T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MATERNAL HİPOTİROİDİNİN HOFBAUER HÜCRE POLARİZASYONUNA ETKİSİ

Gökçen BİLİCİ GÜLER
ORCID: 0000-0003-0027-9286

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Histoloji ve Embriyoloji Doktora Programı

DOKTORA TEZİ

İZMİR
EYLÜL 2024

TEZ KODU: DEU.HSI.PhD-2017970213

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MATERNAL HİPOTİROİDİNİN HOFBAUER HÜCRE POLARİZASYONUNA ETKİSİ

Gökçen BİLİCİ GÜLER
ORCID: 0000-0003-0027-9286

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Histoloji ve Embriyoloji Doktora Programı
DOKTORA TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Serap CİLAKER MICILI
ORCID: 0000-0002-9830-0989
İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Güven ERBİL
ORCID: 0000-0002-8448-0691

Bu araştırma Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı tarafından 22647 ve DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından TDK-2022-2623 proje numarası ile desteklenmiştir.

İZMİR
EYLÜL 2024

TEZ KABUL ONAYI

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı/Histoloji ve Embriyoloji Doktora Programı öğrencisi Gökçen BİLİCİ GÜLER tarafından hazırlanan **"Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi"** başlıklı tez çalışması 06/09/2024 günü, 10:00-12:00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile DOKTORA TEZİ olarak kabul/ret edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Çetin PEKÇETİN
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fak.
Histoloji ve Embriyoloji A.D.
Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum.
ORCID: 0000-0002-9406-1714
İMZA

Üye :Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL
Ege Üniversitesi, Tıp Fak.
Histoloji ve Embriyoloji A.D.
Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum.
ORCID: 0000-0002-4016-0522
İMZA

Üye :Prof. Dr. Ülker CANKURT
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fak.
Histoloji ve Embriyoloji A.D.
Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum.
ORCID: 0000-0001-7801-8946
İMZA

Üye :Doç. Dr. Özlem YILMAZ
Ege Üniversitesi, Tıp Fak.
Histoloji ve Embriyoloji A.D.
Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum.
ORCID: 0000-0002-5020-6985
İMZA

Üye: :Prof. Dr. Elgin TÜRKÖZ ULUER
Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fak.
Histoloji ve Embriyoloji A.D.
Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum.
ORCID: 0000-0002-6597-6923
İMZA

Danışman :Prof. Dr. Serap CİLAKER MICILI
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fak.
Histoloji ve Embriyoloji A.D.
Danışman oy kullanamaz.
ORCID: 0000-0002-9830-0989
İMZA

Tez hakkında alınana jüri kararı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
ETİK BEYANI

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğum **"Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi"** başlıklı Doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza
Gökçen BİLİCİ GÜLER
…/…/…

İÇİNDEKİLER

TABLOLAR DİZİNİ ..... **i**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ii**

GRAFİKLER DİZİNİ ..... **iv**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **v**

ÖZET ..... **vii**

ABSTRACT ..... **viii**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi *1*

1.2. Araştırmanın Amacı *2*

1.3. Araştırmanın Hipotezleri *2*

2. GENEL BİLGİLER **3**

2.1. Tiroid Bezi *3*

Tiroid Bezi Histolojisi 3

Tiroid Bezi Fizyolojisi 4

Tiroid Hormonunun Fonksiyonu 5

Tiroid Hormonlarının Etki Mekanizması 5

Hipotiroidi 6

Gebelikte Tiroid Hormonları 7

Gebelikte Hipotiroidi 8

2.2. Plasenta *9*

Plasenta Gelişimi 10

Plasental Hücre Tipleri 11

Trofoblastlar 11

Sinsityotrofoblastlar 12
Villöz Sitotrofoblastlar 13
Villöz Çekirdeğin Stromal Hücreleri 14
Perisitler 14
Plasental Endotelyal Hücreler 14
Villöz Makrofajlar (Hofbauer Hücreleri) 15
Plasental Villus Tipleri 15
Kök Villuslar 16
İmmatür Ara Villus 16
Matür Ara Villus 17
Terminal Villus 17
Mezenkimal Villus 18
2.3. Makrofajlar 19
Doku Makrofajlarının Sınıflandırılması ve Orijinleri 20
Hofbauer Hücreleri 23
Hofbauer Hücrelerinin Fonksiyonel Çeşitliliği 25
Hipotiroidi, İnflamasyon ve Makrofajlara Etkisi 25
Makrofaj Polarizasyonu ile Fizyolojik ve Patolojik Gebelik İlişkisi 28
3. GEREÇ VE YÖNTEM 30
3.1. Araştırmanın Tipi 30
3.2. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Planı 30
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları 30
3.4. Çalışma Materyali 31
3.5. Araştırmanın Değişkenleri 31
3.6. Veri Toplama Araçları 31
3.6.1. Veri Toplama Yöntemleri 31
Plasentaların Toplanması 31
Morfolojik Değerlendirme 32
Doku Takibi Protokolü 32
Hematoksilen&Eozin Boyama Protokolü 32

Masson Trichrome Boya Protokolü ... 33
Histomorfolojik değerlendirme ... 34
İmmünohistokimya Boya Protokolü ... 34
İmmunohistokimya Boyamasında Pozitif Alanların Seçimi ... 36
İmmunofloresan Boya Protokolü ... 36
Hofbauer Hücre Sayımı ... 37
ELISA Analizi ... 37
3.6.2. Kullanılan Solüsyonlar ... 38
%4 Formalin ... 38
Phosphate Buffer Saline (PBS) ... 38
Permeabilizasyon Solüsyonu ... 38
Blocking solüsyonu ... 38
%1'lik Sodyum Borohidrat ... 39
3.7. Verilerin Değerlendirilmesi ... 39
3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları ... 39
3.9. Etik Kurul Onayı ... 39
4. BULGULAR ... 40
4.1. Morfolojik Değerlendirme ... 40
4.2. Histomorfolojik Değerlendirme ... 41
4.3. İmmunohistokimya Boyama ... 44
THRα ve THRß ... 45
IL-10 ... 46
IL-17 ... 47
iNOS ... 47
MPO ... 48
VEGF ... 48
CD31 ... 49
4.4. İmmunofloresan Boyama ... 50
CD80 ... 52
CD86 ... 54

CD206 56
CD163 57
CD204 59
COLI 61
4.5. ELISA 62
5. TARTIŞMA 63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 67
7. KAYNAKLAR 69
8. EKLER 88
Ek 1: Tez ile İlişkili Yayınlar 100
Ek 2. İlk Etik kurul onayı 88
Ek 3. İkinci etik kurul onayı 91
Ek 4. Onam formu 93
Ek 5: Özgeçmiş 97

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: M1 ve M2 makrofaj alt tipleri (66). 22
Tablo 2: Araştırma planı. 30
Tablo 3: İmmunohistokimyasal boyamada kullanılan antikorlar. 35
Tablo 4: İmmünofloresan boyamada kullanılan antikorlar. 37
Tablo 6: Morfolojik veriler. 40
Tablo 7: Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait IHC değerlendirmesi. 44
Tablo 8: Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait pozitif hücre sayıları. 50
Tablo 9: Doku içerisindeki sitokin ve büyüme faktörlerinin ELISA verileri. .. 62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Tiroid bezi histolojisi. 4
Şekil 2: HPT aksı, pozitif ve negatif feedback. 5
Şekil 3: TSH hormon seviyelerine göre tiroid tanı kriterleri. 7
Şekil 4: Gebelik sırasında tiroid fizyolojisindeki değişiklikler. 8
Şekil 5: Gebelik dönemlerine göre TSH referans aralıkları. 9
Şekil 6: Plasenta gelişiminin erken evreleri 11
Şekil 7: Maternal – fetal arayüz ve trofoblast alt tipleri). 12
Şekil 8: Plasental koryonik villus çeşitleri 19
Şekil 9: Doku makrofajlarının farklı gelişimsel yolları. 21
Şekil 10: Makrofajlarda NLRP3 aktivasyonunun tiroid hormonları tarafından düzenlenmesi 27
Şekil 11: Plasental örneklerin seçimi. 32
Şekil 12: Kontrol (A,B,C) ve Hipotiroidi (D,E,F) gruplarına ait plasentaların Hematoksilen&Eozin boyamaları. 42
Şekil 13: Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait plasentaların Masson Trichrome boyaması. 43
Şekil 14: THRα ve THRß immunohistokimya boyaması. 46
Şekil 15: IL-10 immünohistokimya boyaması 47
Şekil 16: IL-17 immünohistokimya boyaması 47
Şekil 17: iNOS immünohistokimya boyaması 48
Şekil 18: MPO immünohistokimya boyaması 48
Şekil 19: VEGF immünohistokimya boyaması 49
Şekil 20: CD31 immunohistokimya boyaması 50
Şekil 21: CD80 immunofloresan boyaması 52
Şekil 22: CD80 immunofloresan boyaması 53
Şekil 23: CD86 immunofloresan boyaması 54
Şekil 24: CD86 immunofloresan boyaması 55
Şekil 25: CD206 immunofloresan boyamaları 56
Şekil 26: CD163 immunofloresan boyamaları 57
Şekil 27: CD163 immunofloresan boyaması 58
Şekil 28: CD204 immunofloresan boyamaları 59

Şekil 29: CD204 immunofloresan boyaması 60
Şekil 30: COLI ve CD68 immunofloresan boyamaları 61

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: Morfolojik veriler. 41
Grafik 2: H&E boyama ile Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait sinsityal nod ve perivillöz fibrinoid birikimi değerlendirmesi. 43
Grafik 3: Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait bağ doku oranı değerlendirmesi. 44
Grafik 4: İmmunohistokimya boyama sonucu protein alan yoğunluklarının gruplar arası karşılaştırılması.. 45
Grafik 5: Gruplara ait CD31 pozitif kapiller sayımı. 49
Grafik 6: İmmunofloresan boyama sonucu pozitif hücre sayısının gruplar arası karşılaştırması. 51
Grafik 7: Doku sitokin seviyelerinin ELISA ile değerlendirilmesi 62

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAM: Alternatif olarak aktive edilmiş makrofajlar

ACOG: American College of Obstetricians and Gynecologists

AKT: Protein kinaz B

ATA: American Thyroid Association

CAM: Klasik olarak aktive edilmiş makrofajlar

COX: Siklooksijenaz

CRP: C reaktif protein

DIO: Deiyodinaz

eEVT: Endovasküler ekstravillöz trofoblast

EMP: Eritro-myeloid progenitör

EVT: Ekstravillöz trofoblast

FACS: Fluorescence – Assisted Cell Sorting

FasL: Fast apoptozis sinyal Ligandı

FcRN: Fc reseptörü

FR: Folat reseptör

hCG: İnsan koryonik gonadotropin

HIF: Hipoksi ile indüklenebilir faktör

HLA: İnsan lökosit antijeni

HPT: Hipotalamus – hipofiz – tiroid aksı

HSC: Hematopoetik kök hücre

ICM: İç hücre kütlesi

IFN-γ: İnterferon-γ

IL: İnterlökin

Ilk: Integrin-bağlı kinaz

IUGR: İntrauterin gelişme geriliği

iEVT: İnterstisyel ekstravillöz trofoblast

MAPK: Mitojen aktive protein kinaz

MCT: Monokarboksilat transporter

MMP: Matriks metalloproteinaz

MPO: Miyeloperoksidaz

NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz

NK: Natural killer hücre

PI3K: Fosfoinositid – 3 – fosfat kinaz

pMac: pre-Makrofaj

PPR: Kalıp tanıma reseptörü

R – T3: Reverse T3

scRNA-seq: Tek hücreli RNA dizilimi

SCT: Sinsityotrofoblast

T3: Triiyodotironin

T4: Tiroksin

TBG: Tiroid bağlayıcı protein

TE: Trofoektoderm

TH1: T yardımcı 1 hücreler

TIMP: Metalloproteinaz doku inhibitörü

TLR: Toll-like receptör

TNF-α: Tümör nekroz faktör-α

TR: Tiroid nükleer reseptör

TRE: Tiroid yanıt elementleri

TRH: Tirotiropin serbestleştirici hormon

TSH: Tiroid stimulan hormon

VCT: Villöz sitotrofoblast

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

MATERNAL HİPOTİROİDİNİN HOFBAUER HÜCRE POLARİZASYONUNA ETKİSİ

Doktora Tezi

Gökçen BİLİCİ GÜLER

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Tiroid hormonları maternal metabolizmayı, plasentayı ve fetal gelişimi düzenlediği için gebelikte oldukça önem taşımaktadır ve hipotiroidizm gebelikte en sık gözlenen kronik hastalıklar içerisinde yer almaktadır. Güncel literatür verileri, maternal subklinik hipotiroidizmin annelerde gestasyonel hipertansiyon, erken koryoamniyotik membran rüptürü, plasenta abrupsiyonu, düşük ve fetüslerde düşük doğum ağırlığı, prematüre doğum ve fetal distres riskini artırdığını göstermektedir. Hofbauer hücreleri, doku homeostazisini ve tolerojenik ortamı koruyarak plasenta fizyolojisinde önemli ve aynı zamanda farklı bir rol oynar. Hofbauer hücrelerinin plastisitesi hem M1 hem de M2 polarizasyon markerlarını eksprese eden fenotipleri ile iyi şekilde karakterize edilmiştir. Sağlıklı bir plasentada yer alan Hofbauer hücrelerinin M2 fenotip gösteren büyük vakuollü uzun iğsi hücreler olduğu bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı maternal hipotiroidinin Hofbauer hücre polarizasyonu üzerindeki etkisini araştırmaktır. Bu amaçla plasental dokudaki Hofbauer hücreleri histolojik, immunohistolojik ve ELISA ile analiz edilmiştir.

Çalışmada 5 Kontrol, 5 Hipotiroidili hasta plasentası kullanılmıştır. Doğum sonrası alınan plasental örnekler histolojik çalışmalar için parafin bloklarda, ELISA incelemeleri için -80°C'de saklanmıştır. Histomorfolojik incelemeler için Hematoksilen&Eozin ve Masson Trichrome boyamaları; immunohistolojik incelemeler için CD80, CD86, CD163, CD204, CD206, ColI, CD31, iNOS, MPO, IL-10, IL-17 ve VEGF antikorları ile boyama yapılmıştır. ELISA analizi ile dokudaki IL-10, IL-6, IL-1ß ve TGF-ß seviyeleri belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda Hipotiroidili plasentalarda genel doku morfolojisinin bozulduğu görüldü. M1 ve M1 benzeri hücreler olan M2b makrofaj markerı CD86'nın anlamlı düzeyde arttığı gözlendi. M1 ve M2b makrofajlar tarafından eksprese edilen sitokinler IL-6 ve IL-1ß'nın arttığı, IL-6'nın anlamlı düzeyde arttığı gözlendi. Oksidatif stres ile ilişkili iNOS, MPO ve IL-17'nin arttığı, IL-17'nin artışının anlamlı olduğu gözlendi.

Elde ettiğimiz sonuçlar sağlıklı gebelerde genel olarak M2a ve M2c fenotipinde gözlenen Hofbauer hücrelerinin Hipotiroidili gebelerde M1 ve M2b ağırlıklı karışık bir popülasyon içerdiğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Plasenta, Maternal hipotiroidi, Makrofaj polarizasyonu, Hofbauer hücresi

Tezin sayfa adedi: 122

Danışman: Prof. Dr. Serap CİLAKER MICILI

THE EFFECT OF MATERNAL HYPOTHYROIDISM ON HOFBAUER CELL POLARIZATION

Doctorate Thesis

Gökçen BİLİCİ GÜLER

DOKUZ EYLUL UNIVERSITY HEALTH SCIENCE INSTITUTE
Department of Histology and Embryology

ABSTRACT

Thyroid hormones are very important during pregnancy as they regulate maternal metabolism, placenta, and fetal development, and hypothyroidism is among the most common chronic diseases during pregnancy. Current literature data show that maternal subclinical hypothyroidism increases the risk of gestational hypertension, premature chorioamniotic membrane rupture, placental abruption, miscarriage, and low birth weight in fetuses, premature birth, and fetal distress in mothers. Hofbauer cells play an important yet distinct role in placental physiology by maintaining tissue homeostasis and the tolerogenic environment. The plasticity of Hofbauer cells has been well characterized, with their phenotype expressing both M1 and M2 polarization markers. It is known that Hofbauer cells in a healthy placenta are long spindle cells with large vacuoles showing the M2 phenotype. This study aims to investigate the effect of maternal hypothyroidism on Hofbauer cell polarization. For this purpose, Hofbauer cells in placental tissue were analyzed histologically, immunohistologically, and by ELISA.

In our study, 5 Control and 5 placentas from patients diagnosed with Hypothyroidism during pregnancy were used. Placental samples taken after delivery were stored in paraffin blocks for histological studies and at -80°C for ELISA examinations. Hematoxylin&Eosin and Masson Trichrome staining was performed for histomorphological examinations; CD80, CD86, CD163, CD204, CD206, ColI, CD31, iNOS, MPO, IL-10, IL-17 and VEGF antibodies were used for immunohistological examinations. IL-10, IL-6, IL-1ß, and TGF-ß levels in the tissue were determined by ELISA analysis.

As a result of the study, it was observed that the general tissue morphology was impaired in hypothyroid placentas. It was observed that the M1 and M1-like cells, M2b macrophage marker CD86, increased significantly. It was observed that the cytokines IL-6 and IL-1ß expressed by M1 and M2b macrophages increased, and IL-6 increased significantly. It was observed that iNOS, MPO, and IL-17 related to oxidative stress increased, and the increase in IL-17 was significant.

Our results suggest that Hofbauer cells, which are generally observed as M2a and M2c phenotypes in healthy pregnant women, contain a mixed population with M1 and M2b predominance in hypothyroid pregnant women.

Keywords: Placenta, Maternal hypothyroidism, Macrophage polarization, Hofbauer cell

Page number: 122

Advisor: Prof. Serap CİLAKER MICILI

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Plasenta, anne ile fetüs arasındaki madde alışverişini düzenler ve fetüsün bağışıklık sistemi tarafından anneye karşı toleransını sağlar. Plasentanın temel görevi, anne sağlığını korurken fetüsün büyümesini ve sağlığını devam ettirmek için anne ile fetüs arasındaki biyo-moleküler etkileşimi yönetmektir. Tiroid bezi hormonları [T_3 (tri-iyodotironin), T_4 (tiroksin) ve kalsitonin] homeostaz ve metabolizma için gereklidir. Homeostazın korunabilmesi için tiroid hormonlarının kandaki seviyelerinin belirli bir referans aralığında olması gerekir. Tiroidle ilgili hastalıklar, üreme çağındaki kadınlarda görülen en yaygın ikinci endokrin hastalıktır. İlk trimesterde plasentanın salgıladığı insan koryonik gonadotropin (hCG) seviyelerindeki kısa süreli değişiklikler, maternal tiroid hormonlarının sentezini uyarır ve bu durum, gebeliğin çeşitli dönemlerinde tiroid hormonlarının seviyelerinde farklılıklara neden olur. T3 ve T4 hormonları, gebeliğin sürdürülebilmesi için önemlidir ve maternal hipotiroidizmin erken dönem gebelik kayıplarıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bunun dışında plasental ablasyon, düşük doğum ağırlığı, pre-eklampsi, intrauterin gelişme geriliği (IUGR), fetal guatr, anemi, nöronal gelişim bozuklukları ve kardiyak disfonksiyon gibi komplikasyonlara da neden olabilmektedir. Hipotiroidi, C-reaktif protein (CRP), Tümör nekroz faktör-α (TNF-α), interlökin (IL) -6 gibi artmış inflamatuvar sitokin seviyeleri ile karakterize inflamatuvar bir durumdur. Bu inflamatuvar markerlar endotelyal disfonksiyona, düz kas hücresi proliferasyonuna ve migrasyonuna neden olan ve inflamatuvar hücrelerin aktive edilmesi ile ilişkili hipotiroidi patogenezinde rol oynayabilir. Ayrıca, interferon- ɣ (IFN-ɣ) üretimini indükler ve apoptozise aracılık eder. Bu durum makrofaj polarizasyonuna sebep olabilmektedir. Hofbauer hücreleri (plasental makrofajlar), trofoblastlarla birlikte toksinlerin ve patojenlerin fetüse ulaşmasını engelleyen ikincil bir bariyer olarak davranmaktadırlar. Plasental villus stromasında yerleşik olan Hofbauer hücreleri anti-inflamatuvar özellikte olan M2 makrofaj fenotipi göstermektedir. Plasentada ve desiduada gözlenen zamansız makrofaj polarizasyonunun da erken dönem gebelik kayıpları ile ilişkili olduğu gözlenmiştir.

1.2. Araştırmanın Amacı

Çalışmamızda maternal hipotiroidinin sebep olduğu inflamatuvar durumun, Hofbauer hücreleri üzerindeki etkisini incelemeyi amaçlamaktayız. Erken gebelik kayıpları ve maternal hipotiroidi durumunda gözlenen plasental yapıdaki bozulmanın, uygunsuz makrofaj polarizasyonu ile ilişkili olup olmadığını belirleyerek, gelecekteki tedavi amaçlı çalışmalara yol gösterici bir sonuç elde etmeyi amaçlıyoruz.

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

Normal bir gebelik boyunca gelişen immün süreçlere karşı fenotipik özellikleri belirlenmiş olan Hofbauer hücreleri maternal hipotiroididen etkilenip farklı şekilde polarize olarak plasentanın yapısal ve işlevsel olarak bozulmasına katkıda bulunur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tiroid Bezi

Tiroid bezi trakeanın anteriorunde C5-T1 seviyesinde yer alan, büyük bir endokrin bezdir. Merkezi istmus ile birbirine bağlı iki lobdan oluşur. Yetişkin tiroidi ortalama 20 gr'dır ve superior ve inferior tiroid arterler tarafından zengin bir kan akışı vardır (1).

Tiroid (T_3 ve T_4) ve kalsitonin üretiminden sorumlu organdır. Tiroid hormonları, vücut metabolizmasının düzenlenmesi, nörolojik gelişim ve çeşitli fizyolojik fonksiyonların kontrolünde rol oynarken, kalsitonin ise kalsiyum dengesinin sağlanmasından sorumludur.

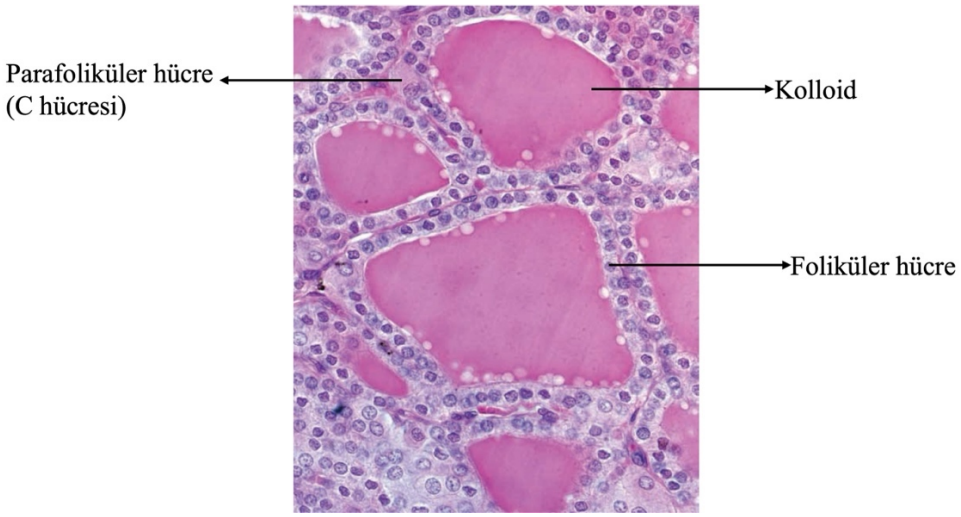
Tiroid Bezi Histolojisi

Tiroid bezi fibröz bir kapsül ile çevrili çok sayıda folikülden oluşur. Fibröz kapsülden bez içerisine giren septalar bezi birçok lobüle ayırır. Her bir lobül içerisinde çapı 30 – 500 μ arasında değişen, 20 – 40 adet folikül içermektedir. Tiroid folikülleri lenfatik ve kan damarları ve sinirleri içeren ince bir stroma ile birbirinden ayrılır.

Büyük foliküllerin merkezi boşluklarına uzanan küçük foliküller olan Sanderson yastıkları, tiroid bezi boyunca dağılmış olarak gözlenebilir ve papiller yapılarla karıştırılmamalıdır. Foliküllerin için kolloid adı verilen jelimsi bir materyal ile doludur. Kolloid yoğun olarak tiroid hormonunun üretilmesinde kullanılan tiroglobulin proteinini içerir (2). Kolloid aktif tiroid bezinde soluk renkte, inaktif bezde ise daha eozinofilik görünür.

Foliküler epitel iki hücre tipi tarafından oluşturulur **(Şekil 1**).

- **Foliküler hücre**: Folikülleri çevreleyen bezin fizyolojik durumuna göre yassıdan alçak silindiriğe kadar yüksekliği değişebilen hücrelerdir. Nukleusları düzenli sıralı, koyu renkli ve merkezi yerleşimlidir.
- **Parafoliküler hücre (C hücresi)**: Nöral krest kökenlidir ve kalsitonin hormonu salgılar. Bireysel ya da küçük gruplar halinde görülebilirler. Tiroid bezinin yaklaşıl %0,1'ini oluştururlar. Yeni doğanda daha fazla bulunurken, yetişkinlerde sayısı azalır. Soluk renkli bir sitoplazmaya ve oval nukleusa sahiptirler. H&E boyama ile zor seçilirler (3).



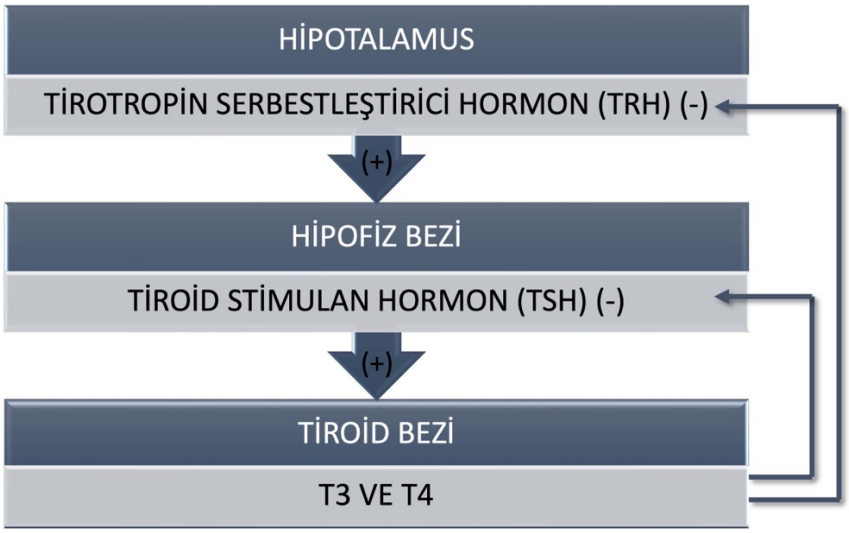
Şekil 1: Tiroid bezi histolojisi.

Tiroid Bezi Fizyolojisi

Tiroid bezi, diğer endokrin sistem bezlerinde olduğu gibi hipotalamus, hipofiz ve hedef organı içeren feedback sistemi ile kontrol edilir. Hipotalamus, hipofiz ve tiroid bezi arasındaki bu ilişki Hipotalamus-Hipofiz-Tiroid Aksı (HPT) olarak isimlendirilir.

Hipotalamus, hipofiz bezine drene olan venöz sisteme salgılanan bir tripeptit olan tirotropin-serbestleştirici hormon (TRH) üretiminden sorumludur. TRH, hipofizdeki tirotrop hücre reseptörlerine bağlanarak tirotropin olarak da bilinen tiroid stimulan hormon (TSH) üretimine ve salgılanmasına sebep olur. TSH'da tiroid bezindeki foliküler hücrelerin TSH reseptörlerine bağlanarak tiroid hormonları olan T_3 ve T_4'ün salgılanmasını uyarır (3, 4).

Tüm endokrin bezlerde olduğu gibi tiroid bezi de hem negatif hem de pozitif feedback gösterir; ancak negatif feedback daha baskındır. Negatif feedbackte tiroid bezi tarafından üretilen hormonlar, hipotalamus ve hipofiz bezine negatif feedback yaparak tiroid hormonlarının daha fazla üretilmesini engeller. Böylece dolaşımdaki hormon seviyeleri nispeten sabit seviyelerde tutulabilmektedir **(Şekil 2)**.



Şekil 2: HPT aksı, pozitif ve negatif feedback.

Tiroid Hormonunun Fonksiyonu

Tiroid hormonları metabolizma, büyüme, gelişme ve farklı organlarda spesifik olarak geniş bir etki mekanizması vardır.

Metabolik açıdan bakıldığında, tiroid hormonları doğası gereği kalorijeniktir ve oksijen tüketimine ve vücut ısısının oluşmasına neden olur. Protein katabolizmasını artırırlar, glukoneogenezi destekler, glikoz kullanımını artırır ve lipit metabolizmasını düzenler.

Organ spesifik etkileri ise, kalp hızını, miyokardiyal kontraktiliteyi, kan hacmini ve kan debisini artırırken, periferik vasküler hacmi azaltarak kalp fonksiyonlarını etkiler. Kemik gelişimini ve büyümesini düzenlemek için büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve diğer faktörlerin üretimini uyarırlar. Ayrıca gastrointestinal sistemde motilitenin artmasını sağlar ve merkezi sinir sistemindeki adrenerjik aktiviteyi ve duyarlılığı artırır. Aynı zamanda hücre farklılaşmasını, büyümesini ve matürasyonunu da düzenledikleri için özellikle erken fetal yaşamda normal büyümeyi ve beyin gelişiminin tamamlanabilmesi için gereklidir (4–6).

