

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**ERKEN FETAL KAYIPLARDA
HOFBAUER HÜCRELERİNİN
PLASENTAL VİLLÖZ VASKÜLATÜRE ETKİSİ**

DR. YELİZ ARMAN KARAKAYA

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2011

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**ERKEN FETAL KAYIPLARDA
HOFBAUER HÜCRELERİNİN
PLASENTAL VİLLÖZ VASKÜLATÜRE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. YELİZ ARMAN KARAKAYA

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Erdener ÖZER

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	I
ŞEKİL LİSTESİ	II-III
KISALTMALAR	IV-V
TEŞEKKÜRLER	VI
ÖZET	1
İNGİLİZCE İSİM VE ÖZET	2
GİRİŞ VE AMAÇ	3
GENEL BİLGİLER	4 - 24
GEREÇ VE YÖNTEMLER	25-26
BULGULAR	27-32
TARTIŞMA	33-38
SONUÇ VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	40-52

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Olgu gruplarına göre HH sayı ortalamaları

Tablo 2. Olgu gruplarına göre mikrodamar dansitesi (Chalkey yöntemi)

Tablo 3. Olgu gruplarına göre mikrodamar skoru

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Erken plasental gelişimin başlıca basamakları. a, b) Pre-laküner safha; c) Laküner safha; d) Laküner safhadan primer villus safhasına geçiş; e) Sekonder villus safhası; f) Tersiyer villus safhası.

Şekil 2. Matür plasental ağacın uç kısımları ve çeşitli villus tiplerinin enine kesit çizimi

Şekil 3. Mezenkimal villuslar. Stromal özellikleri ile mezenkimal karakterleri belirgindir (H-E, 125 x).

Şekil 4. İmmatür intermediyet villusları fetal damarlar izlenmeye başlar, stroma immatürdür. (H-E, 125 x).

Şekil 5. Kök villuslar değişik boyutlarda olmakla beraber, venül (v) gibi gelişmiş damarlar izlenir (H-E, 125X).

Şekil 6. Matür intermediyet villuslar. Stroma azalmış ve damarlar daha belirgindir (H-E, 125 x).

Şekil 7. Terminal villusların fetal vaskülarizasyonu. Matür intermediate villustan dallanan üç terminal villüsünün damarları (A). Damarların çeşitli seviyelerdeki kesitleri (B-E)

Şekil 8. Plasental villus tiplerinde vaskülogenez ve anjiyogenez

Şekil 9. Plasental villusta vaskülogenez ve anjiyogenez mekanizmaları

Şekil 10. Fötal dönemde villöz damar gelişimi. mv: mezenşimal villus; iiv: immatür intermediyet villus; kv: kök villus; tv: terminal villus; miv: matür intermediyet villus

Şekil 11. İstenmeyen gebelik (kontrol grubu) olgusunda HH göreceli olarak daha az sayıdadır. (CD 68 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

Şekil 12. BO olgusunda HH sayısı göreceli olarak artmıştır. (CD 68 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

Şekil 13. MA olgusunda HH sayısı göreceli olarak artmıştır. (CD 68 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

Şekil 14. İstenmeyen gebelik (kontrol grubu) olgusunda hot spot alanlarda Chalkey gridi ile damar sayım yöntemi. Grid üzerindeki noktalara vuran damarlar kırmızı ile işaretlidir. (CD31 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

Şekil 15. BO olgusunda hot spot alanlarda Chalkey gridi ile damar sayım yöntemi. Grid üzerindeki noktalara vuran damarlar kırmızı ile işaretlidir. (CD31 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

Şekil 16. MA olgusunda hot spot alanlarda Chalkey gridi ile damar sayım yöntemi. Grid üzerindeki noktalara vuran damarlar kırmızı ile işaretlidir. (CD31 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

Şekil 17. İstenmeyen gebelik (kontrol grubu) olgusunda villus damar sayısı göreceli olarak azdır. (CD31 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

Şekil 18. BO olgusunda villus damar sayısında hafif düzeyde artış (CD31 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

Şekil 19. MA olgusunda villus damar sayısında göreceli olarak artış izlenmektedir. Yeni oluşan damarlar periferik yerleşimlidir. (CD31 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

KISALTMALAR

Ang-1	: Anjiyopoietin-1
Ang-2	: Anjiyopoietin-2
bFGF	: Bazik fibroblast büyüme faktörü
BO	: “Blighted” ovum
EH	: Endotelyal hücreler
EPH	: Endotelyal progenitör hücreler
FcR	: Fc reseptörü
Flt-1	: Fms-benzeri tirozin kinaz-1
Flk-1	: Fötal karaciğer kinazı
GM-CSF	: Granülosit-monosit koloni stimulan faktör
hCG	: İnsan koryonik gonodotropini
HH	: Hofbauer hücresi
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
İMİV	: İmmatür intermediyet villüs
KV	: Kök villüs
MHC	: Majör doku uyumluluk kompleksi
MİV	: Matür intermediate villüs
MO	: Missed abortus
PDGF	: Trombosit kökenli büyüme faktörü
PIGF	: Plasental büyüme faktörü
PK	: Post konsepsiyon
MV	: Mezenşimal villüs

TLR-4 : Toll- benzeri reseptör 4

TV : Terminal villüs

VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VEGFR-2 : Vasküler endotelyal büyüme faktör reseptörü-2

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı tez konusu olarak öneren ve çalışmalarımın her aşamasında benden yardım ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Erdener ÖZER'e ,

Uzmanlık eğitim sürecinde katkıları bulunan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Erdener ÖZER ve değerli hocalarım Prof. Dr. Tülay CANDAN, Prof. Dr. Şerafettin CANDAN, Prof. Dr. H.Uğur PAPUÇCUOĞLU, Prof. Dr. Aydanur KARGI, Prof.Dr. Kutsal YÖRÜKOĞLU, Prof. Dr. Meral KOYUNCUOĞLU, Prof. Dr. Sülen SARIOĞLU, Prof. Dr. Özgül SAĞOL, Prof. Dr. Banu LEBE, Prof. Dr. Burçin TUNA, Prof. Dr. Sermin ÖZKAL, Doç. Dr. Çağnur ULUKUŞ, Uzm.Dr. Duygu GÜREL, Uzm. Dr. Merih GÜRDAY BUDAK, Uzm. Dr. Ş.Mehtat ÜNLÜ' ye, ayrıca Dicle Üniversitesi Patoloji A.B.D.'da görev yapan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM ve değerli hocalarım Prof.Dr. Bülent MIZRAK, Doç.Dr. Selver ÖZEKİNCİ, Yrd. Doç.Dr. Uğur FIRAT, Yrd.Doç.Dr. Ayşenur KELEŞ, Uzm. Dr. Asuman ÇELİK'e,

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum Dicle Üniversitesi ve Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakülteleri Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi arkadaşlarım yanı sıra, teknisyen ve kıymetli personeline ,

Olguların bir kısmına ait parafin blokları sağlayan İzmir Doktor Hayri Üstündağ Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi Patoloji bölümünden Uzm. Dr. İpek Pınar'a ve çalışmada teknik katkısı bulunan Patoloji Anabilim Dalımız Laboratuvar çalışanlarına ,

Sevgisini ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim sevgili eşim Özkan KARAKAYA'ya, biricik kızım BENNU'ya, anneme ve babama teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr.Yeliz ARMAN KARAKAYA

İZMİR, 2011

ÖZET

Spontan düşükler sonucu ortaya çıkan erken fetal kayıplar, gebeliğin en sık karşılaşılan komplikasyonudur. Spontan düşüklerin nedenleri arasında; anomalili zigot gelişimi, maternal sorunlar, kromozomal anomaliler, immünolojik hastalıklar ve sorunlu plasental damarlanma sayılabilir. Hofbauer hücreleri (HH) plasental makrofaj olarak da isimlendirilir ve birçok plasental olayda rolleri vardır. Bu retrospektif çalışmanın amacı, erken fetal kayıplarda HH'lerinin rolünü araştırmaktır.

Missed abortus (MA, n=15), blighted ovum (BO, n=15) gruplarına ait gebelik materyalleri ile kontrol grubu olarak seçilen istenmeyen gebelik materyallerine (n=15) ait arşiv bloklarından elde edilen kesitler, HH'ini ve endotel hücrelerini göstermek için sırasıyla CD68 ve CD31 antikoları ile immünohistokimyasal olarak boyandı. Işık mikroskopik düzeyde HH sayımı yapıldı. Vaskülogenezi ölçmek için iki yöntem kullanıldı. Chalkey yöntemi ile mikrodamar dansitesi değerlendirildi ve ayrıca semikantitatif olarak mikrodamar skoru belirlendi.

HH, BO ve MA olgularında kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla bulundu (Sırasıyla, $p = 0.005$ ve $p \ll 0.001$). HH sayısı MA ve BO arasında anlamlı fark göstermedi ($p= 0.04$). Chalkey yöntemi ile değerlendirilen mikrodamar dansitesi açısından, kontrol grubu ile MA ve BO olguları arasında anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla, $p=0.29$ ve $p= 0.09$). Mikrodamar skoru bakımından, MA olguları ile kontrol grubu ve BO olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu (sırasıyla, $p=0.003$ ve $p=0.003$). Kontrol grubu ile BO olguları arasında mikrodamar skoru açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0.54$).

Sonuç olarak, HH'nin erken fetal kayıplarda biyolojik anlamı olabileceğini ve MA olgularında plasental damar gelişimi ile ilişkili rol oynadığını düşünmekteyiz. Bu durumda da hipoksiye bağlı olarak HH sayıca artmış olabilir. BO olgularında HH'nde anlamlı artış görülmesi ise, bu hücrelerin hücresel transport, immünolojik ya da inflamatuvar rolleri ile ilişkili olabilir.

Anahtar sözcükler: anjiogenez, blighted ovum, Hofbauer hücresi, missed abortus, plasenta, vaskülogenez

THE ROLE OF HOFBAUER CELLS ON VILLOUS VASCULATURE IN EARLY FETAL LOSSES

Early fetal loss due to spontaneous abortions is the most common complication of pregnancy. Possible causes include congenital anomalies of the zygote, maternal problems, chromosomal abnormalities, immunological disorders and defective vasculogenesis. Hofbauer cells (HH) are the placental macrophages playing roles on many important placental events. The aim of this retrospective study is to investigate the role of HH in early fetal losses.

The slides obtained from archival blocks of missed abortion (MA, n = 15) and blighted ovum (BO, n=15) cases and unwanted pregnancies materials (control group, n = 15) were stained by immunohistochemical methods using CD68 and CD31 antibody to label HH and endothelial cells, respectively. Hofbauer cells were counted under light microscope. Vasculogenesis was evaluated using two methods: Chalkey method and microvessel scoring.

The mean number of vilous Hofbauer cells was found to be significantly higher in both BO and MA in contrast to the control group ($p = 0.005$ and $p << 0.001$, respectively). However it was not significantly different between BO and MA ($P = 0.04$). Chalkey method revealed no statistically significant difference in the control group in comparison with MA and BO in ($P=0.29$, $P=0.09$, respectively). Higher microvessel scoring were found in MA in contrast to BO and the control group ($p=0.003$ and $p=0.003$, respectively). However, there was no difference between the control group and BO ($p=0.54$).

We think that HH may be of biological importance in early fetal losses and play a role on defective vasculature formation in MA. We speculate that this role may result from a hypoxic insult. We also speculate that HH may play a role in the pathogenesis of BO resulting from their other effects on cellular transport, immunity and inflammation.

Key words: angiogenesis, blighted ovum, Hofbauer cells, missed abortion, placenta, vasculogenesis

GİRİŞ VE AMAÇ

Başarılı bir plasantasyon ve normal embriyonik gelişim için damar ağının oluşturulması, olgunlaştırılması ve yerleşimi gereklidir. Vaskülogenezis olarak isimlendirilen bu olay hem fetus hem de plasenta için kritik önemi olan iki süreçtir.

HH, plasental gelişimin en erken dönemlerinde ortaya çıkar ve gebelik boyunca plasentada bulunurlar. Bu hücrelerin başta sıvı dengesi, immünolojik ve inflamatuvar olaylar olmak üzere plasental birçok olayda rol aldığı düşünülür. Vaskülarizasyonun erken fazında villuslarda bulunan HH'nin görülmesi nedeni ile plasental vaskülogenezin ilk evresinde bu hücrelerin parakrin rol oynadığı da ileri sürülmektedir (1). Ayrıca HH'nin, VEGF gibi anjiogenik büyüme faktörü eksprese ettiği gösterilmiştir.

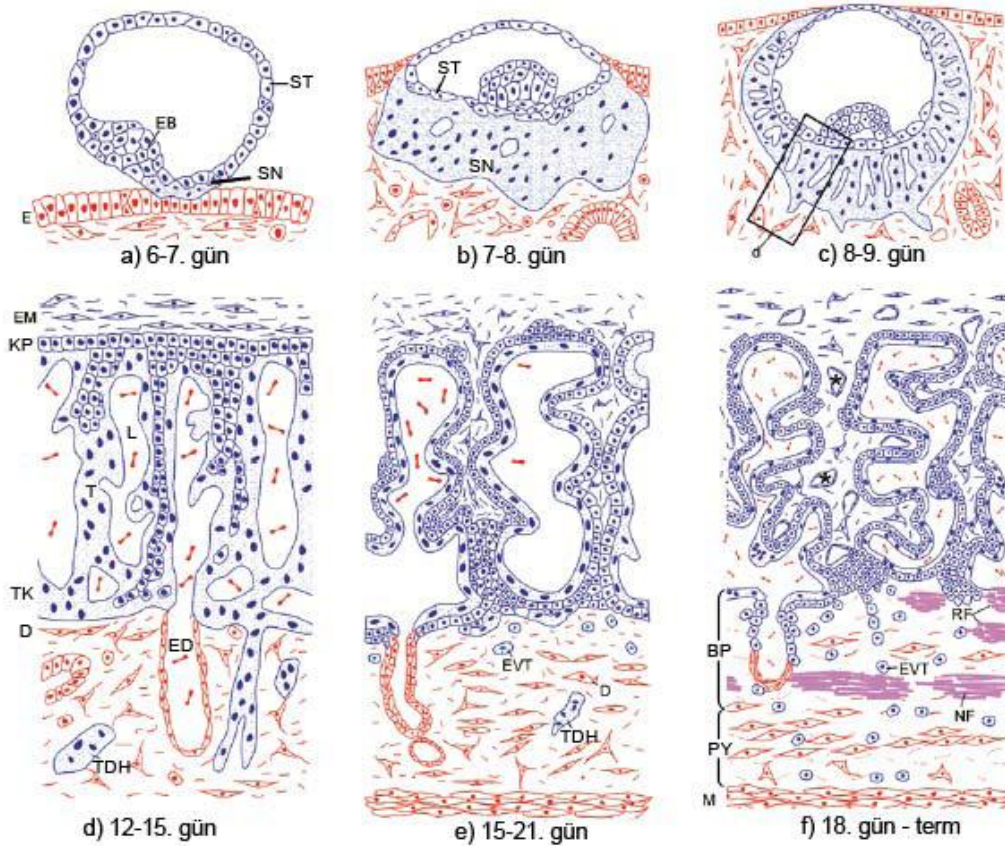
Geçmiş yıllarda nedeni yeterince anlaşılamayan konjenital malformasyonlu birçok doğum ve fetal kayıplar oldukları gibi kabul edilmiş, çoğunda etyo-patojenik mekanizmalar bulunamamıştır. Yapılan incelemeler, gebeliğin ilk yarısında meydana gelen fetal kayıpların büyük bir kısmını spontan abortusların oluşturduğunu göstermiştir. Bu grup içinde ise "missed" abortus (MA) ve "blighted" ovum (BO, anembriyonik gebelik) olguları önemli bir yer tutmaktadır. Erken ve spontan gebelik kayıpları sık karşılaşılan obstetrik problemlerdir. MA gebeliğin 20. haftasından önce fetusun intrauterin ölümüne rağmen, izleyen haftalar ya da aylar süresince gebelik kesesini terk etmediği olguları anlatmaktadır. Buna karşın, gebeliğin erken dönemlerinde ultrasonografi ile fetus ve fetus ekleri olmaksızın boş bir gebelik kesesinin saptanması veya gebelik tarihine göre oldukça küçük bir fetal eko tespit edilmesi BO olarak değerlendirilir.

Erken fetal kayıplarda plasental vaskülogenez ve angiogenezin rolü ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen, HH'nin bu olgularda plasental damarlanma üzerinden rolünü araştıran henüz bir çalışma henüz yoktur. Bu retrospektif çalışmanın amacı, erken fetal kayıplarda HH'nin biyolojik etkisinin olup olmadığını araştırarak, HH'nin erken fetal kayıplardaki etyopatogenetik önemini ortaya koymaktır.

GENEL BİLGİLER

A. Plasentanın Oluşumu

Plasenta anne ile fetus arasında besin alışverişini sağlayan fetal kaynaklı bir organdır. Bu organın fetal gelişim sırasında transport ve sekresyon gibi önemli görevleri vardır (1). Plasentanın gelişimi; “pre-laküner”, “laküner” ve “erken villöz” safhalar olmak üzere üç ana başlıkta incelenebilir (Şekil 1).



Şekil 1. Erken plasental gelişimin başlıca basamakları. a, b) Pre-laküner safha; c) Laküner safha; d) Laküner safhadan primer villus safhasına geçiş; e) Sekonder villus safhası; f) Tersiyer villus safhası. SN: Sinsisyotrofoblast; ST: Sitotrofoblast; EB: Embriyoblast; E: Endometriyal epitelyum; D: Desidua; EM: Ekstraembriyonik Mezoderm; L: Maternal Kan Lakünesi; ED: Endometriyal Damar; KP: Primer Koryonik Plak; TK: Trofoblastik Kabuk; T: Trabekül=primer villus; EDT: Ekstra Villöz Trofoblast; BP: Bazal Plak; PY: Plasental Yatak; NF: Nitabuch'un Fibrinoidi; RF: Rohr Fibrinoidi; TDH: Trofoblastik Dev Hücre; (*): Föetal kan damarı. Kırmızı: Maternal hücreler, Mavi: Föetal hücreler, Mor: Maternal-Föetal karışık yapı (2).

a. Pre-laküner safha: Plasentanın gelişimi blastosistin uterus mukozasına yakın ve sabit temas kurmasıyla (implantasyon) başlar. İmplantasyon olayı koitus sonrası 6-7. günlerde ortaya çıkar. Bu evrede implante olan blastosist 107-256 arası hücreden trofoblast oluşur (3). Çok sayıda trofoblast çoğu blastosistik boşluğu çevreleyen dış duvarı yapar (Şekil 1a). Trofoblastlar plasenta ve koryonik zarların oluşumunda rol oynayan hücrelerin öncüsüdürler. Daha büyük hücrelerin oluşturduğu iç hücre kitlesi embriyoblastlardan oluşur. Embriyo, göbek kordonu ve amniyon zarı bu hücrelerden köken alır. Embriyoblast kökenli mezenşim ve damarlar, plasentanın oluşumuna da katılırlar (4).

