



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NORMAL VE PERKREATALI PLASENTADA OSTEOPONTİN,
OSTEOKALSİN VE OSTEONEKTİN DAĞILIMI**

Neslihan SAĞSÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN

DİYARBAKIR 2024



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NORMAL VE PERKREATALI PLASENTADA OSTEOPONTİN,
OSTEOKALSİN VE OSTEONEKTİN DAĞILIMI**

Neslihan SAĞSÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN
2. DANIŞMAN
Prof. Dr. Elif AĞAÇAYAK

DİYARBAKIR 2024



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Neslihan SAĞSÖZ'ün hazırladığı “Normal ve Perkreatalı Plasentada Osteopontin, Osteokalsin ve Osteonektin Dağılımı” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel yönden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 05.06.2024

1.Danışman: Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN

2. Danışman: Prof. Dr. Elif AĞAÇAYAK

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN

Üye: Prof. Dr. M. Aydın KETANİ

Üye: Dr. Öğrt. Üyesi Uğur ŞEKER

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

----/----

Prof. Dr. Mahmut BALKAN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarında etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

05.06.2024

Neslihan SAĞSÖZ

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim ve tez çalışmam süresince emeklerini, yardımlarını esirgemeyen bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren tez danışmanlarım Sayın Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN ve Sayın Prof. Dr. Elif AĞAÇAYAK 'a, tavsiye ve önerileri ile her konuda bana katkı sağlayan çok değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. M. Aydın KETANİ, Sayın Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ, Sayın Prof. Dr. M. Erdem AKBALIK ve Sayın Doç. Dr. Uğur TOPALOĞLU'na, tez çalışmasında resimlerin düzenlenmesi ve şekillendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Öğretim Üyesi Bayram BAYRAMA, lisansüstü eğitimi süresince birlikte çalışmaktan kıvanç duyduğum ve çalışmamın laboratuvar aşamalarında bana destek olan değerli arkadaşlarımla, Veteriner Hekim Şerife YAY ve Mesut KAPLAN 'a, eğitim hayatım boyunca çok büyük emeği olan değerli aileme, lisans eğitim süresince desteğini yanımda hissettiğim canım eşim Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ 'e ve bu süreçte varlığı ile beni motive eden biricik kızlarım İrem ve Defne Ece SAĞSÖZ 'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın materyal kısmında dokuların temin edilmesinde yardımcı olan D.Ü.Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı ve Tüp Bebek Ünitesi öğretim üyeleri ve çalışanlarına da ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (DÜBAP) Koordinatörlüğü tarafından VETERİNER.23.007 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER	
BEYAN.....	I
İÇİNDEKİLER DİZİNİ-----	III
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ-----	V
ŞEKİLLER LİSTESİ-----	VII
TABLolar LİSTESİ-----	XII
1.ÖZETLER-----	2
1.1.Türkçe Özet-----	2
1.2.Abstract-----	4
2. GİRİŞ ve AMAÇ-----	6
3. GENEL BİLGİLER-----	10
3.1. Plasenta-----	9
3.1.1.İnsan Plasentasının Gelişimi-----	9
3.1.2. Plasenta Anatomisi ve Embriyolojisi-----	13
3.1.3.Plasenta Histolojisi-----	16
3.1.4.Plasental Fonksiyon-----	20
3.1.5.Plasenta İnvazyon Anomalileri-----	20
3.1.6.Patogenez-----	22
3.1.7.Göbek Kordonu-----	23
3.2. Glikoproteinler-----	23
3.2.1. Osteopontin-----	24
3.2.2.Osteokalsin-----	29
3.2.3.Osteonektin(SPARC)-----	31
4. GEREÇ ve YÖNTEMLER-----	34
4.1. Doku Numunelerinin Temini-----	34
4.2.Cerrahi Hazırlık-----	35
4.3.Işık Mikroskopik İnceleme-----	37
4.4.İmmunohistokimyasal Analiz-----	38
4.5.İmmunohistokimyasal Boyama Sonuçlarının Değerlendirilmesi-----	39

5. BULGULAR	42
5.1. Kontrol Grubunda Olan Normal Plasentanın Yapısal Özellikleri (Histokimyasal Görünüm)	42
5.2. Plasenta Perkreato Yapısı	42
5.3. Göbek Kordonu Yapısı (Miyadında 38-40 hafta)	43
5.4. İmmunohistokimyasal Bulgular	51
5.5. Osteopontin	55
5.6. Osteokalsin	62
5.7. Osteonektin	70
6. TARTIŞMA	77
7. SONUÇ ve ÖNERİLER	84
8. KAYNAKLAR	85
9. ÖZGEÇMİŞ	92
10. EKLER	93
Ek-1. Yayımlanan Makale Bilgisi Katılım Sertifikası	93
Yayımlanan Makale	94
11. ORJİNALLİK RAPORU	95
12. ETİK KURUL BELGESİ	96

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Normal insan plasentası görünümü.....	12
Şekil 2. Kotiledon yapısı ve koryonik villus çeşitleri.....	14
Şekil 3. Normal insan plasenta yapısında plasenta katmanları ve villusları.....	16
Şekil 4. Hofbauer hücresi.....	17
Şekil 5. Plasenta invazyon anomalileri.....	21
Şekil 6. Osteopontin proteinin yapısı.....	24
Şekil 7. İnsan Osteopontin proteinin yapısal bölgelerinin gösterilmesi.....	25
Şekil 8. Osteopontin geninin 4. kromozom üzerindeki yerinin gösterilmesi.....	25
Şekil 9. İnsanda bulunan osteopontin geninin yapısı.....	27
Şekil 10. OPN ve varyantlarının yapısal özellikleri.....	27
Şekil 11. Osteokalsinin endokrin fonksiyonları.....	29
Şekil 12. SPARC proteinin yapısı.....	32
Şekil 13. Normal görünümlü plasentanın fetal yüzü ve göbek kordonu.....	35
Şekil 14. Plasenta perkreataya ve göbek kordonu izlenimi.....	36
Şekil 15. Miyadında bir plasentaya ait plasenta fetalis görünümü ve koryon Villuslar.....	42
Şekil 16: Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis ve koryon villusları.....	43
Şekil 17: Miyadında bir plasentaya ait koryon villusları, intervillöz aralıklar, sinsityal düğümler ve sinsityal köprüler.....	43
Şekil 18: Term plasentaya ait kök villuslar ile yüzen villusların görünümü.....	44
Şekil 19: Term plasentaya ait koryon villusları.....	44
Şekil 20: Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmında desidua hücreleri ve kollajen liflerin görünümü.....	45
Şekil 21: Miyadında bir plasentaya ait normal kalınlıkta izlenen trofoblast bazal membranı ve vaskulosinsityal membranlar.....	45
Şekil 22: Perkreatal plasentaya ait koryon villusları ile sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerin görünümü.....	46
Şekil 23: Perkreatal plasenta maternalisde perivillöz fibrin birikimi.....	46
Şekil 24: Perkreatal plasenta da koryon villusları.....	47
Şekil 25: Perkreatal plasenta da koryon villusları.....	47

Şekil 26: Miyadında göbek kordonu yapısı.....	48
Şekil 27: Miyadında göbek kordonu yapısı.....	48
Şekil 28: Miyadında a. Umblikalis'in yapısı.....	49
Şekil 29: Miyadında göbek kordonu yapısı.....	49
Şekil 30: Miyadında göbek kordonu yapısı.....	50
Şekil 31: Gebeliği miyadında sonlanmış bir plasentada koriyon villuslarında ve desidua bazalis de osteopontin immunoreaktivitesi yokluğu (Negatif Kontrol).	51
Şekil 32: Gebeliği miyadında sonlanmış bir plasentada koriyon villuslarında osteokalsin immunoreaktivitesi yokluğu (Negatif Kontrol).....	51
Şekil 33: Gebeliği miyadında sonlanmış bir plasentada koriyon villuslarında osteonektin immunoreaktivitesi yokluğu (Negatif Kontrol).....	52
Şekil 34: Osteopontin pozitif kontrol için tavşan kemik dokusu.....	52
Şekil 35: Osteokalsin pozitif kontrol için tavşan kemik dokusu.....	53
Şekil 36: Osteonektin pozitif kontrol için tavşan kemik dokusu.....	53
Şekil 37: Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında bazı sinsityotrofoblast ve hofbauer hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi.....	55
Şekil 38: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villuslarında bazı sinsityotrofoblast hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi.....	55
Şekil 39: Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteopontin immunoreaktivitesi.....	56
Şekil 40: Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteopontin immunoreaktivitesi.....	56
Şekil 41: Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında hofbauer hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi, damar endotel hücrelerinde reaktivite yokluğu....	57
Şekil 42: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villusları mezenşiminde hofbauer hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi.....	57
Şekil 43: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villusları mezenşiminde hofbauer hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi, damar endotel hücrelerinde reaktivite yokluğu.....	58
Şekil 44: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villusları mezenşiminde hofbauer hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi, damar endotel hücrelerinde reaktivite yokluğu.....	58
Şekil 45: Miyadında bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi.....	59

Şekil 46: Miyadında bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi.....	59
Şekil 47: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi.....	60
Şekil 48: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi.....	60
Şekil 49: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteopontin immunoreaktivite yokluğu.....	61
Şekil 50: Miyadında bir plasentaya ait koryon villuslarında ve desidua hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi.....	62
Şekil 51: Miyadında bir plasentaya ait koryon villuslarında ve desidua hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi.....	62
Şekil 52: Miyadında bir plasentaya ait koryon villuslarında sinsityotrofoblast hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi.....	63
Şekil 53: Miyadında bir plasentaya ait koryon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteokalsin immunoreaktivitesi.....	63
Şekil 54: Miyadında bir plasentaya ait koryon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteokalsin immunoreaktivitesi.....	64
Şekil 55: Miyadında bir plasentaya ait koryon villuslarında osteokalsin immunoreaktivitesi.....	64
Şekil 56: Miyadında bir plasentaya ait koryon villuslarında osteokalsin immunoreaktivitesi.....	65
Şekil 57: Miyadında bir plasentaya ait bağlantı sapı ve maternal alan bölgesindeki kan damar endotel hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi.....	65
Şekil 58: Perkreatalı bir plasentaya ait koryon villuslarında osteokalsin immunoreaktivitesi.....	66
Şekil 59: Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmındaki desidua hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi.....	66
Şekil 60: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi.....	67
Şekil 61: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteokalsin immunoreaktivitesi.....	67
Şekil 62: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteokalsin immunoreaktivitesi.....	68

Şekil 63: Term plasentaya ait göbek kordonu epitelinde kuvvetli osteokalsin immunoreaktivitesi.....	68
Şekil 64: Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında osteonektin immunoreaktivitesi.....	70
Şekil 65: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villuslarında osteonektin immunoreaktivitesi.....	70
Şekil 66: Miyadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteonektin immunoreaktivitesi.....	71
Şekil 67: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villuslarında hofbauer hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi.....	71
Şekil 68: Miyadında bir plasentaya ait koriyon villusların da bağlantı sapı bölgesinde kök villuslarında koriyon mezenşimi ve damar endotellerindeki kuvvetli osteonektin immunoreaktivitesi.....	72
Şekil 69: Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmındaki desidua hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi.....	72
Şekil 70: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi.....	73
Şekil 71: Miyadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmındaki desidua hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi.....	73
Şekil 72: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi.....	74
Şekil 73: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteonektin immunoreaktivitesi.....	74
Şekil 74: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteonektin immunoreaktivitesi.....	75
Şekil 75: Term plasentaya ait göbek kordonu epitelinde kuvvetli osteonektin immunoreaktivitesi.....	75



TABLULAR LİSTESİ

Tablo-1: Çalışmaya katılan hastalara ait genel bilgiler	32
Tablo-2: Çalışmada kullanılan antikorların listesi	36
Tablo 3: Normal ve perkreatalı plasentalar ile göbek kordonlarında osteopontin, osteokalsin ve osteonektin ekspresyonlarına ait yoğunluk skorlarının gösterilmesi. 38	



KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

MAP: Morbid yapışık plasenta

CS: Sezaryen

OPN: Osteopontin

ECM: Ekstrasellüler Matriks (hücre dışı matriks)

ERM Proteinleri: Ezrin, Radiksin, Moesin proteinleri

ON: Osteonektin

OC: Osteokalsin

SPARC: Osteonektin

VEGF: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

PDGF: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

bFGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

Ucocrn: Karboksilasyona uğramamış osteokalsin

FGR: Fetal Büyüme Kısıtlanması

EVT: Fetal Ekstravillus Trofoblastları
ER: Endoplazmik Retikulum
PAS: Plasenta Akreata Spektrumu
SPP 1: Sekrete fosfoprotein 1
RGD: Arjinin-Glisin-Aspartikasitten
BSP: Bone (kemik) sialoprotein
DMP1: dentin matriks protein 1,
DSPP: dentin sialofosfoprotein
MEPE: matriks ekstraselüler fosfoglikoprotein
SIBLING protein: Small integrin-binding ligand N-linked glycoproteins
KDa: Kilo dalton
OPNi: intraselüler OPN
Cdna: Komplementer (tamamlayıcı) DNA
GLA proteini: Kemik-gama-karboksiglutamik asit proteini
Glu: Glikoz
BGLAP: Bone gamma-carboxylglutamate
Coc: Karboksile osteokalsin
UcOC: Ankarboksile osteokalsin
Gla OC: Gamma-carboxyglutamik asit osteokalsin
Glu OC: Undercarboxylated osteocalcin
Ca⁺²: Kalsiyum iyonu
SPARC: Secreted Protein Acid and Rich in Cystine
Cu: Bakır
PDGF: Platelet derived growth factor
VEGF: Vascular epidermal growth factor
PP: Plasenta perkreat
USG: Ultrasonografi
PBS: Fosfat Buffer Saline
H₂O₂: Hidrojen peroksit
DAP: Diaminobenzidine
PAS: Periodic asid schiff boyası
Aa: Arteriae
V: Vena
HH: Hofbauer hücresi

KV: Koryon villusları

DB: Desidua bazalis

FK: Fötal kan damarı



1.ÖZETLER

Normal ve Perkreatalı Plasentada Osteopontin, Osteokalsin ve Osteonektin Dağılımı.

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Neslihan SAĞSÖZ

Danışmanı: Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN/ 2. Prof. Dr. Elif AĞAÇAYAK

Anabilim Dalı: Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Histoloji ve Embriyoloji

1.1.Türkçe Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı, normal ve plasenta perkreta dokularında osteopontin, osteokalsin ve osteonektin ekspresyonlarını karşılaştırarak plasenta perkreta olgusunda bu proteinlerin ekspresyonlarının nasıl değiştiğini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, D. Ü. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne başvuran normal plasenta yerleşimi olan 10 hasta ve plasenta perkreta spektrumu olan 10 hastadan alınan plasenta ve göbek kordonu dokuları kullanılmıştır. Her iki gruptan alınan doku örnekleri rutin histolojik takibe alındı. Elde edilen parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitlere histokimyasal boyamalar yapıldı. İmmunohistokimyasal analiz için belirlenen osteopontin, osteokalsin ve osteonektin antikorları kullanılarak ışık mikroskopunda değerlendirilerek mikrografları çekildi.

Bulgular: Her 2 grubun plasentalarında sinsityotrofoblast hücrelerinin bazılarında osteopontin, osteokalsin ve osteonektin immunoreaktivitesi gözlenmezken yer yer bazılarında immunoreaksiyon görüldü. Normal plasenta doku örneklerinde her 3 antikor için sinsityal köprüler ile düğümlerin ortaklaştığı noktalarda belirgin derecede immunoreaktivite belirlendi. Perkreatalı plasenta doku örneklerinde her 3 antikor için koryon villus stromasında ve Hofbauer hücrelerinde boyanma daha yoğun olarak görüldü. Normal ve perkreatalı plasentalarda desidua hücrelerinin bazılarında osteopontin, osteokalsin ve osteonektin immunoreaktivitesi gözlenmezken yer yer bazılarında immunoreaksiyon görüldü.

Sonuç: Sonuç olarak, osteopontin, osteokalsin ve osteonektin'nin sinsityotrofoblast hücrelerinde özellikle de sinsityal köprülerde belirgin bir şekilde görülmesi, bu antikorların hücre- hücre adezyon fonksiyonu üzerine olan etkilerini göstermiştir. Perkreatada dokularında HH hücrelerinin bu proteinlerle kuvvetli boyanması ve sayılarının artmış olarak görülmesi bu hücrelerin fagositik etkilerinin olabileceğini göstermiştir. Ayrıca her iki plasenta örneğinde bu antikorların gebelik boyunca

implantasyon, hücre hareketi - yapışması, desidualizasyon ve immün düzenleme gibi çeşitli süreçlerde önemli rol oynadıkları sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: İmmunohistokimya, Osteokalsin, Osteonektin, Osteopontin, Plasenta, Plasenta Percreta.



Distribution of osteopontin, osteocalcin and osteonectin in normal and placenta percreta

Student's Surname and Name: SAĞSÖZ Neslihan

Adviser of Thesis: Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN

Department: Veterinary Histology and Embryology

1.2. Abstract

Aim: The aim of this study was to compare the expression of osteopontin, osteocalcin and osteonectin in normal and placenta percreta tissues and to determine how the expression of these proteins is altered in placenta percreta.

Material and Method: In this study, placenta and umbilical cord tissues from 10 patients with normal placental location and 10 patients with placenta percreta spectrum were used. Tissue samples from both groups were subjected to routine histologic follow-up. Histochemical staining was performed on 5 µm thick sections of the paraffin blocks obtained. For immunohistochemical analysis, osteopontin, osteocalcin and osteonectin antibodies were used and evaluated under light microscope and micrographs were taken.

Results: In the placentas of both groups, osteopontin, osteocalcin and osteonectin immunoreactivity was not observed in some syncytiotrophoblast cells, whereas immunoreaction was observed in others. In normal placenta tissue samples, significant immunoreactivity was detected for all 3 antibodies at the points where syncytial bridges and nodes were in common. In percreta placenta tissue samples, staining was more intense in chorionic villus stroma and Hofbauer cells for all 3 antibodies. While osteopontin, osteocalcin and osteonectin immunoreactivity was not observed in some of the decidua cells in normal and percreta placentas, immunoreaction was observed in some of them.

Conclusion: In our study, osteopontin, osteocalcin and osteonectin were significantly observed in syncytiotrophoblast cells, especially in syncytial bridges, indicating the effects of these antibodies on cell-cell adhesion function. The strong staining of HH cells with these proteins and their increased number in placenta percreta tissues indicated that these cells may have phagocytic effects. It was also concluded that in both placenta samples, these antibodies play important roles in various processes such as implantation, cell movement and adhesion, decidualization and immune regulation during pregnancy.

Keywords: Immunohistochemistry, Osteocalcin, Osteonectin, Osteopontin, Placenta, Placenta percreta.



2. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsan üremesinin bir gerekliliği olan plasenta, anne ile yavru arasında yapmış olduğu bağlantıyla besinlerin ve oksijenin yavruya ulaşmasını sağlarken koruyucu bir bariyer görevi görerek de gebeliği sürdürür. Plasenta düzgün gelişmediğinde hem anneyi hem de yavruyu kısa ve uzun vadeli hastalık veya ölüm riskiyle karşı karşıya bırakan tehlikeli gebelik komplikasyonlarını ortaya çıkarabilir (1). İnsan plasentanın

gelişimi, blastosistin endometriyum epiteline tutunması, sağlam bağlantılar kurarak endometriyumda gelişimine devam etmesi ile başlar. Gelişme sürecinde fetal membranlar, plasental villus ağacını saran disk benzeri membranöz bir kese oluşturur. Bu kesenin kalınlaşması ile termdeki plasentanın diskoidal, villöz ve hemokoriyal yapıları oluşur (2). Morbid yapışık plasenta (MAP), genellikle plasentanın uterusu anormal yapışmasını tanımlamak için kullanılan terminolojidir. Plasental adezyonun derinliğine bağlı olarak MAP akreata, inkreata ve perkreata olarak tanımlanabilir. Artan sezaryen (CS) oranlarına paralel olarak son 50 yılda MAP insidansı artmış ve bu nedenle MAP son yıllarda peripartum kanamanın ve dolayısıyla maternal morbidite ve mortalitenin önemli bir nedeni haline gelmiştir (3). Anormal plasenta tutunması şekilleri olan plasenta akreata da plasenta uterusun yüzeysel miyometriyumunu istila ederken, plasenta increta da plasenta uterusun derin miyometriyumunu istila eder ve plasenta perkreata da ise plasenta uterus duvarına nüfuz eder ve uterusun seröz tabakasına ulaşır ve hatta uterusu bitişik organları istila eder (4). Plasental adezyon anormalliklerinin içinde en az görülen alt tipi olan plasenta perkreata'nın son yıllarda görülme insidansı artmakla birlikte yaklaşık olarak 1/530 – 1/2500'dür. Geçmişte daha nadir görülen bu patolojik durum ile kadın doğum hekimleri günümüzde daha fazla sıklıkta karşılaşmaktadır. Özellikle sezaryen ve küretaj gibi uterin girişimler sonrasında oluşan hasar ve ayrıca önceki sezaryen doğum ve plasenta previa birlikteliği plasenta perkreata olasılığını yaklaşık olarak 5 kat daha arttırmaktadır (5, 6).

Başarılı bir gebeliğin kurulmasını ve sürdürülebilmesini sağlamak için önemli fizyolojik olaylara eşlik edebilen moleküler mekanizmalara ihtiyaç vardır. Osteopontin, osteokalsin ve osteonektin hem fizyolojik hemde patolojik koşullarda çok sayıda işlevi olan glikolize fosfoprotein molekülleridir (7). Osteopontin (OPN, kemik sialoproteini ve 44 kD kemik fosfoproteini olarak da bilinir), daha önce kemiğe özgü olduğu düşünülen sialik asit bakımından zengin fosforile edilmiş bir hücre dışı matriks (ECM) glikoproteindir. Başlangıçta kemikten izole edilmiş ve sonrasında da çok çeşitli insan dokularından eksprese edildiği belirlenmiştir. Birkaç türde endometrium ve desiduada OPN'nin keşfi, üreme biyolojisinde rol oynayabileceğini de göstermiştir. İnsanda OPN'nin endometriyal ekspresyonu ilk olarak endometriyumun glandüler hücrelerinde ve plasentada tanımlanmıştır. Ayrıca, OPN ekspresyonunun, desidualizasyon sırasında insan desidual stromal hücrelerinde düzenlendiği de gösterilmiştir (7). Yine yapılan çalışmalarda OPN 'nin östrus

döngüsü ve erken gebelik boyunca, peri implantasyon döneminde ve gebeliğin sonuna kadar uzanan uterus ve plasentada çeşitli biyolojik işlevlere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu tanıma dayanak olan rolleri; 1) hücre-hücre ve hücre-matriks yapışmasına ve iletişimine aracılık eden bir ECM molekülü, 2) proinflatuar özellikler, anti-inflatuar eylemler ve inflamatuar yanıt bölgelerinde doku onarımı üzerinde etkiler gösterebilen bir sitokin ve 3) göç eden hücrelerde CD44 ve ERM proteinleri ile ilişkili bir hücre içi protein olarak tanımlanan rollerine dayanarak, implantasyon ve sonraki plasental gelişim olaylarını derinden etkileme potansiyeline sahip olma olarak tanımlanabilir (8). Osteopontin; farklı doku organ ve vücut sıvılarına özgü çeşitli post-translasyonel modifikasyonlara, alternatif translasyonlara ve proteolitik ayrılmalara uğradığından bulunduğu yere özgü işlev kazanabilmektedir (9).

Osteonektin (ON) ve osteokalsin (OC), çoğunlukla osteoblastlar tarafından sentezlenen ve osteoblast farklılaşması ve mineralizasyonu sürecinde salgılanan kollajen olmayan hücre dışı matriks proteinleridir (10). Tek zincirli asidik, Ca^{21} bağlayıcı bir glikoprotein olan osteonektin (ON) ve BM-40 olarak da bilinen SPARC başlangıçta kollajen olmayan kemik matrisinin ayrılmaz bir bileşeni olarak tanımlanmış, daha sonraki çalışmalarda, hücre dışı matrikslerde ve diğer bazı vücut bölümlerinde ve ayrıca kan trombositleri de dahil olmak üzere hücrelerde yaygın olarak meydana geldiği ayrıca blastosist implantasyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı ve implantasyon bölgesinde ekspresyonunun, gebeliğin 8. gününden itibaren artmış olduğu da gösterilmiştir (10,11). Yine SPARC'ın, anjiyojenik uyarıcıların, vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörünün (PDGF) ve temel fibroblast büyüme faktörünün (bFGF) endotel hücrelerindeki reseptörlerine bağlanmasına müdahale ederek anjiyogenezise öncülük ettiği de belirtilmiştir (11, 12). Osteokalsin (OC), kemiği oluşturan en bol kollajen olmayan proteindir, karboksilasyona uğramamış OCN (ucOCN) dolaşıma salınarak glikoz ve yağ metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan endokrin işlevini ortaya çıkarır. OC, birçok fizyolojik süreçte ECM düzenliğini ve devrini modüle ederek yapışkan olmayan molekül halinde, bir hücre döngüsü inhibitörü ayrıca sitokin ve büyüme faktörü aktiviteyi modülatörü olarak da işlev görmektedir (13). Beraberinde, son çalışmalar da, plasentada OCN sentezi plasental fonksiyonun düzenlenmesine katkı sağlayarak potansiyel bir OCN endokrin döngüsü sağlamıştır (13). Yine OC 'nin biyolojik öneminin ikincil işlevinde yapılan çalışmalarda OC

reseptörlerinden yoksun erkek fareler de Leydig hücrelerinde, dolaşımdaki testosteron seviyelerinde ve sperm sayısında belirgin bir azalma ve vasat doğurganlık görüldüğü belirlenmiştir (14, 15). Böylelikle OC için erkek doğurganlığında önemli bir rol oynayan kemik kaynaklı bir hormon tarifi yapılmıştır (13- 15).

Bu glikoproteinler organizmanın yaşamını sürdürebilmesi için gerekli mekanizmaların çalışmasında, hücre davranışlarının belirlenmesinde ve dolayısıyla da fonksiyonlarını yerine getirebilmelerinde oldukça önemli görevler yüklenmişlerdir (6). Yine yapılan çalışmalarda bu proteinlerin uterus-plasenta arayüzünde adezyon ve sinyal iletimi için gerekli olan iletişimi ve düzenlemeyi sağladığı ve ayrıca da bazal membran dahil olmak üzere hücrede matriks oluşumu üzerine etkili oldukları da bildirilmiştir (7, 16).

Sağlıklı gebelik oluşumunda oosit, sperm ve embriyo kalitesi yanı sıra, endometriyal mukozanın uygunluğu en önemli unsurlardandır. Endometriyumun sağlıklı embriyo gelişimine paralel senkronizasyonu ve implantasyona duyarlılaşması, gebeliğin gelişimi ve devam ettirilmesindeki en önemli konulardandır. Bu duyarlılaşma ve senkronizasyon için de çeşitli moleküller tanımlanmıştır. Bu moleküllerin ahenk içinde çalışmaları sinyal yolları sayesinde gerçekleşir. Bu ahenkli çalışma implantasyonun oluşması ve normal embriyonik gelişim için şarttır. İmplantasyon, plasental veya yavrunun plasental gelişimi sürecinde görev alan moleküler mekanizmalardaki sinyal bozuklukları yavru gelişimini ya da gebeliğin devamlılığını olumsuz yönde etkileyecektir (1). Bu bağlamda, yaptığımız literatür taramalarında hücre-hücre adezyonlarını sağlayan osteopontin, osteonektin ve osteokalsin proteinlerinin kemik oluşumu için hassas belirteç olmalarından dolayı çalışmaların da daha ziyade kemik dokusu üzerine odaklandığı gördük. Diğer dokularda da ara maddenin düzenlenmesinde rol almakla birlikte üreme sisteminde ve plasentada fonksiyonlarına dair literatürde çok az çalışmanın olması çalışmanın planlanmasında etkili olmuştur. Aynı zamanda üreme biyolojisinde önemli yerleri olan bu glikoproteinlerin beşeri ve veteriner hekimlikte geniş bir çalışma alanı buldukları da gözlemlenmiştir. Böylelikle sunulan projede canlı vücudunda bulunan ve farklı işlevlere sahip olan glikoprotein yapısındaki osteopontin, osteokalsin ve osteonektin proteinlerinin implantasyon ve plasentasyondaki rolleri ile plasenta perkreatal olgularda ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



3. GENEL BİLGİLER

3. 1. Plasenta

İnsan üremesi için gerekli olan plasenta, gebelik sırasında anneyi embriyoya bağlayan ve gelişmekte olan yavrunun bakımı ve korunmasında kritik rol oynayan karmaşık bir organdır. İşlevsel olarak plasenta, maternal ve fetal dolaşımlar arasında besin ve oksijen transferini, fetal dolaşımdan atıkların uzaklaştırılmasını ve ayrıca büyüme faktörlerinin, hormonların ve sitokinlerin sentezini ve salgılanmasını sağlar. Ayrıca maternal ve fetal dolaşım arasında hem fiziksel hem de endokrin bir bariyer görevi görerek patojenlere, maternal hormonlara ve maternal bağışıklık sistemine karşı koruma görevini üstlenir. Plasental gelişimdeki bozukluklar fetal büyüme kısıtlamasına (FGR) ve hem anne hem de bebek için diğer ciddi obstetrik komplikasyonlara neden olabilir (2). Fetal gelişim üzerindeki olumsuz sonuçlar

genellikle gebeliğin geç dönemlerinde gözlenirken, plasental gelişim bozukluğunun altında yatan nedenlerin erken gebelik dönemindeki olaylara bağlı olduğu düşünülmektedir (1).

Plasentasyon, blastosistin implantasyonundan önce başlayan karmaşık bir sürecidir. Erken plasental gelişim öncelikle blastosistin trofektoderminden (dış tabaka) kaynaklanan trofoblast hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Trofektoderm invazyon, yeniden şekillenme, endokrin fonksiyonlar ve bağışıklıkta rol oynayan çeşitli özelleşmiş trofoblast soylarına farklılaşabilir. Plasentasyonu karakterize etmek ve modellemek için çeşitli hayvan modelleri kullanılmıştır; özellikle fare ve sıçanların kullanımı, insanlarla benzer bir plasentasyon türü sergilemeleri, kısa gebeliklerle multipar olmaları ve laboratuvar ortamlarında kolayca manipüle edilebilmeleri nedeniyle erken plasentasyon anlayışımızı geliştirmiştir (17).

3.1.1. İnsan plasentasının gelişimi

Anatomik olarak insan plasentası, koryonik villus olarak bilinen özelleşmiş ağaç benzeri yapılar halinde görülür. Koryonik villuslar fetal kan damarları, makrofajlar ve fibroblastlar içeren mezankimal bir çekirdekten oluşur ve villöz sitotrofoblast hücrelerinden oluşan bir tabaka ile sinsityotrofoblast adı verilen kaynaşmış trofoblasttan oluşan bir dış tabaka ile çevrilidir (şekil-1). Fetal kan damarları mezankimal çekirdek içinde gelişir, göbek damar sistemi yoluyla fetal dolaşıma bağlanır ve bu süreç yaklaşık olarak gebeliğin üçüncü haftasına kadar tamamlanamaz (17). Koryonik villuslar, yüzen (floating villus) koryonik villuslar ve anchoring (bağlayıcı) villuslar olarak sınıflandırılabilir; yüzen villuslar anchoring villuslardan çıkan anne kanıyla yıkanan küçük ağaç benzeri yapılar olup besin ve gaz alışverişinin çoğunun gerçekleşmesini sağlarlar. Anchoring villuslarının uçlarında, maternal desidua ve iç miyometriyuma farklılaşan ve invaziv olan ekstravillöz sitotrofoblastlardan oluşan tabakalı bir yapı oluşur. İstilacı ekstravillöz sitotrofoblastlar, maternal spiral arterlerin yeniden şekillenmesinde önemli bir rol oynar. Bu süreç, plasentanın uterusu tutunmasının yanı sıra anne kanının plasentaya engelsiz bir şekilde ulaşmasını sağlamak için de gereklidir (18).

Gebelik ilerledikçe maternal spiral arterler geniş çaplı, düşük dirençli kanallara dönüşür, böylelikle de villuslar arasındaki boşluğun (intervillöz boşluk) maternal kanla dolması sağlanır (19). Bu süreç büyük ölçüde, ankoryonik villuslarının distal kolonlarına doğru çoğalan ve invazif özellikler geliştiren

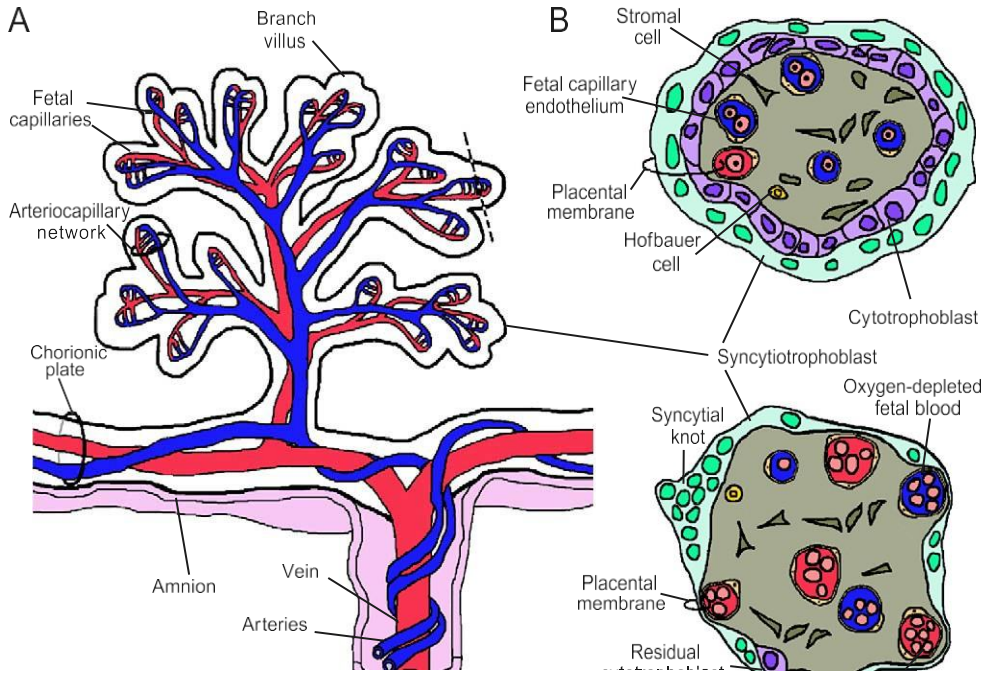
ekstravillöz trofoblast hücreleri tarafından gerçekleştirilir (20). Ekstravillöz trofoblast hücreleri daha invaziv hale geldikçe, desidua bazalisin derinliklerine ve uterus stromasına ya da maternal spiral arterlerin lümeninden miyometriyumun iç üçte birine kadar invaze olur. Plasentanın bu erken gelişimi sırasında, ekstravillöz trofoblastlar spiral arterleri tıkayarak kan plazmasının kırmızı kan hücreleri ile dolmadan intervillöz boşluğa sızmasını sağlar (21). Bu tıkanma süreci, trofoblast proliferasyonu ve invazyonunun düzenlenmesi ve ayrıca gelişimin kritik aşamalarında plasenta ve fetüsün korunması için gerekli olan hipoksik ortamı yaratır (22). Trofoblast tıkaçları, artan kan hacmine izin vermek için ilk üç aylık dönemin sonuna doğru kaybolur. Bu da büyüyen fetüsü yaşatabilecek bir ortam yaratmak için gereklidir. Villusların yapısı gelişip ilerledikçe, gebeliğin 10 ila 12. haftası civarında plasentaya engelsiz kan akışı sağlanır (23).

Laküner dönem yaklaşık olarak döllenme sonrası 8. günden itibaren başlar. İmplantasyon alanında büyüyen sinsisyotrofoblastik topaç içinde küçük vakuol şeklinde yapılar oluşur ve kısa süre içerisinde büyüyerek laküner sistemi oluşturur (24). Lakünaları ayıran sinsisyal plak ve lameller, trabekül olarak isimlendirilir. Bu yapıların görülmesi plasentasyonun laküner ve trabeküler evresinin başladığını gösterir ki bu da döllenme sonrası 8-12. günlere rastlar. Bu gelişme sürecinde blastokistin dış yüzeyi tamamen sinsisyotrofoblasta dönüşür. İç yüzeyleri ise bölgesel olarak sitotrofoblast tabakası ile kaplanmış olarak kalır. İmplantasyon alanında kalınlaşan trofoblast kısmı ise daha sonra plasentaya dönüşürken, daha ince olan kısım ise daha sonraları gerileyerek düz koriyon ve membranlara dönüşür. Lakünaların meydana gelmesi blastokistin trofoblastik örtüsünü üç tabakaya ayırır:

1. Blastokistik kaviteye karşılık gelen primer koriyonik plak
2. Trabeküller ile birlikte laküner sistem
3. Endometriumla karşı karşıya olan trofoblastik kabuk

Primer koriyonik plak sitotrofoblastik tabakadan şekillenir ve altında laküner sistem mevcuttur. Döllenmenin 12. günü civarında bu alanlar sitotrofoblastik hücrelerce işgal edilir. Birkaç gün içinde trofoblast trabekül uzunluğu boyunca uzanır. Trabekülün periferik uçları birbirleriyle birleşerek trofoblastın en üst tabakasını oluşturur. Bu yapıya trofoblastik kabuk denir. Bu gelişmelere paralel olarak mekanik bir uyarın ve hormonal aktivite etkisiyle endometrial stroma hücrelerinde proliferasyon ve büyümeye yol açarak desidua hücrelerinin oluşumunu sağlar. Döllenmenin 12. gününde bazal sinsisyotrofoblastların invaziv aktivitesi ile maternal

endometrial damar duvarları bütünlüğünü kaybeder. Böylelikle maternal kan hücreleri araya sızarak lakünelara dolar. Gelişimin ilk basamakları süresince lakünelardaki anne kan basıncı düşüktür. İnvazyonun endometriumun derinliklerine yayılmasıyla uterin spiral arterler yıpranır, intralaküner kan basıncı artar ve lakünelar içinde gerçek anlamda maternal dolaşım başlar. Döllenmenin 13. gününde laküneların içinde ilk kez maternal eritrositlerin gözlenmesiyle sinsisyal kaynaşma gerçekleşir. Hem longitudinal trabeküller gelişir hem de sinsisyal yan dalların kör uçları oluşarak laküna içine dağılır. Uzunlukları ve çapları artarak primer villusları oluşturur ve sitotrofoblastlarca işgal edilir. Döllenmenin 15. gününde mezenşim hücreleri villusları işgal etmeye başlar ve yeni tip sekonder villusları şekillendirir. İlk fetal kapillerlerin oluşumu, döllenmenin 18-20. günleri arasında ve mezenşim içerisinde başlar. Intervillöz alandaki anne kanı, sinsisyotrofoblastlar ile direkt temas halindedir. Ancak gebelik ilerledikçe özellikle koryonik tabaka ve trofoblastik kabuğun yüzeyinde sinsisyotrofoblastlarda sınırları belirgin olan dejenerasyon gelişir. Sinsisyotrofoblastlarda görülen bu fokal dejenerasyon kısa süre içerisinde fibrinoid bir kitleyle kapanır. Çok yönlü fonksiyonları olan sinsisyotrofoblastlar, epitelyal tabakalar, vaskülo-sinsisyal membranlar; kalın sinsisyal segment gibi mozaik benzeri parçalar içerirler (24).



Şekil 1. Normal insan plasentasını. A Fetal plasental dolaşımın temsili bir çizimi, noktalı çizgi, yaklaşık 10. haftada koryon villusundan geçen bir kesitin çiziminin

yapıldığı konumu göstermektedir (B). Tam termde koryon villusundan bir kesit de gösterilmektedir (C). (27).

3.1.2. Plasenta anatomisi ve embriyolojisi

Normal bir plasenta gebeliğin son döneminde (term) yuvarlak, disk şeklinde bir yapıya sahiptir (25,26). Utero-plasental ünite koryonik keseden elde edilen fetal doku ve endometriumdan türetilen maternal dokudan oluşur. Olgun plasentada, fetal kısım koryonik plak olarak adlandırılır. Bu bölge, umbilikal damarlardan dallanan radyaller olan fetal koryonik kan damarlarını taşır. Plasentanın maternal yönüne bazal plak adı verilir. Bu iki bölge arasında, plasentanın ana işlevsel birimlerini, fetal kan damarlarını içeren geniş dallanmış ve sıkı paketlenmiş villöz yapıları içeren intervillöz boşluk bulunur (26). Plasentadan plasentaya değerler değişiklik göstermekle beraber yaklaşık olarak 22 cm çapında, merkezi kalınlığı 2,5 cm ve yaklaşık ağırlığı 500 gr'dır. Kan desteği üzerine gelişen bir organ olduğu için boyutunu kan hacmi etkiler. Maternal ve fetal dokunun biraraya gelmesiyle oluşan plasentanın başlıca iki yüzü vardır.

