

## PREEKLAMPSİDE PLASENTAL APOPTOZİS

Özgür ÖKTEM<sup>1</sup>, Bülent URMAN<sup>1</sup>, Esin KOTİLOĞLU<sup>2</sup>, Tangül ŞAN<sup>3</sup>, Zehra Neşe KAVAK<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Sarıyer, İstanbul

<sup>2</sup> Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>3</sup> Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup> Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

### ÖZET

**Amaç:** Preeklampsi ile komplike olmuş gebeliklerde plasental örneklerde trofoblast apoptozisinin araştırılması

**Gereç ve yöntemler:** Bu çalışma da 28 preeklampsi hastası ile 10 sağlıklı term tekil gebeden olmak üzere toplam 38 plasental örnekte trofoblastlarda TUNEL metodu ve elektron mikroskopisi ile apoptozis araştırılmıştır.

**Sonuç:** Her iki grup yaş ve parite açısından farklılık göstermezken, kontrol grubuna ortalama gebelik haftası preeklampsi grubunda anlamlı daha düşük (33.2(3.2 vs. 39.1(0.5 p<0.0001), buna karşın trofoblastlarda apoptotik indeks anlamlı oranda daha yüksek bulunmuştur (40.7(17.9 vs. 25.2(10.6, p<0.05).

**Değerlendirme:** Bu sonuçlar preeklampsi ile komplike olmuş gebeliklerde trofoblastlarda apoptozisde bir artış olduğunu ve bu artışın plasental yaşlanma ile gelişen apoptozisten farklı olduğunu desteklemektedir.

**Anahtar kelimeler:** apoptozis, elektron mikroskopisi, gebelik, plasenta, preeklampsi, trofoblast, TUNEL

*Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2013; Cilt: 10, Sayı: 3, Sayfa: 125- 31*

## PLACENTAL APOPTOSIS IN PREECLAMPSIA

### SUMMARY

**Objective:** We aimed in this study to determine if trophoblastic apoptosis is increased in placentas from preeclamptic women compared to healthy term control placentas.

**Patients and methods:** 28 preeclamptic and 10 healthy control placentas were used for the study. Apoptosis in the trophoblasts were analyzed using TUNEL method and electron microscopy techniques.

**Results:** Both groups were comparable in terms of age and parity. However, mean gestational week was significantly lower (33.2(3.2 vs. 39.1(0.5 p<0.0001, respectively), and apoptotic rate in the trophoblasts were significantly higher (40.7(17.9 vs. 25.2(10.6, p<0.05, respectively) in the preeclamptic group compared to controls.

**Conclusion:** These results suggest that trophoblast apoptosis is increased in the preeclamptic placentas and that this form of apoptosis is different from that occurring with placental aging as a consequence of cell turnover.

**Key words:** apoptosis, electron microscopy, placenta, preeclampsia, pregnancy, trophoblast, TUNEL

*Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2013; Vol: 10, Issue: 3, Pages: 125- 31*

**Yazışma adresi:** Uzm. Dr. Özgür Öktem, Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Sarıyer, İstanbul, Türkiye  
Tel.: (0533) 955 38 30

e-posta: ozgurok@amerikanhastanesi.org

Alındığı tarih: 07.11.2011, revizyon sonrası alınma: 07.11.2011, kabul tarihi: 01.05.2013, online yayın tarihi: 02.05.2013

## GİRİŞ

Normal plasenta gelişimi blastokistin trofoektoderm tabakasından orijin alan trofoblastların farklılaşması ve invazyonu ile sağlanmaktadır. Bir grup trofoblast anne ve fetus arasında bir arayüz oluştururken, diğer bir grup maternal spiral arterlere invazyon göstererek plasenta ve fetus için gerekli kan akımını sağlarlar. Apoptozis normal plasental gelişim için zorunludur. Gebelik haftası ilerledikçe plasentada apoptozis artmaktadır. Ayrıca fizyolojinin dışında preeklampsi ile komplike olmuş gebeliklerde de apoptozisin arttığına dair veriler bulunmaktadır. Bizde bu çalışmada hem immunhistokimyasal TUNEL metodu hemde electron mikroskopisi ile preeklampsi ile komplike olmuş gebeliklerde plasental örneklerde apoptozis varlığını araştırdık.

