TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PREEKLAMPTİK GEBELERİN PLASENTALARINDA ADRENOMEDULLİN (ADM) VE SOLUBLE ENDOGLİN (sEng) EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Dt. BEYZA KARADEDE ÜNAL

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. MURAT AKKUŞ

DİYARBAKIR

2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PREEKLAMPTİK GEBELERİN PLASENTALARINDA ADRENO MEDULLİN (ADM) VESOLUBLE ENDOGLİN (sEng) EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Dt. BEYZA KARADEDE ÜNAL

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. MURAT AKKUŞ

DİYARBAKIR

2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı** doktora öğrencisi **Beyza KARADEDE ÜNAL**'ın hazırladığı **"Preeklamptik gebelerin plasentalarında adrenomedullin ve soluble endoglin (sEng) ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi"** başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 20 /06/2019

Danışman: **Prof. Dr. Murat AKKUŞ**

Jüri üyeleri		İmza
Jüri başkanı	Prof. Dr. Murat AKKUŞ	
Üye	Prof. Dr. Yusuf NERGİZ	
Üye	Prof. Dr. M. Cudi TUNCER	
Üye	Prof. Dr. İbrahim Enver OZAN	
Üye	Doç. Dr. İlknur KESKİN	

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …/…/…/ ve…… sayılı kararıyla onaylanmıştır.

20 /06/2019

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

.../... /201..

Beyza KARADEDE ÜNAL

İmza

TEŞEKKÜR

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndaki doktora eğitimim boyunca bilgilerini benimle paylaşan ve katkılarını esirgemeyen anabilim dalı başkanımız ve danışmanım Prof. Dr. Murat AKKUŞ'a,

Doktora eğitimim süresince katkı ve tecrübelerinden faydalandığım başta Prof. Dr. Yusuf NERGİZ olmak üzere, Prof. Dr. Engin DEVECİ, Prof. Dr. Sevda SÖKER, Doç. Dr. Ayfer ŞANLI AKTAŞ, Doç. Dr. Selçuk TUNİK ve Doç. Dr. Cenap EKİNCİ'ye

Doktora eğitimim süresince beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum başta Uğur ŞEKER ve Fırat AŞIR olmak üzere tüm doktora arkadaşlarıma ve her konuda bizlere yardımcı olan tüm histoloji laboratuvar ve klinik çalışanlarına,

Hayatım boyunca beni her konuda destekleyen, bana ışık tutup, varlıkları ile güç veren aileme; her daim ayaklarımı yere sağlam basmayı öğreten annem Gülsen KARADEDE'ye, tıpkı ilkinde olduğu gibi ikinci doktora sürecimde ufkumu sonsuzluğa açan babam Prof. Dr. Dr. M. İrfan KARADEDE'ye, yetişemediğimi düşündüğüm her an destekçim olan kardeşim Berşan KARADEDE'ye ve en zor anlarımda bile gülümsememi sağlayan hayat arkadaşım Nuri ÜNAL'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

BEYAN ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ iv
KISALTMALAR VE SİMGELER vi
ŞEKİLLER LİSTESİ vii
RESİMLER LİSTESİ vii
TABLOLAR LİSTESİ x
1.1. TÜRKÇE ÖZET 1
1.2. ABSTRACT 3
2. GİRİŞ ve AMAÇ 5
3. GENEL BİLGİLER 6
3.1. Plasenta 6
3.1.1. Giriş ve tanım 6
3.1.2. Plasentanın gelişimi 6
3.1.3. Plasentanın yapısı 8
3.1.4. Plasentanın görevleri 11
3.2. Preeklampsi 12
3.2.1. Giriş ve tanımı 12
3.2.2. Preeklampside etiyoloji ve patogenez 12
3.3. Soluble Endoglin (sEng) 13
3.4. Adreno Medullin (ADM) 14
4. GEREÇ VE YÖNTEM 16
4.1. Plasentaların Elde Edilmesi 16
4.2. Işık Mikroskobik İnceleme İçin Dokuların Takibi 16
4.3. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü 17
4.4. Soluble Endoglin (sEng) İmmun Boyama Yöntemi 18

4.5. Adrenomedullin İmmun Boyama Yöntemi 19
4.6. İmmunohistokimyasal ve İstatistiksel Analiz……20
5. BULGULAR 21
5.1. Histopatolojik Bulgular 21
5.2. İmmunohistokimyasal Bulgular 24
5.3. İstatiksel Bulgular 29
6. TARTIŞMA 32
7. SONUÇ 37
8. KAYNAKLAR 38
9. ÖZGEÇMİŞ 42
10. EKLER 44
10.1. Etik kurul onayı 44
11. ORİJİNALLİK RAPORU 45

KISALTMALAR VE SİMGELER

sEng : Soluble Endoglin

HCG : İnsan Koryonik Gonadotropini

IgG : İmmunoglobulin G

ACOG : American College of Obstetrics and Gynecology

TGF : Transforme edici büyüme faktörü

ADM : Adrenomedullin

NO : Nitrik oksit

H-E : Hematoksilen Eozin

PBS : Phosphate Buffer Saline

EDTA : Etilen diamin tetra asetik asit

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Term dönemdeki Fötal ve Maternal plasenta yüzeylerinin şematik görüntüsü……...8

Şekil 2: Plasentanın anatomik görüntüsü……10

Şekil 3: Adrenomedullin ve proadrenomedullin'in biyosentezi……..…13

Şekil 4: Kontrol ve Preeklampsi grupları sEng ekspresyon yüzdeleri. 30

Şekil 5: Kontrol ve Preeklampsi grupları ADM ekspresyon yüzdeleri. 318

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: Kontrol grubu plasenta görüntüsü (x 400). Normal görüntüde villuslar (kalın ok) ve kapiller organizasyon (ok başı) ile stromal alan (ince ok) ve Hoffbauer hücreleri (kıvrımlı ok) gözlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 20µm)…..21

Resim 2: Kontrol grubu plasenta görüntüsü (x 200). Kontrol grubu plasenta kesitlerinde normal villus yapıları (kalın ok), villöz kapillerler (ok başı) ve stroma (ince ok) izlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50µm)..... 22

Resim 3: Preeklampsi grubu plasenta görüntüsü. Sinsityal düğümlerde (ok) ve köprülerde (ok başı) artış. Villöz kapillerlerinde konjesyon ve dilatasyon (c), İntervillöz alanda yoğun hemorajik odaklar (h), stromal organizasyonda bozunma (*), hyalinizatif fibröz alanlar (f) ve trofoblastik hücre kaybının (kalın ok) yanı sıra hofbauer hücrelerinde artış olduğu (kıvrımlı ok) gözlendi. (Boyama: H&E, Bar: 23

Resim 4: Preeklampsi grubu plasenta görüntüsü (x 200). Sinsityal düğümlerde (ok) ve köprülerde (ok başı) artış. Villöz kapillerlerinde konjesyon ve dilatasyon (c), İntervillöz alanda yoğun hemorajik odaklar (h), stromal organizasyonda bozunma (*), hyalinizatif fibröz alanlar (f) ve trofoblastik hücre kaybı (kalın ok) izlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50 µm)..... 23

Resim 5: Kontrol grubu kesitlerinde sEng ekspresyonu. Ekspresyon pozitif alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: sEng İmmunohistokimya, Bar: 20µm). 24

Resim 6: Kontrol grubu kesitlerinde sEng ekspresyonu görüntüsü (x 200). Ekspresyon pozitif alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: sEng İmmunohistokimya, Bar: 50µm)..... 25

Resim 7: Preeklampsi grubu kesitlerinde sEng ekspresyonu. Ekspresyonun yoğun pozitif olduğu alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: sEng İmmunohistokimya, Bar: 20µm)..... 26

Resim 8: Preeklampsi grubu kesitlerinde sEng ekspresyonu görüntüsü (x 200). Ekspresyon'un yoğun pozitif olduğu alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: sEng İmmunohistokimya, Bar: 50µm). 26

Resim 9: Kontrol grubu kesitlerinde ADM ekspresyonu. Ekspresyonun yoğun pozitif olduğu alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: ADM İmmunohistokimya, Bar: 20µm)..... 27

Resim 10: Kontrol grubu kesitlerinde ADM ekspresyonu görüntüsü (x 200). Ekspresyonun yoğun pozitif olduğu alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: ADM İmmunohistokimya, Bar: 50µm)..... 27
Resim 11: Preeklampsi grubu kesitlerinde ADM ekspresyonu. Ekspresyon pozitif alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: ADM İmmunohistokimya, Bar: 20µm)..... 28
Resim 12: Preeklampsi grubu kesitlerinde ADM ekspresyonu. Ekspresyon pozitif alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: ADM İmmunohistokimya, Bar: 50µm)..... 29

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Kontrol ve preeklamptik plasentalarda sEng ekspresyon yüzdeleri. 29
Tablo 2: Kontrol ve preeklamptik plasentalarda ADM ekspresyon yüzdeleri. 30

Preeklamptik gebelerin plasentalarında adrenomedullin ve soluble endoglin (sEng) ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi

Öğrencinin adı ve soyadı: Beyza KARADEDE ÜNAL
Danışman **:** Prof. Dr. Murat AKKUŞ
Anabilim Dalı **:** Histoloji ve Embriyoloji

1.1.TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Bu çalışmada preeklamptik gebelerin plasentalarında son yıllarda keşfedilen iki yeni protein olan adrenomedullin ve soluble endoglin (sEng) ekspresyon düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 20 adet preeklamptik ve 20 adet normotansif hastalardan plasenta kesitleri alınarak parafin doku takibi yapıldı. Alınan dokulara hematoksilen eozin, ve immun işaretleme boyamaları yapıldı. Kesitler ışık mikroskop altında incelendi ve mikrografları alındı.

Bulgular: Hematoksilen-eozin boyanan kesitlerde, kontrol grubuna göre preeklampsi grubunda yoğun patoloji gözlendi. Preeklampsi kesitlerinde hofbauer hücrelerinde artış, villöz kapillerlerde, stromal ve trofoblast hücrelerinde dejenerasyon görüldü. Villöz kapillerlerde konjesyon ve dilatasyonun yanında intervillöz alanda yoğun hemoraji tespit edildi. Bağ dokuda yoğun hyalinizasyon alanları olduğu izlendi. İmmunohistokimyasal analizlerimizde her iki grupta da sEng ve ADM ekspresyonunu tespit edildi. Ekspresyonların çoğunlukla sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast hücrelerinde olduğu görüldü. Image J yazılımı ile yapılan analizlerde kromojen pozitif alanlarının toplam alanlara oranı yüzde olarak değerlendirildi. İstatistiksel analizler sonucunda kontrol grubunda sEng ekspresyonu %34,83'lük bir alan kaplamaktaydı. Buna karşın preeklampsi grubunda kromojen pozitif alanlar %49,22 idi ve bu artış bağımsız t testine göre anlamlıydı (p=0,000). ADM ekspresyonu için kontrol grubu kesitlerinde kromojen pozitif alanların toplam alana yüzdesel oranının %51,72 olduğu tespit edildi. Preeklampsi grubunda ise bu oran %22,08 idi. Yapılan istatistiksel analiz

sonucu bağımsız t testine göre preeklampsi grubundaki ekspresyon yüzdesindeki azalmanın anlamlı olduğu tespit edildi (p=0,000).

Sonuç: Preeklampsinin gelişiminde veya neden olduğu homeostatik bozukluklara verdiği cevaplarda trofoblastik hücrelerin dolaylı olarak fonksiyonel bir rol aldığını düşünüyoruz ve ileri çalışmalarla hipotezlerimizi güçlendirecek yeni bulgulara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

Anahtar kelimeler: Plasenta, Umbilikal kord, Adrenomedullin, Soluble Endoglin

Evaluation of expression of adrenomedullin (ADM) and soluble endoglin (sEng) the placenta of preeclamptic pregnancies.

Student's surname and name : KARADEDE ÜNAL Beyza
Advisor **:** Prof. Dr. Murat AKKUŞ
Department **:** Histology and Embryology

1.2.ABSTRACT

Aim: Aim of this study was to evaluate recently discovered two novel proteins adrenomedullin and soluble endoglin (sEng) expression levels in preeclamptic placentas.

Materials and Methods: Small portions of 20 preeclamptic and 20 normotensive placentas were dissected for paraffin-wax tissue embedding protocol. Tissues were stained with hematoxylin eosin and immunostaining. Sections were examined under light microscope to micrograph.

Results: In hematoxylin-eosin stained sections, intensive pathology was observed in preeclampsia group compared to control group. Increased Hoffbauer cells and degeneration in villous capillaries, stromal and trophoblast cells were seen in preeclampsia sections. Intense hemorrhage was detected in intervillous area with congestion and dilatation in villous capillaries. There were intense hyalinization areas in connective tissue.

Expressions were mostly found in cytotrophoblast and syncytiotrophoblast cells. Ratio of chromogen positive areas to total areas was evaluated by percentage with analysis of Image J software. Statistical analysis showed sEng expression occupied an area of 34.83% in control group. However, chromosome positive areas in preeclampsia group were 49.22% and this increase was significantly higher by independent t test ($p = 0.000$). In control group of ADM expression, percentage ratio of chromogen-positive areas to total area was 51.72%. Rate of preeclampsia group was 22.08%. Decrease in expression percentage of preeclampsia group was significant by independent t test ($p = 0.000$).

Conclusion: We propose that trophoblastic cells play an indirect role in development of preeclampsia or in responses to homeostatic disorders preeclampsia causes. We also think that new studies are a need to support our hypotheses.

Keywords: Placenta, Umbilical cord, Adrenomedullin, Soluble Endoglin

2. GİRİŞ ve AMAÇ

Preeklampsi tüm dünyada maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir (1). Gelişmekte olan ülkelere bakıldığı zaman preeklampsi kaynaklı her yıl altmış binin üzerinde anne ölümü göze çarpmaktadır (2). Preeklampsi gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkan klinik bir hastalıktır (3).

Preeklampsinin nedenleri arasında plasental anjiyogenezis ve gelişimin inkomplet oluşuna bağlı olduğu düşünülen endotelyal fonksiyon bozukluğu görülmektedir (4). Sağlıklı plasentasyon anjiyoyenik proteinlerin dengesi ile sonuçlanmaktadır.