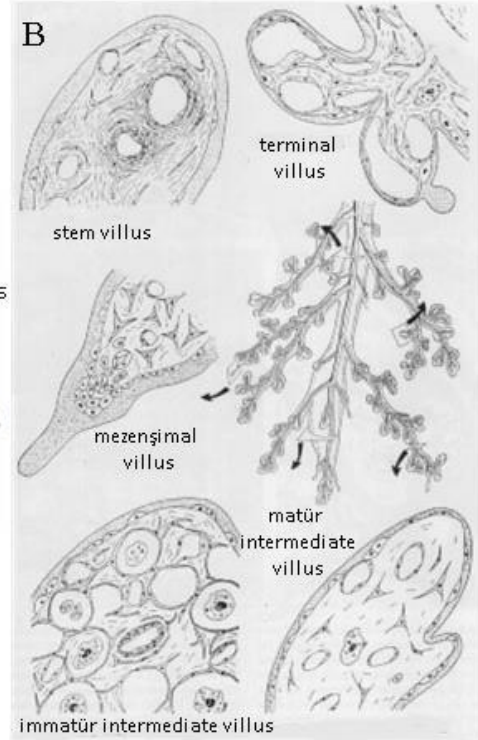
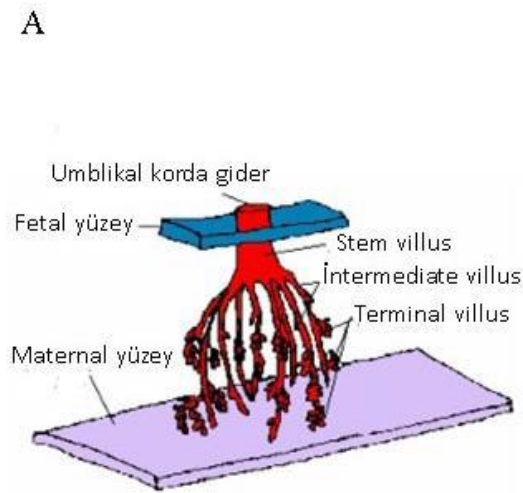
Fetal yüz: Fetal yüz koryonik tabaka ile örtülüdür. Koryonik tabakanın fetusa bakan kısmında tek katlı epitel doku, amniyonik mezenşim ve bağ dokudan oluşan amniyon zarı bulunur. Umbilikal kordon koryonik tabakaya eksentrik bir giriş yapar. Koryonik mezenşim, koryonik umbilikal kordondan gelen koryonik damarları içerir. İki umbilikal arterden köken alan koryonik arterler, fetal yüzeye dağılır ve villuslara dallanmalar gönderir. Koryonik venler villus venleri olarak dağılır ve genelde koryonik arterlere yakın ilerlerler. Koryonik venler bir araya gelerek toplanır ve bir umbilikal vende birleşir (Şekil-2) (26).

Maternal yüz: Maternal yüz, bazal katman ile ifade edilir. Bazal katman fetal ekstravillüs trofoblastlar (EVT) ve uterus desidua hücreleri, ECM, fibronoid ve kan pıhtısı içerir. Maternal yüzün yüzeyi yarıklarla birbirinden ayrılan sayısı 10-40 arasında değişen düz kabartılar halinde görünür. Bu bölmeler lob (kotiledon) olarak isimlendirilir. Loblar koryonik tabakadan intervillöz aralığa doğru büyüyen villus ağaçlarının biraraya gelmesiyle oluşmuştur. Bu villus ağaçları plasenton denilen plasentanın fonksiyonel en küçük birimini şekillendirir (Şekil 2). Yarıklar lobların sınırlarını belirleyen plasental septaları ifade eder. Gebeliğin son dönemindeki Term

plasenta 60-70 villus ağacı (fetal lob) içerir. Her maternal lob 1-4 fetal lobdan oluşur (Şekil-2) (26).

Koryonik ve bazal katmanlar plasenta kenarlarında birleşerek koryon leveyi oluşturur. Koryon leve başlıca üç katmandan oluşur: epitel ve mezenşim dokusuyla amniyon, mezenşim ve EVT katmanıyla koryon ve desidua kapsüllaris. Plasenta gelişiminde fetal/maternal dolaşım ilk olarak utero-plasenta dolaşım sistemi olarak gelişir. Plasenta, fertilizasyonun 4. ve 5. gününde blastokistte farklılaşan trofoblast hücre tabakasından köken alır. İmplantasyondan sonra bu tabaka plasenta ve fetal zarlara, iç hücre kütleleri ise embriyoya, umbilikal kordona ve plasenta mezenşimine farklılaşır (26).

Blastokist uterus epiteline 6-7. günde tutunur ve bu süreçte plasenta farklılaşmaya başlar. Sadece embriyoblast kutbundaki trofoblastlar (polar trofoblastlar) implantasyonu gerçekleştirip tamamlayabilir. Polar trofoblastlar farklılaşarak tek nükleuslu hücrelere dönüşür ve bu hücrelerin kaynaşması ile de ilk çok nükleuslu sinsityotrofoblastlar oluşur. Sinsityotrofoblast katmanının altında bulunan tek nükleuslu trofoblastlara ise sitotrofoblast ismi verilir. Sitotrofoblastlar hızla bölünüp, kaynaşarak sinsityotrofoblastları oluşturur ve bir kök hücre görevi yaparlar. Maternal dokuyla bu aşamada irtibat halinde olan hücreler ise sadece sinsityotrofoblastlardır (26).

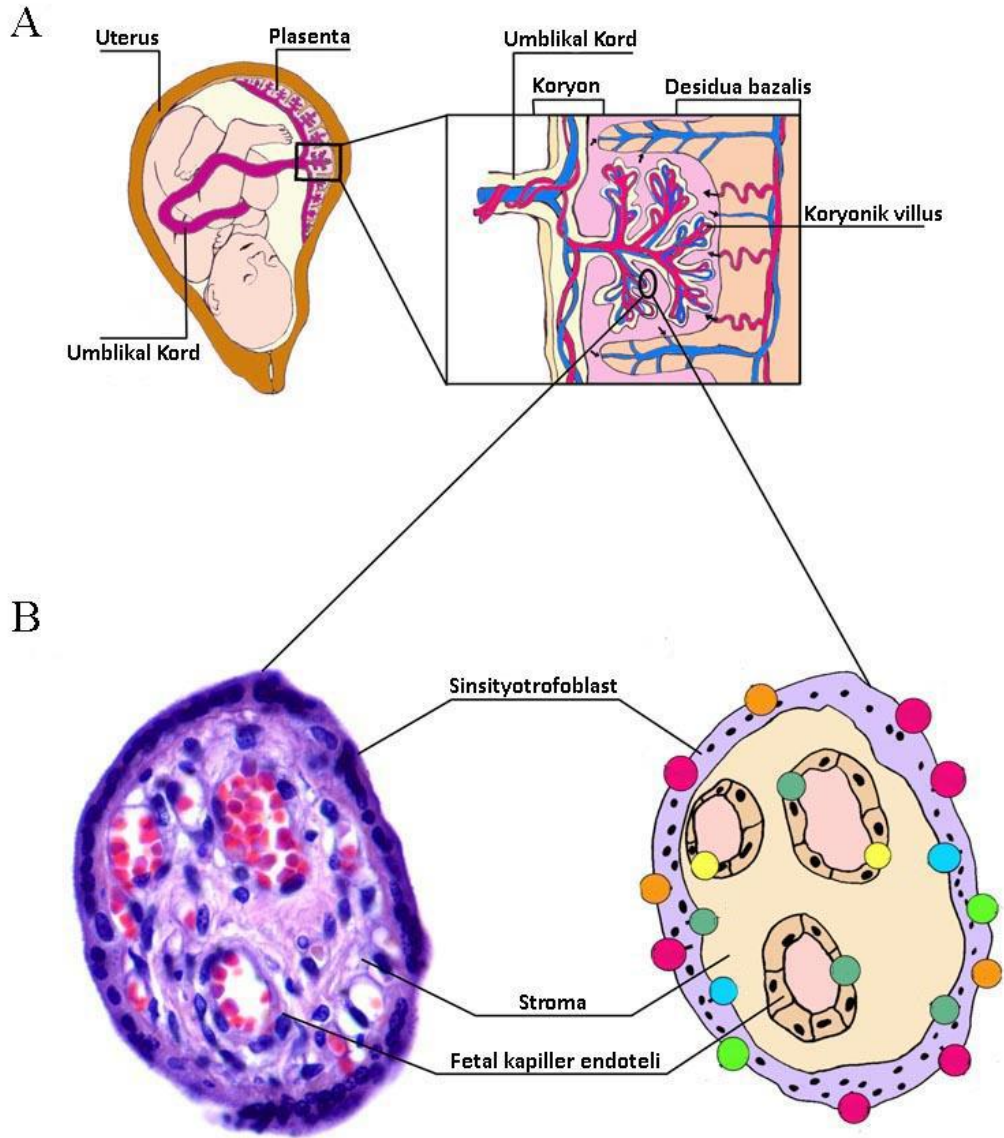


Şekil 2. Kotiledon yapısı ve koryonik villus çeşitleri. (26)

Sinsityotrofoblast katmanı içinde sıvı dolu lakünler 8. günde şekillenir ve büyüyerek trabekülleri oluşturur. Bu aşamada üç tabaka şekillenir: embriyoya bakan erken dönem koryonik tabaka, laküner sistemin yer aldığı tabaka ve maternal endometriyum ile irtibat halinde olan primitif bazal tabaka. İnvaze olan sinsityotrofoblastların hedef dokusu maternal kapiller ve venöz damarlardır. Damarların aşınmaya başlaması ile maternal kan hücreleri lakünlerin içine dolmaya başlar. Ancak asıl maternal plasental dolaşım sinsityotrofoblastların arterleri aşındırmasıyla başlar. Bu aşamada lakünlerin içinde daha çok venöz kan bulunur. Blastokist, 12. günde endometriyuma tamamen gömülmüş olarak gözlenir. Blastokistin abembriyonik kutbunda şekillenen lakünler küçük ve trofoblast tabakası da incedir. Embriyoda gelişen ilkel çizgi (primitif streak)'den köken alan ekstraembriyonik mezodermal hücreler, sitotrofoblast hücreleriyle koryonu oluşturmak için sitotrofoblast hücrelerine doğru göç ederler. Daha sonra koryon sitotrofoblastları, sinsityotrofoblastlara doğru penetre olarak ekstravillus sitotrofoblastları oluşturur. İnterstisyal alanda bulunan EVT tabakası endometriyum stroması içerisine doğru yayılarak spiral arterleri aşındırır. Trabeküllerde ilk dallanmalar 13. günde görülmeye başlar. Oluşan ilk primer koryonik villuslar da görüntü sinsityotrofoblast tabakasının içinde sitotrofoblast tabakası ile karakterizedir. Daha sonra ekstraembriyonik mezodermal hücreler trabeküller içine doğru göç eder ve primer koryonik villusların mezenşimal kısmını oluşturarak sekonder koryonik villuslara dönüşmesini sağlar. Böylelikle mezoderm içinde hematopoetik progenitör hücreler oluşmaya ve farklılaşmaya başlar. İlk plasental kan hücreleri ve endotel hücreleri embriyonun vasküler sisteminden bağımsız olarak 20. günde gelişmeye başlar. Plasental damarların gelişmeye başlamasıyla tersiyer koryonik villuslar gelişir. Koryonik yüzeyin tamamı 8. haftaya kadar villuslarla kaplıdır ancak daha sonra desidua kapsüllerisile temas halindeki villuslar zamanla dejenere olur. Desidua bazalis üzerindeki villuslar ise farklılaşarak artar ve dallanmalarını derinleştirerek koryon frondozumu oluşturur. Dördüncü ve beşinci aylarda koryon frondozum plasental septumlar aracılığıyla kotiledonlara ayrılır ve Desidua bazalis sıkılaşıp bazal tabakayı oluşturur (26).

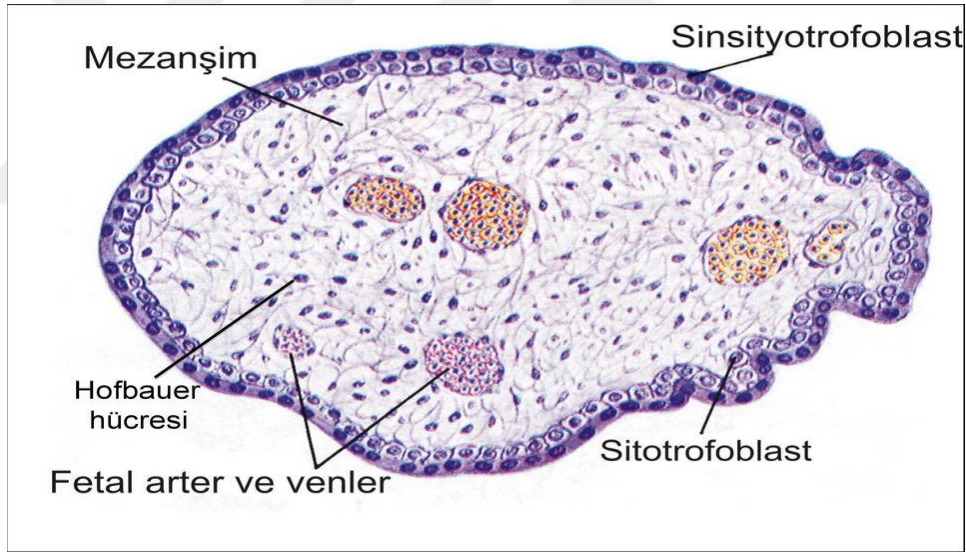
3.1.3. Plasenta histolojisi

Plasentanın öncülü olan sitotrofoblast hücreleri, mitotik ve aşındırma özelliği olan aktif hücreler olup sinsityotrofoblastlarla kaynaşarak iç hücre tabakasını oluştururlar (Şekil 3). Sinsityotrofoblastlar çok nükleuslu dev hücrelerdir. Endometriyumu invaze ederler ancak mitotik olarak inaktiftirler. Bu hücreler çok gelişmiş Golgi aygıtlarına, Endoplazmik retikuluma (ER), çok sayıda yağ granülüne ve mitokondriyona sahiptir. Plasentanın fonksiyonel birimini villuslar oluşturur (Şekil 2, 3) (26).



Şekil 3. Normal insan plasenta yapısı; A-Plasentanın yerleşimi ve katmanları, B-Koryonik villus görünümü. (26).

Villusların stromasında bağ doku ile birlikte retiküler hücreler, mezenşimal hücreler, fibroblastlar, miyofibroblastlar, düz kas hücreleri, makrofajlar, fetal-plasental antijen sunan hücreler olarak bilinen Hofbauer hücreleri bulunur (Şekil 4). İnsan plasentasında gebelik boyunca bulunan fetal kaynaklı villöz makrofajlar Hofbauer hücreleridir. Gebeliğin ilk yarısında (yaklaşık gebeliğin 18. gününde) çok sayıda, iri sitoplazmik vakuollere sahip olan bu hücrelerde gebeliğin ilerlemesiyle vakuollerin sayısı ve boyutu azalır ve intrasitoplazmik granüller belirginleşir. Stromada makrofaj görevi gereği savunma yapmak, diğer mezenşimal hücreleri indükleyerek ya da inhibe ederek villus stromasının şekillenmesini sağlamak, plasental sıvı akışını kontrol etmek, direkt ve indirekt olarak anjiogenezi yönlendirmek, kollajen üretimini dolaylı olarak teşvik etmek gibi önemli görevleri bu hücreler üstlenmiştir (26).



Şekil 4. Hofbauer hücresi (<http://histemb.medicine.ankara.edu.tr>)

Villus yapıları morfolojik olarak farklılık gösterir. Term plasentada intervillöz alanda bulunan villuslar, villus yapısı, damar yapıları, histolojik özelliklerine göre 5 sınıfa ayrılır. (şekil 2)

1. Kök villuslar (Stem villus): Görevi villus dallanmalarının yapısını desteklemektir. Koryonik tabakayla irtibat halindedir. Trofoblastik dejenerasyon azdır ve az fetal kapiller damar içerir. Bu tabaka villuslarda fetal/maternal değişim az

düzyededir. Yapısal olarak yoğun fibröz stroma ve damarlar içerir. Gestasyon ilerledikçe azalır yerini fibrinoid yapıya bırakır.

2. İmmatür intermediate villuslar: İlk ve ikinci trimesterde değişimin gerçekleştiği ana bölge denebilir. Villus ağacının büyüdüğü ve dağıldığı bölgedir. Kök villusların devamı şeklindedir. Dıştaki sinsityotrofoblastlar gestasyon boyunca kalıcıdır. Gevşek veya retiküler stroma, Hofbauer hücreleri, daha belirgin damarlar ve yer yer sitotrofoblast hücrelerinden oluşur.

3. Matür intermediate villuslar: Uzun, ince ve fetal damarlar açısından zengin villuslardır. Terminal villusları oluşturur ve fetal/maternal değişim için önemlidir.

4. Terminal villuslar: Plasentanın fonksiyonel birimleridir. Elektrolit, O₂ ve CO₂, besin alışverişi yapılır. Terminal villuslar kök villuslarla aradaki yapılar aracılığıyla bağlıdır. Termdeki plasentada terminal villuslar küçük, daha az stroması olan ve kesintili sitotrofoblast katmanıyla tanınır. Fetal kapiller damar ile sinsityotrofoblast arasındaki mesafe ince bazal membran kadardır; böylece fetal/maternal alışveriş mesafesi ~3.7 µm'ye düşer. Plasentanın villus hacminin %40'ını, ufak çaplarından dolayı villus yüzeyinin %50'sini, villus kesit alanlarının %60'ını oluşturur. Bazı terminal villuslar intervillöz alanda serbest iken bazıları desidüaya tutunur ve plasentanın yapısal olarak sabit kalmasını sağlar. Placenta 15-28 kotiledondan oluşur. Her kotiledon bir kök villusunun 3-5 immatür ve matür intermediat villuslara bölünmesiyle, onların da 10-12 terminal villuslara dallanmasıyla oluşur.

5. Mezenşimal villuslar: Villus proliferasyonunun ve bütün endokrin aktivitenin olduğu bölgedir.

Placenta villus yapısı mezenşimal villus oluşumu ile başlar. 5.haftaya kadar sadece mezenşimal villuslar bulunur. Mezenşimal hücreler bu villuslara daha sonra göç ederek immature intermediat villusları oluşturur. Bu villuslar 8-22. haftalarda baskındır. Placenta kan damarları oluşmaya başlamıştır. Villuslar daha sonra farklılaşarak önce matür intermediate, sonra terminal villusları oluşturur. Trofoblastların artması ve parmak benzeri çıkıntı oluşturması, mezenşimal göçü ve lokal fetal anjiyogenezi tetikler. Villus içi fetal damar gelişimi ve fetal/placental kan akımı yaklaşık 6-8. haftalarda başlar (24, 25).

Villus stroması içinde kapillerlerin enine kesitlerinin görülmesi ile ilk tersiyer villus oluşumu ortaya çıkar. Doğuma kadar tüm damarlanmış fetal villuslar bu isim altında toplanabilir. Intervillöz fetal dolaşım başladığında maternal kan ile fetal kan

bu alanda karşı karşıya geçer. Her iki kan akımı birbirinden plasental bariyer ile ayrılır. Plasental bariyeri oluşturan tabakalar:

- a) Hem villus yüzeyini hem de intervillöz aralığı kaplayan, kesintisiz sinsisyotrofoblast tabakası
- b) Birinci trimesterde tam, daha sonra kesintili olan sitotrofoblast tabakası
- c) Trofoblastik bazal membran
- d) Villus bağ dokusu
- e) Fötal endotelyum şeklindedir (24, 25).

Plasenta gelişimi için birçok anjiyogenik büyüme faktörü, sitokin, hücre adhezyon molekülleri, büyüme faktörleri, ekstraselüler metalloproteinazları, hormon ve transkripsiyon faktörleri gerekmektedir (26). Bozulmuş trofoblast invazyonu ve yetersiz spiral arter yeniden şekillenmesinin bir ürünü olan zayıf plasental gelişim, maternal ve fetal dolaşım arasında besin, oksijen ve hormon alışverişinin zayıf olmasına neden olur ve preeklampsi, FGR (fötal büyüme kısıtlaması), plasenta akreta ve ölü doğum dahil olmak üzere çeşitli obstetrik komplikasyonlarla ilişkilendirilmiştir (27-30).

3.1.4. Plasental fonksiyon

Plasentanın temel işlevleri taşıma ve metabolizma, koruma ve endokrin başlıkları altında sınıflandırılabilir. Plasenta fetüse oksijen, su, karbonhidratlar, amino asitler, lipitler, vitaminler, mineraller ve diğer besin maddelerini sağlarken karbondioksit ve diğer atık ürünleri de uzaklaştırır. Plasenta bir dizi maddeyi metabolize eder ve metabolik ürünleri maternal ve/veya fetal dolaşıma salar. Fetüsün belirli ksenobiyotik (zenobiyotikler) moleküllere, enfeksiyonlara ve anne hastalıklarına karşı korunmasına yardımcı olur. Ayrıca hamilelik, metabolizma, fetal büyüme, doğum ve diğer işlevleri etkilemek için hem anne hem de fetal dolaşıma hormon salgılar. Gebelik sırasında birçok plasental işlev değişebilir ve ayrıca plasental işlevde birçok tür farklılığı da vardır (27).

3.1.5. Plasenta İnvazyon Anomalileri

Plasental adezyon anomalileri, uterusun desidua tabakasında şekillenen bozulmalar sonucunda trofoblastların patolojik penetrasyonu ile şekillenir. Çoğunlukla doğum sonrası plasentanın el ile çıkarılmadığı zaman tanı konur. Plasenta akreta terimi uterus duvarına yapışık olarak devam eden plasenta

implantasyonunu tanımlamak için kullanılır. Plasenta villusları myometrium içine kusurlu desidualizasyon oluşturacak şekilde batmıştır. Eğer villuslar myometriuma yayılmışsa plasenta inkreata olarak adlandırılır. Eğer invazyon serosal yüzeye ulaşacak kadar derinlere gidiyor ise plasenta perkreata olarak isimlendirilir (Şekil 5). Sıklıkla olmasa da özellikle kanama, uterus perforasyonu, enfeksiyon, cerrahi yaklaşımda zorluk ve diğer komplikasyonların sonucu olarak gelişir. Bu anomaliler ciddi hastalık yaratabilecek ve hatta annede ölüme neden olabilecek komplikasyonlara sebep olabilecek ciddi sorun olarak görülür.

Plasenta invazyon anomalileri, plasental trofoblastların bir kısmının veya tümünün uterus'un myometrium dokusuna anormal bir biçimde istila olmasıdır. Plasenta akreata spektrumu (PAS) daha önceden anormal invaziv plasentanın patolojik yapışma aralığını ifade eden plasenta akreata, plasenta perkreata, plasenta inkreata olgularıdır. Maternal mortalite ve morbidite tabloları, kan transfüzyonu gerektiren ciddi ve bazen hayatı tehdit edecek düzeyde kanama nedeniyle ortaya çıkabilir. Ayrıca plasenta akreata spektrumu olan kadınlarda histerektomi riski ve doğum sonrası hastanede kalış sürelerinin daha uzun olması muhtemeldir. Plasenta akreata spektrumu (önceden anormal yapışan invaziv) aşağıdaki ifadelerle açıklamak mümkündür.

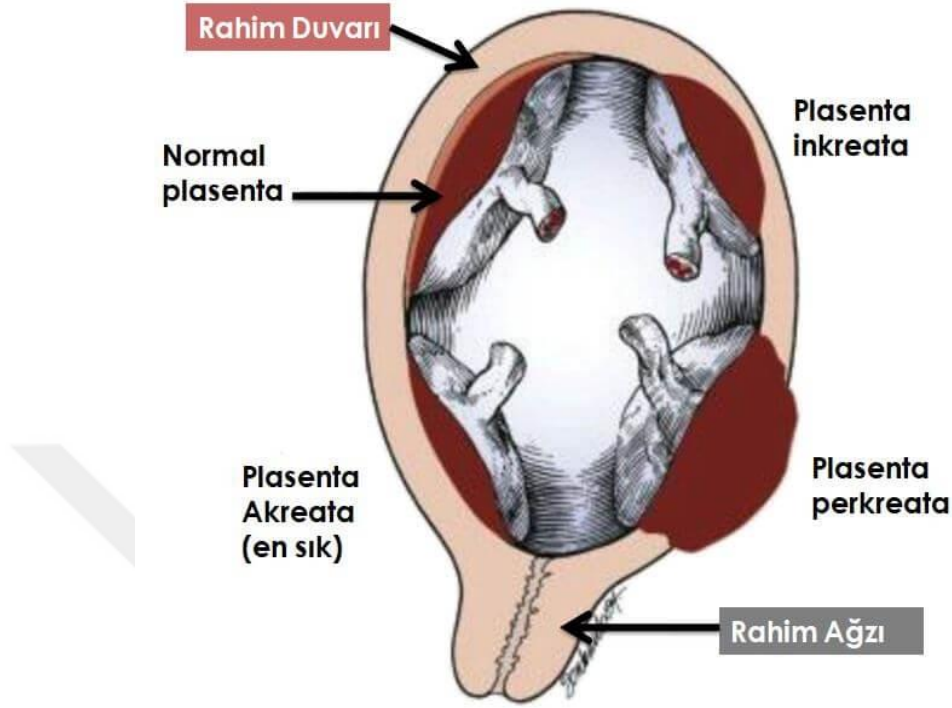
1-Plasenta akreata: Plasental villüsler desidua yerine myometriuma bağlanır, %79 oranında sıklığı bildirilmiştir.

2-Plasenta inkreata: Plasental villüsler myometriuma invaze olur, %14 oranında sıklığı bildirilmiştir.

3-Plasenta perkratea: Plasental villüsler myometriumu tamamen invaze eder ve serozaya kadar uzanır, %7 oranında sıklığı bildirilmiştir.

Plasenta inkreata ve perkratea oluşumunda; uterus skarının kısmen veya tamamen ayrılmasından dolayı ekstravillöz trofoblastlar myometriumun daha derinlerine, serozaya ve hatta daha ötesine doğru yayılmasına neden olurlar. Büyük ve derin myometrial defektler skarın normal reepitelizasyonun olmaması ile ilişkilidir. Plasenta, uterin kaviteye hem anormal derecede yapışmış ve hem de invaziv villüslere sahiptir. Böylelikle plasental invazyon derinliği ilerleyen gebelik haftasıyla beraber değişebilir. Bununla birlikte hamileliğin 16. haftası gibi erken gebelik döneminde tespit edilmiş plasenta perkratea vakası da bildirilmiştir. Erken gebelik dönemlerinde tespit edilen vakalara bakılarak plasental invazyon anomalileri olan akreata, inkreata ve perkratea'nın implantasyon sırasında oluştuğu

gösterilmiştir. Bu çalışmaya bakılarak da plasenta invazyon derinliğinin artmasının gebeliğin haftasının artması ile ilişkili olmadığı da açıklanmıştır. (31, 32).



Şekil 5. Plasenta invazyon anomalileri (32).

3.1.6. Patogenez

Plasenta akreata, inkreata, perkreata spektrumun patogenezini kesin olarak bilinmemekle birlikte çeşitli teoriler ileri sürülmüştür. Bunlardan en yaygın olanı; daha önce geçirilmiş uterin cerrahinin neden olduğu (sezaryan, myomektomi gibi) skar alanındaki desidua bölgesinin zarar görmesi ile plasental villusların myometriyum dokusu içerisine anormal derecede invazyonudur. Bu teori; bu vakaların %80 inde daha önceden geçirilmiş sezaryan ile doğum, myomektomi ve/veya küretaj hikayesi ile ilişkili olduğunu gözlemleyerek desteklemiştir. Vakaların bir kısmını açıklayabilen diğer teoride ise daha önceden yapılmış uterin cerrahi alanında ekstravillöz trofoblastların büyüme faktörlerinin ekspresyonu aracılığı ve kusurlu anjiyogenez ile desidual invazyona neden olduğu gösterilmiştir. Submüköz fibroidler, bikornuat uterus veya adenomyozis gibi uterus patolojileri nadir görülen bazı klinik durumlar olup normal biyolojik endometrial fonksiyonlara müdahale ederek endometrial defektler oluşturup plasentanın anormal invazyonuna neden olabildikleri de gözlemlenmiştir. Bu patolojik durumlarda uterus cerrahi öyküsü olmayan primigravid kadınlarda nadir görülen PAS oluşumunu açıklayabilir (31-33).

3.1.7. Göbek kordonu

Umbilikal kord (Chorda Umblicalis, Göbek bağı) embriyonal yaşamda görülen, plasenta ile embriyo arasında bir köprü görevi yaparak embriyoyu placentaya bağlayan, vasküler yapıda geçici ve embriyo dışı bir organdır. Başlangıç ucu fetusta, sonlanmış ucu ise placentadadır. Fetus ile anne arasındaki ilişkiyi ve alışverişini sağlayan göbek bağı'nın uzunluğu ortalama 55 (30–90) cm dir (34). İntrauterin yaşam süresince göbek kordonu içerisinde, yolk kesesi ile primitif orta barsağın ilişkisini sağlayan omfalomezenterik kanal, allontois kesesi ile mesanenin ilişkisini sağlayan urakal kanal, umbilikal arterler ve umbilikal ven bulunur. On ikinci haftadan sonra umbilikal halka oluşarak, göbek kordonu içinden yalnızca umbilikal arterlerin ve umbilikal venin geçebileceği genişlikteki bir boşluk halini alır (34). Umbilikal kord, Wharton jeli ile çevrili iki arter ve bir venden oluşur. Bağ dokusu Wharton jeli olarak adlandırılır ve açık zincir polisakkaridlerden (hiyaluronik asit, glikozil ve mannozil grupları içeren karbonhidrat grupları) ve farklı matriks moleküllerinden oluşur (35). Genellikle Wharton jeli yassılaştırmış skuamöz epitel ya da kübik tip epitelten oluşan bir ya da daha fazla hücre tabakası ile çevrilidir. Wharton jeli az sayıda, kan damarlarının etrafında konsantrik olarak yerleşmiş iri stellate şekilli (yıldızsı) hücrelerden oluşur. Bu hücreler çoğunlukla myofibroblast özelliklerine sahiptir. Umbilikal kord içerisinde bulunan arterler internal elastik laminası olmaması ile diğer arterlerden ayrılır. Wharton jelinde vaso vasorum görülmez. (24). Göbek kordonu amniyonik epitel ile çevrelenmiş olup merkezdeki bağ dokusuna sıkıca yapıştığı için fetal membranlardan kolaylıkla ayrılamaz. Göbek kordonunun önemli bir yanında, çeşitli çalışmalarda insan göbek kordonu wharton jeli kök hücrelerinin etkili bir şekilde osteojenik farklılaşmalar için kullanılabilmesi olgusu olmuştur (36,37).

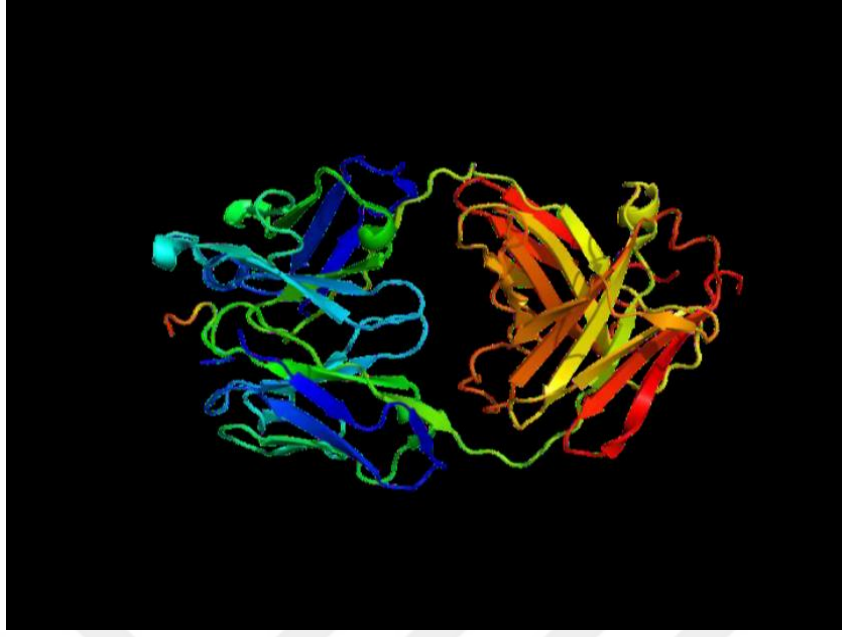
3.2. Glikoproteinler

Çok hücreli bir organizmada hücre bütünlüğünün korunabilmesi için, önemli hücresel görevlerin hücrelerce paylaşılması, uyumlu ve amaca yönelik olarak yerine getirilmesi gerekir. Şekilsiz temel maddenin yapısına hiyaluron asiti ile proteoglikanlar katılır ve polisakkaritler çoğunlukta bulunur. Glikoproteinler, temel maddenin bileşimine az miktarda olmakla beraber katılırlar. Glikoproteinler, küçük kompleks yapıda olan, ökaryotik hücre zarındaki protein moleküllerine oligosakkarit

ve polisakkaritlerin kovalent olarak bağlanması ile oluşur. Glikolizasyon denilen glikoprotein sentezi endoplazmik retikulumda (ER) başlar, golgide devam eder ve oluşan glikoproteinler hücre zarına taşınır. Destek dokularında bulunan başlıca glikoproteinler; fibronektin, kondronektin, osteonektin, laminin, trombospondin ve entaktin dir. Bu tür glikoproteinler bağlayıcı özelliğe sahiptirler; buldukları yerlerdeki hücreleri, temel maddedeki ipliklere bağlarlar. Yapısal glikoproteinler, özellikle hücrelerin adezyonunda ve yayılmasında, yaranın iyileşmesinde, embriyonun farklılaşması ve hücre morfolojisi üzerine etkilidirler. Canlı vücudunda farklı işlevlere sahip birçok glikoprotein bulunur ve bu glikoproteinler, organizmanın yaşamını sürdürebilmesi için gerekli mekanizmaların çalışmasında, hücre davranışlarının belirlenmesinde, dolayısıyla hücre fonksiyonlarının yerine getirebilmesinde oldukça önemli görevler üstlenmişlerdir (38).

3.2.1. Osteopontin

OPN, İlk kez 1985 yılında Franzen ve Heinegard tarafından kemik dokudan izole edilmiş ve bir kemik doku fosfoproteini (sialoprotein 1- kemik dokunun majör ekstraselüler sialoproteini) olarak tanımlanmıştır (39). Multifonksiyonel bir molekül olup normalde eksprese edilen, karakteristik yapı ve fonksiyon olarak matrisellüler protein özelliklerde, tüm vücut hücrelerinden salgılanan, yaklaşık 300 aminioasitli, negatif yüklü, asidik, hidrofilik, ve özellikle kronik hastalıklarda sentezi artan bir glikoproteindir (şekil 6). Sekrete fosfoprotein 1 (SPP 1), sialoprotein 1, 2ar, üropontin ve erken T-lenfosit aktivatörü – 1 (Eta-1) olarak da anılmaktadır. En sık kullanılan adı osteopontin Yunanca “osteon”, kemik, Latince “pons”, bağlayıcı, köprü kurucu anlamındaki kelimelerin birleşiminden oluşmuştur. Bu adlandırma OPN'nin tanımlanan ilk işlevlerini işaret etmektedir (9).



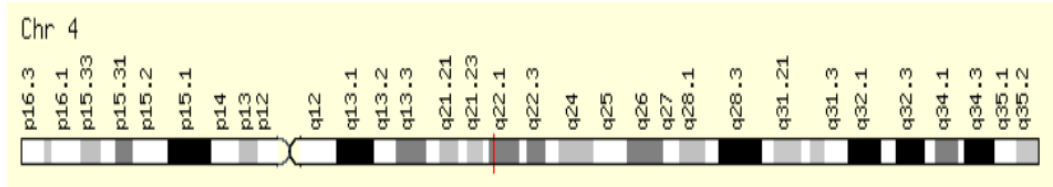
Şekil 6. Osteopontin proteinin yapısı (40).

Memelilerde bulunan OPN yapısında Arjinin-Glisin–Aspartik asitten (RGD) oluşan hücre bağlayıcı dizi, kalsiyum bağlayıcı bölge ve iki adet heparin bağlayan alan vardır (9, 39, 40) (şekil 7). Osteopontin cDNA, çeşitli memeli hayvanlarda farklı dizilim gösterir. Bu alternatif dizilimin fonksiyonel öneminin olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir. Bu molekül fosforilasyon, glikolizasyon ve postranslasyonel modifikasyona uğrar (9, 39, 40). İnsan osteopontini genomik olarak 4. kromozomun uzun kolunda lokalize olup 7 ekzondan oluşur ve kromozomun 4q13 uzun kolunun üzerinden kodlanır (9, 39) (şekil 8). Bu alan, OPN ile birlikte kemik doku ile ilişkili dört benzer proteinin, sialoprotein (BSP), dentin matriks protein 1 (DMP1), dentin sialofosfoprotein (DSPP) ve matriks ekstraselüler fosfoglikoprotein (MEPE), kodlanması ile de doğrudan ilişkilidir (şekil 8). Benzer fonksiyonel kriptik motifleri ve dizilimleri nedeniyle bu beş integrin bağlayıcı glikofosfoprotein SIBLING proteinler (small integrin-binding ligand N-linked glycoproteins) olarak adlandırılmaktadır. OPN tek bir gen tarafından kodlanır ancak pleiotropik bir proteindir; alternatif eşleşme, alternatif translasyon ve postranslasyonel modifikasyon basamakları aracılığıyla özgülleşir, bu nedenle molekül ağırlığı insanda 44 – 75 kDa aralığında değişir ve geniş fonksiyonel çeşitlilik gösterir (9, 39). Osteopontinin vücutta birçok farklı doku ve hücrede ekspresyonu gösterilmiştir. Bunlar kemik, dişin dentin tabakası, hipertrofik kartilaj, böbrek, beyin, kemik iliği,

endotel hücresi, düz kas hücreleri, koryonik villus, uterusun desidua tabakası, iç kulaktaki gangliolar, tükrük ve ter bezleri, safra ve pankreas kanalları, aktive makrofaj ve lenfositler olarak sıralanabilir. OPN ekspresyonunun düzenlenmesi günümüzde tam olarak anlaşılabilmiş değildir ve değişik hücrelerde farklı olabilir. (9,39,40). Farklı hücrelerde ya da aynı hücrelerde ancak farklı koşullarda eksprese olan OPN izoformlarının fonksiyonları da farklılaşmaktadır (39,40).



Şekil 7. İnsan Osteopontin proteinin yapısal bölgelerinin gösterilmesi (40).



Şekil 8. Osteopontin geninin 4. kromozom üzerindeki yerinin gösterilmesi (40).

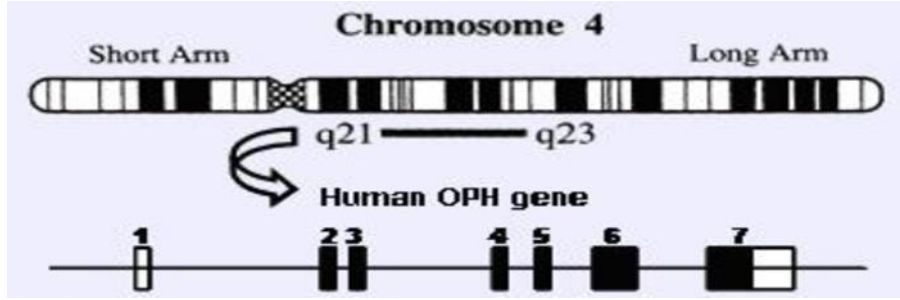
Son yıllarda yapılan çalışmalar da osteopontinin inflamasyon ve biomineralizasyonda önemli rolleri olduğu, ayrıca osteopontin düzeyinin yara iyileşmesi ve inflamasyon sırasında birçok dokuda yükseldiği bildirilmiştir. Bu çalışmalar da osteopontinin epitelial, mezenşimal ve inflamatuvar hücrelerde adezyon, migrasyon, sinyal oluşumu ve hücre sağ kalımı için bir uyarı oluşturduğu ortaya konulmuştur. OPN başlangıç kodu pürinden zengin bölge, ETS-benzeri bölge, glukokortikoid ve D vitaminine yanıtı elementleri ve interferon indüklenebilir elementleri içermektedir. OPN ekspresyonu; post translasyonel modifikasyonlar (o-

glikosilasyon, fosforilasyon, sializasyon, tirozin sülfasyonu), hormonlar (kalsitrol, retinoik asit, steroidler), pro-inflamatuvar sitokinler, büyüme ve farklılaşma faktörleri (epidermal büyüme faktörü, platelet aracılı büyüme faktörü, transforming büyüme faktörü beta) ve genetik polimorfizmler aracılığıyla düzenlenir ve özelleşir. OPN ekspresyonunun aynı zamanda doku hasarı, inflamasyon ya da herhangi bir patofizyoloji durumunda arttığı bildirilmiştir. Günümüzde alternatif translasyonun bir sonucu olarak oluştuğu düşünülen OPN'nin sinyalizasyon peptidi eksik intraselüler varyantı olan intraselüler OPN (OPNi) bu farklılaşmalarla oluşmuş en bilinen formudur (39,40). Osteopontin, hücrelerin hayatta kalması için gerekli olan önemli bir yaşamsal faktördür ve aynı zamanda hücreleri apoptozise karşı korur. Osteopontin, endotel hücrelerinin canlılığı üzerine etki gösterir ve onları apoptozdan korur. Osteopontin, makrofajlar tarafından bolca sentezlenir ve güçlü bir makrofaj kemotaktik etki oluşturur (9).