## HASTALAR VE METODLAR

### Hastalar

Bu çalışma 28 preeklampsi hastası ile 10 sağlıklı term tekil gebelik olmak üzere toplam 38 hastanın plasental örnekleri üzerinde yürütülmüştür. Preeklampsi tanısı için gebelik öncesi hipertansiyon öyküsü olmaması, 20. gebelik haftasından sonra en az altı saat ara ile ikii ölçümde tansiyon arteriyelin  $\geq 140/90$  mmHg olması, 24 saatlik idrarda  $\geq 0.3$ g protein atılımı bulunması şartları arandı. Kontrol plasenta örnekleri ise terme ulaşmış herhangi bir sistemik hastalık ile komplike olmamış ve spontan vajinal veya elektif sezaryen ile sonuçlanmış tekil gebeliklerden alındı.

### İmmunohistokimya TUNEL metodu

Her iki grupta da 1 cm<sup>3</sup> boyutunda plasenta örnekleri formalin ile fikse edildikten sonra alkol serilerinden geçirilerek paraffin bloklara gömüldüler. Ardından 5 mikron seri kesitler alınarak apoptozisi belirlemek için TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick end labeling) metodu uygulandı. Apoptoziste endonükleaz aktivitesine bağlı DNA fragmentasyonu ile oluşan 3'-hidroksi gruplarının tespitine dayalı bir methodur. Tespitte dUTP ye bağlanan belirteç digoksinindir. İşaretleme sonrası antidigoksinin antikoru peroksidaz konjugatı belirteç ucunda digoksinin molekülüne bağlanır ve diaminobenzidin

eklenir. Digoksinine bağlı peroksidaz yoğun kahverengi bir sinyal oluşturur. Ardından doku contrast için hematoksin-eozin ile boyanarak ışık mikroskopisinde x1000 büyütmede incelendi (Nikon HFX-DX, optiphot-2). Apoptotik hücreler ve nükleusları kahverengi sinyal oluşturarak normal hücrelerden kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (ApopTag Plus Insitu Apoptosis Detection Kit-Peroksidase Oncor). İncelenen her kesitte trofoblast ve stromadan oluşan toplam 1000 hücre sayılarak kaç tanesinin apoptozise uğradığı belirlendikten sonra [apoptotic hücre sayısı/toplam hücre sayısı x100] formula ile apoptotic indeks belirlendi.

### Elektron mikroskopisi

#### *Taramalı elektron mikroskopisi [Scanning electron microscopy (SEM)]*

Alınan plasenta örnekleri bir gece %4 paraformaldehid solusyonunda bekletildikten sonra 2-3 saat fosfat tamponunda yatırıldı. %1 Osmium tetraoksit (OsO<sub>4</sub>) ile bir saat postfiksasyonu takiben 5' fosfat tamponunda yıkama yapıldı. %70-%90-%95-%100 lük alkol serilerinden geçirmeyi takiben parçalar sırası ile 2:1, 1:1 ve 1:2 alkol:amil asetat ta 15'er dakika ve saf amil asetatta 1-2 gün bekletildikten sonra kritik nokta kurutucusundan geçirilip altın kaplama uygulandıktan sonra SEM yapıldı. Jeol 1200 marka elektron mikroskopisi kullanıldı.

#### *Geçirilmiş elektron mikroskopisi [Transmission electron microscopy (TEM)]*

Benzer şekilde fikasyon ve dehidrasyon uygulanan plasenta parçaları epon içine gömülerek ultramikrotom ile 60 µm kesitler alındıktan sonra amil asetat sitrat ve kurşun boyası ile boyandıktan sonra TEM uygulandı.

### İstatistik

İki grup arasındaki değişkenler t-test ile irdelendi. P<0.05 anlamlı farklı kabul edildi.

## SONUÇLAR

Çalışma, preeklampsi kriterlerine uyan toplam 28 hasta ile, herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan ve gebelik boyunca maternal veya fetal bir hastalık ile komplike olmamış ve elektif şartlarda sezaryen ile doğum yapmış 10 kontrol hastasından alınan plasenta

örneklerinde yapıldı. Hastaların demografik verileri Tablo da sunulmuştur. İki grup arasında hastaların yaş ve pariteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Buna karşın ortalama gebelik haftası, doğum ağırlığı ile 1. ve 5. dakika Apgar skorları her iki grup arasında anlamlı farklılık göstermektedir. Ortalama gebelik haftası preeklamptik grupta 33.2(3.2 dir. Bu gebelik haftasında normal bir fetusun 1700-2100 gram arasında olması gerektiği düşünülürse, ortalama 1673.1 gram ağırlığındaki bir fetus 10 persentil sınırının altında kalmaktadır(33. gebelik haftasında 10 persentil sınırı erkek fetus için 1751, kız fetus için 1675 gram). Bu sonuçlar preeklamptik gruptaki fetusların intrauterin gelişme geriliği ile komplike oldukları sonucunu akla getirmektedir. Preeklamptik grupta ortalama gebelik haftasının belirgin düşüklüğü ile beraber gelişen intrauterin büyüme gelişme geriliği, şiddetli preeklampsi ile uyumludur. Düşük doğum ağırlığı ve erken gebelik haftası ile uyumlu olarak 1. ve 5. dakika Apgar skorları da kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı daha düşüktür. 1.dakika Apgar skoru preeklamptik grupta 6.5 (2.1, kontrol grubunda 8.7 (0.4,  $p<0.001$ ; 5. dakika Apgar skoru 8.2 (1.7, kontrol grubunda 9.7 ( 0.4,  $p<0.005$  olarak bulunmuştur.

