



**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ENDOJEN ANJİYOGENEZ İNHİBİTÖRLERİNİN
NORMOTANSİF VE PREEKLAMPTİK PLASENTALARDAKİ
EKSPRESYONLARININ İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr.ERCAN AYAZ
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DİYARBAKIR 2011



**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ENDOJEN ANJİYOGENEZ İNHİBİTÖRLERİNİN
NORMOTANSİF VE PREEKLAMPTİK PLASENTALARDAKİ
EKSPRESYONLARININ İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr.ERCAN AYAZ
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. YUSUF NERGİZ**

DİYARBAKIR 2011

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması, hazırlanması ve sonuçların değerlendirilmesinde önemli katkılarda bulunan danışman hocam Prof. Dr. Yusuf NERGİZ'e, bilgi birikimiyle bana her zaman destek veren hocalarım Prof. Dr. Murat AKKUŞ'a, Doç. Dr. Engin DEVECİ'ye ayrıca Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın diğer öğretim üyeleri Yrd. Doç. Dr. Ayfer AKTAŞ'a, Yrd. Doç. Dr. Sevda SÖKER'e ve Yrd. Doç. Dr. Özlem BARAN PAMUKÇU'ya,

İhtiyacım olduğunda yardımlarını esirgemeyerek her aşamada bana destek olan kadim dostum Dr. Selçuk TÜNİK'e, Sağlık Teknikeri Vahdettin ERGÜN'e, Uzm. Dr. Mehmet Ali ÇETİNER'e, istatistiksel değerlendirmedeki katkıları için Yrd. Doç. Dr. Hasan AKKOÇ'a, materyal toplama aşamasında candan desteği ile Dr. Nihat MERMUTOĞLU'na,

Tez için gerekli maddi kaynağı sağlayan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne,

Son olarak bu çalışmanın gerçekleştirilmesi esnasında her zaman yanımda olan sevgili eşim Selengül'e ve oğlum Eymen'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ercan AYAZ

ÖZET

Preeklampsia gebeliğe özgü hipertansif bir hastalık olup, plasentadan kaynaklanan ve yaygın maternal endotel disfonksiyonuyla karakterize sistemik bir sendromdur. Son zamanlarda preeklampsia patofizyolojisinin etiyolojisinde antianjiyogenetiklerin anahtar rol aldığı bildirilmektedir. Bu çalışmanın amacı daha önce preeklampside etkinlikleri ortaya konulmamış olan trombospondin-1, anjiyostatin, vazostatin gibi antianjiyogenetiklerin preeklampitik ve normotansif anne plasentalarındaki ekspresyonlarını immünohistokimyasal olarak karşılaştırmaktır.

Çalışma için 20 preeklampsia, 20 normotansif (kontrol) gebe plasenta kullanıldı. Çalışmada kullanılan plasentaların maternal ve fetal yüzlerinden, biri periferden diğeri ise sentralden olmak üzere iki doku parçası 1X1cm³ boyutlarında alındı. Ardından rutin parafin doku takibi yapıldı. Parafin bloklardan elde edilen kesitler histokimyasal inceleme amacıyla H-E, Trikrom Masson, PAS boyaları ve immünohistokimyasal inceleme için ise Trombospondin-1, Angiostatin, Vazostatin immün boyamaları yapılarak histopatolojik değerlendirmeler yapıldı.

Preeklampitik plasentaların histopatolojik incelemesinde perivillöz fibrin birikimi, intervillöz aralıkta artış, sinsityal düğüm artışı, bazal membranda kalınlaşma, kapiller dilatasyon, kapillerlerde konjesyon, damar duvarlarında kalınlaşma ve damar lümeninde obliterasyon tespit edildi. Matriks kökenli antianjiyogenik bir molekül olan trombospondin-1'in ekspresyonu plasentanın neredeyse tamamında olurken, sinsityotrofoblastlarda ve desidual hücrelerde sık gözlenen bu ekspresyonun preeklampitiklerde artmış olduğu izlendi. Non-matriks kökenli antianjiyogenik bir molekül olan anjiyostatin, sinsityal düğüm ve köprülerde eksprese olurken iki grup arasında bir farklılık bulunmadı. Vazostatinde desidual hücrelerde, desidual stromada, sinsityotrofoblast hücrelerinde, immün reaksiyon izlendi. Kontrol ve preeklampsia grupları arası karşılaştırma yapıldığında herhangi bir farklılık saptanmadı.

Sonuç olarak antianjiyogenik ajanlardan trombospondin-1, anjiyostatin ve vazostatin, preeklampsia patofizyolojisinde rol aldığı, bunlardan en önemlilerinin trombospondin-1 ve anjiyostatin olduğu, bu moleküllerin etkilerinin merkezinde en çok desidual hücreler ve sinsityotrofoblast hücrelerinin yer aldığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Preeklampsia, Trombospondin-1, Vazostatin, Anjiyostatin, Plasenta

ABSTRACT

Preeclampsia is a pregnancy-specific hypertensive disorder stemming from placenta, and systemic s syndrome characterized with widespread maternal endothelial dysfunction. Recently, it has been reported that antiangiogenetics play a key role in the etiology of preeclampsia pathophysiology. The aim of this study is to immunohistochemically compare the expressions of such antiangiogenetics in preeclamptic and normotensive placentas, as thrombospondin-1, angiostatin, and vasostatin the efficacy of which have not been established earlier in preeclampsia.

In the study, 20 preeclamptic and 20 normotensive (control) pregnant placenta were used. From maternal and fetal parts of the placentas, two tissue sections of $1 \times 1 \text{ cm}^3$ were taken: one from periphery and the other from central. Then rutin paraffin tissue blokes were performed. The sections taken from paraffin blokes were stained with H-E, Trichrom Masson, PAS for histochemical analysis, and with Thrombospondin-1, Angiostatin and Vasostatin for histopathologic evaluation.

In histopathologic analysis of preeclamptic placenta, perivillouse fibrin accumulation, increase in intervillouse interval, sintitial knot increase, thickening in basal membran, capillary dilatations and obliteration in vessel lumen were determined. While the expression of thrombospondin-1, which is an antiogenic molecule of matrix derived, occurred in almost all of the placenta, this expression which is often observed in syncytotrophoblast and decidual cells, was observed to have increased in preeclamptics. Although angiostatin, which is an antiangiogenic molecule of non-matrix origin, was expressed in sintitial knots and bridges, no difference was found between the two groups. In vasostatin, however, immun reaction was observed in decidual cells, decidual stroma and syncytotrophoblast cells. When, the groups were compared in this respect, any difference was not found.

In conclusion, of anti angiogenic agents, thrombospondin-1, angiostatin and vasostatin played a part in pathophsiology of preeclampsia; however, the most important of these were thrombospondin-1 and angiostatin. Decidual cells were involved most, in the center of these molecules effects.

Key words: Preeclampsia, Thrombospondin-1, Vasostatin, Angiostatin, Placenta

İÇİNDEKİLER DİZİNİ	Sayfalar
TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	iv
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Plasenta	3
2.1.1. Plasentanın gelişimi	3
2.1.1.1. Prelaküner evre	3
2.1.1.2. Laküner evre	4
2.1.2.Erken dönem villus evreleri	5
2.1.3. Desidua	7
2.1.4.Koryon plağı gelişimi	8
2.1.5. Bazal plak gelişimi	8
2.1.6. İnsan plasentasında bulunan villus türleri	8
2.1.7. Villöz stroma	10
2.1.8.Fibrinoid materyal	10
2.1.9 Term plasentanın yapısı	10
2.1.10.Fötal kısım	11
2.1.11.Maternal kısım	12
2.2.Preeklampsi	14
2.2.1.Giriş ve tanım	14
2.2.2.Epidemiyoloji ve risk faktörleri	14
2.2.3.Klinik özellikleri	15
2.2.4.Maternal ve yenidoğan ölümü	15
2.2.5.Plasental iskeminin preeklampsideki rolü	16

2.2.6. Plasental vasküler remodeling	17
2.2.7. Maternal endotel disfonksiyonu	17
2.3. Anjiyogenez ve endojen anjiyogenez inhibitörleri	17
2.3.1. Anjiyogenez	17
2.3.2. Endojen anjiyogenez inhibitörleri	20
2.3.2.1. Matriks kökenli endojen anjiyogenez inhibitörleri	21
2.3.2.2. Matriks kökenli olmayan endojen anjiyogenez inhibitörleri ..	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	35
3.1. Plasentaların Elde Edilmesi	35
3.2. Işık Mikroskopik İnceleme İçin Dokuların Takibi	36
3.3. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü	37
3.4. Masson Trikrom Boyama Yöntemi	37
3.5. Periyodik Asit Schiff Boyama Yöntemi	38
3.6. Histomorfometrik İncelemeler	38
3.7. İmmunohistokimyasal Yöntem	38
3.8. İstatistiksel Yöntem	40
4. BULGULAR	40
4.1. Kontrol Grubu Bulguları	40
4.1.1. Hematoksilen-Eozin yöntemi ile boyanan kesitlerde saptanan bulgular	40
4.1.2. Periyodik Asit Schiff (PAS) yöntemi ile boyanan kesitlerdeki bulgular	42
4.1.3. Masson Trikrom yöntemiyle boyanan kesitlerde saptanan bulgular	44
4.2. Preeklampsi Grubu Bulguları	44
4.2.1. Hematoksilen-Eozin yöntemi ile boyanan kesitlerde saptanan bulgular	44
4.2.2. Periyodik Asit Schiff (PAS) yöntemi ile boyanan kesitlerde saptanan bulgular	50
4.2.3. Masson Trikrom yöntemiyle boyanan kesitlerde saptanan bulgular	52

4.3.İmmünohistokimyasal Bulgular	55
4.3.1.Trompospondin-1 immün boyama.....	55
4.3.2.Anjiostatin immün boyama	59
4.2.3.Vazostatin immün boyama	65
5.TARTIŞMA	72
6.SONUÇLAR.....	80
7.KAYNAKLAR	82
8.EKLER	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa No
Şekil 1.	Plasentanın ışık mikroskopik görünümü, üstte Amnion (A), Koryon Plağı (CP) ve Koryon Villüsları görülmektedir. Umbilikal arterlerin ve venin damaraları (BVp) bulunmaktadır. Alt resimdeki kesitte plasentanın maternal kısmı gösterilmektedir. Sağ tarafta bazal plak yada stratum bazale (SB) ve buradaki desidua hücreleri ayrıca koryon villusundaki damarlarda (BVv) görülmektedir.	13
Şekil 2.	Term plasentada intervillöz aralık (IS) ve değişik büyüklükteki koryon villusları (CV) görülmektedir. Villüslerin bağ dokusunda umbilikal ven (UV) ve arterler, villüslerin çevresini saran sinsityotrofoblastlar (S) ve altında ise sitotrofoblastlar (C) yer almaktadır	13
Şekil 3.	Proanjiyojenik moleküllerin ve endojen anjiyogenez inhibitörlerinin anjiyogenez ile olan ilişkisini gösteren şema	18
Şekil 4.	Plasentanın koryoamniyonik membranla kaplı fetal yüzü. Ana koryonik elemanlar ve göbek kordonu izlenmektedir.	35
Şekil 5.	Plasentada kotiledonların olduğu maternal yüz görülmektedir.	36
Şekil 6.	Kontrol grubu, periferik plasenta kesitinde kök villüslerin damar lümenleri açık damarlara sahip olduğu izlenirken(+), minimal düzeyde perivillöz fibrin birikimi(pf) ve normal yapıda villuslar saptandı (H-E,Bar: 100µm).	40
Şekil 7.	Kontrol grubu, periferik plasenta kesitinde, sinsityal köprüler (sk) ve perivillöz fibrin(pf) birikimi (H-E,Bar: 100µm).	41
Şekil 8.	Kontrol grubu, periferik plasenta örneğinde koryon villusları ile desidua kesitinde sinsityal köprüler (sk) ve perivillöz fibrin birikimi (pf) izlenmektedir (H- E,Bar: 100µm).	41
Şekil 9.	Kontrol grubu santral plasenta kesitinde, normal kalınlıkta, sağlıklı vaskülosinsityal bazal membranlar (bm), perivillöz fibrin ve Hofbauer hücreleri (Hh) izlenmektedir. (PAS, Bar: 50µm).	42
Şekil 10.	Kontrol grubu, santral plasenta kesitinde normal kalınlıkta trofoblast bazal membranı (ok) (PAS, Bar: 50µm).	43

Şekil 11.	Kontrol grubu, maternal plasenta kesitinde, desiduada normal glikojen dağılımı (g) (PAS, Bar: 50µm).	43
Şekil 12.	Kontrol grubu santral plasenta kesiti, kök villusları (kv), fetal damarlar (fd), perivillöz fibrin (pf), sinsityal düğümler (sd) ve intervillöz aralık (iva) izlenmektedir(Masson Trikrom, Bar: 50µm).	44
Şekil 13.	Preeklampsi grubu, santral plasenta kesiti, amnion epitelinde skuamöz metaplazi (mp) izlenmektedir (H-E,Bar: 500µm).	45
Şekil 14.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, perivillöz fibrin birikimi (pf) sinsityal düğümlerde (sd) ve sinsityal köprülerde (sk) belirgin bir artış görülmektedir (H-E,Bar: 100µm).	46
Şekil 15.	Preeklampsi grubu, periferik plasenta kesitinde, sinsiyal düğümlerde (sd) ve kapillerde konjesyon (k) artış (H-E,Bar: 100µm).	46
Şekil 16.	Preeklampsi grubu, santral plasenta kesiti, kök villuslarda(kv), infarkt alanları (*) çevreleyen fibrinoid doku (f), konjesyon (k) ve dilate fetal kapillerler izlenmektedir. (H-E,Bar: 100µm).	47
Şekil 17.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, kök villuslarda (kv), infarkt alanları (*), çevreleyen fibrinoid doku (f), konjesyon (k) ve dilate fetal kapillerler izlenmektedir(H-E,Bar: 100µm).	47
Şekil 18.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesiti, terminal villuslarda ödem (öd), Hofbauer hücreleri (Hh) ve sinsityal köprü (sk) sayılarında artış (H-E,Bar: 100µm).	48
Şekil 19.	Preeklampsi grubu, sentral plasenta kesiti, konjesyon (k) ve dilate terminal villus kapillerleri ile perivillöz fibrin (pf) birikimi (H-E,Bar: 100µm).	48
Şekil 20.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, konjesyon ve dilate terminal villus kapillerleri (k), ile perivillöz fibrin (pf) birikimi, kalsifikasyon odakları (kal) ve infarkt alanları (*) izlenmektedir. (H-E,Bar: 100µm).	49
Şekil 21.	Preeklampsi grubu, santral plasenta kesiti, maternal yüzde lenfosit infiltrasyonu (l) ve perivillöz fibrin (pf) birikimi (H-E,Bar: 100µm).	49

Şekil 22.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, desiduada yer yer çok çekirdekli plasental dev hücreler (Dh) izlenmektedir. (H-E, Bar: 50µm).	50
Şekil 23.	Preeklampsi grubu, periferik plasenta kesiti, kalınlaşmış trofoblast bazal membranı (ok), fetal kapillerler (fk) izlenmektedir. (PAS, Bar: 50µm).	51
Şekil 24.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesiti, kontrol grubuna nazaran kalınlaşmış trofoblast bazal membranları (ok), yoğun perivillöz fibrin (pf) birikimi izlenmektedir. (PAS, Bar: 50µm).	51
Şekil 25.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, desidua ven duvarında fibrin birikimi (fb) ve heterojen dağılım gösteren yoğun glikojen akümülyasyonu (g) izlenmektedir. (PAS, Bar: 100µm).	52
Şekil 26.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, amnion epitelinde skuamöz metaplazi (mp) izlenmektedir (Masson Trikrom, Bar: 100µm).	53
Şekil 27.	Preeklampsi grubu, santral plasenta kesiti, perivillöz fibrin(pf) birikimi yanı sıra, intervillöz aralıklarda (iva) artış (Masson Trikrom, Bar: 500µm).	53
Şekil 28.	Preeklampsi grubu, santral plasenta kesiti, kök villus (kv), fetal damarlarda konjesyon (k), fetal arter tunika mediasında (tm) kalınlaşma perivasküler ödem (öd) izlenmektedir (Masson Trikrom, Bar: 500µm).	54
Şekil 29.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, kök villus (kv), fetal arter tunika mediasında ileri derecede kalınlaşma (tm), perivasküler ödem (öd) ve perivillöz fibrin (pf) birikimi (Masson Trikrom, Bar: 100µm).	54
Şekil 30.	Preeklampsi grubu santral kesiti negatif kontrol. (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).	56
Şekil 31.	Kontrol grubu santral plasenta kesiti desidual hücreler izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).	56
Şekil 32.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesitinde zayıf immünpozitif desidual hücreler (küçük oklar) (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).	57

Şekil 33.	Kontrol grubu santral plasenta kesitinde zayıf immün reaksiyon gösteren sinsityotrofoblast hücreleri (oklar) izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).	57
Şekil 34.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesitinde zayıf immün reaksiyon gösteren sinsityotrofoblast hücreleri (oklar) izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).	58
Şekil 35.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesiti zayıf immün pozitif reaksiyon gösteren desidua hücrelerin(ok başı) izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).	58
Şekil 36.	Kontrol grubu santral plasenta kesitinde immün pozitive göstermeyen desidua hücreler(ok başı) izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).	59
Şekil 37.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde sinsityotrofoblast hücrelerinde zayıf immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 50µm).	59
Şekil 38.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde kök villus stromasında zayıf immün pozitif alanlar izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).	60
Şekil 39.	Preeklampsi grubu santral kesiti negatif kontrol (Anjiostatin immün boyama, Bar: 50µm).	61
Şekil 40.	Kontrol grubu santral plasenta kesiti, sinsityal düğüm ve köprülerin yanı sıra endotel hücrelerinde güçlü immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 50µm).	62
Şekil 41.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, sinsityal köprü ve düğümlerin yanı sıra stromada güçlü immünpozitif (oklar) alanlar izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).	62
Şekil 42.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti kök villuslarında kuvvetli immünpozitif alanlar izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).	63

Şekil 43.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesitinde güçlü immünopozitif (oklar) alanlar izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).	63
Şekil 44.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde koryon plağında güçlü immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).	64
Şekil 45.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesiti, zayıf immün reaksiyon gösteren desidual hücreleri (ok başı) izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).	64
Şekil 46.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücrelerinin hemen altında yer alan stromal alanda zayıf immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).	65
Şekil 47.	Kontrol grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücrelerinin hemen altında yer alan stromal alanda orta derece immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).	65
Şekil 48.	Preeklamsi grubu santral kesiti, negatif kontrol (Vazostatin immün boyama, Bar: 50µm).	67
Şekil 49.	Kontrol grubu santral plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast ve desidual hücrelerde orta derecede immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 100µm).	67
Şekil 50.	Kontrol grubu santral plasenta kesitinde, kök villus sinsityotrofoblast hücrelerinde ve stromada güçlü immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar:100µm).	68
Şekil 51.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast, sitotrofoblast hücrelerinde ve stromada güçlü immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar:50µm).	68
Şekil 52.	Preeklampsi grubu santral plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücrelerindeki güçlü immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar:50µm).	69

Şekil 53.	Kontrol grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast ve desidual hücrelerdeki orta derecedeki immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 100µm).	69
Şekil 54.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde, desidual hücrelerdeki zayıf immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 100µm).	70
Şekil 55.	Kontrol grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücrelerinde sinsiyal köprülerde orta derecede immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 50µm).	70
Şekil 56.	Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücreleri ve stromada herhangi bir immün reaksiyon (oklar) izlenmedi (Vazostatin immün boyama, Bar:100µm).	71

TABLÖLAR DİZİNİ

		Sayfa No
Tablo 1.	Proanjiyojenik moleküller ve Endojen Anjiyogenez İnhibitörleri.	19
Tablo 2.	Kontrol ve preeklampsi plasentalarında vazostatin, anjiostatin ve trombospondin-1 ekspresyonun skorlanması.	39
Tablo 3.	Preeklampsi ve kontrol grubu plasentaların santral ve periferik Örneklerinde sinsityal düğüm ve terminal villus sayıları.	45
Tablo 4.	Preeklampsi ve kontrol grubu plasentaların santral ve periferik örneklerinde bazal membran kalınlığı.	50
Tablo 5.	Trombospondin-1 ekspresyonunda, kontrol ve preeklampsi gruplarının istatistiksel karşılaştırılması	55
Tablo 6.	Anjiostatin ekspresyonunda, kontrol ve preeklampsi gruplarının istatistiksel karşılaştırılması.	61
Tablo 7.	Vazostatin ekspresyonunda, kontrol ve preeklampsi gruplarının istatistiksel karşılaştırılması.	66

KISALTMALAR DİZİNİ

bFGF	: Bazik fibroblast büyüme faktörü
Chm	: Kondromodulin
DAB	: 3,3' Diaminobenzidine
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
ECM	: Ekstrasellüler matriks
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FIt-1	: Fms-benzeri tirozin kinaz-1
HELLP	: Hemoliz, karaciğer enzim yüksekliği, düşük trombosit
HIF-1 α	: Hipoksi ile indüklenen faktör
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
HUVEC	: İnsan göbek kordonu venöz endotel hücreleri
İUGG	: İntra uterin gelişme geriliği
IL	: İnterlökin
IFN	: İnterferon
MAPK	: Mitojen ile aktive olan protein kinaz
MMP	: Matriks metalloproteinaz
PIGF	: Plasental büyüme faktörü
PBS	: Fosfat buffer saline
TNF	: Tümör nekroz faktörü
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PEDF	: Pigment epitelyum kaynaklı faktör
RGD	: Arjinin-Glisin-Aspartik Asit
sEng	: soluble endoglin
TIMP	: Doku metalloproteinaz inhibitörü
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VSM	: Vaskülo sinsityal membran
vWF	: von willebrand faktör
Vs	: Vazostatin
2-ME	: 2-Metoksiöstrodiol

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Preeklampsia gebeliğe özgü hipertansif bir hastalık olup, plasentadan kaynaklanan yaygın maternal endotel disfonksiyonuyla karakterize sistemik bir sendromdur (1). Preeklampsia dünya genelindeki gebelerin yaklaşık %3-%5'ini etkileyip, gebeliğin ikinci yarısında, kendini öncelikle hipertansiyon ve proteinüri ile göstermektedir. Preeklampsinin patofizyolojisinin aydınlatılmasında son on yılda önemli ilerlemeler olmasına karşın hala bu hastalıkta plasentanın çıkarılmasının dışında kesin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Buna bağlı olarak günümüz itibari ile preeklampsia gebelerde ölüm, erken doğum gibi komplikasyonlara neden olurken, yeni doğanda da ölüm ve bir takım hastalıkların meydana gelmesinde en önde gelen nedenler arasında yer almaktadır. Güvenli, acil doğum imkânlarının yetersiz olduğu gelişmekte olan ülkelerde, her yıl 60.000'den fazla anne hayatını kaybetmektedir (2).

Gözlemsel kanıtlar plasentanın, preeklampside merkezi bir rolü olduğuna işaret etmektedir. Placenta, memelilerde ve insanda var olan, uterus ile embriyo arasındaki metabolik işlevlerin gerçekleşmesine olanak sağlayan çeşitli endokrin aktiviteler gösteren ve bu aktiviteleri tam anlamıyla aydınlatılamamış sınırlı bir ömre sahip karmaşık, geçici bir organdır(3). Fetüsün gelişimi ve yaşamı açısından hayati fonksiyonları olduğu bilinmektedir. Bir takım hormonları sentezlemesinin yanında, maternal besinlerin ve oksijenin fetüse ulaşmasından yanında, fetal metabolik atıkların maternal dolaşıma verilmesinde de görev almaktadır (4).

İlk olarak 1787 yılında John Hunter tarafından kullanılmış olan anjiyogenez terimi, 1935 yılında Hertig tarafından plasentadaki kan damarlarının gelişimini tanımlamak için öne sürülmüştür (5).

Kan damarları esasında vaskülogenez ve anjiyogenez olmak üzere iki farklı mekanizma aracılığıyla meydana gelmektedir. Vaskülogenez, immatür mezenşimal hücrelerden kan damarlarının gelişmesiyle ve embriyonun erken dönemleriyle sınırlı olduğu bildirilmekteyken anjiyogenez ise daha önce var olan kan damarlarından yeni damarların filizlenmesi olarak tanımlanmaktadır. Anjiyogenez, temelde iki farklı şekilde meydana gelmektedir. Ya damar endotelinden tomurcuklanma ile ya da içe geçme mekanizmasıyla yeni damar gelişimi şekillenmektedir.

Preeklampsinin patogeneğinde dolaşımdaki anjiogenik faktörlerin kilit rol oynadıklarına dair iddiaları belirten çalışmalar logaritmik bir şekilde artış göstermiştir. Tarif edilen ilk anormallikler çözünebilen fms benzeri tirozin kinaz-1 (sFlt1)'in ekspresyon artışı ile birlikte, plasental büyüme faktörü (PlGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) sinyalizasyonundaki azalmadır (6,7).

Anjiogeneğin endojen inhibitörleri, yeni kan damarlarının oluşumunu inhibe edebilen protein yada protein parçacıkları olarak tanımlanırlar. Anjiogeneğin inhibitörü olarak işlev gören en az 27 farklı protein ve faktörün vücutta varlığından bahsedilmektedir (8). Anjiogeneğin çoğu endojen inhibitörü, büyük ekstraselüler matriks moleküllerinin parçacıklarıdır. Bu parçacıklar ekstra sellüler matriks (ECM)'nin proteolizi ve Matriks Metalloproteinaz (MMP), katepsin, elastaz gibi enzimlerin vasküler bazal membrana etkisi ile serbestleşip salınır.

Bu çalışmanın amacı; preeklampside merkezi bir rolü olduğuna işaret edilen plasentada, anjiogeneğin önemli bazı endojen antianjiogenetiklerinin immünohistokimyasal olarak ekspresyonlarını göstermektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Plasenta

Plasenta, memelilerde ve insanda var olan, uterus ile embriyo arasındaki metabolik işlevlerin gerçekleşmesine olanak sağlayan çeşitli endokrin aktiviteler gösteren ve bu aktiviteleri tam anlamıyla aydınlatılamamış sınırlı bir ömre sahip karmaşık, geçici bir organdır (3). Fetüsün gelişimi ve yaşamı açısından hayati fonksiyonları olduğu bilinmektedir. Bir takım hormonları sentezlemesinin yanında, maternal besinlerin ve oksijenin fetüse ulaşmasından yanında, fetal metabolik atıkların maternal dolaşıma verilmesinde de görev almaktadır (4). Ortalama olarak 185 mm uzunluğunda, 23 mm kalınlığında olup, yaklaşık olarak 500 gr ağırlığındadır (9).

Fetüsle anne arasındaki etkileşimler, özelleşmiş feto-maternal yüzeyin gelişimi ile mümkün hale gelir. Bu yüzeyin gelişimi plasenta oluşumun bir parçasıdır (4).

2.1.1. Plasentanın gelişimi

Trofoblastik doku plasentanın en önemli bileşenidir. Fertilizasyondan sonraki 4-5. günlerde trofoblastlar, blastokist haline gelecek olan morulanın en dışındaki hücrelerinden farklılaşırlar. Trofoblastik hücreler hızlı bir şekilde proliferer olur ve iç hücre kitlesini çevreleyip, blastokistin bütün yüzeyini örterler. Endometrial yüzeye yapışma ve implantasyon genellikle uterusun üst bölümlerinde ve 5-6. günlerde meydana gelir (10).Plasentanın oluşumu prelaküner evre ve laküner evre olmak üzere iki aşamada tamamlanır (11).

2.1.1.1. Prelaküner evre:

Konsepsiyonun başlangıcından 8. gününe kadar olan dönem olarak tanımlanır. Bu evrede zona pellucida yırtılır ve blastosistin kabuğundan ayrıldığı izlenir. Fertilizasyondan hemen sonra zigot blastosist evresine ulaştığında 107 ile 256 hücreye sahiptir. Blastosistin dış yüzeyini örten trofoblast hücreleri plasentaya kaynaklık ederken; embriyo, göbek kordonu ve amnion iç hücre kitlesi (embriyoblast) adı verilen hücrelerden meydana gelir. Hem embriyoblast kökenli mezenşim hem de embriyoblast kökenli kan damarları, koryonik villus kan

damarlarının ve bağ dokusunun oluşumuna katkıda bulunur. İmplantasyonun ilk adımı appozisyon olarak tanımlanır ve bu olay 6-7. günlerde cereyan eder. İlerleyen günlerde implantasyonun ardından trofoblastik hücreler proliferasyon olarak endometrium içine invaze olan iki hücre tabakasını oluştururlar. İçte yer alan hücre tabakası maternal dokuyla temas etmeyen sitotrofoblastlardan oluşur. Dışta yer alan hücre tabakası ise maternal dokuyla temasta olan ve sitotrofoblastların füzyonu sonucu oluşan sinsityotrofoblast hücreleri olarak isimlendirilir (12, 13).

2.1.1.2. Laküner evre

Postkoitum 8 ila 13. günler arasındaki dönemi kapsar. Sekizinci günde sinsityotrofoblastik kitle içerisinde küçük vakuoller şekillenir. Bu vakuoller büyüyüp genişleyerek laküner sistemi oluşturur. Lakünalar birbirinden trabekül adı verilen sinsityotrofoblast hücre bantlarıyla ayrılırlar. Sinsityotrofoblastik kitle ve laküner sistem tüm blastosist yüzeyini çepeçevre sarar. Onikinci günde blastosistinin daha derine implantasyonu gerçekleşir ve uterinal epitel, implantasyon bölgesini doldurarak kapatır. Sitotrofoblast hücreleri, sinsityal trabeküller içine doğru yol alır ve 13. günde trofoblastik kabuğa kadar ulaştıktan sonra endometriumla tamamen temas eder. İmplantasyon kutbundaki trofoblastik proliferasyon ve sinsityal füzyon, buradaki trofoblast tabakasını daha kalın hale getirir. Bu proliferatif alan daha sonra plasental disk yapısını oluşturacaktır. Ardından karşı kısımda yer alan daha ince olan trofoblastik halka sadece başlangıçta aynı yapıyı oluşturur. Blastosisti çevreleyen bu trofoblastik yapı atrofiye uğrayarak düz koryon (koryon laeve) adını alır. Bu nokta da, blastosisti çevreleyen trofoblastik yapı; primer koryonik plak, trabeküller ile birlikte laküner sistem ve trofoblastik kabuk üç tabakaya ayrılır (12,13).

a) Primer koryonik plak (blastosist kavitesine bakan yüz)

Primer koryonik plak, maternal kısımda yer alan ve sinsityotrofoblast hücreleri ile çevrelenen sitotrofoblastlardan oluşur. Postkoitum 14. günde ekstraembriyonik mezoderm, blastosist kavitesinin ve sitotrofoblast hücre tabakasının iç yüzeyine doğru yayılır. Bu olay mezenşim, sitotrofoblast ve sinsityotrofoblasttan oluşan üç tabakalı koryonik plağın şekillenmesine neden olur. Aynı anda trabeküllerden ilk villus dallanmalarının oluştuğu gözlenir. Bu nedenle

trabekülalara kök villuslar denir. Laküner sistem, intervillöz boşluğa dönüşür (12,13).

b) Laküner sistem (trabekülayı içeren yapı)

Postkoitum 12. günde primer koryonik plağın sitotrofoblastik hücreleri trabekülalar içine doğru invaze olur. Maternal yüzeyde, trabeküllerin birbirleriyle birleşmesi sonucu trofoblastik kabuk meydana gelir. Trabeküllerin luminal yüzeye yakın olan bölümlerinde sitotrofoblastların hemen altında sinsityotrofoblast hücreleri gelmektedir. İmplantasyonun erken evrelerinde maternal dokuda erozyonu şekillenir. Daha sonra, trofoblastlarda proliferasyon ve migrasyon görülür. Bu sayede endometriumun derinlerine ve miyometriumun yüzeyine doğru invazyon şekillenir. Bu arada endometriyal stromal hücreler, kendilerine doğru erozyon şekillendiren trofoblastların hormonal ve mekanik etkileri nedeniyle desidual hücrelere dönüşürler. Desidual hücreler, stoplazmalarında lipid ve glikojen birikimi ile şişer. Bu olay desidual reaksiyon olarak bilinir ve bu reaksiyon sayesinde embriyonun immünolojik olarak reddi engellenmiş olunur (14). Postkoitum 12. günde invazyon gerçekleştiren trofoblastlar endometriyal damar duvarlarının bütünlüğünü bozup, ekstrasvillöz trofoblastlar, kapiller endotele invaze olarakta kapiller duvarın yerini alırlar (12,13).

c) Trofoblastik kabuk (endometriuma bakan tarafta):

12. gün civarında trabeküllerin genişlemesi, sitotrofoblastların trabeküllerin içine girmesiyle gerçekleşir. Bu olay trabeküllerin alt kısımları birleşerek trofoblastların en dış tabakasını oluşturmasıyla trofoblastik kabuk meydana gelir. Başlangıçta bu yapı sinsityotrofoblastik bir yapıdır ancak 12-15. günde sitotrofoblastların trofoblastik kabuğa ulaşması ile heterojen bir yapı oluşur. Sinsityotrofoblast lakünayı çevreler. Postkoitum 22. günden sonraki dönemlerde trofoblastik kabuk, bazal plak terimi ile yer değiştirir (12).

2.1.2.Erken dönem villus evreleri

Postkoitum 13-28.günler arasındaki dönemi kapsar. Sitotrofoblastlar, trabekülaların içine doğru filizlenmeler yapar. Bu ilk filizlenmeler primer villus olarak isimlendirilir. Dolayısıyla primer villus merkezde sitotrofoblastlar, periferde sinsityotrofoblastlardan oluşur. Bu yapıların varlığı, erken dönem

plasentasyonun villöz aşamasının başladığını gösterir. Daha ileri proliferasyonları ve ard arda dallanmaları pirimitif villöz ağacın gelişimini başlatır. Trofoblastik kabuk ile ilişkisini sürdüren villuslar kök villus olarak tanımlanır. Primer koryon plağının mesenşimal tabakasından köken alan hücreler villus içine invaze olup, söz konusu villus yapılarının sekonder villusa dönüşümünü gerçekleştirir. Sekonder villus yapısına bakıldığında, ortada bağ doku, onun hemen etrafında sitotrofoblast tabakası ve en dışta sinsityotrofoblast hücre tabakası izlenmektedir. Birkaç gün içerisinde mezenşim, villusun uçlarına yani periferik doğru yayılır. Mezenşimdeki bu yayılma, trofoblastik kabuğa tamamen ulaşma gerçekleşmeden sonlanır. Villuslarda, ilk fetal kapillerler 18 ila 20. günler arasında izlenir. Bu kapillerler lokal olarak mezenşimden farklı olan hemanjiyoblast prekürsörlerinden köken alırlar. Villöz stroma içerisinde fetal kapillerlerin izlenmesiyle tersiyer villus şekillenmiş olur. Kapiller segmentler yeterli sayıya ulaştığında birbirleriyle birleşerek kapiller yatağı oluştururlar ve tam bir fetoplasental sirkülasyonun oluşumu gerçekleşmiş olur. Fetoplasental dolaşım başladıktan hemen sonra fetal ve maternal kan arasında yakın temas kurulur.

Fötal dolaşım fetus umbilikal ve plasental damarlar arasında gerçekleşen kapalı bir sistemdir. Maternal dolaşım ise açık bir sistem olup, spiral arterler, plasenta intervillöz aralık sonrasında spiral venler arasında gerçekleşir.

Intervillüs aralığındaki kan maternal dolaşım sisteminin dışında olup, intervillöz aralığa desidua bazalindeki 80-100 spiral arter aracılığıyla girer. Gelen kan intervillöz aralığındaki kandan daha yüksek basınç ile koryon plağına çarpar ve basınç dağılırken kan dallanmış villuslar arasından yavaşça akar. Böylelikle fetal kan ile maternal kan arasında metabolit ve gaz değişimi sağlanmış olur. Kan endometrial venlere ve maternal dolaşıma geri döner (15).

İki dolaşım sistemi plasental bariyer ile daima birbirinden ayrılır. Full-term plasenta bariyeri şu tabakalardan oluşur (12):

1. Sinsityotrofoblast,
2. Sitotrofoblast,
3. Trofoblastik bazal lamina,
4. Villöz mezenşimal bağ dokusu,
5. Fetal endotel bazal laminası,

6. Fetal endotel (12).

2.1.3. Desidua

Fertilizasyondan hemen sonra, progesteronun etkisiyle endometriyum sekresyon fazına geçerek gebeliğe hazırlanır. Endometriyal siklusun 23. gününde desidualizasyon işaretleri belirgin hale gelir. Endometriyumda, implantasyon ve gebeliğe yanıt olarak meydana gelen değişikliklerin hepsine birden desidual reaksiyon adı verilir. Desidual reaksiyon endometriyal stromal hücrelerin genişlemesi ile kendisini gösterir. Hücreler yuvarlak yada poligonal görünümündedirler. Hücre konturları belirgin değildir. Gebelik ilerledikçe hücre çekirdekleri endomitoza giderek poliploid bir hal alır. İlk etapta genişleyen desidual bezler daha sonra atrofik hale gelir. Desidua üç bölge halinde isimlendirilir (12-13).

a) Desidua bazalis Bezlerden ve kan damarlarından zengin olup, iri desidual hücrelerden oluşmuştur. İmplantasyon bölgesinde, plasentanın anneye ait bazal plak bölümünü oluşturur. Koryon frondozum üzerindeki bölümde yer alan desidual hücreler lipid ve glikojenden zengindir.

b) Desidua kapsülaris Embriyoyu saran, embriyonun uterus boşluğuna bakan desiduanın yüzeyel tabakasıdır. İçinde kan damarları ve az sayıdaki bezler ile karakterizedir. Koryon ve amniyon kesesinin tedrici büyümesi ile atrofik hale gelir ve 12.haftada kalınlığı 1 mm'ye kadar geriler.

c) Desidua pariyetalis (desidua vera) İmplantasyon bölgesi dışında kalan desidua kısmı, desidua pariyetalistir. İlk etapta, tipik gebelik mukozası görünümünde iken 16. haftaya kadar 1cm kalınlığa ulaşır. Desidua kapsülaris ve desidua pariyetalis 12.haftanın sonuna doğru birbirlerinden uterus boşluğunun oldukça dar bir yarığı ile ayrılır. Ancak, fetal büyümenin artması sonucu birbirleriyle temas ederek kaynaşırlar ve uterus boşluğu ortadan kalkar. Desidua kapsülaris gebeliğin son 3 ayında tamamen ortadan kalkar. Böylece amniyon ve koryonun kaynaşması ile birlikte koryoamniyotik zar oluşur. Bu yapıda, doğumda plasenta ile birlikte atılır (12-13).

2.1.4. Koryon Plağı Gelişimi:

Primer koryonik plak, postkoitum 8. günde sadece sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast hücrelerinden ibarettir. Primer koryonik plak, laküner sistemi, blastosist kavitesinden ayırır. 9. günden itibaren blastosist kavitesinin yüzeyi mezoderm ile çevrelendiğinde primer koryonik plak üç tabakalı hale gelir. Üçüncü hafta esnasında ekstraembriyonik mezoderm içerisinde ekzosöloomik kavite meydana gelir. Ekstraembriyonik mezenşim ise koryonik mezenşime dönüşür. Koryonik plağı doğru gidildikçe, sinsityotrofoblastik tabaka fibrinoid ile yer değiştirir. Bu fibrinoid yapılara Langhans' fibrinoidi denir. Intervillöz boşluğı doğru, koryonik plak fibrin ile kuşatılmıştır. Gebeliğın 8 haftasında fetal kan damarları koryonik plak ile bağlantı halindedir ve kök villusların yapısına katılır. Bu damarlar göbek kordonu ile koryonik plağın temasını sağlarlar. On yedinci haftada amniyon zarının koryonik plağı teması ile olgun koryonik plak oluşur (12,13,).