Blastosistin fallop tüpüne ve oradan uterus boşluğuna gelinceye kadar geçen süreye, “pre-implantasyon evresi” denir. Uterus mukozası ve blastosist yüzeyini döşeyen her iki epitelin birbirine apikal tutunması ile ortaya çıkan kısa ve çok özel evreye “implantasyon penceresi” denir (5). Bu tutunma ve ivazyon olayları sırasında, blastosistin implante olan kutbundaki trofoblast hücreleri hızla çoğalarak, iki hücreli trofoblast tabakasını oluşturur (6). Bu hücrelerden dışta olan ve maternal dokuya tutunmuş trofoblast hücreleri birbirleri ile birleşir, füzyona uğrar ve sinsisyotrofoblastları oluşturur. Blastosist duvarının maternal dokuya tutunmayan geriye kalan hücreleri sitotrofoblast adını alır (Şekil 1 a).

İmplantasyon kutbunda yer alan trofoblastik hücreler, düzgün yüzeyli bir kitle halinde değil, parmaklı çıkıntılar şeklinde uzantılar ve dallarla endometriyumun derinlerine invaze olurlar. Bu evre 7-8. günler arasında gerçekleşir. Sinsisyotrofoblastların daha kompakt olarak izlendiği bu evre “prelaküner safha” olarak isimlendirilir (7).

Sinsisyotrofoblastlar oluşumu sırasında çoğalma potansiyellerini kaybederken, kök hücre gibi davranan sitotrofoblastlar, trofoblastların büyümesi ve çoğalmasını sağlarlar. İmplantasyon sürecinde oluşan embriyoblastın çevresini saran trofoblast tabakası ve embriyo ile trofoblast arasında bulunan embriyo dışı mezodermden (ekstraembriyonik mezoderm) oluşan yapıya “koryon” denir.

b.Laküner safha: PK 8. günde, implantasyon kutbunda büyüyen sinsisyotrofoblastik kitle içerisinde, küçük intrasinsiyal vakuoller oluşmaya başlar. Vakuoller hızlıca büyür ve bir laküna sistemi oluşturur (Şekil 1 b, c). Laküna oluşumu implantasyon kutbunda başlar ve gebelik ilerledikçe sinsisyotrofoblastik kitle tüm blastosist yüzeyini kaplar. Bu olay blastosistin iyice derinlere implantasyonu ve dolayısıyla uterus epitelinin implantasyon alanının üstünü örtmesiyle PK. 12. günde son bulur. Bu evrede blastosistin yüzeyi tamamen sinsisyotrofoblast ile kaplıdır. Trofoblastik çoğalma ve sinsiyal birleşme implantasyon

kutbunda başladığı için, implantasyon dışı alan ile kıyaslandığında trofoblastik duvar burada daha kalındır. İmplantasyon kutbundaki bu daha kalın trofoblast tabakası daha sonra plasentayı yapar ve daha ince olan karşı taraftaki ince trofoblastik kabuk, başlangıçta aynı yapıyı oluşturmaya çalışsa da, gerileyerek koryon löveyi oluşturur. Laküna oluşumu blastosistin üzerini örten trofoblastik örtüyü üç tabakaya ayırır (Şekil 1 c, d):

1- Blastosist boşluğuna bakan birincil (primer) koryonik plak

2- Trabekülalarla beraber laküner sistem

3- Endometriyuma bakan trofoblastik kabuk

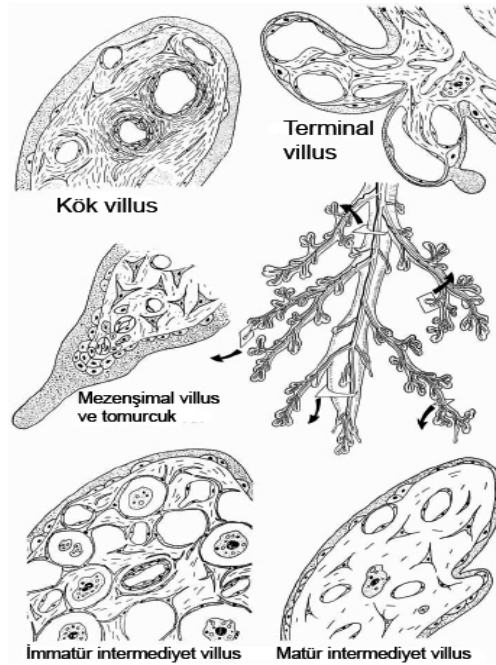
Bu lakünalar, trabeküla adını alan sinsityotrofoblast bölmeleri (septaları) ile birbirlerinden ayrılırlar (Şekil 1.d). PK. 12 günde, bu trabekülalar primer koryonik plaktan köken alan sitotrofoblastlar tarafından işgal edilirler. Birkaç gün içerisinde, sitotrofoblastlar bütün trabekülalar boyunca uzanırlar (3). Lakünalar başlangıçta sadece sinsityotrofoblastlardan oluşurken, sitotrofoblastların lakünalar aracılığıyla kabuğa ulaşması ile PK 15. günde daha heterojen bir yapı kazanır (Şekil 1.e). İmplantasyonun erken evrelerinde maternal dokunun erozyonu sinsityal trofoblastların litik etkisi ile gerçekleşir ve sitotrofoblastların kabuğun en altında bulunması bu durumu değiştirir. Sitotrofoblastların hızlı çoğalma özelliği ve endometriyumun derinliklerine hızlı göçü, invazyon ve implantasyon alanının genişlemesini sağlar (3,8). Endometriyal stroma da bu işlemler sırasında önemli değişiklikler geçirir. İnvaze olan trofoblastların varlığı ve hormonal aktivitesi, endometriyal stromal hücrelerinin çoğalması ve büyümesine sebep olur ve böylece stromal hücreler desidual hücrelere dönüşür (9).

Bazal sinsityotrofoblastın invazif aktivitesi 12. PK. günde mevcut bulunan maternal kan damarlarının bozulmasına neden olur. Aynı zamanda, bozulan damarlardan dışarı sızan kan hücreleri ilk kez lakünalar içinde görülmeye başlar. Daha sonraki gelişimsel basamaklarda, bütün lakünalar sistemi maternal kanla dolmaya başlar. Trofoblastların endometriyumun daha derinlerine invazyonu ile spiral arterler de etkilenir ve lakünalar içi kan basıncının artışına neden olur. Böylece plasentanın ilk gerçek maternal sirkülasyonu başlamış olur (3).

c. Erken villöz safhalar: PK. 13. günde ilk maternal eritrositlerin lakünalarda görülmesinden hemen sonra trabekülalarda artan sitotrofoblast çoğalması ve sinsityal füzyon görülür. Sonuç olarak sadece uzunlamasına değil, lakünalara doğru yan dallar veren bir trabeküler büyüme görülür (Şekil 1 d, e). Boyu ve çapı büyüyen bu primer villuslar sitotrofoblastlarca invaze

edilir. Böylece plasentanın villöz safhaları başlamış olur. Sadece iki gün sonra, primer koryonik plağın ekstraembriyonik mezenşimi/mezodermi villusların içine doğru girmeye başlar ve ikincil (sekonder) villuslar oluşur (Şekil 1 e). İlk fetal kapillerler, PK 18-20. günler arasında villusların stromasını oluşturan mezenşim dokuda gözlenir. Bunlar lokal olarak mezenşimal hücrelerden farklılaşan hemanjiyoplastik progenitör hücrelerden köken alırlar (10, 11). Villöz stromada kapiller kesitlerinin görülmeye başlaması ile üçüncül (tersiyer) villuslardan bahsedilir (Şekil 1 f).

Tam bir fetoplental dolaşım 5. haftanın başında yeterli miktardaki kapiller segmentin düzenli bir kapiller yatağı oluşturmak üzere birleşmesiyle birlikte görülür. Takip eden haftalarda da intravasküler hematopoez görülür.



Şekil 2. Matür plasental ağacın uç kısımları ve çeşitli villus tiplerinin enine kesit çizimi (2).

B. Villöz Yapılanma:

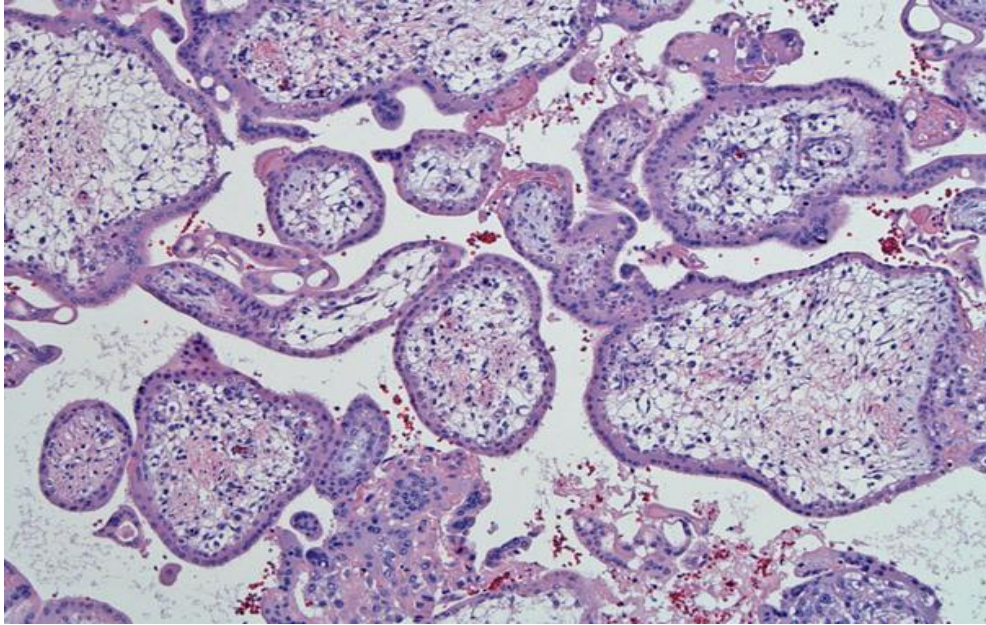
Erken villus ağacının gelişmesi için başlangıçta daha büyük villusların yüzeylerinde lokal sitotrofoblast çoğalır ve ardından sinsityal birleşme ile sinsityal tomurcuklar oluşur (Şekil 2). Bu tomurcuklar erken primer villuslara benzerler ve sadece trofoblastlardan oluşurlar. Bu tomurcukların birçoğu dejenere olurken, sadece bazıları villöz mezenşimle istila edilir ve villöz tomurcuklara dönüşürler. Villöz tomurcuklar yapısal olarak plasentasyonun primer villuslarına karşılık gelirler. Stroma içinde fetal damarların oluşumu, uzamaları ve genişlemeleri ile birlikte mezenşimal villuslar oluşur. Bunların yüzeyleri boyunca tomurcuk

oluşumu yeniden gözlenebilir. Plasantada intervillöz bir dolaşımın olduğu varsayılırsa, fetal ve maternal kanın birbirlerine yakın temasa geçmeleri, intravillöz (fötal) dolaşım başlar başlamaz gerçekleşir (12).

Villuslar 5 ayrı tipte değerlendirilir:

1. Mezenkimal villus (MV)

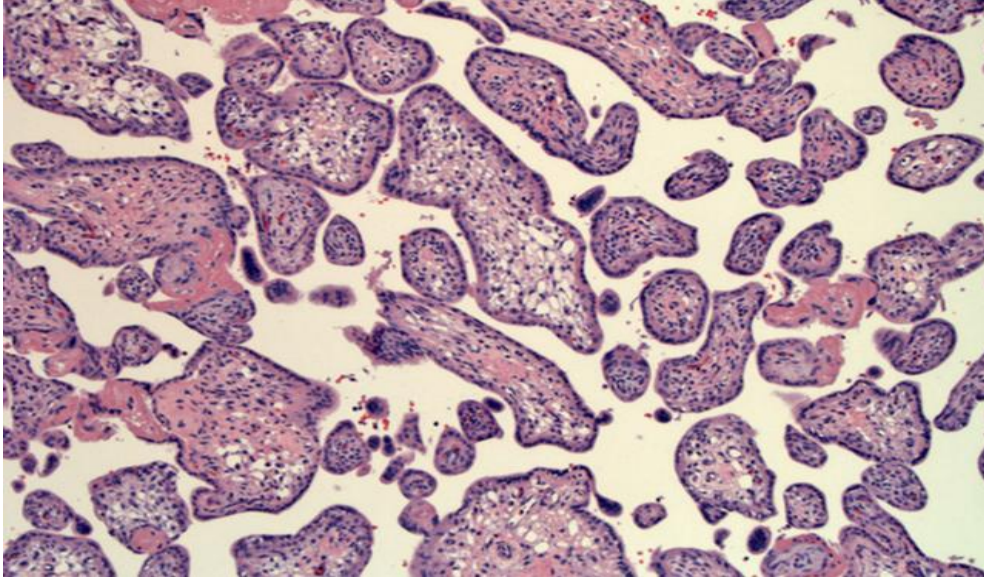
Bunlar en primitif villuslardır ve genellikle birinci nesil tersiyer villuslar olarak kabul edilirler. Gebeliğin ilk dönemlerinde baskın tiptir. Bu dönemde, mezenşimal villuslar, İMİV'lerin öncüleridir. Gebeliğin daha sonraki dönemlerinde KV ve İMİV'lerin uçlarında, oldukça küçük, ince, göze çarpmayan yapılar şeklinde izlenirler. Aynı zamanda villöz çoğalma ve dallanma bölgesi olarak rol oynar. Bunlar primitif stromaya sahiptirler. Stroma gevşek olarak yerleşen kollajen liflerden oluşur ve bazı mezenşimal hücreleri ile HH'ni çevreler. Fötal kapillerler gelişmemiştir ve dilate sinüzoidler görülmez (Şekil 3). Kalın trofoblastik tabakanın altında primitif kapillerlerin farklı gelişimsel evreleri izlenir.



Şekil 3. Mezenkimal villuslar. Stromal özellikleri ile mezenkimal karakterleri belirgindir (H-E, 125 x).

2. İmmatür İntermediyet Villus (İMİV)

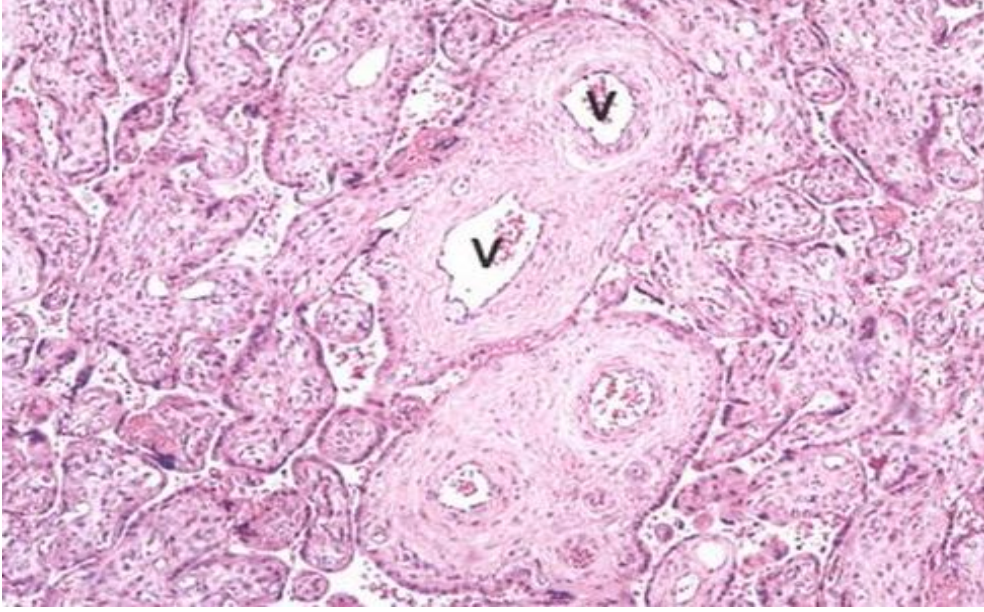
Kök villusların periferal kısmında yer alan yumru şeklindeki devamıdır. İmmatür plasentalarda baskın villus tipidir. İMİV'ler ilk iki trimester boyunca mezenşimal villusların matürasyonu ile oluşurlar. Daha sonra kök villuslara dönüşürler. Dolayısıyla İMİV'ler de MİV'ler gibi, mezenşimal ve tamamen gelişmiş villuslar arasında bir formdur. İMİV'lerin kök villuslardaki gibi çevresinde oldukça kalın bir trofoblastik tabaka vardır. En karakteristik özellikleri kanallardan oluşan ağsı yapıdaki stromalarıdır (Şekil 4). HH bu kanallar içinde yerleşiktir. Fötal damarlar ve kollajen lif demetleri bu stromal kanalların aralarında yer alırlar.



Şekil 4. İmmatür intemediyet villusları fetal damarlar izlenmeye başlar, stroma immatürdür. (H-E, 125 x).

3. Kök Villus (Stem villus, KV)

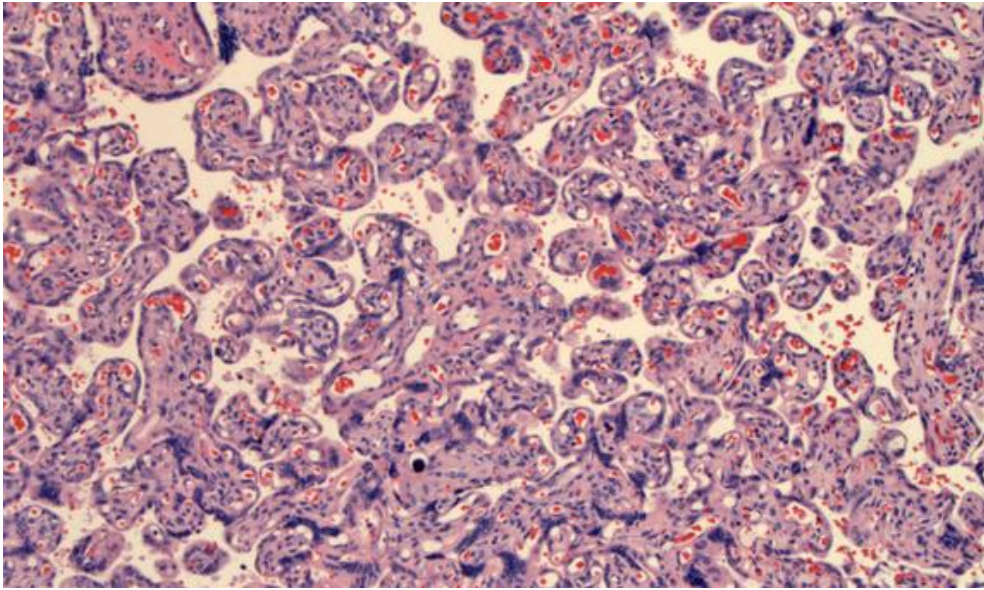
Oldukça yoğun fibröz bir stroması vardır. Işık mikroskopu altında ayırt edilebilir bir medya tabakasına sahip arter, ven, arteriyol veya venüller ile karakterizedir (Şekil 5). Kök villuslar; ana kök (truncus chorii), trunkustan çıkan rami chorii, ramuli chorii ve anchoring villus olmak üzere 4 tiptir.



