



T.C.

SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

HASEKİ EğİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOğUM EğİTİM KLİNİğİ

**PLASENTANIN MATERNAL YÜZÜNDE MYOFİBRİLLERİN
BULUNMASINDA HLA-E, -G VE PLAC8 PROTEİNLERİNİN ROLÜ**

Dr. BüŐra ŞEKER ATAŐ

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2022



T.C.

SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

HASEKİ EğİTİM VE ARAşTIRMA HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOğUM EğİTİM KLİNİğİ

**PLASENTANIN MATERNAL YÜZÜNDE MYOFİBRİLLERİN
BULUNMASINDA HLA-E, -G VE PLAC8 PROTEİNLERİNİN ROLÜ**

Dr. Büşra şEKER ATAş

Tez danışmanı:

Prof. Dr. Ali çETİN

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2022

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMALAR.....	iii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. PLESANTA	3
2.2.PLESANTA AKREATA SPEKTRUMU (PAS)	6
2.2.1. İnsidans	7
2.2.2. Risk Faktörleri	7
2.2.3. Etiyoloji ve Patofizyoloji.....	8
2.2.4. Tanı.....	8
2.2.5. Klinik Yönetim	10
2.2.6. Intraoperatif yönetim	11
2.2.7. Beklenmedik veya Planlanmamış PAS	12
2.2.8. Uterus Koruyucu Yaklaşım	13
2.2.9. PAS Olgularında Plesantal Histolojisi	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Çalışma Grupları.....	24
3.2. Plasental Örnekleme.....	24
3.3. Biyokimyasal Analizler	25
3.4. Histolojik/İmmünohistokimyasal Analizler	25
3.5. Deneysel İmmünohistokimya Analizleri.....	25
3.6. Biyokimyasal ve Histolojik/İmmünohistokimyasal Analizlerin Birlikte Yorumu	26
4.BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇ.....	42
7. KAYNAKÇA	44

TEŞEKKÜR

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

Tezimde yardımcı olan Doç. Dr. Özben Yalçın hocama teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim sırasında sağladığı imkanlar ve mesleki tecrübelerimizin oluşmasındaki katkılarından dolayı, bilgi birikimini bizimle paylaşan uzman abi ve ablalarım teşekkürlerimi sunarım.

Kliniğimizde birlikte çalıştığım bütün asistan arkadaşlarıma, tüm ebe, hemşire , yardımcı sağlık personeli, personellerimize teşekkür ederim.

Eğitim sürecinde her zaman yanımda olan, tıbbi bilgi ve deneyimlerinin dışında bana olan desteklerini esirgemeyen, bana sadece abla değil dost, sırdaş ve kardeş olan Merve Topaktaş Özbaş'a çok teşekkür ederim.

Eğitim sürecinde her dönemde yanımda olan, zorlu dönemlerde beni motive eden Fatma Karaşabanoğlu'na teşekkür ederim.

Beraber büyüdüğüm, meslektaşım olmasından gurur duyduğum beni hep destekleyen ve motive eden dostlarım Migi'ye teşekkür ederim.

Tüm hayatıma ışık tutan, yön veren bugünlere gelmemi sağlayan annem Hülya, babam Nebi Şeker'e, hayatımı renklendiren her zaman desteklerini hissettiğim kardeşlerim Sümeyye, Hüsna ve Esad'a teşekkür ederim

Bütün ihtisas hayatım boyunca her anımda beni yalnız bırakmayan, zor anlarımda desteğini hissettiğim bana bu yolda olduğu gibi her alanda yoldaş olan değerli eşim Kadir'e teşekkür ederim.

KISALTMALAR

PAS: Plasenta Akreata Spektrumu

BPMF: Bazal Tabaka Miyofibriller

BPMYO: Bazal Tabaka Miyometriyumu

HE: Hemotoksilen ve Eozin

İHK: İmmunohistokimya

SMA: Smooth Muscle Antijen (Düz kas antijeni)

EVT: Ekstravillöz trofoblast

NK: Doğal katil hücreler

HLA: Human Lökosit Antijen

MHC: Majör histo-uyumluluk kompleksi

APC: Antijen sunan hücre

PLAC8: Plasenta bağlantılı 8 proteini

AFP: Alfa fetoprotein

MRI: Magnetic rezonans görüntüleme

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo-1.: Çalışma gruplarının temel klinik özellikleri

Şekil 1. SMA boyama yapılan SMA negatif boyanan plasental maternal yüz

Şekil 2. SMA boyama yapılan SMA pozitif boyanan plasental maternal

Şekil 3. H&E boyama ile dokusal bozulma izlenmeyen plasentanın maternal yüzünün incelenmesi.

Şekil 4. H&E boyama ile dokusal bozulma izlenen plasentanın maternal yüzünün incelenmesi.

Şekil 5. HLA-E protein ifadenmesinin birinci, geçirilmiş, ve mükerrer CS gruplarının viyolonsel grafiği

Şekil 6. HLA-G protein ifadenmesinin birinci, geçirilmiş, ve mükerrer CS gruplarının viyolonsel grafiği

Şekil 7. PLAC8 protein ifadenmesinin birinci, geçirilmiş, ve mükerrer CS gruplarının viyolonsel grafiği

Şekil 8. S100B protein ifadenmesinin birinci, geçirilmiş, ve mükerrer CS gruplarının viyolonsel grafiği

Şekil 9. Birinci, Geçirilmiş, ve Mükerrer CS gruplarında histopatolojik incelemede ölçülen H&E ile dokusal bozulma pozitifliği ve İHK ile SMA boyanma pozitifliği oranlarının grafiği.

ÖZET

Amaç: Günümüzde tekrarlayan ve artan sezaryen doğumlarla kaçınılmaz olarak gelişebilen PAS hastalıklarının patogenezi tam anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalarla BPMF gibi histolojik bulgulara değinilse de bu alanda görev yapan trofoblastların aktivitesini gösteren proteinlerin aktiviteleri bilinmemektedir. Bu çalışmadaki amacımız, plasentanın maternal yüzünde BPMF bulgusu olduğunda ekspresyonu değişen proteinlerin incelemek ve PAS patogenezinine katkı sağlamaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu prospektif çalışmaya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine 01.12.2021-01.03.2022 tarihleri arasında başvuran ve sezaryen ile doğum yapan araştırma kriterlerine uyan hastalar aydınlatılmış onam ile bilgilendirilerek kabul etmeleri durumunda dahil edildi. Doğum sonrası plasentaları alınarak uygun koşullarda histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler yapıldı.

Bulgular: Hastaların demografik özellikleri incelendiğinde, gruplar arası anlamlı fark saptanmadı. Histopatolojik inceleme yapılan gruplarda, gruplar arası İHK ile SMA boyanma pozitifliği olan ve olmayan olguların plasental doku homojenatlarında ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E, HLA-G, PLAC8, ve S100B protein ifadenme düzeyleri benzer bulundu. Gruplar arasında protein ifadenme düzeyleri benzer bulundu. Çalışmamızda araştırma proteinlerinin ifadenmeleri arasındaki ilişkilerin birinci CS'den mükerrer CS'ye doğru gidildikçe azalması, sezaryen sayısı arttıkça plasental dokudaki aktivitelerinin farklı olduğunu desteklemektedir.

Sonuç: Sonuç olarak plasenta akreata spektrumunun doğum sonrası sıklıkla kan transfüzyonu ihtiyacı doğuran hatta yaşamı tehdit eden boyutlarda obstetrik kanamalara neden olduğu bilinmektedir. PAS gözlenen doğum yapan kadınlarda anne ölüm oranları artmaktadır. Bu nedenle patofizyolojisi net anlaşılamayan bu hastalık araştırılmalıdır. Patofizyolojisinde rol alabilecek proteinler araştırılarak patofizyolojisine katkı sağlamak, ilerde klinik belirteçler açısından yarar sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Plasenta akreata, Plasenta akreata spektrumu, Bazal plaka miyofibrilleri (BPMF), Bazal tabaka miyometriyumu(BPMYO), HLA-E, HLA-G, PLAC8, S100B

ABSTRACT

Objective: Today, the pathogenesis of PAS diseases, which can inevitably develop with recurrent and increasing cesarean deliveries, is not fully understood. Although histological findings such as BPMF are mentioned in the studies, the activities of the proteins that show the activity of the trophoblasts working in this area are not known. Our aim in this study is to examine the proteins whose expression changes when there is BPMF finding on the maternal side of the placenta and to contribute to the pathogenesis of PAS.

Materials and Methods:

Patients who applied to the Health Sciences University Haseki Education and Research Hospital, Gynecology and Obstetrics Clinic between 01.12.2021 and 01.03.2022 and gave birth by cesarean section, who met the research criteria, were included in this prospective study after informed consent and consent. Postpartum placentas were taken and histopathological and biochemical examinations were performed under appropriate conditions.

Results: When the demographic characteristics of the patients were examined, no significant difference was found between the groups. In the histopathological examination groups, HLA-E, HLA-G, PLAC8, and S100B protein expression levels, measured by ELISA, were found to be similar in placental tissue homogenates of cases with and without IHC staining positivity. Protein expression levels were found to be similar between the groups. In our study, the decrease in the relationship between the expression of the research proteins from the first CS to the repeated CS supports that their activities in the placental tissue are different as the number of cesarean sections increases.

Conclusion: As a result, it is known that the spectrum of placenta accreta causes obstetric hemorrhages, which often require blood transfusion and even life-threatening, after delivery. Maternal mortality rates increase in women who have given birth with PAS. Therefore, this disease, whose pathophysiology is not clearly understood, should be investigated. Contributing to its pathophysiology by investigating the proteins that may play a role in its pathophysiology will be beneficial in terms of clinical markers in the future.

Keywords: Placenta accreta , Placenta accreta spectrum,, Basal plate myofibril(BPMF), HLA-E, HLA-G, PLAC8, S100B

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Plasenta başarılı bir hamilelik için anahtar organdır. Besin ve gaz alışverişini kontrol etmek ve gelişmekte olan fetüsün ürettiği atıkları düzenlemek için yarı geçirgen bir bariyer görevi görür. Fertilizasyon sonrasındaki 11.-12. günlerde, ilkel uteroplasental dolaşım başlatılır (Gude et al., 2004). Bu dolaşımın kurulması iki ana olaya dayanır, bunlardan birincisi plasental villus içinde gerçekleşir ve villus içindeki vaskülogenez ve anjiyogenez sayesinde olur, ikincisi plasentanın fetomaternal yüzünde, ekstravillöz trofoblastlar tarafından fetomaternal dolaşımı sağlayabilmek için maternal spiral arterleri şekillenmesi sağlanır (Velicky et al., 2016). Trofoblast farklılaşma bozukluklarının ve hücreli ilişkilerinin hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda önemli bir payı vardır (Cramer & Heller, 2016).

Plasental kökenli önemli bir hastalık, anne ve bebek sağlığı sorunu son yıllarda artan sezaryen oranları ile birlikte daha fazla dikkati çeken plasenta akreta spektrumu (PAS) hastalıklarıdır. Bu çalışmanın genel araştırma konusu kadın üreme sağlığını iyileştirme girişimi olarak “doğum yapan kadın sağlığını geliştirme” olarak belirlenmiştir. Geniş kapsamlı olduğu için araştırma konusu araştırılabilir niteliğe kavuşturmak için daraltılmıştır. Plasenta akreta spektrumu (PAS) hastalıkların patogenezinin anlaşılmasına katkı yapmak açısından plasentanın maternal yüzündeki myofibriller (bazal plaka miyofibriller “BPMF”) fenomeninin incelenmesi araştırmanın ara konusu olarak belirlenmiştir.

Hem vajinal hem abdominal doğumda plasenta ve zarların bebeğin doğumundan sonra uygun bir sürede ve uygun bir şekilde uterustan ayrılması ve doğması gerekir. Plasentanın desidual tabakaya ve myometriuma aşırı tutunması ayrılmasını engeller ve zorlaştırır. Plasentanın aşırı tutunması ile ilişkili PAS hastalıklarının patogenezi iyi bilinmemektedir. PAS hastalıklarının gelişimi ile benzerlikleri bulunan BPMF durumunun patogenezi de yeteri kadar bilinmemektedir. Bu durumun önemli bir nedeni plasenta oluşumunda, invazyonunda pek çok görevi olduğunu bilenen trofoblastların farklılaşması ve işlevlerinin moleküler özellikleri ile yeteri kadar bilinmiyor olması ve henüz araştırılmamış olmasıdır (Heller et al., 2019).

Ekstravillöz trofoblastların desidua, myometrium ve vasküler yapılar ile ilişkide olduğu gerektiğinde tek başına, gerektiğinde ise ilişkide olduğu bu yapılar ile birlikte görev yaptığı bilinmektedir. Literatür taraması sonucunda trofoblast işlevinde önemli yeri olan HLA-E, ve -G proteinleri ve S100P, PLAC8 protein

ekspresyonlarının BPMF bulunması ile ilişkisi muhtemel bulunmuştur. Bu proteinlerin ekspresyonlarının BPMF ile ilişkisini incelemek açısından, klinik olarak PAS tanısı konulmayan, term gebelikte ilk ve geçirilmiş sezaryenle doğum yapan olgulardan toplanan plasentalardan alınan biyopsi örnekleri araştırma materyali olarak değerlendirileceği öngörülmüştür.

Plasental dokuda ilgili proteinlerin ölçümleri hem biyokimyasal hem de immünboyama ile değerlendirilmesi mümkündür. Bu şekilde hem proteinlerin ekspresyon dereceleri hem de ekspresyon oldukları hücreler değerlendirilebilmektedir. Bu protein ekspresyonlarının birbiri ile ve BPMF oluşumu ile ilişkileri değerlendirilebilir. BPMF olan plasentalarda ilgili proteinlerin farklı bulunması PAS hastalıklarının gelişiminde bu proteinlerin olası rollerinin anlaşılmasına katkı yapabilecektir.

İnsan plasenta örneklerinde araştırma kapsamına alınan HLA-E, ve -G proteinlerinin ve S100P, PLAC8 proteinlerinin ekspresyonlarının BPMF bulunması ile ilişkisinin incelenmesi ara konu olarak belirlenmiştir. Klinik olarak PAS tanısı almamış ve term gebelikte ilk ve geçirilmiş sezaryen ile doğum yapan annelerin plasental doku örneklerinde HLA-E, ve -G proteinleriyle S100P, PLAC8 proteinlerinin ekspresyonlarını (1) biyokimyasal ve immünohistokimyasal olarak ölçmek, (2) bu protein ekspresyonlarının birbiri ile ilişkilerini incelemek ve (3) BPMP oluşumu ile ilişkilerini incelemek araştırmanın daraltılmış hedefe yönelik nihai araştırma konusu olarak belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PLESANTA

Plasenta başarılı bir hamilelik için anahtar organdır. Fertilizasyon sonrasında hızlıca oluşarak gebeliğin devam etmesini, fetusun ihtiyacı olan ortam oluşmasını sağlar. Plesanta gebeliğin devamını sağlayan hayati bir organdır. Pek çok önemli görevi mevcut olup, özetle bunlar:

1. Besin ve gaz alışverişini kontrol etmek
2. Gelişmekte olan fetüsün ürettiği atıkları fetüsten uzaklaşmasını sağlamak
3. Bariyer görevi göstererek dış etkilere fetüsün korunmasını sağlamak
4. Gebeliğin ve fetüsün sağlıklı devam etmesini sağlamak adına bazı hormonları salgılamak
5. Annenin fetüsü yabancı olarak algılanmasını engellemek için immün yanıt düzenlenmesini engellemek
6. Doğum sürecindeki değişiklikleri sağlamak

Özetle, plesanta fetüsün canlılığını korunmasından fetüsün büyümesi, doğum başlamasında ve canlı doğum sağlamasında önemli bir rolü vardır. Plesanta oluşum aşamasında oluşan bir aksama veya problem plesantanın bu görevlerinde aksamaya neden olacaktır. Bu aksamalar pek çok plesanta kökenli fetomaternal hastalıklara neden olmaktadır (Breen et al., 1977).

İnsan plasentası hemokoryoendotelyal özelliğe sahiptir. Hemo, maternal kan, koryo sinsityotrofoblastları, endotel ise intervillöz alandaki fetal kanı ayıran fetal kapiller anlamına gelmektedir. Bu sayede maternal dolaşımı fetal dolaşımdan ayırır. Yani, maternal kan trofoblastlarla direkt ilişkide olmasına rağmen maternal kan ve fetal kan birbirine karışmaz. Gebeliğin 10.haftasında kan akımı, intervillöz mesafede maternal kanın dolaşmasıyla başlar. Maternal kan ve fetal kanın birbirine karışmasını önleyen fetomaternal bariyer olarak da bilinen yapılar: sinsityotrofoblastlar, sitotrofoblastlar (birinci trimesterde devamlı kesintisiz, daha sonra kesintili yapıda), trofoblastların bazal laminası, ekstraembriyonik mezoderm kaynaklı fetal konnektif doku, fetal kapiller endotelidir (Burton & Jauniaux, 2015)

Plesanta ile ilişkili hastalıkları anlamada plesantanın embriyolojik gelişim aşamalarını bilmek fayda sağlar. Plasentanın embriyolojik gelişimi 3 evrede olmaktadır, prelaküner evre, laküner evre ve erken villus evresidir.

1. Prelaküner Evre

Fertilizasyon sonrası gün 6'da implasyon başlar. İmplantasyon sürecinin başlamasıyla plasantasyon süreci de başlar. İmplantasyonu gerçekleştiren blastokist kavitesini dıştan çevreleyen tek sıralı tabakaya trofoblast, içindeki hücre kitlesine embriyoblast adı verilir. 6. günde, blastokist iç hücre kitlesine (embriyonel kutup) yakın bölgedeki trofoblastlar (polar trofoblastlar) aracılığıyla endometriuma gevşek bir şekilde tutunur. Polar trofoblastlarda 7.günde iki sıralı bir yapı haline gelir. Bu iki tabakanın dış yüzünde maternal yapılar ile temasta olan trofoblastik hücrelerin oluşturduğu çok nukleuslu, düzensiz şekilli sinsityotrofoblastlar mevcuttur. Sitotrofoblastlar ise içte yer alan, düzenli olarak sıralanmış, maternal dokularla temas etmeyen, mitotik aktiviteye sahip hücrelerdir. Sinsityotrofoblastlar proteolitik enzimler salgılayarak endometriuma derin invazyon yaparlar ve bu sayede blastokist endometrial stroma içine gömülmeye başlar. Fertilizasyonun ilk 8 gününü kapsayan, bu yapılanmanın gerçekleştiği dönem prelaküner denir (De Wolf et al., 1980).

2. Laküner Evre

Bu dönemde sinsityotrofoblastların içinde sıvı dolu boşluklar izlenir. Bu vakuol adı verilen boşluklar bir araya gelerek lakünleri meydana getirir. Fertilizasyon sonrası gün 8 ile 12 arasında lakünlerin meydana gelmesiyle blastokist adı verilen yapı üç tabakaya ayrılır, bu tabakalar: primer koryonik plak, trabeküller ile birlikte laküner sistem ve trofoblastik kabuk. Gün 12'de sinsityotrofoblastlar endometrium damarlarını invaze eder ve böylece lakünler maternal kan ile dolmuş olur. Gebelik haftası ilerledikçe endometriumdaki invazyon derinliği artarak, spiral arterlerin de invazyonunun da gerçekleşmesi sayesinde maternal dolaşım başlar. İmplantasyon bölgesindeki trofoblast hücreleri plasentayı oluşturur. Plasentayı oluşturan trofoblastlar dışındaki yapılar düz koryon ve membranları oluşturur. Gün 14'de mezenkimal hücreler ekstraembriyonik mezoderme dönüşür. Laküner evrenin sonunda, embriyo endometriyuma tam gömülü haldedir. (Mayhew & Simpson, 1994) (Burton & Jauniaux, 2015).

