TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİGARA İÇEN VE İÇMEYEN PREEKLAMPTİK PLASENTALARDA EZRİN-RADİXİN-MOESİN PROTEİN EXPRESYONLARININ İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE WESTERN BLOT YÖNTEMİYLE DEĞERLENDİRİLMESİ

ELİF AĞAÇAYAK

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Engin Deveci

DİYARBAKIR
2020

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİGARA İÇEN VE İÇMEYEN PREEKLAMPTİK PLASENTALARDA EZRİN-RADİXİN-MOESİN PROTEİN EXPRESYONLARININ İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE WESTERN BLOT YÖNTEMİYLE DEĞERLENDİRİLMESİ

ELİF AĞAÇAYAK

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Engin Deveci

DİYARBAKIR

2020

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından **TIP.18.031** Numaralı proje ile desteklenmiştir.

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı** doktora öğrencisi **Elif AĞAÇAYAK'ın** hazırladığı **Sigara İçen ve İçmeyen Preeklamptik Plasentalarda Ezrin-Radixin-Moesin Protein Expresyonlarının İmmünohistokimyasal ve Western Blot Yöntemiyle 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.

02/07/2020

İmza

Danışman: **Prof. Dr. Engin DEVECİ**

Jüri Üyeleri

Jüri başkanı	Prof. Dr. Murat Akkuş	
Üye	Prof. Dr. Engin Deveci	
Üye	Prof. Dr. Yusuf Nergiz	
Üye	Prof. Dr. Leyla Canpolat	
Üye	Doç. Dr. Tuncay Kuloğlu	

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun **11/06/2020** ve **10/11** sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.../.../202...

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.

02/07 /2020

Elif AĞAÇAYAK

İmza



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi, birikim ve deneyimlerini hiçbir zaman eksik etmeyen, tezimin şekillenmesinden sonuçlandırılmasına kadar her zaman yanımda olan ve katkılarını eksik etmeyen saygıdeğer danışman hocam Prof.Dr.Engin Deveci'ye başta olmak üzere,

Bilgi ve birkimleriyle her zaman yanımda olan desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen saygıdeğer hocam Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Murat AKKUŞ'a, bölüm hocalarım Prof.Dr. Yusuf Nergiz'e, Prof.Dr. Sevda SÖKER'e, Prof.Dr. Ayfer AKTAŞ'a, Doç.Dr.Selçuk TUNİK'e, Doç.Dr.Cenap Ekinci'ye dokularımın değerlendirmesinde bana yardım eden Tıbbi Biyoloji ve Genetik Öğretim üyesi Doç. Dr.Sevgi İrtegün Kandemir'e,

Görüş, bilgi ve deneyimleriyle tez aşamamda yanımda olan enerjisini her zaman yanımda hissettiğim kalbi güzel insan, kardeşten öte yıllar geçse bile her zaman omuz omuza olacağım sevgili güzel dostum bölümümüzün eski doktora öğrencisi ve Siirt Üniversitesi öğretim görevlisi Günsel Kırman'a,

Tez çalışmamda desteğini eksik etmeyen bütün laboratuvar ve tez yazım aşamasında tecrübelerini benimle paylaşan bana yol gösteren birikimine güvendiğim bölümümüzün Arş. görv. Fırat AŞIR'a,

Yaşamımın her alanında bana desteğini, güvenini, sabrını ve sevgilerini eksiltmeyen, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, hiçbir zaman haklarını ödeyemeyeceğim kıymetli anne ve babama, bu zorlu, yorucu süreçte her zaman yanımda olan ve tüm hayatımı zorluklarına rağmen güzelleştiren hayatımın her sürecince en büyük destekçim olan hayat arkadaşım, yoldaşım biricik eşim Kamil Serkan Ağaçayak' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

BEYAN i
TEŞEKKÜR ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ iii
KISALTMALAR VE SİMGELER v
RESİMLER LİSTESİ vii
ŞEKİLLER LİSTESİ viii
1. ÖZET 1
1.1. TÜRKÇE ÖZET 1
1.2. ABSTRACT 2
2. GİRİŞ ve AMAÇ 3
3. GENEL BİLGİLER 6
3.1. Plasenta 6
3.1.1. Giriş ve tanım 6
3.1.2. Plasentanın fetal komponenti 6
3.1.3. Plasentanın maternal komponenti 6
3.1.4. Plasentanın temel incelenmesi 8
3.1.5. Histopatolojik Değerlendirme için Endikasyonlar 8
3.1.6. Plasental membranlar 9
3.1.7. Plasental parankim 12
3.1.8. Plasentanın gelişimi 12
3.1.8.1. Trofoblast implantasyonu ve invazyonu 12
3.1.8.2. İmplantasyon 13
3.1.8.3. Villöz gelişim 17
3.1.8.4. Vasküler gelişim 18
3.1.8.5. Plasental Dolaşım 18
3.1.8.6. Fetoplasental Dolaşım 19
3.2. Preeklampsi 21
3.2.1. Giriş ve tanımı 21
3.2.2. Preeklampsi ve fetal büyüme kısıtlaması 22
3.3. Sigara 24
3.4. Ezrin-Radixin-Moesin protein expresyonları 26
3.4.1. ERM proteinlerinin lokalizasyonu 27
3.4.2. ERM proteinlerinin yapısı 28

4. GEREÇ VE YÖNTEM 30
4.1. Plasentaların Elde Edilmesi ve Dokuların Takibi 30
4.2. Hematoksilen-Eozin Boyama 30
4.3. İmmünohistokimyasal Boyama 31
4.4. Western Blot Protokolü 32
5. BULGULAR 33
5.1. Histopatolojik Bulgular 33
5.2. İmmunohistokimyasal Bulgular 35
5.2.1. Ezrin immün boyama – Kontrol Grubu 36
5.2.2. Moesin immün boyama – Kontrol Grubu 37
5.2.3. Radixin immün boyama – Kontrol Grubu 38
5.2.4. Ezrin immün boyama – Preeklampsi Grubu 39
5.2.5. Moesin immün boyama – Preeklampsi Grubu 40
5.2.6. Radixin immün boyama – Preeklampsi Grubu 41
5.3. Western Blot Bulgular 42
6. TARTIŞMA 43
7. SONUÇ 50
8. KAYNAKLAR 51
9. ÖZGEÇMİŞ 64
10. EKLER 66
10.1. Etik kurul onayı 66
11. ORİJİNALLİK RAPORU 67
12. Hasta Onam Formu 69

KISALTMALAR VE SİMGELER

ERM	**:**	Ezrin Radixin Moesin
IUGR	**:**	İntrauterin Gelişme Geriliği
EVT	**:**	Ekstravillous trofoblast
MMP	**:**	Matris metaloproteinazlar
TGF-beta	**:**	Transforme edici büyüme faktörü-beta
VEGF	**:**	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
TIMP	**:**	Metalloproteinaz doku inhibitörleri
HGF	**:**	Hepatosit büyüme faktörü
VCİ	**:**	Vena Cava İnferior
VCS	**:**	Vena Cava Süperior
FGR	**:**	Fetal Growth Restriction
sFlt-1	**:**	Soluble fms benzeri tirosin kinaz 1
PIGF	**:**	Plasental büyüme faktörü
nAChR	**:**	Nikotinik asetilkolin reseptörleri
herv-1	**:**	İnsan endojen retroviral-1
PBS	**:**	Fosfat tampon solüsyonu
cm	**:**	Santimetre
gr	**:**	Gram
H-E	**:**	Hematoksilen-Eozin
µm	**:**	Mikrometre
mg	**:**	miligram
ml	**:**	mililitre
mm	**:**	milimetre

mmHg : Milimetre civa

PIH : Gebeliğin İndüklediği Hipertansiyon

OR : Odds Ratio

BMI : Body Mass İndex

HO : Hidrojen monoksit

CO : Karbonmonoksit

GA : Güven Aralığı

RTK : Reseptör tirozin kinaz

ICAM : İntrasellüler Adezyon Molekülü

NHERF : Na^+/H^+ exchanger regulatory factor

GTP : Guanozin 5 Trifosfat

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: İnsan Full Term Plasentanın maternal ve fetal yüzü..... 9
Resim 2: Amnion ve Koryon arasındaki tabakalar..... 10
Resim 3: Normal Plasentada Fetal Membranlar..... 11
Resim 4: Ekstravillöz Trofoblast ve İç hücre Tabakası..... 16
Resim 5: Fetal Dolaşımda Kan Akımı..... 20
Resim 6: Fetoplasental Dolaşım..... 21
Resim 7: ERM Proteinlerinin Mikrovillus Membranında Lokalizasyonu 28
Resim 8: ERM (ezrin/ radiksin/ moesin) Proteinlerinin Yapısı (87. Kaynaktan Türkçelestirilmistir)..... 29

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Sigara içmeyen kontrol plasenta kesitlerinin görünümü 34
Şekil 2: Sigara içen kontrol plasenta kesitlerinin görünümü. 34
Şekil 3: Sigara içmeyen preeklampsi plasenta kesitlerinin görünümü 35
Şekil 4: Sigara içen preeklampsi plasenta kesitlerinin görünümü. 35
Şekil 5: Sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitlerinin görünümü. 36
Şekil 6: Sigara içen kontrol grubu plasenta kesitlerinin görünümü 37
Şekil 7: Sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitlerinin görünümü 37
Şekil 8: Sigara içen kontrol grubu plasenta kesitlerinin görünümü. 38
Şekil 9: Sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitlerinin görünümü. 38
Şekil 10: Sigara içen kontrol grubu plasenta kesitlerinin görünümü. 39
Şekil 11: Sigara içmeyen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinin görünümü. 39
Şekil 12: Sigara içen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinin görünümü. 40
Şekil 13: Sigara içmeyen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinin görünümü 40
Şekil 14: Sigara içen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinin görünümü. 41
Şekil 15: Sigara içmeyen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinin görünümü. 41
Şekil 16: Sigara içen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinin görünümü i. 42
Şekil 17: Ezrin, Radixin ve Moesin proteinlerinin sigara içen ve içmeyen gebelerin plasentalarındaki ekspresyonu. 43

1. ÖZET

Sigara İçen ve İçmeyen Preeklamptik Plasentalarda Ezrin-Radixin-Moesin Protein Expresyonlarının İmmünohistokimyasal ve Western Blot Yöntemiyle Değerlendirilmesi

Öğrencinin adı ve soyadı: Elif AĞAÇAYAK
Danışman: Prof. Dr. Engin DEVECİ
Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

1.1. TÜRKÇE ÖZET

Amaç : Bu çalışmada amacımız sigara içen ve içmeyen preeklamptik gebelerin plasentasında Ezrin-Radixin-Moesin (ERM) protein expresyonlarının immunohistokimyasal ve Western Blot yöntemiyle değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğine yatan 30 normotensif (15 adet sigara içmeyen ve 15 adet sigara içen) ve 30 preeklampsi tanısı almış hastanın (15 adet sigara içmeyen ve 15 adet sigara içen) histolojik takip için plasenta örnekleri alındı. Histokimyasal olarak Hematoksilen-eozin boyası kullanıldı, immunohistokimyasal olarak ERM immun boyamaları yapıldı. Dokular analiz için mikrografları çekildi. Görüntüleme yapılan bantların resimleri çekildi.

Bulgular: Sigara içmeyen preeklampsi plasenta kesitlerinde villusların yapılarının bütünlüğünü kaybettiği gözlendi. Stromal alanlarda dejenerasyon, sinsityal düğüm ve köprülerde artış izlendi. Trofoblastik hücrelerde yer yer kopuntular , villuslarda hiyalinizasyon ve fibrinoid alanlar izlendi. Sigara içen preeklampsi plasenta kesitlerinde villuslarda dejenerasyon gözlendi.

Sonuç: Sigara kullanımı mikrovillus ve hücre-hücre bağlantısını önemli ölçüde etkileyip, ERM protein seviyesinin azalmasına neden olduğu, plasental gelişimi olumsuz yönde etkileyebileceğini tesbit ettik. ERM proteinlerinin aktivasyonu uyaracak ve kontrol altına alabilecek bir tedavinin preeklempsi etiyolojisine katkı sağlayabileceği kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Plasenta, Preeklempsi,Sigara, Ezrin-Radixin-Moesin

Evaluation of Ezrin-Radixin-Moesin Protein Expression in Immunohistochemical and Western Blot Method in Smoking and Non-Smoking Preeclamptic Placenta

Student's Surname and Name: AĞAÇAYAK Elif
Adviser of Thesis: DEVECİ Engin, PhD, Professor
Department: Histology ve Embriology

1.2. ABSTRACT

Aim: In this study, our aim is to evaluate the protein expressions of Ezrin-Radixin-Moesin (ERM) by immunohistochemical and Western blot in the placenta of preeclamptic pregnant women who smoke and do not smoke.

Material and methods: Placental samples were taken for the histological follow-up of 30 normotensive patients (15 non-smokers and 15 smokers) and 30 preeclampsia patients (15 non-smokers and 15 smokers) hospitalized in the Dicle University Faculty of Medicine Obstetrics and Gynecology clinic. Histochemically, Hematoxylin-eosin dye was used, and immunohistochemically, ERM immune staining were performed. Micrographs were taken for analysis of tissues.

Results: It was observed that non-smoking preeclampsia lost the integrity of the structures of the villi in the placenta sections. Degeneration in the stromal areas, increase in syncytial nodes and bridges were observed. In the trophoblastic cells, ruptures were observed, hyalinization and fibrinoid areas were observed in the villi. Degeneration of villi was observed in the smoker preeclampsia placenta sections.

Conclusion: We have found that smoking significantly affects microvilli and cell-cell linkage, resulting in decreased ERM protein level and may negatively affect placental development. We believe that a treatment that can stimulate activation and control of ERM proteins can contribute to the etiology of preeclampsia.

Key Words: Placenta, Preeclampsia, Smoking, Ezrin-Radixin-Moesin

2. GİRİŞ ve AMAÇ

Sigara içen ve içmeyen preeklamptik hastaların plasentası ile normal plasentada Ezrin-Radixin-Moesin (ERM) protein expresyonlarının değerlendirerek preeklempsinin patogenezine katkı sunmak ve sigaranın preeklempsi üzerine etkilerini değerlendirmektir.

Preeklampsinin patofizyolojisinde, hastalığın gelişimi için plasental doku gereklidir, ancak fetus gerekli değildir (1-3). Preeklampsi daima plasentanın doğumundan sonraki günler ila haftalar içinde düzelir. Ancak, nadir durumlarda doğum sonrası hipertansiyon ve preeklampsi doğumdan altı ile sekiz hafta sonra ortaya çıkabilir. Preeklempsinin patogenezindeki belirsizlikler, plasentanın doğumundan sonra preeklampsinin klinik ekspresyonunda yer alan faktörlerin belirsizliği, antianjiyogenik faktörlerin gecikmiş olarak temizlenmesi, doğum sonrası kompleman sisteminin aktivasyonu ve/veya hücre dışı sıvının intravasküler kompartmana mobilizasyonu gibi durumlar akla gelmektedir. Ancak literatürde halen bu konuda eksikler vardır.

Normal gebelikleri olan kadınlarda ve preeklampsili kadınlarda çeşitli gebelik aşamalarında insan plasentalarının incelenmesi, preeklampsiyle ilişkili olabilecek uteroplasental dolaşımda patolojik değişikliklerin oluşmuş olduğu farkedilmiştir. İki ilişkili fakat ayrı süreç olan spiral arter yeniden biçimlenmesi ve trofoblast istilasındaki kusurların, hipertansif gebelik bozukluklarında ve fetal büyüme kısıtlamasında rol aldıkları açıktır (4-5). Bu iki süreç, preeklamptik fenotip ile sonuçlanan sistemik endotelyal disfonksiyona neden olan plasental iskemi ve ya bozulmuş plasentasyon ile sonuçlanır. Plasental iskemi sonucu plasentada değişiklikler meydana gelir.

Preeklampsi, gebeliğin 20.haftasından sonra maternal-fetal morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden biridir. Patogenezi ve etyolojisi konusunda bir çok arastırma yapılmış olmasına rağmen halen muamma olan bir çok konu mevcuttur. Özellikle plasental hasar ve bozuklukların hastalığın gelismesinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir. Hipoksiye bağlı olarak başlayan plasental apopitozis sonucu plasental

sinsitiyotrofoblast mikrovillüs dökülmesi gerçekleşmektedir. Bu mikrovillusların dökülmesi maternal endotel hücrelerinede hasara sebep olmaktadır. Maternal endotel hasarı sonucu annelerde hipertansiyon ve proteinüri gibi iki klinik tablo izlenmektedir. Hipoksi-apopitozis mekanizması dışında halen mikrovillus dökülmesinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ezrin-Radiksin-Moesin ailesinin her 3 proteinide yapı olarak aktin membran çapraz bağlayıcı proteinlerle bağlantılıdır. ERM familyasının önemli görevlerinden biri de mikrovillus üretimini sağlamalarıdır. Preeklemptik hastalarda görülen mikrovillüs dökülmesinin nedenlerinden biride ERM proteinlerinin ekspresyon ve fonksiyonlarındaki herhangi bir bozukluk olabileceği hipotezi ile biz bu tezimizi planladık. İmmünohistokimyasal ve western blot yöntem kullanılarak ERM proteinlerinin plasental lokalizasyonları ve expresyonları değerlendirilmistir.

Plasentanın membranlarında özellikle de sinsitiyotrofoblast hücrelerinde ezrinin lokalize olduğu immünohistokimyasal çalımsalar ile gösterilmiştir (6).

Preeklamptik ve IUGR (İntrauterin Gelişme Geriliği)'li plasentalarda yapılan çalışmada mikrovillüslerde aktin ve ezrinin normal plasentalara göre azalmış olduğu görüldü(7). Preeklampside anjiogenetik faktörlerin azalmış olduğu izlendi(8).

Sigaranın preeklempsi ve normal gebelerde anjiogenetik faktörlerin arttırmış olduğu izlendi. (9). Bunun dışında literatürde yapılan çalışmalarda sigaranın villöz kapiller sistem üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda bir netlik olmadığı , villoz kapiller boyutun arttığını (10) azaldığını (11), ve değişmediğini (12) bildiren çalışmalar mevcuttur. Bu nedenle biz de çalışmamızda halen net olarak belli olmayan sigaranın preeklempsi üzerine etkilerini değerlendirmek istedik.

ERM ailesi, birbiri ile yakından ilişkili Ezrin, Radiksin, Moesin adlı 3 proteinden olusur. ERM proteinleri, aktin hücre iskeleti ve plazma membran proteinleri arasında çapraz bir bağlanma sağlar. ERM hücre içinde, aktince zengin yapılarda lokalizedir. Bu proteinler, hücre-hücre birlesmeleri, hücrelerin bölünmesi sırasında membranda, membran kırılmalarında ve mikrovilluslarda yoğunlasmaktadır (13-14). ERM proteinleri

Caenorhabditis elegans'ta, ökaryotik hücrelerde, insanlarda ve birçok organizmada bulunur. Bu proteinler birçok dokuda yer alabilmektedir.

Ezrinin hücre iskeleti ile ilişkili olarak plasental sinsitiyotrofoblastların mikrovilluslarında oldukça fazla bulunduğu literatürdeki çalışmalarda gösterilmiştir (15). Aynı zamanda ERM proteinlerinin embriyonik gelimse sürecinde bir çok fonksiyonu olabileceği konusunda çalışmalar yapılmıştır. Özellikle ezrinin implantasyon öncesi dönemde embriyo gelişimine aracılık ettiği gösterilmiştir (16). Radiksinin ise blastosit olusum aşamasında aktin ile membranlar arasındaki ilişkiyi sağlayan esas protein olduğu gözlenmistir (17).

Ezrin, böbrek dokusunun glomerüler ve tübüler epitelyum hücrelerinde sentezlenir (18). Kronik hipertansiyonlu-hipertansiyonlu olmayan ve preeklemptik gebelerin böbreklerinden alınan doku örneklerinde Ezrin'in değerlendirildiği bir çalışmada preeklampside diğer iki gruba göre anlamlı olarak azaldığı tesbit edildi(19).

ERM proteinleri preeklampside patogenezde suçlanan plasental anti-angiogenezis, apoptoziste ve mikrovillus dökülmesindeki artışta rol oynayabilir ve preeklampsinin etiyolojik faktörlerinden biri olabilir. Sigaranın preeklempsi üzerine etkisini değerlendirmek için ERM proteinleri bize yol gösterici olabilir.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Plasenta

3.1.1. Giriş ve tanım

Plasenta; göbek kordonu, membranlar (koryon ve amniyon) ve parankimden oluşan fetal bir organdır (Resim 1). Maternal ve ya fetal bozukluklar, anne ve fetus arasında iletişimi sağlayan plasental sekellere sebep olabilir. Tersine, primer plasental anormallikler hem anne hem de fetal sağlığı etkileyebilir veya yansıtabilir. Bu nedenle, plasentanın incelenmesi, maternal bozuklukların fetus üzerindeki etkisi, erken doğum, fetal büyüme kısıtlaması veya nörogelişimsel bozulmanın nedeni hakkında bilgi verebilir. Fetüsün beslenmesini ve gelişmesini sağlayan plasenta maternal ve fetal kaynaklı yapılar içerir. Fetal bölümünü koryon frondozum, maternal bölümünü desidua bazalis oluşturur.

3.1.2. Plasentanın fetal komponenti

Fetal bölüm koryon plağı ve bu plağa bağlı villüslardan oluşur. Villuslar, anne kanının dolaştığı lakunalar içinde uzanırlar. Villusların ortasında yer alan gevşek bağ dokusu içindeki kapillerler tipik penceresiz kapillerlerdir. Bağ dokusu içinde iki tip hücre bulunur. Bunlardan biri mezenşimal hücrelerdir. Diğer hücreler ise geniş, yuvarlak nükleuslu, vakuollü stoplazmalı hücreler olan ve doku makrofajları oldukları düşünülen Hofbauer hücreleridir. Hofbauer hücrelerinin stoplazmalarında lipid, glikoprotein ve glikozaminoglikandan zengin vakuoller bulunur. HIV virüsü primer olarak bu hücrelerin ve sinsityotrofoblastların stoplazmalarına yerleşir. Villüsün yüzeyünü döşeyen trofoblast tabakası gebeliğin 10.haftasına kadar iki tabakalıdır. İçte yer alan sitotrofoblastlar geniş soluk hücrelerdir. Stoplazmalarında glikojen ve vakuoller yer alır. Sinsityotrofoblastlar ise daha koyu nükleuslu hücrelerdir. Bu hücrelerin sınırlarını seçmek zordur. 10.haftadan sonra sitotrofoblast tabakası kademeli olarak ortadan kalkar. Villusları fibrinoid adı verilen asidofil boyayan homojen bir material çevreler.

3.1.3. Plasentanın maternal komponenti

Plasentanın maternal komponentini desidua bazalisten gelişir. Desidua bazalis bazal plak olarak bilinen sıkı tabakayı meydana getirir. 4-5. aylarda desiduadan kaynaklanan

desidual septumlar intervillöz mesafeye uzanır, ancak koryonik plağa kadar ulaşmaz. Septumlar maternal doku içerirler, ancak yüzeyleri sinsityal hücrelerden oluşan bir tabaka ile döşelidirler. Bu septumların varlığı ile plasenta birçok bölüme (kotiledon;lob) ayrılmış olur. Doğumdan sonra atılan plasentanın maternal yüzünde kotiledonlara uyan 15-20 adet tümsek bulunur. Her iki kotiledon ana bir kök villus ve dallarını içerir. Endometriumdan kaynaklanan damarlar intervillöz mesafeyi kanlandırır. Kapiller duvardaki nadir yırtılmalar dışında fetal ve maternal kan birbiri ile karışmaz. Fetal ve maternal kanın birbiri ile karışmasını engelleyen yapı daha çok fetal dokulardan oluşan plasenta bariyeridir. Dördüncü ayın başından itibaren bu bariyer son derece incelenerek ürünlerin geçişini kolaylaştırır.