Tiroid Hormonlarının Etki Mekanizması

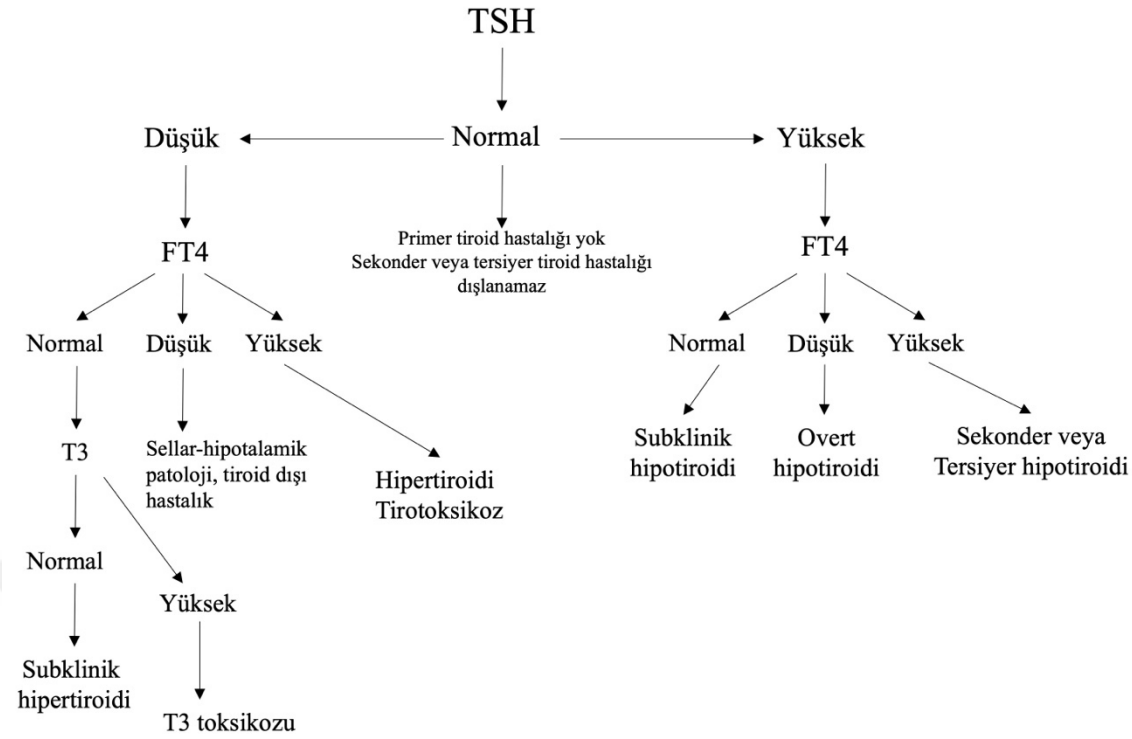
Tiroid bezi tarafından dominant olarak salgılanan hormon T_4'tür. Daha sonra T_4 periferik dokularda deiyodinasyon ile aktif form olan T_3'e dönüştürülür. Lokal tiroid hormon konsantrasyonları farklı deiyodinazlar (DIO) tarafından düzenlenmektedir. DIO1 ve DIO2, T_4'ün T_3'e katalizini sağlar ve DIO2 daha verimli olan formdur. DIO3 ise tiroid hormonlarının etkisizleştirilmesinde, T_4 ve T_3'ü sırasıyla reverse-T_3 (r-T_3) ve

3,3'-T_2'ye dönüştürmektedir. Tiroid hormonlarının etkisi monokarboksilat transporter (MCT) 8, MCT10 ve organik anyon transport polipeptid 1C1 gibi transport proteinler tarafından hücre içinde gerçekleştirilir. Bazı durumlarda tiroid hormonları plazma membranındaki integrin αvβ3 gibi proteinlere bağlanarak etki gösterirken, çoğu etkisini genellikle intraselüler olarak tiroid nükleer reseptörlerine (THR) bağlanarak gerçekleştirirler. T3 THR'lere bağlanmada daha yüksek affinite gösterirken, T4 integrin αvβ3'e bağlanmada daha etkilidir. THR'leri, gen promotorleri (kanonik sinyalleme) üzerindeki tiroid hormon yanıt elementlerine (TRE) doğrudan etki ederek ligand bağımlı transkripsiyon faktörleri olarak görev görürler. THR'ler ayrıca fosfoinositid-3-fosfat kinaz (PI3K), protein kinaz B (AKT) ve mitojen-aktive protein kinazlar (MAPK) gibi molekülleri aktive ederek kanoniki olmayan sinyalleme yoluyla da etki gösterebilir. THR'ler kromozom 17 ve 3'te bulunan iki farklı gen (α ve β) tarafından kodlanır. THRα1, THRβ1 ve THRβ2 ana hormon bağlayıcı izoformlardır (7).

Hipotiroidi

Tiroid hormonlarının az miktarda salgılanması sonucu perifer dokularda meydana gelen tiroid hormonu yetersizliğine hipotiroidi denilmektedir. Hipotiroidi, tiroid hormon eksikliği ve nadiren etkisizliği sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu hastalarda uyku eğilimi, kilo alımı, soğuğa karşı intolerans ve egzersiz kapasitesinde azalma karakteristiktir. Hipotiroidinin en temel nedenlerinden birisi iyot eksikliğidir (8).

Hipotiroidi kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmektedir ve ikinci en yaygın endokrin bozukluktur (9). TSH ve serum tiroid hormonları arasında çok hassas bir ilişki bulunur; bu sebeple, serum tiroid hormonlarındaki küçük bir değişiklik, TSH seviyelerinde belirgin dalgalanmalara neden olabilir. Bu nedenle TSH ölçümü tiroid hastalıklarının tanısında büyük öneme sahiptir (10) (**Şekil 3**).

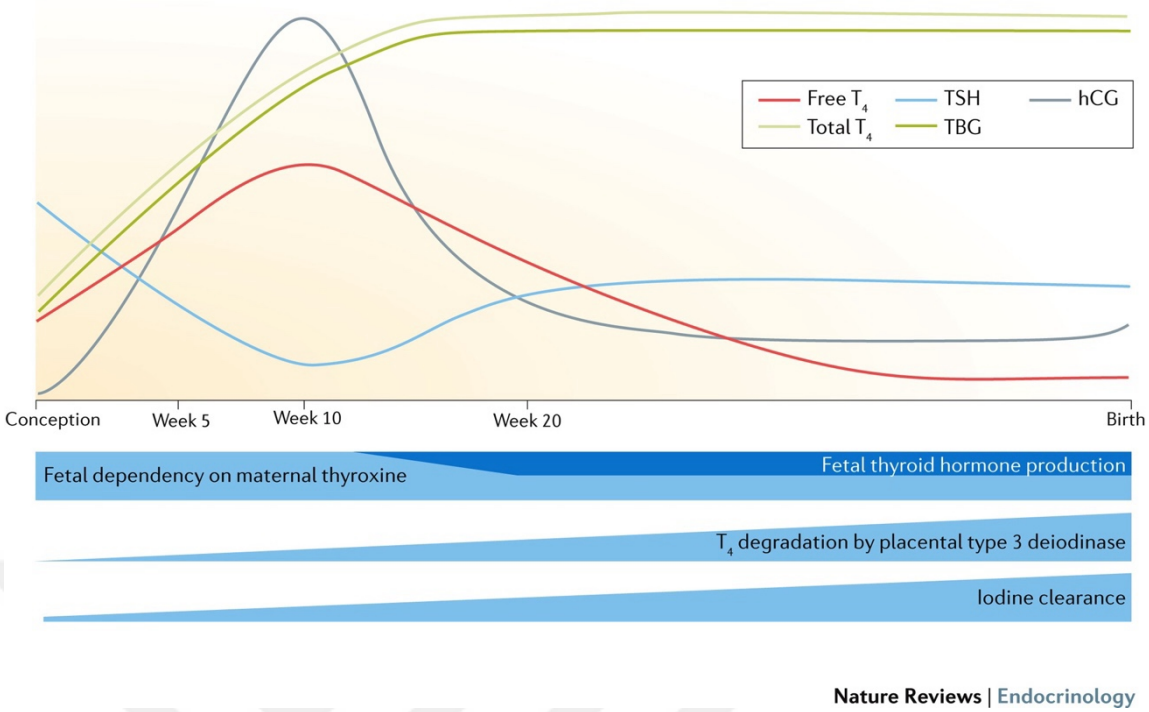


Şekil 3: TSH hormon seviyelerine göre tiroid tanı kriterleri(10).

Gebelikte Tiroid Hormonları

Tiroid hormonu sağlıklı bir gebelik ve fetüs gelişimi için gereklidir. Gebeliğin ilk yarısında plasental ve fetal gelişim maternal tiroid hormonu desteğine bağlıdır (11).

Gebeliğin tiroid fonksiyonları üzerinde belirgin etkileri vardır. Fetal tiroid bezi gebeliğin 18 – 20. Haftalarına kadar işlevsel olgunluğa ulaşamaz, bu da fetüsün maternal T_4'ün plasental transportuna bağımlı olmasını sağlar. Fetüste maternal tiroid hormonu tüketiminin yanı sıra tiroksin bağlayıcı globülin (TBG) konsantrasyonunun artması, idrar iyodür klirensinin artması ve plasental tip 3 deiyodinaz tarafından tiroid hormonunun parçalanmasındaki artış anne ve fetüs için yeterli tiroid ihtiyacını karşılayabilmek için maternal tiroid hormon üretimini uyarmaktadır. Ayrıca TSH reseptörünün zayıf bir antagonisti olan hCG'nin yüksek konsantrasyonları da tiroid hormon üretimini artırmaktadır (**Şekil 4**).



Şekil 4: Gebelik sırasında tiroid fizyolojisindeki değişiklikler (11).

Gebelikte Hipotiroidi

Overt maternal hipotiroidi (yüksek TSH konsantrasyonu ve düşük fT_4 konsantrasyonu), gebe kadınların %0,2 – 0,6'sında görülmektedir (12–14). Subklinik maternal hipotiroidi ise (artmış TSH konsantrasyonu ve normal fT_4 konsantrasyonu) daha yaygındır ve %3,5 – 18 arasında görülmektedir (11, 15–17).

Genel olarak hipotiroidinin en temel sebebi iyot yetersizliğidir. Yeterli iyot alımına sahip bölgelerde, hipertiroidizm tedavisi sırasında iyatrojenik olarak gelişen hipotiroidizm ve otoimmün tiroidit en sık görülen nedenlerdir. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), tüm gebelerde tiroid hastalığı taramasının gerekli olmadığını belirtmektedir. Bunun başlıca nedeni, gebelerdeki subklinik hipotiroidinin tanı ve tedavisinin çocuklarda nörokognitif sonuçları iyileştirdiğine dair bir kanıtın bulunmamasıdır. American Thyroid Association (ATA) ve Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği TSH referans aralıklarını gebelik dönemlerine göre aşağıdaki tabloya göre belirlemiştir (**Şekil 5**) (18).

Gebelikte Tirodi Fonksiyonlarının Değerlendirilmesinde Birinci, İkinci ve Üçüncü Üçay'larda TSH Referans Aralıkları	
1. Üçay	0,1-2,5 mIU/ml
2. Üçay	0,2-3,0 mIU/ml
3. Üçay	0,3-3,0 mIU/ml

Şekil 5: Gebelik dönemlerine göre TSH referans aralıkları (18).

TSH seviyeleri yüksek bulunan gebelerde, hipotiroidizmin türünü belirlemek için serbest T4 (fT4) düzeylerine bakılmalıdır. Gebelikte TSH düzeyi artmış (TSH > 2,5 mlU/ml) ve fT_4 düzeyi azalmış ise **overt hipotiroidi** tanısı konur. TSH düzeyi >10 mlU/ml ise T_4 değerlerine bakılmaksızın overt hipotiroidi tanısı konur. **Subklinik hipotiroidi** de ise TSH düzeyleri 2,5 – 10 mlU/ml arasındadır ve fT_4 düzeyleri normaldir (18).

Overt maternal hipotiroidi, prematüre doğum, düşük doğum ağırlığı, düşük ve pre-eklampsi dahil olmak üzere yüksek riskli gebelik komplikasyonları ve ayrıca fetal nörogelişim üzerinde oldukça zararlı etkileri görülmektedir. Subklinik hipotirodide de overt hipotiroidiye benzer şekilde düşük riski, plasental rüptür, prematüre doğum, pre-eklampsi ve neonatal ölümler görülmektedir (11, 19, 20).

2.2. Plasenta

Plasenta ilk gelişen ve en büyük fetal organdır. Hem annenin hem de fetüsün sağlığında merkezi rol oynar (21).

Full term bir plasenta sağlıklı bir insanda disk şekilli, yassı ve yuvarlak veya oval şekillidir. Yaklaşık 22 cm çapta, ~2,5 cm kalınlığında ve ~470 gr ağırlığındadır. Amniyon kavitesine bakan fetal yüz, amniyonun intakt epitel yüzeyi nedeniyle parlak görünüme sahiptir. Bu avasküler membran, koryonik damarları da içeren koryonik plakayı kaplar. Plasentanın maternal yüzeyi, organın uterustan ayrılmasına yol açan bağlantı bölgesindeki laminer dejeneratif süreçlerden kaynaklanan yapay bir yüzey olduğundan opaktır. Bu ayrılma işlemi, plasenta ve uterus duvarı arasındaki bağlantı bölgesini plasentaya bağlanan ve organın anneye ait uterus yüzeyini temsil eden bazal plaka ve uterus içinde kalan plasental yatak olarak iki alt bölüme ayırır. Tamamlanmamış bir oluk sistemi plasentanın bazal yüzeyini kotiledon adı verilen 10

– 40 adet arasındaki hafifçe yüksek alanlara böler. Bu oluklar intervillöz boşluğa doğru uzanan bazal plakanın kıvrımları olan plasental septalara karşılık gelir (22).

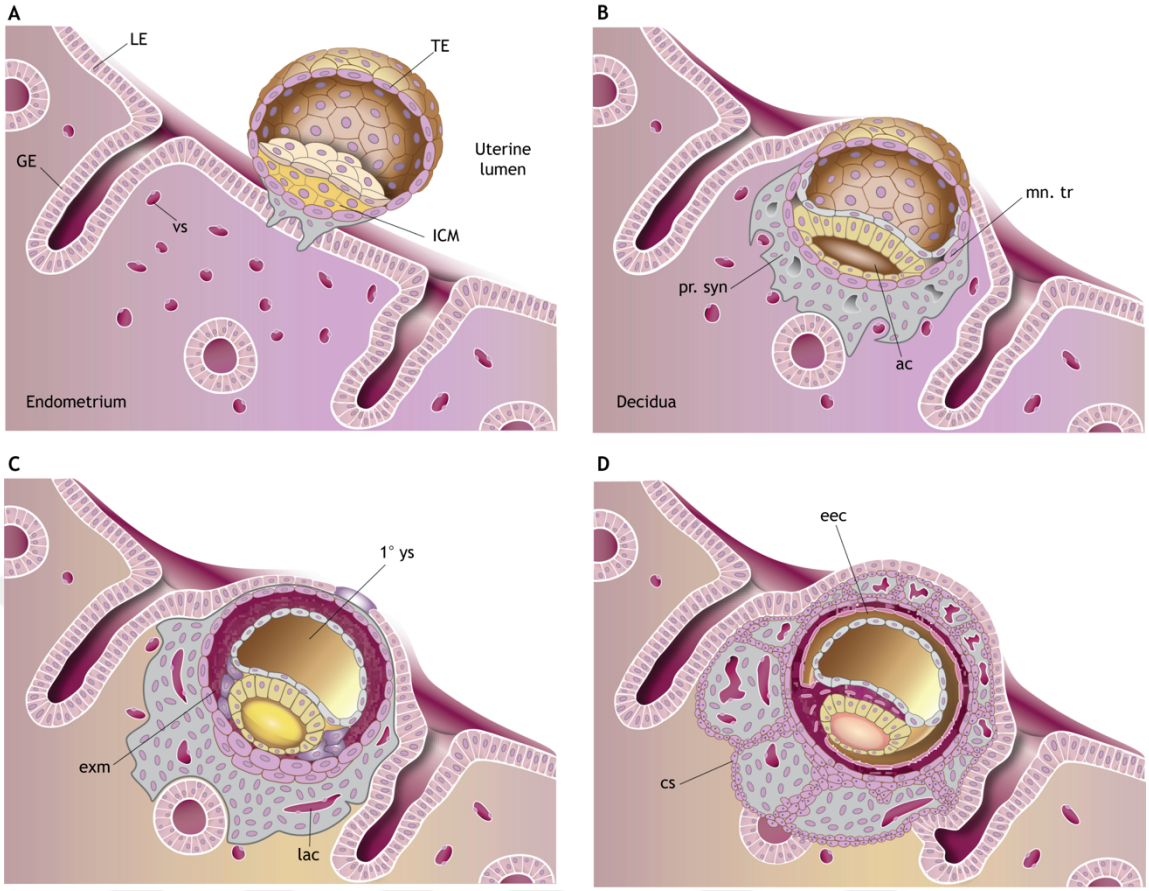
Plasenta Gelişimi

İnsan plasentası, fertilizasyondan yaklaşık ~5 gün sonra oluşan, embriyonun dış tabakası olan trofoektodermden (TE) gelişir. Bu aşamada implantasyon öncesi embriyo (blastosist) iç hücre kütlesi (ICM) ve TE'den oluşmaktadır. Endometriyuma tutunacak olan yüz polar TE olarak adlandırılır ve ICM ile temas halindedir (**Şekil 6A**).

İmplantasyonu takiben primer sinsityum hızlıca yüzey epitelinden altındaki endometriyuma invaze olur ve bu endometriyum gebelik süresince desidua olarak adlandırılan dokuya dönüşür (**Şekil 6B**). 14. günde blastosist tamamen desiduaya gömülür ve luminal epitel ile kapatılır **(Şekil 6C**). Daha sonra sinsityal hücre topluluğu arasında içi sıvı dolu lakünalar oluşur, birşelerek genişler ve bir trabekül sistemi oluştururlar. Bu evre **laküner** evredir.

Sinsityumun altındaki trofoblast hücreleri olan sitotrofoblastlar, başlangıçta maternal doku ile temas halinde değildir. Ancak hızla çoğalarak sinsityumu invaze ederler ve primer villusları oluşturular. Bu evre **villöz** evredir. Villöz ağaçlar daha fazla prolifere olur ve dallanırlar ve böylece lakünalar intervillöz boşluklara dönüşür. Sitortrofoblast hücreleri de sinsityumu geçer ve lateral yönde birbirleri ile birleşerek villus ve desidua arasında sürekli bir sitotrofoblast kabuğu oluşturacak şekilde embriyoyu çevreler (**Şekil 6D**).

Kısa bir süre içinde 17 – 18. günlerde ekstraembriyonik mezenkimal hücreler sekonder villusları oluşturmak üzere villöz çekirdeğe doğru penetre olurlar. 18. günde villöz çekirdek içinde fetal kan damarları oluşmaya başlar ve böylece tersiyer villuslar gelişir. Bu villöz uzantılar bir villöz ağaç oluşturmak üzere koryon tabakasında giderek dallanarak hızla büyümeye devam eder. Sitotrofoblast kabuğun desidua ile temas ettiği yerde bireysel sitotrofoblast hücreleri ekstravillöz trofoblastlara (EVT) dönüşürler ve desiduayı invaze etmek üzere kabuğu terk ederler. Böylece ilk trimester sonunda plasentanın temel planı oluşmuş olur (21, 23–25).



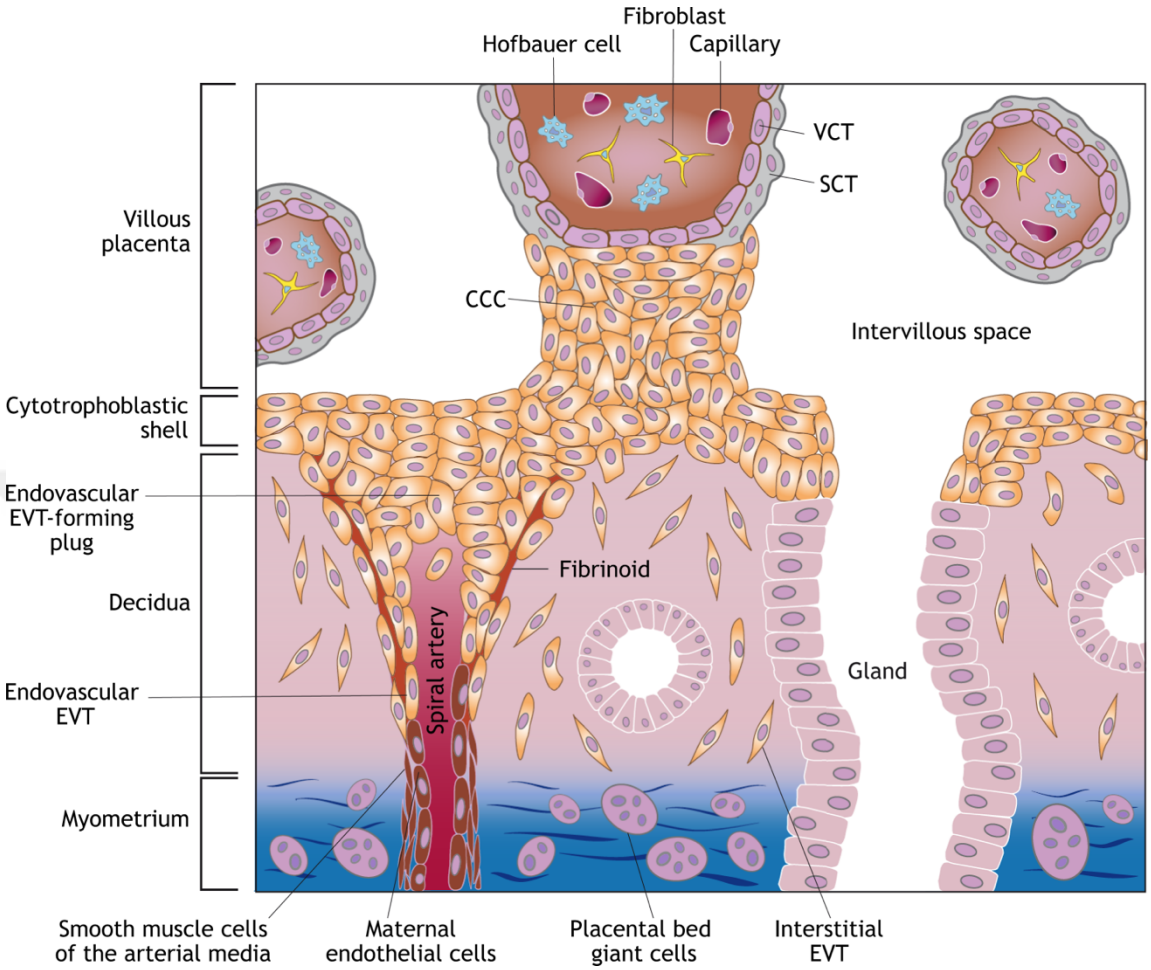
Şekil 6: Plasenta gelişiminin erken evreleri (21). (A, B) prelaküner evre, (C) laküner evre, (D) primer villöz evre. 1° ys, primer yolk kesesi; ac, amniyotik kavite; cs, sitotrofoblastik kabuk; eec, ekstra embriyonik sölom; exm, ekstra embriyonik mezoderm; GE, glandular epitel; ICM, iç hücre kütlesi; lac, kalüna; LE, luminal epitel; mn. tr, mononükleer trofoblast; pr. syn, primer sinsityum; TE, trofoektoderm; vs, kan damarı.

Plasental Hücre Tipleri

Trofoblastlar

Plasentanın temel fonksiyonları trofoblast hücreleri tarafından gerçekleştirilir. "Trofoblast" terimi ilk olarak 1889 yılında Hollandalı embriyolog Ambrosius Arnold Willem Hubrecht tarafından besinleri taşıyan ve anne ile fetüs arasında koruyucu bir bariyer oluşturan hücreleri tanımlamak için kullanılmıştır (26). Trofoblast Yunanca besleme anlamına gelen threphein'den gelmektedir (27). Ayrıca trofoblastların doğası gereği invaziv ve korozif olduğu ve gelişimini desteklemek için desiduaya bağımlı olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda trofoblast alt tipleri tanımlanmıştır.

Bunlar sinsityotrofoblast (SCT), villöz sitotrofoblast (VCT) ve EVT'nin alt tiplerini içerir **(Şekil 7)** (21).



Şekil 7: Maternal – fetal arayüz ve trofoblast alt tipleri (21). Erken ilk trimester plasentasının villusunda bulunan hücreler ve desidua ilişkili majör trofoblast alt tiplerini temsil edilmektedir. Sinsityotrofoblast (SCT, gri), villöz sitotrofoblast (VCT, pembe), sitotrofoblast hücre kolonu (CCC) ekstravillöz trofoblast (EVT) popülasyonları (endovasküler ve interstisyel EVT, turuncu).

Sinsityotrofoblastlar

SCT'ler plasenta villusunun maternal glandular salgılarıyla ve daha sonra maternal kanın intervillöz boşluklarına akması ile doğrudan temas halinde olan hücrelerdir. SCT'ler devamlı, özelleşmiş epitelyal hücrelerdir. SCT'ler feto-plasental birimin büyümesi için gerekli olan gazların ve besinlerin maternal/fetal değişiminin ana bölgesidir. SCT'ler yüzey alanını 5 – 7 kat artıran mikrovilluslarla yoğun bir şekilde kaplanmış polarize bir epitel tabakasıdır (28). Maternal – fetal iletişim

açısından, fetüs ve anne arasındaki karmaşık biyomoleküler etkileşimleri düzenleyen esas hücreler SCT'lerdir. Yapılan proteomik çalışmalar SCT membranlarının fetal gelişimi düzenleyen çok sayıda büyüme faktörü ve hormon açısından da zengin olduğunu göstermektedir (29). Hücrelerin hem apikal hem de bazal yüzleri, aminoasitler ve glikozun yanı sıra ksenobiyotiklerin dışarı akışını sağlayan taşıyıcı proteinlerle doludur. SCT aynı zamanda gebeliğe yönelik fizyolojik ve metabolik adaptasyonları yönlendirmede maternal dolaşıma hormon ve proteinleri salgılayan önemli bir endokrin organdır. SCT'ler koruyucu bir immünolojik bariyer görevi de görürler, çünkü hiçbir zaman insan lökosit antijeni (HLA) molekülü eksprese etmezler; böylece allojenik fetüsün maternal immün hücreler tarafından antijenik kabul edilmesini engeller (30). SCT'ler ayrıca maternal IgG antikorlarının fetal dolaşıma taşınmasına izin veren neonatal Fc reseptörünü (FcRn) de eksprese eder. SCT'de FcRn'ye bağlanan antikorlar yeni doğanı doğumdan önce korumak için fetal natural killer (NK) hücreleri aktive etmede rol oynayan digalaktosile edilmiş IgG1 moleküllerdir (31, 32).

Villöz Sitotrofoblastlar

Mononükleer VCT, bir bazal membran üzerinde SCT'nin altında yer alır. Mitotik olmaları, proliferatif markerları eksprese etmeleri sebebiyle trofoblastın "germinatif" tabakası olarak kabul edilmiştir (33). Gebeliğin erken döneminde, sürekli bir tabaka oluşturduklarında, VCT'ler büyük bir nukleus: sitoplazma oranına sahip kübik hücrelerdir. Villöz ağaçlar genişledikçe, VCT katmanı süreksiz hale gelir ve villöz yüzeyin yalnızca %25'ini kaplar; yalnızca ince bir sinsityal katman villöz çekirdeğin çoğunu maternal kandan ayırır (22).

Plasenta büyüdükçe, sitotrofoblastik kabuk süreksiz hale gelir ve sitotrofoblast hücre kolonları, desidua ile temas halindeki kök villusun distal uçlarından çıkar. Sütun hücreleri, yuvarlak, birbirine yapışık ve glikojen açısından zengindir. EVT'ler kabuktan ve daha sonra kök villustan iki farklılaşma yolu boyunca desiduaya göç eder. İnterstisyel EVT (iEVT), desidual stroma boyunca maternal spiral arterlere doğru göç ederken, endovasküler EVT (eEVT) spiral arterlerin içine doğru göç ederler (34). Desiduada iEVT'ler pleomorfik ve fusiform morfolojiye, tetraploid nukleusa sahip ve non-sikliktir ve senesenste değişiklikler gösterirler (35) iEVT'ler spiral arterleri çevreleyen bir manşet oluşturacak şekilde etrafını sararlar. Bu durum, arteriyal kas

tabakasının düz kas hücrelerinde eozinofilik materyalin yerini aldığı aktin kaybı ile ilişkilidir ve "fibrinoid" değişiklik olarak bilinen görünüme sebep olur. Arterdeki bu trofoblast – aracılı dönüşüm, vazoaktivite kaybına ve düşük basınçta yüksek geçirgenlik kapasitesine sahip bir damara dönüşmesine yol açar; bu normal bir gebelik için gerekli bir adaptasyondur (36, 37). iEVT, miyometriyumun 1/3'lik kısmına kadar invaze olur ve burada plasental yatak dev hücrelerini oluşturmak üzere birleştikleri düşünülmektedir.

Villöz Çekirdeğin Stromal Hücreleri

Trofoblast hücrelerinin yanı sıra plasental villöz stroma içinde fibroblastlar, immün hücreler ve vasküler hücreler de bulunmaktadır. Bu hücreler 21. günde ekstra embriyonik mezenkimden köken alırlar (38). Birinci trimester villusunun tek hücreli RNA dizilimi (scRNA-seq) çalışmalarında, DLK1 gen etkisinin varlığı ya da yokluğu durumunda en az iki fibroblast popülasyonu tanımlanmış (39, 40). $DLK1^{+}$ hücreler perisitlere benzer özellik gösterirler ve vasküler gelişimde rol oynayabilirler (41, 42).

Perisitler

Perisitler, kapiller endotel ve venülleri çevreleyen dendritik uzantılara sahip perivasküler hücrelerdir. Mikrovasküler kontraktilite, madde geçirgenliği ve düz kas hücre fonksiyonu dahil olmak üzere damar fonksiyonlarını etkilediği bilinmektedir. Plasentada perisitlerin fonksiyonu hala tam anlaşılamamıştır. Perisitler endotel hücreleri ile birlikte ko-kültüre edildiklerinde perisitlerin hızla baskın hücre haline geldiği, bu da perisitlerin endotel hücrelerinden daha yüksek proliferatif potansiyele sahip olduğunu göstermişler. Yine birlikte kültüre edildiklerinde uzun süreli kültürde vasküler nodüllerin oluştuğu görülmüş (43). Her ne kadar perisit – endotel hücreleri ve perisit – trofoblast arasındaki sinyal etkileşimi bilinmese de perisitlerin terminal villuslarda mikrodamar stabilitesi ve bütünlüğünün korunmasında kritik rol oynadığı düşünülmektedir (44).

Plasental Endotelyal Hücreler

Plasental endotelyal hücreler, gebelikte ilk ve ikinci trimesterde hızlı plasenta gelişimi için baskın anjiyogenik aktivite gösterirken, terme yaklaştıkça büyümenin yavaşlaması ve durmasıyla ilişkili olarak anjiyostatik aktivite gösterirler. Bu hücrelerin doğal anjiyogenik düzenlenmesi, perivasküler hücrelerle karmaşık etkileşimleri gebeliğin özel ihtiyaçlarına paralel uyum sağlanmasını gerektirir. İnsan

plasentasından izole edilen fetal arter (HPAEC) ve vene (HPVEC) ait endotel hücrelerinin birbirinden farklı fenotip, genotip ve fonksiyon gösterdiği gösterilmiş. HPAEC'ler gevşek dizilim gösteren, klasik "arnavut kaldırımı" morfolojisine sahip, tek katmanlı, pürüzsüz bir yüzeye sahip poligonal şekilli hücrelerdir. HPAEC'ler hey-2 (hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif, 2), konneksin-40 ve depp (decidual protein induced by progesterone) gibi arterlerle ve endotelyal hücrelerle ilişkili genleri ve HPVEC'lerden daha fazla eksprese ederler. HPVEC'ler ise yüzeylerinde çok sayıda mikrovillus bulunan iğ şekilli hücrelerdir. Bu hücreler fibroblastlara dönüşüm gösterebilirler. HPAEC'lerle karşılaştırıldığında HPVEC'ler gremlin, mezenkimal HOMEBOX 2 ve kök hücre proteini DSC54 gibi gelişim-ilişkili genleri daha çok eksprese ederler. Ayrıca adiposit ve osteoblastlara farklanma potansiyelleri de bulunur (45).

Villöz Makrofajlar (Hofbauer Hücreleri)

Hofbauer hücreleri, gebelik süresince villöz stromada yer alan plasental makrofajlardır (46). Bu hücreler Makrofaj başlığı altında daha detaylı anlatılmıştır.

Plasental Villus Tipleri

Plasentaya maternal ve embriyonik kan akışı birinci trimesterde kısıtlanır ve bu da oksijen gradientine sebep olur. Bu nedenle embriyogenez, maternal dokulara göre hipoksik bir ortamda gerçekleşmektedir. Birinci trimesterde EVT'lar daha invaziv bir fenotip üstlenirler ve dış sinsityumdan desiduaya doğru ilerlerler ve burada maternal spiral arterleri çevreleyip istila eder (47, 48). Lakuna olarak bilinen sinsityal katman içinde boşluklar oluşur ve bunlar sonunda birleşerek intervillöz boşluğu oluşturur. Araya giren trofoblast sütunları da trabekül olarak adlandırılır. Trofoblast kabuğu yavaş yavaş kırılmaya başladıkça maternal kan plasental lakunalara girmeye başlar (49). Blastosistin invaziv yapısı sonucu maternal fetal kanı ayıran katmanların sayısı içe düşer: villöz trofoblast, stroma ve fetoplasental vasküler endotel. Böylece maternal kanın villöz sinsityotrofoblast ile doğrudan teması sonucu hemokoryal plasenta yapısı oluşur.

