

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PREEKLAMPTİK PLASENTALARDA DOĞAL LENFOİD
HÜCRELERİN EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ertan KATIRCI

DOKTORA TEZİ

2023-ANTALYA

Ertan KATIRCI

DOKTORA TEZİ

2023-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PREEKLAMPTİK PLASENTALARDA DOĞAL LENFOİD
HÜCRELERİN EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ertan KATIRCI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Emin Türkay KORGUN

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2021-5422 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2023-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji ve Embriyoloji Programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir. .../...../.....

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Emin Türkay KORGUN
Akdeniz Üniversitesi

.....

Üye : Prof. Dr. Gökhan AKKOYUNLU
Akdeniz Üniversitesi

.....

Üye : Doç. Dr. Enver Kerem DİRİCAN
Akdeniz Üniversitesi

.....

Üye : Prof. Dr. Çiler ÇELİK ÖZENCİ
Koç Üniversitesi

.....

Üye : Prof. Dr. Hakan ÖNER
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

.....

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Melike CENGİZ

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Öğrencinin
Ertan KATIRCI
İmza

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Emin Türkay KORGUN
İmza

TEŞEKKÜR

Doktora tezimi tamamlamamın heyecanını yaşamaktayım. Bu bölümde doktora tezimin tamamlanmasında yardımlarını esirgememiş kişilere teşekkürlerimi sunacağım.

Öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım, akademik hayatta bana ışık tutan rahmetli sayın hocam **Prof. Dr. Necdet DEMİR**'e,

Yüksek lisans ve doktora tezimin son döneminde danışmanlığımı üstlenen, çalışmamda bana yol gösteren ve beni yüreklendiren, bilimsel anlamda beni her zaman daha iyiye götürmek için beni sürekli teşvik eden sayın danışman hocam **Prof. Dr. Emin Türkay KORGUN**'a,

Tezimin uygulama sürecinde yardımlarını esirgemeyen **Öğr. Gör. Dr. Esmâ KIRIMLIOĞLU**'na,

Dokuların temininde bana her türlü kolaylığı sağladığı için **Prof. Dr. Mehmet ŞİMŞEK**'e,

Flow Sitometri yönteminde doğrudan yöntemin uygulama kısmında bana yardımcı olan **Doç. Dr. Durmuş BURGUCU**'ya,

Anabilim Dalımızdaki bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım saygıdeğer tüm hocalarımıza,

Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün değerli çalışanı **Burhan ÇAKMAZ**'a,

Manevi desteklerini biran olsun esirgemeyen sevgili çalışma arkadaşlarıma,

Eşim, sevgilim, dostum, herşeyim **Remziye Ada KENDİRCİ-KATIRCI**'ya bu zorlu yolda her zaman beni desteklediği ve gösterdiği anlayış ve sabır için,

Sevgili ailemin tüm fertlerine, bana her zaman destek oldukları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Preeklamps, plasantasyonun tam olarak gerçekleşmemesi ve immün tolerans ile ilişkili bir hastalıktır. Günümüze kadar yapılan bir çok çalışma da Doğal Lenfoid Hücrelerin (ILC) spiral arterlerin yeniden düzenlenmesinde, immün toleransın sağlanmasında, desiduanın gebeliğe uygun hale getirilmesinde ve homeostazın da önemli roller aldığı tespit edilmiştir. Preeklamps durumunda plasentadaki ekspresyon düzeylerinin normal gebeliğe göre değişip değişmediği bilinmemektedir. Preeklamps vakalarında, ILC'lerin plasentada bulunma düzeylerinin trofoblast invazyonunu etkileyerek spiral arterlerin yeniden düzenlenmesinde anormalliğe neden olacağı ve böylece homeostazı bozarak kan basıncında anormalliklere neden olacağı hipoteziyle, normal gebeliklere göre preeklamptik gebeliklerde ILC'lerin ekspresyonlarında farklılar olabileceğini düşünmekteyiz.

Yöntem: Kontrol grubu (term plasenta örnekleri, n=6), hafif preeklamps grubu (term plasenta örnekleri, n=6) ve ağır preeklamps grupları (term plasenta örnekleri, n=6) oluşturuldu.. Hematoksilen-Eozin boyaması yapılarak normal ve preeklamptik plasenta morfolojileri belirlenmiştir. Preeklamptik ve sağlıklı gebeliklerdeki plasentalarda mevcut olan ILC'lerin sayısal değerini belirlemek için ILC1, ILC2 ve ILC3 tipleri için flow sitometri deneyleri yapılmıştır.

Bulgular: Morfolojik olarak, preeklamptik plasentalar çok sayıda sinsisyal nodlar, fibrin birikimleri, kalsifikasyon alanları ve trofoblast hücre dökülmeleri ile karakterizedir. Flow sitometri sonuçlarımıza göre, ILC1'lerin ekspresyonunda gruplar arasında fark görülmemiştir ($p>0.05$). ILC2 ekspresyonu ise kontrol grubu ile mukayese edildiğinde, hafif ve ağır preeklamps gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artış ($p<0.05$) göstermiştir. ILC3 ekspresyonu ise kontrole kıyasla ağır preeklamps grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış ($p<0.05$) göstermiştir.

Sonuç: Preeklamptik plasentalarda sağlıklı plasentalara göre ILC1'in sayısal miktarı farklılık göstermezken, ILC2 ve ILC3 hücrelerin sayılarında artış mevcuttur. Özellikle preeklampsinin şiddeti arttıkça ILC3 hücrelerin sayısındaki artış istatistiksel olarak daha anlamlı bir şekilde dönüşmektedir.

Anahtar Kelimeler: preeklamps, plasenta, doğal lenfoid hücreler

ABSTRACT

Objective: Preeclampsia is a disease associated with poor placentation and immune tolerance. Many studies have determined that Innate Lymphoid Cells (ILC) play a role in the reorganization of spiral arteries, ensuring immune tolerance, adapting decidua to pregnancy, and homeostasis. It is not known whether the expression levels in the placenta change in the preeclampsia compared to normal pregnancy. We think that there may be differences in the expression of ILCs in preeclamptic pregnancies compared to normal pregnancies, with the hypothesis that the levels of expression of ILCs in the placenta in preeclampsia will affect trophoblast invasion and cause abnormalities in the reorganization of the spiral arteries, thus disrupting homeostasis and causing abnormalities in blood pressure.

Method: Control group (term placenta samples, n=6), mild preeclampsia group (term placenta samples, n=6), and severe preeclampsia group (term placenta samples, n=6) were formed. Normal and preeclamptic placenta morphologies by hematoxylin-eosin staining were determined. Flow cytometry experiments were performed for ILC1, ILC2, and ILC3 types to determine the numerical value of ILCs present in placentas in preeclamptic and healthy pregnancies.

Results: Morphologically, preeclamptic placentas are characterized by numerous syncytial nodes, fibrin deposits, areas of calcification, and trophoblast cell shedding. According to our flow cytometry results, there was no difference between the groups in the expression of ILC1s ($p>0.05$). When ILC2 expression was compared with the control group, it showed a statistically significant increase ($p<0.05$) in mild and severe preeclampsia groups. ILC3 expression showed a statistically significant increase ($p<0.05$) in the severe preeclampsia group compared to the control.

Conclusion: While the expression of ILC1 does not differ in preeclamptic placentas compared to healthy placentas, there is an increase in the number of ILC2 and ILC3 cells. Especially as the severity of preeclampsia increases, the increase in the number of ILC3 cells becomes more statistically significant.

Key words: preeclampsia, placenta, innate lymphoid cells

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Plasenta	3
2.2. Plasenta Çeşitleri	3
2.3. İnsan Plasentası	6
2.4. İmplantasyon ve Desidualizasyon	9
2.5. İnsan Plasentasının Gelişimi	12
2.5.1. Prelaküner Aşama	12
2.5.2. Laküner Aşama	14
2.5.3. Villus Aşama	15
2.6. Villus Tipleri	17
2.7. Trofoblastın Çoklu Fenotipleri	22
2.8. Plasental Fibrinoid	26
2.9. Preeklampsi	27
2.9.1. Preeklampsinin Tanımı	28
2.9.2. Preeklampsinin Histopatolojisi	30
2.9.3. Preeklampsinin Patofizyolojisi	33
2.9.4. Preeklampsi ve İmmün Sistem	37
2.9.5. Preeklampside Sitokinler ve Sistemik İmmün Cevaplar	41
2.10. Doğal Lenfoide Hücreler (ILC)	43
2.10.1. Grup 1 Doğal Lenfoid Hücreler	44
2.10.2. Grup 2 Doğal Lenfoid Hücreler	45

2.10.3. Grup 3 Doğal Lenfoid Hücreler	45
2.11. İnsan Gebeliğinde Doğal Lenfoid Hücrelerin Roller	47
2.11.1. İnsan Gebeliğinde Grup 1 Doğal Lenfoid Hücrelerin Roller	48
2.11.2. İnsan Gebeliğinde Grup 2 Doğal Lenfoid Hücrelerin Roller	50
2.11.3. İnsan Gebeliğinde Grup 3 Doğal Lenfoid Hücrelerin Roller	50
2.12. Literatür Özeti	51
3. GEREÇ ve YÖNTEM	54
3.1. Doku Temini	54
3.2. Parafin Doku Takibi	55
3.3. Hematoksilen ve Eozin (HE) Boyaması	55
3.4. Flow Sitometri	55
3.4.1. Kullanılan Solüsyonlar	55
3.4.2. Flow Sitometri Protokolü	56
4. BULGULAR	59
4.1. HE boyaması ve Morfolojik Analiz	59
4.2. Flow Sitometri Bulguları	60
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR	74
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	89

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Preeklampsî sınıflandırılması.	29
Tablo 2.2.	Sağlıklı gebelikte dengede olan immün hücreler ve sitokinler ile preeklampşik gebeliklerde değişen immün hücreler ve sitokinler gösterilmektedir	41
Tablo 3.1.	Hasta bilgileri	54
Tablo 3.2.	Flow sitometride kullanılan primer antikorlar, izotip antikorlar, flokromlar, marka/katalog numaraları ve dilüsyon oranları	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Plasentanın şekli, fetal membranlar ve endometriyum arasındaki bağlantı alanlarının dağılımına göre tipleri	4
Şekil 2.2.	Maternal ve fetal vasküler sistem arasındaki tabaka sayısına göre plasenta tipleri	5
Şekil 2.3.	Materno-fetal girintilere göre plasenta tipleri	6
Şekil 2.4.	Term insan plasentasının illüstrasyonu	8
Şekil 2.5.	Amniyonun yapısı	9
Şekil 2.6.	Farelerde ve insanlarda endometriyal stromal hücrelerin ve desidual hücrelerin morfolojik görünümü	12
Şekil 2.7.	Sinsitizasyonu teşvik eden veya engelleyen çeşitli faktörlerin katılımını gösteren şematik diyagram	13
Şekil 2.8.	İnsan plasenta gelişimine genel bakış	15
Şekil 2.9.	Primer, sekonder ve tersiyer villusların komponentlerin karşılaştırılması	17
Şekil 2.10.	Olgunlaşmamış intermediyet villusun stromal kanallarla karakterize retiküler stromasının üç boyutlu TEM görüntüsü	19
Şekil 2.11.	Olgun bir plasental villöz ağacın çevresel kısmının basitleştirilmiş gösterimi ve çeşitli villöz tiplerin tipik kesitleri	21
Şekil 2.12.	Plasental ağacı oluşturan villus tipleri	22

Şekil 2.13.	Endodoglandüler ve endovasküler trofoblast hücrelerinin immünohistokimyasal görüntüsü	24
Şekil 2.14.	Ekstravillöz trofoblastlar (EVT'ler) tarafından istila edilen uterin ven ile birlikte uterin arterin immünohistokimyasal görüntüsü	25
Şekil 2.15.	Term plasentada bulunan fibrinoid tabakaları	27
Şekil 2.16.	Preeklampsinin etiyolojisi	30
Şekil 2.17.	Preeklampsi grubuna ait insan plasentasındaki bir bölümün fotomikrografı	32
Şekil 2.18.	Preeklampsi grubuna ait insan plasentasında perivillöz fibrinoid birikimi	32
Şekil 2.19.	Kontrol ve preeklamptik plasentalarda HE boyaması	33
Şekil 2.20.	Preeklamptik plasentada bulunan kalıcı plasental hipoksi etkisinin şematize görüntüsü	35
Şekil 2.21.	Preeklampside VEGF sinyalizasyonunun değişimi	36
Şekil 2.22.	Sitokin profiline bağlı olarak, naif T hücresinin Th1, Th2, Th17 veya Treg hücrelerine farklılaşmasının şematize görüntüsü	42
Şekil 2.23.	İnsan ILC hücrelerinin transkripsiyon faktörleri, yüzey belirteçleri ve salgıladıkları sitokinler	47
Şekil 2.24.	dNK hücresinin yüzeyinde eksprese edilen belirteçler	50
Şekil 3.1.	Plasenta dokusunda Fikol yardımıyla faz ayrımı şematize görüntüsü	58
Şekil 3.2.	Deney düzeneğinin şematize görüntüsü	58
Şekil 4.1.	HE boyaması ile preeklampsi morfolojisinin tayini	59

Şekil 4.2.	Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol, b) FITC konjuge CD45 ⁺ hücrelerini göstermektedir	60
Şekil 4.3.	Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol, b) FITC konjuge CD3 ⁺ hücrelerini göstermektedir	61
Şekil 4.4.	Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol b) PERCP konjuge CD127 ⁺ hücrelerini göstermektedir	61
Şekil 4.5.	Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol b) PE-CF594 konjuge CD294 ⁺ hücrelerini göstermektedir	62
Şekil 4.6.	Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol b) PE konjuge CD117 ⁺ hücrelerini göstermektedir	62
Şekil 4.7.	Kontrol grubuna ait ILC1 hücrelerinin flow sitometri verileri	63
Şekil 4.8.	Hafif preeklampsi grubuna ait ILC1 hücrelerinin flow sitometri verileri	63
Şekil 4.9.	Ağır preeklampsi grubuna ait ILC1 hücrelerinin flow sitometri verileri	64
Şekil 4.10.	Gruplar arasında ILC1 hücrelerinin yüzdelерinin karşılaştırılması	64
Şekil 4.11.	Kontrol grubuna ait ILC2 hücrelerinin flow sitometri verileri	65
Şekil 4.12.	Hafif preeklampsi grubuna ait ILC2 hücrelerinin flow sitometri verileri	65
Şekil 4.13.	Ağır preeklampsi grubuna ait ILC2 hücrelerinin flow sitometri verileri	66
Şekil 4.14.	Gruplar arasında ILC2 hücrelerinin yüzdelерinin karşılaştırılması	66
Şekil 4.15.	Kontrol grubuna ait ILC3 hücrelerinin flow sitometri verileri	67

Şekil 4.16. Hafif preeklampsi grubuna ait ILC3 hücrelerinin flow sitometri verileri 67

Şekil 4.17. Ağır preeklampsi grubuna ait ILC3 hücrelerinin flow sitometri verileri 68

Şekil 4.18. Gruplar arasında ILC3 hücrelerinin yüzdelerinin karşılaştırılması 68



SİMGELER ve KISALTMALAR

Amerikan Obstetrisyenler ve Jinekologlar Kongresi: ACOG

Çözünür endoglin: seng

Çözünür fms benzeri tirozin kinaz-1: sflt-1

Dendritik hücre: DC

Desidual doğal öldürücü: DNK

Doğal lenfoid hücreler: ILC

Doğal öldürücü: NK

Ekstravillöz trofoblast: EVT

Geleneksel NK hücreleri: cNK

Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör: GMCSF

Grup 1 ILC: gILC1

Grup 2 ILC: gILC2

Grup 3 ILC: gILC3

Hipoksiyle indüklenen faktör 1: HIF-1

İç hücre kütlesi: İHK

İnsan koryonik gonodotropin: hCG

İnsan lökosit antijeni: HLA

İnsan plasental laktojen: hPL

İntrauterin büyüme geriliği: IUGR

Katekol-O-metiltransferaz: COMT

Lenfoid doku indükleyici: LTi

Lösemi inhibe edici faktör: LIF

Nitrik oksit: NO

Plasental büyüme faktörü: PIGF

Preeklampsi: PE

Programlanmış ölüm ligandı 1: PDLI

Regülatör T hücreleri: Treg

Transforme edici büyüme faktörü beta 3: TGF- β 3

Trofoektoderm: TE

Tümör nekroz faktörü: TNF- α

Endotelial nitrik oksit sentaz: eNOS

Vasküler endotelial büyüme faktörü: VEGF

Plasental büyüme faktörü: PLGF

Fibroblast büyüme faktörü: FGF

Anjiotensin-1 otoantikor: AT-1AA

Anjiyopoietin II: Ang-II

Plazminojen aktivator inhibitörü-1: PAI-1

Ürokinaz benzeri plazminojen aktivatorü: upa

Uterin doğal öldürücü: uNK

Interferon ile indüklenebilir protein-10: IP-10

İmmünoglobulin benzeri reseptör: KIR

Yaşlanma ile ilişkili bir salgı fenotipi: SASP

Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör: GM-CSF

Membran saldırı kompleksi: MAC

İnsan lökosit antijeni: HLA

Vazokonstriktör endotelin-1: ET-1

Interferon γ : IFN- γ

Lenfoid doku indükleyici: LTI

Rekombinasyon aktive edici gen: RAG

İntra-epitelial tip 1 doğal lenfoid hücreler: ieILC1

Gebelikte eğitilmiş desidual NK hücreleri: ptdNK

GİRİŞ

Preeklamps (PE) gebeliklerin yaklaşık % 5-7 'lik kısmında görülen nedeni tam olarak bilinmeyen gebelik hastalığıdır (Sibai, 2005). Preeklamps gebeliğin 20. haftasından sonra teşhis edilebilen, hipertansiyon ve proteinüri (24 saatte ≥ 300 mg) ile karakterize bir hastalıktır. Preeklampsinin etiyolojisine göre; preeklamps zayıf plasantasyonla ilişkili olup, ileriki süreçte maternal inflamasyona ve endotel fonksiyon bozukluğuna neden olur.

Sağlıklı gebelik durumunda desidua doğal öldürücü (NK) hücreler, makrofajlar ve regülatör T hücreleri gibi immün hücreler bulunur. Bu immün hücreler, endometriyuma doğru trofoblast migrasyonunu ve invazyonunu kolaylaştırırlar. Ayrıca bu hücreler, immün tolerans etkisiyle spiral arterlerin remodellenmesini sağlayarak, yüksek kapasiteli ve düşük basınca sahip damarların oluşumuna katkı sağlarlar. Sağlıklı gebelikte görülen, fetüs ve plasentaya karşı immünolojik yanıt oluşumunu engelleyen ve immün toleransı destekleyen immünolojik değişimlerden ziyade, preeklampsde Th-1 ve geleneksel NK hücrelerinde (cNK) artış olur. Bu hücrelerde çeşitli faktörler üreterek, uteroplental kısımda ve maternal dolaşımda inflamasyon artışına neden olur. Preeklampsde görülen bu immün değişimler uterus duvarına trofoblast invazyonunun yüzeysel kalmasına ve yetersiz spiral arter remodellenmesine neden olur.

Preeklamps kronik immün inflamasyonla ilişkilidir. Kronik immün inflamasyon yardımcı T hücrelerinin alt sınıflarından pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-6 ve IL-17) salınımında artışa neden olur (Bennett ve ark., 1999). TNF- α , IL-6 ve IL-17 gibi pro-inflamatuar sitokinlerdeki artış sistemik ve lokal inflamasyona (plasental) neden olur. Bu durum, preeklamps hastalığının patofizyolojik komplikasyonlarına neden olur (Gadonski ve ark., 2006). Damar yapısındaki TNF- α ve IL-6 sitokinlerindeki artış endoteldeki adhezyon moleküllerinin ekspresyonunda ve damar permeabilitesinde artışa neden olur (B. Lamarca ve ark., 2011). Diğer bir pro-inflamatuar sitokin olan IL-17 nötrofillerin aktivasyonu, proliferasyonu ve migrasyonu için gerekli önemli bir sitokindir (Yao ve ark., 1995; Gaffen, 2008; Wallace ve ark., 2012). Ayrıca Th-17 hücrelerinin proliferasyonunu da destekler. Th-17 hücrelerinin dolaşımdaki sayısı kontrole kıyasla preeklamptik hastalarda istatistiksel olarak artmıştır (Saito, 2010; Saito ve ark., 2011). Pro-inflamatuar T hücrelerinde ve inflamatuvar sitokinlerdeki artışa ek olarak, pek çok çalışmada PE

vakalarında regülatör T hücreleri (Treg) ve IL-10 miktarında azalma tespit edilmiştir, ancak çok az çalışmada Treg miktarında kontrol ve PE vakalarında değişim olmamıştır (A Steinborn ve ark., 2012; Boij ve ark., 2015).

Doğal lenfoid hücreler (ILC), NK hücreler ve lenfoid doku indükleyici (LTi) hücreler hariç son zamanlarda tanımlanan doğal lenfositlerdir. ILC'ler gelişimleri için gerekli olan transkripsiyon faktörleri ve sentezledikleri sitokinlerin profiline göre grup 1 ILC (gILC1), grup 2 ILC (gILC2) ve grup 3 ILC (gILC3) olmak üzere 3 gruba ayrılır. gILC1'lerin üyeleri NK hücreleri ve ILC1'lerdir (Hergen Spits, Artis, Colonna, Diefenbach, Di Santo, Eberl, Koyasu, Locksley, McKenzie, & Mebius, 2013). Bu hücrelerin gelişimleri için gerekli olan transkripsiyon faktörü T-bet'tir. Bu hücreler IL-12, IL-15 ve IL-18 ile uyarıldıklarında IFN- γ ve TNF- α üretirler (Jochem H Bernink, Peters, Munneke, Te Velde, Meijer, Weijer, Hreggvidsdottir, Heinsbroek, Legrand, & Buskens, 2013). gILC1'ler hücre içi patojenlere karşı savunmada rol alırlar. gILC2'ler tek bir sınıftan oluşur (Monticelli ve ark., 2011; Jochem H Bernink, Peters, Munneke, Te Velde, Meijer, Weijer, Hreggvidsdottir, Heinsbroek, Legrand, & Buskens, 2013; Jonathan R Brestoff, Kim, Saenz, Stine, Monticelli, Sonnenberg, Thome, Farber, Lutfy, & Seale, 2015). Grup 2 ILC'lerin gelişimleri için GATA 3 transkripsiyon faktörü gereklidir (Mjösberg ve ark., 2012). ILC2'ler hücre (prostoglandin D2, IL-25, IL-33 ve timik stromal lenfopoetin ile uyarıldıklarında IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-13 ve GM-CSF sentezlerler (Halim ve ark., 2012; Konya ve Mjösberg, 2016). gILC3'ler gelişimleri için ROR- γ t ve AHR transkripsiyon faktörlerine ihtiyaç duyarlar (Qiu ve ark., 2012; Hergen Spits, Artis, Colonna, Diefenbach, Di Santo, Eberl, Koyasu, Locksley, McKenzie, & Mebius, 2013).

Bu çalışmada amaçlarımız, PE ve kontrol plasentalardaki ILC'lerin mevcudiyetini tespit etmek. Ayrıca, PE plasentadaki ILC alt sınıflarının oranlarının ne yönde değiştiğini araştırmak ve elde edilecek sonuçlara göre, PE'de ILC lerin rolünü tartışmak. Böylece, adaptif immün sistemin düzenlenmesi ve toleregenik ortamın kurulmasında rol oynayan bu hücrelerin, PE patogenezinde rolünün olup olmadığı belirlenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

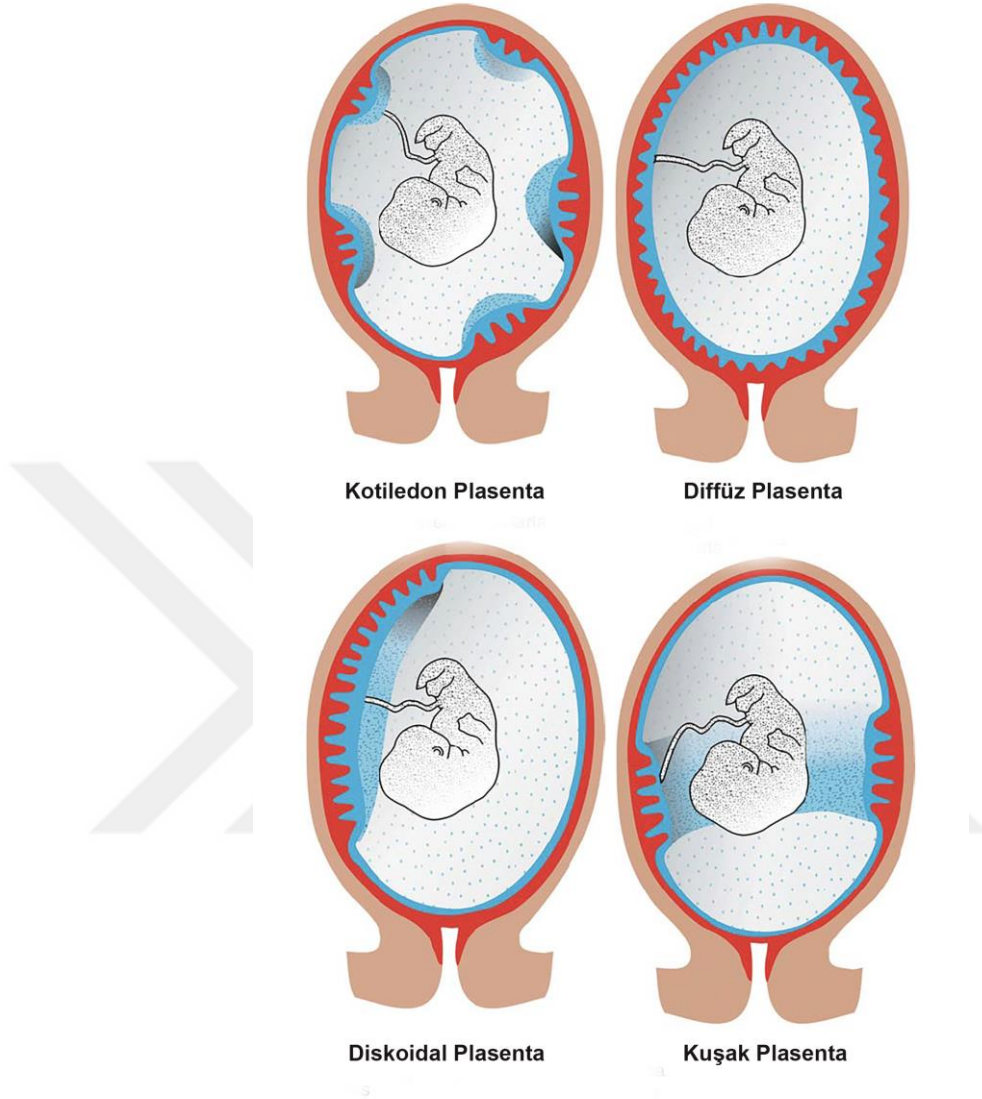
2.1. Plasenta

Plasenta fetüsün normal gelişimi ve büyümesini destekleyen özelleşmiş geçici bir organdır. Plasenta maternal besin ve oksijenlerin fetüse, fetüste biriken atık ürünlerinin de maternal dolaşıma ulaşmasından sorumludur. Ayrıca, plasenta gebelik boyunca maternal fizyolojiyi düzenleyen hormonlar üretir ve maternal immün sisteme karşı bariyer oluşturur (Cross ve ark., 2003).

2.2. Plasenta Çeşitleri

Plasenta morfolojileri, farklı canlı türlerinde farklılık gösterir ve 3 farklı şekilde sınıflandırılır:

- 1) Plasentanın şekli, fetal membranlar ve endometriyum arasındaki bağlantı alanlarının dağılımına göre (**Şekil 2.1**):
 - a- Kotiledon Plasenta: Özellikle geniş getiren memelilerde görülür. Plasenta kotiledonları endometriyumun pek çok bölgesine bağlanır.
 - b- Diffüz Plasenta: Domuz, at ve balinalarda görülen plasenta tipidir. Bu plasenta tipinde, koryonik villuslar yaygın olarak görülür.
 - c- Diskoidal Plasenta: Kemirgenlerde, maymunlarda ve insanlarda görülür. Villus yapıları disk şeklinde organize olurlar.
 - d- Kuşak Plasenta: Karnivolarda görülen plasenta tipidir. Bu plasenta tipinde, koryonik villus koryonu çevreler ve kuşak şeklinde bir şerit oluşturur.

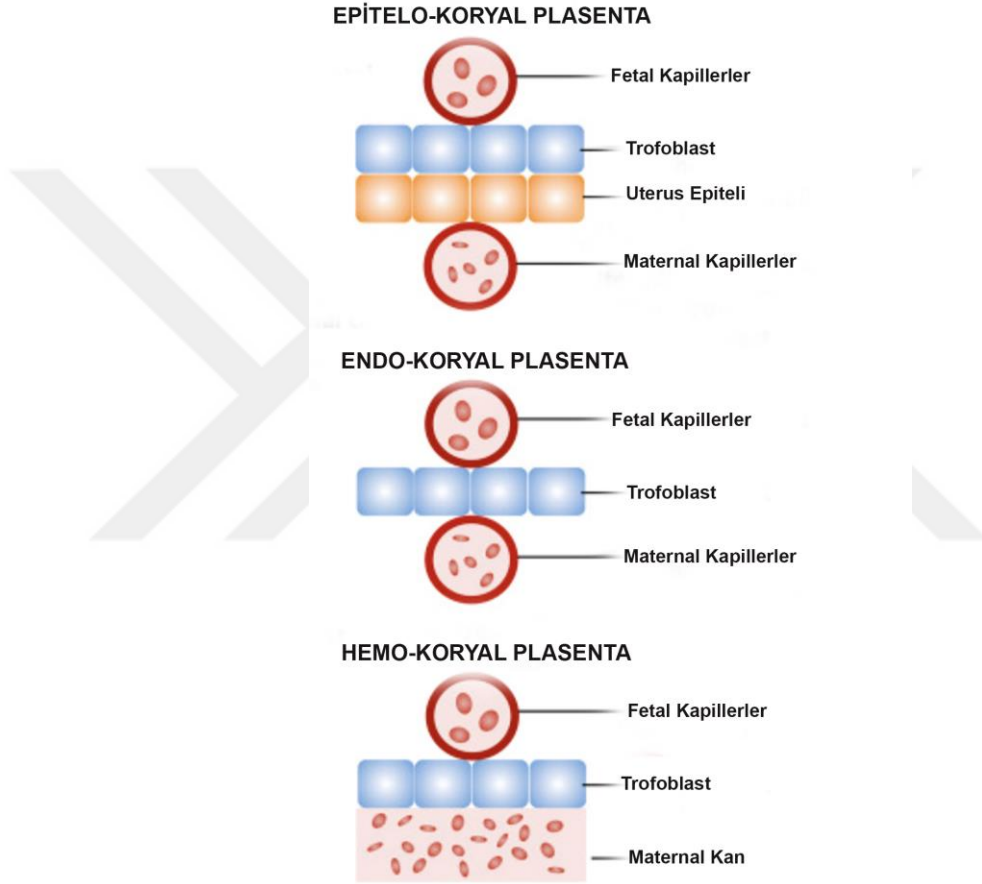


Şekil 2.1. Plasentanın şekli, fetal membranlar ve endometriyum arasındaki bağlantı alanlarının dağılımına göre tipleri. Maternal kısımlar kırmızı ve fetal kısımlar mavi ile gösterilmektedir (P Kaufmann, 1981).

2) Maternal ve fetal vasküler sistem arasındaki tabaka sayısına göre (**Şekil 2.2**) (Wildman ve ark., 2006);

- a- Epitelo-koryal Placenta: Bu tip plasentada trofoblastların uterusu invazyonu görülmemektedir. İnek, domuz gibi hayvanlarda görülür.
- b- Endo-koryal Placenta: Bu placenta tipinde uterus epiteli ve bağ doku embriyo implantasyondan sonra kaybolur ve maternal endotel hücreleri ile fetal endotel hücreleri birbirinden trofoblast hücreleri ile ayrılır.

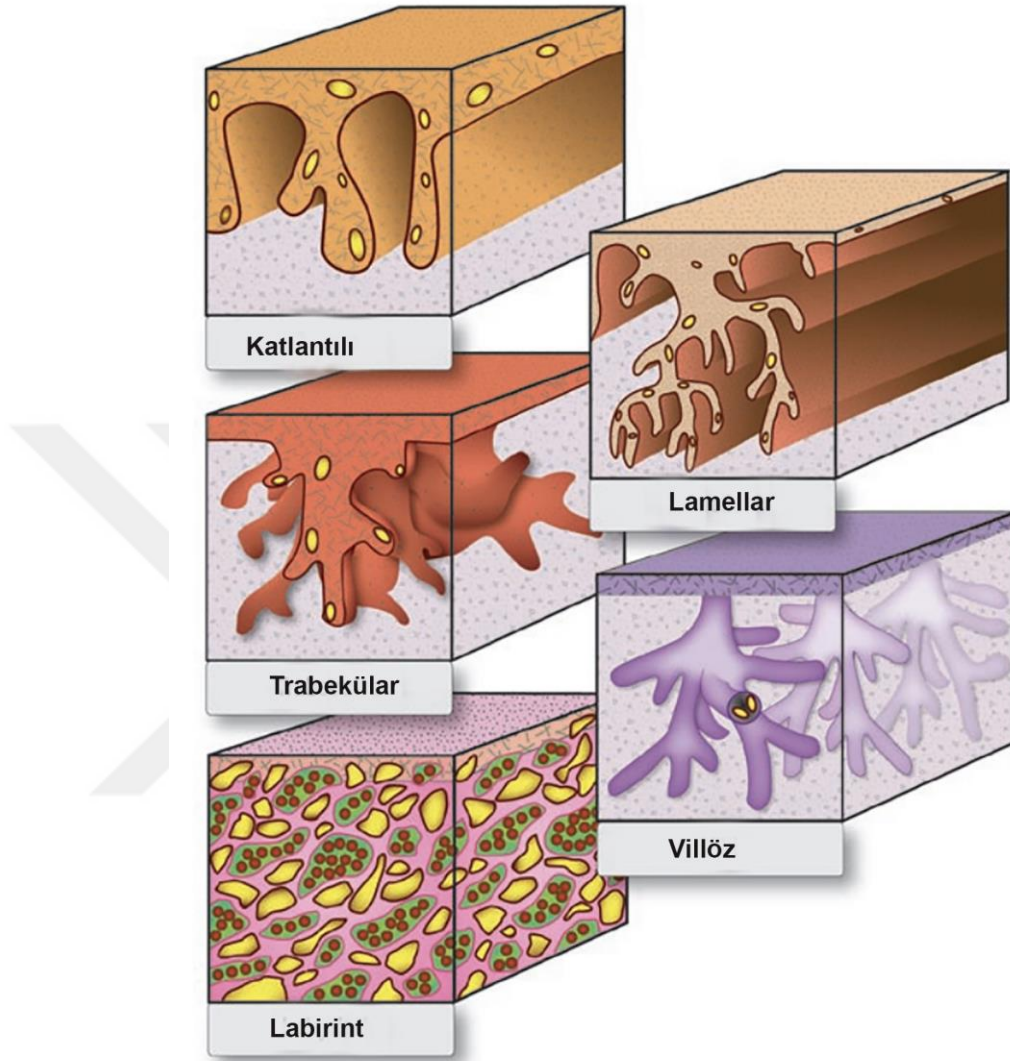
- c- Hemo-koryal Plasenta: Bu tip plasentada trofoblast invazyonu en yoğun şekilde gerçekleşir. Koryon ve maternal kan arasında direkt olarak temas vardır. Materno-fetal bariyeri oluşturan hücre tabakası sayısına göre primatlarda ve insanlarda hemo-monokoryal, tavşanlarda hemo-dikoryal ve sıçan ve farelerde hemo-trikoryal plasenta görülmektedir.



Şekil 2.2. Maternal ve fetal vasküler sistem arasındaki tabaka sayısına göre plasenta tipleri gösterilmektedir (Zhang ve Muglia, 2021).

3) Materno-fetal etkileşim yapısına (girinti çıkıntılara) (interdigitasyon) göre (**Şekil 2.3**):

- a- Lamellar
- b- Villöz
- c- Trabeküler
- d- Labirint
- e- Katlantılı

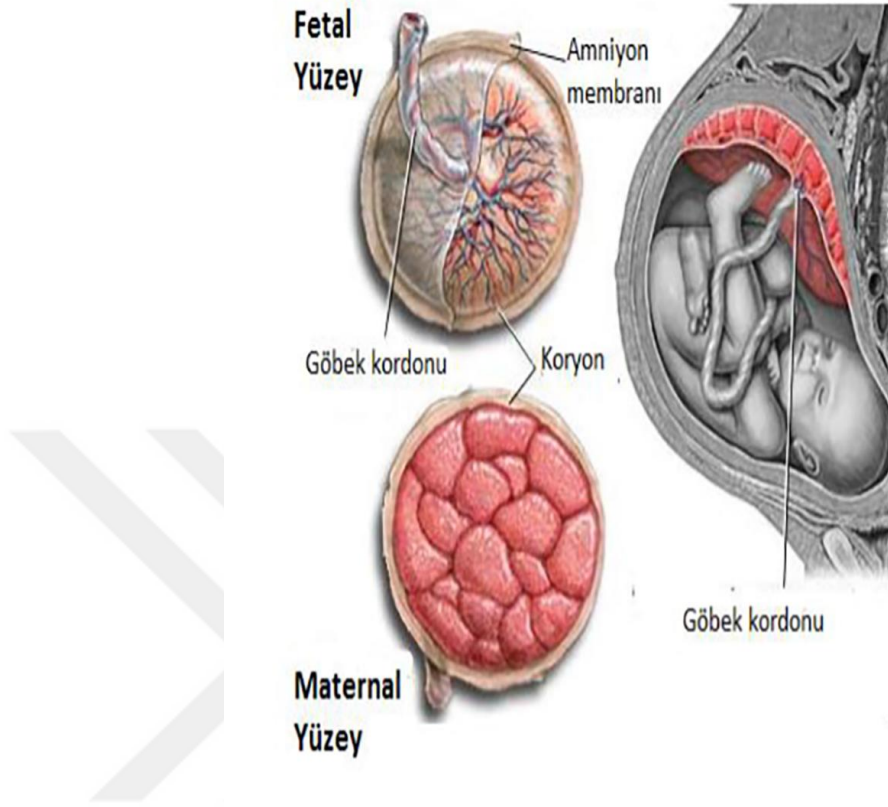


Şekil 2.3. Materno-fetal girintilere göre plasenta tipleri gösterilmektedir (DeSesso ve ark., 2012).