3. Erken Villus Evresi

Bu evrede, gün 14'de sitotrofoblastlar sinsityotrofoblastları delerek arasında ilerlemeye başlar ve maternal stroma ile ilişkidir. Primer villus adı verilen bu yapıda dışta sinsityotrofoblastlar ve içte sitotrofoblastlar bulunur. Gün 15'te sekonder villus adı verilen yapılar izlenir ve içerisinde mezenşim adı verilen hücreler izlenir. Gün 21'de endotel hücreleri gözlenir. Endotel hücrelerinin de oluşmasıyla fetal kapiller denilen yapılar oluşur, böylece sekonder villuslar tersiyer villus adını alır. Plasental villusların yüzeyel tabakasını oluşturan

hücreler maternal kan ile direkt temasta olan sinsisyotrofoblastlardır. Gebeliğin erken dönemlerinde sinsisyotrofoblastlar tarafından oluşan sinsityal tabaka, tüm villus ağacının yüzeyini ve intervillöz aralığı kesintisiz biçimde kaplar. İlerleyen dönemde ise koryonik tabaka ve trofoblastik kabuk üzerindeki sinsisyotrofoblastlar dejenere olur yerini fibrin kaplar. Sitotrofoblastlar sinsisyotrofoblastların altında yer alır buna Langhans hücreleri denir. Sitotrofoblastlar villöz stromayı çevreleyerek plesanta villusunun oluşturur(Langston et al., 1997).

Trofoblastik tabaka madde alışverişini sağlayan bölgedir. Sitotrofoblastlar oksijen miktarını ayarlama görevlidir. Sinsital hücreler gaz, su ve glukoz alışverişini sağlayan bölgedir. Ayrıca sinsityal tabaka yine protein transferini sağladığı gibi bazı proteolitik hormon, plesantal proteinlerin salınmasını sağlar ve streoid hormon metabolizmasında görevleri vardır. Fetal mezodermden oluşan villöz stromada Hoffbauer adı verilen fetal makrofajlar, fetal damarlar bulunur. Hoffbauer hücreleri anjiyogenez ve kollejen üretiminde görevlidir. Stromada bulunan mezenkimal hücrelerin aktivitesini etkileyerek ve değiştirerek stromanın yapısının değişmesini sağlar. Gebelik haftası ilerledikçe plesanta büyür, fetüsün metabolik ihtiyaçlarının da artması ile transport etkinliği artırılmalıdır. Bu sebeple villus damarlarında ve vazoregulasyonda görevli, endoteli çevreleyen hücrelerde histolojik değişiklikler izlenir. Bu değişiklikler arasında: stromada azalma, kapiller sayısında artış, sinsityumda incelleme, Langens hücrelerinin kısmi kaybolması yer alır. (Burton & Jauniaux, 2015).

Makroskopik olarak ağaca benzeyen villus yapısının yaklaşık %40'ını oluşturan ve gaz-besin alışverişinin yapıldığı ana yapılar terminal villuslardır. Terminal villus villus ağacının sonunda yer alır. Villus ağacı denilen yapıyı oluşturan yapılar: stem villus, uzun matür intermediate villus, terminal villus, immatür intermediate villus, mezenkimal villustur. Blastokist endometriyuma implante olmasıyla trofoblastlar 2 kutba ayrılır: implantasyon kutbu ve anti-implantasyon kutbu. Bazal koryon koryon frondozumu oluşturur. Fertilizasyon sonrası 3.haftanın sonlarında villuslar dejenereatif değişikliğe uğrayarak anti-implantasyon kutbu ve trofoblastik kabuk birleşir ve koryon leave oluşturur. Koryon frondozum 16. haftaya kadar izlenir (Mayhew & Simpson, 1994).

Gelişimini tamamlamış koryonik plak tabakaları şunlardır: amniyon epiteli, kompakt tabaka, amniyon mezodermi, süngerimsi tabaka, koryonik mezoderm, primer sitotrofoblast, homojen Langhans fibrinoidi, kalıntı sinsisyotrofoblast ya da retiküler Langhans fibrinoididir. Intervillöz aralığın maternal yüzünü oluşturan yapıya bazal plak denir. Ekstravillöz trofoblast, gebeliğe özgü endometrial stroma, fibrinoid, dejenere olmuş villusların ve maternal damarların

kalıntıları gibi yapılardan oluşmuş belirgin bazal plak şu yapılardan oluşmaktadır: Rohr'un fibrinoid tabakası, sinsityotrofoblast tabaka, heterojen doku tabakası, Nitabuch fibrinoid tabakası, Bazal plağın dip tabakasıdır (Burton & Jauniaux, 2015)(Hecht et al., 2020).

- 1- Rohr'un fibrinoid tabakası: intervillöz aralığa bakan bazal plağın bu iç yüzeyinin bazı bölgelerinde, yüzeyi örten, dejenere olmuş sinsityotrofoblast kalıntıları bulunur.
- 2- Sinsityotrofoblast tabaka: sinsisyotrofoblastik şeridin üzerine oturduğu ve yer yer yırtılmış, rudimenter bir bazal lamina tarafından trofoblasttan ayrılan, kollajen fibril ve fibroblastlardan oluşmuş, sürekli olmayan bir bağ dokusu tabakasıdır. Bu tabaka sadece sinsisyumun bulunduğu alanlarda bulunur.
- 3- Heterojen doku tabakası: sitotrofoblast, Rohr'un fibrinoid parçaları, gevşek düzenlenmiş bağ dokusu, dağınık desidua hücreler, hücre artıkları, örtülmüş villuslar ve gömülmüş hücre kolonları olmak üzere bir seri değişik elemanın ortaklaşa oluşturduğu tabakadır.
- 4- Nitabuch fibrinoid tabakası: bir ağ şeklinde ve lamelli bir yapı halindedir. Yer yer sürekliliği kesilir ve Rohr fibrinoidi ile kaynaşabilir.
- 5- Bazal plağın dip tabakası: doğum esnasında plasentanın, plasental yataktan ayrılması, genellikle Nitabuch hattı boyunca olmaz; daha derinden olur. Bu nedenle bazal plağın tabanına bazı dokular eklenir ve bazal plağın dip tabakasını oluşturur. Bu tabakayı oluşturan elemanlar, desidua hücreleri ve endometriumun stromal diğer elemanlarıdır.

2.2.PLESANTA AKREATA SPEKTRUMU (PAS)

Plasenta akreata , plasentanın bir kısmının veya tamamının uterus duvarı miyometriyuma anormal trofoblast invazyonu olarak tanımlanır.Eskiden plesanta yapışma anomalisi olarak bilinen , plasenta inkreta, plasenta perkreta ve plasenta akreata tanıları güncel olarak plesanta akreata spektrumu (PAS) olarak adlandırılmaktadır. Doğum sonrası sıklıkla kan transfüzyonu ihtiyacı doğuran hatta yaşamı tehdit eden boyutlarda obstetrik kanamalara neden olduğu bilinmektedir. PAS gözlenen doğum yapan kadınlarda anne ölüm oranları artmaktadır(Usta et al., 2005).

Ek olarak, PAS olan hastaların doğum sırasında veya doğum sonrası dönemde histerektomiye ihtiyaç duyma olasılığı daha yüksektir ve hastanede kalış süreleri daha uzundur(Shellhaas et al., 2009).

2.2.1. İnsidans

Plesanta akreatanın görülme sıklığı 2510 da bir olarak tanımlanan 1970 ve 1980 arasında yapılan gözlemsel çalışmalara kıyasla ; 1982 den 2002 ye kadar yapılan bir çalışmada görülme sıklığı 533 te 1 olarak raporlanmıştır (Wu et al., 2005).

Amerika birleşik devletlerinde ulusal yatan hasta örnekleri incelenerek yapılan bir çalışmada daha önceki yayınlardan çok daha yüksek oranlarda pas görülme sıklığı veren bir çalışmada 272 kadından birinde görüldüğü raporlanmıştır. Bunlara bakılarak son yıllarda PAS insidansı arttığı gösterilmektedir. En göze çarpan risk faktörü artan sezaryan sayılarıdır (Mogos et al., 2016).

2.2.2. Risk Faktörleri

En yaygın bilinen risk faktörü geçirilmiş sezaryan öyküsüdür ve geçirilmiş sezaryan sayısıdır. Geçirilmiş sezaryan sayısı arttıkça risk artmaktadır. Daha önce PAS öyküsünün olması bilinen en güçlü risk faktörüdür (Bowman et al., 2014). Sistemik bir derlemede geçirilmiş 1 sezaryan öyküsü olan hastalar ile 4 ve 5 olan hastalar kıyaslandığında PAS görülme oranlarının 0,3 ten 6.74 e çıktığı gösterilmiştir (Marshall et al., 2011). Bunlar dışındaki risk faktörleri ise; anne yaşı, multiparite, geçirilmiş uterin cerrahi öyküsü, küretaj öyküsü, Asherman sendromu geçirmiş olmak ve plesanta previa varlığıdır (Gyamfi-Bannerman, 2018).

Plesanta previa varlığı önemli bir risk faktörüdür. Daha önce sezaryan öyküsü olmayan ve plesanta previa tanısı alan hastalarda PAS görülme sıklığının arttığı gösterilmiştir. Plesanta previa varlığı ve ek olarak geçirilmiş sezaryan öyküsü olan hastalarda risk daha da artmaktadır. Daha önce ilk, ikinci, üçüncü , dördüncü ve beşinci sezaryanlarını geçiren previa tanısı alan hastalardaki yapılan bir çalışmada PAS görülme oranı sırayla %3, %11, %40 , %61 ve %67 dir (Silver et al., 2006).

PAS anne hayatını tehdit edebilen kanamalara neden olabilen , histeretomi ihtiyacının arttığı hatta ileri vakalarda diğer branşlardan destek alınması gerekebileceği bilindiğinden PAS düşünülen veya şüphelenen hastaların multidisipliner yaklaşım olan merkezlere yönlendirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle hastaların tanısında yardımcı olabilecek biyomarkerlar var mı diye araştırılmaktadır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda PAS tanısı alan hastalarda çeşitli plesantal biyomarkerlarda artış görülmüştür. Örneğin, bu hastalarda açıklanamayan AFP artışı raporlanmış yayınlar vardır (Lyell et al., 2015).

AFP klinik olarak PAS tanısı koymaya yardımcı olmada yetersiz , zayıf bir prediktördür. Güncel çalışmalarda çeşitli proteinler ile PAS ilişkisi gösterilmeye çalışılmaktadır. Çalışılan proteinler için örnekler; pregnancy-associated plasma protein A, pro B-type natriuretic peptide, troponin, free β -hCG (mRNA), and human placental lactogen (cell-free mRNA).

2.2.3. Etiyoloji ve Patofizyoloji

Plasenta akreta spektrumunun etiyolojisi ile ilgili en yaygın hipotez, endometriyal-miyometriyal ara yüzeydeki bir kusurun uterus skarı olan bölgedeki desidualizasyonun etkilenmesi ve bozuk desidualizasyonla birlikte bu alanda placental vilusların anormal biçimde derin olması ve artmış trofoblast infiltrasyon olmasıdır (Jauniaux et al., 2018).

Bu hipotez ile daha önce geçirilmiş uterin müdahale operasyon öyküsü olmayan hastalarda ve nullipar olan hastalarda görülen PAS tanısını açıklamamaktadır. Pas etiyolojisi ve patogenezi hala net anlaşılamamıştır.

2.2.4. Tanı

PAS antenatal tanısı oldukça önem arz etmektedir. PAS tanısı alan hastaların takibinde oluşabilecek problemler, doğum sırasında oluşacak kanamalar için kapsamlı multidisipliner yaklaşım olan hastanelerde takibi uygun olacağından hastaların erken tanı alması kötü sonuçları azaltacaktır. Antenatal tanıda birincil tanı aracı ultrasondur. Akreatanın tanısı bazı seçilmiş vakalarda ilk trimesterde görülebileceği gibi genelde vakalar ikinci ve üçüncü trimesterde tanı almaktadır. Vakaların değerlendirilmesinde ideal olanı, PAS risk faktörü taşıyan hastaları belirleyerek (örneğin; daha önce geçirilmiş sezeryan öyküsü olan plasenta previa varlığı) bu hastaları PAS konusunda tecrübeli Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanı tarafından ve görüntüleme bu konuda tecrübeli ekip tarafından değerlendirilmesidir (Shamshirsaz et al., 2015).

2. ve 3. Trimesterde karşımıza çıkan en önemli ultrason bulgusu; çoğu vaka serilerinde hastaların %70-80 inde de karşımıza çıkan ve PAS için önemli bir risk faktörü olan Plasenta preva varlığıdır. Diğer bizi PAS tanısına yönlendirilen yüksek riskli hastalarda tanıda yardımcı olan kriterler; plasentadaki çok sayıda vasküler lakünler, plasenta ve myometriyum arasında normalde olması gereken hipoeoik zonun kaybolması, plasenta arkasındaki myometriyum dokusunun incilmesi (< 1 mm) , uterusun mesaneye komşu serozasında anormallikler, plasentanın myometriyum dışında serozada , mesanede görülmesidir (Shamshirsaz et al., 2015).

Görüntüleme renkli doppler kullanımı tanıyı kolaylaştırmaktadır. Renkli dopplerdeki en sık bulgu plasentadaki lakünlerde türbülen akım varlığıdır. Diğer renkli dopplerde karşımıza çıkan bulgular; subplasental vaskülariteki artış , myometriyal kan akışındaki kesilmeler, plasentadan plasenta-uterus sınırına uzanan köprü yeni damarlar oluşumudur (Comstock & Bronsteen, 2014).

PAS tanısındaki en önemli şey, klinik değerlendirme olması ile birlikte ultrason değerlendirmesidir. Birçok çalışma ile obstetrik ultrason ile değerlendirmenin spesifitesinin ve sensitivitesinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Örnek olarak; 23 çalışmayı ve 3,707 hamile kadının dahil olduğu sistemik bir derlemede ultrasonun tanısındaki sensitivitesi %90.72 , spesifitesi ise %96.94 olarak raporlanmıştır (D'Antonio et al., 2013).

Ultrason tanıda büyük katkısı olsa da ; ultrason bulgularının olmaması PAS tanısını dışlamaz. Bu nedenle klinik değerlendirme aynı derece önem teşkil eder. Nadiren ilk trimesterde skar gebelik karşımıza çıkabilmekte ve ilk trimesterde görülen bu skar gebelik plasenta akreata spektrumuyla doğrudan güçlü bir ilişkiye sahip. Genelde geçirilmiş sezaryan skar hattında boş bir alan ve oraya yerleşmiş gestasyonel sac ile karşımıza çıkar. Eğer bu gebeliğin devamına izin verilirse PAS gelişme riski çok yüksektir , bazı yazarlar %100 olarak yorumlamaktadır (Timor-Tritsch et al., 2014).

Magnetic resonance imaging (MRI) PAS tanısında kullanılan diğer bir yardımcı görüntüleme aracıdır. T2 ağırlıklı görüntüleme koyu intraplasental bantlar, plasenta veya uterustan plasentanın şişkinlik yapması, plasentanın uterus dışına çıkmış olması, rahim ile plasenta arasındaki bölgenin bozulması ve anormal veya dağınık plasental kan damarları olması MRI da PAS tanısında kullanılan bulgulardır. PAS değerlendirmesinde MRI sensitivitesi ve spesifitesi ultrason kadar yüksektir. MRI genelde seçilmiş hastalarda, ultrason ile tanı koyulamamış, arada kalınmış vakalar için tercih edilmektedir. Zor vakalarda, örneğin arka duvar plasenta previa vakalarında veya perkata tanısı almış vakalarda invazyon derinliği değerlendirmede kullanılmaktadır. MRI yaygınlığının kısıtlı oluşu, daha pahalı oluşu , çekimde ve değerlendirmesinde uzman gerektirmesi dezavantajlarıdır. Klinik olarak ve ultrason ile değerlendirmede PAS düşündüren 78 hastanın dahil olduğu yakın dönem bir çalışmada; hastalar MRI ile değerlendirilmiş ve ultrason ile PAS tanısı konan %38 hastada tanıyı değiştirmiştir. Bu nedenle MRI ilk değerlendirme , ilk görüntüleme olarak tercih edilmemelidir (Einerson et al., 2018).

PAS takibi , görüntüleme ile takip sıklığı konusunda hala bir netlik yoktur. Birçok klinisyen aylık veya daha sık kontroller ile ve ultrason ile hastalarını takip etmektedir. Erken gebelik dönemi ultrasonu erken tanı ve gebelik yaş

tayini için mutlaka yapılmalıdır. Asemptomatik hastalara 18-20, 28-30 ve 32-34 haftalarda ultrason ile değerlendirme yaygın klinik bir yaklaşımdır. Bu değerlendirmeler ile plasenta previa, plasenta yerleşim yeri, olası mesane invazyonu değerlendirmesi mümkün olup uygun doğum zamanını belirlemede fayda sağlamaktadır.

2.2.5. Klinik Yönetim

Olası riskleri ve doğum planlanmasını sağlamak adına en kritik nokta antenatal tanıdır. PAS konusunda deneyimli multidisipliner bir ekip takibi gereklidir. İdeal bir multidisipliner ekipte deneyimli kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, deneyimli pelvik cerrah, ürolog, anestezi uzman hekimi, yoğun bakım uzmanları, genel cerrah ve yenidoğan yoğun bakım uzmanları bulunmalıdır. Ek olarak uygun alt yapı oluşturulmalı, ekipte güçlü lider yeteneği olan masif transfüzyon gerektiren kanamalarda kan bankasına ulaşarak gerekli kan ürünlerini hızlı bir şekilde temin edebilecek hemşire bulunmalıdır (Shamshirsaz et al., 2015).

Doğum zamanını belirlerken maternal riskler ve neonatal riskler göz önüne alınarak belirlenmelidir. Sezaryan sonrası histerektomi yapılmasının bu hastalarda maternal sonuçları iyileştirdiği gösterilmiştir, yine de doğum zamanı ile ilgili netlik yoktur. 36. gebelik haftasından sonra doğumun kanama ve kanamaya bağlı riskleri artıracığı için geciktirmemeyi, kapsamlı merkezlerin 34. gebelik haftasından itibaren yenidoğan için yeterli bakım merkezi olduğunu belirterek, 34-36. haftalar arasında doğum planlanması pek çok uzman tarafından uygun görülmüştür. Vakaya bağlı nedenler dışında 34 0/7- 356/7 gebelik hastaları arasında doğum planlanması önerilmektedir. 36. gebelik haftasından itibaren acil doğum ve masif kanama riski olduğundan, 36 gebelik haftasını beklemek tavsiye edilmemektedir (Angstmann et al., 2010).

Maternal-Fetal Tıp Derneği, plasenta akreatalı stabil kadınlar için 34 ila 37. gebelik haftaları arasında doğumu önermektedir (Gyamfi-Bannerman, 2018). Tartışıldığı gibi, yazarlar çoğu vakada 34. gebelik haftasına yakın (36 haftadan ziyade) doğumun hedeflenmesinden yanadır, ancak optimal doğum zamanlaması tartışmalıdır ve bireyselleştirilmiş yönetim uygundur. Devam eden kanama durumlarında, preeklamsi, erken doğum, erken membran rüptürü, fetal distres yada annede gelişen bir komplikasyon nedeniyle erken doğum planlaması gerekebilir. PAS tanısı alan ve 37. gebelik haftasından önce doğum planlanan hastalara akciğer matürasyonu amacıyla kortikostreoid uygulaması önerilmektedir (“Committee Opinion No. 713: Antenatal Corticosteroid Therapy for Fetal Maturation.,” 2017).

