

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

**PREEKLAMPTİK PLASENTALARDA T YARDIMCI-22
(TH22) VE T YARDIMCI-17 (TH17) HÜCRELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Rıza Can ÇAKMAKCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2023-ANTALYA

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

**PREEKLAMPTİK PLASENTALARDA T YARDIMCI-22
(TH22) VE T YARDIMCI-17 (TH17) HÜCRELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

RIZA CAN ÇAKMAKCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. EMİN TÜRKAY KORGUN

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
TYL-2022-5863 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2023-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼ne;

Bu alışma j¼rimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı K¼k H¼cre Programında Y¼ksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir./..../....

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Emin T¼rkay KORGUN
Akdeniz niversitesi

.....

ye : Doç. Dr. Nuray ACAR AYDEMİR
Akdeniz niversitesi

.....

ye : Dr. Öğr. Üyesi Sema AVCI
Alaaddin Keykubat Üniversitesi

.....

Bu tez, Enstit¼ Y¼netim Kurulunca belirlenen yukarıdaki j¼ri yeleri tarafından uygun g¼r¼lm¼ř ve Enstit¼ Y¼netim Kurulu'nun/..../.... tarih ve/.... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstit¼ M¼d¼r¼

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.

Rıza Can Çakmakcı

İmza

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Emin Türkay Korgun

İmza

TEŐEKKÖR

Yüksek lisans eğitimin süresince bilgi birikimi ve desteklerini esirgemeyen, tezimin gerçekleşmesinde çok büyük emeği olan danışmanım Prof. Dr. Emin Türkay KORGUN'a,

Değerli katkılarından dolayı Dr. Hasan Berkan SAYAL, Dr. Cem SANHAL, Dr. Öğr. Üyesi Sema AVCI, Doç Dr. Nuray ACAR AYDEMİR ve Doç. Dr. Havva Serap TORU'ya,

Tüm bu süreçte deneyimleriyle bana birçok şey katan Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan tüm değerli hocalarıma, çalışma arkadaşlarıma ve diğer çalışanlarına,

Bana yardıma ihtiyacım olan her anımda yardım eden ve eğitimimde çok büyük katkıları olan; Ertan KATIRCI, Gizem KORKMAZ, Emre ÇETİNDAG, Türkan YANIK, Erhan CEBECİ, Kerem YANAR, Aylin CERNOMORCENCO, Simla Su AKKAN, Elif YAVAŞ, Mehmet DOĞAN, Cemre BALCI ve Histoloji ve Embriyoloji bölümündeki bütün arkadaşlarıma,

Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün tüm kıymetli çalışanlarına,

Ve eğitim hayatım boyunca benden maddi-manevi desteklerini esirgemeyen, hep inanan ve daima arkamda olan sevgili annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Preeklampsi, gebelik esnasında en sık rastlanan gebelik komplikasyonlarından biridir. Ekstravillöz Trofoblast (EVT) hücrelerinin maternal spiral arterlere invaze olması ve damarları yeniden şekillendirmesiyle birlikte embriyo gelişimi için gerekli tüm metabolitleri anneden sağlamaya devam eder. İmplantasyon esnasında ve sonrasında materno-fetal immün sistemin dengede olması EVT invazyonunun kontrol edilebilmesi için önemlidir. Yardımcı T hücreleri (Th) salgıladıkları sitokinlerle desidual mikroçevrenin proinflamatuvar olmasına neden olabilirler. Bu çalışmada immün sistemde proinflamatuvar yanıtta rol alan Th17 ve Th22 hücrelerine, özgün ROR γ (RAR-ilişkili Orphan Reseptör Gamma) ve AHR (Aryl hidrokarbon reseptör) proteinlerinin ve yardımcı T hücrelerine özgün CD4 (Cluster of Differentiation 4) proteininin preeklampitik ve normal plasenta dokularındaki görevleri ve lokalizasyonları araştırılmıştır.

Yöntem: Preeklampitik plasentaların morfolojik analizi için Hematoksilen-Eosin boyamaları yapılmıştır. Western Blot (WB) yöntemi ile ROR γ ve AHR proteinlerinin preeklampitik ve kontrol plasentalardaki protein miktarları kantitatif olarak belirlenmiştir. İmmünfloresan (IF) yöntemi yapılarak, ROR γ , AHR ve CD4 boyamalarıyla Th17 ve Th22 hücrelerinin preeklampitik ve kontrol plasentadaki ekspresyon şiddetleri ve lokalizasyonları tespit edilmiştir.

Bulgular: WB deneyleri sonucunda preeklampsi grubunun kontrol grubuna göre AHR protein miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). ROR γ protein miktarında ise gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir ($p \geq 0.05$). Term plasentasında CD4 ve AHR immünfloresan boyanma gösteren hücrelerin preeklampsi grubunda kontrol grubuna göre daha çok sayıda lokalize oldukları tespit edilmiştir. ROR γ boyanma gösteren hücrelerin ekspresyonlarında bir fark tespit edilmemiştir.

Sonuç: Preeklampside oluşan immün denge bozukluğunda ekspresyonlarında istatistiksel olarak bir artış tespit edilen Th22 hücreleri rol oynayabilir.

Anahtar Kelimeler: Preeklampsi, Ekstravillöz Trofoblast Hücreleri, İmmün Hücreler, Th22, Th17

ABSTRACT

Objective: Preeclampsia is one of the most common pregnancy complications during pregnancy. As the Extravillous Trophoblast (EVT) cells invade the maternal spiral arteries and remodel the vessels, it continues to provide all the metabolites necessary for embryo development from the mother. The balance of the maternal-fetal immune system during and after implantation is important for controlling EVT invasion. Helper T cells (Th) can cause the decidual microenvironment to become proinflammatory with the cytokines they secrete. In this study, the role and localization of Th17 and Th22 cells, which are involved in the proinflammatory response in the immune system, ROR γ (RAR-related Orphan Receptor Gamma) and AHR (Aryl hydrocarbon receptor) proteins, and CD4 (Cluster of Differentiation 4) protein specific to helper T cells in preeclamptic and normal placental tissues was investigated.

Method: Hematoxylin-Eosin staining was performed for the morphological analysis of preeclamptic placentas. The protein amounts of ROR γ and AHR proteins in preeclamptic and control placentas were quantitatively determined by Western Blot (WB) method. By using immunofluorescence (IF) method, expression intensities and localization of Th17 and Th22 cells in preeclamptic and control placenta were determined by ROR γ , AHR and CD4 staining.

Results: As a result of WB experiments, a statistically significant increase was found in the amount of AHR protein in the preeclampsia group compared to the control group ($p \leq 0.05$). There was no statistical difference between the groups in the amount of ROR γ protein ($p \geq 0.05$). Cells with CD4 and AHR immunofluorescence staining in the term placenta were found to be more numerous in the decidua when compared to the control group in the preeclampsia group. No difference was detected in the expression of cells showing ROR γ staining.

Conclusion: Th22 cells with a statistically increased expression may play a role in the immune balance disorder in preeclampsia.

Key words: Preeclampsia, Extravillous Trophoblast Cells, Immune Cells, Th22, Th17

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Hipotezin Temeli ve Amacı	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Spermiyogenez ve Oogenez	3
2.2. Fertilizasyon	3
2.3. İmplantasyon	4
2.3.1. Apozisyon	5
2.3.2. Adhezyon	6
2.2.3. İnvazyon	7
2.2.4. Desidualizasyon	8
2.3. Plasenta	10
2.3.1. Plasental Villüs Tipleri	11
2.4. Trofoblast Hücreleri	13
2.4.1. Ekstravillöz Trofoblast Hücreleri	14
2.5. Preeklampsi	16
2.5.1. Preeklampsi Patofizyolojisi	17
2.5.2. Preeklampsi Risk Faktörleri	18
	iii

2.5.3. Preeklampsi Tanısı	18
2.5.4. Preeklampside Plasenta Morfolojisi	20
2.6. Gebelikte İmmün Denge	22
2.6.1. Preeklampside İmmün Denge	26
2.7. Yardımcı T hücreleri	27
2.7.1. Th17 Hücreleri	30
2.7.2. Preeklampside Th17 Hücreleri	31
2.7.3. Th22 Hücreleri	32
2.7.4. Preeklampside Th22 Hücreleri	33
3. GEREÇ ve YÖNTEM	34
3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması	34
3.2. Dokuların Toplanması, Takibi ve Saklanması	35
3.3. Hematoksilen-Eosin Boyama ve Analiz	35
3.3.1 Hematoksilen-Eosin Boyama Protokolü	35
3.4. İmmünfloresan Boyama	36
3.4.1. İmmünfloresan Boyama Protokolü	37
3.5. İmmünohistokimya Boyama Protokolü	38
3.6. Western Blot Analizi	39
3.6.1. Dokuların Lizat Haline Getirilmesi	40
3.6.2. Protein Miktarlarının Tayini	41
3.6.3. Western Blot Deneyinde Kullanılan Solüsyonlar	42
3.6.4. Western Blot Protokolü	45

3.7. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	47
4.1. Hematoksilen-Eosin Boyanması ve Morfolojik Analiz	47
4.2. İmmünohistokimya Boyama Bulguları	49
4.3. İmmünfloresan Boyama Bulguları	53
4.3.1. Sağlıklı ve Preeklampitik Plasentalarda AHR+ İmmünfloresan Boyanmaları	53
4.3.2. Sağlıklı ve Preeklampitik Plasentalarda CD4+ İmmünfloresan Boyanmaları	54
4.2.3. Sağlıklı ve Preeklampitik Plasentalarda ROR γ Proteinlerinin İmmünfloresan Boyanmaları	55
4.4. Deney Gruplarında AHR ve ROR γ Proteinlerinin Western Blot analizi	58
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	79

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Preeklampitik gebeliklerde risk faktörleri

Tablo 2.2. Preeklampsia tanısında kullanılan parametreler

Tablo 2.3. Gebelikte immün dengede rol alan başlıca sitokinler

Tablo 2.4. Yardımcı T hücre tipleri ve salgıladıkları sitokinler

Tablo 3.1. Çalışma grupları ve parametreler

Tablo 3.2. Hasta Bilgileri

Tablo 3.3. İmmüno Floresan boyamalarda kullanılan rabbit anti-human Cluster of differentiation 4 (CD4), Aryl hidrokarbon reseptörü (AHR) ve RAR-ilişkili orphan reseptör gamma (ROR γ) antikorlarının dilüsyon oranları

Tablo 3.4. İmmüno Floresan boyamalarda kullanılan anti-rabbit sekonder antikorlarının dilüsyon oranları

Tablo 4.1. İmmünohistokimyasal boyanma sonucunda gözlenen hücre boyanma yoğunlukları

ŞEKİLLER DİZİNİ

- **Şekil 2.1.** Gebeliğin gerçekleşmesini sağlayan fertilizasyonda aşılın basamaklar ve implantasyon
- **Şekil 2.2.** İmplantasyonda apozisyon ve adhesyon aşamaları
- **Şekil 2.3.** Plasental gelişimin erken evreleri
- **Şekil 2.4.** İmplantasyon sonrası oluşan desidua bölgeleri
- **Şekil 2.5.** Term plasentada gözlenen plasenta tipleri
- **Şekil 2.6.** İnsan ve fare blastosist implantasyonundaki farklar
- **Şekil 2.7.** Sağlıklı gebeliklerde besinlerin maternal kandan plasentaya aktarılması
- **Şekil 2.8.** EVT'lerin maternal spiral arterlere invazyonu ve remodellemesi
- **Şekil 2.9.** Preeklampitik gebelikten alınan plasenta örneğinde gözlenen kalsifikasyon
- **Şekil 2.10.** Preeklampitik gebeliklerden alınan plasenta örneklerinde gözlenen sinsisyal nodlar
- **Şekil 2.11.** Preeklampitik gebelikten alınan plasenta örneğinde gözlenen fibrin birikimi
- **Şekil 2.12.** Gebelikte immün hücre dengesi
- **Şekil 2.13.** Gebelikte immün ortamın değişimi
- **Şekil 2.14.** Gebelikte sitokin dengesi.
- **Şekil 2.15.** İmmün sistemde rol oynayan T yardımcı hücreleri implantasyon sürecinde salgıladıkları sitokinler

- **Şekil 2.16.** Th17 ve Th22 hücrelerinin gebelik immünolojisinde ve trofoblastlar üzerinde rolü
- **Şekil 4.1.** Hematoksilen-eosin boyama ile preeklampsi morfolojisi
- **Şekil 4.2.** Sağlıklı ve Preeklamptik Plasentalarda AHR İmmünohistokimya Boyanmaları
- **Şekil 4.3.** Sağlıklı ve Preeklamptik Plasentalarda ROR γ İmmünohistokimya Boyanmaları
- **Şekil 4.4.** Sağlıklı ve Preeklamptik Plasentalarda CD4 İmmünohistokimya Boyanmaları
- **Şekil 4.5.** Placenta üzerinde immünohistokimya boyanma yoğunluğunun kantitatif analizi
- **Şekil 4.6.** Sağlıklı ve Preeklamptik Plasentalarda AHR+ İmmünfloresan Boyanmaları (40X)
- **Şekil 4.7.** Sağlıklı ve Preeklamptik Plasentalarda CD4+ İmmünfloresan Boyanmaları (40X)
- **Şekil 4.8.** Sağlıklı ve Preeklamptik Plasentalarda ROR γ + İmmünfloresan Boyanmaları (40X)
- **Şekil 4.9.** Placenta dokusunda gözlenen immünfloresan boyanmaların kantitatif analizi
- **Şekil 4.10.** Kontrol ve preeklampsi gruplarında AHR proteini ile yapılan Western Blot deneyi sonuçları
- **Şekil 4.11.** Kontrol ve preeklampsi gruplarında ROR γ proteini ile yapılan Western Blot deneyi sonuçları
- **Şekil 4.12.** Preeklamptik placenta örneklerinde gözlenen ROR γ ve AHR proteinlerinin western blot analizi

SİMGELER ve KISALTMALAR

AHR	: Aryl hidrokarbon reseptör
APS	: Amonyum persulfat
BSA	: Bovin serum albumin
C₆H₈O₇.H₂O	: Sitrik asit monohidrat
CD4	: Cluster of Differentiation 4
Cdx-2	: Kaudal Tıp Homeobox Protein 2
DAPI	: 4 6, 6-diamidino-2-fenilindol
DKB	: Diastolik kan basıncı
ECL	: Geliştirilmiş kemilumisens
eEVT	: Endovasküler ekstravillöz trofoblast
Eomes	: Eomesodermin
EVT	: Ekstravillöz trofoblast
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
Gr	: Gram
HCl	: Hidroklorik asit
HLA	: İnsan lökosit antijeni
iEVT	: İnterstisyel ekstravillöz trofoblast
IFN-γ	: İnterferon gamma
IgG	: İmmünglobulin G
IL-17	: İnterlökin 17
IL-22	: İnterlökin 22
LIF	: Lösemi inhibitor faktörü
Mg/L	: Miligram/Litre
mM	: Milimolar

Mm Hg	: Milimetre civa
MUC-1	: Müsin 1
NaOH	: Sodyum hidroksit
Nm	: Nanometre
OCT 4	: Oktamer-bağlayıcı transkripsiyon faktörü 4
PBS	: Fosfat tamponlu saline
PE	: Preeklampsi
PIGF	: Plasental büyüme faktörü
PIK	: Protein inhibitor kinaz
RORγ	: RAR-related Orphan Receptor Gamma
SDS-PAGE	: Sodyum dodecyl sülfat poliakrilamid jel elektroforezi
sFLT-1	: Çözünebilir fms-benzeri tirozin kinaz 1
SKB	: Sistolik kan basıncı
TBS-T	: Polisorbat 20 eklenmiş Tris tamponlu Saline
TE	: Trofektoderm
Tead-4	: TEA Domain Transkripsiyon Faktörü 4
Tfh	: Foliküler T yardımcı hücreleri
Th17	: Yardımcı T 17 hücresi
Th22	: Yardımcı T 22 hücresi
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü
Treg	: Regülatör T hücreleri
uNK	: Uterus Doğal Öldürücü hücresi
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
αvβ3	: Alfa 5 Beta 3

1. GİRİŞ

1.1.Hipotezin Temeli ve Amacı

Preeklampsi (PE), günümüzde insidansı tüm gebeliklerde %3-%5 olan gebelik hastalıklarından biridir. Preeklampsi, sistolik kan basıncının (SKB) 140 mm Hg veya diyastolik kan basıncının (DKB) 90 mm Hg üzeri olması ve 24 saatlik idrar örneğinde 300 mg üzeri proteinüri analizi olarak karakterizedir. Preeklampsinin ortaya çıkma sebebi tam olarak anlaşılamamakla beraber sistemik inflamasyon ve oksidatif stres bu hastalığı tetikleyen faktörler olarak görülmektedir (Rana ve ark., 2019). Buna ek olarak, preeklampsinin ortaya çıkmasında trofoblast invazyonunun spiral arterlerde yeterli olmamasının neden olduğu düşünülmektedir (Lam ve ark., 2005; Dokras ve ark., 2006; Chaiworapongsa ve ark., 2014). Sağlıklı gebeliklerde gerçekleşen immünolojik mekanizmaların PE gebeliklerde normal gerçekleşmediği ve bunun sonucunda da PE patolojisine yol açtığı varsayılmaktadır. PE patolojisinin gelişmesinin nedenlerinden biri olarak plasental mikro çevrede oluşan immünolojik değişiklikler düşünülmektedir (Saito ve ark., 1999). Gebeliğin başlangıcından itibaren gebelikte rol alan maternal ve fetal hücrelerde immünolojik süreç gerçekleşir. Embriyonun implantasyon süreci proinflamatuvar bir ortamda gerçekleşir. Gebeliğin ilerlemesiyle birlikte ikinci trimesterde antiinflamatuvar ortam gelişir ve üçüncü trimesterde tekrar proinflamatuvar ortam oluşmaktadır (Mor ve ark., 2011). Sağlıklı bir gebelik için bu koşulların sağlanması hayati önem taşır. Bu koşulların sağlanmasından T yardımcı (Th) hücreleri sorumludur. Th hücrelerinin değişik alt tipleri olup bunlardan Th1 proinflamatuvar, Th2 antiinflamatuvar sitokinler salgılayarak gebeliğin sağlıklı ilerlemesini sağlar. Preeklampside gerçekleşen inflamasyonun sürecinin devam etmesi Th1 ve Th2 hücrelerinden salgılanan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin dengede olmamasından kaynaklanmaktadır (Chaiworapongsa ve ark., 2014).

Th hücrelerinin alt gruplarından biri olan T yardımcı-22 (Th22) hücresi immün regülasyonda rol alan bir hücre tipidir (Plank ve ark., 2017). Trofoblast hücrelerinin proliferasyonu ve hayatta kalmaları embriyonun sağlıklı gelişimi için önemlidir. Th22 hücrelerinin salgısı olan IL-22, trofoblast hücrelerinin proliferasyonunda ve apoptoza uğramalarını engellemede önemli bir role sahiptir (Wang Y. ve ark., 2013).

Preeklampitik gebeliklerde periferel kan ile yapılan çalışmalarda IL-22 seviyesinin kontrollere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Zhang Z. ve ark., 2017). Western blot ve immünohistokimyasal incelemelerde IL-22R'nin, sağlıklı gebeliklere kıyasla tekrarlayan düşüklerde plasental villüslerde daha düşük ekspresyona sahip olduğu tespit edilmiştir. IL-22'nin, reseptörünün yokluğunda, trofoblast proliferasyonunu destekleyemediği için tekrarlayan düşüklere sebep olabileceği düşünülmektedir (Wang Y. ve ark., 2013). Th17 hücreleri, enflamatuvar yanıtların indüklenmesinde anahtar efektör T hücreleri olarak kabul edilir. IL-17 ve IL-22 gibi proinflamatuvar sitokin üretiminin artmasıyla birlikte Th17 hücreleri, immün efektör hücreleri toplayabilir. İmmün efektör hücrelerin toplanmasıyla, immünolojik rejeksiyon, inflamatuvar/otoimmün hastalıklar ve alerjenik bozukluklar gibi kronik inflamatuvar durumlarda diğer inflamatuvar sitokinleri (rn. IL-1, IL-6, IL-8, IFN-γ ve TNF-α) retilabilir (Darmochwal-Kolarz ve ark., 2012; Cao ve ark., 2015; Wang H. ve ark., 2015). IL-22, Th22 hücrelerinden farklı olarak Th17 hücrelerinden de salgılanmaktadır. İlk trimesterde desidual stromal hücreleri, kemokin C-C motif ligand 2 (CCL2) salgıları aracılığıyla Th17 hücrelerinin periferel dolaşımdan maternal fetal arayüze gn sağlamaktadır. Desiduaya göç eden Th17 hücrelerinden salgılanan IL-17 sitokini, trofoblastlarda bulunan IL-17 reseptörüne bağlanarak proliferasyon ve invazyonda rol alır (Wu ve ark., 2014). Preeklampsinin patogenezinde proinflamatuvar ortamın rol oynadığı düşünülmektedir (Venkatesha ve ark., 2006). Th1, Th17, Th22 gibi hücreler proinflamatuvar sitokinler salgılayarak preeklampside gözlenen proinflamatuvar ortamdan sorumlu olabilir (Bates ve ark., 2002; Chaouat ve ark., 2003; Saito ve ark., 2003; Schmitt ve ark., 2015; Khalid ve ark., 2017). Bu çalışmanın amacı preeklampitik gebeliklerde immün sistemdeki Th22 ve Th17 hücrelerinin rollerinin incelenmesidir.

Sağlıklı ve preeklampitik gebeliklerde Th17 ve Th22 hücrelerinin plasentadaki protein miktarlarını kantitatif olarak belirlemek için western blot metodu kullanılmıştır. Farklılaşmamış T hücre grubu olan naif T yardımcı hücreleri, RAR-ilişkili orphan reseptörü gamma (RORγ) transkripsiyon faktörü varlığında Th17 hücrelerine farklılaşmaktadır (Gong ve ark., 2021). RORγ antikoru bu çalışmada Th17 hücrelerini belirlemek için kullanılmıştır. Naif T yardımcı hücreleri AHR transkripsiyon faktörü varlığında Th22 hücrelerine farklılaşmaktadır (Gong ve ark., 2021). AHR antikoru Th22 hücre popülasyonunu belirlemek için kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

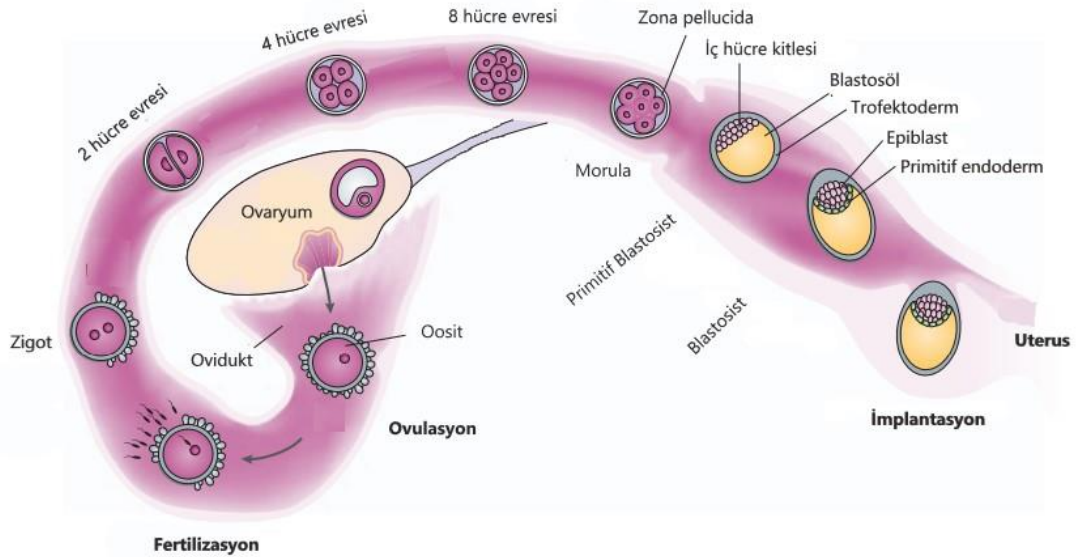
2.1 Spermiyogenez ve Oogenez

Oogenez süreci ile ovaryumlarda oositler üretilmektedir. Üretilen oositler uterin tüplere ulaşır ve fimbriyalar aracılığıyla fertilizasyonun gerçekleştiği ampulla içine alınır. Spermatogenez ile seminifer tübüllerde sperm üretilmektedir. Cinsel ilişki sonrasında ejakulasyon ile spermler uterusu gelmektedir. Spermin kapasitasyon işlemini geçirerek fertilizasyona uygun hale gelmesi gerekmektedir. Kapasitasyon, sperm uterustan uterin tüplere geçerken gerçekleşmektedir. Kapasitasyonun tamamlanması ile akrozom reaksiyonu gerçekleşir. Akrozom reaksiyonu spermin oositin etrafındaki korona radiata ve zona pellucidanın delinmesi için gereklidir. Fertilizasyon sperm oosit ile temas ettiğinde başlamaktadır.

2.2. Fertilizasyon

Sperm ile temas eden oosit 2. mayoz bölünmesini tamamlar. Spermlerin baş kısmındaki çekirdeğin hemen üstünde akrozom yer alır. Spermin akrozomun da bulunan akrozin enzimi oositi saran zona pellusidayı parçalar. Bu parçalanma spermin oosite girmesini sağlar. Spermin oosite girişiyle sperm kuyruk kısmını kaybeder. Fertilizasyonda rol alan sperm ve oosit kaynaklı iki gametten gelen haploid nükleuslar birleşerek diploid olan zigotun oluşmasını sağlar (Oliver ve ark., 2022). Zigotun oluşumu 24 saatte gerçekleşir. Bu süre sonunda zigot içinde hızlı bir şekilde hücre bölünmeleri mitoz olarak gerçekleşmektedir. Bu bölünmeler ile 2-hücre, 4-hücre, 8-hücre ve morula evreleri oluşmaktadır. Morula, döllenmeden yaklaşık dört gün sonra oluşur ve 16 ila 32 hücreli bir kütle olarak gözükmektedir. Morula evresine kadar gerçekleşen hücre çoğalma evreleri fallop tüpünde gerçekleşir ve uterusu doğru ilerler (Şekil 2.1). Morulada bulunan hücreler embriyonik kök hücrelerden oluşan iç hücre kitlesini ve sonrasında embriyoyu meydana getirmektedir (Hassani ve ark., 2019). Morula evresinden sonra blastosist yapısı gelişir. Blastosist üç yapıdan oluşur: iç hücre kitlesi, blastosist boşluğu ve trofektoderm. Morula evresinden blastosiste geçişte iç hücre kitlesinde ve trofektodermde bulunan hücrelerin ayrımı için bir seçim olur. Farelerde yapılan çalışmalar ile iç hücre kitlesindeki hücrelerin Oct 4, FGF, Nanog transkripsiyon faktörlerini eksprese ettikleri görülmüştür. Cdx-2, Eomes ve Tead 4 transkripsiyon faktörlerinin ise trofektoderm hücrelerinde eksprese edildiği

saptanmıştır (Khan ve ark., 2022). İç hücre kitlesi blastosistin bir kutbunu kaplamaktadır. İç hücre kitlesini içeriden kaplayan kısım blastosist boşluğu adını almaktadır. Blastosistin dış çeperini kaplayan trofoblast hücreleri iki kısım olarak incelenir. İç hücre kitlesini çevreleyen trofoblast hücreleri polar trofektodermi oluşturur. Blastosist boşluğunun çevresindeki trofoblast hücreleri mural trofektoderm olarak adlandırılır. İç hücre kitlesi hipoblast ve epiblast hücrelerinden oluşmaktadır. Hipoblast yolk kesesine dönüşür. Epiblast hücreleri üç germ tabakasını; endoderm, mezoderm ve ektoderme kaynak oluşturur. Ektoderm epidermisi, tırnakları, saç, periferik sinir sistemini, beyni ve omuriliği oluşturmaktadır. Mezoderm kas, kemik, bağ dokusu, notokord, böbrek, gonadlar ve dolaşım sistemini oluşturmaktadır. Endoderm, sindirim sistemi, mide, kolon, karaciğer, mesane ve pankreasın epitel astarını oluşturmaktadır (Oliver ve ark., 2022).



Şekil 2.1. Gebeliğin gerçekleşmesini sağlayan fertilizasyonda aşılacak basamaklar ve blastosistin uterusun endometriyumuna implantasyonu (Wang H. ve ark., 2006).

