



T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ (VETERİNER)  
DOKTORA PROGRAMI  
VHE-2019-0003

GEBELİĞİN FARKLI DÖNEMLERİNDEKİ FARE PLASENTASINDA  
HİSTOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLER İLE IgG DAĞILIMININ  
VE YOĞUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

Seçil KOÇ  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Şadiye KUM

AYDIN 2019

2019

DOKTORA

HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ (VETERİNER)

SECİL KOC

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ (VETERİNER)**  
**DOKTORA PROGRAMI**  
**VHE-2019-0003**

**GEBELİĞİN FARKLI DÖNEMLERİNDEKİ FARE PLASENTASINDA  
HİSTOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLER İLE IgG DAĞILIMININ  
VE YOĞUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI**

**Seçil KOÇ**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Şadiye KUM**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-16004 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2019**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Seçil KOÇ tarafından hazırlanan “Gebeliğin Farklı Dönemlerindeki Fare Plasentasında Histolojik ve Histokimyasal Değişiklikler ile IgG Dağılımının ve Yoğunluğunun Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26/12/2019

Üye (T.D.)	: Prof. Dr. Şadiye KUM	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	.....
Üye	: Prof. Dr. Ülker EREN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	.....
Üye	: Prof. Dr. Emel ERGÜN	Ankara Üniversitesi	.....
Üye	: Prof. Dr. Levent ERGÜN	Ankara Üniversitesi	.....
Üye	: Prof. Dr. Hakkı Bülent BECERİKLİSOY	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	.....

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarında yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün ..... tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan ..... no'lu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit Kum  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora ders ve tez dönemim boyunca, tüm bilgi, tecrübe ve desteğini benden esirgemeyen çoğu zaman bana bir hocadan çok aile sıcaklığı hissettiren değerli hocam Prof. Dr. Şadiye KUM'a teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince yardımlarını ve manevi desteklerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Ülker EREN, Prof. Dr. Mustafa SANDIKÇI, Prof. Dr. Levent KARAGENÇ ve Prof. Dr. Cavit KUM'a teşekkür ederim.

Doktora eğitimim sürecinde her zaman desteğini gördüğüm, Histoloji-Embriyoloji alanını bana sevdiren ve bu yolda yürümemi sağlayan, histolojik teknikleri ilk öğrendiğim değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Kenan ÇINAR'a ve çalışma disiplini her zaman örnek aldığım, bu alanda çok şey öğrendiğim değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Emel DEMİRBAĞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen değerli arkadaşlarım Göksel DOĞAN, Ayşe Büşra AKBAŞ, Musa TATAR, Şengül ŞENTÜRK'e, Süleyman Demirel Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalından değerli arkadaşlarım Hatice GÜN, Alkan KARAOĞLU, Nagehan YÜCEER'e teşekkür ederim.

Doktora eğitimi yapmama olanak sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı başkanlığı ve tüm öğretim üyelerine, tüm asistan arkadaşlarıma, bu süreçte bana yardımcı olan teknisyen arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman maddi ve manevi desteklerini üzerimden eksik etmeyen, her koşulda bana inanan ve güvenen canım annem Nefise ZORLU ve Eşim Koray KOÇ'a teşekkür ederim.

Küçük çocuğu olan kadınların akademik başarı sağlayamayacağı konusundaki yaygın kanının aksine, zor olsa da sana rağmen değil, senin sayende oğlum Teoman KOÇ, en çok sana teşekkür ederim. Bana zamanın ne kadar kıymetli ve insanın ne kadar dayanıklı olduğunu öğrettiğin için...

Son olarak, tezimi zamansız kaybettiğim, derin şevkatine hasret kaldığım Babam Adem ZORLU'ya ithaf ediyorum.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ .....	xiv
ÖZET.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Dişi Genital Sistem.....	3
2.1.1. Ovaryum.....	3
2.1.1.1. Ovaryum folikülleri.....	4
2.1.1.1.1. Primordial folikül.....	4
2.1.1.1.2. Primer folikül .....	5
2.1.1.1.3. Sekonder folikül.....	5
2.1.1.1.4. Tersiyer folikül.....	6
2.1.1.1.5. Graff folikülü.....	6
2.1.1.1.6. Atretik (atretik) folikül.....	7
2.1.1.2. Ovulasyon .....	7
2.1.1.3. Korus luteum.....	8
2.1.1.4 Östrus siklusu .....	8
2.1.2. Tuba Uterina.....	9
2.1.3. Uterus .....	10
2.1.3.1. Menstrual siklus.....	12
2.1.3.1.1. Proliferasyon fazı .....	12
2.1.3.1.2. Luteal faz.....	12
2.1.3.1.3. Menstrual faz.....	13
2.1.3.1.4. İskemik faz.....	13
2.1.3.1.5. Rejenerasyon fazı .....	13
2.1.4. Serviks Uteri .....	13

2.1.5. Vagina.....	14
2.1.6. Dış Genital Organlar.....	15
2.2. Fertilizasyon.....	15
2.2.1. Spermatozoon Transportu.....	16
2.2.2. Spermatozoon Kapasitasyonu.....	17
2.2.3. Akrozom Reaksiyonu.....	17
2.2.4. Fertilizasyonda Gerçekleşen Hücresel Olaylar.....	18
2.2.5. Zona Reaksiyonu.....	18
2.2.6. Ovum Aktivasyonu.....	19
2.2.7. Bölünme ve Yumurta Tipleri.....	19
2.2.7.1. Bölünme ve bölünme tipleri.....	19
2.2.7.2. Yumurta tipleri.....	20
2.3. İmplantasyon.....	21
2.3.1. Genel Bilgiler.....	21
2.3.2. İmplantasyon Çeşitleri.....	23
2.4. Plasenta.....	24
2.4.1. Genel Bilgiler.....	24
2.4.2. Fötal Membranlar ve Oluşumları.....	24
2.4.2.1. Amnion.....	25
2.4.2.2. Allantois.....	25
2.4.2.3. Vitellus (sarı kese).....	26
2.4.2.4. Koryon.....	26
2.4.3. Plasenta Sınıflandırması.....	26
2.4.3.1. Membranların yerleşimine göre plasenta çeşitleri.....	26
2.4.3.2. Morfolojik özelliklerine göre plasenta çeşitleri.....	27
2.4.3.3. Desidua varlığına göre plasenta çeşitleri.....	28
2.4.3.4. Maternal-fötal kısmın morfolojisine göre plasenta çeşitleri.....	28
2.4.3.5. Maternal-fötal kısmın histolojisine göre plasenta çeşitleri.....	29
2.5. Fare Plasentası.....	31
2.5.1. Fare Plasentasının Gelişimi.....	31
2.5.2. Olgun Fare Plasentasının Yapısı.....	33
2.5.2.1. Fötal kısım.....	34
2.5.2.1.1. Labirent kısmı.....	34

2.5.2.1.2. Bağlantı zonu.....	37
2.5.2.2. Maternal desidua.....	39
2.5.2.2.1. Desidualizasyon ve desidua hücreleri.....	39
2.5.2.2.2. Metriyal bezler .....	40
2.5.2.2.3. MLAp .....	41
2.6. İmmünglobulinler .....	41
2.6.1. İmmünoglobulinlerin Genel ve Yapısal Özellikleri.....	41
2.6.2.İmmünoglobulinlerin Sınıf ve Altsınıfları.....	43
2.6.2.1. İmmünoglobulin M.....	44
2.6.2.2. İmmünoglobulin A.....	45
2.6.2.3. İmmünoglobulin E.....	45
2.6.2.4. İmmünoglobulin D.....	46
2.6.2.5. İmmünoglobulin G.....	46
2.7. Maternal Tolerans.....	50
2.7.1. Maternal Faktörler.....	51
2.7.2. Fötal Faktörler.....	51
2.7.3. Maternal Toleransı Etkileyen Diğer Faktörler.....	52
2.7.3.1. Plasental büyük doku uyum kompleksi (MHC-I) varlığı.....	52
2.7.3.2. Plasental MHC II eksikliği.....	52
2.7.3.3. Tamamlayıcı-düzenleyici proteinlerin eksikliği.....	52
2.7.3.4. Plasental triptofan mekanizması.....	53
2.7.3.5. Gebelik boyunca sitokin dengesinin değişmesi.....	53
2.8. Vimentin.....	53
2.9. CD45.....	54
2.10. İnsan Plasentasyonu Araştırmalarında Hayvan Modellerinin Kullanımı.....	54
3. GEREÇ YÖNTEM .....	56
3.1. Gereç .....	56
3.2. Yöntem .....	56
3.2.1. Histolojik Yöntem.....	57
3.2.1.1. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	58
3.2.1.2. Üçlü boyama yöntemi.....	58
3.2.2. Histolojik Değerlendirme.....	59
3.2.3. Histokimyasal Yöntem.....	60

3.2.3.1. Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama yöntemi.....	60
3.2.3.2. Alsian Blue pH 2.5 (AB pH 2.5) boyama yöntemi.....	60
3.2.3.3. Periyodik Asit-Schiff/Alsian Blue pH 2.5 (PAS/AB) boyama yöntemi.....	61
3.2.3.4. Aldehit Fuksin pH 1.0 (AF pH 1.0) boyama yöntemi.....	61
3.2.3.5. Alsian Blue pH 1.0 (AB pH 1.0) boyama yöntemi.....	61
3.2.3.6. Alsian Blue pH 0.5 (AB pH 0.5) boyama yöntemi.....	62
3.2.3.7. Aldehit Fuksin pH 1.0/Alsian Blue pH 0.5 (AF/AB) boyama yöntemi.....	62
3.2.3.8. Toluidin Blue (TB) boyama yöntemi.....	62
3.2.4. Histokimyasal Değerlendirme.....	63
3.2.5. İmmünohistokimyasal Yöntem.....	63
3.2.6. İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	65
4. BULGULAR.....	66
4.1. Dördüncü Gün.....	66
4.1.1. Histolojik Bulgular.....	66
4.1.2. Histokimyasal Bulgular.....	68
4.1.2.1. Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama yöntemi.....	68
4.1.2.2. Alsian Blue pH 2.5 (AB pH 2.5) boyama yöntemi.....	68
4.1.2.3. Periyodik Asit-Schiff/Alsian Blue pH 2.5 (PAS/AB) boyama yöntemi.....	68
4.1.2.4. Aldehit Fuksin pH 1.0 (AF pH 1.0) boyama yöntemi.....	69
4.1.2.5. Alsian Blue pH 1.0 (AB pH 1.0) boyama yöntemi.....	70
4.1.2.6. Alsian Blue pH 0.5 (AB pH 0.5) boyama yöntemi.....	71
4.1.2.7. Aldehit Fuksin pH 1.0/Alsian Blue pH 0.5 (AF/AB) boyama yöntemi.....	72
4.1.2.8. Toluidin Blue (TB) boyama yöntemi.....	72
4.1.3. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	75
4.1.3.1. İmmünglobulin G (IgG) .....	75
4.1.3.2. Vimentin .....	76
4.1.3.3. CD45.....	76
4.2. Onuncu Gün.....	79
4.2.1. Histolojik Bulgular.....	79
4.2.2. Histokimyasal Bulgular.....	84
4.2.2.1. Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama yöntemi.....	84
4.2.2.2. Alsian Blue pH 2.5 (AB pH 2.5) boyama yöntemi.....	86
4.2.2.3. Periyodik Asit-Schiff/Alsian Blue pH 2.5 (PAS/AB) boyama yöntemi.....	86



4.2.2.4. Aldehit Fuksin pH 1.0 (AF pH 1.0) boyama yöntemi.....	87
4.2.2.5. Alsian Blue pH 1.0 (AB pH 1.0) boyama yöntemi.....	88
4.2.2.6. Alsian Blue pH 0.5 (AB pH 0.5) boyama yöntemi.....	89
4.2.2.7. Aldehit Fuksin pH 1.0/Alsian Blue pH 0.5 (AF/AB) boyama yöntemi.....	89
4.2.2.8. Toluidin Blue (TB) boyama yöntemi.....	90
4.2.3. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	93
4.2.3.1. İmmünglobulin G (IgG) .....	93
4.2.3.2. Vimentin .....	94
4.2.3.3. CD45.....	95
4.3. On Yedinci Gün.....	97
4.3.1. Histolojik Bulgular.....	97
4.3.2. Histokimyasal Bulgular.....	102
4.3.2.1. Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama yöntemi.....	102
4.3.2.2. Alsian Blue pH 2.5 (AB pH 2.5) boyama yöntemi.....	103
4.3.2.3. Periyodik Asit-Schiff/Alsian Blue pH 2.5 (PAS/AB) boyama yöntemi.....	104
4.3.2.4. Aldehit Fuksin pH 1.0 (AF pH 1.0) boyama yöntemi.....	104
4.3.2.5. Alsian Blue pH 1.0 (AB pH 1.0) boyama yöntemi.....	105
4.3.2.6. Alsian Blue pH 0.5 (AB pH 0.5) boyama yöntemi.....	105
4.3.2.7. Aldehit Fuksin pH 1.0/Alsian Blue pH 0.5 (AF/AB) boyama yöntemi.....	105
4.3.2.8. Toluidin Blue (TB) boyama yöntemi.....	106
4.3.3. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	107
4.3.3.1. İmmünglobulin G (IgG) .....	107
4.3.3.2. Vimentin .....	108
4.3.3.3. CD45.....	109
5. TARTIŞMA.....	112
5.1. Histolojik Değerlendirmeler.....	112
5.2. Histokimyasal Değerlendirmeler.....	114
5.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirmeler.....	116
5.3.1. IgG.....	116
5.3.2. Vimentin.....	117
5.3.3. CD45.....	120
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	122
KAYNAKLAR .....	124

EKLER .....	138
ÖZGEÇMİŞ.....	139



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AB</b>	:Alcian blue /Alcian mavisi
<b>AF</b>	:Aldehyde fuchsin / Aldehit fuksin
<b>AF-AB</b>	:Aldehyde fuchsin pH 2.5 (AF pH 2.5)- Alcian blue pH 2,5 (AB pH 2,5) / Aldehit fuksin pH 2.5 (AF pH 2.5) / Alcian mavisi pH 2,5 (AB pH 2,5)
<b>BCR</b>	:B Cell receptor / B hücre reseptörü
<b>BSA</b>	:Bovine serum albümin / Sığır serum albümini
<b>CDR</b>	:Complement determinant region / Tamamlayıcılık belirleyici bölge
<b>CD45(LCA)</b>	:Leukocyte common antigen / Lökosit ilgili antijen
<b>CO<sub>2</sub></b>	:Carbon dioxide / Karbondioksit
<b>C-TGC</b>	:Channel TGC / Kanal TGC
<b>Ch-TGC</b>	:Channel TGC / Kanal TGC
<b>CTS</b>	:Cathepsin / Katepsin
<b>DAB</b>	:3,3'diaminobenzidin tetrahidroklorit / 3,3'' diaminobenzidine tetrahydrochloride
<b>FcR</b>	:Fc receptor / Fc reseptörleri
<b>Gly-C</b>	:Glycogen cells / Glikojen hücreleri
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	:Hydrogen peroxide / Hidrojen peroksit
<b>HLA</b>	:Human leukocyte antigen / İnsan lökosit antijen
<b>IDO</b>	:2,3-dioxygenase / 2,3-dioksijenaz
<b>Ig</b>	:Immunoglobulin / İmmunoglobulin
<b>IgA</b>	:Immunoglobulin / İmmünglobulin A
<b>IgM</b>	:Immunoglobulin / İmmünglobulin M
<b>IgG</b>	:Immunoglobulin / İmmünglobulin G
<b>IgE</b>	:Immunoglobulin / İmmünglobulin E
<b>IgSf</b>	:Immunoglobulin superfamily / İmmünglobulin süperaillesi
<b>ITAM</b>	:Immunoreceptor tyrosine-based activation motifs / immünreseptör tirozin bazlı aktivasyon motifi
<b>ITIM</b>	:Immunoreceptor tyrosine-based inhibitor motifs / İmmünreseptör tirozin bazlı baskılama motifi
<b>kDA</b>	:Kilodaltons / Kilodalton
<b>IL-11</b>	:İnterleukin-11 / İnterlökin- 11

<b>LIF</b>	:Leukemia inhibitör factor / Lösemi inhibitör faktör
<b>MHC-I</b>	:Major histocompatibility complex / Majör doku uyuşum kompleksi
<b>MLAp</b>	:Mesometrial lymphoid aggregate of pregnancy / Gebelikte mezometriyal lenfosit topluluğu
<b>nm</b>	:Nanometer / Nanometre
<b>PAS</b>	:Periyodic Aside-Schiff / Periyodik Asit-Schiff
<b>PAS-AB</b>	:Periyodic Aside-Schiff / Alcian blue pH 2.5 (AB pH 2.5) / Periyodik Asit-Schiff / Alsian mavisi pH 2.5 (AB pH 2.5)
<b>PDZ</b>	:Primer decidual zone / Primer desidual zon
<b>PLF</b>	:Proliferine / Proliferin
<b>PLP</b>	:Prolactin-like-protein PTGS2 / Prolactine benzeri protein PTGS2
<b>P-TGC</b>	:Pariyetal trophoblastic giant cell / Pariyetal trofoblastik dev hücre
<b>SDZ</b>	:Secunder decidual zone / Sekonder desidual zon
<b>SynT</b>	:Syncytiotrofoblast / Sinsityotrofoblast
<b>SpA-TGCs</b>	:Spiral artery TGC / Spiral arter TGC
<b>S-TGC</b>	:Sinusoidal TGC / Sinüzoidal TGC
<b>TGC</b>	:Trophoblastic giant cells / Trofoblastik dev hücreleri
<b>SpT</b>	:Spongiotrofoblasts / Spongiotrofoblastlar
<b>TBS</b>	:Tris buffer solution / Tuzlu tris tampon
<b>THR</b>	:T cell receptors / T hücre reseptörleri
<b>uNK</b>	:Uterine natural killer cells / Uterin doğal katil hücreleri

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İmplantasyon tipleri .....	24
Şekil 2. Fötal membranların şematize gösterilişi . .....	25
Şekil 3. Morfolojik özelliklerine göre plasenta tipleri. ....	28
Şekil 4. Maternal ve fötal kısmının morfolojik yapısına göre plasenta tipleri. ....	29
Şekil 5. Maternal-fötal kısımların histolojisine göre plasenta tipleri .....	30
Şekil 6. Fare plasentasının gelişimi .....	33
Şekil 7. Olgun fare plasentasının şematik gösterimi .....	34
Şekil 8. Tüm immünglobulinlerin molekül şekillerinin şematik gösterimi.....	44
Şekil 9. İmmünglobulin G' nin molekül yapısının şematik gösterimi. ....	47

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Gebeliğin dördüncü gün. Uterusun genel görünümü. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	66
<b>Resim 2.</b> Gebeliğin dördüncü günü. Epitel bütünlüğünde bozulma. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	67
<b>Resim 3.</b> Gebeliğin dördüncü günü. Uterus. Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama yöntemi.....	68
<b>Resim 4.</b> Gebeliğin dördüncü günü. Periyodik Asit-Schiff/Alsian Blue pH 2.5 (PAS/AB) boyama yöntemi.....	69
<b>Resim 5.</b> Gebeliğin dördüncü günü. Aldehit Fuksin pH 1.0 (AF pH 1.0) boyama yöntemi.....	70
<b>Resim 6.</b> Gebeliğin dördüncü günü. Alsian Blue pH 1.0 (AB pH 1.0) boyama yöntemi.....	71
<b>Resim 7.</b> Gebeliğin dördüncü günü. Alsian Blue pH 0.5 (AB pH 0.5) boyama yöntemi.....	71
<b>Resim 8.</b> Gebeliğin dördüncü günü. Aldehit Fuksin pH 1.0/Alsian Blue pH 0.5 (AF/AB) boyama yöntemi.....	72
<b>Resim 9.</b> Gebeliğin dördüncü günü. Toluidin Blue (TB) boyama yöntemi.....	73
<b>Resim 10.</b> Gebeliğin dördüncü günü. IgG. sABC boyama yöntemi.....	75
<b>Resim 11.</b> Gebeliğin dördüncü günü. Vimentin. sABC boyama yöntemi.....	76
<b>Resim 12.</b> Gebeliğin dördüncü günü. CD45. sABC boyama yöntemi.....	77
<b>Resim 13.</b> Gebeliğin onuncu günü. Histolojik görünüm. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	80
<b>Resim 14.</b> Gebeliğin onuncu günü. Histolojik görünüm. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	81
<b>Resim 15.</b> Gebeliğin onuncu günü. Histolojik görünüm. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	83
<b>Resim 16.</b> Gebeliğin onuncu günü. Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama yöntemi.....	85
<b>Resim 17.</b> Gebeliğin onuncu günü. Periyodik Asit-Schiff/Alsian Blue pH 2.5 (PAS/AB) boyama yöntemi.....	87
<b>Resim 18.</b> Gebeliğin onuncu günü. Aldehit Fuksin pH 1.0 (AF pH 1.0) boyama yöntemi.....	88
<b>Resim 19.</b> Gebeliğin onuncu günü. Alsian Blue pH 1.0 (AB pH 1.0) boyama yöntemi..	88
<b>Resim 20.</b> Gebeliğin onuncu günü. Alsian Blue pH 0.5 (AB pH 0.5) boyama yöntemi..	89
<b>Resim 21.</b> Gebeliğin onuncu günü. Aldehit Fuksin pH 1.0/Alsian Blue pH 0.5 (AF/AB) boyama yöntemi.....	90
<b>Resim 22.</b> Gebeliğin onuncu günü. Toluidin Blue (TB) boyama yöntemi.....	91
<b>Resim 23.</b> Gebeliğin onuncu günü. IgG. sABC boyama yöntemi.....	93
<b>Resim 24.</b> Gebeliğin onuncu günü. Vimentin. sABC boyama yöntemi.....	94
<b>Resim 25.</b> Gebeliğin onuncu günü. CD45. sABC boyama yöntemi.....	95

<b>Resim 26.</b> Gebeliğin on yedinci günü. Uterus genel görüntüsü. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	97
<b>Resim 27.</b> Gebeliğin on yedinci günü. Uterus desidua bazalis ve MLAp kısımları. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	98
<b>Resim 28.</b> Gebeliğin on yedinci günü. Plasentanın bağlantı zonu. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	99
<b>Resim 29.</b> Gebeliğin on yedinci günü. Plasentanın fotal kısmı. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	101
<b>Resim 30.</b> Gebeliğin on yedinci günü. Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama yöntemi..	103
<b>Resim 31.</b> Gebeliğin on yedinci günü. Periyodik Asit-Schiff/Alsian Blue pH 2.5 (PAS/AB) boyama yöntemi.....	104
<b>Resim 32.</b> Gebeliğin on yedinci günü. Alsian Blue pH 1.0 (AB pH 1.0) boyama yöntemi.....	105
<b>Resim 33.</b> Gebeliğin on yedinci günü. Toluidin Blue (TB) boyama yöntemi.....	106
<b>Resim 34.</b> Gebeliğin on yedinci günü. IgG. sABC boyama yöntemi.....	108
<b>Resim 35.</b> Gebeliğin on yedinci günü. Vimentin. sABC boyama yöntemi.....	109
<b>Resim 36.</b> Gebeliğin on yedinci günü. CD45. sABC boyama yöntemi.....	110

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Fc $\gamma$ R' lerin hücresel dağılımları ve fonksiyonları .....	48
<b>Tablo 2.</b> Uygulanan boyama yöntemleri ve yöntemlerin amaçları.....	56
<b>Tablo 3.</b> Gebeliğin dördüncü gününde histokimyasal reaksiyonlar. ....	74
<b>Tablo 4.</b> Gebeliğin dördüncü gününde immünhistokimyasal reaksiyonlar. ....	78
<b>Tablo 5.</b> Gebeliğin onuncu günde histokimyasal reaksiyonlar .....	92
<b>Tablo 6.</b> Gebeliğin onuncu gününde immünhistokimyasal reaksiyonlar .....	96
<b>Tablo 7.</b> Gebeliğin on yedinci gününde histokimyasal reaksiyonlar .....	107
<b>Tablo 8.</b> Gebeliğin on yedinci gününde immünhistokimyasal reaksiyonlar .....	111





## ÖZET

### GEBELİĞİN FARKLI DÖNEMLERİNDEKİ FARE PLASENTASINDA HİSTOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLER İLE IgG DAĞILIMININ VE YOĞUNLUĞUNUN ARAŞTIRILMASI

**Koç, S. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji (Veteriner) Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2019.**

Sunulan tez çalışmasında gebeliğin dördüncü, onuncu ve on yedinci günlerindeki fare plasentadaki histolojik ve histokimyasal değişiklikler ile vimentin, IgG, CD45 dağılımı ve yoğunluğunun araştırılması amaçlandı. Gebeliğin dördüncü, onuncu ve on yedinci günlerine ait yedişer sağlıklı fare plasentas materyal olarak kullanıldı. Doku örneklerine genel histolojik yapıyı göstermek amacıyla Hematoksilen-Eozin ve Masson üçlü boyamaları yapıldı. Plasentanın histokimyasal özelliklerini belirlemek için Periyodik Asit-Schiff (PAS), alsian blue (AB) pH 2.5, PAS / AB pH 2.5, aldehit fuksin (AF), AB pH 1.0, AB pH 0.5 ve AF / AB pH 2.5 boyama yöntemleri uygulandı. Vimentin, IgG ve CD45 demonstrasyonu için strept avidin-biotin peroksidaz kompleks (streptABC) boyama yöntemi kullanıldı. Genel histolojik yapı incelendiğinde gebeliğin dördüncü gününde implantasyonun gerçekleşmediği saptandı. Histokimyasal boyama yöntemleri ile damar duvarı ve stromada pozitivite gözlemlendi. IgG, CD45 ve vimentinin uterus bezleri etrafında yoğunlaşması dikkati çekti. Gebeliğin onuncu gününde uterusun belirgin olarak mezometriyal ve antimezometriyal olarak ayrıldığı, plasentanın mezometriyal kısımda yerleşim gösterdiği gözlemlendi. Maternal kısımda gebelikte metriyal lenfosit topluluğu (MLAp), desidua bazalis; fetal kısımda glikojen hücreleri, pariyetal trofoblastik dev hücreler (P-TGC), sinsityotrofoblast hücre kümeleri, çekirdekli fetal eritrositler, maternal kan elemanları ve amnion zarı görüldü. Labirintin gelişmekte olduğu ve olgun plaseenta formuna ulaşmadığı gözlemlendi. Histokimyasal glikojen hücrelerinde yoğun PAS aktivitesi görüldü. Onuncu günde desidua bazaliste, mezometriyal P-TGC'lerde ve MLAp kısımlarında vimentin, IgG ve CD45 ekspresyonu gözlemlendi. Gebeliğin on yedinci gününde olgun fare plasentas tüm kısımlarıyla ayırt edildi. Labirintin son halini aldığı ve özelleşmiş trofoblastik dev hücrelerin konumlandığı belirlendi. Koryonik plağın oluştuğu gözlemlendi ve gelişmiş vitellus kesesi varlığı dikkati çekti. Bağlantı zonunda spongiotrofoblast hücreleri, glikojen hücreleri ve desidual hücrelerin varlığı kaydedildi. Histokimyasal boyama yöntemleri ile plasentada nötral mukosübstanın baskın olduğu görüldü. On yedinci günde

IgG'nin labirintte ve desidual alanda eksprese edildiği tespit edildi. Vimentinin labirintte ve MLAp kısmında granüler tarzda reaksiyon verdiği, CD45'in birkaç P-TGC' de ve vimentin ile uyumlu olmak üzere MLAp kısmında da eksprese edildiği gözlendi.

**Anahtar kelimeler:** Fare plasentası, histokimya, histoloji, immunglobulin G



## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF IgG DISTRIBUTION AND DENSITY AND HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHANGES IN MOUSE PLACENTA AT DIFFERENT PERIODS OF PREGNANCY

**Koç S. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences Histology and Embryology (Veterinary) Program, Aydın, 2019.**

The aim of the present study was to investigate the histological/histochemical changes as well as the density and distribution of vimentin, IgG, and CD45 in the mouse placenta on the fourth, tenth and seventeenth days of pregnancy. The study material consisted of seven healthy mouse placentas from the fourth, tenth and seventeenth days of pregnancy. Hematoxylin-Eosin and Masson Triple Staining methods were used to examine the general histological structure. In order to examine the histochemical changes, Periodic Acid-Schiff (PAS), alcian blue (pH 2.5), PAS/AB (pH 2.5), aldehyd fuchsin (AF), AB (pH 1.0), AB (pH 0.5) and AF/AB (pH 2.5) staining methods were used. The expression of vimentin, IgG and CD45 was examined using streptavidin-biotin peroxidase method. General histologic examination revealed no implantation on the fourth day of pregnancy. Histochemical staining showed strong AF positivity in blood vessels and stroma. The expression of IgG, CD45 and vimentin was more intense around the uterine glands. On the tenth day of pregnancy, two distinct parts of the uterus, mesometrial and antimesometrial parts, were evident and the uterus was within the mesometrial part. Whereas mesometrial lymphoid groups (MLAp) and decidua basalis were present in the maternal part of the placenta; glycogen cells, parietal trophoblast giant cells (P-TGC), syncytiotrophoblast cell clusters, nucleated fetal erythrocytes, maternal blood cells and amniotic membrane were observed in the fetal placenta. The formation of the labirental placenta was not complete. Glycogen cells showed strong PAS positivity. Immunohistochemical studies demonstrated the presence of IgG-, CD45- and vimentin-positive cells in decidua basalis and mesometrial P-TGCs and MLAp. The formation of the placenta was complete on the seventeenth day of pregnancy. The labirental placenta along with associated specified giant cells in its final form was also observed. Chorionic plate and a well-developed vitelline sac were also present. Spongotrophoblast, glycogen and decidual cells were present in placenta connecting stalk. Histochemical findings demonstrated dominant presence of mucosubstance throughout the placenta. The expression of IgG in the

labirental placenta as well as in the decidual spaces was evident on seventeenth day of pregnancy. While the expression of vimentin was observed in the labirental placenta and in the MLAp in a granular fashion, CD45 was expressed in a few P-TGCs as well as in MLAp along with vimentin.

**Keywords:** Histochemistry, histology, immunoglobulin G, mouse placenta



# 1. GİRİŞ

Plasenta; gebelikte oluşan, fertilize olmuş oositin gelişip olgunlaşmasını sağlayan, geçici bir organ olmasına rağmen, fetüsün uterus içerisinde gelişebilmesi için ortam oluşturan, oluştuğu süre içerisinde çok hızlı gelişen, intrauterin hayatın devamlılığını sağlayan ve sadece memelilerde bulunan extraembriyonel bir dokudur (Madazlı, 2008; Furukawa ve ark, 2011; Tewari ve ark, 2011). Gebelik süresi boyunca fetö-maternal besin ve madde alışverişini gerçekleştiren plasenta, aynı zamanda kapsamlı bir endokrin organ görevi de görür. Plasentanın bu görevler dışında atık ve karbondioksitin fetüsten uzaklaştırılması, endokrin etkisi ile annede gebelik ile ilgili bazı fizyolojik değişikliklerin oluşmasına yardımcı olması gibi görevleri de vardır (Madazlı, 2008; Wang ve Zhao, 2010; Furukawa ve ark, 2011; Tewari ve ark, 2011).

Plasentanın en önemli görevlerinden biri de fetüs allograftını desteklemesidir. Plasenta ile fetüs, maternal immün sisteminden korunarak, fetüs reddi önlenmekte, gebeliğin devamı sağlanmaktadır (Arvola, 2001; Madazlı, 2008; Male ve ark, 2008) Fetüs maternal immüniteden korunduğu gibi dış etkenlerden de plasenta sayesinde korunur. Fetüsün intrauterin hayatta kendini dış etkenlerden koruyacak düzeyde antikor üretmediği bilinmektedir. Bu nedenle fetüs dış etkenlerden maternal antikorlar sayesinde korunur. Erlich' in 1892' de farelerle yaptığı deneysel çalışmaya kadar IgG'nin yenidoğana sadece anne sütü ile geçtiği bilinmekteydi. Erlich(1892)' in çalışması ile IgG' nin hem plasenta yolu ile hem de neonatal dönemde aktarıldığı bildirilmiştir. Plasenta bariyerinden geçiş yapabilen tek antikor immünglobulin G (IgG)' dir. Plasentada bulunan Fc reseptörleri (FcRn) sayesinde IgG geçişi sağlanmaktadır. Memeli türleri arasında bu geçişin değişiklik gösterdiği bildirilmektedir. Ruminantlarda kolostrum ile yavruya geçen IgG, farelerde hem plasentadan hem de neonatal dönemde anne sütü ile geçmektedir (Garty ve ark, 1994; Palfi ve Selbing, 1998; Arvola, 2001; Male ve ark, 2008).

Plasentanın görevleri ve önemi göz önünde bulundurulduğunda, plasenta patolojileri durumlarında perinatal mortalite ve morbidite görülmekte, gebeliğin her döneminde abort ve fetüs kaybı yaşandığı bildirilmektedir (Demirhan, 1993). İnsan plasentasının gelişimsel olarak araştırılması etik açıdan mümkün olmadığından plasenta araştırmaları için hayvan modelleri kullanılmaktadır. Memeli türleri arasında plasental yapı ve gelişim süreci farklılık göstermektedir (Enders ve Blankenship, 1999). İnsanda hemokoryal plasenta tipi

oluşmaktadır. Bu plasenta tipi, plasenta tipleri arasında en invaziv plasenta tipi olarak kabul edilmektedir. Bu tip plasenta, türler arasında trofoblastik yerleşimde farklılık göstermekle birlikte, primatlar, karnivorlar, rodentlerde görülmektedir (Hassa ve Astı, 2003).

Fare plasentası filogenetik olarak insana yakın bir yapıdadır. Materyal teminin kolaylığı, gebelik ve siklus sürelerinin uygunluğu, birey büyüklüğü ve uygulama kolaylığı nedeniyle birçok çalışmada insan plasental araştırmaları için hayvan modeli olarak kullanılmaktadır (Kinzer ve ark, 2018; Wu ve ark, 2018; Yu ve ark, 2018; Zhu ve ark, 2019; Adams ve ark 2020).

Literatürde fare plasentası ile ilgili pek çok çalışma bulunmasına rağmen, gebeliğin farklı dönemlerindeki fare plasentasının histolojik, histokimyasal ve immünohistokimyasal yapısının ortaya konduğu çalışma sayısı oldukça yetersizdir.

Yapılan tez çalışmasında gebeliğin dördüncü, onuncu ve on yedinci günlerine ait plasenta örneklerinin histolojik, histokimyasal özellikleri ve IgG dağılımı ve yoğunluğunun belirlenmesi amaçlandı. Böylece gebeliğin farklı dönemlerindeki plasentanın histolojik, histokimyasal ve immünohistokimyasal özelliklerinin birarada gösterilmesinin ve bu konuda varolan bilgi birikimine katkı olacağı düşünüldü.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Dişi Genital Sistem

Dişi genital sistem; eşey hücreleri üreten ovaryumlar, tuba uterinalar, uterus, vagina ve dış genital organ olarak da vulvadan oluşmaktadır (Tanyolaç, 1999). Dişi üreme sistemi organlarının hepsi çok önemli görevleri yerine getirirler. Bunlar dişi cinsiyet hormonlarının salgılanması, oosit gelişimi, fertilizasyon için uygun ortamın sağlanması, blastosistlerin taşınması ve implantasyonu, gebelik boyunca fetüsün gelişimi, doğumdan sonra üreme organlarının büyümesinin düzenlenmesi ve sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişmesi olarak özetlenebilir (Kierszenbaum ve Tres, 2015).

Farelerde dişi genital sistem tipik memeli dişi genital sisteminin özelliklerini gösterir. Subrenal yağ yatağının üzerinde yerleşmiş iki adet ovaryum, tuba uterina ve uterusun oluşur. Fare uterusu insan uterusundan farklı olarak çift kornuludur, kornular servikste birleşir ve vaginaya açılırlar (Bertholin ve Murphy, 2014).

#### 2.1.1. Ovaryum

Ovaryum eşey hücrelerini meydana getiren, salgıladığı hormonlarla dişi genital sistemin diğer organları üzerine etki eden ve genital siklusu düzenleyen hem ekzokrin, hem de endokrin organdır (Paker, 1993; Tanyolaç, 1999). Ekzokrin görevi ergenlik döneminden başlayarak insanda menopoza kadar süren 28 günlük sikluslarla, dişi yumurta hücresinin üretilip holokrin tip salgılama ile atılmasıdır. Endokrin işlevi ise steroid yapıda hormonlar olan östrojen ve progesteron salgılamasıdır (Karaöz, 2002). Ovaryum genellikle oval olup hilus bölgesinden mezovaryum ile asılıdır. Mezovaryumu peritonun viseral yaprağı örter. Ovaryumun geri kalan kısmı germinatif epitel ile kaplıdır. Germinatif epitel bir bazal membran üzerinde bulunan tek katlı prizmatik ya da kübik örtü epitelidir. Embriyonik dönemde çoğalarak cinsiyet kordonlarını oluşturması nedeniyle germinatif epitel olarak isimlendirilir (Erdost, 2010). Altında sıkı bağ doku karakterinde tunika albugineya bulunur (Tanyolaç, 1999). Tunika albugineya, ovaryumun açık renkte görünmesini sağlar (Junquera ve ark, 2006). Oosit foliküllerinin bol miktarda bulunduğu tunika albugineyanın altındaki dış kısım korteks adını alır. Foliküller kortikal bölgenin bağ dokusu içine gömülüdür. Bağ doku

içinde iğ biçiminde epiteloid karakterde intersitisyel hücelere dönüşerek östrojen hormonu salgılayan fibroblastlar bulunur. Ovaryumun en iç kısmı gevşek bağ doku içinde zengin bir damar yatağı içeren medullar bölgedir. Kan damarlarının bol ve yaygın olması nedeniyle medullaya zona vaskuloza da denir. Ayrıca bu bölgede düz kas telleri, lenf damarları ve sinir telleri bulunur (Tanyolaç, 1999). Ovaryumun korteks ve medulla bölgeleri arasında belirgin bir ayırım yoktur. Korteks bölgesinin stroması karakteristik iğsi şekilli fibroblastlardan meydana gelir bu hüceler hormonal uyarılara karşı diğer organlardaki fibroblastlardan farklı bir yanıt oluştururlar (Junquera ve ark, 2006).

Ovaryumların birbiri ile ilişkili iki önemli görevi vardır. Dişi eşey hücelerini üretirler ve steroid hormonları salgırlar. Ovaryumdan salınan steroidler, eşey hücelerinin gelişip olgunlaşmalarını, ikincil eşey organların ve meme bezlerinin gelişme ve büyümelerini denetler (Yılmaz, 1999).

#### **2.1.1.1. Ovaryum folikülleri**

Ovaryumlarda farklı gelişim evresinde beş tip folikül ayırt edilebilir. Bunlar primordial folikül, primer folikül, sekonder folikül, tersiyer folikül ve Graff folikülüdür (Yılmaz, 1999).

##### **2.1.1.1.1. Primordial folikül**

Bu foliküller tunika albugineyanın hemen altında yerleşmiş bulunmaktadır. En ilkel, en küçük ve en çok sayıda bulunan foliküllerdir. Ortalarında iri bir primer oosit ile bunu çevreleyen tek sıra yassı folikül epitelinden oluşurlar. Primer oositin de ortasında belirgin bir çekirdek ve çekirdekçik vardır (Yılmaz, 1999). Kromozomlar çoğunlukla açılmış durumdadır ve koyu boyanmazlar (Junquera ve ark, 2006). Her döngüde bu foliküllerden biri gelişir ve olgunlaşır. Ergenlik çağına kadar ovaryumdaki bu primordial foliküller FSH tarafından uyarılıncaya dek büyümmez. Ancak ergenlik döneminde hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon ön hipofize etkir ve buradan FSH ve LH salınımına neden olur. Her menstrasyon dönemi sonlanırken ön hipofizden FSH salınımı da artar. Bu hormon iki ovaryumda da birçok primordial folikülü uyarır ve bazılarının primer foliküllere dönüşmesine neden olur ve döngü başlar (Yılmaz, 1999).



Farelerde oositleri oluşturan primordial eşey hücreleri allantoisten köken alır ve gebeliğin 7.5 gününden 9.5 gününe kadar genital kısma taşınır. Farede primordial foliküller doğumdan 1-2 gün sonra görünümüne başlar. Bu dönemde düz squamoz pregranüloz hücreler ile kaplıdır. Bu tek katlı hücreler üçüncü günden sonra kübikleşmeye başlar (Bertholin ve Murphy, 2014).

#### **2.1.1.1.2. Primer folikül**

Foliküllerin büyümesi esas olarak primer oositin ve folikülü çevreleyen stromanın büyümesi ile olur (Junquera ve ark, 2006). Primordial foliküller gelişim için FSH ile uyarılırlar. Kalın bir bazal lamina üzerine oturan başlangıçta yassı olan folikül epitel hücreleri sonra kübik ve giderek tek sıralı ya da iki sıralı epitel hücrelerine dönüşür. Bu değişiklikleri içeren foliküle primer folikül denir. Primordial foliküllerin gelişimi ile oluşan primer foliküllerde sitoplazma az, çekirdek büyük ve çekirdekçik belirgindir. Bu foliküller ovaryum yüzeyine yakındırlar (Yılmaz, 1999).

#### **2.1.1.1.3. Sekonder folikül**

Ovaryum yüzeyinden daha derinde yer alırlar. Büyüyen oositi saran folikül epitelleri çok sıralıdır. Hücreler sitoplazmadan fakir oldukları için içi taneli bir görünümde dirler. Bu nedenle granuloza hücreleri olarak adlandırılırlar. Folikül epitelleri arasında yer yer erimeler başlar ve birleşerek boşluklar oluşur. Bu boşluklara antrum adı verilir. Oosit ile folikül epitelleri arasında homojen, camsı görünüşte bir kalınlaşma dikkati çeker. Hiyaluronik asit ve glikoprotein içeren, PAS+ boyanan bu yapıya zona pelusida adı verilir (Özer, 2007). Bu sırada folikül epitellerini saran bazal membran dışında bağ doku sıklaşır ve bir kılıf oluşur. Bu kılıfa teka folikülü denir (Yılmaz, 1999). Daha sonra bu tabaka teka interna ve teka eksterna olarak farklılaşır. Teka internanın hücreleri tamamen farklılaştığında steroid üreten hücreler ile aynı ince yapı özelliklerine sahip olurlar. Bu hücrelerin androstenedion sentezlediği ve granuloza hücrelerinin androstenedionu östradiole dönüştürdüğü düşünülmektedir. Bu endokrin özelliğinden dolayı her endokrin organ gibi teka internada damardan zengindir. Teka eksterna ise bağ dokudan ibarettir (Yılmaz, 1999).

#### **2.1.1.1.4. Tersiyer folikül**

Sekonder hücrelerinin bir kısmının tersiyer hücrelere dönüşmesi daha çok ön hipofizden salınan LH denetiminde gerçekleşir (Yılmaz, 1999). Folikül epitelleri arasındaki boşluklar giderek artar ve buna bağlı olarak antrum çapında da artış gözlenir. Epitellerin sekretik aktivitesi sonucu bu boşlukları PAS+ bir materyal doldurur. Bu boşluklara Eksner cisimcikleri adı verilir (Özer, 2007). Folikül büyüdükçe hücreler arasında sıvı artışı olmaya başlar bu sıvıya likör folikülü denir. Likör folikülünden steroid hormonlar salgılanmaktadır. Granuloza hücreleri bir süre sonra folikül duvarı üzerinde bir yerde yoğunlaşmaya başlarlar ve burada bir tepecik oluşur. Bu yapıya kumulus ooforus adı verilir. Kumulus ooforus antrumun iç kısmına doğru uzantı yapar. Bundan sonra oosit daha fazla büyüyemez (Junquera ve ark, 2006).

#### **2.1.1.1.5. Graff folikülü**

Graff folikülü çok incelmış tunika albugineyayı ovaryum dışına kabartan (Yılmaz, 1999), şişkinlik yapan saydam bir vezikül olarak görülebilir. Sıvı toplanmasının bir sonucu olarak folikül boşluğunun genişliğinde bir artış olur. Oosit granuloza hücrelerinden oluşturulan bir sap ile folikül duvarına bağlanır. Granuloza hücreleri, sıvı toplanmasına orantılı bir biçimde çoğalmadıkları için granuloza tabakası ince bir hal alır. Oosit II etrafındaki ilk tabakayı oluşturan granuloza hücreleri zona pellusida ile yakın temastadır. Bu hücreler uzayarak korana radiatayı oluşturur. Korona radiata oosit II ovaryumu terkederken ona eşlik eder. Korona radiata, spermatozoonun oosit II'yi dölediği zamanda dahi mevcuttur. Ovumun oviduktan geçişi esnasında bir müddet kalır (Junquera ve ark, 2006).

Graff folikülü gitgide büyür ve en sonunda primer oosit, zona pelisuda ve korona radiata hücreleri ile birlikte kumulus ooforustan ayrılırlar ve folikül boşluğunda gezinmeye başlar. Bu sırada mayoz bölünmenin birinci aşaması biter. Ovulasyona yakın saatlerde mayoz bölünmenin ikinci aşamasını geçirir. Bu son bölünmede meydana gelen hücrelerden biri oosit II diğerleri de kutup hücresi adını alırlar. Yumurta kısa süre sonra döllenmeye hazır hale gelir (Yılmaz, 1999).

#### **2.1.1.1.6. Atreatik (atretik) folikül**

Ovaryum foliküllerinin birçoğu atreziye uğrar, folikül hücreleri ile oositler ölür ve fagositik hücreler tarafından ortadan kaldırılırlar. Bu süreç granüloza hücrelerinde mitozun durması, granüloza hücrelerinin bazal laminadan ayrılması ve oositin ölümü ile karakterizedir (Gürsoy ve ark, 2009). Foliküler atrezi doğum öncesinden menopozun birkaç yıl sonrasına kadar görülebilir. Buna karşın özellikle şiddetlendiği bazı dönemler vardır. Maternal hormonların etkisinin ortadan kalktığı doğumdan sonraki dönem, kalitatif ve kantitatif hormonal değişikliklerin görüldüğü ergenlik ve gebelik sürecinde belirginleşir. Atrezi bir folikülün gelişmesinde herhangi bir zamanda oluşabilir (Junquera ve ark, 2006). Folikül atrezisinde serbest kalan hormon da, seksüel siklusun düzenlenmesine katkıda bulunur (Tanyolaç, 1999).

#### **2.1.1.2. Ovulasyon**

Ovaryum foliküllerinin gelişimi, hipotalamustan salgılanan gonadotropik hormon salgılatıcı hormon (GnRh) etkisi altında adenohipofizden salgılanan folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinleştirici hormon (LH) ile olmaktadır. Ayrıca inhibin ve relaksin hormonları da bu mekanizmada rol oynamaktadır (Üçüncü ve ark, 2014).

Ovaryumun korteksinde yer alan ve yüzeye dayanan Graff folikülü germinatif epitele baskı yapar. Bu basıncın oluşmasına; teka folikülün gelişmesi, folikül içindeki sıvı basıncının artması, folikül epitellerinin artması, kollogenaz, proteaz ve plazminler, kanda artan LH ve östrojen düzeyi yardımcı olur. Böylelikle germinatif epitelin zayıflayan bir noktadan yırtılmasını takiben iç basıncı iyice artan folikül patlar ve oosit likör folikülü yardımı ile ovaryum yüzeyinden infundibulumu taşınarak ovulasyon gerçekleşir (Özer, 2007).

Ovulasyon sonucunda, oosit zona pelusida ve korona radiata ile kuşatılmış halde atılır. Tuba uterinanın fimbriaları tarafından daha kolay toplanabilmeyi sağlayan korona radiata hücreleri sığır haricindeki tüm türlerde spermatozoon ile temasa kadar kalır. İnekte ovulasyonda kaybolur (Özer, 2007).

### **2.1.1.3. Korpus luteum**

Oosit atıldıktan sonra granüloza hücrelerinin büyük bir kısmı olduğu yerde kalır ve teka interna ile birlikte çok çabuk değişikliklere uğramaya başlar (Yılmaz, 1999). Folikül kalıntısı içine granüloza hücreleri dolmaya başlar, çevredeki damarlarda kanama olur ve sonuçta ortaya çıkan yapı korpus hemorajikum olarak adlandırılır. Teka folikülünün, teka interna hücreleri de lipid üreten hücrelere dönüştüğü andan itibaren teka lutein hücreleri olarak adlandırılırlar. Bu süreç luteinizasyon olarak tanımlanır. Süreç sonunda korpus hemorajikum yerinde oluşan yapıya korpus luteum adı verilir. Korpus luteum endokrin bir bez gibi progesteron, az miktarda da oksitosin ve östrojen salgılayarak hipofizden FSH ve LH salgılanmasını önler (Özer, 2007).

### **2.1.1.4. Östrus siklusu**

İnsan ve memeli hayvanlarda her ovulasyondan sonra döllenme gerçekleşmezse korpus luteum periyodikuma dönüşen korpus luteum dejenere olur ve korpus albikansa dönüşür. Fertilizasyon gerçekleşirse korpus luteum gelişir ve korpus luteum graviditatis adını alır (Özer, 2007).

Bu periyodik değişiklikler evcil memelilerde hayvan türlerine göre özellikler gösteren devreler (proöstrus, östrus, metöstrus, diöstrus, anöstrus) halindedir ve östrus siklusu adını alır (Hassa ve Aştı, 2003).

Proöstrus devresinde ovaryumda bir ya da birkaç folikül olgunlaşır ve Graff folikülünün teka interna ve granüloza hücreleri östrojen salgırlar. Östrojenik hormonun etkisi altında dişinin seksüel heyecanında artma gözlenir. Bu hormon ovidukt ve uterus epitelindeki silyum oluşmasını stimüle eder. Ayrıca endometriyumdaki vaskülarizasyonu da artırır (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007; Dixon ve ark,2014).

Östrus ovulasyonun meydana geldiği evredir. Gelişmesinin tamamlanmış olgun foliküllerden biri patlar ve yumurta hücresi ovaryumdan atılır. Ovidukt ve endometriyumda vaskülarizasyon ve sekresyon artar. Miyometriyumda kalınlaşma gözlenir. Vagina genişler, hiperemiktir ve inek dışında diğer hayvanların çok katlı yassı epitel hücrelerinden ibaret olan vagina epitelinin yüzlek hücrelerinde kornifikasyon gözlenir. İnekte ise bu epitel çok katlı prizmatiktir ve östrusta bu prizmatik hücreler mukus salgılar (Hassa ve Aştı, 2003)

Metöstrus evresi ovaryumda korpus luteumun şekillenmesi ile karakterizedir. Progesteron düzeyinin yükselmesi, östrojenin minimum seviyeye düşmesi ile karakterizedir. Uterus epiteli dökülür ve bazı türlerde hafif bir hemoraji de görülür (Hassa ve Aştı, 2003).

Diöstrus siklusun en uzun evresidir. Korpus luteumdan salgılanan progesteronun etkisi ile uterus bezleri uzar ve kıvrımlı bir hal alır. Gerek mukoza gerekse bez epitel hücreleri yüksek prizmatiktir ve uterus sütü denilen salgı salarlar. Endometriyum iyice kalınlaşır ve bu durum gebelik gerçekleşirse artarak devam eder. Döllenme gerçekleşmezse korpus luteum gerilemeye başlar ve progesteron düzeyi düşer. Bunun sonucu olarak da uterus bezleri kısalır, sekresyon azalır ve mukoza incelir (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007; Dixon ve ark, 2014).

Diöstrusun bitmesinin ardından bazı hayvanlarda proöstrus devam eder. Fakat köpekte olduğu gibi bazı hayvanlarda uzun bir dinlenme süreci başlar. Siklusun bu evresine anöstrus adı verilir (Hassa ve Aştı, 2003).

Fareler poliöstral memelilerdir ve östrus döngüsü yıl boyunca sürer. Gebelikleri yaklaşık 21 gün, östrus siklusları da 4-5 gün sürer. Bir laboratuvar faresinin östrus siklusu dört gündür ve bu siklus içerisinde hormonal değişikliklere bağlı olarak genital kanalda pek çok değişiklik dikkati çeker. Genel olarak farelerde östrus siklusu dört devre olarak kabul edilir. Proöstrus dönemi ovaryumdaki pre ve peri-ovulatoör mekanizmaların işlediği devredir. Östrojen sentezi ve salgısı bu dönemde gerçekleşir. Östrus en kısa dönemdir ve bu dönemde ovulasyon gerçekleşir. Ovulasyonu ise çiftleşme takip eder. Ardından erken luteal faz olan metöstrus, daha sonra diöstrus fazı gerçekleşir. Diöstrus fazında progesteron en fazla salgılanan hormondur (Deb ve Paria, 2006; Bertholin ve Murphy, 2014).