Villus oluşumu 13. gün civarında başlar. Trofoblastik trabeküllerin parmaksı çıkıntıları villöz ağaçların gelişimini başlatmak için villöz boşlukta prolifere olmaya başlar. Bu uzantılar sadece sadece trofoblastlardan oluştuğunda **primer villus** adını alır. Yaklaşık 21. günde primer villusların merkezi allantoik mezenkim tarafından

istila edilir ve böylece **sekonder villuslar** oluşur. Birkaç gün içinde bu mezenkimal doku içerisinde vaskülogenez ile fetoplasental kan damarlarının oluşumu başlar. Kan damarlarının oluşmasıyla birlikte villuslar artık **tersiyer villus** adını alır (38).

Plasental villuslar, esas olarak çapları, stromal ve damar yapılanması, villöz ağaç içindeki konumu ve fonksiyonuna göre sınıflandırılır. Yapılan son çalışmalarda 5 tip alt sınıf belirlenmiştir (**Şekil 8**) (50).

Kök Villuslar

Kök villuslar, villöz ağacın ana yapısal desteğini sağlar ve dağıtıcı bir ağ oluştururlar. Normal matür bir plasentada, kök villuslar toplam villöz hacmin %20–25'ini oluşturur. Çapları 3000 – 80 μm arasında değişiklik gösterir. Kök villusun trofoblastik örtüsü eşit kalınlıktadır ve vaskülosinsityal membranlar yoktur. Matür bir plasentada trofoblast genellikle dejeneredir ve özellikle koryonik plağa yakın büyük çaplı olanlarda büyük oranda perivillöz fibrinoid yapısı gözlenir. Stroma içinde yer yer fibroblastlar, miyofibroblastlar ve nadiren makrofajların yer aldığı, sıkı kollajen lif demetleri ile karakterize yapıdadır.

Kök villuslar villöz ağaçların mekanik olarak desteklenmesinde rol oynarlar. Fetal kapillerizasyonun az olması ve trofoblast örtüsündeki dejeneratif değişiklikler göz önüne alındığında bu yapıların maternal – fetal iletişime katılımı ihmal edilebilecek düzeyde azdır. Buna karşılık, kaslın kas tabakası büyük fetal damarların ve ekstravasküler miyofibroblastların varlığı, bu yapıların fetal – plasental dolaşımın düzenlenmesine katkıda bulunduğunu gösterir. Ayrıca miyofibroblastların perivasküler kılıf oluşturacak şekilde villus gövdesinin longitudinal düzleminde yerleşik olması, maternal dolaşımı düzenleyişi bir kontraktil sistem oluşturmaktadır.

İmmatür Ara Villus

Mezenkimal villusların ilk iki trimester boyunca gelişmesi ile oluşurlar ve daha sonra kök villuslara dönüşürler. Histolojik olarak kök villuslara benzer şekilde tekdüze ve kalın bir trofoblastik tabakaya sahiptir. Erken dönemlerde sitotrofoblastlar sitsityum altında yüzeyin %50'den fazlasını kaplarken sonlara doğru bu oran %20'lere düşer. İmmatür ara villusun en karakteristik özelliği sabit stromal hücrelerin büyük, kanat benzeri uzantıları ile sınırlanan çok sayıda kanaldan oluşan retiküler stromasıdır. Villöz makrofajlar (Hofbauer hücreleri) bu kanallar içinde yer alırlar ve böylece

serbest sekilde hareket edebilirler. Gebeliğin erken dönemlerinde bu kanalların sayıca fazla olması oksijen ve besinlerin villöz ağaç boyunca difüzyonunu kolaylaştırır.

İlk immatür ara villus gebeliğin yaklaşık 8. Haftasında oluşmaya başlar. 14 – 20. haftalarda villöz kesitlerin çoğunluğunu oluşturur. Termde tamamen kaybolmuş olabilecekleri gibi çoğu durumda büyüme merkezleri olarak görev yaptıkları ve yeni filizler oluşturdukları için kotiledonların merkezinde birkaç tane bulunabilir.

İmmatür ara villusun kök villusa dönüşümü ilk trimesterde gerçekleşir ve çok aşamalı bir süreçtir. Stromal fibrozis, damarlar media ve adventisya elde ettiğinde başlar. Bu süreçte bağ dokusu lif demetlerinin çapı artar ve komşu stromal kanalları sıkıştırır. Sonunda kanallar kaybolur.

Matür Ara Villus

Matür ara villuslar, terminal villusların dallandığı, çapı ~60 – 150 mm olan uzun, ince villuslardır. Termde villöz hacmin ~ %25'ini oluştururlar.Trofoblast örtüsü kök ve immatür ara villusa göre çok daha incedir. Kapiller damarları çevrelediği yerde 1 µm'nin altına düşer ve vaskülosinsityal membran oluşumuna katkıda bulunur. Sitotrofoblastlar nadirdir ancak var ise genelde kapillerlerin yakınında bulunurlar.

Stroması belirli bir oryantasyona sahip olmayan gevşek bağ dokusu lifleri ve sbit bağ dokusu hücrelerinden oluşur. Küçük terminal arteriyolleri, toplayıcı venülleri ve çok sayıda kapiller damarları içerir.

Matür ara villuslar, terminal villusları doğururlar. Fetal vaskülarizasyonun yüksek olması ve geniş yüzey alanı bu villusları maternal – fetal değişim için önemli kılar.

Terminal Villus

Terminal villuslar, üçüncü trimesterde villöz ağacın son dallarıdır ve maternal – fetal değişimin ana fonksiyonel birimidir. Matür ara villuslardan çıkan 30 – 80 µm çapında üzüm benzeri yapılardır ve dar bir boyun bölgesi ile birbirine bağlanan tek veya zayıf dallanmış yan dallar olarak görünürler. Çok az bir kısmı doğrudan kök ya da immatür ara villustan çıkarlar.

Histolojik olarak, terminal villusun trofoblastik örtüsü oldukça düzensizdir, vaskülosinsityal membran en belirgin yapıdadır. Stromasında bağ dokusunda az sayıda lif bulunur ve makrofajlar nadirdir. Histolojik görünümleri kesit alınan yere göre değişiklik gösterebilir. İnce boyun bölgesi çoğunlukla dilate olmamış kapillerleri

içermesi ile çoğunlukla sinüzoidleri içeren bulböz uç kısımdan kolaylıkla ayırt edilebilir.

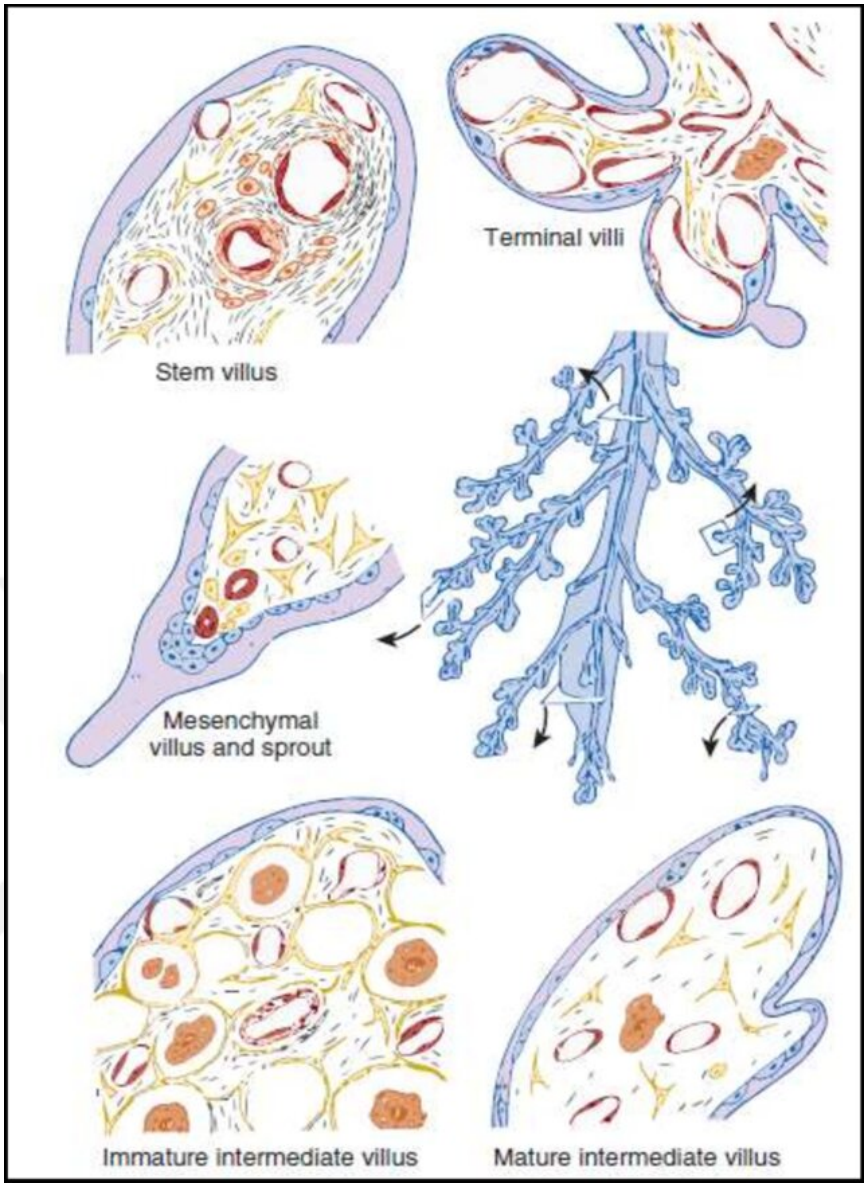
Yüksek vaskülarizasyonu ve ~3.7 μm'lik materno – fetal difüzyon mesafesi ile terminal villuslar en önemli villus tipidir. Termdeki bir plasentada terminal villuslar toplam villus hacminin %40'ını, toplam villus yüzeyinin %50'sini oluşturmaktadır.

Mezenkimal Villus

Mezenkimal villus, fetal mezenşime benzeyen ilkel bir stromal çekirdek ile karakterize ilk nesil tersiyer villus tipidir. Bu villuslar sadece ilk trimesterde değil, sonraki dönemler için de yeni oluşan villusların ilk jenerasyonunu oluşturur. Bu villuslar, kan damarlarının vaskülogenez ile farklandığı ve yavaş yavaş yeni ara villuslara dönüştüğü mezenşimden oluşur.

Kalın bir trofoblastik tabakaya sahiptirler. Stroma, mezenkimal ve bazı villöz makrofajları çevreleyen gevşek düzenlenmiş kollajen lifleri ile karakterizedir. Villus immatür ara villusa dönüştükçe stromal hücreler de fibroblast ve miyofibroblastlara dönüşürler. Fetal kapillerler az gelişmiştir ve hiçbir zaman sinüzoidal genişleme göstermezler.

Gebeliğin ilk haftalarında mezenkimal villuslar, sadece villöz proliferasyonda değil aynı zamanda endokrin aktivitede de rol oynarlar. İlerleyen dönemde görevleri sadece villöz genişlemeye indirgenir. Termde toplam villus hacmine %1 kadar katkıda bulunurlar (22).



Şekil 8: Plasental koryonik villus çeşitleri(51). Ana plasental villus türlerinin (terminal villus, kök villus, mezenkimal villus, immatür ara villus ve matür ara villus) kesitlerinin ve bunların villus ağacındaki konumlarının şematik gösterimi. Sinsitiyotrofoblast (lila), sitotrofoblast (mavi), endotel hücreleri (kırmızı), kontraktil olmayan stromal hücreler ve mezenkimal hücreler (sarı), stromal kanallardaki Hofbauer hücreleri (kahverengi) renklidir.

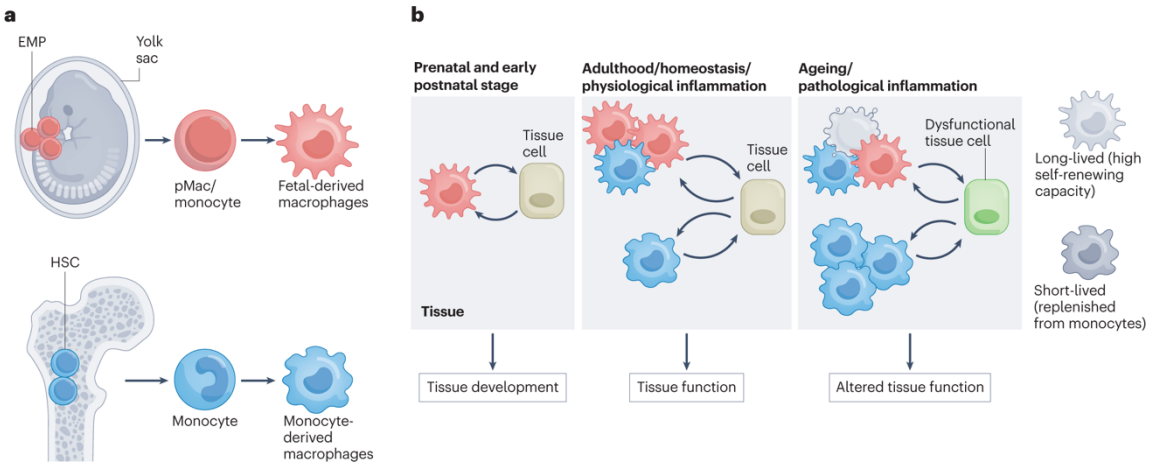
2.3. Makrofajlar

Kemik iliği kökenli progenitör hücrelerinden ve periferik kanda bulunan monositlerden türeyen makrofajlar, doku hasarı veya enfeksiyon sonrasında konakçı dokuların homeostazisinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynayan, doğuştan gelen

bağışıklık sisteminin çok işlevli hücreleridir. Pek çok açıdan, ekstraselüler patojenlerin temizlenmesinde uzmanlaşmış periferik kanın en belirgin fagositik lökositi olan polimorfonukleer nötrofillere benzerler; ancak yalnız makrofajlar inflamatuvar yanıtı modüle etme ve daha çeşitli patojen komplemanlarına yanıt verme konusunda daha büyük bir kapasiteye sahiptir. Buna göre makrofajlar, bir dizi inflamatuvar ve immünsupresif sitokinlerin üretimi ve hücresel debris ve patojenik materyalin alımı için gerekli olan geniş bir yelpazedeki kalıp tanıma reseptörü [pattern-recognition receptor (PPR)] ile donatılmıştır. Bu görevleri yerine getirebilmek için makrofajlar, mikro çevreye bağımlı olarak fenotiplerini hızla değiştirebilen oldukça esnek hücrelerdir (52, 53).

Doku Makrofajlarının Sınıflandırılması ve Orijinleri

Onlarca yıldır makrofajların, kemik iliği hematopoietik kök hücrelerinden (HSC'ler) kaynaklanan nispeten homojen bir mononükleer fagosit popülasyonu olduğu ve temel işlevlerinin enfeksiyonlar sırasında organları korumak olduğu düşünülüyordu. Ancak yapılan çalışmalarla doku makrofajlarının çoğunun dolaşımdaki monositlerden değil embriyonik gelişim sırasında oluştuğu bilinmektedir (54). Makrofajlar embriyogenez sırasında erken dönemde oluşurlar ve gelişmekte olan organları kolonize ederek 3 boyutlu bir ağ oluştururlar. Dokuda yerleşik makrofajlar yüksek düzeyde kendini yenileme kapasitesine sahip olup çoğu zaman HCS'lerden hücre göçüne ihtiyaç duymazlar. Makrofajlar embriyonik erken dönemde yolk kesesi eritro-myeloid progenitörlerden (EMP) gelişmeye başlarlar ve pre-makrofajları (pMac) oluştururlar. Bu hücrelerde gelişmekte olan dokulara göç ederek buralarda doku spesifik makrofajları oluştururlar. EMP'ler ayrıca doku spesifik makrofaj havuzuna katkıda bulunacak monositlerin oluşumuna da katkıda bulunur **(Şekil 9)**.



Şekil 9: Doku makrofajlarının farklı gelişimsel yolları. **(a)** Yolk kesesi eritro-miyeloid progenitörler (EMP'ler), uzun ömürlü dokuda yerleşik makrofajlara farklılaşabilen pre-makrofajları (pMac) ve monositleri oluşturur. Buna karşılık hematopoietik kök hücreler (HSC'ler), doğum sonrası erken aşamada ve yetişkinlik döneminde kısa ve uzun ömürlü makrofajları oluşturabilir. **(b)** EMP'den ve HSC'den türetilen makrofajlar, doku spesifik hücreler hücre-hücre crosstalk yoluyla dokunun işlevine katkıda bulunur. Doku gelişimi tamamen EMP'den türetilen makrofajlara dayanır. Homeostaz sırasında, farklı makrofaj alt popülasyonları, doku fonksiyonunu desteklemek için doku hücreleriyle çapraz etkileşime girer. Yaşlanma veya patolojik iltihaplanma üzerine, dokudaki makrofaj dağılımının ince ayarlı dengesi bozularak, örneğin uzun ömürlü makrofajların apoptozunu veya kısa ömürlü HSC'den türetilmiş makrofajların artan alımını tetikleyerek doku fonksiyon bozukluğuna yol açar (55).

Makrofajlar stabil durum sırasında eritrositlerin geri dönüşümü ve temizlenmesinde, apoptotik hücrelerin ve hücre debrisinin uzaklaştırılmasında, dokunun yeniden modellemesinde ve bulaşıcı hastalıklara karşı konakçı tepkilerinde görev alan profesyonel fagositlerdir. Yaralanma veya enfeksiyondan sonra oluşan etkilere yanıt olarak fizyolojilerini hızla değiştirebilen, plastisiteleri oldukça yüksek hücrelerdir. Hücrelerin mikroçevresi büyük ölçüde, makrofajların aktivasyon fenotipini belirler. Bu en basit şekilde iki karşıt fenotipten oluşan bir durum olarak sınıflandırılabilir: klasik olarak aktive edilmiş veya M1 makrofajlar (CAM'ler) ve alternatif olarak aktive edilmiş veya M2 makrofajlar (AAM'ler) (56–58).

M1 makrofajlar hücre aracılı immün yanıtlar sırasında üretilen efektör makrofajları temsil etmektedir. M1 makrofajların karakterizasyonunda, iki sinyalin IFN-γ ve TNF kombinasyonu ile, mikrobisidal veya tumorisidal kapasiteye sahip olan ve yüksek düzeyde pro-inflamatuvar sitokinler salgılayan bir hücre popülasyonu belirlenmiştir. IFN-γ, doğal veya edinilmiş bağışıklık hücreleri tarafından üretilebilir; NK hücreler bu sitokinin önemli bir kaynağıdır. NK hücreleri strese ve enfeksiyonlara, makrofajları pro-inflamatuar sitokinleri salgılamaya hazırlayabilen, öldürme yeteneklerini arttırmak için artan miktarlarda süperoksit anyonları ve oksijen ve nitrojen radikalleri üreten IFN-γ üreterek yanıt verir. Bu nedenle doğal bağışıklık mediyatörleri, makrofajların enfeksiyona karşı daha iyi direnç sağlamasına olanak tanır. NK hücreleri tarafından IFN-γ üretimi genellikle geçicidir ve bu nedenle aktif

makrofaj popülasyonunu sürdüremez. Sonuç olarak, klasik olarak aktive edilmiş makrofajları korumak ve birçok hücre içi mikroorganizmaya karşı stabil konakçı savunması sağlamak için genellikle adaptif bir bağışıklık tepkisi gereklidir. Bu tipik olarak T yardımcı 1 (TH1) hücreleri tarafından IFN-γ'nın sürekli üretimiyle sağlanır. Bu T hücreleri antijene spesifiktir ancak indükledikleri mikrobisidal makrofajlar ayrım gözetmeden öldürebilir (56).

M2 makrofajlarda, M1 makrofajlar gibi doğal ve edinilmiş sinyallere yanıt verirler. Doku hasarı sırasında ilk salınan doğal sinyal IL-4'tür. Bazofiller ve mast hücreleri IL-4 üretiminin önemli erken kaynaklarıdır, ancak diğer granülositlerde salgıya katkıda bulunabilir. Bu erken IL-4 üretimi yerleşik makrofajları hızlı bir şekilde yara iyileşmesini desteklemek üzere programlanmış bir hücre popülasyonuna dönüştürür. IL-4, makrofajlardaki arjinaz aktivitesini uyararak, arjinini poliaminlerin ve kolajenin orjini olan ornitine dönüştürmelerine olanak sağlar ve böylece ekstraselüler matriks üretimine katkıda bulunur (59, 60). Genel olarak M2 hücreleri, TH2 yanıtlarında, parazit temizliğinde, inflamasyonun giderilmesinde, dokunun yeniden modellemesinde, anjiyogenezde, tümör ilerlemesinde ve immnoregülasyonda rol alan hücrelerdir (59, 61).

Genel olarak M1 makrofajlar, IL-12^{hi}, IL-23^{hi} ve IL-10^{lo} fenotip gösterirler. Efektör moleküllerin (reaktif oksijen ve nitrojen ara maddeleri) ve inflamatuvar sitokinlerin (IL-1β, TNF, IL-6) üreticileridir (53). Buna karşılık, M2 makrofajların çeşitli formları gelen sinyale bağlı olarak inflamatuvar sitokinler üretme konusunda değişken kapasiteye sahip bir IL-12^{lo}, IL-23^{lo} ve IL-10^{hi} fenotip gösterirler. M1 makrofajlar, CXCL9 ve CXCL10 gibi TH1 hücresini çeken kemokinleri eksprese ederken, M2 makrofajlar CCL17, CCL22 ve CCL24 kemokinlerini eksprese eden ile farklı kemokinom profili gösterirler. Ayrıca CCL2 ve CXCL4 gibi kemokinler makrofajları M2 benzeri bir fenotipe yönlendirebilir (62–65).

Tablo 1: M1 ve M2 makrofaj alt tipleri (66).

	M1	M2a	M2b	M2c	M2d
Stimulasyon/ Aktivasyon	IFN-γ LPS GM-CSF	IL4 IL-13 Fungal ve parazitik enf.	İmmün kompleksler IL-1R	IL-10 TGF-β Glukokortikoidler	IL-6 LIF Adenozin
Marker ekspresyonu	CD68 CD86 CD80 MHC II IL-1R TLR2 TLR4 iNOS SOCS3	CD163 MHC II SR MMR/CD206 CD200R TGM2 DecoyR IL-1R II	CD86 MHC II	CD163 TLR1 TLR8	VEGF
Sitokin sekresyonu	TNF IL-1β IL-6 IL-12 IL-23	IL-10 TGF-β IL-1ra	IL-1 IL-6 IL-10 TNF-α	IL-10 TGF-β	IL-10 IL-12 TNF-α TGF-β
Kemokin sekresyonu	CCL10 CCL11 CCL5 CCL8 CCL9 CCL2 CCL3 CCL4	CCL17 CCL22 CCL24	CCL1	CCR2	CCL5 CXCL10 CXCL16

Hofbauer Hücreleri

Plasental makrofajlar olan Hofbauer hücreleri ilk olarak 19. yüzyılın sonlarında büyük (10 – 35 μm), pleomorfik, yüksek derecede vakuollü fetal orjinli hücreler olarak tanımlanmıştır. Gebeliğin yaklaşık 18. gününde koryonik villuslarda görülmeye başlarlar. Bu hücrelerin ontogenisi hala net bir şekilde tanımlanamamış olsa da çalışmalar erken Hofbauer hücrelerinin mezenkimal progenitör hücrelerden türediğini göstermektedir (67–70).

Gebeliğin erken döneminde Hofbauer hücreleri proliferasyon gösterirler. İlerleyen dönemlerde de prolifere olma yetenekleri, etiyolojisi bilinmeyen villitis vakalarında $Ki67^{+}$ hücre sayısının yüksek olması ile gösterilmiştir. Bu nedenle

Hofbauer hücrelerinin gebelik yaşına ve plasentanı patolojik durumuna göre değişen heterojen bir popülasyon oluşturduğu bilinmektedir (69, 71, 72).

Hücrelerin büyük çoğunluğu immatür ara villusun sıvı dolu kanalları içinde yer aldığından ve önemli ölçüde hareketlilik gösterdiklerinden özellikle erken dönem gebelikte kolayca kesitlerde tanımlanabilirler (73) Gebeliğin ilerleyen dönemlerinde bu kanallar daha az belirgin hale geldiği ve stromal çekirdek daha yoğun hale geldiği için hücrelerin morfolojik olarak tespiti daha zor olmaktadır. Bu değişiklik, villöz ağaçların hızlı genişlemesiyle birlikte sayılarındaki belirgin azalmayı açıklayabilir, ancak spesifik immün belirteçler kullanılarak yapılan semikantitatif değerlendirmeler, bunların hem erken gebelikte hem de termde tüm stromal hücrelerin yaklaşık %40'ını temsil ettiğini göstermektedir (74).

Hofbauer hücreleri trofoblastik bazal membran ve uzun sitoplazmik uzantılar ile ilişki kurdukları fetal kapillerler yakınında konumlanırlar. Bu konumları, trofoblast farklılaşmasını ve anjiyogenezin düzenlenmesinde rol oynadıklarını göstermektedir. Endotelyal progenitörler ve primitif damarlar ile yakın olan ilişkileri ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), Sprouty proteinleri ve osteopontin gibi faktörlerin salgılanması yoluyla erken plasental vaskülogenez ve anjiyogenezin yanı sıra villöz ağacın dallanma morfogenezinin düzenlenmesinde de önemli rol oynar (75–78). Hofbauer hücreleri ayrıca plasental damarların yeniden şekillenmesinde rol oynayan metalloproteinazın doku inhibitörü (TIMP-1) ve matriks metalloproteinaz (MMP-9) da salgılar (79, 80).

Hofbauer hücrelerinin en temel fonksiyonu fetüsün immünolojik savunmasının sağlanması ve patojen iletiminin önlenmesidir. Konumu gereği primer savunma hattını sitotrofoblastlar oluşturmaktadır. Ancak epitelde kırılmalar görülebilmektedir bu nedenle makrofajlar önemli ve sekonder savunma hattını temsil ederler. Özellikle makrofajların trofoblast hasarı olan bölgelerde, yani patojenlerin fetal kompartmana giriş bölgelerinde kümelendikleri gözlenmiştir. Hofbauer hücreleri, Toll-like receptor 4 (TLR4) eksprese ederler, böylece bulaşıcı patojenlere karşı doğuştan gelen bağışıklıkta rol oynarlar. Aslında Hofbauer hücrelerinin fetüs savunmasındaki önemi göz önüne alındığında plasentanın retikülo-endotelyal sistemin bir bileşkesi olması gerektiği savı öne sürülmektedir (81–84).

Hofbauer hücreleri MHC-II moleküllerini, IL-1 ve DC-SIGN eksprese edebilirler. Bu nedenle bu hücreler potansiyel antijen sunan hücrelerdir. HLA-DR, HLA-DP ve HLA-DQ ya eksprese etmezler ya da ilk trimesterde çok seviyelerde eksprese ederler, ancak terme yaklaştıkça immünoreaktivite artış göstermektedir (74, 84, 85) DC-SIGN, HLA-II^{+} hücreler ile kolokalizasyon göstermektedir. DC-SIGN^{+} hücrelerin, HLA-DR^{-} oldukları gösterilmiştir.

Hofbauer hücreleri interferon-α için immünpozitif hücrelerdir ve izole edildiklerinde in vitro olarak interferon-β sekrete ederler. Bu da plasentayı enfeksiyona karşı koruyabileceklerini düşündürür (86). Ayrıca, Fc-γ reseptörleri ile villöz stroma içindeki immün kompleksleri etkili bir şekilde yakalayarak fetal antijenlere karşı oluşan maternal IgG antikorlarına karşı fetüsü korurlar. Yakın zaman IgE içeren immün komplekslerin hücre içerisinde lokalize olması ile alerjenlere karşı da Hofbauer hücrelerinin etkili olduğu gösterilmiştir (87).

Hofbauer Hücrelerinin Fonksiyonel Çeşitliliği

Hofbauer hücrelerindeki pro-M1 genleri olan TLR9, IL1B, IL12RB2, CD48 ve FGR metilasyon ile susturulurken; pro-M2 genleri olan CCL2, CCL13, CCL14, CD209 ve A2M hipometile edilir ve dolayısıyla transkripsiyona hazır hale getirilir (88). Term plasentadan izole edilen Hofbauer hücrelerinin yüzey markerları ve sitokin ekspresyonlarına bakıldığında M2a, M2b ve M2c özellik gösterdiği görülmüştür. Bunun dışında immün-supresif, pro-anjiyogenik olmaları, CD163 ve CD14'ü koeksprese etmeleri nedeniyle M2d fenotipiyle bazı özellikleri paylaşırlar. Hofbauer hücreleri, ayrıca yine M2d'nin özelliği olan VEGF-C ve matriks metalloproteinaz genlerini eksprese eden multi-nükleer dev hücreler oluştururlar.

Varsayımsal olarak normal sağlıklı bir gebelikte optimal vasküler gelişim, villöz büyüme ve immün toleransı sağlama konusunda birbirini işlevsel olarak tamamlayan hücre alt tiplerinin dengeli bir karışıma sahiptir. Bunun tersi olarak Hofbauer hücre alt tiplerinde oluşan dengesizlik patolojik gebeliği ortaya çıkarabilir veya şiddetlendirebilir.

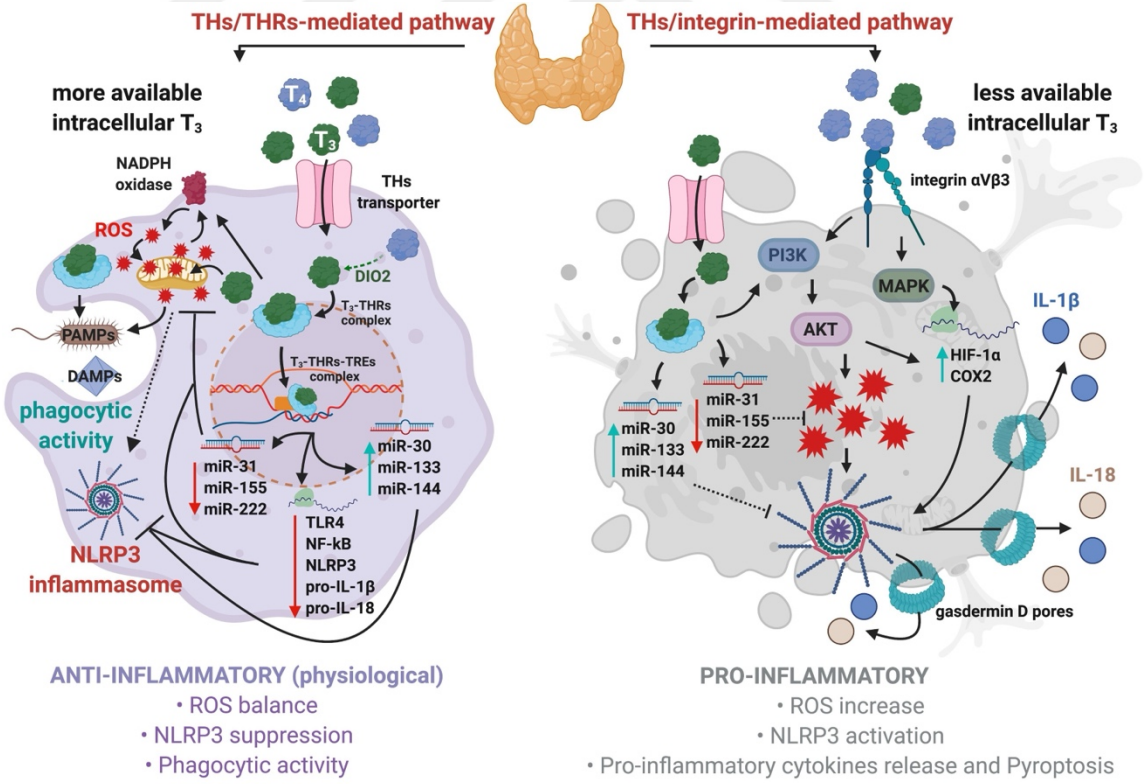
Hipotiroidi, İnflamasyon ve Makrofajlara Etkisi

Tiroid hormonları ve immün sistem arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. İmmün sistem hücrelerinin tiroid hormonlarına karşı olan reaktivitesi ve ayrıca endokrin hücrelerinin sitokinlere (IL-1, IL-6, TNF-α, IFN-γ) karşı duyarlılığı, bu

moleküllerin ekspresyonu ve spesifik reseptörlerine olan affinite ile pozitif ilişkilidir. Anormal tiroid hormon sekresyonu immün fonksiyonları etkileyebilir. Hormonlar ve endokrin transmitterlar immün hücrelere bağlanarak immün fonksiyonları değiştiren ve immün yanıtın şiddetini düzenleyen faktörlerin üretimine yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarda THR-β'nın M2 makrofajlarda M1 veya unpolarize makrofajlara göre daha fazla eksprese olduğu görülmüş (89), bu durum THR-α'nın pro-inflamatuvar makrofajlarda rol oynadığını düşündürmektedir. Farelerde yapılan ateroskleroz ve böbrek hasarı çalışmalarında tiroid hormon eksikliğinin artan inflamatuvar yanıt ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda, pro-inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasının THR-α tarafından baskılandığı gösterilmiştir (90, 91).

