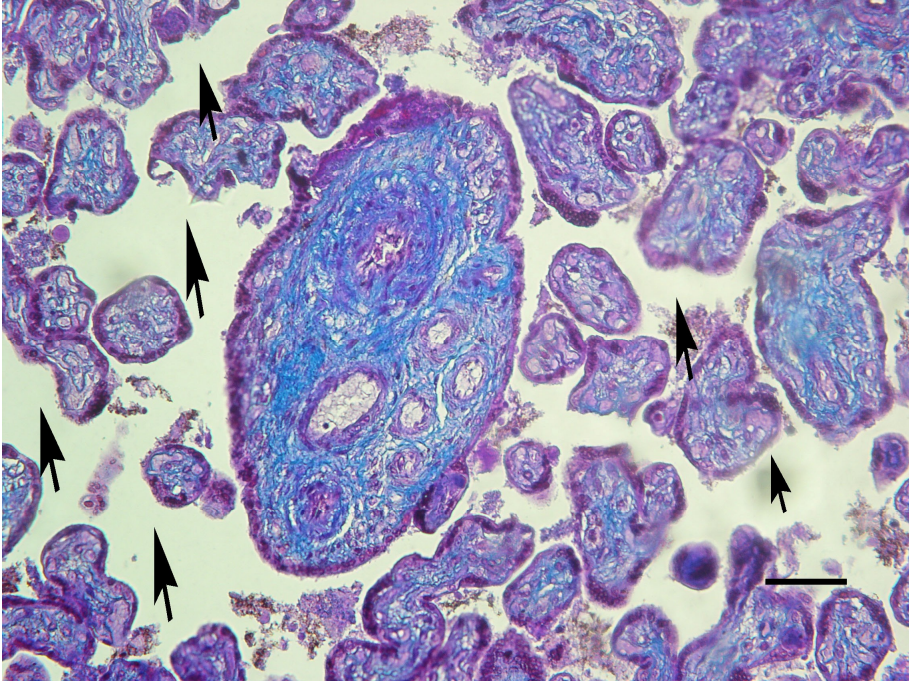
Şekil 1. Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis ve koriyon villusları.

Oklar: a; Desidua Bazalis, b; Koriyon Villusları. Tripple Boyama. Bar: 50 µm

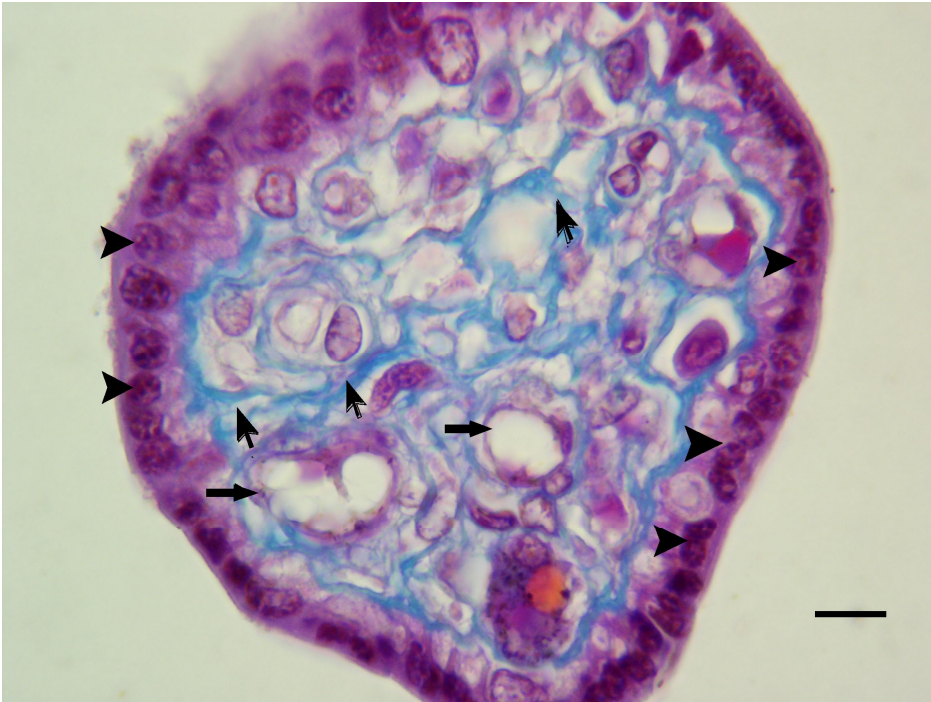


Şekil 2. Hipertansif bir plasentaya ait desidua bazalis ve koriyon villusları.