2.1.5. Bazal plak gelişimi:

Bazal plak, intervillöz aralığın maternal yüzü olarak tanımlanır. Maternal ve fetal dokuların en yakın ve en önemli temas bölgesi olması açısından önemli bir bölgedir. Olgun bazal plağın yapısı şu yapılardan meydana gelir; ekstravillöz trofoblastlar, desidua, fibrinoid, dejenere olan villus kalıntıları ve maternal damarlardır. Bazal plak daha öncede belirtildiğı gibi trofoblastik kabuktan köken alır. İmplantasyon olaylanırken trofoblastik kabuk sadece, sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast hücrelerinden meydana gelmiştir. Desiduanın daha derinlerine doğru invazyon devam ederken, trofoblastik kabuk ile endometriyumu ayıran keskin sınır ortadan kalkar ve trofoblastik kabuk post-koitum 22. günden itibaren bazal plak olarak adlandırılır. Bu terim, intervillöz aralığı bakan maternal dokular ile buna yapışık diğerk maternal ve fetal hücreleri kapsar. Bazal plak yapıları intervillöz aralığı doğru çekilirken, plasental septalar gelişir (12,13,).

2.1.6. İnsan plasentasında bulunan villus türleri:

İnsan plasentasında tanımlanan beş tip villusun kökeni erken plaseenta oluşumu aşamasındaki tersiyer villuslardır; çaplarına, stroma yapılarına, damar yapılarına ve pozisyonlarına göre tanımlanmıştır. Bu villus türleri şunlardır; kök

villuslar, immatür intermediyer villuslar (olgunlaşmamış ara villuslar), matür intermediyer villuslar (olgunlaşmış ara villuslar), terminal villuslar, mezanşimal villuslar (16).

a) Kök villuslar

Çapları 80-3000 µm kadar olan bu villusların yoğun fibröz stromaları vardır. Stromalarında, büyük, yoğun kollajen lif demetleri, mezanşimal hücreler, retikulum hücreleri, fibroblastlar, miyofibroblastlar, düz kas hücreleri, Hofbauer hücreleri ve yer yer mast hücreleri görülür. Kök villuslarda arter, ven, arteriyol ve venüller içerirler. Bu damarların çevresinde tunika adventisya bulunur. Kök villusların özel bir türü olan tutundurucu (anchoring) villuslar villus ağacını mekanik olarak destekler (16).

b) İmmatür intermediyer villuslar (olgunlaşmamış ara villuslar)

Mezanşimal villusların ilk iki trimestırda olgunlaşmasıyla oluşur. Daha terime ulaşmamış plasentalarda baskın olan ve kök villuslardan çıkan immatür yumru şeklindeki villuslardır. İmmatür intermediyer villuslarda kalın bir trofoblast tabakası bulunur. Sinsityotrofoblast altında erken gebelikte %50, geç gebelikte %20 oranında sitotrofoblastlar (Langhans hücreleri) bulunur. İmmatür intermediyer villuslar retiküler bir stroması vardır (16).

c) Matür intermediyer villuslar (olgunlaşmış ara villuslar)

Mezanşimal villusların üçüncü trimestırda olgunlaşmasıyla oluşur ve matür intermediyer villusların gelişimiyle terminal villuslar oluşur. Yani bu villus tipi için ara bir form diyebiliriz. Stroması gevşek bağ doku lifleri ve bağ doku hücreleri var ve matür intermediyer villuslarda, kapillerler, küçük terminal arteriyoller ve toplayıcı venüller bulunabilir (16).

d) Terminal villuslar

Terminal villuslar, villus ağacının son trimestırda meydana gelen matüt intermediyer villusların üzüm benzeri son dallanmalarıdır. Stromasında çok miktarda kapillerler içerirler. Fötomaternal değişim yapıldığı en önemli yerdir (16).

e) Mezenşimal villuslar

Tersiyer villuslardan ilk oluşan villuslar mezanşimal villüslardır. Gebeliğin erken dönemlerinin baskın villus tipidir ve immatür villusların öncülüdürler. Gebelik ilerlediği dönemlerde mezanşimal villus sayısı azalır ve termde çok az (%1 kadar) mezanşimal villus bulunur (16).

2.1.7. Villöz stroma

Villus stromasında plasentanın yaşına ve villusun tipine göre farklı tiplerde stromal hücreler tanımlanmıştır (17). Bunlar; mezenşimal hücreler, retikulum hücreleri, fibroblast hücreleri, miyofibroblast hücreleri, mast hücreleri, plazma hücreleri ve Hofbauer hücreleridir.

Hofbauer hücreleri villus stromasında bulunan plasental makrofajdır. Yuvarlak, uzamış veya ovoid şekilli olabilen, çekirdekleri eksentrik yerleşmiş ve 10-40 µm çapında olan bu hücreler gebeliğin erken dönemlerinde sitoplazmaları bol vakuollüken, gebelik ilerledikçe vakuol sayısı ve boyutlarının azalıp intrasitoplazmik granüller daha belirgin hale geldiği görülmüştür (17). Yapılan birçok araştırmaya dayanılarak bu hücrelerin doku makrofajları olduklarına inanılmaktadır. Makrofajların morfolojik, histokimyasal ve fonksiyonel karakteristiklerine sahiptirler. Hofbauer hücreleri plasental gelişimin en erken devreleri ve gebelik boyunca villuslarda bulunurlar (18).

2.1.8.Fibrinoid materyal

Fibrinoid, plasentada bulunan asellüler, eozinofili gösteren, homojen bir maddedir. Normal plasentada, intervilloz boşluklarda ve villus ağacında belli bir miktarda bulunur. Fibrinoid miktarının artması bir patolojiyi düşündürür. Perivillöz fibrinoid ve intravillöz fibrinoid olarak iki grupta incelenir. Bu iki tür fibrinoidin bileşimlerinin birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir. Perivillöz fibrinoid lameller yapısında olup immünohistokimyasal olarak, yüzeysel tabakası, fibrin-tip fibrinoid yapısındadır. Bir kan pıhtısı ürünüdür. Perivillöz fibrin tip fibrinoidi, matriks tip fibrinoid ile devam edebilir (19).

2.1.9 Term plasentanın yapısı

İmplantasyon tamamen meydana geldikten 7-8 gün sonra plasenta gelişmeye başlar. Beşinci aya kadar insan plasentası organizasyonu, fonksiyonu,

biçimi ve büyüklüğü ile tam bir olgunluğa erişirken, bu durumunu gebeliğin sonuna kadar muhafaza eder. Term plasenta, %90 oranda disk benzeri, yuvarlak ya da oval bir organdır. Plasentanın ortalama çapı 22 cm, merkezi kısmının kalınlığı 2,5 cm ve ortalama ağırlığı 470 gr'dır. 4. ayda plasenta yaklaşık olarak 100 gr ağırlığındadır ve olgun yapısına erişmiştir.

Plasentayı histolojik olarak incelediğimizde villuslar ve non-villöz kısımlar göze çarpmaktadır. Non-villöz kısmını koryon plağı, hücre adacıkları, hücre sütunları, plasenta septaları, bazal plak, marjinal zon ve organın bütün kısımlarında fibrinoid birikimleri oluşturur. Plasentanın non-villöz kısımları maternal ve fetal dolaşım ile ilişkileri olmadığından fetomaternal değiş tokuşa katılmazlar. Plasentanın nonvillöz kısımları, heterojen yerleşimleri ve yapılarına rağmen aynı temel bileşenlere sahiptir ve bunlar; Ekstravillöz Trofoblast (EVT), desidualize olmuş endometriyum stroması ve fibrinoiddir. Plasenta iki bölümde incelenir.

2.1.10.Fötal plasenta

Koryon villuslarının meydana getirdiği bu kısım fetüsa ait olup, koryon frondozumdan köken alır. Yapının fetal yüzü amniyon epiteliyle, intervillöz boşluğa bakan yüzü ise sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast hücrelerinin oluşturduğu tabaka ile örtülüdür.

Amnion, koryon plağının amniotik kaviteye bakan yüzü örter ve tek tabakalı kübik yada kolumnar epitelden oluşur. Amniotik mezodermin ince tabakası epitelin altında yer alır ve sonraki koryonunun mezoderm tabakasına gevşekçe retiküler bir alan oluşturacak biçimde büyük yarıklar şeklinde yapışır. bağlantının stabil olmaması sebebiyle amnion, koryondan kendiliğinden yada preparasyon aşamasında ayrılabilir. Koryonun yumuşak yarıklı şeklindeki bu tabakanın devamında koryonik mezodermin sert bir tabaka, gelişmemiş bir bazal membran ve en nihayetinde fibrinoidi ihtiva eder. Bu bazal membranın altında ekstratrofoblastlar son derece değişken miktarlarda bulunur. Koryon plağından çıkan kök villuslar villus ağacının ilk dallanmasıdır. Intervillöz aralık ilk trimestirde oldukça değişik olabilmektedir. Terminal villüsler arasındaki yarıklar dardır. Term plasentadaki yarıkların genişliği bir parça doğum şekline birde preparasyon aşamasında maternal kanın ne kadar atıldığına bağlıdır. Villöz ağacın

kalınlığı 1-4 cm kadardır. En büyük çapta özellikle umbilikal kordun koryon plağına birleştii yere yakın yerlerde fazlaca bulunan kök villüslerin ana dallarıdır. Bunlar histolojik olarak açıkça görülebilen musküler duvarları fibröz stroma ile çevrelenmiş sadece birkaç paravasküler kapillerleri içeren birkaç arter, ven yada arterioller ve venüllerle karakterizedir. Terme yakın trofoblastik örtünün yerini büyük ölçüde yada lokal fibrinoid alır.

Her koryon ağacındaki kan dolaşımı, bir arter ve bir venden oluşan kapalı bir sistemdir. Anneden gelen temiz kan uterusun spiral arterleri ile bazal plağı girer. Oldukça düzenli aralıklarla intervillöz boşluklara açılan bu arterlerin lümenleri açılma yerlerine doğru daralır. Temiz kan intervillöz boşluklara yüksek basınçla dökülür ve koryon ağacında bulunan küçük villuslara çarpar, villustaki kan ileri doğru itilir ve villusların dikleşmesi sağlanır (12).

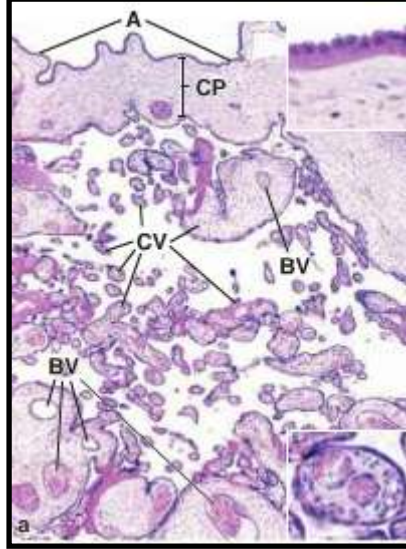
2.1.6.2. Maternal plasenta

Anneye ait olan bu kısım, intervillöz boşlukları çevreleyen trofoblastlar, plasental septumlar ve bazal plaktan (desidua bazalis) oluşur. Plasentanın maternal yüzünde bazal tabaka loblar ve kapanmamış bir oyuklar sistemi ile 10-40 loba veya lobule bölünür ve bunlara kotiledon denir (21).

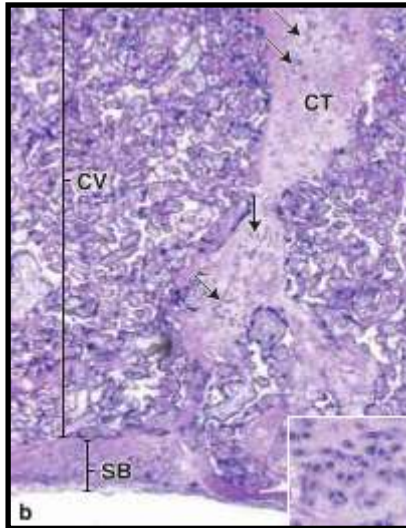
Plasental septalar, fibrinoid ve çeşitli hücrelerden meydana gelmiş, bazal plaktan intervillöz aralığa doğru uzanan, hiçbir zaman koryonik plağı ulaşmayan ve plasental villus ağacını tam bölmeyen düzensiz yapılardır. Plasental septaların oluşması gelişmenin 6-8. haftalarından itibaren belirir, gebelik yaşına bağlı olarak gelişirler. Bazal plak büyümesine uterus duvarı adapte olamaz ve bazal plak katlantılar yaparak septaları oluşturur. Septaların oluşmaya başladığı 6-8. haftalarda, yapıyı oluşturan hücresel elemanlar sitotrofoblast ve onun çok nükleuslu dev hücreleri, desidua hücreleri ile septaların üst kenarlarına tutunmuş, demirleyici villuslar ve onların sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast hücreleridir (12).

Bazal plak, maternal ve fetal dokuların temas ettiği yapısı oldukça karmaşık olan bir yapıdır. Ekstravillöz trofoblastları, gebeliğe özgü endometriyal stromayı, fibrinoid, dejenere olan villus kalıntılarını ve maternal damarları ihtiva eder. Maternal ve fetal kaynaklı bu dokular doğumdan sonra lochia adı verilen bir akıntıyla atılırlar. Bazal plakta iki fibrinoid tabakası tanımlanmıştır. İlki Rohr

fibrinoidi, yüzeysel, kesintili, belli odaklarda bulunan intervilloz boşlukları örten fibrinoiddir. Diğer bir fibrinoid olan Nitabuch fibrinoidi ise plasenta ve maternal dokuların sınırını belirleyen uteroplasental bir fibrinoiddir.



Şekil 1. H-E boyamada amniyotik (A) yüz, koryonik plağı (CP), değişik büyüklükteki koryonik villüsları (CV) ve kan damarları (BV) görülmekte.×60. Üst ekli küçük resimde bağ dokunun üstünü örten tek katlı kübük amniyon epiteli.×200. Alt ekli küçük resimde koryon villüsünün geniş kapillerleri ve villüsü çevreleyen ince sinsityotrofoblast tabakası.×200 (22).



Şekil 2:H-E boyamada Stratum bazale (SB), koryonik villüslar (CV), Stratum bazaleye uzanan staromal bağ doku (CT) ve bu bağ dokuda oklarla gösterilen desidual hücreler.×60. Alt ekli küçük resimde desidual hücreler×200 (22).

2.2.Preeklampsi

2.2.1.Giriş ve tanım

Preeklampsi gebeliğe özgü hipertansif bir hastalık olup, plasentadan kaynaklanan yaygın maternal endotel disfonksiyonuyla karakterize sistemik bir sendromdur (1). Preeklampsi dünya genelindeki gebelerin yaklaşık %3-%5'ini etkileyip, gebeliğin ikinci yarısında, kendini öncelikle hipertansiyon ve proteinüri ile göstermektedir. Preeklampsinin patofizyolojisinin aydınlatılmasında son on yılda önemli ilerlemeler olmasına karşın hala bu hastalıkta plasentanın çıkarılmasının dışında kesin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Buna bağlı olarak günümüz itibari ile preeklampsi gebelerde ölüm, erken doğum gibi komplikasyonlara neden olduğu gibi yeni doğanda da, ölüm ve bir takım hastalıkların meydana gelmesinde en önde gelen nedenler arasında yer almaktadır. Güvenli, acil doğum imkanlarının yetersiz olduğu gelişmekte olan ülkelerde, her yıl 60.000'den fazla anne hayatını kaybetmektedir (2).

2.2.2.Epidemiyoloji ve risk faktörleri

Preeklampsi, ilk gebelikte gebelikleri sorunsuz başlayan kadınlar arasında görülme ihtimali daha yüksek olup %7 civarındadır (23). Bu hastaların büyük çoğunluğunda aile hikâyesi olmamasına karşın, birinci derecede akrabada preeklampsi varlığının hastalığa genetik yatkınlık oluşturduğunu ve riski 2-4 kat arasında arttırdığı iddia edilmektedir (24). Babaannede preeklampsi öyküsünün varlığında risk artışına neden olmaktadır ve buda plasentanın hem annenin hem de babanın bir ürünü olduğunu tekrar açıkça ortaya koymaktadır (25). Kronik hipertansiyon, diyabet, böbrek hastalıkları, obezite ve hiperkoagülabileiteyi içeren bazı durumlar preeklampsi riskinin artmasıyla ilişkilidir (26). Bir önceki gebeliğinde preeklampsi olanların sonraki gebeliklerinde preeklampsi gelişme riski daha yüksektir. Çoğul gebelik ve mol hidatiform gibi artan plasenta kitlesi ile ilişkili durumlarda preeklampsi riski arttığı belirlenmiştir. Düşünülenin aksine, sigara içenlerde preeklampsi riski azalmaktadır (27). Risk faktörlerinin hiç biri tam olarak anlaşılamasa da patogeneze dair bir takım sezgilerin oluşmasını sağlamıştır.

2.2.3.Klinik özellikleri

Preeklampside 20. haftadan sonra ortaya çıkan yeni başlamış olan hipertansiyon (sistolik kan basıncı ≥ 140 mm Hg ya da diastolik kan basıncının ≥ 90 mm Hg) ve proteinüri (≥ 300 mg/gün) en temel özelliktir. Ödem preeklampsi için tanısal üçlünün bir parçası olmasına rağmen, aynı zamanda normal gebeliğin ortak özelliği olduğu için özel bir patolojik işaret olarak kullanımı azalmıştır. Yinede sinsi seyirli vakalarda ani başlangıçlı özellikle el ve yüz ödemi, hastalar tarafından saptanabilir tek değişikliktir. Akut böbrek yetmezliği, eklampsi, pulmoner ödem, akut karaciğer hasarı, hemoliz ve/veya trombositopeni preeklampsinin nadir ancak ciddi komplikasyonları olarak sayılabilir. Şiddetli preeklampside bu ilk üç işaretin yanında hemoliz, yükselen karaciğer enzimleri ve düşük trombosit (HELLP) sendromu gibi ikinci üçlü işarete sık görülmektedir. ABD’de preeklampsi hastalarının yaklaşık olarak %2’sinde eklampsi görülmektedir. Eklampsi, preeklampsili bir gebede başka bir nedene bağlanamayan generalize tonik-klonik konvülziyonların ortaya çıkmasıdır. Preeklampsili bir kadında konvülziyon olmaksızın ölümcül koma halinin ortaya çıkması da eklampsi olarak tanımlanır. Eklampsi hipertansiyon, proteinüri ve merkezi sinir sistemi tutulumunu gösteren baş ağrısı, hiperrefleksi gibi uyarı işaretleri olmadan da ortaya çıkabilir. Preeklampsi fetus ve yenidoğan üzerine bir takım komplikasyonlar oluşturabilir. Bunlar prematürite, fetal büyüme geriliği, oligohidroamnioz, plasenta dekolmanı gibi komplikasyonlardır (28). Bu komplikasyonlara nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, bu komplikasyonlara bozulmuş uteroplental kan akımı ya da plasental enfarktın katkıda bulunması muhtemeldir.

2.2.4.Maternal ve yenidoğan ölümü

Dünyada her yıl yaklaşık 500.000 kadın doğum sırasında hayatını kaybetmektedir. Gebeliğin hipertansiyon hastalıklarında anne ölümleri gelişmiş ülkelerde %16, Asya ve Afrika’daki ülkelerde %9 oranında olduğu tahmin edilmektedir (29). Anne ölümüne en sık, eklampsi, beyin kanaması, böbrek yetmezliği, karaciğer yetmezliği veya HELLP sendromu neden olur. Annede oluşabilecek komplikasyonlar uygun zamanda doğumu gerçekleştirmekle bertaraf edebilebilmekte, bundan dolayı gelişmiş ülkelerde bu hastalığın mortalite ve

morbitide yönünde sıkıntısını daha çok yenidoğan çekmektedir. Dünya çapında preeklampside perinatal ve neonatal ölüm oranı % 10 civarındadır (30). Ölüm yenidoğanda en sık anne sağlığını koruma için yapılan doğumlar neticesindeki prematürlerde olsa da, plasenta dekolmanı ile de intrauterin ölümden önemli bir oranda görülmektedir.

2.2.5. Plasental iskeminin preeklampsideki rolü

Gözlemsel kanıtlar plasentanın, preeklampside merkezi bir rolü olduğuna işaret etmektedir. Preeklampsi, fetus olmadan da sadece plasenta varlığında bile oluşabilir. Örneğin mol hidatiformda plasental yapının çıkması hemen hızlıca iyileşmeyi sağlar. Bu bakımdan eklampitik hastalarda uterus kavitede doğumdan sonra plasental parça kalması durumunda küretaj yapılması bile iyileşmeyi sağlamaya yetmektedir (31). Şiddetli preeklampside plasental hipoperfüzyonun ve iskemisinin patolojik bulguları; akut arteriozis, nekroz, arterosklerozis, intimal kalınlaşma, endotel hasarı ve plasental enfarktüs (32). Preeklampsinin klinik olarak başlamasından önce doppler ultrason ile tespit edilen azalmış uteroplasental perfüzyon görülebilir. Ne yazık ki, bu bulgu spesifik değildir, bu nedenle tek başına kullanılması tanıda yararlı değildir. Yüksek rakımda yaşayan kadınlar arasında preeklampsi insidansı 2-4 kat arasında artmıştır (33), plasental hipoksi indüklenebilir faktörde değişiklikler görülmektedir (34). Hipertansiyon ve proteinüri gebe primatların ve diğer memelilerdeki uterus kan akımının daralması ile indüklenebilir (35). Bu gözlemler, plasental iskemi ve/veya hipoksi preeklampsinin erken bir olayı olabileceğini düşündürmektedir. Bununla beraber, plasental iskeminin preeklampsiye neden olduğuna dair kanıtlar ikinci dereceden olup, bazı gözlemler hipotezi göz önünde bulundurmaya gerektirir. Örneğin uterus hipoperfüzyona dayalı hayvan modellerinde nöbetler ve HELLP sendromu gibi preeklampsinin multiorgan özelliklerinin pek çoğu gerçekleşmemiştir. Preeklampsi vakalarının çoğunda plasenta iskeminin beklenen sonuçları olan gelişme geriliği ya da fetal intolerans durumuna dair hiçbir kanıt yoktur. Tersine, asıl olarak plasental yetersizliğine bağlı fetal gelişme geriliği preeklampsi olmadan gerçekleşir. Bu nedenle belirgin plasental iskemi preeklampsi için ne genel nede özel olabilir, bunun yerine ancak ciddi vakalarda görülen ikincil bir olay olabilir.

2.2.6. Plasental vasküler remodeling

Normal plasenta gelişiminin erken döneminde ekstrasitotrofoblastik desiduaya ve myometriyumda spiral arterlere akın ederler. Bu invaziv fetal hücreler uterin damarların endotel hücrelerinin yerini alırlar ve yüksek kalibreli kapasitans damarlardan düşük rezistanslı gevşek damarlara dönüşürler. Bu vasküler değişim gebelik boyunca fetüsün gerekli olan uterin kan akım artışını sağlar. Preeklampside bu değişim ve dönüşüm yeterince gerçekleşmez. Arterlere sitotrofoblast akını superfisiyal desiduaya sınırlıyken, myometriyumdaki arterlerde ise darlık ve genişleyememe durumu söz konusudur (36). Normal vaskülogenezde, psödo vaskülogenezis diye adlandırılan süreçte invaziv sinsityotrofoblastlarda, onların epitel hücre orjinleri ve endotel hücre yüzey adezyon fenotipleri olarak kabul edilen karakteristik adezyon moleküllerinin salınımında azalma olur (37). Preeklampside sinsityotrofoblastlarda hücre yüzeyindeki integrinlerin ve adezyon moleküllerinin bu dönüşümü geçirmesi ve myometriyumdaki spiral arterlere geçişinde yeterince gerçekleşmemektedir (38).

2.2.7. Maternal endotel disfonksiyonu

Preeklampside oluşan endotelial disfonksiyonu, vazokonstriksiyon ve uç organ iskemisi yaparak klinik belirtileri ortaya çıkarır. Preeklampsik seruma maruz kalan endotel hücrelerinde endotel disfonksiyon gerçekleşir; dolayısıyla plasenta kökenli faktörlerin hastalığın belirtilerinden sorumlu olduğu öne sürülmüştür (39). Preeklampsili kadınlarda, endotel aktivasyonunu ve endotel disfonksiyonunu anlamamızda yol gösterici olan von Willebrand antijen, hücresel fibronektin, çözünebilir doku faktörü, çözünebilir E-selektin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve endotelin gibi serum markırlarında dengesizlikler görülür.

2.3. Anjiyogenez ve Endojen Anjiyogenez İnhibitörleri

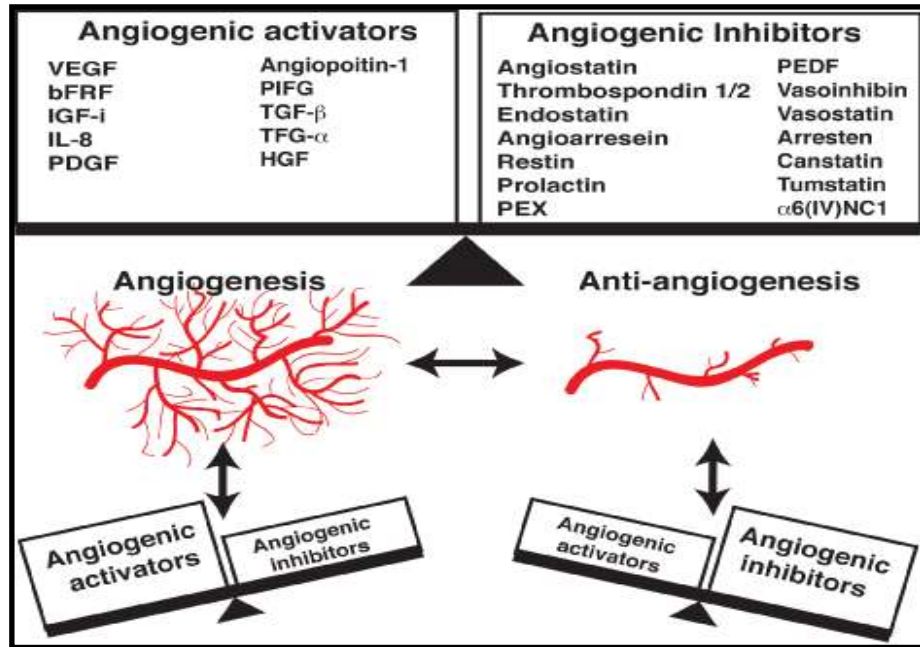
2.3.1. Anjiyogenez

İlk olarak 1787 yılında John Hunter tarafından kullanılmış olan anjiyogenez terimi, 1935 yılında Hertig tarafından plasentadaki kan damarlarının gelişimini tanımlamak için öne sürülmüştür (5).

Kan damarları esasında vaskülogenez ve anjiyogenez olmak üzere iki farklı mekanizma aracılığıyla meydana gelmektedir. Vaskülogenez, immatür

mezenşimal hücrelerden kan damarlarının gelişmesiyle ve embriyonun erken dönemleriyle sınırlı olduğu bildirilmekteyken, anjiyogenez ise, daha önce var olan kan damarlarından yeni damarların filizlenmesi olarak tanımlanmaktadır. Anjiyogenez, temelde iki farklı şekilde meydana gelmektedir. Damar endotelinden tomurcuklanma ile ya da içe geçme mekanizması ile yeni damar gelişimi şekillenmektedir.

Anjiyogenez kadın üreme siklusu esnasında fizyolojik olarak meydana gelebilirken, diyabetik retinopati ve tümör gelişimi gibi patolojik durumlarda da meydana gelmektedir. Anjiyogenezin olumlu ve olumsuz etkileri vardır. Örneğin yara iyileşmesi esnasında yararlı iken, tümör gelişimi esnasında ise olumsuz bir etkiye sahiptir (40).



Şekil 3: Proanjiyojenik moleküllerin ve endojen anjiyogenez inhibitörlerinin anjiyogenez ile olan ilişkisini gösteren şema (41).

Anjiyojenik kaskadın başlaması için daha önce var olan vasküler ağdan farklılaşan kapillerlerden köken alıp, özel yapıya sahip olan endotel hücrelerine gereksinim duyulur. Bu sürecin işleyebilmesi, endotel hücresinin yer aldığı damardan ayrılıp kurtulabilmesi, yeni bir damara öncülük edebilmesi ve etrafında yer alan stroma içinde hareket edebilmesi gerekmektedir. Bütün bu olayların meydana gelebilmesi için uygun sinyallere ihtiyaç duyulur. İki büyük sinyal yolağı bu aşamada devreye girer. Endotel hücrelerinin hangisinin liderlik örneği

göstereceğini, öncü hücre olacağını ve hangisinin takipçi hücre olacağını belirleyen, VEGF ve Notch sinyal yollarıdır (42).

Endotel hücreleri vasküler sistemin en basit ve daimi bileşeni olarak kabul edilir. Anjiyogenik yanıtı başlatması ve gelecekte vasküler kapiller pleksusu tesis edecek olması önemli bir özelliğidir. Vasküler sistem, embriyoda oluşan ilk sistemlerden biri olup, sağkalımın devamı için hayati öneme sahiptir. Mezenşimal hücrelerin doğrudan endotel hücrelerine farklılaşmasıyla, primer vasküler pleksus oluşur. Bu pleksusun genişlemesi ve takip eden olaylar anjiyogenez mekanizmasıyla olmaktadır (43).

Tablo.1: Proanjiyogenik moleküller ve endojen anjiyogenez inhibitörleri (43-44).

Proanjiyogenikler	Endojen Anjiyogenez İnhibitörleri
VEGF	Anjiyostatin
Anjiyopoietinler	Endostatin
TGF- α	Trombospondin
TGF- β	MMP-doku inhibitörü
İnsülin like Growth Faktörü	Arresten
İntegrinler	Canstatin
Matriks Metalloproteinazlar	Tumstatin
PDGF	Tümör Nekroz Faktör- α
Leptin	İnterlökin-4
Anjiyogenin	İnterlökin-13
Fibroblast Büyüme Faktörü-2	Prolaktin
	Vazostatin

Anjiyogenezin moleküler mekanizması irdelendiğinde esasında tanımlanmak istenen, anjiyogenezin farklı basamaklarının değişik moleküler ajanlar tarafından düzenlenmesi anlaşılmaktadır. Bu nedenle anjiyogenik (proanjiyogenik) bir molekül endotel hücre proliferasyonu, migrasyonu ve tüp oluşumunu uyarırken, inhibisyona neden olan endojen anjiyogenez inhibitörleri

ise bunların ya tam tersini yapar ya da bu olayların meydana gelmesini engeller. Anjiyogenezin meydana gelmesi proanjiojenik ve endojen anjiyogenez inhibitörleri arasındaki dengeye (Şekil 3) bağlıdır (44). Dengenin proanjiojenikler yönünde kayması anjiyogenezin meydana gelmesine neden olurken, tersine anjiyogenez inhibitörleri yönünde kaymasında ise anjiyogenez oluşmamaktadır. Bugüne kadar çok sayıda anjiyojenik ve antianjiyojenik büyüme faktörünün etkisi tanımlanmıştır. Anjiyojenik faktörlerden en önemlileri, VEGF (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C), fibroblast büyüme faktör-1 (FGF-1), FGF-2, trombosit kaynaklı büyüme faktör (PDGF), hepatosit büyüme faktör (HGF), transforming büyüme faktör- α (TGF- α), epidermal büyüme faktör (EGF), integrinler ve interlökin-8 (IL-8) olarak sıralanırken (45), endojen anjiyogenez inhibitörleri olarak, arresten, canstatin, endorepellin, endostatin, anjiostatin, fibulin, tumstatin, trombospondinler başta olmak üzere (Tablo 1) sayılabilir (46).

2.3.2. Endojen anjiyogenez inhibitörleri

Anjiogenezin endojen inhibitörleri, yeni kan damarlarının oluşumunu inhibe edebilen protein yada protein parçacıkları olarak tanımlanırlar. Anjiogenez inhibitörü olarak işlev gören en az 27 farklı protein ve faktörün vücutta varlığından bahsedilmektedir (8). Anjiogenezin çoğu endojen inhibitörü büyük ekstraselüler matriks moleküllerinin parçacıklarıdır. Bu parçacıklar ECM'nin proteolizi ve MMP, katepsin, elastaz gibi enzimlerin vasküler bazal membrana etkisi ile serbestleşip salınır. Endojen antianjiogenetiklerden ilk olarak endostatin keşfedildi ve damarlanmayı inhibe eden büyük proteinlerin iç parçalarından kaynaklanan farklı tipte molekül olduğu gösterildi.

Aynı zamanda elastaz ve katepsin L in vitro endostatin seviyesini yükselttiği, in vitro MMP-9'ün tumstatin ürettiği ve ayrıca MMP-9 yoksun farelerde tumstatin seviyesinin düşük olduğu görülmüştür. Endotel hücrelerinin üzerinde bulunan integrinlerin birçok ekstra sellüler matriks (ECM) proteolitik fragmanı için sinyal uyumu sağlayan reseptörler gibi hareket ettiği ve integrin bağımlı sinyal yolları bu moleküllerin çoğunun antianjiogenik özelliklerine kritik arabuluculuk işlevi yaptığı öne sürülmüştür (47).

Matriksten elde edilen moleküllerin dışında anjiogenezisin diğer endojen inhibitörleri, hormon metabolitlerinin parçacıklarından, pıhtılaşma faktörlerinden

ve immün sistem kaynaklı protein ve moleküllerden oluşmaktadır. Matriks kaynaklı olmayan endojen inhibitörlerinin çoğu aktivite öncesi değiştirilmesi yada proteoliz ile serbestleşmesi gerekmektedir (8).

Buna ek olarak endojen anjiogenez inhibitörlerinin çoğu hücre döngüsünün ilerlemesini engeller, bunu da intrinsik ve/veya ekstrinsik apoptotik yolların bloklanmasını indükleyerek yapar. Ayrıca, bu moleküllerinin açık ve kesin bir şekilde anjiostatik özellikleri nasıl tetiklendiğinin aydınlatılması gerekmektedir (8,47)

2.3.2.1. Matriks kökenli endojen anjiyogenez inhibitörleri

2.3.2.1.1. Trombospondinler

Trombospondinler tüm omurgalılarda ve ayrıca omurgasızların bir kısmında bulunan ekstrasellüler proteinlerin içerisinde küçük bir aileyi temsil ederler (48). Ailenin ilk üyesi Trombospondin-1 olup trombin tedavisinde trombositlerden salındığı ortaya konulmuş olduğundan, trombin duyarlı protein olarak adlandırılmıştır. Ancak, daha sonradan trombin tedavisine yanıt olarak trombositlerin α granüllerinden protein proteolizisine ihtiyaç olmadığına dikkat çekmek için sonradan trombospondin adını almıştır.

Trombospondin ailesi 5 üyeden oluşmaktadır. Bu üyeler moleküler yapılanmalarına göre 2 alt gruba ayrılarak incelenir. İlk alt grubun üyeleri olan TSP1 ve TSP2 trimer, ikinci grubun alt üyeleri olan TSP3, TSP4, TSP5 pentamer yapısındadır. TSP1, TSP2 ve TSP4 myokard enfartüsünün fizyopatolojisi ile ilişkili olduğu söylenmektedir (49).

TSP1 trombosit granüllerinin önemli bir bileşeni olarak megakaryositlerden sentezlenir. Ayrıca trombosit proteinlerinin %3'ü kadarını oluşturduğunu ve ayrıca trombinle aktive olan trombositlerden salgılanan protein miktarının %25 kadarının da TSP1 olduğu hesaplanmıştır. Damarda esas olarak endotel hücreleri, fibroblastlar ve düz kas hücreleri tarafından salgılanır (50, 51). Trombospondinin antianjiogenik etkisi proteinin N-terminalinde heparini bağlayan alanda lokalizedir (52).

TSP1'in çok yönlü işlevselliğinden TSP1'in fonksiyonunu net şekilde anlamamız güçleşir. TSP1'nin dokulardaki farklı konsantrasyonu ve hücrel

lokalizasyonu işlevsellikte başlıca faktördür. TSP1 farklı reseptörlerde bir takım etkiler yapabilmekte ve bunun sonucunda zıt biyolojik etkileri bu şekilde tetiklediği düşünülmektedir (53).

TSP1 matrisellüler glikoproteindir ve adheziv proteinler için etkileşim alanları, hücre reseptörleri ve enzimler içermektedir. Bu glikoprotein, hücre yapışması, hücre migrasyonu, hücre proliferasyonu, hücre-hücre etkileşimi, angiogenezis, tümör hücre metastazı, inflamasyon, ateroskleroz, hemostaz ve tromboz gibi birçok biyolojik süreçte yer almaktadır (54). Bunun yanında TSP1 ve TSP2'nin deneysel in vivo ve in vitro çalışmalarda tüp formasyonu inhibe edebildiği ve birçok farklı angiogenik uyaranlara farklı tepkiler verdiği gösterilmiştir (55). TSP'lerin çeşitli durumlarda angiogenez inhibitörleri olarak işlev görebildiğine dair çok sayıda kanıt vardır (55-56). Ancak in vivo inhibisyonu ile ilgili mekanizmalar yeterince aydınlatılamamıştır. TSP1, immün hücreler (57), promyelositik lösemi hücreleri (58), fibroblastlar (59), mikrovasküler ve aortik endotel hücreler gibi çok sayıdaki hücrelerde apoptozise neden olduğu bildirilmiştir (57,60).

2.3.2.1.2.Endostatin

İlk olarak fare hemanjioendotelioma hücrelerinin in vitro kültürlerinde, kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonunu, geri dönüşümlü olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (61). Protein 20-kDa ağırlığında olup, tamamen saflaştırılmış haliyle endostatin adıyla anılmıştır. Aminoasit analizi, endostatinin öncüsünün tip XVIII kollajenin NC1 kısmı olduğu ve bununda 3 tip küresel endostatin içerdiğini ortaya koymuştur (62).

Endostatinin antianjiogenetik aktivitesinin mekanizmaları

Endostatin endotel hücrelerinde $\alpha 5\beta 3$ integrine bağlanır (63). Ayrıca endostatinin bioaktivitesi E-selektine bağlanmasına bağlı olduğu bildirilmektedir. Bunun yanında endostatin MMP-2,9 ve 13'ün aktivitesini engeller (64). VEGF reseptör, Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) reseptör ve hipoksi ile indüklenen faktör-1 α (HIF-1 α) gibi proangiogenik genler endostatin ile düşük düzeyde kalırlar. İlginç olan şey ise angiogenez baskılanmasında var olan pek çok yolun bu molekülün tümörlerde angiogenez fenotip geçişini kontrol etmek için

topluca bu yolları düzenleyebileceğidir. Endostatin ile ilgili günümüze kadar 1000'in üzerindeki bildirimlerinde, endostatinin esas olarak patolojik anjiogenezi bastırdığı ortaya koyulmuştur.

Endostatinin yara iyileşmesine, üremeye veya gelişmeye karşı çok az ya da hiçbir aktivitesi olmadığı görülür. Otofaji, hasarlı veya gereksiz proteinlerin ve organellerin temizlenmesi için bir hücrel bozulma yoludur. Ramakrishnan ve arkadaşları otofajik yanıtın, anjiyogenez inhibitörlerinin terapötik etkinliğini artırmak için yeni bir hedefi olabileceğini öne sürmüşlerdir. İnsan over kanser hücrelerine endostatinin bağlanması peritoneal hücre bağlanmasını engeller, fakat hücre göçünü engellemez. $\alpha 5\beta 1$ integrin'nin siRNA tarafından düşük seviyelerde tutması insan over kanser hücrelerinin ve insan endotel hücrelerinin endostatine bağlanmasını engeller. Bu bulgu $\alpha 5\beta 1$ 'in endostatin için bağlanma eğiliminin yüksek olduğu yönündeki önceki kanıtları desteklemektedir (65).

2.3.2.1.3.Canstatin

İn vitro olarak canstatinin endotel hücre proliferasyonunu ve tüp formasyonu inhibe ederek; ayrıca bu hücrelerin apoptozisini indükleyerek antianjiogenetik aktivite yaptığı gösterilmiştir (66, 67). In vivo olarakta canstatin, farelerde xenograft tümörlerin büyümesini azalttığı bildirilmiştir (66).