Doğum planlanan merkeze hastaların olabilecek en erken dönemde yönlendirilmesi faydalıdır. Antenatal kanama, erken doğum , erken membran rüptürü planlanmamış doğum zamanı olduğundan maternal ve nenatal morbitide ile ilişkilidir (Shamshirsaz et al., 2018). İdeal olan doğum öncesi multidisipliner yaklaşım ile ekipteki herkesin hazırlık yapması, hastaya sorulacak soruların sorulması, gerekli bilgilendirmelerin yapılmasıdır. Olası risklerin komplikasyonların anlatılarak sezaryen, histerektomi hakkında bilgi verilmesi uygun olacaktır. Bu sayede anne ve yenidoğan için olumsuz sonuçlar azalacaktır. En kritik hazırlıklardan biri , operasyon sırasında oluşabilecek masif transfüzyon ihtiyacının bilincinde olarak kan bankasını bilgilendirmek ve kan bankası ile gerekli hazırlıkları yaparak iletişimde olmaktadır. Gebelik sırasında saptanan anemi mevcut ise hemogloblin seviyelerini optimal düzeye getirmek hedef olmalıdır. Demir eksikliği saptanırsa , oral ve intravenoz ajanlar kullanarak replase edilmelidir. Doğuma yakın zamanda gerekli durumlarda kan transfüzyonu planlanabilir (Roeca et al., 2017).

2.2.6. Intraoperatif yönetim

En yaygın kabul edilen cerrahi yaklaşım, bebeğin doğumundan sonra kordonu kesilerek, kan kaybını azaltmak için rahim kesisi hızla kapatılarak hızlıca histerektomi yapmaktır. Plesantayı yataktan ayırmaya çalışmak masif kanamalara neden olduğundan tavsiye edilmez. Operasyon masasında en uygun pozisyon mesaneyi ve pelvik bölgeyi görmeyi engellemeyecek şekilde dorsolitotomi pozisyonudur, bu sayede masif bir kanama olduğunda gözden kaçmayacaktır. Cilt kesisi operatörün kararına bırakılmıştır, pek çok klinisyen daha kolay batına giriş ve görüş alanında genişlik sağlaması nedeniyle vertikal kesiyi tercih etmektedir. Geniş transvers kesiler Maylard veya Cherney insizyonları da tercih edilebilir. Periton girişinden sonra plesantal invazyon boyutunu değerlendirmek, plasentanın lokasyonunu tayin etmek, uterin insizyon ve histerektomi için uterusu gözlemlenmek önerilmektedir. Uterin insizyon alışılmadık bir insizyon ile olsa da plesantanın olmadığı alandan olmalıdır. Intraoperatif ultrason bu konuda kolaylık sağlayacağından kullanılabilir. Bazı durumlarda sistoskopi ile mesaneyi değerlendirmek gerekeceğinden ameliyathanede hazır bulundurulmalıdır. Vaka boyunca hemodinamik stabiliteyi , volüm durumunu, idrar çıkışını takip etmek son derece önemlidir. Cerrahi ekip, anestezi ekibi , ameliyat hemşiresi arasında devam eden kanama değerlendirmesi, ne kadar kanama beklendiği, hastanın vitalleri ile ilgili sürekli ve devam eden bir iletişim olmalıdır. Acil kanama durumlarda transfüzyon hızlıca planlanmalıdır (Gyamfi-Bannerman, 2018) (Marshall et al., 2011).

Bebek doğduktan sonra profilaktik oksitosin rutin olarak uygulanmaz çünkü kısmi plasenta ayrılmasına ve dolayısıyla kanamanın artmasına neden olabilir. Ancak plasentanın büyük kısmı veya tamamı alınmışsa veya kanama zaten ağırsa uterotonik ilaçlar verilmelidir. Doğum sonu kanamanın yönetimi gibi değerlendirilir (Collins et al., 2019).

Kanama durumlarında kullanılabilecek diğer bir ajan antifibrinolitik ajan olan traneksamik asittir. Doğumdan 3 saat içerisinde 1 gram intravenöz uygulanmalıdır. Devam eden kanama varlığında, fibrinojen kullanılabilir. Fibrinojen seviyesinin 200 mg/dl nin altında oluşu şiddetli postpartum hemoraji ile ilişkilidir. Fibrinojenin PASda görülen kanamadaki etkinliği net bilinmemektedir. Hastaların operasyon sonrasında yakın takip edilmeleri uygun olacağından yoğun bakım ünitelerinde takip edilmesi daha uygundur (Higgins et al., 2019).

2.2.7. Beklenmedik veya Planlanmamış PAS

Sezaryanı uygulanan hastada plasentanın çıkmadığı durumlarla yada gözlemlenmiş PAS düşündürülen bulgular ile zaman zaman karşılaşılabilir. Periton boşluğuna girdikten sonra, gözlemlenmiş plasentanın uterus alt segmentini, uterus serozasını veya mesaneyi invaze ettiği izlendiği, uterus serozasında PAS düşündürülen artmış vaskularite ve yine uterus alt segmentinden pelvik yan duvarlara doğru damarlarda belirginleşme şişkinlik izlendiğinde PAS tanısı intraoperatif konabilir (Cahill et al., 2018).

Normal doğum sonrası da karşımıza çıkması nadiren de olsa muhtemeldir. Bu durumlarda PAS ile yetkin, uygun bir merkezde bulunulmuyorsa en kısa sürede hastayı stabilize ederek yetkin bir merkeze transferini sağlamak uygundur. Doğum yapılan merkezlerde bazı vakalarda PAS çıkabileceği bilinmeli ve buna yönelik transfer planlanması yapılmalıdır. Eğer PAS tanısından şüpheleniliyor ise yada operasyon sırasında uterus görüntüsü PAS tanısı koyduruyor ise ve doğumun acil yapılması gereken bir durum olmadığında operasyona ara verilerek uzman deneyimli ekip gelmesi beklenmelidir. Bu süre zarfında anestezi ekibi de bilgilendirilerek masif kanama olasılığı anlatılarak gereken hazırlıkların yapılması sağlanmalıdır. Eğer deneyimli ekibin gelmesi mümkün olmadığı hallerde ise anne ve fetus stabilize ederek yetkin merkeze sevk edilmelidir (Cahill et al., 2018).

Bazı seçilmiş vakalarda PAS uterus kesisi sonrasında, doğum sonrasında farkedilmektedir. PAS saptandığı anda plasentanın yataktan rutin manevralar ile ayrılmadığı görülür. Bu durumla karşılaşıldığında hızlıca uterin kesi kapatılarak histerektomi planlanması önerilir. Eğer doğum sonrasında hasta stabil ise ve

histerektomi için yetkin bir merkez değilse transfer düşünülmeli ve planlanmalıdır (Fox et al., 2015).

2.2.8. Uterus Koruyucu Yaklaşım

Nadiren seçilmiş vakalarda bazı uzmanlar uterus koruyucu cerrahi tercih etmektedirler. PAS tedavisinde fertilité kaybı , kanama , pelvik organlarda injurty gibi majör komplikasyonlar olabileceğinden komplikasyonları azalttığını savunarak ekspantan yaklaşım tercih eden klinisyenler de var (Perez-Delboy & Wright, 2014).

Fokal yapışıklık olan hastalar, plasantanın elle hallas ile çıkarılabildiği yada uterin insizyon onarım sonrasında PAS saptanan alan onarılmış olan vakalarda uterus koruyucu yaklaşım tercih edilebilir. Diğer alternatif bir yaklaşım, histerektomiyi önlemek için plasantayı çıkardıktan sonra kviteye Bakri balon yerleştirmektir. Yine de bu yaklaşımların yer aldığı çalışmalar küçük çalışma grupları olduğundan histerektomi ile karşılaştırdığındaki sonuçları net değildir, etkinlikleri kesin değildir. Yine bir vaka serisinde plasental dokuları bırakarak hastalar takip edilmiş, fakat sonrasında histerektomi ihtiyacı olan hasta sayısı yani yöntem başarısızlığı oranları yüksektir. Plasental dokunun bırakıldığı vaka serilerinde uterin arter embolizasyonu, balon, uterina rter ligasyonu gibi ek teknikler eklenerek takip edilen vaka serileri mevcut. Methotrexate uygulaması ile plasental absorpsiyon artırılan vaka serileri mevcut. Fakat geniş bir vaka serisinde methotrexate toksisitesi ve septik şok nedeniyle bir maternal ölüm olması, kesinleşmiş bir faydası olmaması ve olası riskler nedeniyle çok tasviye edilmemektedir. Bu nedenle ekspantan yaklaşım sadece seçilmiş vakalarda ve olası riskler, komplikasyonlar hakkında bilgilendirme yapılarak uygulanmalıdır (Sentilhes et al., 2010).

2.2.9. PAS Olgularında Plasental Histolojisi

Histolojik olarak, PAS'ın patolojik tanısı basit gibi görünmekle birlikte klinik pratikte çeşitli sorunlar bulunmaktadır. Güncel literatür PAS hastalıklarının histolojik özelliklerinin yeni tanımlamalara uygun olarak incelendiği yeni araştırmaların yapılmasının faydalı olacağını göstermektedir. Bu araştırmaların bir dalı da plasantanın maternal yüzünde bulunan myofibrillerin konu olduğu çalışmalardır.

Bazal plaka miyometriyumu (BPMYO) , plasantanın bazal plakasında izlenen miyometriyal lifleri belirtmek için kullanılan bir terimdir. BPMYO hafif plasenta accreta, okült plasenta accreta veya asemptomatik kadınların

plasentalarında gözlenebilir, ancak önemi hala tartışmalıdır. 2001 yılında, Khong ve Werger, plasenta accreta'nın klinik kanıtlarının yokluğunda bazal plaka myofiberlerinin (BPMF) bulunabileceğini genel patoloğların dikkatine getirdi (Khong & Werger, 2001). Yapılan çalışmalardaki artışla BPMF'nin gelecekteki plasenta accreta için bir risk faktörü olduğunu öne süren araştırmacılar oldu. (Miller et al., 2016).

BPMF için minimum kriter, araya giren desidua olsun veya olmasın plasental diskin bazal plakasına bağlı myometriyal düz kas liflerinin bulunmasıdır. BPMF, doğmuş plasentalarda tanımlanır ve plasentalar normalde uterus duvarından desidual bir düzlemde (desidual ayırma bölgesi) ayrıldığından miyometriyal düz kası içermemelidir, BPMF bulunması anormal kabul edilir. BPMF, bazal plağın hematoksilen ve eozin (H&E) ile boyanmış plasental bölümlerinde tanımlanır ve kas liflerini bazal fibrinoid/koryonik villiden ayıran değişken kalınlıkta desidua ile görülebilir. BPMF tanısı bazıları tarafından klinik plasenta akreatanın teyidi olarak kabul edilir ve bunların varlığı aynı zamanda sonraki gebelikte akrea geliştirme riskini de beraberinde getirir, ancak birçok BPMF akreata klinik kanıtı olmaksızın görülür (Hecht et al., 2020).

Son zamanlarda, sonraki gebeliklerinde majör kanaması (>1500 cc) olan vakaların yarısının plasenta accretasının tek kanıtının histolojik olduğu durumlar olduğu da bildirilmiştir (Roeca et al., 2017).

Plasentanın patolojik incelemesinin geliştirilmesi için dizayn edilen bir çalışmada daha önceki plasenta patoloji incelemesinde bazal tabaka miyometriyal lifler görünen plasentalarda, sezaryan öyküsü olan ve akreata tanısını dışlamak istenen vakalarda, kendiliğinden çıkmayan, elle hallas ile çıkarılan, parçalanmış plasentalar ve ultrasonda akreata şüphesi olan hastaların plasentalarında bazal plaka myometrial lifler bakılmış, aktin ile immunohistokimya ile boyanarak bakıldığındaki incelemelerde BPMF görülmüştür. Bu çalışmada klinik PAS şüphe ile gönderilen 89 hastanın 42 sinde saptanmış, kontrol grubu incelemesinde ise hiç BPMF saptanmamıştır. Yine bu çalışmada hastaların bir sonraki doğumlarındaki plasentaları da incelenerek BPMF bakıldığında, tekrarlama oranı %100 raporlamışlar (Heller et al., 2019).

Yapılan kesitsel incelemelerde, bazal plakanın incelendiği, bazal plakada kesintiler olduğu, desiduanın ve trofoblast hücrelerin yokluğu izlenmiş. Intervillöz aralıktan transvers bazal tabakaya doğru perforan damarlar gözlenmesi BPMF ve aktin ile boyanamayla ilişkilendirilmiştir (Miller et al., 2016). BPMF saptamak ilerdeki plasenta akreata kaynaklı masif kanama potansiyeli olan doğumları öngörmede fayda sağlayacaktır. Bu nedenle

plasentanın patolojik incelemesinde gelişmeler sağlamak için güncel çalışmalar yaygınlaşmıştır.

Patolojik olarak pas tanısı klinik tanıya göre daha somuttur. İncelemede histerektomi yapıldıysa plasentayı miyometriyuma inzave yada yapışık , histerektomi yapılmayan plasentalarda plasentanın genelde bir kısmına miyometriyum dokusunun yapışık olduğu izlenir. Buna rağmen klinik olarak pas tanısı alan takip edilen hatta histerektomi yapılan hastaların patolojik tanısı incelemesi yeterli değildir. Bu problem ele alınarak multidisipliner bir ekip ile yapılan çalışmada klinik olarak pas tanısı alan vakaların %18-29 unda patolojik olarak akreate konfirme edilememiş, fakat makroskopik olarak miyometriyumun incelendiği, plasenta ve uterus serozasının arasındaki mesafenin 3 mm den az olduğu alanlar izlenmiş. Bu farklılık literatürde ve sınıflamada farklılıklara neden olmaktadır. Son dönemde yapılan bir çalışmada PAS tanısı alan hastaların yaklaşık %60ının plasenta akreate vera olduğu hafif vakalar olduğu, increata %16 percarata %22 olarak temsil ettiği gösterilmiştir (Hecht et al., 2020).

Patolojik olarak PAS tanısı, plasental yatağın mikroskopik incelemesi sonrasında tanı alır. Villöz doku ve miyometriyum arasındaki desudua olmayan yataktan geniş kesitler alınarak incelenmelidir. PAS grade 1,2,3 şeklinde subgruplara ayrılır. Patolojik olarak PAS tanısı histerektomi yapılan , parsiyel myometriyal rezeksiyon yapılan vakalarla sınırlıdır. Zor ayrılan veya küretaj uygulanan plasental yatak incelemesinde BPMF görülen PAS vakaları da mevcuttur (Heller et al., 2019).

Makroskopik olarak değerlendirme intraoperatif yapılmaktadır. Hastalar klinik tanı aldıktan sonra histerektomi planlandığından genelde incelenecek dokular histerektomi ile gelmektedir. Genellikle eski sezaryan skar hattında alt uterin segmentte , uterus serozasına uzanan plasenta şeklinde veya incelmış miyometriyum şeklinde karşımıza çıkar. Myometriyal invazyon olmadığında PAS plasenta yatağından nazikçe ayırarak plasenta ve uterus duvarı arasındaki doku PAS konfirme etmek için incelenmelidir (Cahill et al., 2018) (Gyamfi-Bannerman, 2018).

Mikroskopik olarak, villöz doku ve myometrium arasındaki desidua görülmeyen alanları içermelidir. İncelemede, plasental villusların doğrudan miyometriyuma bağlı olduğu veya vilus ile kas arasındaki tabakada trofoblastlar ve fibroid doku ile anormal implastasyon olarak gözlenebilir. PAS subgruplandırmasında bu bulgular değerlendirilerek grade 1-3 olarak gruplandırılmıştır. Ama incelemelerde ve çalışmalarda kullanılan dokular genelde histerektomili veya parsiyel myometriyal eksizyon yapılan vakalardır.

Plesanta doku olarak ayrı veya plesantal yataktan alınan biyopsi olarak inceleme yapılamamıştır (Wu et al., 2005) (Cramer & Heller, 2016).

Bazı vakalarda koryonik viluslar diğer myometriyumla ilişkili izlense de sıklıkla viluslar fibrin ve EVT ile çevrilidir. Desidual hücreler, EVT hücrelere göre soluk eozinofilik sitoplazmalarıyla ayrılırlar. Normal desidual dokunun plesantal yatak boyunca farklı kalınlıkta olabileceğinden, bu değerlendirmeler sonucunda patolojik olarak olması gerekenden daha fazla PAS tanısı konulma endişesi mevcuttur (Jauniaux et al., 2018).

2.2.9.1. BPMF Oluşumunun Histolojik Özellikleri

BPMF, araya giren desidua ile veya onsuz bazal plakaya bağlı miyometriyal düz kas lifleridir. Tanım, minimum bir tutulum alanı gerektirmez, ancak bulgu, Hematoksilen ve eozin (H&E) gibi rutin boyalarda kolaylıkla görülebilir olmalıdır. Şu anda immünohistokimya kullanılarak tarama önerilmemektedir. Ayrılma düzlemi boyunca plasentanın bazal plakasına bağlanan miyometriyal lifler, bazal plakanın kenarda yönlendirilmiş H&E lekeli bölümlerinde kolayca tanınır, ancak desidua ve trofoblasttan ayırt edilmelidir. Miyometriyal lifler hipertrofik olduğunda, ayırt edici özellikler, ya uzunlamasına ya da enine kesitte yönlendirilmiş küçük demetler ya da kümeler halinde bulunan düz kasları içerir. Hipertrofik BPMF düzensizliği gösterebilir. Büzülmüş, dejenere olmuş, veya açıkçası nekrotik olan BPMF, retroplasental kan ile ilişkili olarak tanımlanmıştır ve bunlar doğrulama için aktin boyaması gerektirebilir. Ven duvarının bir parçası olabilecek düz kas BPMF'den ayırt edilmelidir. En yüzeysel BPMF vakalarında, miyometriyal lifler, bazal fibrinoid/koryonik villuslardan nispeten kalın bir desidua tabakası ile ayrılır. Daha az sıklıkla, koryonik villus ile miyometriyum arasındaki desidual tabaka azalır veya tamamen yoktur. Bozulma alanlarına bitişik olarak alınan kesitlerin BPMF tespitini arttırdığı gösterilmiştir, ancak bu bölümler mevcut desidua miktarının belirlenmesine izin vermemektedir. Miyometriyum varlığının basitçe görülemediği bazı durumlar vardır. Desidual damarların etrafındaki düz kas ile karıştırılabilir, ancak komşu damara paralel uzanan ince lifleri ile miyometriyumdan ayırt edilebilir. Miyometriyum, miyofiberlerin hem uzunlamasına hem de enine olarak kesilmesine eğilimlidir (Heller et al., 2019)(Hecht et al., 2020).

2.2.9.2. BPMF olan Plesantalarda İmmünohistokimyasal Boyama

Aktin için immünohistokimyasal boyama, miyometriyal düz kası vurgular, ancak miyometriyal düz kas H&E ile boyanmış bölümlerde kolayca görüldüğünde endike değildir. Retroplasental kanama ile ilişkili BPMF çalışmasında, Wyand ve ark. retroplasental kanama varlığında aktin

boyamasının ne zaman endike olduğunu araştırmak için kanıta dayalı bir yaklaşım kullanmış ve aşağıdaki endikasyonları önermiştir: (1) rutin H&E boyamalarında BPMF'den şüphelenildiğinde ancak teyit edilmesi gerektiğinde; (2) Rutin H&E slaytlarında BPMF'den şüphelenilmediğinde, ancak öykü olası akreta (örn., önceki sezaryen doğum, plasenta previa, elle çıkarma, plasental retansiyon, anne yüzeyinin büyük ölçüde bozulması, önceki akreta öyküsü veya ultrasonografi bulgusu BPMF düşündürdüğünde); (3) fetal membranların bölümlerinde dilate endometriyal bez kalıntıları ve infiltratif koryon tanımlandığında, tutulan plasenta ile bağlantılı olarak morbid olarak yapışık fetal membranlarla ilişkili bir bulgu varsa; ve (4) desidial hemosiderozun tanımlanmasından sonra, önceki retroplasental kanama ile ilişkili bir bulgu varsa. İmmün boyalar, BPMF'yi saptama duyarlılığını artırsa da, H&E'de kolayca görülmeyen BPMF'nin özgülüğü, klinik olarak anlamlı hastalığa göre daha düşüktür. BPMF için immünohistokimya, bir tanı yardımcısı olarak kesinlikle yararlıdır(Hecht et al., 2020).