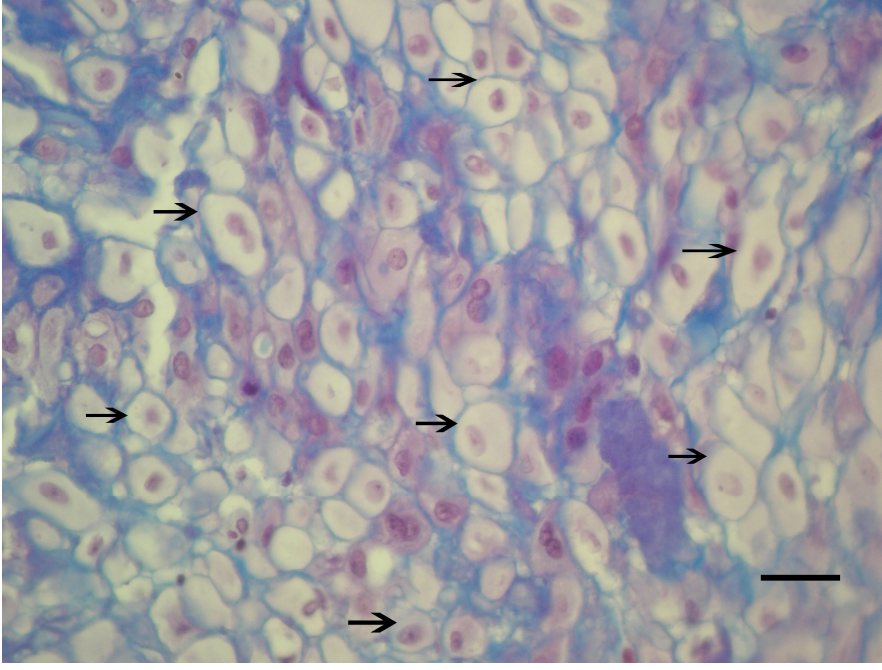
Oklar: a; Koriyon Villusları, b; Desidua Bazalis. Tripple Boyama. Bar: 100µm



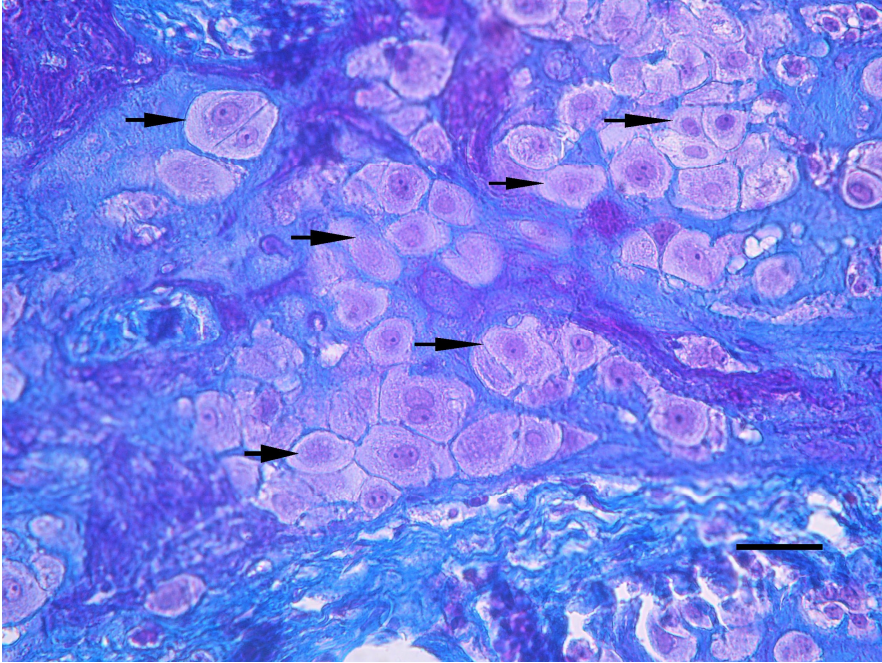
Şekil 3. Miyadında bir plasentaya ait koriyon villusları ve intervillöz aralıklar. Oklar: intervillöz aralıklar. Triple boyama. Bar:100 µm