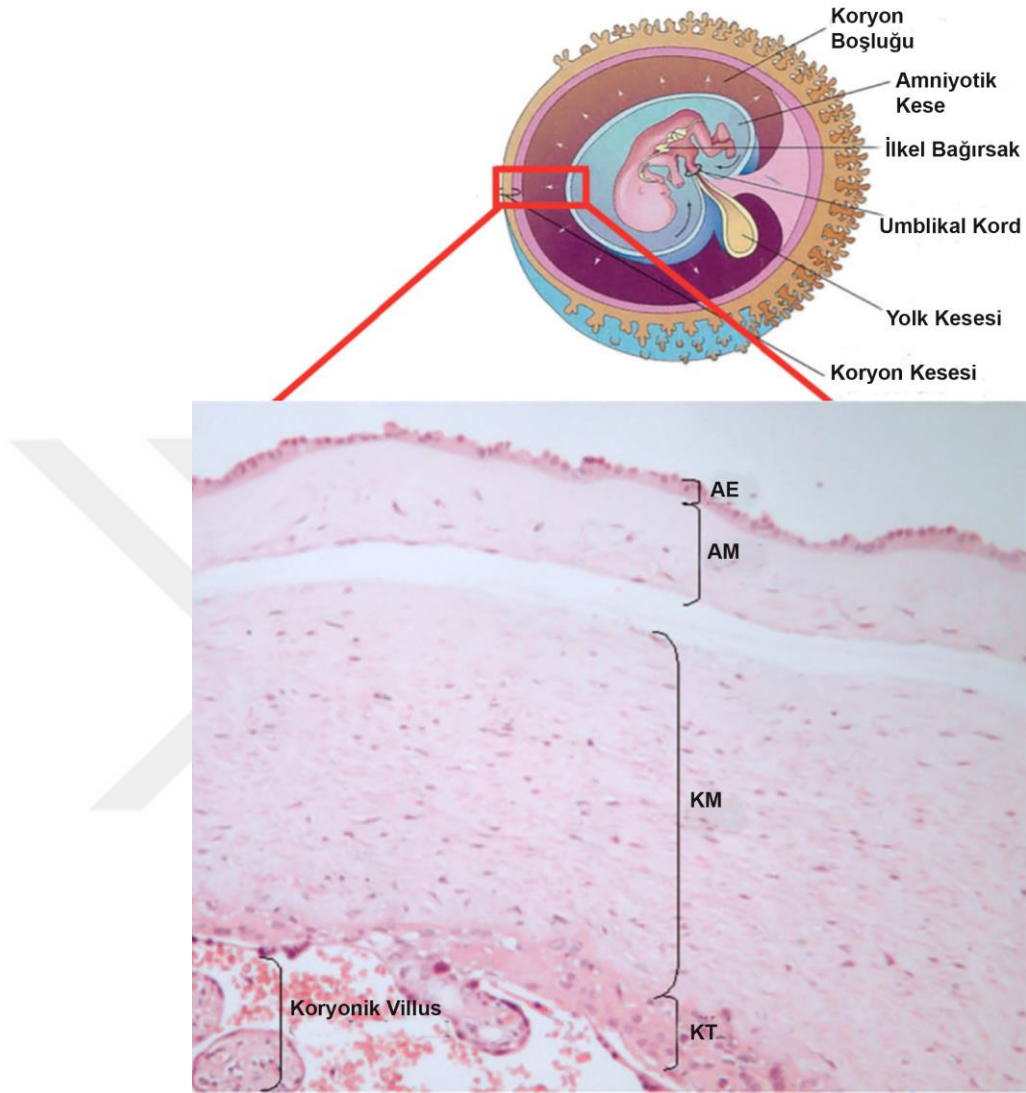
2.3. İnsan Plasentası

Matür insan plasentası makroskopik olarak disk şeklinde, hemo-monokoryal, yaklaşık 20 cm çapında, 3 cm kalınlığında ve 400-500 gram ağırlığındadır. Plasentanın ağırlığı, fetüsün ağırlığı ile doğru orantılıdır ve termde tipik plasentanın fetüse ağırlık oranı, 1/6'dır (Cunningham ve ark., 2014). Bu orandaki bir değişiklik gebelik patolojileri ve plasenta disfonksiyonları ile ilişkilidir. Gebelik esnasında endometriyumdaki stromal hücreler farklılaşarak desidua hücresi oluşturur. Desidua, desidua bazalis, desidua kapsülleris ve desidua parietalis olmak üzere üçe ayrılır. Plasenta maternal ve fetal plasenta olmak üzere iki kısımdan oluşur. Fetal plasentayı koryonik plak oluştururken,

maternal plasentayı desidua bazalis oluşturmaktadır. Koryoallantoik plasentanın uterusu bağlanma noktası desidua bazalis olarak isimlendirildiği gibi ayrıca bazal plak olarak da isimlendirilir (Huppertz, 2008). Koryonik plak amniyon membranı ile kaplıdır. Amniyon membranı tek tabakalı amniyon epiteli ve avasküler bir bağ dokusudan oluşan amniyotik mezenşimden oluşur. Bu dokular, fetüsün intrauterin yaşamı boyunca içinde geliştiği ve yaşadığı amniyotik keseyi oluşturur. Plasentanın maternal yüzeyi opaktır ve bazal plaktan oluşur. Plasentanın bazal plağında, yaklaşık 10-40 arası düzensiz şekilli çöküntü gösteren kotiledon olarak isimlendirilen yapılar mevcuttur (**Şekil 2.4**). Kotiledonlar klinik açıdan oldukça önemli olup, doğum sonrasında plasentadaki kotiledonlar kontrol edilerek eksik olan kotiledon belirlenirse müdahale edilerek uterustan uzaklaştırılır. Umblikal dolaşımın ana dalları her bir kotiledonu besler. Kotiledonlar, maternal kan ile yıkanmış villöz ağaçlardan oluşur. Koryonik plak üzerindeki olgunlaşmamış intermediyet villuslar gelişerek daha küçük çaplı olgun intermediyet ve terminal villusları oluşturmak üzere dallanır. Umblikal kordun fetüse bağlandığı fetüse bakan yüzey koryonik plak veya fetal plasenta, ya da fetal yüzey olarak isimlendirilir. Plasentanın kenarları, koryonik ve bazal plakların birleştiği yerde birleşerek koryoamniyotik zarı oluşturur. Amniyon, altta bir bazal membran ve avasküler bir bağ dokusu tabanı ile tek katmanlı bir epitel olarak fetus tarafına bakmaktadır. Koryonik tabaka veya düz koryon (koryon leve), mezenşim, mononükleer sitotrofoblastlar ve bazal desiduanın spiral arteriyollerinin bir uzantısı olan damarlardan oluşur.



Şekil 2.4. Term insan plasentasının illüstrasyonu: Üstteki resim, plasentanın koryonik veya fetal yüzü göstermektedir. Her bir kotiledonu besleyen koryonik plak ve koryonik damarlar içindeki göbek kordonu gösterilmiştir. Venler kırmızıyla gösterilen oksijenden zengin kanı taşırken, arterler maviyle gösterilip oksijenden fakir kanı taşır. Alt resimde görülen bazal plak veya maternal taraf, uterus endometriyumu ile temas halindedir ve kotiledonlara bölünmüştür (Colls ve Fannin, 2013).



Şekil 2.5. Amniyonun yapısı. AE: Amniyon epiteli, AM: amniyotik mezoderm, KM: koryonik mezoderm ve KT: koryonik trofoblast (Parolini ve ark., 2008; McDonald ve ark., 2011).

2.4. İmplantasyon ve Desidualizasyon

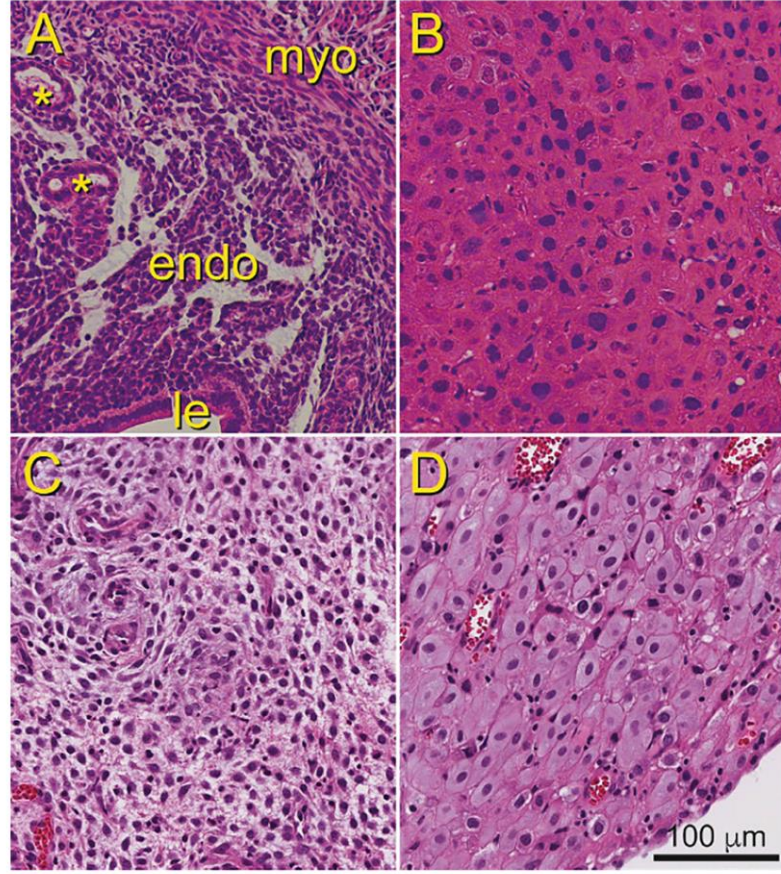
İmplantasyon gerçekleşmeden önce reseptiv endometriyumda belirgin immünolojik ve moleküler değişiklikler gözlemlenir (Ashary ve ark., 2018). Apozisyon sırasında, endometriyal hücreler tarafından üretilen kemokinler ve sitokinler, blastosisti implantasyon bölgesine doğru çeker ve embriyonik L-selektin, lümen epiteli üzerinde bulunan ligandlarına bağlanır. Bu, blastosistin uterus ile ilk temasını sağlar ve ardından meydana gelen plasentasyon, desiduanın invaziv trofoektoderm (TE) hücreleri tarafından aktif olarak invaze olmasını ve desiduanın yeniden yapılandırılmasını içerir. Farelerde,

lösemi inhibe edici faktör (LIF), implantasyondan önce fare uterusunda geçici olarak artar (Stewart ve ark., 1992) . LIF, proinflatuar potansiyeli olan bir IL-6 sınıfı sitokindir (Gadient ve Patterson, 1999) . LIF'ye ek olarak, implantasyon bölgesinde, IL-6, IL-1 β , IL-8, IL-15, granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GMCSF) ve tümör nekroz faktörü (TNF)- α gibi proinflatuar sitokinlerin ekspresyonu da tespit edilmiştir (Koga ve Mor, 2008; Gil Mor ve Koga, 2008; Yoshinaga, 2008). Bu bulgular, implantasyondan önce endometriyumun, inflamatuvar durumda olduğunu göstermektedir. Doğal immün hücreler, implantasyonun başladığı luteal faz sırasında desidua'da bol miktarda bulunur. Menstrüel siklus boyunca endometriyumda olgun CD83⁺ dendritik hücreler (DC) ve CD68⁺ makrofajlar artarak geç salgı fazında pik yapar (Rieger ve ark., 2004). Koitustan hemen sonra, seminal sıvının varlığı makrofajların, DC'lerin ve T hücrelerinin endometriyuma göç etmesini daha da artırır (O'Leary ve ark., 2006). Makrofajlar ve doğal öldürücü hücreleri, insan endometriyumundaki ana sitokin üreticileri olan hücrelerdir (Kämmerer ve ark., 2004). LIF ve IL-1 β salgılanması yoluyla, makrofajlar, trofektoderm adhezyonuna izin veren yapıları artırarak endometrial reseptiviteyi artırır (Robertson ve ark., 2018). Endometriyal NK hücrelerinin implantasyondaki rolü belli değildir çünkü NK hücresi mevcut olmayan knockout farelerde başarılı implantasyonun mümkün olduğu tespit edilmiştir (Le Bouteiller ve Piccinni, 2008). Literatür bilgilerine göre, ilk implantasyondan sonra desidual NK hücrelerinin plasenta oluşumu süreçlerine dahil olduğu belirlenmiştir (Benner ve ark., 2018). Bununla birlikte, insan endometriyal NK hücrelerinin implantasyondaki diğer rolleri IFN- γ , TNF- α , GM-CSF ve IL-10 gibi büyük miktarlarda sitokin salgılama yetenekleri nedeniyle göz ardı edilemez (Jacob Hanna ve Mandelboim, 2007) . T hücreleri, insan endometriyumunda bulunan immün sistem hücrelerinin üçüncü en büyük popülasyonunu temsil eder (van der Molen ve ark., 2013; Feyaerts ve ark., 2017) . T hücreleri, gebelik öncesinde endometriyumun daha derin katmanlarında bulunur. Gebelik döneminde bir çok fonksiyonu yerine getiren T hücre alt kümeleri (Th1, Th2, Th17 ve Treg) vardır. T hücresi alt kümelerinin sayıları, fenotipleri ve fonksiyonel aktivitelerindeki dengesizliği doğurganlığı ve gebelik sağlığını olumsuz etkileyebileceğine dair çok sayıda çalışma vardır (Krop ve ark., 2020; Morita ve ark., 2020; Piccinni ve ark., 2021). Bu altkümelerden birisi olan, CD4⁺ CD25⁺ T düzenleyici (Treg) hücreleri, çok miktarda dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β ve IL-10'u

sentezleyerek makrofajlarda ve NK hücrelerinde inflamatuvar aktivasyonunu sınırlandırarak embriyo implantasyonu ve gebeliğin anti-inflamatuvar aşamasına geçişinin teşvik edilmesi için gereklidir (Leigh R. Guerin ve ark., 2009a).

Fetüs, paternal antijenleri eksprese eden bir semi-allografttır; ancak fetüs gebelik sırasında annede gerçekleşen immün tolerans nedeniyle maternal immün sistemi tarafından reddedilmez. Treg hücreleri ve tolerojenik dendritik hücreler, bir fetö-maternal tolerans oluşturmak için birbirleriyle koordine olurlar. Ekstravillöz trofoblastlar (EVT'ler) yalnızca polimorfik insan lökosit antijeni (HLA)-C, E, F ve G'yi ifade eder, ancak HLA-A, B ve HLA-sınıf II'yi ifade etmez. Ayrıca EVT hücreleri, IDO, IL-10 ve TGF- β gibi immün baskılayıcı moleküller salgırlar ve programlanmış ölüm ligandı 1'i (PD-L1) ifade ederler. CD8⁺ T hücrelerinde PD-1 ve EVT'lerde PD-L1 arasındaki doğrudan etkileşim, CD8⁺ T hücrelerinin sitotoksik özelliklerini kontrol edebilir. Treg hücreleri, gebelik sırasında sistemik ve lokal olarak sayıları artar ve tolerojenik bir ortam oluşturmak için çok önemlidir.

Desidua aslında implantasyonla indüklenen inflamatuvar yanıtı, geri dönüşümlü olarak baskılayarak doğum başlangıcının zamanlamasını da düzenleyen biyolojik bir saat görevi görür. İmplantasyondan doğuma kadar, desidua lokal immün ortamı dinamik olarak düzenler ve desidual işlevi ve embriyonik gelişimi artırmak için immün faktörleri kullanır. Peri-implantasyon döneminde, desidua, embriyo implantasyonunu ve desidualizasyonu teşvik etmek için bir inflamatuvar süreci tetikler. Bu ilk dönemden sonra, desidua, tolerojenik desidual doğal öldürücü (dNK) hücrelerinin çoğalmasını ve fonksiyonel etkinleşmesini uyarırken, T hücreleri ve makrofajlar gibi potansiyel olarak immün toleransa engel olacak lökositlerin fonksiyonlarını pasifize ederek , kısmen immün toleransı sağlamaya çalışır. Desidua, gebeliğin farklı evrelerinde inflamasyonu ve immün hücrelerinin işlevini düzenleme yeteneğiyle, gebeliğin başarısında merkezi bir rol oynamaktadır.



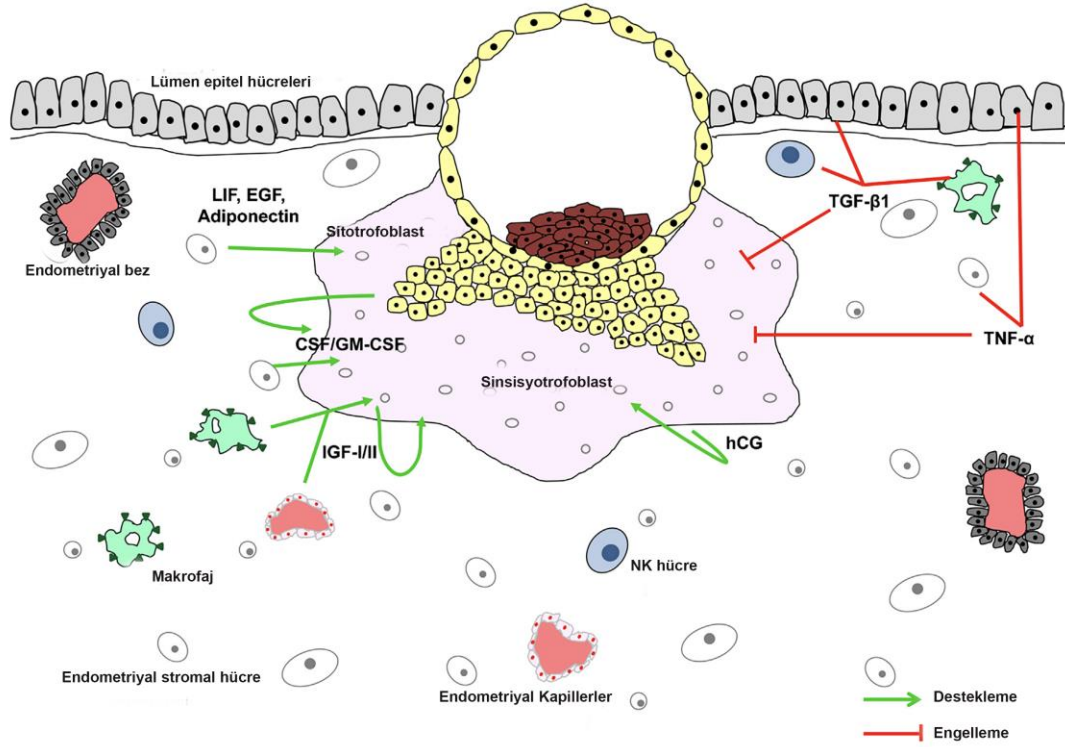
Şekil 2.6. Farelerde ve insanlarda endometriyal stromal hücrelerin ve desidual hücrelerin morfolojik görünümü. (A) Gebe olmayan bir farenin endometriyumu, (B) 7,5 d.p.c. fare desiduası, (C) menstrual döngünün salgılama aşamasında insan endometriyumu ve (D) insan 1. trimester küretaj materyalinden yüksek oranda desidualize edilmiş desidual hücreler. Endo: endometrium, le: lümen epitel, miyo: miyometriyum. Yıldız işaretleri endometriyal bezleri belirtmektedir (Osokine ve Erlebacher, 2021).

2.5. İnsan Plasentasının Gelişimi

2.5.1. Prelaküner Aşama

İnsan plasental gelişimi, plasentanın trofoblast soyları ile maternal endometriyum arasında koordineli etkileşimi gerektirir. Spermin oositi döllemesi sonucu oluşan zigot, fallop tübünde ilerlerken bir dizi mitotik bölünme geçirerek “morula” adı verilen hücre kitlesini oluşturur. İmplantasyon öncesi aşamada, bu hücre kitlesi, blastosisti oluşturur. Blastosistin dışını çevreleyen trofektoderm hücreleri plasentayı ve ekstraembriyonik zarları oluşturur. Blastosist içindeki hücre grubu iç hücre kütesini (İHK) oluşturup, gelecekte fetüsü oluşturacak olan embriyoblast hücreleri olarak isimlendirilir. İHK, blastositin uterus epiteline bağlanma bölgesinin proksimal tarafında bulunur. Prelaküner

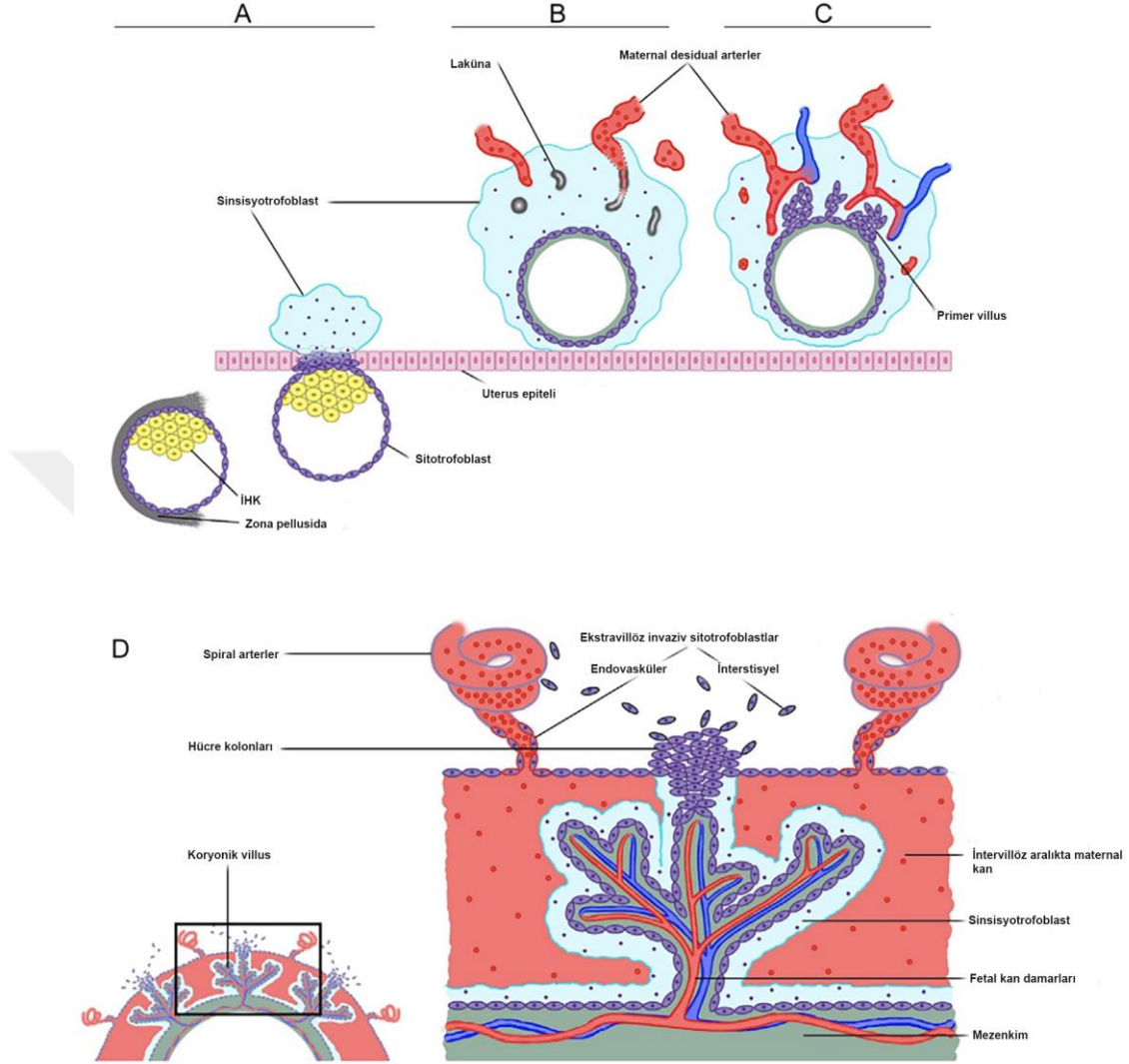
aşama, gebeliğin yedinci gününde TE hücrelerinin uterusun lümen epiteliyle ilk teması kurduğu zaman başlar. Blastosistin yüzey epiteline bağlanmasından, kısa bir süre sonra, prostaglandinler, proteolitik enzimler, kemokinler, sitokinler, selektinler ve integrinler dahil olmak üzere çok sayıda madde salgılayan trofoblast hücreleri ve desidua arasındaki karmaşık bir etkileşim takip eder (Aplin ve Kimber, 2004). TE uterus epiteline adheze olduktan sonra endometriyuma invaze olur. Böylece trofoektoderm hücreleri desiduada yerleşmek üzere uterus epitelini istila eder. İnsan blastosisti endometriyal doku içinde anne damarlarına bitişik interstisyel implantasyona yol açar. Bunun sonucunda plasentaya kan akışı gerçekleşir. Blastosist invazyonu ilerledikçe, sitotrofoblastlar çoğalır ve bir çift tabaka halinde birleşir. İç tabaka da sitotrofoblastların ve dış tabakada bulunan, maternal doku ile doğrudan temas halinde olan terminal olarak farklılaşmış bir sinsisyotrofoblast hücreleri birlikte primer sinsisyumu oluşturur.



Şekil 2.7. Sinsitizasyonu teşvik eden veya engelleyen çeşitli faktörlerin katılımını gösteren şematik diyagram. Diyagram, trofoblast füzyonunu destekleyen veya engelleyen çeşitli sitokinleri, büyüme faktörlerini ve hormonları göstermektedir. Endometriyal hücreler, makrofajlar ve NK hücreleri tarafından salgılanan EGF, LIF, Adiponektin, TGF-β1 ve TNF-α gibi birçok büyüme faktörü ve sitokin, sitotrofoblast hücre füzyonunu düzenlemek için parakrin bir şekilde hareket eder. Öncelikle sinsisyotrofoblast tarafından salgılanan hCG, sinsitizasyonu teşvik etmek için otokrin bir şekilde hareket eder (Malhotra ve ark., 2016).

2.5.2. Laküner Aşama

Laküner aşamada, sitotrofoblastların progresif proliferasyonu ve füzyonu, implante blastosistin büyük kısmını çevreleyen ve sinsityum içindeki boşlukları geliştiren çok sayıda sinsisyotrofoblasta yol açar. Bu vakuoller birleşerek boşlukları oluşturur ve sinsisyotrofoblastların kolonları trabekülleri oluşturur. Bu boşluklar, koryoallantoik plasentada anne kanının dolaşacağı intervillöz alanının ilkel biçimleridir. Spiral arteriyoller endovasküler sitotrofoblastlar tarafından tıkandığından, intervillöz boşluklar 10-12. gebelik haftasına kadar maternal kan olmadan sıvı ile doldurulur (Hustin ve Schaaps, 1987). Düşük oksijenli ortam, organogenez dönemindeki fetüsü reaktif oksijen türlerinden koruyabilir. Spiral arteriyoller, feto-maternal oksijen ve besin alışverişine izin vermek için ilk trimesterin sonuna doğru intervillöz boşluğu perfüze etmeye başlar.

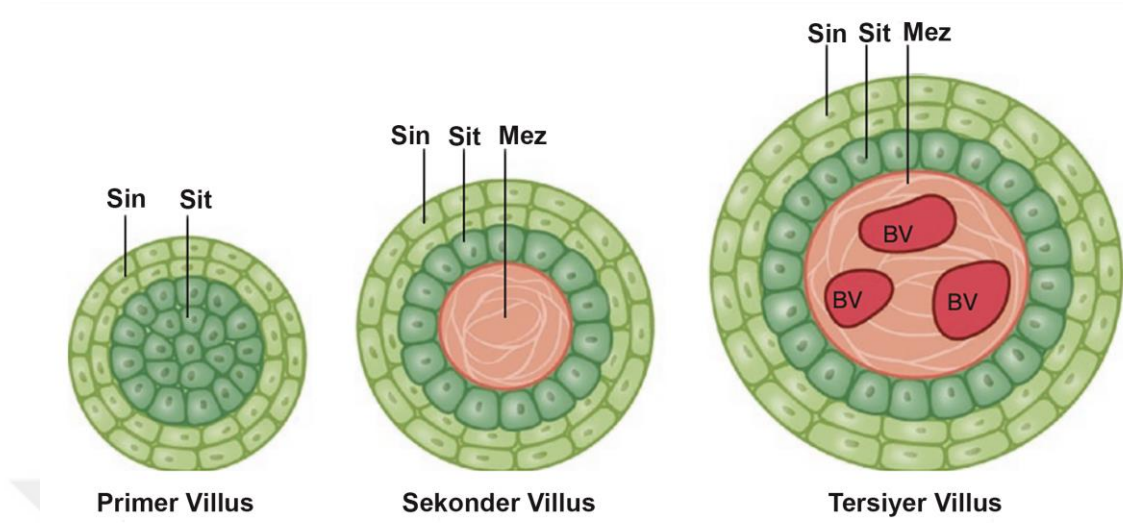


Şekil 2.8. İnsan plasenta gelişimine genel bakış. (A) Hem polar hem de mural trofektodermi gösteren preimplantasyon ve peri-implantasyon blastosisti ve polar trofektodermiden ilkel sinsityotrofoblastın ortaya çıkışı. (B) ve (C) implantasyon sonrası trofoblast gelişimi. Sinsisyotrofoblastta lakuna gelişimi ve birincil villusların ortaya çıkışı. (D) Plasentanın anatomisi, hem koryon villusları halinde düzenlenmiş villöz trofoblastları hem de trofoblast hücre kolonları halinde düzenlenmiş ekstravillöz sitotrofoblast hücrelerini göstermektedir (Baines ve Renaud, 2017).

2.5.3. Villus Aşama

Erken villus gelişimi, sitotrofoblastların sinsisyotrofoblast trabeküllerinin kolonlarına infiltrasyonu ile karakterize edilir. Bu villuslar önce mezenşim ve ardından fetal damarlar tarafından istila edilir. Bu nedenle primer villus, merkezi bir sitotrofoblast çekirdeği olan trofoblastik trabeküller tarafından oluşturulan bir villustur. Sekonder villus de esasen mezenşim içeren bir villustur. Fetal damarların penetre olduğu ikincil villuslardan tersiyer villuslar oluşur. Tersiyer villus ayrıca mezenkimal villus olarak da adlandırılır ve hem bir

sinsisyotrofoblast yüzeyine hem de bir bazal membran üzerinde yerleşik tam bir sitotrofoblast tabakasına sahiptir. Gebe kaldıktan 5 hafta sonra mezenkimal villuslar dört tip villusa ayrılır. İmmatür intermediyet villüs, Stem villüs, Terminal villüs ve Matur intermediyet villüs, Olgunlaşmamış intermediyet villuslar bol miktarda gevşek veya retiküler bir stromaya, Hofbauer hücrelerine, daha belirgin damarlara ve sürekli olmayan bir sitotrofoblast tabakasına sahiptir. Kök villuslar, villus ağacının geniş bir fetal damar içeren yoğun bir stromaya dönüşmesiyle olgunlaşmamış intermediyet villusların birleşiminden ortaya çıkarlar. Terminal villus, mezenkimal ve olgunlaşmamış intermediyet villus yüzeyinden tomurcuklanır. Mezenşimde sitotrofoblastların devam eden proliferasyonu, sinsisyal filizler (sinsisyal knots-tomurcuklanmalar) olarak adlandırılan sinsisyotrofoblastların büyümesini sağlar. Terminal villüsler, gebeliğin ilerlemesiyle birlikte maternal kan tarafından işgal edilecek olan boşluklara doğru çıkıntı yaparak, hamileliğin ikinci trimesterinde besin alışverişi için kritik olan tersiyer villusların öncülerini oluştururlar. Olgun intermediyet villuslar, gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkar ve nispeten daha küçük çaplı villus filizleri olarak oluşan ve aynı zamanda sinsisyotrofoblastlar, sitotrofoblastlar ve fetal kapilleri içeren tersiyer villusların oluşumunu sağlar. Olgun intermediyet villuslar, gebeliğin 20. haftasından önce plasentaya hakim olan olgunlaşmamış intermediyet villuslardan farklıdır, çünkü onlar daha ince bir sinsisyotrofoblast tabakasına, sürekli olmayan sitotrofoblast tabakasına, iyi gelişmemiş fetal damarlanmaya sahiptir.



Şekil 2.9. Primer, sekonder ve tersiyer villusların komponentlerin karşılaştırılması. Sin: sinsisyotrofoblast, Sit: sitotrofoblast, Mez: mezenkim (L. Ernst ve Carreon, 2019).

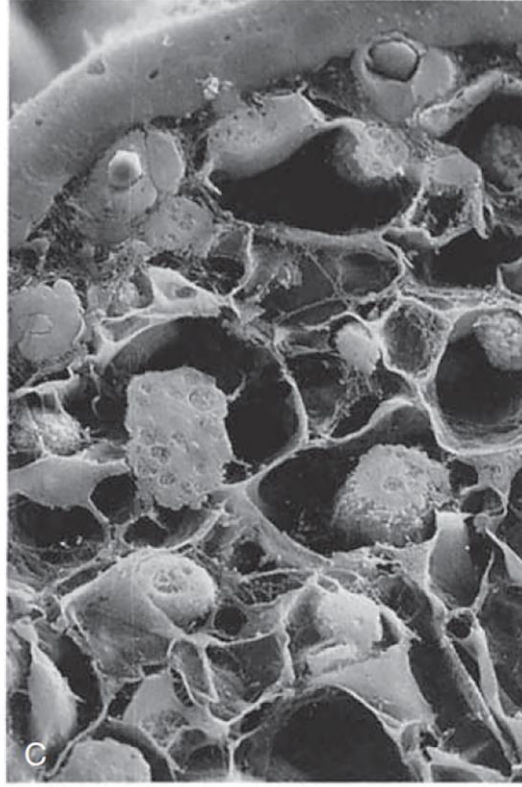
2.6. Villus Tipleri

Plasental villus, stromal ve vasküler yapıya ve işlevsel bakımından farklılık gösteren alt tiplere ayrılır. Geçmişte birkaç sınıflandırma sistemi kullanılmıştır, ancak günümüzde en yaygın olarak kullanılanı Kaufmann ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (P. Kaufmann ve ark., 1979). Bu tanımlama, villus tiplerini histolojik kriterlere göre tanımlamaktadır.

Kök villus, villus ağacının ana yapısal desteğini oluşturur. Koryonik plaktan çıkarlar ve bazıları bazal plağa kadar uzanarak demirleyici villuslar olarak tutunurlar. Yoğun bir fibröz stromaya ve konumlarına bağlı olarak arterlerin, arteriyollerin ve venüllerin varlığı ile karakterize edilirler. Normal plasentada, toplam kök villus hacmi gebelik boyunca kademeli olarak artar ve termde toplam villus hacminin %20 ile %25'ini oluştururlar (Jackson ve ark., 1992; G. J. Burton ve Jauniaux, 1995). Çapları yaklaşık 3000 µm'den 80 µm'ye kadar değişir. Stroma; fibroblastlar, miyofibroblastlar ve nadiren makrofajları bulunduran yoğun kollajen lif demetleri ile karakterizedir.

İntermediyet villuslar, kök villus ve daha ince periferik dallar arasına yerleşmiştir. Bunlar iki tiptir. Olgunlaşmamış intermediyet villuslar, kök villuslarının olgunlaşmamış devamları olan villuslardır. Normalde bu tip villuslar erken gebelikte çoğunluktadır ve

villöz ağaçların merkezlerinde küçük gruplar halinde bulunabilirler. Kök villusların daha ince dallarının olgunlaşmamış öncülerini temsil ederler. Olgunlaşmamış intermediyet villuslar, ilk iki trimesterde mezenkimal villusun olgunlaşmasından gelişirler. Histolojik olarak, olgunlaşmamış intermediyet villuslar, kök villuslar ile aynı kalın trofoblastik örtüye sahiptir. Erken gebelik sırasında sitotrofoblast hücre yüzeylerinin %50'sinden fazlası sinsisyumun altında bulunur, gebeliğin sonlarına doğru bu miktar yaklaşık %20'ye düşer. Olgunlaşmamış intermediyet villus stromasının en belirgin özelliği, çok sayıda stromal kanal bulunması ve stromal hücrelerin büyük olmasıdır (**Şekil 2.10**). Bu kanalların içinde çok sayıda makrofaj bulunur ve bu hücreler kanallar arasında serbestçe hareket eder (Castellucci ve Kaufmann, 1982). Erken gebelikte bu kanalların çok sayıda bulunması, oksijen ve besinlerin villöz ağaçtan ve sölomik sıvıya nispeten serbest difüzyonunu sağlar. Bu durum, kanallar içindeki makrofajların, endometriyal bezler tarafından salgılanan bir glikoprotein olan glikodelin-A için immünopozitif olduğu ve sölomik sıvıda yüksek düzeyde desidual proteinlerin bulunduğu gözlemiyle desteklenmektedir (Jauniaux ve Gulbis, 2000; G. J. Burton ve ark., 2002). Bu nedenle kanallar, yaklaşık 8 haftada fetal koryonik dolaşımın başlangıcından önce besin taşınması için önemli bir yol sağlar. Kılcal damarlar, arteriyoller ve venüller gibi fetal damarlar, sıkı kollajen lif demetleri ile birlikte kanallar arasında bulunur. Olgun intermediyet villuslar, terminal villusların dallanması ile karakterizedir. Işık mikroskobu seviyesinde tanımlanabilir media ve/veya adventisya tabakası içermeyen damarların varlığı ile karakterize olup yaklaşık 60 ila 150 mm çapa sahip olan uzun, ince villuslardır. Histolojik olarak, olgun bir ara villustan terminal villusa geçiş, kesin bir sınırı olmayan kademeli bir geçiştir. Olgun intermediyet villusun stroması, gevşek bağ dokusu lifleri demetlerinden ve sabit bağ dokusu hücrelerinden oluşur. Bazı yerlerde, stromayı genellikle makrofajlardan yoksun olan ilkel dar stromal kanallar çevreler. Damarlar küçük arteriyollerden, venlerden ve çok sayıda kapillerlerden oluşur. Normal plasentadaki villus hacminin yaklaşık %25'i bu tip villuslardan oluşur. Olgun intermediyet villuslar, geniş yüzey alanları ve yüksek fetal vaskülarizasyon nedeniyle maternal-fetal değişime önemli katkı sağlar. Ayrıca hormon üretimi için önemli yapılardır. Diğer organların damar yatağına benzer şekilde, direnç arteriyollerinin varlığı, bunların vazoregülasyona ve dolayısıyla intravillöz kan dağılımına katılmalarına izin verir.