Tiroid hormon yetersizliği CRP, TNF-α, TGF-β1 ve IL-6 gibi kandaki inflamasyon markerlarının yükselmesine sebep olmaktadır. Buna bağlı gelişen inflamasyon bir patojene karşı gelişmezken; iskemi-reperfüzyon, travma veya kimyasal maddelere karşı gelişmektedir. Bu tip inflamasyona steril inflamasyon denilmektedir. Steril inflamasyonda inflamazom kompleksleri büyük önem taşımaktadır. En iyi bilinen inflamazom NLRP3'tür. NLRP3 aktivasyonu ile birlikte pro-kaspaz 1, kaspaz 1'e dönüşür ve bu da IL-1α, IL-1β, IL-18 ve TNF-α gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımına sebep olur (92, 93). Yapılan son çalışmalarda, NLRP3 inflamazomunun negatif veya pozitif modülasyonunun, hedef hücrelerde T_3 varlığına ve alımına bağlı olabileceği, dolayısıyla fizyolojik bir durumu patolojik bir duruma yönlendirebileceğini göstermiştir. Bu nedenle T_3 aktivitesi, yeterli makrofaj fonksiyonu ve doku homeostazisi için önemlidir. T_3 hücreye alındıktan sonra kısmen nukleusa göç eder ve daha sonra hedef gen promotorleri üzerinde bulunan TRE'lere bağlanır. T_3-THR-TRE kompleksi, nükleer DNA ile doğrudan veya dolaylı yoldan etkileşerek gen transkripsiyonunu düzenler. Bu kompleks miR-30, -133 ve -144 gibi farklı miRNA'ları etkiler ve ekspresyonlarını artırır. Bu miRNA'lar NLRP3 inflamazomu toplanmasını ve inflamasyonu tetikleyen Fast apoptozis sinyal Ligandı (FasL) ve Integrin-bağlı kinaz (Ilk) gibi iki temel pro-inflamatuvar geni baskılar. Bunun sonucunda superoksit dismutaz 1 (SOD1) ve SOD2 ekspresyonunda artış gerçekleşir ve böylece ROS seviyeleri düşer ve NLRP3 inflamazom aktivasyonu inhibe edilir. Ayrıca T_3-THR-TRE kompleksi, TLR4/NF-Kβ yolağını NLRP3, pro-IL-1β ve pro-IL-18 seviyelerini düşürerek de baskılar (94). Tüm bu etkileri sonucunda

T_3-THR kompleksi immün hücrelerin anti-inflamatuvar durumunu direkt olarak etkileyebilmektedir. Özellikle sitozolik T_3-THR kompleksi, PI3K-AKT aksını dahil ederek Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz (NADPH) bağımlı ROS üretimini kontrol eder. Sitozolik ROS, mitokondriyal ROS üretimine etki eder ve böylece NADPH ile mitokondri arasında bir döngü oluşturarak hücre için ROS seviyelerini fizyolojik aralıkta tutar **(Şekil 10,** sol panel**)**. Diğer yandan yüksek T_4 seviyelerinin gözlendiği hipotiroidi durumlarında pro-inflamatuvar yolakların şekillenmesi gözlenebilmektedir. Dolaşımdaki T_4 plazma membranındaki integrin αvβ3'e bağlanır ve MAPK sinyalini uyarır; bunun sonucunda NLRP3 aktivasyonu ile ilişkili olan hipoksi ile indüklenebilir faktör 1α (HIF-1α) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) seviyelerini artırır. Buna paralel olarak, T4- integrin αvβ3 kompleksi PI3K ve AKT'yi aktive ederek ROS üretimini ve HIF-1α ekspresyonunu artırır. Tüm bu olaylar sonucunda da NLRP3 inflamazom aktivasyonu artar ve böylece immün hücrelerde pro-inflamatuvar yanıt indüklenir **(Şekil 10,** sağ panel**)** (89, 95).



Şekil 10: Makrofajlarda NLRP3 aktivasyonunun tiroid hormonları tarafından düzenlenmesi (95). (TH, tiroid hormonu; THR, tiroid hormon reseptörü)

Makrofaj Polarizasyonu ile Fizyolojik ve Patolojik Gebelik İlişkisi

Maternal – fetal arayüzde fetüsü annenin immün sisteminden korumak ve fetomaternal tolerans oluşturmak için gebeliğin farklı dönemlerinde M1/M2 makrofajlarının sayısı ve oranı değişiklik göstermektedir. Fetomaternal toleransı sürdürebilmek için makrofajların çoğunluğu M2 makrofaj özelliği göstermektedir bu da normal bir gebelik için M2 makrofaj gerekliliğini göstermektedir. Anormal gebeliklerde ise maternal-fetal arayüzde M1 makrofajların sayıca artış gösterdiği gözlenmiştir. M1 ve M2 makrofajlar arasındaki bu dengenin sağlanması, trofoblast invazyonu, spiral arterlerin yeniden düzenlenmesi ve apoptotik hücre fagositozu gibi normal gebeliğin çeşitli süreçleri için önemlidir. Tersi durumda makrofajların düzensiz polarizasyonu, uterin damarların düzensiz şekillenmesi ve kusurlu trofoblast invazyonu ile ilişkilendirilmiştir ve sonuç olarak spontan abortus, pre-eklampsi ve erken doğum gibi sonuçlara yol açmıştır (96–98)

Makrofajlar gebelik süresince tüm desidual lökositlerin %20 – 30'unu oluşturur. Yapılan çalışmalarda makrofajlar farklı fenotipik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır Bir grup çalışmacı M1 ve M2 makrofajları Th1/Th2 immün yanıtına göre ve sınıflandırırken (99); başka bir çalışmada desidual makrofajları $CD11c^{high}$ ve $CD11c^{low}$ olarak alttiplere ayırmıştır ve $CD11c^{high}$ makrofajlarda eksprese edilen genler lipid metabolizması ve inflamasyon ile ilişkiliyken, $CD11c^{low}$ makrofajlarda eksprese edilen genler ekstraselüler matriks oluşumu, kas regülasyonu ve doku büyümesi ile ilişkilidir (100).

Hofbauer hücrelerinin term plasentada yüksek oranda M2 makrofajlar tarafından eksprese edilen CD163 ve DC-SIGN/CD209 eksprese ettikleri gösterilmiştir (101). Ancak yapılan başka bir çalışmada term plasentada M1 markerları olan CX3CR1, IL-7R ve CCR7 varlığı gösterilmiştir (102). Çalışmalarda ayrıca Hofbauer hücrelerinin CD209 (M2a), CD86 (M2b), HLA-DR (M2a/M2b), CD206 (M2a/M2c) ve CD14 (M2c) için immünpozitif olduğu gösterilmiştir (103). Yapılan bir çalışmada da Hofbauer hücrelerinde TLR9, IL-1β, IL-12Rβ2, CD48 ve FGR gibi M1 genlerinin hipermetile olduğunu; CCL2, CCL13, CCL14, CD209 ve A2M gibi M2 genlerinin ise hipometile olduğunu göstermişlerdir (88).

Diyabetik kadınlardan izole edilen Hofbauer hücrelerinin M1 veya M2 fenotipi gösterdiği gözlenmiştir. Sıçan Hofbauer hücreleri yüksek glikoz oranları altında

kültüre edildiğinde M1 aktivasyonunu gösteren NOS2 gen ekspresyonu ve NO değerlerinde artış gözlenmiş (104). Folat reseptör β (FR-β), M2 polarize makrofajlarda eksprese edilir ve regülatör M2 hücreler için bir marker olarak kullanılmaktadır. Şiddetli preterm pre-eklampsi gözlenen kadınlardan izole edilen Hofbauer hücrelerinde FR-β ve CD163'ün ekspresyonunda azalma gözlenirken, CD68 ekspresyonunda değişiklik gözlenmemiş. Bu durum makrofajların M1 polarizasyonuna doğru gittiğini düşündürmüştür (105).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

Araştırmamız tanımlayıcı özellikte bir çalışmadır.

3.2. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Planı

Bu tez çalışması, Dokuz Eylül Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve Tıp Fakültesi ARLAB'da gerçekleştirilmiştir. Araştırma planı Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: Araştırma planı.

Zaman	İş Tanımı
Haziran – Aralık 2018	Literatür taraması
Eylül 2019	Etik kurul onayı
Nisan 2021	Tez önerisinin kabulü
Ocak 2022	BAP başvurusu kabulü
Eylül 2022	TÜSEB başvurusu kabulü
Mayıs – Eylül 2023	Malzeme alımı
Ekim 2023 – Nisan 2024	Örnek toplanması ve eş zamanlı laboratuvar çalışmalarının yapılması
Mart 2024 – Temmuz 2024	Verilerin değerlendirilmesi, makale yazımı
06 Eylül 2024	Tez sunumu

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Araştırmamızda iki grup oluşturuldu: Kontrol grubu (n=5) ve Hipotiroidi grubu (n=5).

Gebeler 20-35 yaş aralığında seçildi. Çalışma öncesi hastalardan onam formu alındı. Hastaların tıbbi kayıtlarına ve sağlık durumu anketine verdikleri yanıtlara bağlı kalınarak konjenital/edinsel kalp rahatsızlığı, obezite, multipl gebelik, diabetes mellitus, hipertansiyon ve sigara kullanımı gibi yerleşik risk faktörleri olan hastalar çalışma dışı tutuldu (106, 107).

3.4. Çalışma Materyali

DEÜ Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne doğuma gelen gebelerden doğum sonrası atılan plasentalardan parça alındı.

Kontrol grubu için sağlıklı gebelerden alınan plasentalar kullanılırken, Hipotiroidi grubu için hipotiroidi tanısı konmuş gebelerin plasentaları alındı. Hipotiroidi grubundaki hastalar TSH serum konsantrasyonu ve serbest T_3 ve T_4 referans değerlerine bakılarak (ilk trimesterde TSH>2,5 mIU/L ve ikinci trimesterde TSH>3,0 mIU/L) subklinik hipotiroidi tanısı konmuş gebelerden seçildi (108, 109).

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Çalışmamızın bağımlı değişkeni plasentalardan elde ettiğimiz sonuçlar oldu, bağımsız değişken ise gebelerin tiroid hormon değerleridir. Gruplara ait Hofbauer hücreleri ve genel plasenta histolojisi ile ilgili sonuçlarımız bağımlı değişkenlerimizdir.

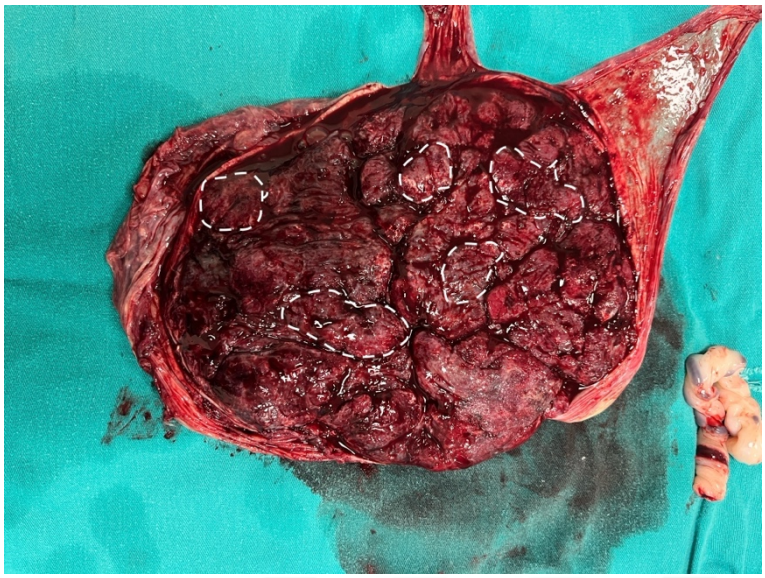
3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1. Veri Toplama Yöntemleri

Plasentaların Toplanması

Plasental örneklerden Hematoksilen&Eozin (H&E), Masson Trichrome ve immünohistokimyasal boyamalar için yaklaşık 1 mm^3 doku örneği %10'luk formol içine alınarak dokuların fikse olması sağlandı ve parafin bloklara gömüldü.

Her plasentadan aynı alanlardan örnek toplanmaya dikkat edilerek, elde edilecek verilerin homojenliğinin korunması amaçlandı.



Şekil 11: Plasental örneklerin seçimi.

Morfolojik Değerlendirme

Annelerin yaşları, gebelik süreleri, TSH değerleri ve yenidoğan ağırlığı, boyu, baş çevresi ve APGAR skoru gibi veriler kayda alındı.

Doku Takibi Protokolü

Doğum sonrası vücuttan atılan plasentadan alınan örnekler doku fiksasyonu için %10'luk formol içine alındıktan sonra 48 saat bekletildi.

- Fikse edilen dokular rutin doku takibi için bir gece akar suda yıkandı.
- Rutin doku takibinde uygulanan tüm aşamalar 60°C etüvde gerçekleştirildi.
- Dehidratasyon için %70 - %80 – %96'lık etil alkol serilerinden geçirildi (3x 20 dk).
- Ardından dört seri aseton solüsyonlarından geçirildi (4x 20 dk).
- İki seri ksilolde tutuldu (2x 30 dk).
- 60˚C'lik etüvde iki seans parafin uygulandıktan sonra, dokular parafin bloklar içine gömülmeden önce parafinle immersiyon işlemi yapıldı (her seans 1 saat).
- Rotary mikrotom (RM 2255, Leica) aracılığı ile 5µ kalınlığında kesitler alındı.

Hematoksilen&Eozin Boyama Protokolü

- Kesitler, deparafinizasyon işlemi için 60˚C'deki etüvde bir gece bekletildi.
- Ardından parafinin uzaklaştırılması için ilki 60°C etüvde diğer ikisi oda sıcaklığında üç seri ksilole tabi tutuldu (3x 20dk).

- Rehidratasyon için kestiler absolu - absolu - %96 - %80 - %70 alkol serisinden geçirildi (2'şer dk).
- Distile su ile çalkaladıktan sonra 5 dakika Hematoksilen (05- 06002L, Bio-Optica, Milano, İtalya) ile nukleusların boyanması sağlandı.
- Ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması ve mordantlama için 10 dakika akarsuda yıkandı.
- 1 dakika Eozin (05-10003L, Bio-Optica, Milano, İtalya) boyası ile boyandı ve böylece hücre sitoplazmasının boyanması sağlandı.
- Boyamadan sonra sırasıyla artan alkol serilerinden (%70 - %80 - %96 – absolu - absolu) geçirildi.
- Şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dakika üç seri ksilolde tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

Masson Trichrome Boya Protokolü

Bu yöntem doku içerisindeki kollajenin gösterilmesi için uygulandı. Boyama için Masson Trichrome (with Aniline Blue) boyama kiti (04-010802, Bio-Optica, Milano, Italy) kullanıldı.

- 5µm kalınlığında alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60˚C'lik etüvde tutuldu.
- Ardından parafinin uzaklaştırılması için ilki etüvde diğer ikisi oda sıcaklığında 20'şer dakikalık üç seri ksilole tabi tutuldu.
- Rehidratasyon için 5 seri azalan alkol serilerinden (absolu - absolu - %96 - %80 - %70) geçirildi ve distile su ile yıkandı.
- Dokuların çevresi Pap-pen ile çizildi.
- 6 damla reaktif A (Weigert's iron hematoxylin), 6 damla reaktif B (Weigert's iron hematoxylin) damlatıldı ve 10 dk bekletildi.
- Yıkama yapılmadan, reaktif C (Picric acid alcoholic solution) damlatıldı ve 4 dk bekletildi.
- Hızlıca distile su ile yıkama yapıldı ve reaktif D (Ponceau acid fuchsin according to Mallory) damlatıldı ve 4 dk bekletildi.
- Distile su ile yıkama yapıldı ve reaktif E (Phosphomolybdic acid solution) damlatılarak 10 dk bekletildi.
- Yıkama yapılmadan reaktif F (Masson aniline blue) damlatıldı ve 5 dk bekletildi.

- Distile su ile yıkama yapıldı ve hızlıca kesitler artan alkol serisinden (%70 - %80 - %96 – absolu - absolu) geçirildi. Son absolu alkolde 1 dk bekletildi.
- Ksilen ile şeffaflandırma yapıldı ve entellan ile kesitler kapatıldı.

Histomorfolojik değerlendirme

Histomorfolojik analizler için H&E ve Masson Trichrome ile boyanan kesitler kullanıldı.

H&E ile boyanan kesitlerde koryonik villuslar sinsityal nod ve perivillöz fibrinoid birikimi bakımından değerlendirildi. 0 (patolojik bulgu yok), 1 (hafif patolojik bulgu), 2 (orta patolojik bulgu) ve 3 (ciddi patolojik bulgu) olarak skorlandı.

Masson Trichrome ile boyanan kesitlerde ImageJ programı kullanılarak bağ doku oranı hesaplandı. Her plasentadan rastgele seçilen 10 alan 20x büyütmede fotoğraflandı. Hesaplama için iki aşamalı değerlendirme yapıldı. İlk aşamada sadece bağ doku alanları ölçüldü. (1) ImageJ programında fotoğraf açıldı ve color deconvolution eklentisi ile fotoğraf renk kanallarına göre ayrıldı (2) bağ dokunun boyandığını temsil eden mavi renk kanalı dışındaki diğer renk kanalı pencereleri kapatıldı (3) threshold uygulandı ve mavi boyalı alanlar seçildi ve (4) seçili alanların ölçümü yapıldı. İkinci aşamada fotoğraftaki tüm boyalı alanların ölçümü yapıldı. (1) fotoğraf açıldı ve 8-bit tipe dönüştürüldü (2) tüm doku komponentleri için threshold uygulandı (3) seçili alanların ölçümü yapıldı. Son bağ doku alan yüzdesinin hesaplanması için aşağıdaki formül kullanıldı.

$$bağ\ doku\ alan\ yüzdesi = \frac{ilk\ aşamada\ ölçülen\ alan}{ikinci\ aşamada\ ölçülen\ alan} \times 100$$

İmmünohistokimya Boya Protokolü

Doku içerisindeki IL-10, IL-17, iNOS, MPO, VEGF, THRα ve THRß protein ekspresyonlarını belirlemek amacıyla yapıldı. Kullanılan antikorlar ile ilgili bilgiler Tablo 3'te verilmiştir.

- 5 µ kalınlığında kesiti alınan dokular bir gece 60ºC'lik etüvde bekletildi.
- Ertesi gün ilki etüvde olmak üzere üç seri ksilolden geçirilerek deparafinizasyon işlemi yapıldı.

- Kesitler artan alkol serilerinden (absolu - %96, 80, 70) geçirilerek distile suya getirildi.
- Antigen retrieval, fiksasyon sırasında kapanan antijenik epitopların açılması için sitrat tampon (pH 6) ile yapıldı. Mikrodalgada önceden ısıtılmış sitrat tampon içinde kesitler 850W 15 dakika kaynatılıp (arada durdurularak solüsyonun miktarı kontrol edildi, azaldı ise ekleme yapıldı), 20 dakika soğuması beklendi.
- Dokular PBS tampon ile yıkandı (3x5 dk).
- 15 dakika endojen peroksidaz aktivesini bloke etmek için H_2O_2 ile inkübe edildi.
- PBS (3x5 dk) ile yıkandı ve çevreleri Pap pen ile çizildi.
- Ultra V Block ile 5 dakika inkübe edildi.
- Primer antikor ile +4°C'de bir gece inkübe edildi.
- PBS (3x5 dk)
- Streptavidin Alkaline Phosphatase ile 10 dakika inkübe edildi.
- PBS (3x5 dk)
- HRP Polymer ile 15 dakika inkübe edildi.
- PBS (3x5 dk)
- DAB kromojen solüsyonu ile bağlanmış antikorların renklendirilmesi sağlandı.
- Distile su
- Hematoksilen kullanılarak karşıt boyama yapıldı ve ardından mounting medium ile kapama işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 3: İmmunohistokimyasal boyamada kullanılan antikorlar.

Antikor	**Markası**	**Kodu**	**Dilüsyon Oranı**
IL-10	Bioss	bs-6761R	1:50
IL-17	Bioss	bs-2140R	1:50
iNOS	Bioss	bs-2072R	1:50
MPO	Bioss	bs-4943R	1:50
VEGF	Bioss	bs-0279R-	1:50
THRα	Bioss	bs-6221R	1:50
THRß	Bioss	bs-11440R	1:50

İmmunohistokimya Boyamasında Pozitif Alanların Seçimi

İmmunohistokimya boyaması sonucunda (1) ImageJ programında fotoğraf açıldı ve color deconvolution eklentisi ile fotoğraf renk kanallarına göre ayrıldı (2) DAB'ın boyandığını temsil eden kahverengi renk kanalı dışındaki diğer renk kanalı pencereleri kapatıldı (3) threshold uygulandı ve kahverengi boyalı alanlar seçildi ve (4) seçili alanların alan ölçümü yapıldı.

İmmunofloresan Boya Protokolü

Makrofajlardan sekrete edilen sitokin, protein ve büyüme faktörlerinin gösterilmesi için yapıldı. Kullanılan antikorlar ile ilgili bilgiler **Tablo 4**'te verilmiştir.

- Deparafinizasyon için kesitler üç seri ksilolde 15'er dk ksilol/alkolde 5 dk bekletildi.
- Rehidrasyon için kesitler 2 seri absolu alkolde, 2 seri %96 alkolde ve 2 seri %70 alkolde 2'şer dk bekletildikten sonra 2 seri distile suda 2'şer dk bekletildi.
- Kesitler Antigen retrieval için Sodyum sitrat bufferda (pH:6) 15 dk mikrodalgada (850W) kaynatıldı ve 20 dk soğutuldu.
- PBS tampon iki 2 kez 2'şer dk ardından 10 dk yıkandı.
- Permeabilizasyon solüsyonunda 2 kez 10'ar dk bekletildi.
- PBS tampon iki 2 kez 2'şer dk ardından 10 dk yıkandı.
- Otofloresan ışımanın baskılanması için %1'lik Sodyum borohidrat ile 15 dk muamele edildi.
- PBS tampon iki 2 kez 2'şer dk ardından 10 dk yıkandı.
- Blocking solüsyonu ile 1 saat oda sıcaklığında bekletildi.
- Yıkama yapılmadan primer antikorlar eklendi ve oda sıcaklığında 2 saat bekletildi.
- PBS tampon iki 2 kez 10'ar dk yıkandı.
- Permebilizasyon solüsyonunda 10 dk bekletildi.
- Sekonder antikor [Goat Anti-Rabbit IgG H&L (Alexa Fluor® 594)] eklendi ve oda sıcaklığında 1-2 saat bekletildi.
- PBS tampon iki 3 kez 10'ar dk yıkandı.
- Distile suda hızlıca çalkalama yapıldı.
- DAPI içeren mounting medium ile kapama yapıldı.

- Kesitler floresan ışımanın kaybolmaması için karanlıkta ve +4°C'de saklandı.

Tablo 4: İmmünofloresan boyamada kullanılan antikorlar.

Antikor	**Markası**	**Kodu**	**Dilüsyon Oranı**
Rabbit CD163	Bioss	bs-2527R	1:50
Rabbit CD204	Bioss	bs-6763R	1:50
Rabbit CD86	Bioss	bs-1035R	1:50
Rabbit CD80	Bioss	bs-2211R	1:50
Rabbit CD206	Bioss	bs-4727R	1:50
Mouse CD68	Invitrogen	14-0688-82	1:50
Rabbit Collagen I	Novus	NB600-408	1:100
Alexa-Fluor Anti- Mouse 594	Invitrogen	A11005	1:1000
Alexa-Fluor Anti- Rabbit 488	Invitrogen	A27034	1:1000
Alexa-Fluor Anti- Rabbit 594	Invitrogen	A11012	1:1000

Hofbauer Hücre Sayımı

Yapılan immünfloresan boyamalarda kullanılan makrofaj markerlerı için pozitif reaktivite veren Hofbauer hücreleri rastgele 10 alanda sayıldı. Elde edilen sayım sonuçlarına göre hücrelerin M1 – M2 polariteleri belirlendi.

ELISA Analizi

Makrofajlardan sekrete edilen pro ve anti-inflamatuvar sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı. Homojenizasyon sonrası dokudan elde edilen supernatant içindeki protein miktarı BCA yöntemi ile ölçüldü. ELISA analizi, kullanılan kitin protokolüne göre yapıldı. Bu yöntem ile dokudaki IL-6 (E-EL-H6156, Elabscience), IL-1ß (E-EL-H0149, Elabscience), TGF-ß (E-EL-0162, Elabscience), IL-10 (E-EL-H6154, Elabscience) seviyeleri ölçüldü.

3.6.2. Kullanılan Solüsyonlar

%4 Formalin

- 100 ml %37 Formaldehit
- 900 ml Distile su

Phosphate Buffer Saline (PBS)

- 1,44 gr Na_2HPO_4
- 8 gr NaCl
- 0,24 gr KH_2PO_4
- 0,2 gr KCl
- 800 mL dH2O

Toz ürünler distile su içinde çözdürüldükten sonra 1000 mL'ye tamamlandı ve pH 7,4 – 7,2 olarak ayarlandı. Otoklavlandıktan sonra kullanıldı.

Permeabilizasyon Solüsyonu

- 500 mL PBS
- 500 mL dH_2O
- 2 gr Gelatin
- 2,5 mL Triton 100X

500 mL dH_2O içinde 2 gr Gelatin manyetik karıştırıcıda 55°Cde çözdürüldükten sonra 500 mL PBS ile karıştırıldı. Soğuduktan sonra 2.5 mL Triton 100X eklendi. Filtre edilerek +4°C'de saklandı.

Blocking solüsyonu

- 0,25 gr BSA
- 5 mL Permeabilizasyon solüsyonu

Taze hazırlandı ve 4°C'de saklandı.

%1'lik Sodyum Borohidrat

- 1 mL %12'lik Sodyum Borohidrat (%40 aq Sodyum Hidroksit içinde)
- 11 mL dH_2O

Taze hazırlandı.

3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışma sonucunda Kontrol grubu ve Hipotiroidi grubundan elde edilen veriler karşılaştırıldı.

Tüm veriler GraphPad Prism 10 istatistik programına yüklendi ve sonuçlar ortalama ± standart hata (SEM) olarak gösterildi. İstatistiksel olarak verilerin normalliği ve homojenliği değerlendirildikten sonra iki grubun karşılaştırılmasında non-parametik Mann-Whitney U analizi yapıldı. $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları

Çalışmamızda insan materyali kullandığımız için onam almakta ve hasta bulmakta zorluklar yaşanmış, bu da materyal toplama süresini uzatmıştır.

3.9. Etik Kurul Onayı

Çalışmamız "Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel olmayan Araştırmalar Etik Kurulu" tarafından "18/01/2019 4258/GOA" dosya numarası ile kabul edildi (**Ek 1**). İçerik değişikliği ve ilk alınan etik kurul onayının süresinin dolması nedeni ile "14.06.2023 tarihli 8151-GOA" dosya numarası ile yeniden etik kurul onayı alınmıştır (**Ek 2**). Kontrol ve hipotiroidi grubu gebelerinden alınan onam formu örneği ektedir (

Ek 3).

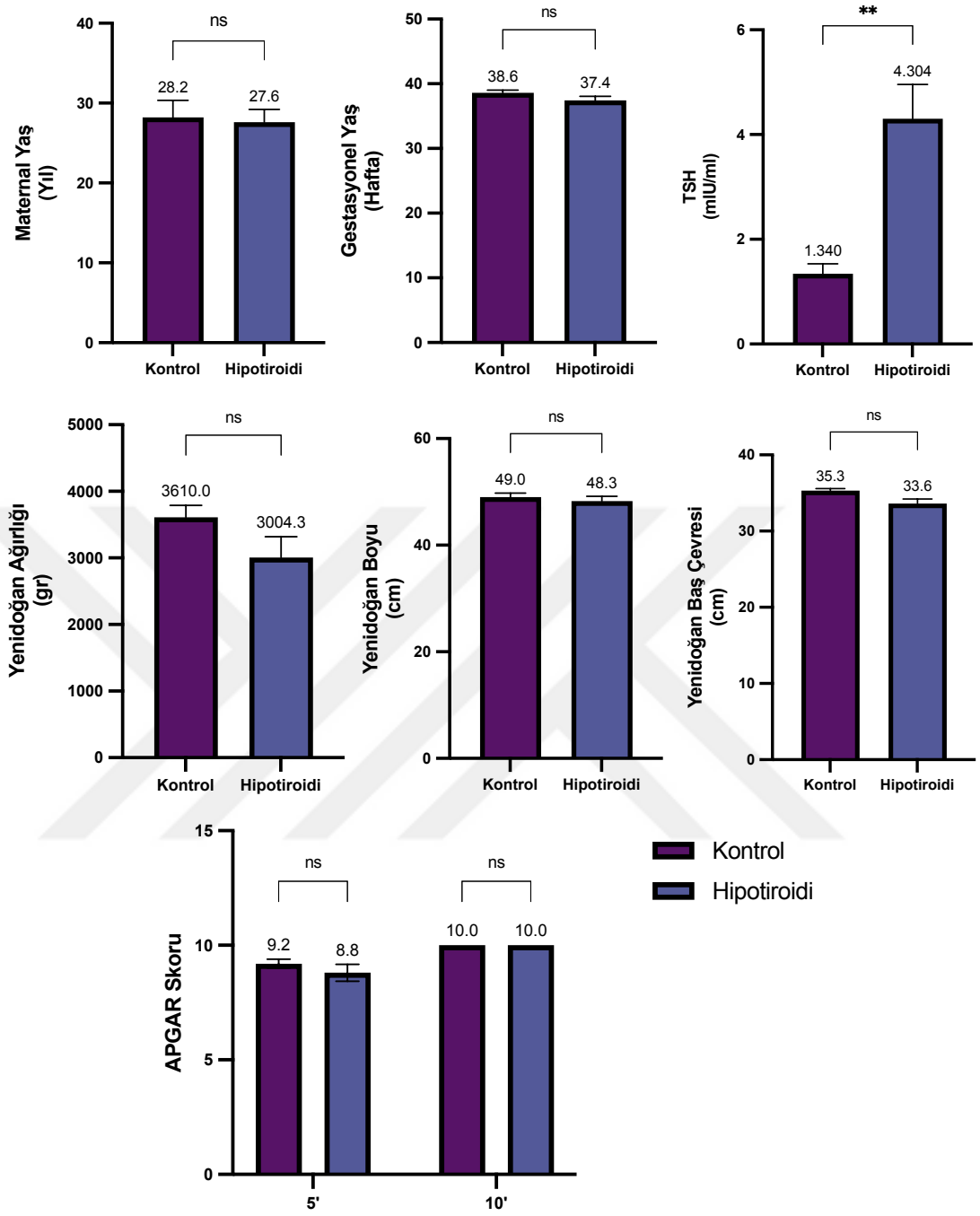
4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Değerlendirme

Morfolojik verilerin değerlendirilmesi amacıyla annelerin yaşı, gestasyonel yaş, TSH değerleri ve yeni doğana ait ağırlık, boy, baş çevresi ve APGAR skorları kayda alındı.