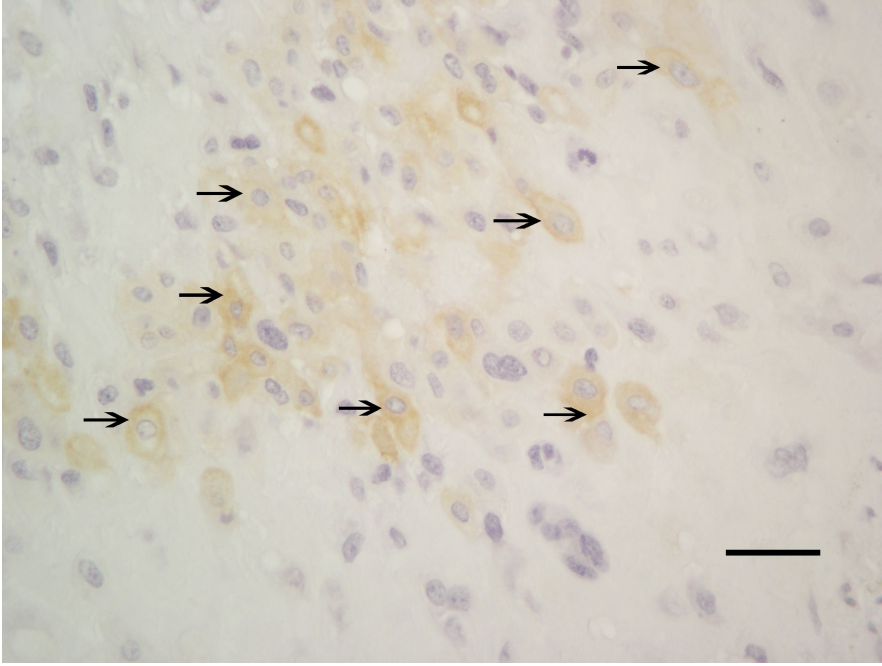
Şekil 4. Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında kan damarları, sınıtyotroblast hücreleri ve bağdokusu. Oklar: Kan Damarları, Ok başı: Sınıtyotroblast Hücreleri, Eğri oklar: Bağ dokusu. Triple Boyama. Bar: 20 µm.



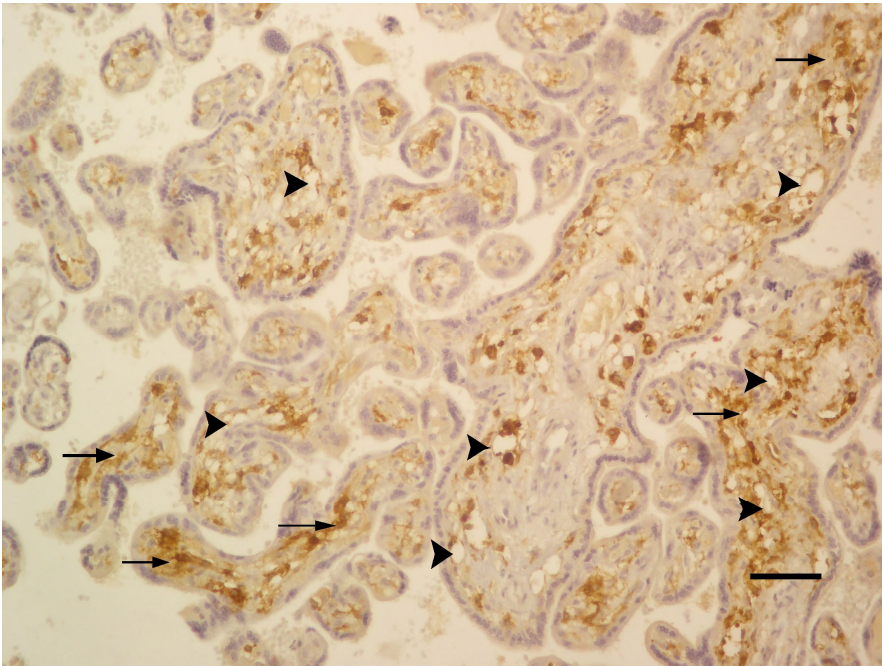
Şekil 5. Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalisdeki bağ dokusu hücreleri. Oklar: Bağ Dokusu hücreleri. Triple Boyama. Bar: 20 μ m



