



T.C.

SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

HASEKİ EğİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOğUM EğİTİM KLİNİğİ

**AQP1, AQP9, AQP11, KALPONİN 2, AGE, RAGE, HMGB1 VE KALPROTEKTİNİN
KOMPLİKE GEBELİğİ OLAN KADINLARDA AMNİYON, KORYON VE
PLASENTA DOKULARINDAKİ ANALİZİ**

Dr. Senem KARACABEY

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL-2022



T.C.

SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

HASEKİ EğİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOğUM EğİTİM KLİNİğİ

**AQP1, AQP9, AQP11 İLE KALPONİN 2, AGE, RAGE, HMGB1 VE
KALPROTEKTİNİN KOMPLİKE GEBELİğİ OLAN KADINLARDA AMNİYON,
KORYON VE PLASENTA DOKULARINDAKİ ANALİZİ**

Dr. Senem KARACABEY

Tez danışmanı:

Prof. Dr. Ali ÇETİN

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL-2022

İÇİNDEKİLER

Contents

İÇİNDEKİLER	3
TEŞEKKÜR.....	5
KISALTMALAR	6
ÖZET	9
ABSTRACT.....	11
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	13
2. GENEL BİLGİLER	14
2.1. KOMPLİKE GEBELİKLER.....	14
2.2. PLASENTA.....	16
2.3. KORYOAMNİYOTİK ZAR.....	16
2.4. AQUAPORİNLER.....	17
2.5. KALPONİN 2 (CNN2).....	20
2.6. GELİŞMİŞ GLİKASYON SON ÜRÜNLERİ / GELİŞMİŞ GLİKASYON SON ÜRÜN RESEPTÖRÜ (AGE/RAGE).....	20
2.7. HMGB1.....	21
2.8. KALPROTEKTİN	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Plasenta, Amniyon ve Koryon Doku Örneklemeleri	23
3.2. Biyokimyasal Analizler.....	23

3.3. Biyokimyasal Analizlerin Yorumu	24
3.4. İstatistiksel Yöntem	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ	38
7. KAYNAKÇA	40



TEŞEKKÜR

Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlık eğitimim süresince bana bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren , tezimin hazırlanmasında katkıları olan Eğitim Sorumlumuz Prof.Dr.Ali Çetin'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimimin her basamağında yanımda olan, bilgi, beceri ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli uzman ablalarım ve abilerime teşekkür ederim.

Kliniğimizde birlikte çalıştığımız bütün asistan arkadaşlarıma, tüm ebelerimize, hemşirelerimize , yardımcı sağlık personelimiz ve sekreterlerimize teşekkür ederim.

Her koşulda bana destek verip yanımda olan, hayatımı kolaylaştıran ve güzelleştiren annem Yasemin Karacabey, babam Mehmet Karacabey, ablalarım Sinem Karacabey Yaşar ve Latife Karacabey'e teşekkür ederim. Hayatımıza girdiği andan itibaren desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen eniştem Recep Yaşar'a teşekkür ederim.

Senem KARACABEY

KISALTMALAR

AQP: Aquaporin

HMGB1: Yüksek Mobilite Grup Kutusu 1

AGE: Gelişmiş Glikasyon Son Ürünleri

RAGE: Gelişmiş Glikasyon Son Ürünleri Reseptör

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

IUGG: İntrauterin Gelişme Geriliği

FGR: Fetal Büyüme Kısıtlaması

PE: Preeklampsi

C/S: Sezaryen

VKI: Vücut Kitle İndeksi

MVM: Maternal Vasküler Malperfüzyon

EVT: Ekstra Villöz Trofoblast

CAOS: Koryoamniyonit, mekonyum ve kronik abrubtion oligohidramnios sekansı

HCG: Human Koryonik Gonadotropin

hPL: Human Plasental Laktojen

IGF : İnsülin Benzeri Büyüme Faktör

CRH: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

PIGF: Plasental Büyüme Faktörü

T2DM: Tip 2 Diyabetes Mellitus

GDM: Gestasyonel Diyabetes Mellitus

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

CNN2: Kalponin 2

CML: Karboksi Metil Lizin

CEL: Karboksi Etil Lizin

DAMP: Hasarla İlişkili Moleküler Patern

PPROM: Preterm Prematür Erken Membran Rüptürü

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo 1 Çalışma gruplarının temel klinik özellikleri.	25
Şekil 1. AQP-1.....	28
Şekil 2. AQP-9.....	29
Şekil 3. AQP-11.....	30
Şekil 4. CNN2.....	31
Şekil 5. AGE.....	32
Şekil 6. RAGE.....	33
Şekil 7. HMGB1.....	34
Şekil 8. Kalprotektin.....	35

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın genel araştırma konusu kadın üreme sağlığını iyileştirmeye yönelik “hamile kadın sağlığını geliştirme” olarak belirlenmiştir. Komplike gebelikler hem anne hem bebek için artan risk demektir. Bu kapsamda yaptığımız çalışmada, komplike olan gebeliklerde plasenta, amniyon ve koryon doku örneklerinde AQP1, AQ9, AQP11, kalponin 2, AGE, RAGE, HMGB1 ve kalprotektinin analizi ile gebelikte gelişen olayların patogenezinin anlaşılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu prospektif çalışmaya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine Mart 2022-Ağustos 2022 tarihleri arasında başvuran ve sezaryen ile doğum yapan term gebeliği olan, 18-40 yaş arasındaki hastalar aydınlatılmış onam ile bilgilendirilerek kabul etmeleri durumunda dahil edildi. Hastaların yaş, cinsiyet, boy, kilo, VKI (Vücut Kitle İndeksi) gravide, parite, vajinal ve sezaryen doğum sayıları, mevcut kronik hastalıkları, kullandıkları ilaçlar gibi veriler kaydedildi. Hastalar komplike gebeliğe sahip hastalar ve normal gebeliği olan hastalar olarak 2 gruba ayrıldı. Doğum sonrası sezaryen esnasında alınan plasenta, amniyon ve koryon biyopsisi uygun koşullarda saklanarak dokularda biyokimyasal incelemeler yapıldı. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışma grupları arasında sosyodemografik özellikler, gebelik sayısı, doğum sayısı, vücut kitle indeksi, sigara kullanımı, etnik köken, obstetrik öykü, kullanılan ilaçlar ve doğum ağırlığı açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Komplike gebelik grubunun ortanca yaşı normal gebelik grubununkine göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Komplike gebelik grubunun doğumdaki gebelik haftası normal gebelik grubununkine göre

anlamli olarak dűűk bulundu ($p<0,05$). Grupların karűılaűtırılmasında plasenta, amniyon ve koryon doku homojenatlarında AQP-1, AQP-9, AQP-11 ifadelenmeleri komplike gebeliklerde yűksek bulunmasına rađmen elde edilen farklar anlamlılıđa ulaűmadı ($p>0,05$); ve CNN2, AGE ve RAGE ifadelenmeleri komplike gebeliklerde dűűk bulunmasına rađmen elde edilen farklar anlamlılıđa ulaűmadı ($p>0,05$). Komplike gebeliklerde plasenta, amniyon ve koryon dokularında HMGB1 deđeri normal gebeliklere gűre anlamlı olarak dűűk bulundu ($p<0,05$). alıűma grupları arasında plasenta ve koryon dokularında kalprotektin deđerleri dűűk bulunmasına rađmen elde edilen farklar anlamlılıđa ulaűmadı ($p>0,05$). Ancak amniyon dokusunda kalprotektin deđerleri normal gebeliklere gűre anlamlı olarak dűűk bulundu ($p<0,05$).

Sonuç: Komplike gebeliđi olan kadınlarda plasenta, amniyon ve koryon dokularında AQP1, AQP9, AQP11 ifadelenmelerinde anlamlılıđa ulaűmayan bir artıű bulunması, ileri alıűmalarda komplike gebelik grubunun kapsadıđı hastalıklar olan GDM, PE ve PGD bulunan gebelikleri olan kadınlara ile ayrı araűtırma grupları oluűturarak bu proteinlerin incelenmesinin faydalı olacađını desteklemektedir. İlave olarak CNN2, AGE, RAGE, HMGB1 ve kalprotektin ifadelenmelerinde anlamlılıđa ulaűmayan bir azalma bulunması da aynı űekilde yeni araűtırmaların konusu yapılabilir. Bir bűtűn olarak ele alındıđında amniyotik sıvı hemostazının ve oksidan-antioksidan dengesinin komplike gebeliklerde farklı bulunması, oldukça karmaűık olan GDM, PE ve PGD patogenezerinin bu molekűlleri kapsayan ek araűtırmalarda ele alınmasının faydalı olacađına iűaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Komplike gebelikler, AQP1, AQP9, AQP11, kalponin 2, AGE, RAGE, HMGB1, kalprotektin

ABSTRACT

Objective: The general research subject of this study was determined as "improving pregnant women's health" to improve women's reproductive health. Complicated pregnancies mean increased risk for both mother and baby. In this context, we aimed to understand the pathogenesis of pregnancy events by analyzing AQP1, AQP9, AQP11, calponin 2, AGE, RAGE, HMGB1 and calprotectin in placenta, amnion and chorion tissue samples in complicated pregnancies.

Materials and Methods: In this prospective study, patients aged between 18 and 40 years with term pregnancy, who applied to the Health Sciences University Haseki Training and Research Hospital, Gynecology and Obstetrics Clinic between March 2022 and August 2022 and delivered by cesarean section, were included in the case of informed consent and consent. Data such as age, gender, height, weight, BMI (Body Mass Index) gravida, parity, number of vaginal and cesarean deliveries, current chronic diseases, and medications of the patients were recorded. The patients were divided into 2 groups as patients with complicated pregnancy and patients with normal pregnancy. Placenta, amnion and chorion biopsies taken during postpartum cesarean section were stored under appropriate conditions and biochemical analyzes were performed on the tissues. Obtained results were compared between groups.

Results: There was no significant difference between the study groups in terms of sociodemographic characteristics, number of pregnancies, number of births, body mass index, smoking, ethnic origin, obstetric history, drugs used and birth weight ($p>0.05$). The median age of the complicated pregnancy group was found to be significantly higher than that of the normal pregnancy group ($p<0.05$). The gestational week at birth of the complicated pregnancy group

was found to be significantly lower than that of the normal pregnancy group ($p < 0.05$). In comparison of the groups, although the expression of AQP-1, AQP-9, AQP-11 in placenta, amnion and chorion tissue homogenates was found to be high in complicated pregnancies, the differences obtained did not reach significance ($p > 0.05$); and CNN2, AGE and RAGE expressions were found to be low in complicated pregnancies, but the differences did not reach significance ($p > 0.05$). In complicated pregnancies, HMGB1 value was found to be significantly lower in placenta, amnion and chorion tissues compared to normal pregnancies ($p < 0.05$). Although calprotectin values were found to be low in placenta and chorion tissues between study groups, the differences obtained did not reach significance ($p > 0.05$). However, calprotectin value in amniotic tissue was found to be significantly lower than normal pregnancies ($p < 0.05$).

Conclusion: The insignificant increase in the expression of AQP1, AQP9, AQP11 in placenta, amnion and chorion tissues in women with complicated pregnancy supports that it would be beneficial to examine these proteins by forming separate research groups with women with pregnancies with GDM, PE and PGD, which are the diseases covered by the complicated pregnancy group, in further studies. . In addition, finding a nonsignificant decrease in the expression of CNN2, AGE, RAGE, HMGB1 and calprotectin can also be the subject of new studies. Taken as a whole, the fact that amniotic fluid hemostasis and oxidant-antioxidant balance are different in complicated pregnancies indicates that it would be beneficial to consider the rather complex pathogenesis of GDM, PE and PGD in additional studies involving these molecules.

Keywords: Complicated pregnancies, AQP1, AQP9, AQP11, calponin 2, AGE, RAGE, HMGB1, calprotectin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tüm dünyada komplike gebelikler maternal ve fetal sağlığı etkileyen büyük bir sağlık sorunudur ve perinatal bakımın zor olduğu önemli hastalıklardır. Öngörü, tanı ve tedavilerinin hem klinik hem de temel bilim düzeyinde çalışmalarla geliştirilmesi maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin azaltılması açısından oldukça önemlidir.

Komplike gebeliklerin en önemli olanları fetal büyüme kısıtlaması (FGR), preeklampsi ve diyabetes mellitustur (Joo et al., 2021; Nicolini et al., 2021; Ogunwole et al., 2021). Komplike gebelikler ile ilgili yapılan temel bilim çalışmalarında amniyon, koryon ve plasenta sıkça kullanılmaktadır (Dadkhah Tehrani et al., 2021).

Aquaporinler (AQP'ler), kalponinler ve bu moleküllerle olası ilişkileri olduğu için oksidatif stres ve enflamasyonda önemli rolleri olan ileri glikasyon son ürünleri (AGE), ileri glikasyon son ürünleri reseptörü (RAGE), yüksek mobilite grup kutusu 1 (HMGB1) ve kalprotektinin komplike gebeliklerin patogenezi açısından önemli moleküller olabileceği ön görülmüştür. AQP'lerin normal gebelikteki rolleri açıklanmaya devam etmektedir ve komplike gebeliklerde AQP'lerin ekspresyonu ve düzenlenmesinin önemli olacağı öngörülmektedir (Damiano et al., 2006; Rojek et al., 2008). Komplike gebeliklerde çeşitli sebeplerden dolayı gebeliğe ait dokulara farklı derecede baskılar uygulanabileceği için kalponin 2'nin komplike gebeliklerde farklı derecede eksprese edilmesi söz konusu olabilir (Zhang et al., 2021). AGE'ler oksidatif streste rolü olan çeşitli bir makromolekül grubudur ve bilinen en önemli reseptörü RAGE'dir (Dariya & Nagaraju, 2020). HMGB1 ve kalprotektin çeşitli gebelik patolojilerinde rol oynayan RAGE ligandlarıdır (Pergialiotis et al., 2016). Komplike gebeliklerde oksidatif stres ve enflamasyonun

önemli rolü olduğu düşünüldüğü için bu moleküllerin araştırmaya dahil edilmesi uygun görülmüştür.

Yapılan çalışmada sezaryen (C/S) olan hastalar komplike gebelik ve normal gebelik olarak 2 gruba ayrılmıştır. C/S sırasında alınan amniyon, koryon ve plasenta doku örnekleri sonrasında serum haline getirilmiştir. Bu serum örneklerinde AQP1, AQP9, AQP11, kalponin 2, AGE, RAGE, HMGB1 ve kalprotektinin Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ile biyokimyasal olarak miktarlarına bakılmıştır. İki grup arasındaki sonuçlar karşılaştırılarak komplike gebeliklerin patogenezinin anlaşılması amaçlanmıştır. Bu sayede komplike gebeliklerin neden olduğu maternal ve fetal/yenidoğan morbidite ve mortalitenin azaltılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.KOMPLİKE GEBELİKLER

Komplike gebelikler antenatal bakım ve doğumu yönetmek açısından sağlıkla ilişkili kaynakların daha fazla tüketimine sebep olan önemli hastalıklardır. Komplike gebeliklerin öngörü, tanı ve tedavisi maternal ve fetal/yenidoğan morbidite ve mortalitesinin azaltılması açısından oldukça önemlidir. Komplike gebeliklerin en önemli olanları fetal büyüme kısıtlaması (FGR), preeklampsi ve diyabetes mellitustur (Joo et al., 2021; Nicolini et al., 2021; Ogunwole et al., 2021).

FGR, gebelik yaşına göre tahmini fetal ağırlığın 10. Persantilin altında olması ve fetüsün genetik büyüme potansiyeline ulaşamaması durumudur (Joo et al., 2021). FGR tüm gebeliklerin

%10 kadarında görülür. Maternal vasküler malperfüzyon (MVM) gibi plasental yetmezliğe yol açan değişikliklerle ilişkilidir. MVM mekanizması olarak plasental yetmezlik preekampsiyi (PE) de içerir. PE, hipoksik yolaklardan dolayı 32. Gebelik haftasından önce geliştiğinde FGR ile ilişkilidir. Plasental hipoksi, vasküler hasar, inflamasyon ve yüksek reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine neden olur. Bunun sonucunda endotel hasarı ve vazokonstrüksiyon meydana gelir. FGR ve PE’de proinflamatuvar belirteçlerin yüksek plazma seviyeleri oksidatif stres ile ilişkilendirilebilir. Dolaşımda bulunan AGE, RAGE gibi moleküllerin oranları da değişir (Schoots et al., 2021).

Gebelikte diyabet dünya çapında artmaktadır. Çoğunluğu Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) olup, geri kalanı pregestasyonel tip1 ve tip2 diyabet olarak ayrılmaktadır (Cilingir, 2018). Gestasyonel diyabet ve pregestasyonel diyabetin her ikisi de preeklampsi, erken doğum, konjenital anormallikler, perinatal ölüm, fetal makrozomi, fetal solunum sıkıntısı, artmış doğum yaralanmaları, artmış sezeryan riski gibi bir çok olumsuz obstetrik sonuçla ilişkilidir (Stanirowski et al., 2021). GDM’de plasentadan salgılanan Human Plasental Laktojen (HPL) vücudun insülini etkili bir şekilde kullanmasını engeller. Tip2 diyabetteki benzer bir mekanizma ile pankreatik beta hücreleri artan insülin direncine uyum sağlayamaz ve sonuç olarak maternal hiperglisemi gelişir. Oluşan bu hiperglisemik ortamın oksidatif stres ve enflamasyonla ilişkili olduğu bilinmektedir. GDM’nin eşlik ettiği gebeliklerde normal gebeliklere göre artmış oksidatif stres belirteçleri ve reaktif oksijen türleri (ROS) seviyeleri mevcuttur (Joo et al., 2021)

2.2.PLASENTA

Plasenta, anneden fetüse besin ve oksijenin geçişini sağlayan ve bunun sonucunda normal fetal büyüme ve gelişmeyi sürdüren geçici bir organdır. Ayrıca plasenta fetal allogreft reddinin önlenmesini ve hem maternal metabolizma hem fetal büyüme ve gelişmeyi düzenleyen peptid ve steroid hormonları salgılar.

Plasental gelişimin bir evresi olan trofoblast farklılaşmasındaki çeşitli patolojik değişiklikler preeklampsi (PE) ve FGR gibi gebelik komplikasyonlarına neden olabilir. PE ve FGR endovasküler ekstrasvillöz trofoblast (EVT) invazyon kusurlarıyla ilgilidir. Burada spiral arterlerin yetersiz invazyonu veya hiç invaze edilememesi söz konusudur. Sonuç olarak gebeliğe fizyolojik adaptasyon gerçekleşmez. Bunun sonucunda kan akımı azalır ve hipoksi oluşur. Hipoksi oksidatif strese yol açabilir. Oksidatif stres sonucu dokularda reaktif oksijen türleri (ROS) artar (Myatt, 2002).

Plasentanın çeşitli sentez ve metabolizma işlevleri de vardır. Glikojen ve kolesterol sentezinde protein metabolizmasında görev alır ve ayrıca laktatın uzaklaştırılmasını sağlar. Hem maternal hem fetal sisteme verilmek üzere çeşitli peptid ve steroid yapılı hormonlar sentezlerler. Peptid yapılı hormonlar; Human Koryonik Gonadotropin (hCG), Human Plasental Laktojen (hPL), sitokinler, büyüme hormonu, İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri (IGFler), kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), plasental büyüme faktörüdür (PlGF). Steroid yapılı hormonlar; östrojen, progesteron ve glukokortikoidlerdir.

2.3.KORYOAMNİYOTİK ZAR

Koryoamniyotik zar, fetüsü saran, amniyotik boşluğu oluşturan koryon ve amniyon olmak üzere iki katmandan oluşan ince bir tabakadır. Koryon dışta bulunur ve annenin hücreleriyle

temas etmektedir. Amniyon ise ite bulunan tabakadır. Koryon ve amniyon birbirinden jöleye benzer bir yapıda olan matriks ile ayrılmaktadır. Amniyotik zar 3 katmandan oluşur. Bu katmanlar, epitel tabakası, bazal membran ve üç kat stromadan oluşur. Stromayı oluşturan tabakalar, bir kompakt, bir fibroblast ve bir sünger tabakasıdır. Amniyotik zar ince, şeffaf, damarsız ve dirençli bir yapıdadır. Amniyotik zarın en önemli görevi fetüsü travmalardan, enfeksiyondan ve istenmeyen maddelerden korumaktır. Diğer önemli görevi ise suyu, çözünür maddeleri fetusa iletmek ve büyüme faktörleri ve fetüs için gerekli sitokinleri sağlamaktır (Dadkhah Tehrani et al., 2021). Koryoamniyotik membranın fetüseye en yakın olan katmanı amniyotik epitel katmanıdır. Amniyotik epitel katmanı amniyon sıvısıyla temas halindedir. Amniyotik epitel, bazal membran üzerinde düzgün şekilde düzenlenmiş tek bir yassı, küboidal ve kolumnar hücre tabakasıdır. Amniyotik mezoderm ise makrofaj ve fibroblastlar gibi mezenkimal hücrelerden oluşmaktadır (Şapte et al., 2017).

Plasental membranların kökeni ekstraembriyonik dokudur (Gupta et al., 2015).

Koryoamniyotik zarın kalınlığı yaklaşık 10-15 mikrometredir (Şapte et al., 2017).

Koryoamniyotik membran gebeliğin fizyolojik devamlılığında ve korunmasında önemli rol oynar. Koryoamniyotik membran hasarının gebeliğin devamını olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Amniyotik membranda nekroz veya dejenerasyon gibi histolojik hasar oluşması sonucunda koryoamniyonit, mekonyum ve kronik abruption oligohidramnios sekansı (CAOS) gibi durumların oluştuğu bilinmektedir (Iizuka et al., 2019).

2.4.AQUAPORİNLER

Aquaporinler (AQP), biyolojik membranlardan su ve küçük çözünen maddelerin çift yönlü taşınmasını sağlayan küçük integral protein ailesidir. Bu taşımayı osmotik gradyanlara yanıt

olarak gerçekleştirirler (Verkman et al., 2014). Su, hücre zarından sınırlı bir oranda geçebilir ancak hücre zarındaki aquaporinler tarafından gerektiğinde hızlı ve kontrollü bir şekilde geçiş sağlanabilir. Su homeostazi, canlı hücre fizyolojisinin merkezini oluşturur. Biyolojik membranların tümünde membranın lipit bileşimlerine ve oranına bağlı olarak belli bir su geçirgenliği mevcuttur. Biyolojik membranlarda AQP varlığı bu geçirgenliğin düzenlenmesi ve hücre içi ve dışına su transferinin kontrolünü sağlar. Geçtiğimiz son 20 yıl biyomembranlar arasındaki su geçişi oldukça sıcak bir araştırma alanıdır (Madeira et al., 2015).

Günümüzde tanımlanmış olan 13 tane AQP bulunur. Bu AQP'ler 3 alt gruba ayrılır.

- Klasik AQP'ler: En büyük grup olmakla birlikte sadece su için seçici geçirgen olan gruptur. AQP0, AQP1, AQP2, AQP4, AQP5 ve AQP8 bu gruba ait olan AQP'lerdir.
- Aquagliseroporinler: Su, gliserol ve üre taşınmasında rol alan gruptur. AQP3, AQP7, AQP9 ve AQP10 bu gruba ait olan AQP'lerdir. Bu gruba dahil olan AQP9 ayrıca pürin, primidin ve monokarboksilatlar gibi çözünen bazı maddelerin de akışını kolaylaştırır.
- Süper AQP'ler: Sitoplazmada bulunan ve geçirgenlikleri henüz belirlenmemiş olan AQP grubudur. AQP11 ve AQP12 bu gruba ait AQP'lerdir(Li et al., 2020).

Memelilerde AQP'ler tüm dokularda bulunur ve sıvı taşınmasının yanında beyin ödemi, hücre göçü, epidermal su tutma, adiposit metabolizması, nöroeksitasyon hücre proliferasyonu gibi birçok önemli biyolojik olayda yer alırlar (Azad et al., 2021; Ducza et al., 2017; Madeira et al., 2015; Rojek et al., 2008; Verkman et al., 2014). AQP'lerin fonksiyonları, glikosilasyon, fosforilasyon, ubiquitination, dağılım, bozunma ve protein etkileşimleri gibi bir takım post-translasyonel modifikasyonlar tarafından kontrol edilir (Li et al., 2020).

Aquagliseroporinler su ve gliserol için geçirgen olan aquaporinlerdir. Gliserolün dokudan plazmaya hareketi, plazmadan dokuya hareketi ve plazma zarı boyunca gliserol giriş çıkışını düzenleyen farklı aquagliseroporinler mevcuttur. Yağ doku, ince bağırsak, böbrek, kalp, karaciğer, iskelet kası, pankreas ve endotel gibi çeşitli dokularda farklı aquagliseroporinler keşfedilmiştir. Bu aquagliseroporinlerin dokulardaki farklı ekspresyonunun obezite ve T2DM ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Madeira et al., 2015).

Gebelik boyunca uterus ve plasentadaki AQP'lerin ekspresyonu incelenmiştir. Ayrıca 13 memeli AQP'lerinden 5 tanesinin (AQP1, AQP3, AQP8, AQP9, AQP11) insan amniyonunda eksprese edildiği bulunmuştur. Bu AQP'lerin her birinin farklı işlevleri olduğu bilinmektedir. AQP1 ve AQP3 amniyonda pasif su hareketinde rol oynarken AQP8 ve AQP9 intramembranöz absorpsiyon, plasental su transferi ve çözünen akışının düzenlenmesinde önemli rol oynar. AQP'lerin amniyotik sıvı hacminin düzenlenmesinde nasıl bir etkileri olduğu henüz aydınlatılamamıştır. Normal gebeliklerde AQP'lerin rolü araştırılmaya devam etmektedir. Bununla birlikte anormal gebeliklerde de AQP'lerin ekspresyonu ve düzenlenmesinin incelenmesi potansiyel terapötik hedefler açısından oldukça önemlidir (Rojek et al., 2008; Szpilbarg et al., 2018).

Anormal gebeliklerde AQP'lerin rolü üzerine örnek verecek olursak, GDM'li olgularda artmış serum AQP9 seviyesi, bozulmuş maternal metabolik ortamın bir belirtisi olabilir ve GDM patofizyolojine katkıda bulunabilir. Plasentanın su geçirgenliğinin gebelik haftası ilerledikçe arttığı tespit edilmiş ve AQP'lerin su akışında rolü olabileceği öne sürülmüştür. Placenta, amniyon ve koryonda bulunan 5 çeşit AQP'in amniyotik sıvı düzenlenmesinde rolü olduğu ve ekspresyonlarındaki değişiklikler sonucunda oligohidramnios ve polihidramniosla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Beall et al., 2007; Damiano, 2011)

Preeklampsi anormal plasentasyon ve trofoblast hücre invazyon yetersizliğinin neden olduğu düşünülen çok yönlü ve multisitemik bir hastalıktır. Preeklampsinin patofizyolojisi günümüzde hala araştırılmaya devam etmekte ve yeni veriler elde edilmektedir. Plasentada bulunan AQP'lerin anormal ekspresyonu, trofoblast hücrelerini trofoblast farklılaşmasının farklı evrelerinde ortaya çıkarak etkileyebilir. Preeklampsin çoklu mekanizmalardan kaynaklanan karmaşık bir hastalık olmasına rağmen, AQP'ler preeklampside çeşitli klinik bulgulara yol açan değişikliklerin bir parçası olarak katkıda bulunabilir (Szpilbarg et al., 2018)

2.5.KALPONİN 2 (CNN2)

Kalponin 2, hücre içi kalsiyum düzenlenmesinde rol oynayan kalmodulin bağlayıcı bir proteindir. Çeşitli dokularda bulunur ve hücre içi iskelet gerilimi tarafından düzenlenir. Yüksek mekanik gerilim olan hücrelerde, örneğin epitel, endotel, içi boş organların duvarlarındaki düz kas hücrelerinde çok miktarda bulunur. Normal gebelik ve komplike gebeliklerde gebeliğe ait dokularda farklı baskı ve gerilimler olabileceği için komplike gebeliklerde CNN2'nin farklı düzeylerde bulunması söz konusu olabilir. Buradan yola çıkarak CNN2'nin komplike gebeliklerde bir biyobelirteç olarak kullanılması mümkün olabilir (Zhang et al., 2021).

2.6.GELİŞMİŞ GLİKASYON SON ÜRÜNLERİ / GELİŞMİŞ GLİKASYON SON ÜRÜN RESEPTÖRÜ (AGE/RAGE)

Gelişmiş glikasyon son ürünleri (AGE'ler), günümüzden en az 20 farklı çeşidi tanımlanmış olan bir makromolekül grubudur. AGE'lerin ana grupları karboksimetil lizin (CML), karboksietil lizin (CEL), glikozpan, pentosidin, metilglikoksal lizin dimer, glikoksal lizin dimer ve glikolik asit lizin amiddir (Henning & Glomb, 2016). AGE'ler protein ve lipidlerin non-enzimatik

glikasyonu ile oluşur. Bu süreç yaşam boyunca devam eder. Yaşlanma, hiperglisemi, oksidatif stres, inflamasyon ve ileri börek yetmezliği ile birlikte AGE oluşum süreci hızlanır (Senatus & Schmidt, 2017).

Protein ve lipidlerin enzimatik olmayan geri dönüşümsüz glikasyonu ile oluşan modifiye AGE'ler, AGE reseptörünü (RAGE) bağlamak üzere tetiklenir ve çeşitli aşağı akış sinyal yollarını aktive ederler. Bunun sonucunda diyabet gibi pek çok farklı patolojik durumlara sebep olurlar (Dariya & Nagaraju, 2020)

2.7. HMGB1

Steril inflamasyon, fetal membranın yaşlanma ile ilişkili bir özelliğidir ve inflamatuvar belirteçlerin, matris parçalayıcı enzimlerin ve büyüme faktörlerinin varlığı ile ortaya çıkar. Steril inflamasyon sırasında çeşitli adımlarla birlikte yaşanan, stresli veya nekrotik hücreler oluşur. Bu hücreler yüksek düzeyde inflamatuvar hasar ile ilişkili moleküler patern belirteçleri (DAMP'ler) salgırlar (Bouvier et al., 2020). Yüksek mobilite grup kutusu 1 (HMGB1), doğum ile ilişkili en önemli DAMP'lerden biridir. Yapılan bir çalışmada fare modelinde intra-amniyotik HMGB1 uygulamasının spontan erken doğum ve doğumu indüklediği sonucuna varılmıştır (Gomez-Lopez et al., 2016). Bununla birlikte, HMGB1'in amniyon ve koryonda kısmen inflamazom aracılı bir inflamatuvar yanıtı indüklediği gösterilmiştir. Bu intra-amniyotik inflamatuvar yanıt insanda in vivo olarak gösterilmiştir. Aynı zamanda HMGB1, RAGE için bilinen bir reseptör ligandıdır ve RAGE sistemi ile birlikte preterm prematür erken membran rüptürü (PPROM) veya preeklampsi gibi komplike gebeliklerle ilişkilidir (Naruse et al., 2012; Rzepka et al., 2015).

2.8. KALPROTEKTİN

Kalprotektin, nötrofil sitosolünde bulunan kalsiyum bağlayıcı bir proteindir ve aynı zamanda preeklampsi gibi bazı gebelik komplikasyonlarında rol oynadığı bilinen bir RAGE ligandır. Kalprotektin ile ilgili yapılan birkaç çalışmada, preeklampsili gebelerde ve normal gebelerde kalprotektin düzeyine bakılmıştır. Mevcut kanıtlar özellikle üçüncü trimesterde normal gebeliklere göre preeklampsi olan gebeliklerde kalprotektin seviyesinin arttığını göstermiştir (Pergialiotis et al., 2016). Bu sonuçlardan yola çıkarak preeklampsili gebelerde veya diğer komplike gebeliklerde kalprotektinin bir tarama veya sürveyans belirteci olarak kullanımına ilişkin anlamlı sonuçlar için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu prospektif araştırma normal gebeliği ve komplike gebeliği (preeklampsi, gestasyonel diyabet ve fetal gelişme geriliği) olan sezaryen ile doğum yapan kadınlardan toplanan plasenta, amniyon ve koryon doku örneklerinin ELISA ile incelenmesiyle yapılmıştır. Plasenta, amniyon ve koryon doku örneklerinde AQP1, AQP9, AQP11, kalponin 2, AGE, RAGE, HMGB1 ve kalprotektin proteinlerinin ekspresyonları belirlenmiştir. Bu proteinlerin belirtilen dokulardaki ekspresyonu incelenerek normal gebelik ve komplike gebelikler karşılaştırılmış ve komplike gebeliklerin patogenezi açıklanmaya çalışılmıştır.

Çalışma uygun klinik ve deneysel etik yönergelere uygun olarak Mart 2022-Ekim 2022 tarihleri arasında Haseki Eğitim Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde yapılmıştır. Etik kurul izni Ek-1 olarak paylaşılmıştır. Çalışmaya 46 hasta dahil edildi. Çalışmaya katılan herkesten bilgilendirilmiş onam formu alındı. Hamile kadınlar mevcut veriler

dahilinde normal gebeliği olanlar ve komplike gebeliği olanlar olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Çalışmaya dahil edilme kriterleri 18-40 yaş aralığında olma, gebelik yaşının 37-41 hafta arasında olması, doğum eyleminin başlamamış olması ve elektif sezaryen olması şeklinde belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri çoğul gebelik, 1 yıl ara olmadan gebelik, vejetaryen olma, plasental yapısal bozukluk saptanması, çoğul gebelik olması, fetal yapısal gelişim kusurları olması, intrauterin invaziv işlem geçirme, gebelik sürecinde subkoryonik hematom öyküsü olması şeklinde belirlenmiştir.

Yapmış olduğumuz araştırma hastanın intraoperatif bakımına zarar verecek bir yön içermemektedir. Sezaryen sonrasında plasenta amniyon ve koryondan yaklaşık 5 mm çaplı doku örnekleri alınmıştır. Alınan doku örnekleri biyokimyasal analizler için hemen dondurulmak üzere tüplere yerleştirilmiştir.

3.1. Plasenta, Amniyon ve Koryon Doku Örneklemeleri

Plasenta, amniyon ve koryon dokularından elde edilen örnekler sezaryen sonrasında elde edilmiştir. Plasental doku örnekleri göbek kordon giriş yerinden 4-5 cm uzak kısımdan elde edilmiştir. Amniyon ve koryon zarı, plasentadan yaklaşık 4-5 cm uzak kısımdan elde edilerek birbirinden ayrılmıştır. Elde edilen doku örnekleri daha sonra incelenmek üzere kurutma kağıdı ile kurutularak tüplere alınmış ve dondurulmuştur.

3.2. Biyokimyasal Analizler

ELISA testleriyle plasenta, amniyon ve koryon dokularında AQP1, AQP9, AQ11, kalponin 2, AGE, RAGE, HMGB1 ve kalprotektin proteinlerinin ekspresyonları ölçülerek istatistiksel

analizleri yapılmıştır. Sonuçların komplike gebeliklerin patogenezinin anlaşılması için katkıda bulunması beklenmektedir.

Biyokimyasal analiz için toplanmış olan plasenta, amniyon ve koryon dokularına homojenizasyon uygulandı. Homojenizasyon için doku parçasına 1 mL TRIzol eklendi ve homojenizatöre hazır hale getirildi. Hazırlanmış olan dokulara 0.2 Ml kloroform ekledi ve 15 saniye süre boyunca hızlıca çalkalandıktan sonra 3 dk oda ısısında bekletildi. Daha sonrasında doku örnekleri Heraeus Fresco 21 mikrosantrifüj cihazı ile 12,000 xg devirde 15 dk süre boyunca santrifüj edildi. Hazırlanan örnekler, sandviç immunoasay yöntemiyle seçtiğimiz proteinlerin antikor boyaması ile çalışıldı. Çalışma sonucunda elde edilen kantitatif değerler not edildi.

3.3. Biyokimyasal Analizlerin Yorumu

Daha önceki başlıklarda da açıklandığı üzere biyokimyasal incelemeler araştırmada hedeflenen proteinlerin plasenta, amniyon ve koryon dokularında ekspresyonunun değiştiğini göstermek için kullanılmıştır. Bu sonuçlar ile birlikte araştırma proteinlerinin klinik durumlarla ilişkili olup olmadığının yorumlanmasında kullanılmıştır.

3.4. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analiz için IBM SPSS v26.0 (IBM, ABD) yazılımı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler yapılarak veriler ortalama \pm standart sapma, ortanca değer ve %25-75 persentiller, sayı (yüzde) olarak sunulmuştur. Değişkenlerin normalitesi Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Değişkenler normal dağılıma uyuyorsa parametrik t, uymuyorsa non-parametrik Mann-Whitney testi ile analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda p değerinin $<0,05$ olması durumunda elde edilen farklar anlamlı sayılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamızda Mart 2022- Ağustos 2022 tarihleri arasında, Sağlık Bilimleri Üniversitesi ile afiliye olan Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde sezaryen doğum yapan 46 hamile kadının verileri analiz edilmiştir. Hamile kadınlar komplike gebeliği olanlar ve normal gebeliği olanlar şeklinde 2 gruba ayrıldı.

Tablo 1’de çalışmaya katılan hamile kadınların temel klinik özellikleri gösterildi. Normal gebelik ve komplike gebelik olarak alt gruplara ayrılan hastalar arasında gebelik sayısı, doğum sayısı, vücut kitle indeksi, sigara kullanımı, etnik köken, obstetrik öykü, kullanılan ilaçlar ve doğum ağırlığı açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Komplike gebelik grubunun ortanca yaşı normal gebelik grubununkine göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Komplike gebelik grubunun doğumdaki gebelik haftası normal gebelik grubununkine göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,05$).

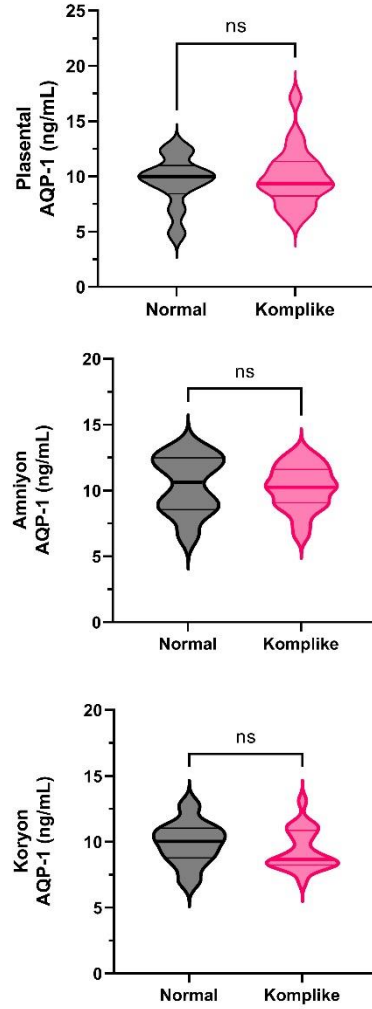
Tablo 1 Çalışma gruplarının temel klinik özellikleri.

	Normal gebelik (n=23)	Komplike gebelik (n=23)	Anlamlılık
Yaş	29 (21-40)	36 (18-40)	P=0,02
Gebelik sayısı	3 (1-7)	4 (1-9)	P=0,6
Doğum sayısı	2 (0-3)	2 (0-7)	P=0,9

Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	25,8 (17,6-34,8)	28,0 (19,3-37,0)	P=0,2
Sigara kullanımı			P=0,489
Var	2 (%8,7)	0 (%0)	
Yok	21 (%91,3)	23 (%100)	
Etnik köken			P=0,233
Türk vatandaşı	20 (%87)	23 (%100)	
Göçmen	3(%13)	0 (%0)	
Obstetrik öykü			P=0,201
Gestasyonel diyabetes mellitus	0 (%0)	1 (%4,3)	
Preeklampsi	0 (%0)	2 (%8.7)	
Kullanılan ilaçlar			P=0,08
Aspirin	0 (%0)	0 (%0)	
Heparin	0 (%0)	0 (%0)	
Progesteron	0 (%0)	0 (%0)	

İnsülin	0 (%0)	2(%8,7)	
Antihipertansif	0 (%0)	6(%26,1)	
Doğumdaki Gebelik yaşı (hafta)	39 (38-41)	38 (36-40)	P=0,001
Doğum ağırlığı (gr)	3360 (2820-4145)	2830 (2080-4500)	P=0,02
<p>Tablodaki verilerin sunumu median (minimum-maksimum) ve sayı (%) olarak yapılmıştır.</p> <p>Bu tablodaki sayısal verilerin karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Bu tablodaki nominal verilerin analizi ki-kare testi ile yapılmıştır.</p>			

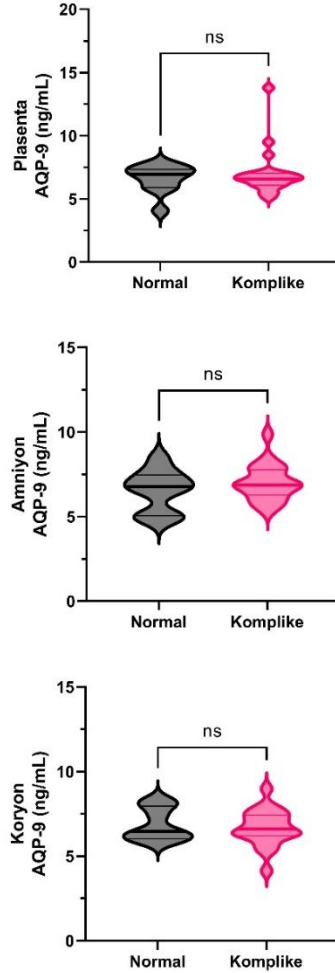
Şekil 1’de normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının aquaporin-1 (AQP-1) değerleri gösterildi. Çalışma grupları arasında AQP-1 değeri açısından anlamlı bir fark bulunmadı.



Şekil 1. AQP-1

Şekil 1. Normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının aquaporin-1 (AQP-1) değerleri. Verilerin sunumunun yapıldığı violin grafikte koyu çizgi ortanca değeri, ince çizgiler %25 ve %75 çeyrek değerlerini ve violin grafiğin alt ve üst uçları en büyük ve en küçük değerleri göstermektedir. ns, anlamlı fark yok.

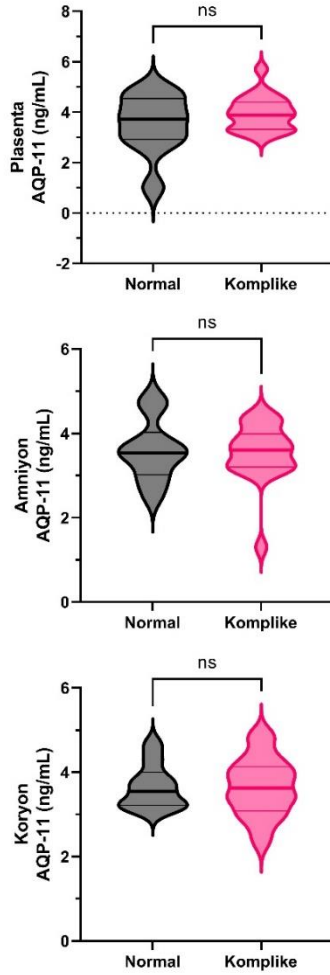
Şekil 2’de normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının aquaporin-9 (AQP-9) değerleri gösterildi. Çalışma grupları arasında AQP-9 değeri açısından anlamlı bir fark bulunmadı.



Şekil 2. AQP-9

Şekil 2. Normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının aquaporin-9 (AQP-9) değerleri. Verilerin sunumunun yapıldığı violin grafikte koyu çizgi ortanca değeri, ince çizgiler %25 ve %75 çeyrek değerlerini ve violin grafiğin alt ve üst uçları en büyük ve en küçük değerleri göstermektedir. ns, anlamlı fark yok.

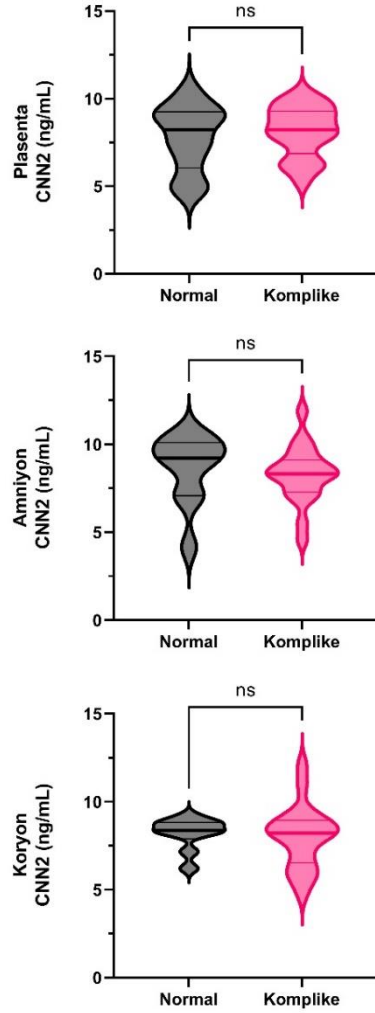
Şekil 3’de normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının aquaporin-11 (AQP-11) değerleri gösterildi. Çalışma grupları arasında AQP-11 değeri açısından anlamlı bir fark bulunmadı.



Şekil 3. AQP-11

Şekil 3. Normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının aquaporin-11 (AQP-11) değerleri. Verilerin sunumunun yapıldığı violin grafikte koyu çizgi ortanca değeri, ince çizgiler %25 ve %75 çeyrek değerlerini ve violin grafiğin alt ve üst uçları en büyük ve en küçük değerleri göstermektedir. ns, anlamlı fark yok.

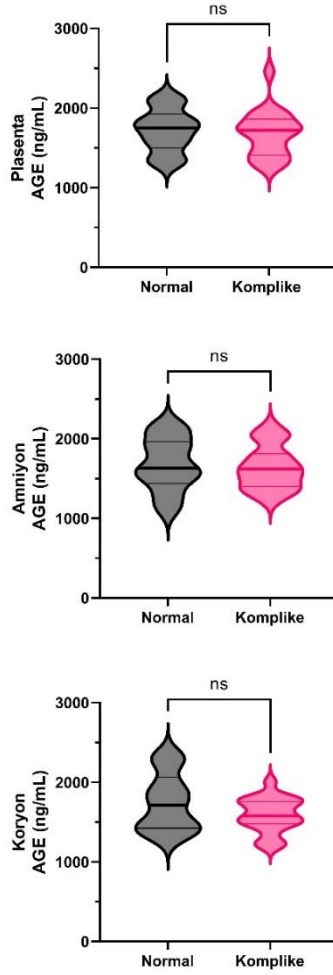
Şekil 4'te normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının kalponin 2 (CNN2) değerleri gösterildi. Çalışma grupları arasında CNN2 değeri açısından anlamlı bir fark bulunmadı.



Şekil 4. CNN2

Şekil 4. Normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının kalponin 2 (CNN2) değerleri. Verilerin sunumunun yapıldığı violin grafikte koyu çizgi ortanca değeri, ince çizgiler %25 ve %75 çeyrek değerlerini ve violin grafiğin alt ve üst uçları en büyük ve en küçük değerleri göstermektedir. ns, anlamlı fark yok.

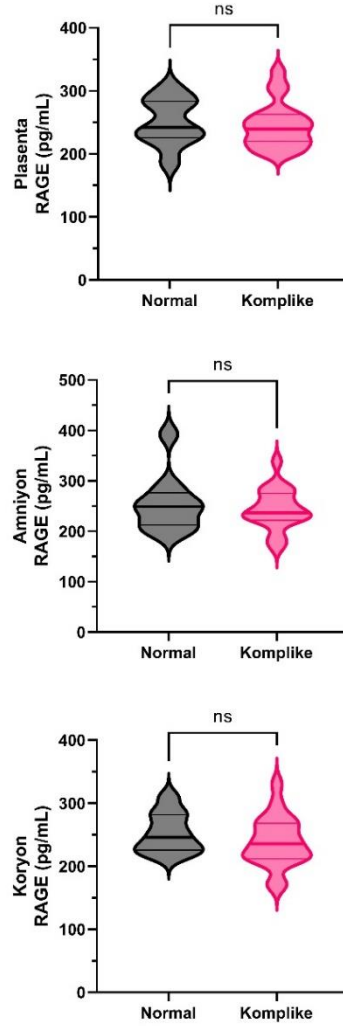
Şekil 5'te normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının AGE değerleri gösterildi. Çalışma grupları arasında AGE değeri açısından anlamlı bir fark bulunmadı.



Şekil 5. AGE

Şekil 5. Normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının AGE değerleri. Verilerin sunumunun yapıldığı violin grafikte koyu çizgi ortanca değeri, ince çizgiler %25 ve %75 çeyrek değerlerini ve violin grafiğin alt ve üst uçları en büyük ve en küçük değerleri göstermektedir. ns, anlamlı fark yok.

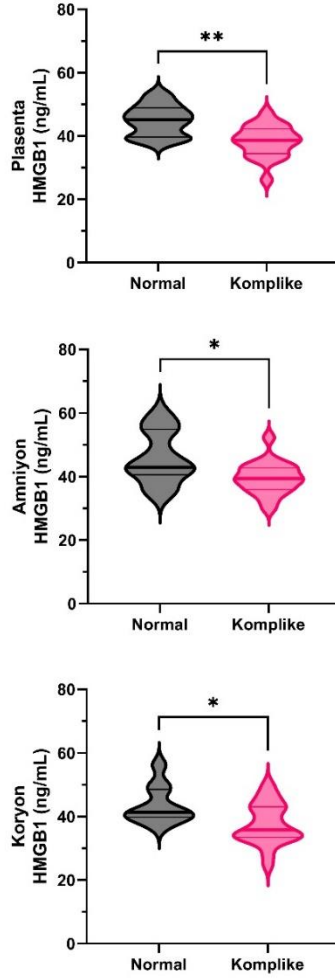
Şekil 6’da normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının RAGE değerleri gösterildi. Çalışma grupları arasında RAGE değeri açısından anlamlı bir fark bulunmadı.



Şekil 6. RAGE

Şekil 6. Normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının RAGE değerleri. Verilerin sunumunun yapıldığı violin grafikte koyu çizgi ortanca değeri, ince çizgiler %25 ve %75 çeyrek değerlerini ve violin grafiğin alt ve üst uçları en büyük ve en küçük değerleri göstermektedir. ns, anlamlı fark yok.

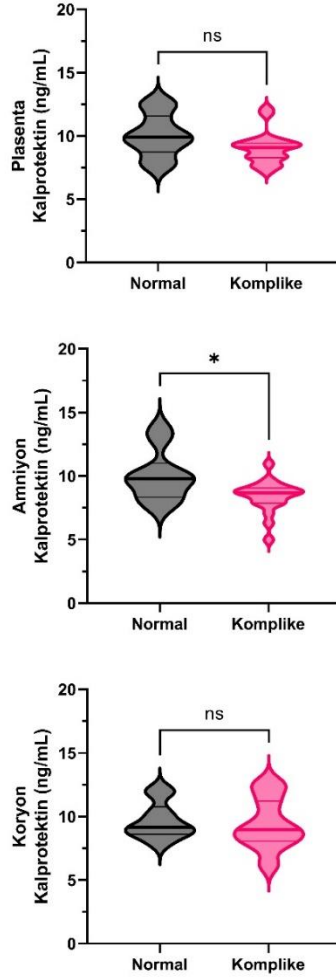
Şekil 7’de normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının HMGB1 değerleri gösterildi. Komplike gebeliklerde plasenta, amniyon ve koryon dokularında HMGB1 değeri normal gebeliklere göre anlamlı olarak düşük bulundu.



Şekil 7. HMGB1

Şekil 7. Normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının HMGB1 değerleri. Verilerin sunumunun yapıldığı violin grafikte koyu çizgi ortanca değeri, ince çizgiler %25 ve %75 çeyrek değerlerini ve violin grafiğin alt ve üst uçları en büyük ve en küçük değerleri göstermektedir. *, $p < 0,05$. **, $p < 0,01$.

Şekil 8’de normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının kalprotektin değerleri gösterildi. Komplike gebeliklerde amniyon dokusunda kalprotektin değeri normal gebeliklere göre anlamlı olarak düşük bulundu.



Şekil 8. Kalprotektin

Şekil 8. Normal ve komplike gebelik gruplarının plasenta, amniyon ve koryon dokularının kalprotektin değerleri. Verilerin sunumunun yapıldığı violin grafikte koyu çizgi ortanca değeri, ince çizgiler %25 ve %75 çeyrek değerlerini ve violin grafiğin alt ve üst uçları en büyük ve en küçük değerleri göstermektedir. ns, anlamlı fark yok. *, $p < 0,05$.

5. TARTIŞMA

Komplike gebelikler maternal ve fetal sağlığı etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Fetal büyüme kısıtlaması, preeklampsi ve gestasyonel diyabetes mellitus komplike gebeliklerin önde gelen sebepleri arasında yer alır (Joo et al., 2021; Nicolini et al., 2021). Bu gebeliklerde maternal ve yenidoğan morbidite/mortalitesi yüksektir. Komplike gebeliklerin patogenezi net olarak bilinmediği için antenatal yönetimi istenilen seviyede değildir. Yapılan çalışmalarda komplike gebeliklerin patogenezin açıklamak için plasenta, amniyon ve koryon sık kullanılan doku örnekleridir.

Aquaporinler (AQP), biyolojik membranlarda su ve küçük çözünen maddelerin taşınmasını sağlayan, lipit çift katlı tabakada yerleşmiş olan integral proteinlerdir. Günümüzde memeli ücrelerinde tanımlanmış 13 alt tipi bulunmaktadır. Bu 13 aquaporin türünden AQP-1, AQP-3, AQP-8, AQP-9 ve AQP-11 plasenta, amniyon ve koryonda varlığı gösterilmiş olan proteinlerdir. Daha önce yapılan çalışmalarda bu AQP'lerin normal gebelikteki işlevleri araştırılmış ve araştırılmaya devam etmektedir. AQP'lerin gebelik boyunca dinamik olarak gebelik boyunca amniyon sıvı hemostazında potansiyel olarak rol aldığı gösterilmiş ve burdan yola çıkarak anormal ekspresyonları sonucunda oligohidramnios ve polihidramniosa yol açabilecekleri ön görülmüştür(Beall et al., 2007; Damiano et al., 2006). AQP'lerin normal gebeliğin seyri sırasındaki rolleri açıklanmaya devam ederken fetal gelişme geriliği, preeklampsi ve gestasyonel diyabetes mellitus gibi komplike gebeliklerin patogenezinde rolü olduğu düşünölmektedir.

Bu çalışmada normal gebelik komplike gebelikliği olan iki hasta grubunda plasenta, amniyon ve koryon dokularında AQP-1, AQP-9 ve AQP-11 protein ekspresyonlarını değerlendirdik.

Çalışma grupları arasında plasenta, amniyon ve koryon doku homojenatlarında bakılan AQP-1, AQP-9 ve AQP-11 değerleri komplike gebeliklerde yüksek olmakla birlikte anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$).

Kalponin 2, hücre içi gerilim etkisi ile düzenlenen, kalmodulin bağlayıcı bir proteindir. Çeşitli dokularda bulunmakla birlikte yüksek mekanik gerilim olan hücrelerde çok miktarda bulunur (Zhang et al., 2021). Çalışmamızda komplike gebelikler ve normal gebeliklerde dokulara farklı baskı ve gerilim olacağı için kalponin 2 düzeylerinin farklı olabileceği ön görüldü. Ancak çalışma grupları arasında plasenta, amniyon ve koryondaki kalponin 2 düzeyleri komplike gebeliklerde daha düşük olmakla birlikte anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Gelişmiş glikasyon son ürünleri (AGE'ler) protein ve lipidlerin non-enzimatik glikasyonu sonucunda oluşan bir makromolekül grubudur. Yaşlanma, hiperglisemi, inflamasyon ve oksidatif stres durumlarında AGE oluşumu artar (Senatus & Schmidt, 2017). AGE'ler oluşuktan sonra RAGE'yi (AGE reseptörü) bağlamak üzere tetiklenir. Çalışmamızda komplike gebeliklerde özellikle oksidatif stresin önemli bir rolü olduğu düşünülerek AGE/RAGE ekspresyonları incelendi. Çalışma grupları arasında plasenta, amniyon ve koryon dokularında AGE/RAGE düzeyleri komplike gebelik grubunda daha düşük olmakla birlikte anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Steril inflamasyon ve yaşlanma fetal membranların bir özelliğidir. Steril inflamasyon ile birlikte yaşanan, stresli ve nekrotik hücreler oluşur. Bu hücreler yüksek düzeyde inflamatuvar hasar ile ilişkili moleküler patern belirteçleri (DAMP'ler) salgılar (Bouvier et al., 2020). HMGB1 doğum ile ilişkili DAMP'lerden biridir. Aynı zamanda HMGB1, RAGE için bilinen bir reseptör ligandıdır. HMGB1, RAGE ile birlikte preterm prematür erken membran rüptürü

(PPROM) ve preeklampsi gibi komplike gebeliklerle ilişkili bulunmuştur (Naruse et al., 2012; Rzepka et al., 2015). Çalışmamızda komplike gebeliklerde plasenta, amniyon ve koryonda HMGB1 düzeyi anlamlı olarak düşük bulundu.

Kalprotektin, kalsiyum bağlayıcı bir proteindir ve nötrofil sitosolünde bulunur. Yapılan çalışmalarda kalprotektinin preeklampsi ve bazı komplike gebeliklerde rol oynayan bir RAGE ligandı olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak kalprotektinin komplike gebeliklerde bir tarama veya sürveyans belirteci olarak kullanılabileceğini ön gördük. Çalışmamızda normal gebelik ve komplike gebeliklerde plasenta ve koryon dokularında bakılan kalprotektin ekspresyonlarında anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak komplike gebelik grubunda amniyonda kalprotektin miktarı anlamlı olarak düşük bulundu.

6. SONUÇ

Çalışmamızda komplike gebeliklerin patogenezinin anlaşılması amacıyla hastaları normal gebeliği olan ve komplike gebeliği olanlar şeklinde 2 gruba ayırdık. Plasenta, amniyon ve koryon dokularında AQP1, AQ9, AQP11, kalponin 2, AGE, RAGE, HMGB1 ve kalprotektin proteinlerinin ifadenmelerini inceledik. Çalışma sonucunda HMGB1 proteini komplike gebeliği olan hastalarda plasenta, amniyon ve koryon dokusunda anlamlı olarak azalmış olarak bulundu. Kalprotektin ise komplike gebeliği olan hastalarda amniyon dokusunda anlamlı olarak azalmış bulundu. Aynı zamanda komplike gebeliklerde kalprotektinin plasenta ve koryon dokularındaki ifadenmeleri düşük olmakla birlikte istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. AQP1, AQ9, AQP11 ifadenmeleri komplike gebelik grubunda yüksek olmakla birlikte

istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Kalponin 2, AGE, RAGE ifadenmeleri komplike gebeliklerde daha düşük olmakla birlikte istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır.

Komplike gebeliği olan kadınlarda plasenta, amniyon ve koryon dokularında AQP1, AQP9, AQP11 ifadenmelerinde anlamlılığa ulaşmayan bir artış bulunması, ileri çalışmalarda komplike gebelik grubunun kapsadığı hastalıklar olan GDM, PE ve PGD bulunan gebelikleri olan kadınlar ile ayrı araştırma grupları oluşturarak bu proteinlerin incelenmesinin faydalı olacağını desteklemektedir. İlave olarak CNN2, AGE, RAGE, HMGB1 ve kalprotektin ifadenmelerinde anlamlılığa ulaşmayan bir azalma bulunması da aynı şekilde yeni araştırmaların konusu yapılabilir. Bir bütun olarak ele alındığında amniyotik sıvı hemostazının ve oksidan-antioksidan dengesinin komplike gebeliklerde farklı bulunması, oldukça karmaşık olan GDM, PE ve PGD patogenezerinin bu molekülleri kapsayan ek araştırmalarda ele alınmasının faydalı olacağına işaret etmektedir.

7. KAYNAKÇA

Azad, A. K., Raihan, T., Ahmed, J., Hakim, A., Emon, T. H., & Chowdhury, P. A. (2021).

Human Aquaporins: Functional Diversity and Potential Roles in Infectious and Non-infectious Diseases. *Frontiers in Genetics*, 12(March).

<https://doi.org/10.3389/fgene.2021.654865>

Beall, M. H., Wang, S., Yang, B., Chaudhri, N., Amidi, F., & Ross, M. G. (2007). Placental and

Membrane Aquaporin Water Channels: Correlation with Amniotic Fluid Volume and

Composition. *Placenta*, 28(5–6), 421–428. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2006.06.005>

Bouvier, D., Giguère, Y., Blanchon, L., Bujold, E., Pereira, B., Bernard, N., Gallot, D., Sapin,

V., & Forest, J. C. (2020). Study of sRAGE, HMGB1, AGE, and S100A8/A9

Concentrations in Plasma and in Serum-Extracted Extracellular Vesicles of Pregnant

Women With Preterm Premature Rupture of Membranes. *Frontiers in Physiology*, 11(June),

1–9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00609>

Cilingir, I. G. U. (2018). Pregnancy outcomes in women with strictly controlled type 1 diabetes

mellitus. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 22(6), 798–800.

https://doi.org/10.4103/ijem.IJEM_139_18

Dadkhah Tehrani, F., Firouzeh, A., Shabani, I., & Shabani, A. (2021). A Review on

Modifications of Amniotic Membrane for Biomedical Applications. *Frontiers in*

Bioengineering and Biotechnology, 8(January), 1–25.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.606982>

Damiano, A. E. (2011). Review: Water channel proteins in the human placenta and fetal

membranes. *Placenta*, 32(SUPPL. 2), S207–S211.

<https://doi.org/10.1016/j.placenta.2010.12.012>

Damiano, A. E., Zotta, E., & Ibarra, C. (2006). Functional and Molecular Expression of AQP9 Channel and UT-A Transporter in Normal and Preeclamptic Human Placentas. *Placenta*, 27(11–12), 1073–1081. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2005.11.014>

Dariya, B., & Nagaraju, G. P. (2020). Advanced glycation end products in diabetes, cancer and phytochemical therapy. *Drug Discovery Today*, 25(9), 1614–1623.

<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.07.003>

Ducza, E., Csányi, A., & Gáspár, R. (2017). Aquaporins during pregnancy: Their function and significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12).

<https://doi.org/10.3390/ijms18122593>

Gomez-Lopez, N., Romero, R., Plazyo, O., Panaitescu, B., Furcron, A. E., Miller, D., Roumayah, T., Flom, E., & Hassan, S. S. (2016). Intra-Amniotic Administration of HMGB1 Induces Spontaneous Preterm Labor and Birth. *American Journal of Reproductive Immunology*, 75(1), 3–7. <https://doi.org/10.1111/aji.12443>

Gupta, A., Kedige, S. D., & Jain, K. (2015). Amnion and chorion membranes: Potential stem cell reservoir with wide applications in periodontics. *International Journal of Biomaterials*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/274082>

Henning, C., & Glomb, M. A. (2016). Pathways of the Maillard reaction under physiological conditions. *Glycoconjugate Journal*, 33(4), 499–512. <https://doi.org/10.1007/s10719-016-9694-y>

- Iizuka, T., Ono, M., Masumoto, S., Mitani, Y., Yamazaki, R., & Fujiwara, H. (2019). Amniotic epithelial cells damage by oxidative stress in cases of diffuse chorioamniotic hemosiderosis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 45(10), 2095–2099.
<https://doi.org/10.1111/jog.14084>
- Joo, E. H., Kim, Y. R., Kim, N., Jung, J. E., Han, S. H., & Cho, H. Y. (2021). Effect of endogenic and exogenic oxidative stress triggers on adverse pregnancy outcomes: Preeclampsia, fetal growth restriction, gestational diabetes mellitus and preterm birth. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18).
<https://doi.org/10.3390/ijms221810122>
- Li, S., Li, C., & Wang, W. (2020). Molecular aspects of aquaporins. In *Vitamins and Hormones* (1st ed., Vol. 113). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2019.08.019>
- Madeira, A., Moura, T. F., & Soveral, G. (2015). Aquaglyceroporins: Implications in adipose biology and obesity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(4), 759–771.
<https://doi.org/10.1007/s00018-014-1773-2>
- Myatt, L. (2002). Role of placenta in preeclampsia. *Endocrine*, 19(1), 103–111.
<https://doi.org/10.1385/ENDO:19:1:103>
- Naruse, K., Sado, T., Noguchi, T., Tsunemi, T., Yoshida, S., Akasaka, J., Koike, N., Oi, H., & Kobayashi, H. (2012). Peripheral RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts)-ligands in normal pregnancy and preeclampsia: Novel markers of inflammatory response. *Journal of Reproductive Immunology*, 93(2), 69–74.
<https://doi.org/10.1016/j.jri.2011.12.003>

Nicolini, G., Degli Esposti, D., Ianniello, E., Moroni, L., Bacchelli, S., Cicero, A. F. G., Fogacci, F., & Borghi, C. (2021). Long-term consequences of previous preeclampsia and complicated pregnancy: analysis of echocardiographic aspects. *Journal of Cardiovascular Medicine (Hagerstown, Md.)*, 22(12), 939–945.
<https://doi.org/10.2459/JCM.0000000000001229>

Ogunwole, S. M., Chen, X., Mitta, S., Minhas, A., Sharma, G., Zakaria, S., Vaught, A. J., Toth-Manikowski, S. M., & Smith, G. (2021). Interconception Care for Primary Care Providers: Consensus Recommendations on Preconception and Postpartum Management of Reproductive-Age Patients With Medical Comorbidities. *Mayo Clinic Proceedings: Innovations, Quality & Outcomes*, 5(5), 872–890.
<https://doi.org/10.1016/j.mayocpiqo.2021.08.004>

Pergialiotis, V., Prodromidou, A., Pappa, E., Vlachos, G. D., Perrea, D. N., & Papantoniou, N. (2016). An evaluation of calprotectin as serum marker of preeclampsia: a systematic review of observational studies. *Inflammation Research*, 65(2), 95–102.
<https://doi.org/10.1007/s00011-015-0903-0>

Rojek, A., Praetorius, J., Frøkiaer, J., Nielsen, S., & Fenton, R. A. (2008). A current view of the mammalian aquaglyceroporins. *Annual Review of Physiology*, 70, 301–327.
<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100452>

Rzepka, R., Dołęgowska, B., Rajewska, A., Kwiatkowski, S., Sałata, D., Budkowska, M., Domański, L., Mikołajek-Bedner, W., & Torbé, A. (2015). Soluble and endogenous secretory receptors for advanced glycation end products in threatened preterm labor and preterm premature rupture of fetal membranes. *BioMed Research International*, 2015.

<https://doi.org/10.1155/2015/568042>

Șapte, E., Costea, C. F., Cărăuleanu, A., Dancă, C., Dumitrescu, G. F., Dimitriu, G., Chihaia, M. A., Buzdugă, C. M., Cucu, A., & Turliuc, M. D. (2017). Histological, immunohistochemical and clinical considerations on amniotic membrane transplant for ocular surface reconstruction. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 58(2), 363–369.

Schoots, M. H., Bourgonje, M. F., Bourgonje, A. R., Prins, J. R., van Hoorn, E. G. M., Abdulle, A. E., Muller Kobold, A. C., van der Heide, M., Hillebrands, J. L., van Goor, H., & Gordijn, S. J. (2021). Oxidative stress biomarkers in fetal growth restriction with and without preeclampsia. *Placenta*, 115(September), 87–96.
<https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.09.013>

Senatus, L. M., & Schmidt, A. M. (2017). The AGE-RAGE axis: Implications for age-associated arterial diseases. *Frontiers in Genetics*, 8(DEC), 1–10.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00187>

Stanirowski, P. J., Majewska, A., Lipa, M., Bomba-Opoń, D., & Wielgoś, M. (2021). Ultrasound evaluation of the fetal fat tissue, heart, liver and umbilical cord measurements in pregnancies complicated by gestational and type 1 diabetes mellitus: potential application in the fetal birth-weight estimation and prediction of the fetal macr. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 13(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00634-7>

Szpilbarg, N., Martínez, N. A., Di Paola, M., Reppetti, J., Medina, Y., Seyahian, A., Parodi, M. C., & Damiano, A. E. (2018). New insights into the role of placental aquaporins and the pathogenesis of preeclampsia. *Frontiers in Physiology*, 9(OCT), 1–7.

<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01507>

Verkman, A. S., Anderson, M. O., & Papadopoulos, M. C. (2014). Aquaporins: Important but elusive drug targets. *Nature Reviews Drug Discovery*, *13*(4), 259–277.

<https://doi.org/10.1038/nrd4226>

Zhang, R., Li, S., Wang, Y., Cai, W., Liu, Q., & Zhang, J. (2021). Serum calponin 2 is a novel biomarker of tubal ectopic pregnancy. *Fertility and Sterility*, *116*(4), 1020–1027.

<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.05.101>