2.2.9.3. PAS ve BPMF Gelişiminin Moleküler Özellikleri

Akreataya karşı inkreata/perkreata gibi patolojik plasental yapışma veya invazyon durumları dikkate alındığında, ilişkili düzenleyici faktörler kesin olarak bilinmemektedir. Plasentada hem yapışık hem de invaziv villusların olabileceği ve gebelik yaşının ilerlemesi ile invazyon şiddetinin ilerleyebileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, bu hipotez, ikinci trimesterde (yaklaşık 16 hafta) çok erken aşamada plasenta perkreta meydana gelebileceği gözlemiyle çelişir; bu, invazyon derinliği ile ilgili nihai sonucun implantasyonun en başında belirlenmiş olabileceğini düşündürür ve ilerleyen gebelikten etkilenmeyebilir. İnvaziv PAS'ın (inkreata ve perkreta) ortaya çıkması, bir uterin skarın kısmen veya tamamen çatlamasına ve böylece ekstravillöz trofoblastların (miyometriyum, seroza ve hatta ötesi) daha derin invazyona izin vermesine bağlanabilir. Bu tür daha derin ve yaygın invazyonun neden olduğu müteakip kusurlara genellikle bir skar bölgesinde normal epitelizasyon yokluğu eşlik eder (Morlando & Collins, 2020). Transkriptomiklerin gelişmesiyle birlikte, preeklampsi gibi belirli obstetrik hastalıklar üzerine yapılan bu çalışmalar, hastalıkların oluşumunu içeren bazı moleküler mekanizmaları tanımlamış ve doğrulamıştır. Bununla birlikte, muhtemelen hem doğrulanmış PAS hastalarından hem de uygun kontrollerden alınan örneklerin bulunmamasının bir sonucu olarak, PAS'ın transkripsiyonel imzası son yıllara kadar bildirilmemiştir (Wu et al., 2005).

Şimdiye kadar, sınırlı çalışmalar, DOCK4 gibi bazı moleküllerin, PAS'ın genel patogenezini ve trofoblastların istila derinliğini düzenlemede rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca hem moleküler hem de fenotipik

olarak PAS ve kanser arasında bir benzerlik olduğunu düşündüren bulgular da bulunmaktadır. Bununla birlikte, bu moleküllere ilişkin ayrıntılar, düzenleyici mekanizmaları ve tahmin etme veya terapötik potansiyelleri yeteri kadar açıklığa kavuşturulmamıştır. PAS'ın güvenilir patogenezini belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu süreçte mikromorfoloji kadar moleküler biyoloji ve multi-omik de önemlidir (Liu et al., 2021).

BPMF gelişiminde önemli rolleri olabilecek, özellikle üzerinde araştırmacıların yeni odaklandığı moleküllerin durumu yeteri kadar irdelenmemiştir. Bu konuda literatür incelendiğinde trofoblastların gelişiminde ve işlevinde önemli rolleri olan moleküller bulunmaktadır. Bu moleküllerin araştırılması BPMF oluşmasının fizyopatolojisinin aydınlatılmasında dolayısı ile PAS hastalıklarının patogenezinin bilinmesinde önemli katkılar yapabilir. Bu kapsamda literatür taranarak bulunan ve araştırma kapsamına alınması uygun bulunan moleküller ve özellikleri aşağıda irdelenmiştir.

2.2.9.3.1. HLA-E, F ve G Proteinlerinin Plasentanın Maternal İmmün Sistem Tarafından Algılanmasındaki Önemli Roller

Hamilelik, memeli biyolojisinde görülen en ilginç bağışıklık uyum örneklerinden birini temsil eder. Placenta, anne ve çocuk arasında bir bariyer oluşturarak, kendi bağışıklık sisteminin olgunlaşmadığı veya olmadığı bir zamanda annenin bağışıklık hücrelerinin fetusun bulunduğu alana girmesini engeller. Plasentanın trofoblast hücreleri, annenin kan akımıyla hayat veren bir bağlantı kurmak için annenin rahim dokusunun derinliklerine invaze olur (Ishitani et al., 2003).

Majör histo-uyumluluk kompleksi (MHC) molekülleri veya insan lökosit antijenleri (HLA) olarak bilinen genetik olarak kodlanmış moleküller, bir bireyin farklı antijenlere karşı bir bağışıklık tepkisi üretme yeteneğini belirler. Bu MHC molekülleri, bir molekülün bireyle histo-uyumlu olup olmadığını belirlemekten ve yabancı olarak kabul edilirse bir bağışıklık tepkisi başlatmaktan sorumludur. Tüm çekirdekli hücrelerde bulunurlar ve esas olarak T hücrelerine antijen sunumunda işlev görürler. Bir antijen sunan hücre (APC) ve bir T hücrenin etkileşime girmesi ve bir bağışıklık tepkisi başlatması için, T hücrenin bir MHC molekülüne bağlı antijenin yanı sıra APC'ye de bağlanması gerekir. Büyük bir histo-uyumluluk kompleksi, bu MHC moleküllerini/HLA antijenlerini kodlayan bir dizi gendir. Moleküllerin farklı kısımlarını kodlayan çoklu genler ve gen ürünlerinin çeşitli olası kombinasyonları mevcuttur (Kamal et al., 2022).

İnsan lökosit antijeni (HLA) bölgesi üç bölgeye ayrılmıştır: sınıf I, sınıf II ve sınıf III. Gebelik açısından en önemli kısmının sınıf I bölgesi oluşturur. Sınıf I

bölgesi, "klasik" sınıf I HLA antijenlerini kodlayan genleri içerir: HLA-A, B ve C. Sınıf I antijenler, eritrositler ve trofoblastlar dışında vücudun hemen hemen tüm hücrelerinde değişen yoğunlukta eksprese edilir. Sınıf I bölgesi ayrıca HLA-E, HLA-F ve HLA-G gibi diğer HLA sınıf I genlerini de içerir.

HLA-G'nin lokalize ekspresyonu ve düşük alelik polimorfizm seviyeleri nedeniyle uzun süredir bu bağışıklık uyumunda önemli bir faktör olduğu varsayılmıştır. Bununla birlikte, diğer klasik olmayan sınıf I moleküller olan HLA-E ve HLA-F'nin plasentadaki ekspresyonu hakkında çok az şey aydınlatılmıştır (Ishitani et al., 2003). Bu konuda Ishitani ve ark. yaptıkları çalışmanın sonuçları HLA-E ve -F ile ilişkili önemli sonuçlara ulaştırmıştır.

Annenin baba antijenlerini taşıyan fetüse karşı toleransı, karşılıklı moleküler etkileşimler nedeniyle fetomaternal arayüzde indüklenir. Plasenta ve desidua arasındaki arayüzde bağışıklık toleransı, esas olarak HLA-C, HLA-E, HLA-F ve HLA-G'nin trofoblastlarda ekspresyonu ve bunların uterus NK hücrelerinde eksprese edilen reseptörlerle etkileşimleri nedeniyle sağlanır. Düzenleyici T hücreleri ve DC-10 hücreleri de plasentanın anne tarafındaki fetomaternal arayüzde önemli bir rol oynar. Bununla birlikte, Hofbauer hücreleri veya granülositik miyeloid türevli baskılayıcı hücreler gibi bazı fetal hücreler de fetusa karşı maternal toleransın indüklenmesinde kısmen rol oynar (Rudenko et al., 2020) (Macholdová et al., 2019).

HLA-F'nin birincil olarak maternal desiduayı istila eden trofoblastlarda eksprese edildiği ve bu aynı hücrelerin HLA-E ve G'yi aynı anda eksprese ettiği gözlemi, klasik olmayan üç sınıf I Ag'nin hepsini aynı anda eksprese eden hücrelerin bulunduğunu ilk kez göstermiştir. Bu hücrelerin, annenin bağışıklık hücreleriyle doğrudan temas halinde doğrudan annenin desiduasına implante edilmiş olması, insan yaşamının bu aşamasının temsil ettiği yabancı allogreftin anneye uyum sağlaması için üç Ag'nin de gerekli olduğunu düşündürür. İnsan plasenta dokusunda HLA ekspresyonunun erken araştırmaları, bu uyumda anahtar bir unsur olarak HLA-G hipotezlerine yol açarken, şimdi diğer iki klasik olmayan Ag'nin de gerekli olabileceği görülüyor. Ek olarak, HLA-G'de spesifik peptit bağlanması ve aslında HLA-G'nin benzersiz bir şekilde HLA-E'ye sunduğu nonamer peptidin spesifikliği, bu moleküller arasındaki etkileşimlerin ve sinerjinin açık kanıtlarını sunar. Bu nedenle, her birinin işlevini ayrı ayrı dikkate almak, maternal bağışıklık uyumunu anlamamızın yalnızca başlangıcı olabilir ve bunun yerine tam bir anlayış, üç proteinin hepsinin birleşik ve etkileşimli etkilerinin dikkate alınmasını gerektirecektir (Ishitani et al., 2003) (Kamal et al., 2022).

İnsan lökosit antijeni-G (HLA-G), maternal-fetal arayüzde immünolojik toleransın gelişmesinde görev alır. HLA-G, yalnızca preimplantasyon embriolarının yüzeyinde ve plasentadaki ekstravillöz trofoblastların (EVT'ler) yüzeyinde eksprese edilen, klasik olmayan bir HLA-sınıf I molekülüdür. Burada HLA-G, immünoşpresif bir ortam yaratılmasına yardımcı olur, böylece fetüse karşı maternal immünolojik tolerans oluşturur. HLA-G'nin immünoşpresif etkileri, HLA-G'nin reseptörleri Ig benzeri transkript 2 (ILT2), ILT4 ve belirli immün hücreler üzerinde farklı şekilde sunulan öldürücü hücre immünoşglobulin benzeri reseptörü 2DL4 (KIR2DL4) ile etkileşimi yoluyla elde edilir (van de Water et al., 2021).

2.2.9.3.2. S100 protein ailesi

İmplantasyonun ilk adımı olan plasentanın öncüsünü oluşturmak için desidualize endometriumun trofoblast istilasısı, fetal ve maternal kompartmanlar arasındaki sürekli çapraz konuşma tarafından yönetilen sıkı bir şekilde düzenlenen bir süreçtir. Bu aşamada, uygun embriyonik gelişim için öne çıkan faktörlerden biri, ekstravillöz trofoblast hücrelerinin maternal desidua ve miyometriyuma başarılı göçü ve istilasısıdır. Sağ implantasyonun, aksine, gelişmekte olan fetüse yetersiz kan ve besin kaynaklarına yol açtığı ve sonuçta fetal büyüme kısıtlaması, preeklampsi ve düşükler gibi hamilelik koşullarıyla sonuçlandığı düşünülmektedir (Tabrizi et al., 2018).

Plasentasyon gelişimi ve gebelik bozuklukları süreciyle bağlantılı olan bir protein sınıfı, kalsiyum bağlayıcı proteinlerin S100 ailesidir. Yaklaşık 25 farklı proteinden oluşan bu aile, protein dizilerinin her iki ucunda bir çift kalsiyum bağlayıcı sarmal-ilmek sarmal alanının mevcudiyeti ile karakterize edilir. Bu proteinler kendilerine ait içsel enzimatik aktiviteler içermese de, spesifik ortaklarla etkileşimleri, hem hücre içi hem de hücre dışı olarak çok sayıda hücrenel bileşeni ve biyolojik süreçleri düzenler (Tabrizi et al., 2018).

Plasentasyon sürecinde S100P'nin plasentada ifade edildiği gösterilmiştir ve diğer organlardan 90-200 kat daha yüksek bir konsantrasyonda bulunduğu plasentasyon sırasında önemli roller oynadığı düşünülmektedir. S100P'nin de yakın zamanda trofoblastlarda eksprese edildiği bildirilmiştir, ancak bu proteinin implantasyon sürecindeki rolü belirsizliğini korumaktadır. S100P, hem in vivo'daki trofoblastlarda hem de kültürdeki bazı karşılık gelen hücre hatlarında ifade edilir. S100P, farklı trofoblastik ve birinci trimester EVT hücre hatlarında hem hücre hareketliliğini hem de hücrenel istilayı uyarır. İlginç bir şekilde, hücre istilasının, hücre göçünden daha çarpıcı biçimde etkilenebilmektedir. S100P'nin implantasyon sırasında trofoblast istilasının önemli bir düzenleyicisi olarak hareket edebileceğini göstermektedir. S100P'nin aktin mimarilerini ve

fokal yapışma düzeneğini yeniden şekillendirebileceği ve hem hücrel hareketliliği hem de trofoblastların istilasını uyarabileceği açık mekanizmalar karakterize edilmeyi beklemektedir (Tabrizi et al., 2018).

2.2.9.3.3. PLAC 8

Plesantal villus tabakası devamlı multinükleer sinsityotrofoblastların çevrelediği, mononükleer trofoblastlardan oluşur. Sonrasında bu sitrofoblastlar proliferasyon olarak sinsityotrofoblast tabakasını delerek epitel- mezenşim tabakasını oluşturur. böylece uterus duvarına invazyon olmayı sağlayan hareketi gerçekleştirmiş olur. Uterus duvarını, maternal desiduaı invazyon eden bu trofoblast hücrelerine interstisyel ektravillöz trofoblast hücreleri (iEVT) denir. Bu trofoblast hücreleri plesantanın oluşumunda invazyonda , spiral arterlerin oluşumunda görevlidir. Anormal EVT farklılaşmasında yada spiral arter oluşumunda yetersiz, başarısız olduğunda ilerde uteroplesantal yetmezlik gibi tabloların karşımıza çıktığını bilmekteyiz. Bu nedenle gebeliğe bağlı hastalıkların patofizyolojisini iyi anlamak için bu hücrelerin ve bu hücreleri ve işlevlerini tanımlamayı sağlayan uygun markerlar bulmak pek çok çalışmanın ana temelidir. İnsan plesantası üzerinde yapılan pek çok anatomik çalışmada birkaç trofoblast spesifik marker ve moleküller gösterilmiştir (DaSilva-Arnold et al., 2015).

HLA-G , EVT salgılandığı bilinen ilk biyomarker olduğunu biliyoruz. HLA-G, MHC-I molekülü olup, immün ataktan kaçmayı sağlayan bir komplektir. İntegrinlerin bağlanması ve immüno globulin ailesi adezyon molekülleri (CAM) , selektin ve kadherin ile oluşturdukları polisakkarit yapı ve oluşturdukları etki ile maternal immün sistemden kaçışı sağlamak ve fetusun reddini önlemektedir (Harris et al., 2009).

Plesanta spesifik protein 8 (PLAC8) , bilinen diğer bir adı ile ONZIN, hayvanlardan insanlara kadar görülmektedir. Fareler için homolog bir gen olan PLAC-8 ilk olarak plesanta spesifik gen olarak tespit edilmiştir. Daha sonrasında, PLAC-8 in apoptoz ve hücre çoğalması, farklılaşmasında önemli rol oynadığı keşfedilmiştir. Yapılan çalışmalarda pankreatik kanserde, akut myeloblastik lösemi gibi kanserlerde tumorenezişte rol oynadığı gösterildi (Kinsey et al., 2014). Farelerde yapılan çalışmalarda, PLAC-8 geninde problem olan farelerde doğuştan immün yetmezlikler, hipersensitivite, erken yaş başlangıçlı obezite ve kahverengi ve beyaz yağ dokusu dönüşümünde farklılıklar izlendiği gösterilmiştir. Fare plesantalarında yapılan çalışmalara bakılarak PLAC-8 plesantanın oluşmasında, gelişmesinde önemli bir rol aldığı öngörülmektedir. İnsan plesantasında PLAC-8 in fonksiyonları hakkında detaylı bilgimiz henüz yok (Jimenez-Preitner et al., 2011).

Chang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada her trimesterden farklı haftalarda aldıkları plesntaları inceleyerek PLAC-8 hakkında inceleme yapmışlar. Bunun için 6 hafta, 19 hafta ve 38 haftalık plesntaları incelemeye alarak, plesntaları immunofloresan boyama ile incelemişlerdir. Yapılan incelemede plesantanın maternal yüzünde yani maternal desuduayı invaze eden iEVT de görüldüğü gösterilmiştir. Çalışmada konfirme etmek için bir diğer EVT marker olduğu bilenen HLA-G göstermek için HLA-G antikorları ile pozitif boyanarak gösterilmiştir. PLAC-8 in maternal uterus duvarına invazyonda görev aldığı bilindiğinden vimentin ile boyama ile myometriyal hücreler boyanmış, yapılan incelemede ise vimentin ile boyanan hücrelerin etrafındaki hücrelerde PLAC-8 konsentrasyonunun fazla olduğu gösterilmiştir. Bu sayede PLAC-8 ekspresyonunun fazla olması plesanta invazyonunun arttığı öne sürülmüştür (Chang et al., 2018).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu prospektif araştırma, sezaryen ile doğum yapan annelerden toplanan plasental doku örneklerinin histolojik, immünohistokimyasal ve ELISA yöntemleri ile incelenmesini içermektedir.

İlk ve geçirilmiş sezaryen doğum yapan annelerin araştırmada bulunması BPMF olan ve olmayan plasental doku örneklerinin elde edilmesine yardım edecektir. Plasental doku örneklerinde HLA-E, ve -G proteinleriyle PLAC8 proteinlerinin ekspresyonlarının belirlenmesi sağlanacaktır. Plasental doku örneklerinde BPMF varlığıyla ölçülen protein ekspresyonlarının ilişkileri incelenecektir. BPMF oluşumunda payı bulunan proteinlerin bulunması PAS hastalıklarının patogenezinin anlaşılmasına da katkı yapabilecektir. Araştırmada anne yaşı, gebelik ve doğum sayıları, anne vücut kitle indeksi gibi özelliklerin çalışma gruplarında benzer dağılımda olmasına önem verilecektir.

Bu araştırmayla yapılacak araştırmanın temel hipotezleri şunlardır:

- (a) Geçirilmiş sezaryen doğumlarda plasental örneklerde BPMF oluşumu daha fazla gözlenir.
- (b) BPMF oluşumunda araştırma proteinlerinin ifadelerinin değişmesinin payları olabilir.

Bu araştırmanın amaçlarına ulaşmak ve araştırmanın temel hipotezlerini test etmek için, ilk ve geçirilmiş sezaryen doğum sırasında toplanan plaseenta örneklerinde, BPMF oluşumu incelenecek ve araştırma proteinlerinin ekspresyonları biyokimyasal ve immünohistokimyasal olarak ölçülecektir. BPMF gelişiminde araştırma için seçilmiş hedef proteinlerin regülasyonu karşılıklı ilişkileri incelenecektir. Bunun için aşağıdaki spesifik hedefler ve ilgili hipotezleri belirlenmiştir.

Spesifik hedef 1: BPMF oluşumunda HLA-E, G proteinleriyle PLAC8 proteinlerinin ekspresyon durumlarını ELISA deneyleriyle ölçmektir. İlgili hipotez: ELISA deneylerinde, tek başlarına veya birlikte araştırma proteinlerinin regülasyonu BPMF oluşumunda değişir.

Spesifik hedef 2: BPMF oluşumunda HLA-E, G proteinleriyle PLAC8 proteinlerinin ekspresyon durumlarını immünohistokimya deneyleriyle ölçmektir. İlgili hipotez: İmmünohistokimya deneylerinde, tek başlarına veya birlikte araştırma proteinlerinin regülasyonu BPMF oluşumunda değişir.

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmamıza Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 17.02.2022 tarihinde 113-2021 karar numarası ile etik kurul onayı verilmiştir.