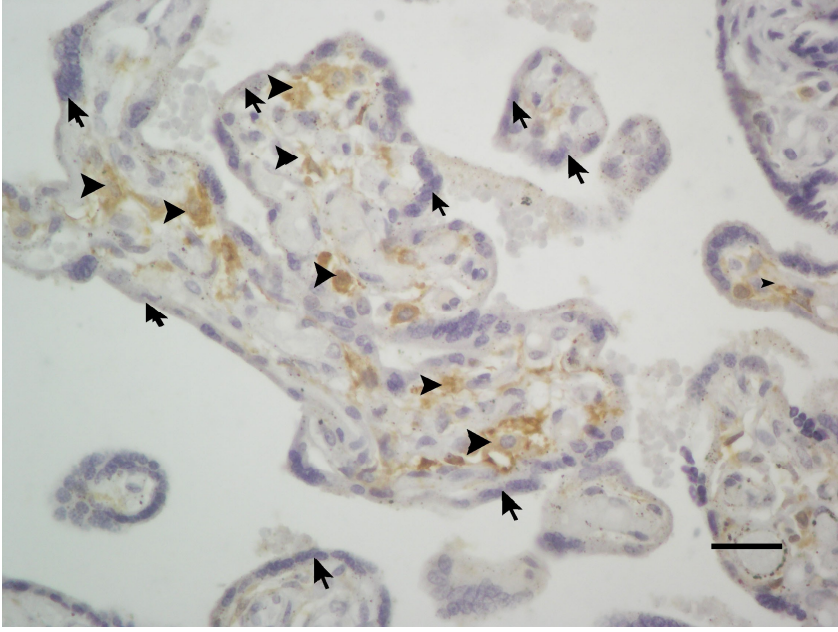
Şekil 6. Hipertansif bir plasentaya ait desidua bazalisdeki bağ dokusu hücreleri. Oklar: Bağ Dokusu Hücreleri. Triple Boyama. Bar: 20 μ m



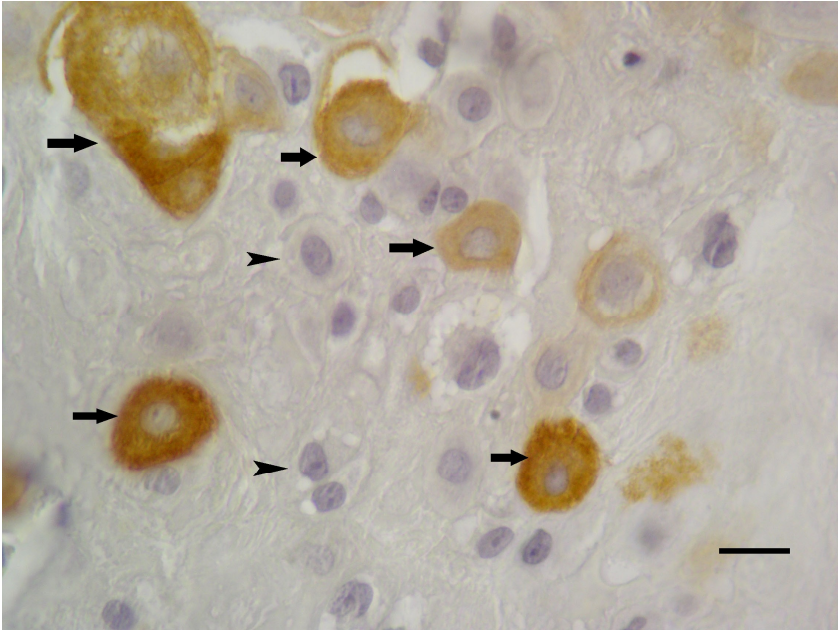
Şekil 7. Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmındaki desidua hücrelerinde FGF-2 immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua Hücreleri. Bar: 50 μ m