Dişi hayvanlar siklik özelliklerine göre monoöstrik, poliöstrik ve mevsime bağlı östrik olarak üçe ayrılırlar (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007).

Monoöstrik hayvanlar iki östrus arasında bir anöstrus dönemi bulunan hayvanlardır. Bu gruba köpekler ve yaban hayvanları girer. Poliöstrik hayvanlar periyodik aralarla yıl boyunca östrus gösterirler. İnek ve domuz bu gruba girer (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007).

Mevsime bağlı poliöstrik hayvanlar belirli mevsimlerde östrus gösterirler. Kısarak, koyun, keçi ve kedi bu gruba girer (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007).

### **2.1.2. Tuba Uterina**

Tuba uterina ovaryuma en yakın ve derinde olan, büyük hareketlilik gösteren mürküler bir tabakadır. Bir ucu ovaryum yakınlarında peritona açılırken, diğeri uterus duvarını geçip

organın içine açılır (Junquera ve ark, 2006; Özer, 2007). Tuba uterina infundibulum, ampulla ve isthmus olarak oluşur. İfundibulum ovaryuma parmak şeklinde fimbriyalarla bağlıdır (Üçüncü ve ark, 2014). Tuba uterininin duvarı üç katmandan oluşmuştur. Bunlar mukoza, muskularis ve viseral peritondan oluşan serozadır. Mukoza en çok ampullada olmak üzere uzamına katlantılar gösterir. Enine kesitlerde ampullanın yüzeyi bir labirinte benzer. Uterusa yakın bölümlerde katlantılar küçülür. İntramural kısımda katlantılar azalarak lümeneye doğru izlenen küçük çıkıntılara dönüşür ve iç yüzey neredeyse dümdüz bir hal alır. Mukoza epiteli tek katlı prizmatik olup iki tip hücre içerir. Bunlardan biri kinosilyum içeren prizmatik epitel hücresi, diğeri ise mukus üreten Goblet hücresidir. Kinosilyumlar uterusa doğru tuba uterininin yüzeyini örter. Dolaşımdaki östrojen miktarı arttıkça kinosilyum oluşumu artar. Kinosilyumlar aynı zamanda ince viskoz bir sıvı tabakasının hareketini sağlar. Bu sıvı silyalı hücrelerin arasında serpilmiş Goblet hücrelerinden salgılanır. Bu sekresyon ovum için besleyicidir ve aynı zamanda sperm kapasitasyonuna yardımcı olur. Aynı zamanda uterustan peritona mikroorganizma girişini engeller (Junquera ve ark, 2006; Özer, 2007). Uterus mukozasının lamina propriyası gevşek bağ dokudan oluşur. Kas tabakası içte sirküler ya da spiral, dışta ise uzamına bir tabaka olarak düzenlenmiş düz kas tellerinden oluşmuştur (Tanyolaç, 1999; Junquera ve ark, 2006; Özer, 2007).

Tuba uterina ovaryum tarafından serbest bırakılan oosit II'yi yakalar ve uterusa taşır. (Junquera ve ark, 2006).

Ovulasyon esnasında infundibulum fimbriyaları ovaryum yüzeyine yaklaşır. Huni şeklinde olması, serbest kalmış oosit II'yi yakalanmasını kolaylaştırır. Tuba uterina duvarı damardan zengindir ve bu damarlar ovulasyon esnasında genişler. Döllenme genelde tuba uterininin üçte bir kısmında gerçekleşir (Junquera ve ark, 2006).

### **2.1.3. Uterus**

İdrar kesesi ile rektum arasında pelviste yerleşmiş bir organdır. Döllenmiş yumurtanın içerisine gömüldüğü (Üçüncü ve ark, 2014), embriyo için gelişim yeri olan uterus kornu, kornu ve serviks bölümlerinden oluşmuştur. Uterus morfolojisi hayvan türlerine göre değişmektedir. Çoğu evcil memelide, bir gövde iki küçük kornu ve tek bir serviksten oluşan iki kornulu uterus vardır. Primatlarda iki küçük gövde ve tek bir servisten oluşan basit bir uterus yapısı görülürken tavşanların bazılarında çift uterus görülür (Özer, 2007).

Uterus duvarı endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum olmak üzere üç katmandan oluşur. Endometriyumda östrus siklusunda yaşanan hormonal değişikliklere bağlı olarak değişiklikler gözlenir (Paker, 1993; Tanyolaç, 1999; Yılmaz, 1999; Hassa ve Aştı, 2003; Junquera ve ark, 2006; Özer, 2007).

Endometriyum tek katlı prizmatik epitel ve basit tübüler bezler içeren lamina propriyadan oluşur (Junquera ve ark, 2006). Epitel domuz ve inekte yer yer yalancı çok katlı prizmatik ya da tek katlı kübiktir. Bezler lamina epitelyalisten köken alır ve submukozaya kadar uzanır (Özer, 2007). Miyometriyuma yakın yerlerde bazen dallanma gösterebilir. Bazen bu bezlerde yüzeyi kinosilyum içeren hücreler de gözlenir (Junquera ve ark, 2006). Epitel ve bez hücreleri mukus, lipid, glikojen ve protein içerirler (Özer, 2007). Lamina propriya ve submukoza gevşek bağ dokudan oluşmuştur ve fibroblasttan zengindir. Bol miktarda amorf temel madde içerir. Bağ dokusu iplikleri çoğunlukla retikülerdir (Junquera ve ark, 2006). Ruminantlarda lamina propriya ve submukoza oldukça damarlı ancak bezsizdir. Uterus bezlerinin olmadığı bu noktalar karunkulalardır. Karunkula uterus epiteli ve ekstraembriyonik keselerin temas ettiği yerlerdir. Koyunlarda karunkula bölgesinde çok sayıda melanofor vardır (Özer, 2007).

Endometriyum tabakası iki zon ile iki alt bölüme ayrılabilir; bunlar her menstrual siklus boyunca menstruasyonla dökülen ve tekrar yenilenen kısmı teşkil eden endometriyum fonksiyonalsis, menstruasyon sonrasında arta kalan ve hemen çoğalarak endometriyumun yeniden oluşması için yeni bir epitel ile lamina propriyayı yapan endometriyum bazalidir (Junquera ve ark, 2006). Bazalis içinde dip kısımlarda bulunan uterus bezlerinin tabanları, bölünen ve menstrual fazdaki endometriyumun açığa çıkan bağ dokusu üzerine göç eden hücrelere kaynak oluşturur. Bu şekilde menstruasyondan sonra uterusun yüzey epiteli yeniden sağlanmış olur. Endometriyumu besleyen kan damarları bu tabakanın büyük bir bölümünün periyodik olarak dökülmesinde özel bir öneme sahiptir. Arkuat arterler dairesel olarak miyometriyumun orta tabakalarına yerleşir ve bu damarlardan endometriyumu kanlandıran iki damar tipi ortaya çıkar. Bunlardan bazalisi kanlandıran düz arterler, fonksiyonalsise kan getirenler ise spiral arterler adını alır (Junquera ve ark, 2006).

Miyometriyum içte sirküler, dışta longitudinal seyirli kalın düz kas katmanından oluşmuştur. Kas katmanları arasında damardan zengin bir bölge olan stratum vaskulare bulunur (Özer, 2007). Miyometriyum gebelik süresinde ciddi ölçüde hipertrofiye uğrar ve gap junction benzeri bağlantıları da daha sık hale gelir (Üçüncü ve ark, 2014).

Perimetriyum ise peritonun viseral yaprağından oluşmuş, bazal membran üzerine oturan mezotel hücrelerinden ibarettir (Özer, 2007).

### **2.1.3.1. Menstrual siklus**

Hipofizin ön lobunun uyarımı altındaki ovaryum hormonlarının (östrojen ve progesteron) etkisi endometriyumun bir dizi bazı değişiklikler yaşamasına neden olur. Menstrual sikluslar ovum üretimi ile bağlantılı ovaryum değişiklikleri sonucu ortaya çıkar. Pratik olarak menstrual döngünün başlangıcı menstrual kanamanın ilk günü olarak kabul edilir (Junquera ve ark, 2006). Menstrual siklus beş fazdan oluşur; proliferasyon fazı, luteal faz, menstrual faz, iskemik faz, rejenerasyon fazı.

#### **2.1.3.1.1. Proliferasyon fazı**

Proliferasyon fazı aynı zamanda ovaryum foliküllerinin geliştiği ve östrojenin üretildiği dönemle çakışması nedeniyle foliküler faz olarak da bilinir (Junquera ve ark, 2006). Proliferasyon fazında östrojen etkisi altındaki uterusun fonksiyonals tabakasında kalınlaşma gözlenir. Uterus bezleri uzar ve lümenine doğru düzleşir. Aynı zamanda spiral arterler endometriyumun dip kısımlarına kadar uzarlar ve görünür hale gelirler. Bazalis tabakası bu fazda daha kompakttır ve koyudur (Eroschenko, 2008). Tüm proliferasyon fazı boyunca hücrel çoğalma devam eder. Böylece hem bezler hem de endometriyumun yüzey epiteli yenilenir. Ayrıca bağ doku hücreleri yenilenir ve bağ doku arasına temel madde birikir. Bu da endometriyumun bir bütün olarak büyümesine yardımcı olur. Bu faz esnasında dar lümenli tek katlı prizmatik epitelde oluşmuş uterus bezlerinin hücrelerindeki Golgi kompleksi boyutlarında ve endoplazmik retikulum sisterna sayısında artış gözlenir ve bu şekilde hücreler salgılama fazına hazırlanırlar (Junquera ve ark, 2006).

#### **2.1.3.1.2. Luteal faz**

Menstrual döngünün luteal fazı Graff folikülünün patlamasıyla başlar. Bu fazda östrojenin endometriyumdaki etkilerine ek olarak korpus luteumdan salgılanan progesteronda etki gösterir. Sonuç olarak fonksiyonel ve bazal kısımda incelmeye görülürken glandular sekresyon ve ödem artışı gözlenir. Uterin bez epitelini hipertrofiye gider ve bunun sonucunda sekresyon ürünlerinin toplanması artar (Eroschenko, 2008). Bezlerden glikoprotein karakterinde salgılar yapılır. Bu salgılar embriyonun implantasyondan önceki en önemli besin kaynağı olacaktır (Junquera ve ark, 2006). Uterus bezlerinin sarmal yapısında artış gözlenir.



Bezlerin lümenleri karbonhidrattan zengin sekresyon materyali ile dilate hale gelir. Spiral arterler fonksiyonalsin incelmış duvarında iyice belirginleşir. Bazalis tabakası minimal değişiklikler gösterir (Eroschenko, 2008).

#### **2.1.3.1.3. Menstrual faz**

Menstrual fazda endometriyumun fonksiyonel tabakası dejenere olur ve tamamen dökülür. Dökülen fonksiyonalsinden geriye birbiri ile bağlantısız bir stroma, kan damarları ve bezler kalır. Sağlam olan bezlerin lümenleri kan ile doludur. Endometriyumun bazalis kısmı da bezlerden oluşur. Fonksiyonalsin kalan kısımlarında, damarlardan dışarıya çıkmış eritrosit toplulukları görülür. Buna ek olarak endometriyum stromasında nötrofil ve lenfosit infiltrasyonlarına rastlanır. Bazalis bu fazda etkisizdir. Yüzlek kısımları nekrotik hale gelmiş spiral arterler ile dolu olup, dip kısımlarındaki damarlar sağlam durumdadır (Eroschenko, 2008).

#### **2.1.3.1.4. İskemik faz**

Menstrual fazın bitiminde endometriyum fonksiyonalsin tamamen döküldüğü rejenerasyon evresine kadar geçen kısa evredir (Özer, 2007).

#### **2.1.3.1.5. Rejenerasyon fazı**

İskemik fazın ardından endometriyumun proliferasyon fazına kadar geçirdiği evredir. Kısa süren bu evrede endometriyum proliferasyon fazına hazırlanır, hücre yenilenmeleri hızlanır. Parçalanan uterus bezleri tekrar oluşmaya başlar ve artan östrojen etkisiyle proliferasyon fazına geçilir (Gürsoy ve Koptagel, 1997).

#### **2.1.4. Serviks Uteri**

Serviks uteri uterusun tüp şeklindeki alt kısmıdır (Hinricsen, 1997). Uterus ile vagina arasında kapakçık fonksiyonu gören bölümdür. Serviks uterustan farklı özellikler gösterir

(Özer, 2007). Uterus ile ilişkili endoservikste lamina epitelyalis basit prizmatik epiteldir, siller içeren hücreler mukus üretirler. Epitel vagina ile ilişkili ektoservikse doğru ilerledikçe nonkeratinize squamoz epitele dönüşür. Lamina propriyada insan ve etçillerde mukus salgılayan bezler vardır. Diğer hayvan türlerinde tek katlı prizmatik epitel hücreleri holokrin salgılama ile servikal mukusa dönüşürler. İnsanlarda endoservikste mukus bezlerinin oluşturduğu büyük mukoid kistlere rastlanır. Bunlara Nabothian Kistleri denir. Bu kistler gebelikte büyür. Aynı zamanda proliferasyon fazının ortalarında salgılarını artırarak spermatozoon geçişine yardımcı olurlar (Hinricsen, 1997). Mukoza lümenine doğru dallanmış plikalara sahiptir. Tunika muskularis güçlü bir kas katmanından oluşur. Özellikle inekte çok iyi gelişmiştir ve elastik iplerle desteklenmiştir. Gebelik sırasında kaslar ve servikal mukus kitlesi fetal gelişimin güvenliğini sağlar (Özer, 2007).

### **2.1.5. Vagina**

Vagina içten dışa doğru mukoza, muskularis, adventisya tabakalarından oluşur (Üçüncü ve ark, 2014). Vagina mukozası katlantılar içerir. Epitel yüzeyi nonkeratinize squamoz epitelten oluşur. Lamina propriya yoğun, düzensiz bağ doku katmanlarından ve elastik ipliklerden oluşur. Ayrıca lamina propriyada lenfatik dokular, lenf düğümleri ve küçük kan damarları bulunur. Lamina propriya bez içermez. Vaginanın nemli ve kaygan oluşunu serviks bezleri sağlar. Vaginal epitel menstrual döngü boyunca minimal değişikliklere uğrar. Proliferasyon fazında östrojen salınımı arttığında vaginal epitelde kalınlaşma görülür. Buna ek olarak östrojen salgısının artışı ile vaginada glikojen miktarı artar ve vaginal bakteri florası tarafından bu glikojen laktik aside dönüşür. Bu sayede oluşan asidik ortam vaginayı patojenik mikroorganizmalara karşı korur. Gebelik durumundan vagina enfeksiyonlara kapatılmış olur. Muskularis tabakası predominant olarak longitudinal kas demetleri ve sirküler düz kas demetlerinden oluşur. Transversal düz kas demetleri az sayıda ve iç katmanda bulunur. Adventisya ise kan damarları, sinir demetleri ve gevşek bağ dokudan oluşur (Eroshenco, 2008).

### 2.1.6. Dış Genital Organlar

Dış genital organ vulvadır. Burada vestibulum vagina, labiumlar ve klitoris gibi oluşumlar ayırt edilir. Vestibulum vagina vaginanın giriş kısmıdır. Üretra da buraya açılır (Tanyolaç, 1999). Vestibulumun her iki yanında birer adet majör vestibüler bez ya da Bartholin bezi yerleşmiştir. Daha fazla sayıda olan minör vestibüler bezler üretra ve klitoris çevresinde daha sık olacak şekilde dağılmışlardır. Tüm bezler mukus salgılar (Junquera ve ark, 2006). Labia minörler içinden elastik ipliklerin geçtiği süngerimsi bağ dokudan oluşan deri kıvrımlarıdır. Özellikle dış ortama dönük olan yüzleri, deriye ait özellik taşır (Tanyolaç, 1999; Özer, 2007). Labia majörler bol miktarda yağ dokusu ve ince bir düz kas tabakası içerirler (Junquera ve ark, 2006). Klitoris penisin homologudur. Gövde, glans ve prepusial örtüden ibarettir. Gövde bölümü kan damarlarından zengin bir bağ dokudan oluşur. Prepusial örtü bezsiz ve kılsızdır. Sensorik sinir sonlarından zengindir (Özer, 2007). Dışı üretrası transizyonel epitelle örtülmüştür. Lamina propriyası ve submukozası gevşek bağ dokudan, kompakt bağ dokuya kadar değişebilir kavernoöz sinüsleri vardır. Üretranın kaudaline doğru iki kat düz kastan oluşan muskularis tabakası iskelet kasına karışır (Özer, 2007).

### 2.2. Fertilizasyon

Fertilizasyon spermatozoon ve oosit II'nin kaynaşarak tek hücre olan zigotu oluşturmasıdır (McGeady ve ark, 2017). Fertilizasyon, iki haploid gametin birleştiği organizmadaki tek reaksiyondur (Sinowatz, 2009). Haploid sayıda kromozomlara sahip pronükleuslar birleşerek o türe has DNA miktarına ve diploid sayıda kromozoma sahip olurlar. Bu tek hücre canlının morfolojik, fonksiyonel ve genetik karakterlerinin tüm özelliklerini verecek milyonlarca program içermektedir (Gürsoy ve Koptagel, 1997).

Spermatozoonun vitellüs membranına penetrasyonunu takiben oosit II, mayoz bölünmeyi tamamlayarak ikinci kutup hücrelerini (polosit II) hücre dışına, zona pellusidanın hemen altına atar. Haploid erkek pronükleusundaki her kromozom, dişi pronükleusundaki homologuyla eşleşir. Anne ve babadan gelen kromozomlar kondanse olur, mitoz mekiğine tutunur ve hücre merkezinde yerini alırlar. Bu olayı ilk yarıklanma bölünmesinin mitozu takip eder. Anne babadan gelen genetik materyalin kaynaşması singami olarak tanımlanır. Fertilizasyonun bir sonucu olarak kromozomlar diploid kromozom sayısına ulaşır, cinsiyet belirlenir ve anne ve babadan gelen herediter karakterlerin bir araya gelmesi neticesinde

biyolojik varyasyon ortaya çıkar. Memelilerde dölleme dışı üreme sistemi içinde olur. Bu dölleme tipi internal döllemedir. Dış üreme kanalında milyonlarca spermatozoon depolanmasına karşın fertilizasyon bölgesine bunlardan yalnızca birkaç yüz adedi ulaşır. Birden fazla spermatozoonun bir ovumu fertilize etmesi olayı (polispermi) memelilerde anormal bir durumdur ve bu genelde erken embriyonik ölümle sonuçlanır. Dış genital kanalı, bir yandan fertilizasyon bölgesine polispermiyi engelleme amacıyla az sayıda spermatozoonun ulaşmasını sağlarken, öte yandan da ovaryumdan atılan oositleri fertilize edecek sayıda spermatozoonun ulaşmasını sağlayacak şekilde spermatozoon taşınmasını kontrol eder (McGeady ve ark, 2017).

Fertilizasyon olayının tamamının gerçekleşmesi sırasıyla spermatozoon transportu, spermatozoon kapasitasyonu, bazı hücrel olaylar ve zona reaksiyonu denilen olayların gerçekleşmesiyle meydana gelir (Gürsoy ve Koptagel, 1997).

### **2.2.1. Spermatozoon Transportu**

Çiftleşme süresi türler arasında çeşitlilik göstermektedir. Ruminantlarda bir dakikadan az sürerken, atlarda biraz daha fazla, domuzlarda birkaç dakika, köpeklerde ise 5 ila 30 dakika sürmektedir. İnek, koyun, tavşan, kedi, köpek ve primatlarda semen kranial vaginaya boşaltılırken; domuz, at ve develerde direkt servikse boşaltılır. Bu farklılığın nedeni türler arasında ejakulatın miktarı ve içerdiği spermatozoon yoğunluğunun farklı olmasıdır. Örneğin ruminantlarda ejakulat çok az volümlü salgılanır fakat spermatozoon yoğunluğu çok fazladır. Taşınması sırasında gerçekleşen tüm inseminasyon işlemlerine karşın ovidukta çok sayıda spermatozoon ulaşabilir. Fakat domuzlarda ejakulat çok bol olmasına rağmen içerdiği spermatozoon miktarı yoğunluğu çok azdır bu nedenle direkt servikse boşaltılır (Sinowatz, 2009; Johnson ve Everitt, 2018).

Spermatozoonların dışı genital kanala taşınması bir hızlı bir de yavaş olmak üzere iki fazda gerçekleşir. Hızlı faz çiftleşmeden hemen sonraki dışı genital kanal duvarında gerçekleşen kas kasılmasıyla bağlantılı fazdır ki çiftleşmeyi takiben onbeş dakika içinde tuba uterinanın ampulla bölgesinde spermatozoonların bulunması hızlı fazda kontraksiyonların katkısını gösterir. Daha önceleri fertilizasyonu hızlı fazda taşınan spermatozoonların gerçekleştirdiğine inanılırdı. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda tavşan, sığır, koyun ve domuzda çiftleşmeden kısa bir süre sonra ampullaya ulaşan spermatozoonların yaşama

kabiliyetlerinin düşük olduğu belirtilmektedir (Sinowatz, 2009; McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018).

Spermatozoon transportunun birkaç saat süren yavaş tempoda gerçekleşen fazında ise spermatozoonlar, sığır, koyun ve domuzlarda vagina ve uterusun önemli bir spermatozoon deposu olarak görev yapan isthmusa göç ederler. İsthmusa göç eden spermatozoonların önemli bir kısmı, bölgenin motilitesini baskılayacak tarzda mukoza epiteline tutunurlar. Serbest kalan spermatozoonlar aşırı hareketli ve hiperaktiftir. Bu yüksek aktivite spermatozoonların ampullayı geçişine, ovumu saran tabakaları geçmesine yardımcı olur (McGeady ve ark, 2017).

Spermatozoonların uterusun ilerlemesini sağlayan etkenlerden biri de dişi genital kanaldaki kasılma hareketidir. Östrusta artan uterus kasılmaları, hipofiz bezi arka lobu olan nörohipofizden salgılanan oksitosin salımına bağlı olarak çiftleşmeyle güçlenir. Seminal plazmada bulunan prostoglandinler de uterus kontraksiyonunu artırabilir (McGeady ve ark, 2017).

### **2.2.2. Spermatozoon Kapasitasyonu**

Bir spermatozoonun oosit II' yi dölleyebilmesi için dişi üreme kanalında bazı biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler geçirmesi gerekir. Bu olaya kapasitasyon adı verilir. Uterusta başlayıp isthmusta tamamlanan bu olayda spermatozoonların yüzeylerini kaplayan seminal plazma kaynaklı inhibe edici faktörlerin uzaklaştırılması ya da etkilerinin ortadan kaldırılmasını amaçlanmaktadır (Kierszenbaum ve Tres, 2015; McGeady ve ark, 2017). Ejekulatın içindeki bikarbonat iyonları kapasitasyonu başlatmak için spesifik adenil siklaz aktivasyonunu uyarır ve bu da intrasellüler siklik adenozin monofosfat düzeyini maksimize eder. Bu aşamada kovalent bağlı olmayan epididimal ve seminal glikoproteinler, dişi üreme kanalı tarafından sperm plazmasından dilue edilir (Kierszenbaum ve Tres, 2015).

### **2.2.3. Akrozom Reaksiyonu**

Genel olarak akrozom reaksiyonunun sorumlusu olarak nitelendirilen biyokimyasal ajan zona pelisudanın zarındaki ZP3 glikoproteindir. Kapasite olmuş spermatozoon türe özgü olan galaktoz içeren oligosakkarit komponentli büyük asidik glikoproteine bağlanır. Spermatozoon

zona pelusidaya bağlandığında akrozomdaki galaktosil transferaz aktivitesi gerçekleşir. Bu esnada ovum plazmasındaki G proteini aktive olur ve spermatozoonda bulunan kalsiyumu uyararak pH'yı artırır. Ardından akrozom reaksiyonu gerçekleşir (Sinowitz, 2009).

#### **2.2.4. Fertilizasyonda Gerçekleşen Hücresel Olaylar**

Kapasitasyonunu tamamlamış olan spermatozoonlar ile ikinci mayoz bölünmenin metafaz aşamasındaki oosit II, infundibulumun proksimal kısımdaki ampulla bölgesinde karşılaşılır (Hassa ve Aştı, 2003; McGeady ve ark, 2017). Bu karşılaşmanın kemotaksik ve thermotaksik bir takım reaksiyonlar dizisi ile gerçekleştiği bilinmektedir (Kierszenbaum ve Tres, 2015).

Akrozom reaksiyonunun başlamasıyla salınan hiyalüranidaz enzimi korona radiata hücrelerini birbirine bağlamaya yarayan hiyalüronik asiti hidrolize ederek hücrelerin dağılmasına neden olur. Korona radiata engelini geçen spermatozoonlar zona pelusida engelini geçmeye çalışırlar (Hassa ve Aştı, 2003). Zona pelusidaya ulaşan spermatozoonlar zonadaki bir glikoprotein reseptör proteini olan ZP3'e türe özgü bir bağlanma gösterirler (McGeady ve ark, 2017). Akrozom kısmından salgılanan hiyalüranidaz, akrozin gibi eritici enzimlerin etkisi ile zona pelusidada yer yer geçit yolları açılır. Bu engelleri ilk aşan spermatozoon postakromozomal bölgesindeki hücre zarı ile oosit II' nin hücre zarına yapışır. Bu kısımda iki hücre zarı erir ve açılan bu noktadan spermatozoon baş ve kuyruğu ile birlikte oosit II'nin sitoplazması içine girer. Spermatozoon içeri girer girmez zona reaksiyonu denilen ve diğer spermatozoonların geçişine izin vermeyen bir olay gerçekleşir (Hassa ve Aştı, 2003).

#### **2.2.5. Zona Reaksiyonu**

Bir memeli yumurta hücresine birden fazla spermatozoon girişi olarak tanımlanan polispermi kaçınılmaz zigot ölümüne neden olur. Spermatozoonların fertilizasyon bölgesine kitle halinde göçleri, dişi genital kanalının serviks ve uterotubal bağlantı bölgeleri gibi doğal anatomik bariyerler tarafından engellenir. Böylece fertilizasyon sahasına ancak yüzlerce sperm ulaşabilir (McGeady ve ark, 2017). Fakat zona pelusida spermatozoonun bağlandığı alanda hidrolaz içeriğinden dolayı dejenere olur ve bu sebeple ovum başka bir spermatozoonun girişine korunmasız hale gelir (Kashir ve ark, 2013). Memelilerin birçoğunda birinci spermatozoonun girişinden sonra hem zona pelusida hem de vitellüs

membranı, bu yapıları birden fazla spermatozoon penetrasyonuna karşı dayanıklı hale getiren yapısal değişikliklere uğrar. Bu olay oosit II' nin kortikal granüllerinin salgılanması ile gerçekleşir. Kortikal granüller, oolemmada moleküler değişime ve zona pelusidadaki spermatozoonların özel bağlanma bölgelerinin kaybolmasını sağlayarak ikinci spermatozoonun girişine engel olurlar. Bu olaya zona reaksiyonu denir (Sinowatz, 2009; Kashir ve ark, 2013; McGeady ve ark, 2017).

### **2.2.6. Ovum Aktivasyonu**

Ovum aktivasyonu, birçok aşamalı olay dizisinden sonra gerçekleşir. Ovum aktive olurken bir yandan fertilizasyonun aşamaları olan akrozom ve zona reaksiyonları gerçekleşir (Kashir ve ark, 2013). Mayoz bölünmenin metafaz evresinde kalmış olan sekonder oosit bölünmesini tamamlayarak bir olgun oosit ve bir de ikinci polar cisimciği şekillenir (McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018). Fertilizasyon sonucu oosit sitoplazmasına giren spermatozoonun çekirdeği pronükleus oluşturmak üzere irileşir ve dişi pronükleusunun morfolojik olarak bir eşi haline gelir. Bu sırada DNA replikasyonu gerçekleşir ve pronükleuslar birbirinden uzaklaşırlar. Çekirdek zarları erir ve kromatinin yoğunlaşmasıyla oluşan kromozomlar mitoz mekiğinin ekvator düzlemine dizilirler. Takiben zigot denilen döllü yumurtada ilk bölünme gerçekleşir (McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018).

### **2.2.7. Bölünme ve Yumurta Tipleri**

#### **2.2.7.1. Bölünmeler ve bölünme tipleri**

Döllenmiş yumurta hücresi olan zigotun bölünerek çoğalması bölünme olarak tanımlanır. Bölünme döllenmiş yumurta hücresinin sitoplazmadan zengin olan animal kutbunda, kutup hücresine yakın bir yerde başlar ve vejetatif kutupta sonuçlanır. Bölünme sonucu meydana gelen hücrelere blastomer adı verilir. Blastomerler birbirlerinden tam olarak ayrılmazlar. Aralarındaki sitoplazmik köprücükleri ile yapışık kalırlar. İlk bölünmelerde her bölünme sonrası bir öncekinin iki katı sayıda blastomer meydana gelir (Gürsoy ve Koptagel, 2009). İlk bölünme animal ve vejetatif kutuplardan geçecek şekilde meridyonal şekilde gerçekleşir, iki eşit blastomer meydana gelir. Birbirine yapışık bu blastomerler yine meridyonal olmak üzere ancak bir önceki bölünmeye dik olarak tekrar bölünürler ve dört

blastomer şekillenir. Bundan sonraki üçüncü bölünme kutuplar arasında enine ve ortadan yani ekvatoryal olur ve bu defa sekiz blastomer meydana gelir (Telugu ve Green, 2008). Bu üçüncü bölünmeyi takip eden tüm bölünmeler bir meridyonal bir embriyonal olmak üzere devam ederek sekiz, 16, 64, vb. çok blastomerli hücre kümesi ortaya çıkar. Canlılara göre döllenen sonra iki çeşit bölünme gözlenir (Hassa ve Aştı, 2003).

Total bölünme (holoblastik tip): Total ya da holoblastik yarıklanma bölünmesi adından da anlaşılacağı gibi ovumun tamamen bölünmeye katıldığı bölünme şeklidir (Hassa ve Aştı, 2003; McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018). Bu bölünme tipinde meydana gelen hücrelerin büyüklüklerine göre iki çeşit total bölünme gözlenir. Eğer oluşan blastomerler eşit büyüklükte ise bu bölünme total-equal bölünme olarak adlandırılır ve bu tip bölünme amphioksus, insan ve memeli yumurtalarında görülür. Eğer bölünme sonucunda oluşan blastomerler eşit büyüklükte değilse bu bölünme tipi total-inequal olarak adlandırılır ve bu tip bölünme de kurbağa yumurtalarında gözlenir (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007; McGeady ve ark, 2017).

Partial bölünme (meroblastik tip): Bu bölünme tipinde ovumun hepsi bölünmeye katılmaz. Ovumun büyük bir kısmının bölünmeye katılmadığı meroblastik bölünmenin bir tipinde bölünmeler animal kutupta gerçekleşir. Kanatlı ve balıklarda görülen bu tip meroblastik bölünmeye partial-diskoidal bölünme denir. Böcek yumurtalarında ise farklı bir meroblastik bölünme tipi gözlenir. Bu bölünme tipinde vitellüs maddesi ortada, sitoplazma ve nükleus periferde dağılmıştır. Bu bölünme tipi de partial-superficial olarak adlandırılır (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007; McGeady ve ark, 2017).

### **2.2.7.2. Yumurta tipleri**

Oligolesital yumurtalar: Amphioksus, insan ve memelilerde görülen yumurta tipidir. Bu tip yumurtada lesitus maddesi az ve eşit dağılımlıdır. Bu durum izolesital olarak adlandırılır.

Mezolesital yumurtalar: Bu yumurta tipinde lesitus maddesi daha fazladır fakat anizolesital diye tabir edilen eşit olmayan şekilde dağılmıştır. Yerleşim yeri ise vejetatif kutuptur. Kurbağa yumurtalarında görülür.

Polilesital yumurtalar Bu yumurta tipinde vitellus maddesi çoktur ve hücrenin çok büyük bir kısmını oluşturur. Sitoplazma çok az miktardadır ve nükleus ile birlikte animal kutba yakın yerde bulunurlar. Bu yumurta tipi kanatlı ve balıklarda görülür.



Sentrolesital yumurtalar: Böcek yumurtalarında görülen bu yumurta tipi aslında polilesital yumurta tipi sayılabilir fakat bu yumurta tipinin diğer polilesital yumurtalardan farkı vitellüs maddesinin hücrenin ortasına toplanması ve sitoplazma ve nükleusun ince bir tabaka halinde vitellüsü sarmasıdır (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007; McGeady ve ark, 2017).

## **2.3. İmplantasyon**

### **2.3.1. Genel Bilgiler**

Fertilizasyondan sonra oluşan zigot bir yandan yarıklanma bölünmeleri denilen hızlı bölünme serilerinden geçerken bir yandan da tuba uterinayı geçerek uterusu ulaşır. Gelişmekte olan embriyonun tuba içersinde asılı halde durduğu ve tubal yüzdeki kinosilyum ve kas hareketleri yardımı ile türler arasında değişmekle birlikte, memelilerde yaklaşık üç günde uterusu geldiği bilinmektedir. Bu süre zarfında tubaya tutunmadan gelmesinin nedeni blastosistin sağlam bozulmamış bir zona pelusida ile sarılı olmasıdır. Bu nedenle tutunma tubada gerçekleşmez. Ayrıca uterusu kadar ilerleyen blastosistin anne maternal sisteminden korunması da zona pelusidanın elektrik yüküne sahip olmamasından kaynaklanır. Zona pelusida majör doku uyum kompleksi antijenlerine sahip olmadığı için immünolojik olarak etkisiz kabul edilir ve bir reaksiyon geliştirmez (McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018). Zona pelusidanın ortadan kalkmasıyla trofoblast hücreleri oluşmaya başlar (Gürsoy ve Koptagel, 1997). Embriyo bu aşamada besin ihtiyacını öncelikle kendi vitellüsü daha sonra da annenin üreme kanalından salgılanan salgılarla karşılar (McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018). Bu salgılar, uterus sütü ya da histotrop olarak adlandırılır. Embriyonun başlangıçtaki bu beslenmesine de histotrofik beslenme adı verilir (Sinowatz, 2009). Uterusu ulaşan blastosist kısa bir süre uterusu serbest kaldıktan sonra yavaş yavaş uterus mukozasına yerleşmeye başlar. Blastosistin uterus endometriyumunun mukozasına yerleşmesine implantasyon adı verilir (Gürsoy ve Koptagel, 1997; Hassa ve Aştı, 2003; Sinowatz, 2009; Coward ve Wells 2013; Bertholin ve Murphy, 2014; McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018). İmplantasyon işlemi tam olarak blastosistin iç kısmındaki trofoblast hücreleri ile uterus endometriyum epitelinin arasında kurulan bağlantı ile başlar. Rodentlerde implantasyondaki hücre kutuplaşmasında ve hücre farklılaşmasında mikrofilamentlerin rolü olduğu ve bununda preimplantasyon sürecinde blastosistten gelen sinyalizasyon sonucu gerçekleştiği belirtilmektedir (Demir, 1997).

İmplantasyon aşaması evcil hayvanlarda genel olarak üç aşamada gerçekleşir. İmplantasyon aşamasının ilk fazı adplantasyon, ya da apoziyon (McGowen ve ark, 2014) olarak adlandırılır. Bu aşamada blastosistin uterus epiteli ile yüzyüze gelmesi, karakteristik olarak yuvarlanma hareketi yaparak çok yavaş bir şekilde adheziv olmasıdır (McGeady ve ark, 2017). Çok yavaş bir şekilde yuvarlanma hareketi yapan blastosist iç hücre kitlesi epitele en yakın konuma geldiği anda durur. İkinci aşama adezyon aşamasıdır. Uterus epiteli ve blastosistin, trofoektoderm tabakasının bulunduğu kısım birbirine adheziv olmaya başlar (McGowen ve ark, 2014). Adhezyon işlemi biyokimyasal ve moleküler birçok faktör tarafından oluşturulur. Üçüncü aşamada blastosisti içeri alan uterus epiteli kapanır ve son aşama olan invazyon ya da penetrasyon (McGowen ve ark, 2014) başlar. Penetrasyon endometriyumda eritme, nüfuz etme ve yavaş yavaş endometriyal epitel hücrelerinin yerini trofoblastların almasından oluşan olaylar dizisinden oluşur (McGowen ve ark, 2014).

İmplantasyon işleminin gerçekleşmesi ve gebeliğin kurulması için blastosistten ve endometriyumdan salgılanan birçok multiple sinyal molekülü ve protein olduğu bilinmektedir. Bunlara nükleer steroid hormon reseptörleri olan östrojen ve progesteron reseptörleri, LIF (leukemia inhibitör factor) ve IL-11 (interleukin-11) gibi sitokinler, PTGS2 (prostoglandin-endoperoksidase-syntetase2) gibi vazoaktif faktörler, kannabinoid reseptörleri, çeşitli büyüme faktörleri ve reseptörleri, homeoboks genler örnek gösterilebilir. *CBI*, *CB2*, *MSX1*, *MSX2*, *PLA2G4A*, *LPAR3* gibi genler uterustaki tutunma penceresinin açılmasını uyarırlar. Örneğin *PLA2G4A* ve *LPAR3* genleri özellikle farede tutunma ve implantasyonda önemli rol oynayan genlerdir. IL-11 insanda implantasyon bölgesinde salgılanarak desidualizasyonu artırır ve hızlandırır (Cross ve ark, 1994; McGowen ve ark, 2014; Namiki ve ark, 2018).

İmplantasyonda birçok maddenin etkileşiminin etkisi vardır. Bunlardan en önemlisi hormonal etkileşimdir. Hormonal etki olarak en önemli iki hormon östrojen ve progesterondur. Östrus siklusunun foliküler evresindeki yüksek östrojen seviyeleri endometriyum epitel hücrelerinin çoğalmasına yardımcı olur ve luteal evrede salgılanan progesteron da endometriyumun blastosisti kabul etmesini kolaylaştırır. Progesteron gebeliğin gerçekleşmesi ve devamı için hayati önem taşıyan bir hormondur (McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018). Çünkü progesteron, östrojen salgısını tetikleme, ovulasyon, desidualizasyon ve luteinizasyon gibi pek çok olayda rol oynar. Ayrıca, östrojen ve progesteronun tetiklediği moleküler sinyallerin eksikliğinde, implantasyonun gerçekleşmediği ve sterilite gözlemlendiği belirtilmektedir. Örneğin östrojenin etkisiyle eksprese edilen LIF ve IL-

11 insanda implantasyonunun oluşması için olmazsa olmaz sitokinlerdir (Namiki ve ark, 2018).

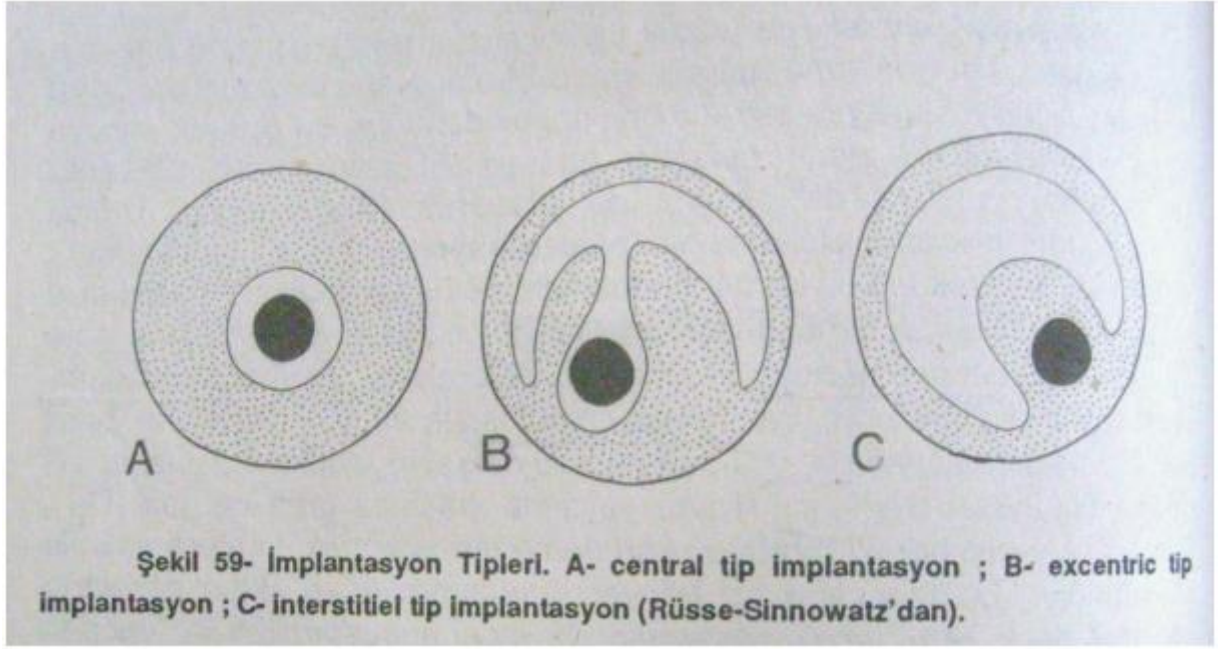
### **2.3.2. İmplantasyon Çeşitleri**

İmplantasyon süreci canlılar arasında değişiklik göstermektedir. Maternal ve fetal kısımların ilişki derecesine göre üç tipe ayrılır (Şekil 1).

**Sentral (süperfisiyal) tip implantasyon:** Bu tip implantasyonda koryon ve uterus mukozası temas eder ya da sıkı bir bağlantı söz konudur. İnvazyon aşaması bu implantasyon tipinde yoktur yani yüzlek bir bağlantı söz konusudur. Yavru uterus boşluğunun merkezinde bulunur. Bu implantasyon çeşidi tek tırnaklılar, domuz, karnivorlar ve bazı kuyruklu maymunlarda görülür (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007; McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018).

**Eksentrik tip implantasyon:** Bu tip implantasyonda koryonun büyük bir kısmı yavru ile birlikte uterus mukozasına gömülmüş durumdadır. Sincap ve kunduzda görülen bu implantasyon tipinde yavru konum olarak eksentriktir.

**İntersitisyel tip implantasyon:** Bu tip implantasyonda koryon kesesi yavru ile birlikte tamamen uterus mukozasına gömülmüş hatta epitel ile de örtülmüştür. Bu tipte primat ve kobaylarda blastosistin embriyonun gelişeceği bölgedeki uterus epitelini yırtmayarak stromaya kadar bir çukur oluşturduğu görülmüştür. Bu implantasyon tipi kobay, insan, yarasa, kuyuksuz maymun türlerinde görülür (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007; McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018).



**Şekil 1.** İmplantasyon tipleri. A. Sentral tip implantasyon B. Eksentrik tip implantasyon C. İntersitisyel tip implantasyon (Hassa ve Aştı, 2003).

## 2.4. Plasenta

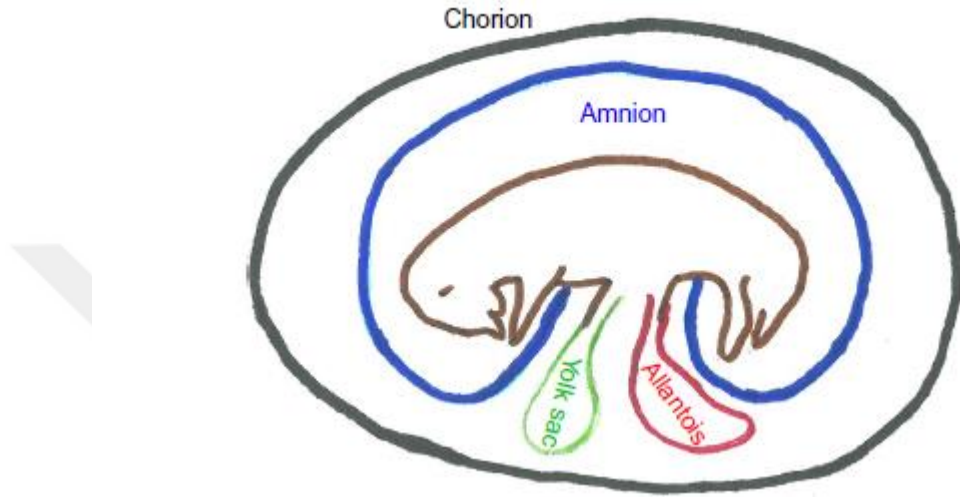
### 2.4.1. Genel Bilgiler

Plasenta, fetüsün uterus içersinde gelişebilmesi için olanak sağlayan, çok hızlı gelişen ve geçici bir organ olmasına rağmen (Furukawa ve ark, 2011) intrauterin hayatın devamlılığı açısından hayati önem taşıyan ve sadece memelilerde bulunan (Tewari ve ark, 2011) extraembriyonel bir dokudur (Burton ve ark, 2010). Hayat ağacı olarak da adlandırılan plasenta (Wang ve Zhao, 2010) gelişmekte olan embriyo ile yavru arasındaki dolaşım sistemini birbirine bağlayarak besin maddelerinin alınması, oksijen, karbondioksit ve diğer gazların geçişinin sağlar. Bunların yanında atık maddelerin fetüsten uzaklaştırılması (McLean ve ark, 2000), steroid ve protein tabanlı çeşitli hormonların salgılanması gibi çeşitli görevleri de olan fonksiyonel bir dokudur (Özer, 2007).

Plasentasyonun başlangıcı implantasyonun başlangıcı olarak kabul edilebilir. Çünkü implantasyon ile başlayan reaksiyonlar dizisinde plasentayı oluşturacak birçok yapı oluşmaya başlar. Plasentanın yapısına birçok maternal ve fötal eleman katılır. Plasentanın yapısı ve sınıflandırması bu fötal ve maternal kısımların varlığı ve yerleşimine göre değişmektedir (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007; Hafez, 2017; McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018).

#### 2.4.2. Fötal Membranlar ve Oluşumları

İmplantasyonun ardından uterusunda bulunan embriyo yapraklarında bir takım değişiklikler olur ve ekstraembriyonal membranlar da denen bir takım membran oluşumları gözlenir. Bu membranlar amnion, allantois, vitellus ve koryondan oluşur (Şekil 2).



Şekil 2. Fötal membranların şematize gösterilişi (Leiser ve Kaufmann, 1994).

##### 2.4.2.1. Amnion

Amnion oluşumu koryon oluşumu ile ilişkilidir. Ekstraembriyonik somatoplevranın bilateral katlanması sonucu oluşan embriyoyu saran katmandır, içi amnion sıvısı ile doludur. İnsanda ve rodentlerde görülen plasenta tipinin ana yapılarından birini koryon ile birlikte oluşturur (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007; Hafez, 2017).

##### 2.4.2.2. Allantois

Allantois splanik plevradan köken alır. İlk olarak arka bağırsağın bir divertikülü olarak oluşur ve daha sonra aşamalı olarak ekzosöloma açılır. Atık maddelerin toplandığı bir keseye dönüşür. İnsan ve rodentlerde gebelik boyunca kalıntıları görülür. Allantois damarları koryon ve amnionun vaskülarizasyonunu sağlar (Hafez, 2017).

### **2.4.2.3. Vitellus (sarı kese)**

Vitellus kesesi hipoblastik endoderm ve ekstraembriyonik mezodermden oluşur. Koryovitellin olarak adlandırılan plasentada, koryon ile birlikte plasentanın ana elemanlarını oluştururlar (Hafez, 2017). Vitellus erken gebelik sırasında oluşur. Bir çok memelide gebelik ilerledikçe körelir, dejenere olur ve kaybolur. Karnivorlarda gebeliğin ilk trimestrinden sonra dejenere olurken, atlarda bir süre daha görüldüğü belirtilmiştir. İnsanda ve rodentlerde de gebelik ilerledikçe körelir. Bu kese temel olarak embriyonik hayatta geçici olarak beslenmeden sorumludur. Ayrıca primitif kan hücreleri ve bağırsak kanalının meydana gelişinde de rol alır (Hassa ve Aştı, 2003; Hafez, 2017).

### **2.4.2.3. Koryon**

Koryon trofoblastik ektoderm ve somatoplevradan köken alır. Koryon ve amnion arasında yakın bir ilişki vardır. Bu iki kesenin katlanmalarından oluşan plasenta çeşitleri yüksek yapıli plasentalar olarak adlandırılır. Koryon avasküler yapıdadır. Vaskülarizasyonu allantois damarları ile sağlanır. Koryon, çok önemli bir yapı olan trofoblastları ve insan plasentasında oldukça önemli olan koryon villuslarını oluşturur (Hafez, 2017).

### **2.4.3. Plasentanın Sınıflandırılması**

Canlılara göre plasentayı sınıflandırırken birçok faktör göz önünde bulundurulur. Bunlar morfolojik yapı, maternal- fütal kan akışı, membranların yerleşimi, desidua oluşumu ve doğumda kaybedilen doku miktarı, maternal ve fütal yüzlerin histolojik yapıları olarak sıralanabilir (Enders ve Blankenship, 1999; Benirschke ve ark, 2012; Furukawa ve ark, 2014; Hafez, 2017).

#### **2.4.3.1. Membranların yerleşimine göre plasenta çeşitleri**

Maternal ve fütal zarların konumu incelendiğinde koryovitellin ve koryoallantoik olmak üzere iki çeşit plasenta tipi vardır. Vitello-koryon zarı endometriyuma tutunduğunda koryovitellin tipi plasenta oluşur. Çoğu keseli türde bu tip plasenta daimi bir plasenta olarak varlığını sürdürürken, yüksek yapıli memelilerde geçici bir yapı olarak bulunur ve

ekstraembriyonik sölomun mezodermi kese duvarına yayılınca değişim fonksiyonunu kaybeder ve yerini koryoallantoik plasentaya bırakır. Koryoallantoik tip insan ve fare gibi yüksek yapılı memelilerde görülür, endometriyum ve fötal plasental katmanların geniş bağlantı bölgeleri olması ile karakterize edilir. Bu bağlantılar insanda koryon villuslarını, farelerde ise labirint kısmını oluşturur (Hafez, 2017; McGeady ve ark, 2017).

#### **2.4.3.2. Morfolojik özelliklerine göre plasentalar**

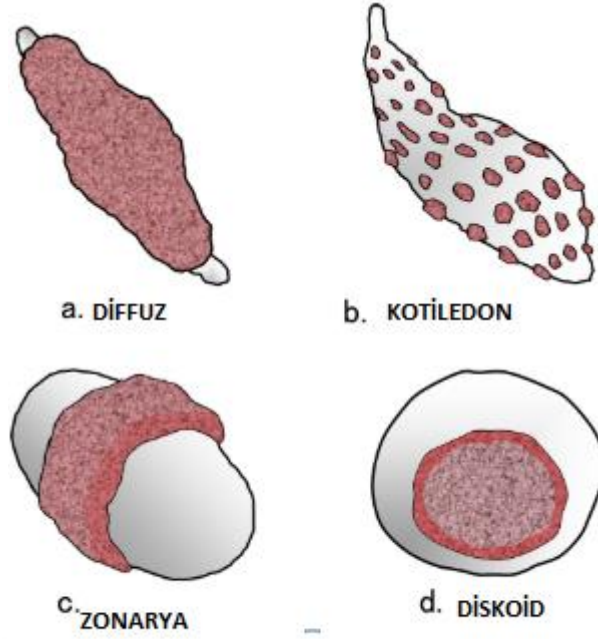
Koryoallantoik tip plasentalar koryon villuslarının koryon üzerindeki dağılımına ve morfolojilerine göre diffuz, kotiledon, zonarya ve diskoidal olmak üzere dört çeşittir (Şekil 3) (McLean ve ark, 2000; Hassa ve Aştı, 2003; Telugu ve Green, 2008; Hafez, 2017; McGeady ve ark, 2017).

Diffuz plasenta tipi: Bu tip plasentada koryon villusları koryonun dış yüzünde düzenli dağılım gösterir. Bu plasenta tipi at ve domuzda gözlenir (McLean ve ark, 2000; Hassa ve Aştı, 2003; Telugu ve Green, 2008; Hafez, 2017; McGeady ve ark, 2017).

Kotiledonar plasenta tipi: Bu plasenta tipinde koryon villuslarının oluşturduğu kotiledon denilen özel yapılar, plasenta yüzeyine düzenli olarak dağılmışlardır. Bu plasenta tipi ruminantlarda görülür (McLean ve ark, 2000; Hassa ve Aştı, 2003; Telugu ve Green, 2008; Hafez, 2017; McGeady ve ark, 2017).