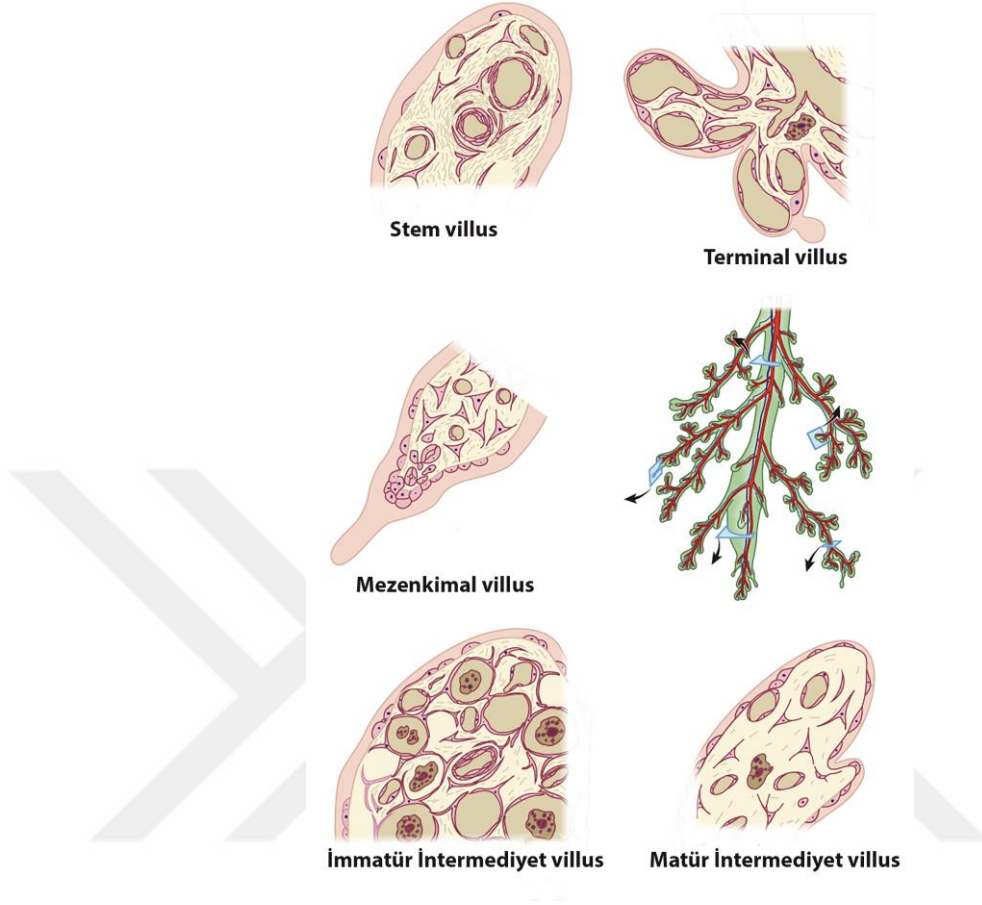


Şekil 2.10. Olgunlaşmamış intermediyet villusun stromal kanallarla karakterize retiküler stromasının üç boyutlu TEM görüntüsü (P Kaufmann, 1981).

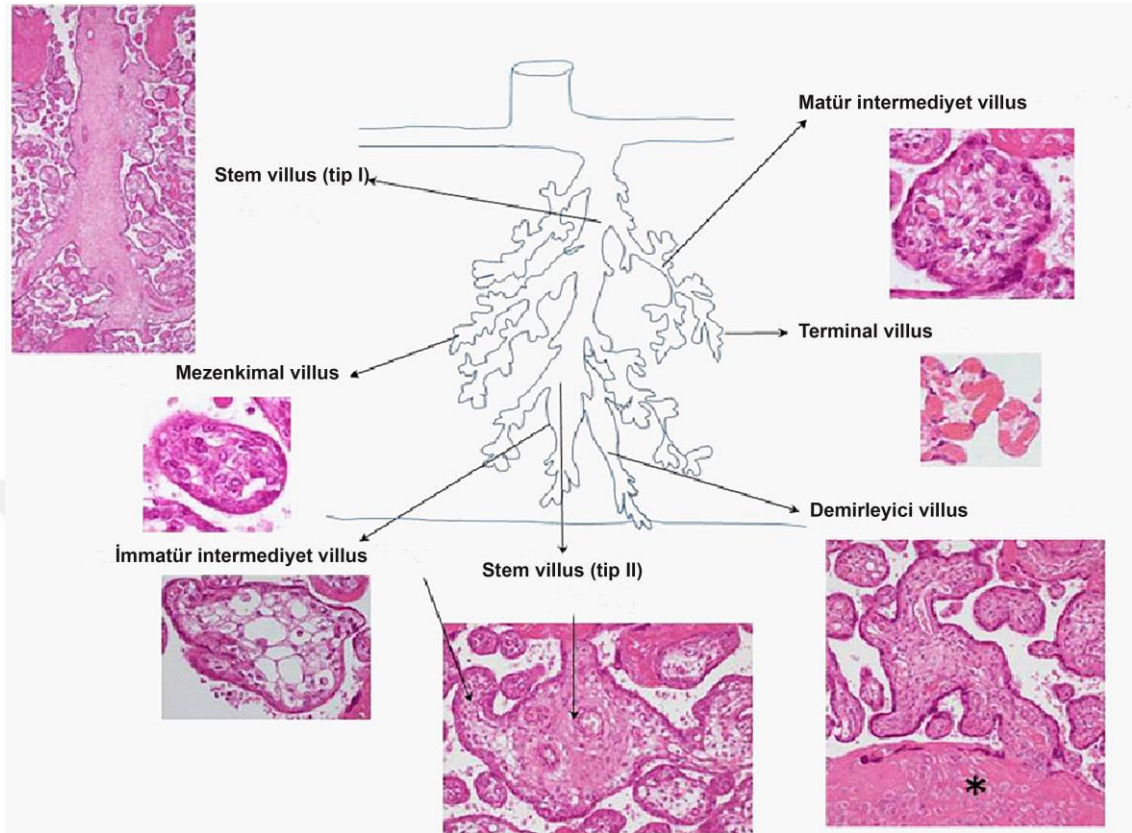
Terminal villuslar, yüksek derecede kapillarizasyonları (kılcal damarlanma) ve oldukça genişlemiş sinüzoidlerin varlığı ile karakterize olan, olgun intermediyet villuslardan gelişen ortalama 30 ila 80 μm çapında, üzüm benzeri son dallardır. Maternal-fetal değişimin ana bölgesini temsil ederler. Terminal villuslar, difüzyonu kolaylaştırmak için yapısal değişime uğramıştır. Fetal kapillerler genellikle oldukça dardır ancak uzunlukları boyunca, genellikle akut kıvrım noktalarında sinüzoidal genişlemeler gösterirler. Bu dilatasyonlar, kapiller endoteli, vaskülosinsisyal bir membran oluşturmak üzere üzerini örten sinsisyotrofoblast ile yakın temasa girmektedir. Modelleme çalışmalarında, bir sinüzoid boyunca fetal kan akışının hızının ~%80 oranında yavaşladığını ortaya koymaktadır, bu da difüzyonel değişimi teşvik etmektedir (Plitman Mayo, Charnock-Jones, ve ark., 2016; Plitman Mayo, Olsthoorn, ve ark., 2016). Dolayısıyla, vaskülosinsisyal membranların insidansı ile fetal hipoksi arasında ters bir ilişki vardır (Fox, 1967; Pearce ve ark., 2016). Stromal bağ dokusu, az sayıda bağ doku liflerine ve

hücrelere sahiptir ve makrofajlar da nadir bulunur. Kesit alınan bölgeye göre histolojik görünümleri farklılık gösterir.

Mezenkimal villuslar en ilkel villuslardır. Gebeliğin erken evrelerinde çok sık görülürler ve olgunlaşmamış intermediyet villusların öncüleridir. Gebeliğin sonraki aşamalarında, bu villuslar göze çarpmayan, çoğunlukla küçük, olgunlaşmamış intermediyet villusların yüzeyleri boyunca veya olgun ara villusların uçlarında bulunabilen ince yapılardır. Mezenkimal villusların sayısı gebelik ilerledikçe azalır. Daha sonraki aşamalarda, esas olarak olgunlaşmamış intermediyet villusların yüzeylerinde, esas olarak lobüllerin merkezlerinde az sayıda bulunurlar, bu da normal gebeliklerde villöz ağaç genişlemesinin asla durmadığını gösterir. Mezenkimal villus kalın bir trofoblastik örtüye sahiptir ve sitotrofoblastik hücreler sinsisyum ile bazal trofoblastik lamina arasında yüzeyin %50-100'ünü kaplar. Stroma, mezenkimal ve bazı villöz makrofajları birbirine bağlayan gevşek düzenlenmiş kollajen lifleri ile karakterize edilir. Villus olgunlaşmamış intermediyet villuse dönüştüğünde, stromal hücreler fibroblastlara ve miyofibroblastlara farklılaşır (Kohnen ve ark., 1996; Demir ve ark., 1997). Fetal kapillerler az gelişmiştir ve hiçbir zaman sinüzoidal dilatasyon göstermezler. Kapillerlerin lümenleri yine de villusun uçlarına yakın yerlerde tıkanmış olabilir ve damarlar bir dizi endotel hücresinden oluşur. Lümen oluşumunda birkaç adım gözlemlenebilir.



Şekil 2.11. Olgun bir plasental villöz ağacın çevresel kısmının basitleştirilmiş gösterimi ve çeşitli villöz tiplerin tipik kesitleri (G. Burton, 2022).



Şekil 2.12. Plasental ağacı oluşturan villus tipleri (Avagliano ve ark., 2016).

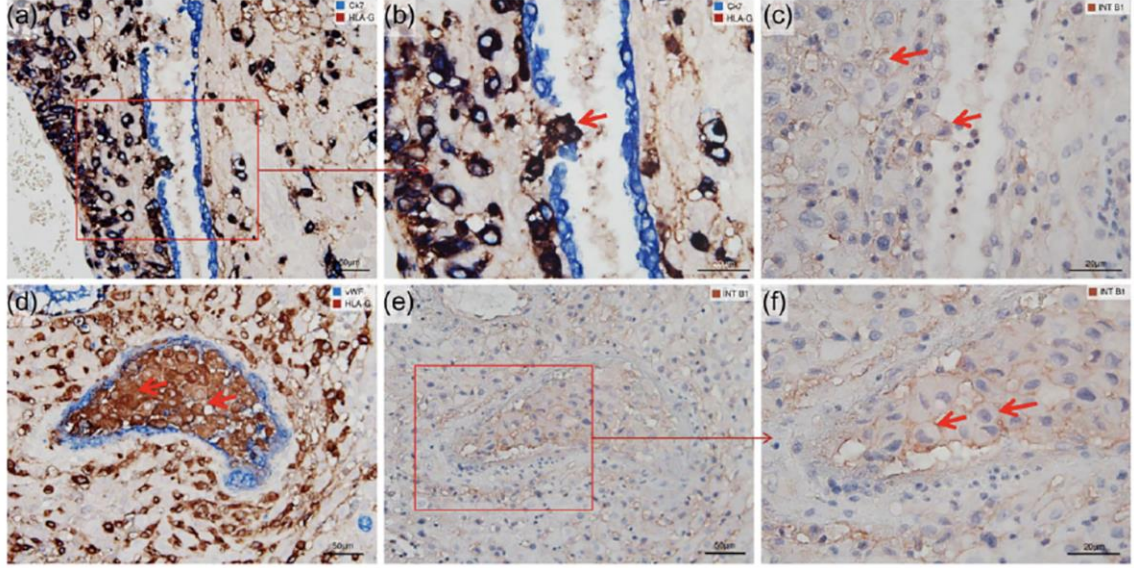
2.7. Trofoblastın Çoklu Fenotipleri

Blastosistin trofektoderminden tüm trofoblastik hücre soyları gelişir. Sitotrofoblastlar sinsisyotrofoblastları oluşturmak için prolifera olup füzyon yaparken hücre kolonlarındaki sitotrofoblast hücreleri, ekstrasvasküler sitotrofoblastlara (interstisyel sitotrofoblast) ve ayrıca maternal damarlardaki endovasküler sitotrofoblastlara farklılaşır. Sitotrofoblastlar, 20 haftalık gebelikten önce olgunlaşmamış intermediyet villusta sinsisyotrofoblastın altında sürekli bir tabaka oluşturur. Villöz sitotrofoblast tabakası, gebelik ilerledikçe kesintili hale gelir ve sitotrofoblast hücre gövdelerinin enine kesitleri, sinsisyotrofoblastı destekleyen ortak bazal membranın yaklaşık beşte birini işgal eder. Gebelikte morfolojideki değişikliklere rağmen, villuste bulunan sinsisyotrofoblastların sitotrofoblastlara oranı, ilk trimesterden term boyunca 10:1'de sabit kalır. Trofoblastik kabukta villöz ve proksimal hücre kolonlarında bulunan trofoblast hücreleri mitotik olarak aktifken sinsisyotrofoblast ve distalde bulunan hücre kolonlarındaki EVT'ler inaktif haldedir. Sitotrofoblastlar, villus üzerindeki bu terminal olarak farklılaşmış tabakayı yenilemek için üstteki sinsisyotrofoblastlarla kaynaşan yavru hücelere sahip bir kök

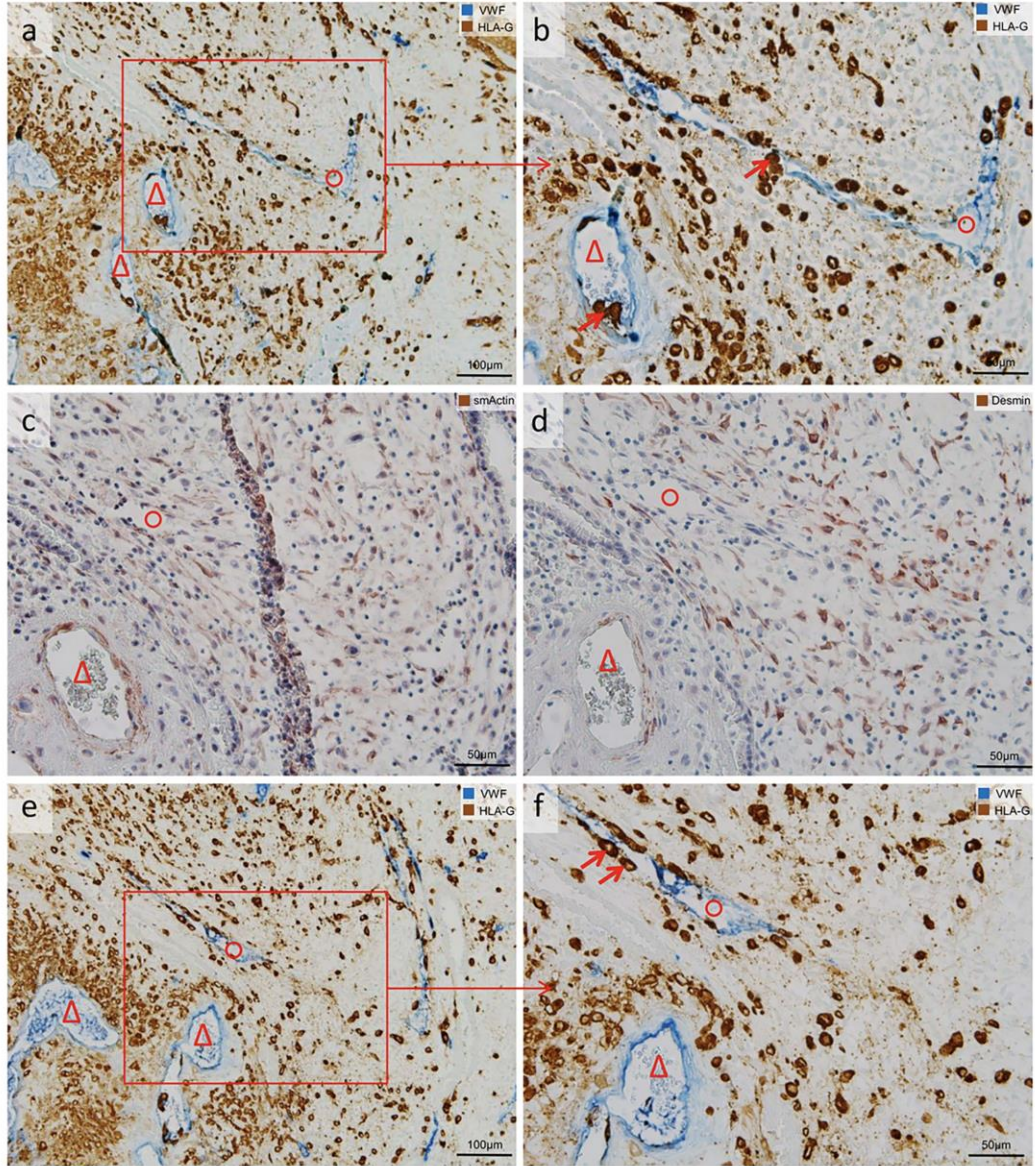
hücre popülasyonu sağlar. Hem villöz sitotrofoblastlar hem de sinsisyotrofoblastlar, insan koryonik gonodotropin (hCG), insan plasental laktojenin (hPL) alfa ve beta alt birimleri, TGF ailesinin üyeleri, progesteron ve estriol dahil olmak üzere gebelik için kritik olan protein ve steroid hormonları üretir (Rampersad ve ark., 2011).

Ekstravillöz sitotrofoblastlar invazivdir ve desiduanın penetrasyonuna aracılık ederler. ekstravillöz trofoblast fenotipleri vardır. Bunlar; interstisyel trofoblast, endoglandular trofoblast, endovenöz trofoblast, endoarteriyel trofoblast, ve endolenfatik trofoblastlardır (**Şekil 2.13 ve Şekil 2.14**). İnterstisyel trofoblast hücreleri, gebeliğin erken döneminde bol miktarda bulunur. Bu hücrelerin bazılarının doğrudan veya dolaylı olarak, diğer hücre tiplerini etkileyerek, plasentaya giren maternal arterlerin modifikasyonunua katıldıkları kabul edilir (Pijnenborg ve ark., 2006). Erken interstisyel hücreler mononükleerdir, ancak daha sonra multinükleer interstisyel hücreler insanda ve çoğu büyük maymunda plasentanın altında bulunur (Carter, 2011; Carter ve Pijnenborg, 2011). Uterus bezlerini istila eden ekstravillöz trofoblastların bir alt popülasyonu olan endoglandular trofoblast hücreleri, histiyotrofik beslenmenin insandaki varlığını ortaya çıkarmıştır (**Şekil 2.13**) (Moser ve ark., 2010; Moser ve ark., 2015). Endoglandular trofoblast hücreleri sadece uterus bezlerini istila etmez ayrıca, uterus bezlerini plasentaya bağlayıp embriyonun erken beslenme desteğini sağlar (Moser ve ark., 2018a). Uterus bezlerinin istilasını takiben, endovenöz trofoblast hücreleri uterin venleri istila eder ve venlerin plasentaya bağlanması sağlanır (**Şekil 2.13 ve Şekil 2.14**). Böylece, uterus bezlerinin salgı ürünleri intervillöz boşluktan uzaklaştırılır. Bir sonraki süreç, endoarteriyel trofoblast hücreleri tarafından yürütülür. Endoarteriyel trofoblastlar spiral arterlere invaze olur (**Şekil 2.14**) (Moser ve Huppertz, 2017). Arterler söz konusu olduğunda, bu arterlerin duvarlarının yeniden yapılandırılması gerekir ve invazyon, venler ve uterus bezlerinden çok daha derine iner. İnvaze trofoblastların bezlerin ve damarların duvarlarını yeniden yapılandırmasına gerek yoktur; sadece bu luminal yapıları açıp plasentanın intervillöz boşluğuna bağlama ihtiyacı vardır. Ancak arterlerdeki kas tabakasının yeniden yapılandırılması gereklidir. Son olarak, endolenfatik trofoblast hücrelerinden uterus lenf damarlarına invazyon tanımlanmıştır (He ve ark., 2017; Windsperger ve ark., 2017). Bu istila yolunun işlevi şu ana kadar belirsizdir. Ancak, lenf damarlarını plasentaya bağlamak gibi bir işlev görebileceği gibi, intra-plasental sıvı basıncını ayarlayan ek düzenleyici yapı olarak da hizmet edebilir. Her iki

durumda da endolenfatik trofoblastların lokal lenf düğümlerinden alınıp alınamayacağını görmek ilginç olacaktır.



Şekil 2.13. Endoglandüler ve endovasküler trofoblast hücrelerinin immünohistokimyasal görüntüsü. Endoglandüler ve endovasküler trofoblast hücreleri integrin ITGB1'i eksprese eder. İntegrin alt birimi ITGB1 (INT B1, kahverengi), CK7 (mavi, glandüler ve uterin epitelyum için belirteç görevi görür), HLA-G (koyu kahverengi, EVT için belirteç görevi görür) ve von Willebrand Faktörü (mavi, vasküler endotelyum için belirteç görevi görür). (a) Genel bakış, kısmen EVT ile çevrelenmiş bir uterus bezini gösterirken, (b)'de (a)'daki görüntünün büyütülmüş hali. Endoglandular EVT hücrelerini (kırmızı ok) açıkça göstermektedir. (c) ITGB1 için etiketlenmiş (b)'ye bitişik bölüm. İnterstitiyel EVT gibi, endoglandular EVT (kırmızı oklar) ITGB1'i hücre yüzeylerinde ifade eder. (d) vWF-pozitif EVT hücrelerini gösterir. (e) Bitişik bir seri kesitten ITGB1 için boyanmış aynı trofoblast tıkaçını gösterir. (f)'de büyütülmüş hali, endovasküler EVT hücrelerinin (kırmızı oklar) hücre yüzeylerinde ITGB1 ifade ettiğini ortaya koymaktadır (Moser ve ark., 2018b).



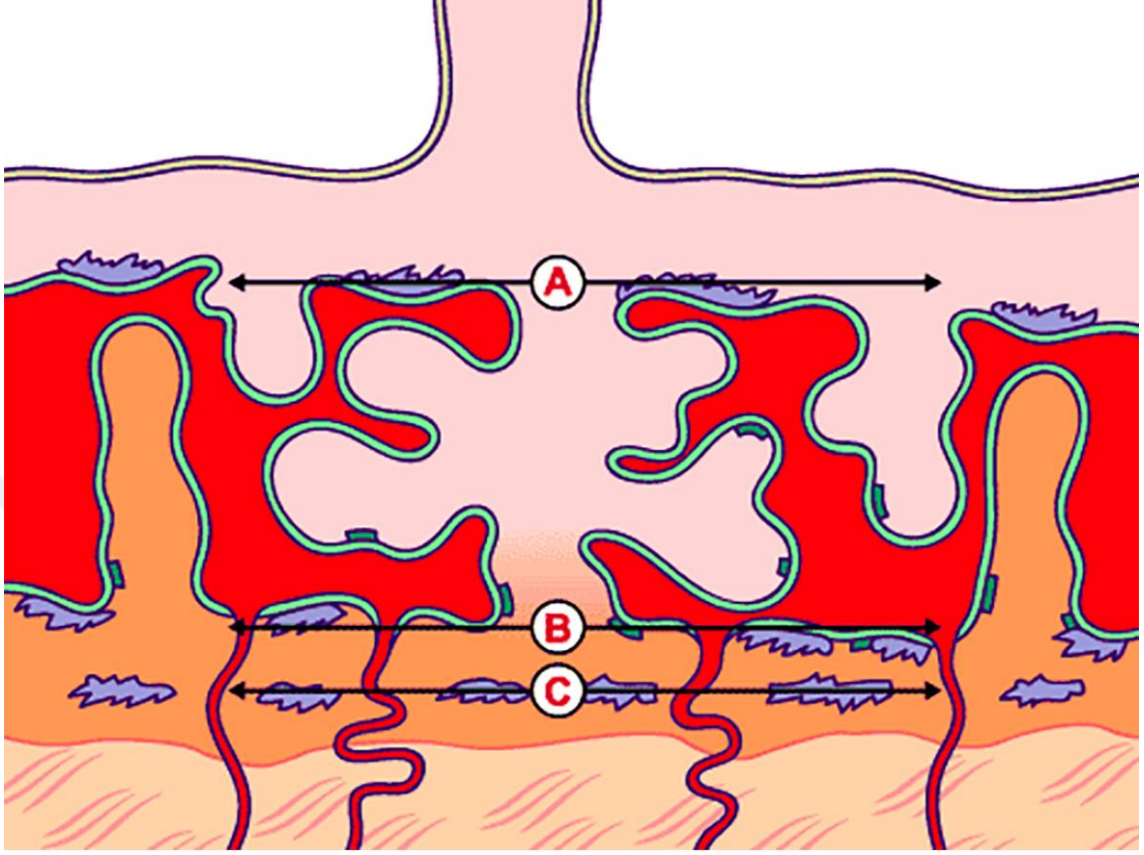
Şekil 2.14. Ekstravillöz trofoblastlar tarafından istila edilen uterin ven ile birlikte uterin arterin immünohistokimyasal görüntüsü. İmmünohistokimyasal boyama/çiftli boyama (gebelik yaşı 7 hafta) ile istila edilmiş miyometriyumun seri kesitleri. a, b, e, f'deki görüntüler, von Willebrand faktörü (mavi, vasküler endotel hücreleri için belirteç görevi görür) ve HLA-G (kahverengi, EVT için belirteç), c smActin için immün boyama (kahverengi, bir kas tabakası için işaretleyici olarak ve desmin boyama için kontrol görevi görür, d Desmin için boyama (kahverengi, kas tabakası için belirteç görevi görür). a, e Genel Bakış: İstila edilmiş bir damar (daire) ile birlikte istila edilmiş bir spiral arterden (üçgen) iki kesit. B ve f a'daki görüntünün büyütülmüş hali. c, d Seri kesitler, dönüşüme uğramış arterin düz kas tabakasını (üçgen) gösterir, ancak komşu vende (daire) kas tabakasının tamamen yokluğunu gösterir. b, f'deki oklar, halihazırda arter ve ven lümeninde bulunan tekli EVT'leri gösterir (Moser ve ark., 2017).

Term plasenta sinsisyotrofoblastı, villöz ağacın yüzeyini çevreleyen çok nükleuslu, kesintisiz bir tabakadır. Sinsisyum, sitotrofoblastların üzerini örten sinsisyotrofoblast ile membran-membran füzyonu ile oluşturulur. Dış sinsisyal tabaka intervillöz boşluğa

maruz kalır ve böylece maternal kan ile yıkanır. Sinsisyotrofoblast mitotik olarak inaktif olduğundan, bu tabakanın korunması villöz sitotrofoblast tabakasının devam eden proliferasyonuna bağlıdır. Sinsisyumdaki yaşlanan nükleuslar termde belirgindir ve villusun apikal yüzeyinden çıkıntı yapan sinsisyal düğümler oluşturur.

2.8. Plasental Fibrinoid

Fibrinoid, hematoxilen ve eozin ile karakteristik eozinofilik boyama gösteren çeşitli dokularda bulunan hücresiz bir matris bileşenidir. Bu görünüm, dokularda biriken fibrinin boyama özelliklerinden farklı değildir, ancak fibrinoid, herhangi birine özgüllüğü olmayan birden fazla proteinin varlığını gösterir. Plasentadaki çeşitli yerlerde, tüm bazal plaka dahil olmak üzere fibrinoid birikintiler bulunur. Villus yüzeyindeki fibrin içeren fibrinoid birikintileri, apoptoza uğrayacak trofoblastların olduğu bölgelerdeki sinsisyotrofoblast hücrelerinin devamlılık içermediğini gösterir. Fibrin tipi fibrinoid esas olarak fibrinojen ve fibrinden oluşur ve maternal kandan elde edilir. İntravillöz fibrinoid, sağlıklı gebeliklerin plasentalarında yaygın olarak görülen bir villus içinde meydana gelen birikimi tanımlar. Matriks tipi fibrinoid; fibronektin, laminin, tip IV kollajen, vitronektin ve fibrillin dahil olmak üzere birçok matris proteini içerir. Hücre dışı matrisin bu bileşenleri, fibrin tipi fibrinoidi karakterize eden fibrin ve fibrinojenin yerini alır. Demirleyici villusun birleşim noktasındaki bazal plaktaki fibrinoid, Rohr striaları (Rohr Fibronoid) adı verilen bir ad taşır. En iyi tanımlanan, Nitabuch'u fibrinoidi koryoallantoik plasenta ve maternal desidua arasındaki yüzeyde bazal plaka boyunca süresiz olarak dağılan matris tipi fibrinoid'tir.



Şekil 2.15. Term plasentada bulunan fibrinoid tabakaları. A. Langhans fibrinoid tabakası B. Rohr fibrinoid tabakası C. Nitabuch fibrinoid tabakası. Koyu mavi renkle gösterilenler fibrinoid birikimler, açık mavi renkle gösterilen sinsiyotrofoblast tabakası, pembe renkle gösterilenler plasentanın fetal kısımları, turuncu renkle gösterilenler plasentanın maternal kısımları, kırmızı renkli alanlar ise intervillöz aralıktır (Özmen, 2015).

2.9. Preeklampsi

Preeklampsi, gebelikle ilişkili multisistem bir hastalık olup, patofizyolojisi bilinmemektedir. Preeklampsi, maternal mortalite ve morbiditenin, neonatal ve fetal mortalitenin ve erken doğumun önde gelen nedenlerinden biridir. Gelişmekte olan ülkelerde preeklampsinin her yıl anne ölümlerinin %15'inden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (Duley, 2009). Çalışmalar, perinatal ölümlerin yaklaşık %10'unun preeklampsi ile komplike olan gebelikten kaynaklandığını göstermektedir (Altman ve ark., 2002; Nirupama ve ark., 2021). Yenidoğan veya fetal ölüm çoğunlukla erken doğum, plasental abrupsiyon ve/veya intrauterin ölümden kaynaklanır.

2.9.1. Preeklampsinin Tanımı

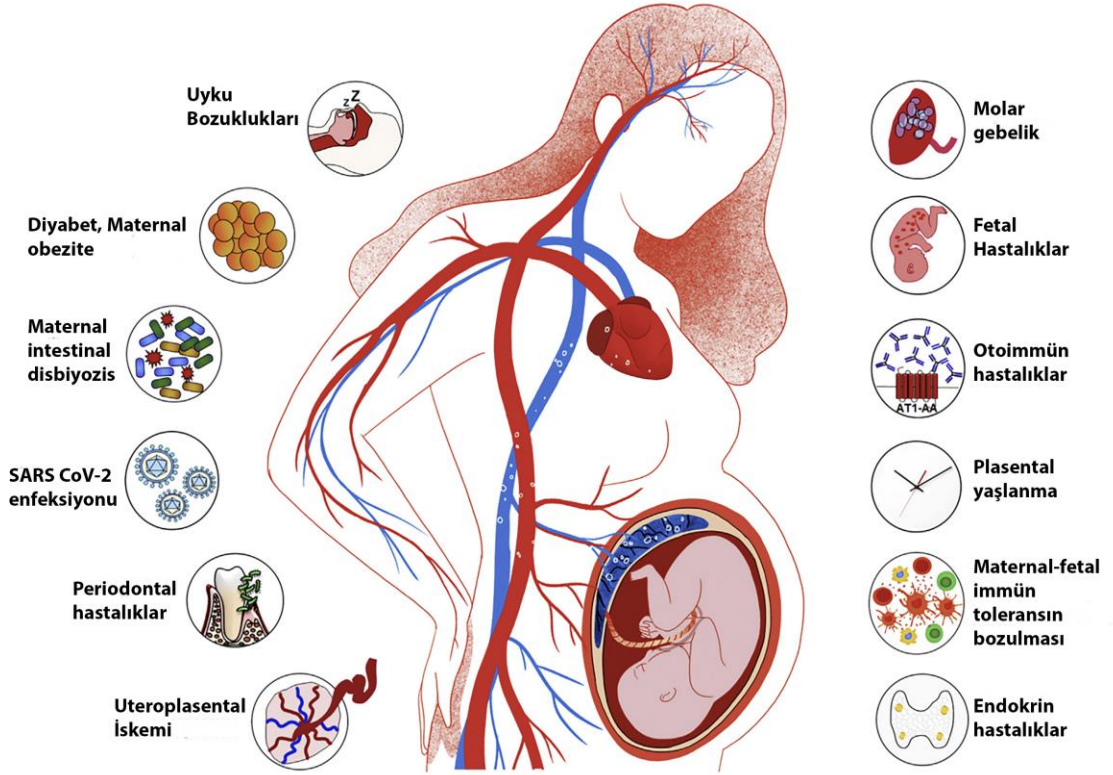
Gebelik sırasında hipertansiyon başlangıcı olarak tanımlanır. Öncesinde normal kan basıncı değerlerine sahip kadınların gebeliğin 20. haftasından sonra sürekli olarak sistolik/diyastolik kan basınçlarının 140/90 mm Hg'den yüksek olması ve 24 saatlik idrarda protein düzeyinin 300 mg'dan yüksek olması ile karakterizedir ("Gestational hypertension and preeclampsia: Acog practice bulletin, number 222," 2020). Amerikan Obstetrisyenler ve Jinekologlar Kongresi'nin (ACOG) yeni kılavuzlarına (2013) göre, preeklampsiye proteinüri eşlik edebilir veya etmeyebilir. Preeklampsi; akut böbrek yetmezliği, hepatik, nörolojik veya hematolojik komplikasyonlar, uteroplental disfonksiyon, fetal/intrauterin büyüme kısıtlaması ve intrauterin ölüm gibi maternal organ disfonksiyonu ile ilişkilidir. Preeklampsi hafif preeklampsi ve ağır preeklampsi olmak üzere 2 alt sınıfa ayrılır (**Tablo 2.1**). Hafif preeklampsi de sistolik kan basıncı 140-160 mm Hg, diastolik kan basıncı 90-110 mm Hg arasındadır ve proteinüri değeri ≥ 300 mg /günlük şeklindedir. Şiddetli preeklampsi, aşağıdaki ACOG kriterlerinden bir ya da daha fazlasının olması olarak tanımlanmıştır. Bunlar; sistolik kan basıncı ≥ 160 mm Hg veya diastolik kan basıncı ≥ 110 mm Hg, ilave olarak trombositopeni $<100.000/\text{mm}^3$, karaciğer fonksiyon bozukluğu (AST/ALT> normalin iki katı, medikal tedaviye yanıt vermeyen ciddi persistan sağ üst kadranda ağrısı veya epigastrik ağrı), yeni başlayan baş ağrısı, görme bulanıklığı, mental durumda bozulma, pulmoner ödem veya siyanoz, serum kreatinin $\geq 1,2$ mg/dL veya serum kreatinin düzeyinin artarak en az 2 katına çıkması olarak tanımlanmıştır.

Tablo 2.1. Preeklampsi sınıflandırılması (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı'nın verileri)

	Hafif Preeklampsi	Şiddetli Preeklampsi
Sistolik kan basıncı (mm Hg)	140-160	>160
Diastolik kan basıncı (mm Hg)	90-110	>110
Proteinüri/ spot idrar	<2+	>3+
Proteinüri/24 saatlik idrar	>300 mg	>5 gr
Baş ağrısı	yok	Bu bulgulardan 1 veya daha fazlası olabilir
Görmede değişiklik	yok	
Epigastrik ve sağ üst kadrın ağrısı	yok	
Karaciğer enzimlerinde artış (ALT ve AST)	yok	
Trombositopeni	yok	
İdrar çıkışı	yok	
Akciğer ödemi	yok	
İntrauterin gelişme kısıtlığı	yok	

Preeklampsi hem anneyi hem de fetüsü etkiler. Fetüsün düzgün gelişimi için uygun bir intrauterin ortam gereklidir. Plasentadaki herhangi bir değişiklik, fetüsün normal büyümesini ve gelişimini etkileyecektir. Annede preeklampsi, böbrek yetmezliğine, HELLP sendromuna, karaciğer yetmezliğine ve preeklampsinin şiddetli bir çeşidi olan nöbetlerle birlikte beyin ödeme neden olur (Nirupama ve ark., 2021). Fetal komplikasyonlar arasında ölü doğum, iyatrojenik prematürite, fetal/intrauterin büyüme kısıtlaması, oligohidramniyoz ve artmış perinatal ölüm riski bulunur (Long ve ark., 1980; Basso ve ark., 2006). Preeklampsinin komplikasyonlarından biri, preeklampitik gebeliklerin yaklaşık %2'sini ve gebeliklerin %14'ünü oluşturan eklampsidir (Group,

2002). Eklampsi, önceden var olan bir nörolojik hastalık olmadan teşhis edilen preeklampsi ile ilişkili bir spazm olarak tanımlanır (Douglas ve Redman, 1994; Mattar ve Sibai, 2000). Hipertansiyon, ödem ve proteinüri ile ilişkili olabilen veya olmayabilen şiddetli baş ağrısı, bulanık görme ile karakterizedir. Nöbet geçiren preeklamptik kadınlara eklampşik tanısı konur. Preeklampsinin nörolojik bir komplikasyonu olarak kabul edilir. Kronik hipertansiyon, diabetes mellitus, böbrek hastalığı, obezite, malnütrisyon, molar gebelikler, ileri anne yaşı, kalıtım, otoimmün hastalıklar (sistemik lupus eritematozus ve antifosfolipid antikoru) dahil olmak üzere çeşitli risk faktörleri preeklampsi ile ilişkilidir (Şekil 2.16) (Jung ve ark., 2022).