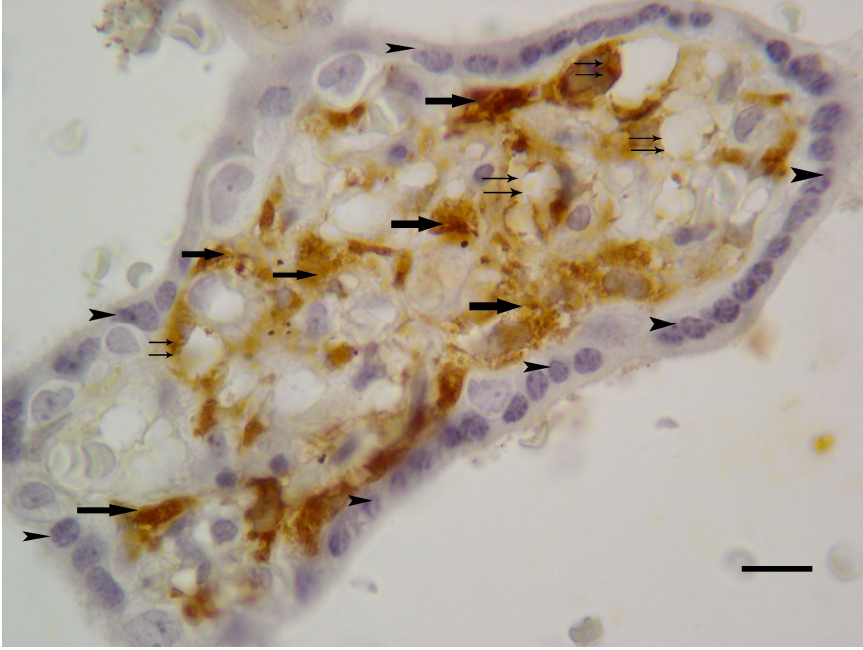
Şekil 8. Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarının koriyon mezenşimi ve damar endotellerindeki kuvvetli FGF-2 immunoreaktivitesi. Oklar: Koriyon Mezenşimi, Ok başı: Damar Endotelleri. Bar: 100 μ m



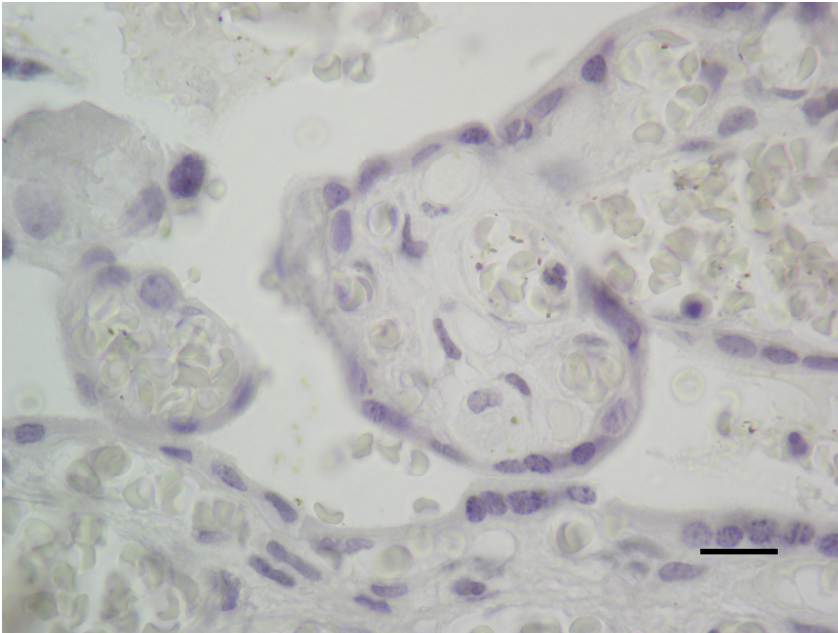
Şekil 9. Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarının mezenşimindeki FGF-2 immunoreaktivitesi ve sinsityotrofoblast hücrelerindeki reaktivite yokluğu. Oklar: Sinsityotrofoblast Hücreleri, Ok Başı: Koriyon Mezenşimi. Bar: 50 μ m



Şekil 10. Hipertansif bir plasentaya ait desidua hücrelerinde FGF-2 immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua hücreleri. Ok başı: Reaksiyon göstermeyen desidua hücreleri. Bar: 20 μ m



Şekil 11. Hipertansif bir plasentaya ait koriyon villuslarındaki koriyon mezenşimi ve damar endotellerinde FGF-2 immunoreaktivitesi, Sinsityotrofoblast hücrelerindeki reaktivite yokluğu. Oklar: Koriyonun mezenşimi, Çift ok: Damar Endotelleri, Ok Başı: Sinsityotrofoblast Hücreleri. Bar: 20 µm.



