

# Normal Gelişimini Tamamlamış İnsan Plasentasında Alfa-Fetoprotein, İnhibin, Kromogranin, Östrojen Reseptörü ve Progesteron Reseptörü Ekspresyonlarının Farklı Lokalizasyonlara Göre Değişimi

## Changes at the Expression Levels of Alpha-Fetoprotein, Inhibin, Chromogranin, Estrogen Receptor and Progesterone Receptor According to the Different Localization in Full Term Human Normal Placenta

<sup>a</sup>Ranan Gülhan AKTAŞ<sup>a</sup>, <sup>b</sup>Hatice İSAN<sup>b</sup>, <sup>c</sup>Deniz ARAS<sup>c</sup>, <sup>d</sup>Merve BALIKÇILAR<sup>d</sup>, <sup>e</sup>Ülkü BAYAR<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Histoloji ve Embriyoloji AD, Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

<sup>b</sup>Maltepe Üniversitesi Kanser ve Kök Hücre Araştırma Merkezi, İstanbul, Türkiye

<sup>c</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çanakkale, Türkiye

<sup>d</sup>Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Zonguldak, Türkiye

### ÖZET

**Amaç:** Placenta; mükemmel bir şekilde anne-fetus arası bağlantıyı sağlayan kompleks yapısı, kök hücreden son derece zengin içeriği, inanılmaz çeşitlilik gösteren protein ve protein reseptörleri ile ilgili dinamik yapısı nedeniyle kadın doğum, rejeneratif tıp ve neonatoloji alanındaki çalışmaların ilgi odağı olmaya devam etmektedir. Placentanın farklı bölgelerindeki hücrelerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin nasıl değiştiği konusundaki çalışmalar sağlıklı bir gebelik ve sonrası ile ilgili çok sayıda soruya cevap olacaktır. Bu araştırmada; placenta fonksiyonlarının gerçekleşmesinde önemli ortaya konulmuş "Alfa-Fetoprotein, İnhibin, Kromogranin, Progesteron ve Östrojen reseptörlerinin placentanın farklı bölgelerindeki lokalizasyonundaki değişimin incelenmesi amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Normal gelişimini tamamlamış 10 insan placenta örneğinden iki farklı lokalizasyonda hazırlanmış örnekler immunohistokimyasal işaretleme teknikleri kullanılarak işaretlenmiştir. Umbilikal korda en yakın (0 cm. uzaklıkta) lokalizasyondaki placenta örnekleri I. grup; umbilikal korda 5 cm uzaklıktan hazırlanan placenta örnekleri ise II. grup olarak değerlendirilerek; ilgili proteinlerin hücresel düzeydeki ekspresyonları mikroskopik olarak karşılaştırmalı şekilde değerlendirilmiştir. **Bulgular:** Proteinlerin placentadaki ekspresyonu değişiklik göstermektedir. Ancak; genel olarak umbilikal korda yakın bölgelerde tüm proteinlerin ekspresyonlarının daha düşük düzeyde olduğu gözlenmiştir. **Sonuç:** Hücrelerin umbilikal korddan uzaklaştıkça farklılaşmalarının artması nedeniyle, ilgili reseptörleri taşıyan daha özelleşmiş hücreler olabileceğini düşündürmektedir. Umbilikal korda en yakın yerleşimli plasental hücrelerin kök hücre özelliklerinin daha yüksek olabileceği konusundaki ilerleyen çalışmalar bu konudaki sorulara cevap olabilecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Östrojen reseptörü; progesteron reseptörü; inhibin; alfa fetoprotein; kromogranin; placenta

### ABSTRACT

**Objective:** Placenta remains as a focus of interest for the obstetricians, clinicians in neonatologists, and for the scientists in regenerative medicine because of its complex structure that provides perfect relationship between the mother and the baby, its stem cell rich component, as well as its dynamic structure related to incredible variable proteins and proteins receptors in it. Studies that describe the differences at the location of different proteins in placenta related to their functions will answer many questions about healthy pregnancy and its duration. The current study aimed to examine the expression of alpha-fetoprotein, inhibin, chromogranin, estrogen receptors as well as progesteron receptors in placenta at different locations comparatively. **Material and Methods:** Placenta specimens from two different locations that are provided from 10 full term placenta were labeled by using immunohistochemical methods. First group specimens were located nearby of the umbilical cord and the second group contained the specimens that were 5 cm away from the umbilical cord. Expression of these five proteins at microscopic level were compared. **Results:** In spite of the variability of the distribution of the proteins according to their location; all protein expression levels were lower on the samples that are close to the umbilical cord. **Conclusion:** This suggests that the cells are differentiating when they move to the regions in certain distances and the cells that are closest to the umbilical cord in the placenta are reflecting more stem cell features since they are not specialized.