Tablo 5: Morfolojik veriler.

	Kontrol (n=5)		**Hipotiroidi (n=5)**		**P (≤0,05)**
Maternal Yaş (Yıl)	28,20±2,15		27,60±1,63		$0,881^{ns}$
Gestasyonel Yaş (Hafta)	38,60±0,40		37,44±0,61		$0,247^{ns}$
TSH (mlU/ml)	1,34±0,19		4,30±0,65		$0,008^{**}$
Yeni doğan Ağırlığı (gr)	3610±180,3		3004±314,2		$0,267^{ns}$
Yenidoğan Boyu (cm)	49,0±0,79		48,3±0,88		$0,603^{ns}$
Yenidoğan Baş Çevresi (cm)	35,3±0,30		33,6±0,60		$0,119^{ns}$
	5'	**10'**	**5'**	**10'**	
APGAR Skoru	9,20±0,20	10,00±0,00	8,75±0,47	10,00±0,00	$0,634^{ns}$ / $>0,999^{ns}$

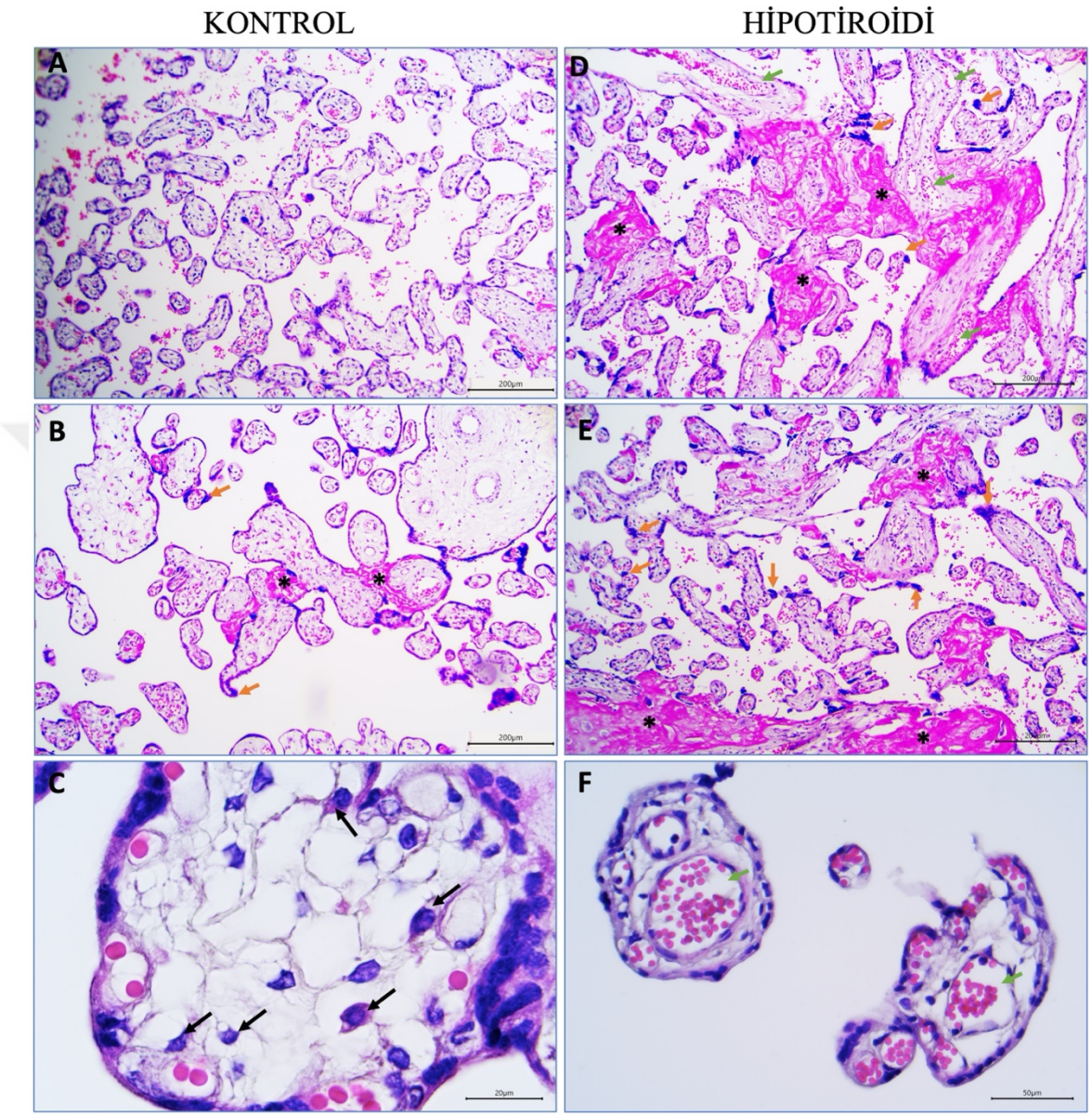


Grafik 1: Morfolojik veriler. (**, p≤0.01; ns, non-significant)

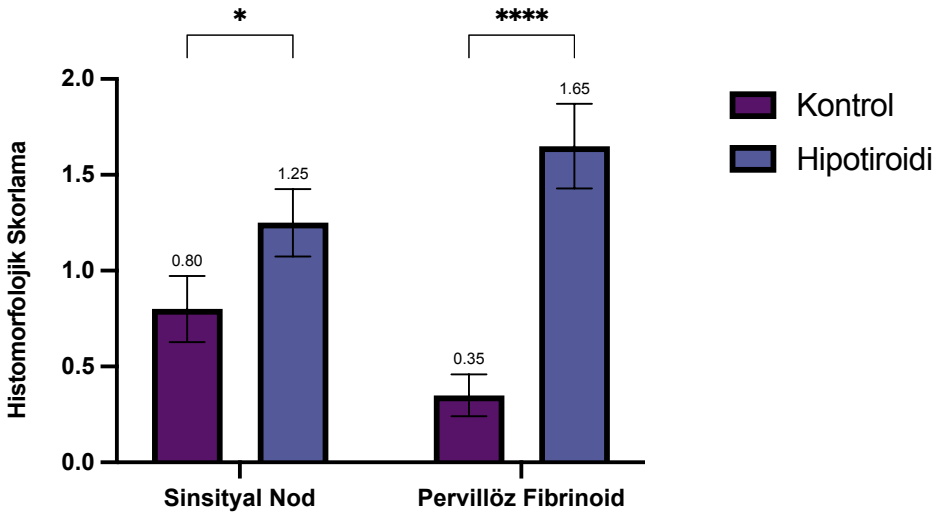
4.2. Histomorfolojik Değerlendirme

Hipotiroidili gebelerden alınan plasental örnekler Kontrol grubu sağlıklı gebelerden alınan örneklerle karşılaştırıldı. Bunun için yapılan H&E boyamada Kontrol grubunda az miktarda sinsityal nod ve perivillöz fibrinoid birikimi gözlendi. Ancak Hipotiroidi grubunda anlamlı oranda artmış sinsityal nod ve perivillöz fibrinoid

alanlar gözlendi. Bunun yanı sıra hipotiroidili plasentalarda villuslar içinde dilate olmuş kapiller damarlar gözlendi.

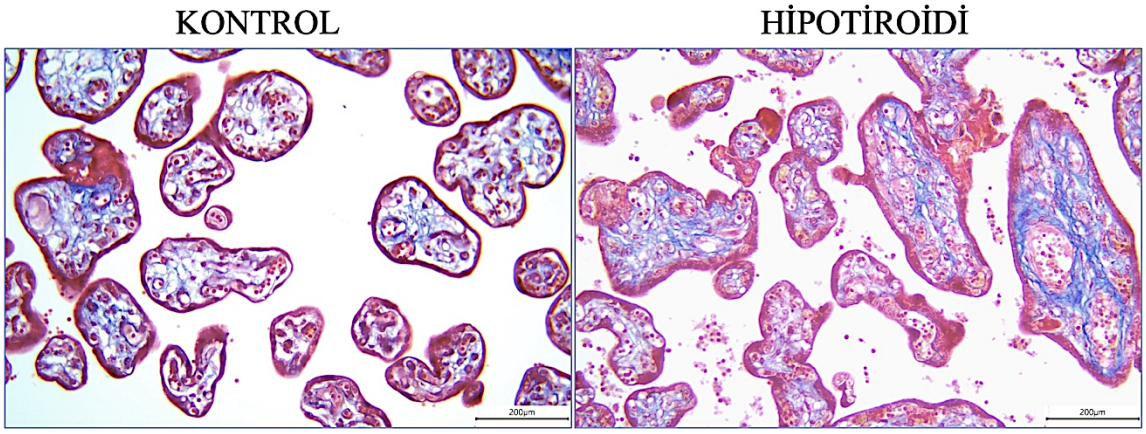


Şekil 12: Kontrol (A,B,C) ve Hipotiroidi (D,E,F) gruplarına ait plasentaların Hematoksilen&Eozin boyamaları. Siyah oklar Hofbauer hücrelerini, sarı oklar sinsityal nodları, yeşil oklar vasküler dilatasyonları ve (*) perivillöz fibrin birikimini göstermektedir.

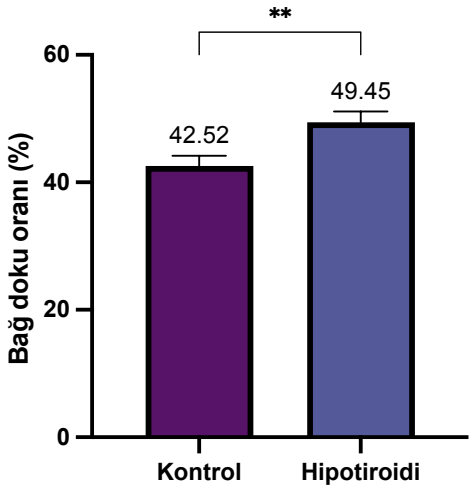


Grafik 2: H&E boyama ile Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait sinsityal nod ve perivillöz fibrinoid birikimi değerlendirmesi (*, p≤0.05; ****, p≤0.0001).

Masson Trichrome boyaması ile doku içerisindeki kollajen gösterildi. ImageJ kullanılarak yapılan bağ doku miktarının ölçümüne göre Hipotiroidi grubunda bağ doku oranı Kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir.



Şekil 13: Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait plasentaların Masson Trichrome boyaması.



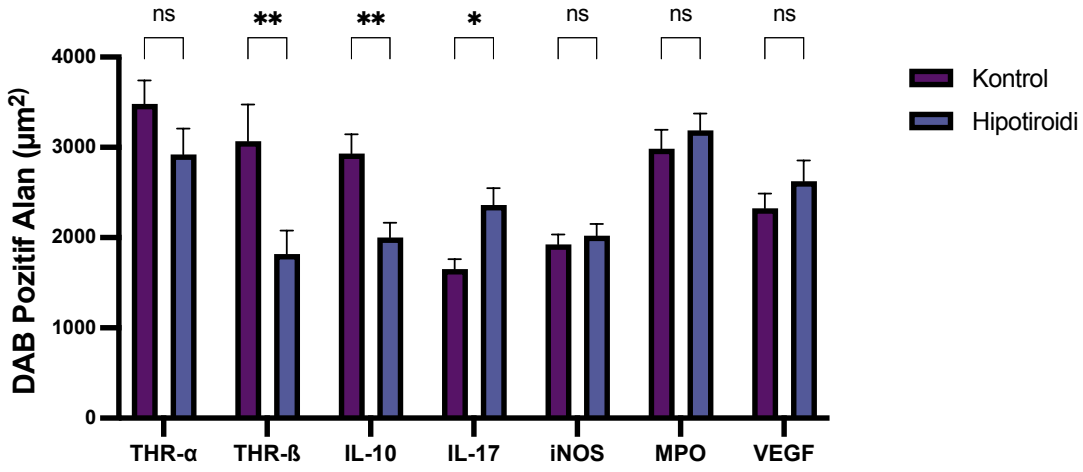
Grafik 3: Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait bağ doku oranı değerlendirmesi. (**, p≤0.01)

4.3. İmmunohistokimya Boyama

Kontrol ve Hipotiroidi grubundan alınan plasental örneklerde, plasental doku içerisindeki THRα, THRß, IL-10, IL-17, iNOS, MPO ve VEGF ekspresyonlarının DAB pozitif alan yoğunlukları değerlendirildi. Gruplara ait veriler Tablo 6'da verilmiştir. THRα'nın Hipotiroidi grubunda azalması istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken; THRß Hipotiroidi grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldı. IL-10 Hipotiroidi grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma gösterdi. IL-17 Hipotiroidi grubunda Kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış gösterdi. iNOS, MPO ve VEGF ekspresyonları Hipotiroidi grubunda Kontrol grubuna göre artış gösterdi ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Tablo 6: Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait IHC değerlendirmesi.

	Kontrol	**Hipotiroidi**	**P≤0.05**
THRα	3481,585±260,139	2921,986±286,587	0.854
THRß	3069,028±404,848	1817,939±260,711	0.004**
IL-10	2932,436±212,135	2000,521±164,513	0.002**
IL-17	1651,254±111,653	2362,847±185,745	0.044*
iNOS	1923,413±110,812	2022,056±130,887	>0.9999
MPO	2984,990±210,636	3187,148±186,447	>0.9999
VEGF	2324,031±164,446	2623,699±230,752	>0.9999
CD31	39,80±13,52	45,33±18,73	0.6450

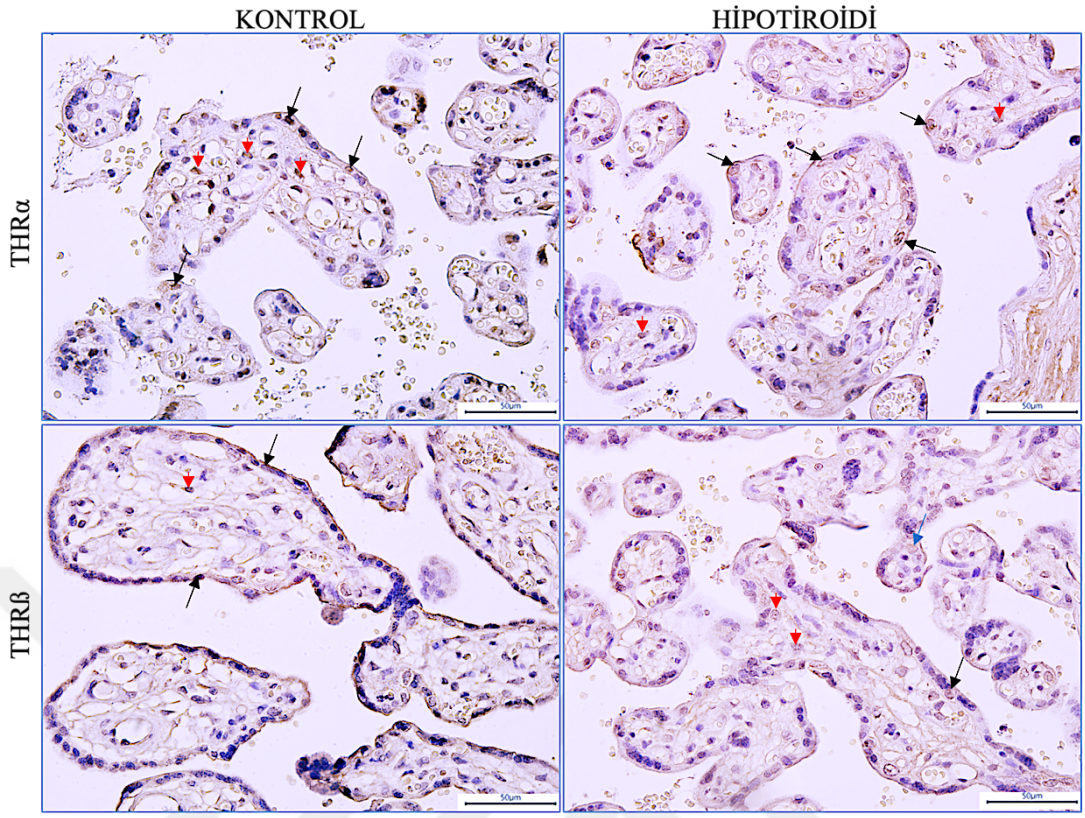


Grafik 4: İmmunohistokimya boyama sonucu protein alan yoğunluklarının gruplar arası karşılaştırılması (*, p≤0.05; **, p≤0.01; ns, non-significant).

THRα ve THRß

THRα ve THRß için yapılan immünohistokimyasal boyamalarda protein ekspresyonu sinsityotrofoblastik hücrelerde ve bazı villuslarda Hofbauer hücrelerinde pozitif şekilde görüldü.

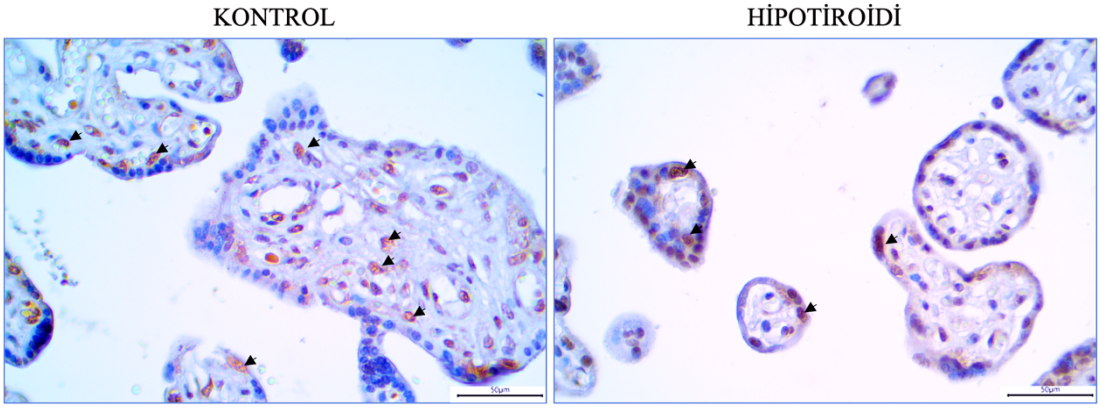
ImageJ ile yapılan DAB pozitif alanların ölçümünde THRα için Kontrol grubunda 3481,585±26,139, Hipotiroidi grubunda 2921,986±286,587 bulundu. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda azalma olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı (p=0.850) görüldü. THRß için yapılan alan ölçümünde ise Kontrol grubunda 3069,028±404,848, Hipotiroidi grubunda 1817,939±260,711 bulundu. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda THRß ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (p=0.004**) azaldığı görüldü.



Şekil 14: THRα ve THRß immunohistokimya boyaması (Siyah oklar, THRα+ ve THRß+ sinsityotrofoblastlar; kırmızı oklar THRα+ ve THRß+ Hofbauer hücreleri; objektif 40x).

IL-10

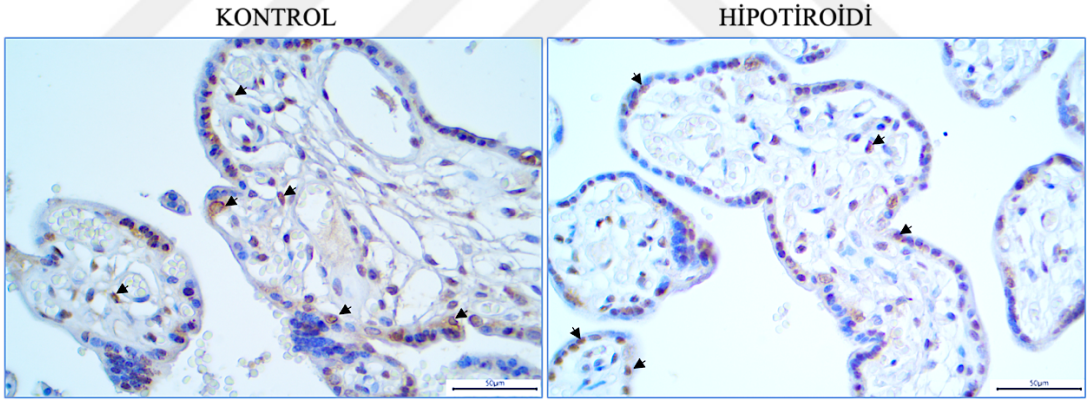
ImageJ ile IL-10 pozitif alanların ölçümü yapıldığında Kontrol grubunda 2932,436±212,135, Hipotiroidi grubunda 2000,521±164,513 bulundu. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda IL-10 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p=0.002^{**}$) azaldığı görüldü



Şekil 15: IL-10 immünohistokimya boyaması (Siyah oklar, IL-10+ hücreler; objektif 40x).

IL-17

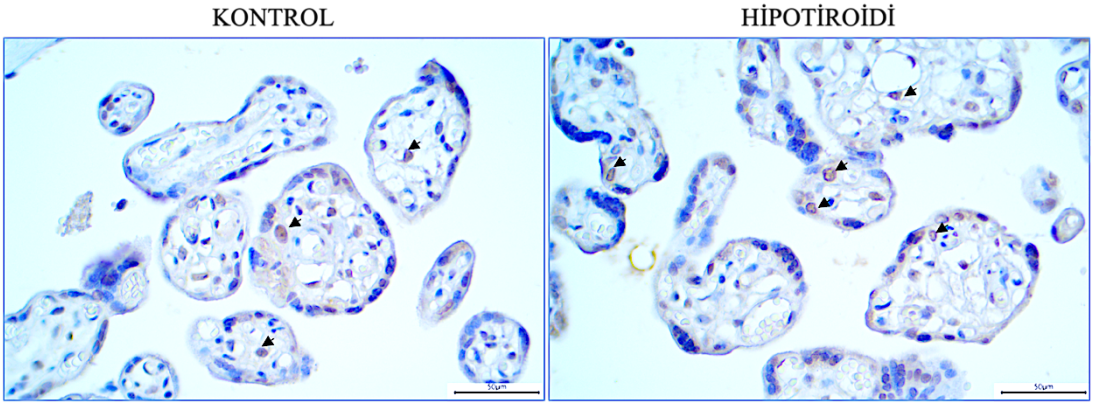
ImageJ ile IL-17 pozitif alanların ölçümü yapıldığında Kontrol grubunda 1651,254±111,653, Hipotiroidi grubunda 2362,847±185,745 bulundu. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda IL-17 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p=0.044^{*}$) arttığı görüldü



Şekil 16: IL-17 immünohistokimya boyaması (Siyah oklar, IL-17+ hücreler; objektif 40x).

iNOS

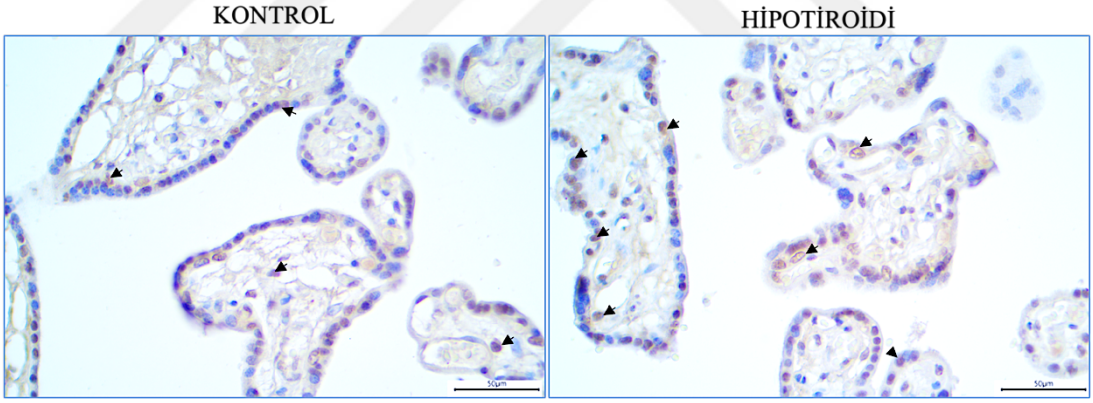
ImageJ ile iNOS pozitif alanların ölçümü yapıldığında Kontrol grubunda 1923,413±110,812 Hipotiroidi grubunda 2022,056±130,887 bulundu. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda iNOS ekspresyonunun arttığı görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05^{ns}$).



Şekil 17: iNOS immünohistokimya boyaması (Siyah oklar, iNOS+ hücreler; objektif 40x).

MPO

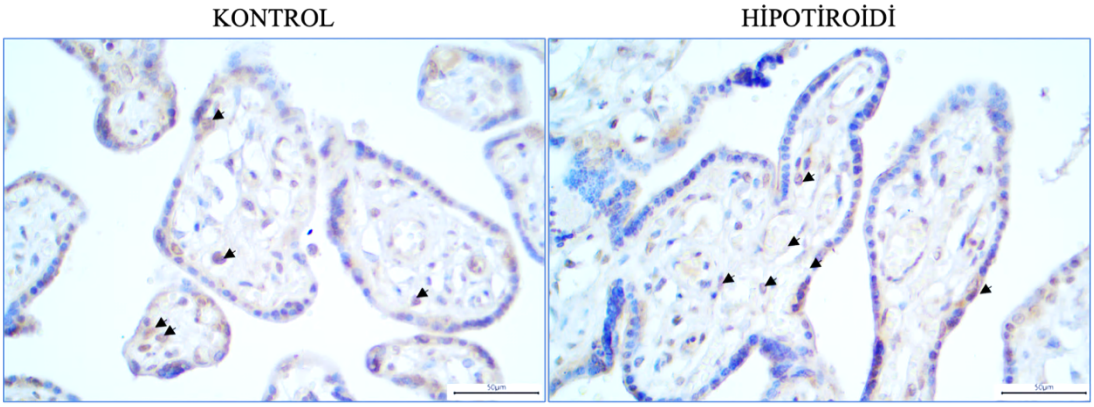
ImageJ ile MPO pozitif alanların ölçümü yapıldığında Kontrol grubunda 2984,990±210,636, Hipotiroidi grubunda 3187,148±186,447 bulundu. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda MPO ekspresyonunun arttığı görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05^{ns}$).



Şekil 18: MPO immünohistokimya boyaması (Siyah oklar, MPO+ hücreler; objektif 40x).

VEGF

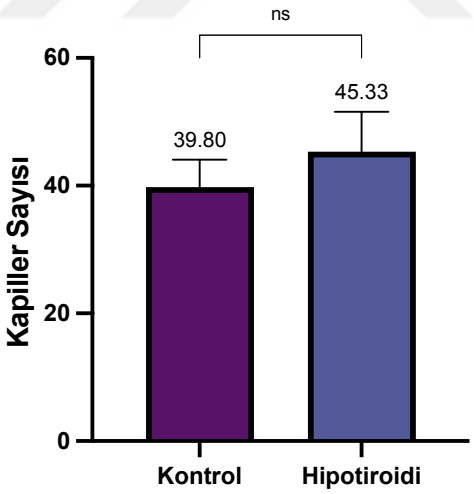
ImageJ ile VEGF pozitif alanların ölçümü yapıldığında Kontrol grubunda 2324,031±164,446, Hipotiroidi grubunda 2623,699±230,752 bulundu. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda VEGF ekspresyonunun arttığı görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05^{ns}$).



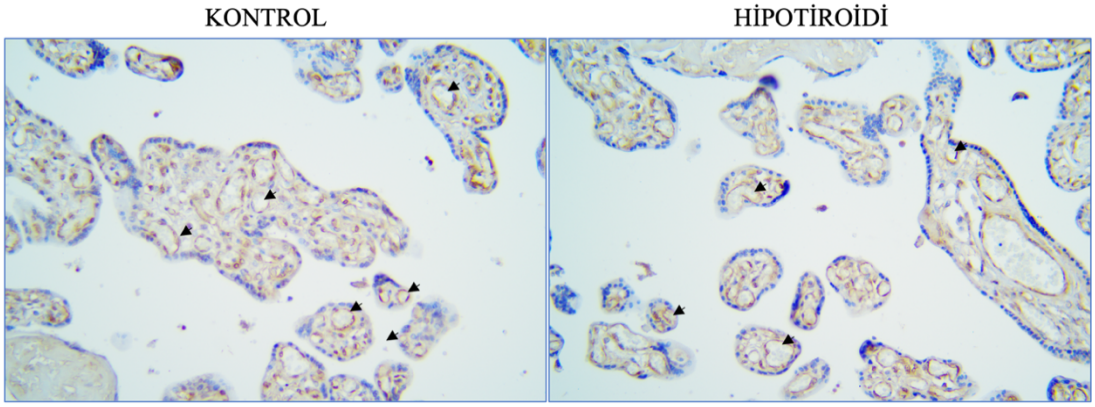
Şekil 19: VEGF immünohistokimya boyaması (Siyah oklar, VEGF+ hücreler; objektif 40x).

CD31

CD31 antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimya boyaması ile belirlenen kapillerler sayıldı. Her kesitten rastgele seçilen 10 alanda kapillerlerin sayımı yapıldı. Kontrol grubunda ortalama 39,80±13,52, Hipotiroidi grubunda 45,33±18,73 damar sayıldı. Bunun sonucunda Hipotiroidi grubunda Kontrol grubuna göre kapiller sayısında artış olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05^{ns}$).



Grafik 5: Gruplara ait CD31 pozitif kapiller sayımı (ns, non-significant).



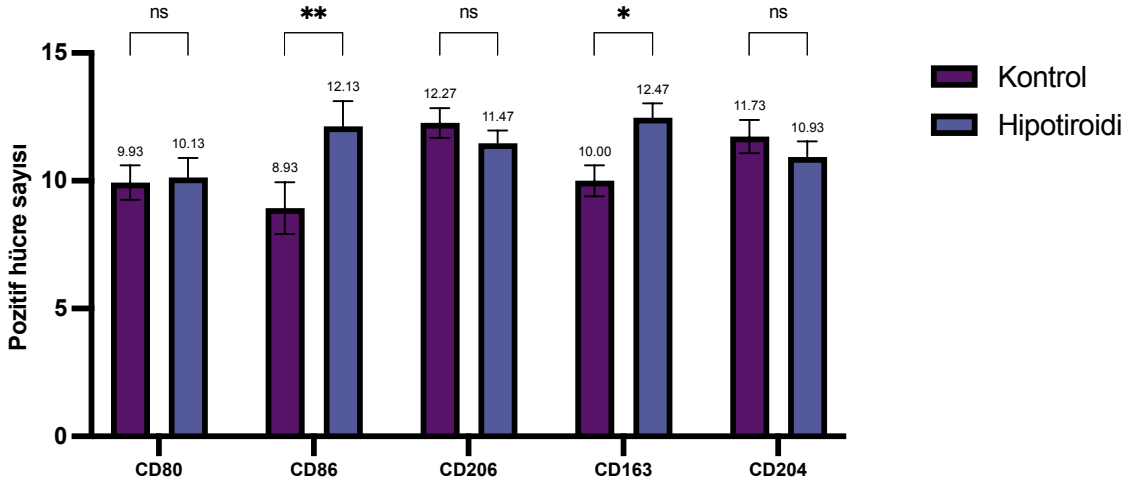
Şekil 20: CD31 immunohistokimya boyaması (Siyah oklar, CD31+ kapillerler; objektif 20x).