Şekil 12. Gebeliği miyadında sonlanmış bir kadının plasentasında koriyon villuslarında FGF-2 immunoreaktivitesi yokluğu (Negatif Kontrol). Bar: 20 µm.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada FGF-2' nin miyadında ve hipertansif gebelerin plasentasından alınan kesitlerdeki immunoreaktivitesi incelendi. Çalışmamızda her iki deneme grubundan alınan kesitlerde de FGF-2 nin lokalizasyonu koriyon villuslarındaki koriyon mezenşiminde, özellikle koriyon mezenşimindeki damar endotellerinde ve maternal kısmın desidua hücrelerinde görüldü. İncelemelerde FGF-2 reseptörlerinin özellikle damar endotellerinde immunoreaktivite göstermesi FGF-2 nin plasenta anjiyogenezinde önemli roller oynadığının göstergesi olarak kabul edildi. Yapılan gen ekspresyonu çalışmalarında da FGF-2 ve beraberinde bazı büyüme faktörleri ve anjiyopöietinler gibi anjiyogenik faktörlerin plasental vaskülarizasyonda önemli roller oynadığı tespit edilmiştir (3).

Bulgularımız, FGF-2 'nin anjiyogenik büyüme faktörleri ve fetal gelişme hızı üzerine etkilerini araştıran birçok çalışmayla benzerlik göstermiştir (17, 16, 20). Çalışmamızda gebeliği miyadında sonlanmış ve hipertansif gebe kadınların plasentasından alınan kesitlerdeki koriyon villuslarının damar endotellerinde FGF-2 immunoreaktivitesi görüldü. Wallner ve arkadaşları da FGF-2'nin gebeliğin seyrinde anjiyogenezis oluşumu açısından büyük bir rol oynadığını bildirmişlerdir (17). Ayrıca yapılan çalışmalarda Mezenkimal hücreler için mitojen görevi gören ve anjiogenezisi uyaran fibroblast büyüme faktörünün özellikle bazik formunun damarlaşmayı uyarıcı etkisinin 10 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir (14, 15). Bununla beraber, Redmer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada büyüme faktörleri ile beslenmenin ilişkisi ve plasental vaskülarizasyon üzerine etkileri

değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonunda, FGF-2'nin aşırı beslenmeden fazla etkilenmediği görülmüştür. Bu durum sekonder mekanizmalarla FGF-2 sentezinin sürdürüldüğünü göstermektedir (16). İlave olarak Zheng ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada FGF-2'nin hem hücre büyümesi ve farklılaşmasını kontrol ettiğini, hem de bazı lokal vazodilatörlerin üretimini düzenleyerek plasental vaskülarizasyonda önemli roller oynadığını göstermişlerdir (20). Çalışmamızda FGF-2 nin özellikle damar endotellerinde immunoreaktivite göstermesi bu çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir.

Hamai ve arkadaşları gebeliğin erken döneminde plasentanın büyüme ve gelişmesinin önemini araştırmışlardır (1). Çalışmalarında fetal villilerin anjiyogenezisinin gebeliğin erken dönemlerinde var olan endotelyumun farklılaşmasına bağımlı olduğunu ve FGF-2 nin gebelikte hem anjiyogenik büyüme faktörü olarak anjiyogenezisi stimule etmek yoluyla başarılı bir gebeliği sağlarken hem de doku farklılaşmasında görev aldığını savunmuşlardır. Bizim çalışmamızda FGF-2 nin koryon mezenşiminde immunoreaktivite gösterdiği tespit edildi. Bu durum FGF-2 nin doku farklılaşması için etkili olduğunu düşündürmektedir (1).