**Keywords:** Estrogen receptor; progesteron receptor; inhibin; alpha-fetoprotein; chromogranin; placenta

TJRM 2018;2(3):93-100

Geliş Tarihi/Received: 30.09.2018

Kabul Tarihi/Accepted: 17.01.2019

Yazışma Adresi/Correspondence:

Deniz ARAS

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çanakkale, TÜRKİYE/TURKEY  
deniz94aras@gmail.com

Copyright © 2018 by Üreme Tıbbi Cerrahi Eğitim Araştırma ve Uygulama Vakfı

TJRM 2018;2(3)

Plasentanın kompleks yapısı; kadın doğum, rejeneratif tıp ve neonataloji alanındaki çalışmalarda ilgi odağı olmaya devam etmektedir.<sup>1</sup> Bugüne kadar çok sayıda fonksiyonu ve özellikleri çok iyi tanımlanan proteinlerin tanımlanmış olmasına rağmen; bu ilginç organ henüz fonksiyonları ve neden plasentada bulunduğu tam olarak tanımlanamayan proteinler ile bu proteinlerin reseptörlerine de ev sahipliği yapmaktadır. Bu proteinlerin ve reseptörlerin bir kısmı; anne ile fetus arasındaki karmaşık nöro-endokrin etkileşimden sorumludur. Yine bu karmaşık nöro-endokrin düzende hala açıklanmayı bekleyen birçok yolak bulunmaktadır.

İnhibin, Alfa-fetoprotein (AFP) ve Kromogranin; nöro-endokrin düzenlemede görev alan hormonlar arasındadır. Ancak bu hormonların neden plasentada da bulunduğu, plasentanın hangi alanlarında daha çok yer aldıkları, ve plasentadaki mevcut miktarlarını etkileyebilecek faktörler konusundaki bilgiler kısıtlıdır. Yine bu hormonların ve alt birimlerinin kan-fetus bariyerini geçip geçemedikleri ya da maternal - fetal tarafın hangisinde etkin oldukları henüz açıklığa kavuşmamıştır.

AFP'nin fetusun karaciğerinde üretildiği, kromograninin nöro-endokrin fonksiyonlarda görev aldığı, inhibinin hipotalamo-hipofizer gonadal aksın üzerindeki inhibe edici etkisinin olduğu bilinmektedir. İnhibin ve izoformlarının fetal ve maternal dokulardaki konsantrasyonları immune-essay yöntemleri ile incelenmiş, inhibin A'nın plasenta tarafından sekresyonunun olmadığı ve fetal dolaşımda bulunmadığı bildirilmiştir.<sup>2</sup> Yapılan bir başka meta-analiz çalışmasında; içlerinde inhibinin de bulunduğu beş biyo-belirtecin pre-eklampsii tanısı koymada çok önemli olduğu vurgulanmıştır.<sup>3</sup> Down Sendromu olduğu bilinen bir fetusun plasentasında serum inhibin miktarının yükseldiği gösterilmiş, immunohistokimyasal metodlarla plasentadaki lokalizasyonu kanıtlanmıştır.<sup>4</sup>

Birçok plasental veya fetal patolojinin maternal serum AFP düzeyinde yükselmeye sebep olduğu, özellikle ikinci trimesterde maternal serumdaki AFP yüksekliğinin histerektomi gerek-

tiren plasenta yapışıklıklarının öngörülmesinde önemli bir tanı aracı olduğu bilinmektedir.<sup>5</sup> AFP'nin B hücrelerini apoptoza sürüklediğine; bu durumun maternal B hücrelerinin fetusa ulaşmasını engelleyerek, fetusun annenin immun cevabından korunmasına neden olabileceğine dikkat çekilmiştir.<sup>6</sup> Yine bir başka çalışmada gebeliğin erken döneminden elde edilen plasenta materyalinde PCR yöntemi ile AFP saptanmış; fakat dokunun immunohistokimyasal incelenmesinde anlamlı bir işaretlenme gösterilememiştir. Bu çalışmada; plasentada reseptör aracılı işaretlenme olduğu ve plasentanın AFP sentezleme özelliğinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır.<sup>7</sup>

"Gebelik estrojeni" olarak da tanımlanan E3 ve progesteron; gebeliğin devamlılığı ve fetusun gelişimi için plasentadan salındığı bilinen hormonlardır. Östrojenin gebelik süresince birçok farklı etkisi olduğu gösterilmiştir.<sup>8</sup> Corcoran ve ark.; western blot metodu ile uteroplasental dolaşım, damar tonusu ve östrojen arasındaki ilişkiyi araştıran ilk bilim insanları olmuşlardır.<sup>9</sup> Normoksik koşullarda trofoblast invazyonunu arttırdığı, hipoksik koşullarda trofoblast invazyonu üzerine etkisinin az olduğu, fakat ilerleyen süreçte trofoblast invazyonu üzerinde etkisinin ortadan kalktığı bu çalışmada ortaya konulmuştur.<sup>9</sup>

Maternal serum progesteron miktarındaki yükselmenin ise; endotelin-1 protein aktivitesini azaltarak pre-eklampsii önlediği görülmüştür.<sup>10</sup> Deksametazonun progesteron reseptörlerini ileri derecede azalttığı, gebe koyunlarda düşüklere neden olduğu; mifepreston ile muamele edilen plasental dokularda ise progesteronun azaldığı immunohistokimyasal metodlarla gösterilmiştir.<sup>11,12</sup>