**Tablo:** Hastaların demografik özellikleri.

	Preeklampitik (N=28)	Kontrol (N=10)	P
Yaş (ortalama±SD)	30.0±5.1	30.2±2.9	NS
Parite (ortalama±SD)	0.8±1.1	1.6±1.0	NS
Gestasyonel hafta (ortalama±SD)*	33.2±3.2	39.1±0.5	<0.0001
Yenidoğan doğum ağırlığı* gram (ortalama±SD)	1673.1±754.7	3515±260.1	<0.0001
Apgar skoru 1. dakika** (ortalama±SD)	6.5±2.1	8.7±0.4	<0.001
Apgar skoru 5. dakika† (ortalama±SD)	8.2±1.7	9.7±0.4	<0.005
Apoptotik index‡ (ortalama±SD)	40.7±17.9	25.2±10.6	<0.05

SD: standart sapma, NS: istatistiksel anlamsız

\*:  $p<0.0001$ , \*\*:  $p<0.001$ , †:  $p<0.005$ , ‡:  $p<0.05$

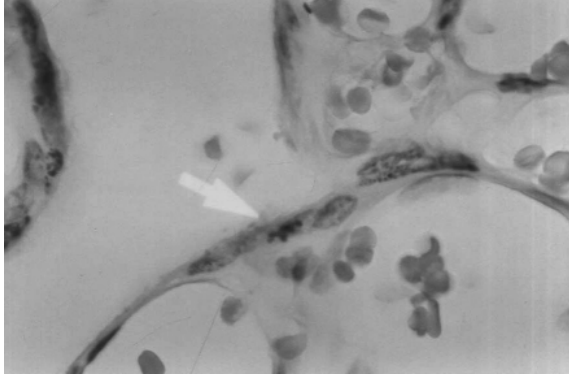
Preeklamptik grupta apoptotik index kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksektir. (40.7(17.9 vs 25.2(10.6,  $p<0.05$ ) Preeklampsi ve IUGR gibi uteroplental yetmezlik ile komplike olmamış gebeliklerde, gebelik haftası ilerledikçe

plasental yaşlanmaya bağlı apoptozisin arttığı göz önüne alınırsa preeklamptik grupta düşük bulunan ortalama gebelik haftasındaki plasentaların kontrol grubundaki term plasentalardan istatistiksel olarak daha fazla oranda apoptozis barındırmaları önceki çalışmalar ile uyumludur ve preeklampsi ile artan patolojik apoptozisin plasental yaşlanma ile paralel artan fizyolojik apoptozisinden farklı olduğu fikrini akla getirmektedir.

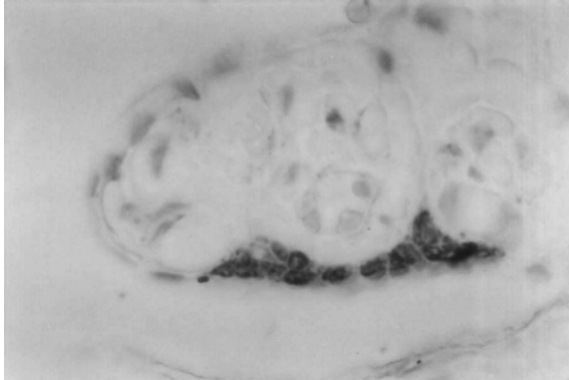
Plasental hücrelerdeki apoptozisin tesbitinde asıl tunel metodu kullanılmıştır. Işık mikroskopisi ve immünohistokimyanın yardımı ile, plasentaldaki apoptotik hücreler (nükleuslar) her x1000 büyütme alanında sayılmış ve sitotrofoblast, sinsitsiyotrofoblast, stroma ve endotel hücrelerinin dahil olduğu tüm hücre tiplerinde gösterilmiştir. Kahverengi boyanan apoptotik nükleuslar, mavi boyanan normal nükleuslardan kolayca ayırt edilmektedir. Apoptozise uğrayan hücrenin en karakteristik morfolojik özelliği olan kromatin kondensasyonu sonucu kromatin, nükleer membran altında periferik olarak dens kütleler halinde görülür. Bunun tipik bir örneği Figür 1 da apoptotik sitotrofoblastik hücrede izlenmektedir. Figür 2, sitoplazma ve paketlenmiş organellerden oluşan membran ile çevrili apoptotik cisimciklere fragmente olmuş yoğun sitotrofoblast apoptozisini göstermektedir. Bahsedilen iki morfoloji apoptozisi nekrozdan ayıran en tipik değişimlerdir.