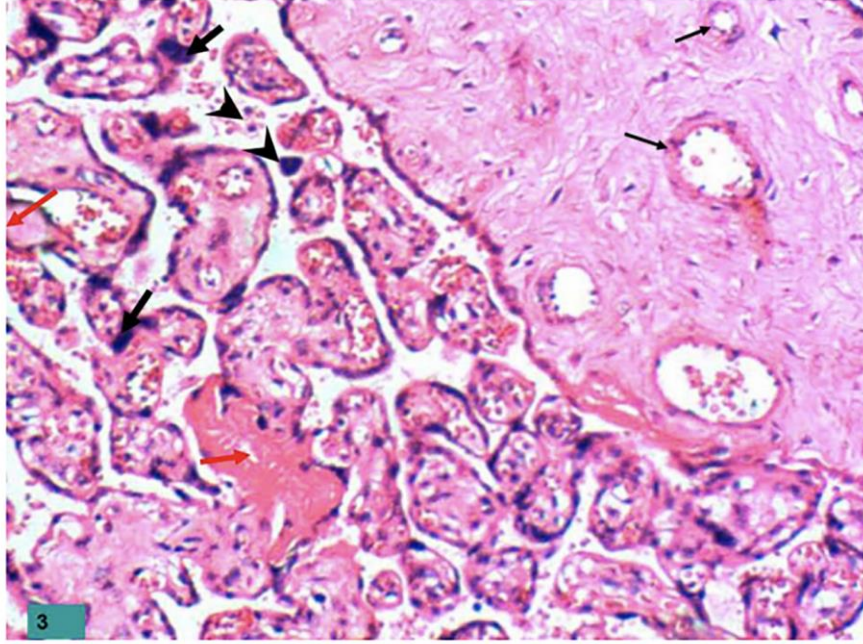


Şekil 2.16. Preeklampsinin etiyolojisi (Jung ve ark., 2022)

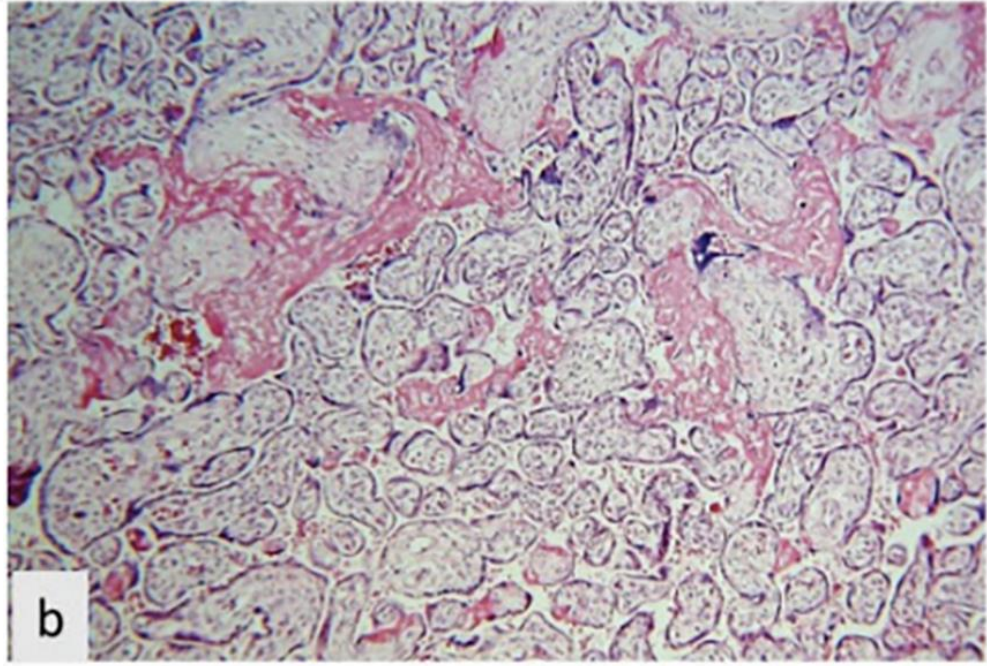
2.9.2. Preeklampsinin Histopatolojisi

Anne ile fetüs arasında bulunan plasentanın histopatolojik incelenmesi, gebelik patolojilerine bağlı gelişen bozulmuş plasantasyonun derecesini belirlemede önemli bir araçtır. Bu değerlendirme akut ve kronik olayların ayırıcı tanısını da sağlayabilir. Preeklampsinin kesin tedavisi doğumun gerçekleştirilip plasentanın çıkarılmasıdır. Bu

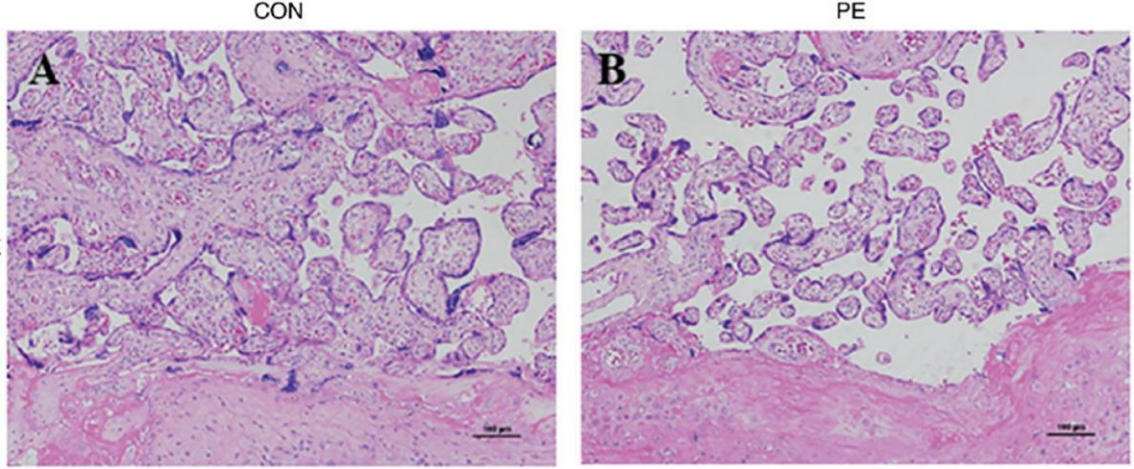
nedenle bu sendromun plasentadan salgılanan çözünür faktörler tarafından yönlendirildiği varsayılmaktadır. Bu mediatörlerin neler olduğu ve etki mekanizmaları açıklanmağı sürece doğum, PE'nin tek tedavisi olmaya devam edecektir ("Gestational hypertension and preeclampsia: Acog practice bulletin, number 222," 2020). Distal villöz hipoplazi, plasental infarktlar, ağırlıkça küçük placent, fibrinoid nekroz ve maternal vasküler malperfüzyon (MVM) plasentanın preeklampside görülebilen başlıca histopatolojik bulgularıdır (Falco ve ark., 2017; L. M. Ernst, 2018). İbrahim NA ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PE grubunda fetal kapillerlerin duvarlarında kalınlaşma, intervillöz boşluklarda azalma ve intravillus ve perivillöz fibrinoid birikimi görüldü. Ayrıca, çok sayıda sinsisyal düğüm ve pul pul dökülmüş trofoblast hücreleri de gözlemlendi (**Şekil 2.17**) (İbrahim ve Khaled, 2014). Atıgan A ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sinsisyal düğüm ve perivillöz fibrin birikimi preeklampsinin önemli mikroskopik bulgularıydı. Fibrin birikiminin varlığı ve miktarı, fetal ağırlık ve plasentanın makroskopik özellikleri (plasenta ağırlığı, alanı ve hacmi) ile ilişkili değildi (**Şekil 2.18**) (ATIGAN ve ark.). F Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise PE plasentada normal plasenta dokusuna göre düzensiz bir yapı ve koryon villuslarında belirgin azalma gözlemlendi (**Şekil 2.19**) (Liu ve ark., 2018).



Şekil 2.17. Preeklampsi grubuna ait insan plasentasındaki bir bölümün fotomikrografi. Kalınlaşmış fetal kapillerler duvarını ince oklar, intervillüs fibrinoid birikimini kırmızı oklar gösteriyor. Sinsisyal düğümleri kalın oklar ve pul pul dökülmüş trofoblast hücrelerini ok başları göstermektedir (İbrahim ve Khaled, 2014).



Şekil 2.18. Preeklampsi grubuna ait insan plasentasında perivillöz fibrinoid birikimi görülmektedir (ATIGAN ve ark.).



Şekil 2.19. (A) Kontrol ve (B) preeklampitik plasentalarda HE boyaması (Liu ve ark., 2018).

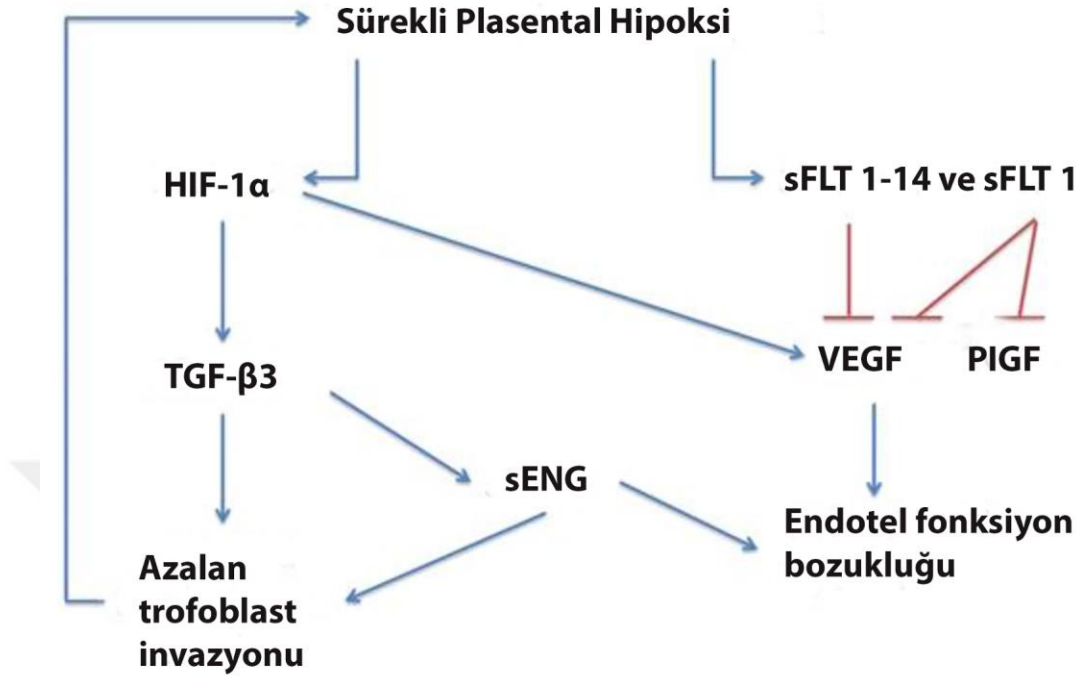
2.9.3. Preeklampsinin Patofizyolojisi

Son yıllarda preeklampsi ile ilgili bilgilerimiz artmasına rağmen, preeklampsi için klinik testlerin geliştirilmesi ve yorumlanması zorlu olmaya devam etmektedir. Preeklampsinin patofizyolojisi anormal plasantasyon, anormal spiral arter remodellenmesi, plasental yetmezlik ve endotel disfonksiyonu içerir.

Plasantasyon aşamasındaki kusurlar, preeklampsi gelişimine neden olabilmektedir. Preeklampitik plasentanın incelenmesi, çok sayıda plasental enfarktüs ve aterosklerozu ortaya çıkarır. Bu klinik tabloya, anormal trofoblast invazyonu nedeniyle plasental hipoperfüzyon ve dolayısıyla plasental iskemi eşlik eder. Sağlıklı bir gebelik sırasında, fetal orjinli ekstravillöz sitotrofoblast hücreleri, desiduada ki spiral arterleri istila eder. Bu spiral arterler daha sonra endotelial karakteristiklerini kaybederler ve yüksek dirençli damarları oluşturur. Bu damarlar fetüsü beslemek için yeterli plaseenta perfüzyonunu sağlayabilen büyük damarlara dönüşürler. Bu spiral remodellenmesi, preeklampitik durumda bozulur. Spiral arterin bozulan remodellenmesi nedeniyle, plaseenta oksijenden yoksun kalır ve plasental iskemi adı verilen bir duruma neden olur. Bu, maternal dolaşımda endotel hasarına katkıda bulunan anti-anjiyojenik faktörlerin üretimini destekler. Önceki birçok çalışma, preeklampsi sırasında plasentadan maternal dolaşıma salınan çözünür fms benzeri tirozin kinaz-1 (sFlt-1) ve çözünür endoglin (sEng) gibi anti-anjiyojenik faktörlerin artan düzeylerinin, endotel oluşumuna ve dolayısıyla proteinüriye neden olduğunu tespit etmiştir (Levine ve ark., 2004; Oggè ve ark., 2010; Kar, 2014).

Plasental hipoperfüzyon ve iskemiye ek olarak ateros varlığı, fibrin birikimi, intima kalınlaşması, nekroz, ateroskleroz ve plasental enfarktüs gibi birçok lezyonlar çalışmalarda gösterilmiştir.

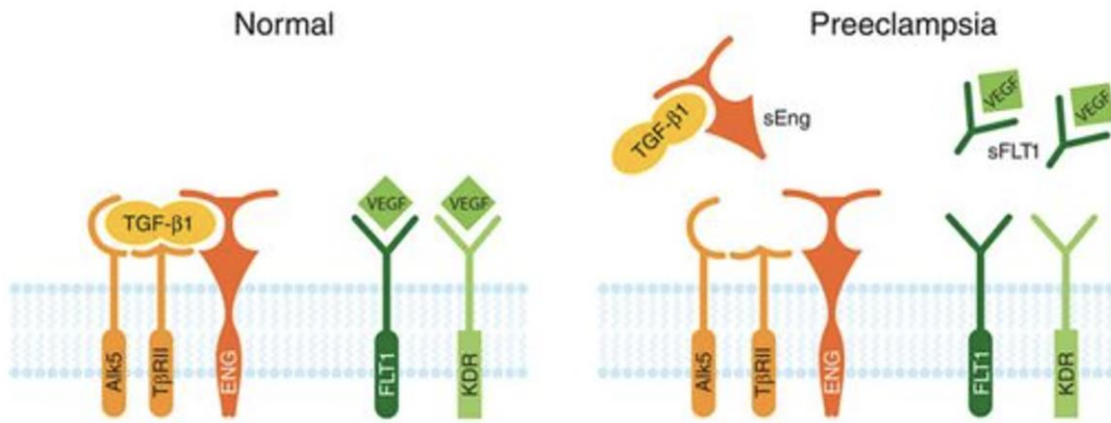
Preeklampsi, spiral arterin remodellenmesindeki bozukluklar sonucu ortaya çıkar. Bu, plasental yetmezliğin ana nedenlerinden birisidir. İlk trimesterde nispeten düşük oksijen konsantrasyonuna sahip olan normal bir gebelik sırasında, vaskülojenik olan hipoksiyle indüklenen faktör 1 (HIF-1) üretilir. HIF-1, normoksi durum altında hızlıca proteazomal bozunmanın hedefi haline gelir. Bununla birlikte, plasental hipoksi sırasında HIF-1 üretiminde sFlt-1 ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyen bir varyasyon vardır. sFlt-1 anti-anjiyojeniktir ve preeklampsi sırasında endotel hasarına neden olur. Ek olarak, plasental hipoksi sırasında, HIF-1 için başka bir hedef olan transforme edici büyüme faktörü beta 3 (TGF- β 3) de yükselir. Bu, trofoblast invazyonunu ve sitotrofoblast proliferasyonunu inhibe eder (Torry ve ark., 1998; Caniggia ve ark., 2000; Sharon E Maynard ve ark., 2005; Laresgoiti-Servitje ve Gomez-Lopez, 2012a). Östradiolün doğal bir metaboliti olan 2-metoksiöstradiolün, HIF-1 ekspresyonunu bloke ederek plasental hipoksiyi baskıladığı gösterilmiştir (Kanasaki ve ark., 2008). Bu metabolit, normal bir gebelikte son trimesterde yükselir. Kanasaki ve ark. 2-metoksiestradiol eklenmesinin gebe katekol-O-metiltransferaz (COMT) nakavt farelerde preeklampitik özellikleri iyileştirdiğini gösterdi (Kanasaki ve ark., 2008). Bu çalışmalar, plasental hipoksinin preeklampitik patofizyolojide yer aldığını göstermektedir.



Şekil 2.20. Preeklamptik plasentada bulunan kalıcı plasental hipoksi etkisinin şematize görüntüsü. Preeklamptik plasentada bulunan kalıcı plasental hipoksi HIF-1α'nın salınmasını teşvik eder. HIF-1α, gebeliğin başlangıcında trofoblast farklılaşmasının azalmasına ve invazyonun azalmasına yol açabilen ve böylece gebeliğin ilerleyen dönemlerinde plasentada kalıcı hipoksik koşullara katkıda bulunan TGF-β3 ekspresyonunu destekler. VEGF ve plasental büyüme faktörü (PIGF), hipoksik koşullar altında indüklenir ve sFlt1 tarafından inhibe edilir. sFlt1-14, en yaygın insan VEGF inhibitörüdür. TGF-β3 ayrıca sENG üretimini de destekler. sENG ve VEGF'nin blokajı birlikte endotel disfonksiyonunda yer alır. Mavi oklar, ilerleyen olayları ve teşvik edici faktörleri gösterir; kırmızı çizgiler engelleyici faktörleri göstermektedir (Laresgoiti-Servitje ve Gomez-Lopez, 2012b).

Azalmış nitrik oksit sentezi için plasental hipoksi ve iskemi nedensel faktörler olarak tanımlanmıştır. Nitrik oksit (NO), vasküler endotel hücrelerinde endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) tarafından L-arginin'den sentezlenir. NO, spiral arterleri dilate etmeye yardımcı olan ve böylece vasküler direnci azaltan güçlü bir vazodilatördür. Çeşitli hayvan çalışmaları, normal gebelikte üreme dokularında NO üretimi ve tepkisinin arttığını göstermiştir. Ancak preeklampsisi sırasında NO sentezi azalır ve vazokonstriksiyona neden olur. Ayrıca preeklampsisi sırasında meydana gelen değişmiş spiral arter remodellenmesine katkıda bulunan bir faktördür. NO sentezindeki bir azalma, azalmış uterin arter çapı, spiral arter uzunluğu ve uteroplazental kan akımı gibi çeşitli uteroplazental değişikliklerle ilişkili görünmektedir (Kulandavelu ve ark., 2012). Bu çalışmalar, normal gebelik sırasında spiral arter remodellenmesinde ve uteroplazental kan akışında NO sentezinin kritik rolünü göstermektedir.

Anjiyojenik faktörler preeklampsia gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Plazentada iyi gelişmiş vaskülogenez ve anjiyogenez, fetüsün uygun gelişimi için önemlidir. Anjiyojenik faktörlerdeki değişiklikler vasküler sistemi etkiler. Çok sayıda çalışma, preeklampsi durumunun gelişiminde anjiyojenik dengesizliği desteklemektedir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), plazental büyüme faktörü (PLGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), TGF ve anjiyopoietinler, vaskülogenezi ve anjiyogenezi etkilediği bilinen anjiyojenik proteinlerden bazılarıdır. Bu anjiyojenik faktörler, reseptörlerine bağlanarak damar yapısında değişiklikler meydana getirirler. Bu nedenle, Flt-1/VEGFR-1, VEGFR-2, Tie-1 ve Tie-2 reseptörleri ile anjiyojenik proteinler normal vasküler gelişim için gereklidir. Daha önceki bazı çalışmalar, VEGF'nin ve izoformlarının gebelikteki rolünü göstermiştir. VEGF, hamilelik sırasında sitotrofoblastlar tarafından sentezlenen bir sitokindir. VEGF'nin, reseptörünün ve izoformlarının ekspresyonu ve işlevindeki herhangi bir değişiklik, endotel üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Serbest biyoaktif VEGF düzeylerinin preeklampsia hastalarında anlamlı olarak azaldığı, preeklampsia hastalarında ise sFlt-1'in önemli ölçüde arttığı bildirilmektedir (Buhimschi ve ark., 2005; Levine ve ark., 2005; Aggarwal ve ark., 2006). sFlt-1, serbest VEGF'ye bağlanan ve onun normal sinyal yolunu bozan bir tuzak reseptör görevi görür. Bu bulgu, preeklampside VEGF sinyalleşmesinin değiştiğini gösteren birkaç çalışma ile doğrulanmıştır (**Şekil 2.21**) (Sharon E Maynard ve ark., 2003; Ahmad ve Ahmed, 2004; Stepan, 2009).



Şekil 2.21. Preeklampside VEGF sinyalizasyonunun değişimi. sFlt1 ve sEng, VEGF'i inhibe ederek ve TGF-β1 sinyalini dönüştürerek endotel disfonksiyonuna neden olur. VEGF ve TGF-β1'in böbrek ve diğer vasküler yataklar dahil olmak üzere çeşitli dokularda endotel sağlığını korumak için gerekli olduğuna dair artan kanıtlar vardır. Normal gebelik sırasında vasküler homeostaz, damarlardaki fizyolojik VEGF ve TGF-

$\beta 1$ sinyalleri ile korunur. Preeklampside, sFlt1 ve sEng'nin aşırı plasental salgılanması, damar sisteminde sırasıyla VEGF ve TGF- $\beta 1$ sinyalini inhibe eder. Bu, azalmış prostasiklin, nitrik oksit üretimi ve prokoagülan proteinlerin salınması dahil olmak üzere endotel hücre işlev bozukluğuna neden olur (S. E. Maynard ve Karumanchi, 2011).

Preeklampside, anjiotensin-1 otoantikor (AT-1AA)' un varlığı, anjiyopoietin II (Ang II) ve diğer vazokonstriktif ajanlara karşı plasental vasküler duyarlılığı artırır (Anguiano-Robledo ve ark., 2007). Bu duyarlılık, Ang II reseptörünü bağlayan ve aktif eden ve böylece sitotrofoblast invazyonunu azaltan AT1-AA üretimine neden olur (Wallukat ve ark., 1999). AT1-AA'nın bu eylemi, yüksek sFlt-1 seviyelerinin üretilmesi yoluyla gerçekleştirilir. AT1-AA tarafından sFlt-1 üretimi, normal gebeliğe göre 25 kat artar (Zhou ve ark., 2002; Sharon E Maynard ve ark., 2003; Tsatsaris ve ark., 2003). AT-1AA'nın preeklampsiyi indüklemesindeki diğer bir fonksiyonu, plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) seviyelerinin ekspresyonunu arttırmaktır (Bobst ve ark., 2005). PAI-1, ürokinaz benzeri plazminojen aktivatörünü (uPA) inhibe ederek plazmin sentezinin azalmasına neden olur. Bu, hücre dışı matris sindiriminin azalmasına ve dolayısıyla plasentadaki trofoblast invazyonunun yüzeyel kalmasına neden olur. Normal gebelikte, makrofajlar, dendritik hücreler ve doğal öldürücü hücreler gibi immün hücreler, desiduyu infiltre eden ve trofoblast hücrelerinin etrafında birikerek endotelyuma ulaşmalarını sağlayan trofoblastik invazyon ve spiral arter remodellenmesine yardımcı olur (Herberts ve ark., 2010; Lash ve ark., 2010; Nagamatsu ve Schust, 2010). Preeklampside uygun olmayan trofoblast invazyonu ve spiral arterin uygun olmayan remodellenmesine bağlı plasental iskeminin her ikisi de preeklampside gözlenen immün sistem dengesizliğine katkıda bulunur. Bu nedenle, mevcut kanıtlar, değişmiş bir immün cevabın preeklampsinin gelişiminde de etkili olduğunu göstermektedir.

2.9.4. Preeklampsi ve İmmün Sistem

Gebelik sırasında immün sistemin ana hücreleri NK hücreleri ve makrofajlardır. Bu düzenleyici hücrelerin işlevindeki değişiklikler, anjiyojenik ve anti-anjiyojenik faktörlerin, pro-inflamatuar sitokinlerin ve anti-inflamatuar sitokinlerin üretiminde bir dengesizlik yaratabilir. Ortaya çıkan değişmiş ortam, trofoblast invazyonu ve plasenta hasarında kusurları indükleyerek, endotelin yaygın aktivasyonu ile sistemik bir inflammatuar yanıtı tetikler (Faas ve de Vos, 2017).

Uterin doğal öldürücü (uNK) hücrelerinin, Treg hücrelerinin indüklenmesini desteklediğine ve materno-fetal toleransı desteklemek için Th17'yi baskıladığı düşünülmektedir. PE'li kadınların hem dolaşımında hem de desiduasında Treg hücreleri azalır ve ekspresyon seviyeleri hastalığın şiddeti ile ilişkilidir. Ayrıca, Th17 hücreleri, PE olmayan gebeliklerde daha yüksektir, bu da Treg/Th17 arasında bir dengesizliğe ve inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında artışa neden olur (Fu ve ark., 2014). Periferik NK hücreleri, CD56 ve CD16 yüzey belirteçlerinin ifadesine göre 2'ye ayrılır. Bunlar CD56^{bright} CD16⁻ NK hücreleri ve CD56^{dim} CD16⁺ NK hücreleri'dir (Lünemann ve ark., 2009). CD56^{bright} CD16⁻ NK hücrelerinin daha fazla sitoplazmik granülleri bulunur ve sitotoksik kapasitesi daha düşüktür. CD56^{dim} CD16⁺ NK hücreleri ise sitotoksik kapasiteleri daha yüksektir ve daha az sitokin üretirler. Bu alt sınıfların dışında dokuda yerleşik NK hücreleri bulunur. Bunlar akciğerde, karaciğerde, deride ve uterus da bulunur. Dokuda yerleşik NK hücreleri CD49a ve CD9 gibi dokuda yerleşik immün hücrelerin belirteçlerini eksprese ederler (Vento-Tormo, Efremova, Botting, Turco, Vento-Tormo, Meyer, Park, Stephenson, Polański, ve ark., 2018). PE'li annelerin dolaşımında CD56⁺ hücrelerinin konsantrasyonu azalır ve bu fark, hastalığın klinik teşhisinden birkaç ay önce tespit edilebilir. uNK hücreleri, fetal-maternal yüzeyde ekstrasvillöz trofoblastlar ile yakın temas halinde bulunur ve sitotoksikite, sitokin üretimi veya trofoblast apoptoz indüksiyonu yoluyla trofoblast hücrelerinin desidua bazalis içine istilasını ve spiral arterin yeniden şekillenmesini düzenleyerek plasantasyon üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Sato ve ark., 2012). uNK hücreleri, trofoblastlarla temas ettiğinde IL-8 ve interferon ile indüklenabilir protein-10'u (IP-10) serbest bırakarak trofoblast invazyonunu ve anjiyogenezi düzenleyebilir (J. Hanna ve ark., 2006). uNK hücreleri ve desidual stromal hücreler tarafından üretilen IL-22'nin trofoblast proliferasyonunu ve viabilitesini önemli ölçüde desteklediği gösterilmiştir (Y. Wang ve ark., 2013). PE'de, maternal ve paternal genler arasındaki etkileşimin, artan NK hücre aktivitesi yoluyla anormal plasental implantasyonu indüklediği düşünülmektedir. PE'li hastalarda, uNK ile trofoblast arasındaki etkileşim bozulur ve trofoblast invazyonunun yüzeyel kalmasına ve yetersiz spiral arter remodellenmesine sonuç olarakta zayıf plasantasyona neden olur. uNK hücrelerinin etkisi yüzeyinde bulunan aktive ve inhibe edici reseptörlerin etkileşimi ile düzenlenir. Bu reseptörden en önemlisi öldürücü immüoglobulin-benzeri reseptördür

(KIR). EVT'ler tarafından eksprese edilen HLA-G ile NK hücreleri üzerinde bulunan KIR2DL4 (KIR reseptör tipi) [62] arasındaki etkileşim, yaşlanma ile ilişkili bir salgı fenotipinin (SASP) indüklenmesi yoluyla, pro-inflamatuar ve pro-anjiyojenik faktör üretmek için istirahat halindeki NK hücrelerini stimüle ettiği gösterilmiştir (Rajagopalan ve Long, 2012; Rajagopalan, 2014).

Makrofajlar, fetal-maternal yüzeyde en çok bulunan ikinci hücre tipidir. Makrofajlar spiral arterlerin çevresinde bulunur ve VEGF ve metalloproteinaz gibi pro-anjiyojenik sitokinleri üretir ve apoptotik hücreleri temizler ve böylece spiral arterlerin remodellenmesini destekler. Makrofajlar aktivasyon durumlarına göre M1 ve M2 makrofajlar olmak üzere 2'ye ayrılır (Murray, 2017). Aslında M1/M2 makrofajların özellikleri Th1/Th2 hücrelerinin özellikleri ile benzerdir (Mantovani ve ark., 2004). M1 makrofajları fonksiyonel olarak pro-inflamatuar ve antimikrobiyal iken, M2 makrofajları anti-inflamatuardır (Weisser ve ark., 2013; Porta ve ark., 2015). Maternal-fetal arayüzde, fetüsü maternal immün mikroçevreden korumak ve immün tolerans oluşturmak için farklı gebelik dönemlerinde M1/M2 makrofajlarının hem sayısı hem de oranı değişir. İmmün toleransı sürdürmek için, daha fazla makrofaj, M2 makrofajlara polarize edilir; bu, M2 makrofajlarının immünosüpresif özelliklerinin normal gebelik için gerekli olduğunu ima etmektedir. Anormal gebelikte ise, maternal-fetal arayüzde daha fazla M1 makrofajlar gözlenmiştir. M1 ve M2 makrofajları arasındaki polarizasyon dengesi, trofoblast invazyonu, spiral arter yeniden şekillenmesi ve apoptotik hücre fagositozu gibi normal gebeliğin çeşitli süreçleri için önemlidir. Tersine, makrofajların düzensiz polarizasyonu, uterus damarlarının yetersiz remodellenmesi ve kusurlu trofoblast istilas ile ilişkilendirildi ve sonunda spontan düşük, preeklampsi ve erken doğuma yol açtı (Gonzalez ve ark., 2011; Schonkeren ve ark., 2011; Guenther ve ark., 2012). PE'li hastalarda makrofajların fonksiyonel olgunlaşmasının bozulduğu ve M1 fenotipinin baskınlığı ile proinflamatuar bir dengesizliğin olacağı öne sürülmüştür. Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), makrofajların farklılaşmasını destekler ve desidual hücrelerdeki ve dolaşımdaki seviyeleri, Preeklampitik hastalarda, gebelik yaşı ile karşılaştırılmış kontrollere göre daha yüksektir (Schonkeren ve ark., 2011).

Kompleman sistemi, doğal hümmoral immüitenin ayrılmaz bir parçasıdır. Membran saldırı kompleksi (MAC), hücre zarlarına giren polimerik bir litik gözenek oluşturarak patojenlerin, apoptotik hücrelerin ve bağışıklık komplekslerinin temizlenmesinde rol oynar. Sinsisyotrofoblast, MAC oluşumunu bozan ve aşırı kompleman aktivasyonunu önleyen düzenleyici proteinlerin ekspresyonu yoluyla kompleman sistemini düzenleyebilir. Kompleman aktivasyonunun, monositleri uyararak, anti-anjiyojenik faktörlerin serbest bırakmasını sağladığı gösterilmiştir. Çok sayıda çalışma, kompleman düzensizliğinin PE patogenezi için kritik olabileceğini göstermektedir. Şiddetli PE'li kadınlarda maternal serum ve idrarda alternatif kompleman yolu aktivasyonu belirteçleri bulunmuştur (Regal ve ark., 2017).

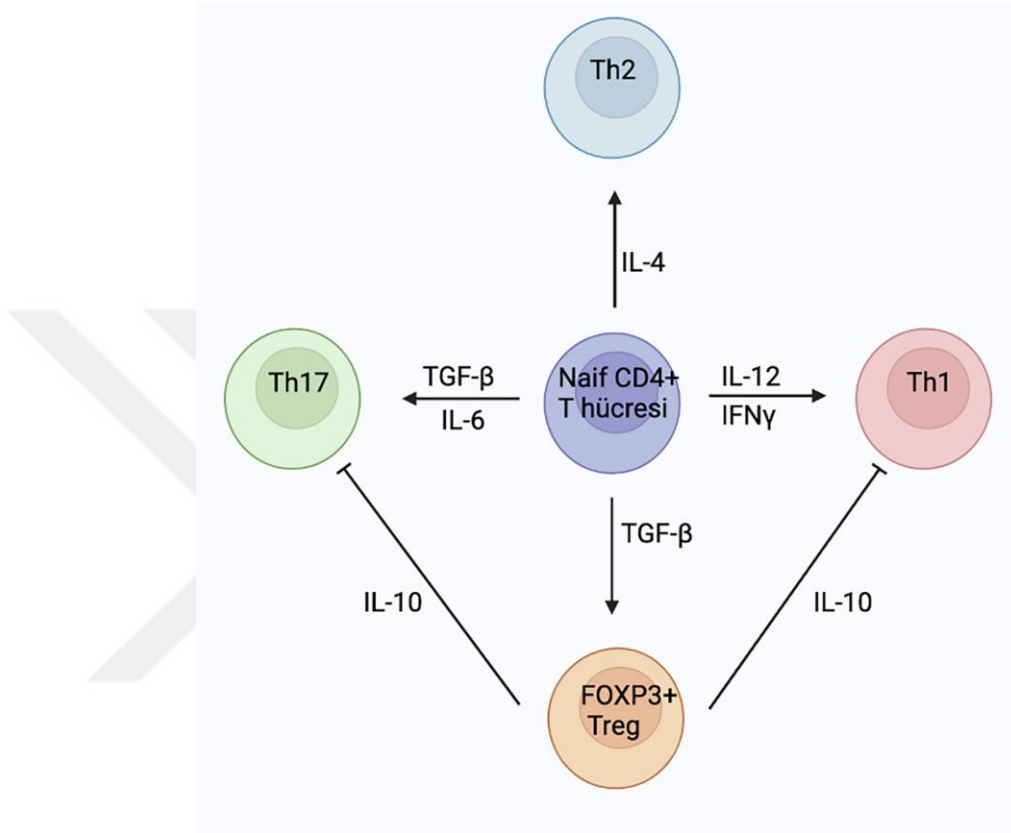
Embriyo ayrıca maternal immün sistemde ki antijenik yapılara karşı koruyucu mekanizmaları harekete geçirir. Maternal desiduaya göç eden EVT hücreleri zayıf immünojeniktir ve insan lökosit antijeni (HLA) sınıf I antijenlerinin bir kombinasyonunu ifade eder. EVT, klasik transplant reddinin birincil uyarıcıları olan majör histo-uyumluluk kompleks moleküllerini veya HLA-A veya HLA-B'yi nadiren ifade eder ve bunun yerine, en belirgin olanı HLA-G olan klasik olmayan HLA sınıf IB antijenlerinin benzersiz bir modelini gösterir. HLA-G, daha az alel içeren ve genomik imprinting göstermeyen daha küçük bir proteindir. HLA-G, implantasyon sırasında trofoblast hücrelerini koruyan immünomodülatör ve tolerojenik fonksiyonlara sahiptir. HLA-G ve HLA-E, uNK, makrofajlar ve CD8+ hücreleri ile etkileşerek maternal immün sistem cevabını hafifletir, uNK hücrelerinin sitotoksik fonksiyonunu azaltır ve plasantasyonu destekler. Preeklampitik plasentalarda HLA-G ekspresyonunun olmadığı veya azaldığı bulunmuştur. HLA-G ekspresyonunun azalmasının bozulmuş maternal-fetal immün tolerans ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (Yie ve ark., 2004; Andrea Steinborn ve ark., 2007; Wedenoja ve ark., 2020). Preeklampside azalan HLA-G ekspresyonu, düzenleyici T hücrelerinin azalan frekansları ve pro-inflamatuar sitokinlerin artan ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Vianna ve ark., 2016; Wedenoja ve ark., 2020). Preeklampside HLA-G'nin azalma mekanizması tanımlanmamıştır.

2.9.5. Preeklampside Sitokinler ve Sistemik İmmün Cevaplar

Maternal-fetal yüzeydeki uygun sitokin ve kemokin ekspresyon dengesi, desiduada bulunan immün hücrelerinin profilini ve fonksiyonunu etkiler. PE'de dolaşımdaki TNF- α ve IL-6 seviyeleri artarken IL-10 ve IL-4 seviyeleri azalır (**Tablo 2.2**). Ortaya çıkan sitokinlerin dengesizliği sistemik inflamasyona yol açar ve hastalığın gelişiminde rol oynayan endotel aktivasyonuna katkıda bulunur (Harmon ve ark., 2016). TNF- α nitrik oksit sentaz mRNA'sını azaltır, asetilkolin kaynaklı vazodilatasyonu azaltır ve endotel hücrelerinden güçlü vazokonstriktör endotelin-1 (ET-1) üretimini artırır (Possomato-Vieira ve Khalil, 2016). PE'li kadınlarda dolaşımdaki TNF- α , IL6 ve ET-1 seviyeleri, normotansif kadınlara veya gestasyonel hipertansiyonu olan kadınlara kıyasla 23 kat yüksektir ve hastalığın ilerlemesiyle artmaya devam eder (George ve Granger, 2011). Aşırı TNF- α ve IL-6, trofoblast apoptozunu indükler ve endotel aktivasyonunu artırır. Gebe sıçanlarda TNF- α veya IL-6 infüzyonu, hipertansiyona ve endotel bağımlı vasküler gevşemenin azalmasına neden olur. IL-10, inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir anti-inflamatuvar sitokindir. PE'den etkilenen annelerin dolaşım ve plasentalarında IL-10'un azalmış seviyeleri bulunmuştur. IL-10, PE'de sayıları azaltılmış olan Treg hücreleri tarafından salgılanır. Treg'lerden üretilen IL-10, Th1 ve Th17 hücrelerinin seviyelerinin düşürülmesinde rol oynar (W. Wang ve ark., 2020).

Tablo 2.2. Sağlıklı gebelikte dengede olan immün hücreler ve sitokinler ile preeklampitik gebeliklerde değişen immün hücreler ve sitokinler gösterilmektedir.

SAĞLIKLI GEBELİK	PREEKLAMPSİ
Sitokinler	Sitokinler
TNF- α	TNF- α 
IL-6	IL-6 
IL-10	IL-10 
IL-4	IL-4 
Hücreler	Hücreler
Treg	Treg 
Th1	Th1 
Th17	Th17 



Şekil 2.22. Sitokin profiline bağlı olarak, naif T hücrelerinin Th1, Th2, Th17 veya Treg hücrelerine farklılaşmasının şematize görüntüsü. IL-12 ve IFN γ ile uyarılmış naif T hücreleri Th1 hücrelerine farklılaşır. IL-4 ile uyarılan naif T hücreleri, bir Th2 tepkisini indükler. TGF- β ile uyarılan naif T hücreleri, bir Treg tepkisini indükler. TGF- β ve IL-6 ile uyarılan naif T hücreleri, bir Th17 tepkisini indükler. Treg'lerden üretilen IL-10, Th1 ve Th17 hücrelerinin oluşumunu inhibe eder.

İmmün sistem anjiyojenik faktörlerin salgılanmasında da rol oynar. Sağlıklı gebelik sırasında, uNK hücreleri, VEGF ve PLGF gibi anjiyojenik faktörlerle birlikte immün sistem düzenlemesi ve anjiyogenezde yer alan TGF β üretir. uNK'nin aktivasyonu üzerine üretilen VEGF'deki artış, Flt1 reseptörlerine yanıt vererek EVT invazyonuna katkıda bulunur. PE'de dolaşımdaki VEGF seviyesi artar, ancak reseptörünün (sFLT1) çözünür izoformunun seviyesi ligandtan daha fazla artar. Sonuç, anjiyogenez için mevcut olan serbest VEGF'de bir azalmadır. VEGF, endotel stabilitesi için de önemlidir, bu nedenle sistemik inhibisyon, endotelial disfonksiyona neden olabilir. PLGF, VEGF ailesinin bir pro-anjiyojenik faktörüdür ve aynı reseptör FLT1'e daha düşük afinite ile bağlanır. PLGF

gebelikte yüksek miktarda ifade edilir ancak PE'de azalır ve bu azalma, sFlt1/PLGF oranında bir dengesizlik ile hastalığın klinik başlangıcından önce olabilir. sFlt1'in yüksek artışına bağlı olarak değişen bu denge, hem VEGF hem de PLGF'nin anjiyojenik aktivitelerini nötralize eder ve PE'deki kusurlu EVT invazyondan sorumlu olabilir. Plazma PLGF, PE'de toplam periferik direnç ve uterin arter pulsatilite indeksi ile negatif korelasyon gösterir. Çözünür endoglin (sEng), TGF- β 'nin reseptörlerine bağlanmasını ve endotelial nitrik oksit sentazın aktivasyonu ve vazodilatasyon üzerindeki etkileri de dahil olmak üzere aşağı sinyalleşmeyi inhibe eden bir anti-anjiyojenik faktördür. sEng, vaskülazasyonda düzensiz TGF- β sinyaline yol açar ve şiddetli PE'yi indüklemek için sFlt1 ile uyum içinde hareket edebilir (Venkatesha ve ark., 2006).