Görüldüğü gibi; bu proteinlerin plasentadaki ekspresyonunda ortaya çıkan aksaklıklar plasental fonksiyonları önemli şekilde etkileyebilmektedir. Bu sonuçları takiben preeklampsii, intrauterin gelişme geriliği (IUGR) ve çeşitli trofoblastik hastalıklar gelişebilmekte, spontan abortuslar ya da intrauterin ölümler görülebilmektedir. Bu komplikasyonları azaltmak ve olası tedavi modellerini geliştirmek için gebeliğin erken dönemlerinde biyobelirteçlerin kullanımı gereken müdahalelerin

zamanında yapılmasına fırsat verecektir. Plasenta'nın hangi bölgeleri hangi özellikteki hücreleri kapsamaktadır? Hangi bölgelerinden hangi proteinlerin geçişleri daha fazla olmaktadır? Bu soruların açıklanarak farklı proteinlerin plasentadaki lokalizasyonu ve fonksiyonları ile ilgili detaylı bilgilere ulaşılması; birçok hastalıkla ilgili yeni mekanizmalara ışık tutabileceği gibi, gebelik dönemindeki olası anomalilerin tanılarında da önemli veriler ortaya koyacaktır. Plasentanın hangi alanlarının saklanması ve kök hücre çalışmalarında kullanılması'nın daha uygun olduğu konusundaki sorulara yanıtlar bulunmasında da önemli katkıları olacaktır.

Bu çalışmada; normal gelişimini tamamlamış insan plasentasında AFP, İnhibin, Kromogranin, Östrojen Reseptörü ve Progesteron Reseptörü ekspresyonunun farklı lokalizasyonlara göre değişiminin ayrıntılı olarak araştırılması amaçlanmıştır. Umbilikal kordun çıkış noktası merkez kabul edilerek iki ayrı noktadan alınan örnekler; AFP, İnhibin, Kromogranin, Östrojen Reseptörü ve Progesteron Reseptörüne spesifik antikorlarla işaretlenmiş; bu proteinlerin ekspresyonlarındaki değişimler karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

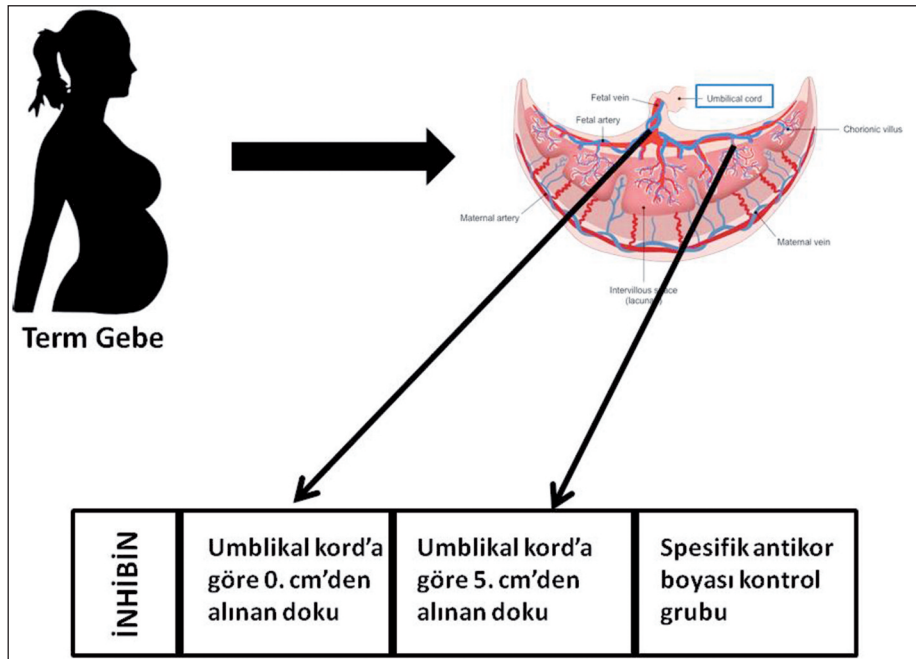
## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmada; Prof. Dr. Ranan Gülhan Aktaş ve Prof. Dr. Ülkü Bayar'ın ekibinin 2008 yılında tamamlamış oldukları bir çalışmaya ait olan ve ilgili araştırmacıların arşivinde yer alan parafin bloklar kullanıldı.<sup>13</sup> 10 yıl önce normal gelişimini tamamlamış 10 ayrı gebeye ait plasentalardan hazırlanmış bu arşiv doku blokları arasından iki ayrı grup seçildi (Şekil 1):

Grup 1: Umbilikal kordun çıkış yerinden (0. cm uzaklıkta) hazırlanan plasenta örnekleri,

Grup 2: Umbilikal kordun çıkış yerine 5 cm uzaklıktan hazırlanmış plasenta örnekleri.

Seçilen bloklardan hazırlanan kesitler, ön değerlendirme için Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı. Ardından immunohistokimyasal metodlar kullanılarak AFP, İnhibin, Kromogranin, Östrojen Reseptörü ve Progesteron Reseptörüne spesifik primer antikorlar ile işaretlendi. Ayrıca; ilgili antikorlarla spesifik olarak pozitif boyandıkları bilinen dokulardan kesitler hazırlandı. Aynı metodla ve aynı antikorlarla bu kontrol grupları da işaretlendi. Böylece; boyamada kullanılan yöntem ya da kullanılan primer ve sekonder antikorların çalışma özelliklerinin uygunluğu test edildi.



ŞEKİL 1: Preparatların hazırlanma ve incelenme düzeni.