Zonar plasenta tipi: Kemer tip olarak da isimlendirilen bu plasenta tipinde koryon villusları koryonu bir kemer gibi sararak sadece orta bölgesinde toplanmıştır. Bu tip plasenta karnivorlarda görülür (McLean ve ark, 2000; Hassa ve Aştı, 2003; Telugu ve Green 2008; Hafez, 2017; McGeady ve ark, 2017).

Diskoidal plasenta tipi: Bu tip plasentada ise koryon villusları koryonun bir kısmında disk şeklinde yoğunlaşmışlardır. Bu tip plasenta rodentler ve primatlarda görülür. İnsan ve fare plasentası da diskoidal şekilli plasenta grubundadır (McLean ve ark, 2000; Hassa ve Aştı, 2003; Telugu ve Green, 2008; Hafez, 2017; McGeady ve ark, 2017).



Şekil 3. Morfolojik özelliklerine göre plasenta tipleri (Furukawa ve ark, 2014).

#### 2.4.3.3. Desidua varlığına göre plasenta tipleri

İmplantasyon sonrasında koryon ve uterus ilişkisinin boyutuna göre bağ doku hücreleri değişikliğe uğrar ve desidua adı verilen hücreler oluşur. Bu şekilde oluşan uterus mukozası da desidua olarak isimlendirilir. Bu tip plasentaya desidualı plasenta denir. Bu plasenta tipinin görüldüğü canlılarda doğumda doku kaybı olur ve kanama gözlenir. İnsanda ve farede bu tip plasenta gözlenir (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007).

Koryon ve uterus sadece temas halindeyse mukozada desidua oluşmaz ve plasenta da desiduasız plasenta olarak adlandırılır (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007).

#### 2.4.3.4. Maternal ve fetal kısmın morfolojik yapısına göre plasenta tipleri

Lameller tip plasenta: Karmaşık sayılabilecek yapıda plasentadır. Koryonik lameller arasına endometriyumun dallanmış katlantıları girer. Karnivorlarda görülen plasenta tipidir.

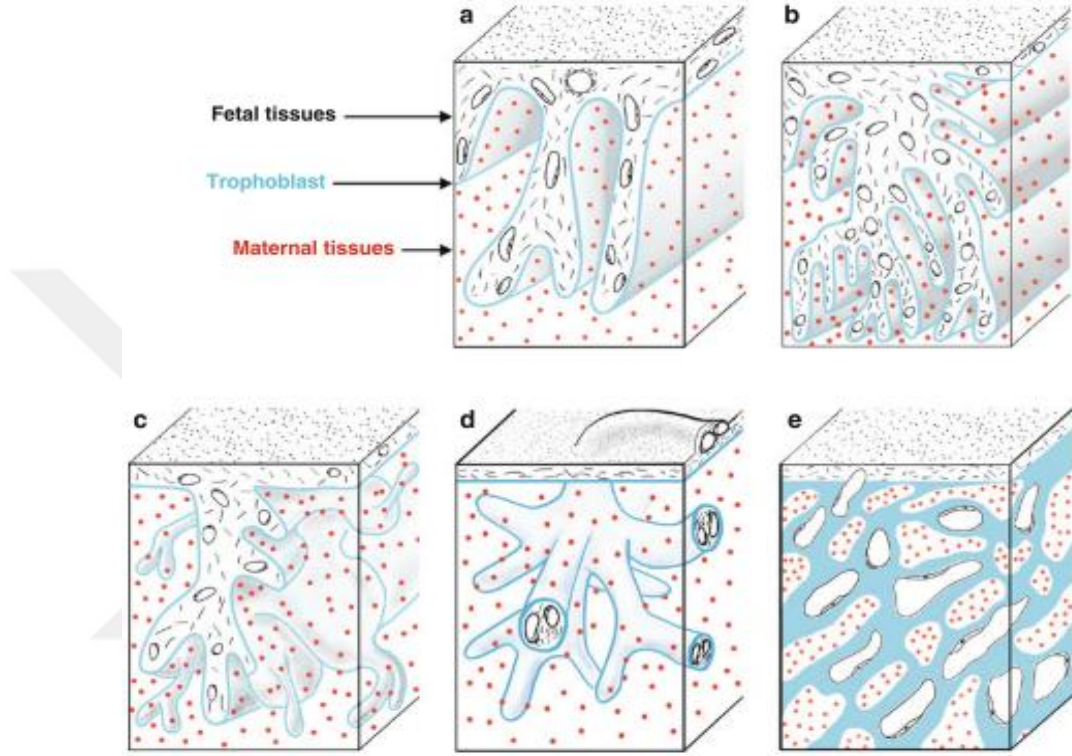
Katlanmış tip plasenta: En basit tip oluşumlardan biridir. Domuzlarda ve aşağı yapılı primatlarda gözlenir.

Trabeküler tip plasenta: Bu tip plasenta bazı maymun türlerinde görülür. Koryon villusları başlangıçta yaprak daha sonra parmak benzeri şekil alırlar.



Villus tip plasenta: İnsanda ve primatlarda görülen koryon villusları bir ağaç gibi endometriyumu sarar.

Labirint tip plasenta: Bu tip plasenta fare, rat, yarasa, tavşan ve bazı maymun tiplerinde bulunur (Enders ve Blankenship, 1999; Benirschke ve ark, 2012; Furukawa ve ark, 2014; Chavatte-Palmer ve Tarrade, 2016; Hafez, 2017), (Şekil 4).



**Şekil 4.** Maternal ve fetal kısmının morfolojik yapısına göre plasenta tipleri. A. Katlanmış tip plasenta B. lameller tip plasenta C. Trabeküler tip plasenta D. Villus tip plasenta E. Labirint tip plasenta (Enders ve Blankenship, 1999).

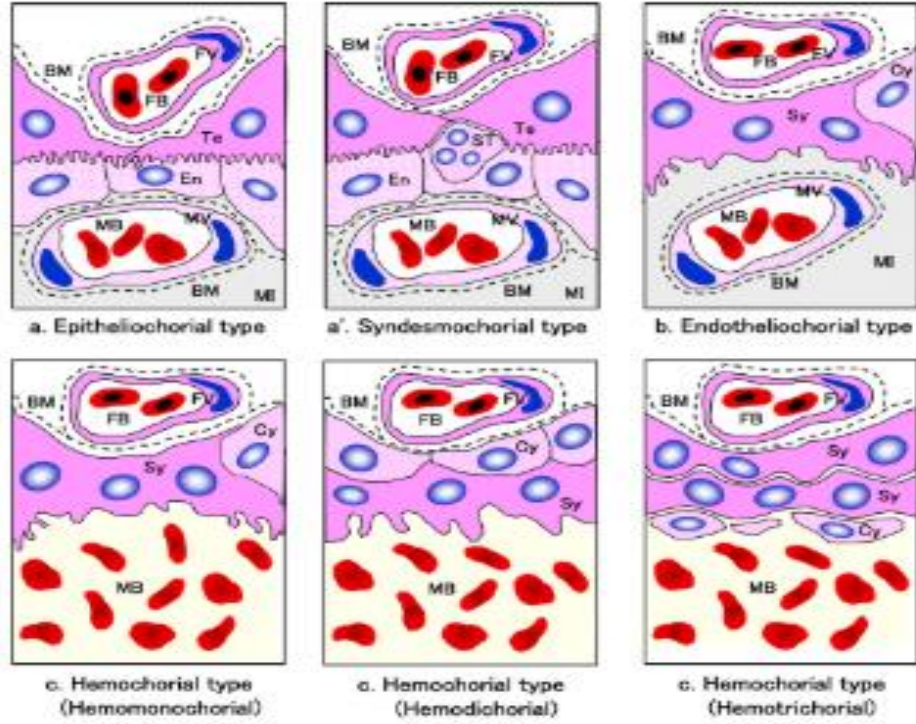
#### 2.4.3.5. Maternal-föetal kısımların histolojisine göre plasenta tipleri

Bu sınıflandırma tipine göre dört çeşit plasenta tipi bulunur (Şekil 5) (Furukawa ve ark, 2014). Bunlar;

- Plasenta epitelyo-koriyalis
- Plasenta sindesmo-koriyalis
- Plasenta endotelyo- koriyalis

-Plasenta hemo- koriyalis (Furukawa ve ark, 2014)

Bu plasenta tiplerinden Pl. epitelyo-koriyalis ve Pl. sindesmo-koriyalis desidua içermedikleri için yarım plasenta olarak adlandırılırken diğer üç tip desidua içerdiği için tam plasenta olarak adlandırılır (Hassa ve Aştı, 2003).



Şekil 5. Maternal-fötal kısımların histolojisine göre plasenta tipleri (Furukawa ve ark, 2014).

Plasenta epitelyo-koriyalis: En yüzeysel plasenta tipi olarak adlandırılır. Bu plasenta tipinde endometriyuma invazyon görülmez. Koryon epiteli ve endometriyum epiteli yüzyüzedir. Bağlantı oldukça gevşek haldedir. Bu placentalar uterustan ayrılırken herhangi bir harabiyete sebep olmazlar. At ve domuzlarda bu plasenta tipi gözlenir (Benirschke ve ark, 2012; Furukawa ve ark, 2014; Hafez, 2017).

Plasenta sindesmo-koriyalis: Bu plasenta tipi kaynaklarda epitelyo-koriyal tip plasenta olarak geçse de invazyon derecesi ile epitelyo-koriyal placentadan ayrılır (Benirschke ve ark, 2012; Furukawa ve ark, 2014; Hafez, 2017). Bu tip placentada epitelde yer yer ayrılmalar görülür. Bu ayrılma noktalarında koryon epiteli uterus bağ dokusu ile karşı karşıyadır. Koryonda bulunan bu kısımlar kotiledon adını alır. Bunların karşısındaki endometriyum kısımlarına karunkula adı verilir. Bu iki oluşumun bir araya getirdiği dokuya plasentom adı verilir. Bu plasenta tipi ruminantlarda görülür (Hassa ve Aştı, 2003; Özer, 2007).

Plasenta endotelyo-koryalis: Bu plasenta tipinde implantasyondan sonra uterus epiteli ve bağ dokusu ortadan kalkar ve koryon villusu maternal endotel ile karşılıklıdır. Karnivorlarda görülen bu plasenta tipi türler arasında oldukça farklı şekillerde gözlenir (Enders ve Blankenship, 1999; Benirschke ve ark, 2012; Furukawa ve ark, 2014; Hafez, 2017).

Plasenta hemo-koryalis: Tüm plasenta tipleri içinde en invaziv kabul edilen plasenta tipidir. Bu plasenta tipinde maternal histolojik katmanlardan hepsi aşamalı olarak yok olmuştur. Koryon epiteli ile anne kanı direkt ilişki içersindedir. Bu durum koryon epitelinin maternal kan ile yıkanması ile tabir edilir. Bu plasenta tipinde türler arasında farklı sınıflandırma görülmektedir. Bu sınıflandırmanın nedeni fetal kısımdaki trofoblast tabakalarından kaynaklanmaktadır. İnsanın da içinde bulunduğu primatlar grubunda *hemomonokoryal plasenta* olarak adlandırılan bu plasenta tipinde maternal kan ile ilişkili olarak koryon villusunun en dışında sinsityotrofoblast tabakası, koryon bağ dokusu, fetal damar endoteli yer alır. Tavşanda görülen plasenta tipi *hemodikoryal plasenta* tipidir. Bu plasenta tipinde iki trofoblast katmanı vardır. Rat ve farelerde görülen plasenta tipi ise *hemotrikoryonal plasenta* olarak adlandırılır (Enders ve Blankenship, 1999; Benirschke ve ark, 2012; Furukawa ve ark, 2014; Chavatte-Palmer ve Tarrade, 2016; Hafez, 2017). Bazı kaynaklara göre fare plasentası insan plasentasından farklı olarak koryon bağ dokusu içermediği ve trofoblast tabakaları ile fetal endotel bitişik olduğu için farklı bir plasenta tipi olarak kabul edilir. Bu nedenle Plasenta hemo-endotelyalis olarak isimlendirilir (Enders ve Blankenship, 1999; Hassa ve Aşti, 2003; Özer, 2007; Benirschke ve ark, 2012; Furukawa ve ark, 2014; Chavatte-Palmer ve Tarrade, 2016; Hafez, 2017).

## **2.5. Fare Plasentası**

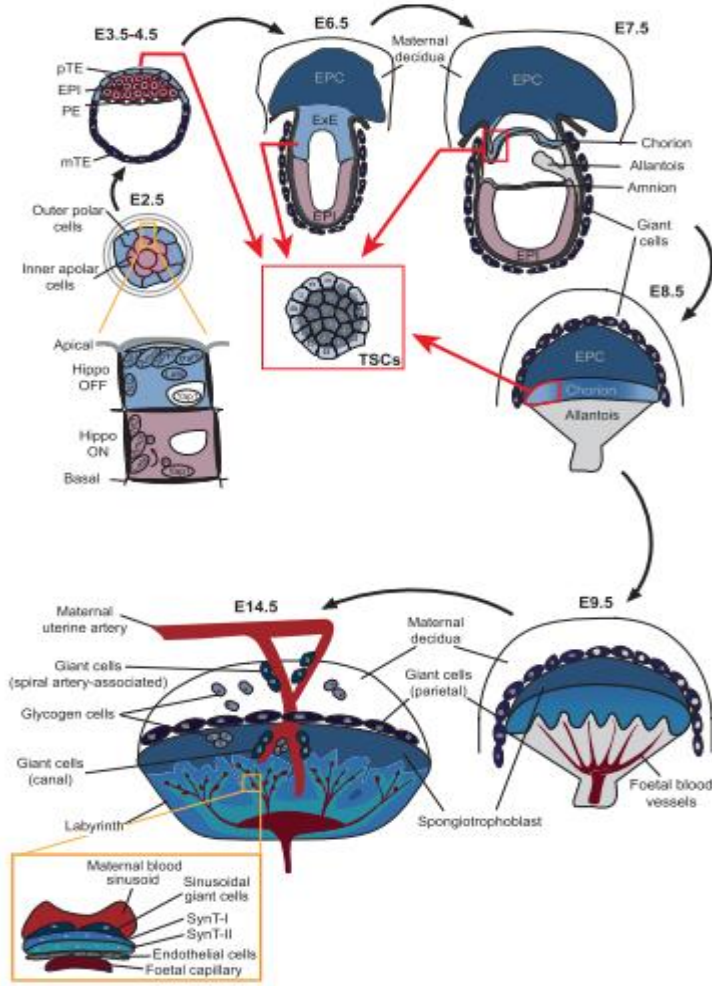
### **2.5.1. Fare Plasentasının Gelişimi**

Farede plasental gelişim trofoektoderm tabakasının iç hücre kitlesinden ayırt edildiği gebeliğin 3.5'uncu gününde başlar (Watson ve Cross, 2005). Trofoektoderm mural (pariyetal) ve polar trofoektoderm olmak üzere iki oluşum halinde tanımlanır (Furukawa ve ark, 2011). İmplantasyonu takiben mural trofoektoderm trofoblast giant hücrelerine farklılaşır. Bu hücreler primer giant hücreleri olarak da adlandırılır. İnsan plasentasındaki sitotrofoblast hücrelerinin analogu olan bu hücreler bir süre sonra bölünmeyi durdururlar fakat endoreplikasyon devam eder. Bunun sonucunda poliploid hücreler haline gelirler (Lu ve ark, 2011). İç hücre tabakasını kaplayan polar trofoektoderm hücreleri ise ekstraembriyonik

ektoderm ve ekto plasental konu şekillendirirler. İç hücre kitlesi epiblast hücrelerine farklılaşır. Gastrulasyon ile ekstraembriyonik mezoderm hücre katmanı ve trofoblastlardan oluşan koryon, amnion ve allantois şekillenir. Gelişimin embriyonik sekizbuçüğüncü gününde allantois büyüyerek koryon kesesi ile bağlantı kurar. Bu bağlantıya kadar düz olan koryon tutunmadan sonra dallı bir morfogeneze doğru bir yönelim gösterir. Gebeliğin dokuzbuçüğüncü gününde allantoik kan damarları koryonik ektoderme invagine olarak plasental labirinti şekillendirmeye başlar. Labirint ekto plasental kondan köken alır. Ekto plasental konun kenarındaki hücreler sekonder trofoektoderm giant hücrelerine dönüşürler. Bunlar invaziv karakterli, endometriyal stromanın derinlerine invaze olabilen hücreler olup anne kanı ile bağlantı kurarlar (Şekil 6). TGC'lerin invazyonu embriyonik 7.5-9.5 günlerde pik seviyesine ulaşır. Koryon trofoblast hücreleri fetal kapıllarını çevreleyen ve besin gaz alışverişini sağlayan sinsityotrofoblast hücrelerine dönüşürlerken, labirinti çevreleyenler spongiotrofoblast ve glikojen hücrelerine farklılaşırlar (Aplin, 1991; Simmons ve Cross, 2005; Watson ve Cross, 2005; Furukawa ve ark, 2011; Furukawa ve ark, 2014).

Plasentanın vasküler kısmı embriyonun posterior kuyruğundaki ekstraembriyonik mezodermden köken alır. Allantois ve koryon birlikte koryoallantoik implantasyonu gerçekleştirdikten, sonra villus katlanmaları başlar. Allantois bu aşamada fetal kan damarları arasında boşluklar oluşturur. Bu sırada koryonik trofoblast hücreleri iki tip labirint hücrelerine dönüşür. Multinükleuslu sinsityotrofoblastlar, trofoblast hücrelerinin parçalanması ile oluşur ve fetal kapıllar endotelini kuşatır. Tek çekirdekli diğer hücre tipi ise maternal boşlukların sınırını oluşturur. Bu oluşumların hepsi labirint denin katmanı oluşturur (Aplin, 1991; Simmons ve Cross, 2005; Watson ve Cross, 2005; Furukawa ve ark, 2011).

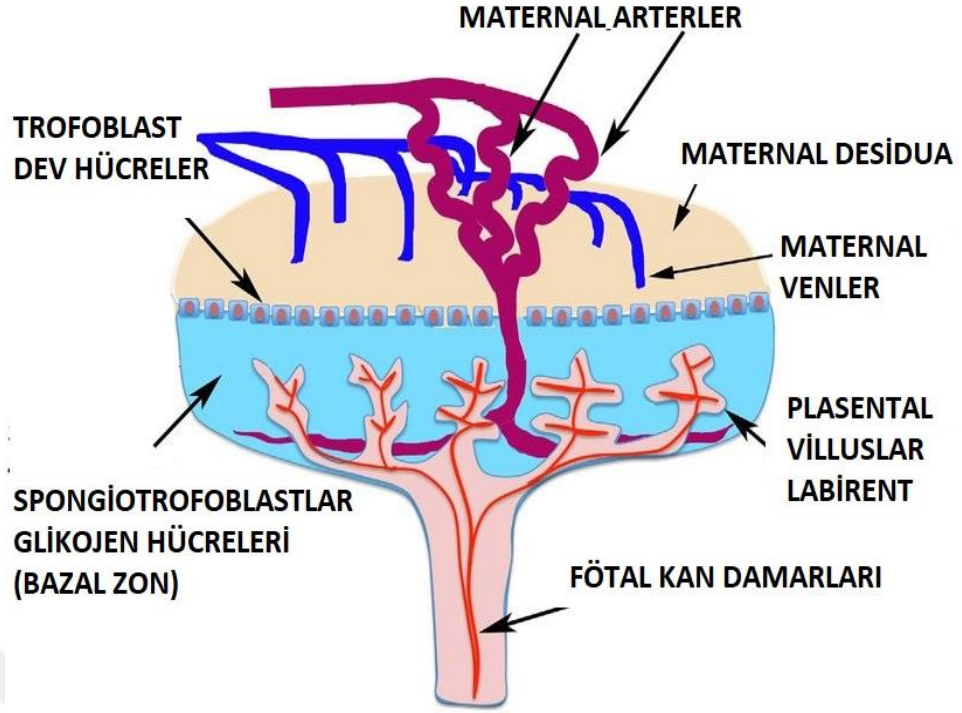
Endometriyumda ise gebeliğin erken safhalarından itibaren progesteron hormonunun da etkisi ile endometriyal stroma hücreleri değişikliğe uğrayarak desidua hücrelerini oluşturur. Desidua hücrelerinin oluşmasını sağlayan bir başka mekanizma ise TGC hücrelerinden salgılanan faktörlerdir. Primer TGC hücreleri uterus duvarına gömüldüğü anda bazı uyarıcı faktörler salgırlar. Bu faktörler öncelikle proliferasyon, farklılaşma, endometriyum stromal hücrelerinin hipertrofisini ve ardından bu hücrelerin desidua hücrelerine dönüşmesini sağlar (Rai ve Cross, 2014). Desidual hücreler, blastosist aşamasında blastosistin etrafını sararlar ve primer desidual zonu oluştururlar. Bu zon avaskülerdir ve yoğun şekilde desidua hücresi ile sarılmıştır. Gebeliğin devamı sırasında aşamalı olarak bu zonda vaskularizasyon başlar, desidua hücre sayısı azalır ve stroması daha gevşek hale gelir. Yeni özelliklere sahip bu desidual katman sekonder desidual zon olarak adlandırılır (Furukawa ve ark, 2011).



Şekil 6. Fare plasentasının gelişimi (Latos ve Hembenger, 2016).

### 2.5.2. Olgun Fare Plasentasının Yapısı

Fare plasentası koryoallantoik tip plasenta olup diskoid şekillidir. Histolojik olarak da hemotrikoryal olarak sınıflandırılır (Furukawa ve ark, 2011). Bazı kaynaklarda hemoendotelial olarak da sınıflandırılmaktadır (Hassa ve Aşti, 2003; Özer, 2007). Olgun fare plasentası gebeliğin ortalarında, yaklaşık 10.5 günde tam olarak oluşmuştur. Üç tabakadan şekillenir; 1. Labirint zon 2. Bağlantı zonu 3. Maternal desidua (Şekil 7). Fetus içten amnion dıştan vitellüs kesesi ile sarılır. Bir de sadece rodentlere özgü Reichert Membranı denen özel bir membran içerir (Sinowatz, 2009; Furukawa ve ark, 2014; Rai ve Cross, 2014; Chavatte-Palmer ve Tarrade, 2016; Hafez, 2017; McGeady ve ark, 2017; Johnson ve Everitt, 2018).



Şekil 7. Olgun fare plasentasının şematik gösterimi (Shetty ve ark, 2016).

### 2.5.2.1. Fötal kısım

#### 2.5.2.1.1. Labirint kısmı

Labirint birbirinden farklı fonksiyonları bulunan özelleşmiş birçok hücre çeşidinden oluşur. Bunlar;

- Maternal kan hücreleri
- İleri derecede özelleşmiş çok fonksiyonlu trofoblast dev hücreleri (TGC)
- Sinsityotrofoblast I ve II tabakası (SynT)
- Fötal damar endoteli
- Fötal kan damarları

Trofoblastik dev hücreler: Labirint trofoblast, koryon ve allantois tarafından oluşturulmuş ileri derecede dallanmış formdaki özel bir oluşumdur (Rai ve Cross, 2014). Fare plasentasının en iç kısmı olarak da adlandırılabilir (Simmons ve Cross, 2005). Bu dallanma sonucunda oluşan geniş yüzey alanı fetüsün gebelik boyunca beslenme, atık ve gaz değişim mekanizmalarının gerçekleştiği özelleşmiş, trofoblast hücreleri, fötal kan damarları ve maternal ve fötal kan hücrelerinden oluşmuş kısımdır. Labirint zon maternal ve fötal kan boşluklarının farklı noktalarına yerleşmiş farklı beş çeşit trofoblast alt tipi içerir. Bu alt

tiplerin dördü labirintte bulunurken pariyetal trofoblastik dev hücre (P-TGC) bağlantı zonunda konumlanmaktadır.

Beş adet alt tipi vardır.

1. Spiral arter TGC (SpA-TGCs): Ektoplasental kondan köken alarak plasentaya kan getiren spiral arterlere invaze olup, maternal endotel hücrelerinin yerini alan hücrelerdir. Gebeliğin 10.5 gününde oluştukları bildirilmektedir. Maternal spiral arterlerin konumlanması ve plasentaya kan akışının kontrolünde görev aldıkları bilinmektedir. SpA-TGC' ler kan damarlarının oluşumu ve feto-plasental kardiyovasküler mekanizmanın düzenlenmesinde rol alır. Aynı zamanda plasentaya özgü katepsin tipi olan katepsin8 (CTS8) ve katepsin7 (CTS7) eksprese ederler. CTS8 düz kas degradesyonunu ve kan damarlarının integrasyonunu bozarak SpA-TGC' lerin buraya yerleşmesini sağlar.
2. Kanal TGC (C-TGC): Labirintte kan getiren boru şeklinde maternal kan damarının duvarında bulunan trofoblastik dev hücrelerdir. Yaklaşık olarak gebeliğin 10.5 gününde gözlenmektedir. Maternal vaskülarite ve maternal fizyolojinin düzenlenmesinde rol oynar.
3. Sinüzoidal TGC (S-TGC): Labirintte en iç kısımda maternal ve fetal kanların en yakın olduğu katmanda maternal kan sinüslerini kaplayan TGC tipidir. Bunlar TGC hormonal düzenlenme ve büyüme faktörlerinin salgılanması gibi birçok önemli olayda rol oynar. S-TGC'ler az miktarda plasental laktogen II, prolaktin-like-protein (PLP), proliferin (PLF) salgırlar. Bu salgılar labirintteki endotelin büyümesini ve bazı yerlerde inhibisyonunu sağlar. Bu da maternal kan boşluklarının oluşumu için hayati önem taşır. Maternal kan ile ilişkili olan S-TGC'ler den salgılanan hormonlar maternal kana iletilerek gebeliğin devamı için gerekli uyarımları sağlarlar.
4. Channel TGC (Ch-TGC): Labirintte deoksitlenmiş kanı taşıyan küçük kanalların yüzeyinde bulunan TGC' dir.
5. Pariyetal TGC (P-TGC): Pariyetalde uterus venlerine giden kan lakünlerini çevreleyen TGC' dir. Bu TGC tipi bağlantı zonunun bir parçadır. Labirint kısmında değildir (Rai ve Cross, 2014; Hu ve Cross, 2010). Bu TGC alttipi implantasyon alanı ve gebeliğin erken dönemindeki maternal vasküler bağlantıların oluşması, desidual alanın farklılaşması gibi mekanizmalarda regülatör görevi görür.

Tüm bu TGC tiplerini ayırt edebilmek için farklı gen ekspresyonları ve immünohistokimyasal belirleyiciler bulunmaktadır. TGC'ler gelişimin farklı aşamalarında ve

fötomaternal bileşkenin farklı kısımlarında oluşmaları ile ayırt edilebilirler. P-TGC'lerin bir kısmı haricindeki tüm TGC alttipleri gebeliğin ortasında, yaklaşık 7-7.5 gebelik gününde (El-Hashash ve ark, 2010) oluşurlar ve bu oluşum sekonder TGC farklılaşması olarak adlandırılır. Sekonder TGC farklılaşmasında köken olarak progenitor hücrelerin ve ekto-plasental konun, spongiotrofoblast tabakasında Mash2 ve Tpbpa/4311 pozitif hücrelerin rol aldığı bilinmektedir. Hepsinde ortak özellik tüm TGC tiplerinin büyük polipoid çekirdeğe, büyük sitoplazmaya ve gelişmiş Golgi ve endoplazmik retikuluma sahip olmasıdır. Polipoid nükleus endoreduplikasyon sonucu oluşmuştur. TGC'lerde poliploidinin fonksiyonu tam olarak bilinmese de bu oluşumun intauterin hayatta hızlı bir şekilde doku oluşumu ve yeterli protein sentezi yapılabilmesi için gerçekleşmiş olabileceği belirtilmektedir. Ayrıca kısa ömürlü oldukları bilinen TGC'lerin bu süre içinde yeterince hipertrofi faaliyeti gerçekleştirebilmek için bu mekanizmayı oluşturdukları bildirilmiştir (Coan ve ark, 2004; Simmons ve ark, 2007; Hu ve Cross, 2010; Maltepe ve ark, 2010; Rai ve Cross, 2014; Latos ve Hemberger, 2016).

TGC'lerin implantasyonda ve plasental metabolizmada çeşitli fonksiyonları vardır. Labirint bölgesinde insan plasentasındaki koryon villuslarının yerine kabul edilen S-TGC tipi trofoblast hücreler maternal sinüzoidler boyunca uzanır. Allantoisten köken aldığı bilinen bu TGC'lerin, plasental laktojen II ekspresyonu ettiği bildirilmiştir (Simmons ve Cross, 2005; Simmons ve ark, 2007; Maltepe ve ark, 2010; Rai ve Cross, 2014).

Trofoblastik dev hücrelerin fetomaternal bileşkede hayati görevleri olduğu belirtilmektedir. Bunlardan erken gebelik dönemindekiler implantasyon sürecinde blastosist tutunması ve uterus hazırlanması, implantasyon sonrasında uterusun desidualizasyonu ve hücre farklılaşmaları, fetomaternal vaskülarizasyondaki tüm değişiklikler, uterin ve sistemik immün sistemin ayarlanması olarak sayılabilir. Ayrıca salgılanan hormon ve bazı faktörlerle de maternal bazı organların uyarılması sağlanmaktadır. Bunlara örnek olarak da beynin uyarılarak maternal adaptasyon davranışlarının düzenlenmesi, ovaryumun uyarılması korpus luteum devamlılığı ve progesteron üretimi, meme bezlerinin uyarılması ve hücre farklılaşmasının tetiklenmesi, pankreasta beta hücre proliferasyonu ve insülin metabolizmasının gebeliğe uygun hale getirilmesi, karaciğerde gebeliğin devamı için gerekli değişiklikler, hematopoiezisin uyarılması gösterilebilir (Aplin, 1991; Coan ve ark, 2004; Simmons ve Cross, 2005; Watson ve Cross, 2005; Simmons ve ark, 2007; Hu ve Cross, 2010; Maltepe ve ark, 2010; Favaron ve ark, 2013; Rai ve Cross, 2014; Latos ve Hemberger, 2016).

Sinsityotrofoblastlar (SynT): Labirint zonunda S-TGC'lere bitişik olarak iki sinsityotrofoblast tabakası izlenir. Bu sinsityotrofoblast tabakaları koryonik kısımdan köken alır. Polar trofoektodermin oluşturduğu ekstraembriyonik endoderm koryonu oluşturur.



Koryon oluşumundan sonra koryondan köken alan trofoblastlarda çeşitli farklılaşmalar geçirerek sinsityo formuna dönüşür. Bu hücrelerde fetomaternal geçişlerin büyük bir kısmının gerçekleştiği bilinmektedir. Sinsityotrofoblast hücrelerinin plasenta gelişim sırasında ileri derecede özelleşmiş hücreler olduğu ve trofoblastların füzyonu sonucu olduğu bilinmektedir. Bu füzyonlar sonucu multinukleuslu yapı meydana gelmiştir. Sinsityotrofoblastlar oluşurken iki aşamadan geçerler. İlk aşama olan hücre döngüsünün ardından gerçekleşen füzyon sonucunda sinsityo formunu alırlar (Simmons ve Cross, 2005; Simmons ve ark, 2007; El-Hashash ve ark, 2010). Sinsitin A maddesinin sinsityotrofoblast morfolojisi ve trofoblast farklılaşmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir. Fare sinsitin A ve sinsitin B retroviral kökenli, in-vitro hücre-hücre füzyonunu gerçekleştirebilme yeteneğine sahip, plasenta-spesifik fuzogenik murin farklılaşma genleridir. İnsanda da sinsitin glikoproteinleri trofoblastların füzyonunda görev almaktadır (El-Hashash ve ark, 2010). Sinsityotrofoblastların genel olarak madde geçişinde görev aldığı bilinmektedir (Simmons ve ark, 2007; El-Hashash ve ark, 2010; Hu ve Cross, 2010; Rai ve Cross, 2014; Latos ve Hemberger, 2016).

#### **2.5.2.1.2. Bağlantı zonu**

Bağlantı zonu spongiotrofoblastlar, trofoblastik dev hücreler ve glikojen hücreleri olmak üzere farklı hücre tiplerinden oluşur. Spongiotrofoblastlar bağlantı zonunun ana hücreleridir. Labirintle direkt ilişkide olan hücre grubudur. Glikojen hücreleri spongiotrofoblastlar arasında düzensiz olarak bulunan özelleşmiş hücre gruplarıdır. Trofoblastik dev hücreler ise multifonksiyonel bir hücre grubu olup bu kısımda P-TGC alttipi izlenmektedir (Aplin, 1991; Cross ve ark, 1994; Simmons ve Cross, 2005; Watson ve Cross, 2005).

Trofoblastik dev hücreler (TGC): Bağlantı zonunda pariyetal tip trofoblastik dev hücreler (P-TGC) bulunur. İmplantasyon alanında bulunan ve desidua oluşumu destekleyen trofoblast tipidir. Bu hücre tipi plasentanın fetal kısmının maternal kısım ile birleştiği noktada sınır oluşturur. P-TGC'lerin bir kısmı blastosistin 60 hücrelik mural trofoektoderm aşamasında oluşurlar. Bu aşamada primer TGC farklılaşması olarak adlandırılırlar. Birçok P-TGC ise gebeliğin ortalarında ortaya çıkarlar ve bunlar da sekonder TGC farklılaşması olarak adlandırılır. P-TGC desidua ve maternal immun hücreleri ile direkt olarak temas halindedir. (Hu ve Cross, 2010). Bu hücrelerde gelişmiş mitoz görülmez, endoreduplikasyon olayı

gerçekleşir. P-TGC'lerin çok önemli görevleri vardır. Öncelikle bu trofoblast alt tipine ait hücreler blastosistin endometriyuma tutunmasına aracılık eder. Desidualizasyonu uyarır ve endometriyuma invazyonu sağlar. P-TGC'lerden salgılanan progesteron sayesinde uterusu invazyon ve implantasyona uygun değişiklikler olur. P-TGC'ler uterusu ekstraselüler matrikse yerleşirler. Burada bulunan laminin, fibronektin, vitronektin, kollagen gibi yapısal bileşenlerde değişiklik yaparak invazyonun ilerlemesini sağlar. İmplantasyon sahasında tutunmayı ve invazyonu sağlamak içinde pek çok integrin molekülü salgıladığı bilinmektedir (Coan ve ark, 2004; Simmons ve Cross, 2005; Watson ve Cross, 2005; Simmons ve ark, 2007; Hu ve Cross, 2010; Maltepe ve ark, 2010; Furukawa ve ark, 2011).

P-TGC'ler implantasyondan sonra geçici pariyetal vitellüs kesesi olarak isimlendirilirler ve erken gebelikte besin ve gaz değişim metabolizmasının yürütülmesinde görev alırlar. P-TGC, pariyetal endoderm ve dışta sadece rodentlere özgü bir membran olan Reichert's Membranı'ndan oluşmaktadır. Bu geçici pariyetal vitellüs kesesi sayesinde TGC'ler uterusu epitele, ekstraselüler matrikse çok hızlı bir şekilde penetre olurlar ve maternal kan damarları ile anoztomozlaşma başlar (Hu ve Cross, 2010; Rai ve Cross, 2014; Latos ve Hemberger, 2016).

P-TGC'ler, maternal hücrelerin fagositozu, matriks materyallerinin ve ekstraselüler matriks sindirimi için pek çok proteinaz çeşidi salgırlar. Bunlar matriks metalloproteinaz, metalloproteinaz inhibitörü, ürokinaz plazminogen aktivatörleri ve katepsinlerdir (Hu ve Cross, 2010).

P-TGC'ler TGC alt tipleri arasında en çok PLP çeşidi salgılayan alt tip trofoblasttır. Bu salgılar maternal korpus luteum, meme bezleri, beyin ve pankreası etkileyerek gebeliğin sürekliliğini sağlarlar. Aynı zamanda P-TGC'den anjiogenesis ve hematopoiesis ile ilişkili hormonlar salgılandığı bilinmektedir (Hu ve Cross, 2010).

Spongiotrofoblastlar (SpT): Bu hücre tipi polar trofoektodermden köken alır. Ekstra embriyonik endodermden ektoplasental kon oluştuktan sonra bazı faktörlerin tetiklemesiyle spongiotrofoblastlar oluşur (Maruyama ve Kimura 2019). Spongiotrofoblast hücrelerinin ilk kez gebeliğin 9.5. gününde görüldüğü, spongiotrofoblast tabakasının epidermal büyüme faktörlerini salgıladığı bildirilmiştir (El-Hashash ve ark, 2010).

Reichert's Membranı: Reichert's Membranı rat ve fare gibi rodentlerin plasentasında intrauterin dönem boyunca gözlenen, trofoblast hücreleri ve pariyetal endoderm arasında bulunan temel üç ekstraembriyonik membrandan biridir. Gelişiminin 5.5. gebelik gününden sonra gerçekleştiği bilinmektedir (Salamat ve ark, 1993; Flores ve ark, 2014; Rai ve Cross, 2014). Temel membranların aksine çok katmanlı lamina densaya sahiptir. Reichert Membranı

maternal taraftan trofoblast hücreleri ile embriyonik taraftan ise pariyetal endoderm ile sınırlanır (Salamat ve ark, 1993; Flores ve ark, 2014; Rai ve Cross, 2014).

Glikojen Hücreleri (Gly-C): Glikojen hücrelerinin spongiotrofoblastlardan köken aldığı ve spongiotrofoblastların özelleşmiş bir alt tipi olduğu kabul edilir. Bu hücrelerin spongiotrofoblast tabakası içerisinde oluştuğu ve buradan desidua tabakasına göç ettiği bildirilmektedir (Coan ve ark, 2004). Özel olarak konneksin31 ekspres ettikleri ve gebeliğin 12.5-16.5 günleri arasında sayılarının arttığı tespit edilmiştir (El-Hashash ve ark, 2010). Bu hücrelerin gebeliğin ortalarında geçici olarak sayıları artarken, gebeliğin sonlarına doğru sayıları azalır (Furukawa ve ark, 2011). Glikojen hücreleri köpüğümsü sitoplazmaları ile dikkat çekerler. Hücrelerin gebeliğin 12.5 gününden sonra yüksek miktarda glikojen biriktirerek bağlantı zonuna göç ettiği bilinmektedir. Glikojen hücrelerinin gebeliğin son döneminde maternal ve fetal kısım için gerekli olan enerji rezervini sağladığı bildirilmektedir (Rai ve Cross, 2014).

#### **2.5.2.2. Maternal desidua**

Fare plasentasının maternal kısmında, gebelik durumunda görülen organizmadaki en özelleşmiş hücrelerden biri olan desidua hücreleri, metriyal bezler ve onuncu günden itibaren ortaya çıkan lenfositlerden oluşan gebelikte mezometriyal lenfosit topluluğu (MLAp) bulunur (Simmons ve Cross, 2005; Watson ve Cross, 2005; Furukawa ve ark, 2011; Scott ve ark, 2012).

##### **2.5.2.2.1. Desidualizasyon ve desidua hücreleri**

İnsan ve fare gebeliklerinde embriyo luminal epitele tutunur ve endometriyum stromasına invaze olur. Östrojen ve progesteronun etkisiyle oluşan bu olayda embriyoyu çevreleyen endometriyuma ait stromal hücreler büyük ölçüde farklılaşma geçirirler. Bu olay desidualizasyon olarak tanımlanır ve implantasyonun devamlılığı için desidualizasyon şarttır. Desidua gebelik sonuna kadar süren geçici bir dokudur. Bu olay ile embriyonun ileri derecede özelleşmiş trofoblast hücreleri ile endometriyumun özelleşmiş desidua hücreleri etkileşerek fetomaternal diyalog oluşturur (Ramathal ve ark, 2010).

Farelerde gebeliğin dördüncü gününde blastosist uterusu ulaşır. Tutunmadan önce ve tutunma esnasında uterus fibroblastik stromal hücrelerde değişiklikler oluşmaya başlar.

Tutunmayı takip eden üç gebelik günü içerisinde desidua embriyo çevresine invaze olur (Das ve ark, 1999; Das, 2010; Ramathal ve ark, 2010; Zhao ve ark, 2017).

Farelerde desidua, gebeliğin implantasyonu takiben 4.5-5 gününde başlar. Beşinci günün sonunda implantasyonun olduğu taraf olan antimezenterik tarafta oluşan ilk desidua dokusuna primer desidual zon (PDZ) denir. PDZ avaskülerdir ve epitelioid karakterdedir. Altıncı gün devam ederken primer desidual zonun yakınındaki stromal hücreler değişikliğe uğramaya başlar. Proliferasyon ve farklılaşmanın ardından sekonder desidual zon (SDZ) oluşur. Farklılaşma esnasında desidua dokusu genişler ve sıklıkla iki nükleuslu ya da poliploid duruma gelir. Bu farklılaşma ve çoğalma süreci sırasında plasenta gelişimi ve invazyonunun ilerlemesi apoptozis mekanizması ile kontrol edilir. SDZ 7. gebelik gününde genişlemeye başlar. Sekizinci gebelik gününde SDZ büyür ve PDZ'nin yerini alır ve PDZ tamamen körelir. SDZ desidua kapsüllaris adı verilen ince bir tabakaya dönüşür. İnvazyon sürecinin bittiği 10.5 gebelik gününden sonra plasenta da genel olarak gerilemeye başlar (Das, 2010; Ramathal ve ark, 2010).

Desiduanın gebeliğin ve plasentanın devamlılığını sağlamaya yönelik pek çok fonksiyonu vardır. Embriyo gelişimini destekleyen büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgıladıkları ve annenin plasentaya karşı oluşturacağı immün cevabı engellediği ve gebeliğin devamlılığını sağladığı bilinmektedir (Ramathal ve ark, 2010). Ayrıca trofoblast invazyonunun gerçekleşmesi için immünregülatör olarak görev almaktadır (Wang ve Zhao, 2010). Desidua hücrelerinin embriyoya kan getiren kan damarlarının oluşmasında ve kan akışının kontrolünde de görev aldığı bilinmektedir (Hu ve Cross, 2010; Maltepe ve ark, 2010; Ramathal ve ark, 2010; Wang ve Zhao, 2010; Namiki ve ark, 2018).

#### **2.5.2.2.2. Metriyal bezler**

Metriyal bezler gebe uterusunda mezometriyal kısmın lamina propriyasında normal yapıda bulunan elemanlardır. Metriyal bezler desidualize endometriyal stroma hücreleri, doğal katil hücreleri (uNKC), spiral arterler ve fibroblastlardan oluşan dinamik bir hücre topluluğundan oluşur. Erken gebelik döneminde hızlı gelişirler, gebeliğin sonlarına doğru gerilemeye başlarlar ve gebelik bitiminde parçalanırlar (Furukawa ve ark, 2011).

### **2.5.2.2.3. MLAp**

MLAp gebeliğin ortalarında doğal katil hücrelerin oluşturduğu, mezometriyal tarafta desidua bazalisin içinde şekillendiği kabul edilen ve arasında miyometriyum katmanlarının da geçtiği lenfoid bir oluşumdur (Xie ve ark, 2005; Scott ve ark, 2012; Lima ve ark, 2014; Doisne ve ark, 2015; Redhead, 2015; Sur ve ark, 2015; Gaynor ve Colucci, 2017). Gebelikte uNK hücreleri desidua bazalis ve MLAp' da bulunur (Xie ve ark, 2005). Gebeliğin sekizinci ve onuncu gününden itibaren şekillenmeye başladığı, öncesinde bir topluluk oluşturmadığı ve gebeliğin sonuna kadar varlığını sürdürdüğü bilinmektedir (Xie ve ark, 2005). MLAp mezometriyal endometriyum kalıntılarının oluşturduğu miyometriyumla ayrılmış özelleşmiş bir alandır. Bu alan uNK hücrelerinin toplanması ile karakterize olmuştur. Alanı ayıran miyometriyum MyLAP olarak adlandırılmıştır (Redhead, 2015; Gaynor ve Colucci, 2017).

## **2.6. İmmüoglobulinler**

### **2.6.1. İmmüoglobulinlerin Genel ve Yapısal Özellikleri**

Kazanılmış bağışıklığın temeli bazı hücrelerin antijenleri tanıması ve bunlara karşı spesifik yanıt vermesidir (Diker, 1998). Antijenin tanınması kendine özgü kazanılmış bağışıklık yanıtın belirleyici özelliğidir. İmmün sistem antijeni tanıırken iki farklı yol izler. Bu süreçle ilgili T hücre reseptörleri (THR) ve immüoglobulinler olmak üzere farklı molekül tipi vardır (Male, 2004; Male ve ark, 2008). İmmüoglobulinler B lenfositlerin membranına bağlı antijen reseptörleri veya salgılanan proteinlerdir. THR' ler ise sadece T hücrelerinin membran proteinleridir (Abbas ve Lichtman 2007). Vücutta bağışıklık olayları hücresel (sellüler) ve sıvısal (humoral) olmak üzere iki yolla yapılmaktadır. Bu iki yoldan biri olan humoral bağışıklığın temel unsurları B hücreleri ve bu hücreler tarafından meydana getirilen antikordlardır. B hücrelerinin antijene yanıtı üzerine oluşan ve antijen ile spesifik olarak birleşebilen bu moleküller üzerlerinde B hücre reseptörü (BCR) bulundurlar (Diker, 1998).

Antikorların saptanmasında başlangıç noktası serumdur. Serum yüzlerce değişik protein molekülü içerir. Elektroforez yöntemi ile bu proteinler albümin, alfa globulin, beta globulin ve gama globulin olmak üzere dört ana gruba ayrılır (Diker, 1998).

Bir hayvanın yabancı bir protein verilmeden önceki ve verildikten 1-2 hafta sonraki serumu elektroforeze tabi tutulursa gama globulin miktarının arttığı görülmüştür. Antiserum spesifik antijen ile karşılaştıktan sonra elektroforeze tabi tutulursa gama globulin miktarında

düşme gözlenmektedir. Serumdaki antikorların büyük çoğunluğu bu gamaglobülin fraksiyonunda, bir kısmı da betaglobulin fraksiyonunda bulunur. İşte proteinlerin globülinler kısmında olup immünolojik etki gösteren bu moleküller immunglobulinler olarak adlandırılmışlardır ve “Ig” şeklinde sembolize edilirler (Diker, 1998; Yılmaz ve Akgül, 2014).

İmmunoglobulinler ilk kez 1939 yılında Tiselius ve Kabat tarafından gösterilmiştir. Bunlar antijen bağlayan, mast hücrelerinden histamin salınımı ve kompleman aktivasyonu gibi biyolojik etkinlikleri başlatan glikoprotein molekülleridir (Özbal, 2000). İmmünglobulinlerin esas amacı antijene bağlanmaktır. Bağlantı gerçekleştikten sonra antijen-antikor bileşiği oluşarak antijeni bir araya toplama, fagositozla atılmalarını kolaylaştırma ve etkisiz hale getirme gibi görevleri üstlenirler. Ayrıca kompleman sistemi aktive etme, sitokin üretimi ve hücre adezyonunda görev alma, toksin moleküllerini ve virüsleri etkisiz hale getirme, mikroorganizmaların mukozalara tutunmasını engelleme, zararlı bazı moleküllerin bağırsaktan emilimine engel olma ve mukozal bağışıklıkta rol oynama gibi fonksiyonları da vardır (Simister, 2003; Chucrı ve ark, 2010; Schroeder ve Cavacini, 2010; Vidarsson ve ark, 2014; Yılmaz ve Akgül, 2014)

İmmunglobulin molekülleri immunglobulin süperailisine (IgSf) üyedirler. Monomerik yapıdaki temel birimi polipeptid zincirlerinden oluşur. Genel olarak iki uzun ağır (H), iki kısa hafif (L) zincirden oluşur. Bir ağır zincir ortalama 420 aminoasitten, bir hafif zincir ise 210 aminoasitten oluşur. Zincirlerin bir ucunda NH<sub>2</sub> bulunmaktadır ve bu uca aminotermal, diğer ucunda COOH bulunmakta ve bu uca da karboksitermal denmektedir. Her bir ağır zincir 50 kD, hafif zincir 22 kD ağırlığındadır (Diker, 1998; Özbal, 2000; Abul ve Lichtman, 2007; Male ve ark, 2008; Ar ve Patıroğlu, 2016; Playfair ve Chain, 2018).

Tipik bir antikor molekölü iki ağır ve iki hafif zincirden oluşmuştur. Bu zincirler sistein kalıntıları üzerinden disülfid köprüleriyle bağlanan 12 çift domaine sahiptir (Abbas ve Lichtman, 2007). Bütün molekül esnek bir “Y” şekline sahiptir (Playfair ve Chain, 2018). Her bir zincirde sistein kalıntısı ile kaplanmış, birbiri ile disülfid bağlantısı ile tutturulmuş iki katlı β kısmını içeren, bir NH<sub>2</sub> sonlu IgSf alanı içeren değişken bölge (VL) vardır. Gerisi COOH sonlu IgSf alanı içeren sabit bölge (CL) olarak kabul edilir (Özbal, 2000; Schroeder ve Cavacini, 2010; Playfair ve Chain, 2018). Değişken bölgeler içinde aminoasit sıralamasında maksimum değişkenlik, her zincirde üç tane olmak üzere toplam altı aşırı-değişken (hipervariable) alan veya “tamamlayıcı belirleyici bölge” (complementarity determining region, CDR) taşır. Bu bölgeler birleştğinde antijen bağlanma bölgesi oluşur. Antijene ait epitopun bağlandığı bölge burasıdır. CDR’ de yer alan aşırı değişken bölgelere ait aminoasit dizilimindeki çeşitlilik antijenik repertuarı oluşturur. Aminotermalden başlayarak CDR1,

CDR2, CDR3 olarak numaralandırılırlar. Sabit bölgelerde kompleman ve çeşitli hücre yüzey reseptörleri ile etkileşen kısımlarda değişkenlik gösterir; sağ taraftaki sabit bölge farklı özellikler göstermektedir. Bu farklılıklar beş farklı immünglobulin sınıfını oluşturmaktadır (Diker, 1998; Özbal, 2000; Abbas ve Lichtman, 2007; Male ve ark, 2008; Ar ve Patıroğlu, 2016; Playfair ve Chain, 2018).

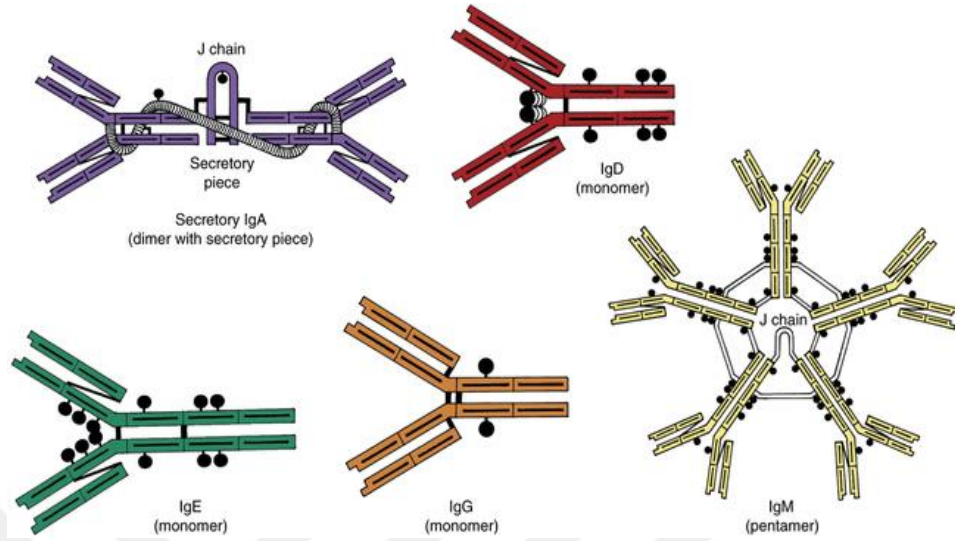
Antikorun ağır zincirinin V bölgesi ve ilk C bölgesi ile bağlı tüm hafif zinciri içeren kısım antijeni tanımak için gereken antikor bölgesidir ve antijen bağlayan parça Fab (fragment antigen binding) diye adlandırılır. Ağır zincirin diğer C bölgesi parçaları ise Fc (fragment crystalline) olarak adlandırılır. Çünkü bu bölge papain sindirimine maruz kaldığında kristalleşmektedir. Her Ig molekülünde birbirine eş iki Fab ve bir adet Fc bölgesi bulunur. Fab ve Fc bölgelerinin arasında disülfid bağlarından oluşan elastik bir bölge bulunur ve bu bölge menteşe bölgesi “hinge region” olarak adlandırılır. Bu bölge hem molekül esnekliğini hem de proteolitik sindirimi kolaylaştırır. Aynı zamanda birbirinden ayrı duran anjijen epitoplarnın yakalanması da bu menteşe bölgesi sayesinde gerçekleşmektedir (Male, 2004; Abbas ve Lichtman, 2007; Playfair ve Chain, 2018).