Şekil 5. Kök villuslar değişik boyutlarda olmakla beraber, venül (v) gibi gelişmiş damarlar izlenir (H-E, 125X).

4. Matür intermediyet villus (MİV)

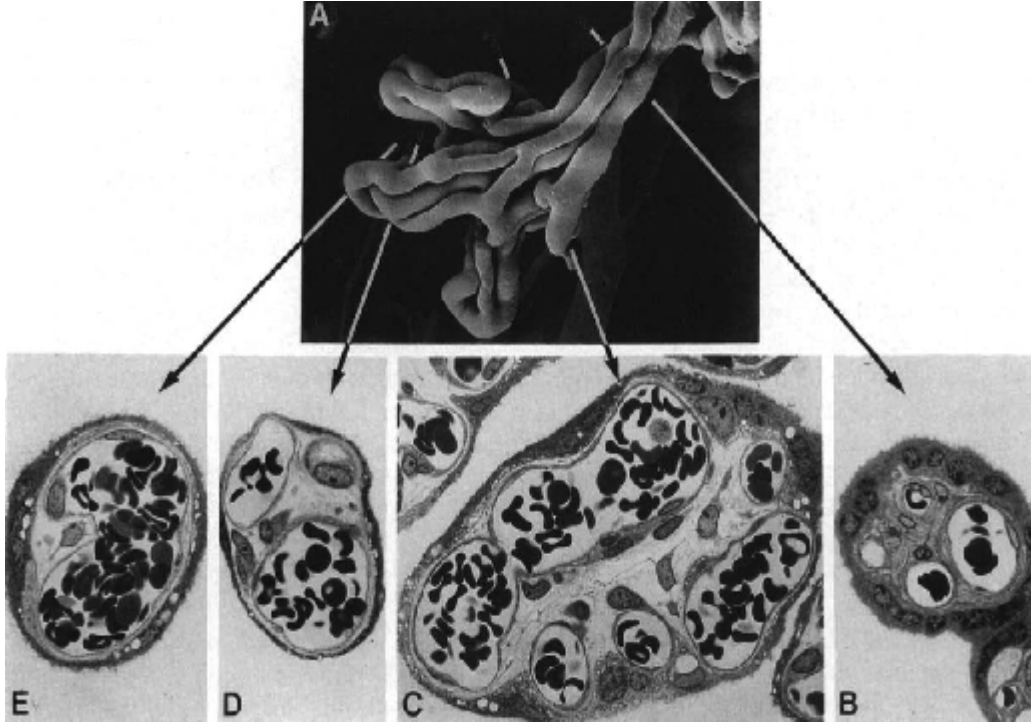
Bunlar uzun, ince, periferel dallanmalardır. Bunların damarları ışık mikroskopuyla ayırt edilebilen medya tabakasından yoksundur (Şekil 6). Gebeliğin son trimesterinde mezenşimal villuslardan oluşan MİV'ler terminal villusları oluştururlar. Dolayısıyla mezenşimal ve tamamen gelişmiş villuslar arasında bir geçiş formudur.



Şekil 6. Matür intermediyet villuslar. Stroma azalmış ve damarlar daha belirgindir (H-E, 125 x).

5. Terminal villus (TV)

Matür intermediyet villusların yaptığı, üzüm benzeri, son dallanmalardır. Yüksek derecede kapillerizasyon ve oldukça genişlemiş sinüzoidlerle karakterizedir (Şekil 7). Fetomaternal alışverişin ana kısmını oluştururlar.



Şekil 7. Terminal villusların fetal vaskülarizasyonu. Matür intermediate villustan dallanan üç terminal villüsünün damarları (A). Damarların çeşitli seviyelerdeki kesitleri (B-E) (13).

C. Hofbauer Hücreleri

Villöz stromanın temel yapısını bir ağ oluşturan bağ dokusu hücreleri oluşturur. Bunlar, bağ dokusu lifleri ve fötal damarlar ile komşuluk yapar. Plasentanın yaşına ve villusun tipine göre farklı tiplerde stromal hücreler tanımlanmıştır. Bunlar mezenşimal hücreler, retikulum hücreleri, fibroblast hücreleri, myofibroblast hücreleri, mast hücreleri, plazma hücreleri ve HH'dir (11, 14, 15-17).

Villus stromasında bulunan bir hücre tipi de plasental makrofajlar olarak bilinen HH'dir. Hücrelerin adıyla özdeşleşen Hofbauer isimli araştırmacı, 1903 yılında bu hücrelerin detaylı tarifini; villöz stromada yer alan yuvarlak, fuziform ya da stellat hücreler olarak yapmıştır(18). Bu hücreler günümüzde de HH olarak adlandırılmaktadır. Çekirdekleri

eksentrik yerleşmiş ve 10-40µm çapındadırlar (18). Hücrelerin boyutları, uzantılarının boyutlarına bağlıdır. Genelde eksentrik yerleşimli olan çekirdeği oval, yuvarlak veya böbrek şeklindedir. Çift çekirdekli hücrelere az rastlanır. İyi gelişmiş çekirdek membranı vardır fakat nükleer kromatin belirgin değildir. HH ile yapılan ilk çalışmalarda bu hücrelerin en önemli özelliklerinin sitoplazmalarındaki yoğun vakuoller ve granüller olduğu belirlenmiştir (18, 19). Bu yüzden bu hücreler aynı zamanda “köpüksü ” hücreler olarak da bilinirler. Gebelik ilerledikçe vakuol sayıları ve boyutları azalır ve HH’nde muhtemelen lizozomlar olan intrasitoplazmik granüllerin sayısı artar. Buna rağmen az sayıda veya hiç vakuol içermeyen HH de gebeliğin erken dönemlerinde görülebilir ki bu hücreler immatür HH olarak kabul edilir (20, 21). Bu bulgu, vakuollü HH’nin morfolojik olarak belirgin olduğunu ve tamamen farklılaşmış çok daha büyük mononükleer fagosit popülasyonunun bir üyesi olduğunu varsayan immünolojik araştırmalarla uyumludur (22, 23). Fusiform şekilli HH’ne de rastlanır. Bunları fibroblastlardan ayırt etmek oldukça güçtür. Bunları fibroblastlardan ayırt etmenin en kolay yolu köpüksü sitoplazmayı ayırt etmektir. HH küçük büyütmede plazma hücreleri ile de karıştırılabilirler. Genel olarak HH boyalara karşı düşük derecede immünohistokimyasal affinite gösterirler, çünkü sitoplazmalarında glikojen yoktur ve glikoproteinler ile ribonükleoproteinler azdır (15, 17).

HH’nin kökeninin ne olduğu ilk tarif edildiğinden bu yana tartışmaya konu olmuştur. Chaletzky ve ark. (24) tarafından öne sürülen ve HH’nin maternal desidua kökenli olduğu gibi birçok teori geçersiz kılınmıştır. Bu hücrelerin kökenini belirlemeye yönelik en önemli bulgulardan biri Wynn ve ark. (25)’in yaptığı seks kromatin boyamasından elde ettiği, HH’nin fetal orijinli olduğu bulgusudur. Araştırmacıların çoğu artık HH’nin koryonik mezenşimal kökenli olduğuna ve bu hücrelerin villus stromasının hücrelerinden farklılaştığına inanmaktadırlar (16, 26, 27, 28). Morfolojik araştırmalarda bu kavram sorgulanmıştır, çünkü her iki hücre tipi arasında bir geçiş formu gözlemlenmemiştir (11, 17). Yine de HH üzerinde yapılan gözlemler (10) ile çeşitli organların makrofajları ve makrofaj öncüleri ile ilgili elde edilen verilere (29- 31) dayanarak, HH’nin plasenta gelişiminin erken evrelerinde, henüz fetal dolaşım oluşmadan mezenşimal hücrelerden köken aldığı savı kuvvetli bir hipotez olarak kalmaktadır. Daha sonra fetal dolaşım başlar başlamaz, HH, diğer organlardaki makrofajlar gibi fetal kemik iliği kökenli monositlerden köken almaktadır (20, 32). Hatta Moskalewski ve ark.(33), HH ve monositler arası geçiş formları gözlemlemiştir. Bu hipotez ile ilgili olarak akılda bulundurulması gereken şey, gebeliğin sonunda, insan kordon kanının yetişkin kanındaki üç katı daha fazla monosit içerdiğidir. Bu monosit alt-popülasyonları belirgin

fonksiyonel heterojenite gösterirler (34). Maternal arteriyel kanın intervillöz aralığa ulaşması 1. trimesterin sonunda (10-12 haftalar arası) olduğundan dolayı, maternal monositlerin plasenta villus stromasına geçip, bu hücrelere farklılaşmaları mümkün değildir (35). HH'nin gebelik boyunca farklı yerlerden köken alabilecekleri öne sürülmüştür ve bu nedenle heterojen bir hücre topluluğu oluştururlar (20).

Bu hücrelerin doğası önceleri çok tartışılırken, şimdilerde sadece doku makrofajları olduklarına inanılmaktadır. Makrofajların morfolojik, histokimyasal ve fonksiyonel karakteristiklerine sahip olmalarının yanında (36), bu hücrelerdeki gibi IgG (immünglobulin G) yüzey reseptörleri ve sınıf II MHC (Major Doku Uyumluluk Kompleksi) moleküllerini de eksprese ederler (22).

HH plasental gelişimin en erken devreleri ve gebelik boyunca villuslarda bulunurlar (26). Gebelik ilerledikçe, villöz stromanın daha yoğun kıvama gelmesiyle birlikte, bu hücrelerin görünmesi maskelenir ve sadece stromal boşluklarda ödem varsa görünür hale gelirler. Bu hücrelerin villuslar damarlanmadan önce ortaya çıkmaları, gebeliğin erken dönemlerinde bu hücrelerin mezenşimal hücrelerden farklılaştığı izlenimini vermektedir. Gebeliğin daha sonraki evrelerinde ise HH popülasyonu nun fetal kemik iliği kökenli hücrelerden kaynaklandığı düşünülmektedir (20, 37). HH bu nedenle heterojen bir hücre topluluğu olabilir. Nitekim bu hücrelerin mitotik aktivite göstermeleri, bu hücre topluluğunun bir alt sınıfının, bağımsız ve kendini yenileyebilir olduklarına işaret eder (20). HH plasental villuslarda ilk kez PK 18. günde görülürler (3). İmmatür plasentaların villuslarında her zaman bulunurlar. Normal plasentalarda HH'nin gebeliğin 4. veya 5. aylarından sonra sayıca çok azaldıkları veya ortadan kayboldukları öne sürülse de, bu hücrelerin termde de varlığını korudukları bir gerçek olup gebelik ilerledikçe sayılarındaki azalma, plasental olgunlaşma sırasında villöz stromanın yoğunlaşmasına bağlı olarak sıkışmaları ve maskelenmelerinden ileri gelir (26). Özellikle stromanın daha gevşek olduğu patolojik durumlarda (örneğin; maternal diabette ve Rh uyuşmazlığında) sayısız HH'nin varlığı kolaylıkla ayırt edilebilir (26). HH aynı zamanda insan amniyonu ve koryonunda da tanımlanmıştır (3). Vakuollü özellikte HH'nin erken dönemde, granüler görünümde olanların ise daha sonraki dönemlerde baskın tip olmasına karşın, ara formlara gebeliğin her döneminde rastlanabilir.

Bu hücrelerin doğası önceleri çok tartışılırken, şimdilerde sadece doku makrofajları olduklarına inanılmaktadır. Makrofajların morfolojik, histokimyasal ve fonksiyonel karakteristiklerine sahip olmalarının yanında (36), bu hücrelerdeki gibi IgG (İmmünglobulin

G) yüzey reseptörleri ve sınıf II MHC (Major Doku Uyumluluk Kompleksi) moleküllerini de eksprese ederler (22).

HH hem immün, hem de immün olmayan fagositoz yapabilir, plasental dokulara geçen maternal antijenleri yakalayabilirler ve plasenta içindeki birçok sitokin, prostaglandin ve tromboksan için önemli bir kaynaktır (38, 39). Diğer ve çoğu halen hipotetik olan görevleri arasında; plasental su dengesinin sağlanması, transport mekanizmalarına katılım, muhtemel endokrin fonksiyon ve vaskülogenezin kontrolünde rol almaları bulunmaktadır.

Villöz stromanın olgunlaşması ve yeniden şekillenmesi esnasında farklı HH tiplerinin gözlendiği bildirilmiştir (36). HH fagositoz yetenekleri ve mikropinositoz aktiviteleri ile tipik makrofaj karakterlerini sergilerler.

HH'ine, stromal sıvı dengesinin düzenlenmesi, immün komplekslerin emilimi, antijen sunma gibi birçok görev yüklenmiştir (36, 40). Bu hücreler plasental su içeriğini, iyonların taşınmasını ve interstisyel iyonların akışını düzenlerler (40). HH'nin intrasitoplazmik vakuelleri ve büyük lamelli podlarının villus stromasında bulunan fetal serum proteinlerinin azaltılmasında ve erken plasentanın su dengesinin kurulmasında görev aldıkları düşünülmüştür. HH'nin bu görevinin, plasentanın interstisyel alandaki proteinleri kan damar sistemine geri döndürecek bir lenfatik sistemi olmamasından kaynaklanabilir (41). HH'nin koryonik villus stromasında kolaylıkla gezebilmeleri stromal kanalların varlığı aracılığıyla sağlanır ve lenfatik sisteme bir alternatif olarak görev yaparlar (41, 42). Ayrıca, HH'nin stromal kanallardaki hareketi, bu hücrelerin;

- 1) Konağın savunulmasındaki rollerini ortaya koyar (15, 22);
- 2) Diğer mezenşimal hücrelerin çoğalmasının indüklenmesi veya baskılanması ile villus stromasının yeniden şekillendirilmesindeki rollerini göstermelerine yardımcı olur (11, 15, 16).

HH'nin hareket yeteneklerinin son trimesterde kısmen engellendiği de bilinmelidir. Bu dönemde stromal kanallar ya yoktur ya da çok dardır. Bu nedenle HH'nin bu villuslarda farklı ek rollerinin olabileceği düşünülmüştür (17). Birçok yazar HH'nin endokrin rolleri olabileceği yönünde tahminlerde bulunmuştur. Prosdocimi ve ark. (43) bu hücrelerin hCG (insan koryonik gonodotropin) sentezlediğini öne sürmüş ve immunohistokimyasal olarak bu hücrelerde hCG varlığı daha sonra gösterilmiştir (43, 44). Bu glikoproteini bu hücrelerde sentezlenmesi çok olası olmadığından, çevreden fagositozla hücre içine alınmış olması muhtemeldir (23).

HH'nin gebelik boyunca koryonik plakta ve villöz stromada bolca bulunduğu gösterilmiştir (22, 45). HH üzerine yapılan immünohistokimyasal araştırmalar, bu hücrelerin immünolojik rolleri hakkında daha fazla bilgi edinmemize neden olmuştur. Hofbauer hücrelerinin IgG için Fc reseptörleri (FcR) içerdikleri gösterilmiştir (46, 47). Bu reseptörlerin maternal antifötal antijen-antikor komplekslerini bağlayarak koruyucu görevde buldukları öne sürülmüştür (22, 48, 49). HH, immün fagositoz yapma (22, 46, 47, 51) ve ekzojen antijen-antikor komplekslerini ortadan kaldırabilme kapasitesindedir (46). Braunhunt ve ark. (52) HH'nde α -1 antikimotripsin varlığını gösterse de, term plasenta HH'nde lizozimin varlığını immünolojik yöntemlerle gösterememiştir (52). Zaccheo ve ark. (47) birinci trimester HH'nin in vitro ortamda lizozim salgılayabildiklerini göstermiştir (47). Bu farklılıkların kullanılan metodlardaki değişiklikten mi yoksa term ve birinci trimester HH'nin farklı fonksiyonlar görmelerinden mi olduğu bilinmemektedir.

HH'nin, TLR4 reseptörleri (Toll-like Receptors-TLRs) içerdikleri gösterilmiştir (53). TLR'ler doğal bağışıklık yanıtları açısından önemlidirler. Son çalışmalar da doğal bağışıklık yanıtlarının, patojenlerden gelen çeşitli moleküler tehditleri tanıyarak, proinflatuar sitokin gen transkripsiyonunu başlatan TLR'ler tarafından aktive edildiği öne sürülmektedir (54, 55). TLR4, lipopolisakkarid-indüklü sinyal iletiminden sorumludur (56). İlginç olarak, Kumazaki ve ark. (53) term öncesi plasentalarda izlenen koryoamniyotit durumunda, villuslardaki HH'nde TLR4 ekspresyonunun arttığını göstermiştir (53). Bu bulgu da, HH'nin doğal immün yanıtlarda ne kadar önemli olduklarına işaret etmektedir.

HH'nin; MHC sınıf I ve II belirteçlerini eksprese ettikleri (46, 57-59) ve MHC sınıf II'nin en az 3 iyi belirlenmiş alt bölgesini (DR, DP ve DQ) içerdikleri bilinmektedir. Birinci trimester HH çok nadiren DR ve DP-pozitifken, DQ antijenlerini eksprese etmezler (47, 57-60). DQ antijenlerinin 1. trimester hücrelerinde olmayışı, bu antijenlerin T hücre klonlarının sitotoksik hücrelere dönüşümü için bir sınırlandırma elemanı olmasıyla ilişkili olabilir (61).

HH'nin interlökin-1 (IL-1) ürettiklerini göstermiştir (62-64). Antijen sunma olayı sınıf II antijen ekspresyonu ve IL-1 sekresyonu ile ilişkili olduğundan, bu hücrelerin neredeyse bilinen doku makrofajları gibi antijen sunma fonksiyonu olabileceği öne sürülmüştür (64). Hatta antijen sunma olayının dokuya özel farklı faktörler tarafından düzenlendiği düşünülmüştür. Yagel ve ark. (65) fizyolojik düzeyde progesteronun, HH'nden bir immünosupresan olduğu bilinen prostaglandin E2 salınımını arttırdığını göstermiştir (65). Bu bulgu HH'nin fetomaternal yüzeyde immün baskılayıcı bir rol oynadıklarına işaret eder. İn

vitro olarak izole edilmiş HH'nin hem hücre aracılı lenfolizi, hem de lenfosit reaksiyonunu inhibe ettikleri gösterilmiştir (66). Bu nedenle HH fetüse karşı gelişebilecek T hücre yanıtını bastırmada çok önemli fonksiyona sahiptir.