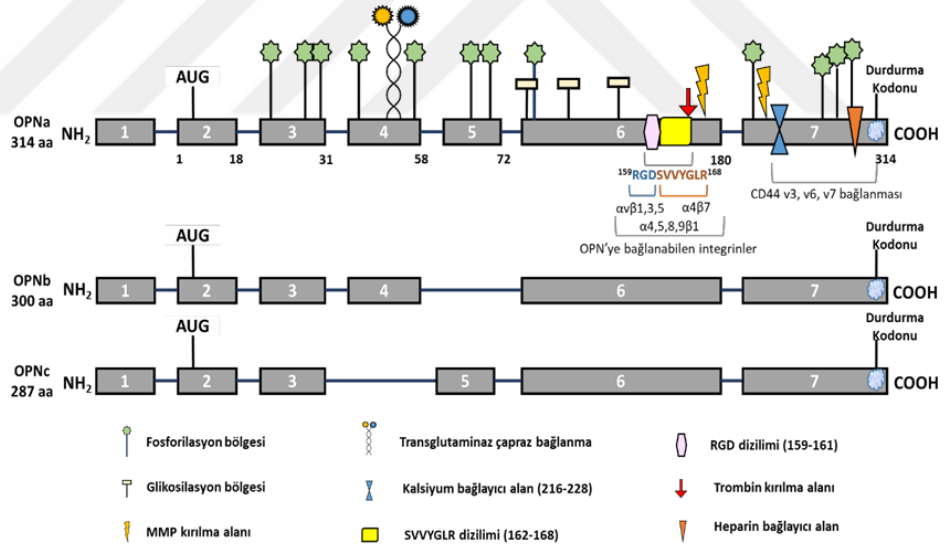
OPN temel işlevlerini insan vücut sıvılarında serbest bir sitokin olarak ya da mineralize dokuya immobilize ekstraselüler matriks proteini olarak gösterebilmektedir. OPN'nin pleiotropik (tek bir genin birden fazla fenotipik özelliği etkilemesi durumu) işlevleri ise sıklıkla bağlandığı hücre yüzey reseptörlerine, intraselüler sinyal moleküllerine, kalsiyum ya da heparin bağlanma alanlarına göre çeşitlenmektedir. OPN ekspresyon ile yaşadığı çeşitlenmeye ek olarak farklı doku ve hücrelerde uğradığı alternatif eşleşme, alternatif translasyon ve posttranslasyonel modifikasyon basamakları aracılığıyla da özgünleşerek yapı ve işlev farklılığı kazanmaktadır. Bu nedenle OPN ve varyantlarının geniş çeşitlilik gösteren yapı ve işlevleri günümüzde halen tanımlanmaya devam etmektedir (şekil 10). Günümüzde OPN'nin, biyomineralizasyon, immün sistem gelişimi ve modülasyonu, anjiyogenez, mielinizasyon, hücre sinyalizasyonu, migrasyon, hücresel adezyon, proliferasyon, diferensiyasyon, hücre sağkalımı, gibi doku ve organlara özgü geniş çeşitlilikte birçok farklı işlevi olduğuna dair bilimsel kanıt sunulmuştur (40).

Gebelikte osteopontin'nin implantasyon, histiyotrofun bir bileşeni olarak hareket etme, desidualizasyon ve immün düzenleme gibi çeşitli süreçlerde rol oynadığı gösterilmiştir. OPN, glandüler epitel, metriyal bez ve trofoblast hücreleri de dahil olmak üzere hayvan modellerinde gebe uterus boyunca bulunur. Fare desidualusunda transkript düzeyinde gebelik boyunca tespit edilebilen OPN'nin uygun plasental ilerleme için gerekli olduğu varsayılmaktadır. Ekstravillöz trofoblast hücre hatlarında OPN yapısal olarak ifade edilir ve OPN'nin inhibisyonu proliferatif ve

invaziv kapasitelerini engeller. Ayrıca, OPN'nin inhibisyonu anjiyogenez ve desidualizasyonu tehlikeye atar ve implantasyon başarısızlığı vakalarında OPN seviyelerinde azalma bulunur. Preeklampsi gibi gebelik komplikasyonlarında OPN, patojenik plasental gelişime yol açan anormal trofoblast istilasında rol oynar (2).



Şekil 9. İnsanda bulunan osteopontin geninin yapısı. Kutu içerisinde ekzonlar görülmektedir, içi dolu olan kutular kodlanan bölgeyi, içi boş olan kutular ise kodlanmayan bölgeyi gösterir (40).



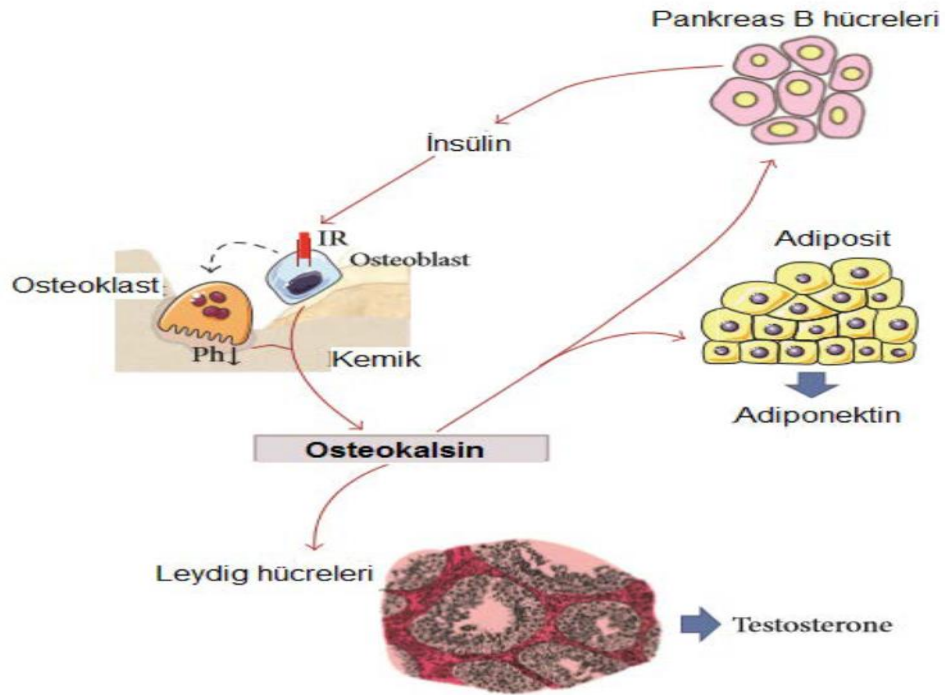
Şekil 10. OPN ve varyantlarının yapısal özellikleri (39)

3.2.2. Osteokalsin

Osteokalsin (OC), (insanlarda) 5,7 KDa'lık düşük moleküler ağırlığa sahip 49 amino asitli bir proteindir. Gama-karboksilglutamik asit içeren protein veya kemik GLA proteini olarak da adlandırılır. OC, kemik matrisi içinde en bol bulunan kollajen olmayan proteindir ve öncelikle farklılaşmalarının geç evresinde osteoblastlar tarafından üretilir. Osteoblast endoplazmik retikulumunda protein translasyonundan sonra OC, K vitamini varlığında γ -glutamil karboksilaz tarafından 17, 21 ve 24 Glu kalıntılarında karboksilasyona uğrar (41). Osteokalsin, kemik matriksinin belli başlı non-kollajen proteinleri arasında sayıca en fazla ve kemikte en yaygın molekül olarak bulunur. Osteokalsin ismi bu proteinin kemik dokusunda bol miktarda bulunmasından (non-kollajen proteinlerin %10-20'si) ve kalsiyuma olan ilgisinden ileri gelir. Çeşitli büyüme faktörleri, hormonlar, sitokinler ve vitaminlerin uyarısıyla sentezlenen osteokalsin, osteoblast farklılaşmasını ve osteosit maturasyonunu stimüle eder. D vitamini; BGLAP genindeki D vitamini spesifik bölgesi (Vitamin D Response Element-VDRE) aracılığıyla osteokalsin transkripsiyonunu direkt olarak stimüle ederken, K vitamini osteokalsinin karboksilasyonunda rol oynar. D vitamini stimülasyonu ile gerçekleşen preosteokalsin transkripsiyonunun ardından, proteoliz süreci ile proosteokalsin (75aa) ve prepeptid (23aa) oluşur. Posttranslasyonel olarak K vitamini varlığında, γ -glutamil karboksilaz enzimi tarafından glutamik asitin 17, 21 ve 24 rezidüleri karboksillenir ve karboksillenme seviyesine göre iki pro-OC formu oluşur. Karboksile osteokalsin (cOC) ve ankarkarboksile osteokalsin (ucOC) olmak üzere, sırasıyla Gla OC ve Glu OC formları meydana gelir. Her iki osteokalsin formunun osteoblastlardan salınımı kalsiyuma bağlıdır. Kemik matriksinde bulunan cOC, biyolojik olarak inaktifken, aktif form olan ucOC hormon karakterindedir. ucOC için hedef organ ve dokular; pankreas, gonadlar ve yağ dokusu'dur (42). Yapılan analizlerde normalde bireylerdeki OC'in %50'sinin ucOC formunda olduğu, K vitamini alımındaki dalgalanmalarla konsantrasyonunun değişebileceği rapor edilmiştir. Karboksilasyon süreci; K vitamini bağımlıdır, K vitamini karboksilasyon için gereken glutamat karboksilaz için bir kofaktördür. OC'in ucOC formu, pankreasta B hücre proliferasyonu, insulin sekresyonunu ve insülin duyarlılığını uyararak, glukoz metabolizmasında rol oynar. Kas, yağ dokusu, pankreas ve karaciğer gibi çeşitli doku ve organlarda etkisi gösterilen osteokalsinin, son yıllarda yapılan çalışmalarda özellikle erkek üreme sisteminde de önemli rollere sahip olduğu rapor edilmiştir. Bu etkisini, testis fonksiyonunun birçok yönü için gerekli bir steroid hormonu olan

testosteronun Leydig hücreleri tarafından sentezini teşvik ederek yapar. Bununla birlikte, kadın doğurganlığı üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı ve erkeklerdeki gibi gonadal anormalliklere neden olmadığı belirtilmiştir (42).

Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla OC'in, steroid hormonların sentez ve sekresyonlarını düzenlediği ortaya konulmuştur. Menstrual döngüde salınımında farklılık oluşur ve luteal fazın sonunda pik yapar. Gebeliğin 1. trimestirinde osteokalsin seviyesi düşer, 3. trimestirinde yükselir ve postpartum dönemde yüksek kalır. (43). Osteokalsinin kalsiyum ve hidroksiapatit bağlama dışında önemli bir diğer özelliği, membranların fosfolipid komponentleri ile etkileşimidir (44). Mineralize dokularda bu tür protein-lipid etkileşimlerinin mineral birikiminin bağlanmasında ya da sonlanmasında görev alan bileşikler lokalize etme, konsantre etme ya da yönlendirme yönünde fonksiyon görebileceği şeklinde yorumlar yapılmıştır. (44).



Şekil 11. Osteokalsinin endokrin fonksiyonları (42).

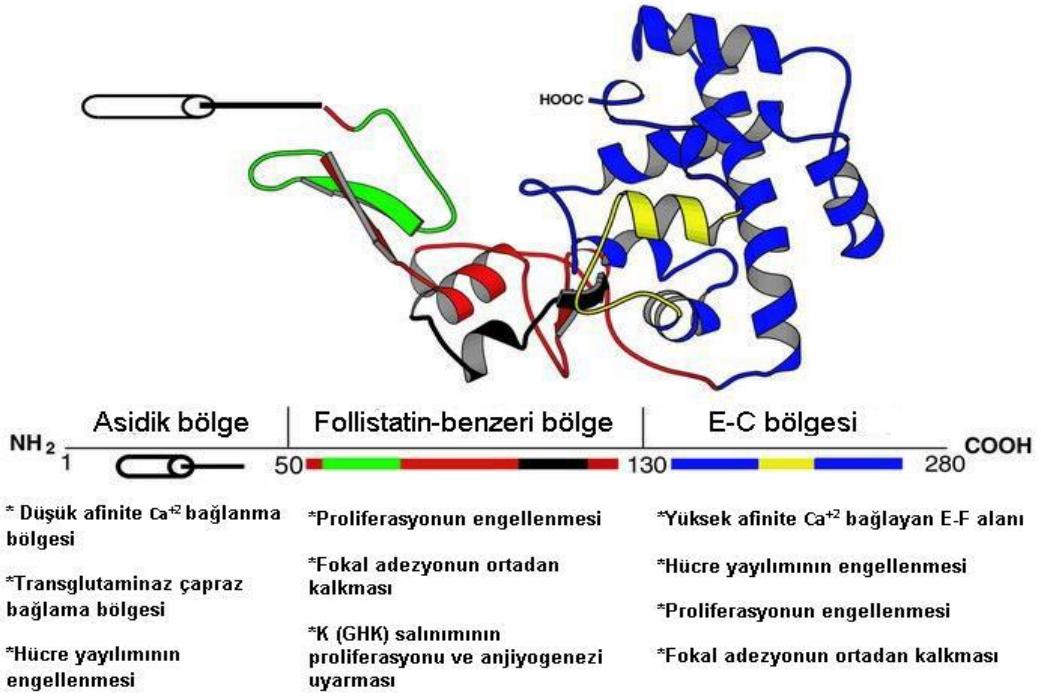
3.2.3. Osteonektin (SPARC)

Osteonektin veya BM-40 olarak da adlandırılan SPARC (Secreted Protein Acid and Rich in Cystine- Salgılanan Protein Asidik ve Sistein Bakımından Zengin), çeşitli memeli dokularında ve hücre hatlarında eksprese edilen hücre doku büyümesi ve yeniden şekillenmesiyle ilişkili 32.700 moleküler ağırlıklı, yapışkan, Ca^{2+} bağlayıcı bir glikoproteindir. Aktif olarak çoğalan ve yeniden şekillenen hücreler içeren bir dizi embriyonik ve yetişkin dokunun bazal membran matriksinin ana bileşeni olan osteonektin, in vivo olarak yaygın bir şekilde dağılmış olsa da birincil yetişkin dokuları kemiğin mineralize matriksi ve insan trombositlerinin a-granülüdür. Osteonektin, asidik (aspartik ve glutamik asit bakımından zengin) NH-terminal alanı, iki potansiyel glikozilasyon bölgesi içeren sistein bakımından zengin bir alan ve ovomukoid benzeri serin proteinaz inhibitörlerine homolog bir bölge, bir sarmal alan ve kalmodulin protein ailesinde bulunan tipte iki "EF el benzeri kalsiyum bağlama motifi dahil olmak üzere birkaç farklı yapısal alan içerir (şekil 12). Farede 11. kromozom, insanda 9. kromozom üzerinde bulunan tek-kopya gen ürünüdür. Dizilim analizleri, sığır, fare ve insan SPARC dizilimlerinin yüksek oranda birbirine benzediklerini ortaya koymuştur. 32 kDa'luk bir protein olmasına rağmen SDS-PAGE üzerinde majör olarak 43 kDa'luk bant vermektedir (45). Osteonektinin, kemik kaynaklı ve trombosit kaynaklı olmak üzere iki formu bildirilmiştir ve bunlar N-bağlı oligosakkarit eklentilerinin karmaşıklığı açısından belirgin farklılıklar göstermektedir. Glikozilasyondaki farklılıklar, kemik ve trombosit osteonektinleri için değişen kolajen bağlanma özgülüğü ile ilişkilidir. Dolayısıyla, post translasyonel modifikasyonla ilişkili yapısal farklılıklar osteonektin proteinleri için doku özgülüğünü yönetebilir. Trombositler ve trombosit hücreleri gibi mineralize olmayan dokularda önemli miktarda osteonektin bulunması, işlevinin kalsifiye doku ile sınırlı olmadığını göstermektedir. Sığır aortik endotel hücrelerinden elde edilen osteonektinin hücresel stres veya yaralanma koşulları altında salgılandığı bildirilmiştir. Osteonektin ayrıca aktive edilmiş insan trombositlerinden salgılanır ve yüzeyinden sunulur. Osteonektinin bu süreçlerle ilişkisi, doku onarımı ve yeniden şekillenmesinde olası bir rolü olduğunu düşündürmektedir. (45).

Çalışmalar SPARC'ın, farklı dokularda farklı glikoprotein yapıda olduğu ve her formun fonksiyonel olarak farklı olduğunu göstermiştir. Başlıca üç domaini bulunur: (şekil 12)

1. **Asidik domain:** Ca^{+2} 'ye bağlanma afinitesi düşüktür. SPARC ailesi proteinler arasında farklılık oluşturan kısımdır. Fonksiyonel olarak hücre yayılmasını, kemotaksisi ve ECM üretimini engellediği tespit edilmiştir.
2. **Sisteince zengin follistatin benzeri domain:** Hücre proliferasyonunu engelleme özelliğine sahip olup, Cu^{+2} bağlanma bölgesini içerir.
3. **Ekstraselüler Ca^{+2} bağlanma domaini:** Proteinin karboksi ucunda bulunur. Hücreye ve farklı kollajen tiplerine bağlanma özelliği göstermiştir.

SPARC'ın en yaygın fonksiyonu, kemik dokuda Ca^{+2} 'ye bağlanarak mineralizasyona katkıda bulunması ve kemik matriksinde bulunan kollajen olmayan en yaygın protein olmasıdır. Hücre farklılaşması, mineralizasyon, anjiyogenez, tümörögenез gibi yeniden şekillenen dokularda SPARC ekspresyonunun değışkenlik gösterdiği, mikroarray analizlerle ortaya konmuştur. SPARC, hücre adhezyonunu, hücre döngüsünü ve belli büyüme faktörlerine dokunun verdiği cevabı engeller, ECM ve matriks metaloproteinazlarının üretilmesini düzenler. SPARC'ın anjiyogenez, tümörögenез, katarktogenez ve yara iyileşmesinde aktif olduğu gözlenmiştir. SPARC'ın fonksiyonunu ve yapısını kalsiyum iyonuna yüksek bağlanma afinitesi olmasından dolayı, kalsiyum iyonlarının seviyesi kontrol eder. Kalsiyumun bağlanması proteinin kararlılığını artırır. SPARC platelet kaynaklı büyüme faktörüne (Platelet derived growth factor- PDGF) bağlanır ve PDGF'in fibroblast üzerindeki reseptörlere bağlanmasını engeller. VEGF, PDGF ile homologtur ve SPARC'ın VEGF'e bağlanarak VEGF'in endotelial hücrelere bağlanmasını engellediği bulunmuştur. SPARC'ın büyüme faktörlerine bağlanması ve PDGF, VEGF gibi büyüme faktörleri üzerinden hücre proliferasyonunu engellemesi anjiyogenezde etkili olduğunu göstermektedir. Sparc, hücre çoğalması, hücre canlılığı, adezyon ve hücre göçü gibi çeşitli biyolojik fonksiyonları etkileyen hücre-matris etkileşimlerine aracılık eden bir proteindir. Embriyonik gelişim sırasında eksprese edilir ve yetişkin dokulardaki ekspresyonu, yara iyileşmesi veya doğal süreçler nedeniyle onarım veya yeniden modelleme yapılan dokularla sınırlıdır (26). SPARC'ın bağlandığı bir diğer protein grubu ise kollajenlerdir. Null farede yapılan çalışmalarda, SPARC'ın yokluğunun ECM'de tip I kollajen miktarını azalttığı bulunmuştur. Tümör bazal membranında eksprese edilen SPARC, tip IV kollajene bağlanmaktadır (46).



Şekil 12. SPARC proteinin yapısı (Kübra Erdoğan ve Onur Eroğlu, 2020 Yüksek Lisans Tezinden alınmıştır).

4. GEREÇ ve YÖNTEMLER

4.1. Doku Numunelerinin Temini

Çalışmamızda 02 Ocak 2023 - 31 Ağustos 2023 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne başvuran normal plasenta yerleşimi olan 10 hasta ve plasenta perkreta spektrumu olan 10 hastadan alınan plasenta dokuları kullanılmıştır (Şekil 12, 13, 14,15). Düşük plasental lokalizasyonlu PP'si olan, sezaryen öyküsü olmayan veya 24. gebelik haftasından önce ameliyat geçiren hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışma için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 17.01.2023 tarihinde 59 nolu protokol numarası ile onay alındı. Kliniğe gelen hastalardan kontrol grubunda (normal plasenta yerleşimi) olan hastaların plasentaları servikal ostan 2 cm uzaklıkta ve myometriyal, serozal invazyon bulgusu olmayan ve öykülerinde plasenta invazyon anomalisi olmayan hastalar olarak ayrıldı. Ayrıca da çalışmaya katılan hastaların yaş, gravida, parite, abortus sayıları, küretaj öyküleri, ek hastalıkları, aile öyküleri not edildi (Tablo 1). Hastaların gestasyonel haftaları son adet tarihlerine göre ya da ilk trimester ultrasonografiye göre hesaplandı. Plasenta perkreta spektrumu olan hastaların tanısı transabdominal ultrason ile konmuş ve transvajinal

ultrason (General Electric Voluson 730 Pro) ile doğrulandıktan sonra sezaryen sonrası plasentanın histopatolojik incelenmesi ile konfirme edilmiştir.

Tablo-1: Çalışmaya katılan hastalara ait genel bilgiler

Vaka No	Hasta Yaşı	Gebelik Haftası	Doğum Sayısı	Doğum Şekli	Abortus ya da Düşük Sayısı
1	23	36	2	C/S	Yok
2	38	35	5	C/S	2
3	18	37	1	C/S	YOK
4	29	36	3	C/S	1
5	33	35	6	C/S	Yok
6	25	36	3	C/S	Yok
7	20	38	1	C/S	1
8	31	36	2	C/S	yok
9	28	37	3	C/S	2
10	25	36	1	C/S	yok
11	37	38	6	C/S	yok
12	43	35	4	C/S	2
13	40	37	5	C/S	yok
14	27	35	2	C/S	yok
15	40	38	3	C/S	4
16	18	37	1	C/S	yok
17	33	36	3	C/S	yok
18	42	35	5	C/S	yok
19	36	36	3	C/S	yok
20	22	37	2	C/S	yok

4.2. Cerrahi Hazırlık

İnvazyon varlığı Doppler USG ile değerlendirilen hastalardan ameliyat öncesi aktif kanaması veya ağrısı olanlar hastaneye yatırılırken, diğer hastalar haftalık kontrollerle ayaktan takibe alınmıştır. Ağrı ve kanaması olmayan hastalara 37. gebelik haftasından sonra elektif sezaryen uygulanırken, ağrı ve kanaması olan hastalara yatışlarının aynı haftasında sezaryen uygulanmıştır. Tüm ameliyatlar en az 5 yıllık deneyime sahip jinekologlar ve kadın doğum uzmanları tarafından gerçekleştirilmiştir. Koruyucu cerrahi isteyen hastalara öncelikle ameliyatın riskleri anlatılmış ve sonrasında uterus koruyucu cerrahi için bilgilendirilip onamları alınmıştır. Operasyon sırasında konservatif cerrahi planlanan hastalara spinal anestezi, spinal anestezi için kontrendike olan veya sezaryen histerektomi yapılacak hastalara da genel anestezi uygulanmıştır. Histerektomi yapılan hastalarda öncelikle Pfannenstiel insizyonu tercih edilmiş ve umbilikal median insizyon uygulanmıştır. Konservatif tedavi planlanan tüm hastalarda plasenta tamamen çıkarılmış ve invazyon varlığına göre hemostatik sütür kullanılmıştır. Ayrıca bazı hastalarda hipogastrik arter bağlanmış veya balon tamponad uygulanmıştır. Ameliyat sonrası hastalar 1. ve 6. aylarda kontrole çağırılmıştır.



Şekil 13. Normal görünümlü plasentanın fetal yüzü ve göbek kordonu



Şekil 14. Plasenta percreta ve göbek kordonu izlenimi

4.3. Işık Mikroskopik İnceleme

Işık mikroskopik incelemeler için plasenta dokuları, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Mikroskopi Laboratuvar'ında takip edildi. Bu amaçla plasenta dokuları, % 10'luk formol solüsyonunda 48 saat süreyle fikse edildikten sonra bir gece akarsuda yıkanarak tespit maddesinden arındırıldı. Yıkanan dokular daha sonra artan alkol serilerinde geçirilerek (%70, %90 ve %96 da birer saat, %100 de üç saat) dokulardan suyun uzaklaştırılma işlemi olan dehidratasyon yapıldı. Bu işlem aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 3 gün boyunca metilbenzoat serisine ve sonrasında 15 dk benzol içerisinde alındı. Takibinde içerisinde benzol bulunan erimiş parafin içinde 58 °C inkübatörde 30 dk boyunca bekletilip ardından da temiz, erimiş parafin içerisinde 58 °C etüvde 4 saat bırakıldı. Daha sonra dokular sıvı parafine gömülerek bloklar haline getirildi. Elde edilen bloklardan Leica RM-2125RT silindirik mikrotom kullanılarak 5 µm (mikrometre) kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlere öncelikle plasentanın genel yapısında bağ dokusu göstermek amacıyla Masson Trichome boyaması, bazal membran ve mukopolisakkarit yapının saptanabilmesi içinde PAS (periodic acid-Schiff) boyaması yapıldı. Boyamalar sonrası preparatlar, Nikon-Eclipse 400 DSRI Nikon dijital fotoğraf makinesi (NIS Elements Imaging Software-version 3.10) ataçmanlı araştırma mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

4.4. İmmunohistokimyasal Analiz

İnceleme için her gruba ait plasenta dokularından 5 µm kalınlığında kesilen kesitler Poly-L-lisine kaplı lamlara alındı. Deparafinizasyon işleminin ardından kesitler azalan alkol serilerinden geçirilerek suya indirildi. Endojen peroksidazın kullanacağımız antikorlarla reaksiyona girmesini engellemek için metanol ile hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂- Merck, 1.07209.1000) içinde kesitler 20 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Sonrasında preparatlar 3 kez 5'er dk boyunca 0.01M Fosfat Buffer Saline (PBS)'de yıkandı. Akabinde, antijen retrieval işlemini gerçekleştirebilmek amacıyla sitrat tamponu (0.01 M, pH 6) hazırlanıp, kesitler

95°C’de 20 dk süreyle kaynatıldı ve takiben soğuması için bekletildi. Kesitler soğuyunca 0.01M phosphate buffer saline (PBS)’de yıkandı ve dokularda spesifik olmayan boyanmayı engellemek için de protein blocking çözeltisi (Ultra V Blok, Thermo Fisher Scientific, Lab Vision Corporation) ile oda ısısında 15 dk süresince inkübasyona tabi tutuldu. Sonrasında nemli hazneye yerleştirilen kesitlere osteopontin, osteokalsin ve osteonektin için 1/100 oranında seyreltilmiş antikorlar damlatıldı ve gece boyu +4 ° C de inkübe edildi, kontrol preparatları ise PBS ile bir gece boyunca +4°C’de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon ardından preparatlar 0.01M PBS’de 5 dk süresince üç defa yıkandı ve ardından da oda sıcaklığında 20 dk boyunca biotinlenmiş sekonder antikor (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) ile uygulamaya tabi tutulup primer antikora bağlanma sağlandı. Bu işlemden sonra preparatlar tekrar 0.01M PBS’de 5 dk süresince üç kez yıkandı ve sonrasında streptavidin peroksidaz solüsyonunda (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) 20 dk reaksiyona tabi tutulup sonra da son defa 0.01M PBS’de 5 dk boyunca üç defa yıkandı. Kesitlerde ortaya çıkacak antijen-antikor reaksiyonlarını göstermek için diaminobenzidine (DAB) kromojende 5-10 dk bekletildi. Sonrasında antijen-antikor reaksiyonunu göstermek için preparatlar 3’3-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) ile 5-15 dk arasında inkübasyona alındı ve immunoreaksiyonun kontrolü yapıp preparatlar distile suya alınarak reaksiyon durduruldu. Zıt boyama için preparatlar Mayer’s Hematoksilende 2-3 dk bekletilip hemen arkasından da akan suda yıkandı. Daha sonra distile suda da yıkanan preparatlar alkol ve ksilol serilerinden geçirilip xylenele parlatılıp entellan ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal işlemlerin özgüllüğü, pozitif ve negatif kontrol kullanılarak değerlendirildi. Negatif kontrollerde primer antikor yerine PBS kullanılarak inkübasyon sağlandı. Pozitif kontrol olarak rat kemik dokusu kullanıldı. Boyanmış preparatlar dijital bir kamera (Nikon Coolpix 4500) ile donatılmış Nikon Eclipse E400 (Nikon, Tokyo, Japonya) araştırma mikroskobu kullanılarak bulguların fotoğrafları çekildi.

Tablo-2: Çalışmada kullanılan antikorların listesi

Antikor Adı	Antikor Türü	Katalog Numarası
Osteopontin (AKm2A1)	fare monoklonal primer antikor	Santa Cruz Biotechnology, sc-21742
Osteokalsin (FL-100)	tavşan poliklonal primer antikor	Santa Cruz Biotechnology, sc30044

Osteonektin(SPARC) (H-90)	tavşan poliklonal primer antikor	Santa Cruz Biotechnology, sc- 25574
------------------------------	-------------------------------------	--

4.5. İmmunohistokimyasal Boyanma Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İmmunohistokimyasal boyanmalar, yoğunluk skoruna (Intensity score) göre semikantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirilme ile osteopontin, osteokalsin ve osteonektin ekspresyonlarının tespiti pozitif reaksiyon gösteren hücrelerde yarı kantitatif olarak yapıldı (47,48). Yoğunluk skorunda hücrelerdeki pozitif boyanma yoğunlukları 4 seviyede skorlandı.

-: Negatif (Yüksek büyütme objektifte hiçbir hücrede boyanma yok)

+: Zayıf (Sadece yüksek büyütme objektifte görülen boyanmış hücreler)

++: Orta (Düşük büyütme objektifte kolaylıkla görülen boyanmış hücreler)

+++ : Güçlü (çok düşük büyütme objektifte görülen boyanmış hücreler)

Hücrelerdeki immün boyanma reaksiyonlarının yoğunluk skoru iki bağımsız araştırmacı tarafından belirlendi (B.G.S, N.S). Boyanmış plasenta kesitleri osteopontin, osteokalsin ve osteonektin ekspresyonlarında en yoğun boyanma alanlarını belirlemek için önce düşük güçte (x100 büyütme), sonra daha büyük (x200, x400) objektif büyütmede tarandı. Her bir plasenta kesiti (normal ve perkreatal ayrı ayrı) için üç rastgele alan seçildi ve incelendi. Sonuç olarak, normal ve perkreatal plasenta dokusunda, sinsityotrofoblast, desidua, koryon mezenşimi, villusların kapillar endoteli, hofbauer hücreleri, göbek kordon epiteli, a. v. Umblikalis endoteli ve düz kasları, wharton peltesi alanları değerlendirildi (Tablo-3).

Tablo 3: Normal ve perkreatalı plasentalar ile göbek kordonlarında osteopontin, osteokalsin ve osteonektin ekspresyonlarına ait yoğunluk skorlarının gösterilmesi.

Parametreler	Doku bölümleri	Doku katmanları	Normal	Perkreat
Osteopontin	Plasenta	Desidua hücreleri	++/+++	+
		Sinsityotrofoblastlar	++/+++	++
		Hofbauer hücreleri	++	+++
		Koryon mezenşimi	N	N
		Villus kapillar endoteli	N	N
	Göbek kordonu	Kordon epitel	N	N
		a. umblikalis endoteli	N	N
		v. umblikalis endoteli	N	N
		a. umblikalis mediası	N	N
		v. umblikalis mediası	N	N
		Wharton peltesi	N	N
Osteokalsin	Plasenta	Desidua hücreleri	+++	+++
		Sinsityotrofoblastlar	++/+++	++/+++
		Hofbauer hücreleri	++	+++
		Koryon mezenşimi	+++	+++
		Villus kapillar endoteli	+++	+++
	Göbek kordonu	Kordon epitel	+++	+++
		a. umblikalis endoteli	+++	+++
		v. umblikalis endoteli	+++	+++
		a. umblikalis mediası	+++	+++
		v. umblikalis mediası	+++	+++
		Wharton peltesi	+++	+++
	Plasenta	Desidua hücreleri	+++	+++

Osteonektin		Sinsityotrofoblastlar	+ / ++	+ / ++
		Hofbauer hücreleri	++	++ / +++
		Koryon mezenşimi	++ / +++	++ / +++
		Villus kapillar endoteli	+++	+++
	Göbek kordonu	Kordon epitelı	+++	+++
		a. umblikalis endoteli	+++	+++
		v. umblikalis endoteli	+++	+++
		a. umblikalis mediası	+++	+++
		v. umblikalis mediası	+++	+++
		Wharton peltesi	+++	+++

5. BULGULAR

5.1.Kontrol Grubunda Olan Normal Plasentanın Yapısal Özellikleri (histokimyasal görünüm)

Kontrol grubunda olan gebeliği normal olarak sonlanmış plasenta kesitlerinde Masson Trichome ve PAS ile yapılan boyamalarda amnion epitelı, koryon plağı, sinsityotrofoblast hücreleri, sinsityotrofoblast çekirdeklerinin kümelendiği sinsityal düğüm ve köprüler, koryon villusları arasında belirgin intervillöz aralıklar, villus stroması, fetal vasküler yapılar ve Hofbauer hücreleri normal histolojik yapıda izlendi (Şekil 15, 16, 17, 18, 19). Kontrol grubunda Masson Trichome boyamada maternal bölge ile koryon villuslarının bulunduğu bölgede desidua hücrelerinin düzenli sıkı bağdoku içerisinde kollajen lifleri çevrelediği, fibroblast hücrelerinin fusiform şeklinde dağıldığı ve kan damarlarının normal yapıda olduğu görüldü (Şekil 20). PAS ile boyanan plasenta kesitlerinde trofoblastik ve vaskülo-sinsisyal bazal membranlar normal kalınlıkta izlendi (Şekil 21).

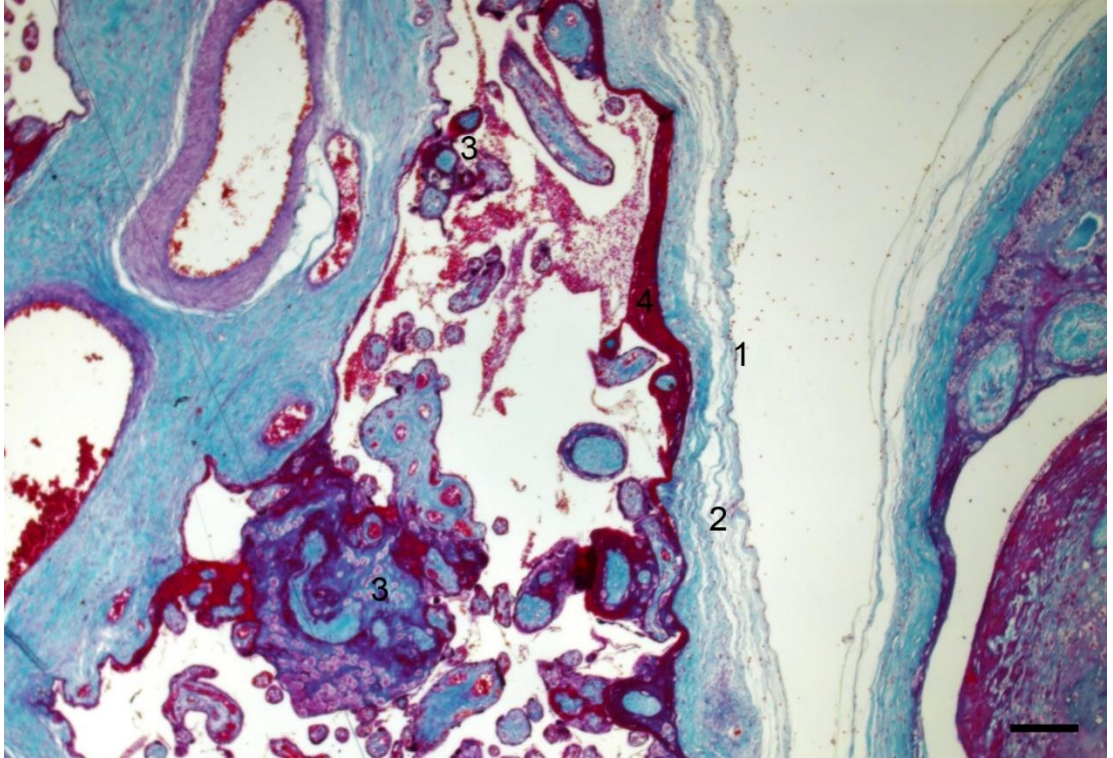
5.2.Plasenta Perkreato Yapısı

Plasenta perkreato yapısında, Masson Trichome ve PAS ile yapılan boyamalarda sinsityal köprüler ile sinsityal düğümlerin sayısında belirgin bir artış ile fetal terminal villus kapillerinde dilatasyon, konjesyon ve belirgin perivillöz fibrin

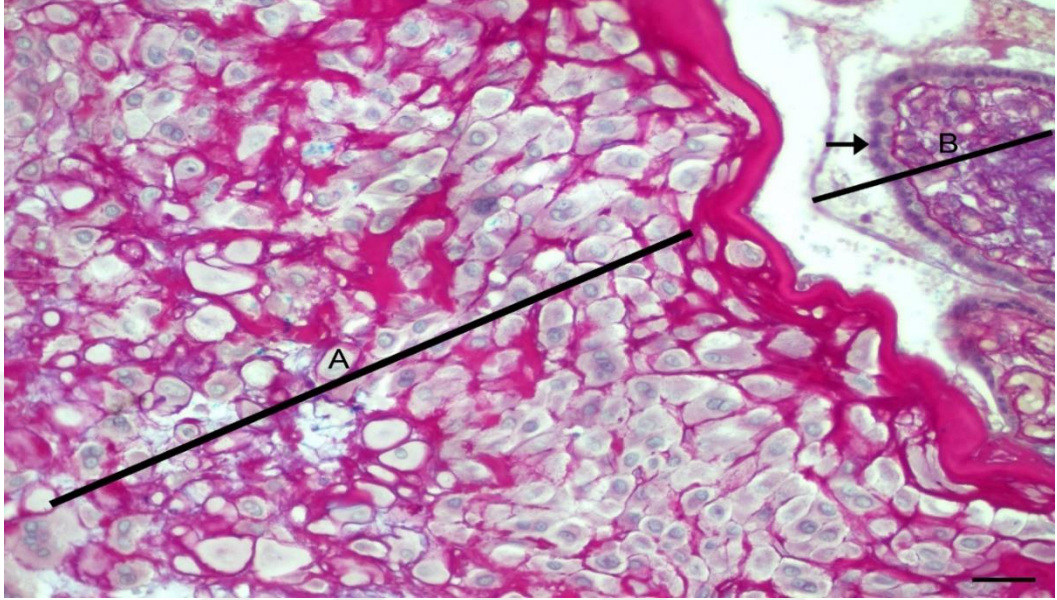
birikimi izlendi (Şekil 22, 23). PAS ile boyanan perkreat grubu plasental kesitlerinde, vaskülosinsityal ve trofoblast bazal membranlarında belirgin bir kalınlaşma ve ondüleli görünümün yanı sıra yer yer perivillöz ve intervillöz de yoğun fibrinoid artış izlendi (Şekil 24, 25).

5.3. Göbek Kordonu Yapısı (Miadında 38-40 Hafta)

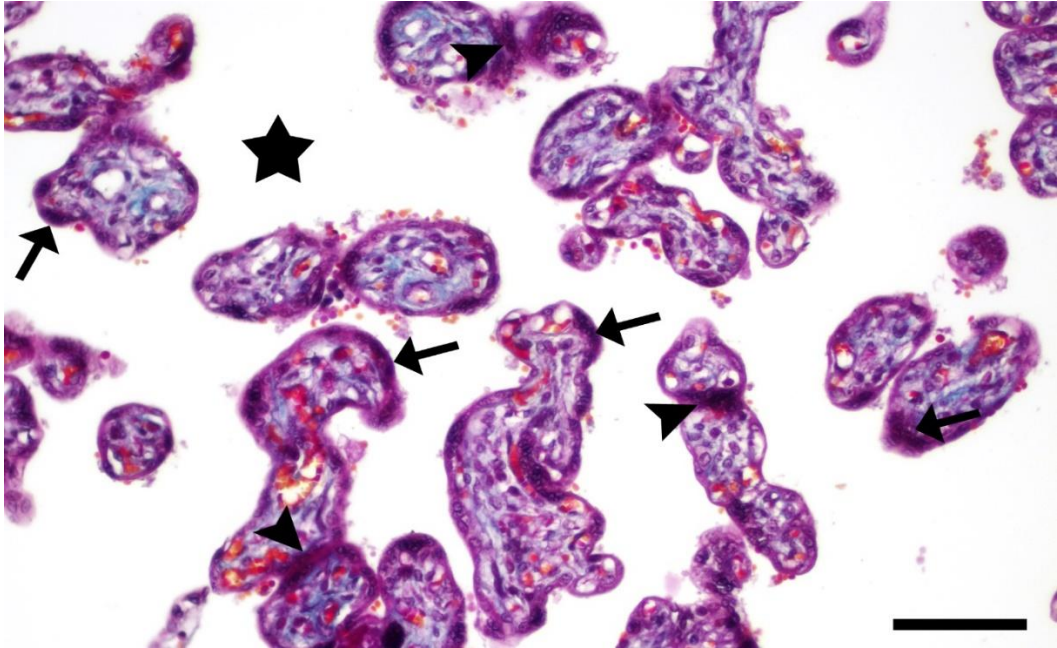
Bu çalışmada elde ettiğimiz göbek kordonu materyalleri miadında-doğumda elde edilenlerdi. Masson Trichome ve PAS ile yapılan boyamalarda her iki gruba ait göbek kordonu yapısında bir adet vena umbilikalıs, iki adet arteria umbilikalıs ile müköz bağdoku yapısındaki Wharton peltesi ve bunların çevresini saran basit yapıda amniyon epitelı (tekkatlı yassı) gözlemlendi (Şekil 26, 27, 28). Göbek kordonu içerisinde görülen 2 adet arterin orta tip olduğu ve yapısında membrana elastika interna ve eksternayı içermediği, elastik liflerin düzensiz dağılım gösterdiği belirlendi. Aa. Umblicales ile V.umblicalis de vasa vasorum ve adventisya 'nın olmadığı, bunun yerini Wharton jelinin almış olduğu belirlendi (Şekil 27). Müköz bağ dokusu içerisine yerleşmiş fusiform ve yıldız şekilli çeşitli bağ doku hücreleri görüldü (Şekil 28, 29, 30).



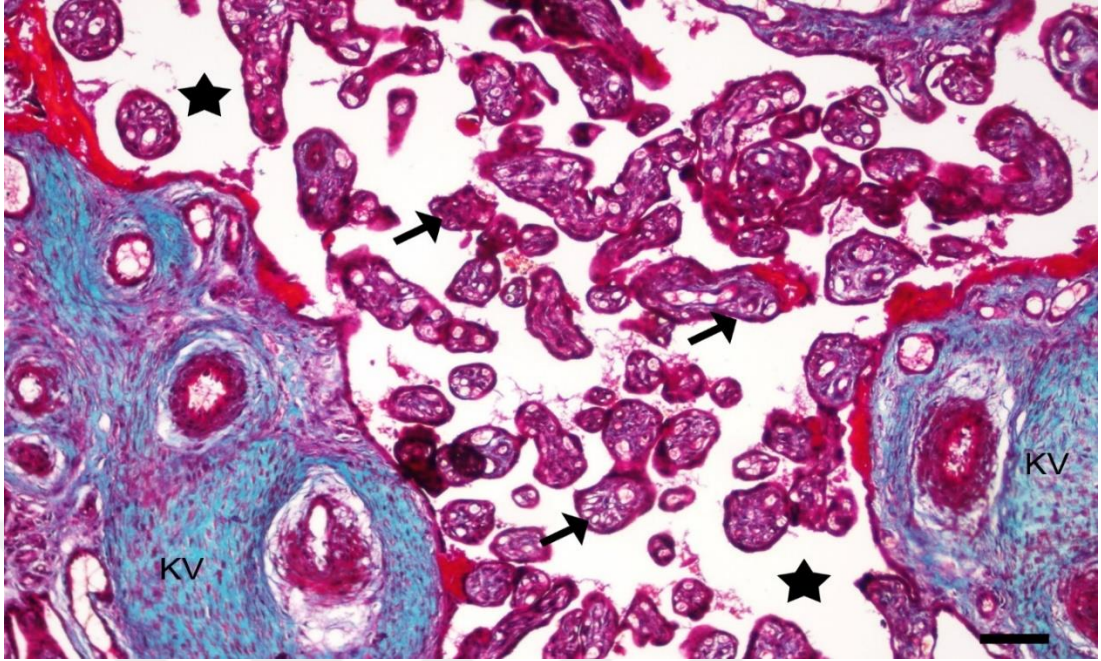
Şekil 15. Miadında bir plasentaya ait plasenta fetalis görünümü ve koryon villusları. 1: Amnion Epiteli, 2: Koryon Plağı, 3: Koryon Villusları, 4: Plasental Septum. Masson boyama, Bar:125 µm.



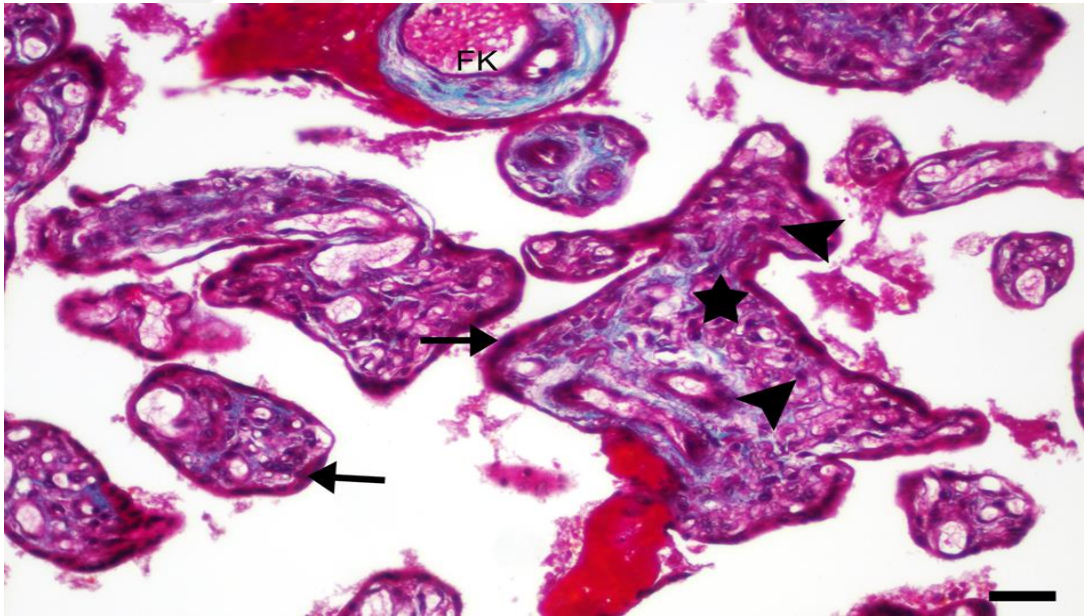
Şekil 16: Miadında bir plasentaya ait desidua bazalis ve koryon villusları. Çubuklar: A:Desisua bazalis, B: Koryon villusları, İnce ok: sinsityotrofoblast hücreleri. PAS boyama, Bar:50 µm.



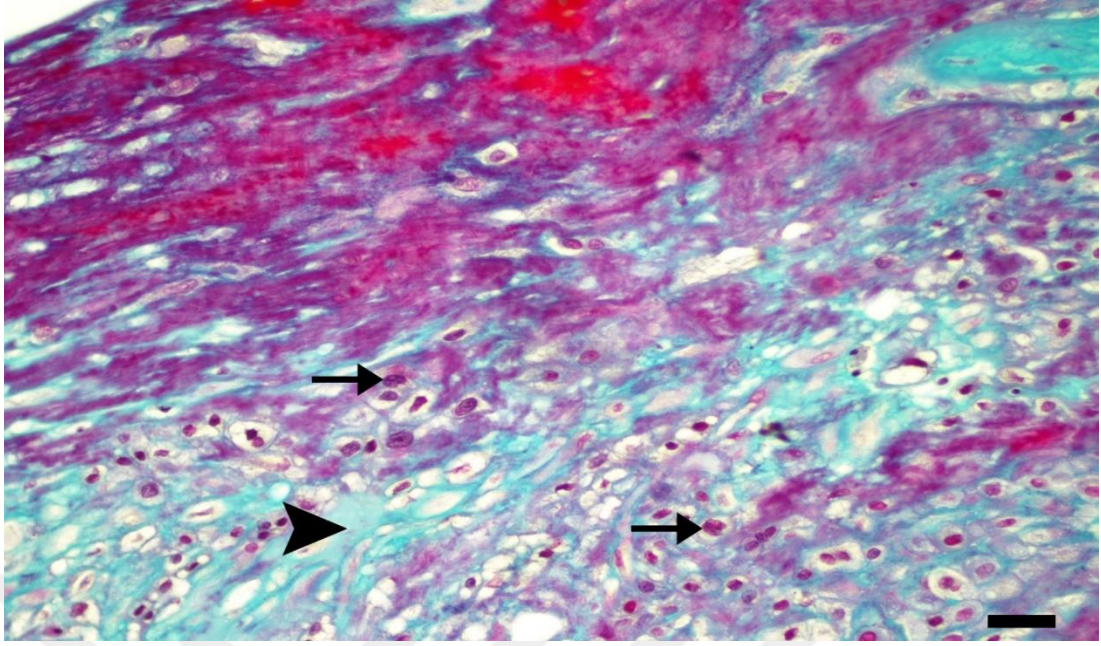
Şekil 17: Miadında bir plasentaya ait koryon villusları, intervillöz aralıklar, sinsityal düğümler ve sinsityal köprüler. Yıldız: İntervillöz aralıklar, İnce ok: Sinsityal düğümler, Ok başı: Sinsityal köprü. Masson boyama, Bar:50 µm.



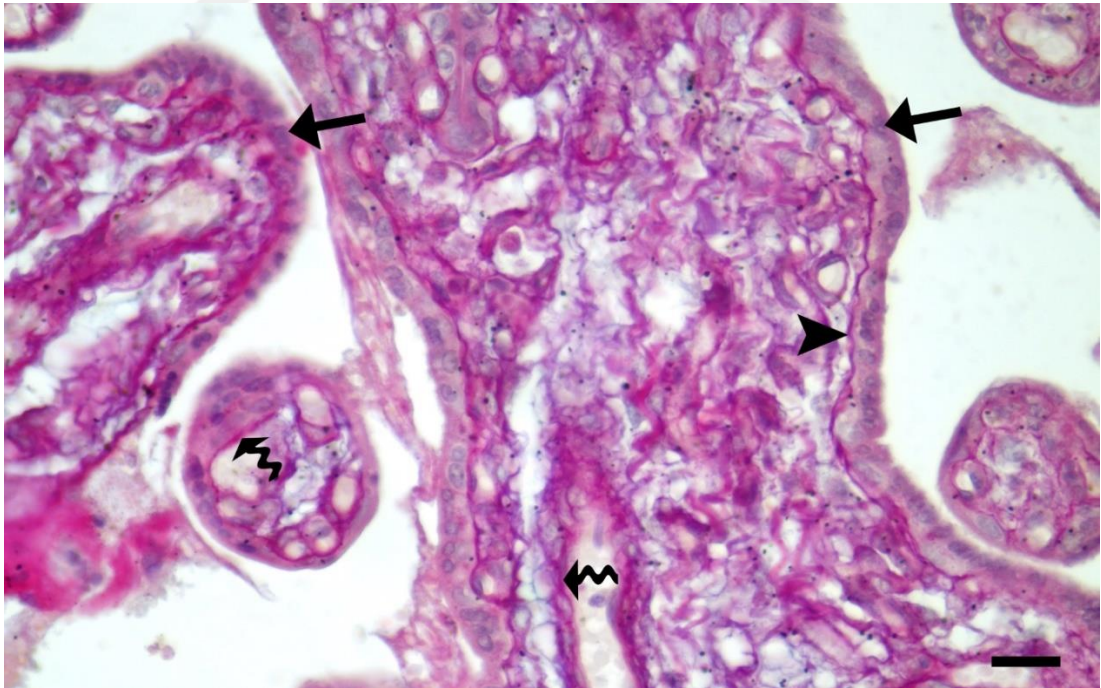
Şekil 18: Term plasentaya ait kök villuslar ile yüzen villusların görünümü. KV: Kök villuslar, Kalın Oklar: Yüzen villuslar, Yıldız: Intervillöz aralık. Masson boyama, 100 µm



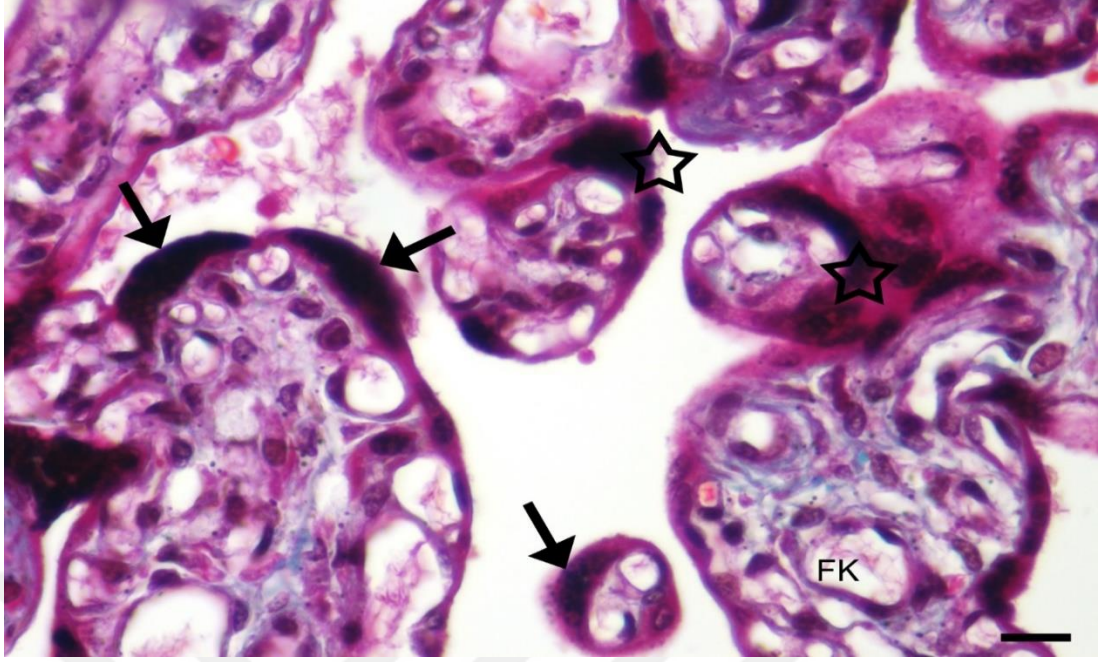
Şekil 19: Term plasentaya ait koryon villusları. Oklar: Sinsityotrofoblast hücreleri, Yıldız: Koryon mezenşimi, Ok başı: Hofbauer hücresi, FK: Fötal kan damarı. Masson boyama, Bar: 50 µm.



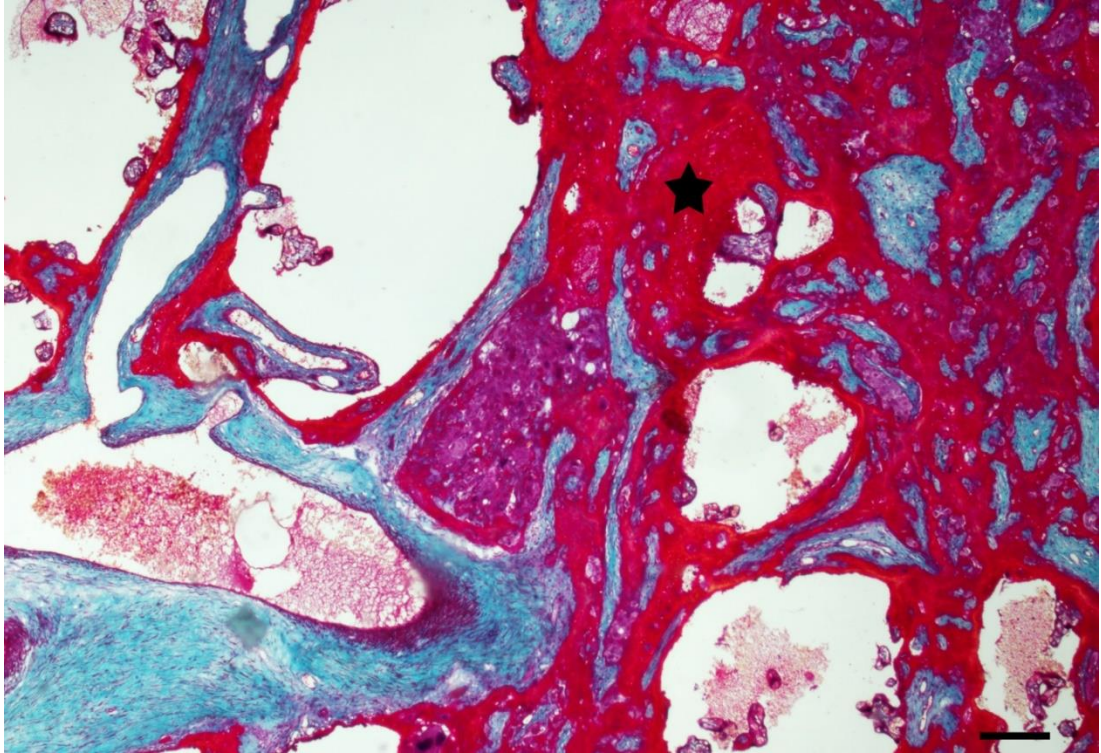
Şekil 20: Miadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmında desidua hücreleri ve kollajen liflerin görünümü. İnce ok: Desidua hücreleri, Ok başı: Kollajen lifler. Masson boyama, Bar:50 µm.



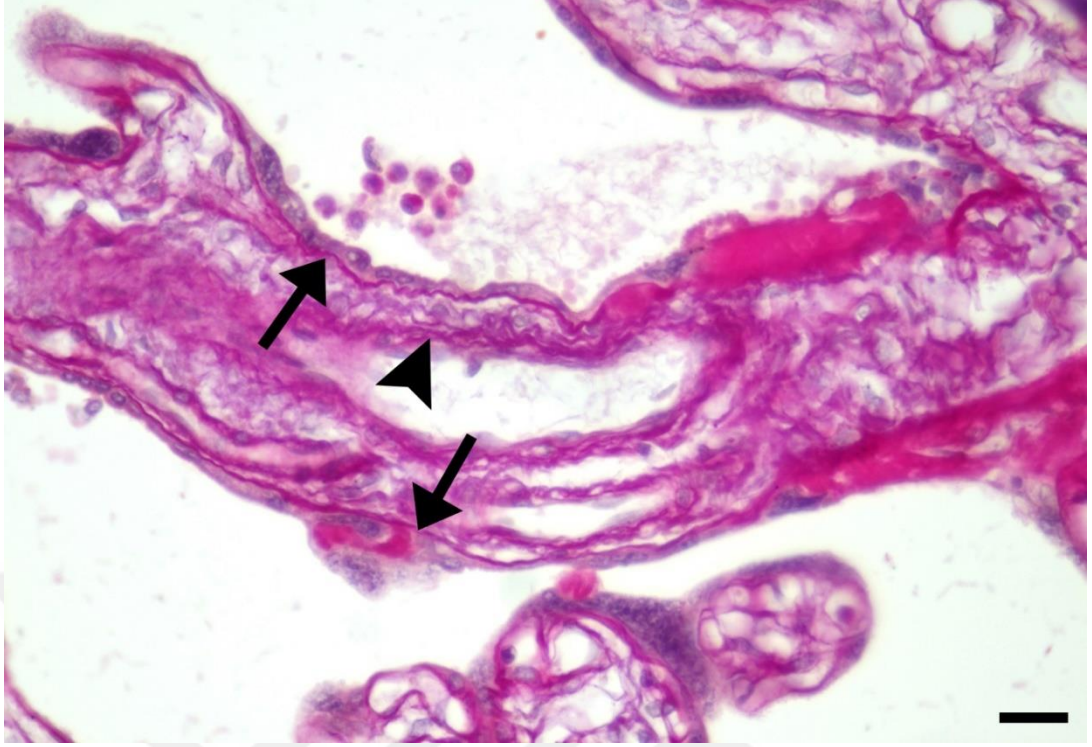
Şekil 21: Miadında bir plasentaya ait normal kalınlıkta izlenen trofoblast bazal membranı ve vaskulosinsityal membranlar. Oklar: Sinsityotrofoblast hücreleri, Ok başı: Trofoblast bazal membranı, Kıvrık ok: Vaskulosinsityal membran. PAS boyama, Bar:25 µm.



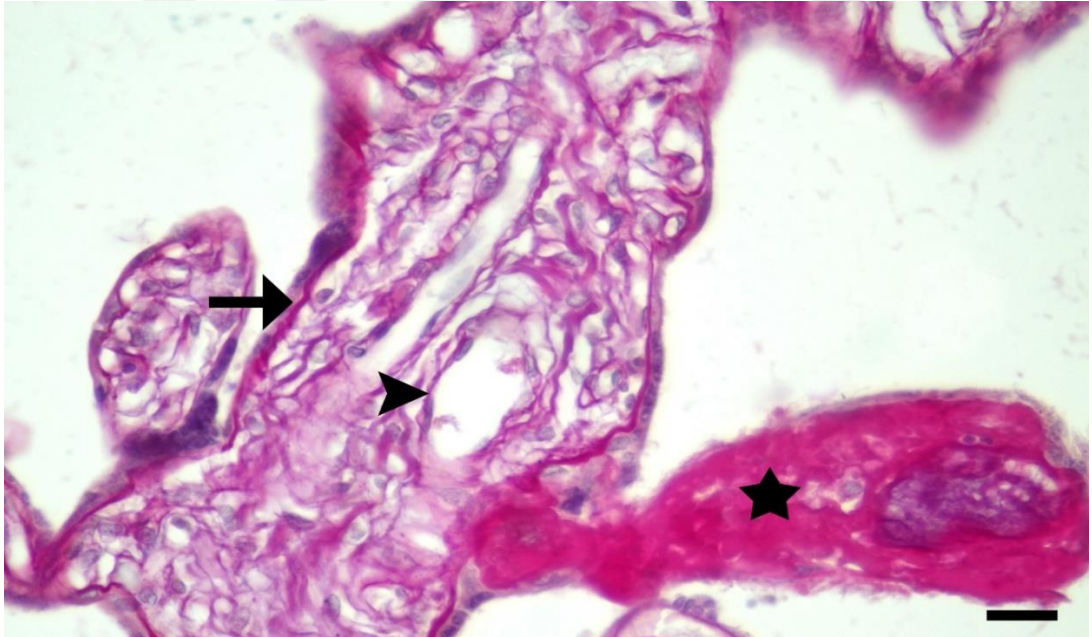
Şekil 22: Perkreotalı plasentaya ait koriyon villusları ile sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerin görünümü. Oklar: Sinsityal düğümler, Yıldız: Sinsityal köprü. Fk: Fötal kapiller. Masson boyama, Bar:25 µm.



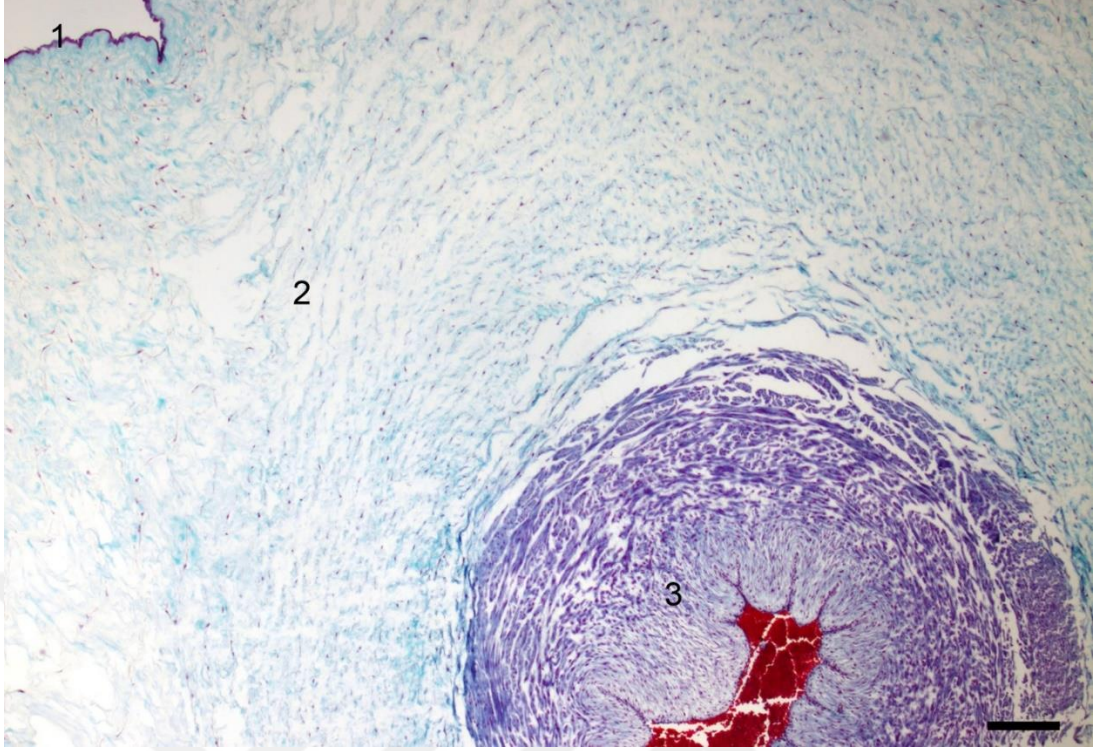
Şekil 23: Perkreotalı plasenta maternalisinde perivillöz fibrin birikimi. Yıldız: Perivillöz fibrin. Masson boyama, Bar:125 µm.



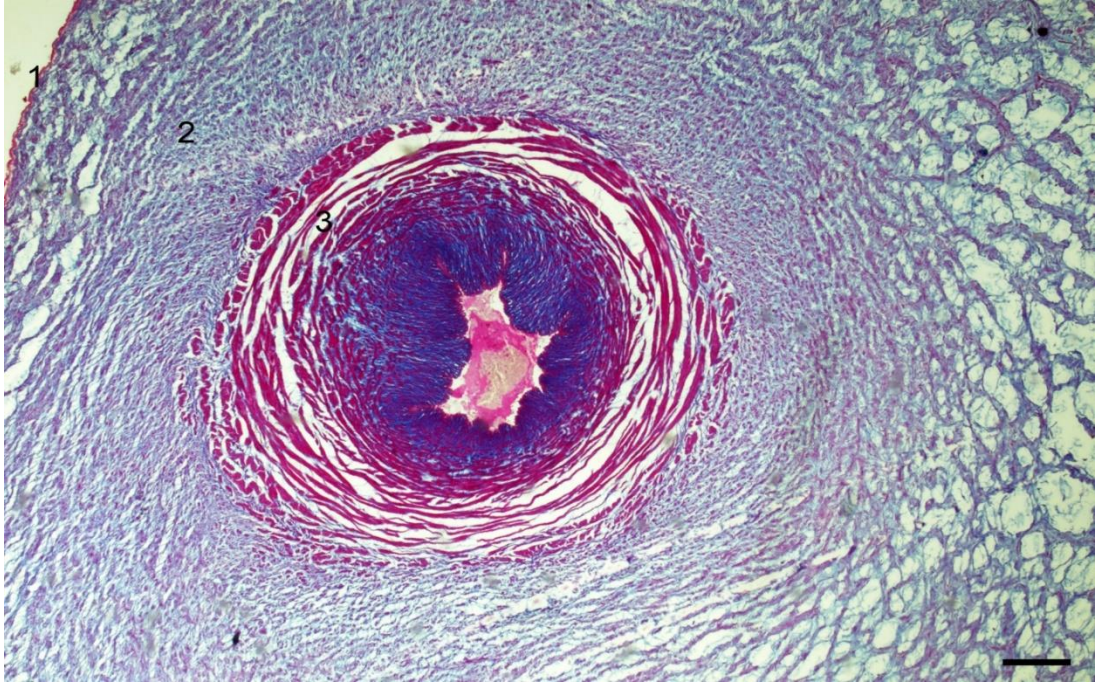
Şekil 24: Perkreatalı plasenta da koryon villusları. Oklar: Trofoblast bazal membranı, Ok başı: Vaskulosinsityal membran ve ondüleli izlenim. PAS boyama, Bar:25 µm.



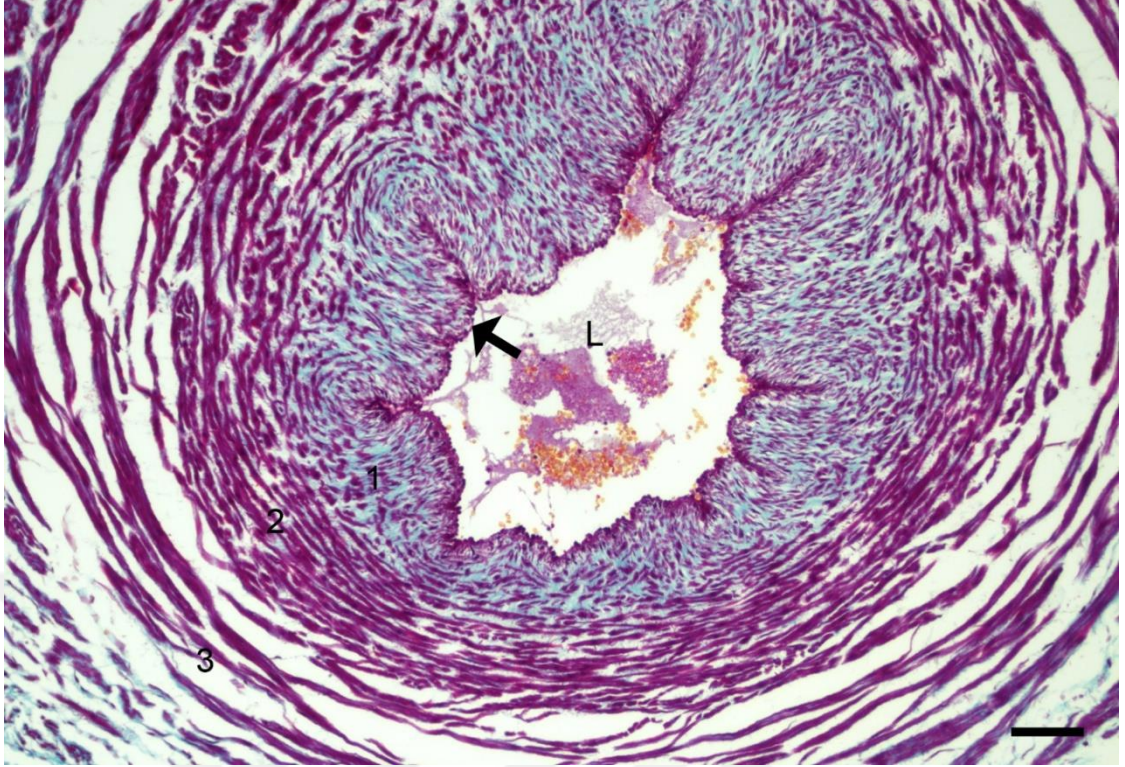
Şekil 25: Perkreatalı plasenta da koryon villusları. Ok: Trofoblast bazal membranı, Ok başı: Vaskulosinsityal membran ve ondüleli izlenim, Yıldız: Perivillöz fibrin birikimi. PAS boyama, Bar:25 µm.



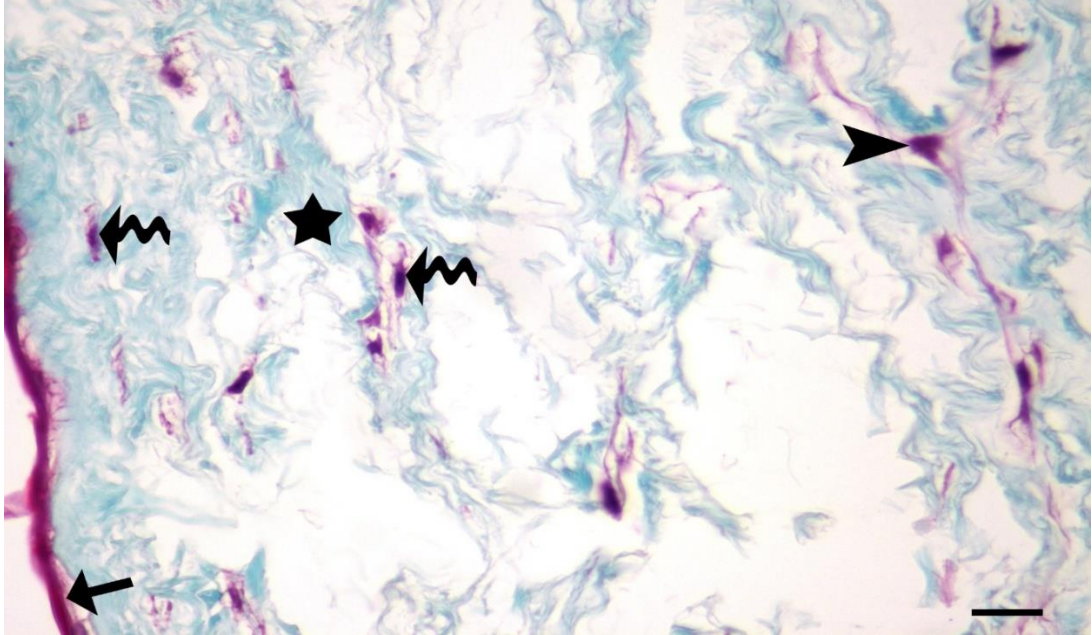
Şekil 26: Miadında göbek kordonu yapısı. 1: Göbek kordonu epiteli, 2: Göbek kordonu bağ dokusu (Wharton Peltesi), 3: Umbilikal arter. Masson boyama, Bar:125 µm.



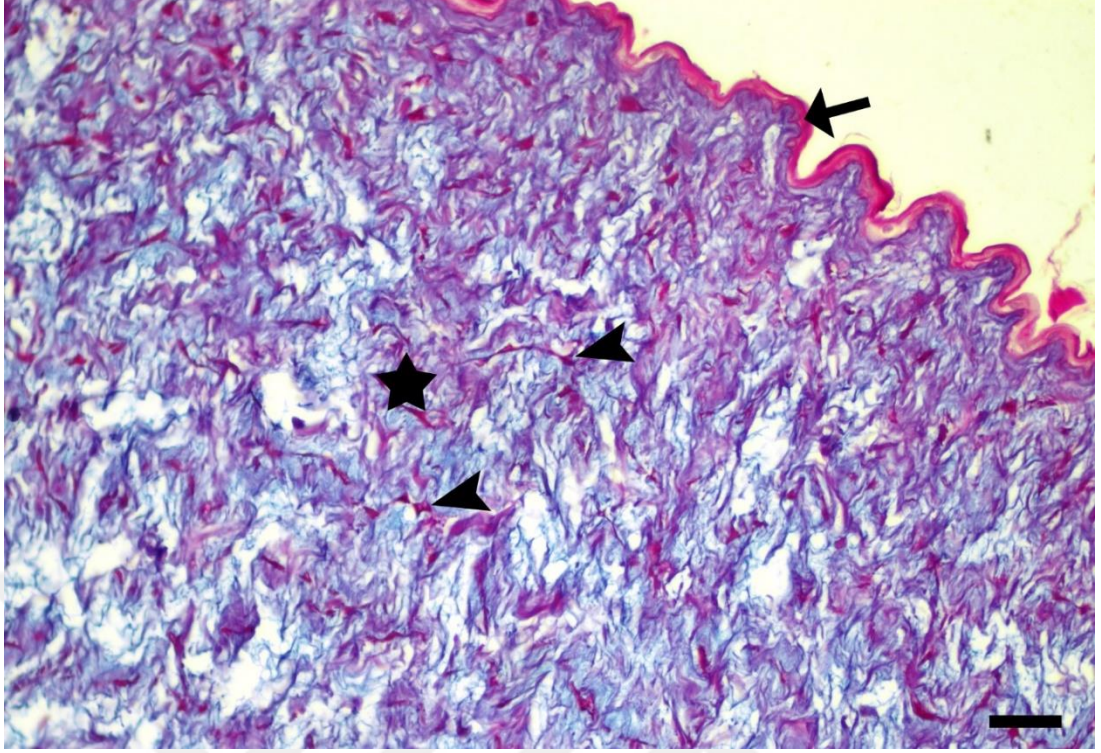
Şekil 27: Miadında göbek kordonu yapısı. 1: Göbek kordonu epiteli, 2: Göbek kordonu bağ dokusu (Wharton Peltesi), 3: Umbilikal arter. PAS boyama, Bar:125 µm.



Şekil 28: Miadında a. Umblikalis'in yapısı. L: Yıldız şekilli lümen, Oklar: Endotel ve subendotel, 1: İçte longitudinal kas lifleri, 2: Ortada sirküler, 3: En dışta yine longitudinal seyir gösteren kas lifleri. Masson boyama, Bar:100 µm.



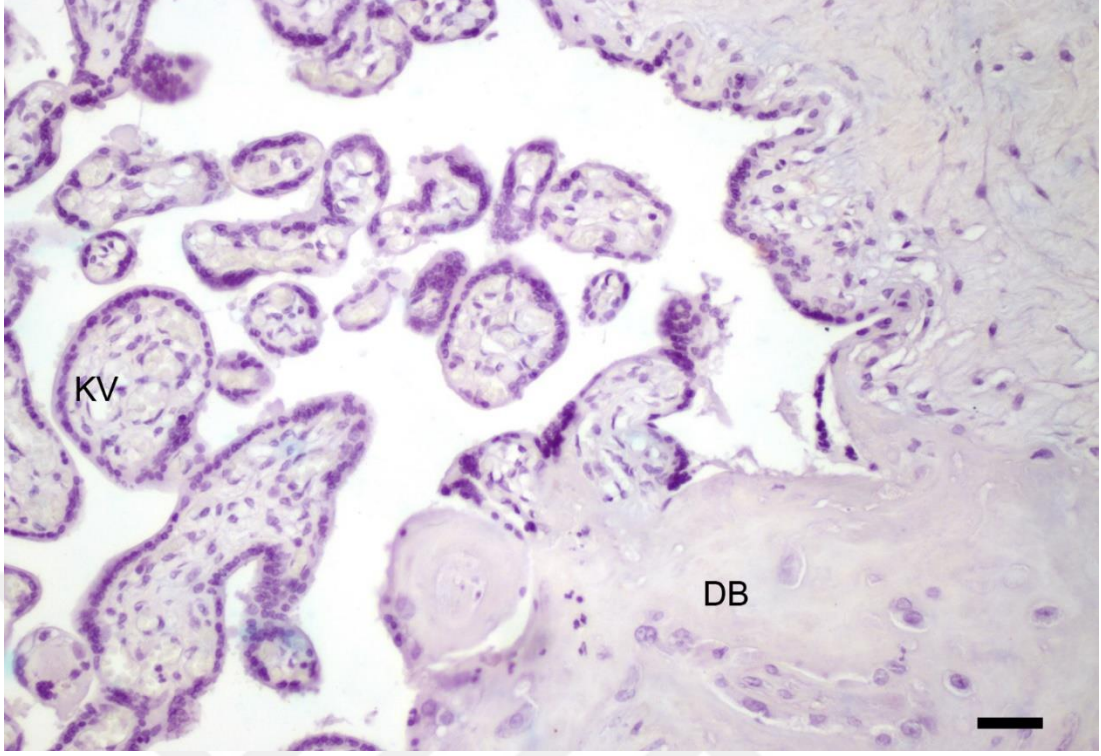
Şekil 29: Miadında göbek kordonu yapısı. İnce ok: Amnion epitelı, Yıldız. Göbek kordonu bağ dokusu (Wharton Peltesi), Ok başı: Yıldız şekilli mezenkim hücresi, Kıvrık ok: Fibroblast. Masson boyama, Bar:25 µm.



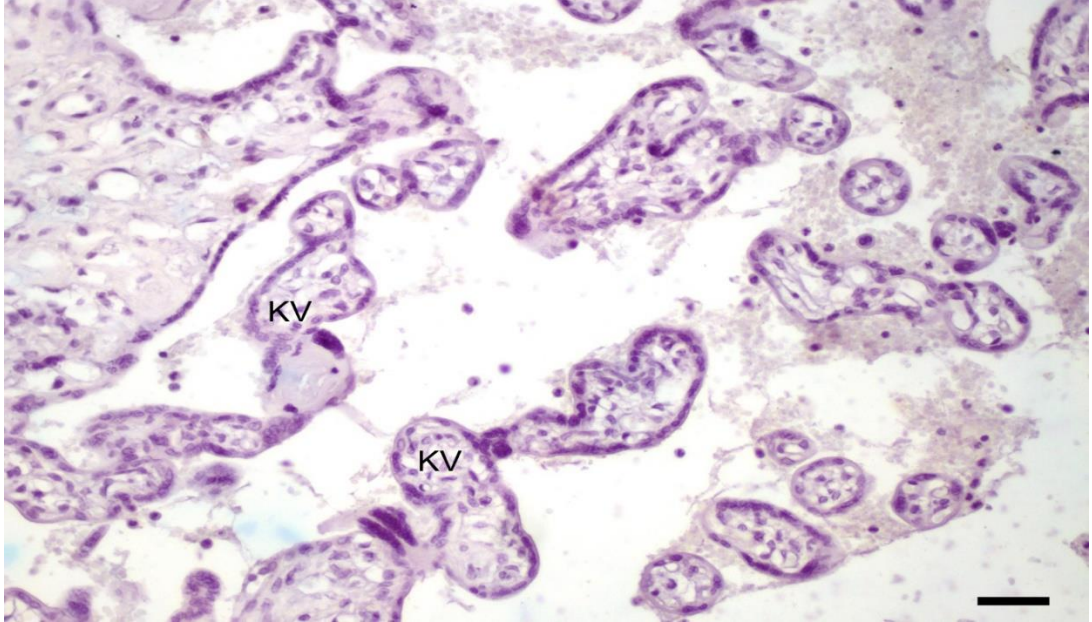
Şekil 30: Miadında göbek kordonu yapısı. İnce ok: Amnion epiteli, Yıldız: Müköz bağ dokusu, Ok başı: Yıldız şekilli hücre. PAS boyama, Bar: 50 µm.

5.4.İmmunohistokimyasal Bulgular

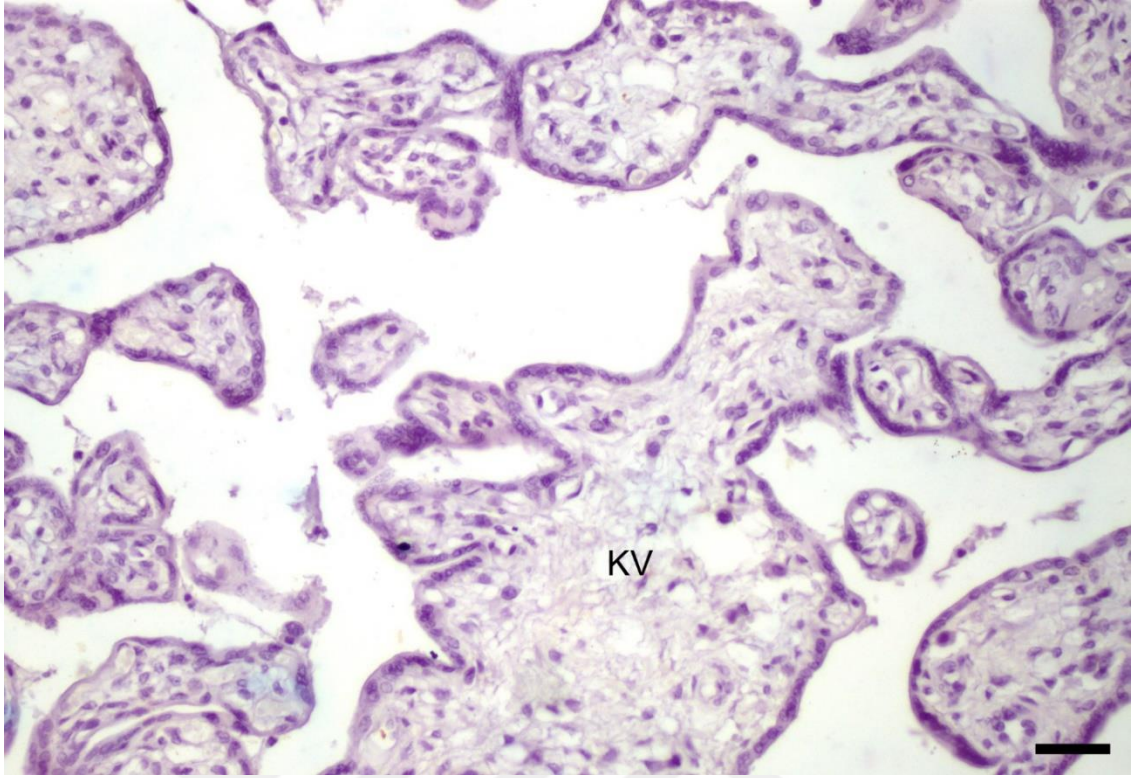
Bütün gruplar için kullanılan negatif kontrollerde immunoreaksiyon gözlenmezken (Şekil 31, 32, 33) pozitif kontrollerde immunohistokimyasal ekspirasyonlar dikkati çekti (Şekil 34, 35, 36). Miadında normal plasenta ile perkreatalı plasentalara ait olan doku örneklerinde osteopontin, osteokalsin ve osteonektin immunoreaktivitesinin belirgin bir şekilde, bölgelere göre farklılıklar gösterdiği gözlemlendi.



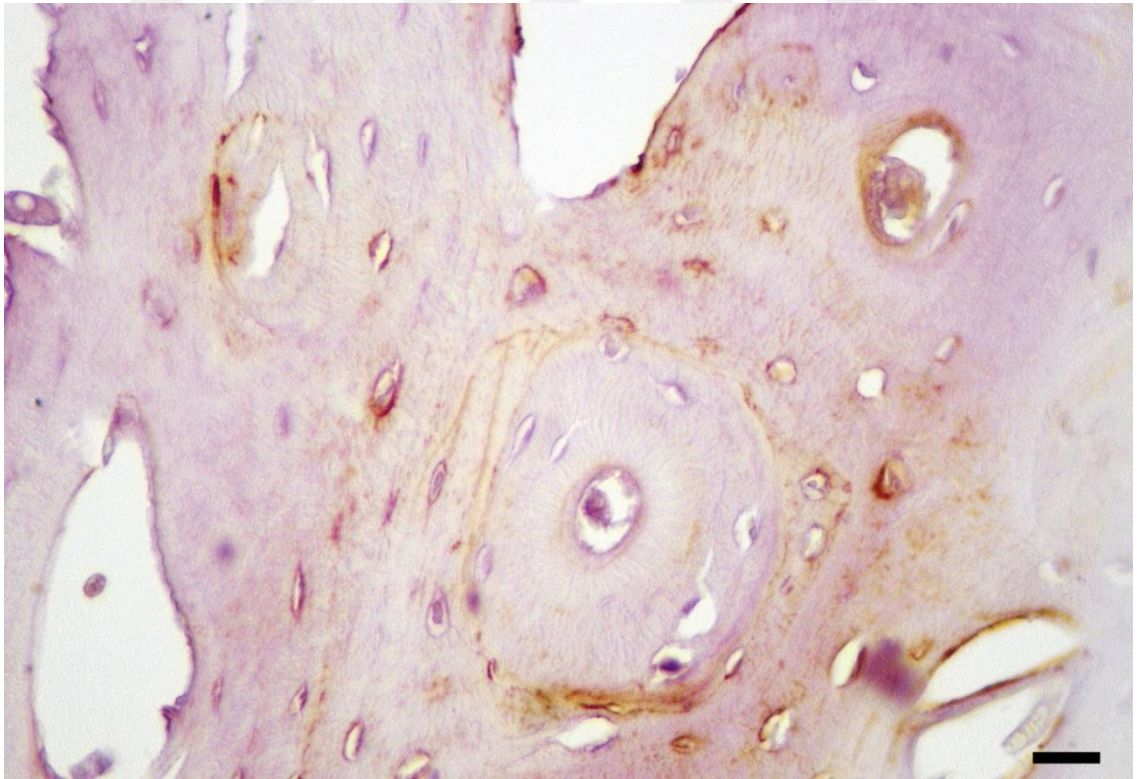
Şekil 31: Gebeliği miyadında sonlanmış bir plasentada koriyon villuslarında ve desidua bazalis de osteopontin immunoreaktivitesi yokluğu (Negatif Kontrol). KV: Koriyon villusları, DB: Desidua bazalis. Bar: 50 µm.



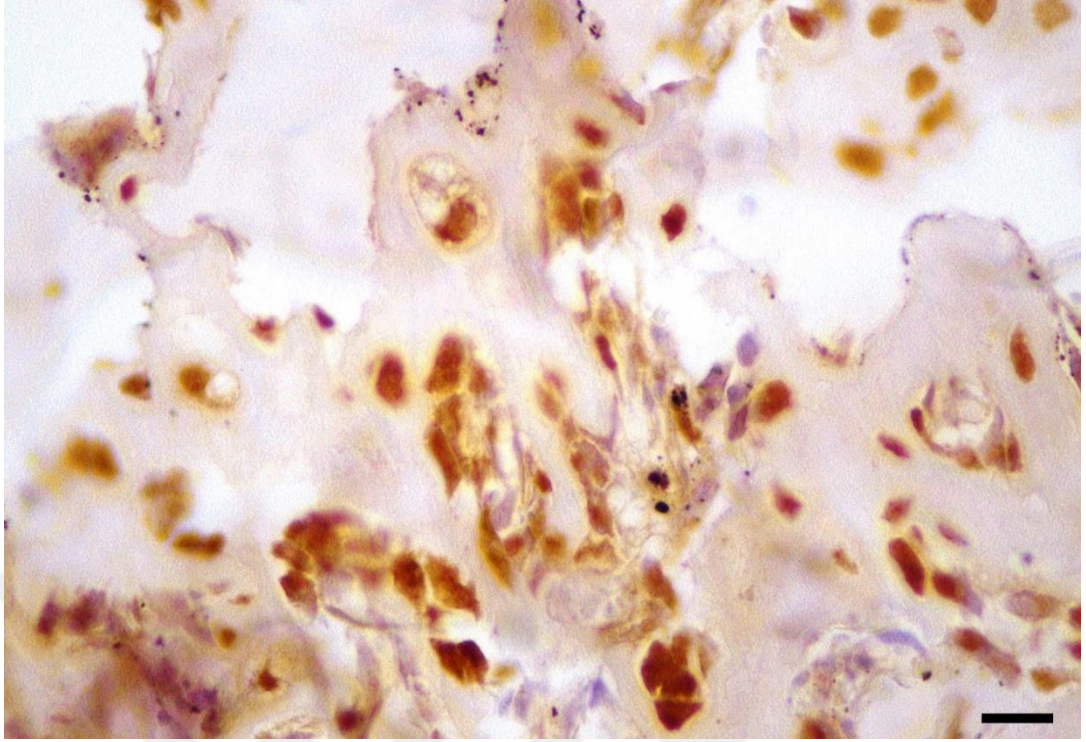
Şekil 32: Gebeliği miadında sonlanmış bir plasentada koriyon villuslarında osteokalsin immunoreaktivitesi yokluğu (Negatif Kontrol). KV: Koriyon villusları. Bar: 50 µm.



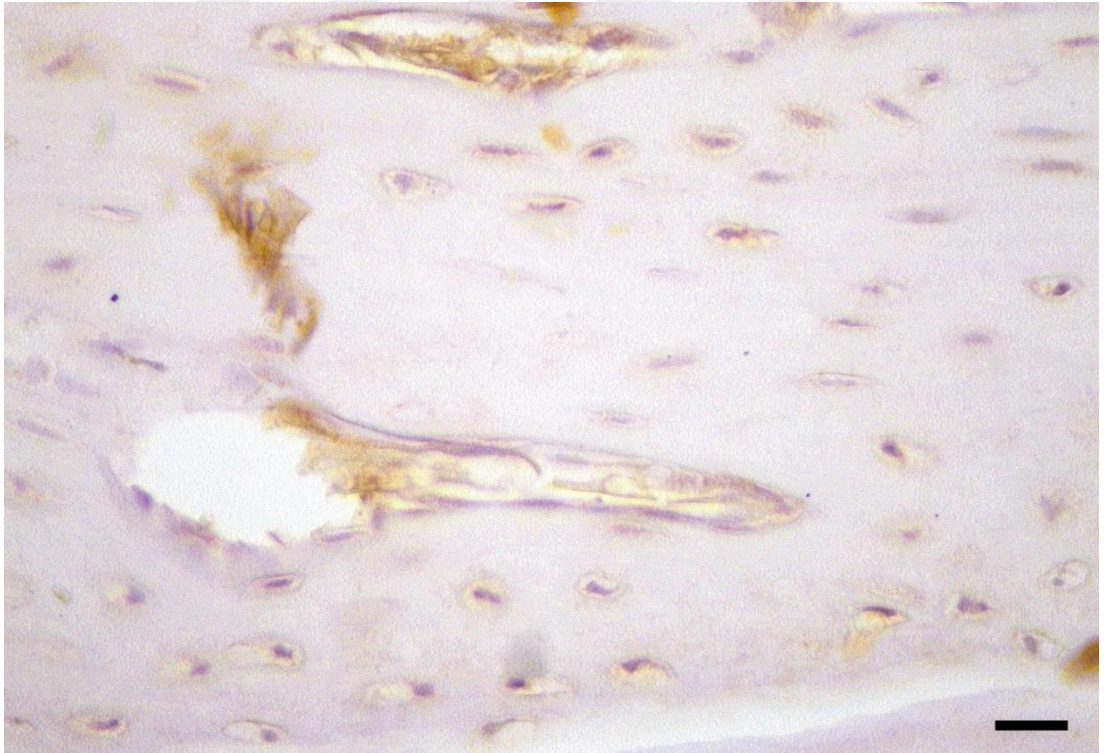
Şekil 33: Gebeliği miadında sonlanmış bir plasentada koriyon villuslarında osteonektin immunoreaktivitesi yokluğu (Negatif Kontrol). KV: Koriyon villusları. Bar: 50 µm



Şekil 34: Osteopontin pozitif kontrol için tavşan kemik dokusu. Bar: 25 µm



Şekil 35: Osteokalsin pozitif kontrol için tavşan kemik dokusu. Bar: 25 µm.

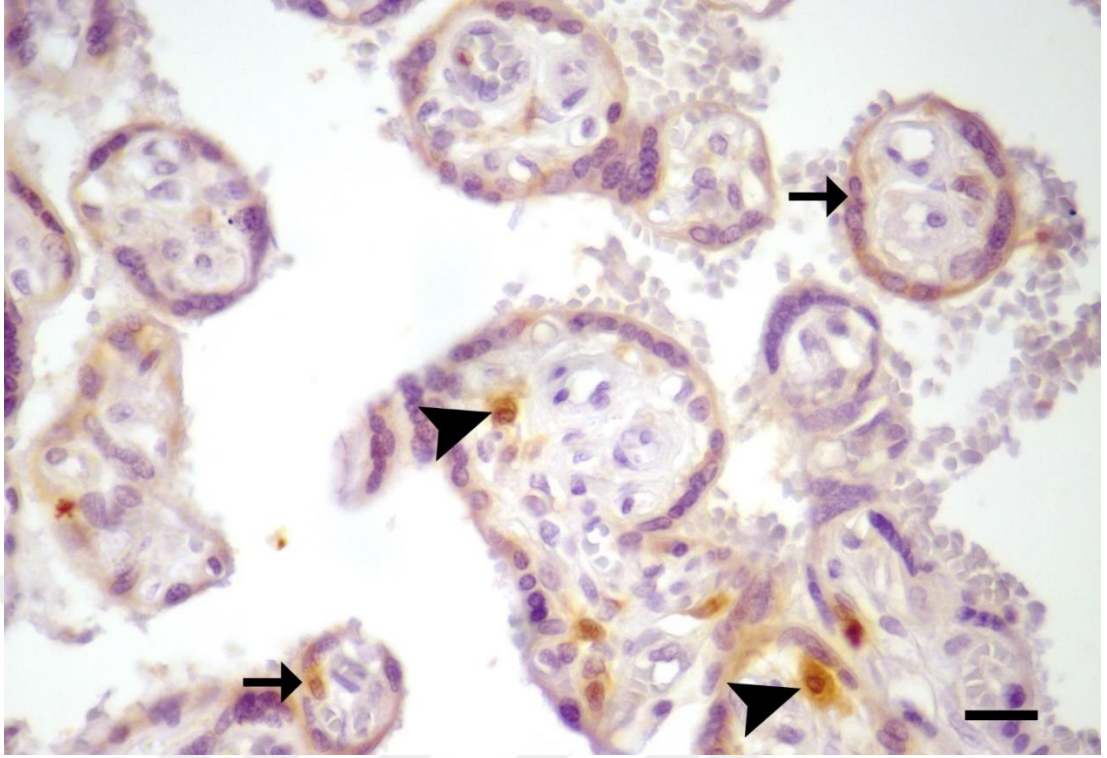


Şekil 36: Osteonektin pozitif kontrol için tavşan kemik dokusu. Bar: 25 µm.

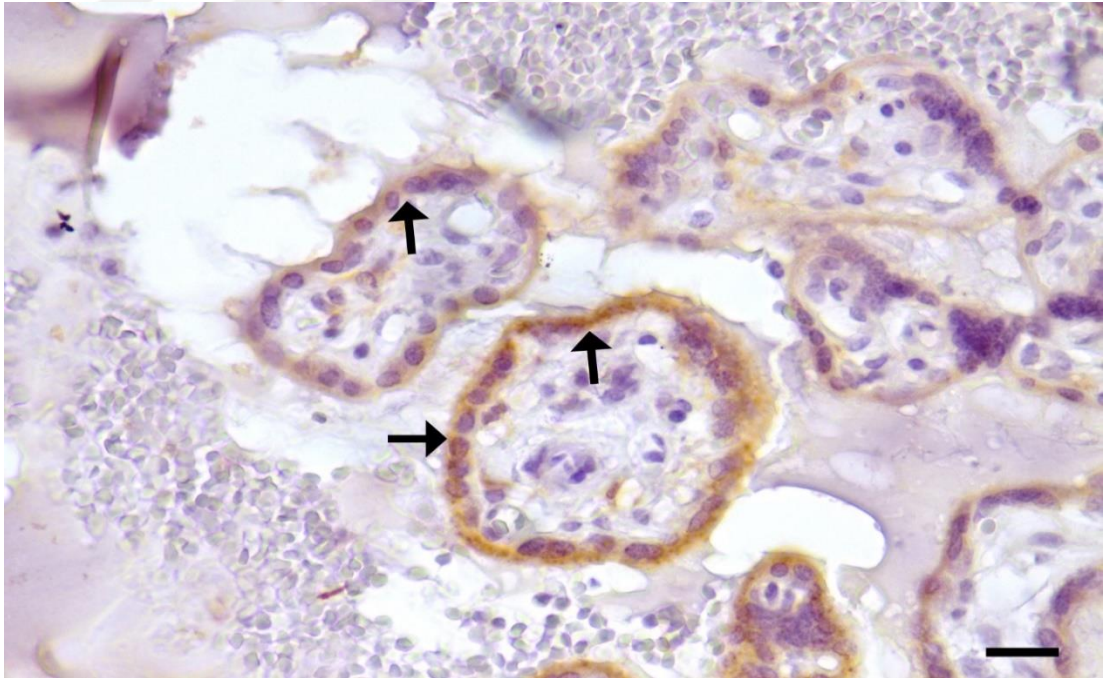
5.5.Osteopontin

Normal ve perkreatal plasentalara ait koryon villuslarının sinsityotrofoblast hücrelerinin bazılarında osteopontin immunoreaktivitesi gözlenmezken yer yer bazılarında ortadan kuvvetliye doğru giden derecede immunoreaksiyon görüldü (şekil 37, 38). Özellikle normal plasentalı doku örneğinde sinsityal köprüler ile sinsityal düğümlerin ortaklaştığı noktalarda göze çarpan yüksek derecede immunoreaktivite görülürken perkreatal plasentalarda belirlenemedi (Şekil 39, 40). Normal term plasentaya ait koryon villuslarının mezenşiminde az sayıda görülen hofbauer hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi orta derecede gözlemlendi (Şekil 37, 41). Bununla beraber perkreatal örneklerin koryon mezenşim dokusunda hofbauer hücrelerin sayısının arttığı ve immunoreaktivitenin kuvvetli olduğu görüldü (şekil 42, 43). Her iki plasentaya ait koryon villusları içerisinde damar endotelinde herhangi bir osteopontin immunoreaktivitesi görülmedi (Şekil 43, 44). Miadındaki normal plasentalara ait desidua bazalis kısmındaki bazı desidua hücrelerinde orta bazılarında yoğun derecede osteopontin immunoreaktivitesi görülürken, aynı bölge üzerinde diğer desidua hücrelerinde herhangi bir immunoreaktivite görülmedi (Şekil 45, 46). Perkreatal kadınların plasentasına ait desidua bazalis kısmının desidua hücrelerinin bazılarında osteopontin immunoreaktivitesi orta derecede görülürken aynı bölgedeki diğer desidua hücrelerinde herhangi bir immunoreaktivite görülmedi (Şekil 47, 48).

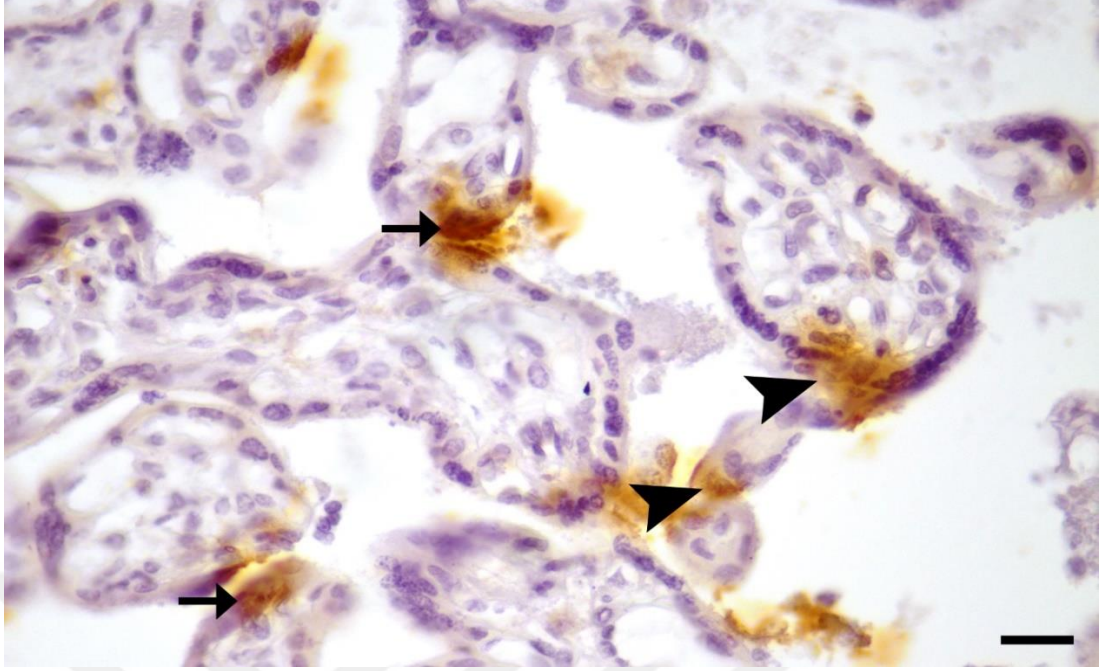
Term plasentalara ait göbek kordonu kesitlerinde osteopontin immunoreaktivitesinin göbek kordonu epitel hücrelerinde, arteriya - vena umblikalislerin tabakalarında ve müköz bağdokusu içerisinde bulunan hücrelerde negatif olduğu gözlemlendi (Şekil 49).



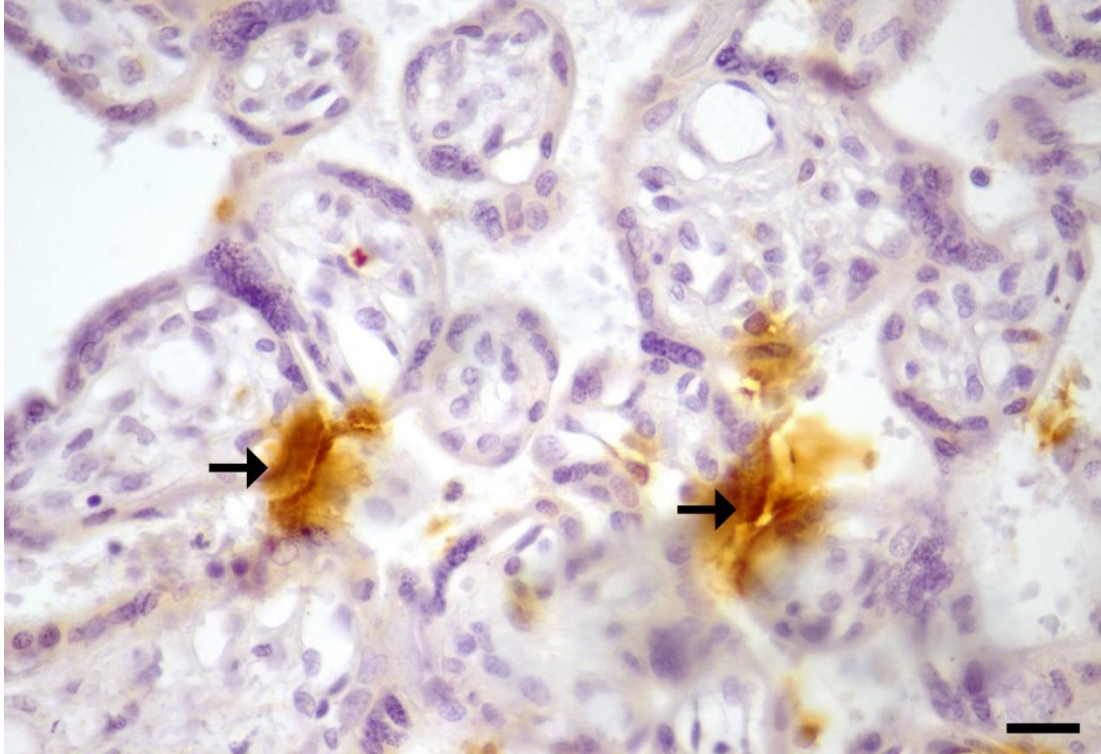
Şekil 37: Miadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında bazı sinsityotroblast ve hofbauer hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi. İnce ok: Sinsityotroblast hücresi, Ok başı: Hofbaver hücresi. Bar: 50 μ m.



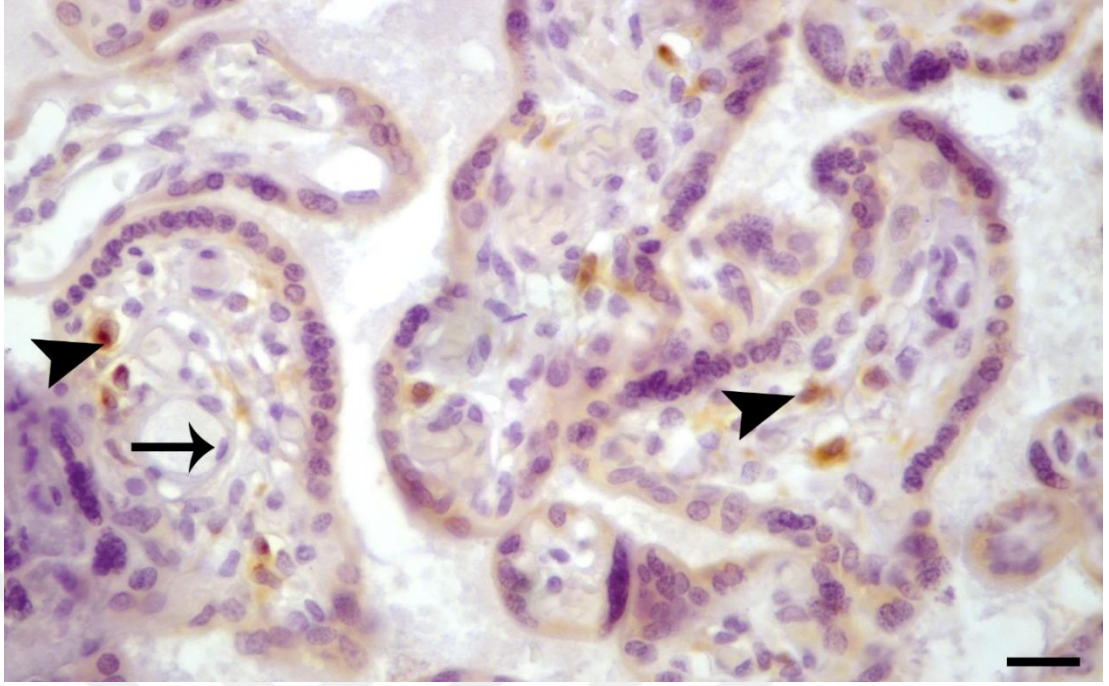
Şekil 38: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villuslarında bazı sinsityotroblast hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi. İnce oklar: Sinsityotroblast hücresi. Bar: 25 μ m.



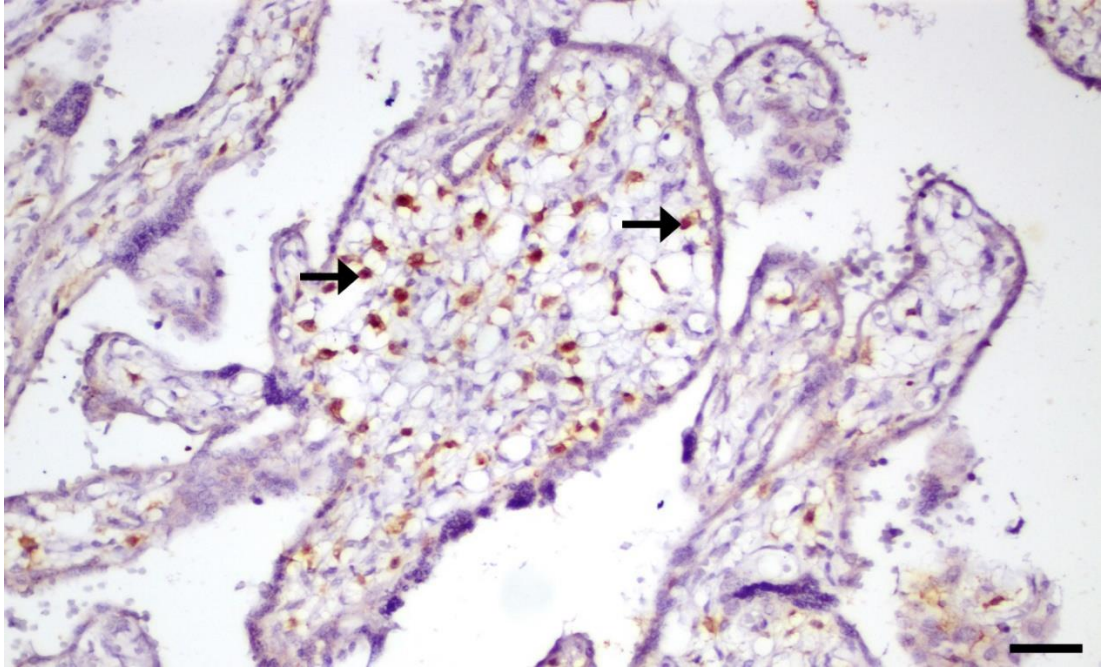
Şekil 39: Miadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteopontin immunoreaktivitesi. Ok başı: Sinsityal düğümler, İnce oklar: Sinsityal köprüler. Bar: 25 μ m.



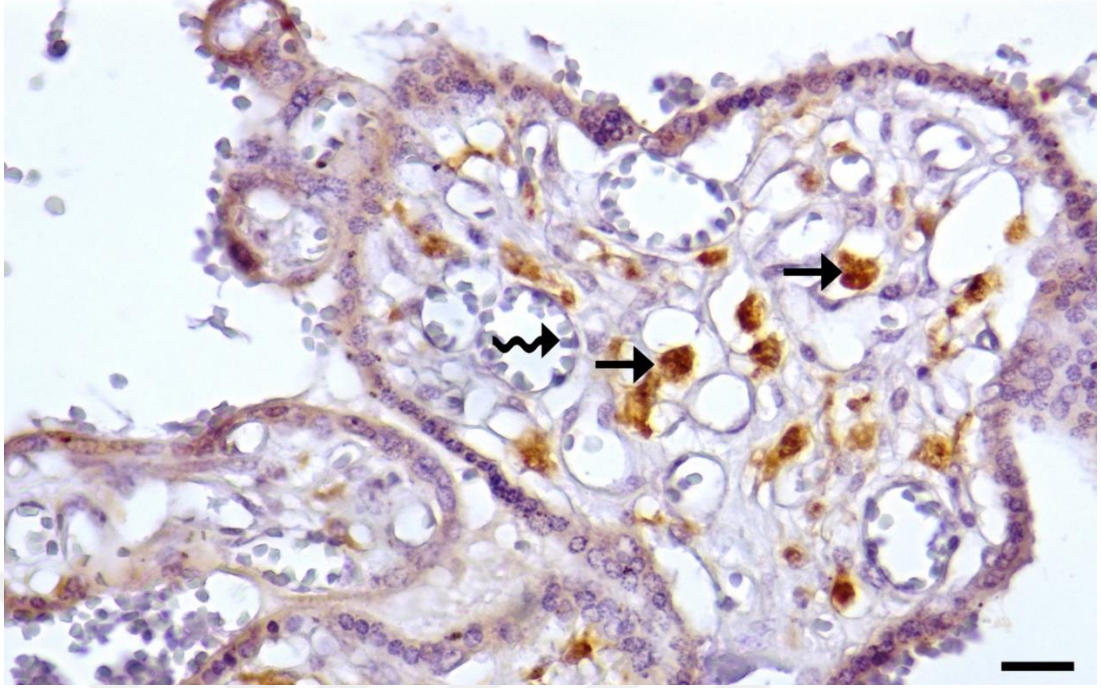
Şekil 40: Miadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteopontin immunoreaktivitesi. İnce oklar: Sinsityal düğüm ve köprüler. Bar: 25 μ m.



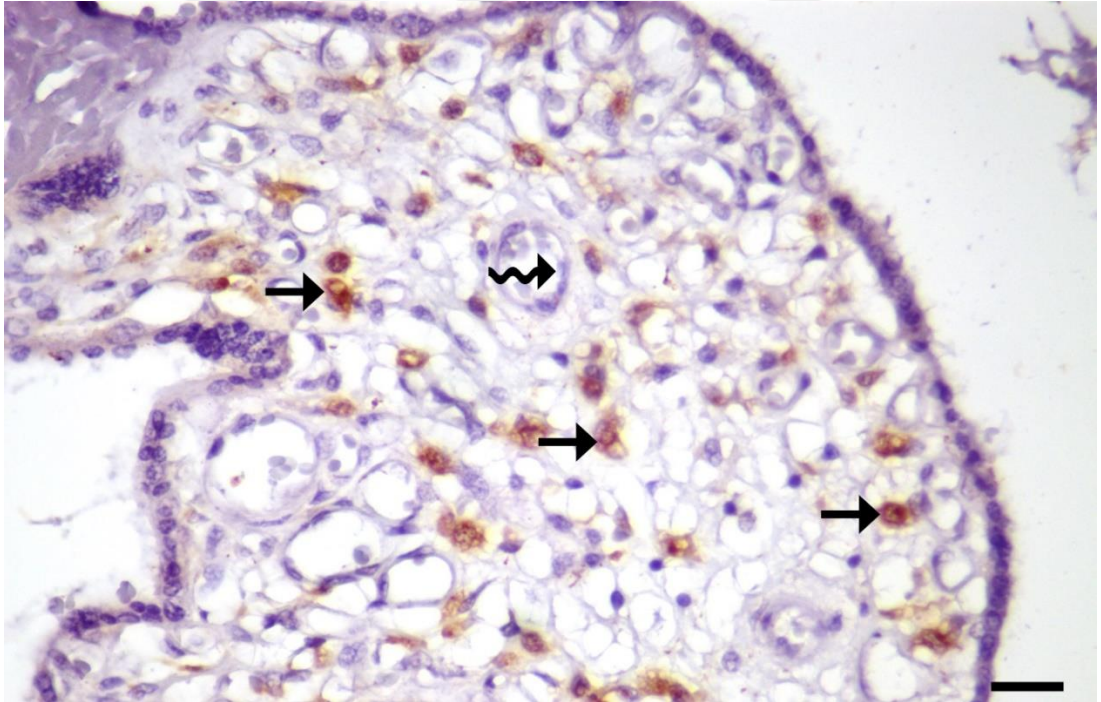
Şekil 41: Miadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında hofbaver hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi, damar endotel hücrelerinde reaktivite yokluğu. Ok başı: Hofbauer hücreleri, İnce ok: Damar endoteli. Bar: 25 µm



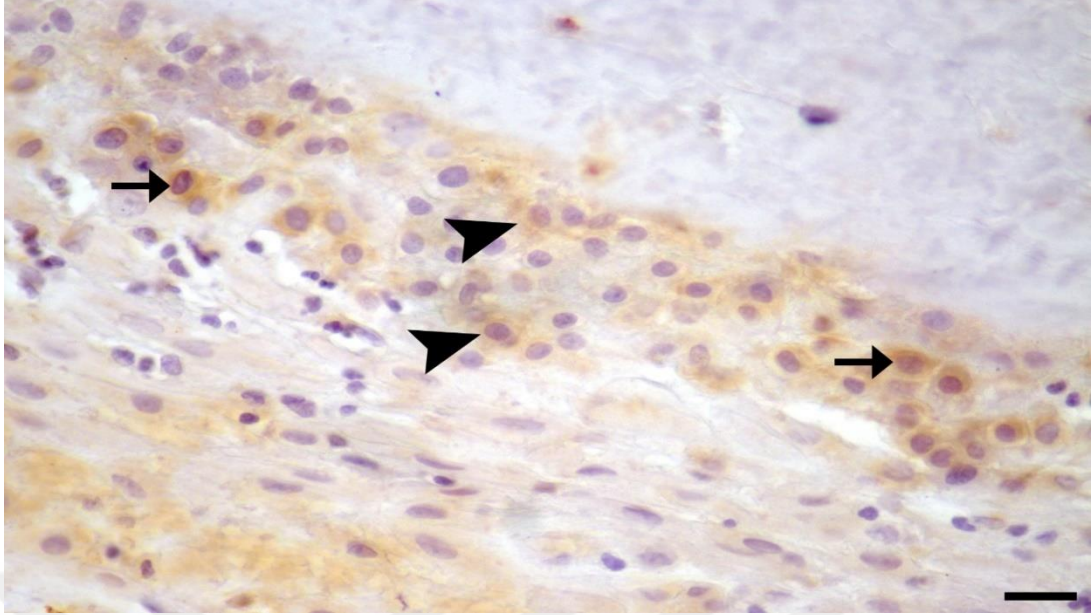
Şekil 42: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villusları mezenşiminde hofbaver hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi. İnce oklar: Hofbauer hücreleri. Bar: 50 µm.



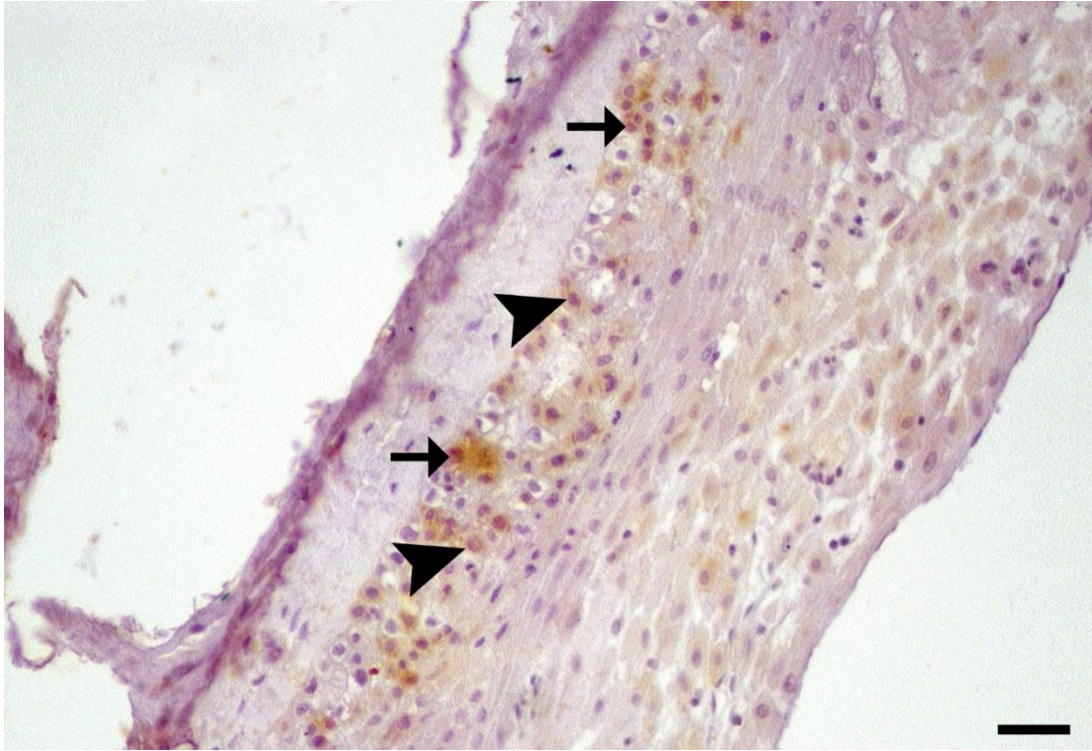
Şekil 43: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villusları mezenşiminde hofbaver hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi, damar endotel hücrelerinde reaktivite yokluğu. İnce oklar: Hofbauer hücreleri, Kıvrık ok: Damar endoteli. Bar: 25 µm



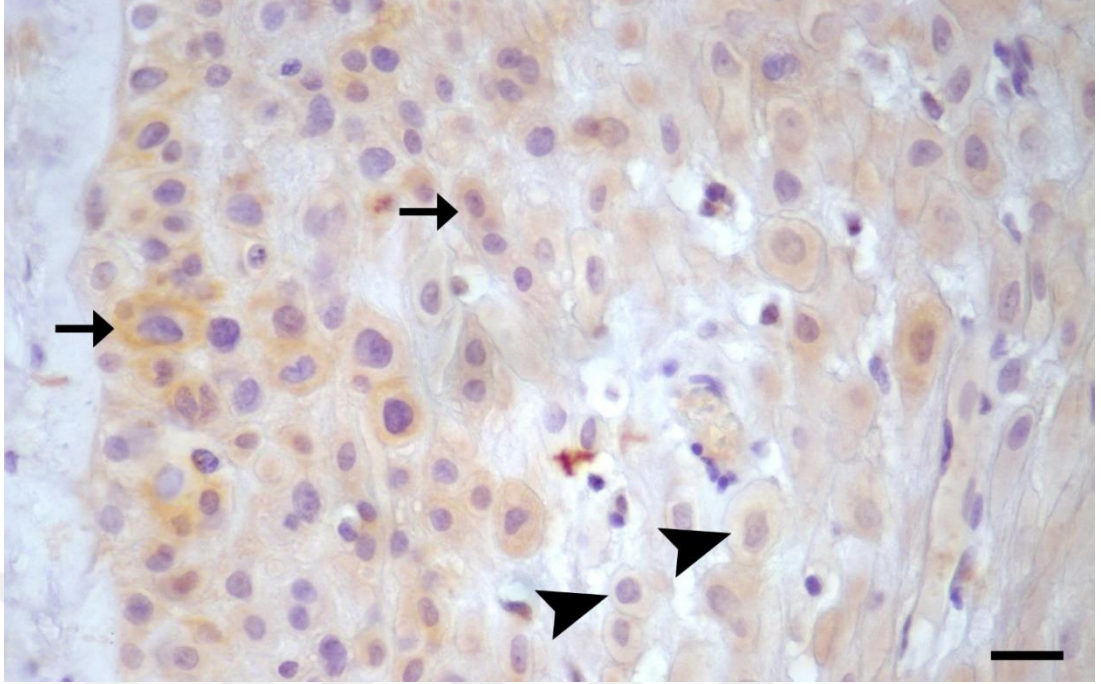
Şekil 44: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villusları mezenşiminde hofbaver hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi, damar endotel hücrelerinde reaktivite yokluğu. İnce ok: Hofbauer hücreleri, Kıvrık ok: Damar endoteli. Bar: 25 µm



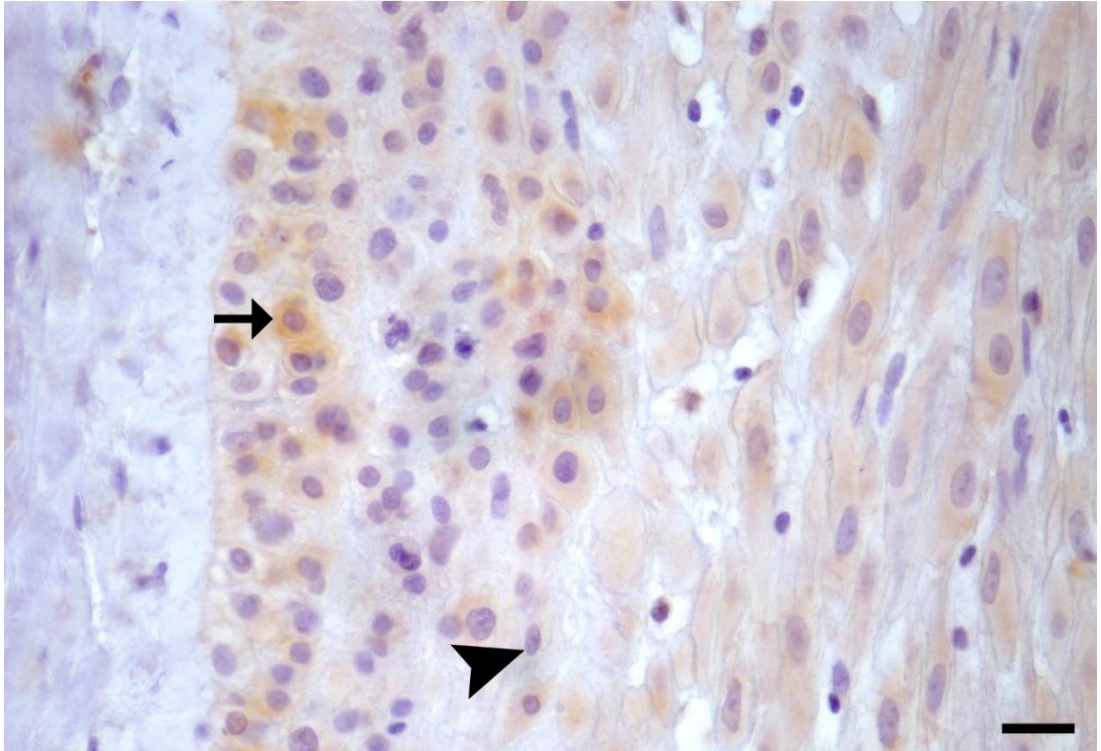
Şekil 45: Miadında bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua hücrelerinde yoğun reaktivite, Ok başı: Desidua hücrelerinde orta derecede reaktivite. Bar: 50 μ m



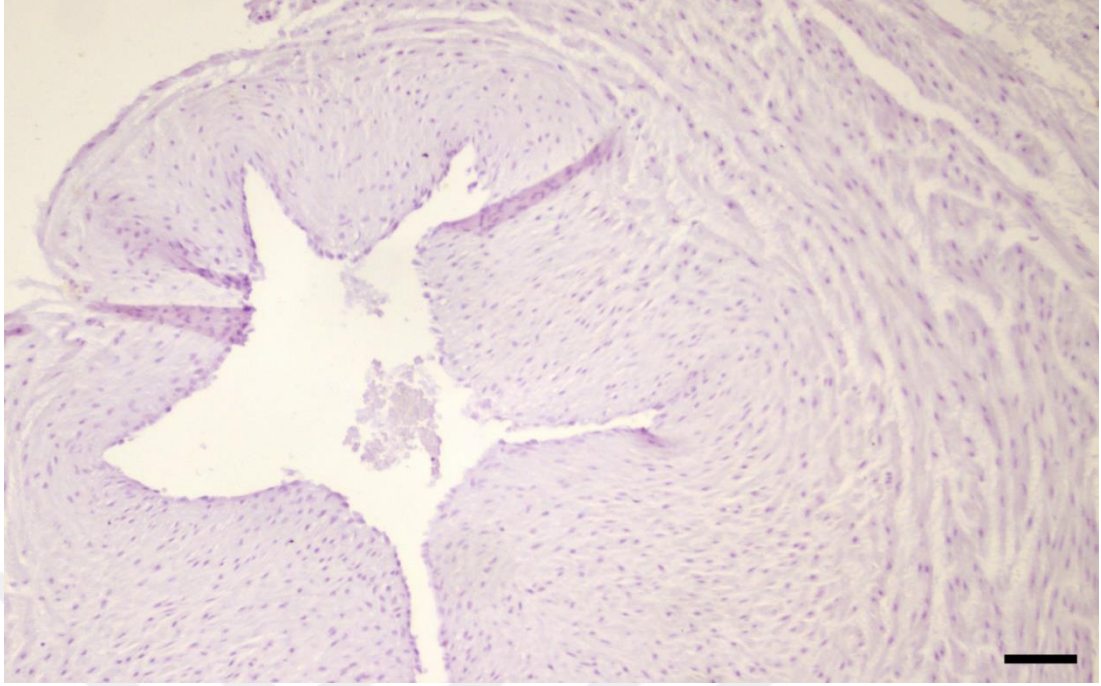
Şekil 46: Miadında bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua hücrelerinde yoğun reaktivite, Ok başı: Desidua hücrelerinde orta derecede reaktivite. Bar:100 μ m



Şekil 47: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua hücreleri. Ok başı: Reaksiyon göstermeyen desidua hücreleri. Bar: 25 µm



Şekil 48: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteopontin immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua hücreleri. Ok başı: Reaksiyon göstermeyen desidua hücreleri. Bar: 25 µm.

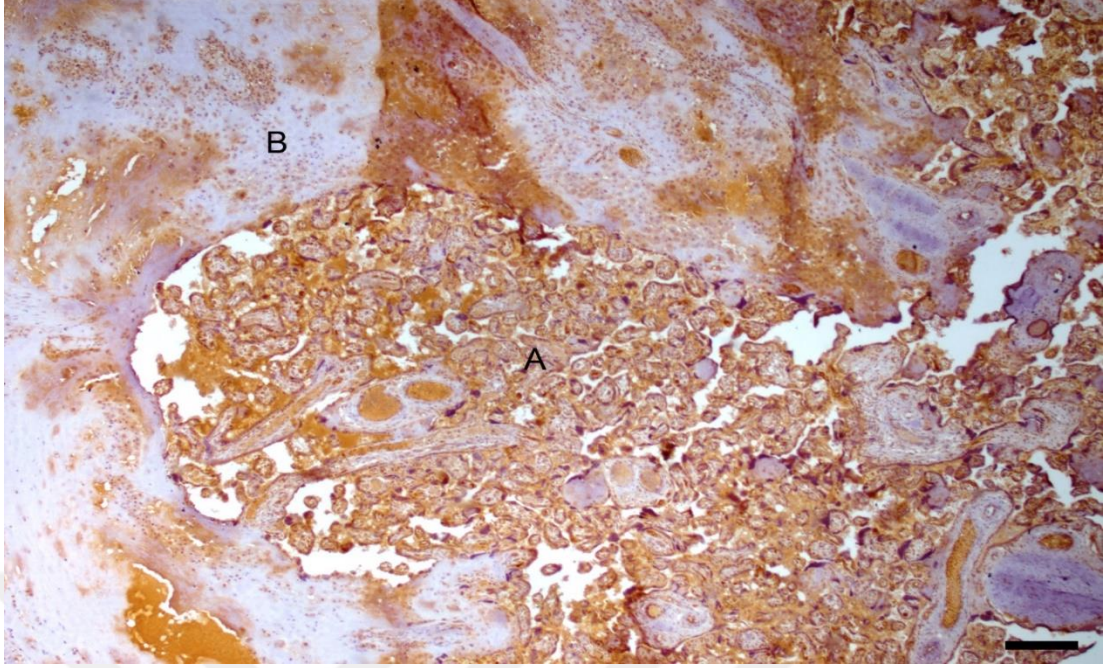


Şekil 49: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteopontin immunoreaktivite yokluğu. Bar: 50 µm.

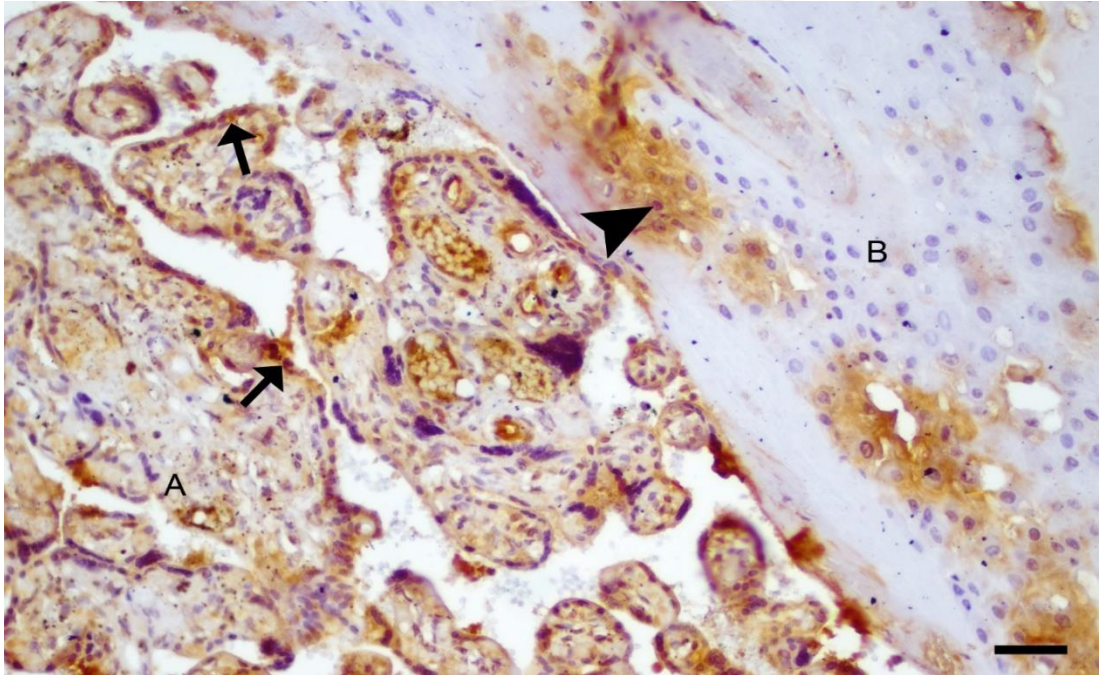
5.6. Osteokalsin

Normal ve perkreatalı plasentalara ait koryon villuslarının sinsityotroblast hücrelerinin bazılarında yer yer kuvvetli immunoreaktivite gözlemlendi (Şekil 50, 51, 52). Normal term plasentalı doku örneğinde sinsityal köprüler ile sinsityal düğümlerin ortaklaştığı noktalarda yer yer kuvvetli immunoreaktivite belirlendi (Şekil 53, 54). Miadındaki plasentalara ait koryon villuslarının bazılarında mezenşim dokusu yüksek derecede osteokalsin immunoreaktivitesi gösterdi (Şekil 55, 56). Perkreatalı plasentalarda Hofbauer hücre sayısı ve boyanma yoğunluğunun arttığı dikkati çekti (Şekil 55, 56). Miadındaki plasentalara ait koryon villusları içerisindeki damar endotellerinde de yüksek derecede osteokalsin immunoreaktivitesi görüldü (Şekil 57, 58). Normal ve perkreatalı plasentalara ait desidua bazalis kısmının desidua hücrelerinin çoğunluğunda osteokalsin immunoreaktivitesi yüksek derecede görüldü (Şekil 59, 60).

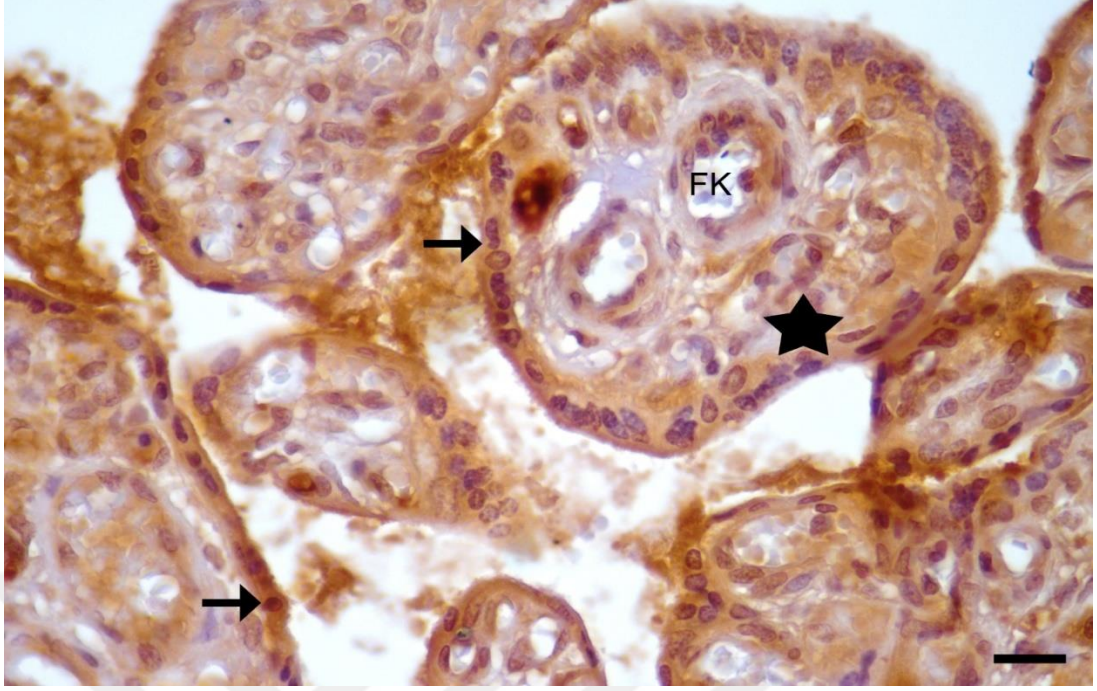
Term plasentalarına ait göbek kordonu kesitlerinde osteokalsin immunoreaktivitesinin göbek kordonu epitel hücrelerinde, arteriya ve vena umblikalislerin tabakalarında, müköz bağdokusu içerisinde bulunan hücrelerde kuvvetli olduğu belirlendi (Şekil 61, 62, 63).



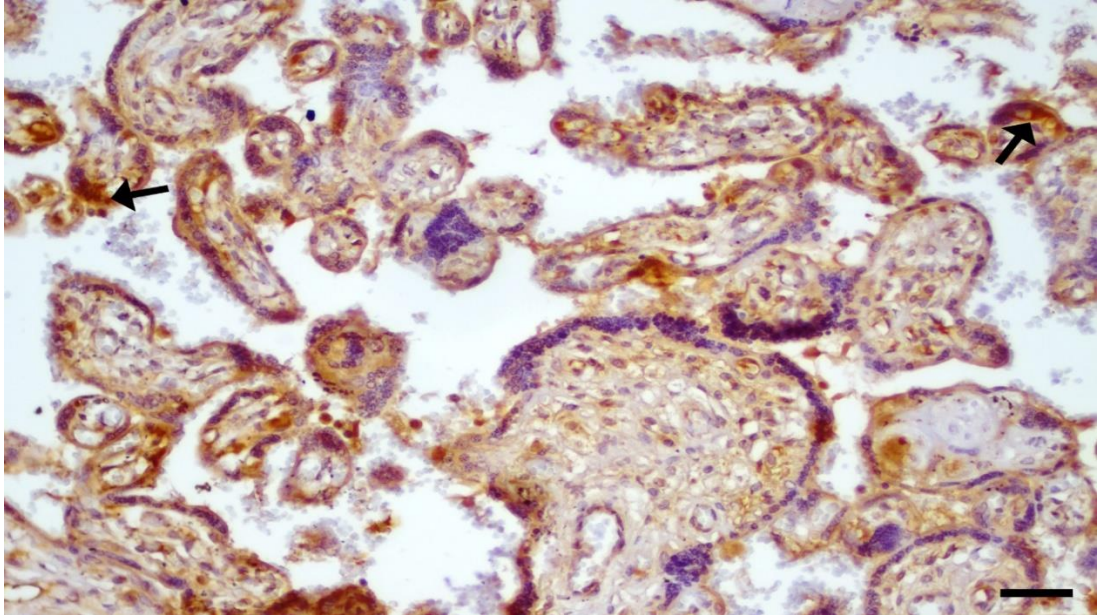
Şekil 50: Miadında bir plasentaya ait koryon villuslarında ve desidua hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi. A: Koryon villusları, B: Desidua bazalis. Bar: 125 µm



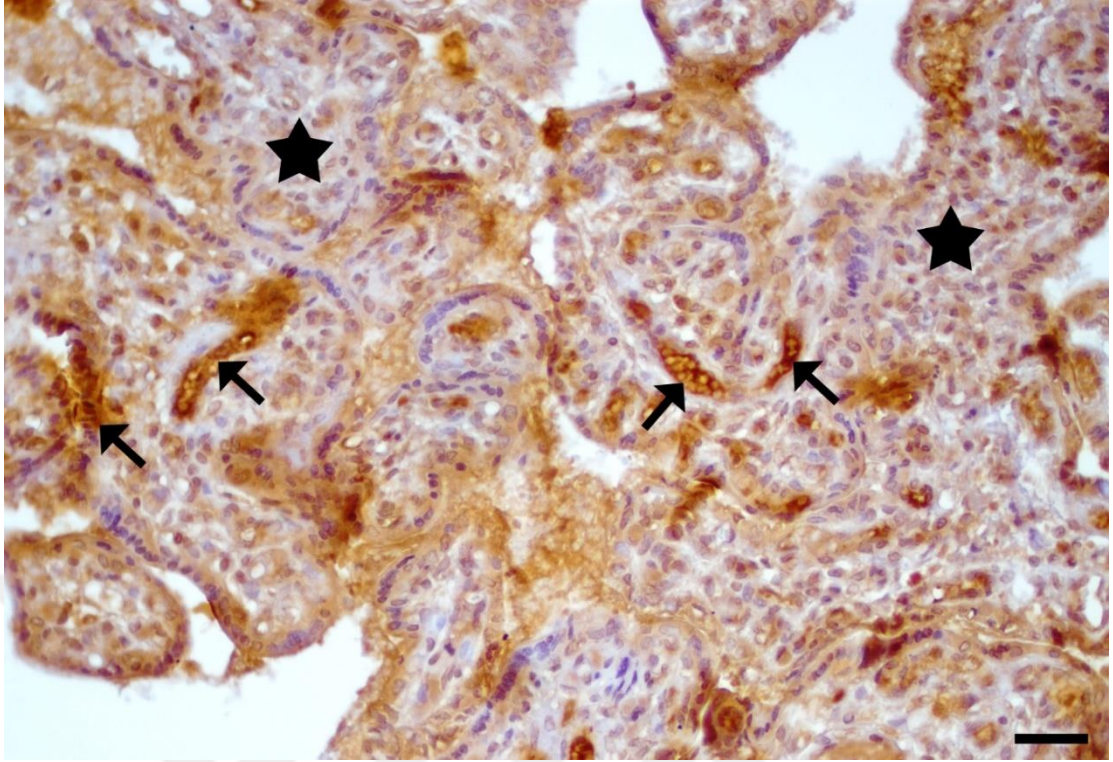
Şekil 51: Miadında bir plasentaya ait koryon villuslarında ve desidua hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi. A: Koryon villusları, B: Desidua bazalis, İnce ok: Sinsityotrofoblast hücreleri, Ok başı: Desidua hücreleri. Bar: 50 µm.



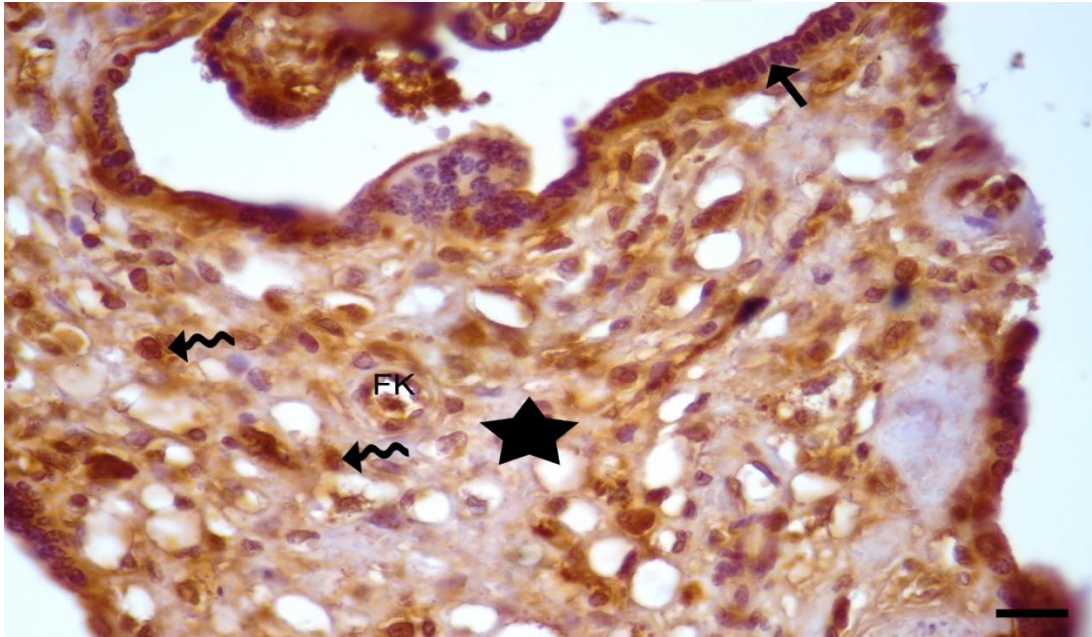
Şekil 52: Miadında bir plasentaya ait koryon villuslarında sinsityotrofoblast hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi. İnce ok: Sinsityotrofoblast hücreleri, Yıldız: Koryon mezenşimi, Fk: Fetal kapiller. Bar: 25 μ m.



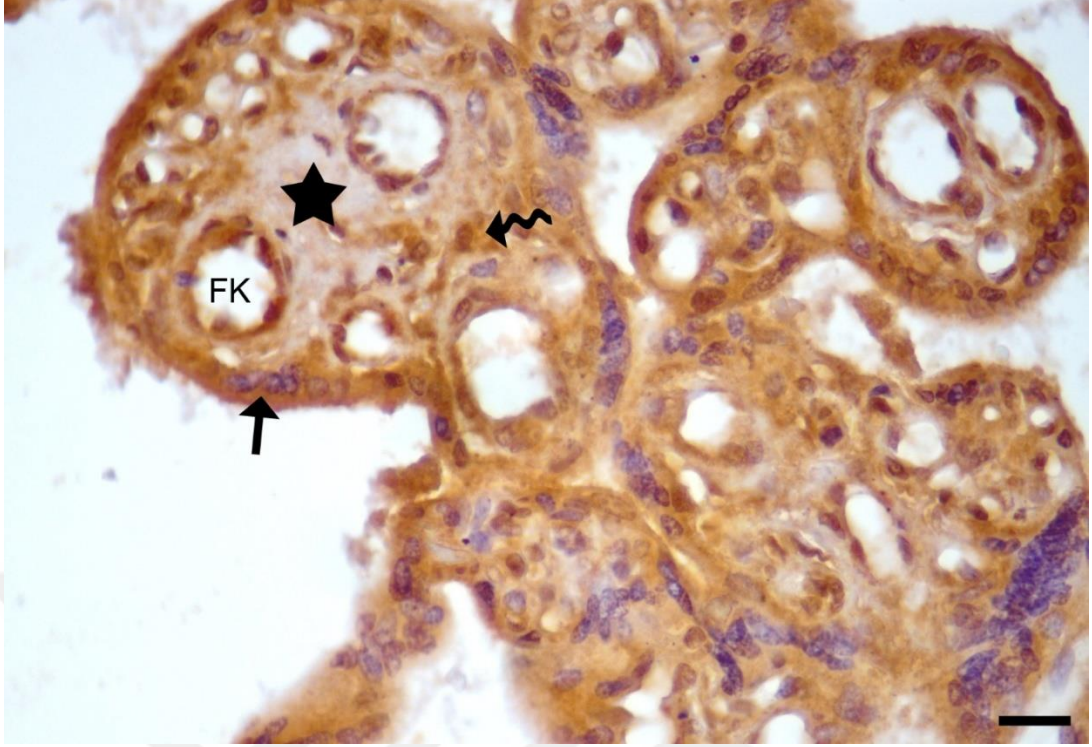
Şekil 53: Miadında bir plasentaya ait koryon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteokalsin immunoreaktivitesi. Oklar: Sinsityal köprü ve düğümler. Bar: 50 μ m.



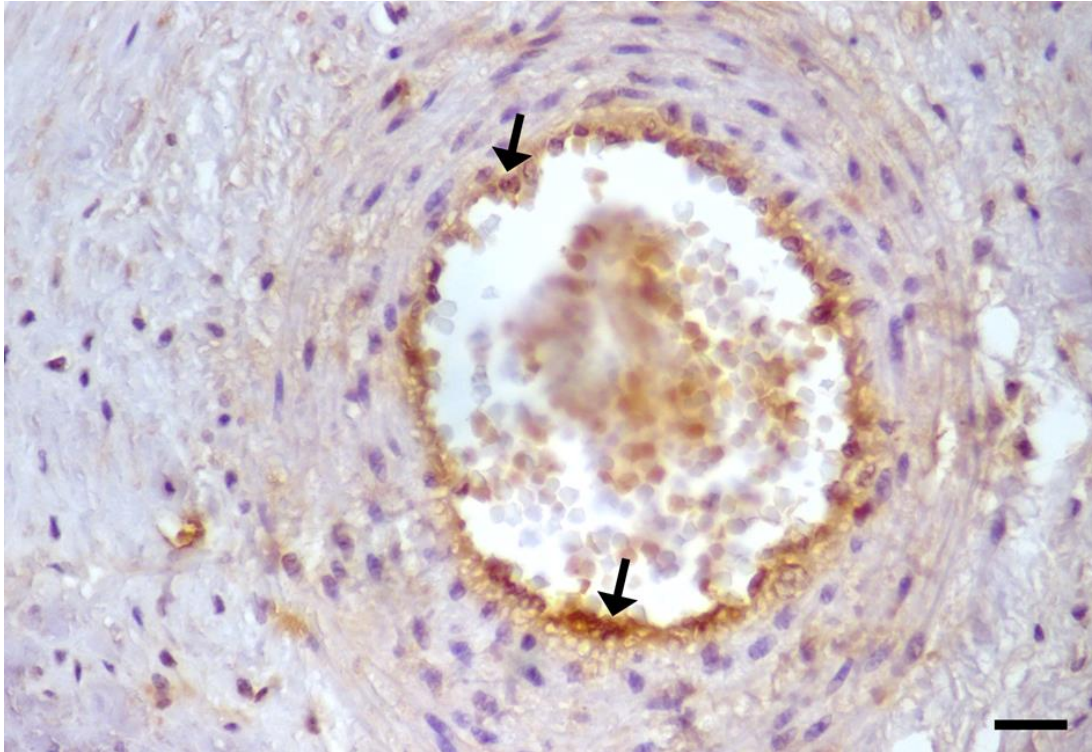
Şekil 54: Miadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteokalsin immunoreaktivitesi. Oklar: Sinsityal köprü ve düğümler, Yıldız: Koriyon mezenşimi. Bar: 50 µm.



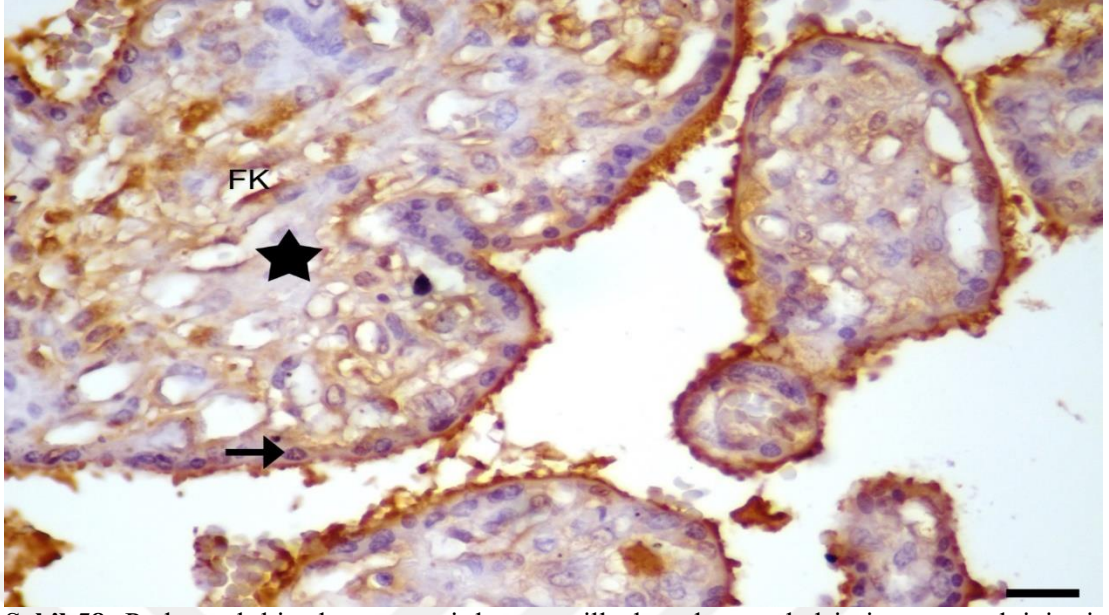
Şekil 55: Miadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında osteokalsin immunoreaktivitesi. İnce ok: Sinsityotrofoblast hücreleri, Yıldız: Koriyon mezenşimi, Fk: Fetal kapiller, Ok başı: Hofbauer hücreleri. Bar: 25 µm.



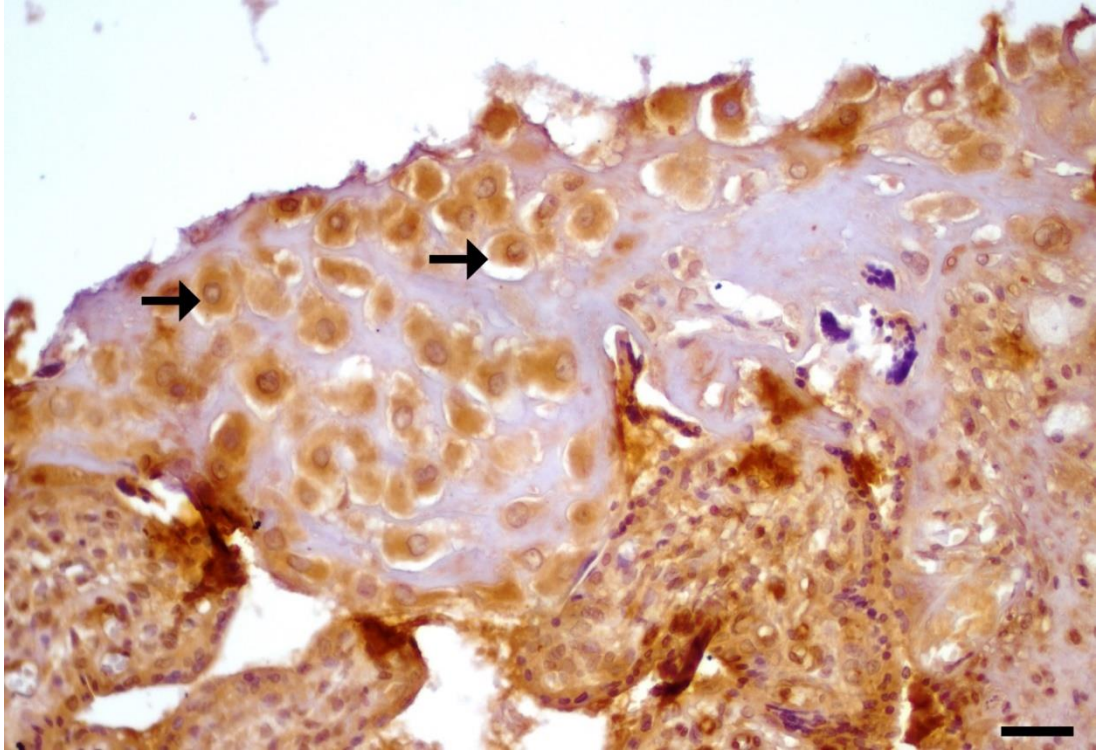
Şekil 56: Miadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında osteokalsin immunoreaktivitesi. İnce ok: Sinsityotrofoblast hücreleri, Yıldız: Koryon mezenşimi, Fk: fetal kapiller, Ok başı: Hofbauer hücreleri. Bar: 25 µm.



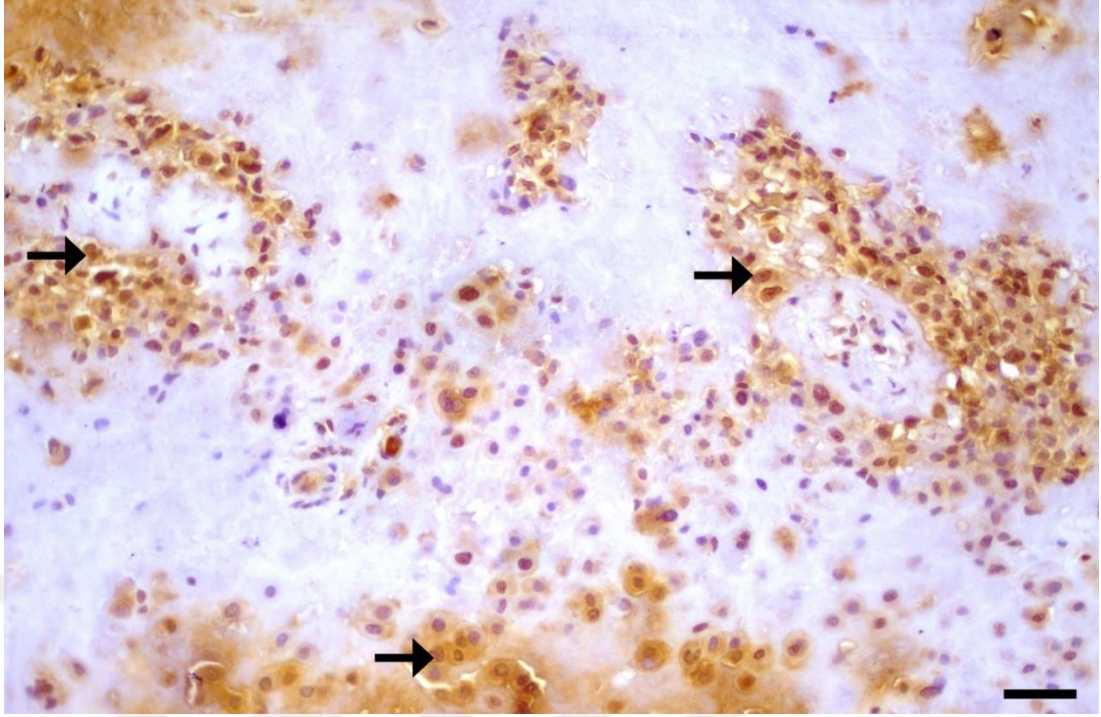
Şekil 57: Miadında bir plasentaya ait bağlantı sapı ve maternal alan bölgesindeki kan damar endotel hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi. İnce ok. Endotel hücreleri. Bar: 25 µm.



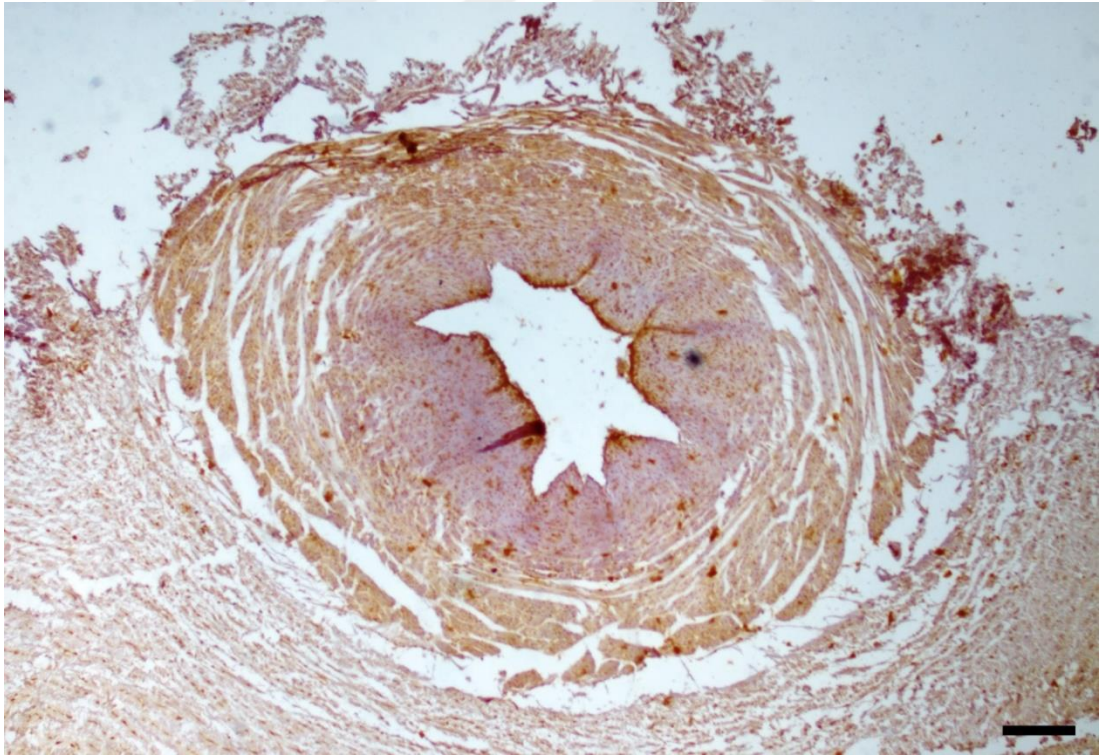
Şekil 58: Perkreatal bir plasentaya ait koryon villuslarında osteokalsin immunoreaktivitesi. İnce ok: Sinsityotrofoblast hücreleri, Yıldız: Koryon mezenşimi, Fk: fetal kapiller. Bar: 50 μ m.



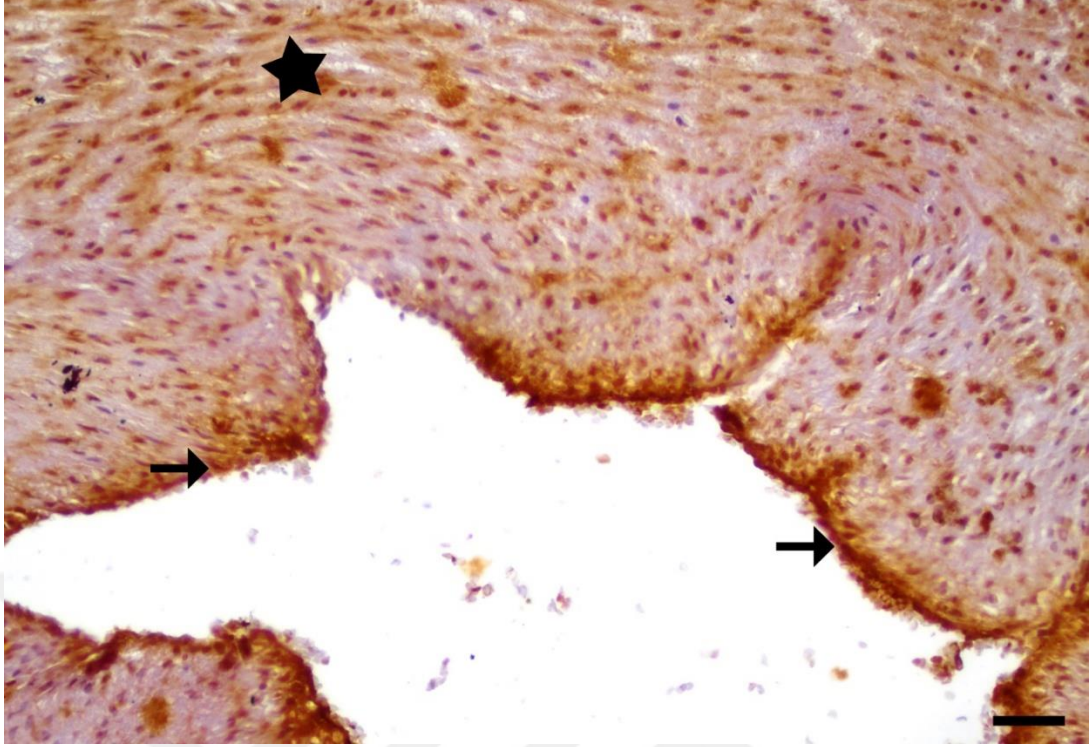
Şekil 59: Miadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmındaki desidua hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua Hücreleri. Bar: 50 μ m.



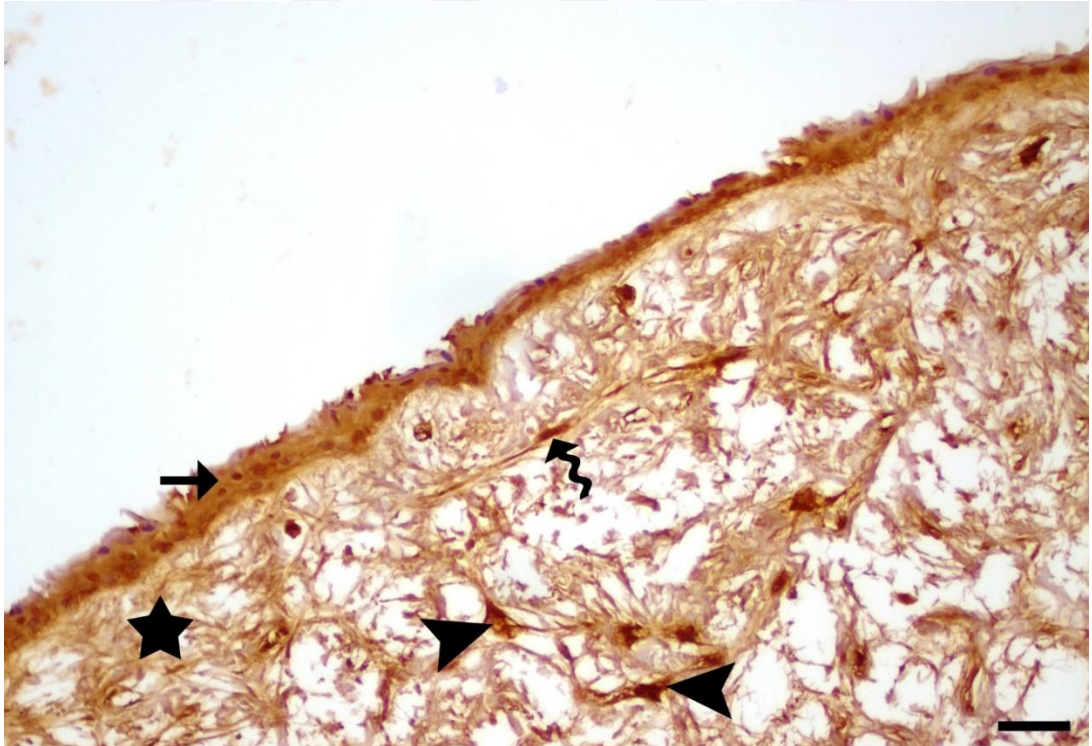
Şekil 60: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteokalsin immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua Hücreleri. Bar: 50 μ m.



Şekil 61: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteokalsin immunoreaktivitesi. Bar: 125 μ m.



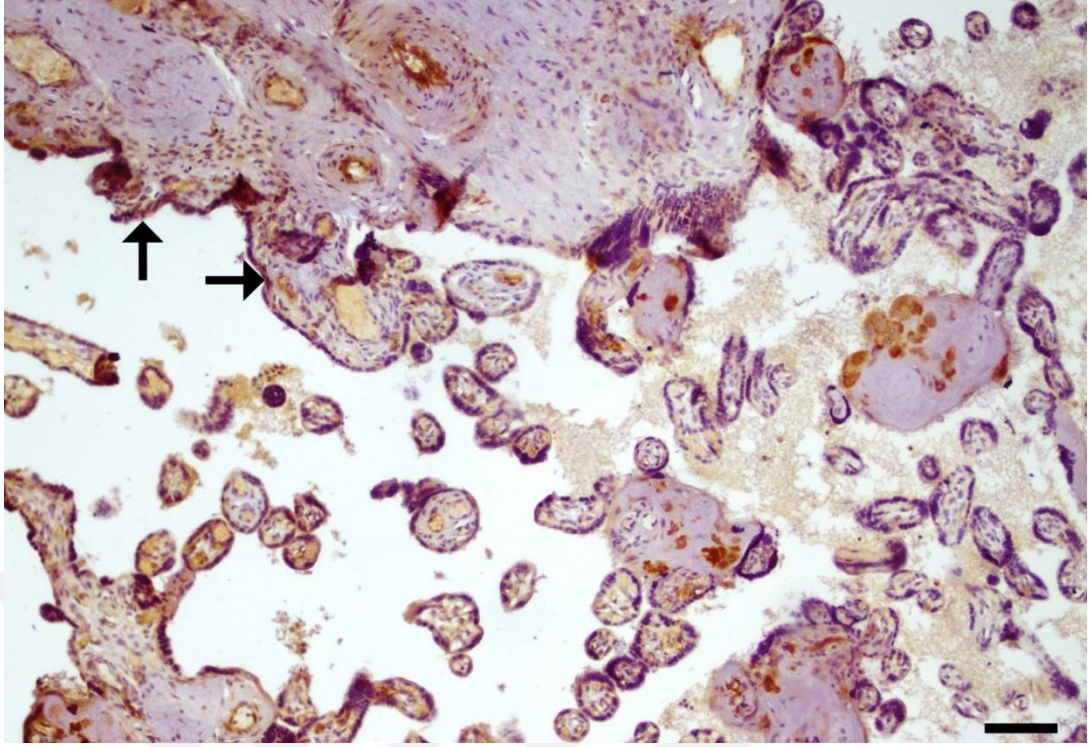
Şekil 62: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteokalsin immunoreaktivitesi. Oklar: Endotel ve subendotel, Yıldız: Düz kaslar. Bar: 50 µm.



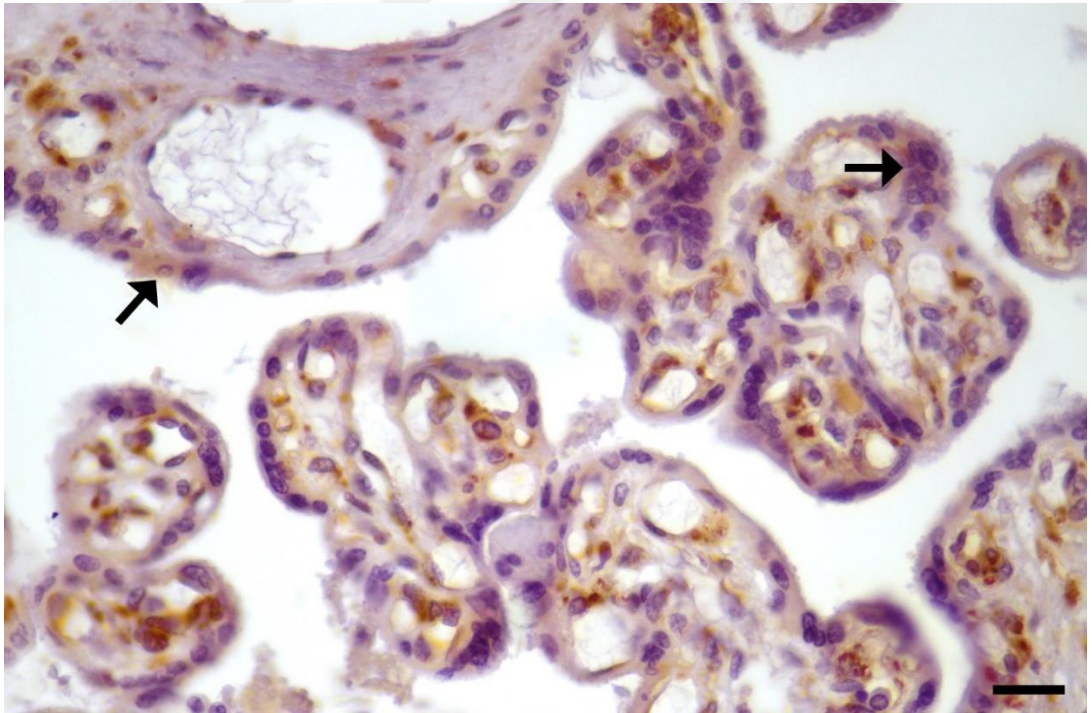
Şekil 63: Term plasentaya ait göbek kordonu epitelinde kuvvetli osteokalsin immunoreaktivitesi. Ok: Göbek kordonu epiteli, Yıldız: Göbek kordonu bağ dokusu (wharton peltesi), Ok başı: Mezenkim hücreleri, Kıvrık ok: Fibroblast. Bar: 50 µm.

5.7.Osteonektin

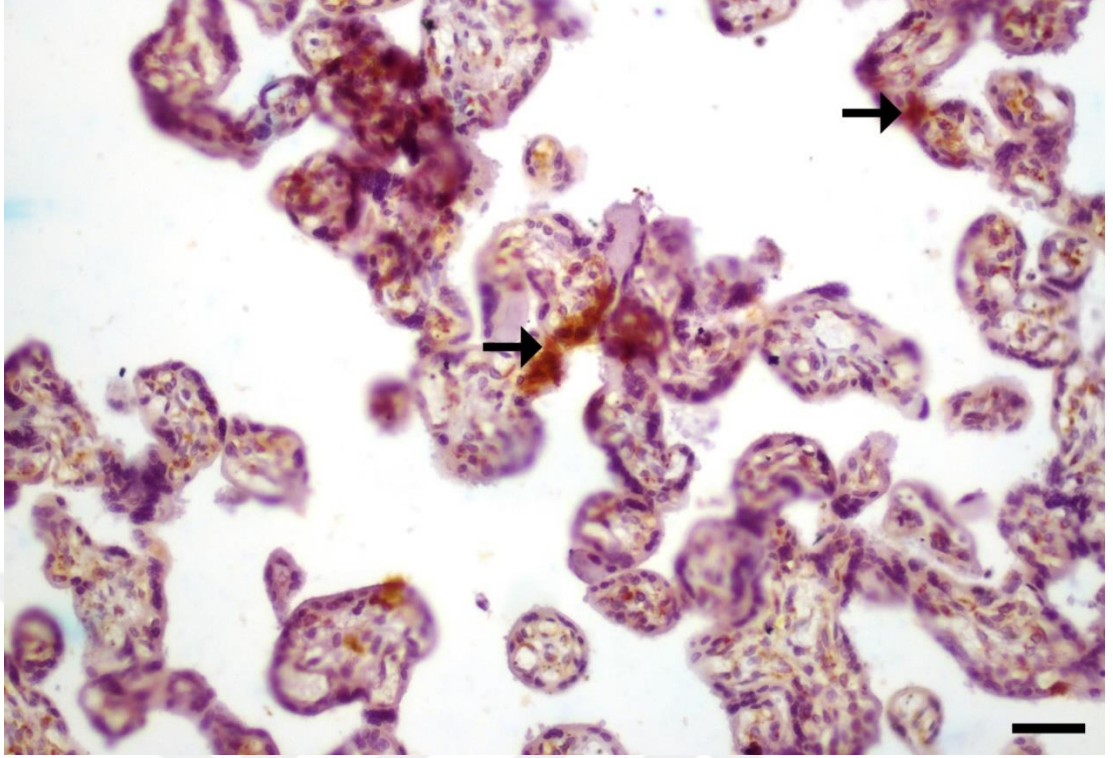
Normal ve perkreatalı term plasentalardan alınan kesitlerde koryon villuslarının sinsityotrofoblast hücrelerinin çoğunluğunda osteonektin immunoreaktivitesine rastlanmazken yer yer bazılarında orta yoğunlukta immunoreaktivite gözlemlendi (Şekil 64, 65). Normal plasentalı doku örneğinde sinsityal köprüler ile sinsityal düğümlerin ortaklaştığı noktalarda yer yer kuvvetli immunoreaktivite belirlendi (Şekil 66). Miadındaki plasentalara ait koryon villuslarının bazılarında mezenşim dokusu yüksek derecede osteonektin immunoreaktivitesi gösterdi (Şekil 65, 66). Perkreatalı plasentalarda Hofbauer hücre sayısı ve boyanma yoğunluğu artmıştı (Şekil 67). Miadındaki plasentalara ait koryon villusları içerisindeki damar endotellerinde ve düz kas hücrelerinde yüksek derecede osteonektin immunoreaktivitesi görüldü (Şekil 68). Normal ve perkreatalı plasentalara ait desidua bazalis kısmının desidua hücrelerinin çoğunluğunda osteonektin immunoreaktivitesi yüksek derecede görüldü (Şekil 69, 70, 71, 72). Term plasentalarına ait göbek kordonu kesitlerinde osteonektin immunoreaktivitesinin göbek kordonu epitel hücrelerinde, arteriya ve vena umblikalislerin tabakalarında, müköz bağdokusu içerisinde bulunan hücrelerde kuvvetli olduğu belirlendi (Şekil 73, 74, 75).



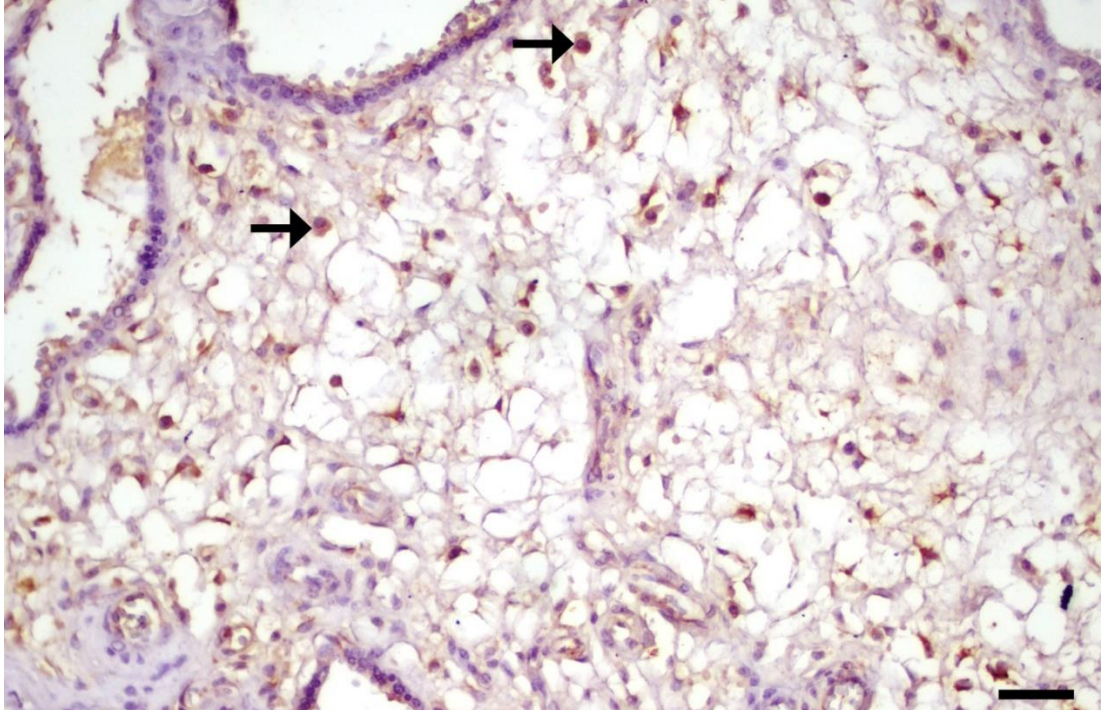
Şekil 64: Miadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında osteonektin immunoreaktivitesi. İnce ok: Sinsityotroblast hücreleri. Bar: 100 μ m.



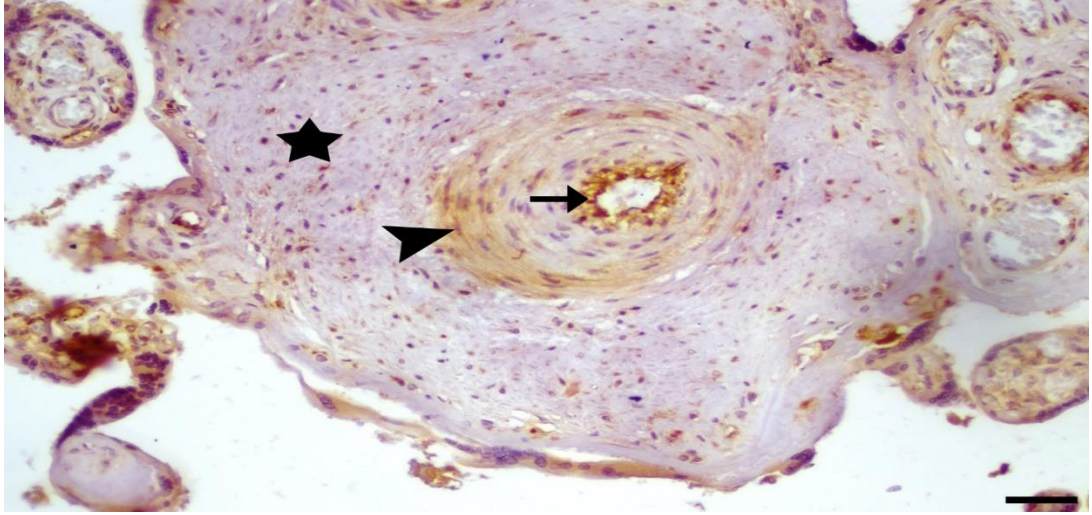
Şekil 65: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villuslarında osteonektin immunoreaktivitesi. İnce ok: Sinsityotroblast hücreleri. Bar: 50 μ m.



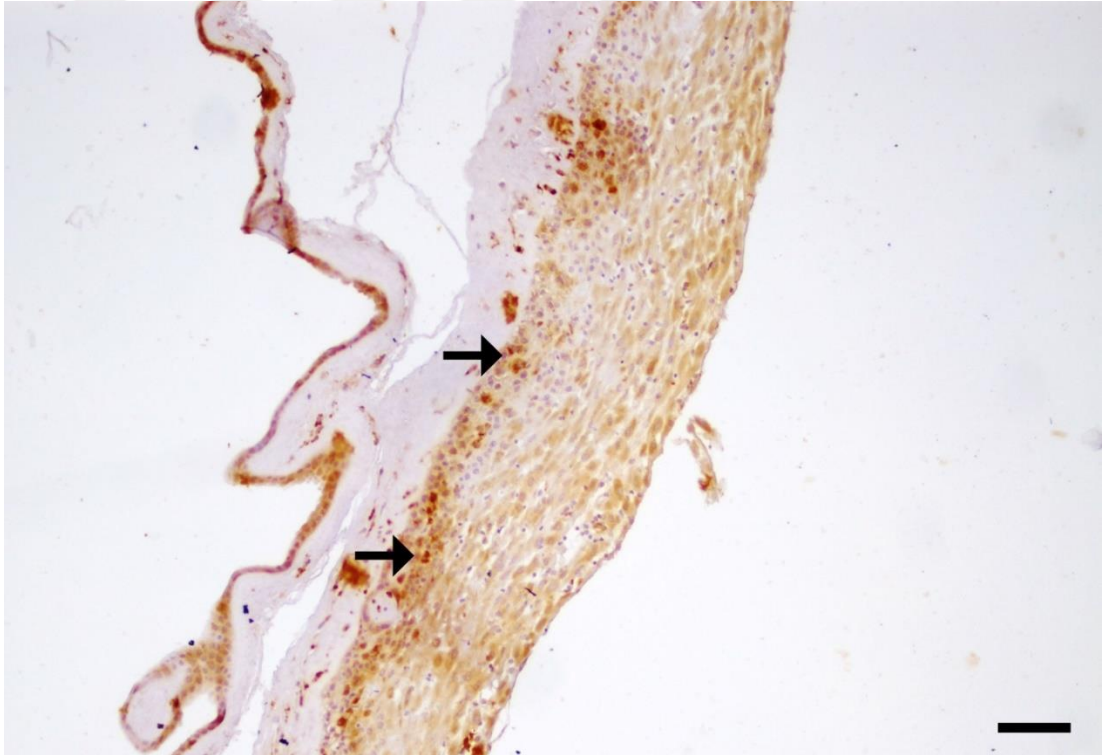
Şekil 66: Miadında bir plasentaya ait koriyon villuslarında sinsityal düğümler ve sinsityal köprülerde osteonektin immunoreaktivitesi. İnce ok: Sinsityal düğüm ve köprüler. Bar: 50 μ m.



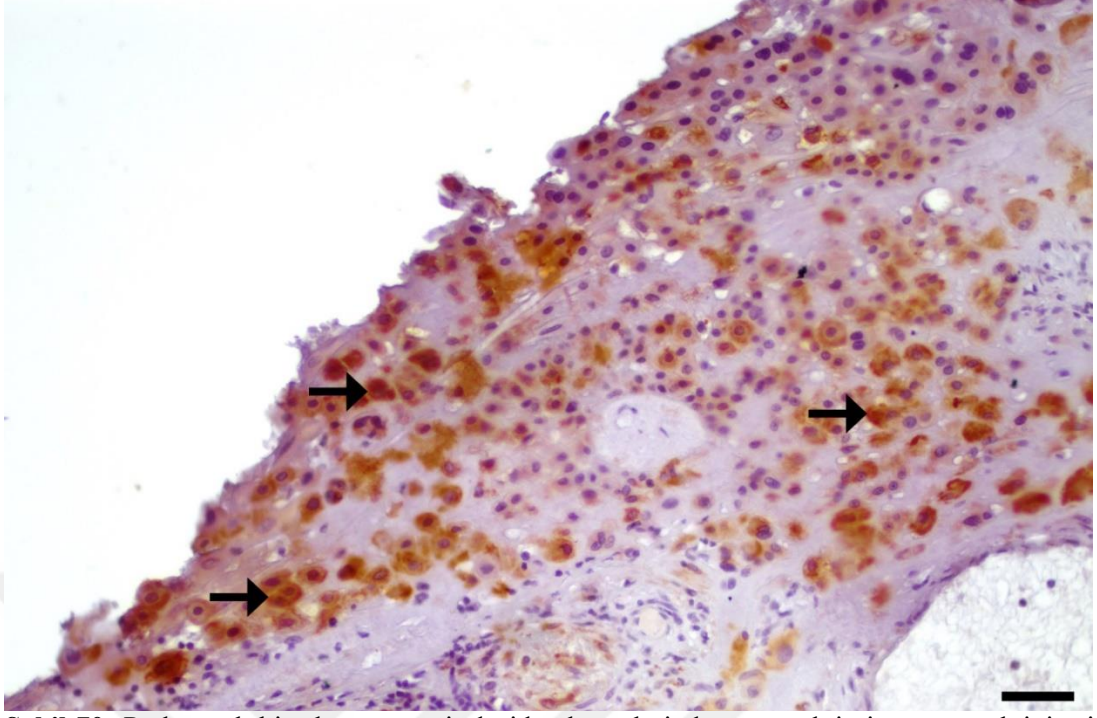
Şekil 67: Perkreatalı bir plasentaya ait koriyon villuslarında hofbauer hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi. İnce ok: Hofbauer hücreleri. Bar: 50 μ m.



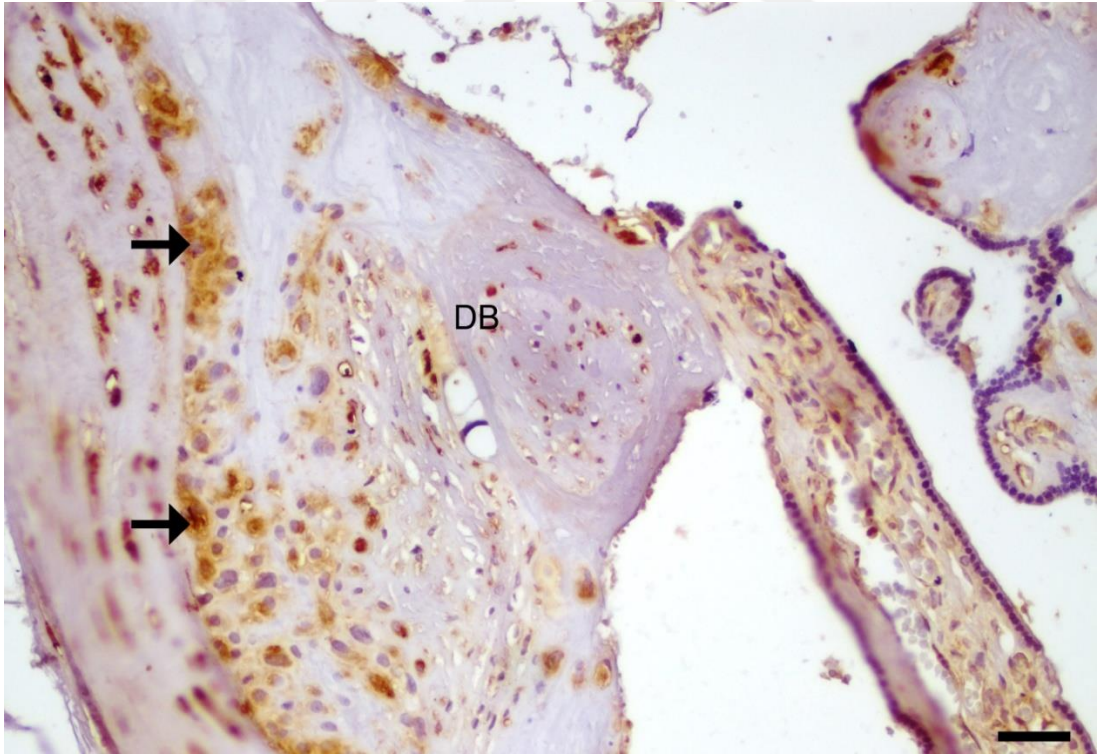
Şekil 68: : Miadında bir plasentaya ait koriyon villusların da bağlantı sapı bölgesinde kök villuslarında koriyon mezenşimi ve damar endotellerindeki kuvvetli osteonektin immunoreaktivitesi. Yıldız: Koriyon Mezenşimi, Ok: Damar Endoteli, Ok başı: Düz kas hücreleri. Bar: 25 µm.



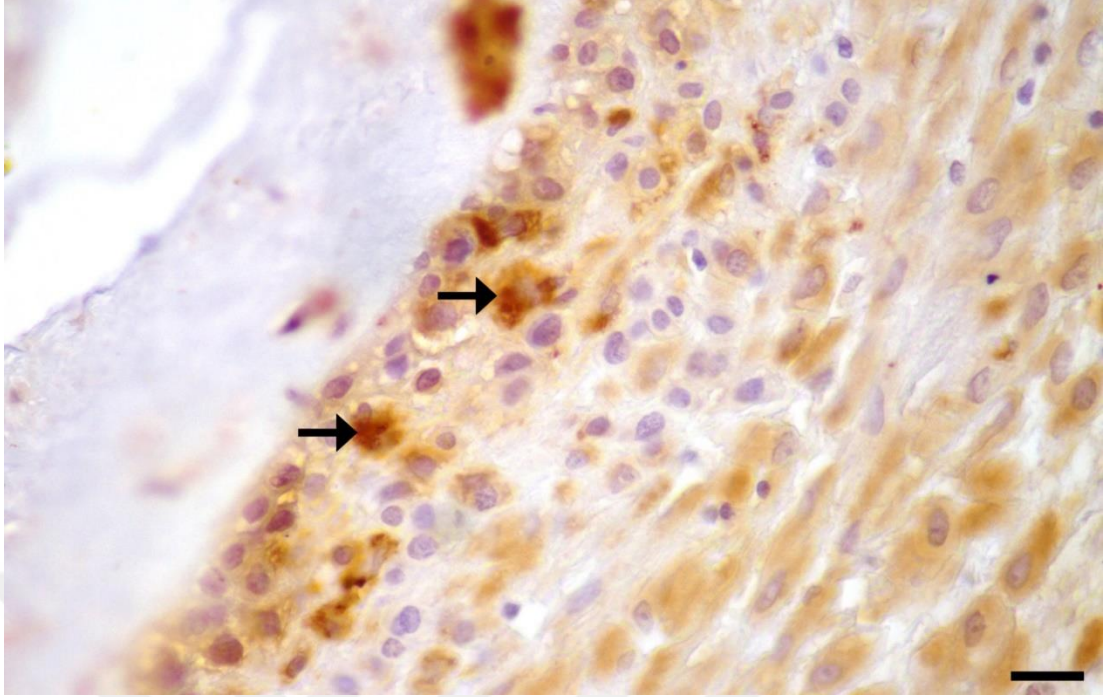
Şekil 69: Miadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmındaki desidua hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua Hücreleri. Bar: 100 µm.



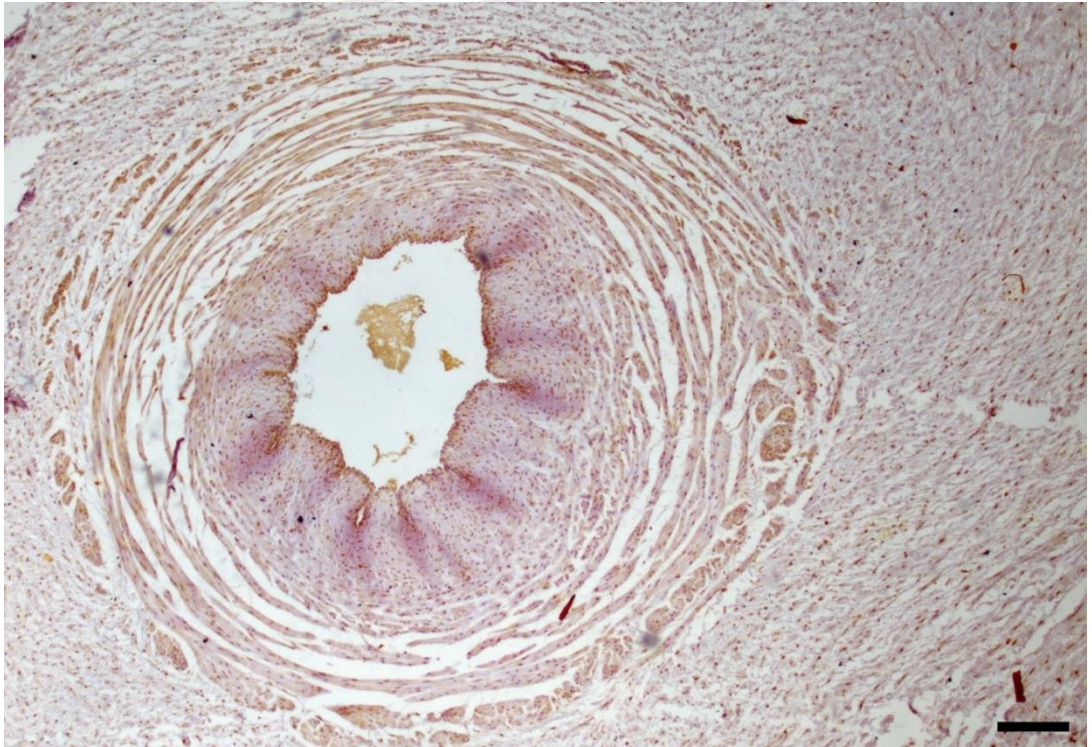
Şekil 70: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua Hücreleri. Bar: 50 µm.



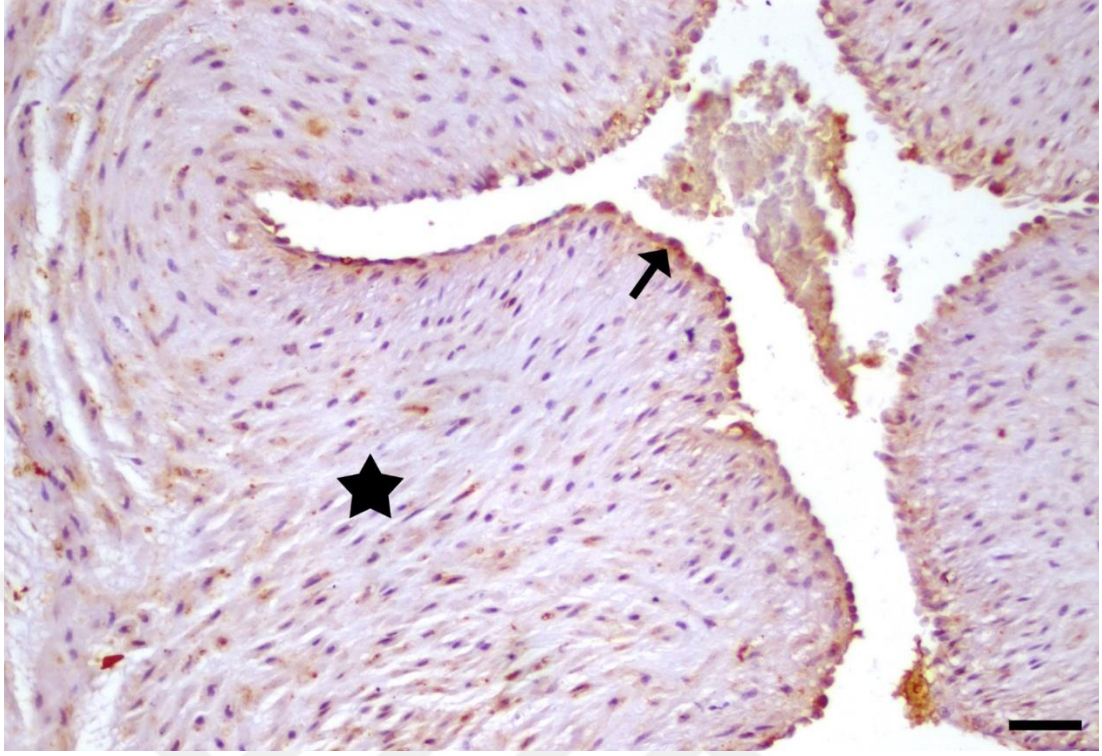
Şekil 71: Miadında bir plasentaya ait desidua bazalis kısmındaki desidua hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi. DB: Desidua Bazalis, Oklar: Desidua Hücreleri. Bar: 50 µm.



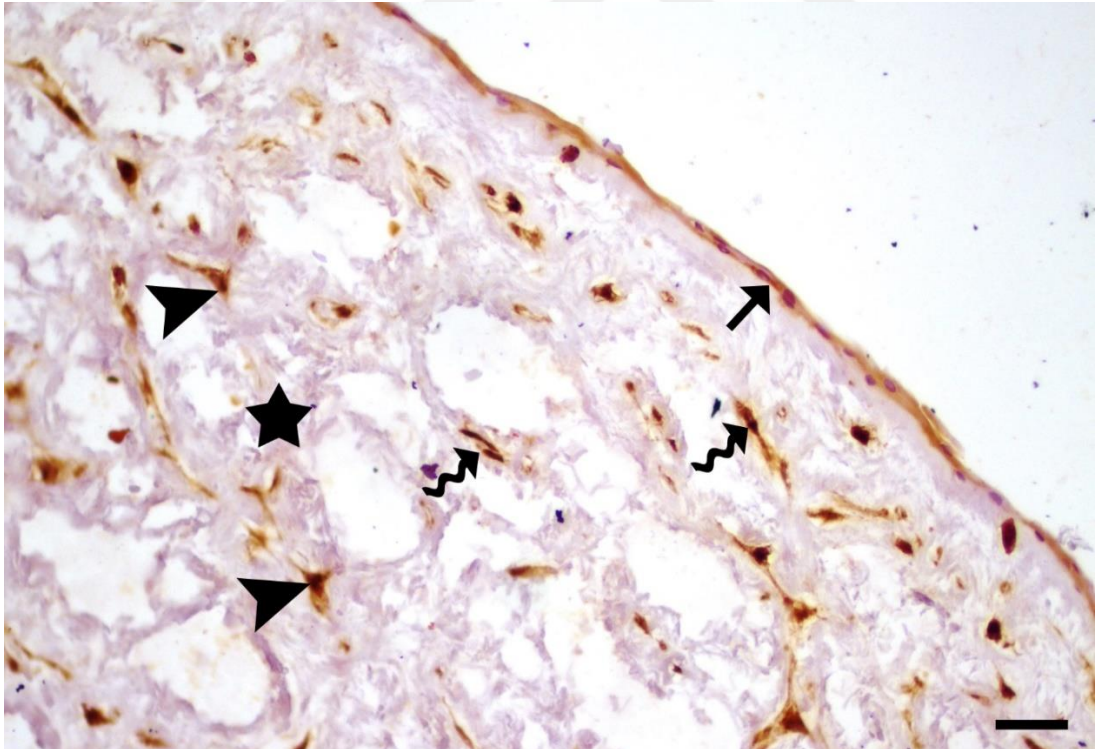
Şekil 72: Perkreatalı bir plasentaya ait desidua hücrelerinde osteonektin immunoreaktivitesi. Oklar: Desidua Hücreleri. Bar: 25 μ m.



Şekil 73: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteonektin immunoreaktivitesi. Bar: 125 μ m.



Şekil 74: Term plasentaya ait göbek kordonu yapısında osteonektin immunoreaktivitesi. Oklar. Endotel ve subendotel, Yıldız: Düz kaslar. Bar: 50 µm.



Şekil 75: Term plasentaya ait göbek kordonu epitelinde kuvvetli osteonektin immunoreaktivitesi. Ok: Göbek kordonu epiteli, Yıldız: Göbek kordonu bağ dokusu, Ok başı: Mezenkim hücreleri, Kıvrık ok: Fibroblast. Bar: 50 µm.

6. TARTIŞMA

Oldukça dinamik ve hüresel olarak heterojen endokrin bir organ olan insan plasentası hemokoriyal tipte olup, koryon frondozum ve desidua bazalisin oluşturduğu fetal ve maternal iki kısımdan meydana gelir. Madde geçişine aracılık eden ve villus yapılarının bulunduğu kısım koryon frondozum kısmıdır. Plasentasyon süresince; sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast hücrelerinden oluşan primer villuslar, ekstraembriyonik mezenşimin villus merkezinde ortaya çıkması ile sekonder villuslar ve villus stromasında yoğun vasküler yapıların olduğu tersiyer villuslar meydana gelir (51). Anne veya yavruyu etkileyen herhangi bir patolojik olay plasentanın normal fonksiyonlarına etki ederek morfolojik değişikliklere yol açabilir. Bazen plasentanın kendi yapısal değişiklikleri de fetal durumun kötüye gitmesinde etken olabilir (24). Placenta akreta, inkreta ve perkreat, placenta yapışma anomalilerinin üç ana kategorisidir ve en ciddi placenta perkreatadır (3,4). Özellikle son yıllarda artan sezaryan oranlarına paralel olarak görülme sıklığı artan masif obstetrik kanama sebepleri olarak gösterilen plasental yapışma anomalileri ciddi derecede maternal morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır (52).

Çalışmamızda normal gebelik süresini tamamlamış olan term dönemindeki kadınlardan alınan placenta örnekleri ışık mikroskopunda histokimyasal olarak incelediğinde plasentanın temel olarak placenta fetalis ve placenta maternalis olarak iki kısımdan oluştuğu, placenta fetaliste amnion epiteli, koryon plağı ve koryon villuslarının bulunduğu, placenta maternalis kısmında desidua bazalis de desidua hücreleri ile plasental septumların olduğu gözlemlenmiştir. Elde ettiğimiz bulguların diğer araştırmacıların bulgularıyla uyumlu olduğunu söyleyebiliriz (36, 51, 52). Perkreat grubuna ait plasentaların histolojik yapısı incelendiğinde vakaların plasentalarında anlamlı biçimde perivillos fibrin birikimi ile sinsityal köprüler ile sinsityal düğümlerin sayısında artışın daha fazla olduğu ayrıca fetal terminal villus kapillerinde dilatasyon, konjesyon şekillendiği belirlenmiştir. Bu bulguların da diğer çalışmalarla uyumlu olduğunu söyleyebiliriz (24, 36, 51). Göbek kordonu dıştan basit amniyon epitelle çevrili, wharton peltesi içerisinde iki adet umbilikal arter ve bir adet umbilikal venadan oluşan bir yapıya sahiptir (34, 35). Gebeliği normal olarak sonlanmış termdeki kadınların plasentalarına ait göbek kordonu kesitlerini ışık

mikroskopik olarak incelediğimizde bulgularımızın çalışmalarla uyum sağladığını gördük.

Osteopontin, osteokalsin ve osteonektin hücre-hücre yapışması, hücre-hücre dışı matriks birleşmesi ve hücre göçünde rol oynamak üzere salgılanan glikoproteinlerdir (7,11,40). Gebe hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan araştırmalar bu glikoproteinlerin implantasyon ve plasentasyon sırasındaki rollerinin anlaşılmasında önemli ölçüde ilerleme sağlamıştır. (52-55) Bu çalışmada da osteopontin, osteokalsin ve osteonektin proteinlerinin miyadında normal ve perkreatal gebelerin plasentalarından alınan kesitlerdeki immunoreaktiviteleri incelenmiştir.

Çalışmamızda bulgularda belirtildiği gibi normal plasentalı gruptan alınan kesitlerde bazı sinsityotrofoblast hücrelerinin osteopontin pozitif lokalizasyonu ve özellikle de sinsiyal köprüler ile sinsiyal düğümlerin ortaklaştığı noktalarda yüksek derecede immunoreaktivite göstermesi osteopontin'nin hücre-hücre adezyonu, hücre-hücre dışı matriks (ECM) iletişimi ve hücre göçünde rolü olan bir glikoprotein olduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir. Özer ve arkadaşları insan plasentasında yaptıkları çalışmada çalışmamızla uyumlu olarak, trofoblastik osteopontin ekspresyonunun normal term plasentaya kıyasla perkreatada azaldığını göstermişlerdir (3). Bu durumu, normal plasentada osteopontinin, ekstrasitillöz trofoblastlarda, proliferasyon ve invazivlik yeteneğine sahip villöz trofoblastların sitotrofoblastlarında güçlü bir şekilde bulunması ve ekspresyonunda şekillenen azalmanın trofoblastik büyümeyi ve invazyonu bozarak plasental adezyon bozukluklarına yol açabileceği şeklinde açıklayabiliriz. Koyunlarda ve domuzlarda yapılan çalışmada osteopontin'nin implantasyonun potansiyel bir aracısı olduğu, uterus ile plaseenta arasında köprü kurarak konseptüsün bağlanması ve plasentasyon için gerekli olan yapışmayı indüklediği varsayılmış ve osteopontin, domuz ve koyunlarda implantasyon için önde gelen aday adezyon molekülü olarak tanımlanmıştır (55). Konseptus doğası gereği invazivdir ve ayırım yapmaksızın veya hormonal ön hazırlığa ihtiyaç duymaksızın çok çeşitli yapay ektopik bölgelere ve biyolojik matrislere tutunabilir ve bunları istila edebilir. Birden fazla türün uterusu içinde yapılan kapsamlı analizlerde osteopontin ekspresyonunun gebeliğin sonuna kadar uterus ve plasentada çeşitli biyolojik işlevlere sahip olduğu gösterilmiştir (7,55). Böylelikle her canlı modeli benzersiz avantajlar sunmuş ve yapılan araştırmalarla osteopontin ifadesi ile işlevinin türler arasındaki karşılaştırmalı

yönlerinden yararlanılmaya çalışılmıştır. Türler arasındaki bu karşılaştırmalar yoluyla uterus - plasenta ortamında osteopontin aracılıklı yapışma, yeniden şekillenme ve hücre-hücre/hücre-matriks iletişiminin altında yatan potansiyel hormonal/sitokin, hücreyel ve moleküler mekanizmalar hakkında bilgiler edinilmiştir. Plasental villüs stroması, mezenşimal orijinli ve birçok fonksiyonu olduğu düşünülen Hofbauer olarak adlandırılan makrofajları içerir (49). Ingman ve ark. bu hücrelerin birinci ve ikinci trimesterde plasental villöz stromada çok sayıda bulunduğunu, buna karşın term plasentada sayılarının azalmaya başladığını belirtmişlerdir (50). Çalışmamızda normal term plasentada Hofbauer hücrelerinde osteopontin reaksiyonunun perkereata grubu hücrelerine göre daha zayıf olduğunu gördük. Perkreatal olgularında Hofbauer hücrelerinde artışın daha fazla olmasının nedenlerinden biri olarak, bu hücrelerin farklı patolojilerdeki rolleriyle ilgili olabilmesi, yine fagositozu tetikleyen enfeksiyon gibi bir durumun etyopatogenezinde önemli rol oynaması ve ayrıca da hücre-aracılıklı lenfosit reaksiyonunu inhibe ederek fetüse karşı gelişebilecek T hücre yanıtını bastırmada önemli fonksiyona sahip olmaları olarak açıklayabiliriz. Çalışmamızda diğer çalışmalarla uyumlu olacak şekilde normal grubun plasentalarından alınan kesitlerde, osteopontin lokalizasyonu'nun maternal kısmın desidua hücrelerinde ortadan kuvvetli dereceye doğru, perkreatal plasentalarda ortadan zayıf dereceye doğru olduğu görülmüştür (7). Bu durum normal plasenta desiduumundaki osteopontin pozitif hücrelerin, embriyonun gelişmesi, bölgedeki hücrelerin göçü veya çoğalmasına uyarı verebileceği düşüncesiyle açıklanabilir. Nomura ve arkadaşları farelerde yaptıkları çalışmalarında osteopontinin desidua hücrelerinde lokal proliferasyona yani çoğalmaya yol açabileceklerini göstermişlerdir. Deciduum'daki osteopontin pozitif hücreleri granüle metriyal bez hücreleri olarak tanımlamışlar ve embriyo ile geniş maternal kan sinüslerinin gelişmesine izin vermek için uterus stromasının ve maternal kan damarlarının parçalanmasında ve yeniden şekillenmesinde rol oynadığını göstermişlerdir (7). Bin Hu ve arkadaşları ile Von Wolff osteopontin lokalizasyonunu insan, Johnson ve arkadaşları koyun desidua stromal hücrelerinde açıkça ifade etmişlerdir (55-60). Desidua'daki bu osteopontin ekspresyonunun, başarılı gebeliğin sürdürülmesinde aktif olarak rol oynadığını söylemek mümkündür.

Yapılan literatür taramasında göbek kordonu epitel hücrelerinde ve damarlarında osteopontin immunoreaktivitesi ile ilgili bir literatüre rastlanmamış

olup, yaptığımız immunohistokimyasal çalışmada göbek kordonu epitel hücrelerinde, damarlarında ve müköz bağ dokusunda osteopontin immunoreaktivitesi saptanamamıştır.

Osteokalsinin keşfi, iskelet ile enerji homeostazisi ve glikoz metabolizması ile ilişkili pankreas beta hücreleri, yağ dokusu ve beyin gibi çeşitli dokular arasındaki etkileşimler hakkında yeni bir bakış açısı açarak endokrin fonksiyonlarını ortaya çıkarmıştır (62). Ayrıca çeşitli doku ve organlarda etkisi gösterilen osteokalsinin, son yıllarda yapılan çalışmalarda, erkek üreme sisteminde de önemli rollere sahip olduğu rapor edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında osteokalsin'nin plasental doku immunoreaktivitesi ile ilgili bir bilgiye rastlanılmamış olup çalışmaların daha ziyade serum osteokalsin seviyesi üzerine olduğu görülmüştür. Yaptığımız immunohistokimyasal çalışmada osteokalsin immunoreaktivitesinin koryon villuslarının dış yüzeyinde yer alan bazı sinsityotrofoblast hücrelerinin sitoplazmasında, koryon mezenşiminde, koryon mezenşimindeki damar endotelinde ve maternal kısmın desidual hücrelerinde olduğu belirlenmiştir. Liang Song ve ark. çalışmamızla uyumlu olarak plasental immünohistokimyasal boyama ve in vitro JAR trofoblast hücre deneyleri ile plasentada potansiyel bir osteokalsin döngüsü belirlemişlerdir (62). Osteokalsinle ilgili yapılan çalışmalarda, yara iyileşmesi, hücre büyümesi, çoğalması ve modülasyonu ile anjiyogenez de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahip etkileri olduğu vurgulanmıştır (10,41, 62). Bizde çalışmamızdaki bulgulara dayanarak osteokalsinin plaseenta dokusunda hücre – hücre adezyonu, hücre proliferasyonu, doku farklılaşması ve anjiyogenezde etkili olduğunu söyleyebiliriz. Yapılan literatür taramasında osteokalsinin göbek kordonu immunoreaktivitesi ile ilgili bir literatüre rastlanılmamış olup, yaptığımız immunohistokimyasal çalışmada göbek kordonu epitel hücrelerinde, wharton peltesinde ve damarlarında osteokalsin immunoreaktivitesi saptanmıştır. Böylelikle osteokalsin, hücre yüzeyi reseptörleri ile etkileşimler yoluyla endotel ve epitelyal hücrelerde hücre göçünü, hücre dışı matriks (ECM) istilasını ve hücre yapışmasını düzenleyebilir düşüncesini belirtebiliriz.

Yeni bir protein olan SPARC (osteonektin, salgılanan protein asidik ve sistein bakımından zengin) çok çeşitli biyolojik işlevleri etkilediği gösterilen ve son zamanlarda yapılan bir dizi incelemenin konusu olan prototipik bir kolajen bağlayıcı matriksellüler proteindir (63). Yakın zamanda parietal endoderm proteinleri listesine eklenen, çeşitli memeli dokularında ve hücre hatlarında eksprese edilen hücre dışı Ca

bağlayıcı matrisellüler bir glikoprotein olarak tanıtılmıştır (64). Mason ve arkadaşları parietal endoderm hücreleri tarafından yapısal olarak yüksek seviyelerde ifade edilen bazı genlerin, hücreler normal substratlarından ayrıldığında ve proliferasyon gerektirebilen veya gerektirmeyen bir süreç olan hücre dışı matrislerine göç etmeleri ve eski haline gelmeleri için gerekli olduğunda spesifik olarak aktive olabileceğini öne sürmüşlerdir (65,66). Osteonektin'in kollajene bağlanarak kemik matriks montajında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bununla beraber diğer dokularda da ara maddenin düzenlenmesinde rol aldığı bilinmesine rağmen üreme sistemindeki fonksiyonuna dair literatürde geniş bir bilgi yer almamaktadır (26,67,68). Çeşitli çalışmalarda osteonektinin onarım ve modellemede yer alan hücrelerde yapısal olarak sunulması, matriks oluşumu, hücresel proliferasyon, hücre göçü ve hücre dışı proteolitik aktiviteyi etkileyerek doku onarım/yeniden modelleme sürecinde rol oynadıkları gösterilmiştir (26,64,65). Çalışmamızda her iki doku örneğinde koryon villuslarının sinsityotrofoblast hücrelerinin bazılarında ve mezenşiminde, sinsiyal köprüler ile damar endotel ve düz kas hücrelerinde, maternal kısmın desidua hücrelerinde, göbek kordonu epitelinde, bağ dokusunda ve damarlarında belirgin pozitif boyanma özelliği gözlemlendiği gibi, negatif boyanmalar da gözlenmiştir. Böylece osteonektinin, endotelyal hücre fokal adezyonlarını azalttığı, matriks mineralizasyonunu etkilediği, hücre döngüsü boyunca hücrelerin ilerlemesini modüle ettiği ve neovaskülarizasyonu düzenlediği bilgilerini ortaya sunabiliriz. Dişi ve erkek üreme sistemi ile SPARC arasındaki ilişkiye dair olarak yapılan çalışmalarda, Wever ve ark. (1988) gebelik döneminde ve normal menstruasyon döneminde, SPARC ekspresyonunu desidua hücreleri ve hücre bazal membranında karşılaştırdıklarında büyük olgun desidua hücrelerinde periselüler alanda, orta büyüklükteki desidua hücrelerinde sitoplazmik alanda ekspresyonun olduğu, progenitör hücre konumunda olan küçük hücrelerde ise ekspresyonun çok az olduğunu gözlemlemişlerdir (67). Normal menstruasyon döneminde ise proliferatif fazda ekspresyonla karşılaşılmazken, sekretuar dönemde yoğun ekspresyon olduğunu görmüşlerdir (67). Bir başka çalışmada ise, blastokistin implantasyon öncesi endometriyumun reseptivitesini uyarmak için SPARC'ı baskılayıcı faktör salgıladığı bildirilmiştir (53). Turan ve ark. çalışmalarında bizim çalışmamızla uyumlu olarak, desidua katmanında bulunan dev hücrelerde belirgin pozitif ve yanında negatif boyanmalar da gözlemlemişlerdir (26). Sitoplazmik olarak boyanan sitotrofoblast tabakasında ve endotel hücrelerinde yoğun boyanmanın olduğunu görmüşlerdir (26). Tosetta ve ark.

yaptıkları immunohistokimyasal analizde, birinci ve üçüncü trimester plasentalarında SPARC'ın farklı bir ekspresyon gösterdiğini, invaziv süreçlerin ağırlıklı olarak meydana geldiği ilk trimesterde ekspresyonunun yüksek olduğunu ve invaziv süreçlerin daha az önemli olduğu üçüncü trimesterde daha azaldığını bu duruma bağlı olarak da bu proteinin varlığının plasental gelişim sırasındaki invazivlik süreçleriyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (56). Bizde özellikle, SPARC'ın plasentanın implantasyon bölgelerini temsil eden hücre adaları ve hücre kolonlarının ekstravillöz trofoblastında eksprese edildiğini tespit ettik, böylece SPARC'ın normal plasentasyon sırasında trofoblast invazyonunda önemli bir rol oynadığını düşündük.

Fare dokularında yapılan çalışmalar da SPARC'ın mineralizasyon, proliferasyon, yeniden şekillenme ve/veya steroidogenez geçiren dokularda yüksek seviyelerde ifade edildiği gösterilmiştir (63,65,71). Bununla birlikte hem iyi huylu hem de neoplastik dokuda, yeniden şekillenmekte olan dokularla ilişkili fibrositlerde ve endotel hücrelerinde güçlü immün boyanma verdiği görülmüştür (63). Birçok bilim insanı SPARC'ın trofoblast istilası üzerindeki etki mekanizmasının açıklığa kavuşturulması için daha fazla işlevsel çalışma yapılması gerektiğini söylemişlerdir. Böylece SPARC tarafından düzenlenen genlerin embriyo implantasyonundaki rolünün aydınlatılmasıyla, gelecekte insan doğurganlığının manipülasyonuna yönelik yeni hedefler belirlenebilir (11,26, 64,71). Osteonektin'in Ca^{++} bağlayıcı bir protein olarak kollajene bağlanmasıyla kemik matriksi montajında önemli bir rol oynamasından yola çıkarak Yurchenco ve ark. tarafından yakın zamanda yapılan araştırmalar, bazal membran montajının da Ca^{++} gerektirebileceğini göstermiştir (70). Böylelikle, osteonektinin, bazal membran dahil olmak üzere, kemiksiz hücre dışı matriks oluşumuna katılıp katılmayacağı merak edilmiştir (67,68,71). Osteonektinin insan desiduasındaki kesin dağılım modeli, doku kesitleri üzerinde immunohistokimya kullanılarak araştırılmış ve desidual hücreleri tarafından önemli ölçüde eksprese edildiği görülmüştür (7,69). Bu çalışmalarda çalışmamızla uyumlu olarak, lokalizasyonunun sitoplazmik ve periselüler olduğu, büyük olgun desidual hücrelerin osteonektin antikorları ile sitoplazmik boyanma reaktivitesi gösterdiği ve bu hücrelerin her birini çevreleyen bazal membrana karşılık geldiği anlaşılan osteonektinin perisellüler olarak pozitif immün boyandığı belirlenmiştir. Orta büyüklükteki desidual hücreler yoğun sitoplazmik immün boyama göstermiş ve bu yuvarlak hücrelerin bazıları ayrı bir perisellüler noktalı reaksiyon sergilemiştir (67,68,69). Bu çalışmalarda ve çalışmamızda insan kemik dışı dokusunda açık bir

osteonektin ekspresyonu rapor edilmiştir. Yapılan literatür taramasında göbek kordonu epitel hücrelerinde, bağ dokusunda ve damarlarında osteonektin immunoreaktivitesi ile ilgili bir literatüre rastlanılmamış olup, yaptığımız immunohistokimyasal çalışmada göbek kordonu epitel hücrelerinde, bağ dokusunda ve damarlarında osteonektin immunoreaktivitesi saptanmıştır. Porter ve arkadaşları spark'ın değişik dokularda dağılımıyla ilgili yaptıkları çalışmada çalışmamızla uyumlu olacak şekilde fibrositlerde, mezenkimal ile endotel hücrelerinde ve vasküler düz kas hücrelerinde düşük ila orta düzeyde değişen derecelerde immün boyanma gördüklerini belirtmişlerdir (64). Yine çalışmalarında SPARC mineralizasyon, proliferasyon, yeniden şekillenme ve/veya steroidogenez geçiren dokularda yüksek seviyelerde ifade edilir düşüncesini de vurgulamışlardır (64). Bununla birlikte bu farklı doku dağılımıyla osteonektinin karmaşık biyolojik işlevlere sahip olduğu, bu işlevlerin doku mineralizasyonunun düzenlenmesiyle sınırlı olmadığı ve dokuların yeniden şekillenmesi ile hücre onarımına etki sunabileceği söylenebilir.

7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, osteopontin, osteokalsin ve osteonektin gebeliğin farklı aşamalarında, hücre-hücre ve hücre dışı matriks yapışması, doku onarımı, embriyo implantasyonu ve plasental gelişim gibi önemli olaylarda farklı biyolojik işlevlere sahip glikoproteinlerdir. Araştırmamızın verileri bu proteinlerinin bölgeye özgü işlevleri olduğunu, gelişim sırasında bozulmuş ifadesinin doku homeostazında değişikliklere yol açabileceğini ve özellikle de hücre dışı matriksinin yeniden

şekillenmesine destek sunabileceğini göstermiştir. Osteopontin, osteokalsin ve osteonektin glikoproteinleri normal insan plasental gelişimi sırasında önemli bir oyuncu olarak düşünüldüğünde, gebelik dönemlerinde sinsityotrofoblast, fetal damarlar ve desidual kilit alanlarında şekillenen düzensizlikleri plasental invazyon anomalileri gibi patolojileri destekleyen değişmiş bir organ gelişimine neden olabilir. Plasentanın gelişimi sırasında maternal bağışıklık sisteminde şekillenen sapmalar, uterus içi ortamı değiştirebildiği gibi trofoblast farklılaşmasında da bozulmalara yol açabilir. Çalışmamızda sonuç olarak osteopontin, osteokalsin ve osteonektin'nin sinsityotrofoblast hücrelerinde özellikle de sinsityal köprülerde belirgin bir şekilde görülmesi, bu antikorların hücre- hücre adezyon fonksiyonu üzerine olan etkilerini göstermiştir. Ayrıcada her iki plasenta örneğinde bu antikorların gebelik boyunca implantasyon, hücre hareketi - yapışması, desidualizasyon ve immün düzenleme gibi çeşitli süreçlerde önemli rol oynadıkları olgusuna varılmıştır.

8. KAYNAKLAR

1. Baines KJ. The Effect of Maternal Immune Activation on Placental and Fetal Development In Rats. The University of Western Ontario Doctor of Philosophy degree in Anatomy and Cell Biology, Postdoctoral Studies, 2022. Western University, Canada (Supervisor: Stephen J Renaud).

2. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruyssen L, Romero R. The “great obstetrical syndromes” are associated with disorders of deep placentation. *AJOG*. 2011; 204(3): 193–201.
3. Özer A, Yaylalı A, Koçarslan S. The role of osteopontin in the pathogenesis of placenta percreta. *Ginekologia Polska*. 2018; 89(8): 437–441.
4. Jiang Q, Dai L, Chen N, Li J, Gao Y, Zhao J, et al. Integrative analysis provides multi-omics evidence for the pathogenesis of placenta percreta. *J Cell Mol Med*. 2020;24:13837–13852.
5. Sanhal CY, Yücel A, Kırbaş A, Uygur D. Plasenta Previa Percreta Tanı ve Yönetimi: Olgu Sunumu. *Jinekoloji - Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi Olgu Sunumları Sayısı*. 2016; 18 – 20.
6. Yener C, Sayın C, Uzun I, Sütçü H, Ateş S, Varol F. Plasenta previa percreta tanı ve yönetimi: olgu sunumu. *Namık Kemal Tıp Dergisi*. 2018; 6(3): 117-121.
7. Nomura S, Wills AJ, Edwards DR, Heath JK, Brigid Hogan LM. Developmental Expression of 2ar (Osteopontin) and SPARC (Osteonectin) RNA as Revealed by In Situ Hybridization. *JCB*. 1988; 106:441-450.
8. Johnson GA, Burghardt RC, Bazer FW, Spencer TE. Osteopontin: Roles in Implantation and Placentation. *BOR*. 2003; 69: 1458–1471.
9. Aksan A. Anne Sütünün Osteopontin Düzeyi ile Maternal Beslenme ve Bebek Sağlığı Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. H.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2019, Ankara (Danışman: Prof. Dr. F. Gülhan SAMUR).
10. Özdemir B, Kurtiş B, Tüter G, Şengüven B, Yıldırım B, Özcan G. Tavşanlarda çift trombosit zengin plazma uygulaması sonrasında osteokalsin ve osteonektin ekspresyonu. *J Istanbul Univ Fac Dent*. 2016;50(2):1-9.
11. Lin Xie R, Long G L. Role of N-linked glycosylation in human osteonectin. Effect of carbohydrate removal by N-glycanase and site-directed mutagenesis on structure and binding of type V collagen. *J Biol Chem*. 1995;270(39):23212-7.
12. Jiang Y, Zhu Y, Shi Y, He Y, Kuang Z, Sun Z, Wang J. Downregulation of SPARC expression inhibits the invasion of human trophoblast cells in vitro. *Plos One*. 2013; 8 (7): 1-10.
13. Song L, Huang Y, Longa J, Lia Y, Pan Z, Fang F, et al. The role of osteocalcin in placental function in gestational diabetes mellitus. *Reproductive Biology*. 2021;21 (10056): 1-8.

14. Oury F, Ferron M, Huizhen W, Confavreux C. Osteocalcin regulates murine and human fertility through a pancreas-bone-testis axis. *JCI*. 2013; 123(6):2421-2433.
15. Otani T, Mizokami A, Hayashi Y, Gao J. Signaling pathway for adiponectin expression in adipocytes by osteocalcin. *Cellular Signalling*. 2015; 27: 532–544.
16. Wewer UM, Albrechtsen R, Fisher LW, Young MF, Termine JD. Osteonectin/SPARC/BM-40 in human decidua and carcinoma, tissues characterized by de novo formation of basement membrane *Am J Pathol*. 1988; 132 (2): 345-355.
17. Napso T, Yong HEJ, Lopez-Tello J, Sferruzzi-Perri AN. The role of placental hormones in mediating maternal adaptations to support pregnancy and lactation. *Front in Physiol*. 2018; 9: (1091):1-39.
18. Knöfler M, Haider S, Saleh L, Pollheimer J, Gamage TKJB, James J. Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems. *Cell Mol Life Sci*. 2019; 76(18): 3479–3496.
19. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, Asshe van A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe preeclamptic pregnancies. *BJOG*. 1994;101(8): 669-674.
20. Brosens I, Robertson WB, Dixon HG. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. *The J Pathol Bacteriol* 1967; 93(2):569–57.
21. Weiss G, Sundl M, Glasner A, Huppertz B, Moser G. The trophoblast plug during early pregnancy: a deeper insight. *Histochem Cell Biol*. 2016;146(6): 749–756.
22. Jauniaux E, Watson AL, Hempstock J, Bao YP, Skepper JN, Burton GJ. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. *AJP*. 2000;157(6): 2111–2122.
23. James JL, Saghian R, Perwick R, Clark AR. Trophoblast plugs: impact on utero-placental haemodynamics and spiral artery remodelling. *Hum Reprod*. 2018;33(8): 1430–1441.
24. Burton GJ, Watson AL, Hempstock J, Skepper JN, Jauniaux E. Uterine glands provide histiotrophic nutrition for the human fetus during the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(6): 2954–2959.
25. Canaz F. Riskli ve Risksiz Gebeliklere Ait Plasentalarda Patolojik Bulguların Karşılaştırılması ve Bu Patolojilerin Perinatal Mortalite ve Morbidite İle İlişkisi.

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıpta Uzmanlık Tezi, 2007, Eskişehir (Danışman: Prof. Dr. Sare KABUKÇUOĞLU).

26. Karabacak R. Deneysel Hipertiroidi Oluşturulmuş Gebe Sıçanların Uterus ve Plasenta Dokularında Osteonektin (sparc) Vetgfβ-1 Dağılımının İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2015; Edirne, (Danışman: Prof. Dr. Turan KARACA) .

27. Gudea NM, Roberts C T, Kalionisa B, King R G. Growth and function of the normal human placenta. *Thromb Res.* 2004;114: 397 — 407.

28. Barrientos G, Pussetto M, Rose M, Staff AC, Blois SM, Toblli JE. Defective trophoblast invasion underlies fetal growth restriction and preeclampsia-like symptoms in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Mol Hum Reprod.* 2017;23(7): 509–519.

29. Cotechini T, Komisarenko M, Sperou A, Macdonald-Goodfellow S, Adams MA, Graham CH. Inflammation in rat pregnancy inhibits spiral artery remodelling leading to fetal growth restriction and features of preeclampsia. *JEM.* 2014;211(1):165–179.

30. Lyall F, Robson SC, Bulmer JN. Spiral artery remodelling and trophoblast invasion in preeclampsia and fetal growth restriction: relationship to clinical outcome. *Hypertension.* 2013;62(6): 1046–1054.

31. Kumer K, Sharabi-Nov A, Fabjan Vodusek V, Srsen TP, Tul N, Fabjan T, et al. Pro- and Anti-Angiogenic Markers as Clinical Tools for Suspected Preeclampsia with and without FGR near Delivery—A Secondary Analysis. *Reprod Med.* 2021;2(1): 12–25.

32. Bülbül R. Anormal İnvaziv Plasenta Olgularında Konservatif Cerrahi Yapılan Hastalar İle Sezeryan Histerektomi Yapılan Hastaların Maternal Sonuçlarının Karşılaştırılması. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, 2019, Konya (Danışman: Prof. Dr. Ali ACAR) .

33. Yener C, Sayın C, Uzun I, Sütcü H, Ateş S, Varol F. Plasenta previa perkreat tanı ve yönetimi: Olgu Sunumu. *NKMJ.* 2018; 6(3): 117-121.

34. Petekkaya E. Chorda Umbilicalis ve Plasenta Morfolojisi İle Yenidoğanın Antropometrik Ölçümleri Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. H.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007, Şanlıurfa (Danışman: Prof.Dr. Mustafa DENİZ).

35. Çetin A. İnsanda Erken Gelişim Dönemi ve Termde Göbek Kordon Yapısının Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde Araştırılması. F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 1996, Elazığ (Danışman: Prof. Dr. Oya SAĞIROĞLU).
36. Kırboğa S. Termdeki İnsan Plasenta ve Göbek Kordonunda Human Plasental Laktojen (hpl) Hormonunun İmmunohistokimyasal Dağılımı. K.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2008, Kars (Danışman: Prof. Dr. Nurhayat YECAN GÜLMEZ).
37. Akgüner Püren Z. Kök Hücre Yüklü İpek Fibroin-Temelli Nanohibrit Kemik Doku İskelelerinin Geliştirilmesi. İstinye Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2021, İstanbul (Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ayça BAL ÖZTÜRK).
38. Yıldız Eliş S, Nazlı M. Glikoproteinlerin Yapısal Özellikleri ve Fetal Fibronektinler. *Caucasian Med J.* 2015;2(1): 44-50.
39. Özer E. Ailevi Akdeniz Ateşi Hastalarında Serum Amiloid A Hepsidin ve Osteopontin Düzeyleri. D.Ü Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı Uzmanlık Tezi, 2010, Diyarbakır (Danışman: Prof. Dr. Levent ERDİNÇ).
40. Abdullah Mohammed DS. Böbrek Taşı Oluşumunda Osteopontin rs1126616 Gen Çok Yapılılığının Rolü. Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. 2014, Gaziantep (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mehri İĞCİ).
41. Xuzhu Lin. The effects of undercarboxylated osteocalcin on oxidative versus glycolytic skeletal muscle. College of Sport & Exercise Science Institute of Health and Sport (IHES). 2018; Victoria University, Australia.
42. Coşkun G. Yetişkin Leydig Hücrelerinin Farklanmaları Sırasında Osteokalsin'in Testosteron ve *insl3* Sentezine Etkisinin Araştırılması. Ç.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2018, Adana (Danışman: Prof. Dr. Sait POLAT).
43. Kökbaş U. Biyokimyasal kemik belirteçleri. *Arşiv Kaynak Tarama Derg.* 2021;30(2):76-85.
44. Güner G. Osteokalsin (BGP) I. Biyokimyasal özellikleri. *Dokuz Eylül Üniv Tıp Fak Derg.* 1992; 6(3):47-57.
45. Kelm R J, Jr Swords N A, Orfeo T, Mann K G. Osteonectin in Matrix Remodeling. *JBC.* 1994; 269(48): 30147-30153.
46. Yan Q, Sage HE. SPARC, a Matricellular glycoprotein with important biological functions. *J Histochem Cytochem.* 1999;47(12):1495-506.

47. Detre S, Saccani Jotti G, Dowsett M. A “quickscore” method for immunohistochemical semiquantitation: Validation for oestrogen receptor in breast carcinomas. *J Clin Pathol.* 1995; 48(9):876–878.
48. Mudduwa LKB. Quick score of hormone receptor status of breast carcinoma: correlation with the other clinicopathological prognostic parameters. *Indian J Pathol Microbiol.* 2009; 52(2):159–163.
49. Seval Y, Korgun ET, Demir R. Hofbauer cells in early human placenta: possible implications in vasculogenesis and angiogenesis. *Placenta.* 2007; 28: 841-845.
50. Ingman K, Cookson VJKW, Jones CJP, Applin JD, Characterisation of Hofbauer Cells in First and Second Trimester Placenta: Incidence, Phenotype, Survival in vitro and motility. *Placenta.* 2010; 31: 535-544.
51. Ceyhan MŞ. Tip-2 ve Gestasyonel Diyabetli Gebe Plasentalarının Trofoblast Gelişimi, Anjiyogenez Yönünden Karşılaştırılmalı Olarak İncelenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2018, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU).
52. Bastacı FS. Plasenta Previa ve Akreata Olgularında İnhibin-a Düzeyi. Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, 2016, Hatay (Danışman: Doç. Dr. Raziye KESKİN KURT).
53. Demir EE. Gebe Kadınların Plasenta Dokusunda Bazik Fibroblast Büyüme Faktörünün İmmunohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2010, Kars (Danışman: Doç. Dr. Hakan KOCAMIŞ).
54. Erdoğan G. Normotensif ve Preeklampitik Plasentaların Histolojik ve Histokimyasal Olarak Değerlendirilmesi. D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2018, Diyarbakır (Danışman: Prof. Dr. Yusuf NERGİZ).
55. Johnson GA, Burghardt RC, Bazer FW. Osteopontin: a leading candidate adhesion molecule for implantation in pigs and sheep. *J Anim Sci Biotechnol.* 2014; 5(56):1-14.
56. Tossetta G, Fantone S, Giannubilo S R, Giannubilo SR, Busilacchi EM, Ciavattini A, Castellucci M, et al. Pre-eclampsia onset and SPARC: A possible involvement in placenta development. *J Cell Physiol.* 2019;234:6091-6098.

57. Özdemir B, Kurtiş B, Tüter G, Şengüven B, Yıldırım B, Özcan G, et al. Osteocalcin and osteonectin expression after double application of platelet-rich plasma in rabbits. *J Istanbul Univ Fac Dent*. 2016;50(2):1-9.
58. Garlow J E, Hakhyun K, Johnson G A, Burghardt RC, Jaeger LA, Bazer FW, et al. Analysis of osteopontin at the maternal-placental interface in pigs. *Biol Reprod*. 2002; 66: 718–725.
59. Hu B, Zhou H, Gao H, Liu Y, Yan T, Zou Li, et al. IFN- γ inhibits osteopontin expression in human decidual stromal cells and can be attenuated by 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃. *Am J Reprod Immunol*. 2012; 68: 353–361.
60. Von Wolff M, Bohlmann MK, Fiedler C, Ursel S, Strowitzki T: Osteopontin is up-regulated in human decidual stromal cells. *Fertil Steril*; 2004: 81(1):741–748.
61. Johnson GA, Burghardt RC, Joyce MM, Spencer TE, Bazer FW, Pfarrer C, Gray CA: Osteopontin expression in uterine stroma indicates a decidualization-like differentiation during ovine pregnancy. *Biol Reprod*. 2003; 68:1951–1958.
62. Song L, Huangb Y, Longa J, Li Y. The role of osteocalcin in placental function in gestational diabetes mellitus. *Reprod Biol*. 2021;21(4): 1-8.
63. Bradshaw AD. Diverse biological functions of the SPARC family of proteins. *Int J Biochem Cell Biol*. 2012;44: 480–488.
64. Porter PL, Sage EH, Lane TE, Funk SE, Gown AM. Distribution of SPARC in normal and neoplastic human tissue. *J Histochem Cytochem*. 1995; 43(8): 791-800.
65. Mason IJ, Taylor A, Williams JG, Sage H, Hogan BLM. Evidence from molecular cloning that SPARC, a major product of mouse embryo parietal endoderm, is related to an endothelial 'culture shock' glycoprotein of Mr 43000. *EMBO J*. 1986; 5:1465-1472.
66. Mason UI, Murphy D, Munke M, Francke U, Elliott RW, Hogan BLM. Developmental and transformationsensitive expression of the SPARC gene on mouse chromosome 11. *EMBO J*. 1986; 5:1831-1837.
67. Wewer UM, Albrechtsen RL, Fisher W, Young MF, Termine JD. Osteonectin/SPARC/BM-40 in human decidua and carcinoma, tissues characterized by de novo formation of basement membrane. *AJP*. 1988; 132(2): 345-355.
68. Motamed K. SPARC (osteonectin/BM-40). *Int J Biochem Cell Bio*. 1999;31(12):1363-6.
69. Yan Q, Sage HE. SPARC, a matricellular glycoprotein with important biological functions. *J Histochem Cytochem* 1999;47(12):1495-506.

70. Yurchenco PD, Tsilibary EC, Charonis AS, Furthmayr H. Laminin polymerization in vitro: Evidence for' a two-step assembly with domain specificity. J Biol Chem.1985;260:7636-7644.

71. Wewer UM, Faber M, Liotta LA, Albrechtsen R. Immunochemical and ultrastructural assessment of the nature of the pericellular basement membrane of human decidual cells. Lab Invest. 1985; 53:624-633.

9. ÖZGEÇMİŞ



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Adı		Soyadı	
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu		Tel	
E-posta			

Eğitim Düzeyi

Eğitim Derecesi	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans/ Uzmanlık		
Lisans		
Lise		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl)
---------------	--------------	-------------------

10.EKLER

Ek-1.Yayımlanan Makale Katılım Belges



Ek-2.Yayımlanan Makale Bilgisi

Quaporinler: Hücresel Lokalizasyonu, Tipleri ve Önemi

Neslihan Sağsöz (Orcid ID: 0000-0002-9541-6185)
Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi,
Diyarbakır, Türkiye
E-mail: nslhn425@hotmail.com

Eray Dışbudak (Orcid ID: 0000-0003-3585-2396)
Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Diyarbakır, Türkiye
E-mail: emy.dsbdk@gmail.com

Prof. Dr. Berna Güney Saruhan (Orcid ID: 0000-0002-5111-5424)
Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Diyarbakır, Türkiye
E-mail: bsaru@du.edu.tr

Özet

Yaşamın varlığı suya, devamı ise suyun hareketine bağlıdır. Suyun kontrollü hareketi olmadan hücrelerin uzun süre yaşaması pek mümkün değildir. Suyun organizma içindeki düzenli hareketi olmadan hiçbir canlıın uzun süre yaşamasını sürdürmesi mümkün değildir. En hızlı su taşıyan kanallar, bilinenin aksine dev sulama kanalları olmayıp, hücrelerdeki minyatür su kanallarıdır. Bu kanallar protein yapısındaki akuaporinlerdir. Akuaporinler (AQP), suyun ve bazı durumlarda küçük eriyiklerin hücre membranlarından geçişini hızlı bir şekilde sağlayan kanallar olarak görev yapan integral membran proteinleridir. Bitkiler, bakteriler ve hayvanlarda bulunmaktadır. AQP'ler hücre membranlarındaki major intrinsik protein (MIP) süper ailesi içinde yer almaktadır. MIP'ler, hücre membranlarında su geçirgenliği düzenlenmede önemli roller oynarlar. Canlı organizmalarda 450'den fazla MIP tanımlanmıştır. Bunlardan 13'ünü AQP0-AQP12 oluşturmaktadır. Memelilerde, akuaporinlerin geçirgenlik özellikleri temel alınarak, iki alt grup tanımlanmıştır. AQP 0, 1, 2, 4, 5, 6 ve 8 suya geçirgen grubu oluştururken, AQP 3, 7 ve 10 suyun yanında gliserole, AQP9 ise gliserol dışında daha büyük eriyiklere geçirgendir. Akuaporinler, canlılarda birçok hücre ve fizyolojik süreçte rol almaktadır. Sonuç olarak, hem memeli hem de aşağı sınıflı omurgalılarda görülen ve su dahil bazı moleküller içinde aquaporinler seçici geçirgen olarak fonksiyon görür. Aquaporinlerin hücresel ekspresyonları ve fonksiyonlarına bağlı işlevsel bozuklukları çeşitli patolojik durumlarla ilişki olsa da, su ve bazı maddeler için seçici geçirgen olması hücresel metabolizmada fizyolojik önem arz etmektedir. Bu bildiride, akuaporinlerin hücresel lokalizasyonları ile bulunduğu dokuya ait hücrelerdeki geçirgenlik özellikleri ve dokü ile organlardaki olası fizyolojik rollerinden bahsedilecektir.

Anahtar Kelimeler: Aquaporin, organ, fizyoloji, hücresel lokalizasyon

EK-3.Benzerlik Raporu

NORMAL VE PERKREATALI PLASENTADA OSTEOPONTİN, OSTEOKALSİN VE OSTEONEKTİN DAĞILIMI

ORJİNALLİK RAPORU

%**4**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**4**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**0**

YAYINLAR

%**0**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

9lib.net

İnternet Kaynağı

%**2**

2

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

%**1**

3

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%**1**

Alıntılarını çıkart

Kapat

Eşleşmeleri çıkar

Kapat

Bibliyografyayı Çıkart

Kapat

EK-4. Etik Kurul Onay Belgesi

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU DICLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
KARAR					
<p>Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN, Doç. Dr. Elif AĞAÇAYAK, Yüksek Lisans Öğrencisi, Neslihan SAĞSÖZ isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Normal ve Plasenta Perforantlı Vakalarda Osteopontin, Osteokalsin ve Osteonektin dağılımı" başlıklı araştırmaya <i>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu</i>'na tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir.</p> <p>Klinik araştırmaya tamamlanıp yayını aşamasına geldiğinde, yayını sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.</p>					
DECISION					
<p>The project titled as "Distribution of Osteopontin, Osteocalcin and Osteonectin in normal and placenta perforant cases" planned by Berna GÜNEY SARUHAN, Elif AĞAÇAYAK, Neslihan SAĞSÖZ has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.</p>					
Oturum No (Meeting number):		Tarih (Date): 17.01.2023		Saat (Hour):10:00-12:00	
KURUL BAŞKANI (CHIEF):		Prof. Dr. İbrahim KAPLAN			
KURUL ÜYELERİ (MEMBERS					
	ÜNVANI	ADL-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	İbrahim KAPLAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Etik Biyokimya	
2	Doç. Dr.	Faizet SAĞLIK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
3	Doç. Dr.	Mehmet YÜRÜK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	
4	Doç. Dr.	Seyfettin ERDEM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Göğüs Hastalıkları	
5	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyostatistik	
6	Dr. Öğretim Üyesi	Doküman ERALP	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	
7	Dr. Öğretim Üyesi	Muhammed AMİRDENİZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Endokrinoloji	
8	Dr. Öğretim Üyesi	Özgür AYDOĞDU	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Fizyoloji	
9	Dr. Öğretim Üyesi	Mehmet Fatih AKKOÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Dişhekimi	
10	Dr. Öğretim Üyesi	Abdulah ŞEN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Acil Tıp	
11	Dr. Öğretim Üyesi	Zeynep ERDOĞANUŞ ÇELİK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Transfüzyon	
12	Avukatı	Syntham KAPLAN	Dicle Üniversitesi Rektörlük	Hukuk Müşavirliği	

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat. Z. 280 Kumpas/DIYARBAKIR
Telefon: (912) 248 80 01-15/0631 Faks: (912) 248 84 40 hucalerikdiyar@gmail.com