NK hücreleri ayrıca, özellikle uterus arterinin remodellenmesi için gerekli olan interferon γ (IFN- γ)'yi üretir. Bununla birlikte, ikinci trimesterde, PE'nin karakteristiği olan ve trofoblastik invazyonu engelleyen IFN- γ ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi doğrudan sitotoksik olabilir. Klinik açıdan ilgi çekici olan, açıklanan ajanlardan bazılarının, özellikle PLGF ve sFLT1'in, PE'nin uzun preklinik fazı sırasında gebe kadınların plazmasında ölçülebilmesi ve tek başına veya biyobelirteçler olarak kombinasyon halinde kullanılabilmeleridir. Risk, hastalığın erken teşhisine izin verir (Rana ve ark., 2022).

2.10. Doğal Lenfoid Hücreler (ILC)

Doğal öldürücü hücreler ve lenfoid doku indükleyici (LTi) hücreler hariç, doğal lenfoid hücreler, yeni tanımlanan doğal immün sistemin bir üyesidir. ILC'ler, B ve T lenfositleri gibi lenfoid hücrelerden köken alıp gelişir. Bu hücreler, rekombinasyon aktive edici genin (RAG) elemanları tarafından üretilen soy belirteçleri ve spesifik antijen reseptörleri içermediğinden, doğal immün sistem içerisinde yer alırlar (Diefenbach ve ark., 2014; Eberl ve ark., 2015; C. S. Klose ve Artis, 2016) . ILC'ler, efektör sitokinler üreterek patojenlere yanıt verir ve ayrıca doğal immün sistem ile adaptif bağışıklık sistemi arasında bir köprü görevi görür. ILC'ler, CD4⁺ T lenfositlerin sitokin profiline ve bunların gelişimi ve işlevi için gerekli olan transkripsiyon faktörlerine göre sınıflandırılır. ILC'ler üç gruba ayrılır; Grup 1 ILC'ler, Grup 2 ILC'ler ve Grup 3 ILC'ler (H. Spits, Artis, Colonna, Diefenbach, Di Santo, Eberl, Koyasu, Locksley, McKenzie, Mebius, ve ark., 2013). Bu

hücreler hemen hemen tüm dokularda, özellikle mukozal ve bariyer yüzeylerde bulunur. NK hücreleri dışındaki tüm ILC'ler CD127'yi ifade eder.

2.10.1. Grup 1 Doğal Lenfoid Hücreler

NK hücreleri ve tip 1 doğal lenfoid hücreler (ILC1) grup 1 doğal lenfoid hücreler (gILC1) sınıfına girmektedir. NK hücreleri ve tip 1 doğal lenfoid hücreler, IL-12, IL-15 ve IL-18 ile stimülasyon üzerine yardımcı T lenfosit 1'e (Th-1) benzer şekilde IFN γ ve TNF α üretir (J. H. Bernink, Peters, Munneke, te Velde, Meijer, Weijer, Hreggvidsdottir, Heinsbroek, Legrand, Buskens, ve ark., 2013; J. H. Bernink ve ark., 2015). IFN γ , viral replikasyonu doğrudan inhibe ederek ve makrofaj ve dendritik hücrelerin aktivasyonunu teşvik ederek viral ve hücre içi bakteriyel enfeksiyonlara karşı çok önemli bir rol oynar (Schoenborn ve Wilson, 2007). Gelişimleri için transkripsiyon faktörü T-bet'e (*TBX21* tarafından kodlanmıştır) bağımlıdır. Ek olarak, olgun NK hücreleri hem EOMES hem de T-bet eksprese eder (H. Spits, Artis, Colonna, Diefenbach, Di Santo, Eberl, Koyasu, Locksley, McKenzie, Mebius, ve ark., 2013; J. Mjosberg ve Spits, 2016). T-bet transkripsiyon faktörü, IFN γ üretiminde rol oynar. Ayrıca, ILC1'ler ya düşük sitotoksositeye sahiptir ya da sitotoksositeye sahip değildir. NK hücreleri ise daha yüksek sitotoksosite sergiler ve hedef hücreleri öldürmek için perforin ve granzim B salgılar. Farelerde ve insanlarda, ILC1'ler, NK hücre belirteçlerinin eksikliğine ve CD127'nin ifadesine göre iki gruba ayrılır. ILC1'lerin alt gruplarından biri olan intra-epitelyal tip 1 doğal lenfoid hücreler (ieILC1) tonsillerde ve bağırsaklarda bulunur (Fuchs ve ark., 2013). NK hücrelerine benzer şekilde, ieILC1, EOMES ve T-bet'i ifade eder. Ayrıca CD49 ve CD103'ü ifade ederler (Simoni ve ark., 2017). Yüksek sitotoksik içeriğe sahiptirler. Diğer alt grup, sitotoksik aktiviteden ve NK hücre belirteçlerinin ekspresyonundan yoksundur (J. H. Bernink, Peters, Munneke, te Velde, Meijer, Weijer, Hreggvidsdottir, Heinsbroek, Legrand, Buskens, ve ark., 2013). Bu alt grup CD127'yi ifade eder ve Crohn hastalığı gibi bağırsak patolojilerinde rol oynar.

2.10.2. Grup 2 Doğal Lenfoid Hücreler

Grup 2 doğal lenfoid hücreler (gILC2) insanda sadece bir alt tipe sahiptir. Periferik kan, deri, akciğer, gastrointestinal sistem, dalak, kemik iliği, karaciğer, böbrek, burun dokusu ve mezenterik lenf düğümlerinde bulunurlar (J. M. Mjosberg ve ark., 2011; J. R. Brestoff,

Kim, Saenz, Stine, Monticelli, Sonnenberg, Thome, Farber, Lutfy, Seale, ve ark., 2015; Cherrier ve ark., 2018; E. Vivier, Artis, Colonna, Diefenbach, Di Santo, Eberl, Koyasu, Locksley, McKenzie, Mebius, ve ark., 2018). İnsanlarda gILC2'ler CD45, CCR2 (prostaglandin d2 reseptörü), IL-33R (ST2), IL-25R, c-kit, CD161 ve CD127 (IL-7R) ekspresyonu ile tanımlanır (J. M. Mjosberg ve ark., 2011; Cherrier ve ark., 2018; E. Vivier, Artis, Colonna, Diefenbach, Di Santo, Eberl, Koyasu, Locksley, McKenzie, Mebius, ve ark., 2018). Gelişimleri GATA3 transkripsiyon faktörüne bağlıdır. Sitokinler (IL-25, IL-33 ve timik stromal lenfoetin), lipid aracıları (prostaglandin D2, LTC4, LTD4) ve hücre yüzeyi ligandları (ICOS, OX40 ve NKp30) tarafından uyarıldığında, IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi tip 2 sitokinler üretirler. IL-13, helmintlerin ortadan kaldırılmasında önemli roller oynar. Ayrıca IL-13, helmint ve viral enfeksiyonların neden olduğu doku hasarını onarmaya yardımcı olur. ILC2'ler tarafından üretilen IL-5, eozinofillerin gelişimi, aktivasyonu ve hayatta kalmasında çok önemli bir rol oynar (Kopf ve ark., 1996). Eozinofiller, helmint, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, doku yaralanması, tümör bağışıklığı ve alerjik hastalıklar dâhil olmak üzere değişken enflamatuvar süreçlerin patogeneğinde yer alır. ILC2'lerin aktivasyonu, IL-4 ve IL-9 dâhil olmak üzere ILC2'ler tarafından üretilen sitokinler tarafından düzenlenir (Salimi ve ark., 2013). Mukozal ILC2'ler tarafından üretilen IL-9, goblet hücrelerinde mukus üretimini artırır ve enflamatuvar akciğer hastalıklarında mast hücrelerini aktive eder (Jabeen ve Kaplan, 2012; Ealey ve ark., 2017). Ayrıca IL-6, IL-8, IP-10 ve GM-CSF üretebilirler (J. Mjosberg ve ark., 2012). Astım, atopik dermatit, doku onarımı, metabolik regülasyon ve tümör gelişimi gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçte yer alırlar (Artis ve Spits, 2015).

2.10.3. Grup 3 Doğal Lenfoid Hücreler

Grup 3 doğal lenfoid hücreler (gILC3) heterojen hücre popülasyonlarına sahiptir. 3 gruba ayrılırlar; doğal sitotoksik reseptör (insanlarda NK44 ve NK 46 reseptörü) pozitif (NCR+) ILC3, doğal sitotoksik reseptörü negatif (NCR-) ILC3 ve LTI hücreleri. gILC3'ler bademcik, deri, dalak, akciğer, gastrointestinal sistem, endometrium ve desidua da bulunur (Cella ve ark., 2009; Cupedo ve ark., 2009; Dyring-Andersen ve ark., 2014; Kim ve ark., 2014; Magri ve ark., 2014; Teunissen ve ark., 2014; P. Vacca ve ark., 2015). İnsanlarda, gILC3, CD117 ve CD127'nin ekspresyonu ile tanımlanır. Transkripsiyon faktörü retinoik organ reseptörü gama t'ye (ROR γ t) bağlıdır. IL-1 β ve IL-23 aracılığıyla etkinleşirler

(Forkel ve Mjosberg, 2016). Ayrıca IL-1 β ve IL-23 tarafından uyarıldığında IL-17A, IL-17F, IL-22, TNF α ve GM-CSF üretirler (Bjorklund ve ark., 2016; Konya ve ark., 2018). NCR⁺ ILC3'ler önemli miktarlarda IL-22 üretirken, NCR⁻ILC3'ler IL-17A ve IL-17F üretir (Hoorweg ve ark., 2012). LT α hücreleri ayrıca IL-17A, IL-17F ve IL-22 üretebilir (Sonnenberg ve ark., 2011). gILC3'ler, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara dirençli kommensal bakterilerin kontrol edilmesinde rol alır ve erken embriyogenez sürecinde ikincil lenfoid organların gelişimini teşvik eder. IL-17 ve IL-22'nin, epitelyal hücrelerde doğuştan gelen bir yanıtı indüklemeye farklı rollerle sahip olduğu bilinmektedir, çünkü IL-17, inflamatuvar doku yanıtlarından sorumludur ve otoimmün hastalıkta yer alırken, IL-22, doku koruma ve onarımında yer alır (Ouyang ve Valdez, 2008; Eyerich ve ark., 2010). Bununla birlikte, IL-22'nin, inflamatuvar barsak hastalığı ve sedef hastalığı gibi inflamatuvar hastalıklarda yer alabileceğini öne süren çalışmalarda vardır (Wolk ve ark., 2010; Maloy ve Powrie, 2011).

Hücreler	Transkripsiyon Faktörleri	Yüzey Belirteçleri	Salgılanan Mediyatörler
 NK hücresi	Eomes T-bet	CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD9 ⁺ CD49a ⁺ CD69 ⁺ CD94 ⁺ KIR2DL1 ⁺ KIR2D2/3 ⁺ KIR2DL4 ⁺ KIR2DS1 ⁺ KIR2DS4 ⁺ NKG2A/C/D/E ⁺ NKp44 ⁺ NKp46 ⁺	IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, GM-CSF, IFN γ , RANTES, TNF, Ang1, Ang2, VEGFc, PIGF, TGF β 1, TNF, MIP-1 α , MIP-1 β
 ILC1	T-bet	cILC1s: CD56 ⁻ CD94 ⁻ CD117 ⁻ CD127 ⁺ NKp44 ⁻ ipILC1s: CD56 ⁺ CD103 ⁺	IFN γ , TNF α , TGB- β IL-2, IL-4, GM-CSF
 ILC2	GATA3 ROR α	CD127 ⁺ CD161 ⁺ CRTH2 ⁺	IL-4, IL-5, IL-9, IL-13
 ILC3	AhR ROR γ t	NCR ⁺ CD56 ⁺ CD117 ⁺ CD94 ⁻ CD127 ⁺ CTRH2 ⁻ NKp44 ⁺ NKp46 ⁺ NCR ⁻ CD117 ⁺ CD127 ⁺ CD94 ⁻ CTRH2 ⁻ NKp44 ⁻	IL-8, IL-17, IL-22, GM-CSF
 LTi hücresi	ROR γ t	CD117 ⁺ CD127 ⁺ CTRH2 ⁻	IL-17, IL-22, LT, TNF

Şekil 2.23. İnsan ILC hücrelerinin transkripsiyon faktörleri, yüzey belirteçleri ve salgıladıkları sitokinler (I Filipovic, Chiossone, Vacca, Hamilton, Ingegnere, Doisne, Hawkes, Mingari, Sharkey, & Moretta, 2018; Moriya Gamliel, Goldman-Wohl, Isaacson, Gur, Stein, Yamin, Berger, Grunewald, Keshet, & Rais, 2018; Derek Miller ve ark., 2018a; Eric Vivier, Artis, Colonna, Diefenbach, Di Santo, Eberl, Koyasu, Locksley, McKenzie, & Mebius, 2018; Paola Vacca ve ark., 2019; X. Wang ve ark., 2019; Oisín Huhn ve ark., 2021).

2.11. İnsan Gebeliğinde Doğal Lenfoid Hücrelerin Roller

Fetüs ve plasenta hem paternal hem de maternal genleri içerdiğinden dolayı semi-allogreft'tır. Bu nedenle insan gebeliği, allogreft reddine karşı mekanizmalar içermelidir (Moffett-King, 2002; P. Vacca ve ark., 2011; Erlebacher, 2013). Gebelik sırasında, başarılı bir hamilelik için inflamasyon ve tolerans arasındaki denge çok önemlidir. Aslında, immün hücreler, özellikle ILC'ler, çeşitli faktörler aracılığıyla doku oluşumuna/yeniden şekillenmesine ve neo-anjiyogeneze katkıda bulunur, böylece gebeliği destekler (J. Hanna ve ark., 2006; P. Vacca ve ark., 2008; G. Mor ve ark., 2011).

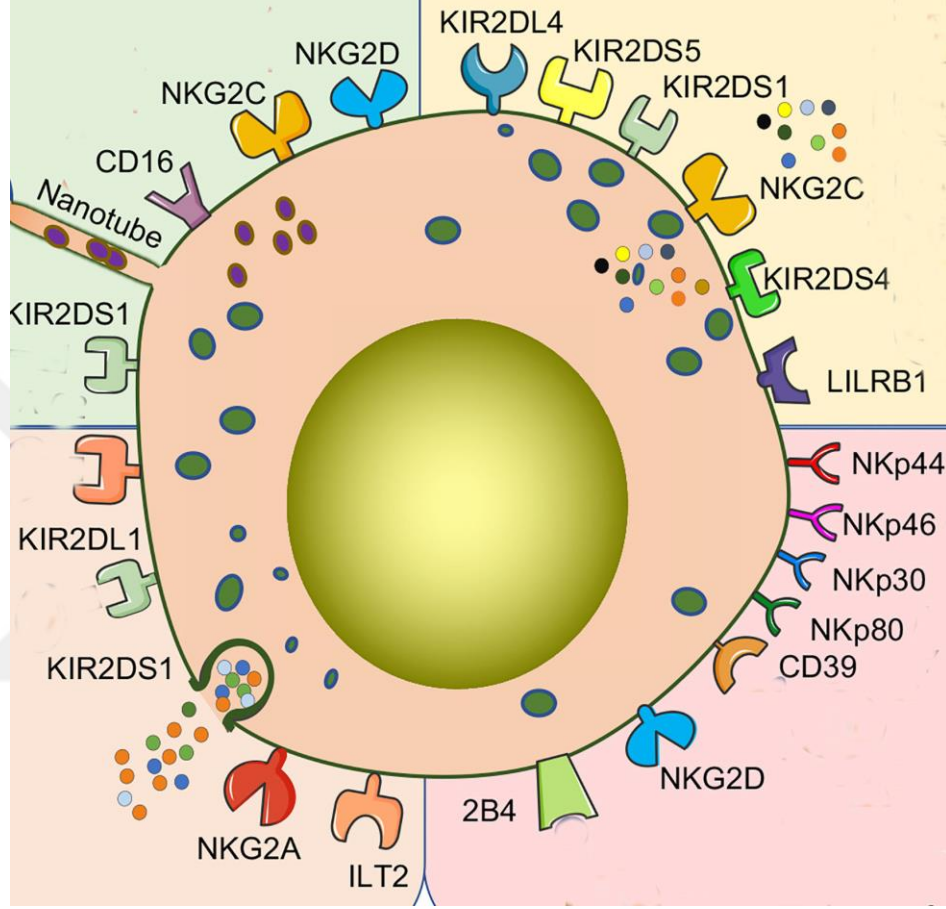
Yeni tanımlanan ILC'ler, doğal bağışıklık sistemi ile adaptif bağışıklık sistemi arasında bir köprü oluşturur. ILC'ler, hamileliğin karmaşık bağışıklık durumunu aydınlatmak için yeni bir araştırma alanı açmıştır.

2.11.1. İnsan Gebeliğinde Grup 1 Doğal Lenfoid Hücrelerin Roller

gILC1'ler, NK hücreleri ve ILC1'leri içerir. Spesifik olarak, dNK hücreleri, gebeliğin ilk trimesterinde desidual lenfositlerin yaklaşık % 50-70'ini oluşturur (Koopman ve ark., 2003). dNK hücrelerinin sayısı hamileliğin ortasından itibaren azalır ve term'de neredeyse hiç bulunmaz. dNK hücrelerine ek olarak, desiduada NK olmayan ILC1'ler, NCR+ ve NCR-ILC3'ler bulunur (Doisne ve ark., 2015; Montaldo ve ark., 2015; P. Vacca ve ark., 2015). Geleneksel NK hücrelerinin aksine, dNK hücreleri düşük sitotoksik potansiyele sahiptir ve farklı bir sitokin ve reseptör profili gösterir (Koopman ve ark., 2003; P. Vacca ve ark., 2006; El Costa ve ark., 2008; Lockwood ve ark., 2013; Siewiera ve ark., 2013; Jabrane-Ferrat ve Siewiera, 2014; Siewiera ve ark., 2015). dNK hücreleri başarılı bir insan gebeliğinde önemli bir rol oynar. dNK hücreleri, öldürücü hücre immünoglobulin benzeri reseptörleri, doğal öldürücü grup 2 reseptörünü (NKG2) ve immünoglobulin benzeri transkript 2 reseptörünü (ILT2) eksprese ederek invaziv fetal trofoblastların ve spiral arterlerin yakınında bulunur (Navarro ve ark., 1999; King ve ark., 2000; Chazara ve ark., 2011; Helige ve ark., 2014). Bu reseptörlerini istilacı trofoblast hücrelerini tanımak için kullanırlar. Bu nedenle maternal-fetal immün toleransta, trofoblastik invazyonda ve spiral arter yeniden şekillenmesinde rol oynarlar (Moffett-King, 2002). Ek olarak, dNK hücreleri tarafından üretilen CXCL8 ve CXCL10, invazif trofoblastlardaki reseptörlere bağlanır. Bu nedenle, dNK hücreleri trofoblast invazyonunu düzenler. Gelişmekte olan fetüse besinlerin ve oksijenin taşınması için spiral arter remodellenmesi gereklidir. Endotel hücrelerinin apoptoza uğraması için spiral arter remodellenmesi meydana gelir ve vasküler düz kas hücreleri ve endovasküler trofoblast hücreleri endotel hücrelerinin yerini alır. dNK hücreleri bu olayda önemli bir rol oynar. Gebeliğin ilk üç ayında, dNK hücreleri tarafından üretilen MMP-2 ve MMP9 enzimleri vasküler düz kasların bütünlüğünü bozar. Ayrıca endotel hücrelerinin ve vasküler düz kasın apoptozuna neden olurlar. Ekstravillöz trofoblast hücreleri, dNK tarafından üretilen ve endotel hücrelerinin yerini alan IL-10, IL-8 ve HGF gibi kemotaktik faktörler aracılığıyla bir araya toplanır ve spiral arterlere bağlanır. dNK hücrelerinin anjiyojenik rolü, TGF-B, VEGF(C) ve PLGF, anjiyopietin 1

ve 2 gibi salgıladıkları çözünür faktörler aracılığıyla gerçekleşir (J. Hanna ve ark., 2006; Robson ve ark., 2012). dNK hücrelerinin bir alt kümesi, proinflamatuvar sitokinler üreten Th-17 hücrelerinin genişlemesini engeller. Ek olarak, dNK hücreleri, IFN γ üretimi yoluyla makrofajlarda ve bazı dendritik hücrelerde indolamin 2-3-dioksijenaz (IDO) ekspresyonunu indükler (P. Vacca ve ark., 2010). IDO, T hücre aktivasyonunu ve triptofan metabolizmasını inhibe ederek immün tolerans sağlar (Viola ve Bronte, 2007; Chung ve ark., 2009). Preeklampsi ve düşük gibi plasentanın anormal gelişimi ile karakterize multifaktöriyel bozukluklar ilk gebelikte daha yüksek risk altındadır (Karumanchi ve ark., 2005). Prospektif bir kohort çalışması, genel preeklampsi riskinin ilk gebelikte % 4.1 ve sonraki gebeliklerde % 1.7 olduğunu göstermektedir (Hernandez-Diaz ve ark., 2009). Tekrarlayan gebelikler, zarar gören plasantasyon ile ilişkilidir. Gamliel ve ark., sadece tekrarlayan gebeliklerde bulunan yeni bir insan NK hücresi popülasyonu keşfetti (M. Gamliel, Goldman-Wohl, Isaacson, Gur, Stein, Yamin, Berger, Grunewald, Keshet, Rais, ve ark., 2018). Bu hücreler, gebelikte eğitilmiş desidual NK hücreleri (PTdNK'ler) olarak adlandırılır. PTdNK hücreleri, NKG2C ve LILRB1 reseptörlerinin daha yüksek ekspresyonu ile karakterize edilir. PTdNK hücreleri uyarıldığında VEGF A ve IFN γ salgılar. PTdNK hücreleri tarafından salgılanan VEGF A, plasental vaskülarizasyonu destekler. Bu nedenle, gelişmiş plasental vaskülarizasyon, zayıf plasantasyon ile karakterize edilen çok faktörlü bir hastalığın gelişimini engeller. Vento-Tormo ve ark., dNK hücrelerinin, insanlarda erken maternal-fetal yüzeyde tek hücre dizilimine göre dNK1, dNK2 ve dNK3 hücreleri olarak üç gruba ayrıldığını tespit etmiştir (Vento-Tormo, Efremova, Botting, Turco, Vento-Tormo, Meyer, Park, Stephenson, Polanski, ve ark., 2018). Bu hücreler, dokuda yerleşik belirteçler olan CD9 ve CD49a'yı birlikte eksprese eder. dNK1 hücreleri yüksek düzeyde EOMES ifade ederken, dNK2 ve dNK3 hücreleri orta düzeyde EOMES ifade eder (O. Huhn ve ark., 2020). dNK1 hücreleri, EVT'de HLA-C moleküllerini bağlayabilen daha yüksek KIR seviyelerine sahiptir. HLA-G multimerleri için yüksek afiniteli bir reseptör olan LILRB1, yalnızca dNK1 alt kümesi tarafından ifade edilir. Ek olarak, dNK1 ve dNK2 hücreleri, HLA-E için hem aktive edici hem de inhibe edici reseptörler ifade eder. Vacca ve ark., NK hücrelerinden farklı ILC1'lerin insan desiduasında bulunduğunu açıkladı. Bu hücreler IFN, Tbet+, EOMES and ROR γ t-'dir. ILC1, uyarıldığında IFN ve TNF gibi proinflamatuvar sitokinler üretir. Bu nedenle,

ILC1'ler hamileliğin erken dönemlerinde inflammatuar fazda sıkışıp kalabilir (P. Vacca ve ark., 2015).



Şekil 2.24. dNK hücresinin yüzeyinde eksprese edilen belirteçler (Xie ve ark., 2022).

2.11.2. İnsan Gebeliğinde Grup 2 Doğal Lenfoid Hücrelerin Roller

Th-2 hücrelerine benzeyen ILC2'ler hamilelik sırasında desiduada bulunur. Özellikle gebeliğin son trimesterinde homeostatik bir rol oynayabilirler. Ek olarak, spontan erken doğum eylemi olan kadınlarda ILC2 ekspresyonu daha yüksektir. Bu sonuçlar, ILC2'lerin gebeliğin multifaktöriyel hastalıklarının patogeneğinde proinflammatuar bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

2.11.3. İnsan Gebeliğinde Grup 3 Doğal Lenfoid Hücrelerin Roller

ILC3'lerin iki alt kümesi olan NKp44+ ve NKp44- dILC3'ler, insan desiduasında tanımlanmıştır (P. Vacca ve ark., 2018). Ek olarak, LTi benzeri hücreler de insan

desiduasında bulunur ve NKp44'ü düşük seviyelerde ifade ederler (P. Vacca ve ark., 2015). NKp44+'nın uyarılması üzerine, dILC3'ler GM-CSF, IL-8 ve IL-22'yi eksprese eder. NKp44+ dILC3'ler tarafından ifade edilen GM-CSF ve IL-8, nötrofil alımı/aktivasyonu/hayatta kalması için gereklidir. Nötrofil hücreleri, gebeliğin erken evrelerinde inflamatuvar fazı indüklemeye rol oynar. Bu göreve ek olarak, onlar tarafından ifade edilen HB-EGF ve IL1Ra, insan desiduasında immün toleransı indükler (Croxatto, Micheletti, Montaldo, Orecchia, Loiacono, Canegallo, Calzetti, Fulcheri, Munari, Zamo, ve ark., 2016). Hem NKp44+ dILC'ler hem de LTİ benzeri hücreler, desidual stromal hücreler üzerinde ICAM-1 ve VCAM-1 yapışma moleküllerinin yukarı regülasyonunu indükler (D. Miller ve ark., 2018b). Bu nedenle, ICAM-1 ve VCAM-1 adezyon moleküllerinin yukarı regülasyonu, ikincil ve üçüncül lenfoid organ gelişimi için tetikleyici bir olaydır. NKp44+ dILC3 ve LTİ benzeri hücreler benzer bir işleve sahiptir (P. Vacca ve ark., 2018). Son trimesterde, dILC3'ler, IFN γ ve IL-13 gibi spesifik sitokinlerin profiline sahip olabilir. Bu sitokinler sırasıyla ILC1 ve ILC2 tarafından üretilir. Bu nedenle, hem dILC1'ler hem de dILC2'ler, mikro çevresel koşullar açısından dILC3'ten farklılaşabilir.

2.12. Literatür Özeti

Günümüze kadar gebelik döneminde ILC'ler ile yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir; Vacca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada insan desiduasında farklı ILC'lerin varlığı araştırılmıştır. İnsan desiduasında ILC1 ve ILC3'lerin varlığı tespit edilmiştir. ILC1 ve ILC3'ler çeşitli pro-inflamatuvar sitokinler salgılayarak enfeksiyonlara karşı savunmada rol almıştır. Ayrıca, ILC3'ler IL-8 üretimi aracılığıyla doku remodellenmesi ve neo-angiogeneze katkıda bulunmuştur. ILC3 ve ILC1'lerin nötrofil, stromal hücreler, miyelositler ve T lenfositlerle etkileşerek gebeliğin başarılı şekilde devam etmesinde anahtar rol oynadığı ve ILC üretimindeki kusurların da fetal kayıplara neden olabileceği sonucuna varmışlardır. Sonuçta, ILC'lerin farklılaşmasındaki ve fonksiyonundaki değişimler enfeksiyon ve doku ve damar oluşumundaki kusura neden olup gebelikte başarısızlığa neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir (P. Vacca ve ark., 2015). Croxatto ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada doğal sitotoksik reseptör (NCR+) ILC3 hücrelerin insan desiduasında mevcut olduğunu ve bu hücrelerin CXCL-8 ve GM-CSF ürettiklerini göstermişlerdir. CXCL-8 ve GM-CSF nötrofillerin desiduaya infiltrasyonu ve hayatta

kalması için önemli faktörlerdir. NCR+ ILC3'lerin ürettiği GM-CSF nötrofillerden heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü (HB-EGF) ve IL-1Ra'nın ekspresyonlarını indüklemiştir. Bu iki faktör, angiogenez ve trofoblast büyümesi/invazyonu sürelerine katılır. Normal gebelik sürecinde, desiduaaya infiltre olan hem NCR+ ILC3 hem de nötrofillerin sayısında direkt korelasyon gösterilmiştir. Bu da iki hücre arasındaki karşılıklı etkileşimi göstermektedir (Croxatto, Micheletti, Montaldo, Orecchia, Loiacono, Canegallo, Calzetti, Fulcheri, Munari, Zamo, ve ark., 2016). Miller D ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gebeliğin farklı dönemlerinde ILC'lerin ekspresyonları araştırılmıştır. Gebelik öncesi endometriyumda ILC'lerin ekspresyonları mevcut değildir. Erken gebelik dönemlerinde ise desidua Grup 1 ILC'ler ve Grup 3 ILC'ler yoğun eksprese edilmesine karşın, Grup 2 ILC'lerin ekspresyonu ise gebeliğin sonuna doğru artmaktadır. Ayrıca, erken doğum yapan kadınlarda desidual ILC-2 ve ILC-3'lerin ekspresyonu artmıştır. Bu sonuçlar, bu hücrelerin gebelik komplikasyonlarında rol aldığını göstermektedir (D. Miller ve ark., 2018b). Filipovic ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Grup 1 ILC'lerin fare uterusundaki farklı alt sınıfları araştırılmıştır. Bu hücreler özellikle de dokuda yerleşik NK hücreleri ve cNK hücreleri spesifik görevlere sahiptir. Dokuda yerleşik NK hücreleri gebeliğin erken döneminde eksprese olmaktadır. Desidua bulunan diğer hücrelerle etkileşerek ya da çeşitli sitokinler üreterek trofoblast invazyonunu, spiral arterin yeniden şekillenmesini düzenlemektedir ve fetal büyümede rol alır (I. Filipovic, Chiossone, Vacca, Hamilton, Ingegnere, Doisne, Hawkes, Mingari, Sharkey, Moretta, ve ark., 2018). Balmas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gebelik komplikasyonları (fetal büyüme geriliği ve abortus) ve Grup 2 ILC'ler arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Sonuç olarak; Gebelik komplikasyonlarında tip 2 yanıt azalır ve fetal ölümler artar. Grup 2 ILC'ler ise tip 2 yanıtın oluşturulmasında ve sürdürülmesinde önemli rol oynar (Balmas ve ark., 2018). Xu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ILC'lerin maternal-fetal yüzeydeki mevcudiyetlerini göstermiştir. ILC'ler arasında ILC2 maternal-fetal yüzeyde en çok bulunan hücrelerdir ve bu hücrelerin bulunma oranları spontan erken doğum yapan kadınların desidua bazalisinde artmıştır. ILC3'ler ise spontan erken doğum yapan kadınların desidua parietalisinde artmıştır. Ayrıca, erken doğum sırasında insan maternal-fetal yüzeyde ILC3'ler yüksek miktarda IL-22, IL-17A, IL-13, and IFN- γ ürettiğini göstermiştir (Xu ve ark., 2018). Prince A Barnie ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada preeklamps ve diğer gebelikle ilişkili

hastalıklarda IL-17 miktarının yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu hastalıklardaki IL-17 artışının kaynağını araştırmışlardır. IL-17 üreten hücreler ise yardımcı T hücreleri (Th-17) ve ILC- 3'lerdir. Çalışma sonucunda Th-17 hücrelerinin sayısı kontrol ve hastalık grupları arasında kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. HMGB1/IFN γ akısının IL-17 üretmek için ILC-3'leri harekete geçirdiği gösterilmiştir (Barnie ve ark., 2015). Bracamonte-Baran ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kalpte bulunan ILC'ler araştırılmıştır. Kalpte bulunan ILC'lerin büyük çoğunluğu farklılaşmamış ILC'lerdir. Farklılaşmamış ILC'ler ILC-1 ve ILC-3 spesifik belirteçleri eksprese etmez. Hem insanda hem de farede miyokarditis ve iskemi durumunda, ILC'ler ILC-2'lere farklılaşır, ancak ILC- 1 ve ILC-3'lerin farklılaşması şeklinde değildir. Kalpteki fibroblastların IL-33 üretimi ve ILC'lerin ILC-2'ye farklılaşması ve sayısında artış olmuştur. Bu da ikisi arasındaki bağlantıyı göstermektedir (Bracamonte-Baran ve ark., 2019).

Bu çalışmanın amaçları;

- 1- Preeklampitik ve kontrol plasentalardaki ILC'lerin mevcudiyetini tespit etmek
- 2- Preeklampitik plasentadaki ILC alt sınıflarının oranlarının ne yönde değiştiğini araştırmak.
- 3- Elde edilecek sonuçlara göre, preeklampside ILC'lerin rolünü tartışmak

Literatür bilgileri ışığında, preeklampitik gebeliklerde ve sağlıklı gebeliklerde term plasentasında ILC hücre ve alt tiplerinin miktarları belirlenerek ILC hücrelerinin ILC-1, ILC-2 ve ILC-3 hücrelerinin sayısına ve fonksiyonuna etkisini belirleyip preeklampitik gebelikte rollerini ortaya çıkarmaktır. Hipotezimize göre ILC hücrelerinin ILC-1, ILC-2 ve ILC-3 hücrelerinin sayısını ve fonksiyonunu etkileyerek preeklampitik gebeliklerde rol aldığı şeklindedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Doku Temini

Bu tez projesindeki deney grupları, Vitale Kadın Doğum Hastanesi ve Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümleri'ne başvuran ve yazılı onam alınan hastalardan oluşmuştur. Hafif preeklampsi, ağır preeklampsi ve herhangi bir gebelik komplikasyonu olmayan gebelerin (kontrol grubu) plasentaları gruplara dâhil edilmiştir. Her bir gruptaki plasenta sayısı n=6'dır. Plasentalar doğumdan hemen sonra buz içerisinde bekletilmeden laboratuvara getirilmiştir.

Plasentaların toplandığı hastaların kanda yapılan tetkikleri belirlenen parametreleri ile Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Hasta Bilgileri (S.S.= Standard sapma)

	Kontrol Grubu n=6 (Ortalama $\pm$ S.S.)	Hafif Preeklampsi n=6 (Ortalama $\pm$ S.S.)	Şiddetli Preeklampsi n=6 (Ortalama $\pm$ S.S.)
Anne Yaşı (Yıl)	27,0 $\pm$ 5,3	28,6 $\pm$ 6,7	27,6 $\pm$ 6,1
Gestasyonel Yaş (Hafta)	38 $\pm$ 1,9	35,4 $\pm$ 2,3	34,2 $\pm$ 2,9
Bebek Ağırlığı (g)	3514 $\pm$ 137	3003 $\pm$ 234	2773 $\pm$ 241
Plasenta Ağırlığı (g)	497.7 $\pm$ 36.31	349.7 $\pm$ 39,27	308,33 $\pm$ 41,17
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	112,7 $\pm$ 16,5	154,1 $\pm$ 8,8	167,8 $\pm$ 5,9
Diastolik Kan Basıncı (mmHg)	69,3 $\pm$ 11,6	108,7 $\pm$ 7,9	118,1 $\pm$ 7,4
Proteinüri (g/24 saat)	-	0.61 $\pm$ 0,14	4.86 $\pm$ 0,73

3.2. Parafin Doku Takibi

İnsan plasenta dokuları alınıp % 4 PFA'ya alındı ve 2-3 saat sonra dokulara daha fazla fiksatifin ulaşması için trimleme işlemi gerçekleştirildi. Trimleme işleminden sonra, tekrar % 4 PFA'ya konulup gece boyu +4°C'de bekletildi. Bu dokular 3 saat akar suda yıkandı. Dokular % 70, 80 ve 90 alkol serilerinde 1 gün işleme tabi tutuldu. % 100 alkolde ise 3-3,5 saat bırakıldı. Her bir ksilol serisinden 2'şer dakika geçirilerek parafine alındı. Dokuları, parafin I-II-III'te 1'er saat tuttuktan sonra temiz parafinle etüvün dışına çıkartılıp gömme işlemi yapıldı. Parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler lama alındı ve 60 °C etüve konulup dokunun lama iyice yapışması sağlandı. Slaytlar Hematoksilen & Eozin boyamasına hazır hale getirildi.

3.3. Hematoksilen & Eozin (HE) Boyaması

Elde edilen plasenta örneklerini ışık mikroskobunda incelemek üzere HE ile boyama gerçekleştirildi. Bloklardan mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve bunlar 60°C'lik etüvde gece boyu bekletildi. Ertesi gün etüvlenen lam üzerinde bulunan dokular ksilol 1 ve 2'de 10 dakika bekletildi. Lamdaki dokular alkol serilerinden (% 100, 90, 80 ve 70 alkol) ve distile sudan geçirildi. Dokular hematoksin ile 1 dakika boyandı ve sonrasında boyanın fazlası su ile uzaklaştırıldı. Lamdaki dokular devamında eozin ile boyandı. Boyanın fazlası su ile uzaklaştırıldı. Dokular tekrardan alkol serilerinden geçirildi ve ksilolde bekletilip entellan ile kapatma işlemi yapıldı. Kapatma işleminden sonra slaytlar ışık mikroskobunun altında incelendi.

3.4. Flow Sitometri

3.4.1. Kullanılan Solüsyonlar

Phosphate Buffered Saline-Fosfat tamponlu tuz (PBS)

- 16 gr Sodyum Klorür
- 0,8 gr Potasyum dihidrojen fosfat
- 2,85 gr disodium hidrojen fosfat
- 2 lt distile su
- Ph:7,2-7,4 arası olmalıdır. Ayarlama yapılmaz.

100x tip IV kollajenaz stok solüsyonu

- 100 mg tip IV kollajenaz (Gibco, 17104-019)
- 1 ml PBS

3.4.2. Flow Sitometri Protokolü

Plasentalar doğumdan hemen sonra buz içerisinde bekletilmeden laboratuvara getirildi. Placenta örneğinden maternal ve fetal kısımları ayırmadan birlikte olacak şekilde dokular alındı ve doku parçaları 50 mililitrelik falkon tüplere son hacim 10 ml olacak şekilde koyuldu. Falkon tüplerden petri kabına alınan placenta dokuları üzerine 3 ml PBS koyuldu. Placenta dokusu makas ve bistüri yardımıyla mekanik olarak parçalandı. Mekanik parçalama işleminden sonra, placenta dokusu ve PBS birlikte tekrar falkona konuldu ve falkondaki hacmi 20 ml olarak belirlendi. Falkonun üzerine aynı miktarda PBS (20 ml) ve stok olarak önceden hazırlanmış olan 200 µl 100X Tip IV kollajenaz (Gibco, 17104019) enziminden koyuldu ve falkon alt üst yapıldı. 37°C’de getirilen su banyosuna falkon tüp içinde dokular enzimle yaklaşık olarak 3,5-4 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra, falkondaki doku örnekleri 70 µm geçirgenliğe sahip hücre süzgecinden (cell strainer) (Corning, CLS431751) geçirildi. Hücre süzgecinden geçirdikten sonra, oda sıcaklığında 1600 rpm’da (412xg) 3 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant atıldı, dipteki peletin üzerine 2 ml PBS + %10 Fetal Sığır Serum (Fetal Bovine Serum-FBS) (Gibco, 26140079) eklenip enzim aktivasyonu durduruldu. Tekrar oda sıcaklığında 1600 rpm’da (412 x g) 3 dakika boyunca santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. FBS’i uzaklaştırmak için PBS koyulup tekrar 1600 rpm’da 412 x g) 3 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant atılıp dipte kalan pelet üzerine 3 ml PBS konuldu ve ayrı bir falkon tüpünde de 3 ml Fikol solüsyonu hazırlandı. Fikol (Sigma Histopaque 1077), üzerine doku süspansiyonu yavaşça pipet aracılığı ile koyuldu. Fikol ile doku süspansiyonunun karışmamasına dikkat edildi. Devamında bu şekilde hazırlanan doku süspansiyonu ve fikol içeren tüp oda sıcaklığında 1800 rpm’de 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda faz ayrımı gözlemlendi ve önce en üstteki plazma kısmı falkondan uzaklaştırıldı (**Şekil 3.1**). Plazmanın altındaki mononükleer hücrelerin oluşturduğu katman ayrı bir falkona alındı. Ayrı falkona alınan sıvı üzerine 4 ml PBS koyuldu ve tekrar yıkama yapıldı. Pelet üzerine 1,5 ml PBS koyuldu ve resüspense edildi. Her birinin hacmi 500 µl olacak şekilde 3 ependorf ayarlandı. 1. ependorfa CD45 (Beckman Coulter

IM0647) 30 µl, CD294 (Beckman Coulter A07413) 20 µl, CD127 (Biolegend 351322) 5 µl ve CD117 (BD Biosciences 562417) 5 µl antikor koyuldu. 2. ependorfa CD3 (Beckman Coulter IM1281U) 20 µl, CD294 (Beckman Coulter A07413) 20 µl, CD127 (Biolegend 351322) 5 µl ve CD117 (BD Biosciences 562417) 5 µl antikor koyuldu. 3. ependorfa izotip antikor koyuldu. Oda sıcaklığında antikorlar 45 dakika ve karanlıkta inkübe edildi. Kullanılan izotip antikorlar ve dilüsyonları; FITC fare IgG1 izotip kontrol (BD, 555748) 20 µl, PERCP fare IgG1 izotip kontrol (BD, 347202), PE fare IgG2a izotip kontrol (BD, 559319) 20 µl ve PE-CF594 fare IgG1 izotip kontrol (BD, 562292) 25 µl şeklindedir.

Tablo 3.2. Flow Sitometri’de kullanılan primer antikorlar, izotip antikorlar, florokromlar, marka/katalog numaraları ve dilüsyon oranları

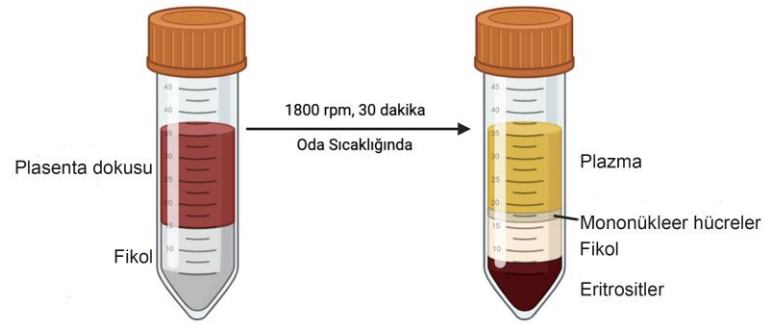
Primer Antikor	Florokrom	Marka/Katalog Numarası	Dilüsyon
CD45 IgG1	FITC	Beckman Coulter/ IM0647	1/15
CD3 IgG1	FITC	Beckman Coulter/ IM1281U	1/25
CD127 IgG1	PERCP 5.5	Biolegend/ 351322	1/100
CD294 IgG2a	PE	Beckman Coulter/ A07413	1/25
CD117 IgG1	PE-CF594	BD Biosciences 562417	1/100
İzotip Kontrol IgG1	FITC	BD 555748	1/25
İzotip Kontrol IgG1	PERCP 5.5	BD 347202	1/25
İzotip Kontrol IgG2A	PE	BD 559319	1/25
İzotip Kontrol IgG1	PE-CF594	BD 562292	1/20

İnkübasyon sonunda üzerine 2ml PBS koyuldu ve 1 kere yıkama yapıldı. Pelet üzerine 500 µl hücre yıkama solüsyonu koyuldu ve resuspense edildi. BD Accuri C6 cihazında okutma işlemi yapıldı. Flow Sitometri gate stratejisi:

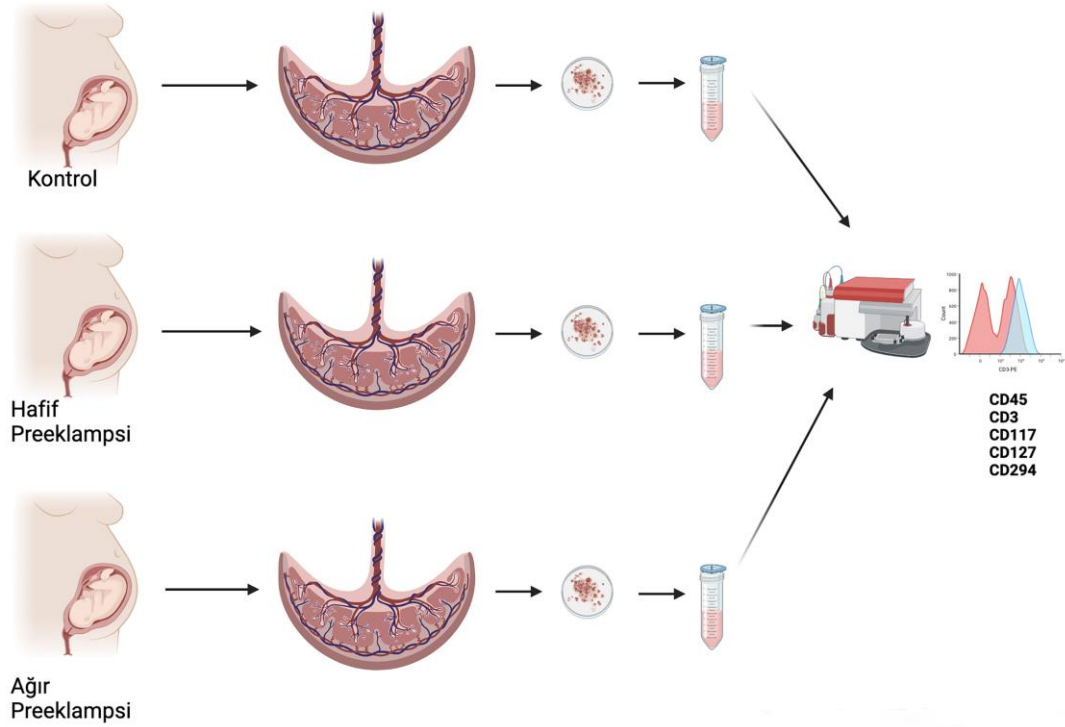
ILC1= CD45⁺ CD127⁺ CD294⁻ CD117⁻

ILC2= CD45⁺ CD3⁻ CD127⁺ CD294⁺ CD117⁻ (Gonzalez-Polo ve ark., 2019)

ILC3= CD45⁺ CD127⁺ CD294⁻ CD117⁺ olarak belirlendi (Boyd ve ark., 2014; Trabanelli ve ark., 2018; Bonne-Année ve ark., 2019).



Şekil 3.1. Plasenta dokusunda Fikol yardımıyla faz ayrımı şematize görüntüsü

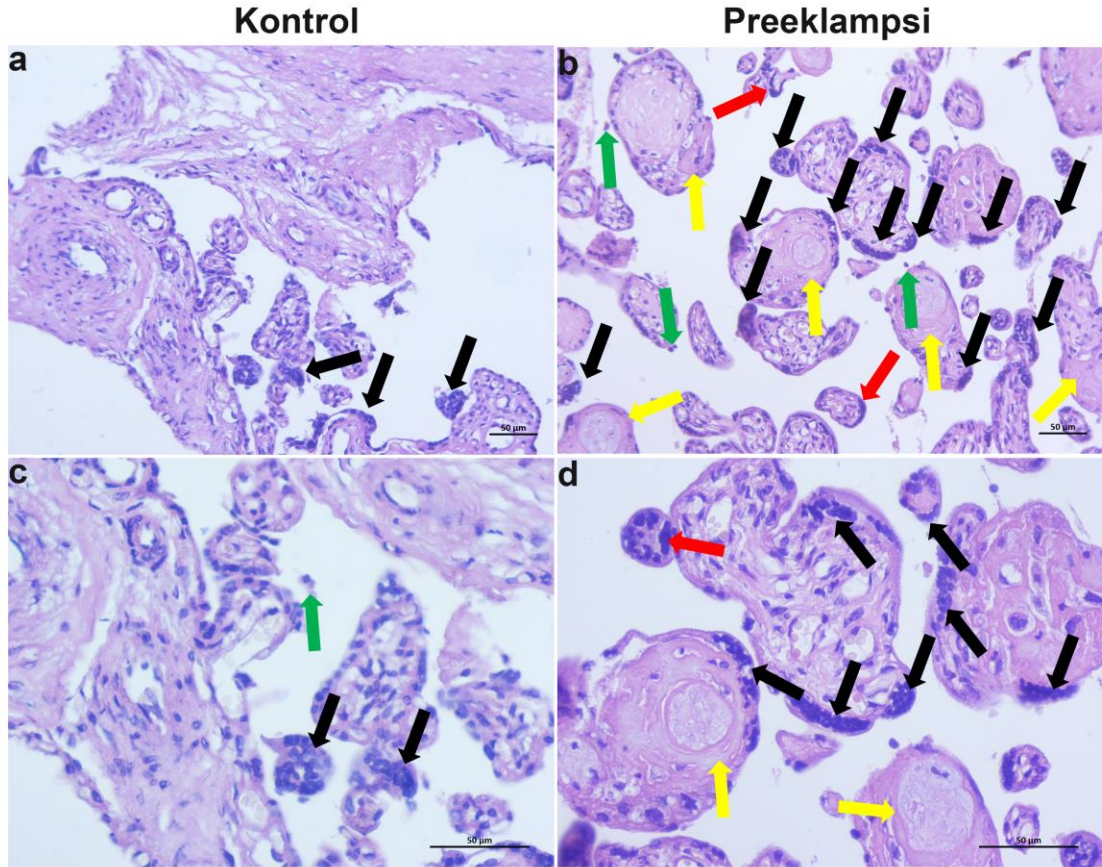


Şekil 3.2. Deney düzeneğinin şematize görüntüsü

4. BULGULAR

4.1. HE Boyaması ve Morfolojik Analiz

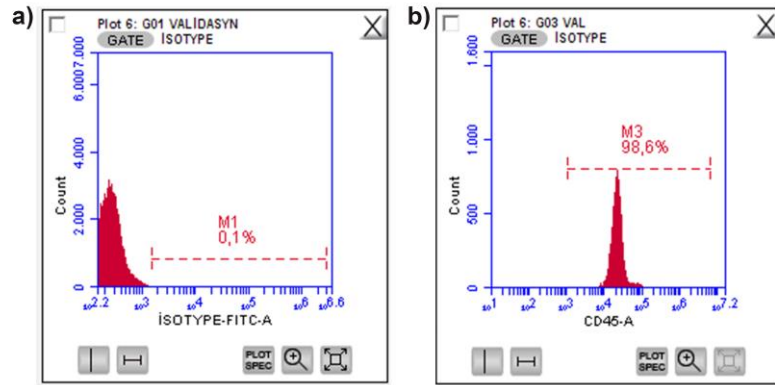
Preeklampitik gebeliklerden alınan plasenta dokuları, kontrol plasentalar ile karşılaştırılarak morfolojik değerlendirmeler yapıldı. Bu amaç doğrultusunda HE boyaması yapıldı. Normal plasentalarda HE ile boyanmış villüs yapılarında sinsisyal yapılar ve pul pul dökülmüş trofoblast hücreleri gözlemlendi (**Şekil 4.1 a, c**). Preeklampitik plasentalar çok sayıda sinsisyal nodlar, fibrin birikimleri, kalsifikasyon alanları ve trofoblast hücre dökülmeleri ile karakterizedir (**Şekil 4.1 b, d**).



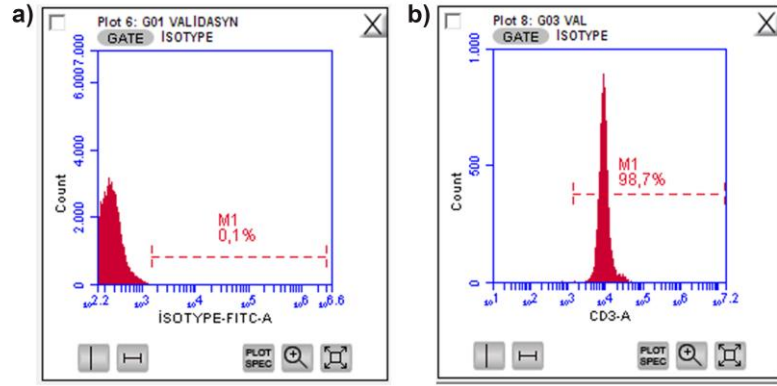
Şekil 4.1. Kontrol ve preeklampitik plasentaların Hemotoksilen-Eozin boyanmaları. Kontrol plasenta morfolojisi (a,c) ve preeklampitik plasenta morfoloji özellikleri (b,d) görülmektedir. Sinsisyal nodlar siyah oklar ile gösterilmiştir. Kırmızı oklar kalsifikasyon alanlarını göstermektedir. Yeşil oklar dökülmüş trofoblast hücrelerini göstermektedir. Sarı oklar ise fibrin birikim alanlarını göstermektedir. a ve b için objektif büyütmesi: 20x, c ve d için objektif büyütmesi 40x.

4.2. Flow Sitometri Bulguları

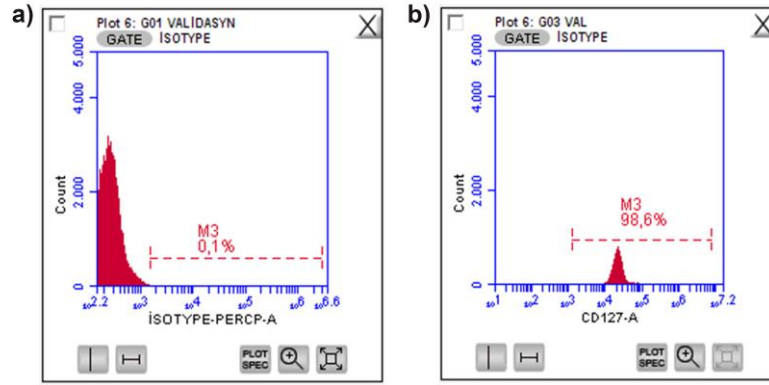
Preeklampitik ve kontrol plasentalardaki ILC1, ILC2 ve ILC3 hücrelerinin sayısal miktarlarını yüzde olarak belirlenip değerlendirilmesi için flow sitometri yöntemi gerçekleştirildi. Flow sitometri için izotip kontroller gerçekleştirildi (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6). Deney gruplarına ait bir örnekte ILC1 hücrelerinin flow sitometri verileri ayrı ayrı gösterilmektedir (Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Flow sitometri sonuçlarımıza göre, ILC1 hücrelerinin sayısal olarak değerleri gruplar arasında benzerdi (Şekil 4.10). Deney gruplarına ait bir örnekte ILC2 hücrelerinin flow sitometri verileri ayrı ayrı gösterilmektedir (Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13). ILC2 hücrelerin ekspresyonu kontrole kıyasla hafif şiddetli preeklampitik plasentalarda anlamlı oranda artmıştır. Ayrıca, ILC2 hücrelerin ekspresyonu kontrole kıyasla çok şiddetli preeklampitik plasentalarda da anlamlı oranda artmıştır (Şekil 4.14). Deney gruplarına ait bir örnekte ILC3 hücrelerinin flow sitometri verileri ayrı ayrı gösterilmektedir (Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17). ILC3 hücrelerin ekspresyonu kontrol ve hafif şiddetli preeklampitik plasentalarda benzerdi. ILC3 hücrelerin ekspresyonu kontrole kıyasla çok şiddetli preeklampitik plasentalarda anlamlı oranda artmıştır (Şekil 4.18).



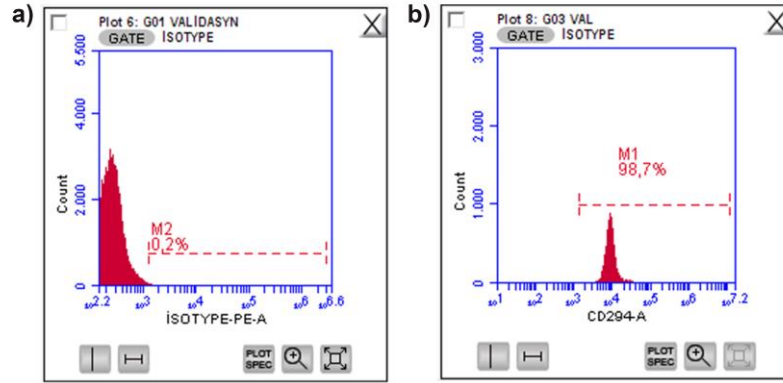
Şekil 4.2. Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol, b) FITC konjuge CD45⁺ hücrelerini göstermektedir.



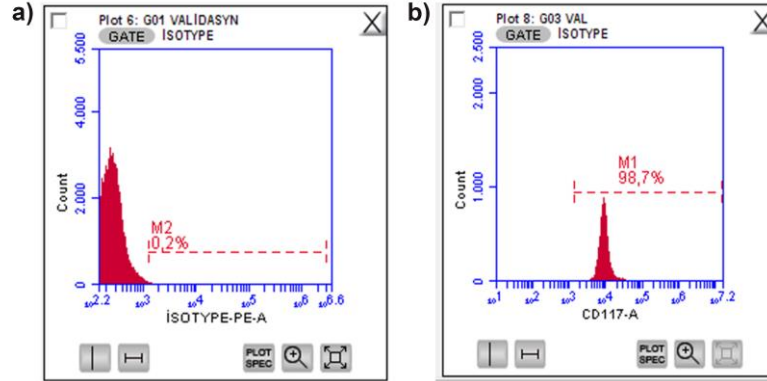
Şekil 4.3. Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol, b) FITC konjuge CD3⁺ hücrelerini göstermektedir.



Şekil 4.4. Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol b) PERCP konjuge CD127⁺ hücrelerini göstermektedir.



Şekil 4.5. Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol b) PE-CF594 konjuge CD294⁺ hücrelerini göstermektedir.

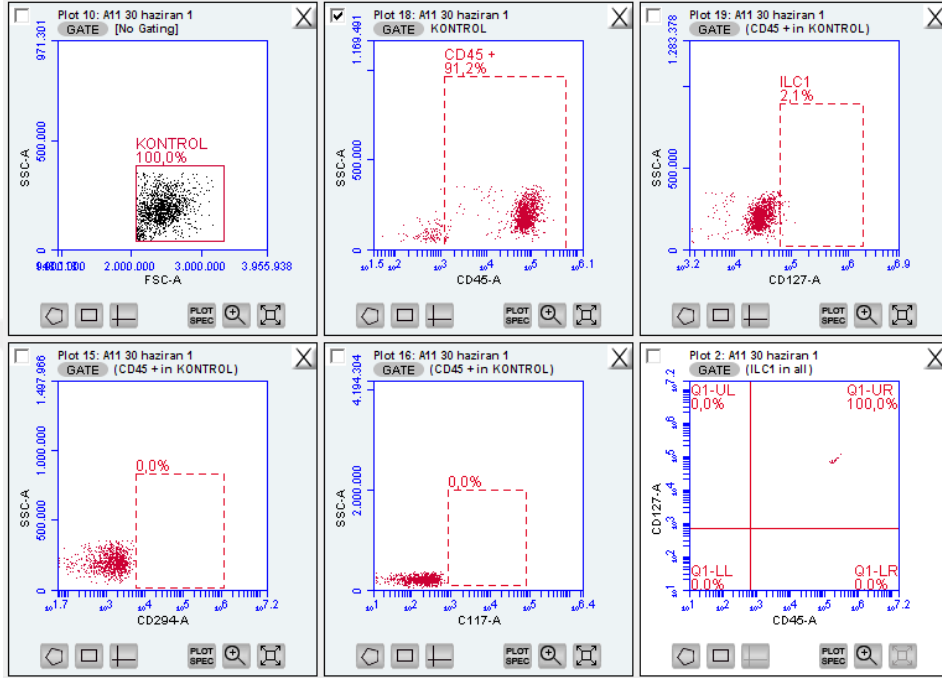


Şekil 4.6. Flow sitometri verileri. a) İzotip kontrol b) PE konjuge CD117⁺ hücrelerini göstermektedir.

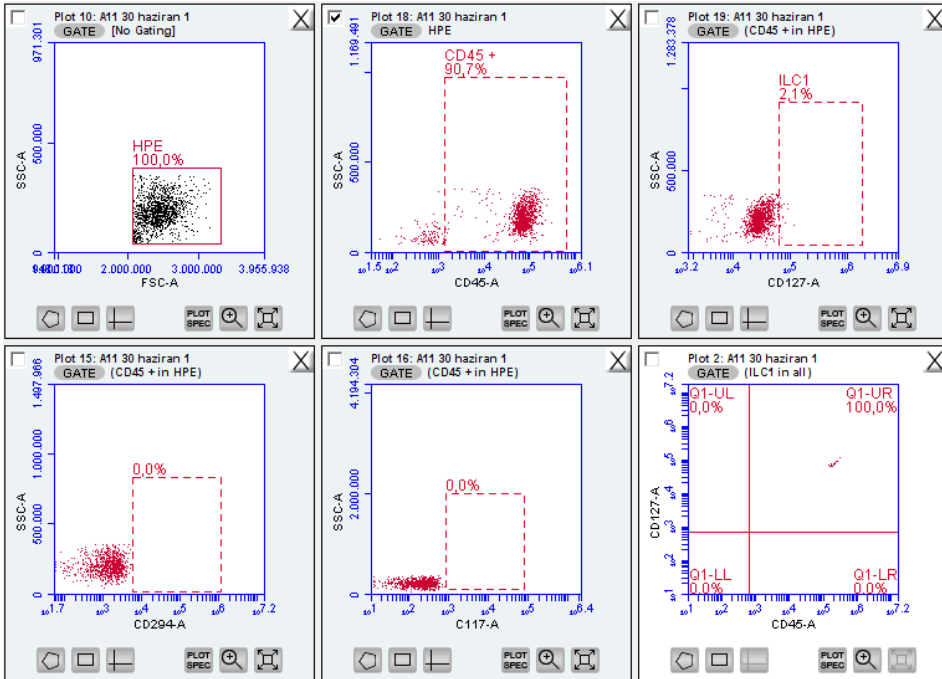
Plasenta dokusundan elde edilen hücre süspansiyonlarında immünofenotipleme için uygun hücre sayıları validasyon (ön çalışma) çalışmaları ile belirlendi.

Aşağıda her gruptan bir örneğe ait flow sitometri histogramları bulunmaktadır.

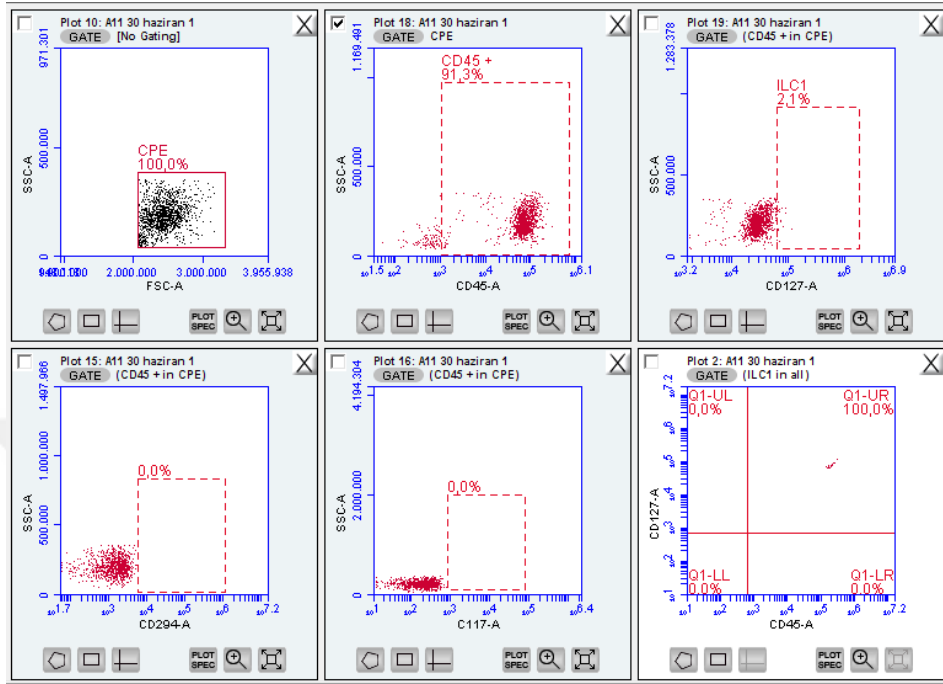
ILC1: CD45⁺ CD127⁺ CD294⁻



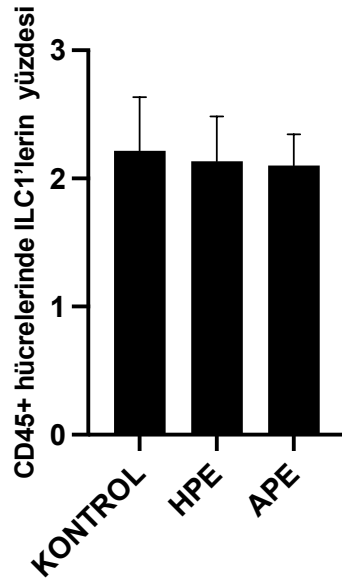
Şekil 4.7. Kontrol grubuna ait bir örnekte ILC1 hücrelerinin flow sitometri verileri



Şekil 4.8. Hafif preeklampsi (HPE) grubuna ait bir örnekte ILC1 hücrelerinin flow sitometri verileri

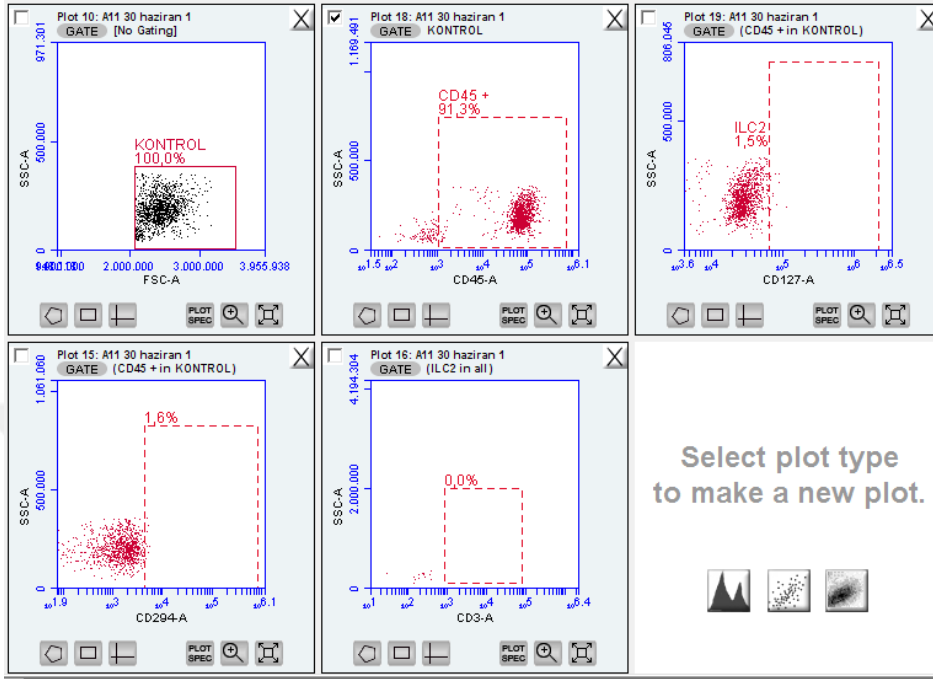


Şekil 4.9. Ağır preeklamps (APE) grubuna ait bir örnekte ILC1 hücrelerinin flow sitometri verileri

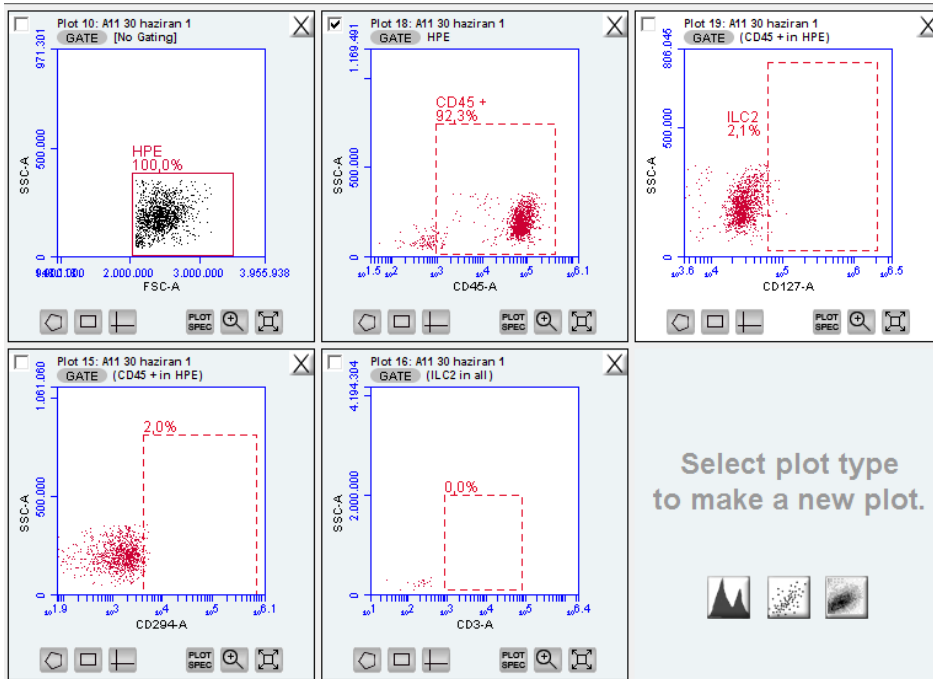


Şekil 4.10. Gruplar arasında ILC1 hücrelerinin yüzdelерinin karşılaştırılması.

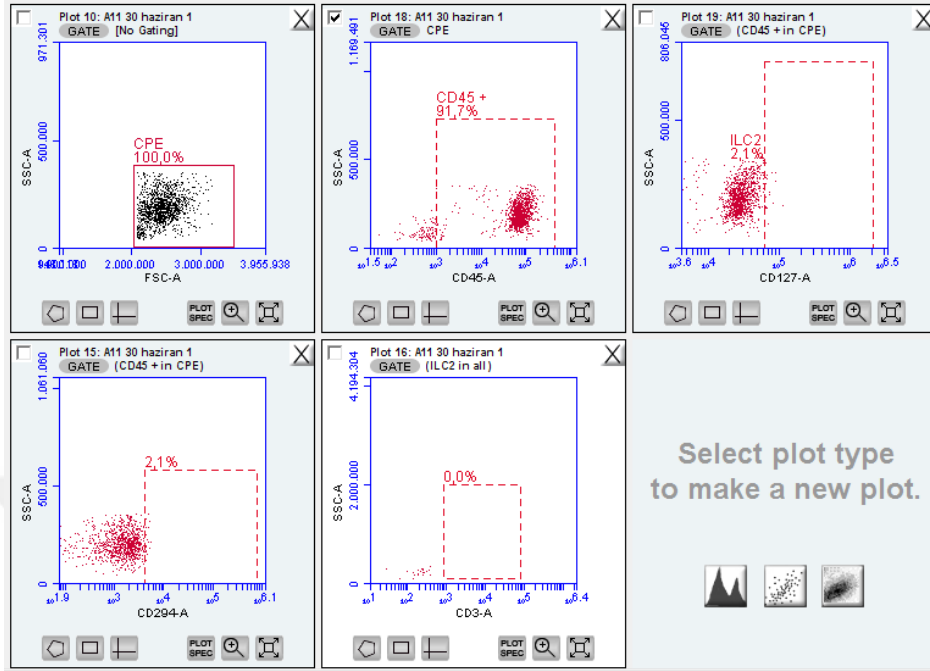
ILC2: CD3⁻CD45⁺ CD127⁺ CD117⁻ CD294⁺



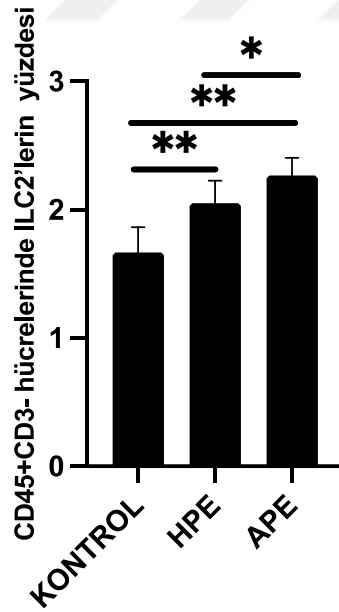
Şekil 4.11. Kontrol grubuna ait bir örnekte ILC2 hücrelerinin flow sitometri verileri



Şekil 4.12. Hafif preeklampsi (HPE) grubuna ait bir örnekte ILC2 hücrelerinin flow sitometri verileri

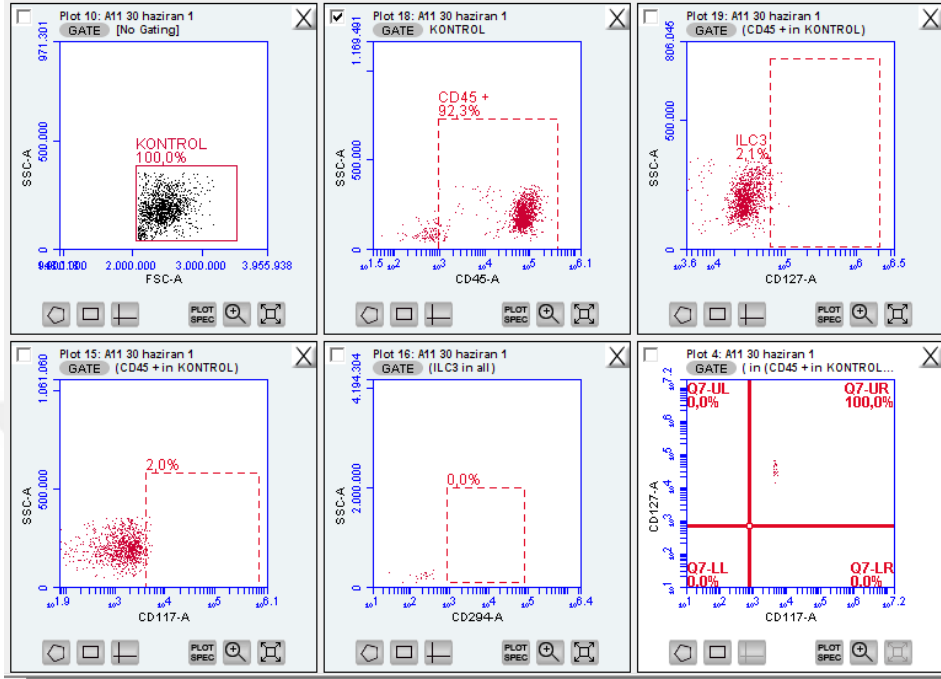


Şekil 4.13. Ağır preeklamps (APE) grubuna ait bir örnekte ILC2 hücrelerinin flow sitometri verileri

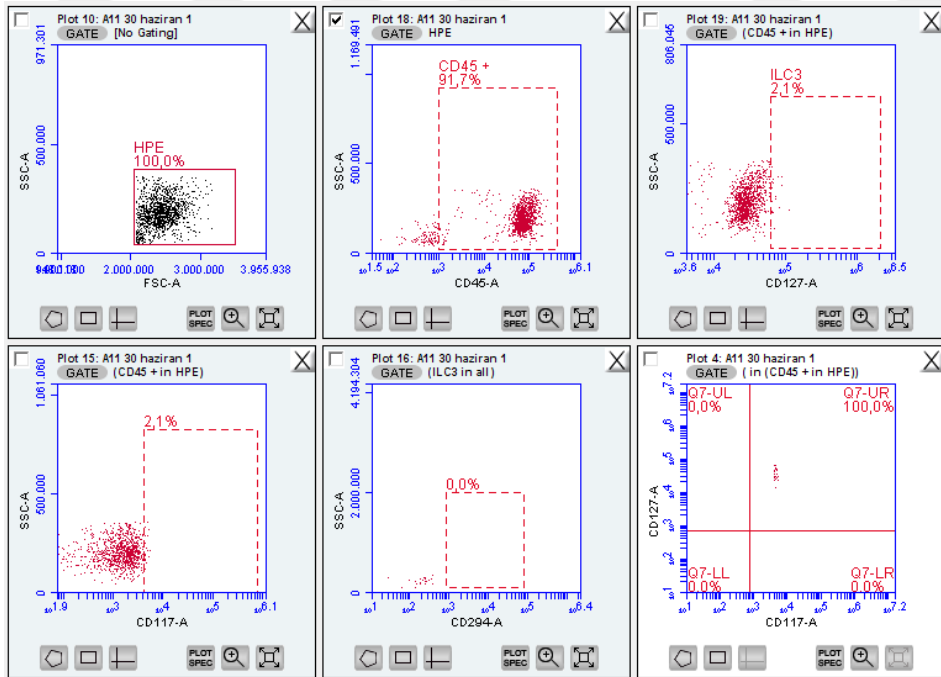


Şekil 4.14. Gruplar arasında ILC2 hücrelerinin yüzdelерinin karşılaştırılması.

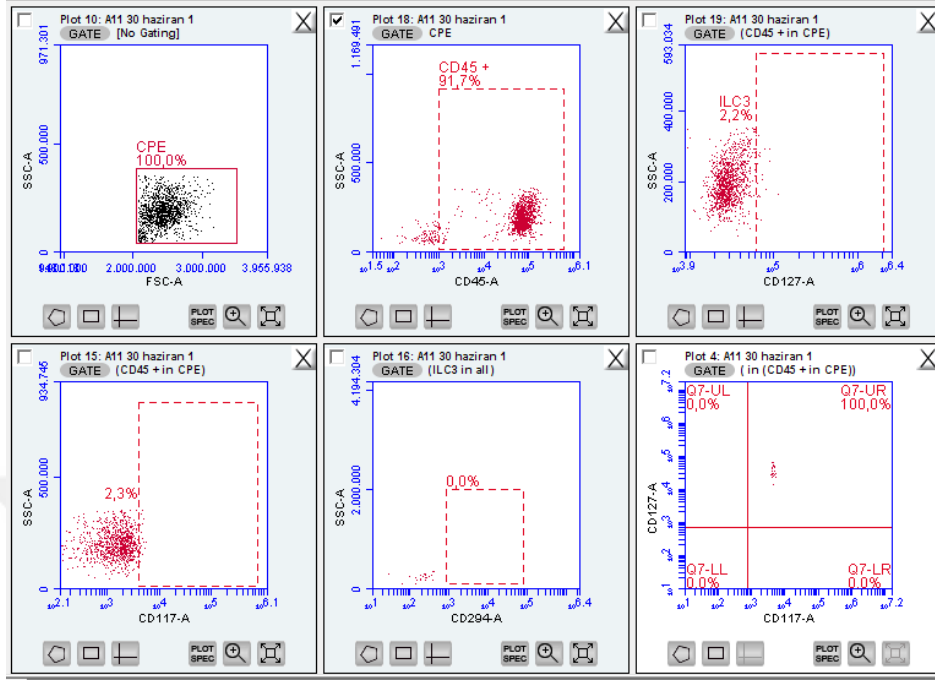
ILC3: CD45⁺ CD127⁺ CD117⁺ CD294⁻



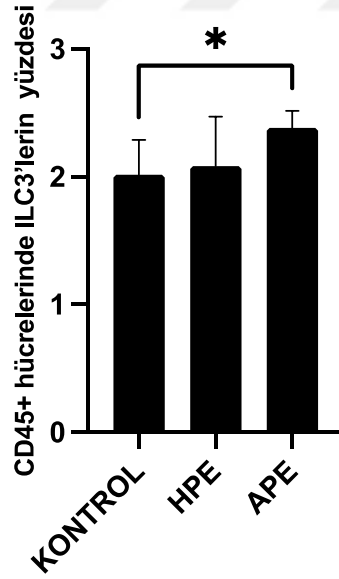
Şekil 4.15. Kontrol grubuna ait bir örnekte ILC3 hücrelerinin flow sitometri verileri



Şekil 4.16. Hafif preeklamps (HPE) grubuna ait bir örnekte ILC3 hücrelerinin flow sitometri verileri



Şekil 4.17. Ağır preeklamps (APE) grubuna ait bir örnekte ILC3 hücrelerinin flow sitometri verileri



Şekil 4.18. Gruplar arasında ILC3 hücrelerinin yüzdelерinin karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Preeklamps, gebeliğin en yaygın önemli tıbbi komplikasyonlarından biridir. Preeklamps gebeliklerin yaklaşık % 5-7 'lik kısmını etkileyen, hem fetal hem de maternal morbidite ve mortaliteye neden olabilen önde gelen nedenini temsil eder (Sibai, 2005; Sargent ve ark., 2007) ve nöbetler, inme, karaciğer yetmezliği, böbrek yetmezliği, intrauterin gelişme geriliği dâhil olmak üzere çeşitli maternal ve fetal komplikasyonlara neden olabilir (Parham, 2004). Preeklampsinin nedeni tam olarak bilinmese de büyük ölçüde kronik immün aktivasyon ile ilişkilendirilmektedir (Baumwell ve Karumanchi, 2007; Saito ve ark., 2007). Maternal immün sistem, gebeliğin kurulması ve sürdürülmesinde ve sağlıklı doğumda hayati bir rol oynar (L. R. Guerin ve ark., 2009b; Munoz-Suano ve ark., 2011). Preeklamps de gebelik komplikasyonları gelişmekte ve maternal immün parametreler ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Preeklamps komplikasyonun altında yatan nedenlerden bir kısmı da immünolojik faktörlerin olduğuna dair pek çok çalışma vardır (Clark ve ark., 2001; L. R. Guerin ve ark., 2009b).

Gebelikte immünolojik yanıtı içeren üç ana aşama vardır. Bunlar genel olarak bir inflamatuvar süreç olarak kabul edilen trofoblastların implantasyon süreci; devamında gebeliğin ilerlemesiyle fetüsün tüm gelişimi boyunca ihtiyaç duyulan koruyucu bir anti-inflamatuvar ortam; ve son olarak da, aynı zamanda inflamatuvar bir olay olarak da kabul edilen doğumun kendisidir (Bollapragada ve ark., 2009; Thaxton ve ark., 2010; Hadfield ve ark., 2011; Hanssens ve ark., 2012; Dekel ve ark., 2014).

Gebelik sırasında, inflamatuvar durumlardaki farklılıklar, farklı sitokin profilleri ile ilişkilidir. Literatürdeki kanıtlar, Th1 sitokin profilinden, hümorale yanıtı destekleyen Th2 profiline geçiş olduğunu desteklemektedir (Gilman-Sachs ve ark., 2018). Ancak Treg hücreleri, IL-17 üreten hücreler ve dokuda yerleşik hücreler gibi diğer hücre tipleri gebeliğin immün regülasyonuna katkıda bulunur (Saito ve ark., 2010; Southcombe ve ark., 2011). Bilimsel araştırmaların çoğu, T hücre repertuarına ve Th1, Th2 ve Th17 sitokinleri arasındaki dengeye odaklanmıştır (Areia ve ark., 2016; Monteiro ve ark., 2017; Huang ve ark., 2018) Bununla birlikte, bağışıklık sisteminin doğuştan gelen bileşeninin gebelikte baskın bir role sahip olduğu açıktır (17, 18). Ayrıca, klasik Th1/Th2 paradigması, lokal

olarak salgılanan sitokinlerin immünomodülatör etkilerini açıklamakta başarısız olur. Bu çalışmada, ILC hücreleri olarak adlandırılan yakın zamanda tanımlanmış bir hücre grubunu preeklampitik gebelik sırasındaki sayısal miktarlarını belirleyerek olası rollerini açıklamaya odaklanıyoruz.

Son zamanlarda, spesifik antijen reseptörlerini ifade etmeyen lenfoid soyuna ait yeni bir immün hücresi ailesi tanımlanmış ve ILC hücreleri olarak adlandırılmıştır (H. Spits ve Cupedo, 2012; H. Spits, Artis, Colonna, Diefenbach, Di Santo, Eberl, Koyasu, Locksley, McKenzie, Mebius, ve ark., 2013). Bu hücreler üç ana özellik ile tanımlanır:

- 1) Rekombinasyon aktive edici gen (RAG) bağımlı yeniden düzenlenmiş antijen reseptörlerinin yokluğu;
- 2) Miyeloid hücre ve dendritik hücre fenotipik belirteçlerinin olmaması; ve
- 3) Lenfoid morfolojileri.

Spesifik antijen reseptörlerinin olmamasına rağmen, ILC'ler, T hücrelerinininkine benzeyen bir fonksiyonel çeşitlilik sergiler (C. S. Klose ve Artis, 2016). ILC ailesinin bu yeni üyeleri, T hücresi alt kümelerine olan işlevsel benzerliklerine göre sınıflandırıldı gILC1'ler, transkripsiyon faktörü T-bet'in ifadesine dayanır ve NK hücrelerinin yanı sıra diğer IFN γ üreten ILC1'leri içerir (Powell ve ark., 2012). gILC2'ler, IL-5 ve IL-13 sitokinlerinin Th2 benzeri ekspresyonu ile karakterize edilir ve transkripsiyon faktörleri GATA3'e bağımlıdır (Mjösberg ve ark., 2012; Wong ve ark., 2012). Son olarak, gILC3'ler , IL-17 ve IL-22 dahil olmak üzere Th17 benzeri sitokinler üreten ve ROR γ t ekspresyonuna bağlı hücreleri içerir (Eberl ve ark., 2004). Yine de, ILC alt kümeleri arasında karakterizasyonlarını ve tanımlamalarını zorlaştıran esneklikler vardır (C. S. Klose ve ark., 2013).

ILC'ler, astım ve alerji ile ilgili süreçlere katkıda bulundukları akciğer gibi mukozal dokularda ve parazitik ve mikrobiyal enfeksiyonlara karşı savunma sağladıkları gastrointestinal sistemde tanımlanmıştır (Fallon ve ark., 2006; Halim ve ark., 2012; C. S. N. Klose ve ark., 2014). Ayrıca, son zamanlarda yapılan çalışmalar kalp, karaciğer ve beyindeki iskemik hastalıklar ile ILC'ler arasında bağlantılar bulunmuştur (S. Wang, 2021; Yang ve ark., 2021; Kang ve ark., 2022). ILC'lerin inflamatuvar ve iskemik hastalıklar ile arasındaki ilişkinin aydınlatılmasından sonra bu hücrelerin üreme dokuları

gibi mukozal bağıışıklık bölgelerinde ve preeklampsi gibi iskeminin görüldüğü üreme patolojilerinde çalışılmasına ve aralarındaki ilişkinin araştırılmasına yol açmıştır. ILC alt grupları, gebeliğin erken ve orta döneminde murin uterusunda tanımlanmıştır, ancak bu dönemde hangi ILC alt kümesinin baskın olduğu konusunda tartışmalar vardır (Powell ve ark., 2012; P. Vacca ve ark., 2015). Farelerde ve insanlarda gebelik öncesinde de ILC alt kümeleri tanımlanmıştır (Doisne ve ark., 2015; Li ve ark., 2017). Bu çalışmada, ILC'lerin sağlıklı ve preeklampitik gebe plasentalarında bulunduğunu gösterdik.

Gebeliğin erken döneminde ILC1 ve ILC3'ler, maternal-fetal arayüzde bulunur ve nötrofillerin göçlerini ve işlevlerini modüle eder (Croxatto, Micheletti, Montaldo, Orecchia, Loiacono, Canegallo, Calzetti, Fulcheri, Munari, Zamò, ve ark., 2016). ILC1'ler insan desiduasında düşük sayılarda tanımlanmışlardır ve bu da gebelikte rolü olabileceklerini düşündürmektedir. Ancak, ILC1'lerin ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir. ($p>0,05$). Bu sonuçlara göre, ILC1'lerin preeklampsinin patogeneğinde rol oynamadığını göstermektedir.

CD294, hücre göçü ve çeşitli sitokin üretimi dahil olmak üzere ILC2'lerin proinflatuar yanıtlarında kritik rol oynadığı gösterilmiştir. Bu nedenle CD294'nün ekspresyonu, doğum eylemi için gerekli olabilir (Xue ve ark., 2014). Fare modelinde yapılan bir çalışmada bulunan ILC2 popülasyonunun bir diğer önemli özelliği, majör histokompatibilite kompleksi sınıf II (MHCII) ve ayrıca CD80 ve CD86 yardımcı uyarıcı moleküllerini ifade etmesidir. Oliphant ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmada ILC2'nin sadece endositoz yapmadığı, aynı zamanda antijenleri işleyip sunabildiği gösterilmiştir (Oliphant ve ark., 2014). ILC2'ler, maternal-fetal arayüzde üçüncü trimesterde en bol bulunan desidual ILC alt kümesi tipidir ve bu da homeostatik ortamın korunmasında rol oynayabileceklerini göstermiştir (Molofsky ve ark., 2013; Xu ve ark., 2018). Spontan erken doğum eylemi olan kadınların desidua bazalisinde ILC2'ler artmıştır, bu da ILC2'lerin patolojik gebelik sırasında ortaya çıkan kronik inflamatuar sürece katılabileceğini düşündürmektedir. Son trimester insan desiduasındaki ILC2'lerin varlığı, IL-13 ve IL-22 gibi sitokinlerin ekspresyonunu ILC3'lerle paylaşıyor olması, desidual ILC altkümelerinin gebeliğin sonuna doğru ortak işlevselliğe sahip olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, bu çalışmada patolojik gebeliklerde ILC2'lerin pro-

inflamatuvar özellikleri göstermiştir (Xu ve ark., 2018). Bizim sonuçlarımıza göre, ILC2'ler sağlıklı gebeliklerde en düşük popülasyona sahip ILC hücreleriyken, patolojik gebeliklerde ILC2'nin plasentadaki popülasyonunda anlamlı artış tespit edilmiştir. Böylece preeklampitik vakalarda görülen ILC2 artışı, bu hücrelerin preeklampsinin patogenezinde görülen kronik plasental inflamatuvar sürece katılabileceğini göstermektedir. Preeklampsideki kronik inflamatuvar sürece bu hücreler Xu ve arkadaşlarının çalışmasında da gösterildiği gibi pro-inflamatuvar sitokin üreterek katkıda bulunabilir (Xu ve ark., 2018).

İlk trimesterde, insan desiduasında ILC3'lerin varlığı gösterilmiştir. Özellikle, desidual ILC3'ler tarafından salınan GM-CSF ve IL-8'in, birinci trimester desiduasında nötrofil göçünü ve sağkalımı desteklediği gösterilmiştir (Croxatto, Micheletti, Montaldo, Orecchia, Loiacono, Canegallo, Calzetti, Fulcheri, Munari, Zamò, ve ark., 2016). Fare desiduası gebeliğin ortasında ILC3'ler içermemiştir (Doisne ve ark., 2015). Üçüncü trimesterde, insan desidual ILC3'ler, IFN γ , IL-13, IL-17A ve IL-22'yi içeren benzersiz bir sitokin profili ifade eder (Xu ve ark., 2018). ILC1 ile ilişkili sitokin IFN γ 'nın desidual ILC3'ler tarafından ifade edilmesi, bu hücreler arasındaki plastisiteyi göstermektedir. Bu aynı zamanda geç gebelikte desidual ILC1'lerin düşük oranlarını da açıklayabilir. Spontan erken doğum eylemi olan kadınların desidua parietalisinde ILC3'ler artmıştır. Desidual ILC3'lerin spontan preterm eylemle ilişkili inflamasyona doğrudan katılıp katılmadığı veya böyle bir sürecin sonucu olarak artıp artmadığı henüz belirlenmemiştir (Xu ve ark., 2018). Preeklampside IL-2, IL-4, IL-6, IL-17, TNF- α , ve IFN- γ gibi sitokinlerde artış görülmüştür (Kaminski ve ark., 2018) Preeklampsisi ve gestasyonel diyabet gibi gebelikle ilişkili hastalıklarda artan IL-17, ILC3 tarafından kaynaklandığı gösterilmiştir (Barnie ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda, ILC3'lerin ağır preeklampitik plasentalar da en yüksek popülasyona sahip ILC hücreleri oldukları gösterilmiştir. ILC3'lerin ekspresyonu ağır preeklampitik vakalarda anlamlı artış göstermiştir. Bu da, ILC3 popülasyonunun oranlarındaki değişikliklerin preeklampsinin ağırlaşması ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. ILC2'ler gibi ILC3 hücreleri de preeklampsideki kronik plasental inflamatuvar sürece pro-inflamatuvar sitokinler sentezleyerek katkıda bulunabilir. Ayrıca, preeklampsinin patogenezinde artan sitokinlerin çoğunu ILC3'lerin üretme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, kontrol, hafif ve ağır preeklampitik gebelik gruplarıyla çalışıldı. Çalışmamızda IILC'lerin preeklampitik plasentalardaki varlığı ve ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir.

Elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir;

1. ILC1'lerin ekspresyonunun gruplar arasında benzer olduğu,
2. ILC2'lerin ekspresyonunun preeklampitik gruplarda anlamlı artış gösterdiği,
3. ILC3'lerin ekspresyonunun çok şiddetli preeklampitik grupta anlamlı artış gösterdiği sonuçlarına varılmıştır.

Preeklampitik plasentalarda ILC'lerin rolünü tespit etmek için ek araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu hücrelerin son trimesterde salgıladıkları sitokinler tespit edilip, bu hücreler arasında platisitenin var olup olmadığı belirlenmelidir. Gebelik esnasında bu hücrelerin desidual mikroçevreki etkileşimleri araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Aggarwal, P., Jain, V., Sakhuja, V., Karumanchi, S., & Jha, V. Low urinary placental growth factor is a marker of pre-eclampsia. *Kidney international*. 2006; 69 (3): 621-624.
- Ahmad, S., & Ahmed, A. Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. *Circulation research*. 2004; 95 (9): 884-891.
- Altman, D., Carroli, G., Duley, L., Farrell, B., Moodley, J., Neilson, J., & Smith, D. Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The magpie trial: A randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2002; 359 (9321): 1877-1890.
- Anguiano-Robledo, L., Reyes-Melchor, P. A., Bobadilla-Lugo, R. A., Pérez-Alvarez, V. M., & López-Sánchez, P. Renal angiotensin-ii receptors expression changes in a model of preeclampsia. *Hypertension in pregnancy*. 2007; 26 (2): 151-161.
- Aplin, J. D., & Kimber, S. J. Trophoblast-uterine interactions at implantation. *Reprod Biol Endocrinol*. 2004; 2: 48.
- Areia, A. L., Vale-Pereira, S., Vaz-Ambrósio, A., Alves, V., Rodrigues-Santos, P., Rosa, M. S., . . . Mota-Pinto, A. Does progesterone administration in preterm labor influence treg cells? *J Perinat Med*. 2016; 44 (6): 605-611.
- Artis, D., & Spits, H. The biology of innate lymphoid cells. *Nature*. 2015; 517 (7534): 293-301.
- Ashary, N., Tiwari, A., & Modi, D. Embryo implantation: War in times of love. *Endocrinology*. 2018; 159 (2): 1188-1198.
- ATIGAN, A., KILIÇ, D., GÜLER, Ö. T., & KARAKAYA, Y. A. Can placental histopathological lesions be a guide to maternal and neonatal outcomes in patients with preeclampsia? *Journal of Istanbul Faculty of Medicine*.
- Avagliano, L., Massa, V., & Bulfamante, G. (2016). *Histology of human placenta*.
- Baines, K., & Renaud, S. (2017). Transcription factors that regulate trophoblast development and function. In (Vol. 145).
- Balmas, E., Rana, B., Hamilton, R., Shreeve, N., Kieckbusch, J., Aye, I., . . . Colucci, F. Maternal group 2 innate lymphoid cells control fetal growth and protect from endotoxin-induced abortion in mice; 2018, p:
- Barnie, P. A., Lin, X., Liu, Y., Xu, H., & Su, Z. Il-17 producing innate lymphoid cells 3 (ilc3) but not th17 cells might be the potential danger factor for preeclampsia and other pregnancy associated diseases. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015; 8 (9): 11100-11107.
- Basso, O., Rasmussen, S., Weinberg, C. R., Wilcox, A. J., Irgens, L. M., & Skjaerven, R. Trends in fetal and infant survival following preeclampsia. *Jama*. 2006; 296 (11): 1357-1362.
- Baumwell, S., & Karumanchi, S. A. Pre-eclampsia: Clinical manifestations and molecular mechanisms. *Nephron Clin Pract*. 2007; 106 (2): c72-81.
- Benner, M., Ferwerda, G., Joosten, I., & van der Molen, R. G. How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium. *Human Reproduction Update*. 2018; 24 (4): 393-415.
- Bennett, W. A., Lagoo-Deenadayalan, S., Whitworth, N. S., Stopple, J. A., Barber, W. H., Hale, E., . . . Cowan, B. D. First-trimester human chorionic villi express both immunoregulatory and inflammatory cytokines: A role for interleukin-10 in regulating the cytokine network of pregnancy. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*. 1999; 41 (1): 70-78.
- Bernink, J. H., Krabbendam, L., Germar, K., de Jong, E., Gronke, K., Kofoed-Nielsen, M., . . . Spits, H. Interleukin-12 and -23 control plasticity of cd127(+) group 1 and group 3 innate lymphoid cells in the intestinal lamina propria. *Immunity*. 2015; 43 (1): 146-160.

- Bernink, J. H., Peters, C. P., Munneke, M., Te Velde, A. A., Meijer, S. L., Weijer, K., . . . Buskens, C. J. Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nature immunology*. 2013; 14 (3): 221-229.
- Bernink, J. H., Peters, C. P., Munneke, M., te Velde, A. A., Meijer, S. L., Weijer, K., . . . Spits, H. Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nat Immunol*. 2013; 14 (3): 221-229.
- Bjorklund, A. K., Forkel, M., Picelli, S., Konya, V., Theorell, J., Friberg, D., . . . Mjosberg, J. The heterogeneity of human cd127(+) innate lymphoid cells revealed by single-cell rna sequencing. *Nat Immunol*. 2016; 17 (4): 451-460.
- Bobst, S. M., Day, M.-C., Gilstrap, L. C., Xia, Y., & Kellems, R. E. Maternal autoantibodies from preeclamptic patients activate angiotensin receptors on human mesangial cells and induce interleukin-6 and plasminogen activator inhibitor-1 secretion. *American journal of hypertension*. 2005; 18 (3): 330-336.
- Boij, R., Mjösberg, J., Svensson-Arvelund, J., Hjorth, M., Berg, G., Matthiesen, L., . . . Ernerudh, J. Regulatory t-cell subpopulations in severe or early-onset preeclampsia. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2015; 74 (4): 368-378.
- Bollapragada, S., Youssef, R., Jordan, F., Greer, I., Norman, J., & Nelson, S. Term labor is associated with a core inflammatory response in human fetal membranes, myometrium, and cervix. *Am J Obstet Gynecol*. 2009; 200 (1): 104.e101-111.
- Bonne-Année, S., Bush, M. C., & Nutman, T. B. Differential modulation of human innate lymphoid cell (ilc) subsets by il-10 and tgf- β . *Scientific Reports*. 2019; 9 (1): 14305.
- Boyd, A., Ribeiro, J. M., & Nutman, T. B. Human cd117 (ckit)+ innate lymphoid cells have a discrete transcriptional profile at homeostasis and are expanded during filarial infection. *PLoS One*. 2014; 9 (9): e108649.
- Bracamonte-Baran, W., Chen, G., Hou, X., Talor, M. V., Choi, H. S., Davogustto, G., . . . Čiháková, D. Non-cytotoxic cardiac innate lymphoid cells are a resident and quiescent type 2-committed population. *Frontiers in immunology*. 2019; 10: 634.
- Brestoff, J. R., Kim, B. S., Saenz, S. A., Stine, R. R., Monticelli, L. A., Sonnenberg, G. F., . . . Seale, P. Group 2 innate lymphoid cells promote beiging of white adipose tissue and limit obesity. *Nature*. 2015; 519 (7542): 242-246.
- Brestoff, J. R., Kim, B. S., Saenz, S. A., Stine, R. R., Monticelli, L. A., Sonnenberg, G. F., . . . Artis, D. Group 2 innate lymphoid cells promote beiging of white adipose tissue and limit obesity. *Nature*. 2015; 519 (7542): 242-246.
- Buhimschi, C. S., Norwitz, E. R., Funai, E., Richman, S., Guller, S., Lockwood, C. J., & Buhimschi, I. A. Urinary angiogenic factors cluster hypertensive disorders and identify women with severe preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2005; 192 (3): 734-741.
- Burton, G. (2022). Architecture of the villous trees. In (pp. 111-141).
- Burton, G. J., & Jauniaux, E. Sonographic, stereological and doppler flow velocimetric assessments of placental maturity. *Br J Obstet Gynaecol*. 1995; 102 (10): 818-825.
- Burton, G. J., Watson, A. L., Hempstock, J., Skepper, J. N., & Jauniaux, E. Uterine glands provide histiotrophic nutrition for the human fetus during the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87 (6): 2954-2959.
- Caniggia, I., Mostachfi, H., Winter, J., Gassmann, M., Lye, S. J., Kuliszewski, M., & Post, M. Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through tgf β 3. *The Journal of clinical investigation*. 2000; 105 (5): 577-587.

- Carter, A. M. Comparative studies of placentation and immunology in non-human primates suggest a scenario for the evolution of deep trophoblast invasion and an explanation for human pregnancy disorders. *Reproduction*. 2011; 141 (4): 391-396.
- Carter, A. M., & Pijnenborg, R. Evolution of invasive placentation with special reference to non-human primates. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2011; 25 (3): 249-257.
- Castellucci, M., & Kaufmann, P. A three-dimensional study of the normal human placental villous core: II. Stromal architecture. *Placenta*. 1982; 3 (3): 269-285.
- Cella, M., Fuchs, A., Vermi, W., Facchetti, F., Otero, K., Lennerz, J. K., . . . Colonna, M. A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity. *Nature*. 2009; 457 (7230): 722-725.
- Chazara, O., Xiong, S., & Moffett, A. Maternal KIR and fetal HLA-C: A fine balance. *Journal of leukocyte biology*. 2011; 90 (4): 703-716.
- Cherrier, D. E., Serafini, N., & Di Santo, J. P. Innate lymphoid cell development: A T cell perspective. *Immunity*. 2018; 48 (6): 1091-1103.
- Chung, D. J., Rossi, M., Romano, E., Ghith, J., Yuan, J., Munn, D. H., & Young, J. W. Indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing mature human monocyte-derived dendritic cells expand potent autologous regulatory T cells. *Blood*. 2009; 114 (3): 555-563.
- Clark, D. A., Coulam, C. B., Daya, S., & Chaouat, G. Unexplained sporadic and recurrent miscarriage in the new millennium: A critical analysis of immune mechanisms and treatments. *Hum Reprod Update*. 2001; 7 (5): 501-511.
- Colls, R., & Fannin, M. Placental surfaces and the geographies of bodily interiors. *Environment and Planning A*. 2013; 45 (5): 1087-1104.
- Cross, J. C., Baczyk, D., Dobric, N., Hemberger, M., Hughes, M., Simmons, D. G., . . . Kingdom, J. C. Genes, development and evolution of the placenta. *Placenta*. 2003; 24 (2-3): 123-130.
- Croxatto, D., Micheletti, A., Montaldo, E., Orecchia, P., Loiacono, F., Canegallo, F., . . . Vacca, P. Group 3 innate lymphoid cells regulate neutrophil migration and function in human decidua. *Mucosal immunology*. 2016; 9 (6): 1372-1383.
- Croxatto, D., Micheletti, A., Montaldo, E., Orecchia, P., Loiacono, F., Canegallo, F., . . . Vacca, P. Group 3 innate lymphoid cells regulate neutrophil migration and function in human decidua. *Mucosal immunology*. 2016; 9 (6): 1372-1383.
- Cunningham, F. G., Leveno, K. J., Bloom, S. L., Spong, C. Y., & Dashe, J. S. *Williams obstetrics*, 24e: McGraw-hill New York, NY, USA; 2014, p:
- Cupedo, T., Crellin, N. K., Papazian, N., Rombouts, E. J., Weijer, K., Grogan, J. L., . . . Spits, H. Human fetal lymphoid tissue-inducer cells are interleukin 17-producing precursors to RORC⁺ CD127⁺ natural killer-like cells. *Nat Immunol*. 2009; 10 (1): 66-74.
- Dekel, N., Gnainsky, Y., Granot, I., Racicot, K., & Mor, G. The role of inflammation for a successful implantation. *American journal of reproductive immunology* (New York, N.Y. : 1989). 2014; 72 (2): 141-147.
- Demir, R., Kosanke, G., Kohnen, G., Kertschanska, S., & Kaufmann, P. Classification of human placental stem villi: Review of structural and functional aspects. *Microsc Res Tech*. 1997; 38 (1-2): 29-41.
- DeSesso, J. M., Williams, A. L., Ahuja, A., Bowman, C. J., & Hurtt, M. E. The placenta, transfer of immunoglobulins, and safety assessment of biopharmaceuticals in pregnancy. *Crit Rev Toxicol*. 2012; 42 (3): 185-210.
- Diefenbach, A., Colonna, M., & Koyasu, S. Development, differentiation, and diversity of innate lymphoid cells. *Immunity*. 2014; 41 (3): 354-365.

- Doisne, J. M., Balmas, E., Boulenouar, S., Gaynor, L. M., Kieckbusch, J., Gardner, L., . . . Colucci, F. Composition, development, and function of uterine innate lymphoid cells. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950). 2015; 195 (8): 3937-3945.
- Douglas, K. A., & Redman, C. W. Eclampsia in the united kingdom. *Bmj*. 1994; 309 (6966): 1395-1400.
- Duley, L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol*. 2009; 33 (3): 130-137.
- Dyring-Andersen, B., Geisler, C., Agerbeck, C., Lauritsen, J. P., Gudjonsdottir, S. D., Skov, L., & Bonefeld, C. M. Increased number and frequency of group 3 innate lymphoid cells in nonlesional psoriatic skin. *The British journal of dermatology*. 2014; 170 (3): 609-616.
- Ealey, K. N., Moro, K., & Koyasu, S. Are ilc 2s jekyll and hyde in airway inflammation? *Immunological reviews*. 2017; 278 (1): 207-218.
- Eberl, G., Colonna, M., Di Santo, J. P., & McKenzie, A. N. Innate lymphoid cells. Innate lymphoid cells: A new paradigm in immunology. *Science* (New York, N.Y.). 2015; 348 (6237): aaa6566.
- Eberl, G., Marmon, S., Sunshine, M. J., Rennert, P. D., Choi, Y., & Littman, D. R. An essential function for the nuclear receptor rorgamma(t) in the generation of fetal lymphoid tissue inducer cells. *Nat Immunol*. 2004; 5 (1): 64-73.
- El Costa, H., Casemayou, A., Aguerre-Girr, M., Rabot, M., Berrebi, A., Parant, O., . . . Tabiasco, J. Critical and differential roles of nkp46- and nkp30-activating receptors expressed by uterine nk cells in early pregnancy. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950). 2008; 181 (5): 3009-3017.
- Erlebacher, A. Immunology of the maternal-fetal interface. *Annual review of immunology*. 2013; 31: 387-411.
- Ernst, L., & Carreon, C. (2019). Placenta. In (pp. 399-424).
- Ernst, L. M. Maternal vascular malperfusion of the placental bed. *Apmis*. 2018; 126 (7): 551-560.
- Eyerich, S., Eyerich, K., Cavani, A., & Schmidt-Weber, C. Il-17 and il-22: Siblings, not twins. *Trends in immunology*. 2010; 31 (9): 354-361.
- Faas, M. M., & de Vos, P. Uterine nk cells and macrophages in pregnancy. *Placenta*. 2017; 56: 44-52.
- Falco, M. L., Sivanathan, J., Laoreti, A., Thilaganathan, B., & Khalil, A. Placental histopathology associated with pre-eclampsia: Systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017; 50 (3): 295-301.
- Fallon, P. G., Ballantyne, S. J., Mangan, N. E., Barlow, J. L., Dasvarma, A., Hewett, D. R., . . . McKenzie, A. N. Identification of an interleukin (il)-25-dependent cell population that provides il-4, il-5, and il-13 at the onset of helminth expulsion. *The Journal of experimental medicine*. 2006; 203 (4): 1105-1116.
- Feyaerts, D., Benner, M., van Cranenbroek, B., van der Heijden, O. W., Joosten, I., & van der Molen, R. G. Human uterine lymphocytes acquire a more experienced and tolerogenic phenotype during pregnancy. *Scientific reports*. 2017; 7 (1): 1-10.
- Filipovic, I., Chiossone, L., Vacca, P., Hamilton, R., Ingegnere, T., Doisne, J., . . . Moretta, L. (2018). Molecular definition of group 1 innate lymphoid cells in the mouse uterus. *Nat commun* 9: 4492. In.
- Filipovic, I., Chiossone, L., Vacca, P., Hamilton, R. S., Ingegnere, T., Doisne, J. M., . . . Colucci, F. Molecular definition of group 1 innate lymphoid cells in the mouse uterus. *Nature communications*. 2018; 9 (1): 4492.
- Forkel, M., & Mjosberg, J. Dysregulation of group 3 innate lymphoid cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Current allergy and asthma reports*. 2016; 16 (10): 73.

- Fox, H. The incidence and significance of vasculo-syncytial membranes in the human placenta. *J Obstet Gynaecol Br Commonw.* 1967; 74 (1): 28-33.
- Fu, B., Tian, Z., & Wei, H. Th17 cells in human recurrent pregnancy loss and pre-eclampsia. *Cell Mol Immunol.* 2014; 11 (6): 564-570.
- Fuchs, A., Vermi, W., Lee, J. S., Lonardi, S., Gilfillan, S., Newberry, R. D., . . . Colonna, M. Intraepithelial type 1 innate lymphoid cells are a unique subset of il-12- and il-15-responsive ifn-gamma-producing cells. *Immunity.* 2013; 38 (4): 769-781.
- Gadient, R. A., & Patterson, P. H. Leukemia inhibitory factor, interleukin 6, and other cytokines using the gp130 transducing receptor: Roles in inflammation and injury. *Stem Cells.* 1999; 17 (3): 127-137.
- Gadonski, G., LaMarca, B. B., Sullivan, E., Bennett, W., Chandler, D., & Granger, J. P. Hypertension produced by reductions in uterine perfusion in the pregnant rat: Role of interleukin 6. *Hypertension.* 2006; 48 (4): 711-716.
- Gaffen, S. L. An overview of il-17 function and signaling. *Cytokine.* 2008; 43 (3): 402-407.
- Gamliel, M., Goldman-Wohl, D., Isaacson, B., Gur, C., Stein, N., Yamin, R., . . . Rais, Y. Trained memory of human uterine nk cells enhances their function in subsequent pregnancies. *Immunity.* 2018; 48 (5): 951-962. e955.
- Gamliel, M., Goldman-Wohl, D., Isaacson, B., Gur, C., Stein, N., Yamin, R., . . . Mandelboim, O. Trained memory of human uterine nk cells enhances their function in subsequent pregnancies. *Immunity.* 2018; 48 (5): 951-962.e955.
- George, E. M., & Granger, J. P. Endothelin: Key mediator of hypertension in preeclampsia. *Am J Hypertens.* 2011; 24 (9): 964-969.
- Gestational hypertension and preeclampsia: Acog practice bulletin, number 222. *Obstet Gynecol.* 2020; 135 (6): e237-e260.
- Gilman-Sachs, A., Dambaeva, S., Salazar Garcia, M. D., Hussein, Y., Kwak-Kim, J., & Beaman, K. Inflammation induced preterm labor and birth. *J Reprod Immunol.* 2018; 129: 53-58.
- Gonzalez, J. M., Franzke, C.-W., Yang, F., Romero, R., & Girardi, G. Complement activation triggers metalloproteinases release inducing cervical remodeling and preterm birth in mice. *The American journal of pathology.* 2011; 179 (2): 838-849.
- Gonzalez-Polo, V., Pucci-Molineris, M., Cervera, V., Gambaro, S., Yantorno, S. E., Descalzi, V., . . . Meier, D. Group 2 innate lymphoid cells exhibit progressively higher levels of activation during worsening of liver fibrosis. *Ann Hepatol.* 2019; 18 (2): 366-372.
- Group, T. M. T. C. Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The magpie trial: A randomised placebo-controlled trial. *The Lancet.* 2002; 359 (9321): 1877-1890.
- Guenther, S., Vrekoussis, T., Heublein, S., Bayer, B., Anz, D., Knabl, J., . . . Makrigiannakis, A. Decidual macrophages are significantly increased in spontaneous miscarriages and over-express fasl: A potential role for macrophages in trophoblast apoptosis. *International journal of molecular sciences.* 2012; 13 (7): 9069-9080.
- Guerin, L. R., Prins, J. R., & Robertson, S. A. Regulatory t-cells and immune tolerance in pregnancy: A new target for infertility treatment? *Human Reproduction Update.* 2009a; 15 (5): 517-535.
- Guerin, L. R., Prins, J. R., & Robertson, S. A. Regulatory t-cells and immune tolerance in pregnancy: A new target for infertility treatment? *Hum Reprod Update.* 2009b; 15 (5): 517-535.
- Hadfield, K. A., McCracken, S. A., Ashton, A. W., Nguyen, T. G., & Morris, J. M. Regulated suppression of nf-kb throughout pregnancy maintains a favourable cytokine environment necessary for pregnancy success. *J Reprod Immunol.* 2011; 89 (1): 1-9.

- Halim, T. Y., Krauss, R. H., Sun, A. C., & Takei, F. Lung natural helper cells are a critical source of th2 cell-type cytokines in protease allergen-induced airway inflammation. *Immunity*. 2012; 36 (3): 451-463.
- Hanna, J., Goldman-Wohl, D., Hamani, Y., Avraham, I., Greenfield, C., Natanson-Yaron, S., . . . Mandelboim, O. Decidual nk cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nature medicine*. 2006; 12 (9): 1065-1074.
- Hanna, J., & Mandelboim, O. When killers become helpers. *Trends in immunology*. 2007; 28 (5): 201-206.
- Hanssens, S., Salzert, M., & Vinatier, D. [immunological aspect of pregnancy]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2012; 41 (7): 595-611.
- Harmon, A. C., Cornelius, D. C., Amaral, L. M., Faulkner, J. L., Cunningham, M. W., Jr., Wallace, K., & LaMarca, B. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clin Sci (Lond)*. 2016; 130 (6): 409-419.
- He, N., van Iperen, L., de Jong, D., Szuhai, K., Helmerhorst, F. M., van der Westerlaken, L. A., & Chuva de Sousa Lopes, S. M. Human extravillous trophoblasts penetrate decidual veins and lymphatics before remodeling spiral arteries during early pregnancy. *PloS one*. 2017; 12 (1): e0169849.
- Helige, C., Ahammer, H., Moser, G., Hammer, A., Dohr, G., Huppertz, B., & Sedlmayr, P. Distribution of decidual natural killer cells and macrophages in the neighbourhood of the trophoblast invasion front: A quantitative evaluation. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2014; 29 (1): 8-17.
- Herberts, C., Melgert, B., Laan, J. W. v. d., & Faas, M. New adjuvanted vaccines in pregnancy: What is known about their safety? *Expert review of vaccines*. 2010; 9 (12): 1411-1422.
- Hernandez-Diaz, S., Toh, S., & Cnattingius, S. Risk of pre-eclampsia in first and subsequent pregnancies: Prospective cohort study. *Bmj*. 2009; 338: b2255.
- Hoorweg, K., Peters, C. P., Cornelissen, F., Aparicio-Domingo, P., Papazian, N., Kazemier, G., . . . Cupedo, T. Functional differences between human nkp44(-) and nkp44(+) rorc(+) innate lymphoid cells. *Frontiers in immunology*. 2012; 3: 72.
- Huang, Y., Mao, K., & Germain, R. N. Thinking differently about ilcs-not just tissue resident and not just the same as cd4(+) t-cell effectors. *Immunol Rev*. 2018; 286 (1): 160-171.
- Huhn, O., Ivarsson, M. A., Gardner, L., Hollinshead, M., Stinchcombe, J. C., Chen, P., . . . Colucci, F. Distinctive phenotypes and functions of innate lymphoid cells in human decidua during early pregnancy. *Nature communications*. 2020; 11 (1): 381.
- Huhn, O., Zhao, X., Esposito, L., Moffett, A., Colucci, F., & Sharkey, A. M. How do uterine natural killer and innate lymphoid cells contribute to successful pregnancy? *Frontiers in immunology*. 2021; 12: 607669.
- Huppertz, B. The anatomy of the normal placenta. *J Clin Pathol*. 2008; 61 (12): 1296-1302.
- Hustin, J., & Schaaps, J. P. Echographic [corrected] and anatomic studies of the maternotrophoblastic border during the first trimester of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1987; 157 (1): 162-168.
- Ibrahim, N. A., & Khaled, D. M. Histological and immunohistochemical study on human placental tissue in normal pregnancy and preeclampsia. *Cell Biol*. 2014; 2: 72-80.
- Jabeen, R., & Kaplan, M. H. The symphony of the ninth: The development and function of th9 cells. *Current opinion in immunology*. 2012; 24 (3): 303-307.
- Jabrane-Ferrat, N., & Siewiera, J. The up side of decidual natural killer cells: New developments in immunology of pregnancy. *Immunology*. 2014; 141 (4): 490-497.
- Jackson, M. R., Mayhew, T. M., & Boyd, P. A. Quantitative description of the elaboration and maturation of villi from 10 weeks of gestation to term. *Placenta*. 1992; 13 (4): 357-370.