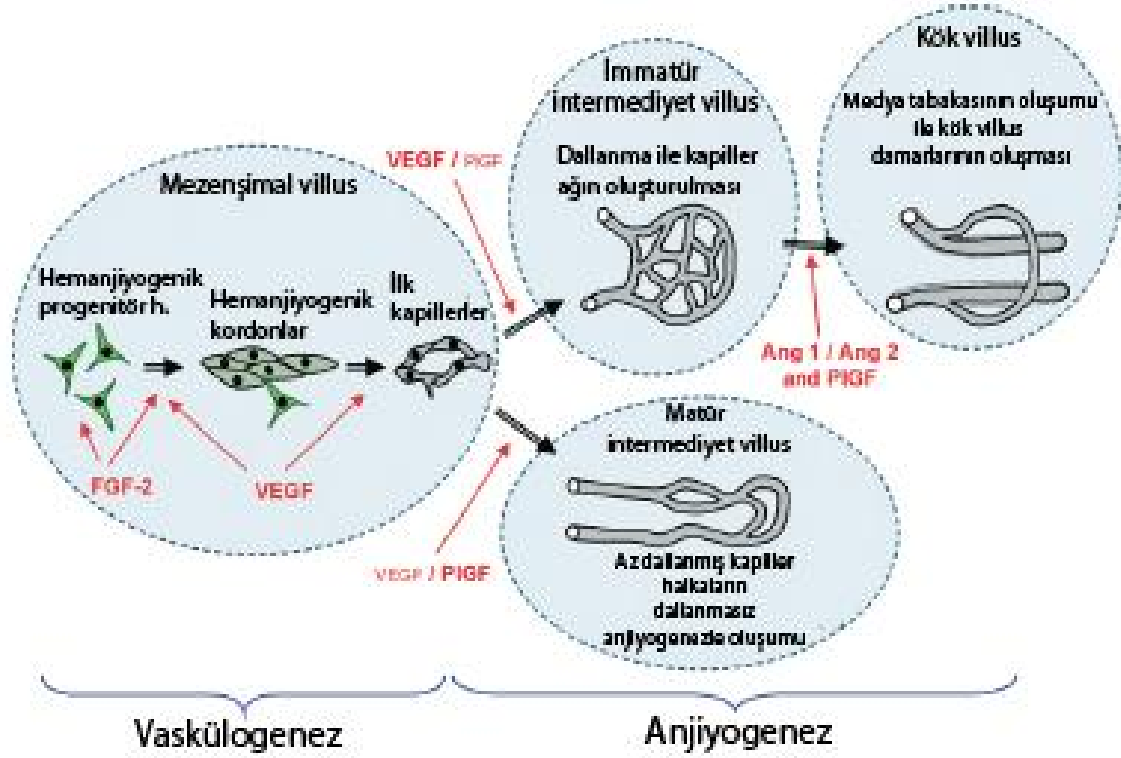
D. Plasental Vaskülojeniz

Plasental villus gelişiminin belirleyici basamaklarının anlaşılması için, damar oluşumunun öneminden dolayı, vaskülojeniz ve anjiyogenezin genel özelliklerinin bilinmesi şarttır. Genel olarak söylemek gerekirse, plasentada damarlar birbirinden farklı şekilde işleyen ve kontrol edilen farklı iki yolla oluşur: Vaskülojeniz ve anjiyogenez.

1. Vaskülojeniz: Vaskülojeniz, primitif kan damarlarının mezoderm kökenli öncül hücrelerden ilk kez oluşturulmasıdır. Vaskülojeniz terimi; hemanjiyoplastların damarların oluşacağı bölgeye göç etmeleri, kordonlar oluşturup endotelial hücrelere farklılaşmalarını ve dolayısıyla damarların ilk kez (de nova), sıfırdan oluşturulmalarını ifade etmektedir (67).

2. Anjiyogenez: Vaskülojeniz ile oluşturulan endotelial hücre ağı, daha sonra anjiyogenez tarafından bir kalıp olarak kullanılır ve vasküler ağ genişletilir. Daha sonra mevcut damarlardan yeni damarların tomurcuklanması ve dallanması ile vasküler ağ yeniden şekillenir (68). Normal fizyolojik anjiyogenez, fetal-plasental gelişim ve büyüme sırasında gözlenmekle beraber, yetişkinde endometriyumda siklik olaylar haricinde nadiren gözlenir (69, 70).

Plasental kan damarları, farklılaşmamış öncül hücrelerin (hemanjiyoplast) daha sonra damar ağını oluşturmak üzere düzenlenecek endotel hücrelerine in situ olarak farklılaşması ile karakterize bir işlem olan vaskülojeniz yoluyla oluşturulmaya başlanır (71). Plasentasyon boyunca vaskülojeniz, sekonder villustan tersiyer villusa geçiş sırasında ilk villöz damarların oluşumunda (Gebeliğin 18-35. günleri arası) ve ilerleyen gebelikte immatür intermediyet villuslardan mezenşimal villusların oluşumu sırasında görülür (2). Vaskülojenizle oluşturulmuş primitif kapiller ağın genişletilmesi ise anjiyogenez ile sağlanır. Plasentasyon sırasında, immatür intermediyet villus, kök villus, matür intermediyet villus ve terminal villusların damar ağı bu şekilde oluşturulur (Şekil 8).



Şekil 8. Plasental villus tiplerinde vaskülojeniz ve anjiyogenez (2).

Hemanjiyoblastik hücreler, 15-21. günlerde fötal kökenli mezenşimal hücrelerden köken alırlar ve her iki hücre yapısal olarak benzerdir. Bu progenitör hücrelerin fötal kan hücrelerinden köken almaktansa, direkt olarak fötal mezenşimal hücrelerden köken aldıkları bilinmektedir (10).

Endotelyal ve hematopoetik hücreler, ortak bir progenitörü (hemanjiyoblast) paylaşırlar. Vitellus kesesinde hemanjiyoblastlar, içteki hücrelerin hematopoetik prekürsörlere, dıştaki hücre popülasyonunun ise endotelyal hücrelere farklılaşacağı kümeler oluştururlar. Anjiyoblastlar, in situ farklılaşma ve ağ oluşumu gerçekleşmeden önce, oldukça fazla bir şekilde göç edebilirler. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF), VEGF Reseptörü-2 (VEGFR-2, Flk-1) ve Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü (bFGF), anjiyoblast farklılaşmasını artırırken (73), VEGF Reseptörü-1 (VEGFR-1, Flt-1) hemanjiyoblastları baskılar (74). Matriks makromolekülleri, fibronektin, matriks reseptörleri ($\alpha 5$ -integrin) ve endotelyal hücreler arasındaki etkileşimleri sağlayan moleküller de vaskülojenizde önemli roller üstlenirler.

Endotelyal hücre prekürsörleri, embriyonik yaşamın haricinde, yetişkin kemik iliğinde ve periferik kanında da tespit edilmiştir. VEGF, Granülosit-Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör (GM-CSF), bFGF ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF)-1 bu hücrelerin farklılaşmasını ve mobilizasyonunu stimüle etmektedir (75, 76). Bu tarz prekürsörler, yetişkinde anjiyogenik alanlar ve vasküler protezler oluşturabilir ve terapötik açıdan çok önem taşımaktadırlar.

İnsan plasental damarlanma, plasental villuslarda pluripotent mezenşimal öncü hücrelerden kapillerlerin ilk kez oluşturulmasıyla gerçekleşir. Plasental damarlanması embriyo daha 4 somitliken, PK. 21. günde başlar (9, 77). Mezenşimal hücreler, basamak-basamak endotel hücrelerine dönüşürler (10). Bu safhada, sekonder villusların stromasında, hemanjiyogenik hücrelerin progenitörleri ilk damarların oluşumundan önce farklılaşarak hemanjiyogenik hücre kordonları oluştururlar. Bu hücreler desmozomlar ve primitif sıkı bağlantılarla birbirlerine tutunurlar (Şekil 9.a, b, c). Hücrelerarası yarıkların genişlemesi primitif kapiller lümenini oluşturur (Şekil 9.d). Bu primitif lümenin oluşması, başka organlarda görüldüğü gibi hücre içi vakuollerin birleşmesiyle gerçekleşmez (78). Davidoff ve Schiebler (79) kobay plasentasında mezenşimal hücrelerin apozisyonu ve ardından dağınık halde bulunan hücre içi dilatasyonlarının genişlemesi ile ilkel kapiller lümeninin oluştuğunu öne sürmüşlerdir. Altı somitlik embriyonun plasental villuslarında hemanjiyoblastik hücre kordonları ve kan hücreleri içermeyen primitif kapiller oluşumları gözlenir. Primitif kapiller lümeni oluşur oluşmaz ilk hematopoietik hücreler erken lümen içinde belirir (Şekil 9.e). PK. 28. günde, oldukça yassılaştırmış endotel hücreleri ile döşenmiş poligonal kapiller lümenlerinde, gelişmekte olan kan hücreleri izlenir, ama fetal villöz dolaşımın oluşmasını sağlayan düzenli bir damar sistemi ve göbek kordonundan embriyoya ulaşan bir dolaşım bulunmaz. 32-35. günlerde villöz kapillerlerin birbirleri ve daha büyük allantoyik damarlarla birleşir. Allantoyiste de vaskülogenez başlamasıyla birlikte, embriyo içi ile plasental yataklar arası bağlantı sağlanana kadar; hem embriyonik, hem de plasental yönlerde vaskülogenez devam eder. Bu arada, kapiller çevresindeki diğer mezenşimal hücreler, uzantılarıyla hem mezenşimal ağ, hem de endotelyal tüplerle ilişkidir (Şekil 9.e). Endotelyal hücrelere ablüminal taraftan bağlı olan bu juksta-hemanjiyogenik hücreler perisitlerin karakteristik özelliklerini kazanırlar (Şekil 9.f ve e) (11, 82). Bu hücreler Dempsey (80) tarafından fetal kan damarlarının ana öncülleri olarak yorumlanmıştır. Bütün bunlara ek olarak Holmgren (81), trombosit kökenli büyüme faktörü B (PDGF-B) ve buna ait beta reseptörünün (PDGF- β reseptör) plasental anjiyogenezdeki önemine dikkat çekmiştir. PDGF-B ve reseptörünün çoğu

mikrovasküler endotelyal hücrelerde bulunup, reseptör mRNA'sının makrovasküler endotelyal hücrelerde bulunmayışı, kapiller endotelyal hücrelerinin hücre çoğalmasını ve anjiyogenezini ilerlettiğini öne sürmektedir (81).



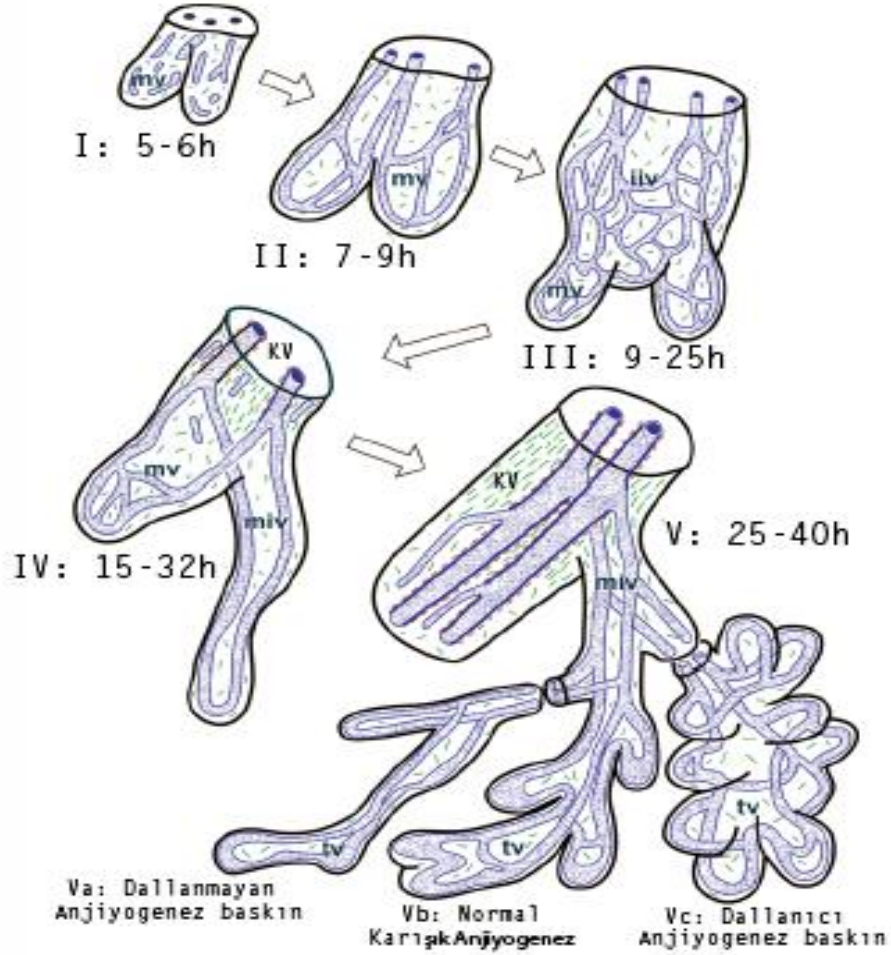
Şekil 9. Plasental villusta vaskülojeniz ve anjiyogenez mekanizmaları (9).

PK. 32. günde birçok villöz damar (Şekil 10) ve göbek kordonu taslağında fetal allantoyik damarlar oluşmuştur. Artık ilkel bir fötoplasental dolaşım başlamıştır. Bu andan itibaren mezenşimal öncüllerden vaskülojenik kapiller oluşumu sadece dallanan mezenşimal villus uçlarında olur. Diğer tüm villöz vasküler ağın genişletilmesi anjiyogenezle sağlanır. 32. günden başlayarak terme kadar devam eden anjiyogenez, birbirleriyle kısmen çakışan 3 safhadan oluşur (Şekil 10):

1. Kapiller ağın 32. günden 25. haftaya kadar dallanan anjiyogenezle oluşması

2. Periferel kapiller ağın gerilemesi ve santral kök damarların 15-32. haftalararası oluşturulması

3. Terminal kapiller halkaların dallanmayan anjiyogenezle oluşturulması



şekil 10. Fötal dönemde villöz damar gelişimi. mv: mezenşimal villus; iiv: immatür intermediyet villus; kv: kök villus; tv: terminal villus; miv: matür intermediyet villus (2).

Gebeliğin 3. ayında immatür intermediyet villuslardan kök villus oluşumu başlar; immatür intermediyet villusların merkezi yerleşimli endotelyal tüplerinden bazıları 100 μm 'den büyük çapa ulaşırlar. Çok kısa bir zaman içerisinde de α - ve γ - düz kas aktini eksprese eden kasılabilir hücreler ile sarılırlar. Çevredeki stroma da, bu damarlar etrafında konsantrik (dairesele) bir yerleşim gösterir. Bu damarlar, villöz arter ve venlerin öncülleridir. Daha büyük immatür intermediyet villuslarda arter ve venlerin adventisya tabakaları birleşerek villus içinde fibröz bir stroma oluşturur. İmmatür intermediyet villusun retiküler

stromasının %50'sinden fazlası fibröz stroma haline dönüştüğü andan itibaren, bu villus "kök villus" adını alır (82).

Gebelik ilerledikçe, trofoblast tabakasının altındaki kapiller ağ geriler ve birkaç, büyük, dallanmamış paravasküler kapiller olarak kalır (82). Bir görüşe göre, VEGF-A'nın eksikliği, plasental büyüme faktörü (PIGF) 'nün artışı bu kapiller gerilemeye neden olabilir, çünkü PIGF, VEGF-A'nın etkisini baskılayarak anjiyogenezi baskılayabilir (83, 84). 25. haftadan terme kadar mezenşimal villuslar matür intermediyet villuslara dönüşürler. Bunlar ince (80-120µm), uzun (>1000µm) villuslardır. Mezenşimal villuslardan bu yeni tip villusun oluşması, villöz vasküler büyümenin dallanıcı anjiyogeneze (immatür intermediyet villus oluşumuna neden olur) dallanmayan anjiyogeneze geçişi ile mümkün olmaktadır (85).

E. Erken Fetal Kayıplar:

Erken ve sporadik gebelik kayıpları sık karşılaşılan obstetrik sorunlardır. Gebelik kayıplarının büyük bir kısmı ilk trimester içinde olur ve bu oran daha ileri dönemlerde hızla düşer. Günümüz koşullarında erken gebelik kaybına sebep olan durumları saptayabilmek her zaman mümkün olmamaktadır. Spontan gebelik kayıplarının nedenleri anomalili zigot gelişimi, maternal faktörler, kromozomal anomaliler olabilir. Bir çok çalışmada erken gebelik kayıplarının %50-60 oranında kromozomal anomalilerle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (86). Spontan gebelik kayıplarına neden olan maternal faktörler arasında ise uterin anomaliler, endokrin faktörler, enfeksiyonlar ve immunolojik faktörler sayılabilir. Tekrarlayan gebelik kayıplarının %20-50'sinin immunolojik nedenlere bağlı olduğu düşünülmektedir.

Abortus çok eskiden beri bilinen, tanımlanmış klinik bir durumdur. Genel olarak embriyo veya fetüsün, uterus dışında gelişimini sağlayacak kapasiteye erişmeden önce dışarı atılmasına abortus adı verilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü 1977 yılında gebelik ürününün (embriyo veya fetüs) ağırlığı ve gebelik sürecini kriter alarak yeni bir abortus tanımı getirmiştir. Bu tanım günümüze dek ufak tefek farklılıklarla kabul görerek gelmiştir. Günümüzde; 20. gebelik haftasından önce, 500 gramdan az embriyo veya fetüs ve eklerinin tamamının veya bir kısmının uterus kavitesi dışına atılması olayına abortus denilmektedir (87, 88).

Yapılan incelemeler, gebeliğin ilk yarısında meydana gelen fetal kayıpların yaklaşık %50'sini spontan abortusların oluşturduğunu göstermiştir (89). Bu grup içinde ise, MA ve BO

olguları önemli bir yer tutmaktadır. MA gebeliğin 20. haftasından önce fetusun intrauterin ölümüne rağmen takip eden haftalar ya da aylar süresince gebelik kesesini terk etmediği olguları anlatmaktadır. Gebeliğin erken dönemlerinde ultrasonografi ile fetus ve fetus ekleri olmaksızın boş bir gebelik kesesinin saptanması veya gebelik tarihine göre oldukça küçük bir fetal eko tespit edilmesi BO olarak değerlendirilir. Gebeliğin belirli dönemlerinde bazı tip fetal kayıplar farklı oranlarda gerçekleşirler. Buna göre MA'lar ile daha çok 7-12. gebelik haftalarında karşılaşılrken BO vakalarına ise 5-10. haftalarda daha sık rastlanmaktadır (88).

Her gebelikte ilk trimester içinde spontan düşük oranı % 15 olup, bunların % 60 kadarında çeşitli kromozomal düzensizlikler söz konusudur (88). Yenidoğan bebeklerin ancak % 0.5' inde major kromozom anomalilerinin gözlenmesi intrauterin devrede bu tür düzensizlik gösteren embriyonların büyük bir kısmının düşük olarak atıldıklarını belgeler niteliktedir. Gebeliğin çok erken dönemlerinde meydana gelen bazı düşüklerin de tespit edilememesi gözönünde tutulursa konsepsiyon sırasındaki kromozom anomalisi insidansının gerçekte daha yüksek olduğu anlaşılır (88).