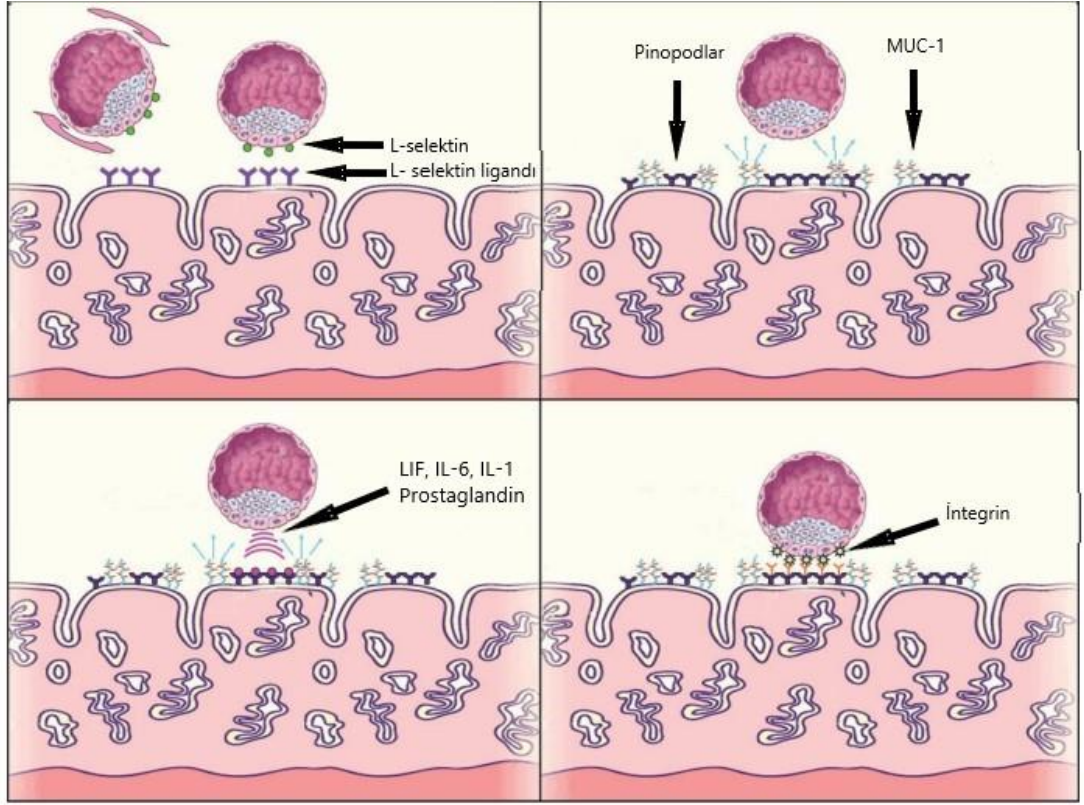
2.4. İmplantasyon

Gebeliğin gerçekleşmesi için blastosistin uterusu tutunarak implante olması gerekmektedir. Uterus, endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum tabakalarından oluşmaktadır. Uterusun iç tabakasını oluşturan endometriyuma blastosistin tutunması ile implantasyon başlamaktadır. İmplantasyon ile birlikte endometriyumda desidualizasyon olayı gerçekleşmeye başlar. Desidualizasyon ile uterus, yüksek östrojen ve progesteron seviyeleri ile karakterize olan sekresyon fazına geçiş yapmaktadır. Endometriyumun salgı fazına geçiş yapması lümen epitel

hücrelerinin apikal yüzeylerinde bulunan mikrovilli görünümlü pinopodlar ile karakterizedir (Stavreus-Evers ve ark., 2001; Nikas ve ark., 2002; Nikas ve ark., 2003). Uterusun implantasyon başarısını belirlemek için pinopodların saptanması klinik bir belirteç olarak kullanılabilir (Psychoyos, 1986). Pinopodların endometriyumda bulunma sıklıkları ile blastosistin endometriyuma implante olması arasında bir oran olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Nikas, 1999b, 1999a). Pinopod gelişimi, lösemi inhibitör faktör (LIF), LIF reseptörü, progesteron ve integrin $\alpha V\beta 3$ 'ün ekspresyonunda bir artış ile ilişkilidir (Lessey ve ark., 1992; Stavreus-Evers ve ark., 2001; Aghajanova ve ark., 2003). Tüm bu moleküller, blastosist ve endometrium arasındaki etkileşimde ve implantasyon sürecinin gerçekleşmesi için çok önemlidir. Uterusta implantasyon penceresinin oluşumuyla birlikte uterus yeniden şekillenmeye maruz kalır (Mor ve ark., 2017). Blastosist, endometriyumda lümen epiteline invaze olur (Kimber ve ark., 2000; Norwitz ve ark., 2001; Su ve ark., 2015). Bu nedenle implantasyonun farklı aşamaları vardır: apozisyon, adezyon ve invazyon.

2.2.1. Apozisyon

Endometriyum reseptif hale geldiğinde, blastosist ile endometriyumun lümen epiteli arasında gevşek bir etkileşim meydana gelir. Endometriyum lüteal fazda bulunurken blastosist ile endometriyum arasında iletişim kurulur ve bu aşamaya apozisyon adı verilmektedir (Su ve ark., 2015). Apozisyon aşamasında reseptör-ligand etkileşimleri kritiktir. L-selektin bu aşamada önemli bir rol oynar. Endometriyumdaki pinopodlarda eksprese edilen L-selektin ligandları blastosistin iç hücre kitlesi hücreleriyle etkileşimini sağlar. Blastosistin uygun pozisyona getirilmesi ile apozisyon tamamlanarak, adezyon için uygun bir pozisyonda olması sağlanır (Şekil 2.2) (Fazleabas ve ark., 2003; Genbacev ve ark., 2003; Nejatbakhsh ve ark., 2012; Gnainsky ve ark., 2015; Ashary ve ark., 2018). Apozisyon ile birlikte lümen epitelinde bulunan progesteron ile bağlantılı Mucin-1 (MUC-1) ekspresyonu artış gösterir. MUC-1, blastosistin endometriyumda implantasyon şansının düşük olduğu bölgelere bağlanmasını önleyen bir moleküldür. MUC-1, ekspresyonunun artması ile blastosistin endometriyumda yanlış bölgeye bağlanması önlenilebilir (Şekil 2.2) (Meseguer ve ark., 2001; Achache ve ark., 2006).



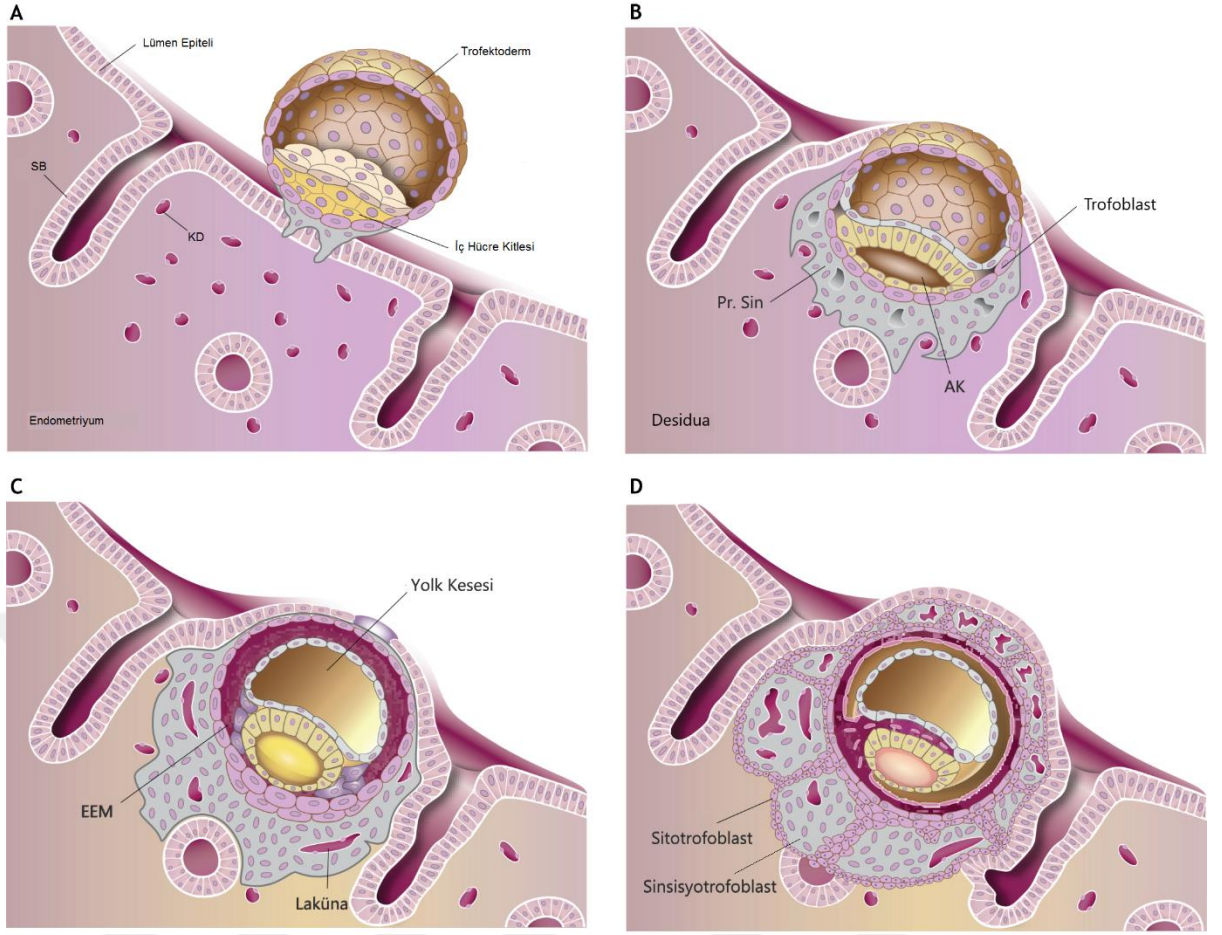
Şekil 2.2. İmplantasyonda apozisyon ve adhezyon aşamaları. (A) L-selektin aracılığıyla blastosist uygun pozisyona gelir. (B) Mucin-1 (MUC-1), blastosistin implantasyon şansı düşük bölgelere adhezyonunu engeller. (C) Sitokinler ve prostaglandin, blastosistin implantasyona elverişli bölgeye adhezyonunu sağlar. (D) İntegrinler blastosistin pinopodlara tutunmasını sağlayarak başarılı implantasyonu sağlar (Achache ve ark., 2006).

2.2.2. Adhezyon

Adhezyon işlemi sırasında sitokinler önemli bir rol oynar. Stroma ve bezlerde bulunan hücreler tarafından salgılanan lösemi inhibitör faktörü (LIF), IL-6, IL-1 sitokinleri ve prostaglandin, blastosistin implantasyon şansı yüksek olan bölgeye bağlanmasını sağlar. IL-6 sitokini sınıfına ait olan LIF sitokini adhezyon safhasında önemli rol oynamaktadır (Nachtigall ve ark., 1996). Endometrium lüteal faza geçiş yaptığında bu sitokin miktarının ekspresyonunda ciddi bir artış yaşanmaktadır. Yapılan çalışmalar LIF ekspresyon eksikliğinin kadınlarda infertiliteye sebep olduğu gösterilmiştir (Paiva ve ark., 2009). Pinopodlarda eksprese edilen LIF blastosistte bulunan reseptörü LIFR ile etkileşime girerek blastosistin pinopodlara tutunmasını sağlamaktadır. Blastosistin implantasyonu için pinopodlara bağlanması gerekmektedir (Şekil 2.2). Uterusun lümenal epitelinde bulunan integrinler blastosistin pinopodlar aracılığı ile bağlanmasında etkilidir (Kimber ve ark., 2000; Reddy ve ark., 2003; Singh ve ark., 2009).

2.2.3. İnvazyon

Bu aşamada blastosistte bulunan trofoblast hücreleri, maternal kan damarlarına ulaşmak amacıyla endometriyal epitele ve endometriyal stromaya penetre olurlar (Carson ve ark., 2000). Trofektodermin primer sinsisyumu oluşturmasıyla prelaküner evre başlamaktadır (Boyd J. D. ve ark., 1975) (Şekil 2.3). İmplantasyon sonrası primer sinsisyum endometriyuma invaze olur (Schlafke ve ark., 1975). Primer sinsisyumda oluşan içi sıvı dolu lakünaların oluşumu laküner evre olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.3). Lakünalar genişledikçe primer sinsisyumda trabeküller oluşturmaktadır. Primer sinsisyumda bulunan sitotrofoblast hücreleri bir yandan proliferer olurken diğer taraftan sinsisyotrofoblastlara farklılaşırlar. Hızla proliferer olan sitotrofoblast hücreleri primer sinsisyumu aşarak içte sitotrofoblast hücreleri, dışta sinsisyotrofoblast hücreleri bulunan primer villileri oluşturur. Bu aşama villöz aşama olarak adlandırılmaktadır (Bischof ve ark., 1996; Gellersen ve ark., 2014; Turco ve ark., 2019) (Şekil 2.3). Zamanla primer villüsler sekonder ve tersiyer villüslere dallanır. Bu süreç plasentasyon olarak bilinmektedir (Bischof ve ark., 1996). Lakünaların oluşturduğu trabeküller intervillöz alanı oluşturur. Sekonder villüslerde primer villüslere ek olarak yapılarının iç tarafında ekstraembriyonik mezenkim dokusu bulunmaktadır. Tersiyer villüslerde ise sekonder villüslere ek olarak ekstraembriyonik mezenkim dokusunun içinde fetal kılcal damarlar bulunmaktadır (Turco ve ark., 2019).

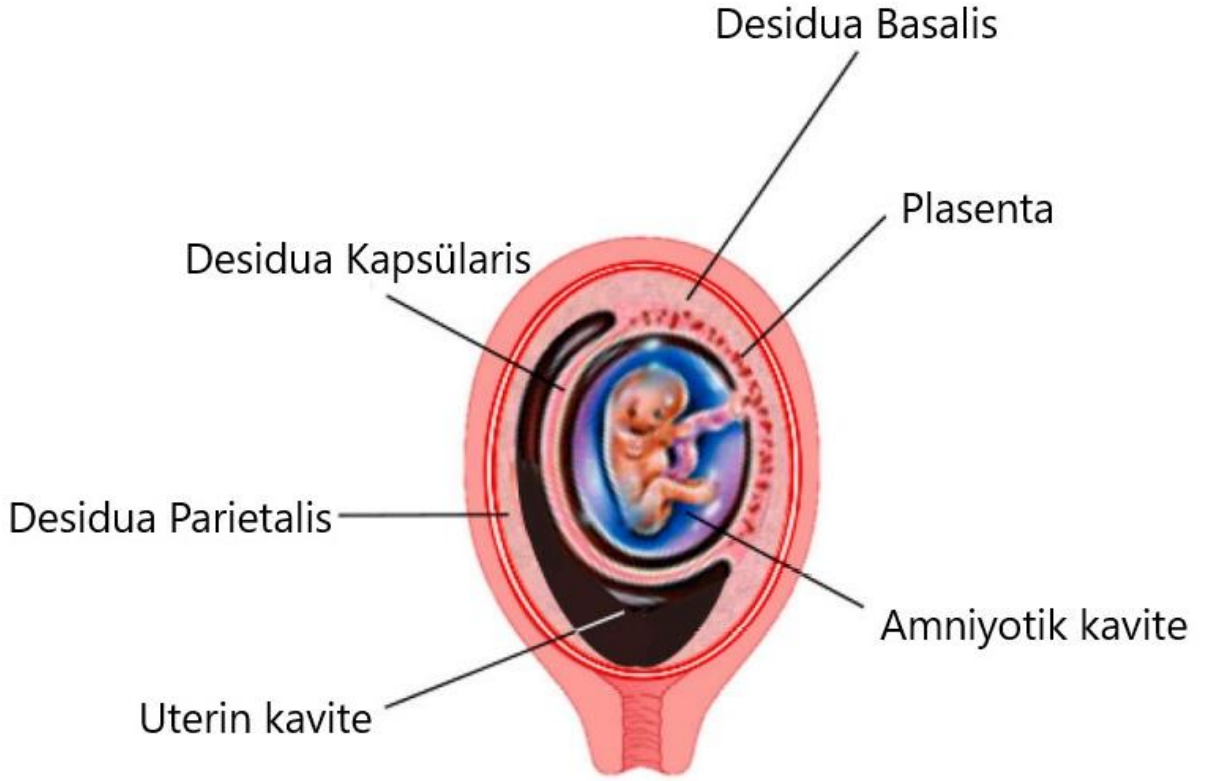


Şekil 2.3. Plasental gelişimin erken evreleri. (A-B) Prelaküner evrede primer sinsisyum oluşumu, (C) Laküner evrede primer sinsisyumda lakünaların oluşumu. (D) Villöz evrede sitotrofoblastların hızla çoğalmasıyla primer villüs oluşumu. (SB: Salgı bezi; Pr. Sin: Primer sinsisyum; AK: Amniyotik kavite; EEM: Ekstra embriyonik mezoderm) (Turco ve ark., 2019).

2.2.4. Desidualizasyon

Desidualizasyon, endometriyal stromal hücrelerinin embriyoya uyum sağlamak için geçirdiği dönüşümdür. Endometriyumun lümen epitelinden invaze olan blastosist implantasyonu tamamladığında, embriyonun etrafındaki iğsi stromal hücreler desidualizasyon ile oval nükleuslu desidual hücrelere dönüşmektedir (Johnson ve ark., 2003; Gellersen ve ark., 2014; Ashary ve ark., 2018). Endometriyumun stromal hücreleri çeşitli büyüme faktörleri üretir. Desidualizasyon sonrasında stromal hücreler, ektravillöz trofoblast hücrelerinin migrasyon yapabilmesi için bazal membran proteinleri, fibronektin ve laminin salgılar (Aplin ve ark., 1988). Desidualizasyon ile üç farklı desidual bölge oluşur: Desidua bazalis, desidua parietalis ve desidua kapsularis (Plaisier ve ark., 2008). İmplantasyon bölgesinin hemen altındaki desidua bölgesi, desidua basalisi oluşturur; gelişmekte olan konseptusu örten ve onu uterin

kaviteden ayıran bölge desidua kapsularistir; ve desiduanın geri kalanı desidua parietalistir (Şekil 2.4) (Su ve ark., 2015).



Şekil 2.4. İmplantasyon sonrası oluşan desidua bölgeleri (Ng ve ark., 2020)

Gebelikte yüksek progesteron seviyeleri, sağlıklı hamileliği sağlamak için desiduyu korumakta rol almaktadır (Dimitriadis ve ark., 2010; Okada ve ark., 2018). Stromal hücrelerin farklılaşması için spiral arterlerin modifiye edilmesi gerekmektedir. Desidual lökositlerin maternal immün tolerans oluşum mekanizmasında ve erken gebelik sırasında desidual gelişim ve yeniden şekillenmede rol oynadığı düşünülmektedir. Lökositler, desidudaki hücre popülasyonunun büyük bir bölümünü oluşturur. Uterus doğal öldürücü hücreleri (uNK) desidualizasyon sırasında aktive olan ve hızlı bir şekilde artan, desidual immün hücrelerin yaklaşık %65-70'ini oluşturan hücrelerdir (Dosiou ve ark., 2005; Smith ve ark., 2009; Croy ve ark., 2012). uNK hücreleri salgıladıkları sitokinler ile maternal immün tolerans sağlamaktadır. Ayrıca, stromal hücrelerin desidual hücrelere farklılaşması için büyüme desteği sağlamaktadır (Dunn ve ark., 2003; Zhang S. ve ark., 2013; Su ve ark., 2015).

Dolaşımda bulunan monositler ile yapılan bir çalışmada, gebelikte 7 ila 20. gebelik haftaları arasında desiduya monosit infiltrasyonunun arttığı gözlemlenmiştir ve bu

artışın allograft toleransta rol oynadığı düşünülmektedir (Smáráson ve ark., 1986). Desiduada bulunan uNK hücreleri membran tip 1 matriks metalloproteinaz (MT1-MMP) gibi proteazları üretmektedir. Proteaz regülasyonu trofoblast invazyonunu kontrol eden bir etkidir. Spiral arterlerden gelen maternal besine erişimin açılmasının invazyon ile sağlanması gerekirken, anneyi riske atacak kademeye gelmesi proteaz regülasyonu ile engellenebilir (Plaisier, 2011). Ekstravillöz trofoblast hücrelerinin maternal spiral arterlere invazyonu hormonal ve sitokin sinyallerinin kontrolü altındadır (Whitley ve ark., 2010).

Desiduada gözlenmekte olan endometrial stromal hücrelerin farklılaşması ve anjiyogenez gebeliğin sağlıklı ilerlemesi için gereklidir (Zhang S. ve ark., 2013; Su ve ark., 2015). Endometriyum, stromal desidual hücrelerin proliferasyonu, artmış vasküler geçirgenlik, vasküler yeniden şekillenme ve anjiyogenez ile karakterize vaskülarize bir reseptif dokuya dönüşür.

2.3. Plasenta

Plasentanın işlevi, fetal gelişimin tüm aşamalarında fetal beslenmeyi sağlamaktır. Besinlerin, gazların ve suyun fetüse iletilmesini, fetal metabolizmanın atık ürünlerinin anne kan dolaşımına atılmasını ve anne metabolizmasının hormonlar aracılığıyla gebeliğin farklı aşamalarına uyarlanması plasentanın işlevidir (Munro ve ark., 1983). Plasenta, fetüsün normal büyümesini ve gelişimini destekleyen son derece özelleşmiş bir gebelik organıdır. Plasentanın büyümesi ve işlevi, maternal ve fetal dolaşım sistemleri arasındaki besin ve atık ürünlerin alışverişinin maksimum verimlilikte çalışmasını sağlamak için hassas bir şekilde düzenlenir ve koordine edilir. İmplantasyondan sonra, trofoblast hücreleri, sitotorofoblast, sinsisyotrofoblast ve ekstravillöz trofoblast olarak üç tipte farklılaşır. Villöz sitotrofoblast hücreleri, koryonik villusun dış epitel tabakasını oluşturan çok çekirdekli sinsisyotrofoblastı oluşturmak için birleşerek füzyon yapar. Koryonik villüsler, plasentanın ana fonksiyonel birimleridir. Maternal-fetal metabolit transferi esas olarak koryonik villüs ağacında yer alan terminal villüslerde gerçekleşir. Metabolit değişiminin gerçekleşmesi için trofoblastların farklılaştığı ekstravillöz trofoblast hücreleri desiduaya göç edip uterustaki spiral arterlere invaze olup bu arterleri yeniden şekillenmesine neden olur. Spiral arterleri yeniden şekillenmesiyle genişlemiş, uyumlu damarlar yoluyla plasentaya kan akışı kolaylaşır (Turco ve ark., 2019). Plasenta,

karbondioksit ve diğer atık ürünleri uzaklaştırırken, fetüse oksijen ve besin sağlar. Bir dizi maddeyi metabolize eder ve metabolik ürünleri maternal ve/veya fetal dolaşıma geçmesine olanak sağlar. Placenta, fetüsü enfeksiyonlara ve anne hastalıklarına karşı korumaya yardımcı olmaktadır. Çoklu ilaca dirençli protein 1 (MDR1), çoklu ilaca dirençli protein (MRP), placentaya özgü ATP bağlayıcı kaset proteinleri (ABCP), meme kanseri direnç proteini (BCRP) ve mitoksantron direnci ile ilişkili protein (MXR) toksik maddelerin fetüse transferini azaltmaya yardımcı olabilir. Çeşitli hormon üretimi yaparak gebeliğin sağlıklı tamamlanması placentaya bağlıdır. Placenta az miktarda koryonik tiotropin ve kortikotropin üretir. Bunlar anne kan dolaşımına salınır ve anne metabolizmasını düzenlemeye yardımcı olabilir. Progesteron insan placentalı tarafından üretilir ve hem maternal hem de fetal dolaşıma salınır. Progesteron uterus kasılmasını engeller (Gude ve ark., 2004).

2.3.1. Placental Villüs Tipleri

Placentalın ana yapısını villüslerin dallanması oluşturur. Villüsler gelişim evresine, yapısına, damar dallarına ve histolojik özelliklere göre beş ayrı tipte belirlenmiştir (Benirschke Kurt ve ark., 1998). Bu tipler:

- Stem villüs (80-3000 µm)
- İmmatür intermediyet villüs
- Matür intermediyet villüs (60-150mm)
- Terminal villüs (30-80 µm)
- Mezenkimal villüs'tür (Şekil 2.5).

Stem villüsler villüs stroması içinde beliren büyük damarlar ve mikrodamarlar ile karakterize villüs tipidir. Trofoblast hücreleri villüsü kalın bir tabaka olarak sarar. Sinsisyotrofoblast tabakası ince bir tabaka halinde içte bulunan sitotrofoblastları sarmaktadır. Olgun placentada stem villüste bulunan trofoblast hücrelerinin çoğunluğu dejenere olmuştur ve yerlerini perivillöz fibrinoidlere bırakmıştır. Stromalarında fibroblastlar ve makrofajlar bulunmaktadır. Stem villüsler, villöz dallanmayla oluşan villüsleri desteklemektedir. Fetal kapilarizasyon seviyesi düşük olduğundan maternal-

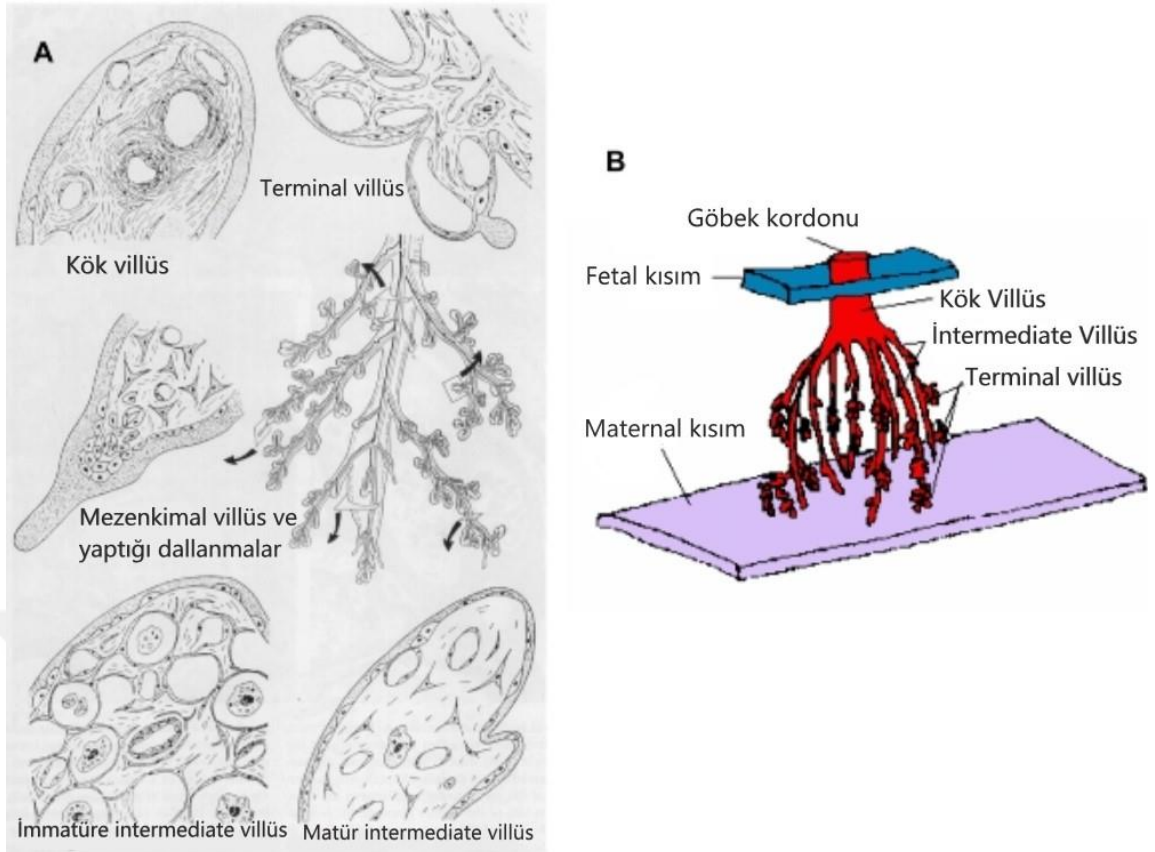
fetal transfer çok azdır. Damarların etrafında yer alan miyofibroblastlar intervillöz alanda maternal kanın dolaşımında rol almaktadır (Benirschke Kurt ve ark., 1998).

İmmatür intermediate villüsler, kök villuslardan kaynak alan yuvarlak, periferik ve olgunlaşmamış villüs tipleridir. Stem villüslerde gözlenen kalın trofoblast tabakası aynı şekilde bu tipte de gözlenir. Bu villüsler, retiküler bir stroma, Hofbauer hücreleri, belirgin damarlar ve süreksiz bir sitotrofoblast tabakası ile karakterize edilmiştir. Dış sinsisyotrofoblast tabakası, gelişim boyunca devamlılığını korur. Olgunlaşmamış ara villüsler, villüs dallanmalarının merkezi olarak kabul edilmektedir (Benirschke Kurt ve ark., 1998).

Matür intermediate villuslar, stromalarında yüksek derecede fetal damarlanma olan ince ve uzun dallanmalar olarak karakterize edilmiştir. Stem ve immatür intermediate villüslerden daha ince trofoblast tabakasına sahiptir. Sitotrofoblast hücreleri kapillerlere yakın bulunur. Stromaları bağ doku hücrelerinden oluşmaktadır ve çoğunlukla makrofaj içermezler. Vaskülarizasyonun yüksek olması bu tiplerin maternal-fetal değişimde rol oynamasını sağlar. Plasental hormon üretiminde önemli rol oynarlar (Benirschke Kurt ve ark., 1998).