Bu çalışmada; preeklamptik gebelerin plasentalarına ait doku kesitlerinde histolojik ve immunohistokimyasal Adrenomedullin (ADM) ve soluble Endoglin (sEng) ekspresyonun değerlendirilip karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Plasenta

3.1.1. Giriş ve tanım

Plasenta, anne ile fetüs arasındaki dolaşımı sağlayan ve fetüsün beslenmesinde rol oynayan, doğumdan sonra işlevi son bulan geçici bir organdır (5) Bu özelliklerinden dolayı dokuzuncu haftadan sonra plasentanın yapısında değişikler meydana gelmektedir (6).

3.1.2. Plasentanın gelişimi

Fertilizasyon, erkek ve dişi gametler olan spermiyum ve sekonder oositin birleşmesi ile oluşan zigot ile başlamaktadır. Fertilizasyondan yaklaşık 3 gün sonra, kompakt haldeki bulunan embriyo yeniden bölünmeye başlar ve morula (dut) haline dönüşür. Morulanın iç hücre kütlesinden embriyoya ait dokuları oluşturacak embriyoblast, dış hücre kütlesinden ise daha sonra plasentaya katılacak olan trofobalastlar gelişir (6).

İlerleyen zamanlarda implantasyon olayından sonra trofoblast hücreleri prolifere olarak endometriyum içine invaze olan iki hücre tabakasını oluştururlar. Maternal dokuya teması olmayan ve içte yer alan hücre tabakası sitotrofoblast adını alır. Maternal dokuya temas halinde olan ve dışta yer alan hücreler ise sinsitiyotrofoblast adını almaktadır (7,8).

Fertilizasyondan sonraki yaklaşık olarak 13.günde sitotrofoblast hücreleri yer yer prolifere olarak sinsitiyotrofoblast tabakasına doğru uzanan hücre kümelerini oluşturmaya başlarlar. Böylece bu dönemde hücre sınırları belirgin olan sitotrofoblastlar ve sınırları belirgin olmayan bir hücre kütlesi olan sinsitiyotrofoblast tabakası görülerek primer villuslar oluşur (9). Sinsitiyotrofoblastlar oldukça iyi gelişmiş golgi kompleksi, bol miktarda mitokondri ve lipid damlaları içerir. Ayrıca östrojen, progesteron, β-hCG (insan koryonik gonadotropin) laktojenleri salgılarlar. Sitotrofoblastlar ayrıca β-hCG ve streoid hormonu sentezlemektedir (10).

Sinsitiyotrofoblastlar devamlı olarak endometriyuma doğru göç ederek, uterusa yerleşmeyi hedeflemektedir. Bu sırada sinsitiyotrofoblastlarda belirginleşen vakuoller ve bu vakuollerin birleşmesiyle laküna denilen geniş boşluklu yapılar gözlenmektedir. Sinsitiyotrofoblastlar stroma tabakasının derinliklerine inerek anneye ait olan kapiller damarın endotelini aşındırmaya başlarlar. İçi kanla dolu bu geniş lümenli kapiller damarlara sinuzoid adıverilir. Daha sonra bu lakünalar ve geniş lümene sahip sinuzoidlerin birleşmesiyle lakünaların içine anneye ait maternal kan akmaya başlar ve böylelikle uteroplasental dolaşım başlamış olur (6,10).

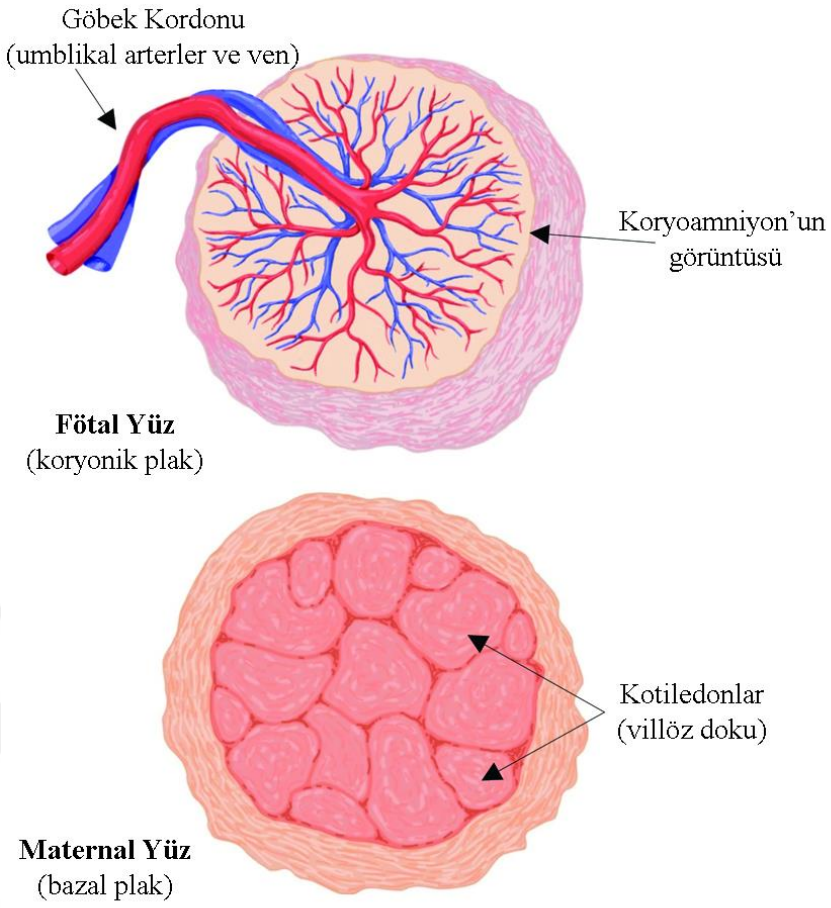
Gelişimin daha ileriki dönemlerinde ekstraembriyonik mezodermden kaynaklanan mezenkimal bağ dokusu villus içine girer ve sekonder villuslar oluşur. Üçüncü haftanın sonunda, en içte yer alan mezodermal hücreler, kan damarları ve kan hücrelerine farklılaşarak villöz kapiller sistemi oluştururlar. Bu yapı artık tersiyer veya kalıcı plasental villus adını alır. Gelişimin 13. gününde sinsitiyotrofoblastların içerisinde ayrıca ekstraembriyonik bir boşluk oluşur. Bu boşluğun oluşturan tabakalar sinsitiyotrofoblast, sitotrofoblastlar ve ekstraembriyonik somatik mezodermden meydana gelmektedir. Bu şekilde oluşan toplu yapıya koryon adı verilmektedir. Koryon villusları ise dışta sinsitiyotrofoblast, içte tek katlı sitotrofoblastik kök hücreler ve kan damarları tarafından çevrelenir. Anneye ve fetüse ait kan koryon villuslarına ait plasenta zarı ile birbirlerinden ayrılmışlardır. Plasenta zarı başlangıçta kalın iken gittikçe incelir ve doğuma yakın 2-4 mikron kadardır (6,10).

Zamanla tersiyer villusların içinde yer alan kapillerler, koryon plağı ve bağlantı sapı mezodermi ile ilişki kurarlar. Gebelik ilerledikçe, embriyonik kutupta villuslar büyüyüp gelişerek koryon frondozumunu oluştururlar. Üçüncü aydan itibaren tersiyer villuslar endometriyum içine doğru devam ederek fetal plasentayı oluşturur. Koryonun embriyonik ve abembriyonik kutuplarında gösterdiği bu yapısal değişiklik, endometriyumun fonksiyonel tabakası olan ve doğumla birlikte dökülen desiduanın yapısında da görülür. Koryon frondozum üstünde yer alan desiduabazalis bölümü lipid ve glikojenden zengin iri desidual hücrelerden meydana gelmiş yoğun bir tabakadır. Fetal plasentanın gelişimi sırasında koryon villuslarının uterusun endometriyum (desidua bazalis) tabakasına gömüldüğü sahada ise fonksiyonel değişiklikler meydana gelmesiyle maternal plasentanın oluştuğu görülmektedir. Böylelikle maternal ve fetal plasenta yüzlerinin oluşturduğu koryon frondozum ve desidua bazalisten full term plasenta meydana gelmiş olur (6,10).

Plasenta gebeliğin sonuna doğru yapısal olarak birçok değişikliğe uğrar. Gebeliğin sonlarına doğru ortaya çıkan bir takım yapısal değişikliklerden kaynaklı olarak fetal ve maternal kan dolaşımı arasında madde alışverişinde azalma gösterir. Aynı şekilde villusların göbeğinde fibröz dokunun artması, fetal kapillerlerin bazal membranının kalınlaşması, koryon plağı ve birleşme bölgesindeki villusların yüzeyinde fibronoid birikmesi gibi değişiklikler görülmektedir.

3.1.3. Plasentanın yapısı

Fetüsün beslenmesini ve gelişimini sağlayan ve geçici bir organ olarak işlev gösteren plasenta maternal ve fetal kaynaklı iki yapıdan oluşur. (Şekil 1) Plasentanın fetal bölümü koryon frondozum, maternal bölümü ise desidua bazalisden oluşmaktadır ve ikisinin birleşme bölgesinde trofoblast ve desidual hücreler birbirine karışmış olduğu görülmektedir (11).



Şekil 1: Term dönemdeki Fötal ve Maternal plasenta yüzeylerinin şematik görüntüsü (Alıntıdır: The placenta from development to disease, Helen H. Kay)

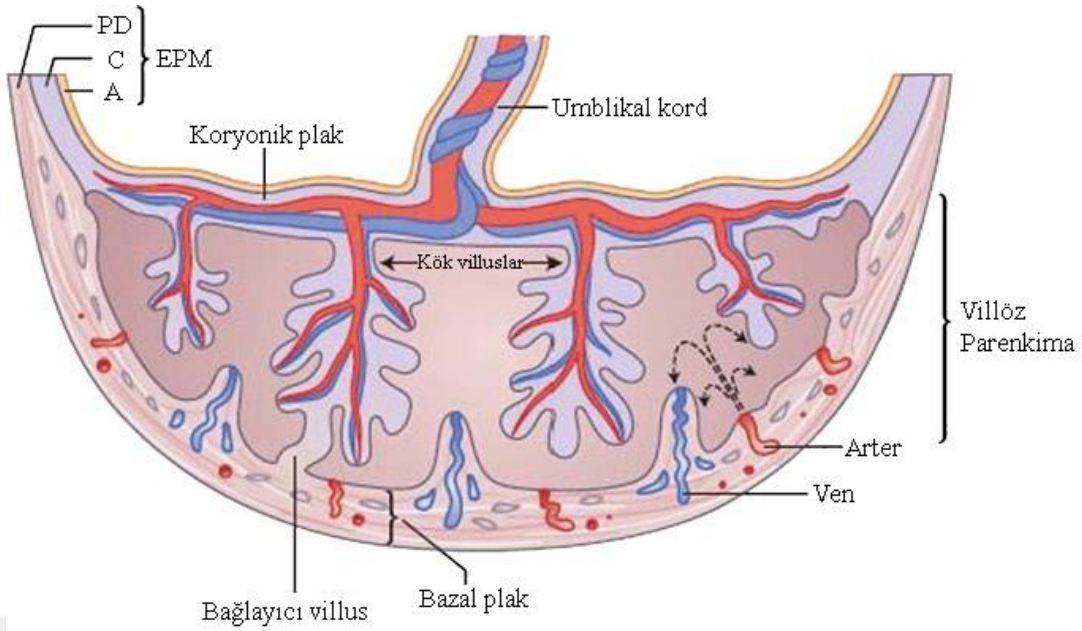
Plasentayı oluşturan fetal bölüm koryon plağı ve bu plakla ilişkili villuslardan oluşmaktadır. Villuslar anne kanının dolaştığı lakünalar içinde uzanırlar. Üçüncü aydan itibaren villuslardan yoksun bir koryon olan koryonlaeve (düz koryon) oluşur. Düz koryonun oluşumu sayesinde desiduabazalis ile ilişkili olan villusların sayısı artar ve artık villöz koryon ya da koryon frondozum adını alır. Plasentanın fetal kompenenti olan koryon frondozum ile desidua bazalis birlikte plasentayı oluşturur. Ayrıca amniyon ile koryon kaynaşmasıyla oluşan amniyokoryonik membranı meydana getiri ve bu membran doğumla birlikte yırtılır. Koryon villusları, desidua bazalise sitotrofoblastik kabukla bağlanırlar. Ayrıca sitotrofoblastik kabuk koryon kesesi ve plasentayı desidua bazalise bağlar (11,12).

Gebelik ile birlikte anne kanında artan progesteron düzeyine yanıt olarak endometriyumdaki bağ dokusu hücrelerinde glikojen ve lipid birikmeye başlar. Zamanla genişleyen ve soluk olarak boyanan bu hücreler 'desidua hücreleri' adını alır. Desidua hücrelerinin, hormon salınımıyla ilgili görevleri olduğu bilinmekle beraber önemi hala tartışılmaktadır.

Gebelik döneminde uterusun endometriyum tabakası olduğundan maternal plasenta da bu hücrelerden oluşan tabakadan gelişir. Desidua gebelik döneminde konseptusa yakınlığına göre desidua bazalis, desidua kapsülaris ve desidua pariyetalis olmak üzere üç bölümden meydana gelmektedir. Plasentanın maternal komponenti desiduabazalisi oluşturur. 4. aydan itibaren desiduadan kaynaklanan desidual septumlar intervillöz mesafeye uzanmasına rağmen koryonik plağa ulaşamazlar. Septumlar maternal doku içerir, ancak yüzeyleri sinsitiyal hücrelerden bir tabaka oluşturur. Bu septumların varlığı ile plasenta birçok bölüme (kotiledon, lob) ayrılmış olur. Herbir kotiledon ana bir kök villus ve dallarını içerir. Endometriyumdan kaynaklanan damarlar intervillöz mesafeyi kanlandırır (Şekil 2). Fetal ve maternal kanın birbirine karışmasını engelleyen yapı daha çok fetal dokulardan oluşan plasenta bariyeridir. Dördüncü ayın başından itibaren seçici geçirgenlik özellikte ki bu bariyer ürünlerin geçişini kolaylaştırır (11,13).