Abortusların etiyolojik faktörleri oldukça fazladır. Bu nedenle etiyolojik faktörleri 3 grupta toplayabiliriz:

1.Embriyonel Faktörler: Spontan düşüğe neden olan embriyonel faktörler, çoğu kez ilk trimesterde görülürler. Bu grupta en sık karşılaştığımız neden, kromozom sayısı bozukluklarıdır. Spontan abortusların %60'ında bu patoloji ile karşılaşırız. Bunların arasında da en sık görülen trisomilerdir (%51.9). Trisomi olguları sıklıkla 16. kromozomda görülür. Hiçbir yeni doğanda görülmemesi bu anomalinin fatal etkili olduğunu düşündürür. 22. ve 21. kromozomlardaki trizomiler ikinci sırada yer alır. Trizomi 21'e sık rastlanması nedeniyle bu anomalinin fatal etkili olmadığı düşünülmektedir. İkinci sıklıkta görülen kromozom anomalisi monosomi X (45X0) olgularıdır (%18. 9). Daha az oranda da triploidi (%15.5), tetraploidi (%5.6), translokasyonlar (%3.8) ve mozaizm (%1.5) gibi kromozom anomalileri spontan abortusa neden olmaktadır (87, 88, 90-91).

Diğer taraftan ovum, sperm ve zigotun kadın genital traktında yaşlanması da bir abortus nedeni olabileceği belirtilmektedir. Yine ilk trimesterde spontan abortusa yol açan başka bir embriyonel faktör, konjenital organ anomalileridir (nöral tüp defekti, duodonal atrezi, özefagus atrezisi gibi). Ayrıca plasenta anomalileride başka bir spontan abortus nedenidir, özellikle ilk trimesterde radyasyon, bazı enfeksiyonlar ve kimyasal toksik etkili

maddelerde embriyoda teratojenik etki yaratarak, spontan abortusa neden olabilirler (87, 88, 90-91).

2. *Maternal Faktörler:* Anneye ait faktörler daha ziyade 1. trimester sonu ile 2. trimester abortuslarına neden olurlar. Pyelitis, apendisitis gibi bazı akut enfeksiyonlar genel septisemi ve yüksek ateş yaparak uterus aktivitesini artırıp, abortusa neden olabilirler. Ayrıca annede alt genital trakta yerleşmiş, Ureaplasma urealyticum ve Mycoplasma hominis enfeksiyonlarında da abortus insidansının arttığı gözlemlenmektedir. Yine bazı listeriozis, toksoplazmozis, rubella, nadiren brusellozis enfeksiyonlarında da abortus insidansının arttığı gözlenmektedir. Bu tür olgularda, abortusa gidiş nedeni olarak, fetüsün enfeksiyondan etkilenmesinden ziyade, enfeksiyonun uterus duvarına penetre olup, transplental yolla koryon ve amnion sıvısına geçerek bir korioamnionitis tablosu yaratmasıdır. Korioamnionitiste prostaglandin salınımının başlatılması ve bunun sonucunda ortaya çıkan uterus kontraksiyonları abortusa neden etken olarak suçlanmaktadır (92).

Abortusa neden olabilecek başka maternal faktör de endokrin bozukluklardır. Korpus luteum yetmezliğinde abortus çok sık olarak izlenir (93). Korpus luteum salgıladığı progesteron nedeni ile özellikle gebeliğin ilk 8 haftası için çok önemlidir. Bu dönem içerisinde korpus luteum herhangi bir nedenle çıkartılacak olursa, 4-7 gün içerisinde abortus gerçekleşir. Ayrıca tiroidin hipo veya hiperfonksiyonunda da abortus sıkça izlenmektedir (92). Diabetes mellitusda, kan şekerinin iyi regüle edilemediği durumlarda, abortus sıkça ortaya çıkar (95). Annede renal ve hipertansif hastalıklar, tüberküloz ve karsinomatozis gibi kronik yıkım yapan hastalıklar, kollajen doku hastalıklarında da abortus insidansında artış vardır (91, 95). Anestezide kullanılan gazlar, çevre kirliliği, sigara, alkol alışkanlığı, radyasyon, talidomid, folik asit antagonistleri, antikoagülanlar, kurşun zehirlenmesi, uzun süreli maternal hipoksi abortus riskini arttırmaktadır. Korku, anksiyete, gebeliğin istenmemesi, psikoz, kızgınlık, depresyon, şizofreni gibi psikiyatrik ve emosyonel nedenlerinde abortusa eğilimi arttırdığı bilinmektedir (96).

Abortusların maternal kökenli hangi mekanizmalarla ortaya çıktığı bilinmemektedir (96). İmmünolojik faktörler de abortus etiolojisinde önemlidir. Gebelik ortalama 40 hafta süre ile annede devam eden, endokrin ve immün değişikliklerle karakterize bir süreçtir. Endokrin sistem patolojileri abortus insidansını arttırmaktadır. Yine, immün sistem değişikliklerine bağlı olarak, immün sistemi yetersiz veya bozuk anne adaylarında da abortusların sık olduğu görülmektedir. Bazı olgularda immün tolerans sistemi yetersizdir ve

fetüs immünolojik olarak reddedilir. Sorumlu immünolojik mekanizma gebeliğin sonlandığı devreye göre değişir. Preimplantasyon döneminde ve implantasyonun sonuna kadar, hücrel immün mekanizma abortustan sorumludur. İmplantasyon tamamlanıp blastosistlerin stromaya penetrasyonu ve uterus dokusunun desidual reaksiyonu oluşunca, hem hücrel hemde humoral mekanizmalar abortustan sorumlu olabilirler (92). Humoral immün mekanizmalar, paternal antimajör histokompatibilite kompleks antikorları ve hatta otoimmün hastalıklarda olduğu gibi otoantikorların üretimiyle olumsuz sürece etki ederler (87-90, 97).

3. *Paternal faktörler:* Abortuslarda paternal faktörler üzerindeki araştırmalar yetersizdir. Sperm anomalilerinin veya paternal kromozom anomalilerinin abortuslarda artışa neden olabileceği düşünülmektedir. Yine paternal ve maternal antijen ve antikor sistemlerinin abortus etiolojisinde yeri olduğu düşünülmektedir. Ayrıca spermlerdeki DNA azlığının abortuslara neden olabileceği belirtilmektedir (91, 97).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmada kullanılan örnekler; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı'na kabul edilmiş spontan abortus ve İzmir Doktor Hayri Üstündağ Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'na kabul edilmiş istenmeyen gebelik olgularına ait küretaj materyalleridir. Çalışmanın etik onayı Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul'u tarafından 16.06.2011 tarih, 230-GOA protokol ve 2011/20-15 karar numarası ile onaylanmıştır. Olguların gestasyon haftası 8-12 arasında değişmektedir. Bu materyellerin 15'i MA, 15'i BO ve 15'i istenmeyen gebeliğe ait olup, toplam 45 olgu çalışmaya alınmıştır. Hiçbir olguda saptanan kromozomal anomali ya da bilinen endokrin, immunolojik sorun, sorunlu maternal ve paternal öykü yoktur.

A. İmmünohistokimyasal Boyama

Plasentanin villöz parankimini örnekleyen parafin bloklardan, poly-L-lizin kaplı lamlara 5 mikron (μ) kalınlığında kesitler hazırlandı. HH'ni göstermek için CD 68 antikorunu (Neomarkers, predilüe) ve plasental villüslardaki damarları göstermek için CD31 antikorunu (Dako, 1/50) antikorları kullanılarak, streptavidin-biotin immünperoksidaz yöntemi ile immünboyama yapıldı. Etüvde 60 derece sıcaklıkta bir gece bekletilen kesitler, ksilolde 20 dakika bekletilerek deparafinize edildikten sonra, %96'lık alkolden %70 'lik alkole dek inen alkol serilerinden geçirilerek rehidratasyon sağlandı ve TRİS solüsyonunda yıkandı. Kesitler damlatılacak antikor ve solüsyonların dokuların üzerinde kalmasını sağlamak amacıyla; sınırlayıcı kalemle çerçeve içine alındı. Daha sonra kesitler üzerine %3'lük hidrojen peroksit damlatılarak, beş dakika beklendi ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi ve yine TRİS solüsyonuna alındı. Buradan kesitler, CD 31 için TRİS EDTA ve CD 68 için sitrat solüsyonu içeren özel kaplara yerleştirildi. 10 dakika mikrodalga fırında kaynatma işlemi yapılarak, antijen açığa çıkması sağlandı. Oda ısısında soğumaya bırakılan kesitlere dokuyu çevreleyecek miktarda 100 mikrolitre(μ l) primer antikorlar damlatıldı ve oda ısısında 45 dakika bekletildi. Daha sonra TRİS'te yıkanarak aynı miktarda biyotinize sekonder antikor damlatıldı ve 20 dakika bekletildi. Tekrar TRİS'te yıkanan kesitlere, streptavidin peroksidaz solüsyonu damlatılarak 20 dakika bekletildi ve TRİS'te yıkandı. Kromojenik reaksiyon için, daha önceden hazırlanan 3.3-diaminobenzin (DAB) damlatıldı.

B. İmmünohistokimyasal Değerlendirme:

CD 68 ile villus stromasında saptanan HH'nde kahverengi sitoplazmik boyanma pozitif olarak değerlendirildi. MA, BO ve kontrol grubu materyallerinde, randomize olarak her olguda 10 villusta HH sayıldı, ortalaması CD 31 ile villuslarda damar endotel hücrelerinde stoplazmik ve membranöz boyanma pozitif olarak değerlendirildi. Işık mikroskopik (Eclipse E600, Nikon Corp., Tokyo, Japan) değerlendirmede villüslarda en çok pozitif boyanan damarın bulunduğu (hot spot) üç alan seçildi. Üzerinde 25 noktanın bulunduğu Chalkey gridi (alanı 0.184 mm^2) ile mikroskopik alanda noktalara denk gelen damarlar sayıldı. Mikrodamar skorlaması için, yine seçilen alanlarda boyanma dansitesine göre, 20x objektifte (alanı 0.83 mm^2) 1-4 arasında skorlama yapıldı. Olguların arasından 1 ve 2 olarak skorlananlar düşük mikrodamar dansitesi, 3 ve 4 olarak skorlananlar yüksek mikrodamar dansitesi olarak kabul edildi.

C. İstatiksel Değerlendirme:

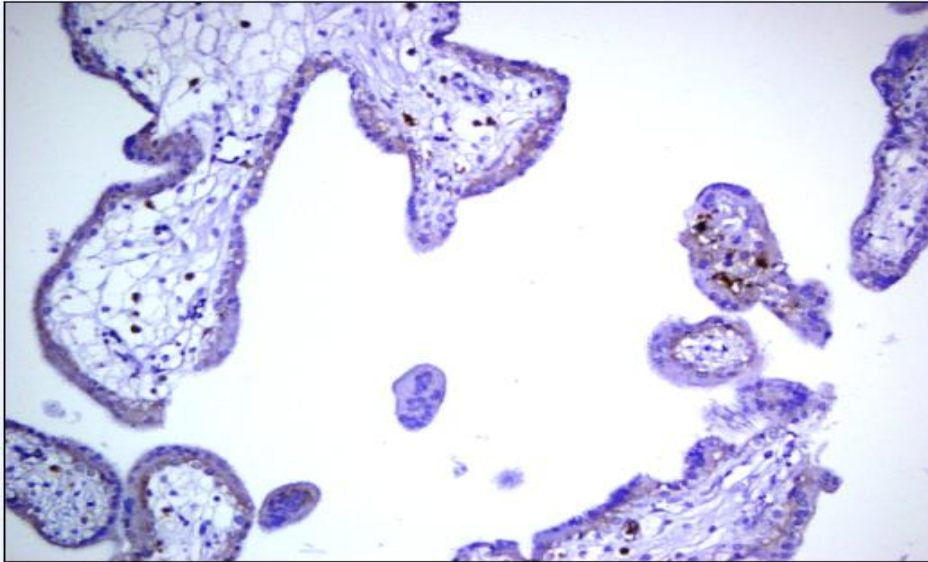
İstatiksel analiz SPSS 15 (Statistical Package for Social Scienses) programı ile bilgisayarda yapıldı. Olasılık sınırı olarak 0.05 ve altı istatiksel olarak anlamlı kabul edildi. Her olasılık değeri iki taraflıydı ve P ile gösterildi. Gruplar arasındaki farklar ve bağımsız örnekler Mann-Whitney U testi ve Ki-kare testi uygulanarak değerlendirildi. Hücre sıklığı standart ki-kare testi için çok küçük ise, P değerlerini hesaplamak için "Fisher's exact testi" kullanıldı.

BULGULAR

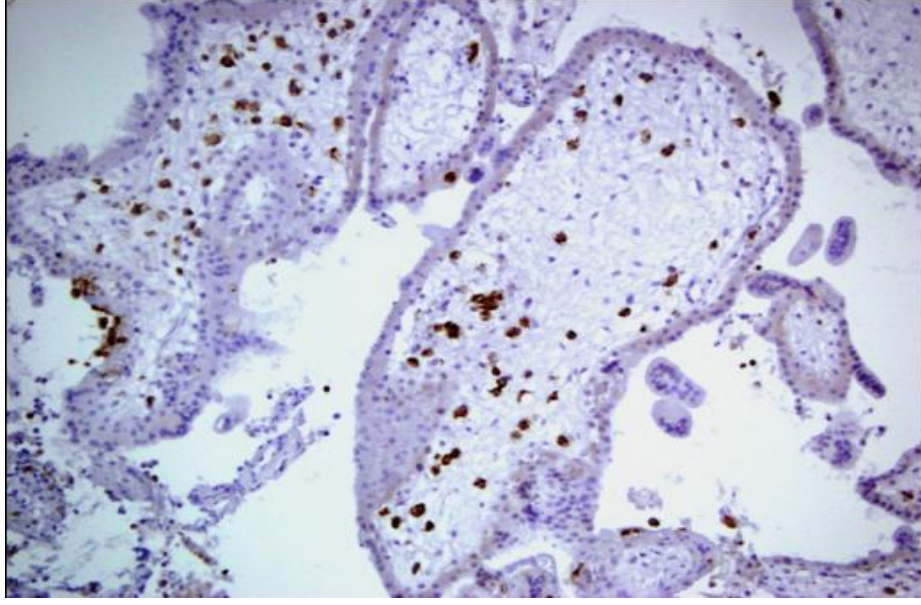
Tablo 1’de kontrol grubu, BO, MA’da HH sayısı ile ilgili veriler yer almaktadır. Kontrol grubu ile BO grubu arasında HH sayısı bakımından anlamlı istatistiksel fark bulundu ($P = 0.005$). BO’da, HH sayısının anlamlı olarak daha fazla olduğu saptandı (Şekil 11, 12). Kontrol grubu ile missed abortus arasında da anlamlı istatistiksel fark bulundu ($P < 0.001$). MA’da yine HH sayısı daha fazla olarak bulundu. MA ile BO arasında ise, HH sayısı bakımından hücre sayısı ortalaması daha az olmasına karşın (Şekil 12, 13), anlamlı istatistiksel fark bulunmadı ($P = 0.04$). Ancak, MA vakalarında HH sayısı daha fazladır.

Tablo 1. Olgu gruplarına göre HH sayı ortalamaları

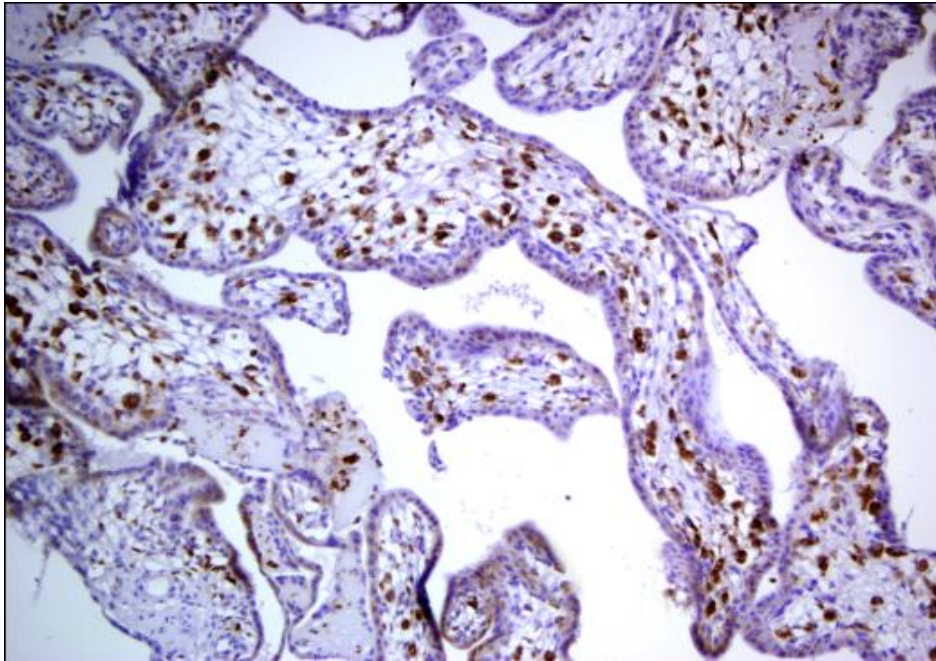
Gruplar	Ortalama Hofbauer hücre sayısı (ort \pm SD)
Kontrol grubu (n=15)	56.1 \pm 60.0
Anembriyonik gebelik(n=15)	111.0 \pm 53.1
Missed abortus (n=15)	163.2 \pm 74.8



Şekil 11. İstenmeyen gebelik (kontrol grubu) olgusunda HH göreceli olarak daha az sayıdadır. (CD 68 antikoruna, immunperoksidaz, 200 x)



Şekil 12. BO olgusunda HH sayısı göreceli olarak artmıştır. (CD 68 antikorü, immunperoksidaz, 200 x)

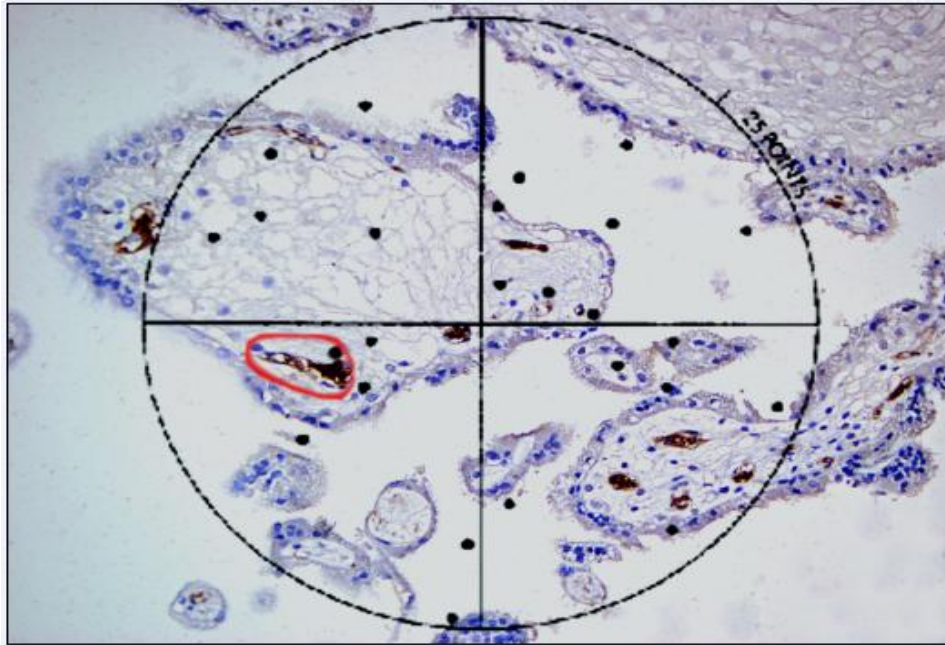


Şekil 13. MA olgusunda HH sayısı göreceli olarak artmıştır. (CD 68 antikorü, immunperoksidaz, 200 x)