İmmunohistokimyasal boyamalar sırasında; manuel işaretlemeye ortaya çıkabilecek olası farklılıkları önleyebilmek amacı ile otomatik boyama cihazı Leica Bond-Max kullanıldı. Tüm örneklerde işaretlenmiş alanlar Zeiss Primovert mikroskobu altında incelendi. Zenn görüntü analiz sistemi ve Alfred semi-kantitatif skorlama metodları kullanılarak, birbirinden habersiz çalışan iki araştırmacı tarafından karşılaştırmalı olarak değerlendirme yapıldı.<sup>14,15</sup>

## BULGULAR

Yapılan analizler sonucunda; Hematoksilen -Eozin ile boyanmış preparatlarda Grup 1 ve 2 arasında histolojik açıdan ışıık mikroskopik düzeyde herhangi bir değişikliğin gözlenmediği görüldü (Resim 1). İmmunohistokimyasal yöntemler kullanılarak işaretlenmiş örneklerin karşılaştırmalı değerlendirmesi sonucu aşağıdaki sonuçlar elde edildi. İki ayrı araştırmacı tarafından Alfred semi-kantitatif skorlama tekniği kullanılarak yapılan değerlendirmeler sonucu elde edilen ortalama değerler Tablo 1’de özetlendi.

### ALFA FETO PROTEİN(AFP)

Villuslar içerisindeki endotelial hücrelerin bir kısmının sitoplazmalarında belirgin şekilde AFP ekspresyonu gözlemlendi. İşaretlenme yoğunluğu 5. cm’den alınan II. grup örneklerde 0. cm’den alınan örneklerle oranla anlamlı şekilde artmıştı (Resim 2).

### İNHİBİN

5. cm’den alınan örneklerde sinsityotrofoblast sitoplazmasında orta dereceli boyanma yoğunluğu dikkati çekiyordu. Bununla beraber; villuslar içe-

**TABLO 1:** Normal gelişimini tamamlamış insan plasentasında farklı lokalizasyonlardaki hücrelerin alfa-fetoprotein, inhibin, kromogranin, östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü ekspresyonlarının semi-kantitatif karşılaştırılması.

Antikor	Grup 1*	Grup 2**	Kontrol Grubu
Alfa Feto-protein	++	+++	+
İnhibin	++	++	+++
Kromogranin	+	++	-
Östrojen Reseptörü	-	+	-
Progesteron Reseptörü	+	++	+++

\* Umbilikal kordun çıkış alanındaki ( 0 cm. uzaklıktaki) plasenta örnekleri.

\*\* Umbilikal kordun çıkış alanına 5 cm. uzaklıktaki plasenta örnekleri.

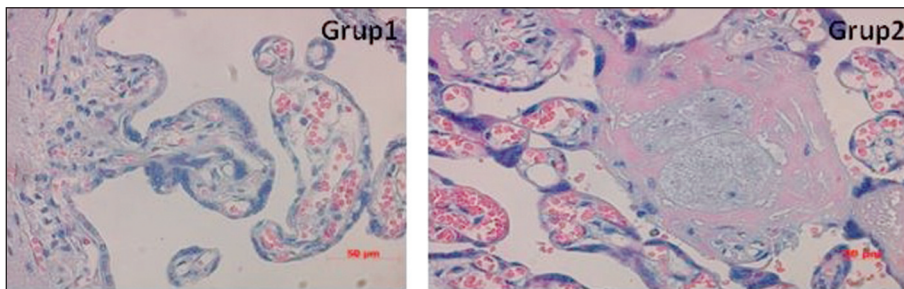
risinde de hücre sitoplazmalarında diffüz boyanma gözlemlendi. 5. cm’den alınan örneklerdeki anlamlı işaretlenme görülmesine karşılık; 0. cm’den alınan örneklerde İnhibin ile boyanma yoğunluğu oldukça azdı (Resim 3.1-3.2).

### KROMOGRANİN

5. cm’den hazırlanan II. grup örneklerde villuslarda işaretlenmenin olmadığı; ekspresyonun özellikle maternal tarafta gözlemlendiği dikkati çekiyordu. Septumlar içerisinde yer alan maternal kan da da belirgin olarak işaretlenme gözlemlendi. 0. cm’den alınan I. grup örneklerde de maternal tarafta boyanma mevcuttu. Ancak 5. cm’den alınan örneklerle karşılaştırıldığında ekspresyonun daha az olduğu görüldü (Resim 4).

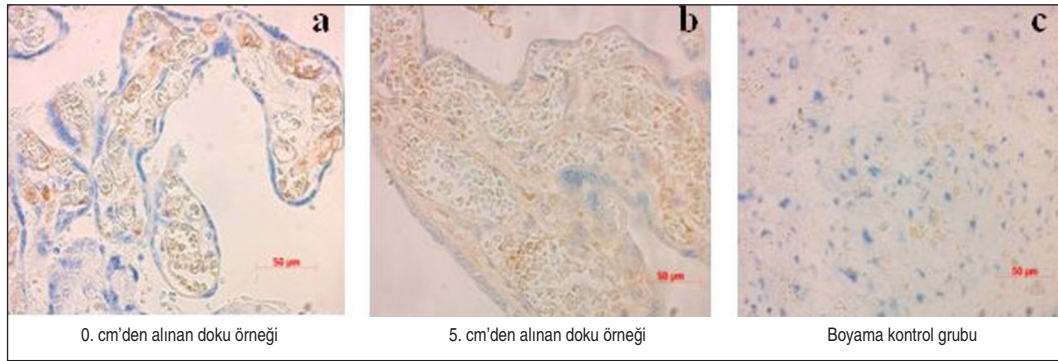
### ÖSTROJEN RESEPTÖRLERİ

Plasentanın umbilikal korda 5. cm uzaklıktaki kesitlerinde gerek maternal kanda gerekse villus içerisindeki fetal kapillerlerde düşük düzeyde işaretlenme görüldü. 0. cm’den alınan örneklerde ise fetal ve maternal kanın her ikisinde de işaretlenme gözlenemedi (Resim 5).