Bu dönemde plasenta bariyeri şu tabakalardan oluşur:

- Sinsityotrofoblastlar
- Kesintili seyrede sitotrofoblastlar
- Trofoblastların bazal laminası
- Villusun bağ dokusu
- Endotelin bazal laminası
- Tersiyer villus içindeki fetal plasental kapillerlerin endoteli (20)

Plasental muayene fetal veya neonatal ölüm vakalarında otopsinin önemli bir bileşenidir. Plasental muayene ayrıca (21-23) bir dizi zor duruma yardımcı olur:

- Akut ve kronik perinatal stres ve hipoksiye karşı yasal sorunlar
- Olumsuz gebelik sonuçlarının spesifik etiyolojilerinin teşhisi
- Bu gebeliklere özgü patolojilerin yanı sıra çoklu gebeliklerde zigotisitenin tanımlanması
- Potansiyel olarak tekrarlayan bozuklukların tanımlanması, gebeliğin yönetimde değişikliklere ve sonraki gebeliklerin daha iyi sonuçlanmasına yol açar

3.1.4. Plasentanın temel incelenmesi

Tüm plasentaların doğum yapan klinisyen veya bir patolog tarafından kaba bir şekilde incelenmesi gerektiği konusunda genel bir fikir birliği vardır (22).

Asgari olarak, doğumdaki klinisyen plasentanın bazı temel özelliklerini not etmelidir:

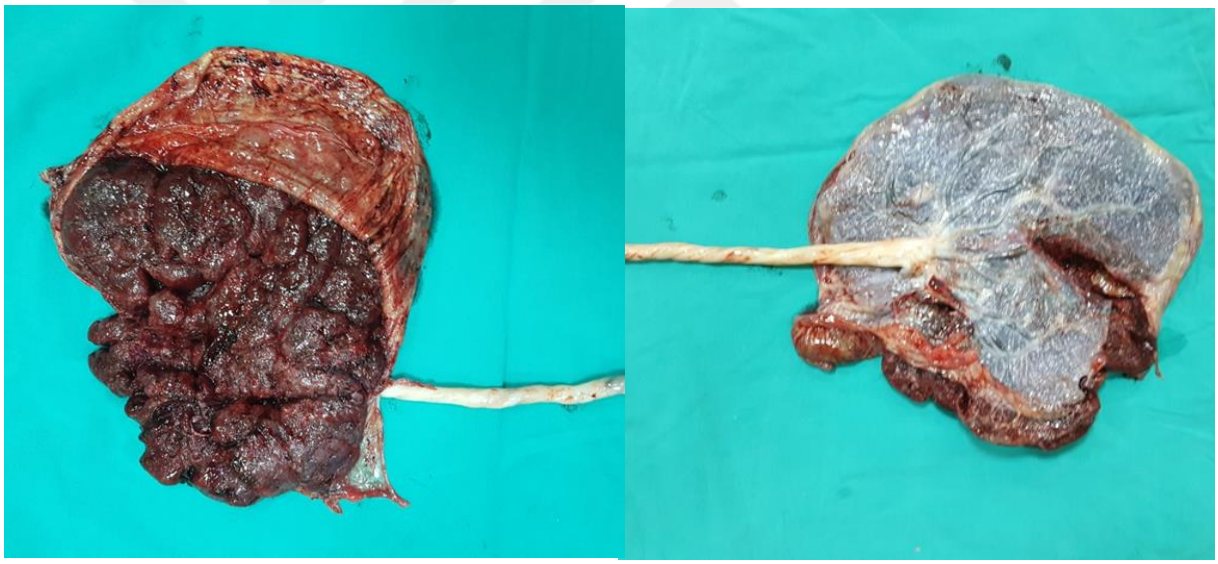
- Umblikal kordonu = Damar sayısı, uzunluk, yerleştirme bölgesi, kaba anormallikler (örneğin: Düğüm)
- Parankim = Brüt anormallikler (örneğin: Renk değişikliği, çoklu loblar, fokal lezyonlar)
- Membranlar = Renk, plasenta yerleştirme bölgesi, membranöz damarlar

Kordon uzunluğu ölçümü, klinisyen tarafından ölçüldüğünde daha doğru olabilir, çünkü kordonun bebeğe bağlı kısmı patolog tarafından kullanılamaz ve diğer göbek kordonu kısımları patoloji laboratuvarına gelen plasentadan önce atılabilir. Klinisyen bu bilgileri tıbbi kayıtlara kaydetmelidir. Patolog genellikle plasenta ağırlığını ölçer çünkü plasenta kordon ve membranlar olmadan kesilmiş olarak tartılır.

3.1.5. Histopatolojik Değerlendirme için Endikasyonlar

- Potansiyel fetal etkileri olan maternal tıbbi durumlar
- Erken veya postterm doğum
- Peripartum ateşi veya enfeksiyonu
- Üçüncü trimester kanaması veya doğum sonu kanama
- Şiddetli oligohidramnios veya polihidramnios
- Plasental yaralanma şüphesi olan invaziv prosedürler
- Rahim içi fetal tedavide
- Plasenta previa veya abruptio plasenta
- Kalın mekonyum
- Madde bağımlılığı veya toksinlere maruz kalma geçmişi
- Hamilelik sırasında anne travması
- Uzun süreli erken membran rüptürü
- Ölü doğum veya yenidoğan ölümü

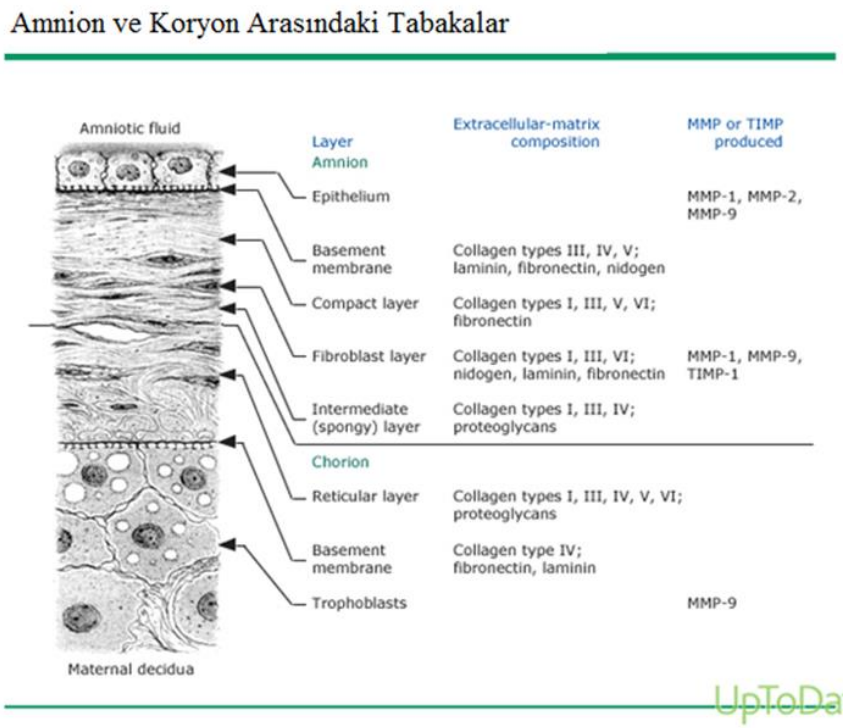
- Anne ölümü
- Depresif yenidoğan
- Hydrops fetalis
- Yenidoğan nöbetleri
- Çoklu gebelik (yok olan ikizler dahil)
- Gebelik yaşı yenidoğanlarda küçük veya büyük
- Konjenital anomali
- Göbek kordonu anormalliği
- Plasental anormallik



Resim 1: İnsan Full Term Plasentası Maternal ve Fetal Yüzü

3.1.6. Plasental membranlar

Plasental membranlar iki katmandan oluşur: fetüse en yakın katman (amniyotik boşluğa bakan) amnion ve dış katman koryondur (Resim 2). Amniyon ve koryon, zigotun ekstraembriyonik dokularından elde edilir. Erken gebelik kesesinin bir kalıntısı olan ekzoçölomik boşluk, iki tabakayı yaklaşık 14 haftalık gebeliğe kadar ayırır; bu sırada amniyon ve koryon birbirine yapışır.



Resim 2: Amnion ve Koryon arasındaki tabakalar

Renk - Fetal membranlar yarı saydam, hafif mavi / gri ve parlaktır (Resim 3). Anormal membran rengi veya netliği patolojik bir durumu gösterir. Mekonyum zarı sarı / yeşil, enfeksiyon sarıya boyar, ten rengi bir zar bu sorunların bir kombinasyonunu temsil edebilir Hafif enfeksiyon sadece membran opaklığını ve donukluğunu artırabilir. (Resim 1: Fetal Membranlar)



Resim 3: Normal Plasentada Fetal Membranlar (Courtesy of Drucilla J Roberts, MD)

Yüzey - Membranlar pürüzsüz olmalıdır. Kordon yerleştirme bölgesinin yakınındaki amniyona yapışan küçük, düz, inci gibi beyaz lezyonlar iyi huylu bir bulgu olan skuamöz metaplazi temsil edebilir. Fibrin birikintilerinin subkoryonik nodülleri de yaygın ve normal bir bulgudur.

Karşılaştırıldığında, amniyonun fetal yüzeyindeki nodüller olağandışıdır ve apseler veya amniyon nodozum gibi bir hastalık süreci önerir. Bu nodüller histolojik olarak değerlendirilmelidir.

Yerleştirme - Membranların plasenta diskine yerleştirildiği not edilmelidir, ancak çeşitli yerleştirme tiplerinin önemi tartışmalıdır. Membranlar genellikle diskten düzgün bir şekilde çıkar ve kenar boşluğu ile aynı hizadadır; buna marjinal yerleştirme denir. Membranlar diskte anormal derecede derin implantasyon veya implantasyon sırasında erken marjinal kanama nedeniyle zarlar diskin marjının içinden (circummarginate) veya marjın derinliklerinden (circumvallate) kaynaklandığında fetal morbidite riski artabilir

3.1.7. Plasental parankim

Plasental parankim, trofoblast ile kaplanmış veya dallanmış, yüksek oranda vaskülarize stromal bölmeden oluşur. Stroma, zigottan türetilmiş ve vasküler kanallarla doldurulmuş mezodermdir. Trofoblast, etkileşime girdiği antijenik olarak farklı maternal konakçı tarafından greft benzeri immünolojik kabulünü (toleransı) destekleyen benzersiz antijenleri (örn., HLA-G ve Fas ligandı) ifade eder.

Ağırlık - Disk (membranlar ve göbek kordonu olmadan) tartılmalı ve ağırlık standartlarla karşılaştırılmalıdır. Plasentadaki kan miktarı toplam ağırlığın önemli bir bölümünü içerir ve doğumda gecikmiş kordon klempleme gibi iyatrojenik faktörlerden etkilenir.

Plasental ağırlık doğum ağırlığı ile ilişkilidir; fetal-plasental ağırlık oranının normal değerleri gebelik sırasında değişir (27 haftada yaklaşık 1: 4, dönemde yaklaşık 1: 7'ye yükselir).

Preeklampsi, fetal büyüme kısıtlaması, bazı anöploidiler (trizomi 21 değil) ve bazı enfeksiyonlar hafif plasenta ağırlığı ile ilişkilidir.

Maternal diabetes mellitus, fetal veya maternal anemi, fetal hidrops ve konjenital sifiliz ağır plasenta ağırlığı ile ilişkilidir.

Boyutlar ve görünüm - Normal plasental disk, koryonik kesenin yüzeyinin yaklaşık beşte birini kaplayan tek, nispeten simetrik bir diskoid organdır. Plasentanın boyutları kaydedilmelidir. Normal plasental disk 2 ila 4 cm kalınlığında ve yaklaşık 20 cm çapındadır. Kesimden sonra kalınlık ölçülür ve boyutunun ana ve küçük çapları ile temsil edilir

3.1.8. Plasentanın gelişimi

3.1.8.1. Trofoblast implantasyonu ve invazyonu

Plasenta ve fetüsün gelişimi döllenme sırasında başlayan sürekli bir süreçtir. Gelişimin ilk üç günü fallop tüpü içinde gerçekleşir. Döllenmeden dört gün sonra morula (katı bir blastomer hücre kütlesi) uterusa girer.

Döllenmeden sonraki beşinci günde, sıvı biriktikçe ve hücrelerin polarizasyonu meydana geldikçe morula bir blastosist haline gelir. Blastosist, plasenta ve fetal membranları oluşturacak bir dış hücre tabakasına (trofoblast), bir kutupta embriyoyu oluşturacak bir iç hücre kütlesine ve sıvı dolu bir boşluğa sahiptir. İç ve dış hücre kütleleri çoğalır ve genişletilmiş blastosist zona kabuğundan çıkıncaya kadar sıvı boşluğu genişler.

3.1.8.2. İmplantasyon

İmplantasyon östrojen ve progesteronların endometrium duvarında neden olduğu programlı değişimler sayesinde gerçekleşir. İmplantasyondan sonra trofoblastlar birbirinden farklı özelliklere sahip iki hücreye farklılaşır. İçte yer alan sitotrofoblastlar mitotic olarak aktif hücrelerdir. Mitotik olarak aktif olmayıp, sitotrofoblastlardan gelişen sinsityotrofoblastlar ise birbirleri ile birleşerek çok nükleuslu bir hücre kitlesi oluşturup dışta yerleşirler. Sinsityotrofoblastlar golgi kompleksi, granüler ve agranüler endoplazmik reticulum ,bol mitekondri ve lipid damlaları içeren hücrelerdir. Bu tabakadan östrojen, progesterone, human koryonik gonadotropin (HCG) ve laktojenler salgılanır. Sitotrofoblastlardanda steroid hormonları ve HCG salgılanmaktadır. Sinsityotrofoblastlar endometrium epitelini ve stromasını parçalayarak uterus içine iyice yerleşmeyi sağlar. Bu tabaka endometriuma doğru uzanarak primer villüsleri oluşturur. primer villüsler içte sitotrofoblastlar dışta sinsityotrofoblastlardan oluşur (2.haftanın sonu-3.haftanın başı). Ekstraembriyonik mezodermden kaynaklanan mezenkimal bağ dokusu villüs içine girdikten sonra sekonder villüsler oluşur (3.haftanın başı-3.haftanın sonu). Vaskülarizasyonun ilerlemesi ile tersiyer villüsler meydana gelir (3.haftanın sonu).

Tersiyer Villüs villusun uç bölümü sitotrofoblast tabakasını ve bu tabakayı çevreleyen ince bir sinsityotrofoblast tabakasını içerir. Lokal hipoksik çevrenin etkisi ile sitotrofoblastlar dış tabakayı aşarak dışa geçip desidual hücrelerle temas kuran sitotrofoblastik kabuğu oluştururlar. Sitotrofofoblast kabuğu ile koryonik plak mezodermi arasında uzanan villuslara kök (anchoring) villus denir. Bu villuslar embriyo ile maternal dokular arasında gerçek bağlantıyı sağlayan villustur. Villusun kapillerleri koryon plağı ve bağlantı sapının kapillerleri ile temasa geçer. Sitotrofoblastların anne

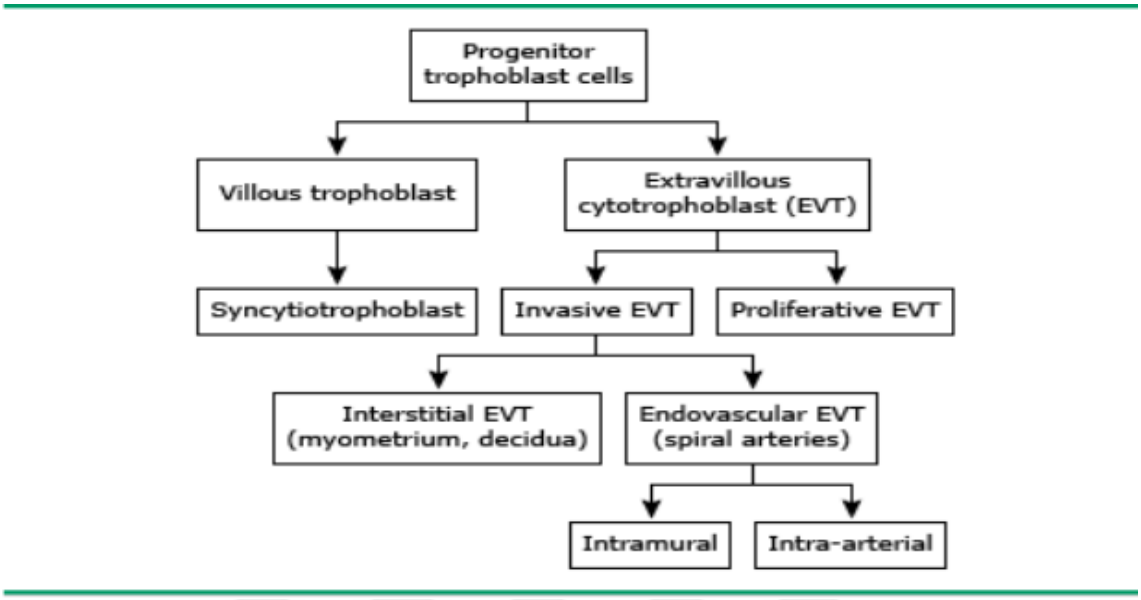
uterusunun spiral arterlerinin duvarında yol açtığı erozyon ile kan intervillöz mesafeye dolar. Bu arada kök villusların uçlarından ayrılan sitotrofoblastlar spiral arterlerin uçlarına invaze olup endotel hücrelerinin yerini alırlar (hybrid damar; anne ve bebeğin hücreleri ile birlikte), (epitel-endoteliyal dönüşüm). Bu dönüşümle küçük çaplı yüksek rezistanslı damarlar büyük çaplı düşük rezistanslı damarlar haline döner. Böylece daha çok miktarda kan intervillöz mesafeye dolar. Daha sonraki aylarda kök villüslerden ayrılan pekçok villüs intervillöz alanda serbestçe yüzer (serbest villüs; yüzen villüs). Dördüncü ayın başında sitotrofoblast ve bağ dokusu hücrelerinden bir kısmı kaybolur. Böylece sadece sinsityotrofoblastlar ve endotel hücreleri maternal ve fetal sirkülasyonu ayırır. Bu tabakada parçalar halinde (sinsityal knob; düğüm) intervillöz mesafeye düşer.

Trofoblast desiduaya daha derin bir şekilde aşındığından, vakuoller döllenmeden sonra 13. günde lakuna oluşturmak için birleşirler. Laküner boşluk sonunda aralıklı boşluk haline gelir.

Gelişimin 13. gününde koryon boşluğu olarak isimlendirilen ekstraembriyonik bir mesafe gelişir. Kavitenin dış bölümünde bulunan sitotrofoblastlar, sinsityotrofoblastlar ve ekstraembriyonik somatic mesoderm birlikte koryon olarak isimlendirilir. En içte yer alan, embriyoyu çevreleyen membranlara amnion denir. Desidua kapsülaris tarafında çok az gelişen koryon, koryon leave (düz koryon) adını alır. Desidua bazalis tarafında ise koryon gelişerek, plasentanın fetal komponenti olan koryon frondozum oluşur. Villüsların tutunduğu koryonun disk şeklindeki bölümüne koryon plağı denir. Fetal yüzde bu gelişim devam ederken endometriumdada önemli değişiklikler izlenir. Gebelik döneminin endometriumuna desidua denir. Endometriumun stromal hücreleri büyük desidua hücrelerine dönüşür. Blastokistin üzerini kaplayan, implantasyon bölgesi ile uterus lümeni arasında kalan desiduaya desidua kapsülaris, implantasyon bölgesi altında kalan desiduaya desidua bazalis ve uterusun geri kalan bölümlerini kaplayan desiduaya desidua parietalis denir. Amnion boşluğunun genişlemesi ile desidua kapsülaris gerilir, incelir, kaybolur. Sonunda koryon leave ile desidua parietalis temas edip birleşir. Koryon boşluğuda kaybolunca amnion boşluğu uterus kavitesini doldurur.

Progenitör sitotrofoblast hücresi plasentanın kök hücresidir. Bu hücreler, villöz sitotrophoblast (sonuçta sinstiotrophoblast (dış hücre tabakası)) veya ekstravillous sitotrophoblast (iç hücre tabakası, ekstravillous trofoblast (EVT) haline gelir) oluşturmak için iki yol boyunca farklılaşarak gebelik boyunca çoğalır. Syncytiotrophoblast, gazların, besinlerin ve atık ürünlerin taşınması ve plasental, fetal ve maternal sistemleri düzenleyen peptit ve steroid hormonlarının sentezi dahil olmak üzere çeşitli işlevlere sahip özel bir epitelyumdur. EVT proliferatif ve invaziv bir bileşene sahiptir.

Gebeliğin dort ve beşinci haftasında EVT, tabanda proliferatif trofoblast ve kolumnun distal kısmında invaziv trofoblast olarak çıkar . Decidua'yı istila eden invaziv EVT'a interstisyel EVT denilir. Spiral arterleri işgal eden ve değiştiren EVT'a endovasküler EVT denir. Endovasküler invazyon (intramural veya arteriyel) vasküler düz kas ve endotelyal hücrelerin değiştirilmesini veya yer değiştirmesini içerir ve dar spiral arterleri geniş uteroplasental arterlere dönüştürür (Resim 4). Dilate spiral arterler ve endometriyal damarlar arasındaki anastomozlar, sonunda kanı laküner sistemin düşük dirençli vasküler ağına dağıtan ve böylece uteroplasental dolaşımı oluşturan maternal sinüzoidleri oluşturur.



Resim 4: Ekstravillöz Trofoblast ve İç hücre Tabakası

İnvazyon esnasında EVT, farklılaşma ve invazyon sürecindeki aşamaları tanımlayan spesifik proteinleri ifade eder. Bunlar arasında integrin, hücre-hücre dışı matris antijenleri, matris metaloproteinazlar (MMP'ler), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF-beta), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve VEGF reseptörleri gibi sinyal transdüksiyon proteinleri ve insülin benzeri büyüme faktörü 2 bulunur.

Desidua ve miyometriyumu invaze etmek için, EVT, MMP ailesinin birkaç üyesini kullanmaktadır. Bu MMP'lerin aktivitesi, doku inhibitörleri (TIMP'ler) tarafından düzenlenir. Desidual hücrelerde ve EVT'lerde tüm MMP'lerin bir inhibitörü olan TIMP-1 ve TIMP-2 bulunmuştur. Hepatosit büyüme faktörü (HGF), met reseptörü ve MMP-9 indüksiyonu yoluyla trofoblast istilasını uyarır. Desidua, trofoblast invazyonunu modüle eden lokal etkili faktörleri (sitokinler, proteaz inhibitörleri) salgılayarak sınır tanımayan EVT invazyonunu önler.