4.4. İmmunofloresan Boyama

Kontrol ve Hipotiroidi grubundan alınan plasental örneklerde M1 ve M2 fenotipli makrofajları gösterebilmek için immunofloresan boyama yapıldı. Gruplara ait veriler ortalama±SEM olarak **Tablo 7**'de verilmiştir. M1 markerı olan CD80 Hipotiroidi ve Kontrol gruplarında benzer seviyelerde eksprese olurken, CD86 anlamlı şekilde artmış gözlendi. M2 markerı CD206 ve CD204 Hipotiroidi grubunda azalırken, CD163 anlamlı düzeyde artmış gözlendi.

Tablo 7: Kontrol ve Hipotiroidi gruplarına ait pozitif hücre sayıları.

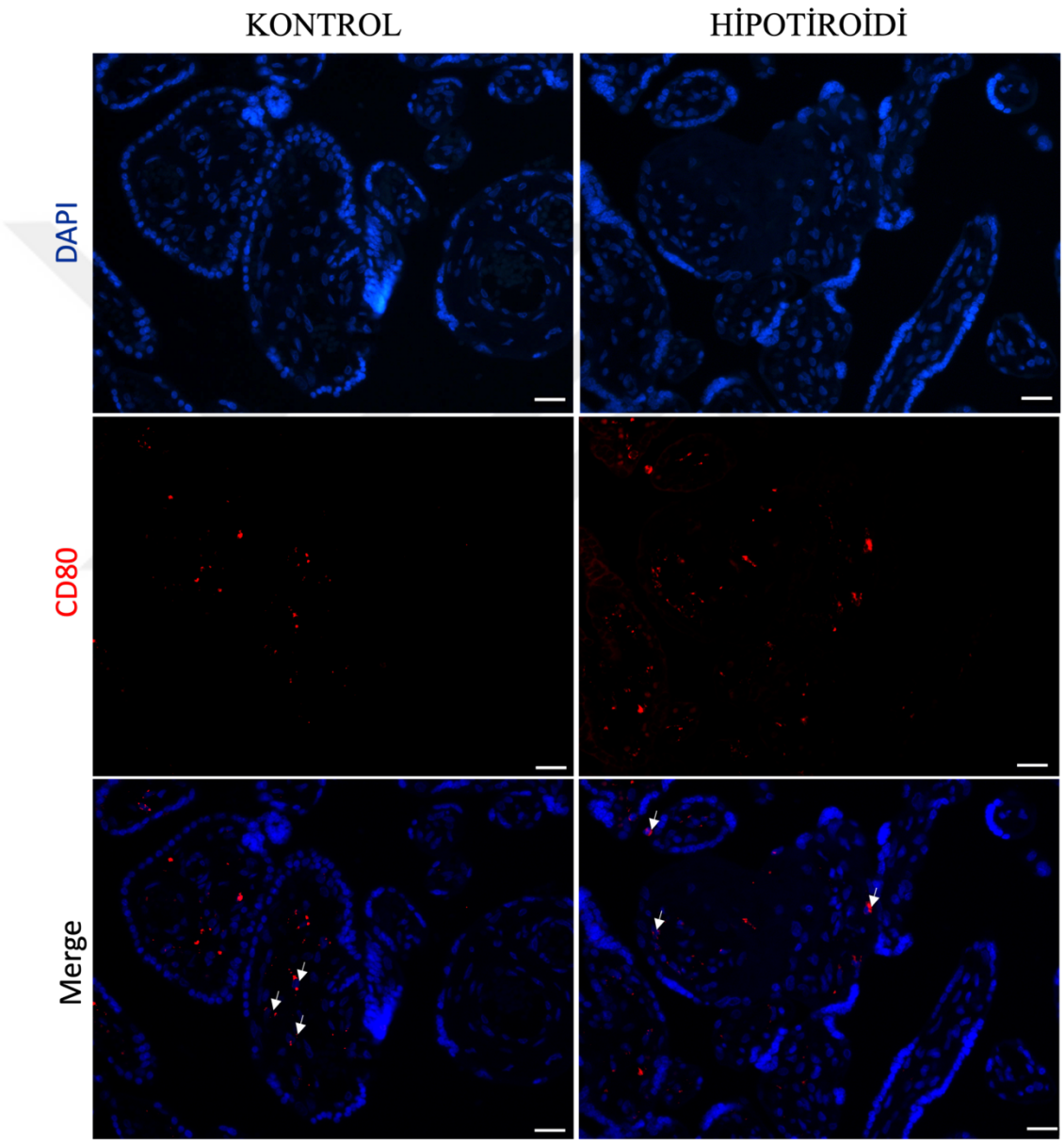
Marker	Kontrol	Hipotiroidi	P≤0.05
CD80	9.93±0.67	10.13±0.76	0.843
CD86	8.93±1.01	12.13±0.99	0.002**
CD206	12.27±0.58	11.47±0.51	0.429
CD163	10.00±0.69	12.47±0.56	0.015*
CD204	11.73±0.65	10.93±0.60	0.463



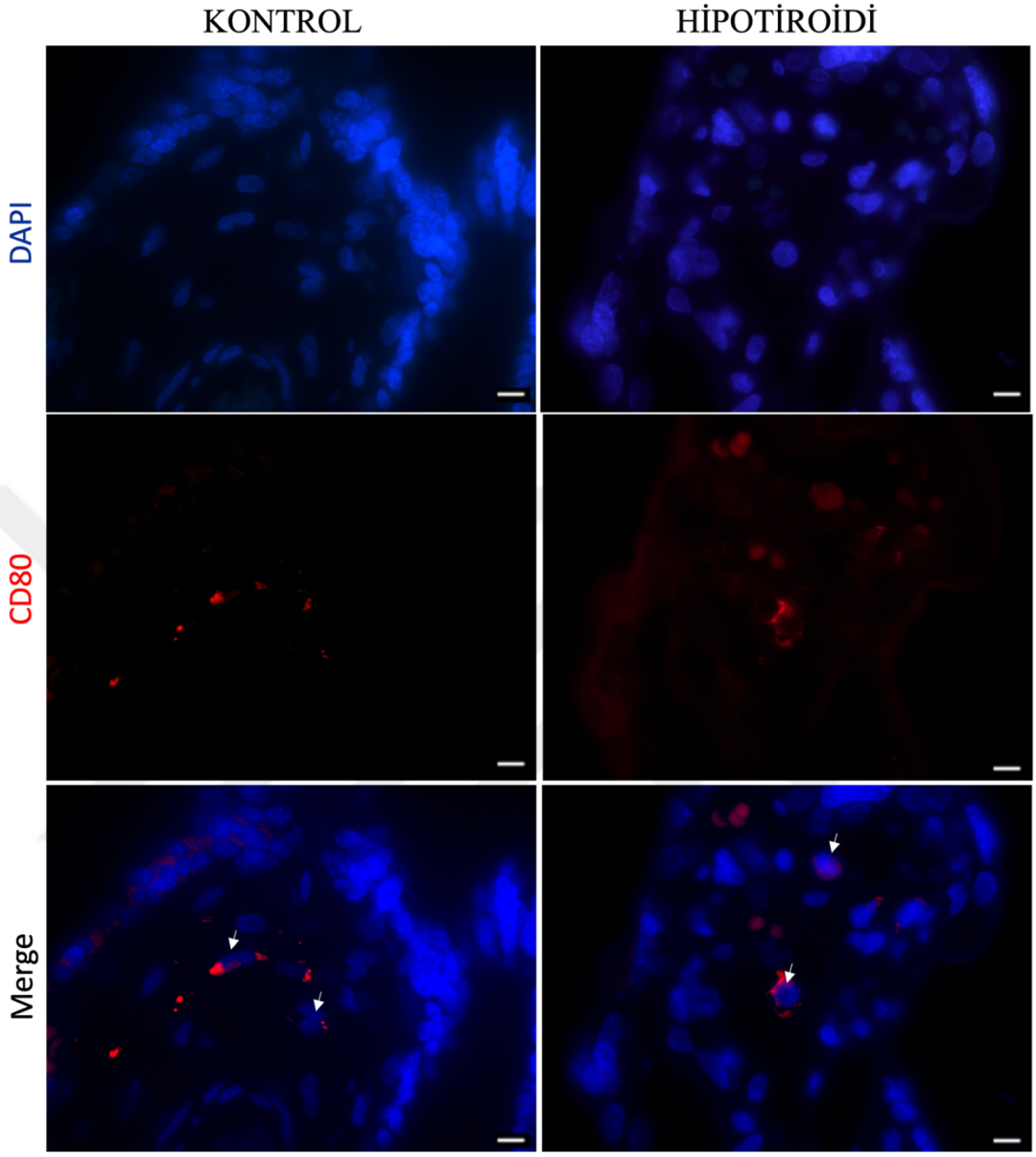
Grafik 6: İmmunofloresan boyama sonucu pozitif hücre sayısının gruplar arası karşılaştırması. (*, p≤0.05; **, p≤0.01; ns, non-significant)

CD80

CD80 M1 fenotipteki makrofajlar tarafından eksprese edilir. CD80+ Hofbauer hücre sayımı yapıldığında Kontrol grubunda 9,93±0,67, Hipotiroidi grubunda 10,13±0,76 pozitif hücre sayıldı. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda CD80+ Hofbauer hücre sayısının Kontrol grubuna göre arttığı görüldü ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05^{ns}$).



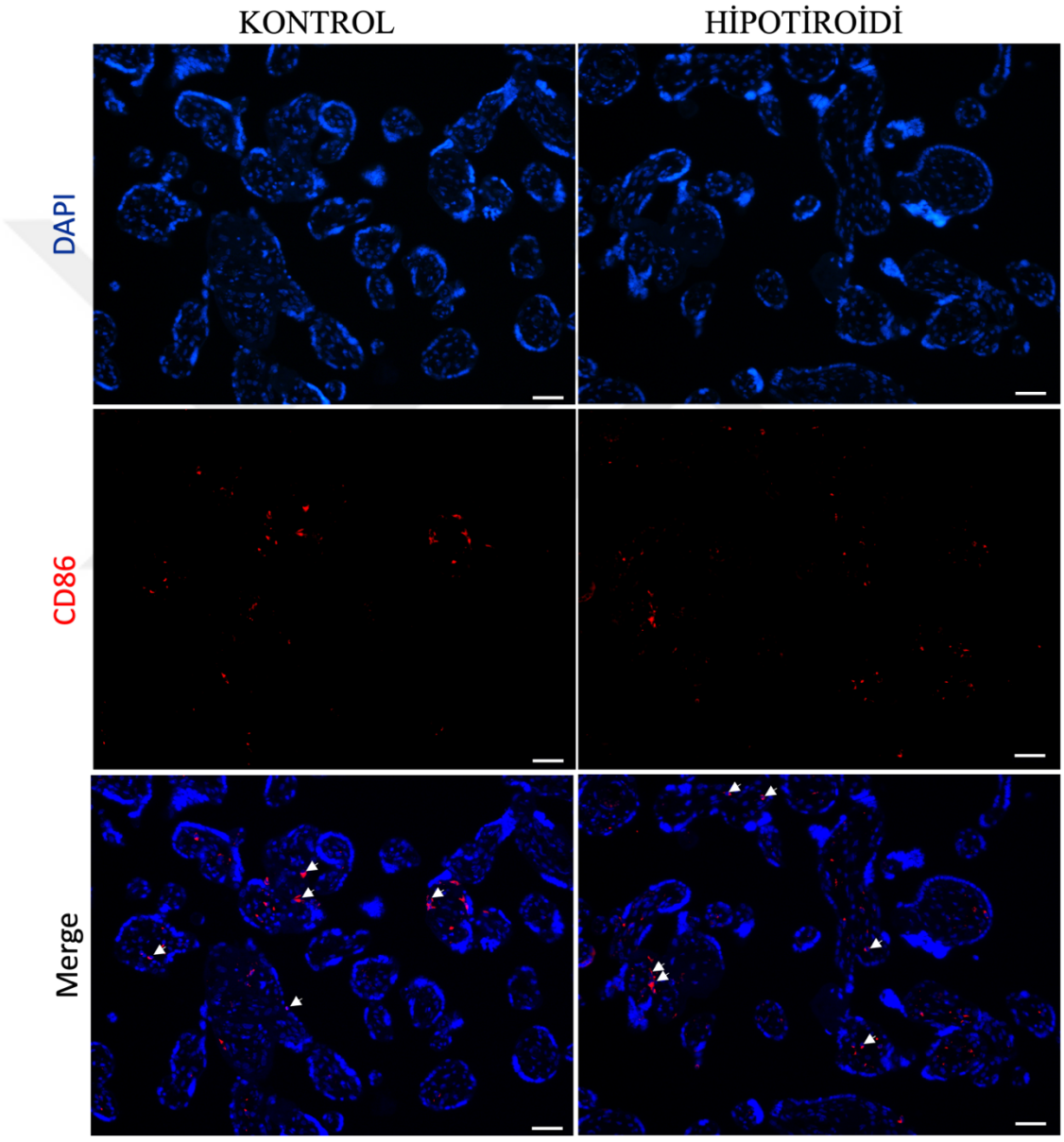
Şekil 21: CD80 immunofloresan boyaması (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 50µm).



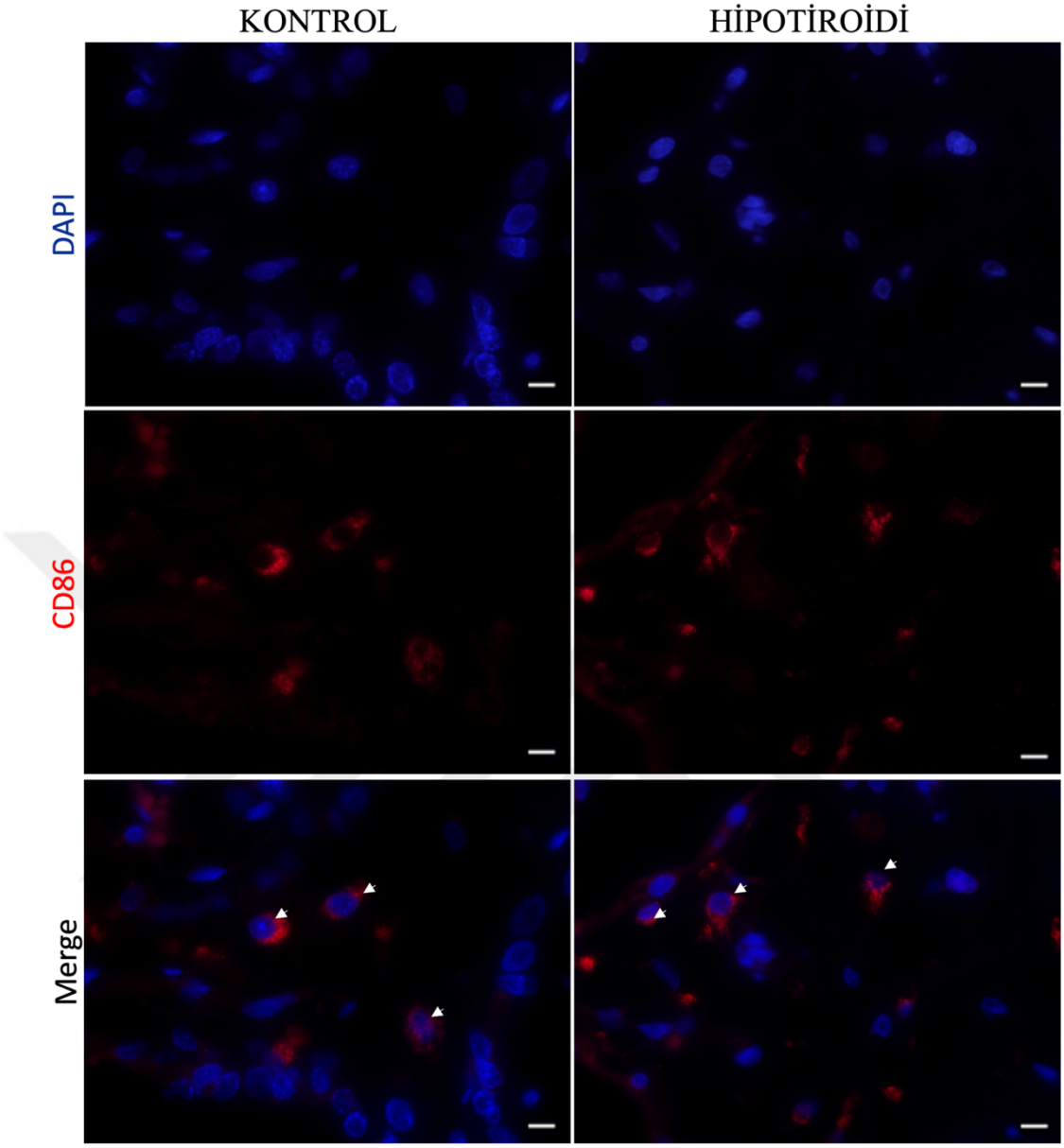
Şekil 22: CD80 immunofloresan boyaması (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 20µm).

CD86

CD86 M1 ve M2b fenotipteki makrofajlar tarafından eksprese edilir. CD86+ Hofbauer hücre sayımı yapıldığında Kontrol grubunda 8,93±1,01, Hipotiroidi grubunda 12,13±0,99 pozitif hücre sayıldı. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda CD86+ Hofbauer hücre sayısının Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.002^{**}$) düzeyde arttığı görüldü.



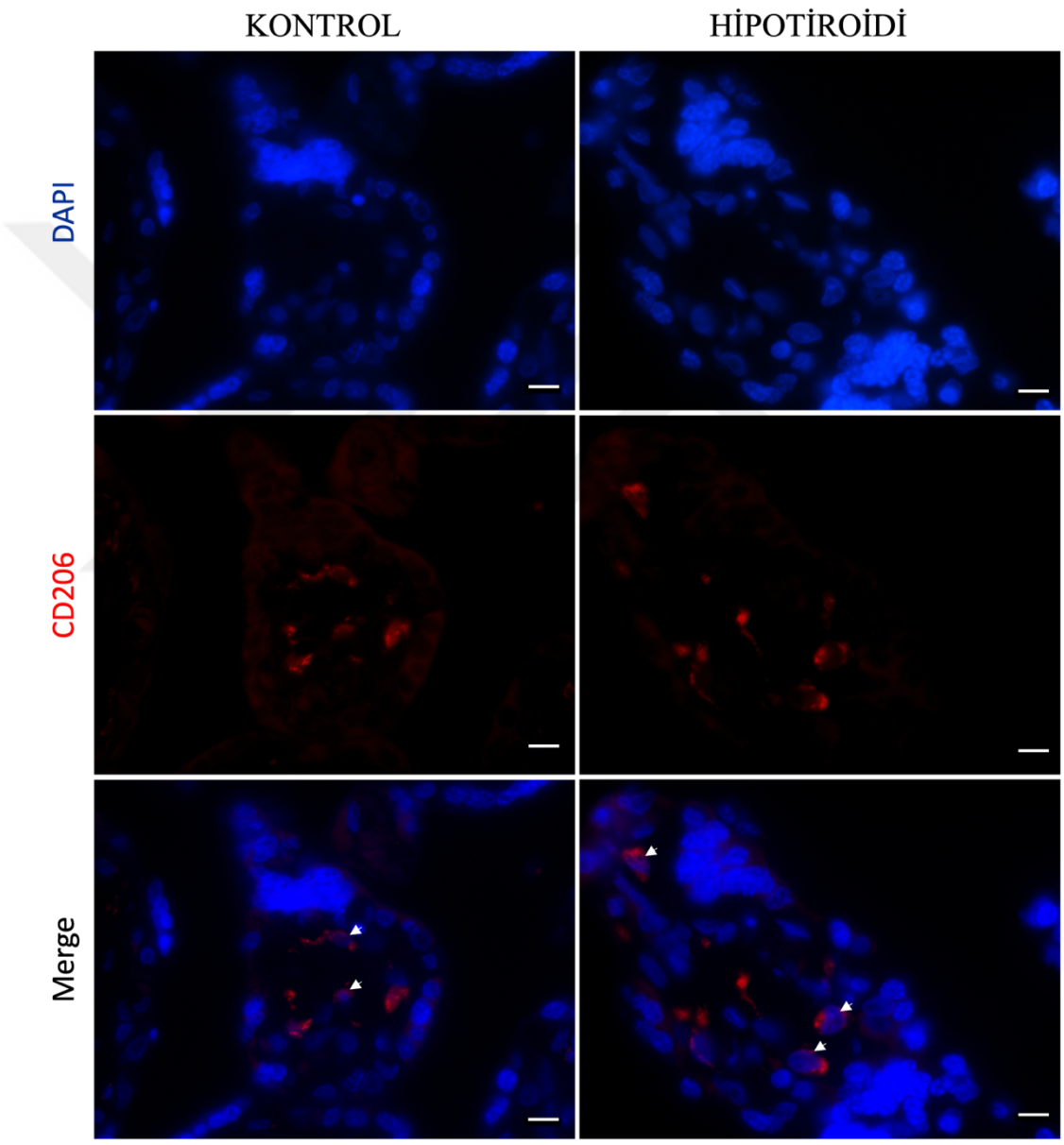
Şekil 23: CD86 immunofloresan boyaması (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 50µm).



Şekil 24: CD86 immunofloresan boyaması (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 20µm).

CD206

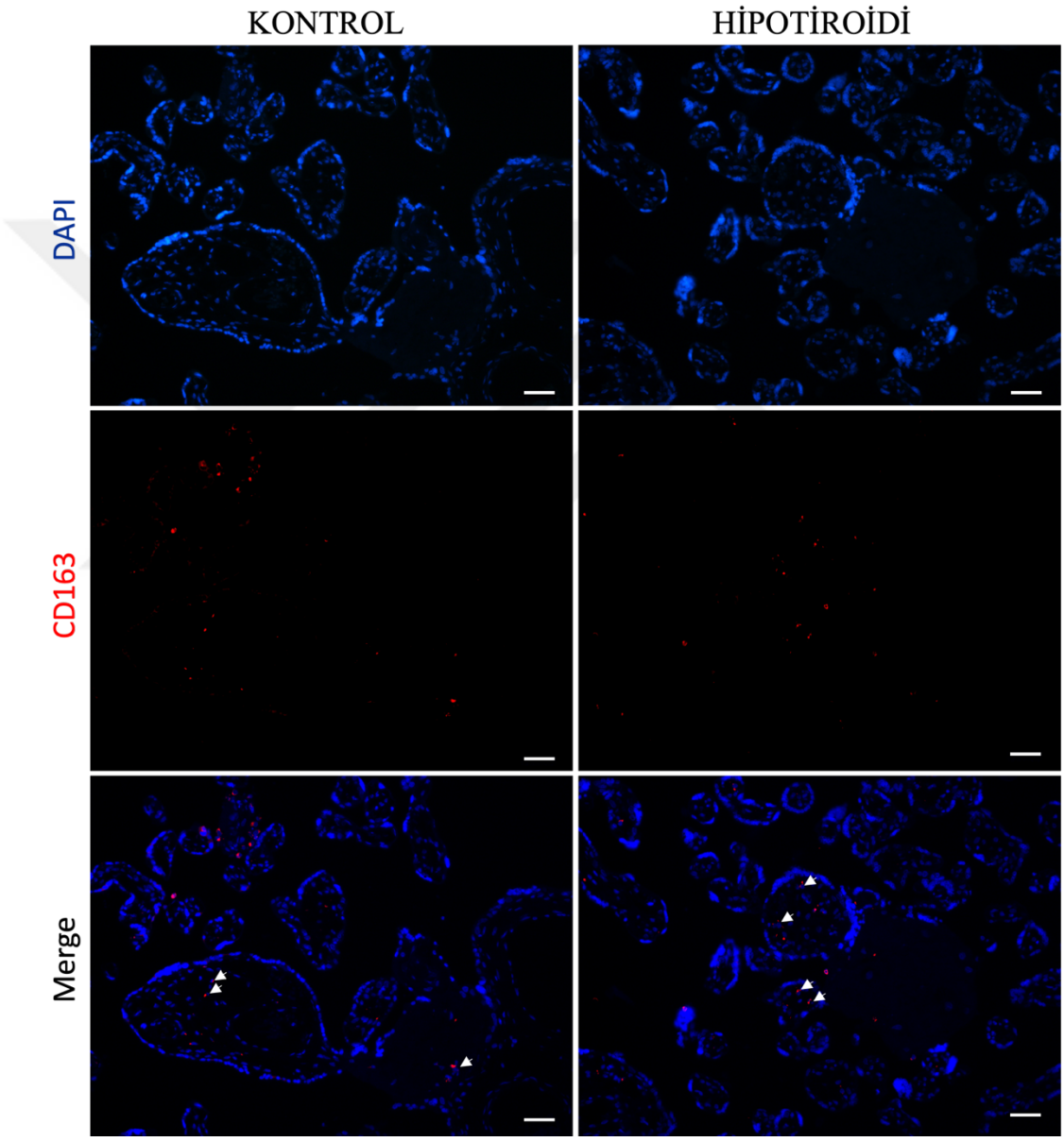
CD206 M2a ve M2c fenotipteki makrofajlar tarafından eksprese edilir. CD206+ Hofbauer hücre sayımı yapıldığında Kontrol grubunda 12,27±0,58, Hipotiroidi grubunda 11,47±0,51 pozitif hücre sayıldı. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda CD206+ Hofbauer hücre sayısının Kontrol grubuna göre azaldığı görüldü ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05^{ns}$).



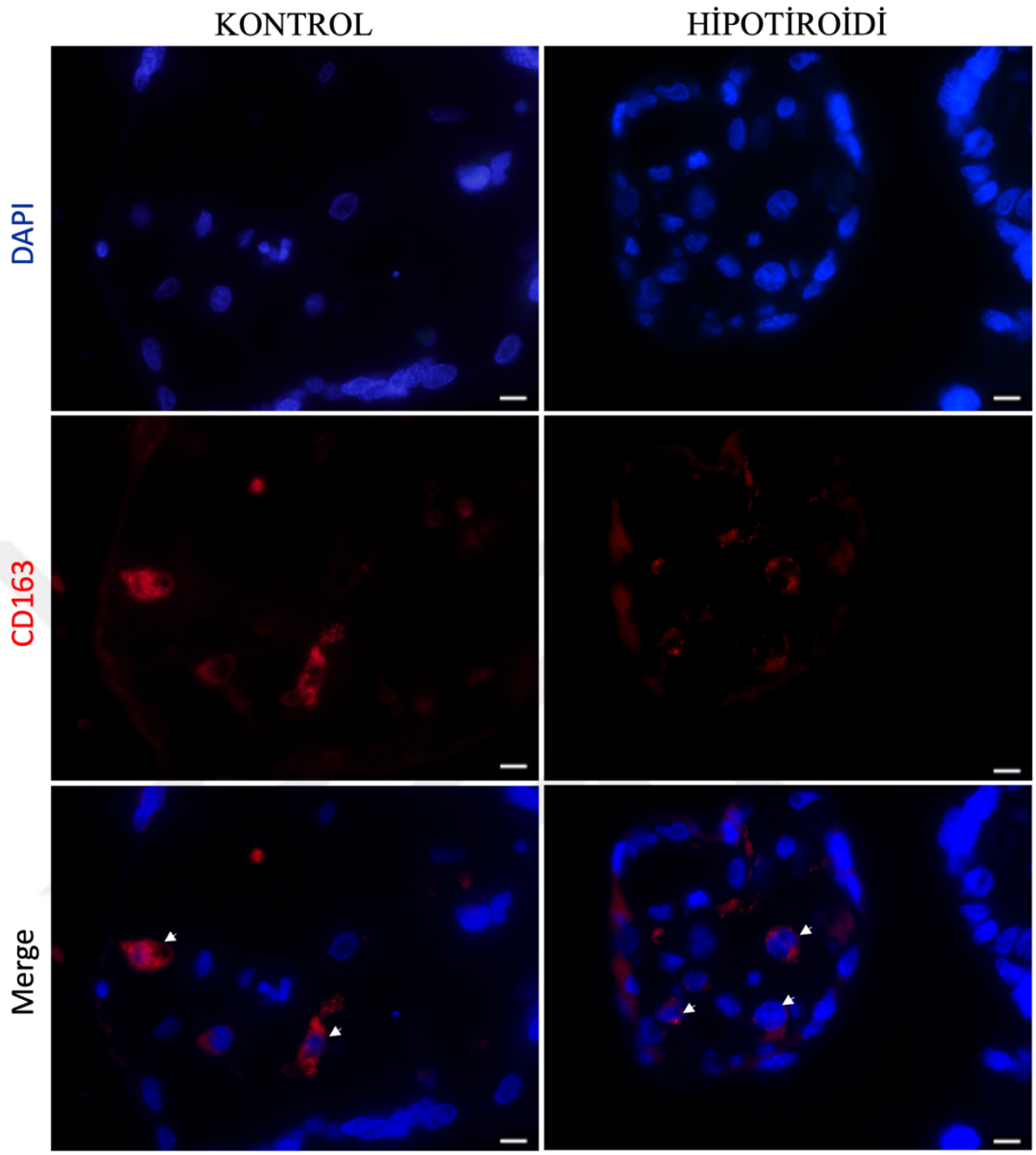
Şekil 25: CD206 immunofloresan boyamaları (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 20µm).

CD163

CD163 M2a ve M2c fenotipteki makrofajlar tarafından eksprese edilir. CD163+ Hofbauer hücre sayımı yapıldığında Kontrol grubunda 10,00±0,69, Hipotiroidi grubunda 13,47±0,56 pozitif hücre sayıldı. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda CD163+ Hofbauer hücre sayısının Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.015^{*}$) düzeyde arttığı görüldü.



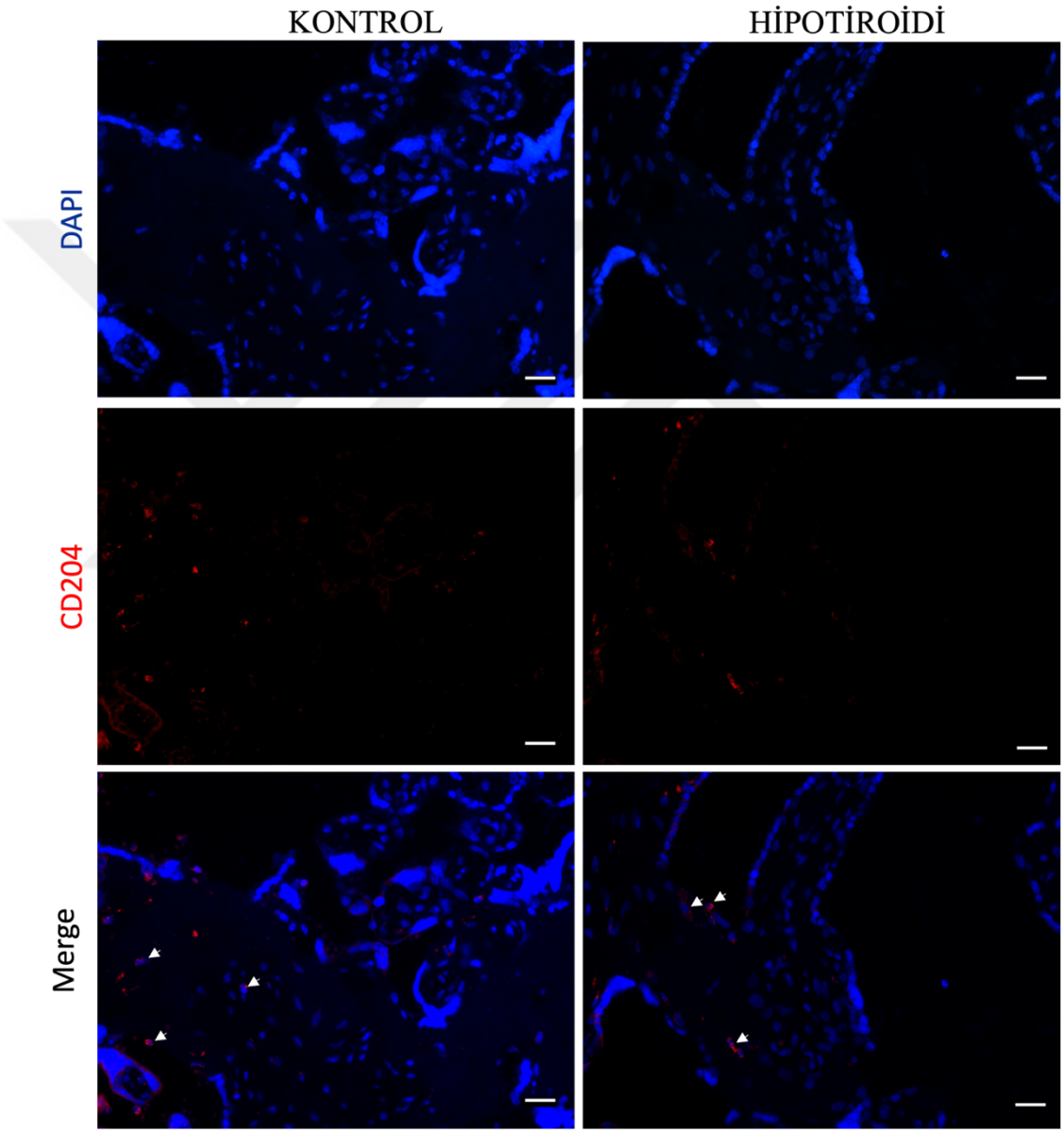
Şekil 26: CD163 immunofloresan boyamaları (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 50µm).