Hafif zincirler tüm immünoglobulinlerde aynıdır ve kappa ( $\kappa$ ) veya lambda ( $\lambda$ ) ile gösterilen polipeptid moleküllerinden oluşurlar. İki hafif zincirden ikisi lambda ya da kappa'dır. Bir immünglobulin molekülündeki bir ağır zincirin kappa diğerinin lambda hafif zincir ile bağlanması mümkün değildir (Özbal, 2000). Hafif zincirde değişken ve sabit kısım yaklaşık 100-110 amino asit içermektedir. Hafif zincir kappa ( $\kappa$ ) ve lambda ( $\lambda$ ) zincirlerinden oluşmaktadır. Kappa, lambdanın iki katı kadardır.  $\lambda$ 'nın dört sınıfı vardır ve immünglobulin çeşitlerine göre farklılık gösterir (Schroeder ve Cavacini, 2010).

## 2.6.2. İmmünoglobulinlerin Sınıf ve Altsınıfları

İmmünoglobulinler sahip oldukları sabit bölgelerinde fiziksel, antijenik, fonksiyonel olarak farklılık gösterirler. Aynı zamanda bu farklılıklar büyüklük, elektriksel aktivite, aminoasit sekansları, karbonhidrat içeriğindeki farklılıklar olarak da tanımlanabilir. Bu farklılıklara göre beş farklı immünglobulin molekül sınıfı vardır. Bunlar IgM, IgA, IgG, IgD, IgE olarak adlandırılırlar (Şekil 8). İmmünoglobulinlerin sahip olduğu iki hafif zincirin aminoasit sekansları birbirine eşittir ve ağır zincirler de aynıdır. Hem hafif hemde ağır zincirler bükümler şeklinde kıvrılırlar ve ağır zincirin tipi immünglobulin sınıflarını ve alt

sınıfları belirler. IgD, IgE, IgM' nin alt sınıfları olmamakla birlikte, IgG' nin dört alt sınıfı (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) ve IgA nın da iki alt sınıfı (IgA1, IgA2) olduğu bilinmektedir.



**Şekil 8.** Tüm immünglobulinlerin molekül şekillerinin şematik gösterimi (McCance ve Huether 2014).

### 2.6.2.1. İmmünglobulin M

Genellikle birincil immün yanıtta oluşan ilk antikordur. Serum havuzunun %10'unu oluşturur. Dört zincirli yapıdan oluşan 970 kDa ağırlığında J polipeptit zinciri ile bağlanan bir pentamerdir. Transzar monometrik formu olgun B hücrelerinde antijene özel bir reseptör olarak bulunur (Male ve ark, 2008). Pentamerik IgM molekülünün C terminal bölgesi membrana bağlanan monomerik yapısından farklıdır. Salgılanan IgM 20 aminoasitlik hidrofilik bir kuyruk barındırırken, membrana bağlı IgM 41 amino asit içerir. IgM' nin pentamerik yapısı iki adımda gerçekleştirilir. İlk olarak monometrik birimler birleşir. Daha sonra 5 monomer ve J zinciri kovalent olarak bağlanarak pentamerik yapı oluşturulur (Ar ve Patıroğlu, 2016). Pentamerik yapısı ona 10 adet antijen bağlama bölgesi verdiği için düşük spesifik affinitesine rağmen yüksek avidite gösterir. Bu nedenle yanıtın erken evresinde mikroorganizmaları bağlama ve çöktürmede son derece etkindir. Ancak aynı zamanda istenmeyen enflamasyon ve hastalıkları aktive edecek büyük immün kompleksler yapmakta da etkin olduğu için yeterli IgG salgılanır salgılanmaz miktarı azaltılır (Playfair ve Chain, 2018). IgM molekülü klasik kompleman yolağını aktifleştirmede oldukça etkilidir (Ar ve Patıroğlu, 2016).



### 2.6.2.2. İmmünglobulin A

Polimerik ve salgısal IgA, 2 adet 4 zincirli yapıya ek olarak J (joining) zinciri ve SC (salgısal komponent) molekülünün birleşimidir (Ar ve Patıroğlu, 2016). Bu dört zincir monomer, dimer ve polimer kısımlardan oluşur. İnsanda monomerik yapıda görülen IgA, diğer türlerde dimerik yapıda görülmektedir (Male, 2004). Kolostrum, tükrük bezi, gözyaşı, bronşial sekresyon, nazal mukoza, prostatik sıvı, vaginal sekresyonlar, ince bağırsakların sekresyonlarında bulunan başlıca Ig'dir. Dokulara dış ortamdan mikroorganizma girişini engeller. Dolaşımdaki IgA'nın yalnızca %10 u monomeriktir. Monomerik ve polimerik form serum Ig'lerin %15 ini oluşturur. IgA'yı oluşturan 365 aminoasitten 22'sindeki farklılık IgA'yı IgA1 ve IgA2 olmak üzere iki alt sınıfa ayırır. IgA1'de mentеше bölgesinde karbonhidrat bulunurken IgA2' de böyle bir kısım yoktur. IgA'nın polimerik yapısı ve salgısal komponentin varlığı bakteriyel pretolizise karşı koruyucudur (Male, 2004; Yılmaz ve Akgül, 2014; Ar ve Patıroğlu, 2016; Playfair ve Chain, 2018).

IgA klasik kompleman yolunu etkinleştirmede rol almaz. Bunun konağın mukozal yüzeyindeki IgG antikoları tarafından oluşturulan enflamatuvar yanıtın azaltması için gerçekleştirilen bir mekanizma olduğu bildirilmektedir (Male, 2004; Male ve ark, 2008). IgA bakteriyel ya da paraziter yüzey antijenine bir kez bağlandığında monosit, makrofaj, nötrofil, eozinofil, gibi enflamatuvar hücrelerin etkeni yok etmesine yardımcı olur. Buna antikor bağımlı hücre aracılıklı sitotoksiste (antibody dependent cellular cytotoxicity, ADCC) adı verilir. Ayrıca IgA'nın bakteriyel ve viral yüzeye bağlanması mikroorganizmaların hareketini sınırlandırarak antijenlerin temizlenmesinde önemli rol oynar (Arvola, 2001; Yılmaz ve Akgül, 2014; Ar ve Patıroğlu, 2016; Playfair ve Chain, 2018).

### 2.6.2.3. İmmünoglobulin E

Serum Ig'lerinin %0,004'ü de olsa klinik olarak önemli fonksiyona sahip bir immünglobulindir. 188kDa ağırlığında, monomerik yapıdadır. Serumdaki IgE'nin toplam vücutta bulunan IgE'nin yaklaşık % 50'sini oluşturduğu tahmin edilir. Kalan kısmı ise mast ve bazofil hücrelerine bağlı olarak bulunur. Mast hücresi ve bazofil üzerindeki yüksek affiniteli reseptörünün üzerindeki alfa zincirine kendi Fc bölgesi ile bağlanır. Bu bağlantı sonrasında bu hücrelerin degranülasyonları sağlanır (Male, 2004; Playfair ve Chain, 2018). IgE' ler genel olarak gastrointestinal ve respiratuvar kanaldaki MALT sisteminin birer parçası

olarak iş görürler. IgE helmintlere, parazitlere karşı immünite sağlar. Aynı zamanda astımda da önemli rol oynadığı bilinmektedir. IgA ile yaptığı kombine mast hücreleri ve granüositleri kemotaksik olarak uyarır (Male, 2004; Shetty, 2005; Abbas ve Lichtman, 2007; Male ve ark, 2008).

#### **2.6.2.4. İmmüoglobulin D**

Yalnızca B hücrelerinin yüzeyinde zar geçişli antijen reseptörü olarak iş gören ve burada düzenleyici görevi olduğu bilinen bir immüoglobulindir. Serum proteini olarak herhangi bir etkin fonksiyonu bilinmemektedir. Farelerde ağır zincirinde üç yerine iki sabit bölge içermesiyle sıradışıdır. Bütün antikolar çift yönlü çalıştıkları halde IgD tek yönlü çalışan bir immüoglobulindir (Male, 2004; Shetty, 2005; Playfair ve Chain, 2018).

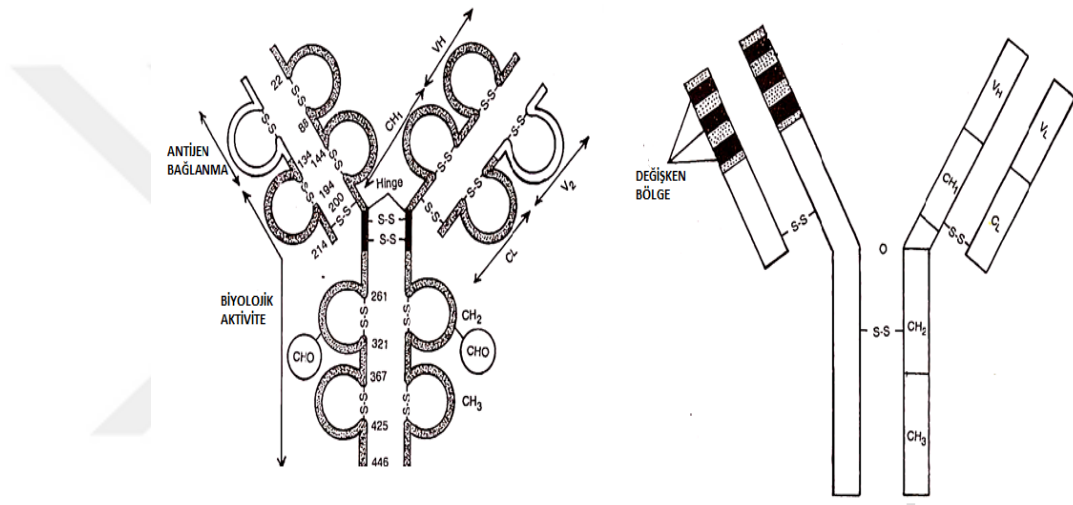
#### **2.6.2.5. İmmüoglobulin G**

İmmüoglobulin G insanda ve farede (Arvola, 2001) serumda egemen olan immüoglobulin çeşididir (Ar ve Patıroğlu, 2016). İkincil immün yanıtta oluşan antikordur. IgG damar içi ve damar dışı arasında dengeyi sağlayarak organizmada kapsamlı bir koruma yapar. İnsanda total serum immüoglobulinin %75'ini oluşturur. İnvasküler ve ekstravasküler alana dengeli dağılmıştır (Ar ve Patıroğlu, 2016).

IgG dört zincirli yapıdan oluşan 970 Kda ağırlığında ayrıca 15 kDa ağırlığında J polipeptid zinciri ile bağlanan bir pentamerdir (Male ve ark, 2008). IgG sınıfı antikolar %3-4 oranında karbonhidrat içermektedir. Gama adı verilen ağır zinciri diğer Ig'lerden farklı olup kendi arasında antijenik determinanta göre farklılık gösterdiğinden IgG'ler; IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 olmak üzere dört alt sınıfa ayrılmaktadır. Ağır zincirlerinden her birinde birer adet değişken, üç adet sabit alan; hafif zincirlerin her birinde bir adet değişken, bir adet sabit bölge bulunmaktadır (Şekil 9) (Özbal, 2000).

Her IgG alt sınıfı tek bir menteşe bölgesi içerir (Ar ve Patıroğlu, 2016). IgG3'ün menteşe bölgesi oldukça kırılımandır ve proteolitik enzimlerin etkisine daha fazla açıktır. Bu nedenle IgG3 ün yarı ömrü diğer IgG tiplerine göre çok daha fazla kısadır (Ar ve Patıroğlu, 2016). IgG3'ün yarı ömrü yedi gün iken, diğer alt sınıflarda yarı ömür 21 gündür (Özbal, 2000). Menteşe bölgelerindeki farklılıklar molekül yapısı içerisindeki IgG Fab ve Fc yapısının

hareketliliğine ve immün kompleksin yapısal şeklinin çeşitliliğine katkı sağlar. Her dört IgG alt sınıfı Fc bölgeleri arasında %95 uyum görülmektedir (Male, 2004). IgG1 ve IgG3 kompleman aktivasyonunda önemli rol oynarken, IgG4 komplemanın klasik yolunu aktiflemek için uygun değildir. Ancak IgG4 antikorunu komplemanla bağlanabilen diğer IgG alt sınıflarının meydana getirdiği enflamasyonla etkileşime geçebilir. Aynı zamanda IgG4 antijenle çapraz bağlanma yaparak IgE'nin mast hücrelerine bağlanmasını önler. Böylece aşırı IgE duyarlılık reaksiyonu önlenmiş olur (Ar ve Patıroğlu, 2016).



Şekil 9. İmmünglobulin G'nin molekül yapısının şematik gösterimi (Chonkar, 2019).

Makrofaj, trombosit ve lenfositlerin hücre membranında IgG'nin özellikle IgG1 ve IgG3 molekülünün Fc kısmına ait Fc reseptörleri (FcγR) vardır (Özbal, 2000; Male, 2004; Shetty, 2005; Sinha ve Bhattacharya, 2006; Ar ve Patıroğlu, 2016; Playfair ve Chain, 2018).

FcγR'lerin çapraz bağlanması sonucunda immünreseptör bazlı uyarım motifi (ITAM) ve immünreseptör tirozin bazlı baskılama motifi (ITIM)'lerin sitoplazmik sekanslarındaki toplanmalar biyolojik uyarımlarla sonuçlanır. ITAM motiflerinin fosforilasyonu fagositoz, antikor bağımlı sitotoksinite, mediyatör salınımı, antijen sunumunun artması gibi olayları uyarır. ITIM fosforilasyonu ise hücresel uyarımı inhibe eder (Male ve ark, 2008).

Bu reseptörler FcγRI, FcγRII, FcγRIII olmak üzere üç sınıf halinde tanımlanmıştır. FcγR'ler birçok hücre tiplerine sürekli olarak sunulur ve sitokinler gibi çevresel faktörlerle

yeniden düzenlenir ve uyarılır (Özbal, 2000; Male, 2004; Shetty 2005; Sinha ve Bhattacharya, 2006; Ar ve Patıroğlu, 2016; Playfair ve Chain, 2018).

Fc $\gamma$ RI immün komplekslerin fagositozu ve mediyatör salınımıyla ilgilidir. Yüksek affiniteyle monomerik IgG1 ve IgG3'e, düşük affiniteyle IgG4' e bağlanır. Bu molekülün hücrel dağılımı diğer Fc $\gamma$ R'lerden daha kısıtlıdır fakat mononükleer hücre hattının tüm hücrelerine sunulur. Fc $\gamma$ RII, yapısal ve fonksiyonel olarak farklı özelliklerde Fc $\gamma$ RIIa ve Fc $\gamma$ RIIb formlarında sunulur. Fc $\gamma$ RIIa sadece IgG1 ve IgG3'e bağlanır. Fc $\gamma$ RIIb molekülü ise çapraz bağlandığında özellikle B hücrelerinde hücrel uyarımı bloke eder. Fc $\gamma$ RIII' de yapısal ve fonksiyonel olarak farklı özelliklerde Fc $\gamma$ RIIIa ve Fc $\gamma$ RIIIb olmak üzere iki forma sahiptir. Fc $\gamma$ RIIIa monosit, makrofaj, natural killer hücreleri ve bazı T hücrelerine sunulur. Monomerik IgG için orta derecede affinite gösterir. Fc $\gamma$ RIIIb formu seçici olarak nötrofillere sunulur. Monomerik IgG'ye düşük affiniteye sahiptir (Male ve ark, 2008). Fc $\gamma$ R' lerin hücrel dağılımları ve fonksiyonları Tablo 1' de verilmiştir.

**Tablo 1.** Fc $\gamma$ R' lerin hücrel dağılımları ve fonksiyonları (Özbal, 2000).

<b>Fc<math>\gamma</math>R Tipi</b>	<b>Hücrel Dağılım</b>	<b>Fonksiyonları</b>
Fc $\gamma$ RI	Monositler	Antikora bağlı sitotoksiste
Fc $\gamma$ RII	Monosit, nötrofil, B-lenfosit, eozinofil, Trombositler	Antikora bağlı sitotoksiste, fagositoz, lizozomal salınım, süperoksit anyon yapımı, IgG düzenlemesi
Fc $\gamma$ RIII	Makrofaj, nötrofil, ve T lenfositler	Fagositoz, immünkomplekslerin temizlenmesi, antikora bağlı sitotoksiste

Yenidoğanlar ve fetus immünolojik olarak yeterli değildir. Bu koruma plasentadan geçebilen tek antikora olan IgG ile sağlanmaktadır. Fetus ve yenidoğanda IgG sadece anneden kaynaklanır. Bu antikora taşıması Fc reseptörü (FcRn) ile gerçekleştirilir tüm IgG

alt sınıflar taşınabilir. IgG alt sınıfları plasentayı geçerek taşınan tek antikordur ve kordon/anne kanı oranı IgG1 için yaklaşık 1.2 ve IgG4 için 0.8'dir. IgG1 antikor yoğunluk oranına göre geçiş yaparken, IgG4 aktif taşıma ile taşınır. Bazı hayvan türlerinde maternal IgG doğum sonrasında, ağız sütü ile yavrulara aktarılır. FcRn'ye eş bir reseptör aracılığıyla gastrointestinal yolla yavruya geçer (Male ve ark, 2008).

Yenidoğanda ve fetüste immünolojik koruma için maternal IgG'nin plasentadan aktif taşınması oldukça önemlidir. Fötal IgG üretimi oldukça düşük seviyededir ve yenidoğanlardaki IgG kaynağının büyük çoğunluğunu maternal IgG oluşturmaktadır. İnsanda IgG plasentadan geçerken koryonik villusun maternal kan ile direkt ilişki de olan sinsityotrofoblast ve fötal endotel olmak üzere iki bariyeri aşar. Bu geçiş sinsityotrofoblast hücrelerinde bulunan FcR sayesinde. Plasentada bulunan reseptörler immünglobulin geçişini sağlamaktadır (Arvola, 2001). İmmünglobulin G geçişi için ideal pH'ın altı olması bildirilmiştir (Arvola, 2001).

IgG'nin plasentayı geçen tek antikor olması nedeniyle uzun yıllar bu konu hakkında pek çok çalışma yapılmıştır.

Virella ve ark. (1972) kordon ve maternal kandan örnekler alarak maternal ve fötal kısımdaki IgG alt sınıflarının oranını ve aynı zamanda bu kanlardaki IgA, IgE, IgM varlığını araştırmışlardır.

Gebeliğin 18-35. haftaları arasında bulunan 34 fetüs kordon kanında ve maternal kanda yapılan çalışmada yine IgG alt sınıfları ve maternal ve fötal IgG'lerin kandaki düzeyleri araştırılmış ve IgG alt sınıflarının oranı karşılaştırılmıştır (Garty ve ark, 1994).

Palsi ve Selbing (1998) yaptıkları çalışmada, gebelik boyunca maternal ve fötal IgG düzeylerini ölçmüş ve oranlarını kıyaslayarak plasental IgG taşınmasını araştırmışlardır.

Kiskova ve ark. (2019) olgun insan plasentasında, FcRn reseptörlerinin belirlenmesi için yaptıkları çalışmada, arter ve venöz endotel hücrelerinde kısmen FcRn varlığını gözlemişlerdir. Çalışmada FcRn yoğunluğun sinsityotrofoblast hücrelerinde olduğu, CK7+ hücrelerde ve terminal, kök villuslardaki endotel hücrelerinde CD31+ ile uyumlu bölgelerde pozitiviteye rastlandığı bildirilmiştir.

İnsan plasentası ile yapılan başka bir çalışmada (Stapleton ve ark, 2018) eksik FcRn bağlanması sonucunda IgG taşınmasında eksiklik yaşandığı ve buna bazı mutasyonların neden olduğu belirtilmiştir.

Malek (2003), çalışmasında insan plasentasında gebelik süresince spesifik IgG taşınma mekanizmasını ve fötal ve maternal IgG düzeylerini belirlemiştir. Bu belirlemeler perfüzyon yöntemi ile in vivo ve ex vivo tekniklerle gerçekleştirilmiştir.

Hashira ve ark. (2000) gebeliğin 20. ve 42. haftasında IgG alt sınıflarının plasental transfer oranını araştırmışlardır. IgG1 en yüksek oranda, IgG4 ve Ig3' ün aynı konsantrasyonda ve IgG2' nin en düşük oranda aktarıldığını saptanmışlardır.

## 2.7. Maternal Tolerans

Gebelik boyunca fetus anneye patojen olabilecek yabancı antijenler üretir ve bunları maternal kanın çok yakınlarında taşır. Bu olaylar çok karmaşık bir immünomedulatör etki gerektirir. Çünkü fetus, annenin immün sisteminden korunurken anne ile birlikte dışardan gelebilecek enfeksiyonlara karşı da immünolojik olarak korunmalıdır (Arvola, 2001). Gebelik olayında babaya ait genler anneye ait genlerle birleşerek anne vücuduna yerleşir. Genetik materyalin yarısının babaya ait olmasına rağmen, dişiler embriyoyu vücutlarında taşırlar. Bunun gerçekleşebilmesi için vücutta bazı moleküler ve fizyolojik olayların gerçekleşmesi gerekir. Gebeliğin devamını sağlayan bu mekanizmalar maternal tolerans mekanizmasıdır (İzgi ve Sur, 2009). İzgi ve Sur (2009) bu mekanizmaya dair pek çok hipotez ürettiğini bildirmişlerdir. Bu hipotezler;

1. Fetusün bağışıklık sistemi yeterli olgunlukta değildir.
2. Uterus immün sistem yönünden toleranslı bölgedir.
3. Plasenta hücre ve madde geçişini engelleyen immünolojik bir tabakadır.
4. Plasentada organizmanın başka hiçbir yerinde olmayan eşsiz karmaşık bir immün bariyer bulunmaktadır.

Ancak, fetüste bağışıklık sistemini tetikleyici hücrelerin varlığının kanıtlanması, ektopik gebeliklerde immün toleransın geçersiz olması, anne ile yavru arasında çift yönlü hücre geçişini ifade eden mikrokimerizm adı verilen olgunun tanımlanması ile ilk üç hipotez çürütülmektedir (İzgi ve Sur, 2009).

Maternal toleransın anne ile yavru arasındaki ortak mekanizmalar sayesinde gerçekleştiği bilinmektedir (Hunt, 2006). Bu lokal immün tolerans özel bir organ olan plasentada, özelleşmiş hücreler olan trofoblastlar, desidua hücreleri ve doğal bağışıklık hücreleri arasında gerçekleşen karmaşık bir çok reaksiyon sayesinde gerçekleşir (Bulla ve ark, 2004; Hunt, 2006).

### **2.7.1. Maternal Faktörler**

Maternal tolerans mekanizmasında öncelikli olarak anneye bağlı faktörlerin olduğu bilinmektedir. Bunların başında immün baskılayıcı bir hormon olan progesteronun salgısı gösterilir. Progesteron erken gebelik sürecinde ovaryumdan endometriyal siklusun salgı fazında salgılanır (Hunt, 2006). İmplantasyon makrofaj ve lökositlerden kaynaklanan sitokinlerin salındığı bir yangısal olgudur. Böylece anne implantasyon için uyarılır. İmplantasyon sonrasında insan endometriyumunda desidualizasyonda dikkat çekici hücreler birleşmeler gözlenir. Diğer mukozal alanlarda ise T- B lenfositler, doğal katil hücreler (natural Killer cells, uNKC), dentritik hücreler ve makrofajlar görülür. Uterus mukozası, implantasyonu takiben immünolojik olarak yeniden şekillenir. İnsanda bu hücrelerin görülmesi ilk iki trimesterde yoğun iken 24. haftadan sonra kaybolmaktadır. Farelerde ise bu hücreler doğuma kadar görülmekte, degranülasyon olayı geç gebelikte başlamaktadır (Hunt, 2006).

Desiduada bulunan doğal bağışıklık hücreleri fetüsün patojenlere karşı korunmasını sağlar. Eksikliğinde fetüs ve fetüsü saran membranlarda koruma zayıflar ve fetüs enfeksiyonlara açık hale gelir (Hunt, 2006).

### **2.7.2. Fötal Faktörler**

Plasentada bulunan trofoblast hücrelerinin salgıladığı bazı kemokinlerin uterus doğal bağışıklık hücrelerini uyardığı ve doğal bağışıklık hücrelerinin uterusun mukozasında konumlanmasını etkilediği bilinmektedir (Hunt, 2006).

Trofoblast hücreleri immün baskılayıcı hormonlar olan progesteron, prostoglandin ve ayrıca baskılayıcı bir takım moleküller üretmektedir (Hunt, 2006). Bu moleküller gebeliğin sürdürülebilmesi için gerekli olan, maternal lokal immün toleransı sağlayan, graft reddini destekleyen birincil molekül insan lökosit antijenlerinin (HLA) HLA-G ve HLA-E tiplerinin çözünebilir formlarını içermektedir (Bulla ve ark, 2004; Hunt, 2006).

### **2.7.3. Maternal Toleransı Etkileyen Diğer Faktörler**

#### **2.7.3.1. Plasental büyük doku uyum kompleksi (MHC- I, Major Histocompatibility Complex I) varlığı**

MHC moleküllerinin doku ve organ reddi ya da kabulünde ana belirleyici rol oynadığı ve fetal hayatın sürdürülmesinde etkili immün mekanizmaları etkilediği bilinmektedir. MHC-I' in plasentadaki varlığı oldukça kısıtlıdır. Fare plasentasının bağlantı zonunda spongiotrofoblast hücreleri bu molekülü ekspre etmektedir. Diğer plasental kısımlarda MHC-I varlığı gözlenmez (Arvola, 2001).

#### **2.7.3.2. Plasental MHC II eksikliğinin etkisi**

Fare ve insan plasentasında MHC II molekülü ekspre edilmez. Bu molekülün plasentada bulunmamasının maternal allograft mekanizmasını önlediği düşünülmektedir. Bu molekülün spongiotrofoblast tabakasında görüldüğü patolojik durumlarda abortlar gözlenmektedir (Arvola, 2001; Zusman ve ark, 2008). Arvola (2001) metilasyon inhibitör 5-azasitidine maruz bırakılan farelerde spongiotrofoblastlarda MHC II ekspresyonun olduğunu ve buna bağlı olarak abort vakaları görüldüğünü bildirmiştir.

#### **2.7.3.3. Tamamlayıcı-düzenleyici proteinlerin etkisi**

Plasentada gerçekleşen başka bir koruyucu mekanizmada tamamlayıcı-düzenleyici proteinlerin ekspresyonudur. Membran kofaktör proteinini olan CD45, bozulma artırıcı faktör proteini CD55 gibi proteinler insanda gebeliğin 6. haftasından itibaren trofoblastlardan ekspre edilirler (Arvola, 2001; Zusman ve ark, 2008). Bu proteinler, rodent plasentasında da salgılanmakta ve Crry9 geni tarafından kodlanmaktadır. Bu genin bozulması durumunda plasentada enflamasyon görülmektedir (Arvola, 2001).



#### **2.7.3.4. Plasental triptofan mekanizması**

Farelerde triptofan-katabolik enzimi olan indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) ekspresyonu allogenic fare fetüsünün reddini önlemektedir (Arvola, 2001). Fetomaternal yüzde triptofan oldukça düşük seviyededir. T-hücrelerinin triptofan seviyesine karşı oldukça duyarlı olduğu ve triptofan varlığında aktive olduğu bilinmektedir (Arvola, 2001; De Lemos, 2003).

#### **2.7.3.5. Gebelik boyunca sitokin dengesinin değişmesi**

Gebelikte çok sayıda sitokin uterus, desidua ve trofoblastlar tarafından salgılanır. Fetomaternal yüzeyde sitokin dengesinin sağlanması gebeliğin devamı için oldukça gereklidir. Salgılanan sitokinlere koloni-uyarıcı faktör, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, tip 1 interferon, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  and TGF $\beta$ ' ı örnek verilebilir (Arvola, 2001). Bu sitokinlerin salgılanması ve miktarlarının gebelik devamlılığında etkili olduğu ileri sürülmektedir (Arvola, 2001; De Lemos, 2003; Bulla ve ark, 2004; Zusman ve ark, 2008; Guerin ve ark, 2009). Örneğin IL2 oranının artmasının farelerde fetüs kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir (Shiraishi ve ark, 1996).

### **2.8. Vimentin**

Vimentin yara iyileşmesi gibi yapısal süreçlerde önemli rol oynadığı düşünülen, yaygın olarak eksprese edilen ara filaman proteindir (Mor-Vaknin ve ark, 2003). Birçok hücrede ara filamanların ana bileşeni olan vimentinin, hücre kontraksiyonu, hücre göçü, hücrenin volümünün oluşturulması, çoğalma gibi hayati mekanik ve biyolojik olaylarda rol oynadığı bilinmektedir (Wang ve Stamenovic, 2002). Hücre iskeletinde bulunan ara filaman proteinlerinden vimentinin mezenkimal kökenli hücrelerde eksprese edildiği belirlenmiştir (Inagaki ve ark, 1987). Vimentinin desidualizasyonun gerçekleşmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Korgun ve ark, 2007). Gebe olmayan fare uterusunda, stromal fibroblastlarda güçlü reaksiyon verdiği, implantasyon sonrasında ise uterus endotel hücrelerinde, stromal hücrelerde ve labirintte reaksiyon verdiği gözlenmiştir (Edwards ve ark, 2014).

## 2.9. CD45

CD45 tüm lökositlerde eksprese edilen ve bu hücrelerin fonksiyonunda önemli rol oynayan reseptöre bağlı bir protein fosfatazdır (Altin ve Sloan, 1997). Bu antijen yaklaşık 200 Kda molekül kitlesine sahiptir. Öncü T ve B- lenfositler, granülositler, monositler, histiyositler, retikulum hücreleri ve foliküler dendritik hücreler CD45' in eksprese edildiği hücreler olarak bildirilmiştir (Nakano ve ark, 1990; Altin ve Sloan, 1997). CD45' in fare uterusunda kemik iliği kökenli lenfoid ve myeloid hücreleri belirlediği, dinamik popülasyonlu uterin lökositlerin immünohistokimyasal olarak görüntülenmesinde de kullanıldığı bildirilmiştir (Edwards ve ark, 2014).

## 2.10. İnsan Plasentasyonu Araştırmalarında Hayvan Modellerinin Kullanımı

Plasentaların ana görevi, yavru ve anne arasındaki tüm metabolik işlemlerin gerçekleşmesi ve desteklenmesidir. Bütün türlerdeki plasentalar aynı fizyolojik görevleri yerine getirirler de, plasenta tipleri incelendiğinde plasentaların türe özgü yapısal değişiklikler içerdiği ve türe göre spesifite gösterdiği bilinmektedir (Enders ve Blankenship, 1999).

İnsan plasentası ve diğer memeli plasentaları incelendiğinde insan plasentasının hepsinden farklı özellikte olduğu dikkati çekmektedir. Diğer türlerin implantasyonu ve trofoblastik invazyonlarının insana göre kısıtlı olduğu da belirlenmiştir (Carter, 2007).

İnsan plasentasında gelişimsel ve deneysel çalışmalar etik olarak mümkün olmadığı için plasenta modeli olarak hayvan plasentaları kullanılmaktadır.

Kobay plasentası, plasental transfer ve fetal büyüme çalışmaları için iyi bir model olsa da insanda analog bir karşılığı olmayan subplasenta yapısı içermektedir. Tavşanlar plasental transfer ve sirkülasyon açısından incelendiğinde iyi bir hayvan modelidir fakat birey vücut boyutunun büyük olması etik kurallar açısından uygun bir model olmadığını göstermektedir (Carter, 2007). Koyunların ise model olarak kullanılırken en büyük dezavantajı filogenetik olarak primatlardan farklı bir plasentasyona sahip olmasıdır. İnsan dışındaki diğer primatlardan olan maymunların plasentasyon kurulumu insana benzese de birey büyüklüğü, materyal temini ve etik kurallar gereği model olarak kullanımı uygun değildir (Carter, 2002).

Sunulan tez çalışmasında da kullanılan fare plasentası, temin kolaylığı, hayvan bakımının uygunluğu, ulaşılabilirliği, gebelik süresinin kısa olması ve çoğalma periyodu

nedeniyle model olarak tercih edilmiştir. Fare plasentasının hayvan modeli, olarak kullanıldığı birçok çalışma vardır (Kinzer ve ark, 2014; Wu ve ark, 2018; Yu ve ark, 2018; Zhu ve ark, 2019; Adams ve ark 2020).

Adams ve ark. (2020) trizomi 21 ve down sendromunun plasental nedenlerini araştırırken plasenta modeli olarak fare plasentasını kullanmışlardır. Araştırmacılar (Adams ve ark, 2020) fare plasentasının model olarak seçilme nedenini, her iki plasentanın diskoid şekilli plasenta olması ve temel olarak benzer gelişim aşamalarından geçmesi olarak belirtmektedirler. Trofoblastik invazyon, trofoblast vaskülarizasyonu ve feto-maternal vaskülarizasyon devamlılığının her iki türde benzer şekillerde gerçekleştiği belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada plasental gelişim sırasında eksprese edilen bazı genlerin her iki türde de ortak olduğu bildirilmiştir (Adams ve ark, 2020).

Fare ve insan plasentasında kadmiyumun etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada kadmiyumun her iki tür plasentada aynı etkiyi gösterdiği belirtilmiştir (Zhu ve ark, 2019).

Fare plasentası preeklemsinin araştırılmasında hayvan modeli olarak kullanılmıştır. Yüksek integrin  $\alpha\beta3$  ekspresyonunun bazı maddelerin geçişini engellediği belirtilmiştir (Yu ve ark, 2018).

Başka bir çalışmada intrauterin enflamasyonda plasentadan glikoz transferinin manyetik rezonans ile izlenebilmesi için fare plasentası model olarak kullanılmıştır (Wu ve ark, 2018).

Plasentadaki mezankimal stromal hücrelerin neo- vaskülarizasyonunu ve anjiogenezise katkısının araştırılmasında in-vivo model olarak yine fare plasentası tercih edilmiştir (Kinzer ve ark, 2014).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Araştırmada Kobay Deneysel Hayvanları Laboratuvarı Sanayi (Ankara)'nden elde edilen CD-1 ırkı 8-10 haftalık 21 adet dişi ve 7 adet erkek fare kullanıldı. Her sabah vaginal tıkaç (plug) kontrol edilerek, gebe olanlar ayrı kafeslere alındı. Vaginal tıkaç pozitif olanlar gebeliğin birinci günü kabul edildi. Gebeliğin dördüncü, onuncu ve on yedinci günlerinde eter anestezisi altında servikal dislokasyon ile ötenazi yapılan hayvanlardan yedişer adet sağlıklı fare plasentası, materyal olarak elde edildi. Doku materyalleri %10'luk nötral tamponlanmış formaldehitte 24 saat tespit edildikten sonra, rutin doku takibi aşamalarından geçirilerek parafine gömüldü. Hazırlanmış olan parafin bloklardan 50µ ara ile 5µ kalınlığında seri kesitler alındı.

#### 3.2. Yöntem

Sunulan tez çalışmasında elde edilen örnekler histolojik, histokimyasal ve immünohistokimyasal boyama yöntemleri uygulandı. Uygulanan boyama yöntemleri ve yöntemlerin amaçları Tablo 2' de belirtilmiştir. Elde edilen veriler ışık mikroskopik olarak değerlendirildi.

**Tablo 2.** Uygulanan boyama yöntemleri ve yöntemlerin amaçları

Yöntem	Yöntemin Amacı
Hematoksilen-Eozin (Culling ve ark, 1976 )	Genel histolojik görünümün belirlenmesi
Üçlü boyama metodu (Culling ve ark, 1985)	Genel histolojik görünümün belirlenmesi
Periyodik Asit-Schiff(PAS) (Culling ve ark, 1985)	Nötral mukosübstanın gösterilmesi
Alsian Blue pH2.5(AB pH2.5)(Culling ve ark, 1985)	Karboksilli asidik mukosübstanın

---

	belirlenmesi
PAS/AB pH 2.5 (Culling ve ark, 1985)	Nötral ve asidik mukosübstanın birarada gösterilmesi
Aldehit Fuksin (AF) (Culling ve ark, 1985)	Sülfatlı asidik mukosübstanın belirlenmesi
AB pH 1.0 (Culling ve ark, 1985)	O-sülfat esterli mukosübstanın belirlenmesi
AB pH 0.5 (Culling ve ark, 1985)	Güçlü sülfatlı mukosübstanın belirlenmesi
AF/AB pH 2.5 (Culling ve ark, 1985)	Sülfatlı ve karboksilli asidik mukosübstanın birarada gösterilmesi
Toludine Blue Boyaması (TB) (Culling ve ark, 1985)	Mast hücrelerinin belirlenmesi
Anti-mouse IgG Fc antikoru (Bratthauer, 2010)	IgG pozitif hücrelerin işaretlenmesi
Anti-mouse CD45 antikoru (Bratthauer, 2010)	Lenfositlerin işaretlenmesi
Anti-mouse vimentin antikoru (Bratthauer, 2010)	Mezenkimal kökenli hücrelerin işaretlenmesi

---

### 3.2.1. Histolojik yöntem

Gebeliğin 4., 10. ve 17. günlerine ait fare plasenta bloklarından alınan kesitler genel histolojik yapının belirlenmesi için Hematoksilen-Eozin ve üçlü boyama yöntemi ile boyandı.

### **3.2.1.1. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi**

1. Kesitler ksilolde iki defa 5'er dk tutuldu ve alkol derecesi giderek azalan alkol serilerinden (%100 alkol-I' de 3dk, %100 alkol-II' de 3 dk, % 96 alkolde 3 dk, % 80 alkolde 3 dk) geçirildi.
2. Kesitler ardından 3 dk çeşme suyunda yıkandı.
3. Daha sonra kesitler 6 dk hematoksilende bekletildi.
4. Hematoksilenin ardından kesitler iki kez 3 dk çeşme suyu ile çalkalandı.
5. Yıkanan kesitler eozin solüsyonunda 1 dk bekledikten sonra 1 dk çeşme suyunda yıkandı.
6. Yükselen alkol serilerinden (%96 alkolde 3 dk, % 100'lük alkol-I de 3 dk, % 100 alkol-II' de 3 dk ) geçirilen kesitler, iki defa 5 dk ksilolde tutuldu.
7. Entellan ile kapatılıp daimi preperat haline getirildi.

### **3.2.1.2. Üçlü boyama yöntemi**

1. Kesitler ksilolde iki defa 5'er dk tutuldu ve alkol derecesi giderek azalan alkol serilerinden (%100 alkol-I' de 3dk, %100 alkol-II' de 3 dk, % 96 alkolde 3 dk, % 80 alkolde 3 dk, %70 alkolde 3 dk) geçirildi.
2. Ardından iki kez distile su ile çalkalandıktan sonra 5 dk akan suyun altında bekletildi.
3. Çekirdek boyası için 8 dk Weigert'in demir hematoksilen solüsyonunda bekletildi ve 5 dk çeşme suyunda yıkandı.
4. Metil karbonatta 2 dk çalkalanan dokular 5 dk çeşme suyunda, 3 dk da distile suda bekledi.
5. Sitoplazma boyaması için asit fuksin boya solüsyonuna 4 kez batırılıp çıkarıldı. Daha sonra 4 kez distile suda çalkalandı.
6. Bağ doku beyazlaşınca kadar yaklaşık 15 dk fosfotungistik asit solüsyonunda bekletildikten sonra 5 dk distile su ile yıkandı.
7. Bağ doku boyaması için 1 dakika anilin blue uygulamasının ardından dört kez distile suda çalkalandı.
8. % 2'lik asetik asitte 3 dk bekletilen kesitler distile suda hızlıca çalkalandıktan sonra %96 alkolden geçirildi.
9. Yükselen alkol serilerinden (%96 alkolde 3 dk, % 100'lük alkol-I de 3 dk, % 100 alkol-II' de 3 dk) geçirilen kesitler, iki defa 5 dk ksilolde tutuldu.
10. Entellan ile kapatılıp daimi preperat haline getirildi.

### 3.2.2. Histolojik Değerlendirme

Normal histolojik yapının değerlendirilmesi için uygulanan metodların sonucunda gebeliğin 4., 10. ve 17. gününde uterusun değişimi ve plasentanın oluşum aşamalarına göre değerlendirme yapıldı.

Dördüncü gün için histolojik değerlendirmede incelenen kısımlar;

- uterus epiteli
- uterus bezleri
- uterus bağ dokusundaki değişiklikler
- serozal değişiklikler

Onuncu gün için histolojik değerlendirmede incelenen kısımlar;

- uterus epiteli
- desidual zon
- labirint zon
  1. trofoblast hücreleri
  2. ftal kan elemanları
  3. maternal kan elemanları
  4. trofoblastik dev hücreler

On yedinci gün histolojik değerlendirmede ilgilenen kısımlar

- desidual zon
- trofoblastik dev hücreler
- spongiotrofoblast hücreleri
- glikojen hücreleri
- labirint zon
  1. trofoblast hücreleri
  2. ftal kan elemanları
  3. maternal kan elemanları

### 3.2.3. Histokimyasal Yöntem

Elde edilen parafin bloklardan 5 µ kalınlığında alınan kesitlere PAS, AB pH 2.5, PAS / AB pH 2.5, AF pH 1.0, AB pH 1.0, AB pH 0.5, AF/AB pH 2.5 ve TB boyama yöntemleri uygulandı.

#### 3.2.3.1. PAS boyama yöntemi

1. Kesitler ksilolde iki defa 5'er dk tutuldu ve alkol derecesi giderek azalan alkol serilerinden (%100 alkol-I' de 3dk, %100 alkol-II' de 3 dk, % 96 alkolde 3 dk, % 80 alkolde 3 dk, %70 alkolde 3 dk) geçirildi. Ardından iki kez distile su ile çalkalandı.
2. %1' lik periyodik asitte oda sıcaklığında 10 dk tutuldu ve ardından çeşme suyunda yıkandı.
3. Daha sonra Schiff ayırıcında karanlık ortamda 15 dk bekletildi.
4. Potasyum metabisülfid I ve potasyum metabisülfid II solüsyonlarında 5'er dakika tutuldu ve 10 dk akan suda yıkandı. Ardından distile suda çalkalandı.
5. Çekirdek boyası için 5 dk hemoalum solüsyonunda bekletildi ve ardından 15 dk süreyle akan çeşme suyunda yıkandı. Daha sonra distile suda çalkalandı ve %96 alkolden hızlıca geçirildi.
6. Ardından sırasıyla %96 alkolde 3 dk, %100 alkol I ve II' de 3'er dk ve ksilen I ve II' de 5'er dk bekletildikten sonra entellan ile kapatıldıktan sonra daimi preparat hazırlandı.

#### 3.2.3.2. AB pH 2.5 boyama yöntemi

1. Kesitler ksilolde iki defa 5'er dk tutuldu ve alkol derecesi giderek azalan alkol serilerinden (%100 alkol-I' de 3dk, %100 alkol-II' de 3 dk, % 96 alkolde 3 dk, % 80 alkolde 3 dk, %70 alkolde 3 dk) geçirildi.
2. Ardından iki kez distile su ile çalkalanan kesitler %3'lük asetik asitte 3 dk bekletildi.
3. Alsiyan blue solüsyonunda 30 dk bekleyen dokular 10 dk çeşme suyunda yıkandı.
4. Yıkanan kesitler 5 dk nükleer fast red solüsyonunda bekletildi ve 1 dk boyunca çeşme suyunda yıkandı.
5. Yükselen alkol serilerinden ( %96 alkolde 3 dk, % 100'lük alkol-I de 3 dk, % 100 alkol-II' de 3 dk ) geçirilerek, iki defa 5 dk ksilolde tutuldu.



6. Entellan ile kapatılıp daimi preparat haline getirildi.

### **3.2.3.3. PAS/AB pH 2.5 boyama yöntemi**

1. Kesitler ksilolde iki defa 5'er dk tutuldu ve alkol derecesi giderek azalan alkol serilerinden (%100 alkol-I' de 3dk, %100 alkol-II' de 3 dk, % 96 alkolde 3 dk, % 80 alkolde 3 dk, %70 alkolde 3 dk) geçirildi. Ardından iki kez distile su ile çalkalandı.
2. AB pH 2.5 solüsyonunda 15 dakika bekletildi.
3. Çeşme suyunda 2 dakika yıkanan kesitler, distile sudan geçirildi.
4. % 5' lik periyodik asit solüsyonunda 5 dakika tutuldu.
5. Distile suda 3 dakika tutulan kesitler 10 dakika Schiff solüsyonunda bekletildi.
6. Ardından akarsuda 5 dakika boyunca yıkanarak alkol ve ksilollerden geçirildi ve daimi preparat hazırlandı.

### **3.2.3.4. AF pH 1.0 boyama yöntemi**

1. Kesitler iki kez 5 dk ksilolde tutuldu ve % 95 lik alkole getirildi.
2. AF pH 1.0 solüsyonunda 30 dakika bekletilen kesitler % 95 lik alkolde 3 kez çalkalandı.
3. Demirli hematoksilen ile 10 dakika boyandıktan sonra çeşme suyunda 10 dakika yıkandı.
4. % 95 lik alkolde çalkalanan kesitler zıt boyama uygulaması için Metil orange solüsyonunda 5 dk bekletildi.
5. Daha sonra % 95 ve %100'lük (2 kez) alkollerde 3' er dk olmak üzere dehidre edildi.
6. Ksilolde iki defa 5 dk olmak üzere şeffaflandırma işlemine tabi tutuldu ve ardında entellan ile daimi preparat haline getirildi.

### **3.2.3.5. Alsan blue pH 1.0 boyama yöntemi**

1. Kesitler ksilolde iki defa 5'er dk tutuldu ve alkol derecesi giderek azalan alkol serilerinden (%100 alkol-I' de 3dk, %100 alkol-II' de 3 dk, % 96 alkolde 3 dk, % 80 alkolde 3 dk, %70 alkolde 3 dk) geçirildi.
2. Ardından iki kez distile su ile çalkalanarak AB pH 1.0 solüsyonunda 30 dk bekletildi.
3. Preparatlardaki boya kalıntıları filtre kağıdıyla temizlendi.

4. Yükselen alkol serilerinden (%96 alkolde 3 dk, % 100'lük alkol-I de 3 dk, % 100 alkol-II'de 3 dk) geçirilen kesitler, iki defa 5 dk ksilolde tutuldu.
5. Entellan ile kapatılıp daimi preperat haline getirildi.

### **3.2.3.6. Alsian blue pH 0.5 boyama yöntemi**

1. Kesitler ksilolde iki defa 5'er dk tutuldu ve alkol derecesi giderek azalan alkol serilerinden (%100 alkol-I' de 3dk, %100 alkol-II' de 3 dk, % 96 alkolde 3 dk, % 80 alkolde 3 dk, %70 alkolde 3 dk) geçirildi. Ardından iki kez distile su ile çalkalandı.
2. Fosfat- hidroklorik asit solüsyonunda 3 dakika tutuldu.
3. Ardından AB pH 0.5 solüsyonunda 30 dk bekletildi.
4. 10 dakika çeşme suyunda yıkandı.
5. Distile suda çalkalanan kesitler alkol ve ksilollerden geçirilerek daimi preperat hazırlandı.

### **3.2.3.7. AF/AB pH 2.5 boyama yöntemi**

1. Kesitler ksilolde iki defa 5'er dk tutuldu ve alkol derecesi giderek azalan alkol serilerinden (%100 alkol-I' de 3dk, %100 alkol-II' de 3 dk, % 96 alkolde 3 dk, % 80 alkolde 3 dk, %70 alkolde 3 dk) geçirildi. Ardından iki kez distile su ile çalkalandı.
2. AF solüsyonunda 20 dakika bekletildi.
3. %70'lik alkolde iyice yıkandı.
4. % 3'lük asetik asit solüsyonunda 3 dakika bekletildi.
5. Ardından 20 dakika AB solüsyonunda bekletildi.
6. Çeşme suyunda çalkalanan kesitler alkol ve ksilollerden geçirilerek daimi preperat haline getirildi.

### **3.2.3.8. TB boyama yöntemi**

1. Kesitler ksilolde iki defa 5'er dk tutuldu ve alkol derecesi giderek azalan alkol serilerinden (%100 alkol-I' de 3dk, %100 alkol-II' de 3 dk, % 96 alkolde 3 dk, % 80 alkolde 3 dk, %70 alkolde 3 dk) geçirildi. Ardından iki kez distile su ile çalkalandı.
2. %1'lik asit fuksinde tutulan kesitler ardından 1 dk distile suda bekletildi.

3. % 0.05'lik pH4.4 asetat tamponu ile hazırlanmış hazırlanan toluidin blue solüsyonunda 2 dakika bekletildi.

4. Ardından distile suda 2 dk bekletildikten sonra % 96 ve %100 alkol' e batır- çıkar yapılarak iki kez 5'er dakika distile suda bekletilerek daimi preparat hazırlandı.

### 3.2.4. Histokimyasal Değerlendirme

Histokimyasal değerlendirme boyanmanın kuvvetine göre düşük, orta ve kuvvetli olmak üzere üç aşamada derecelendirildi.

### 3.2.5. İmmünohistokimyasal Yöntem

Bu amaçla kesitlere IgG, CD45 ve vimentin ekspresyonunun belirlenmesi için anti-IgG, anti-CD45 ve anti-vimentin antikoru kullanılarak sABC yöntemi uygulandı.

1. Hazırlanan kesitler iki defa olmak üzere 5'er dakika ksilolde bekletildi. Ksilolde bekleyen dokular derecesi azalan alkol serisinde geçirilerek distile suya getirildi (iki defa olmak üzere 3' er dakikalık %100' lük, 3 dk % 96'lık, 3 dk %80'lik, 3 dk %70' lik). Distile suda iki kez çalkalandı.

2. Antijen retriyavel için 98 °C' de 0, 01M sodyum sitrat pH 6 içinde mikrodalga fırında 3 defa 5 dk kaynatıldı. Ardından 20 dk oda sıcaklığında soğutuldu ve TBS (Tuzlu Tris Tampon) pH 7,4 ile 2 defa 5 dk yıkandı.

3. Endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için kesitler distile su ile hazırlanmış olan % 3' lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' de 15 dk bekletildi.

4. Bloklama uygulaması için kesitler bloking solüsyonunda 1 saat tutuldu.

5. +4 °C' de bir gece TBS ile 1/200 oranında dilüe edilmiş olan primer antikorda bekletildi.

6. Ertesi gün önce TBS ile 2 defa 5 dk yıkandı. Ardından kesitler 1 saat oda ısısında biotinli ikincil antikorda inkübe edildi.

7. Daha sonra TBS ile 2 defa 5 dk yıkandı ve ardından 1 saat oda sıcaklığında streptadivin HRP' de inkübe edildi.

8. TBS ile 2 defa 5 dk yıkandı. Antikor bağlama gösteren hücrelerin boyanması DAB kullanılarak (2 dk) gerçekleştirildi.

9. Çekirdek boyaması için Harris Hematoksilen' de 10 sn bekletildi ve % 96 alkolden hızlıca geçirildi.

10. Yükselen alkol serilerinden ( %96'lık alkolde 3 dk, %100' lük alkol I' de 3 dk, %100' lük alkol-II' de 3 dk ) geçirildi.

11. İki defa 5' er dk ksilolde bekletildikten sonra entellan ile kapatıldı.

Tris-buffered saline (TBS) stok solüsyonu

- 0,2 M Trizma base (Sigma Aldrich), 24,23 g Tris, 1L distile suda çözdürüldü.
- 0,1 M HCl (Merck), 8,5 ml konsantre HCl, 1L distile suda çözdürüldü.
- % 0,9'luk fizyolojik tuzlu su, 9 g NaCl, 1L distile suda çözdürüldü.

1L TBS (pH 7,6) hazırlamak için, stok solüsyonlardan sırası ile, 250 ml 0,2 M Tris çözeltisi, 375ml 0,1 M HCl çözeltisi ve 375 ml % 0,9'luk fizyolojik tuzlu su çözeltisinden ilave edildi. Fizyolojik tuzlu su ilavesi yapılırken hacim 800 ml'ye ayarlandı. pH 7,6'ya ayarlandıktan sonra fizyolojik tuzlu su ile kalan hacim 1L'ye tamamlandı.

Phosphate-buffered saline (PBS, pH 7,4) solüsyonu

- 8 g NaCl
- 0,2 g KCl
- 1,44 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,24 g KH<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

800 ml distile suda çözdürülerek, pH değeri 7,4'e ayarlandı. Elde edilen solüsyonun volümü distile su ile 1L tamamlandı.

% 0,1'lik PBS-Tween-20 (PBT) solüsyonu

- 1ml Tween-20
- 1000 ml PBS

500 µl Tween-20, 1000 ml PBS içerisine eklenerek iyice karışana kadar karıştırıldı.