Trofoblastik dış kabuk, uteroplasental damarların uçlarını gebeliğin erken döneminde tıkar, böylece plasenta dokusu gebeliğin çok erken döneminde histiotrofik beslenme ile desteklenen düşük oksijenli bir ortamda gelişir (24-25). Histiotrof, desiduadaki

endometriyal bezler tarafından üretilen ve maternal ve fetal dokular arasındaki boşlukta biriken ekstrasellüler bir materyaldir. Bu material başlangıçta blastosistin trofektoderm, plasentanın trofoblastı ve daha sonra yolk sakın endodermi tarafından fagositozlanır. Bu ortamın gelişmekte olan embriyoyu oksijensiz radikal aracılı teratogenezden koruduğu düşünülmektedir (26).

Altı ila yedi haftalık gebelikten başlayarak tıkaçların ilerleyen ve kademeli olarak parçalanması, daha önce kansız intervillous boşluğa maternal kan akışına izin verir (27), villöz dokuyu yıkar ve böylece hemotrofik beslenmenin (yani, maternal ve fetal dolaşımlar arasında kan yoluyla taşınan maddelerin değişimi) ve intraplasental oksijen konsantrasyonunun üç kat artırılması sağlanmış olur.

Oksijen oksidatif stres oluşturur, bu da bazı gebeliklerde bunaltıcıdır ve düşük yapmaya neden olur (28-30). Oksijen, ayrıca hipoksinin neden olduğu faktör 1 ve TGF-beta-3 gibi (bir istila inhibitörü) transkripsiyon faktörünün ekspresyonu üzerindeki etkileri nedeniyle trofoblast invazyonunun önemli bir düzenleyicisidir. Gebelikte oksijen miktarı düşük olduğunda, bu faktörlerin aktivitesi yükselir, bu nedenle trofoblast invazyonunu teşvik eder. Oksijen miktarı arttıkça, faktörlerin aktivitesi ve buna bağlı olarak trofoblast invazyonu azalır. İn vitro olarak, düşük oksijen gerilimi (hipoksi) EVT yolunda trofoblast farklılaşmasını destekler (31).

3.1.8.3. Villöz gelişim

Plasental gelişimin ikinci haftasında, sitotrophoblastın çekirdeği ile sinstiotrophoblast tabakası, primer mezenkimal villus oluşturmak için laküner boşluğa doğru invagine eder. Daha fazla gelişme ile, villus embriyonik mesodermin bir iç çekirdeğini alır ve ikincil villus haline gelir. 21. güne kadar, embriyonik mezoderm daha sonra göbek kordonu ve embriyoda gelişen damarlara bağlanan ve böylece üçüncül villus oluşturan kan damarlarına ayrılır.

Bazı villuslar maternal desiduaya bağlanır, diğerleri lakuna'da serbestçe yüzer. Embriyonik dolaşım daima bir trofoblast tabakası ile maternal desidua ve kandan ayrılır.

Villöz sitotrofoblast hücreleri, ilk trimester plasental villus etrafında sürekli bir tabaka (Langhans tabakası) oluşturur ve üstteki sürekli sinsityuma, sinstiotrophoblast'a kızı hücreleri bağışlar. Geç gebelikte, az sayıda villöz sitotrofoblast hücresi bulunur. Terimde, sinsitiotrofoblastın yüzey alanı 12 ila 14 m2'dir. Sinsitiotrofoblastın dönüşü, villöz sitotrofoblast ve apoptozun füzyon oranları ile kontrol edilir.

3.1.8.4. Vasküler gelişim

Besin naklini kolaylaştırmak için kan damarları tarafından işgal edilen plasentanın oranı gebelik boyunca artar. İnsan plasental vasküler gelişiminin üç aşaması vardır, bunlar vaskülojenezin ilk aşaması, ardından dallanma ve daha sonra anjiyogenezdir. İki umblikal arter ve ven, korionik plaktan kök villus içine dalış yapmadan once, plasentanın fetal yüzeyinde koryonik plağın vaskülaritesini oluşturan ağlara ayrılır Daha sonra, fonksiyonel değişim birimleri olan terminal villusunun kılcal halkalarında sonlanırlar .

Terminal villerinin her biri, belki de gaz ve besin alışverişi süresini en üst düzeye çıkarmak için direnci ve yavaş kan akışını azaltmak için kılcal halkalar ve nadiren sinüzoidler oluşturan üç ila beş kılcal damar içerir. Hipoksi anjiyogenezi destekler, oksijen de villöz vaskülojenezi düzenler (32).

3.1.8.5. Plasental Dolaşım

Fetal kan umblikal arterlerle plasentaya girer. Bu arterler plasentada ilerleyerek koryonik plağa girip dallanırlar. Bu damarların dalları villuslara girip yaygın bir kapiller damar ağı oluşturur. Gaz ve metebolit değişimi iki kan dolaşımını ayıran ince fetal tabaka boyunca gerçekleşir. Bu bariyeri aşarak fetal dolaşıma giren antijenler fetusta pasif bir immunite oluşmasını sağlarlar. Fetal kan umblikal venleri geri döner.

Maternal kan bazal plağa giren spiral umblikal arterler aracılığıyla plasentaya ulaşır. Spiral arter kanı intervillöz mesafenin tabanına akar. Bu alandaki kan dakikada 3-4 kez değişir. Kan villusların üzerine çıkınca gaz ve metebolitlerin değiimi gerçekleşir. Su, karbondioksit, artık ürünler ve hormonlar fetal kandan maternal kana geçerken ; su, oksijen, metebolitler, elektrolitler ,vitaminler, hormonlar ve bazı antikorlar fetal dolaşıma geçer. Plasenta bariyeri zararlı pekçok ajana karşı koyamaz. Bu nedenle annenin kullandığı ilaçlar, maruz kaldığı zararlı ajanlardan, virüslerden bebekte etkilenmektedir.

Plasenta steroid yapısında hormonlar, peptidler, prostoglandinler gibi pek çok maddeyi sentezleyerek kan dolaşımına salgılayan endokrin bir organdır. Başlangıçta östrojen ve progesterone kaynağı korpus luteum olmakla beraber, gebeliğn ilerlemesi ile birlikte bu işlev plasentaya devredilir. Östrojen ve progesteronlar gebeliğin devamı için gerekli primer hormonlardır. Adrenal korteks plasentada bulunmayan enzimler sayesinde östrojen prekürsörlerini sentezleyerek östrojen yapımına önemli bir katkıda bulunur. Plasentada 6. Günden itibaren salgılanan Hcg gebelik tanısında kullanılan önemli bir belirteçtir. Bu madde TSH 'a benzerliği sayesinde fetüsün tiroidinden T4 salınımını uyarır. Tiroid hormonları fetal geliim için son derece önemlidir. Plasentadan koryonik somatomamotropin (insan plasental laktojen), endotelyal büyüme faktörü, relaksin, fibroblast büyüme faktörü, koloni stimuli edici factor, interlökin, leptin gibi pekçok önemli molekül salgılanır.

3.1.8.6. Fetoplasental Dolaşım

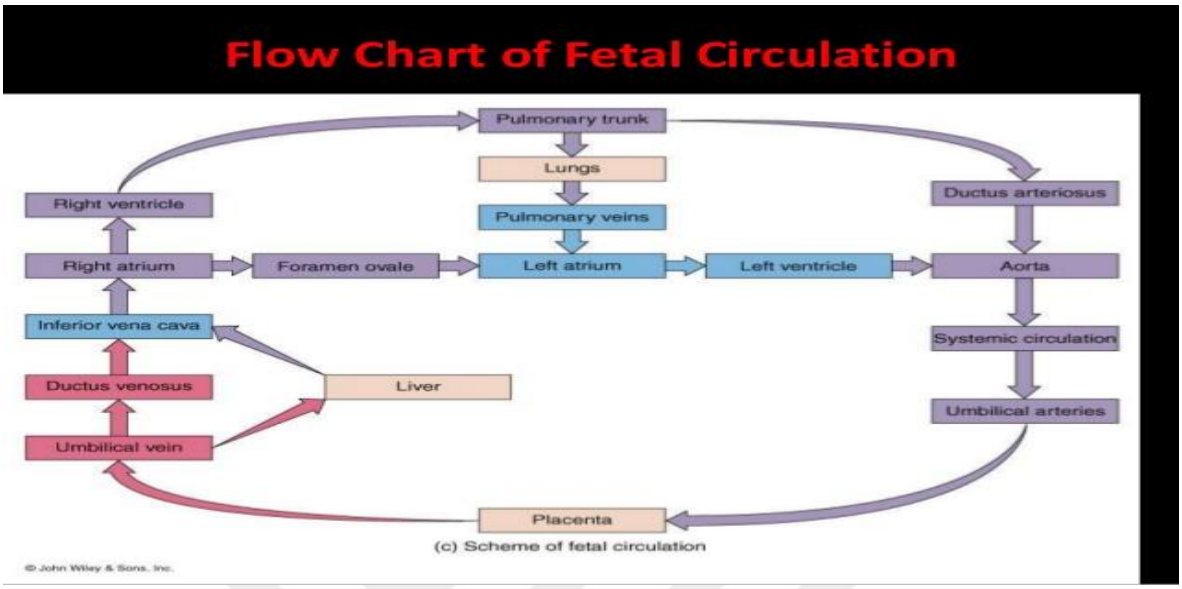
Başlangıçta embriyo gaz ve gıda maddelerinin basit difüzyonu ile beslenir. Embriyo 200-400 mgr olunca difüzyon yetersiz kalır dolaşım sistemi mezodermden oluşmaya başlar. 10-12.günde uteroplasental sirkülasyon başlar. 20.gün primitif kalp tübüler yapı şeklindedir. 21.gün kardiak halka, primitif atrium ve ventrikül oluşur. 4-5. hafta 4 odacıklı kalp oluşmaya başlar. 20-22. gün kalp atımları oluşur. 26-28. gün kalp dolaşımı ortaya çıkar .

- Fetal dolaşımdaki 3 şant (Resim 5),

1-Ductus Arteriosus

2-Ductus Venosus

3-Foramen Ovale



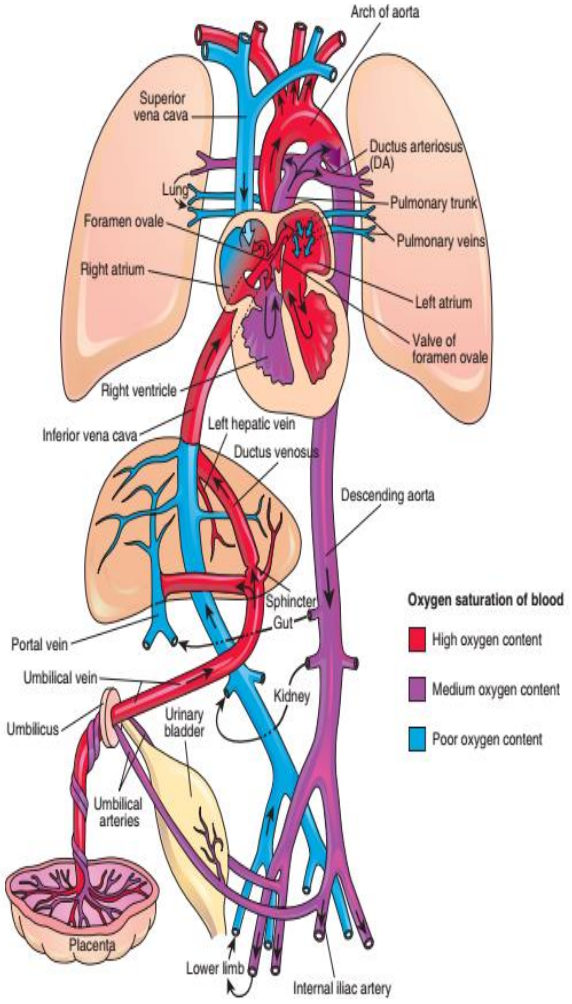
Resim 5: Fetal Dolaşımda Kan Akımı (John Wiley&Sons. Inc)

VCİ'e 2 farklı kan akımı olur (Resim 6).

a) Ductus Venosusun getirdiği oksijen içeriği yüksek olan hızlı akımlı kan
b) Portal sinüslerden gelen yavaş akımlı kan

Umblical ven PaO2:30-35 mmHg, %50'si direk ductus venosus kanalıyla Vena Cava İnferior (VCİ)'e gelir, %50'si hepatik dolaşıma girer. VCİ'e alt extremiteden, abdomen ve pelvis'ten oksijenlenmesi az kan gelir. VCİ'den gelen kan septum sekundumun tavanında krista dividens aracılığıyla foramen ovaleden sol atriuma geçer. Bir kısmıda VCS'dan gelen kötü oksijenlenmiş kanla karışarak sağ ventriküle geçer. Bu kan orta derecede oksijenize bir kan olup pulmoner trunkus ile kalbi terk eder. Baş, boyun, üst ext.; çıkan aortadan iyi oksijenlenmiş kanı alır. Sağ atriuma dönen (Vena Cava Süperior) VCS PaO2: 12-14 mmHg. Bu kan tercihen sağ ventriküle geçer. Sağ ventrikülden akciğere pulmoner arter yoluyla yaklaşık %10' u geçer. Bu kanın büyük bir kısmı ductus arteriosus yoluyla inen aortaya bir kısmıda 2 umblical arter yoluyla plasentaya döner. Ductus arteriosus akciğerleri fazla yüklenmeden korur. İntrauterin hayatta yüksek pulmoner vasküler dirençten dolayı pulmoner kan akımı düşüktür. Ascenden aortadaki kanın %10'u inen aortaya geçer. İnen aortadaki kanın %65'i umblikal artere geçer ve

ordan reoksijenizasyon için tekrar plasentaya geçer. %35'ide vücudun alt bölümünü besler. Bu şekilde fet-plasental dolaşım tamamlanmış olur.



Resim 6: Fetoplasental Dolaşım (sciencedirect.com)

3.2. Preeklampsi

3.2.1. Giriş ve tanımı

Preeklampsi, daha önce normotansif bir kadında 20 haftalık gebelikten sonra yeni bir hipertansiyon başlangıcı ve proteinüri veya hipertansiyon ve proteinüri ile birlikte veya proteinürisiz ciddi end organ disfonksiyonunu ifade eder. Ayrıca doğum sonrası da gelişebilir. Şiddetli hipertansiyon veya belirgin son organ yaralanması belirtileri/ semptomları, hastalık spektrumunun şiddetli sonunu temsil eder

2013 yılında Amerikan Kadın Doğum Uzmanları ve Jinekologlar, preeklampsi tanısı için temel bir kriter olarak proteinüriyi çıkardılar (hipertansiyon artı önemli son organ disfonksiyonu belirtileri tanı için yeterlidir). Ayrıca kitlesel proteinüri (5 g / 24 saat) ve fetal büyüme kısıtlamasını ciddi hastalığın olası özellikleri olarak çıkardılar çünkü masif proteinüri sonuçla zayıf bir korelasyona sahiptir ve fetal büyüme kısıtlaması preeklampsi teşhisi konulsun veya konulmasın benzer şekilde yönetilir. Oligüri, ağır hastalığın bir özelliği olarak da çıkarıldı.

3.2.2. Preeklampsi ve fetal büyüme kısıtlaması

Trofoblast farklılaşmasında değişiklikler çeşitli patofizyolojik durumlarda ortaya çıkar ve preeklampsi ve fetal büyüme kısıtlaması (FGR) gibi gebelik bozukluklarında ortaya çıkabilir.

Preeklampsi ve FGR, EVT invazyonun endovasküler alanı invazyon kusuru vardır, bazı spiral arterlerin hiç işgal edilmediği ve bazılarının yüzeysel olarak işgal edildiği, spiral arterlerin normal fizyolojik adaptasyon eksikliğine yol açar. Bu durumda intervillous boşluğa kan akımını azaltır ve buna bağlı hipoksi / iskemi oluşur. Bununla birlikte, interstisyel EVT yoğunluğu preeklamptik gebelikte farklı değildir. Normal gebelikte minimal EVT apoptozu görülür, ancak hücrelerin yüzde 15-50'si preeklamptik gebelikte apoptotiktir, bu da spiral arter çevresindeki makrofajlarla ilişkili bir bulgudur (33).

Kusurlu trofoblastik invazyon mekanizması, protein ekspresyonundaki kusurları içerebilir. Örneğin integrin ekspresyonu ve artmış TGF-beta ekspresyonu trofoblast invazyonunun inhibe edilmesinde rol oynar gibi görünmektedir (34). Ek olarak preeklamptik gebeliklerden trofoblast daha az HGF üretir ve anti-HGF antikoru HGF'nin neden olduğu invazyonları bloke eder (35).

Preeklamptik kadınlarda genelleştirilmiş endotelyal disfonksiyonu destekleyen laboratuvar bulguları şunları içerir:

- Dolaşımdaki hücresel fibronektin, faktör VIII antijeni ve trombomodulin konsantrasyonlarında artış (36-38).
- Bozulmuş kan akımı aracılı vazodilatasyon (39-40)ve bozulmuş asetilkolin aracılı vazorelaksasyon (41).
- Nitrik oksit ve prostasiklin gibi endotel kaynaklı vazodilatörlerin üretiminin azalması ve endotelin ve tromboksan gibi vazokonstriktörlerin üretiminin artması.
- Anjiyotensin II'ye artmış vasküler reaktivite (42).
- Preeklamptik kadınlardan alınan serum bazı in vitro çalışmalarda insan göbek veni endotel hücre kültürü çalışmalarında endotel aktivasyonuna neden olur (43).
- Endotel fonksiyon bozukluğu, preeklamptik gebelikten üç yıl sonra brakiyal arter akım aracılı dilatasyon ile gösterilebilir (44). Bunun preeklamptik gebeliğin nedeni veya etkisi olup olmadığı bilinmemektedir.

Soluble fms benzeri tirosin kinaz 1 (sFlt-1), doğal olarak ortaya çıkan, vasküler endotelyal büyüme faktörünün (VEGF) dolaşım antagonistidir. VEGF, anjiyogenezin teşvik edilmesinde kilit bir role sahip olan endotelyal spesifik bir mitojendir (45-46). Plasental büyüme faktörü (PIGF), ağırlıklı olarak plasentada yapılan VEGF ailesinin bir başka üyesidir. Ayrıca VEGFR-1 reseptörüne de bağlanır. sFlt-1, VEGF ve PIGF'nin dolaşımdaki proanjiyojenik biyolojik aktivitesini, bunlara bağlanarak ve endojen reseptörleri ile etkileşimlerini önleyerek antagonize eder. Plasental ekspresyonun ve sFlt-1'in salgılanmasının, aşağıdaki gözlemlere dayanarak preeklampsi patogenezinde merkezi bir rol oynadığı görülmektedir (47-56):

- Gebe sıçanlara uygulanan sFlt-1, albüminüri, hipertansiyon ve glomerüler endotelyozun benzersiz renal patolojik değişikliklerini indükler .
- İn vitro olarak, sFlt-1'in preeklamptik doku kültürünün süpernatanlarından uzaklaştırılması endotel fonksiyonunu ve anjiyogenezi normal seviyelere getirir. Tersine, VEGF ve PIGF'nin eksojen uygulaması, aşırı sFlt-1'in neden olduğu antianjiyojenik durumu tersine çevirir.

- Normotansif kontrollerle karşılaştırıldığında, preeklamptik kadınlarda dolaşımdaki sFlt-1 seviyeleri artar ve serbest VEGF ve serbest PIGF azalır. Bir çok çalışma , preeklamptik kadınların klinik hastalığın başlamasından çok önce PIGF ve VEGF düzeylerinde azaldığını gösterdi.

3.3. Sigara

Hamilelik sırasında sigara içmek, dumansız tütün ve elektronik sigaralar (e-sigaralar) dahil olmak üzere tütün ürünlerinin kullanılması, olumsuz maternal, fetal ve neonatal sonuçlarla ilişkili en önemli değiştirilebilir risk faktörlerinden biridir.

Maternal sigara içimi ile ilişkili olumsuz gebelik sonuçlarını açıklayan çeşitli mekanizmalar gözlemlenmiştir veya önerilmiştir. Bunlar bozulmuş fetal oksijenasyon, değişen fetal gelişim ve fizyolojik tepki ve toksin maruziyetini içerir. E-sigara kullanımıyla ilişkili mekanizmalara ilişkin veriler, şu anda esas olarak hayvan modellerinden elde edilmektedir (57-58).

Hamilelikte sigara içmek, çeşitli olası mekanizmalar ile fetüse oksijen iletiminin bozulmasına neden olur. Sigara içenlerin plasentalarının patolojik değerlendirmeleri, sigara içmeyenlere kıyasla kılcal hacim fraksiyonunda azalma ve villöz membranın kalınlığının artması dahil yapısal değişiklikler göstermiştir (59-61). Bu faktörlerin her ikisi de plasenta içindeki anormal gaz değişimine katkıda bulunabilir. Sigara dumanına maruz kalma da muhtemelen nikotine bağlı vazospazm yoluyla aralıklı perfüzyonu akut olarak azaltır (62). Sigara sırasında karbon monoksit salınımı, sistemik ve fetal oksijen iletimi üzerinde çoklu etkileri olan karboksihemoglobin oluşumuyla sonuçlanır. Karboksihemoglobin, fetal dolaşımdan yavaşça temizlenir ve oksihemoglobin ile rekabetçi inhibisyon ve oksihemoglobin ayrılma eğrisinin sola kayması yoluyla doku oksijenlenmesini azaltır. Ayrıca, sigara ile indüklenen oksidatif stres, mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin ve nitrik oksidin plasental üretimini artırabilir (63). Nitrik oksit, plasenta fonksiyonuna zarar verebilen peroksinitrit üretmek için süperoksit radikalleri ile reaksiyona girer.

Fetal oksijen dağıtımını bozmanın yanı sıra, hamilelik sırasında nikotin kullanımı fetal gelişimi etkiler. Hayvan modellerinde nikotin vasküler direnci arttırır ve uterus kan akışını azaltır (64-65). Bu modellerde nikotine kronik prenatal maruz kalma, beyindeki nörokimyasal aracıların anormal sekresyonuna ve ayrıca yavrular arasında patolojik davranışa neden olur (66). Ayrıca hayvan modelleri, nikotinin nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR) ile etkileşime bağlı olarak akciğer gelişimini doğrudan bozabileceğini düşündürmektedir (67). Sonraki bir çalışmada, nikotinin hamile al yanaklı maymunlara sürekli subkütan infüzyonu akciğer ağırlığında ve hacminde anlamlı azalmaya ve hava yolu direncinde artışa neden olmuştur (68). Prenatal nikotin maruziyeti koyunlarda postnatal hipoksemiye verilen kardiyovasküler yanıtı da köreltebilir (69). Benzer şekilde, doğumda belirgin nikotin düzeyleri olan insan bebekleri, yaşamın ilk dört saati boyunca kalp atış hızlarını en üst düzeye çıkarma ve değiştirme yeteneğine sahip olmak zorundadır (70).