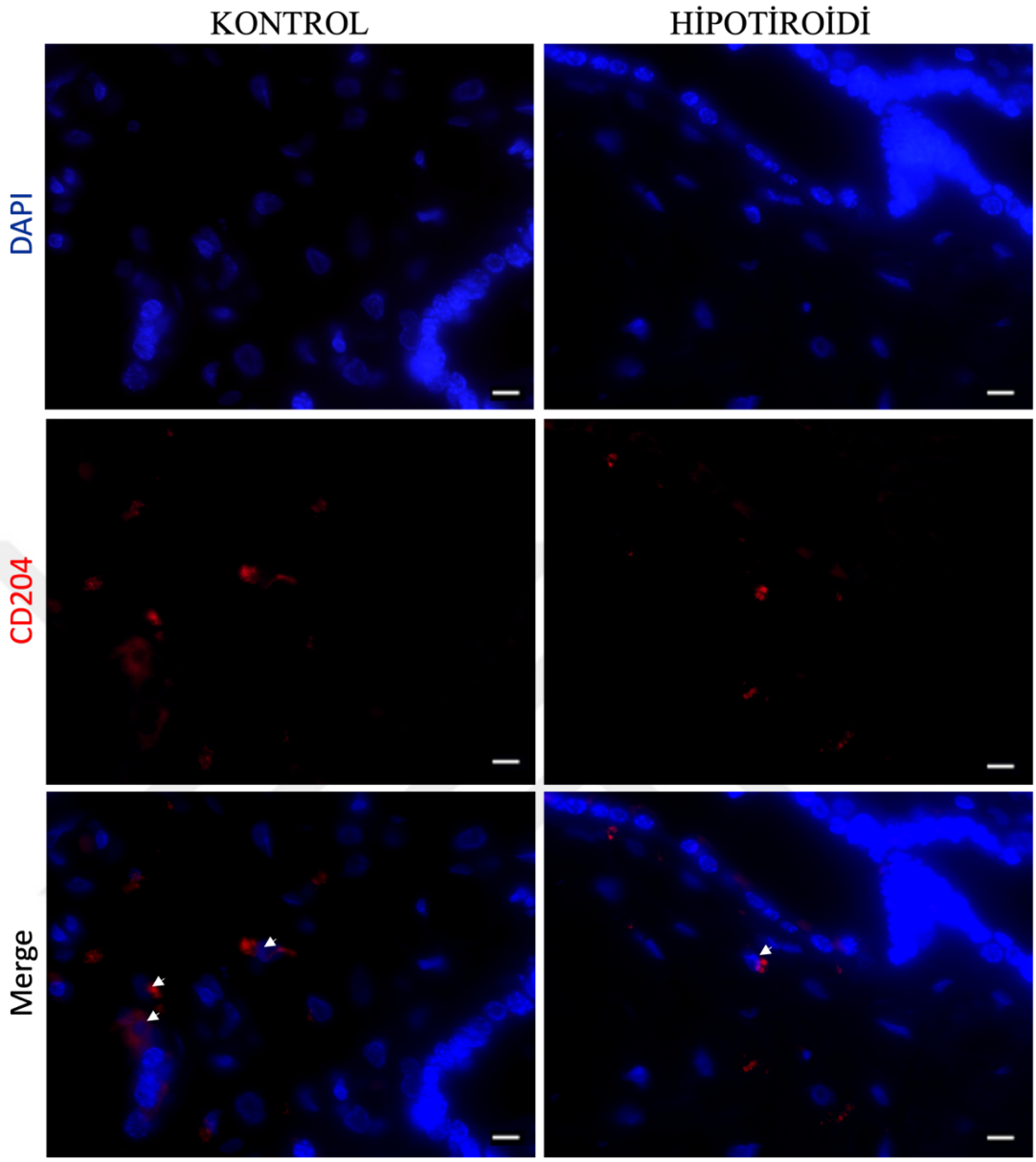
Şekil 27: CD163 immunofloresan boyaması (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 20µm).

CD204

CD204 M2d fenotipteki makrofajlar tarafından eksprese edilir. CD204+ Hofbauer hücre sayımı yapıldığında Kontrol grubunda 11,73±0,65, Hipotiroidi grubunda 10,93±0,60 pozitif hücre sayıldı. İki grup karşılaştırıldığında Hipotiroidi grubunda CD204+ Hofbauer hücre sayısının Kontrol grubuna göre azaldığı görüldü ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05^{ns}$).



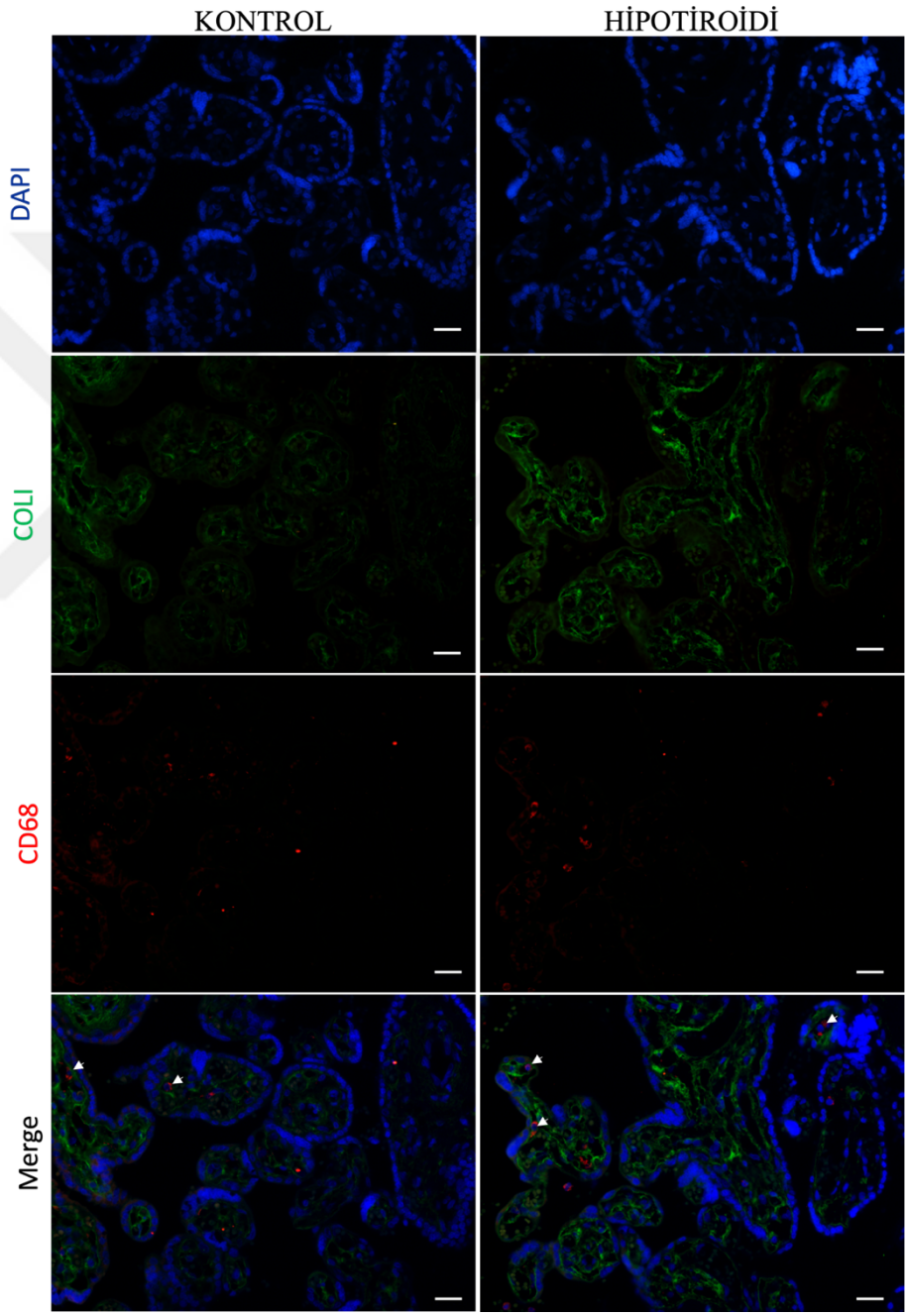
Şekil 28: CD204 immunofloresan boyamaları (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 50µm).



Şekil 29: CD204 immunofloresan boyaması (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 20µm).

COLI

Plasental villuslar içerisindeki Collagen I ve M1 makrofajlar tarafından eksprese edilen CD68 ile boyama yapıldı. Masson Trichrome boyaması ile yapılan analizde bağ doku oranının Hipotiroidili plasentalarda daha fazla olduğu bulunmuştu. İmmünofloresan boyamada da Hipotiroidi grubunda belirgin ColI ekspresyonu gözlendi.



Şekil 30: COLI ve CD68 immunofloresan boyamaları (beyaz oklar, Hofbauer hücreleri; ölçek çubuğu 50µm).

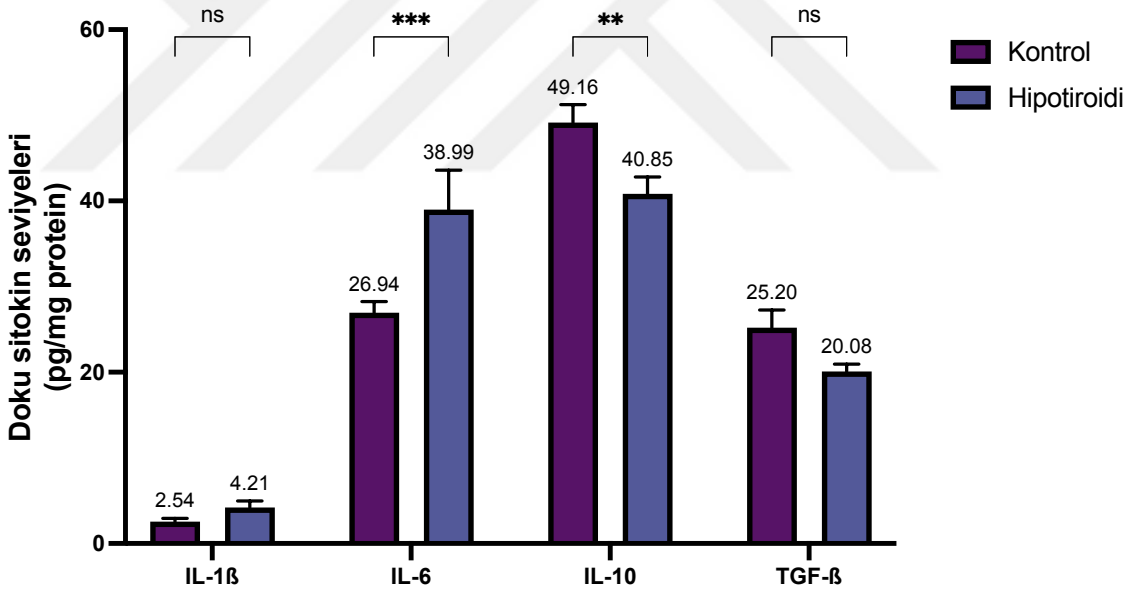
4.5. ELISA

Plasental dokudan alınan örneklerde ELISA ile yapılan IL-1ß, IL-6, IL-10 ve TGF-ß seviyeleri değerlendirildi.

Bunun sonucunda dokudaki pro-inflamatuvar sitokinler IL-1ß ve IL-6 Hipotiroidi grubunda artış gösterirken, anti-inflamatuvar sitokinler IL-10 ve TGF-ß azalmış olarak gözlendi. Elde edilen veriler **Tablo 8**'da ortalama±SEM olarak verilmiştir.

Tablo 8: Doku içerisindeki sitokin ve büyüme faktörlerinin ELISA verileri.

	Kontrol	**Hipotiroidi**	**P≤0.05**
IL-1ß	2.54±0.40	4.21±0.75	0.952
IL-6	26.94±1.32	39.00±4.59	0.001***
IL-10	49.15±2.11	40.85±1.95	0.006**
TGF-ß	25.20±2.06	20.08±0.86	0.210



Grafik 7: Doku sitokin seviyelerinin ELISA ile değerlendirilmesi (**, p≤0.01; ***, p≤0.001; ns, non-significant).

5. TARTIŞMA

Normal bir gebelik, anne ve fetüs sağlığını düzenlemek için fizyolojik değişiklikler gerektirir. Bu adaptasyonlar çok yoğundur ve annenin neredeyse tüm organ sistemlerini etkilemektedir. Gebeliğin erken döneminde yüksek hCG seviyeleri, TSH'ın rolünü taklit eder (110). Bu fizyolojik etki belirgin şekilde görülür ve TSH buna bağlı olarak ilk trimesterde anlamlı bir değişikliğe sebep olur. Bu nedenle gebelikte tiroid hormonlarının değerlendirilmesi gebeliğe özgü referans aralıklarının kullanılmasını gerektirir (111).

Tiroid hormonları maternal metabolizmayı, plasentayı ve fetal gelişimi düzenlediği için gebelikte oldukça önem taşımaktadır ve hipotiroidizm gebelikte en sık gözlenen kronik hastalıklar içerisinde yer almaktadır (112, 113). Subklinik hipotiroidizm, serum TSH konsantrasyonunun yükselmesi ve serbest T3 ve T4'ün normal serum seviyesi ile karakterize, asemptomatik ve hafif tiroid yetmezliğidir (114, 115). Güncel literatür verileri, maternal subklinik hipotiroidizmin annelerde gestasyonel hipertansiyon, erken koryoamniyotik membran rüptürü, plasenta abrupsiyonu, düşük ve fetüslerde düşük doğum ağırlığı (<2500 gr), prematüre doğum ve fetal distres riskini artırdığını göstermektedir (108, 116, 117).

Hofbauer hücreleri, doku homeostazisini ve tolerojenik ortamı koruyarak plasenta fizyolojisinde önemli ve aynı zamanda farklı bir rol oynar (77, 78, 103, 118). Hofbauer hücrelerinin plastisitesi, hem M1 hem de M2 polarizasyon markerlarını eksprese eden fenotipleri ile iyi şekilde karakterize edilmiştir (103, 119, 120). Plasentada M2a, M2b ve M2c makrofajlarının varlığı, normal Hofbauer hücre popülasyonunda rejeneratif ve doku yeniden modelleme fonksiyonunun yanı sıra pro- ve anti-immünolojik fonksiyonların da mevcut olduğunu gösterir (103).

Sinsityal nodlar terminal villus yüzeyindeki sinsityal nükleus kümeleridir. Term plasentada, histolojik kesitlerde gözlenen nodların çoğu sinsityal dallanmalar, köprüler veya apoptotoz bölgeleridir (121). Patolojik durumlarda plasentada sinsityal nod ve perivillöz fibrinoid artışının olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (122, 123). Bizde çalışmamızda hipotiroidik plasentaların histomorfolojik skorlamasında sinsityal nod ve perivillöz fibrinoid birikiminin kontrol grubu plasentalara göre anlamlı olarak daha fazla olduğunu gözlemledik. Sağlıklı bir gebelikte Hofbauer hücrelerinin plasentadaki temel rollerinden birisi ekstraselüler matriksin yeniden modellenmesi,

büyümesi ve villöz dallanmanın sağlanmasıdır (78, 124). Bizde çalışmamızda Masson Trichrome boyama ile villuslar içindeki bağ doku düzenlenmesini gösterdik. Yaptığımız ölçümde hipotiroidi grubunda kontrol grubuna göre bağ doku yüzdesinde anlamlı artış olduğunu gözlemledik.

Hem maternal hem de feto-plasental immün sistem gebeliğin gelişiminde önemli bir rol oynar (125). Bu nedenle, immün sistemin feto-maternal toleransın ve plasental gelişimin korunmasına katkıda bulunduğu normal bir gebeliğin aksine; pro-inflamatuvar bir ortam innate immün hücrelerin aşırı aktivasyonuna ve sonuç olarak plasental fonksiyon bozukluğuna yol açar (126–128). Makrofajlar, inflamasyonun düzenlenmesi, doku homeostazisi ve savunma için hayati öneme sahip hücrelerdir. Birçok dokuda ilk savunma hattını temsil ederler ve hem akut hem de çözümleyici immün cevap için önemli yer tutarlar (129). Uyaranlara hızlı ve doğrudan yanıt vermelerine ve mikro-çevresel ortamlarına uyum sağlama yeteneklerine olanak sağlayan olağanüstü yetenekleri nedeniyle, gebeliğin ilerlemesinde kilit rol oynarlar. Bu plastisiteleri nedeniyle makrofajlara M1 ve M2 olmak üzere iki fenotip tanımlanmıştır (99, 130). Farklı polarizasyon durumları arasındaki denge sıklıkla inflamasyonun çözümünde veya ilerlemesinde önemli rol oynar (131, 132). Hofbauer hücreleri plasental dokuya ait makrofajlardır. Sağlıklı bir plasentada yer alan Hofbauer hücrelerinin M2 fenotip gösteren (88, 103, 119, 120, 133), büyük vakuollü uzun iğsi hücreler olduğu bilinmektedir (74). Diğer doku makrofajlarında olduğu gibi fenotipik heterojeniteleri sebebiyle birçok işlevi yerine getirirler (134). Çevresindeki birçok plasental hücre ile etkileşime girerek trofoblast fonksiyonunu (76, 135), dokunun yeniden modellenmesini (78) ve anjiyogenezi teşvik ettikleri (75, 77, 78, 103) bilinmektedir. Çalışmamızda da Hipotiroidili plasentalarda VEGF ekspresyonunun arttığı ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı görüldü.

M2 makrofajlar kendi içlerinde 4 alt gruba sahiptir; M2a, M2b, M2c ve M2d. Yüzey markerları ve sekrete ettikleri sitokinler bakımından farklılıklar gösterirler. Sağlıklı bir plasentada Hofbauer hücrelerinin M2a, M2b ve M2c alt tiplerinin karışımı olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (103). M2a makrofajlar, inflamasyonu çözmeyi, yara onarımını ve doku rejenereasyonunu destekleyen hücrelerdir. Yüksek düzeyde IL-10 ve TGF-ß ve CD163, CD206 ve CD209 yüzey markerlarını eksprese ederler. M2b makrofajlar, artan fagositik aktivite ve immunomodülatör aktivite ile

ilişkilidirler. Hem pro-inflamatuvar (IL-6, IL-1ß ve TNF-α) ve anti-inflamatuvar (IL-10) sitokinleri salgılarlar. De-aktive makrofajlar olarak da bilinen M2c makrofajlar IL-10 ve TGF-ß sekrete eder ve CD163, CD206 eksprese ederler. M2d makrofajlar ise tümör ilişkili makrofajlar olarak bilinirler ve tümör mikro çevresinde yaygın gözlenirler. Yüksek düzeyde IL-10 ve VEGF sekrete ederler (136). Çalışmamızda M1 fenotip için CD80 ve CD86, M2 fenotip için CD206, CD204 ve CD163 yüzey markerlarını kullandık. Yaptığımız immunofloresan boyamada CD86'nın Hipotiroidili gebelerde anlamlı düzeyde artış gösterdiği görüldü.

Trofoblastlar tiroid hormonlarını intraselüler olarak işler ve daha sonra tiroid hormonları özellikle de T3 nukleustaki THR'ne bağlanır ve fizyolojik etkilerini gösterir (137). Yapılan çalışmalarda villus ve desiduadaki THR (α ve ß) ekspresyonlarının, spontan ve tekrarlayan düşüklerde down-regüle olduğunu göstermişler (138, 139). Bizde çalışmamızda THRα ve THRß için immünohistokimyasal boyama yaptık ve Hipotiroidili gebelerde THRα ve THRß'nın azaldığı görüldü. THRß'da ki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu görüldü. Azalan bu reseptör ekspresyonlarının Hipotiroidili gebelerde görülen düşükler, gelişim geriliği gibi komplikasyonlar ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

Hipotiroidizm inflamatuvar sitokinlerin (CRP, IL-6, TNF-α gibi) artışı ile karakterize bir süreçtir. Bu inflamatuvar markerlar hipotiroidizm ile ilişkili endotelyal disfonksiyon, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonu ve inflamatuvar hücrelerin alımı ve aktivasyonu gibi birçok patolojik süreç ile ilişkili durumdadır. Ayrıca, INF-γ üretimini uyararak apoptozisi de düzenleyebilirler. Tayde ve ark. (140) yaptıkları hipotirodizim ve depresyon ilişkisi ile ilgili çalışmasında hipotiroidi hastalarındaki CRP, TNF-α ve IL-6 seviyelerinde artış olduğunu göstermişlerdir.

IL-17 bir pro-inflamatuvar sitokindir ve CD8+ T hücreleri, NK hücreleri ve Th17'ler tarafından sekrete edilir (141). Daha önceki çalışmalarda IL-17 sekresyonunun makrofajları pro-inflamatuvar bir transkriptoma doğru polarize ettiğini ve IL-6 ve CCL2 (142) ve IL-1ß ve TNF-α (143) gibi sitokinleri up-regule ettiğini göstermiştir. Çalışmamızda da IL-17 immünohistokimya boyamasında IL-17 ekspresyonunun anlamlı düzeyde artış gösterdiği görüldü. Hipotiroidi ile birlikte artan IL-17 sekresyonunun Hofbauer hücrelerinin pro-inflamatuvar yönde polarizasyonunu indükleyebileceği düşünülmüştür.

Tiroid hormonlarının vücuttaki oksijen ve antioksidan tüketiminin önemli düzenleyicileri olduğu bilinmektedir ve tiroid hipofonksiyonu antioksidan aktivite ve lipid metabolizmasından ödün vermenin yanı sıra ROS üreten mitokondri içindeki elektron transport zincirini de etkiler. Her ne kadar hipotiroidizmin pankreas, beyin, karaciğer ve kalp gibi çeşitli organlarda redoks durumunu etkilediği kanıtlanmış olsa da maternal – fetal arayüzde oksidatif strese sebep olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Çalışmalar, pre-eklamptik plasentada MMP-2 ve 9 ve IL-10 ekspresyonunu azalttığını göstermiştir. Bu durumun plasental oksidatif stres ile ilişkili olduğu bilinmektedir (144–147). MPO artışının IUGR ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (148). Aslında mikrobisidal bir enzim olan MPO aynı zamanda LDL oksidasyonunu indükler ve metalloproteazları aktive eder. Bu durum inflamatuvar bir ortam oluşturur. Bu da makrofajların M1 yönde polarize olmasına sebep olabilir. Çalışmamızda MPO ve iNOS ekspresyonlarının Hipotiroidili plasentalarda arttığı ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı görüldü. IL-10 ekspresyonunun ise Hipotiroidili plasentalarda anlamlı düzeyde azaldığı görüldü.

Makrofajların M1 ve M2 fenotipte sekrete ettiği sitokin seviyelerine bakmak için Pavlov ve ark. (149) yaptığı çalışmada LPS uygulaması ile M1 fenotipi uyarılan hücrelerde IL-1β, TNF-α ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin artış gösterdiği görülmüş. Yao ve ark. (136) pre-eklamptik plasentalarda TNF-α, IL-6 ve IL-8 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin arttığını, IL-10 gibi anti-inflamatuvar sitokinlerin azaldığını göstermiştir. Bizde yaptığımız çalışmada doku içerisindeki pro-inflamatuvar sitokinler olan IL-1ß ve IL-6 seviyelerinde Hipotiroidi grubunda artış olduğunu ve IL-6'nın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdiği; anti-inflamatuvar sitokinler IL-10 ve TGF-ß seviyelerinde azalma olduğu ve IL-10 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü.

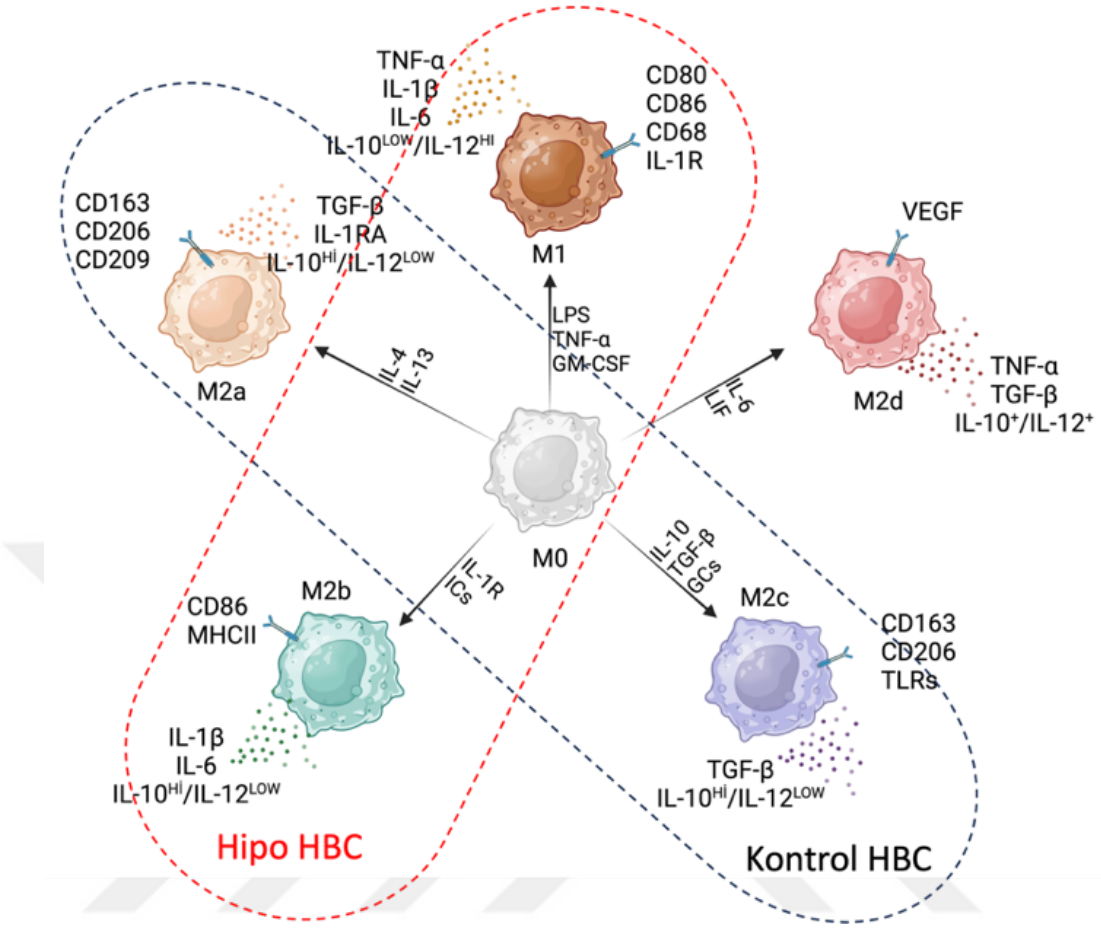
6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız sonucunda;

1. H&E ve Masson Trichrome ile değerlendirilen doku morfolojisinin Hipotiroidili plasentalarda yapısal olarak bozulduğu;
2. Hipotiroidi grubunda THRß ekspresyonunun anlamlı düzeyde azaldığı;
3. Hipotiroidi grubunda M1 ve M2b makrofajlar için spesifik olan CD86'nın anlamlı düzeyde arttığı;
4. Hipotiroidi grubunda M1 ve M2b hücrelerden eksprese edilen IL-6 ve IL-1ß'nın arttığı, IL-6 artışının anlamlı olduğu ve IL-10 ekspresyonunun anlamlı düzeyde azaldığı;
5. Hipotiroidi grubunda M2 hücreler tarafından eksprese edilen TGF-ß'nın azaldığı;
6. Hipotiroidi grubunda makrofaj polarizasyonuna sebep olabilecek oksidatif stres ile ilişkili iNOS, MPO, IL-17 gibi sekresyonların artış gösterdiği görüldü.

Elde ettiğimiz sonuçlar farklı makrofaj popülasyonlarının aynı doku içerisinde aynı anda bulunabileceği bulgusunu desteklemektedir. Bu sonuçlarla birlikte Hipotiroidili gebelerdeki makrofaj popülasyonunun M2a ve M2c fenotipleri ile birlikte M1 ve M2b özellik gösteren makrofajları da yoğun şekilde içerdiğini göstermektedir. Bu durum başarılı bir gebelik için farklı işlevleri yerine getiren farklı makrofaj alt gruplarının birlikte rol oynadığını göstermektedir.

Bu yönde hem sağlıklı gebelikler hem de hipotiroidi ile ilişkili obstetrik patolojilerle ilgili gelecekteki araştırmaların, bu oldukça çeşitli plasental immün hücrelerinin rolünü anlamamızda yardımcı olacağını umuyoruz.


TNF-α
IL-1β
IL-6
IL-10LOW/IL-12HI
CD80
CD86
CD68
IL-1R
M1
CD163
CD206
CD209
TGF-β
IL-1RA
IL-10HI/IL-12LOW
M2a
LPS
TNF-α
GM-CSF
IL-4
IL-13
IL-6
LIF
VEGF
M2d
TNF-α
TGF-β
IL-10+/IL-12+
M0
IL-1R
ICs
IL-10
TGF-β
GCs
M2b
CD86
MHCII
IL-1β
IL-6
IL-10HI/IL-12LOW
M2c
CD163
CD206
TLRs
TGF-β
IL-10HI/IL-12LOW
Hipo HBC
Kontrol HBC

7. KAYNAKLAR

1. Summers R, Macnab R. Thyroid, parathyroid hormones and calcium homeostasis. Anaesthesia and Intensive Care Medicine. 2017; 18(10):522–526.

2. Beynon ME, Pinneri K. An Overview of the Thyroid Gland and Thyroid-Related Deaths for the Forensic Pathologist. Acad Forensic Pathol. 2016; 6(2):217.

3. Arrangoiz R, Cordera F, Caba D, et al. Comprehensive Review of Thyroid Embryology, Anatomy, Histology, and Physiology for Surgeons. International Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery. 2018; 7160–188.

4. Chiasera JM. Back to the basics: thyroid gland structure, function and pathology. Clin Lab Sci. 2013; 26(2):112–7.

5. Clines G, Demers L. General Endocrinology. In: Kaplan L, Pesce A (eds) *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*. St. Louis: Mosby Inc., 2010.

6. Kleerekoper M. Hormones. In: Burtis C, Ashwood E, Bruns D (eds) *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2008.

7. Lasa M, Contreras-Jurado C. Thyroid hormones act as modulators of inflammation through their nuclear receptors. Front Endocrinol (Lausanne). 2022; 13937099.