Pfarrer ve arkadaşlarının çalışmalarında FGF-2'nin plasentada trofoblast hücrelerinin farklılaşması ve plasental anjiyogenezisindeki etkilerini araştırmışlardır (21). Çalışmanın sonucunda FGF-2 'nin hem plasental anjiyogeneziste hem de hücre farklılaşmasında önemli bir düzenleyici faktör olduğu öne sürülmüştür. Buna rağmen, çalışmamızda her iki gruptan alınan plasenta kesitlerindeki koryon villuslarında bulunan sinsiyo trofoblast,

sitotrofoblast ve trofoblast hücrelerinde herhangi bir immunoreaktiviteye rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, fibroblast büyüme faktörü ailesinin bir üyesi olan bFGF anjiyogenezisin gerçekleşmesinde kritik roller üstlenmektedir. Yukarıda bahsi geçen araştırma sonuçları incelendiğinde görülmektedir ki; sağlıklı bir plasenta ve gebelik için anjiyogenezis belirleyici bir konumdadır. Plasentanın gebelikteki başlıca görevi fötüs ve anne arasında besin, gaz ve diğer maddelerin geçişini sağlamaktır. Bu bakımdan plasentanın damarlanması gebeliğin devamı için önemlidir. Plasentada damar gelişimi ise anjiyogenezis yoluyla mümkündür. Anjiyogenezis bFGF ilişkisi göz önüne alındığında ise düzenli bir plasenta gelişiminde fibroblast büyüme faktörleri, özellikle bFGF etkin bir faktör olarak öne çıkmaktadır. Bu bakımdan, bFGF salınımının takibi gebeliğin ve plasenta gelişiminin gidişatı hakkında çok önemli bulgular sağlayacaktır.

Yaptığımız çalışmanın daha ilerde yapılacak olan gen ekspresyonu ve immunohistokimyasal çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

5. ÖZET

FGF-2; gebelikte anjiyogenezisi uyaran anjiyogenik bir faktör olmasının yanı sıra çok sayıda hücre, doku ve organ sistemlerinin fonksiyon ve gelişiminde etkili olan bir büyüme faktörüdür. FGF-2, düz kas hücre gelişimini, yara iyileşmesini ve doku hasarlarının tamirini uyarır. Buna ek olarak; hematopoiezisi uyarmaktadır, iskelet sistemi, göz ile sinir sisteminin farklılaşması ve/veya fonksiyonlarında önemli roller oynamaktadır (1,5,6,7).

Plasentanın gelişimi için hem maternal decidua hem de fetal koriyonik vasküler yapının gelişimini sağlayan yaygın bir anjiyogenezis gereklidir. Günümüzde, bFGF'nin anjiyogenik faktör olarak trophoblastlarda var olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. bFGF'nin gebelikteki önemi, özellikle erken dönemlerde plasenta üzerine gösterdiği anjiyogenik etkinlikten kaynaklanmaktadır. Yeterli plasental vasküler yapının oluşmaması plasentada iskemiye neden olabilmektedir (1).

Çalışmaya normal gebelik süresine ulaşmış miyadında doğum yapan 12 kadının plasentası ile 4 hipertansif kadının plasentası alındı. Miyadında ve hipertansif kadınların plasentalarında immunohistokimyasal olarak FGF-2 reseptörünün dağılımlarının ve yoğunluklarının değerlendirilmesi yapıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

Miyadında ve hipertansif olan kadınların plasentalarındaki FGF-2 immunoreaktivitesi plasentanın koriyon villuslarında, koriyon villuslarındaki damar endotellerinde, koriyon mezenşiminde ve desidua hücrelerinde belirgin bir

şekilde gözlenirken , trofoblast, sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast hücrelerinde herhangi bir immunoreaktiviteye rastlanmamıştır.