Figür 3 ve 4 de preeklamptik plasenta örneklerinde stem villus ile sekonder ve tersiyer villus dallanmalarına ait taramalı elektron mikroskopi fotoğrafları görülmektedir. Maternal kanla direk temasta olan sinsitsiyotrofoblastik tabakadaki mikrovillus yüzeyi ve maternal eritrosite ait geçirimli elektron mikroskopi fotoğrafı Figür 5'te gösterilmektedir. Benzer bir plasental kesitte koryonik villusun içinde seyreden fetal kan damarı ve fetal eritrosit ile kendisini maternal kan akımından izole eden endotel kapiller endotel hücresi, sitotrofoblastik tabaka, trofoblastik lamina ve sinsitsiyotrofoblastlardan oluşan bariyer bütünlüğü boyunca figür-6 te izlenmektedir. Elektron mikroskopisi apoptotik hücrelerin tespitinde hala altın standart olmaya devam etmektedir. Ancak plasental dokuda apoptozis insidansının düşük olması ve elektron mikroskopide gösterilmesinin son derece zor ve pahalı olması sebebiyle bu metodla plasentaldaki apoptozisi gösterebilmek ve niteliksel hale getirmek pratik bulunmamıştır. Ne varki bizde seri alınan çok sayıda

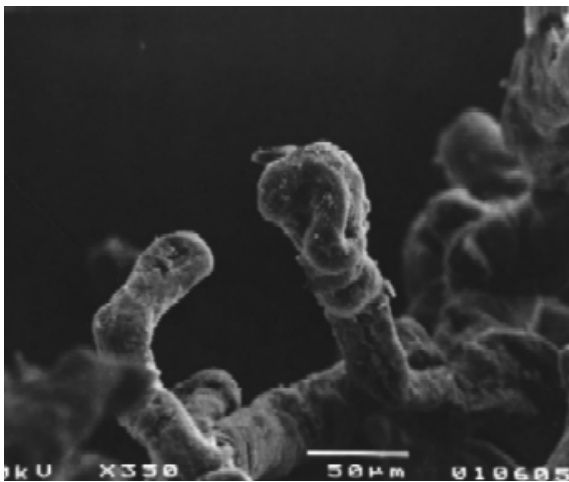
plasenta kesitlerinde geçirimli elektron mikroskopisinde apoptotik hücre yakalayamadık.



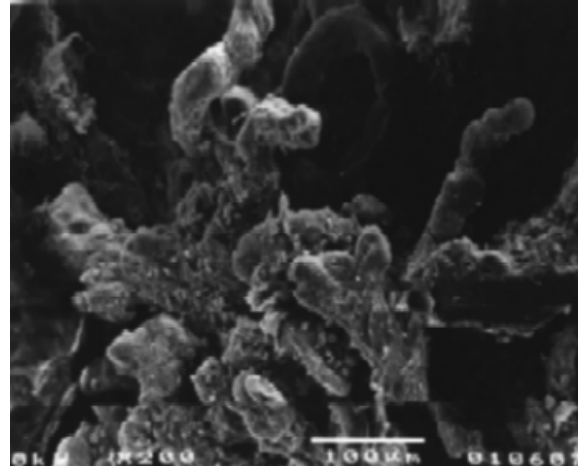
**Figür 1:** Apoptozise uğramış sitotrofoblast nükleusları. Ok, apoptozisin tipik morfolojik bulgusu olan kromatin kondensasyonunu nükleus içinde dens granüller halinde göstermektedir. Tünel metodu ile immünhistokimyasal boyama. Işık mikroskopisi x1000 büyütme.