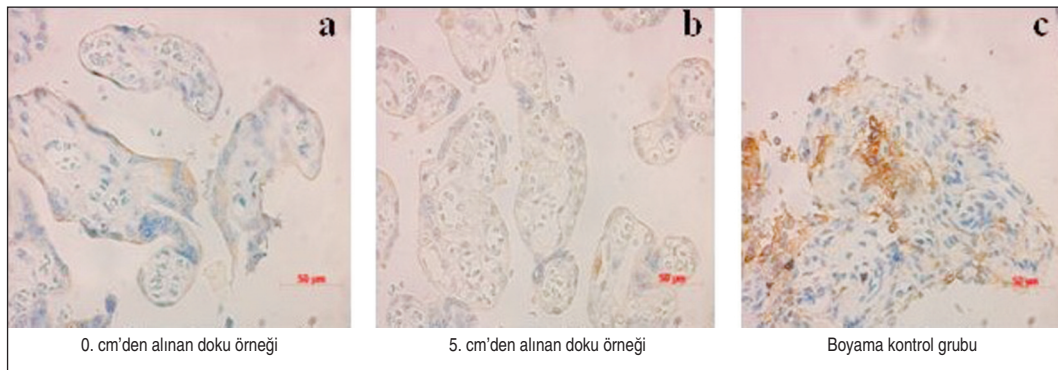


**RESİM 1:** Hematoksilen & Eozin boyası ile boyanmış örneklerde grup I ve II arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.

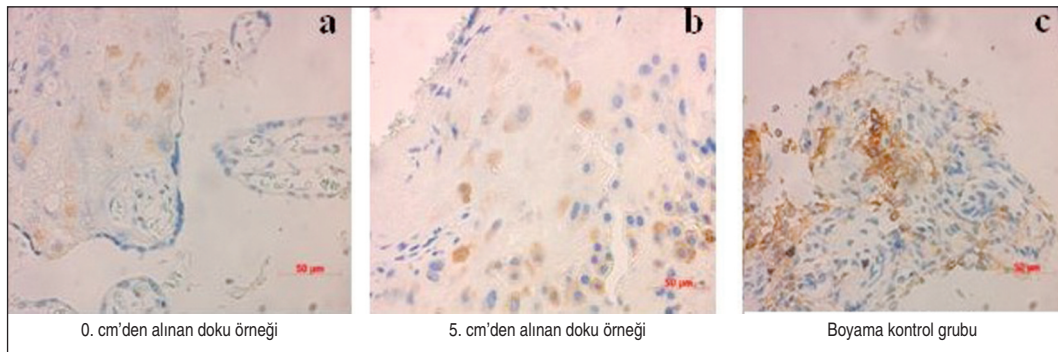




**RESİM 2:** AFP'ye spesifik antikörlerle işaretlenmiş plasenta dokularının mikroskopik fotoğrafları. **a)** Grup I (0. cm'den alınan plasenta örneği), **b)** Grup II (5. cm'den alınan plasenta örneği) **c)** Pozitif kontrol grubu. Grup II'de ekspresyonun belirgin şekilde artmış olduğu görülmektedir.



**RESİM 3.1:** İnhibine spesifik antikörlerle işaretlenmiş plasenta dokularının mikroskopik fotoğrafları. **a)** Grup I (0. cm'den alınan plasenta örneği), **b)** Grup II (5. cm'den alınan plasenta örneği), **c)** Pozitif kontrol grubu. Grup I ve II arasında ekspresyonlar karşılaştırıldığında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.



**RESİM 3.2:** İnhibine spesifik antikörlerle işaretlenmiş plasenta dokularına ait bu fotoğraflarda; pozitif boyanma paterni gösteren maternal bağ dokudaki invaze trofoblastlar her iki grupta da göze çarpmaktadır. **a)** Grup I (0. cm'den alınan plasenta örneği), **b)** Grup II (5. cm'den alınan plasenta örneği), **c)** Pozitif kontrol grubu.