Nikotinin ötesinde, sigara içmek anne ve fetusu çoklu potansiyel toksinlere maruz bırakır. Sigaralarda amonyak, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, hidrojen siyanür, vinil klorür ve azot oksit gibi 2500'den fazla doğrudan toksik madde bulunmaktadır (71). Ayrıca, genel tütün dumanında, tütün sütunundan çekilen ve şişirme sırasında ağızlıktan çıkan 4000'den fazla kimyasal vardır. Tütün dumanında yayılan bileşik sayısı aslında 100.000'i aşabilir (72). Bu toksine maruz kalma, fetal genetik materyale doğrudan zarar verebilir. Bir çalışma, sigara içen ve içmeyenlerden amniyositlerin kromozomal instabilitesini karşılaştırdı ve düzenli olarak sigara içen kadınlar arasında yapısal kromozomal anormallik insidansının arttığını kaydetti (sırasıyla %12'ye karşı %3,5) (73).

Son olarak, nikotine maruz kalmak, fetal kalp hızının hızlanmasına ve fetal solunum hareketinde bir azalmaya yol açan sempatik aktivasyon ile sonuçlanır. Bu değişikliklerin sonuçları iyi anlaşılmasa da, bu parametrelerin her ikisi de antenatal fetal değerlendirme testlerinde fetal iyilik hali göstergeleri olarak kullanılır.

Meta-analiz çalışmasında, maternal sigara içmenin preeklampsi riskinde anlamlı bir azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir (OR 0.51,% 95 GA 0.37-0.63) (74). Bu azalma

tüm maternal (Body Mass İndex) BMI kategorilerinde meydana gelir (75). Bu fayda, hamilelik sırasında sigara ile ilişkili çoklu tıbbi ve obstetrik risklerden daha ağır basmaz. Bir in vitro deney temelinde, mekanizma sigara dumanının sFlt-1 azaltması ve preeklampsi geliştiren kadınlarda görülen değişikliklerin tersi olan PIGF arttırması olabilir (76).

3.4. Ezrin-Radixin-Moesin protein expresyonları

Ezrin öncelikle hücre iskeleti bileşeni olarak izole edildi ve çok çeşitli hücre kültürlerinde aktin içeren hücre yüzeyi yapıları ile zenginleştirildiği bulunmuştur.

İmmünoelektron mikroskopi ile belirlendiği üzere mikrovillusun plazma membranı ile yakın ilişkisi, ezrinin aynı zamanda bir mikrofilament-membran bağlayıcı protein olduğunu gösterdi. Bu veriler, N-terminal-300 ezrin rezidülerinin bir membran bağlanma alanı belirlediği ve geri kalan -285 rezidülerinin, hücre iskeletine bağlanma ile ilgili bir bölge içerdiği hipotezine yol açtı.

Ezrin, diğer iki protein, radixin ve moesin ile yaklaşık% 75 aynı sekansta tanımlanır ve ERM ailesi olarak bilinir. ERM ailesinin sitoskeletal membrane protein ailesi olduğu bilinir (77).

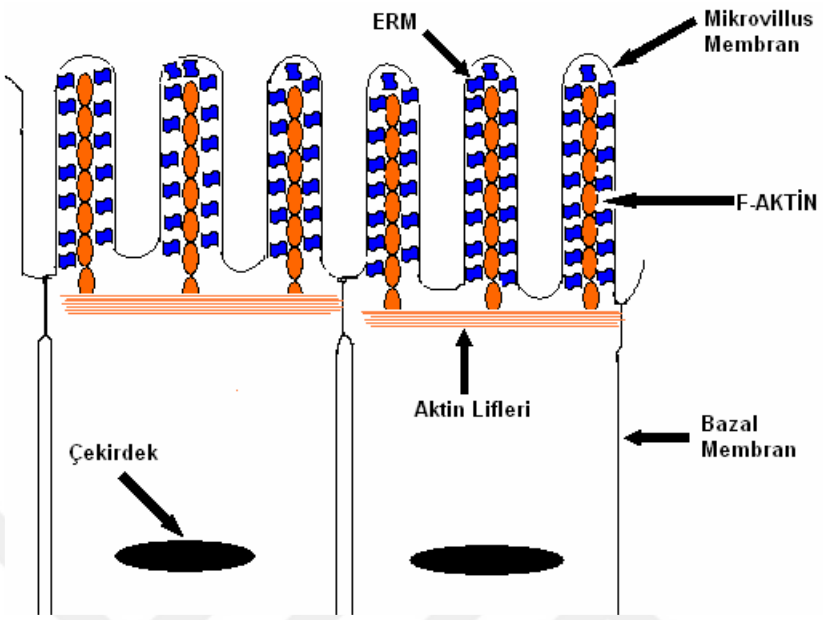
ERM ailesi, birbiri ile yakından iliskili 3 proteinden olusur: ezrin, radiksin, moesin . ERM proteinleri, plazma membran proteinleri ve aktin hücre iskeleti arasında bir bağlanma sağlar. Bu proteinler, mikrovilluslarda, membran kırılmalarında (membrane ruffles), hücre-hücre birlesmeleri ve hücrelerin bölünmesi sırasında membranda yoğunlasmaktadır (78-79). ERM proteinleri Caenorhabditis elegans'tan insana kadar birçok organizmada ve ökaryotik hücrelerde bulunur. Bu proteinler mayalarda bulunmaz, özellikle çok hücreli organizmalarda sentezlenirler (80). ERM proteinlerinden ezrin ilk olarak bağırsak mikrovillus hücre iskeletinin izolasyonunda küçük bir bilesik gibi tarif edilmistir (Resim 7) (81). İnsan endojen retroviral (herv-1) hücrelerinde yapılan bir çalısmada ise sitovillin olarak isimlendirilen bir protein bulunmustur (81-83). Daha sonra bu proteinin ezrin ile aynı olduğu gösterilmistir(85-86). 1980'lerde radiksin, fare karaciğerinde adherent birlesmeleri (adherence junction)

olusturan bir protein olarak tanımlanmıstır(Resim 8) (87). Moesin ise ilk defa sığır uterus düz kas hücrelerinde heparin bağlayıcı bir protein olarak tarif edilmiştir (87-88). Bu üç proteinin aminoasit sekansları oldukça benzerlik gösterir (%70-85) ve birlikte ERM ailesini olustururlar. Bu aile ile ilgili ve nörofibromatosiz tip 2 tümör baskılanmasından sorumlu olan diğer molekül ise merlin ya da schwannomindir (89-91). 66kDa olan bu protein, %49 oranında ezrinle benzerlik göstermektedir.

3.4.1. ERM proteinlerinin lokalizasyonu

ERM proteinlerinden olan ezrin, ince bağırsakta, midede, akciğerde ve böbreklerde oldukça yüksek konsantrasyonlarda bulunurken moesin, akciğer ve dalakta, radiksin ise karaciğer ve ince bağırsakta bulunur (92-93). Ezrin, epitel ve mezotelyal hücrelerinde, moesin ise endotel hücrelerinde sentezlenir(79). İnce bağırsağın epitel hücrelerinin fırçamsı kenarlarında yalnızca ezrin ve hepatositlerde yalnızca radiksin bulunur(94). Hücre içinde ERM, mikrovillus, filopodia ve membran kırılmaları gibi aktince zengin yüzey yapılarında yoğunlasmıstır.

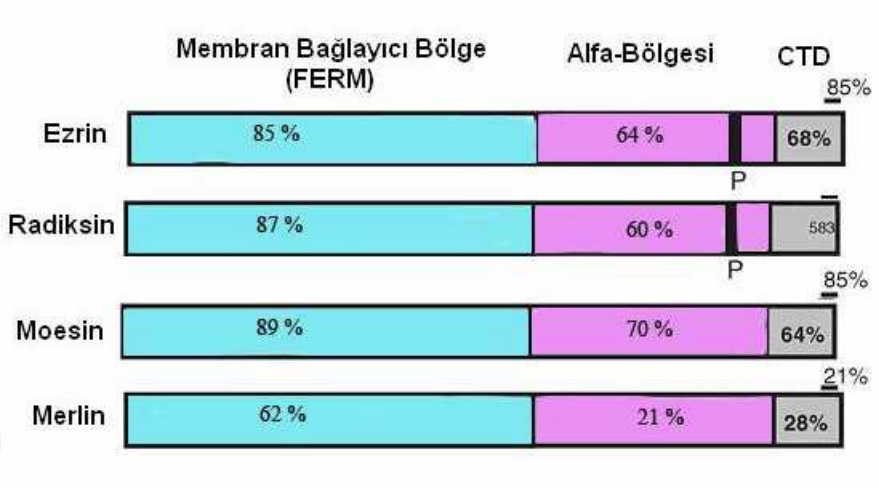
İmmunoelektron mikroskobi çalısmaları ezrinin özellikle mikrovilluslarda lokalize olduğunu ve mikrovillusun kapalı çukurcukları arasındaki bölgelerde bulunmadığını göstermistir (79). İnsan plasental sinsitiyotrofoblastların mikrovilluslarında ezrinin oldukça yüksek konsantrasyonlarda lokalize olduğu bulunmustur (79). Radiksinin lokalizasyonu ezrin ve moesinden biraz farklıdır. Radiksin adherent bağlanmada rolü olan proteinler gibi tanımlanır.



Resim 7: ERM Proteinlerinin Mikrovillus Membranında Lokalizasyonu (81)

3.4.2. ERM proteinlerinin yapısı

Ezrin, kromozom 6 da moesin kromozom X'te ve radiksin kromozom 11 de haritalanmıstır. ERM, N-terminal de FERM olarak isimlendirilen ve ~300 aminoasitten olusan lipid ve membran bağlayıcı bölge, merkezde kvrılmıs kıvrım formundaki α-helikal bölge ve C-terminalde ~100 aminoasitten olusan F-aktin bağlayıcı bölge olmak üzere üç bölgeden olusmaktadır. FERM bölümü F1, F2, F3 olmak üzere üç alt bölgeden ibarettir (95).



Resim 8: ERM (ezrin/ radiksin/ moesin) Proteinlerinin Yapısı (87)

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Plasentaların Elde Edilmesi ve Dokuların Takibi

Çalışmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğine yatan 30 normotensif hastanın plasentaları (15 adet sigara içmeyen ve 15 adet sigara içen) ve 30 preeklampsi tanısı almış hastanı plasentalarından (15 adet sigara içmeyen ve 15 adet sigara içen) histolojik takip için plasenta örnekleri alındı. Kronik ve sistemik hastalığı olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Kan basınçları yüksek seyreden gebe hastalardan sistolik>140 mm/Hg ve diastolik>90 mm/Hg olanlar ve proteinürisi 300mg/24 saat olanlar preeklamptik hasta olarak değerlendirildi. Plasental doku örnekleri %10'luk nötral buffered formalin solüsyonuna alındı ve hastaların hikayesine göre sigara içen ve içmeyen kontrol/preeklampsi olarak etiketlendi. Tüm dokular rutin paraffin doku takibine alındı. Fiksasyon (24 saat) işleminden sonra dokular yıkama (1 gece), artan alkol serileri (%50, %70, %80, %90, %96 ve absolü etil alkol serilerinden geçirilecek) ve şeffaflaştırma (ksilende 3x30 dakika) işlemlerinin ardından 58°C' de parafin infiltrasyonuna alındı. Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü ve mikrotom (katalog no: Leica RM2265, Wetzlar, Germany) yardımıyla bloklardan Hematoksilen-Eozin ve immünohistokimyasal boyamalar için 4-6 μm kalınlığında kesitler alındı.

4.2. Hematoksilen-Eozin Boyama

Parafin bloklardan alınan plasental doku kesitleri 37°C'ye ayarlanmış benmariye alındı. Lam üzerinde fazla parafini eritmek için kesitler 58-62°C etüvde 6 saat boyunca bekletildi. Kesitler 3x15 dakika ksilende deparafinize edildi. Kesitler azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70, %50 etil alkol) 10'ar dakika geçirildi ve distile suya getirilerek 5 dakika bekletildi. Harris Hematoksilen boyasında 8 dakika bekletildikten sonra kesitler akar su altında 5 dakika yıkandı. Kesitler durulandı ve alkolik eozin boyasında 6 dakika bekletildi. Kesitler artan alkol serilerine (%80, %90, %96 etil alkol serilerinden geçirilerek) hızlıca daldırıldı ve absolü alkolde 2 dakika bekletildi. Son olarak kesitler 3x15 dakika ksilende bekletildi ve doku üzerine Entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

4.3. İmmünohistokimyasal Boyama

Parafin bloklardan alınan kesitler 37°C' ye ayarlanmış benmariye ve buradan polilisinli lamlara alındı. Lam üzerinde fazla parafini eritmek için kesitler 58-62°C etüvde 6 saat boyunca bekletildi. Kesitler 3x15 dakika ksilende deparafinize edildi. Kesitler azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70, %50 etil alkol) 10'ar dakika geçirildi ve distile suya getirilerek 5 dakika bekletildi. Kesitler fosfat tampon solüsyonunda (PBS) 3x5 dakika yıkandı. Kesitler EDTA buffer solüsyonuna (pH:8.0, katalog no: ab93680, Abcam, Cambridge, USA) alındı ve ısı-indüklü epitope retrieval işlemi gerçekleştirildi. 20 dakika oda sıcaklığına bırakılan kesitler tekrar PBS'e alındı. Kesitler immunohistokimya barına dizildi, barın nemliliğini ve sıcaklığı kontrol edildi. Kesitlere hidrojen peroksit solüsyonu (katalog no: TA-015-HP, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) damlatılıp 20 dakika inkübe edildi. Ardından PBS ile 3X5 dakika yıkama yapılıp, Ultra V Block (katalog no: TA-015-UB, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) solüsyonunda 7 dakika bekletildi. Kesitler, anti-ezrin (katalog no:e8897, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 82024 Taufkirchen, Germany), anti-moesin (katalog no:m7060, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 82024 Taufkirchen, Germany) ve anti-radixin (katalog no:r3653, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 82024 Taufkirchen, Germany) antikorları ile bir gece +4°C'de overnight edildi. Ertesi gün kesitler oda sıcaklığına bırakılarak 30-60 dakika bekletildi. PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine biotinli sekonder antikor (katalog no:TP-015-BN, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) damlatılıp 14 dakika kadar inkübe edildi. Daha sonra streptavidin-peroxidase (katalog no:TS-015-HR, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) damlatılıp 15 dakika beklendikten sonra PBS ile yıkama yapıldı. Yıkanan kesitlerin üzerine Diaminobenzidin (DAB) (katalog no: TA-001-HCX, ThermoFischer, Fremont, CA, USA) damlatılıp reaksiyon mikroskop altında izlendi ve PBS ile durduruldu. Harris hematoksilen ile zıt boyama yapıldıktan sonra kesitler entellan (katalog no:107961, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States) ile kapatılıp, Zeiss Imager A2 fotomikroskobunda değerlendirilip görüntülendi.

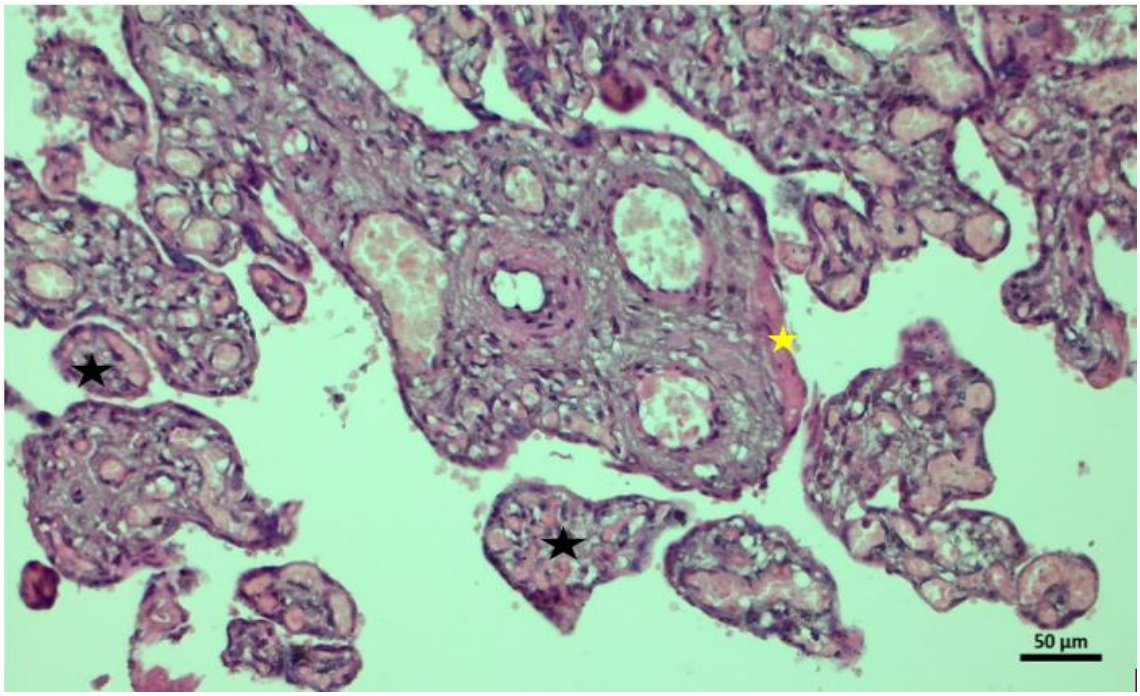
4.4. Western Blot Protokolü

Hazırlanan lizatlar elektroforezde yürütülmeden önce SDS-Page hazırlandı. Resolver ve stacker jeller hazırlanırken TGX Stain-Free™ FastCast™ Acrylamide Solution (BioRad) kiti kullanıldı. Kit içeriğinde bulunmayan APS ve TEMED en son eklendi. Stacker jel yükleme tankına aktarılırken 15'lik tarak jelin içerisine yerleştirildi. Her jel hazırlanırken bir önceki jelin polymerize olması için 30 dakika süreyle oda ısısında bekletildi. Jellerin polymerize olmasını takiben tarak çıkartıldı ve ilk kuyucuğa 4µl marker, diğer kuyucuklara 25 µg total protein yüklendi. Proteinlerin jel kuyucuklarına yüklenmesini takiben 20 dakika jelde yürütme işlemi gerçekleştirildi. Elektroforez sonrası jelde yer alan protein methanolde aktifleştirilen PVDF membrane aktarıldı. Membrana aktarım için TGX Stain-Free™ FastCast™ Acrylamide Solutions (BioRad) kiti kullanıldı. Transfer işlemi yarı ıslak yöntemi ile gerçekleştirildi ve aktarım Trans-Blot Turbo transfer sistemi ile gerçekleştirildi. Membrana transfer sonrası örnekler PBST'de 1x15 ve 3x5'er dakika süreyle yıkandı. Yıkama sonrası 1 saat süreyle 5% yağsız süt tozu ile blokaj yapıldı. Bloklama sonrası membran, β-actin, Ezrin Radiksin ve Moesin antikorları 1:1000 oranında dilüe edildi ve membran oda ısısında 2 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Daha sonra membran PBST'de 1x15 ve 3x5'er dakika süreyle yıkandı. Yıkama sonrası membran anti-Rabbit 1:10000 dilüsyonda sekonder antibody ile oda ısısında 1 saat inkübe edildi. Sekonder antikor uygulaması sonrası membran PBST'de 1x15 ve 3x5'er dakika süreyle yıkandı. Bantların tespiti için membran ECL susbtrat ile 4 dakika süreyle inkübe edildi ve cihazda okuma gerçekleştirildi. Görüntüleme yapılan bantların resimleri çekildi. Ayrıca her primer antikor uygulaması öncesinde NaOH içerisinde stripleme gerçekleştirildi.

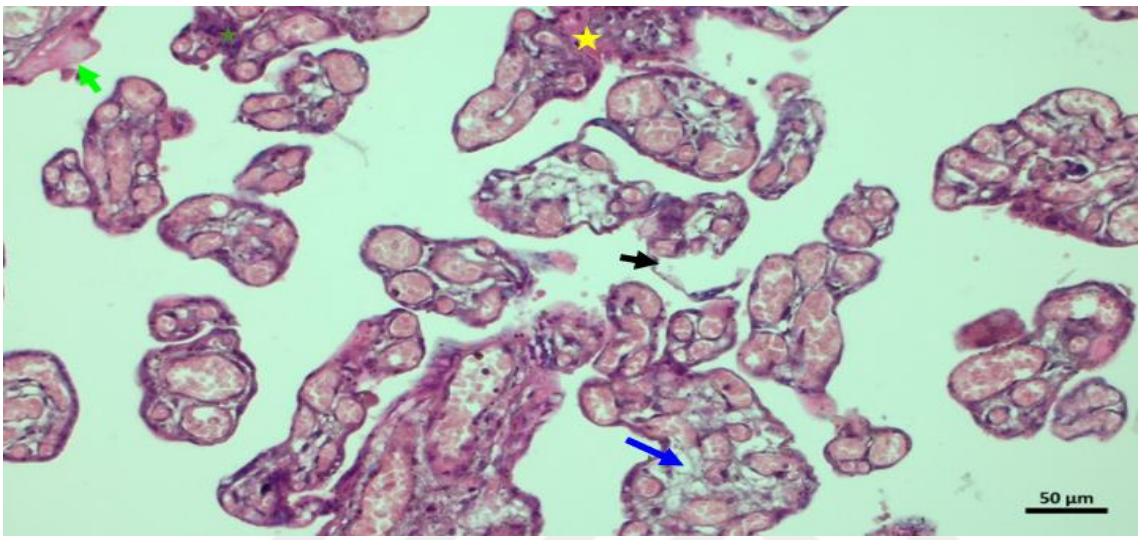
5. BULGULAR

5.1. Histopatolojik Bulgular

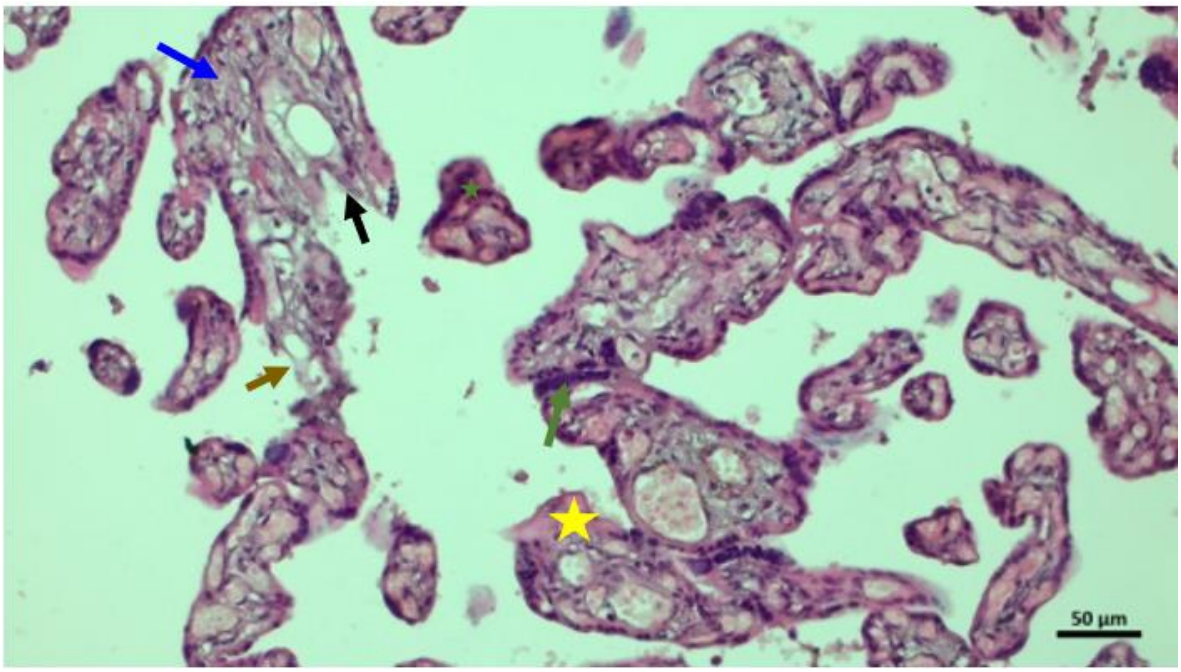
Sigara içmeyen kontrol plasenta kesitlerinde, büyük villuslar yapısal olarak normal görünümde izlendi. Kapiler damarlarının çapları normal, trofoblast hücrelerinin ogranizasyonu düzenli idi. Minimal fibrinoidle beraber yüzen villusların ve villöz stromal alanın da normal olduğu izlendi. Sigara içen kontrol plasenta kesitlerinde bazı villusların normal bazılarında düzensizlik görüldü. Stromal alanlarda ise yapısal bozukluklar ve minimal fibrinoid izlendi. Sinsityal düğümlerde artış ve villuslarda hiyalinizasyon izlendi. Sigara içmeyen preeklampsi plasenta kesitlerinde villusların yapılarının bütünlüğünü kaybettiği gözlendi. Stromal alanlarda dejenerasyon, sinsityal düğüm ve köprülerde artış izlendi. Sinsityotrofoblastik hücrelerde yer yer kopuntular , villuslarda hiyalinizasyon ve fibrinoid alanlar izlendi.Sigara içen preeklampsi plasenta kesitlerinde villuslarda dejenerasyon gözlendi. Stromal alanlarda yapısal düzensizlik, sinsityal düğüm ve köprülerde artış izlendi Sinsityotrofoblastik hücrelerde piknosis izlendi.