Plasenta bariyeri tabakalarını oluşturan yapılar;

- Sinsityotrofoblastlar
- Kesintili seyreden sitotrofoblastlar
- Trofoblastların bazal laminası
- Villusun bağ dokusu
- Endotelin bazal laminası
- Tersiyer villus içindeki fetal plasental kapillerlerin endoteli



Şekil 2: Plasentanın anatomik görüntüsü. Amniyon (A), Koryon (C) ve paryetal desidua (PD)'yı içeren ekstraplasental membranlar (EMP), umblikal kord, koryonik plak, bazal plak ve villöz parenkima'nın şematik görüntüsü (Alıntıdır: Color atlas of fetal and neonatal histology Linda M. Ernst, MD, MHS)

3.1.4. Plasentanın görevleri

Plasenta başlıca taşıma, metabolik koruma ve endokrin fonksiyonlar olmak üzere birçok görev üstlenmektedir. Plasenta steroid yapıda hormonları, peptidleri, prostoglandinler benzeri pek çok maddeyi kan dolaşımına salgılayarak embriyo için gerekli olan besin maddelerini karşılayan endokrin bir organdır. Plasentanın gaz alışverişi, anneden fetüse oksijen, fetüsten de anneye karbondioksit taşımasını sağlar. Fetüs için gerekli olan maddeler basit difüzyon, kolaylaştırılmış difüzyon, aktif transport ve pinositoz mekanizmaları ile plasenta membranını geçerler. Plasenta fetüsün metabolik atıklarının annenin böbreği ile atılmasında da rol oynar. Ayrıca immunoglobulin-G plasenta aracılığıyla fetüse geçerek fetüsün bağışıklık kazanmasını da sağlar.

Gebeliğin başlangıçta östrojen ve progesteron kaynağı korpus luteum iken, gebeliğin ilerlemesiyle bu görevi plasenta almaktadır. Östrojen ve protestonlar gebeliğin devamı için gerekli primer hormonlardır. Plasentadan endotel büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, koloni stimüle edici faktör, interlökin gibi önemli moleküller salgılanır (9).

3.2. Preeklampsi

3.2.1. Giriş ve tanımı

Preeklampsi, maternal ve fetal morbidite ve mortaliteye neden olan, gebeliğe özgü yüksek tansiyon ve proteinüri ile karakterize olan bir hastalıktır. Yapılan araştırmalar sonucunda preeklampsinin insana özgü bir hastalık olduğu sonucuna varılmıştır (3). American College of Obstetrics and Gynecology (ACOG) göre preeklampsi klinik olarak hafif ve şiddetli olmak üzere iki farklı tablo şeklinde seyredebilmektedir. Bu klinik tablolara bağlı olarak hala günümüzde preeklamptik gebelerde ölüm ve erken doğum gibi komplikasyonlar görülmektedir (14).

3.2.2. Preeklampside etiyoloji ve patogenez

Preeklampsi, gebeliğe bağlı olarak plasenta kaynaklı bir hastalıktır. Bu hastalığın akraba evliliklerinden kaynaklı olup olmadığına ait hikayesi olmamasına karşın, birinci derece akrabalar arasında görülen evliliklerden kaynaklı preeklampsi riskinin 2-4 kat arasında arttığı sonuçlarına varılmıştır (15).

Preeklampsinin genetik olabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur ve sonuç olarak anne veya kız kardeşten birinin preeklampsi geçirmiş olmasının, preeklampsi riskini arttırdığı sonucuna varılmıştır (16). Patofizyolojisinin halen net olarak

bilinmemesinden kaynaklı olarak preeklampsinin tedavisi için en kesin yöntem hem bebekte hem de annede oluşacak komplikasyonları önlemek amacıyla olabilecek en erken doğumdur (17,18).

3.3. Soluble Endoglin (sEng)

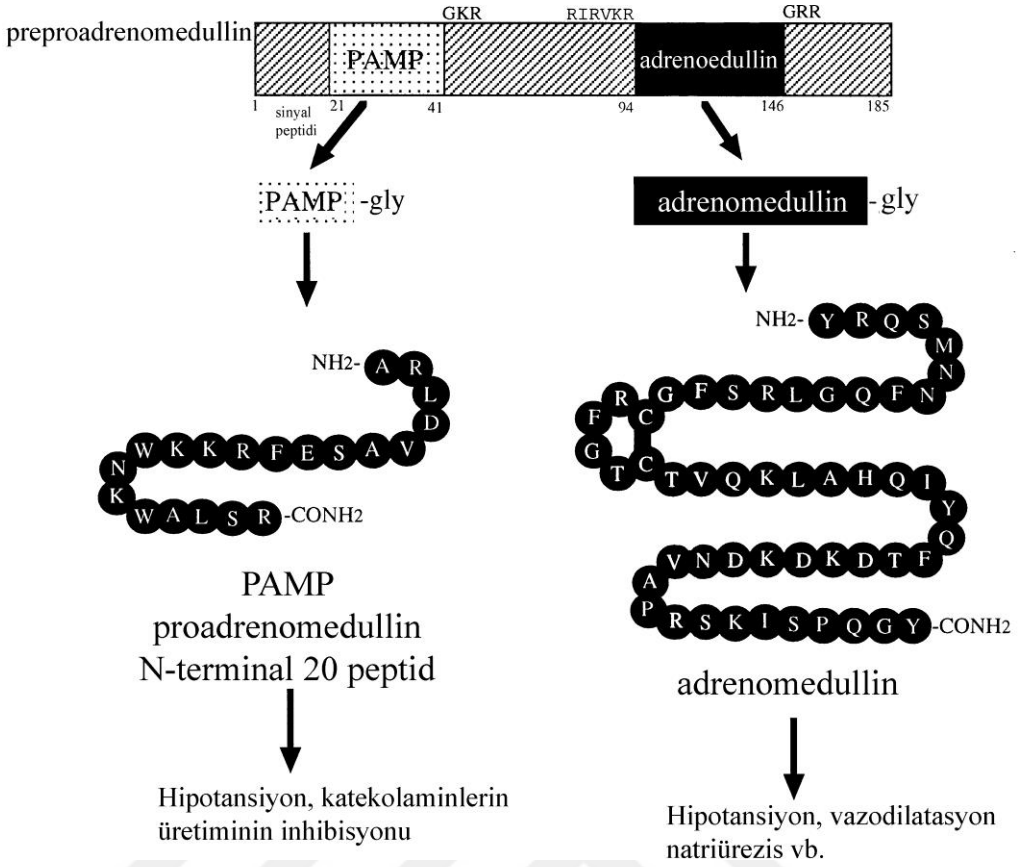
Endoglin bir yüzey membran protein olarak karşımıza çıkar. Transforme edici büyüme faktörü reseptör ailesine ait olan Soluble Endoglin bir Ttransforme edici büyüme faktörü-β (TGF-β)'nın koreseptörüdür. Vasküler endotel ve sinsityotrofoblastlar tarafından salınmakta, aynı zamanda anjiogenezde ve vasküler düzenlenmede rol oynamaktadır. Böylelikle antianjiojenik etki göstermektedir (19). CD105 olarak da bilinen Endoglin, hematopoez, kardiyovasküler gelişim ve anjiogenezde rolleri olduğu düşünülmektedir. Endoglin, disülfit bağlı ekstrasellüler bir bölüme ve kısa, temel olarak fosforillenmiş bir sitoplazmik kuyruğa sahiptir (20).

Endoglin, yüksek oranda vasküler endotelyal hücrelerde, kondrositlerde ve term plasentanın sinsityotrofoblastlarında eksprese edilmektedir (21). Aynı zamanda monositlerde, eritroid prekürsörlerde ve hematopoietik kök hücrelerde de bulunmuştur (22). Her ne kadar fonksiyonunun anlaşılması zor olsa da endoglinin dolaşan solübl formunun düzeyleri aterosklerozlu hastalar ile meme, kolorektal ve myeloid malignensileri kapsayan belirli kanserlerde yükselmiştir (23). Stepan ve ark., intra uterin gelişme geriliği olan ama maternal semptomları olmayan gebeliklerde de dolaşımda artmış sEng konsantrasyonları saptamışlar ve preeklampsi ile karşılaştırıldığında daha az gündeme getirilse de sEng' nin plasental patolojilerin farklı klinik görünümlerinde de yer alabileceğini ifade etmişlerdir (24).

3.4. Adreno Medullin (ADM)

Böbrek üstü bezinin medulla kısmından türediği için adrenomedullin ismi verilen bu peptide ilk defa 1993 yılında kan basıncı üzerindeki etkilerini araştıran bir makalede değinilmiştir. Aslında ilk olarak Japon bilim insanları tarafından feokromositoma hücrelerinde elde edilmiştir. Daha sonra klinik alanlarda ADM protein seviyelerine bakılmış ve ilgili reseptörler tanımlanmıştır (25). İnsanda bu peptid 52 aminoasitten oluşur ve disülfid köprüleri ve aminlenmiş tirozin içererir (26). ADM genin adrenal medullanın yanı sıra endotelyal hücrelerde de eksprese olduğu ve böylece nitrik oksit (NO) ve endotelin proteinleriyle beraber vasküler endotel hücrelerinden salgılandığı kabul edilmiştir (27). (Şekil 3)

Son çalışmalarda, ADM düzeyinin hemodiyaliz işleminde izola ultrafiltrasyon sonrası azaldığı ve bundan dolayı vücudun bu peptidin seviyesini kontrol etmede rol aldığı gösterilmiştir. Ayrıca, hemodiyaliz hastalarındaki hipotansiyonu indüklendiği raporlanmıştır (28). Hemodiyaliz üzerindeki farklı çalışmalarda ADM'nin vasküler duvar uyarımında, hipokside, kompleman yolak ve trombosit aktivasyonunda, lökosit proteazlarının serbest bırakılmasında ve heparin tedavisinde otokrin ve paraktin etkileri gösterilmiştir (29).



Şekil 3: Adrenomedullin ve proadrenomedullin'in biyosentezi (Alıntıdır: Eto, T., J. Kato, and K. Kitamura, Regulation of production and secretion of adrenomedullin in the cardiovascular system. Regulatory peptides, 2003. 112(1-3): p. 61-69.)

Yaptığımız bu çalışmada; preeklamptik gebelerin plasentalarına ait doku kesitlerinde histolojik ve immunohistokimyasal Adrenomedullin ve soluble Endoglin (sEng) ekspresyonun değerlendirilip karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Plasentaların Elde Edilmesi

Çalışmamıza, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul etik onayı (Tarih:15/08/2018, Onay No: 59) alınarak başladı. Çalışmamız için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran yaş farkı gözetilmeksizin 20 preeklamptik ve 20 normotansif gebe hasta olmak üzere, toplamda 40 gebe hastadan bilgilendirme onam formu onayı alınarak plasentalar elde edilmiştir.

Elde edilen plasentalar, serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra doku takibi için ameliyathanede uygun koşular altında %10'luk tamponlanmış nötral formaline alınarak Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi.

4.2. Işık Mikroskobik İnceleme İçin Dokuların Takibi

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına alınan plasentalar doku takibi için plasentanın hem santral maternal hem de santral fetal yüzlerinden ayrı ayrı 1x1x1 cm boyutlarında kesitler alınarak numaralandırılmış şeffaf cam numune şişelerinde tekrardan tamponlanmış %10'luk nötral formalin içine alındı. Santral maternal ve fetal yüzlerinden alınan doku parçaları şeffaf cam numune şişelerinin içinde tespit işlemi için 16 saat bekletildi. Tespit aşamasından sonra doku parçalarından formalin solüsyonunun uzaklaştırılması için 12 saat akar çeşme suyu altından bekletildi. Daha sonra doku parçaları dehidratasyon işlemi için %50, %70, %80, %90 ve %96'lık alkollerde toplamda 8 saat bekletildikten sonra son olarak absolüt alkol (%99,9) içerisinde 2x20 dakika bekletilerek dehidratasyon işlemi tamamlandı.

Alkolü uzaklaştırma işlemi için dokular 2x15 dakika ksilolde bekletilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. İnfiltrasyon için 58ºC'ye ayarlanmış etüvde 2x1 saat parafin içinde bekletildikten sonra bloklama işlemi için doku parçaları parafin bloklara gömüldü (12). Gömme işleminden sonra her bir parafin bloktan, tam otomatik, rotari mikrotom (Leica RM2265, Germany) yardımıyla 5µm kalınlığında kesitler alındı.

Elde edilmiş olan kesitlere Hematoksilen-Eozin (H-E), adrenomedullin ve soluble endoglin immün boyamalar uygulandı. Preparatlar Zeiss Imager A2 ışık mikroskobu ve Zen 3.00 yazılım programı kullanılarak incelendi.

4.3. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü

1. Parafin kesitler ksilende 2x30 dakika bekletildi.
2. Azalan alkol derecelerinde sırasıyla 10'ar dakika bekletildikten sonra distile suya kadar getirildi.
3. Harris hematoksilen solüsyonunda 8 dakika kadar bekletildi.
4. Kesitler 5 dakika çeşme suyu altında bekletildi.
5. Çeşme suyundan alınan kesitler dinlenmesi için birkaç dakika distile suda bekletildi.
6. Zıt boyama için kesitler eozin solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
7. Kesitler dehitratasyon işlemi için yükselen derecelerde etil alkol dizisinde geçirildi
8. Son olarak da parlatma işlemi için 2x45 dakika ksilolden geçirildi ve kesitler entellan ile kapatıldı.