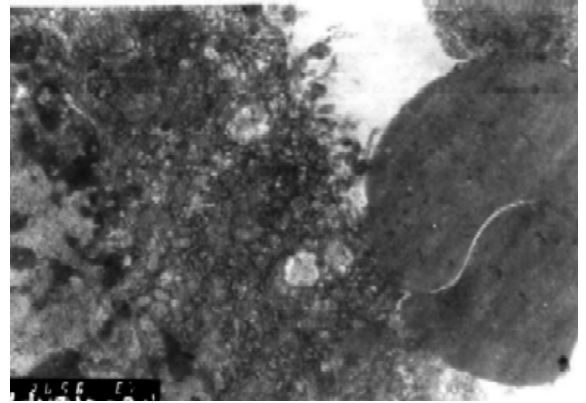
**Figür 2:** Benzer bir plasental kesitte apoptotik hücreler sitoplazma ve paketlenmiş organellerden oluşan hücre membranı ile çevrilmiş apoptotik cisimciklere dönüşmüş kahverengi hücreler olarak izlenmektedir. Tünel metodu, ışık mikroskopisi x1000 büyütme.



**Figür 3:** Ana kök villustan dallanmalar gösteren sekonder ve tersiyer villuslara ait taramalı elektron mikroskopisi fotoğrafı x350 büyütme (SEM).

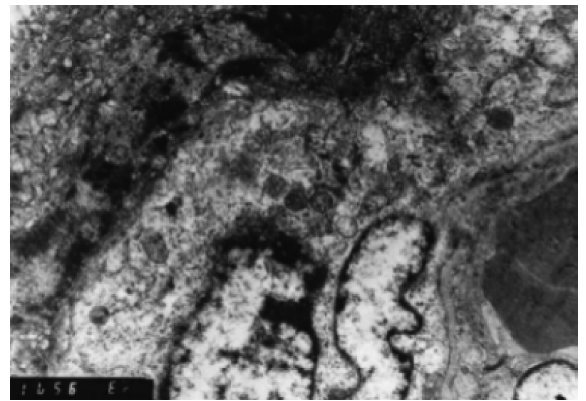


**Figür 4:** Stem villuslara ait taramalı elektron mikroskopisi görüntüsü. x200 büyütme(SEM).



**Figür 5:** Plasenta, maternal yüz. Maternal kanla direk temasta olan sinsitsiyotrofoblastik tabaka ve mikrovillular, maternal eritrosit ile birebir komşuluğu izlenmektedir.

Geçirimli elektron mikroskopisi fotoğrafı x3500 büyütme (TEM)



**Figür 6:** Plasenta fetal yüz.Koryonik villusun içinde seyreden fetal kan damarı ve fetal eritrosit ile,(sağ alt köşe) kendisini maternal kan akımından izole eden kapiller endotel hücresi, sitotrofoblastik tabaka, trofoblastik lamina, mitokondriler ve sinsitsiyotrofoblastlardan oluşan bariyer bütünlüğü boyunca izlenmektedir. Geçirimli elektron mikroskopisi fotoğrafı x3500 büyütme (TEM).

## TARTIŞMA

Plasenta gelişmekte olan bir organ olarak sürekli yeniden yapılanma (remodelling) gösterir. Bu süreçte trofoblastların apoptozis ile fonksiyonel kaybı söz konusudur. Farklı hücre alt tiplerine proliferasyon ve differansiasyon sonrası yaşanan trofoblastlar selektif olarak ayırt edilerek yerlerini genç trofoblastlara bırakırlar. Bu işlem esnasında komşu hücreler etkilenmezler. Apoptozis aktif bir işlem olarak gereksiz veya disfonksiyonel hücrelerin elimine edilerek normal doku fonksiyonunun korunması amacıyla yöneliktir. Uyarıya bağlı olarak bilinen 2 farklı yoldan biri ile apoptozis uyarılmaktadır: İntrensek olarak mitokondrial yolak, ve ekstrinsek olarak ya hücre ölün reseptörleri aracılığı ile yada sitokinlere yanıt olarak. Apoptozisin nihayi uygulayıcıları (infazcıları) caspase ailesi olarak bilinen sistein bir proteaz grubudur. Çeşitli endojen inhibitörler (FLIP, IAP ve Bcl-2) caspase aktivasyonunu inhibe ederek ölüm sinyalinin yayılmasını önlerler<sup>(1)</sup>.