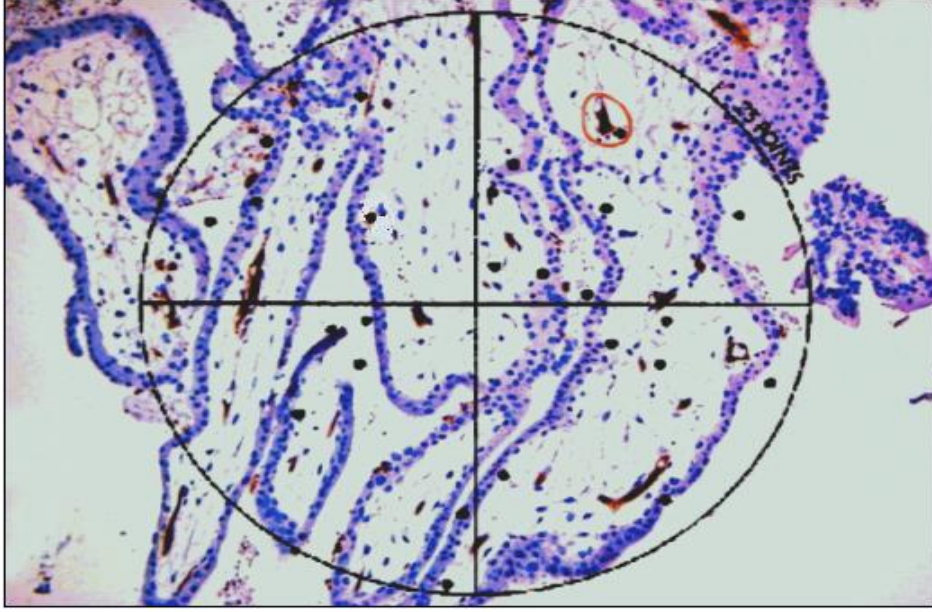
Tablo 2’de ve şekil 14, 15, 16’te Chalkey Metodu ile yapılan mikrodamar sayısında elde edilen veriler gösterilmektedir. Kontrol grubu ile BO ve MA arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmadı (P = 0.29, P = 0.09, sırasıyla). BO ve MA arasında da, istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (P = 0.38).

Tablo 2. Olgu gruplarına göre mikrodamar dansitesi (Chalkey yöntemi)

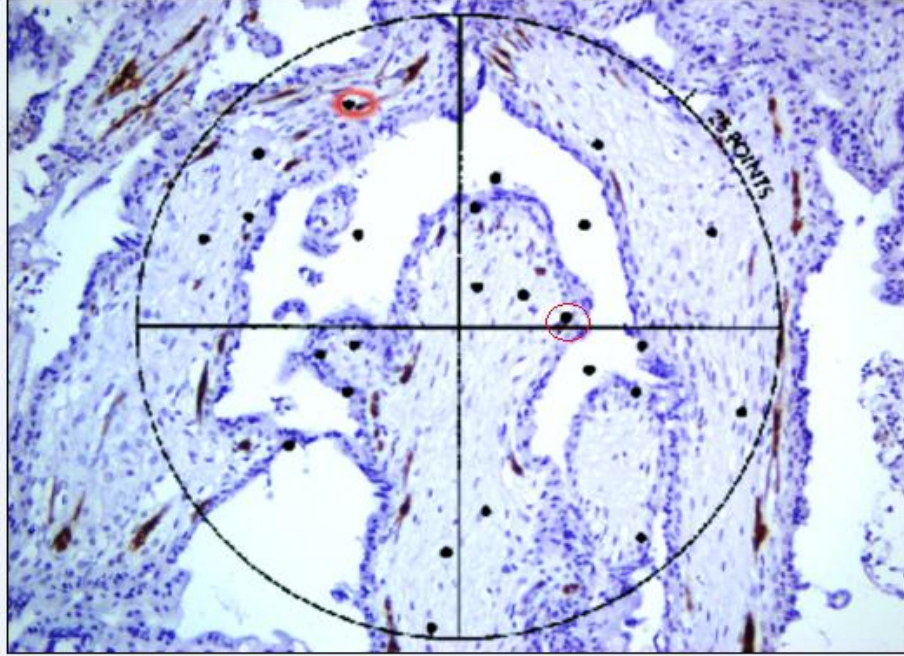
Gruplar	Mikrodamar dansitesi
	(ort ± SD)
Kontrol grubu (n=15)	1.90 ± 0.78
Anembriyonik gebelik(n=15)	2.18 ± 0.70
Missed abortus (n=15)	2.41 ± 1.0



Şekil 14. İstenmeyen gebelik (kontrol grubu) olgusunda hot spot alanlarda Chalkey gridi ile damar sayım yöntemi. Grid üzerindeki noktalara vuran damarlar kırmızı ile işaretlidir. (CD31 antikor, immunperoksidaz, 200 x)



Şekil 15. BO olgusunda hot spot alanlarda Chalkey gridi ile damar sayım yöntemi. Grid üzerindeki noktalara vuran damarlar kırmızı ile işaretlidir. (CD31 antikorü, immunperoksidaz, 200 x)

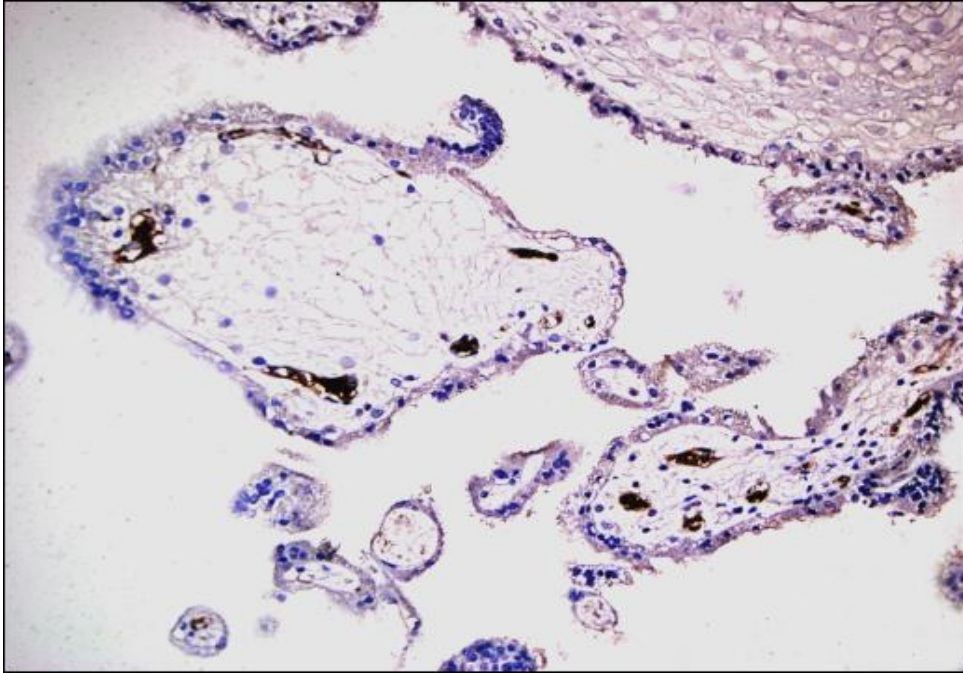


Şekil 16. MA olgusunda hot spot alanlarda Chalkey gridi ile damar sayım yöntemi. Grid üzerindeki noktalara vuran damarlar kırmızı ile işaretlidir. (CD31 antikorü, immunperoksidaz, 200 x)

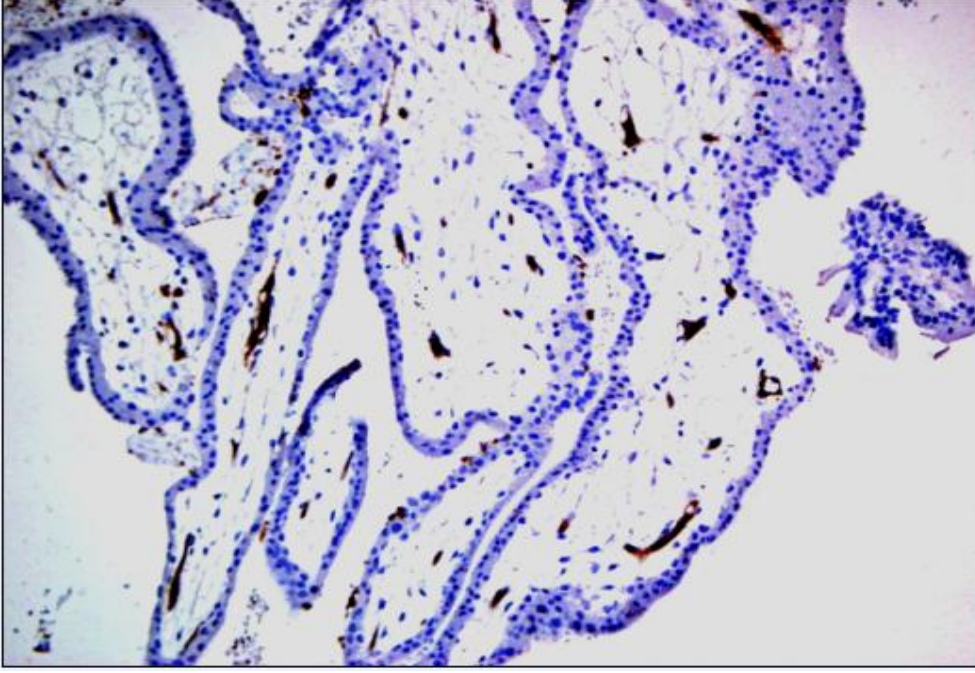
Tablo 3’de mikrodamar damar skorlaması ile ilgili veriler özetlenmiştir. Kontrol grubu ile BO arasında mikrodamar skoru açısından anlamlı fark bulunmadı ($P = 0.54$). Kontrol grubu ile MA arasında anlamlı fark bulundu (Şekil 17, 18; $P = 0.003$) . BO ile MA arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Şekil 18, 19; $P = 0.003$). MA grubunda damar sayısı göreceli olarak daha fazla gözlemlendi (Şekil 19).

Tablo 3. Olgu gruplarına göre mikrodamar skoru

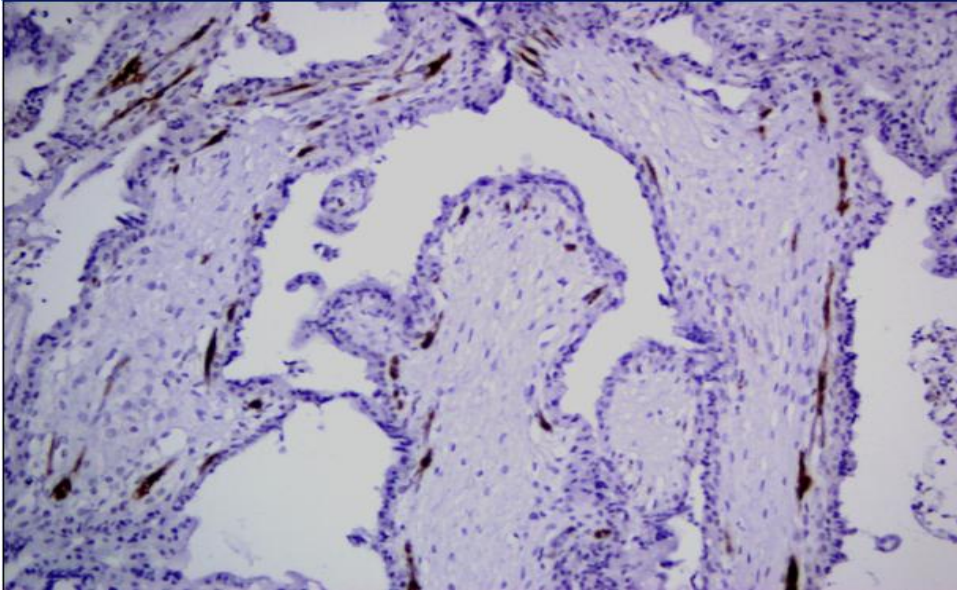
Gruplar	Skor 1	Skor 2	Skor 3	Skor 4
Kontrol grubu (n=15)	8	6	1	0
Anembriyonik gebelik(n=15)	3	10	0	2
Missed abortus (n=15)	4	0	4	7



Şekil 17. İstenmeyen gebelik (kontrol grubu) olgusunda villus damar sayısı göreceli olarak azdır. (CD31 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)



Şekil 18. BO olgusunda villus damar sayısında hafif düzeyde artış (CD31 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)



Şekil 19. MA olgusunda villus damar sayısında göreceli olarak artış izlenmektedir. Yeni oluşan damarlar periferik yerleşimlidir. (CD31 antikoru, immunperoksidaz, 200 x)

TARTIŞMA

Erken fetal kayıp, gebeliğin yaygın bir komplikasyonudur. Yaklaşık %15 oranında görülür. 20-24 yaş arası kadınların %8.9'unda, 45 yaş ve üstü kadınların %74.7'sinde spontan düşük riski vardır. Gebeliğin belirli dönemlerinde fetal kayıplar farklı klinik tablolar ile gerçekleşirler. Buna göre MA ile daha çok 7-12. gebelik haftalarında karşılaşılırken BO vakalarına ise 5-10. haftalarda daha sık rastlanmaktadır (74). Kromozom anomalileri hariç, fetal kayıp gelişim mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır (8). Düşük olguları üzerinde yapılan etiyolojik çalışmalar 18, 16, 21 ve 13. kromozomlara ait trisomiler, X monosomisi ve triploidi olgularının sıklıkla bulunduğunu ve bunları tetraploidiler ile yapısal kromozomal bozuklukların izlendiğini göstermektedir (74).

Plasental villüs stroması, mezenşimal orijinli ve birçok fonksiyonu olduğu düşünülen HH olarak adlandırılan makrofajları içerir (98). Bu hücreler birinci ve ikinci trimesterde plasental villöz stromada çok sayıda bulunur. Ingman ve ark. (99) bu hücrelerin özelliklerini belirlemek için in situ ve in vitro metodları kombine etmişlerdir. İmmünohistokimyasal yöntem ile birinci ve ikinci trimesterde arttığını göstermişlerdir. Buna karşın term plasentada sayıları azalmaktadır.

HH'nin fonksiyonlarını araştıran çeşitli çalışmalarda kısıtlı veriler elde edilmiştir. HH'nin, immatür intermediate tip stromanın mezenşimal maturasyonunda rol oynadıkları gösterilmiştir. Bu durum villus stromasında yer alan, transpottan sorumlu kanalların oluşumunda önemli olabilir (99). HH patojenlerin ve toksinlerin fetusa ulaşmasını önlerler. Bu durum stoplazmik veziküllerinin fagositik aktivitesi ile ilişkilidir (100). Özetle; HH stromal su içeriğinin düzenlenmesi, interstiyel sıvı akışının ve iyonların transportunda rol oynarlar (40, 41). Erken dönemlerde plasentada vasküler sisteme serum proteinlerinin transferini düzenleyebilirler (41). Sitokinleri ve prostaglandin sentez enzimlerini üretirler. Sinsityal füzyon ve apoptozu düzenleyerek trofoblast yapım ve yıkım döngüsünü sağlayabilirler (102). Bu hücrelerin, kollajeni sindirerek ekstrasellüler matriksin remodelizasyonunda ve diğer mezenkimal hücrelerin proliferasyonunun inhibisyonu ya da stümlasyonunda, ayrıca anjiogenezde rol aldıkları ileri sürülmüştür (101, 102, 103).

HH iki tip olarak değerlendirilir (8). Her iki tip değişik düzeyde fagositoz ilişkili enzimler içerir. Bu enzimlerden asit fosfotaz (ACP) ve glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PDH) enfeksiyonla ilişkili spontan abortuslardan sorumludur. Birinci tip HH immünohistokimyasal olarak, nonaktive olduğu düşünülen lizozomlarında ACP boyanması

gösterir. Bu hücrelerin yaklaşık üçte ikisi endoplazmik retikulumun sitozolik kısmında zayıf G6PD aktivitesi gösterir. İkinci tip hücrelerin geniş fagozomları vardır, fagozomlarda belirgin ACP aktivitesi gösterir ve bunların aktive fagositik hücreler olduğu düşünülür. Ayrıca bu hücreler G6PD aktivitesi sergiler ve “bursting cells” olarak isimlendirildiklerinden G6PD depositleri belirgindir (8). Çalışmamızda erken fetal kayıplarda HH'nin sayısı aynı gestasyonel yaştaki kontrol gruplarından daha fazladır. Bu nedenle erken fetal kayıplarda HH'nin fagositik aktivitelerinin tetiklendiğini söylemek mümkündür. Pijenburg ve ark. (8) çalışmalarında preterm kayıpların patogeneğinde, Hofbauer aktivasyonu ve G6PD enziminin fagositik etkisini oynayabileceğini savunmuşlardır. Bu da erken fetal kayıplarda HH artışını açıklayan bir durumdur. MA olgularında HH'nde artışın daha fazla olmasının nedenlerinden biri, fagositozu tetikleyen enfeksiyon gibi bir durumun etyopatogeneğinde önemli olabileceğini bize düşündürmüştür.

Plasenta ve villus yapılanması, fetüsü koruyan ve gelişmesinde önemli roller oynayan çok yönlü bir organdır. Villuslarda görülen temel yapısal değişimler, plasental ve fetal hastalıkların araştırılmasında önem göstermektedir. Plasentada görülmesi muhtemel tüm yapısal bozukluklar fetal büyüme geriliğine neden olmaktadır (105). Plasentanın gelişimi birçok faktörün etkisi altında ise de, plasental villüslerin gelişmesi, damar ağıyla birlikte doğru orantılı olarak gerçekleştiğinden dolayı, damar gelişimi, sağlıklı plasentanın gelişimi için büyük önem oluşturmaktadır (106).

Plasental damar gelişiminde hem “vaskülogenez”, hem de “anjiogenez” görev alır. Vaskülogenez; ilk damar ağının endotel hücrelerinin öncüllerinden oluşturulması işlemi iken, anjiogenez, bu oluşturulan ilkel damar ağının taslak olarak kullanılarak, daha da genişletilmesi işlemidir (106). Normal embriyolojik gelişim ve büyüme kadar, başarılı bir plasentasyon için, vasküler ağın oluşumu ve maturasyonu gereklidir (99).