4.4. Soluble Endoglin (sEng) İmmun Boyama Yöntemi

1. 5µm kalınlığından alınan doku kesitleri 2x30 dakika boyunca ksilolde bekletildi.
2. 10'ar dakika boyunca kesitler artan alkol dizisinden geçirildi.
3. Distile suda bir müddet bekletildikten sonra antijen retrieval işlemi yapılması için 5 dakika boyunca 90^{o}C EDTA solüsyonuna mikrodalga fırında bekletildi.
4. Mikrodalga fırından alınan kesitler, soğuma işlemi için 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
5. Distile suya alınan kesitler kurutulduktan sonra, immunohistokimya kutusundan alındı kesitlerde dokunun olduğu yer hidrofobik kalem ile çizildi.
6. İmmunohistokimya kutusuna alınmış olan kesitlerin üzerine 3x5 dakika boyunca Phosphate Buffer Saline (PBS) ilave edildi.
7. Bu aşamalarda immunohistokimya kutusunun nemli olması için hazırlanan sıcak su kutuya ilave edildi.
8. PBS alınarak Hidrojen peroksit solüsyonu damlatılıp 20 dakika bekletildi.
9. Soluble Endoglin primer antikoru (cat# ab107595, Abcam, Cambridge, UK) sınırları çizilmiş dokuların üzerinde pipet yardımıyla damlatıldı ve kesitler +4 C^{0} de overnight edildi.
10. Sonraki gün PBS'de 3x5dakika yıkandı
11. Biotinylated sekonder antikor ile 14 dakika boyunca bekletildi.
12. PBS ile 3x5dakika yıkandı.
13. Streptavidin-prexoidase damlatılarak15 dakika bekletildi.
14. PBS de 3x5 dakika yıkandı.
15. Daha sonra hidrofobik kalemle sınırları belirlenmiş olan kesitlerin üzerine DAB damlatılıp 10-15 dakika boyunca bekletildi.
16. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
17. Kestiler Mayer hematoksilen ile 45saniye kadar zıt boyama yapıldıktan sonra, çeşme suyunda 5 dakika kadar yıkandı.
18. Kesitler artan alkol serisinden hızlı geçirilip, ksilolde 2x30 dakika kadar bekletilip entellan ile kapatıldı.

19. Preparatlar Zeiss Imager A2 ışık mikroskobu ve Zen 3.00 yazılım programı kullanılarak incelendi.

4.5. Adrenomedullin İmmun Boyama Yöntemi

1. 5µm kalınlığından alınan doku kesitler 2x30 dakika boyunca ksilolde bekletildi.
2. 8,6 ve 4'er dakika boyunca kesitler artan alkol dizisinden geçirildi.
3. Distile suda bir müddet bekletildikten sonra antijen retrieval işlemi yapılması için 5 dakika boyunca 90^{o}C de EDTA solüsyonunda mikrodalga fırında bekletildi.
4. Mikrodalga fırından alınan kesitler, soğuması için 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
5. Distile suya alınan kesitler kurutulduktan sonra, immunohistokimya kutusunda alındı kesitlerde dokunun olduğu yer hidrofobik kalem ile çizildi.
6. İmmunohistokimya kutusuna alınmış olan kesitler üzerine 3x5 dakika boyunca Phosphate Buffer Saline (PBS) ilave edildi.
7. Bu aşamalarda immunohistokimya kutusunun nemli olması için hazırlanan sıcak su kutuya ilave edildi.
8. PBS alınarak Hidrojen peroksit solüsyonu damlatılıp 20 dakika bekletildi.
9. Adrenomedullin primer antikoru (cat# ab69117, Abcam, Cambridge, UK) sınırları çizilmiş dokuların üzerinde pipet yardımıyla damlatıldı ve kesitler +4 C^{0} de overnight edildi.
10. Sonraki gün PBS ile 3x5dakika yıkandı
11. Biotinylated sekonder antikor ile 14 dakika boyunca bekletildi.
12. PBS ile 3x5dakika yıkandı.
13. Streptavidin-prexoidase damlatılarak 15 dakika bekletildi.
14. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
15. Daha sonra hidrofobik kalemle sınırları belirlenmiş olan kesitlere DAB damlatılıp 10-15 dakika boyunca bekletildi.
16. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.

17. Kestiler Mayer hematoksilen ile 45saniye kadar zıt boyama yapıldıktan sonra, çeşme suyunda 5 dakika kadar yıkandı
18. Kesitler artan alkol serisinden hızlı geçirilip, ksilolde 2x30 dakika kadar bekletilip entellan ile kapatıldı.
19. Preparatlar Zeiss Imager A2 ışık mikroskobu ve Zen 3.00 yazılım programı kullanılarak incelendi.

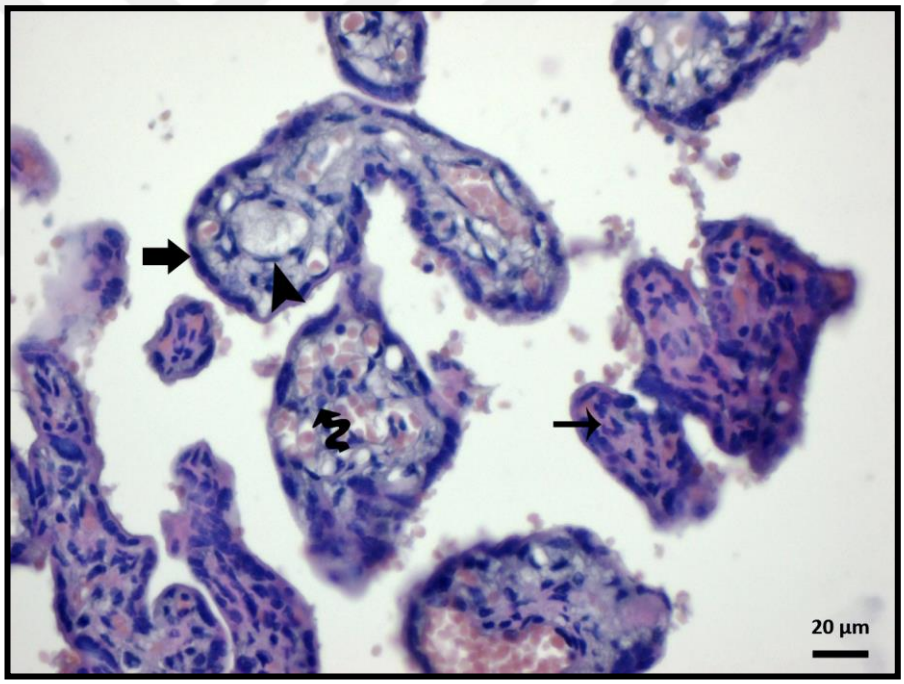
4.6. İmmunohistokimyasal ve İstatistiksel Analiz

Parafin bloklardan alınan ve sEng ve ADM boyanan kesitlerden alınan örnekler mikrograflandıktan sonra Image J (University of Wisconsin, ABD) analizine alındı. Kesitlerden rastgele seçilen toplam 10 alan yazılımda renk kontrast farklılıkları göz önünde bulundurularak eşik analizi gerçekleştirildi. Hematoksilen ile boyanan total doku üzerinde DAB + alanların oranı tespit edildi ve yüzdelik değerler hesaplandı. Hesaplanan yüzdesel veriler SPSS 24 (IBM, ABD) programında normallik testine ve sonrasında bağımsız t testi ile istatistiksel yönden değerlendirildi. İstatistiksel yönden $p<0,05$ anlamlı kabul edildi.

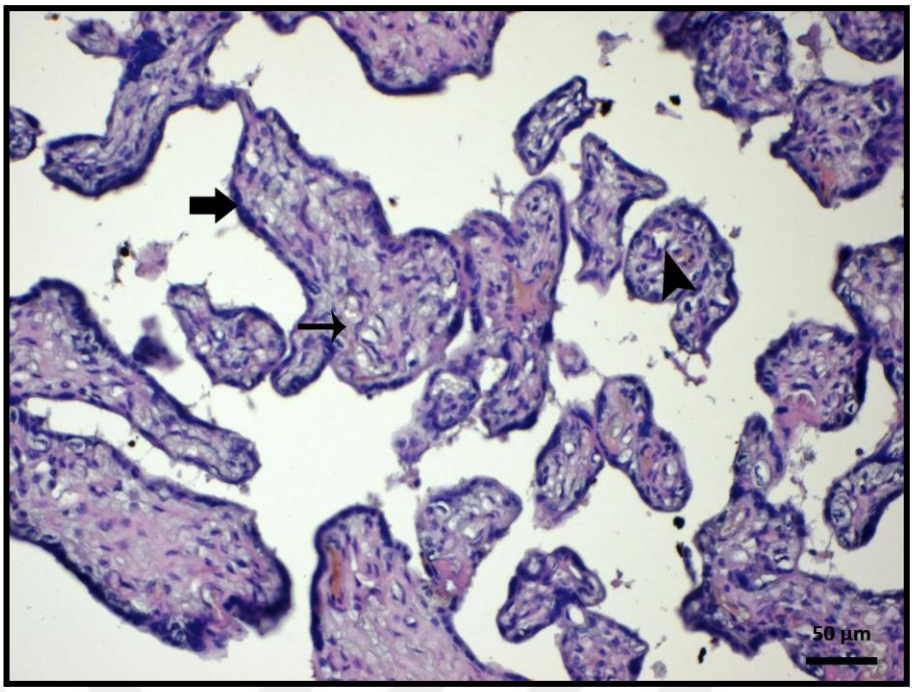
5. BULGULAR

5.1. Histopatolojik Bulgular

Hematoksilen Eozin ile boyanan kontrol grubu kesitlerinde plasentanın normal görünümde olduğu ve villusların normal şekilde düzenlendiği gözlendi. Ayrıca damarlanmanın ve trofoblastik hücre organizasyonu ile villus stromal alanının normal olduğu tespit edildi. Yapılan değerlendirmede kontrol grubu plasenta kesitlerinde villöz kapillerlere yakın alanlarda normal yapıda Hofbauer Hücreleri izlendi (Resim 1,2).

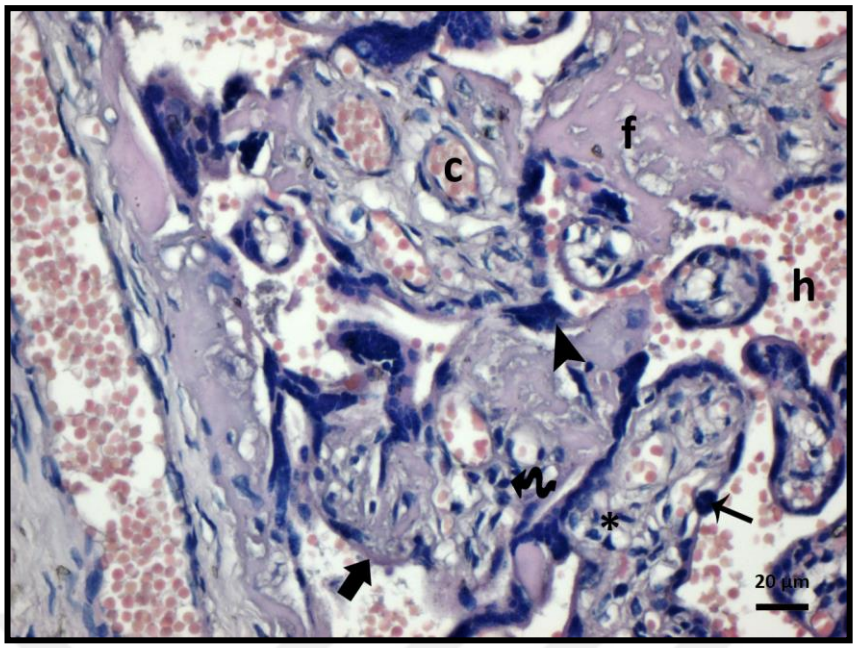


Resim 1: Kontrol grubu plasenta görüntüsü (x 400). Normal görüntüde villuslar (kalın ok) ve kapiller organizasyon (ok başı) ile stromal alan (ince ok) ve Hoffbauer hücreleri (kıvrımlı ok) gözlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 20µm).

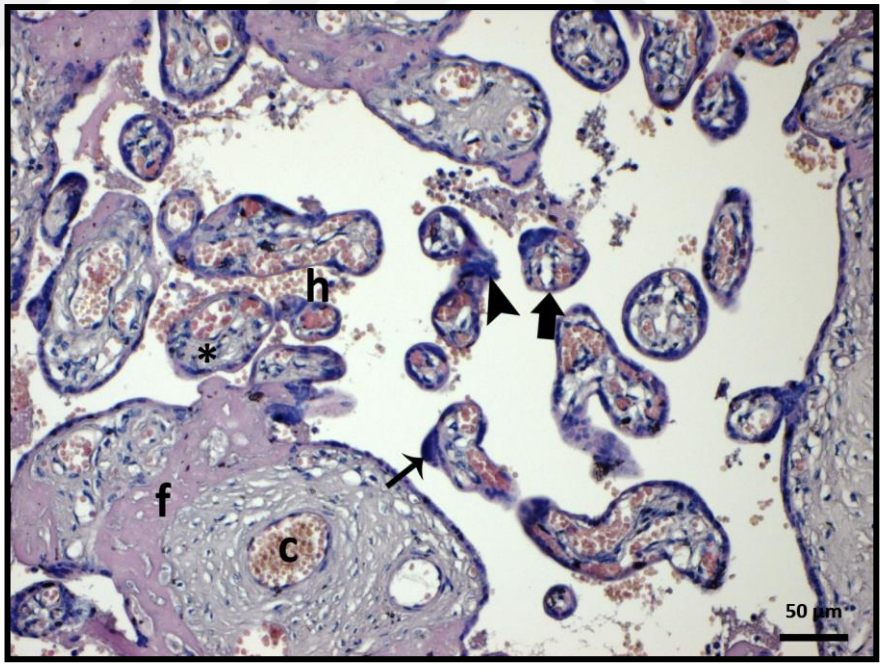


Resim 2: Kontrol grubu plasenta görüntüsü (x 200). Kontrol grubu plasenta kesitlerinde normal villus yapıları (kalın ok), villöz kapillerler (ok başı) ve stroma (ince ok) izlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50µm).

Preeklampsi grubu kesitlerinde ise intervillöz alanda yoğun hemorajik odaklar, villuslarda yer alan kapillerlerde konjesyon ve dilatasyon ayrıca villöz stromanın organizasyonunda bozukluklar görüldü. Ayrıca Hofbauer Hücreleri preeklampsi kesitlerinde morfolojik olarak normal görünümde değildi. Preeklampsi grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; preeklampsi plasenta kesitlerinde sinsityal köprü ve düğümlerin sayısında artış olduğu, villöz kapiller lümenlerinin genişlediği ve bağ dokusunda yoğun hücre infiltrasyon alanları olduğu tespit edildi. Kontrol grubunda trofoblastik hücrelerin normal görüntüde olmasına rağmen, preeklampsi grubu kesitlerinde trofoblastik hücrelerin yer yer tamamen ortadan kalktığı görüldü. Kontrol grubu ile preeklampsi grubu karşılaştırıldığında ise Hofbauer Hücrelerinin morfolojik yapısının bozulduğu ve villöz stromasında az da olsa sayıca artış olduğu tespit edildi. (Resim 3,4).