İlk ve son trimester normal gebeliklerden alınan plasenta örneklerinde tüm hücre tiplerinde apoptozis gösterilmiş ve apoptotik hücrelerin büyük kısmının (>%50) trofoblastlara ait olduğu ortaya konulmuştur. Yine ilk trimester plasenta örnekleri ile kıyaslandığında son trimester örneklerinde apoptozis insidansının anlamlı oranda arttığı farkedilmektedir. Gebelik ilerledikçe gözlenen artmış apoptozisin doku yaşlanmasının doğal bir sonucu olduğu ve yaşanan dokuların apoptotik uyarılara daha hassas oldukları şeklinde bir görüş belirmiştir. 12-16 gebelik haftalarında plasenta da toplam nükleusların %39'unu trofoblastlar, %50'sini stroma ve %11'ini endotel hücreleri oluştururken, term bir plasentada bu oranlar sırasıyla, %40, %47 ve %13 tür. Yine tüm gebelik boyunca sinsitsiyotrofoblast nükleusları sitotrofoblast nükleuslarından daha yaygın olup 9:1 oranını korumaktadırlar. Gebelik haftası ilerledikçe plasental yaşlanma ile birlikte artan apoptozisin plasentanın yeniden yapılanması (remodeling) için bir mekanizma sağladığı ve sitotrofoblastlarda gözlenen apoptozis alanlarının plasentada transportu daha kolay hale getirdiği ve aynı zamanda 9/1 olan sinsitsiyotrofoblast/sitotrofoblast oranını koruduğu iddia edilmektedir<sup>(2,3)</sup>.

Normal plasental gelişimin yanı sıra bu organın patolojik hadiselerinde de apoptozisin rolü vardır. Trofoblastların bağlanması ve invazyonu, spiral arter transformasyonu, trofoblast farklılaşması ve turnoverı,

ve doğum ile bağlantılı olarak normal gebelik gelişiminde plasentanın hem maternal hemde fetal kompartmanlarında apoptozis tespit edilmiştir. Üstelik trofoblastlardaki paternal antijenlere olan maternal immün toleransın uyarılmasında apoptozisin rolü büyüktür. Preeklampsi ve IUGR ile komplike olmuş gebeliklerde trofoblast apoptozisindeki değişimler bu hastalıkların patofizyolojisine katkıda bulunmaktadır<sup>(1)</sup>. Her iki hastalıklarda hipoksi tarafından tetiklenen plasental oksidatif stress ile apoptozis aktive olmaktadır. Hipoksi ile olan apoptozis mitokondrial yolak ile aktive edilmektedir<sup>(4)</sup>.

Bu çalışmada bizde TUNEL metodu kullanarak preeklampitik plasenta örneklerinde trofoblastlarda apoptozisde artışı gösterdik. Aslında preeklampsi ve IUGR ile komplike olmuş gebeliklerde artmış trofoblastik apoptozisin kısmen hipoksi ile tetiklenen oksidatif strese bağlı olduğu düşünülmektedir<sup>(5,6)</sup>. Hipoksi mitokondrial yolakı kullanarak proapoptotik etkiler göstermektedir. Bcl-2 ekspresyonunda azalma ve p53 ile Bax ekspresyonunda artış ile apoptozis uyarılmaktadır<sup>(1)</sup>. Özellikle erken dönemde oluşan preeklampsi ve IUGR de trofoblastik apoptoziste artışın bir sonucu olarak plasental yatak spiral arterlerinin invazyonunda kısıtlılık ve arter lümeninde daralma olduğu gösterilmiştir<sup>(7)</sup>. Bu sonuçları destekler şekilde Madazlı ve arkadaşları preeklampsi ve IUGR ile komplike olmuş gebeliklerde hem maternal hemde fetal yüzedden alınan örneklerdeki lenfositlerde aşırı aktivasyonun bir göstergesi olarak yüzey adhezyon molekülü ICAM-3 ekspresyonunun arttığını ve yine bu gebeliklerde artmış plasental apoptozisi göstermişlerdir<sup>(8)</sup>.

Preeklampitik gruptaki hastalarda preeklampsinin şiddetli olduğunu destekleyen bulgularımız şunlardır; a) ortalama gebelik haftasının düşük olması (33.2(3.2)), b) yine bu grupta ortalama yenidoğan doğum ağırlığının 10 persentilin altında olması (1673(754g) IUGR ile komplike olduğunu göstermektedir. Yüzeyel sitotrofoblast invazyonuna bağlı yetersiz plasental kan akımına sekonder gelişen plasental iskemi ve hipoksinin preeklampsinin klinik yansımalarına ek olarak, aynı zamanda apoptoziside tetiklediği ileri sürülmektedir. Bu durumda preeklampside gözlenen artan apoptozis, yüzeyel trofoblastik invazyonun bir sebebi değil, ona sekonder gelişen patolojik bir hadise gibi görünmektedir. Apoptozisin fizyolojik rollerinden biride anormal farklılaşma göstermiş ve sonuçta fonksiyonel

olarakta bozulmuş hücrelerin seçici olarak ortadan kaldırılmalarıdır. Preeklampside, uterus ve maternal damarların sitotrofoblastlarca invazyonuna imkan veren farklılaşma yollarında da anormallikler bulunduğu hatırlanmalıdır. Bunu en tipik örneği, normal gebelikte endovasküler sitotrofoblastlar adhezyon molekül reseptörlerini değiştirip, endotel hücrelerinininkilere benzeterek vasküler invazyonu başarabilirken, preeklampside sitotrofoblastlar vasküler adhezyon fenotipini taklit edememektedir<sup>(9)</sup>. Sonuçta anormal farklılaşma ve maternal hücreler ile extrasellüler matrix molekülleri ile olan bu anormal etkileşim, hücrenin yaşamından ziyade apoptozise yol açan sinyalleri başlatmaktadır. Normalde sitotrofoblastlar maternal kan akımına ulaşmadan önce uterus lümeninde nisbeten hipoksik bir ortamda proliferasyon göstermektedir. Ancak bu hipoksi, apoptozisi tetiklememektedir ve fizyolojik olarak kabul edilmektedir. Çünkü erken implantasyon döneminde sitotrofoblastlar, intervillöz aralıkta kan akımı başlarken embriyoyu kuvvetli maternal kan akımından koruyucu etki göstermektedir. Yani ilk trimesterde trofoblastlar için normal ortam hipoksiktir ve artmış ilk trimester intervillöz kan akımının anormal gebelik sonuçları ile ilişkili olduğu bilinmektedir<sup>(10)</sup>. Sitotrofoblastlar yüksek oksijen gradienti ile karşılaşınca, proliferasyonu durdurarak bu oksijen gradienti boyunca farklılaşma göstermektedirler. Ancak extrasellüler matrix molekülleri ile hipoksik bir ortamda preeklampside olduğu gibi- karşılaşılırsa, proliferasyona devam etmekte ancak anormal farklılaşma göstermektedirler. Bu durumun sebat etmesi halinde hücreler G1 fazından S fazı ve mitoz geçmek yerine apoptozise uğramaktadır.

Vurgulanması gereken bir ikinci noktada plasental iskeminin iki ortak sonucu gibi görünen preeklampsi ve IUGR arasındaki farklılıktır. Preeklampsi şiddetli formlarında daha belirgin olmak üzere ani başlayan klinik etkilerden sorumlu fetal-maternal yüzey bozulumu, muhtemel IUGR da daha tedrici gelişmektedir. Burada uterine hücreler ile direkt komşu olan fetal sitotrofoblastlar kompensatuar bir mitoz artışı olmadan apoptozise gitmekte ve maternal-fetal yüz hızla disintegre olmaktadır. Ancak IUGR' de plasental hücrelerde apoptozis artışı daha az yüzdelerde olmaktadır<sup>(11)</sup>.

Bu çalışmanın dizaynında birkaç sınırlama ile karşılaştık. Birincisi gestasyonel hafta uyumlu kontrol grubu oluşturmak. Henüz preterm eylem ve doğum

ile komplike olmuş gebeliklerde plasental apoptozisin önemi ve insidansına dair çalışma ve güvenilir veri olmadığı için zorunlu olarak kontrol grubu gebeliği herhangi bir hastalıkla komplike olmamış term hastalardan oluşturuldu. Bu konu ile yapılmış çalışmaların hemen hepsinde de evrensel bir sorun olarak bu durumla karşılaşılmış ve preeklampsi hastaların ortalama gestasyonel haftalar ve yenidoğan doğum ağırlıkları kontrollerden daha düşük kalmıştır. Üstelik gebelik haftası ilerledikçe plasenta da apoptozis sıklığının arttığı gösterilmiştir<sup>(51)</sup>. Preeklampsi gebeliklerin IUGR ile sık olarak komplike oldukları bilinmektedir. Dolayısıyla preeklampsi ve IUGR'un plasental apoptozis şeklinde bir ortak son nokta olarak bir plasental etiyojolojiyi paylaşmaları muhtemel gibi gözükmektedir. Sınırlayıcı ikinci nokta ise apoptozisin tespitinde kullanılan TUNEL boyama metodudur. Bu metod hâlihazırda en güvenilir metod gibi görünmekle beraber, nekrotik hücrelerinde boyanabilmesi yanlış pozitiflik oranını arttırmaktadır. Bununla beraber, tek başına ışık mikroskopisi ile kıyaslandığında TUNEL metodunda daha fazla sayıda apoptotik hücrelerin yakalanmasından dolayı apoptozisin formal kantifikasyonunda hala en geçerli metod olarak kabul edilmektedir. Apoptozis tayininde altın metod olarak gösterilen geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) ise son derece pahalı bir metod olması ve incelenen kesitlerde apoptotik hücreleri yakalamada zaman ve iş gücü açısından efektif olmayışı yaygın kullanımını engellemektedir. Bu metod apoptozisin tespitinde en spesifik ve en az sensitif metoddur. TUNEL metodu ve diferansiyel gen ekspresyonunun tayini gibi metodlardan daha spesifik ancak daha az sensitiftir. Hiçkuşkusuz bizimde çalışmamızda geçirimli elektron mikroskopisinde apoptotik hücre yakalayamamızda da bunun rolü vardır. Üstelik apoptozis sadece bir hücre ölüm formu değil aynı zamanda bir temizleme mekanizmasıdır. Apoptozise uğrayan sitotrofoblastlar ya profesyonel fagositler-makrofajlar veya fırsatçı fagositler denilen komşu hücrelerce fagosite edilerek, hızla maternal dolaşıma verilmekte ve retikuloendotelial sistemce yok edilmektedir. Ancak çok sayıda hücreden oluşan sinsitsiyotrofoblastlar fagosite edilememektedir.

Sonuç olarak plasentanın normal gelişimi yanında preeklampsi gibi patolojik hadiselerinde de apoptozisin önemli rolü vardır. Yetersiz plasentasyon ile karakterize preeklampsi de trofoblastların artmış apoptozisi gösteril-

miş olsada plasentada bu olayları hala ne gibi faktörlerin tetiklediği ve ne şekilde kontrol edildikleri konusundaki bilgilerimiz kısıtlıdır. Mekanistik çalışmalar ile trofoblast apoptozisinin nasıl ayarlandığı konusunda yeni veriler geldikçe implantasyondan itibaren nasıl olupta plasentasyonun normal bir şekilde biçimlenip fetusun normal bir biçimde büyümesinin sağlandığı hakkında daha fazla bilgi sahibi olunacaktır. Tüm bu verileri ışığında bir spektrum içinde belkide implante olamayan konseptus, implante olmuş ama yeterince plasentasyon sağlayamamış konseptus (**preeklampsi/IUGR**), yeterince plasentasyon sağlamış konseptus (**normal term canlı doğum**) ayrımı ve önceden tahmininin yapılmasına yardımcı olacaktır.

### KAYNAKLAR

1. Straszewski-Chavez, S L, Abrahams, V M, and Mor, G, The role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy. *Endocr Rev* 2005; 26: 877-97.
2. Smith, S C, Baker, P N, and Symonds, E M, Placental apoptosis in normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 57- 65.
3. Nelson, D M, Apoptotic changes occur in syncytiotrophoblast of human placental villi where fibrin type fibrinoid is deposited at discontinuities in the villous trophoblast. *Placenta* 1996; 17: 387- 91.
4. Weinmann, M, Jendrossek, V, Handrick, R, Guner, D, Goecke, B, and Belka, C, Molecular ordering of hypoxia-induced apoptosis: critical involvement of the mitochondrial death pathway in a FADD/caspase-8 independent manner. *Oncogene* 2004; 23: 3757- 69.
5. Levy, R, Smith, S D, Chandler, K, Sadovsky, Y, and Nelson, D M, Apoptosis in human cultured trophoblasts is enhanced by hypoxia and diminished by epidermal growth factor. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278: C982- 8.
6. Mackova, M, Kilani, R T, Davidge, S T, and Guilbert, L J, The effect of oxygen tension on intracellular survival signalling in primary villous trophoblasts. *Placenta* 2003; 24: 627- 37.
7. Kadyrov, M, Kingdom, J C, and Huppertz, B, Divergent trophoblast invasion and apoptosis in placental bed spiral arteries from pregnancies complicated by maternal anemia and early-onset preeclampsia/intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: 557- 63.
8. Madazli, R, Benian, A, Ilvan, S, and Calay, Z, Placental apoptosis and adhesion molecules expression in the placenta and the maternal placental bed of pregnancies complicated by fetal growth restriction with and without pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol* 2006; 26: 5- 10.
9. Zhou, Y, Damsky, C H, Chiu, K, Roberts, J M, and Fisher, S J, Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. *The Journal of clinical investigation* 1993; 91: 950- 60.
10. Jaffe, R, Dorgan, A, and Abramowicz, J S, Color Doppler imaging of the uteroplacental circulation in the first trimester: value in predicting pregnancy failure or complication. *AJR. American journal of roentgenology* 1995; 164: 1255- 8.
11. Smith, S C, Baker, P N, and Symonds, E M, Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction. *American journal of obstetrics and gynecology* 1997; 177: 1395- 401.