- Jauniaux, E., & Gulbis, B. Fluid compartments of the embryonic environment. *Hum Reprod Update*. 2000; 6 (3): 268-278.
- Jung, E., Romero, R., Yeo, L., Gomez-Lopez, N., Chaemsaitong, P., Jaovisidha, A., . . . Erez, O. The etiology of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2022; 226 (2s): S844-s866.
- Kaminski, V. L., Ellwanger, J. H., Matte, M. C. C., Savaris, R. F., Vianna, P., & Chies, J. A. B. Il-17 blood levels increase in healthy pregnancy but not in spontaneous abortion. *Mol Biol Rep*. 2018; 45 (5): 1565-1568.
- Kämmerer, U., von Wolff, M., & Markert, U. R. Immunology of human endometrium. *Immunobiology*. 2004; 209 (7): 569-574.
- Kanasaki, K., Palmsten, K., Sugimoto, H., Ahmad, S., Hamano, Y., Xie, L., . . . Folkman, J. Deficiency in catechol-o-methyltransferase and 2-methoxyoestradiol is associated with pre-eclampsia. *Nature*. 2008; 453 (7198): 1117-1121.
- Kang, J., Liggett, J. R., Patil, D., Ranjit, S., Loh, K., Duttargi, A., . . . Kroemer, A. Type 1 innate lymphoid cells are proinflammatory effector cells in ischemia-reperfusion injury of steatotic livers. *Frontiers in immunology*. 2022; 13: 899525.
- Kar, M. Role of biomarkers in early detection of preeclampsia. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 2014; 8 (4): BE01.
- Karumanchi, S. A., Maynard, S. E., Stillman, I. E., Epstein, F. H., & Sukhatme, V. P. Preeclampsia: A renal perspective. *Kidney Int*. 2005; 67 (6): 2101-2113.
- Kaufmann, P. Functional anatomy of the non-primate placenta. *Placenta Suppl*. 1981; 1: 13-28.
- Kaufmann, P., Sen, D. K., & Schweikhart, G. Classification of human placental villi. I. Histology. *Cell Tissue Res*. 1979; 200 (3): 409-423.
- Kim, H. Y., Lee, H. J., Chang, Y. J., Pichavant, M., Shore, S. A., Fitzgerald, K. A., . . . Umetsu, D. T. Interleukin-17-producing innate lymphoid cells and the nlrp3 inflammasome facilitate obesity-associated airway hyperreactivity. *Nature medicine*. 2014; 20 (1): 54-61.
- King, A., Allan, D. S., Bowen, M., Powis, S. J., Joseph, S., Verma, S., . . . Braud, V. M. Hla-e is expressed on trophoblast and interacts with cd94/nkg2 receptors on decidual nk cells. *European journal of immunology*. 2000; 30 (6): 1623-1631.
- Klose, C. S., & Artis, D. Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. *Nat Immunol*. 2016; 17 (7): 765-774.
- Klose, C. S., Kiss, E. A., Schwierzeck, V., Ebert, K., Hoyler, T., d'Hargues, Y., . . . Diefenbach, A. A t-bet gradient controls the fate and function of ccr6-roryt+ innate lymphoid cells. *Nature*. 2013; 494 (7436): 261-265.
- Klose, C. S. N., Flach, M., Möhle, L., Rogell, L., Hoyler, T., Ebert, K., . . . Diefenbach, A. Differentiation of type 1 ilcs from a common progenitor to all helper-like innate lymphoid cell lineages. *Cell*. 2014; 157 (2): 340-356.
- Koga, K., & Mor, G. Expression and function of toll-like receptors at the maternal—fetal interface. *Reproductive Sciences*. 2008; 15 (3): 231-242.
- Kohnen, G., Kertschanska, S., Demir, R., & Kaufmann, P. Placental villous stroma as a model system for myofibroblast differentiation. *Histochem Cell Biol*. 1996; 105 (6): 415-429.
- Konya, V., Czarnewski, P., Forkel, M., Rao, A., Kokkinou, E., Villablanca, E. J., . . . Mjösberg, J. Vitamin d downregulates the il-23 receptor pathway in human mucosal group 3 innate lymphoid cells. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2018; 141 (1): 279-292.
- Konya, V., & Mjösberg, J. Lipid mediators as regulators of human ilc2 function in allergic diseases. *Immunol Lett*. 2016; 179: 36-42.
- Koopman, L. A., Kopcow, H. D., Rybalov, B., Boyson, J. E., Orange, J. S., Schatz, F., . . . Strominger, J. L. Human decidual natural killer cells are a unique nk cell subset with

- immunomodulatory potential. *The Journal of experimental medicine*. 2003; 198 (8): 1201-1212.
- Kopf, M., Brombacher, F., Hodgkin, P. D., Ramsay, A. J., Milbourne, E. A., Dai, W. J., . . . Young, I. G. IL-5-deficient mice have a developmental defect in CD5⁺ B-1 cells and lack eosinophilia but have normal antibody and cytotoxic T cell responses. *Immunity*. 1996; 4 (1): 15-24.
- Krop, J., Heidt, S., Claas, F., & Eikmans, M. Regulatory T cells in pregnancy: It is not all about FOXP3. *Frontiers in immunology*. 2020; 11.
- Kulandavelu, S., Whiteley, K. J., Qu, D., Mu, J., Bainbridge, S. A., & Adamson, S. L. Endothelial nitric oxide synthase deficiency reduces uterine blood flow, spiral artery elongation, and placental oxygenation in pregnant mice. *Hypertension*. 2012; 60 (1): 231-238.
- Laresgoiti-Servitje, E., & Gomez-Lopez, N. The pathophysiology of preeclampsia involves altered levels of angiogenic factors promoted by hypoxia and autoantibody-mediated mechanisms. *Biology of Reproduction*. 2012a; 87 (2): 36, 31-37.
- Laresgoiti-Servitje, E., & Gomez-Lopez, N. The pathophysiology of preeclampsia involves altered levels of angiogenic factors promoted by hypoxia and autoantibody-mediated mechanisms¹. *Biology of Reproduction*. 2012b; 87 (2).
- Lash, G., Robson, S., & Bulmer, J. Functional role of uterine natural killer (uNK) cells in human early pregnancy decidua. *Placenta*. 2010; 31: S87-S92.
- Le Bouteiller, P., & Piccinni, M. P. Human NK cells in pregnant uterus: Why there? *American Journal of Reproductive Immunology*. 2008; 59 (5): 401-406.
- Levine, R. J., Maynard, S. E., Qian, C., Lim, K.-H., England, L. J., Yu, K. F., . . . Epstein, F. H. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *New England journal of medicine*. 2004; 350 (7): 672-683.
- Levine, R. J., Thadhani, R., Qian, C., Lam, C., Lim, K.-H., Kai, F. Y., . . . Sibai, B. M. Urinary placental growth factor and risk of preeclampsia. *Jama*. 2005; 293 (1): 77-85.
- Li, M., Gao, Y., Yong, L., Huang, D., Shen, J., Liu, M., . . . Hou, X. Molecular signature and functional analysis of uterine ILCS in mouse pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2017; 123: 48-57.
- Liu, F., Wu, K., Wu, W., Chen, Y., Wu, H., Wang, H., & Zhang, W. Mir-203 contributes to pre-eclampsia via inhibition of VEGFA expression. *Mol Med Rep*. 2018; 17 (4): 5627-5634.
- Lockwood, C. J., Huang, S. J., Chen, C. P., Huang, Y., Xu, J., Faramarzi, S., . . . Schatz, F. Decidual cell regulation of natural killer cell-recruiting chemokines: Implications for the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Am J Pathol*. 2013; 183 (3): 841-856.
- Long, P. A., Abell, D. A., & Beischer, N. A. Fetal growth retardation and pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol*. 1980; 87 (1): 13-18.
- Lünemann, A., Lünemann, J. D., & Münz, C. Regulatory NK-cell functions in inflammation and autoimmunity. *Molecular medicine*. 2009; 15 (9): 352-358.
- Magri, G., Miyajima, M., Bascones, S., Mortha, A., Puga, I., Cassis, L., . . . Cerutti, A. Innate lymphoid cells integrate stromal and immunological signals to enhance antibody production by splenic marginal zone B cells. *Nat Immunol*. 2014; 15 (4): 354-364.
- Malhotra, S. S., Banerjee, P., & Gupta, S. K. Regulation of trophoblast differentiation during embryo implantation and placentation: Implications in pregnancy complications. *Journal of Reproductive Health and Medicine*. 2016; 2: S26-S36.
- Maloy, K. J., & Powrie, F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011; 474 (7351): 298-306.
- Mantovani, A., Sica, A., Sozzani, S., Allavena, P., Vecchi, A., & Locati, M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends in immunology*. 2004; 25 (12): 677-686.

- Mattar, F., & Sibai, B. M. Eclampsia. Viii. Risk factors for maternal morbidity. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 182 (2): 307-312.
- Maynard, S. E., & Karumanchi, S. A. Angiogenic factors and preeclampsia. *Semin Nephrol.* 2011; 31 (1): 33-46.
- Maynard, S. E., Min, J.-Y., Merchan, J., Lim, K.-H., Li, J., Mondal, S., . . . Stillman, I. E. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sflt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *The Journal of clinical investigation.* 2003; 111 (5): 649-658.
- Maynard, S. E., Venkatesha, S., Thadhani, R., & Karumanchi, S. A. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia. *Pediatric research.* 2005; 57 (7): 1-7.
- McDonald, C., Siatskas, C., & Bernard, C. The emergence of amnion epithelial stem cells for the treatment of multiple sclerosis. *Inflammation and Regeneration.* 2011; 31.
- Miller, D., Motomura, K., Garcia-Flores, V., Romero, R., & Gomez-Lopez, N. Innate lymphoid cells in the maternal and fetal compartments. *Frontiers in immunology.* 2018a; 9: 2396.
- Miller, D., Motomura, K., Garcia-Flores, V., Romero, R., & Gomez-Lopez, N. Innate lymphoid cells in the maternal and fetal compartments. *Frontiers in immunology.* 2018b; 9: 2396.
- Mjosberg, J., Bernink, J., Golebski, K., Karrich, J. J., Peters, C. P., Blom, B., . . . Spits, H. The transcription factor gata3 is essential for the function of human type 2 innate lymphoid cells. *Immunity.* 2012; 37 (4): 649-659.
- Mjosberg, J., & Spits, H. Human innate lymphoid cells. *The Journal of allergy and clinical immunology.* 2016; 138 (5): 1265-1276.
- Mjosberg, J. M., Trifari, S., Crellin, N. K., Peters, C. P., van Drunen, C. M., Piet, B., . . . Spits, H. Human il-25- and il-33-responsive type 2 innate lymphoid cells are defined by expression of crth2 and cd161. *Nat Immunol.* 2011; 12 (11): 1055-1062.
- Mjösberg, J., Bernink, J., Golebski, K., Karrich, J. J., Peters, C. P., Blom, B., . . . Spits, H. The transcription factor gata3 is essential for the function of human type 2 innate lymphoid cells. *Immunity.* 2012; 37 (4): 649-659.
- Moffett-King, A. Natural killer cells and pregnancy. *Nature reviews. Immunology.* 2002; 2 (9): 656-663.
- Molofsky, A. B., Nussbaum, J. C., Liang, H.-E., Van Dyken, S. J., Cheng, L. E., Mohapatra, A., . . . Locksley, R. M. Innate lymphoid type 2 cells sustain visceral adipose tissue eosinophils and alternatively activated macrophages. *Journal of Experimental Medicine.* 2013; 210 (3): 535-549.
- Montaldo, E., Vacca, P., Chiossone, L., Croxatto, D., Loiacono, F., Martini, S., . . . Mingari, M. C. Unique eomes(+) nk cell subsets are present in uterus and decidua during early pregnancy. *Frontiers in immunology.* 2015; 6: 646.
- Monteiro, C., Kasahara, T. M., Castro, J. R., Sacramento, P. M., Hygino, J., Centurião, N., . . . Bento, C. A. M. Pregnancy favors the expansion of circulating functional follicular helper t cells. *J Reprod Immunol.* 2017; 121: 1-10.
- Monticelli, L. A., Sonnenberg, G. F., Abt, M. C., Alenghat, T., Ziegler, C. G., Doering, T. A., . . . Sathaliyawala, T. Innate lymphoid cells promote lung-tissue homeostasis after infection with influenza virus. *Nature immunology.* 2011; 12 (11): 1045-1054.
- Mor, G., Cardenas, I., Abrahams, V., & Guller, S. Inflammation and pregnancy: The role of the immune system at the implantation site. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2011; 1221: 80-87.
- Mor, G., & Koga, K. Macrophages and pregnancy. *Reproductive Sciences.* 2008; 15 (5): 435-436.

- Morita, K., Tsuda, S., Kobayashi, E., Hamana, H., Tsuda, K., Shima, T., . . . Saito, S. Analysis of tcr repertoire and pd-1 expression in decidual and peripheral cd8(+) t cells reveals distinct immune mechanisms in miscarriage and preeclampsia. *Frontiers in immunology*. 2020; 11: 1082.
- Moser, G., Drewlo, S., Huppertz, B., & Armant, D. R. Trophoblast retrieval and isolation from the cervix: Origins of cervical trophoblasts and their potential value for risk assessment of ongoing pregnancies. *Human Reproduction Update*. 2018a; 24 (4): 484-496.
- Moser, G., Drewlo, S., Huppertz, B., & Armant, D. R. Trophoblast retrieval and isolation from the cervix: Origins of cervical trophoblasts and their potential value for risk assessment of ongoing pregnancies. *Hum Reprod Update*. 2018b; 24 (4): 484-496.
- Moser, G., Gauster, M., Orendi, K., Glasner, A., Theuerkauf, R., & Huppertz, B. Endoglandular trophoblast, an alternative route of trophoblast invasion? Analysis with novel confrontation co-culture models. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2010; 25 (5): 1127-1136.
- Moser, G., & Huppertz, B. Implantation and extravillous trophoblast invasion: From rare archival specimens to modern biobanking. *Placenta*. 2017; 56: 19-26.
- Moser, G., Weiss, G., Gauster, M., Sundl, M., & Huppertz, B. Evidence from the very beginning: Endoglandular trophoblasts penetrate and replace uterine glands in situ and in vitro. *Human Reproduction*. 2015; 30 (12): 2747-2757.
- Moser, G., Weiss, G., Sundl, M., Gauster, M., Siwetz, M., Lang-Olip, I., & Huppertz, B. Extravillous trophoblasts invade more than uterine arteries: Evidence for the invasion of uterine veins. *Histochem Cell Biol*. 2017; 147 (3): 353-366.
- Munoz-Suano, A., Hamilton, A. B., & Betz, A. G. Gimme shelter: The immune system during pregnancy. *Immunol Rev*. 2011; 241 (1): 20-38.
- Murray, P. J. Macrophage polarization. *Annual review of physiology*. 2017; 79: 541-566.
- Nagamatsu, T., & Schust, D. J. The immunomodulatory roles of macrophages at the maternal—fetal interface. *Reproductive Sciences*. 2010; 17 (3): 209-218.
- Navarro, F., Llano, M., Bellon, T., Colonna, M., Geraghty, D. E., & Lopez-Botet, M. The ilt2(lir1) and cd94/nkg2a nk cell receptors respectively recognize hla-g1 and hla-e molecules co-expressed on target cells. *European journal of immunology*. 1999; 29 (1): 277-283.
- Nirupama, R., Divyashree, S., Janhavi, P., Muthukumar, S. P., & Ravindra, P. V. Preeclampsia: Pathophysiology and management. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2021; 50 (2): 101975.
- O'Leary, S., Jasper, M. J., Robertson, S. A., & Armstrong, D. T. Seminal plasma regulates ovarian progesterone production, leukocyte recruitment and follicular cell responses in the pig. *Reproduction*. 2006; 132 (1): 147-158.
- Oggè, G., Romero, R., Kusanovic, J. P., Chaiworapongsa, T., Dong, Z., Mittal, P., . . . Yeo, L. Serum and plasma determination of angiogenic and anti-angiogenic factors yield different results: The need for standardization in clinical practice. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2010; 23 (8): 820-827.
- Oliphant, C. J., Hwang, Y. Y., Walker, J. A., Salimi, M., Wong, S. H., Brewer, J. M., . . . McKenzie, A. N. Mhcii-mediated dialog between group 2 innate lymphoid cells and cd4(+) t cells potentiates type 2 immunity and promotes parasitic helminth expulsion. *Immunity*. 2014; 41 (2): 283-295.
- Osokine, I., & Erlebacher, A. (2021). Immunology of the decidua. In *Reproductive immunology* (pp. 129-145): Elsevier.
- Ouyang, W., & Valdez, P. Il-22 in mucosal immunity. *Mucosal immunology*. 2008; 1 (5): 335-338.
- Özmen, A. Hiperglisemik koşullarda ve diyabetik plasentalarda mtor sinyali yolağının anjiyogenez mekanizmasına etkisi. 2015.

- Parham, P. Nk cells and trophoblasts: Partners in pregnancy. *The Journal of experimental medicine*. 2004; 200 (8): 951-955.
- Parolini, O., Alviano, F., Bagnara, G. P., Bilic, G., Bühring, H.-J., Evangelista, M., . . . Mao, N. Concise review: Isolation and characterization of cells from human term placenta: Outcome of the first international workshop on placenta derived stem cells. *Stem cells*. 2008; 26 (2): 300-311.
- Pearce, P., Brownbill, P., Janáček, J., Jirkovská, M., Kubínová, L., Chernyavsky, I. L., & Jensen, O. E. Image-based modeling of blood flow and oxygen transfer in feto-placental capillaries. *PLoS One*. 2016; 11 (10): e0165369.
- Piccinni, M. P., Robertson, S. A., & Saito, S. Editorial: Adaptive immunity in pregnancy. *Frontiers in immunology*. 2021; 12: 770242.
- Pijnenborg, R., Vercruysse, L., & Hanssens, M. The uterine spiral arteries in human pregnancy: Facts and controversies. *Placenta*. 2006; 27 (9-10): 939-958.
- Plitman Mayo, R., Charnock-Jones, D. S., Burton, G. J., & Oyen, M. L. Three-dimensional modeling of human placental terminal villi. *Placenta*. 2016; 43: 54-60.
- Plitman Mayo, R., Olsthoorn, J., Charnock-Jones, D. S., Burton, G. J., & Oyen, M. L. Computational modeling of the structure-function relationship in human placental terminal villi. *J Biomech*. 2016; 49 (16): 3780-3787.
- Porta, C., Riboldi, E., Ippolito, A., & Sica, A. (2015). *Molecular and epigenetic basis of macrophage polarized activation*. Paper presented at the Seminars in immunology.
- Possomato-Vieira, J. S., & Khalil, R. A. Mechanisms of endothelial dysfunction in hypertensive pregnancy and preeclampsia. *Adv Pharmacol*. 2016; 77: 361-431.
- Powell, N., Walker, A. W., Stolarczyk, E., Canavan, J. B., Gökmen, M. R., Marks, E., . . . Lord, G. M. The transcription factor t-bet regulates intestinal inflammation mediated by interleukin-7 receptor+ innate lymphoid cells. *Immunity*. 2012; 37 (4): 674-684.
- Qiu, J., Heller, J. J., Guo, X., Chen, Z. M., Fish, K., Fu, Y. X., & Zhou, L. The aryl hydrocarbon receptor regulates gut immunity through modulation of innate lymphoid cells. *Immunity*. 2012; 36 (1): 92-104.
- Rajagopalan, S. Hla-g-mediated nk cell senescence promotes vascular remodeling: Implications for reproduction. *Cell Mol Immunol*. 2014; 11 (5): 460-466.
- Rajagopalan, S., & Long, E. O. Kir2dl4 (cd158d): An activation receptor for hla-g. *Frontiers in immunology*. 2012; 3: 258.
- Rampersad, R., Cervar-Zivkovic, M., & Nelson, D. (2011). Development and anatomy of the human placenta. In (pp. 17-26).
- Rana, S., Burke, S. D., & Karumanchi, S. A. Imbalances in circulating angiogenic factors in the pathophysiology of preeclampsia and related disorders. *Am J Obstet Gynecol*. 2022; 226 (2s): S1019-s1034.
- Regal, J. F., Burwick, R. M., & Fleming, S. D. The complement system and preeclampsia. *Curr Hypertens Rep*. 2017; 19 (11): 87.
- Rieger, L., Honig, A., Sütterlin, M., Kapp, M., Dietl, J., Ruck, P., & Kämmerer, U. Antigen-presenting cells in human endometrium during the menstrual cycle compared to early pregnancy. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. 2004; 11 (7): 488-493.
- Robertson, S. A., Chin, P.-Y., Femia, J. G., & Brown, H. M. Embryotoxic cytokines—potential roles in embryo loss and fetal programming. *Journal of Reproductive Immunology*. 2018; 125: 80-88.
- Robson, A., Harris, L. K., Innes, B. A., Lash, G. E., Aljunaidy, M. M., Aplin, J. D., . . . Bulmer, J. N. Uterine natural killer cells initiate spiral artery remodeling in human pregnancy. *FASEB*

- journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 2012; 26 (12): 4876-4885.
- Saito, S. Th17 cells and regulatory t cells: New light on pathophysiology of preeclampsia. *Immunology and cell biology*. 2010; 88 (6): 615.
- Saito, S., Nakashima, A., Ito, M., & Shima, T. Clinical implication of recent advances in our understanding of il-17 and reproductive immunology. *Expert review of clinical immunology*. 2011; 7 (5): 649-657.
- Saito, S., Nakashima, A., Shima, T., & Ito, M. Th1/th2/th17 and regulatory t-cell paradigm in pregnancy. *American journal of reproductive immunology* (New York, N.Y. : 1989). 2010; 63 (6): 601-610.
- Saito, S., Shiozaki, A., Nakashima, A., Sakai, M., & Sasaki, Y. The role of the immune system in preeclampsia. *Mol Aspects Med*. 2007; 28 (2): 192-209.
- Salimi, M., Barlow, J. L., Saunders, S. P., Xue, L., Gutowska-Owsiak, D., Wang, X., . . . McKenzie, A. N. A role for il-25 and il-33-driven type-2 innate lymphoid cells in atopic dermatitis. *Journal of Experimental Medicine*. 2013; 210 (13): 2939-2950.
- Sargent, I. L., Borzychowski, A. M., & Redman, C. W. Immunoregulation in normal pregnancy and pre-eclampsia: An overview. *Reprod Biomed Online*. 2007; 14 Spec No 1: 111-117.
- Sato, Y., Fujiwara, H., & Konishi, I. Mechanism of maternal vascular remodeling during human pregnancy. *Reprod Med Biol*. 2012; 11 (1): 27-36.
- Schoenborn, J. R., & Wilson, C. B. Regulation of interferon- γ during innate and adaptive immune responses. *Advances in immunology*. 2007; 96: 41-101.
- Schonkeren, D., van der Hoorn, M.-L., Khedoe, P., Swings, G., van Beelen, E., Claas, F., . . . Scherjon, S. Differential distribution and phenotype of decidual macrophages in preeclamptic versus control pregnancies. *The American journal of pathology*. 2011; 178 (2): 709-717.
- Sibai, B. M. Magnesium sulfate prophylaxis in preeclampsia: Evidence from randomized trials. *Clin Obstet Gynecol*. 2005; 48 (2): 478-488.
- Siewiera, J., El Costa, H., Tabiasco, J., Berrebi, A., Cartron, G., Le Bouteiller, P., & Jabrane-Ferrat, N. Human cytomegalovirus infection elicits new decidual natural killer cell effector functions. *PLoS pathogens*. 2013; 9 (4): e1003257.
- Siewiera, J., Gouilly, J., Hocine, H. R., Cartron, G., Levy, C., Al-Daccak, R., & Jabrane-Ferrat, N. Natural cytotoxicity receptor splice variants orchestrate the distinct functions of human natural killer cell subtypes. *Nature communications*. 2015; 6: 10183.
- Simoni, Y., Fehlings, M., Kloverpris, H. N., McGovern, N., Koo, S. L., Loh, C. Y., . . . Newell, E. W. Human innate lymphoid cell subsets possess tissue-type based heterogeneity in phenotype and frequency. *Immunity*. 2017; 46 (1): 148-161.
- Sonnenberg, G. F., Monticelli, L. A., Elloso, M. M., Fouser, L. A., & Artis, D. Cd4(+) lymphoid tissue-inducer cells promote innate immunity in the gut. *Immunity*. 2011; 34 (1): 122-134.
- Southcombe, J., Tannetta, D., Redman, C., & Sargent, I. The immunomodulatory role of syncytiotrophoblast microvesicles. *PLoS One*. 2011; 6 (5): e20245.
- Spits, H., Artis, D., Colonna, M., Diefenbach, A., Di Santo, J. P., Eberl, G., . . . Mebius, R. E. Innate lymphoid cells—a proposal for uniform nomenclature. *Nature reviews immunology*. 2013; 13 (2): 145-149.
- Spits, H., Artis, D., Colonna, M., Diefenbach, A., Di Santo, J. P., Eberl, G., . . . Vivier, E. Innate lymphoid cells—a proposal for uniform nomenclature. *Nature reviews Immunology*. 2013; 13 (2): 145-149.
- Spits, H., & Cupedo, T. Innate lymphoid cells: Emerging insights in development, lineage relationships, and function. *Annual review of immunology*. 2012; 30: 647-675.

- Steinborn, A., Schmitt, E., Kisielewicz, A., Rechenberg, S., Seissler, N., Mahnke, K., . . . Sohn, C. Pregnancy-associated diseases are characterized by the composition of the systemic regulatory t cell (treg) pool with distinct subsets of tregs. *Clinical & Experimental Immunology*. 2012; 167 (1): 84-98.
- Steinborn, A., Varkonyi, T., Scharf, A., Bahlmann, F., Klee, A., & Sohn, C. Early detection of decreased soluble hla-g levels in the maternal circulation predicts the occurrence of preeclampsia and intrauterine growth retardation during further course of pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2007; 57 (4): 277-286.
- Stepan, H. Angiogenic factors and pre-eclampsia: An early marker is needed. *Clinical Science*. 2009; 116 (3): 231-232.
- Stewart, C. L., Kaspar, P., Brunet, L. J., Bhatt, H., Gadi, I., Köntgen, F., & Abbondanzo, S. J. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature*. 1992; 359 (6390): 76-79.
- Teunissen, M. B. M., Munneke, J. M., Bernink, J. H., Spuls, P. I., Res, P. C. M., Te Velde, A., . . . Mjosberg, J. Composition of innate lymphoid cell subsets in the human skin: Enrichment of ncr(+) ilc3 in lesional skin and blood of psoriasis patients. *The Journal of investigative dermatology*. 2014; 134 (9): 2351-2360.
- Thaxton, J. E., Nevers, T. A., & Sharma, S. Tlr-mediated preterm birth in response to pathogenic agents. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2010; 2010.
- Torry, D. S., Wang, H.-S., Wang, T.-H., Caudle, M. R., & Torry, R. J. Preeclampsia is associated with reduced serum levels of placenta growth factor. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1998; 179 (6): 1539-1544.
- Trabanelli, S., Gomez-Cadena, A., Salomé, B., Michaud, K., Mavilio, D., Landis, B. N., . . . Jandus, C. Human innate lymphoid cells (ilcs): Toward a uniform immune-phenotyping. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018; 94 (3): 392-399.
- Tsatsaris, V., Goffin, F., Munaut, C., Brichant, J.-F., Pignon, M.-R., Noel, A., . . . Foidart, J.-M. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: Pathophysiological consequences. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003; 88 (11): 5555-5563.
- Vacca, P., Cantoni, C., Prato, C., Fulcheri, E., Moretta, A., Moretta, L., & Mingari, M. C. Regulatory role of nkp44, nkp46, dnam-1 and nkg2d receptors in the interaction between nk cells and trophoblast cells. Evidence for divergent functional profiles of decidual versus peripheral nk cells. *International immunology*. 2008; 20 (11): 1395-1405.
- Vacca, P., Cantoni, C., Vitale, M., Prato, C., Canegallo, F., Fenoglio, D., . . . Mingari, M. C. Crosstalk between decidual nk and cd14+ myelomonocytic cells results in induction of tregs and immunosuppression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010; 107 (26): 11918-11923.
- Vacca, P., Chiossone, L., Mingari, M. C., & Moretta, L. Heterogeneity of nk cells and other innate lymphoid cells in human and murine decidua. *Frontiers in immunology*. 2019; 10: 170.
- Vacca, P., Montaldo, E., Croxatto, D., Loiacono, F., Canegallo, F., Venturini, P. L., . . . Mingari, M. C. Identification of diverse innate lymphoid cells in human decidua. *Mucosal immunology*. 2015; 8 (2): 254-264.
- Vacca, P., Moretta, L., Moretta, A., & Mingari, M. C. Origin, phenotype and function of human natural killer cells in pregnancy. *Trends in immunology*. 2011; 32 (11): 517-523.
- Vacca, P., Pietra, G., Falco, M., Romeo, E., Bottino, C., Bellora, F., . . . Mingari, M. C. Analysis of natural killer cells isolated from human decidua: Evidence that 2b4 (cd244) functions as an inhibitory receptor and blocks nk-cell function. *Blood*. 2006; 108 (13): 4078-4085.

- Vacca, P., Vitale, C., Munari, E., Cassatella, M. A., Mingari, M. C., & Moretta, L. Human innate lymphoid cells: Their functional and cellular interactions in decidua. *Frontiers in immunology*. 2018; 9: 1897.
- van der Molen, R. G., Schutten, J. H. F., van Cranenbroek, B., ter Meer, M., Donckers, J., Scholten, R. R., . . . Joosten, I. Menstrual blood closely resembles the uterine immune micro-environment and is clearly distinct from peripheral blood. *Human Reproduction*. 2013; 29 (2): 303-314.
- Venkatesha, S., Toporsian, M., Lam, C., Hanai, J., Mammoto, T., Kim, Y. M., . . . Karumanchi, S. A. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nature medicine*. 2006; 12 (6): 642-649.
- Vento-Tormo, R., Efremova, M., Botting, R. A., Turco, M. Y., Vento-Tormo, M., Meyer, K. B., . . . Teichmann, S. A. Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans. *Nature*. 2018; 563 (7731): 347-353.
- Vento-Tormo, R., Efremova, M., Botting, R. A., Turco, M. Y., Vento-Tormo, M., Meyer, K. B., . . . Teichmann, S. A. Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans. *Nature*. 2018; 563 (7731): 347-353.
- Vianna, P., Mondadori, A. G., Bauer, M. E., Dornfeld, D., & Chies, J. Hla-g and cd8+ regulatory t cells in the inflammatory environment of pre-eclampsia. *Reproduction*. 2016; 152 (6): 741-751.
- Viola, A., & Bronte, V. Metabolic mechanisms of cancer-induced inhibition of immune responses. *Seminars in cancer biology*. 2007; 17 (4): 309-316.
- Vivier, E., Artis, D., Colonna, M., Diefenbach, A., Di Santo, J. P., Eberl, G., . . . Mebius, R. E. Innate lymphoid cells: 10 years on. *Cell*. 2018; 174 (5): 1054-1066.
- Vivier, E., Artis, D., Colonna, M., Diefenbach, A., Di Santo, J. P., Eberl, G., . . . Spits, H. Innate lymphoid cells: 10 years on. *Cell*. 2018; 174 (5): 1054-1066.
- Wallace, K., Novotny, S., Heath, J., Moseley, J., Martin Jr, J. N., Owens, M. Y., & LaMarca, B. Hypertension in response to cd4+ t cells from reduced uterine perfusion pregnant rats is associated with activation of the endothelin-1 system. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2012; 303 (2): R144-R149.
- Wallukat, G., Homuth, V., Fischer, T., Lindschau, C., Horstkamp, B., Jüpner, A., . . . Neichel, D. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin at 1 receptor. *The Journal of clinical investigation*. 1999; 103 (7): 945-952.
- Wang, S. Presence of innate lymphoid cells in the ischemic stroke brain. Aix-Marseille, 2021,
- Wang, W., Sung, N., Gilman-Sachs, A., & Kwak-Kim, J. T helper (th) cell profiles in pregnancy and recurrent pregnancy losses: Th1/th2/th9/th17/th22/tfh cells. *Frontiers in immunology*. 2020; 11.
- Wang, X., Peng, H., & Tian, Z. Innate lymphoid cell memory. *Cellular & Molecular Immunology*. 2019; 16 (5): 423-429.
- Wang, Y., Xu, B., Li, M. Q., Li, D. J., & Jin, L. P. Il-22 secreted by decidual stromal cells and nk cells promotes the survival of human trophoblasts. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013; 6 (9): 1781-1790.
- Wedenoja, S., Yoshihara, M., Teder, H., Sariola, H., Gissler, M., Katayama, S., . . . Linder, N. Fetal hla-g mediated immune tolerance and interferon response in preeclampsia. *EBioMedicine*. 2020; 59: 102872.
- Weisser, S. B., McLarren, K. W., Kuroda, E., & Sly, L. M. (2013). Generation and characterization of murine alternatively activated macrophages. In *Basic cell culture protocols* (pp. 225-239): Springer.

- Wildman, D. E., Chen, C., Erez, O., Grossman, L. I., Goodman, M., & Romero, R. Evolution of the mammalian placenta revealed by phylogenetic analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103 (9): 3203-3208.
- Windsperger, K., Dekan, S., Pils, S., Golletz, C., Kunihs, V., Fiala, C., . . . Pollheimer, J. Extravillous trophoblast invasion of venous as well as lymphatic vessels is altered in idiopathic, recurrent, spontaneous abortions. *Human Reproduction*. 2017; 32 (6): 1208-1217.
- Wolk, K., Witte, E., Witte, K., Warszawska, K., & Sabat, R. (2010). *Biology of interleukin-22*. Paper presented at the Seminars in immunopathology.
- Wong, S. H., Walker, J. A., Jolin, H. E., Drynan, L. F., Hams, E., Camelo, A., . . . McKenzie, A. N. Transcription factor *rora* is critical for nuocyte development. *Nat Immunol*. 2012; 13 (3): 229-236.
- Xie, M., Li, Y., Meng, Y. Z., Xu, P., Yang, Y. G., Dong, S., . . . Hu, Z. Uterine natural killer cells: A rising star in human pregnancy regulation. *Frontiers in immunology*. 2022; 13: 918550.
- Xu, Y., Romero, R., Miller, D., Silva, P., Panaitescu, B., Theis, K. R., . . . Gomez-Lopez, N. Innate lymphoid cells at the human maternal-fetal interface in spontaneous preterm labor. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*. 2018; 79 (6): e12820.
- Xue, L., Salimi, M., Panse, I., Mjösberg, J. M., McKenzie, A. N., Spits, H., . . . Ogg, G. Prostaglandin d2 activates group 2 innate lymphoid cells through chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on th2 cells. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014; 133 (4): 1184-1194.
- Yang, W., Lin, J., Zhou, J., Zheng, Y., Jiang, S., He, S., & Li, D. Innate lymphoid cells and myocardial infarction. *Frontiers in immunology*. 2021; 12: 758272.
- Yao, Z., Painter, S. L., Fanslow, W. C., Ulrich, D., Macduff, B. M., Spriggs, M. K., & Armitage, R. J. Human il-17: A novel cytokine derived from t cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. 1995; 155 (12): 5483-5486.
- Yie, S.-m., Li, L.-h., Li, Y.-m., & Librach, C. Hla-g protein concentrations in maternal serum and placental tissue are decreased in preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2004; 191 (2): 525-529.
- Yoshinaga, K. Review of factors essential for blastocyst implantation for their modulating effects on the maternal immune system. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2008; 19 (2): 161-169.
- Zhang, X., & Muglia, L. J. Baby's best foe-riend: Endogenous retroviruses and the evolution of eutherian reproduction. *Placenta*. 2021; 113: 1-7.
- Zhou, Y., McMaster, M., Woo, K., Janatpour, M., Perry, J., Karpanen, T., . . . Fisher, S. J. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *The American journal of pathology*. 2002; 160 (4): 1405-1423.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ertan	Uyruğu	T.C.
Soyadı	Katırcı		

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Safranbolu Anadolu Lisesi	2005
Lisans	Ankara Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	2012
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi / Histoloji ve Embriyoloji ABD	2016
Doktora	Akdeniz Üniversitesi / Histoloji ve Embriyoloji ABD	2023

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	YDS	67,5

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Steviosidenin Diyabetik Sıçan Plasentasında Glukoz Taşınımında Rol Alan GLUT1 GLUT3 ve GLUT 4 Ekspresyonları Üzerine Etkisi	BAP	24 ay
3G Cep Telefonlarından Yayılan Elektromanyetik Radyasyona Maruz Bırakılan Wistar Sıçanların Testis Dokusunda bulunan TAM Reseptörlerinin ve Ligandlarının Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi	BAP	6 ay
Preeklampitik Plasentalarda TYRO3 reseptör tirozin kinazın ve ligandı olan PROS1'nin ekspresyonlarının değerlendirilmesi	BAP	36 ay
Gebeliğin Başlangıcı Ve Devamında Tam Reseptörleri Ve Ligandlarının Uterinal Immün	TÜBİTAK	24 ay

Toleransın Gelişimindeki Rolünün Araştırılması		
--	--	--

Burslar-Ödüller:

116S459 NO'LU TÜBİTAK 1001 PROJESİ-BURSIYER

Yayınlar ve Bildiriler:

1. Is the effect of melatonin on vascular endothelial growth factor receptor-2 associated with angiogenesis in the rat ovary? Kandemir Y.B., Konuk E., **KATIRCI E.**, Xxx F., BehramM. CLINICS, cilt.74,2019 (SCI-Expanded).
2. Effects of Stevioside on the Expressions of GLUT 1, GLUT 3, and GLUT 4 Proteins in Diabetic Rat Placenta. **Katirci E.**, Kendirci-Katirci R., Korgun E.T. Planta Medica, 2022 (SCI-Expanded).
3. AxlRTK has a role in Maintaining Uterinal Inflammation Balance in Pregnancy. KIRIMLIOĞLU E., OKAN OFLAMAZ A., Qulieva XXX; **KATIRCI E.**, DEMİR N. 4th East Mediterranean Congress of Laboratory Animal Science, Türkiye, 9-11 Aralık 2021.
4. Gebelik Sürecinde Diyabetik Sıçan Plasentalarında mTOR Sinyal Yolağının Anjiyogenez Mekanizmasına Etkisi. ÖZMEN A., ÇETİNKAYA B., **KATIRCI E.**, ÜNEK G., Molbay M., KİPMEN KORGUN D., KORGUN E.T. XI I. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, İzmir, Türkiye, 30Nisan-03Mayıs 2016, ss.142.