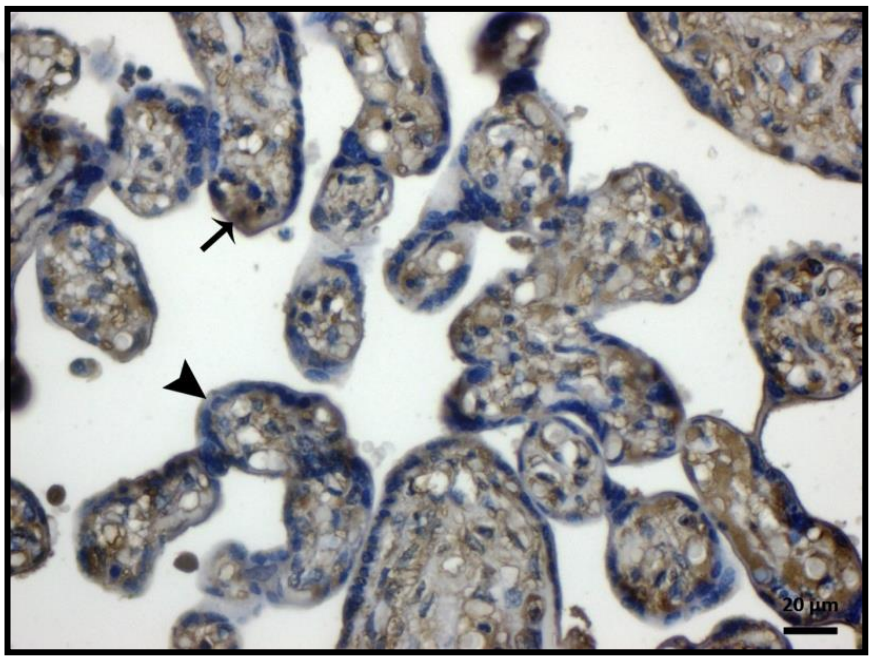
Resim 3: Preeklampsi grubu plasenta görüntüsü. Sinsityal düğümlerde (ok) ve köprülerde (ok başı) artış. Villöz kapillerlerinde konjesyon ve dilatasyon (c), İntervillöz alanda yoğun hemorajik odaklar (h), stromal organizasyonda bozunma (*), hyalinizatif fibröz alanlar (f) ve trofoblastik hücre kaybı'nın (kalın ok) yanı sıra hofbauer hücrelerinde artış olduğu (kıvrımlı ok) gözlendi. (Boyama: H&E, Bar:



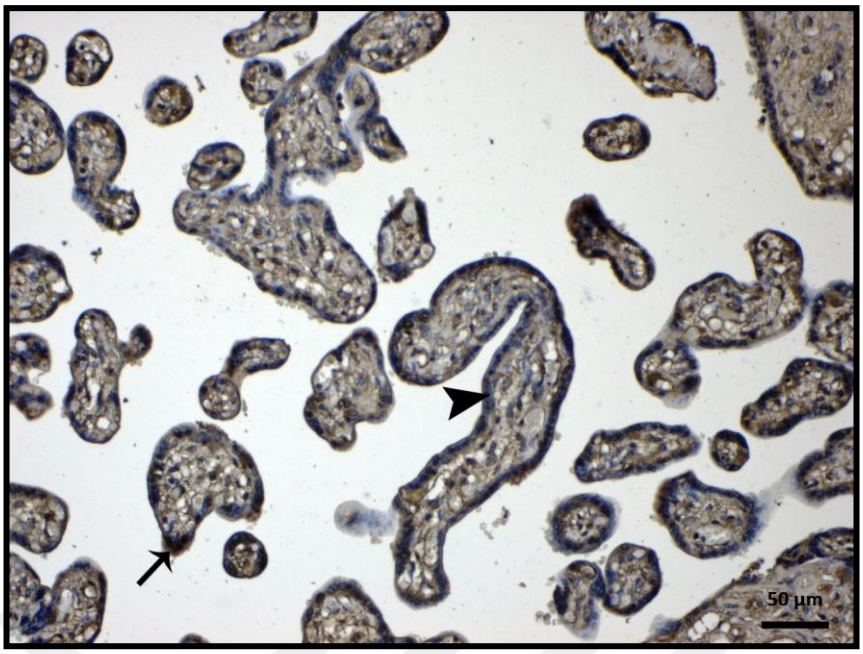
Resim 4: Preeklampsi grubu plasenta görüntüsü (x 200). Sinsityal düğümlerde (ok) ve köprülerde (ok başı) artış. Villöz kapillerlerinde konjesyon ve dilatasyon (c), İntervillöz alanda yoğun hemorajik odaklar (h), stromal organizasyonda bozunma (*), hyalinizatif fibröz alanlar (f) ve trofoblastik hücre kaybı (kalın ok) izlenmektedir. (Boyama: H&E, Bar: 50 µm)

5.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Kontrol ve preeklampsi gruplarının plasenta kesitleri incelendiğinde sEng ve ADM ekspresyonlarının mevcudiyeti her iki grubun kesitlerinde de görüldü. Kontrol grubu plasenta kesitleri sEng yönünden değerlendirildiğinde, stromanın genelinde sEng ekspresyonu olduğu ve immunohistokimya boyama sonucu sEng pozitif alanların sinsityal köprü bölgelerinde ve trofoblastik hücrelerde yoğunlaştığı izlendi (Resim 5,6).

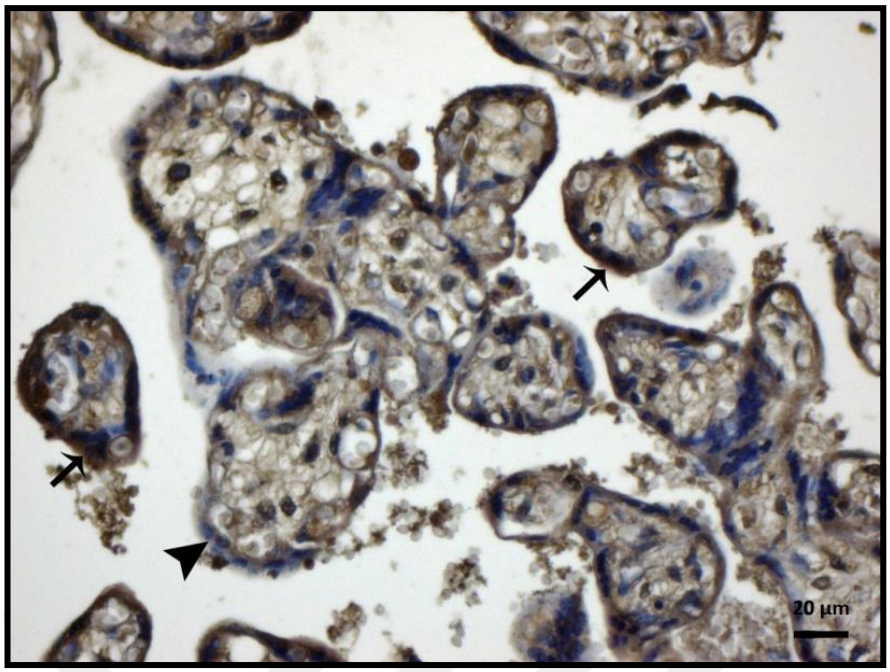


Resim 5: Kontrol grubu kesitlerinde sEng ekspresyonu. Ekspresyon pozitif alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: sEng İmmunohistokimya, Bar: 20µm).

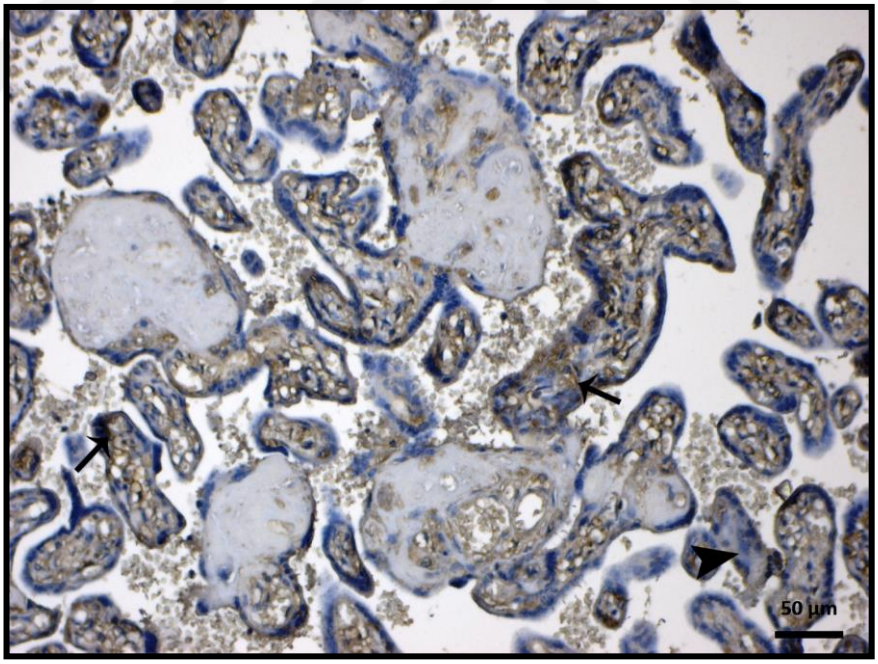


Resim 6: Kontrol grubu kesitlerinde sEng ekspresyonu görüntüsü (x 200). Ekspresyon pozitif alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: sEng İmmunohistokimya, Bar: 50µm).

Ayrıca kesitlerde villus kapiller endotellerinde de yer yer yoğun sEng ekspresyonu ve Hofbauer Hücrelerinde ekspresyon izlendi. Preeklampsi plasentaları incelendiğinde ise ekspresyonun kontrol grubu gibi stromal alanın genelinde ve sinsityal köprüler düzeyinde olduğu tespit edildi. Bu bulguların yanı sıra preeklamptik plasenta kesitlerinde sEng ekspresyonunun sitotrofoblastik ve sinsitiyotrofoblastik hücre alanlarında yoğunlaştığı ve kontrol grubuna nazaran daha yoğun boyanmanın gerçekleştiği gözlendi. Preeklamptik plasenta kesitlerinde villöz kapiller endotellerinde kontrol grubuna yakın ekspresyonun olduğu tespit edildi. Ek olarak Hofbauer Hücrelerinde sEng ekspresyonunun kontrol grubuna benzer olduğu görüldü. (Resim 7,8).

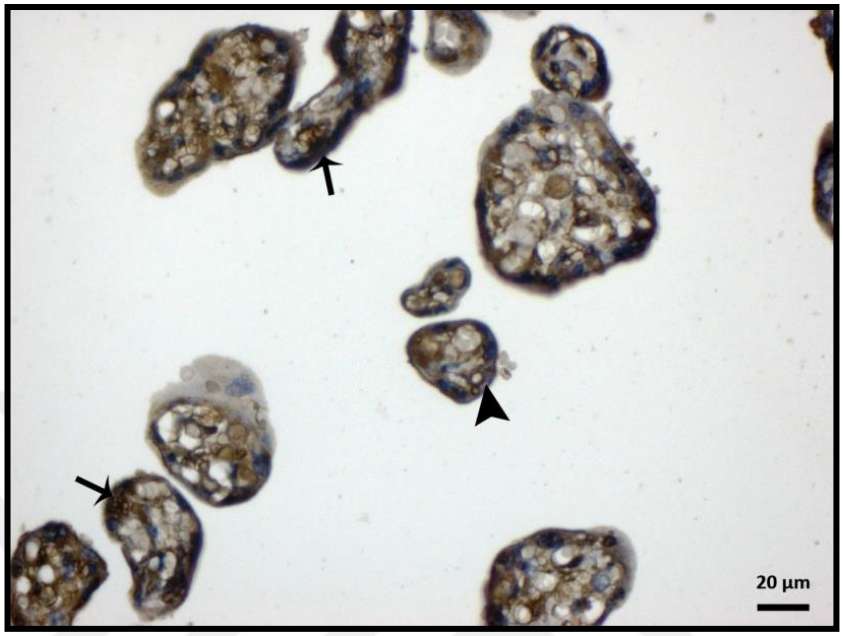


Resim 7: Preeklampsi grubu kesitlerinde sEng ekspresyonu. Ekspresyonun yoğun pozitif olduğu alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: sEng İmmunohistokimya, Bar: 20µm).

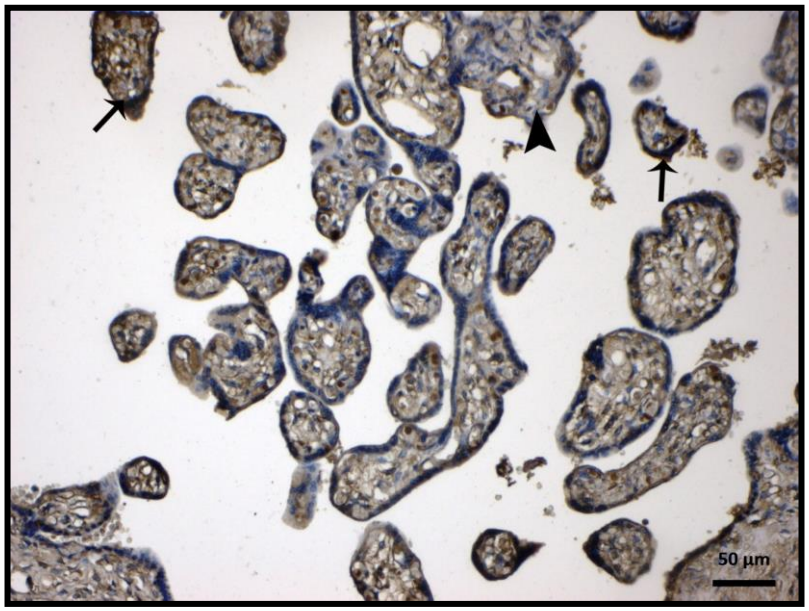


Resim 8: Preeklampsi grubu kesitlerinde sEng ekspresyonu görüntüsü (x 200). Ekspresyon'un yoğun pozitif olduğu alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: sEng İmmunohistokimya, Bar: 50µm).