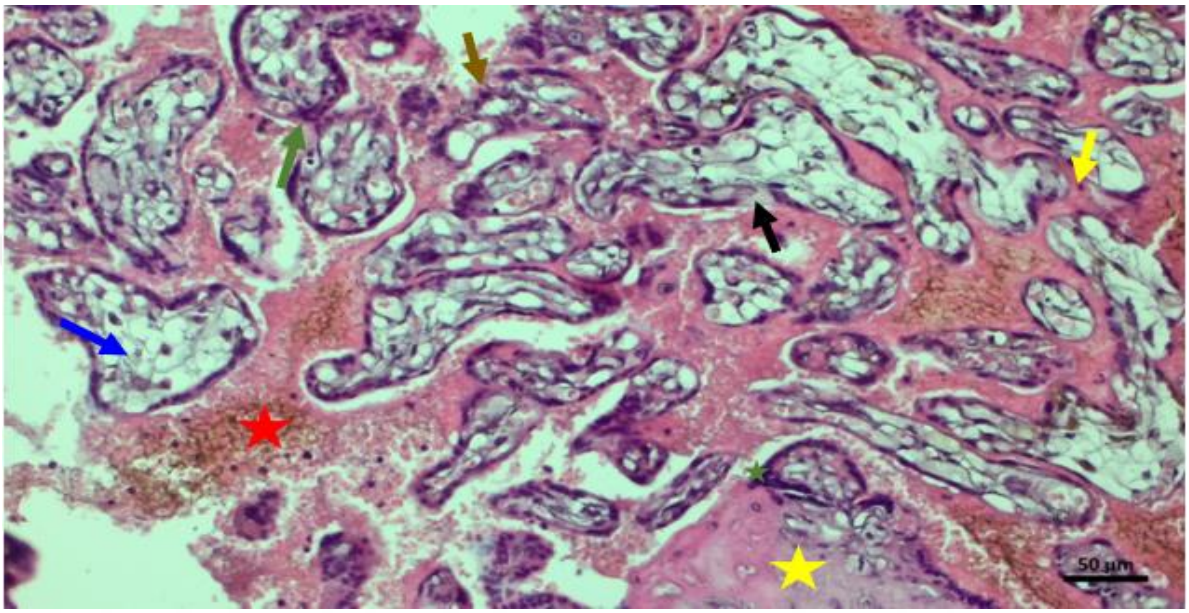
Şekil 1: Sigara içmeyen kontrol plasenta kesitlerinde, büyük villuslar yapısal olarak normal görünümde izlendi. Kapiler damarlarının çapları normal, trofoblast hücrelerinin ogranizasyonu düzenli idi. Minimal fibrinoidle (sarı yıldız) beraber yüzen villusların (siyah yıldız) ve villöz stromal alanın da normal olduğu izlendi (H-E,Bar:50 µm).



Şekil 2: Sigara içen kontrol plasenta kesitlerinde bazı villusların normal bazılarında düzensizlik (siyah ok) görüldü. Stromal alanlarda ise yapısal bozukluklar (mavi ok) ve minimal fibrinoid (sarı yıldız) izlendi. Sinsityal düğümlerde artış (yeşil yıldız) ve villuslarda hiyalinizasyon (yeşil ok) izlendi (H-E,Bar:50 µm).



Şekil 3: Sigara içmeyen preeklampsi plasenta kesitlerinde villusların yapılarının bütünlüğünü (siyah ok) kaybettiği gözlendi. Stromal alanlarda dejenerasyon (mavi ok), sinsityal düğüm (yeşil yıldız) ve köprülerde artış (yeşil ok) izlendi. Trofoblastik hücrelerde yer yer kopuntular (kahverengi ok), villuslarda hiyalinizasyon ve fibrinoid alanlar (sarı yıldız) izlendi (H-E,Bar:50 µm)..



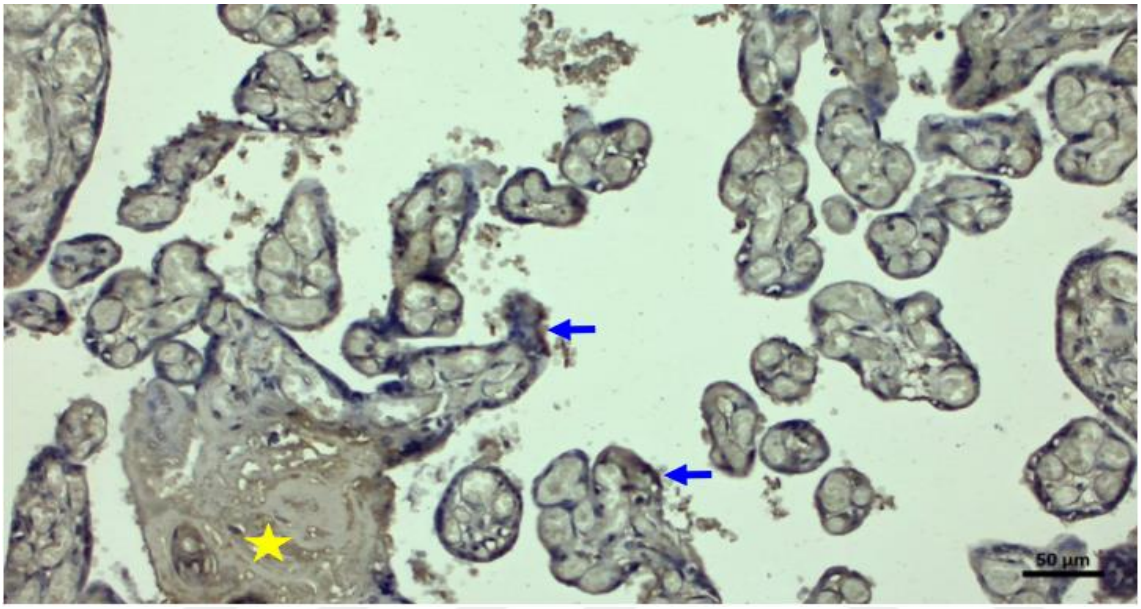
Şekil 4: Sigara içen preeklampsi plasenta kesitlerinde villuslarda dejenerasyon (siyah ok) gözlendi. Stromal alanlarda yapısal düzensizlik (mavi ok), sinsityal düğüm (yeşil yıldız) ve köprülerde artış (yeşil ok) izlendi. Trofoblastik hücrelerde piknosis (sarı ok), organizasyon bozukluğu ve kopuntular (mor ok), villuslarda hiyalinizasyon ve fibrinoid alanlar (sarı yıldız) izlendi. İntervillöz alanlarda hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu (kırmızı yıldız) gözlendi(H-E,Bar:50 µm)..

5.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

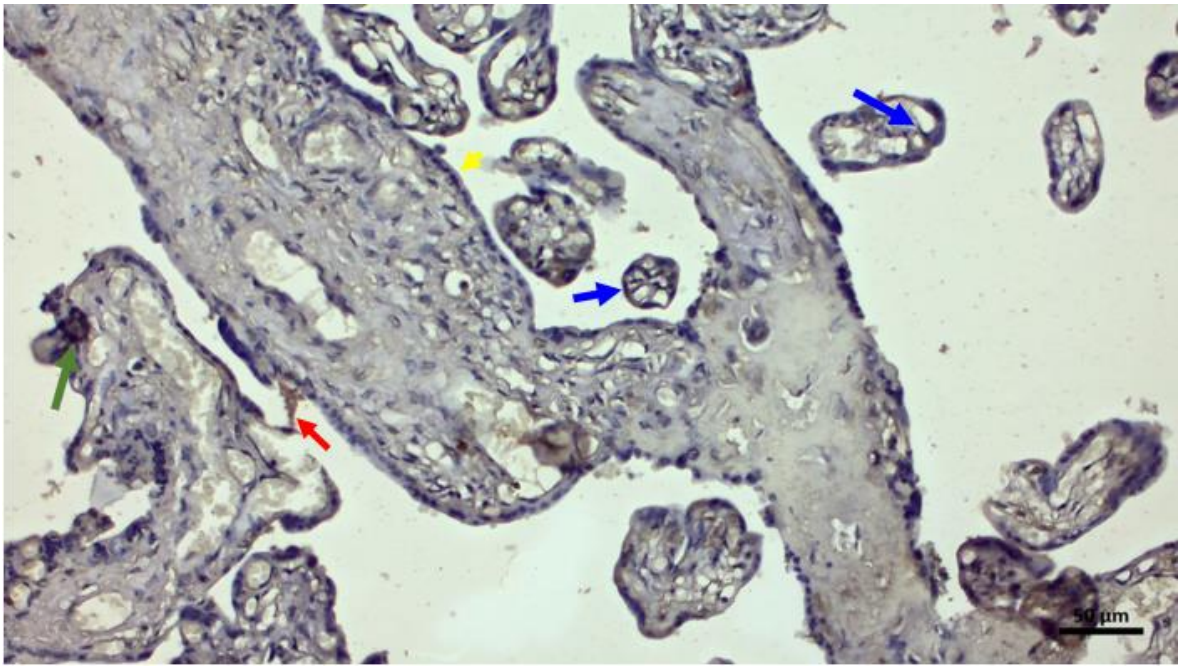
İmmunohistokimyasal bulgularımız sigara içen ve içmeyen kontrol gruplarımızda ezrin sigara içen grupta expresyon göstermekle beraber sigara içmeyen kontrol grubunda yoğun bir expresyon göstermiştir. Moesin sigara içen ve içmeyen kontrol grubunda hafif moesin expresyonu göstermiştir. Radixin sigara içen kontrol grubunda hafif bir expresyon göstermekle beraber sigara içmeyen kontrol grubunda yoğun expresyon izlenmiştir. Ezrin expresyonu preeklampsi grubunda sigara içmeyenlerde expresyon izlenmekle beraber sigara içenlerde hafif ezrin expresyonu izlendi. Moesin expresyonu preeklampsi grubunda sigara içenlerde yoğun expresyonu izlenmiştir. Sigara içmeyenlerde hafif moesin expresyonu izlenmiştir. Radixin expresyonu preeklempsi

grubunda sigara içenlerde yoğun expresyon izlenmiştir. Sigara içmeyen preeklampsilerde orta düzeyde radixin expresyonu izlenmiştir.

5.2.1. Ezrin immün boyama – Kontrol Grubu

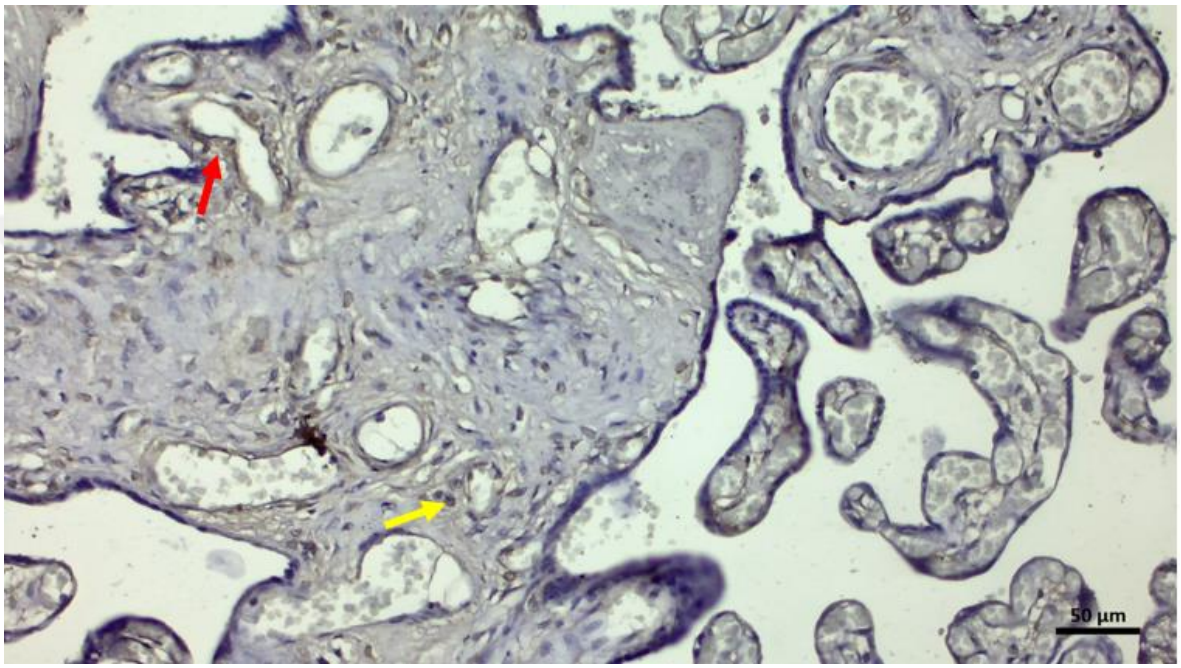


Şekil 5: Sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitlerinde, büyük villusların stromal alanlarda (sarı yıldız) ve yüzen villusların özellikle sitrofoblastlarda (mavi oklar) yoğun ezrin ekspresyonu gözlendi.

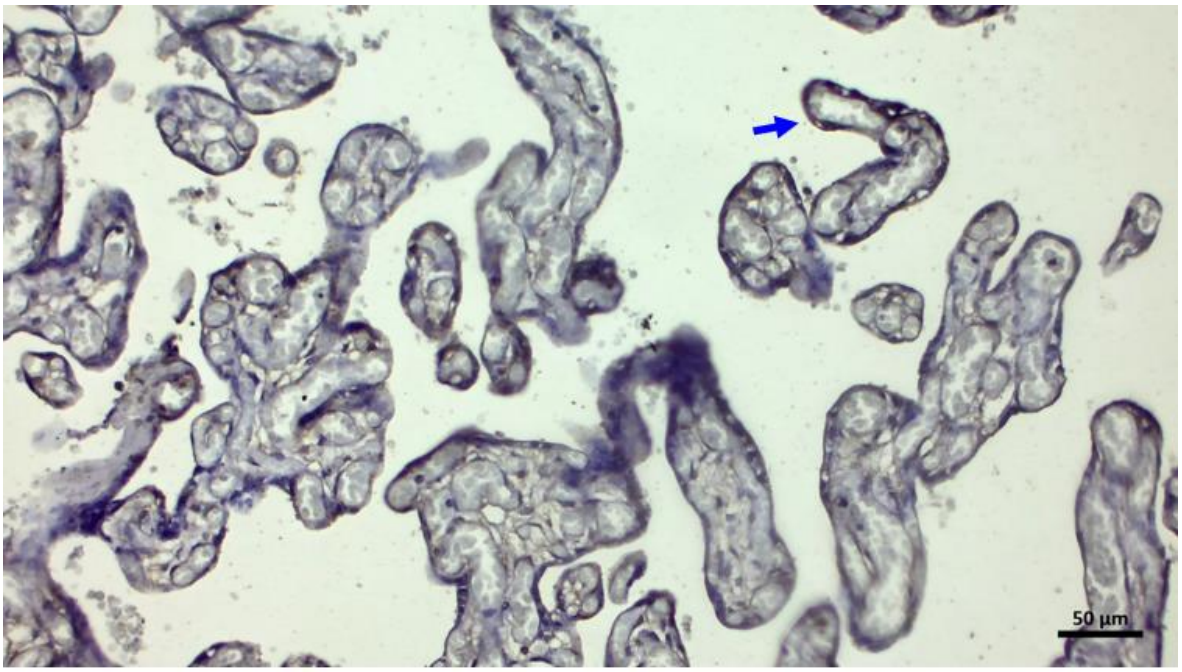


Şekil 6: Sigara içen kontrol grubu plasenta kesitlerinde, sinsisyotrofoblast hücrelerde negatif ezrin ekspresyonu (sarı ok)bazı yüzen villusların sitrofoblast tabakasında (mavi oklar) ve sinsisyal düğümlerde (yeşil ok) ve köprülerde (kırmızı ok) ezrin ekspresyonu gözlendi.

5.2.2. Moesin immün boyama – Kontrol Grubu

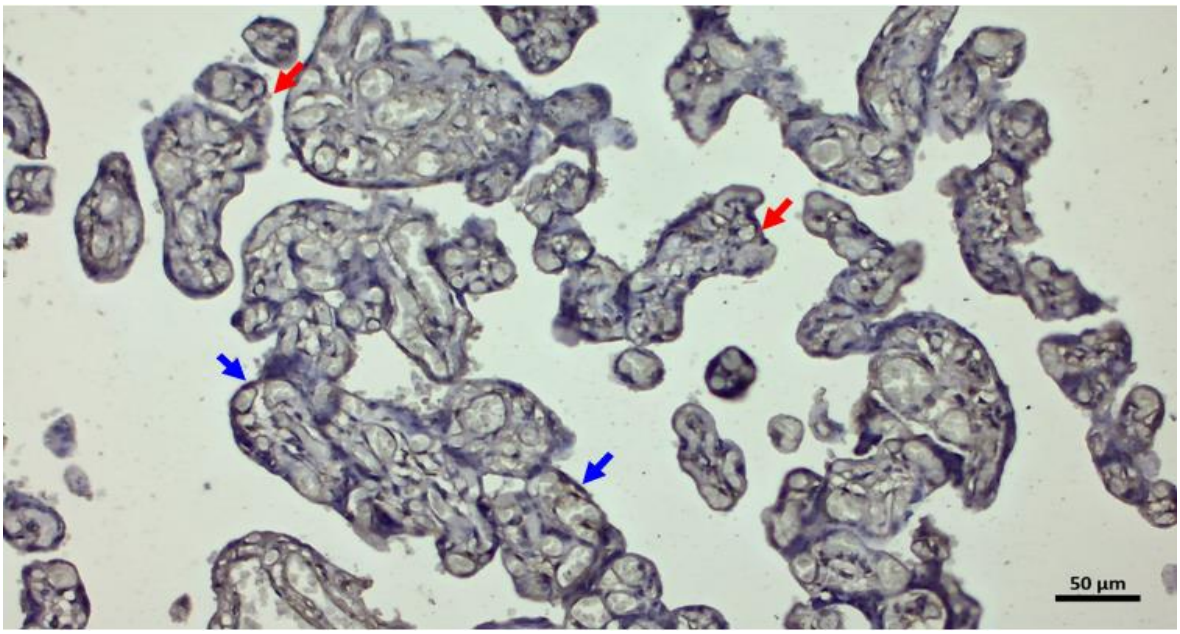


Şekil 7: Sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitlerinde, büyük villusların damarlarının etrafında (kırmızı ok) ve Hofbauer hücrelerinde (sarı ok) hafif moesin ekspresyonu gözlendi.

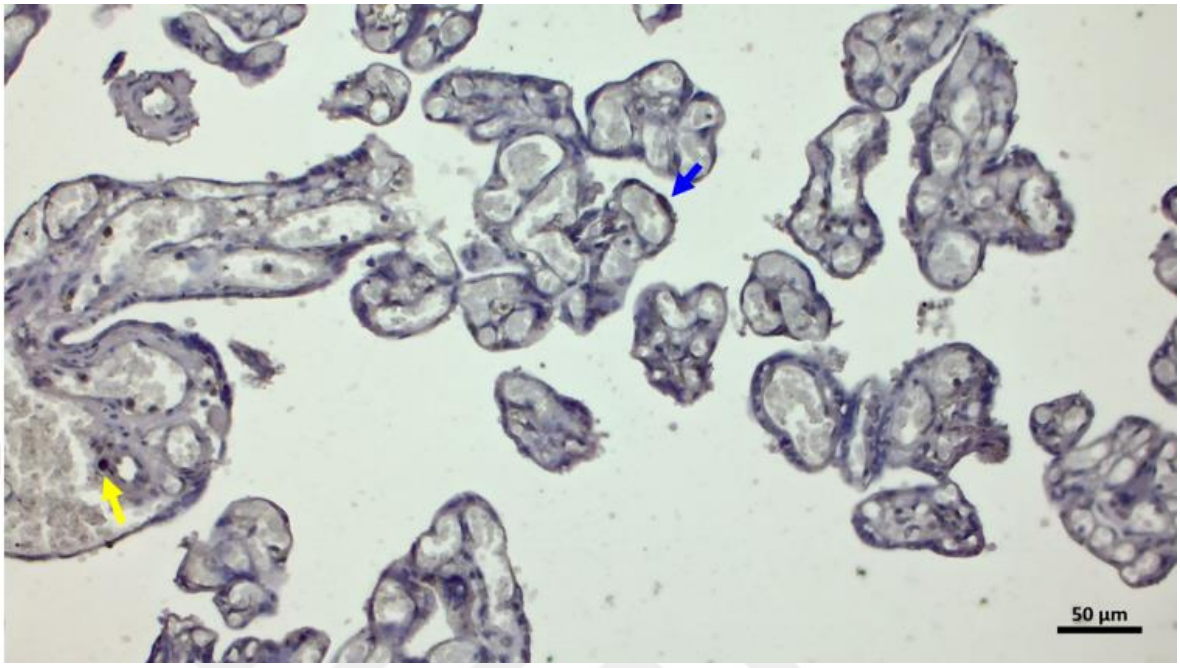


Şekil 8: Sigara içen kontrol grubu plasenta kesitlerinde, küçük villusların trofoblast tabakasında (mavi ok) hafif moesin ekspresyonu gözlendi.

5.2.3. Radixin immün boyama – Kontrol Grubu

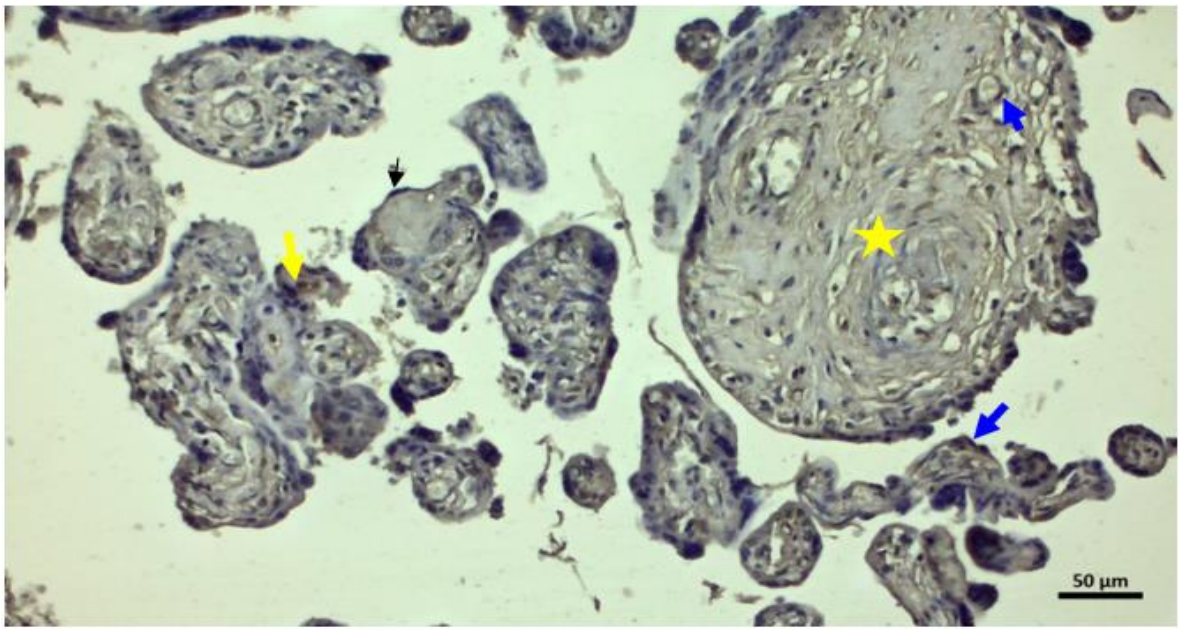


Şekil 9: Sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitlerinde, yüzen villusların sinsityotrofoblastlarından (mavi ok) ve vasküler endotelyal hücrelerinde (kırmızı ok) yoğun radixin ekspresyonu izlenmektedir.



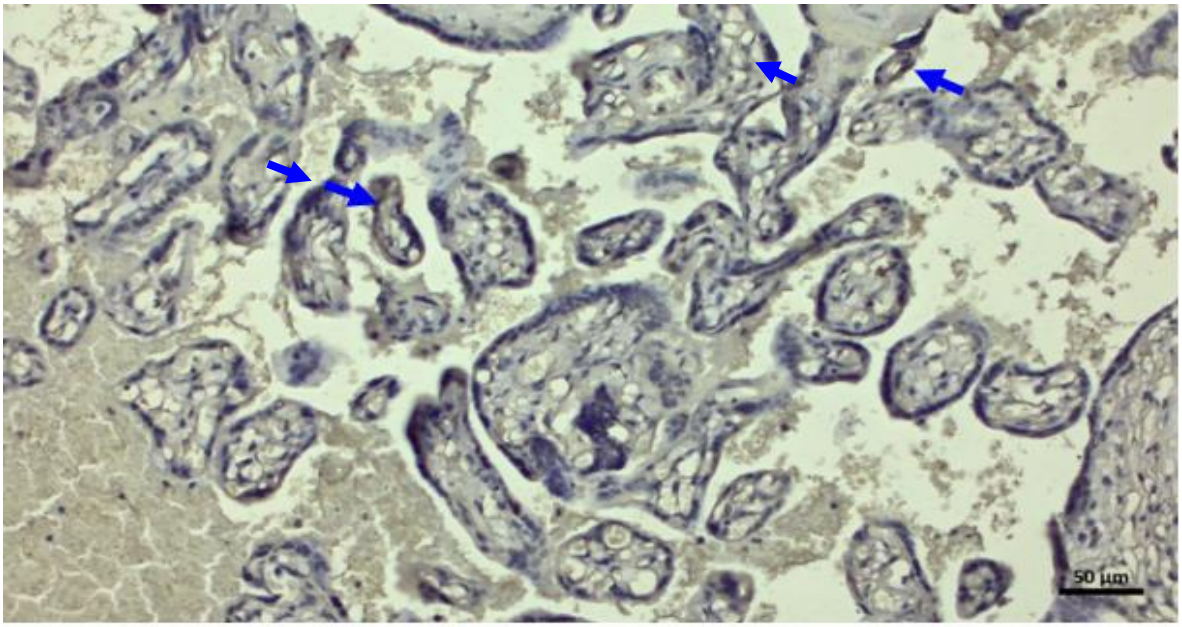
Şekil 10: Sigara içen kontrol grubu plasenta kesitlerinde, hofbauer hücrelerinde (sarı ok) ve bazı villusların trofoblast tabakasında (mavi ok) hafif radixin ekspresyonu gözlendi.

5.2.4. Ezrin immün boyama – Preeklampsi Grubu



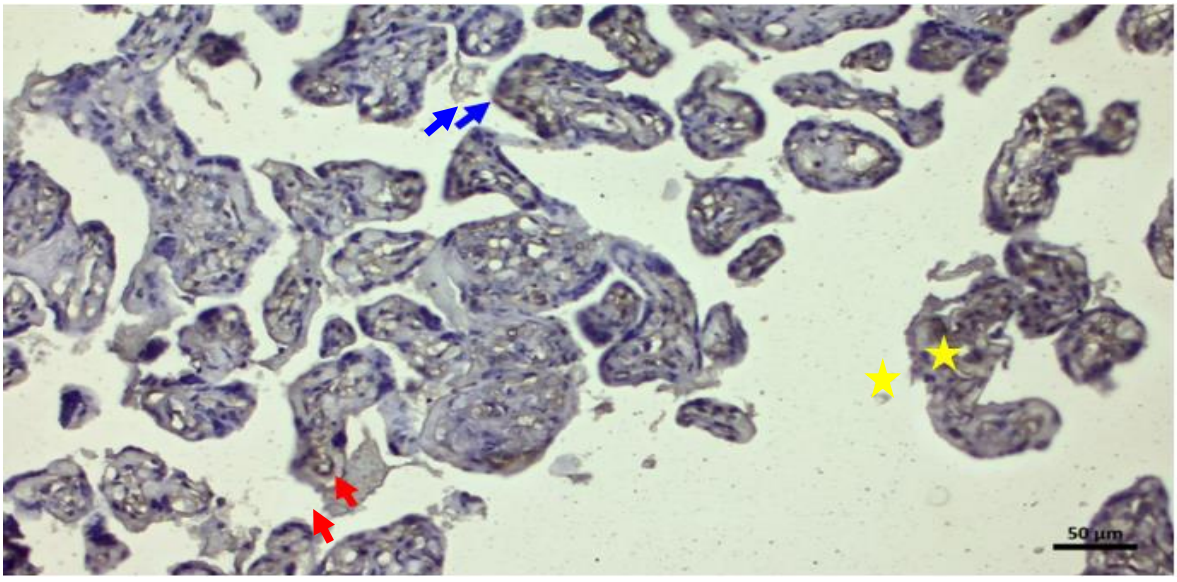
Şekil 11: Sigara içmeyen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, villusların periferindeki sinsisyal hücrelerde negatif ezrin ekspresyonu(siyah ok) ,büyük villusların bağ dokusunda (sarı yıldız), hofbauer hücrelerinde (sarı ok), vasküler endotelyal

hücrelerinde ve yüzen villusların trofoblast tabakasında (mavi ok) ezrin ekspresyonu gözlendi.

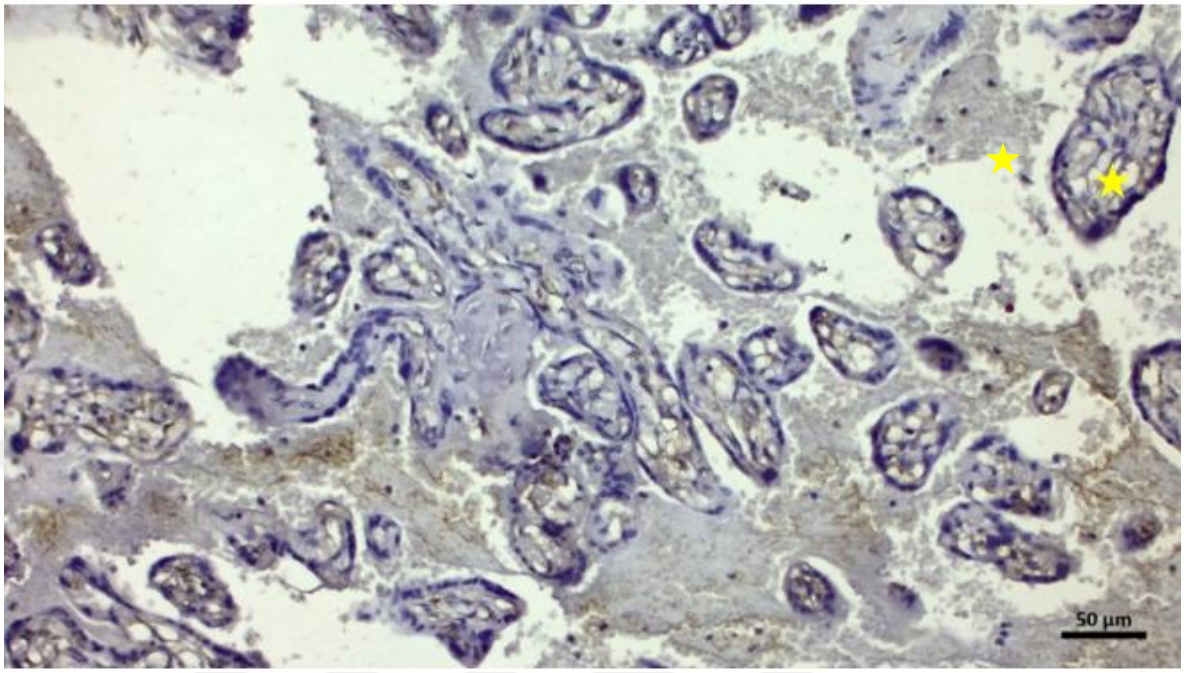


Şekil 12: Sigara içen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, birkaç yüzen villusların sitotrofoblast tabakasında (mavi ok) çok hafif ezrin ekspresyonu gözlendi.

5.2.5. Moesin immün boyama – Preeklampsi Grubu

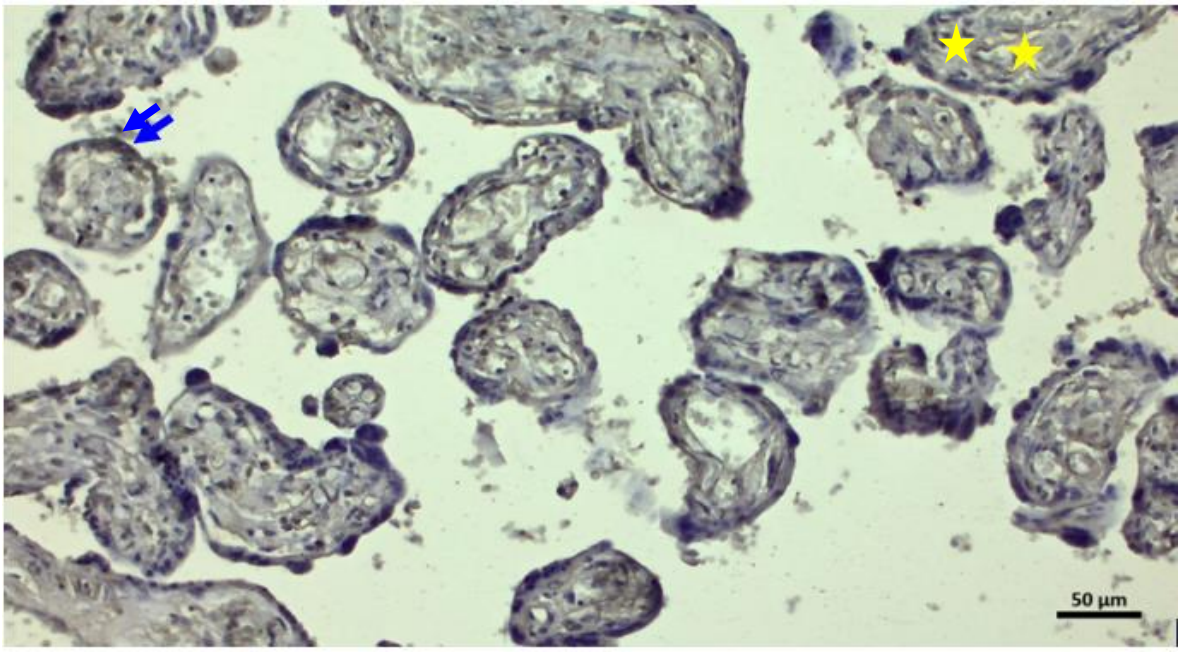


Şekil 13: Sigara içmeyen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, yüzen villusların bağ dokusunda (sarı yıldız), yoğun moesin ekspresyonu gözlendi. Bazı vasküler endotelyal hücrelerinde (kırmızı ok) ve yüzen villusların trofoblast tabakasında (mavi ok) ise hafif moesin ekspresyonu gözlendi.

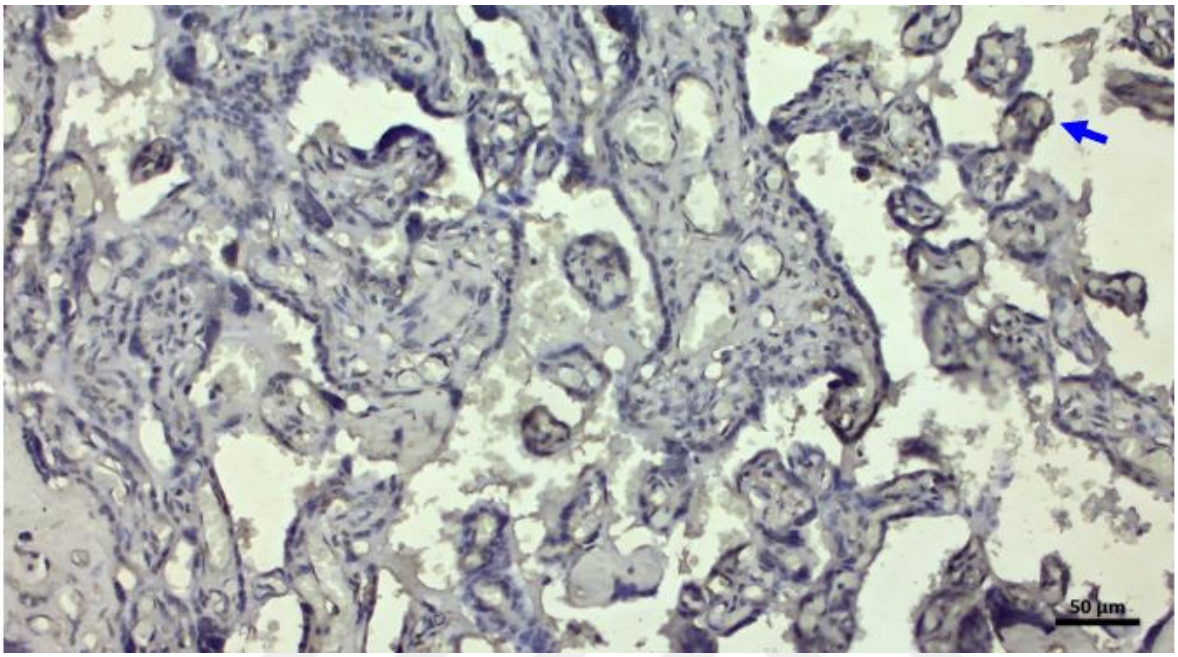


Şekil 14: Sigara içen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, moesin ekspresyonu daha çok yüzen villusların bağ dokusunda (sarı yıldız), yoğun moesin ekspresyonu gözlendi.

5.2.6. Radixin immün boyama – Preeklampsi Grubu



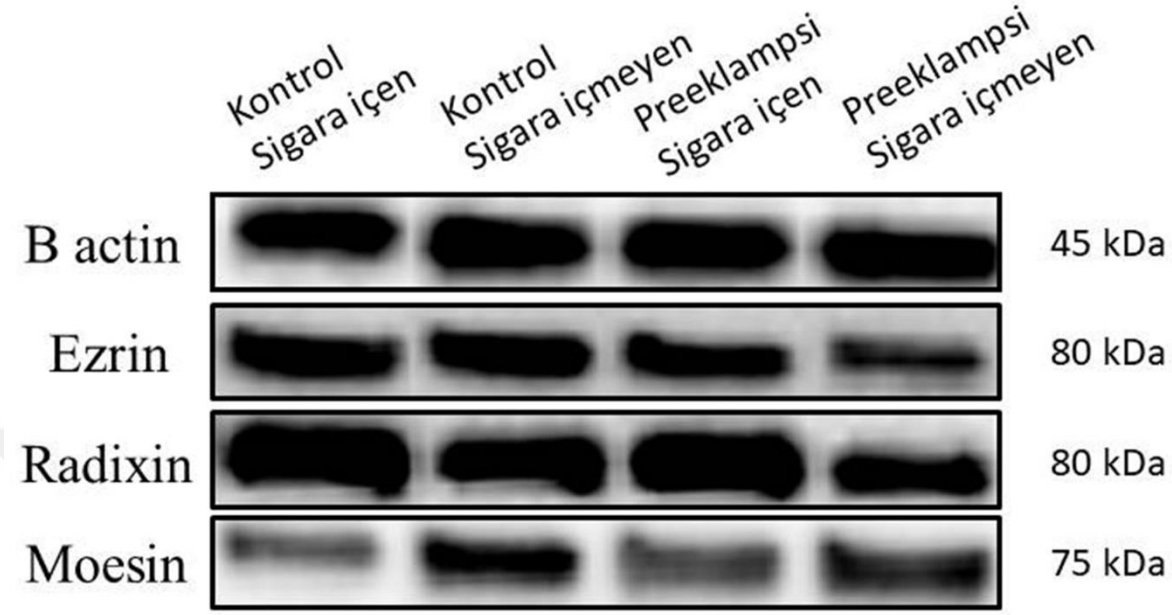
Şekil 15: Sigara içmeyen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, yüzen villusların trofoblast tabakasında (mavi ok) ve bağ dokusunda (sarı yıldız) yoğun radixin ekspresyonu gözlendi.



Şekil 16: Sigara içen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, bazı yüzen villusların trofoblast tabakasında (mavi ok) hafif radixin ekspresyonu gözlendi.

5.3. Western Blot Bulgular

Western blot bulgularımızda Ezrin ekspresyonu sadece sigara içmeyen preeklamptik grupta azalma gösterirken diğer gruplarda aynı düzeydeydi. Radiksin protein ekspresyonu sigara içen ve içmeyen kontrol ve preeklampsi gruplarında aynı düzeyde seyretti. Moesin ekpresyonu sigara içen gruplarda (hem kontrol hem de preeklamptik plasentalarda) azalırken sigara içmeyen gruplarda yüksek düzeyde görüldü. Bu sonuçlar ERM proteinlerinin immunohistokimyasal bulgularımızı desteklediğini ve doğruladığı görülmüştür.



Şekil 17: Ezrin, Radixin ve Moesin proteinlerinin sigara içen ve içmeyen gebelerin plasentalarındaki ekspresyonu. Ezrin ekspresyonu preeklamptik sigara içmeyen grupta hafif azalma göstermiştir. Radixin ekspreyonunda sigara içmenin ve preeklampsi arasında bir ilişki görülmedi. Moesin ekspreyonu ise sigara içmeyen gruplarda yüksek iken sigara içen gruplarda (kontrol ve preeklampsi) çok az düzeyde ekspreyon görüldü. β-actin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

6. TARTIŞMA

Preeklampsi, maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden biridir. Gebelik esnasında sigara içmenin fetal büyüme kısıtlaması, plasental ayrılma, ölü doğum ve erken doğum gibi birçok komplikasyonlara neden olduğu bilinmektedir ancak preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon riski ile arasındaki ilişki tam olarak aydınlatılamamıştır. Cnattingius ve arkadaşları (96) ve Broughton Pipkin (97) sigara içmenin preeklampsi insidansını azaltmasına rağmen, sigara içenlerde gelişen preeklampsinin hamileliği kötüleştirdiğini bildirmişlerdir. Chappell ve arkadaşlarının

son yaptığı çalışmaya göre kronik hipertansiyonlu kadınlarda sigara ve yüksek preeklampsi riski arasında ilişki olduğunu bildirmiştir (98).

Sigara içmek plasental trofoblastlarda hidrojen monoksit (HO) ekspresyonunu doğrudan düzenleyebilir ve bu da endojen karbon monoksitin (CO) üretimini uyarabilir. Karbon monoksitin plasental apoptozu ve nekrozu doğrudan inhibe edebilir ve böylece plasental kaynaklı toksik faktörlerin salınımını azalır (99). Preeklampsinin patogenezinde HO yolunun önemli bir rol oynayabileceği hipotezini destekleyen diğer kanıtlar, preeklampsi ve azalan ekshalasyon CO'sunu hedefleyen gebe kadınlar arasında plasenta villöz dokuda HO gen ekspresyonunda azalma olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (100).

Preeklampsili kadınlar arasında azalmış HO ve CO'nun sadece preeklampsili kadınların bir alt grubunda mı yoksa tüm kadınlarda mı olduğu bilinmemektedir. CO'nun fetal büyüme kısıtlaması gibi sigara içenler arasında kaydedilen gebeliğin diğer olumsuz sonuçlarına katkıda bulunup bulunmadığı belirsizdir (101).

Wikström ve arkadaşları gebelik sırasında dumansız tütün kullanımına göre sigara içmenin daha düşük preeklampsi riski ile ilişkili olduğunu ileri sürmektedir. Sigara içmenin koruyucu rolü, sigara içimi sırasında oluşan CO'nun biyolojik etkileri ile açıklanmaktadır. CO, sFlt1 gibi anti-anjiyojenik proteinlerin plasental üretimini inhibe ederek ve plasental apoptoz ve nekrozu inhibe ederek etki gösterir. CO aracılı vasküler koruyucu etkinin moleküler mekanizmalarını daha iyi anlamak ve preeklampsi için yeni terapötik hedefleri tanımlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sigara içenler sigara dumanında bulunan çok sayıda kimyasal maddeye maruz kaldıklarından, gebelik hipertansiyonu (PIH)/preeklampsi/eklampsi gelişme riskini azaltmadaki rolünü belirten bileşikleri açıklamak önemlidir. Tiyosamit hipotansif bir etkiye sahip olabilir. Vazokonstriktör ve platelet agregasyon uyarıcısı olan nikotin tromboksan A2 üretimini inhibe edebilir (102). Yeni bir çalışmaya göre, gebelikte enfiye (yanıcı olmayan bir tütün formu) kullanımının preeklampsi insidansı üzerinde hiçbir etkisi gözlenmedi bu da sigara içenlerde preeklampsi insidansında azalmanın karbon

monoksit gibi yanıcı maddeleri içinde barındıran faktörlerle ilişkisi olabileceğini düşündürmektedir (103). Sigara içilmesi plasenta içindeki antioksidan sistemleri de tetikler (104) ve bu da plasental oksidatif stresin preeklampsinin etiyolojisinde rol oynayabileceğine dair önceki önerilerle tutarlıdır (102). Plasenta preeklampsinin (PE) patogenezinde anahtar rol oynar ve desidual arteriyopati ve enfarktlar gibi lezyonlar sıklıkla preeklamptik plasentalarda bulunur.

