



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



GESTASYONEL DİYABETİK PLASENTALARDA
ADM VE sFLT-1 PROTEİN EKSPRESYON SEVİYELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Necat ARSLAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sevda SÖKER

DİYARBAKIR

2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



GESTASYONEL DİYABETİK PLASENTALARDA
ADM VE sFLT-1 PROTEİN EKSPRESYON SEVİYELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Necat ARSLAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sevda SÖKER

DİYARBAKIR

2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı** yüksek lisans öğrencisi **Necat ARSLAN**'ın hazırladığı “Gestasyonel diyabetik plasentalarda ADM ve sFLT-1 protein ekspresyon seviyelerinin araştırılması” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : / / 20..

Danışman: **Prof. Dr. Sevdâ SÖKER**

Jüri üyeleri

İmza

Jüri başkanı

.....

Üye

.....

Üye

.....

Üye

.....

Üye

.....

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun **16/11/2018** ve **27/2** sayılı kararıyla onaylanmıştır.

... / ... / ...

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BEYAN

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

.../... /201..

Necat ARSLAN

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince ve özellikle tez çalışma aşamasındaengin bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, bilimsel çalışmalarda bana yol gösterici olan ve tezimin her aşamasında materyal temini, laboratuvar çalışmaları ve sonuçların değerlendirilmesinde akademik tecrübesi ve engin bilgileriyle her türlü katkıyı sunan başta danışman hocam Prof. Dr. Sevda SÖKER'e ve Prof. Dr. Engin DEVECİ'ye,

Ayrıca yüksek lisans eğitimim süresince benden bilimsel katkılarını esirgemeyen ve tecrübeleriyle çalışmalarına ışık tutan hocalarım sayın Prof. Dr. Murat AKKUŞ'a Prof. Dr. Yusuf NERGİZ'e, Doç. Dr. Ayfer AKTAŞ'a, Doç. Dr. Selçuk TUNİK'e, Doç. Dr. Cenap Ekinci'ye, Doç. Dr. Elif AĞAÇAYAK'a, tezimin çalışma süresince materyal temini, takibi ve laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında her türlü katkıyı sunan Arş. Gör. Fırat AŞIR'a, Dr. Süreyya ÖZDEMİR'e ve doktora öğrencisi Fırat ŞAHİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından **TIP.18.032** Numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

BEYAN	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
RESİMLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	x
1.1. TÜRKÇE ÖZET	1
1.2. ABSTRACT	3
2. GİRİŞ VE AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER	7
3.1. Plasenta.....	7
3.2. Plasentanın Gelişimi.....	8
3.2.1. Erken plasenta gelişimi - prelaküner ve laküner aşamaları	9
3.2.2. Erken villöz aşaması.....	10
3.3. Plasental Villus Ağacı	11
3.3.1. Mezenkimal villus	12
3.3.2. Olgunlaşmamış ara villuslar	12
3.3.3. Kök villuslar	12
3.3.4. Olgun ara villuslar	13
3.3.5. Terminal villuslar	13
3.4. Maternal Plasenta	13
3.5. Fötal Plasenta	14
3.6. Plasental dolaşım.....	15
3.7. Plasentanın Görevleri	15
3.7.1. Transfer ve değişim fonksiyonları.....	16
3.7.2. İmmünolojik fonksiyonlar	16
3.7.3. Endokrin fonksiyonları.....	17
3.8. Adrenomedullin.....	17
3.8.1. Adrenomedullinin vasküler etkisi	18
3.8.2. Adrenomedullin ve üreme sistemi.....	18
3.9. Soluble Fms-Benzeri Tirozin Kinaz-1 (sFLT-1).....	19
3.10. Gestasyonel Diyabetes Mellitus	20

3.10.1. Gestasyonel Diyabetes Mellitus'ta plasental anjiyogenez	21
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
4.1. Plasentaların Elde Edilmesi	22
4.2. Işık Mikroskopik İnceleme İçin Dokuların Takibi.....	22
4.3. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü.....	23
4.4. Periodic Acid Schiff (PAS) Boyama Protokolü.....	23
4.5. sFLT-1 İmmun Boyama Yöntemi.....	24
4.6. Adrenomedullin İmmun Boyama Yöntemi.....	25
5. BULGULAR	26
5.1. Hematoksilen Eozin Boyama Bulgular.....	26
5.2. PAS (Periodic Acide-Schiff) Boyama Bulgular	29
5.3. İmmunohistokimyasal Bulgular	31
5.4. İstatiksel Bulgular	36
6. TARTIŞMA.....	38
7. SONUÇ.....	42
8. KAYNAKLAR.....	43
9. ÖZGEÇMİŞ.....	53
10. EKLER.....	55
10.1. Etik kurul onayı.....	55
11. ORJİNALLİK RAPORU.....	56

KISALTMALAR VE SİMGELER

GDM	: Gestasyonel Diyabetes Melitus
ADM	: Adrenomedullin
sFLT-1	: Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
VEGF	: Vaskülo Endotelyal Büyüme Faktörü
PIGF	: Plasental Büyüme Faktörü
EVT	: Ekstravillöz Trofoblast
HCG	: Human Chorionic Gonadotropin
IGG	: İmmunoglobulin G
cAMP	: Adenozin Monofosfat
CGRP	: Calcitonin Gen Related Peptid
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
TNF-α	: Tümör Nekrosis Faktörü alpha
ACTH	: Adrenocorticotropic hormone
NO	: Nitrik Oksit
PGI₂	: Prostrasiklin
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
PBS	: Phosphate Buffered Saline
VEGFR	: Vaskülo Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Plasentanın maternal yüz, f3tal y3z3, umblikal kord, koriyon amniyon zarının şematik g3sterilmesi (12)	8
Şekil 2: Plasental vill3z ağacının periferik b3l3m3n3n tipik kesitlerle birlikte g3sterimi (21).....	12
Şekil 3: Plamenta ve koriyonik villi şematik g3sterimi (32).....	15



RESİMLER LİSTESİ

- Resim 1:** Kontrol grubunda, maternal plasenta bölgesinde desidua hücrelerinin polihedrik görünümlü olduğu, nükleuslarının kromatince zengin (sarı ok) olduğu gözlemlendi. Mezenşimal doku içerisinde kollajen liflerin birbirine paralel düzensiz (siyah ok) olarak dağıldığı ve bağ doku hücrelerinin soliter şekilde dağıldığı görüldü. (Hematoksilen-Eozin, x40).26
- Resim 2:** Kontrol grubu fetal alanda villusların histolojik incelenmesinde sinsityotrofoblast hücrelerinin periferde yassı biçimde (yeşil ok) yerleştiği villus içinde küçük kapiller damarların içinde eritrositlerin serbest olarak dağıldığı (kırmızı ok) embriyonal bağ doku içinde yer alan bağ doku hücrelerinin ve hofbauer hücrelerinin (üçgen) düzenli ve soliter olarak dağıldığı gözlemlendi. (Hematoksilen-Eozin, x40)27
- Resim 3:** GDM grubu örnekte maternal bölgede desidual hücrelerin bazılarında piknotik nükleuslar (mavi ok) sitoplazma kaybı görüldü. Hücreler arasında kollajen liflerde artış, yer yer fibrinoid birikimi (beyaz yıldız) görüldü. Desidual hücrelerde membranda hafif düzeyde kalınlaşma (beyaz ok) tespit edildi. (Hematoksilen-Eozin x40).....27
- Resim 4:** GDM grubu kök villuslarındaki kan damarlarında dilatasyon (sarı ok) ve konjesyon kanamalar belirgin olup, endotel hücrelerinde hiperplazi (mavi ok), villusların dış kısmında sinsityal köprücüklerde artış (kırmızı ok), mononükleer hücre infiltrasyonu (beyaz ok) gözlemlendi. Villus dış kısmında sito ve sinsityotrofoblastların membranının kaynaştığı, sinsityal düğümlerde artış olduğu görüldü. (Hematoksilen-Eozin x40).....28
- Resim 5:** GDM grubu maternal bölümden fetal bölüme doğru uzanan küçük villuslarda sinsityal bölgeler yer yer dejenerasyon (üçgen) ve sinsityal köprülerde (yeşil ok) artış görüldü. (Hematoksilen – Eozin x40)28
- Resim 6:** GDM grubu kök villuslarında geniş kan damarlarında konjesyon (yıldız) ve dış kısmında mononükleer hücre infiltrasyonunda (sarı ok) artış, sinsityal bölgelerde dejenerasyon (siyah ok) ve kopma görüldü. Mezenşimal bağ doku içerisinde yer yer vakuoler alanlar (mavi ok) tespit edildi. (Hematoksilen – Eozin x20).....29

Resim 7: Kontrol grubu PAS boyamadasitotrofoblastik bölgede bazal membran tabakasında PAS pozitif reaksiyon (mavi ok) görüldü. Embriyonel bağ doku içerisindeki kan damarlarının bazal membranlarında (siyah ok) ve bağ doku içerisindeki kollajen liflerde (beyaz ok) PAS pozitif reaksiyon görüldü. (PAS boyama x20)..... 29

Resim 8: GDM grubu Maternal bölgelerde villusların sinsityal bölgelerinde membranda kalınlaşma (siyah ok) PAS pozitif, küçük villusların içindeki kapiller damar membranında (sarı ok) PAS pozitif reaksiyon görüldü. Desidual plakların dış kısmında küçük plaklar şeklinde fibrinoid alanların (yıldız) PAS pozitif boyandığı gözlemlendi. (PAS Boyama x40) 30

Resim 9: GDM grubunda kök villusları (siyah ok) ve serbest yüzen villusların (turuncu) bazal membranlarında PAS pozitif reaksiyon görüldü. Mezenşimal bağ doku alanı içerisinde bazı kollajen liflerde (yeşil ok) ve fibrinoid plaklarda (yıldız) PAS pozitif reaksiyon izlendi. Desidual bölgelerdeki kan damarlarının hem bazal membranlarında hem endotel hücrelerinde (mavi ok) PAS pozitif reaksiyon görüldü. (PAS boyama x40)..... 30

Resim 10: GDM grubu fetal bölümlerdeki küçük villusların bazal membranlarında kalınlaşma (mavi ok) pas pozitif, çok sayıda fibrinoid plaklarda ve villus içerisindeki mezenşimal bağ dokusundaki fibrinoid yapılarda (sarı yıldızlar) pas pozitif reaksiyon görüldü. Villus içerisinde çok sayıda vakuoler yapılar (kırmızı ok) izlendi. (PAS boyama x20)..... 31

Resim 11: Kontrol grubu kesitlerinde kök villuslarındaki kan damarlarındaki endotel hücrelerinin bazılarında sFLT-1 ekspresyonu pozitif iken (sarı ok) genelde endotel hücrelerinde negatif ekspresyon görüldü. Mezenşimal bağ doku içerisinde bazı küçük çaplı kapillerlerde (kırmızı ok) hafif derecede sFLT-1ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi. (Kontrol sFLT-1 x20)..... 31

Resim 12: ADM kontrol kesitlerinde maternal bölgedeki arteriol kesitlerinde endotel hücrelerinde (siyah ok) ADM pozitif, kas hücrelerinde ADM negatif ekspresyonu görüldü. Mezenşimal bağ doku içerisindeki fibroblastlarda (yeşil ok) ve bazı kollajen liflerde ADM pozitif ekspresyonu gözlemlendi. Kök villuslarının sinsityal hücrelerinde (kırmızı ok) ADM pozitif ekspresyonu gözlemlendi. (ADM x20)..... 32

- Resim 13:** Maternal bölgede desidua hücrelerinin membranlarında ADM ekspresyonu negatif (sarı ok) olarak izlendi. Bazı desidua hücresi nükleuslarında (kırmızı ok) ADM ekspresyonu pozitif olarak görüldü. Kapiller damar epiteli ve bazı fibroblast hücreleri (yeşil ok) çevresinde ADM ekspresyonunda artış gözlemlendi. (Kontrol ADM x40).....32
- Resim 14:** GDM grubu maternal bölgede desidua hücrelerinde ADM ekspresyonu nükleuslarda (sarı ok) negatif olarak izlenirken, desidua hücre membranlarında (siyah ok) ADM ekspresyonu pozitif olarak izlendi. (ADM x40)33
- Resim 15:** GDM grubu kök villuslarının fetal bölgeye uzandığı alan içerisindeki mezenşimal bağ dokuda damar çevresindeki hücrelerde (siyah ok) ADM pozitif, villusların sinsityo ve sitotrofoblast hücrelerinde (sarı ok) negatif ADM ekspresyonu izlendi. Villusların içindeki genişleyen kapiller damarların membranlarında endotel hücrelerinde (kırmızı ok) ADM pozitif ekspresyonu görüldü. (ADM x20 lik).....33
- Resim 16:** GDM ADM grubu örneklerde Kök villuslarıyla fetal alandaki küçük villusların birleşme yerlerindeki sinsityal köprü (yeşil ok) ve sinsityal düğümlerde (sarı ok) negatif ADM ekspresyonu görüldü. Küçük villusların bazı sitotrofoblast hücrelerinde ADM ekspresyonu pozitif (kırmızı ok) olarak izlendi. Damar endotelindeki ve damar dışındaki bazı mezenşimal hücrelerde ADM pozitif ekspresyonu (siyah ok) izlendi. (ADM x40)34
- Resim 17:** GDM grubu sFLT-1 örneklerinde maternal bölgedeki göbek kordonu arterinin dalı olan arteiolde endotel hücrelerinde (kırmızı ok) pozitif ekspresyon gözlenirken kas hücrelerinde (mor ok) negatif ekspresyonlar görüldü. Mezenşimal bağ doku içerisindeki (yıldız) hücrelerde ise pozitif sFLT-1 ekspresyonu görüldü. (sFLT-1 x20)34
- Resim 18:** GDM grubu villus içerisindeki genişleyen kapiller damarlarındaki endotel hücrelerinde (kırmızı ok) sFLT-1 ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi. Villus içerisindeki mezenşimal bağ doku içindeki bazı Hofbauer hücrelerinde (siyah ok) sFLT-1 ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi. (sFLT-1 x20)35
- Resim 19:** GDM sFLT-1 örneklerde maternal bölgedeki desidua hücre nükleuslarında ve membranlarında (sarı ok)sflt-1 ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi. Sinsityal bölgedeki membranda (turuncu ok) ve kapiller damarlarının membranlarında (kırmızı ok) sFLT-1 ekspresyonu görüldü. (sFLT-1 x40).....35

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Kontrol ve GDM plasenta kesitlerinde villöz kapiller endotelde sFLT-1 ve ADM pozitif çekirdek yüzdelerinin Mann Whitney U testine göre değerlendirmesi. Tabloda gruplara ait ortalama sıra değerleri ve örnek sayısı belirtilmektedir..... 36

Tablo 2: Kontrol ve GDM gruplarına ait istatistiksel analiz sonucu ve p değerleri. 37



Gestasyonel diyabetik plasentalarda ADM ve sFLT-1 protein ekspresyon seviyelerinin araştırılması

Öğrencinin adı ve soyadı: Necat ARSLAN

Danışman: Prof. Dr. Sevda SÖKER

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

1.1.TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Bu çalışmada amacımız gestasyonel diyabetes mellitusta (GDM) vasküler regülasyonda rolü saptanan iki yeni protein olan Adrenomedullin (ADM) ve soluble fms-benzeri tirozin kinaz (sFLT-1)'in ekspresyon seviyelerini incelemek, hastalığın histopatolojisinde bu proteinlerin ekspresyon seviyelerini karşılaştırmak, bu proteinlerin ekspresyon yoğunluğunun hastalıkla korelasyonunu gözlemlemek ve hastalığın tedavisinde olası bir protein marker'ı keşfetmektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 20 Normotansif ve 20 GDM'li plasenta örneği alındı. Histolojik takip yöntemiyle takip edildi. Bu dokulardan 5µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin, Periodic Acid Schiff (PAS) boyamaları yapıldı. İmmünohistokimyasal olarak ADM ve sFLT-1 antikorları çalışıldı.

Bulgular: GDM grubunda; kök villuslarındaki kan damarlarında dilatasyon ve konjesyon, endotel hücrelerinde hiperplazi görüldü. Villusların dış kısmındaki sinsitiyal köprülerde artış, mononükleer hücre infiltrasyonu, maternal bölgedeki desidual hücrelerin bazılarında piknotik nükleuslar ve sitoplazma kaybı izlendi. İmmünohistokimyasal incelemede villusların sitotrofoblast ve sinsitiotrofoblast hücrelerinde ve sinsitiyal düğümlerde negatif ADM ekspresyonu vardı. Küçük villusların bazı sitotrofoblast hücrelerinde, damar endotel hücrelerinde ve desidual hücrelerde pozitif ADM ekspresyonu görüldü. GDM grubunda sFLT-1 ekspresyonu endotel hücrelerinde, mezenşimal bağ doku içindeki bazı Hofbauer hücrelerinde, desidual hücre nükleuslarında ve membranlarında pozitif olarak gözlemlendi.

Sonuç: Desidual hücre membranlarında, sitotrofoblastlarda ADM pozitif ekspresyon gösterdiğinden ADM'nin glikoz yoğunluğunun belirlenmesinde ve bununla ilişkili olarak insülin regülasyonunda önemli bir düzenleyici olabileceğinin düşündürmüştür. Yine sFLT-1'in maternal ve fötal bölgelerdeki endotel hücreleri üzerindeki etkileri ve Hofbauer hücrelerindeki ekspresyonun, anjiyogenik etkide bu molekln anahtar rol alabileceğ kanısını uyandırmıştır.

Anahtar Kelimeler: Plasenta, PAS, hemotoksilen-eozin, GDM, sFLT-1, ADM

Investigation of sFLT-1 and ADM protein expression levels on placentas of the gestational diabetes mellitus

Student's surname and name: ARSLAN Necat

Advisor: Prof. Dr. Sevda SÖKER

Department: Histology and Embryology

1.2.ABSTRACT

Aim: In this study, we aimed to investigate the expression levels of adrenomedullin (ADM) and sFLT-1, two new proteins that have a role in vascular regulation in gestational diabetes mellitus, to compare the expression levels of these proteins in the histopathology of the disease, to correlate the expression intensity of these proteins with possibility of discovering as a protein marker.

Materials And Methods: 20 normotensive and 20 GDM placenta samples were taken. Routine paraffin wax embedding tissue protocol was performed. Six µm sections were stained with Hematoxylin-Eosin, Periodic Acid Schiff (PAS). ADM and sFLT-1 antibodies were immunohistochemically incubated on sections.

Results: In the GDM group, vascular dilatation and congestion in stem villus, hyperplasic endothelial cells, and increased syncytial bridges in the external part of the villi, mononuclear cell infiltration, pyknotic nuclei and cytoplasm loss in some of the desidual cells in the maternal region were observed. In immunohistochemical examination, cytotrophoblast and syncytiotrophoblast cells of villous and syncytial nodes showed negative ADM expression. ADM was positively expressed in some cytotrophoblast cells of small villi, vascular endothelial cells and desidual cells. In the GDM group, sFLT-1 expression was positive in endothelial cells, some Hoffbauer cells of mesenchymal connective tissue, desidual cell nuclei and membranes.

Conclusion: ADM may be an important receptor in the insulin metabolism to determine the glucose level because we found positive ADM expression in cytotrophoblasts and membranes of desidual cells. In addition, changes in

endothelial cells of maternal and fetal regions and sFLT-1 expression in Hoffbauer cells suggest that this molecule possibly play a key role in angiogenic effect.

Keywords: Placenta, PAS, Hematoxylin-Eosin, GDM, sFLT-1, ADM



2. GİRİŞ VE AMAÇ

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) veya gebe diyabeti, şeker hastalığı olmayan bir kadının hamilelik sırasında kan şekerinin yüksek seviyelerde seyrettiği klinik bir durumdur. GDM, insülin direncinin ayarlanmasında yeterli insülin olmamasından kaynaklanır ve etiyolojisinde fazla kilolu olmak, daha önce gebelik diyabeti, tip 2 diyabet aile öyküsü ve polikistik over sendromunu barındırır. GDM tanısı kan testi ile yapılır. GDM dünyadaki 10 gebeden en az birini etkilemektedir ve aşırı fetal yağ eklenmesi (makrozomi), fetal hipoglisemi, yenidoğan yoğun bakım ve mortalitesi gereksinimi de dahil olmak üzere bir dizi olumsuz perinatal sonuçları açıklar. Ayrıca, GDM yenidoğanda kısa süreli komplikasyonlara neden olmakla kalmaz, aynı zamanda kardiyovasküler hastalık, obezite ve diyabet gibi kronik durumlar için yüksek riskle de ilişkilidir(1,2).

Plasenta, gelişmekte olan fetusa anne kanı aracılığıyla besin alımı, termoregülasyon, atıkların uzaklaştırılması, gaz değişimini sağlama ve fetüsü göbek kordonu yoluyla uterus duvarına bağlama görevlerini üstlenen geçici bir organdır. Ayrıca fetal immunitiyi sağlama ve hamileliğin devamı için hormon salgılama gibi görevleri de vardır (1). Normal gebeliklere kıyasla, GDM plasentalarında artmış vaskülarizasyon görülür. Bu durum, annenin beslenirken aşırı yüklenme durumunda görülen bir tablo olabilir ancak insülin ile uyarılmış artmış fetal aerobik metabolizma nedeniyle fetüsün artan oksijen ihtiyacını yansıtır. Artmış vaskülarizasyonun altında yatan mekanizmalar ise tam olarak aydınlatılamamıştır (3,4).

Adrenomedullin insanda ADM geni tarafından kodlanan vazodilatör bir peptid olup hormon olarak görev yapar. Tüm dokular tarafından eksprese edilir ve sirkülasyonda bulunur. Hipertansiyon, miyokardiyal infarksiyon, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve diğer kardiyovasküler hastalıklara pozitif etkisi olduğu düşünülmektedir (5,6).

Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFLT-1, VEGFR-1), Türkçe adıyla çözünür fms-benzeri tirozin kinaz-1, anti anjiyojenik özelliklere sahip bir tirozin kinaz proteindir. sFLT-1'in membrana bağlantısı olmayan splice varyantı olan sFLT-1, anjiyojenik faktörler

vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve plasental büyüme faktörü (PIGF)'ye bağlanarak onların serbest halde dolaşımını azaltarak kan damarı büyümesini önler. İnsanlarda, sFLT-1, böbrek, kornea ve uterus dahil olmak üzere çeşitli dokulardan sentezlenip kan damarı oluşumunun düzenlenmesinde önemlidir (7,8).

Bu tezin amacı gestasyonel diyabetes mellitusta vasküler regülasyonda rolü saptanan iki yeni protein olan ADM ve sFLT-1'in ekspresyon seviyelerini incelemek, hastalığın histopatolojisinde bu proteinlerin ekspresyon seviyelerini karşılaştırmak, bu proteinlerin ekspresyon yoğunluğunun hastalıkla korelasyonunu gözlemlemek ve hastalığın tedavisinde olası bir protein marker'ı keşfetmektir.

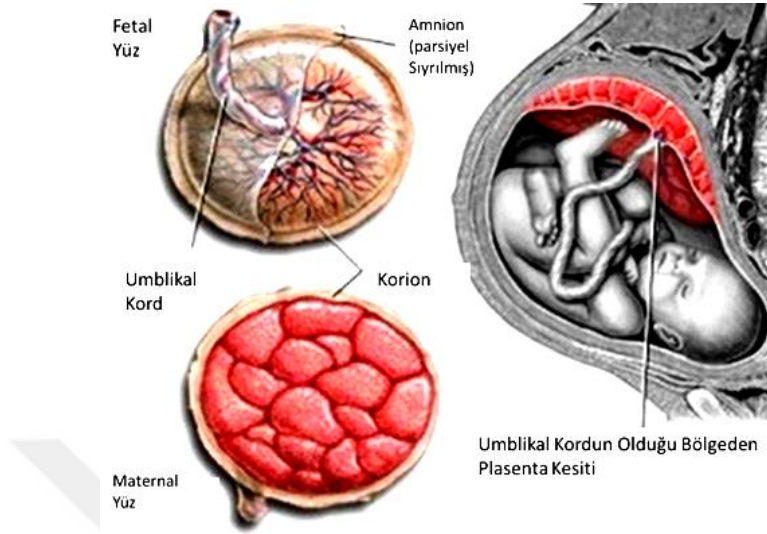
3. GENEL BİLGİLER

3.1. Plasenta

Plasenta gebelik süresince geçici olarak gelişen ve işlev gören bir organdır. Endokrin ve taşıma faaliyetleri, maternal ve fetal kan dolaşımı arasında bariyer görevlerinin yanında çeşitli fonksiyonları vardır (9). Plasentanın temel görevi anne ve fetus arasındaki maddelerin değişimidir. Plasenta yapısal olarak kan damarları, bağ dokusu ve trofoblastik hücrelerden meydana gelir. Gebelik boyunca bol miktarda hormon üretir (10). Fetal gelişim sırasında plasenta hem insan simbiyozunun benzersiz bir örneği hem de anneye bağlı olmak üzere fetus için renal, solunum, hepatik, gastrointestinal, endokrin ve immün gibi sistemler için bir geçit görevi görür (11).

Plasenta memeli canlılarda görülen bir yapı olup, insanlarda prenatal dönemde uterus ve embriyo arasında madde geçişini sağlayan, embriyonun yaşamsal ihtiyaçlarını karşılayan ve bu aktiviteler sonucunda oluşan metabolik artıkları uzaklaştıran, bununla beraber fötüs için gerekli hormonları üreten ve gebeliğin sonlanmasıyla misyonunu sona erdiren geçici bir organdır (12). Plasenta, fetüsün büyüme gelişme ve yaşamını devam ettirmesi için hayati öneme sahiptir. Plasenta doğumda uterus duvarından ayrılıp doğumdan yaklaşık 25-30 dakika sonra dışarıya atılır.

Kabaca makroanatomisine bakılırsa, plasentanın iki yüzü vardır. Maternal yüzeyi desidua bazalis ile kaplı olup tepecikler şeklinde kotiledonlar görülür. Kotiledonlar arasında bulunan çukur benzeri yapılarda desidua kökenli septalar yer alır. Plasentanın fetal yüzü koryon plağı ile örtülü olduğundan büyük koryonik arter ve venlerin göbek kordonuna doğru ilerledikleri görülür. Genellikle plasenta merkezli olan göbek kordonu bazen bir kenara daha yakın olarak görülebilir. Plasenta üzerinde bir fetomaternal yüzeyin gelişimiyle beraber fetus ile anne arasında etkileşim meydana gelir. Bu fetomaternal yüzey plasenta oluşumunun önemli bir ögesidir. (13) (Şekil 1).



Şekil 1:Plasantanın maternal yüz, fetal yüzü, umbilikal kord, korion amniyon zarının şematik gösterilmesi⁽¹²⁾

3.2. Plasantanın Gelişimi

Plasenta morulanın dış hücre katmanındaki trofoblastlardan köken alır. Trofoblast, implantasyondan sonra prolifer olup sitotrofoblast ve sinsityotrofoblastlara farklılaşır (14,15). Fertilize olan ovum, tuba uterinalardan uterus boşluğuna doğru hareket eder ve blastosiste dönüşür. Konsepsiyondan sonraki 7. günde, endometriumun epiteline (desidua) implante olur (16). Fertilize ovum bu süreçte dış trofoblastik tabaka ve daha sonra embriyoyu oluşturacak iç embriyoblasttan oluşur. Trofoblastlar plasantanın büyük bir kısmını yapar ve embriyoya besin sağlar. Villöz trofoblastlarda farklılaşmamış sitotrofoblastlar ve tamamen farklılaşmış sinsityotrofoblastlar olmak üzere iki hücre popülasyonu bulunur. Sinsityotrofoblastlar devamlı, özelleşmiş epitel hücre tabakasıdır (17).

Sinsityotrofoblastın lakuna sistemindeki koryonik plak ile bazal membran arasındaki plasantanın fetal kısmında trabeküller vardır. Konsepsiyondan sonraki 12. günde başlayarak, sitotrofoblast, koryonik plakadan hızla çoğalarak trabekül içine dallanır ve primer villusları oluşturur. Maternal kanı taşırlar ve lakunalara açılırlar. 15. günde mezenkimal doku villusa ulaşır ve sekonder villusları oluşturur. 19. günde, vaskülarizasyon ve tersiyer villuslar gelişmeye başlar ve hamileliğin sonuna kadar devam eder (18). Yaklaşık 21. günde villuslarda embriyonik kan dolaşımı başlar. Embriyoyu çevreleyen

koryon 8. haftada tek tip villuslarla kaplanırken bu aşamada desidua capsularis tarafında bozulurlar (19).

Plasenta büyüyen fetüsün ihtiyaçlarını karşılamak için bazı değişimler geçirir. Plasentada fetomaternal değişim için yüzey genişler, geçirgenlik artar, değişim mesafesi azalır, daha fazla villus gelişir ancak villusların yüzey alanı azalır. Villöz stroma azalırken fetal intervillöz damarların sayısı ve lümen büyüklüğü artar. Bu villus ağaçları, intervillöz boşlukların çoğunu doldurur (18). Ağaçlar, fetal trofoblastik hücrelerden ve bazal taraftaki (uterusa bakan) desidüadan oluşan birleşmiş doku tabakaları ile sınırlandırılır (16,19). Plasentanın fetal kısmı olarak koryon frondozumun geliştiği yer burasıdır. Maternal kısmı, desidua bazalisten oluşur (19).

Kök villuslar koryon plakasından koryon frondozum ile desidua basalis arasındaki maternal kanla dolu olan boşluğa doğru dallanır. Buradan septumlar büyür ve plasenta birimleri olan kotiledonlar oluşur. Her bir kotiledon iki veya daha fazla villus ağacından oluşur ve plasenta yaklaşık olarak 10-38 tane içerir. Kotiledonlar birbirine temas ederler ancak koryonik plakla etkileşimde olmazlar (19).

14. hafta civarında plasenta gelişimini tamamlayarak son formuna dönüşür. Enine büyüme bu zamanda tamamlanır ve yalnızca ileriye doğru hareket eden bir büyüme görülebilir. 20. haftada plasenta çapı yaklaşık 10 cm'dir ve doğum anında iki katı çapla beraber 2-4 cm genişliğinde olur. Çocuğun ağırlığına bağlı olarak plasenta yaklaşık 500 gramdır (19.)

3.2.1. Erken plasenta gelişimi - prelaküner ve laküner aşamaları

Plasenta, blastosistin endometriyuma bağlanmasıyla konsepsiyondan sonraki 6 ila 7 günde gelişmeye başlar (20,21). Bu aşamada blastosist, gelecekteki embrioyu oluşturacak olan iç hücre kitlesinden ve plasentayı oluşturacak olan trofoektoderm hücrelerinden oluşan dış hücre katmanından oluşur (22). Konsepsiyonun ardından 8. ve 12. günler arasında trofoektoderm iki trofoblast tabakasına bölünür; sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast (21). Sıvı dolu boşluklar veya lakunalar, sinsityotrofoblast kitlesi içinde gelişir. Lakunalar başlangıçta izoledir, ancak daha sonra sinsityotrofoblasttan oluşan trabeküllerle ayrılan daha büyük lakunalar oluşturmak üzere birleşirler (23).

Trofoblast tabakası artık üç bölgeye ayrılır: Endometriyuma bitişik dış trofoblastik kabuk, aradaki lakünalar ve trabeküller arasında embriyoya bakan primer koryonik plak (21). Primer koryonik plak ekstraembriyonik mezoderm ve iç trofoblast tabakasından oluşur. Lakuna ve trabeküller sonunda intravillöz aralığı ve anchoring villuslarını oluştururken, primer koryonik plak ve trofoblastik kabuk ise sırasıyla koryonik ve bazal plakların temelini oluşturur. 12. günde, primer koryonik plaktaki sitotrofoblastlar trabekülleri istila eder ve komşu trabekülalardaki benzerleriyle birleşirler. Sitotrofoblastlardan bazıları sinsitiyotrofoblastın içine nüfuz ederek endometriyuma kadar girerler ve bu hücrelere ekstravillöz trofoblast (EVT) denir (24).

3.2.2. Erken villöz aşaması

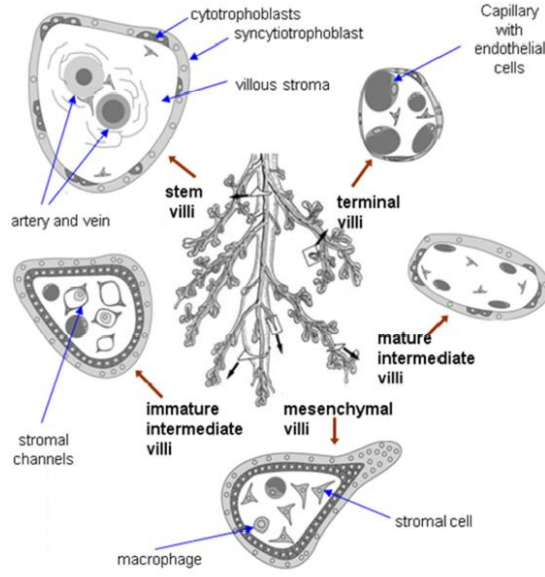
Trabekülaların içindeki sitotrofoblastlar proliferer olur ve 13. güne kadar lakünalara dallanacak olan yan dalları oluştururlar (25,23). Bu yan dallardan gelişen ilk villöz yapıları primer villus denir. Primer koryonik plakanın ekstraembriyonik mezenkimi, trabekülleri ve primer villusları istila ederek sekonder villusları oluşturur (21). Mezenkim içindeki hemanjiyoplastik progenitor hücreler, ilk fetal kılcal damarlara farklılaşarak villusları vaskülerize eder, böylece tersiyer villuslar oluşmuş olur. Her trabekül, tekrar tekrar dallanan villöz bir köke dönüşerek villöz ağacını veya fetal lobülleri meydana getirir. Villöz ağaç, çok dallı plasentayı oluşturmak için gelişmeye devam eder (26).

Gelişen villöz ağacı olgunlaşmamış ara villuslara dönüşen mezenkimal villuslardan ve yüzeylerinden köken alan yeni primer villuslardan oluşur. Kök villuslar olgunlaşmamış ara villusların proksimal ucunun müskülarizasyonundan sonra oluşur ve gestasyonun 20. haftasına kadar 10 ila 20 kök hücre ve kök villus jenerasyonu oluşur. Yeni olgunlaşmamış ara villusların oluşumu yaklaşık 24. haftada sona erer ve destekleyici villus ağı, gaz değişimi yapabilen villuslara farklılaşmaya başlar. Kök villus dalı, villöz uçlarda kılcallarla sonlanan kaslı arteriyoller içeren olgun ara villusları oluşturur. Burada kılcal büyüme, villus büyümesinden daha büyüktür, bu nedenle terminal villusları oluşturacak olan trofoblast ile kaplanmış kılcal şişkin halkaları oluşturur.

3.3. Plasental Villus Ağacı

Villöz ağaç plasentanın fonksiyonel birimidir. Maternal kanla yıkanır ve içinden fetoplasental dolaşım aktığı için oldukça vaskülerize yapıya sahiptir. Villöz duvarının katmanları, iki dolaşım arasında değişim için bir bariyer oluşturur. Maternalden fetal kana kadar, bu katman sinsitiotrofoblast, sitotrofoblastlar, stromal hücreler ve bağ dokusundan ve fetal kapiller endotelinden oluşur (21). Fetal kapiller endoteli, hücreler arasında geniş boşluklu ve çapı 5-10nm olan normal sürekli endoteldir. Terminal villuslarda transfer mesafesi, dilate fetal kapiller segmentinin üstüne gelecek şekilde çekirdeklerden ve diğer büyük organellerden yoksun vaskülosinsitiyal membran alanında 0,5 ila 2 μ m'ye kadar düşer. Bu muhtemelen difüzyon ve taşıma için besin alışverişinde kullanılan en kısa mesafe alanıdır. Diğer bölgelerde, sinsitiotrofoblast tabakası nispeten kalın olduğundan buralarda daha çok endokrin ve metabolik aktiviteler gerçekleşir. Plasental villus ağacında, kalibreleri, stromal özellikleri, damar yapıları ve hamilelik sırasındaki görünümüne göre beş farklı villus türü tanımlanmıştır (Şekil 2) (27).

- a) Mezenkimal villus
- b) Olgunlaşmamış ara villus
- c) Kök villus
- d) Olgun ara villus
- e) Terminal villus



Şekil 2: Plasental villöz ağacının periferik bölümünün tipik kesitlerle birlikte gösterimi (21)

3.3.1. Mezenkimal villus

Mezenkimal villusların çapı 100-250 μm 'dir. Stromal gövdeleri, çok sayıda mezenkimal hücre ve damar lümeni içermeyen, gelişmekte olan damarlarla zayıf şekilde organize olmuşlardır. Mezenkimal villuslar ara villuslara ayrılır ve en belirgin olarak gebeliğin ilk dönemlerinde görülürler (Şekil 2).

3.3.2. Olgunlaşmamış ara villuslar

Olgunlaşmamış ara villuslar çapı 100-400 μm arasında değişen büyük, bulböz villuslardır. Mezenkimal villuslardan gelişirler ve 8 ila 22 hafta arasında villöz ağacında en baskın tip olurlar. Olgunlaşmamış ara villusların karakteristik stromaları vardır. Mezenkimal hücreler, villusların uzun eksenine boyunca kanallar oluşturmak için bir araya gelen uzun proseslere sahiptirler. Hofbauer hücreleri veya plasental makrofajlar kanallar boyunca ve arasında dolaşıp geçebilirler. Stroma içerisinde arterler, venüller ve kılcal damarlar bulunur. Olgunlaşmamış ara villuslar kök villuslara evrilirler (Şekil 2).

3.3.3. Kök villuslar

Kök villuslar olgunlaşmamış ara villuslardan farklıdır ve çapları 5000 μm 'den (koryonik plağın yakınlıklarına doğru) 80 μm 'ye kadar değişir. Fetal arterler ve venler, fibroblastları,

miyofibroblastları ve makrofajları veya Hofbauer hücrelerini çevreleyen kollajen liflerinden oluşan yoğun bir fibröz stroma içinde bulunur. Bu yapı kalın bir sinsitiyotrofoblastik tabaka ile sarılıdır bu nedenle büyük ihtimalle kök villusların plasenta transferinde rolleri azdır. Kök villuslar villus ağacı için mekanik destek sağlar ve villus kuvvetini ve intervillöz kan akımına empedansı koruyan, ekstrasvasküler bir kasılma sistemi olarak da işlev görebilir (28) (Şekil 2).

3.3.4. Olgun ara villuslar

Olgun ara villuslar, kök villusların tekrar tekrar dallanmasından meydana gelirler. 80-120 µm arasında değişen çapları ile uzun, ince ve hafifçe kıvrık villuslardır. Terminal villuslar olgun ara villusların dış yüzeyinde aralıklarla mevcuttur. Olgun ara villuslar, gevşek stroma ve küçük periferik kan damarları ve kapiller damarlardan oluşan villöz bir gövdeye sahiptir (Şekil 2).

3.3.5. Terminal villuslar

Terminal villuslar olgun ara villuslardan köken alır ve villus ağacının son dallarıdır. Bunlar kısa, yaklaşık 100µm x 80µm ölçülen kısa ve kalın uzantılarıdır. Villus kesit alanının %50'sinden fazlası damarlar tarafından işgal edildiğinden yüksek derecede kılcallaşma vardır. Terminal villuslar vaskülo-sinsitiyal membran ile çevrenmiştir (Şekil 2).

3.4. Maternal Plasenta

Plasentanın anneye ait olan kısmıdır ve uterus endometriyumundan köken alır. Maternal plasenta intervillöz boşlukları çevreleyen trofoblastlar, plasental septumlar ve bazal plaktan oluşur. Bazal plak kapalı oyuklardan oluşan sistemle 10-40 adet lob veya lobüle ayrılır. Bunlara kotiledon denir (29).

Plasental septalar fibrinoid ve çeşitli hücrelerden oluşan, bazal plaktan intervillöz aralığa doğru uzanıp koryonik plağa ulaşmayan ve plasental villus ağacını tam bölmeyen düzensiz yapılardır. Plasental septalar gelişmenin 6–8. haftalarından itibaren oluşmaya başlar ve gebelik yaşıyla doğru orantılı olarak gelişirler. Bazal plak büyümesine uterus duvarı adapte olamaz. Bazal plak katlantılar yaparak septaları oluşturur. Septalar 6–8. haftalarda oluşmaya başlar. Bu haftalarda septaların yapısında sitotrofoblast ve onun çok nükleuslu

dev hücreleri, desidual hücreler ile septaların üst kenarlarına tutunmuş, demirleyici villuslar ve onların sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast hücreleri bulunur (30).

Bazal tabaka, maternal ve fötal dokuları ile temas halinde olan oldukça karmaşık bir yapıdır. Ekstravillöz trofoblastları, gebeliğe özel endometriyumal stromayı, fibrinoid, dejenerasyona uğrayan olan villus parçalarını ve maternal damarları ihtiva eder. Maternal ve fetal kökenli bu dokular doğumdan sonra akıntıyla atılırlar (31).

3.5. Fötal Plasenta

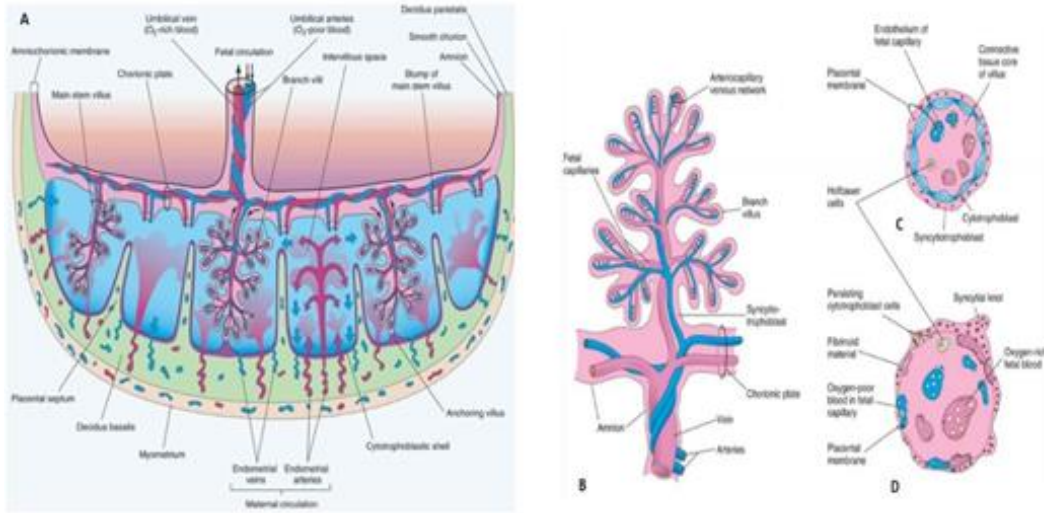
Fetüse ait olan bu kısım koryon villuslarından oluşmuş olup koryon frondozumdan köken alır. Fetal yüzünü amniyon epiteli örterken intravellöz boşluğa bakan yüzünü sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast hücrelerinde oluşan bir tabaka örter.

Koryon plağının amniotik kaviteye bakan yüzü amniyon ile örtülüdür. Amniyon tek tabakalı kübik veya prizmatik epitelden oluşmuştur. Epitelin altında bulunan amnion mezoderminin ince tabakası gevşek retiküler bir alan oluşturarak sonraki koryonun mezoderm tabakasına yarıklar şeklinde yapışır. Bu yarıklar şeklindeki tabakanın devamında koryonik mezoderme ait sert bir tabaka, ilkel bir bazal membran ve en nihayetinde fibrinoid bulunur. Bu bazal membranın altında değişken sayıda ekstratrofoblastlar bulunur. Koryon plağından çıkan kök villuslar, villus ağacının ilk dallanmasını oluşturur. Terminal villuslar arasında dar yarıklar bulunur. Villus ağacının kalınlığı iki ile dört santimetre arasında değişir. En kalın dalları umbilical kordun koryon plağıyla birleştiği yere yakın bulunan kök villusların ana dallarıdır. Bunlar histolojik olarak incelendiğinde musküler duvarları fibröz stroma ile çevrelenmiş paravasküler kapillerler içeren birkaç arter, ven ya da arterioller ve venüller yapıda bir özellik gösterir.

Koryon ağacında bir arter ve bir venden oluşan kapalı bir sistemi vardır. Anneden gelen temiz kan uterusun spiral arterleri ile bazal plağa girer. Bu arterler düzenli aralıklarla intervillöz boşluklara açılırken arterlerin lümenleri açılma yerlerine doğru daralma gösterir. intervillöz boşluklara yüksek basınçla dökülen temiz kan koryon ağacında bulunan küçük villuslara çarpar, villustaki kan ileri doğru itilir ve villusların dikleşmesi sağlanır (30).

3.6. Plasental dolaşım

Anne kanı, desidua basalisden çıkan 70 spiral arterden plasental intervillöz boşluğa akar. Kan, yüksek basınç altında koryonik plağa ulaşır, bazal plakaya yayılır ve kotiledonların etrafında dağılır. Bu durumdan dolayı fetal kanla yoğun madde ve gaz değişimi engellenir. Daha sonra kan desidual damarlar boyunca maternal dolaşıma geri döner. 150-200 ml hacminde kan değişimi, intervillöz boşluklarda dakikada 3-4 kez gerçekleşir. İki umbilikal arter, oksijeni düşük ve artık rnlerce yüksek kanı fetüsten plasentaya taşır. Arterler koryonik plaktan dallanır ve kotiledonlardan köken alan arterlere ulaşır. Geniş kılcal ağda, villusların yüzeyinde maternal kanla dolaylı bir temas oluşur (19). Plasental damarların otomatik regülasyon sistemleri yoktur. Annedeki kan basıncında bir düşüş, sonuç olarak fetüse kan iletiminde bir azalmaya yol açar (şekil 3) (16).



şekil 3: Placenta ve koryonik villi şematik gösterimi (32). A) Full-term bir plasentanın enine kesitinde villöz koryon ve desidua bazalis, fetal plasental dolaşım ve maternal plasental dolaşımı arasındaki ilişki B) Arterio-kılcal-venöz sistem. C) Sinsityotrofoblast ve sitotrofoblastlardan oluşan plasental zarı gösteren 10 haftalık koryonik villus kesiti. D) Bariyerin kalınlığının azalması karşılığında, kaybolan sitotrofoblastlarla ve artan yüzey alanıyla birlikte, full-term koryonik villus kesiti.

3.7. Plasentanın Görevleri

Normal fetal gelişim, placenta aracılığıyla annenin fetüse besin maddelerinin yeterli transferine bağlıdır. Fetus için mevcut besinlerin alımı annenin beslenmesine bağlıdır, aynı zamanda plasentanın besin transfer kapasitesine de bağlıdır. Plasentanın transfer kapasitesi

dört ana başlıkta toplanabilir ve bunlardan bir veya daha fazlasının eksikliği fetal büyüme restriksiyonu (FGR) ile sonuçlanabilir (33). Bu başlıklar:

1. Plasental yapı (büyüklük, yüzey alanı ve besin değişim bariyerinin kalınlığı).
2. Plasentanın maternal kan perfüzyonu.
3. Placenta içinde fetal kan akışı.
4. Besin taşıyıcı sistemlerinin sayısı ve etkinliği.

3.7.1. Transfer ve değişim fonksiyonları

Plasenta hamilelik boyunca, solunum, sindirim, metabolizma ve atılım gibi fetal gereksinimleri yerine getirerek uterustaki ortamı sabit tutulur. Aslında, fetal büyüme ve gelişme büyük oranda bu fonksiyonların yeterliliğine bağlıdır. Düşük moleküler ağırlıklı ve polar olmayan maddeler plasentayı büyük ölçüde pasif difüzyonla geçirirken, polar ve büyük moleküler ağırlıklı maddeler aktif veya kolaylaştırılmış taşıma ile taşınır (34).

Fetüs yaklaşık iki dakikalık hipoksiyi sürdürecektense kadar oksijen depoladığı için oksijen temini sürekli. Anneden fetusa oksijen transferi pasif difüzyonla olur. Su amnion ve koryondan serbestçe geçebilir. Karbondioksit plazmada rahatça çözündüğünden konstrasyon gradyanına göre plasenta boyunca hareket eder. Sodyum, potasyum ve klor iyonları, üre ve bilirubinin taşınması pasif olarak gerçekleşir. Glikoz ve fruktoz, fetal büyüme ve gelişim için gerekli olduğundan difüzyon ile taşınır. Amino ve nükleik asitler, kalsiyum, demir, folik asit ve B-12 vitamini fetusa aktif taşımayla geçer. Kalsiyum iskelet ossifikasyonu için özellikle son trimesterde gereklidir. Folik asit ve B-12 vitamini normal büyüme için gerekli ko-enzimler/faktörlerdir.

3.7.2. İmmünolojik fonksiyonlar

Hamilelik boyunca maternal bağışıklık sistemi aktiftir ancak fetal proteinlere karşı toleranslıdır. Plasenta, fetal ve maternal dolaşımları arasında bir bariyer görevi görür. Çalışmalara göre, sinsitiotrofoblastların kendi antijenlerinin maskelendiğinden dolayı hiç eksprese etmediği ya da bunlara sahip olunmadığı belirtilmiştir. Ayrıca plasenta, progesteron, kortikosteroid ve human chorionic gonadotropin hormonunun (hCG) yüksek konsantrasyonlarını içeren sıvılar üretir ve bunların içinde yüzer. Bu hormonlar maternal

immün hücrelerin sitotoksik etkilerini azaltmak için lokal olarak hareket edebilir. Placenta, maternal immün hücrelerin veya antikorların fetüse geçişini denetleyerek filtre görevini üstlenir. İmmunoglobulin G (IgG) bu filtreden geçen istisna bir antikordur çünkü IgG doğum sonrası erken dönemde bakteriyel ve viral enfeksiyonlara karşı bir dereceye kadar pasif bağışıklık sağlayarak fetusa aktif olarak taşınır (34, 35, 36).

3.7.3. Endokrin fonksiyonları

Placenta, steroid, peptid hormonlarını ve relazing faktörleri salgılayabilen endokrin bir organdır. Bunların çoğu koryonda bulunurken, Gonadotropin-relazing hormon (GnRH) ve corticotropin-relazing faktör (CRF) sinsitiyotrofoblastlarda yer alır. Placental steroid hormonları, anne, fetus ve placentaldaki anatomik olarak farklı fakat biyokimyasal olarak birbirini tamamlayan yapıların interaksiyonlarından türevlenir (37).

3.8. Adrenomedullin

Adrenomedullin (ADM) 1993 yılında Kitamura ve arkadaşları bazı peptidlerin trombositik adenozin monofosfat (cAMP) düzeylerine etkisini araştırırken insan feokromasitoma hücrelerinde hipotansif etkili 52 aminoasitten oluşan endojen vazodilatör bir peptid keşfettiler. Feokromasitoma hücrelerindeki gibi normal adrenal medulla hücrelerinde de bol miktarda bulunması nedeni ile Kitamura ve bu peptide adrenomedullin ismini vermişlerdir (38). ADM'nin keşfinden sonra bu peptidin pek çok dokuda bulunduğu (39) ve bir hormon gibi davranarak otokrin/parakrin tarzda çok yönlü biyolojik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Hinson ve arkadaşları ADM'nin hipofiz üzerine etkilerini hayvan deneylerinde göstermişlerdir. ADM ön hipofizde doza bağımlı olarak adrenocorticotrophic hormone (ACTH) salınımını inhibe etmektedir. Adrenal bezde ADM belirgin olarak aldosteron üretimini inhibe etmekte ayrıca medulla hücrelerinden de bol miktarda ve nikotinik reseptör uyarımına yanıt olarak katekolaminlerle birlikte salgılandığı belirlenmiştir. Ratlarda pankreas adacık hücrelerinde insulin sekresyonunu uyarıcı etkileri vardır (41).

3.8.1. Adrenomedullinin vasküler etkisi

Adrenomedullinin, vasküler yapı üzerine vazodilasyon etkisinin yanı sıra vasküler düz kas hücrelerinin çoğalmasında regülatif etki, endoteliyal apoptozisi inhibe etme ve anjiojenezi ilerletilme gibi birçok önemli etkisi olduğu gösterilmiştir (42).

ADM intravenöz verilip takip edildiğinde sistolik ve diyastolik kan basıncında görülen düşmenin nedeni adm'nin vazodilatatif etkisidir (43). Adrenomedullin bir dizi reaksiyon yoluyla (endotelyum bağımlı veya bağımsız) sistemik ve pulmoner kan damarlarında adrenerjik olmayan ve kolinerjik olmayan vazodilatatif tepki oluşturarak kalbe, böbreklere, adrenal beze ve akciğerlere giden kan miktarının artmasına neden olur. ADM ve calcitonin gen-related peptid (CGRP) reseptörlerinin etkisi ile vasküler düz kas hücrelerinde ve endotelyal hücrelerde intraselüler cyclic adenosine monophosphat (cAMP) konsantrasyonunda artış meydana gelir (44). Vasküler endotelyal hücrelerdeki cAMP miktarının artmasıyla hücre içi depolardan ve iyon kanallarından intraselüler kalsiyum artışı görülür. Nitrik oksit sentaz enzimi aktiveleşir. Oluşan nitrik oksiti guanilat siklaz aktivasyonu izler (45). Endotelyum-bağımlı mekanizma ile rahatlama görülmesine karşın venlerde CGRP ve ADM reseptörlerinin aktivasyonu gösterilememiştir (46).

3.8.2. Adrenomedullin ve üreme sistemi

Adrenomedullin ovaryumların granüloza hücrelerinde üretilir ve foliküler faz boyunca artar. Bir yandan bu hücrelerin büyümesinde stimülatif etki ederken, aynı zamanda folikül stimülan hormonun (FSH) etkisini artırır (47). ADM ve reseptör bileşenleri uterusun endometrium tabakasında (48), plasenta da fetal membranda (49,50), stromal makrofajlarda (51) ve trofoblast hücrelerinde (52,53) üreme sistemi dokularında bol miktarda bulunur. Plazmada ADM seviyesi foliküler fazda artarken menstürel siklusun luteal fazında azalır (54). Uterusta bulunan ADM reseptörleri hamilelik süresince artar. Galanin-bradikinin tarafından indüklenen uterus kontraktilesinin ADM tarafından inhibe edildiği tespit edilmiştir (55).

Erken dönemlerden itibaren fetal dokuda görülen ADM sinsityotrofoblastlarda, fetal membranlarda ve amniyotik epitelde sentezlenir. Özellikle amniyotik epitelde sentezlenen ADM nin miktarı amniyon sıvısında plazmadan daha fazla bulunmaktadır. Umbilikal vende umbilikal artere oranla ADM konsantrasyonu daha yüksektir. Bu durum ADM üretiminin

plasentayla ilişkisini olduğunu ortaya koymaktadır (56). Normal bir hamilelik süresinde ADM çeşitli görevler üstlenir. Plazmada yüksek ADM seviyesi periferik vazodilatatör ve kardiyak output artışı gibi maternal hemodinamik değişikliklerle ilişkilidir. ADM lokal uteroplazental sirkülasyonu düzenleyebilir. Amniyon sıvısındaki hormonlar lokal antimikrobiyal savunmada etkin olabilir. ADM embriyogenezi, plasental büyümeyi ve anjiogenezi ve uterus kontraktilesini düzenleyebilir (57). Ayrıca hamilelikle birlikte hipertansiyonun ortaya çıkmasında ADM yokluğunun rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. Bazı bilim adamlarının yaptıkları araştırmalar sonucu preeklampitik kadınlarda ADM konsantrasyonu ve ADM gen ekspresyonunun umbilikal arter, fetal membranlar ve plasentada daha yüksek olduğu ortaya konmuştur (58). Bazılarına göre ise anne kanında, kord kanında ve/veya amniyon sıvısında ADM artışı yoktur; ancak akut stresle ADM üretimi stimüle olur. Üretilen ADM sistemik vazokonstriksiyonda fetoplazental perfüzyonun devamlılığının sağlanmasında önemli rol oynar. Buna göre ADM hamilelikteki hipertansiyonda önemlidir (59). ADM'nin meme dokusunun epitelyal hücrelerinde üretildiği ve ayrıca anne sütünde tespit edildiği bilinmektedir. Bu da anne sütündeki ADM'nin büyümenin regülasyonu, neonatal intestinal epitel maturasyonu, gastrointestinal sekresyon ve motilite, ayrıca antimikrobiyal defans da etkili olabileceğini göstermektedir (60).

3.9. Soluble Fms-Benzeri Tirozin Kinaz-1 (sFLT-1)

Soluble Fms Benzeri Tirozin kinaz-1 (sFLT-1), plasenta büyüme faktörü (PIGF) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) için endotelyal bir reseptördür. İnsan plasentasında complimenter DNA kütüphanesinin taranması sonucunda olmuştur. sFLT-1, fms-benzeri tirozin kinaz-FLT'nin (fms-benzeri tirozin kinaz) ekstraselüler ligand-bağlayıcı bir parçasından oluşur ve dolaşıma VEGF ve PIGF bağlandığında antagonize eder (61,62).

VEGF, farklı zamanlarda plasentanın farklı bölgelerinden salınır. Örneğin; birinci trimesterde plasentanın villöz trofoblastlarından salınırken term plasentada ekstrasellüler trofoblastlarından salınır. Doğum zamanı ise fetal ve maternal makrofajlardan salınır. VEGF, endotele özgü bir mitojen olup anjiogenezin uyarılmasında anahtar role sahiptir.

Preeklampitik hastalarda nitrik oksit (NO) ve prostasiklin (PGI₂) sinyal moleküllerinin üretimini stimüle ederek vazodilatasyona neden olur. VEGF, bu fonksiyonlarını aktive etmek için iki reseptör kullanır: VEGF-R ve VEGF-R1. Bu reseptörler üç kısımdan oluşur; tirozin kinaz aktivitesi gösteren hücre içi bölüm, transmembranik bölüm ve immunglobulin benzeri bir yapı gösteren ligand bağlayıcı hücre dışı bölüm (63, 64).

Fms benzeri tirozin kinaz -1 (FLT-1)' in maternal serumda saptanabilen çözünmüş formu olan sFLT-1, FLT-1'in aksine sitoplazmik ve transmembran alan içermeyip, sadece ligand bağlayıcı alan içerir. Dolaşımında VEGF'e bağlanarak onun endojen reseptörlerle etkileşmesini önler. Bunun yanında VEGF ailesinin bir üyesi olan ve plasentada yapılan PlGF'ye bağlanarak onu antagonize eder (65). Hücre kültürlerinin ve plasental dokuların in vitro çalışmalarında sFLT-1' in, plasental villus hücrelerinden ve trofoblastlardan azalmış oksijenizasyona yanıt olarak salındığı gösterilmiştir. Preeklampitik gebelerin plasenta ve kanlarında sFLT-1 düzeyi normal gebelere oranla daha yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Hipertansiyon ve proteinüri oluşumların öncesinde (yaklaşık 5 hafta) sFLT-1 düzeylerinin arttığı ortaya konmuştur. Preeklampitik gebelerde 20. haftadan sonra sFLT-1 düzeyi artarken normal gebeliklerde sFLT-1 düzeyi ancak 32. Haftadan sonra artmaktadır. İki grupta da doğum sonrası sFLT-1 düzeyleri hızlı bir şekilde düşmektedir. Bu durum enzimin büyük oranda plasenta kökenli olduğuna işaret etmektedir (66).

3.10. Gestasyonel Diyabetes Mellitus

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) gebelik sırasında başlamış veya ilk defa gebelik sırasında fark edilmiş olan herhangi bir düzeydeki glukoz tolerans bozukluğudur. Farklı düzeylerde hiperglisemi ile sonuçlanır (67). Hiperglisemi anne ve bebekte bazı komplikasyonların oluşmasına neden olur. Annede hipertansiyona, preeklampsiye ve gebelik sonrasında diyabete neden olur. Bebekte makrozomiye ve konjenital malformasyonlara neden olmaktadır. Normal gebelikte ortaya çıkan ve ilerleyici özelliği olan insülin direnci, gebeliğin ortasında gelişmeye başlar ve gebeliğin üçüncü trimesterında ilerler. Gebelikte insülin direncinin ortaya çıkmasında olası nedenler olarak plasentada bulunan hormonal salgılar, adipokinler, tümör nekroz faktörü α (TNF- α), insan plasental laktojen ve insan plasental büyüme hormonu gibi faktörler gösterilmektedir. Bunun

yanında, gebelik süresince östrojen, progesteron ve kortizol gibi moleküllerin artması da glukoz-insülin dengesinin bozulmasına neden olur (68). Gebelik boyunca periferik insülin direncini ortadan kaldırmak için pankreastan insülin salınımı artar. Pankreas, insülin direncinin metabolik baskısını tolere edebilmek için yeterli miktarda insülin salgılayamadığında GDM ortaya çıkar (68). GDM li hastaların çok az bir kısmında glukoz tolerans bozukluğunun nedeni gebelik öncesi tip 2 iken büyük bir kısmında ise glukoz tolerans bozukluğu gebelik sırasında ortaya çıkmaktadır (69). Gestasyonel diyabetes mellitus genellikle doğumdan sonra ortadan kalkar ve kan şekeri normal düzeye döner. Doğumdan sonra diyabetin kalıcı olma ihtimali ise %5 civarındadır. 5 yıl içinde tip 2 diyabet gelişme riski %50'dir (70). Ayrıca daha sonraki gebeliklerde gestasyonel diyabetes mellitusun %45'lik bir frekansta ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (71).

3.10.1. Gestasyonel Diyabetes Mellitus'ta plasental anjiyogenez

Diyabetik metabolik durumun başlamasıyla GDM gebeliğin ikinci yarısından itibaren plasentaya hasar verir. Bu, gebeliklerin sonraki aşamalarında gerçekleşen süreçleri etkilediği ve büyük olasılıkla vaskülojenezi etkilemediği anlamına gelir. GDM'den etkilenen vasküler değişikliklerin çoğu gelişimde anjiyogenez ve mikrovasküler remodellemede görülebilir (1). Bu, gebelik öncesi diyabetin etkilerinin vasküler gelişim üzerinde GDM'den farklı bir etkiye sahip olacağını göstermektedir. GDM erken gebelikte plasental gelişimi bozar ve plasental vaskülarizasyonun azalmasına yol açar. Bu durum olumsuz sonuçlara yol açmış ve araştırmalarda artan veya azalan plasental vasküler gelişim rapor edilmiştir. GDM plasentasında, kök villus ve serbest villuslar çeşitli boyutlarda kılcak yapılarında artış gösterir (72). Sinsityotrofoblast hücre katmanında birçok vakuolar oluşum ve villöz stromada kollajen liflerinde bir azalma bulunur. Tüm villuslar vasküler oluşumlarla sarılır. GDM plasentalarında, endotel direncindeki değişikliklerin yanı sıra hipervaskülarizasyon eğilimi bulunmuştur. Plasental vasküler gelişimdeki bu değişikliklerin sadece anne üzerinde değil aynı zamanda fetus üzerinde de bir etkisi olduğunu unutmamak gerekir. Damarlardaki değişiklikler nedeniyle kardiyovasküler komplikasyonlar ve retinopati riski daha yüksektir (73).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Plasentaların Elde Edilmesi

Araştırmalarımıza Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan etik onayı alarak çalışmaya başlandı. Çalışmamızda 20 GDM'li ve 20 normotansif gebe hasta olmak üzere toplamda 40 gebe (yaş farkı gözetmeksizin) hastadan bilgilendirme onam formu onayı alınarak plasentalar elde edildi. Çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinin Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran annelerin doğum sonrası plasentalarını çalışmada kullanmak üzere onay formu alındı. Ameliyathaneden alınan plasentalar serum fizyolojik ile yıkadıktan sonra doku takibi için uygun koşullar altında %10'luk tamponlanmış nötral formaline alınarak Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi.

4.2. Işık Mikroskopik İnceleme İçin Dokuların Takibi

Plasentalardan doku takibi için $1 \times 1 \text{ cm}^3$ boyutlarında kesitler alındı. Alınan kesitler, içinde %10'luk formalin çözeltisi bulunan numaralı boş şişelere koyuldu. Daha sonra bu numuneler tespit işlemi için 16 saat bekletildi. Tespit aşamasından sonra doku parçalarından formalin solüsyonun uzaklaştırmak amacıyla 1 gece akar çeşme suyu altında bekletildi. Doku parçalarını dehidrasyon işlemi için %50, %70, %80, %90 ve %96'lık alkollerde toplamda 2 gün bekletildikten sonra son olarak absöüt alkol (%99,9) içerisinde 2x20 dakika bekletilerek dehidrasyon işlemi tamamlandı. Alkolü uzaklaştırmak amacıyla dokular 2x15 dakika ksilolde bekletilerek şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. İnfiltrasyon için 58°C'ye ayarlanmış etüvde 2x1 saat parafin içinde beklettikten sonra bloklama işlemi için doku parçaları parafin bloklara gömüldü. Gömme işleminden sonra her bir parafin bloktan, tam otomatik, rotari mikrotom (Leica RM2265, Germany) yardımıyla 5µm kalınlığında kesitler alındı.

Elde edilen kesitlere Hematoksilen-Eozin (H-E) ve Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama yöntemlerinin yanında ADM ve sFLT-1 immün boyamalar uygulandı. Preparatlar Zeiss Imager A2 ve Zen 3.00 yazılım programı kullanılarak ışık mikroskopunda incelendi.

4.3. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü

Parafin kesitler ksilolde 2x15 dakika bekletildi. Azalan alkol derecelerinden sırasıyla 8,6 ve 4 dakika bekletildikten sonra distile suya kadar getirildi. Harris hematoksilen solüsyonunda 8 dakika kadar bekletildi. Kesitler 5 dakika akarçeşme suyu altında bekletildi. Çeşme suyundan alınan kesitler dinlenmesi için birkaç dakika distile suda bekletildi. Zıt boyama için kesitler Eozin solüsyonunda 2 dakika bekletildi. Kesitler dehidratasyon işlemi için yükselen derecelerde etil alkol dizisinde geçirildi. Son olarak da parlatma işlemi için 2x15 dakika ksilolde geçirildi ve kesitler entellan ile kapatıldı.

4.4. Periodic Acid Schiff (PAS) Boyama Protokolü

- 1- Parafin bloktan elde edilen dokukesitleri 2x10 dakika ksilolde bekletilerek deparafinize edildi.
- 2- Azalan alkol serilerinden; %100 Alkolde 10 dakika, %96'lık alkolde 5 dakika, %90'lık alkolde 5 dakika, %70'lik alkolde 2 dakika ve %50'lik alkolde 2 dakika bekletilerek distile suya kadar getirildi.
- 3- Doku kesitleri Periodic Acid Schiff (cat#04-130801, Bio Optica, Milano, 20134, Italy) hazır kit prosedürü takip edilerek aşağıdaki solüsyonlar kullanıldı.
- 4- Kesitler üzerine A solüsyonundan 10 damla dökülerek 30 dakika beklendi.
- 5- Doku kesitleri yıkamadan üzerindeki solüsyon dökülerek, üzerlerine solüsyon B solüsyonundan 15 damla damlatıldı ve 10 dakika beklendi.
- 6- Kesitler çeşme suyunda şale içerisinde 5 dakika yıkandıktan sonra, 2 dakika distile suda yıkandı.
- 7- Kesitler üzerine 10 damla C solüsyonundan damlatılarak 10 dakika bekletildikten sonra DS'da yıkandı.
- 8- Kesitler üzerine 10 damla D solüsyonundan damlatılarak 20 dakika bekletildikten sonra DS'da yıkandı.
- 9- Kesitler üzerine 10 damla E solüsyonundan damlatılarak 2 dakika bekletildi.
- 10- Doku kesitleri yıkamadan üzerindeki solüsyon dökülerek, üzerlerine solüsyon F solüsyonundan 10 damla damlatıldı ve 3 dakika beklendikten sonra DS'da yıkandı.
- 11- Kesitler üzerine 10 damla G solüsyonundan damlatılarak 2 dakika bekletildikten sonra çeşme suyunda mavi boya gidinceye kadar yaklaşık 5 dakika yıkandı.

12- Doku kesitleri artan alkol serilerinden geçirildi. Absolu alkolde (%100'lük) 1dakika bekletildi.

13- Doku kesitleri Parlatma ve temizleme için 2x10 dakika Ksilol serilerinden geçirilerek daha sonra boyanmış doku üzerine Entellan damlatılarak lamelle kapatılıp kuruduktan sonra mikroskopta incelemeye hazır hale getirildi.

4.5. sFLT-1 İmmun Boyama Yöntemi

5µm kalınlığında alınan doku kesitler 2x15 dakika boyunca ksilolde bekletildi. 8, 6 ve 4 dakika boyunca kesitler azalan alkol dizisinden geçirildi. Distile suda bir müddet bekletildikten sonra antijen retrieval işlemi yapılması için 3 dakika boyunca Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) solüsyonuna mikrodalga fırında bekletildi. Mikrodalga fırından alınan kesitler, soğuma işlemi için 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Distile suya alınan kesitler kurutulduktan sonra, İmmunohistokimya kutusundan alındı kesitlerde dokunun olduğu yer hidrofobik kalem ile çizildi. İmmunohistokimya kutusuna alınmış olan kesitlerin üzerine 3x5 dakika boyunca dokulara Phosphate Buffer Saline (PBS) ilave edildi. Bu aşamalarda immunohistokimya kutusunun nemli olması için hazırlanan sıcak su kutuya ilave edildi. Kesitler üzerindeki PBS alınarak hidrojen peroksit solüsyonu damlatılıp 20 dakika bekletildi. Soluble Fms-benzeri tirozin kinaz-1 primer antikoru (Abcam, cat#ab9540,Cambridge, MA 02139-1517, USA) sınırları çizilmiş dokuların üzerinde pipet yardımıyla damlatıldı ve kesitler +4 °C de overnight edildi.

Sonraki gün PBS' de 3x5 dakika yıkanan kesitler bekletildi. Biotinyli sekonder antikor ile 14 dakika boyunca bekletildi. PBS ile 3x5dakika yıkandı. Streptavidin-peroksidaz damlatılarak15 dakika bekletildi. PBS ile 3x5 dakika yıkandı. Kesitlere 3,3'diaminobenzidine (DAB) damlatılıp 10-15 dakika boyunca bekletildi. PBS ile 3x5 dakika yıkandı. Kesitler Mayer hematoksilen ile 45 saniye kadar zıt boyama yapıldıktan sonra, çeşme suyunda 5 dakika kadar yıkandı. Son olarak kesitler artan alkol serisinden hızlı geçirilip, ksilolde 2x15 dakika kadar bekletilip entellan ile kapatıldı. Preparatlar Zeiss Imager A2 ve Zen 3.00 yazılım programı kullanılarak ışık mikroskobunda incelendi.

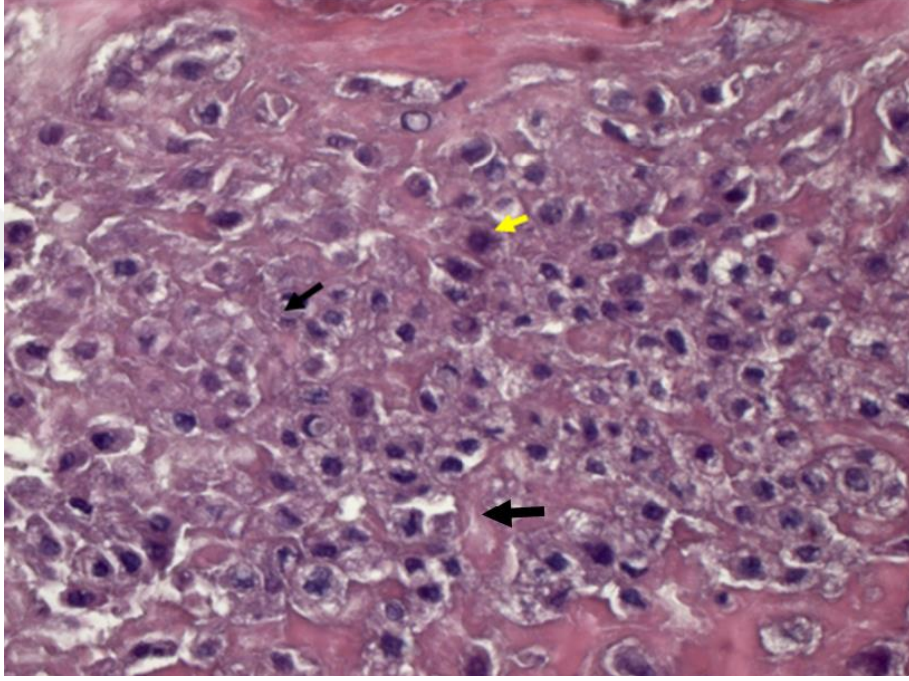
4.6. Adrenomedullin İmmun Boyama Yöntemi

5 µm kalınlığından alınan doku kesitler 2x15 dakika boyunca ksilolden bekletildi. 8, 6 ve 4 dakika boyunca kesitler azalan alkol dizisinden geçirildi. Distile suda bir müddet bekletildikten sonra antijen retrieval işlemi yapılması için 3 dakika boyunca EDTA solüsyonunda mikrodalga fırında bekletildi. Mikrodalga fırından alınan kesitler, soğuması için 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Distile suya alınan kesitler kurutulduktan sonra immunohistokimya kutusunda alındı. Kesitlerde dokunun olduğu yer hidrofobik kalem ile çizildi. İmmunohistokimya kutusuna alınmış olan kesitler üzerine 3x5 dakika boyunca PBS ilave edildi. Bu aşamalarda immunohistokimya kutusunun nemli olması için hazırlanan sıcak kutuya ilave edildi. Kesitler üzerindeki PBS alınarak hidrojen peroksit solüsyonu damlatılıp 20 dakika bekletildi. Adrenomedullin primer antikoru (Abcam, cat#ab69117, Cambridge, MA 02139-1517, USA) sınırları çizilmiş dokuların üzerinde pipet yardımıyla damlatıldı ve kesitler +4 °C de overnight edildi.

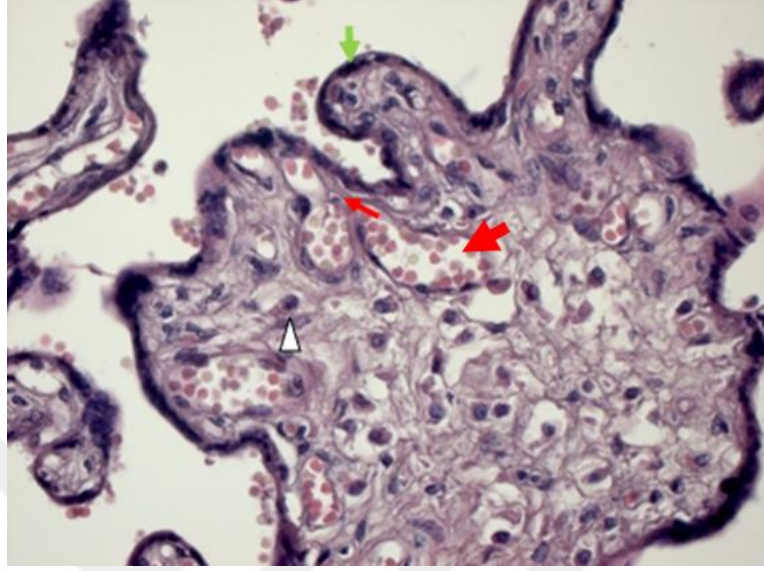
Sonraki gün PBS ile 3x5 dakika yıkanan kesitler bekletildi. Biotinylated sekonder antikor ile 14 dakika boyunca bekletildi. PBS ile 3x5 dakika yıkandı. Streptavidin-peroxidase damlatılarak 15 dakika bekletildi. PBS ile 3x5 dakika yıkandı. Kesitlere DAB damlatılıp 10-15 dakika boyunca bekletildi. PBS ile 3x5 dakika yıkandı. Kesitler Mayer hematoxilen ile 45 saniye zıt boyama yapıldıktan sonra, çeşme suyunda 5 dakika kadar yıkandı. Son olarak kesitler artan alkol serisinden hızlı geçirilip, ksilolde 2x15 dakika kadar bekletilip entellan ile kapatıldı. Preparatlar Zeiss Imager A2 ve Zen 3.00 yazılım programı kullanılarak ışık mikroskopunda incelendi.

5. BULGULAR

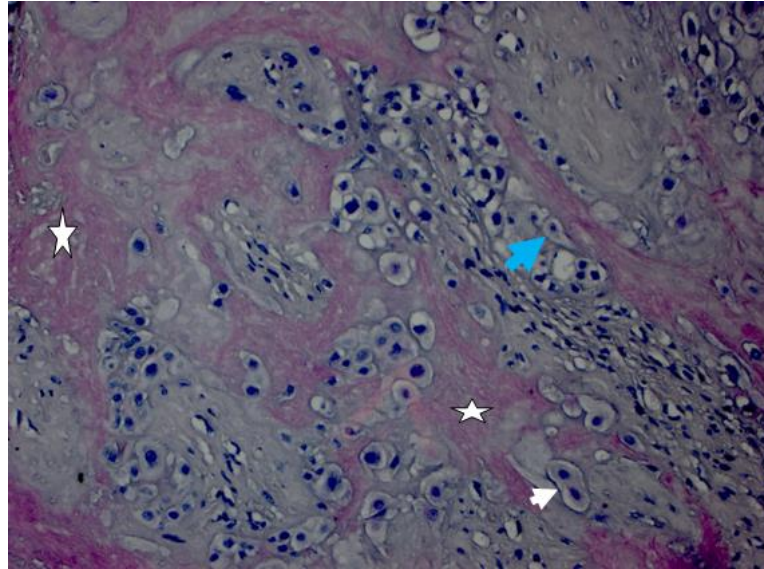
5.1. Hematoksilen Eozin Boyama Bulgular



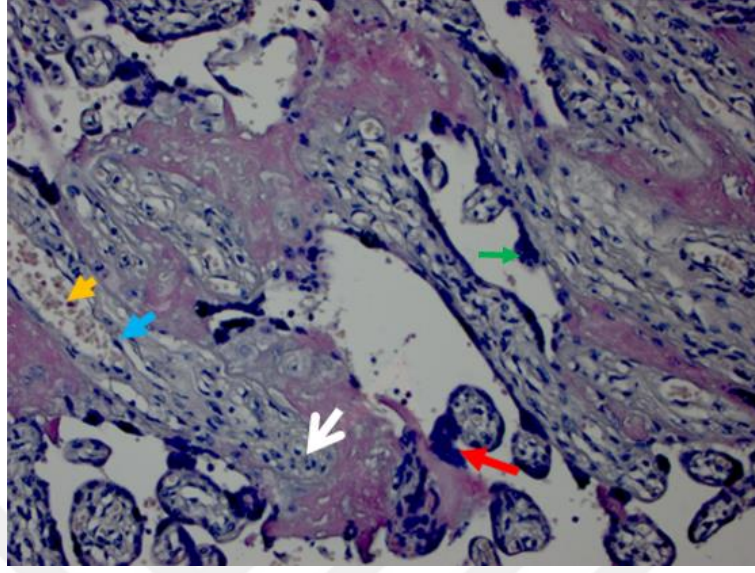
Resim 1: Kontrol grubunda, maternal plasenta bölgesinde desidua hücrelerinin polihedrik görünümlü olduğu, nükleuslarının kromatince zengin (sarı ok) olduğu gözlemlendi. Mezenşimal doku içerisinde kollajen liflerin birbirine paralel düzensiz (siyah ok) olarak dağıldığı ve bağ doku hücrelerinin soliter şekilde dağıldığı görüldü. (Hematoksilen-Eozin, x40).



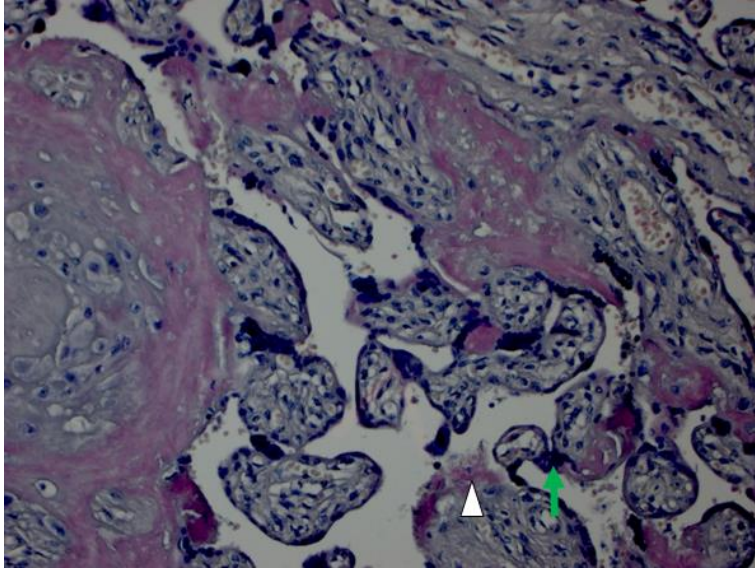
Resim 2: Kontrol grubu f3tal alanda villusların histolojik incelenmesinde sinsityotrofoblast h3crelerinin periferde yassı biçimde (yeşil ok) yerleştiğı villus içinde küçük kapiller damarların içinde eritrositlerin serbest olarak dağıldığı (kırmızı ok) embriyonal bağ doku içinde yer alan bağ doku h3crelerinin ve hofbauer h3crelerinin (3çgen) düzenli ve soliter olarak dağıldığı gözlemlendi. (Hematoksilen-Eozin, x40)



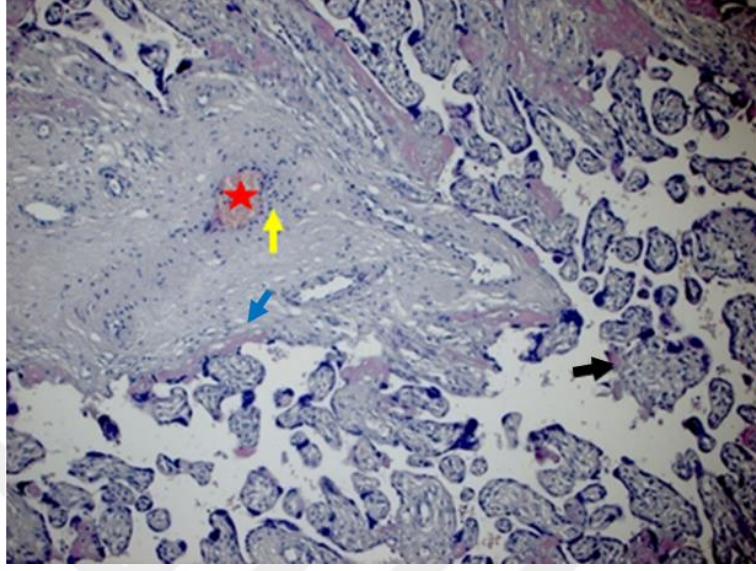
Resim 3: GDM grubu örnekte maternal bölgede desidual h3crelerin bazılarında piknotik nükleuslar (mavi ok) ve sitoplazma kaybı görüldü. H3creler arasında kollajen liflerde artış, yer yer fibrinoid birikimi (beyaz yıldız) görüldü. Desidual h3crelerde membranda hafif düzeyde kalınlaşma (beyaz ok) tespit edildi. (Hematoksilen-Eozin x40)



Resim 4: GDM grubu kök villuslarındaki kan damarlarında dilatasyon (sarı ok) ve konjesyon kanamalar belirgin olup, endotel hücrelerinde hiperplazi (mavi ok), villusların dış kısmında sinsitiyal köprücüklerde artış (kırmızı ok), mononükleer hücre infiltrasyonu (beyaz ok) gözlemlendi. Villus dış kısmında sito ve sinsityotrofoblastların membranının kaynaştığı, sinsityal düğümlerde artış olduğu görüldü (yeşil ok). (Hemotoksilen-Eozin x40)

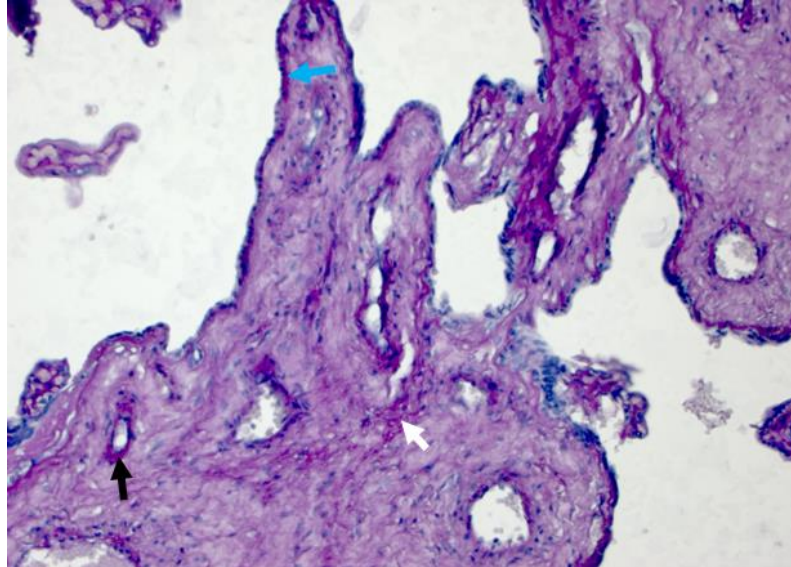


Resim 5: GDM grubu maternal bölümden fetal bölüme doğru uzanan küçük villuslarda sinsityal bölgeler yer yer dejenerasyon (üçgen) ve sinsityal köprülerde (yeşil ok) artış görüldü. (Hemotoksilen – Eozin x40)

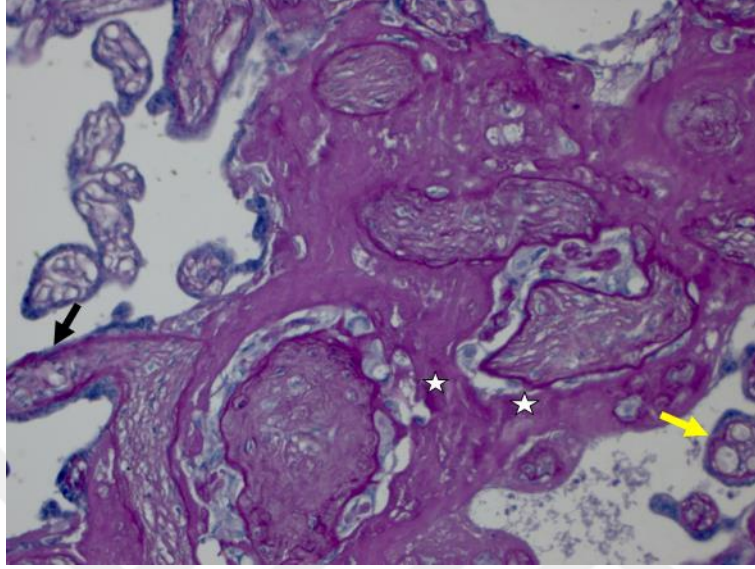


Resim 6: GDM grubu kök villuslarında geniş kan damarlarında konjesyon (yıldız) ve dış kısmında mononükleer hücre infiltrasyonunda (sarı ok) artış, sinsityal bölgelerde dejenerasyon (siyah ok) ve kopma görüldü. Mezenşimal bağ doku içerisinde yer yer vakuoler alanlar (mavi ok) tespit edildi. (Hemotoksilen – Eozin x20)

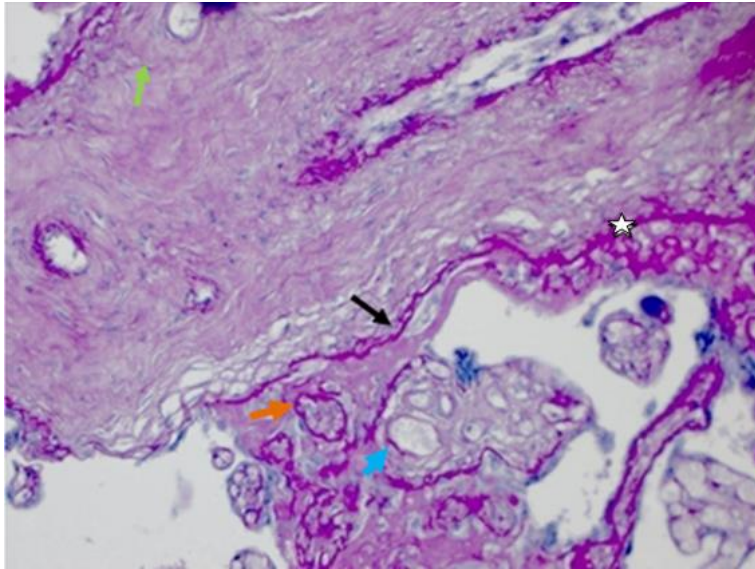
5.2. PAS (Periodic Acide-Schiff) Boyama Bulgular



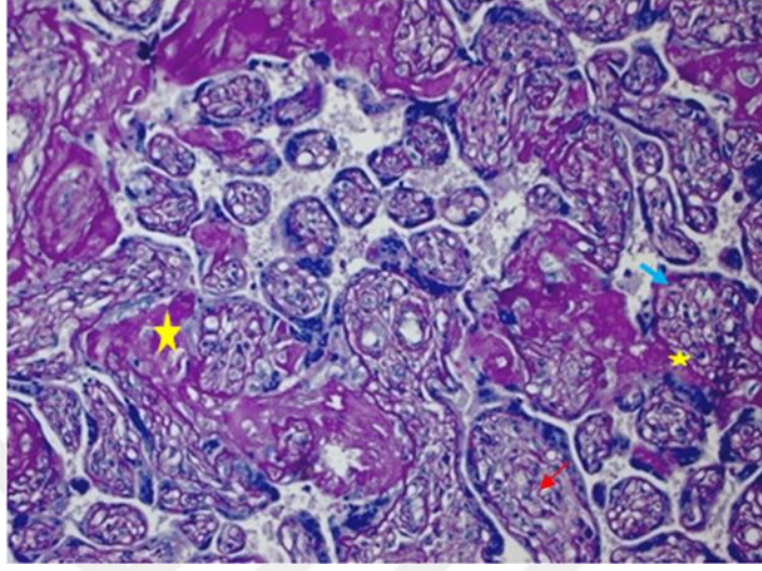
Resim 7: Kontrol grubu PAS boyamada sitotrofoblastik bölgede bazal membran tabakasında PAS pozitif reaksiyon (mavi ok) görüldü. Embriyonel bağ doku içerisindeki kan damarlarının bazal membranlarında (siyah ok) ve bağ doku içerisindeki kollajen liflerde (beyaz ok) PAS pozitif reaksiyon görüldü. (PAS boyama x20)



Resim 8: GDM grubu Maternal bölgelerde villusların sinsityal bölgelerinde membranda kalınlaşma (siyah ok) PAS pozitif, küçük villusların içindeki kapiller damar membranında (sarı ok) PAS pozitif reaksiyon görüldü. Desidual plakların dış kısmında küçük plaklar şeklinde fibrinoid alanların (yıldız) PAS pozitif boyandığı gözlemlendi. (PAS Boyama x40)

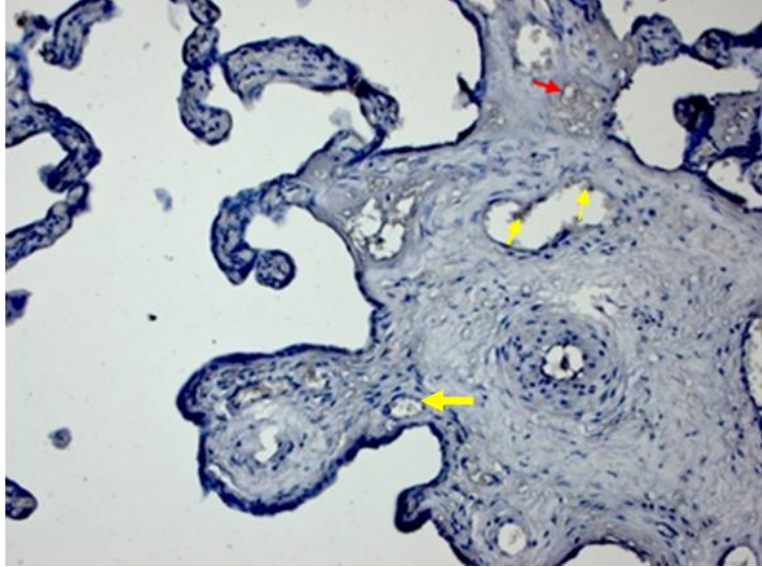


Resim 9: GDM grubunda kök villusları (siyah ok) ve serbest yüzen villusların (turuncu) bazal membranlarında PAS pozitif reaksiyon görüldü. Mezenşimal bağ doku alanı içerisinde bazı kollajen liflerde (yeşil ok) ve fibrinoid plaklarda (yıldız) PAS pozitif reaksiyon izlendi. Desidual bölgelerdeki kan damarlarının hem bazal membranlarında hem endotel hücrelerinde (mavi ok) PAS pozitif reaksiyon görüldü. (PAS boyama x40)

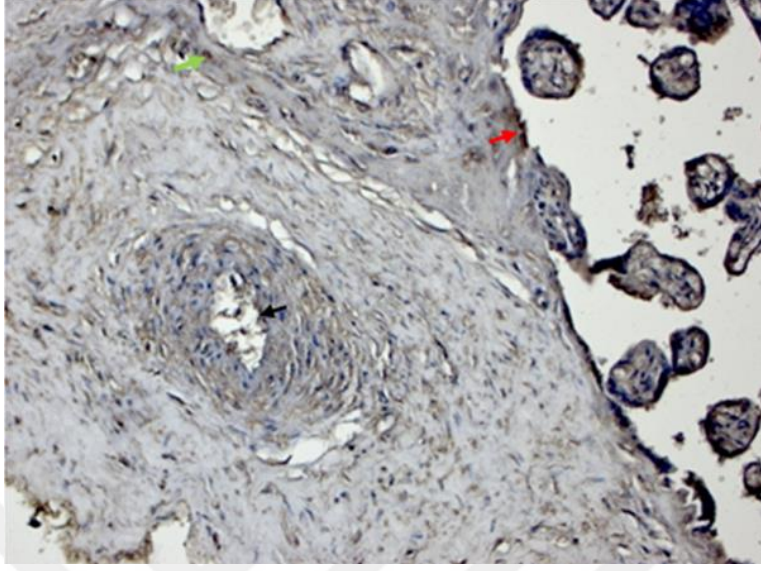


Resim 10: GDM grubu fetal bölümlerdeki küçük villusların bazal membranlarında kalınlaşma (mavi ok) pas pozitif, çok sayıda fibrinoid plaklarda ve villus içerisindeki mezenşimal bağ dokusundaki fibrinoid yapılarda (sarı yıldızlar) pas pozitif reaksiyon görüldü. Villus içerisinde çok sayıda vakuoler yapılar (kırmızı ok) izlendi. (PAS boyama x20)

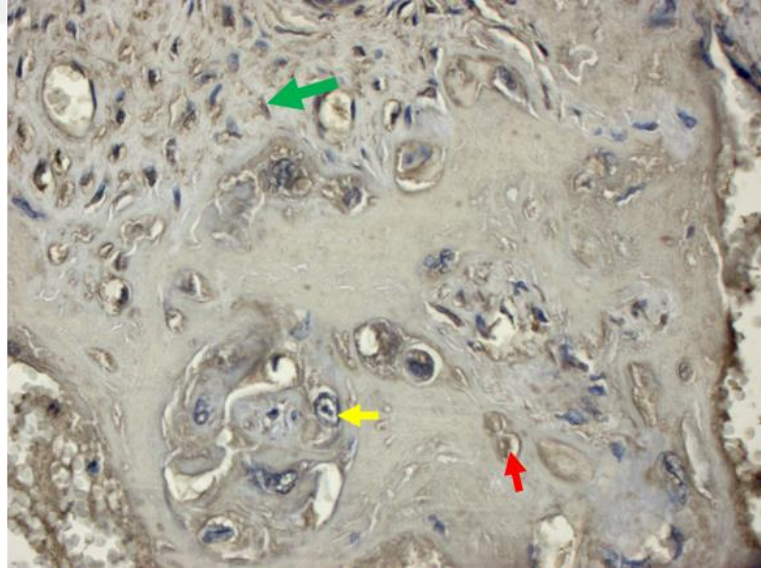
5.3. İmmunohistokimyasal Bulgular



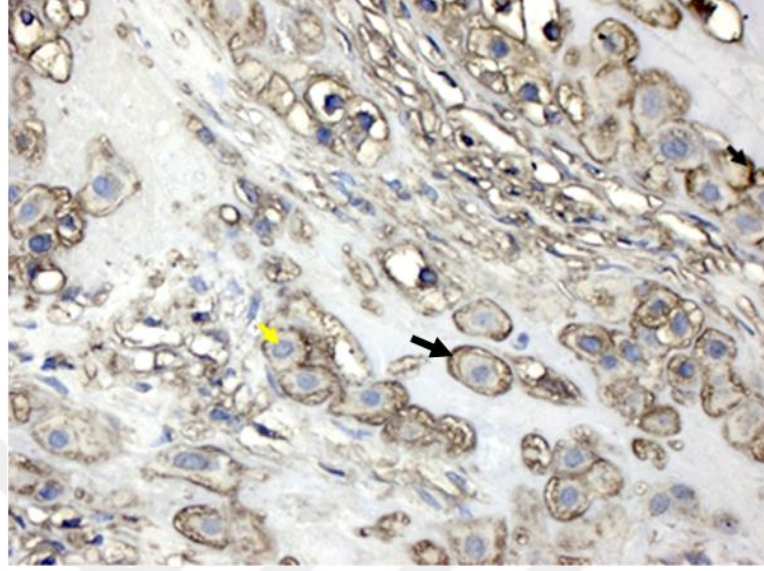
Resim 11: Kontrol grubu kesitlerinde kök villuslarındaki kan damarlarındaki endotel hücrelerinin bazılarında sFLT-1 ekspresyonu pozitif iken (sarı ok) genelde endotel hücrelerinde negatif ekspresyon görüldü. Mezenşimal bağ doku içerisinde bazı küçük çaplı kapillerlerde (kırmızı ok) hafif derecede sFLT-1ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi. (Kontrol sFLT-1 x20).



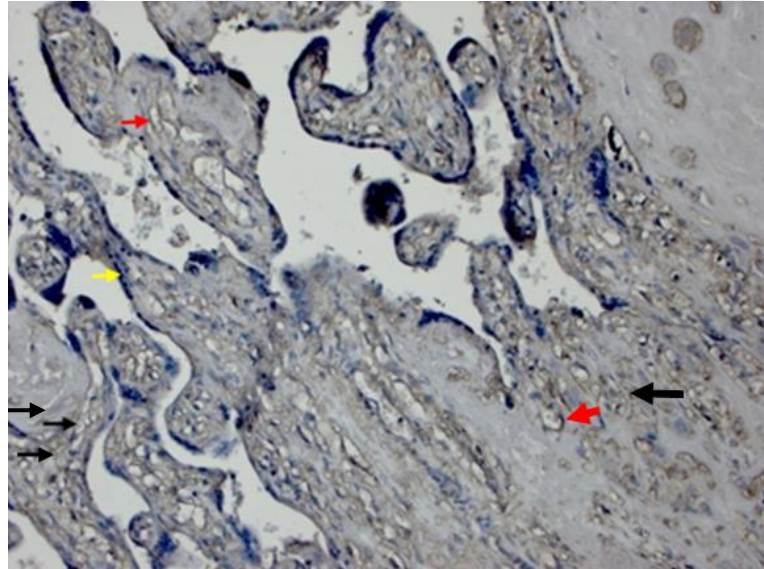
Resim 12: ADM kontrol kesitlerinde maternal bölgedeki arteriolar kesitlerinde endotel hücrelerinde (siyah ok) ADM pozitif, kas hücrelerinde ADM negatif ekspresyonu görüldü. Mezenşimal bağ doku içerisindeki fibroblastlarda (yeşil ok) ve bazı kollajen liflerde ADM pozitif ekspresyonu gözlemlendi. Kök villuslarının sinsitiyal hücrelerinde (kırmızı ok) ADM pozitif ekspresyonu gözlemlendi. (ADM x20)



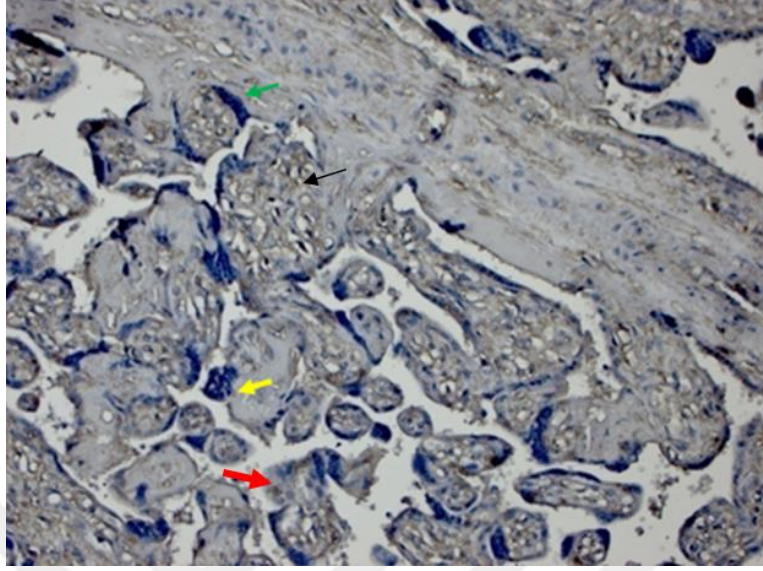
Resim 13: Maternal bölgede desidua hücrelerinin membranlarında ADM ekspresyonu negatif (sarı ok) olarak izlendi. Bazı desidua hücresi nükleuslarında (kırmızı ok) ADM ekspresyonu pozitif olarak görüldü. Kapiller damar epiteli ve bazı fibroblast hücreleri (yeşil ok) çevresinde ADM ekspresyonunda artış gözlemlendi. (Kontrol ADM x40)



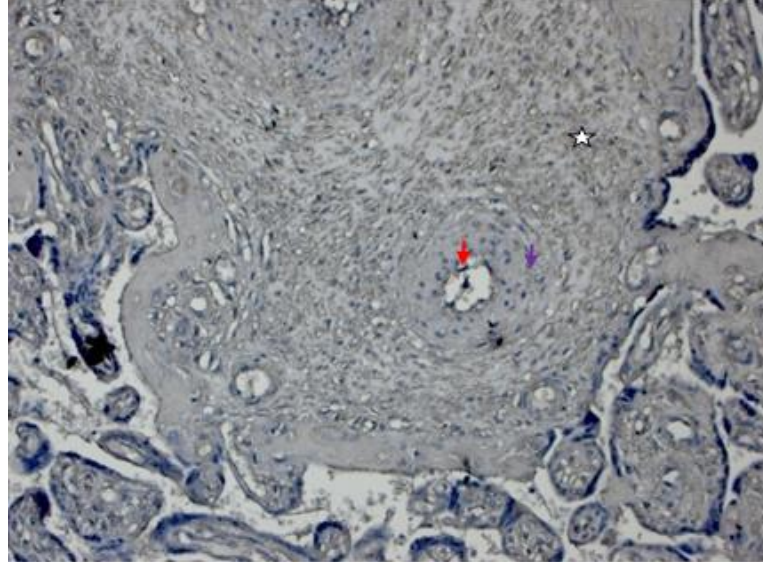
Resim 14: GDM grubu maternal bölgede desidua hücrelerinde ADM ekspresyonu nükleuslarda (sarı ok) negatif olarak izlenirken, desidua hücre membranlarında (siyah ok) ADM ekspresyonu pozitif olarak izlendi. (ADM x40)



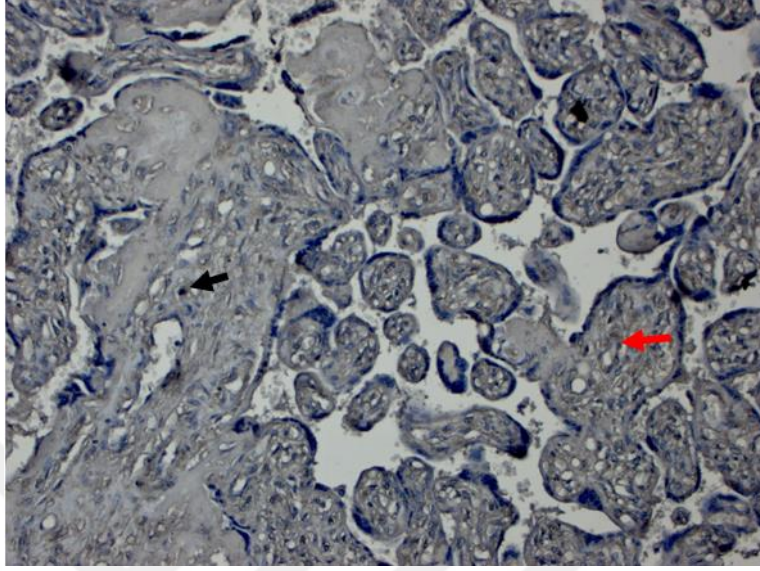
Resim 15: GDM grubu kök villuslarının fetal bölgeye uzandığı alan içerisindeki mezenşimal bağ dokuda damar çevresindeki hücrelerde (siyah ok) ADM pozitif, villusların sinsityo ve sitotrofoblast hücrelerinde (sarı ok) negatif ADM ekspresyonu izlendi. Villusların içindeki genişleyen kapiller damarların membranlarında endotel hücrelerinde (kırmızı ok) ADM pozitif ekspresyonu görüldü. (ADM x20 lik)



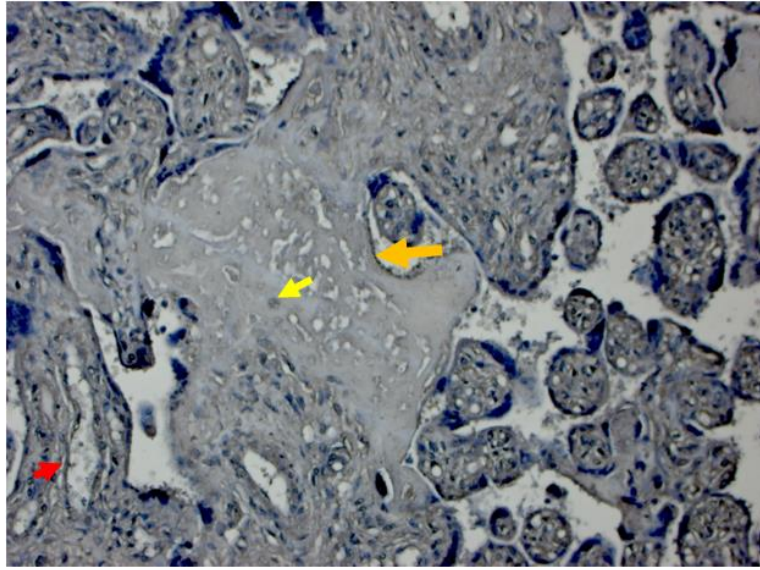
Resim 16: GDM ADM grubu örneklerde Kök villuslarıyla fetal alandaki küçük villusların birleşme yerlerindeki sinsitiyal köprü (yeşil ok) ve sinsitiyal düğümlerde (sarı ok) negatif ADM ekspresyonu görüldü. Küçük villusların bazı sitotrofoblast hücrelerinde ADM ekspresyonu pozitif (kırmızı ok) olarak izlendi. Damar endotelindeki ve damar dışındaki bazı mezenşimal hücrelerde ADM pozitif ekspresyonu (siyah ok) izlendi. (ADM x40)



Resim 17: GDM grubu sFLT-1 örneklerinde maternal bölgedeki göbek kordonu arterinin dalı olan arteiolde endotel hücrelerinde (kırmızı ok) pozitif ekspresyon gözlenirken kas hücrelerinde (mor ok) negatif ekspresyonlar görüldü. Mezenşimal bağ doku içerisindeki (yıldız) hücrelerde ise pozitif sFLT-1 ekspresyonu görüldü. (sFLT-1 x20)



Resim 18: GDM grubu villus içerisindeki genişleyen kapiller damarlarındaki endotel hücrelerinde (kırmızı ok) sFLT-1 ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi. Villus içerisindeki mezenşimal bağ doku içindeki bazı Hofbauer hücrelerinde (siyah ok) sFLT-1 ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi. (sFLT-1 x20)



Resim 19: GDM sFLT-1 örneklerde maternal bölümdeki desidual hücre nükleuslarında ve membranlarında (sarı ok)sflt-1 ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi. Sinsityal bölgedeki membranda (turuncu ok) ve kapiller damarlarının membranlarında (kırmızı ok) sFLT-1 ekspresyonu görüldü. (sFLT-1 x40).

5.4. İstatiksel Bulgular

Villöz kapiller endotellerinde sFLT-1 ve ADM pozitif hücrelerin hesaplanan yüzdeleri SPSS 24.0 programında Nonparametrik Mann Whitney U testine tabi tutuldu ve gruplar arasındaki anlamlılık değerlendirildi (Tablo 1). Her doku örneğinde rastgele seçilen 10 adet villus stromasında yer alan kapillerlerdeki endotellerin sFLT-1 pozitif ve negatif olan çekirdekleri sayıldı. Elde edilen sayısal verilerden sFLT-1 pozitif endotel çekirdeklerinin toplam kapiller endotel çekirdeklerine yüzdesel oranları hesaplandı. Elde edilen yüzdesel veriler istatistiksel yönden değerlendirildi.

Kontrol grubu sFLT-1 pozitif hücrelerin ortalama sıra değeri 14,40 olarak bulundu. GDM grubunda ise ortalama sıra değerinin 6,60 olduğu ve kontrol ile GDM grubu arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Adrenomedullin pozitif hücre çekirdeklerinin değerlendirmesinde kontrol ve GDM gruplarında her doku kesitinde rastgele seçilen 10 villöz kapillerde pozitif çekirdeklerin toplam endotel çekirdeklerine oranları hesaplandı ve yüzdesel değerler elde edildi. Elde edilen yüzdesel değerler istatistiksel analize tabi tutuldu ve kontrol grubunun ortalama sırasının 5,50 olduğu, GDM grubunun ortalama sıra değerinin ise 15,50 oldu ayrıca GDM grubundaki ADM pozitif kapiller endotel çekirdek yüzdesindeki artışın istatistiksel yönden anlamlı olduğu ($p=0,00$) tespit edildi (tablo 2).

Tablo 1: Kontrol ve GDM plasenta kesitlerinde villöz kapiller endotellerde sFLT-1 ve ADM pozitif çekirdek yüzdelерinin Mann Whitney U testine göre değeriendirilmesi. Tabloda gruplara ait ortalama sıra değeri ve örnek sayısı belirtilmektedir.

		Ranks		
Gruplar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
sflt1	Kontrol	10	14,40	144,00
	GDM	10	6,60	66,00
	Total	20		
ADM	Kontrol	10	5,50	55,00
	GDM	10	15,50	155,00
	Total	20		

Tablo 2: Kontrol ve GDM gruplarına ait istatistiksel analiz sonucu ve p değerleri.

Test Statistics^a		
	sFLT-1	ADM
Mann-Whitney U	11,000	,000
Wilcoxon W	66,000	55,000
Z	-2,948	-3,781
Asymp. Sig. (2-tailed)	,003	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002^b	,000^b

a. Grouping Variable: VAR00001

b. Not corrected for ties.

6. TARTIŞMA

Gestasyonel Diyabetes Melitus (GDM) kronik hiperglisemi ile tanımlanan yaygın metabolik bir hastalıktır. Vücudun çeşitli organlarında morbilite ve mortaliteye sebep olmaktadır. Gebelik esnasında hem anne hem de fötüs için risk faktörüdür (74). Gestasyonel diyabet gebelik aşamasında glukoz bozukluğuna bağlı olarak gelişen tolerans bozukluğudur. Gestasyonel diyabet gebeliklerde doğum sırasında hipoglisemiden kaçınmak için kan glukoz seviyeleri 72-126 mg/dl dir civarındadır olmalıdır. Gestasyonel diyabet tanısı 24. haftadan önce konulan hastalarda ilerde diyabet gelişme riski daha yüksektir (75). GDM maternal obezite yağ dokusu artışı inflamasyonla ilgili artış olarak gösterilmiş olup salgılanan sitokinlerin neden olduğu diyabetik gebeliklerle insulin direnci arasında ilişki kurulduğu belirtilmiştir (76, 77).

Umbilikal arterlerdeki kan akımına bağlı olarak gelişen kronik fötal hipokside ve plasental vasküler hastalıklarda maternal bölümde iskemiye bağlı olarak sinsitiyal nekrosis perivillöz alanda fimbrin birikimi görülmüştür (78,79). Gestasyonel diyabetin obsetrik sendromlar içine dahil edilmesi plasentanın fötal ve maternal etkileşimdeki rolünü açıklamakta, maternal ve fötal kan dolaşımı açısından seçici bir bariyer olduğunu tanımlamıştır. Plasenta hipoglisemik ortama duyarlı ve değişikliklere karşı yanıt verebilen bir organ olduğu gösterilmiştir. Diyabetin şiddetine göre plasentadaki villus olgunlaşması fibrinoid nekroz karyoanjiogenez ve damar yapısında gelişen bozukluklar gestasyonel diyabetin histopatolojik sonuçları arasında gösterilmiştir. Plasentada oluşan bu değişikliklerin fötal hipoksiye yol açabileceği kaçınılmazdır (80). Gestasyonel diyabetin histopatolojik incelenmesinde immatür villusların olduğu bağ dokusunda stromal fibroblast hücreleri ve hofbauer hücrelerinin proliferasyonu, sitotrofoblast hücrelerinin dejenarasyona uğradığı ve bazal membran kalınlaşması ile birlikte sinsiyal nodlar villus ödemi gibi değişiklikler tanımlanmıştır (80,81). Çalışmamızda plasentanın maternal bölgesinde desidual hücrelerde dejenarasyon, hücreler arası kollajen lif artışı ve yer yer fibrinoid birikimi gözlenmiştir. Kök villuslarında damarlarda dilatasyon; kollajen lif, sinsiyal köprülerde ve düğümlerde önemli derecede artışlar gözlenmiştir. Desoye G ve arkadaşlarının bir çalışmada diyabetik annelerde erken dönemlerde meydana gelen histopatolojik değişiklikler yüksek

oranda perinatal ölümlere sebebiyet verdiği, insülin endeksine bağlı olarak fetal hipoksi ve fetal pulmoner yetersizliği geliştiği bildirilmiştir (82).

Sela S ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada diyabetik plasentalarda stromal hücrelerde yüksek oranda glikojen akümülyasyonuna raslanmıştır (81). Asmusen ve arkadaşları bir çalışmada bazal membran kalınlığının terminal villuslarda ve sinsityal hücrelerin lokalize olduğu bölgelerde PAS (Periyodik Asit-Schiff) pozitif reaksiyonu tespit edilmiştir (83). Diyabetik plasentalarda PAS reaksiyonu normal plasentalara göre daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir (84). Çalışmamızda maternal bölgede desidual plakların dış kısmında fibrinoid alanlarda sinsisyal hücrelerin bulunduğu membranda kalınlaşma ile birlikte PAS pozitif reaksiyon görülmüştür. Plasentanın maternal bölümünde küçük villusların iç kısmındaki bazal membranlarda sinsisyal köprülerde düğümlerde PAS reaksiyonu pozitif olarak gözlenmiştir. Çalışmamızda PAS boyama kapsamında; diyabetik plasentalarda normotansif plasentalara göre PAS reaksiyonun daha yüksek olduğu, membranlarda ve hücre sitoplazmalarında glikojen birikiminin daha fazla olduğu ve gelişebilecek komplikasyonları indükleyebileceği düşünülmüştür.

Soluble Fms-Benzeri Tirozin Kinaz (sFLT-1) vasküler endotel reseptörü olarak hücre dışı alanlarda ve dolaşımda endotel büyüme faktörü olarak hem de plaseenta büyüme faktörünün etkilerini antenagonize ederek antianjiogenik bir protein görevi görür (85). sFLT-1, Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) reseptörü ya da VEGFR1 olarak da isimlendirilmiştir. Bu reseptörün yapmış olduğu temel fonksiyon VEGF fonksiyonuna benzer özelliktedir. Embriyolojik gelişim ve patolojik anjiogeneze ile önemli rol oynamaktadır (86). Lehen H ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada preeklampsi hastalarında gebeliğin son beşinci haftasında sFLT-1 düzeylerinin arttığını görmüş, normal gebelerde aynı dönemde sFLT-1 düzeylerinin düşük olduğu tespit etmişlerdir (87).

Gestasyonel diyabet hastalarının plasentalarında hipervaskülarizasyonun fetüse daha fazla oksijen verilmesi ile ilişkili olup olmadığı açık değildir. Plasentadaki damarların dilatasyonu sonucu damar direncinin azalmasına bağlı fazla oksijen kullanımı olduğu belirtilmişse de bazı yazarlar fetüse oksijen yayılımının azalabileceğini işaret etmiştir. Geçici olarak oluşan hipoksi sonucu VEGF reseptörünün (sFLT-1 gibi) plasentadan fazla

salınımı tetiklenebilir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda GDM li annelerden doğan term fetüslerinden alınan umbilikal kan örneklerinde VEGF konsantrasyonunun arttığı tespit edilmiştir (88,89,90). GDM plasentalarında VEGF mRNA düzeylerinin değişmediği belirtilmiş ve GDM’de VEGF düzeylerinin proanjiogenetik gelişimine katkı sağlamadığı belirtilmiştir (91). Jonata J ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada hiperglisemi endeksi yüksek olan hastalar normal hastalarla karşılaştırıldığında VEGF ve VEGF2 reseptör düzeylerinin yüksek olduğu ancak sFLT-1’in düzeylerinde azalma olduğu görülmüştür. Bu bağlamda GDM’li plasentalarda VEGF’in düzeylerinin tespiti açık olarak belirtilmemiştir (92).

Çalışmamızda normal plasentada maternal bölgedeki kök villusları içerisinde yer alan kan damarı endotel hücrelerinde sFLT-1 ekspresyonu bazı bölgelerde pozitif bazı bölgelerde ise negatif olarak görüldü. Mezenşimal bağ doku içerisinde ise düşük düzeyde sFLT-1 ekspresyonu tespit edildi. Damarların kas tabakasında negatif sFLT-1 ekspresyonu gözlenirken mezenşimal bağ doku hücrelerinde sFLT-1 ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi. Çalışmamızın dikkat çekici özelliklerinden biri de koryon villusları içerisindeki mezenşimal bağ doku içerisinde yer alan hofbauer hücrelerinin sFLT-1 ekspresyonu pozitif olarak göstermesi anjiogenezi indükleyen bir işaret olabileceği düşünülmüştür.

Yualin ve arkadaşları bir çalışmada preeklampsi plasentalarında sFLT-1 düzeylerinde azalma endotel disfonksiyonuna neden olduğu ve preeklampsiyi tetiklediği düşünülmüştür (93).

Adrenomedullin gestasyonel diyabette ve bozulan insulin üretimindeki rolü pankreastaki beta hücrelerinin yükselmesine neden olmakta, gebelik sırasında oluşan olumsuz pankreas beta hücre adaptasyonu gestasyonel diyabet patolojisinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. (94). Gebeliğin erken dönemlerinde yükselmiş glikoz seviyeleri yağ dokusunda artmış olan regüle edilmiş adrenomedullin reseptörleri için uyarıcı etki gösterebileceği bildirilmiştir. GDM hastalarında özellikle adipöz dokuda ADM düzenlemelerinin glikoza duyarlı olduğu bildirilmiştir (95). İnsülin düzenleyici sistemde yer alan hipotansif bir peptit olan adrenomedullin maternal ve fetal plasentadaki etkilerini araştıran Di Iorio ve arkadaşları diyabetik gebelikte ADM üretiminin plasenta damarlarının vazokonstriksiyonunu

önlemede önemli olduğunu belirtmişlerdir (96). Çalışmamızda GDM grubunda maternal bölgesinde bazı kapiller damarların vazokonstriktör durumda olduğu görünse de genel anlamda maternal ve fetal bölgede orta tip ve küçük tipteki damarlarda da vazokonstriksiyonun devam ettiği gözlenmiştir. Kanensihi ve arkadaşları preeklampsi hastalarında ADM ekspresyonunun normal plasentalara göre ve özellikle villuslardaki amnion zarında sinsisyotrofoblastlarda daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Bununla beraber ADM sentezinin preeklampsi aşamasında azaldığı belirtilmiştir (97).



7. SONUÇ

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) hamilelik döneminde insidansı artan, anne ve fetus için hem perinatal dönemde hem de uzun vadede morbidite ile ilişkili olan önemli bir hastalıktır. Hiperglisemi endeksi yüksek olan plasenta dokuları normotansif plasentaların karşılaştırılması sırasında maternal bölgede glikoz öncüsü sayılan desidua hücrelerinde dejeneratif değişimin olması, bazal membranlarda kalınlaşma, fibrin birikimi ayrıca koryonik villuslardaki sinsitiyal düğümlerde ve köprülerdeki artış anne ile fetus arasında dolaşım bozukluklarını indüklemiştir. Plasentanın maternal ve fetal bölgelerinde VEGF reseptör 1 (sFLT-1) düzeylerinde azalma ve artma ayrıca makrofaj özelliği gösteren hofbauer hücrelerinde görünen ekspresyon anjiogenetik etkide bu molekülün anahtar görev üstleneceğini düşündürmüştür. İnsülin düzenleyici hipotansif bir peptit olan adrenomedullin maternal ve fetal plasentadaki etkileri incelendiğinde, GDM plasentalarda özellikle desidual hücrelerin membranlarında Adrenomedullin pozitif ekspresyon gösterdiği glikoz seviyesini belirlemede bu reseptörlerin etkili olduğu düşünülebilir. Ayrıca sitotrofoblastlarda görülen adrenomedullin ekspresyonu, sitotrofoblastların insülin düzenleyici sistemde yer alabileceğini düşündürmüştür.

8. KAYNAKLAR

1. Cvitic S, Desoye G, Hiden U. Glucose, insulin, and oxygen interplay in placental hypervascularisation in diabetes mellitus. *Biomed Res Int*. 2014;2014:145846.
2. Pardo F, Arroyo P, Salomon C, Westermeier F, Salsoso R, Saez T, et al. Role of equilibrative adenosine transporters and adenosine receptors as modulators of the human placental endothelium in gestational diabetes mellitus. *Placenta*. 2013;34(12):1121-7.
3. Wadsack C, Desoye G, Hiden U. The feto-placental endothelium in pregnancy pathologies. *Wien Med Wochenschr*. 2012;162(9–10):220–4.
4. Gauster M, Desoye G, Totsch M, Hiden U. The placenta and gestational diabetes mellitus. *Curr Diab Rep*. 2012;12(1):16–23
5. Dong Y, Betancourt A, Belfort M, Yallampalli C. Targeting Adrenomedullin to improve Lipid Homeostasis in Diabetic Pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017 Sep 1;102(9):3425-3436.
6. Di Iorio R, Marinoni E, Urban G, Costantini A, Cosmi EV, Letizia C. Fetomaternal adrenomedullin levels in diabetic pregnancy. *Horm Metab Res*. 2001 Aug;33(8):486-90
7. Farina A, Eklund E, Bernabini D, Paladino M, Righetti F, Monti G, Lambert-Messerlian G. A First-Trimester Biomarker Panel for Predicting the Development of Gestational Diabetes. *Reprod Sci*. 2017 Jun;24(6):954-959.
8. Romero R, Erez O, Hüttemann M, Maymon E, Panaitescu B, Conde-Agudelo A, Pacora P, Yoon BH, Grossman LI. Metformin, the aspirin of the 21st century: its role in gestational diabetes mellitus, prevention of preeclampsia and cancer, and the promotion of longevity. *Am J Obstet Gynecol*. 2017 Sep;217(3):282-302.
9. Gauster M, Desoye G, Totsch M, Hiden U. The placenta and gestational diabetes mellitus. *Curr Diab Rep*. 2012;12(1):16-23.
10. Klinke RS, S. *Lehrbuch der Physiologie*. Stuttgart, Germany: Georg Thieme Verlag; 2003

11. Guttmacher AE, Maddox YT, Spong CY. The Human Placenta Project: placental structure, development, and function in real time. *Placenta*. 2014;35(5):303-4
12. Handwerger, S. and M. Freemark, The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2000. 13(4): p. 343-56.
13. Desoye, G. and E. Shafrir, The human placenta in diabetic pregnancy. Vol. 4. 1996. 70-89.
14. Krause BJ, Hanson MA, Casanello P. Role of nitric oxide in placental vascular development and function. *Placenta*. 2011;32(11):797-805.
15. Demir R, Kayisli UA, Cayli S, Huppertz B. Sequential steps during vasculogenesis and angiogenesis in the very early human placenta. *Placenta*. 2006;27(6-7):535-9.
16. Pape H.-C. Ka, Silbernagl S. *Physiologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2014.
17. Wang Y ZS. *Vascular Biology of the Placenta*. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2010. Chapter 6, Vasculogenesis and Angiogenesis of Human Placenta.
18. M. Breckwoldt MK, A. Pfeleiderer *Plazenta, Einhaute, Fruchtwasser und Nabelschnur. Gynaekologie und Geburtshilfe*. 5., aktualisierte und ueberarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2008. p. 299-305.
19. Stauber M. WT. *Gynaekologie und Geburtshilfe*. Stuttgart: George Thieme Verlag KG; 2007.
20. Aplin, J. D. "The cell biological basis of human implantation." *Baillieres BestPract Res Clin Obstet Gynaecol* 14(5): 757-64(2000).
21. Burton, G. J. K., P. and Huppertz, B. *Anatomy and Genesis of the Placenta*.(2006).
22. Langman, J. *Langman's Medical Embryology*, Lippincott, Williams and Wilkins.(2003).
23. Huppertz, B. "The anatomy of the normal placenta." *J Clin Pathol* 61(12): 1296302(2008).
24. Aplin, J. D. and C. Jones. *Human Placental Development. The Endometrium*. J.(2008).

25. Chaddha, V., et al. "Developmental biology of the placenta and the origins of placental insufficiency." *Semin Fetal Neonatal Med* 9(5): 357-69.(2004).
26. Schuhmann, R. A. "Placental structure of the human placenta." *Bibl Anat*(22):46-57.(1982).
27. Feneley, M. R. and G. J. Burton. "Villous composition and membrane thickness in the human placenta at term: a stereological study using unbiased estimators and optimal fixation techniques." *Placenta* 12(2): 131-42.(1991).
28. Demir, R., et al. "Classification of human placental stem villi: review of structural and functional aspects." *Microsc Res Tech* 38(1-2): 29-41.(1997).
29. Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Pathology of The Human placenta. Fifth Edition ed.pp. 387, Springer, New York, Springer. 2006.
30. Benirschke K, Kaufmann P, Baergen RN. Pathology of The Human placenta. Fifth Edition ed.pp. 45-50, Springer, New York, Springer. 2006.
31. Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LJ, Hanks GDV, Clark SL: Williams Obstetrics. 21th edition Connecticut, the McGraw- Hill 2001; p:567-609
32. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. The developing human : clinically oriented embryology. 10th edition. ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. xx, 524 pages p.
33. C. P. et al. (2005). "Placental phenotypes of intrauterine growth." *Pediatr Res* 58(5): 827-32.
34. Johnson MJ and Everitt BJ, Maternal recognition and support of pregnancy, In: Essential Reproduction, Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 243, 1984
35. Lanman JT, Immunological functions of the placenta, In: The Placenta, Gruenwald P. (ed.), p. 145, 1975.
36. Fauk WP and Hsi BL, Immunobiology of human trophoblast membrane antigens, In: Biology of Trophoblast, Loke YW and Whyte A (eds.), Elsevier Science
37. Saxena BB, Kaali Sand Landesman R, The transport of chorionic gonadotropin through the reproductive tract, *Europ J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 7: 1, 1977.

38. K. Kitamura, K. Kangawa, M. Kawamoto, Y. Ichiki, S. Nakamura, H. Matsuo and T. Eto, Adrenomedullin: A novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma, *Biochem. Biophys Res. Commun.*, 192:2 (1993) 553-560.
39. Y. Ichiki, K. Kitamura, K. Kangawa, M. Kawamoto, H. Matsuo and T. Eto, Distribution and characterization of immunoreactive adrenomedullin human tissue and plasma, *FEBS Lett.*, 338:1 (1994) 6-10.
40. T. Eto, A review of the biological properties and clinical implications of adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP), hypotensive and vasodilating peptides, **Peptides**, 22:11 (2001) 1693-1711.
41. Hinson, J.P., Kapas, S., Smith, D.M.: Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. *Endocr Rev*, 21:138-167, 2000.
42. Nikitenko LL, Smith DM, Hague S, Wilson CR, Bicknell R, and Rees MCP, Adrenomedullin and The Microvasculature, **Trends in Pharmacol Sci**, Volume 23, Issue 3, 1 March 2002, pages 101-103.
43. Oya H, Nagaya N, Furuichi S, Nishikimi T, Ueno K, Nakanishi N, Yamagishi M, Kangawa K, Miyatake K. Comparison of intravenous adrenomedullin with atrial natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Am. J. Cardiol* 2000;86:94-98.
44. Kato J, Kitamura K, Kangawa K, Eto T. Receptors for adrenomedullin in human vascular endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 1995;289:383-385.
45. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-142
46. Barber DA, Park YS, Burnett JC, Miller VM. Adrenomedullin-mediated relaxations in veins are endothelium-dependent and distinct from arteries. *J Cardiovasc pharmacol* 1997;30:695-701.
47. C.J. Charles, M.T. Rademaker, A.M. Richards, G.J.S. Cooper, D.H. Coy, M.G. Nicholls, Hemodynamic, hormonal, and renal effects of intracerebroventricular adrenomedullin in conscious sheep, *Endocrinology*, 139 1746-1751. (1998)

48. S. Hague, L. Zhang, M.K. Oehler, S. Manek, I.Z. MacKenzie, R. Bicknell, M.C. Rees, Expression of the hypoxically regulated angiogenic factor adrenomedullin correlates with uterine leiomyoma vascular density, *Clin. Cancer Res*, 6 (2000) 2808–2814
49. R. Trollmann, E. Schoof, E. Beinder, D. Wenzel, W. Rascher, J. Dotsch, Adrenomedullin gene expression in human placental tissue and leukocytes: a potential marker of severe tissue hypoxia in neonates with birth asphyxia, *Eur. J. Endocrinol.*, 147 (2002) 711–716
50. T. Minegishi, M. Nakamura, K. Abe, M. Tano, A. Andoh, M. Yoshida, T. Takagi, T. Nishikimi, M. Kojima, K. Kangawa, Adrenomedullin and atrial natriuretic
51. Y. Zhao, S. Hague, S. Manek, L. Zhang, R. Bicknell, M.C. Rees, PCR display identifies tamoxifen induction of the novel angiogenic factor adrenomedullin by a non estrogenic mechanism in the human endometrium, *Oncogene*, 16 (1998) 409–415.
52. R.J. Gratton, M. Gluszynski, D.M. Mazzuca, K. Nygard, V.K.M. Han, Adrenomedullin messenger ribonucleic acid expression in the placentae of normal and preeclamptic pregnancies, *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 88 (2003) 6048–6055.
53. S. Yotsumoto, T. Shimada, C.Y. Cui, H. Nakashima, H. Fujiwara, M.S.H. Ko, Expression of adrenomedullin, a hypotensive peptide, in the trophoblast giant cells at the embryo implantation site in mouse, *Dev. Biol.* 203 (1998) 264–275.
54. Joy P H, Supriya K, David M S. Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. *Endocr Rev* 2000;21(2):138–67.
55. Macri C, Loup D, McHale M, Jacobs R, Bales L, Sundborg M, Armstrong A, Gehlbach D, Mitchell A, Nelson M, Miller M J, Martinez A, Cuttitta F, Gray K Adrenomedullin is widely expressed throughout normal and abnormal reproductive tissues of women - evidence for cyclic regulation. In: Martinez A, Cuttitta F (eds) *Adrenomedullin*. IOS Press, Amsterdam, 1998; pp 207–48.
56. Upton P D, Austin C, Taylor G M, et al. Expression of ADM and its binding sites in the rat uterus: increased number of binding sites and ADM messenger ribonucleic

- acid in 20-day pregnant rats compared with nonpregnant rats. *Endocrinology* 1997;138:2508–14.
57. Marinoni E, Picca A, Scucchi L, Cosmi E V, Di Iorio R Immunohistochemical localization of endothelin-1 in placenta and fetal membranes in term and preterm human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1995;34:213–18.
58. Fukuda K, Tsukada H, Oya M, Onomura M, Kodama M, Nakamura H, Hosokawa M, Seino Y. Adrenomedullin promotes epithelial restitution of rat and human gastric mucosa in vitro. *Peptides* 1999;20:127–32.
59. Garayoa M, Bodegas E, Cuttitta F, Montuenga L M. Adrenomedullin in mammalian embryogenesis. *Microsc Res Technique* 2002;57:40–54.
60. Pio R, Martinez A, Elsasser T H, Cuttitta F. Presence of immunoreactive adrenomedullin in human and bovine milk. *Peptides* 2000;21:1859–63
61. Shibuya, M., et al., Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (flt) closely related to the fms family. *Oncogene*, 1990. 5(4): p. 519-24.
62. Kendall, R.L., G. Wang, and K.A. Thomas, 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(2): p. 324-8.
63. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor- 4 and VEGF/ VEGFR system. *Biochem Pharmacology* 2004; 68: 1017- 21
64. Ferrara N, Gerber HP, Lecouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669- 76.
65. Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10705- 9.

66. Parham P. NK cells and trophoblasts: partners in pregnancy. *J Exp Med.* 2004; 200(8): 951-5.
67. Proceedings of the 4th International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus 1998, Turok ve ark 2003, Azal 2010
68. Jovanovic-Peterson L, Peterson C.M. Review of gestational diabetes mellitus and low-calorie diet and physical exercise as therapy. *Diabetes Metab Rev* 12:287-308,1996.
69. Sönmez A, Kutlu M, 2010. Gestasyonel Diyabet Güncel Tarama ve Tanı Yöntemleri, Kutlu M (Editör). Gestasyonel Diabetes Mellitus Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Endokrinoloji, 3, 1-5.
70. Zimmet P, Shaw J, 2005. A global problem: Diabetes, Ed: Kahn R et al., Joslin's diabetes mellitus, 14th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Boston Philadelphia, 525-529.
71. Kwak SH, Kim HS, Choi SH, Lim S, Cho YM, Park KS, Jang HC, Kim MY, Cho NH, Metzger BE,. Subsequent pregnancy after gestational diabetes mellitus: frequency and risk factors for recurrence in Korean women. *Diabetes Care*, 31, 1867-1871. 2008
72. Akarsu S, Bagirzade M, Omeroglu S, Buke B. Placental vascularization and apoptosis in Type-1 and gestational DM. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(9):1045-50
73. Babawale MO, Lovat S, Mayhew TM, Lammiman MJ, James DK, Leach L. Effects of gestational diabetes on junctional adhesion molecules in human term placental vasculature. *Diabetologia.* 2000;43(9):1185-96.
74. Calderon IM Morphometric study of placental villi and vessels in women with mild hyperglycemia or gestational or overt diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 78: 65-71.(2007)

75. Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, de Leiva A, Dunger DB, Hadden DR, et al. Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2007 Jul;30:251-260
76. Radaelli T, Varastehpour A, Catalano P, Hauguel-de Mouzaon S. Gestational diabetes induces placental genes for chronic stress and inflammatory pathways. *Diabetes* 2003;52:2951-58.
77. Hauguel-de Mouzon S, Guerre-Millo M. The placenta cytokine network and inflammatory signals. *Placenta* 2006;27:794-98.
78. Montenegro N, Laurini R, Brandao O, Nogueira R, Matias A, Santos F, et al. Placental findings in fetuses with absent or reversed end-diastolic flow in the umbilical artery (ARED flow): a reappraisal. *J Matern Fetal Invest*. 1997; 7: 175–9.
79. Gudmundsson S, Korszun P, Olofsson P, Dubiel M. New score indicating placental vascular resistance. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003; 82: 807–12.
80. A-Jarmuzek P, Wielgos M, Bomba-Opon D. Placental pathologic changes in gestational diabetes mellitus. *Nöro Endokrinol Lett*. 2015; 36 (2): 101-5
81. Sela S, Itin A, Natanson-Yaron S, Greenfield C, Goldman-Wohl D, Yagel S, Keshet E. A novel human-specific soluble vascular endothelial growth factor receptor 1: cell type specific splicing and implications to vascular endothelial growth factor homeostasis and preeclampsia. *Circ Res* 2008; 102:1566–1574
82. Desoye G, Hauguel-de Mouzon S. The human placenta in gestational diabetes mellitus. The insulin and cytokine network. *Diabetes Care*. 2007;30.
83. Asmussen I Ultrastructure of the villi and fetal capillaries of the placentas delivered by non-smoking diabetic women (White group D). *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand. A*: 90: 95-101(1982)
84. Gheorman L, PleÅŸea IE, Gheorman V Histopathological considerations of placenta in pregnancy with diabetes. *Rom J Morphol Embryol* 53: 329-336(2012)
85. Tewari V Histological and histochemical changes in placenta of diabetic pregnant females and its comparison with normal placenta. *Asian Pacif J Trop Dis* 1-4.(2011)
86. Li Ye*Plasma levels of miR-19-5p correlate with sFLT-1 levels in gestational diabetes mellitus. *Biomedical Research* 2017; 28 (18): 7856-7861

87. Lehnen H, Mosblech N, Reineke T, et al. Prenatal Clinical Assessment of sFlt-1 (Soluble fms-like Tyrosine Kinase-1)/PlGF (Placental Growth Factor) Ratio as a Diagnostic Tool for Preeclampsia, Pregnancy-induced Hypertension, and Proteinuria. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2013;73(5):440-445.
88. Plitman Mayo R, Olsthoorn J, Charnock-Jones DS, Burton GJ, Oyen ML. Computational modeling of the structure-function relationship in human placental terminal villi. *J Biomech.* 2016;49(16):3780–7.
89. Gill JS, Salafia CM, Grebenkov D, Vvedensky DD. Modeling oxygen transport in human placental terminal villi. *J Theor Biol.* 2011;291:33–41
90. Madazli R, Tuten A, Calay Z, Uzun H, Uludag S, Ocak V. The incidence of placental abnormalities, maternal and cord plasma malondialdehyde and vascular endothelial growth factor levels in women with gestational diabetes mellitus and nondiabetic controls. *Gynecol Obstet Invest.* 2008;65(4):227–32
91. Lappas M. Markers of endothelial cell dysfunction are increased in human omental adipose tissue from women with pre-existing maternal obesity and gestational diabetes. *Metabolism.* 2014;63(6):860–73
92. Janota J, Pomyje J, Toth D, Sosna O, Zivny J, Kuzel D, et al. Expression of angiopoietic factors in normal and type-I diabetes human placenta: a pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;111(2):153–6.
93. Yuanlin Dong Ancizar Betancourt Michael Belfort Chandrasekhar Yallampalli. Targeting Adrenomedullin to Improve Lipid Homeostasis in Diabetic Pregnancies. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 102, Issue 9, 1 September 2017, Pages 3425–3436
94. Yuanlin Dong Manu Banadakoppa Madhu Chauhan Meena Balakrishnan Michael Belfort Chandra Yallampalli. Circulating Adrenomedullin Is Elevated in Gestational Diabetes and Its Role in Impaired Insulin Production by β -Cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 104, Issue 3, 1 March 2019

95. Maynard S, Min J, Merchan J, Lim K, Li J, Mondal S, Libermann T, Morgan J, Sellke F, Stillman I et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFLT-1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in pre-eclampsia. *J Clin Invest* 2003;111:649–658
96. R. Di Iorio, E. Marinoni, G. Urban, A. Costantini, E.V. Cosmi, C. Letizia. Fetomaternal Adrenomedullin Levels in Diabetic Pregnancy. *Horm Metab Res* 2001; 33(8): 486-490
97. Kanenishi K, Kuwabara H, Ueno M, [et al.]. Immunohistochemical adrenomedullin expression is decreased in the placenta from pregnancies with pre-eclampsia. *Pathol Int.* 2000, 50, 536- 450



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Necat	Soyadı	Arslan
Doğum Yeri	Diyarbakır	Doğum Tarihi	12.12.1987
Uyruğu	T.C.	Tel	+90 (546) 027 7466
E-posta	necattarslan@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
	Kafkas Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuvar	2008
	Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji	2014

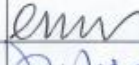
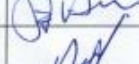
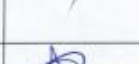
İŞ DENEYİMİ

Görevi			Kurum				Süre (Yıl - Yıl)	
Sağlık Teknikeri			Antalya Akdeniz Üniversitesi Hastanesi				2009-2010	
Sağlık Teknikeri			Dicle Üniversitesi Hastaneleri				2010-2019	
Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

Tıpta Uzmanlık Puanı	
-----------------------------	--

10.EKLER

10.1. Etik kurul onayı

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
266					
KARAR					
Doç. Dr. Sevdâ İpek SÖKER, Yüksek Lisans Öğrencisi Necat ARSLAN, Prof. Dr. Engin DEVECİ, Doç. Dr. Elif AĞAÇAYAK, Arş. Gör. Süreyya ÖZDEMİR BAŞARAN, Doktora Öğrencisi Fırat ŞAHİN, Arş. Gör. Fırat AŞİR isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Gestasyonel diyabetik plasentalarda ADM ve sFlt-1 protein ekspresyon seviyelerinin araştırılması" başlıklı araştırmaya <i>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u</i> tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.					
DECISION					
The project titled as "Investigation of sFlt-1 and ADM protein expression levels on placentas of the gestational diabetes mellitus" planned by Sevdâ İpek SÖKER, Necat ARSLAN, Engin DEVECİ, Elif AĞAÇAYAK, Süreyya ÖZDEMİR BAŞARAN, Fırat ŞAHİN, Fırat AŞİR has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.					
Oturum No (Meeting number) :		Tarih (Date): 17.10.2018		Saat (Hour): 14:00-15:00	
KURUL BAŞKANI (CHIEF)		Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM			
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS					
	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Hüseyin BÜYÜKBAYRAM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
2	Prof. Dr.	Levent ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
3	Prof. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
4	Prof. Dr.	Cihan AKGÜL ÖZMEN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
5	Prof. Dr.	Haktan KARAMAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
6	Doç. Dr.	İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
7	Doç. Dr.	Zülfükar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıklar	
8	Doç. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
9	Doç. Dr.	Ezeli AZARKAN	Dicle Üniversitesi Halk Sağlığı Fakültesi	Öğretim Üyesi	
10	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	
11	Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	

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

11.ORİJİNALLİK RAPORU

08.05.2019

Turnitin

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 08-May-2019 11:32 +03
NUMARA: 1126963327
Kelime Sayısı: 7749
Gönderildi: 1

Benzerlik Endeksi

%5

Kaynağa göre Benzerlik

Internet Sources: %3
Yayınlar: %2
Öğrenci Ödevleri: %3

Yüksek Lisans Necat Arslan tarafından

1% match (03-Eyl-2010 tarihli internet)

[http://kutuphane.uludag.edu.tr/PDF/tip/htmpdf/2005-31\(2\)/mak08.pdf](http://kutuphane.uludag.edu.tr/PDF/tip/htmpdf/2005-31(2)/mak08.pdf)

1% match ()

http://gata.edu.tr/kutuphane/GTD/GTD_2002_44_4.pdf

1% match (19-Ara-2016 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Akdeniz University on 2016-12-19](#)

< 1% match (yayınlar)

الحالي ، حنان خليل ، "فعالية برنامج الإرشاد في خفض حدة الإجهاد الأكاديمي وتأثيره على تقدير الذات لدى عينة من الطالبات الفتيحة" = [The Effectiveness of the Selective Counseling Program in Reduce Academic Fatigue and Its Impact on Self-Esteem among a Sample of Stumbling Students Who Are Studying in Qassim University](#)", [International Journal of Educational and Psychological Sciences](#), 2018

< 1% match (25-Haz-2016 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2016-06-25](#)

< 1% match (05-Kas-2017 tarihli internet)

<http://www.ganetip.org/upload/sayi/90/GTD-00849.pdf>

< 1% match (27-Tem-2018 tarihli internet)

<https://www.slideshare.net/mbolmez/sadettin-gpgr>

< 1% match (26-Ara-2018 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Kahramanmaraş Sütçü İmam University on 2018-12-26](#)

< 1% match (07-Kas-2017 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Harran Üniversitesi on 2017-11-07](#)

< 1% match (23-Ağu-2017 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Eskişehir Osmangazi University on 2017-08-23](#)

< 1% match (yayınlar)

KOCAMAN, Nevin and ÇOLAKOĞLU, Neriman, "Tekrarlayan dozlarda metotreksat uygulamasının siçan karaciğer dokusu üzerine etkileri", [Fırat Üniversitesi](#), 2013.

< 1% match (25-Oca-2019 tarihli internet)

<https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-019-1134-z>

< 1% match (06-Eki-2018 tarihli internet)

<http://iconsanar.com/wp-content/uploads/2018/04/SANAR2018-Abstract-Book-Third-Version-08.07.2018.pdf>

https://www.turnitin.com/newreport_printview.asp?eq=0&eb=0&esm=0&old=1126963327&sid=0&n=0&m=2&svr=335&r=51.63625402701586&la... 1/17