Kontrol grubu plasenta kesitlerinde ADM immunohistokimya değerlendirmesinde villöz kapiller endotelleri düzeyinde ve trofoblastik alanlarda ADM ekspresyonu izlendi (Resim 9,10).

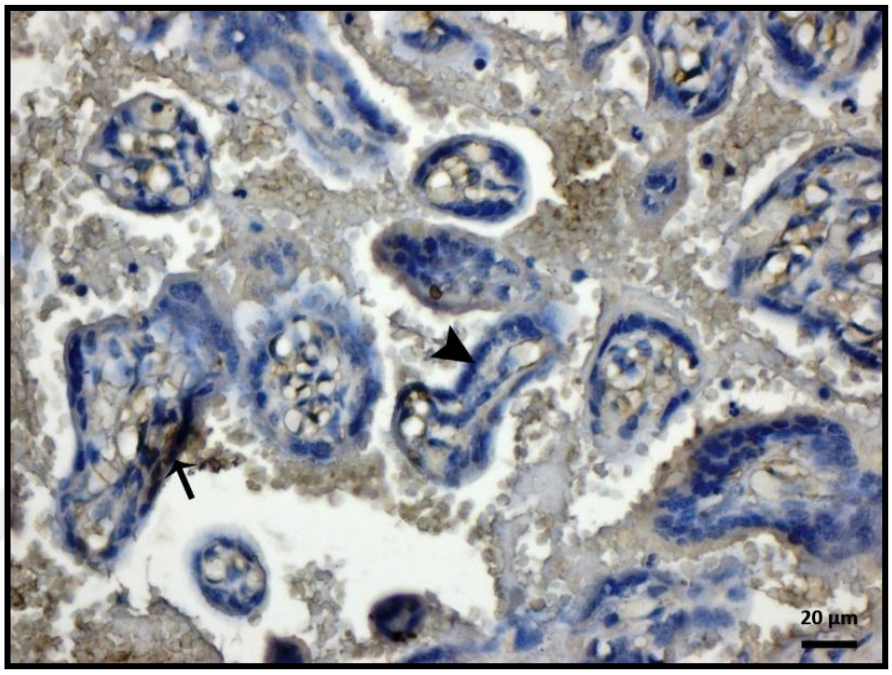


Resim 9: Kontrol grubu kesitlerinde ADM ekspresyonu. Ekspresyonun yoğun pozitif olduğu alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: ADM İmmunohistokimya, Bar: 20µm).

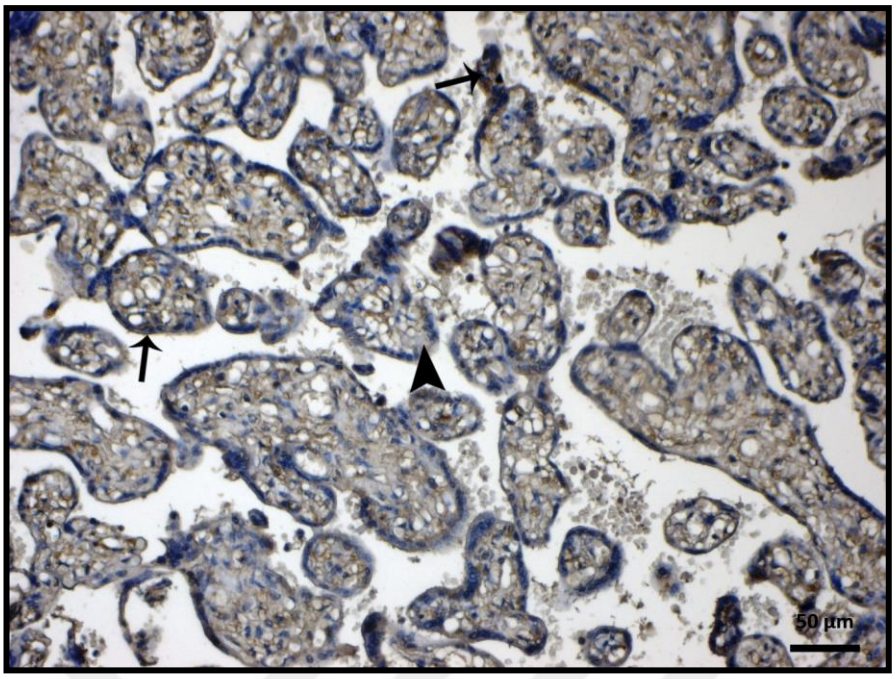


Resim 10: Kontrol grubu kesitlerinde ADM ekspresyonu görüntüsü (x 200). Ekspresyonun yoğun pozitif olduğu alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: ADM İmmunohistokimya, Bar: 50µm).

Preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde yaptığımız ADM ekspresyon değerlendirmesinde ise villöz kapiller alanlarında ve trofoblastik alanlarda ADM ekspresyon mevcudiyeti gözlendi (Resim 11,12,). Yine Preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde yaptığımız değerlendirme de Hafbauer Hücreleri düzeyinde ve kapiller endotellerinde ADM ekspresyonunun zayıf olduğu izlendi. Yer yer sito ve sinsityotrofoblast hücrelerinde yoğun ekspresyon izlenirken kesitlerin genelinde sito ve sinsityotrofoblast hücrelerinde ekspresyonun zayıf olduğu gözlendi.



Resim 11: Preeklampsi grubu kesitlerinde ADM ekspresyonu. Ekspresyon pozitif alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: ADM İmmunohistokimya, Bar: 20µm).



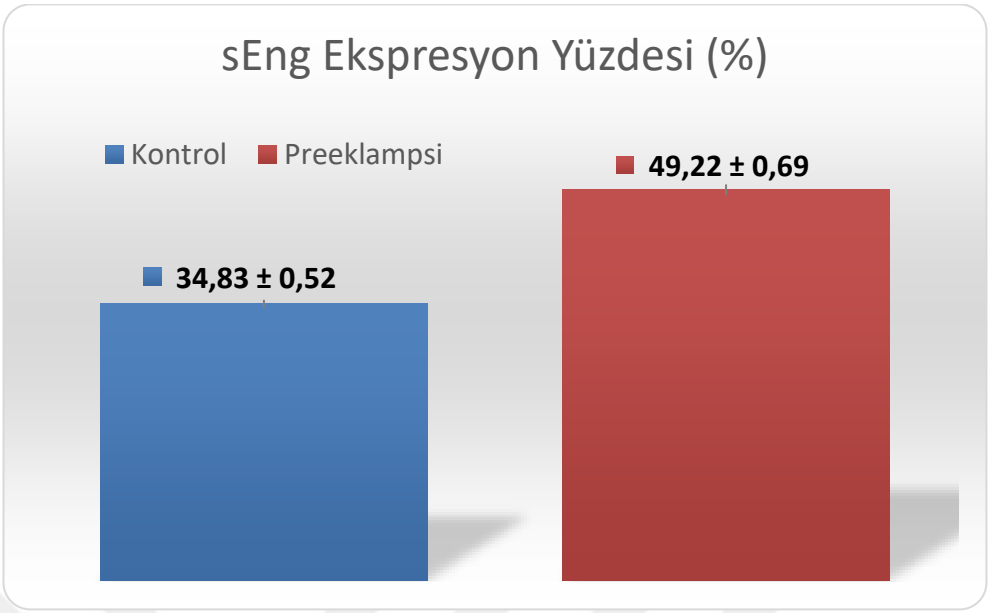
Resim 12: Preeklampsi grubu kesitlerinde ADM ekspresyonu. Ekspresyon pozitif alanlar (ok) ve negatif alanlar (ok başı) izlenmektedir. (Boyama: ADM İmmunohistokimya, Bar: 50µm).

5.3. İstatiksel Bulgular

Yaptığımız istatistiksel analizde sEng ekspresyonu'nun kontrol grubu kesitlerinde %34,83 ±0,52'lik bir alan kapladığı ve preeklampsi grubu kesitlerinde %49,22 ± 0,69'luk alanda eksprese olduğunu tespit ettik. Her iki değerin bağımsız t-testi analizine göre arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark bulundu (p=0,000) (Tablo 1, Şekil 4).

Tablo 1: Kontrol ve preeklamptik plasentalarda sEng ekspresyon yüzdeleri

sEng Ekspresyon Yüzdesi (%)					
Gruplar	**Ortalama**	**Minimum**	**Maksimum**	**St. Hata**	**p değeri**
Kontrol	34,83	32,18	37,45	0,52	<0,01
Preeklampsi	49,22	45,60	52,13	0,69	

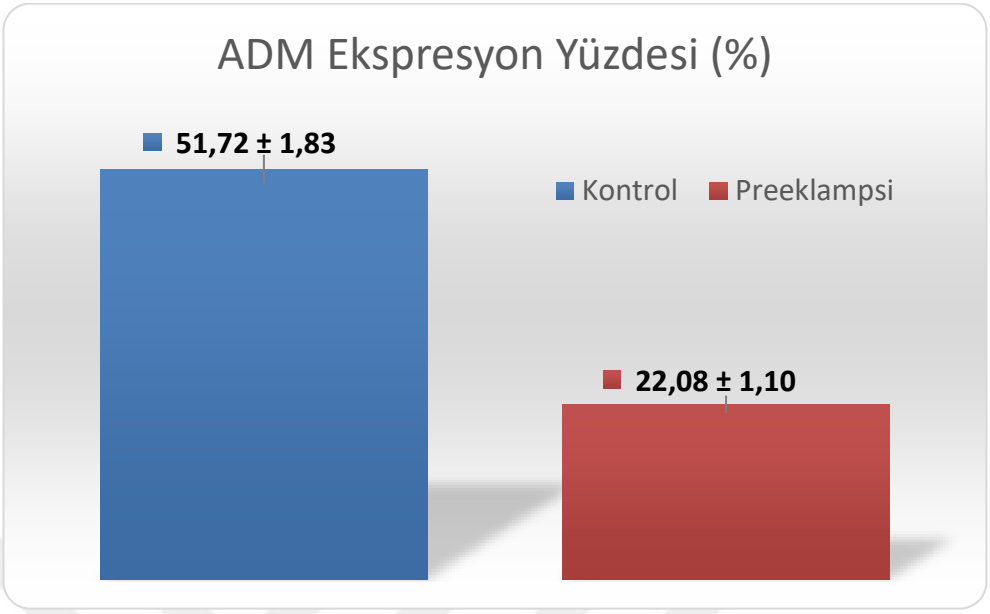


Şekil 4: Kontrol ve Preeklampsi grupları sEng ekspresyon yüzdeleri

İmmunohistokimya boyadığımız kesitlerde hem stromal hem de kapiller endotel düzeyinde kontrol grubu plasenta kesitlerinde, preeklampsi grubu plasenta kesitlerine kıyasla daha yoğun ADM ekspresyon alanları olduğunu tespit ettik. Elde ettiğimiz bu gözlemsel bulgular kantitatif değerlendirme amacıyla image J analizine alındı ve elde edilen bulguların yazılımsal sonuçlar ile örtüştüğü tespit edildi. Analize alınan immunohistokimyasal mikrograflardan elde edilen sonuçlara göre ADM ekspresyonu kontrol grubu kesitlerinde %51,72±1,83'lük alan kaplamaktaydı. Preeklampsi grubu kesitlerinde ise ADM ekspresyon alan yüzdesinin %22,08±1,10 olduğu ve kontrol grubuna kıyasla istatistiksel düzeyde anlamlı ekspresyon azalması gösterdiği (p=0,000) tespit edildi (Tablo 2, Şekil 5).

Tablo 2: Kontrol ve preeklamptik plasentalarda ADM ekspresyon yüzdeleri

ADM Ekspresyon Yüzdesi (%)					
Gruplar	**Ortalama**	**Minimum**	**Maksimum**	**St. Hata**	**p değeri**
Kontrol	51,72	45,47	63,43	1,83	<0,01
Preeklampsi	22,08	17,14	27,91	1,10	



Şekil 5: Kontrol ve Preeklampsi grupları ADM ekspresyon yüzdeleri

6. TARTIŞMA

Duley yaptığı çalışma da preeklampsi, tüm gebeliklerin %5-8'inde görülen, artan kan basıncı, proteinüri, ödem ile kendini gösteren ve ciddiye alınması gereken bir rahatsızlık olduğunu bildirmiştir (30). Genel olarak multisistem kusurları preeklampsiye neden olmaktadır. Koagülasyon sisteminde artan aktivasyon, trombosit agregasyonunda olan aksaklıklar, vasküler direnç ve endotel disfonksiyonuna karşı verilen anormal vasküler yanıt preeklampsiyi oluşturmaktadır (31). Gebeliklerde %7-10 arasında hipertansiyon görülmekte olup maternal ve fötal mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden biridir (32). Günümüzde maternal mortalitelerin büyük bir kısmı hipertansif gebeliklerden dolayı oluşmaktadır.

Gant ve ark. Göre normal hamilelik sırasında, annede fetüs için gerekli kan temini sağlayan fizyolojik adaptasyonlar meydana gelir. Vasküler direnç ortalama arter basıncı ve endojen kıskaçlarda duyarlılık azalır; kalp debisi, kalp atışı ve kan hacmi artar. Gebelikte bu hemodinamik adaptasyonların değişmesi, preeklampsi ve intrauterin büyüme geriliği gibi durumlarla ilişkilidir. Düşük damar direncinin korunmasından sorumlu olan mekanizma hala bilinmemektedir, ancak yerel olarak üretilen birkaç vazoaktif ajanın fetoplasental dolaşımın düzenlenmesinde yer aldığı ileri sürülmektedir (33).

Bazı genlerin haploid yetmezliği normal fizyolojik fonksiyonu bozar. ADM; desidua ve trofoblast hücreleri tarafından salgılanan, büyümeyi destekleyen, anjiyojenik ve natriüretik bir faktördür. İnsanlarda, adrenomedullin seviyeleri plasentasyon sırasında yükselir, ancak doğumdan sonra hamilelik öncesi seviyelerine geri döner; fetoplasental dokulardaki değiştirilmiş ADM seviyeleri, spontan düşük, gebelik diyabeti ve preeklampsinin patogenezinde ortaya çıkar. Yotsumoto ve ark. yaptıkları çalışmalarnda ADM gen bozukluğu olan farelerde fetüslerin, plasental yetmezlik sonucu nöral tüp kapanması, hidrops fetalis ve kardiyovasküler malformasyondan dolayı erkenden öldüklerini bildirmişlerdir (34).