Bir çalışmada sigara içenlerde desidual arteriyopati ve plasental enfarktüslerin gerçek frekansları daha yüksek bulundu. Bu, sigara içmeyen preeklamptik kadınlara kıyasla sigara içmenin daha kötü perinatal sonuçlarını açıklayabilir (105). Artan maternal ve fetal hematokritten anlaşılacağı üzere gebelik sırasında nikotin maruziyeti rölatif hipoksi ile ilişkilidir (105). Bu da sitotrophoblast proliferasyonunu etkiler ve uterus duvarı invazyonunda azalmaya ve vaskülaritenin yeniden şekillenmesine neden olur(106).

Sonuçta anjiyojenik faktörlerde artışa rağmen plasental transfüzyon alanı azalır. Bugüne kadar yapılan çoğu araştırma, korunmuş plasenta hacmine rağmen, villöz kılcal hacimde azalma ve trofoblast hacminde artış fikrini desteklemektedir (105,107-108) .

Bu değişiklikler preeklampsi gelişimine karşı göreceli koruma sağlar (109-110) ancak sigara içenlerde trans-plasental oksijen transferini daha da tehlikeye atabilir ve normal oksijenle düzenlenmiş yanıtı bozulduğunu gösterebilir (111) .

Bir çalışmada, sigara içen grupta malperfüzyon veya fetal stromal-vasküler lezyonlar ile plasental disfonksiyona katkıda bulunan maternal stromal vasküler lezyonlarla uyumlu plasental lezyonlar ve koryoamniyonit veya kronik villit artışı gerçekleşmedi. Yazarlar bu durumu plasental nikotin maruziyetinin plasental histopatoloji lezyonlarına neden olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca yazarlar sonuçlarıyla uyumlu olarak, son zamanlarda yapılan bir başka çalışmada, preeklampside tipik olarak görülen plasental lezyonların sigara içmeyenlerden alınan preeklamptik plasentalar arasında farklılık göstermediğini söylemişlerdir (112) .Çalışmamızda sigara içen kontrol grubu ile sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitleri karşılaştırıldığında koryon villuslarındaki kapiler damarlarının çapları normal görünümde, trofoblast hücrelerinin organizasyonun düzenli ve minimal fibrinoid yaplarının olduğu (Şekil 1), sigara içen grupta villuslarda minimal fibrinoidler, sinsityal düğümlerde artış ve hafif hiyalinizasyon görülmüştür

(Şekil 2). Sigara içmeyen preeklampsi plasenta kesitlerinde villusların yapılarının bütünlüğünü kaybettiği, stromal alanlarda dejenerasyon, sinsityal düğüm ve köprülerde artış görülürken, trofoblastik hücrelerde yer yer ayrılmalar, villuslarda hiyalinizasyon ve fibrinoid alanlar izlenmiştir (Şekil 3). Sigara içen preeklampsi plasenta kesitlerinde villuslarda dejenerasyon, sinsityal düğüm ve köprülerde artış, trofoblastik hücrelerde piknosis, organizasyon bozukluğu, villuslarda hiyalinizasyon ve fibrinoid alanlar ile intervillöz alanlarda hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmiştir (Şekil 4). Sigara içenlerde sigara içmeyenlere kıyasla plasental histopatoloji lezyonlarında önemli değişikliklerin olmaması, vazokonstriksiyon veya hipoksiye değişmiş yanıt gibi farklı mekanizmaların rol oynadığını düşündürmektedir.

ERM proteinleri olarak bilinen Ezrin, Radixin ve Moesin proteinleri, hücre yapışmasını ve kortikal morfogenezi düzenleyen birbirleriyle yakından ilişkili bir membran-hücre iskeleti bağlayıcıları grubudur. ERM proteinleri, moleküller içi ve arası etkileşimler yoluyla kendi kendine birleşebilir ve bu etkileşimler, proteinler üzerindeki çeşitli bağlanma bölgelerini maskeler. ERM aktivasyonu, molekülün açılmasını içerir ve proteinin plazma membran bileşenlerine doğrudan veya dolaylı olarak bağlayıcı proteinler yoluyla bağlanmasına izin verir.

Ezrin apikal bir epitel protein (113) iken radixin ve moesin aksonal büyüme-koni uzamasını ve nöronal polariteyi kontrol etmek için çok önemlidir (114). Moesin ICAM-3'e bağlanırken Ezrin, kalpain bölünmesine oldukça duyarlıdır ama moesinin böyle bir özelliği yoktur.

Ezrinin Tyr353 bölgesindeki büyüme faktörleri tarafından fosforilasyonu önemlidir çünkü son zamanlarda Tyr353Phe mutasyonunun, üç boyutlu bir kollajen matriksinde epitel hücrelerinin apoptozunu tetikleyerek, hücreyi kontrol edecek bir yol boyunca ezrin'i tetiklediği gösterilmiştir.(105,115,116)

Ezrin, toplam protein kütlesinin yaklaşık %5'ini içeren ve aktinin molar bolluğunun yaklaşık dörtte birinde bulunan plasental mikrovillusun ana protein bileşenidir. Jel filtrasyonu ve kimyasal çapraz bağlama çalışmaları, ezrinin esas olarak plasental mikrovillus özütlerinde kovalent olmayan dimerler ve daha yüksek dereceli oligomerler

şeklinde olduğunu göstermiştir. Ezrin aktin içeren yüzey için oldukça spesifiktir. Plasental mikrovillus içindeki ezrin bolluğu ve dağılımı göz önüne alındığında, ezrin fonksiyonunun önemli olduğu bildirilmiştir.

Ezrin plasental mikrovillusun ana proteinidir. İnsan plasentasının zengin bir ezrin kaynağı olduğu bilinmektedir. Ezrin'in aktin içeren yüzey yapıları için oldukça spesifik olduğunu gösterilmiştir (117). Bağırsak fırçası kenarlığı, iyi yapılandırılmış bir terminal ağına yerleştirilen yüksek derecede düzenlenmiş bir mikrofilament çekirdek demetine sahip, düzgün boyutlu ve şekildeki yoğun paketlenmiş mikrovillus ile karakterizedir. Aksine, sinsitiotrofoblast fırça kenarlığı, boyutu ve şekli değişen ve genellikle tabanlarındaki klatrinotlu çukurlar tarafından köprülenen ve görünüşte düzensiz organize edilmiş iskelet iskeletleri gevşek bir şekilde organize edilen mikrovillerin daha az yoğun bir şekilde paketlenmesini sağlar. Ezrin fosforilasyonu, ezrin içeren yüzey mikrovilluslarının veya membran katlarının oluşumu ile ilişkilidir. Ezrin fosforilasyonunun oligomerizasyonu düzenleyebileceği kanıtlanmıştır. Çalışmamızın sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitlerinde, koryon villuslarının periferindeki sinsisyal bölgede ve büyük villusların stromal alanlarda ezrin ekspresyonu pozitif olarak gözlenirken, sigara içen grupta sinsisyotrofoblast hücrelerin apikal yüzlerinde negatif ezrin ekspresyonu,bazı sinsisyal köprü ve düğümlerde ezrin ekspresyonu görülmüştür (Şekil 5 ve 6). Sigara içmeyen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, villusların periferindeki sinsityal hücrelerde negatif ezrin ekspresyonu, büyük villusların bağ dokusunda, hofbauer hücrelerinde, vasküler endotelyal hücrelerinde ve yüzen villusların trofoblast tabakasında ezrin ekspresyonu görüldü (Şekil 7). Sigara içen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, genellikle mikrovillus taşıyan sinsisyal hücrelerde negatif ezrin ekspresyonu belirgin iken birkaç yüzen villusların sitotrofoblast hücrelerinde çok hafif ezrin ekspresyonu gözlenmiştir (Şekil 8).

Solunum yollarındaki epitel hücrelerindeki silialarda aktin filamentlerinin sigara kullanımına bağlı olarak değişime uğraması ve sillerin yapısındaki mikrotubul sistemindeki değişim epitel hücrelerindeki apikal uzantılarında kayıplara neden olduğu düşünülecek olursa benzer yapıların mikrovilluslarda gelişmesi kaçınılmazdır. Sigara

kullanımının aktin proteinini etkileyerek mikrovillus yapısında bir azalmaya ve organizasyon bozukluğuna neden olabileceği ve villusların periferindeki mikrovillus kaybına neden olabileceği düşünülmüştür. Preeklemsi grubunda ise sinsisyal hücrelerde hem sigara içen hem de içmeyen grupta dejeneratif değişiklik olduğu için sinsisyal hücrelerdeki ezrin proteinlerindeki azalma her iki gruptada gözlenmiştir.

Moesin, membran domeinlerini ve reseptör sinyalini düzenlemek ve efektör T hücrelerinin göçünü düzenlemek için önemli olan ezrin-radixin-moesin (ERM) protein ailesinin bir üyesidir. Moesin, akciğerlerde, dalakta ve böbreklerde ve ayrıca kan damarları ve lenfositler dahil olmak üzere endotel hücrelerinde yüksek oranda eksprese edilir (118). Moesin, trombositlerde ve mast hücrelerinde eksprese edilen baskın ERM proteinidir. Çalışmamızda sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitlerinde, büyük villusların damarlarının etrafında ve hofbauer hücrelerinde (Şekil 9) ve ayrıca sigara içen kontrol grubu plasenta kesitlerinin küçük villusların trofoblast tabakasında da hafif moesin ekspresyonu görülmüştür (Şekil 10). Normal plasenta kesitlerinde sigara içen ve içmeyen gruplarda moesin protein düzeylerinde değişiklik görülmemiştir.

Preeklampside, endotelyal disfonksiyon ve artmış nötrofil aktivasyonu önemlidir. Nötrofillerin aktivasyonu, vasküler hasara, endotel hücre yıkımına, membran lipit peroksidasyonuna ve artmış vasküler geçirgenliğe aracılık eden proteazların, reaktif oksijen türlerinin ve lökotrienlerin salınmasına neden olur. ERM proteinleri hücre korteksinde aktin polimerizasyonunu düzenler, burada hücre zarı ile hücre iskeleti bileşenleri arasında kritik bir bağlantı sağlarlar. Hücre göçü, hücrenin verimli bir şekilde hareket etmesini sağlayan çeşitli işlemlerin kesin bir zamansal ve uzamsal koordinasyonunu gerektirir. Membran çıkıntısının uzatılması ve geri çekilmesi ve yapışma Rho-ailesi küçük GTPazlar tarafından kontrol edilir. Ailenin iki üyesi, Rac1 ve RhoA, karşıt davranışlar ve lokalizasyonlar gösterebildiği belirtilmiştir (119). Rho proteinleri gen ekpresyonunu ve aktin hücre iskeletini kontrol eden sinyalleme yolaklarında etki göstermektedir. Moesin fosforilasyonu aktin hücre iskeleti ve membran çıkıntı dinamiklerini düzenleyen RhoA ve Rac1 (120) gibi küçük G proteinlerinin, beyin endotelyal hücrelerinde ve kan beyin bariyeri geçirgenliğinde değişikliklere neden olabilecek fenotipleri düzenleyen aktivasyonuna yol açar.

RhoA-GTP, moesin fosforilasyonunu sonucu oluşur çünkü NSC305787 ile moesin fosforilasyonunun bloke edilmesi RhoA-GTP'nin üretimini inhibe eder. Özellikle, RhoA'nın aktivasyonunun, endotelyal hücreler arasındaki paraselüler geçirgenliği sınırlamaya yarayan sıkı bağlantıların çözünmesini desteklediği gösterilmiştir (121). Sigara içmeyen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, villusların bağ dokusunda yoğun moesin ekspresyonu bazı vasküler endotelyal hücrelerinde ve trofoblast tabakasında ise hafif moesin ekspresyonu gözlendi (Şekil 11). Sigara içen preeklampsi grubu plasenta kesitlerinde, moesin ekspresyonu daha çok villusların bağ dokusunda yoğunken endotel hücrelerinde hafif düzeyde görülmüştür (Şekil 12). Villuslardaki endotel hücrelerindeki permeabiliteyi ve bazı bağ doku hücrelerindeki fonksiyonel değişiminde moesin proteinin fosforilizasyonunu etkileyecek özellikle kontrol gruplarında (sigara içen ve sigara içmeyen) herhangi bir değişiklik gözlenmez iken preeklemsi gruplarında sigaranın preeklamsi'yi moezin fosforilasyonu açısından değişime uğratmadığı, preeklampsi endotelyal disfonksiyona neden olduğundan sigaranın bu durumu indükleyen bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada Ezrin'in fare oositlerinde ve preimplantasyon embriyo gelişimi boyunca eksprese edildiği ve blastosist oluşumu sırasında daima dış hücrelerin apikal alanlarıyla ilişkili olduğu, Radiksin'in ise blastosistleri implantasyon için yetkin hale getirmek için plazma membranları ve aktin filamanları arasında ana çapraz bağlayıcı protein olarak hareket ettiğini göstermişlerdir (105). Preeklemside ERM proteinlerinin ekspresyon ve fonksiyonlarındaki herhangi bir değişiklik mikrovillus taşıyan hücrelerde ve plazma membranlarındaki bağlantı komplekslerinin yapısının değişmesine neden olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda sigara içmeyen kontrol grubu plasenta kesitlerinde, yüzen villusların sinsityotrofoblastlar hücreleri ve vasküler endotelyal hücrelerinde yoğun radiksin ekspresyonu (Şekil 13) sigara içen kontrol grubu kesitlerinde radiksin yoğunluğunun azaldığı görülmüştür (Şekil 14). Bununda aktin filamanlarının etkilenmesine bağlı olarak mikrovillus yapısının bozulmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Sigara içmeyen preeklemsi plasenta kesitlerinde radiksin ekspresyonun yoğun olduğu (Şekil 15), sigara içenlerde radiksin ekspresyonun azaldığı görülmüştür (Şekil 16). ERM proteinlerinin, sinyal transdüksiyonuna aracılık etmede ve

farklı reseptör tirozin kinazlarla (RTK'ler) etkileşimleriyle çeşitli hücre dışı girdilerden hücresel bütünlüğün korunmasında rolleri olduğu, EGFR ve HGFR, yapışma ve adaptör proteinleri, E-cadherin, ICAM-1,2,3, NHERF ve CD44 ile PI3K / Akt, cAMP / PKA ve Rho GTPases gibi tümör sinyalleri ile bağlantılı diğer sinyal yolları uyardığı bildirilmiştir (122). Aktin bağlayıcı proteinlerden ERM ailesi, hem aktin hücre iskeleti ve plazma membran proteinleri arasında bağlayıcılar hem de hücre iskeleti yeniden şekillenmesini içeren yanıtlarda sinyal transdüserleri olarak işlev görebileceği belirgindir.

Protein ekspreyonu göstermek için kullanılan bir diğer metod Western Blot metodudur. Bu metodla bir doku veya ekstraktaki spesifik bir proteinin ekspresyon seviyesi ölçülebilir (123). Sigara içen ve içmeyen kontrol ve preeklamptik plasentalarda Western Blot yöntemi ile Ezrin, radixin ve moesin proteinlerinin ekspreyon düzeyleri ölçüldü (Şekil 17). Western blot bulgularımızda Ezrin ekspresyonu sadece sigara içmeyen preeklamptik grupta azalma gösterirken diğer gruplarda aynı düzeydeydi. Radiksin protein ekspresyonu sigara içen ve içmeyen kontrol ve preeklampsi gruplarında aynı düzeyde seyretti. Moesin ekpresyonu sigara içen gruplarda (hem kontrol hem de preeklamptik plasentalarda) azalırken sigara içmeyen gruplarda yüksek düzeyde görüldü. Bu sonuçlar ERM proteinlerinin immunohistokimyasal bulgularımızı desteklediğini ve doğruladığı görülmüştür.

7. SONUÇ

Çalışmamızda sigara içen kontrol grup ve preeklampsi gruplarında ERM protein metabolizmasındaki değişim sonucu aktin hücre iskeleti ve plazma membran proteinleri arasındaki adezyon ve hücre iskeletinin şekillenmesini etkileyen sinyal düzenleyicilerin yapısında önemli değişiklikler oluşmuştur. Sigara kullanımı mikrovillus ve hücre-hücre bağlantısını önemli ölçüde etkileyip, ERM protein seviyesinin azalmasına neden olduğu, plasental gelişimi olumsuz yönde etkileyebileceği, ERM proteinlerinin aktivasyonu uyaracak ve kontrol altına alabilecek bir tedavinin hücre preeklampsi etiyolojisine katkı sağlayabileceği kanaatindeyiz.

8. KAYNAKLAR

1. Moore-Maxwell CA, Robboy SJ. Placental site trophoblastic tumor arising from antecedent molar pregnancy. Gynecol Oncol 2004; 92:708.
2. Nugent CE, Punch MR, Barr M Jr, et al. Persistence of partial molar placenta and severepreeclampsia after selective termination in a twin pregnancy. Obstet Gynecol 1996; 87:829.
3. Matsuo K, Kooshesh S, Dinc M, et al. Late postpartum eclampsia: report of two cases managed by uterine curettage and review of the literature. Am J Perinatol 2007; 24:257.
4. Kaufmann P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. Biol Reprod 2003; 69:1.
5. Pijnenborg R, Vercruysse L, Hanssens M. The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies. Placenta 2006; 27:939.
6. Ayla CİHAN, Mustafa ark ,Ezrin/ Radıxın/ Moesın (ERM) proteıns, J. Fac. Pharm, Ankara-37 (4) 295 - 309, 2008 37 (4) 295 - 309, 2008
7. Gloria Riquelme, Catalina Vallejos , Nicole de Gregorio ,Ba´rbara Morales , Valeria Godoy , Macarena Berrios , Noelia Bastı´as , Carolina Rodrı´guez, Lipid Rafts and Cytoskeletal Proteins in Placental Microvilli Membranes from Preeclamptic and IUGR Pregnancies, J Membrane Biol (2011) 241:127–140).
8. Şiddetli ve Şiddetli Olmayan Preeklamptik Hastalarda Göbek Kordonu Plasenta Bağlantısındaki (bağlantı sapı) Bölgede İnflamasyon, Apoptosis VE Anjiogenetik İlişkinin İmmunohistokimyasal VE Ultrastruktural Değerlendirilmesi, Prof.Dr.Engin Deveci/Abdülkadit Turgut/Doktora Tezi
9. Arun Jeyabalan1,2, Robert W. Powers1,2, Allison R. Durica1,2, Gail F. Harger3, James M. Roberts1–3 and Roberta B. Ness2,3. Amerıcan Journal of Hypertensıon Volume 21 Number 8 , 943-947).
10. Pfarrer C, L. Macara, R. Leiser, J. Kingdom: Adaptive angiogenesis in placentas of heavy smokers. *Lancet* 354(9175), 303 (1999)),

11. Bush PG, T. M. Mayhew, D. R. Abramovich, P. J. Aggett, M. D. Burke, K. R. Page KR: A quantitative study on the effects of maternal smoking on placental morphology and cadmium concentration. *Placenta* 21(2-3),

12. Mayhew TM: Patterns of villous and intervillous space growth in human placentas from normal and abnormal pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 68(1-2), 75-82(1996))

13. Amieva MR, Furthmayr H. Subcellular localization of moesin in dynamic filopodia, retraction fibers, and other structures involved in substrate exploration, attachment, and cell–cell contacts. Exp Cell Res 1995; 219:180-196.

14. Berryman M, Franck Z, Bretscher A. Ezrin is concentrated in the apical microvilli of a wide variety of epithelial cells whereas moesin is found primarily in endothelial cells. J Cell Sci 1993; 105:1025-1043.

15. Berryman M, Gary R, Bretscher A. Ezrin oligomers are major cytoskeletal components of placental microvilli: a proposal for their involvement in cortical morphogenesis. J Cell Biol. 1995; 131(5): 1231-1242.

16. Louvet, S., Aghion, J., Santa-Maria, A., Mangeat, P., Maro, B., Ezrin becomes restricted to outer cells following asymmetrical division in the preimplantation mouse embryo. Dev. Biol. 1996;177, 568-579.

17. Matsumoto H, Daikoku T., Wang H., Sato E., Dey S.K. Differential expression of ezrin/radixin/moezin (ERM) ve ERM-associated adhesion molecules in the blasyocyst and uterus suggests their functions during implantation. Biol. Reproduction, 2004, 70: 729-736.

18. Both CLIC4 and CLIC5A Activate ERM Proteins in Glomerular Endothelium. Mahtab Tavasoli , Abass Al-Momany , Xin Wang , Laiji Li , John C Edwards, Barbara J Ballermann, Am J Physiol Renal Physiol, 2016 Nov 1;311(5):F945-F957.doi: 10.1152/ajprenal.00353.2016. Epub 2016 Aug 31.

19. Zhao S., Gu X., Groome L.J., Wang Y. Decreased nephrin and GLEPP-1, but increased VEGF, Flt-1 and nitrotyrosine, expressions in kidney tissue sections from women with preeclampsia. Rep Sciences 2009;00: 1-

20. Özel Histoloji, Prof.Dr.Mukaddes Eşrefoğlu /İstanbul Tıp Kitapevi,2.Baskı/2016

21. Stoeckmann A. Placental examination as a risk management tool. J Healthc Risk Manag 1994; 14:9.

22. Salafia CM, Vintzileos AM. Why all placentas should be examined by a pathologist in 1990. Am J Obstet Gynecol 1990; 163:1282.

23. Salafia CM. Recurrent obstetric complications: how placental pathology can contribute to cost-effective clinical evaluation and a rational clinical care plan. Curr Womens Health Rep 2002; 2:65).

24. Hustin J, Schaaps JP. Echographic [corrected] and anatomic studies of the maternotrophoblastic border during the first trimester of pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1987; 157:162.

25. Burton GJ, Hempstock J, Jauniaux E. Nutrition of the human fetus during the first trimester-- a review. Placenta 2001; 22 Suppl A:S70.

26. 26.Burton GJ, Hempstock J, Jauniaux E. Oxygen, early embryonic metabolism and free radicalmediated embryopathies. Reprod Biomed Online 2003; 6:84.

27. 27.Roberts VHJ, Morgan TK, Bednarek P, et al. Early first trimester uteroplacental flow and the progressive disintegration of spiral artery plugs: new insights from contrast-enhanced ultrasound and tissue histopathology. Hum Reprod 2017; 32:2382.

28. Burton GJ, Jauniaux E. Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia. J Soc. Gynecol Investig 2004; 11:342.

29. 29.Jauniaux E, Watson AL, Hempstock J, et al. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. Am J Pathol 2000; 157:2111.

30. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2011; 25:287.

31. Caniggia I, Winter J, Lye SJ, Post M. Oxygen and placental development during the first trimester: implications for the pathophysiology of pre-eclampsia. Placenta 2000; 21 Suppl A:S25

32. Charnock-Jones DS, Burton GJ. Placental vascular morphogenesis. Baillieres Best Pract. Res Clin Obstet Gynaecol 2000; 14:953.

33. 33.Myatt L. Role of placenta in preeclampsia. Endocrine 2002; 19:103.