2.3.2.1.4.Fibronektin fragmanları

Çözünebilen fibronektin ile küçük fibronektinden kaynaklanan parçacıklar anastellin olarak adlandırılmıştır. Ayrıca fare tümör yataklarında fibronektinin polimerik bir formunun antimetastatik aktiviteye neden olduğu gösterilmiştir (Q65). Hem anastellin hem de polimerik fibronektinin farelerde anjiogenezi ve tümör büyümesini azalttığı gösterilmiştir (69).

2.3.2.1.5.Endorepellin

Proteoglikan perlacanın COOH terminal kısmında laminin benzeri parçasından 85 kDa ağırlığında endoprellin türer. Perlacan beş yapısal parçadan oluşan, vasküler büyümede kritik rol oynayan ve vasküler bazal membranın yapısal bütünlüğünü sağlayan modüler bir proteindir (70). Endorepellin çeşitli in vivo modellerde, anjiogenezin endotel hücre göçünde, tüp morfogenezisinin oluşumunda ve damar gelişiminin birkaç anahtar aşamasında etki gösteren güçlü

bir inhibitör molekül olduğu gösterilmiştir (71). Yapısal olarak endorepellin dört epidermal büyüme faktörü (EGF) benzeri bölüme ayrışıp üç laminin tip globuler domeynden oluşur. İlgiç olarak, endorepellinin antianjiogenik aktivitesinden LG3 kısımdan sorumlu iken LG2 domeyni ise tip XVIII kollajenden türeyen endostatinin antianjiogenik etkinliğini sınırlar. Ortotopik skuamöz karsinom ve eşgenik Lewis akciğer karsinom fare modellerinde sistemik verilen endorepellin sonucunda tümörlerde, anjiogeneze inhibisyon, hipokside artma ve metabolizmada azalma gerçekleşmektedir (72).

2.3.2.1.6.Fibulin

Bazal membran yapımında elastazların ve katepsinlerin proteolitik sindiriminden antianjiogenetik fragmanlar salınır (70). Fibulin-5'in tam uzunluktaki versiyonunu VEGF sinyali antagone ettiği ve Arjinin-Glisin-Aspartik Asit (RGD)/integrin bağlanmasından bağımsız şekilde endotelial filizlenmeyi inhibe ettiği gösterilmiştir (73). Fibulin 5 ekstraselüler superoksit dismutaza bağlanmasının yanında, matriselüler antianjiogenik protein trombospondin-1 ekspresyonunu artırır (74). Buna karşılık yakın zamanda bir raporda in vivo olarak yara iyileşmesinde fibulin 5'in retroviral salınımını desteklediği iddia edilmiştir (75). Yara iyileşmesi anjiyogeneze bağımlı bir süreç olduğundan, bu zıt bulgular fibulin 5 anjiyogenik (pro-ya da anti-) aktivitesi bağlamında bağımlı olabileceğini düşündürmektedir.

2.3.2.1.7.Tumstatin

Tumstatin tip IV kollajenin $\alpha 3$ zincirinden oluşan 28 kDa ağırlığında bir peptid parçasıdır. Bu molekülün melanoma hücrelerinde, diğer karsinomalarda ve endotel hücre tiplerinde antianjiogenetik etkileri gösterilmiştir (76,77). Tumstatinin antitümör aktivitesi 185-203 ve antianjiogenetik aktivitesi 54-132 arası amino asitlere lokalizedir (78-79). Tumstatin antianjiyogenik etkisi ile ilgili olarak, endotel hücre proliferasyonunu inhibe etmekte, hücre siklusunda hücreyi G1 safhasında durdurmakta, kaspas 3'un artırılması yoluyla apoptozisi indüklediği gösterilmiştir (80). Bununla birlikte tumstatin VEGF aracılı endotelial hücre adezyonunu VEGF reseptörü aracılığıyla değil ekstraselüler matriksteki integrin reseptörler aracılığı ile inhibe etme kapasitesine sahiptir (81).

Tumstatin tarafından salınımı immobilize olan VEGF'in endotel hücresine yapışmasının engellenmesi sonucu hücrenin apoptozise kaymasına neden olmaktadır. Tumstatinin dolaşımdaki seviyeleri çeşitli matriks metalloproteinazlar (MMP-2,3,9,13) tarafından oluşturulmuş olabilir. MMP-9'dan yoksun farelerde dolaşımdaki tumstatin seviyesi az olduğu ve tümör büyümesinde vahşi tipte hızlı olduğu görülmüştür (82).

2.3.2.2. Matriks kökenli olmayan endojen anjiyogenez inhibitörleri

2.3.2.2.1. İnterferonlar

İnterferonların (IFN) antiproliferatif etkisi ilk kez Strander tarafından 1960'lı yıllarda Karolinska Entitüsünde kısmen artırılmış IFN- α 'ların insan tümörlerine karşı kullanılması ile gösterilmiştir (83). IFN karışımı in vitro olarak, endotel hücrelerinin migrasyonunu (84), in vivo olarak lenfositin indüklediği anjiogenezi (85) ve bunların yanı sıra tümör anjiogenezisini (86) inhibe ettiği bildirilmiştir. Anjiogenez inhibitörü olarak ilk IFN α 1980 yılında rapor edilmiştir (84). 1995 yılında Fidler, insan tümör hücrelerinde FGF-2'nin aşırı üretiminin IFN α 'nın üretimini engellediğini ortaya koymuştur (87). Ayrıca IFN α 'nında insan kanser hücreleri tarafından üretilen FGF-2'nin salgılanmasını baskıladığı rapor edilmiştir (88). 1988 yılından bu yana; hayatı tehdit eden hemanjiomatoziste, bebeklerdeki beyin, solunum yolları, karaciger hemanjioblastomalarında, bilinen klasik tedaviye cevap vermeyen tekrarlayan yüksek dereceli dev hücre tümörlerinde ve anjioblastomalarında IFN α başarılı bir şekilde kullanılmıştır (89,90).

2.3.2.2.2. İnterlökinler

Lökositler tarafından üretilen interlökinler anjiogeneizde yer alırlar. IL-8'in proanjiogenik aktivitesinin var olduğu, IL-1 β , IL-4, IL-12 ve IL-18'in ise antianjiogenetik aktivitelerinin olduğu gösterilmiştir (8). IL-1 β ve IL-4, FGF'nin indüklediği anjiogenezi inhibe ederken (91), IL-12, IL-18 ise IFN γ sitokinler ile antianjiogenik aktiviteyi indükler. Tümörlü farelerde hem IL-12 tedavisi yoluyla hem de gen transferi yoluyla IL-12'nin arttırılması sonucu tümör büyümesinin azaldığı görülmüştür (92). IL-18' in vitro olarak fare korneal deneylerinde FGF'nin indüklediği endotel hücre proliferasyonunu önlediği görülmüştür (93).

2.3.2.2.3.Pigment epiteli kaynaklı faktör (PEDF)

Pigment epiteli kaynaklı faktör (PEDF) başlangıçta, insan fetal retinasının pigment epitelyum hücrelerinin kültürlerinde salgılanan 50 kDa'luk bir protein olarak izole edilmiştir (94). PEDF, serpin süper ailesinin inhibitör olmayan bir üyesidir ve anjiostatik aktiviteye sahip birden fazla etkisi bulunmaktadır (95). PEDF göz kompaatmanlarının avasküleritesinden sorumludur. Bununla birlikte, proliferatif diabetik retinopati gibi anjiogenetik göz hastalıklarının patogenezinde yer almakta olup, memelilerde göz anjiogenezinde en güçlü inhibitör olduğu savunulmaktadır (96). PEDF nöroblastomada çok fonksiyonlu bir ajan olarak görev alırken, anjiogenez inhibisyonu yapar ve schwann hücre sayısını artırır (97). Farelerde PEDF gen transferi prostatın ve pankreasın stromal damarlarında ayrıca epitel dokusunda büyüme inhibisyonunda kilit rol oynadığı ortaya çıkmıştır (98).

2.3.2.2.4.Anjiostatin

Kan ve idrarda heparin afinite kromatografik saflaştırma yöntemleri kullanılarak 1-4 disülfid bağları içeren plazminojene ait 38kDa ağırlığında bir iç peptid anjiostatin olarak adlandırılmıştır (99). Saflaştırılan bu protein özellikle invitro olarak endotel hücrelerinde proliferasyon, invivo olarakta tümör anjiogenezisini ve metastazını inhibe ettiği ortaya konulmuştur. Büyüme faktörlerinin yokluğunda anjiostatin ile muamele edilen endotel hücrelerinin proliferasyon indeksinin değiştiği, apoptozis indeksinin arttığı saptanmıştır (100). Anjiostatinin $\alpha v \beta 3$ integrine (101) ve CD 26'ya (102) bağlanması antianjiogenik etkisini gösteren önemli bir bulgudur.

Anjiostatin reseptörleri

Anjiostatin plazminojenin bir iç parçası olarak ortaya konuldu. İn vitro olarak endotel hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir. Ancak doku kültürü medyumlarında plazminojenin anjiostatin ile rekabet etmediği görülmüştür (99). İlk olarak 1995 yılında Moser ve Pizzo tarafından anjiostatinin endotel yüzey bağlanma yerleri için sistematik çalışmalar başlatılmıştır (103).

ATP sentaz

1999 yılında yapılan bir çalışmada Moser ve Pizzo, ATP Sentaz'ın sadece mitokondrion iç zarında değil aynı zamanda endotel hücre yüzeyinde anjiostatin

için de bir reseptör olarak görev aldığını bildirmişlerdir (103, 104). Anjiostatin ATP Sentaz'a bağlandığında endotel hücre proliferasyonu inhibe olur. Tümörleri drene eden venöz endotel hücreleri vücudun diğer endotel hücrelerine göre daha düşük oksijen ve pH'da yaşayabilmektedirler. Ekstraselüler pH değerinin normal dokularda (7.2-7.6) değerinde, tümörlerde (5.6-7.6) gibi düşük ve değişken bir oranında olurken, tümör hücrelerinin intraselüler pH oranları normal olabilmektedir (103, 105). Anjiostatin, tümör ekstraselüler pH'sının düşük seviyelere ulaştığında endotel hücrelerinde intraselüler asidozu ve hücre ölümünü gerçekleştirmektedir (106).

Anjiomotin

İlk defa 2001 yılında Lars Holmgren ve ark.tarafından anjiomotin adı verilen bir protein bulunmuştur. Tümör yatağında aktive endotel benzer hücrelerde motiliteyi kolaylaştırıp, invazyonu sağlayıp, morfogenetik değişiklikler gerçekleştirdiğinden bu isim verilmiştir (107).

(108). İnvitro olarak insan anjiomotin eksprese eden endotel hücreler kurulan tüpleri stabilize edip ardından endotel hücrelerin invazyonunu geliştirir (109).

NG2 proteoglycan

NG2 proteoglikan, tümörün vasküler yatağında upregüle olan bir kondroitin sülfattır. Bu proteoglikan anjiostatine (99) ve plazminojene bağlanmaktadır (110). Her ne kadar anjiostatin için çok sayıda bağlanma yeri gösterilmişse, bunlardan en az iki tanesinin fonksiyonel olduğu bildirilmiştir.

Nukleolin

Son zamanlarda bu protein dinlenme halindeki endotel hücrelerinde değil de, proliferen olan endotel hücrelerinin yüzeyinde eksprese olabilen bir nükleer protein olduğu bildirilmiştir. Anjiogenetik vasküler yataktaki endotel hücre yüzeyinde endostatin, nukleoline bağlanmakta, ardından nukleusa taşınıp nukleolin fosforilasyonunu inhibe etmektedir. VEGF ya da bFGF ile indüklenen nukleolin fosforilasyonu hücre proliferasyonu için gerekli olduğu öne sürülmüştür. Nukleolin üzerindeki heparin bağlayıcı bölgeler endostatin affinitesi

için oldukça önemlidir. Artan eksojen heparin düzeyi, nükleoline bağlanan endostatini ayrıştırdığı öne sürülmüştür (111).

Anjiostatinin etkinlik mekanizmaları

Embriyonik gelişim sırasında anjiostatin bağlanma bölgelerinin olmasına rağmen, anjiostatinin embriyonik vaskülogenezis üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı düşünülmektedir (112). Ancak, in vitro anjiostatin embriyoid dokudan VEGF ile uyarılan filizlenmeyi inhibe etmesi, filizlenme anjiyogenezinde seçici inhibitör aktivitesinin olduğunu göstermektedir. Anjiostatin ve endostatin bFGF ve VEGF kaynaklı primer insan mikrovasküler endotel hücrelerinin göçünü inhibe eder, fakat endotel hücre göçü ve proliferasyonunda bilinen intrasellüler yollara etki etmemektedir (113). Anjiostatin büyüme faktörü kaynaklı sinyal iletimi üzerine herhangi bir etkisi yoktur, ancak fokal adezyon kinazın, kinaz aktivitesinin RGD'den bağımsız indüksiyonuna yol açmaktadır. Anjiostatinin biyolojik etkileri için kısmen endotel hücrelerinde adezyon plak oluşumu üzerine yıkıcı etki gösterdiği belirtilmektedir (100). İnsan anjiostatini monosit/makrofaj göçünü hücre iskeletini bozarak engeller. Makrofaj tümörlere bunun yanında non-neoplastik anjiogenetik alanlara infiltre olduğundan dolayı anjiostatin ile immobilize makrofaj antianjiogenik aktiviteye katkısı olabilir. Anjiostatinin normal gözlerde varlığı neovaskülarizasyonun baskılanmasına ait bir mekanizması olduğu izlenimini vermektedir. Diyabetik fare (114) ve rat (115) gözlerinde anjiostatin VEGF ekspresyonunu ve vasküler sızıntıyı önemli ölçüde azaltır ama bu etkisi normal gözlerde bulunmamaktadır. Anjiostatin in vitro endotel hücre apoptozisini tetiklemektedir. Bunu hem intrinsik hemde ekstrinsik apoptozis yollarını kullanarak yaptığı belirtilmiştir (116). Sağlıklı insan trombositlerinde anjiostatin bulunmakta ve trombosit agregasyonu esnasında aktif formu salınmakta olup, anjiogenezi inhibe etme kapasitesine sahiptir (117). Bu bilgilerle birlikte anjiogenezi düzenleyen proteinlerle ilgili yeni saptanan bir bulgu ise, hem proanjiogenetik hemde antianjiogenetiklerin trombositlerin α granüllerinde ayrı ayrı yer aldıklarıdır (118). Yara iyileşmesinde anjiogenezin son evresinde anjiostatin down regülasyon gerçekleştirdiği de iddia edilmektedir. Koroner bypass cerrahisi uygulanan diyabetik hastaların %62'sinde iç meme arterinde anjiostatinin yüksek olduğu görülmüştür (119). Bu diyabetik damarlarda

anjiostatin MMP-2 ve MMP-9'un artışı düzenlemekle ilişkilidir. Diyabetik olmayan arterlerde MMP-2 ve MMP-9 salınımı yoktur. VEGF salınımında %48 oranında azalmıştır. Bu sonuçlar anjiostatinin diyabetiklerde koroner arter büyümesiyle olumsuz etkileşim içinde olduğunu ortaya koymaktadır (120)

2.3.2.2.5.Vazostatin

Vazostatin anjiogenezde hücre proliferasyonunu, VEGF yanıtını ve tümör büyümesini engelleyen insan kalretikülinin NH-2 terminal kısmıdır (121-122). Vazostatin özellikle endotel hücrelerinin laminine yapışmasını inhibe eder ve FGF-2 tarafından uyarılan endotel hücre büyümesini azaltır (123). Xiao ve ark. fare tümör modellerinde, vazostatin kodlanmış plazmid DNA'sını intramüsküler vererek antitümör aktivitesinin incelenmesi sonucunda, anjiogenezin ve tümör büyümesinin inhibe olduğunu tespit ettiler (124). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, kromogranin A'nın rekombinant parçalarının tümör nekroz faktör α (TNF)'yi, VEGF'in indüklediği endotel hücre şekil değişikliğini ve insan umbilikal ven endotel hücrelerindeki (HUVEC) bariyer fonksiyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir (125). Kromogranin A 1-76 dizisi içeren bu parça, vasküler stres üzerine inhibitör özelliğinden dolayı vazostatin-1 (VS-1) diye adlandırılmıştır (126). Ayrıca VS-1 TNF'nin gap formosyonunu indüklenmesini ve pulmoner arter endotel hücrelerinde P38 Mitojen ile aktive olan protein kinaz (MAPK) boğmaca toksini duyarlı mekanizmanın fosforilasyonunu inhibe eder. Stresle aktive MAPK yolunun G protein düzenlenmesi yoluyla endotel bütünlüğünün korunmasında, VS-1'in rolu bulunmaktadır (127). Kromogranin A VS-1'in öncülüdür ve genetik olarak farklı ve benzersiz asidik proteinlerden granin ailesinin üyesi olduğu anlaşılmıştır (126). Aralarında VS-1'inde bulunduğu çeşitli düzenleyici peptidlerin öncüsü olan endokrin, parakrin ve otokrin işlev gören bir proteindir (128). Kromogranin A plazmada önemli bir bileşen olarak ortaya çıkar (129), nöroendokrin tümörlerinin geniş bir kısmında (130), böbrek ve karaciğer yetmezliğinde belirgin bir yükselme olur (131). Ayrıca kronik kalp yetmezliği olan hastalarda, TNF, çözünebilir TNF reseptör ve hastalığın şiddeti ile paralel olarak plazma kromogranin A yüksekliği olduğu gösterilmiştir (132). Araştırmacılar bu bilgiler ışığında doku hemostazisinin düzenlenmesinde, vasküler gelişimde, tümör büyümesinde ve kardiovasküler fizyolojisinde vazostatinin

önemli rolü olduğu varsaymaktadırlar (133). Ancak dolaşımda bulunan kromogranin A'nin diagnostik ve prognostik açıdan nöroendokrin tümörlerde devamlı kullanılmasına rağmen (134) daha henüz VS-1 ile beraber kullanım uygunluğu açıklığa kavuşmuştur.

2.3.2.2.6.Metalloproteinazların doku inhibitörleri

Ekstraselüler ortamda metalloproteinazların aktivitesi, dört doku inhibitörleri (TIMP'ler) dâhil olmak üzere birçok endojen inhibitörlerinin kontrolü altındadır. TIMP-1,-2,-4 çözünür halde iken TIMP-3 ise ECM'ye bağlanır (135). MMP aktivitesi düzenlenmesinde kilit rolü olduğu gibi, TIMP'ler antianjiogenetik aktivitenin ortaya çıkması açısından gereklidir. Örneğin, kıkırdak ekstreğinde yüksek TIMP'nin kıkırdakta antianjiogenik aktiviteden sorumlu olduğu kabul edilmiştir (136).

Ancak anjiogeneizde TIMP'in aktivitesi karmaşıktır. Uyarıcı etkinliklerinin yanı sıra inhibitör etkileride vardır. Son yirmi yılda yapılan çalışmalarda TIMP'lerin antitümör ajan gibi kullanımı desteklenmiştir.

2.3.2.2.7.Kondromodulin

Kondromodulin (Chm-I) ilk başta fetal sığır epifiz kıkırdagından çıkarılan guanidin ekstrelerinden izole edilmiştir (137). Chm-I kültür vasküler endotel hücrelerinin tüp formasyonunu, ayrıca DNA sentezinide inhibe eder (138). Rekombinant insan kondromodulininin lokal verilmesi in vivo vasküler invazyonu ve tümör büyümesini neredeyse tamamen bloke eder (139).

2.3.2.2.8. 2-Metoksiestradiol

2-Metoksiestradiol (2-ME) antianjiogenik aktiviteye sahip bir endojen estradiol metabolitidir (140). 2-ME aracılı mikrotübülün destabilizasyonu, HIF-1 α aktivitesi ve nükleer birikimi ile ilgili olduğu gösterilmiş ve VEGF düzeyinde ciddi azalmaya yol açtığı bildirilmiştir. Anjiogeneiz inhibitörü olarak 2-ME'nin henüz endojen fizyolojik rolü tam anlaşılamamıştır.

2.3.2.2.9. 16-kDa prolaktin fragmanı

Prolaktin proanjiogenik olmasına rağmen, 16 kDa prolaktin fragmanı VEGF veya FGF-2 stimülasyon sinyallerinin endotel hücrelerinde, hücre membranı ve hücre içi mesajla tetiklenmesini bloke ettiği tespit edilmiştir (141).

2.3.2.2.10. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1)

VEGFR-1 (sFlt-1)'in çözünür formu Kendall ve arkadaşları tarafından bulunmuştur(142). sFlt-1'in VEGF ve plasental büyüme faktörü için güçlü affinitesi bulunmaktadır(142,143). Çeşitli raporlara göre, soluble Fms-benzeri tirozin kinaz-1 (sFlt-1) VEGF inhibisyonu ile bir antitümör ajan gibi işlev görebilmektedir(144).

2.3.2.2.11. Troponin I

Troponin I hem in vivo hem in vitro modellerde endotel hücre proliferasyonu ve anjiogenezi inhibe eden kıkırdak kaynaklı anjiogenez inhibitörüdür (145). Troponin I hem bazal endotel hücrede hemde FGF-2'nin stimüle ettiği proliferasyonu inhibe eder, bu etkisi muhtemelen hücre yüzeyinde FGF-2 reseptörleriyle etkileşime girerek gösterdiği söylenmektedir (146).

2.4. Preeklampside Antianjiogenetik Faktörler

2003 yılından bu yana preeklampsinin patogenezinde dolaşımdaki anjiogenik faktörlerin kilit rol oynadıklarına dair iddiaları belirten çalışmalar logaritmik bir şekilde artış göstermiştir. Tarif edilen ilk anormallikler çözülebilen fms benzeri tirozin kinaz-1 (sFlt1)'in ekspresyon artışı ile birlikte, plasental büyüme faktörü (PlGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) sinyalizasyonundaki azalmadır (6-7).

2.4.1. Soluble Fms-benzeri tirozin kinaz 1 (sFlt1)

Flt1'in değişik birleşiminden sFlt oluşur. Flt1 VEGF ve PlGF için endotelial bir reseptördür. sFlt1, Flt'in ekstraselüler ligand-bağlayıcı parçasından oluşur, transmembran ve hücre içi sinyal domayninden yoksundur ve dolaşıma geçenler VEGF ve PlGF bağlandığında antagonize eder. Kendall ve Thomas tarafından sFlt1'in endotel hücre dizilerinin orijinal formundan kaynaklandığını ileri sürdüler. Ardından buda preeklampside sFlt üzerine yazılan geniş kapsamlı

çalışmalarda sonraları çokça tartışıldı (147). Ancak, daha yeni çalışmalarda sitotrofoblastlardan eksprese olan ikinci ek bir sFlt1 tanımlanmıştır. Bu sFlt1'in terminal kısmı farklı olup preeklampside yüksek düzeylerde olduğu görölmüştür (148). Farklı sFlt türevlerinin biyolojik önemi ile antianjiogenik aktiviteleri ve preeklampsisi patolojinde rolleri hususunda çalışmalar devam etmektedir. sFlt'nin plasental ekspresyonu preeklampside artar ve anne kanındaki sFlt1 düzeyindeki belirgin artışın buna bağlı olduğu söylenmektedir (6). sFlt1 ve PlGF dolaşımdaki düzeyleri klinik hastalığın başlangıcından birkaç hafta önce değiştiği ve hastalık şiddeti ile paralel hale geldiği görölmüştür (149). Doğumdan sonraki birkaç gün içinde sFlt1 düzeyiyle gelişen proteinüri ve hipertansiyonun normale gelmesi aynı zamana denk gelir. Vazokonstriksiyon ve endotel disfonksiyonu sFlt'in in vitro etkilerindendir. Hem direk protein infüzyonu ile hemde adenovirüse sFlt1 mRNA enjeksiyonu yolu ile sFlt1 düzeyleri yükseltilmiş fare ve sıçanlarda insan preeklampsisine benzer bir tablo oluşmuş olup, deneklerde hipertansiyon, proteinüri ve glomerüler endoteliozis saptanmıştır (6). Hem sıçan hem hayvan primat uterin perfüzyon basıncının azaltılmasına dayalı hayvan modellerinde kanda ve plasentada sFlt1 düzeyinde artış görölmüştür (150). Bu yüzden sFlt'in aşırı ekspresyonu, plasental disfonksiyonuyla maternal endotelial disfonksiyonunda kilit bir rol oynar.

2.4.2.Soluble endoglin

Soluble endoglin (sEng), preeklampside artan sFlt1 benzeri bir model olan bir başka antianjiogenetik biyomarkırdır. sEng Endoglin'in (CD 105) kısalımış bir formudur ve TGF- β 'ye bağlanan ve antagonize eden hücre yüzey reseptörüdür. Soluble endoglin (sEng) gebe ratlarda, sFlt1 aracılı vasküler hasarı arttırmakta ve şiddetli preeklampsisi benzeri sendrom ile HELLP sendromunun belirtilerini tetiklemektedir (151). SFlt1'de olduğu gibi, sıçan preeklampsisi modelinde dolaşımdaki sEng düzeyi preeklampsisi başlamadan haftalar önce yükselmeye başladığı ve uterin perfüzyon basıncının düşmesiyle sEng düzeyinde artış gerçekteştiği gözlenmiştir (152). Preeklampsililerde plasental trofoblast kültürlerinde hem normoksik hemde hipoksik koşullarda normal plaseenta ile karşılaştırıldığında sEng ve sFlt1'in arttığı gösterilmiştir (153).

2.4.3. VEGF sinyalizasyonu ve endotel hücre ölümü

Preeklampside endotelial disfonksiyonu VEGF/PlGF sinyalizasyon aracılığıyla olabileceği hipotezinin desteklenmesi için bu konuya yönelik deneysel çalışmalar yapılmalıdır. VEGF gelişmiş kan damarlarının endotel hücrelerinin stabilizasyonunda önemlidir. VEGF preeklampside ciddi etkilenen renal glomerül, beyin, karaciğer gibi organların pencere ve sinüzoidal tip kapillerlerin endotel hücrelerinin sağlığında çok önemli bir yeri vardır. Glomerül podositlerinde yüksek miktarda VEGF salgılanır. Ayrıca VEGF reseptörleri glomerül endotel hücrelerinin üzerinde yer alır (154). Yetişkin hayvanlara verilen anti-VEGF tedaviler proteinüri ile birlikte glomerül endotelial hasara neden olur (155). VEGF antagonistlerinin insandaki etkilerini en çarpıcı şekilde anti-anjiogenez kanser çalışmalarında göstermiştir. Bu çalışmalarda anti-VEGF antikoru proteinüri, hipertansiyon ve glomerül endotelialde pencere kaybının oluştuğu görülmüştür (156). Aşırı sFlt1'nin indüklediği VEGF eksikliği preeklampsinin böbrekte kendini gösteren belirtileri oluşturabildiği öne sürülmektedir. PlGF fizyolojik rolü VEGF'e göre daha az anlaşılmıştır. Fakat PlGF iskemi koşullarında, inflamasyon ve yara iyileşmesinde anjiogenezi stimüle ettiği görülmüş; ayrıca aterosklerosis oluşması için katkıda bulunabileceği ifade edilmiştir (157).

2.4.4. Plasental vasküler gelişmede anjiogenik sinyaller

Anjiyogenik faktörler plasenta vaskülogenezis düzenlenmesinde önemlidir. VEGF, PlGF, Flt1 invaziv sitotrofoblastlar tarafından yüksek miktarda eksprese olmasına karşın bu ekspresyon preeklampside değişir. sFlt1 in vitro sitotrofoblastik invazivliği azaltır (38). Dolaşımdaki sFlt1 ve sEng düzeyleri hamileliğin erken dönemlerinde nispeten daha düşüktür ve üçüncü trimestırda artmaya başlar. Plasentanın vasküler gelişimi lokal proanjiogenik ve antianjiogenik faktörler arasındaki dengeye göre düzenlendiğine dair hipotezler mevcuttur. Ayrıca gebeliğin erken döneminde bu lokal değişikliklerin sitotrofoblast invazyonunda yetersizliğe neden olabileceği de söylenmiştir. Üçüncü trimestıra kadar aşırı sFlt1'in maternal dolaşımda uç organ etkileri saptanabilir. Bu durumda plasental iskemi, etkenden ziyade anjiogenetik dengesizliği yansıtan bir durumdur.

2.4.5.Preeklampside risk faktörleri

Şiddetli preeklampsia risk faktörleriyle bozulmuş anjiyogenik faktör ekspresyonu görülür. İlk gebeliğe karşı ikinci gebeliklerde (158), ikiz gebeliğe karşı tekiz gebelikler (159), mol hidatiform (160) ve trizomi 13'lu fetüslü gebeliklerde (161) tüm risk faktörlü preeklampsililer için yüksek sFlt1 düzeyi bildirilmiştir. Tersine sFlt1 sigara içenlerde düzeyi azalır. Bu durum preeklampside sigara içmenin koruyucu etkisini açıklayabilir (80). Plasenta villüs eksplantları direk sigara dumanına maruz bırakıldığında sFlt düzeyinde azalma görülmektedir (162). Birçok preeklampsia, kronik hipertansiyon, diyabetes mellitus ve obezite gibi risk faktörleri içerir. Muhtemelen altta yatan neden, dolaşımdaki anti anjiyogenik faktörlere duyarlılığı artmış olabilen maternal endotelial disfonksiyondur. Eğer öyleyse preeklampsinin kendine has belirtileri önceleri sağlıklı bayanlarda sFlt1'in daha düşük eşik değerlerinde oluşabilmektedir. Gerçekte sFlt1 düzeyi, obezlerde preeklampsili normal vücut ağırlığına sahip kadınlara nazaran daha düşüktür.

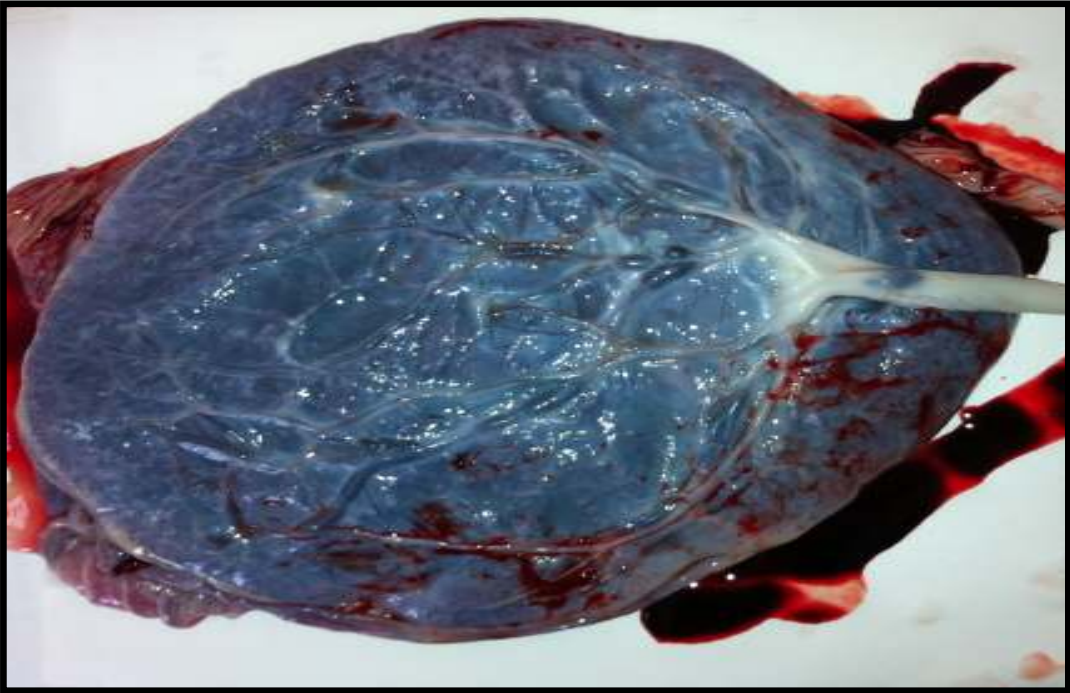
Diğer vasküler risk faktörleri kronik hipertansiyon ve diyabetes mellitus gibi benzer bir patern olup olmadığı gözlenmesi gerekmektedir.

3.GEREÇ ve YÖNTEM

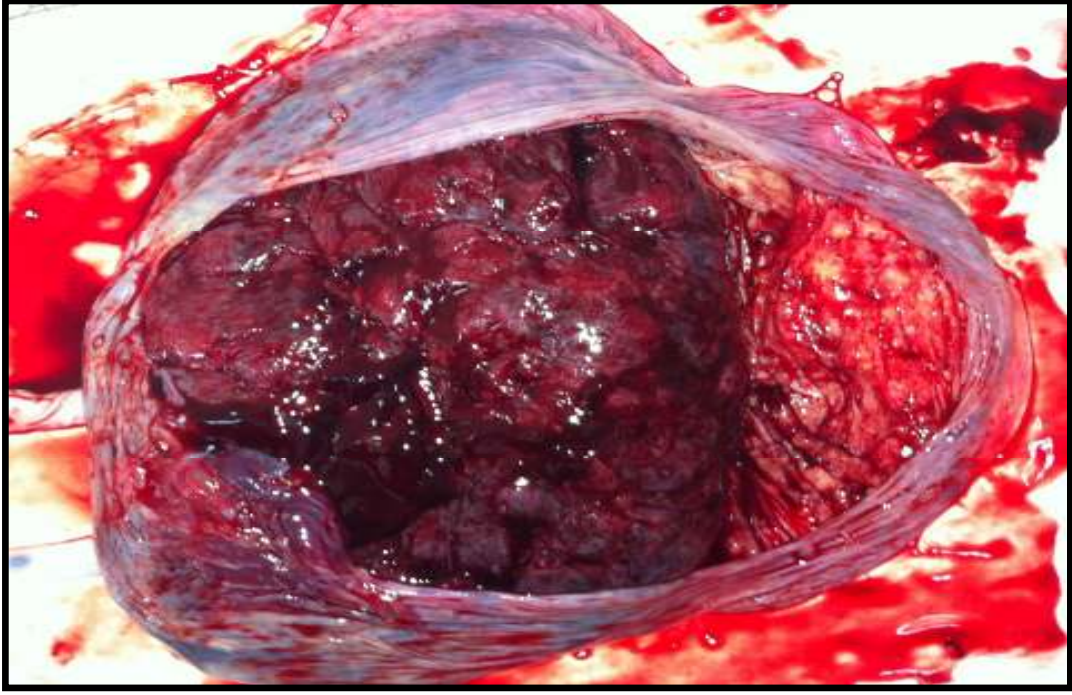
3.1. Plasentaların Elde Edilmesi

Çalışmamız Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 27.08.2010 tarih ve 116 sayılı onay alınarak yapılmıştır. Çalışmamıza katılan 20 preeklampsi tanısı konmuş gebe kadın ile 20 adet kontrol grubunu oluşturan gebe kadınlar bilgilendirilip ardından bilgilendirilmiş onam formu (Bkz. Ek 1) onamı alınmıştır (Bilgilendirilmiş Onam Formu için; Bakınız Ekler).

Dicle Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Doğum ve Hastalıkları Kliniğine başvuran söz konusu annelerden doğum sonrası elde ettiğimiz plasentaları (Şekil 4-5) serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra maternal ve fetal yüzlerinden, santral ve periferik kısımlarından doku örnekler alınmıştır.



Şekil 4: Plasentanın koryoamniyotik membranla kaplı fetal yüzü, koryonik elemanlar ve göbek kordonu izlenmektedir.



Şekil 5: Plasentada kotiledonların olduğu maternal yüz

3.2. Işık Mikroskopik İnceleme İçin Dokuların Takibi

Çalışmada kullanılan plasentaların maternal yüzünden (Şekil 5) hem periferden, hem de santraldan olmak üzere iki doku parçası 1X1cm³ boyutlarında alınmıştır. Bununla birlikte fetal yüzden (Şekil 4) de yine hem santraldan hem de periferden aynı boyutlarda doku parçası alınıp %10'luk tamponlanmış nötral formalin içine alınıp 16 saat bekletilip tespit işlemi gerçekleştirildi. Tespit edilen dokular 12 saat akarsu altında yıkanarak formalin solüsyonundan arındırıldı. Daha sonra sırasıyla, %30, %50, %70, %80, %90 ve %96'lık alkollerde 8 saat bekletilen dokular absolut alkol (%99.9) içerisinde 2X20 dakika bekletilerek dehidratasyon işlemi tamamlandı. Şeffaflaştırma ve alkolü dokudan uzaklaştırmak için 2X15 dakika ksilolde bekletilen dokular 1/1 hacimde parafin/ksilol içerisinde 1 saat bekletildikten sonra, saf parafin içine alınıp 4 saat kadar daha bekletildi. İnfiltrasyon işleminin ardından parafin bloklara gömme işlemi gerçekleştirildi. Her bir parafin bloktan, tam otomatik, rotary mikrotom (Leica RM 2265, Germany) yardımıyla 4-6µm kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitlere Hematoksilen-Eosin (H-E), Masson Trikrom ve Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama yöntemlerinin yanında, Anjiostatin, Vazostatin ve Trombospondin-1 immün boyamaları uygulandı.

Preparatlar Nikon DS-2MV dijital kamera ve NIS elements 3.00 yazılım programı kullanılarak ışık mikroskopunda incelendi.

3.3.Hematoksilen-Eozin boyama protokolü

- 1.Parafin kesitler ksilolde deparafinize edilerek, azalan alkol derecelerinden geçirilip distile suya kadar getirildi.
- 2.Filtre edilmiş Harri's hematoksilen solüsyonunda yaklaşık olarak 8 dakika kadar bekletildi.
- 3.Kesitler 5 dakika akarsuda bekletilerek, Hematoksilen artıklarından arındırıldı.
- 4.Differensiyasyonu sağlamak için % 1 lik asit-alkol solusyonuna 1 kez batırılıp çıkarılan dokular tekrar çeşme suyundan geçirilerek yıkanmaları sağlandı.
- 5.Amonyaklı suda çekirdekler parlak mavi oluncaya kadar bekletildi.
- 6.10 dakika çeşme suyunda yıkandı ve %80'lik etil alkolde 1-2 dakika bekletildi.
- 7.Zıt boyama için eozin-floksin solusyonunda 2 dakika bekletildi.
- 8.Dehidratasyon ve parlatma için yükselen derecelerde etil alkol serilerinden ve ksilolden geçirilerek, entellan ile kapatıldı.

3.4.Masson trikrom boyama protokolü

- 1.Parafin kesitler ksilol deparafinize edilerek, azalan alkol derecelerinden geçirilip distile suya kadar getirildi.
- 2.Bouin solüsyonunda 56 C^o'de 1 saat bekletildikten sonra çıkarılıp oda sıcaklığının oda ısısına gelmesi beklendi.
- 3.Çeşme suyunun altında boin çıkıncaya kadar bekletildi.
- 4.Weigert solusyonunda 10 dakika bekletildi.
- 5.Distile suyunda çalkalandı.
- 6.Trikromda Gomori'de 11 dakika bekletildi.
- 7.%0,5 Asetik Asit solusyonuna batırılıp çıkarıldı.
- 8.Dehidratasyon ve parlatma için yükselen derecelerde etil alkol serilerinden ve ksilolden geçirilerek, entellan ile kapatıldı.

3.5.Periyodik asit schiff Boyama Protokolü

- 1.Parafin kesitler ksilolde deparafinize edilerek, azalan alkol derecelerinden geçirilip distile suya kadar getirildi.
- 2.Peryodik asitte 5 dakika bekletildi.
- 3.Distile suda çalkalandı.
- 4.Coleman schiff’de 8 dakika bekletildi.
- 5.Akar suda 5 dakika yıkandı.
- 6.Harris Hematoksilende 3 dakika bekletildi.
- 7.Çeşme suyunda çalkalandı.
- 8.%1’lik Asit alkole batırılıp çıkarıldı.
- 9.Çeşme suyunda yıkandı.
- 10.Dehidratasyon ve parlatma için yükselen derecelerde etil alkol serilerinden ve ksilolden geçirilerek, entellan ile kapatıldı.

3.6.Histomorfometrik İncelemeler

Kontrol ve preeklampsi vakalarından elde edilen kesitlerde sinsityal düğüm sayısını rastgele seçilen 5 alanda ışık mikroskopunda x40 objektifte sayılarak belirlendi ve ayrıca bazal membran kalınlığıda ölçülerek karşılaştırıldı.