Karpinich ve ark ise ADM'nin, ilk önce insan feokro-mositomasından izole edilen ve uzun süreli bir vazorelaksasyon ortaya çıkaran bir peptit olduğunu söylemişler ve

endotel hücrelerinin de ADM ürettiğini bildirmişlerdir. Northern blot tekniği ile ADM'nin sadece adrenal bezlerinde değil, aynı zamanda akciğer, kalp, aort, mide, bağırsak, böbrek, tiroid ve vasküler düz kas hücreleri gibi çeşitli dokularda eksprese edildiğini göstermişlerdir. Hipertansiyonu olan hastalar, normotensif hastalara göre yüksek konsantrasyonlarda plazma adrenomedulline sahiptirler ve bu sebepten dolayı ADM'nin kan basıncı ve vasküler homeostazın fizyolojik düzenlemesine katıldığı düşünülmektedir.

Di lorio ve ark.; ADM'nin hamilelik sırasında anne ve fetoplasental dolaşımın düzenlenmesinde hamilelik sırasında rol alıp almadığını doğrulamak için, hamile olmayan 7 kadınının ve gebeliğinin 36-41. haftasında bulunan 18 hamile kadınının kandaki plazma ADM'ni ölçmüşler ve maternal plazma ADM konsantrasyonları gebe kadınlarda gebe olmayan kadınlardan daha yüksek olduğunu görmüşlerdir (35).

ADM yaşam için gerekli olan çok işlevli bir peptid vazodilatördür. Plazma ADM ekspresyonu gebelikte çarpıcı şekilde artar ve seviyelerindeki değişiklikler fetal büyüme kısıtlaması ve preeklampsi dahil olmak üzere gebeliğin komplikasyonları ile ilişkilidir. Li ve ark., genetiğiyle oynanan ve ADM ekspresyonu az olan dişi fareleri kullanarak, fetal büyümenin ve plasental gelişimin ekspresyondaki bir düşüşle ciddi şekilde tehlikeye girdiğini göstermişlerdir. Aynı zamanda çalışmalarında fetal trofoblast hücrelerinin ve maternal uterin duvarında, implantasyon anında ADM gen ekspresyonunda koordine ve lokalize artışlar olduğunu göstermişlerdir. Böylece Li ve ark. çalışmalarında, hamilelik sırasında insan ADM ekspresyonundaki mütevazı bir azalmanın üreme üzerinde olumsuz etkiye sahip olabileceğini gösteren ilk genetik kanıtı sunmuşlardır(36).

TGF-β1 ve TGF-β3 izoformlarını için bir hücre yüzeyi koreseptörü olan Eng veya CD105, endotel hücrelerinde ve sinsitiyotrofoblastlarda yüksek oranda eksprese edilirek TGF-β1 ve TGF-β3'ün etkilerini modüle eder. Shivalingappa ve ark., sEng'nin sFlt1 ile birlikte uygulandığında hamile sıçanlarda ağır preeklampsiye yol açtığını göstermiştir (37).

Levine ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada sEng seviyeleri normal gebeliğin son iki ayında arttığını ve bu seviyelerin preeklampsinin geliştiği kadınlarda daha erken ve daha dik bir şekilde yükseldiğini ve klinik hastalığın başlangıcında zirveye ulaştığını göstermişlerdir. sEng'deki yükselmelerin özellikle preeklampsinin geliştiği kadınlarda veya preeklampsinin geliştiği ve gebelik yaşı küçük bir bebeği olan kadınlar arasında daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir (38).

Eng'in, nitrik okside bağımlı vazodilatasyonun düzenlenmesi yoluyla vasküler ton bakımında ana bir işlevi olduğu ve muhtemelen gebelikte plasenta implantasyonu ve spiral arterin yeniden şekillenmesini kontrol ettiği bilinmektedir. Eng'in preeklampsideki rolü, sistemik endotel disfonksiyonundaki, zayıf plasental implantasyondaki ve bu hastalıkta ana patofizyolojik anormallikler olarak gösterilen spiral arter remodelingindeki rolüne dayanan birçok çalışma yapılmıştır.

Nikuei ve ark., yaptıkları çalışmada, preeklampsi hastalarında Eng ekspresyonunun düzensizliğini ve sEng'in tanısal doğruluğunu araştırmışlardır. Çalışmalarında, özellikle şiddetli ve erken başlangıçlı preeklampsili hastalarda Eng mRNA'nın belirgin şekilde yükseldiğini ve preeklampside overeksprese olduğunu doğrulamışlardır. Ayrıca, serum sEng düzeylerinde kontrol grubuna göre tüm preeklampsi hastalarında anlamlı bir artış saptanırken, erken başlangıçlı ve ağır preeklampsi hastalarında en yüksek sEng seviyesine sahip olduğu görülmüştür (39).

Pro-anjiyogenik ve anti-anjiyogenik faktörlerdeki dengesizliğin Preeklampsi patofizyolojisinde etkili olduğunu gösteren oldukça kuvvetli bulgular mevcuttur (40,41). Bu denge kusurunun klinik semptomlar şekillenmeye başlamadan önce de var olduğu düşünülmektedir (42). Her ne kadar preeklampsili gebeliklerde düşük doğum ağırlığı gözlensede, preeklampsiye benzer plasental iskemi, endotel disfonksiyonu gibi komplikasyonların geliştiği normotansif gebeliklerde de düşük doğum ağırlığı görülebilmektedir (43).

Yaptığımız çalışmamızda kontrol ve preeklamptik plasentalar arasındaki mikroskopik morfolojideki farklılıklar ayrıca anti-anjiyogenik sEng ve pro-anjiyogenik ADM ekspresyonlarının değerlendirilmesini gerçekleştirdik.

Histopatolojik incelemelerde kontrol grubuna kıyasla preeklampsi grubunda yoğun patolojik durumların şekillendiğini gördük.

Preeklamptik plasenta örneklerinde yoğun miktarda fibröz hiyalinize yapıların oluştuğunu, sinsityal düğüm ve köprülerin sayısında artış olduğunu, kapillerlerin dilatasyona uğradığını ve yoğun konjesyon içerdiğini ayrıca villöz stromada yoğun dejenerasyon olduğunu tespit ettik. Bunun yanı sıra intervillöz alanda yoğun hemoraji varlığını

Mevcut histopatolojik bulgularımız daha önce Huppertz ve ark.'nın belirtilmiş olduğu preeklampsi'nin neden olduğu plasental patolojiler ile uyum göstermektedir (44). Ayrıca preeklampside sitotrofoblast proliferasyonu ve sinsityal düğüm ve köprülerde artış gözlenmekte ve bu durum'un hipoksi, artan apoptozis gibi nedenlerden dolayı olabileceği düşünülmektedir. (45,46).

İmmunohistokimyasal analizlerimizde preeklamptik plasentalarda sEng ekspresyonu'nun arttığı ve ADM ekspresyonunun düşüş eğiliminde olduğunu gözlemledik. Yang Gu ve ark. yaptıkları çalışmalarında kontrol grubuyla kıyaslandığında preeklamptik plasentalarda sEng ekspresyonu artışını bildirmişlerdir (47). Kültüre edilmiş trofoblast hücrelerinde gözlenen bu yoğun ekspresyon bizim çalışmamızda kullandığımız plasental doku örneklerindeki trofoblastik sEng ekspresyon yoğunluğu ile uyum göstermektedir. Çalışmamızda preeklamptik term plasentalarda sEng ekspresyon yoğunluğunun özellikle trofoblast hücrelerinde yoğunlaşmasını, trofoblast hücrelerinin parakrin bir sinyal mekanizması oluşturmak suretiyle damar endotellerini etkileyerek anti-anjiyogenik bir yanıt oluşturduğu şeklinde yorumlamaktayız. In vitro bir çalışmada sEng'in TGFβ-1'i inhibe ettiği ve endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz aktivasyonunu bloke ettiği tespit edilmiştir (48). sEng'in endotel üzerindeki bu blokaj etkisi, trofoblastik parakrin mekanizma hipotezimizi güçlendirmektedir.

Normotensif gebelikte sistemik dolaşımda ADM düzeyinin yükseldiği ve gebe olmayan kadınlardan daha fazla olduğu belirtilmiştir (49-51). ADM'in periferal vasküler yapılarda ve böbreklerde sıvı akışı ve homeostazı kontrol edici natriüretik bir

etkisi olduğu belirtilmiştir (52). Makino ve ark., preeklampsi'de ADM miktarının artış gösterdiğini öne sürmüştür (53). Ancak Kanenishi ve ark. ADM miktarının preeklampsi ile düşüş gösterdiğini belirtmişlerdir (54). Li ve ark. ise preeklampsili gebeliklerde trofoblastik hücre kültürü mRNA düzeyinde ADM miktarını değerlendirmiş ve ADM miktarının preeklampsi ile düşüş gösterdiğini tanımlayarak Kanenishi ve ark.'larının hipotezini desteklemişlerdir (55). Bizim çalışmamızda da bu çalışmalarla uyumlu olarak ADM ekspresyon alanlarının preeklamptik plasentalarda azaldığını gözlemledik.

Preeklamptik term plasentalarda ADM ekspresyon azalışını birkaç şekilde yorumlamaktayız. İlk hipotezimiz, plasentada şekillenen bir mekanizma aksaklığı ADM ekspresyonunu etkilemektedir ve ADM ekspresyonundaki düşüş te homeostazın bozulmasına neden olmakta ve preeklampsi'yi şekillendirmektedir. İkinci hipotezimiz ise preeklampsi şekillenen plasentada ADM ve/veya sEng negatif feedback etkisi göstererek aşırı damarlanmayı dengelemeye ve homeostazı sağlamaya çalışmaktadır.

ADM'nin intravenöz infüzyonu ile güçlü bir hipotansiyon oluşturduğu bilinmektedir. Bu hipotansiyon mekanizması da nitrik oksit üretimi üzerinden gerçekleşmektedir (27). Preeklamptik term plasentalarda sEng'in nitrik oksit sentaz basamağını bloke etmesi antianjiyogenik bir mekanizma yaratırken ADM ekspresyonundaki azalma da nitrik oksit üretimini düşük seviyede tutarak bu anjiyogenik mekanizmayı desteklemektedir. Bu hipotezimiz homeostaz'ın sağlanması amacıyla anti ve pro anjiyogenik faktörlerin birbirinden bağımsız veya bağımlı şekilde işbirliği içerisinde olabileceğini düşünmemize neden olmaktadır. Çalışmamızda hem sEng hem de ADM'in özellikle trofoblast hücreleri düzeyinde eksprese edildiğini gözlemledik. Preeklamptik plasentalarda yer yer trofoblast hücre kaybının söz konusu olduğunu da gözlemledik. Elde ettiğimiz bulgular göz önünde bulundurulduğu zaman anti anjiyogenik sEng ve pro anjiyogenik ADM'in preeklamptik plasentalarda yoğun etkinliği olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca bu iki faktörün de anjiyogenezis yönünden preeklamptik plasentalarda iş birliği içerisinde olduğunu da düşünmekteyiz.

7. SONUÇ

Çalışmamızdan edindiğimiz bulgular doğrultusunda preeklampsinin gelişmesine veya preeklampsi'nin neden olduğu homeostatik bozukluklara yanıt olarak trofoblastik hücrelerin dolaylı olarak görev alabileceğini düşünmekteyiz. Ancak mevcut hipotezlerimizi güçlendirecek yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

8. KAYNAKLAR

1. Roberts, J.M. and D.W. Cooper, Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. Lancet, 2001. 357(9249): p. 53-6.
2. Högberg, U., The World Health Report 2005: ``Make every mother and child count'' — including Africans. Scandinavian Journal of Public Health, 2005. 33(6): p. 409-411.
3. Walker, J.J., Pre-eclampsia. Lancet, 2000. 356(9237): p. 1260-5.
4. Teran, E., A. Calle, and C. Escudero, Endothelial dysfunction and preeclampsia. Am J Hypertens, 2007. 20(9): p. 1026-7; author reply 1027.
5. Handwerger, S. and M. Freemark, 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): p. 343-56.
6. Sadler, T.W., J. Langman, Langman's medical embryology. 2012, Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
7. Baergen, R., Manual of Pathology of the Human Placenta. 2011.
8. Robboy, S.J., R.S. Hoda, Pathology of the Human Placenta. 2000: International Journal of Gynecological Pathology.
9. Koestenbauer, S., N.H. Zech, H. Juch, P. Vanderzwalmen, L. Schoonjans, and G. Dohr, Embryonic stem cells: similarities and differences between human and murine embryonic stem cells. Am J Reprod Immunol, 2006. 55(3): p. 169-80.
10. Ross, M.H.a.W.P., Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology. 6th ed ed. 2011, Philadelphia : Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health.
11. Griffiths, S.K.a.J.P.C., Placental structure, function and drug transfer. Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain, 2015. 15(2): p. P. 84-89.
12. Rutherford, J.N., Fetal signaling through placental structure and endocrine function: illustrations and implications from a nonhuman primate model. American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council, 2009. 21(6): p. 745-753.
13. Guttmacher, A.E., Y.T. Maddox, and C.Y. Spong, The Human Placenta Project: placental structure, development, and function in real time. Placenta, 2014. 35(5): p. 303-4.
14. Bulletins--Obstetrics, A.C.o.P., ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. Obstet Gynecol, 2002. 99(1): p. 159-67.
15. Carr, D.B., M. Epplein, C.O. Johnson, T.R. Easterling, and C.W. Critchlow, A sister's risk: Family history as a predictor of preeclampsia. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 2005. 193(3): p. 965-972.
16. Roberts, J.M.a.D.W.C., Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. The Lancet, 2011. 357(9249): p. p. 53-56.
17. Dietl, J., The pathogenesis of pre-eclampsia: new aspects. J Perinat Med, 2000. 28(6): p. 464-71.
18. Alvarez Navascues, R. and R. Marin, [Severe maternal complications associated with pre-eclampsia: an almost forgotten pathology?]. Nefrologia, 2001. 21(6): p. 565-73.