Terminal villüslerin kaynakları matür intermediate villüslerdir. Bu villüslerde fetal vaskülarizasyon yoğun olduğundan fetal-maternal değişimde bu villüs tipleri çok önemlidir. Villüsü saran trofoblast tabakası incedir. Villüs yüzeyinin %30-40'ını bu tip oluşturmaktadır. Fetal kapillerler stromanın %50'sini oluşturur ve kalan bölgede az sayıda lifler ve bağ doku hücreleri bulunur. Term plasentada, terminal villuslar daha az stroma ve süreksiz bir sitotrofoblast tabakasına sahiptir (Benirschke Kurt ve ark., 1998).

Mezenkimal villüs, gebeliğin ilk evrelerinde oluşan en ilkel villüs türüdür. Mezenkimal villüs yapısında ufak kılcal damarlar, villüsü çevreleyen sitotrofoblastlar ve villüsün dış çeperinde sinsisyotrofoblast tabakası bulunmaktadır. Yapısında bulunan kılcal damarlar az gelişmiştir ve sinüzoidal genişleme göstermezler. Mezenkimal villüsler gebeliğin ilk haftalarında kritik rol oynar. Villüs proliferasyonu ve endokrin aktivitenin gerçekleştiği yer mezenkimal villüslerdir. Gebeliğin ilerlemesiyle birlikte, villöz büyümeyi sürdürmekle görevlilerdir (Benirschke Kurt ve ark., 1998).

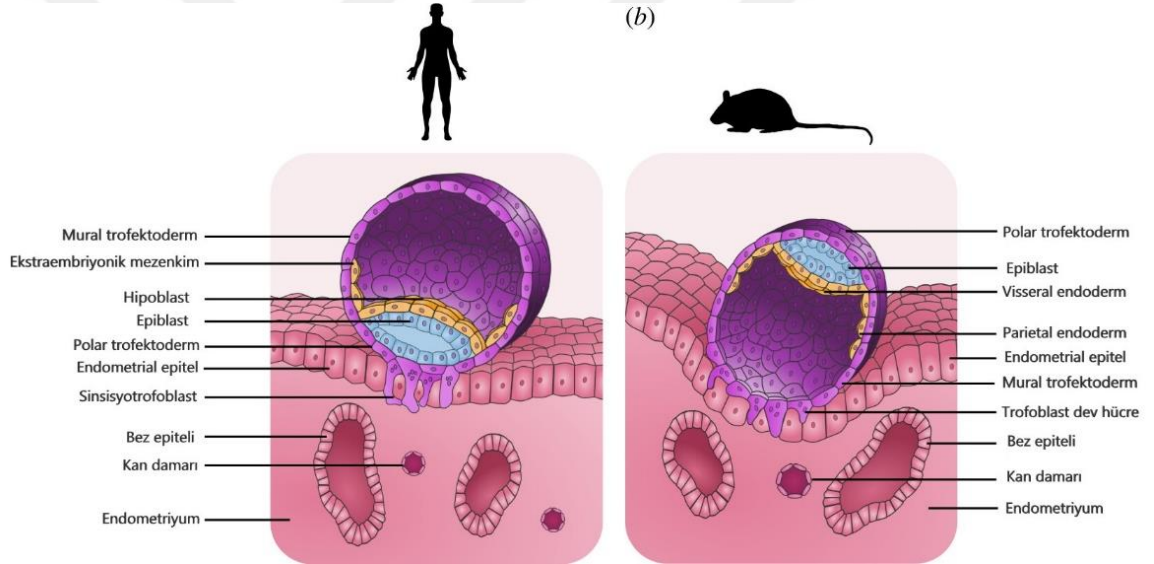


Şekil 2.5. Term plasentada gözlenen plasenta tipleri (Wang Y. ve ark., 2010).

2.4. Trofoblast Hücreleri

İnsanda plasenta gelişimi polar trofektodermden kaynak alarak gelişmektedir ve mural trofektoderm düz koryonu (koryon leve) oluşturmaktadır. Mural trofektodermden köken alan trofoblast hücreleri 8. haftaya kadar dejenere olarak koryon leveyi oluşturur (Şekil 2.6) (Genbaçev ve ark., 2015). Polar trofektodermden bulunan trofoblast hücreleri implantasyon sırasında farklılaşır (Şekil 2.6) (Siriwardena ve ark., 2022). Trofoblast hücrelerinin farklılaştığı ilk hücre sitotrofoblast hücreleridir. Farklılaşma evresinin devamında sinsisyotrofoblast ve ekstrasitotrofoblast hücreleri oluşmaktadır (Knöfler ve ark., 2019). Sinsisyotrofoblast hücreleri, sitotrofoblast hücrelerinin çoğalıp farklılaşarak füzyonları sonucu oluşurlar. Sinsisyotrofoblastlar intervillöz boşlukta bulunan maternal kanla doğrudan temas halinde olan plasental villusun çevresinde bulunmaktadır. Fetal büyümenin gerçekleşmesi için gerekli olan maternal/fetal gaz ve besin alışverişini sağlamakta ana rol oynamaktadırlar. Sinsisyotrofoblastlar, yoğun bir şekilde mikrovillüs ile kaplanmış epitel tipte hücreleridir (Teasdale ve ark., 1985). Sinsisyotrofoblastlarda bulunan mikrovillüsler büyüme faktörleri ve hormonlar için reseptörler açısından zengindir (Robinson ve ark.,

2009). Sinsisyotrofoblastlar koruyucu bir immünolojik bariyer olarak işlev görür. Çünkü tip 1 insan lökosit antijeni (HLA 1) molekülü bu hücreler tarafından ifade edilmez ve bu nedenle allojenik olarak tespit edilmesi gereken fetüsün varlığına rağmen, dolaşımdaki bağışıklık hücreleri, sinsisyotrofoblastları yabancı olarak tespit etmemektedir (Moffett ve ark., 2006; Djurisic ve ark., 2014). Buna ek olarak, sinsisyotrofoblast hücreleri maternal immunglobulinin (IgG) fetal dolaşıma taşınmasına izin veren neonatal Fc reseptörünü (FcRn) ifade ederler (Roopenian ve ark., 2007). Sitotrofoblast hücreleri, primer villüslerde sinsisyotrofoblastların altında yer alır. Bu hücreler, büyük bir nükleusa sahip küboidal hücrelerdir (Benirschke K. ve ark., 2012). Placenta genişledikçe, sitotrofoblast hücre sütunları desidua ile temas halinde olan demirleyici (ankronik) villusun uçlarından ortaya çıkmaktadır. Sütunlardaki hücreler yuvarlak, yapışkan ve glikojen bakımından zengindir.



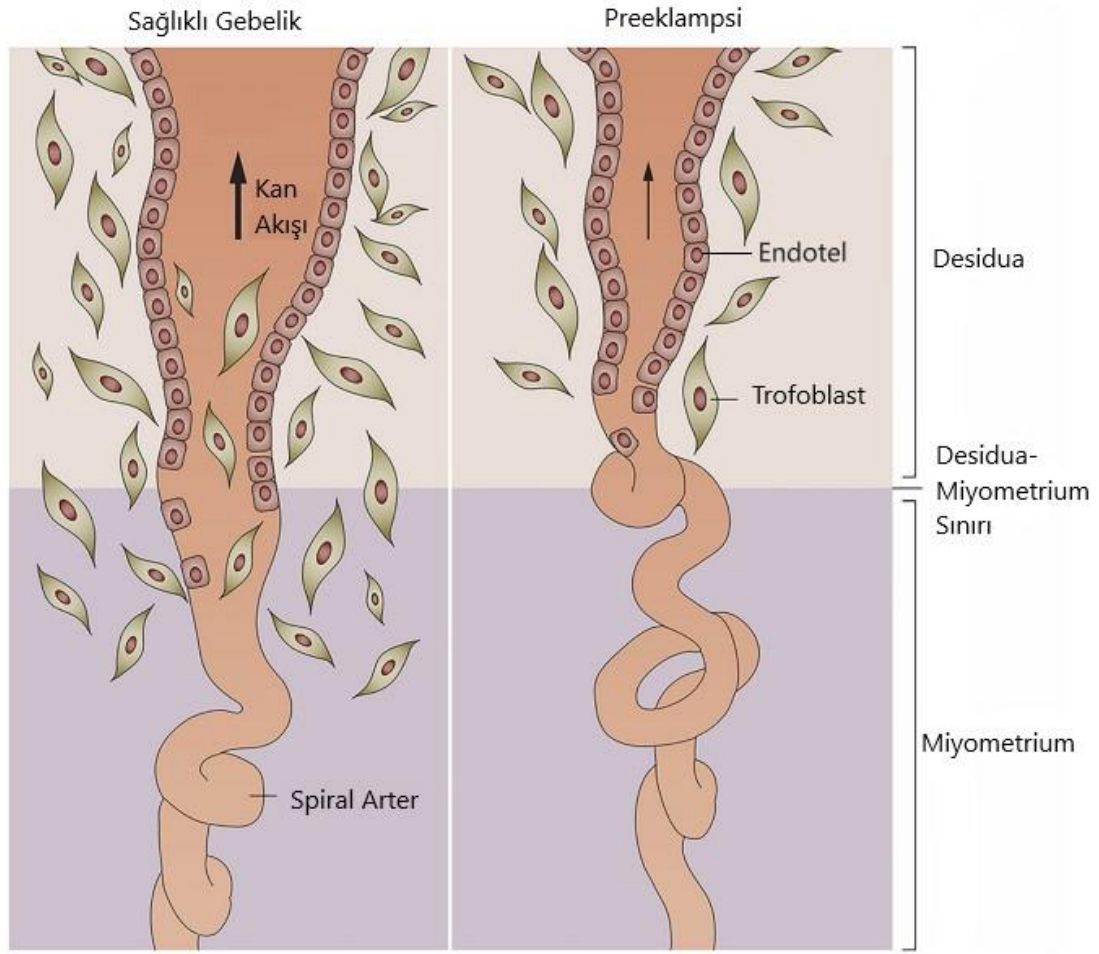
Şekil 2.6. İnsan ve fare blastosist implantasyonundaki farklar. İnsanlarda (a) blastosist polar trofektoderm yönünde uterusa implante olurken, farelerde (b) blastosist mural trofektoderm yönünden uterusa implante olmaktadır (Siriwardena ve ark., 2022).

2.4.1. Ekstravillöz Trofoblast Hücreleri

Ekstravillöz trofoblast hücreleri (EVT), sitotrofoblast hücrelerinin farklılaşmasında son basamaktır. Demirleyici villuslardaki trofoblast tabakasından farklılaşan ekstravillöz trofoblastlar desiduaya göç edip invaze olurlar (Şekil 2.7). Ekstravillöz trofoblastlar fenotip olarak beş gruba ayrılmıştır: interstisyel ekstravillöz trofoblast, endovenöz ekstravillöz trofoblast, endoglandüler ekstravillöz trofoblast, endoarteriyel ekstravillöz trofoblast ve endolenfatik ekstravillöz trofoblast hücreleri. Endoglandüler trofoblastlar uterus bezlerine invaze olan hücrelerdir. İnvazyon sonrası uterus bezlerini

plasentaya bağlarlar ve bez salgılarının embriyoya iletimi ile beslenmeyi sağlarlar. Uterus bezlerine invazyon implantasyondan bir gün sonra başladığından embriyonun erken beslenmesinden sorumlulardır. Embriyonun uterus bezlerinden aldığı besin sonrasında, atıkların intervillöz boşluktan uzaklaştırılması gerekir. Endovenöz ekstravillöz trofoblast hücreleri uterin venleri istila edip plasentaya bağlamasıyla bu uzaklaştırma sağlanır. Endolenflatik ekstravillöz trofoblast hücreleri uterusunda bulunan lenf damarlarını plasentaya bağlamak için görevlidir. Lenf damarlarının plasentaya bağlanması ile intra-plasental sıvı basıncının düzenlenmesi sağlanıyor olabilir (Huppertz, 2019). Fetüsün büyümesi ile besin ihtiyacı artmaktadır ve uterus bezleri bu ihtiyacı karşılayamaz. Gebeliğin ikinci trimesterinde yeterli miktarda metabolit alımı için anne kanına ihtiyaç duyulmaktadır. Anne kanından embriyoya besin transferinin gerçekleşmesi için spiral arter remodellemesini endoarteriyel ekstravillöz trofoblast hücreleri sağlamaktadır (Brosens ve ark., 1967). Endoarteriyel ekstravillöz trofoblastların spiral arterlere invazyonu ile arterlerdeki düz kas hücrelerinde aktin ekspresyonu kaybolur ve hücre iskeleti bozulur. Bu bozulma, histolojik olarak gözlemlenen fibrinoid yapıların ortaya çıkmasına neden olur (Pijnenborg ve ark., 2006).

Preeklampsi patolojisinin ortaya çıkmasında ekstravillöz trofoblast hücrelerinin görevlerini yerine getirmemesi olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.8) (Chaiworapongsa ve ark., 2014). Sağlıklı bir gebelikte etken olan immünolojik faktörler, bu invazyonun gerçekleşmesi için gerekli ortamı sağlamakla görevlidir. EVT invazyonu yeterli olmaz ise plasenta ve embriyo yeterli besini alamadığı için sağlıklı büyüyemez ve gebelikte komplikasyonlara yol açar. Komplikasyonlardan bir tanesi olan preeklampsi bu tezde ele alınacak hipotezin zeminini oluşturmaktadır.



Şekil 2.8. Sağlıklı gebeliklerde gerçekleşen spiral arterlere EVT invazyonu ve spiral arter remodellemesi ile kan akışının artması sağlanmaktadır. Preeklampitik gebeliklerde ise EVT'ler invazyon yeteneklerini kaybetmekte ve buna bağlı olarak kan akışı yavaş olmaktadır (Chaiworapongsa ve ark., 2014).

2.5.1. Preeklampsi Patofizyolojisi

İmmünolojik adaptasyonda sorunlar çıkmasıyla trofoblast invazyonunda sorunlar çıkmaktadır. Bu sorunlar hipoksiyi tetikleyebilir ve reoksijenasyon, oksijene reaktif türlerin oluşumu, maternal inflamatuvar sistemin aktivasyonu ve hücrel apoptoz süreçlerinin hızlanması gibi sorunların ortaya çıkmasında etkili olabilmektedir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve plasental büyüme faktörü (PlGF) gibi pro-anjiyogenik faktörler ile çözünür fms benzeri tirozin kinaz-1 (sFLT-1) gibi antianjiyogenik faktörler arasındaki dengesizlik, antianjiyogenik faktörlerin baskınlığı halinde, evrensel endotelial disfonksiyon ve sınırlı plasental vaskülarizasyon ile sonuçlanır (Smets ve ark., 2006; de Oliveira ve ark., 2010). Endotel aktivasyonuna bağlı vazokonstriksiyon ve periferik dirençte artış, kılcıl geçirgenlikteki değişiklikleri ve pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu ile çoklu organ yetmezliği ortaya

çıkabilmektedir. Preeklampsi, çoklu organ yetmezliği potansiyeli olan kronik bir hastalık olarak yorumlanmaktadır. Böbreklerde glomerüler filtrasyon bozukluğu ve proteinüri gözlemlenmektedir. Karaciğerde iskemi ortaya çıkmakta ve yüksek transaminaz seviyeleri ile işlev bozukluğu gözlemlenmektedir. Vazospazm, uteroplasental kan akışını engellemektedir. Beyin, ödem tarafından şiddetlenen iskemiden etkilenerek eklampsi veya felç durumlarının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Ramos ve ark., 2017).

2.5.2. Preeklampsi Risk Faktörleri

Preeklampsik gebeliklerde, geçmiş preeklampsi tanısı, kronik hipertansiyon, pregestasyonel diabetes mellitus, antifosfolipid sendromu ve obezite en fazla gözlenen risk faktörlerini oluşturmaktadır (Bartsch ve ark., 2016). Daha az gözlemlenen risk faktörleri ileri anne yaşı, nulliparite, kronik böbrek hastalığı, yardımcı üreme tekniği kullanımı olarak raporlanmıştır (Boyd P. A. ve ark., 1987; Cincotta ve ark., 1998). Risk faktörleri Tablo 2.1’de detaylı olarak gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Preeklampsik gebeliklerde risk faktörleri (Risk oranı 1’den ne kadar yüksek olursa risk o kadar fazladır) (Rana ve ark., 2019)

Risk Faktörü	Risk oranı
Geçmiş preeklampsi tanısı	8.4
Kronik hipertansiyon	5.1
Pregestasyonel diabetes mellitus	3.7
Obezite	2.8
Antifosfolipid sendromu	2.8
Nulliparite	2.1
İleri anne yaşı	1.2
Kronik böbrek hastalığı	1.8
Yardımcı üreme tekniği	1.8

2.5.3. Preeklampside Tanı

Preeklampsi gebeliğin ikinci ve üçüncü trimesterlerinde hipertansiyon ve proteinüri başlangıcı ile karakterize olup, neonatal ve maternal morbidite ve mortaliteye neden olur (Quinn ve ark., 2011). Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Koleji (ACOG) preeklampsiyi normotansif bir hastada 20. gebelik haftasından sonra ortaya çıkan

hipertansiyon ve proteinüri varlığı olarak tanımlar. Bununla birlikte, kadınların önemli bir kısmında, proteinürinin ayırt edici özelliği saptanmadan önce, düşük trombositler veya yüksek karaciğer enzimleri gibi sistemik preeklampsî belirtileri gelişir (Morgan ve ark., 1988; Barton ve ark., 2001). Uluslararası Gebelikte Hipertansiyon Çalışması Derneği (ISSHP) tarafından preeklampsî tanısında dikkate alınması gereken parametreler önerilmektedir. Preeklampsî tanısının konmasında belirlenen parametreler Tablo 2.2’de gösterilmiştir. Buna göre arteriyel hipertansiyon, sistolik kan basıncı (SKB) ≥ 140 mm Hg veya diyastolik kan basıncı (DKB) ≥ 90 mm Hg olarak karakterize edilir. Proteinüri için 24 saatlik idrar örneği toplamada 300 mg veya daha fazla protein ölçümü önerilmiştir. Buna ek olarak, proteinüri/kreatininüri oranı (her ikisi de mg/dL olarak) 0.3’ten yüksek olan idrar değerlendirilebilir. Proteinüri yokluğunda, SKB’nın 160 mm Hg’den yüksek veya DKB’nin 110 mm Hg’den yüksek olması, serum kreatinin konsantrasyonunun 1.1 mg/dL’den yüksek olması, baş ağrısı, görme bulanıklığı, karın ağrısı, 100.000/ μ l’den az trombositopeni, hepatik enzim yüksekliği, böbrek yetmezliği, pulmoner ödem ve serebral semptomlar tanı konması için incelenmesi gereken faktörlerdir (Ramos ve ark., 2017; Rana ve ark., 2019).

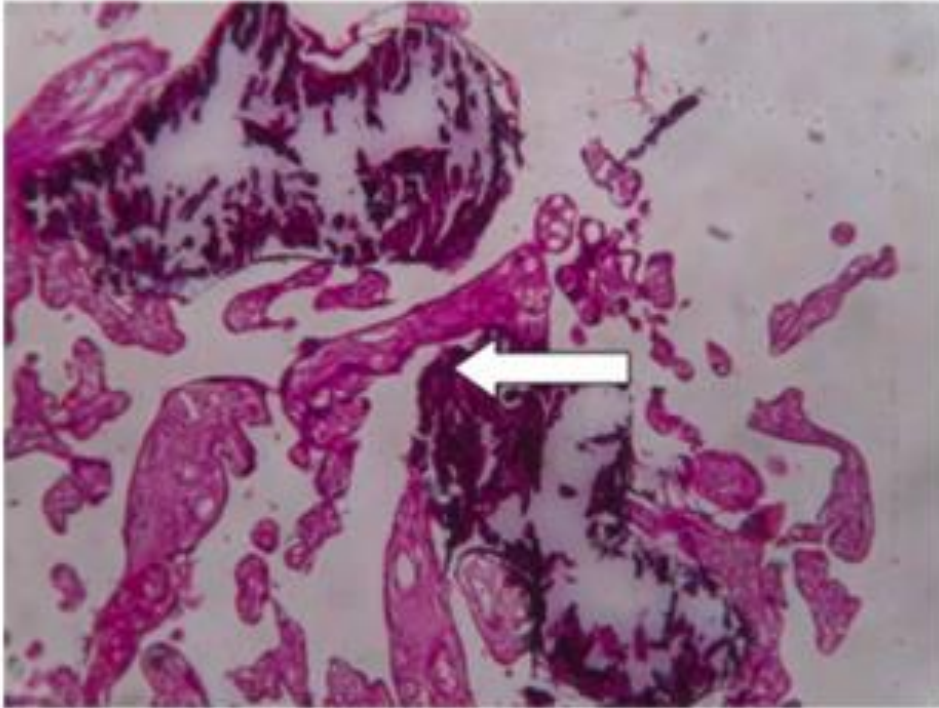
Tablo 2.2. Preeklampsî tanısında kullanılan parametreler

Yüksek kan basıncı
SKB >140 mmHg veya DKB >90 mm Hg
Proteinüri > 300mg/24 saat
Proteinüri/kreatininüri > 0.3
Proteinüri yokluğunda
SKB >160 mm Hg veya DKB >110 mm Hg
Serum kreatinin konsantrasyonu > 1.1 mg/dL
Baş ağrısı
Görme bulanıklığı
Karın ağrısı
Trombositopeni < 100.000/ μ l
Hepatik enzim yüksekliği
Böbrek yetmezliği
Pulmoner ödem
Serebral semptomlar

2.5.4. Preeklampside Plasenta Morfolojisi

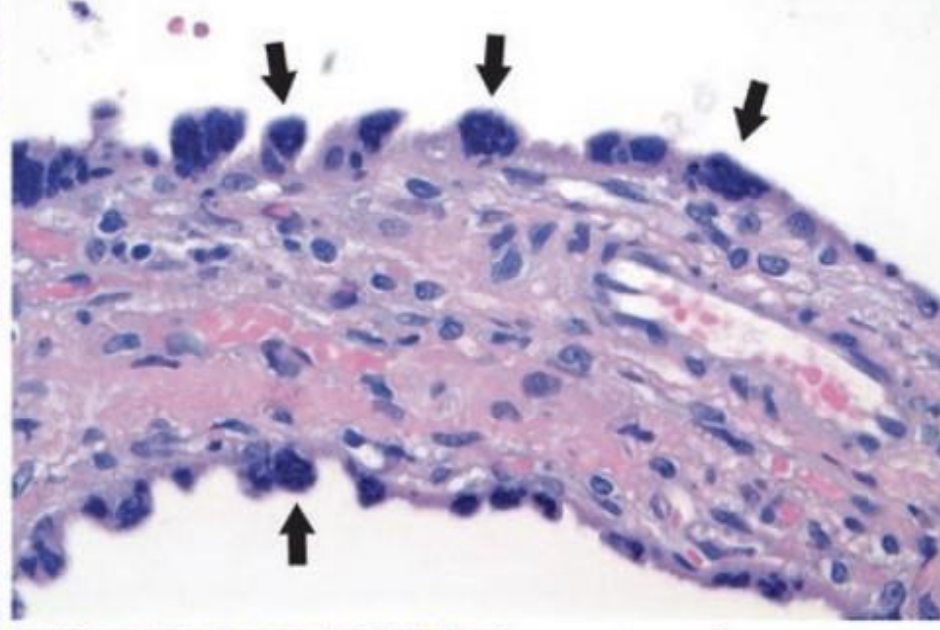
Preeklampitik plasentalar genellikle soluk renklidir ve fibrin birikimi, sinsisyal nodlar ve kalsifikasyonlar içermektedir. Preeklampitik plasentalar normal plasentalardan daha az ağırlığa ve daha küçük boyutlara sahiptir (Narasimha ve ark., 2011). Mikroskopik inceleme ile preeklampitik plasentalarda arterlerin ve arteriyollerin sklerotik daralması gözlenebilir (Hladunewich ve ark., 2007; Roland ve ark., 2016).

Preeklampsia hastalarının plasentalarında kalsifikasyon artışı saptanmıştır (Donthi ve ark., 2020) (Şekil 2.9). Hipertansiyonun şiddeti arttıkça kalsifikasyon insidansının arttığı raporlanmıştır (Ezeigwe ve ark., 2018). Villüslerde ve bazal membran boyunca kaydedilen kalsiyum birikimi, uteroplazental yetmezliğe neden olabilmektedir (Goswami ve ark., 2013).



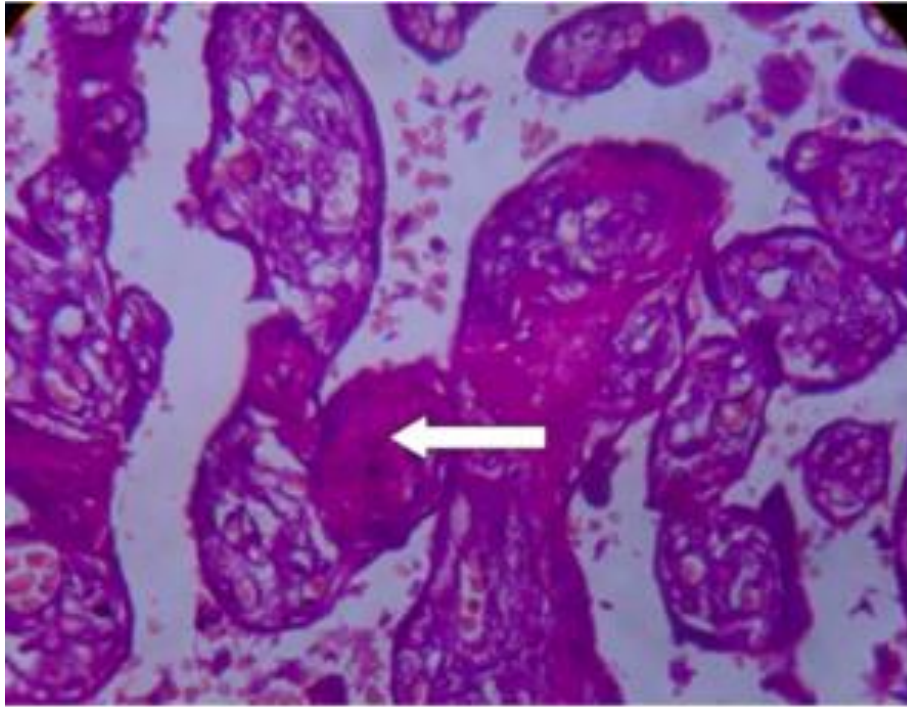
Şekil 2.9. Preeklampitik gebelikten alınan plasenta örneğinde gözlenen kalsifikasyon beyaz ok ile gösterilmiştir (Donthi ve ark., 2020).

Sinsisyal nod sayısı, gebeliğin hipertansif hastalıklarının süresi ve ciddiyeti ile pozitif olarak ilişkilidir (Corrêa ve ark., 2012; Parks, 2017). Sağlıklı gebeliklere kıyasla preeklampitik hastalarda sinsisyal nodların görülme sıklığının arttığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Donthi ve ark., 2020) (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Preeklampitik gebeliklerden alınan plasenta örneklerinde gözlenen sinsisyal nodlar siyah oklar ile gösterilmiştir (Parks, 2017).

Preeklampsi hastaları kontrol grubu ile kıyaslandığında plasentada fibrin birikiminin yüksek olduğu belirtilmiştir. Fibrin birikimi villüslerin kapanmasına ve intervillöz boşluğun daralmasına yol açmaktadır (Redline ve ark., 2004). Villöz parankimin %10'dan fazlasını kaplayan fibrin birikimi, fetal hipoksi ve intrauterin gelişme geriliği (IUGR) ile ilişkilidir (Donthi ve ark., 2020) (Şekil 2.11).



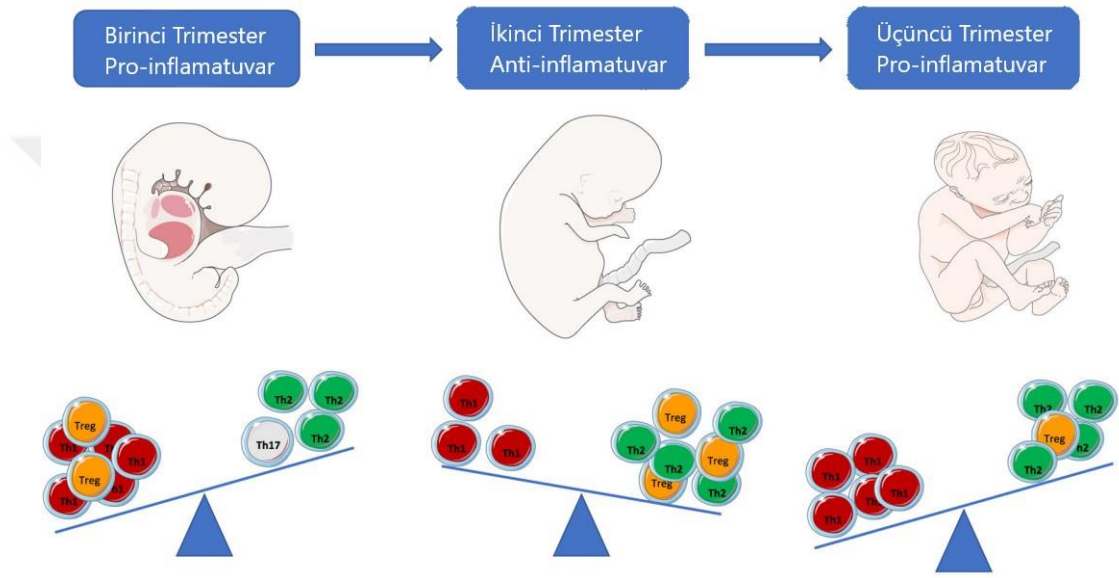
Şekil 2.11. Preeklampitik gebelikten alınan plasenta örneğinde gözlenen fibrin birikimi beyaz ok ile gösterilmiştir (Donthi ve ark., 2020).