3.7. İmmunohistokimyasal Yöntem

4-6µm kalınlığında elde edilen kesitler, poli-lizinle kaplı lamaların üzerine alındı. Ardından 12 saat 37C° etüvde bekletilen dokular, 58C° ye ayarlanmış etüve alınıp bir saat kadar daha bekletildi. Daha sonra 2X15 dakika ksilolden geçirilerek deparafinize edilen kesitler, 10’ar dakika sırasıyla %100, %96 ve %80’lik alkol serilerinden geçirildi. 2X5 dakika distile sudan geçirildikten sonra, antijen retrieval işlemi için önerilen sitrat tampon (pH:6.0) solüsyonuna Anjiostatin ve Vazostatin antikorları, bunun yanında etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) (pH:8.0) solüsyonuna Trombospondin-1 antikoru alındı. Mikrodalga içine alınan kesitler 700 Watt’ta 7+5+5 dakika ısınladı. Fırından çıkarılan kesitler, doğrudan oda sıcaklığında soğumaları için 30 dakika kadar bekletildi. 2X5 dakika distile sudan geçirildikten sonra, kurulanıp, dokunun olduğu yer silikon kalem vasıtasıyla çevrelenip sınırlandı. İmmunohistokimya barına dizilen, kesitlerin üzerine 3X3dakika Phosphate Buffer Saline (PBS) damlatıldı. Bu sırada

immünohistokimya barına nemliliği sağlamak için daha önceden hazırlanan sıcak su konuldu. Kesitlerin üzerindeki PBS alınıp üzerine Hidrojen peroksit blokaj solüsyonu (1ml %30 H₂O₂ + 9ml metanol) damlatılıp 20 dakika inkübe edildi. Ultra V Block (keçi, non-immün serum) solüsyonunda 10 dakikalık bekletmenin ardından yıkanmaksızın, Trombospondin-1 (Anti-A6.1, Mouse monoklonal, 1/200, Santa Cruz Biotechnology, Europe), Anjiostatin (Anti-5H3, mouse monoklonal, 1/200, Santa Cruz Biotechnology, Europe), Vazostatin (Anti-Chr-A, mouse monoklonal, 1/200, Santa Cruz Biotechnology, Europe) damlatılıp bir gece +4C° de inkübe edildi. Sonraki gün PBS solüsyonunda 3X3 dakika yıkanan kesitler, sekonder antikorla 20 dakika inkübe edildi, streptavidin-peroksidaz damlatılıp 10 dakika beklendikten sonra PBS ile yıkandı. Daha sonra kesitlerin üzerine 3,3' Diaminobenzidine (DAB) damlatılıp, yukarıda sayılan söz konusu antikorlar için sırasıyla 8, 11 ve 10 dakika beklendi. PBS ile reaksiyon durdurulup Harris hematoksilin ile zıt boyama yapıldıktan sonra kesitler artan alkol derecelerinden geçirildikten sonra entelan ile kapatıldı. Nikon DS-2MV dijital kamera ve NIS elements 3.00 yazılım programı kullanılarak fotoğraflar çekildi.

Tablo.2: Kontrol ve preeklampsi plasentalarında vazostatin, anjiostatin ve trombospondin-1 ekspresyonun skorlanması.

Vazostatin, anjiostatin ve trombospondin-1 ekspresyonu	
-(0)	Ekspresyon yok
+(1)	Zayıf Ekspresyon
++(2)	Orta Ekspresyon
+++ (3)	Kuvvetli Ekspresyon

İmmünohistokimyasal analizde, ×40'lık büyütmede rastgele seçilen 3 mikroskopik alanda, sinsityotrofoblastlar, sitotrofoblastlar, ekstratrofoblastlar ve desidual stromal hücrelerin sitoplazmik boyamalarına negatif (0), %25'in altı zayıf (1), %25-%50 arasında boyanma orta (2), %50'den fazla kuvvetli (3) olarak derecelendirmişlerdir.

3.8.İstatistiksel Yöntem

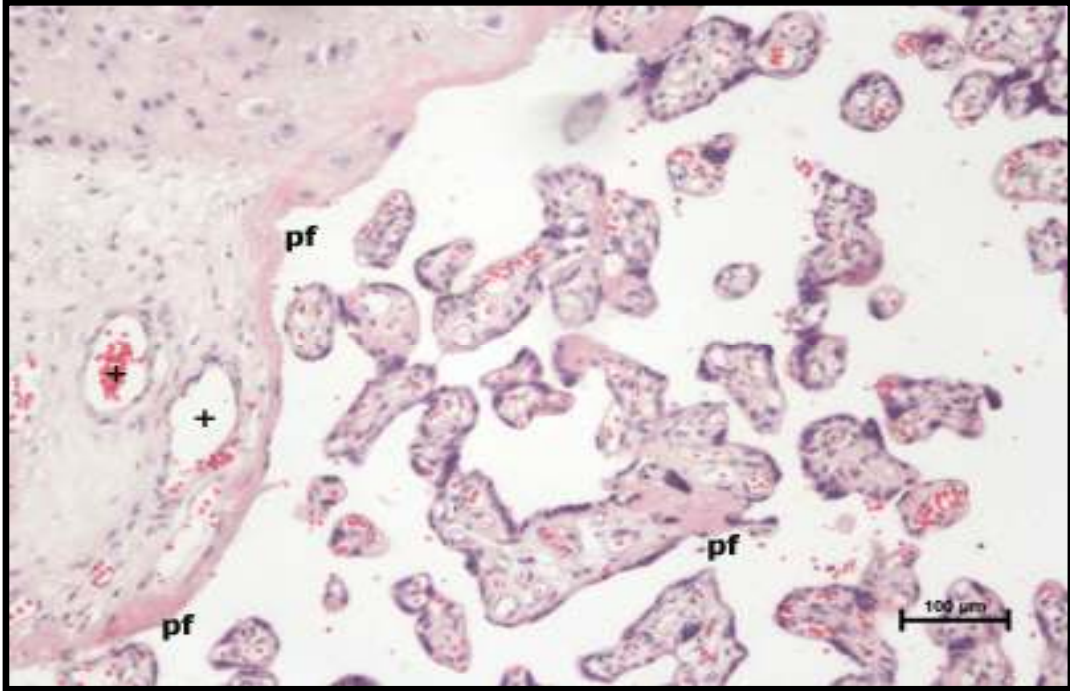
Çalışmada elde edilen verilerin, aritmetik ortalaması ve standart sapma değerleri hesaplandı. İstatistiksel analizde SPSS 11.0 (Chicago IL, USA) programı kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi tercih edildikten sonra, p<0.05 olması durumunda veriler arasındaki farklılığın anlamlı olduğu sonucuna varıldı.

4.BULGULAR

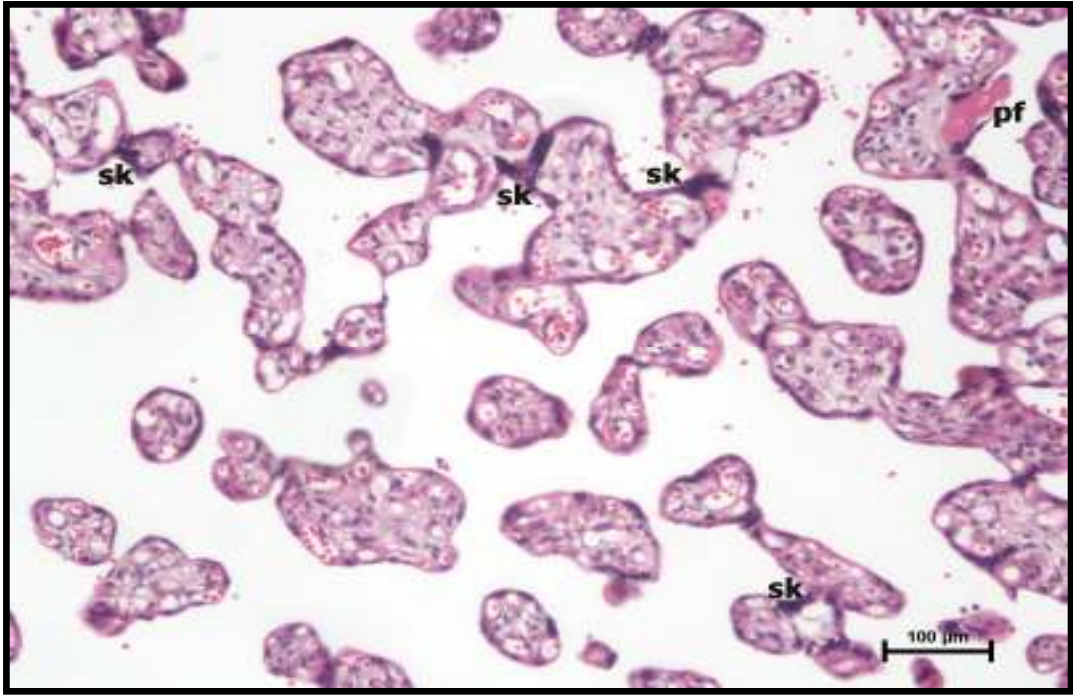
4.1.Kontrol Grubu Bulguları

4.1.1.Hematoksilen-Eozin yöntemi ile boyanan kesitlerde saptanan bulgular

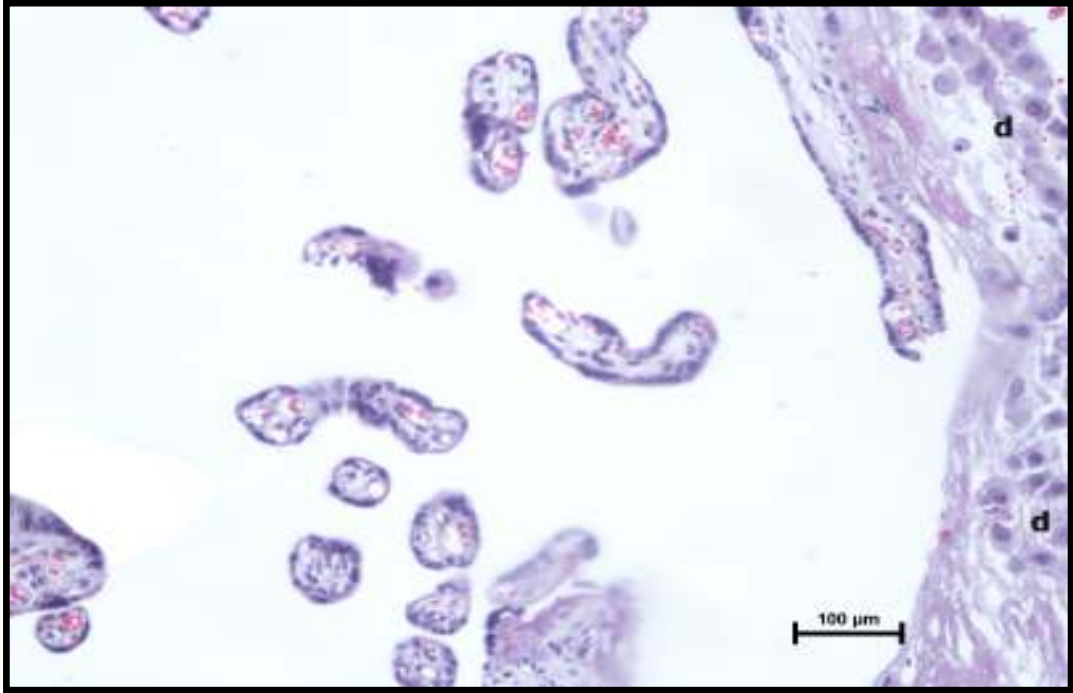
Kontrol vakalarının, periferik ve santral plasenta kesitlerinde kök villus fetal damar duvarları normal ve lümenleri açıktı (Şekil 6). Genellikle santral plasenta kesitlerinde sinsityal düğüm ve sinsityal köprüler ile perivillöz fibrin normal izlenirken, bazı periferik plasenta kesitlerinde yer yer sinsityal köprüler gözlemlendi (Şekil 7). Çoğu kontrol vakalarında intervillöz aralıklar normal olarak izlendi (Şekil 6-7). Bütün kontrol vakalarında perivillöz fibrin birikimi mevcut olup (Şekil.6-7), maternal desidua normal olarak gözlemlendi (Şekil.8).



Şekil.6: Kontrol grubu, periferik plasenta kesitinde kök villusların damar lümenleri açık damarlara sahip olduğu izlenirken (+), minimal düzeyde perivillöz fibrin birikimi (pf) ve normal yapıda villuslar saptandı (H-E, Bar: 100µm).



Şekil.7: Kontrol grubu, periferik plasenta kesitinde, sinsityal köprüler (sk) ve perivillöz fibrin (pf) birikimi (H-E, Bar: 100µm).

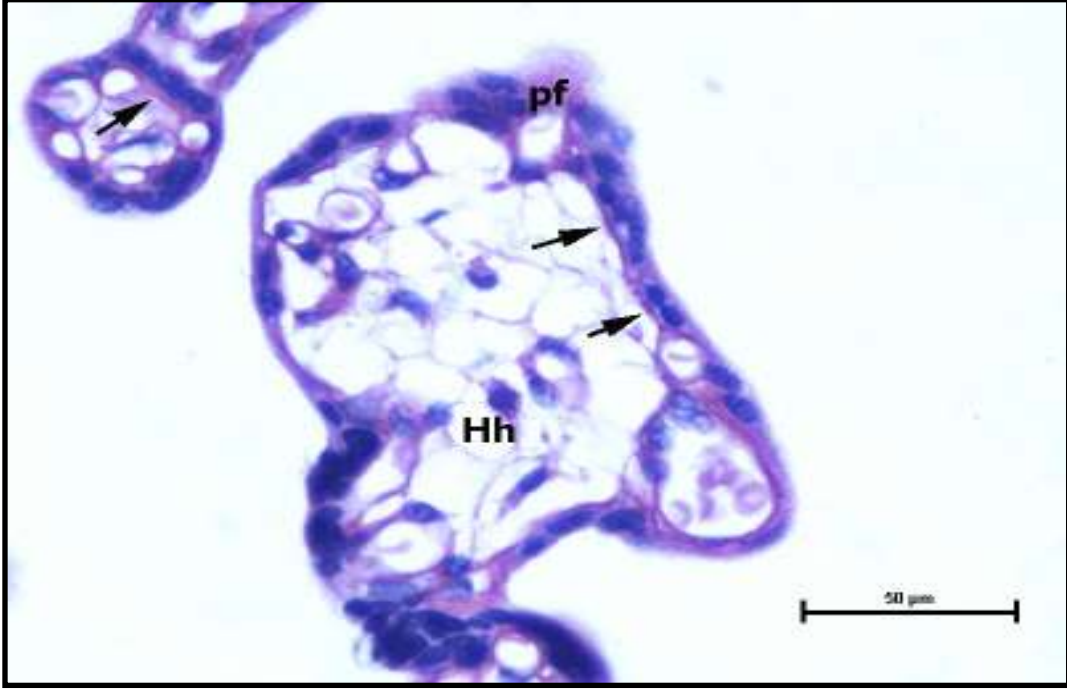


Şekil.8: Kontrol grubu, periferik plasenta örneğinde koryon villusları ile desidua kesitinde sinsityal köprüler (sk) ve perivillöz fibrin birikimi (pf) izlenmektedir (H- E, Bar: 100µm).

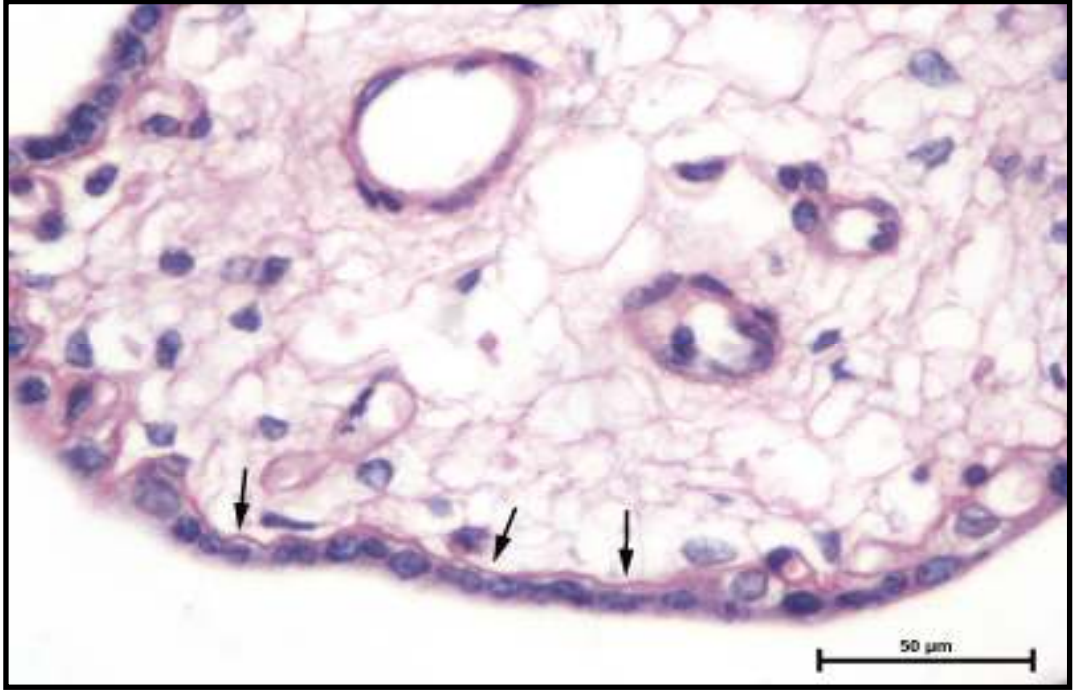
4.1.2. Periyodik Asit Schiff (PAS) yöntemi ile boyanan kesitlerdeki bulgular

PAS yöntemi ile boyanan kesitlerde, kontrol grubu vakalarına ait plasenta kesitlerinde trofoblast bazal membranı ve vaskülosinsityal bazal membranlarda normal kalınlıkta izlenirken perivillöz fibrin birikimi saptandı (Şekil 9-10).

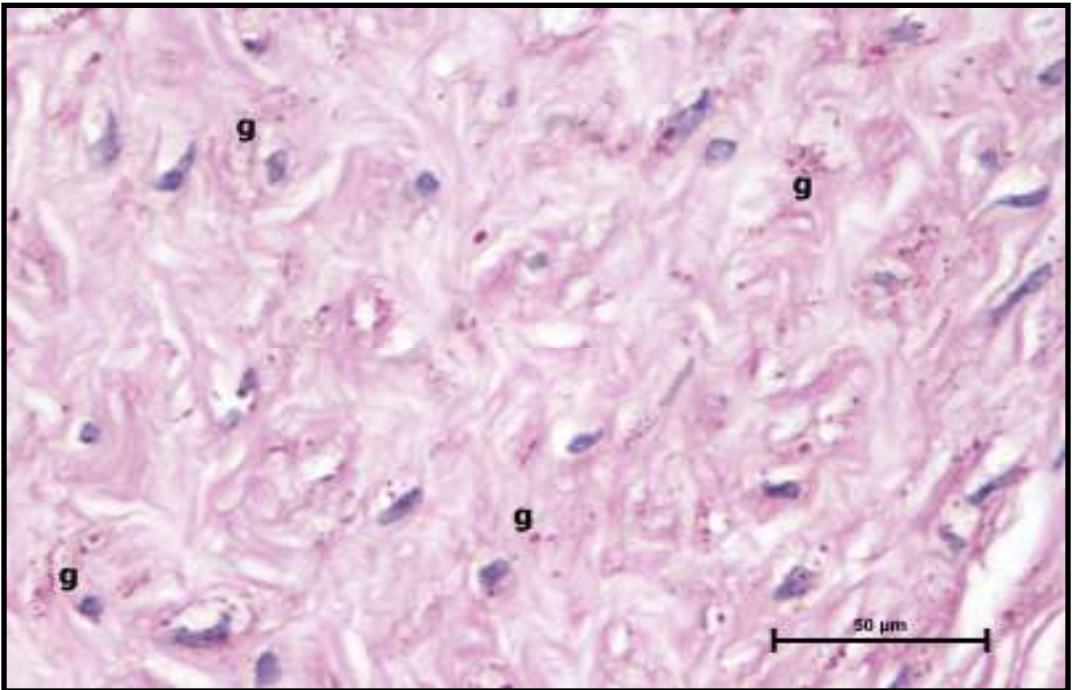
Maternal desidua da glikojen birikimi normal olarak izlendi (Şekil 11)



Şekil 9: Kontrol grubu santral plasenta kesitinde, normal kalınlıkta, sağlıklı vaskülosinsityal bazal membranlar (ok), perivillöz fibrin (pf) ve Hofbauer hücreleri(Hh) izlenmektedir. (PAS, Bar: 50µm).



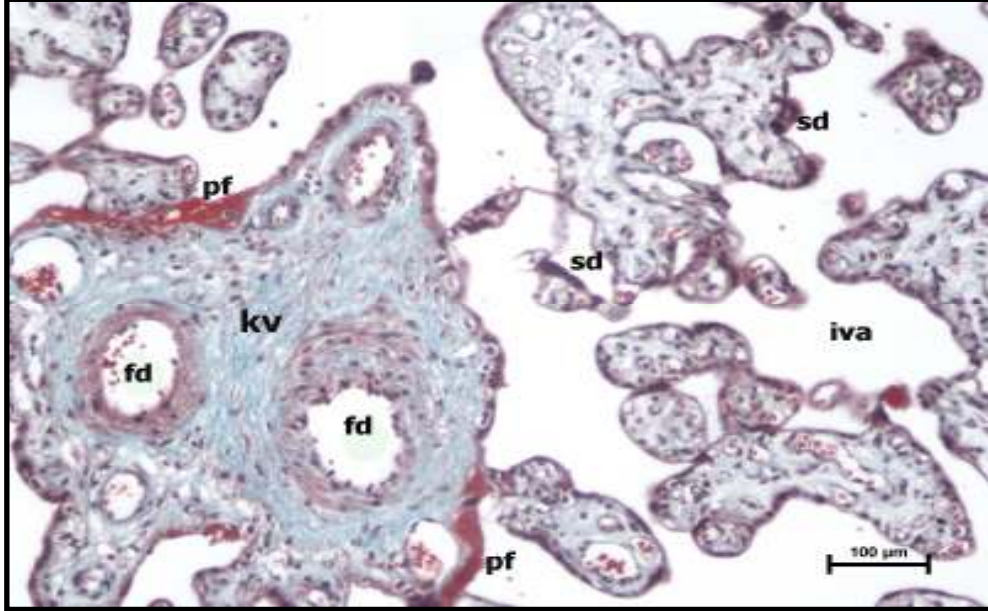
Şekil 10: Kontrol grubu santral plasenta kesitinde, normal kalınlıkta trofoblast bazal membranı (ok) (PAS, Bar: 50µm).



Şekil 11: Kontrol grubu maternal plasenta kesitinde, desidua normal glikojen dağılımı (g) (PAS, Bar: 50µm).

4.1.3. Masson trikrom yöntemiyle boyanan kesitlerde saptanan bulgular

Kontrol grubu kök villuslarında fetal damarlar, terminal villuslardaki fetal kapillerler, sinsiyal düğümler ve intervillöz aralıklar normal yapıda izlendi (Şekil 12).



Şekil 12: Kontrol grubu santral plasenta kesiti, kök villusları (kv), fetal damarlar (fd), perivillöz fibrin (pf), sinsiyal düğümler (sd) ve intervillöz aralık (iva) izlenmektedir (Masson Trikrom, Bar: 50µm).

4.2. Preeklampsi Grubu Bulguları

4.2.1. Hematoksilen-Eozin yöntemi ile boyanan kesitlerde saptanan bulgular

Preeklampsi vakalarında santral plasenta kesitlerinin incelenmesinde, bazı vakalarda fetal koryoamniyonik membran ile villuslar arasında ödem ve amnion epitelinde skuamöz metaplazi mevcuttu (Şekil 13). Preeklampsi vakalarının pek çoğunda, santral plasenta kesitlerinde belirgin perivillöz fibrin birikimi, yer yer intervillöz aralıkta artış izlendi (Şekil 14-16). Bazı preeklampsi vakalarında, hem santral hem de periferik plasenta örneklerinde terminal villuslarında, sinsiyal düğüm sayılarında (Şekil 14-15) ve sinsiyal köprülerde (Şekil 17) belirgin bir artış gözlemlendi.

Bir preeklampsi vakasında periferik plasenta örneğinde terminal villuslarda ödem, fetal damarlarda konjesyon ve Hofbauer hücrelerinde artış izlendi. Fetal kapillerler ileri derece dilate ve sinsityotrofoblastlara oldukça yakın

durumda gözlendi (Şekil 18). Preeklampsili vakaların plasenta kesitlerinin pek çoğunda, terminal villus kapillerlerinde proliferasyon ve konjesyon belirgindi (Şekil 14,15,19). Bazı preeklampitik vakalarda santral plasenta örneklerinde, kök villuslarda fetal damarlarda konjesyon, damar duvarında kalınlaşmalar, kısmen damar lümeninde obliterasyon izlenirken ayrıca yer yer kalsifikasyon ve infarkt alanları görüldü (Şekil 20).

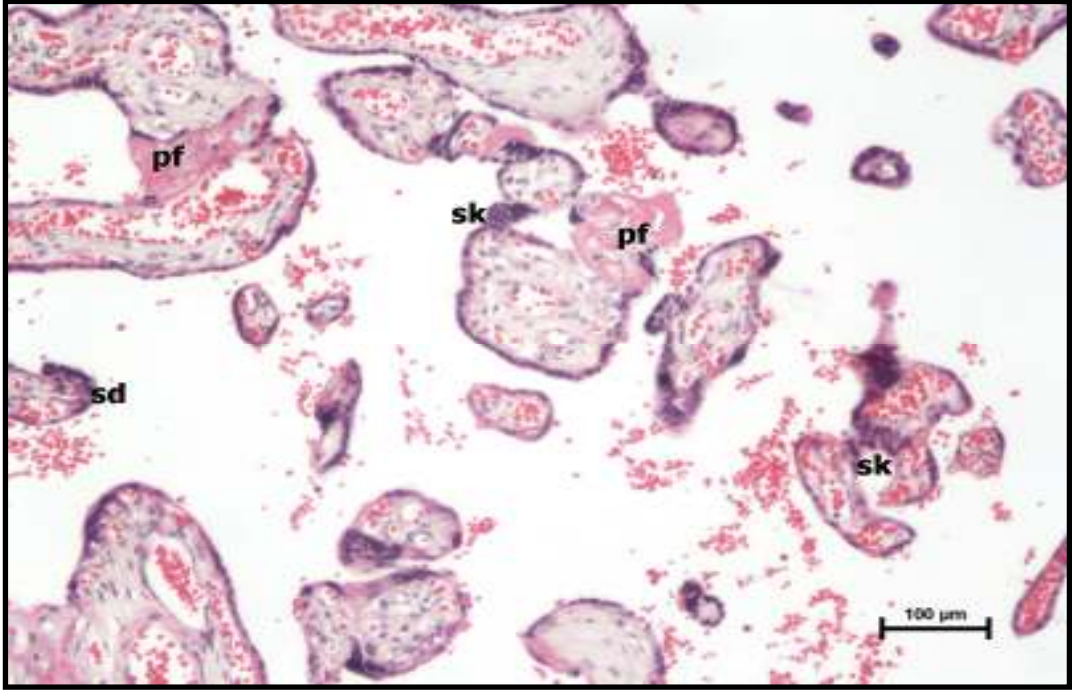
Bazı preeklampsi santral plasenta kesitinde, maternal yüzde fibrin birikimi, lenfosit infiltrasyonu ve yer yer çok çekirdekli plasental dev hücreleri izlendi (Şekil 21-22).

Tablo.3: Preeklampsi ve kontrol grubu plasentaların santral ve periferik örneklerinde sinsityal düğüm sayıları.

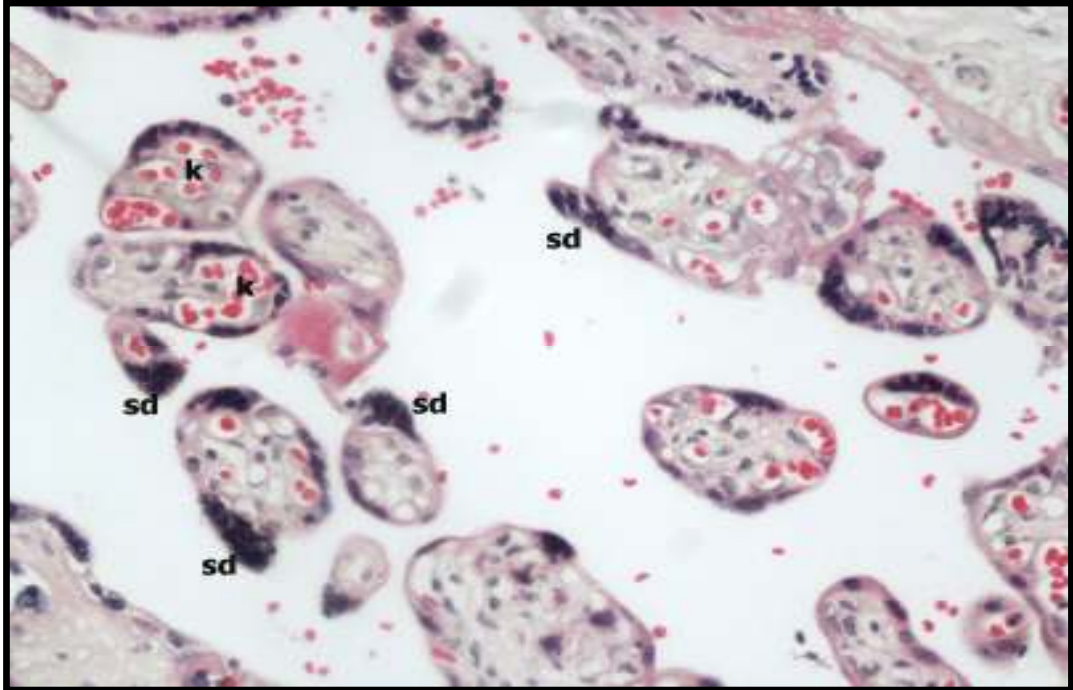
	Kontrol	Preeklampsi	p
Santral plasenta	11.3±1.49	15.0±1.69	<0.05
Periferik plasenta	12.0±1.33	15.6±2.11	<0.05



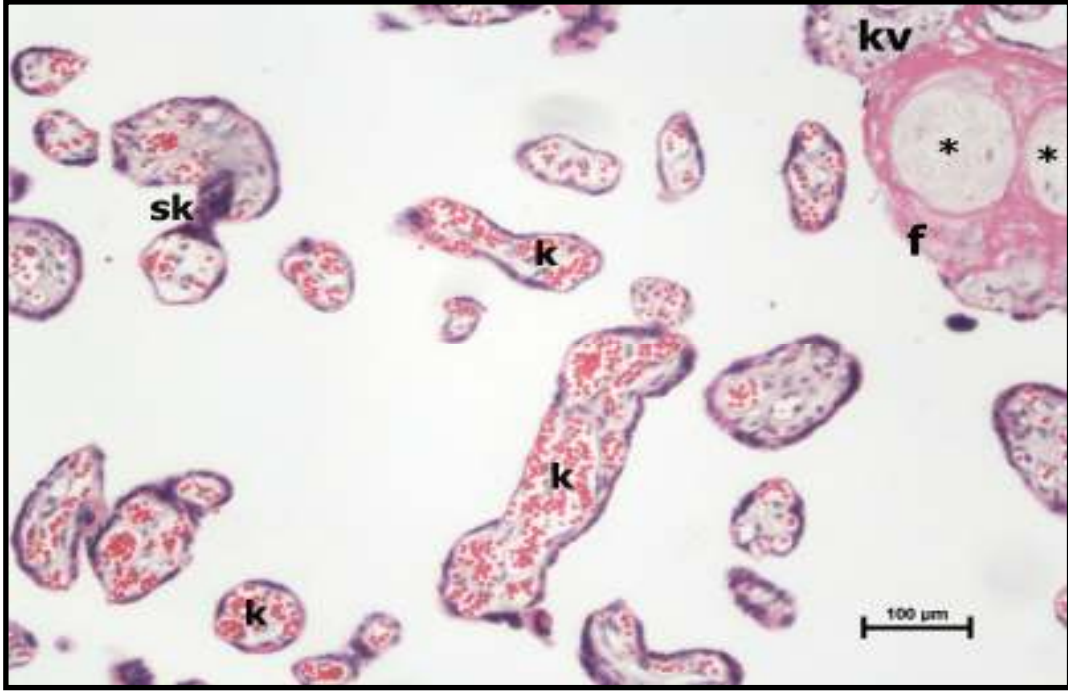
Şekil 13: Preeklampsi grubu, santral plasenta kesiti, amnion epitelinde skuamöz metaplazi (mp) (H-E, Bar: 500µm).



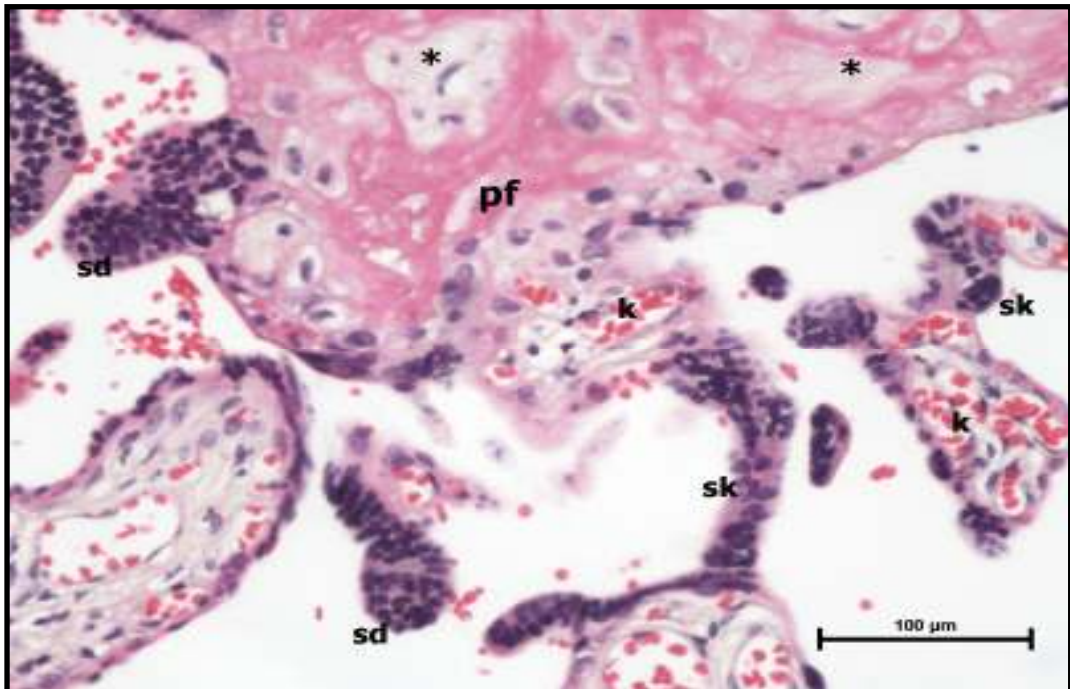
Şekil 14: Preeklampsisi grubu santral plasenta kesiti, perivillöz fibrin birikimi (pf) sinsityal düğümlerde (sd) ve sinsityal köprülerde (sk) belirgin bir artış görülmektedir (H-E, Bar: 100µm).



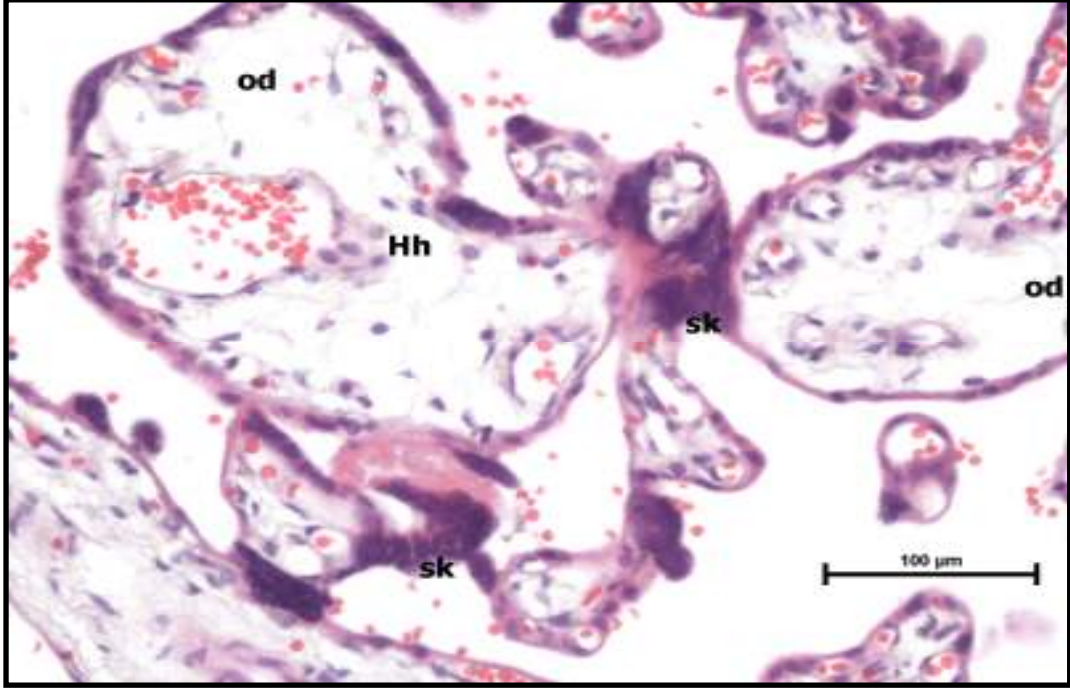
Şekil 15: Preeklampsisi grubu, periferik plasenta kesitinde, sinsityal düğümlerde (sd) artış ve kapillerde konjesyon (k) (H-E, Bar: 100µm).



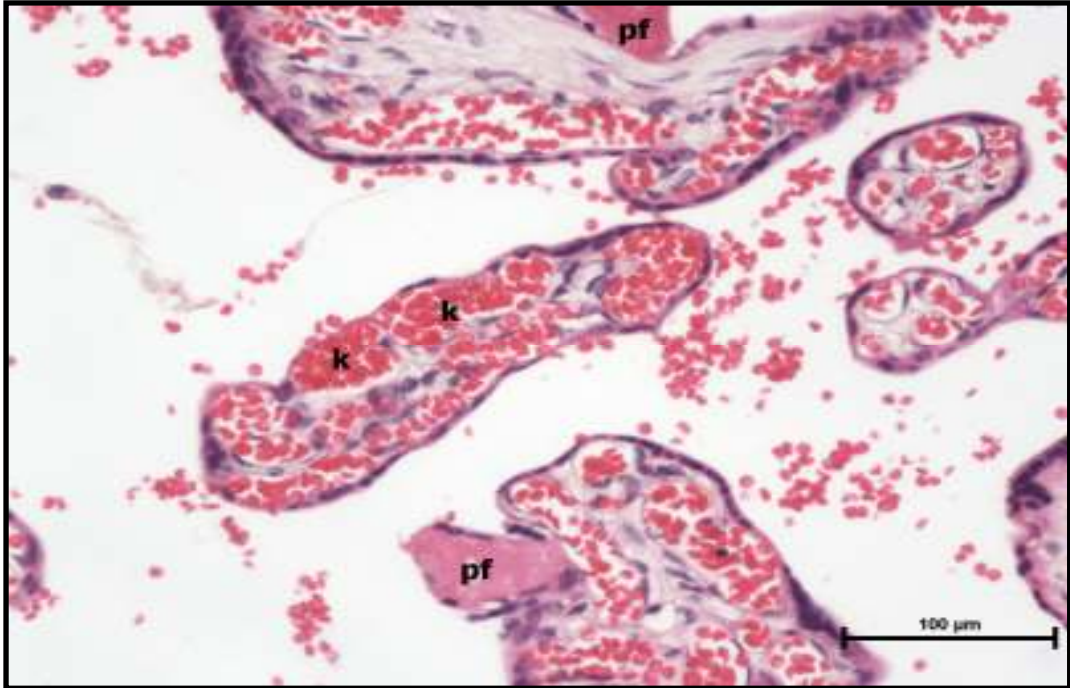
Şekil 16: Preeklampsia grubu, santral plasenta kesiti, kök villuslarda (kv), infarkt alanları (*) çevreleyen fibrinoid doku (f), konjesyon (k) ve dilate f3tal kapillerler (H-E, Bar: 100µm).