Araştırmamız prospektif kontrollü çalışma düzeninde dizayn edilmiştir. Hastanemiz Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği doğumhane servisine başvuran ve sezaryan ile doğum yapan hastalar dahil edilmiştir. Araştırma hastanın intraoperatif bakımına zarar verecek herhangi bir yön içermemektedir. Hastalar çalışmaya dahil edilirken çalışma hakkında ayrıntılı şekilde bilgilendirilmiş, yazılı şekilde aydınlatılmış onamları alınmıştır. Alınacak doku örneklerini araştırmacılar sezaryen cerrahi işlemleri bittikten sonra uygulandı.

Çalışmaya alınma kriterleri şunlardır:

- 20-35 yaş aralığında olma
- Term gebelik olması (37-41 haftalık)
- Gebelik takibinin olağan geçmesi
- Elektif sezaryen yapılması
- Sezaryen doğumun olağan geçmesi
- İlk kez sezaryen doğum yapma (İlk sezaryen grubu) ve geçirilmiş sezaryen doğum sayısının 1-4 olması (Geçirilmiş sezaryen grubu)
- Uygun yenidoğan ağırlığına sahip olma
- Ön veya arka duvar yerleşimli plasenta olması

Çalışmaya alınmama kriterleri şunlardır:

- İntrauterin cerrahi işlem geçirme
- Pelvik veya puerperal enfeksiyon geçirme
- Obezite, preeklampsi, intrauterin gelişme kısıtlaması veya erken doğum olması
- Çoğul gebelik, oligohidramnios ve polihidramnios olması
- PAS hastalığı öyküsü veya PAS hastalığı olması

3.2. Plasental Örnekleme

Plasentaların patolojik incelemesini deneyimli patologlar yapacaktır. Patologlar klinik bilgilerden habersiz olacaktır. Plasentalar, 48 saat boyunca %10 tamponlu formalin içinde sabitlenecektir. Doku örnekleri, fetal ve plasental taraftaki 2 kısım göbek kordonundan, bir zar rulosundan ve desidua ve koryonik taraflar dahil olmak üzere 4 kısım plasental parankimden plasenta dört çeyrek olarak düşünülerek göbek kordonunda 4-5 cm uzak kısımdan elde edilecektir. Plasental

doku örnekleri dışındaki örnekler bu araştırmada temel olarak kullanılmayacaktır ama gerektiğinde kullanılmak üzere saklanacaktır

3.3. Biyokimyasal Analizler

ELISA testleriyle EVT hücrelerine özgü HLA-E, -G proteinleriyle S100P, PLAC8 proteinlerinin ekspresyonları ölçülerek hem HLA proteinlerinin hem de trofoblastlara özgü önemli yönleri olan proteinlerin ekspresyonlarının ölçümleri yapılacaktır. İstatistiksel anlamlılıkta biyomoleküler değişikliklerin olması ve bu açıdan BPMF olup olmayan plasental örnekler arasında fark bulunması beklenir.

Biyokimyasal analiz için toplanan plasenta dokularına homojenizasyon uygulandı. Özetle: çalışılacak doku parçasına 1 mL TRIzol eklenerek , homojenizatöre hazır hale getirildi. Hazırlanan dokuya 0.2 mL kloroform eklenerek 15 saniye boyunca hızlıca çalkalandı ve 3 dakika oda ısısında bekletildi. Hazırlanan örnekler Heraeus Fresco 21 mikrosantrifüj cihazı kullanılarak 12,000 xg devirde 15 dakika santrifüj edildi. Hazırlanan homojen solüsyonlar, sandviç immunoassay yöntemi kullanılarak seçilmiş proteinlerin antikor boyanması yöntemiyle çalışıldı ve kantitatif değerler elde edilerek not edildi.

3.4. Histolojik/İmmünohistokimyasal Analizler

Fikse edilmiş plasental ve diğer doku örnekleri standart doku takibi ile parafine gömüldükten sonra, her doku bloğu standart mikrotom üzerinde 3-5 mikron (Alganaby, 2021) kalınlıkta seri olarak kesildi (Ristić et al., 2016). Tüm dokularda hematoksilin ve eozin boyaması yanında immün boyamalar (düz kas hücrelerine özgün aktin boyaması gibi) da yapıldı.

3.5. Deneysel İmmünohistokimya Analizleri

HLA-E, -G proteinleriyle PLAC8 proteinlerinin ekspresyonlarını gösteren immünboyamalar standart işlemlerle üretici firmaların önerileri doğrultusunda yapılacaktır. BPMF olan ve olmayan plasental örneklerde hedeflenen proteinlerin ekspresyonlarının farklılaşması ve trofoblast invazyonunun arttığını gösteren özellikte bulgular elde edilmesi beklenir

Her plasenta örneğinden seçilmiş bir tane örnek kesit ile hazırlanan bir lamda immünboyama yapılacaktır. Kesitler boyama protokolüne uyularak deparafinizasyon sonrası çalışılacak primer antikoruna uygulamaya hazır hale getirildi. İmmünperoksidaz yöntemi kullanılarak, primer antikor uygulaması sonrası boyama protokolüne devam edilerek kesitler analize hazırlandı. Negatif kontrol boyaması olarak ilk sezaryenda toplanan bir plasental kesit ile hazırlanan lam da antikor uygulama aşaması dışında tüm işlemler yapılarak gerçekleştirildi. Pozitif kontrol olarak BPMF bulunan bir plasental doku örneğinden birer lamda hedeflenen antikorlar kullanılarak yapıldı.

İncelenecek her lamda 10 saha seçilerek değerlendirildi. İmmünohistokimyasal incelemeler için beş temsili alan seçildi ve ardışık görüntüler kaydedildi. D-HSCORE yöntemi ile boyanma yaygınlığı ve şiddeti incelendi.

3.6. Biyokimyasal ve Histolojik/İmmünohistokimyasal Analizlerin Birlikte Yorumu

Yukarıda da açıklandığı gibi biyokimyasal ve histolojik/immünohistokimyasal deneyler bir bütün olarak araştırmada hedeflenen proteinlerin plasentada ekspresyonunun değiştiğini ve bu değişikliklerin trofoblast hücrelerinde olduğunu doğrulanabildi. Bu sonuçlar BPF oluşumunun EVT hücrelerinin işlevleri ile ne ölçüde ilişkili olduğunun yorumlanmasında faydalı oldu.



4.BULGULAR

Çalışmamızda Kasım 2021- Mart 2022 tarihleri arasında, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde sezaryan doğum yapan, 18-40 yaş arasındaki, dahil edilme kriterleri göz önünde alınarak 78 hastanın verileri analiz edildi. Çalışmaya alınan hastaların 17 si ilk sezaryan, 27si ikinci sezaryan 34ü üçüncü sezaryanını oldu.

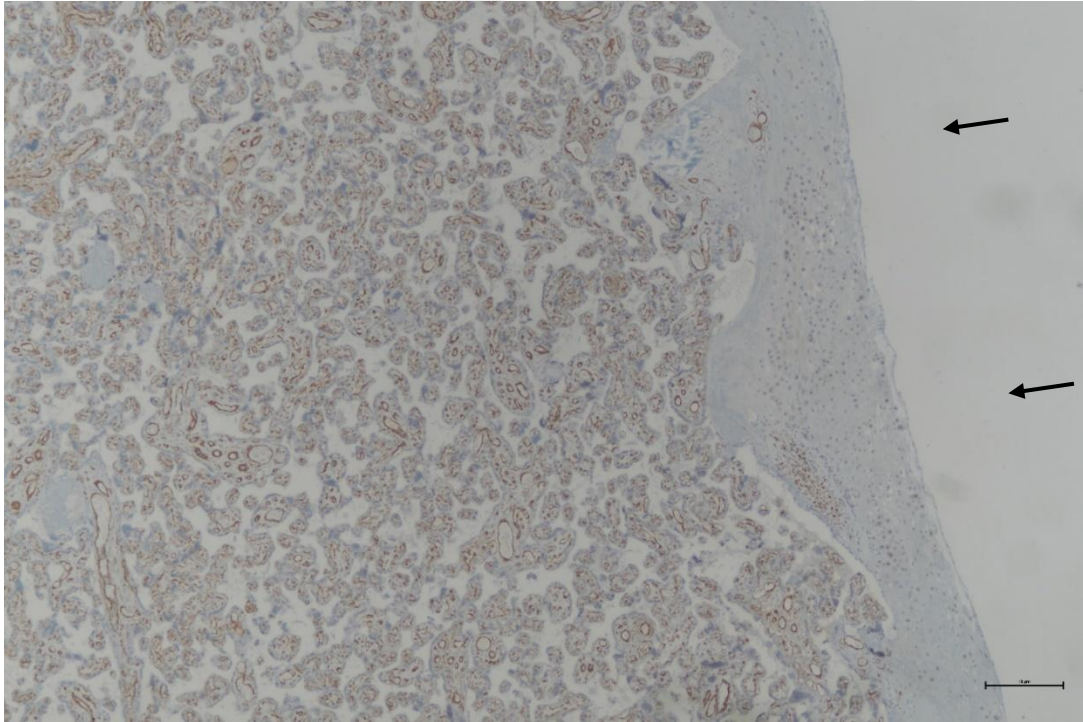
Tablo 1' de çalışma gruplarının temel klinik özellikleri sunuldu.

Tablo 1. Çalışma gruplarının temel klinik özellikleri.

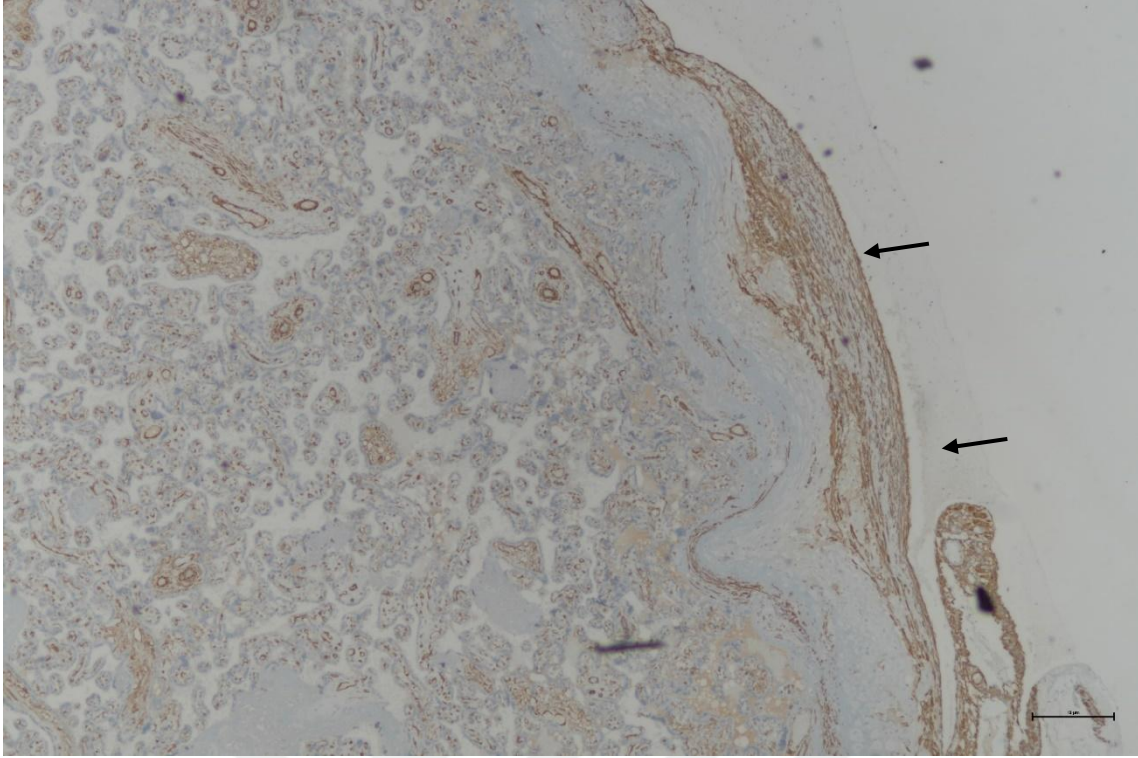
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Anlamlılık
Yaş (yıl)	31 (23-36)	27 (22-40)	31 (23-40)	0,185
Doğumdaki gebelik yaşı	40 (35-41)	39 (27-40)	39 (37-40)	0,252
Gravida	3 (1-4)	2 (2-6)	4 (3-7)	0,001
Parita	2 (0-3)	1 (1-3)	2 (2-6)	0,001
Geçirilmiş sezaryen sayısı	0 (0-0)	1 (1-1)	2 (2-3)	0,001
Sistolik kan basıncı	110 (100-130)	110 (90-150)	110 (90-120)	0,943
Diastolik kan basıncı	60 (50-80)	60 (60-90)	70 (60-80)	0,847
Sigara kullanım öyküsü	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,873
Kilo (kg)	72 (60-90)	78 (53-123)	77,5 (48-123)	0,680
Boy (cm)	160 (152-177)	160 (150-176)	161 (150-170)	0,529
VKI	28 (22-35)	29 (23-56)	30 (20-43)	0,457
Komorbiteler				
GDM	1 (%6,3)	6 (%17,1)	2 (%7,7)	0,690
GHT	0	1 (%2,9)	1 (%3,8)	
Böbrek Hastalıkları	0	1 (%2,9)	0	
Astım	0	1 (%2,9)	2 (%7,7)	
Hipotiroidi	2 (%12,5)	1 (%2,9)	4 (3,8)	

Ekonomik durum	1 (%5,9)	7 (%20)	6 (%23,1)	0,278308
Kötü	9 (%52,9)	15 (%42,9)	14 (%53,8)	
Orta	7 (41,2)	10 (%28,6)	6 (%23,29,5)	
İyi	2 (1-3)	2 (1-4)	2 (1-3)	
Çok iyi	0	3 (%8,6)	0	
Eğitim durumu	1 (%5,9)	7 (%20)	6 (%23,1)	0,242264
Okuryazar	5 (%29,4)	4 (%11,4)	5 (%19,2)	
İlkokul	0	14 (%40)	12 (%46,2)	
Ortaokul	11 (%64,7)	3 (%8,6)	1 (%3,8)	
Lise	3 (1-3)	3 (1-5)	3 (1-5)	
Lisans	0	7(%20)	2 (%7,7)	

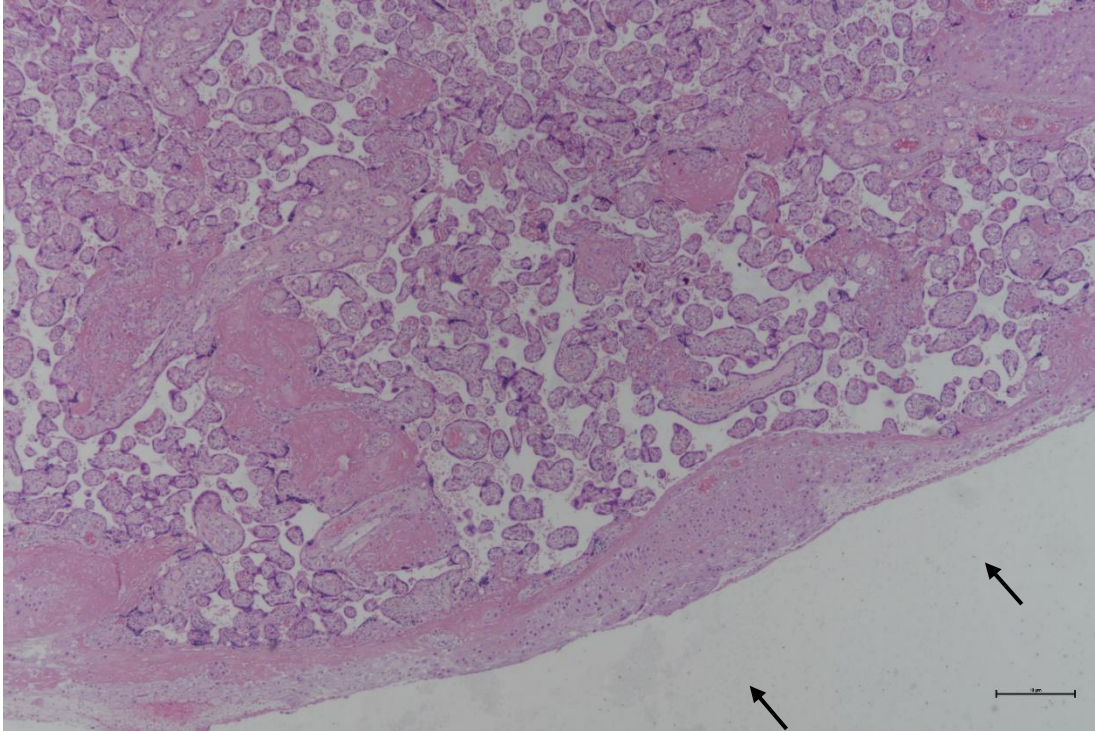
Çalışmaya dahil edilen hastaların plasentalara histopatolojik inceleme yapıldı, İHK boyama yapıldı. H&E boyamada dokusal bozulmalar not edildi , SMA boyanan vakalar not edildi.



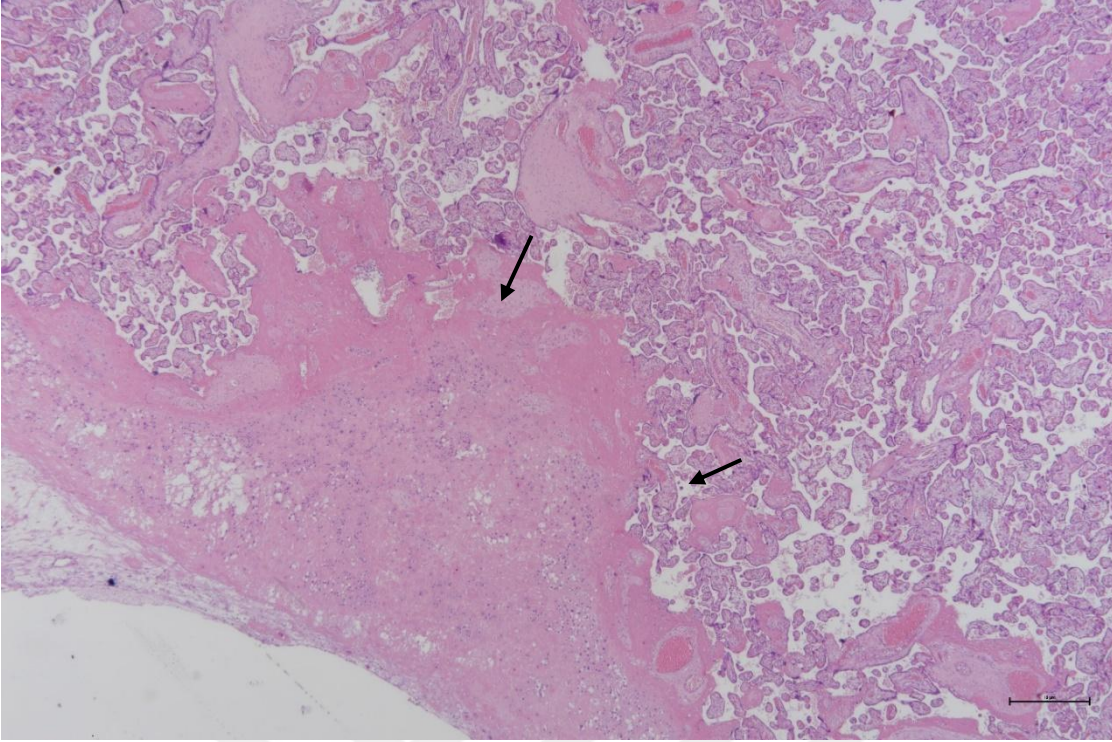
Şekil 1. SMA boyama yapılan SMA negatif boyanan plasental maternal yüz okla gösterilmiştir. Bazal tabada SMA boyanma izlenmemiştir. Resmin sol tarafına, plasentanın fetal tarafına bakıldığında damar duvarındaki kas dokusunun SMA boyandığı izlenmektedir.



Şekil 2. SMA boyama yapılan SMA pozitif boyanan plasental maternal yüz okla gösterilmiştir. Bazal tabada SMA boyanma izlenmiştir.



Şekil 3. H&E boyama ile dokusal bozulma izlenmeyen plasentanın maternal yüzünün incelenmesi. Şekilde dokusal bozulma izlenmemektedir.



Şekil 4. H&E boyama ile ile dokusal bozulma izlenen plasentanın maternal yüzünün incelenmesi. Şekilde plasentanın maternal yüzünde bazal tabada dokusal bozulma izlenmektedir, bu alanda miyofibriller olduğunu düşündüren alanlar mevcuttur.

Birinci CS grubunda plesantal HLA-E ve HLA-G protein ifadenme değerleri arasında anlamlı,pozitif yönlü, ve orta düzeyde ilişki bulundu ($r=0,526$, $p=0,030$).

Birinci CS grubunda plesantal HLA-E ve PLAC8 protein ifadenme değerleri arasında anlamlı,pozitif yönlü, ve yüksek düzeyde ilişki bulundu ($r=0,610$, $p=0,009$).

Birinci CS grubunda plesantal HLA-E ve S100B protein ifadenme değerleri arasında anlamlı,pozitif yönlü, ve yüksek düzeyde ilişki bulundu ($r=0,733$, $p=0,001$).

Birinci CS grubunda plesantal HLA-G ve PLAC8 protein ifadenme değerleri arasında anlamlı bulunmadı ($r=0,343$, $p=0,178$).

Birinci CS grubunda plesantal HLA-G ve S100B protein ifadenme değerleri arasında anlamlı bulunmadı ($r=0,360$, $p=0,155$).

Birinci CS grubunda plesantal PLAC8 ve S100B protein ifadenme değerleri arasında anlamlı, pozitif yönlü, ve orta düzeyde ilişki bulundu. ($r=0,489$, $p=0,046$)

Geçirilmiş CS grubunda plesantal HLA-E ve HLA-G protein ifadenme değerleri arasında anlamlı,pozitif yönlü, ve orta düzeyde ilişki bulundu ($r=0,565$, $p=0,001$).

Geçirilmiş CS grubunda plesantal HLA-E ve PLAC8 protein ifadenme değerleri arasında anlamlı,pozitif yönlü, ve orta düzeyde ilişki bulundu ($r=0,415$, $p=0,013$).

Geçirilmiş CS grubunda plesantal HLA-E ve S100B protein ifadenme değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($r=0,320$, $p=0,061$).

Geçirilmiş CS grubunda plesantal HLA-G ve PLAC8 protein ifadenme değerleri arasında anlamlı anlamlı,pozitif yönlü, ve orta düzeyde ilişki bulundu ($r=0,480$, $p=0,004$).

Geçirilmiş CS grubunda plesantal HLA-G ve S100B protein ifadenme değerleri arasında anlamlı,pozitif yönlü, ve zayıf düzeyde ilişki bulundu ($r=0,340$, $p=0,046$)

Geçirilmiş grubunda plesantal PLAC8 ve S100B protein ifadenme değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($r=0,128$, $p=0,463$)

Mükerrer CS grubunda plesantal HLA-E ve HLA-G protein ifadenme değerleri arasında anlamlı,pozitif yönlü, ve orta düzeyde ilişki bulundu ($r=0,408$, $p=0,038$).

Mükerrer CS grubunda plesantal HLA-E ve PLAC8 protein ifadenme değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($r=0,043$, $p=0,836$).

Mükerrer CS grubunda plesantal HLA-E ve S100B protein ifadenme değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($r=0,235$, $p=0,247$).

Mükerrer CS grubunda plesantal HLA-G ve PLAC8 protein ifadenme değerleri arasında anlamlı,pozitif yönlü, ve orta düzeyde ilişki bulundu ($r=0,421$, $p=0,032$).

Mükerrer CS grubunda plesantal HLA-G ve S100B protein ifadenme değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($r=0,341$, $p=0,088$)

Mükerrer CS grubunda plesantal PLAC8 ve S100B protein ifadenme değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($r=0,106$, $p=0,607$)

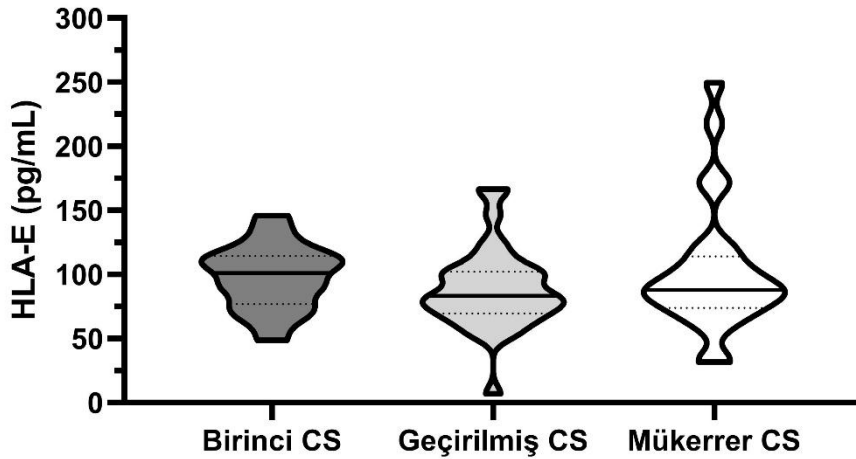
Bu bulgular doğrultusunda Birinci CS grubunda plasental dokuda çalışılan proteinlerin birbirleri ile çoğunlukla orta düzeyde ilişkili olduğu görüldü. Bu durum HLA-G, HLA-E, PLAC8, VE S100B proteinlerinin plasental dokuda birlikte aktivite gösterdikleri yönünde değerlendirildi.

Bu bulgular doğrultusunda Geçirilmiş CS grubunda plasental dokuda çalışılan proteinlerin birbirleri ile Birinci CS grubuna göre daha az anlamlı ilişkili gösterdikleri görüldü.

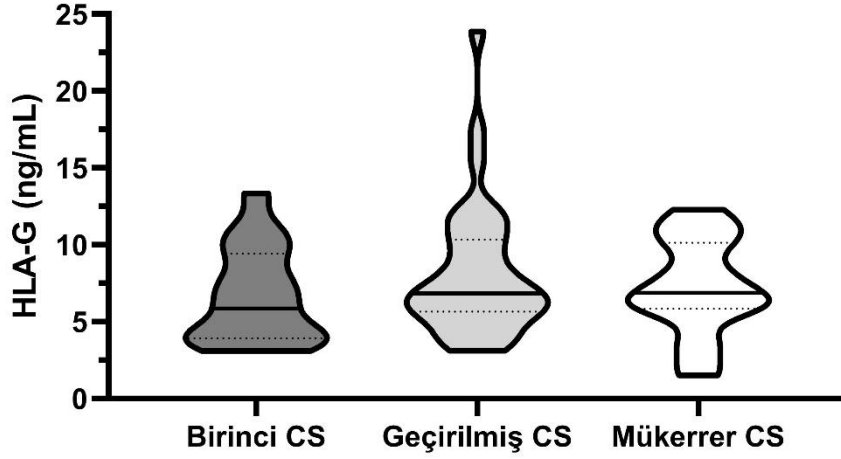
Bu bulgular doğrultusunda Mükerrer CS grubunda plasental dokuda çalışılan proteinlerin birbirleri ile Birinci ve Geçirilmiş CS grubuna göre daha az anlamlı ilişkili gösterdikleri görüldü.

Çalışma gruplarında yukarıda bahsedildiği gibi araştırma proteinlerinin ifadenmeleri arasındaki ilişkilerin birinci CS'den mükerrer CS'ye doğru gidildikçe azalması, sezaryen sayısı arttıkça plasental dokudaki aktivitelerinin farklı olduğunu desteklemektedir.

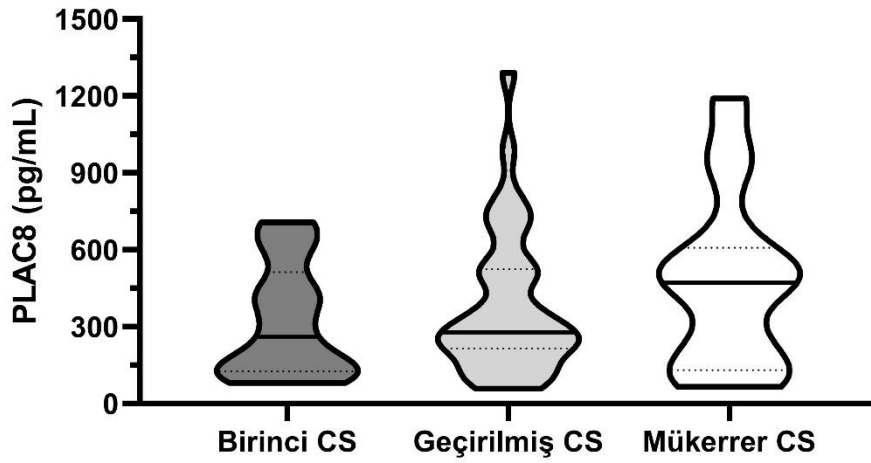
Kruskal-Wallis ANOVA testi ile çalışma gruplarının Birinci, Geçirilmiş, ve Mükerrer CS gruplarında plasental doku homojenatlarında ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E, HLA-G, PLAC8, ve S100B protein ifadenme düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,344$).



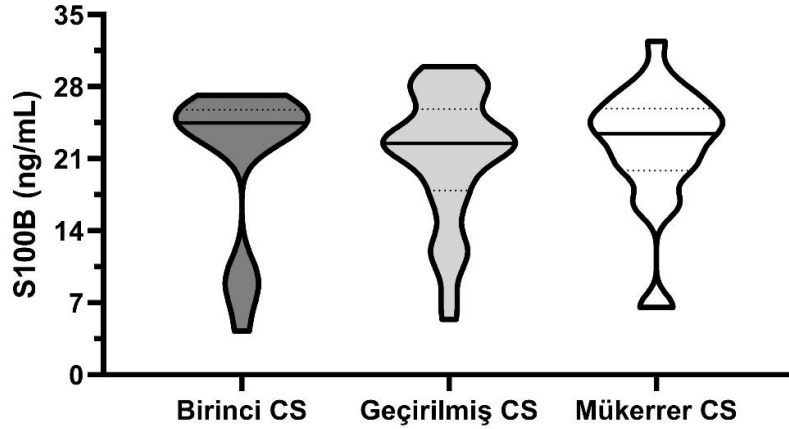
Şekil 1. Birinci, geçirilmiş, ve mükerrer CS gruplarında plasental doku homojenatlarında ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E protein ifadenmelerinin viyolonsel grafiği. Veriler ortanca (koyu çizgi) ve %25-75 persantil (noktalı çizgiler) ve minimum-maksimum (en küçük- en büyük sınırlar) olarak sunuldu. Kruskal-Wallis ANOVA testi ile çalışma gruplarının HLA-E protein ifadenme düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,344$).



Şekil 2. Birinci, geçirilmiş, ve mükerrer CS gruplarında plesantal doku homojenatlarında ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E protein ifadenmelerinin viyolonsel grafiği. Veriler ortanca (koyu çizgi) ve %25-75 persantil (noktalı çizgiler) ve minumum-maksimum (en küçük- en büyük sınırlar) olarak sunuldu. Kruskal-Wallis ANOVA testi ile çalışma gruplarının HLA-G protein ifadenme düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,587$).

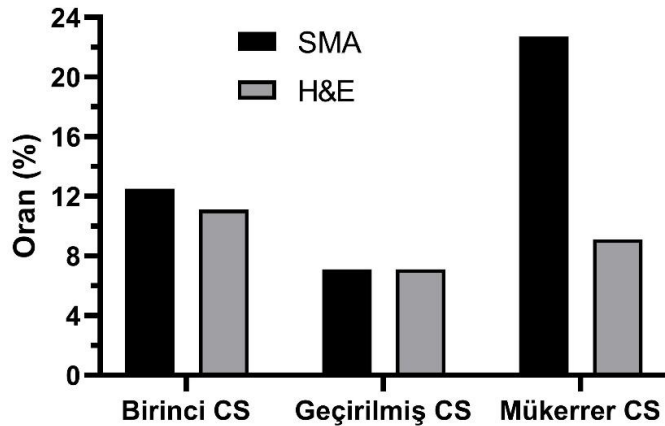


Şekil 3. Birinci, geçirilmiş, ve mükerrer CS gruplarında plesantal doku homojenatlarında ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E protein ifadenmelerinin viyolonsel grafiği. Veriler ortanca (koyu çizgi) ve %25-75 persantil (noktalı çizgiler) ve minumum-maksimum (en küçük- en büyük sınırlar) olarak sunuldu. Kruskal-Wallis ANOVA testi ile çalışma gruplarının PLAC8 protein ifadenme düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,375$).



Şekil 4. Birinci, geçirilmiş, ve mükerrer CS gruplarında plasental doku homojenatlarında ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E protein ifadenmelerinin viyolonsel grafiği. Veriler ortanca (koyu çizgi) ve %25-75 persantil (noktalı çizgiler) ve minimum-maksimum (en küçük- en büyük sınırlar) olarak sunuldu. Kruskal-Wallis ANOVA testi ile çalışma gruplarının S100B protein ifadenme düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,776$).

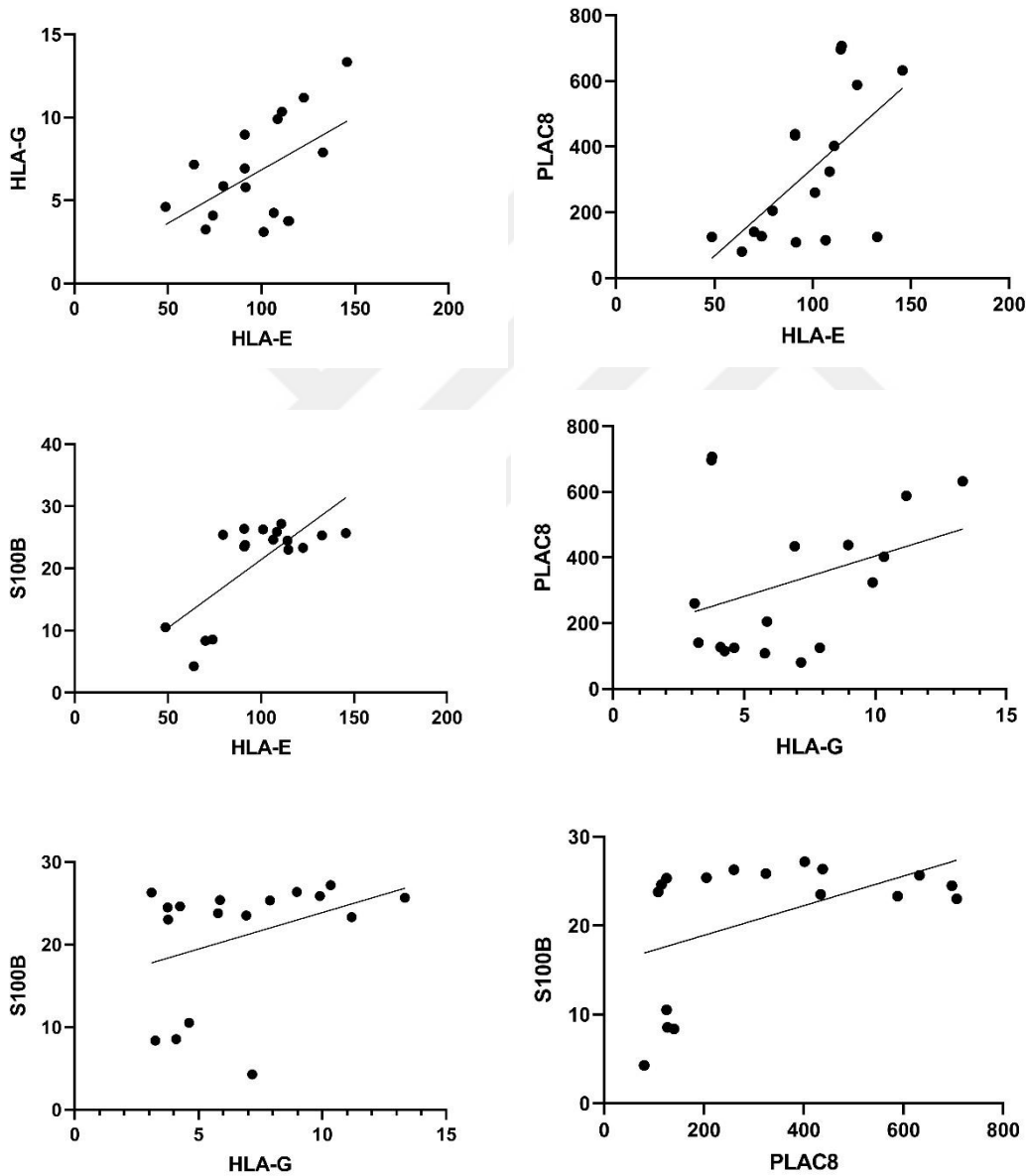
Histopatolojik incelemede ölçülen H&E ile dokusal bozulma pozitifliği ve İHK ile SMA boyanma pozitifliği durumları değerlendirildi. Çalışma gruplarında pozitif olan olgu sayılarının az olması nedeniyle ki-kare testi yapılarak pozitiflik oranları karşılaştırılmadı. Gözle değerlendirildiğinde Birinci CS ve Geçirilmiş CS gruplarında hem dokusal bozulma hemde SMA boyanma pozitifliği birbirine benzer oranda gözlemlendi, ama Mükerrer CS grubunda dokusal bozulma pozitifliği oranına göre SMA boyanma pozitifliği oranı üç kat kadar daha fazla gözlemlendi.