2.6. Gebelikte İmmün Denge

Sağlıklı gebeliğin gerçekleşmesi için immün sistemin dengede olması gerekir. Sağlıklı gebelik sırasında üç immünolojik faz ortaya çıkar. Blastosist, implantasyon için endometriyumun epiteline tutunur ve endometriyal dokuya hasar vererek invaze olur. Devamında yeterli plasental-fetal kan akışını sağlamak için maternal kan damarlarında endotel ve vasküler düz kasın ekstravillöz trofoblast ile yer değiştirmesi gerekir. Bu süreçler, uterus epitelinin yeterli onarımını ve hücre kalıntılarının uzaklaştırılmasını gerektirmesi nedeniyle Th1 hücreleri baskınlığındaki pro-inflamatuvar yanıtı ihtiyaç duyar (Şekil 2.12) (Graham ve ark., 2021). IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-17 ve IL-6 ailesinden lösemi inhibe edici faktör (LIF) proinflamatuvar ortamda bulunan başlıca sitokinlerdir. Farelerde yapılan bir çalışmada LIF- farelerin trofoblast invazyonu ve spiral arter yeniden modellemesindeki kusurlar nedeniyle infertil oldukları gözlemlenmiştir (Winship ve ark., 2015). IFN- γ , düz kasların ve endotel hücrelerinin gen ekspresyonlarında değişikliğe neden olarak desidual arterlerin incelmelerini ve anjiyogenezi destekler (Ashkar ve ark., 2000). TNF- α , makrofajlarda bulunan PD-1 proteininin ekspresyon seviyesinin yükselmesine neden olur. PD-1 seviyesinin yükselmesi ile makrofajlardan salgılanan IL-10 seviyesinde artış olur. IL-10 sitokini CD4 T hücrelerinin Th1 ve Th17 hücrelerine farklılaşmalarını engeller (Alijotas-Reig ve ark., 2017). Ayrıca TNF- α , matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9) ekspresyonunu artırarak ekstravillöz trofoblast invazyonunun regülasyonunu sağlar (Cohen ve ark., 2006). MMP9 ve MMP2 enzimleri vasküler düz kasların bütünlüğünü bozar. Buna ek olarak endotel hücrelerinin ve düz kasların apoptozuna neden olmaktadır. IL-6, doku yeniden modellemesini gerçekleştiren matriks metalloproteinaz (MMP) 2 ve MMP9'un ekspresyonunu artırır. IL-17 ile ilgili yapılan bir çalışmada, IL-17 susturulması ile ekstravillöz trofoblastların proliferasyon ve invazyonunda baskılanma görülmüştür. Bu nedenle IL-17 ilk trimesterde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Zhang Z. ve ark., 2022).

Birinci trimesterde rol oynayan birçok immün hücre tipi vardır. dNK hücreleri, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiyopietin 2, plasental büyüme faktörü (PIGF), MMP gibi sitokinler üreterek blastosist implantasyonuna aracılık eder ve bu nedenle gebeliğin erken evrelerinde kritik öneme sahiptir (Li ve ark., 2001; Bagheri ve ark., 2013). Gebeliğin proinflamatuvar fazında aktif olan diğer hücreler, IL-

22, IL-17, TNF- α , IL-8 ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör üreten ILC3'lerdir (Şekil 2.13) (Förger ve ark., 2020). ILC3 hücrelerinin yanı sıra Th17 ve Th22 hücreleri IL-22 salgılamaktadır. Yapılan bir çalışma IL-22 sitokininin IL-22 reseptörüne bağlanarak HTR-8/Svneo (insan trofoblast hücre hattı) hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığını ve apoptozunu düşürdüğünü belirtmiştir. Ekstravillöz trofoblastlarda da IL-22 reseptörü (IL-22R) bulunmaktadır. Bu sebeple gebeliğin ilk trimesterinde ekstravillöz trofoblast invazyonunda rol oynayan bir sitokin olabileceği belirtilmiştir (Wang Y. ve ark., 2013).



Şekil 2.12. Gebelikte immün hücre dengesi. Gebeliğin ilk trimesterinde, blastosist implantasyonu için gerekli olan baskın bir Th1 hücre ortamı gereklidir. Fetal gelişimin ana aşaması olan ikinci trimester, fetal büyüme için gerekli olan antiinflamatuvar ve Th2 tipi immün mikroçevre ile karakterize edilir. Son olarak, üçüncü trimesterde, doğum için gerekli olan inflamatuvar ve Th1 hücre ilişkili bir bağışıklık durumuna geçiş vardır (Graham ve ark., 2021).

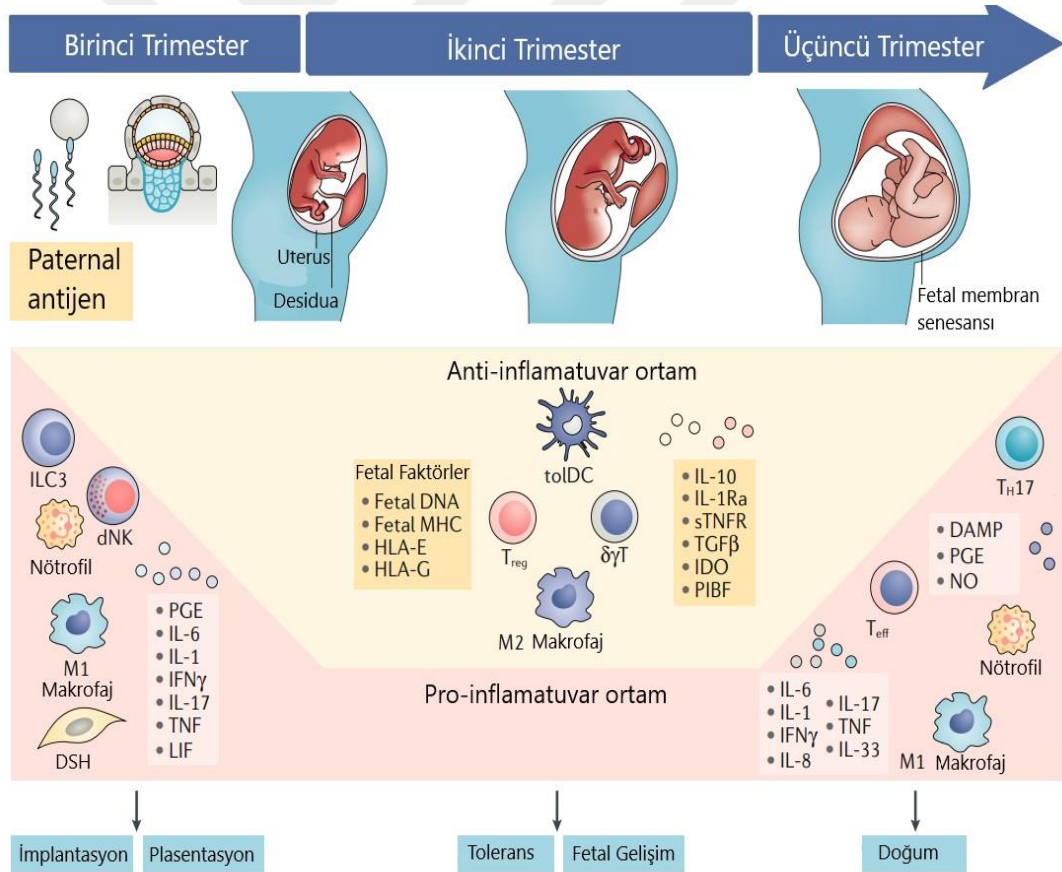
Gebeliğin ikinci immünolojik aşamasında anti-inflamatuvar bir ortam bulunur. Bu fazın ayırt edici özelliği, hızlı fetal büyüme ve gelişmedir. İmplantasyon sonrası, maternal-fetal arayüzde immün hücre dengesinde değişiklikler görülür (Graham ve ark., 2021). İlk trimesterde Th1 hücrelerinin baskınlığında pro-inflamatuvar ortam bulunurken ikinci trimesterde Th2 hücrelerinin baskınlığı vardır (Şekil 2.12). Th2 hücrelerinin yanında Treg hücreleri ve dNK hücreleri de bu süreçte katkıda bulunur. Th2 hücreleri, IL-4, IL-5 ve IL-13 üretimi ile karakterizedir. Th2 ile ilişkili sitokinler, gebeliğin her üç trimesterinde de saptanabilir, ancak en yüksek seviyeleri, Th2 ortamının baskın olduğu ikinci trimester boyunca bulunur (Lin ve ark., 1993). Treg hücreleri, immün dengeyi kontrol eden T hücre alt tipidir. Treg hücreleri, farelerde fetüse özgü naif CD4 pozitif T hücrelerinin Th1 hücrelerine farklılaşmasını

engelleyerek allojenik fetüslerin kaybını engeller (Rowe ve ark., 2011). Treg hücreleri salgıladıkları immün baskılayıcı IL-10, TGF- β ve IL-35 sitokinleri ile Th1 hücrelerinin aktivasyonunu ve proliferasyonunu baskılar (Collison ve ark., 2007; Collison ve ark., 2009). Treg hücreleri, semi-allogreft fetüse karşı maternal immün toleransın sürdürülmesinde rol oynar (Erlebacher, 2013). Yapılan çalışmalarda Treg hücrelerinin gebeliğin başlangıcından itibaren desidual immünoregülasyon sağladığını ve desiduaya göçlerinin gebelik boyunca devam ettiği gösterilmiştir (Aluvihare ve ark., 2004; Sasaki ve ark., 2004; Tilburgs ve ark., 2008). İkinci trimesterde rol oynayan desidual stromal hücreler (DSH'ler), desidual bağışıklık ortamını korumak için kritik öneme sahiptir. CXCL9 ve CXCL10 kemokinlerini susturarak sitotoksik T hücrelerinin göç etmesini engellerler. Ayrıca DSH'ler IL-15 salgılayarak dNK hücrelerinin sitotoksik karakterde olmalarını engeller ve VEGF ve MMP9 gibi anjiyojenik faktörler salgılamalarını sağlar (Graham ve ark., 2021). Son trimesterde fetüsün gelişimi tamamlanmış olup doğumun gerçekleşmesi gerekmektedir. İmmün hücrelerin maternal dolaşımdan miyometriyuma göç etmesi ile inflamatuvar ortam oluşur. Proinflamatuvar ortam sağlayan immün hücreler salgıladıkları sitokin ve diğer maddelerle uterusun kasılmasını ve doğumun gerçekleşmesini sağlarlar. Th1 hücrelerinden IL-1 β ve M1 makrofajlardan IL-8 sitokinlerinin salgılanması ile pro-inflamatuvar ortam sağlanır. Miyometriyuma nötrofil ve makrofaj göçü, maternal-fetal dokularda IL-1 β ve IL-8 dahil olmak üzere pro-inflamatuvar sitokinlerin yukarı regülasyonu ve TNF sinyal yolunun ve Nod-benzeri reseptörün yukarı regülasyonu ve NF κ B aktivasyonu dahil desiduadaki transkripsiyonel değişiklikler ile ilişkilidir (Christiaens ve ark., 2008; Rinaldi ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda, IL-1 β 'nın miyometriyal düz kasa kalsiyum akışını, fosfodiesteraz aktivitesini ve prostaglandin F2a üretimini indükleyebileceği ve bunların kas kasılmasına katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (Oger ve ark., 2002; Tribe ve ark., 2003). Gebelik süresince etkileri araştırılmış olan sitokinler Tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2.3. Gebelikte immün dengede rol alan başlıca sitokinler

Sitokinler	Gebelikte Rolü	Gebelik Patolojisinde Rolü
IFN γ	Spiral arterlerin yeniden modellemesinin regülasyonu	İmplantasyon hatası Fetüse karşı toksik
IL-1 β	Doğumda miyometriyumun kasılması	Erken doğum ile akciğer ve sinir sisteminde hasarlar

IL-6	Doku yeniden modellemesi	Yetersiz plasenta ve fetüs gelişimi
IL-22	uNK göçü ve spiral arter yeniden modellenmesi	Yetersiz ekstravillöz trofoblast invazyonu
IL-17	Ekstravillöz trofoblast proliferasyonu	Yetersiz plasenta ve fetüs gelişimi
LIF	Ekstravillöz trofoblast invazyonu Spiral arter yeniden modellenmesi	Yetersiz ekstravillöz trofoblast invazyonu
TNF- α	CD4 T hücrelerinin regülasyonu	Fetüse karşı toksik Nöral tüp defektleri Yetersiz ekstravillöz trofoblast invazyonu

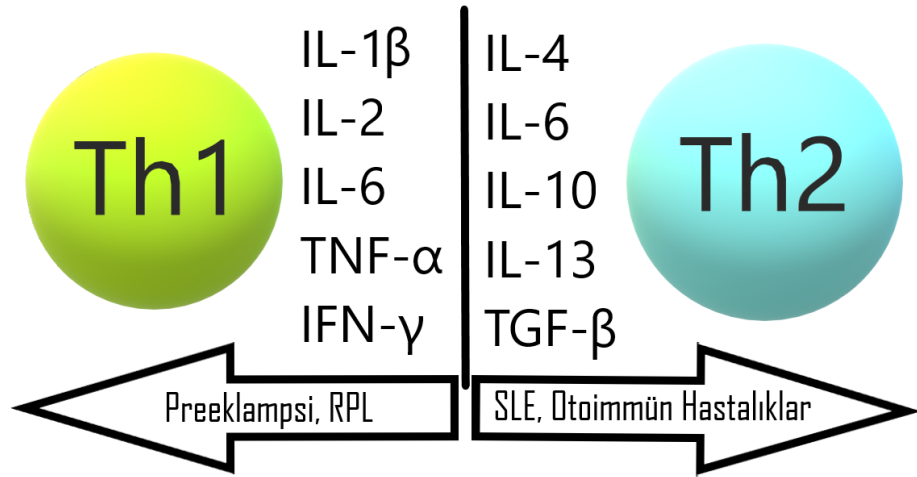


Şekil 2.13. Gebelikte immün ortamın değişimi. Birinci trimesterde hücrelerin salgıladıkları sitokinler proinflamatuvar karakterdedir. İkinci trimesterde ortamda bulunan sitokinler antiinflamatuvar karakterdedir. Makrofajlar proinflamatuvar M1 tipinden antiinflamatuvar M2 tipine geçiş yaparlar. Üçüncü trimesterde rol alan hücreler salgıladıkları proinflamatuvar sitokinler ile doğumun gerçekleşmesini sağlarlar (Förger ve ark., 2020).

2.6.1. Preeklampside İmmün Denge

Preeklampside gebelik esnasında proinflamatuvar ve antiinflamatuvar dengenin sağlıklı gebeliklerde olduğu gibi ilerlemediği bilinmektedir (Saito ve ark., 2003). Proinflamatuvar ortamın sağlıklı bir şekilde devam etmemesi sebebiyle trofoblast hücrelerinin etrafında bulunan immün hücreler trofoblast hücrelerinin endometriyuma ulaşmasına yardımcı olamaz ve spiral arterlerdeki maternal hücreleri fagosit edemez. Bu durum trofoblast hücrelerinin spiral arterlere invazyonunu engeller (Şekil 2.8) (Harmon ve ark., 2016). dNK ve Th17 gibi immün hücreler bu süreçte rol almaktadır. Bu immün hücreler bu görevlerini EVT ile etkileşerek gerçekleştirir. EVT etkileşimlerinden sonra dNK hücreleri anjiyojenik büyüme faktörleri (VEGF, PlGF) üretir. Ayrıca MMP2 ve MMP9 salgısını artırarak spiral arterlerde bulunan düz kas hücrelerinin apoptozuna neden olur. Preeklampsik gebeliklerde bu etkileşim bozulur ve spiral arter remodellemesi yüzeysel kalır, sonuç olarak yetersiz plasentasyona neden olur. Bu süreçte rol alan diğer hücrelerden Th1 ve Th17 hücrelerinin de salgıladığı IFN- γ (Tablo 2.4) EVT'lerin invazyonunda regülasyonu sağlarken (Todt ve ark., 1996), TNF- α ile aşırı EVT invazyonunu engellemektedir (Wang W. ve ark., 2020).

Proinflamatuvar ortamın baskın oluşu yardımcı T hücrelerinin proinflamatuvar sitokinler (örn. IFN- γ , TNF- α) salgılayan hücrelerinin (örn. Th1, Th17) baskın olmasıyla ve antiinflamatuvar sitokinler salgılayan hücrelerinin (örn. Th2, Treg) az sayısıyla ilişkilidir (Bates ve ark., 2002; Chaouat ve ark., 2003; Saito ve ark., 2003; Schmitt ve ark., 2015; Khalid ve ark., 2017). Preeklampside desidual lenfositler tarafından Th1 tipi hücrelerin salgıladıkları IFN- γ 'nın arttırıldığı ve Th2 tipi IL-6 ve IL-10 sitokinlerinin üretiminin ise azaltıldığı bildirilmiştir (Wilczyński ve ark., 2002). Th1 / Th2 dengesi bozukluğunun, Th1- veya Th2-baskın bağışıklığının, kemirgenlerde fetal absorpsiyon ve deneysel preeklampsiyi indükleyebileceği bulunmuştur (Hayakawa ve ark., 2000). Bu bulgular, Th2 bağışıklığını destekleyen lokal Th1 / Th2 dengesinin normal hamileliği sürdürmek için kritik olduğunu göstermektedir (Dong M. ve ark., 2005) (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Gebelikte sitokin dengesi. Normal gebelikte Th1 ve Th2 sitokinleri arasında bir denge söz konusudur. Ancak bu dengenin Th1 yönünde bozulması, infamatuvar bir ortam oluşmasını sağlar ve preeklampsi ve tekrarlayan gebelik kayıpları (RPL) gibi çeşitli gebelik komplikasyonlarının oluşmasına neden olur. Dengenin Th2 yönünde bozulması ise Sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi çeşitli otoimmün hastalıklara neden olur (Saito, 2000; Jara ve ark., 2014).

2.7. Yardımcı T Hücreleri

Yardımcı T hücreleri, gebelikte hayati rol oynayan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar dengeden sorumlu olan immün sistem hücreleridir. Naif T hücrelerinden farklılaşan T yardımcı hücrelerinin (Th) yedi tane alt grubu tespit edilmiştir: Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh ve Treg. Proinflamasyondan sorumlu hücreler T hücre alt gruplarından, yardımcı T 1 hücresi (Th1), yardımcı T 9 hücresi (Th9), yardımcı T 17 hücresi (Th17) ve yardımcı T 22 hücresidir (Th22). Th9, Th17 ve Th22 hücrelerinin hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar özelliğe sahip oldukları bilinmektedir (Tamasauskiene ve ark., 2018) (Tablo 2.4). Anti-inflamasyondan sorumlu hücreler ise Th2 ve T regülatör (Treg) hücreleridir. Th2 hücreleri, antiinflamatuvar özellikte sitokinler salgılayarak inflamatuvar ortamın dengede kalmasını sağlar. T regülatör hücreleri ise proinflamatuvar sitokinlerin arttığı ortamda antiinflamatuvar cevabın ortaya çıkmasını sağlayarak, inflamasyonun azalmasını ve sona ermesini sağlayarak ortamın dengede kalmasına etki ederler (Raghupathy, 1997). Bu çalışmada araştırılacak olan Th17 ve Th22 hücreleri Th1/Th2 dengesinde önemli rol oynamaktadır. Th17 hücreleri, yardımcı T hücrelerinden Th1 hücrelerine farklılaşmayı destekleyebilir (Harbour ve ark., 2015). Th22 hücrelerinin mikroçevredeki farklı sitokin baskınlığına göre Th1 veya Th2 hücrelerine özgü salgılar yapabileceği gösterilmiştir (Eyerich ve ark., 2009). Buna göre, IL-12 ve anti-IL-4

açısından zengin kültür içinde Th22 hücrelerinin TNF- α salgıladığı gözlenirken, IL-4, anti-IL-12 ve anti-IFN- γ açısından zengin kültür içinde Th22 hücrelerinin IL-13 salgıladıkları gözlenmiştir (Eyerich ve ark., 2009; Jiang ve ark., 2021). Gebelik boyunca Th1 veya Th2 baskınlığındaki ortamda ilerleyen gebelikte Th17 hücreleri IL-17a, TNF- α gibi sitokinler ile, Th22 hücreleri ise IL-22 ve IFN- γ ile destek olmaktadır (Şekil 2.15). Aşağıda yardımcı T hücrelerin listesi ve salgıladıkları proinflatuar ve antiinflatuar sitokinler görülmektedir (Tablo 2.4).

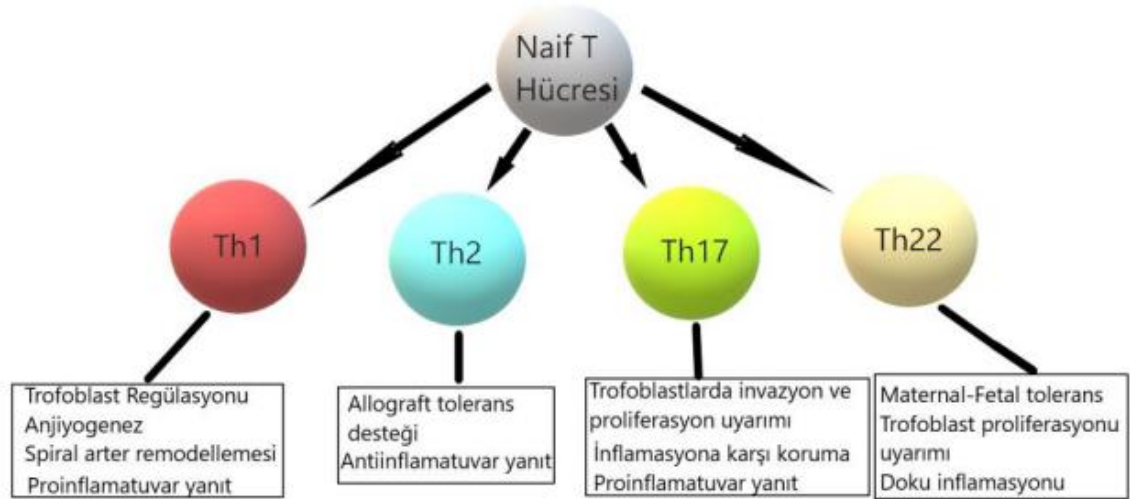
Tablo 2.4. Yardımcı T hücre tipleri ve salgıladıkları sitokinler (Kırmızı: Proinflatuar, Yeşil: Antiinflatuar, Siyah: Hem proinflatuar hemde antiinflatuar)

Yardımcı T Hücreleri	Sitokinler
Th1	IL-2, 10, IFN- γ , TNF- α , TNF- β /LT α
Th2	IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-25, IL-31
Th9	IL-9, IL-10, IL-21
Th17	IL-17a, IL-17f, IL-21, IL-22, TNF- α , IL-9, IL-10, IFN- γ , GM-CSF
Th22	IL-22, IFN- γ
Tfh	IL-21, IL-4, ICOS, PD-1
Treg	TGF- β , IL-10

Th1 hücreleri, immün yanıtta sorumlu IL-2, TNF- α ve IFN- γ gibi çeşitli sitokinleri salgılayarak trofoblastların proliferasyon ve invazyon özelliklerini regüle etmekte rol alır (Graham ve ark., 2021). Proinflatuar karakterde olan IFN- γ , Th1, Th17, Th22 ve uNK hücrelerinden salgılanmaktadır. IFN- γ ile periferik NK hücrelerinin desiduaya göçü gerçekleştirilir. Ekstravillöz trofoblast hücreleri tarafından ifade edilen matriks metalloproteinazların (MMP-2 ve MMP-9) regülasyonunu sağlayan TNF- α 'nın düşük seviyelerinin preeklampside yetersiz ekstravillöz trofoblast invazyonunda rol aldığı düşünülmektedir. TNF- α , p38 mitojen-etkinleştirilmiş protein kinaz sinyal yolağının (p38 MAPK) fosforilasyonu ile MMP sentezini gerçekleştirir. IFN- γ 'nın yüksek ekspresyonunun p38 MAPK sinyal yolağını baskılayabileceği ve preeklampsie patogenezinde rol alabileceği düşünülmektedir (Germain ve ark., 2007; Lockwood ve ark., 2014).

Th17 hücrelerinin de salgıladığı IFN- γ 'nın (Tablo 2.4) fetal plasentayı koruduğu (Torchinsky ve ark., 2003) ve trofoblast hücre migrasyonunu inhibe ederek trofoblast

invazyonunda düzenleyici bir role sahip olduğu bilinmektedir (Todt ve ark., 1996) (Şekil 2.16). Th17 hücreleri salgıladıkları TNF- α ile aşırı EVT invazyonunu regüle etmekte, diğer salgıları olan IL-17 ise trofoblast invazyonunu ve proliferasyonunu indüklemektedir (Wang W. ve ark., 2020) (Şekil 2.16). Bu nedenle, başarılı bir gebelik için plasentasyon esnasında TNF- α ve IFN- γ dengesi kritiktir. Sağlıklı hamile kadınların implantasyon bölgelerinde IFN- γ ekspresyonu gösterilmiştir (Delassus ve ark., 1994; Jokhi ve ark., 1994). IFN- γ , implantasyon döneminde damarların yeniden şekillenmesinde önemli bir role sahiptir (Ashkar ve ark., 2000; Miyazaki ve ark., 2003). Th22 ve Th17 hücrelerinden de salgılanan IFN- γ (Tablo 2.4), EVT apoptozunu arttırarak ve proteaz aktivitesini azaltarak EVT invazyonunu regüle etmektedir (Raphael ve ark., 2015). Dolayısıyla, IFN- γ trofoblast istilas sürecinde kritik bir role sahiptir.



Şekil 2.15. İmmün sistemde rol oynayan T yardımcı hücreleri implantasyon sürecinde salgıladıkları sitokinler ile farklı şekilde rol oynarlar (Wang W. ve ark., 2020).

Gebelik ilerledikçe, immün yanıt antiinflamatuvar karakterden inflamatuvar yanıt dönüşür. Embriyo implantasyondan hemen sonra, Th2 miktarının artması, fetüs ve plasentanın sağlıklı gelişimi (Saito ve ark., 2007) ve Th1 yanıtının baskılanması için kritiktir (Saito, 2000) (Şekil 2.14). Th2 hücrelerinin antiinflamatuvar sitokinleri salgılamasıyla, doğumun hazırlanmasının bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Th2 hücreleri maternal-fetal immün toleranstan sorumlu Th2 hücreleri sırasıyla IL-4 ve IL-13 sitokinlerini salgılayarak Th1 ve Th17 hücreleri aracılı bağışıklığın gelişimini baskılar ve allograft toleransı teşvik eder (Mitchell ve ark., 2017). Bu nedenle, IL-10 veya diğer Th2 sitokinleri gebelik başarısını arttırır (Swain ve ark., 1990) (Şekil 2.12).

Ancak, gebelik sırasında Th2 baskınlığının korunması, otoimmün hastalıklara neden olabilir. Sistemik lupus eritematozus gibi Th2 tipi otoimmün hastalıklar, gebelik sırasında Th2 sitokinleri arttığında daha ileri aşamalara ulaşır (Jara ve ark., 2014). Bu nedenle, doğru zamanda ve yeterli Th2 baskınlığı, fetüsün immüntoleransı ve enfeksiyondan korunması için önemlidir (Şekil 2.14).