Oda sıcaklığında muhafaza edilebildi.

Sodyum Sitrat Buffer

10 mM tri-sodyum sitrat buffer hazırlamak için,

- 2,94 g tri-sodyum sitrat
- 1000 ml distile su

- 0,5 ml Tween-20

2,94 g tri-sodyum sitrat, 800 ml distile suda çözdürülerek pH 6'ya ayarlandı. Daha sonra bu çözelti 1L'ye tamamlandı. 0,5 ml tween-20 çözeltiye eklenerek iyice karıştırıldı. Oda sıcaklığında 3 ay ya da +4 C<sup>o</sup>'de daha uzun süre saklanabilir.

% 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonu

- 1 ml %30'luk stok H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- 9 ml PBS

1ml %30'luk stok H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alınarak üzeri PBS ile 10 ml tamamlandı.

3,3' diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) Solüsyonu

- 10 mg'lık DAB tableti
- 16,6 ml TBS solüsyonu
- 10 µl % 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

DAB tableti karanlık ortamda TBS solüsyonu içerisinde çözdürülerek filtre kağıdından geçirilerek süzdürüldü. Oluşturulan çözeltilerden 990 µl alınarak ependorf tüplere aktarıldı ve -20 C<sup>o</sup>'de muhafaza edildi. Gerekli olduğu zamanlarda çözdürüldü ve kullanmadan önce üzerine 10 µl %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edildi.

### 3.2.6. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Gebeliğin her üç dönemine ait seçilen plasenta örneklerinden üçer adet kesit incelendi. Işık mikroskopunda kahverengi reaksiyon pozitif olarak kabul edildi. Değerlendirme dokunun boyanıp boyanmamasına, boyanın hedef dokudaki dağılımına ve şiddetine, karakterine göre derecelendirildi. Bu amaçla incelen her döneme ait plasantanın kısımları incelenerek fotoğraflandı.

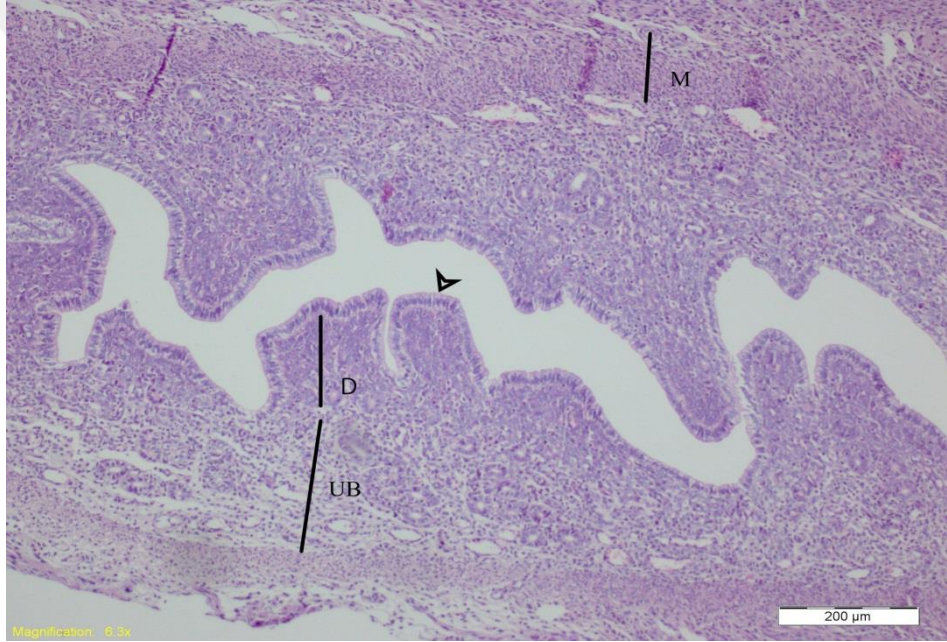
### 3. BULGULAR

#### 4.1. Dördüncü Gün

##### 4.1.1. Histolojik Bulgular

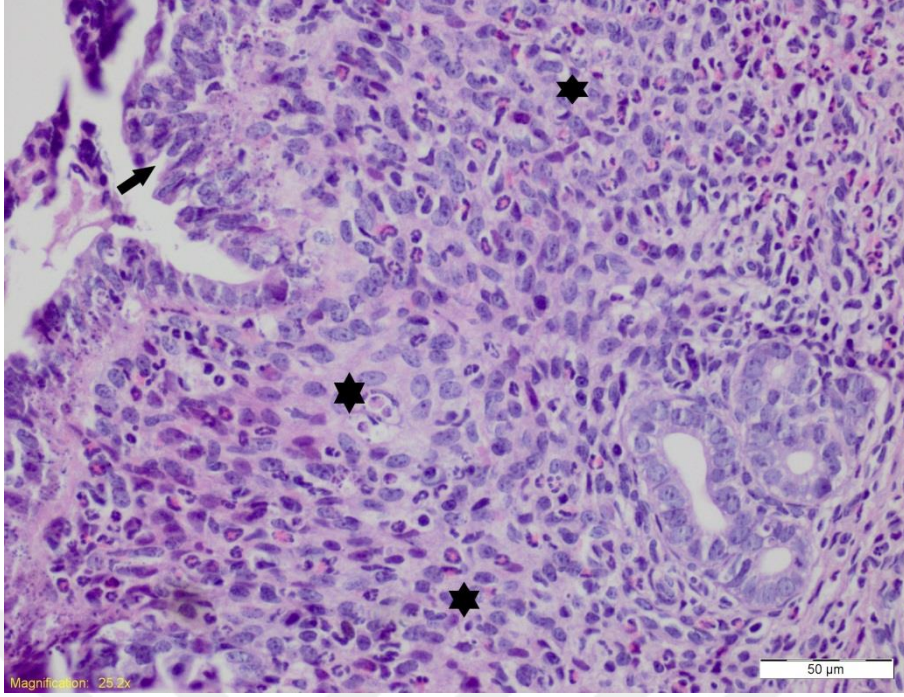
Genel histolojik yapıyı belirlemek amacı ile üçlü boyama yöntemi ve Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi uygulanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi.

Genel olarak dördüncü günde uterusun histolojik yapısının korunduğu görüldü. Endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum yapısı genel olarak olağandı (Resim 1). Dördüncü günde implantasyon gözlenmedi.



**Resim 1.** Dördüncü güne ait uterusun genel histolojik yapısı. Lamina epitelyalis (ok başı), hücresel değişikliklerin görüldüğü lamina propriya kısmı (D), uterus bezlerinin yoğunlaştığı lamina propriya (UB), miyometriyum (M). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 200 µm.

Endometriyum lamina epitelyalisinde bazı preparatlarda epitel hücrelerinin yapısı ve bütünlüğünün bozulmaya başladığı gözlemlendi. Lamina propriyada stromal hücrelerin değişikliğe uğradığı görüldü. Değişikliğe uğrayan hücrelerin, lamina epitelyalisin yapı değişikliğine uğraması beklenen alanlara yakın olduğu dikkati çekti (Resim 2).



**Resim 2.** Dördüncü gün. Epitel bütünlüğünde bozulmalar (ok), stroma hücrelerinde değişiklikler (\*). Hematoksilen- Eozin boyama yöntemi. Bar 50 µm.

Değişime uğramaya başlayan hücrelerde çoğunlukla birden fazla nükleolus olduğu gözlemlendi. Lamina propriyada ve epitel hücreleri arasında vakuoler yapılar içeren hücrelere rastlandı. Bezlerin küçüldüğü, bez epitel hücrelerinin yapısının ve bezlerin etrafındaki stromanın değişikliğe uğradığı görüldü.

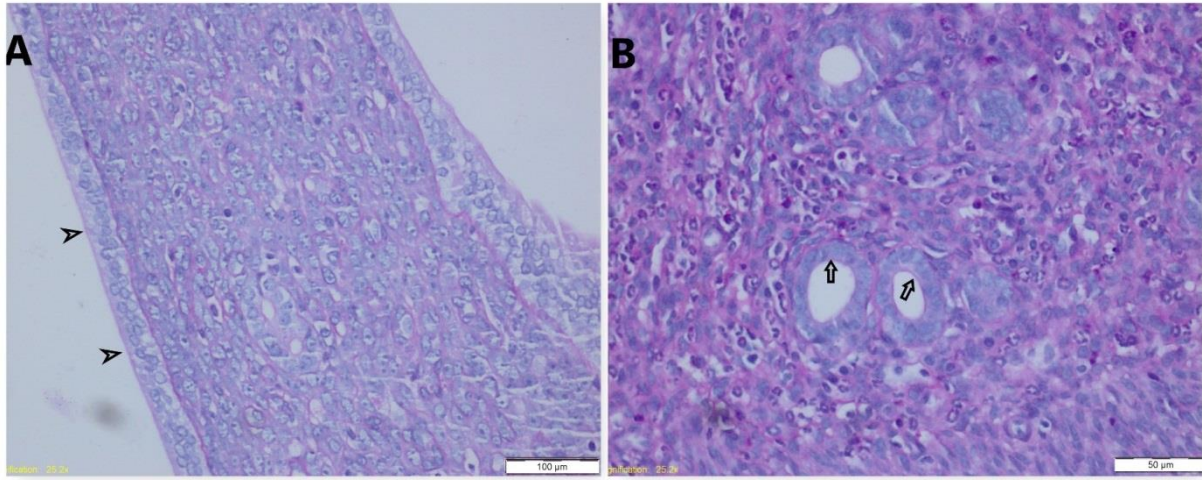
Genel olarak tüm örneklerde endometriyum fonksiyonalsinin lamina propriyasında çok sayıda nötrofil tespit edildi. Yine çoğu örnekte endometriyum fonksiyonalside çok sayıda kapillar kan damarı gözlemlendi. Endometriyum bazalis bitiminde de belirgin bir hat halinde sıralanmış damar yapıları görüldü.

#### 4.1.2. Histokimyasal Bulgular

Histokimyasal boyama yöntemleri ile gözlenen reaksiyonlar Tablo 3'te verildi.

##### 4.1.2.1. Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama yöntemi

PAS ile muamele edilen kesitlerde lamina epitelyalis yüzeyinde, bazal membranda ve bez epitel hücrelerinin yüzeyinde orta derecede PAS pozitivitesine rastlandı (Resim 3A,B).



**Resim 3.** Gebeliğin dördüncü günü, uterus. A) Lamina epitelyalis yüzeyinde orta derecedeki PAS pozitivitesi (ok başları). PAS boyama yöntemi. Bar 100 µm. B) Uterus bez epitel yüzeyinde orta derecedeki PAS pozitivitesi (oklar). PAS boyama yöntemi. Bar 50 µm.

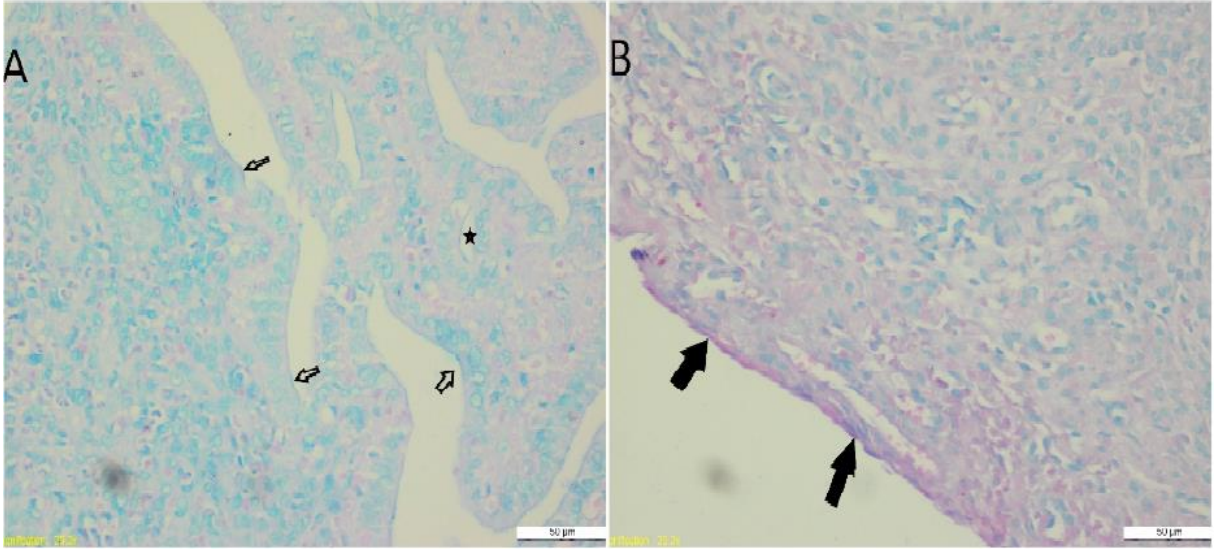
##### 4.1.2.2. Alsiyan blue pH 2,5 (AB pH 2,5)

Lamina epitelyalis yüzeyi, bez epitel yüzeyi ve serozada zayıf reaksiyon reaksiyon saptandı.

##### 4.1.2.3. PAS/AB pH 2.5 (AB pH 2.5) boyama yöntemi

PAS-AB boyama yöntemi ile boyanan dokular incelendiğinde, lamina epitelyalis ve bez epitellerinin yüzeyinde AB reaksiyonunun daha baskın olduğu tespit edildi (Resim 4A). Serozada ise PAS baskınlığı gözlemlendi (Resim 4B).

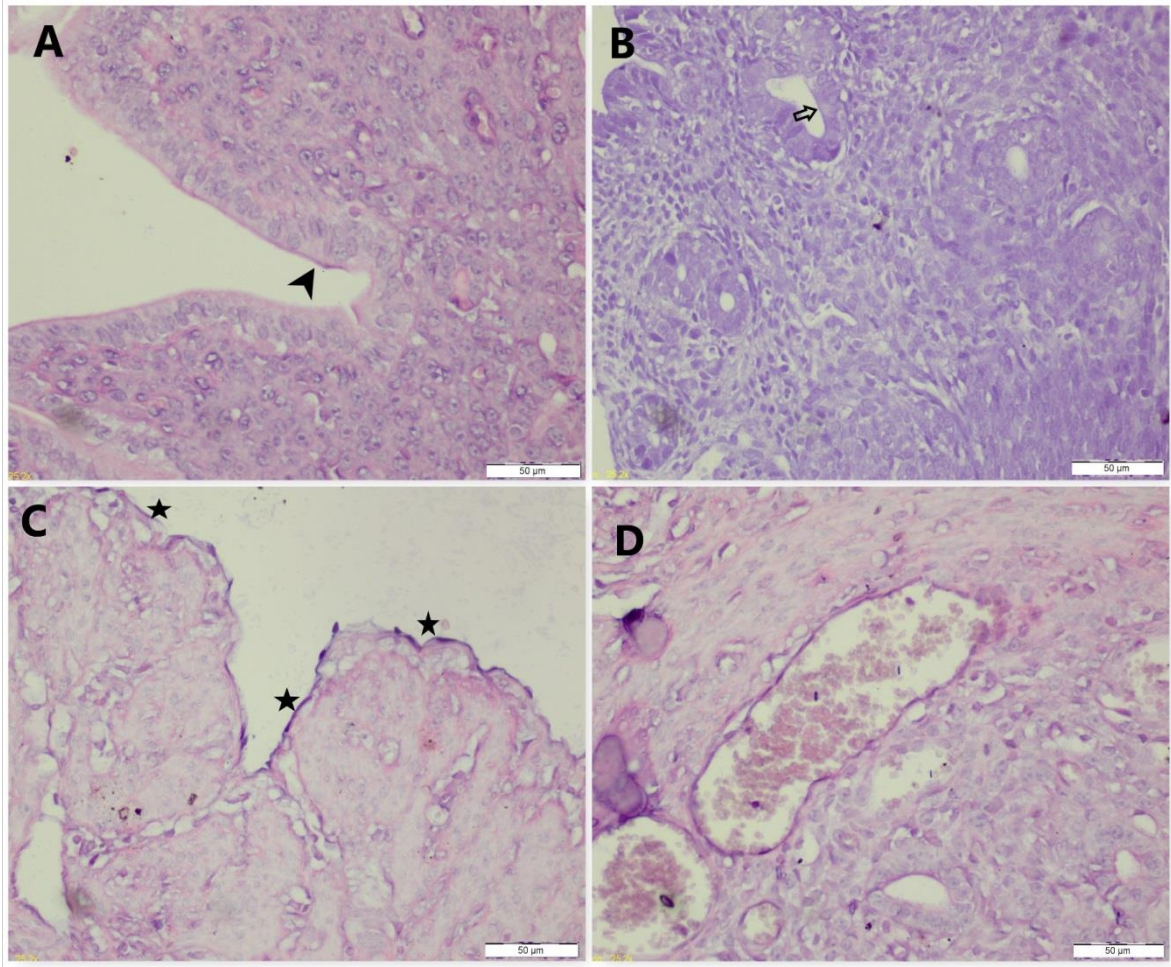




**Resim 4.** Gebeliğin dördüncü günü. A) Epitel hücrelerinin apikal kısımlarında (oklar) ve bez epitel yüzeyinde (\*) daha yoğun olan AB (+) mukosübstans. B) Serozal epitelde daha baskın görülen PAS (+) mukosübstans (oklar), PAS/AB pH 2.5 boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.1.2.4. AF pH 1.0 boyama yöntemi

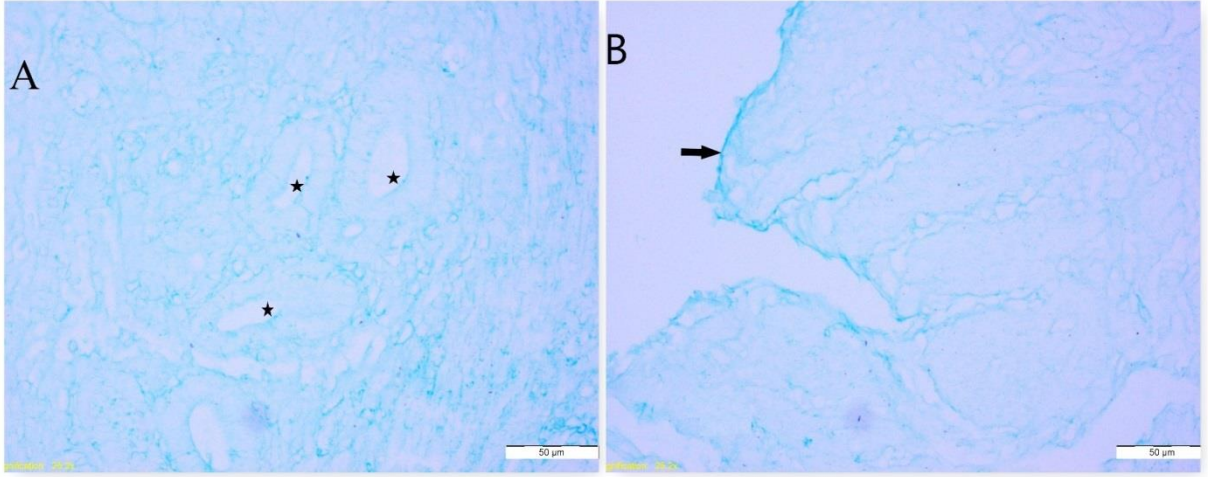
AF ile epitel yüzeyinde yer yer kuvvetli reaksiyon, yer yer ise orta veya düşük derecede AF pozitif reaksiyona rastlandı (Resim 5A). Bez epitel hücrelerinin yüzeyinde orta derecede reaksiyon görüldü (Resim 5B). Bezlerin etrafındaki stromada kuvvetli derecede AF (+) reaksiyonu gözlemlendi. Aynı zamanda seroza (Resim 5C) ve damar duvarında da (Resim 5D) kuvvetli AF reaksiyonu saptandı.



**Resim 5.** Gebeliğin dördüncü günü. A) Lamina epitelyalis yüzeyinde AF (+) reaksiyonu (okbaşı). B) Bez epitel hücrelerinin yüzeyinde gözlenen AF reaksiyonu (içi boş ok) C) Serozal yüzeyde AF (+) reaksiyonu (\*). D) Damar duvarında AF (+) reaksiyonu. Aldehit Fuksin boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.1.2.5. AB pH 1.0 boyama yöntemi

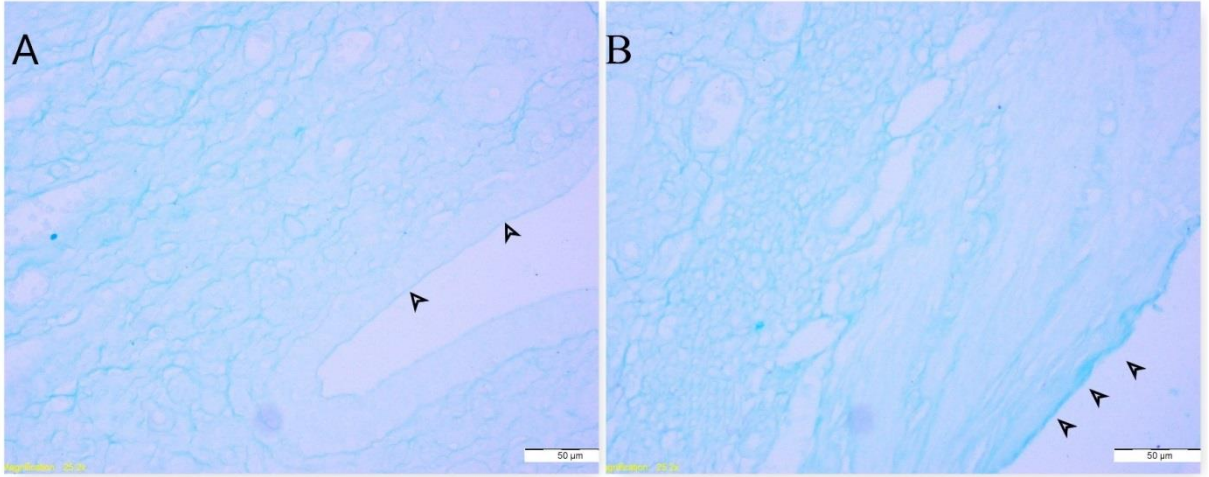
Lamina epitelyalis yüzeyinde zayıf reaksiyon görülürken, bez epitel yüzeyinde orta derecede reaksiyon görüldü (Resim 6A) Serozada ise kuvvetli reaksiyon saptandı (Resim 6B).



**Resim 6.** Gebeliğin dördüncü günü. A) Bez epitel yüzeyinde orta derecede AB reaksiyonu (\*). B) Tunika serozada güçlü AB reaksiyonu (ok). AB pH 1.0 boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.1.2.6. AB pH 0.5 boyama yöntemi

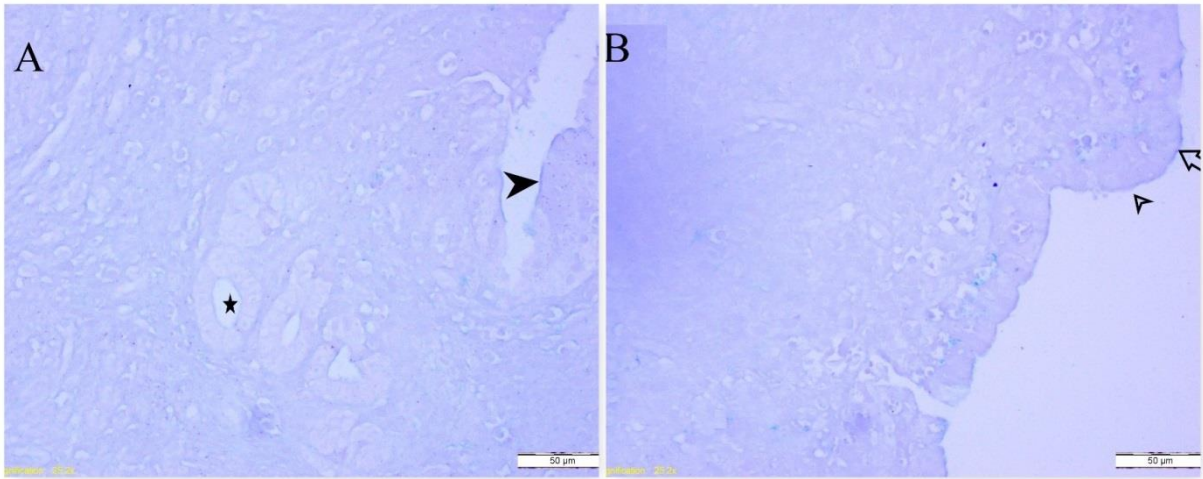
AB pH 0.5 ile lamina epitelyalis yüzeyi orta derecede (Resim 7A) reaksiyon gösterirken bez epitel hücreleri zayıf reaksiyon gösterdi. Tunika serozada ise kuvvetli AB pH 0.5 pozitivitesine rastlandı (Resim 7B).



**Resim 7.** Gebeliğin dördüncü günü. A) Lamina epitelyalis yüzeyinde orta derecede AB pH 0.5 reaksiyonu (okbaşı). B) Tunika serozada güçlü AB pH 0.5 reaksiyonu (okbaşı). AB pH 0.5 boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.1.2.7. AF/AB pH 2.5 boyama yöntemi

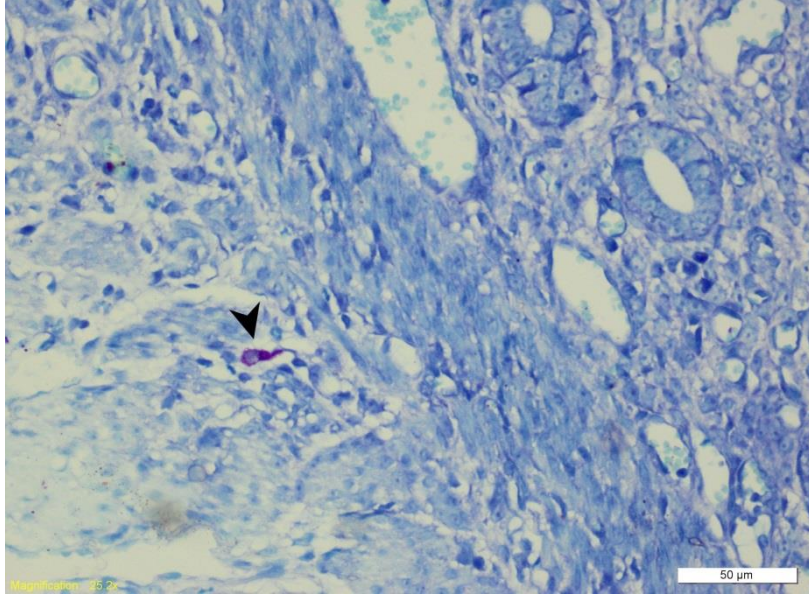
Lamina epitelyalis yüzeyinde çoğunlukla AB (+) reaksiyonun baskın olduğu gözlenirken (Resim 8A), bazı yerlerde AF (+) reaksiyonun baskın olduğu tespit edildi. Bez epitellerinin yüzeyinde de AB (+) reaksiyonun baskın olduğu dikkati çekti (Resim 8A). Serozada ise AF ve AB reaksiyonlarının benzer olduğu gözlenmekle beraber, bazı noktalarda AF veya AB reaksiyonlarının baskın olabildiği ayırt edildi (Resim 8B).



**Resim 8.** Gebeliğin dördüncü günü. A) Lamina epitelyalis yüzeyinde AB (+) baskın reaksiyon (okbaşı) ve bez epiteli yüzeyinde AB pozitif baskın reaksiyon (\*). B) Tunika serozada AF (okbaşı) ve AB baskın (ok) reaksiyon. AF/AB pH 2.5 boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.1.2.8. TB boyama yöntemi

Damar çevresinde tek tük mast hücrelerine rastlanmakla beraber genelde endometriyumda mast hücreleri gözlenemedi. Perimetriyum kısmında mast hücrelerine rastlandı (Resim 9).



**Resim 9.** Gebeliğin dördüncü günü. Tunika serozada mast hücresi (okbaşı). TB boyama yöntemi. Bar 50 µm.

**Tablo 3.** Gebeliğin dördüncü gününde histokimyasal reaksiyonlar

	PAS	AB pH 2.5	PAS+AB	AF	AB pH 1.0	AB pH 0.5	AF+AB
<b>Lamina epitelyalis yüzeyi</b>	(++)	(+)	AB	(++)	(+)	(++)	Çoğunlukla AB, bazı kısımlarda AF
<b>Bez epitel yüzeyi</b>	(++)	(+)	-	(++)	(++)	(+)	AB
<b>Stroma</b>	(++)	-	-	(+++)	-	-	-
<b>Damar Duvarı</b>	(++)	-	-	(+++)	-	-	-
<b>Seroza</b>	(++)	(+)	PAS	(+++)	(+++)	(+++)	AF, AB, AF-AB

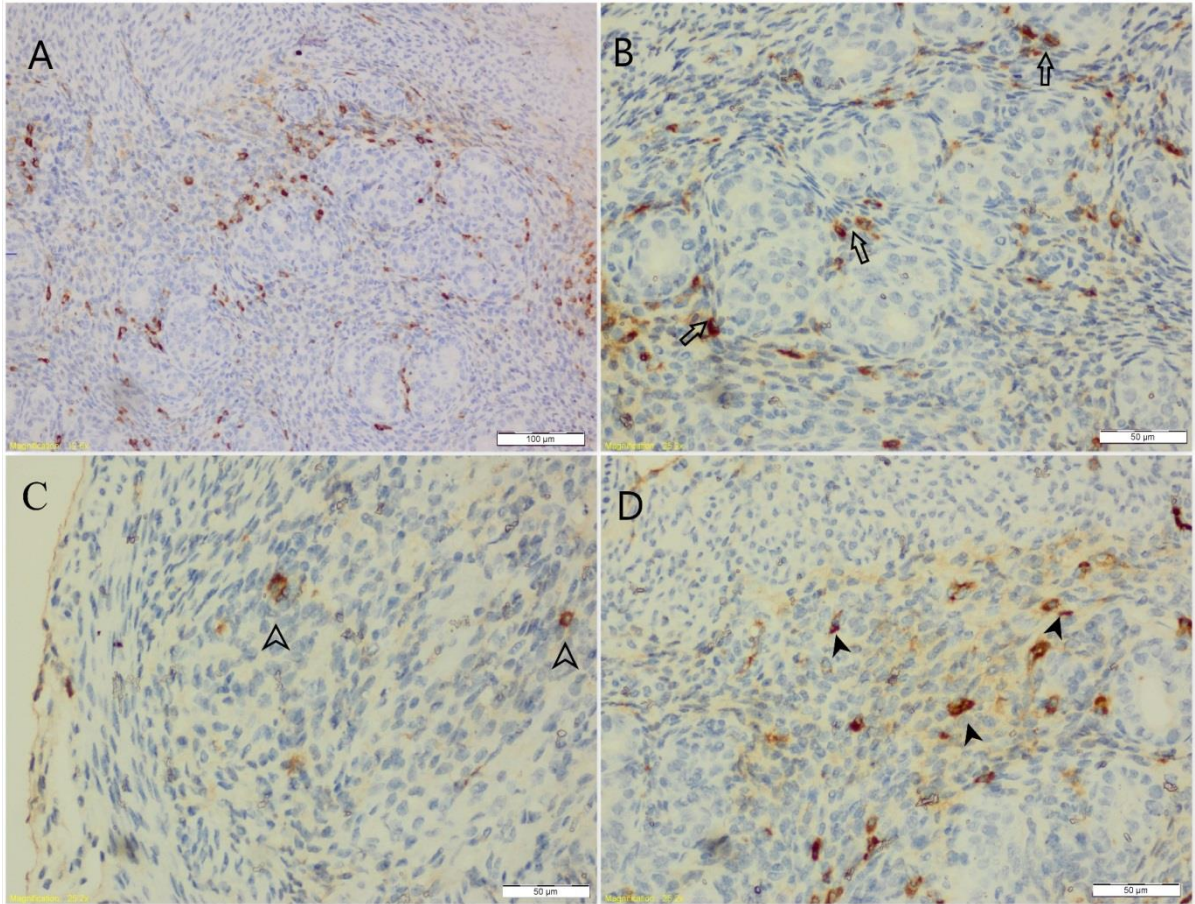
Zayıf (+), Orta (++) , Kuvvetli (+++).

### 4.1.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

İmmünohistokimyasal boyama yöntemleri ile gözlenen reaksiyonlar Tablo 4’te verildi.

#### 4.1.3.1. İmmüoglobulin G (IgG)

Lamina epitelyaliste ve bez epitel hücrelerinde IgG reaksiyonu gözlenmedi. Endometriyumda bezlerin etrafında IgG pozitif hücreler gözlendi (Resim 10A, B) Bu hücreler özellikle lamina epitelyalis yüzeyine yakın konumlandı. Bezlerin yakınında pozitivite gösteren hücrelerin dışında lamina propriyada tek tek konumlanmış IgG ekspresyonu gösteren hücreler saptandı (Resim 10C). Serozaya yakın konumlu bazı hücrelerde de IgG ekspresyonu gözlendi (Resim 10D).

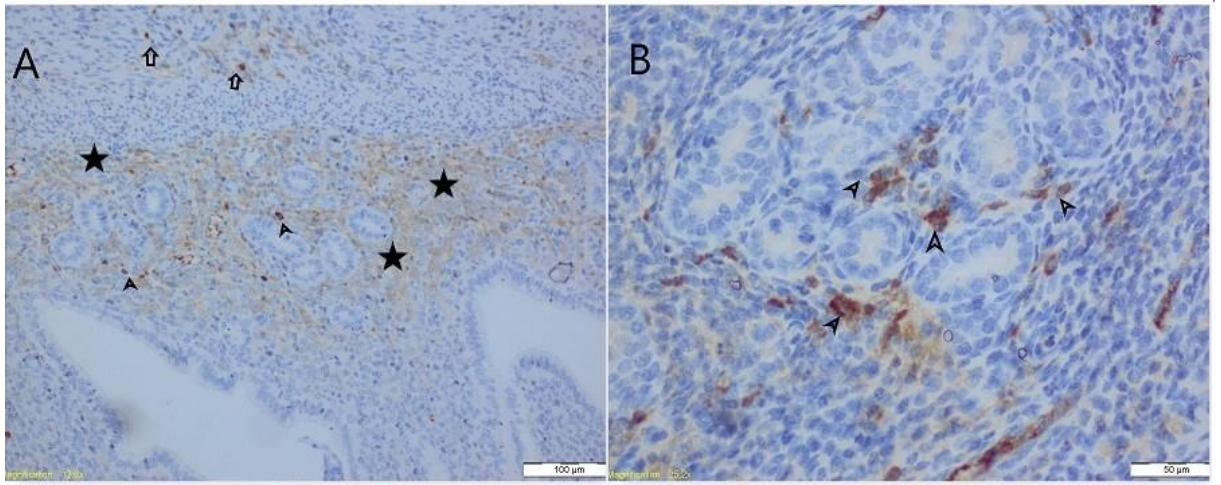


**Resim 10.** Gebeliğin dördüncü günü. A) Bezlerin etrafında konumlanmış IgG ekspresyonu gösteren hücreler. Bar 100 µm. B) Bezlerin etrafında konumlanmış IgG ekspresyonu gösteren hücreler (oklar). Bar 50 µm. C) Serozaya yakın konumlu IgG pozitif hücreler (ok başları). Bar 50 µm. D) Serozaya yakın konumlu bazı hücrelerde de IgG ekspresyonu gözlendi (ok başları). Bar 50 µm.

50 µm. D) Lamina propriyada tek tek konumlanmış IgG ekspresyonu gösteren hücreler (ok başları). sABC boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.1.3.2. Vimentin

Yapılan incelemede vimentin ekspresyonunun uterus bezleri etrafındaki endometriyal stromal hücrelerde yoğunlaştığı tespit edildi (Resim 11 A, B). Miyometriyuma yakın yerlerde de vimentin ekspresyonu gösteren hücreler gözlemlendi (Resim 11 A).

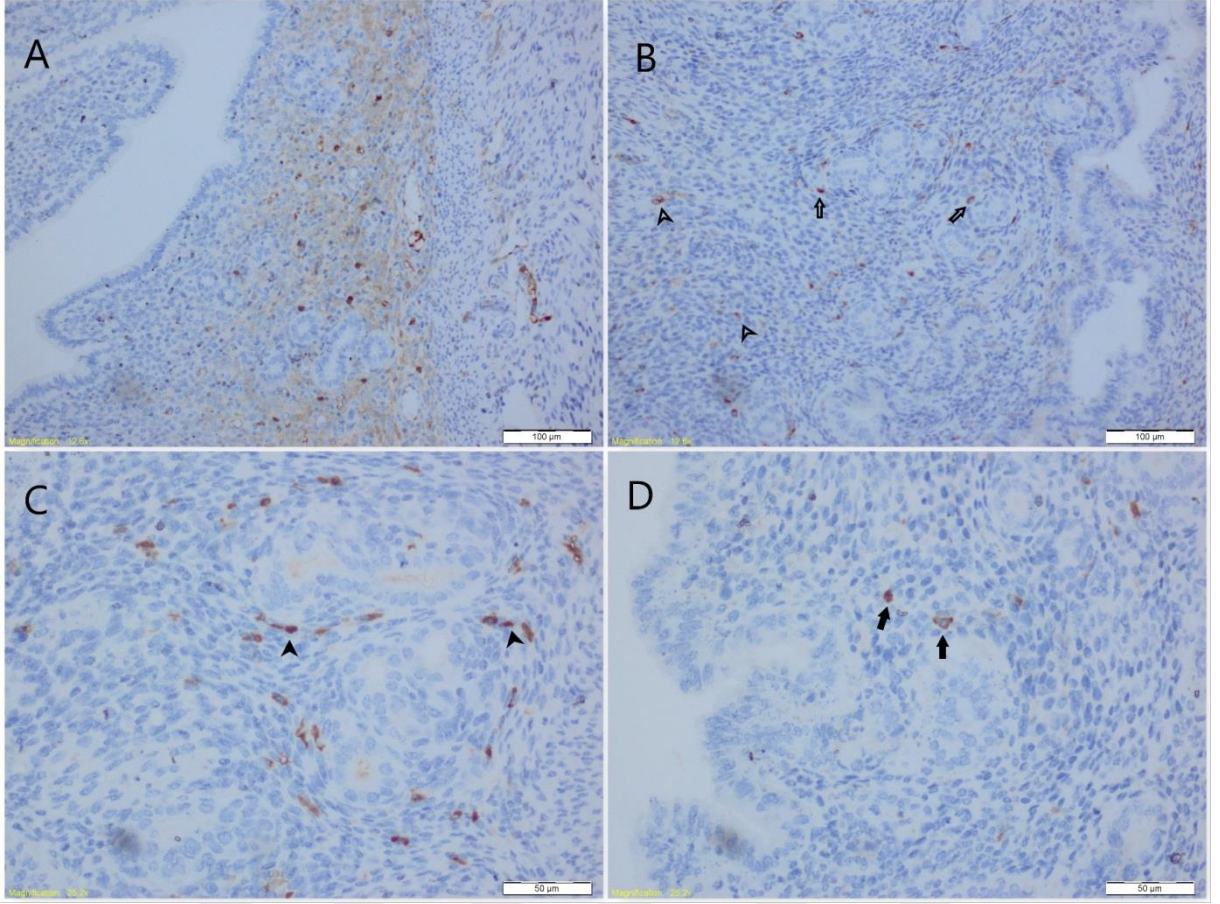


**Resim 11.** Gebeliğin dördüncü günü A) Endometriyumda vimentin pozitifitesinin görünümü. Stromada pozitifitenin görüntüsü (\*) Uterus bezlerinin etrafında görülen vimentin ekspresyonu (okbaşları), miyometriyuma yakın vimentin ekspresyonu (oklar). Bar 100 µm. B) Uterus bezleri etrafında vimentin pozitif hücreler (okbaşları). sABC boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.1.3.3. CD45 ekspresyonu

CD45 ekspresyonunun uterus bezleri etrafında yoğunlaştığı tespit edildi (Resim 12 A, B, C). Ayrıca endometriyumun bazalinde (Resim 12 B), lamina propriyada (Resim 12 D) tek tek CD45 (+) ekspresyonuna rastlandı.





**Resim 12.** Gebeliğin dördüncü günü. A) Endometriyumda CD45 (+) hücreler. Bar 100 µm. B) Endometriyumun bazalinde (+) hücreler (okbaşları) ve bezlerin etrafında CD45 (+) hücreler (beyaz oklar). Bar 100 µm. C) Uterus bezlerinin etrafında yoğunlaşmış pozitif hücreler (okbaşları). Bar 50 µm. D) Lamina propriyada CD45 (+) hücreler (siyah oklar). sABC boyama yöntemi. Bar 50 µm.

**Tablo 4.** Gebeliğin dördüncü gününde immünohistokimyasal reaksiyon.

	<b>IgG</b>	<b>Vimentin</b>	<b>CD45</b>
<b>Lamina epitelyalis</b>	(-)	(-)	(-)
<b>Stroma</b>	(++) (bezlerin etrafında)	(+++) (bezlerin etrafında ve stromada yaygın)	(++) (bezlerin etrafında ve stromada yaygın)
<b>Seroza</b>	(++)	(+)	(+)

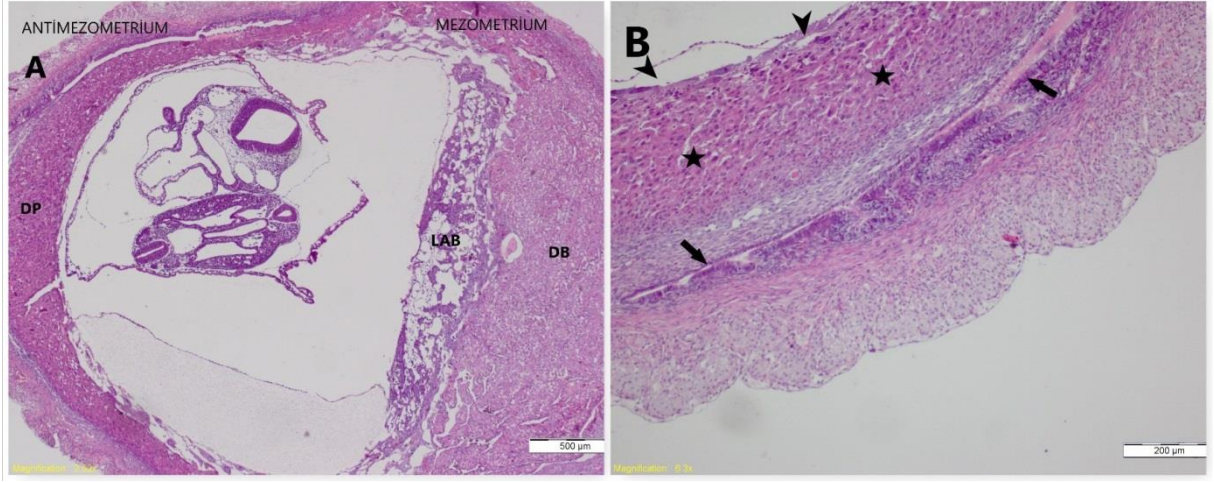
Yok (-) Zayıf (+), Orta (++) , Kuvvetli (+++).

## 4.2. Onuncu Gün

### 4.2.1. Histolojik Bulgular

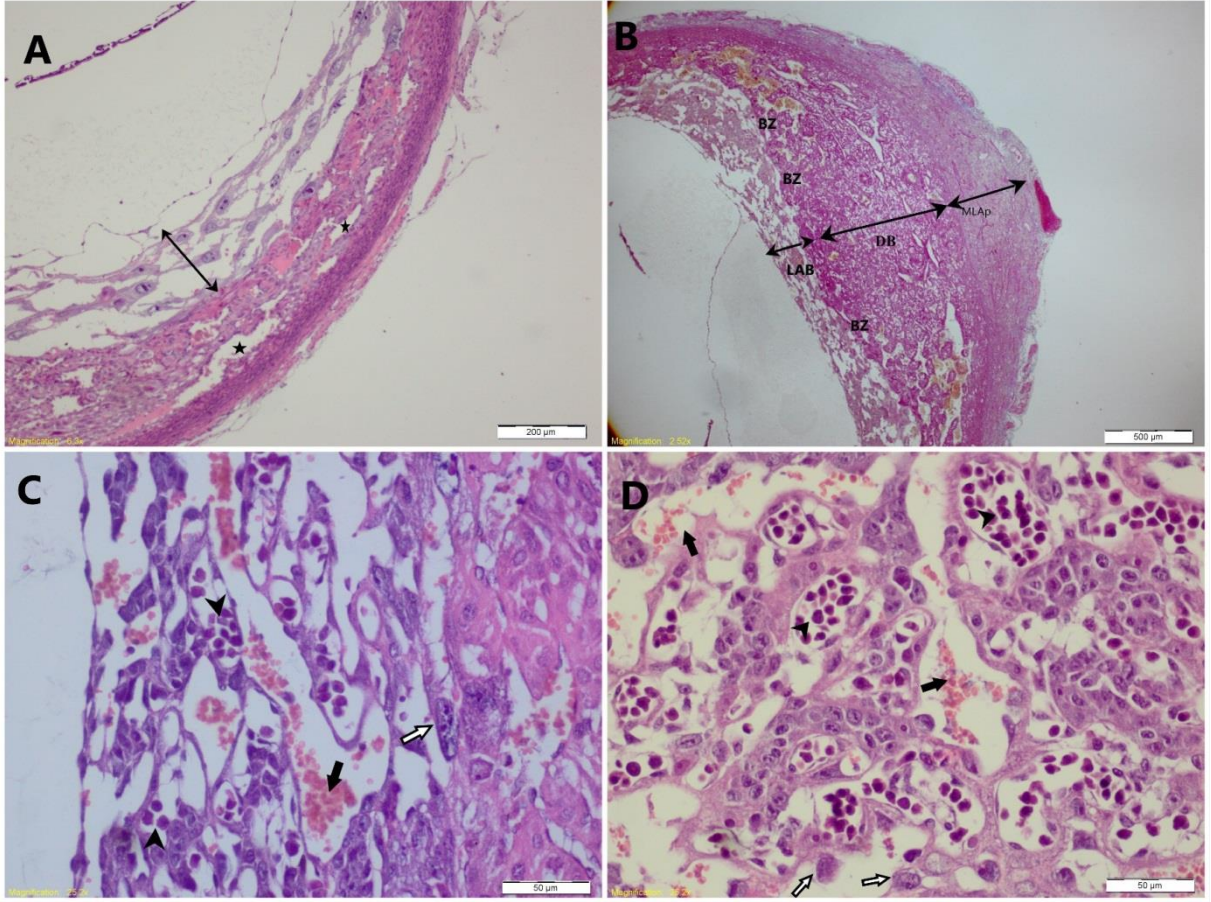
Onuncu güne ait preparatlarda, genel olarak fetal ve maternal yapıların net olarak ayırt edilebildiği görüldü. Tüm uterusun örneklendiği preparatlarda, uterusun mezometriyal ve antimezometriyal kısımları ayırt edildi (Resim 13A). Amnion boşluğunun dikkat çekici şekilde büyüdüğü ve amnion zarının fetüsü sardığı gözlemlendi. Amnion zarının altında tüm amnion boşluğunun sınırını P-TGC'lerin çevrelediği görüldü.

Antimezometriyumun, mezometriyuma göre çok daha incelmış olduğu görüldü. Amnion boşluğundan serozaya doğru gidildikçe; ilk başta amnion zarı ve hemen altındaki tabakada ise tek ya da birkaç sıralı trofoblastik dev hücreler bulundu (Resim 13B). P-TGC'lerin lateralinde ve plasentaya yakın çok sıralı halde yerleşim gösterdiği görüldü. Laterale doğru P-TGC'lerin adacıklar şeklinde ayrılmaya başladığı, antimezometriyumdakilere göre boyutlarının büyüdüğü gözlemlendi ve adacıkların arasında yer yer kan gölcükleri görülmeye başlandı. P-TGC'lerin hemen altında yoğun bir katman halinde antimezometriyal desidua tabakasının (desidua pariyetalis) bulunduğu dikkati çekti (Resim 13B). Bu desidua tabakasında desidua hücrelerinin birbiri içine geçtiği, yoğun ve koyu boyanmış bir hücre hattı halinde bulunduğu gözlemlendi. Antimezometriyal desiduada dikkat çeken özellik vaskülarizasyonun oldukça az olmasıydı. Laterale ve mezometriyuma doğru vaskülarizasyonun arttığı görüldü. İncelenen birçok örnekte endometriyum epitel ve lümeninin antimezometriyal desidua tabakası ve miyometriyum arasına itildiği ve lümenin oldukça daraldığı gözlemlendi (Resim 13B). Tüm bu yapıları sırasıyla miyometriyum ve perimetriyumun sardığı görüldü.



**Resim 13.** Gebeliğin onuncu günü. A) Gebeliğin 10. gününde uterusun görüntüsü. DP: Desidua parietalis, DB: Desidua bazalis, LAB: Labirint. Bar 500 µm. B) Uterusun antimezometriyal kısmı (desidua parietalis). Amnion boşluğunu çevreleyen P-TGC (okbaşları), desidua parietalis (\*), endometriyum lamina epitelyalisi (oklar). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 200 µm.

Mezometriyuma doğru gidildikçe desidua tabakasının yoğunluğunun azaldığı, vaskülarizasyonun arttığı belirlendi. Lateralde desidua hücreleri arasında boşlukların oluşmaya başladığı gözlemlendi (Resim 14A). Mezometriyumda amnion zarının altında labirinte ait yapıların oluşum aşaması halinde olduğu görüldü (Resim 14B). Labirint zonunun henüz olgun plasentadaki halini almadığı gözlemlendi. Trofoblastik dev hücreler ve sinsityotrofoblast hücre kümeleri dağınık halde bulunmakta ve bu kümelerin arasında maternal kan elemanları ve fetal kan damarları izlenmekte idi. Fetal eritrositlerin daha koyu boyanmış ve çekirdekli olduğu gözlemlendi (Resim 14C,D). Bu nedenle fetal ve maternal kan elemanları rahatlıkla seçilebilmekte idi. Fetal kan damarları etrafında birkaç sıralı ve dağınık halde trofoblast kümelerinin bulunduğu görüldü. Maternal kan hücreleri düzensiz boşluklar içerisinde labirintin birçok kısmında yine düzensiz aralıklarla yerleşmişti (Resim 14C,D).

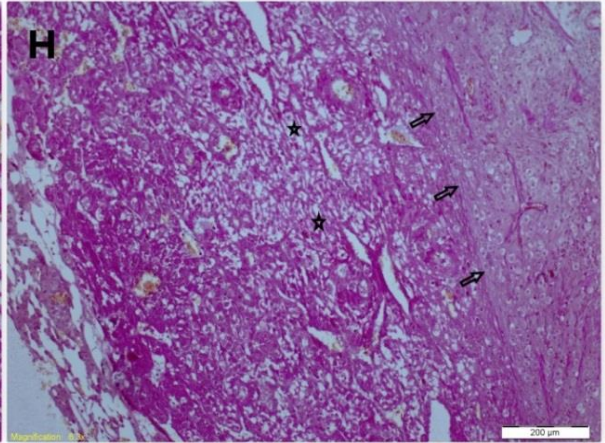
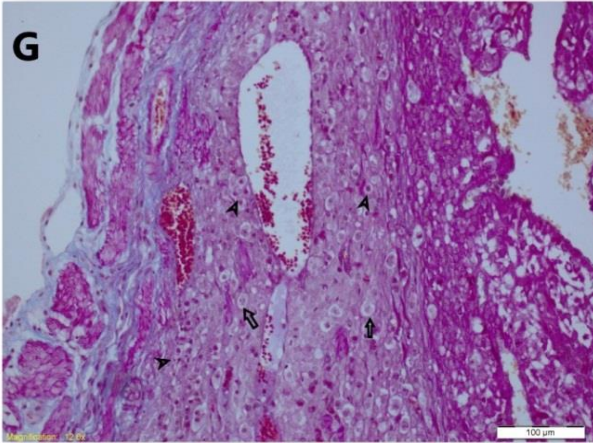
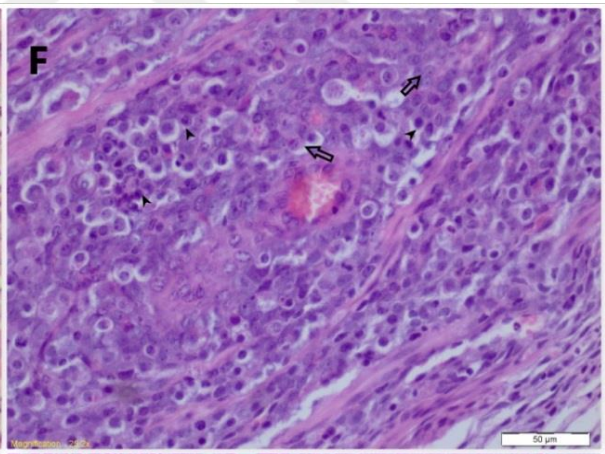
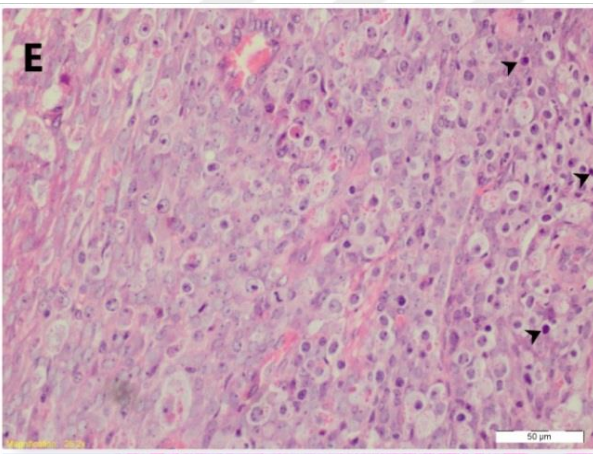
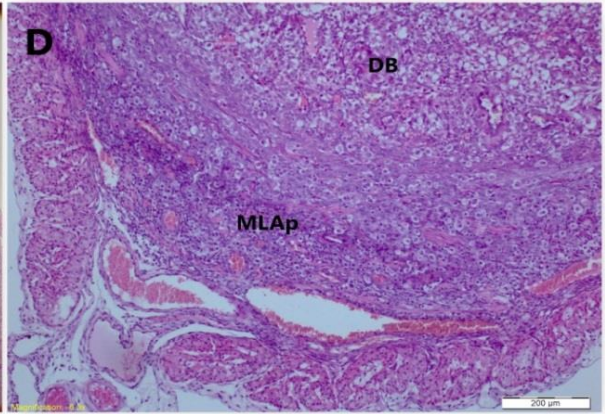
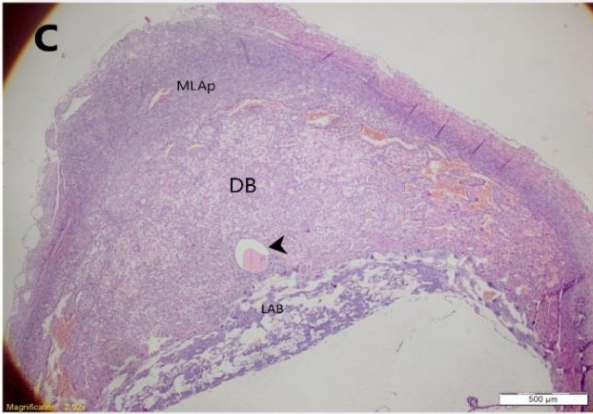
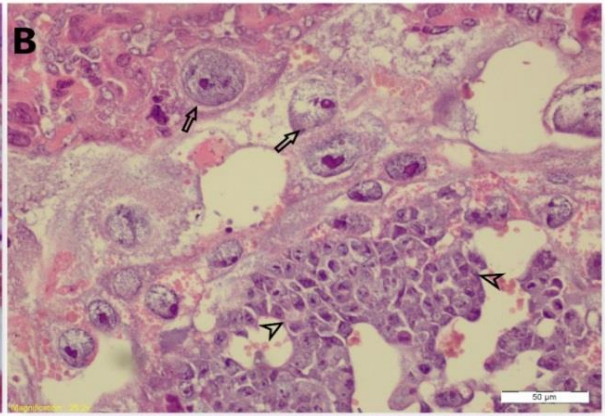
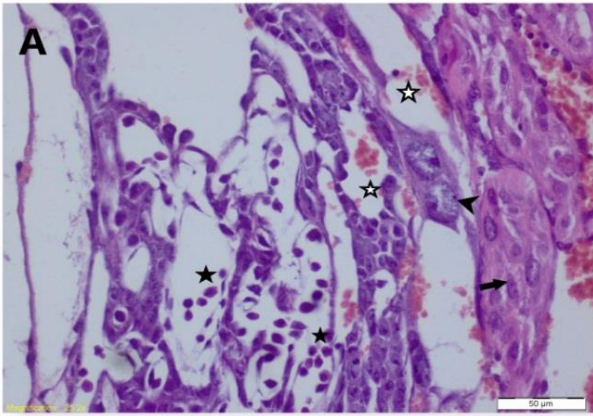


**Resim 14.** Gebeliğin onuncu günü. A) Lateral desidua alanları. Antimezometriyumdan mezometriyuma doğru gidildikçe çok sıralı halde görülen P-TGC'ler (çift taraflı ok) ve desiduada oluşmaya başlayan ayrılmalar (\*). Bar 200  $\mu$ m. B) Mezometriyum. LAB: Labirint, BZ: Bağlantı zonu, DB: Desidua bazalis, MLAp: Gebelikte mezometriyal lenfosit topluluğu. Üçlü boyama yöntemi. Bar 500  $\mu$ m. C, D) Gelişim aşamasındaki labirint kısmı. Çekirdekli fetal eritrositler (okbaşı), maternal kan boşlukları (siyah ok), TGC'ler (beyaz ok). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 50  $\mu$ m.

Labirint zonun bitiminde birkaç hücre tabakası halinde sinsityotrofoblast tabakası olduğu tahmin edilen hücre sıraları gözlemlendi. Bu tabakanın ardından P-TGC hücre sırası tek sıra ya da iki sıra halinde izlendi. Lateralde P-TGC'lerin çok sıralı olduğu belirlendi (Resim 15A, B). Birçok preparatta labirint tabakasının hemen bitiminde labirint tabakasına kan getiren, ana kanal yapısı gözlemlendi (Resim 15C). Mezometriyumda bulunan P-TGC'lerin antimezometriyum ve lateraldekilere göre boyutlarının küçüldüğü belirlendi. P-TGC sırasını takiben mezometriyal desidua tabakası (desidua bazalis) gözlemlendi (Resim 15C,D). P-TGC'lerin hemen altındaki desidua bazaliste SpTC ve GlyC'nin oluşmaya başladığı ve hücre

gruplarının etrafının kan gölcükleri ile çevrelendiği görüldü. SpTC'nin hemen P-TGC'lerin altında birkaç sıra halinde bulunduğu ve burada bağlantı zonunun oluşmaya başladığı belirlendi (Resim 15C,D,E,F). Bağlantı zonundan serozaya doğru desidua ve Gly-C'nin birbiri içinde kaynaşmış halde bulunduğu ve net olarak ayırt edilmediği tespit edildi. Mezometriyumda ise desiduanın yoğunlaştığı Gly-C'nin azaldığı gözlemlendi. Mezometriyuma yakın miyometriyum ile ayrılmış MLAp olarak adlandırılan bölgede desidual doku arasında lenfosit infiltrasyonları görüldü (Resim 15G,H).





**Resim 15.** Gebeliğin onuncu günü. A) Labirint-bağlantı zon geçiş hattı. Fötal kan damarları içinde koyu boyanmış çekirdekli eritrositler (siyah yıldızlar). Maternal kan boşlukları içinde çekirdeksiz eritrositler (beyaz yıldızlar). Labirinti sınırlayan P-TGC'ler (okbaşı). Bağlantı zonunun başlangıcında spongiotrofoblastlar. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 50 µm. B) Labirint- bağlantı zonu geçiş hattı. P-TGC'ler (beyaz ok), Sinsityotrofoblastlar (beyaz ok başı). Bar 50 µm. C) Gebeliğin 10. gününde mezometriyum görüntüsü. LAB: Labirint, DB: desidua bazalis, MLAp: gebelikte mezometriyal lenfosit topluluğu, labirinte kan getiren ana kanal yapısı (ok başı). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 500 µm. D) MLAp ve DB (Desidua bazalis) görüntüsü. Bar 500 µm. E-F) MLAp, lenfosit infiltrasyonları (okbaşları), desidua (F)(oklar). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 50 µm. G) MLAp. Desidualar (beyaz oklar), lenfosit infiltrasyonları (okbaşları). Üçlü boyama yöntemi. Bar 500 µm. H) Desidua bazalisteki glikojen hücreleri (yıldızlar), desidua bazalisin bitimi, MLAp başlangıcı (oklar). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 200 µm.

#### **4.2.2. Histokimyasal Bulgular**

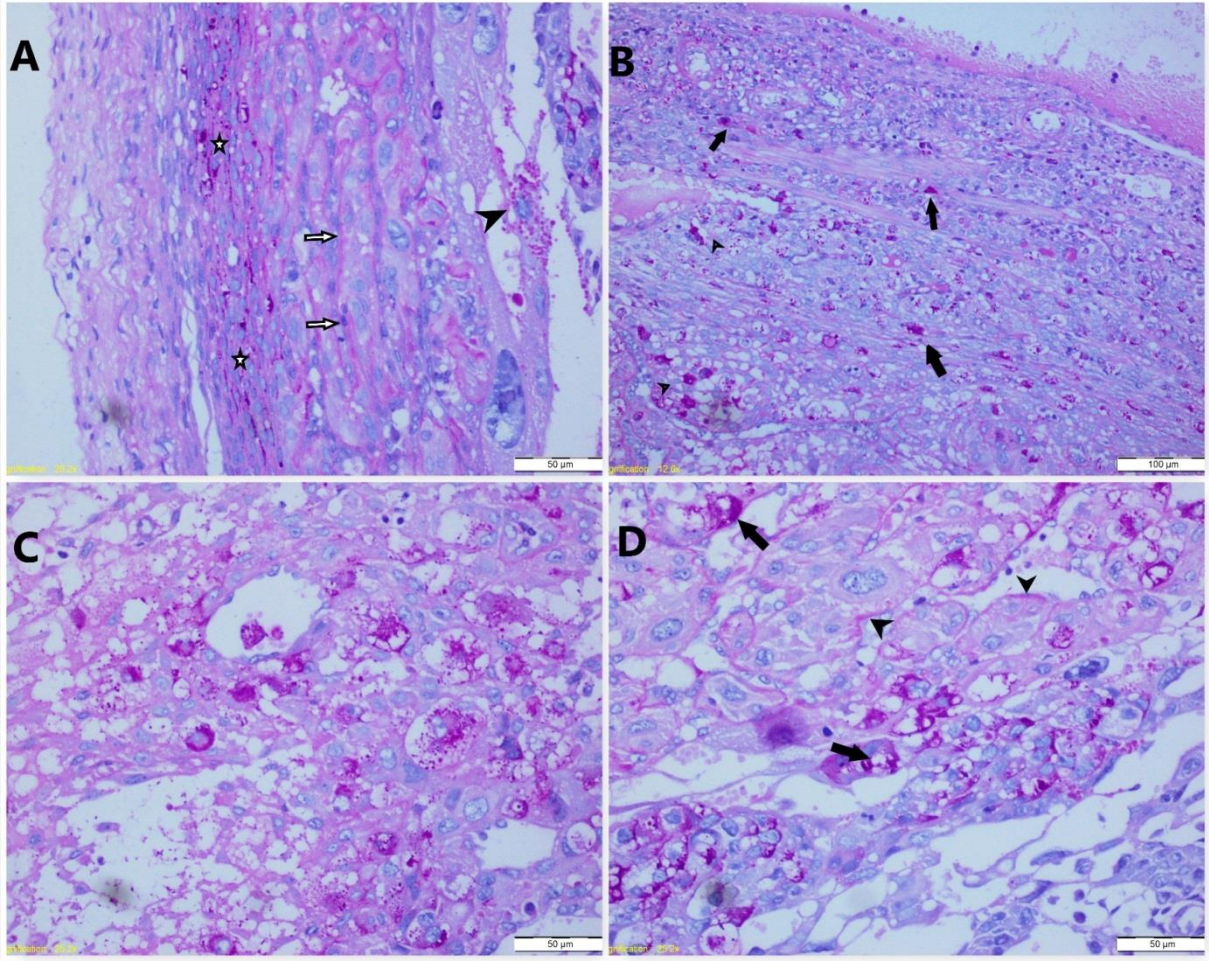
Histokimyasal boyama yöntemleri ile gözlenen reaksiyonlar Tablo 5'te verildi.

##### **4.2.2.1. PAS boyama yöntemi**

Tüm seroza yüzeyinde orta kuvvette reaksiyon gözlenirken, damar duvarlarında kuvvetli reaksiyon gözlemlendi. Antimezometriyumda lamina epitelyalis yüzeyinin orta kuvvette reaksiyon gösterdiği görüldü. Antimezometriyal desidua hücrelerinin hücre sınırlarının PAS ile orta kuvvette reaksiyon vererek belirginleştiği gözlemlendi (Resim 16A). Laterale doğru gidildikçe antimezometriyal desiduada granüler tarzda kuvvetli PAS reaksiyonu saptandı (Resim 16A). Lateral P-TGC'lerin amnion boşluğuna bakan yerlerde granüler tarzda kuvvetli PAS reaksiyonu verildiği görülürken, desiduya komşu kısımlarda ise hücre sınırlarında orta kuvvette PAS pozitifitesine rastlandı. Mezometriyumun desidua bazalisinde hücre sınırlarında ve hücre adacıklarının sınırlayan kısımlarda orta kuvvette reaksiyon gözlenirken, glikojen hücrelerinde çok kuvvetli reaksiyon gözlemlendi (Resim 16B,D). Glikojen hücrelerinin sitoplazmalarında granüler tarzda PAS birikimi dikkati çekti (Resim 16C,D). MLAp içerisinde de kuvvetli PAS reaksiyonu gözlenen, konum itibarıyla uNK hücreleri olabileceği düşünülen hücreler gözlemlendi. Labirintin amnion boşluğuna bakan yerlerinde orta derecede, kan



gölcüklerini çevreleyen damar duvarlarında ise çeşitli kuvvetlerde PAS pozitivitesine rastlandı.



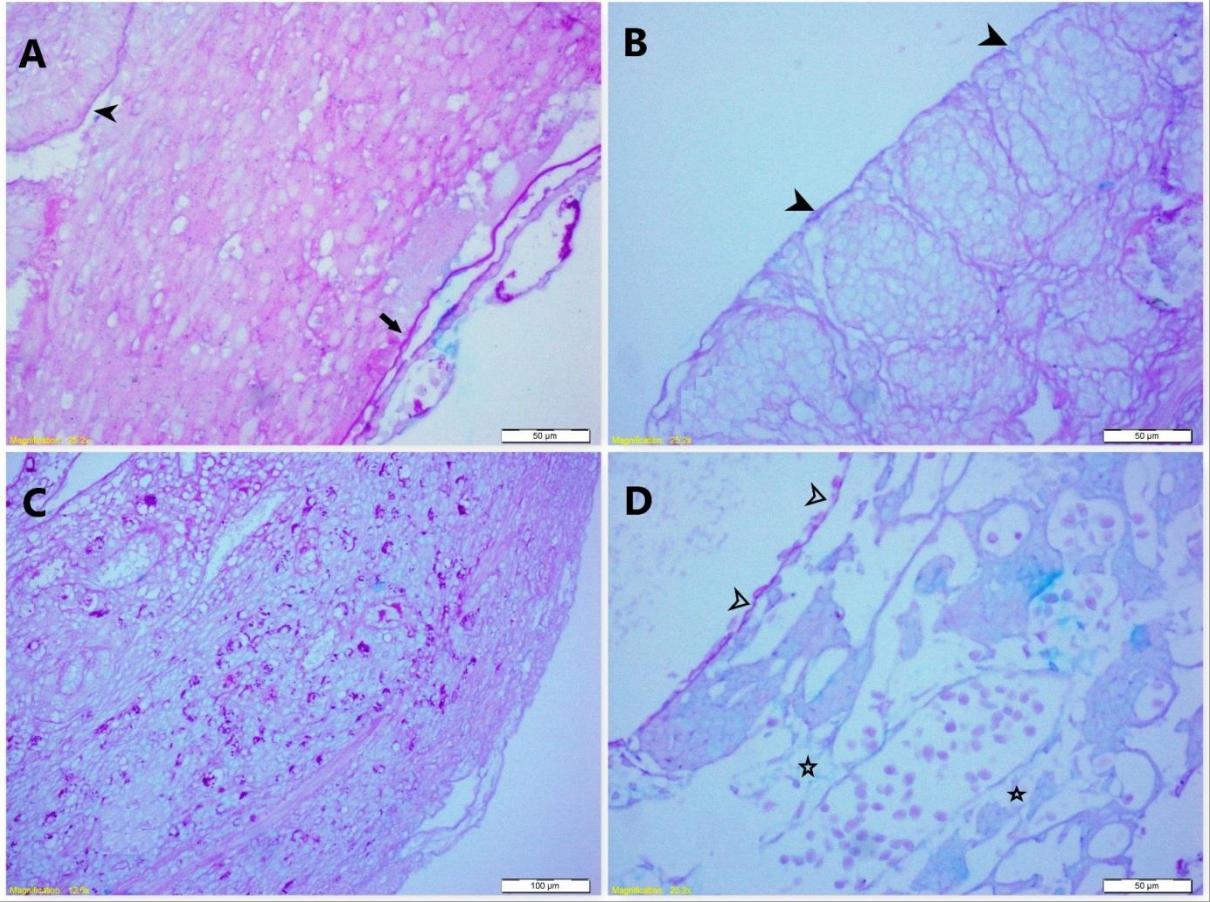
**Resim 16.** Gebeliğin onuncu günü. A) Antimezometriyumda kuvvetli PAS pozitivitesi gösteren desidua hücreleri (beyaz yıldızlar), hücre sınırları orta reaksiyon gösteren desidua grupları (beyaz oklar) ve granüler tarzda kuvvetli reaksiyon gösteren P-TGC (siyah okbaşı). Bar 50  $\mu$ m. B) Mezometriyum. MLAp ve desidua bazalis geçiş zonu. Kuvvetli sitoplazmik reaksiyon gösteren glikojen hücreleri (siyah okbaşları). uNK hücresi olduğu düşünülen MLAp içinde PAS pozitivitesi veren hücreler (siyah oklar). Bar 100  $\mu$ m. C) Kuvvetli sitoplazmik reaksiyon gösteren glikojen hücreleri. Bar 50  $\mu$ m. D) Labirint-bağlantı zonu-decidua bazalis geçiş zonu. Kuvvetli reaksiyon gösteren glikojen hücreleri (oklar), orta kuvvette reaksiyon gösteren desidua hücre grubu sınırları (okbaşları). PAS boyama yöntemi. Bar 50  $\mu$ m.

#### **4.2.2.2. AB pH 2,5 boyama yöntemi**

AB pH 2,5 ile antimezometriyumda uterus lümeni yüzeyinde zayıf reaksiyon görülürken, seroza ve lateral P-TGC'de orta kuvvette reaksiyon gözlemlendi. Mezometriyumda amniotik boşluğa komşu labirint yüzeyinde orta kuvvette AB pH 2,5 reaksiyonu görüldü. Labirinti sınırlandıran P-TGC'lerde zayıf ve orta kuvvette reaksiyon görülürken, P-TGC'lere komşu labirintte orta kuvvette reaksiyonlar saptandı. Glikojen hücrelerinin ve desiduaların da orta kuvvette AB pH 2,5 reaksiyonu verdiği görüldü.

#### **4.2.2.3. PAS / AB pH boyama yöntemi**

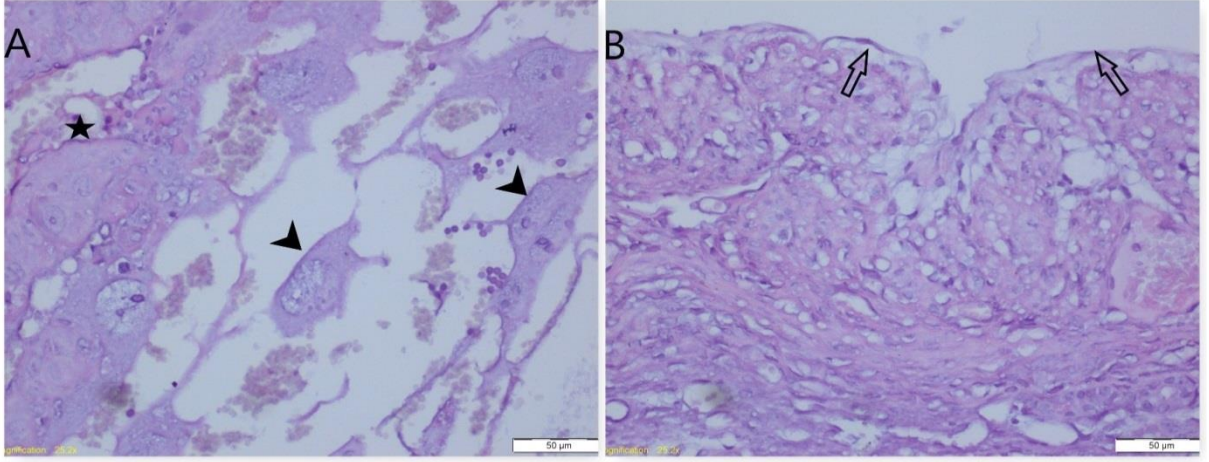
Antimezometriyumda lamina epitelyalis yüzeyinde çok büyük oranda PAS pozitivitesi görülürken bazı kısımlarda benzer reaksiyon tespit edildi (Resim 17A). Serozada çoğunlukta PAS pozitivitesine rastlansa da bazı kısımlarda yine birbirine benzer yoğunlukta reaksiyon görüldü (Resim 17A,B). Antimezometriyumun amnion boşluğunu kaplayan yüzeyinde güçlü PAS pozitivitesi gözlemlendi (Resim 17A). Mezometriyumun bağlantı zonu, glikojen hücreleri ve MLAp'daki hücrelerinde PAS pozitivitesi izlendi (Resim 17C). Labirintte ise amnion boşluğuna komşu yüzeyde PAS pozitivitesi görülürken, labirint içerisinde bulunan stromal alanlarda AB pozitivitesi gözlemlendi (Resim 17D).



**Resim 17.** Gebeliğin onuncu günü. A) Antimezometriyumun lamina epitelyalisinde PAS (+) ve AB (+) reaksiyon (okbaşı) ve amnion boşluğu sınırında PAS pozitivitesi (ok). Bar 50  $\mu$ m. B) Serozada PAS (+) ve AB (+) reaksiyon (okbaşları). Bar 50  $\mu$ m. C) Desidua bazalis-MLAp geçiş zonu genel görünüm. Bar 100  $\mu$ m. D) Labirint. Baskın PAS pozitivitesi gösteren amnion boşluğu yüzeyi (beyaz okbaşları). AB pozitivitesi gösteren labirint alanları (beyaz yıldızlar). PAS-AB pH 2.5. boyama yöntemi. Bar 50  $\mu$ m.

#### 4.2.2.4. Aldehit fuksin (AF pH 1.0) boyası

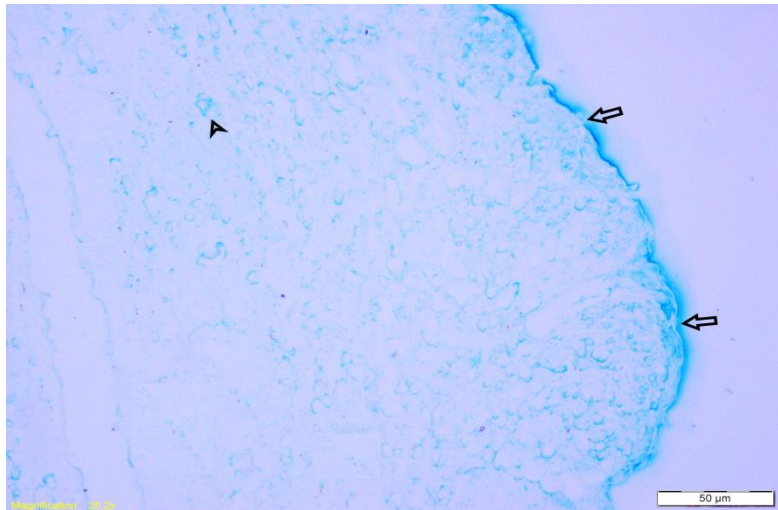
Genel olarak damar endotelinde çeşitli şiddetlerde reaksiyon görüldü (Resim 18A). Labirintte farklı şiddetlerde reaksiyon saptandı. P-TGC'lerde (Resim 18A) hücre yüzeyinde ve serozada farklı şiddetlerde reaksiyona rastlandı (Resim 18B).



**Resim 18.** Gebeliğin onuncu günü A) P-TGC'lerin yüzeyinde (okbaşı) ve damar endotelinde farklı şiddetlerde AF pH 1.0 reaksiyonu (\*). B) Serozada çeşitli şiddetlerde AF pH 1.0 reaksiyonu AF pH 1.0 boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.2.2.5. AB pH 1.0 boyama yöntemi

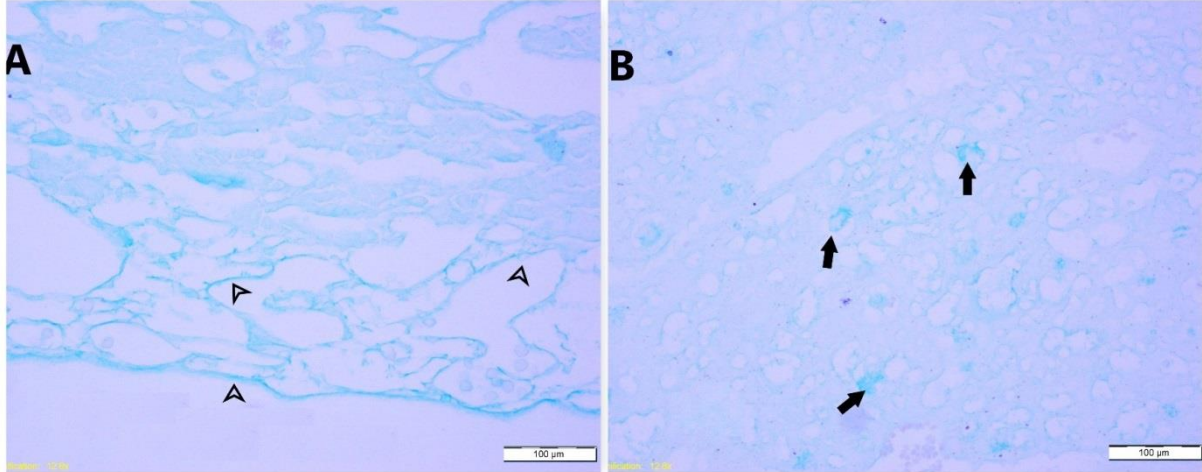
Serozada güçlü ve orta kuvvette pozitif reaksiyon gözlemlendi (Resim 19). Bazı desidua hücrelerinde orta kuvvette reaksiyon gözlenirken, glikojen hücrelerinde zayıf kuvvette reaksiyon gözlemlendi. Labirintte de zayıf kuvvette reaksiyon saptandı.



**Resim 19.** Gebeliğin onuncu günü. Serozada güçlü AB pH 1.0 reaksiyonu (oklar) ve desiduada orta kuvvette reaksiyonu (okbaşı). AB pH 1.0 boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.2.2.6. AB pH 0.5 boyama yöntemi

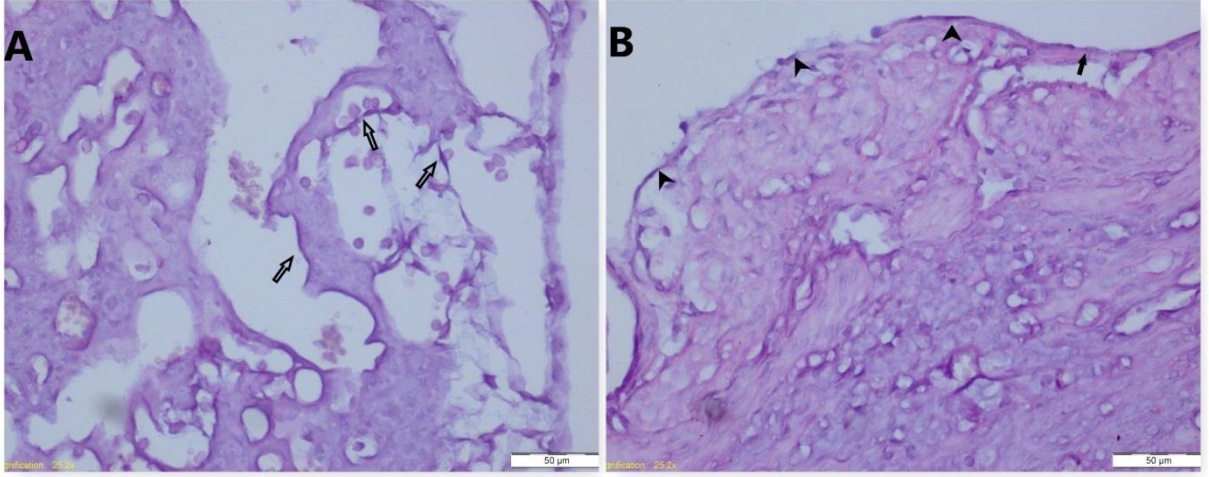
Labirintte orta kuvvette AB pH 0,5 reaksiyonu gözlemlendi (Resim 20A). Serozada çeşitli yoğunlukta AB pH 0,5 reaksiyonuna rastlandı. Desidua bazalisin glikojen hücrelerinde orta ve zayıf reaksiyon görüldü (Resim 20B), P-TGC'lerde orta kuvvette reaksiyon saptandı.



**Resim 20.** Gebeliğin onuncu günü. A) Labirintte orta kuvvette AB pH 0,5 pozitif reaksiyon (okbaşları). B) Glikojen hücrelerinde orta kuvvette AB pH 0,5 reaksiyonu (oklar). AB pH 0,5 boyama yöntemi. Bar 100 µm.

#### 4.2.2.7. AF / AB pH 2.5 boyama yöntemi

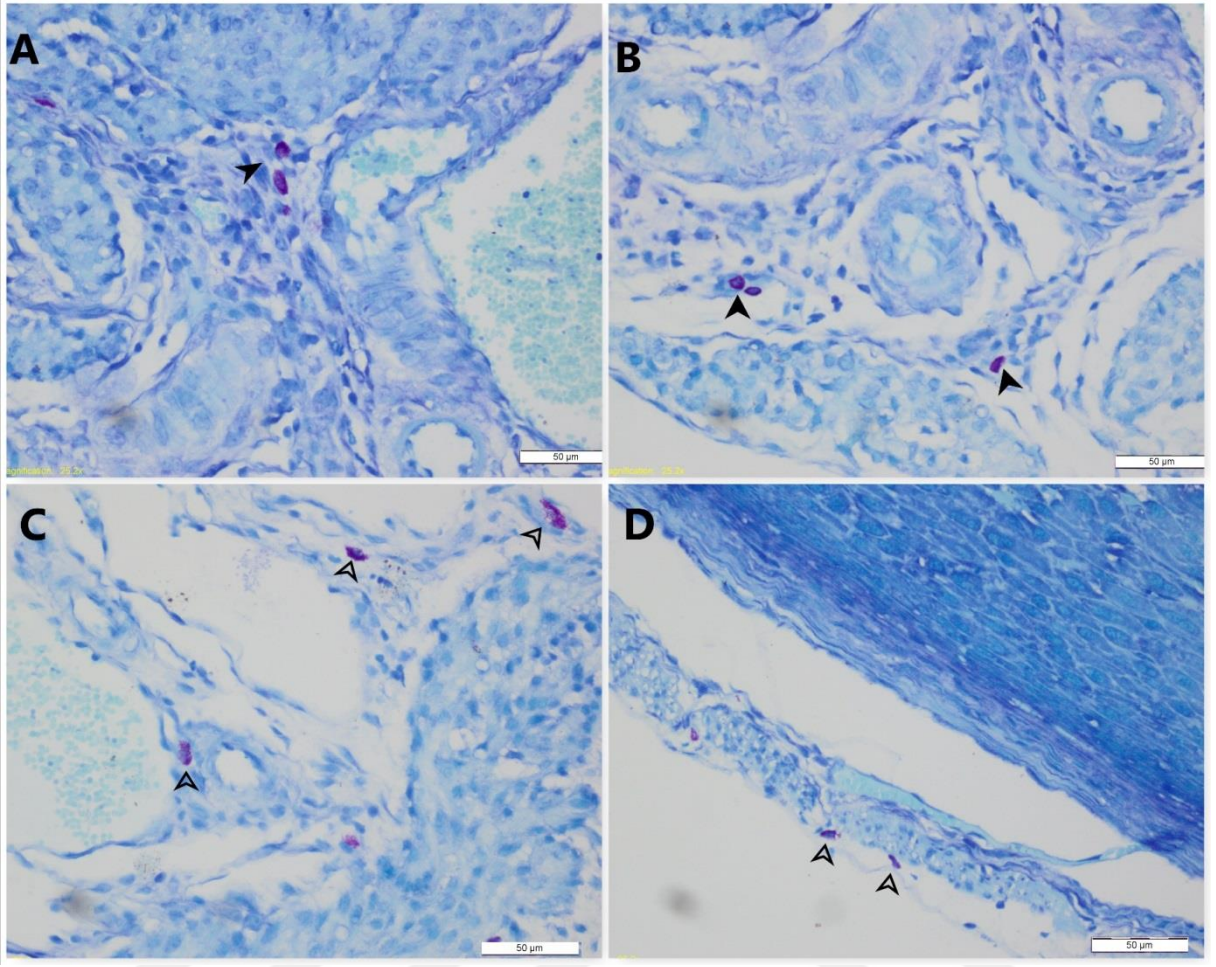
Labirint zonda (Resim 21A), lamina epitelyalis yüzeyi, lateral ve diğer P-TGC'lerde, desidua ve glikojen hücrelerinde AF pozitivitesi görüldü. Antimezometriyumda ve mezometriyal serozada çoğu yerde AF pozitivitesine rastlanırken, bazı yerlerde benzer AF ve AB reaksiyonu gösterdikleri tespit edildi (Resim 21B).



**Resim 21.** Gebeliğin onuncu günü. A) Labirint zonda AF pozitifitesi (beyaz oklar). B) Serozada AF pozitifitesi (siyah okbaşları), eşit reaksiyon gösteren seroza kısmı (siyah ok). AF/AB pH 2.5 boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.2.2.8. TB boyama yöntemi

Onuncu günde mezometriyumun serozaya yakın damar çevresinde mast hücresi varlığı tespit edildi (Resim 22A,B,C). Antimezometriyumda yalnızca seroza sınırında bulunan bağ dokuda mast hücreleri görüldü (Resim 22D).



**Resim 22.** Gebeliğin onuncu günü. A, B, C) Mezometriyal kan damarı yakınına konumlanmış mast hücreleri (siyah okbaşları). D) Antimezometriyal serozada tespit edilen mast hücreleri (beyaz oklar). TB boyama yöntemi. Bar 50 µm.

**Tablo 5.** Gebeliğin onuncu günde histokimyasal reaksiyonlar

	PAS	AB pH 2,5	PAS+AB	AF	AB pH 1,0	AB pH 0,5	AF+AB
Antimezometriyal Desidua	(++)	(lamina epitelyalis+)	PAS, PAS/AB	(++)	-	(++)	AF, AF/AB
Antimezometriyal P-TGC	(+++) Granüler tarzda	(++)	PAS	(++)	-	-	AF
Mezometriyal P-TGC	(+++)	(++)	PAS	Hücre yüzeyinde reaksiyon	(+)	(++)	AF
Labirint	(++)	(++)	AB	(++)	(+)	(++)	AF
Mezometriyal Desidua	(++)	(++)	PAS	(++)	(++)	(+)	AF
Glikojen Hücreleri	(+++) Granüler tarzda	(++)	PAS	(++)	(+)	(++)	AF
MLAp	(+++)	(+)	PAS	(++)	(++)	(+)	AF
Seroza	(++)	(+)	PAS, PAS/AB	(++)	(++)	(++)	AF, AF/AB

Yok (-) Zayıf (+), Orta (++) , Kuvvetli (+++).

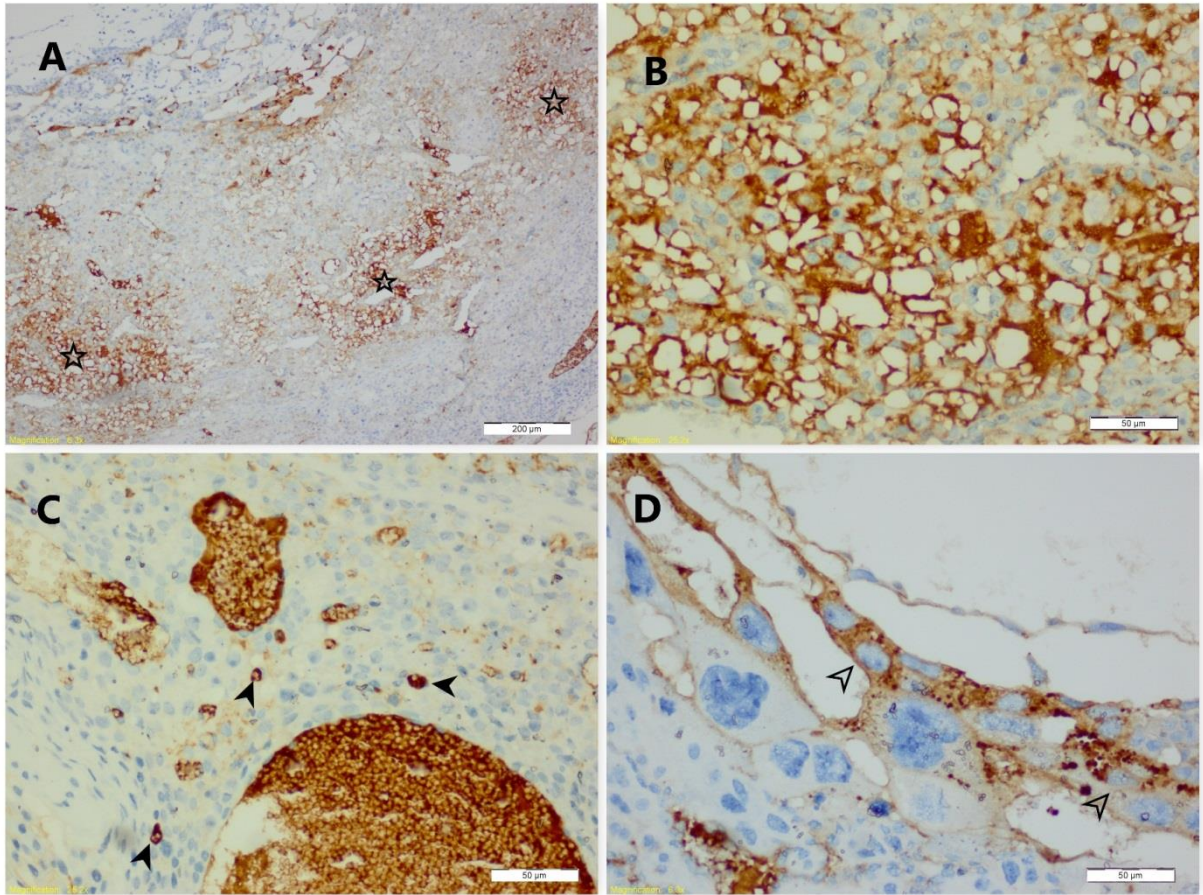


### 4.2.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

İmmünohistokimyasal boyama yöntemleri ile gözlenen reaksiyonlar Tablo 6'da verildi.

#### 4.2.3.1. IgG ekspresyonu

Gebeliğin onuncu gününde desidua bazaliste, desidua ve glikojen hücrelerini içeren büyük hücre kitlelerinin IgG eksprese ettiği gözlemlendi. Bu reaksiyonun desidua bazalis boyunca öbek öbek oluştuğu görüldü (Resim 23A,B). Mezometriyumda da P-TGC'de IgG pozitivitesi tespit edildi. MLAp'ta birkaç hücrede pozitivite gözlemlendi (Resim 23C). Antimezometriyal serozada ve antimezometriyal desiduada çok az sayıda IgG ekspresyonu yapan hücre saptandı. Buradaki P-TGC'lerde çok anlamlı reaksiyon gözlenmedi. Lateralde, lateral P-TGC'lerin IgG pozitif hale geldiği ve granüler tarzda sitoplazmik reaksiyon verdiği görüldü (Resim 23D).

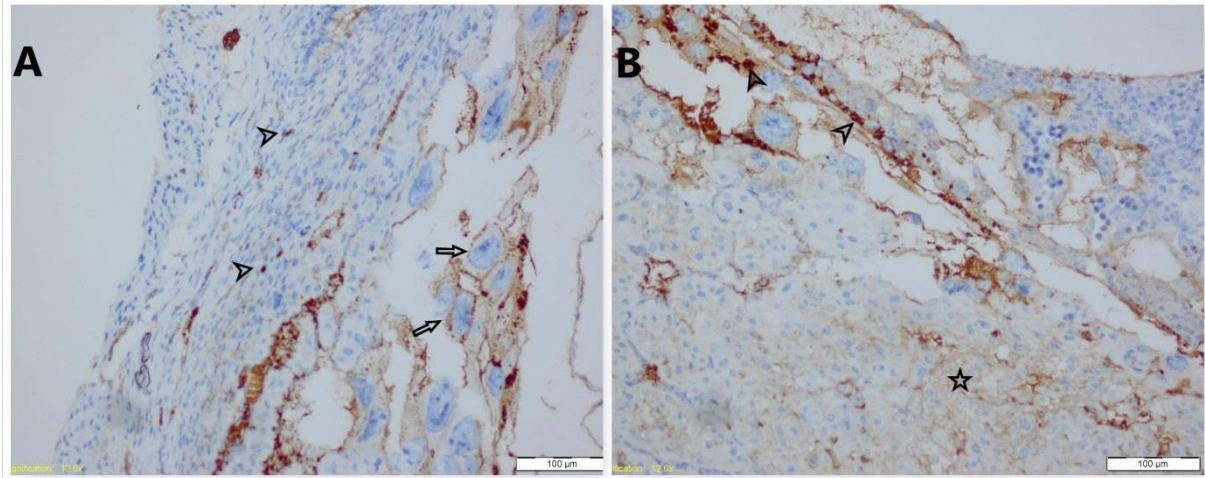


**Resim 23.** Gebeliğin onuncu günü. A) Mezometriyum. Desidua bazaliste IgG eksprese eden bölgeler (\*). Bar 200 µm. B) IgG pozitivitesi gösteren glikojen ve desidua hücre kitlesi. Bar 50 µm. C) Mezometriyum. P-TGC'de IgG pozitivitesi gösteren hücreler (oklarla işaretlenmiş). Bar 50 µm. D) Lateral P-TGC'lerin IgG pozitif hale geldiği ve granüler tarzda sitoplazmik reaksiyon verdiği (oklarla işaretlenmiş). Bar 50 µm.

50 µm. C) MLAp komşuluğunda görülen IgG pozitif hücreler (okbaşı). Bar 50 µm. D) Labirinte granüler tarzda sitoplazmik reaksiyon veren P-TGC' ler. sABC boyama yöntemi. Bar 50 µm.

#### 4.2.3.2. Vimentin

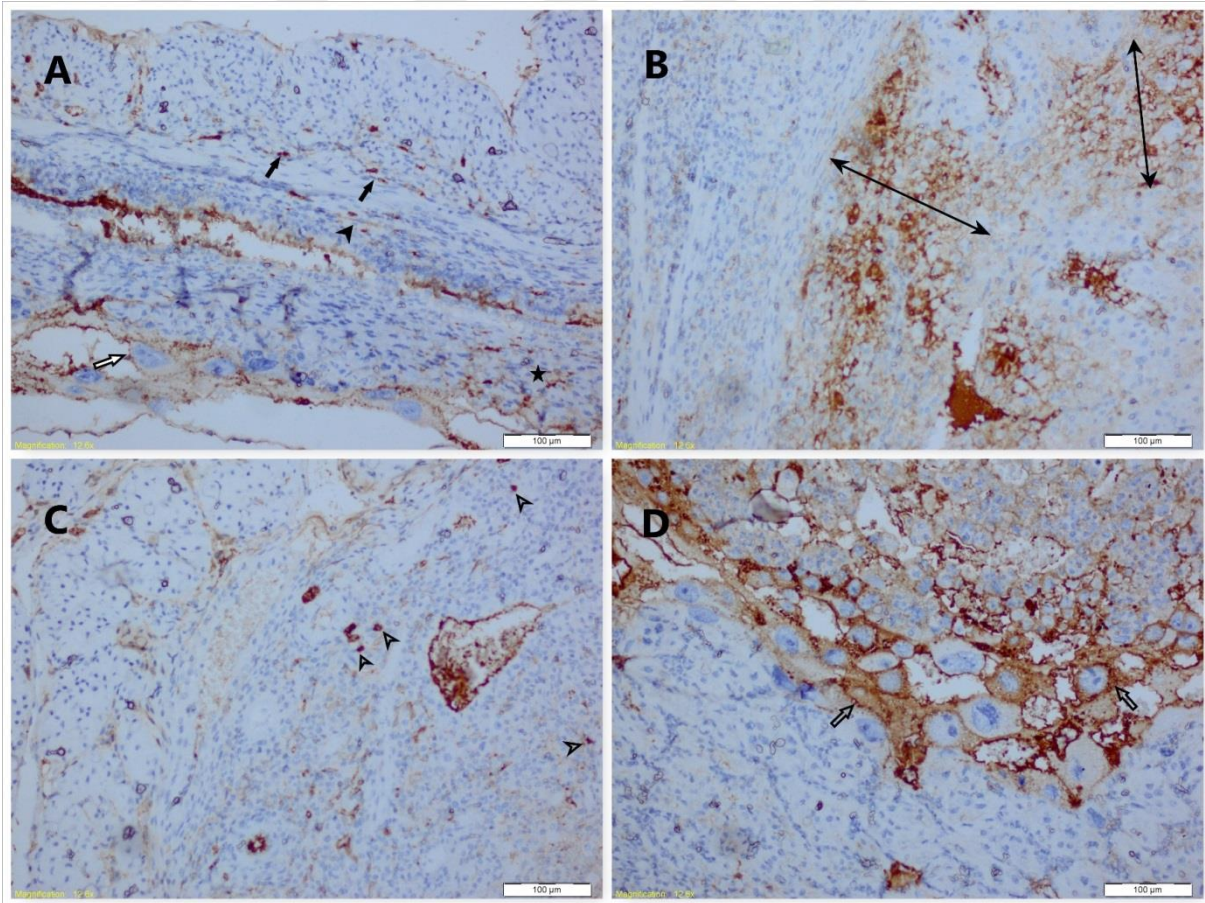
Gebeliğin onuncu gününde antimezometriyumda, serozada ve lamina propriyada tek tek konumlanmış vimentin pozitif hücelere rastlandı. Lamina propriyada oluşan reaksiyonun bezlerin etrafındaki bağ dokuda yer aldığı gözlemlendi. Antimezometriyal desiduada vimentin pozitif hüceler görüldü (Resim 24A). Burada bulunan P-TGC'lerin de vimentin pozitif reaksiyon verdiği tespit edildi (Resim 24A). Mezometriyumun MLAp bölümünde vimentin pozitif hüceler saptandı. Desidua bazaliste glikojen hüceleri ve desiduaların birarada olduğu hücre kitlelerinin vimentin pozitif olduğu gözlemlendi. Bu pozitivitenin MLAp komşuluğunda güçlü olduğu, labirinte doğru kuvvetinin azaldığı görüldü. Labirinte ise P-TGC'lerin vimentin pozitif reaksiyon verdiği tespit edildi (Resim 24B).



**Resim 24.** Gebeliğin onuncu günü A) Antimezometriyum. Antimezometriyal desiduada vimentin pozitif hücelere rastlandı (okbaşıları), vimentin pozitif P-TGC'ler (oklar). B) Mezometriyumda vimentin pozitif P-TGC'ler (okbaşı), desidua bazaliste vimentin pozitif alanlar (\*). sABC boyama yöntemi. Bar 100 µm.

#### 4.2.3.2. CD45

Onuncu gün örneklerinde antimezometriyal serozada tek tek ve birbirinden bağımsız konumlu CD45 pozitif hücreler saptandı. Yine antimezometriyuma yakın lamina propriyada bağımsız tek tek yerleşimli CD45 pozitif hücreler görüldü. Antimezometriyal desidua içerisinde ve bu desiduanın amnion boşluğuna bakan bölümünü sınırlayan P-TGC'lerde de pozitivite gözlemlendi (Resim 25A). MLAp'a komşu mezometriyal desiduada GlyC-desidua hücre bölgesinde hücre kitlelerinin güçlü pozitivite verdiği saptandı (Resim 25B). Mezometriyumda ise MLAp bölgesindeki lamina propriya ve serozadaki gibi tek tek konumlanmış CD45 pozitif hücrelere rastlandı (Resim 25C). Mezometriyal desiduai sınırlandıran P-TGC'lerde ve komşu trofoblast hücrelerinde oldukça yoğun pozitiviteye görüldü (Resim 25D).



**Resim 25.** Gebeliğin onuncu günü. A) Antimezometriyum. Seroza (siyah oklar), lamina propriya (okbaşı) ve antimezometriyal desiduada (yıldız) CD45 pozitif hücreler. CD45 pozitif P-TGC'ler (beyaz ok). B) MLAp komşuluğunda yoğun CD45 pozitivite gösteren desidua bazalis alanları (çift taraflı ok). C) MLAp kısmında görülen CD45 pozitif hücreler (beyaz ok). D) Mezometriyal desiduada (beyaz ok).

okbaşları). D) Labirint. CD45 pozitivitesi gösteren P-TGC hücreleri (beyaz oklar). sABC boyama yöntemi. Bar 100 µm.

**Tablo 6.** Gebeliğin onuncu gününde immünhistokimyasal reaksiyonlar

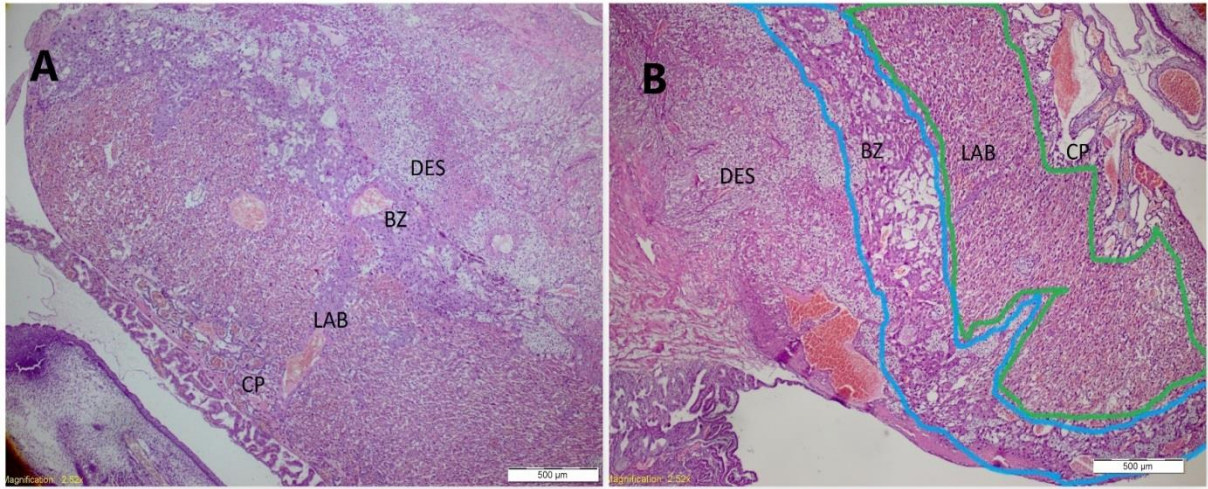
	<b>IgG</b>	<b>Vimentin</b>	<b>CD45</b>
<b>Antimezometriyal</b>			
<b>Desidua</b>	(+)	(+)	(+)
<b>Antimezometriyal P-TGC</b>	-	(+)	(+)
<b>Mezometriyal P-TGC</b>	(++) Granüler tarzda	(++) Granüler tarzda	(+++) Granüler tarzda
<b>Labirint</b>	(+++)	(++)	(+++)
<b>Mezometriyal</b>			
<b>Desidua</b>	(+++)	(+++)	(+++)
<b>Glikojen Hücreleri</b>	(+++)	(+++)	(+++)
<b>MLAp</b>	(++)	(++)	(++)

Yok (-) Zayıf (+), Orta (++) , Kuvvetli (+++).