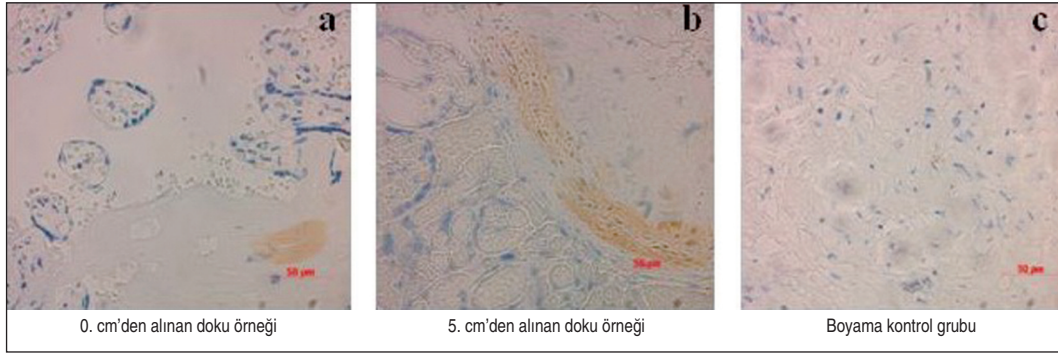
### PROGESTERON RESEPTÖRLERİ

5. cm'den alınan örneklerde maternal tarafta boyanma saptandı. Fetal tarafta ekspresyon gözlenemedi. 0. cm'den alınan örneklerin belirli bölgelerinde pozitif alanlar dikkati çekiyordu. Ekspresyonun sitoplazmada değil; hücrelerin çekirdeklerinde yoğun olduğu dikkati çekiyordu (Resim 6). Progesteron reseptörünün maternal bölümün

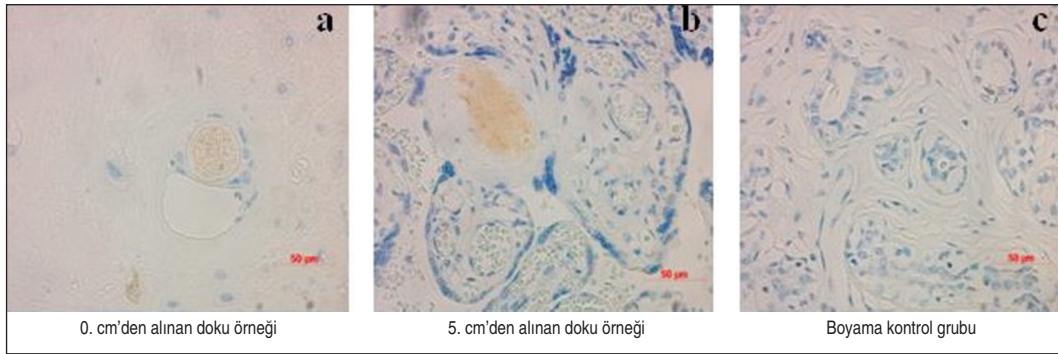
fetal kısma yakın bölgelerinde bazı hücrelerin hem çekirdek, hem de sitoplazmalarının işaretlenmesi bir diğer dikkati çeken bulgu olarak gözlemlendi.

### TARTIŞMA

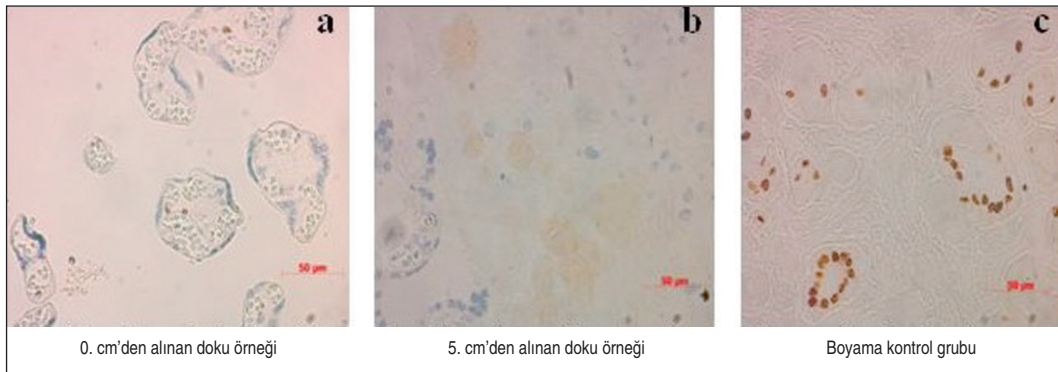
Bu çalışmada ilk kez normal insan plasentasında farklı lokalizasyondaki hücrelerin AFP, İnhibin, Kromogranin, Östrojen reseptörü ve Progesteron



**RESİM 4:** Kromogranine spesifik antikorlarla işaretlenmiş plasenta dokularının mikroskopik fotoğrafları. **a)** Grup I (0.cm'den alınan plasenta örneği), **b)** Grup II (5. cm'den alınan plasenta örneği) **c)** Pozitif kontrol grubu. Bağ dokudaki boyanma yoğunluğunun grup II'de arttığı dikkati çekmektedir.



**RESİM 5:** Estrojen (E2) reseptörlerine spesifik antikorlarla işaretlenmiş plasenta dokularının mikroskopik fotoğrafları. **a)** Grup I (0. cm'den alınan plasenta örneği), **b)** Grup II (5. cm'den alınan plasenta örneği), **c)** Pozitif kontrol grubu. Grup II'de boyanan hücre miktarı ve boyanma yoğunluğu belirgin şekilde artmıştır.



**RESİM 6:** Progesteron reseptörlerine spesifik antikorlarla işaretlenmiş plasenta dokularının mikroskopik fotoğrafları. **a)** Grup I (0. cm'den alınan plasenta örneği), **b)** Grup II (5. cm'den alınan plasenta örneği), **c)** Pozitif kontrol grubu. Grup II'de boyanan hücre miktarı ve boyanma yoğunluğu belirgin şekilde artmıştır.

reseptörü ekspresyonları karşılaştırılmalı olarak mikroskopik düzeyde değerlendirilmiştir.