2.7.1. Th17 Hücreleri

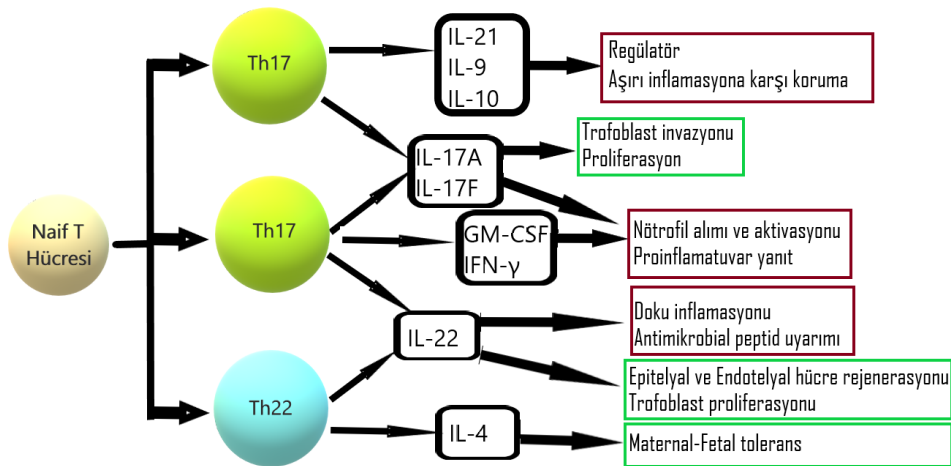
T yardımcı 17 (Th17) hücreleri, IL-6, IL-1 ve dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) ekspresyonunda naif T hücresi öncüllerinden farklılaşır ve retinoik asit reseptörü ile ilişkili nükleer reseptör alfa ve gama (ROR γ) transkripsiyon faktörünü ifade eder (Yang ve ark., 2008; Wang W. ve ark., 2020). Th17 hücreleri, proinflamatuvar sitokinler IL-17 ve IL-22 'nin üretimi yoluyla otoimmün hastalıklarda, kronik inflamatuvar hastalıklarda, alerjik hastalıklarda ve transplantasyon reddetmelerinde önemli bir rol oynayan bir T yardımcı hücre dizisi olarak tanımlanmıştır (Dong C., 2008). Sağlıklı gebeliklerde desidual stromal hücrelerden salgılanan kemokin (C-C motif) ligand 2'nin (CCL2) Th17 hücrelerinde bulunan kemokin (C-C) reseptör 2'ye (CCR2) bağlanmasıyla Th17 hücreleri periferel dolaşımdan maternal-fetal arayüze geçer. Th17 hücrelerinin salgıladıkları IL-17 sitokini ile ekstravillöz trofoblastlarda bulunan IL-17 reseptörüne tutunarak invazyon ve proliferasyon fonksiyonlarını desteklediği bilinmektedir (Wu ve ark., 2014). IL-17, Wnt2/ β -katenin sinyal yolunu etkinleştirmek için PPAR- γ /RXR- α ile etkileşime girer. Wnt2/ β -katenin ekspresyonu trofoblastlarda proliferasyon ve invazyon özelliklerini destekler (Liu ve ark., 2020). Yapılan in vitro bir çalışmada, IL-17 sitokininin susturulması ile trofoblast hücre hattı olan HTR8/SVneo hücrelerinin proliferasyon ve invazyon özelliklerinin azaldığı görülmüştür (Zhang Z. ve ark., 2022). IL-17 sitokininin bir diğer fonksiyonu ise nötrofil uyarımıdır. IL-17 sitokini IL-1 β 'nin monositlerden üretimini stimüle ederek nötrofillerde CXCL2 üretimini arttırır. Endotel hücrelerinde bulunan CXCR-2 reseptörüne bağlanan CXCL2, nötrofillerin plasentaya göçünü sağlar. Nötrofiller ve makrofajlar plasentadaki oksijeni fagosit oksidaz sisteminin NADPH ile katalize olması ile reaktif oksijen türlerine (ROS) dönüştürür. ROS üretimi ile oksidatif stres yükselir. IL-17 sitokininin bir diğer fonksiyonu anjiyotensin II üretimini uyarmasıdır. Oksidatif stresin artması ve anjiyotensin II üretimi ile plasentada vasküler disfonksiyon ve hipertansiyon ortaya çıkar (Dhillon ve ark., 2012).

2.7.2. Preeklampside Th17 Hücreleri

PE gebeliklerde Th17 hücrelerinin rol aldığı belirlenmiştir (Fu ve ark., 2014; Saifi ve ark., 2014). Yapılan bir çalışmada PE gebeliklerde sağlıklı gebeliklere kıyasla periferik dolaşımda IL-17 seviyesinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Zhang Z. ve ark., 2017). Sağlıklı hamile kadınlara kıyasla PE'li hastaların periferik dolaşımında IL-17'nin artması Th17 hücrelerinin yüzdesinin arttığını düşündürmüştür. Bu yüzden Th17 hücrelerinin yukarı-regülasyonunun PE'ye katkıda bulunabileceğini düşünülmüştür (Zhang Z. ve ark., 2017). Th17 hücreleri tarafından üretilen IL-17 sitokininin yüksek seviyesi, plasentanın kan damarlarının iltihaplanmasını kötüleştirerek PE gelişimine katkıda bulunabileceğini düşünülmektedir (Darmochwal-Kolarz ve ark., 2012).

2.7.3. Th22 Hücreleri

T yardımcı alt kümelerinden Th22 hücreleri, interlökin-22 (IL-22) salgılama yeteneğine sahiptir, ancak IL-17 ve IFN- γ ifade etmezler (Trifari ve ark., 2009). Th22 hücreleri tarafından üretilen en önemli sitokin olan IL-22, IL-10-benzeri sitokin ailesine aittir ve IL-22'nin proliferasyonu desteklediğini, hücre canlılığını arttırdığını ve trofoblast hücrelerinin apoptozunu azalttığını bilinmektedir (Wang Y. ve ark., 2013).



Şekil 2.16. Th17 ve Th22 hücrelerinin gebelik immünolojisinde ve trofoblastlar üzerinde rolü (Wang W. ve ark., 2020).

Yüksek proliferasyon yeteneği ile karakterize edilen trofoblastlar gebeliğin sağlıklı ilerlemesi için gerekli olduklarından onlarla ilişkisi olan IL-22'nin gebeliğin başarısı

için faydalı bir sitokin olabileceğini düşündürmektedir (Wang Y. ve ark., 2013) (Şekil 2.16). Son zamanlarda, IL-22R, trofoblast hücrelerinde de tespit edilmiştir (Wang Y. ve ark., 2013). Bu nedenle, IL-22'nin gebeliğin sürdürülmesi üzerindeki olumlu etkisi, trofoblast hücrelerinde ifade edilen IL-22 reseptörü ile IL-22 etkileşimi ile ilgili olabilir.

T yardımcı hücrelerinin hepsi naif T hücresinden köken alır. Farklılaşma sonucunda oluşan T hücre alt tiplerinden Th17 ve Th22 hücreleri gebelik esnasında trofoblast invazyonu, inflamasyon gibi olayların kontrol altında tutulmasını sağlayan sitokinleri salgılayarak gebeliğin normal süreçte ilerlemesini sağlar. Şekil 2.16 de yeşil renkte gösterilen fonksiyonlar trofoblastlar için olumlu etkilere sahip, kırmızı renkte gösterilen fonksiyonlar ise trofoblast invazyonu ve proliferasyonu baskılayıcı özelliktedirler (Wang W. ve ark., 2020).

2.7.4. Preeklampside Th22 Hücreleri

IL-22R ile etkileşimden sonra IL-22, STAT 3 sinyal yolu üzerinden bir sinyal başlatarak antimikrobiyal peptidler ve kemokinlerin üretimini indükler (Colonna, 2009; Kumar ve ark., 2013; Rutz ve ark., 2013). Anti-apoptotik proteinlerin ve hücre proliferasyonu ve rejenerasyonunda doğrudan yer alan proteinlerin ekspresyonunu indükleyerek doku koruması ve rejeneratif etkiler sağlar (Kumar ve ark., 2013; Mühl ve ark., 2013; Rutz ve ark., 2013) (Şekil 2.16). Preeklampitik gebeliklerde yapılan bir çalışmada, periferik kandaki IL-22 seviyesinin sağlıklı gebeliklere kıyasla daha yüksek olduğu raporlanmıştır (Zhang Z. ve ark., 2017). Preeklampside maternal, umbilikal kordon ve yeni doğan kanının neredeyse tüm örneklerinde IL-22'nin saptandığı ve en yüksek IL-22 seviyesinin annede ve daha da belirgin olarak preeklampitik gebeliklerin kordon kanında saptanmıştır (Bersani ve ark., 2015). Bu bulgu, plasenta sıklıkla iskemik lezyonlardan etkilenen preeklampitik annenin yanı sıra fetüsün de plasenta yaralanmasına yanıt verebildiğini düşündürmektedir (Bersani ve ark., 2015). Bununla birlikte, Th22 hücrelerinin rolü ve PE'de IL-22'nin etkisi hala tam olarak anlaşılamamıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada iki deney grubuna ait plasenta örnekleri iki gruptan toplanmıştır. Çalışma grupları için belirlenen kriterler Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Deney grupları ve belirlenen kriterler

Kontrol Grubu (n=6)
Herhangi bir hastalık tanısı konmamış sağlıklı gebe kadınlardan plasenta örnekleri toplanmıştır.
Hastaların normal veya sezaryen doğum yapmış olmaları grubun belirlenen kriterlerine dahil edilmemiştir.
Preeklampsi Grubu (n=6)
Doğum öncesinde preeklampsi tanısı konmuş hastalardan normal veya sezaryen doğum sonrasında plasenta örnekleri toplanmıştır.
Doğum öncesinde hasta bilgileri preeklampsiyi belirtmektedir. Bu parametrelere ek olarak doku örneklerinin toplanması sonrası yapılan histopatolojik incelemeler preeklampsi tanısını doğrulamıştır.

Plasentaların toplandığı hasta bilgileri belirlenen parametreleri ile Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Hasta Bilgileri (S.S.= Standard sapma)

	Kontrol Grubu (n=6) (Ortalama $\pm$ S.S.)	Preeklampsi Grubu (n=6) (Ortalama $\pm$ S.S.)
Anne Yaşı (Yıl)	23 $\pm$ 2.449	30.83 $\pm$ 5.456
Gestasyonel Yaş (Hafta)	38 $\pm$ 0.8944	34.33 $\pm$ 1.966
Bebek Ağırlığı (kg)	3.0 $\pm$ 0.093	2.363 $\pm$ 0.082
Plasenta Ağırlığı (g)	483.7 $\pm$ 26.34	341.2 $\pm$ 37.16
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	117.1 $\pm$ 3.84	153 $\pm$ 5.217

Diastolik Kan Basıncı (mmHg)	77.08 ± 3.197	103.6 ± 3.158
Proteinüri (g/24 saat)	-	0.65 ± 0.2074

3.2. Plasenta dokularının toplanması, takibi ve saklanması

Doğum sonrası elde edilen plasentalar buz içerisinde steril koşullarda laboratuvara getirildi. Serum fizyolojik ile plasentalardaki kan temizlenmeye çalışıldı. Kanı uzaklaştırılmış olan dokular western blot deneylerinin yapılması için kriyotüplere alınarak 1 gün boyunca -80°C’de bekletildikten sonra sıvı nitrojen içerisine alındı. İmmünfloresan ve hematoksilen-eosin boyamaları için laboratuvara getirilen plasenta dokularından alınan örneklerle doku takibine alınmıştır.

Işık mikroskopi doku takibi protokolü:

- Plasentalardan alınan dokular 1 gün boyunca %4’lük Formalin ile fikse edildi.
- Ertesi gün akan çeşme suyunda 4 saat yıkanarak formalinin uzaklaşması sağlandı. %70, %80 ve %90’lık alkol serileri ile 1 gün muamele edilen dokular %100 alkol ile 4 saat muamele edilerek dokulardan suyun uzaklaştırılması işlemi olan dehidrasyon gerçekleştirilmiştir.
- Suyun alkol ile tamamen uzaklaştırılmasından sonra şeffaflaştırma için Ksilol ile muamele edildi. 3 kez 2’şer (3x2) dakika Ksilol ile muamele edilen dokular alkolden arındırıldı.
- Ksilolden geçirildikten sonra dokular parafinde 3x1 saat 56°C’de bekletilen dokular temiz parafin ile bloklara gömülmüştür.

3.3. Hematoksilen-Eosin boyama ve analiz

Doku takibi yapılan örnekler üzerinde preeklampsi tanısının doku üzerinde doğrulanması için hematoksilen-eosin boyama tekniği kullanıldı.

3.3.1. Hematoksilen-Eosin boyama protokolü

Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınıp 1 gece boyunca 56°C etüvde bekletildi.

- Alınan kesitler 10'ar dakika süreyle Ksilol I ve Ksilol II'de bekletilerek dokulardaki parafin uzaklaştırıldı.
- Kesitler Ksilol işleminden sonra sırasıyla %100, %90, %80 ve %70'lik alkol serilerinde 5'er dakika bekletildi.
- Sonrasında kesitler distile su ile 5 dakika boyunca yıkandı.
- Yıkama sonrasında kesitler 10 saniye hematoksin ile boyandı ve mikroskopta boyanma durumu incelendi. Yeterince boyanmadığı tespit edildiği takdirde 4-5 saniye daha bekletildi.
- Kesitler distile su ile yıkandı.
- Su ile yıkama sonrasında Eosin ile inkübe edilerek boyanması sağlandı.
- Kesitler distile suda yıkandı.
- Yıkama sonrası sırasıyla %70, %80, %90'luk alkol serilerinden geçirildi ve %100'lük alkolde 5 dakika bekletildi.
- Sırasıyla Ksilol II ve Ksilol I'de 10'ar dakika bekletildikten sonra kesitler entellan ile kapatıldı.

3.4. İmmü floresan boyama

Kontrol ve preeklampsi gruplarında CD4, AHR ve ROR γ proteinlerinin tespit edilmesi için hazırlanan parafin kesitler kullanıldı.

Kullanılan Solüsyonlar:

- Sitrik asit Solüsyonu

2,1 gr Sitrik asit ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)

900 ml distile su

Sitrik asit tartıldı ve distile suda çözüldü. NaOH ile pH= 6,0'ya ayarlandı.

- 1x PBS (Phosphate Buffer Saline) Tamponu

- Bloklama Solüsyonu (UltraVision Protein Block, Thermo; #TL-125-PBQ)
- DAPI'li kapatma Solüsyonu; (VECTASHIELD Antifade Mounting Medium; #H-1200)
- Triton X-100

3.4.1. İmmünfloresan boyama protokolü

Lamlarda bulunan paraffin dokular dokular ikişer defa 10'ar dakika ksilolden geçirilerek parafinden arındırıldı.

- Lamlar, Ksilol işleminden sonra sırasıyla %100, %90, %80 ve %70'lik alkol serilerinde 5'er dakika bekletildi.
- Sonrasında lamlarda bulunan dokular distile su ile 5 dakika boyunca yıkandı.
- Dokular sitrik asit solüsyonu içinde mikrodalga fırında 800 watt'ta 5 dk kaynatılarak dokudaki antijenik maskelenmenin ortadan kaldırılması sağlandı.
- Sitrik asit içerisinde 20 dakika oda ısısında soğuması beklendi.
- Dokuların bulunduğu lamlar 3x5 dakika PBS ile yıkandı.
- Kesitlerin üzerindeki dokuların çevresi hidrofobik kalemle çizildi.
- Kesitler Triton X-100 ile 10 dakika muamele edilerek hücre çekirdek membranının çözülmesi sağlandı.
- Dokuların bulunduğu lamlar 3x5 dakika PBS ile yıkandı.
- UV blok solüsyonu ile 10 dakika bloklama yapıldı.
- Primer antikorlar ile +4°C de gece boyu inkübasyon yapıldı.

Tablo 3.3. İmmünfloresan boyamalarda kullanılan primer antikorlar ve dilüsyon oranları

CD4 (STJ92127 - St. John's Laboratory)	1:400
AHR (a1451 – Abclonal)	1:200
ROR gamma (bs-6217R – Bioss)	1:200

- İkinci gün 3 kez 5'er (3x5) dakika PBS ile yıkandı.
- Kesitler Florokrom işaretli sekonder antikorlar ile 45 dakika inkübe edildi. Tüm işlem karanlık odada gerçekleştirildi.

Tablo 3.4. İmmüno Floresan boyamalarda kullanılan sekonder antikorlar ve dilüsyon oranları

Rabbit kaynaklı primer antikor için (CD4) (sc-516140 – Santa Cruz)	Goat anti-rabbit FITC 1:400
Rabbit kaynaklı primer antikor için (AHR ve RORγ) (sc-3753 – Santa Cruz)	Mouse anti-Rabbit PE 1:400

- Kesitler karanlık odada 3x5 dk PBS ile yıkandı.
- DAPI'li kapatma solüsyonu ile slaytlar kapatıldı ve Floresan mikroskop altında incelendi.
- Negatif kontrollerin oluşturulmasında primer antikorlar yerine PBS kullanılmıştır. Diğer bütün işlemler normal boyamalar ile aynıdır.

3.5. İmmünohistokimya protokolü

- Lamlarda bulunan paraffin dokular ikişer defa 10'ar dakika ksilolden geçirilerek parafinden arındırıldı
- Lamlar, Ksilol işleminden sonra sırasıyla %100, %90, %80 ve %70'lik alkol serilerinde 5'er dakika bekletildi
- Lamlarda bulunan dokular distile su ile 5 dakika boyunca yıkandı
- Dokular sitrik asit solüsyonu içinde mikrodalga fırında 800 watt'ta 2 kez 5 dk kaynatıldı dokudaki antijenik maskelenmenin ortadan kaldırılması sağlandı
- Sitrik asit içerisinde 20 dakika oda ısısında soğutma
- Dokuların bulunduğu lamlar 2x5 dakika PBS ile yıkandı
- Kesitlerin üzerindeki dokuların çevresi hidrofobik kalemle çizildi
- Endojen peroksidaz aktivitesinin bloklanması için hidrojen peroksit ile 20 dakika bekletildi

- 2x5 dakika PBS ile yıkama
- Hücresel permeabilizasyon için PBS'te hazırlanmış %0.5 Triton X-100 içeren solüsyonda 10 dakika bekletildi (ROR γ ve AHR antikorları için)
- PBS içerisinde 5 dakika yıkama
- UV Block ile 10 dk bloklama
- İzotip kontrol için Rabbit IgG fraction hesaplama:

Rabbit IgG fraction protein konsantrasyonu 5 mg/ml

CD4 protein konsantrasyonu 1 mg/ml (Rabbit IgG ile 1/5 oran): IHC için kullanılan dilüsyon 1:400 olduğundan CD4 izotip kontrol için Rabbit IgG 1:2000

AHR protein konsantrasyonu 2.45 mg/ml (Rabbit IgG ile 1/2 oran): IHC için kullanılan dilüsyon 1:200 olduğundan AHR izotip kontrol için Rabbit IgG 1:400

ROR γ protein konsantrasyonu 1 mg/ml (Rabbit IgG ile 1/5 oran): IHC için kullanılan dilüsyon 1:200 olduğundan ROR γ izotip kontrol için Rabbit IgG 1:1000

- Primer antikorlar ile +4'te gece boyu inkübasyon

CD4 (STJ92127 - St. John's Laboratory)	1:400
AHR (a1451 – Abclonal)	1:200
ROR γ (bs-6217R – Bioss)	1:200

- İkinci gün 3 kez 5'er (3x5) dakika PBS ile yıkama
- Kesitlerin üzerine HRP polimer damlatılarak 60 dakika beklendi
- 3x5 dk PBS ile yıkama
- AEC solüsyonu damlatılacak ve reaksiyon gözleninceye kadar ışık almayacak şekilde beklendi (Reaksiyon dakikada bir mikroskop altında bakılacak)
- 3x5 dk PBS ile yıkama

- Hematoksilende 10 saniye bekletildi (Boyanma yeterli olmazsa bekleme süresi arttırılacak (ROR γ ve AHR kesitlerinde 1 saniye)
- 10 dakika çeşme suyu ile yıkandı
- Ksilolde 5 dakika bekletildikten sonra entellan ile kapatıldı

3.6. Western Blot analizi

Kontrol ve preeklampsi gruplarına ait doku örneklerinin lizatları kantitatif olarak analiz edildi.

3.6.1. Dokuların lizat haline getirilmesi

Kullanılan solüsyonlar:

- Lizis Buffer

10 ml 0,1 M Tris (pH: 7,4) (BioRad #1610716)

1 ml Sodyum Orthovanadate (Sigma Aldrich S6508)

1 gr SDS (BioRad #1610302)

90 ml distile su

0,6 gr Tris 40 ml distile suda çözüldü ve HCl ile pH= 7,4'e ayarlandı. Son hacim 50 ml'ye tamamlandı (0.1 M Tris).

0,184 gr Sodyum Orthovanadate 10 ml 0.1 M Tris içerisinde çözdürüldü (100x Sodyum orthovanadate).

Son olarak 10 ml 0,1M Tris 90 ml suda çözülüp 1 gr SDS ve 1 ml 100x Sodyum Orthovanadate eklenerek Lizis Buffer elde edildi.

- Proteaz inhibitör Kokteyli (25x)

1 tablet Roche PIK (Proteaz İnhibitör Kokteyli tablet)

1 ml distile su

Tablet suda çözülerek 25x PIK hazırlandı. Kullanılacağı zaman distile su ile 1x'e dilüe edilerek kullanıldı.

Sıvı nitrojende kriyotüplerde muhafaza edilen dokular buz içerisine alındı ve tüm aşamalar buz içerisinde gerçekleştirildi. Örnekler bistüri yardımıyla parçalanarak mekanik olarak olabilecek en akışkan hale getirildi. Sonrasında eppendorflar numaralandırılarak darası alındı ve örnekler içlerine aktararak ağırlıkları tartıldı. 0,2gr örnek başına 600µl Lizis Buffer ve 10µl Proteaz İnhibitör Kokteyli eklendi. Her 15 dakikada bir vortekslenerek 1 saat boyunca +4°C'de inkübe edildi. Sonrasında dokunun iyice parçalanıp proteinlerin en iyi şekilde ayrışması için sonikatör uygulandı. Dokular son kez vortekslendi ve 15.000 rpm'de 4°C'de 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Süpernatantlar üst kısımdan alınarak yeni eppendorflara aktarıldı, pelet kısmı atıldı. Süpernatant kısmı yani hazırlamış olduğumuz lizatlar -20°C'de muhafaza edildi.

3.6.2. Protein miktarlarının tayini

Plasenta lizatlarının protein miktarlarının belirlenmesi için Lowry metodu kullanılmıştır.

Lowry Solüsyonları

▪ Lowry A solüsyonu:

- 0.2 M Na₂CO₃

- 0.1 M NaOH

▪ Lowry B solüsyonu

-%1 KNaC₄H₄O₆

▪ Lowry C Solüsyonu

-%1 CuSO₄5(H₂O)

Protokol:

1. 5 adet standart solüsyon gibi BSA (Bovin serum albumin) (1mg/ml) kullanılarak hazırlandı. Hazırlanma şekilleri aşağıda not edilmiştir:

- 1 nolu standart 20 µl BSA stok solüsyonu
- 2 nolu standart 20 µl BSA stok solüsyonu + 20 µl PBS
- 3 nolu standart 20 µl BSA stok solüsyonu + 40 µl PBS
- 4 nolu standart 20 µl BSA stok solüsyonu + 60 µl PBS
- 5 nolu standart 20 µl BSA stok solüsyonu + 100 µl PBS

2. Numuneler 1:40 dilüe edilerek çalışıldı.

3. Lowry ölçümü için numuneler çift tekrarlı çalışıldı.

4. Her bir numune PBS ile 1:40 dilüe edildi ve eppendorf tüpe alındı.

5. Lowry A, B ve C solüsyonları sırasıyla 1:1:100 oranında karıştırıldı ve Lowry karışımı elde edildi.

6. Elde edilen Lowry karışımından her bir numuneye 600 µl ilave edildi ve vortekslendi.

7. 10 dakika buz üzerinde inkübasyon yapıldı.

8. Standartlara, numunelere ve blank'e 60 µl folin (1:1 oranında distile su ile dilüe edilmiş) eklendi.

9. Folin ile karanlık ortamda 30 dakika inkübasyon işlemi gerçekleştirildi.

10. Bu işlem sonrasında ise 750 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçümler yapılarak hazırlanan numunelerdeki protein miktarları tespit edildi.

11. Lowry ile protein tayini yapılan numunelere her bir eppendorfun içinde eşit miktarda protein miktarı olması için distile su ve Laemmli buffer eklendi.

3.6.3. Western Blot deneyinde kullanılan solüsyonlar

- Ayırma Solüsyonu

18,17 gr Tris

0,4 gr SDS

Her ikisi 800 ml distile suda çözüldü. pH=8,8'e ayarlandı ve son hacim 1000 ml'ye tamamlandı.

- Toplama Solüsyonu

6,06 gr Tris

0,4 gr SDS

Her ikisi 800 ml distile suda çözüldü. pH=6,8'e ayarlandı ve son hacim 1000 ml'ye tamamlandı.

- 5x Yürütme Solüsyonu

9 gr Tris

43.2 gr Glisin

3 gr SDS

600 ml Distile su

Kullanım sırasında distile su ile 1x şeklinde dilüe edilerek kullanıldı (100 ml 5x Yürütme Solüsyonu+ 400 ml distile su).

- Blotlama Solüsyonu

14.3 gr Glisin

3 gr Tris

700 ml distile su

Oluşturulan solüsyona 200 ml metanol eklendi ve toplam hacim 1000 ml'ye tamamlandı.

- Bloklama Solüsyonu (%5'lik süt tozu)

5 gr süt tozu (Applichem A0830,0500)

100 ml TBS-T

Bu solüsyon hazırlandıktan sonra +4'te maksimum 1 gün bekletildi. Genel olarak taze hazırlanarak kullanıldı.

- 10x TBS Tamponu

60.55 gr Tris

87.66 gr NaCl (Merck 1.06404.1000)

800 ml distile su

Solüsyon HCl ile pH:7.4'e ayarlandı. pH ayarlandıktan sonra toplam hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

- TBS-T Solüsyonu

1000 ml 1x TBS içerisine 1000 µl Tween 20 (Amresco Tween 20-0777) eklendi ve kullanıldı.

- Akrilamid-Bisakrilamid

7,5 gr Akrilamid-Bisakrilamid (37,7:1) (Sigma Aldrich- Fluka Analytical 100928870)

Akrilamid-Bisakrilamid falkona alındı ve 25 ml'ye tamamlanana kadar distile su ekleyip çözüldü. Falkon, aliminyum folyo ile sarılı şekilde muhafaza edildi.

- %10'luk APS (Amonyum persülfat)

1 gr APS (Sigma Aldrich- Fluka Analytical 100928870)

10 ml distile suda 1 gr APS çözüldü.

Ayırma Jeli

4950 μ l Distile su

3000 μ l Ayırma solüsyonu

3960 μ l Poliakrilamid

15 μ l TEMED (Sigma Aldrich T7024-100)

90 μ l %10'luk APS

Belirtilen solüsyonlar sırasıyla bir falkon içerisinde birleştirildi. Jel donmadan hızlıca camlar arasına aktarıldı.

Toplama Jeli

2310 μ l Distile su

1000 μ l Toplama solüsyonu

660 μ l Poliakrilamid

5 μ l TEMED

30 μ l %10'luk APS

3.6.4. Western Blot protokolü

1.Gün

- İlk olarak proteinlerin yürütüleceği jeller hazırlandı. Jel için gerekli olan ayırma ve toplama solüsyonu yüzde içeriği incelenecek olan proteinlerin kilodalton (kDa) ağırlığına uygun olarak seçildi.
- Toplama ve ayırma jelleri belirli oranlardaki Ayırma solüsyonu, Toplama solüsyonu, Poliakrilamid, Distile su, TEMED ve APS kullanılarak hazırlandı. Jel hazırlama standında sabitlenmiş camlar arasına önce ayırma jeli, sonrasında üzerinde toplama jeli eklendi. 10'luk tarak camlar arasına yerleştirildi.
- Her iki jelin yaklaşık 15 dakika donması için beklendi.

- Stanttan çıkarılan jeller yürütme tankına yerleştirildi. Üzerine 1x yürütme solüsyonu eklendi.

- Laemmli (Sigma Aldrich S-3401) ile hazırlanmış örnekler -20'den çıkarıldı ve 95°C'de 5 dk boyunca kaynatıldı.

- Camlar arasına yerleştirilen tarak yürütme solüsyonu içerisinde çıkarıldı. Böylece kuyucuklar içerisinde hava kabarcığı oluşumu minimuma indirildi.

Örnekler kuyucuklara yüklendi. Her bir kuyucuğa 20 µl örnek yüklendi.

- Önce 140 Voltta 15 dk, sonra 160 voltta 1 saat boyunca yürütüldü.

- Yürütme sonrasında jeldeki proteinler Blotlama yapılarak Nitroselüloz (Amersham Hybond ECL nitrocellulose membranes (RPN303D) membrana aktarıldı. Bu işlem için jel, Nitroselüloz membran, Blotlama kâğıtları ve destek materyalleri ile sandviç hazırlanarak blotlama tankına yerleştirildi. Tankta ayrıca buz yerleştirilerek oda sıcaklığında 1 saat boyunca 350 mA'de blotlanması sağlandı.

- Proteinlerin membrana aktarılıp aktarılmadığı Poncaeu boyaması (Sigma Aldrich P7170) ile kontrol edildi.

- Poncaeu boyası membrandan 3x5 dk TBS-T yıkaması ile temizlendi.

- Yıkama sonunda membranlar çalkalayıcı üzerine alındı ve non-spesifik bağlanmaların önlenmesi için TBS-T ile hazırlanmış yağsız süt tozunda 1 saat boyunca bloklama gerçekleştirildi.

- Bloklama sonrasında yağsız süt tozunda dilüe edilmiş Primer antikorlar (RORγ 1:2000, AHR 1:2000) membrana eklendi ve soğuk odada gece boyunca inkübe edildi.

2. Gün

- Primer antikorlar membrandan uzaklaştırıldı ve 3x5 TBS-T yıkaması yapıldı.

- Yıkama sonrasında yağsız süt tozunda dilüe edilmiş sekonder antikorlar (Keçi anti-tavşan sekonder antikor, 1/4000) membranlara eklendi ve oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi.

- 3x5 TBS-T yıkaması yapıldı.
- Membran, karanlık ortamda 5 dk boyunca shaker üzerinde ECL (Advansta K-12045-D50) ile inkübe edildi.
- Görüntüleme cihazında (Azure c280) bantlar incelendi.