### 4.3. On Yedinci Gün

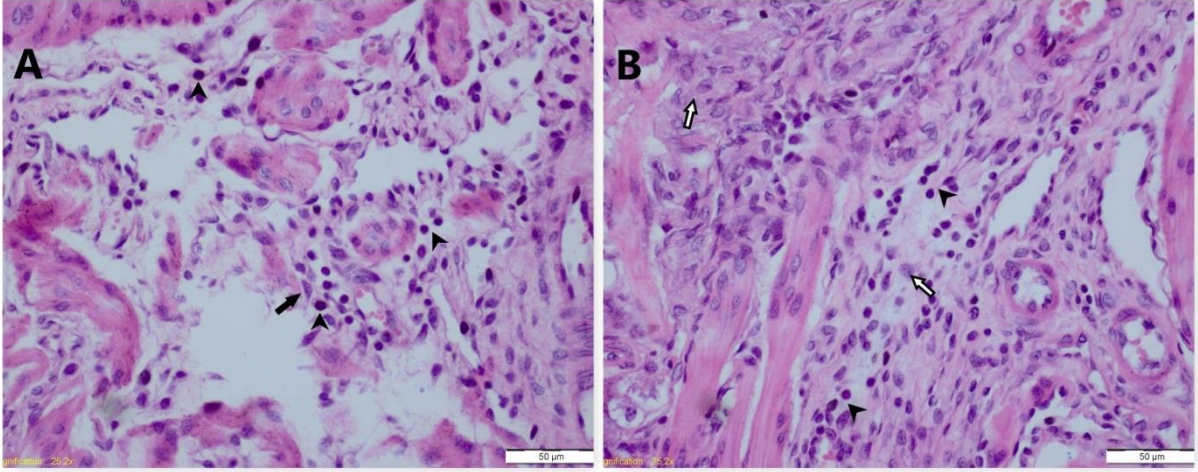
#### 4.3.1. Histolojik Bulgular

On yedinci güne ait preparatlarda genel olarak olgun fare plasenta yapısı gözlemlendi. Onuncu günde oluşum aşamasında bulunan tüm bölümlerin oluşumunu tamamladığı görüldü. Plasentanın tam olarak desidua bazalis, bağlantı zonu, labirint ve koryonik plak olmak üzere dört farklı ana bölümden oluştuğu gözlemlendi (Resim 26A, B).



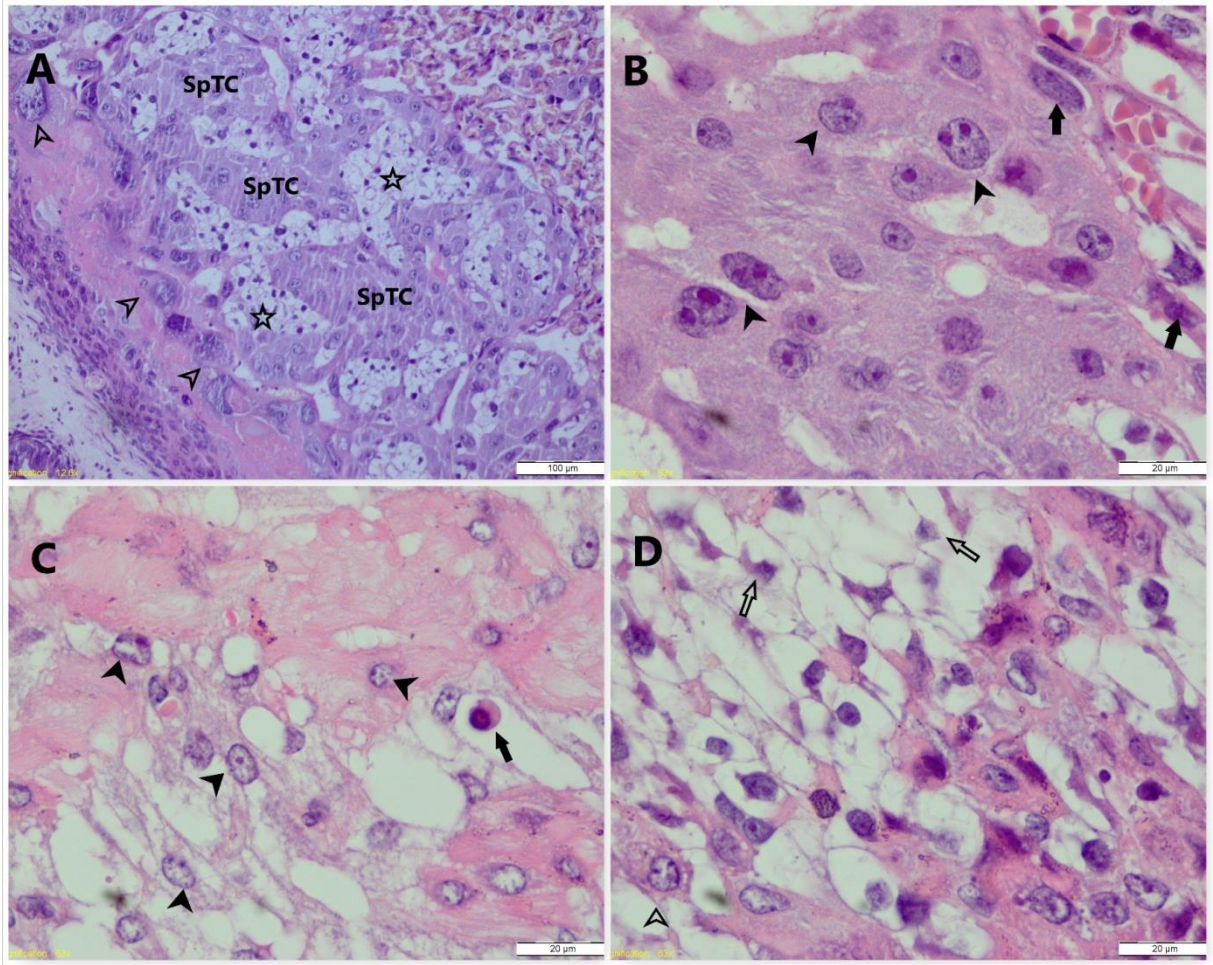
**Resim 26.** Gebeliğin on yedinci günü. A ve B) CP: Koryonik Plak, LAB: Labirint, BZ: Bağlantı Zonu, DES: Desidua bazalis. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 500 µm.

Desidua bazalisin (mezometriyal desidua) (Resim 27A,B), mezometriyumdan başlayarak P-TGC hücrelerine kadar uzandığı gözlemlendi. Onuncu güne göre daralmış olduğu, mezometriyuma yakın yerlerde MLAp varlığının devam ettiği dikkati çekti. Bu alanda lenfosit infiltrasyonları gözlemlendi (Resim 27A,B). Ayrıca desidua bazaliste topluluklar halinde glikojen hücresi de saptandı.



**Resim 27.** Gebeliğin on yedinci günü. A-B) Lenfosit infiltrasyonu (okbaşları), desidua hücreleri (siyah ve beyaz oklar). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 50 µm.

Bağlantı zonunda koyu boyanmış spongiotrofoblast hücreleri ve bu hücreler arasında açık renkli köpüğümsü sitoplazmalı glikojen hücreleri gözlemlendi (Resim 28A). Labirint sınırında spongiotrofoblast hücrelerinin villus benzeri yapılar halinde labirinte girintiler yaptığı görüldü. Bağlantı zonunun desidua bazalis ile birleştiği yerde bazal zonu sınırlayan genellikle tek sıralı P-TGC hücreleri dikkati çekti (Resim 28B,C,D).



**Resim 28.** Gebeliğin on yedinci günü. Plasentanın bağlantı zonu. A) SpTC: Spongiotrofoblast hücreleri, GlyC, glikojen hücreleri (\*), TGC (okbaşları). Bar 100 µm. B) SpTC (okbaşları), S-TGC (oklar). Bar 20 µm. C) Desidua hücreleri (okbaşları), plazma hücresi (ok). Bar 20 µm. D) GlyC (beyaz ok), desidua hücreleri(beyaz okbaşı). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 20 µm.

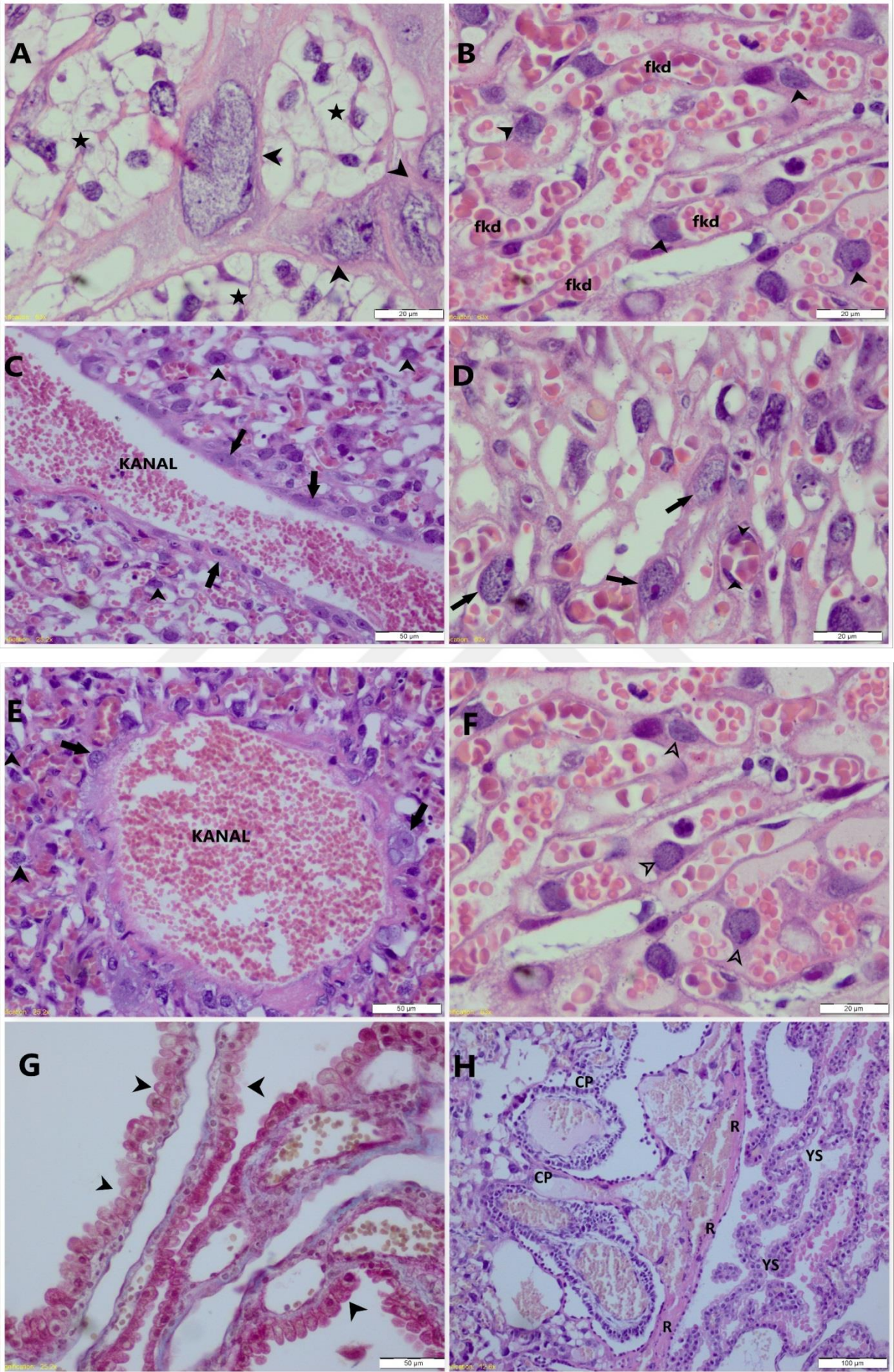
Bağlantı zonun bitiminde diğer bir fetal bölüm olan labirintin varlığı gözlemlendi. Labirint zonun onuncu güne göre oldukça genişlediği ve olgun formunu aldığı belirlendi. Labirintte genel olarak fetal kan elemanları (Resim 29A,B), fetal endotel, sinsityotrofoblastlar (SynTC) ve bunların etrafında sinüzoid trofoblastik dev hücreler (S-TGC) (Resim 29D,F), maternal kan gölcükleri ve bu gölcükler içerisinde serbestçe dolaşan maternal eritrositler görüldü. Sinsityotrofoblastlar tüm kesitlerde net olarak gözlenemedi. Fetal eritrositlerin çekirdekli olduğu gözlemlendi. Labirintin içerisinde büyük bir kanal varlığı görüldü (Resim 29C,E). Bu

kanalın içinde maternal eritrositlerin varlığı saptandı (Resim 29E). Bu kanalın etrafında sıralanmış kanal trofoblastik dev hücrelerinin (C-TGC) bulunduğu gözlemlendi (Resim 29C,E).

Labirintin bitiminde amnion boşluğuna bakan, plasentanın merkezinde damar ve kanal yapılarının yoğun olduğu koryonik plak görüldü (Şekil 29F). Burada kanal trofoblastik dev hücreleri ve S-TGC'ler gözlemlendi. Plasentayı sınırlandıran ve tüm plasentayı embriyonal taraftan saran amnionun ve vitellüs tabakasının altında kalan ince bir hat halinde uzanan Reichert's Membranı dikkati çekti (Resim 29H). Bu membranın homojen ve avasküler bir tabaka halinde olduğu görüldü. Plasentanın dışında amnion boşluğuna doğru yayılan, bazal membrana ve bir epitele sahip halde bulunan gelişmiş bir vitellus kesesinin varlığı da dikkati çekti (Resim 29G,H).







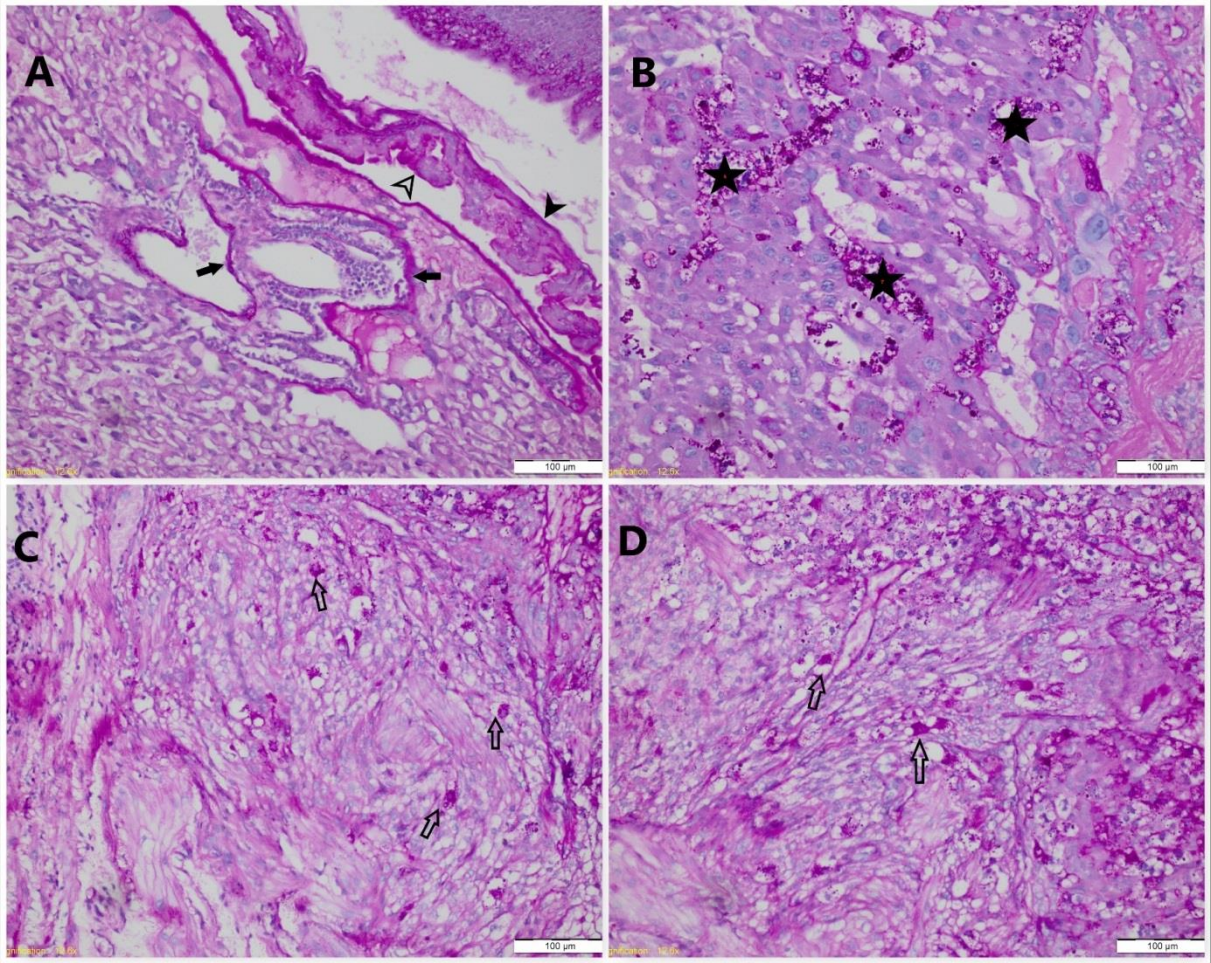
**Resim 29.** Gebeliğin on yedinci günü. A) Fötal kısmı sınırlandıran bölgede bulunan P-TGC'ler (okbaşları), çevresinde konumlanmış GlyC toplulukları (yıldızlar). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 20 µm. B) Labirintte fötal kan damarları (fkd) ve S-TGC'ler (okbaşları) Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 20 µm. C) Labirintte bulunan kanal yapısı. Kanalı sınırlandıran C-TGC'ler (oklar), S-TGC'ler (okbaşları). Bar 50 µm. D) Labirint. S-TGC'ler (oklar), fötal endotel hücreleri (okbaşları). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 20 µm. E) Labirintte kanal duvarındaki C-TGC'ler (oklar). Bar 50 µm. F) Labirint. S-TGC'ler (oklar). Bar 20 µm. G) Amnion boşluğu, vitellus epitel hücreleri (okbaşı). Üçlü boyama yöntemi. Bar 50 µm. H) Labirintin bitiminde yer alan koryonik plak bölgesi (CP), koryonik plağı sınırlandıran Reichert's Membranı (R), amnion boşluğundaki vitellus kesesi (YS). Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi. Bar 100 µm.

#### **4.3.2. Histokimyasal Bulgular**

Histokimyasal boyama yöntemleri ile gözlenen reaksiyonlar Tablo 7'de verildi.

##### **4.3.2.1. PAS boyama yöntemi**

On yedinci günde, vitellüs kesesi bazal membranı ve epitel yüzeyinde kuvvetli PAS pozitif reaksiyon saptandı (Resim 30A). Reichert's Membranı'nda kuvvetli PAS pozitivitesi gözlemlendi. Koryonik plaktaki damar duvarlarında kuvvetli PAS reaksiyonu görüldü. Labirintteki damar duvarlarında farklı kuvvetlerde PAS reaksiyonu gözlemlendi. Bağlantı zonunda spongiotrofoblast hücrelerinde orta kuvvette PAS pozitivitesi tespit edildi. Bağlantı zonu içersindeki glikojen hücrelerinde ise çok kuvvetli granüler tarzda reaksiyon gözlemlendi (Resim 30B). Desidual alanda bulunan glikojen hücrelerinde ise kuvvetli granüler tarzda reaksiyon dikkati çekti. Desidua hücrelerinde ise çeşitli kuvvetlerde reaksiyon tespit edildi. Desidua bazaliste MLAp ile uyumlu bölgede uNK hücresi olduğu düşünülen PAS pozitif hücrelere rastlandı (Resim 30C,D). Serozada da kuvvetli PAS pozitivitesi görüldü.



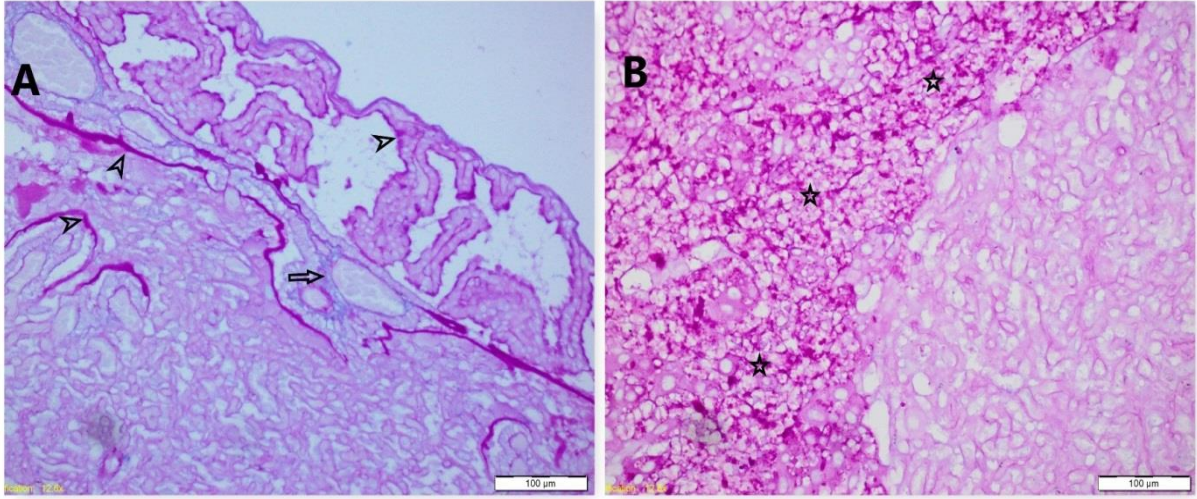
**Resim 30.** Gebeliğin on yedinci günü. A) Vitellus kesesi bazal membranı (siyah okbaşı) ve epitel yüzeyinde (beyaz okbaşı) kuvvetli PAS reaksiyonu. B) Bağlantı zonunda çok kuvvetli granüler tarzda PAS pozitif reaksiyon gösteren glikojen hücre toplulukları (\*). C-D) MLAp ile uyumlu bölgede uNk hücreleri olduğu düşünülen PAS+ hücreler (içi boş oklar). PAS boyama yöntemi. Bar 100 µm.

#### 4.3.2.2. AB pH 2.5 boyama yöntemi

On yedinci günde, vitellüs kesesi bazal membranında orta ve epitel yüzeyinde düşük derecede AB pH 2.5 pozitifitesi gözlemlendi. Koryonik plak bölgesindeki damar duvarlarında ve bu damarların çevresindeki bağ dokuda değişik derecelerde AB pH 2.5 reaksiyonu görüldü. Labirintte tüm damar duvarlarında düşük şiddette pozitifiteye rastlandı. Bağlantı zonunda glikojen hücrelerinin sitoplazmalarında farklı kuvvetlerde reaksiyon gözlemlendi.

#### 4.3.2.3. PAS / AB pH 2.5 boyama yöntemi

On yedinci günde, vitellüs membranı ve epitel yüzeyinde büyük oranda PAS pozitivitesi izlense de (Resim 31A) eşit düzeyde boyanan kısımlara da rastlandı. Reichert's Membranı, labirintteki damar endotelleri, glikojen hücreleri (Resim 31B), spongiotrofoblast hücreleri ve serozada PAS pozitivitesine görüldü.



**Resim 31.** Gebeliğin on yedinci günü A) Vitellüs kesesi ve koryonik plakta PAS pozitif reaksiyonlar (okbaşları). Bar 100 µm. B) Labirint-bağlantı zonu geçişi. Kuvvetli reaksiyon gösteren glikojen hücre topluluğu (yıldızlar). PAS/AB pH2.5 boyama yöntemi. Bar 100 µm.

#### 4.3.2.4. AF pH 1.0 boyama yöntemi

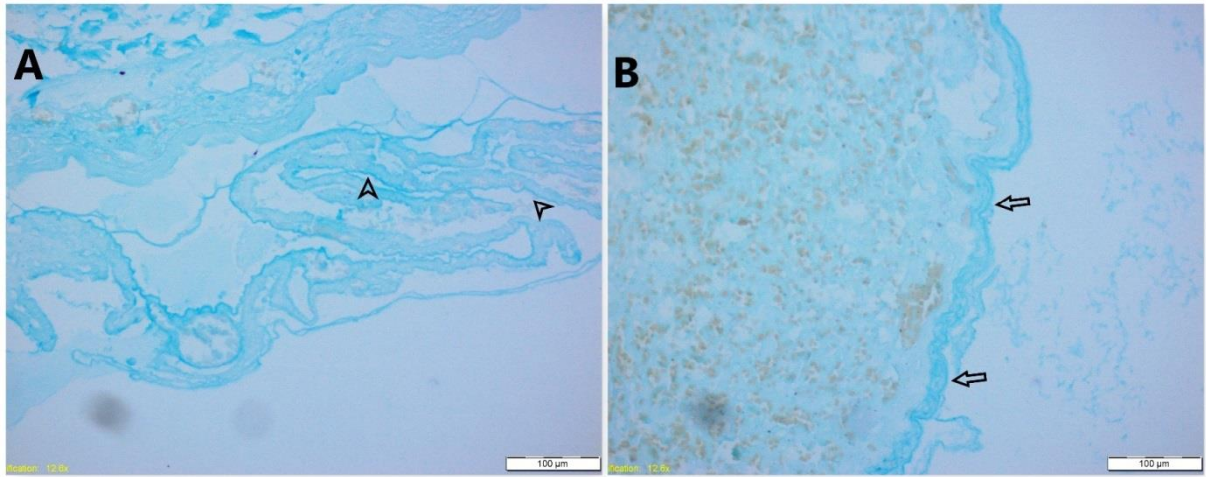
On yedinci günde, vitellüs kesesi epitel hücre yüzeyinde, labirintteki damar endotellerinde ve koryonik plaktaki damar duvarlarında orta kuvvette AF pH2.5 pozitivitesine rastlandı. Bağlantı zonunda bulunan glikojen hücrelerinde kuvvetli reaksiyon gözlemlendi. Spongiotrofoblast hücrelerinde ve izlenebilen desidua alanlarında düşük derecede reaksiyon görüldü.

#### 4.3.2.5. AB pH 1.0 boyama yöntemi

Uygulanan boyama yöntemi sonucunda serozada ve glikojen hücrelerinde farklı kuvvetlerde reaksiyon izlenirken labirintte boşlukları kaplayan damar duvarlarında düşük düzeyde reaksiyon gözlemlendi.

#### 4.3.2.6. AB pH 0.5 boyama yöntemi

Uygulanan boyama yönteminde serozada ve vitellus kesesi epitel yüzeyinde (Resim 32A) orta kuvvette reaksiyon izlendi. Labirintin amnion boşluğuna bakan sınırında (Resim 32B), koryonik plak bölgesinde ve damar duvarlarında orta derecede reaksiyon gözlemlendi.



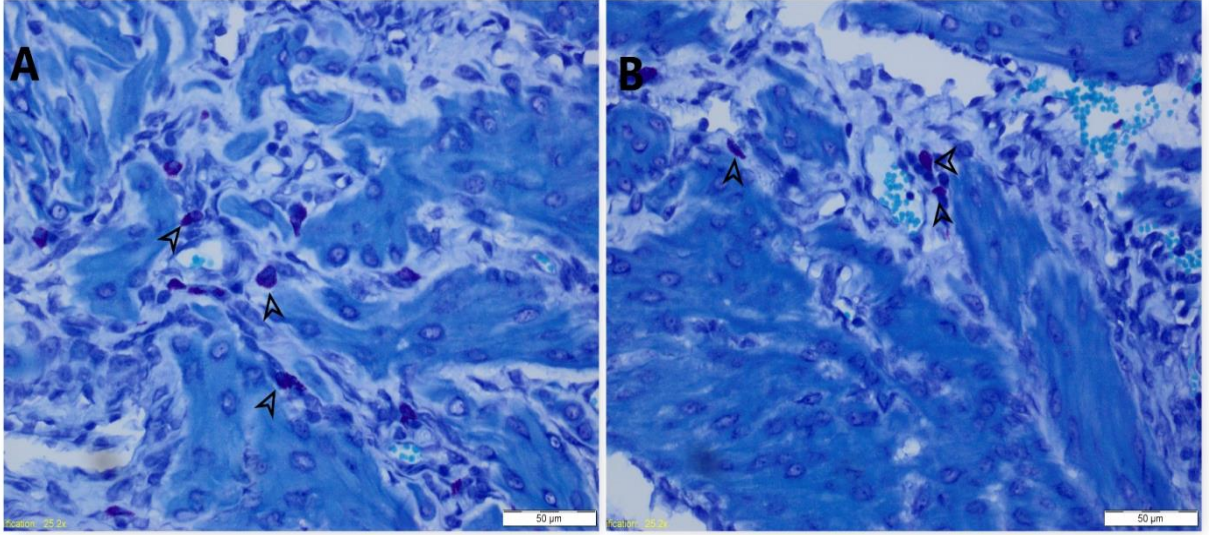
**Resim 32.** Gebeliğin on yedinci günü. A) Vitellus kesesi epitel yüzeyinde orta kuvvette reaksiyon (ok başları). B) Labirintin amnion boşluğuna bakan sınırında orta kuvvette reaksiyon (oklar). AB pH 0.5 boyama yöntemi. Bar 100 µm.

#### 4.3.2.7. AF/AB pH 2.5 boyama yöntemi

On yedinci günde, vitellüs kesesi bazal membranı ve epitel yüzeyinde AF pozitifitesi izlendi. Reichert's Membranı, labirintteki damar duvarları, glikojen hücreleri, spongiotrofoblast hücreleri ve serozada AF pozitifitesine rastlandı.

#### 4.2.4.8. TB boyama yöntemi

On yedinci güne ait plasenta kesitlerinde, onuncu günün bulguları ile uyumlu olarak mezometriyumda, plasentaya uzak bağ dokuda, serozaya yakın kılcal damar etrafında mast hücreleri saptandı (Resim 33A,B).



**Resim 33.** Gebeliğin on yedinci günü. A-B) Kılcal damarlar etrafında izlenen mast hücreleri (okbaşları). TB boyama yöntemi. Bar 50 µm.

**Tablo 7.** Gebeliğin on yedinci gününde histokimyasal reaksiyonlar

	PAS	AB pH 2.5	PAS+AB	AF	AB pH 1.0	AB pH 0.5	AF+AB
Mezometriyal desidua (Desidua bazalis)	(+++)	-	PAS,	(+++)	-	(++)	AF
Bağlantı zonu Spongiotrofoblast	(+++)	-	PAS	(++)	-	-	AF
Bağlantı zonu Glikojen Hücreleri	(+++)	(+)	PAS	(+++)	-	(++)	AF
Labirint P-TGC	(++)	(+)	PAS	(++)	-	(++)	AF
Labirint	(+++)	(Damar duvarları, koryonik plakta+)	PAS	(++)	(+)	(+)	AF
Vitellus kesesi	(+++) Bazal membran ve epitel yüzeyi	(Bazal membran,++) (Epitel yüzeyi, +)	PAS ve birbirine benzer	(Bazal membran,++) (Epitel yüzeyi, +++)	(++)	(++)	(Bazal membran,++) (Epitel yüzeyi, +++)

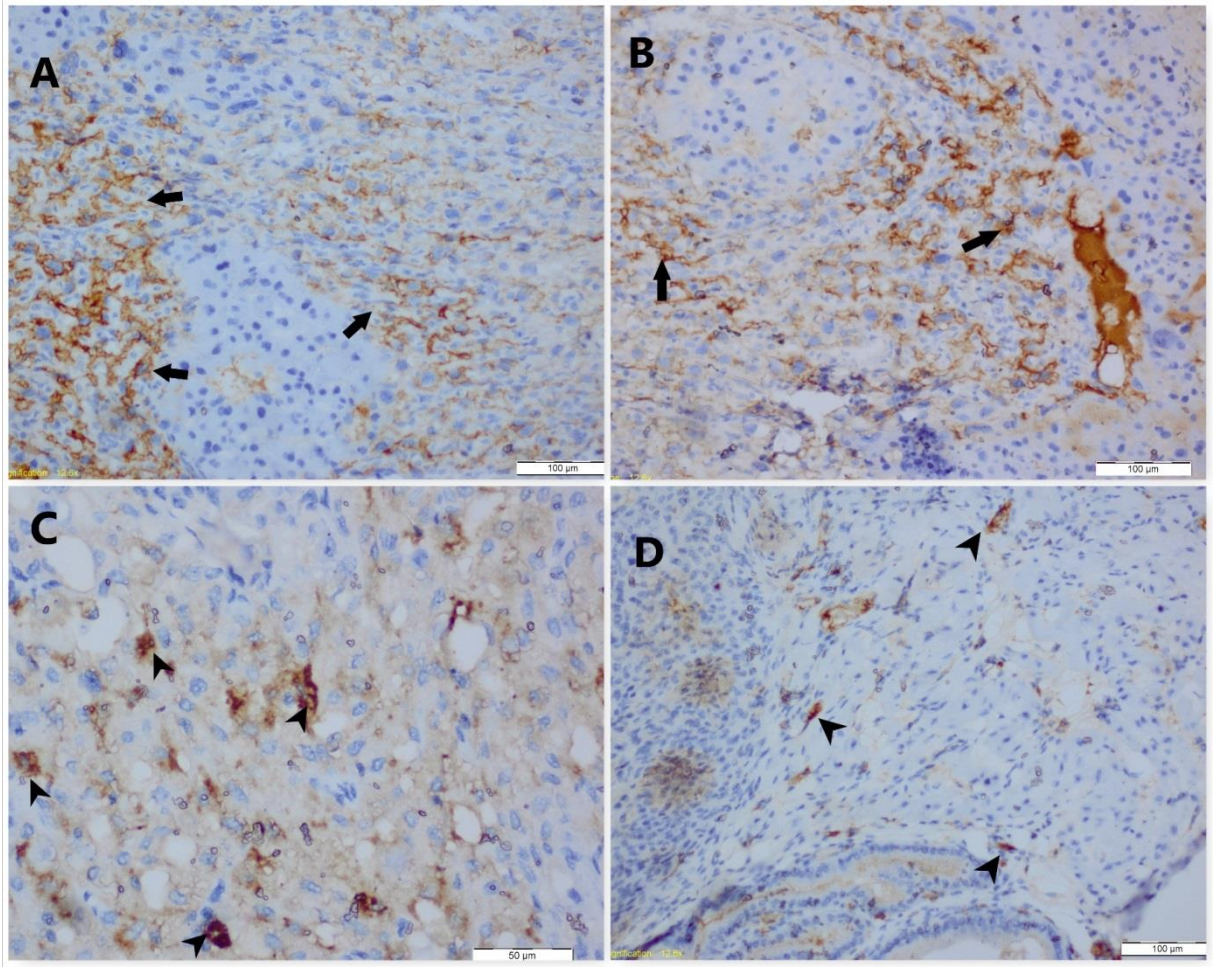
Yok (-) Zayıf (+), Orta (++) , Kuvvetli (+++).

### 4.3.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

İmmünohistokimyasal boyama yöntemleri ile gözlenen reaksiyonlar Tablo 8’de verildi.

#### 4.3.3.1. IgG ekspresyonu

Uygulanan sABC boyama yöntemi sonucu, labirintte genel olarak IgG ekspresyonu gözlemlendi (Resim 34A,B). Bağlantı zonunda spongiotrofoblast hücreleri reaksiyon göstermezken glikojen hücrelerinde IgG pozitif hücelere rastlandı (Resim 34C). Desidua bazalinde MLAP ile uyumlu alanlarda IgG pozitif hücelere gözlemlendi (Resim 34D).

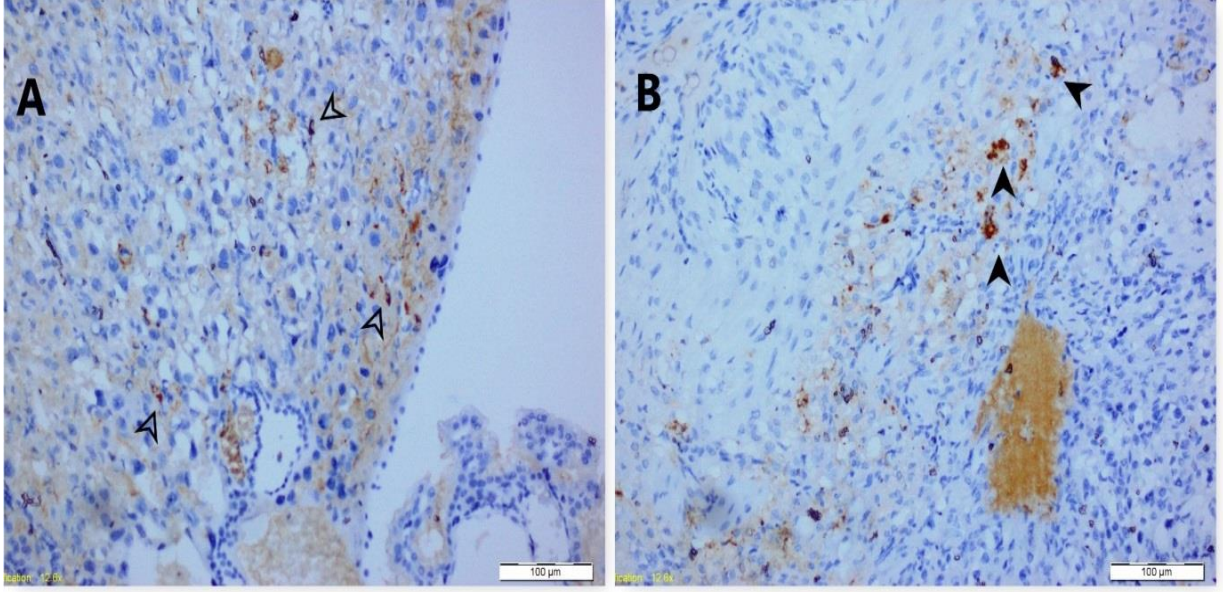


**Resim 34.** Gebeliğin on yedinci günü. A-B) Labirint zonunda IgG pozitif alanlar (oklar). Bar 100 µm. C) Bağlantı zonunda pozitif reaksiyon gösteren glikojen hücreleri (okbaşları). Bar 50 µm. D) Desidua bazaliste IgG pozitif hücreler (okbaşları). sABC boyama yöntemi. Bar 100 µm.

#### 4.3.3.2. Vimentin

On yedinci günde, labirint zonunda vimentin ekspresyonu gösteren hücreler tespit edildi (Resim 35A). Aynı zamanda desidua da, MLAp da sitoplazmalarında granüler tarzda pozitivite gösteren vimentin pozitif hücreler görüldü (Resim 35B).

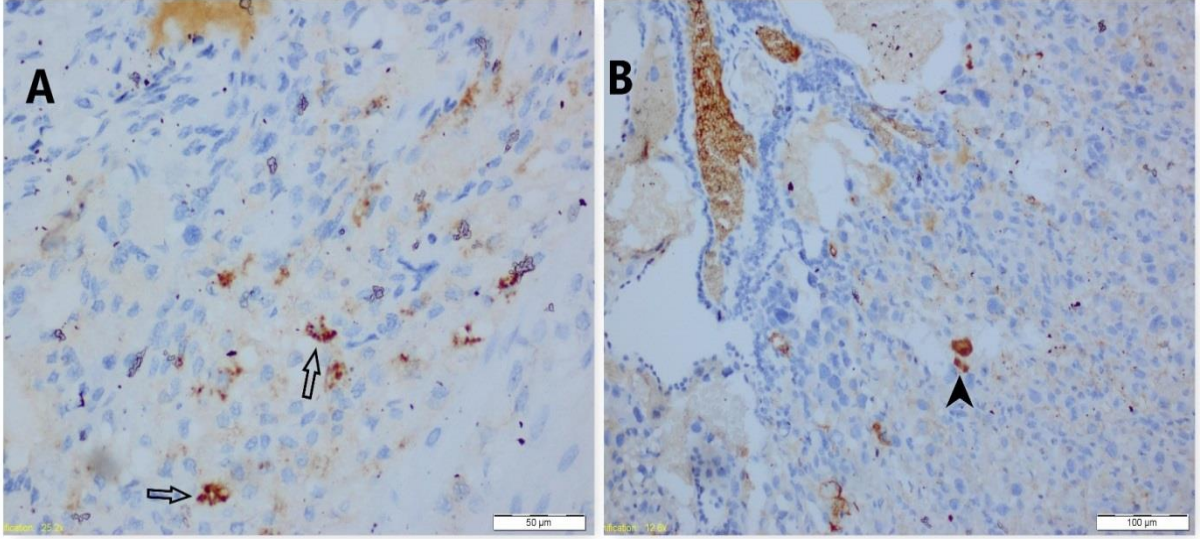




**Resim 35.** Gebeliğin on yedinci günü A) Labirintte görülen vimentin pozitif hücreler (beyaz okbaşları). B) MLAp da granüler tarzda reaksiyon gösteren vimentin pozitif hücreler (siyah okbaşları). sABC boyama yöntemi. Bar 100 µm.

#### 4.3.3.3. CD45

On yedinci günde, vitellüs kesesi ve labirint zonda genel olarak anlamlı reaksiyon gözlenmedi. Mezometriyumun MLAp bölümünde vimentin ekspresyonunun görüldüğü alanlar ile uyumlu bölgede granüler tarzda pozitivite gösteren bazı CD45 pozitif hücreler görüldü (Resim 36A). Koryonik plağa yakın birkaç P-TGC' de CD45 ekspresyonuna rastlandı (Resim 36B). Bağlantı zonunda spongiotrofoblastlarda pozitivite gözlenmezken, az sayıda glikojen hücresinde CD45 ekspresyonu gözlemlendi.



**Resim 36.** Gebeliğin on yedinci günü A) MLAp bölgesinde CD45 pozitif hücreler (oklar). Bar 50 µm. B) Koryonik plak bölgesine yakın konumlu CD45 pozitif P-TGC (okbaşı). sABC boyama yöntemi. Bar 100 µm.

**Tablo 8.** Gebeliğin on yedinci gününde immünhistokimyasal reaksiyonlar.

	<b>IgG</b>	<b>Vimentin</b>	<b>CD45</b>
<b>Mezometriyal desidua (Desidua bazalis)</b>	(++) MLAp ile uyumlu bölgeler	(+++) MLAp ile uyumlu bölgelerde	(+++) MLAp ile uyumlu bölgelerde
<b>Bağlantı</b>			
<b>Zonu</b>			
<b>Glikojen Hücreleri</b>	(++)	-	(++)
<b>Spongiotrofoblast</b>	-	-	-
<b>Labirint</b>			
<b>P-TGC</b>	(+)	(++)	(++)
<b>Labirint</b>	(++)	(++)	Koryonik plak yakınlarına (+++)
<b>Vitellus kesesi</b>	-	-	-

Yok (-) Zayıf (+), Orta (++) , Kuvvetli (+++).

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Histolojik Değerlendirmeler

Edwards ve ark. (2014) alışmalarında preimplantasyon dönemindeki fare uterusunun, mikroskopik olarak olağan gözüktüğünü bildirmektedirler. Endometriyumun uterin lümen epiteli, bez epiteli ve stromadan oluştuğu, sirküler ve longitudinal miyometriyumun endometriyumu sardığı ve en dışta perimetriyumun bulunduğunu belirtmişlerdir (Edwards ve ark, 2014).

Sunulan çalışmada genel olarak dördüncü günde uterusun histolojik yapısının korunduğu görüldü. Endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum yapısının genel olarak olağan olduğu gözlendi. Sadece bazı kısımlarda endometriyumun yapısal olarak bozulma gösterdiği, bazı stromal hücrelerin yapısal olarak farklılaşmaya başladığı gözlendi.

Farelerde gebeliğin 4.5. gününde implantasyonun gerçekleştiği ve implantasyon sonrasında uterusu bir takım değişiklikler yaşandığını bildirilmektedir (Enders ve Blankenship, 1999). Bir başka çalışmada ise farelerde gebeliğin 3.5- 4. günleri arasında implantasyonun gerçekleştiği ve implantasyonun tam anlamıyla bir desidualizasyonu başlattığı belirtilmiştir (Arvola, 2001).

Farelerde yapılan diğer birkaç çalışmada ise (Rossant ve Cross, 2001; Watson ve Cross, 2005; Deb ve Paria, 2006) implantasyonun 4.5.- 5. gebelik gününde gerçekleştiği bildirilmektedir. Deb ve Paria (2006), desidualizasyon sürecinin implantasyon sonucunda oluşan bir yanıt olduğunu, implantasyonun uterus stromal hücrelerinin proliferasyonunun ve farklılaşmasının başlatıcısı olduğunu belirtmektedir.

Embriyo kayıplarının ve embriyo kusurlarının erken evrenmesi üzerine yine farelerde yapılan bir başka çalışmada da implantasyon alanının en erken gebeliğin beşinci gününde gözlenebildiği bildirilmiştir (Flores ve ark, 2014).

Sur ve ark. (2015) implantasyonun şekillenmesi ile implantasyonun olduğu mezometriyal kısımda desidualizasyonun başladığını bildirmişlerdir.

Sunulan tez çalışmasında gebeliğin dördüncü gününde alınan uterus örneklerinde makroskopik ve mikroskopik olarak herhangi bir implantasyon bulgusuna rastlanmadı. Örneklerin detaylı mikroskopik değerlendirmesinde dördüncü güne ait uterus preparatlarında tam bir desidualizasyon alanı izlenmedi.

Fare plasentasında desidualizasyonun ilerlemesiyle gebeliğin ikinci ve üçüncü haftalarında plasentanın olgun yapısına ait kısımların oluşmaya başladığı bildirilmiştir (Sur ve ark, 2015). Sunulan çalışmada da gebeliğin onuncu gününden itibaren plasentanın ana kısımlarının şekillenmeye başladığı, on yedinci gebelik gününde de olgun plaseenta yapısının oluştuğu gözlemlendi.

Gebeliğin onuncu gününe doğru fetal kan damarlarının oluşmaya başladığı, bu kan damarlarının maternal kan boşluklarını saran trofoblastlara yaygın olarak invaze olduğu ve gebeliğin 12. gününde bunun net olarak gözlemlenebildiği bildirilmiştir (Enders ve Blankenship, 1999). Sunulan tez çalışmasında gebeliğin onuncu gününde labirint kısmının kurulmaya başladığı maternal ve fetal kan hücrelerinin net ayırt edilebildiği ve labirintteki maternal, fetal yapıların düzensiz olarak yerleştiği ve oluşum aşamasında olduğu gözlemlendi.

Flores ve ark. (2014) gebeliğin 9. gününde desidua kapsularis olarak adlandırılan antimezometriyumun, mezometriyal kutbun tam karşısında, mezometriyal kutba göre oldukça incelmış fakat çok daha yoğun ve sık hücre içerdiği ve çok daha az vaskülarize olduğunu gözlemlenmişlerdir. Ayrıca bu dönemde çekirdekli fetal eritrositlerin net olarak izlendiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada 10. ve 13. gebelik günleri incelendiğinde, plasentanın labirint zonu, TGC zonu ve spongiotrofoblast zonu olmak üzere olgun plaseenta benzeri bir görünüm kazandığı ve desidua kapsularisin ve aradaki TGC'lerin gerilemeye başladığı belirtilmiştir (Flores ve ark, 2014). Sunulan tez çalışmasında bu çalışma ile paralel histolojik bulgular elde edildi. Gebeliğin onuncu gününde antimezometriyal desidua (desidua kapsularis) mezometriyal desiduya (desidua bazalis) göre oldukça incelmış ve çok daha az vaskülarize idi ve hücresel yoğunluğu çok daha fazlaydı. Çalışmamızda da onuncu günde fetal eritrositler çekirdekli ve maternal eritrositlerden net olarak ayırt edilebilir görünümdeydi.

Edwards ve ark. (2014) gebeliğin 9.5 günündeki fare uterusunda büyük bir amnion boşluğu, belirgin bir maternal desidua ve lümen kalıntısı izlendiğini belirtmişlerdir. MLaP'ın genişlediği, miyometriyumun arasına konumlandığı ve miyometriyumu böldüğü belirtilmiştir. Bu değişikliklerin mezometriyumda olduğu, antimezometriyumun ise daha ince olduğu bildirilmektedir (Edwards ve ark, 2014). Aynı çalışmada gebeliğin 10.5 gününde olgun plasentanın genel olarak oluşmuş olduğu, trofoblastik dev hücre, spongiotrofoblast ve labirint tabakasının belirgin olarak ayırt edilebildiği belirtilmektedir. TGC'lerin labirinti sonlandırdığı, labirintte de çekirdekli fetal eritrositler ve çekirdeksiz maternal eritrositlerin kolayca ayırt edildiği ifade edilmiştir. Spongiotrofoblast tabakasının labirintten kolayca ayırt edildiği, amnion boşluğunun oldukça genişlediği, lateral ve antimezometriyal desiduanın gerilemeye başladığı belirtilmiştir (Edwards ve ark, 2014). Sunulan tez çalışmasında da

gebeliğin onuncu gününde bu histolojik görüntüleri destekler sonuçlar gözlemlendi. Labirintin kurulmaya başladığı ve diğer tabakalardan ayırt edildiği, antimezometriyal tabakanın mezometriyuma göre oldukça incelendiği, MLAp'ın oldukça genişlediği, çekirdekli fetal eritrositlerin net olarak labirintte seçilebildiği görüldü.

Harem ve Alabay (2018), rat plasentasında gebeliğin onbeşinci gününde labirintte topluluk yapmış glikojen hücreleri yanında büyük çekirdekleri ve geniş sitoplazmaları ile karakterize dev hücreler tespit etmişlerdir. Yirminci günde ise dev hücreler, desidua bölgesinde yer yer vakuollü hücreler, maternal ve fetal damarlar etrafında koyu çekirdekleriyle küçük bazofilik hücreler ve çok çekirdekli trofoblast hücreleri gözlediklerini bildirmişlerdir (Harem ve Alabay, 2018). Sunulan çalışmada on yedinci günde bağlantı zonunda ve yer yer desidua bazalinde yerleşim gösteren glikojen hücrelerine rastlandı. Ayrıca labirintte ve labirinti sınırlandıran kısımda dev hücreler gözlemlendi.

Edwards ve ark. (2014) fare plasentasında gebeliğin 15.5 gününde plasentanın tamamen antimezometriyumda yoğunlaştığı, daha önceki günlerde belirgin olan desidua bazalis ve MLAp'ın gerilemeye başladığını bildirmişlerdir. Uterin kavitenin tamamen re-epitelize olup kalıntı haline geldiği belirtilmektedir. Aynı çalışmada gebeliğin 19.5 gününde plasentanın tam anlamıyla olgun plasentanın tüm histolojik özelliklerini taşıdığı fakat gebeliğin son günleri olması nedeniyle bazı membranların dilate görünmeye başladığı bildirilmektedir (Edwards ve ark, 2014). Sunulan tez çalışmasında gebeliğin on yedinci gününde olgun fare plasentasının tüm histolojik katmanları izlenebildi. Araştırmacıların bulguları ile uyumlu olarak MLAp ve desidua bazalisin gerilediği, plasentanın sadece antimezometriyumda yerleşim gösterdiği gözlemlendi. On yedinci günde lamina epitelyalis ve uterin kavite izlenmedi.

## **5.2. Histokimyasal Değerlendirmeler**

Sıçanda yapılan bir çalışmada (Mutluay, 2019) gebeliğin beşinci gününde alınan örneklerde bazal membran bütünlüğünün devam ettiği ve bazal membranın PAS pozitif olduğu bildirilmiştir. Sunulan çalışmada da gebeliğin dördüncü gününde bazal membranda PAS pozitivitesi gözlemlendi.

Harem ve Alabay (2018), ratlarda gebeliğin altı, on, on beş ve yirminci gününe ait plasenta örneklerine PAS, AB PH 2.5, PAS/AB boyama yöntemleri uygulamışlardır. PAS histokimyasal boyamasında 10. günde TGC'lerde ve diğer trofoblastlarda pozitivite gözlemlendiği, 15. ve 20. günlerde Gly-C ce TGC'lerde yoğun PAS pozitivitesi görüldüğü

belirtilmiştir. AB pH 2.5 boyamasında onuncu günde trofoblastlarda ve TGC'yi saran kapsülde yine soluk AB boyanması gözlemlendiği belirtilmiştir. PAS/AB pH 2.5 boyamasında onuncu günde TGC'lerde soluk bir AB pozitifliği gözlemlendiği, on beşinci ve yirminci günde ise TGC'lerde PAS pozitifitesi görüldüğü ve yirminci günde trofoblastlarda da PAS pozitifitesi gözlemlendiği bildirilmiştir (Harem ve Alabay, 2018). Sunulan tez çalışmasında gebeliğin onuncu gününde yapılan çalışma ile uyumlu olarak Gly-C ve TGC'lerde yoğun PAS pozitifitesi izlendi. On yedinci günde de Gly-C'lerde yoğun PAS boyanması görüldü. AB pH 2.5 boyamasında onuncu günde TGC zayıf olmak üzere, Gly-C ve labirintte orta kuvvette reaksiyon gözlenirken, on yedinci günde Gly-C'lerde AB reaksiyonu gözlemlendi.