19. Robinson, C.J. and D.D. Johnson, Soluble endoglin as a second-trimester marker for preeclampsia. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 2007. 197(2): p. 174.e1-174.e5.
20. Cheifetz, S., T. Bellón, C. Calés, S. Vera, C. Bernabeu, J. Massagué, and M. Letarte, Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. Journal of Biological Chemistry, 1992. 267(27): p. 19027-30.
21. Gougos, A. and M. Letarte, Identification of a human endothelial cell antigen with monoclonal antibody 44G4 produced against a pre-B leukemic cell line. J Immunol, 1988. 141(6): p. 1925-33.
22. Chen, C.-Z., M. Li, D. de Graaf, S. Monti, B. Göttgens, M.-J. Sanchez, E.S. Lander, T.R. Golub, A.R. Green, and H.F. Lodish, Identification of endoglin as a functional marker that defines long-term repopulating hematopoietic stem cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002. 99(24): p. 15468-15473.
23. Blann, A.D., J.M. Wang, P.B. Wilson, and S. Kumar, Serum levels of the TGF-beta receptor are increased in atherosclerosis. Atherosclerosis, 1996. 120(1-2): p. 221-6.
24. Faber, R., T. Krämer, and H. Stepan, Maternal Plasma Concentrations of Soluble Endoglin in Pregnancies with Intrauterine Growth Restriction. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2007. 92(7): p. 2831-2834.
25. Hinson, J.P., S. Kapas, and D.M. Smith, Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. Endocr Rev, 2000. 21(2): p. 138-67.
26. Burnett, J.C., Jr and M. Jougasaki, Adrenomedullin as a renal regulator peptide. Nephrology Dialysis Transplantation, 2000. 15(3): p. 293-295.
27. Eguchi, S., Y. Hirata, H. Iwasaki, K. Sato, T.X. Watanabe, T. Inui, K. Nakajima, S. Sakakibara, and F. Marumo, Structure-activity relationship of adrenomedullin, a novel vasodilatory peptide, in cultured rat vascular smooth muscle cells. Endocrinology, 1994. 135(6): p. 2454-8.
28. Mallamaci, F., C. Zoccali, S. Parlongo, S. Cutrupi, G. Tripepi, and M. Postorino, Plasma adrenomedullin during acute changes in intravascular volume in hemodialysis patients. Kidney Int, 1998. 54(5): p. 1697-703.
29. Nishio, K., Y. Akai, Y. Murao, N. Doi, S. Ueda, H. Tabuse, S. Miyamoto, K. Dohi, N. Minamino, H. Shoji, K. Kitamura, K. Kangawa, and H. Matsuo, Increased plasma concentrations of adrenomedullin correlate with relaxation of vascular tone in patients with septic shock. Crit Care Med, 1997. 25(6): p. 953-7.
30. Duley, L., Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America and the Caribbean. Vol. 99. 1992. 547-53.
31. Sibai, B., G. Dekker, and M. Kupferminc, Pre-eclampsia. Lancet, 2005. 365(9461): p. 785-99.
32. BM., S., Preeclampsia-Eclampsia. Current Problems in Obstetrics and Gynecology and Fertility, 1990(13): p. 1-45.
33. Gant, N.F., P.J. Whalley, R.B. Everett, R.J. Worley, and P.C. MacDonald, Control of vascular reactivity in pregnancy. Am J Kidney Dis, 1987. 9(4): p. 303-7.
34. Yotsumoto, S., T. Shimada, C.Y. Cui, H. Nakashima, H. Fujiwara, and M.S. Ko, Expression of adrenomedullin, a hypotensive peptide, in the trophoblast

giant cells at the embryo implantation site in mouse. Dev Biol, 1998. 203(2): p. 264-75.
35. Di Iorio, R., E. Marinoni, D. Scavo, C. Letizia, and E.V. Cosmi, Adrenomedullin in pregnancy. Lancet, 1997. 349(9048): p. 328.
36. Li, M., D. Yee, T.R. Magnuson, O. Smithies, and K.M. Caron, Reduced maternal expression of adrenomedullin disrupts fertility, placentation, and fetal growth in mice. J Clin Invest, 2006. 116(10): p. 2653-62.
37. Venkatesha, S., M. Toporsian, C. Lam, J. Hanai, T. Mammoto, Y.M. Kim, Y. Bdolah, K.H. Lim, H.T. Yuan, T.A. Libermann, I.E. Stillman, D. Roberts, P.A. D'Amore, F.H. Epstein, F.W. Sellke, R. Romero, V.P. Sukhatme, M. Letarte, and S.A. Karumanchi, Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. Nat Med, 2006. 12(6): p. 642-9.
38. Levine, R.J., C. Lam, C. Qian, K.F. Yu, S.E. Maynard, B.P. Sachs, B.M. Sibai, F.H. Epstein, R. Romero, R. Thadhani, S.A. Karumanchi, and C.S. Group, Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. N Engl J Med, 2006. 355(10): p. 992-1005.
39. Nikuei, P., M. Rajaei, K. Malekzadeh, A. Nejatizadeh, F. Mohseni, and A. AtashAbParvar, Accuracy of Soluble Endoglin for Diagnosis of Preeclampsia and its Severity. Iran Biomed J, 2017. 21(5): p. 312-30.
40. Bdolah, Y., V.P. Sukhatme, and S.A. Karumanchi, Angiogenic imbalance in the pathophysiology of preeclampsia: newer insights. Semin Nephrol, 2004. 24(6): p. 548-56.
41. Maynard, S.E. and S.A. Karumanchi, Angiogenic factors and preeclampsia. Semin Nephrol, 2011. 31(1): p. 33-46.
42. Levine, R.J., S.E. Maynard, C. Qian, K.H. Lim, L.J. England, K.F. Yu, E.F. Schisterman, R. Thadhani, B.P. Sachs, F.H. Epstein, B.M. Sibai, V.P. Sukhatme, and S.A. Karumanchi, Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. N Engl J Med, 2004. 350(7): p. 672-83.
43. Romero, R., J.K. Nien, J. Espinoza, D. Todem, W. Fu, H. Chung, J.P. Kusanovic, F. Gotsch, O. Erez, S. Mazaki-Tovi, R. Gomez, S. Edwin, T. Chaiworapongsa, R.J. Levine, and S.A. Karumanchi, A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. J Matern Fetal Neonatal Med, 2008. 21(1): p. 9-23.
44. VV., J., Histologic lesions of the placenta. Handbook of placental pathology. 1994, New York: Igaku-Shoin Medical Publisher Inc.
45. Huppertz, B., H.G. Frank, J.C. Kingdom, F. Reister, and P. Kaufmann, Villous cytotrophoblast regulation of the syncytial apoptotic cascade in the human placenta. Histochem Cell Biol, 1998. 110(5): p. 495-508.
46. Huppertz, B., H.G. Frank, F. Reister, J. Kingdom, H. Korr, and P. Kaufmann, Apoptosis cascade progresses during turnover of human trophoblast: analysis of villous cytotrophoblast and syncytial fragments in vitro. Lab Invest, 1999. 79(12): p. 1687-702.
47. Gu, Y., D.F. Lewis, and Y. Wang, Placental productions and expressions of soluble endoglin, soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1, and placental growth factor in normal and preeclamptic pregnancies. J Clin Endocrinol Metab, 2008. 93(1): p. 260-6.

48. Venkatesha, S., M. Toporsian, C. Lam, J.-i. Hanai, T. Mammoto, Y.M. Kim, Y. Bdolah, K.-H. Lim, H.-T. Yuan, T.A. Libermann, I.E. Stillman, D. Roberts, P.A. D'Amore, F.H. Epstein, F.W. Sellke, R. Romero, V.P. Sukhatme, M. Letarte, and S.A. Karumanchi, Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. Nature Medicine, 2006. 12: p. 642.
49. Marinoni, E., R. Di Iorio, C. Letizia, B. Villaccio, L. Scucchi, and E.V. Cosmi, Immunoreactive adrenomedullin in human fetoplacental tissues. Am J Obstet Gynecol, 1998. 179(3 Pt 1): p. 784-7.
50. Hata T, M.K., Matsui K. , Decreased circulating adrenomedullin in preeclampsia. . Lancet 1997. 350(1600).
51. Jerat, S. and S. Kaufman, Effect of pregnancy and steroid hormones on plasma adrenomedullin levels in the rat. Can J Physiol Pharmacol, 1998. 76(4): p. 463-6.
52. Vari RC, A.S., Samson WK. , Adrenomedullin increases renal plasma flow and sodium excretion in the rat. . J Am Soc Nephrol 1994. 5: p. 672-74.
53. Makino, Y., K. Shibata, I. Makino, Y. Ono, K. Kangawa, and T. Kawarabayashi, Expression of adrenomedullin in feto-placental circulation of human normotensive pregnant women and pregnancy-induced hypertensive women. Endocrinology, 1999. 140(11): p. 5439-42.
54. Kanenishi, K., H. Kuwabara, M. Ueno, H. Sakamoto, and T. Hata, Immunohistochemical adrenomedullin expression is decreased in the placenta from pregnancies with pre-eclampsia. Pathology International, 2000. 50(7): p. 536-540.
55. Li, H., J. Dakour, S. Kaufman, J. Guilbert Larry, B. Winkler-Lowen, and W. Morrish Donald, Adrenomedullin Is Decreased in Preeclampsia Because of Failed Response to Epidermal Growth Factor and Impaired Syncytialization. Hypertension, 2003. 42(5): p. 895-900.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Beyza	**Soyadı**	Karadede Ünal
Doğum Yeri	Diyarbakır	**Doğum Tarihi**	01.01.1989
Uyruğu	T.C.	**Tel**	0533 202 8990
E-posta	dr.beyzakaradede@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
İlköğretim	Denizli Doğan Demircioğlu Emsan İ.Ö.O	1999-2002
Lise	Denizli Er-Bakır Fen Lisesi	2002- 2006
Lisans egitimi / Üniversite:	Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2006-2011
Lisans üstü egitim / Doktora egitimi	Gazi ve Yeditepe Üniversitesi Saglık Bilimleri Üniversitesi Ortodonti Programı	2011 - 2015

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Öğretim Görevlisi	Nişantaşı Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Ağız ve Diş Sağlığı Programı, İstanbul	2013 - 2014
Öğretim Görevlisi	Bilgi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Dişçilik Hizmetleri Bölümü, Ağız ve Diş Sağlığı Programı, İstanbul	2014 - 2016
Gönüllü Araştırmacı	London, St. George's University, Faculty of Dentistry	Mayıs-Kasım 2016
Gönüllü Araştırmacı	London, Kingston Hospital Orthodontics Clinic	Mayıs-Kasım 2016
Yrd. Doç. Dr./ Doktor Öğretim Üyesi	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ortodonti Anabilim Dalı	2017-…

Yabancı Dil Sınav Notu

ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
			81					

Tıpta Uzmanlık Puanı	

10.EKLER

10.1. Etik kurul onayı

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES

59

KARAR

Prof. Dr. Murat AKKUŞ, Beyza KARADEDE, Doç. Dr. Elif AĞAÇAYAK, Doç. Dr. Sevda SÖKER, Prof. Dr. Aşkın Ender TOPAL, Arş. Gör. Fırat AŞIR, Arş. Gör. Ayşegül PALA, Yüksek lisans öğrencisi Fırat ŞAHİN isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Preeklamptik gebelerin plasentalarında adrenomedullin ve soluble endoglin (sEng) ekspresiyon düzeylerinin değerlendirilmesi" başlıklı araştırmaya *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u* tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir.

Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.

DECISION

The project titled as "Evaluation of soluble endoglin (sEng) and adrenomedullin expression levels in the placentas of Preeclamptic Pregnancies" planned by Murat AKKUŞ, Beyza KARADEDE, Elif AĞAÇAYAK, Sevda SÖKER, Aşkın Ender TOPAL, Fırat AŞIR, Ayşegül PALA, Fırat ŞAHİN has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.

Oturum No (Meeting number) :	Tarih (Date): 15.02.2018	Saat (Hour): 14:00-15:00
KURUL BAŞKANI (CHIEF)	Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM	

KURUL ÜYELERİ / MEMBERS

	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Hüseyin BÜYÜKBAYRAM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
2	Prof. Dr.	Levent ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	Katılmadı
3	Doç. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
4	Doç. Dr.	İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
5	Doç. Dr.	Haktan KARAMAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
6	Doç. Dr.	Zülfükar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
7	Doç. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
8	Doç. Dr.	Ezeli AZARKAN	Dicle Üniversitesi Hukuk Fakültesi	Öğretim Üyesi	İzinli
9	Doç. Dr.	Cihan AKGÜL ÖZMEN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
10	Yrd. Doç. Dr.	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	
11	Yrd. Doç. Dr.	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüs/DİYARBAKIR
Telefon:+90.412 . 248 80 01-16/4631 Faks:+90.412. 248 84 40 kuruletikdiyar@gmail.com

11.ORİJİNALLİK RAPORU

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 16-May-2019 09:58 +03
NUMARA: 1131334773
Kelime Sayısı: 6390
Gönderildi: 1

Histoloji ve Embriyoloji Tez Beyza Karadede Ünal tarafından

Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik	
%6	Internet Sources:	%4
	Yayınlar:	%1
	Öğrenci Ödevleri:	%5

2% match (15-Nis-2018 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) on 2018-04-15

1% match (06-Kas-2018 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Istanbul Medipol Ãniversitesi on 2018-11-06

1% match (09-Kas-2018 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Marmara University on 2018-11-09

1% match (18-Ara-2017 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Dicle University on 2017-12-18

< 1% match (17-Şub-2019 tarihli internet)
http://www.thed.org.tr/Eklenti/113,xi-ulusal-histoloji-embriyoloji-kongresi.pdf?0=

< 1% match (02-Tem-2016 tarihli internet)
http://docplayer.biz.tr/3192469-T-c-pamukkale-universitesi-tip-fakultesi-kadin-hastaliklari-ve-dogum-anabilim-dali.html

< 1% match (yayınlar)
KOCAMAN, Nevin and ÇOLAKOĞLU, Neriman. "Tekrarlayan dozlarda metotreksat uygulamasınınsıçankaraciğer dokusu üzerine etkileri", Fırat Üniversitesi, 2013.

< 1% match (05-Şub-2019 tarihli internet)
https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2015/06/SS04-Zonguldak-%c4%b0linde-Gebelerde-Toksoplasma-gondii-Rubella-ve-Sitomegalovir%c3%bcs-Seroprevalans%c4%b1-Aynur-Ayn%c4%b1o%c4%9flu.pdf