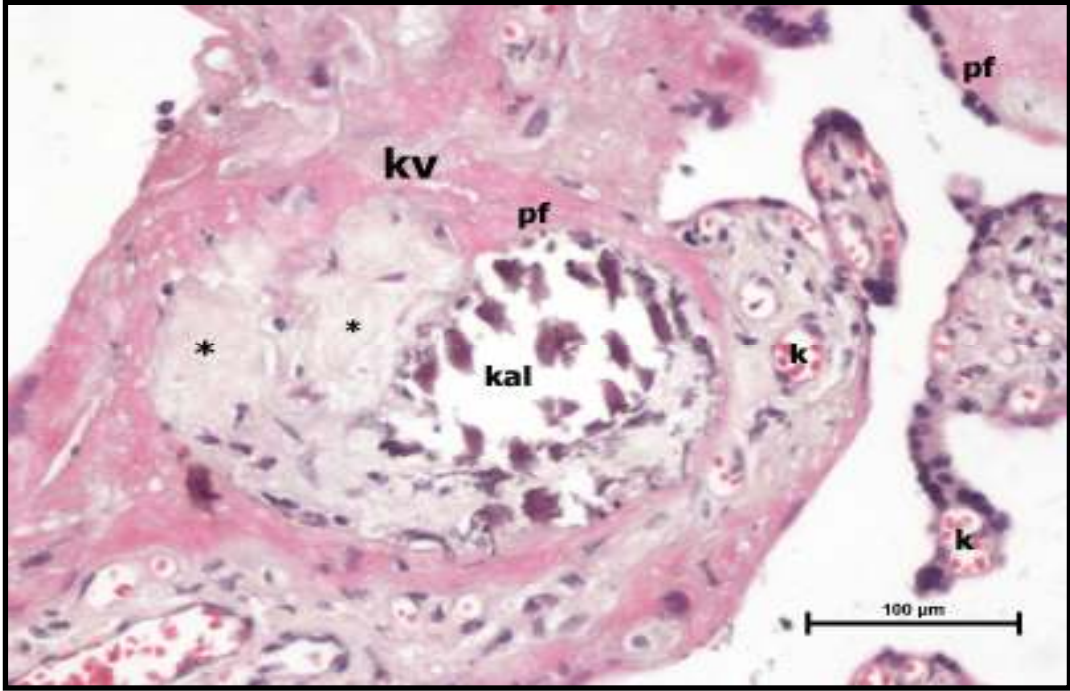
Şekil 17: Preeklampsia grubu santral plasenta kesiti, kök villuslarda infarkt alanları (*), çevreleyen fibrinoid doku (pf), konjesyon (k) ve dilate f3tal kapillerler izlenmektedir (H-E, Bar: 100µm).



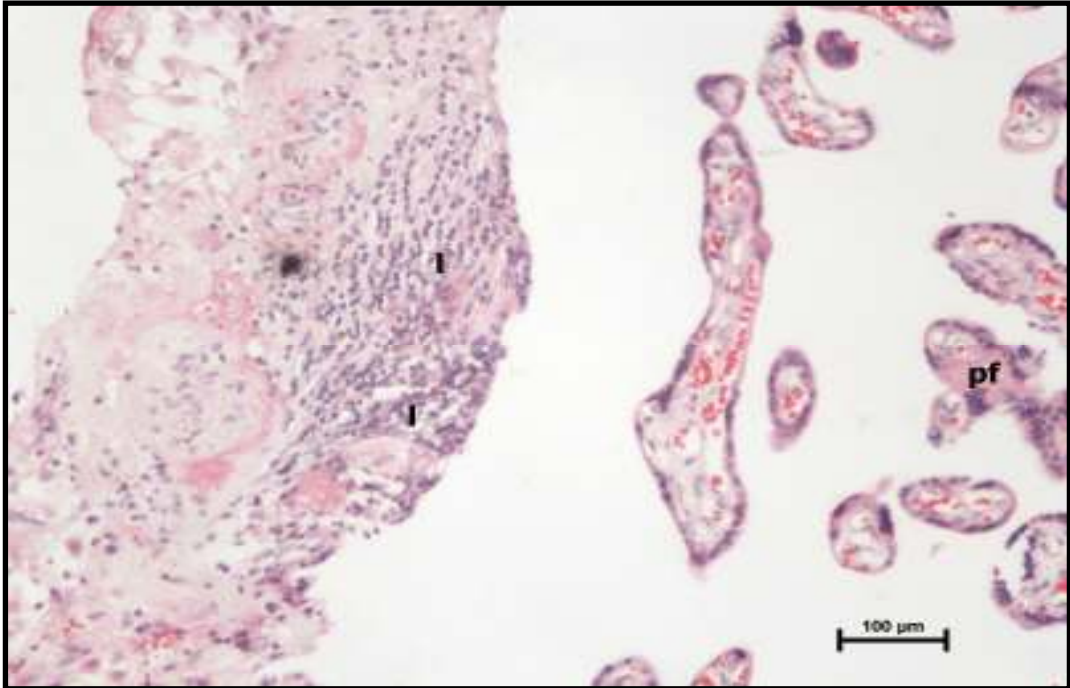
Şekil 18: Preeklampsia grubu periferik plasenta kesiti, terminal villuslarda ödem(öd), Hofbauer hücreleri (Hh) ve sinsityal köprü (sk) sayılarında artış (H-E, Bar: 100µm).



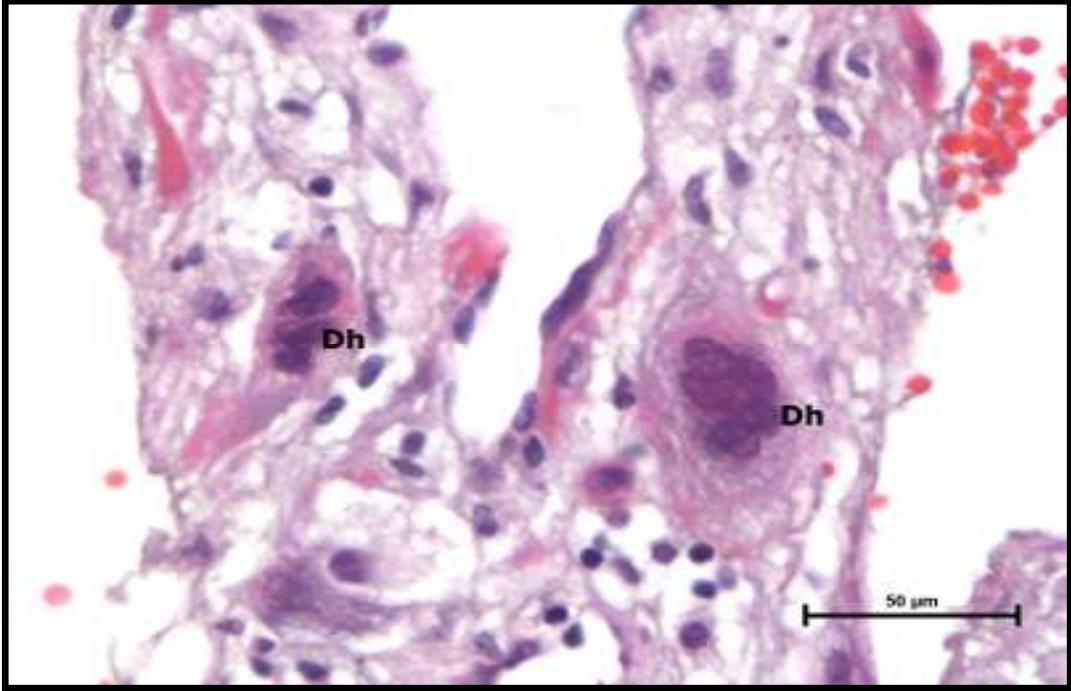
Şekil 19: Preeklampsia grubu, sentral plasenta kesiti, konjesyon (k) ve dilate terminal villus kapillerleri ile perivillöz fibrin (pf) birikimi (H-E, Bar: 100µm).



Şekil 20: Preeklampsisi grubu santral plasenta kesiti, konjesyon ve dilate terminal villus kapillerleri (k), ile perivillöz fibrin (pf) birikimi, kalsifikasyon odakları(kal) ve infarkt alanları (*) izlenmektedir (H-E, Bar: 100µm).



Şekil 21: Preeklampsisi grubu, santral plasenta kesiti, maternal yüzde lenfosit infiltrasyonu(l) ve perivillöz fibrin (pf) birikimi (H-E, Bar: 100µm).



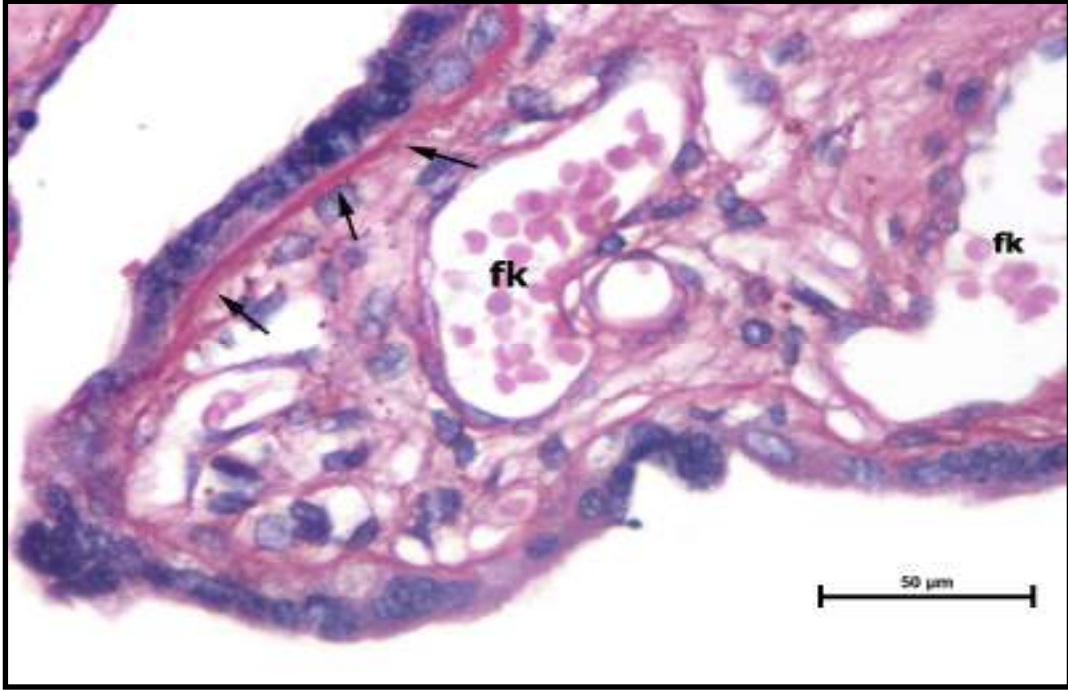
Şekil 22: Preeklampsia grubu santral plasenta kesiti, desiduada yer yer çok çekirdekli plasental dev hücreler (Dh) izlenmektedir. (H-E, Bar: 50µm).

4.2.2. Periyodik Asit Schiff (PAS) yöntemi ile boyanan kesitlerde saptanan bulgular

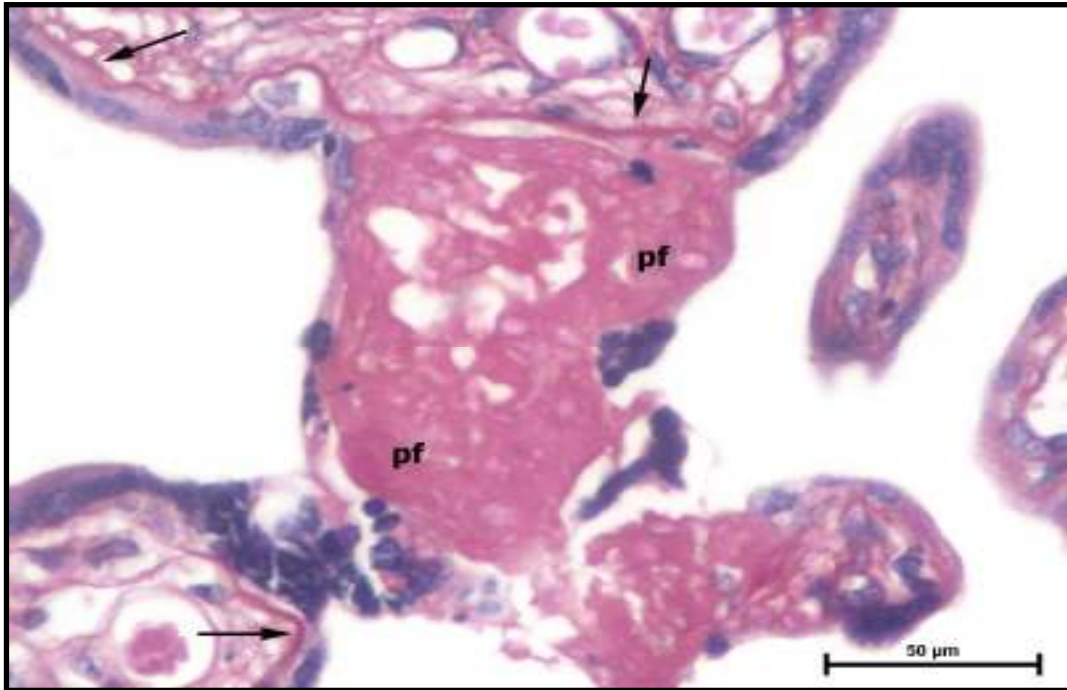
Preeklampsia grubuna ait plasenta kesitlerinde trofoblast bazal membranının yer yer kontrol grubuna göre daha kalın ve yer yer intravillöz ve perivillöz fibrin birikimi saptandı (Şekil 23-24). Preeklampsia grubu desidua ven duvarında fibrin birikimi ve heterojen bir dağılım gösteren yoğun glikojen akümülyasyonu izlendi (Şekil 25).

Tablo.4: Preeklampsia ve kontrol grubu plasentaların santral ve periferik örneklerinde bazal membran kalınlığı.

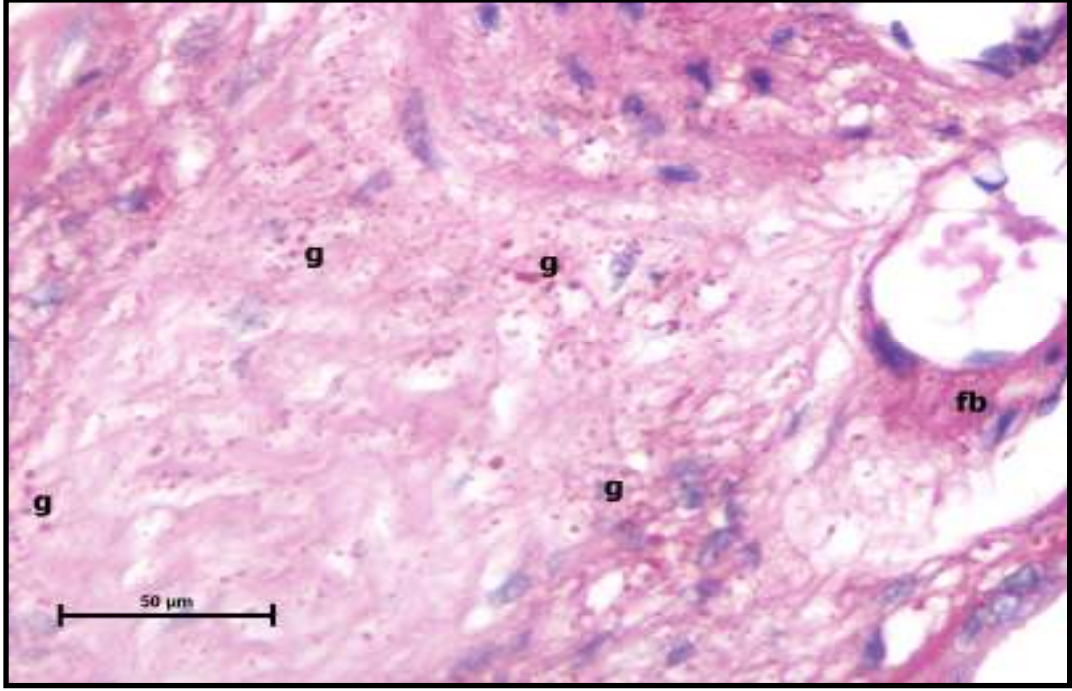
	Kontrol	Preeklampsia	p
Maternal Santral	1.88±0.07	2.43±0.28	<0.05
Fetal Santral	1.91±0.09	2.37±0.23	<0.05
Maternal Perifer	1.88±0.08	2.22±0.19	<0.05
Fetal Perifer	1.79±0.09	2.46±0.23	<0.05



Şekil 23: Preeklampsia grubu periferik plasenta kesiti, kalınlaşmış trofoblast bazal membranı (ok) ve fetal kapillerler (fk) izlenmektedir (PAS, Bar: 50µm).



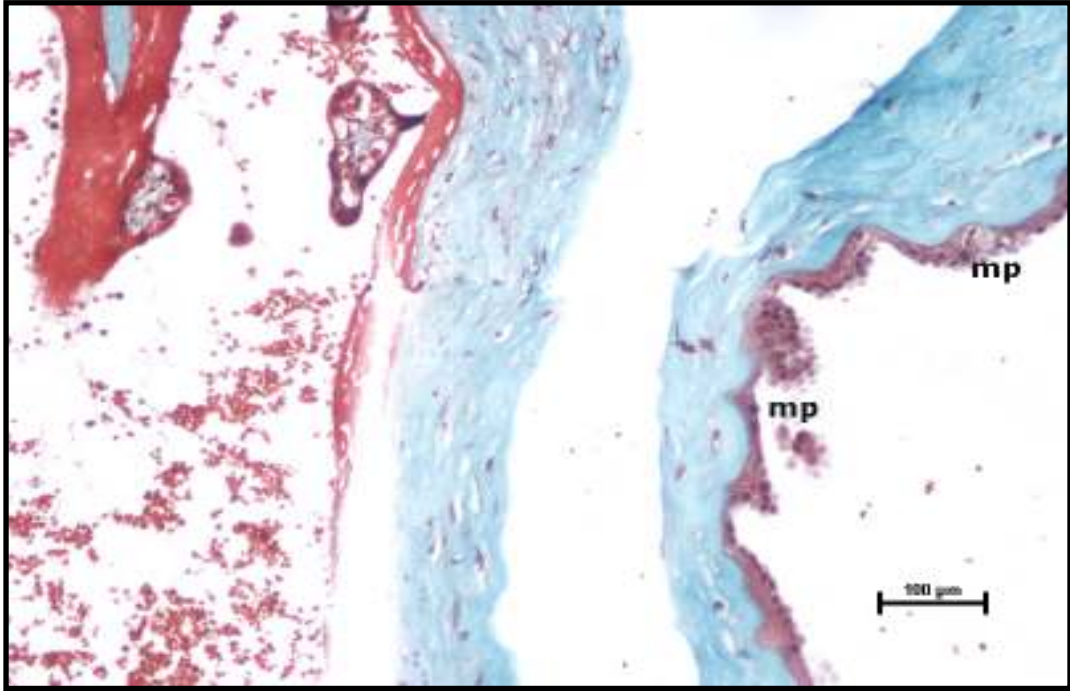
Şekil 24: Preeklampsia grubu periferik plasenta kesiti, kontrol grubuna nazaran kalınlaşmış trofoblast bazal membranı (ok), yoğun perivillöz fibrin (pf) birikimi izlenmektedir (PAS, Bar: 50µm).



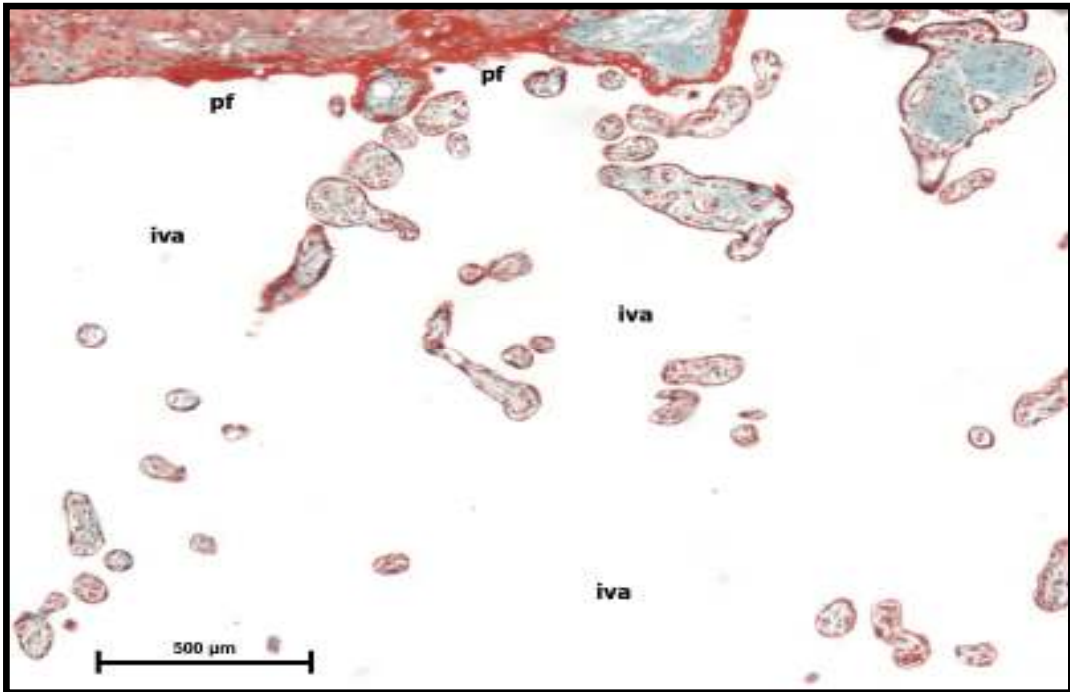
Şekil 25: Preeklampsisi grubu santral plasenta kesiti, desidua ven duvarında fibrin birikimi (fb) ve heterojen dağılım gösteren yoğun glikojen akümülyasyonu (g) (PAS, Bar: 100µm).

4.2.3. Masson trikrom yöntemiyle boyanan kesitlerde saptanan bulgular

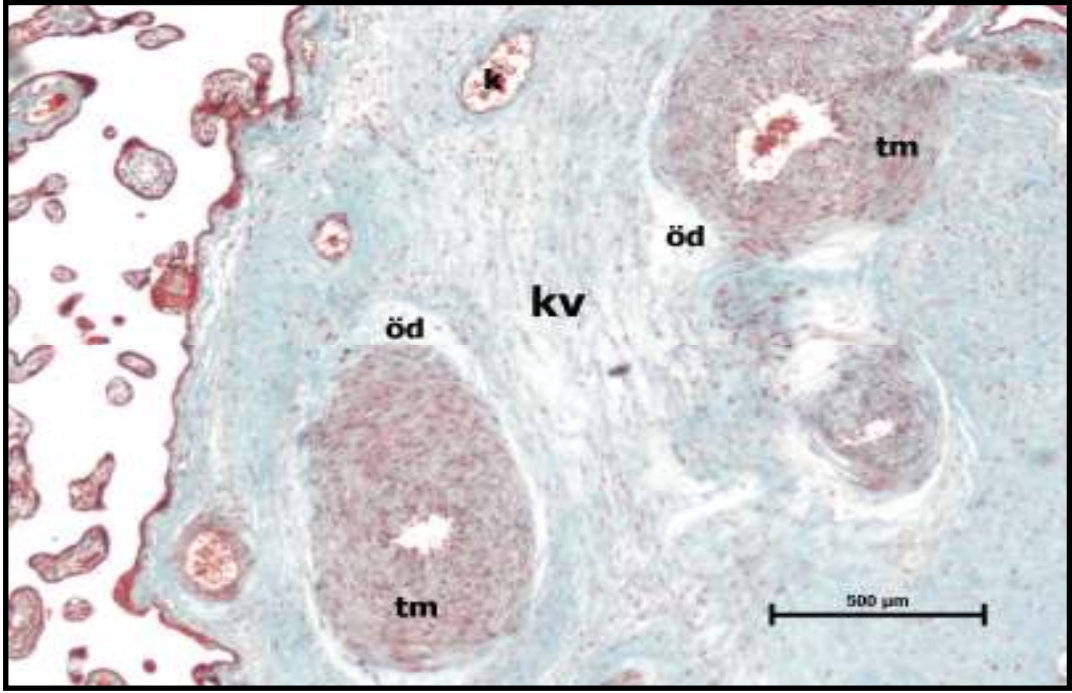
Bazı preeklampsisi vakalarında, fetal koryoamniyotik membranla villuslar arasında ödem ve amnion epitelinde metaplazi (Şekil 26) perivillöz fibrin birikimi yanı sıra intervillöz aralıklarda belirgin artış görüldü (Şekil 27). Preeklampsisi grubuna dahil vakaların çoğunda santral plasenta örneklerinde, kök villuslarda, fetal damarlarda konjesyon, damar duvarlarında kalınlaşmalar ve kısmen damar lümeninde obliterasyonlar (vazospazm) izlendi (Şekil 28). Santral plasenta kök villüs fetal arter duvarının tunika mediasında ileri derecede kalınlaşma, konjesyon, perivasküler ödem ve perivillöz fibrin birikimi saptandı (Şekil 29).



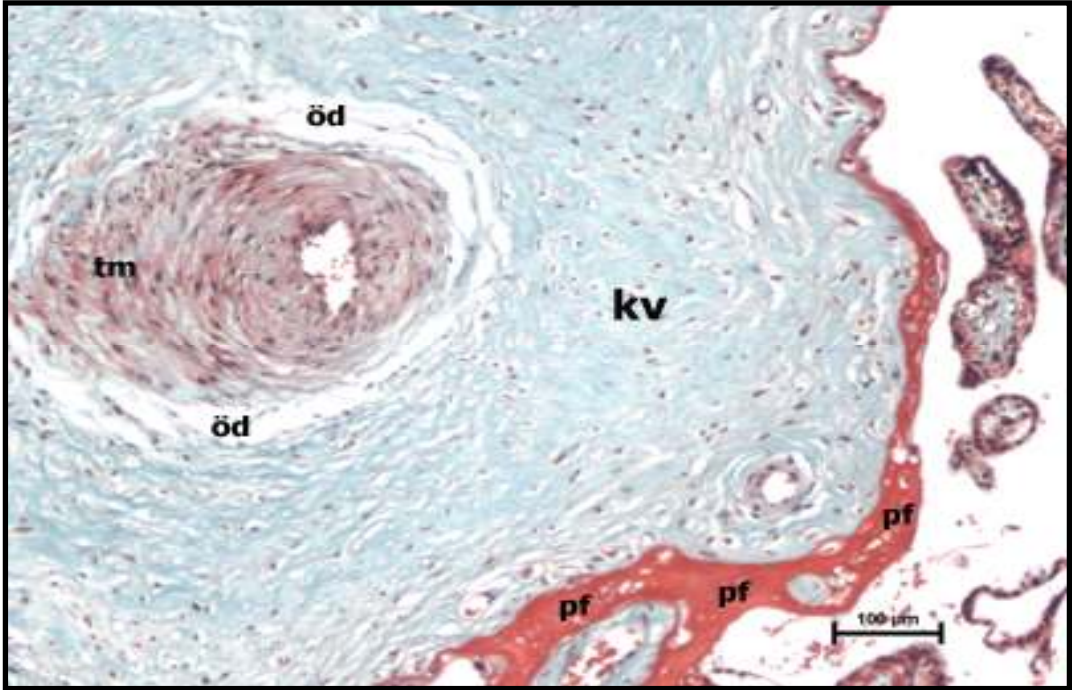
Şekil 26: Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, amnion epitelinde skuamöz metaplazi (mp) (Masson Trikrom, Bar: 100µm).



Şekil 27: Preeklampsi grubu, santral plasenta kesiti, perivillöz fibrin(pf) birikimi yanı sıra, intervillöz aralıklarda (iva) belirgin artış (Masson Trikrom, Bar: 500µm).



Şekil 28: Preeklampsi grubu, santral plasenta kesiti, kök villus (kv), fetal damarlarda konjesyon (k), fetal arter tunika mediasında (tm) kalınlaşma perivasküler ödem (öd) izlenmektedir (Masson Trikrom, Bar: 500µm).



Şekil 29: Preeklampsi grubu santral plasenta kesiti, kök villus (kv), fetal arter tunika mediasında ileri derecede kalınlaşma (tm), perivasküler ödem (öd) ve perivillöz fibrin (pf) birikimi (Masson Trikrom, Bar: 100µm).

4.2.İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

4.2.1.Trombospondin-1 immün boyama

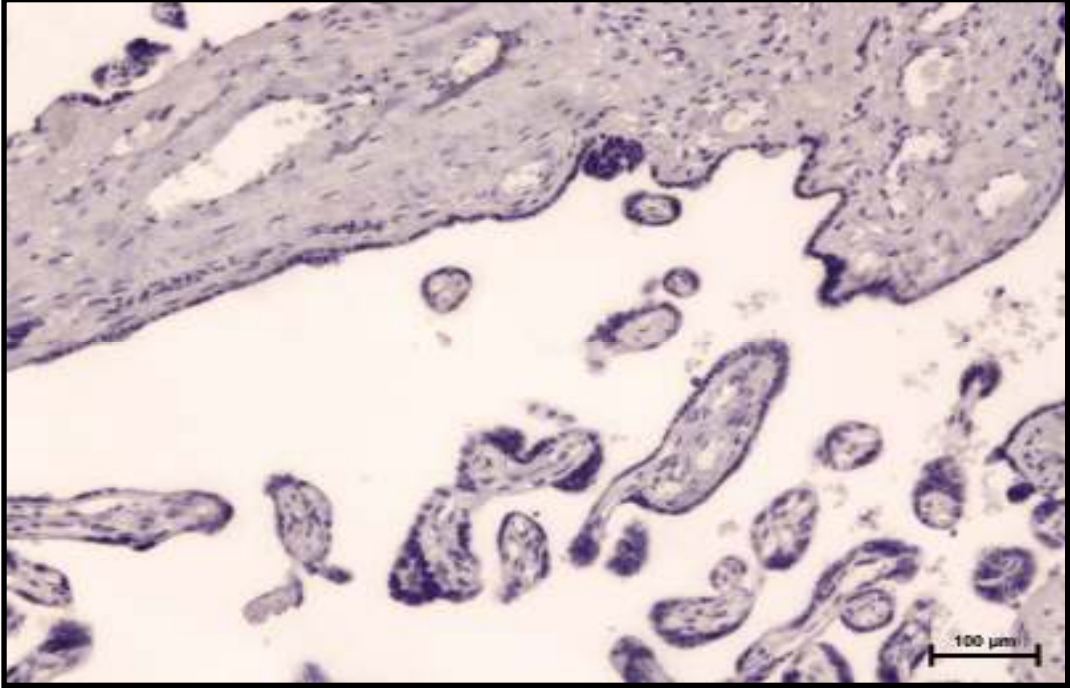
Trombospondin-1 ekspresyonu açısından değerlendirilen kesitlerde, kontrol grubuna ait santral plasenta kesitleri desidual hücrelerinde immün reaksiyon izlenmez iken (Şekil 31), preeklampsi grubu santral plasenta kesitlerinde yapılan incelemelerde desidual hücrelerde zayıf immün reaksiyon izlendi (Şekil 32).

Kontrol grubu kök villus ve koryon villuslarının sinsityotrofoblast hücrelerinin yanı sıra, amnion epitel hücrelerinde az düzeyde bir ekspresyon izlenirken, preeklampsi grubu koryon villus sinsityotrofoblast hücreleri ekspresyonundaki artış anlamlıydı (Şekil 33). Diğer taraftan kontrol grubu kök villus stromasında ekspresyon yok iken, preeklampsi grubu kök villus stromasında minimal düzeyde ekspresyon dikkatleri çekmekteydi (Şekil 34).

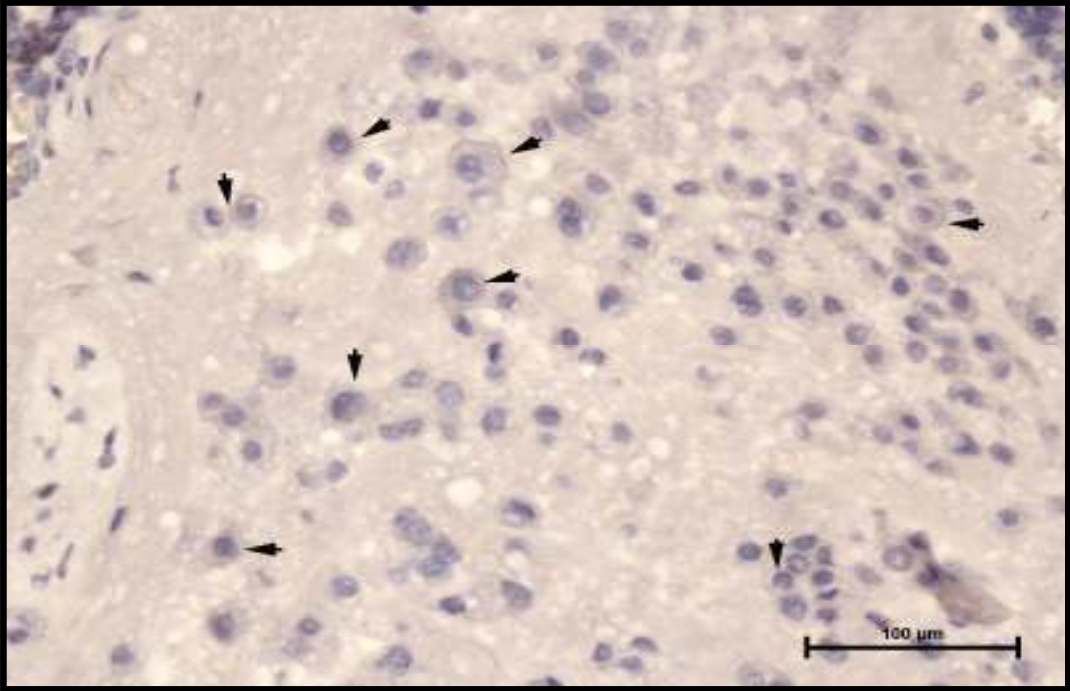
Bununla birlikte trombospondin ekspresyonu açısından değerlendirilen periferik plasenta kesitlerinde, preeklampsi grubu desidua hücrelerinde minimal düzeyde ekspresyon izlenirken (Şekil 35), kontrol grubuna ait desidual hücrelerde herhangi bir immünreaktivite saptanmadı (Şekil 36). Yine aynı kesitlerde, villus sinsityotrofoblast hücrelerindeki ekspresyon açısından karşılaştırıldığında, kontrol grubunda immünpozitivite hemen hemen hiç yokken, preeklampsi grubu villus sinsityotrofoblast hücrelerinde reaksiyon minimal düzeyde izlendi (Şekil 37). Kök villus stroması ve sinsityotrofoblast hücrelerindeki ekspresyon açısından bakıldığında, preeklampsi grubunda kontrol grubuna nazaran artmıştı (Şekil 38).

Tablo 5. Trombospondin-1 ekspresyonunda, kontrol ve preeklampsi gruplarının istatistiksel karşılaştırılması.

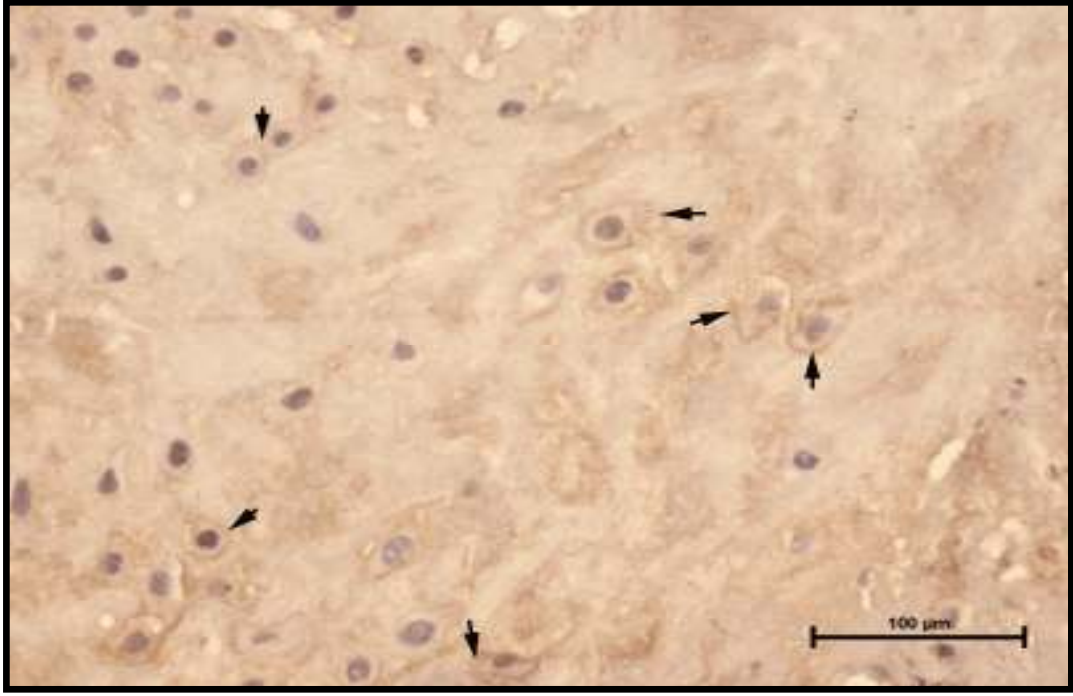
Santral	Kontrol	Preeklampsi	p
Amnion Epiteli	0.71±0.75	1.57±0.53	<0.05
Desidua hücresi	0.14±0.37	0.71±0.48	<0.05
Kök Villüs Sinsityotrofoblast	0.85±0.37	0.28±0.48	<0.05
Kök Villüs Stroma	0.0±0.0	0.85±0.37	<0.05
Koryon villüs Sinsityotrofoblast	0.57±0.53	1.57±0.53	<0.05
Perifer			
Desidua hücresi	0.14±0.37	0.85±0.69	<0.05
Kök Villüs sinsityotrofoblast	0.71±0.48	1.42±0.53	<0.05
Kök Villüs Stroma	0.57±0.53	1.28±0.48	<0.05
Koryon villüs Sinsityotrofoblast	0.14±0.37	0.71±0.48	<0.05



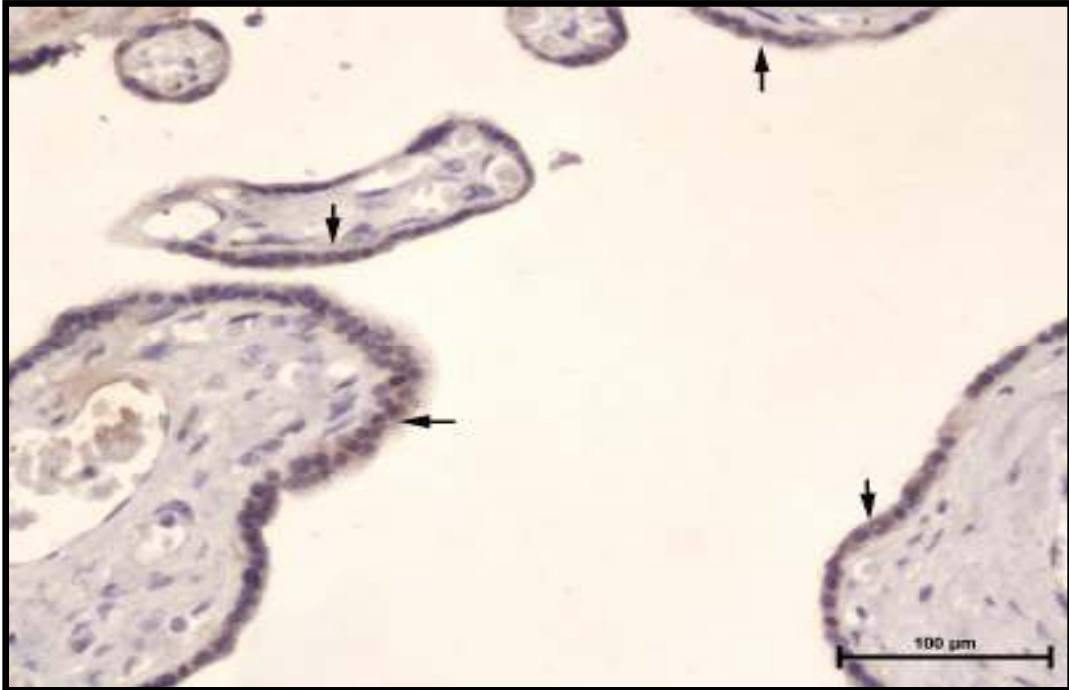
Şekil 30: Preeklampsia grubu santral kesiti negatif kontrol. (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).



Şekil 31: Kontrol grubu santral plasenta kesitinde desidual hücreler (ok başı) (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).



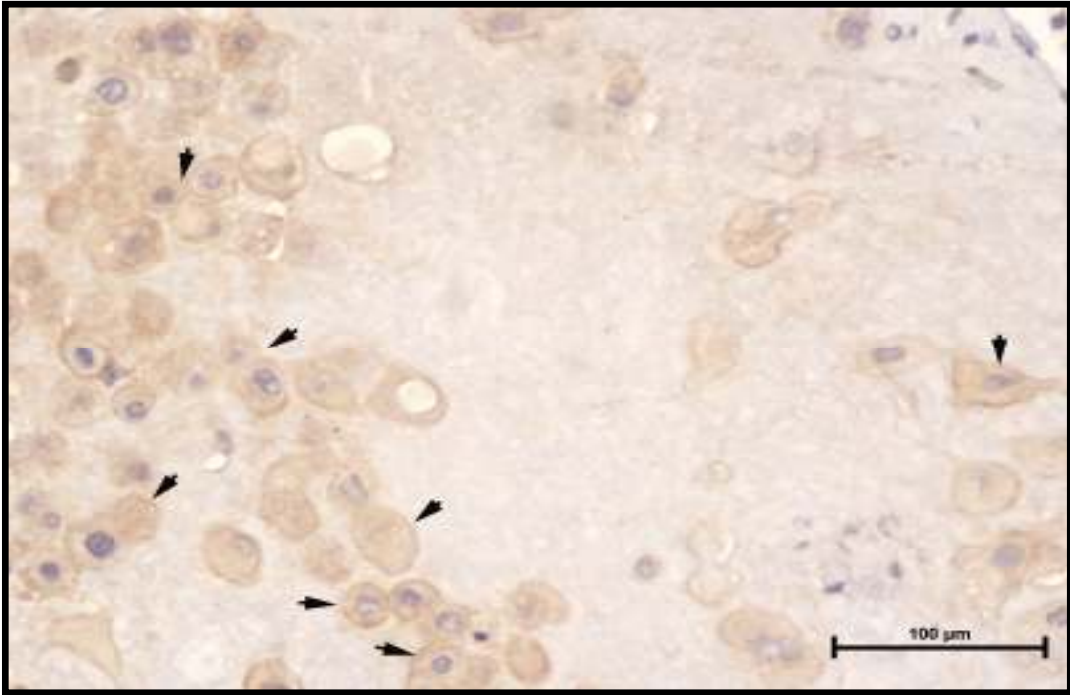
Şekil 32: Preeklampsi grubu santral plasenta kesitinde zayıf immün pozitif reaksiyon gösteren desidual hücreler (ok başı) (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).



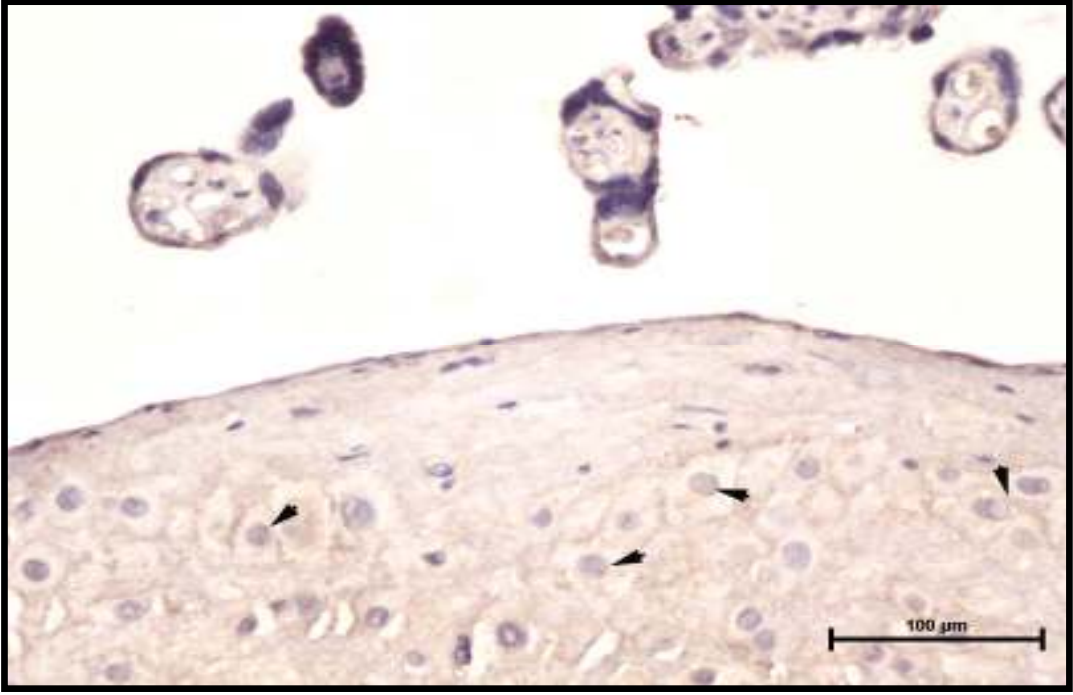
Şekil 33: Kontrol grubu santral plasenta kesitinde zayıf immün reaksiyon gösteren sinsityotrofoblast hücreleri (oklar) (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).



Şekil 34: Preeklampsi grubu santral plasenta kesitinde orta immün reaksiyon gösteren sinsityotrofoblast hücreleri (oklar) izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).



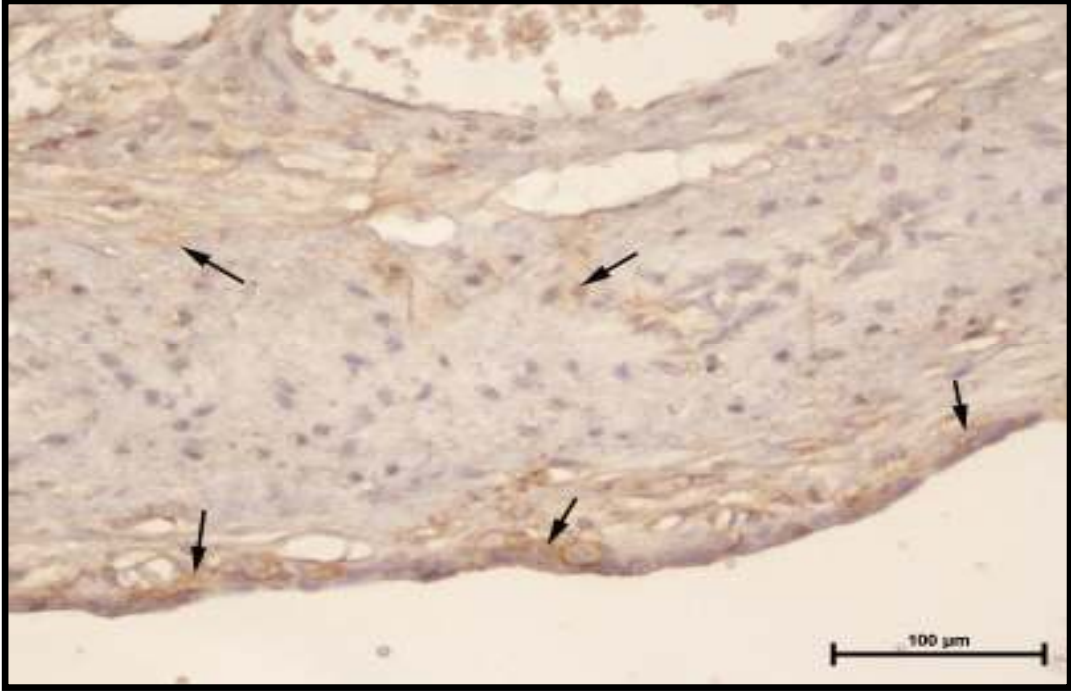
Şekil 35: Preeklampsi grubu periferik plasenta kesiti zayıf immün pozitif reaksiyon gösteren desidua hücreleri (ok başı) (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).



Şekil 36: Kontrol grubu santral plasenta kesitinde immün pozivite göstermeyen desidual hücreler (ok başı) (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).



Şekil 37: Preeklampsia grubu periferik plasenta kesitinde sinsityotrofoblast hücrelerinde zayıf immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 50µm).



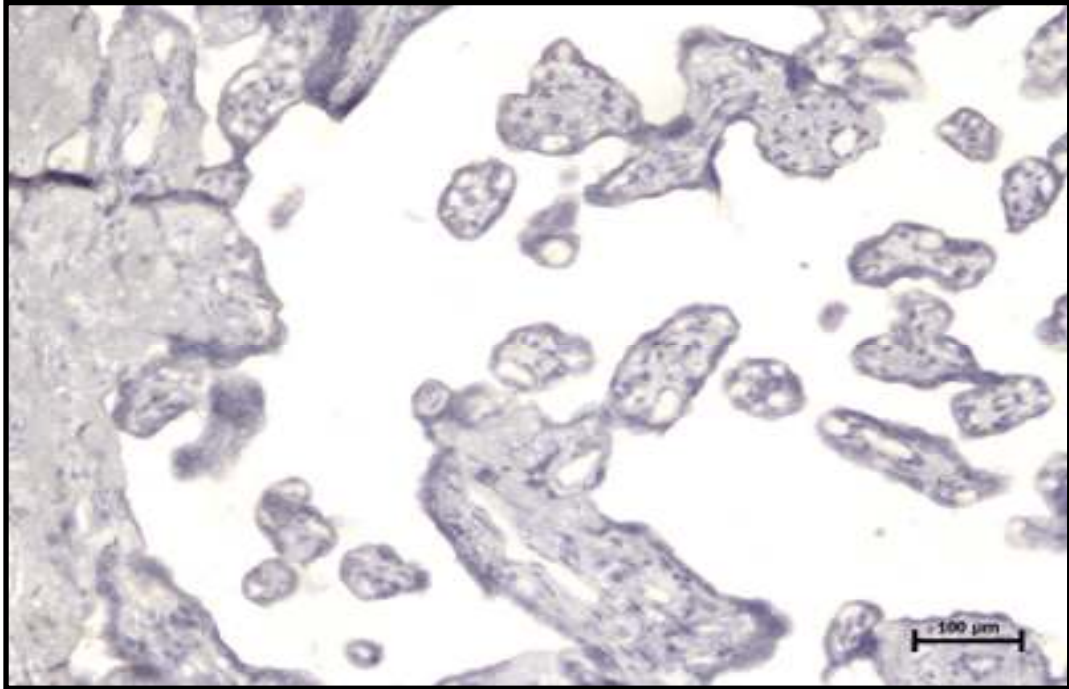
Şekil 38: Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde kök villus stromasında zayıf immün pozitif alanlar (kalın ok) izlenmektedir (Trombospondin-1 immün boyama, Bar: 100µm).

4.2.2. Anjiostatin immün boyama

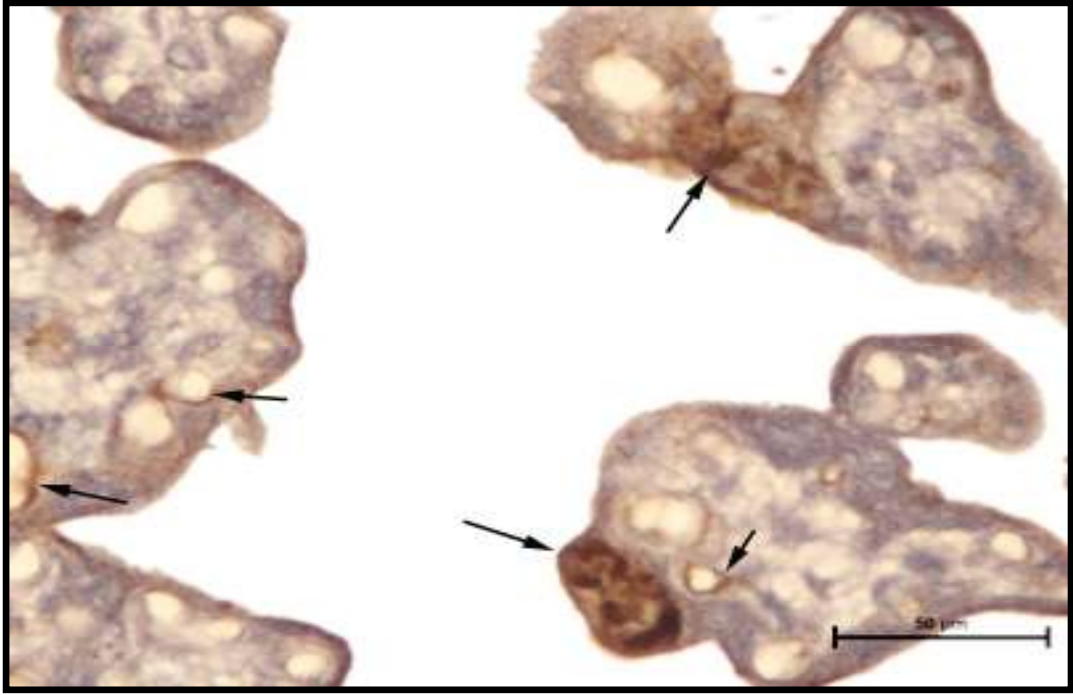
Anjiostatin ekspresyonu açısından santral plasenta kesitleri incelendiğinde, her iki grup sinsityal düğüm ve köprülerinde ekspresyonun yoğun olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı izlendi (Şekil 40,41). Yine plasental septalarda ve villus stromasında da ekspresyonun izlendiği ve her iki grup arasında anlamlı farklılığın olmadığı saptandı (Şekil 42,43). Amnion epitelinde ve koryon plağındaki ekspresyon, kontrol grubuna nazaran artış göstermekteydi (Şekil 44). Aynı faktörün, periferik plasenta kesitlerindeki ekspresyonu değerlendirildiğinde, preeklampsi grubu desidual hücrelerde kuvvetli immün reaksiyon izlenirken kontrol grubundaki desidual hücrelerde reaksiyon zayıftı (Şekil 45). Diğer taraftan, sinsityal düğümler ve kök villus sinsityotrofoblast hücrelerinin hemen altında yer alan stroma ekspresyon açısından karşılaştırıldığında preeklampsi grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma dikkatleri çekmekteydi (Şekil 46-47).

Tablo 6. Anjiostatin ekspresyonunda, kontrol ve preeklampsi gruplarının istatistiksel karşılaştırılması.

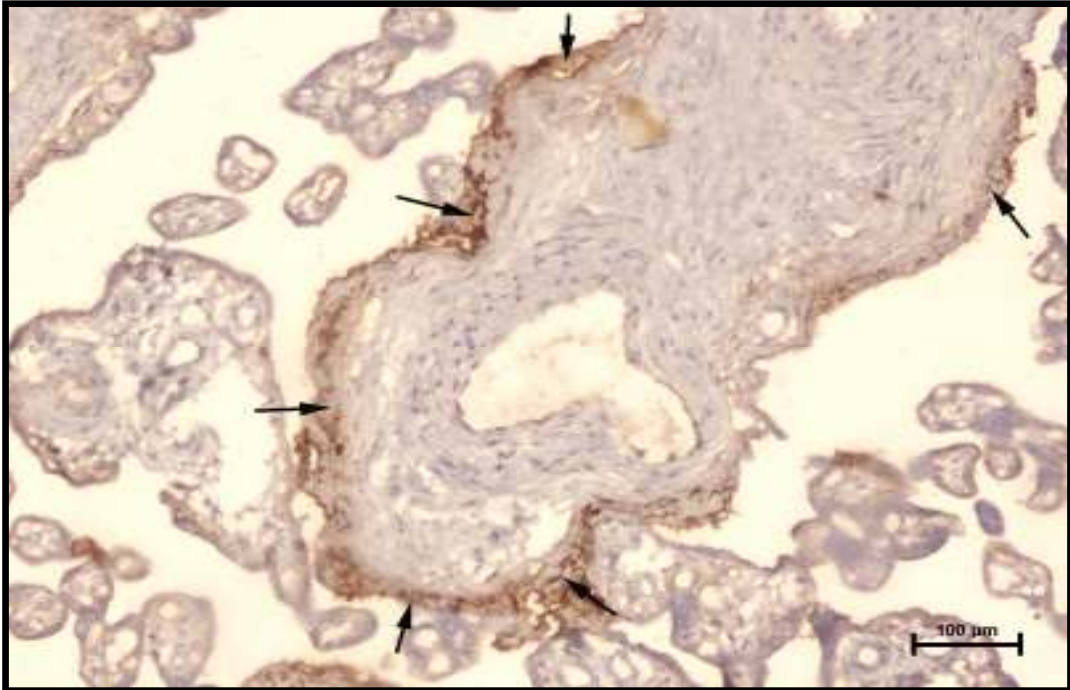
Santral	Kontrol	Preeklampsi	p
Amnion epiteli	0.85±0.37	1.57±0.53	<0.05
Koryon plağı	0.71±0.48	1.42±0.53	<0.05
Koryon villüs stroması	1.57±0.53	1.42±0.53	>0.05
Sinsityal düğüm	2.0±0.0	2.14±0.37	>0.05
Perifer			
Desidual hücreler	1.28±0.48	2.14±0.69	<0.05
Koryon stroma	1.57±0.53	1.0±0.0	<0.05



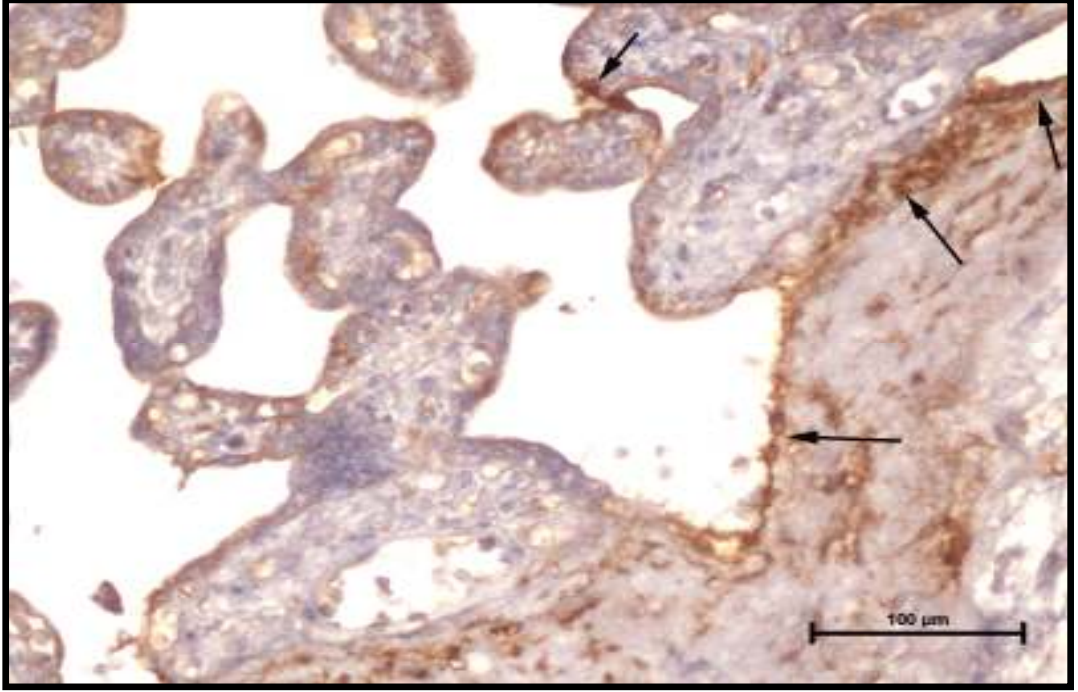
Şekil 39: Preeklampsi grubu santral kesiti negatif kontrol (Anjiostatin immün boyama, Bar: 50µm).



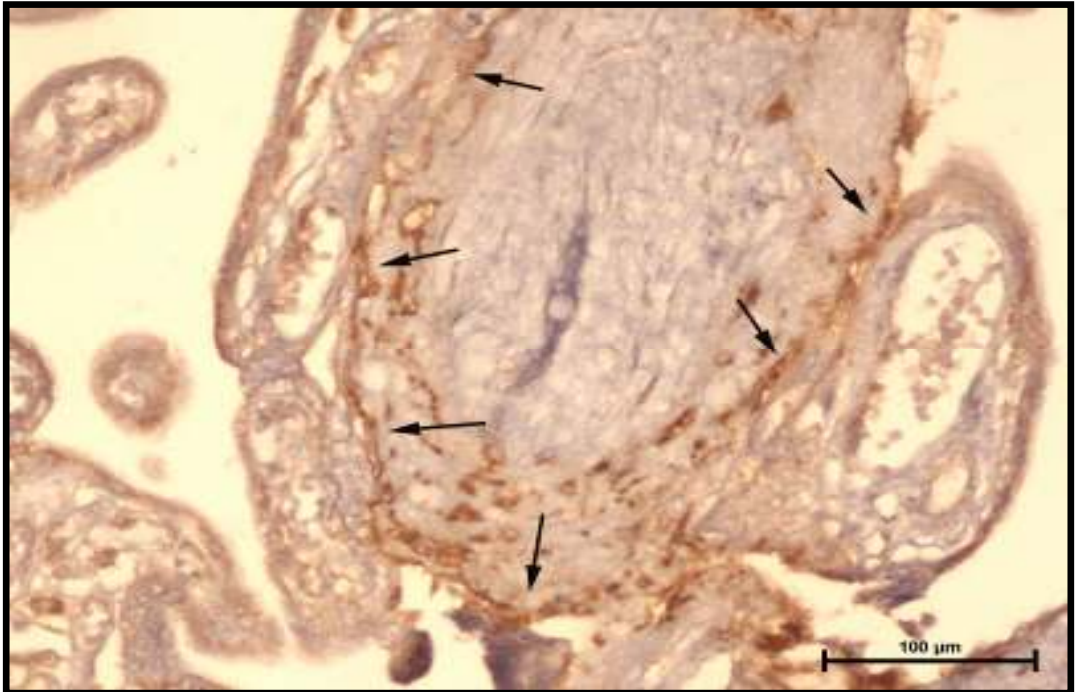
Şekil 40: Kontrol grubu santral plasenta kesiti, sinsityal düğüm ve köprülerin yanı sıra endotel hücrelerinde güçlü immün reaksiyon(oklar) (Anjiostatin immün boyama, Bar: 50µm).



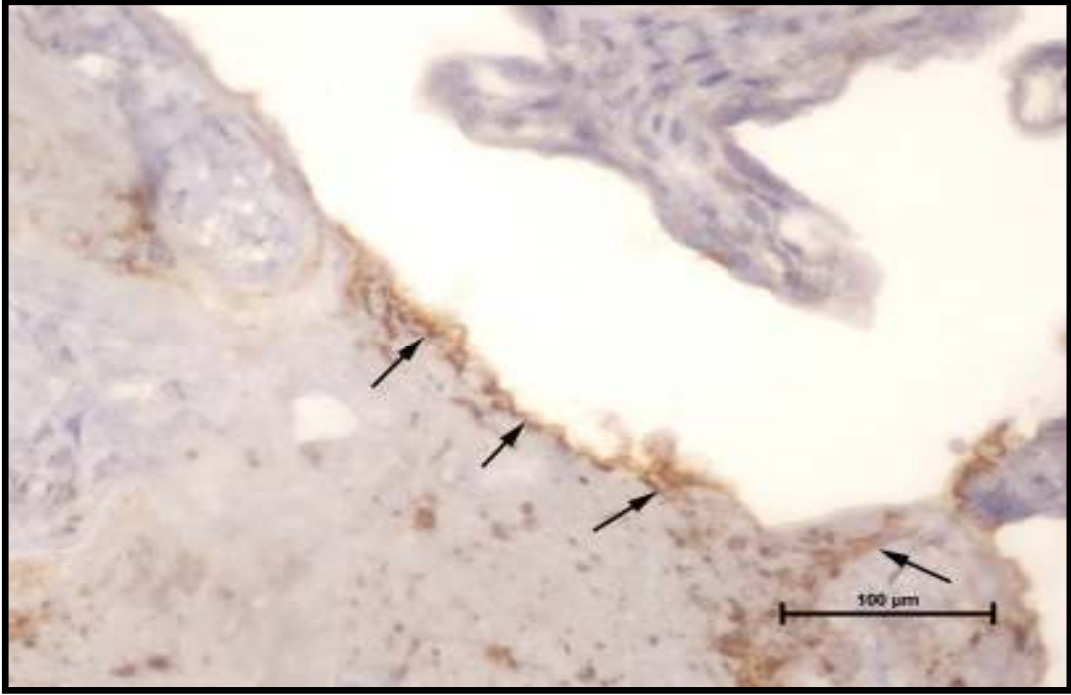
Şekil 41: Preeklampsia grubu santral plasenta kesiti kök villuslarında kuvvetli immün pozitif alanlar (oklar) (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).



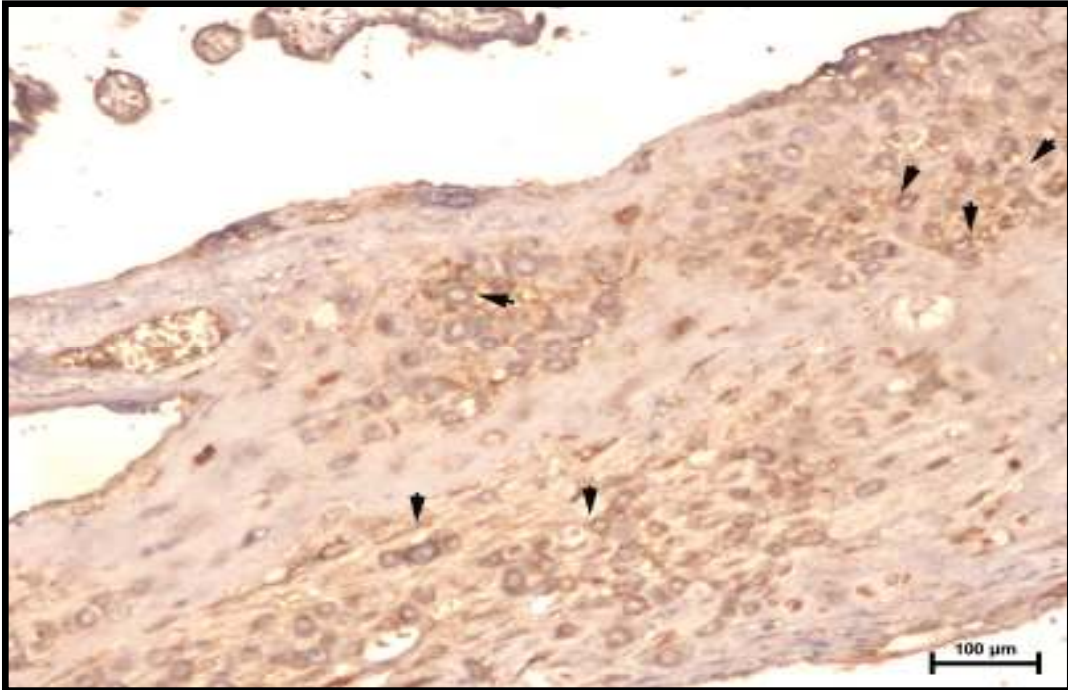
Şekil 42: Preeklampsia grubu santral plasenta kesiti, sinsityal köprü ve düğümlerin yanı sıra stromada güçlü immün pozitif (oklar) alanlar izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).



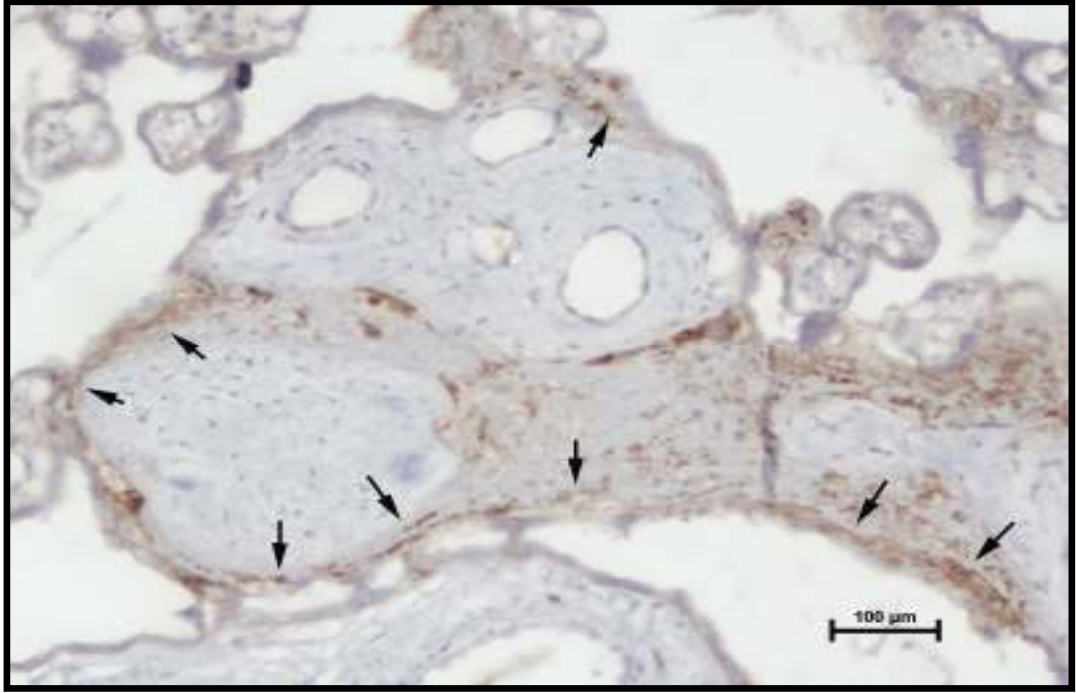
Şekil 43: Preeklampsia grubu santral plasenta kesitinde güçlü immün pozitif (oklar) alanlar (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).



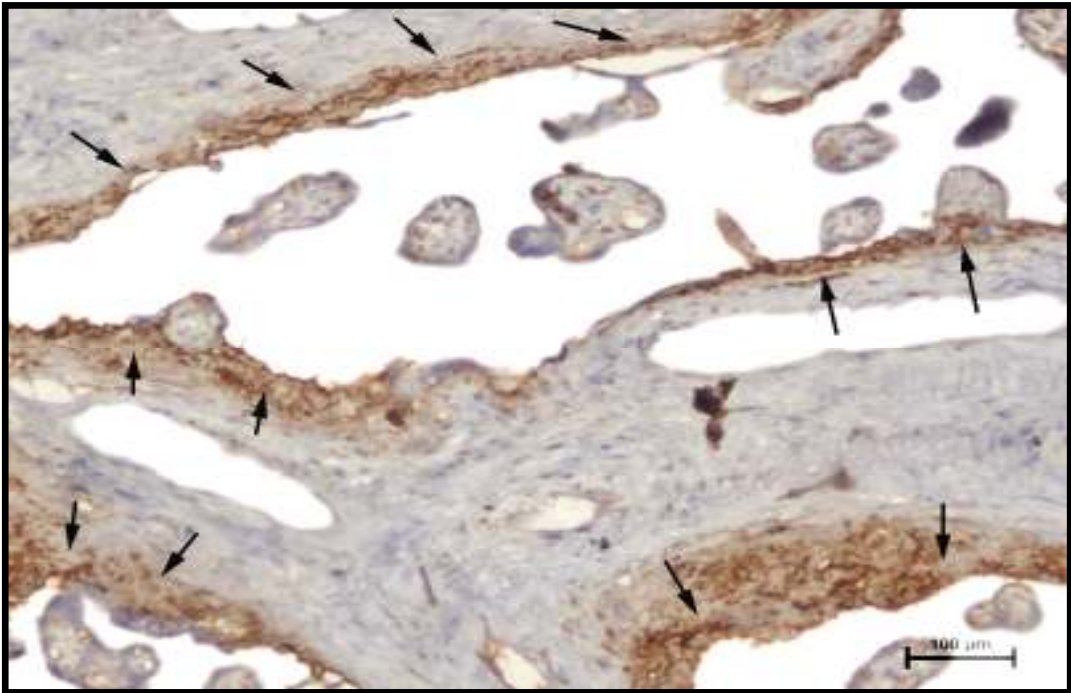
Şekil 44: Preeklampsia grubu periferik plasenta kesiti, koryon plağında güçlü immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).



Şekil 45: Preeklampsia grubu periferik plasenta kesiti, immün reaksiyon gösteren desidual hücreleri (ok başı) (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).



Şekil 46: Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücrelerinin hemen altında yer alan stromal alanda zayıf immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).



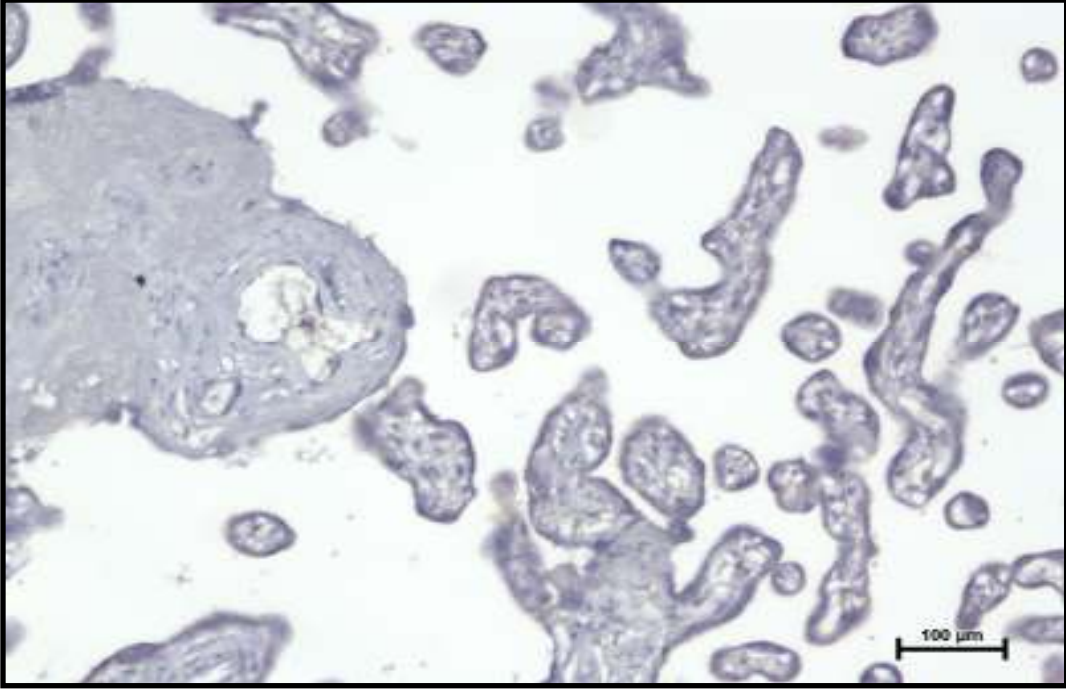
Şekil 47: Kontrol grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücrelerinin hemen altında yer alan stromal alanda orta derece immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Anjiostatin immün boyama, Bar: 100µm).

4.2.3.Vazostatin immün boyama

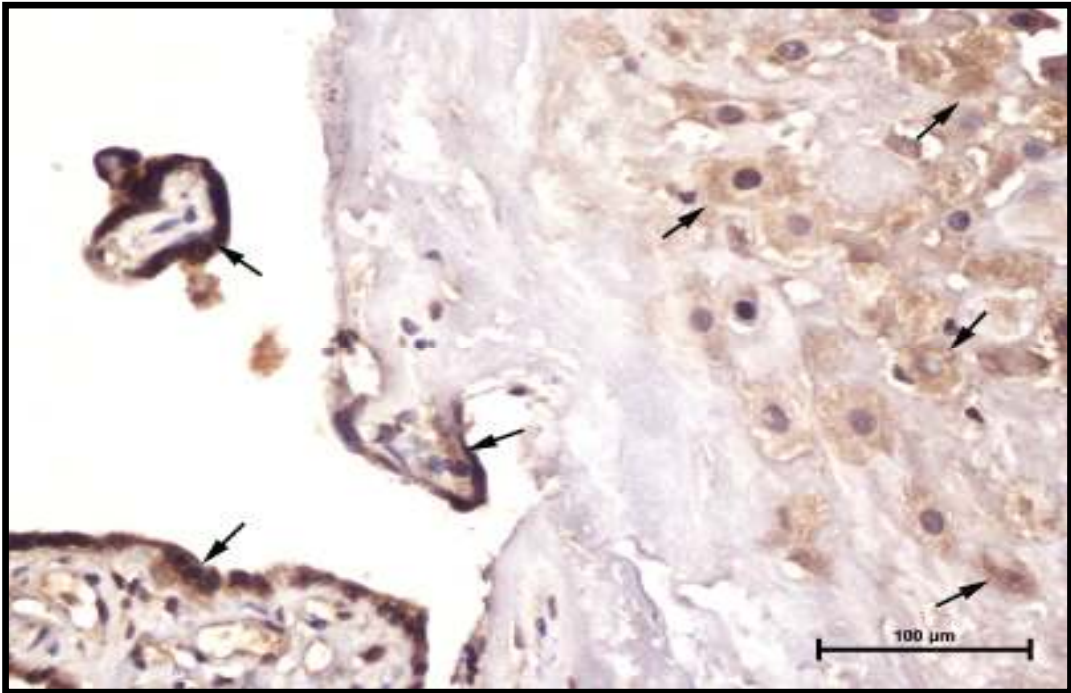
Vazostatin ekspresyonu açısından santral plasenta kesitleri incelendiğinde, her iki gruba ait desidua hücreler ve desidua stromadaki ekspresyon karşılaştırıldığında, anlamlı bir farklılığın olmadığı ve orta derecede bir ekspresyonun varlığı dikkatleri çekiciydi (Şekil 49). Yine kök villus stroması ve sinsityotrofoblast hücrelerindeki ekspresyon karşılaştırıldığında, her iki grupta anlamlı bir farklılığın olmadığı, orta derecede immün boyanmanın varlığı izlendi (Şekil 50-52). Aynı faktörün, periferik plasenta kesitlerindeki ekspresyonu değerlendirildiğinde, kontrol grubu desidua hücrelerinde, desidua stromasında ve villüs sinsityotrofoblast hücrelerinde orta derecede olan ekspresyon, preeklampsi grubunda anlamlı bir düşüş göstermekteydi (Şekil 53-56).

Tablo 7. Vazostatin ekspresyonunda, kontrol ve preeklampsi gruplarının istatistiksel karşılaştırılması.

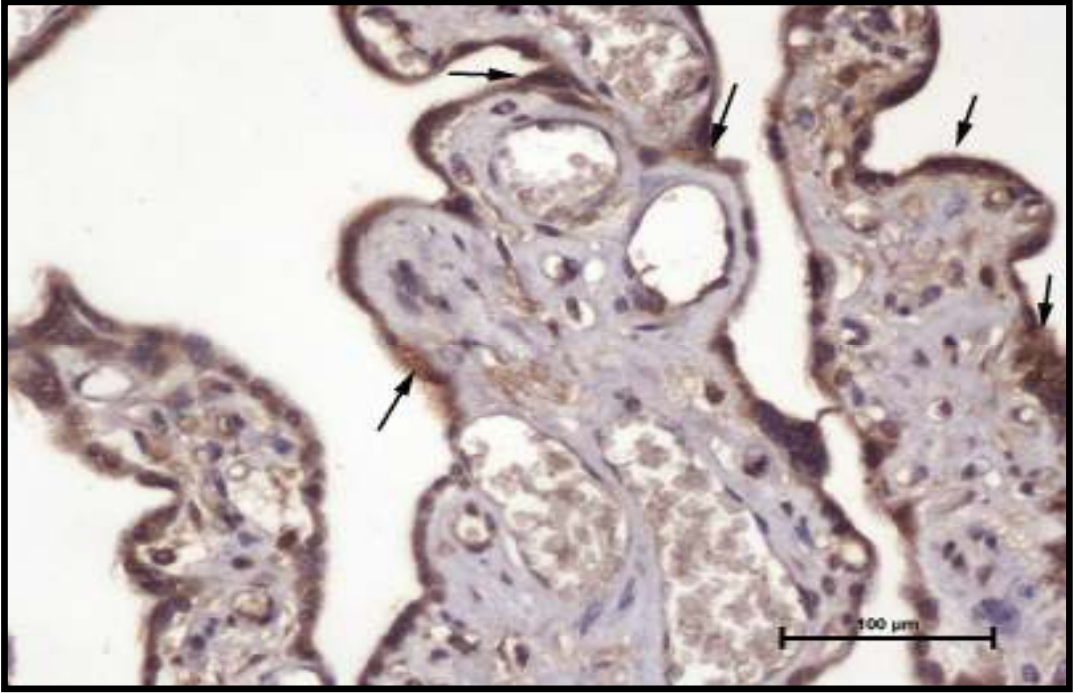
Santral	Kontrol	Preeklampsi	p
Desidua hücresi	2.57±0.53	1.85±0.89	>0.05
Desidua stroması	1.85±0.89	1.57±1.39	>0.05
Kök Villüs	1.71±0.75	1.71±1.11	>0.05
Kök Villüs Stroma	1.28±0.48	1.28±0.48	>0.05
Perifer			
Desidua hücresi	1.57±0.53	0.71±0.48	<0.05
Desidua stroması	1.57±0.53	1.0±0.0	<0.05
Koryon villüs	1.28±0.95	0.28±0.48	<0.05



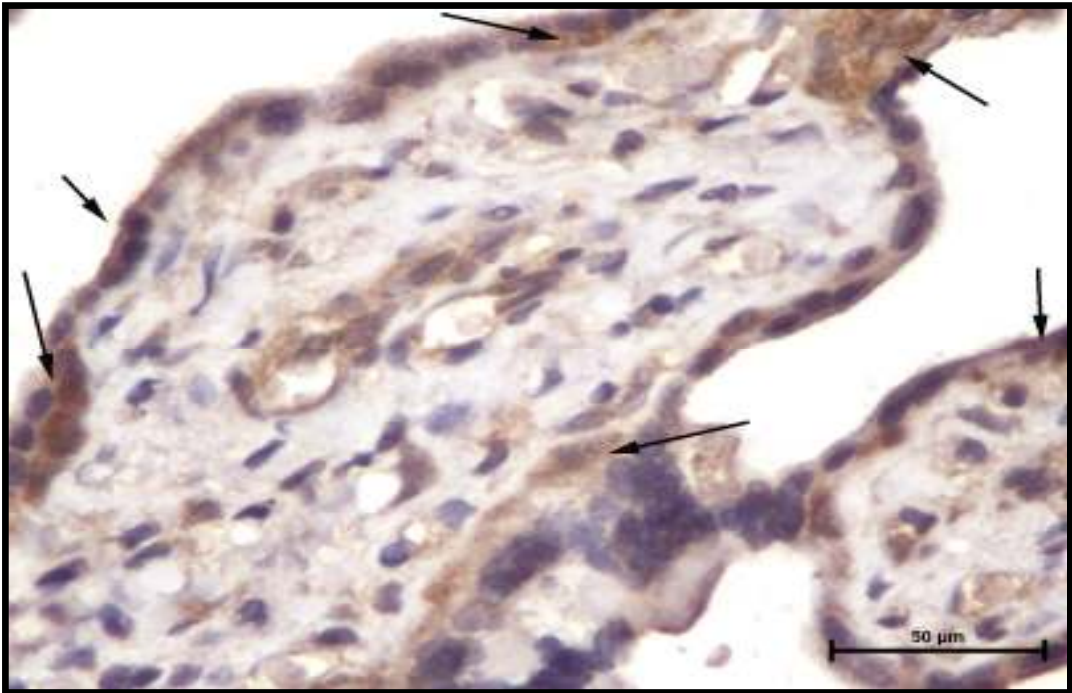
Şekil 48: Preeklamsi grubu santral kesiti negatif kontrol (Vazostatin immün boyama, Bar: 50µm).



Şekil 49:Kontrol grubu santral plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast ve desidual hücrelerde orta derecede immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 100µm).



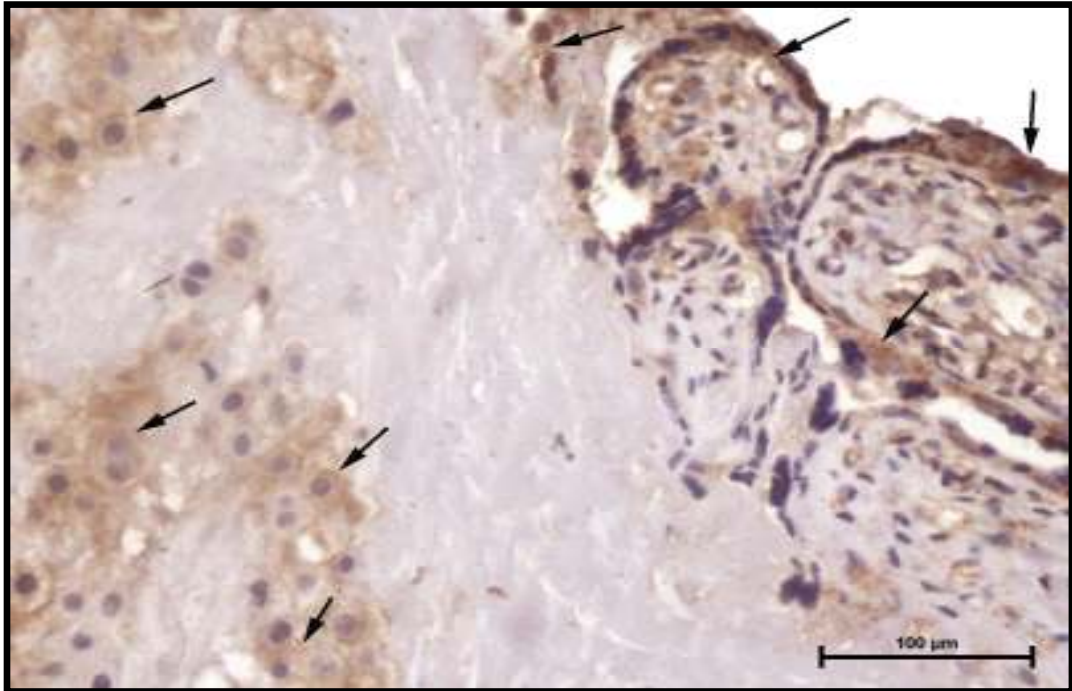
Şekil 50:Kontrol grubu santral plasenta kesitinde, kök villus sinsityotrofoblast hücrelerinde ve stromada orta derecede immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar:100µm).



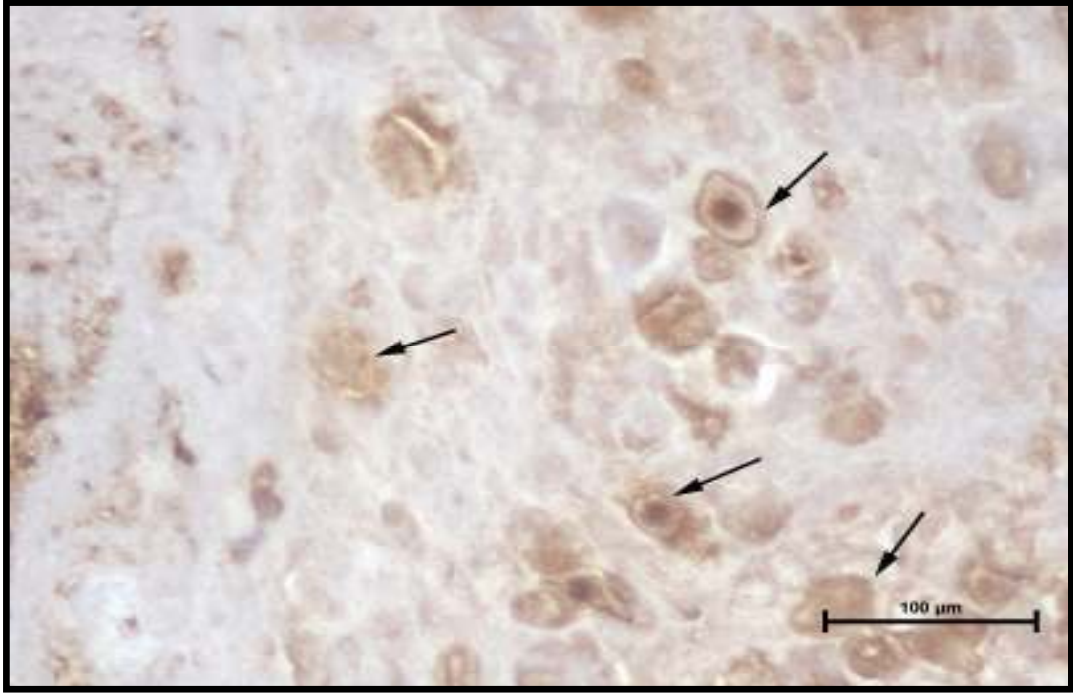
Şekil 51: Preeklampsi grubu santral plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücreleri, sitotrofoblast hücreleri ve stromada güçlü immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 50µm).



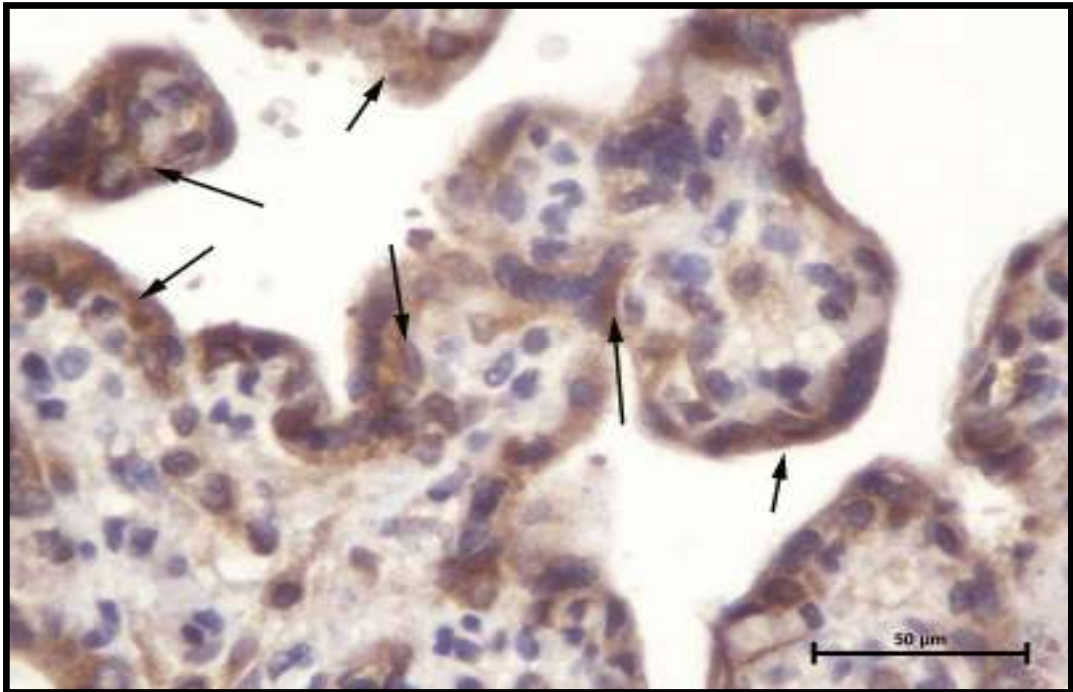
Şekil 52: Preeklampsia grubu santral plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücrelerindeki immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 50µm).



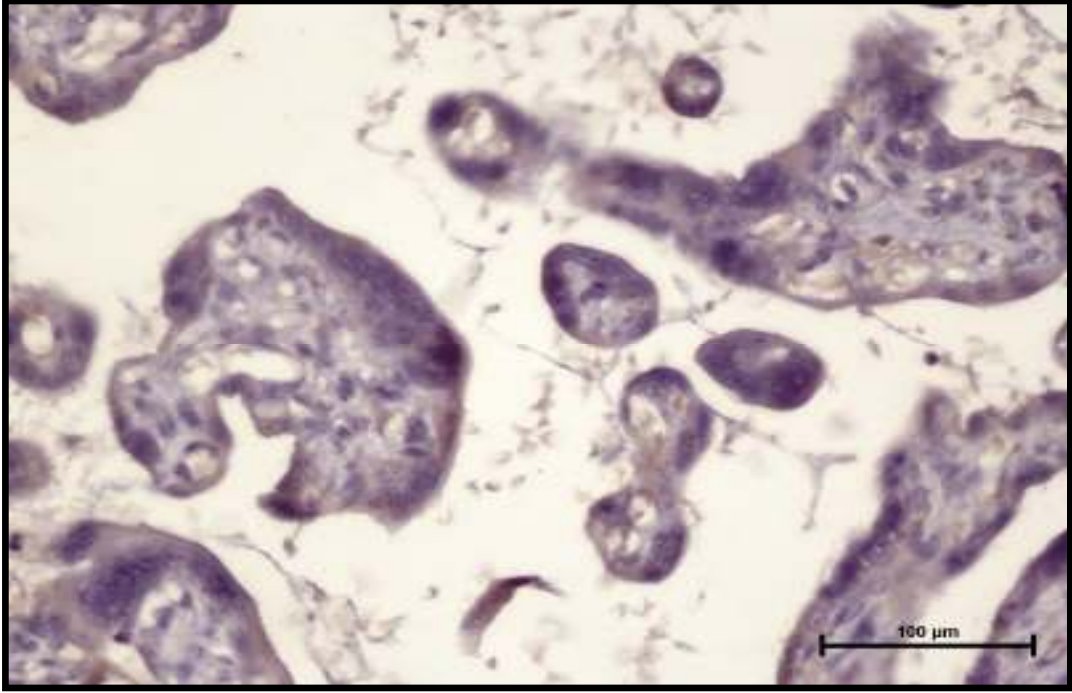
Şekil 53: Kontrol grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast ve desidua hücrelerinde orta derecedeki immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 100µm).



Şekil 54: Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde, desidual hücrelerde zayıf immün reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 100µm).



Şekil 55: Kontrol grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücrelerinde sinsiyal köprülerde orta derecede immün pozitif reaksiyon (oklar) izlenmektedir (Vazostatin immün boyama, Bar: 50µm).



Şekil 56: Preeklampsi grubu periferik plasenta kesitinde, sinsityotrofoblast hücreleri ve stromada herhangi bir immün reaksiyon izlenmedi (Vazostatin immün boyama, Bar:100µm).

5.TARTIŞMA

Preeklampsi, dünya genelinde yaklaşık olarak gebeliklerin %5'ini etkilediği tahmin edilmekte ve hem anne hem de fetus için belirgin bir morbidite ve mortalite ile seyretmektedir. Bununla birlikte, son zamanlarda preeklampsi tanısı alan gebe kadınların daha sonraki dönemlerde kardiyovasküler hastalıklar için ciddi risk taşıdıkları ortaya konulmuştur. Preeklampsinin insanlarda ve primatlara özgü kısıtlı meydana gelmesi, rodentlerde model olarak izlenmemesi, hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasının önüne geçmektedir (163). Yoğun araştırmalara rağmen, preeklampsinin meydana gelmesini tetikleyen mekanizmanın ne olduğu hala bilinmemektedir. Hipertansiyon, proteinüri ve ödem ile tanı konulan bu durum, daha da ilerleyip, büyük organ damarlarında hasara neden olup, özellikle obstetrik olanakların yetersiz olduğu yerlerde ölümcül olabilmektedir. Hipertansiyon daha çok gebeliğin geç dönemlerinde başlayıp, gebeliğin sonlanması ile ortadan kalktığından, bu hastalığın merkezinde plasentanın yer aldığı gerçeğini güçlendirmektedir (164). Son çalışmalar, preeklampside izlenen hipertansiyon ve proteinürinin dolaşımdaki antianjiyojenik büyüme faktörlerinden özellikle VEGF reseptörünü bloke eden sFlt-1'in aşırı miktarından kaynaklandığını iddia edilmektedir (165).

Çalışmamızda, toplam 20 adet, preeklampsi tanısı almış ve yine aynı sayıda herhangi bir patolojisi saptanmayan sağlıklı (kontrol) annelerden elde ettiğimiz plasenta doku örneklerinde trombospondin-1, anjiostatin ve vazostatin gibi endojen anjiyogeneze inhibitörlerinin ekspresyonunu immünohistokimyasal olarak karşılaştırıp, preeklampsi histopatolojisindeki rolünü değerlendirdik. Ayrıca histopatolojik olarak meydana gelen değişiklikleri karşılaştırmayı amaçladık.

Plasenta, anne ile fetus arasında metabolizma ve gaz değişiminin yapıldığı önemli fonksiyonel bir birimdir. Bu değişim plasenta zarı aracılığıyla yapılmaktadır. Besin maddeleri ve gaz değişim kapasitesi, plasentanın gelişimine paralel olarak artmaktadır. Plasental villüslarda bazal membrana direkt temas eden sinsityum, genişleyen kapillerler ve trofoblastların müşterek oluşturdukları vaskülosinsityal membranlar (VSM) gaz değişiminin yapıldığı yerlerdir (166).

Gebeliği erken döneminde yağ depolanması, geç dönemde ise karbonhidrat ve protein kullanımındaki artışa ilişkin maternal metabolizmada önemli adaptasyonlar görülür. Gebelik döneminde bu biyokimyasal değişiklikler plasentanın yapısına yansıdığı yapılan araştırma ile ortaya konmuştur (167).

Çalışmamızda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında preeklampitik plasentaların morfolojik yapısında pek çok değişiklikler saptandı. Kontrol grubu plasenta kesitlerinde amnion epiteli tek sıralı yassı olmasına karşın infarkt alanları gözlemlenmediği; oysa preeklampitik plasentalarda amnion epitelinde skuamöz metaplazi görülürken infarkt alanları hem maternal hemde fetal yüzde izlendi. Bu bulgular literatürle uyumludur (168).

Preeklampsili vakalarının plasenta kesitlerinde, yoğun bir şekilde perivillöz ve intervillöz fibrin birikimi gözlemlenmiştir. Bu artan fibrin miktarı preeklampsili vakalarında görülen intrauterin gelişme geriliğiyle (IUGG) ilişkili olabileceği gibi (169), perivillöz fibrin miktarındaki diffüz artışın terminal villüslardaki perfüzyon problemleriyle ilgili olabileceği yapılan araştırmalarda belirtilmiştir (170).

Çalışmamızda H-E ve Masson trikrom ile boyanan kesitlerinde, sinsityal düğümlerin preeklampsili vakalarda kontrol vakalarına göre artış gösterdiği gözlemlendi. Sinsityal düğümlerin sayısında ki artışın preeklampsinin şiddetiyle ve gebelikte olası hipertansiyonun süresi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (171).

Çalışmamızda preeklampsili vakalarda, hem santral hemde periferik plasenta bölgelerinde saptadığımız sinsityal düğüm ve köprü sayısındaki artış, maternal damarların perfüzyonunda oluşabilecek hipoksiye duyarlı olduğunu düşündürmektedir (171).

Işık mikroskopunda yapılan sayım sonuçlarına göre, kontrol vakalarıyla kıyaslandığında sinsityal düğüm ve bazal membran kalınlıklarında artış preeklampsili vakalarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 1-2).

Çalışmamızın preeklampitik vakaların santral kesitlerinde kök villüslarda fetal damarlarda konjesyon, damar duvarında kalınlaşma ve damar lümeninde obliterasyon izlendi. Bu bulgular açısından bakıldığında, Correa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma sonucuyla paralellik göstermekteydi (172).

Full-term plasentanın bazal plağında, dejenere koryon villüslerinde, kalsiyum birikimlerine rastlamak mümkündür. Bu kalsifikasyon derecesinin

gebeliğin yaşıyla ilişkili olduğuna dair görüşlerde mevcuttur (173). Yaptığımız çalışmada kontrol ve preeklampsi vakalarında yer yer kalsifikasyon ve infarkt alanları saptandı. Ancak kalsifikasyon derecesi açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. İzlenen kalsifikasyon alanları terme yakın plasentalarda görülebilecek normal bir bulgu olarak değerlendirildi.

Brunori ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları bir elektron mikroskobu çalışmasında (174), preeklampside trofoblast bazal membran kalınlığında çeşitli derecelerde varyasyonlara işaret etmişlerdir, preeklampsi dışında gestasyonel maternal diyabet, intrauterin gelişme vakalarında da (169) trofoblast bazal membranında kalınlaşma görülmektedir. Bazal membranın moleküler yapı taşları villöz trofoblast ve kapiller endotel hücrelerince sentezlenmekte salınmakta ve ömürleri dolunca yıkılmaktadır; dolayısıyla preeklampside gözlenen bazal membranlardaki kalınlaşmanın sebebinin endotel ve trofoblast metabolizmasındaki bir dengesizliğe bağlı olduğu düşünülmektedir (173).

Çalışmamızda PAS yöntemiyle boyanan preeklamptik plasenta kesitlerinde trofoblast bazal membranı ve vaskülosinsityal membranlarda izlenen kalınlaşmalar literatürle uyumludur (174). Yine çalışmamızda preeklampsi vakaları plasenta kesitlerinde, Hofbauer hücrelerinde artış ve yer yer multinükleer plasental dev hücrelerin gözlenmesi anlamlı bulunmuştur.

Anjiogenezin endojen inhibitörleri, yeni kan damarlarının oluşumunu inhibe eden protein ya da protein parçacıkları olarak tanımlanır. Anjiogenez inhibitörü olarak işlev gören en az 27 farklı protein ve faktörün vücutta varlığından bahsedilmektedir (175). Endojen anjiyogenez inhibitörleri, matriks kökenli, non-matriks kökenli diye genelde sınıfta incelenir (176).

Non-matriks kökenli olan büyüme faktörleri ve sitokinler sınıfına ait endojen anjiyogenez inhibitörlerinden, plasenta ile ilgili az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Bunlardan bir tanesi, Beth A.Plunkett ve arkadaşları tarafından 3.trimesterdeki plasentalarda, endojen anjiyogenez inhibitörlerinden biri olan pigment epitel kaynaklı faktör'ün (PEDF) ekspresyon özelliklerinin incelendiği çalışmadır. İmmünohistokimyasal olarak incelenen bu çalışmada PEDF'nin ekspresyonun ilk defa gösterildiği ve normal, sağlıklı plasentalarda yüksek düzeyde eksprese olduğu ortaya konulmuştur (177).

Diğer bir çalışmada ise, Charles J.Lockwood ve arkadaşları, preeklampside, implantasyon bölgesindeki IL-6 ekspresyonunu immünohistokimyasal, hücre kültürü, ELISA, RT-PCR ve Western blot yöntemlerini kullanarak oraya koymaya çalışmışlardır. Çalışmada, 10 adet preeklampitik ve aynı sayıda sağlıklı gebelerden doğum sonrası elde edilen plasentaların desidua bölgesinden doku örnekleri alınmıştır. Alınan desidual dokuların bir kısmı desidual hücrelerin izolasyonu için, diğer bir kısmı ise rutin ışık mikroskopik takip için parafine gömülüp, bloklanmıştır. Bu çalışmada immünohistokimyasal olarak IL-6 ekspresyon yoğunluğunun desidual hücre stoplazmasında kontrol grubuna nazaran daha fazla olduğu, ayrıca intertisyel sitotrofoblast hücrelerinde de aynı şekilde daha yoğun olduğu bildirilmiştir (178). Non-matriks kökenli anjiyogenez inhibitörleri içerisinde herhangi bir sınıflamaya alınmayan pek çok sayıda molekül bulunmakta ve bu moleküller diğerleri adı altında sınıflandırılmaktadır. Bu moleküllerden en önemlileri olarak; anjiyostatin, kondromodulin, sFlt-1, TIMPs, troponin vazostatin, antitrombin-III gelmektedir.

W.Zhao ve arkadaşlarının 23 adet preeklampsili, 12 adet sağlıklı kontrol grubu anne üzerinde gerçekleştirdikleri bir çalışmada, annelerden elde edilen kan örneklerinde sEndoglin, sFlt-1 ve PlGF düzeyleri ELISA yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. sEndoglin ve sFlt-1 düzeylerinin preeklampitiklerde arttığı bununla birlikte, preeklampsinin başlangıcında sFlt-1'in dışında, sEndoglin düzeyinde arttığı bildirilmiştir (179).

Bonnie K.Dwyer ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, preeklampsi gelişmiş yüksek risk grubu hastalar ile preeklampsi gelişmemiş yüksek risk hastalar arasında sFlt-1düzeyleri karşılaştırılmıştır. 15-20 haftalık preeklampitik hastaların sFlt-1 düzeyleri anlamlı olarak artış göstermiştir. Diğer taraftan solubl endoglin miktarında 30-34 haftalık preeklampitik hastalarda da düşüş izlenmiş, fakat bu düşüş anlamlı bulunmamıştır (180). Bununla birlikte, J.C.Cooper ve arkadaşları, birinci trimester ve term döneminde elde edilen plasentalarda, VEGF'in bir reseptörü olan Flt düzeyinin insan plasentas ve desiduasındaki immün lokalizasyonunun gösterildiği bir çalışma yapmışlardır. İmmünohistokimyasal yöntemlerin kullanıldığı bu çalışmada, Flt reseptörünün ekspresyonu açısından bulgular değerlendirildiğinde; birinci trimester

plasentalarının f3tal villus endotel h3crelerinde ekspresyonun olduğu izlenmiştir. Term plasentalarda f3tal endotel h3crelerinin yanı sıra aynı zamanda, f3tal vill3z makrofaj h3crelerinde de ekspresyon izlenmiştir (181).

Yang Gu ve arkadaşları s3z konusu molek3ller içerisinde yer alan solubl endoglin, sFlt-1 ve PlGF'3n normal ve preeklampitik gebeliklerdeki rol3n3 inceledikleri bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada, her iki gruba ait plasentalardan trofoblast h3creleri elde edilmiş, h3cre k3lt3r3nde pasajlanmış, hem ELISA hem de imm3nohistokimyasal y3ntemler kullanılarak bu molek3llerin ekspresyonu incelenmiştir. Imm3nohistokimyasal incelemelerde sFlt-1, Eng ve PlGF daha çok sinsityotrofoblast tabakasında eksprese olmuştur. Normal plasentalarla karşılaştırıldığında, preeklampitik plasentalarda sFlt-1 ve Eng ekspresyonu artmış iken, PlGF ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (182).

Bizde alışmamızda, sFlt ile aynı grupta yer alan antianjiyojenik bir molek3l olan anjiyostatinin hem sağlıklı (kontrol) hem de preeklampitik plasentalardaki ekspresyonunu inceledik. Her iki grup sinsityal d3ė3m ve k3pr3lerinde ekspresyonun olduğu fakat bu ekspresyonun gruplar arasında bir farklılık arz etmediği g3r3lm3řt3r. Bununla beraber, plasental septalarda ve villus stromasında izlenen ekspresyon gruplar arası karşılaştırma yapıldığında anlamlı bulunmadı. Sinsityotrofoblast h3crelerinde ekspresyon izlenmez iken, bu h3cre tabakasının hemen altında yer alan stromal alanda ise ekspresyon belirgin bir şekilde azalmıştı. Ancak en 3nemli farklılık desidual h3crelerde izlendi. Desidual h3crelerde, kontrol grubuna nazaran preeklampsisi grubunda belirgin bir ekspresyon artışı s3z konusuydu.

Rong Niu ve ark.larının plasental gelişim için inceledikleri MMP-2, MMP-9 ve endojen anjiyogeneze inhibit3rlerinden biri olan ve bu enzimlerin inhibit3rlerinin (TIMPs) plasental gelişimdeki rol3n3 incelendiği bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. H3cre k3lt3r3 ve ELISA y3ntemlerinin kullanıldığı bu çalışmada, ilk trimesterden itibaren MMP-2 nin salınımının ve gebelik s3resince de TIMP 3retiminin gerekli olduğu 3ne s3r3lm3řt3r (183).

Gynory ve arkadaşları normal, sağlıklı birinci trimester plasentalarda, parsiyel molde, komplet molde ve koryokarsinomda; Matriks Metalloproteinazlar (MMP) ve TIMP-1 ekspresyonunun imm3nohistokimyasal analizinde

sinsityotrofoblastları, sitotrofoblastları ve ekstrasillöz trofoblastlardaki ekspresyon derecelerine göre değerlendirilmiştir. Skorum yapılrken, salınının olmamasına negatif, hücrelerin %50'sinden fazlasının boyanmasına güçlü, bundan az boyanmasına ise zayıf diye nitelendirilip rapor edilmiştir. Daha sonra TIMP-1'in normal 1.trimester plasentada sinsityotrofoblastlarda 3 (%27)'si zayıf 8 (%73)'ü güçlü, sitotrofoblastlarda 11 (%100)'ü zayıf ve ekstrasillöz trofoblastlarda 10 (%91)'i zayıf, 1 (%9) güçlü boyandığı görüldü (184).

Margit Singh ve arkadaşları ilk trimester normal plasentalarında TIMP-3 ve TIMP-4 immünohistokimyasal analizlerinde sinsityotrofoblastlar, sitotrofoblastlar, ekstrasillöz trofoblastlar ve desidual stromal hücrelerin sitoplazmik boyamalarına negatif, zayıf, %25 ila %50 arasında boyanma orta, %50'den fazla güçlü olarak derecelendirmişlerdir. TIMP-4'ün hemen hemen hepsinde güçlü boyandığı, TIMP-3'te ise sitotrofoblast ve sinsityotrofoblastlarda orta, ekstrasillöz trofoblastlarda biraz daha güçlü, desidual stromal hücrelerde ise tam güçlü boyandığı görülmüştür (185).

S.C. Riley ve arkadaşları TIMP türlerinin bazı amnion epitel hücrelerinde ve bazı subepitel mezenşim fibroblastlarında lokalize olduğunu öne sürdükleri bir çalışmada, TIMP-1'in ekstrasellüler ekspresyonun zayıf olduğunu, TIMP-2,3 ve 4'ün epitelin altını döşeyen bazal membran ekstrasellüler matriks kısmında ise yoğun bir şekilde eksprese olduğunu bildirmişlerdir (186).

Shigenori Miura ve arkadaşlarının gebe fareler üzerinde gerçekleştirmiş olduğu bir çalışmada, antianjiyojenik glikoprotein olan kondromodulin-1'in etkinliğini incelemişlerdir. Çalışmada, hücre kültürü, RT-PCR, Northern blotting ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılmıştır. Desidua basalis, hem immünohistokimyasal hem de diğer yöntemlerle kondromodulin-1 ekspresyonunun olduğu gösterilmiştir (187).

V.Y.Gu ve arkadaşları tarafından 32 adet herhangi bir komplikasyonu olmayan sağlıklı ve 38 adet preeklampsi tanısı almış gebe annelerden doğum sonrası elde edilen plasenta örneklerinde, kalretikulin'in rolü araştırılmıştır. RT-PCR ve Western Blotting yöntemleri kullanılarak elde edilen bulgulara bakıldığında, kalretikulin'in en önemli kaynağının plasenta olduğu öne sürülmüştür (188).

Boris Troyanovsky ve arkadaşlarının endotel hücre migrasyon ve tüp formasyonunun gelişiminde, anjiostatini bağlayan bir protein olan anjiomotin üzerine yaptıkları bir çalışmada immünohistokimyasal analiz için kullandıkları term plasentaların vasküler endotel hücrelerinde ekspresyonun varlığı gösterilmiştir. Bunun yanında, büyük damarlarda ve sitotrofoblastlarda immün reaksiyonun varlığı gözler önüne serilmiştir (189).

Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak plasentanın neredeyse tamamında vazostatin ekspresyonu izlenmiştir. Özellikle desidual hücrelerde orta derecede bir ekspresyonun varlığı dikkat çekiciydi. Desidual hücrelerdeki bu ekspresyon gruplar arası karşılaştırma yapıldığında anlamlı bulunmamıştır. Vazostatin aynı zamanda sinsityotrofoblast hücrelerinde güçlü bir ekspresyona sahip olarak izlenmiş, fakat bu güçlü ekspresyon gruplar arası karşılaştırmada anlam arz etmemiştir. Diğer taraftan periferik plasenta kesitlerinde bu molekülün ekspresyonu açısından bir karşılaştırma yapıldığında, villüs sinsityotrofoblast hücrelerindeki ekspresyon preeklampsi grubunda düşüş göstermekteydi.

Beristain AG ve arkadaşları, çeşitli yöntemlere kullanarak, A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin repeats (ADAMTS-12)'nin sitotrofoblastların invazyonundaki muhtemel rollerini araştırmaya yönelik bir çalışma yapmışlardır. ADAMTS-12 4 hem fonksiyonel hem de yapısal olarak birbirinden farklı 4 kısımdan meydana gelmiştir. Bu kısımlardan biride ekstrasellüler matriks bağlanan bölge olan, trombospondin-1'e benzeyen kısmıdır. Araştırmacılar, ilk trimester plasentalarında ve hücre kültürlerinde elde ettikleri bulgulara dayanarak, ADAMTS-12'nin proteolitik aktivitesinden bağımsız olarak, in vitro şartlarda sitotrofoblastların invazyonunda kritik derecede öneme sahip olduğunu öne sürmüşlerdir (190).

Her ne kadar immün reaktivitesi ortaya konulmaya çalışılan molekül, tam olarak aynı olmasa da, çalışmamızda kontrol grubu plasenta kesitleri, preeklampsi grubu ile karşılaştırıldığında, sinsityotrofoblastlardaki trombospondin-1 ekspresyonu preeklampsi grubunda göre artış göstermekteydi.

Bununla birlikte Martin Gauster ve arkadaşları, endojen anjiyogenez inhibitörlerinden biri olan fibulin-5'in insan term plasentadaki ekspresyonunu inceledikleri çalışmalarında, özellikle amnion epitelinde ekspresyonun varlığını

izlemişlerdir. Aynı çalışmada terminal villus endotel hücreleri bazal membranında hafif düzeyde ekspresyonun olduğu bildirilmiştir (191).

Çalışmamızda, fibulin gibi, matriks kökenli anjiyogenez inhibitörlerinden biri olan trombospondin-1'in yine paralel şekilde term plasentadaki ekspresyonu incelendiğinde hem amnion epitelinde hem de terminal villus endotelinde ekspresyon izlenmemiş, paralel olmayan bu durum antikorların farklılığından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Alain Stepanian ve arkadaşları von Willebrand faktör (vWF) ve ADAMTS-13 moleküllerinin preeklampsi patofizyolojisindeki rolünü inceleyen çalışmalarında, hem kontrol hem de preeklampsi vakalarından kan örnekleri alınıp, söz konusu moleküller açısından ELISA yöntemi ile ölçüm yapılmıştır. Çalışmada ayrıca, trombospondin-1 ölçümlerine de yer verilmiştir. Trombospondin-1 ve ADAMTS-13 düzeylerinin kontrol ve preeklampsi grupları arasındaki farklılığı anlamlı bulunmamıştır (192).

Çalışmamızda doku düzeyinde immünohistokimyasal yöntemler kullanılmış ve dokuda gruplar arası karşılaştırılma yapıldığında aksine, iki grup arasında anlamlı farklılıklar izlenmiştir. Bu durum hem serum hem de doku düzeyinde yapılan çalışmalar ile açıklığa kavuşturulabilir.

6.SONUÇLAR

Preeklampsia patofizyolojisi henüz tam olarak bilinmeyen gebeliğe özgü, hipertansiyon, proteinüri ve ödem ile karakterize bir sendromdur. Son zamanlarda çeşitli antianjiyojeniklerin preeklampsia patofizyolojisinde önemli rollerinin olduğunu savunan çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Çalışmamızda, preeklampsia histopatolojisinde bir takım antianjiyojenik moleküllerin rolünü inceledik. Bu amaçla, trombospondin, anjiostatin ve vazostatin gibi antianjiyojenik moleküllerin hem kontrol hem de preeklampsi plasentalardaki ekspresyonunu immünohistokimyasal olarak değerlendirip, karşılaştırdık. Bu çalışmadan elde edilen bulgular göz önüne alındığında aşağıda sıralanan sonuç ve öneriler ortaya çıkmaktadır;

1.Matriks kökenli antianjiyojenik bir molekül olan trombospondin-1 ekspresyonu ve düzeyi daha önce birkaç çalışmada, hücre kültürü ve serum gibi materyallerde çeşitli yöntemler ile gösterilmişse de, çalışmamız bütün plaseenta düzeyinde immüno lokalizasyonu gösteren ilk çalışma olarak literatüre geçmiştir. Bu bağlamda trombospondin-1 ekspresyonu, sinsityotrofoblastlarda, desidual hücrelerde ve desidual stromada izlenirken, preeklampsia grubunda artmış olduğu dikkatleri çekmiştir. Santral plaseenta kesitleri ile periferik plaseenta kesitleri arasında trombospondin-1 ekspresyonu açısından bir fark olmadığı izlenmiştir.

2.Non-matriks kökenli antianjiyojenik bir molekül olan anjiyostatinin immüno lokalizasyonun daha önce plaseenta da belirlenmediği dolayısıyla literatüre ilk defa geçecek olan çalışmamızın bulgularına göre anjiyostatin, sinsityal düğüm ve köprülerde eksprese olurken iki grup arasında bir farklılık izlenmemiştir. Ancak amniyon epitelinde ve koryon plağında preeklampsia grubunda artışın olduğu gözlerden kaçmamıştır. Yine, periferik plaseenta kesitlerinde preeklampsia grubu desidual hücrelerinde ekspresyon artışı dikkatleri çekmekteydi.

3.Bir diğer non-matriks kökenli antianjiyojenik molekül olan vazostatin'in de anjiyostatin gibi plasental immüno lokalizasyonun ilk defa değerlendirilmesi çalışmamız ile sağlanmıştır. Bu bağlamda, desidual hücrelerde, desidual stromada, sinsityotrofoblast hücrelerinde, immüno reaksiyon izlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında herhangi bir farklılık izlenmemiştir. Ancak periferik plaseenta kesitlerinde sinsityotrofoblast hücrelerindeki ekspresyonun azaldığı

dikkatleri çekmekteydi. Elde edilen bu bulgular ışığında hem matriks kökenli hem de non-matriks kökenli antianjiyojenik ajanların, preeklampsi patofizyolojisinde rol aldığı, bunlardan en önemlilerinin trombospondin-1 ve anjiyostatin olduğu, bu moleküllerin etkilerinin merkezinde en çok desidua hücreleri ve sinsiyotrofoblast hücrelerinin yer aldığı dikkatlerden kaçmamıştır. Son zamanlarda preeklampsinin etiyolojisinde antianjiyojenik moleküllerin rolünün olduğu savunulmuş, çalışmamızda bu moleküllerin rolünün olabileceği bir kez daha kanıtları güçlendirmiştir. Ancak, preeklampsi patofizyolojisinin tam olarak aydınlatılabilmesi için, ileri düzey moleküler teknikler kullanılarak antianjiyojenik moleküllerin rollerinin tam olarak ortaya konulması gerektiğini önermekteyiz.

7.KAYNAKLAR

- 1- WHO. World health report: make every mother and child count. Geneva, p.63, 2005.
- 2- Domenico R. Endogenous inhibitors of angiogenesis A historical review. Leukemia Research. 2009; 33: 638–644.
- 3- Handwerger S, M. Freemark. The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. J Pediatr Endocrinol Metab. 2000; 13(4): 343-356.
- 4- Desoye GS, The Human Placenta in Diabetic Pregnancy. Diabetes Reviews. 1996; 4(1): 70-89.
- 5- Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. Science.1987; 23: 442-447.
- 6- 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; 111:649–658.
- 7- Ahmad S, Ahmed A. Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. Circ Res. 2004; 95: 884–891.
- 8- Nyberg P, Xie L, Kalluri R. Endogenous inhibitors of angiogenesis. Cancer Res 2005;65: 3967–3979.
- 9- Çiçek MN, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Pp. 153-155, 491,1.Baskı, Güneş kitapevi, Ankara 2004.
- 10- Cynthia G.Kaplan. Color Atlas of Gross Placental Pathology. pp. 12. Second Edition, Springer Science+Business Media,2007.
- 11- Spencer T E, Bazer F W. Trophoblast Biology: Forum Introduction. Reprod Biol Endocrinol. 2004; 2: 45,
- 12- Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Pathology of The Human placenta. Fifth Edition ed.pp. 45-50, Springer, New York, Springer. 2006.
- 13- Baergen RN, Manual of Benirschke and Kaufmann’s Pathology of the Human Placenta. pp. 69-72, Springer, New York, 2005.
- 14- Moore K, Persaud TVN. İnsan Embriyolojisi. 1. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002; 139- 230.
- 15- Moore K, Persaud TVN. İnsan Embriyolojisi. 1. Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002; 139- 230.
- 16- Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Pathology of The Human placenta. Fifth Edition ed.pp. 96-104, Springer, New York, Springer. 2006.
- 17- Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Pathology of The Human placenta. Fifth Edition ed.pp. 85-86, Springer, New York, Springer. 2006.
- 18- Castellucci M, Zaccheo D. The Hofbauer cells of the human placenta: morphological and immünological aspects. Prog Clin Biol Res 1989; 296: 443-451.

- 19-** Benirschke K, Kaufmann P, Baergen R. Pathology of the human placenta, 85-8648-49, Springer, New York, 2006.
- 20-** Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Pathology of The Human placenta. Fifth Edition ed.pp. 710-717, Springer, New York, Springer. 2006.
- 21-** Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Pathology of The Human placenta. Fifth Edition ed.pp. 387, Springer, New York, Springer. 2006.
- 22-** Ross M.H, Pawlina W, Histology: A Text and Atlas.pp. 857 Lippincott Williams & Wilkins; Sixth, North American Edition, 2011.
- 23-** Levine RJ, Hauth JC, Curet LB, et al. Trial of calcium to prevent preeclampsia. *N Engl J Med.* 1997; 337: 69–76.
- 24-** Carr DB, Epplein M, Johnson CO, Easterling TR, Critchlow CW. A sister's risk: family history as a predictor of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193 Suppl 1: 965–972.
- 25-** Esplin MS, Fausett MB, Fraser A, et al. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *N Engl J Med.* 2001; 344:867–872.
- 26-** Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ.* 2005; 330:565.
- 27-** England LJ, Levine RJ, Qian C, et al. Smoking before pregnancy and risk of gestational hypertension and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 186:1035–1040.
- 28-** Zhang J, Villar J, Sun W, et al. Blood pressure dynamics during pregnancy and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2007; 197 162e161-6.
- 29-** Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu AM, Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet.* 2006; 367:1066–1074.
- 30-** Altman D, Carroli G, Duley L, et al. Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The Magpie Trial: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2002; 359:1877–1890.
- 31-** 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: 257–266.
- 32-** Salafia CM, Pezzullo JC, Ghidini A, Lopez-Zeno JA, Whittington SS. Clinical correlations of patterns of placental pathology in preterm pre-eclampsia. *Placenta.* 1998; 19: 67–72.
- 33-** Palmer SK, Moore LG, Young D, et al. Altered blood pressure course during normal pregnancy and increased preeclampsia at high altitude (3100 meters) in Colorado. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 180:1161–1168.
- 34-** Zamudio S, Wu Y, Ietta F, et al. Human placental hypoxia-inducible factor-1 {alpha} expression correlates with clinical outcomes in chronic hypoxia in vivo. *Am J Pathol.* 2007; 170:2171–2179.

- 35-** Granger JP, LaMarca BB, Cockrell K, et al. Reduced uterine perfusion pressure (RUPP) model for studying cardiovascular-renal dysfunction in response to placental ischemia. *Methods Mol Med*. 2006; 122:383–392.
- 36-** Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Aschife A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol*. 1994; 101:669–674.
- 37-** Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, et al. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest*. 1997; 99: 2139–2151.
- 38-** 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; 160:1405–1423.
- 39-** Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, et al. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol*. 1989; 161:1200–1204.
- 40-** Martinez A. A new family of angiogenic factors. *Cancer Lett*. 2006; 236:157-163.
- 41-** Sudhakar A. The Matrix Reloaded: New Insights from Type IV Collagen Derived Endogenous Angiogenesis Inhibitors and their Mechanism of Action. *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*. 2009;1(2): 52-62.
- 42-** Iruela-Arispe ML. Vascular Development and Angiogenesis. In: *Encyclopedia of Molecular Cell Biology*. Ed: Robert A. Meyers. 2005;15: 201–232.
- 43-** Iruela-Arispe ML, Endothelial Cell Activation, Angiogenesis, An Integrative Approach from Science to Medicine. 2008; 35-43.
- 44-** Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*. 1996 Aug 9;86(3):353-64.
- 45-** Ware JA, Simons M: Angiogenesis in ischemic heart disease. *Nat Med*. 1997; 3: 158–164.
- 46-** Sund M, Hamano Y, Sugimoto H, Sudhakar A, Soubasakos M, Yerramalla U, Benjamin LE, Lawler J, Kieran M, Shah A, Kalluri R. Function of endogenous inhibitors of angiogenesis as endothelium- specific tumor suppressors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:2934–2939.
- 47-** Sund M, Xie L, Kalluri R. The contribution of vascular basement membranes and extracellular matrix to mechanics of tumor angiogenesis. *APMIS* 2004;112:450–62.
- 48-** Folkman, J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol*. 1992; 3, 65–71.
- 49-** Stenina, O. I, Topol E. J. and Plow, E. F. Thrombospondins, their polymorphisms, and cardiovascular disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2007; 27: 1886–1894.

- 50-** Jaffe E A, Ruggiero J T, Leung LK, Doyle M J, McKeown-Longo PJ, Mosher DF. Cultured human fibroblasts synthesize and secrete thrombospondin and incorporate it into extracellular matrix. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1983;80: 998–1002.
- 51-** Mosher DF, Doyle MJ, Jaffe EA. Synthesis and secretion of thrombospondin by cultured human endothelial cells. *J. Cell. Biol.* 1982; 93: 343–348.
- 52-** Ferrari Do, Outeiro-Bernstein MA, Nunes SS, Andrade AC, Alves TR, Legrand C, et al. A recombinant NH(2)-terminal heparin-binding domain of the adhesive glycoprotein, thrombospondin-1, promotes endothelial tube formation and cell survival: a possible role for syndecan-4 proteoglycan. *Matrix Biol* 2002; 21: 311–324.
- 53-** A. Bonnefoy, R. Moura and M. F. Hoylaerts, The evolving role of thrombospondin-1 in hemostasis and vascular biology *Cell. Mol. Life Sci.* 2008; 65: 713 – 727.
- 54-** Adams, J. C. and Lawler, J. (2004) The thrombospondins. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2004; 36: 961–968.
- 55-** Armstrong LC, Bornstein P. Thrombospondins 1 and 2 function as inhibitors of angiogenesis. *Matrix Biol* 2003; 22: 63–71.
- 56-** Ren B, Yee KO, Lawler J, Khosravi-Far R. Regulation of tumor angiogenesis by thrombospondin-1. *Biochimica Biophysica Acta* 2005; 1765:178–188.
- 57-** Friedl P, Vischer P and Freyberg MA. The role of thrombospondin- 1 in apoptosis. *Cell Mol Life Sci.* 2002; 59: 1347–1357.
- 58-** Bruel A, Touhami-Carrier M, Thomaidis A, et al. Thrombospondin- 1 (TSP-1) and TSP-1-derived heparin-binding peptides induce promyelocytic leukemia cell differentiation and apoptosis. *Anticancer Res* 2005; 25:757–764.
- 59-** Graf R, Freyberg M, Kaiser D, et al. Mechanosensitive induction of apoptosis in fibroblasts is regulated by thrombospondin- 1 and integrin associated protein (CD47). *Apoptosis* 2002; 7: 493–98.
- 60-** Jimenez B, Volpert OV, Crawford SE, et al. Signals leading to apoptosis-dependent inhibition of neovascularization by thrombospondin- 1. *Nature Med.* 2000; 6: 41–48.
- 61-** O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, Flynn E, Birkhead JR, Olsen BR, Folkman J. Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997; 88: 277–285.
- 62-** Blackhall FH, Merry CLR, Lyon M, Jayson GC, Folkman J, Javaherian K, Gallagher JT. Binding of endostatin to endothelial heparan sulphate shows a differential requirement for specific sulphates. *Biochem J* 2003; 375:131–139.
- 63-** Wickstrom SA, Alitalo K, Keski-Oja J. Endostatin associates with integrin alpha5beta1 and caveolin-1, and activates Src via a tyrosyl phosphatase-dependent pathway in human endothelial cells. *Cancer Res.* 2002;62: 5580–5589.

- 64-** Nyberg P, Heikkila P, Sorsa T, Luostarinen J, Heljasvaara R, Stenman UH, Pihlajaniemi T, Salo T. Endostatin inhibits human tongue carcinoma cell invasion and intravasation and blocks the activation of matrix metalloprotease-2, -9 and -13. *J Biol Chem*. 2003;278(25):22404–22411.
- 65-** Ramakrishnan S, Nguyen TM, Subramanian IV, Kelekar A. Autophagy and angiogenesis inhibition. *Autophagy*. 2007;3: 512–515.
- 66-** Kamphaus GD, Colorado PC, Panka H, Hopfer H, Ramchandran R, Torre A, et al. Canstatin, a novel matrix-derived inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *J Biol Chem* 2000;275:1209–1215.
- 67-** Petitclerc E, Boutard A, Prestayko A, Xu J, Sado Y, Ninomiya Y, et al. New functions for non-collagenous domains of human collagen type IV. Novel integrin ligands inhibiting angiogenesis and tumor growth in vivo. *J Biol Chem* 2000;275:8051–8061.
- 68-** Pasqualini R, Bourdoulous S, Koivunen E, Woods Jr VL, Ruoslahti E. A polymeric form of fibronectin has antimetastatic effects against multiple tumor types. *Nat Med* 1996;2: 1197–1203.
- 69-** Yi M, Ruoslahti E. A fibronectin fragment inhibits tumor growth, angiogenesis and metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98: 620–624.
- 70-** Zhou Z, Wang J, Cao R, et al. Impaired angiogenesis, delayed wound healing and retarded tumor growth in perlecan heparan sulfate-deficient mice. *Cancer Res* 2004;64(14):4699–4702.
- 71-** Mongiat M, Sweeney SM, San Antonio JD, Fu J, Iozzo RV. Endorepellin, a novel inhibitor of angiogenesis derived from the C terminus of perlecan. *J Biol Chem* 2003;278(6):4238–4249.
- 72-** Bix G, Castello R, Burrows M, et al. Endorepellin in vivo: targeting the tumor vasculature and retarding cancer growth and metabolism. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(22):1634–1646.
- 73-** Wickstrom SA, Alitalo K, Keski-Oja J. An endostatin-derived peptide interacts with integrins and regulates actin cytoskeleton and migration of endothelial cells. *J Biol Chem* 2004;279(19):20178–20185.
- 74-** Albig AR, Schiemann WP. Fibulin-5 antagonizes vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling and angiogenic sprouting by endothelial cells. *DNA Cell Biol* 2004;23(6):367–379.
- 75-** Lee CH, Wu CL, Shiau AL. Endostatin gene therapy delivered by *Salmonella choleraesuis* in murine tumor models. *J Gene Med* 2004;6(12):1382–93.
- 76-** Han J, Ohno N, Pasco S, Monboisse JC, Borel JP, Kefalides NA. A cell binding domain from the alpha3 chain of type IV collagen inhibits proliferation of melanoma cells. *J Biol Chem* 1997;272(33):20395–20401.
- 77-** Maeshima Y, Colorado PC, Torre A, et al. Distinct antitumor properties of a type IV collagen domain derived from basement membrane. *J Biol Chem* 2000;275(28):21340–21348.

- 78-** Floquet N, Pasco S, Ramont L, et al. The antitumor properties of the alpha3(IV)-(185–203) peptide from the NC1 domain of type IV collagen (tumstatin) are conformation-dependent. *J Biol Chem* 2004;279(3):2091–2100.
- 79-** Shahan TA, Ziaie Z, Pasco S, et al. Identification of CD47/ integrin-associated protein and alpha(v)beta3 as two receptors for the alpha3(IV) chain of type IV collagen on tumor cells. *Cancer Res* 1999;59(18):4584–4590.
- 80-** Maeshima Y, Yerramalla UL, Dhanabal M, et al. Extracellular matrix-derived peptide binds to alpha(v)beta(3) integrin and inhibits angiogenesis. *J Biol Chem* 2001;276(34):31959–31968.
- 81-** Hutchings H, Ortega N, Plouet J. Extracellular matrix-bound vascular endothelial growth factor promotes endothelial cell adhesion, migration, and survival through integrin ligation. *Faseb J* 2003;17(11):1520–1522.
- 82-** Hamano Y, Zeisberg M, Sugimoto H, et al. Physiological levels of tumstatin, a fragment of collagen IV alpha3 chain, are generated by MMP-9 proteolysis and suppress angiogenesis via alphaV beta3 integrin. *Cancer Cell* 2003;3(6):589–601.
- 83-** Strander H. Interferon treatment of human neoplasia. *Adv Cancer Res* 1986; 46: 1–265.
- 84-** Brouty-Boye D, Zetter D. Inhibition of cell motility by interferon. *Science* 1980;208:516–518.
- 85-** SidkyYA, Borden EC. Inhibition of angiogenesis by interferons: effects on tumorand lymphocyte-induced vascular responses. *Cancer Res* 1987;47: 5155–5161.
- 86-** Dvorak HF, Gresser I. Microvascular injury in pathogenesis of interferon induced necrosis of subcutaneous tumors in mice. *J Natl Cancer Inst* 1989;81: 497–502.
- 87-** Shing Y, Folkman J, Haudenschild C, Lund D, Crum R, Klagsbrun M. Angiogenesis is stimulated by a tumor-derived endothelial cell growth factor. *J Cell Biochem* 1985; 29: 275–287.
- 88-** Slaton JW, Perrotte P, Inoue K, Dinney CP, Fidler IJ. Interferon-alpha-mediated down-regulation of angiogenesis-related genes and therapy of bladder cancer are dependent on optimization of biological dose and schedule. *Clin Cancer Res* 1999;5: 2726–2734.
- 89-** Ezekowitz RA, Mulliken JB, Folkman J. Interferon alpha-2a therapy for lifethreatening hemangiomas of infancy. *N Engl J Med* 1992;326:1456–1463.
- 90-** Kaban LB, Mulliken JB, EzekowitzRA, Egg D, Smith PS, Folkman J. Antiangiogenic therapy of a recurrent giant cell tumor of the mandible with interferon alfa-2a. *Pediatrics* 1999;103:1145–1149.
- 91-** Ginns LC, Roberts DH, Mark J, Brush IL, Marler JJ. Pulmonary capillary hemangiomatosis with atypical endotheliomatosis: successful antiangiogenic therapy with doxycycline. *Chest*. 2003;124:2017–2022.

- 92-** Morini M, Albini A, Lorusso G, Moelling K, Lu B, Cilli M, et al. Prevention of angiogenesis by naked DNA IL-12 gene transfer: angioprevention by immunogene therapy. *Gene Ther* 2004;11: 284–291.
- 93-** Cao R, Farnebo J, Kurimoto M, Cao Y. Interleukin-18 acts as an angiogenesis and tumor suppressor. *FASEB J* 1999;13: 2195–2202.
- 94-** Steele FR, Chader GJ, Johnson LV, Tombran-Tink J. Pigment epithelium-derived factor: neurotrophic activity and identification as a member of the serine protease inhibitor gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90: 1526– 1530.
- 95-** Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, Crawford SE, Xu H, Benedict W, et al. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science* 1999;285:245–248.
- 96-** Bouck N. PEDF: anti-angiogenic guardian of ocular function. *Trends Mol Med* 2002;8: 330–334.
- 97-** Crawford SE, Stellmach V, Ranalli M, Huang X, Huang L, Volpert O, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) in neuroblastoma: a multifunctional mediator of Schwann cell antitumor activity. *J Cell Sci* 2001;114:4421–4428.
- 98-** Doll JA, Stellmach VM, Bouck NP, Bergh AR, Lee C, Abramson LP, et al. Pigment epithelium-derived factor regulates the vasculature and mass of the prostate and pancreas. *Nat Med* 2003;9: 774–780.
- 99-** O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses M, Lane WS, Cao Y, Sage EH, Folkman J. Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79: 315–328.
- 100-** Claesson-Welsh L, Welsh M, Ito N, Anand-Apte B, Soker S, Zetter B, O'Reilly M, Folkman J. Angiostatin induces endothelial cell apoptosis and activation of focal adhesion kinase independently of the integrin-binding motif RGD. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95: 5579–5583.
- 101-** Tarui T, Miles LA, Takada Y. Specific interaction of angiostatin with integrin $\alpha(v)\beta(3)$ in endothelial cells. *J Biol Chem*. 2001 26;276(43):39562-39568
- 102-** Gonzalez-Gronow M, Grenett HE, Gawdi G, Pizzo SV. Angiostatin directly inhibits human prostate tumor cell invasion by blocking plasminogen binding to its cellular receptor, CD26. *Exp Cell Res*. 2005;303: 22–31.
- 103-** Wahl ML, Kenan DJ, Gonzalez-Gronow M, Pizzo SV. Angiostatin's molecular mechanism: aspects of specificity and regulation elucidated. *J Cell Biochem*. 2005;96: 242–261.
- 104-** Moser TL, Kenan DJ, Ashley TA, Roy JA, Goodman MD, Misra UK, Cheek DJ, Pizzo SV. Endothelial cell surface F1-F0 ATP synthase is active in ATP synthesis and is inhibited by angiostatin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98: 6656–6661.
- 105-** Yamagata M, Tannock IF. The chronic administration of drugs that inhibit the regulation of intracellular pH: in vitro and antitumour effects. *Br J Cancer*. 1996;73: 1328–1334.

- 106-** Wahl ML, Owen CS, Grant DS. Angiostatin induces intracellular acidosis and anoikis in endothelial cells at a tumor-like low pH. *Endothelium*. 2002;9: 205–216.
- 107-** Troyanovsky B, Levchenko T, Mansson G, Matvijenko O, Holmgren L. Angiomotin: an angiostatin binding protein that regulates endothelial cell migration and tube formation. *J Cell Biol*. 2001;152:1247–1254.
- 108-** Aase K, Ernkqvist M, Ebarasi L, Jakobsson L, Majumdar A, Yi C, Birot O, Ming Y, Kvanta A, Edholm D, Aspenström P, Kissil J, Claesson-Welsh L, Shimono A, Holmgren L. Angiomotin regulates endothelial cell migration during embryonic angiogenesis. *Genes Development* 2007, 21: 2055–2068.
- 109-** Levchenko T, Bratt A, Arbiser JL, Holmgren L. Angiomotin expression promotes hemangioendothelioma invasion. *Oncogene*. 2004;23:1469–1473.
- 110-** Goretzki L, Lombardo CR, Stallcup WB. Binding of the NG2 proteoglycan to kringle domains modulates the functional properties of angiostatin and plasmin(ogen). *J Biol Chem*. 2000;275:28625–28633.
- 111-** Shi H, Huang Y, Zhou H, Song X, Yuan S, Fu Y, Luo Y. Nucleolin is a receptor that mediates antiangiogenic and antitumor activity of endostatin. *Blood*. 2007;110:2899–2906.
- 112-** Prandini MH, Desroches-Castan A, Feraud O, Vittet D. No evidence for vasculogenesis regulation by angiostatin during mouse embryonic stem cell differentiation. *J Cell Physiol*. 2007;213(1):27–35.
- 113-** Eriksson K, Magnusson P, Dixelius J, Claesson-Welsh L, Cross MJ. Angiostatin and endostatin inhibit endothelial cell migration in response to FGF and VEGF without interfering with specific intracellular signal transduction pathways. *FEBS Lett*. 2003;536: 19–24.
- 114-** Shyong MP, Lee FL, Kuo PC, Wu AC, Cheng HC, Chen SL, Tung TH, Tsao YP. Reduction of experimental diabetic vascular leakage by delivery of angiostatin with a recombinant adenoassociated virus vector. *Mol Vis*. 2007;13: 133–141.
- 115-** Sima J, Ma J, Zhang SX, Guo J. Study of the influence of angiostatin intravitreal injection on vascular leakage in retina and iris of the experimental diabetic rats. *Yan Ke Xue Bao*. 2006;22: 252–258.
- 116-** Hanford HA, Wong CA, Kassan H, Cundiff DL, Chandel N, Underwood S, Mitchell CA, Soff GA. Angiostatin(4.5)- mediated apoptosis of vascular endothelial cells. *Cancer Res*. 2003;63: 4275–4280.
- 117-** Jurasz P, Alonso D, Castro-Blanco S, Murad F, Radomski MW. Generation and role of angiostatin in human platelets. *Blood*. 2003;102:3217–3223.
- 118-** Cervi D, Yip TT, Bhattacharya N, Podust VN, Peterson J, Abou- Slaybi A, Naumov GN, Bender E, Almog N, Italiano JE, Jr, Folkman J, Klement GL. Platelet-associated PF-4 as a biomarker of early tumor growth. *Blood*. 2007;111:1201–1207.

- 119-** Chung AW, Hsiang YN, Matzke LA, McManus BM, van Breemen C, Okon EB. Reduced expression of vascular endothelial growth factor paralleled with the increased angiostatin expression resulting from the upregulated activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human type 2 diabetic arterial vasculature. *Circ Res.* 2006;99: 140–148.
- 120-** Matsunaga T, Chilian WM, March K. Angiostatin is negatively associated with coronary collateral growth in patients with coronary artery disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288:2042–2046.
- 121-** Pike SE, Yao L, Jones KD, Cherney B, Appella E, Skaguchi K, et al. Vasostatin, a calreticulin fragment, inhibits angiogenesis and suppresses tumor growth. *J Exp Med* 1998;188:2349–2356.
- 122-** Pike SE, Yao L, Setsuda J, Jones KD, Cherney B, Appella E, et al. Calreticulin and calreticulin fragments are endothelial cell inhibitors that suppress tumor growth. *Blood* 1999;94: 2461–2468.
- 123-** Yao L, Pike SE, Tosato G. Laminin binding to the calreticulin fragment vasostatin regulates endothelial cell function. *J Leukoc Biol* 2002;71: 47–53.
- 124-** Xiao F, Wei Y, Yang L, Zhao X, Tian L, Ding Z, et al. A gene therapy for cancer based on the angiogenesis inhibitor, vasostatin. *Gene Ther* 2002;9: 1207–1213.
- 125-** Ferrero, E., Scabini, S., Magni, E., Foglieni, C., Belloni, D., Colombo, B., Curnis, F., Villa, A., Ferrero, M. E., and Corti, A. Chromogranin A protects vessels against tumor necrosis factor alpha-induced vascular leakage. *FASEB J.* 2004;18: 554–556.
- 126-** Helle, K. B. The granin family of uniquely acidic proteins of the diffuse neuroendocrine system: Comparative and functional aspects. *Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc.* 2004; 79: 769–794.
- 127-** Blois A, Srebo B, Mandala` M, Corti A, Helle K. B, Serck-Hanssen G, The chromogranin A peptide vasostatin- I inhibits gap formation and signal transduction mediated by inflammatory agents in cultured bovine pulmonary and coronary arterial endothelial cells. *Reg. Peptides.* 2006; 135: 554–556.
- 128-** Iacangelo, A. L., and Eiden, L. E. Chromogranin A: Current status as a precursor for bioactive peptides and a granulogenic/sorting factor in the regulated secretory pathway. *Reg. Peptides.* 1995; 58: 65–88.
- 129-** O'Connor, D. T., and Bernstein, K. N. Radioimmunoassay of chromogranin A in plasma as a measure of exocytotic sympathoadrenal activity in normal subjects and patients with pheochromocytoma. *New Engl. J. Med.* 1984;311: 764–770.
- 130-** Bernini G. P, Moretti A, Ferdeghini M, Ricci S, Letizia C, D'Erasmo E, Argenio G. F, and Salvetti A, A new human chromogranin 'A' immunoradiometric assay for the diagnosis of neuroendocrine tumours. *Br. J. Cancer.* 2001; 84: 636–642.

- 131-** Ziegler M. G, Kennedy B, Morrissey E, O'Connor D. T, Norepinephrine clearance, chromogranin A and dopamine beta hydroxylase in renal failure. *Kidney Int.* 1990;37: 1357–1362.
- 132-** Ceconi C, Ferrari R, Bachetti T, Opasich C, Volterrani M, Colombo B, Parrinello G, and Corti A, Chromogranin A in heart failure; a novel neurohumoral factor and a predictor for mortality. *Eur. Heart J.* 2002; 23: 967–974.
- 133-** Helle KB, Corti A, Metz-Boutigue MH, Tota B, The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties. *Cell Mol Life Sci.* 2007; 64: 2863–2886
- 134-** Deftos, L. J, Chromogranin A: Its role in endocrine function and as an endocrine and neuroendocrine tumor marker. *Endocr. Rev.* 1991; 12: 181–187
- 135-** Brew K, Dinakarbandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 2000;1477:267–283.
- 136-** Moses MA, Sudhalter J, Langer R. Identification of an inhibitor of neovascularization from cartilage. *Science* 1990;248:1408–10.
- 137-** Hiraki Y, Tanaka H, Inoue H, Kondo J, Kamizono A, Suzuki F. Molecular cloning of a new class of cartilage-specific matrix, chondromodulin-I, which stimulates growth of cultured chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;175:971–977.
- 138-** Hiraki Y, Kono T, Sato M, Shukunami C, Kondo J. Inhibition of DNA synthesis and tubemorphogenesis of cultured vascular endothelial cells by chondromodulin-I. *FEBS Lett* 1997;415:321–324.
- 139-** Hayami T, Shukunami C, Mitsui K, Endo N, Tokunaga K, Kondo J, et al. Specific loss of chondromodulin-I gene expression in chondrosarcoma and the suppression of tumor angiogenesis and growth by its recombinant protein in vivo. *FEBS Lett* 1999;458:436–440.
- 140-** Fotsis T, Zhang Y, Pepper MS, Adlercreutz H, Montesano R, Nawroth PP, et al. The endogenous oestrogen metabolite 2-methoxyoestradiol inhibits angiogenesis and suppress tumour growth. *Nature* 1994;368:237–239.
- 141-** D'Angelo G, Struman I, Martial J, Weiner RI. Activation of mitogen-activated protein kinases by vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in capillary endothelial cells is inhibited by the antiangiogenic factor 16- kDa N-terminal fragment of prolactin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92: 6374–6378.
- 142-** Kendall RL, Wang B, Thomas KA. Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;226:324–328.
- 143-** Sawano A, Takahashi T, Yamaguchi S, Aonuma M, Shibuya M. Flt-1 but not KDR/Flk-1 tyrosine kinase is a receptor for placenta growth factor, which is related to vascular endothelial growth factor. *Cell Growth Diff* 1996;7:213–221.

- 144-** Yoshimura I, Mizuguchi Y, Miyajima A, Asano T, Tadakuma T, Hayakawa M. Suppression of lung metastasis of renal cell carcinoma by the intramuscular gene transfer of a soluble form of vascular endothelial growth factor receptor I. *J Urol* 2004; 171:2467–2470.
- 145-** Moses MA, Wiederschain D, Wu I, Fernandez CA, Ghazizadeh V, Lane WS, et al. Troponin I is present in human cartilage and inhibits angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2645–2650.
- 146-** Feldman L, Rouleau C, Troponin I. Inhibits capillary endothelial cell proliferation by interaction with the cell's bFGF receptor. *Microvasc Res* 2002; 63: 41–49.
- 147-** Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993; 90: 10705–10709.
- 148-** Heydarian M, McCaffrey T, Florea L, et al. Novel splice variants of sFlt1 are upregulated in preeclampsia, Placenta. 2009; 30: 250–255.
- 149-** Robinson CJ, Johnson DD, Chang EY, Armstrong DM, Wang W. Evaluation of placenta growth factor and soluble Fms-like tyrosine kinase 1 receptor levels in mild and severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2006; 195:255–259.
- 150-** Makris A, Thornton C, Thompson J, et al. Uteroplacental ischemia results in proteinuric hypertension and elevated sFLT-1. *Kidney Int*. 2007; 71 997-84.
- 151-** Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*. 2006; 12: 642–649.
- 152-** Gilbert JS, Gilbert SAB, Arany M, Granger JP. Hypertension produced by placental ischemia in pregnant rats is associated with increased soluble endoglin expression. *Hypertension*. 2009; 53: 399–403.
- 153-** Gu Y, Lewis DF, Wang Y. Placental productions and expressions of soluble endoglin, soluble fmslike tyrosine kinase receptor-1, and placental growth factor in normal and preeclamptic pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93:260–266.
- 154-** Maharaj ASR, Saint-Geniez M, Maldonado AE, D'Amore PA. Vascular endothelial growth factor localization in the adult. *Am J Pathol*. 2006; 168:639–648.
- 155-** Gerber HP, Wu X, Yu L, et al. Mice expressing a humanized form of VEGF-A may provide insights into the safety and efficacy of anti-VEGF antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104:3478–3483.
- 156-** Eremina V, Jefferson JA, Kowalewska J, et al. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med*. 2008; 358:1129–1136.
- 157-** Luttun A, Tjwa M, Moons L, et al. Revascularization of ischemic tissues by PlGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1. *Nat Med*. 2002; 8: 831– 840.

- 158-** Wolf M, Shah A, Lam C, et al. Circulating levels of the antiangiogenic marker sFLT-1 are increased in first versus second pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193: 16–22.
- 159-** Maynard SE, Venkatesha S, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia. *Pediatr Res.* 2005; 57:1–7.
- 160-** Koga K, Osuga Y, Tajima T, et al. Elevated serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) level in women with hydatidiform mole. *Fertil Steril.* 2010 ;94(1): 305-308.
- 161-** Bdolah Y, Palomaki GE, Yaron Y, et al. Circulating angiogenic proteins in trisomy 13. *Am J Obstet Gynecol.* 2006; 194:239–245.
- 162-** 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: 361-365.
- 163-** Podjamy E, Baylis C, Losonczy G. Animal models of preeclampsia. *Semin Perinatol.* 1999; 23: 2-13.
- 164-** Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Hypertension.* 2001; 38: 718-722.
- 165-** Dechend R, Luft FC. Angiogenesis factors and preeclampsia. *Nat. Med.* 2008; 14: 1187-1188.
- 166-** Zhang EG, Burton EJ, Smith SK, Charnock-Jones DS Placental vessel adaptation during gestation and to high altitude: changes in diameter and perivascular cell coverage. *Placenta* 2002;23: 751–762
- 167-** Patric, M. C.; Mark, B. L. & Steven, G. Diabetes Mellitus. In: *Reproductive endocrinology, surgery and technology.* Philadelphia, Lippincott, 1996. 1710-1720.
- 168-** Moldenhauer J.S, Staneki J, Warshak C, Khoury J, Sibai B, The frequency and severity of plasental findings in women with preeclampsia are gestational age dependent. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2003;189:1173-1177
- 169-** Battistelli M, Burattini S, Pomini F, Scavo M, Caruso A, Falcieri E . Ultrastructural Study on Human Placenta From Intrauterin Growth Reterdation Cases. *Microscopy Research and Technique.*2004; 65: 150-158
- 170-** Altshuler G. A conceptual approach to placental pathology and pregnancy outcome. *Semin Diagn Pathol.* 1993;10(3):204-21. Review.
- 171-** Heazell A.E.P, Moll S.J, Jones C.J.P, Baker P.N, Crocker I.P. Formation of Syncytial Knots is Increased by Hyperoxia, Hypoxia and Reactive Oxygen Species 2007; 33-40.
- 172-** Correa R.R.M, Gilio D.B, Cavellani C.L, Paschoini M.C, Oliveria F.A, Peres L.C, Reis M.A, Teixeira V.P.A, Castro E.C.C. Placental morphometrical and histopathology changes in the different clinical presentations of Hypertensive Syndromes in Pregnancy. *Archives of Gynecology and Obstetrics* 2008; 277:201-206

- 173-** Benirschke K, Kaufmann P, Baergen R.N, Pathology of The Human placenta. Fifth Edition ed.pp. 327, Springer, New York, Springer. 2006.
- 174-** Brunori I.L, Batini L, Brunori E, Lenzi P, Paparelli A, Simonelli M,Valentino V, Genazzani A.R, Placental barrier breakage in preeclampsia: ultrastructural evidence. *European Journal of Obstetrics & Gynecology ad Reproductive Biology* 2005; 118:182-189.
- 175-** Nyberg P, Xie L, Kalluri R. Endogenous inhibitors of angiogenesis. *Cancer Res.* 2005; 65: 3967–3979.
- 176-** Carr DB, Epplein M, Johnson CO, Easterling TR, Critchlow CW. A sister's risk: family history as a predictor of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193(1):965–972.
- 177-** Plunkett BA, Fitchev P, Doll JA, Gerber SE, Cornwell M, Greenstein EP, Crawford SE. Decreased expression of pigment epithelium derived factor (PEDF), an inhibitor of angiogenesis, in placentas of unexplained stillbirths. *Reprod Biol.* 2008; 8(2) : 107-120.
- 178-** Lockwood CJ, Yen CF, Basar M, Kayisli UA, Martel M, Buhimschi I, Buhimschi C, Huang SJ, Krikun G, Schatz F. Preeclampsia-Related Inflammatory Cytokines Regulate Interleukin-6 Expression in Human Decidual Cells, *The American Journal of Pathology.* 2008;172(6):1571-1579.
- 179-** Zhao W, Qiao J, Zhang Q, Zhao Y, Chen Q., Levels of antiangiogenic factors in preeclamptic pregnancies. *Growth Factors.* August 2010;28(4): 293–298
- 180-** Dwyer BK, Krieg S, Balise R, Carroll IR, Chueh J, Nayak N, Druzin M. Variable expression of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in patients at high risk for preeclampsia, *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010 Jul;23(7):705-711.
- 181-** J. C. Cooper, A. M. Sharkey, J. McLaren, D. S. Charnock-Jones and S. K. Smith, Localization of vascular endothelial growth factor and its receptor, flt, in human placenta and decidua by immunohistochemistry, *Journal of Reproduction and fertility.* 1995,105, 205-213
- 182-** Gu Y, Lewis DF, Wang Y, Placental productions and expressions of soluble endoglin, soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1, and placental growth factor in normal and preeclamptic pregnancies, *J Clin Endocrinol Metab.* January 2008, 93(1): 260–266
- 183-** Niu. R, Okamoto. T, (Nomura. S, Mizutani. S, Quantitative analysis of matrix metalloproteinases-2 and-9, and their tissue inhibitors-1 and-2 in human placenta throughout gestation, *Life Sci.* 2000 Feb 11;66(12):1127-1137.
- 184-** Gyorgy L. Vegh, M.D., Z. Selcuk Tuncer, M.D.,† Vilmos Fulop, M.D., David R. Genest, M.D., Samuel C. Mok, Ph.D., and Ross S. Berkowitz, M.D. Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Gestational Trophoblastic Diseases and Normal Placenta, *Gynecologic Oncology.*1999;(75): 248–253
- 185-** Singh M, Kindelberger D, Nagymanyoki Z, Ng SW, Quick CM, Elias KM, Yamamoto H, Fichorova R, Fulop V, Berkowitz RS. Matrix metalloproteinases and their inhibitors and inducer in gestational trophoblastic diseases and normal placenta. *Gynecol Oncol.* 2011;122(1):178-182.

- 186-** S C Riley, R Leask, F C Denison, K Wisely, A A Calder and D C Howe, Secretion of tissue inhibitors of matrix metalloproteinases by human fetal membranes, decidua and placenta at parturition, *Journal of Endocrinology*. 1999; 162: 351–359
- 187-** Miura S, Shukunami C, Mitsui K, Kondo J, Hiraki Y. Localization of chondromodulin-I at the fetomaternal interface and its inhibitory actions on trophoblast invasion in vitro. *BMC Cell Biology*. 2011;18: 12-34.
- 188-** V.Y. Gu, M.H. Wong, J.L. Stevenson, K.E. Crawford, S.P. Brennecke and N.M. Gude, Calreticulin in human pregnancy and pre-eclampsia, *Molecular Human Reproduction*. 2008;14(5) 309–315
- 189-** Troyanovsky B, Levchenko T, Månsson G, Matvijenko O, Holmgren L. Angiomotin: An Angiostatin Binding Protein That Regulates Endothelial Cell Migration and Tube Formation, *The Journal of Cell Biology*, 2001; 152(6): 1247-1254
- 190-** Beristain AG, Zhu H, Leung PC. Regulated Expression of ADAMTS-12 in Human Trophoblastic Cells: A Role for ADAMTS-12 in Epithelial Cell Invasion?, *PLoS ONE*. 2011; 6(4): 18473.
- 191-** Gauster M, Berghold VM, Moser G, Orendi K, Siwetz M, Huppertz B. Fibulin-5 expression in the human placenta, *Histochem Cell Biol* 2011; 135:203–213
- 192-** Stepanian A, Cohen-Moatti M, Sanglier T, Legendre P, Ameziane N, Tsatsaris V, Mandelbrot L, de Prost D, Veyradier A; Eclaxir Study Group., Von Willebrand factor and ADAMTS13: a candidate couple for preeclampsia pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011. 31(7):1703-1709

8-EKLER

Ek 1: Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu Örneği

Değerli anne adayı;

Preeklampsisi; gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkan, yüksek tansiyon, idrarda protein, yüzde ve ayak sırtında ödemle kendini gösteren bir hastalıktır.

Bu durum genç kadınların ilk hamileliklerinde ortaya çıkan bir hastalıktır. Gebeliklerin ortalama % 3-5 inde görülmekte ve bebekte gelişme geriliği, erken doğum, anne ve bebek ölümlerine neden olabilmektedir.

Şiddetli preeklampsili olguların yaklaşık %10'unda akut böbrek yetmezliği ve kanama (Hellp Sendromu) gibi önemli komplikasyonlara yol açabilmektedir. Bu olgularda bebek ölüm oranı % 20-25, anne ölüm oranı ise % 1-24 olarak bildirilmektedir. Bu nedenle preeklampsili annelerin bebeklerinin, anne karnındaki iyilik durumlarının değerlendirilmesi, doğum için karar vermek açısından çok önemlidir. Preeklampsinin nedeni halen tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte birçok bilimsel ve klinik araştırmalar yapılarak çok çeşitli veriler elde edilmiştir. Fakat birçok konu halen aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada amaç preeklampsili annelerin plasentalarında anjiyogenez inhibitörlerinin muhtemel rollerini aydınlatmaktır.

Çalışmaya dâhil olmayı kabul ettiğiniz takdirde, bu araştırmada plasentanız kullanılacaktır ve doğumdan sonra plasentanızdan, doku örneği alınacaktır.

Dicle Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde doğum yapan aşağıda adı, soyadı, adresi ve telefon no'su yazılı hasta, çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve bu çalışmada kullanılmak üzere doğumdan sonra plasentasından doku örneği alınmasını kabul ederek bunu imzası ile tasdik etmiştir.

GÖNÜLLÜ HASTANIN:

Adı SOYADI:

Adresi :

Tel:

Tarih:

İMZA:

ŞAHİTİN:

Adı SOYADI:

Adresi:

Tel:

Tarih:

İMZA:

