



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

LPS İLE İNDÜKLENMİŞ KORYOAMNİYONİT MODELİNDE
PLASENTAL DOKU VE FETAL BEYİN HASARINA KARŞI
SALUBRİNAL'İN ETKİSİ

Pelin İÇTEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Halil AŞCI

**Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından TYL-2019-7406 proje numarası ile desteklenmiştir**

ISPARTA – 2021

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans** çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşğıdaki bu jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/06/2021

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Halil AŞCI
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mehtap SAVRAN
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Şükriye YEŞİLOT
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bucak Sağlık Yüksek Okulu
Hemşirelik Bölümü

ONAY: Bu yüksek lisans tezi, Fakölte Yönetim Kurulu'na belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ebru ÇUBUK DEMİRALAY
Enstitü Müdürü

BEYAN

“LPS İle İndüklenmiş Koryoamniyonit Modelinde Plasental Doku ve Fetal Beyin Hasarına Karşı Salubrinal’in Etkisi” adlı Yüksek Lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tezi Hazırlayan

Pelin İÇTEN

İmza

Danışman

Doç. Dr. Halil AŞCI

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi, beceri ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında her aşamada büyük katkıları olan tez danışmanım Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Halil AŞCI'ya,

Her türlü konuda desteğini gösteren, akademik bilgi ve tecrübesinin yanında mütevazı ve etik duruşuna da çok saygı duyduğum Dr. Öğr. Üyesi Mehtap SAVRAN'a,

Histopatolojik değerlendirmelerdeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Kanat GÜLLE ve Arş. Gör. Dr. Murat SEVİMLİ'ye,

Eğitim sürecim boyunca beni destekleyen ve yardımlarını eksik etmeyen yüksek lisans arkadaşlarım Mine KAYNAK ve Nursel HASSEYİD'e,

Deney aşamasındaki yardımlarından dolayı SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına,

Çalışmamızı TYL-2019-7406 proje numarası ile destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Eğitim sürecim dahil bana her konuda büyük moral ve motivasyon kaynağı olan ailemden ayırmadığım canım dostum Sibel İNCE ÖZKAN'a ve İlyas ÖZKAN'a,

Bana olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olduğunu hissettiğim, karşılaştığım zorluklara karşı güçlü durmamı sağlayan, yürümeye gayret ettiğim yolumda iyi ki karşılaşmış olduğum Sinan ÖZDEMİR'e,

Hayatımın her döneminde beni destekleyen, hiçbir fedakarlığı esirgemeyen, sabır ve sevgiyle beni bu günlere getiren babam Turgut İÇTEN ve annem Nazlı İÇTEN'e ve biricik kardeşim Pınar İÇTEN'e teşekkür ederim.

PELİN İÇTEN
ISPARTA-2021

ÖZET

LPS İle İndüklenmiş Koryoamniyonit Modelinde Plasental Doku ve Fetal Beyin Hasarına Karşı Salubrinal'ın Etkisi

Korioamniyonit (KRY), membran rüptürü, erken doğum, uzun süreli doğum, tütün kullanımı ve bakteriyel veya viral enfeksiyon kökenli olup; hem maternal hem de neonatal sekeller için risk oluşturan bir tablodur. Çalışmamızın amacı, Lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulan KRY modelinde plasental doku ve fetal beyinde meydana gelen hasara karşı endoplazmik retikulum (ER) stres inhibitörü olan Salubrinal (SLB)' in etkisinin araştırılmasıdır.

Çalışmamızda 17. gestasyonel günündeki 24 adet Wistar Albino cinsi sıçan kontrol, LPS (1 mg/kg intraperitoneal (i.p.)), LPS+SLB (1 mg/kg LPS i.p. ve 1 mg/kg SLB i.p.) ve SLB (1 mg /kg i.p.) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. DeneySEL histeretomi işleminden sonra plasenta ve fetal beyin dokuları histopatolojik analizler için formaldehit solüsyonu içerisine alındı.

Elde edilen bulgulara göre; LPS grubu plasenta dokularında bazal zonda yaygın konjesyon, labirent zonda trofoblastik hücrelerde dejenerasyon ve hem bazal hem de labirent zonda inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlenirken SLB tedavisi ile bu dokularda normale yakın bir görünüm izlendi. Sadece SLB uygulanan grupta da herhangi bir patoloji saptanmadı. LPS grubu fetal beyin dokularında ise ventriküler ve ara zonlarda ödem ve konjesyon saptanırken SLB tedavisi ile bu bulgulara belirgin gerileme gözlemlendi.

Sonuç olarak; ER stresi, KRY'ye bağlı plasental doku ve fetal beyin hasarında rol oynayan mekanizmalardan birisidir ve SLB tedavisi bu hasarın önlenmesinde faydalı olabilir.

Anahtar kelimeler: Lipopolisakkarit, Koryoamniyonit, Plasenta, Fetal beyin, Endoplazmik retikulum stresi, Salubrinal

ABSTRACT

Effect of Salubrinal Against Placental Tissue and Fetal Brain Injury in LPS-Induced Chorioamnionitis Model

Chorioamnionitis (CRY), with membrane rupture, preterm labor, prolonged labor, smoking and bacterial or viral infection origin; is a condition that presents a risk for both maternal and neonatal sequelae. The aim of our study was to investigate the effect of Salubrinal (SLB), an endoplasmic reticulum (ER) stress inhibitor, against damage to placental tissue and fetal brain in the Lipopolysaccharide (LPS) induced CRY model.

In this study, 24 Wistar Albino rats on the 17th gestational day; divided into 4 groups as; control, LPS (1 mg / kg intraperitoneal (ip)), LPS + SLB (1 mg / kg LPS ip and 1 mg / kg SLB ip) and SLB (1 mg / kg). ip). After experimental hysterectomy, placenta and fetal brain tissues were taken into formaldehyde solution for histopathological analysis.

According to the findings obtained; widespread congestion in the basal zone, degeneration of trophoblastic cells in the labyrinth zone and inflammatory cell infiltrations in both basal and labyrinth zones were observed in the placental tissues of the LPS group. No pathology was detected in only the SLB group. While edema and congestion were detected in the ventricular and intermediate zones in the fetal brain tissues of the LPS group, a significant improvement was observed in these findings with SLB treatment.

As a result; ER stress is one of the mechanisms that plays a role in placental tissue and fetal brain damage due to CRY, and SLB therapy might prevents this damage.

Keywords: Lipopolysaccharide, Chorioamnionitis, Placenta, Fetal brain, Endoplasmic reticulum stress, Salubrinal.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Feto-maternal Dolaşım Fizyolojisi.....	3
2.2. Gebelikte Maternal Enfeksiyon ve Koryoamniyonit.....	5
2.2.1. Koryoamniyonit Fizyopatogenezi ve Fetal Etkilenme	5
2.2.2. Perinatal Beyin Hasarı ve Serebral Palsi	6
2.3. Beyin Hasarı Mekanizmaları.....	11
2.4. Endoplazmik Retikulum Stresi.....	13
2.4.1. Protein Kinaz RNA-Benzeri ER Kinaz Yolağı	14
2.4.2. İnositol Gerektiren Kinaz 1 Yolağı.....	16
2.4.3. Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 Yolağı	16
2.4.4. Endoplazmik Retikulum Stresiyle İndüklenen Apoptozis Yolakları.....	17
2.4.4.1. Transkripsiyonel Uyarı Yolağı.....	17
2.4.4.2. C-Jun N-Terminal Kinaz Yolağı.....	18
2.4.4.3. B Hücreli Lenfoma 2 Protein Ailesi	19
2.4.4.4. Kaspazlar	19
2.5. Salubrinal.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Deney Grupları	21
3.2. Histopatolojik İncelemeler	25
3.2.1. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	25
3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	25

3.2.3. Doku Örneklerinde Histopatolojik İncelemeler.....	26
3.2.3.1. Fiksasyon ve Yıkama	26
3.2.3.2. Doku Takibi	26
3.2.3.3. Kesit Alma	27
3.2.3.4. Hemotoksilen-Eozin Boyama	27
3.2.3.5. Değerlendirme.....	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. Smear Sonuçları	28
4.2. Histopatolojik Bulgular	29
4.2.1. Fetal Plasenta Örneklerinde Histopatolojik Bulgular	29
4.2.2. Fetal Beyin Örneklerinde Histopatolojik Bulgular	33
5. TARTIŞMA	34
SONUÇ.....	39
KAYNAKLAR	40
EKLER.....	53
Ek 1. Etik Kurul Onayı.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	54

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1. Deney grupları ve uygulamalar	22
Tablo 3.2. Dehidratasyon aşamasında kullanılan alkol dereceleri ve uygulama süreleri.....	26
Tablo 3.3. Hemotoksilen Eozin boyama protokolü.....	27
Tablo 4.1. Plasentadaki bazal zon ve labirent zona ait histopatolojik değerlendirmeler	32
Tablo 4.2. Fetal beyin dokularının histopatolojik değerlendirmesi.....	33



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Katlanmamış protein cevabı sinyali yolları	15
Şekil 2.2. Endoplazmik retikulum stresiyle ilişkili apoptotik yollar.....	18
Şekil 4.1. Pozitif vajinal smear. Sperm (siyah ok) ve vajinal epitelyal hücreler (beyaz ok). Kristal viole, 20x, ölçüm çubuğu = 100µm.....	28
Şekil 4.2. Pozitif vajinal smear. Sperm (siyah ok) ve vajinal epitelyal hücreler (beyaz ok). Kristal viole, 40x, ölçüm çubuğu = 50µm.....	28
Şekil 4.3. Kontrol grubu fetal plasenta bazal zon normal histolojik yapısı. [(A) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.]	29
Şekil 4.4. Kontrol grubu fetal plasenta labirent zon normal histolojik yapısı. [(A) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.].....	29
Şekil 4.5. LPS grubu fetal plasenta bazal zon. [(A) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (siyah ok başı), inflamatuvar hücre infiltrasyonları (beyaz ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (siyah ok başı), yaygın konjesyon alanları (siyah yıldız). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.].....	30
Şekil 4.6. LPS grubu fetal plasenta labirent zon. [(A) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı), inflamatuvar hücre infiltrasyonları (siyah üçgen). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı), inflamatuvar hücre infiltrasyonları (siyah üçgen). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.].....	30
Şekil 4.7. LPS+SLB grubu fetal plasenta bazal zon. [(A) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.]	31

- Şekil 4.8.** LPS+SLB grubu fetal plasenta labirent zon. [(A) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.] 31
- Şekil 4.9.** SLB grubu fetal plasenta bazal zon. [(A) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.] 32
- Şekil 4.10.** SLB grubu fetal plasenta labirent zon. [(A) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.] 32
- Şekil 4.11.** Deney gruplarına ait fetal beyin dokularının histopatolojik görüntüsü. [(A) Kontrol grubu; ventriküler zon (ok), ara zon (ok başı) ve kortikal plate (yıldız) normal histolojik görünümde. (B) LPS grubu; ventriküler zon (ok) ve ara zonda (ok başı) ödem ve konjesyon, kortikal plate (yıldız) normal histolojik görünümde. (C) LPS+SLB grubu; ventriküler zon (ok), ara zon (ok başı) ve kortikal plate (yıldız) histopatolojik bulgulara azalma. (D) SLB grubu; ventriküler zon (ok), ara zon (ok başı) ve kortikal plate (yıldız) normal histolojik görünümde. H-E, 20x, ölçüm çubuğu = 100 µm.] 33

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1. Deney hayvanlarına Lipopolisakkarit ve Salubrinal uygulaması.....	22
Resim 3.2. Gebe sıçanlarda histerotomi işlemi ile preterm doğum oluşturulması. ...	23
Resim 3.3. Alınmış plasenta dokusu.....	23
Resim 3.4. Plasenta dokuları ve fetüslerin görüntüsü.....	24
Resim 3.5. Fetüslerin takip işlemi.	24
Resim 3.6. Plasenta ve fetal beyin dokularının formaldehit solüsyonu içerisinde saklanması.	25



KISALTMALAR DİZİNİ

AMPA	: Alfa-Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İzoksazol-Propiyonik Asit
ASK1	: Apoptoz Sinyali Düzenleyici Kinaz 1
ATF4	: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4
ATF6	: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6
ATF6α	: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 Alfa
BAK	: BCL2 Antagonist Killer 1
BAX	: BCL2 İlişkili X Proteini
BCL2	: B Hücresi Lenfoma 2
BIP	: İmmunoglobulin Ağır Zincir Bağlanma Proteini
Ca⁺²	: Kalsiyum
CALN	: Kalneksin
CALR	: Kalretikulin
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
Cas-12	: Kaspaz-12
Cas-3	: Kaspaz-3
Cas-6	: Kaspaz 6
Cas-7	: Kaspaz 7
Cas-9	: Kaspaz-9
CHOP	: C/EBP Homolog Proteini
CXCL1	: Kemokin (C-X-C motifi) Ligandı 1
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DR5	: Ölüm Reseptörü 5
eIF2α	: Ökaryotik Başlatma Faktörü 2 Alfa
eNOS	: Endotelyal NOS
ER	: Endoplazmik Retikulum
ERAD	: ER İlişkili Bozulma
ERO1	: Endoplazmik Retikulum Oksidoredüksiyon 1
G	: Gram
GADD153	: Büyüme Durdurma ve DNA Hasar Geni
GADD34	: Büyüme Durdurma Ve DNA Hasar Geni 34

GCI	: Global Serebral İskemi
GRP170	: Glukozla Düzenlenen Protein 170
GRP78	: Glukozla Düzenlenen Protein 78
GRP94	: Glukozla Düzenlenen Protein 94
H-E	: Hematoksilen-Eozin
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
HI	: Hipoksi-İskemi
HSP	: Isı Şok Proteini
HSP47	: Isı Şok Proteini 47
ICAM-1	: Hücreler Arası Adezyon Molekülü 1
IL-1β	: İnterlökin-1beta
IL-6	: İnterlökin-6
IL-8	: İnterlökin-8
IRE1	: İnositol Gerektiren Kinaz 1
iNOS	: İndüklenebilir NOS
ip	: İntraperitoneal
JNK	: C-Jun N-Terminal Kinaz
KAR	: Kainik Asit Reseptörleri
KBB	: Kan beyin bariyeri
Kg	: Kilogram
KRY	: Koryoamniyonit
LPS	: Lipopolisakkarit
MAPK	: Mitojen Aktive Protein Kinaz
mGluR	: Metabotropik Glutamat Reseptörü
MI	: Mililitre
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
NF-$\kappa\beta$	: Nükleer Faktor Kappa Beta
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
nNOS	: Nöronal NOS
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
Nrf2	: Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2,

NVB	: Nörovasküler Birim
°C	: Derece Santigrat
PAF	: Trombosit Agregasyon Faktör
PBH	: Perinatal Beyin Hasarı
PDI	: Protein Disülfid İzomeraz
PE	: Preterm Eylem
PERK	: Protein Kinaz RNA-Benzeri ER Kinaz
PP1	: Protein Fosfataz 1
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SF	: Serum Fizyolojik
SLB	: Salubrinal
SP	: Serebral Palsi
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör- Alfa
TRAF2	: TNF Reseptörü ile İlişkili Faktör 2
TRB3	: Tribbles 3
UPR	: Katlanmamış Protein Cevabı
VCAM-1	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
XBP1	: X-Box Bağlanma Proteini 1
%	: Yüzde Değeri
±	: Artı Eksi
µm	: Mikrometre

1. GİRİŞ

Preterm eylem (PE), 37 tamamlanmış gebelik haftasından önce gerçekleşen doğum olarak tanımlanmaktadır ve neonatal mortalitenin başlıca nedeni olarak gösterilmektedir. Bu doğumların yaklaşık % 85'i orta (32-33 hafta) ila geç preterm (34-36 hafta) doğumlar iken, % 10'unu çok erken (28-31 hafta) ve % 5'ini aşırı derecede erken (< 28 hafta) gerçekleşen doğumlar oluşturmaktadır (1). PE'den sağ kalanların uzun süreli nörolojik bozukluklardan muzdarip olmaları bu konunun önemini ortaya koymaktadır (2, 3).

PE büyük oranda intrauterin enfeksiyon nedeniyle meydana gelmektedir. İntrauterin enfeksiyon bulguları izlenen gebeliklerde interlökin-1beta (IL-1 β), interlökin-8 (IL-8) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) gibi sitokinlerin seviyelerinde artış görülmüş ve bu sitokinlerin, PE'nin oluşmasına zemin hazırladığı ortaya koyulmuştur (4, 5). Bunun yanında inflamatuvar sitokinler, beyin hasarını tetikleyen intrauterin enfeksiyon sürecinde merkezi bir rol oynamaktadır. Amniyon sıvısında veya fetal kanda yüksek konsantrasyonlarda proinflamatuvar sitokinlere maruz kalan prematür bebeklerde beyaz cevher hasarı ve buna bağlı olarak serebral palsi (SP) riski bulunmaktadır (6-9). İntraserebral ve sistemik Lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonları, inflamatuvar yanıtları ve belirgin beyaz cevher hasarını indüklemektedir.

Endoplazmik retikulum (ER) salgı ve membran proteinlerinin transkripsiyon sonrasında hedef bölgeye doğru bir şekilde katlanarak gitmelerini sağlayan bir organeldir (10, 11). Protein sentezi için kalite kontrol merkezi görevi bulunmaktadır. ER çeşitli nedenlerle görevini yerine getiremediğinde ER lümeninde katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinler birikir ve ER stresine yol açar. ER bu stresle başa çıkmak için katlanmamış protein cevabı (UPR) denilen hücre içi sinyal yollarını aktif hale getirir ve yeniden homeostaz sağlanmaya çalışır.

Çalışmamızda kullandığımız farmakolojik ajan Salubrinol (SLB), ER stresini için kritik öneme sahip olan ökaryotik başlama faktörü 2 α (eIF2 α)'nın defosforilasyonun selektif bir inhibitörü olma özelliği taşımaktadır (12, 13).

eIF2 α 'nın defosforilasyonunun inhibisyonu ER'nin iş yükünü azaltarak strese karşı sitoprotektif etki sağlamaktadır.

Bu çalışmada LPS ile indüklenen koryoamniyonit (KRY) modelinde plasental ve fetal beyin hasarına karşı eIF2 α 'nın defosforilasyonunun inhibisyonunu sağlayan SLB'nin etkisinin araştırılmasını amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Feto-maternal Dolaşım Fizyolojisi

Morula evresinde farklılaşan trofektoderm insan plasentasının oluşumunda ilk basamaktır. Oluşan yapı trofoblast tabakasının blastokisti çevrelemesini sağlar ve gebelik süresince feto-maternal arayüzde önemli bir role sahiptir (14).

Trofoblast, ilk implantasyondan sonra fertilizasyonun 8. gününde iç tabakada bulunan mononükleer sitotrofoblast ve dış tabakada bulunan multinükleer sinsidyotrofoblast hücrelerine farklılaşır. Tek nükleus, DNA (Deoksiribo nükleik asit) sentezi, mitoz yapabilme ve iyi sınırlanmış hücre duvarları gibi özellikler sitotrofoblasta aittir. Sinsidyotrofoblast ise şekil ve boyutları birbirinden farklı olan çok sayıda nükleusa sahiptir. Hücre duvarı olmaması ve amorf bir sitoplazmaya sahip olması nedeniyle de transportta kritik öneme sahiptir (14).

İmplantasyonun tamamlanmasından sonra trofoblast; koryonik villusların oluşmasını sağlayan villöz trofoblast ve desidua ve myometrium içinde ilerleyen aynı zamanda maternal damarları penetre eden ekstrasvillöz trofoblast olmak üzere iki ana forma farklılaşır. Ek olarak ekstrasvillöz trofoblast, desiduya invaze olan, plasental yatak dev hücrelerini oluşturan ve spiral arteriollerini saran interstisiyel trofoblast ve spiral arterlerin lümenine penetre olan endovasküler trofoblast olmak üzere ikiye ayrılır (15).

Hemokoriyal, insan plasentasını ifade etmek için kullanılan bir terim olup; hemo sinsidyotrofoblastı beslenmesinden sorumlu maternal kanı tanımlamarken, koriyo ise plasentayı yani koryonu ifade etmektedir (16).

Koryon villusları yaklaşık olarak fertilizasyonun 12. gününde görülmeye başlanır. Sekonder vililer, mezenkimal kordlar tarafından solid trofoblast kolonlarının invazyonu sonucu oluşur. Anjiyogenezin başlamasının ardından mezenkimal kordlarda oluşan vililer, tersiyer vililer olarak adlandırılır. Yaklaşık 15. güne kadar maternal arteriyel kan intervillöz aralığa girmez. Fertilizasyonun 17. gününden sonra ise plasental dolaşımı oluşturan fetüsün kan damarları işlevini kazanır. Koryonik kan damarlarının embriyonik kan damarları ile bağlanması sonucu fetal plasental dolaşım tamamlanır (14).

Genel olarak plasenta, fetüsün beslenmesi, korunması ve solunum gibi hayati öneme sahip fonksiyonlardan sorumludur (17). Fetal gelişiminde büyük öneme sahip olan plasentanın, sitokin salınımı, antikor transferi gibi rolleri de bulunmaktadır (18,19). Plasenta, protein, lipit, karbonhidrat, su, oksijen ve elektrolitler gibi hayati öneme sahip maddeleri maternal dolaşımdan fetüsün dolaşımına aktardığı gibi, karbondioksit ve fetal metabolizma artık ürünlerini de fetoplasental dolaşımdan maternal dolaşıma atılmasını sağlar (20, 21).

Fetoplasental dolaşım ile maternal dolaşım arasında bulunan doku katman miktarının, plasental geçirgenlik ve bağışıklık ile ilgili madde transferiyle ters orantılı olduğu Porter (1976) tarafından belirtilmiştir (22). Antikorların fetal dokulara aktarımının vitellin kesesi aracılığı ile gerçekleştiği fikrini savunan Brambell ve arkadaşları (1949) ise, ilk defa immun transfer kavramından bahsetmişlerdir (23).

İntrauterin dönemde plasenta aracılığı ile sağlanan fetal bağışıklık, yenidoğanın ekstrauterin ortama uyum sağlamasında önemli rol oynar. Plasenta aracılığı ile fetüse transfer edilen maternal antikorlar sayesinde yenidoğan, enfeksiyöz ajanlara karşı yaşamın ilk aylarında korunmuş olur (24).

Yenidoğan tarafından kolostrumun yutulması ve barsaklardan kolostrumun emilimi pasif bağışıklık aktarımında önemlidir (25, 26). Fetüse pasif bağışıklık aktarımında bir sorun olup yenidoğanın enfeksiyöz ajanlara karşı savunmasız kalması durumu yenidoğanda, morbidite ve mortaliteyi artırabilir (25).

Plasentadan İmmünoglobulin G'nin aktif transferi ilk trimesterde başlayıp gebeliğin sonuna doğru artarak devam eder. Göbek kordonunda bulunan İmmünoglobulin G antikorunun düzeyleri, gebelik yaşı ile doğrusal bir korelasyon sergilemektedir (27). Ayrıca fetüse antikor transferi, 34 haftadan sonra yüksek seviyelere ulaşmaktadır. Bu nedenle prematüre yenidoğanlar, özellikle aşırı prematüre olanlar, koruyucu antikor seviyelerine ulaşamazlar (28).

2.2. Gebelikte Maternal Enfeksiyon ve Koryoamniyonit

2.2.1. Koryoamniyonit Fizyopatogenezi ve Fetal Etkilenme

KRY peripartum dönemde ortaya çıkabilecek bir durum olup bir çok faktör (tütün kullanımı, nullipar gebelik, membran rüptürü, uzun süreli doğum, membran rüptüründen sonra çoklu vajinal muayeneler ve bakteriyel veya viral enfeksiyon) nedeniyle meydana gelebilir (29). Literatürde enfeksiyöz ve inflamatuvar bir süreç olarak nitelendirilen KRY, retinopati, uterus inflamasyonu, beyin anomalileri ve erken doğum ile ilişkilidir (30-32). KRY'ye neden olan enfeksiyöz (bakteriyel, fungal veya viral) ajanlar arasında bakteriyel kaynak olarak *Escherichia coli*, *Ureaplasma*, grup B streptokok, *Bacteroides*, *Mycoplasma pneumoniae* ve *Gardnerella vaginalis* bulunmaktadır (33). *Kandida* enfeksiyonunun da erken doğuma neden olan KRY için bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir (34, 35). Bunun yanı sıra *Trichomoniasis* enfeksiyonu, özellikle cinsel yolla bulaşan hastalığı olan genç yetişkinlerde KRY meydana gelmesinde bir risk faktörüdür. KRY aslında gebelikte dikey bulaş açısından bir risk teşkil etmesine rağmen, doğum sırasında insan bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV) pozitif ve HIV negatif kadınlarda görülen KRY insidansı önemli ölçüde farklılık göstermemiştir. Yapılan bir çalışmada demografik ve risk faktörleri açısından benzer özellikleri olan 298 kadın araştırılmış ve KRY'nin yüksek insidansa sahip olması, vajinal muayene sayısı ile doğru orantılı bulunmuştur (36).

Doğum esnasında görülen KRY oranı yaklaşık olarak % 4 olmasına rağmen bu oran erken membran rüptürü ve erken doğumlarda artar. KRY belirtileri olan kadınların değerlendirildiği çalışmalarda, histolojik KRY ve bazı klinik belirtiler (ateş, rahim hassasiyeti ve kötü kokulu vajinal akıntı) arasında kayda değer bir ilişki olduğu ortaya koyulmuştur (37, 38). Vaskülitli histolojik KRY'nin ise erken doğum sıklığı ve erken membran rüptürü gibi hastalıklarla bağlantılı olduğu öne sürülmüştür (30).

Preterm doğumlarda yaklaşık olarak % 8 ile % 50 oranında plasenta/koryon zarı enfeksiyonunun görülebileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (39, 40). KRY gebelik sırasında çoğunlukla uzamış membran rüptürü öyküsü ve doğum ile

ilişkilendirilmiştir. Ayrıca gebelik süreci normal olan kadınlarda plasentada inflamasyon ile uyumlu olan histopatolojik bulgular görülebilmektedir (41).

Neonatal ve maternal sekel bulguları için KRY bir risk faktörü oluşturmaktadır. Ayrıca, sezaryen sonrası KRY tedavisi alan hastaların yaklaşık olarak üçte birinde endometrit görülebilmektedir. Endometrit oranı, korioamniyonit sonrası gerçekleşen sezaryen ile vajinal doğumlarda aynıdır. Yapılan çalışmalarda, doğum sonrası antibiyotik tedavisinin korioamniyonit sonrası endometrit görülme riskini azaltmadığı görülmektedir (42).

KRY' nin yenidoğanlarda birçok komplikasyonları (premature doğum, SP, premature retinopatisi, nörolojik anomaliler, respiratuvar distress sendromu, premature bebeklerde bronkopulmoner displazi, yenidoğan sepsisi ve yenidoğan ölümü) bulunmaktadır (43).

2.2.2. Perinatal Beyin Hasarı ve Serebral Palsi

Perinatal beyin hasarı (PBH), uzun dönem nörogelişimsel bozukluklara (bilişsel, nörolojik, motor ve duysal engellilik vb) neden olabilir. Hamilelik yaşının azalmasıyla birlikte morbiditesi ile görülme sıklığı da artış gösterir (44).

Gebelik yaşı açısından değerlendirildiğinde, PBH, herhangi bir zamanda doğan bebekleri etkileyebilir. Aslında term bebeklere kıyasla 32. gebelik haftasından önce doğumu gerçekleştirenler, perinatal hasar açısından daha savunmasızdır (44). Dolayısıyla bu bebekler beyin hasarına daha yatkın olurlar. Bu hasarın esas mekanizmaları, hipoksi-iskemi (HI) veya inflamatuvar süreçler olup, bunlar da PBH' yi kuvvetlendirecek bir dizi olayı tetikleyen durumlardır (45).

Bozulmuş oksijenasyon durumuna term fetüsün yanıt vermesini sağlayan çeşitli adaptasyon mekanizmaları bulunmaktadır. Aslında fetüs oksijenizasyonun kısıtlandığı herhangi bir durumda, metabolik ihtiyaçlarını çeşitli adaptif yollarla karşılar. Bu adaptif yollar arasında, hemoglobine daha yüksek oranda oksijen bağlama, oksijen tüketimini sınırlama ve oksijen açısından zengin olan kanı hipoksik hasar açısından riskli dokulara göndermesi sayılabilir. Fetüste hipoksi durumuna yanıt olarak birtakım kardiyovasküler olaylar (kardiyak oksijen artması, fetal kalp hızının yavaşlaması, diyastol sonu dolum süresinin ve ventriküler diyastol sonu

hacminin artması) gelişir. Bu gelişen kardiyovasküler olaylar neticesinde adrenal bez, kalp ve beyini besleyen damarların dilatasyonu ve periferik vazokonstrikisyona sekonder olarak kan dolaşımında ve arteriyel kan basıncında artış meydana gelir (46).

Term fetüsün Hİ olayına yanıt olarak gösterdiği fizyolojik adaptif mekanizma durumlarının aksine, preterm fetüs, henüz gelişimini tamamlamamış serebrovasküler otoregülasyon mekanizmasına sahiptir. Bunun neticesinde preterm fetüs, herhangi bir hipoksik olaya maruz kaldığında, beyin kanlanmasını idame etmede yetersiz kalır ve bu durum da preterm fetüste nörolojik hasar oluşma durumunu kolaylaştırır. Hİ durumu ile karşılaşan hücrelerin esas olarak metabolik ihtiyaçlarının giderilememesi, nörolojik hasar oluşmasında temel mekanizmadır (45). Hİ olayından esas olarak en fazla etkilenen bölgeler arasında beyin sapı, talamus, sensorimotor korteks ve serebellum sayılabilir (47). Hipoksi gelişiminden sonra serebral yapıların reperfüzyonu üzerine, hücre düzeyinde metabolik fonksiyonlarda geçici bir yenilenme durumu vardır. Bu süreci birtakım metabolik olaylar (glikoz metabolizmasında ikincil bir azalma ve yüksek enerjili fosfatlarda eksiklik) takip eder. Bu metabolik olaylar da reaktif oksijen türleri (ROT), apoptoz ve ilerleyen süreçte serebral hasara sebep olan inflamasyon ile neticelenir (48-52).

Aspartat ve glutamat gibi eksitator aminoasitlerin, hücre düzeyinde hasara cevap olarak serebral dokulardan salıverilmesi, serebral dokular üzerinde eksitotoksiteye neden olur (49). Oligodendroglial prekürsör hücrelerde ve nöronlarda alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propiyonik asit (AMPA) ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin aktive olması, intraselüler kalsiyum (Ca^{+2}) akümüasyonu ve toksisiteye neden olan birtakım faktörlerin salınımı ile mikrogial hücrelerin aktive olmasına neden olur (50). Proapoptotik proteinlerin salıverilmesi sonucu ortaya çıkan mitokondriyal bozukluk, apoptoza sebep olur (51). ROT oluşması, hücre işlevini ve yapısını bozarak nöronal hasar sürecine katkı sağlar (52). Ayrıca, birtakım faktörlerin ROT, nitrik oksit (NO), tamamlayıcı faktörler, kemokinler, proinflamatuvar sitokinler, eksitotoksik amino asitler, proteazlar) sentezi ve salıverilmesi, makrofaj ve mikrogia hücrelerinin aktive olmasıyla tetiklenen inflamasyon, sekonder beyin hasarının şiddetini daha da artırır (53, 54).

SP, gelişimsel ve fiziksel bir rahatsızlık olup şiddeti değişen düzeyde olmasına rağmen ortak gelişimsel özellikler taşır (55). 1861 yılında Little tarafından karakterize edilen SP ile ilgili olarak, sonrasındaki 150 yıl içinde hastalığa neden olan etmenler ve birtakım klinik özellikleriyle ilgili farklı düşünceler ortaya atılmıştır. SP hastalığı 2006'da uluslararası bir panelde: "Serebral palsi, gelişen fetal veya infant beyinde meydana gelen ilerleyici olmayan rahatsızlıklara dayandırılan aktivite kısıtlamasına neden olan hareket ve duruş gelişiminde kalıcı bir grup hastalığı tanımlar." şeklinde tanımlanmıştır (56).

SP yaklaşık olarak 1.5 - 2.5 / 1000 canlı doğumda görülen bir hastalık olup, çocukluk çağı morbiditenin en önemli sebeplerinden birisidir. Prevalansı, term bebeklere kıyasla, prematür doğan bebeklerde daha yüksektir. 28 haftadan daha erken doğan bebekler SP açısından daha büyük risk altındadır. Ayrıca doğum ağırlığı düşük olan bebeklerde SP görülme prevalansının daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Dolayısıyla 1500 g' dan az doğan çok düşük doğum ağırlıklı bebekler SP açısından en büyük riski teşkil etmektedir. Bu bebeklerde SP yaklaşık olarak % 5 - % 15 oranında görülür. SP'lerin yaklaşık % 80' ine prenatal olaylar neden olurken, % 10' unda ise postnatal olaylar ön planladır (57).

SP teşhisinde gecikme ve hastalığın esas olarak 1-2 yaş ya da daha ileri dönemlerde görülmesinin nedeni, aslında SP teşhisinin birtakım klinik risk etmenlerin, nörolojik olarak değerlendirme ve nörogörüntüleme semptomlarının belirlenmesine bağlı olmasıdır (58). Aslında SP hastalığının teşhisi, çocuğun yenidoğan sürecinde SP hastalığının risk etmenlerine sahip olmasıyla ilgili olarak değişebilir ve bu durum da gelişimsel gözetim ve erken taramada daha yakın takip netice verir. SP hastalığına neden olan risk faktörleri aşağıda listelenmiştir.

Prenatal Nedenler (59, 60),

- Kalıtsal hastalık, akrabalık
- Anne ve bebeğin geçirdiği enfeksiyonlar
- Annenin metabolik hastalıkları
- Fetüs kan akımının azalması
- Radyasyon maruziyeti

- Rh uyumsuzluğu
- Teratojenite
- Komplikeyonlu gebelik
- Kimyasal zehirlenme
- Konjenital beyin malformasyonu
- oęul gebelik
- Sosyoekonomik faktörler
- Abdominal travma

Perinatal Nedenler (59-61),

- Prematürite < 36 hafta
- Zor doğum
- Düşük doğum ağırlığı <2500 g
- İntrakranial kanama
- Anormal geliş
- Travma
- Enfeksiyon
- Hipoksi
- Düşük Apgar Skoru
- Plasenta previa
- Kordon dolanması

Doğum Sonrası Nedenler (59-61),

- Travma
- Enfeksiyon
- Koagölasyon bozukluğu
- İntrakranial kanama
- Hiperbilirubinemi
- Konvülzyonlar

- Arteriyovenöz malformasyonlar
- Anoksi
- İnflamatuvar hastalıklar
- İntrakranial patolojiler
- Hipoglisemi.

SP risk faktörleri arasında prematürite, önemli bir yere sahiptir. SP hastalığına neden olabilecek prematürite komplikasyonları arasında:

- Periventriküler lökomalazi,
- İntraventriküler kanama,
- Periventriküler enfarktlar yer alır (59, 60).

SP fizik muayesinde baş çevresi, zihinsel durum, kas tonusu ve gücü, duruş, yürüyüş ve ilkel, postural ve derin tendon refleksleri gibi reflekslere bakılmaktadır. SP hastalığının birden fazla sayıda semptomları (mikro veya makrosefali, aşırı sinirlilik veya azalmış etkileşim, hipertoni veya hipotoni, spastisite, distoni, kas zayıflığı, ilkel reflekslerin kalıcılığı, anormal veya eksik postural refleksler, koordinasyon bozukluğu ve hiperrefleksi) bulunmaktadır. Görme bozuklukları, zihinsel bozukluklar, büyüme yetersizliği, pulmoner bozukluklar, gastrointestinal bozukluklar, nörogelişimsel bozukluklar, uyku bozuklukları, epilepsi, işitme bozuklukları, konuşma bozuklukları, üriner sistem bozuklukları, ortopedik bozukluklar, dental bozukluklar ve ağrı SP ile ilişkili komorbid hastalıklar arasında yer almaktadır (55, 62-64).

SP, birtakım motor bozukluk türlerini ve klinik fenotipleri içermektedir. SP sınıflandırılmasında genel olarak bakılan parametreler arasında motor bozukluğun topografisi ya da fonksiyonel rahatsızlığın seviyesi, motor işlevlerin tipi bulunmaktadır. Literatüre bakıldığında SP' nin dört esas tipi tanımlanmıştır. Tanımlanan bu dört SP tipi: hipertonisite ve harekete karşı kas direnci ile karakterize edilen en yaygın form olan Spastik SP, atetoz veya distoni ile görülen Diskinetik SP, koordinasyon zorlukları ile ortaya çıkan Ataksik SP ve azalmış kas tonusu izlenen Hipotonik SP' dir (65).

2.3. Beyin Hasarı Mekanizmaları

Fizyolojik koşullarda intraselüler Ca^{+2} konsantrasyonu sıkı kontrol altındadır (66, 67). Hİ olayında, intraselüler Ca^{+2} miktarında artışa neden olan hücre içine Ca^{+2} akışı, voltaj-bağımlı Ca^{+2} kanalları ve glutamat-bağımlı Ca^{+2} kanalları yoluyla olmaktadır. Bunun yanında sitoplazmaya ER' den ve mitokondriden de Ca^{+2} salınımı olur (66-69). Hücre membranından ekstraselüler alana Ca^{+2} akışı enerji yetmezliği sebebiyle bozulmaktadır (66, 67). İntraselüler Ca^{+2} seviyesinde meydana gelen artış birtakım enzimlerin (endonükleazlar, proteazlar, lipazlar ve fosfolipaz) aktive olmasına neden olur. Bu enzimlerin aktive olması ise ROT oluşmasına sebep olarak nöron ve mitokondri bütünlüğünün bozulması için uygun zeminin hazırlanmasına sebep olur (66-68). Neticede Hİ olayı sonrası intraselüler Ca^{+2} düzeyinin artması nöronlarda irreversible hasarların gelişmesine neden olur (65, 66). Literatürdeki nöron hücre kültürü çalışmalarında, intraselüler Ca^{+2} 'in yüksek konsantrasyonda olmasının nekroza, düşük konsantrasyonda olmasının ise apoptozise yol açtığı gösterilmiştir (70).

ROT, kararsız moleküller olup, dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron taşır (69). Fizyolojik koşullarda dokularda ROT miktar olarak düşük seviyelerde sentezlense de, patolojik durumlarda dokularda ROT konsantrasyonları artar (71). Hücreler ROT' un hasar verici tesirlerine karşı kendilerini çeşitli enzimatik (katalazlar, endoperoksidazlar, dismutazlar) ve nonenzimatik (glutasyon, kolesterol, askorbik asit ve α - tokoferol gibi antioksidan maddeler) reaksiyonlar ile korurken Hİ durumunda ve sonrasında ROT üretimi, korunma kapasitesinin üzerine çıkar (66, 67, 69). Özellikle aktif mikrogliya ve nötrofil hücreleri olmak üzere inflamasyonda görevli hücreler; santral sinir sistemi (SSS) tutulumuna neden olarak NO dahil olmak üzere büyük oranda ROT salınmasına sebep olur (68, 72). Aşırı miktarlarda üretilmiş olan ROT hücre zarını parçalar ve hücre ölümüne neden olarak doku harabiyetine katkıda bulunur (66, 67, 73).

SSS' nin en önemli eksitator aminoasidi olan Glutamat' ın metabotropik ve iyonotropik olmak üzere iki farklı reseptörü bulunmaktadır (66, 69, 74, 75). Sekiz ayrı metabotropik glutamat reseptörü (mGluR) tanımlanmış olup bu reseptörler kendi arasında üç gruba ayrılmıştır. Birinci gruptaki mGluR' nin nöronal eksitabilitede artış

meydana getirdiği, bunun aksine grup iki ve grup üçün glutamat salınımını azaltması yönüyle otoresseptör görevi gördüğü, sinaptik eksitasyonu azalttığı ve bu sayede nöroprotektif etki gösterdiği ortaya koyulmuştur (76). Diğer bir glutamat reseptörü olan iyonotropik reseptörlerin ise, AMPA, NMDA ve kainik asit reseptörleri (KAR) olmak üzere 3 farklı türü vardır (69, 72, 74, 77). NMDA reseptörlerinin aracı olduğu beyin hasarı yetişkinlere oranla küçüklerde daha belirgindir. Bunun nedeni ise gelişmekte olan beyinde ve hipokampus ve striatum gibi gelişen beyin bölgelerinde NMDA reseptörlerinin fazla miktarda bulunmasıdır (66, 67, 69, 78). Bunun yanında glutamat antagonistlerinin Hİ' ye bağlı beyin hasarı bulunan yenidoğan hayvanlarda nöroprotektif etkileri olduğu sonucuna varılmıştır (72, 77).

Hİ esnasında membran potansiyelindeki değişikliklere yanıt olarak glutamatın sinaptik aralığa salınımında artış meydana gelir ve bu durum sinaptik aralıktaki glutamatın birikimine sebep olur. Artan glutamat kendi reseptörleriyle etkileşir ve hücre içine Ca^{+2} akışı olur. Sonuç olarak bu durum nöronal hücre ölümüyle ilişkili biyokimyasal kaskadı aktif hale getirir (66, 67, 78, 79).

Serbest bir radikal olan NO, NO sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-argininin L-sitrülline dönüştürülmesi sırasında oluşur (66, 67). NO, fizyolojik şartlar altında uyarının iletiminin sağlanmasını ve serebrovasküler tonusun korunmasını sağlar (79). Serebral iskemi esnasında nöron hasarında önemli rol oynar (71). Hİ durumunda hücre içerisinde Ca^{+2} miktarının artmış olması NOS'un aktif duruma gelmesine sebep olur (72, 77). NOS' un üç izoenzimi bulunmaktadır. (70, 71). Endotelial NOS (eNOS) iskemi ardından endotel vazodilasyonunu sağlar. İndüklenebilir NOS (iNOS) reaktif astrositlerde ve reaktif mikroglia/makrofajlarda bulunmaktadır ve serebral iskeminin de yer aldığı patolojik durumlarda ortaya çıkmaktadır (71, 79). Nöronal NOS (nNOS) ise normal metabolizmanın düzenlenmesinde, iskemi durumunda beyin kan akımının düzenlenmesinde rol oynar (70). Uzayan Hİ durumunda NO üretimi artar ve NO' nun süperoksit ile birleşmesi sonucu peroksinitrit meydana gelir (66, 72, 77). Peroksinitrit ise lipid peroksidasyonunun aktif hale gelmesini sağlayarak hücre zarı, DNA ve proteinlerin tahribatına neden olur (66, 73). Ayrıca NO' nun glutamatın salınımının artması yönünde etkisinin olduğu ortaya koyulmuştur (66). Ek olarak Hİ sonrası yenidoğan sıçanlarda çok sayıda nöronun NOS içerdii tespit edilmiştir (72).

Beyinde mikrogliya/makrofaj hücreleri Hİ ardından yaklaşık 4 ila 6 saat aralığında aktifleşir ve sonrasındaki 48 saat içerisinde sayıları hızla artış gösterir (68, 73). Nötrofiller reperfüzyon sonrası 24-48 saat içerisinde kan akımının düşük olduğu bölgelerde ve ayrıca postkapiller venüllerde birikirler (73, 79). Sonrasında vazokonstriksiyon sağlayan mediyatörlerin ve serbest radikallerin salınımına sebep olurlar (79). Ayrıca iskemi-reperfüzyon durumunda trombosit agregasyon faktör (PAF) seviyesindeki artış, lökosit adezyon moleküllerinin uyarılmasını sağlayarak sonrasında gelişen inflamatuvar kaskatta kritik rol oynamaktadır (80). Ek olarak Hİ sonrasındaki 1-4 saat içinde nötrofillerin ve TNF- α , IL-1 β , interlökin-6 (IL-6) gibi proinflamatuvar sitokinlerin infarkt alanına invazyonuyla α ve β kemokinlerin seviyelerinin arttığı ortaya koyulmuştur (66-68, 72, 73).

2.4. Endoplazmik Retikulum Stresi

ER sitosolden tek katlı lipid membranı tabakasıyla ayrılan, salgı ve membran proteinlerinin transkripsiyon sonrasında hedef bölgeye doğru bir şekilde katlanarak gitmelerini sağlayan en geniş hücre içi organeldir (10, 11, 81, 82). Protein sentezinde kalite kontrol merkezi görevi görmektedir. Granüllü ER ve granülsüz ER olmak üzere iki tipi mevcuttur. Üzerinde bol miktarda ribozom bulunan granüllü ER bazı organellerde görev alan ve hücre dışına iletilecek olan proteinleri sentezler. Granülsüz ER ise hücre içinde Ca^{+2} depolanmasından ve lipit sentezinden sorumludur (83, 84).

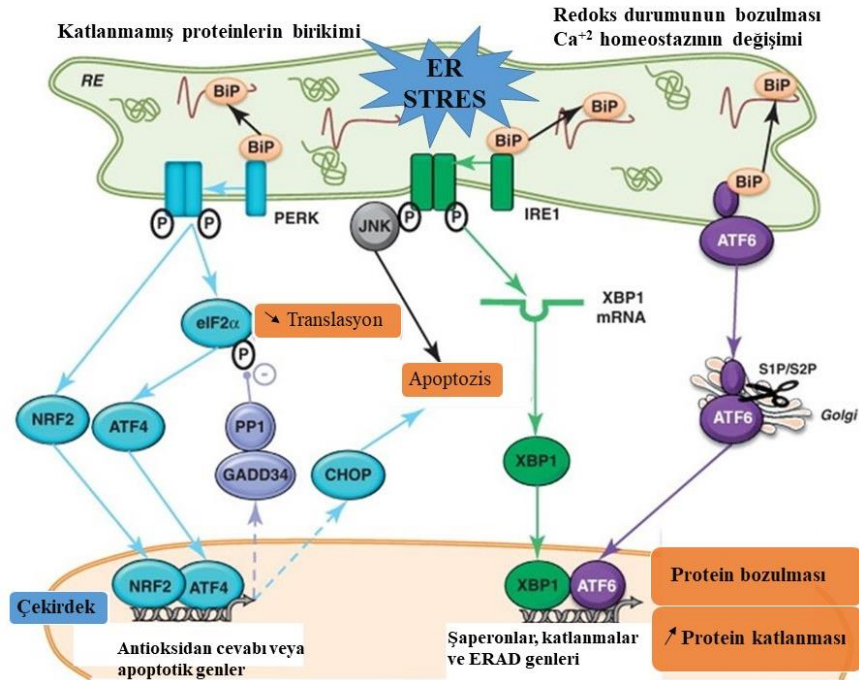
Proteinlerin fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için doğru bir biçimde katlanarak 3 boyutlu yapılarını kazanmaları gerekmektedir. Yeni sentezlenmiş protein çeşitli değişimlere uğramadan katlanamaz. ER' de meydana gelen N glikozilasyon, hidroksilasyon, oligomerizasyon, disülfid oluşumu, lipidasyon gibi posttranslasyonel değişimler proteinlerin doğru şekilde katlanabilmesini sağlar (83). Ancak Ca^{+2} depolarında meydana gelen değişiklikler, enfeksiyon, hipoksi, redoks bozulmaları, kimyasal toksinlere maruziyet, aşırı lipit birikimi, çeşitli genetik bozukluklar, yüksek protein sentezi, glikoz açlığı, besin yetmezliği, enerjinin tükenmesi, virusler, ksenobiyotikler gibi ER homeoastazını doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen pek çok fizyolojik ve patolojik olaylar proteinlerin katlanmasına yönelik engeller oluşturarak ER lümeninde katlanmamış ya da yanlış katlanmış

proteinlerin birikmesine yol açmaktadır. Bu durum ER stresi olarak adlandırılmaktadır (85-88). ER stresin olumsuz etkilerinden en az zararla kurtulmak ve homeostazı yeniden sağlamak üzere UPR sinyal yolağını aktive etmektedir. UPR sinyal yolağı; ER' de değişen koşullara uyumu sağlamak, proteinlerin ER' de katlanma miktarını artırmak, yeni sentezlenen proteinlerin ER lümenine gelecek miktarını azaltmak, ER' de bulunan hatalı katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin ER ilişkili bozulma (ERAD) aracılığıyla proteozomal yıkıma uğramasını sağlamaktan sorumludur (89). Bunun yanında proteinlerin katlanmasını kolaylaştıran ve proteinlerin katlanmasına aracılık eden katlayıcı katalizörler olan kalneksin (CALN), Ca^{+2} ilişkili kalretikulin (CALR), protein disülfid izomeraz (PDI) ile glukozla düzenlenen protein 78 (GRP78) veya diğer ismiyle immunoglobulin ağır zincir bağlanma proteini (BIP), ısı şok proteini 90 (HSP90), glukozla düzenlenen protein 94 (GRP94), ısı şok proteini 47 (HSP47) ve glukozla düzenlenen protein 170 (GRP170) gibi şaperon proteinleri ER stresıyla başa çıkmada önemli moleküllerdir (90-92). UPR' nin düzenlenmesinde üç transmembran proteini (protein kinaz RNA-benzeri ER kinaz (PERK), aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF6) ve inositol gerektiren kinaz 1 (IRE1) görev almaktadır (93, 94). Fizyolojik koşullarda bu proteinlerin üçü de GRP78 ile birlikte inaktif halde bulunmaktadır (95). Ayrıca bu üç transmembran proteini, proteinlerin doğru şekilde katlanmasını tetiklemek ve katlanması gerçekleşmemiş proteinlerin ise yükünü hafifletmek için çalışırlar. ER lümeninde, katlanması hatalı gerçekleşmiş ya da katlanması gerçekleşmemiş proteinlerin miktarının artması ile ER membran proteinlerinden GRP78 ayrılır, bunun sonucunda ER stres sensörleri aktif hale gelir (96, 97).

2.4.1. Protein Kinaz RNA-Benzeri ER Kinaz Yolağı

PERK, ER stresi ile başa çıkmada UPR sinyal yolağının 3 kolundan biridir. ER membranına bağlı bir serin treonin kinaz olan PERK, stres durumunda ER' ye yeni proteinlerin girişini engelleyen bir transkripsiyon faktörüdür ve apoptotik sinyallerin düzenlenmesini sağlamaktadır (98, 99). BIP ile birlikte bulunması, PERK'in inaktif monomerik durumda bulunmasını sağlar (100, 101). ER stres durumunda, GRP78 / BIP'ten ayrılır, otofosforilasyon ve oligomerizasyona uğrar (102). Bu da PERK kinaz aktivitesi için önemli bir substrat olan ökaryotik

translasyon başlatıcı faktör 2'nin α -alt birimini fosforlar ve 51. pozisyonundaki serinin fosforillenmesiyle, hücre içinde genel translasyon durdurulur (88). Bunun sonucunda protein sentezinde azalma meydana gelerek ER' nin iş yükünde bir hafifleme görülür (103). Diğer bir yandan fosforillenerek aktive olan eIF2 α , ER kapasitesini artırırken, aktive edici transkripsiyon faktörü-4 (ATF4)' ü mesajcı ribonükleik asit (mRNA)' in translasyonunu sağlayarak ekspresyonunu artırır (104). ATF4; hafif stres altında hücrel sağkalım yollarını indüklemesinin yanında (88, 103) siklik adenosin monofosfat (cAMP) yanıt elemanına bağlanmasıyla oksidatif stres, apoptozis gibi hücrenin hasar mekanizmalarından sorumlu genlerin aktive olmasını da sağlamaktadır (105, 106). Apoptoziste görev alan bu genlerin en fazla bilineni C/EBP Homolog Proteini (CHOP)'nin transkripsiyonu ATF4 aracılığıyla artmaktadır (104). eIF2 α defosforilasyonuna neden olan CHOP sinyalleri, ER organelinin protein yükünde bir artışa neden olduğu gibi, hücrelerin apoptozis işlemine girmelerine yol açar (107) (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Katlanmamış protein cevabı sinyal yolları (108).

Ca²⁺: Kalsiyum, ER: Endoplazmik retikulum, ERAD: ER ilişkili Bozulma, BIP: İmmunoglobulin Ağır Zincir Bağlanma Proteini, IRE1: İnositol Gerektiren Kinaz 1, PERK: Protein Kinaz RNA-Benzeri ER Kinaz, ATF6: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6, XBP1: X-Box Bağlanma Proteini 1, JNK: C-Jun N-Terminal Kinaz, CHOP: C/EBP Homolog Proteini, eIF2 α : Ökaryotik Başlatma Faktörü 2 Alfa, S1P: Site 1 Proteaz, S2P: Site 2 Proteaz, Nrf2: Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2, ATF4: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4; PP1: Protein Fosfataz 1, GADD34: Büyüme Durdurma ve DNA Hasar Geni 34.

Aynı zamanda PERK; antioksidan proteinleri, detoksifikasyonu sağlayan enzimleri, hücrenin büyümesi ile hayatta kalmasını sağlayan genleri kodlayan bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2)'nin fosforile olmasını sağlamaktadır (109). Antioksidan yanıt, eIF2 α -ATF4/Nrf2 üzerinden oluşmasına rağmen, bu birleşim CHOP'da ayrılır. ATF4, CHOP ekspresyonunu indüklerken, Nrf2'yi sınırlandırır (100) (Şekil 2.1.).

2.4.2. İnositol Gerektiren Kinaz 1 Yolağı

Sitozolik domaininde endoribonükleaz aktivitesine sahip, hücreyi strese koruma üzerine iki izoformu (IRE1 α ve IRE1 β) bulunan IRE1, ER' de yerleşik Tip 1 transmembran proteinidir (105, 110). Lümeneye bakan kısmı PERK ile benzerlik gösterir. Normal şartlarda diğer transmembran proteinleri gibi GRP78/BIP ile birlikte inaktif durumda bulunan IRE1, ER stresi altındayken GRP78'in ayrılmasıyla dimerize olup kinaz bölgesi otofosforillenebilmektedir (111, 112). Otofosforilasyon sonucu aktive olan IRE1 sitoplazmadaki endoribonükleaz domaini ile X-box bağlanma proteini 1 (XBP1) adı verilen transkripsiyon faktörünün mRNA' sını kırarak 26 nükleotide sahip bir intron parçasını uzaklaştırır. Normalde sitoplazmada kırılmamış şekilde bulunan XBP-1 mRNA, intron parçasının çıkarılmasından sonra XBP1s izoformuna dönüşür (113, 114). XBP1s mRNA nükleusa geçerek katlanmaya yardımcı enzimlerin ve ER şaperonlarının regüle edilmesini sağlamak amacıyla; protein salgısı, protein katlanması ve ERAD ile bağlantılı UPR hedef genlerinin transkripsiyonunu indükler (83, 115, 116) (Şekil 2.1).

2.4.3. Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 Yolağı

Memelilerde aktive edici transkripsiyon faktörü 6 alfa (ATF6 α) ve aktive edici transkripsiyon faktörü 6 beta (ATF6 β) olmak üzere 2 geni mevcut olan ATF6, tip II transmembran proteindir (104). ER stresi nedeni ile meydana gelen ER genişlemesinden, ERAD yolağı komponentlerinin, foldazların ve şaperonların indüksiyonunda görevli bir sensör gibi davranır (117, 118). Stres bulunmadığında GRP78 ile inaktif halde olan ATF6, ER stresi durumunda, GRP78'den ayrılarak veziküller vasıtasıyla ER'den golgiye taşınır (119). Golgide aktif şekle dönüştürülmek için, site 1 ve site 2 proteaz enzimler aracılığı ile kesilir (104, 118).

Aktifleşen ATF6 hücre çekideğine gönderilerek burada GRP78, CHOP, XBP1 ve CALR gibi hedef genlerinin transkripsiyonel düzenlemesine ve aktivasyonuna katkı sağlar. Bu sayede ER katlama kapasitesi yükseltilerek stres karşısında koruma sağlanmaya çalışılır (105, 121) (Şekil 2.1).

2.4.4. Endoplazmik Retikulum Stresiyle İndüklenen Apoptozis Yolakları

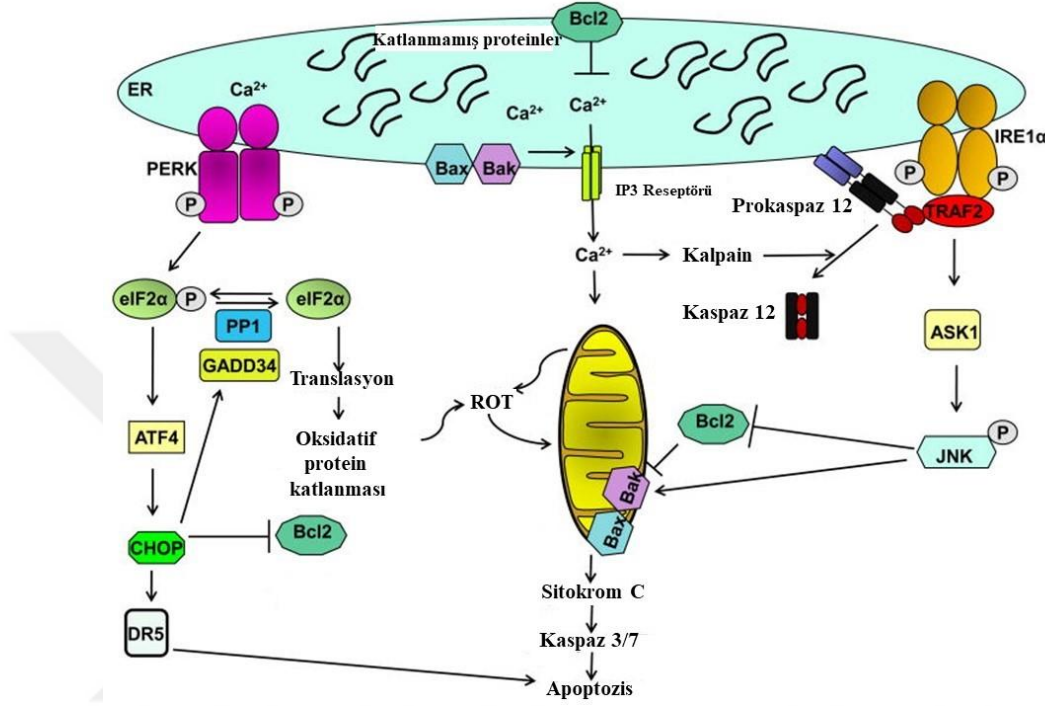
Katlanma işlemi hatalı olmuş veya katlanma işlemi gerçekleşmemiş proteinlerin birikmesi sonucu ER homeostazı sağlamak amacıyla UPR yolağını aktive etmektedir. Ancak hatalı katlanmış protein miktarı ER'nin üstesinden gelemeyeceği kadar fazla miktarda olduğunda ve stres devam ettiğinde, ER stresle baş etmede yetersiz kalır. Bu durumda ER stresi, apoptosiz adı verilen programlı hücre ölümüne neden olur (101, 122). Bahsedilen PERK, ATF6 ve IRE1 olmak üzere UPR'ye ait 3 yolak, hücrenin sağ kalımını sağlayan yolları başlatmalarının yanında aynı zamanda ER stresıyla indüklenen apoptozis yolaklarını da düzenlemede kritik öneme sahiptir (123). Bu bağlamda ER stresi sonucu aktive olan apoptozis; transkripsiyonel uyarı yolağını, C-Jun N-Terminal Kinaz (JNK) yolağını, B Hücreli Lenfoma 2 (BCL2) ailesinin üyelerini ve kaspazların neden olduğu yolakları kapsamaktadır (124, 125).

2.4.4.1. Transkripsiyonel Uyarı Yolağı

CHOP diğer bir adıyla büyüme durdurma ve DNA hasar geni (GADD153), insanda 169 amino asit tortusu içeren 29 kDa' luk bir protein olup normal şartlarda sentezlenmez veya düşük seviyelerde sentezlenir. (126). Daha önce bahsedildiği gibi PERK yolağı erken stres durumunda hücre sağkalımını sağlamak için PERK-eIF2 α üzerinden protein sentezini inhibe ederek hücreler için koruyucu rol üstlenmektedir. Fakat ER stresinin ilerleyen aşamasında PERK-eIF2 α -ATF4 yolağı CHOP'un ekspresyonunu uyarır ve böylece apoptozis indüklenir (127). CHOP'un transkripsiyonu aynı zamanda ATF6 ve IRE1 tarafından da aktive edilmektedir (105).

CHOP'un serin üzerindeki 78. ve 81. (Ser78 ve Ser81.) pozisyonlarda mitojen aktive protein kinaz (MAPK) tarafından fosforile edilmesi, transkripsiyonel aktivitesini artırmaktadır (121). CHOP'un ekspresyonu; ER oksidoredüksiyon 1

(ERO1), büyüme durdurma ve DNA hasar geni 34 (GADD34), tribles 3 (TRB3), ölüm reseptörü 5 (DR5), karbonik anhidraz VI gibi proapoptotik proteinlerin aktive olmasına da neden olmaktadır (128). Ayrıca CHOP, BCL2 proteininin baskılanmasına neden olur ve ROT üretimini artırır (129) (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Endoplazmik retikulum stresiyle ilişkili apoptotik yollar (130).

BCL2: B Hücreli Lenfoma 2, Ca^{+2} : Kalsiyum, BAK: BCL2 Antagonist Killer 1, BAX: BCL2 ilişkili X Proteinini, IRE1: İnositil Gerektiren Kinaz 1, PERK: Protein Kinaz RNA-Benzeri ER Kinaz, TRAF2: TNF Reseptörü İle İlişkili Faktör 2, ASK1: Apoptoz Sinyali Düzenleyici Kinaz 1, JNK: C-Jun N-Terminal Kinaz, ROT: Reaktif Oksijen Radikalleri, CHOP: C/EBP Homolog Proteini, DR5: Ölüm Reseptörü 5, eIF2α :Ökaryotik Başlatma Faktörü 2 Alfa, PP1: Protein Fosfat 1, IP3: inositil trifosfat reseptör, GADD34: Büyüme Durdurma ve DNA Hasar Geni 34, ATF4: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4.

2.4.4.2. C-Jun N-Terminal Kinaz Yolu

IRE1 tarafından aktive olan JNK yolu, ER stresiyle indüklenen apoptotik yollardan biridir (131). Daha önce bahsedildiği gibi, UPR durumunda IRE1α / XBP1 yolu protein katlanmasını düzenlenmesi yoluyla sağkalımı sağlamaktadır. Sağkalımı sağlamasından bağımsız olarak MAPK kaskadının IRE1-α aracılığıyla aktive olmasıyla da apoptoz indüklenebilir (132). IRE1α' nın sitoplazmik alanı, TNF reseptörü ile ilişkili faktör 2 (TRAF2)' ye ve apoptoz sinyali düzenleyici kinaz 1 (ASK1)'e bağlanarak bir kompleks meydana getirir. Bu kompleks JNK'yi aktive

ederek hücrenin apoptoza gitmesine neden olur (133) (Şekil 2.2.). Ayrıca JNK'nın BCL2 proteinleri üzerinden apoptozisi düzenlediği ve otofajide de rol oynadığı bilinmektedir (134, 135).

2.4.4.3. B Hücreli Lenfoma 2 Protein Ailesi

BCL2, BCL2 ilişkili X proteini (BAX), BCL2 antagonist killer 1 (BAK), BIK üyelerine sahip BCL2 protein ailesi, diğer apoptozis yolağından biri olması nedeniyle büyük öneme sahiptir. Mitokondri aracılığıyla meydana gelen apoptozisteki gibi ER stresinin neden olduğu apoptozis de BCL2 protein ailesi üyeleri aracılığıyla düzenlenmektedir (136, 137).

Ca^{+2} 'nin ER'den salınımının düzenlenmesini ve mitokondriden proapoptotik faktörlerin salınımını sağlayan BAK ve BAX, ER stresine aktive olan apoptoziste kritik öneme sahiptir (138). BCL2 protein ailesinin üyelerinden olan BAK ve BAX, apoptotik etkisini 2 yolla sağlamaktadır. Bu yollardan birincisi, BAK ve BAX'ın stres durumunda, ER membranında oligomerizasyona ve modifikasyonlara maruz kalması sonucu, ER'den sitoplazmaya Ca^{+2} 'nin salınmasına neden olmasıdır (139). Bu durumda sitozolde Ca^{+2} miktarının arttığı görülür ve bu da kalpeinin aktive olmasını sağlamaktadır. Kalpein prokaspaz 12'yi keserek aktive eder (Şekil 2.2.).

Prokaspaz 9 proteininin kesilmesini ve aktive olmasını da, aktifleşmiş kaspaz-12 (Cas-12) sağlar. Kaspaz kaskadı bu sayede aktif duruma gelir. İkinci yol ise; sitozolik Ca^{+2} 'nin mitokondri organeli aracılığıyla alınması sonucu sitokrom C salınımı ve mitokondriyal iç membran depolarizasyonu indüklenir. Bunun sonucunda kaspaz-9 (Cas-9) aktive olur (140, 141).

2.4.4.4. Kaspazlar

Kaspazlar hücrenin homeostazının sağlanması amacıyla hasarlı veya fazla hücrelerin çevre dokulara zarar vermesinin önüne geçilmesini sağlayan programlı hücre ölümü olarak nitelendirilen apoptozisi indükleyen proteazlardır. Kaspazlar hücre içinde inaktif halde bulunmalarının yanında, apoptozisin indüklenmesiyle aktif forma dönüşürler (93).

ER stresiyle ilişkili apoptoziste kaspaz-3 (Cas-3), kaspaz-6 (Cas-6), kaspaz-7 (Cas-7), kaspaz-8 (Cas-8), Cas-9 ve Cas-12' nin rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (142-144). ER stresiyle aktive olan apoptoziste kaspaz kaskadının proksimal efektörü olan Cas-12 anahtar role sahiptir. Cas-12 aktivasyonu ER stresi tarafından farklı yollarla indüklenebilmektedir. İlk olarak, daha önce bahsedildiği gibi sitozoldeki Ca^{+2} konsantrasyonundaki artış kalpein aracılığıyla Cas-12'nin aktive hale gelmesini sağlar. İkincil olarak, IRE1 α /TRAF2 yolu üzerinden uyarılma gerçekleşir. Üçüncü yol olarak, ER stresi durumunda sitozolik Cas-7 ER'ye geçerek Cas-12 ile etkileşir ve direkt olarak Cas-12' yi aktive eder (104, 145,146).

2.5. Salubrinal

Tüm ökaryotik hücrelerde stres durumunda PERK yolu üzerinden aktive olan eIF2 α genel translasyonunu durdurarak ER iş yükünü hafifletmektedir. Ancak Serin/treonin protein fosfataz 1 (PP1) kofaktörü olan GADD34 serin/treonin PP1'e bağlı kompleks yapıdadır ve bu kompleks eIF2 α 'nın defosforilasyonuna neden olmaktadır. SLB, PP1/GADD34 kompleksini inhibe ederek eIF2 α 'nın defosforilasyonunu engeller ve bu sayede eIF2 α 'nın fosforile halde kalmasını sağlar (147). SLB, eIF2 α 'nın defosforilasyonunu selektif olarak inhibe ederek protein sentezini azaltır ve ER organelinin yükünü azaltarak ER stres sürecinde sitoprotektif bir tesir gösterir (148). Literatürde SLB'nin; ER aracılığıyla meydana gelen apoptozisi, nöranal inflamasyonu ve ROT sentezini engellemek suretiyle oksidatif hasarı azalttığı (149-154), mitokondriyal apoptotik yolu engelleyerek mitokondriyal işlevinin regülasyonuna katkı sağladığı ve bu sayede nöron hücrelerinde mitokondri tahribatını hafiflettiği (155), nöron hücre membranları ve intraselüler organellerde tahribata yol açan TNF- α , iNOS, nükleer faktor kappa beta (NF-k β), IL-1 gibi inflamasyonda görevli birtakım sitokinleri ve mikroglia aktivasyonunu azalttığı (156-158), kan-beyin bariyerinin fonksiyon bozukluğuda faydalı ve koruyucu bir etki meydana getirdiği (159) bildirilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Grupları

Çalışmamız, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı (HÜDAL)' nda gerçekleştirilmiştir. Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanlığı' ndan 17.10.2019/04 kararı ile etik kurul izni alınmıştır.

Çalışmamızda gebe Wistar Albino cinsi 8-10 haftalık dişi sıçanlar kullanıldı. Hayvanların ortam koşulları 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık; nem oranı (%55-60) ve sabit sıcaklık (22 ± 2 °C) Euro type-4 olarak sağlandı. Deney hayvanları için standart bakım, beslenme ve barınma koşulları sağlandı. Erkek ve dişi cinsiyetteki sıçanlar aynı barındırılma ortamında tutuldu. Sıçanlarda vajinal plak oluşumunun tespit edilmesi amacıyla, pamuklu çubuklar serum fizyolojik (SF) ile ıslatıldı ve bu çubuklar kullanılarak dişi sıçanların vajinasından sürüntü örneği alınıp lama yayıldı. Ayrıca dişi sıçanların vajinalarında sperm olup olmadığını belirlemek amacı ile alınan sürüntü örnekleri derhal binoküler ışık mikroskobu ile teşhis edildi. Boyama işlemi için, sperm görülen sürüntü örneklerinin kurutulması için örnekler açık havada tutuldu, ardından kristal viole ile boyandı. Boyama için 200 mg distile suda 0,2 g kristal violenin çözünmesi sağlandı. Boya solüsyonunda 1 dakika tutulan örnekler, 1'er dakikalık sürelerle art arda 2 defa distile su ile yıkandı. Tüm bu işlemlerden sonra aquoz-mount solüsyonu kullanılarak örnekler kapatıldı. Smear sonuçları kullanılarak, her birinde 6 gebe sıçan bulunan 4 gruba ayrılarak deney grubu oluşturuldu.

1- Kontrol Grubu (n=6): Gebe sıçanlara deneyin 17. gününde sağ inguinal bölgelerinden SF (0.5-1 ml hacimde, intraperitoneal (ip) enjeksiyonu yapıldı. Sonrasında yapılan bu eylem tekrar edildi. SF enjeksiyonunu takiben 6 saat sonra preterm doğum eylemi histerotomi operasyonu ile gerçekleştirildi.

2- LPS Grubu (n=6): Gebe sıçanlara deneyin 17. gününde sağ inguinal bölgelerinden LPS (0.5-1 ml hacimde, 1 mg/kg, ip) ve hemen akabinde yine aynı bölgeden SF (0.5-1 ml hacimde, ip) enjeksiyonu yapıldı. LPS enjeksiyonunu takiben 6 saat sonra preterm doğum eylemi histerotomi operasyonu ile gerçekleştirildi (160).

3- LPS+SLB Grubu (n=6): Gebe sıçanlara deneyin 17. gününde sağ inguinal bölgelerinden LPS (0.5-1 ml hacimde, 1 mg/kg, ip) ve hemen akabinde yine aynı bölgeden SLB (0.5-1 ml hacimde, 1 mg/kg, ip) enjeksiyonu yapıldı. LPS enjeksiyonunu takiben 6 saat sonra preterm doğum eylemi histerotomi operasyonu ile gerçekleştirildi (161).

4- SLB Grubu (n=6): Gebe sıçanlara deneyin 17. gününde sağ inguinal bölgelerinden SF (0.5-1 ml hacimde, ip) ve hemen akabinde yine aynı bölgeden SLB (0.5-1 ml hacimde, 1 mg/kg, ip) enjeksiyonu yapıldı. LPS enjeksiyonunu takiben 6 saat sonra preterm doğum eylemi histerotomi operasyonu ile gerçekleştirildi (Tablo 3.1.)

Tablo 3.1. Deney grupları ve uygulamalar

Deney Grupları	Deneyin 17. günü	Deneyin 17. günü 6. saati
Kontrol Grubu	SF (0.5 ml ip) + SF (0.5 ml ip)	Histerotomi operasyonu
LPS Grubu	LPS (1 mg/kg ip) + SF (0.5 ml ip)	Histerotomi operasyonu
LPS+SLB Grubu	LPS (1 mg/kg ip) + SLB (1mg/kg ip)	Histerotomi operasyonu
SLB Grubu	SF (0.5 ml ip) + SLB (1mg/kg ip)	Histerotomi operasyonu

LPS: Lipopolisakkarit, SLB: Salubrinal, SF: Serum Fizyolojik, ip: İntraperitoneal, kg: Kilogram, ml: Mililitre, mg: Miligram.



Resim 3.1. Deney hayvanlarına Lipopolisakkarit ve Salubrinal uygulaması.

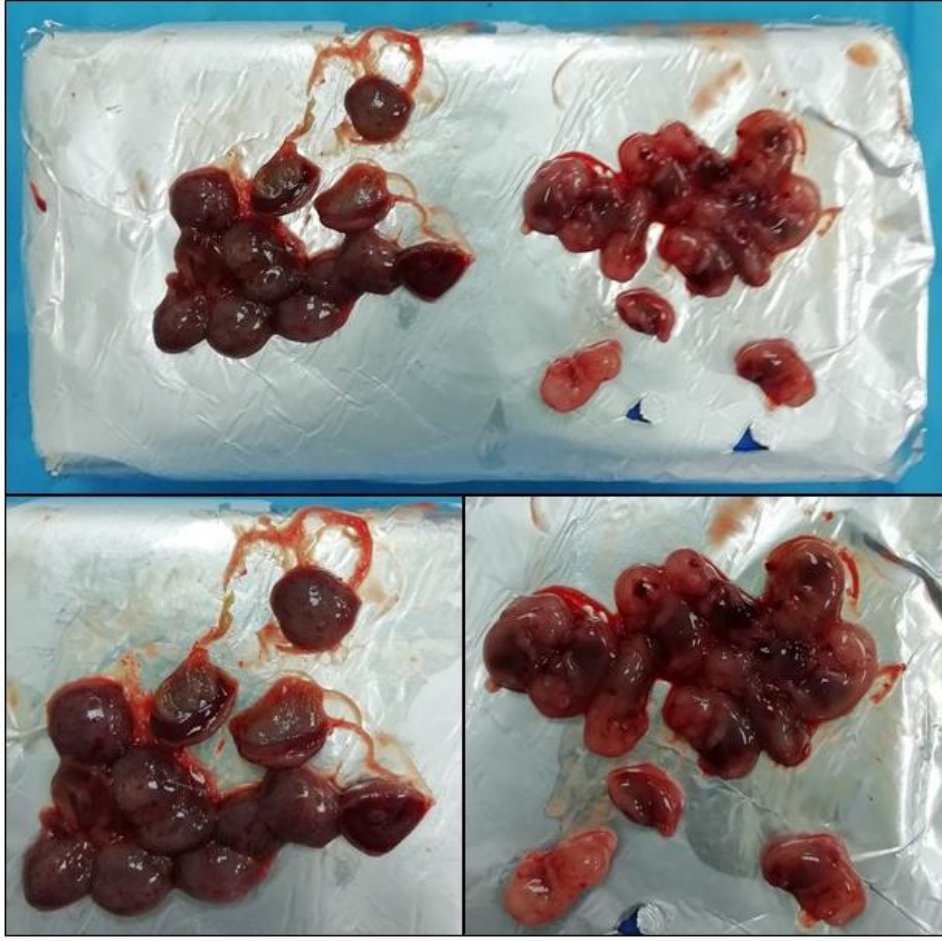


Resim 3.2. Gebe sıçanlarda histerotomi işlemi ile preterm doğum oluşturulması.

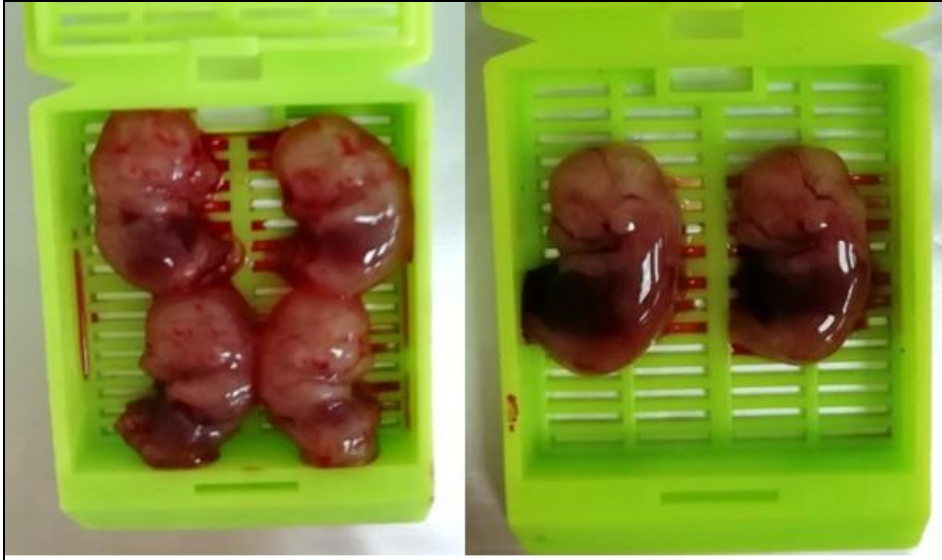
Histerotomi işlemi tüm deney hayvanlarına 10 mg/kg dozunda İzofluran anestezisi uygulanarak gerçekleştirildi. Abdominal insizyonu takiben plasenta dokularını besleyen artere klempleme uygulanarak plasenta dokuları ve fetüsler çıkartıldı. Fetüsler buz akülerinin üzerinde bekletilirken annenin Vena Cava İnferior'undan kan alınarak cerrahi egzanguinasyon uygulandı. Aynı grup içerisinde doğan her bir bebeğin beyin dokusunun yarısı ve plasenta dokuları histopatolojik inceleme için içerisinde formaldehit solüsyonu bulunan idrar kaplarına alındı.



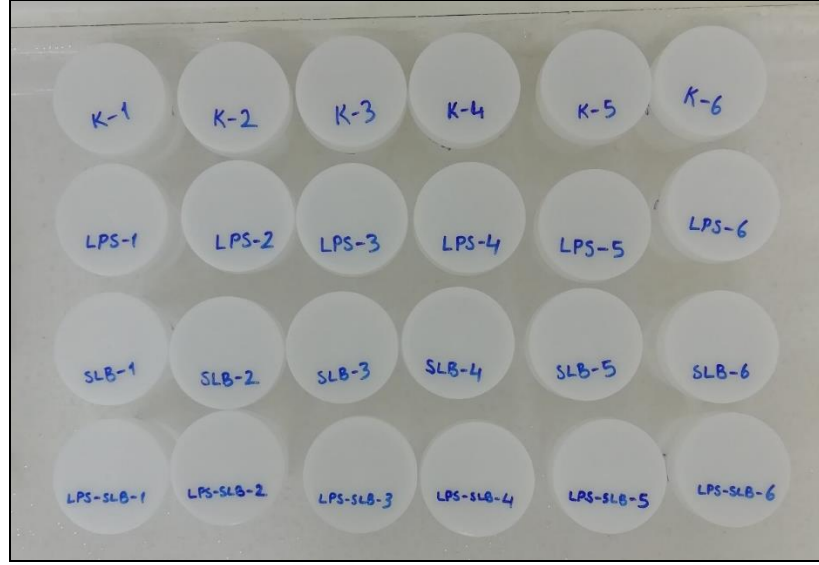
Resim 3.3. Alınmış plasenta dokusu.



Resim 3.4. Plasenta dokuları ve fetüslerin görüntüsü.



Resim 3.5. Fetüslerin takip işlemi.



Resim 3.6. Plasenta ve fetal beyin dokularının formaldehit solüsyonu içerisinde saklanması.

3.2. Histopatolojik İncelemeler

3.2.1. Kullanılan Malzemeler ve Aletler

Histopatolojik analizler için; İnkübatör (D63450, Heraeus), Su banyosu (HI 1210 Leica), Mikrotom (RM2125 RTS, Leica) ve Görüntüleme destekli binoküler ışık mikroskobu (ECLIPSE Ni-U, Nikon) kullanılmıştır.

3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 1- Etanol Absolu (İsolab)
- 2- Sodyum Fosfat Monobazik Dihidrat (Sigma)
- 3- Hematoksilen solüsyonu (merck)
- 4- Eozin G-Solüsyonu (Merck)
- 5- Sodyum Fosfat Dibazik Dihidrat (Sigma)
- 6- Formaldehit %37 (Tekkim)
- 7- Kristal Viole (Carlo Erba)
- 8- Parafin (Tekkim)
- 9- Entellan (Sigma)
- 10- Aquoz Mount (Vecta)

3.2.3. Doku Örneklerinde Histopatolojik İncelemeler

3.2.3.1. Fiksasyon ve Yıkama

Fiksasyon için sıçanlardan operasyon ile alınan dokular, en az 48 saat olacak şekilde, %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda bekletildi. Doku takip olayının gerçekleştirilmesi için dokular, fiksasyonları tamamlandıktan sonra bir gece akar su ile muamele edilerek yıkandı.

3.2.3.2. Doku Takibi

Suyun uzaklaştırılması için dokular, kademeli olarak artan konsantrasyonlarda alkol içeren solüsyonlarda aşağıda belirtilen sürelerde bekletildi (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Dehidratasyon aşamasında kullanılan alkol dereceleri ve uygulama süreleri.

Bekletilen Süre	Solüsyondaki Alkol Derecesi
45 dk (dakika)	%50
45 dk	%60
45 dk	%70
45 dk	%80
45 dk	%90
45 dk	%96
1 saat	%100
1 saat	%100

Dehidratasyon işlemi tamamlandıktan sonra, dokular kontrol edildi. Dokular ksilolde 5-15 dakika şeffaflandırıldı. Akabinde parafin emdirme aşaması için dokular, 1 saat sıvı parafin (60 °C) içerisinde etüvde, sonrasında 1 gece katı parafin içerisinde oda sıcaklığında muamele edildi. Sonrasında, 60 °C sıcaklıktaki sıvı parafin içindeki örnekler bloklar şeklinde gömüldü.

3.2.3.3. Kesit Alma

Elde edilen parafin bloklardan mikrotom yardımı ile 4-5 µm kalınlığında kesitler elde edildi ve sıcak su banyosu yardımıyla lamlara aktarıldı.

3.2.3.4. Hemotoksilen-Eozin Boyama

Kesitlerin histokimyasal olarak değerlendirilmeleri için, belirtilen protokol çerçevesinde Hematoksilen-Eozin ile boyayla muamele edildi (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Hemotoksilen Eozin boyama protokolü.

İşlem	Süre-Tekrar
Deparafinizasyon işlemi (60 °C)	1 gece
Deparafinizasyon işlemi (ksilol)	30 dakika
Deparafinizasyon işlemi (ksilol)	30 dakika
Alkol serileri (%100, %90, %80, %70, %60, %50)	10 dakika
Distile su	10 dakika – 2 kez
Hematoksilen	4,5 dakika
Yıkama	5 dakika – 2 kez
Asit Alkol (%1 lik)	Batır-çıkar
Yıkama	5 dakika
Eozin	3,5 dakika
Yıkama	5 dakika – 2 kez
Alkol serisi (%50, %60, %70, %80, %90, %100)	Batır- çıkar
Ksilol	30 dakika – 2 kez
Entellan ile Kapatma	-

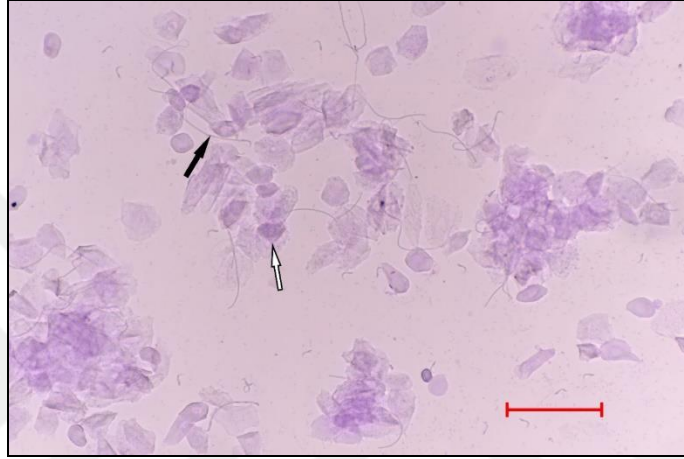
3.2.3.5. Değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme için, Hematoksilen-Eozin ile boyanan dokular, görüntüleme destekli binoküler ışık mikroskopunda değerlendirildi ve fotoğraflar elde edildi. Tespit edilen bulgunun derecesine göre (-): herhangi bir bulgu yok, (+): düşük düzeyde bulgu, (++) : orta düzeyde bulgu, (+++) : ciddi düzeyde bulgu şeklinde histopatolojik skorlama yapıldı.

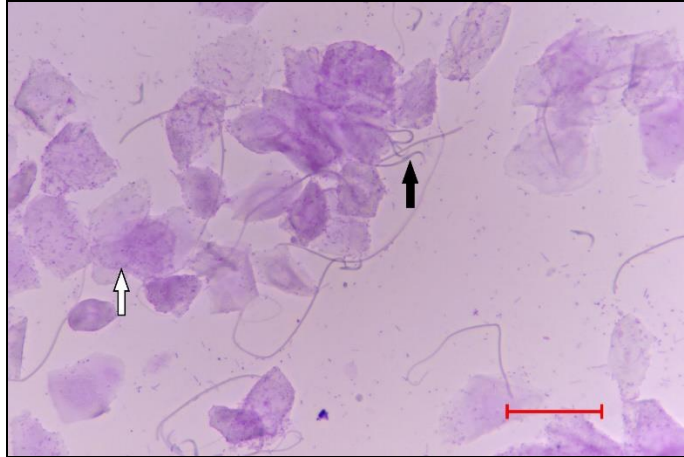
4. BULGULAR

4.1. Smear Sonuçları

Çalışmaya dahil edilecek hayvanların belirlenebilmesi amacıyla gebelik durumu vajinal kanalda sperm varlığı ile kontrol edildi. Bu amaçla yapılan kristal viyole boyamalarda pozitif örneklerde, vajinal epitel hücreler ve spermier gözlendi (Şekil 4.1.) (Şekil 4.2.).



Şekil 4.1. Pozitif vajinal smear. Spermier (siyah ok) ve vajinal epitelyal hücreler (beyaz ok). Kristal viyole, 20x, ölçüm çubuğu = 100µm.

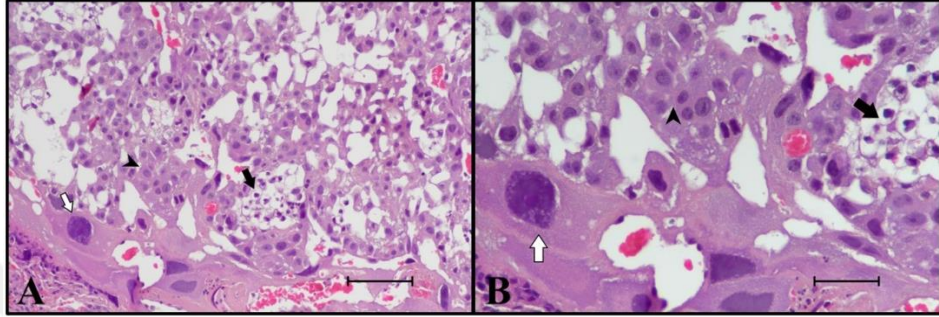


Şekil 4.2. Pozitif vajinal smear. Spermier (siyah ok) ve vajinal epitelyal hücreler (beyaz ok). Kristal viyole, 40x, ölçüm çubuğu = 50µm.

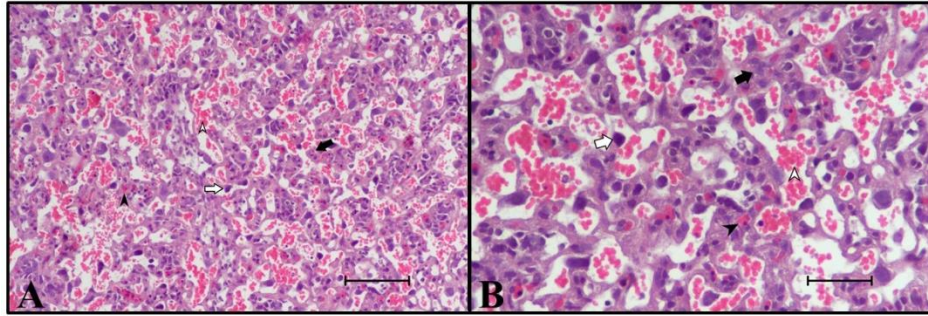
4.2. Histopatolojik Bulgular

4.2.1. Fetal Plasenta Örneklerinde Histopatolojik Bulgular

Dokuların histopatolojik değerlendirmesinde kontrol grubundaki ratların fetal plasenta örneklerinde patolojik bulguya rastlanmamıştır (Şekil 4.3.) (Şekil 4.4.) (Tablo 4.1).

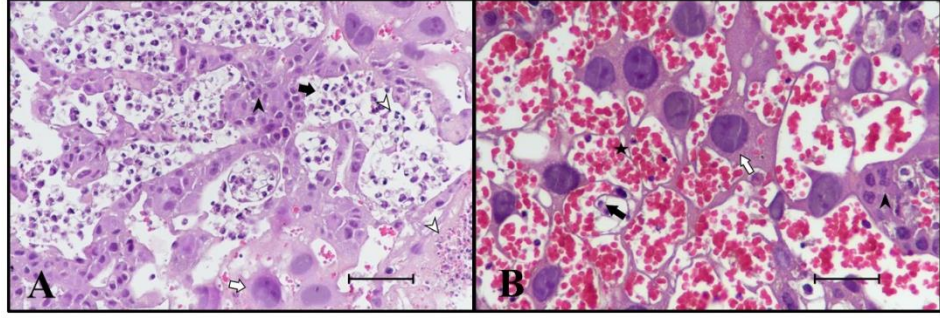


Şekil 4.3. Kontrol grubu fetal plasenta bazal zon normal histolojik yapı. [(A) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 μ m, (B) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 μ m.]

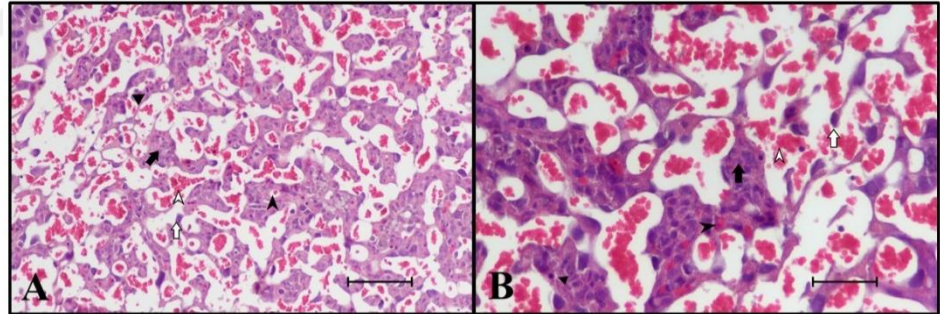


Şekil 4.4. Kontrol grubu fetal plasenta labirent zon normal histolojik yapı. [(A) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 μ m, (B) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 μ m.]

LPS grubundaki ratların fetal plasenta örneklerinde belirgin histopatolojik değişimler (bazal zonda yaygın konjesyon, labirent zonda trofoblastik hücrelerde dejenerasyon ve hem bazal hem de labirent zonda inflamatuvar hücre infiltrasyonları) izlendi (Şekil 4.5) (Şekil 4.6.) (Tablo 4.1).

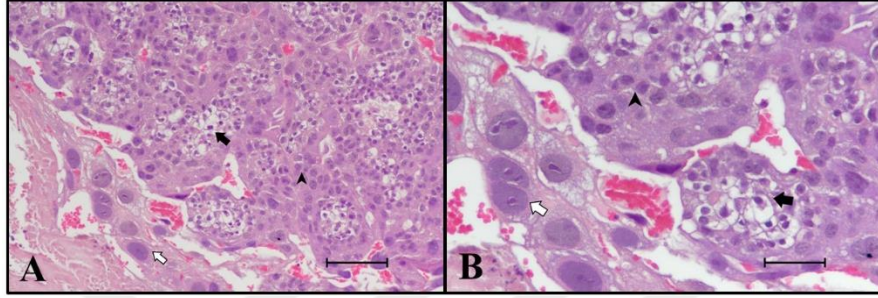


Şekil 4.5. LPS grubu fetal plasenta bazal zon. [(A) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (siyah ok başı), inflamatuvar hücre infiltrasyonları (beyaz ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 μ m, (B) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (siyah ok başı), yaygın konjesyon alanları (siyah yıldız). H-E, 40 x, scale bar; 50 μ m.]

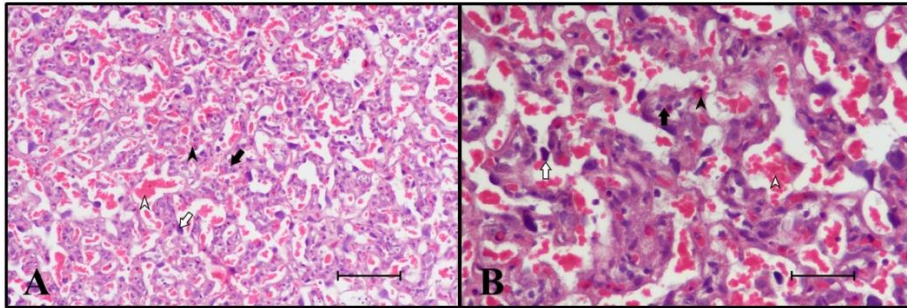


Şekil 4.6. LPS grubu fetal plasenta labirent zon. [(A) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı), inflamatuvar hücre infiltrasyonları (siyah üçgen). H-E, 20 x, scale bar; 100 μ m, (B) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı), inflamatuvar hücre infiltrasyonları (siyah üçgen). H-E, 40 x, scale bar; 50 μ m.]

LPS+SLB grubundaki ratların fetal plasenta örneklerinde, LPS grubundakilerle karşılaştırıldığında, bazal zondaki konjesyonda ve labirent zondaki trofoblastik hücrelerde görülen dejenerasyonda azalma saptandı. Ayrıca LPS grubunda görülen bazal ve labirent zondaki inflamatuvar hücre infiltrasyonları, LPS+SLB grubunda normale yakın bir histolojik görünüme sahipti (Şekil 4.7) (Şekil 4.8) (Tablo 4.1).

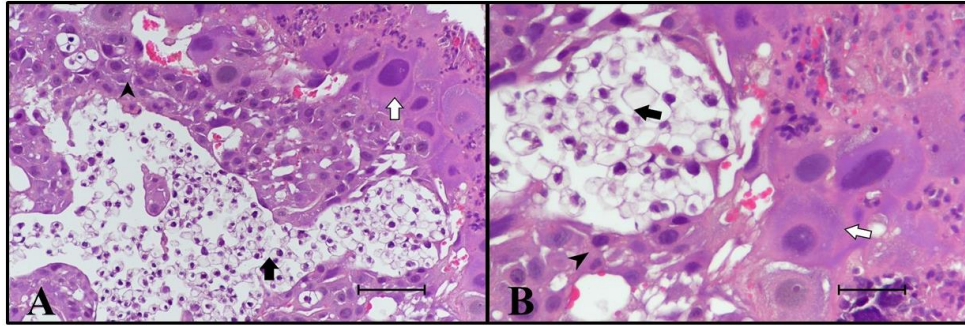


Şekil 4.7. LPS+SLB grubu fetal plasenta bazal zon. [(A)Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.]

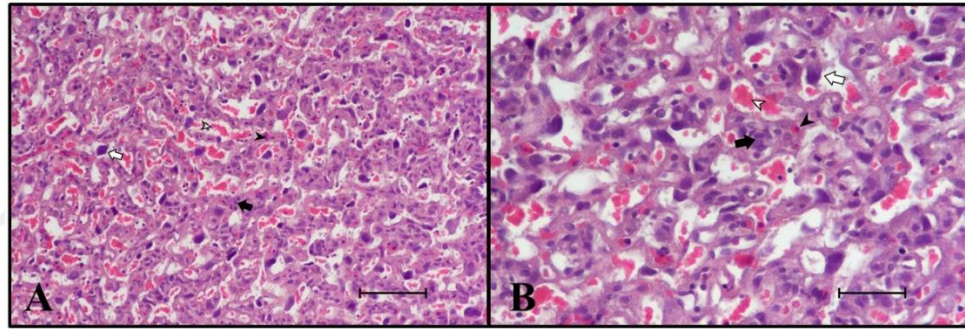


Şekil 4.8. LPS+SLB grubu fetal plasenta labirent zon. [(A) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.]

SLB grubu ratların fetal plasenta örnekleri de kontrol grubuna benzerlik göstererek, histopatolojik bulgu saptanmamıştır (Şekil 4.9) (Şekil 4.10) (Tablo 4.1).



Şekil 4.9. SLB grubu fetal plasenta bazal zon. [(A) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Trofoblastik dev hücreler (beyaz ok), glikojen hücreleri (siyah ok), spongiotrofoblastlar (ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.]



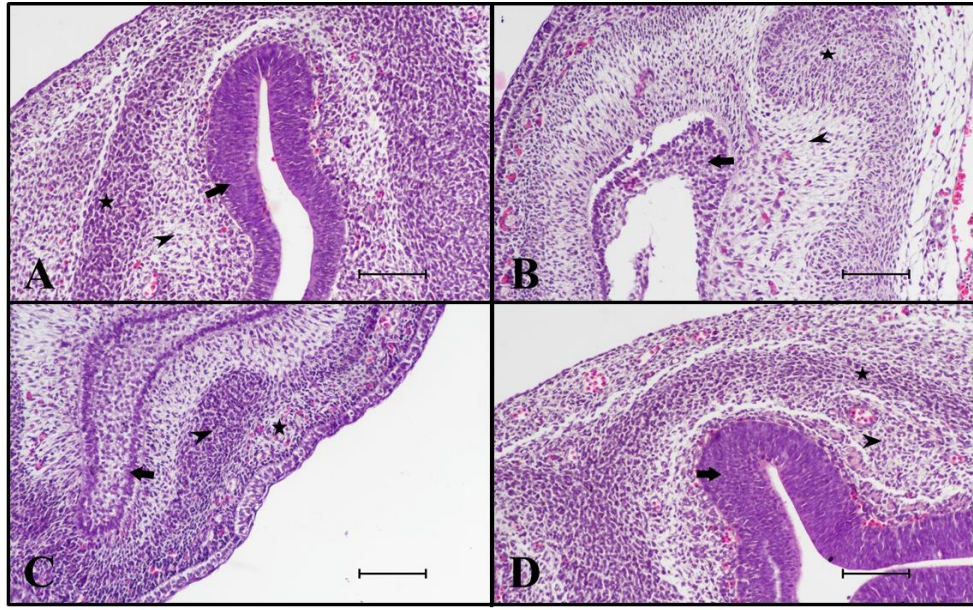
Şekil 4.10. SLB grubu fetal plasenta labirent zon. [(A) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 20 x, scale bar; 100 µm, (B) Sitotrofoblastlar (beyaz ok), sinsityotrofoblastlar (siyah ok), maternal damarlar (beyaz ok başı), fetal damarlar (siyah ok başı). H-E, 40 x, scale bar; 50 µm.]

Tablo 4.1. Plasentadaki bazal zon ve labirent zona ait histopatolojik değerlendirmeler

Parametre/Grup		Kontrol	LPS	LPS+SLB	SLB
Bazal zon bulguları	Konjesyon	-	+++	+	-
	İnflamatuar hücre infiltrasyonu	-	+++	+	-
Labirent zon bulguları	Trofoblastik hücre dejenerasyonu	-	+++	+	-
	İnflamatuar hücre infiltrasyonu	-	++	-	-

4.2.2. Fetal Beyin Örneklerinde Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değerlendirmede kontrol grubuna ait hayvanların fetal beyin dokuları normal histolojik görünüme sahipti. LPS grubu hayvanların fetal beyin dokularında ventriküler ve ara zonlarda ödem ve konjesyon bulguları gözlemlendi. LPS+SLB grubu hayvanların fetal beyin dokularında, LPS grubuna kıyasla ventriküler ve ara zonlardaki ödem ve konjesyonda belirgin gerileme gözlemlendi. SLB grubu hayvanların fetal beyin dokularında kontrol grubuna benzer şekilde histopatolojik bulgu tespit edilemedi (Şekil 4.11) (Tablo 4.2).



Şekil 4.11. Deney gruplarına ait fetal beyin dokularının histopatolojik görüntüsü. [(A) Kontrol grubu; ventriküler zon (ok), ara zon (ok başı) ve kortikal plate (yıldız) normal histolojik görünümde. (B) LPS grubu; ventriküler zon (ok) ve ara zonda (ok başı) ödem ve konjesyon, kortikal plate (yıldız) normal histolojik görünümde. (C) LPS+SLB grubu; ventriküler zon (ok), ara zon (ok başı) ve kortikal plate (yıldız) histopatolojik bulgularda azalma. (D) SLB grubu; ventriküler zon (ok), ara zon (ok başı) ve kortikal plate (yıldız) normal histolojik görünümde. H-E, 20x, ölçüm çubuğu = 100 µm.]

Tablo 4.2. Fetal beyin dokularının histopatolojik değerlendirmesi.

Parametre/Grup	Kontrol	LPS	LPS+SLB	SLB
Konjesyon	-	+++	+	-
Ödem	-	+++	+	-

LPS: Lipopolisakkarit, SLB: Salubrinal.

5. TARTIŞMA

Son 20 yılda tedavi stratejilerindeki gelişmelere rağmen gebelikte enfeksiyon başta olmak üzere bir takım nedenlerle gelişen sistemik inflamasyon tablosu anne ve fetus açısından dramatik bir seyir gösterebilmektedir. Gebelikte meydana gelen sistemik inflamasyon PE' yi tetiklemekte ve buna bağlı olarak prematür bebekler dünyaya gelmektedir. Tedavi yöntemlerindeki iyileştirmeler ile bu bebeklerin sağ kalım oranları günden güne artmış olsa da yaşayan prematüre bebeklerde nörolojik bozukluklar başta olmak üzere çeşitli sekeller ciddi sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (162).

Sistemik inflamasyondaki oksidatif stres, apoptozis gibi hasar mekanizmaları, hem damar yapılarını etkileyip endotelde zedelenme oluşturarak dokunun kanlanması bozar hem de dolaşımda bulunan sitokinler ya da bakteriyel yapılar vasıtasıyla dokulardaki reseptörlere bağlanıp birtakım intraselüler yollarla aktive ederler. İntraselüler yolların aktivasyonu ile sitokin veya hasar belirteçlerinin sentezi ve salınımı söz konusudur. Bu bağlamda Simon ve arkadaşları LPS'ye maruz kalmanın ROT üretimini tetikleyerek umbilikal ven endotel hücrelerinde hücre ölümünü tetiklediğini öne sürmüşlerdir (163). Bao ve arkadaşları LPS uygulaması sonrası Sprague Dawley cinsi sıçanların plasentalarında TNF- α , IL-6, kemokin (C-X-C motifi) ligandı 1 (CXCL1) seviyelerinde artış olduğunu ve bu sitokinlerin, plasentaların normal yapısının bozarak patolojik hasarı artırdığını bildirmişlerdir (164).

Çalışmamızda plasentanın fetusa bakan labirent zonu ve anneye bakan bazal zonu ile beyin dokusu ayrı ayrı incelenmiştir. Bu histopatolojik incelemeler sonucunda labirent zonda trofoblastik hücrelerde dejenerasyon ile hem bazal zonda, hem de labirent zonda inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlenmiştir. Yavuz A. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 1 mg/kg intraperitoneal LPS uygulaması sonrasında sıçan beyin korteksinin histopatolojik analizinde küçük kanama odakları ve ödem bulguları elde edilmiştir. Bu da çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ışığında LPS dozunun ve uygulama yolunun doğruluğunu kanıtlar niteliktedir (165). Dokuda meydana gelen konjesyonlu alanlar, bebeğin beslenmesinin artabileceği yönünde değil hasar bölgesinde kanamaya meyil yarattığı yönünde

değerlendirilmelidir. Bu plasental inflamasyonla paralel seyretmesi gereken beyin dokusunun sonuçları da, inflamasyonun ilk olarak plasentada hasar meydana getirdiği ve geçirgenliğin artmasına bağlı olarak beyin dokusunu etkilediği üzerine kurulan hipotezimizi desteklemektedir. Ventriküler ve ara zonlarda gelişen konjesyon ile ödemin fetoplasental bölgede de görülmesi, geçirgenlikte meydana gelen artış ile serebral dokunun da hasar görebileceğinin kanıtıdır. You ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre i.p. LPS uygulanan grupta kontrol grubuna göre kan beyin bariyeri (KBB)'nde geçirgenliğinin artmış olduğu ortaya koyulmuştur (166). Bu durum hasarın ilerlemesine sistemik inflamasyona neden olan sitokinler aracılığı ile bebekteki KBB'deki geçirgenlik artışının büyük pay sahibi olduğunu doğrular niteliktedir.

Bao ve arkadaşlarının LPS kaynaklı fetal büyüme kısıtlamasına karşı nikotinin plasental inflamasyonu ve vasküler gelişimi iyileştirmesi üzerine yaptıkları çalışmada elde edilen histopatoloji bulguları LPS uygulamasının, maternal inflamatuvar yanıtın, plasentada artmış inflamatuvar sitokinlerin ve lökositlerin infiltrasyonunun, inflamatuvar mediyatörlerin üretimini artırdığını ortaya koymuştur. Bu durumun plasenta yapısını ve fonksiyonunu tahrip ettiğini ve ayrıca azalmış vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'nün, villuslarda bozulmuş vasküler gelişim ve fetüse yetersiz oksijen ve besin tedariği ile sonuçlanarak sonunda fetal gelişme geriliğine ye yol açtığı görülmüştür (167).

Hu ve arkadaşları, LPS ile indüklenen sıçan preeklamsi modelinde metforminin etkisini araştırdıkları çalışmada LPS'nin 13, 14, 15, 16, 17 ve 18. gebelik gününde uygulanması sonrası plasentada enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve doku nekrozu ile karakterize belirgin değişiklikler olduğunu ortaya koymuşlardır (168).

Lee ve arkadaşları preterm eylemle ilişkili fetal beyin hasarında melatoninin etkisinin araştırıldığı çalışmalarında LPS uygulamasından 6 saat sonra inceledikleri fetal beyinde, beyin katmanlarının daha az ayırt edilebilir olduğu, nöroblastların normal göçünün polaritesinin bozulduğu, kortikal plakada inceltme saptayarak normal immatür nöroblastlar arasında nötrofillerin görüldüğü sonucunu ortaya koymuşlardır (169).

ER stresinin; iskemi/reperfüzyon hasarı olan hastalıklar, tip 1 ve tip 2 diyabet ve obezite gibi metabolik hastalıklar, kardivasküler sistem hastalıkları, nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir (121, 170-174). Bu sebeple son zamanlarda birçok araştırmacı tarafından kapsamlı olarak ele alınan araştırma konusu haline gelmiştir.

Daha önce bahsedildiği gibi ER stres koşullarında UPR'yi aktif hale getirmektedir. UPR; PERK, ATF6 ve IRE1 sinyal yolları aracılığıyla stresle başa çıkmaya çalışmaktadır. PERK yolağı üzerinden gerçekleşen eIF2 α 'nın fosforilasyonu protein sentezinin azaltılmasını sağlayarak homeostaz sağlanmaya çalışılır. Ancak PP1/GADD34 kompleksi eIF2 α 'nın defosforile olmasına neden olur. SLB PP1/GADD34 kompleksini engelleyerek eIF2 α 'nın defosforilasyonunun inhibisyonunu sağlar (12, 13).

Elde ettiğimiz bulgular ile SLB tedavisinin LPS kaynaklı plasenta ve fetal beyin hasarını engellediği, bunun yanında tek başına SLB uygulanan grupta da herhangi bir hasar bulgusu göstermediği sonucuna vardık. Kullanılan etken maddenin ER stresinde önemli role sahip olan eIF2 α 'nın defosforilasyonunun blokörü olması ve histopatolojik analizlerimizden elde ettiğimiz sonuca göre de hasarların gerilediğinin görülmesi, bahsedilen hasar patogenezinde ER stresin rol oynadığını göstermektedir.

Chen ve arkadaşları gebe farelerde çinko oksit nanopartikülleri ile ikişekli üreme ve gelişme toksisitesi üzerine N-asetil-sistein ve SLB etkisini araştırdıkları çalışmalarında, histopatolojik analiz sonucu fare plasentalarında SLB uygulanan grupta hasar grubuyla karşılaştırıldığında trofoblast kalınlığının artmış olduğu, labirent zonda daha yüksek kan hücresi yoğunluğu olduğu ve önemli yapısal hasarın olmadığı sonucuna varmışlardır (175).

SLB, serebral iskemi de dahil olmak üzere farklı sinir sistemi patolojilerinde nöroprotektif bir ajan olarak tarif edilmiş olup, nöral hasarı hafifletmek için terapötik bir hedef olarak ER stresini azaltmanın önemini göstermektedir. Bu nedenle, SLB ile tedavinin, spinal kord hasarında PERK-eIF2 α sinyaliyle ilişkili sitoproteksiyon sağladığı fikri öne sürülmüştür (148, 176). Travmatik beyin hasarında, SLB

tedavisinin, ER stresin hafifletilmesini sağlayarak travmaya maruz kalan farelerin korteksindeki nöronal ölümü önlediği ortaya koyulmuştur (153).

SLB'nin iskemik hasar üzerindeki nöroprotektif etkisi hem orta serebral arter oklüzyonunda hem de global serebral iskemide (GCI) de bildirilmiştir. SLB'nin GCI'daki nöroprotektif etkisi, cornu ammonis 1'de meydana gelen hasardan 7 gün sonra nöron kaybında bir azalma olarak gösterilmiştir (177). Bu çalışma ayrıca cornu ammonis 1'deki UPR'nin iskemide sonrasında ortaya çıkan ER stresinin üstesinden gelemediğini ve SLB'nin bu alandaki ER stresinin üstesinden gelmek için ek güç sağladığını varsaymaktadır.

KBB son yıllarda, vasküler hücreler (perisitler, vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri), glial hücreler (astroitler, mikroglia, oligodendrositler) ve nöronları içeren bir nörovasküler birim (NVB) olarak kabul edilmiştir. NVB, beyindeki kan akışını ve KBB bütünlüğünü düzenleyen hücreler arası iletişimi entegre eder. Hasar sonrası beyin fonksiyonunun iyileştirilmesi adına yeni terapötik stratejiler, NVB bileşenlerinin serebral kan akışının düzenlenmesindeki rollerinden ziyade koruma ve onarımdaki rolüne odaklanmayı desteklemektedir (178).

Çok az çalışma, NVB bileşenlerinde ER stresinin rolünü ele almıştır. Spinal kord hasarında, SLB ile tedavinin oligodendrosit ve nöron belirteçlerinin transkript seviyelerini artırdığı gösterilmiştir, ancak astroitlerde etkinin önemsiz olduğu görülmektedir (176). Bunun yanında endotel hücrelerindeki ER stresinin, adezyon mekanizmalarındaki ve ardından gelen lökosit geçişlerinin üzerindeki etkisinin KBB bütünlüğünün sağlanmasında da çok önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (177, 179). Her iki çalışma da, inflamasyonun aktivasyonunda rol oynayan TNF- α 'ya yanıt ile ER stresin etkileşimini açıklamaktadır. Bunun yanında ER stresinin, hücrenin hayatta kalması için çok önemli bir transkript faktörü olan NF- κ B'nin aktivasyonunu sağladığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışmalar aynı zamanda hücreler arası adezyon molekülleri 1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülleri (VCAM-1) gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunda ER stresinin rolünü bildirmektedir (176, 177). Ek olarak Font-Belmonte ve arkadaşlarının deneysel serebral iskemide iskemiden 1 ve 24 saat sonra uygulanan SLB tedavisinin, nekroptotik belirteç düzeylerini düşürdüğü ve seçici nöronal kayıp alanlarını azaltarak iskemiyi

bağlı nekroptoz varlığını azalttığını ortaya koymuşlardır. Bu durum ER stresinin nekroptotik yanıtta da rol oynadığı fikrini destekler niteliktedir (180). Bir GCI modelinde ise, SLB ile tedavinin, KBB 'nin bütünlüğünün yaygın olarak kabul gören bir belirteci olan matris metaloproteinaz 9'u (MMP-9) azalttığı da bildirilmiştir. (177).

Çalışma hipotezimize göre SLB'nin, deneysel KRY'ye sekonder gelişen plasenta ve fetal beyin dokularındaki hasarı hafifletme etkisinin histopatolojik analizler ile ortaya koyulması, çalışmanın kısıtlı yönlerinden birisidir. Hücrel yolakların daha moleküler çalışmalar ile ortaya koyulması gerekmektedir. Ayrıca çalışma modelimiz kapsamında hasar sonrası tek doz SLB uygulamasının mevcut sonuçları genellemek için yeterlilik göstermeyeceği ve bu bağlamda da SLB'nin daha uzun tedavi süresi ve daha uzun takip dönemleri için tedavi sonrası etkilerini değerlendiren çalışmalara ihtiyaç duyulduğu kanaatindeyiz.

SONUÇ

Bu çalışmada histopatolojik analizler ile elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda, kullanılan farmakolojik ajan SLB'nin LPS ile indüklenen plasental ve fetal beyin hasarını hafiflettiği sonucuna vardık. Bu kapsamda sistemik inflamasyona ikincil olarak gelişen plasental ve fetal beyin hasarı mekanizmaları daha detaylı araştırılmalı, ER stresi ilişkili mekanizmalar detaylandırılmalı, hedef genler çoğaltılmalı ve bunlara yönelik yeni tedavi modaliteleri denenmelidir. Bu çalışmanın ileride yapılacak olan araştırmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

1. da Fonseca EB, Damião R, Moreira DA. Preterm birth prevention. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2020; 69: 40-49.
2. Yang S, Platt RW, Kramer MS. Variation in child cognitive ability by week of gestation among healthy term births. *Am J Epidemiol.* 2010 Feb 15;171(4):399-406.
3. Shapiro-Mendoza CK, Lackritz EM. Epidemiology of late and moderate preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012; 17(3): 120-125.
4. Elliott CL, Loudon JA, Brown N, Slater DM, Bennett PR, Sullivan MH. IL-1beta and IL-8 in human fetal membranes: changes with gestational age, labor, and culture conditions. *Am J Reprod Immunol.* 2001; 46(4): 260-267.
5. Christiaens I, Zaragoza DB, Guilbert L, Robertson SA, Mitchell BF, Olson DM. Inflammatory processes in preterm and term parturition. *J Reprod Immunol.* 2008; 79(1): 50-7. doi: 10.1016/j.jri.2008.04.002.
6. Yoon BH, Romero R, Yang SH, Jun JK, Kim IO, Choi JH, Syn HC. Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with White matter lesions associated with periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; 174(5): 1433-1440.
7. Leviton A, Paneth N, Reuss ML, Susser M, Allred EN, Dammann O, Kuban K, Van Marter LJ, Pagano M, Hegyi T, Hiatt M, Sanocka U, Shahriar F, Abiri M, Disalvo D, Doubilet P, Kairam R, Kazam E, Kirpekar M, Rosenfeld D, Schonfeld S, Share J, Collins M, Genest D, Shen-Schwarz S, et al. Maternal infection, fetal inflammatory response, and brain damage in very low birth weight infants. *Developmental Epidemiology Network Investigators. Pediatr Res.* 1999; 46(5): 566-575. doi: 10.1203/00006450-199911000-00013.
8. Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim CJ, Kim SH, Choi JH, Han TR. Fetal exposure to an intraamniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 182(3): 675-681.
9. Wu YW. Systematic review of chorioamnionitis and cerebral palsy. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2002; 8(1): 25-29.
10. English AR, Zurek N, Voeltz GK. Peripheral ER structure and function. *Curr Opin Cell Biol.* 2009; 21(4): 596-602. doi: 10.1016/j.ceb.2009.04.004.
11. Ruggiano A, Foresti O, Carvalho P. Quality control: ER-associated degradation: protein quality control and beyond. *J Cell Biol.* 2014; 204(6): 869-679.
12. Boyce M, Bryant KF, Jousse C, Long K, Harding HP, Scheuner D, Kaufman RJ, Ma D, Coen DM, Ron D, Yuan J. A selective inhibitor of eIF2alpha dephosphorylation protects cells from ER stress. *Science.* 2005; 307(5711): 935-939.
13. Drexler HC. Synergistic apoptosis induction in leukemic cells by the phosphatase inhibitor salubrinal and proteasome inhibitors. *PLoS One.* 2009 ;4(1): e4161. doi: 10.1371/journal.pone.0004161.

14. Acar G, Karaoglu N. *Turkiye Klinikleri J Fam Med-Special Topics*. 2018; 9(1): 9-15.
15. Pijnenborg R, Bland JM, Robertson WB, Brosens I. Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. *Placenta*. 1983; 4(4): 397-413. doi: 10.1016/s0143-4004(83)80043-5.
16. Soares MJ, Varberg KM, Iqbal K. Hemochorial placentation: development, function, and adaptations. *Biol Reprod*. 2018; 99(1): 196-211. doi: 10.1093/biolre/iroy049.
17. King GJ. Comparative placentation in ungulates. *J Exp Zool*. 1993; 266(6): 588-602. doi: 10.1002/jez.1402660609.
18. Huppertz B. The anatomy of the normal placenta. *J Clin Pathol*. 2008; 61(12): 1296-1302. doi: 10.1136/jcp.2008.055277.
19. Turco MY, Moffett A. Development of the human placenta. *Development*. 2019; 146(22): dev163428. doi: 10.1242/dev.163428.
20. Burton GJ, Jauniaux E. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 2018; 218(2S): S745-S761. doi: 10.1016/j.ajog.2017.11.577.
21. Myatt L, Thornburg KL. Effects of Prenatal Nutrition and the Role of the Placenta in Health and Disease. *Methods Mol Biol*. 2018; 1735: 19-46. doi: 10.1007/978-1-4939-7614-0_2.
22. Porter P. Immunoglobulin mechanisms in health and nutrition from birth to weaning. *Proc Nutr Soc*. 1976; 35(3): 273-282. doi: 10.1079/pns19760046.
23. Brambell FW, Hemmings WA. The passage into the embryonic yolk-sac cavity of maternal plasma proteins in rabbits. *J Physiol*. 1949; 108(2): 177-185. doi: 10.1113/jphysiol.1949.sp004321.
24. Tizard IR. Immunity in the fetus and newborn. *Veterinary immunology*. 2013; 9: 225-239.
25. Giguère S, Polkes AC. Immunologic disorders in neonatal foals. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2005; 21(2): 241-272. doi: 10.1016/j.cveq.2005.04.004.
26. Crisman MV, Scarratt WK. Immunodeficiency disorders in horses. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2008; 24(2): 299-310. doi: 10.1016/j.cveq.2008.03.003.
27. Schelonka RL, Infante AJ. Neonatal immunology. *Semin Perinatol*. 1998; 22(1): 2-14. doi: 10.1016/s0146-0005(98)80003-7.
28. Landor M. Maternal-fetal transfer of immunoglobulins. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1995; 74(4): 279-283.
29. Ohyama M, Itani Y, Yamanaka M, Goto A, Kato K, Ijiri R, Tanaka Y. Re-evaluation of chorioamnionitis and funisitis with a special reference to subacute chorioamnionitis. *Hum Pathol*. 2002; 33(2): 183-190. doi: 10.1053/hupa.2002.31291.

30. Palmsten K, Nelson KK, Laurent LC, Park S, Chambers CD, Parast MM. Subclinical and clinical chorioamnionitis, fetal vasculitis, and risk for preterm birth: A cohort study. *Placenta*. 2018; 67: 54-60. doi: 10.1016/j.placenta.2018.06.001.
31. Bierstone D, Wagenaar N, Gano DL, Guo T, Georgio G, Groenendaal F, de Vries LS, Varghese J, Glass HC, Chung C, Terry J, Rijpert M, Grunau RE, Synnes A, Barkovich AJ, Ferriero DM, Benders M, Chau V, Miller SP. Association of Histologic Chorioamnionitis With Perinatal Brain Injury and Early Childhood Neurodevelopmental Outcomes Among Preterm Neonates. *JAMA Pediatr*. 2018; 172(6): 534-541.
32. Garcia-Flores V, Romero R, Miller D, Xu Y, Done B, Veerapaneni C, Leng Y, Arenas-Hernandez M, Khan N, Panaitescu B, Hassan SS, Alvarez-Salas LM, Gomez-Lopez N. Inflammation-Induced Adverse Pregnancy and Neonatal Outcomes Can Be Improved by the Immunomodulatory Peptide Exendin-4. *Front Immunol*. 2018; 9: 1291.
33. Huber BM, Meyer Sauter PM, Unger WWJ, Hasters P, Eugster MR, Brandt S, Bloembergen GV, Natalucci G, Berger C. Vertical Transmission of *Mycoplasma pneumoniae* Infection. *Neonatology*. 2018; 114(4): 332-336.
34. Rivasi F, Gasser B, Bagni A, Ficarra G, Negro RM, Philippe E. Placental candidiasis: report of four cases, one with villitis. *APMIS*. 1998; 106(12): 1165-1169.
35. Maki Y, Fujisaki M, Sato Y, Sameshima H. Candida Chorioamnionitis Leads to Preterm Birth and Adverse Fetal-Neonatal Outcome. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2017; 2017: 9060138.
36. Newman T, Cafardi JM, Warshak CR. Human immunodeficiency virus-associated pulmonary arterial hypertension diagnosed postpartum. *Obstet Gynecol*. 2015; 125(1): 193-195.
37. Suzuki S. Association between clinical chorioamnionitis and histological funisitis at term. *J Neonatal Perinatal Med*. 2019; 12(1): 37-40.
38. Kim B, Oh SY, Kim JS. Placental Lesions in Meconium Aspiration Syndrome. *J Pathol Transl Med*. 2017; 51(5): 488-498.
39. Perkins RP, Zhou SM, Butler C, Skipper BJ. Histologic chorioamnionitis in pregnancies of various gestational ages: implications in preterm rupture of membranes. *Obstet Gynecol*. 1987; 70(6): 856-860.
40. Conti N, Torricelli M, Voltolini C, Vannuccini S, Clifton VL, Bloise E, Petraglia F. Term histologic chorioamnionitis: a heterogeneous condition. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015; 188: 34-38.
41. Romero R, Kim YM, Pacora P, Kim CJ, Benshalom-Tirosh N, Jaiman S, Bhatti G, Kim JS, Qureshi F, Jacques SM, Jung EJ, Yeo L, Panaitescu B, Maymon E, Hassan SS, Hsu CD, Erez O. The frequency and type of placental histologic lesions in term pregnancies with normal outcome. *J Perinat Med*. 2018; 46(6): 613-630.

42. Shanks AL, Mehra S, Gross G, Colvin R, Harper LM, Tuuli MG. Treatment Utility of Postpartum Antibiotics in Chorioamnionitis Study. *Am J Perinatol*. 2016; 33(8): 732-737.
43. Committee Opinion No. 712: Intrapartum Management of Intraamniotic Infection. *Obstet Gynecol*. 2017; 130(2): e95-e101. doi: 10.1097/AOG.0000000000002236.
44. Larroque B, Ancel PY, Marret S, Marchand L, André M, Arnaud C, Pierrat V, Rozé JC, Messer J, Thiriez G, Burguet A, Picaud JC, Bréart G, Kaminski M; EPIPAGE Study group. Neurodevelopmental disabilities and special care of 5-year-old children born before 33 weeks of gestation (the EPIPAGE study): a longitudinal cohort study. *Lancet*. 2008; 371(9615): 813-820. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60380-3.
45. Khwaja O, Volpe JJ. Pathogenesis of cerebral white matter injury of prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2008; 93(2): F153-61. doi: 10.1136/adf.2006.108837.
46. Giussani DA. The fetal brain sparing response to hypoxia: physiological mechanisms. *J Physiol*. 2016; 594(5): 1215-1230. doi: 10.1113/JP271099.
47. Chugani HT, Phelps ME. Maturation changes in cerebral function in infants determined by 18FDG positron emission tomography. *Science*. 1986; 231(4740): 840-843. doi: 10.1126/science.3945811.
48. McDonald JW, Johnston MV. Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. *Brain Res Brain Res Rev*. 1990; 15: 41-70.
49. Burd I, Welling J, Kannan G, Johnston MV. Excitotoxicity as a Common Mechanism for Fetal Neuronal Injury with Hypoxia and Intrauterine Inflammation. *Adv Pharmacol*. 2016; 76: 85-101. doi: 10.1016/bs.apha.2016.02.003.
50. Galluzzi L, Blomgren K, Kroemer G. Mitochondrial membrane permeabilization in neuronal injury. *Nat Rev Neurosci*. 2009; 10(7): 481-494. doi: 10.1038/nrn2665.
51. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem*. 1992; 59(5): 1609-1623.
52. Giulian D, Vaca K. Inflammatory glia mediate delayed neuronal damage after ischemia in the central nervous system. *Stroke*. 1993; 24: 184-190.
53. Eklind S, Mallard C, Leverin AL, Gilland E, Blomgren K, Mattsby-Baltzer I, Hagberg H. Bacterial endotoxin sensitizes the immature brain to hypoxic--ischemic injury. *Eur J Neurosci*. 2001; 13(6): 1101-1106. doi: 10.1046/j.0953-816x.2001.01474.x.
54. Novak CM, Ozen M, Burd I. Perinatal Brain Injury: Mechanisms, Prevention, and Outcomes. *Clin Perinatol*. 2018 Jun;45(2):357-375. doi: 10.1016/j.clp.2018.01.015.

55. Graham HK, Rosenbaum P, Paneth N, Dan B, Lin JP, Damiano DL, Becher JG, Gaebler-Spira D, Colver A, Reddiough DS, Crompton KE, Lieber RL. Cerebral palsy. *Nat Rev Dis Primers*. 2016; 2: 15082. doi: 10.1038/nrdp.2015.82.
56. Rosenbaum P, Paneth N, Leviton A, Goldstein M, Bax M, Damiano D, Dan B, Jacobsson B. A report: the definition and classification of cerebral palsy April 2006. *Dev Med Child Neurol Suppl*. 2007; 109: 8-14.
57. Novak I, Morgan C, Adde L, Blackman J, Boyd RN, Brunstrom-Hernandez J, Cioni G, Damiano D, Darrah J, Eliasson AC, de Vries LS, Einspieler C, Fahey M, Fehlings D, Ferriero DM, Fetters L, Fiori S, Forssberg H, Gordon AM, Greaves S, Guzzetta A, Hadders-Algra M, Harbourne R, Kakooza-Mwesige A, Karlsson P, Krumlinde-Sundholm L, Latal B, Loughran-Fowlds A, Maitre N, McIntyre S, Noritz G, Pennington L, Romeo DM, Shepherd R, Spittle AJ, Thornton M, Valentine J, Walker K, White R, Badawi N. Early, Accurate Diagnosis and Early Intervention in Cerebral Palsy: Advances in Diagnosis and Treatment. *JAMA Pediatr*. 2017; 171(9): 897-907. doi: 10.1001/jamapediatrics.2017.1689.
58. Herskind A, Greisen G, Nielsen JB. Early identification and intervention in cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*. 2015; 57(1): 29-36. doi: 10.1111/dmcn.12531.
59. Nelson KB. Causative factors in cerebral palsy. *Clin Obstet Gynecol*. 2008; 51(4): 749-762.
60. MacLennan AH, Thompson SC, Gecz J. Cerebral palsy: causes, pathways, and the role of genetic variants. *Am J Obstet Gynecol*. 2015; 213(6): 779-788. doi: 10.1016/j.ajog.2015.05.034.
61. Yakut A. Serebral Palsi. In: Yalaz K Ed. *Temel Gelişimsel Çocuk Nörolojisi 1*. Baskı, Pelikan Yayınevi, 2015: 211-226.
62. Gulati S, Sondhi V. Cerebral Palsy: An Overview. *Indian J Pediatr*. 2018; 85(11): 1006-1016. doi:10.1007/s12098-017-2475-1.
63. Morgan C, Fahey M, Roy B, Novak I. Diagnosing cerebral palsy in full-term infants. *J Paediatr Child Health*. 2018; 54(10): 1159-1164.
64. Whelan MA. Practice parameter: diagnostic assessment of the child with cerebral palsy: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*. 2004; 63(10): 1985-1986.
65. McIntyre S, Morgan C, Walker K, Novak I. Cerebral palsy--don't delay. *Dev Disabil Res Rev*. 2011; 17(2): 114-29. doi: 10.1002/ddrr.1106.
66. Perlman JM. Intervention strategies for neonatal hypoxic-ischemic cerebral injury. *Clin Ther*. 2006; 28: 1353-1365.
67. Shalak L, Perlman JM. Hypoxic-ischemic brain injury in the term infant current concepts. *Early Hum Dev* 2004; 80: 125-141.
68. Wyatt J. Applied physiology: brain metabolism following perinatal asphyxia. *Current Paediatrics*. 2002; 12: 227-231.

69. Delivoria-Papadopoulos M, Mishra OP. Mechanisms of cerebral injury in perinatal asphyxia and strategies for prevention. *J Pediatr*. 1998; 132: 30-34.
70. Zauner A, Daugherty WP, Bullock MR, Warner DS. Brain oxygenation and energy metabolism: part I-biological function and pathophysiology. *Neurosurgery*. 2002; 51: 289-301.
71. Vexler ZS, Ferriero DM. Molecular and biochemical mechanisms of perinatal brain injury. *Semin Neonatol*. 2001; 6: 99-108.
72. Berger R, Garnier Y. Pathophysiology of perinatal brain damage. *Brain Res Brain Res Rev*. 1999; 30: 107-134.
73. Hagberg H, Rousset CI, Wang X, Mallard C. Mechanisms of perinatal brain damage and protective possibilities. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2006; 3: 397-407.
74. Love S. Oxidative stress in brain ischemia. *Brain Pathol* 1999; 9: 119-131.
75. White BC, Sullivan JM, DeGracia DJ, O'Neil BJ, Neumar RW, Grossman LI. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *J Neurol Sci*. 2000; 179: 1-33.
76. Oja SS, Saransaari P. Modulation of taurine release by glutamate receptors and nitric oxide. *Prog Neurobiol*. 2000; 62: 407-425.
77. Jensen A, Garnier Y, Middelani J, Berger R. Perinatal brain damage-from pathophysiology to prevention. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 110: 70-79.
78. Hossain MA. Molecular mediators of hypoxic-ischemic injury and implications for epilepsy in the developing brain. *Epilepsy Behav* 2005; 7: 204-213.
79. Biagas K. Hypoxic-ischemic brain injury: advancements in the understanding of mechanisms and potential avenues for therapy. *Curr Opin Pediatr*. 1999; 11: 223-228.
80. Volpe JJ. Perinatal brain injury: from pathogenesis to neuroprotection. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2001; 7: 56-64.
81. Faitova J, Krekac D, Hrstka R, Vojtesek B. Endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Cell Mol Biol Lett*. 2006; 11(4): 488-505. doi: 10.2478/s11658-006-0040-4.
82. Hirsch C, Jarosch E, Sommer T, Wolf DH. Endoplasmic reticulum-associated protein degradation--one model fits all? *Biochim Biophys Acta*. 2004; 1695(1-3): 215-223. doi: 10.1016/j.bbamcr.2004.10.006.
83. Düzgün A, Alaçam H, Okuyucu A. Endoplazmik retikulum stresi ve katlanmamış protein cevabı. *Journal of Experimental and Clinical Medicine Deneysel ve Klinik Tıp Dergisi*. 2012; 29(2): 95-100.
84. Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol*. 2015; 10: 173-194. doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104649.

85. Bakris GL, Bank AJ, Kass DA, Neutel JM, Preston RA, Oparil S. Advanced glycation end-product cross-link breakers: a novel approach to cardiovascular pathologies related to the aging process. *American Journal of Hypertension*. 2004; 17(12): 23-30.
86. Zhang K, Kaufman RJ. Signaling the unfolded protein response from the Endoplasmic reticulum. *The Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279(25): 25935-25938.
87. Foufelle F, Fromenty B. Role of Endoplasmic reticulum stress in drug-induced toxicity. *Pharmacol Res Perspect*. 2016; 4(1): e00211.
88. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nature reviews Molecular Cell Biology* 2007; 8(7): 519-529.
89. Uribarri J, Cai W, Peppas M, Goodman S, Ferrucci L, Striker G, Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation endproducts: two links to inflammatory response, oxidative stress, and aging. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 2007; 62(4): 427-433.
90. Kitamura M. Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in renal pathophysiology: Janus faces. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295(2): 323-334.
91. Ibrahim IM, Abdelmalek DH, Elfiky AA. GRP78: A cell's response to stress. *Life Sci*. 2019; 226: 156-163. doi: 10.1016/j.lfs.2019.04.022.
92. Cybulsky AV. Endoplasmic reticulum stress, the unfolded protein response and autophagy in kidney diseases. *Nat Rev Nephrol*. 2017; 13(11): 681-696. doi: 10.1038/nrneph.2017.129.
93. Soto C. Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases. *Nat. Rev. Neurosci*. 2003; 4: 49–60.
94. Rao RV, Hermel E, Castro-Obregon S, del Rio G, Ellerby LM, Ellerby HM. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. Mechanism of caspase activation. *J Biol Chem*. 2001; 276: 33869–33874.
95. Walter P, Ron D The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*. 2011; 334(6059): 1081-1086.
96. Sano R, Reed JC. ER stress-induced cell death mechanisms. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1833(12): 3460-3470. doi: 10.1016/j.bbamcr.2013.06.028.
97. Salvadó L, Palomer X, Barroso E, Vázquez-Carrera M. Targeting Endoplasmic Reticulum Stress in Insulin Resistance. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2015; 26 (8): 438-448.
98. Chakrabarti A, Chen AW, Varner JD. A review of the mammalian unfolded protein response. *Biotechnology and Bioengineering*. 2011; 108(12): 2777-2793.
99. Yilmaz E. Endoplasmic Reticulum Stress and Obesity. *Adv Exp Med Biol*. 2017; 960: 261-276.
100. Hussain SG, Ramaiah KV. Endoplasmic reticulum: Stress, signalling and apoptosis. *Current Science*. 2007; 1684-1696.

101. Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature*. 2008; 454(7203): 455-462. doi: 10.1038/nature07203.
102. Kondratyev M, Avezov E, Shenkman M, Groisman B, Lederkremer GZ. PERK dependent compartmentalization of ERAD and unfolded protein response machineries during ER stress. *Exp Cell Res*. 2007; 313: 3395-3407.
103. Yoshida H. ER stress and diseases. *FEBS J*. 2007; 274: 630-658.
104. Rasheva VI, Domingos PM. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Apoptosis*. 2009; 14(8): 996-1007.
105. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep* 2006; 7(9): 880-885.
106. Lin T, Lee JE, Kang JW, Shin HY, Lee JB, Jin DI. Endoplasmic Reticulum (ER) Stress and Unfolded Protein Response (UPR) in Mammalian Oocyte Maturation and Preimplantation Embryo Development. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(2): 409. doi: 10.3390/ijms20020409.
107. Han J, Back SH, Hur J, Lin YH, Gildersleeve R, Shan J, Yuan CL, Krokowski D, Wang S, Hatzoglou M. ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death. *Nat. Cell Biol*. 2013; 15(5): 481-490.
108. Flamment M, Hajdouch E, Ferré P, Foufelle F. New insights into ER stress-induced insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab*. 2012 Aug;23(8):381-90. doi: 10.1016/j.tem.2012.06.003.
109. Cullinan SB, Diehl JA. PERK-dependent activation of Nrf2 contributes to redox homeostasis and cell survival following endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem*. 2004; 279(19): 20108-20117. doi: 10.1074/jbc.M314219200.
110. Ron D. Translational control in the endoplasmic reticulum stress response. *J Clin Invest*. 2002; 110(10): 1383-1388.
111. Choy MS, Yusoff P, Lee IC, Newton JC, Goh CW, Page R, Shenolikar S, Peti W. Structural and functional analysis of the GADD34: PP1 eIF2 α phosphatase. *Cell Rep*. 2015; 11: 1885-1891.
112. Thoudam T, Jeon JH, Ha CM, Lee IK. Role of Mitochondria-Associated Endoplasmic Reticulum Membrane in Inflammation-Mediated Metabolic Diseases. *Mediators Inflamm*. 2016; 2016: 1851420. doi: 10.1155/2016/1851420.
113. Zhong Y, Li J, Wang JJ, Chen C, Tran JT, Saadi A, et al. X-box binding protein 1 is essential for the anti-oxidant defense and cell survival in the retinal pigment epithelium. *PLoS One*. 2012; 7(6): e38616.
114. Oakes S. Endoplasmic reticulum: ER stress. In: McManus L, Mitchell R, editors. *In Pathobiology of Human Disease*. San Diego. 2014; 114-23.
115. Karna KK, Shin YS, Choi BR, Kim HK, Park JK. The Role of Endoplasmic Reticulum Stress Response in Male Reproductive Physiology and Pathology: A Review. *World J Mens Health*. 2020; 38(4): 484-494. doi: 10.5534/wjmh.190038.

116. Lee AH, Iwakoshi NN, Glimcher LH. XBP-1 regulates a subset of endoplasmic reticulum resident chaperone genes in the unfolded protein response. *Mol Cell Biol.* 2003; 23: 7448-7459.
117. He Y, Sun S, Sha H. Emerging roles for XBP1, a sUPeR transcription factor. *Gene Expr.* 2010; 15(1): 13–25.
118. Hetz C. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol* 2012; 13: 89-102.
119. Yamamoto K, Sato T, Matsui T, Sato M, Okada T, Yoshida H. Transcriptional induction of mammalian ER quality control proteins is mediated by single or combined action of ATF6alpha and XBP1. *Dev Cell.* 2007; 13(3): 365-76.
120. Schröder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem.* 2005; 74: 739-89. doi: 10.1146/annurev.biochem.73.011303.074134.
121. Seydel GŞ, Aksoy K. Endoplazmik retikulum stresi ve apoptozis mekanizması. *Archives Medical Review Journal.* 2012; 21(4): 221-235.
122. Schröder M. Endoplasmic reticulum stress responses. *Cell Mol Life Sci.* 2008; 65(6): 862-894. doi: 10.1007/s00018-007-7383-5.
123. Bánhegyi G, Baumeister P, Benedetti A, Dong D, Fu Y, Lee AS, Li J, Mao C, Margittai E, Ni M, Paschen W, Piccirella S, Senesi S, Sitia R, Wang M, Yang W. Endoplasmic reticulum stress. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1113: 58-71. doi: 10.1196/annals.1391.007.
124. Harding HP, Ron D. Endoplasmic reticulum stress and the development of diabetes: a review. *Diabetes.* 2002; 51 Suppl 3: 455-461. doi: 10.2337/diabetes.51.2007.s455.
125. Lin JH, Walter P, Yen TS. Endoplasmic reticulum stress in disease pathogenesis. *Annu Rev Pathol.* 2008; 3: 399-425. doi: 10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.151434.
126. Ghosh AP, Klocke BJ, Ballestas ME, Roth KA. CHOP potentially co-operates with FOXO3a in neuronal cells to regulate PUMA and BIM expression in response to ER stress, PLoS ONE. 2012; 7: e39586.
127. Harding HP, Zhang Y, Bertolotti A, Zeng H, Ron D. Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Mol Cell.* 2000; 5: 897–904.
128. Çelik S, Şen S, Hazman Ö. Endoplazmik retikulum stresine cevap yolları ve tip 2 diyabet patogeneğinde endoplazmik retikulum stres aracılı beta hücre apoptozisinin rolü. *Kocatepe Medical Journal.* 2015; 16(3): 227-237.
129. Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, Ron D. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes and Development.* 2004; 18(24): 3066-3077.
130. Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *J Hepatol.* 2011 Apr;54(4):795-809. doi: 10.1016/j.jhep.2010.11.005.

131. Luo D, He Y, Zhang H, Yu L, Chen H, Xu Z, Tang S, Urano F, Min W. AIP1 is critical in transducing IRE1-mediated endoplasmic reticulum stress response. *J Biol Chem.* 2008; 283(18): 11905-11912. doi: 10.1074/jbc.M710557200.
132. Han D, Lerner AG, Vande Walle L, Upton JP, Xu W, Hagen A, Backes BJ. Oakes SA, Papa FR. IRE1alpha kinase activation modes control alternate endoribonuclease outputs to determine divergent cell fates *Cell.* 2009; 138: 562-575.
133. Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response: a stress signaling pathway critical for health and disease. *Neurology.* 2006; 66(1): 102-109.
134. Ogata M, Hino S, Saito A, Morikawa K, Kondo S, Kanemoto S, Murakami T, Taniguchi M, Tanii I, Yoshinaga K, Shiosaka S, Hammarback JA, Urano F, Imaizumi K. Autophagy is activated for cell survival after endoplasmic reticulum stress. *Mol Cell Biol.* 2006; 26(24): 9220-9231. doi: 10.1128/MCB.01453-06.
135. Davis RJ. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell.* 2000; 103: 239– 252.
136. Weston RT, Puthalakath H. Endoplasmic reticulum stress and BCL-2 family members. *Adv Exp Med Biol.* 2010; 687: 65-77. doi: 10.1007/978-1-4419-6706-0_4.
137. Carpio MA, Michaud M, Zhou W, Fisher JK, Walensky LD, Katz SG. BCL-2 family member BOK promotes apoptosis in response to endoplasmic reticulum stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015; 112(23): 7201-7206. doi: 10.1073/pnas.1421063112.
138. Siddiqui WA, Ahad A, Ahsan H. The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update. *Arch Toxicol.* 2015; 89(3): 289-317. doi: 10.1007/s00204-014-1448-7.
139. Zong WX, Li C, Hatzivassiliou G, Lindsten T, Yu QC, Yuan J. Bax and Bak can localize to the endoplasmic reticulum to initiate apoptosis. *J Cell Biol.* 2003; 162: 59–69.
140. Lai ED, Teodoro T, Volchuk A. Endoplasmic reticulum stress: Signaling the unfolded protein response. *Physiology.* 2007; 22: 193-201.
141. Wei MC, Zong WX, Cheng EH, Lindsten T, Panoutsakopoulou V, Ross AJ, Roth KA, MacGregor GR, Thompson CB, Korsmeyer SJ. Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death. *Science.* 2001; 292: 727–730.
142. Morishima N, Nakanishi K, Takenouchi H, Shibata T, Yasuhiko Y. An endoplasmic reticulum stress-specific caspase cascade in apoptosis cytochrome c-independent activation of caspase-9 by caspase-12. *Journal of Biological Chemistry.* 2002; 277(37): 34287-34294.
143. Hitomi J, Katayama T, Taniguchi M, Honda A, Imaizumi K, Tohyama M. Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress depends on activation of caspase-3 via caspase-12. *Neuroscience letters.* 2004; 357(2): 127-130.

144. Anania VG, Yu K, Gnad F, Pferdehirt RR, Li H, Ma TP, Jeon D, Fortelny N, Forrest W, Ashkenazi A, Overall CM, Lill JR. Uncovering a Dual Regulatory Role for Caspases During Endoplasmic Reticulum Stress-induced Cell Death. *Mol Cell Proteomics*. 2016; 15(7): 2293-307.
145. Szegezdi E, Fitzgerald U, Samali A. Caspase-12 and ER-stress-mediated apoptosis: the story so far. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 1010: 186-194.
146. Di Sano F, Ferraro E, Tufi R, Achsel T, Piacentini M, Cecconi F. Endoplasmic reticulum stress induces apoptosis by an apoptosome-dependent but caspase 12-independent mechanism. *J Biol Chem*. 2006; 281: 2693–2700.
147. Lin W, Kunkler PE, Harding HP, Ron D, Kraig RP, Popko B. Enhanced integrated stress response promotes myelinating oligodendrocyte survival in response to interferon-gamma. *Am J Pathol*. 2008; 173(5): 1508-1517. doi: 10.2353/ajpath.2008.080449.
148. Matsuoka M, Komoike Y. Experimental evidence shows salubrinal, an eIF2 α dephosphorylation inhibitor, reduces xenotoxicant-induced cellular damage. *Int J Mol Sci*. 2015; 16: 16275–16287.
149. Sokka AL, Putkonen N, Mudo G, Pryazhnikov E, Reijonen S, Khiroug L, Belluardo N, Lindholm D, Korhonen L. Endoplasmic reticulum stress inhibition protects against excitotoxic neuronal injury in the rat brain. *J Neurosci*. 2007; 27: 901–908.
150. Deselms H, Maggio N, Rubovitch V, Chapman J, Schreiber S, Tweedie D, Kim DS, Greig NH, Pick CG. Novel pharmaceutical treatments for minimal traumatic brain injury and evaluation of animal models and methodologies supporting their development. *J Neurosci Methods*. 2016; 272: 69-76.
151. Roth TL, Nayak D, Atanasijevic T, Koretsky AP, Latour LL, McGavern DB. Transcranial amelioration of inflammation and cell death after brain injury. *Nature*. 2014; 505: 223–228.
152. Deslauriers AM, Afkhami-Goli A, Paul AM, Bhat RK, Acharjee S, Ellestad KK, Noorbakhsh F, Michalak M, Power C. Neuroinflammation and endoplasmic reticulum stress are coregulated by crocin to prevent demyelination and neurodegeneration. *J Immunol*. 2011; 187: 4788–4799.
153. Rubovitch V, Barak S, Rachmany L, Goldstein RB, Zilberstein Y, Pick CG. The neuroprotective effect of salubrinal in a mouse model of traumatic brain injury. *Neuromolecular Med*. 2015; 17(1): 58-70.
154. Hayashi T. Conversion of psychological stress into cellular stress response: roles of the sigma-1 receptor in the process. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2015; 69: 179–191.
155. Tan HP, Guo Q, Hua G, Chen JX, Liang JC. Inhibition of endoplasmic reticulum stress alleviates secondary injury after traumatic brain injury. *Neural Regen Res*. 2018; 13(5): 827-836.
156. Hu YC, Sun Q, Li W, Zhang DD, Ma B, Li S, Li WD, Zhou ML, Hang CH. Biphasic activation of nuclear factor kappa B and expression of p65 and c-Rel after traumatic brain injury in rats. *Inflamm Res*. 2014; 63: 109–115.

157. Huang X, Chen Y, Zhang H, Ma Q, Zhang YW, Xu H. Salubrinal attenuates beta-amyloid-induced neuronal death and microglial activation by inhibition of the NF-kappaB pathway. *Neurobiol Aging*. 2012; 33(1007): e1009–e1017.
158. Bracchi-Ricard V, Lambertsen KL, Ricard J, Nathanson L, Karmally S, Johnstone J, Ellman DG, Frydel B, McTigue DM, Bethea JR. Inhibition of astroglial NF-kappaB enhances oligodendrogenesis following spinal cord injury. *J Neuroinflamm*. 2013; 10: 92.
159. Logsdon AF, Lucke-Wold BP, Nguyen L, Matsumoto RR, Turner RC, Rosen CL, Huber JD. Salubrinal reduces oxidative stress, neuroinflammation and impulsive-like behavior in a rodent model of traumatic brain injury. *Brain Res*. 2016; 1643: 140-151.
160. Yavuz A, Sezik M, Ozmen O, Asci H. Fingolimod against endotoxin-induced fetal brain injury in a rat model. *J Obstet Gynaecol Res*. 2017; 43(11): 1708-1713.
161. Wang ZF, Gao C, Chen W, Gao Y, Wang HC, Meng Y, Luo CL, Zhang MY, Chen G, Chen XP, Wang T, Tao LY. Salubrinal offers neuroprotection through suppressing endoplasmic reticulum stress, autophagy and apoptosis in a mouse traumatic brain injury model. *Neurobiol Learn Mem*. 2019; 161: 12-25.
162. Saadet A. Prematüre bebeğin uzun süreli izlemi. 38. Türk Pediatri Kongresi. Kapadokya, 2003.
163. Simon F, Fernandez R: Early lipopolysaccharide-induced reactive oxygen species production evokes necrotic cell death in human umbilical vein endothelial cells. *J Hypertens* 2009; 27: 1202-1216.
164. Bao J, Liu Y, Yang J, Gao Q, Shi SQ, Garfield RE. Nicotine inhibits LPS-induced cytokine production and leukocyte infiltration in rat placenta. *Placenta*. 2016; 39: 77–8310.1016/j.placenta.2016.01.015.
165. Yavuz A, Sezik M, Eris Yalcin S, Asci H, Ozmen O. Immunohistochemical analysis of protective effects of maternal fingolimod on the placenta and fetal lung and brain in chorioamnionitis-induced preterm birth rat model. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2020; 42(6): 564-571.
166. You M, Miao Z, Pan Y, Hu F. Trans-10-hydroxy-2-decenoic acid alleviates LPS-induced blood-brain barrier dysfunction by activating the AMPK/PI3K/AKT pathway. *Eur J Pharmacol*. 2019; 865: 172736.).
167. Bao J, Zou Y, Liu Y, Yuan L, Garfield RE, Liu H. Nicotine protects fetus against LPS-induced fetal growth restriction through ameliorating placental inflammation and vascular development in late pregnancy in rats. *Biosci Rep*. 2019; 39(7): BSR20190386.
168. Hu J, Zhang J, Zhu B. Protective effect of metformin on a rat model of lipopolysaccharide-induced preeclampsia. *Fundam Clin Pharmacol*. 2019; 33(6): 649-658.

169. Lee JY, Song H, Dash O, Park M, Shin NE, McLane MW, Lei J, Hwang JY, Burd I. Administration of melatonin for prevention of preterm birth and fetal brain injury associated with premature birth in a mouse model. *Am J Reprod Immunol*. 2019; 82(3): e13151.
170. Bull VH, Thiede B. Proteome analysis of tunicamycin-induced ER stres. *Electrophoresis*. 2012; 33(12): 1814-1823.
171. Gündeşli H, Dinçer P. Endoplazmik retikulum stresinin moleküler mekanizması ve kas patolojisi arasındaki ilişki. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2008; 39: 109-114.
172. Ryoo HD. Long and short (timeframe) of Endoplasmic Reticulum stres-induced cell death. *The Febs Journal*. 2016; 283(20): 3718-3722.
173. He L, Kim SO, Kwon O, Jeong SJ, KimMS, Lee HG, Osada H, Jung M, Ahn JS, Kim YB. ATM blocks tunicamycin-induced endoplazmik retikulum stres. *Febs Letters*. 2009; 583(5): 903-908.
174. Shen M, Wang L, Guo X, Xue Q, Huo C, Li X, Fan L, Wang X. A novel endoplasmic retikulum stres induced apoptosis model using tunicamycin in primary cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Molecular Medicine Reports*. 2015; 12(4): 5149-5154.
175. Chen B, Hong W, Tang Y, Zhao Y, Aguilar ZP, Xu H. Protective effect of the NAC and Sal on zinc oxide nanoparticles-induced reproductive and development toxicity in pregnant mice. *Food Chem Toxicol*. 2020; 143: 111552.
176. Ohri SS, Hetman M, Whittemore SR. Restoring endoplasmic retikulum homeostasis improves functional recovery after spinal cord injury. *Neurobiol Dis*. 2013; 58: 29–37.
177. Anuncibay-Soto B, Pérez-Rodríguez D, Santos-Galdiano M, Font E, Regueiro-Purriños M, Fernández-López A. Post-ischemic salubrial treatment results in a neuroprotective role in global cerebral ischemia. *J Neurochem*. 2016; 138: 295–306.
178. Quillinan N, Herson PS, Traystman RJ. Neuropathophysiology of brain injury. *Anesthesiol Clin*. 2016; 34: 453–464.
179. Li J, Wang JJ, Zhang SX. Preconditioning with endoplasmic retikulum stress mitigates retinal endothelial inflammation via activation of X-box binding protein 1. *J Biol Chem*. 2011; 286: 4912–4921.
180. Font-Belmonte E, Ugidos IF, Santos-Galdiano M, González-Rodríguez P, Anuncibay-Soto B, Pérez-Rodríguez D, Gonzalo-Orden JM, Fernández-López A. Post-ischemic salubrial administration reduces necroptosis in a rat model of global cerebral ischemia. *J Neurochem*. 2019; 151(6): 777-794.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
17.10.2019	11	04

SDÜ Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 17.10.2019 tarihinde saat-09:30'da toplanarak aşağıdaki kararlar alınmıştır;

Karar: 04 Proje Yürütücüsü: Doç.Dr. Halil AŞÇI (Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD) Yürütüçülüğünde,

Yardımcı Araştırmacılar: Dr. Öğr. Üyesi Mehtap SAVRAN, Prof.Dr.Mekin SEZİK, Doç.Dr. Kanat GÜLLE, Dr. Öğr. Üyesi Yalçın ERZURUMLU ve Yüks. Lisans Öğrenci Pelin İÇTEN'in yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı **"LPS ile indüklenmiş koryoamniyonit modelinde plasental doku ve fetal beyin hasarına karşı Salubrinol'in etkisi"** başlıklı SDÜ Bilimsel Araştırma Projesinin, oybirliği ile **UYGUNLUĞUNA** karar verilmiştir.

Doç.Dr. Kanat GÜLLE Başkan	Doç. Dr. İbrahim Meryem ÇIRIŞ Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Münire ÇAKIR ÜYE
Doç. Dr. Ömer ÇELİK ÜYE	Doç. Dr. Duygu KILIMBUL DOĞUÇ ÜYE	Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE
Doç.Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE	Öğ. Gör. İbrahim ONARAN (HÜDAL Sorumlu Veteriner Hekimi) ÜYE	Vet. Hekim Ramazan ÇELİK SIVİL ÜYE
Orman Müh. Serkan GÖNENÇ SIVİL ÜYE		

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Pelin İÇTEN

Doğum Yeri ve Yılı :

Medeni Hali :

Telefon :

Mail :

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Fakültesi Hemşirelik Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Yabancı Dil(ler) ve Düzeyi

1. İngilizce - Orta

Bilimsel Yayınlar ve Çalışmalar

1. Asci H, Ozmen O, Erzurumlu Y, Sofu A, Icten P, Kaynak M. Agomelatine protects heart and aorta against lipopolysaccharide-induced cardiovascular toxicity via inhibition of NF- κ B phosphorylation. Drug Chem Toxicol. 2019; 1-10. doi: 10.1080/01480545.2019.1663209.

2. Asci H, Ozmen O, Erzurumlu Y, Savas HB, Temel EN, Icten P, Hasseyid N. Ameliorative effects of pregabalin on LPS induced endothelial and cardiac toxicity. Biotech Histochem. 2020; 1-12. doi: 10.1080/10520295.2020.1810315.