3.7. İstatiksel analiz

Western Blot bantlarının yoğunlukları İmage J programı ile ölçüldü. Elde edilen AHR ve ROR γ proteinlerinin bant yoğunlukları Beta aktin bant yoğunluklarına göre normalize edildi. Normalizasyon sonrası elde edilen veriler, GraphPad programı kullanılarak Student T-Test ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

İmmünohistokimyasal boyanmaların analizi için, 20X büyütmede çekilen görüntülerde desiduanın 6 farklı alanında pozitif boyanma gösteren hücreler değerlendirilmiştir. ImageJ programında her bir görüntünün renkleri ayrılıp renk eşiği boyanma gösteren hücrelere göre ayarlanmıştır. Elde edilen görüntülerden boyanma değerleri alınıp GraphPad programı kullanılarak Student T-Test ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

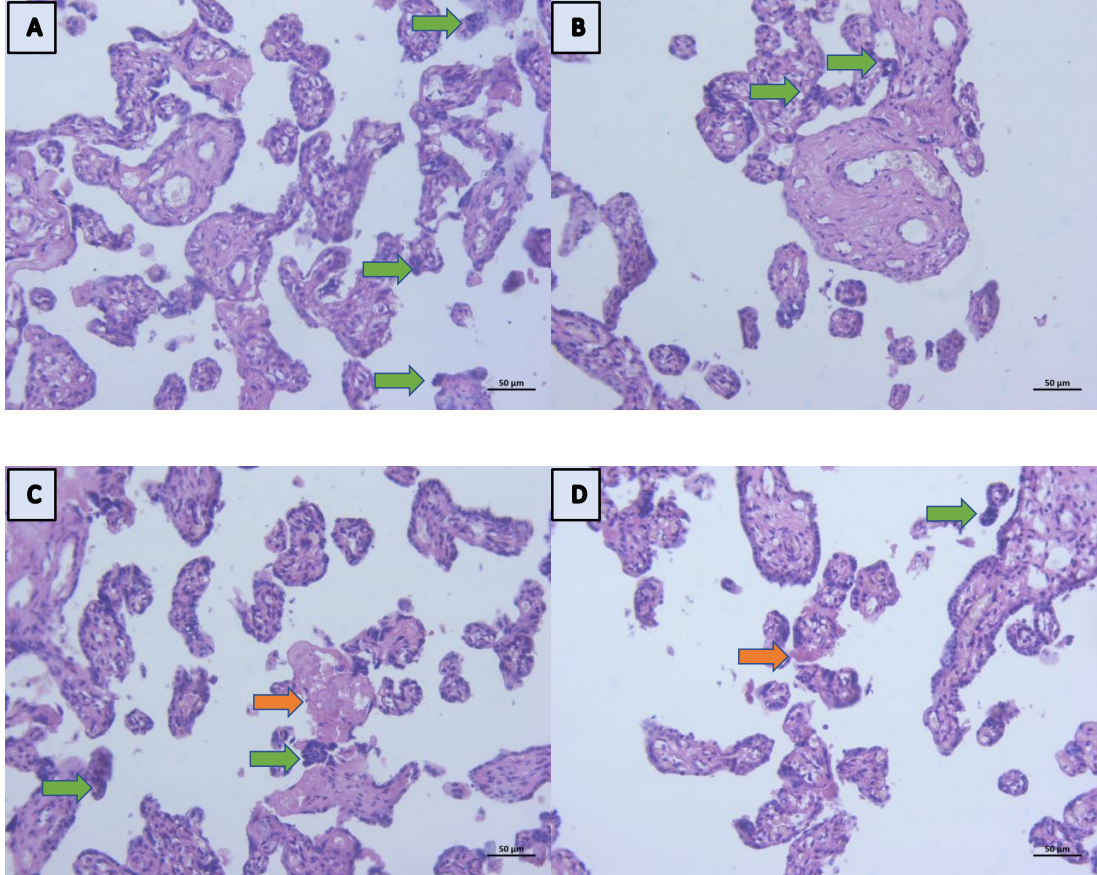
İmmünfloresan boyanmaların analizi için 6 farklı alanda 40X büyütmede çekilen görüntüler kullanılmıştır. ImageJ programı kullanılarak, pozitif boyanma gösteren hücrelerin boyanma alanları işaretlenmiş ve ortalama boyanma yoğunluk değerleri elde edilmiştir. Değerler GraphPad program kullanılarak Student T-Test ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

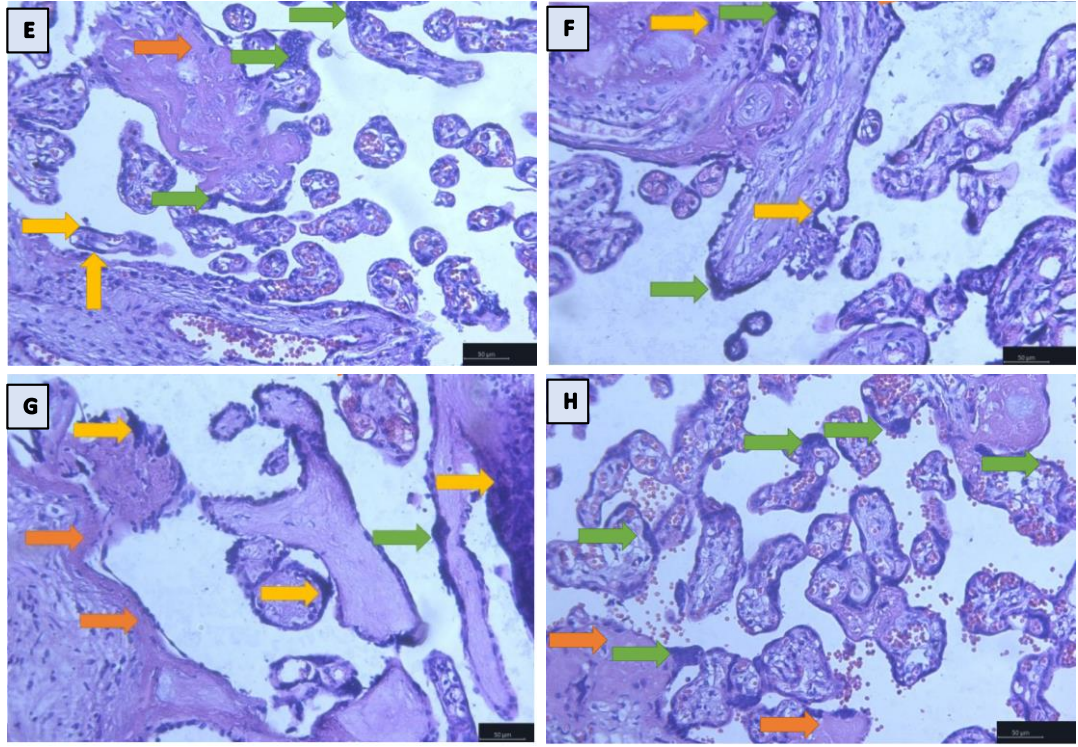
Analizlerin sonucunda $p < 0,05$ (*) olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hematoksilen-Eosin Boyanması ve Morfolojik Analiz

Preeklampsi tanısı konmuş gebeliklerden toplanan plasentaların kontrol plasentalar ile karşılaştırılmasıyla ilk olarak morfolojik değerlendirme yapılmıştır. Bunun için hematoksilen-eosin boyama tekniği kullanılmıştır.

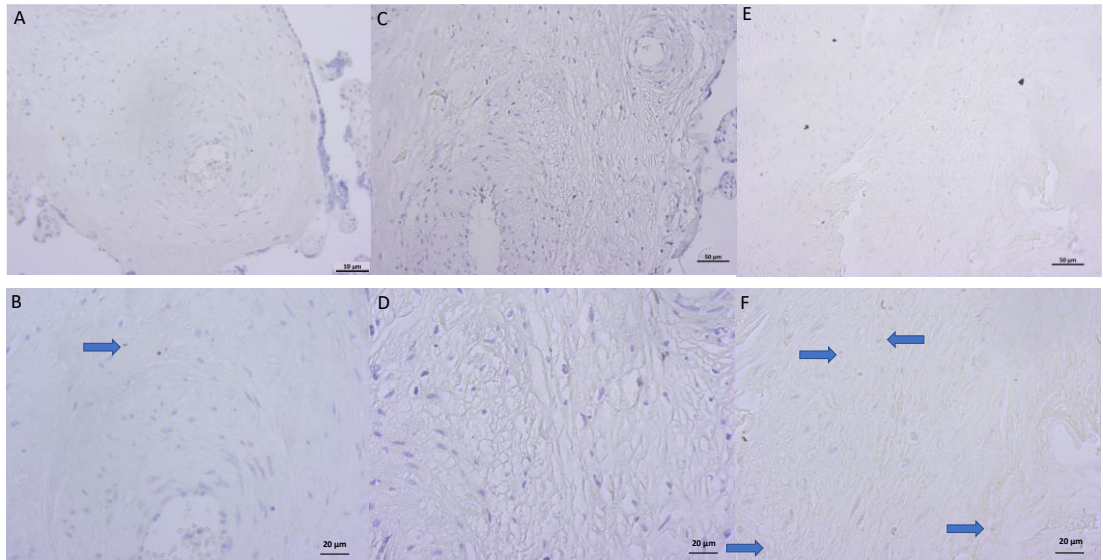




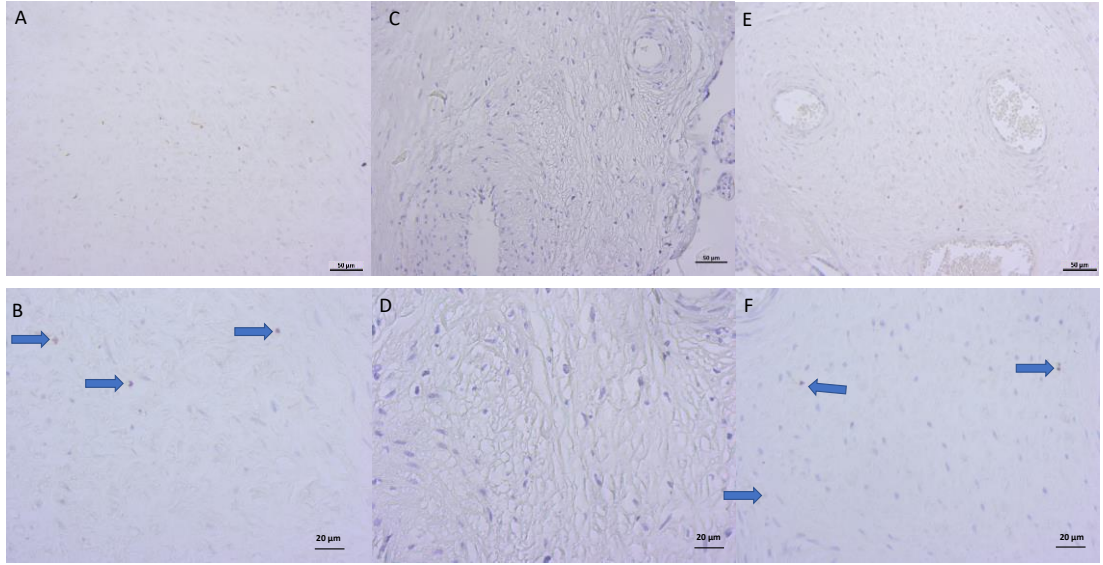
Şekil 4.1. Hematoksilen-eosin boyanmaları sonucunda preeklampsi morfolojisi ortaya konulmuştur. (A-D) Sağlıklı gebeliklerden alınan plasentalar (20X). (E-H) Preeklampitik gebeliklerden alınan plasentalar (20X). Sinsisyal nodlar yeşil oklar, fibrin birikimi turuncu oklar, kalsifikasyonlar sarı oklar ile gösterilmiştir.

4.2. İmmünohistokimya Boyama Bulguları

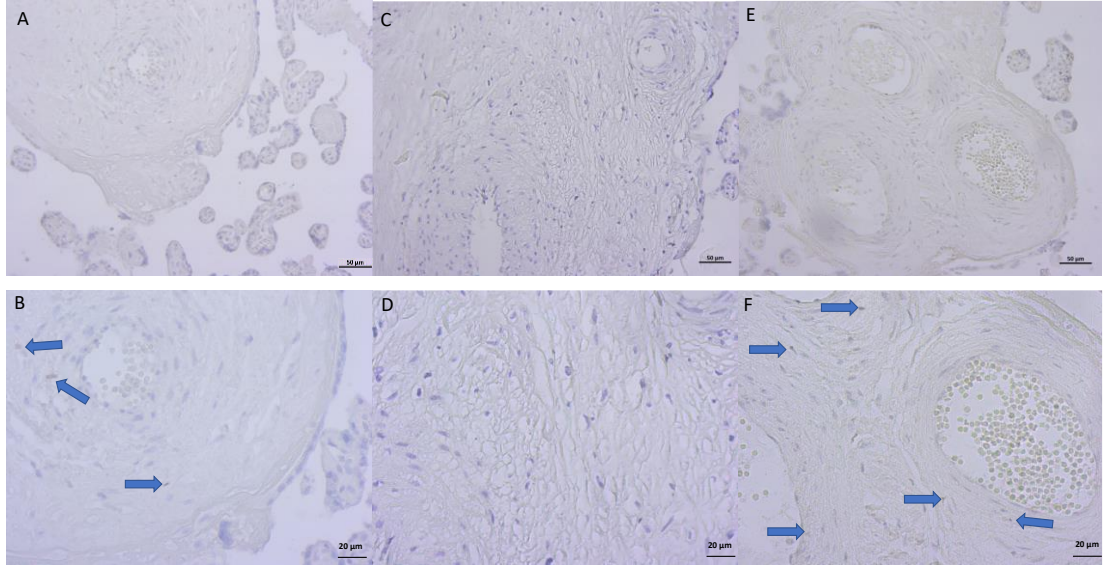
İmmünofloresan boyamalarının teyit edilmesi için yapılan immünohistokimya boyamalarından elde edilen sonuçlar.



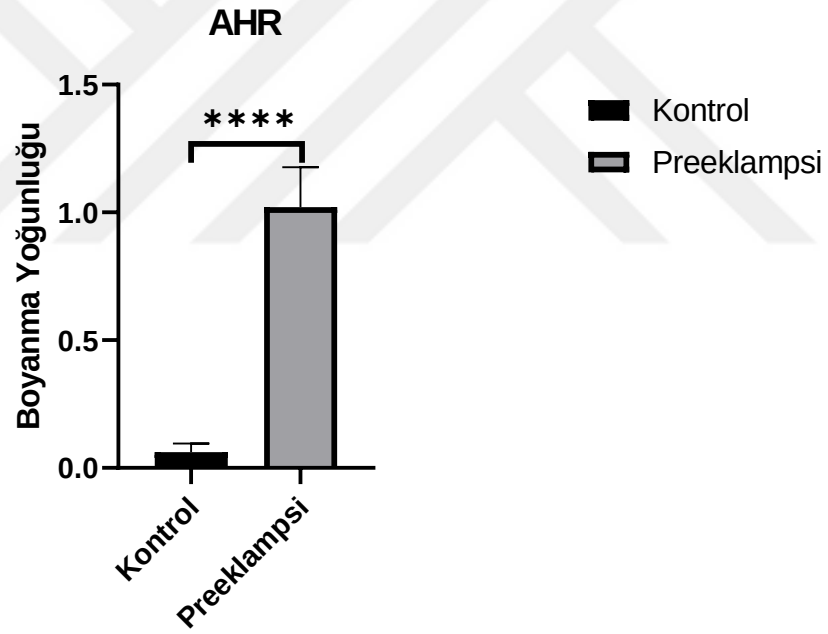
Şekil 4.2. Preeklampitik ve sağlıklı plasenta dokusunda Th22 hücrelerinin transkripsiyon faktörü AHR'nin immünohistokimya boyamalarında lokalizasyonları tespit edildi (20X ve 40X). (A-B: Sağlıklı plasenta, C-D: Negatif kontrol, E-F: Preeklampitik plasenta)

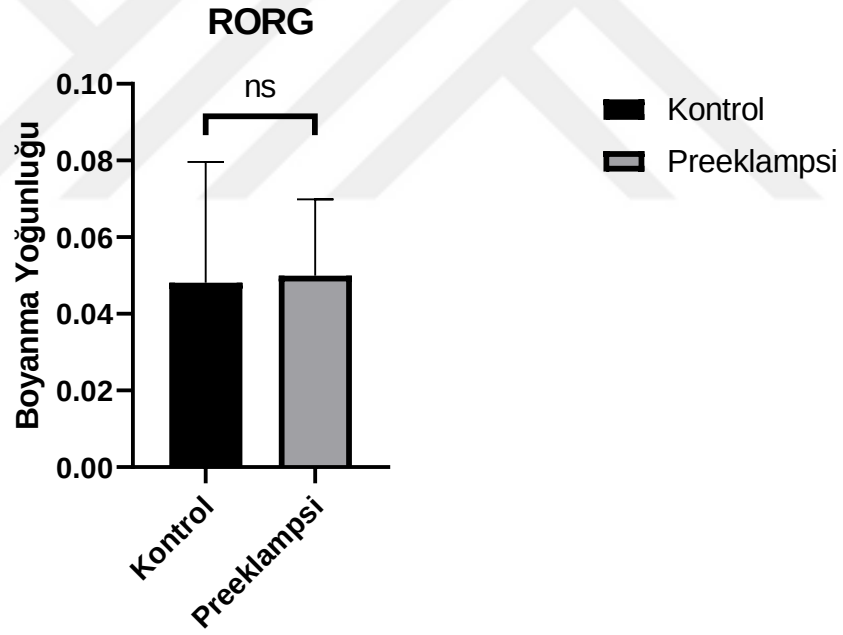
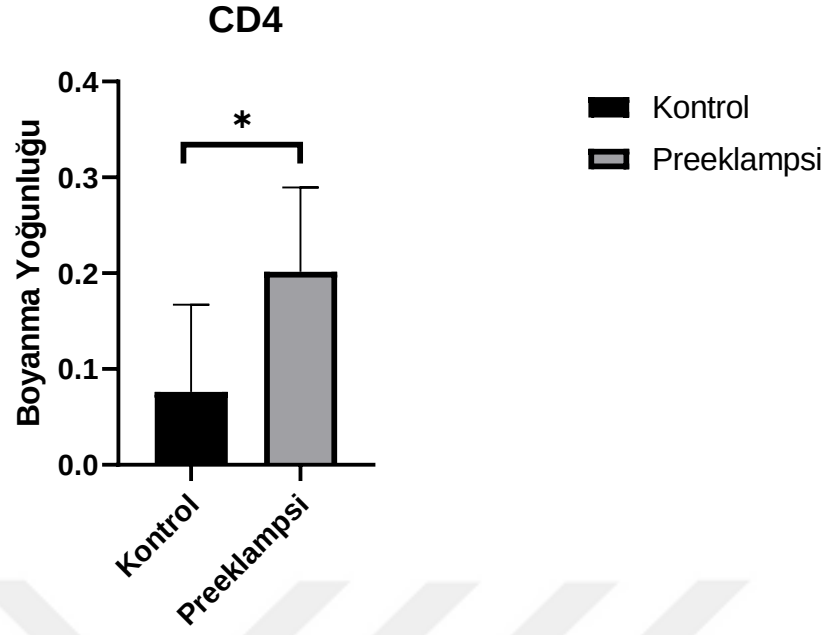


Şekil 4.3. Preeklampitik ve sağlıklı plasenta dokusunda Th17 hücrelerinin transkripsiyon faktörü ROR γ 'nın immünohistokimya boyamalarında lokalizasyonları tespit edildi (20X ve 40X). (**A-B:** Sağlıklı plasenta, **C-D:** Negatif kontrol, **E-F:** Preeklampitik plasenta)



Şekil 4.4. Preeklampitik ve sağlıklı plasenta dokusunda Th hücrelerinin transkripsiyon faktörü CD4'ün immünohistokimya boyamalarında lokalizasyonları tespit edildi (20X ve 40X). (A-B: Sağlıklı plasenta, C-D: Negatif kontrol, E-F: Preeklampitik plasenta)



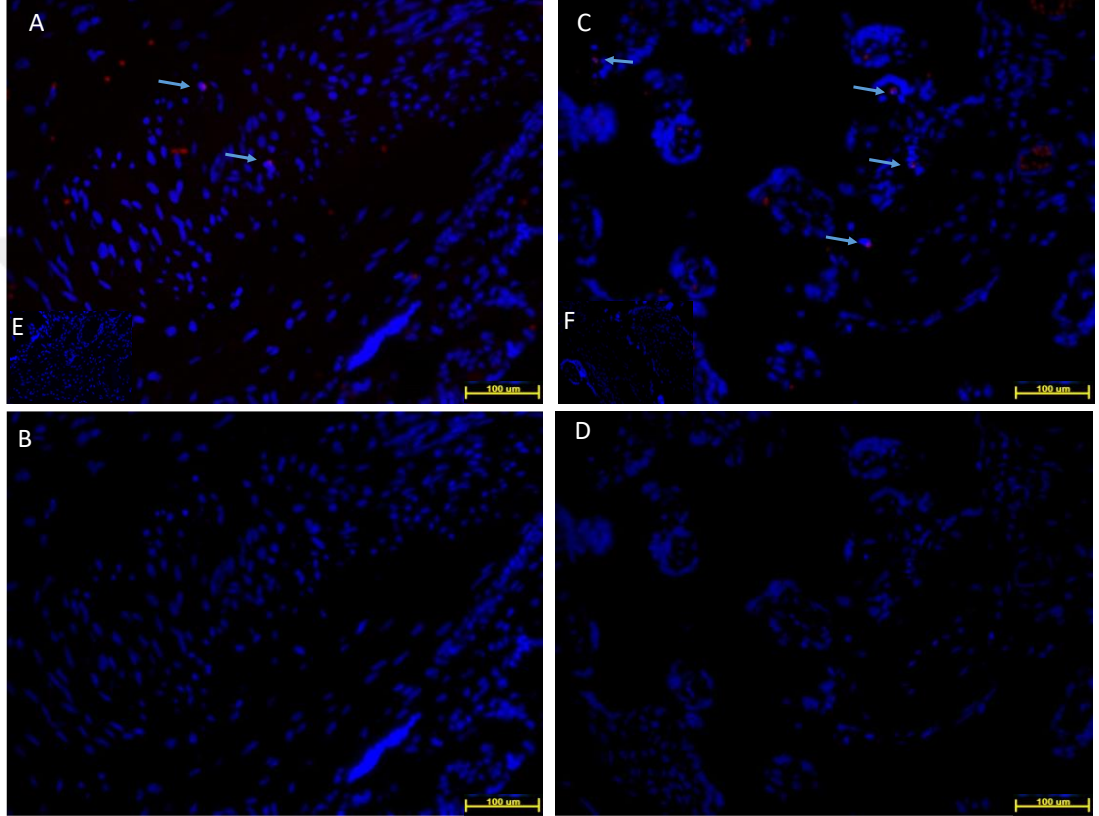


Şekil 4.5. Plasenta üzerinde immünohistokimya boyanma yoğunluğunun kantitatif analiz sonuçları (****p<0.0001, *p<0.05)

4.3. İmmüñfloresan Boyama Bulguları

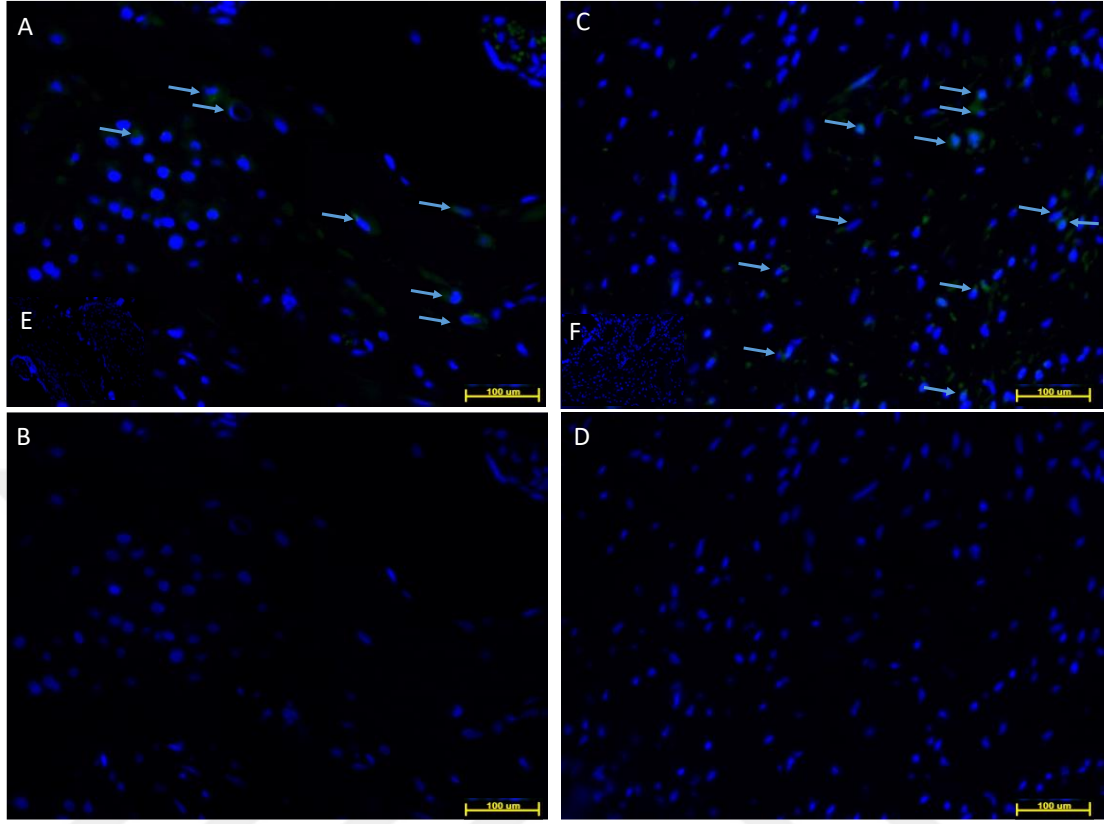
İmmüñfloresan boyama ile CD4, AHR ve ROR γ proteinleri preeklampatik ve kontrol plasentalarda lokalize edilmiş ve ekspresyon seviyeleri incelenmiştir.

4.3.1. Sağlıklı ve Preeklampatik Plasentalarda AHR+ İmmüñfloresan Boyanmaları



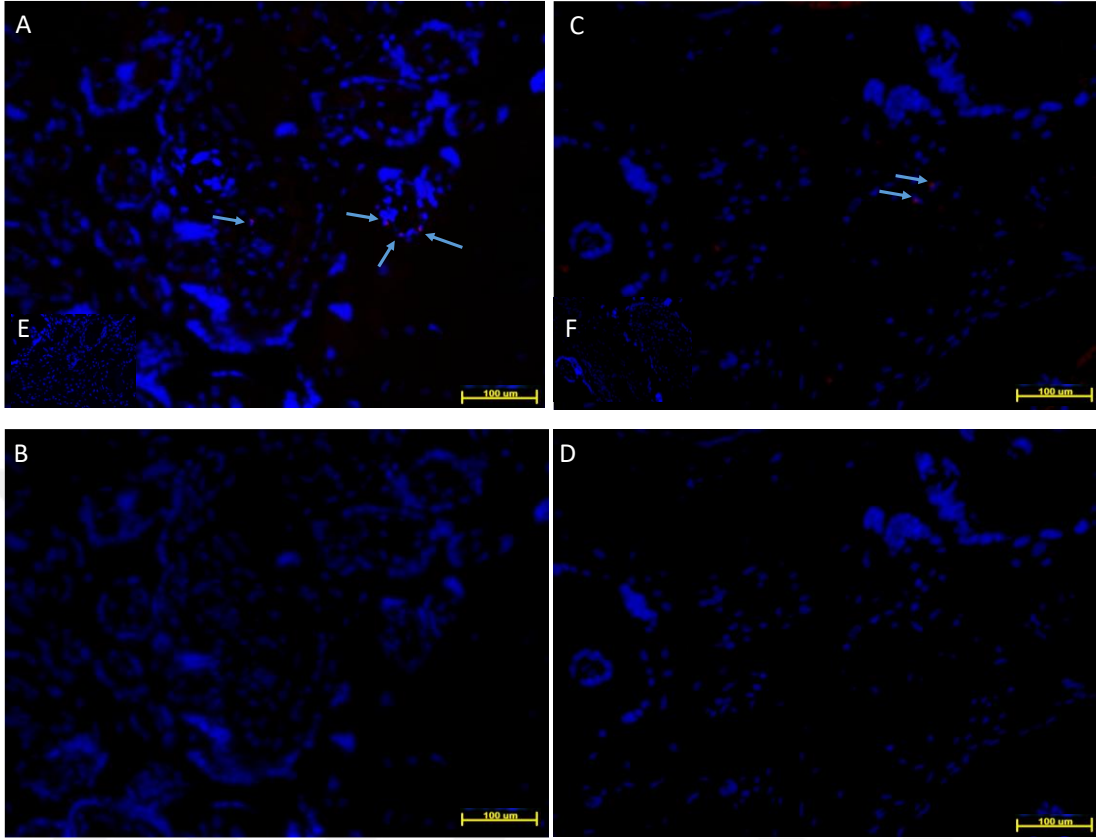
Şekil 4.6. Preeklampatik ve sağlıklı plasenta dokusunda Th22 hücrelerinin transkripsiyon faktörü AHR'nin immüñfloresan boyamalarında lokalizasyon ve ekspresyon yoğunlukları incelendi (40X). (A-B: Sağlıklı plasenta, C-D: Preeklampatik plasenta, E-F: Negatif kontrol; Mavi: DAPI, Kırmızı: AHR)

4.3.2. Sağlıklı ve Preeklampitik Plasentalarda CD4+ İmmünfloresan Boyanmaları



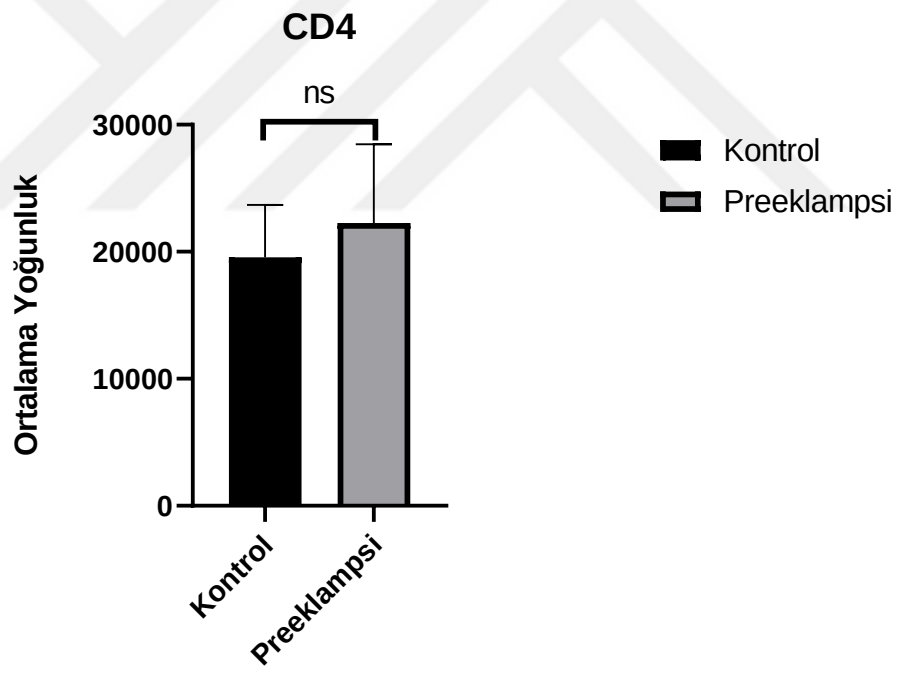
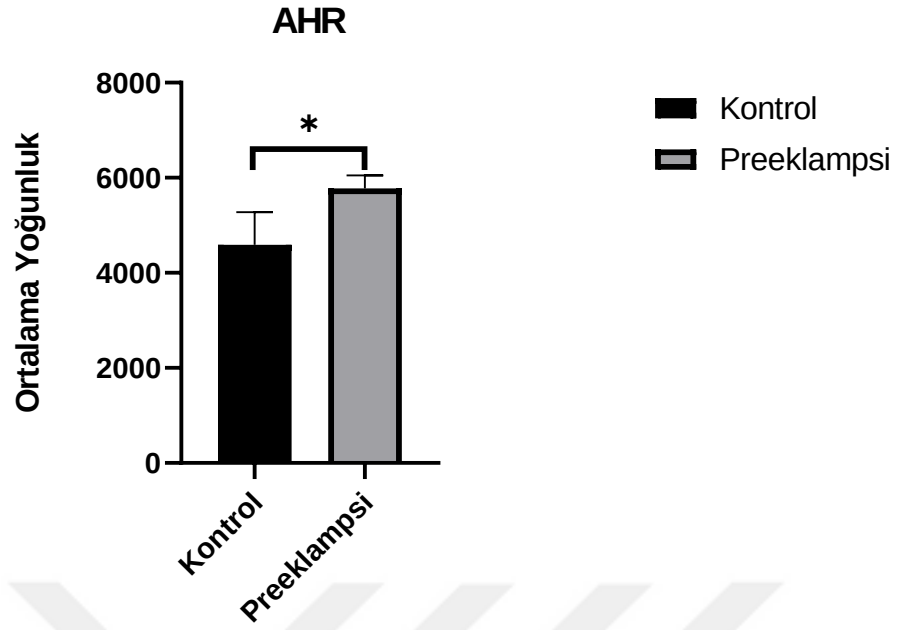
Şekil 4.7. Preeklampitik ve sağlıklı plasenta dokusunda T yardımcı hücrelerine özgün reseptör CD4'ün immünfloresan boyamalarında lokalizasyon ve ekspresyon yoğunlukları incelendi (40X). (A-B: Sağlıklı plasenta, C-D: Preeklampitik plasenta; E-F: Negatif kontrol; Mavi: DAPI, Yeşil: CD4)

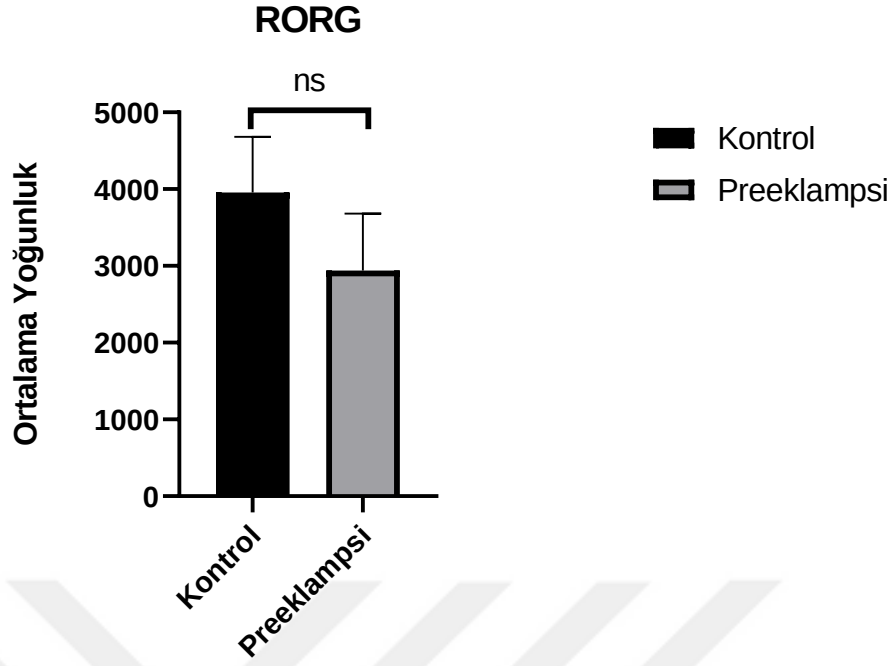
4.3.3. Sağlıklı ve Preeklampitik Plasentalarda $ROR\gamma^+$ İmmünfloresan Boyanmaları



Şekil 4.8. Preeklampitik ve sağlıklı plasenta dokusunda Th17 hücrelerinin transkripsiyon faktörü $ROR\gamma$ 'nın immünfloresan boyamalarında lokalizasyon ve ekspresyon yoğunlukları incelendi (40X). (A-B: Sağlıklı plasenta, C-D: Preeklampitik plasenta, E-F: Negatif kontrol; Mavi: DAPI, Kırmızı: RORG)

İmmünfloresan boyamalar sonucunda AHR^+ hücrelerinin plasenta dokularında kontrol gurubuna kıyasla preeklampitik örneklerde ekspresyon seviyelerinin artışı Şekil 4.6'da B ve D fotoğraflarında gösterilmiştir. $CD4^+$ yardımcı T hücrelerinin plasenta dokularında sağlıklı gebeliklere kıyasla preeklampitik plasentalarda ekspresyon seviyelerinin artış yaptığı Şekil 4.7'de gösterilmiştir. $ROR\gamma^+$ hücrelerin boyanmaları Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Buna göre $ROR\gamma^+$ hücrelerin kontrollere kıyasla ekspresyon seviyelerinde önemli bir fark gözlemlenmemiştir.



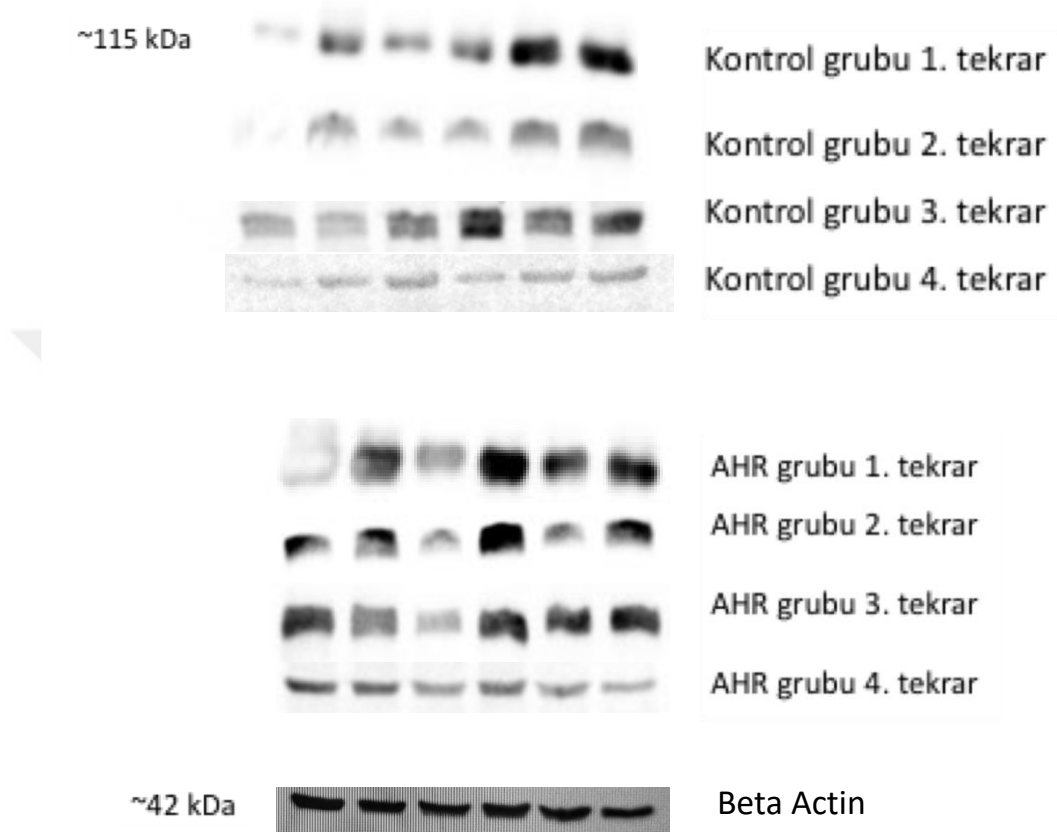


Şekil 4.9. Plasenta dokusunda gözlenen immünfloresan boyanmaların kantitatif analizi (*p<0.05)

	T lenfositler	Trofoblast	Endotel hücre
AHR	+++	++	+
ROR γ	+	-	-
CD4	++	-	-

Tablo 4.1. İmmünohistokimyasal boyanma sonucunda gözlenen hücre tipi boyanma yoğunlukları

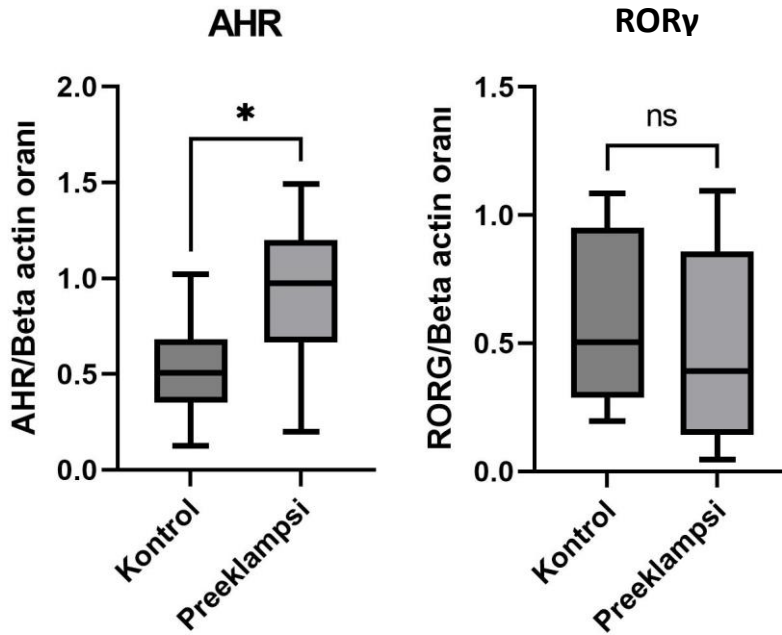
4.4. Deney Gruplarında AHR ve ROR γ Proteinlerinin Western Blot Analizi



Şekil 4.10. Kontrol ve preeklampsı gruplarında AHR proteini ile yapılan western blot deneyinde elde edilen bantlar (n=6)



Şekil 4.11. Kontrol ve preeklampsi gruplarında RORγ proteini ile yapılan western blot deneyinde elde edilen bantlar (n=6)



Şekil 4.12. Preeklampitik plasenta örneklerinde gözlenen AHR ve RORγ proteinlerinin western blot tekniği ile analizi (*p<0.05)

Western blot deney sonuçları immünfloresanda yapılan değerlendirmeye destek olmuştur. AHR protein ekspresyonunun kontrollere kıyasla preeklampitik örneklerde önemli bir artış yaptığı tespit edilmiştir ($p<0.05$). RORγ ekspresyon seviyesinde ise iki grup kıyaslamasında önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.12).

5. TARTIŞMA

Gebelik boyunca implantasyon başarısı ve fetüsün gelişimi için immün çevrenin dengede olması gerekmektedir. Uterusun ve maternal damarların trofoblastlar tarafından invaze edilmesinde immün dengenin korunumu hayati bir önem taşımaktadır. Preeklampitik vakalar gebelik patolojilerinin %5-8'ini kapsamaktadır. Preeklampitik gebelik vakalarında karşılaşılan ekstravilöz trofoblastların yetersiz spiral arter remodellemesinde immün hücrelerin rol oynadığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda, preeklampitik gebeliklerden elde edilen plasentalar makroskopik ve mikroskopik düzeyde incelenmiştir. Literatürde, preeklampitik gebeliklerden alınan plasentaların sağlıklı gebeliklerden alınan plasentalara kıyasla daha hafif olduğu ve daha küçük boyutlara sahip olduğu belirtilmiştir (Narasimha ve ark., 2011). Çalışmamızda preeklampitik gebelik grubu için alınan plasentaların daha az ağırlığa sahip oldukları Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Mikroskopik incelemeler için hematoksilin-eosin boyaması yapılarak, plasentaların preeklampsi morfolojisine sahip oldukları doğrulandı. Bunun için plaseenta dokusu içerisinde fibrin birikimi, kalsifikasyon ve sinsisyal nod sayısı literatüre uygun olarak incelenmiştir.

Fibrin birikimi preeklampsi patolojisini doğrulamak için kullanılan bir parametredir. Redline ve ekibinin (2004) yaptıkları bir çalışmada preeklampitik gebeliklerden alınan plasentalarda villüslerin ve intervillöz boşlukların kapanmasına neden olan fibrin birikimini göstermiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda preeklampitik plasentalarda kalsifikasyonda artış olduğu belirtilmiştir (Donthi ve ark., 2020). Son olarak, literatürde belirtildiği üzere sinsisyal nod sayısındaki artış alınan plasentaların preeklampitik gebeliklerden olduğunu belirlemek için kullanılmıştır (Donthi ve ark., 2020). Mikroskopik incelemelerimizde çalışmamızda kullandığımız preeklampsi grubuna ait plasentalarda literatüre uygun patoloji saptanmıştır.

Th22 hücrelerinin ve esas salgıları olan IL-22 sitokininin preeklampitik gebeliklerde rol alabileceği literatürde incelenmiştir. Bersani ve ekibi (2015) Th22 hücrelerinin esas salgısı olan IL-22 sitokinini maternal, göbek kordon ve neonatal kanında seviyelerini kantitatif olarak incelemiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre preeklampitik gebeliklerde

maternal ve neonatal kan grubunda kontrol grubuna kıyasla bir artış gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Göbek kordonundan alınan kanda ise preeklampitik gebeliklerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Bersani ve ark., 2015). Araştırmacılar IL-22 seviyesinin preeklampitik gebeliklerde yaptığı bu artışın trofoblastlar ve desidual hücreler arasındaki etkileşimde bir fonksiyon bozukluğu olduğundan kaynaklandığını düşünmüşlerdir (Bersani ve ark., 2015). Yapılan bir diğer çalışmada IL-22 seviyeleri preeklampitik ve sağlıklı gebeliklerde incelenmiştir. Elde edilen kantitatif sonuçlara göre preeklampitik gebeliklerde kontrol gebeliklere kıyasla periferel dolaşımda IL-22 sitokininin istatistiksel olarak anlamlı bir artış yaptığı belirtilmiştir ($p<0.001$) (Zhang Z. ve ark., 2017). Aynı çalışmada, flow sitometri tekniği ile Th22 hücreleri tespit edilmiştir. Th22 hücrelerinin tespiti için kriterler CD4 ve IL-22 pozitifken IL-17 sitokini için negatif olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Th22 hücre popülasyonunun preeklampitik gebeliklerin periferel kanında sağlıklı gebeliklere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış yaptığı belirlenmiştir ($p<0.05$) (Zhang Z. ve ark., 2017). Preeklampsisi hastalarında Th22 hücre ve Th17 hücreleri aynı oranda arttığı saptanmışken, sağlıklı gebelerde Th17 ve Th22 hücre düzeyleri arasında bir ilişki saptanmamıştır. Bu sonuç Th22 hücre düzeyinin Th17 hücre düzeyine bağlı olarak değişerek preeklampside rol alabileceğini göstermiştir. Çalışmada incelenen plazmada bulunan IL-22 sitokininin Th22 hücrelerinden salgılandığını doğrulamak için istatistik yapılmıştır. Bunun sonucunda IL-22 sitokin artışı ile Th22 hücre artışı arasında bir korelasyon bulunmuştur. Th17 hücreleri ile yapılan istatistikte, plazmada bulunan IL-22 sitokininin Th17 hücreleri ile korelasyonunun olmadığı bulunmuştur. Th17 hücrelerinin preeklampside artış yapmasının bulunmasına rağmen plazmada bulunan IL-22 sitokin artışında Th22 hücrelerinin esas rolü olduğunu savunmuşlardır (Zhang Z. ve ark., 2017). Bir diğer çalışma preeklampsisi ve sağlıklı gebeliklerde periferel kanda IL-22 sitokinini incelemiştir. Kantitatif analiz sonucunda IL-22 sitokininin sağlıklı gebeliklere kıyasla preeklampitik gebeliklerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma yaptığı belirtilmiştir ($p<0.05$). Araştırmacılar bu farklılığın nedeni olarak gebelerde semptomların çıkmasından kısa süre sonra kan örneği toplamalarını göstermişlerdir. Bu sebeple diğer inflamatuvar sitokinler olan IL-1, IL-6, IL-17 ve TNF- α seviyelerinde bir fark göremediklerini düşünmüşlerdir (Stefańska ve ark., 2021). IL-22 sitokinini esas olarak üreten Th22 hücrelerini incelediğimiz çalışmamızda, bulgularımız literatürde IL-22 sitokininin artışını belirten sonuçlar ile

uyumlu çıkmıştır. Çalışmamızda semi-kantitatif olarak incelediğimiz Th22 hücrelerinin transkripsiyon faktörü olan AHR, preeklampitik ve sağlıklı gebelikler kıyaslandığında preeklampsi grubunda protein miktarında istatistiksel olarak önemli bir artış yapmıştır ($p<0.05$) (Şekil 4.7). Plasenta örneklerinden elde ettiğimiz sonuçlara göre, plasenta dokusunda artış yapan AHR transkripsiyon faktörünün preeklampsi patogenezinde rol alabileceği gösterilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz immünfloresan boyanma görüntülerinde, AHR ve CD4 pozitif hücrelerin preeklampitik plasentaların desiduasında sağlıklı plasentalara kıyasla daha fazla lokalize oldukları görülmüştür. Th22 hücrelerinin preeklampitik gebelik plasentalarında yaptığı artış, bu hücrelerin salgıladıkları IL-22, TNF- α gibi sitokinler ile immün dengenin bozulmasına katkıda bulunarak preeklampsi patolojisine neden olabilir. Literatürde Th22 hücrelerinin preeklampside plasenta dokusunda incelendiği araştırmalar bulunmamaktadır. Bu çalışma ile, AHR ve CD4 pozitif olan Th22 hücrelerinin preeklampside daha detaylı incelenmesinin preeklampsi patogenezinin anlaşılmasında katkıda bulunacaktır.

Th17 hücrelerinin gebelikte immün dengede rol aldığı çeşitli araştırmalarla incelenmiştir. Sağlıklı gebeliklerde Th17 hücrelerinin salgıladıkları sitokinler ile ilk trimesterde pro-inflamatuvar karakterdeki immün dengede rol aldıkları düşünülmektedir (Wu ve ark., 2014). Ancak, ilk trimesterde Th17 hücrelerinin sayısının normalden fazla olması durumunda preeklampsi ve tekrarlayan gebelik kayıplarına yol açabileceği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Sereshki ve ekibinin (2014) yaptığı bir çalışmada tekrarlayan gebelik kayıplarını (RSA) ilk trimesterde yaşamış olan kadınların periferik kanı kullanılmıştır. Flow sitometri kullanarak Th17 ve Treg hücrelerinin belirteğine bakılan bu çalışmada, RSA örnekleri kontrol örnekleriyle kıyaslandığında Th17 hücre oranının Treg hücre oranından yüksek olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada, ELISA tekniği ile periferik kanda IL-17 sitokin konsantrasyonu ölçülmüş ve RSA örneklerinde kontrollerden daha yüksek çıkmıştır (Sereshki ve ark., 2014). Th17 hücrelerinin preeklampside oynadığı rol üzerine literatürde yapılmış olan birçok çalışma bulunmaktadır. Periferik kanda yapılan çalışmalarda, CD4 ve IL-17 pozitif olarak karakterize edilen Th17 hücrelerinin sağlıklı gebeliklere kıyasla preeklampitik gebeliklerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış yaptığı gösterilmiştir (Zhang Z. ve ark., 2017; Eghbal-Fard ve ark., 2019). CD3, CD4 ve IL-17A belirteçlerini Th17 hücrelerinin karakterizasyonu için kullanan bir

Çalışmada, Th17 hücrelerinin sayılarının sağlıklı gebeliklere kıyasla preeklampitik gebelerin periferik kanında daha yüksek oranda çıktığı gösterilmiştir (Darmochwal-Kolarz ve ark., 2012). CD4 ve IL-17 pozitif hücrelerin kullanıldığı bir çalışmada, hamilelik ile birlikte IL-17 üreten hücrelerin sayılarının dştğ belirltilmiştir. Bununla birlikte preeklampitik gebeliklerde ise sağlıklı gebeliklere kıyasla IL-17 üreten hücrelerin sayılarının arttığı belirltilmiştir (Santner-Nanan ve ark., 2009). Sağlıklı bir gebeliğin sağlanması, semiallojenik fetüse karşı tolerans için IL-17 üreten hücrelerin düşük sayıda olması gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca preeklampside Th17/Treg dengesinde Th17 hücrelerinin baskın olduğu bulunmuştur ve bu baskınlığın preeklampside rol alabileceği düşünülmüştür. Th17 hücreleri ve IL-17 sitokini ile yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya konmuştur. Periferik dolaşım ile yapılan birçok çalışmada IL-17 seviyesinde sağlıklı ve preeklampitik gebeliklerin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Mundim ve ark., 2016; Adela ve ark., 2017; Charkiewicz ve ark., 2018). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar literatürle uyumlu bir şekilde, preeklampitik gebeliklerde ROR eksprese eden hücrelerin sağlıklı gebeliklerle aynı sayıda olduklarını göstermiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada preeklampside gözlenen immün denge bozukluğunda rol oynayabilecek T lenfositler incelenmiştir. Th17 ve Th22 hücrelerinin periferal dolaşımında gözlenen ekspresyon artışlarının plasenta dokusunda incelenmesi amaç olarak belirlenmiştir. Bu amaç doğrultusunda western blot ile Th17 hücreleri için ROR γ ve Th22 hücreleri için AHR proteinlerinin ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. İmmünfloresan deneylerinde Th17 hücreleri için ROR γ ve Th22 hücreleri için AHR proteinlerinin lokalizasyon ve ekspresyon seviyeleri incelenmiştir.

Sonuç olarak;

1. Th17 hücrelerinin tespiti için kullanılan ROR γ protein ekspresyon seviyesinin, hazırlanan plasenta lizatlarında gerçekleştirilen western blot deneylerinde gruplar arasında önemli bir fark oluşturmadığı tespit edilmiştir.
2. Th22 hücrelerinin tespiti için kullanılan AHR protein ekspresyon seviyesinin, hazırlanan plasenta lizatlarında gerçekleştirilen western blot deneylerinde preeklampitik gruplarda önemli bir farkla artış yaptığı gözlemlenmiştir.
3. İmmünfloresan ve immünohistokimya deneylerinde Th17 hücrelerinin tespiti için kullanılan CD4 ve ROR γ proteinlerinin ekspresyonları gözlemlenmiştir. Western blot deneyinde karşılaştığımız sonuca uygun şekilde Th17 hücrelerinin belirteci olan ROR γ proteininin plasenta dokusu içinde gruplar arasında ekspresyonunda fark gözlemlenmemiştir. Th hücre belirteci olan CD4 ekspresyonunda ise preeklampitik gebeliklerde sağlıklı gebeliklere kıyasla desidua bazaliste yüksek lokalizasyon gözlenmiştir.
4. Th22 hücrelerinin ekspresyonunu belirlemek için immünfloresan ve immünohistokimya deneylerinde kullanılan CD4 ve AHR proteinlerinin boyanması ile görsel olarak gruplar arasındaki farklar analiz edilmiştir. Deney sonucunda Th22 hücrelerinin belirteci olan CD4 ve AHR proteinlerinin preeklampitik gebeliklerde sağlıklı gebeliklere kıyasla önemli bir artış yaptığı gözlemlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Human reproduction update*. 2006; 12: 731-746.
- Adela R, Borkar RM, Mishra N, Bhandi MM, Vishwakarma G, Varma BA , ve ark. Lower serum vitamin d metabolite levels in relation to circulating cytokines/chemokines and metabolic hormones in pregnant women with hypertensive disorders. *Frontiers in immunology*. 2017; 8: 273.
- Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Nikas Y, Hovatta O, Landgren BM. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium. *Fertility and sterility*. 2003; 79 Suppl 1: 808-814.
- Alijotas-Reig J, Esteve-Valverde E, Ferrer-Oliveras R, Llurba E, Gris JM. Tumor necrosis factor-alpha and pregnancy: Focus on biologics. An updated and comprehensive review. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2017; 53: 40-53.
- Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. Regulatory t cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nature immunology*. 2004; 5: 266-271.
- Aplin JD, Charlton AK, Ayad S. An immunohistochemical study of human endometrial extracellular matrix during the menstrual cycle and first trimester of pregnancy. *Cell and tissue research*. 1988; 253: 231-240.
- Ashary N, Tiwari A, Modi D. Embryo implantation: War in times of love. *Endocrinology*. 2018; 159: 1188-1198.
- Ashkar AA, Di Santo JP, Croy BA. Interferon gamma contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. *The Journal of experimental medicine*. 2000; 192: 259-270.
- Bagheri A, Chianeh YR, Rao P. Role of angiogenic factors in recurrent pregnancy loss. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*. 2013; 2: 497-503.
- Barton JR, O'Brien J M, Bergauer NK, Jacques DL, Sibai BM. Mild gestational hypertension remote from term: Progression and outcome. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2001; 184: 979-983.

- Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: Systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ (Clinical research ed.)*. 2016; 353: i1753.
- Bates MD, Quenby S, Takakuwa K, Johnson PM, Vince GS. Aberrant cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in recurrent pregnancy loss? *Human reproduction (Oxford, England)*. 2002; 17: 2439-2444.
- Benirschke K, Burton GJ, Baergen RN. *Pathology of the human placenta*. Springer Berlin Heidelberg; 2012.
- Benirschke K, Kaufman P, Qumsiyeh MB. *Pathology of the human placenta*. *International Journal of Gynecological Pathology*. 1998; 17: 93.
- Bersani I, De Carolis MP, Foell D, Weinlage T, Rossi ED, De Carolis S , ve ark. Interleukin-22: Biomarker of maternal and fetal inflammation? *Immunologic research*. 2015; 61: 4-10.
- Bischof P, Campana A. A model for implantation of the human blastocyst and early placentation. *Human reproduction update*. 1996; 2: 262-270.
- Boyd JD, Hamilton WJ. *The human placenta*. Macmillan Press; 1975.
- Boyd PA, Lindenbaum RH, Redman C. Pre-eclampsia and trisomy 13: A possible association. *Lancet (London, England)*. 1987; 2: 425-427.
- Brosens I, Robertson WB, Dixon HG. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. *The Journal of pathology and bacteriology*. 1967; 93: 569-579.
- Cao W, Wang X, Chen T, Zhu H, Xu W, Zhao S , ve ark. The expression of notch/notch ligand, il-35, il-17, and th17/treg in preeclampsia. *Disease markers*. 2015; 2015: 316182.
- Carson DD, Bagchi I, Dey SK, Enders AC, Fazleabas AT, Lessey BA , ve ark. Embryo implantation. *Developmental biology*. 2000; 223: 217-237.
- Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Yeo L, Romero R. Pre-eclampsia part 1: Current understanding of its pathophysiology. *Nature reviews. Nephrology*. 2014; 10: 466-480.
- Chaouat G, Lédée-Bataille N, Zourbas S, Ostojic S, Dubanchet S, Martal J , ve ark. Cytokines, implantation and early abortion: Re-examining the th1/th2 paradigm leads to question the single pathway, single therapy concept. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*. 2003; 50: 177-186.

- Charkiewicz K, Jasinska E, Goscik J, Koc-Zorawska E, Zorawski M, Kuc P , ve ark. Angiogenic factor screening in women with mild preeclampsia - new and significant proteins in plasma. *Cytokine*. 2018; 106: 125-130.
- Christiaens I, Zaragoza DB, Guilbert L, Robertson SA, Mitchell BF, Olson DM. Inflammatory processes in preterm and term parturition. *Journal of reproductive immunology*. 2008; 79: 50-57.
- Cincotta RB, Brennecke SP. Family history of pre-eclampsia as a predictor for pre-eclampsia in primigravidas. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. 1998; 60: 23-27.
- Cohen M, Meisser A, Haenggeli L, Bischof P. Involvement of mapk pathway in tnf-alpha-induced mmp-9 expression in human trophoblastic cells. *Molecular human reproduction*. 2006; 12: 225-232.
- Collison LW, Pillai MR, Chaturvedi V, Vignali DA. Regulatory t cell suppression is potentiated by target t cells in a cell contact, il-35- and il-10-dependent manner. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2009; 182: 6121-6128.
- Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, Boyd K, Wang Y, Vignali KM , ve ark. The inhibitory cytokine il-35 contributes to regulatory t-cell function. *Nature*. 2007; 450: 566-569.
- Colonna M. Interleukin-22-producing natural killer cells and lymphoid tissue inducer-like cells in mucosal immunity. *Immunity*. 2009; 31: 15-23.
- Corrêa RR, Guimarães CS, Rocha LP, Pucci KR, Claudino N, Ramos AV , ve ark. Influence of inflammatory infiltrate and alterations of the blood flow in the etiopathogenesis of the basement membrane of the amniotic epithelium (bmae) thickening in patients with hypertensive syndromes in pregnancy. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2012; 286: 1117-1121.
- Croy BA, Chen Z, Hofmann AP, Lord EM, Sedlacek AL, Gerber SA. Imaging of vascular development in early mouse decidua and its association with leukocytes and trophoblasts. *Biology of reproduction*. 2012; 87: 125.
- Darmochwal-Kolarz D, Kludka-Sternik M, Tabarkiewicz J, Kolarz B, Rolinski J, Leszczynska-Gorzela B , ve ark. The predominance of th17 lymphocytes and decreased number and function of treg cells in preeclampsia. *Journal of reproductive immunology*. 2012; 93: 75-81.

- de Oliveira LG, Karumanchi A, Sass N. [preeclampsia: Oxidative stress, inflammation and endothelial dysfunction]. *Revista brasileira de ginecologia e obstetricia : revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia*. 2010; 32: 609-616.
- Delassus S, Coutinho GC, Saucier C, Darche S, Kourilsky P. Differential cytokine expression in maternal blood and placenta during murine gestation. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 1994; 152: 2411-2420.
- Dhillon P, Wallace K, Herse F, Scott J, Wallukat G, Heath J, et al. IL-17-mediated oxidative stress is an important stimulator of AT1-AA and hypertension during pregnancy. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2012; 303: R353-358.
- Dimitriadis E, Nie G, Hannan NJ, Paiva P, Salamonsen LA. Local regulation of implantation at the human fetal-maternal interface. *The International journal of developmental biology*. 2010; 54: 313-322.
- Djurisic S, Hviid TV. HLA class II molecules and immune cells in pregnancy and preeclampsia. *Frontiers in immunology*. 2014; 5: 652.
- Dokras A, Hoffmann DS, Eastvold JS, Kienzle MF, Gruman LM, Kirby PA, et al. Severe feto-placental abnormalities precede the onset of hypertension and proteinuria in a mouse model of preeclampsia. *Biology of reproduction*. 2006; 75: 899-907.
- Dong C. Th17 cells in development: An updated view of their molecular identity and genetic programming. *Nature reviews. Immunology*. 2008; 8: 337-348.
- Dong M, He J, Wang Z, Xie X, Wang H. Placental imbalance of Th1- and Th2-type cytokines in preeclampsia. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2005; 84: 788-793.
- Donthi D, Malik P, Mohamed A, Kousar A, Subramanian RA, Manikyam UK. An objective histopathological scoring system for placental pathology in preeclampsia and eclampsia. *Cureus*. 2020; 12: e11104.
- Dosiou C, Giudice LC. Natural killer cells in pregnancy and recurrent pregnancy loss: Endocrine and immunologic perspectives. *Endocrine reviews*. 2005; 26: 44-62.
- Dunn CL, Kelly RW, Critchley HO. Decidualization of the human endometrial stromal cell: An enigmatic transformation. *Reproductive biomedicine online*. 2003; 7: 151-161.

- Eghbal-Fard S, Yousefi M. The imbalance of th17/treg axis involved in the pathogenesis of preeclampsia. 2019; 234: 5106-5116.
- Erlebacher A. Mechanisms of t cell tolerance towards the allogeneic fetus. Nature reviews. Immunology. 2013; 13: 23-33.
- Eyerich S, Eyerich K, Pennino D, Carbone T, Nasorri F, Pallotta S , ve ark. Th22 cells represent a distinct human t cell subset involved in epidermal immunity and remodeling. The Journal of clinical investigation. 2009; 119: 3573-3585.
- Ezeigwe CO, Okafor CI, Eleje GU. Placental peripartum pathologies in women with preeclampsia and eclampsia. 2018; 2018: 9462938.
- Fazleabas AT, Kim JJ. Development. What makes an embryo stick? Science (New York, N.Y.). 2003; 299: 355-356.
- Feizollahzadeh S, Taheripanah R, Khani M, Farokhi B, Amani D. Promoter region polymorphisms in the transforming growth factor beta-1 (tgf β 1) gene and serum tgf β 1 concentration in preeclamptic and control iranian women. Journal of reproductive immunology. 2012; 94: 216-221.
- Förger F, Villiger PM. Immunological adaptations in pregnancy that modulate rheumatoid arthritis disease activity. Nature reviews. Rheumatology. 2020; 16: 113-122.
- Fox R, Kitt J, Leeson P, Aye CYL, Lewandowski AJ. Preeclampsia: Risk factors, diagnosis, management, and the cardiovascular impact on the offspring. Journal of clinical medicine. 2019; 8.
- Fu B, Tian Z, Wei H. Th17 cells in human recurrent pregnancy loss and pre-eclampsia. Cellular & molecular immunology. 2014; 11: 564-570.
- Gellersen B, Brosens JJ. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. Endocrine reviews. 2014; 35: 851-905.
- Genbačev O, Vićovac L, Larocque N. The role of chorionic cytotrophoblasts in the smooth chorion fusion with parietal decidua. Placenta. 2015; 36: 716-722.
- Genbacev OD, Prakobphol A, Foulk RA, Krtolica AR, Ilic D, Singer MS , ve ark. Trophoblast l-selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal interface. Science (New York, N.Y.). 2003; 299: 405-408.
- Germain SJ, Sacks GP, Sooranna SR, Sargent IL, Redman CW. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: The role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). 2007; 178: 5949-5956.

- Gnainsky Y, Granot I, Aldo P, Barash A, Or Y, Mor G , ve ark. Biopsy-induced inflammatory conditions improve endometrial receptivity: The mechanism of action. *Reproduction (Cambridge, England)*. 2015; 149: 75-85.
- Gong J, Zhan H, Liang Y, He Q, Cui D. Role of th22 cells in human viral diseases. *Frontiers in medicine*. 2021; 8: 708140.
- Goswami P, Memon S, Pardeep K. Morphological, histological and radiological study of calcified placenta and its relation with fetal outcome. *IOSR Journal of dental and medical sciences*. 2013; 7: 82-88.
- Graham JJ, Longhi MS, Heneghan MA. T helper cell immunity in pregnancy and influence on autoimmune disease progression. *Journal of autoimmunity*. 2021; 121: 102651.
- Gude NM, Roberts CT, Kalionis B, King RG. Growth and function of the normal human placenta. *Thrombosis research*. 2004; 114: 397-407.
- Harbour SN, Maynard CL, Zindl CL, Schoeb TR, Weaver CT. Th17 cells give rise to th1 cells that are required for the pathogenesis of colitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015; 112: 7061-7066.
- Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM, Faulkner JL, Cunningham MW, Jr., Wallace K , ve ark. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2016; 130: 409-419.
- Hassani SN, Moradi S, Taleahmad S, Braun T, Baharvand H. Transition of inner cell mass to embryonic stem cells: Mechanisms, facts, and hypotheses. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2019; 76: 873-892.
- Hayakawa S, Fujikawa T, Fukuoka H, Chisima F, Karasaki-Suzuki M, Ohkoshi E , ve ark. Murine fetal resorption and experimental pre-eclampsia are induced by both excessive th1 and th2 activation. *Journal of reproductive immunology*. 2000; 47: 121-138.
- Hladunewich M, Karumanchi SA, Lafayette R. Pathophysiology of the clinical manifestations of preeclampsia. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2007; 2: 543-549.
- Huppertz B. Traditional and new routes of trophoblast invasion and their implications for pregnancy diseases. *International journal of molecular sciences*. 2019; 21.

- Jara LJ, Medina G, Cruz-Dominguez P, Navarro C, Vera-Lastra O, Saavedra MA. Risk factors of systemic lupus erythematosus flares during pregnancy. *Immunologic research*. 2014; 60: 184-192.
- Jiang Q, Yang G, Xiao F, Xie J, Wang S, Lu L , ve ark. Role of th22 cells in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Frontiers in immunology*. 2021; 12: 688066.
- Johnson GA, Burghardt RC, Joyce MM, Spencer TE, Bazer FW, Pfarrer C , ve ark. Osteopontin expression in uterine stroma indicates a decidualization-like differentiation during ovine pregnancy. *Biology of reproduction*. 2003; 68: 1951-1958.
- Jokhi PP, King A, Sharkey AM, Smith SK, Loke YW. Screening for cytokine messenger ribonucleic acids in purified human decidual lymphocyte populations by the reverse-transcriptase polymerase chain reaction. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 1994; 153: 4427-4435.
- Khalid SI, Ampie L, Kelly R, Ladha SS, Dardis C. Immune modulation in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis: A review of clinical trials. *Frontiers in neurology*. 2017; 8: 486.
- Khan YS, Ackerman KM. Embryology, week 1. In Statpearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
- Kimber SJ, Spanswick C. Blastocyst implantation: The adhesion cascade. *Seminars in cell & developmental biology*. 2000; 11: 77-92.
- Knöfler M, Haider S, Saleh L, Pollheimer J, Gamage T, James J. Human placenta and trophoblast development: Key molecular mechanisms and model systems. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2019; 76: 3479-3496.
- Kumar P, Rajasekaran K, Palmer JM, Thakar MS, Malarkannan S. Il-22: An evolutionary missing-link authenticating the role of the immune system in tissue regeneration. *Journal of Cancer*. 2013; 4: 57-65.
- Lam C, Lim KH, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*. 2005; 46: 1077-1085.
- Lessey BA, Damjanovich L, Coutifaris C, Castelbaum A, Albelda SM, Buck CA. Integrin adhesion molecules in the human endometrium. Correlation with the

- normal and abnormal menstrual cycle. *The Journal of clinical investigation*. 1992; 90: 188-195.
- Li XF, Charnock-Jones DS, Zhang E, Hiby S, Malik S, Day K , ve ark. Angiogenic growth factor messenger ribonucleic acids in uterine natural killer cells. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001; 86: 1823-1834.
- Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, Tuntipopipat S, Wegmann TG. Synthesis of t helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950). 1993; 151: 4562-4573.
- Liu Y, Huang J, Yu N, Wei S, Liu Z. Involvement of wnt2 in trophoblast cell behavior in preeclampsia development. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*. 2020; 19: 2207-2215.
- Lockwood CJ, Basar M, Kayisli UA, Guzeloglu-Kayisli O, Murk W, Wang J , ve ark. Interferon- γ protects first-trimester decidual cells against aberrant matrix metalloproteinases 1, 3, and 9 expression in preeclampsia. *The American journal of pathology*. 2014; 184: 2549-2559.
- Meseguer M, Aplin JD, Caballero-Campo P, O'Connor JE, Martín JC, Remohí J , ve ark. Human endometrial mucin muc1 is up-regulated by progesterone and down-regulated in vitro by the human blastocyst. *Biology of reproduction*. 2001; 64: 590-601.
- Mitchell RE, Hassan M, Burton BR, Britton G, Hill EV, Verhagen J , ve ark. Il-4 enhances il-10 production in th1 cells: Implications for th1 and th2 regulation. 2017; 7: 11315.
- Miyazaki S, Tsuda H, Sakai M, Hori S, Sasaki Y, Futatani T , ve ark. Predominance of th2-promoting dendritic cells in early human pregnancy decidua. *Journal of leukocyte biology*. 2003; 74: 514-522.
- Moffett A, Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nature reviews. Immunology*. 2006; 6: 584-594.
- Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nature reviews. Immunology*. 2017; 17: 469-482.
- 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.
- Morgan MA, Thurnau GR. Pregnancy-induced hypertension without proteinuria: Is it true preeclampsia? *Southern medical journal*. 1988; 81: 210-213.

- Mühl H, Scheiermann P, Bachmann M, Härdle L, Heinrichs A, Pfeilschifter J. IL-22 in tissue-protective therapy. *British journal of pharmacology*. 2013; 169: 761-771.
- Mundim GJ, Paschoini MC, Araujo Júnior E, Da Silva Costa F, Rodrigues Júnior V. Assessment of angiogenesis modulators in pregnant women with pre-eclampsia: A case-control study. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2016; 293: 369-375.
- Munro HN, Pilistine SJ, Fant ME. The placenta in nutrition. *Annual review of nutrition*. 1983; 3: 97-124.
- Nachtigall MJ, Kliman HJ, Feinberg RF, Olive DL, Engin O, Arici A. The effect of leukemia inhibitory factor (lif) on trophoblast differentiation: A potential role in human implantation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1996; 81: 801-806.
- Narasimha A, Vasudeva DS. Spectrum of changes in placenta in toxemia of pregnancy. *Indian journal of pathology & microbiology*. 2011; 54: 15-20.
- Nejatbakhsh R, Kabir-Salmani M, Dimitriadis E, Hosseini A, Taheripana R, Sadeghi Y, et al. Subcellular localization of l-selectin ligand in the endometrium implies a novel function for pinopodes in endometrial receptivity. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*. 2012; 10: 46.
- Ng SW, Norwitz GA, Pavlicev M. Endometrial decidualization: The primary driver of pregnancy health. 2020; 21.
- Nikas G. Cell-surface morphological events relevant to human implantation. *Human reproduction (Oxford, England)*. 1999a; 14 Suppl 2: 37-44.
- Nikas G. Pinopodes as markers of endometrial receptivity in clinical practice. *Human reproduction (Oxford, England)*. 1999b; 14 Suppl 2: 99-106.
- Nikas G, Aghajanova L. Endometrial pinopodes: Some more understanding on human implantation? *Reproductive biomedicine online*. 2002; 4 Suppl 3: 18-23.
- Nikas G, Makrigiannakis A. Endometrial pinopodes and uterine receptivity. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003; 997: 120-123.
- Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ. Implantation and the survival of early pregnancy. *The New England journal of medicine*. 2001; 345: 1400-1408.
- Ochoa-Bernal MA, Fazleabas AT. Physiologic events of embryo implantation and decidualization in human and non-human primates. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21.

- Oger S, Méhats C, Dallot E, Ferré F, Leroy MJ. Interleukin-1beta induces phosphodiesterase 4b2 expression in human myometrial cells through a prostaglandin e2- and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent pathway. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002; 87: 5524-5531.
- Okada H, Tsuzuki T, Murata H. Decidualization of the human endometrium. *Reproductive medicine and biology*. 2018; 17: 220-227.
- Oliver R, Basit H. Embryology, fertilization. In Statpearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
- Paiva P, Menkhorst E, Salamonsen L, Dimitriadis E. Leukemia inhibitory factor and interleukin-11: Critical regulators in the establishment of pregnancy. *Cytokine & growth factor reviews*. 2009; 20: 319-328.
- Parks WT. Manifestations of hypoxia in the second and third trimester placenta. *Birth defects research*. 2017; 109: 1345-1357.
- Pijnenborg R, Vercruysse L, Hanssens M. The uterine spiral arteries in human pregnancy: Facts and controversies. *Placenta*. 2006; 27: 939-958.
- Plaisier M. Decidualisation and angiogenesis. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*. 2011; 25: 259-271.
- Plaisier M, Koolwijk P, Willems F, Helmerhorst FM, van Hinsbergh VW. Pericellular-acting proteases in human first trimester decidua. *Molecular human reproduction*. 2008; 14: 41-51.
- Plank MW, Kaiko GE, Maltby S, Weaver J, Tay HL, Shen W, et al. Th22 cells form a distinct th lineage from th17 cells in vitro with unique transcriptional properties and tbet-dependent th1 plasticity. *J Immunol*. 2017; 198: 2182-2190.
- Psychoyos A. Uterine receptivity for nidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1986; 476: 36-42.
- Quinn KH, Lacoursiere DY, Cui L, Bui J, Parast MM. The unique pathophysiology of early-onset severe preeclampsia: Role of decidual t regulatory cells. *Journal of reproductive immunology*. 2011; 91: 76-82.
- Rabaglino MB, Conrad KP. Evidence for shared molecular pathways of dysregulated decidualization in preeclampsia and endometrial disorders revealed by microarray data integration. *FASEB journal : official publication of the*

- Federation of American Societies for Experimental Biology. 2019; 33: 11682-11695.
- Raghupathy R. Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunology today*. 1997; 18: 478-482.
- Ramos JGL, Sass N, Costa SHM. Preeclampsia. *Revista brasileira de ginecologia e obstetricia : revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia*. 2017; 39: 496-512.
- Rana S, Lemoine E, Granger JP, Karumanchi SA. Preeclampsia: Pathophysiology, challenges, and perspectives. *Circulation research*. 2019; 124: 1094-1112.
- Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine*. 2015; 74: 5-17.
- Reddy KV, Mangale SS. Integrin receptors: The dynamic modulators of endometrial function. *Tissue & cell*. 2003; 35: 260-273.
- Redline RW, Boyd T, Campbell V, Hyde S, Kaplan C, Khong TY, et al. Maternal vascular underperfusion: Nosology and reproducibility of placental reaction patterns. *Pediatric and developmental pathology : the official journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society*. 2004; 7: 237-249.
- Rinaldi SF, Makieva S, Saunders PT, Rossi AG, Norman JE. Immune cell and transcriptomic analysis of the human decidua in term and preterm parturition. *Molecular human reproduction*. 2017; 23: 708-724.
- Robinson JM, Ackerman WE, Tewari AK, Kniss DA, Vandre DD. Isolation of highly enriched apical plasma membranes of the placental syncytiotrophoblast. *Analytical biochemistry*. 2009; 387: 87-94.
- Roland CS, Hu J, Ren CE, Chen H, Li J, Varvoutis MS, et al. Morphological changes of placental syncytium and their implications for the pathogenesis of preeclampsia. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2016; 73: 365-376.
- Roopenian DC, Akilesh S. Fc γ R: The neonatal Fc receptor comes of age. *Nature reviews. Immunology*. 2007; 7: 715-725.
- Rowe JH, Ertelt JM, Aguilera MN, Farrar MA, Way SS. Foxp3(+) regulatory t cell expansion required for sustaining pregnancy compromises host defense against prenatal bacterial pathogens. *Cell host & microbe*. 2011; 10: 54-64.

- Rutz S, Eidenschenk C, Ouyang W. Il-22, not simply a th17 cytokine. *Immunological reviews*. 2013; 252: 116-132.
- Saifi B, Rezaee SA, Tajik N, Ahmadpour ME, Ashrafi M, Vakili R , ve ark. Th17 cells and related cytokines in unexplained recurrent spontaneous miscarriage at the implantation window. *Reproductive biomedicine online*. 2014; 29: 481-489.
- Saito S. Cytokine network at the fetomaternal interface. *Journal of reproductive immunology*. 2000; 47: 87-103.
- Saito S, Sakai M. Th1/th2 balance in preeclampsia. *Journal of reproductive immunology*. 2003; 59: 161-173.
- Saito S, Sakai M, Sasaki Y, Tanebe K, Tsuda H, Michimata T. Quantitative analysis of peripheral blood th0, th1, th2 and the th1:Th2 cell ratio during normal human pregnancy and preeclampsia. *Clinical and experimental immunology*. 1999; 117: 550-555.
- Saito S, Shiozaki A, Sasaki Y, Nakashima A, Shima T, Ito M. Regulatory t cells and regulatory natural killer (nk) cells play important roles in fetomaternal tolerance. *Seminars in immunopathology*. 2007; 29: 115-122.
- Santner-Nanan B, Peek MJ, Khanam R, Richarts L, Zhu E, Fazekas de St Groth B , ve ark. Systemic increase in the ratio between foxp3+ and il-17-producing cd4+ t cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2009; 183: 7023-7030.
- Sasaki Y, Sakai M, Miyazaki S, Higuma S, Shiozaki A, Saito S. Decidual and peripheral blood cd4+cd25+ regulatory t cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Molecular human reproduction*. 2004; 10: 347-353.
- Schlafke S, Enders AC. Cellular basis of interaction between trophoblast and uterus at implantation. *Biology of reproduction*. 1975; 12: 41-65.
- Schmitt N, Ueno H. Regulation of human helper t cell subset differentiation by cytokines. *Current opinion in immunology*. 2015; 34: 130-136.
- Sereshki N, Gharagozloo M, Ostadi V, Ghahiri A, Roghaei MA, Mehrabian F , ve ark. Variations in t-helper 17 and regulatory t cells during the menstrual cycle in peripheral blood of women with recurrent spontaneous abortion. *International journal of fertility & sterility*. 2014; 8: 59-66.
- Singh H, Aplin JD. Adhesion molecules in endometrial epithelium: Tissue integrity and embryo implantation. *Journal of anatomy*. 2009; 215: 3-13.

- Siriwardena D, Boroviak TE. Evolutionary divergence of embryo implantation in primates. 2022; 377: 20210256.
- Smáráson AK, Gunnarsson A, Alfredsson JH, Valdimarsson H. Monocytosis and monocytic infiltration of decidua in early pregnancy. *Journal of clinical & laboratory immunology*. 1986; 21: 1-5.
- Smets EM, Visser A, Go AT, van Vugt JM, Oudejans CB. Novel biomarkers in preeclampsia. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2006; 364: 22-32.
- Smith SD, Dunk CE, Aplin JD, Harris LK, Jones RL. Evidence for immune cell involvement in decidual spiral arteriole remodeling in early human pregnancy. *The American journal of pathology*. 2009; 174: 1959-1971.
- Stavreus-Evers A, Nikas G, Sahlin L, Eriksson H, Landgren BM. Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors. *Fertility and sterility*. 2001; 76: 782-791.
- Stefańska K, Zieliński M, Jankowiak M, Zamkowska D, Sakowska J, Adamski P, et al. Cytokine imprint in preeclampsia. *Frontiers in immunology*. 2021; 12: 667841.
- Su RW, Fazleabas AT. Implantation and establishment of pregnancy in human and nonhuman primates. *Advances in anatomy, embryology, and cell biology*. 2015; 216: 189-213.
- Swain SL, Weinberg AD, English M, Huston G. Il-4 directs the development of th2-like helper effectors. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 1990; 145: 3796-3806.
- Tamasauskiene L, Sitkauskiene B. Role of th22 and il-22 in pathogenesis of allergic airway diseases: Pro-inflammatory or anti-inflammatory effect? *Pediatrics and neonatology*. 2018; 59: 339-344.
- Teasdale F, Jean-Jacques G. Morphometric evaluation of the microvillous surface enlargement factor in the human placenta from mid-gestation to term. *Placenta*. 1985; 6: 375-381.
- Tilburgs T, Roelen DL, van der Mast BJ, de Groot-Swings GM, Kleijburg C, Scherjon SA, et al. Evidence for a selective migration of fetus-specific cd4+cd25bright regulatory t cells from the peripheral blood to the decidua in

- human pregnancy. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950). 2008; 180: 5737-5745.
- Todt JC, Yang Y, Lei J, Lauria MR, Sorokin Y, Cotton DB , ve ark. Effects of tumor necrosis factor-alpha on human trophoblast cell adhesion and motility. *American journal of reproductive immunology* (New York, N.Y. : 1989). 1996; 36: 65-71.
- Torchinsky A, Shepshelovich J, Orenstein H, Zaslavsky Z, Savion S, Carp H , ve ark. Tnf-alpha protects embryos exposed to developmental toxicants. *American journal of reproductive immunology* (New York, N.Y. : 1989). 2003; 49: 159-168.
- Tribe RM, Moriarty P, Dalrymple A, Hassoni AA, Poston L. Interleukin-1beta induces calcium transients and enhances basal and store operated calcium entry in human myometrial smooth muscle. *Biology of reproduction*. 2003; 68: 1842-1849.
- Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper t cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from t(h)-17, t(h)1 and t(h)2 cells. *Nature immunology*. 2009; 10: 864-871.
- Turco MY, Moffett A. Development of the human placenta. 2019; 146.
- Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM , ve ark. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nature medicine*. 2006; 12: 642-649.
- Wang H, Dey SK. Roadmap to embryo implantation: Clues from mouse models. *Nature reviews. Genetics*. 2006; 7: 185-199.
- Wang H, Guo M, Liu F, Wang J, Zhou Z, Ji J , ve ark. Role of il-17 variants in preeclampsia in chinese han women. *PloS one*. 2015; 10: e0140118.
- 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: 2025.
- Wang Y, Xu B, Li MQ, Li DJ, Jin LP. Il-22 secreted by decidual stromal cells and nk cells promotes the survival of human trophoblasts. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2013; 6: 1781-1790.
- Wang Y, Zhao S. Integrated systems physiology: From molecules to function to disease. In *Vascular biology of the placenta*. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences

Copyright © 2010 by Morgan & Claypool Life Sciences.; 2010.

Whitley GS, Cartwright JE. Cellular and molecular regulation of spiral artery remodelling: Lessons from the cardiovascular field. *Placenta*. 2010; 31: 465-474.

Wilczyński JR, Tchórzewski H, Głowacka E, Banasik M, Lewkowicz P, Szpakowski M , ve ark. Cytokine secretion by decidual lymphocytes in transient hypertension of pregnancy and pre-eclampsia. *Mediators of inflammation*. 2002; 11: 105-111.

Winship A, Correia J, Zhang JG, Nicola NA, Dimitriadis E. Leukemia inhibitory factor (lif) inhibition during mid-gestation impairs trophoblast invasion and spiral artery remodelling during pregnancy in mice. *PloS one*. 2015; 10: e0129110.

Wu HX, Jin LP, Xu B, Liang SS, Li DJ. Decidual stromal cells recruit th17 cells into decidua to promote proliferation and invasion of human trophoblast cells by secreting il-17. *Cellular & molecular immunology*. 2014; 11: 253-262.

Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, Akimzhanov A, Kang HS, Chung Y , ve ark. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ror alpha and ror gamma. *Immunity*. 2008; 28: 29-39.

Zhang S, Lin H, Kong S, Wang S, Wang H, Wang H , ve ark. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Molecular aspects of medicine*. 2013; 34: 939-980.

Zhang Z, Liu H, Shi Y, Xu N, Wang Y, Li A , ve ark. Increased circulating th22 cells correlated with th17 cells in patients with severe preeclampsia. *Hypertension in pregnancy*. 2017; 36: 100-107.

Zhang Z, Yang Y, Lv X, Liu H. Interleukin-17 promotes proliferation, migration, and invasion of trophoblasts via regulating ppar- γ /rxr- α /wnt signaling. *Bioengineered*. 2022; 13: 1224-1234.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Rıza Can	Uyruğu	Türkiye
Soyadı	Çakmakcı	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise		
Lisans		
Yüksek Lisans		
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Stajyer		
Stajyer		

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce		

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)

Burslar-Ödüller:

Yayınlar ve Bildiriler: Ceylan, O., Mishra, G. K., Yazici, M., Cakmakci, R. C., Niazi, J. H., Qureshi, A., ve Gurbuz, Y. (2018). Development of hand-held point-of-care diagnostic device for detection of multiple cancer and cardiac disease biomarkers. In *2018 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS)*(pp. 1-5). IEEE.