34. Caniggia I, Grisaru-Gravnosky S, Kuliszewsky M, et al. Inhibition of TGF-beta 3 restores the invasive capability of extravillous trophoblasts in preeclamptic pregnancies. J Clin Invest 1999; 103:1641.
35. Dokras A, Gardner LM, Seftor EA, Hendrix MJ. Regulation of human cytotrophoblast morphogenesis by hepatocyte growth factor/scatter factor. Biol Reprod 2001; 65:1278.
36. 36.Friedman SA, Schiff E, Emeis JJ, et al. Biochemical corroboration of endothelial involvement in severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1995; 172:202.
37. 37.Hsu CD, Iriye B, Johnson TR, et al. Elevated circulating thrombomodulin in severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1993; 169:148.
38. 38.Taylor RN, Crombleholme WR, Friedman SA, et al. High plasma cellular fibronectin levels correlate with biochemical and clinical features of preeclampsia but cannot be attributed to hypertension alone. Am J Obstet Gynecol 1991; 165:895.
39. McCarthy AL, Woolfson RG, Raju SK, Poston L. Abnormal endothelial cell function of resistance arteries from women with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1993; 168:1323.
40. Cockell AP, Poston L. Flow-mediated vasodilatation is enhanced in normal pregnancy but reduced in preeclampsia. Hypertension 1997; 30:247.
41. Pascoal IF, Lindheimer MD, Nalbantian-Brandt C, Umans JG. Preeclampsia selectively impairs endothelium-dependent relaxation and leads to oscillatory activity in small omental arteries. J Clin Invest 1998; 101:464.
42. Granger JP, Alexander BT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of pregnancy-induced hypertension. Am J Hypertens 2001; 14:178S.
43. Roberts JM, Edep ME, Goldfien A, Taylor RN. Sera from preeclamptic women specifically activate human umbilical vein endothelial cells in

vitro: morphological and biochemical evidence. Am J Reprod Immunol 1992; 27:101.

44. Chambers JC, Fusi L, Malik IS, et al. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. JAMA 2001; 285:1607.
45. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. J Clin Oncol 2002; 20:4368.
46. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. Endocr Rev 1997; 18:4.
47. Maynard SE, Min JY, Merchan J, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. J Clin Invest 2003; 111:649.
48. Zhou Y, McMaster M, Woo K, et al. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. Am J Pathol 2002; 160:1405.
49. Vuorela P, Helske S, Hornig C, et al. Amniotic fluid--soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 in preeclampsia. Obstet Gynecol 2000; 95:353.
50. Koga K, Osuga Y, Yoshino O, et al. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88:2348.
51. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, et al. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. Young Investigator Award. Am J Obstet Gynecol 2004; 190:1541.
52. McKeeman GC, Ardill JE, Caldwell CM, et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout

gestation in patients who have preeclampsia develop. Am J Obstet Gynecol 2004; 191:1240.

53. Eremina V, Sood M, Haigh J, et al. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. J Clin Invest 2003; 111:707.
54. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. N Engl J Med 2004; 350:672.
55. Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, et al. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88:5555.
56. Ahmad S, Ahmed A. Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. Circ Res 2004; 95:884.
57. Shao XM, López-Valdés HE, Liang J, Feldman JL. Inhaled nicotine equivalent to cigarette smoking disrupts systemic and uterine hemodynamics and induces cardiac arrhythmia in pregnant rats. Sci Rep 2017; 7:16974.
58. Chen H, Li G, Chan YL, et al. Maternal E-Cigarette Exposure in Mice Alters DNA Methylation and Lung Cytokine Expression in Offspring. Am J Respir Cell Mol Biol 2018; 58:366.
59. Burton GJ, Palmer ME, Dalton KJ. Morphometric differences between the placental vasculature of non-smokers, smokers and ex-smokers. Br J Obstet Gynaecol 1989; 96:907.
60. Larsen LG, Clausen HV, Jønsson L. Stereologic examination of placentas from mothers who smoke during pregnancy. Am J Obstet Gynecol 2002; 186:531.
61. Bush PG, Mayhew TM, Abramovich DR, et al. A quantitative study on the effects of maternal smoking on placental morphology and cadmium concentration. Placenta 2000; 21:247.

62. Lehtovirta P, Forss M. The acute effect of smoking on intervillous blood flow of the placenta. Br J Obstet Gynaecol 1978; 85:729.
63. Stone WL, Bailey B, Khraisha N. The pathophysiology of smoking during pregnancy: a systems biology approach. Front Biosci (Elite Ed) 2014; 6:318.
64. Benowitz NL. Nicotine replacement therapy during pregnancy. JAMA 1991; 266:3174.
65. Xiao D, Huang X, Yang S, Zhang L. Direct effects of nicotine on contractility of the uterine artery in pregnancy. J Pharmacol Exp Ther 2007; 322:180.
66. Pauly JR, Slotkin TA. Maternal tobacco smoking, nicotine replacement and neurobehavioural development. Acta Paediatr 2008; 97:1331.
67. Sekhon HS, Jia Y, Raab R, et al. Prenatal nicotine increases pulmonary alpha7 nicotinic receptor expression and alters fetal lung development in monkeys. J Clin Invest 1999; 103:637.
68. Sekhon HS, Keller JA, Benowitz NL, Spindel ER. Prenatal nicotine exposure alters pulmonary function in newborn rhesus monkeys. Am J Respir Crit Care Med 2001; 164:989.
69. Hafström O, Milerad J, Sundell HW. Prenatal nicotine exposure blunts the cardiorespiratory response to hypoxia in lambs. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166:1544.
70. Sherman J, Young A, Sherman MP, et al. Prenatal smoking and alterations in newborn heart rate during transition. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs 2002; 31:680.
71. Tuthill DP, Stewart JH, Coles EC, et al. Maternal cigarette smoking and pregnancy outcome. Paediatr Perinat Epidemiol 1999; 13:245.
72. Substance Profiles: Tobacco Related Exposures, Report on Carcinogens, 11th ed, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program.

http://.ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/eleventh/profiles/s176toba. pdf. (Accessed on October 19, 2005).

73. de la Chica RA, Ribas I, Giraldo J, et al. Chromosomal instability in amniocytes from fetuses of mothers who smoke. JAMA 2005; 293:1212.
74. Castles A, Adams EK, Melvin CL, et al. Effects of smoking during pregnancy. Five meta-analyses. Am J Prev Med 1999; 16:208.
75. Voigt M, Neudecker K, Schneider KT, et al. Effects of smoking specified as cigarettes per day and maternal body mass index on hypertensive disorders of pregnancy. Z Geburtshilfe Neonatol 2013; 217:24.
76. Mehendale R, Hibbard J, Fazleabas A, Leach R. Placental angiogenesis markers sFlt-1 and PlGF: response to cigarette smoke. Am J Obstet Gynecol 2007; 197:363.e1.
77. Anthony Bretscher, Ronald Gary, and Mark Berryman, Soluble Ezrin Purified from Placenta Exists as Stable Monomers and Elongated. Dimers with Masked C-Terminal Ezrin-Radixin-Moesin Association Domains? *Biochemistry* 1995, 34, 16830- 16837
78. Amieva MR, Furthmayr H. Subcellular localization of moesin in dynamic filopodia, retraction fibers, and other structures involved in substrate exploration, attachment, and cell–cell contacts. Exp Cell Res 1995; 219:180-196.
79. Berryman M, Franck Z, Bretscher A. Ezrin is concentrated in the apical microvilli of a wide variety of epithelial cells whereas moesin is found primarily in endothelial cells. J Cell Sci 1993; 105:1025-1043.
80. Miller KG. A role for moesin in polarity. Trends Cell Biol 2003; 13:165.85
81. Bretscher, A. Purification of an 80,000-dalton protein that is a component of the isolated microvillus cytoskeleton, and its localization in nonmuscle cells. J. Cell Biol. 1983;97:425-432.

82. Pakkanen, R. Immunofluorescent and immunochemical evidence for the expression of cytovillin in the microvilli of a wide range of cultured human cells. J. Histochem. Cytochem. 1988; 35: 809-816.
83. Pakkanen, R., Hedman, K., Turunen, O., Wahlstrom, T., Vaheri, A. Microvillus-specific Mr 75,000 plasma membrane protein of human choriocarcinoma cells. J. Histochem. Cytochem. 1987; 35: 809-816.
84. Pakkanen, R., von Bonsdorff, C.H., Turunen, O., Wahlstrom, T., Vaheri, A. Redistribution of Mr 75,000 plasma membrane protein, cytovillin, into newly formed microvilli in herpes simplex and Semliki Forest virus infected human embryonal fibroblasts. Eur. J. Cell Biol. 1988; 46: 435-443.
85. Gould, K.L., Bretscher, A., Esch, F.S., Hunter, T. cDNA cloning and sequencing of the protein- tyrosine kinase substrate, ezrin, reveals homology to band 4.1. EMBO J. 1989; 8: 4133-4142.
86. Turunen, O., Winqvist, R., Pakkanen, R., Grzeschik, K.H., Wahlstrom, T., Vaheri, A. Cytovillin, a microvillar Mr 75,000 protein. cDNA sequence, prokaryotic expression, and chromosomal localization. J. Biol. Chem. 1989; 264: 16727-16732. 86
87. Hoeflich, K.P., Ikura, M. Radixin: cytoskeletal adopter and signaling protein. J. Biochem Cell Biol. 2004;36: 2131-2136.
88. Lankes, W., Griesmacher, A., Grunwald, J., Schwartz-Albiez, R., Keller, R. A heparin-binding protein involved in inhibition of smoothmuscle cell proliferation. Biochem. J. 1988; 251: 831-842.
89. Rouleau, G.A.,Merel, P., Lutchman, M., Sanson, M., Zucman, J., Marineau, C., Hoang-Xuan, K., Demczuk, S., Desmaze, C., Plougastel, B., et al. Alteration in a new gene encoding a putative membrane-organizing protein causes neuro- fibromatosis type 2. Nature 1993; 363: 515-521.
90. Trofatter, J.A., MacCollin, M.M., Rutter, J.L., Murrell, J.R., Duyao,M.P., Parry, D.M., Eldridge, R., Kley, N., Menon, A.G., Pulaski, K., et al. A

novel moesin-, ezrin-, radixin- like gene is a candidate for the neurofibromatosis 2 tumor suppressor [published erratum appears in Cell 1993 Nov 19; 75 (4):826]. Cell 1993; 72: 791-800.

91. McClatchey, A.I., Fehon, R.G. Merlin and the ERM proteins – regulators of receptor distribution and signaling at the cell cortex. Cell Biol. 2009; 19:5.
92. Tsukita, S., Hieda, Y. A new 82-kD barbed end-capping protein (radiksin) localized in the cell- to- cell adherens junction: purification and characterization. J. Cell Biol. 1989; 108,2369-2382.
93. Funamaya, N., Nagafuchi, A., Sato, N., Tsukita, S. Radixin is a novel membre of the band 4.1 family. J. Cell Biol. 1991;115, 1039-1048. 87
94. Amieva, M.R., Wilgenbus, K.K, Furthmayr, H. Radixin is a component of hepatocyte microvilli in situ. Exp. Cell Res. 1994;210, 140-144.
95. Pearson M.A., Reczek D., Bretscher A., Karplus P.A. Structure of the ERM protein moesin reveals the FERM domain fold masked by an extended actin binding tail domain, Cell 2000; 101 259–270.
96. Cnattingius S, Mills JL, Yuen J, Eriksson O, Salonen H. The paradoxical effect of smoking in preeclamptic pregnancies: Smoking reduces the incidence but increases the rates of perinatal mortality, abruptio placentae, and intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 1997;177:156–161.
97. Pipkin FB. Smoking in moderate/severe preeclampsia worsens pregnancy outcome, but smoking cessation limits the damage. Hypertension. 2008;51:1042–1046.
98. Chappell, L.C., et al., Adverse Perinatal Outcomes and Risk Factors for Preeclampsia in Women With Chronic Hypertension. Hypertension, 2008. 51(4): p. 1002-1009.
99. Bainbridge SA, Belkacemi L, Dickinson M, Graham CH, Smith GN. Carbon monoxide inhibits hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis and

secondary necrosis in syncytiotrophoblast. Am J Pathol. 2006;169:774–783.

100. Farina A, Sekizawa A, De Sanctis P, Purwosunu Y, Okai T, Cha DH, Kang JH, Vicenzi C, Tempesta A, Wibowo N, Valvassori L, Rizzo N. Gene expression in chorionic villous samples at 11 weeks' gestation from women destined to develop preeclampsia. Prenat Diagn. 2008;28:956–961.
101. Kreiser D, Baum M, Seidman DS, Fanaroff A, Shah D, Hendler I, Stevenson DK, Schiff E, Druzin ML. End tidal carbon monoxide levels are lower in women with gestational hypertension and pre-eclampsia. J Perinatol. 2004;24:213–217.
102. Roberts JM, Lain KY. Recent insights into the pathogenesis of preeclampsia. Placenta 2002;23:359–72
103. England LJ, Levine RJ, Mills JL, Klebanoff MA, Yu KF, Cnattingius S. Adverse pregnancy outcomes in snuff users. Am J Obstet Gynecol 2003;189:939–43.
104. Bainbridge SA, Sidle EH, Smith GN. Direct placental effects of cigarette smoke protect women from preeclampsia: the specific roles of carbon monoxide and antioxidant systems in the placenta. Med Hypotheses 2005;64:17–27
105. Pipkin FB. Smoking in moderate/severe preeclampsia worsens pregnancy outcome, but smoking cessation limits the damage. Hypertension 2008;51:1042–6
106. Bush, P.G., et al., A Quantitative Study on the Effects of Maternal Smoking on Placental Morphology and Cadmium Concentration. Placenta, 2000. 21(2): p. 247-256.
107. G.J. Burton, M.E. Palmer, K.J. DaltonMorphometric differences between the placental vasculature of non-smokers, smokers and ex-smokers Br. J. Obstet. Gynaecol., 96 (8) (1989), pp. 907-915

108. Larsen, L., H. Clausen, and L. Jønsson, Stereologic examination of placentas from mothers who smoke during pregnancy. American journal of obstetrics and gynecology, 2002. 186: p. 531-7.
109. Salafia C, Shiverick K. Cigarette smoking and pregnancy II: vascular effects. Placenta. 1999;20(4):273-279.
110. Wikström AK, Stephansson O, Cnattingius S. Tobacco use during pregnancy and preeclampsia risk: effects of cigarette smoking and snuff. Hypertension. 2010;55(5):1254-1259.
111. Genbacev O, McMaster MT, Zdravkovic T, Fisher SJ. Disruption of oxygen-regulated responses underlies pathological changes in the placentas of women who smoke or who are passively exposed to smoke during pregnancy. Reprod Toxicol. 2003;17(5):509-518.
112. M.T. Vinnars, S. Falkare, N. Papadogiannakis, J. NasiellPlacental pathology in smoking and non-smoking preeclamptic women.J. Matern. Fetal Neonatal Med. [Internet], 29 (5) (2016), pp. 733-736
113. Berryman, M., Z. Franck, and A. Bretscher. 1993. Ezrin is concentrated in the apical microvilli of a wide variety of epithelial cells whereas moesin is found primarily in endothelial cells. Z Cell Sci. 105:1025-1043.
114. Mark Berryman, Ronald Gary, and Anthony Bretscher Ezrin Oligomers Are Major Cytoskeletal Components of Placental Microvilli: A Proposal for Their Involvement in Cortical Morphogenesis. The Journal of Cell Biology, Volume 131,1231-1242, 1995
115. Hall A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton. Science. 1998;279(5350):509–14. .
116. Louvet S, Aghion J, Santa-Maria A, Mangeat P, Maro B. Ezrin becomes restricted to outer cells following asymmetrical division in the preimplantation mouse embryo. Dev Biol 1996; 177:568–579.
117. A.Bretscher, Rapid Phosphorylation and Reorganization of Ezrin and Spectrin Accompany Morphological Changes Induced in A-431 Cells by

Epidermal Growth Factor. J Cell Biol, 1989 Mar;108(3):921-30, doi: 10.1083/jcb.108.3.921.

118. Ingraffea J, Reczek D, Bretscher A. Distinct cell type-specific expression of scaffolding proteins EBP50 and E3KARP: EBP50 is generally expressed with ezrin in specific epithelia, whereas E3KARP is not. Eur. J. Cell Biol., 2002;81, 61–68.
119. Lan K. Nguyena , Boris N. Kholodenkob,c,d , and Alex von Kriegsheime. Rac1 and RhoA: Networks, Loops and Bistability. Small GTPases. 2018; 9(4): 316–321
120. Ivetic A, Ridley AJ. Ezrin/radixin/moesin proteins and Rho GTPase signalling in leucocytes. Immunology. 2004;112(2):165–76.
121. Radeva MY, Waschke J. Mind the gap: mechanisms regulating the endothelial barrier. Acta physiologica. 2018;222(1).
122. Divine Mensah Sedzro, Faysal Bellah, Hameed Akbar, Sardar Mohammad Saker Billah Structure and Functions: ERM Protein Family. Cell Biology 2018;6(2):20-32.
123. Kim B. Western Blot Techniques. Methods Mol Biol. 2017;1606:133-139.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Elif	**Soyadı**	Ağaçayak
Doğum Yeri	Midyat	**Doğum Tarihi**	14.04.1981
Uyruğu	T.C.	**Tel**	04122488001/4904 05059433449
E-posta	drelifagacayak@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Üniversite	Selçuk Üniversitesi/Meram Tıp Fakültesi	2003
Uzmanlık	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	2009
Doktora	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Öğretim Üyesi/Kadın Hastalıkları ve Doğum	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	2013-
Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanı	Özel Genesis Hastanesi	2011-2013
Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanı	Mardin Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi	2009-2011
Kadın Hastalıkları ve Doğum bölümünde Araştırma Görevlisi	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	2003-2009

Yabancı Dil Sınav Notu

ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
73.75								

Tıpta Uzmanlık Puanı	63.5

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

186

KARAR

Prof. Dr. Engin DEVECİ, Doktora Öğrencisi Elif AĞAÇAYAK, Dr. Öğretim Üyesi Sevgi İRTEGÜN, Günsel KİRMAN isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Sigara içen ve içmeyen preeklampsili hastaların plasentalarında Ezrin-Radixin-Moesin Proteinlerinin İmmunohistokimya ve Western Blot yöntemiyle expresyonlarının 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 Ephrin-Radixin-Moesin proteins by immunohistochemistry and Western Blot methods in the placenta of smoking and non-smoking preeclampsia patients" planned by Engin DEVECİ, Elif AĞAÇAYAK, Sevgi İRTEGÜN, Günsel KİRMAN has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.

Oturum No (Meeting number) :	Tarih (Date): 06.06.2018	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	
3	Prof. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
4	Prof. Dr.	Cihan AKGÜL ÖZMEN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
5	Doç. Dr.	İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
6	Doç. Dr.	Haktan KARAMAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
7	Doç. Dr.	Zülfükar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
8	Doç. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
9	Doç. Dr.	Ezeli AZARKAN	Dicle Üniversitesi Hukuk Fakültesi	Öğretim Üyesi	
10	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	
11	Dr. Öğretim Üyesi	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

Doküman Görüntüleyici

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 10-Tem-2020 23:30 +03
NUMARA: 1355897187
Kelime Sayısı: 9136
Gönderildi: 1

Doktora Tezi Elif Ağaçayak tarafından

Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik	
%6	Internet Sources:	%2
	Yayınlar:	%1
	Öğrenci Ödevleri:	%4

alıntıları çıkar bibliyografyayı dahil et küçük eşleşmeleri çıkar mod:
raporu hızlı görüntüle (klasik) Change mode yazdır yenile İndir

2% match (09-May-2019 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Izmir Katip Ãelebi Ãniversitesi on 2019-05-09

1% match (11-Haz-2018 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Harran Üniversitesi on 2018-06-11

1% match (10-May-2016 tarihli internet)
http://slideplayer.biz.tr

<1% match (21-Haz-2020 tarihli internet)
http://acikerisim.dicle.edu.tr

<1% match (yayınlar)
Bettina Kelsch, Bruno Scheller, Melanie Biedermann, Yvonne P. Clever et al. "Dose Response to Paclitaxel-Coated Balloon Catheters in the Porcine Coronary Overstretch and Stent Implantation Model", Investigative Radiology, 2011

<1% match (09-Nis-2018 tarihli internet)
http://www.diclemedj.org

<1% match (yayınlar)
DOĞAN, Keziban, YEŞİL, Ali, BABAOĞLU, Bülent and YAŞAR, Levent. "Tam Kan Sayımı Parametrelerinin Pre-Eklampsi Riskini Öngörmedeki Rolünün Değerlendirilmesi", DNT Ortadoğu Yayıncılık Ltd. Şti., 2016.

<1% match (21-Nis-2017 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2017-04-21

<1% match (22-Ağu-2016 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Celal Bayar Ã niversitesi on 2016-08-22

<1% match (yayınlar)
TOROS, Aslı, SOLAK, Zeynep Ayfer, ERDİNÇ, Münevver and KOKULUDAĞ, Ali. "Astım ve KOAH olguları ile sigara içen ve içmeyen sağlıklılarda AMP ve metakolin ile bronş provokasyon testi", Türk Toraks Derneği, 2008.

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Sizi Prof.Dr.Engin Deveci , Doktora öğrencisi Elif Ağasçayak tarafından yürütülen 'Sigara İçen ve İçmeyen Preeklamptik Plasentalarda Ezrin-Radixin-Moesin Protein Expresyonlarının İmmünohistokimyasal ve Western Blot Yöntemiyle Değerlendirilmesi'' başlıklı araştırmaya davet ediyoruz. Bu araştırmada doğum esnasında bebekten sonra doğan ve normalde atılan plasentanın incelemesi yapılacaktır. Bu araştırmanın amacı gebelik hipertansiyonunun sebebine ve tedavisine ışık tutacak bir çalışma olmasını umut ediyoruz. Araştırmaya sizin dışınızda 29 kişi katılacaktır. Bu çalışmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Bu formu onaylamanız sonrası, araştırmaya katılmayı kabul ettiğiniz anlamına gelecektir. Ancak, çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmayı bırakma hakkına da sahipsiniz. Bu çalışmadan elde edilecek bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacak olup kişisel bilgileriniz saklı tutulacaktır: ancak verileriniz yayın amacıyla kullanılabilir. İletişim bilgileriniz ise sadece izninize bağlı olarak ve farklı araştırmacıların sizinle iletişime geçebilmesi için '' ortak katılımcı havuzuna'' aktarılabilir Eğer araştırmanın amacı ile ilgili verilen bu bilgiler dışında şimdi veya daha sonra daha fazla bilgiye ihtiyaç duyarsanız araştırmacıya şimdi sorabilir veya drelifagacayak@gmail.com e-posta adresi ve 05059433449 numaralı telefondan ulaşabilirsiniz. Araştırma tamamlandığında genel/size özel sonuçların sizinle paylaşılmasını istiyorsanız lütfen araştırmacıya iletiniz.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce katılımcıya verilmesi gereken bilgileri okudum ve katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları anladım. Çalışma hakkında yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı/araştırmacılar tarafından yapıldı. Bana, çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları sözlü olarak anlatıldı. Kişisel bilgilerimin özenle korunacağı konusunda yeterli güven verildi.

Bu koşullarda söz konusu araştırmaya kendi isteğimle, hiçbir baskı ve telkin olmaksızın benimle sözlü iletişime geçen sayın Elif Ağaçayak araştırmasına katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı: Elif Ağaçayak

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih: