

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**NORMAL VE DİYABETİK İNSAN PLASENTALARINDA
SYNCYTİN PROTEİNİNİN DAĞILIMI VE MUHTEMEL
GÖREVLERİ**

Gül Bikem SOYGÜR

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2013

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**NORMAL VE DİYABETİK İNSAN PLASENTALARINDA
SYNCYTİN PROTEİNİNİN DAĞILIMI VE MUHTEMEL
GÖREVLERİ**

Gül Bikem SOYGÜR

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ramazan DEMİR

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Tarafından
Desteklenmiştir. (Proje No: 2011.02.0122.009)

“Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir”

Antalya, 2013

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Üreme Biyolojisi Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 28/06/2013

Tez Danışmanı

: Prof. Dr. Ramazan DEMİR
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



Üye

: Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



Üye

: Prof. Dr. Necdet DEMİR
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



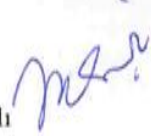
Üye

: Prof. Dr. Emin Türkay KORGUN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



Üye

: Doç. Dr. Mehmet ŞİMŞEK
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı



ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../2013 tarih ve .../... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL
Enstitü Müdürü

ÖZET

İnsan plasentası, gebelik boyunca anne ile fetüs arasındaki tüm metabolizma işlemlerini düzenleyen yegâne organdır. Bu nedenle sağlıklı bir gebelik normal plasenta gelişimi ile yakından ilişkilidir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, sitotrofoblast hücreleri arasında meydana gelen hücre füzyonunun sinsisyotrofoblastın şekillenmesinde anahtar rol oynadığını göstermektedir.

İnsan endojen retrovirus ailesine (HERV) ait Syncytin proteinlerinin trofoblast hücre füzyonu ve dolayısıyla plasenta gelişiminde kritik rol oynadığı yakın tarihli çalışmalarda gösterilmiştir. Fakat gestasyonel diyabetik plasenta patolojisinde Syncytin proteinlerinin ve reseptörlerinin rolünün olup olmadığı hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, kontrol plasenta ve gestasyonel diyabetik plasentalarda Syncytin proteinleri ve reseptörleri farklı ekspresyonlar gösterir hipotezini kurduk ve değişen Syncytin-reseptör ekspresyonlarını belirlemeyi amaçladık.

Çalışmamızda, insan normal term ve gestasyonel diyabetik term gebeliklerinden elde edilen plasenta dokuları ile erken dönem plasenta örnekleri ışık mikroskobu, western blot ve elektron mikroskobu araştırmaları için hazırlandı. Plasenta kesitlerinde; Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 (Syncytin 1'in reseptörü) ve MFSD2 (Syncytin 2'nin reseptörü) için immünohistokimya yöntemi uygulanarak bu proteinlerin hücresel dağılımları belirlendi. Western blot tekniği kullanılarak Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 ve MFSD2 ekspresyon miktarları protein düzeyinde araştırıldı. Ayrıca, geçirimli (TEM) ve taramalı (SEM) elektron mikroskobu yöntemleri ile insan normal term, gestasyonel diyabetik term ve erken dönem plasenta örnekleri arasındaki ince yapı ve üç boyutlu yapı farklılıkları incelendi.

Elde ettiğimiz bulgulara göre, Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 ve MFSD2 proteinlerinin lokalizasyonu villusların trofoblast tabakasında belirgin bir şekilde izlenirken, villusların stromasında bulunan bazı hücrelerde de immün pozitifli. Farklı gebelik dönemlerine ait plasentalarda Syncytin proteinleri ve reseptörlerinin ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında; Gruplar arasında Syncytin 1 proteini bakımından anlamlı bir fark belirlenmezken, SLC1A5 protein ekspresyonunun erken dönem plasenta örneklerinde term plasentalara kıyasla daha fazla olduğu belirlendi. Ayrıca, diyabetik plasentalarda, normal term plasentalara kıyasla azalan Syncytin 2 ve MFSD2 ekspresyonu belirlendi. Elektron mikroskop bulgularımıza göre, sinsisyotrofoblast tabakasında, diyabetik plasentalarda yapı bütünlüğünün kontrol plasentalara göre göreceli olarak bozulduğu ve ince yapılarının göreceli olarak arttığı görüldü.

Çalışmamız, gestasyonel diyabetik plasentalarda Syncytin protein ve reseptör ekspresyonlarının belirlendiği literatürdeki ilk çalışmadır. Gestasyonel diyabetik plasentalardaki azalan Syncytin 2 ve reseptör ekspresyonu anormal sinsisyotrofoblast oluşumuna neden olarak diyabetik plasenta patolojisinin oluşmasında rol oynuyor olabilir. Diyabetik plasentalarda görülen anormal Syncytin 2 ve reseptör ekspresyonu diyabetik plasenta etiyolojisini anlamak için katkıda bulunabilir.

Anahtar Kelimeler: İnsan plasentası, gestasyonel diyabet, syncytin 1, syncytin 2, SLC1A5, MFSD2.

ABSTRACT

The human placenta is a unique organ which regulates all metabolic activities between mother and fetus throughout pregnancy. To this respect, healthy pregnancy is closely related with normal placenta development. Previous studies have showed that the fusion of trophoblast cells constitutes a key process of placental morphogenesis.

It has been showed by recent studies Syncytin proteins, which are belonged to Human Endogenous Retroviruses (HERV) family, play a crucial role during the fusion of trophoblast cells and placental development. However, there is scarce information about whether Syncytin proteins have any role in gestational diabetic placenta pathology. Therefore we hypothesized that the expression of Syncytin proteins and their receptors show abnormal expression in gestational diabetic placentas compared to control placenta. We aimed to determine altered Syncytin proteins and their receptors expression by descriptive experiments.

In this study, human placentas from uncomplicated pregnancies, gestational diabetic placentas and human first trimester placenta tissues were prepared for light microscopy, western blot and electron microscopy investigations. The cellular localizations of Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 (receptor of Syncytin 1) and MFSD2 (receptor of Syncytin 2) were determined by immunohistochemistry in placental sections. The protein expression level of Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 and MFSD2 were investigated by western blot. Moreover, the difference of ultrastructural and three-dimensional features in human normal term placenta, gestational diabetic term placenta and first trimester placenta tissues were identified by transmission (TEM) and scanning (SEM) electron microscopy.

According to our results, the immunolocalization of Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 and MFSD2 proteins were observed significantly in trophoblast layer and also some stromal cells were positive in placental villi. When expression levels of Syncytin proteins and their receptors were compared between experimental groups, Syncytin 1 expression Syncytin2 and MFSD2 expressions were notably decreased in diabetic placentas compared to control term placenta. In addition that, expression of SLC1A5 increased dramatically in early pregnancy compared to control term placenta. According to our electron microscopy results, in gestational diabetic placenta, tissue integrity of syncytiotrophoblast layer was lost and vacuolisation was increased relatively compared to control term placenta.

In our study, we showed for the first time in literature that expressions of Syncytin proteins and their receptors were determined in gestational diabetic placenta. Decreased Syncytin2 and MFSD2 expressions might cause abnormal syncytiotrophoblasts formation and potentially involve in diabetic placental pathology. Abnormal Syncytin 2 and receptor expression in gestational diabetic placentas may contribute to understand the aetiology of diabetic placenta.

Keywords: Human placenta, Gestational Diabetes, Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5, MFSD2.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez projemin gerçekleştirilmesi sürecinde göstermiş oldukları tüm maddi ve manevi destek için danışman hocam sayın Prof. Dr. Ramazan DEMİR'e ,

Tezimin projelendirilmesinden itibaren her basamağında görüş ve önerileri ile yol gösteren, bilgi, tecrübe ve manevi desteği ile her zaman yanımda olan Uzm. Dr. Leyla SATI'ya,

Çalışmam süresince ihtiyaç duyduğum her an yardımlarını esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma,

Bu süreçte göstermiş oldukları yardımlar için Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün tüm çalışanlarına,

Teknik destekleri için TEMGA ünitesi çalışanlarına,

Son olarak, bana her zaman sonsuz anlayış ve sabırla destek olan, eğitim yaşamım boyunca hep arkamda hissettiğim sevgili anneme ve babama en içten saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
GİRİŞ ve AMAÇ	1
1. Hipotezin Temeli ve Amaç	1
GENEL BİLGİLER	3
2. Plasenta	3
2.1. Plasentanın Gelişimi	5
2.1.1. Prelaküner Evre	5
2.1.2. Laküner Evre	6
2.1.3 Erken Villöz Evreler	8
2.2. Plasental Villus Ağacının Yapısı	9
2.2.1. Kök (Stem) Villus (KV)	11
2.2.2. Matür İntermediyet Villus (olgun ara villus; MİV)	11
2.2.3. Terminal Villus (TV)	11
2.2.4. İmmatür İntermediyet Villus (Olgunlaşmamış ara villus; İMİV)	11
2.2.5. Mezenşimal Villus (MV)	11
2.3. Temel Villus Yapısı	12
2.3.1. Villöz Trofoblast	12
2.3.1.1. Sitotrofoblast Tabakası	12
2.3.1.2. Sinsisyotrofoblast Tabakası	14
2.3.2. Villöz Stroma	16
2.3.2.1. Mezenşim Hücreleri	16
2.3.2.2. Retikulum Hücreleri	17

2.3.2.3.	Fibroblast Hücreleri	17
2.3.2.4.	Miyofibroblast Hücreleri	17
2.3.2.5.	Hofbauer Hücreleri	17
2.3.2.6.	Plazma Hücreleri	18
2.3.2.7.	Fötal Villus Damarları	18
2.3.2.8.	Trofoblastik Bazal Membran	18
2.4.	Retrovirüsler	18
2.4.1.	İnsan Endojen Retrovirüsler (HERV)	20
2.4.2.	Syncytin 1 (HERV-W)	20
2.4.3.	Syncytin 2 (HERV-FRD)	22
2.4.4.	ERV-3 (HERV-V)	22
2.5.	Syncytin Proteinleri ve Plasental Patolojiler Arasındaki İlişki	22
2.6.	Diabetes Mellitus	24
2.6.1.	Tip 1 (İnsüline Bağımlı) Diabetes Mellitus (T1DM)	24
2.6.1.1.	Genetik Faktörler	24
2.6.1.2.	Çevresel Faktörler	25
2.6.2.	Tip 2 (İnsüline Bağımlı Olmayan) Diabetes Mellitus (T2DM)	25
2.6.2.1.	Genetik Faktörler	25
2.6.2.2.	Çevresel Faktörler	25
2.6.3.	Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)	26
2.6.3.1.	Gestasyonel Diabetes Mellitusun Gebeliğe Etkileri	26
2.6.4.	Diyabetik Plasenta	26
2.7.	Hipotez	27
BULGULAR		38
3.1.	Rutin Işık Mikroskopik İnceleme Bulguları	38
3.2	İmmünohistokimya Bulguları	39
3.2.1.	Syncytin 1 İmmün Boyanmaları	39
3.2.2.	SLC1A5 İmmün Boyanmaları	41
3.2.3.	Syncytin 2 İmmün Boyanmaları	43
3.2.4.	MFSD2 İmmün Boyanmaları	46
3.2.5.	Sitokeratin 7 ve Vimentin İmmün Boyanmaları	48

3.3.	Western Blot Bulguları	50
3.3.1.	Syncytin 1 Ekspresyonu	50
3.3.2.	SLC1A5 Ekspresyonu	50
3.3.3.	Syncytin 2 Ekspresyonu	51
3.3.4.	MFSD2 Ekspresyonu	52
3.3.5.	Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Bulguları	52
3.5.6.	Geçirimli Elektron Mikroskop (TEM) Bulguları	53
TARTIŞMA		56
SONUÇLAR		62
KAYNAKLAR		63
ÖZGEÇMİŞ		71

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cAMP	:	Siklik adenozin monofosfat
COS	:	Maymundan elde edilen fibroblast benzeri hücre hattı
DAB	:	Diaminobenzidin
DER	:	Düz Endoplazmik Retikulum
DM	:	Diabetes Mellitus
EDTA	:	Etilendiamintetraasetik asit
ERV-3	:	Endojen Retrovirüs-3
EVT	:	Ekstra Villöz Trofoblast
GCM 1	:	Koryonik Spesifik Transkripsiyon Faktörü
GDM	:	Gestasyonel Diabetes Mellitus
GER	:	Granüllü Endoplazmik Retikulum
hCACTH	:	İnsan Adrenokortikotropin
hCG	:	İnsan Koryonik Gonadotropin
hCS	:	İnsan Koryonik Somatotropin
hCT	:	İnsan Koryonik Tirotropin
HERV	:	İnsan Endojen Retrovirüs
HERV-FRD	:	Syncytin 2
HERV-W	:	Syncytin 1
HLA	:	İnsan Lökosit Antijen
hPL	:	İnsan Plasental Laktojen
IgG	:	İmmünglobulin G
IUGR	:	İntra Uterin Büyüme Geriliği
İMİV	:	İmmatür İntermediyet Villus
KV	:	Kök Villus
MHC	:	Major Histokompabilite Kompleksi
MİV	:	Matür İntermediyet Villus
MFSD2	:	Major Kolaylaştırıcı Domain
MV	:	Mezenşimal Villus
SEM	:	Tarayıcı Elektron Mikroskobu
SF	:	Serum Fizyolojik
SFT	:	Sörensen Fosfat Tampon
SLC1A5	:	Nötral Amino Asit Taşıyıcısı
ST	:	Sinsisyotrofoblast
T1DM	:	Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM	:	Tip 2 Diabetes Mellitus
T21	:	Trizomi 21
TBS	:	Tris Tamponlu Tuz
TEM	:	Geçirimli Elektron Mikroskobu
TV	:	Terminal Villus

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.1.	Materno-fötal bariyerin yapısına göre plasentanın sınıflandırılması	4
2.2.	Villus organizasyonuna göre plasentanın sınıflandırması	4
2.1.1.	Erken dönem plasenta gelişiminin basamakları	6
2.1.2.	Erken gelişim dönemindeki plasentanın şematik çizimi	7
2.1.3.	Plasentanın genel yapısını ve plasental bariyer bileşenlerini gösteren şematik çizim	9
2.2.1.	Plasental villus ağacında farklı villus tiplerinin şematik olarak çizimi	10
2.3.1.	Temel villus bileşenlerinin şematik çizimi	12
2.3.1.1.1.	Olgun plasentada trofoblast tabakasının taramalı elektron mikroskobu ile analizi	13
2.3.1.1.1.1.	Villus yüzeyinde trofoblast dönüşümünü ve apoptozunu gösteren şematik çizim	14
2.3.1.2.1.	GER içeren ve DER içeren sinsisyotrofoblast tabakasının farklı segmentlerinin elektron mikroskobik görüntüsü	15
2.3.1.2.2.	Vaskülosinsisyal membranın elektron mikroskobik incelenmesi	16
2.4.1.	Retrovirüsün yapısı	19
2.4.2.	Retrovirüsün yaşam döngüsü	19
2.4.1.1.	Syncytin gen yapısı	20
2.4.2.1.	Syncytin 1 proteini şematize edilmiştir	21
2.4.2.2.	Syncytin 1 proteininin füzyojenik ve füzyojenik olmayan etkisi	21
2.6.4.1.	Diyabetik plasentada fokal (odak) immatürite ve villus ödemi	27
3.1.1.	Hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış kontrol ve diyabetik term plasenta örnekleri	38

3.2.1.1.	Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde Syncytin 1 immün boyanması	39
3.2.1.2.	Kontrol ve diyabetik term plasentada Syncytin 1 immün boyanmaları	40
3.2.2.1.	Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde SLC1A5 immün boyanması	41
3.2.2.2.	Kontrol ve diyabetik term plasenta SLC1A5 immün boyanmaları	42
3.2.3.1.	Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde Syncytin 2 immün boyanması	43
3.2.3.2.	Normal ve diyabetik term plasenta Syncytin 2 immün boyanmaları	45
3.2.4.1.	Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde MFSD2 immün boyanması	46
3.2.4.2.	Normal ve diyabetik term plasenta MFSD2 immün boyanmaları	47
3.2.5.1.	Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde Sitokeratin 7 ve Vimentin immün boyanmaları	48
3.2.5.2.	Kontrol term ve diyabetik term plasenta örneklerinde Sitokeratin 7 ve Vimentin immün boyanmaları	48
3.2.5.3.	Erken dönem plasenta ve kontrol term plasenta örneklerinde Syncytin 1, SLC1A5, Syncytin 2 ve MFSD2 proteinlerinin immün boyanma yoğunluklarını karşılaştıran grafik	49
3.2.5.4.	Normal term plasenta ve diyabetik term plasenta örneklerinde Syncytin 1, SLC1A5, Syncytin 2 ve MFSD2 proteinlerinin immün boyanma yoğunluklarını karşılaştıran grafik	49
3.3.1.1.	Erken dönem (1. Trimester), kontrol term ve diyabetik term plasentalarda Syncytin 1 protein bantları.	50
3.3.2.1.	Erken dönem (1. Trimester), kontrol term ve diyabetik term plasentalarda SLC1A5 protein bantları.	51
3.3.3.1.	Erken dönem (1. Trimester), kontrol term ve diyabetik term plasentalarda Syncytin 2 protein bantları.	51
3.3.4.1.	Erken dönem (1. Trimester), kontrol term ve diyabetik term plasentalarda MFSD2 protein bantları.	52
3.3.5.1.	Kontrol ve diyabetik term plasenta örneklerinin taramalı elektron mikroskop ile incelenmesi	53

3.5.6.1.	Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde geçirimli elektron mikroskop inceleme sonuçları	54
3.5.6.2.	Kontrol term plasenta ve diyabetik term plasentalarda geçirimli elektron mikroskop incelemesi.	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

3.2.1.	İmmünohistokimya deneyinde kullanılan primer antikorlar, uygun dilüsyonları ve sekonder antikorlar.	32
3.4.1.	Western blot deneyinde kullanılan primer ve sekonder antikorlar.	37

GİRİŞ ve AMAÇ

1. Hipotezin Temeli ve Amaç

İnsan plasentası, gebelik süresince anne ile embriyo-fetüs arasında her türlü ilişkiyi sağlayan yegâne organdır. Başlıca görevleri, anne ile fetüs arasında gaz ve besinlerin taşınması, bazı hormonların sentezi ve salgılanması, fetüsün korunması olarak özetlenebilir [1]. Ayrıca placent, intrauterin gelişim için ne kadar gerekli ve önemliyse fetüsün doğumdan sonraki hayatının programlanması için de önemli olduğu kabul edilir [2].

Sağlıklı bir gebelik, normal yapıya sahip plasenta ile yakın ilişkilidir. Bu ilişki anneye ait desidua ve duvarındaki miyometriyum arasındaki düzenli ve ahenkli etkileşimler ve trofoblast hücre tiplerinin özellikleri sayesinde sağlanır [3]. İnsan plasentasının gelişimi süresince trofoblast hücreleri esas görevi üstlenirler. "Villöz trofoblast (villus içi trofoblast)" ve "ekstravillöz trofoblast (villöz dışı trofoblast, EVT)" olmak üzere iki temel hücre tipi ayırt edilir. EVT'ler plasentasyondan sorumludurlar, bunu da invazif karakterleri sayesinde sağlarlar. EVT'ler, koryon plağı ve hücre adacıkları dışında plasental villus ağacının gelişimine doğrudan katkı yapmazlar [4].

Villöz yapıyı oluşturan elemanların başında trofoblastlar vardır. Dışta sinsisyotrofoblast, onun altında sitotrofoblast, kan damarlarıyla birlikte farklı hücreler içeren villöz stroması (villöz bağ dokusu) villus yapısını oluşturur. Serbest (yüzen) koryonik villusların sitotrofoblastik hücreleri çoğalır, farklılaşır, aralıklı olarak sinsisyotrofoblast (ST) tabakasını meydana getirir. Sinsisyotrofoblast tabakası gebelik boyunca önemli roller üstlenir. Bu tabaka, her türlü geçişimin yapıldığı seçici bir bariyer olarak görev yapar. Örneğin gaz, iyon ve besin taşınımını, fetal büyüme ve gelişim için gerekli bazı hormonların sentezlenmesi gibi birçok plasental görevin gerçekleştiği tabakadır. İnsan plasentasının görevlerinin tam olarak yapması, başarılı bir villöz sinsisyotrofoblast oluşumuna ve gelişmesine bağlıdır [5].

İnsan Endojen retrovirüsler (HERV), insan genomunun yaklaşık %8'ini oluşturduğu, bu aileye ait 2 genin insan plasentasına özgün bir şekilde, yüksek oranda ekspres edildiği ve hücre-hücre füzyonunu indüklediği bildirilmiştir [6]. Bu genler, HERV-W Env glikoprotein (syncytin 1) ve HERV-FRD Env glikoprotein (syncytin 2) olarak adlandırılan iki proteini kodlamaktadır. Syncytin 1, D Tipi memeli retrovirus reseptörü (ASCT2, SLC1A5, nötral amino asit taşıyıcısı) ile etkileşime girerek sinsisyum oluşumunu indükler. Syncytin 2 ise reseptörü olan MFSD2 (major facilitator superfamily domain containing) ile etkileşime girerek sinsisyum oluşumunda rol oynar [7]. Syncytin 1 ve Syncytin 2 proteinlerinin insan plasentasının oluşumu ve gelişmesinde önemli rolü olduğu yönünde görüşler teyit edilmiştir [2]. Syncytin proteinlerinin görev aldığı sinsisyotrofoblast oluşumunda meydana gelebilecek bir bozukluk plasenta patolojilerine neden olabilir [8].

Diabetes mellitus (DM) tüm dünyada en sık rastlanan endokrin hastalıklardan biridir [9]. İnsülinin kısmen veya tamamen eksik olmasına bağlı gelişen, açlık kan glukozunun yüksekliği ile karakterize sistemik bir metabolizma hastalığıdır [10]. Diyabetik gebelikler (aşikar diyabet ya da gestasyonel diyabet) ise hem anne hem de fetüs için muhtemel riskler taşır. Bu tip gebeliklerde fetüs artmış morbidite ve mortalite ile ilişkili hipoksik stres ve çeşitli metabolik anomalilere maruz kalır [11, 12].

Diyabetik gebeliklerden elde edilen plasentalar, normal plasentalarla kıyaslandığında bir takım morfolojik ve histolojik farklılıklar gösterir. Diyabetik plasentalar, kontrol plasentalara oranla daha büyük ve kalındır. Histolojik olarak diyabetik plasentalarda en sık rastlanan anomali, villusların tam olarak olgunlaşmaması yani "villöz immatürite"dir. Bunun yanı sıra diyabetik plasentalarda; koryonik villuslarda damar genişlemesi (vasküler hiperplazi), villuslarda kan damarlarının sayıca normalden fazla olması (chorangiosis), fibrinoid artışı, nekrotik alanların yoğunluğu ve sinsisyotrofoblastik bazal membran kalınlaşması izlenir [5, 13].

Plasenta yapısı ve görevleri ile diyabetik plasentalarda görülen patolojik yapılanmalar ile endojen retrovirüslerin kodladığı Syncytin 1, Syncytin 2 ve reseptör molekülleri arasında bir bağlantının olabileceğini bu bilgiler bize hatırlatıyor. Bu temel bilgiler ışığında konunun irdelenerek araştırılması kaçınılmaz olmaktadır.

Literatürde farklı plasental patolojiler (Preeklampsia ve İntra Uterin Büyüme Geriliği) ile Syncytin proteinlerinin ilişkisini açıklayan çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte, sıklıkla görülen diyabetin etkin olduğu plasenta patolojilerinde Syncytin proteinlerinin varlığı ve etkileri hakkında bilginiz yok denecek kadar azdır. Bu moleküllerin, gebeliğin erken dönemlerinde, normal term ve diyabetik term plasentalardaki ekspresyonları ve görevleri henüz tarif edilmemiştir.

Hipotezimiz; "Plasental villus tiplerinde ve diyabetik plasentada, Syncytin 1, Syncytin 2, ile onların reseptörleri olan SLC1A5 (Syncytin 1) ve MFSD2 (Syncytin 2) farklı ekspresyonlar gösterir". Bu bağlamda amacımız, normal erken dönem, normal term ve diyabetik term insan plasenta örneklerinde, retroviral proteinler olan Syncytin 1, Syncytin 2 ve reseptörlerinin (SLC1A5 ve MFSD2) ekspresyon ve muhtemel görevlerini araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

2. Plasenta

Plasenta, blastosist implantasyonu ile gelişmeye başlayan, gebelik süresince anne ile fetus arasındaki bağlantıyı oluşturan ve doğum ile birlikte görevini tamamlayan materno-fötal bir organdır. Fetusun yaşamı ve gelişimi için vazgeçilmez fonksiyonlara sahiptir [5, 14]. Fetusla anne arasındaki etkileşimler, özelleşmiş fetomaternal yüzeyin gelişimi ile mümkündür. Plasentanın başlıca fonksiyonları şu şekilde özetlenebilir [5];

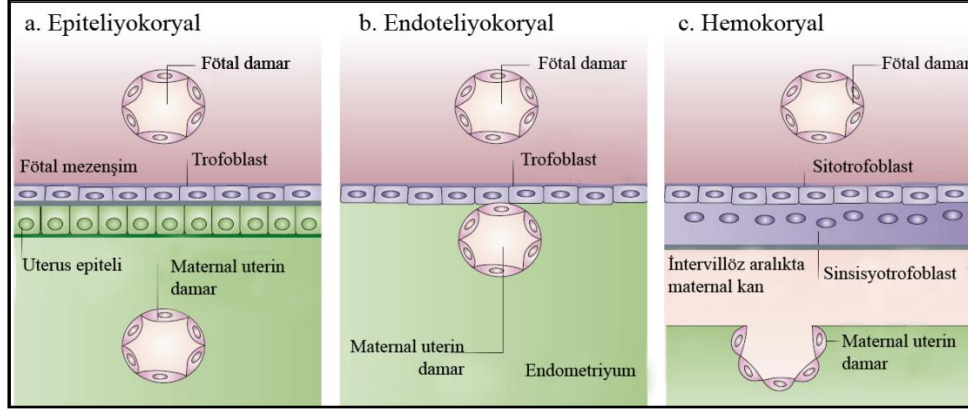
- İntrauterin gelişim süresince gerekli gaz transferinin yapılması,
- Salgılama fonksiyonu, su dengesinin sağlanması, pH düzenlenmesi (gelişimin ilerleyen dönemindeki böbrek fonksiyonları),
- Bağırsaklar yerine katabolik ve rezorptif fonksiyonların yerine getirilmesi,
- Fetus-embriyo için gerekli olan besinlerin sağlanması,
- Gebeliğin devamı için gerekli endokrin elemanları salgılamak böylece endokrin görev yapmak (Plasentadan sentezlenen hormonlar: insan koryonik gonadotropin (hCG), insan plasental laktojen (hPL), insan koryonik tiotropin (hCT), insan koryonik somatomammotropin (hCS), insan koryonik adreno-kortikotropin (hCACTH), progesteron ve östrojen),
- Karaciğerin sayısız salgısal ve metabolik işlevinin görülmesi,
- Gebeliğin erken döneminde hematopoezin oluşması,
- Derinin ısı transferi yapması,
- Birçok immünolojik görevin başarılması,
- Fetusun zararlı etkilerden korunması.

İntrauterin dönem boyunca birden fazla görevi üstlenen plasenta, türler arasında farklılıklar gösterir [15]. Plasentanın sınıflandırılmasında, materno-fötal engelin (bariyerin) yapısı, villus organizasyonu ve materno-fötal girinti-çıkıntılar (interdigitasyon) esas alındığında birçok plasenta tipi ayırt edilir [16].

Maternal ve fötal dolaşımları birbirinden ayıran materno-fötal/ plasental bariyeri oluşturan hücrelere göre plasenta 3 sınıfa ayrılabilir 1) Epteliyokoryal, 2) Endoteliyokoryal ve 3) Hemokoryal [17].

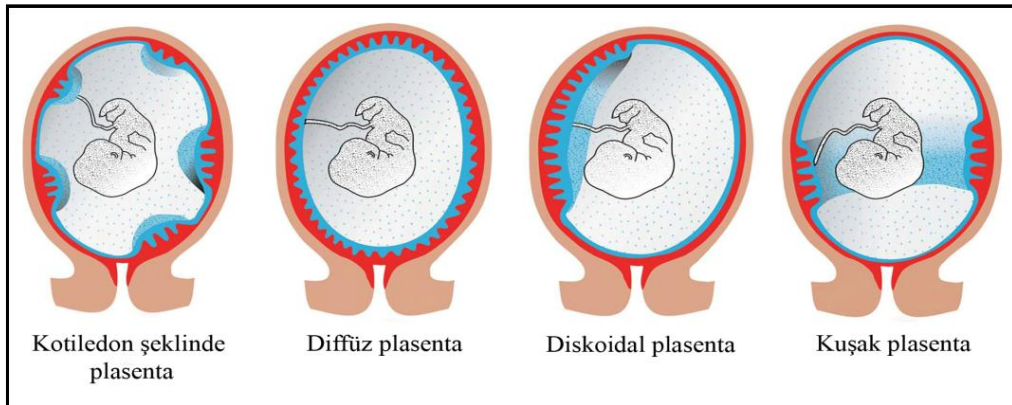
1) Epteliyokoryal tip plasentada endometriyum blastosist tarafından işgal edilmez; bütünlüğünü korur, trofoblast hücreleri uterus epiteli ile direkt ilişkide görülür. Domuz ve atlarda bu tip plasenta görülür [15]. 2) Endoteliyokoryal plasentada, blastosist uterus epitelinin ve endometriyumu aşındırır. Fötal ve maternal endotel hücreleri sadece trofoblast hücreleri ile birbirinden ayrılır. Endoteliyokoryal plasenta kedi ve köpeklerde görülmektedir [18]. 3) Hemokoryal plasenta tipinde koryon kanla temastadır. İnsan plasentasını iyi bir örnektir. Primatlarda ve kemirgenlerde görülen

hemokoryal tip plasentadır (Şekil 2.1). Bu tip plasentalarda, maternal kan trofoblast yüzeyi ile direkt temas halindedir [17].



Şekil 2.1.Materno-fötal bariyerin yapısına göre plasentanın sınıflandırılması. Plasentasyonun 3 temel tipini gösteren şematik çizimde fötal trofoblast hücreleri ve maternal kan arasındaki ilişki gösterilmektedir. a) Epiteliyokoryal tip, b) Endoteliyokoryal tip ve c) Hemokoryal tip plasenta [19].

Plasental yapıları sınıflandırmada kullanılan temel kriterlerden biri de villus yapısındaki düzenlenmedir [15]. Villus yapıları, kotiledon, diffüz, disk biçiminde ya da kuşak şeklinde olabilir. Koyun ve inek gibi geniş getiren memelilerde bulunan kotiledonlu plasentada (placenta multiplex), endometriyuma birçok ayrı bölgede bağlanmış olan plasenta kotiledonları mevcuttur. Köpek ve kedi gibi diğer bazı türlerde kuşak plasenta (placenta annularis) görülür. Domuz, at ve balina gibi türlerde görülen diffüz plasentada ise (placenta membranacea) koryonik villi tüm fötal kese üzerinde dağılım gösterir. Kemirgenlerde, maymunlarda ve insanlarda disk biçimi plasenta görülür. Bu plasenta tipinde villus yapıları disk benzeri şekilde organize olmuşlardır. Bazı primatlarda, villusların iki disk benzeri şekilde topluluklar oluşturması ile bidiskoidal plasenta görülür (Şekil 2.2) [17, 18, 20].



Şekil 2.2. Villus organizasyonuna göre plasentanın sınıflandırılması [5].

Bir diğerk sınıflandırma ise koryonik yüzeyde görülen materno-fötal girinti-çıkıntılara (iç katlantılar-interdijitasyon) göre yapılabilir. İnterdijitasyonların türüne göre plasenta, katlantılı, lamelli, villöz, trabeküllü ve labirent tipte olabilir. Domuzlarda ve bazı primatlarda görülen katlantılı tip plasentada en basit türde iç katlantılar görülür. Etçil memelilerde daha karmaşık bir oluşum olan lamelli tipte plasenta görülür. Lamelli tip ve villöz tip plasenta arasında bir geçiş tipi olarak trabeküllü plasenta mevcuttur. Bu plasenta bazı maymun türlerinde görülür. İnsanda, materno-fötal değişim yüzeyinin daha da arttığı, ağaç benzeri dallanmaların görüldüğü villöz tipte plasenta mevcuttur. Villuslar, endometriyal kriptalar içinde yerleşir ve maternal kan ile doğrudan temas halindedir [17].

2.1. Plasentanın Gelişimi

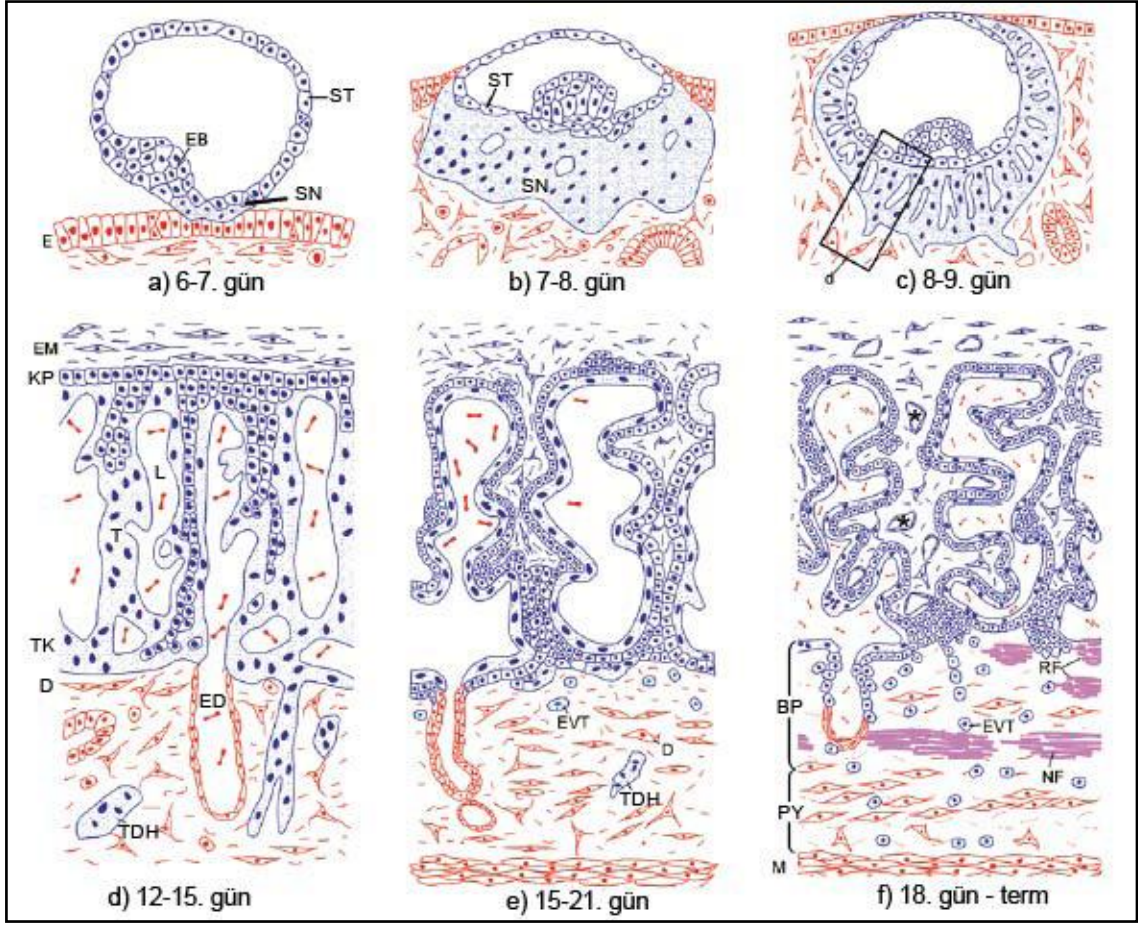
Plasentanın gelişimi; “pre-laküner”, “laküner” ve “erken villöz” evreler olmak üzere üç temel basamaktan oluşur.

2.1.1. Prelaküner Evre

Koitus sonrası (pc, post koitus) 8. güne kadar geçen evredir. Plasentanın gelişimi fötal zarların uterus mukozasıyla yakın ve sabit temaslar kurmasıyla (blastosistin implantasyonu) başlar. İmplantasyonun ilk basamağı apozisyonudur. İnsanda implantasyon pc. 6-7. günlerde gerçekleşir. Bu aşamada blastosist 107-256 hücreden oluşur. Blastosistik boşluğu çevreleyen, dış duvarı oluşturan hücreler trofoblast adını alırlar. Trofoblastlar plasenta dahil, fötal zarların öncüsüdürler. İç hücre kitlesi ise embriyoblastları oluşturur. Embriyo, göbek kordonu ve amniyon bu hücrelerden köken alır (Şekil 2.1.1.a) [21].

Blastosist fallop tüpüne (tuba uterina) ve oradan uterus boşluğuna gelinceye kadar, blastosist ve endometriyum epiteli apikal plazma membranları yapışma gösterme özelliğinde değildir. Her iki epitelin (uterus ve blastosist trofoblastı) apikal yapışkanlığının ortaya çıktığı kısa ve özel evreye “implantasyon penceresi” denir. İmplantasyon penceresi fertilizasyondan sonra implantasyonun başarılı bir şekilde sağlanması için hayati önem taşımaktadır [22].

Endometriyal epitele blastosistin tutunması ve invazyonu sırasında, blastosistin implante olan kutbundaki trofoblast hücreleri hızlıca çoğalarak iki tabaka trofoblast oluşturur. Bu iki tabakadan dışta olan (maternal dokuya bakan) trofoblast hücrelerin sitoplazmayı sınırlayan hücre membranları ortadan kalkar, birbirleri ile birleşir, hücre füzyonu olur ve sinsisyotrofoblast tabakasını oluşturur. Blastosist duvarının maternal dokuya ulaşamayan geriye kalan trofoblast hücreleri birleşme (füzyon) göstermez ve sitotrofoblast adını alır (Şekil 2.1.1.a). pc. 7-8. günler arasında gerçekleşen ve sinsisyotrofoblastların bazal çıkıntıları hariç daha katı bir yapıda izlendiği bu evre “prelaküner evre” olarak adlandırılmıştır [17].



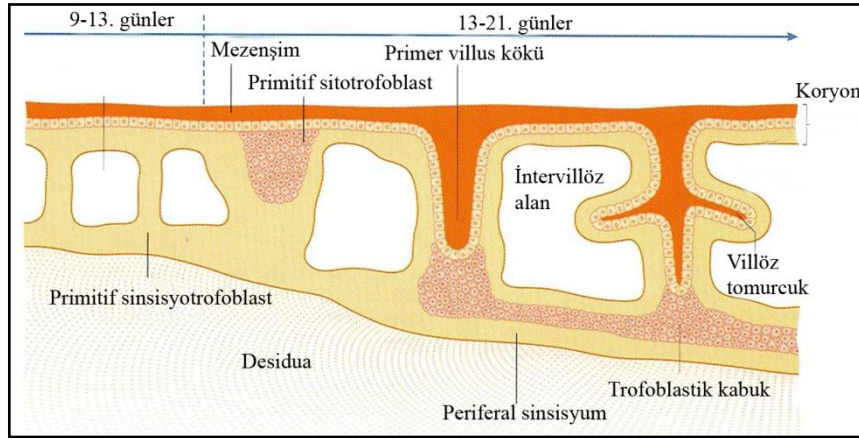
Şekil 2.1.1. Erken dönem plasenta gelişiminin basamakları. a, b) Pre-laküner evre; c) Laküner evre; d) Laküner evreden primer villus evresine geçiş; e) Sekonder villus evresi; f) Tersiyer villus evresi. SN: Sinsisyotrofoblast; ST: Sitotrofoblast; EB: Embriyoblast; E: Endometriyum epiteli; D: Desidua; EM: Ekstraembriyonik Mezoderm; L: Maternal Kan Lakünü; ED: Endometriyum Damarı; KP: Primer Koryonik Plak; TK: Trofoblastik Kabuk; T: Primer villus trabekülü; EDT: Ekstra Villöz Trofoblast; BP: Bazal Plak; PY: Plasental Yatak; NF: Nitabuch'un Fibrinoidi; RF: Rohr Fibrinoidi; TDH: Trofoblastik Dev Hücre; (*): Fötal kan damarı. Kırmızı: Maternal hücreler, Mavi: Fötal hücreler, Mor: Maternal-Fötal karışık yapı [23].

2.1.2. Laküner Evre

Koitus sonrası (post koitus; pc.) 8. günde implantasyon kutbunda büyüyen sinsisyotrofoblastik kitle içerisinde küçük intrasinsisyal (sinsisyum içi) boşluklar (vakuoller) oluşmaya başlar. Oluşan bu vakuoller hızla büyür ve bir laküna sistemi oluşturur (Şekil 2.1.1.b, c). Lakünalar birbirinden sinsisyotrofoblast trabekülleri ile ayrılır. Lakünaların oluşması plasantasyonun laküna safhasının başladığını gösterir. Laküna oluşumu implantasyon kutbunda başlar ve gebelik ilerledikçe sinsisyotrofoblastik kitle tüm blastosist yüzeyini kaplar. Bu olay blastosistin iyice derinlere implantasyonu ve dolayısıyla uterus epitelinin implantasyon alanının üstünü örtmesiyle pc. 12. günde son bulur. Bu evrede blastosistin yüzeyi tamamen sinsisyotrofoblast ile kaplıdır. Trofoblastın çoğalması ve sinsisyumun oluşumu (hücre füzyonu) implantasyon kutbunda başladığı için, anti-implantasyon bölgesi ile

kıyaslandığında trofoblastik duvar burada daha kalındır. İmplantasyon kutbundaki bu daha kalın trofoblast tabakası ilerleyen dönemlerde fetal plasentayı oluşturur ve daha ince olan karşı taraftaki ince trofoblastik kabuk ise düz koryonu (koryon leve) oluşturur. Lakünün meydana gelmesi blastosistin üzerini örten trofoblastik örtüyü üç tabakaya ayırır (Şekil 2.1.1.c, d):

- 1- Blastosist boşluğuna bakan birincil (primer) koryonik plak
- 2- Trabekülalarla beraber laküna sistemi
- 3- Endometriyuma bakan trofoblastik kabuk (Şekil 2.1.2)



Şekil 2.1.2. Erken gelişim dönemindeki plasentanın şematik çizimi [14].

Birincil primer koryonik plak, yer yer iki, bazen üç katman oluşturan kesintisiz bir sitotrofoblast tabakasından oluşur. Lakünalara doğru, bu sitotrofoblastlar sinsisyotrofoblastlarla örtülüdür (Şekil 2.1.1.d). Pc. 14. günde mezenşim hücreleri sitotrofoblastların iç yüzeyine dağılırlar ve burada gevşek bir ağ yapısındaki embriyo dışı mezenşimi (ekstra embriyonik mezenşim) oluştururlar.

Birincil (primer) koryonik plağın altında lakünalar bulunur. Bu lakünalar, trabekül adını alan sinsisyotrofoblast bölmeleri (septaları) ile birbirlerinden ayrılırlar. Pc. 12. günde, bu trabeküller primer koryonik plaktan köken alan sitotrofoblastlar tarafından invaze edilirler (Şekil 2.1.1.d). Birkaç gün içerisinde, sitotrofoblastlar bütün trabeküller boyunca uzanırlar. Trabeküllerin uç kısımlarının birleştiği yerde trofoblastın en dış kısmı olan trofoblastik kabuğu oluştururlar [21]. Lakünalar başlangıçta sadece sinsisyotrofoblastlardan oluşurken, sitotrofoblastların lakünalar aracılığıyla kabuğa ulaşması ile (pc. 15. gün) daha heterojen bir yapı kazanır. Sinsisyotrofoblast lakünalarının alt kısmını oluşturur ve yer yer çok tabakalı bir yapı gösteren sitotrofoblastlarla devam eder (Şekil 2.1.1.e).

İmplantasyonun erken evrelerinde maternal dokunun erozyonu sinsiyal trofoblastların litik (eritici) etkisi ile gerçekleşir ve sitotrofoblastların kabuğun altında bulunması bu durumu değiştirir. Sitotrofoblastların hızlı çoğalma (proliferatif)

özelliği ve endometriyumun derinliklerine hızlı göçü, invazyon ve implantasyon alanının genişlemesini sağlar [21, 24].

Endometriyuma ait stroma da bu işlemler sırasında önemli değişiklikler geçirir. İnvaze olan trofoblastların varlığı ve hormonal aktivitesi, endometriyumda bulunan stromaya ait hücrelerin çoğalmasına ve büyümesine sebep olur ve böylece stroma hücreleri desidua hücrelerine dönüşür [25].

Bazal sinsisyotrofoblastın invazif aktivitesi 12. pc. günde mevcut bulunan maternal kan damarlarının bozulmasına neden olur. Aynı zamanda, bozulan damarlardan dışarı sızan kan hücreleri ilk kez lakünalar içinde görülmeye başlar [21]. Daha sonraki gelişim basamaklarında, bütün laküna sistemi maternal kanla dolmaya (perfüze olmaya) başlar. Böylece plasentanın ilk gerçek maternal dolaşımı başlamış olur.

2.1.3 Erken Villöz Evreler

pc. 13. günde ilk maternal eritrositlerin lakünalarda görülmesinden hemen sonra trabekülalarda artan sitotrofoblast çoğalması (proliferasyonu) ve sinsisyal füzyon görülür. Bunun sonucunda uzunlamasına ve lakünalara doğru yan dallar veren bir trabeküler büyüme meydana gelir. (Şekil 2.1.1.d, e). Boyu ve çapı büyüyen bu birincil (primer) villuslar sitotrofoblastlarca invaze edilir ve bunun sonucunda plasentanın villöz evreleri başlar. Artarak ilerleyen çoğalma (proliferasyon) aktivitesi ve primer villusların dallanması ile villöz ağaç ve trabeküladan gelişen kökleri oluşur (Şekil 2.1.1.e). Bu kökler trofoblastik kabukla birlikte desidua bazalis ile ilişkiye geçtiklerinde “demirleyici villuslar” adını alır. Bu arada, laküna sistemi de intervillöz aralığa dönüşür (Şekil 2.1.2).

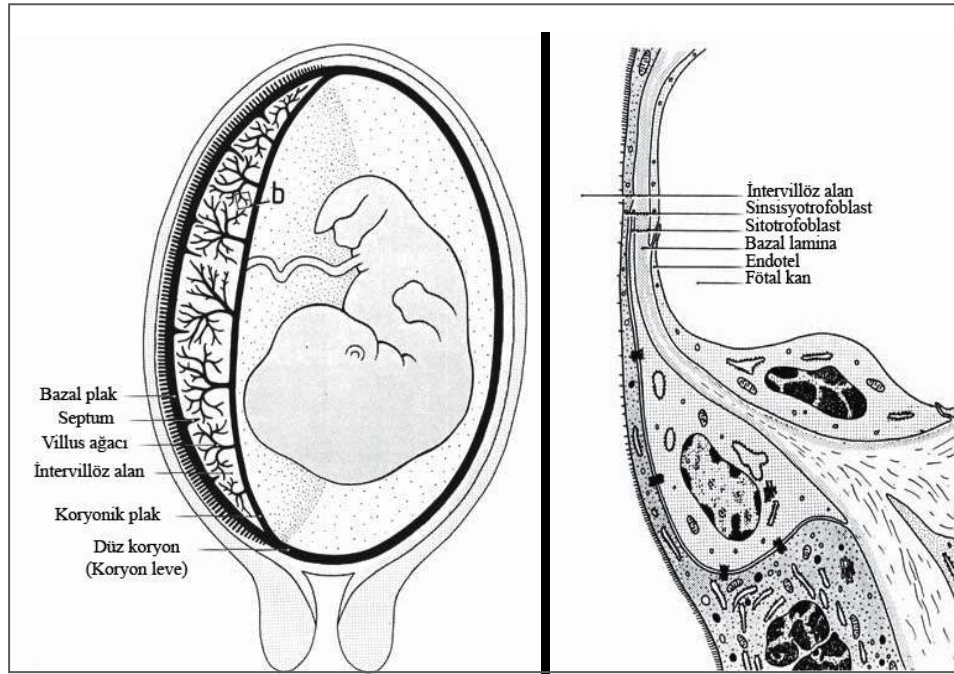
Yaklaşık 2 gün sonra, primer koryonik plağın ekstraembriyonik mezenşimi/mezodermi villusların içine doğru girmeye başlar ve sekonder (ikincil) villuslar oluşur (Şekil 2.1.1.e). Birkaç gün içerisinde, mezenşim periferik olarak villus uçlarına ve demirleyici villusların tabanına doğru genişler [21] fakat trofoblastik kabuğa ulaşmaz. İlk fetal kapillerler, pc. 18-20. günler arasında villusların stromasını oluşturan mezenşim dokuda gözlenir. Bu kapillerler bölgesel olarak mezenşim hücrelerden farklılaşan hemanjiyoblastik progenitor hücrelerden köken alır [26, 27]. Bu hücreler, erken endotel ile döşeli primitif kapillerler içinde yer alan hematopoetik kök hücrelere de kaynaklık ederler. Villöz stromada kapiller kesitlerinin görülmeye başlanması ile tersiyer (üçüncül) villuslar oluşur (Şekil 2.1.1.f). Terme kadar, fetal olarak damarlandırılan bu villuslara tersiyer villus denir. İlerleyen gelişim boyunca tersiyer villuslar, karmaşık farklılaşma işlemlerinden geçerek, birbirlerinden yapısal ve fonksiyonel olarak farklılıklar gösteren çeşitli villus tiplerini oluşturur [5].

Böylece erken villus ağacının gelişmesi bu farklı basamaklar ile gerçekleşir [28]; büyük villusların yüzeylerinde yerel (lokal) sitotrofoblast çoğalması ve ardından sinsisyal birleşme (füzyon) ile sinsisyal tomurcuklar oluşur. Bu tomurcuklar erken primer villuslara benzerler ve sadece trofoblastlardan oluşurlar. Bu tomurcukların birçoğu dejenere olurken, sadece bazıları villöz mezenşimle istila edilir ve villöz tomurcuklara dönüşür. Villöz tomurcuklar yapısal olarak plasantasyonun primer villuslarına karşılık gelir. Stroma içinde fetal damarların oluşumu, uzamaları ve

genişlemeleri ile birlikte mezenşim villusları oluşur. Bunların yüzeyleri boyunca tomurcuk oluşumu yeniden gözlenebilir.

Plasentada intervillöz bir dolaşımın olduğu düşünülürse, fetal ve maternal kanın birbirlerine yakın temasa geçmesi, intravillöz (fötal) dolaşım başlar başlamaz gerçekleşir. Her iki kan, birbirlerinden daima plasental bariyerle ayrılır. Plasental bariyer;

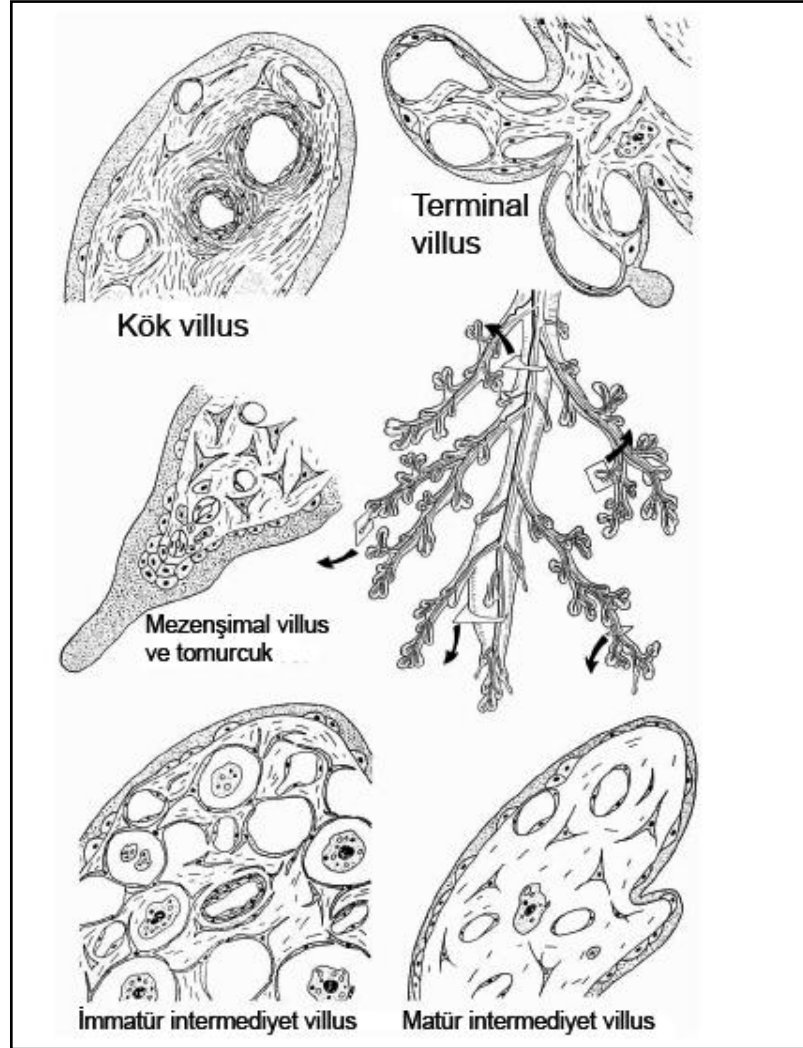
- 1) Villus yüzeyini kesintisiz bir şekilde örten sinsisyotrofoblast tabakası
- 2) Birinci trimesterde kesintisiz, ikinci ve üçüncü trimesterde kesintili bir sitotrofoblast (Langhans' Hücreleri) tabakası
- 3) Trofoblastik bazal lamina
- 4) Bağ dokusu,
- 5) Endotel bazal laminası ve
- 6) Fötal endotel tabakalarından oluşur (Şekil 2.1.3).



Şekil 2.1.3. Plasentanın genel yapısını ve plasental bariyer bileşenlerini gösteren şematik çizim [5].

2.2. Plasental Villus Ağacının Yapısı

Gelişim süresince birinci trimester plasenta ile üçüncü trimester ya da term plasenta karşılaştırıldığında farklı yapılar izlenir. Bu farklılıklar villus ağacının sürekli olarak gelişmesinden ve dallanma göstermesinden kaynaklanır [14]. Sonuç olarak plasenta gelişimi süresince, aynı temel yapıya sahip, farklı görevler gören farklı tip villuslar oluşur (Şekil 2.2.1).



Şekil 2.2.1. Plasental villus ağacında farklı villus tiplerinin şematik olarak çizimi [23].

Bu villusların genel yapıları ise şöyledir; villus etrafındaki maternal kan ile villus stromasını birbirinden ayıran trofoblast tabakası içerirler. Trofoblastlar birbirlerinden kesin sınırlarla ayrılmayan, kesintisiz, çok çekirdekli bir sinsisyotrofoblast tabakası ve bu tabakanın altında Langhans'ın hücreleri denilen, sinsisyumun oluşumuna kaynaklık eden hücreler olan sitotrofoblast hücrelerini içerir. Trofoblastik bazal lamina, trofoblastları villusun stromasından ayırır. Stromada ise çeşitli sayıda ve tipte bağ dokusu hücreleri, bağ dokusu lifleri, ara madde ve farklı büyüklükteki fetal kan damarları vardır. Büyük kök villuslarda bu damarlar genellikle arter ve venler şeklinde iken, koryonik villus ağacının yan dallarında (uçlara doğru) genellikle kapillerler ve sinüzoidler şeklindedir.

Villus ağacında farklı villus tipleri sınıflandırılırken, villusların boyutları, stroma yapıları, içerdikleri damar yapısı ve yerleşimlerine bakılır. Bu kriterlere göre beş farklı villus tipi tanımlanmıştır (Şekil 2.2.1). Her villus tek bir öncüden, erken plasenta gelişimin tersiyer villusuna karşılık gelen mezenşimal villustan köken alır [5].

2.2.1. Kök (Stem) Villus (KV)

Villus ağacının koryonik plak ile ilişkili kısımlarını oluşturan primer kök villuslardır. Temel görevleri villus ağacının periferindeki diğer villus tiplerine destek olmak, onları geniş kan damarlarıyla kanlandırmak ve villus ağacının ana iskeletini oluşturmaktır. Olgun plasentanın üçte birini kök (stem) villuslar oluşturur. En çok villus ağacının subkoryal alanında bulunurlar. Kök villuslar giderek dallanırlar ve çapları azalır. Histolojik olarak yoğun fibröz bir stroma, arter, ven, arteriyol veya venüller ile karakterizedir [14].

2.2.2. Matür İntermediyet Villus (olgun ara villus; MİV)

Villus ağacının kökünden periferine doğru uzanan yan dallardır ve villus ağacının uçlarına doğru terminal villusları oluştururlar. Gebeliğin son trimesterinde sayıları çok azdır. Boyutları genelde 60-150 µm arasındadır. Histolojik olarak gevşek stroma, küçük arteriyoller ve venüller içerirler. Damarların medya tabakası ışık mikroskobu ile ayırt edilemez. Sinsisyotrofoblast tabakası uniform yapıdadır. Olgun plasentada görülen villus tiplerinin dörtte birini oluştururlar [5, 14].

2.2.3. Terminal Villus (TV)

Villus ağacının son, uç dallarıdır. Matür intermediyet villusların (olgun ara villuslar) oluşturduğu üzüm salkımı benzeri uzantılardır. Yoğun kapillerizasyon (kapillerleşme) ve oldukça genişlemiş (dilate) sinüzoidlerle karakterizedir. Sinsisyotrofoblast tabakası ince, sinsisyal çekirdekler düzensiz dağılmış ve genellikle vaskülosinsisyal membran [29] yapısı bulundurmaktadır. Terminal villuslar gebeliğin 27. Haftasında ortaya çıkar ve termde genel villus yapısının %60'ını oluşturur [14]; fetomaternal alışverişin ana kısmını oluştururlar [5].

2.2.4. İmmatür İntermediyet Villus (Olgunlaşmamış ara villus; İMİV)

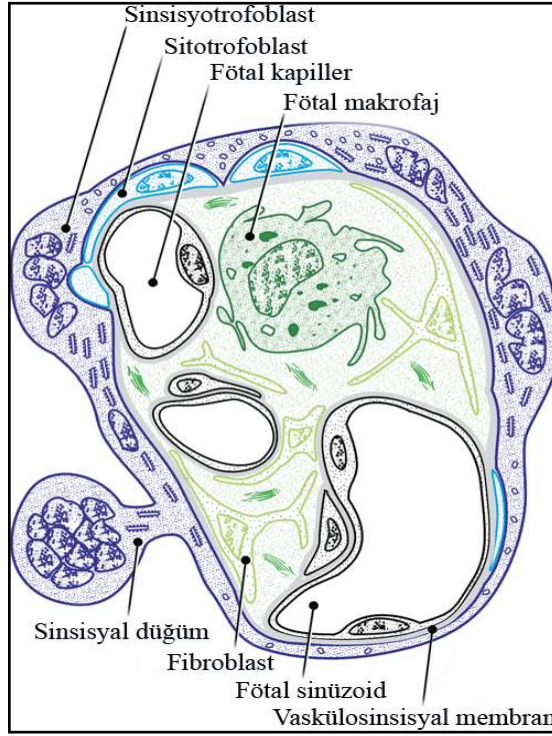
Kök villusun periferine doğru yaptığı uzantılardır. Olgunlaşmamış plasentalarda izlenen en yaygın formdur. İMİV'ler ilk iki trimester boyunca mezenşimal villusların olgunlaşmasıyla meydana gelirler. Daha sonra kök villuslara dönüşürler. İMİV'ler de MİV'ler gibi, mezenşimal ve tamamen gelişmiş villuslar arasında bir formdur [5]. Olgun plasentaların büyüme zonu olarak adlandırılan merkez bölgesinde seyrekte olsa görülmektedir [14]. Histolojik olarak en karakteristik özellikleri ağsı (retiküler) yapıdaki stromalarıdır. Sabit stroma hücrelerinin büyük yelkenvari uzantılarıyla sınırlandırılan çok sayıdaki stroma kanallarına sahiptirler. Hofbauer hücreleri bu kanalların içinde yerleşiktir. Fötal damarlar ve kollajen lif demetleri bu stroma kanallarının aralarında yer alır. Ayrıca oldukça kalın bir trofoblastik kabuğa sahiptirler [5].

2.2.5. Mezenşimal Villus (MV)

Bunlar en primitif villuslardır ve genellikle birinci nesil tersiyer villuslar olarak kabul edilirler. Gebeliğin ilk dönemlerinde baskın tiptir. Bu dönemde, mezenşimal villuslar, İMİV'lerin öncüleridir. Gebeliğin ilerleyen haftalarında İMİV'lar MİV'a dönüşürler. Aynı zamanda villöz çoğalma ve dallanma bölgesi olarak rol oynarlar. Histolojik özellikleri olarak stroma gevşektir. Kollajen lifler azdır. Bazı mezenşim hücreleri ile Hofbauer hücrelerini içerirler. Fötal kapillerler gelişmemiştir ve dilate sinüzoidler görülmez. Kalın trofoblastik tabakanın altında primitif kapillerlerin farklı gelişim evreleri izlenir [5, 26].

2.3. Temel Villus Yapısı

Plasenta villusların histolojik yapısı, villus ağacının gelişim-olgunlaşma evresine ve gebelik yaşına göre değişebilmektedir. Bununla birlikte tüm villus tiplerinde bulunan villöz stroma, fõtal villus damarları, trofoblastik bazal membran ve villöz trofoblastlar kendi içinde bir takım özellikler taşımaktadır (Şekil 2.3.1).



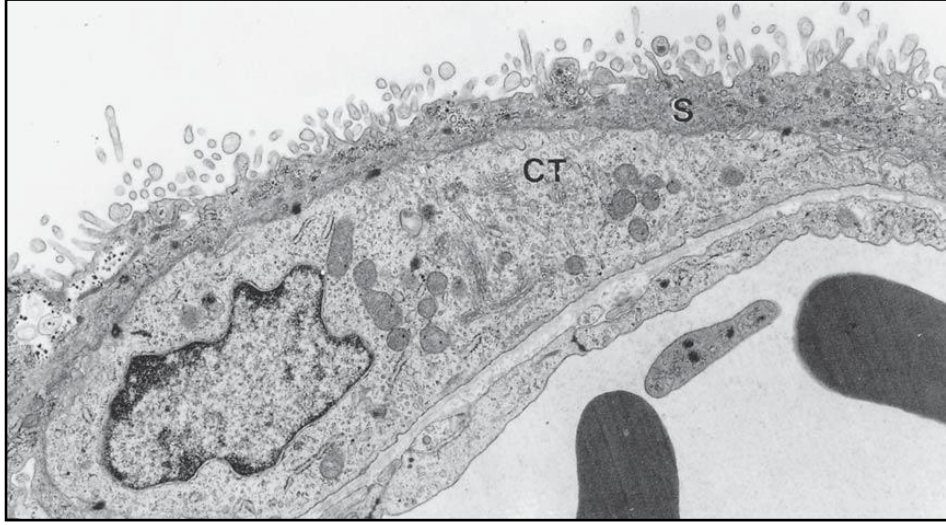
Şekil 2.3.1. Temel villus bileşenlerinin şematik çizimi [17].

2.3.1. Villöz Trofoblast

Plasenta villuslarının dış yüzeyi 2 farklı hücre tabakası ile çevrilidir. Bunlar; içte sitotrofoblast, dışta sinsisyotrofoblastlardır.

2.3.1.1. Sitotrofoblast Tabakası

Sitotrofoblast hücreleri kübik, polihedral ya da oval şekilli olup hücre sınırları net olarak görülür. Sitoplazmaları belirgin az sayıda granül içerebilir. Sitoplazmalarında gelişmiş Golgi aygıtı, az sayıda mitokondriyonlar, granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve çok sayıda poliribozom bulunur. Sitotrofoblast hücrelerinin çekirdeklerinin kromatin ağı dağınık halde bulunur ve açık renkte boyanırlar (Şekil 2.3.1.1.1). Erken gebelik döneminde, kesintisiz bir sitotrofoblast hücre tabakası bulunur. Olgun plasentada ise terminal villuslarda seyrek bir şekilde bulunurlar. Bu anlamda sitotrofoblast hücrelerinin gebelik boyunca sayısının arttığını fakat matür plasentada bu hücrelerin tabaka yapısı oluşturmaktan ayrı ve seyrek bulunduklarının altı çizilmelidir.

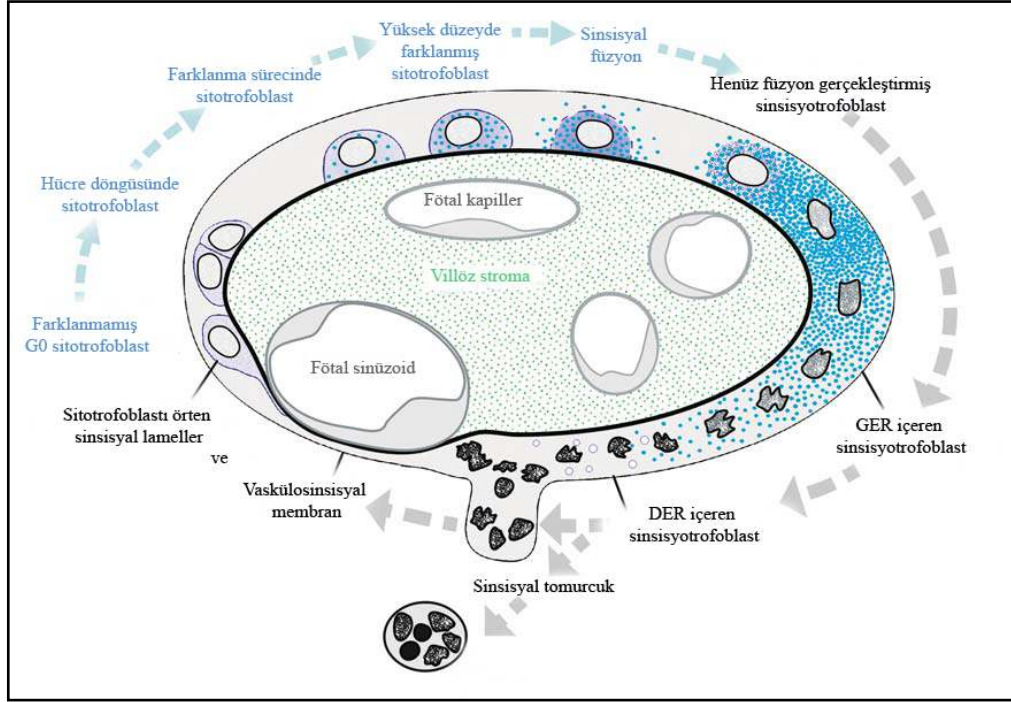


Şekil 2.3.1.1.1. Olgun plasentada trofoblast tabakasının taramalı elektron mikroskobu ile analizi. CT: Sitotrofoblast (altta), S:Sinsisyotrofoblast (üstte) [17].

Sitotrofoblast hücreleri, trofoblastik tabakanın kök hücreleri olarak tanımlanır. Normal şartlar altında bu tabakanın hücreleri gebeliğin ilerleyen dönemlerine doğru suskunlaşır, fakat sinsisyotrofoblast tabakasında herhangi bir hasar meydana gelirse sitotrofoblast hücreleri tekrar çoğalma (mitotik) yeteneği kazanabilirler[30].

Sitotrofoblast Tabakasından Sinsisyotrofoblast Oluşumu:

Sinsisyotrofoblast tabakası oluşurken, sitotrofoblastik hücreler yuvarlak, ökromatik çekirdek ve seyrek organel yapıları içeren farklılaşmamış bir fenotipten, düzensiz, heterokromatik çekirdeğe sahip farklılaşmış bir fenotipe dönüşür. Sinsisyotrofoblast oluşumunu etkileyen faktörler çeşitlilik gösterir; apoptotik yolda gerçekleşen fosfatidilserinlerin plazma membranının iç yüzeyinden dış yüzeyine translokasyonu olayı bunlardan biridir [31]. Sitotrofoblast hücrelerinde çok çekirdekli sinsisyotrofoblast tabakası oluşması sürecinde öncelikle sitotrofoblast hücreleri çoğalır ve yavru-oğul hücreler oluşturur. Bu hücreler bölünmelere gider. Daha sonra oğul hücreler hücre döngüsünden çıkar ve farklılanır. Bu aşamada artık yüksek derecede farklılaşmış sitotrofoblast hücreleri en son farklılaşma sürecine girer ve sinsisyotrofoblast ile sinsisyal füzyonu gerçekleştirir. Farklılaşmanın ikinci seviyesinde yeni proteinler, yeni hormonlar üreilmeye başlar. Geç apoptotik çekirdekler bir araya gelir ve sinsisyumun membran kaplı parçaları halinde sinsisyal düğümleri oluşturur (Şekil 2.3.1.1.1.1). Son olarak da bazı sinsisyal tomurcuklar maternal dolaşıma katılır [32].

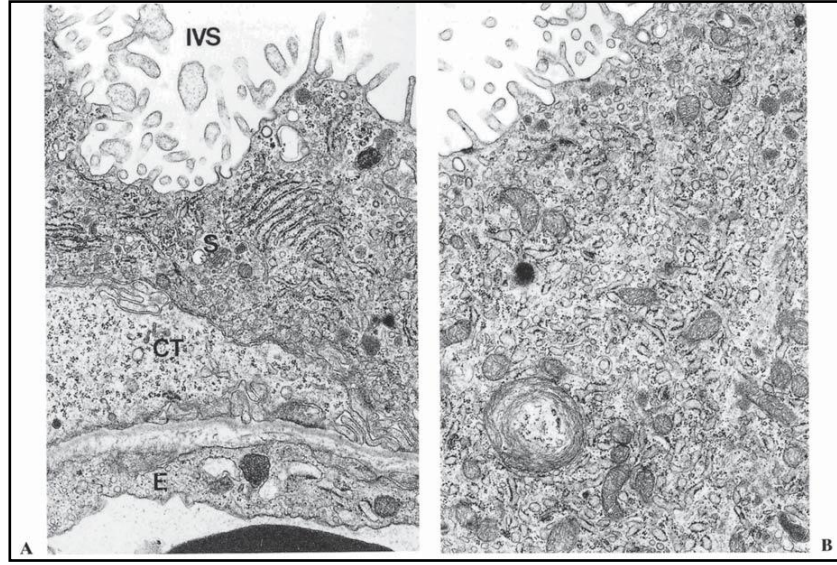


Şekil 2.3.1.1.1.1. Villus yüzeyinde trofoblast dönüşümünü ve apoptozunu gösteren şematik çizim [17].

2.3.1.2. Sinsisyotrofoblast Tabakası

Sinsisyotrofoblast tabakası gebelik boyunca önemli roller üstlenir. Bu tabaka, iyon ve besin değişimi, fetal büyüme ve gelişim için gerekli hormonların sentezlenmesi gibi birçok plasental fonksiyonun gerçekleştiği trofoblastik tabakadır [33]. Sinsisyotrofoblast tabakasının elektron mikroskobu analizlerinde bol miktarda düz endoplazmik retikulum (DER), granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve mitokondriyonlar içerdiği belirlenmiştir. Bu bilgiler ışığında sinsisyotrofoblast tabakasının endokrin hücre aktivitesi ve steroid metabolizmasında rol oynadığı söylenebilir [17]. Gebeliğin erken dönemine ait plasentalarda sinsisyotrofoblast villusun en dış tabakası olarak uniform bir tabakadır.

Sinsisyotrofoblast tabakası maternal kan ile doğrudan bağlantılıdır. Bu durum endotel hücreleri ile aralarında bir ilişki kurulabileceğini akıllara getirmiş fakat endotel hücreleri ile benzer bir yapı göstermemesine rağmen onun gibi davranma yeteneği olduğu ortaya çıkmıştır (Şekil 2.3.1.2.1) [34, 35].



Şekil 2.3.1.2.1. (A) GER içeren ve (B) DER içeren sinsisyotrofoblast tabakasının farklı segmentlerinin elektron mikroskopik görüntüsü. IVS: Intervillöz alan, CT:Sitotrofoblast, ST:Sinsisyotrofoblast, E: Fötal endotel [17].

Birinci trimester plasentalarda bulunan sinsisyal çekirdekler düzenli bir şekilde konumlanmış, sitotrofoblast çekirdeklerinden daha koyu ve küçüktürler. Sinsisyal sitoplazma ise homojen ya da az granüler olabilir fakat daha yaygın olarak vakuol içermektedir. Sitoplazmada bazı lipid damlacıkları bulunur [14].

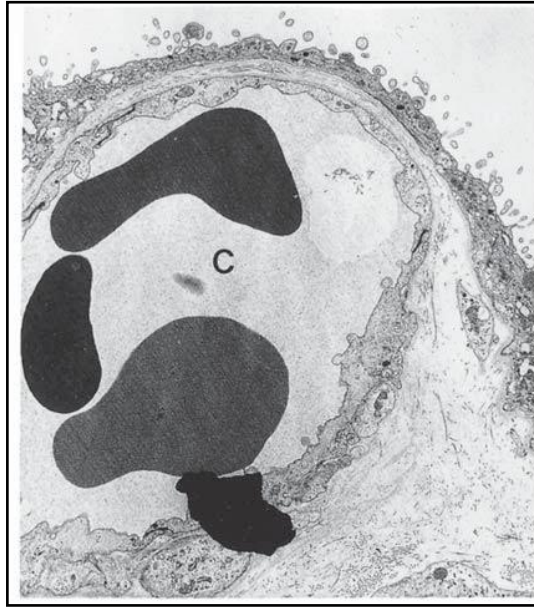
Term plasentadaki villuslarda bulunun sinsisyal çekirdekler ise düzensiz yerleşimli, çok çekirdekli formda ve çoğunlukla villus yüzeyinden çıkıntı yapmış yapılar şeklinde izlenir. Villus yüzeyinden adeta çıkıntı yapan bu çok çekirdekli yapılar sinsisyal düğüm olarak bilinir. Sinsisyal düğümler, sinsisyal tomurcuklardan ve sinsisyal sürgünlerden farklıdır. Sinsisyal tomurcuklar gebeliğin erken döneminden itibaren görülür ve villus oluşturma eğiliminde değildirler. Sinsisyal tomurcuklar adeta saplı bir kitle şeklindedir ve villus yüzeyinden ayrılarak intervillöz aralığa geçerler, oradan da maternal dolaşıma katılırlar.

Sinsisyal sürgünler, trofoblastın villöz stromaya doğru yaptığı invajinasyonlar olarak bilinirler. Villöz stromada serbest bulunan çok çekirdekli cisimler olarak görülebilirler [36]. Bazı sinsisyal düğümler ise villusun yüzey trofoblastlarına teğet geçen kesitlerde artefakt olarak görülebilmektedir [37, 38]. Bazen bu kesitlerde sinsisyal düğümlerin çekirdeği sinsisyotrofoblast tabakasında bulunan çekirdeklerden farklı görülmez. Fakat gerçekte sinsisyal düğümlerin çekirdeği daha küçük ve daha koyu renkte boyanmaktadır. Elektron mikroskopik çalışmalar bu çekirdeklerin apoptotik görünüme sahip olduklarını göstermektedir.

Olgun plasentada bulunan birçok villusun bazı bölgelerinde sinsisyotrofoblast tabakası bölgesel olarak incelmış ve çekirdek içermeyen alanlar halindedir. Işık mikroskopunda bu bölgeler stromada bulunan damar duvarı ile füzyon yapmış gibi görülmektedir. Bu yapıya vaskülo-sinsisyal membran adı verilir [29, 39]. Elektron mikroskopik incelemeler vaskülo-sinsisyal membran oluşumunda tam anlamıyla bir füzyon olayının olmadığını gösterse de, bu alanların sinsisyumun diğer alanlarından farklı olduğu ve gaz transferi için özelleştiği bilinmektedir [40, 41]. Bu vaskülosinsisyal

(damar-sinsisyum) yapılar, fetüsün artan fizyolojik ihtiyaçlarını çok hızlı karşılamak amacıyla özelleşmiş çok özel yapılardır. Bu özellikten dolayı nefro-pönomoid birimler [29, 42] olarak da adlandırılmaktadırlar

Vaskülo-sinsisyal membranın gaz transferi için önemli olması, maternal ve fetal dolaşımının birbirlerine en yakın temas kurduğu noktada olmasından kaynaklanabilmektedir [42, 43]. Ayrıca elektron mikroskopik incelemeler bu bölgelerde ciddi mikrovillus kaybının olduğunu göstermektedir (Şekil 2.3.1.2.2) [29, 44]. Bu anlamda vaskülo-sinsisyal membran, fonksiyonel bölgesel farklanmanın morfolojik bir kanıtı olarak fonksiyon yapı ilişkisinin bulunduğunu işaret edebilir.



Şekil 2.3.1.2.2. Vaskülosinsisyal membranın elektron mikroskopik incelenmesi, C:Fötal kapiller. Sinsisyal lameller fötal kapillerin etrafında oldukça ince yapıdadır. Bu bölge az sayıda organel ve mikrovillus kaybı ile karakterizedir [17].

2.3.2. Villöz Stroma

Villöz stroma, farklılaşmamış mezenşim hücreleri, olgun mezenşim (retikulum) hücreleri, fibroblast, miyofibroblast, pre-kollajen ve kollajen fibrillerini içermektedir. Stromadaki hücre çeşitleri ve bu hücrelerin yoğunluğu gelişimin farklı evrelerinde villus ağacında farklı oranlar gösterebilmektedir [45]. Ayrıca az sayıda mast hücresi de villöz stromada bulunabilir fakat bunların fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir [46].

2.3.2.1. Mezenşim Hücreleri

Farklılaşmamış stroma hücreleridir ve 2. ayın sonuna kadar en baskın hücre tipidir. Gebelik ilerledikçe sadece yeni oluşan mezenşim villuslarda görülür. Bu hücreler genellikle küçük (10-20 µm uzunluğunda, 3-4 µm eninde), az sitoplazmalı, mekik şekilli hücrelerdir. Bunlar birbirlerine az sayıdaki ince uzantılarla tutunur. Uzantıları yapraksı (filiform) şekilde olduğu için stromal kanallar oluşturmazlar. Bu hücreler diğer bütün stroma tiplerinin öncüsü olan mezenşim stromayı oluştururlar.

2.3.2.2. Retikulum Hücreleri

Retikulum hücreleri immatür intermediyet (olgunlaşmamış ara villus) villusların stromasının ana hücresidir ve ilk olarak gebeliğin ikinci ayının sonunda ortaya çıkarlar. Bu hücreler uzamış şekilli, büyük gövdeleri ile karakterizedir. Hücre gövdelerinden çok sayıda, uzun, ince ve dallanan uzantılar çıkar. Kesitlerde bu uzantıların komşu hücrelerin uzantıları ile temaslar kurarak, ağlar oluşturdıkları görülür. Üç boyutlu SEM preparasyonlarında, bu yelken şeklindeki uzantıların ekstrasellüler kompartmanlar oluşturduğu görülür. Bu stroma kanalları, villus eksenine paralel yerleşir. Fötal damarlar, bağ dokusu lifleri bu stroma kanallarının arasına yerleşir. Bu kompartmanlarda genellikle Hofbauer hücreleri yerleşir. Komşu kanallar arası pencereler, plasenta makrofajları olan Hofbauer hücrelerine belli düzeyde hareketlilik sağlar. İmmatür intermediyet villuslarda küçük retikulum hücreleri bağ dokusunun sabit hücrelerinin çoğunu oluşturur. Matür intermediyet villuslarda daha büyük retikulum hücreleri bulunabilir [47].

2.3.2.3. Fibroblast Hücreleri

Fibroblastlar, daha çok kök villuslarda ve daha az olmak kaydıyla immatür intermediyet villuslarda büyük damarları çevreler şekilde bulunur. Bu hücreler geniş sitoplazmalıdır. Retikulum hücrelerinin aksine, bunların az sayıda, kısa, dallanan, yapraksı (filiform) veya kalın uzantıları vardır [5].

2.3.2.4. Miyofibroblast Hücreleri

Elektron mikroskopik olarak, tipik miyofibroblast karakterindeki hücreler sadece kök villuslarda bulunmaktadır. Damar düz kas hücrelerinden farklı olarak miyofibroblast hücreleri villusun uzun eksenine paraleldir [48]. Kök villusların ikili ya da üçlü damar kavşaklarının ara bölgelerinde yoğun bulunurlar. Bu hücreler damarın esnekliğine ve kan pompalanmasına katkı yaptıkları gibi yedek kasılma rezerv hücre formu görevini de yaparlar [45, 49].

2.3.2.5. Hofbauer Hücreleri

Villöz stromada bulunan diğer bir hücre tipi ise Hofbauer hücreleridir. Hofbauer hücreleri plasenta villuslarında ilk kez pc. 18. günde olgunlaşmamış ara form (IMIV) villuslarda görülürler [21]. Bu hücreler yuvarlak veya ovoid olabilir. Yaklaşık 25 µm çapında ve eksentrik (dış merkezli konumlanmış) çekirdeğe sahiptirler. Sitoplazmasında irili ufaklı vakuoller bulunduran Hofbauer hücreleri genellikle gebeliğin erken dönemlerinde daha çok bulunurlar. Hofbauer hücrelerinin sitoplazmalarının granüllü bir yapı kazanması gebeliğin yaşıyla ilgilidir [50, 51]. Gebelik ilerledikçe villus stroması da yoğun karakter kazandığı için Hofbauer hücrelerinin maskelenmesine ve sıkışmasına neden olur [52]. Hofbauer hücrelerinin orijini hakkında geçmiş yıllarda bir çok görüş bulunmasına rağmen yapılan çalışmalarla bu hücrelerin doku makrofajları olduğu belirtilmiştir. Hofbauer hücreleri, tam anlamıyla makrofajlar gibi morfolojik, histokimyasal ve fonksiyonel özellikler taşımaları da [53] bulundurdıkları yüzey IgG reseptörü ve sınıf II MHC molekülü sentezlemesi ile makrofaj olarak tanımlanırlar [54, 55].

Hofbauer hücreleri immün ve immün olmayan fagositoz yapabilme yeteneğindedir. Plasental dokudaki maternal antikoları tanıyabilirler. Ayrıca plasentada sitokin, prostaglandin ve tromboksan kaynağı olabilirler [56]. Diğer yandan Hofbauer hücrelerinin plasenta su dengesini düzenlediği, taşıma mekanizmalarına katıldığı,

muhtemel endokrin fonksiyona sahip olduğu ve vaskülogenezi kontrol ettiğine dair yapılan çalışmalar bulunmaktadır [51]. Ayrıca Hofbauer hücrelerinin bazı proteinleri sentezlediği, villus ağacının dallanmasına etki ederek plasenta gelişime katkıda bulunduğu öne sürölmektedir [57].

2.3.2.6. Plazma Hücreleri

Bu hücreler, plasenta yapısında çok nadir gözlenir. Gelişmemiş plasentaların kök villuslarının stromalarında bulunurlar [17].

2.3.2.7. Fötal Villus Damarları

Plasenta kan damarları, farklılaşmamış öncöl (prekürsör) hücrelerin (hemanjiyoblast) daha sonra damar ağını oluşturmak üzere düzenlenecek olan endotel hücrelerine farklılaşması ile karakterize bir işlem olan “vaskülogenez” yoluyla oluşturulmaya başlar [26, 58]. İlk olarak villöz stromal hemanjiyoblastik hücrelerin kordon oluşturmasının tam zamanı bilinmemekle birlikte [59], plasantasyon boyunca vaskülogenezin, sekonder villustan tersiyer villusa geçiş sırasında ilk villöz damarların oluşumunda (gebeliğin 18- 35. günleri arası) ve ilerleyen gebelikte immatür intermediyet villuslardan mezenşimal villusların oluşumu sırasında göröldüğu bilinmektedir. İlk anjiyogenez ve vaskülogenezin fötal dolaşım ve umblikal arterlerden bağımsız olarak geliştiği bugün kabul edilmektedir [26]. Vaskülogenezle oluşturulmuş primitif kapiller ağın genişletilmesi ise “anjiyogenez” ile sağlanır. Plasantasyon sırasında, immatür intermediyet villus, kök villus, matür intermediyet villus ve terminal villusların damar ağı bu şekilde oluşturulur [60, 61].

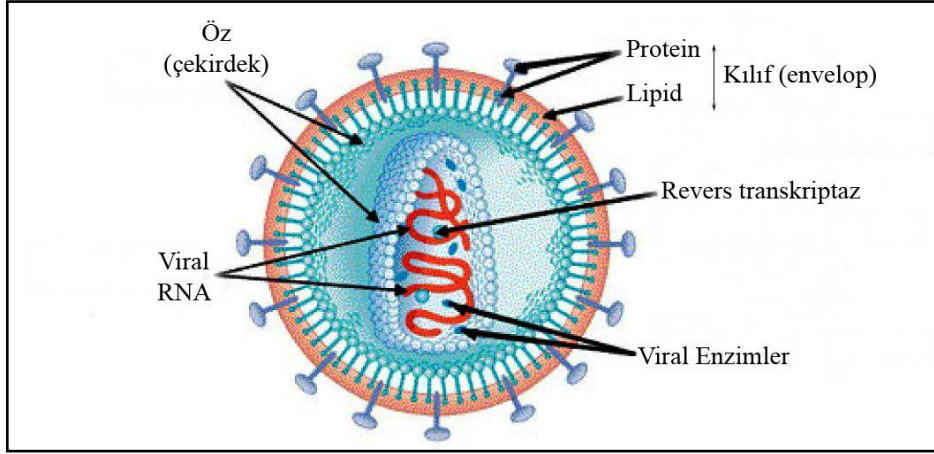
Matür plasentadaki terminal villuslar oldukça genişlemiş (dilate) sinüzoidlerle karakterizedir. Endotel hücreleri sıkı bağlantı birimleri ile birbirlerine tutunmuş, fibronektin, laminin ve tip IV kollojenden zengin bazal lamina ile desteklenmektedir [62, 63].

2.3.2.8. Trofoblastik Bazal Membran

Villusun trofoblast tabakası, villus stromasından trofoblastik bazal membran ile ayrılır. Işık mikroskopik düzeydeki incelemelerde trofoblastik bazal membranın fibriller yapı olduğu görölmektedir. Bu membran 20-50 nm kalınlığındadır. Yapısında kollajen IV, laminin ve heparan sülfat bulunur [64].

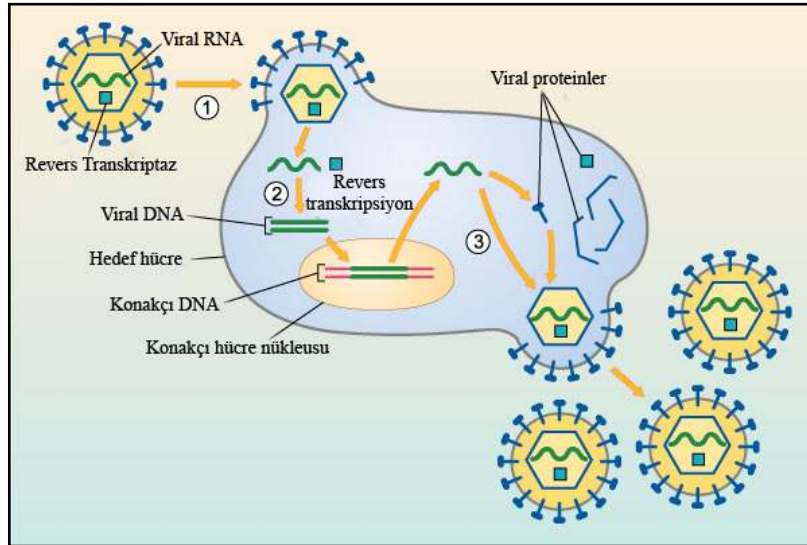
2.4. Retrovirüsler

RNA genomu taşıyan kapsöllü virüslere retrovirüs adı verilmektedir. En dışta protein ve lipid yapıda kılıf (envelope) proteine sahiptirler. Sahip oldukları öz’ün (ekirdek) içinde viral RNA, viral enzimler, revers transkriptaz enzimi bulunur. Retrovirüsler içerdikleri revers transkriptaz enzimi ile tek zincir RNA’dan çift zincir DNA dönüşümünü sağlayabilirler (şekil 2.4.1).



Şekil 2.4.1. Retrovirüsün yapısı [65].

Bu virüsler çoğalmak ve daha sonra başka organizmaları enfekte etmek için konakçı hücre bileşenlerine ihtiyaç duymaktadır. Bu süreç şu şekilde işlemektedir; ilk önce retrovirüs, yüzey reseptörleri ile konakçı hücre membranına tutunur. Retrovirüs ve konakçı hücre membranlarının füzyonu ile protein ve lipid yapıdaki kılıfını (envelope) hücre dışında bırakmak suretiyle, öz ya da diğer adı ile çekirdeğini konakçı hücre sitoplazmasına gönderir. Viral revers transkriptaz enzimi ile öncelikle tek sarmal viral RNA'dan tek sarmal viral DNA meydana gelir. Daha sonra bu DNA tekrar kendini eşleyerek çift sarmal yapı kazanır ve konakçı hücre genomuna entegre olur. Konakçı hücrede RNA polimeraz II'yi kullanarak transkripsiyonunu gerçekleştirir ve birçok RNA kopyası meydana getirir. Daha sonra viral proteinlerin translasyonu meydana gelir ve oluşan proteinlerle retrovirüs birçok kopya meydana getirmiş olur (Şekil 2.4.2). Meydana gelen yeni retrovirüsler konakçı hücreden ayrılarak, kopyalarını oluşturmak üzere yeni konakçı hücreleri enfekte ederler [66].



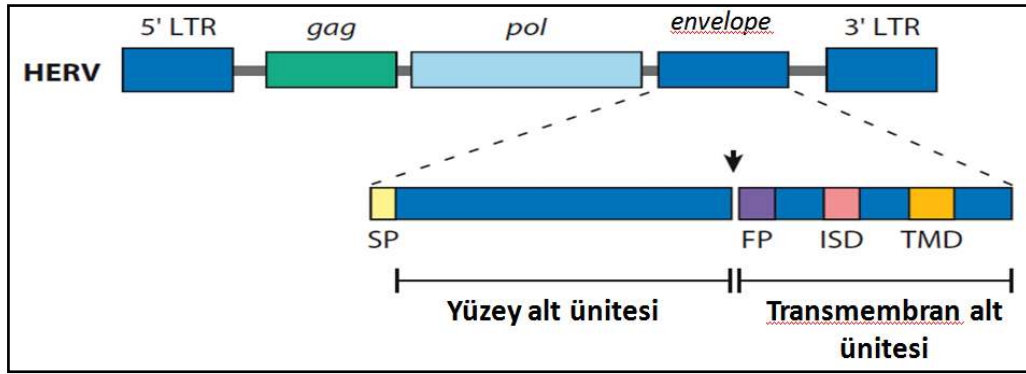
Şekil 2.4.2. Retrovirüsün yaşam döngüsü. 1. Retrovirüsün konakçı hücreye entegre olması. 2. Revers transkriptaz enzimi ile viral RNA'dan DNA elde edilmesi. 3. Konakçının hücre bileşenleri kullanılarak retrovirüsün kendini çoğaltması [67].

2.4.1. İnsan Endojen Retrovirüsler (HERV)

İnsan Endojen Retrovirüsleri (HERV), insan üreme hücrelerini enfekte eden RNA virüslerdir. Bu virüsler, üreme hücrelerini enfekte ettikleri için, konakçı hücreden meydana gelen yavru hücre genomu da retrovirüse ait genetik materyali içermektedir. Bu sayede retrovirüsün genetik materyali, yavruyu yeniden enfekte etmemesine karşın yavru nesillere aktarılır.

İnsan endojen retrovirüsler (HERV), insan genomunun yaklaşık %8'ini oluşturur. Bu virüslerin büyük bir kısmı, evrimsel süreç içerisinde mutasyonlar ve delesyonlar vasıtasıyla elimine olsa da, bazı üyeleri evrimsel olarak korunur ve ekspresyonuna devam eder. Şu ana kadar hasara uğramamış endojen retrovirüs kılıf proteinleri ile yapılan sistematik bir çalışmada, 16 genin tanımlaması yapılmıştır [7].

Bu genler içerisinde 3 genin insan plasentasına özgün bir şekilde, yüksek oranda ifade edildiği ve hücre-hücre füzyonunu indüklediği belirtilmiştir. Bu genler, HERV-W Env glikoprotein (syncytin 1) ve HERV-FRD Env glikoprotein (syncytin 2) ve HERV-V (ERV-3) olarak adlandırılan üç proteini kodlamaktadır [68].



Şekil 2.4.1.1. Syncytin gen yapısı. 5' ve 3' uzun terminal dizilerinden (tekrarlarından: LTR) oluşmaktadır. Gag: grup spesifik antijen geni, Pol: polimeraz, Env: envelope yani kılıf geni. Syncytin proteinleri kılıf geni tarafından kodlanır. Bu bölge yüzey alt ünitesi ve transmembran alt ünitesinden oluşmaktadır. SP:sinyal peptid, FP:füzyon peptid, ISD:olası immün baskılayıcı domeyn, TMD:transmembran domeyni [69].

2.4.2. Syncytin 1 (HERV-W)

Blond ve ark. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada HERV-W geninin sinsisyotrofoblast tabakasında fonksiyonel bir proteini kodladığı bulunmuştur. Bu çalışmada COS hücreleri (maymun böbrek dokusundan elde edilen fibroblast benzeri hücre hattı), HERV-W ile transfekte edildiğinde multinükleer sinsisyum oluşumunun indüklendiği görülmüştür. Daha sonra Mi ve ark. (2000) tarafından yapılan bir çalışma ile bu proteine Syncytin ismi verilmiştir [6, 70]. Syncytin 1 (HERV-W) glikoprotein yapıdadır, yüzey ilişkili (SU) ve transmembran (TM) olarak adlandırılan 2 alt üniteden oluşur [114]. Blond ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada ise Syncytin 1'in reseptörü olarak D Tipi memeli retrovirus reseptörü (ASCT2, SLC1A5, nötral amino asit taşıyıcısı) gösterilmiştir ve bugün hala potensiyel reseptör olarak kabul görmektedir [7].

Syncytin 1'in sinsisyum oluşumunu indüklemesinin yanı sıra hücre döngüsünü düzenleyerek sitotrofoblastik hücre havuzuna katkıda bulunabileceği gösterilmiştir. Bilindiği gibi hücre döngüsü iki noktada kontrol edilir; bunlardan birincisi G1 fazından S fazına geçişte, ikincisi ise G2 fazından M fazına geçiştedir. G1 fazından S fazına geçişte artan Syncytin 1 ekspresyonu p15'i inhibe ederek azalmasına ve CDK4'ü aktive ederek artmasına neden olup hücre döngüsünde G1'den S fazına geçişi düzenler. Syncytin 1 ekspresyonunun engellendiği hücre hatlarında p15'in artarak CDK4'ü inhibe ettiği ve hücre döngüsünün S fazına geçen hücre sayısında azalma olduğu belirtilmiştir. Syncytin 1'in normalden fazla ekspre edildiği hücre hatlarında ise G1 fazından S fazına geçen hücre sayısında artma olduğu ve E2F, PCNA ve c-MYC'nin indüklenmesi ve DNA sentezinin arttığı belirlenmiştir. Sonuç olarak Şekil 2.4.2.2'de özetlenen mekanizma ile Syncytin 1'in sinsisyum oluşumuna ek olarak sitotrofoblastik hücre havuzunun proliferasyonunda da rol oynadığı düşünülmektedir [73].

2.4.3. Syncytin 2 (HERV-FRD)

İnsan Endojen Retrovirüs (HERV) ailesinin bir diğer üyesi olan Syncytin 2 (HERV-FRD)'nin, insan genomuna kırk milyon yıl önce girmiş olduğu ileri sürülmüştür [74]. HERV-FRD kılıf geni plasentada ekspre olur ve oluşan protein Syncytin 2 proteini olarak adlandırılır [75, 76]. Syncytin 2 proteininin de füsogenik aktivitesi bulunmasına rağmen bazı noktalarda Syncytin 1'den ayrılır [77]. Aralarındaki ilk fark, Syncytin 1'in reseptörü olan ASCT2'ye bağlanmamasıdır. Bununla birlikte Syncytin 2'nin olası reseptörü olarak önerilen MFSD2 (major facilitator superfamily domain containing) hakkında literatürde halen devam eden çalışmalar bulunmaktadır. Syncytin 2, aynı zamanda GCM 1 (koriyon spesifik transkripsiyon faktörü) transkripsiyon faktörünün hedef genidir [78]. İkinci olarak, Syncytin 2'nin immün baskılayıcı etkiye sahip olduğu ileri sürülerek bu olası immün baskılayıcı etkisi fetüsün maternal immün sistem tarafından korunmasında rol oynayabileceği görüşü vardır [76]. Syncytin 2, lökositlerin immün cevabını amino asit sekansı ile baskılayabilir [79]. Üçüncü olarak, Syncytin 2 villöz sitotrofoblastların sinsisyotrofoblastlara temas bölgelerinde ekspre olur [80, 81].

2.4.4. ERV-3 (HERV-V)

Günümüze kadar yapılan çalışmalar, ERV-3'ü hücre-hücre füzyonda görevli bir protein olarak henüz sınıflandırmamıştır. Rote ve ark. (2004) tarafından ERV-3 sekansı üzerinde yapılan bir çalışmada, ERV-3 kılıf proteini, plasentada ekspre edilen membrana bağımlı olmayan tutunma proteini olarak tanımlanmıştır. Yine aynı çalışmada adrenal korteks ve testis dokusunda da ERV-3 ekspresyonu gösterilmiştir [68]. ERV-3, proteolitik yarıklanma alanına komşu olan tipik füzyon peptid bölgesinden yoksundur. Ayrıca BeWo hücre modeli deneylerinde de ERV-3'ün hücreler arası füzyon mekanizmasına katılmadığı izlenmiştir [82, 83].

2.5. Syncytin Proteinleri ve Plasental Patolojiler Arasındaki İlişki

Plasentanın fonksiyonunun, başarılı bir villöz sinsityotrofoblast oluşumuna ve gelişmesine bağlı olduğu yönündeki bilgiler, yapı-fonksiyon ilişkisi bağlamında önem kazanmaktadır [68]. Syncytin proteinlerinin görev aldığı sinsisyotrofoblast oluşumunda meydana gelebilecek bir bozukluk plasenta patolojilerine neden olabilir varsayımı ilgi çekmektedir.

Farelerde Syncytin 1 proteininin homoloğu Syncytin-A'dır. Dupressoir ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışma ile Syncytin-A^{-/-} farelerde embriyonik 11.5 (E 11.5) günden itibaren letalite gözlenmeye başlamıştır, ayrıca gelişimin ilerleyen günlerinde letalitenin arttığı görülmüştür. Bunun yanı sıra Syncytin-A^{-/-} farelerde fetal kan damarı alanlarında daralma gözlenmiş, embriyonik eritrositlerin sayıları azalmakla birlikte normale oranla daralmış olan damarlarda gözlenmiştir. Damar yapılarında meydana gelen bu bozukluklar fetal kan akımında değişikliklere neden olup, Syncytin-A^{-/-} farelerde bozulmuş plasental ve yolk kesesi vaskülarizasyonu ya da daha dramatik olarak gelişim geriliği ya da letalite sonuçlanmıştır [84].

Sıklıkla görülen bir plasenta patolojisi olan preeklampsi, insan gebeliklerinin yaklaşık %6-8'inde gözlenir. Preeklampsi, klinik olarak gebeliğin 2. veya 3. trimesterinde ortaya çıkan, doğumdan hemen sonra gerileyen hipertansiyon (kan basıncının 140/90 mm Hg veya üzerinde olması durumu), proteinüri (24 saatte toplanan idrarda 300 mg/l'den fazla protein olması), ödem, karaciğer ve böbrek gibi bazı organlarda doku hasarı ile karakterize bir sendromdur [85]. Preeklampsi hakkında şuana kadar çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen, preeklampsinin etiyojisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte çok faktörlü olduğu ileri sürülmektedir [86]. Lee ve ark. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, preeklampsi hastalarından elde edilen plasentalarda Syncytin 1 ekspresyonu incelenmiştir. Sonuçta preeklampitik plasentalarda, kontrol plasentalara oranla azalmış Syncytin 1 protein ekspresyonu gösterilmiştir.

Gebeliği etkileyen başka plasenta patolojiside 'intrauterin büyüme geriliği (IUGR)'dir. IUGR, gebelik haftasına göre, fetüsün olması gereken standart ağırlıktan daha düşük ya da %10 ya da daha fazla bir ağırlıkta olması olarak tanımlanır [87]. Ruebner ve ark. (2010)'nın yaptığı bir çalışmada IUGR olgularında plasenta Syncytin 1 protein ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir [88]. IUGR plasentalarının normal plasentalardan daha küçük ve hafif olması, perivillöz alanda yoğun olarak fibrinin depolanması tipik özellikler olarak bilinir. Özellikle uteroplazental dolaşımdaki yetersizlik ve bunun sonucunda oluşan hipoksi son derece önemlidir. IUGR'lı plasentalarda oluşan hipoksi sonucu sinsisyotrofoblast dejenerasyonunun olabileceği, bu nedenle de syncytin ekspresyonunda bir azalma meydana gelebileceği ifade edilmektedir [17].

Diğer bir plasental patoloji ise fetüste Trizomi 21 (T21) görülen plasentalardır. 21. kromozomda meydana gelen trizomi 'Down sendromu' olarak bilinen fenotipe neden olur. Bu sendrom zeka geriliğine neden olmakla birlikte insidansı canlı doğumlarda yaklaşık 1:800'dür. Bu anöploid durumda plasentada meydana gelen değişiklikler hakkında çok az şey bilinmesine rağmen, T21 ile etkilenmiş plasentalarda sinsisyotrofoblast oluşumunda defektler görülmektedir. Bu tip plasentalardan izole edilen ve sonra kültüre edilen sitotrofoblast hücrelerinde, füzyonun zayıf bir şekilde ya da gecikmeli olarak gerçekleştiği belirtilmiştir [89, 90]. Malassine ve ark. (2008)'nin yaptığı bir çalışmada T21 plasentalarda Syncytin 2 ekspresyon yerinin normal plasentalara kıyasla değiştiği belirtilmiştir. Kontrol plasentalarda (18-19 hafta) düz sitotrofoblastik hücrelerin sitoplazmasında ekspre olurken, T21 plasentalarda sinsisyotrofoblast tabakasının altındaki bazı kübik sitotrofoblastik hücrelerde ekspresyon izlenmiştir [4].

Sıklıkla görülen gebelik komplikasyonlarından biri de Diabetes Mellitus'dur. Gerek aşikar (pre-gestasyonel) diyabet, gerekse gestasyonel diyabetin görüldüğü gebeliklerde hem anne hem de fetus tehlike altında olabilir. Bu tür gebeliklerde hipoksik stres ve çeşitli metabolik anomaliler yüzünden, fetüste artan morbidite ve mortalite görülebilmektedir [11, 12].

Klinikte sıklıkla görülen bu patolojinin etkilediği diyabetik plasentlarda Syncytin proteinlerinin ekspresyonu hakkında literatürde herhangi bir bilgi bulunmamaktadır.

2.6. Diabetes Mellitus

İnsülinin kısmen veya tamamen eksik ve/veya etkisiz olması, glukozun vücutta yetersiz kullanımı sonucu hipergliseminin olduğu bir grup metabolik bozukluk "Diabetes Mellitus" sendromu olarak adlandırılır. Hedef dokularda insülin eksikliği veya etkisindeki anomaliler karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasında bozukluklara yol açmaktadır. Plazma örneğinde glukoz düzeyinin 200 mg/ dl üzerinde veya açlık glukoz düzeyinin 126 mg/dl veya üzerinde bulunması ile karakterizedir. Yaşam boyu süren, sürekli izlem ve tedavi gerektiren, hastanın yaşam kalitesini oldukça azaltan Diabetes Mellitus günümüzde en büyük sağlık problemlerinden biridir. 1997 yılında yayınlanan Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA)'nin verilerine göre diyabet şu şekilde sınıflandırılabilir [91];

- a. Tip 1 (İnsüline Bağımlı) Diabetes Mellitus (T1DM)
- b. Tip 2 (İnsüline Bağımlı Olmayan) Diabetes Mellitus (T2DM)
- c. Gestasyonel Diabet (GDM).

2.6.1. Tip 1 (İnsüline Bağımlı) Diabetes Mellitus (T1DM)

Diabetes Mellitus olgularının yaklaşık %10 kadarı bu sınıfta yer almaktadır. T1DM, pankreasın insülin salgılayan β -hücrelerinin hücresel aracılı otoimmün yıkımından kaynaklanmaktadır. Adacık hücrelerinde insulitis denen kronik mononükleer hücre infiltrasyonu vardır. Langerhans adacıklarındaki β -hücrelerinin kaybına bağlı olarak insulinopeni (insülin eksikliği) görülen bu olgular, ketoasidozdan korunmak ve yaşamlarını sürdürmek için ekzojen insüline bağımlıdırlar. T1DM çoğunlukla çocukluk ve ergenlik çağında başlıca üç temel semptom, polidipsi, poliüri ve polifaji ile teşhis edilir. T1DM etiyolojisi genetik faktörlerden etkilenmesine rağmen basit mendel kalıtımı izlemez ve hastalığın oluşumunda çevresel faktörler de rol oynamaktadır [91] [92].

2.6.1.1. Genetik Faktörler

Kalıtsal olan T1DM yatkınlığının mekanizması oldukça karmaşıktır. Multigenik özellik taşıyan ve ana lokus 6. kromozomdaki major histokompatibilite kompleksinde (MHC) yer almaktadır. Ayrıca, 9 kromozomda en az 11 lokus daha olaya katılmaktadır [91]. HLA genlerinin, T1DM gelişiminde önemli rolleri olduğu kadar koruyucu rolleri de mevcuttur. Örneğin HLA-DR2 geninin koruyucu özelliği gösterilmiştir [93, 94]. Bununla birlikte, HLADR3/DR4 genlerinin pozitif olmasının T1DM gelişimi için yatkınlılaştırıcı olduğu öne sürülmüştür [95]. Şu an için T1DM gelişiminde en önemli genetik faktör HLA sınıf II genleri olup bilinen en önemlileri HLA-DR, HLA-DQ, HLADP'dir. T1DM hastalarının büyük çoğunluğu HLA DR3 ve DR4 sınıf II antijenlerini taşımaktadır. HLA-DR3 veya DR4 antijenlerinin varlığında T1DM gelişme riskinin 2-3 kat, her ikisinin varlığında ise riskin 7-10 kat arttığı saptanmıştır [93].

2.6.1.2. Çevresel Faktörler

T1DM'nin gelişmesinden sorumlu olan etkenlerden biri de çevresel faktörlerdir [96]. T1DM'nin başlamasında rubella, kabakulak ve Cocksackie virüs B gibi virüslerin etkisi olabilmektedir. Bir viral proteinin (bir β -hücre proteini ile aynı amino asit dizilimi taşıyan) veya başka bir çevresel faktörün β -hücresine karşı otoimmunitiyi başlattığı düşünülmektedir. [91].

Genetik ve çevresel faktörlerin tetiklemesi sonucu meydana gelen otoimmün süreç ile birlikte pankreas adacık hücrelerinde süregelen ve yavaş ilerleyen yıkım ile birlikte insülin sekresyonu azalmaktadır. Pankreastaki mevcut adacık hücrelerinin %80-90'nının harabiyeti söz konusu olduğunda diyabetin klinik bulguları ortaya çıkmaktadır. T1DM'da insülin sekresyonundaki azalma iki mekanizma ile olmaktadır. Bunlardan birincisi pankreasın beta hücrelerinin harabiyeti iken diğer mekanizma ise ortamdaki sitokinlerin pankreasın beta hücrelerinden insülin sekresyonunu azaltmalarıdır [93].

2.6.2. Tip 2 (İnsüline Bağımlı Olmayan) Diabetes Mellitus (T2DM)

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) kronik metabolik bir hastalıktır ve en yüksek prevalansa sahip olan diyabet grubudur. Diyabet olgularının yaklaşık %90 kadarını kapsamaktadır.

T2DM, insülin direnci, insülin üretiminde azalma ya da pankreatik β -hücrelerinde meydana gelen hata sonucu oluşan, insüline karşı meydana gelen duyarsızlık ile karakterizedir. Bu durum karaciğer, kas ve yağ hücrelerine glukoz taşınımının azalmasına neden olur. Bu disfonksiyon nedeniyle glukagon ve hepatik glukoz düzeyleri açlık boyunca artar, sıklıkla obezitenin eşlik ettiği bu olgularda kilo kaybı tek başına hiperglisemiye genellikle düzeltebilmektedir [97].

2.6.2.1. Genetik Faktörler

Genetik araştırmalarda T2DM ile ilişkili birçok gen bulunmasına rağmen bugüne kadar yalnızca %5 civarındaki hastanın genetik kusuru kesin olarak belirlenmiştir. Bilinen genler arasında insülin sekresyonu ve aktivitesi ile vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alanlar bulunmaktadır [97].

Bu görev aday vücut ağırlığı genlerinden sadece adipoz dokuda ekspre olan *OB* geninin protein ürünü olan leptinin, vücut ağırlığı homeostazını ve enerji dengesini düzenleyen önemli bir sinyal faktörü olduğu düşünülmektedir. Beslenmenin *ob* geni (leptin hormonunun ifadesini sağlayan gen) ekspresyonu üzerindeki etkisinde insülinin önemli bir aracı olduğu ve bu nedenle obezite ile T2DM arasında genetik bir ilişki olabileceği öne sürülmüştür [91].

2.6.2.2. Çevresel Faktörler

T2DM gelişiminde yaşam biçimi ile ilgili birçok faktörün etkili olabileceği bilinmektedir. Bunlardan bazıları, fiziksel inaktivite, hareketsiz yaşam biçimi, sigara kullanımı ve aşırı alkol tüketimidir [98]. Bunların yanı sıra çevresel toksinlerin de T2DM görülme oranındaki artıştan sorumlu olabileceği düşünülmektedir [99].

2.6.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)

Gebelikte başlayan veya ilk kez gebelik sırasında tanı konulan glukoz intoleransıdır. Bu durum genellikle gebeliğin ortalarında ya da geç gebelik döneminde ortaya çıkar ve terme kadar devam eder. Ortalama gebeliklerin %1-14'üne GDM tanısı konulmaktadır ve gebelikteki diyabetlilerin %90'ını da GDM'liler oluşturur. GDM'dan korunmak için gebeliğin 24-28 haftaları arasında test yapılmalıdır [100]. GDM doğumdan sonra kaybolursa da GDM'li kadınların %30'u 7-10 yıl içinde diyabet veya bozulmuş glukoz intoleransı tanısı alır [101]. GDM'nin sonraki gebeliklerde tekrar görülme oranı ilk trimesterdeki kiloya bağlı olarak %60-90 arasındadır [102].

Normal bir gebeliğin özellikle 2. trimesterinin sonları ve 3. trimesterinde artan insülin direncinin dengelenmesi için insülin salgılanması artırılmakta ve normal glukoz homeostazı korunmaya çalışılmaktadır. İnsülin düzeyinin yeterli oranda artırılmadığı kadınlarda GDM gelişmektedir. GDM için risk faktörleri arasında birinci derece akrabalarda diyet öyküsü, obezite, ileri anne yaşı, glukozüri ve bir önceki gebelikte makrozomi (>4.00 kg), polihidroamnios veya ölü doğum olması bulunmaktadır [91].

2.6.3.1. Gestasyonel Diabetes Mellitusun Gebeliğe Etkileri

Diabetes mellitus gebelik boyunca en sık görülen tıbbi komplikasyonlardan biridir. Gerek gebelikten önce fark edilmiş aşikar (overt) diyabetli hastalarda gerekse GDM'li hastalarda görülen anormal glukoz metabolizması, artan hipoksik stres ve çeşitli metabolik anomaliler nedeniyle fetüsün hayatını tehlikeye sokabilir [17].

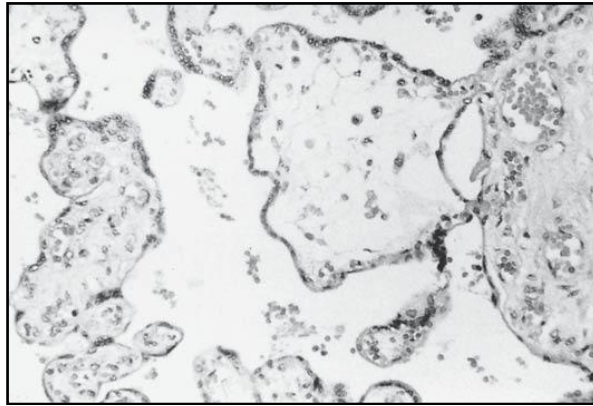
Annenin yaşamını tehdit etmeyen GDM'nin maternal komplikasyonları arasında sezeryan ile doğum oranının artması (gebeliğin son iki haftasında fetal mortalitenin artması nedeniyle birçok diyabetik hastada, termden önce sezeryan ile doğum sonlandırılır) ve kronik hipertansiyon bulunmaktadır. Bebeğe hipokalsemi, hipoglisemi ve makrozomi gibi neonatal morbidite insidansını arttırmaktadır. Maternal hiperglisemi fetüsün daha fazla insülin salgılamasına neden olarak fetal büyümenin artmasına ve makrozomiye neden olmaktadır. Fetal makrozomi, organların hem hücre sayısındaki artıştan hem de hücrelerin boyut olarak büyümesinden kaynaklanmaktadır. Diyabetik anne fetüslerindeki hiperglisemi, maternal substrat artışı ve fetal hiperinsülinemi gibi birçok faktöre dayanan etkilerle fetal makrozomi ortaya çıkar. Ayrıca insülin otoantikorunun da rolü vardır. Normalde insülin plasentadan metabolik etki gösterecek miktarlarda geçemez. Ancak insülin otoantikoru bağlanan insülin büyük ölçüde geçebilir ve böylece fetal makrozomiyi artırır. Fetüste insüline duyarlı dokular olan karaciğer, yağ dokusu, adale, kalp, dalak, timus, adrenal bezler, pankreas gibi dokular hipertrofi ve hiperplaziye uğrarken, beyin, böbrek ve femur boyunda benzer değişimler görülmez [17, 103]. Tedavi perinatal morbidite ve mortaliteyi azalttığı için tanı konması önemlidir.

2.6.4. Diyabetik Plasenta

Diyabetik gebeliklerden elde edilen plasentalar, normal gebeliklere kıyasla daha büyük, kalın ve pletorik (aşırı miktarda kan içeren) özelliktedir. Diyabetik plasentalarda görülen pletorik özelliğin maternal hiperglisemi ve fetal hipervolemi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [5]. Hipervolemi aynı zamanda fazla miktarda kanın plasentaya

taşındığını gösterir. Diyabetin iyi bir şekilde kontrol edildiği gebeliklerde ise bu plasenta anomalileri en az şekilde izlenir.

Diyabetik gebeliklerden elde edilen plasentalar anatomik olduğu kadar histolojik açıdan da normal plasentalardan bazı noktalarda farklılıklar gösterir[17]. Diyabetik gebeliklerin plasentalarında en sık gözlenen anomali villöz immatürite, yani villusların tam olarak olgunlaşmamasıdır [5](Şekil 2.6.4.1). Villöz immatüritede terminal villus sayısında azalma meydana gelirken gebelik yaşına bağlı olarak immatür intermediyet villus sayısında da artma gözlenir [13]. Ayrıca sitotrofoblastik tabakanın devamlılığı, villöz immatüritenin başka bir göstergesi olup sitotrofoblastik hücrelerde artan mitozda immatüritenin kanıtı olarak gösterilebilir. Sağlıklı plasentalarda epidermal büyüme faktörü sitotrofoblastların sinsisyotrofoblasta farklılaşmasını uyarır. Diyabetik hastaların plasentalarında epidermal büyüme faktörü reseptöründe transkript ve protein düzeyinde azalmanın gözlenmesi sitotrofoblastların farklılaşmaktan ziyade çoğalmasına neden olabilir. Dolayısıyla plasental villuslarda sitotrofoblastlardan zengin daha büyük plasentalar gözlenir [103, 104]. Tüm bu bilgilerin ışığında diyabetik gebeliklerin %40'ında plasental maturasyon gebelik haftasına uygun iken %60 plasentada immatürite vardır [5]. Ani fetal ölüm olgularında plasental histolojik değerlendirmelere bakıldığında belirgin villöz immatürite göze çarpar [105]. Villöz immatürite, intervillöz boşlukla fetal kapillerlerin arasındaki difüzyon mesafesini artırarak kronik fetal hipoksiye yol açmaktadır [106].



Şekil 2.6.4.1. Diyabetik plasentada fokal (odak) immatürite ve villus ödemi. Ayrıca ödemli villuslarda bulunan Hofbauer hücreleri dikkat çekmektedir [17].

2.7. Hipotez

Klinikte sıklıkla görülen, diyabetin etkin olduğu plasenta patolojilerinde Syncytin proteinlerinin varlığı ve etkileri hakkında bilgimiz yok denecek kadar azdır. Bu moleküllerin, gebeliğin erken dönemlerinde, termde ve patolojik plasentalardaki ekspresyonları ve görevleri hakkında bilgi eksikliğini gidermek için konunun detaylı araştırılması gerektiği kanısına varıldı.

İnsan plasentasının gelişiminde, trofoblast hücrelerinin farklılaşması düzenleyici ve yönlendirici proteinler tarafından sağlanır. Retroviral kılıf glikoproteinlerinden olan Syncytin 1 ve 2, Syncytin 1 reseptörü ASCT2 ve Syncytin 2'nin reseptörü olan MFSD2 bu işlevlerde rol oynayabilir.

Bu bağlamda hipotezimiz; normal plasenta villus tiplerinde ve diyabetik plasentada, Syncytin 1 , Syncytin 2 ve onların reseptörleri SLC1A5 (Syncytin 1) ve MFSD2 (Syncytin 2) farklı ekspresyon gösterir.

Hipotezimize dayalı olarak bu çalışmanın amacı, erken dönem, term normal ve diyabetik term insan plasenta örneklerinde, retroviral proteinler olan Syncytin 1, Syncytin 2 ile onların reseptörleri olan SLC1A5 (Syncytin 1) ve MFSD2 (Syncytin 2) ekspresyonunu araştırmak ve muhtemel görevleri hakkında yaklaşımda bulunmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Dokuların Alınması ve Hazırlanması

Klinik olarak Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) teşhisi konulan gebelerin (n=6) ve herhangi bir komplikasyon saptanmayan gebelerin (kontrol grubu) termdeki plasentaları (n=4) sezeryan ile alındı. Gebeliğin birinci trimesterine ait küretaj dokuları (n=12), isteğe bağlı ve yasal olarak sonlandırılmış gebeliklerin plasentalarından elde edildi. Çalışmada kullanılan Gestasyonel Diyabetik term plasenta, kontrol term plasenta ve birinci trimester küretaj plasenta dokuları, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümleri ve bazı özel kliniklerin desteği ile sağlandı. Hastalardan aydınlatılmış onam formu alındı. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmış proje kapsamında çalışma yapıldı. Gebelik haftasının belirlenmesi için hastanın son menstruasyon tarihi ve ultrason verileri kullanıldı.

Sezeryan ile elde edilen term plasenta örnekleri doğumdan hemen sonra buz kalıpları arasında laboratuvara getirildi. Plasentanın fazla kanından arındırılması için umbilikal arterlere kateter ile serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapıldı ve plasenta dolaşımı umbilikal venle tamamlanarak kanı uzaklaştırıldı. Erken dönem küretaj materyalleri ise içinde SF bulunan steril kaplar ile buz üzerinde laboratuvara getirildi. Desidua ve plasenta kısımları Stereo mikroskop (Zeiss Stemi SV 11) altında ayrıştırıldı. Plasental doku örnekleri SF ile fazla kanından uzaklaştırıldıktan sonra aşağıda belirtilen işlemler gerçekleştirildi:

1. Dokuların bir kısmı immünohistokimyasal inceleme için rutin ışık mikroskopi takibinden sonra parafine gömüldü
2. Bir kısım doku Western- Blot metodu için sıvı nitrojene (-196°C) alındı
3. Bir kısım doku da elektron mikroskop incelemeleri için rutin takibe alındı.

3.1.1. Parafine Gömme İşlemi İçin Doku Takibi

Diyabetik ve normal term plasenta örnekleri ile küretaj materyallerinden alınan erken dönem plasenta dokuları ve term plasenta örnekleri %10'luk nötral Formalin (%4'lük Formaldehid) fiksatifine içine alınarak 24 saat, küretaj materyalleri ise 16 saat tespit (fikse) edildi. Tespitten sonra, dokular 2 saat akan çeşme suyu ile yıkandı. Ardından, dokular sırasıyla %70, %80, %90'luk etil alkolde 24'er saat ve %100'lük etil alkolde 3 saat tutularak sudan kurtarma (dehidrasyon) işlemi gerçekleştirildi. Ksilol içinde üç defa ikişer dakika bekletilerek şeffaflaştırıldı. 56 °C'ye ayarlı etüvde, örnekler parafin serilerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı.

3.1.2. Elektron Mikroskop İncelemeleri İçin Doku Takibi

TEM takibi yapılmak üzere alınan dokular canlıdaki durumuna en yakın şekilde korumak amacıyla %4'lük Gluteraldehit ile +4 °C'de 2 saat tespit edildi. Dokular tespit solüsyonuna alındıktan yaklaşık 30 dakika sonra 1 mm³ hacminde parçalara ayrıldı. Ardından dokular 0.1 M Sörensen Fosfat Tamponu (SFT) ile 3 kez onar dakika yıkandı,

fazla fiksatifin dokudan uzaklaştırılması sağlandı. Dokular Ozmiyum tetraoksit (OsO_4) ile ikinci kez tespit edildi (çift fiksasyon). Tekrar SFT ile yıkandı ve $+4^\circ\text{C}$ 'de sırasıyla %30, %50 ve %70'lik artan etil alkol serilerinden 3'er kere onar dakika ara ile geçirilerek dehidrate edildi. Sonra dokular %1'lik uranil asetat solüsyonunda $+4^\circ\text{C}$ 'de 1 saat tutuldu. Ardından sırasıyla %80, %90, %96 ve %100'lük alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi tamamlandı. Dehidratasyondan sonra, propilen oksitte 2 kere onar dakika, ardından I.Araldit-Propilen Oksit karışımında (1:1), oda ısısında en az 4 saat rotatorda inkübe edildi. Daha sonra plasenta örnekleri 1. Araldit ile oda ısısında, rotatorda gece boyu inkübe edildi ve ertesi gün küçük kapsüller içinde 1. Araldit ile birlikte gömüldü. 60°C 'ye ayarlı etüvde 48 saat polimerizasyon için bırakıldı. 48 saat sonunda elde edilen bloklardan ultramikrotomda kalın kesitler alınıp toluidin mavisi ile boyandı. İncelenecek alan belirlendikten sonra 70 nm.'lik ince kesitler alındı. Uranil asetat-Kurşun sitrat ile zıt boyaması yapıldıktan sonra, kesitler Leo 906E TEM (geçirimli elektron mikroskobu) ile incelenerek elektronmikrograflar elde edildi.

SEM takibi yapılmak üzere alınan dokular aynı rutin yöntemle OsO_4 ile çift tespit basamağına kadar getirildi. SFT ile yıkandı ve $+4^\circ\text{C}$ 'de sırasıyla %30, %50, %70, %80, %90 ve %100'lük artan alkol serilerinden 3 kere onar dakika geçirilerek dehidrate edildi. Total doku, asetonun artan oranları kullanılarak saf aseton aşamasına getirildi; daha sonra 32°C 'de kritik nokta kurutması yapıldı, elde edilen doku örnekleri stuplara yapıştırıldı, altın paladyum ile kaplandı ve Zeiss Leo 1430 SEM mikroskobu ile incelendi.

3.1.3. Western Blot Tekniği İçin Doku Hazırlanması

Doku toplama sırasında kriyotüpler içine alınan ve sıvı nitrojende (-196°C) muhafaza edilen plasenta örneklerinin öncelikle bisturi yardımıyla mekanik olarak parçalanması sağlandı. Parçalanmış doku örnekleri uygun tüplere alınarak ağırlıkları tartıldı. 0,2 gr. doku başına 600 μl . lizis tamponu ve 10 μl . proteaz inhibitör kokteyli olacak şekilde hesaplanarak dokunun içinde bulunduğu tüplere lizis tamponu ve proteaz inhibitör kokteyli eklendi. Dokular vortekslendi ve sonikatör yardımıyla örneklerin iyice parçalanması gerçekleştirilerek örneklerin homojen bir biçimde lizise uğraması sağlandı. 15.000 g'de 10 dakika $+4^\circ\text{C}$ 'de santrifüj edildi. Süpernatantlar alınıp pellet kısmı saklanarak lizatlar hazırlandı. Hazırlanan lizatlar -20°C de muhafaza edildi.

3.2. İmmunohistokimya Yöntemi

İnsan diyabetik term plasenta, insan normal term plasenta ve birinci trimester küretaj materyallerinde; Syncytin 1 (SU alt ünitesine özgü), Syncytin 2, SLC1A5 (Syncytin 1 reseptörü) ve MFSD2 (Syncytin 2 reseptörü) proteinlerinin varlığını göstermek amacıyla uygulandı. Ayrıca, mezenşim kökenli yapılar için belirteç olarak vimentin, trofoblastik hücreler için belirteç olarak sitokeratin-7 kullanıldı.

Kullanılan Solüsyonlar:

- **10 X TBS (Tris Buffered Saline- Tris tamponlu tuz) Stok Solüsyonu:**

12,1 gr Tris Base (#H5131; Promega)

40 gr NaCl (#1.06404.1000; Merck)

Yukarıdaki kimyasallar 500 ml distile su içerisinde çözüldü. pH'sı 7.6'ya ayarlandı.

1 X TBS solüsyonu hazırlamak için:

100 ml 10X TBS stok solüsyonundan alındı, distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

- **Tris-EDTA Buffer (Tris-EDTA tamponlu solüsyon):**

1,21 gr Tris (#1.08387.2500; Merck)

0,37 gr Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) (#E-5134; Sigma)

Yukarıdaki kimyasallar 1L. distile su içerisinde çözüldü ve pH'sı 9.0'a ayarlandıktan sonra 0,5 ml. Tween 20 (#8.22184.0500; Merck) ilave edildi.

- **%3'lük H₂O₂ Solüsyonu:**

91,5 ml. Metanol (#1.06009.2500; Merck) ve 8,5 ml. %35 H₂O₂ (1.07961.0100; Merck) eklenerek şale içerisinde hazırlandı.

- **Bloklama Solüsyonu:** Ultra V Block (#TA-125-UB; Thermo Scientific/LabVision)

- **Antikor Dilüent Solüsyonu :** Ultra Antibody Diluent (#TA-125-UD; Thermo Scientific/Lab Vision)

- **Streptavidin Peroksidaz Kompleksi:** Streptavidin Horseradish peroxidase (HRP) (#TS-125-HR; Thermo Scientific/LabVision)

- **Kromojen:** Diaminobenzidine tablets (#D4168; Sigma)

- **Mayer'in Hematoksileni:** Mayer's Hematoxylin (#1.09249.1000; Merck)

- **Kapatma Solüsyonu:** Entellan (#1.07961.0100; Merck)

Gözlem:

- **Işık mikroskobu:** Zeiss Axioplan

İmmunohistokimyasal incelemeler için kullanılacak olan plasenta doku bloklarından alınan 5 µm. kalınlığındaki kesitler superfrost-manyetik olarak statik lamalar üzerine alındı. Kesitler gece boyu 56 °C'lik etüvde inkübe edildi. Kesitler iki defa beşer dakika ara ile ksilolde bekletilerek parafinden kurtarıldı. Daha sonra derecesi azalan alkol serilerinde beşer dakika tutularak (%100, %90, %80 ve %70) hidrate edildi (suya indirildi) ve son olarak distile suya alındı. Taze hazırlanan Tris-EDTA tampon solüsyonu ile 750 W'da üç kez yedişer dakika kaynatılan kesitlerin mikrodalga ışınlamına maruz bırakılarak epitopların açığa çıkması sağlandı. Mikrodalga uygulamasından sonra oda ısısında 20 dakika soğutmanın ardından kesitler üç kez beşer dakika distile su ile yıkandı. Ardından endojen peroksidaz aktivitesini ortadan

kaldırmak için %3'lük hidrojen peroksit ile 25 dakika inkübe edildi. Daha sonra 1X TBS'te üç kez beşer dakika yıkanan kesitlerdeki doku alanlarının etrafı hidrofobik kalemle çizildi. Özgül olmayan bağlanmaları engellemek için bloklama solüsyonu dokuların üzerine damlatılıp, altı dakika oda ısısında bekletildi. Bloklamının ardından yıkama yapılmadan primer antikorlarla (Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5, MFSD2, vimentin ve sitokeratin-7) gece boyu +4 °C'de inkübe edildi. Primer antikor ile inkübasyonun ardından 1X TBS ile üç kez beşer dakika süreyle yıkanıp, biyotinli sekonder antikorlar ile 30 dakika 25 °C etüvde inkübe edildi. İnkübasyondan sonra üç defa beşer dakika 1X TBS ile yıkandıktan sonra streptavidin-peroksidaz kompleksi ile 30 dakika 25 °C etüvde inkübe edildi. İnkübasyonu takip eden üç kez beşer dakika 1X TBS ile yıkamanın ardından DAB (Diaminobenzidin) substratı verilerek enzim substrat ilişkisi sonucunda oluşacak olan ürün kahverengi renk olarak gözlemlendi. Mayer'in hematoksilenden zıt boyama yapıldı. Örnekler daha sonra artan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate (sudan kurtarma) edildi, ksilolden geçirildi, akabinde kesitler entellan ile kapatıldı. Işık mikroskobu düzeyinde plasental kesitlerde Syncytin 1 (SU-yüzey alt ünitesine ait antikor), Syncytin 2, SLC1A5, MFSD2, vimentin ve sitokeratin-7 proteinlerinin dağılımları ve immunoreaktivite dereceleri Image J programı kullanılarak tespit edildi ve fotoğraflandırıldı.

Çizelge 3.2.1. İmmünohistokimya deneyinde kullanılan primer antikorlar, uygun dilüsyonları ve sekonder antikorlar.

PRİMER ANTİKOR	KATALOG NO	DİLÜSYON	SEKONDER ANTİKOR
Syncytin 1 (HERV-W)	#sc-50369 Santa Cruz, Biotechnology Inc.	1/200	# BA-1000 Vector Laboratories
Syncytin 2 (HERV-FRD)	#HPA011812 Sigma-Aldrich, Prestige Antibodies	1/50	# BA-1000 Vector Laboratories
SLC1A5	# ab58690 Abcam	1/100	# BA-1000 Vector Laboratories
MFSD2	#sc-135305 Santa Cruz, Biotechnology Inc.	1/200	# BA-1000 Vector Laboratories
Sitokeratin-7	#M7018 Dako	1/100	# BA-2000 Vector Laboratories
Vimentin	# ab92547 Abcam	1/400	# BA-1000 Vector Laboratories

3.3. Elektron Mikroskop İncelemeleri

Klinik olarak diyabet tanısı konulmuş gebeliklerden elde edilen term plasentaların ince (ultrastrüktür) yapısının elektron mikroskop incelemeleri (TEM-SEM) ile ortaya konulması, kontrol term plasenta ile farklarının incelenmesi ve ek olarak birinci trimester plasenta örneklerinde ince (ultrastrüktür) yapının incelenmesi amaçlanmıştır.

Kullanılan Solüsyonlar:

- **0,2 M Sörensen Fosfat Tamponu (SFT):**

13,6 gr Kalium Dihidrojen Fosfat (#1.04873.1000; Merck) 500 ml bidistile su içerisinde çözüldü (A solüsyonu).

14,2 gr Disodyum Hidrojen Fosfat (#7558-79-3; A.D.R.) 500 ml bisdistile su içerisinde çözüldü (B solüsyonu).

Ardından 1L'lik balon jode A ve B solüsyonları karıştırıldı, pH 7,3 olacak şekilde ayarlandı.

- 0,1 M Sörensen Fosfat Tamponu (SFT):

0,2 M SFT stok solüsyonu 1:1 oranında bidistile su ile dilüe edilerek hazırlandı.

- **%4'lük Gluteraldehit:** %25'lik stok Gluteraldehit (#1640; Electron Microscopy Sciences)'den 16 ml alınıp, 84 ml 0,1 M SFT eklenerek hazırlandı.

- **Ozmiyum Tetroksit (OsO₄):** (#O004/1, 10X100 mg;TAAB)

- **Uranil Asetat:**

1 gr Uranil Asetat (#2216688; Merck), 100 ml %75'lik etil alkol içerisinde çözülerek hazırlandı.

- **Propilen Oksit** (#P021; TAAB)

- **Araldit Ana Karışım:**

-91 ml Araldit CY 212 (#E006; TAAB)

-84 ml DDSA (Dodecenyl Succinic Anhydride, #D025; TAAB)

- **1. Araldit:**

- 50 ml Araldit Ana Karışımı

- 1 ml BDMA (Benzyldimethylamine, #11400; EMS)

- **%1'lik Toluidin Mavisi**

- 1 gr Toluidin Mavisi (Merck)

- 1 gr Boraks (Merck)

- **Ultramikrotom:** UCT125 Leica Ultramicrotome.

Gözlem:

- **Geçirimli Elektron Mikroskobu:** Zeiss Leo-906E TEM, Zeiss Leo 1430 SEM.

3.4. SDS- Poliakrilamid Jel Elektroforezi ve İmmun Blot

İnsan diyabetik term plasenta, insan normal term plasenta ve birinci trimester küretaj materyallerinde; Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 (Syncytin 1 reseptörü) ve MFSD2 (Syncytin 2 reseptörü) proteinlerinin ekspresyon miktarlarını belirlemek ve semikantitatif olarak protein seviyelerini karşılaştırmak amacıyla uygulandı.

Kullanılan Solüsyonlar:

- **Lizis Tampon Solüsyonu (Lysis Buffer):**

0,1 M Tris

0,6 gr Tris (#1.08387.2500; Merck) 40 ml bidistile suda çözöldü. pH 7.4'e ayarlandı. Son hacim bidistile su ile 50 ml'ye tamamlandı.

Sodyum-ortoovanadate

0.184 gr Na-orthovanadate (#L4390; Sigma), 10 ml Tris (pH 10) (0.1M tris:0.6gr/50ml) ile ateş üzerinde çözöldü.

Lizis tamponunu hazırlamak için ise 10 ml 0.1M Tris (pH 7.4), 90ml bidistile su, 1 ml Na-orthovanadate karıştırıldı. Ardından solüsyona 1 gr SDS (American Bioanalytical; cat# AB0101920) eklendi ve lizis tamponu elde edildi.

- **Proteaz inhibitör kokteyli (#P8340; Sigma)**

- **%30 akrilamid-bisakrilamid solüsyonu:**

15,4gr 37.5:1 oranındaki akrilamid- bisakrilamid (#161-01-25; BioRad) 40 ml bidistile su içerisinde çözöldü.

- **4Xtris-HCL/SDS, pH 8.8:**

18.15 gr Tris (#1.08387.2500; Merck) 40 ml bidistile su içerisinde çözöldü pH 8.8'e ayarlandı. Ardından bidistile su ile toplam hacim 100 ml'e tamamlandı. Son olarak 0.4 gr SDS eklendi.

- **4Xtris-HCl/SDS, pH 6.8:**

6.05 gr Tris (#1.08387.2500; Merck) 40 ml distile su içerisinde çözöldü. pH 6.8'e ayarlandı. Ardından bidistile su ile toplam hacim 100 ml'e tamamlandı. Son olarak 0.4 gr SDS eklendi.

- **%10'luk Amonyum-persülfat (APS):**

0,1 gr toz APS (#7727-54; Amresco) , 1 ml distile su içerisinde çözöldü.

- **N,N,N''',N'''-Tetramethylethylenediamine (TEMED) (#T-7024; Sigma)**

▪ **%10'luk Tris-HCl Jel:**

Ayrıştırıcı (Seperating) Jel:

5,00 ml %30 akrilamid-bisakrilamid

3,75 ml 4Xtris-HCL/SDS, pH 8.8

6,25 ml bidistile su

Yukarıda verilen solüsyonlar 15 ml'lik Falcon tüpünde karıştırıldı ve pipetleyerek karışım homojenize edildi. Daha sonra polimerizasyon sağlayacak olan;

0,05 ml %10'luk Amonyum-persülfat (APS)

0,01 ml TEMED

Solüsyonları eklendi. Seri bir şekilde pipetleme yapıldı ve jel karışımı 2 cam plaka arasına döküldü. Yaklaşık 45 dakika oda ısısında donmaya bırakıldı.

Toplayıcı (Stacking) Jel:

650 µl %30 akrilamid-bisakrilamid

1250 µl 4Xtris-HCL/SDS, pH 6.8

3050 µl bidistile su

Yukarıda verilen solüsyonlar 15 ml'lik Falcon tüpünde karıştırıldı ve pipetleyerek karışım homojenize edildi. Daha sonra polimerizasyon sağlayacak olan;

25 µl %10'luk Amonyum-persülfat (APS)

5 µl TEMED

Solüsyonları eklendi. Seri bir şekilde pipetleme yapıldı ve jel karışımı 2 cam plaka arasına döküldü. Yaklaşık 45 dakika oda ısısında donmaya bırakıldı.

▪ **5X Elektroforez yürütme solüsyonu:**

9 gr Tris (#1.08387.2500; Merck)

43.2 gr Glisin (#5.00190.1000; Merck)

3gr SDS (#161-0301; BioRad)

600 ml distile su içerisinde çözöldü. pH 8,3-8,6'da olmalıdır.

1X Elektroforez yürütme solüsyonu:

5X stok solüsyondan 140 ml alındı ve 560 ml distile su ile 700 ml'ye tamamlandı.

▪ **Transfer Tampon Solüsyonu (Blotting Buffer):**

3 gr Tris (#1.08387.2500; Merck)

14.3 gr glisin (#5.00190.1000; Merck)

800 ml distile su içerisinde çözöldü. pH 7.8-8 arasında olmalıdır. Solüsyona daha sonra 200 ml metanol (#1.06009.2500; Merck) eklendi. +4 °C'de soğutularak kullanıldı.

▪ **10 X Tris Tamponlu Tuz (Tris Buffered Saline-TBS) Solüsyonu:**

60.55 gr Tris (#1.08387.2500; Merck)

87.66 gr NaCl (#1.06404.1000; Merck)

800 ml distile suda çözödürölür. pH 7.4'e ayarlandı. Toplam hacim 1000 ml olacak şekilde distile su ile tamamlandı.

1X Tris Tamponlu (Tris Buffered Saline)-Tween 20 (TBS-T) Solüsyonu:

100 ml 10X TBS solüsyonuna 900 ml distile su eklenerek 1X TBS hazırlandı.

Daha sonra 1L'e 1X TBS'e 1 ml Tween 20 (#8.22184.0500; Merck) eklenerek TBS-T çalışma solüsyonu elde edildi.

- **Bloklama Solüsyonu:** %5'lik süt tozu
5 gr. süt tozu (#170-6404; BioRad) 100 ml TBS-T içerisinde çözülerek hazırlandı.
- **Chemiluminescent solüsyonu** (#34080T ; Pierce). Luminol/geliştirici solüsyon ve sabitleme solüsyonu 1:1 oranında karıştırılarak hazırlandı.
- **Membran Soyma (Stripping) Solüsyonu** (#46430; Thermo Scientific)
- **Geliştirme (Developer) Solüsyonu:**
100 ml geliştirme solüsyonuna (#175 7314; Liford)
900 ml distile su eklenerek hazırlandı.
- **Sabitleme (Fiksatif) Solüsyonu:**
50 ml sabitleme solüsyonuna (#1984565; Liford)
450 ml distile su eklenerek hazırlandı.

Çalışılacak olan Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5, MFSD2 ve internal kontrol olarak kullanılan Beta aktin proteinlerinin kilo dalton ağırlıkları dikkate alınarak %10'luk Tris-HCl jeli hazırlandı. Her bir örnekte eşit miktarda protein olacak şekilde, bidistile su, örnek ve laemmli solüsyonu (Sample Buffer 2X, Laemmli electrophoresis Reagent, Sigma, Katalog No: S-3401) oranları ile eşitlenen örnekler 5 dakika 100 °C suda kaynatıldı. Her kuyucuğa 20 mikrolitre örnek, protein miktarları eşit olacak şekilde yüklenerek Protean Tetra Cell, Mini Trans Blot Modül (# 165-8033; Biorad) tankının içine yerleştirildi. “Yürütme solüsyonu” eklenerek tank güç kaynağına bağlandı. Proteinler güç kaynağı aracılığı ile 80 Voltta 120-150 dakika elektroforez edildi.

Elektroforezin ardından, jeldeki proteinlerin, PVDF (polivinilidin diflorür) membrana (#162-0177; Biorad) geçmesi için immunoblotlama yapıldı. Bu aşamada PVDF membran, üstte ve altta üçer adet filtre kağıdı ve birer adet sünger olacak şekilde sandviç biçiminde hazırlandı. Jelde yürütülen proteinler, hazırlanan sandviçte PVDF membranın üzerine alınarak tekrar mini protean III sistemindeki tank içerisine alındı. Protean Tetra Cell, Mini Trans Blot Modül tankına “transfer solüsyonu” eklenerek +4 °C’de gece boyu proteinlerin membrana transfer olması sağlandı. Proteinlerin PVDF membrana transferinden sonra, membran oda ısısında TBS-T solüsyonu ile yıkandı. Ardından yine TBS-T ile hazırlanan bloklama solüsyonu (%5' lik yağsız kuru süt tozu) ile oda ısısında 1 saat bloklandı. Membranlar, Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5, MFSD2 ve Beta aktin primer antikorları ile gece boyu, +4 °C’de, karıştırıcı üzerinde inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında, oda ısısında TBS-T ile 30 dakika boyunca beşer dakikada bir TBS-T solüsyonu yenilenerek yıkama yapıldı. Membranlar, HRP-konjuge anti-tavşan IgG (Vector) sekonder antikor (Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 ve MFSD2 için) ve anti-fare IgG (Vector) sekonder antikorları (Beta aktin için) ile oda sıcaklığında, karıştırıcı üzerinde 45 dakika inkübe edildi (Çizelge 3.4.1). İnkübasyonun ardından tekrar TBS-T ile 30 dakika boyunca beşer dakikada bir TBS-T solüsyonu yenilenerek yıkama yapıldı. Membranlar SuperSignal Chemiluminisans (CL)-HRP substrat sistemi (Pierce cat#34080T) ile 5 dakika inkübe edildikten sonra karanlık oda içerisinde filme (Amersham Hyperfilm TM ECL 18X24 cm) aktarıldı. Görüntüleme

amacıyla film, geliştirici (Liford #175 7314) ve tespit (Liford#1984565) solüsyonlarından geçirildi ve distile su ile yıkanıp kurutuldu.

Çizelge 3.4.1. Western blot deneyinde kullanılan primer ve sekonder antikorlar.

PRİMER ANTİKOR	KATALOG NO	DİLÜSYON	SEKONDER ANTİKOR
Syncytin 1 (HERV-W)	#sc-50369 Santa Cruz, Biotechnology Inc.	1/200 (%5'lik süt tozu ile hazırlandı)	# PI-1000 Vector Laboratories
Syncytin 2 (HERV-FRD)	#HPA011812 Sigma- Aldrich, Prestige Antibodies	1/200 (%2,5'luk süt tozu ile hazırlandı)	# PI-1000 Vector Laboratories
SLC1A5	# ab58690 Abcam	1/200 (%5'lik süt tozu ile hazırlandı)	# PI-1000 Vector Laboratories
MFSD2	#sc-135305 Santa Cruz, Biotechnology Inc.	1/200 (%5'lik süt tozu ile hazırlandı)	# PI-1000 Vector Laboratories
Beta Aktin	#sc-47778 Santa Cruz, Biotechnology Inc.	1/5000 (%5'lik süt tozu ile hazırlandı)	#PI-2000 Vector Laboratories

3.5. İstatiksel Analiz

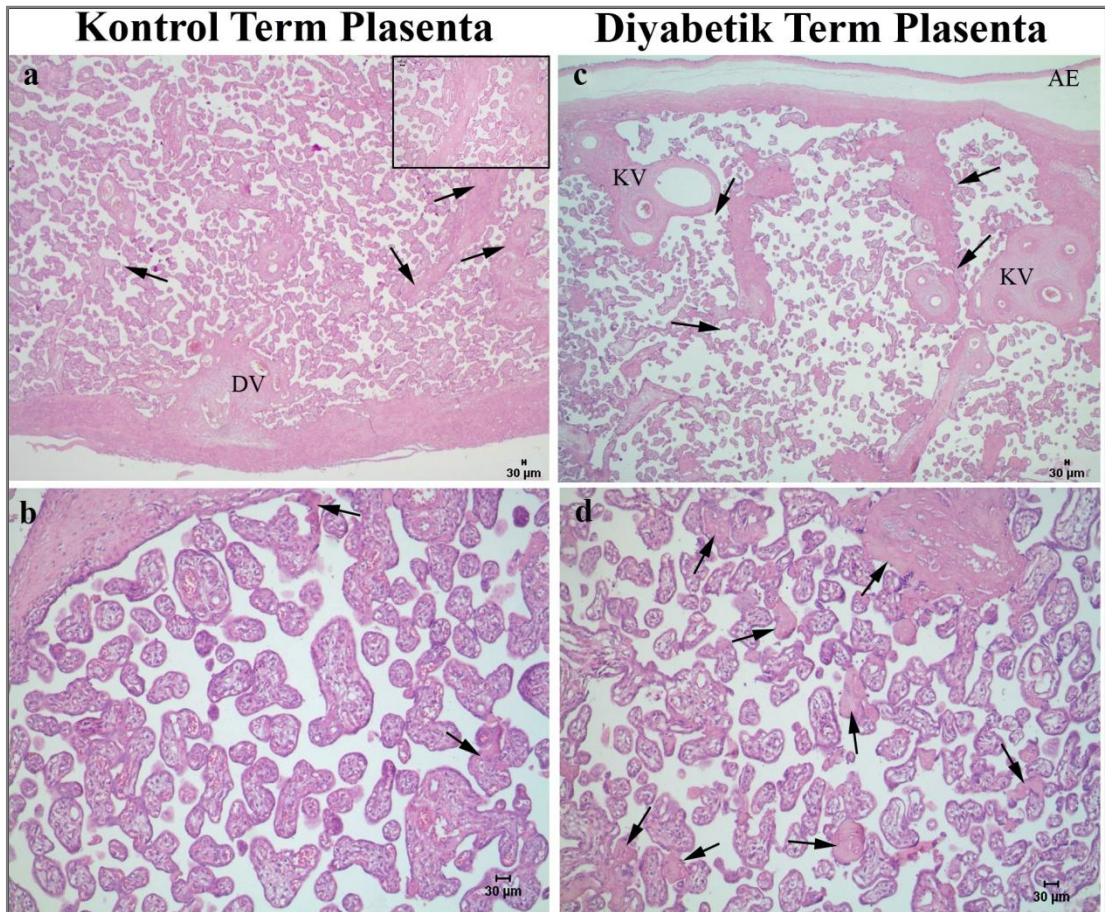
Deney gruplarına ait immünohistokimyasal boyanma yoğunlukları ve western blot bantların yoğunlukları Image J programı kullanılarak analiz edildi. Elde edilen verilere SigmaStat 3.5 programı kullanılarak Student t-test testi uygulandı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı belirlendi. $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Diyabetik term plasenta sonuçları ve birinci trimester küretaj materyali sonuçları, kontrol term plasenta ile karşılaştırarak değerlendirildi.

BULGULAR

Gebeliğin erken dönemi ve termdeki normal plasenta dokuları ile gestasyonel diyabetik term plasenta dokuları rutin ışık mikroskobu, immünohistokimya, western blot ve elektron mikroskop (SEM ve TEM) teknikleri ile incelendi.

3.1. Rutin Işık Mikroskopik İnceleme Bulguları

Diyabetik term plasenta örneklerinin ışık mikroskobu ile değerlendirmesi sonucunda, kontrol term plasentalara kıyasla diyabetik plasentalarda intervillöz ve perivillöz fibrinoid yapılarının arttığı ve ek olarak diyabetik plasentaların, kontrol plasentalara oranla daha ödemli olduğu izlendi (Şekil 3.1.1).

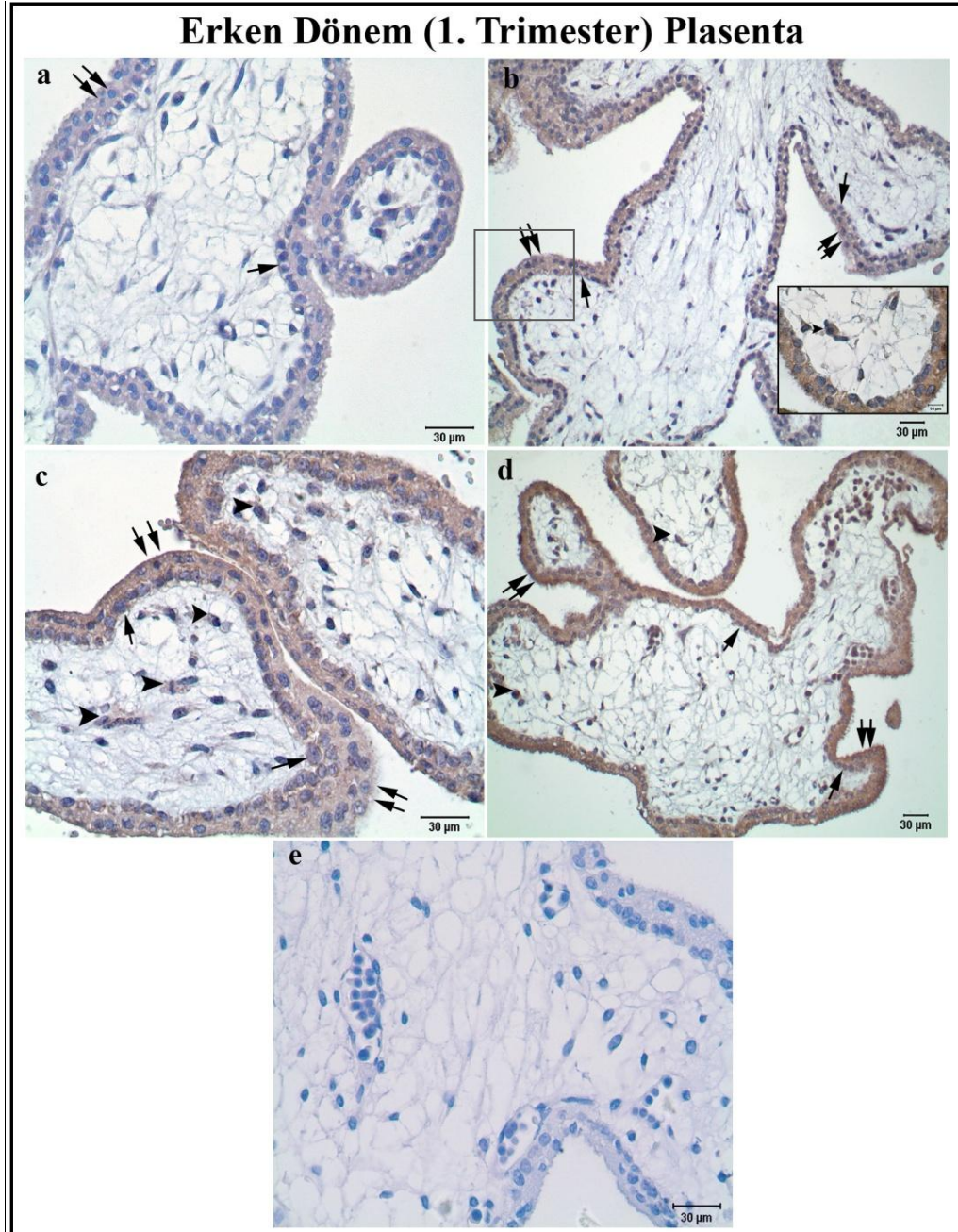


Şekil 3.1.1. Hematoksilen ve eozin (HE) ile boyanmış kontrol ve diyabetik term plasenta örnekleri. a-b: kontrol term plasenta; c-d: diyabetik term plasenta. Oklar intervillöz ve perivillöz fibrinoid birikimlerini göstermektedir. DV: demirleyici villus; KV: kök villus; AE: amniyon epiteli. a ve c: X2,5, b,d ve inset :X10.

3.2 İmmünohistokimya Bulguları

3.2.1. Syncytin 1 İmmün Boyanmaları

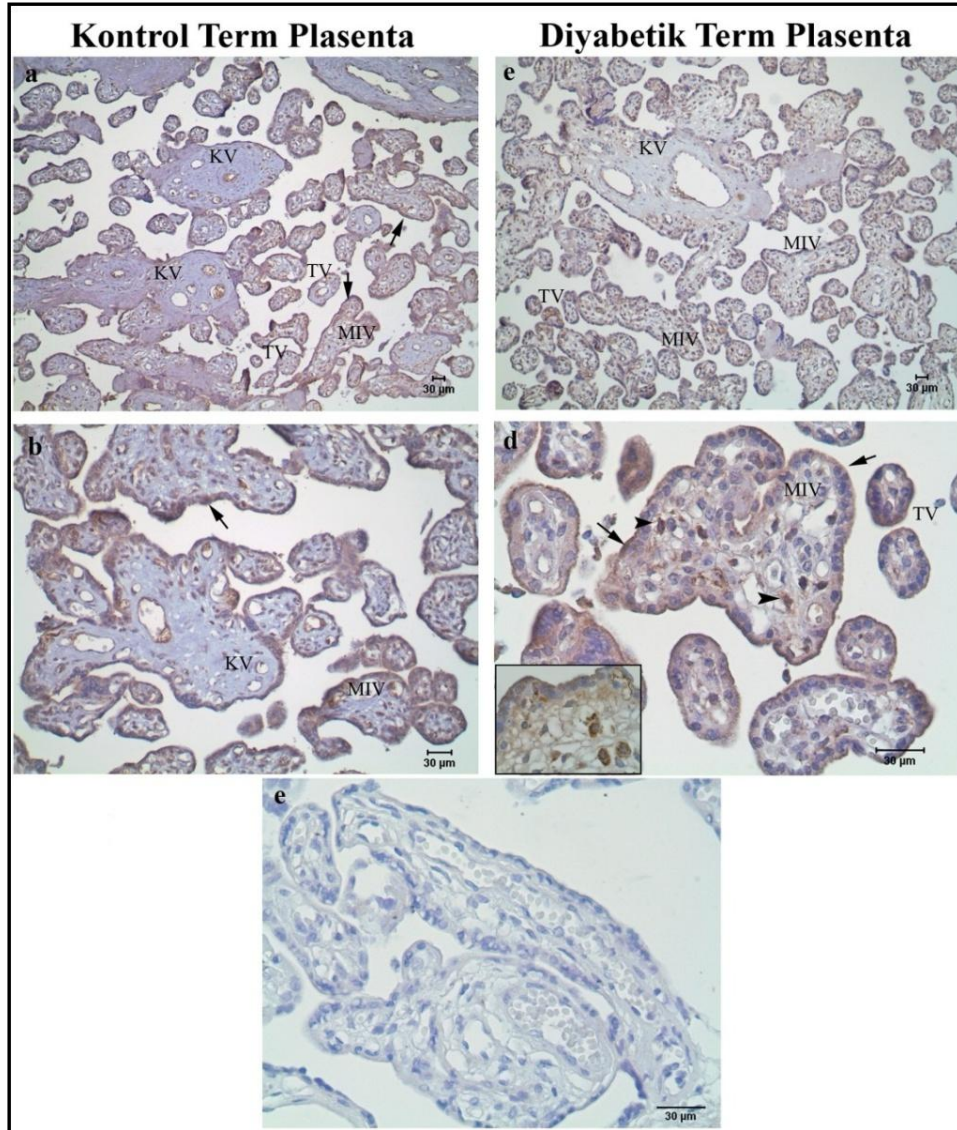
Erken dönem plasenta örneklerinde Syncytin 1 ekspresyonunun villusların sinsisyotrofoblast tabakasında ve sitotrofoblast hücrelerinde değişen yoğunlukta reaksiyon verdiği görüldü. Bazı stromal hücreler ve oluşmakta olan fetal kan damarları ile hematopoetik hücrelerde Syncytin 1 immün pozitifliği (Şekil 3.2.1.1).



Şekil 3.2.1.1. Erken dönem plasenta örneklerinde Syncytin 1 immün boyanması. a:28 günlük plasenta; b:37 günlük plasenta; c:39 günlük plasenta; d:45 günlük plasenta, e: Negatif kontrol. Çift oklar sinsisyotrofoblast tabakasını, tek ok sitotrofoblast hücrelerini, ok başları stroma hücrelerini göstermektedir. a, c ve e: X40, b ve d: X20.

Normal term plasentalarda Syncytin 1 ekspresyonu villusların sinsisyotrofoblast tabakasında farklı yoğunluklarda, değişken olarak görüldü (Şekil 3.2.1.2.a,b). Villus stromasında bulunan bazı hücrelerde yoğun şekilde, sitoplazmik reaksiyon dikkat çekti (Şekil 3.2.1.2.b). Damar endotelinde ise orta şiddette immün boyanma görüldü (Şekil 3.2.1.2.a,b). Farklı villus tipleri açısından immün boyanma yönünden herhangi bir farklılık gözlenmedi.

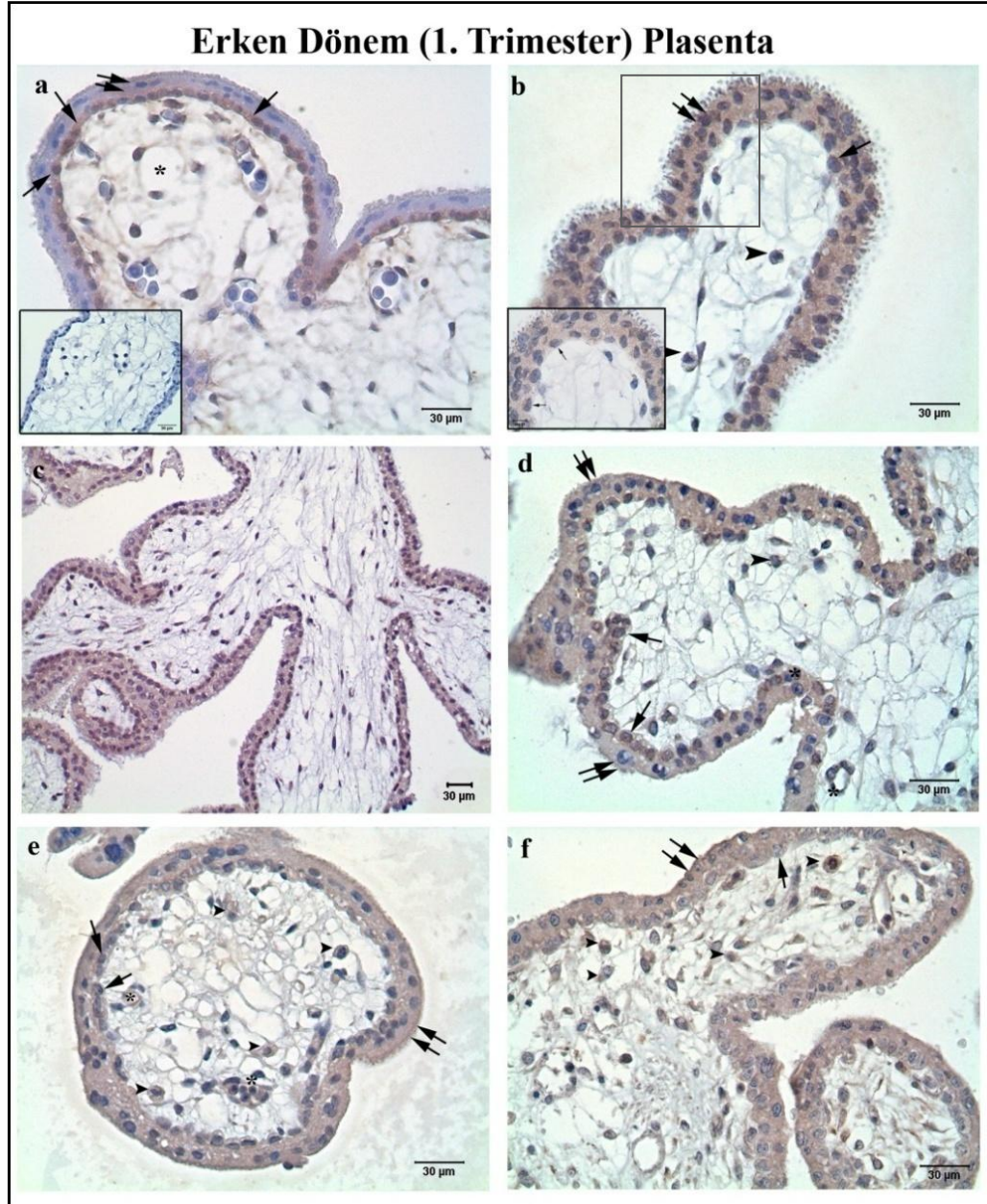
Diyabetik term plasentalarda Syncytin 1 reaksiyonu kontrol ile benzer boyanma gösterdi. Sinsisyotrofoblast tabakasında ortadan yoğunla kadar değişen şiddette reaksiyon ile bazı stromal hücrelerin güçlü sitoplazmik reaksiyon gösterdikleri izlendi. Damar endotelisi ise diyabetik plasenta örneklerinde immün reaksiyon göstermedi (Şekil 3.2.1.2.c,d).



Şekil 3.2.1.2. Kontrol ve diyabetik term plasentada Syncytin 1 immün boyanmaları. a-b: kontrol term plasenta; c-d: diyabetik term plasenta ve e: negatif kontrol. Oklar sinsisyotrofoblast tabakasını, ok başları ise stromal hücreleri göstermektedir. KV: kök (stem) villus; MIV: olgun intermediyet villus (matür intermediyet villus); TV; terminal villus. a-c: X10, b-d ve e: X40.

3.2.2. SLC1A5 İmmün Boyanmaları

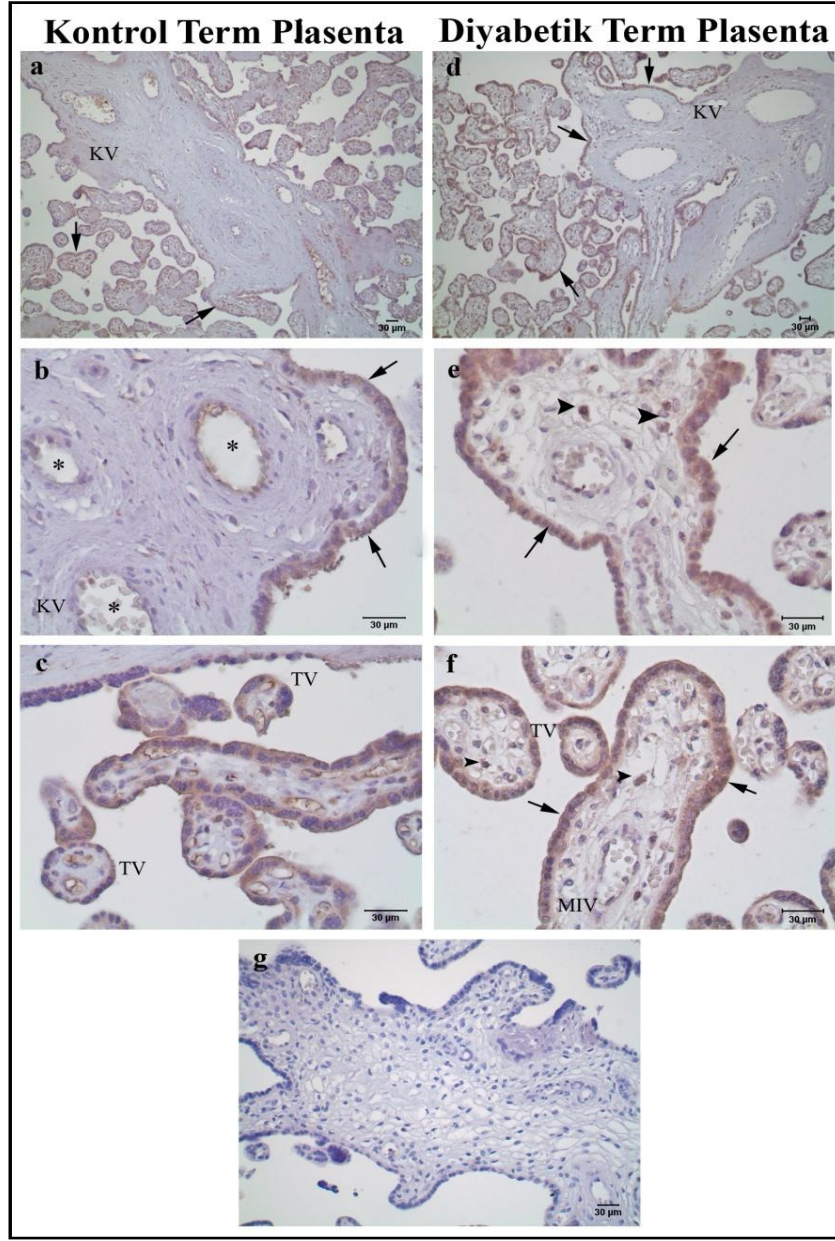
Erken dönem plasenta örneklerinde SLC1A5 (Syncytin 1'in reseptörü) ekspresyonu villusların sinsisyotrofoblastlarında ve sitotrofoblast hücrelerinde gebelik haftasına göre değişen yoğunlukta izlendi. 5-6-7 ve 8 haftalık plasenta örneklerinde sinsisyotrofoblast tabakasında güçlü immün boyanma görüldü. Ayrıca bazı stromal hücreler, hematopoetik hücreler ve damar endotelinde orta şiddette immün reaksiyon vardı (Şekil 3.2.2.1.a-f).



Şekil 3.2.2.1. Erken dönem plasenta örneklerinde SLC1A5 immün boyanması. a: 28 günlük plasenta; b: 35 günlük plasenta; c: 37 günlük plasenta; d: 45 günlük plasenta; e: 49 günlük plasenta; f: 52 günlük plasenta ve a-inset: negatif kontrol. Çift oklar sinsisyotrofoblast tabakasını, tek ok sitotrofoblast hücrelerini, ok başları stromal hücreleri, yıldız ise damar yapılarını göstermektedir. a-b-d-e ve f: X40, c: X20.

Kontrol term plasentalarda SLC1A5 reaksiyonu villusların sinsisyotrofoblast tabakasında orta şiddette immün boyanma şeklinde görüldü. Stromanın bazı hücrelerinde yoğun şiddette sitoplazmik reaksiyon izlendi. Bazı endotel hücreleri pozitif (Şekil 3.2.2.2.a-c). Tüm villus tiplerinde benzer reaksiyon paterni görüldü.

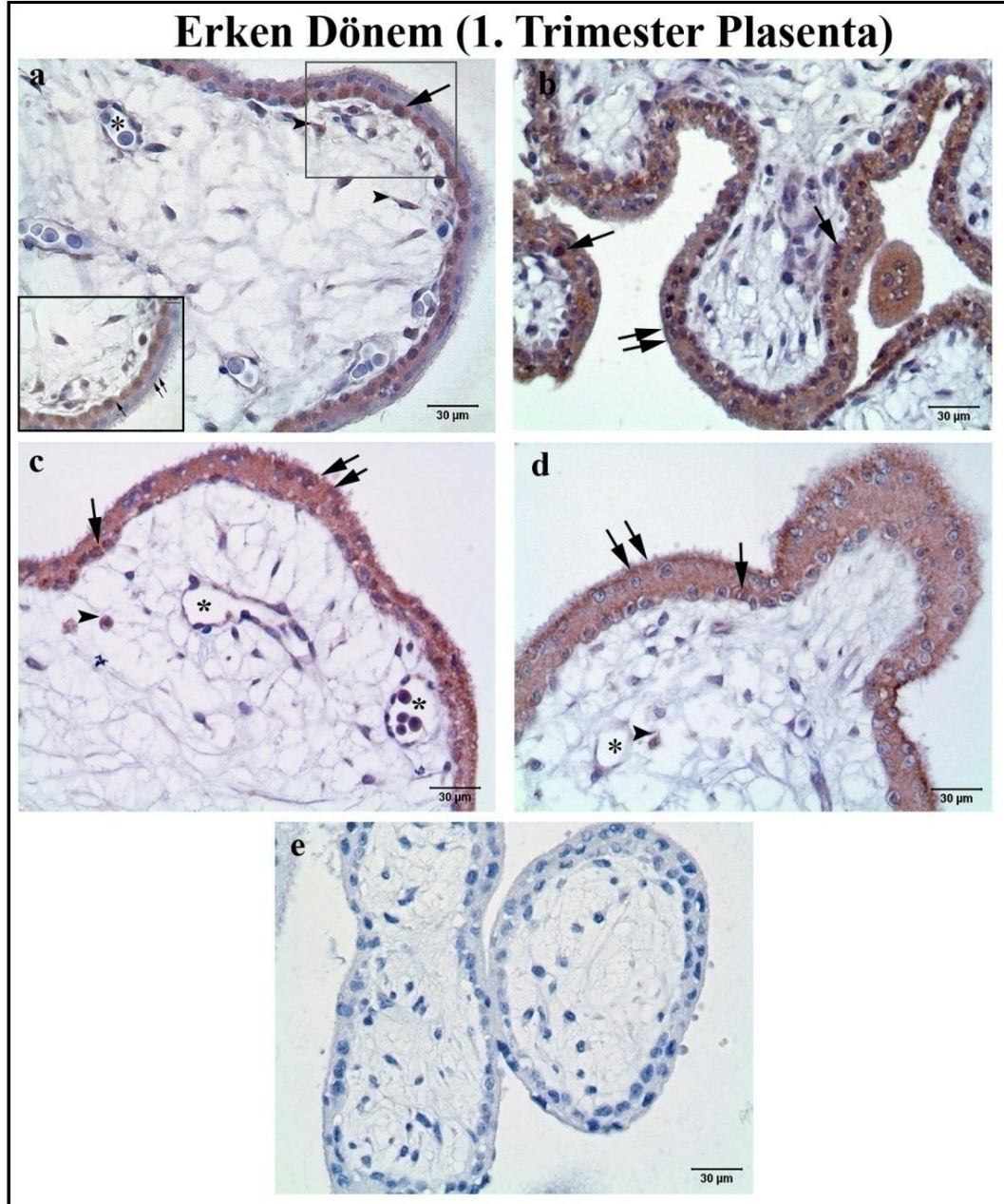
Diyabetik term plasentalarda ise kontrol plasentalarla benzer SLC1A5 immün reaksiyon görüldü. Sinsisyotrofoblast tabakasında ve bazı stromal hücrelerde orta şiddette immün reaksiyon izlendi (Şekil 3.2.2.2. d-f).



Şekil 3.2.2.2. Kontrol ve diyabetik term plasenta SLC1A5 immün boyanmaları. a-c: normal term plasenta; d-f: diyabetik term plasenta ve g: negatif kontrol. Oklar sinsisyotrofoblast tabakasını, ok başları ise stromal hücreleri göstermektedir. KV: kök (stem) villus; MIV: olgun intermediyet villus (matür intermediyet villus); TV: terminal villus. a ve d: X10, b, c, e, f ve g: X40.

3.2.3. Syncytin 2 İmmün Boyanmaları

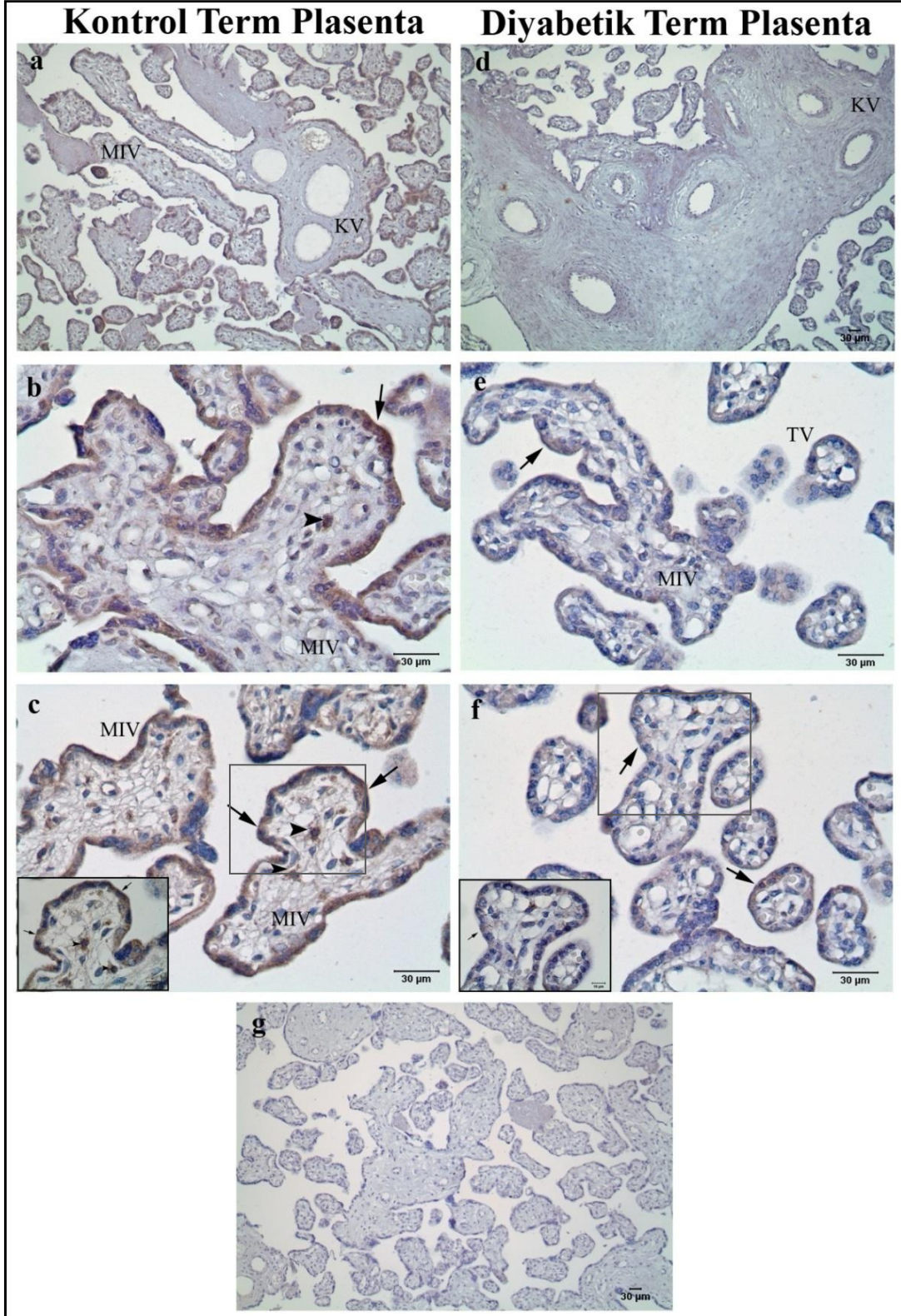
Erken dönem plasenta örneklerinde Syncytin 2 boyanması villusların sinsisyotrofoblastlarında ve sitotrofoblast hücrelerinde yoğun şiddette sitoplazmik olarak görüldü. Farklı haftalara ait plasenta örneklerinde reaksiyon sitotrofoblast hücrelerinde artmış olarak ya da (Şekil 3.2.3.1.b) bazı haftalarda sinsisyotrofoblast tabakasının apikalinde yoğun olarak (Şekil 3.2.3.1.d) izlendi (Şekil 3.2.3.1.b). Bazı stromal hücreler, fetal hematopoetik hücreler ve damar endoteli pozitif (Şekil 3.2.3.1.a-d).



Şekil 3.2.3.1. Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde Syncytin 2 immün boyanması. a: 28 günlük plasenta; b: 30 günlük plasenta; c: 45 günlük plasenta; d: 52 günlük plasenta; e: negatif kontrol. Çift oklar sinsisyotrofoblast tabakasını, tek ok sitotrofoblast hücrelerini, yıldız damar yapılarını, ok başları stromal hücreleri göstermektedir. a-e: X40.

Normal term plasentalarda Syncytin 2 ekspresyonu, villusların sinsisyotrofoblast tabakasında şiddetli immün reaksiyon şeklinde görüldü. Bazı stroma hücrelerinde ve endotel hücrelerinde zayıf reaksiyon dikkat çekti. Farklı villus tipleri açısından immün boyanma paterninde herhangi bir farklılık gözlenmedi (Şekil 3.2.3.2. a,b,c).

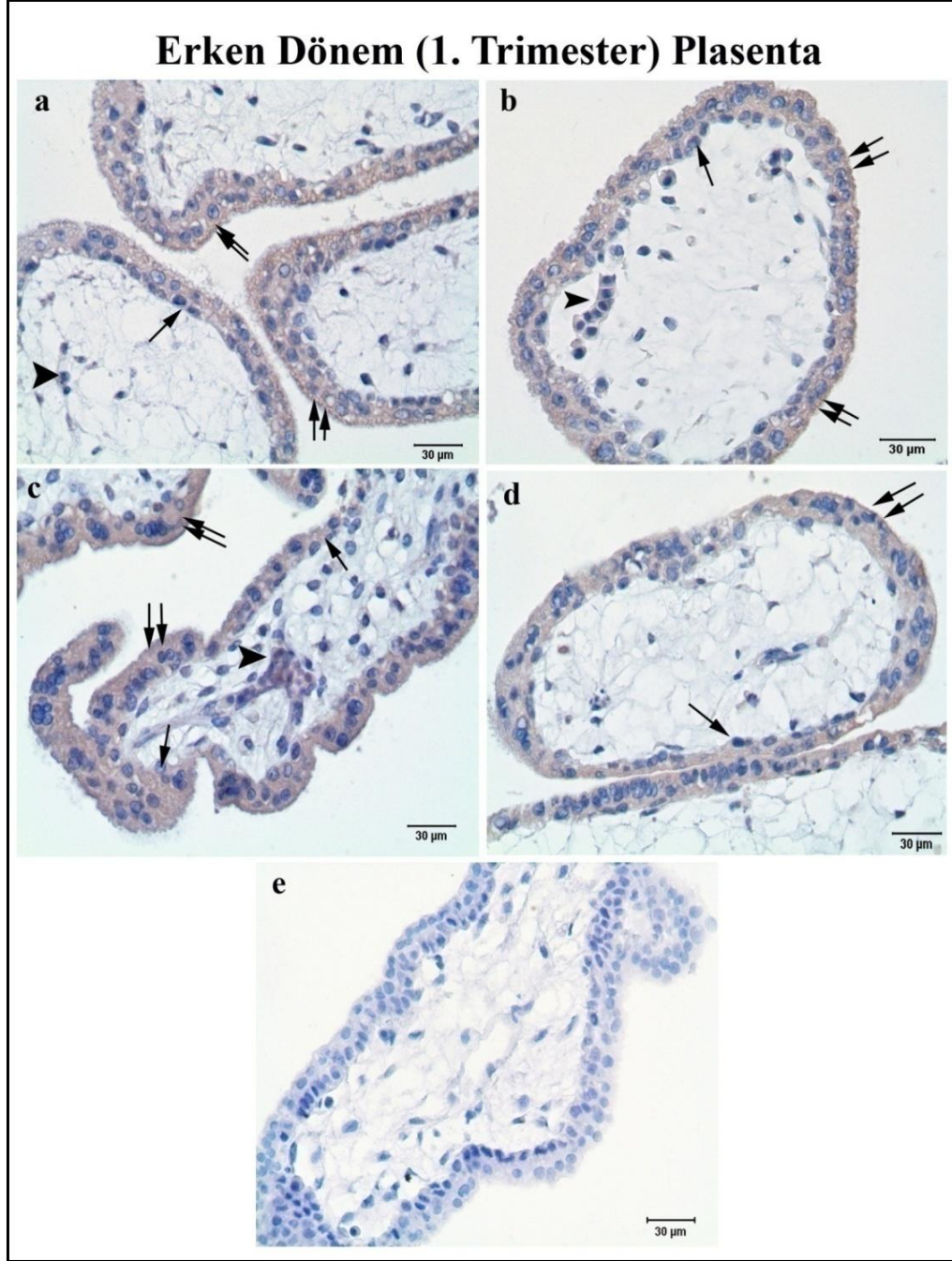
Diyabetik plasenta örneklerinde kontrol plasenta ile genel olarak benzer Syncytin 2 reaksiyonu izlenmesiyle birlikte, farklı olarak sinsisyotrofoblast tabakasında azalan immünoreaksiyon dikkat çekti. Stromada bulunan hücrelerde de reaksiyon yok denilecek kadar azdı (Şekil 3.2.3.2. d,e,f).



Şekil 3.2.3.2. Normal ve diyabetik term plasenta Syncytin 2 immün boyanmaları. a-c: normal term plasenta; d-f: diyabetik term plasenta ve g: negatif kontrol. Oklar sinsisiotrofoblast tabakasını, ok başları ise stromal hücreleri göstermektedir. KV: kök (stem) villus; MIV: olgun intermediyet villus (matür intermediyet villus); TV: terminal villus. a ve d: X10, b ve e: X20, c ve f: X40.

3.2.4. MFSD2 İmmün Boyanmaları

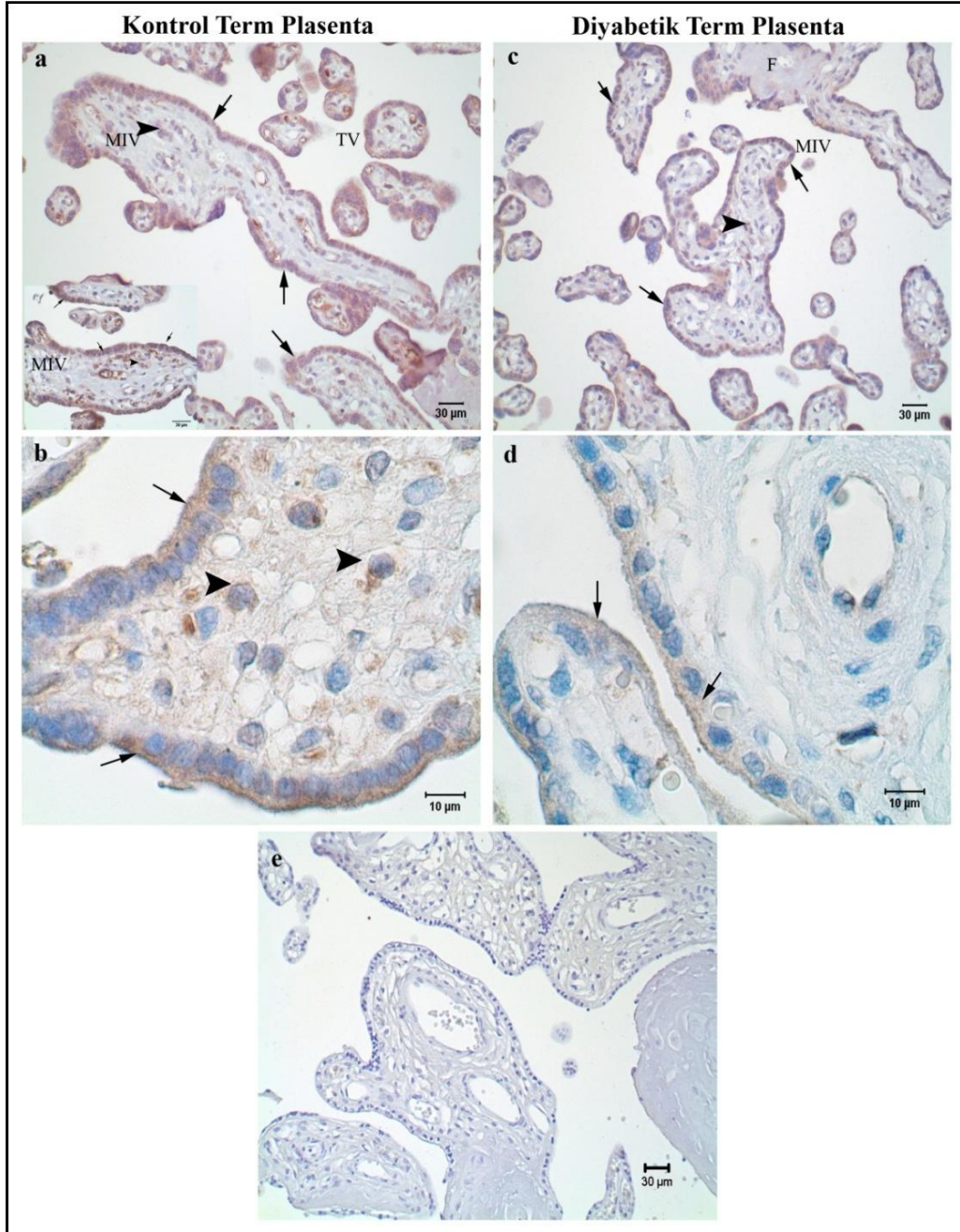
Erken dönem plasenta örneklerinde MFSD2 (Syncytin 2'nin reseptörü) immün reaksiyonu, villusun trofoblastik tabakalarında değişen şiddetlerde gözlemlendi. Bazı stroma hücreleri ve fetal hematopoetik hücreler immün pozitif. Damar endoteli immün reaksiyon göstermedi (Şekil 3.2.4.1).



Şekil 3.2.4.1. Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde MFSD2 immün boyanması. a:37 günlük plasenta; b:42 günlük plasenta, c:49 günlük plasenta; d:64 günlük plasenta; e:negatif kontrol. Çift oklar sinsisyotrofoblast tabakasını, tek ok sitotrofoblast hücrelerini, ok başları stromal hücreleri ve hematopoetik hücreleri göstermektedir. a-e: X40.

Normal term plasenta örneklerinde MFSD2 reaksiyonunun sinsisyotrofoblast tabakasında değişen şiddette olduğu görüldü. Bazı stromal hücrelerde ve damar endotelinde de zayıf bir reaksiyon izlendi (Şekil 3.2.4.2. a, b).

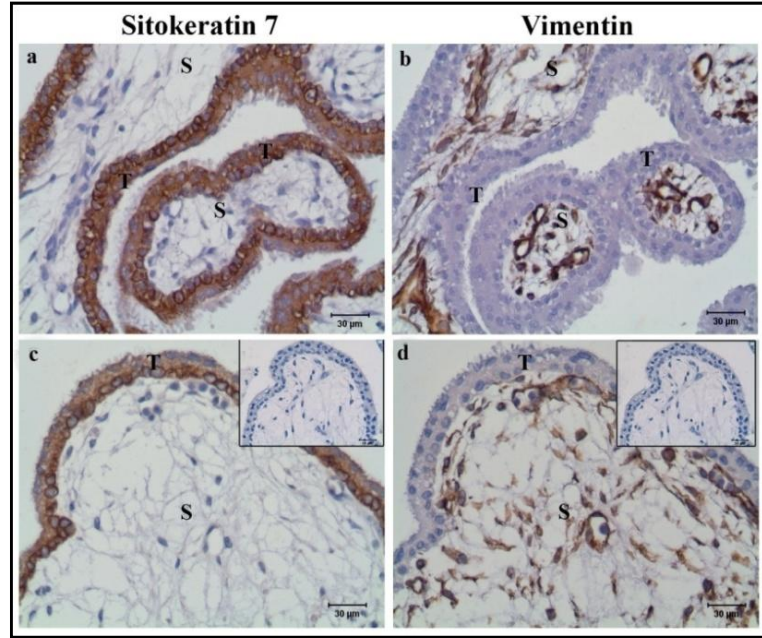
Diyabetik term plasenta örneklerinin trofoblastik hücre hatlarında normal term plasenta örneklerinde benzer derecede immün boyanma görüldü. Stromasında ise azalan immün reaksiyon dikkat çekti. Kontrol plasentaların tersine vasküler endotel negatifti (Şekil 3.2.4.2.c-d).



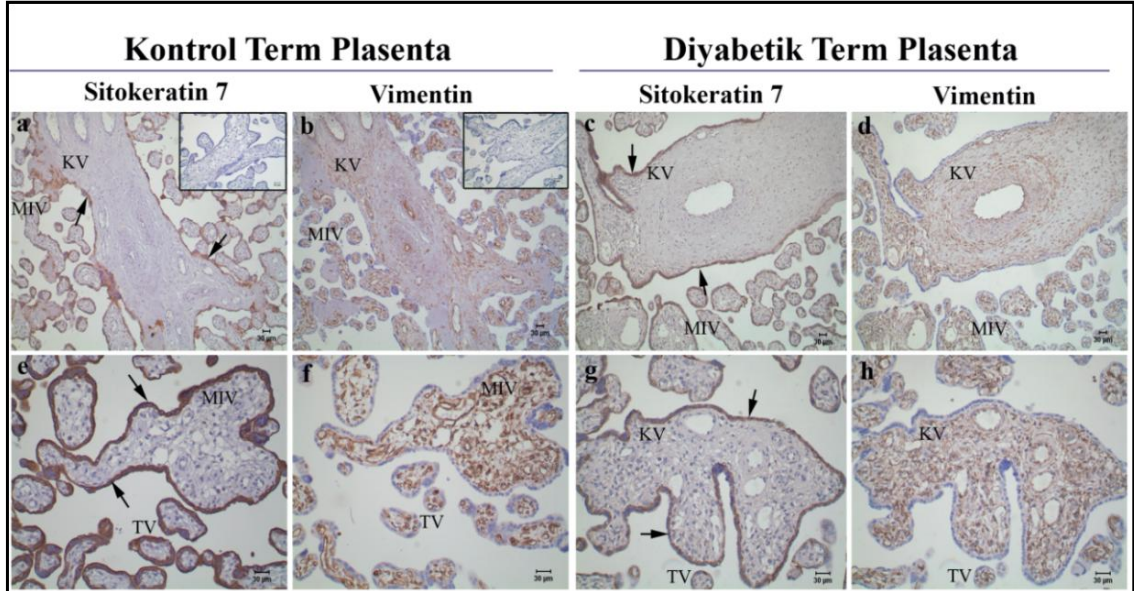
Şekil 3.2.4.2. Normal ve diyabetik term plasenta MFSD2 immün boyanmaları. a-b: normal term plasenta; c-d: diyabetik term plasenta ve e: negatif kontrol. Oklar sinsisyotrofoblast tabakasını, ok başları ise stromal hücreleri göstermektedir. MIV: olgun intermediyet villus (matür intermediyet villus); TV; terminal villus. a, c ve g: X20, b ve d: X100.

3.2.5. Sitokeratin 7 ve Vimentin İmmün Boyanmaları

Kullanılan tüm plasenta doku örneklerinde, Sitokeratin 7 immün boyanması yapılarak villusların trofoblastik hücrelerinin ayırt edilmesi sağlandı. Ayrıca, Vimentin immün boyanması ile villusların mezenşim kökenli yapıları gösterildi (Şekil 3.2.5.1 ve Şekil 3.2.5.2).

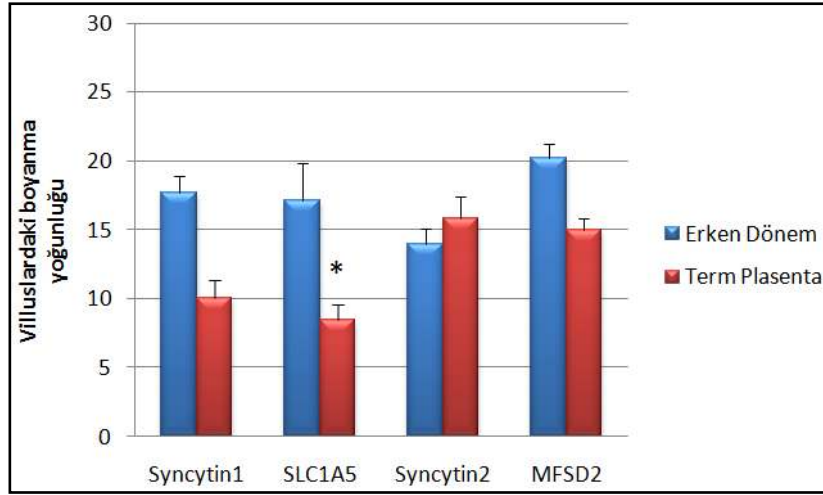


Şekil 3.2.5.1. Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde Sitokeratin 7 ve Vimentin immün boyanmaları. a ve b: 30 günlük plasenta; c ve d: 45 günlük plasenta, inset: negatif kontrol. T: trofoblast, S: stroma. a-d: X40.



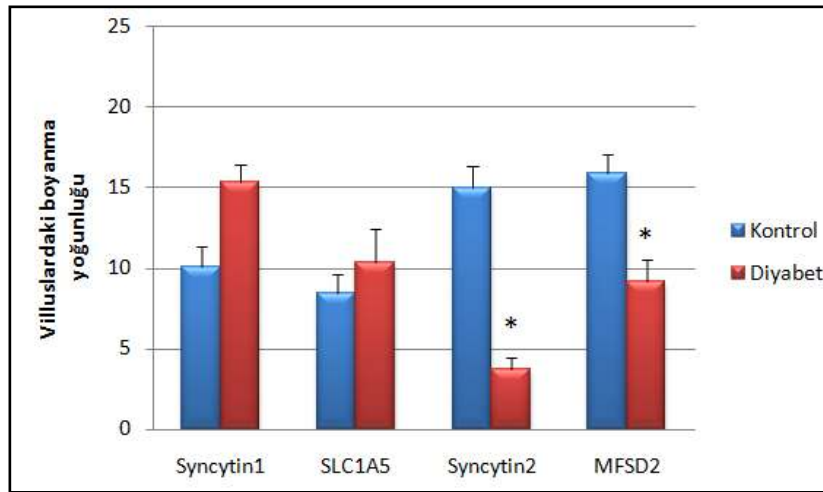
Şekil 3.2.5.2. Kontrol term ve diyabetik term plasenta örneklerinde Sitokeratin 7 ve Vimentin immün boyanmaları. KV: kök (stem) villus, MIV: olgun intermediyet villus (matür intermediyet villus), TV: terminal villus. Oklar sinsisiotrofoblast tabakasını göstermektedir. a-d: X10; e-h: X20.

Normal term ve erken dönem plasenta örneklerinde Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 ve MFSD2 proteinlerinin immünohistokimya metodu sonucu elde edilen boyanma yoğunlukları Image J programı ile değerlendirildiğinde, Syncytin 1 ($P = 0,328$), SLC1A5 ($P = 0,022$) ve MFSD2 ($P=0,979$) proteinlerinin boyanma şiddetinin term plasentaya kıyasla erken dönem plasenta örneklerinde daha fazla olduğu fakat bu artışın sadece SLC1A5 proteininde istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. Syncytin 2'nin erken dönem ve normal term plasentalarda boyanma yoğunluğu arasında ise herhangi bir fark gözlenmedi ($P = 0,673$) (Şekil 3.2.5.3).



Şekil 3.2.5.3. Erken dönem plasenta ve kontrol term plasenta örneklerinde Syncytin 1, SLC1A5, Syncytin 2 ve MFSD2 proteinlerinin immün boyanma yoğunluklarını karşılaştıran grafik.

Normal term ve diyabetik term plasenta örneklerinde Syncytin 1, Syncytin 2, SLC1A5 ve MFSD2 proteinlerinin boyanma yoğunlukları kıyaslandığında ise diyabetik plasentalarda Syncytin 1 ($P = 0,777$) ve reseptörü SLC1A5 ($P = 0,432$)'in boyanma şiddetinin bir miktar arttığı fakat bu artışın anlamlı bulunmadığı belirlendi. Syncytin 2 ($P < 0,001$) ve reseptörü MFSD2 ($P = 0,005$)'nin ise boyanma şiddetinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı izlendi (Şekil 3.2.5.4)

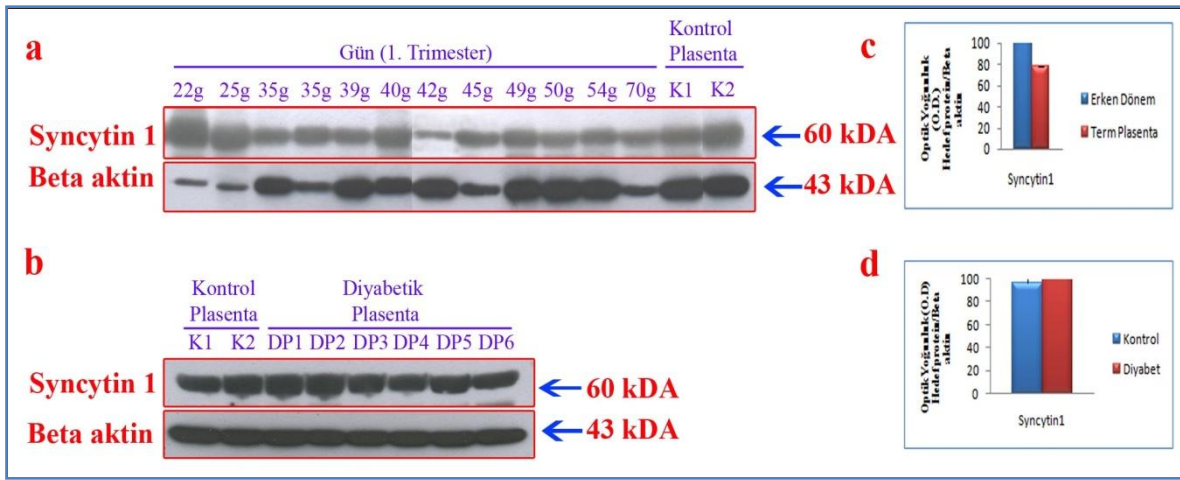


Şekil 3.2.5.4. Normal term plasenta ve diyabetik term plasenta örneklerinde Syncytin 1, SLC1A5, Syncytin 2 ve MFSD2 proteinlerinin immün boyanma yoğunluklarını karşılaştıran grafik.

3.3. Western Blot Bulguları

3.3.1. Syncytin 1 Ekspresyonu

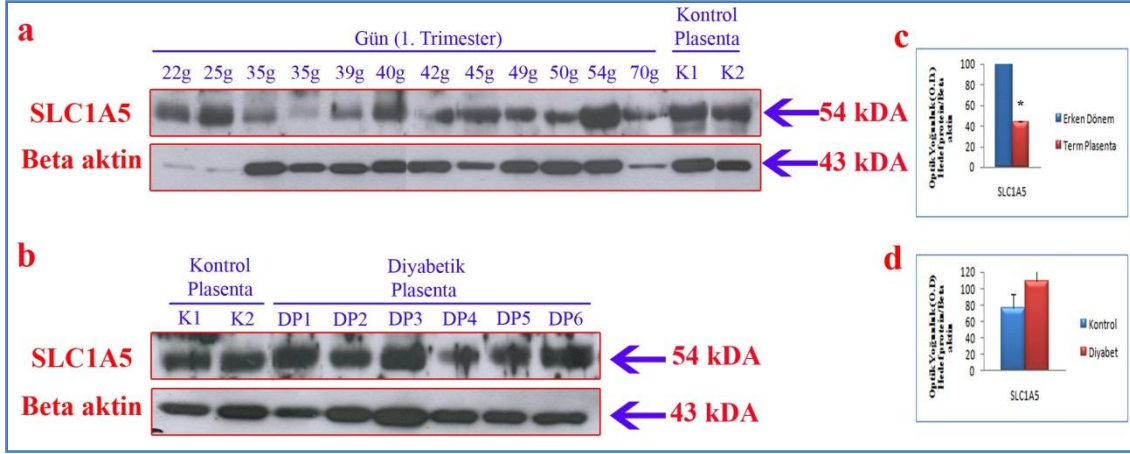
Normal erken dönemde farklı günlerdeki plasenta örneklerindeki ekspresyon kıyaslandı. Keza term normal ve diyabetik term plasenta örneklerinde de bu kıyaslama yapıldı. Erken ve term plasenta örneklerinde Syncytin 1'in ekspresyon miktarları karşılaştırıldığında, erken dönem örneklerde Syncytin 1 ekspresyon düzeyinin gebelik sürecine bağlı olarak yüksek olduğu görüldü; fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,606$) (Şekil 3.3.1.1. a ve c). Kontrol term ve diyabetik term plasentalarda Syncytin 1 ekspresyonu kıyaslandığında, diyabette Syncytin 1 ekspresyonun arttığı görüldü fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu ($p=0,166$) (Şekil 3.3.1.1. b ve d).



Şekil 3.3.1.1. Erken dönem (1. Trimester), kontrol term ve diyabetik term plasentalarda Syncytin 1 protein bantları. a: Erken dönem plasenta (22-70 günler arası) ve kontrol term plasentada (K1, K2) Syncytin1 protein ekspresyonu, b: Kontrol term (K1, K2) ve diyabetik term (DP1-DP6) plasentalarda Syncytin 1 protein ekspresyonu, c: Erken dönem ve term plasentalarda Syncytin 1 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasını gösteren grafik, d: Kontrol ve diyabetik plasentalarda Syncytin 1 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasını gösteren grafik.

3.3.2. SLC1A5 Ekspresyonu

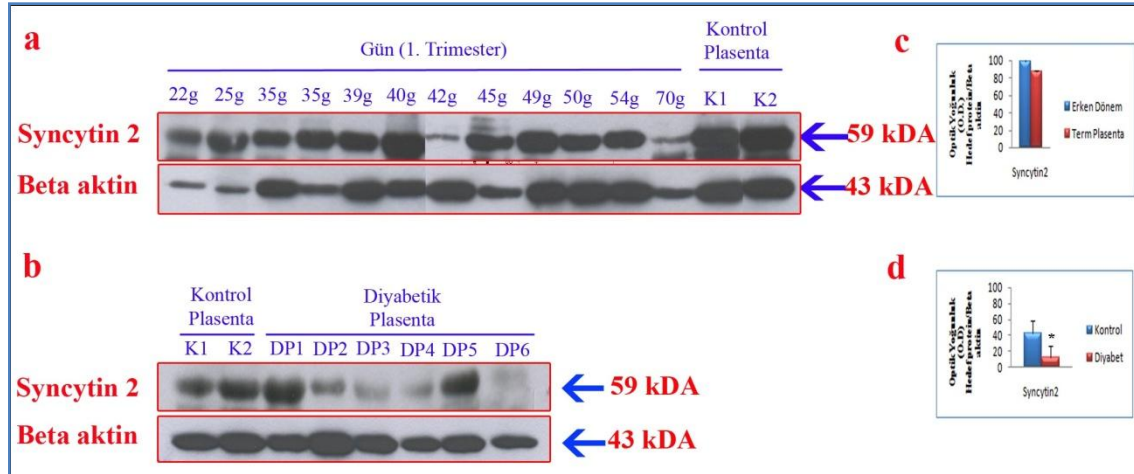
Erken dönem plasenta ve normal term plasentalarda SLC1A5 ekspresyonu incelendiğinde, erken dönem plasenta örneklerine kıyasla, normal term plasentalarda SLC1A5 ekspresyonunun azaldığı görüldü (Şekil 3.3.2.1.a ve c). Term plasentalarda izlenen bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı ($p= 0,027$). Normal term plasenta ve diyabetik term plasentada SLC1A5 ekspresyonları karşılaştırıldığında ekspresyon düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,548$) (Şekil 3.3.2.1.b ve d).



Şekil 3.3.2.1. Erken dönem (1. Trimester), kontrol term ve diyabetik term plasentalarda SLC1A5 protein bantları. a: Erken dönem plasenta ve kontrol term plasentada SLC1A5 protein ekspresyonunun gebelik yaşına bağlı olarak azaldığı görülüyor, b: Kontrol term ve diyabetik term plasentalarda SLC1A5 protein ekspresyonu, c: Erken dönem ve term plasentalarda SLC1A5 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasını gösteren grafik, d: Kontrol ve diyabetik plasentalarda SLC1A5 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasını gösteren grafik.

3.3.3. Syncytin 2 Ekspresyonu

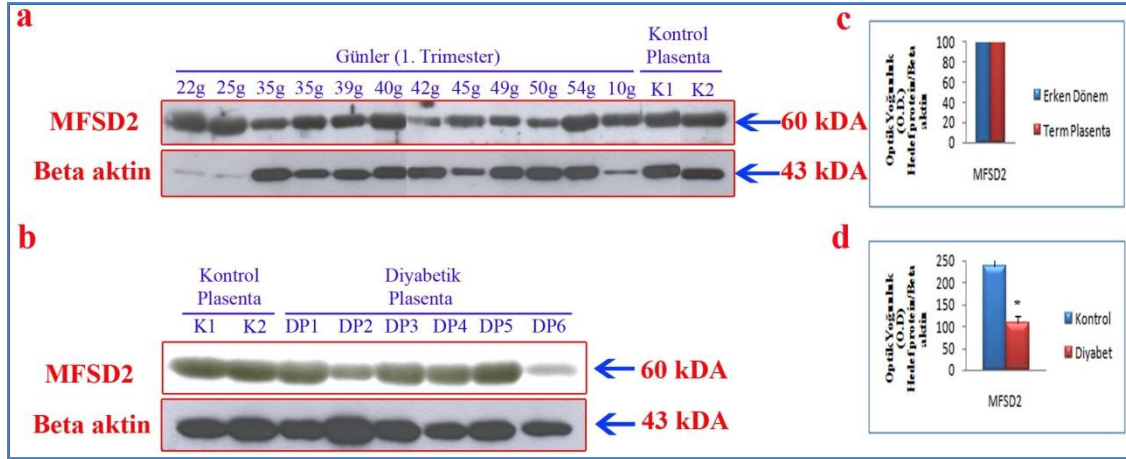
Erken dönem plasenta ve normal term plasenta örneklerinde Syncytin 2 protein ekspresyonu düzeyleri iki grupta da benzer olduğu görüldü ($p=0,793$) (Şekil 3.3.3.1.a ve c). Normal term plasenta ve diyabetik term plasentada Syncytin 2 ekspresyon düzeyi ise, diyabetik term plasentalarda azalan Syncytin 2 ekspresyonu dikkat çekti. Normal term plasentalara oranla diyabetik term plasentalarda görülen bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,029$) (Şekil 3.3.3.1.b ve d).



Şekil 3.3.3.1. Erken dönem (1. Trimester), kontrol term ve diyabetik term plasentalarda Syncytin 2 protein bantları. a: Erken dönem plasenta ve kontrol term plasentada Syncytin 2 protein ekspresyonu, b: Kontrol term ve diyabetik term plasentalarda Syncytin 2 protein ekspresyonu, c: Erken dönem ve term plasentalarda Syncytin 2 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasını gösteren grafik, d: Kontrol ve diyabetik plasentalarda Syncytin 2 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasını gösteren grafik.

3.3.4. MFSD2 Ekspresyonu

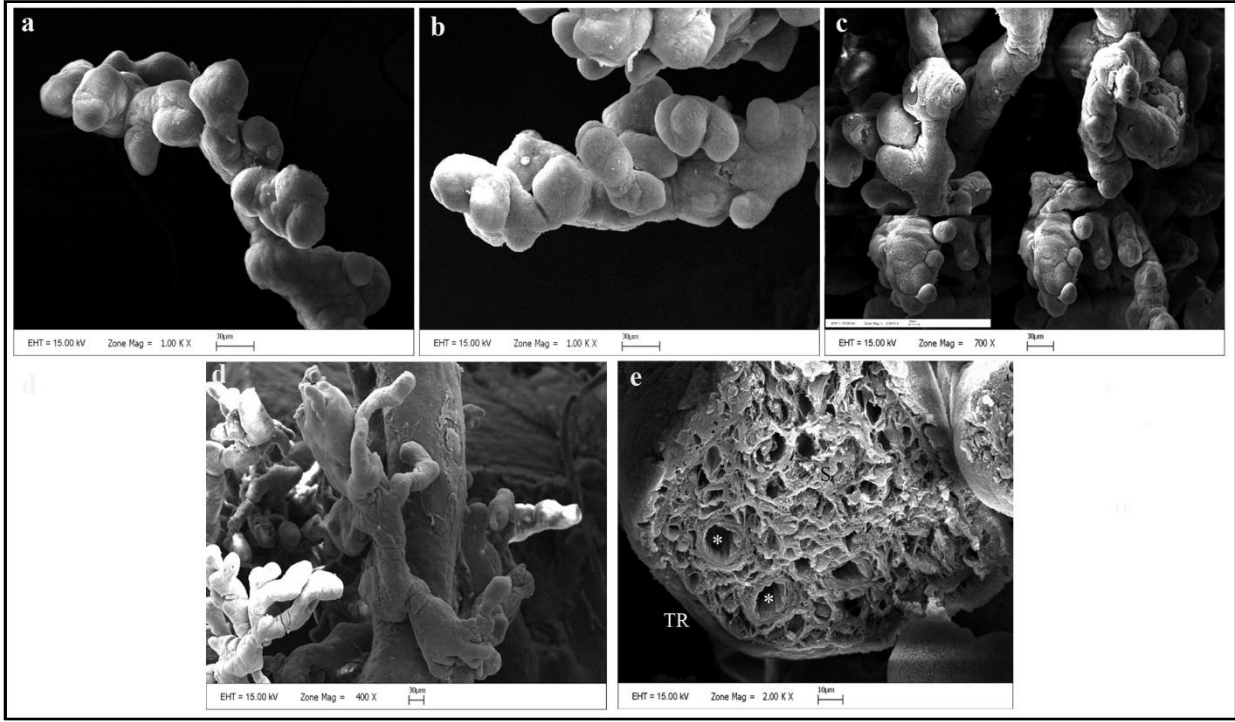
Erken dönem plasenta ve normal term plasentada MFSD2 ekspresyon miktarları karşılaştırıldığında; termdeki plasenta örneklerinde MFSD2 ekspresyonunun azaldığı fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı görüldü ($p=0,856$) (Şekil 3.3.4.1.a ve c). Bununla birlikte normal term ve diyabetik term plasentalar incelendiğinde, diyabetik term plasentalarda normal term plasentaya göre MFSD2 protein miktarının azaldığı görüldü. Diyabetik term plasentalarda görülen bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p= 0,006$) (Şekil3.3.4.1.b ve d).



Şekil 3.3.4.1. Erken dönem (1. Trimester), kontrol term ve diyabetik term plasentalarda MFSD2 protein bantları. a: Erken dönem plasenta ve kontrol term plasentada MFSD2 protein ekspresyonu, b: Kontrol term ve diyabetik term plasentalarda MFSD2 protein ekspresyonu, c: Erken dönem ve term plasentalarda MFSD2 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasını gösteren grafik, d: Kontrol ve diyabetik plasentalarda MFSD2 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırmasını gösteren grafik.

3.3.5. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Bulguları

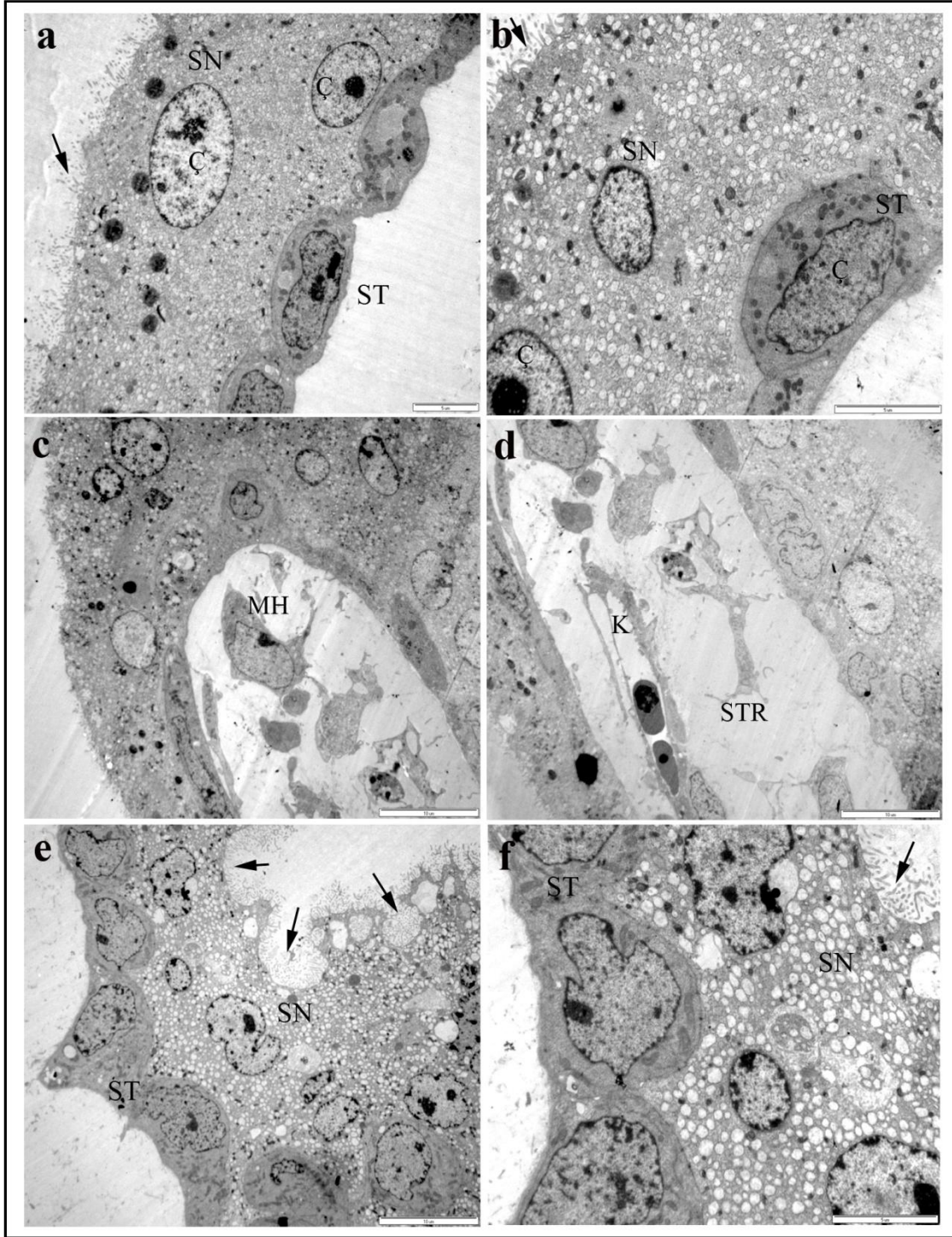
Normal term plasenta ve diyabetik term plasenta örneklerinin yüzey ince yapısının taramalı elektron mikroskop ile incelenmesi sonucunda fetomaternal iletişimi sağlayan temel elemanlar olan matür intermediyet villuslar ve onların oluşturdıkları terminal villusların yüzeyini kaplayan kaba halı görünümünü oluşturan mikrovillus yapılarının sıklığı ve görünümünde belirgin bir fark gözlenmedi. Her iki grupta villus yapıları arasında belirgin morfolojik bir farkın görülmeyişi diyabetik etkenin villus yüzeyine üç boyutlu görüntüye çok yansımadığını gösterdi (Şekil 3.3.5.1).



Şekil 3.3.5.1. Kontrol ve diyabetik term plasenta örneklerinin taramalı elektron mikroskop ile incelenmesi. a,b ve c: kontrol term plasenta; d ve e: diyabetik term plasenta. TR: trofoblast tabakası, S: stroma, yıldız ise villus stromasında bulunan damar yapıları göstermektedir.

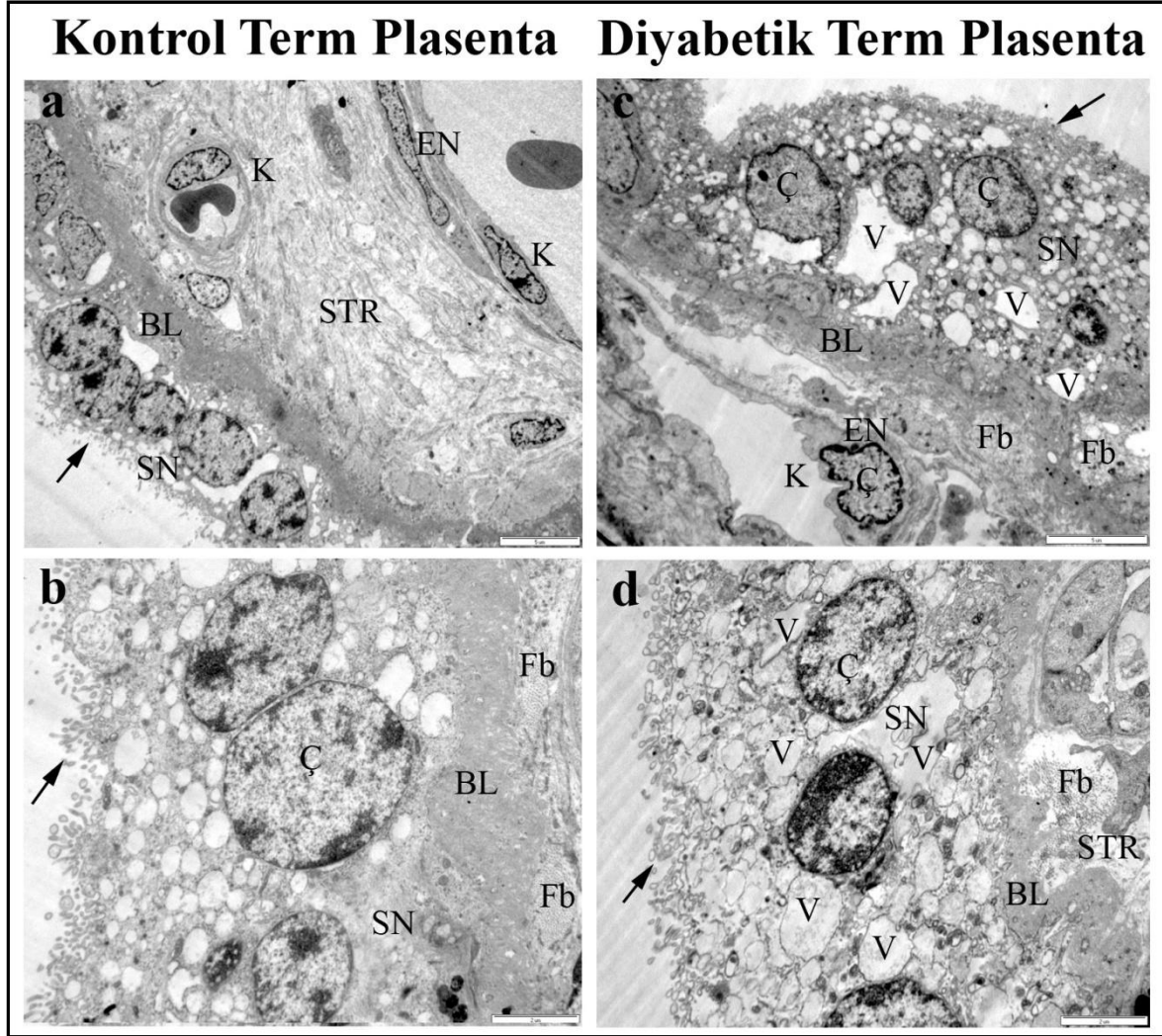
3.5.6. Geçirimli Elektron Mikroskop (TEM) Bulguları

Erken dönem plasenta örneklerinde geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ile sinsisyotrofoblast tabakası, sitotrofoblast hücreleri, mikrovilluslar, damar oluşumları, endotel ile farklı stromal hücreler incelendi (Şekil 3.5.6.1). Tek tabakalı sitotrofoblast ve onun oluşturduğu sinsisyotrofoblast tabakasının içerikleri belirgindi. Yoğun sayıda mikrovilluslar, sitoplazmik organeller, ökromatik çekirdek yapısı ve dağınık lipid damlaları sinsisyal yapının belirgin elemanlarıydı. Bazal lamina ile stromadan ayrılan sitotrofoblast tabakası hücrelerinin bir kısmı koyu, bir kısmı açık ise sitoplazmaya sahipti.



Şekil 3.5.6.1. Erken dönem (1. Trimester) plasenta örneklerinde geçirimli elektron mikroskop inceleme sonuçları. a,b: 40. günlük plasenta; c,d: 49. gün plasenta; e,g: 64. gün plasenta. Bu gebelik yaşlarında plasental bariyeri oluşturan elemanlardan sitotrofoblast ve sinsisyotrofoblast çok açık olarak izlenmektedir. SN: sinsisyotrofoblast, ST: sitotrofoblast, STR: stroma, MH: mezenşimal hücre, Ç: çekirdek, K:kapiler, oklar mikrovili yapılarını ve yıldız ise stromada bulunan damar oluşumlarını göstermektedir.

Kontrol ve diyabetik term plasentaların TEM bulguları kıyaslandığında; diyabetik term plasentalarda sinsisyotrofoblast tabakasındaki mikrovillus sıklığının azaldığı, vakuolleşmenin ileri düzeyde varlığı görüldü. Sinsisyum tabaka bütünlüğünün bozulduğu izlendi. Stromada fetal damar yapısının kontrole kıyasla daha düzensiz olması, kollojen fibril yapılarının daha yaygın görülmesi diyabetik farklılıklardan (Şekil 3.5.6.2).



Şekil 3.5.6.2. Kontrol ve diyabetik term plasentalarda geçirilmiş elektron mikroskop incelemesi. a ve b: kontrol term plasenta, c ve d: diyabetik term plasenta. Diyabetik plasenta örneklerindeki sinsisyal (SN) yapı harabiyeti, kütleşen mikrovilluslar, ileri derecede vakuolleşme (V) gözleniyor. SN: sinsisyotrofoblast, BL: bazal lamina, EN: endotel, K: kapiler Fb: fibrin ve oklar mikrovilli yapılarını göstermektedir.

TARTIŞMA

Plasenta, intrauterin gelişim boyunca hem anne hem de fetus için önemli görevler üstlenen eşsiz bir organdır. Besin ve gaz transferini gerçekleştirerek fetüsün büyümesini sağlar, adeta bir bariyer görevi görerek fetüsü maternal patojenlerden ve maternal reddin korur [72].

Normal plasenta gelişimi ve sağlıklı bir gebeliğin oluşması için trofoblast hücreleri iki temel yöne ayrılır. İnvazif özelliğe sahip ekstrasvillöz trofoblast (villöz dışı trofoblast, EVT); maternal dokuya (desidua) nüfuz ederek plasentasyona öncülük eder. Demirleyici villusların uç bölgelerinde EVT hücreleri vardır ve desidua ile ilişkilidirler. Villöz trofoblastlar (villus içi trofoblast) ise, serbest villusların yüzeyini kaplayan ve villus stromasıyla ilişkili olan sitotrofoblast hücreleridir. Bunlar çoğalır ve füzuya uğrayarak sinsisyotrofoblast tabakasını oluşturur. Sinsisyotrofoblast tabakası da gebelik boyunca esas görevi üstlenir. Fetüsün büyüme ve gelişiminin sağlanması için besin ve gaz değişiminin yapıldığı, metabolitlerin geri atıldığı, gerekli steroid ve peptid yapıda hormonların sentezlendiği önemli kavşak sinsisyotrofoblast tabakasıdır [107]. Sinsisyotrofoblast tabakasının oluşumunda meydana gelen bir bozukluk hem annenin hem de fetüsün hayatını tehlikeye sokacak plasenta patolojilerine neden olabilir.

Gebelik boyunca, klinikte sıklıkla karşılaşılan patolojilerden biri de Gestasyonel diabetes mellitus (GDM)'dir. GDM gebelik süresince meydana gelen karbonhidrat intoleransı ile karakterizedir [13]. Normal bir gebeliğin 2. trimesterinin sonları ve 3. trimesterinde artan insülin direncinin dengelenmesi için insülin salgılanması artırılır ve böylece normal glukoz homeostazı korunmaya çalışılır. İnsülin düzeyinin yeterli oranda artırılmadığı kadınlarda GDM gelişmektedir [91]. Diyabetik gebelikler hem anne hem de fetus için bir takım riskler taşıyabilir. Bu tür gebeliklerde, bebekte hipokalsemi, hipoglisemi ve makrozomi gibi neonatal morbidite insidansı artmaktadır [11, 12].

Araştırmacılar, gestasyonel diyabetik plasentalarda ortak bir çok morfolojik ve histolojik anomali belirlemişlerdir. Bu anomalilerin başında, diyabetik plasentalarda artmış dejeneratif lezyonların görülmesi, fibrinoid yapıları, villöz ödem, villöz immatürite ve bazal membran kalınlaşması gelmektedir [13, 108, 109] .

Çalışmamızın bulgularına göre, diyabetik plasentalarda normal gebeliklere kıyasla dejenere odaklar, villuslar arası ve villusların içinde fibrince fibrinoid artışları gözlemlenmesi; yaşlanan villus ağacına mekanik destek sağladığı yönündeki literatür bilgisiyle uyumludur [49]. Fibrinoid yapıları, gebeliğin erken döneminde plasentanin sinsisyotrofoblast tabakasında meydana gelen aşırı sinsisyotrofoblast harabiyetini kompanse ettiği fikri de taraftar bulmaktadır. Mekanik etkiler ya da dejenerasyon nedeniyle villusun sinsisyotrofoblast tabakası kesintiye uğradığında, bu alan perivillöz fibrin/fibrinoid yapılar ile onarılır. Oluşan bu fibrinoid yapıların maternofötal madde

taşıyımını trafiğinde sıkı engelleyici bariyer oluşturduğu yönündeki kaynak bilgi ile bulgularımız uyumludur [5].

Diyabetik plasentalarda, normal plasentalara kıyasla fibrinoid yapıların artmış olması sinsisyum oluşumu için gerekli olan hücre füzyon dinamiklerinde bir kesintinin olabileceğini göstermektedir. Zira eksik kalan sinsisyal segmentlerin perivillöz fibrin tarafından kapatılması plasenta dinamiği ile uyumludur. Fibrinoid birikimlerine ek olarak diyabetik plasentaların villuslarının normale kıyasla daha ödemli olması ve sinsisyotrofoblast tabakasında ileri derecede vakuollerin gözlenmiş olması plasenta patolojisinin diğer bir işaretidir.

Bulgularımızdaki diyabetik plasentaların sinsisyotrofoblast tabakasındaki anormal vakuolleşmenin nedenlerden biri olarak, sitotrofoblast hücrelerinin füzyonunda rol oynayan füzyojenik proteinlerden Syncytin moleküllerinin rol oynama ihtimali yüksektir. Füzyon olmadığı ya da azaldığı yerlerde sinsisyumda yapılan metabolizma taşıyımını tolere etmek için kendi yapısında değişime gitmesi organik gereklilik olması sonucu olabilir.

İnsan endojen retrovirüslerin (HERV) plasenta gelişimi ve trofoblast farklılaşmasında rol oynayabileceği fikri ilk kez 15 yıl önce ortaya atılmıştır [110]. İnsan genomunun retroviral orijinli gen bölgeleri içerdiği ve bu bölgelerden bazılarının yüksek translasyon potansiyeline sahip olduğu, insan plasentasında da retroviral proteinlerden olan HERV-W (Syncytin 1), HERV-FRD (Syncytin 2) ve ERV-3 yüksek oranda ekspresyon edilmekte olduğu bilinmektedir [68].

Çalışmamızda; ilk olarak normal gebeliğin farklı evrelerine ait plasenta örneklerinde, retroviral proteinler olan Syncytin 1, Syncytin 2 ve reseptörlerinin (SLC1A5 ve MFSD2) protein dağılımını ve ekspresyon düzeyleri ile ilgili bulgularımız orijinal kaynak bilgidir. Plasenta gelişiminde Syncytin 1, Syncytin 2 ve reseptörlerinin varlığının belirlenmesi konuya dikkati arttırmaktadır. Bulguların kıyaslanmasıyla bu moleküllerin normal ve diyabetik plasentalardaki ifadeleri ve dağılımlarının farklılık gösterdiği yönündeki sonuçlar bu bağlamda önemlidir.

Syncytin 1 proteininin, plasentada sitotrofoblast hücreleri arasında sinsisyotrofoblast oluşturmak için meydana gelen hücre füzyonunda rol oynadığı belirtilmiştir [6, 7, 111-113]. Syncytin 1 proteini bu rolünü sahip olduğu *ENV* gen bölgesi sayesinde gerçekleştirmektedir [70]. Muir ve ark. [113] tarafından yapılan bir çalışmada erken dönem plasenta örneklerinde Syncytin 1 füzyojenik protein dağılımının sinsisyotrofoblast tabakasında ve sitotrofoblast hücrelerinde olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre; trofoblast tabakasına ek olarak bazı stromal hücrelerde, endotelde ve fetal hematopoetik hücrelerde de Syncytin 1 protein immün reaksiyon vermektedir. Bu da Syncytin 1 proteinin erken dönem plasenta örneklerinde sinsisyum oluşumu dışında başka rolleri de üstlenebileceğini göstermektedir. Dupressoir ve ark. tarafından yapılan bir çalışma ile Syncytin-A^{-/-} farelerin yavrularında bozulmuş damar yapıları ve vaskülarizasyonda azalma izlenmiştir. Syncytin-A'nin insandaki homoloğu olan Syncytin 1'inde damar yapılarında ve vaskülarizasyonda rolü olabileceğini düşündürmektedir [84]. Ayrıca Aplin ve ark. tarafından yapılan çalışmada

da Syncytin 1 proteininin SU alt ünitesine ait antikoru endotelde pozitif immün reaksiyon göstermesi başka görevlerde üstlenebileceği fikrini desteklemektedir [114].

Literatürde Muir ve ark. ile Lee ve ark. tarafından yapılan çalışmalardan elde edilen bulgulara göre ise Syncytin 1 ekspresyonu yalnızca trofoblast hücrelerinde izlenmektedir [113]. Çalışmamızda görülen bu farklılık kullanılan antikoru diğer iki çalışmada kullanılan antikordan farklı olması nedeniyle kaynaklanabilir.

Smallwood ve ark. [112] tarafından yapılan çalışmada; Syncytin 1 protein ekspresyonunun erken dönem plasenta örneklerinde term plasentaya oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir. Sonuçlarımıza göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasada Syncytin 1 proteini term plasentaya kıyasla gebeliğin erken döneminde plasentada daha fazla ekspre olmaktadır. Term plasentada Syncytin 1 ekspresyonunun azalması, termde perivillöz fibrinoid birikimlerinin artması plasenta dinamiğine uygun bir sonuçtur. Birinci trimesterde trofoblast tabakasında apoptotik süreçlerin artması da bu dinamiğin gereğidir [33].

Blond ve ark. [7] tarafından yapılan bir çalışmada, Syncytin 1 proteininin reseptörü olarak SLC1A5 (nötral amino asitler için sodyum bağımlı amino asit taşıyıcısı) plasentada belirlenmiştir. SLC1A5, aynı zamanda retrovirüs reseptörü olarak tanımlanır. Buna göre, Syncytin SU alt ünitesi SLC1A5 ile etkileşime girer ve TM alt ünitesinde değişikliğe neden olarak füzyon sürecini başlatır[115]. Hayward ve ark. [116] yaptığı bir çalışmada, SLC1A5 protein lokalizasyonunun villusların yoğun bir şekilde sitotrofoblast hücrelerinde ve çok az seviyede sinsisyotrofoblast tabakasında olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızın erken dönem plasenta örneklerinde SLC1A5 reseptör ekspresyonunu villusların sinsisyotrofoblast tabakasında ve sitotrofoblast hücrelerinde, bazı stromal hücrelerde, fetal hematopoetik hücrelerde ve damar endotelinde olduğu bulgularımızla gösterildi. Bu sonuçlarımız; Hayward ve arkadaşlarının [116] elde ettiği sonuçlara ek olarak villus stromasındaki bazı hücrelerde de SLC1A5 proteinin olduğunu, bu proteinin sadece füzyon olayını katılmadığını aynı zamanda nötral amino asit taşınmasında [7] da aktif rol oynayabileceğini telkin etmektedir.

Sonuçlarımıza göre, Syncytin 1 ve reseptörü olan SLC1A5 ekspresyon modelinin benzer olması füzyon mekanizmasının oluşması için bu iki proteinin birlikte çalışması gerektiği fikrini desteklemektedir. Çalışmamızda gebeliğin erken döneminden itibaren SLC1A5 protein ekspresyon düzeylerini incelediğimizde, erken dönem plasentalarda terme kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür. Erken dönem plasentada görülen bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı idi. Bulgularımız, erken dönem plasenta örneklerinde yüksek SLC1A5 ekspresyonu; nötral amino asit transportuna işaret sayılabilir.

İnsan endojen retrovirüs ailesine ait diğer bir üye ise Syncytin 2'dir. Syncytin 2, insan genomuna Syncytin 1'den önce girmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda [76, 81, 117] Syncytin 2'nin Syncytin 1 gibi füzyojenik fonksiyona sahip olduğu ve plasentada yüksek oranda ekspre edildiği belirtilmiştir.

Malassine ve ark [4, 81] tarafından yapılan çalışmalarda; erken dönem plasentalarda Syncytin 2 ekspresyonunun sadece bazı sitotrofoblast hücreleri ile sınırlı

olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, sitotrofoblast hücrelerine ek olarak sinsisyotrofoblast tabakasında ve bazı stromal hücrelerde de Syncytin 2 ekspresyonu olduğunu göstermektedir. Literatürde farklı araştırmacıların erken dönem plasentalarda Syncytin 2 dağılımı ile ilgili bildirimlerinde sinsisyotrofoblast tabakasında da Syncytin 2 ekspresyonu olduğu ifade edilmiştir [117].

Çalışmamızda erken dönem ve term plasentada Syncytin 2 ekspresyonları karşılaştırıldığında; Syncytin 2 ekspresyon düzeyi bakımından herhangi bir fark bulunamamıştır. Term plasentada, erken dönem plasentaya kıyasla azalan füzyon potansiyeline karşı Syncytin 2 protein düzeyinde herhangi bir azalma olmaması, bu proteinin farklı görevleri de üstlenebileceği ihtimalini göstermektedir. Syncytin 2 proteini, Syncytin 1’de bulunmayan immün baskılayıcı domeyne sahip olması ve [76], Syncytin 2 düzeyinin gebelik boyunca azalmaması fetüsü maternal immün sistemden korumada görev alabileceğini düşündürülebilir.

Karbonhidrat taşıyıcı protein ailesine ait olan MFSD2 (major facilitator superfamily domain containing)’nin Syncytin 2 ile etkileşime girerek plasentada hücre-hücre füzyonunu indüklediği ileri sürülmüştür [118].

Literatürde MFSD2 proteininin normal term plasentalarda varlığı daha önce de gösterilmiştir [119], MFSD2 protein dağılımının erken dönem plasenta örneklerinde gösterildiği literatürdeki ilk çalışmadır. MFSD2 ekspresyonu villusların sinsisyotrofoblast tabakasında, sitotrofoblast hücrelerinde, bazı stromal hücreler ve fetal hematopoetik hücrelerde belirlenmesi çalışmanın orijinal bulgularıdır. MFSD2 ve Syncytin 2’nin benzer ekspresyon modelini sergilemesi bu iki proteinin sinsisyum oluşumu için birbirlerine bağımlı çalıştığını işaret edebilir. Plasenta gelişim süreci boyunca MFSD2 protein ekspresyon düzeyini incelediğimizde, MFSD2’nin 1. trimester plasenta örneklerinde term plasentaya kıyasla daha fazla bulunmasına karşın bu farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmaması bu çalışmanın bulgularındandır.

Bazı araştırmalarda [4, 88, 120, 121] sınırlı plasenta patolojileri ile Syncytin proteinleri arasındaki ilişki açıklanmaya çalışılmıştır. Fakat şimdiye kadar yapılan hiçbir çalışmada klinikte sıklıkla görülen bir plasenta patolojisi olan gestasyonel diyabetik plasentalar ve Syncytin-reseptör etkileşimleri incelenmemiştir. Bu bağlamda sunulan çalışmanın sonuçları konusunda orijinallğe sahiptir.

Çalışmamızın sonuçları, literatürde ilk defa diyabetik term normal term plasentalarla kıyaslanarak farklı Syncytin-reseptör protein ekspresyonları belirlendiğini göstermektedir. Sonuçlarımıza göre hücre-hücre füzyonunda rol oynayan, ayrıca immün baskılayıcı domeyne sahip olan Syncytin 2 ve reseptörü karbonhidrat taşıyıcısı protein MFSD2 proteinin ekspresyon düzeyleri gestasyonel diyabetik plasentalarda, normal plasentalara kıyasla daha düşük olarak belirlenmesi, tartışmalı olan bu konuya yeni bir boyut kazandırmıştır. Bu düşüş istatistiksel olarak da anlamlı olarak bulundu. Bilindiği gibi normal plasentalarda Syncytin 2 proteini reseptörü ile etkileşime girerek sitotrofoblastların füzyon mekanizması ile sinsisyotrofoblast tabakasını oluşturmasını sağlar. Diyabetik hastaların plasentalarında ortak olarak görülen villöz immatürite ve artan fibrinoid yapıları Syncytin 2 protein ve reseptörünün anormal ekspresyonundan kaynaklanabilir. Syncytin 2 ve MFSD2 reseptöründe protein düzeyinde azalmanın gözlenmesi sitotrofoblastların farklanarak sinsisyum oluşturması yerine çoğalmasına

neden olabilir. Bu da diyabetik plasentalara karakteristik villöz immatüriteye neden olabilir.

Ayrıca diyabetik plasentada Syncytin 2 protein ve reseptör ekspresyonunun azalması diyabetik plasentalarda ortak olarak görülen, normal plasentaya göre artmış perivillöz fibrinoid birikimlerinden kaynaklanabilirliğini gösteriyor. Syncytin 2 ve reseptörü MFSD2'nin normal ve diyabetik term plasentalarda immünohistokimyasal lokalizasyonu reseptör (MFSD2) ve ligandın (Syncytin 2) benzer reaksiyon sergilemesi sürpriz değildir. MFSD2 protein lokalizasyonu açısından da; hem erken dönem hem de term plasentada sinsisyotrofoblast tabakasında ekspresyon belirgindi. Özgün fark olarak, normal term plasentalarda sinsisyotrofoblast tabakasına ek olarak bazı stromal hücrelerde de MFSD2 proteininin lokalize olduğunu bu çalışmanın sonuçlarıyla gösterilmektedir. Diyabetik ve normal term plasentalar karşılaştırıldığında, diyabetik villusun stromasında immün reaksiyonun belirli bir şekilde azalmış olması, diyabetik plasentalarda karbonhidrat taşıyıcı ailesine ait MFSD2 proteininin azalması, glukoz metabolizmasında anormalliklere neden olabileceği yönündeki görüşü destekler niteliktedir.

Bu sonuçlarımız; glukoz intoleransı ile tanımlanan diyabetik plasenta patolojisi ile ilişkilendirilebilir. Hem Western blot hem de immünohistokimya teknikleri ile desteklediğimiz bulgularımızla, diyabetik plasentalarda Syncytin 2 ve reseptörü MFSD2'nin düzensizliğinin genel olarak diyabetik plasenta patolojisine rol olabileceği sonucuna varılabilir.

Diyabetik ve normal term plasentalarda Syncytin 1 ve SLC1A5 ekspresyonları karşılaştırıldığında, diyabetik term plasenta patolojisinde Syncytin 1 ve reseptör ekspresyonları bakımından bir miktar artış olmasına rağmen bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Bu sonuç, Syncytin 1 ve reseptörü SLC1A5 ekspresyonun gestasyonel diyabetik plasenta patolojisinin meydana gelmesinde rolünün olmadığı anlamına gelmesede, bu plasenta patolojisinde Syncytin 1 'den çok immün basılayıcı domain'e [4, 88, 120, 121] de sahip olan Syncytin 2 ve MFSD2'nin etkili olabileceğini gösterebilir.

Sonuç olarak çalışmamızda, insan retroviral protein ailesine ait Syncytin 1, Syncytin 2 ile reseptörleri SLC1A5 ve MFSD2 proteinlerinin farklı plasenta gelişim dönemlerinde farklı ekspre oldukları ve dağılım gösterdikleri; sıklıkla görülen diyabetik term plasenta patolojisinde Syncytin proteinlerinin ve ilgili reseptörlerinin görevli olabileceği; plasantanın erken gelişim döneminde Syncytin 1, SLC1A5 ve MFSD2'nin term plasentalara kıyasla daha yüksek seviyede bulunduğunu; şimdiye kadar literatürde bu proteinlerin ekspresyonlarının sadece trofoblast hücre tabakalarında gerçekleştiği belirtiliyor olmasının aksine söz konusu proteinlerin trofoblast tabakasından başka bazı stromal hücrelerde de bulunduğu dair orijinal bulgularımız bu çalışmanın çarpıcı sonuçlarıdır.

Gestasyonel diyabetik plasenta ve Syncytin proteinleri ile onların reseptörleri arasındaki ilişkiyi ortaya koyan literatürdeki ilk olan bu çalışmamız; diyabetik plasentalarda görülen anormal Syncytin 2 ve reseptör ekspresyonu diyabetik plasenta etiyolojisini anlamak için katkıda bulunabilir önemde sonuçlardır. Son yıllarda endojen retrovirüsler ve plasantasyon ile ilgili giderek artan sayıda çalışmaların yapılmasına karşın retroviral proteinlerin insan plasantasyonundaki rolleri tam olarak

bilinmemektedir. Syncytin proteinlerinin sinsisiyum oluşumu ve immün toleransdaki rollerinin tamamen ortaya çıkarılması için bu konuda daha fazla, ayrıntılı çalışmaya ihtiyaç olduğu kanısındayız.

SONUÇLAR

Bu tez projesinde, gebeliğin farklı dönemlerine ait insan plasentasında ve gestasyonel diyabet ile etkilenen plasentalarda, İnsan Endojen Retrovirüslerinden (HERV) olan Syncytin 1 ve Syncytin 2 proteinleri ile onların reseptörleri SLC1A5 ve MFSD2'nin koryonik villus yapısındaki dağılımı farklı yöntemlerle araştırılmış ve muhtemel görevleri hakkındaki düşüncelerimiz kaynak bilgi ile tartışılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

1. Syncytin proteinleri ve reseptörleri gebeliğin erken dönemine ait plasentalarda villusların trofoblast tabakasında ekspre olmaktadır. Buna ek olarak villus stromasında bulunan bazı hücrelerde de Syncytin protein ve reseptör ekspresyonları belirlenmiştir. Bu bulgu Syncytin protein ve reseptörlerinin farklı görevleri de üstlenebileceği ihtimalini gösterdiği;
2. Normal ve gestasyonel term plasentalar arasındaki Syncytin protein ve reseptör ekspresyon farklılığı olup olmadığı araştırılmış ve gestasyonel diyabetik plasentalarda azalan Syncytin 2 ve reseptörü MFSD2 ekspresyonu hem immünohistokimyasal hem de western blot yöntemleri ile gösterilmiştir. Sinsisyotrofoblast tabakasının sağlıklı bir şekilde oluşması sürecinde füzyon mekanizmasında önemli rol oynayan Syncytin 2 proteininin gestasyonel diyabetik plasenta patolojisinde azalması sinsisyotrofoblastın düzgün bir şekilde oluşumu ve işlev görmesi ile ilişkili olarak, bu plasenta patolojisinin gelişmesinde rol oynayabileceği;
3. Sağlıklı bir gebeliğin farklı dönemlerinde Syncytin protein ve reseptör ekspresyonları karşılaştırıldığında, Syncytin protein reseptörlerinin erken dönem plasenta örneklerinde term plasentaya kıyasla daha yüksek oranda ekspre edildiği gösterilmesine karşın SLC1A5 proteinindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu sonucuna varılmıştır.
4. TEM yöntemi ile gestasyonel diyabetik plasenta ve kontrol plasenta arasındaki ince yapı düzeyinde farklılıklar ortaya konulmuştur. Diyabetik plasentalarda, normal plasentalara kıyasla fibrinoid yapıların artmış olması ve ileri derecede vakuolleşme gösteren sinsisyum olması sinsisyal yapının sürdürülebilirliği, gerekli olan hücre füzyon dinamiklerine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır.
5. Bu çalışma, Syncytin protein ve reseptörlerinin gestasyonel diyabetik plasentalarda varlığını ve kontrol plasentalara oranla azalan Syncytin protein ve reseptör ekspresyonlarını gösteren orjinal ilk çalışmadır.

KAYNAKLAR

1. Demir, R., *İnsan Gelişimi ve İmplantasyon Biyolojisi* 1995, Ankara: Palme Yayıncılık.
2. Knerr, I., B. Huppertz, C. Weigel, J. Dotsch, C. Wich, R.L. Schild, M.W. Beckmann, and W. Rascher, *Endogenous retroviral syncytin: compilation of experimental research on syncytin and its possible role in normal and disturbed human placentogenesis*. Mol Hum Reprod, 2004. **10**(8): p. 581-8.
3. Khong TY, D.W.F., Robertson WB, and Brosens I., *Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants*. Br J Obstet Gynecol, 1986. **93**: p. 1049-1059.
4. Malassine, A., J.L. Frendo, S. Blaise, K. Handschuh, P. Gerbaud, V. Tsatsaris, T. Heidmann, and D. Evain-Brion, *Human endogenous retrovirus-FRD envelope protein (syncytin 2) expression in normal and trisomy 21-affected placenta*. Retrovirology, 2008. **5**: p. 6.
5. Benirschke, K.a.K., P., *Pathology of the Human Placenta* 2006, New York: Springer-Verlag.
6. Mi, S., X. Lee, X. Li, G.M. Veldman, H. Finnerty, L. Racie, E. LaVallie, X.Y. Tang, P. Edouard, S. Howes, J.C. Keith, Jr., and J.M. McCoy, *Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis*. Nature, 2000. **403**(6771): p. 785-9.
7. Blond, J.L., D. Lavillette, V. Cheynet, O. Bouton, G. Oriol, S. Chapel-Fernandes, B. Mandrand, F. Mallet, and F.L. Cosset, *An envelope glycoprotein of the human endogenous retrovirus HERV-W is expressed in the human placenta and fuses cells expressing the type D mammalian retrovirus receptor*. J Virol, 2000. **74**(7): p. 3321-9.
8. Langbein, M., R. Strick, P.L. Strissel, N. Vogt, H. Parsch, M.W. Beckmann, and R.L. Schild, *Impaired cytotrophoblast cell-cell fusion is associated with reduced Syncytin and increased apoptosis in patients with placental dysfunction*. Mol Reprod Dev, 2008. **75**(1): p. 175-83.
9. Alemzadeh R, B.R., Kliegman RM, Jenson HB. , *Diabetes mellitus*. Nelson Textbook of Pediatrics. 17th ed. 2004, Pennsylvania: Elsevier Saunders.
10. Tokullugil, A., Dirican, M., Ulukaya, *Biyokimya*. 1997, İstanbul: Nobel Kitabevi.
11. Casson, I.F., C.A. Clarke, C.V. Howard, O. McKendrick, S. Pennycook, P.O. Pharoah, M.J. Platt, M. Stanistreet, D. van Velszen, and S. Walkinshaw, *Outcomes of pregnancy in insulin dependent diabetic women: results of a five year population cohort study*. BMJ, 1997. **315**(7103): p. 275-8.
12. Mondestin, M.A., C.V. Ananth, J.C. Smulian, and A.M. Vintzileos, *Birth weight and fetal death in the United States: the effect of maternal diabetes during pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, 2002. **187**(4): p. 922-6.

13. Daskalakis, G., S. Marinopoulos, V. Krielesi, A. Papapanagiotou, N. Papantoniou, S. Mesogitis, and A. Antsaklis, *Placental pathology in women with gestational diabetes*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2008. **87**(4): p. 403-7.
14. Harold Fox, Neil J. Sebire, *Pathology of The Placenta Major Problems in Pathology*2007: Saunders Elsevier.
15. Wooding FBP, F.A., *Placentation*. In Marshall's Physiology Reproductin1994, New York: Chapman and Hall.
16. <http://www.embryology.ch/>.
17. Kurt Benirschke, P.K., Rebecca N. Baergen, *Pathology of The Human placenta. Fifth Edition ed*2006, New York: Springer.
18. Page, K.R., *The physiology of the human placenta*1993, London: UCL Press.
19. Moffett, A. and C. Loke, *Immunology of placentation in eutherian mammals*. Nat Rev Immunol, 2006. **6**(8): p. 584-94.
20. Cross, J.C., D. Baczyk, N. Dobric, M. Hemberger, M. Hughes, D.G. Simmons, H. Yamamoto, and J.C. Kingdom, *Genes, development and evolution of the placenta*. Placenta, 2003. **24**(2-3): p. 123-30.
21. Boyd JD, H.W., *The Human Placenta*1970, Cambridge: Heffer&Sons.
22. Psychoyos, A., *The implantation window: can it be enlarged or displaced?* Excerpta Med Int Cong Ser, 1988. **768**: p. 231-232.
23. Kaufmann P, S.I., *Placental development*1992, Orlando: Saunders.
24. Pijnenborg R, R.W., Brosens I, Dixon G, *Trophoblast invasion and the establishment of haemachorial placentation in man and laboratory animals*. Placenta, 1981. **2**: p. 71-92.
25. Welsh, A.O. and A.C. Enders, *Light and electron microscopic examination of the mature decidual cells of the rat with emphasis on the antimesometrial decidua and its degeneration*. Am J Anat, 1985. **172**(1): p. 1-29.
26. Demir, R., P. Kaufmann, M. Castellucci, T. Erbeni, and A. Kotowski, *Fetal vasculogenesis and angiogenesis in human placental villi*. Acta Anat (Basel), 1989. **136**(3): p. 190-203.
27. King, B.F., *Ultrastructural differentiation of stromal and vascular components in early macaque placental villi*. Am J Anat, 1987. **178**(1): p. 30-44.
28. Castellucci, M., M. Scheper, I. Scheffen, A. Celona, and P. Kaufmann, *The development of the human placental villous tree*. Anat Embryol (Berl), 1990. **181**(2): p. 117-28.
29. Demir, R., *Scanning electron-microscopic observations on the surfaces of chorionic villi of young and mature placentas*. Acta Anat (Basel), 1979. **105**(2): p. 226-32.
30. Simpson, R.A., T.M. Mayhew, and P.R. Barnes, *From 13 weeks to term, the trophoblast of human placenta grows by the continuous recruitment of new proliferative units: a study of nuclear number using the disector*. Placenta, 1992. **13**(5): p. 501-12.
31. Huppertz, B. and J.C. Kingdom, *Apoptosis in the trophoblast--role of apoptosis in placental morphogenesis*. J Soc Gynecol Investig, 2004. **11**(6): p. 353-62.
32. Huppertz, B., H.G. Frank, J.C. Kingdom, F. Reister, and P. Kaufmann, *Villous cytotrophoblast regulation of the syncytial apoptotic cascade in the human placenta*. Histochem Cell Biol, 1998. **110**(5): p. 495-508.
33. Demir, R., *Ultrastructure of the epithelium of the chorionic villi of the human placenta*. Acta Anat (Basel), 1980. **106**(1): p. 18-29.

34. Myatt, L., Brockman, D.E., Eis, A.L., and Pollock, J.S., *Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the human placenta*. Placenta, 1993. **14**: p. 487-495.
35. Volland, J.R., D.M. Frisman, and S.M. Baird, *Presence of an endothelial antigen on the syncytiotrophoblast of human chorionic villi: detection by a monoclonal antibody*. Am J Reprod Immunol Microbiol, 1986. **11**(1): p. 24-30.
36. Boyd, J.D. and W.J. Hamilton, *Stromal Trophoblastic Buds*. J Obstet Gynaecol Br Commonw, 1964. **71**: p. 1-10.
37. Burton, G.J., *Scanning electron microscopy of intervillous connections in the mature human placenta*. J Anat, 1986. **147**: p. 245-54.
38. Burton, G.J., *Intervillous connections in the mature human placenta: instances of syncytial fusion or section artifacts?* J Anat, 1986. **145**: p. 13-23.
39. Getzowa, S. and A. Sadowsky, *On the structure of the human placenta with full-time and immature foetus, living or dead*. J Obstet Gynaecol Br Emp, 1950. **57**(3): p. 388-96.
40. Burton, G.J. and S.W. Tham, *Formation of vasculo-syncytial membranes in the human placenta*. J Dev Physiol, 1992. **18**(1): p. 43-7.
41. Pisarski, T. and A. Topilko, *Comparative study of the vascular syncytial membranes of the human placenta in light and electron microscopy*. Pol Med J, 1966. **5**(3): p. 630-8.
42. Demir, R., N. Demir, I. Ustunel, T. Erbeni, I. Trak, and P. Kaufmann, *The fine structure of normal and ectopic (tubal) human placental villi as revealed by scanning and transmission electron microscopy*. Zentralbl Pathol, 1995. **140**(6): p. 427-42.
43. Longo, L.D., *Pathophysiology of Gestation*, ed. N.S. Assali. Vol. 2. 1972, New York: Academic Press. 1--76.
44. Fox, H. and A. Agrafojo-Blanco, *Scanning electron microscopy of the human placenta in normal and abnormal pregnancies*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1974. **4**(2): p. 45-50.
45. Demir, R., Demir, N., Kohnen, G., et al. , *Ultrastructure and distribution of myofibroblast-like cells in human placental stem villi*. Electron microscopy, 1992. **3**: p. 509-510.
46. Mahnke, P.F.a.E., P., *Zur Mastzellhaufigkeit der menschlichen Plazentarzotte*. Zentralblatt für Gynakologie, 1973(95): p. 730-732.
47. Martinoli, C., M. Castellucci, D. Zaccheo, and P. Kaufmann, *Scanning electron microscopy of stromal cells of human placental villi throughout pregnancy*. Cell Tissue Res, 1984. **235**(3): p. 647-55.
48. Feller, A.C., H. Schneider, D. Schmidt, and M.R. Parwaresch, *Myofibroblast as a major cellular constituent of villous stroma in human placenta*. Placenta, 1985. **6**(5): p. 405-15.
49. Sati, L., Y. Seval, A. Yasemin Demir, G. Kosanke, G. Kohnen, and R. Demir, *Cellular diversity of human placental stem villi: an ultrastructural and immunohistochemical study*. Acta Histochem, 2007. **109**(6): p. 468-79.
50. Castellucci, M., D. Zaccheo, and G. Pescetto, *A three-dimensional study of the normal human placental villous core. I. The Hofbauer cells*. Cell Tissue Res, 1980. **210**(2): p. 235-47.
51. Demir, R. and T. Erbeni, *Some new findings about Hofbauer cells in the chorionic villi of the human placenta*. Acta Anat (Basel), 1984. **119**(1): p. 18-26.

52. Panigel, M. and J.N. Anh, [*Ultrastructure of Hofbauer's Cells in the Human Placenta*]. C R Hebd Seances Acad Sci, 1964. **258**: p. 3556-8.
53. Castellucci, M. and D. Zaccheo, *The Hofbauer cells of the human placenta: morphological and immunological aspects*. Prog Clin Biol Res, 1989. **296**: p. 443-51.
54. Saji, F., M. Koyama, and N. Matsuzaki, *Current topic: human placental Fc receptors*. Placenta, 1994. **15**(5): p. 453-66.
55. Sedmak, D.D., D.H. Davis, U. Singh, J.G. van de Winkel, and C.L. Anderson, *Expression of IgG Fc receptor antigens in placenta and on endothelial cells in humans. An immunohistochemical study*. Am J Pathol, 1991. **138**(1): p. 175-81.
56. Hauguel-de Mouzon, S. and M. Guerre-Millo, *The placenta cytokine network and inflammatory signals*. Placenta, 2006. **27**(8): p. 794-8.
57. Anteby, E.Y., S. Natanson-Yaron, C. Greenfield, D. Goldman-Wohl, R. Haimov-Kochman, H. Holzer, and S. Yagel, *Human placental Hofbauer cells express sprouty proteins: a possible modulating mechanism of villous branching*. Placenta, 2005. **26**(6): p. 476-83.
58. Plate, K.H., G. Breier, H.A. Weich, and W. Risau, *Vascular endothelial growth factor is a potential tumour angiogenesis factor in human gliomas in vivo*. Nature, 1992. **359**(6398): p. 845-8.
59. te Velde, E.A., N. Exalto, P. Hesselink, and H.C. van der Linden, *First trimester development of human chorionic villous vascularization studied with CD34 immunohistochemistry*. Hum Reprod, 1997. **12**(7): p. 1577-81.
60. Demir, R., U.A. Kayisli, Y. Seval, C. Celik-Ozenci, E.T. Korgun, A.Y. Demir-Weusten, and B. Huppertz, *Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis and angiogenesis*. Placenta, 2004. **25**(6): p. 560-72.
61. Demir, R., U.A. Kayisli, S. Cayli, and B. Huppertz, *Sequential steps during vasculogenesis and angiogenesis in the very early human placenta*. Placenta, 2006. **27**(6-7): p. 535-9.
62. Nanaev, A.K., V.S. Rukosuev, V.P. Shirinsky, A.P. Milovanov, S.P. Domogatsky, V.C. Duance, F.M. Bradbury, P. Yarrow, L. Gardiner, C. d'Lacey, and et al., *Confocal and conventional immunofluorescent and immunogold electron microscopic localization of collagen types III and IV in human placenta*. Placenta, 1991. **12**(6): p. 573-95.
63. Yamanda, T., Isemura, M., Yamaguchi, Y. et al., *Immunohistochemical localization of fibronectin in the human placenta at their different stages of maturation*. Histochemistry, 1987(86): p. 579-584.
64. Duance, V.C.a.B., A.J., *Biology of Trophoblast*, ed. C.a.W. Loke, A.1983, Amsterdam: Elsevier. 597-625.
65. <http://www.vetmed.auburn.edu/>.
66. <http://pathmicro.med.sc.edu>.
67. <http://www.open.edu/>.
68. Rote, N.S., S. Chakrabarti, and B.P. Stetzer, *The role of human endogenous retroviruses in trophoblast differentiation and placental development*. Placenta, 2004. **25**(8-9): p. 673-83.
69. Mangeney, M., M. Renard, G. Schlecht-Louf, I. Bouallaga, O. Heidmann, C. Letzelter, A. Richaud, B. Ducos, and T. Heidmann, *Placental syncytins: Genetic*

- disjunction between the fusogenic and immunosuppressive activity of retroviral envelope proteins.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(51): p. 20534-9.
70. Blond, J.L., F. Beseme, L. Duret, O. Bouton, F. Bedin, H. Perron, B. Mandrand, and F. Mallet, *Molecular characterization and placental expression of HERV-W, a new human endogenous retrovirus family.* J Virol, 1999. **73**(2): p. 1175-85.
 71. Larsson, L.I., B. Bjerregaard, and J.F. Talts, *Cell fusions in mammals.* Histochem Cell Biol, 2008. **129**(5): p. 551-61.
 72. Morrish, D.W., J. Dakour, and H. Li, *Life and death in the placenta: new peptides and genes regulating human syncytiotrophoblast and extravillous cytotrophoblast lineage formation and renewal.* Curr Protein Pept Sci, 2001. **2**(3): p. 245-59.
 73. Huang, Q., J. Li, F. Wang, M.T. Oliver, T. Tipton, Y. Gao, and S.W. Jiang, *Syncytin-1 modulates placental trophoblast cell proliferation by promoting G1/S transition.* Cell Signal, 2013. **25**(4): p. 1027-35.
 74. Renard, M., P.F. Varela, C. Letzelter, S. Duquerroy, F.A. Rey, and T. Heidmann, *Crystal structure of a pivotal domain of human syncytin-2, a 40 million years old endogenous retrovirus fusogenic envelope gene captured by primates.* J Mol Biol, 2005. **352**(5): p. 1029-34.
 75. Huppertz, B., C. Bartz, and M. Kokozidou, *Trophoblast fusion: fusogenic proteins, syncytins and ADAMs, and other prerequisites for syncytial fusion.* Micron, 2006. **37**(6): p. 509-17.
 76. Blaise, S., N. de Parseval, L. Benit, and T. Heidmann, *Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin 2, a gene conserved on primate evolution.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(22): p. 13013-8.
 77. Rawn, S.M. and J.C. Cross, *The evolution, regulation, and function of placenta-specific genes.* Annu Rev Cell Dev Biol, 2008. **24**: p. 159-81.
 78. Chang, C.W., H.C. Chuang, C. Yu, T.P. Yao, and H. Chen, *Stimulation of GCMA transcriptional activity by cyclic AMP/protein kinase A signaling is attributed to CBP-mediated acetylation of GCMA.* Mol Cell Biol, 2005. **25**(19): p. 8401-14.
 79. Cianciolo, G.J., T.D. Copeland, S. Oroszlan, and R. Snyderman, *Inhibition of lymphocyte proliferation by a synthetic peptide homologous to retroviral envelope proteins.* Science, 1985. **230**(4724): p. 453-5.
 80. Kudaka, W., T. Oda, Y. Jinno, N. Yoshimi, and Y. Aoki, *Cellular localization of placenta-specific human endogenous retrovirus (HERV) transcripts and their possible implication in pregnancy-induced hypertension.* Placenta, 2008. **29**(3): p. 282-9.
 81. Malassine, A., S. Blaise, K. Handschuh, H. Lalucque, A. Dupressoir, D. Evain-Brion, and T. Heidmann, *Expression of the fusogenic HERV-FRD Env glycoprotein (syncytin 2) in human placenta is restricted to villous cytotrophoblastic cells.* Placenta, 2007. **28**(2-3): p. 185-91.
 82. Lin, L., B. Xu, and N.S. Rote, *Expression of endogenous retrovirus ERV-3 induces differentiation in BeWo, a choriocarcinoma model of human placental trophoblast.* Placenta, 1999. **20**(1): p. 109-18.
 83. Lin, L., B. Xu, and N.S. Rote, *The cellular mechanism by which the human endogenous retrovirus ERV-3 env gene affects proliferation and differentiation in a human placental trophoblast model, BeWo.* Placenta, 2000. **21**(1): p. 73-8.

84. Dupressoir, A., C. Vernochet, O. Bawa, F. Harper, G. Pierron, P. Opolon, and T. Heidmann, *Syncytin-A knockout mice demonstrate the critical role in placentation of a fusogenic, endogenous retrovirus-derived, envelope gene*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(29): p. 12127-32.
85. Bronsens, I.A., *Morphological changes in the utero-placental bed in pregnancy hypertension*. Clin Obstet Gynaecol., 1997. **4**(3): p. 573-93.
86. Salafia, C. and K. Shiverick, *Cigarette smoking and pregnancy II: vascular effects*. Placenta, 1999. **20**(4): p. 273-9.
87. Creasy R. K., R.R., *Intrauterine growth restriction: Maternal Fetal Medicine Principles and Practice. 3rd edition*. 1994, Philadelphia: W. B. Saunders Company.
88. Ruebner, M., P.L. Strissel, M. Langbein, F. Fahlbusch, D.L. Wachter, F. Faschingbauer, M.W. Beckmann, and R. Strick, *Impaired cell fusion and differentiation in placentae from patients with intrauterine growth restriction correlate with reduced levels of HERV envelope genes*. J Mol Med (Berl), 2010. **88**(11): p. 1143-56.
89. Frendo, J.L., M. Vidaud, J. Guibourdenche, D. Luton, F. Muller, D. Bellet, Y. Giovagrandi, A. Tarrade, D. Porquet, P. Blot, and D. Evain-Brion, *Defect of villous cytotrophoblast differentiation into syncytiotrophoblast in Down's syndrome*. J Clin Endocrinol Metab, 2000. **85**(10): p. 3700-7.
90. Pidoux, G., P. Gerbaud, O. Marpeau, J. Guibourdenche, F. Ferreira, J. Badet, D. Evain-Brion, and J.L. Frendo, *Human placental development is impaired by abnormal human chorionic gonadotropin signaling in trisomy 21 pregnancies*. Endocrinology, 2007. **148**(11): p. 5403-13.
91. Alper, G., *İnsan Biyokimyası*, ed. E.K. Onat T, Sözmen EY2006, Ankara: Palme Yayıncılık.
92. Noble, J.A. and H.A. Erlich, *Genetics of type 1 diabetes*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012. **2**(1): p. a007732.
93. Haller, M.J., M.A. Atkinson, and D. Schatz, *Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management*. Pediatr Clin North Am, 2005. **52**(6): p. 1553-78.
94. Kelly, M.A., C.H. Mijovic, and A.H. Barnett, *Genetics of type 1 diabetes*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2001. **15**(3): p. 279-91.
95. Redondo, M.J., P.R. Fain, and G.S. Eisenbarth, *Genetics of type 1A diabetes*. Recent Prog Horm Res, 2001. **56**: p. 69-89.
96. Atkinson, M.A. and G.S. Eisenbarth, *Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment*. Lancet, 2001. **358**(9277): p. 221-9.
97. Olokoba, A.B., O.A. Obateru, and L.B. Olokoba, *Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends*. Oman Med J, 2012. **27**(4): p. 269-73.
98. Hu, F.B., J.E. Manson, M.J. Stampfer, G. Colditz, S. Liu, C.G. Solomon, and W.C. Willett, *Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women*. N Engl J Med, 2001. **345**(11): p. 790-7.
99. Robertson, R.P., *Antagonist: diabetes and insulin resistance--philosophy, science, and the multiplier hypothesis*. J Lab Clin Med, 1995. **125**(5): p. 560-4; discussion 565.
100. Meyer, W.J., J. Carbone, D.W. Gauthier, and D.A. Gottmann, *Early gestational glucose screening and gestational diabetes*. J Reprod Med, 1996. **41**(9): p. 675-9.

101. Coustan, D., *In Diabetes In America. 2nd ed. National Institutes of Health* 1995, Maryland.
102. Lupo, V.R., *Recurrence of gestational diabetes in subsequent pregnancies*. In Weiss PAM, Coustan DR. *Gestational Diabetes*, 1988. **123**(26).
103. Baergen, R.N., *Manual of Benirschke and Kaufmann's Pathology of the Human Placenta* 2005, New York: Springer.
104. Desoye, G.S., E., *The Human Placenta in Diabetic Pregnancy*. *Diabetes Reviews*, 1996. **4**(1): p. 70-89.
105. Kingdom J, H.B., Seaward G, Kaufmann P. , *Development of the placental villous tree and its consequences for fetal growth*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*, 2000. **92**(1): p. 35-43.
106. Laurini, R.N., G.H. Visser, E. van Ballegooie, and C.J. Schoots, *Morphological findings in placentae of insulin-dependent diabetic patients treated with continuous subcutaneous insulin infusion (CSII)*. *Placenta*, 1987. **8**(2): p. 153-65.
107. Malassine, A., J.L. Frendo, and D. Evain-Brion, *Trisomy 21- affected placentas highlight prerequisite factors for human trophoblast fusion and differentiation*. *Int J Dev Biol*, 2010. **54**(2-3): p. 475-82.
108. al-Okail, M.S. and O.S. al-Attas, *Histological changes in placental syncytiotrophoblasts of poorly controlled gestational diabetic patients*. *Endocr J*, 1994. **41**(4): p. 355-60.
109. Verma, R., Mishra, S., and Kaul, J. M. , *Cellular changes in the placenta in pregnancies complicated with diabetes*. *International Journal of Morphology*, 2010. **28** (1): p. 259-264.
110. Harris, J.R., *Placental endogenous retrovirus (ERV): structural, functional, and evolutionary significance*. *Bioessays*, 1998. **20**(4): p. 307-16.
111. Yu, C., Shen, K., Lin, M., Chen, P., Lin, C., Chang, G. D., Chen, H., *GCMa regulates the syncytin-mediated trophoblast fusion*. *Journal of Biological Chemistry*, 2002. **227**: p. 50062-50068.
112. Smallwood, A., Papageorgiou, A., Nicolaides, K., Alley, M. K., Alice, J., Nargund, G., Ojha, K., Campbell, S., Banerjee, S., *Temporal regulation of Syncytin (HERV-W), maternally imprinted PEG10 and SGCE in human placenta*. *Biology of Reproduction*, 2003. **69**: p. 286-293.
113. Muir, A., A.M. Lever, and A. Moffett, *Human endogenous retrovirus-W envelope (syncytin) is expressed in both villous and extravillous trophoblast populations*. *J Gen Virol*, 2006. **87**(Pt 7): p. 2067-71.
114. Holder, B.S., C.L. Tower, V.M. Abrahams, and J.D. Aplin, *Syncytin 1 in the human placenta*. *Placenta*, 2012. **33**(6): p. 460-6.
115. Carr, C.M. and P.S. Kim, *A spring-loaded mechanism for the conformational change of influenza hemagglutinin*. *Cell*, 1993. **73**(4): p. 823-32.
116. Hayward, M.D., A.J. Potgens, S. Drewlo, P. Kaufmann, and J.E. Rasko, *Distribution of human endogenous retrovirus type W receptor in normal human villous placenta*. *Pathology*, 2007. **39**(4): p. 406-12.
117. Chen, C.P., L.F. Chen, S.R. Yang, C.Y. Chen, C.C. Ko, G.D. Chang, and H. Chen, *Functional characterization of the human placental fusogenic membrane protein syncytin 2*. *Biol Reprod*, 2008. **79**(5): p. 815-23.
118. Esnault, C., S. Priet, D. Ribet, C. Vernochet, T. Bruls, C. Lavialle, J. Weissenbach, and T. Heidmann, *A placenta-specific receptor for the fusogenic,*

- endogenous retrovirus-derived, human syncytin-2*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(45): p. 17532-7.
- 119.** Dupressoir, A., C. Lavialle, and T. Heidmann, *From ancestral infectious retroviruses to bona fide cellular genes: role of the captured syncytins in placentation*. Placenta, 2012. **33**(9): p. 663-71.
 - 120.** Lee, X., J.C. Keith, Jr., N. Stumm, I. Moutsatsos, J.M. McCoy, C.P. Crum, D. Genest, D. Chin, C. Ehrenfels, R. Pijnenborg, F.A. van Assche, and S. Mi, *Downregulation of placental syncytin expression and abnormal protein localization in pre-eclampsia*. Placenta, 2001. **22**(10): p. 808-12.
 - 121.** Yang, W.C., T.H. Su, Y.C. Yang, S.C. Chang, C.Y. Chen, and C.P. Chen, *Altered perlecan expression in placental development and gestational diabetes mellitus*. Placenta, 2005. **26**(10): p. 780-8.

ÖZGEÇMİŞ

Gül Bikem SOYGÜR 1988 yılında Eskişehir’de doğdu. İlk ve ortaöğrenimini 2001 yılında Barbaros İlköğretim Okulu’nda, lise öğretimini 2004 yılında Antalya Lisesi’nde tamamladı. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2009 yılında mezun oldu. 2010 yılında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda “Üreme Biyolojisi” yüksek lisans programına başladı. Yüksek lisans eğitimi sırasında, Avrupa Komisyonu Eğitim ve Staj (European Comission Education & Training) hareketliliği kapsamında, ERASMUS (European Community Action Scheme for the Mobility of University Students) bursunu kazanarak, 3 ay İngiltere Sheffield Üniversitesi, Biyomedikal Bilimler Bölümü, Kök Hücre Biyolojisi Merkez’inde eğitim aldı ve Prof. Harry MOORE ile birlikte çalıştı. Halen Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.