AFP spesifik antikor boyanmasını incelediğimiz grupta boyanmanın maternal ve fetal alan arasında adeta bir bariyer şeklinde olması Fettke ve ark.nın çalışmasını destekler niteliktedir.<sup>6</sup> AFP içeren hücreler; umbilikal korddan uzaklaştıkça artmaktadır.

Plasentada birçok nöropeptidin ve kromograninin mevcudiyeti immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir.<sup>16</sup> İşaretlenmenin maternal fetal geçiş yüzünde yoğunlaştığını ve bunun, anne ve fetus arasındaki kompleks nöro-endokrin ağdan kaynaklandığı savunulmuştur. Bizim morfolojik bulgularımız da; kromograninin özellikle maternal tarafta lokalize olduğunu göstermektedir. Ayrıca

umbilikal korddan uzaklaştıkça işaretlenmenin fetal tarafta da gözlenmesi; kan fetus bariyerinin geçirgenliğinin periferik gidildikçe artmış olma ihtimalini düşündürmüştür.

Östrojen reseptörlerinin işaretlenme özelliklerini araştırdığımız grup 1 ve 2 arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Uterin arter olduğunu düşündüğümüz damarsal yapılarının endotelinde işaretlenme görülmüştür. Corcoran ve ark. da; çalışmalarında western blot tekniği kullanarak benzer lokalizasyon tariflemektedirler.<sup>9</sup> Damar yapılarına uygun olan bu işaretlenme alanı, östrojen reseptörlerinin pre-eklampsi gibi utero-plasental dolaşımı ilgilendiren hastalıklarla ilişkili olabileceği sonucuyla tutarlılık göstermektedir.

Progesteron reseptörüne spesifik antikorla işaretlenmiş plaseenta örneklerinde villuslar içerisindeki kapiller endotelde tek hücre düzeyinde işaretlenme görülmüştür. Bu hücrelerin; Hofbauer hücreleri olarak da adlandırılan plasental makrofajlara benzerliği dikkati çekmiştir. Hofbauer hücrelerinin glikojen metabolizmasının araştırıldığı bir çalışmada; glikojen fosforilaz, CD163, Glut-3 antikorları kullanarak Hofbauer hücreleri boyanmıştır.<sup>17</sup> Çalışmamızda gözlemlenen boyanma paterni ve hücre lokalizasyonunun bu araştırmaya olan benzerliği nedeniyle; progesteron reseptörü ekspresye eden hücrelerin Hofbauer hücreleri olduğunu kanısına varılmıştır. Kiprano ve ark.; çalışmalarında progesteronun damar endotel hücrelerinden endotelin-1 sekresyonunu inhibe ettiklerini göstermişlerdir.<sup>10</sup> Çalışmamızda; progesteron reseptörü içeren hücreleri kapiller endoteline olan komşuluğu dikkati çekmektedir. Bu hücreler; *Kiprano ve arkadaşlarının* tanımladığı plasental iskemiye başlatan hücreler olabilir. Plaseenta örneklerinde progesteron reseptörü içeren hücreler ile preeklampsi vakalarının ilişkisinin araştırılması; preeklampsi riskinin öngörülebilirliği için yeni bir biyo-ışaretleyicinin kullanılma olasılığını ortaya koyacaktır. Araştırmamızda bir diğer dikkati çeken özellik; Progesteron reseptörünün maternal bölümün fetal kısma yakın bölgelerinde bazı hücrelerin hem çekirdek, hem de sitoplazmalarının işaretlenmesi olmuştur. Bu durum, boyanan hücrelerin Progesteron reseptörü

sentezinde aktif olarak yer alan hücreler olabileceğini düşündürmüştür.

Literatürde Inhibin ile ilgili immunohistokimyasal çalışmalar diğer spesifik antikorlara nazaran daha fazladır. İmmunofloresan mikroskop ve ışık mikroskopuyla yapılan çalışmalarda boyanmanın invaziv trofoblastlar ve sinsiyo trofoblastlarda yoğunlaştığı gösterilmiştir. Bu dağılımın IUGR, pre-eklampsi gibi trofoblast yetersiz invazyonuyla ilişkili hastalıklarda tanınal önem arz ettiği vurgulanmıştır. İnhibin ile işaretlenmiş örneklerimizden elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki araştırmalarla uygunluk göstermektedir.<sup>18</sup> Ancak diğer proteinlerin lokalizasyonu ile ilgili henüz yayınlanmış makale sayısı oldukça kısıtlıdır.

## SONUÇ

Özetle; çalışmamız ilk kez normal gelişimini tamamlamış plaseantada 5 farklı proteinin ekspresyonlarının plasentanın farklı bölgelerinde nasıl değişebileceğini karşılaştırmalı olarak göstermektedir. Sonuçlar; plasentanın farklı bölgelerinde proteinlerin ekspresyonlarının değişken olabileceğini göstermektedir. Bu gözlemler şu sonuçları ortaya çıkarmaktadır: 1. Plasentanın farklı lokalizasyonlarındaki hücrelerin fonksiyonel ve yapısal özellikleri değişken olabilmektedir. 2. Umbilikal korda yakın olan bölgelerde bu 5 proteinin ekspresyonu daha düşük düzeyde gözlenmektedir. 3. Proteinlerin ekspresyonlarının umbilikal korddan uzaklaştıkça artması; umbilikal korddan uzaklaştıkça farklılaşmış hücre oranının artacağı ve dolayısıyla umbilikal korda en yakın hücrelerin henüz özelleşmemiş kök hücre/progenitor hücre karakterinde hücreler olabileceğinin bir göstergesi olabilir.