Günümüze kadar yapılan birçok çalışma, insan plasentasında vaskülogenez ve anjiogenez süreçlerini ele almasına rağmen (42, 107, 108, 109, 110), HH'nin bu süreçlerdeki rolü üzerine fazla çalışma yoktur. Bugüne kadar plasentanın erken döneminde HH'nin vaskülogenez ve anjiogenezdeki rolü araştırılmıştır (99, 111). Ancak bildiğimiz kadarıyla erken fetal kayıplarda, HH'nin plasental villöz damarlanma üzerine etkilerini araştıran literatürde herhangi bir çalışma yoktur.

Vaskülogenezis, gebeliğin birinci trimestri sırasında embriyonik gelişim basamağı olarak belirlenen organogenez periyoduna sınırlıdır. Organogenezden sonra, gebeliğin ikinci

ve üçüncü trimestrinde hipoksiyle ortaya çıkan dallanan ve dallanmayan anjiogenez fazı başlar ve devam eder (112). Koryon villuslardaki hemanjiogenetik hücre kordlarının kökeni, embriyonik gelişim ve kromozom anomalilerinden bağımsızdır (113). Ancak, endotelyal duvarı olan ve lümen formasyonu oluşturan bir damar yalnızca embriyo varlığında görülebilir. Anembriyonik gebelik ve molar gebeliklerde yalnızca hemanjioblastik kordlar görülür, ki bu durumda bu gebeliklerde koryonik villöz vaskülarizasyonun gelişmediğini gösterir (114). Bizim çalışmamızda bu bulguyu destekler şekilde blighted ovumda vaskülarizasyonun göreceli olarak az olduğu görülmüştür. Bu nedenle BO olgularında HH'nin villöz damarlanma üzerine etkilerinin daha yetersiz olabileceği düşünülmüştür.

Artmış gestasyonel hafta ile birlikte, koryon villuslardaki vaskülogenez, primitif hemanjioblastik kordların lümenli damarlara matüre olması, damarların villusların periferine doğru lokalizasyonu ile karakterizedir. Fetal villuslarla maternal kan akımı arasındaki maternal-fetal difüzyon mesafesi ne kadar az olursa, vaskülosinsityal membran yoluyla, maternal-fetal besin alışverişi o derece optimal düzeyde olur. Bu nedenle koryonik villuslarda periferik damarlara ihtiyaç vardır (113). BO materyallerinde damarların daha santrale yakın, istenmeyen gebelik ve MA olgularında ise daha periferik yerleşimli olduğu dikkat çekicidir. Bu saptama BO olgularında materno-fetal kan akımının yeterince gerçekleşmediğini ortaya koyabilir. Sonuçta BO ve MA olgularında villöz damarlanma açısından yapısal ve sayısal farklılık olduğunu söylemek olasıdır. Bu farklılığın kökeninde HH'nin durumu rol alabilir.

Plasental oksijen, anjiogenik büyüme faktörlerinin üretiminin kontrolünde ve aynı zamanda fetoplasental anjiogenez ve villöz differansiyasyonda önemli bir faktördür. Oksijen kaynağındaki ya da fizyolojik süreçteki değişikliklere yanıt olarak, doku ve hücrelerde çeşitli mekanizmalar tariflenmiştir (112). Organizma uygun fizyolojik seviyeyi korumak için ayarlama yapar. Bu durum, özellikle, gebelik sırasında normal plasenta için fizyolojik oksijen değişimi açısından önemlidir. Hipoksi durumu oksijen düzeyinin patolojik ya da anormal olarak belli bir seviyenin altında olmasıdır. Gen ekspresyonu sonucu hipoksi indüksiyonunu açıklayan mekanizmalar tartışılmıştır (112) . Kromozomal anomalilere bağlı gelişen erken fetal kayıplarda, bu nedenle hipoksik indüklenme bozulmuş, yeni damar yapımı defektif kalmış olabilir. Kromozomal anomalilerin daha sık görüldüğü BO olgularında bu durum açıklanabilir. MA olgularına bu açıdan bakıldığında, hipoksinin damar yapımını sağlaması beklenen bir durumdur.

Belli anjiogenik büyüme faktörleri ve inhibitörleri plasenta tarafından üretilir. Gebelik boyunca ve riskli gebeliklerde VEGF, PIGF ve solubl flt-1 seviyelerinde artış tespit edilmiştir (115). Gebelik sırasında anjiogenik büyüme faktörleri ile oksijen basıncı değişiklikleri arasında bir uyumsuzluk vardır (116). Ayrıca birinci trimester ile term plasenta arasında, farklı oksijen konsantrasyonlarına in vitro yanıt da farklıdır (117). Ölçümlerde intervillöz aralıkta, 11-12. haftalarda oksijen basıncında keskin bir artış görülmüştür. Bu dönemde anjiogenik faktörlerin düzenlenmesinde oksijen ve oksidatif stresin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (115). Gebeliğin erken ve geç aşamalarında, fetüsü yüksek oksijen basıncının zararlı etkilerinden korumak gerekir. Fetoplental vaskülatürün gelişimi ve yeniden oluşumu, bu korumanın bir parçası olabilir. Intervillöz oksijen basıncı seviyesi ile perfüzyon oranı arasındaki artış arasında yaklaşık iki aylık gecikme vardır. Morfolojik olarak damar dallanması olmayan immatür anjiogenezden, matür anjiogenez niteliksel geçiş belirgindir. Ayrıca fetal kapillerlerde ve villuslarda hızlanmış büyüme görülür (118). Oksijen seviyeleri 12. haftadan sonra yükselmesine rağmen, periferik vaskülarizasyondaki değişiklikler 20 – 25. haftalarda belirgin hale gelir (118, 119). Değişen oksijen basıncı akut ve kronik etkiler gösterir. Anatomik değişiklikler daha uzun süreli olarak ortaya çıkar. Fetoplental vasküler ağın oluşumu zaman alır. Eğer plasenta koordineli olarak bir bütün halinde işliyorsa, diğer villöz hücreler özellikle trofoblastlardaki değişikliklerle birlikte koordinasyon halinde olmalıdır (120). Bu nedenle farklı gestasyon haftalarında sık görülen BO ve MA olgularında villus damarlanması farklılık göstermektedir.

Vaskülogenez ve anjiyogenez olaylarında birçok büyüme faktörü ve sitokin rol alır. Bu proteinlerin HH tarafından sentezlendiğinin gösterilmesi bu hücrelerin plasental anjiogenezde önemini ortaya koymaktadır. Bunlardan bazıları FGF (bFGF, FGF-2) ve reseptörünün hemanjiyogenik progenitor hücrelerin vaskülogenezin gerçekleşeceği alana çağırılmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. FGF'nin plasentada ekspresyonu, çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (121, 122). Hemanjiyogenik progenitor hücrelerin ortama çağırılması, büyümesi ve kümeler oluşturmaktan sorumlu olan VEGF-A ve reseptörü Flk-1 (Fötal karaciğer kinazı), erken haftalara ait plasental örneklerde oldukça yüksek oranda bulunmuştur (123-125). In situ hibridizasyon ve immünohistokimyasal çalışmalar villöz trofoblastlar ve HH'nin bu sitokin ana kaynağı olduğunu göstermiştir (125, 126). İnsan trofoblastlarının VEGF salgıladıkları ayrıca Shore ve ark. (124) tarafından da belirlenmiştir. HH ve bunlara ait sitokinlerin, villöz kapiller oluşumun ilk basamaklarında rol aldıkları hipotezi, makrofajların hemanjiyogenik hücre kordonlarının oluşumundan daha önce, villöz

stromada lokal olarak farklılanabilmeleri bulgusu ile uyumludur (10). Farelerde yapılan çalışmalar, feto-plasental kapillerlerin hemanjiyoplastik öncüllerinin belirlenmesi ve farklılaşması için ne kadar önemli olduğunu göstermiştir (127).

Flt-1 (Fms-benzeri tirozin kinaz-1)'in villöz vasküler endotelde eksprese olduğu, immünohistokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir (125, 126). Flt-1'in endotelial prekürsör hücreler üzerinde VEGF-A'nın etkisini göstermesinden sorumlu olduğunu öne sürmektedir (129). İlginç olarak, Flt-1 geninin hücre içi domeynini kodlayan tirozin kinazın ortadan kaldırılmasının vasküler yapıları bozmadığı, bu nedenden dolayı, Flt-1'in ekstrasellüler domeyninin plasental vasküler gelişim için gerekli olduğu öne sürülmüştür.

Demir ve ark.(2004, 2007) erken insan plasentasında vaskülogenez ve anjiyogenezin basamaklarını alansal ve zamansal olarak tarif etmiştir (125, 112). VEGFA ve Flk-2'nin ekspresyonu, gebeliğin en erken döneminde en yüksektir (112). Tersine, PlGF ve Flt-1'in çözünür formu, dallanıcı anjiyogenezin, dallanmasız anjiyogenezle yer değiştirmeye başladığı zamana doğru artar (130). Gebeliğin en erken döneminde trofoblastlarda yoğun olarak eksprese olan VEGF, gebelik ilerledikçe stromaya, özellikle HH'ne ve hemanjiyogenik hücre kordonlarına kayar. Flk-1 özellikle hemanjiyogenik hücre kordonlarında, Flt-1 ise stromal hücrelerde, hemanjiyogenik hücre kordonlarında ve endotelde eksprese olur (125).

Damar duvarının dış kısımlarının gelişiminin Tie-2 reseptörü ile etkileşen Anjiyopöietin-1 (Ang-1) ve Anjiyopöietin-2 (Ang-2) arasındaki denge ile kontrol edildiği öne sürülmüştür (106). Kök villuslara farklılaşmanın olduğu immatür intermediyet villusların perivasküler (damar çevresi) hücrelerinde Ang-1, Ang-2 ve mRNA'ları belirlenmiştir (82). Gebelik ilerledikçe, trofoblast tabakasının altındaki kapiller ağ geriler ve birkaç, büyük, dallanmamış paravasküler kapiller olarak kalır (82). Kök villuslarda kapiller gerilemenin mekanizmaları halen bilinmemektedir. Bir görüşe göre, VEGF-A'nın eksikliği, plasental büyüme faktörü (PlGF)' nün artışı bu kapiller gerilemeye neden olabilir, çünkü PlGF, VEGF-A'nın etkisini baskılayarak anjiyogenezi baskılayabilir (83, 84). İlginç olarak, gelişen kök villuslardaki kapillerin ağın gerilemesi olayına villöz yüzeydeki trofoblast kaybı ve fibröz yapı kazanan stromadaki HH kaybı eşlik eder (131).

HH'nin bir başka plasental görevi de immün ilişkili olaylardır. Antijen sunma olayı, sınıf II antijen ekspresyonu ve IL-1 sekresyonu ile ilişkili olduğundan, fetal plasental makrofajların neredeyse bir yetişkin hücre gibi antijen sunma fonksiyonu olabileceği öne sürülmüştür (57). Hatta antijen sunma olayının dokuya özel farklı faktörler tarafından

düzenlendiği düşünölmüştür. Yagel (1987) progesteronun fizyolojik konsantrasyonlarının fötal plasental makrofajlardan bir immünosupresan olduğu bilinen prostaglandin E2 salınımını arttırdığını göstermiştir (65). Bu bulgu fötal plasental makrofajların fetomaternal yüzeyde immün-baskılayıcı bir rol oynadıklarına işaret eder. İzole edilmiş HH in vitroda hem hücre-aracılı lenfolizi hem de lenfosit reaksiyonunu inhibe etmiştir (59). Bu nedenle HH fetüse karşı gelişebilecek T hücre yanıtını bastırmada çok önemli fonksiyona sahiptir. Bu durum, immünolojik kaynaklı erken fetal kayıplarda HH sayı artışını açıklayabilir. Ayrıca HH'nin stromal kanallardaki hareketi, bu makrofajların; konağın savunulmasındaki rollerini ve diğer mezenşimal hücrelerin çoğalmasının teşviki veya baskılanması ile villus stromasının yeniden şekillendirilmesindeki rollerini (2,16) göstermelerine yardımcı olur. Erken fetal kayıplarda etyolojik nedenlerden dolayı konak savunma ihtiyacı artmıştır. Bu da HH artışını açıklayan nedenlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. HH'nin, erken fetal kayıplarda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde fazla olması, bu hücrelerin anjiogenetik ve immünolojik rollerinden kaynaklanıyor olabilir.
2. HH, hem hücre-aracılı lenfolizi hem de lenfosit reaksiyonunu inhibe ederek fetüse karşı gelişebilecek T hücre yanıtını bastırmada çok önemli fonksiyona sahiptir. Bu durum immünolojik kaynaklı erken fetal kayıplarda HH sayı artışını açıklayabilir.
3. Enfeksiyonla ilişkili fetal kayıplarda artmış fagositoz gereksinimini karşılamak için, aktif fagositoz yapan HH'nin sayısı artmaktadır. MA'da, BO'a göre HH artışının göreceli olarak daha fazla olmasının nedenlerinden biri, MA'da enfeksiyon etyopatogenezinin daha sık görülmesi olabileceğini bize düşündürmektedir.
4. Erken fetal kayıplarda HH'nin anjiogenetik etkisinin önemli olduğunu düşünmekteyiz. Fetal villuslarla maternal-fetal kan akımı değişimi vaskülosinsityal membran yoluyla ile olur. BO olgularında damarların santrale daha yakın, istenmeyen gebelik ve MA olgularında daha periferik yerleşimli olduğu gösterilmiştir. Bu saptama BO olgularında materno-fetal kan akımının yeterince gerçekleşmediğini ve BO olgularında HH'nin yetersiz olduğunu düşündürür. Ayrıca endotelial duvarı olan ve lümen formasyonu olan bir damar yalnızca embriyo varlığında görülebilir. BO ve molar gebeliklerde yalnızca hemanjioplastik kordlar görülür, ki bu da BO olgularında koryonik villöz vaskülarizasyonun gelişmediğini ve HH'nin yetersiz kaldığını gösterir.
5. Kromozomal anomalilere bağlı gelişen erken fetal kayıplarda, bu nedenle hipoksik indüklenme bozulmuş, yeni damar yapımı defektif kalmış olabilir. Kromozomal anomalilerin daha sık görüldüğü BO olgularında bu durum açıklanabilir. MA olgularına bu açıdan bakıldığında, hipoksinin damar yapımını sağlaması beklenen bir durumdur.
6. HH'nin erken fetal kayıplarda patogenetik önemi olduğunu düşünmekteyiz. Bu önem, bu hücrelerin kısmen damar yapımı, kısmen ise immünolojik, fagositik ve diğer etkilerinden kaynaklanmaktadır.
7. HH'nin plasental vaskülogenez ve anjiogenezdeki rollerinin aydınlatılması, MA ve BO gibi erken fetal kayıpların patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasına ve bu kayıpların önlenmesine yönelik stratejilerin belirlenmesine yol açacaktır. Bu nedenden dolayı erken fetal kayıplarda HH'nin rolünü ortaya çıkaracak başka yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Kayisli UA, Cayli S, Seval Y, Tertemiz F, Huppertz B, Demir R. Spatial and Temporal Distribution of Tie-1 and Tie-2 During Very Early Development of the Human Placenta, *Placenta* 2006; 27, 648-659.
2. Kaufmann P, Scheffen I. Placental development. Orlando: Saunders; 1992.
3. Boyd JD, Hamilton WJ. The Human Placenta. Cambridge: Heffer&Sons; 1970.
4. Denker HW. Trophoblast-endometrial interactions at embryo implantation: a cell biological paradox. *Trophoblast Res* 1990; 4: 1-27.
5. Psychoyos A. The implantation window: can it be enlarged or displaced? *Excerpta Med Int Cong Ser* 1988; 768: 231-232.
6. Heuser CH, Streeter GL. Development of the macaque embryo. *Contrib Embryol Carnegie Inst* 1941; 29: 15-55.
7. Wislocki GB, Streeter GL. On the placentation of the macaque (*Macaca mulatta*) from the time of implantation until the formation of the definitive placenta. *Contrib Embryol Carnegie Inst* 1938; 27: 1-66.
8. Pijnenborg R, Robertson WB, Brosens I, Dixon G. Trophoblast invasion and the establishment of haemachorial placentation in man and laboratory animals. *Placenta* 1981; 2: 71-92.
9. Welsh AO, Enders AE. Light and electron microscopic examination of the mature decidual cells of the rat with emphasis on the antimesometrial decidua and its degeneration. *Am J Anat* 1985; 172: 1-29.
10. Demir R, Kaufmann P, Castellucci M, Erbenli T, Kotowski A. Fetal vasculogenesis and angiogenesis in human placental villi. *Acta Anat (Basel)* 1989; 136: 190-203.
11. King BF. Ultrastructural differentiation of stromal and vascular components in early macaque placental villi. *Am J Anat* 1987; 178: 30-44.
12. Castellucci M, Scheper M, Scheffen I, Celona A, Kaufmann P. The development of the human placental villous tree. *Anat Embryol (Berl)* 1990; 181: 117-128.