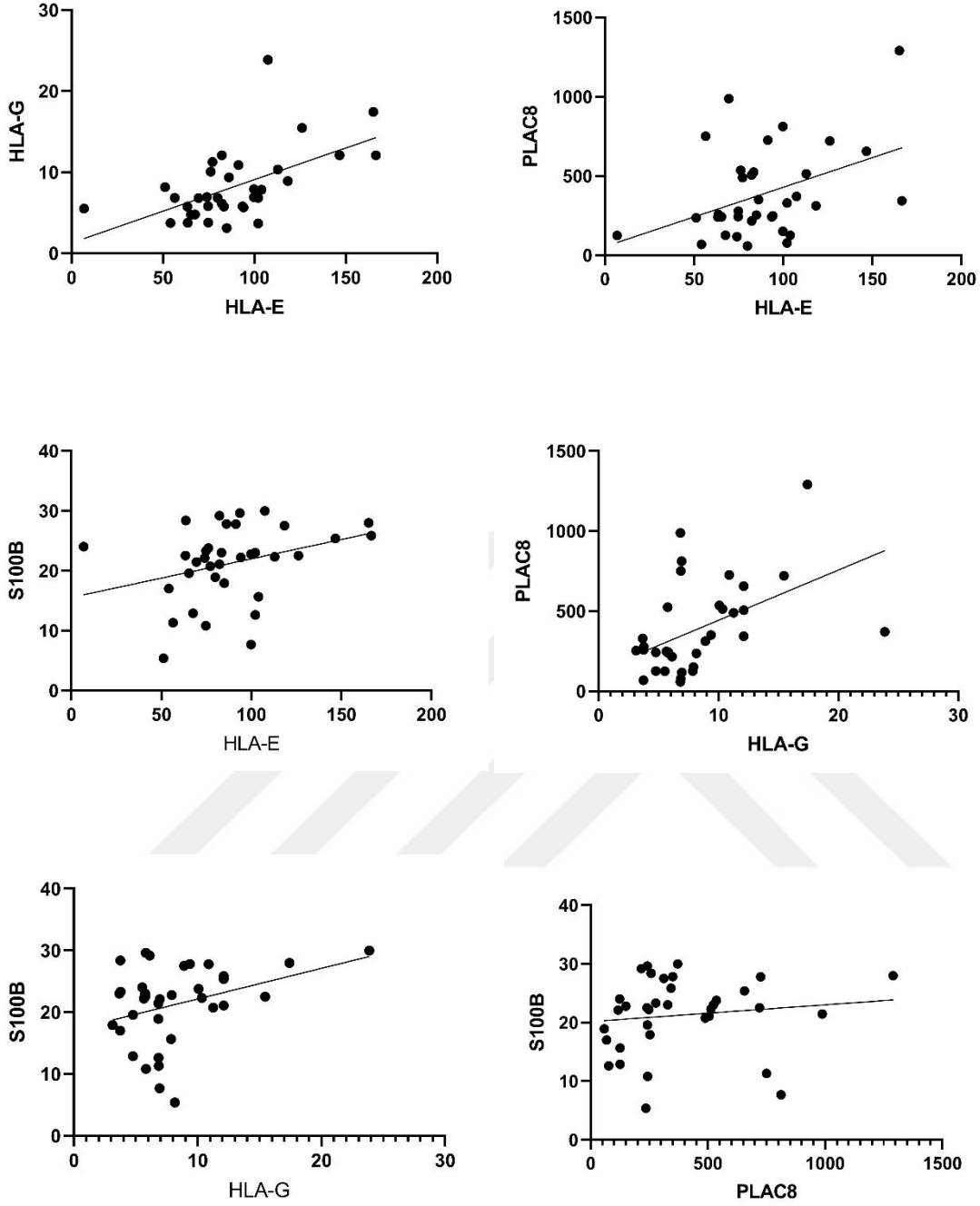
Şekil 5. Birinci, Geçirilmiş, ve Mükerrer CS gruplarında histopatolojik incelemede ölçülen H&E ile dokusal bozulma pozitifliği ve İHK ile SMA boyanma pozitifliği oranlarının grafiği. Çalışma grupları arasında bu parametreler açısından fark olup olmama durumu olgu sayısı azlığı nedeniyle istatistiksel olarak analiz edilemedi.

Birinci, Geçirilmiş, ve Mükerrer CS gruplarında H&E ile dokusal bozulma pozitifliği olan ve olmayan olguların plesantal doku homojenatlarında ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E, HLA-G, PLAC8, ve S100B protein ifadenme düzeyleri benzer bulundu ($p>0,05$).

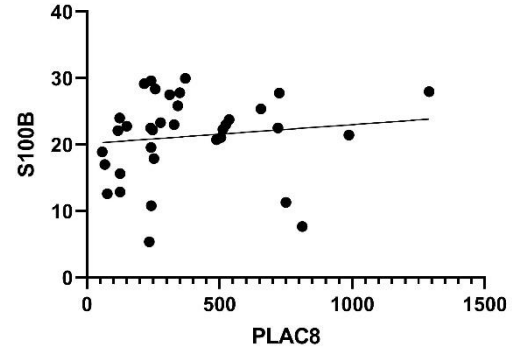
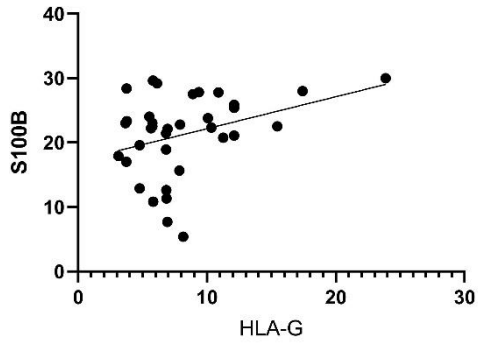
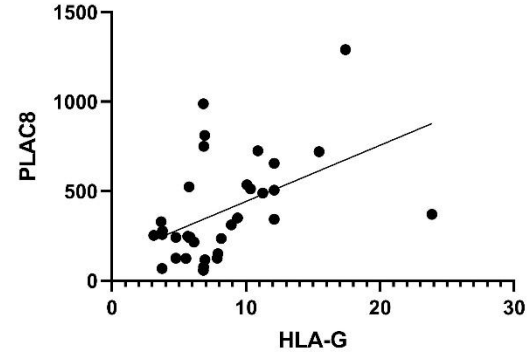
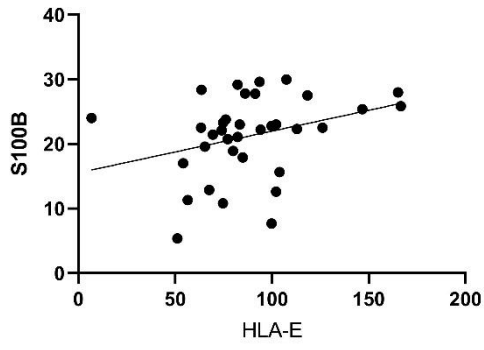
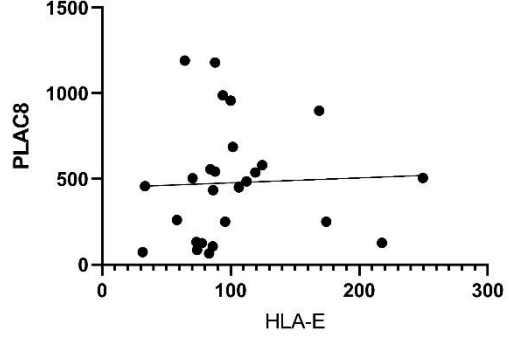
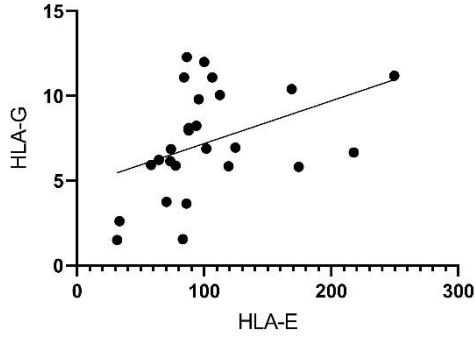
Birinci, Geçirilmiş, ve Mükerrer CS gruplarında İHK ile SMA boyanma pozitifliği olan ve olmayan olguların plesantal doku homojenatlarında ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E, HLA-G, PLAC8, ve S100B protein ifadenme düzeyleri benzer bulundu ($p>0,05$).



Şekil 6. Birinci CS grubundaki ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E, HLA-G, PLAC8, ve S100B protein ifadenme düzeyleri



Şekil 7. Geçirilmiş CS grubundaki ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E, HLA-G, PLAC8, ve S100B protein ifadenme düzeyleri



Şekil 8. Mükerrer CS grubundaki ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E, HLA-G, PLAC8, ve S100B protein ifadenme düzeyleri

5. TARTIŞMA

Plasenta akreata spektrumu (PAS), plasenta akreata, plasenta inkreta ve plasenta perkreta dahil olmak üzere anormal plasental implantasyona bağılı çeşitli gebelik komplikasyonları için bir şemsiye terimdir. Geçtiğimiz birkaç on yıl boyunca, PAS prevalansı artmaktadır ve bu hastalığın patogenezinin iyi bilinmesi, ciddi komplikasyonları nedeniyle önemlidir(Gyamfi-Bannerman, 2018).

Tekrarlayan sezaryen doğumlarla kaçınılmaz olarak gelişebilen PAS hastalıklarının patogenezinde önemli bilinmeyenler vardır, patogenezinin daha iyi tanımlanması önemli bir gerekliliktir. BPMF bulgusunun altta yatan mekanizmalarının incelenmesi önemli bir gerekliliktir. Literatürde ağırlıklı olarak histolojik bulguları irdeleyen çalışmalar olsa da plasentanın maternal yüzünde BPMF bulgusu olduğunda ekspresyonu değişen proteinlerin incelendiği çalışmalar yeterli oranda değildir (Heller et al., 2019).

Hamilelik, muhtemelen memeli biyolojisinde görülen en ilginç bağışıklık uyum örneklerinden biridir. Plasenta, anne ve çocuk arasında, kendi bağışıklık sisteminin olgunlaşmadığı veya olmadığı bir zamanda annenin bağışıklık hücrelerinin allojenik çocuğa tepkisini düzenleyerek bir bariyer sağlar. Plasentanın EVT hücreleri, annenin kan akışıyla bağlantı kuran bir yaşam kurmak için annenin rahim dokusunun derinliklerine invaze olur. EVT hücreleri ve maternal immün hücreler arasındaki etkileşimin, implantasyon ve gelişim için kontrol edici bir etki sağladığı bilinmektedir(Velicky et al., 2016).

Sınıf I HLA'lar olan HLA-E, F, G moleküllerinin - gelişmekte olan yavrularına annenin kontrollü bir bağışıklık tepkisini oluşturmaya yardımcı olmak için - bireysel ve etkileşimli olarak nasıl hareket ettiklerine BPMF bulunan plasentalarda incelenmesine özel olarak odaklanmanın plasental patofizyolojik durumların anlaşılmasına önemli katkısı olabilecektir. Gerçekten de, maternal desiduaı istila eden EVT hücreleri, şimdiye kadar klasik olmayan üç antijeni aynı anda eksprese ettiği bilinen tek normal hücrelerdir. HLA-E, -F ve -G proteinlerine ek olarak S100P, PLAC8 proteinleri de EVT hücrelerinin farklılaşması ve işlevleri açısından önemli bulunmaktadır (Kamal et al., 2022) (Chang et al., 2018).

Bu araştırma plasental BPMF durumu ile HLA-E, ve G'nin ve S100P, PLAC8 ekspresyonlarının incelenmesi bu araştırmanın odağı olarak belirlenmiştir. Bu bağlamda BPMF bulgusu olan ve olmayan plasental doku örneklerinde HLA-E, ve G proteinleriyle S100P, PLAC8 proteinlerinin ekspresyonları immünohistolojik ve biyokimyasal olarak ilk kez incelenecektir. Hücresel önemli görevleri olan bu moleküllerin BPMF oluşumunda nasıl işlev yaptığının

bilinmesi BPMF gelişiminin patogenezinin anlaşılmasına önemli katkı yapabilecektir. Bu araştırmanın sonuçları nihai olarak PAS hastalıklarının patogenezinin yorumlanmasına katkı yapabilir.

Bu çalışmanın uzun dönem/genel amacı/beklentisi BPMF oluşumuyla HLA-E, -G proteinleri ve PLAC8 proteinlerinin ilişkisinin aydınlatılmasıyla PAS hastalığının patogenezinine yönelik ipuçları elde ederek kadın üreme sağlığına katkı yapmaktır.

Sezaryen doğum yapan annelerden toplanan plasental doku mataryellerini kullanacak bu araştırmanın kısa dönem amaçları/beklentileri şunlardır:

(1) İlk ve geçirilmiş sezaryen doğum yapan annelerde BPMF oluşumunun durumunu belirlemektir.

(2) BPMF oluşumunda HLA-E, ve G proteinleriyle PLAC8 proteinlerinin paylarını belirlemektir.

1997 de Amerikan patoloğlar birliği plasenta incelemesi için guideline yayınlamış fakat yıllar içerisinde bu değerlendirmenin yetersiz olduğu görülmüştür (Langston et al., 1997), (Curtin et al., 2007). Plasentanın patolojik incelenmesindeki ana amaç, bir sonraki gebeliklerinde oluşabilecek riskli gebelikleri öngörerek klinisyenlere yardımcı olmaktır, anne ve bebek sağlığını artırmaktır. Plasenta iki farklı insanın katkı sağladığı bir doku olduğundan plasentanın incelenmesi annenin ilerdeki sağlığı hakkında bilgi sağlar (Wyand et al., 2018). Ölümcül maternal kanamalara neden olabilen PAS görüme sıklığı sezaryen sayılarının artmasıyla artmaktadır. Bu artış nedeniyle klinisyenler endişe duymaktadır (Ernst et al., 2017).

2001 yılında, yapılan bir çalışmada patoloğlar klinik olarak plasenta akreata şüphesi olmayan hastaların plasental patolojik incelemesinde bazal tabaka miyofibriller izlenmiştir (Khong & Werger, 2001). Ernst ve arkadaşları bazal tabaka miyofibrillerinin plasenta akreata için risk faktörü olduğunu öne sürmüşlerdir (Linn et al., 2015), (Miller et al., 2016).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, doğum sonrası kanaması çok olan (>1500 cc) hastaların yarısının plasentalarının patolojik incelemelerinde histolojik olarak plasenta akreata tanısı almış , daha ileri incelemelerde immunohistokimya boyama yapıldığında bazal tabaka miyofiberlerin varlığını teyit eden düz kas biyobelirteçleri izlenmiştir (Roeca et al., 2017).

Heller ve arkadaşlarının yaptığı 135 plasentanın incelendiği bir çalışmada, 89 hastanın bir sonraki gebeliklerindeki plasentalar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışılan 89 hastanın 42 isinde sonraki gebeliklerin plasentalarında da bazal

tabakada miyofibriller izlenmiş ve tekrarladığı gösterilmiştir (Heller et al., 2019).

İnsan plasentasındaki trofoblastlarda moleküler belirteçlerin, proteinlerin yapılarını ve görevlerini anlamak çok değerlidir. Hastalıkların patofizyolojisini anlamak ve öngörmek adına pek çok çalışma yapılmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar, yayınlar ışığında pek çok gebeliğe bağlı hastalıkta plasentanın rolü olduğu bilinmektedir. Biz de bu çalışmamız da, plasentanın oluşumunda invazyonunu sağlayan, plasenta akreata patofizyolojisinde rol aldığını öngördüğümüz trofoblast kaynaklı HLA-E, ve G proteinleriyle PLAC8 proteinlerinin rolünü ortaya koymaktır. İlerleyen dönemde patofizyolojisine ışık tuttuğumuz bu alana faydası olacağını düşünmekteyiz.

BPMF gelişiminde önemli rolleri olabilecek, özellikle üzerinde araştırmacıların yeni odaklandığı moleküllerin durumu yeteri kadar irdelenmemiştir. Bu konuda literatür incelendiğinde trofoblastların gelişiminde ve işlevinde önemli rolleri olan moleküller bulunmaktadır. Bu moleküllerin araştırılması BPMF oluşmasının fizyopatolojisinin aydınlatılmasında dolayısı ile PAS hastalıklarının patogenezinin bilinmesinde önemli katkılar yapabilir.

Chang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada her trimesterden farklı haftalarda aldıkları plasentaları inceleyerek PLAC-8 hakkında inceleme yapmışlar. Bunun için 6 hafta, 19 hafta ve 38 haftalık plasentaları incelemeye alarak, plasentaları immunofloresan boyama ile incelemişlerdir. Yapılan incelemede plasentanın maternal yüzünde yani maternal desuduaı invaze eden iEVT de görüldüğü gösterilmiştir. Çalışmada konfirme etmek için bir diğer EVT marker olduğu bilenen HLA-G göstermek için HLA-G antikorları ile pozitif boyanarak gösterilmiştir. PLAC-8 in maternal uterus duvarına invazyonda görev aldığı bilindiğinden vimentin ile boyama ile myometriyal hücreler boyanmış, yapılan incelemede ise vimentin ile boyanan hücrelerin etrafındaki hücrelerde PLAC-8 konsantrasyonunun fazla olduğu gösterilmiştir. Bu sayede PLAC-8 ekspresyonunun fazla olması plasenta invazyonunun arttığı öne sürülmüştür (Chang et al., 2018).

Heller ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada plasentanın patolojik incelemesinin geliştirilmesi için dizayn edilen bir çalışmada daha önceki plasenta patoloji incelemesinde bazal tabaka miyometriyal lifler görünen plasentalarda, sezaryan öyküsü olan ve akreata tanısını dışlamak istenen vakalarda, kendiliğinden çıkmayan, elle hallas ile çıkarılan, parçalanmış plasentalar ve ultrasonda akreata şüphesi olan hastaların plasentalarında bazal plaka miyometriyal lifler bakılmış, aktin ile immunohistokimya ile boyanarak bakıldığındaki incelemelerde BPMF görülmüştür. Bu çalışmada klinik PAS

şüphe ile gönderilen 89 hastanın 42 sinde saptanmış, . kontrol grubu incelemesinde ise hiç BPMF saptanmamıştır. Yine bu çalışmada hastaların bir sonraki doğumlarındaki plasentaları da incelenerek BPMF bakıldığında , tekrarlama oranı %100 raporlamışlar (Heller et al., 2019).

Çalışmamızdaki bulgular doğrultusunda, trofoblast varlığını ve aktivitesini gösteren HLA-E, ve G proteinleriyle PLAC8 proteinlerinin sezaryen sayısı arttıkça plasental dokudaki aktivitelerinin farklı olduğunu desteklemektedir. Plasenta akreata için risk faktörü olduğunu öne sürülen bazal tabaka miyofibrillerinin varlığı ile BPMF oluşumunda HLA-E, ve G proteinleriyle PLAC8 proteinlerinin paylarını belirlemek için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ

Günümüzde artan sezaryen sayıları ile giderek artmakta olan kötü maternal ve fetal sonuçlara yol açabilecek olan PAS karşımıza çıkmaktadır. Doğum sonrası sıklıkla kan transfüzyonu ihtiyacı doğuran hatta yaşamı tehdit eden boyutlarda obstetrik kanamalara neden olduğu bilinmektedir. PAS gözlenen doğum yapan kadınlarda anne ölüm oranları artmaktadır. Ek olarak, PAS olan hastaların doğum sırasında veya doğum sonrası dönemde histerektomiye ihtiyaç duyma olasılığı daha yüksektir ve hastanede kalış süreleri daha uzundur.

Plasenta akreta spektrumunun etiyojisi ile ilgili en yaygın hipotez, endometriyal-miyometriyal ara yüzeydeki bir kusurun uterus skarı olan bölgedeki desidualizasyonun etkilenmesi ve bozuk desidualizasyonla birlikte bu alanda plekantil vilusların anormal biçimde derin olması ve artmış trofoblast infiltrasyon olmasıdır. Bu hipotez ile daha önce geçirilmiş uterin müdahale operasyon öyküsü olmayan hastalarda ve nullipar olan hastalarda görülen PAS tanısını açıklamamaktadır. Pas etiyojisi ve patogenezi hala net anlaşılamamıştır. Bu nedenlerle PAS ele alınması gereken, patofizyolojisi anlaşılması gereken bir durumdur.

Yaşamı tehdit edebilen PAS tanısının atlanmaması, riskli hastaların değerlendirilmesinin gecikmemesi ve gerekli hazırlıkların yapılması açısından antenatal değerlendirilmesi önemlidir. Vakaların değerlendirilmesinde ideal olanı, PAS risk faktörü taşıyan hastaları belirleyerek (örneğin; daha önce geçirilmiş sezaryen öyküsü olan plasenta previa varlığı) bu hastaları PAS konusunda tecrübeli Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanı tarafından ve görüntüleme bu konuda tecrübeli ekip tarafından değerlendirilmesidir.

Klinik olarak tanısı net koyulamayan vakalarda histopatolojik tanı yardımcı olmaktadır. Hala patofizyolojisi net anlaşılamayan PAS'ın histolojik incelemesinde son yıllarda gelişmeler yaşanmıştır. Güncel literatür PAS hastalıklarının histolojik özelliklerinin yeni tanımlamalara uygun olarak incelendiği yeni araştırmaların yapılmasının faydalı olacağını göstermektedir.

PAS hastalarının plasentalarının histopatolojik olarak incelendiği çalışmalarda gözlemlendiği üzere plasentanın maternal yüzünde bazal tabakada bazı değişiklikleri izlendiği görülmüştür. Bazal tabakanın incelenmesi, normalde kesintisiz devam ettiğini bildiğimiz bazal tabanın miyometriyuma uzanan damarlar ile kesilmesi, ve yine bazal tabakada miyometriyuma ait hücrelerin, aktin gibi miyofiberlerin görülmesi PAS olgularında dikkat çeken bulgulardır.