Gebeliğin normal sürecinde önemli tüm proteinlerin lokalizasyonlarının ayrıntıları ile karşılaştırmalı olarak gösterilebildiği çalışmalar; sağlıklı gebelikler, spontan abortuslar ve intrauterin gelişme gerilikleri konularında tanıda kullanılabilecek yeni biyo-belirteçlerin belirlenmesinde önemli katkılar sağlayabilir. Yine; plasentanın farklı bölgelerinin kök hücre belirteçleri içeriği açısından araştırılması; çok farklı tedavilerde umut ışığı olan kök hücrelerin eldesi konusunda çok değerli bilgiler ortaya koyabilir.



## KAYNAKLAR

- Novembri R, Funghi L, Voltolini C et al. Placenta expresses anti-Müllerian hormone and its receptor: Sex-related difference in fetal membranes. *Placenta*. 2015;36(4):731-7.
- Riley SC, Leask R, Balfour C, Brennand JE, Groome NP. Production of inhibin forms by the fetal membranes, decidua, placenta and fetus at parturition. *Hum Reprod*. 2000;15(3):578-83.
- Wu P, Berg C, Alfirevic Z, O'Brien S, Röthlisberger M, Baker PN, et al. Early Pregnancy Biomarkers in Pre-Eclampsia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*. 2015;16:23035-56.
- Dalglish GL, Aitken DA, Lyall F, Howatson AG, Connor JM. Placental and Maternal Serum Inhibin-A and Activin-A Levels in Down's Syndrome Pregnancies. *Placenta*. 2011;22(1):227-34.
- Oztas E, Ozler S, Caglar AT, Yucel A. Analysis of first and second trimester maternal serum analytes for the prediction of morbidly adherent placenta requiring hysterectomy. *Kaohsiung J Med Sci*. 2016;32(11):579-85.
- Fettke F, Schumacher A, Canellada A, Toledo N, Bekeredjian-Ding I, Bondt A, et al. Maternal and Fetal Mechanisms of B Cell Regulation during Pregnancy: Human Chorionic Gonadotropin Stimulates B Cells to Produce IL-10 While Alpha-Fetoprotein Drives Them into Apoptosis. *Front Immunol*. 2016;7:495.
- Newby D, Dalglish G, Lyall F, Aitken DA. Alphafetoprotein and alphafetoprotein receptor expression in the normal human placenta at term. *Placenta*. 2005;26(2-3):190-200.
- Feng X, Zhou L, Mao X, Tong C, Chen X, Zhao D, et al. Association of a reduction of G-protein coupled receptor 30 expression and the pathogenesis of preeclampsia. *Mol Med Rep*. 2017;16(5):5997-6003.
- Corcoran JJ, Nicholson C, Sweeney M, Charnock JC, Robson SC, Westwood M et al. Human uterine and placental arteries exhibit tissue-specific acute responses to 17 $\beta$ -estradiol and estrogen-receptor-specific agonists. *Mol Hum Reprod*. 2014;20(5):433-41.
- Kiprono LV, Wallace K, Moseley J, Martin J Jr, Lamarca B. Progesterone blunts vascular endothelial cell secretion of endothelin-1 in response to placental ischemia. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;209(1):44.e1-6.
- Yahi D, Ojo NA, Mshelia GD. Influence of Dexamethasone on Some Reproductive Hormones and Uterine Progesterone Receptor Localization in Pregnant Yankasa Sheep in Semiarid Zones of Nigeria. *J Vet Med*. 2017;2017:9514861.
- Vattai A, Ziegelmüller B, Kuhn C, Hofman S, BirgitBayer, et al. The expression of thyroid hormone receptors (THR) is regulated by the progesterone receptor system in first trimester placental tissue and in BeWo cells in vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015;195:31-9.
- Aktas RG, Oztekin A, Bayar U, Oztekin C. Normal Gelişimini Tamamlamış İnsan Placentasında CD31, HCG ve Estrojene Spesifik Reseptörlerin İmmunohistokimyasal Yöntemlerle Gösterilmesi. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*. 2008;39(4):175-80.
- Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. 1998;11:155-68.
- Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1999;17:1474-81.
- Graf AH, Hütter W, Hacker GW, et al. Localization and distribution of vasoactive neuropeptides in the human placenta. *Placenta*. 1996;17(7):413-21.
- Jones CJ, Choudhury RH, Aplin JD. Functional changes in Hofbauer cell glycobiology during human pregnancy. *Placenta*. 2015;36(10):1130-7.
- Mylonas I, Schiessi B, Jeschke U, Vogt J et al. Expression of inhibin/activin subunits alpha (-alpha), beta A (-beta (A)) and beta B (-beta (B)) in placental tissue of normal and intrauterine growth restricted (IUGR) pregnancies. *J Mol Histol*. 2006;37(1-2):43-52.