Streptozotosin uyarımlı diyabetik sıçanlarda kuersetinin plasenta morfolojisi üzerinde yarattığı etkinin araştırıldığı bir çalışmada (Erşahin ve ark, 2016) kontrol grubuna ait sıçanlarda gebeliğin 21. gününde uygulanan PAS boyaması sonucunda kontrol grubunda plasentanın maternal bölümünde yüksek miktarda, labirint zonunda ise düşük miktarda PAS reaksiyonu görüldüğü bildirilmiştir. Sunulan tez çalışmasında ise gebeliğin on yedinci gününe ait plasenta örneklerinde hem labirintte hem de maternal alanda değişik yoğunlukta PAS reaksiyonu gözlemlenmiştir.

Farelerde gebeliğin ilerleyen dönemlerinde metriyal bölgede ve desidua bazaliste PAS pozitif alanlar görüldüğü bildirilmektedir (Sur ve ark, 2015). Sunulan tez çalışmasında da gebeliğin on yedinci gününde desidua bazaliste ve mezometriyumda PAS pozitif hücrelere rastlanmıştır.

Glikojen hücrelerinin gebeliğin 6.5 ve 12.5 günleri arasında PAS pozitif reaksiyon verdiği belirtilmiştir (Tesser ve ark, 2010). Sunulan çalışmada da Gly-C'ler gebeliğin onuncu ve on yedinci günlerinde PAS pozitif reaksiyon vermiştir.

Sur ve ark. (2015) çalışmalarında, gebeliğin ortalarında ve son günlerinde desidua bazalis içerisinde yoğun PAS pozitifitesi gösteren uNK hücrelerine rastlandığını bildirmişlerdir. Bu hücrelerin sayısının gebeliğin ortasında çok fazla olduğu, gebelik sonlarına doğru kayda değer bir azalma görüldüğü belirtilmektedir (Sur ve ark, 2015). Sunulan çalışmada çalışılan tüm gebelik günlerinde MLAp da PAS pozitif uNK olduğu düşünülen hücreler tespit edildi. Bu hücrelerin sayısının kalitatif olarak, onuncu gebelik gününde en yoğun olduğu belirlenmiştir.

Gebeliğin onsekizbuçüçüncü gününde fare plasentasında yapılan de-sellülarizasyon işlemi ardından uygulanan PAS/AB histokimyasal uygulaması sonrasında, glikojen hücrelerinin AB pozitifitesi gösterdiği bildirilmiştir (Barreto ve ark, 2019). Yaptığımız tez çalışmasında gebeliğin on yedinci gününde glikojen hücrelerin PAS pozitifitesi izlendi.

Yapılan çalışmada da bağlantı zonunda glikojen hücrelerinde farklı düzeyde AB pH 2.5 pozitivitesi gözlemlendi.

### 5.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirmeler

#### 5.3.1. IgG

İmmünglobulinler organizma savunmasında önemli rol oynayan hayati moleküllerdir. Gebelikte de önemli rol oynadıkları bilinmektedir. İmmünglobulinler ve plasenta çeşitleri hakkında yapılan araştırmalarda, en kolay geçişe izin veren plasenta çeşidinin, hemokoryal plasentalar olduğu bildirilmiştir (Borghesi ve ark, 2014). IgG' in plasentadan geçiş yapabilen tek immünglobulin olduğu bilinmektedir (Palmeira ve ark, 2012; Borghesi ve ark, 2014). Farelerde immünglobulin A ve G'nin gebelik boyunca uterus, plasenta ve embriyodaki yerleşimi araştırılmıştır. Araştırmaya göre gebeliğin tüm safhalarında endometriyumunda, uterin bezlerde, lümende ve az miktarda vitellüs kesesinde IgA ve IgG gözlenmiştir, fakat gebeliğin hiçbir döneminde IgA, embriyo ve plasentada gözlenmemiş, yalnızca IgG plasentanın ve embriyonun çeşitli kısımlarında belirlenmiştir (Parr ve Parr, 1985). İnsanda gebeliğin ilk döneminde IgG, IgA ve IgM'nin lokalizasyonlarının incelendiği bir çalışmada (Gurevich ve ark, 2003), desidual dokuda bu üç immünglobuline rastlanırken, fetal membranlarda çok zayıf boyanma şeklinde IgA, plasental dokularda IgG ekspresyonu gözlenmiştir. Sunulan tez çalışmasında da preimplantasyon dönemi olan dördüncü gündeki uterus kısımlarında, onuncu ve on yedinci günde IgG ekspresyonunu gözlemlendi.

Fare plasentasında yapılan immünohistokimyasal bir çalışmada (Stewart, 1985) gebeliğin onuncu ve on dördüncü günlerinde IgG'nin maternal dokulardaki lokalizasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Söz konusu çalışmada IgG'nin sadece intersellüler alanda gözlemlendiği, desidua bazaliste, metriyal bezlerin stromal hücrelerinde ve granüllü metriyal bezlerde IgG ekspresyonu gözlenmemiştir. Sunulan tez çalışmasında bu çalışmanın aksine gebeliğin onuncu ve on yedinci günlerinde desidual ve mezometriyal alanlarda IgG ekspresyonu gözlemlendi.

FcRn, IgG homeostazisinin düzenlenmesinde ve polarize epitel bariyerleri boyunca IgG taşınmasında merkezi bir rol oynayan MHC sınıf I ile ilgili bir moleküldür. Plasentadaki IgG transferinin arkasında rol alan asıl faktör FcRn'dir (Wilcox ve ark, 2017). Epitel hücreleri, endotel hücreleri ve miyeloid türevli antijen sunan hücreler dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından ekspresyon edilir (Fouda ve ark, 2018).



Farelerde IgG taşınmasını sağlayan esas molekül olan FcRn'nin immünohistokimyasal ve insitü hibridizasyon yöntemleriyle belirlenmesi amaçlanan bir çalışmada her iki metodla IgG' nin insan plasentasında sinsityotrofoblastlar tarafından eksprese edildiği bildirilmiştir (Simister ve ark, 1996). Yapılan çalışmada on yedinci güne ait placent örneklerinde, insan koryon villuslarının muadili olarak belirtilen labirint zonunda IgG ekspresyonu gözlemlendi.

Plasental IgG taşınması ile ilgili yapılan bir çalışmada, insan plasentasında koryon villuslarda bulunan sinsityotrofoblastların mikrovillus yüzeyinde, apikal ve bazal yüzeylerinde bulunan büyük granüllerde, villus stromasında IgG ekspresyonu gözlemlendiği belirtilmiştir (Kristoffersen, 2000). Yapılan tez çalışmasında da koryon villusları ile görev açısından homolog sayılan labirintte IgG ekspresyonuna rastlandı.

Son dönemdeki insan plasentasında, IgG ve FcRn'nin koryon villuslarını saran sinsityotrofoblast tabakasında, plasental endotelial hücrelerinde ve koryon villuslarındaki makrofajlarda ekspre edildiği belirtilmiştir (Kiskova ve ark, 2019). Sunulan çalışmada insan plasentasındaki koryon villuslarının homoloğu olan labirint zonunda IgG ekspresyonu gözlemlendi.

Fare plasentasında FcRn ile ilgili yapılan bir çalışmada ise vitellus endoderminde ekspresyonun görüldüğü, plasentada ekspresyona rastlanmadığı bildirilmiştir (Kim ve ark, 2009). Sunulan çalışmada ise labirintte, desiduada ve bağlantı zonunda IgG ekspresyonu izlendi.

Çeşitli türler arasında plasentada IgG geçişini belirlemek amacıyla yapılan immünohistokimyasal çalışmada (Latvala ve ark, 2017) hemokoryal plasentaya sahip insan ve uzun kuyruklu makaklarda FcRn' ye koryon villuslarında sinsityotrofoblast hücrelerinde ve fetal endotel hücrelerinde rastlandığı bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada ratlarda vitellus kesesi endoderm hücrelerinde, labirint zonunda, yabancı tip farelerde sadece vitellus endoderminde FcRn varlığı gözlemlenmiştir. Sunulan tez çalışmasında gebeliğin 17. gününde bağlantı zonundaki glikojen hücrelerinde ve labirint zonunda IgG pozitifitesine rastlanmıştır.

### **5.3.2. Vimentin**

Vimentin, hücre iskeletinde ara filamanlar tarafından eksprese edilen bir proteindir. Ara filamanlar, ökaryotik hücrelerde mikrotübüller ve aktin mikrofilamanlarıyla beraber, hücre iskeletini oluşturur. Çoğu ara filamanın yapısı kararlı olsa da, vimentin değişken bir yapıya sahiptir. Vimentin organellerin yerini sabitlemeye yarar, hücreye esneklik sağlar ve hücre

içinde kolesterol taşınmasında rol oynar. Vimentin ve mikrotübüller arasında sıkı ilişkiler vardır. Vimentin yalnızca mezenkimal kökenli hücreler tarafından eksprese edilir. Mezenkimal kökenli hücrelerin belirleyicisi olarak kabul edilir (Mc Cance ve Huether, 2014). Edwards ve ark. (2014) gebe olmayan fare uteruslarında antivimentin antikorumun stromal fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından eksprese edildiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmada implantasyon sonrasında uterus endotel hücrelerinde ve gelişme evrelerindeki labirint kısmında ekspresyon saptandığı bildirilmiştir (Edwards ve ark, 2014). Yapılan başka bir çalışmada ise farenin plasental gelişiminde vimentin pozitivitesi gösteren trofoblastların, gebeliğin ortasında desidual dokuya invaze olmayı sağlayacak özellikte ve hızlı çoğalma yetisine sahip olduğu bildirilmektedir (De souza ve Katz 2001).

Son dönemdeki insan plasentasında yapılan bir çalışmada bazı trofoblast hücrelerinde vimentin ekspresyonu olduğu ve bu hücrelerin stromal-mezenkimal trofoblast hücreleri olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda vimentin pozitif hücrelerin CK5, 8, 10, 14 ve 19'u da eksprese ettiği belirtilmektedir (Abou-Kheir ve ark, 2015). Sunulan tez çalışmasında, son dönem fare plasentasası sayılan on yedinci güne ait plaseenta örneklerinde, insan plasentadaki koryon villuslarıyla homolog sayılabilecek labirint bölümündeki trofoblast hücrelerinde vimentin ekspresyonuna rastlandı.

Yine gebe farelerde implantasyon öncesi uterusun endometriyal stroma hücrelerinde vimentin pozitivitesi izlendiği bildirilmiştir (Edwards ve ark, 2014). Sunulan çalışmada ise gebeliğin dördüncü gününe ait örneklerde endometriyum stromal hücrelerinde vimentin pozitivitesi gözlemlendi. Reaksiyon yerleşiminin uterus bezlerinin etrafındaki stromada yoğunlaştığı dikkati çekti.

Gebeliğin son dönemindeki insan plasentasında yapılan bir çalışmada (Khong ve ark, 1986) koryon villus stromasında vimentin pozitivitesine rastlanırken, trofoblastlarda vimentin pozitivitesi görülmediği bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada miyometriyumdaki bağ dokuda, desidual hücrelerde ve stromada vimentin ekspresyonu gözlemlendiği belirtilmiştir (Khong ve ark, 1986). Sunulan tez çalışmasında da desidual stromada vimentin pozitivitesi gösteren hücreler olduğunu tespit edildi. Fakat bu çalışmadan farklı olarak, labirint zonunda bulunan trofoblastlarda da vimentin ekspresyonu gösteren hücreler görüldü.

Gebeliğinin son dönemine ait fare plasentasında, labirintte spongiotrofoblast tabakasının ve desiduanın vimentin pozitif immünreaksiyon verdiği bildirilmiştir (Scherholz ve ark, 2013). Yapılan tez çalışmasında da on yedinci güne ait fare plasentasında labirintte trofoblastların ve desidua kısmındaki bazı hücreleri vimentin pozitivitesi gösterdiği gözlemlendi.

Kobaylarda plasentadaki epidermal ve mezenkimal kökenli hücrelerin belirlenmesi amacıyla yapılan immünohistokimyasal çalışmada (Carter ve ark, 1998), plasentayı en dıştan saran hücresel membranda, vimentin ekspresyonu görüldüğü bildirilmiştir. Bu membranın rat ve faredeki Reichert's Membrani'yla homolog olduğu belirtilmiştir. Ayrıca plasenta içerisinde maternal- fetal yüze bakan kısımda bulunan trofoblastlarda da vimentin reaksiyonu gözlemlendiği bildirilmiştir (Carter ve ark, 1998). Bu bulgulara uyumlu olarak, sunulan tez çalışmasında da labirintte bulunan ve maternal-föetal yüzü saran trofoblastlarda vimentin pozitif reaksiyon gözlemlendi.

Farelerde gebeliğin 6.5 ve 12.5'uncu günleri arasında trofoblastlar üzerinde yapılan bir çalışmada (Scherholz ve ark, 2013), 7.5 gebelik gününde trofoblastik dev hücrelerde vimentin pozitivitesi gözlemlendiği bildirilmiştir. Daha sonra özelleşen TGC tiplerinden dev hücre zonundaki P-TGC ve labirintteki SpA-TGC, C-TGC, S-TGC'lerde yoğun vimentin ekspresyonu görüldüğü ifade edilmiştir (Scherholz ve ark, 2013). Yapılan tez çalışmasında da gebeliğin onuncu gününde P-TGC'lerde ve on yedinci gününde P-TGC ve labirintteki bazı hücrelerde vimentin pozitivitesi görüldü.

Farelerde gebeliğin 10.5. günlerinde plasentaya uygulanan vimentin immünohistokimyasal boyama yöntemi sonucunda (Edwards ve ark, 2014) spongiotrofoblastların vimentin negatif olduğu, labirint içinde ise vimentin pozitif alanlar olduğu bildirilmiştir. Ayrıca MLAp'ın yoğun vimentin pozitivitesi gösterdiği belirtilmiştir. Sunulan çalışmada da onuncu güne ait plasenta örneklerinde benzer bulgular elde edildi.

Rat uterusunda yapılan bir çalışmada (Korgun ve ark, 2007), gebeliğin dördüncü gününde endometriyum stromal hücrelerinde yaygın vimentin ekspresyonu gözlemlenmiştir. Altıncı gebelik gününde desidualizasyonun olduğu alanda luminal epitel yakınlarında ve implante olan embriyo etrafında vimentin pozitivitesine rastlanırken, sekizinci gebelik gününde tüm desidual alanlarda vimentin ekspresyonu görüldüğü bildirilmiştir (Korgun ve ark, 2007). Sunulan tez çalışmasında, fare uterusunda gebeliğin dördüncü gününde, vimentin pozitivitesi uterus bezleri etrafında yoğunlaşmış olarak gözlemlendi. Serozaya yakın tek hücre halinde ekspresyonlara da rastlandı. Gebeliğin onuncu gününde ise antimezometriyal serozada, desiduada ve P-TGC'lerde, mezometriyumun MLAp ile uyumlu alanlarında, desidua bazaliste MLAp'a komşu bölümlerde yoğun, labirinte doğru azalan vimentin ekspresyonu görüldü. Labirintte ise P-TGC'lerde pozitivite gözlemlendi.

Dokuzuncu ve onbirinci gebelik günleri arasında fare plasentasında yapılan bir çalışmada antimezometriyal, lateral ve mezometriyal alanlardaki P-TGC'lerde vimentin ekspresyonu gözlemlendiği bildirilmiştir (De souza ve Katz, 2001). Yapılan çalışmada da

araştırmacıları destekler nitelikte onuncu gebelik gününde, P-TGC’lerde vimentin pozitivitesi görüldü.

### 5.3.3. CD45

CD45, Ptpnc geni tarafından kodlanan pan-lökosit belirleyicisi bir antikordur. Aynı zamanda CD45’ in kemik iliği kökenli lenfosit ve miyeloid hücrelerini belirlediği bilinmektedir. Uterusta da reaktif lökosit popülasyonlarını belirlediği bildirilmektedir (Edwards ve ark, 2014).

İnsan plasentasında yapılan bir çalışmada gebeliğin 10. haftasında desidua CD45 pozitivitesine rastlanmıştır (Sharkey ve ark, 1999). Sunulan tez çalışmasında da fare plasentasında gebeliğin 10. ve 17. gününde desidual alan içerisinde yer alan MLAp’ta CD45 pozitivitesine rastlandı.

Gebe olmayan kadınlarda uterus makrofajların belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada (Kar ve ark, 2004), uterusun proliferasyon, sekresyon ve pre-ovulasyon dönemlerinde, uterus bezleri etrafında yoğunlaşmak üzere, uterus stromasında CD45 pozitivitesine rastlandığı bildirilmiştir (Kar ve ark, 2004). Sunulan tez çalışmasında pre-implantasyon aşamasındaki fare uterusunda uygulanan immünohistokimyasal uygulamada benzer sonuçlar elde edildi.

Gebe farelerde implantasyon öncesi uterus, endometriyum ve miyometriyum birleşme bölgesi boyunca ve bezler etrafında CD45 pozitivitesinin izlendiği bildirilmiştir (Edwards ve ark, 2014). Yapılan çalışmada da gebeliğin dördüncü gününde sunulan tez çalışmasını destekler nitelikte uterus bezleri etrafında CD45 pozitivitesi gözlemlendi.

Fare plasentasında hemopoietik hücre kümelerinin araştırıldığı bir çalışmada, 10,5’uncu gebelik gününde bu hücre kümelerinin CD45 pozitivitesi göstermediği fakat, 11,5’uncu gebelik gününde zayıf CD45 ekspresyonu gözlemlendiği belirtilmiştir (Sasaki ve ark, 2010). Sunulan tez çalışmasında gözlenen dördüncü, onuncu ve on yedinci gebelik günlerinin hepsinde CD45 ekspresyonu tespit edildi. Yine fare plasentasında hemopoietik kök hücre araştırılan bir çalışmada Ly-6a GFP transgenik farelerde on ikinci gebelik gününde izole edilen desidua, umbilikal ven hücrelerinde CD45 pozitivitesinin gözlenmediği yalnızca trofoblastlarda zayıf bir CD45 pozitivitesine rastlanıldığı bildirilmektedir (Ottersbach ve Dzierzak, 2005).

İneklerde MHC antijenlerinin ekspresyonunun araştırıldığı bir çalışmada (Low ve ark, 1990), uterus endometriyumunda luminal epitelde, uterus bezleri etrafında tek tek lokalize

olmuş CD45(+) hücrelerin bulunduğu, uterus stromasında nonspesifik hücre boyanmalarına rastlandığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada plasenta incelendiğinde geç gebelik döneminde allantois üzerinde birkaç CD45 pozitif hücre görüldüğü, koryollantoik membranda ve diğer kısımlarda pozitivite gözlenmediği belirtilmiştir (Low ve ark, 1990). Sunulan tez çalışması ve insan ve farelerde yapılan diğer çalışmalar (Sharkey ve ark, 1999; Kar ve ark, 2004; Ottersbach ve Dzierzak, 2005; Sasaki ve ark, 2010) ile karşılaştırıldığında Low ve arkadaşlarının (1990), belirttiği sonucun ineklerin evrimsel olarak farklı bir placentaya sahip olması ile açıklanabileceği düşünülmektedir.

Farelerde gebeliğin 9.5 ve 10.5 günlerinde uygulanan CD45 boyamasında MLAp'ın yoğun olarak CD45 pozitivitesi gösterdiği, desidua bazalisin diğer yerlerinde de CD45 pozitivitesine rastlandığı bildirilmiştir (Edwards ve ark, 2014). Yapılan tez çalışmasında da paralel sonuçlar elde edilmiştir. Aynı çalışmada gebeliğin 15.5. ve 19.5 günlerinde desidua bazaliste az sayıda CD45 pozitif hücre gözlemlendiği bildirilmiştir (Edwards ve ark, 2014). Sunulan tez çalışmasında gebeliğin on yedinci gününde, belirtilen çalışmayla uyumlu olarak, MLAp ile uyumlu alanda gebeliğin diğer günlerine göre az sayıda CD45 pozitif hücre gözlemlendi.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan tez çalışmasında gebeliğin başında, ortasında ve son dönemindeki fare plasentasının histolojik, histokimyasal ve immünohistokimyasal özellikleri belirlendi. Gebeliğin dördüncü gününde implantasyonun gerçekleşmediği, desidualizasyonun tam olarak oluşmadığı gözlemlendi. Histokimyasal olarak AF ve PAS boyama yöntemlerinde uterusun pek çok alanında pozitifite gözlemlendi. IgG, CD45 ve vimentin ekspresyonunun, uterus bezleri etrafında yoğunlaşması dikkati çekti. Mezenkimal kökenli desidua hücrelerinin oluşması beklenen endometriyumun stromasında yaygın vimentin pozitifitesi tespit edildi.

Gebeliğin onuncu gününde uterusun mezometriyum ve antimezometriyum olarak ayrıldığı ve plasantanın mezometriyumda lokalize olduğu görüldü. Onuncu günde fetal ve maternal yapılar net olarak ayırt edildi. Labirint zonun tam olarak son halini almadığı, trofoblastların dağınık halde bulunduğu gözlemlendi. Labirintteki fetal ve maternal kan hücreleri net olarak görüldü. Labirinti sınırlandıran P-TGC hücrelerinin sitoplazmalarında granüler tarzda IgG reaksiyonu tespit edildi. Mezometriyumda, maternal doku içerisinde MLAp olarak adlandırılan lenfosit infiltrasyonunun yoğun olduğu bir bölge dikkati çekti. Bu bölge içerisinde kuvvetli PAS reaksiyonu gösteren, uNK hücreleri olduğu düşünülen hücrelere rastlandı. Bu hücrelerin görüldüğü kısımlar ile uyumlu bölgelerde CD45 ekspresyonu belirlendi. Mezometriyal ve antimezometriyal alanlarda vimentin pozitif P-TGC' lere rastlandı.

Gebeliğin on yedinci gününde olgun fare plasantası tam olarak izlendi. Koryonik plak, labirint, bağlantı zonu, desidual zon net olarak ayırt edildi. Labirintte genel olarak fetal kan elemanları, fetal endotel, sinsiyo trofoblastlar (SynTC) ve bunların etrafında sinüzoid trofoblastik dev hücreler (S-TGC), maternal kan gölcükleri ve bu gölcükler içerisinde serbestçe dolaşan maternal eritrositler görüldü. Ayrıca farelere özgü homojen ve avasküler bir tabaka olan, plasentayı sınırlandıran ve tüm plasentayı embriyonal taraftan saran amnionun ve vitellus tabakasının altında kalan ince bir hat halinde uzanan Reichert's Membranı dikkati çekti. Yapılan histokimyasal boyamalarda PAS ve PAS/AB kombine boyamasında yoğun PAS pozitifitesi dikkati çekti. Yapılan IgG immünohistokimyasal boyamasında labirintte genel olarak IgG ekspresyonu gözlemlendi. Maternal kısımda MLAp ile uyumlu bölgede IgG, vimentin ve CD45 pozitifitesi görüldü.

Sonuç olarak sunulan çalışma ile gebeliğin üç farklı dönemindeki fare plasantasının histolojik, histokimyasal ve immünohistokimyasal özellikleri kaydedildi. Labirint zonunda bulunan trofoblastlarda da vimentin ekspresyonu gösteren hücrelerin bulunması araştırmanın

özgünlüğünü göstermektedir. Elde edilen bulguların, literatürde ihtiyaç olduğu düşünülen konularda bilgi birikimine katkı olacağı ileri sürülebilir.



## KAYNAKLAR

**Abou-Kheir W, Eid A, El-Merahbi R, Assaf R, Daoud, G.** A unique expression of keratin 14 in a subset of trophoblast cells. *PloS one* 2015, 10(10), e0139939.

**Abbas AK, Lichtman AH.** Temel İmmunoloji. İstanbul, *İstanbul Medikal Yayıncılık* 2007, 50-55.

**Adams AD, Guedj F, Bianchi DW.** Placental development and function in trisomy 21 and mouse models of Down syndrome: Clues for studying mechanisms underlying atypical development. *Placenta* 2020, 89(1), 58-66.

**Altin JG, Sloan EK.** The role of CD45 and CD45-associated molecules in T cell activation. *Immunol Cell Biology* 1997, 75(5), 430-45.

**Aplin JD.** Implantation, trophoblast differentiation and haemochorial placentation: mechanistic evidence in vivo and in vitro. *Journal of Cell Science* 1991, 99, 681-92.

**Ar MC, Patiroğlu T.** İmmunoloji / hematologlar için. Galenos Yayınevi, İstanbul, 2016.

**Arvola M.** Immunological aspects of maternal-foetal interactions in mice. Doctoral thesis, comprehensive summary. *Acta Universitatis Upsaliensis*, 2001, 13-33.

**Barreto RSN, Romagnoli P, Fratini F, Mess AM, Miglino MA.** Mouse placental scaffolds: a three-dimensional environment model for recellularization. *Journal of Tissue Engineering* 2019, 10, 1-11.

**Benirschke K, Burton GJ, Baergen RN.** Placental types. In :Pathology of the human placenta. Springer, Berlin, 2012, 27-39.

**Bertholin K Murphy BD.** Reproductive Track Changes During The Mouse Estrous Cycle. In: Croy BA, Yamada AT, DeMayo JF, The Guide to Investigation of Mouse Pregnancy. Elsevier, San Diego, 2014, s85-95.



**Borghesi J, Mario LC, Rodrigues MN, Favaron PO, Miglino MA.** Immunoglobulin transport during gestation in domestic animals and humans, a review. *Open Journal of Animal Sciences* 2014, 04(05), 323-336.

**Brathauer GL.** The avidin-biotin complex (ABC) method and other avidin-biotin binding methods. *Methods in Molecular Biology* 2010, 588, 257-70.

**Bulla R, Fischetti F, Bossi F, Tedesco F.** Feto-maternal immune interaction at the placental level. *Lupus* 2004, 13(9), 625-29.

**Burton GJ, Barker D, Moffett A, Thornburg K.** Introduction. In : Burton GJ, Barker D, Moffett A, Thornburg K (Eds). *The placenta and human developmental programming*. Cambridge University Press, New York, 2010, s1-5.

**Carter AM.** Animal models in fetal growth and development. In: Hau J, Steven J Schapiro, Gerald L (Eds). *Handbook of Laboratory Animal Science Volume II*. USA, 2002, 41-54.

**Carter AM.** Animal Models of Human Placentation – A Review. *Placenta* 2007, 28(SuppA), 41-47.

**Carter AM, Tanswell B, Thompson K, Han VK.** Immunohistochemical identification of epithelial and mesenchymal cell types in the chorioallantoic and yolk sac placentae of the guinea-pig. *Placenta* 1998, 19(7), 489-500.

**Chavatte-Palmer P, Tarrade A.** Placentation in different mammalian species. In *Annales D'endocrinologie* 2016, 77(2), 67-74.

**Chucri TM, Monteiro JM, Lima AR, Salvadori MLB, Kfoury JR, Miglino MA.** A review of immune transfer by the placenta. *Journal of Reproductive Immunology* 2010, 87(1-2), 14-20.

**Coan PM, Ferguson-Smith AC, Burton GJ.** Developmental dynamics of the definitive mouse placenta assessed by stereology. *Biology of Reproduction* 2004, 70(6), 1806-13.

**Cross JC, Werb Z, Fisher SJ.** Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. *Science* 1994, 266(5190), 1508-18.

**Culling CFA, Reid PE, Dunn WL.** A new histochemical method for the identification and visualization of both side chain acylated and non-acylated sialic acids. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 1956, 24, 1225-1230.

**Das SK.** Regional development of uterine decidualization: molecular signaling by Hoxa-10. *Molecular Reproduction and Development* 2010, 77(5), 387-96.

**Das SK, Lim H, Paria BC, Dey SK.** Cyclin D3 in the mouse uterus is associated with the decidualization process during early pregnancy. *Journal of Molecular Endocrinology* 1999, 22, 91.

**De Lemos MA.** How your mother tolerated you for nine months. *BioTeach Journal* 2003, 1, 27-9.

**De souza PC, Katz SG.** Coexpression of cytokeratin and vimentin in mice trophoblastic giant cells. *Tissue and Cell* 2001, 33(1), 40-45.

**Deb KF, Paria BC.** Methodologies to study implantation in mice. In: Soares MJ, Hunt MJ (Eds) *Placenta and Trophoblast*. New Jersey Springer, 2006, 470p, 9-34.

**Demir R.** Functional differentiation of the blastocystic ring trophoblast cells in the rat. *Biomedical Reviews* 1997, 8, 127-32.

**Demirhan B.** Plasentanın histopatolojik inceleme yöntemleri ve önemi. *Perinatoloji Dergisi* 1993, 1, 246-255.

**Diker S.** *İmmünoloji*, Medisan, Ankara, 1998, s304.

**Dixon D, Alison R, Bach U, Colman K, Foley GL, Harleman JL, Herbert RHR, Heuser A, Long G.** Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse female reproductive system. *Journal of Toxicologic Pathology* 2014, 27(3-4), 1-107.

**Doisne J, Balmas E, Boulenouar S, Gaynor LM, Kieckbusch J, Gardner L, Hawkes DA, Barbara CF, Sharkey AM, Brady HJM.** Composition, development, and function of uterine innate lymphoid cells. *The Journal of Immunology* 2015, 195(8), 3937-45.

**Edwards AK, Janzen-Pang J, Peng A, Tayade C, Carniato A, Yamada AT, Patricia DA, Tse D.** Microscopic Anatomy of the Pregnant Mouse Uterus Throughout Gestation. In: Croy BA, Yamada AT, DeMayo FJ, Adamson SL(eds.), *The Guide to Investigation of Mouse Pregnancy*, Academic Press, Boston 2014, 43-69.

**El-Hashash AHK, Warburton D, Kimber SJ.** Genes and signals regulating murine trophoblast cell development. *Mechanisms of Development* 2010, 127(1-2), 1-20.

**Enders AC, Blankenship TN.** Comparative placental structure. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1999, 38(1), 3-15.

**Erdost H.** Dişı Genital Sistem. In: Özer A.(eds) *Veteriner Özel Histoloji*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara 2010, 219-244.

**Eroschenko VP.** Atlas of Histology with Functional Correlations. *Wolters Kluwer Thirteenth*, 505-559, 617.

**Erlich P.** Ueber immunität durch vererbung und säugung. *Zeitschrift für Hygiene und Infektions-Krankheiten* 1892, 12, 183-203.

**Erşahin A, Hocaoğlı M, Demirer S, Cengiz F.** Kuersetin, streptozotosin uyarımlı diyabetik sıçanlarda metabolik devreleri ve plasenta morfolojisini iyileştirmektedir. *Perinatoloji Dergisi* 2016, 24(3), 147-55.

**Favaron P, Mess AM, Oliveira MF, Gabory A, Miglino A, Chavatte-Palmer P, Tarrade A.** Morphometric analysis of the placenta in the New World mouse *Necromys lasiurus* (Rodentia, Cricetidae): a comparison of placental development in cricetids and murids. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2013, 11(1), 10.

**Flores LE, Hildebrandt TB, Kühl AA, Drews B.** Early detection and staging of spontaneous embryo resorption by ultrasound biomicroscopy in murine pregnancy. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2014, 12(1), 38.

**Fouda GG, Martinez DR, Swamy GK, Permar SR.** The impact of IgG transplacental transfer on early life immunity. *ImmunoHorizons* 2018, 2(1), 14-25.

**Furukawa S, Hayashi S, Usuda K, Abe M, Hagio S, Ogawa I.** Toxicological pathology in the rat placenta. *Journal of Toxicologic Pathology* 2011, 24(2), 95-111.

**Furukawa S, Kuroda Y, Sugiyama A.** A Comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals. *Journal of Toxicologic Pathology* 2014, 27(1), 11-18.

**Garty BZ, Ludomirsky A, Danon YL, Peter JB, Douglas SD.** Placental transfer of immunoglobulin G subclasses. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 1994, 1(6), 667-69.

**Gaynor LM, Colucci F.** Uterine natural killer cells: functional distinctions and influence on pregnancy in humans and mice. *Frontiers in Immunology* 2017, 8, 467.

**Guerin LR, Prins JR, Robertson SA.** Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? *Human Reproduction* 2009, 15(5), 517-35.

**Gurevich P, Elhayany A, Ben Hur H, Moldavsky M, Szvalb S, Zandbank J, Shperling I, Zusman I.** An immunohistochemical study of the secretory immune system in human fetal membranes and decidua of the first trimester of pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology* 2003, 50(1), 13-19.

**Gürsoy E, Koptagel E, Ergin K.** Hücre Dokular Genel Embriyoloji, Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları. Aydın 2009, 155-226.

**Gürsoy E, Koptagel E.** Embriyoloji Atlası. Esnaf Ofset Matbaacılık, İstanbul, 1997, 160-170.

**Hafez S.** Comparative Placental Anatomy: Divergent Structures Serving a Common Purpose. *Progress in Molecular Biology Translational Science* 2017, 145, 1-28.

**Harem İŞ, Alabay B.** Ratlarda gebeliğin değişik dönemlerinde trofoblastların özellikleri üzerinde histokimyasal ve immunohistokimyasal çalışmalar. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2018, (Özel Sayı), 1-11.

**Hashira S, Okitsu-Negishi S, Yoshino K.** Placental transfer of IgG subclasses in a Japanese population. *Pediatrics International* 2000, 42(4), 337-42.

**Hassa O, Aştı RN.** Embriyoloji. Yorum matbaacılık sanayi, Ankara, 2003, 145.

**Hu D, Cross JC.** Development and function of trophoblast giant cells in the rodent placenta. *The International Journal of Development Biology* 2010, 54, 341-54.

**Hunt JS.** Stranger in a strange land. *Immunological Review* 2006, 213, 36-47.

**Hinricsen C.** Organ Histology: A Student's Guide. World Scientific Publishing, Singapore 1997, 317-331, 369.

**Inagaki M, Nishi Y, Nishizawa K, Matsuyama M, Sato C.** Site-specific phosphorylation induces disassembly of vimentin filaments in vitro. *Nature* 1987, 328(6131), 649-52.

**İzgi M, Sur E.** Maternal tolerans. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2009, 4(1), 123-32.

**Johnson MH, Everitt BJ.** Coitus and fertilization. In: Essential reproduction. John Wiley & Sons, United Kingdom 2018, 145-160.

**Junquera LC, Carneiro JC, Abrahamsohn PA, Dos Santos MF, Zorn TMT.** Dişi genital sistem. In: Aytakin Y, Solakoğlu S (Edt), Temel Histoloji, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2006, 449-460.

**Kar M, Sengupta J, Kumar S, Bhargava VL, Ghosh D.** Immunohistochemical localization of macrophage CD68+, HLA-DR+, L1+ and CD44+ subsets in uterine endometrium during different phases of menstrual cycle. *Indian journal of physiology and pharmacology* 2004, 48(3), 293-303.

**Karaöz E.** Özel Histoloji. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, Isparta, 2002, 219-220.

**Kashir J, Jones C, Parrington J, Coward K.** Fertilization and egg activation. In: Coward K, Wells D(Eds), *Textbook of clinical embryology*. Cambridge University Press, United Kingdom, 2013, 98-110.

**Khong TY, Lane EB, Robertson WB.** An immunocytochemical study of fetal cells at the maternal-placental interface using monoclonal antibodies to keratins, vimentin and desmin, *Cell and Tissue Research* 1986, 246(1), 189-95.

**Kierszenbaum AL, Tres L.** *Histology and Cell Biology: an introduction to pathology* E-Book. Philadelphia, Elsevier Health Sciences, 2015.

**Kim J, Mohanty S, Ganesan LP, Hua K, Jarjoura D, Hayton WL, John M. Robinson, and Clark L. Anderson.** FcRn in the yolk sac endoderm of mouse is required for IgG transport to fetus. *The Journal of Immunology* 2009, 182(2), 2583-89.

**Kinzer M, Hingerl K, König J, Reinisch A, Strunk D, Huppertz B, Lang I.** Mesenchymal stromal cells from the human placenta promote neovascularization in a mouse model in vivo. *Placenta* 2014,35(7), 517-19.

**Kiskova T, Mytsko Y, Schepelmann M, Helmer H, Fuchs R, Miedl H, Wadsack C, Ellinger I.** Expression of the neonatal Fc-receptor in placental-fetal endothelium and in cells of the placental immune system. *Placenta* 2019, 78, 36-43.

**Korgun ET, Cayli S, Asar M, Demir R.** Distribution of laminin, vimentin and desmin in the rat uterus during initial stages of implantation. *Journal of Molecular Histology* 2007, 38(4), 253-60.

**Kristoffersen EK.** Placental Fc receptors and the transfer of maternal IgG. *Transfusion Medicine Reviews* 2000, 14(3), 234-43.

**Latos PA, Hemberger M.** From the stem of the placental tree: trophoblast stem cells and their progeny. *Development* 2016, 143(20), 3650-60.

**Latvala S, Jacobsen B, Otteneder MB, Herrmann A, Kronenberg S.** Distribution of FcRn across species and tissues. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 2017, 65(6), 321-33.

**Leiser R, Kaufmann P.** Placental structure: in a comparative aspect. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* 1994, 102(3), 122-34.

**Lima PDA, Zhang J, Dunk C, Lye SJ, BA Croy.** Leukocyte driven-decidual angiogenesis in early pregnancy. *Cellular And Molecular Immunology* 2014, 11(6), 522.

**Low BG, Hansen PJ, Drost M, Gogolin-Ewens KJ.** Expression of major histocompatibility complex antigens on the bovine placenta. *Reproduction* 1990, 90(1), 235-43.

**Madazlı R.** Plasenta. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2008, s11- 47.

**Male DK, Brostoff J, Roth DB, Roith I.** Immunology: An Illustrated Outline. Palme Yayıncılık Ankara, 2008, 564.

**Male DK.** Immunology: an illustrated outline. Elsevier Health Sciences, Saunders 2004, p482.

**Malek A.** Ex vivo human placenta models: transport of immunoglobulin G and its subclasses. *Vaccine* 2003, 21(24), 3362-64.

**Maltepe E, Bakardjiev AI, Fisher SJ.** The placenta: transcriptional, epigenetic, and physiological integration during development. *The Journal of Clinical Investigation* 2010, 120, 1016-25.

**Maruyama Y, Kimura AP.** A molecular mechanism of mouse placental spongiotrophoblast differentiation regulated by prolyl oligopeptidase. *Zygote* 2019, 27, 49-53.

**McCance KL, Huether SE.** Mechanics of self defence. In: Pathophysiology. Ohio 2014, 191-338.

**McGeady TA, Quinn PJ, FitzPatrick ES, Ryan MT, Kilroy D, Lonergan P.** Fertilization In: Veterinary Embryology, University of Minnesota, 2017, 400, 26-100.

**McGowen MR, Erez O, Romero R, Wildman DE.** The evolution of embryo implantation. *The International Journal of Developmental Biology* 2014, 58(2-4), 155.

**McLean M, Bowman M, Clifton V, Smith R, Grossman AB.** Expression of the heme oxygenase-carbon monoxide signalling system in human placenta. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000, 85(6), 2345-49.

**Mor-Vaknin N, Punturieri A, Sitwala K, Markovitz DM.** Vimentin is secreted by activated macrophages. *Nature Cell Biology* 2003, 5, 59-63.

**Mutluay D.** Preimplantasyon sürecinde sıçan uterus dokusunda meydana gelen değişikliklerin ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2019, 3(2), 43-53.

**Nakano A, Harada T, Morikawa S, Kato Y.** Expression of leukocyte common antigen (CD45) on various human leukemia/lymphoma cell lines. *Pathology International* 1990, 40, 107-15.

**Namiki T, Ito J, Kashiwazaki N.** Molecular mechanisms of embryonic implantation in mammals: Lessons from the gene manipulation of mice. *Reproductive Medicine and Biology* 2018, 17(4), 331-42.

**Ottersbach K, Dzierzak E.** The murine placenta contains hematopoietic stem cells within the vascular labyrinth region. *Developmental Cell* 2005, 8(3), 377-87.



**Özbal Y.** Temel İmmünoloji, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2000, s452.

**Özer A.** Veteriner Embriyoloji. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2007, 27-41.

**Paker Ş.** Histoloji, Udağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, 1993, 220-250.

**Palfi M, Selbing A.** Placental transport of maternal immunoglobulin G. *American Journal of Reproductive Immunology* 1998, 39(1), 24-26.

**Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Zago CA, Carneiro-Sampaio M.** IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. *Clinical & developmental immunology* 2012, 985646-46.

**Parr EL, Parr MB.** Localization of immunoglobulins in the mouse uterus, embryo, and placenta during the second half of pregnancy. *Journal of Reproductive Immunology* 1985, 8(2-3), 153-71.

**Playfair JHL, Chain BM.** Bir bakışta immünoloji. İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2018, 34-37.

**Rai A, Cross JC.** Development of the hemochorial maternal vascular spaces in the placenta through endothelial and vasculogenic mimicry. *Developmental Biology* 2014, 387(2), 131-41.

**Ramathal CY, Bagchi IC, Taylor RN, Bagchi MK.** Endometrial decidualization: of mice and men. *Seminars in Reproductive Medicine* 2010, 28(1), 17-26.

**Redhead ML.** The transcription factor NFIL3 is not required for uterine natural killer cell differentiation but contributes to placental and conceptus. *Development* 2015, 95(5), 1-16.

**Rossant J, Cross JC.** Placental development: lessons from mouse mutants. *Nature Reviews Genetics* 2001, 2(7), 538.

**Salamat M, Götz W, Horster A, Janotte B, Herken R.** Ultrastructural localization of carbohydrates in Reichert's membrane of the mouse. *Cell and Tissue Research* 1993, 272(2), 375-81.

**Sasaki T, Mizuochi C, Horio Y, Nakao K, Akashi K, Sugiyama D.** Regulation of hematopoietic cell clusters in the placental niche through SCF/Kit signaling in embryonic mouse. *Development* 2010, 137(23), 3941-52.

**Scherholz PL, De souza PC, Spadacci-Morena DD, Katz SG.** Vimentin is synthesized by mouse vascular trophoblast giant cells from embryonic day 7.5 onwards and is a characteristic factor of these cells. *Placenta* 2013, 34(7), 518-25.

**Schroeder HW, Cavacini L.** Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2010, 125(2 Suppl 2), 41-52.

**Scott CA, Kirsten SE, Bany BM.** Localization of C-Fos-induced growth factor (Figf) mRNA expression in the mouse uterus during implantation. *Reproductive system & sexual disorders: current research* 2012, 1(10), 2-7.

**Sharkey AM, King A, Clark DE, Burrows TD, Jokhi PP, Charnock-Jones DS, Loke YW, Smith SK.** Localization of leukemia inhibitory factor and its receptor in human placenta throughout pregnancy. *Biology of reproduction* 1999, 60(2), 355-64.

**Shetty N.** Immunology: introductory textbook, New Age International, Londra 2005, 25-33.

**Shetty AN, Pautler R, Ghaghada K, Rendon D, Gao H, Starosolski Z, Bhavane R, Patel C, Annapragada A, Yallampalli C, Lee W.** A liposomal Gd contrast agent does not cross the mouse placental barrier. *Science Reports* 2016, 6, 1-10, 27863.

**Shiraishi H, Hayakawa S, Satoh K.** Murine experimental abortion by IL-2 administration is caused by activation of cytotoxic T lymphocytes and placental apoptosis. *Journal of Clinical & Laboratory Immunology* 1996, 48(3), 93-108.

**Simister NE, Story CM, Chen H, Hunt JS.** An IgG transporting Fc receptor expressed in the syncytiotrophoblast of human placenta. *European Journal of Immunology* 1996, 2(6), 1527-31.

**Simister NE.** Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine* 2003, 21, 3365-69.

**Simmons DG, Fortier AL, Cross JC.** Diverse subtypes and developmental origins of trophoblast giant cells in the mouse placenta. *Developmental Biology* 2007, 304(2), 567-78.

**Simmons DG, Cross JC.** Determinants of trophoblast lineage and cell subtype specification in the mouse placenta. *Developmental Biology* 2005, 284, 12-24.

**Sinha JK, Bhattacharya S.** A Text book of Immunology. Academic Publishers, 2006, 62-207.

**Sinowatz F.** Fertilization. In: Hyttel P, Sinowatz F, Vejlsted M, Betteridge K (eds), Essentials of domestic animal embryology. Elsevier Health Sciences, Canada, 2009, 56-68.

**Stapleton NM, Armstrong-Fisher SS, Andersen JT, Schoot CE, Porter C, Page KR, Falconer D, Haas M, Williamson LM, Clark MR.** Human IgG lacking effector functions demonstrate lower FcRn-binding and reduced transplacental transport. *Molecular Immunology* 2018, 95, 1-9.

**Stewart I.** Immunoglobulin G in the decidua basalis and metrial gland of the pregnant mouse uterus. *Journal of Reproductive Immunology* 1985, 7(3), 275-78.

**Sur E, Öznurlu Y, Özaydin Y, Çelik İ, Aydın İ, Kadyralieva N.** Gebe farelerde desidua bazalis dokusundaki PAS-pozitif uterus doğal katil hücrelerinin dağılımı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2015, 21(3), 405-411.

**Tanyolaç A.** Özel Histoloji. Yorum Basın Yayın, Ankara, 1999, 4, 144-158.

**Telugu PB, Green JA.** Comparative Placentation. In: Schatten H, Constantinescu GM (eds), Comparative reproductive biology. Blackwell Publishing, USA, 2008, 271-290.

**Tesser RB, Scherholz PLA, Nascimento L, Katz SG.** Trophoblast glycogen cells differentiate early in the mouse ectoplacental cone: putative role during placentation. *Histochemistry and Cell Biology* 2010, 134, 83-92.

**Tewari V, Tewari A, Bhardwaj N.** Histological and histochemical changes in placenta of diabetic pregnant females and its comparison with normal placenta. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2011, 1(1), 1-4.

**Üçüncü Sİ, Ergen G, Arıkan H.** Dişi Üreme Sistemi. In: Histoloji. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 2014, 265-267.

**Vidarsson G, Dekkers G, Rispen T.** IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Frontiers in Immunology* 2014, 20(5), 520.

**Virella G, Nunes MAS, Tamagnini G.** Placental transfer of human IgG subclasses. *Clinical and experimental immunology* 1972, 10(3), 475.

**Wang N, Stamenovic D.** Mechanics of vimentin intermediate filaments. *Journal of Muscle Research & Cell Motility* 2002, 23(5-6), 535-40.

**Wang, Y, Zhao S.** Vascular biology of the placenta. In: Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function. *Morgan & Claypool Life Sciences* 2010, 1-98.

**Watson ED, Cross JC.** Development of structures and transport functions in the mouse placenta. *Physiology* 2005, 20, 180-93.

**Wilcox CR, Holder B, Jones CE.** Factors affecting the FcRn-mediated transplacental transfer of antibodies and implications for vaccination in pregnancy. *Frontiers in Immunology* 2017, 8-1294, 86-91.

**Wu D, Xu J, Lei J, McLane M, Zijl PC, Burd I.** Dynamic glucose enhanced MRI of the placenta in a mouse model of intrauterine inflammation. *Placenta* 2018, 69, 86-91.

**Xie X, He H, Colonna M, Seya T, Takai T, Croy AB.** Pathways participating in activation of mouse uterine natural killer cells during pregnancy. *Biology of Reproduction* 2005, 73(3), 510-18.

**Yılmaz B.** Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. Feryal Matbaacılık Ankara, 1999, 35-130.

**Yılmaz N, Akgül Y.** İmmünglobulinler ve septisemi. *Uludag University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine* 2014, 33(1-2), 33-42.

**Yu Q, Qiu Y, Wang X, Tang J, Liu Y, Mei L, Li M, Yang M, Tang L, Gao H, Zhang Z, Xu W, He Q.** Efficient siRNA transfer to knockdown a placenta specific lncRNA using RGD-modified nano-liposome: A new preeclampsia-like mouse model. *International Journal of Pharmaceutics* 2018, 546(1-2), 115-24.

**Zhao M, Zhang W, Liu J.** A study on regional differences in decidualization of the mouse uterus. *Reproduction Cambridge, England*, 2017 153, 645-53.

**Zhu H, Xu X, Shi X, Feng Y, Xiong Y, Nan Y, Zhang C, Gao L, Chen Y, Xu D, Wang H.** Activation of autophagy inhibits cadmium-triggered apoptosis in human placental trophoblasts and mouse placenta. *Environmental Pollution* 2019, 254(PtA), 112991.

**Zusman I, Gurevich P, Ben-Hur, H.** Immune systems and human intrauterine development. Transworld Research Network, 2008, s342.

## EKLER



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 13 Ocak 2016

**Oturum** : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2016 Yılı I. Oturumu  
**Sayı** : 64583101/2016/017  
**Proje Başlığı** : Gebeliğin farklı dönemlerindeki fare plasentasında histolojik ve histokimyasal değişiklikler ile IgG dağılımının ve yoğunluğunun araştırılması  
**Proje Yürütücüsü** : Şadiye KUM  
**Proje Ekibi** : Seçil KOÇ

**Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:**

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması  
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması  
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

**Hayvan Çalışması** : İnsanlarda araştırma  
İnsan olmayan primatların kullanılması  
Transgenik hayvanların kullanılması  
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

**Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.**

Prof. Dr. Turhan DOST

(Başkan)

İzinli

Prof. Dr. İbrahim CEMAL

(Üye)

Yrd. Doç. Dr. Cengiz ÜNSAL

(Üye)

Doç. Dr. Yücel KOCA

(Üye)

İzinli

Vet. Hek. Ufuk SAYIN

(Üye)

Dr. Nurten ATALAY

(Üye)

Vet. Hek. Serdar AKTAŞ

(Üye)

Şevket AKYOL (Raportör)

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad, Soyad** : Seçil KOÇ (ZORLU)  
**Doğum Tarihi** : 18.07.1987  
**Medeni Durum** : Evli  
**Uyruk** : Türkiye  
**Askerlik** : --  
**Cep Tel** : 05059597371  
**Adres** : Adnan Menderes Mahallesi Egemenlik Caddesi no:72 daire:27 hafız salim sitesi kat:7 AYDIN  
**E-posta** : secilzorlu@windowslive.com

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	ADÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2019
Y. Lisans	SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü	2011
Lisans	SDÜ Fen-Edebiyat Fakültesi	2009

### İŞ DENEYİMİ

**2011-2019** Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Patoloji Laboratuvarı- Biyolog

**2019-** Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Moleküler Patoloji Laboratuvarı- Biyolog

### KURS/SERTİFİKA BİLGİLERİ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ Yandal Sertifikası

## ISO 9001:2008 KALİTE YÖNETİM SİSTEMİ

HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point-Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi)

ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemleri

ISO 17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar Standardı  
SDÜ HADYEK Deney Hayvanları Kullanma Kursu

## AKADEMİK YAYINLAR

### MAKALELER

- 1-Diler D, Çınar K, **Zorlu S**. *Dicentrarchus labrax*, L.,1758'in mide ve bağırsak bölgelerindeki endokrin hücreler üzerine immunohistokimyasal çalışma. *Fırat Üniversitesi Veteriner Sağlık Bilimleri Dergisi* 2011, 25, 1(1-6).
- 2-**Zorlu S**, Çınar K, Yıldırım MZ. *Helix lucorum*'un tükürük bezinin histokimyasal yapısı. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 2011, 1-14.
- 3- **Zorlu S**, Demirbağ E, Çınar K. *Helix lucorum*'un tükürük bezindeki glikokonjugatların lektin histokimyası ile belirlenmesi. *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2011, 15(1), 46-50.
4. **Zorlu S**, Demirbağ E, Çınar K. Koyun (*Ovis aries*) fundus ve pilorus mukozalarındaki şekerlerin lektin histokimyasal karakterizasyonu. *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2011, 15(3),161-165.
5. **Zorlu S**, Gün H, Çınar K. Sığır jejunum bölgesindeki mukus glikoproteinlerinin lektin histokimyasal yapısı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013, 24(2), 73-75.
6. **Zorlu S**, Çınar K, Demirbağ E. Albino fare (*Mus musculus*) trake, bronkus ve bronkulus mast hücrelerinin yerleşimi ve yoğunluğu. 20.Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı) 21-25 Haziran, Denizli. Bildiriler Kitabı. 2010, 756-757.
7. Eren U, Kum S, Nazligul A, Gules O, Aka E, **Zorlu S**, Yildiz M. The several elements of intestinal innate immune system at the beginning of the life of broiler chicks. *Microscopic Research Techique* 2016, 79(7), 604-614.



## YÜKSEK LİSANS TEZİ

Koyun (*Ovis aries*)' larda abomazum mukozasındaki glikokonjugatların lektin histokimyasal karakterizasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