Plesantasyonun ilk aşamasından itibaren invazyonda, plesantasyonun aşamalarında görev yaptığı bilinen trofoblastların önemi yeterince anlaşılamamıştır. Trofoblastların görev almasında aktivitesinde görevli olabilecek olan proteinlere değinilmiştir. Yapılan çalışmalarda, plasentadaki ekstrasvillöz trofoblastların (EVT'ler) yüzeyinde eksprese edilen immünolojik toleransın gelişmesinde ve maternal uterus duvarına invazyonda görev aldığı bilinen HLA-G, HLA-E, PLAC8 proteinlerinin plasantasyonda görev aldığı bilinmektedir. Chang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada PLAC-8 ekspresyonunun fazla olması plesanta invazyonunun arttığı öne sürülmüştür.

Yaptığımız çalışmada geçirilmiş sezaryen sayılarına göre ayırdığımız gruplar arasında demografik özellikleri arasında anlamlı fark bulunmadı. Birinci, Geçirilmiş, ve Mükerrer CS gruplarında İHK ile SMA boyanma pozitifliği olan ve olmayan olguların plesantal doku homojenatlarında ELISA yöntemi ile ölçülen HLA-E, HLA-G, PLAC8, ve S100B protein ifadenme düzeyleri benzer bulundu.

Bu bulgular doğrultusunda Geçirilmiş CS grubunda plesantal dokuda çalışılan proteinlerin birbirleri ile Birinci CS grubuna göre daha az anlamlı ilişkili gösterdikleri görüldü.

Bu bulgular doğrultusunda Mükerrer CS grubunda plesantal dokuda çalışılan proteinlerin birbirleri ile Birinci ve Geçirilmiş CS grubuna göre daha az anlamlı ilişkili gösterdikleri görüldü.

Çalışma gruplarında yukarıda bahsedildiği gibi araştırma proteinlerinin ifadenmeleri arasındaki ilişkilerin birinci CS'den mükerrer CS'ye doğru gidildikçe azalması, sezaryen sayısı arttıkça plasental dokudaki aktivitelerinin farklı olduğunu desteklemektedir.

Sonuç olarak PAS patofizyolojisinde rol aldığı bilinen trofoblastların aktivitelerinde etkili olabilecek HLA-E, HLA-G, PLAC8 proteinler ile daha geniş çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKÇA

- Algendaby, M. M. (2021). Quercetin attenuates cisplatin-induced ovarian toxicity in rats: Emphasis on anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic activities. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(7), 103191. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103191>
- Angstmann, T., Gard, G., Harrington, T., Ward, E., Thomson, A., & Giles, W. (2010). Surgical management of placenta accreta: a cohort series and suggested approach. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 202(1), 38.e1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2009.08.037>
- Bowman, Z. S., Eller, A. G., Bardsley, T. R., Greene, T., Varner, M. W., & Silver, R. M. (2014). Risk factors for placenta accreta: a large prospective cohort. *American Journal of Perinatology*, 31(9), 799–804. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1361833>
- Breen, J. L., Neubecker, R., Gregori, C. A., & Franklin, J. E. J. (1977). Placenta accreta, increta, and percreta. A survey of 40 cases. *Obstetrics and Gynecology*, 49(1), 43–47.
- Burton, G. J., & Jauniaux, E. (2015). What is the placenta? *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 213(4 Suppl), S6.e1, S6-8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.07.050>
- Cahill, A. G., Beigi, R., Heine, R. P., Silver, R. M., & Wax, J. R. (2018). Placenta Accreta Spectrum. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 219(6), B2–B16. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.09.042>
- Chang, W.-L., Liu, Y.-W., Dang, Y.-L., Jiang, X.-X., Xu, H., Huang, X., Wang, Y.-L., Wang, H., Zhu, C., Xue, L.-Q., Lin, H.-Y., Meng, W., & Wang, H. (2018). PLAC8, a new marker for human interstitial extravillous trophoblast cells, promotes their invasion and migration. *Development (Cambridge, England)*, 145(2). <https://doi.org/10.1242/dev.148932>
- Collins, S. L., Alemdar, B., van Beekhuizen, H. J., Bertholdt, C., Braun, T., Calda, P., Delorme, P., Duvekot, J. J., Gronbeck, L., Kayem, G., Langhoff-Roos, J., Marcellin, L., Martinelli, P., Morel, O., Mhallem, M., Morlando, M., Noergaard, L. N., Nonnenmacher, A., Pateisky, P., ... Chantraine, F. (2019). Evidence-based guidelines for the management of abnormally invasive placenta: recommendations from the International Society for Abnormally Invasive Placenta. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 220(6), 511–526. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.02.054>
- Committee Opinion No. 713: Antenatal Corticosteroid Therapy for Fetal

- Maturation. (2017). *Obstetrics and Gynecology*, 130(2), e102–e109. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002237>
- Comstock, C. H., & Bronsteen, R. A. (2014). The antenatal diagnosis of placenta accreta. *BJOG : An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 121(2), 171–172. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12557>
- Cramer, S. F., & Heller, D. S. (2016). Placenta Accreta and Placenta Increta: An Approach to Pathogenesis Based on the Trophoblastic Differentiation Pathway. *Pediatric and Developmental Pathology : The Official Journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society*, 19(4), 320–333. <https://doi.org/10.2350/15-05-1641-OA.1>
- Curtin, W. M., Krauss, S., Metlay, L. A., & Katzman, P. J. (2007). Pathologic examination of the placenta and observed practice. *Obstetrics and Gynecology*, 109(1), 35–41. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000247646.19979.9f>
- D'Antonio, F., Iacovella, C., & Bhide, A. (2013). Prenatal identification of invasive placentation using ultrasound: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology : The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 42(5), 509–517. <https://doi.org/10.1002/uog.13194>
- DaSilva-Arnold, S., James, J. L., Al-Khan, A., Zamudio, S., & Illsley, N. P. (2015). Differentiation of first trimester cytotrophoblast to extravillous trophoblast involves an epithelial-mesenchymal transition. *Placenta*, 36(12), 1412–1418. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.10.013>
- De Wolf, F., De Wolf-Peeters, C., Brosens, I., & Robertson, W. B. (1980). The human placental bed: electron microscopic study of trophoblastic invasion of spiral arteries. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 137(1), 58–70. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(80\)90387-7](https://doi.org/10.1016/0002-9378(80)90387-7)
- Einerson, B. D., Rodriguez, C. E., Kennedy, A. M., Woodward, P. J., Donnelly, M. A., & Silver, R. M. (2018). Magnetic resonance imaging is often misleading when used as an adjunct to ultrasound in the management of placenta accreta spectrum disorders. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 218(6), 618.e1-618.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.03.013>
- Ernst, L. M., Linn, R. L., Minturn, L., & Miller, E. S. (2017). Placental Pathologic Associations With Morbidly Adherent Placenta: Potential Insights Into Pathogenesis. *Pediatric and Developmental Pathology : The Official Journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society*, 20(5), 387–393. <https://doi.org/10.1177/1093526617698600>

- Fox, K. A., Shamshirsaz, A. A., Carusi, D., Secord, A. A., Lee, P., Turan, O. M., Huls, C., Abuhamad, A., Simhan, H., Barton, J., Wright, J., Silver, R., & Belfort, M. A. (2015). Conservative management of morbidly adherent placenta: expert review. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *213*(6), 755–760. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.04.034>
- Gude, N. M., Roberts, C. T., Kalionis, B., & King, R. G. (2004). Growth and function of the normal human placenta. *Thrombosis Research*, *114*(5–6), 397–407. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2004.06.038>
- Gyamfi-Bannerman, C. (2018). Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Consult Series #44: Management of bleeding in the late preterm period. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *218*(1), B2–B8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.10.019>
- Harris, L. K., Jones, C. J. P., & Aplin, J. D. (2009). Adhesion molecules in human trophoblast - a review. II. extravillous trophoblast. *Placenta*, *30*(4), 299–304. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2008.12.003>
- Hecht, J. L., Baergen, R., Ernst, L. M., Katzman, P. J., Jacques, S. M., Jauniaux, E., Khong, T. Y., Metlay, L. A., Poder, L., Qureshi, F., Rabban, J. T. 3rd, Roberts, D. J., Shainker, S., & Heller, D. S. (2020). Classification and reporting guidelines for the pathology diagnosis of placenta accreta spectrum (PAS) disorders: recommendations from an expert panel. *Modern Pathology : An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, *33*(12), 2382–2396. <https://doi.org/10.1038/s41379-020-0569-1>
- Heller, D. S., Wyand, R., & Cramer, S. (2019). Recurrence of Basal Plate Myofibers, with Further Consideration of Pathogenesis. *Fetal and Pediatric Pathology*, *38*(1), 30–43. <https://doi.org/10.1080/15513815.2018.1546356>
- Higgins, N., Patel, S. K., & Toledo, P. (2019). Postpartum hemorrhage revisited: new challenges and solutions. *Current Opinion in Anaesthesiology*, *32*(3), 278–284. <https://doi.org/10.1097/ACO.0000000000000717>
- Ishitani, A., Sageshima, N., Lee, N., Dorofeeva, N., Hatake, K., Marquardt, H., & Geraghty, D. E. (2003). Protein expression and peptide binding suggest unique and interacting functional roles for HLA-E, F, and G in maternal-placental immune recognition. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *171*(3), 1376–1384. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.3.1376>
- Jauniaux, E., Collins, S., & Burton, G. J. (2018). Placenta accreta spectrum: pathophysiology and evidence-based anatomy for prenatal ultrasound imaging. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *218*(1), 75–87. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.05.067>
- Jimenez-Preitner, M., Berney, X., Uldry, M., Vitali, A., Cinti, S., Ledford, J. G.,

- & Thorens, B. (2011). Plac8 is an inducer of C/EBP β required for brown fat differentiation, thermoregulation, and control of body weight. *Cell Metabolism*, 14(5), 658–670. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.08.008>
- Kamal, S., Kerndt, C. C., & Lappin, S. L. (2022). *Genetics, Histocompatibility Antigen*.
- Khong, T. Y., & Werger, A. C. (2001). Myometrial fibers in the placental basal plate can confirm but do not necessarily indicate clinical placenta accreta. *American Journal of Clinical Pathology*, 116(5), 703–708. <https://doi.org/10.1309/M9BF-6JHH-VF2U-2B8T>
- Kinsey, C., Balakrishnan, V., O'Dell, M. R., Huang, J. L., Newman, L., Whitney-Miller, C. L., Hezel, A. F., & Land, H. (2014). Plac8 links oncogenic mutations to regulation of autophagy and is critical to pancreatic cancer progression. *Cell Reports*, 7(4), 1143–1155. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.03.061>
- Langston, C., Kaplan, C., Macpherson, T., Mancini, E., Peevy, K., Clark, B., Murtagh, C., Cox, S., & Glenn, G. (1997). Practice guideline for examination of the placenta: developed by the Placental Pathology Practice Guideline Development Task Force of the College of American Pathologists. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 121(5), 449–476.
- Linn, R. L., Miller, E. S., Lim, G., & Ernst, L. M. (2015). Adherent basal plate myometrial fibers in the delivered placenta as a risk factor for development of subsequent placenta accreta. *Placenta*, 36(12), 1419–1424. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.10.004>
- Liu, X., Wang, Y., Wu, Y., Zeng, J., Yuan, X., Tong, C., & Qi, H. (2021). What we know about placenta accreta spectrum (PAS). *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 259, 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.02.001>
- Lyell, D. J., Faucett, A. M., Baer, R. J., Blumenfeld, Y. J., Druzin, M. L., El-Sayed, Y. Y., Shaw, G. M., Currier, R. J., & Jelliffe-Pawlowski, L. L. (2015). Maternal serum markers, characteristics and morbidly adherent placenta in women with previa. *Journal of Perinatology : Official Journal of the California Perinatal Association*, 35(8), 570–574. <https://doi.org/10.1038/jp.2015.40>
- Macholdová, K., Macháčková, E., Prošková, V., Hromadníková, I., & Klubal, R. (2019). Latest findings on the placenta from the point of view of immunology, tolerance and mesenchymal stem cells. *Ceska Gynekologie*, 84(2), 154–160.
- Marshall, N. E., Fu, R., & Guise, J.-M. (2011). Impact of multiple cesarean

- deliveries on maternal morbidity: a systematic review. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 205(3), 262.e1-8.
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2011.06.035>
- Mayhew, T. M., & Simpson, R. A. (1994). Quantitative evidence for the spatial dispersal of trophoblast nuclei in human placental villi during gestation. *Placenta*, 15(8), 837–844. [https://doi.org/10.1016/s0143-4004\(05\)80185-7](https://doi.org/10.1016/s0143-4004(05)80185-7)
- Miller, E. S., Linn, R. L., & Ernst, L. M. (2016). Does the presence of placental basal plate myometrial fibres increase the risk of subsequent morbidly adherent placenta: a case-control study. *BJOG : An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 123(13), 2140–2145.
<https://doi.org/10.1111/1471-0528.13579>
- Mogos, M. F., Salemi, J. L., Ashley, M., Whiteman, V. E., & Salihu, H. M. (2016). Recent trends in placenta accreta in the United States and its impact on maternal-fetal morbidity and healthcare-associated costs, 1998-2011. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine : The Official Journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*, 29(7), 1077–1082.
<https://doi.org/10.3109/14767058.2015.1034103>
- Morlando, M., & Collins, S. (2020). Placenta Accreta Spectrum Disorders: Challenges, Risks, and Management Strategies. *International Journal of Women's Health*, 12, 1033–1045. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S224191>
- Perez-Delboy, A., & Wright, J. D. (2014). Surgical management of placenta accreta: to leave or remove the placenta? *BJOG : An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 121(2), 163–170.
<https://doi.org/10.1111/1471-0528.12524>
- Ristić, N., Severs, W., Nestorović, N., Jarić, I., Manojlović-Stojanoski, M., Trifunović, S., Pendovski, L., & Milosević, V. (2016). Effects of Prenatal Dexamethasone on the Rat Pituitary Gland and Gonadotropic Cells in Female Offspring. *Cells Tissues Organs*, 201(2), 148–158.
<https://doi.org/10.1159/000443987>
- Roeca, C., Little, S. E., & Carusi, D. A. (2017). Pathologically Diagnosed Placenta Accreta and Hemorrhagic Morbidity in a Subsequent Pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*, 129(2), 321–326.
<https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001843>
- Rudenko, E. E., Kogan, E. A., Demura, T. A., Zharkov, N. V., Trifonova, N. S., Zhukova, E. V., Aleksandrov, L. S., & Bayanova, S. N. (2020). Immunomorphological Features of the Placenta in Allogeneic Pregnancy as the Background for the Development of Obstetric Complications.

Pathobiology : Journal of Immunopathology, Molecular and Cellular Biology, 87(4), 232–243. <https://doi.org/10.1159/000506776>

- Sentilhes, L., Ambroselli, C., Kayem, G., Provansal, M., Fernandez, H., Perrotin, F., Winer, N., Pierre, F., Benachi, A., Dreyfus, M., Bauville, E., Mahieu-Caputo, D., Marpeau, L., Descamps, P., Goffinet, F., & Bretelle, F. (2010). Maternal outcome after conservative treatment of placenta accreta. *Obstetrics and Gynecology*, 115(3), 526–534. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181d066d4>
- Shamshirsaz, A. A., Fox, K. A., Erfani, H., Clark, S. L., Shamshirsaz, A. A., Nassr, A. A., Sundgren, N. C., Jones, J. A., Anderson, M. L., Kassir, E., Salmanian, B., Buffie, A. W., Hui, S.-K., Espinoza, J., Tyer-Viola, L. A., Rac, M., Karbasian, N., Ballas, J., Dildy, G. A., & Belfort, M. A. (2018). Outcomes of Planned Compared With Urgent Deliveries Using a Multidisciplinary Team Approach for Morbidly Adherent Placenta. *Obstetrics and Gynecology*, 131(2), 234–241. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002442>
- Shamshirsaz, A. A., Fox, K. A., Salmanian, B., Diaz-Arrastia, C. R., Lee, W., Baker, B. W., Ballas, J., Chen, Q., Van Veen, T. R., Javadian, P., Sangi-Haghpeykar, H., Zacharias, N., Welty, S., Cassady, C. I., Moaddab, A., Popek, E. J., Hui, S. R., Teruya, J., Bandi, V., ... Belfort, M. A. (2015). Maternal morbidity in patients with morbidly adherent placenta treated with and without a standardized multidisciplinary approach. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 212(2), 218.e1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.08.019>
- Shellhaas, C. S., Gilbert, S., Landon, M. B., Varner, M. W., Leveno, K. J., Hauth, J. C., Spong, C. Y., Caritis, S. N., Wapner, R. J., Sorokin, Y., Miodovnik, M., O'Sullivan, M. J., Sibai, B. M., Langer, O., & Gabbe, S. G. (2009). The frequency and complication rates of hysterectomy accompanying cesarean delivery. *Obstetrics and Gynecology*, 114(2 Pt 1), 224–229. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181ad9442>
- Silver, R. M., Landon, M. B., Rouse, D. J., Leveno, K. J., Spong, C. Y., Thom, E. A., Moawad, A. H., Caritis, S. N., Harper, M., Wapner, R. J., Sorokin, Y., Miodovnik, M., Carpenter, M., Peaceman, A. M., O'Sullivan, M. J., Sibai, B., Langer, O., Thorp, J. M., Ramin, S. M., & Mercer, B. M. (2006). Maternal morbidity associated with multiple repeat cesarean deliveries. *Obstetrics and Gynecology*, 107(6), 1226–1232. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000219750.79480.84>
- Tabrizi, M. E. A., Lancaster, T. L., Ismail, T. M., Georgiadou, A., Ganguly, A., Mistry, J. J., Wang, K., Rudland, P. S., Ahmad, S., & Gross, S. R. (2018). S100P enhances the motility and invasion of human trophoblast cell lines.

- Scientific Reports*, 8(1), 11488. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29852-2>
- Timor-Tritsch, I. E., Monteagudo, A., Cali, G., Vintzileos, A., Viscarello, R., Al-Khan, A., Zamudio, S., Mayberry, P., Cordoba, M. M., & Dar, P. (2014). Cesarean scar pregnancy is a precursor of morbidly adherent placenta. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology : The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 44(3), 346–353. <https://doi.org/10.1002/uog.13426>
- Usta, I. M., Hobeika, E. M., Musa, A. A. A., Gabriel, G. E., & Nassar, A. H. (2005). Placenta previa-accreta: risk factors and complications. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 193(3 Pt 2), 1045–1049. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2005.06.037>
- van de Water, R. B., Krijgsman, D., Houvast, R. D., Vahrmeijer, A. L., & Kuppen, P. J. K. (2021). A Critical Assessment of the Association between HLA-G Expression by Carcinomas and Clinical Outcome. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15). <https://doi.org/10.3390/ijms22158265>
- Velicky, P., Knöfler, M., & Pollheimer, J. (2016). Function and control of human invasive trophoblast subtypes: Intrinsic vs. maternal control. *Cell Adhesion & Migration*, 10(1–2), 154–162. <https://doi.org/10.1080/19336918.2015.1089376>
- Wu, S., Kocherginsky, M., & Hibbard, J. U. (2005). Abnormal placentation: twenty-year analysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 192(5), 1458–1461. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.12.074>
- Wyand, R., Cramer, S. F., Oshri, A., & Heller, D. S. (2018). Association of Retroplacental Blood With Basal Plate Myofibers. *Pediatric and Developmental Pathology : The Official Journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society*, 21(4), 371–379. <https://doi.org/10.1177/1093526617741071>