13. Mills, S. Histology for Pathologist. 3rd Ed. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams &Wilkins; 2007: 1113-4.
14. Castellucci M, Kaufmann P. Evolution of the stroma in human chorionic villi throughout pregnancy. *Bibl Anat* 1982; 40-45.
15. Castellucci M, Zaccheo D, Pescetto G. A three dimensional study of the normal placental villous core. I. Hofbauer cells. *Cell Tissue Res* 1980; 210: 235-247.
16. Kaufmann P, Stark J, Stegner HE. The villous stroma of the human placenta. I. The ultrastructure of fixed connective tissue cells. *Cell Tissue Res* 1977; 177: 105-121.
17. Martinoli C, Castellucci M, Zaccheo D, Kaufmann P. Scanning electron microscopy of stromal cells of human placental villi throughout pregnancy. *Cell Tissue Res* 1984; 235: 647-655.
18. Hofbauer J. Ueber das konstante vorkommen bisher unbekannter zelliger Formelemente in der chorionzotte der menschlichen Plazenta und ueber embryotrophe. *Wien Klin Wochenschr* 1903; 16: 871-873.
19. Virchow R. *Cellularpathologie in ihrer begruendung auf physiologische und pathologische gewebelehre*. Berlin; 1871.
20. Castellucci M, Celona A, Bartels H, Steininger B, Benedetto V, Kaufmann P. Mitosis of the Hofbauer cell: possible implications for a fetal macrophage. *Placenta* 1987; 8: 65-76.
21. Katabuchi H, Naito M, Miyamura S, Takahashi K, Okamura H. Macrophages in human chorionic villi. *Prog Clin Biol Res* 1989; 296: 453-458.
22. Wood GW. Mononuclear phagocytes in the human placenta. *Placenta* 1980; 1: 113 123.
23. Frauli M, Ludwig H. Immunocytochemical identification of mitotic Hofbauer cells in cultures of first trimester human placental villi. *Arch Gynecol Obstet* 1987; 241: 47-51.
24. Chaletzky E. *Hydatidenmole*. Bern: University of Bern; 1891.
25. Wynn RM. Derivation and the ultrastructure of the so-called Hofbauer cell. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 97: 235-248

26. Fox H. The incidence and significance of Hofbauer cells in the mature human placenta. *J Pathol Bacteriol* 1967; 93: 710-717.
27. Wynn RM. Fetomaternal cellular relations in the human basal plate: an ultrastructural study of the placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 97: 832-850.
28. Vacek Z. Derivation and ultrastructure of the stroma cells of the human chorionic villus. *Folia Morphol (Praha)* 1970; 18: 1-13.
29. Sorokin SP, Hoyt RF, Jr. Pure population of nonmonocyte derived macrophages arising in organ cultures of embryonic rat lungs. *Anat Rec* 1987; 217: 35-52.
30. Naito M, Yamamura F, Nishikawa S, Takahashi K. Development, differentiation, and maturation of fetal mouse yolk sac macrophages in cultures. *J Leukoc Biol* 1989; 46: 1-10.
31. Mebius RE, Martens G, Breve J, Delemarre FG, Kraal G. Is early repopulation of macrophage-depleted lymph node independent of blood monocyte immigration? *Eur J Immunol* 1991; 21: 3041-3044.
32. van Furth R. Current view on the mononuclear phagocyte system. *Immunobiology* 1982; 161: 178-185.
33. Moskalewski S, Ptak W, Czarnik Z. Demonstration of cells with IgG receptor in human placenta. *Biol Neonate* 1975; 26: 268-273.
34. Khansari N, Fudenberg HH. Functional heterogeneity of human cord blood monocytes. *Scand J Immunol* 1984; 19: 337-342.
35. Huppertz B, Peeters LL. Vascular biology in implantation and placentation. *Angiogenesis* 2005; 8: 157-167.
36. Castellucci M, Zaccheo D. The Hofbauer cells of the human placenta: morphological and immunological aspects. *Prog Clin Biol Res* 1989; 296: 443- 451.
37. Takahashi K, Naito M, Katabuchi H, Higashi K. Development, differentiation, and maturation of macrophages in the chorionic villi of mouse placenta with special reference to the origin of Hofbauer cells. *J Leukoc Biol* 1991; 50: 57-68.
38. Hauguel-de Mouzon S, Guerre-Millo M. The placenta cytokine network and inflammatory signals. *Placenta* 2006; 27: 794-798.

39. Wetzka B, Clark DE, Charnock-Jones DS, Zahradnik HP, Smith SK. PGE2 and TXA2 production by isolated macrophages from human placenta. *Adv Exp Med Biol* 1997; 433: 403-406.
40. Demir R, Erben T. Some new findings about Hofbauer cells in the chorionic villi of the human placenta. *Acta Anat (Basel)* 1984; 119: 18-26.
41. Enders AC, King BF. The cytology of Hofbauer cells. *Anat Rec* 1970; 167: 231- 252.
42. Castellucci M, Kaufmann P. A three dimensional study of the normal human placental villous core: II. Stromal Architecture. *Placenta* 1982; 3: 269-285.
43. Prodocimi O. Ricerche istochimiche per la localizzazione delle sostanze gonadotrope nel tessuto coriale normale, nella mola vescicolare e corioepitelioma. *Riv Ostet Ginecol* 1953; 35: 133.
44. Kaufmann P, Stark J. Semidünnschnitt-sytochemische und immunautoradiographische Befunde zum Hormonstoff-wechsel der reifen menschlichen Placenta. *Anat Anz* 1973; 67: 245-249.
45. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998; 282: 2085-2088.
46. Uren S, Boyle W. Isolation of macrophages from human placenta. *J Immunol Methods* 1985; 78: 25-34.
47. Zaccheo D, Pistoia V, Castellucci M, Martinoli C. Isolation and characterization of Hofbauer cells from human placental villi. *Arch Gynecol Obstet* 1989; 246: 189-200.
48. Goldstein J, Braverman M, Salafia C, Buckley P. The phenotype of human placental macrophages and its variation with gestational age. *Am J Pathol* 1988; 133: 648-659.
49. Johnson PM, Brown PJ. Review article: Fc gamma receptors in the human placenta. *Placenta* 1981; 2: 355-370.
50. Loke YW, Eremin O, Ashby J, Day S. Characterization of the phagocytic cells isolated from the human placenta. *J Reticuloendothel Soc* 1982; 31: 317-324.

51. Wood GW, King CR, Jr. Trapping antigen-antibody complexes within the human placenta. *Cell Immunol* 1982; 69: 347-362.
52. Braunhut SJ, Blanc WA, Ramanarayanan M, Marboe C, Mesa-Tejada R. Immunocytochemical localization of lysozyme and alpha-1-antichymotrypsin in the term human placenta: an attempt to characterize the Hofbauer cell. *J Histochem Cytochem* 1984; 32: 1204-1210.
53. Kumazaki K, Nakayama M, Yanagihara I, Suehara N, Wada Y. Immunohistochemical distribution of Toll-like receptor 4 in term and preterm human placentas from normal and complicated pregnancy including chorioamnionitis. *Hum Pathol* 2004; 35: 47-54.
54. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000; 406: 782-787.
55. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol* 2001; 2: 675-680.
56. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998; 282: 2085-2088.
57. Bulmer JN, Johnson PM. Macrophage populations in the human placenta and amniochorion. *Clin Exp Immunol* 1984; 57: 393-403.
58. Sutton L, Gadd M, Mason DY, Redman CW. Cells bearing class II MHC antigens in the human placenta and amniochorion. *Immunology* 1986; 58: 23-29.
59. Bulmer JN, Morrison L, Smith JC. Expression of class II MHC gene products by macrophages in human uteroplacental tissue. *Immunology* 1988; 63: 707-714.
60. Lessin DL, Hunt JS, King CR, Wood GW. Antigen expression by cells near the maternal-fetal interface. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1988; 16: 1-7.
61. Corte G, Moretta A, Cosulich ME, Ramarli D, Bargellesi A. A monoclonal anti- DC1 antibody selectivity inhibits the generation of effector T cells mediating specific cytolytic activity. *J Exp Med* 1982; 156: 1539-1544.

62. Flynn A, Finke JH, Hilfiker ML. Placental mononuclear phagocytes as a source of interleukin-1. *Science* 1982; 218: 475-477.
63. Flynn A, Finke JH, Loftus MA. Comparison of interleukin 1 production by adherent cells and tissue pieces from human placenta. *Immunopharmacology* 1985; 9: 19-26.
64. Glover DM, Brownstein D, Burchett S, Larsen A, Wilson CB. Expression of HLA class II antigens and secretion of interleukin-1 by monocytes and macrophages from adults and neonates. *Immunology* 1987; 61: 195-201.
65. Yagel S, Hurwitz A, Rosenn B, Keizer N. Progesterone enhancement of prostaglandin E2 production by fetal placental macrophages. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1987; 14: 45-48.
66. Uren SJ, Boyle W. Class II MHC antigen-positive macrophages from human placentae suppress strong MLR and CML reactions. *Cell Immunol* 1990; 125: 235-246.
67. Fruttiger M. Development of the mouse retinal vasculature: angiogenesis versus vasculogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 522-527.
68. Papetti M, Herman IM. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282: C947-970.
69. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995; 1: 27-31.
70. Klagsbrun M, D'Amore PA. Regulators of angiogenesis. *Annu Rev Physiol* 1991; 53: 217-239.
71. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997; 386: 671-674.
72. Asahara T, Takahashi T, Masuda H, Kalka C, Chen D, Iwaguro H, Inai Y, Silver M, Isner JM. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Embo J* 1999; 18: 3964-3972.
73. Shalaby F, Ho J, Stanford WL, Fischer KD, Schuh AC, Schwartz L, Bernstein A, Rossant J. A requirement for Flk1 in primitive and definitive hematopoiesis and vasculogenesis. *Cell* 1997; 89: 981-990.

74. Fong GH, Zhang L, Bryce DM, Peng J. Increased hemangioblast commitment, not vascular disorganization, is the primary defect in *flt-1* knock-out mice. *Development* 1999; 126: 3015-3025.
75. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, Oz MC, Hicklin DJ, Witte L, Moore MA, Rafii S. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 2000; 95: 952-958.
76. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999; 5: 434-438.
77. Knoth M. Ultrastructure of chorionic villi from a four-somite human embryo. *J Ultrastruct Res* 1968; 25: 423-440.
78. Folkman J, Haudenschild C. Angiogenesis in vitro. *Nature* 1980; 288: 551-556. CIT: Benirschke K, Kaufmann P, Baergen R. Pathology of the human placenta. New York: Springer; 2006.
79. Davidoff M, Schiebler TH. Über den feinaufbau der Meerschweinchenplacenta während der entwicklung. *Z Anat Entwicklungsgesch* 1970; 130: 234-254.
80. Dempsey EW. The development of capillaries in the villi of early human placentas. *Am J Anat* 1972; 134: 545-565.
81. Holmgren L, Glaser A, Pfeifer-Ohlsson S, Ohlsson R. Angiogenesis during human extraembryonic development involves the spatiotemporal control of PDGF ligand and receptor gene expression. *Development* 1991; 113: 749-754.
82. Leiser R, Luckhardt M, Kaufmann P, Winterhager E, Bruns U. The fetal vascularisation of term human placental villi. I. Peripheral stem villi. *Anat Embryol (Berl)* 1985; 173: 71-80.
83. Cao Y, Chen H, Zhou L, Chiang MK, Anand-Apte B, Weatherbee JA, Wang Y, Fang F, Flanagan JG, Tsang ML. Heterodimers of placenta growth factor/vascular endothelial growth factor. Endothelial activity, tumor cell expression, and high affinity binding to Flk-1/KDR. *J Biol Chem* 1996; 271: 3154-3162.

84. Khaliq A, Dunk C, Jiang J, Shams M, Li XF, Acevedo C, Weich H, Whittle M, Ahmed A. Hypoxia down-regulates placenta growth factor, whereas fetal growth restriction up-regulates placenta growth factor expression: molecular evidence for "placental hyperoxia" in intrauterine growth restriction. *Lab Invest* 1999; 79: 151-170.
85. Kaufmann P, Kingdom JCP. Development of the vascular system in the placenta. Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 2000: 255-275.
86. Bozkaya H. Abortuslar, In: Kişnişçi HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu LS., (Eds.). *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1996: 575-590.
87. Cunningham FG, MacDonald PC, Gand FN, Leveno KJ, Gilstrap LC, Hankins GDV, Clarks SL. Abortion. In: Appleton and Lange, (ed.). *Williams Obstetrics*. Connecticut: 1997: 579-605.
88. İmirzalioglu N, Baltacı V, Şaylı B.S., Haberal A, Missed Abortus ve Blighted Ovum Ön Tanılı Gebeliklerde Terminasyon Öncesi Koryon Villus Örnekleme İle Sitogenetik İncelemeler , *Perinatol Derg.* 1996; 4: 200 – 204
89. Stirrat GM. Recurrent miscarriage I: Definition and epidemiology. *Lancet* 1990; 336: 673-675).
90. Apgar BS, Churgay CA. Spontaneous abortion. *Prim Care* 1993; 20:621-627.
91. Scott JR. Early Pregnancy Loss. In: Scott JR, Di Saia PJ, Hammond CB, Spellacy WN, (Eds.) *Danforth's Obstetrics and Gynecology*. Philadelphia: Lipincott, 1994: 175-186.
92. Pernoll ML, Garmel SH. Early pregnancy risks. In: DeCherney AH, Penoll ML., (Eds). *Current Obstetric and Gynecologic Diagnosis and Treatment*. Connecticut: Appleton and Lange, 1994: 306-330.
93. Tanrıverdi HA, Ertan AK. Corpus luteumun fonksiyon bozuklukları. In: Ertan AK, Tanrıverdi HA, (Eds). *Obstetri ve Jinekolojide Doppler Sonografi*. İstanbul : Nobel Tıp Kitabevi, 2003: 81-87.
94. Özdemir O, Barut A., Tanrıverdi HA. Gebelikte Maternal Hastalıklar. In: Tanrıverdi A, (Eds). *Obstetrik ve Jinekolojik Sonografi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2004.

95. Cunningham FG, MacDonald PC, Gand FN, Leveno KJ, Gilstrap LC, Hankins GDV, Clarks SL. Abortion. In: Appleton and Lange, (Eds). Williams Obstetrics. Connecticut: 1997: 579-605.
96. Bozkaya H. Abortuslar. In: Kişnişçi HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu LS, (Eds). Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş Kitabevi, 1996: 575-590.
97. Simpson JL. Fetal Wastage. In: Gabbe SG, Niebly JR, Simpson JL., (Eds). Obstetrics: Normal and Problem Pregnancies. New York: Churchill Livingstone inc, 1996: 717-742.
98. Seval Y, Korgun ET, Demir R. Hofbauer cells in early human placenta: possible implications in vasculogenesis and angiogenesis. Placenta 2007; 28: 841-845.
99. Ingman K, Cookson V.J.K.W, Jones C.J.P, Applin J.D, Characterisation of Hofbauer Cells in First and Second Trimester Placenta: Incidence, Phenotype, Survival in vitro and Motility. Placenta 31, 2010: 535-544.
100. Wood G, Reynard J, Krishnan E, Racela L. Immunobiology of the human placenta. II. Localization of macrophages, in vivo bound IgG and C3. Cell Immunol 1978; 35: 205-16.
101. Khan S, Katabuchi H, Araki M, Nishimura R, Okamura H. Human villous macrophage-conditioned media enhance human trophoblast growth and differentiation in vitro. Biol Reprod 2000; 62: 1075 - 83.
102. Martinoli C, Castellucci M, Zaccheo D, Kaufmann P. Scanning electron microscopy of stromal cells of human placental villi throughout pregnancy. Cell Tissue Res 1984; 235: 647-55.
103. Castellucci M, Kaufmann P. A three-dimensional study of the normal human placental villous core: II. Stromal architecture. Placenta 1982; 3: 269-85.
104. King B F. Ultrastructural differentiation of stromal and vascular components in early macaque placental villi. Am J Anat 1987; 178: 30- 44.
105. Lee MM, Yeh MN. Fetal microcirculation of abnormal human placenta. I. Scanning electron microscopy of placental vascular casts from small for gestational age fetus. Am J Obstet Gynecol 1986; 154: 1133-1139.

106. Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science* 1997; 277: 48-50.
107. Geva E, Ginzinger DG, Zaloudek CJ, Moore DH, Byrne A, Jaffe RB. Human placental vascular development: vasculogenic and angiogenic (branching and nonbranching) transformation is regulated by vascular endothelial growth factor- A, angiopoietin-1, and angiopoietin-2. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4213- 4224.
108. Zygmont M, Herr F, Munstedt K, Lang U, Liang OD. Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 110 Suppl : S10-18.
109. Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1995; 11: 73-91.
110. Reynolds LP, Redmer DA. Angiogenesis in the placenta. *Biol Reprod* 2001; 64: 033-1040.
111. Seval Çelik Y. Hofbauer Hücrelerinin Plasental Damarlardaki Muhtemel Rollerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Akdeniz Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2009: 4-34.
112. Demir R, Seval Y, Huppertz B. Vasculogenesis and angiogenesis in the early human placenta. *Acta Histochem* 2007; 109: 257-265.
113. Babbette AM, Lisman, Boer K, Bleker OP, van Wely M, van Groningen K, Abnormal development of the vasculosyncytial membrane in early pregnancy failure. *Fertility and sterility* 2004; 82;3, 655-660
114. Exalto N, te Velde J. Vascular system development in early human chorionic villi. *Proceedings of the 10th Annual Meeting of ESRHE, Brussels. Hum Reprod* 1994; 9: 10.
115. Charnock-Jonesa D. Kaufmannb SP. and Mayhewc TM. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. *Placenta* 2004; 25; 103–11
116. Kaufmann P, Mayhew TM, Charnock-Jones DS. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. II. Changes during normal pregnancy. *Placenta* 2004;25: 104–26.

117. Zhang EG, Smith SK, Charnock-Jones DS. Placental expression of human angiopoietin-2 and Tie-2, but not angiopoietin-1 or Tie-1, are regulated during gestation. *J Soc Gynecol Investig* 1999;6:86A.
118. Rodesch F, Simon P, Donner C, Jauniaux E. Oxygen measurements in endometrial and trophoblastic tissues during early pregnancy. *Obstet Gynecol* 1992; 80: 283–5.
119. Semenza GL. HIF-1, O₂, and the 3 PHDs: How animal cells signal hypoxia to the nucleus. *Cell* 2001; 107: 1–3.
120. Mayhew T. M, Charnock-Jones D. S and Kaufmann P. Aspects of Human Fetoplacental Vasculogenesis and Angiogenesis. III. in *Complicated Pregnancy. Placenta* 2004; 25: 127–139
121. Ferriani RA, Ahmed A, Sharkey A, Smith SK. Colocalization of acidic and basic fibroblast growth factor (FGF) in human placenta and the cellular effects of bFGF in trophoblast cell line JEG-3. *GF* 1994; 10: 259-268.
122. Shams M, Ahmed A. Localization of mRNA for basic fibroblast growth factor in human placenta. *GF* 1994; 11: 105-111.
123. Ahmed A, Li XF, Dunk C, Whittle MJ, Rushton DI, Rollason T. Colocalisation of vascular endothelial growth factor and its Flt-1 receptor in human placenta. *GF* 1995; 12: 235-243.
124. Shore VH, Wang TH, Wang CL, Torry RJ, Caudle MR, Torry DS. Vascular endothelial growth factor, placenta growth factor and their receptors in isolated human trophoblast. *Placenta* 1997; 18: 657-665.
125. Demir R, Kayisli UA, Seval Y, Celik-Ozenci C, Korgun ET, Demir-Weusten AY, Huppertz B. Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis and angiogenesis. *Placenta* 2004; 25: 560-572.
126. Vuorela P, Hatva E, Lymboussaki A, Kaipainen A, Joukov V, Persico MG, Alitalo K, Halmesmaki E. Expression of vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in human placenta. *Biol Reprod* 1997; 56: 489-494.

127. Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu XF, Breitman ML, Schuh AC. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1- deficient mice. *Nature* 1995; 376: 62-66.
128. Vuckovic M, Ponting J, Terman BI, Niketic V, Seif MW, Kumar S. Expression of the vascular endothelial growth factor receptor, KDR, in human placenta. *J Anat* 1996; 188 (Pt 2): 361-366.
129. Hiratsuka S, Minowa O, Kuno J, Noda T, Shibuya M. Flt-1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9349-9354.
130. Demir R, Seval Y, Huppertz B. Vasculogenesis and angiogenesis in the early human placenta. *Acta Histochem* 2007; 109: 257-265.
131. Kumazaki K, Nakayama M, Suehara N, Wada Y. Expression of vascular endothelial growth factor, placental growth factor, and their receptors Flt-1 and KDR in human placenta under pathologic conditions. *Hum Pathol* 2002; 33: 1069-1077.