FGF-2 salınımının takibi gebeliğin ve plasenta gelişiminin gidişatı hakkında çok önemli bulgular sağlayacaktır. Bu bakımdan yaptığımız çalışmanın ileride yapılacak olan birçok gen ekspresyonu ve immunohistokimyasal çalışmalara ışık tutabileceğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

1. **Hamai, Y. , Fujii, T. Yamashita, T. , Kozuma, S. Okai, T. , Taketeni, Y. :** Evidence for Basic Growth Faktor as a Crucial Angiogenic Growth Factor, Released from Human Trophoblasts During Early Gestation. Placenta , 19,149-155. 1998
2. **Olgar, Ş. , Yetkin, S. :** Anjiogenezis. Çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi, 46, 139-147.2003
3. **Lawrence P. Reynolds and Dale A. Redmer:** Angiogenesis and the Placenta. Biology of reproduction , 64, 1033-1040. 2001
4. **Özuysal, S.:** Tümodal anjiogenezis. Türk patoloji dergisi, 17(3-4),90-93.2001
5. **Zygmunt ,M., Herr, F. , Münstedt, K. , Lang,U. , Liang, O. :**Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy .European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 110, 10–18.2003
6. **Çetin, M. , Çapan, Y. :** bFGF (Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü) ve formülasyonlarında yeni yaklaşımlar. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 24/2, 107-124.2004
7. **Bikfalvi , A. , Klein, S. , Pintucci, G. , Rifkin, D.B. :** Biological Roles of Fibroblast Growht Factor-2. The Endocrine Society, 18,26-45.1997
8. **Gürgüç, C.A. :** Doğum bilgisi. 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakütesi Yayınları, 284, 1973

9. <http://www.mumcu.com/html/article.php?sid=259> Erişim Tarihi: 27.08.2008
10. **Hassa, O., Aşti, R.N.** : Embriyoloji, 3. Baskı. 1997
11. Plasenta, <http://medicine.inonu.edu.tr/histoloji/egitim/embdnot/plasenta/html/2006>
12. **Berberoğlu, A.** : Periodontal Dokuların İyileşmesinde Büyüme Faktörlerinin Rolü. Haettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 31/3, 114-121. 2007
13. **Deveci, D.** : Anjiogenezis, arteriyogenezis ve vaskülojenesis terimlerinin anlamları ve hipoksik ve/veya iskemik koşullarda anjiyogenezis. Genel Tıp Dergisi, 13/3, 141-151.2003
14. **Konukoğlu, D., Tutan, M. S.** : Anjiogenezisin temel moleküler mekanizmaları ve tümör anjiogenezisi. Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 36/1, 42-48. 2005
15. **Ciğer, S.** : Yara İyileşmesi ve Büyüme Faktörleri. A2
16. **Redmer, D.A., Aitken, R.P., Milne, J.S., Reynolds, L.P., Wallence, J. M.** : Influence of maternal nutrition on messenger RNA Expression of placental angiogenic factors and their receptors at midgestation in adolescent sheep. 72, 1004-1009, 2005
17. **Wallner, W. , Sengenberger, R. , Strick, R. , Strissel, P. L. , Meurer, B. , Beckmann, M. W. , Schlembach, D.** : Angiogenic growth factors in maternal and fetal serum in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. Clinical Science , 112,51-57, 2007

- 18. Hsu, S.M. , Raine, L. , Fanger, H. :** Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between abc and unlabeled antibody (PAP) procedures. *Journal Histochemistry & Cytochemistry*. 29:577-580, 1981
- 19. Shu, S., Ju, G., Fan, L. :** The glucose oxidase-dab-nickel in peroxidase histochemistry of the nervous system. *Neuroscience Lett*. 85: 169-171, 1988
- 20. Zheng, J., Bird, I. M., Melsaether, A.N., Magness, R. R. :** Activation of the Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade Is Necessary But Not Sufficient for Basic Fibroblast Growth Factor - Epidermal Growth Factor – Stimulated Expression of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Ovine Fetoplacental Artery Endothelial Cells. 140/3, 1399-1416, 1999.
- 21. Pfarrer, C., Wesie, S., Berisha, B., Shams, D., Leiser, R., Hoffman, B., Schuller, G. :** Fibroblast Growth Factor FGF-1, FGF-2, FGF-7 and FGF Receptors are Uniformly Expressed in Trophoblast Invasion in Cows Placenta. 27/6-7, 758-770, 1998.
- 22. D’Ercole, A.J. :** Fetal Growth and Development: A brief Survey of Cellular Mechanisms, Growth Genetics and Hormones, 2/2, 1-7, 1986