8. Durgun Z, Yazıcı C, İnan AO. Tiroit Hormonları ve Hastalıkları. Akdeniz Spor Bilimleri Dergisi (ASBD) . 2019; 2(1):28–40.

9. Dunn D, Turner C. Hypothyroidism in Women. Nurs Womens Health. 2016; 20(1):93–98.

10. Akarsu E, Alagöl F, Altun B. *Tiroid hastalıkları tanı ve tedavi kılavuzu*. 3. Baskı. Ankara: Aysun Yayıncılık, 2012.

11. Korevaar TIM, Medici M, Visser TJ, et al. Thyroid disease in pregnancy: new insights in diagnosis and clinical management. Nature Reviews Endocrinology 2017 13:10. 2017; 13(10):610–622.

12. Krassas GE, Poppe K, Glinoer D. Thyroid function and human reproductive health. Endocr Rev. 2010; 31(5):702–755.

13. Pop V, Broeren M, Wiersinga W. The Attitude Toward Hypothyroidism During Early Gestation: Time for a Change of Mind? https://home.liebertpub.com/thy. 2014; 24(10):1541–1546.

14. Medici M, Korevaar TIM, Visser WE, et al. Thyroid Function in Pregnancy: What Is Normal? Clin Chem. 2015; 61(5):704–713.

15. Blatt AJ, Nakamoto JM, Kaufman HW. National Status of Testing for Hypothyroidism during Pregnancy and Postpartum. J Clin Endocrinol Metab. 2012; 97(3):777–784.

16. Lazarus J, Brown RS, Daumerie C, et al. 2014 European Thyroid Association Guidelines for the Management of Subclinical Hypothyroidism in Pregnancy and in Children. Eur Thyroid J. 2014; 3(2):76.

17. Abalovich M, Amino N, Barbour LA, et al. Management of Thyroid Dysfunction during Pregnancy and Postpartum: An Endocrine Society

Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2007; 92(8_supplement):s1–s7.

18. Demir N. *GEBELİKTE TİROİD HASTALIKLARININ TANI VE YÖNETİM KILAVUZU*. 2017.

19. Toloza FJK, Abedzadeh-Anaraki S, Maraka S. Subclinical hypothyroidism in pregnancy. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2019; 26(5):225–231.

20. van den Boogaard E, Vissenberg R, Land JA, et al. Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. Hum Reprod Update. 2011; 17(5):605–619.

21. Turco MY, Moffett A. Development of the human placenta. Development. 2019; 146(22):1–14.

22. Benirschke K, Burton GJ, Baergen RN. Pathology of the Human Placenta. In: *Springer*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 674–675.

23. Boyd JD, Hamilton WJ. *The Human Placenta*. Macmillan Press, 1970.

24. Hertig AT, Rock J, Adams EC. A description of 34 human ova within the first 17 days of development. American Journal of Anatomy. 1956; 98(3):435–493.

25. Schlafke S, Enders AC. Cellular Basis of Interaction Between Trophoblast and Uterus at Implantation. Biol Reprod. 1975; 12(1):41–65.

26. Pijnenborg R, Vercruysse L. A.A.W. Hubrecht and the naming of the trophoblast. Placenta. 2013; 34(4):314–319.

27. Shv HOO, Wkh RI. Cell Types of Placenta. Vascular Biology of the Placenta. 2016; 1–9.

28. Teasdale F, Jean-Jacques G. Morphometric evaluation of the microvillous surface enlargement factor in the human placenta from mid-gestation to term. Placenta. 1985; 6(5):375–381.

29. Robinson JM, Ackerman WE, Tewari AK, et al. Isolation of highly enriched apical plasma membranes of the placental syncytiotrophoblast. Anal Biochem. 2009; 387(1):87–94.

30. Moffett A, Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals. Nat Rev Immunol. 2006; 6(8):584–594.

31. Roopenian DC, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. Nat Rev Immunol. 2007; 7(9):715–725.

32. Jennewein MF, Goldfarb I, Dolatshahi S, et al. Fc Glycan-Mediated Regulation of Placental Antibody Transfer. Cell. 2019; 178(1):202-215.e14.

33. Simpson RA, Mayhew TM, Barnes PR. From 13 weeks to term, the trophoblast of human placenta grows by the continuous recruitment of new proliferative units: A study of nuclear number using the disector. Placenta. 1992; 13(5):501–512.

34. Pijnenborg R, Dixon G, Robertson WB, et al. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. Placenta. 1980; 1(1):3–19.

35. Velicky P, Meinhardt G, Plessl K, et al. Genome amplification and cellular senescence are hallmarks of human placenta development. PLoS Genet. 2018; 14(10):e1007698.

36. Pijnenborg R, Vercruysse L, Hanssens M. The Uterine Spiral Arteries In Human Pregnancy: Facts and Controversies. Placenta. 2006; 27(9–10):939–958.

37. Brosens I, Robertson WB, Dixon HG. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy. J Pathol Bacteriol. 1967; 93(2):569–579.

38. Demir R, Kaufmann P, Castellucci M, et al. Fetal Vasculogenesis and Angiogenesis in Human Placental Villi. Cells Tissues Organs. 1989; 136(3):190–203.

39. Vento-Tormo R, Efremova M, Botting RA, et al. Single-cell reconstruction of the early maternal–fetal interface in humans. Nature. 2018; 563(7731):347–353.

40. Kagami M, Matsuoka K, Nagai T, et al. Paternal uniparental disomy 14 and related disorders. Epigenetics. 2012; 7(10):1142–1150.

41. Suryawanshi H, Morozov P, Straus A, et al. A single-cell survey of the human first-trimester placenta and decidua. Sci Adv. 2018; 4(10):624–637.

42. Liu Y, Fan X, Wang R, et al. Single-cell RNA-seq reveals the diversity of trophoblast subtypes and patterns of differentiation in the human placenta . Cell Res. 2018; 28(8):819–832.

43. Challier JC, Kacemi A, Olive G. Mixed culture of pericytes and endothelial cells from fetal microvessels of the human placenta. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 1995; 41(2):233–41.

44. Sims DE. Diversity Within Pericytes. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2000; 27(10):842–846.

45. Lang I, Schweizer A, Hiden U, et al. Human fetal placental endothelial cells have a mature arterial and a juvenile venous phenotype with adipogenic and osteogenic differentiation potential. Differentiation. 2008; 76(10):1031–1043.

46. Tang Z, Abrahams VM, Mor G, et al. Placental Hofbauer cells and complications of pregnancy. Ann N Y Acad Sci. 2011; 1221(1):103–8.

47. Lyall F, Bulmer JN, Kelly H, et al. Human Trophoblast Invasion and Spiral Artery Transformation. Am J Pathol. 1999; 154(4):1105–1114.

48. Aplin JD, Haigh T, Jones CJP, et al. Development of Cytotrophoblast Columns from Explanted First-Trimester Human Placental Villi: Role of Fibronectin and Integrin α5β11. Biol Reprod. 1999; 60(4):828–838.

49. Jaffe R, Jauniaux E, Hustin J. Maternal circulation in the first-trimester human placenta—Myth or reality? Am J Obstet Gynecol. 1997; 176(3):695–705.

50. Kaufmann P, Sen DK, Schweikhart G. Classification of human placental villi. I. Histology. Cell Tissue Res. 1979; 200(3):409–423.

51. Mahmoud EA. *Histopathological and Immunohistochemical Study of Placenta in Diabetic Women*. Doctorate Thesis, University of Baghdad, 2019.

52. Verschoor CP, Puchta A, Bowdish DME. The Macrophage. In: Ashman RB (ed) *Leucocytes: Methods and Protocols*. Springer Science+Business Media, LLC, pp. 139–156.

53. Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, et al. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. J Pathol. 2013; 229(2):176–185.

54. Jenkins SJ, Allen JE. The expanding world of tissue-resident macrophages. Eur J Immunol. 2021; 51(8):1882–1896.

55. Mass E, Nimmerjahn F, Kierdorf K, et al. Tissue-specific macrophages: how they develop and choreograph tissue biology. Nature Reviews Immunology |. 2023; 23563.

56. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. Nat Rev Immunol. 2008; 8(12):958–969.

57. Benoit M, Desnues B, Mege J-L. Macrophage polarization in bacterial infections. J Immunol. 2008; 181(6):3733–3739.

58. Erwig LP, Henson PM. Immunological consequences of apoptotic cell phagocytosis. Am J Pathol. 2007; 171(1):2–8.

59. Loke P, Gallagher I, Nair MG, et al. Alternative activation is an innate response to injury that requires CD4+ T cells to be sustained during chronic infection. J Immunol. 2007; 179(6):3926–3936.

60. Kreider T, Anthony RM, Urban JF, et al. Alternatively activated macrophages in helminth infections. Curr Opin Immunol. 2007; 19(4):448.

61. Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. Nat Immunol. 2010; 11(10):889–896.

62. Roca H, Varcos ZS, Sud S, et al. CCL2 and interleukin-6 promote survival of human CD11b+ peripheral blood mononuclear cells and induce M2-type macrophage polarization. J Biol Chem. 2009; 284(49):34342–34354.

63. Gleissner CA, Shaked I, Little KM, et al. CXC chemokine ligand 4 induces a unique transcriptome in monocyte-derived macrophages. J Immunol. 2010; 184(9):4810–4818.

64. Martinez FO, Gordon S, Locati M, et al. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression. J Immunol. 2006; 177(10):7303–7311.

65. Mantovani A. From phagocyte diversity and activation to probiotics: back to Metchnikoff. Eur J Immunol. 2008; 38(12):3269–3273.

66. Mini review : Macrophage Polarization. Biorad. 2015; 1–8.

67. Reyes L, Wolfe B, Golos T. Hofbauer Cells: Placental Macrophages of Fetal Origin. Results Probl Cell Differ. 2017; 6245–60.

68. Ingman K, Cookson VJKW, Jones CJP, et al. Characterisation of Hofbauer Cells in First and Second Trimester Placenta: Incidence, Phenotype, Survival in vitro and Motility. Placenta. 2010; 31(6):535–544.

69. Castellucci M, Celona A, Bartels H, et al. Mitosis of the Hofbauer cell: Possible implications for a fetal macrophage. Placenta. 1987; 8(1):65–76.

70. Swieboda D, Johnson EL, Beaver J, et al. Baby's First Macrophage: Temporal Regulation of Hofbauer Cell Phenotype Influences Ligand-Mediated Innate Immune Responses across Gestation. The Journal of Immunology. 2020; 204(9):2380–2391.

71. Kim JS, Romero R, Kim MR, et al. Involvement of Hofbauer cells and maternal T cells in villitis of unknown aetiology. Histopathology. 2008; 52(4):457–464.

72. Challier JC, Basu S, Bintein T, et al. Obesity in Pregnancy Stimulates Macrophage Accumulation and Inflammation in the Placenta. Placenta. 2008; 29(3):274–281.

73. Castellucci M, Zaccheo D, Pescetto G. A three-dimensional study of the normal human placental villous core. I. The Hofbauer cells. Cell Tissue Res. 1980; 210(2):235–247.

74. Goldstein J, Braverman M, Salafia C, et al. The phenotype of human placental macrophages and its variation with gestational age. American Journal of Pathology. 1988; 133(3):648–659.

75. Seval Y, Korgun ET, Demir R. Hofbauer Cells in Early Human Placenta: Possible Implications in Vasculogenesis and Angiogenesis. Placenta. 2007; 28(8–9):841–845.

76. Khan S, Katabuchi H, Araki M, et al. Human villous macrophage-conditioned media enhance human trophoblast growth and differentiation in vitro. Biol Reprod. 2000; 62(4):1075–1083.

77. Anteby EY, Natanson-Yaron S, Greenfield C, et al. Human placental Hofbauer cells express sprouty proteins: A possible modulating mechanism of villous branching. Placenta. 2005; 26(6):476–483.

78. Thomas JR, Appios A, Zhao X, et al. Phenotypic and functional characterization of first-trimester human placental macrophages, Hofbauer cells. J Exp Med. 2021; 218(1):1–17.

79. Plaks V, Rinkenberger J, Dai J, et al. Matrix metalloproteinase-9 deficiency phenocopies features of preeclampsia and intrauterine growth restriction. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2013; 110(27):11109–11114.

80. Luizon MR, Palei ACT, Sandrim VC, et al. Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 polymorphism, plasma TIMP-1 levels, and antihypertensive therapy responsiveness in hypertensive disorders of pregnancy. Pharmacogenomics J. 2014; 14(6):535–541.

81. Loke YW. Transmission of Parasites Across the Placenta. Adv Parasitol. 1982; 21(C):155–228.

82. Kumazaki K, Nakayama M, Yanagihara I, et al. Immunohistochemical Distribution of Toll-Like Receptor 4 in Term and Preterm Human Placentas from Normal and Complicated Pregnancy Including Chorioamnionitis. Hum Pathol. 2004; 35(1):47–54.

83. Watson AL, Palmer ME, Burton GJ. An in vitro model for the study of wound healing in first trimester human placenta. Cell Tissue Res. 1996; 286(3):431–438.

84. Bulmer JN, Johnson PM. Macrophage populations in the human placenta and amniochorion. Clin Exp Immunol. 1984; 57(2):393.

85. Bulmer JN, Morrison L, Smith JC. Expression of class II MHC gene products by macrophages in human uteroplacental tissue. Immunology. 1988; 63(4):707.

86. Toth FD, Nørskov-Lauritsen N, Juhl C, et al. Human trophoblast interferon: pattern of response to priming and superinduction of purified term trophoblast and choriocarcinoma cells. J Reprod Immunol. 1991; 19(1):55–67.

87. Rindsjö E, Joerink M, Papadogiannakis N, et al. IgE in the human placenta: why there? Allergy. 2010; 65(5):554–560.

88. Kim SY, Romero R, Tarca AL, et al. Methylome of Fetal and Maternal Monocytes and Macrophages at the Feto-Maternal Interface. American Journal of Reproductive Immunology. 2012; 68(1):8–27.

89. Perrotta C, Buldorini M, Assi E, et al. The thyroid hormone triiodothyronine controls macrophage maturation and functions: Protective role during inflammation. American Journal of Pathology. 2014; 184(1):230–247.

90. Billon C, Canaple L, Fleury S, et al. TRα Protects Against Atherosclerosis in Male Mice: Identification of a Novel Anti-Inflammatory Property for TRα in Mice. Endocrinology. 2014; 155(7):2735–2745.

91. Furuya F, Ishii T, Tamura S, et al. The ligand-bound thyroid hormone receptor in macrophages ameliorates kidney injury via inhibition of nuclear factor-κB activities. Sci Rep. 2017; 7(November 2016):1–12.

92. Sahin E, Bektur E, Baycu C, et al. HYPOTHYROIDISM INCREASES EXPRESSION OF STERILE INFLAMMATION PROTEINS IN RAT HEART TISSUE. GENERAL ENDOCRINOLOGY Acta Endocrinologica (Buc). 2019; XV(1):39–45.

93. Hajje G, Saliba Y, Itani T, et al. Hypothyroidism and Its Rapid Correction Alter Cardiac Remodeling. PLoS One. 2014; 9(10):1–13.

94. Bao S, Li F, Duan L, et al. Thyroid-stimulating hormone may participate in insulin resistance by activating toll-like receptor 4 in liver tissues of subclinical hypothyroid rats. Mol Biol Rep. 2023; 50(12):10637–10650.

95. De Luca R, Davis PJ, Lin HY, et al. Thyroid Hormones Interaction With Immune Response, Inflammation and Non-thyroidal Illness Syndrome. Front Cell Dev Biol. 2021; 8614030.

96. Guenther S, Vrekoussis T, Heublein S, et al. Decidual macrophages are significantly increased in spontaneous miscarriages and over-express FasL: a potential role for macrophages in trophoblast apoptosis. Int J Mol Sci. 2012; 13(7):9069–9080.

97. Schonkeren D, Van Der Hoorn ML, Khedoe P, et al. Differential distribution and phenotype of decidual macrophages in preeclamptic versus control pregnancies. American Journal of Pathology. 2011; 178(2):709–717.

98. Gonzalez JM, Franzke CW, Yang F, et al. Complement activation triggers metalloproteinases release inducing cervical remodeling and preterm birth in mice. American Journal of Pathology. 2011; 179(2):838–849.

99. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, et al. M-1/M-2 Macrophages and the Th1/Th2 Paradigm. The Journal of Immunology. 2000; 164(12):6166–6173.

100. Houser BL, Tilburgs T, Hill J, et al. Two Unique Human Decidual Macrophage Populations. The Journal of Immunology. 2011; 186(4):2633–2642.

101. Böckle BC, Sölder E, Kind S, et al. DC-SIGN+ CD163+ Macrophages Expressing Hyaluronan Receptor LYVE-1 Are Located within Chorion Villi of the Placenta. Placenta. 2008; 29(2):187–192.

102. Joerink MAJ, Rindsjö E, Van Riel B, et al. Placental macrophage (Hofbauer cell) polarization is independent of maternal allergen-sensitization and presence of chorioamnionitis. Placenta. 2011; 32(5):380–385.

103. Loegl J, Hiden U, Nussbaumer E, et al. Hofbauer cells of M2a, M2b and M2c polarization may regulate feto-placental angiogenesis. Reproduction. 2016; 152(5):447–455.

104. Sisino G, Bouckenooghe T, Aurientis S, et al. Diabetes during pregnancy influences Hofbauer cells, a subtype of placental macrophages, to acquire a pro-inflammatory phenotype. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2013; 1832(12):1959–1968.

105. Tang Z, Buhimschi IA, Buhimschi CS, et al. Decreased Levels of Folate Receptor-β and Reduced Numbers of Fetal Macrophages (Hofbauer Cells) in Placentas from Pregnancies with Severe Pre-Eclampsia. American Journal of Reproductive Immunology. 2013; 70(2):104–115.

106. Castillo Lara M, Vilar Sánchez Á, Cañavate Solano C, et al. 'Hypothyroidism screening during first trimester of pregnancy'. BMC Pregnancy Childbirth. 2017; 17(1):1–7.

107. Nishioka E, Hirayama S, Ueno T, et al. Relationship between maternal thyroid-stimulating hormone (TSH) elevation during pregnancy and low birth weight: A longitudinal study of apparently healthy urban Japanese women at very low risk. Early Hum Dev. 2015; 91(3):181–185.

108. Novakovic TR, Dolicanin ZC, Djordjevic NZ. Effects of maternal subclinical hypothyroidism on amniotic fluid cells oxidative status. Reproductive Toxicology. 2018; 7897–101.

109. Zhao L, Jiang G, Tian X, et al. Initiation timing effect of levothyroxine treatment on subclinical hypothyroidism in pregnancy. Gynecological Endocrinology. 2018; 34(10):845–848.

110. GLINOER D. What Happens to the Normal Thyroid During Pregnancy? Thyroid. 1999; 9(7):631–635.

111. Laurberg P, Andersen SL, Hindersson P, et al. Dynamics and predictors of serum TSH and fT4 reference limits in early pregnancy: a study within the Danish National birth cohort. J Clin Endocrinol Metab. 2016; 101(6):2484–2492.

112. Knøsgaard L, Andersen S, Hansen AB, et al. Maternal hypothyroidism and adverse outcomes of pregnancy. Clin Endocrinol (Oxf). 2023; 98(5):719–729.

113. dos Anjos Cordeiro JM, Santos LC, de Oliveira LS, et al. Maternal hypothyroidism causes oxidative stress and endoplasmic reticulum stress

in the maternal-fetal interface of rats. Free Radic Biol Med. 2022; 19124–39.

114. Khandelwal D, Tandon N. Overt and subclinical hypothyroidism: Who to treat and how. Drugs. 2012; 72(1):17–33.

115. Rao S, Patibandla A. A Study to find out the Prevalence of Hypothyroidism among Pregnant Women Visiting ESI Hospital Sanathnagar Hyderabad. Gynecology & Obstetrics. 2016; 06(03):1–3.

116. Novakovic TR, Dolicanin ZC, Djordjevic NZ. Oxidative stress biomarkers in amniotic fluid of pregnant women with hypothyroidism. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2019; 32(7):1105–1110.

117. Singh G, Kaul I, Singh A, et al. Maternal and fetal outcome in subclinical hypothyroidism in Jammu region, North India. Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol. 2016; 5(7):2362–2366.

118. Svensson J, Jenmalm MC, Matussek A, et al. Macrophages at the Fetal–Maternal Interface Express Markers of Alternative Activation and Are Induced by M-CSF and IL-10. The Journal of Immunology. 2011; 187(7):3671–3682.

119. Schliefsteiner C, Ibesich S, Wadsack C. Placental Hofbauer Cell Polarization Resists Inflammatory Cues In Vitro. Int J Mol Sci. 2020; 21(3):736.

120. Schliefsteiner C, Peinhaupt M, Kopp S, et al. Human placental Hofbauer cells maintain an anti-inflammatory M2 phenotype despite the presence of gestational diabetes mellitus. Front Immunol. 2017; 8(JUL):1–17.

121. Loukeris K, Sela R, Baergen RN. Syncytial knots as a reflection of placental maturity: Reference values for 20 to 40 weeks' gestational age. Pediatric and Developmental Pathology. 2010; 13(4):305–309.

122. Atıgan A, Kılıç D, Güler Ö, et al. Can Placental Histopathological Lesions Be a Guide to Maternal and Neonatal Outcomes in Patients with Preeclampsia? Journal of Istanbul Faculty of Medicine . 2022; 85(3):425–32.

123. Ersoy Canillioglu Y, Senturk GE, Sahin H, et al. The Distribution of Foxp3 and CD68 in Preeclamptic and Healthy Placentas: A Histomorphological Evaluation. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2023; 71(4):211–225.

124. Tauber Z, Burianova A, Koubova K, et al. The interplay of inflammation and placenta in maternal diabetes: insights into Hofbauer cell expression patterns. Front Immunol.; 15. Epub ahead of print 2024. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1386528.

125. Aneman I, Pienaar D, Suvakov S, et al. Mechanisms of Key Innate Immune Cells in Early- and Late-Onset Preeclampsia. Front Immunol. 2020; 111–19.

126. Ma Y, Ye Y, Zhang J, et al. Immune imbalance is associated with the development of preeclampsia. Medicine. 2019; 98(14):e15080.

127. Broekhuizen M, Hitzerd E, van den Bosch TPP, et al. The Placental Innate Immune System Is Altered in Early-Onset Preeclampsia, but Not in Late-Onset Preeclampsia. Front Immunol.; 12. Epub ahead of print 21 December 2021. DOI: 10.3389/fimmu.2021.780043.

128. Han X, Ghaemi MS, Ando K, et al. Differential Dynamics of the Maternal Immune System in Healthy Pregnancy and Preeclampsia. Front Immunol. 2019; 10(JUN):1–13.

129. Atri C, Guerfali FZ, Laouini D. Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases. Int J Mol Sci. 2018; 19(6):1–15.

130. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. Trends Immunol. 2004; 25(12):677–686.

131. Rakita A, Nikolić N, Mildner M, et al. Re-epithelialization and immune cell behaviour in an ex vivo human skin model. Sci Rep. 2020; 10(1):1–11.

132. Porcheray F, Viaud S, Rimaniol AC, et al. Macrophage activation switching: an asset for the resolution of inflammation. Clin Exp Immunol. 2005; 142(3):481–489.

133. Tang Z, Niven-Fairchild T, Tadesse S, et al. Glucocorticoids Enhance CD163 Expression in Placental Hofbauer Cells. Endocrinology. 2013; 154(1):471.

134. Zulu MZ, Martinez FO, Gordon S, et al. The Elusive Role of Placental Macrophages: The Hofbauer Cell. J Innate Immun. 2019; 11(6):447–456.

135. Cervar M, Desoye G, Blaschitz A, et al. Paracrine regulation of distinct trophoblast functions in vitro by placental macrophages. Cell Tissue Res. 1999; 295(2):297–305.

136. Yao Y, Xu X-H, Jin L. Macrophage Polarization in Physiological and Pathological Pregnancy. Front Immunol. 2019; 10(MAR):792.

137. Yu Z, Feng X, Lin Z, et al. Thyroid hormone transport and metabolism are disturbed in the placental villi of miscarriage. Reproductive Biology and Endocrinology. 2023; 21(1):1–12.

138. Ziegelmüller B, Vattai A, Kost B, et al. Expression of Thyroid Hormone Receptors in Villous Trophoblasts and Decidual Tissue at Protein and mRNA Levels Is Downregulated in Spontaneous and Recurrent Miscarriages. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2015; 63(7):511–523.

139. Pestka A, Fitzgerald J, Toth B, et al. Nuclear hormone receptors and female reproduction. Curr Mol Med. 2013; 13(7):1066–1078.

140. Tayde PS, Bhagwat NM, Sharma P, et al. Hypothyroidism and depression: Are cytokines the link? Indian J Endocrinol Metab. 2017; 21(6):886–892.

141. de la Paz Sánchez-Martínez M, Blanco-Favela F, Mora-Ruiz MD, et al. IL-17-differentiated macrophages secrete pro-inflammatory cytokines in response to oxidized low-density lipoprotein. Lipids Health Dis. 2017; 16(1):196.

142. Erbel C, Akhavanpoor M, Okuyucu D, et al. IL-17A influences essential functions of the monocyte/macrophage lineage and is involved in advanced murine and human atherosclerosis. J Immunol. 2014; 193(9):4344–4355.

143. Jovanovic D V, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages. J Immunol. 1998; 160(7):3513–21.

144. Harmon QE, Huang L, Umbach DM, et al. Risk of fetal death with preeclampsia. Obstetrics and Gynecology. 2015; 125(3):628–635.

145. Lian IA, Løset M, Mundal SB, et al. Increased endoplasmic reticulum stress in decidual tissue from pregnancies complicated by fetal growth restriction with and without pre-eclampsia. Placenta. 2011; 32(11):823–829.

146. Kalkunte S, Nevers T, Norris WE, et al. Vascular IL-10: a protective role in preeclampsia. J Reprod Immunol. 2011; 88(2):165–169.

147. Rosario GX, Konno T, Soares MJ. Maternal hypoxia activates endovascular trophoblast cell invasion. Dev Biol. 2008; 314(2):362–375.

148. Hung TH, Chen SF, Lo LM, et al. Myeloperoxidase in the plasma and placenta of normal pregnant women and women with pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth restriction. Placenta. 2012; 33(4):294–303.

149. Pavlov OV, Selutin AV, Pavlova OM, et al. Two patterns of cytokine production by placental macrophages. Placenta. 2020; 911–10.

8. EKLER

Ek 1. İlk Etik kurul onayı

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Sayın Prof.Dr.Güven ERBİL

Araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

ETİK KOMİSYONUN ADI	**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**
AÇIK ADRES	**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR**
TELEFON	**0 232 412 22 54-0 232 412 22 58**
FAKS	**0 232 412 22 43**
E-POSTA	**etikkurul@deu.edu.tr**

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	4258-GOA	
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☐ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☐ DOKTORA ☒	
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi**	
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr.Güven ERBİL Histoloji ve Embriyoloji A.D	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ☐

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐ İngilizce ☒ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

“

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:2018/23-13**	**Tarih:27.09.2018**
	Prof.Dr.Güven ERBİL'in sorumlusu olduğu **"Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi"** isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, **Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinden izin alınması koşuluyla**, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir. Kurum izni alındıktan sonra Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.	
ETİK KURUL BİLGİLERİ		
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu	
ETİK KURUL ÜYELERİ		

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Ali Riza ŞİŞMAN (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Gül ERGÖR (Başkan Yardımcısı)	Halk Sağlığı	DEU Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Nejat SARIOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Mehmet Refik MAS	Geriatri	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Müge KİRAY	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Sevda ÖZKARDEŞLER	Anesteziyoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Sülen SARIOĞLU	Patoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji A.D	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Bilge KARA	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Ayhan ABACI	Pediatrik Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.M.Aylin ARICI	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Murat BEKTAŞ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	DEU Hemşirelik Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Yasemin SOYSAL	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN	Hukuk	DEU Tıp Tarihi ve Etik A.D	Erkek	E ☐	H ☒	
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐	H ☒	

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:2019/01-119**	**Tarih:18.01.2019**
	Prof.Dr.Güven ERBİL'in sorumlusu olduğu "**Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi**" isimli klinik araştırmaya ait ; -Kurum izin belgesi incelenerek bilgi edinilmiş ve uygun bulunmuştur.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Can SEVİNÇ (Başkan)	Göğüs Hastalıkları	DEU Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları A.D	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Sadık Kıvanç METİN (Başkan Yardımcısı)	Kalp ve Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Arzu GENÇ	Nörolojik Fizyoterapi - Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Sermin ÖZKAL	Tıbbi Patoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji A.D	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Pınar TUNCEL	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Serkan YENER	Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Nil Hocaoğlu AKSAY	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Murat BEKTAŞ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	DEU Hemşirelik Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Tufan ÇANKAYA	Tıbbi Genetik	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Ayfer DAYI	Davranış Fizyolojisi	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Korcan DEMİR	Pediatrik Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Mahmut Cem ERGON	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Öğr.Gör.Dr.Kıvanç YÜKSEL	Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Bilişim A.D	Erkek	E ☐	H ☒	
Av.Esra FIRTINA	Avukat	DEU Rektörlüğü Hukuk Müşavirliği	Kadın	E ☐	H ☒	
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐	H ☒	

Ek 2. İkinci etik kurul onayı

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Sayın Doç.Dr.Serap Cilaker Mıçılı

Araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

ETİK KOMİSYONUN ADI	**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**
AÇIK ADRES	**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR**
TELEFON	**0 232 412 22 54-0 232 412 22 58**
FAKS	**0 232 412 22 43**
E-POSTA	**goaek@deu.edu.tr**

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	8151-GOA	
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☐ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☐ DOKTORA ☒	
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi**	
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Doç.Dr.Serap Cilaker Mıçılı Histoloji ve Embriyoloji A.D.	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ☐

	Belge Adı	**Tarihi**	**Versiyon Numarası**	**Dili**
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐ İngilizce ☒ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:2023/20-15**	**Tarih:14.06.2023**
	Doç.Dr.Serap Cilaker Mıçılı'nın sorumlusu olduğu **"Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi"** isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın mevcut haliyle etik yönden uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Mehmet Birhan Yılmaz (Başkan)	Kardiyoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Şükran Köse (Başkan Yardımcısı)	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan	Moleküler Tıp	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Suna Asilsoy	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Aylin Özgen Alpaydın	Göğüs Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Özgür Er	Endodonti A.D.	Diş Hekimliği Fakültesi	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Hatice Şimşek Keskin	Halk Sağlığı	DEÜ Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Seher Özyürek	Muskuloskeletal Fizyoterapi	DEÜ Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Nil Hocaoğlu Aksay	Tıbbi Farmakoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Meryem Öztürk Haney	Halk Sağlığı Hemşireliği	Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr. Şule Özbilgin	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	DEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Tolga Şahin	Spor Yönetim Bilimleri	Necat Hepkon Spor Bilimleri Fakültesi	Erkek	E ☐	H ☒	
Dr.Öğr.Üyesi Gamze Tuna	Tıbbi Biyokimya	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Kadın	E ☐	H ☒	

Ek 3. Onam formu

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
"*GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR*"
İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi

Sorumlu Araştırıcının Adı: Prof. Dr. Serap CİLAKER MIÇILI

Yardımcı Araştırmacının Adı: Prof. Dr. Ömer Erbil DOĞAN

Destekleyici: BAP, TÜSEB

"**Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi**" isimli araştırmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma bilimsel araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır ve katılım gönüllülük esasına dayalıdır.

Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da fazla bilgi isterseniz size iletişim bilgileri verilen araştırmacıya sorabilirsiniz.

Araştırmanın amacı nedir?

Gönüllü olarak katılmanızı teklif ettiğimiz çalışma bir araştırma projesidir. Bu araştırma projesinin amacı; hipotiroidi hastalığına sahip gebelerde gelişen plasental (eş) yapının bozulmasının sebeplerini araştırmaktır.

Araştırmaya dair araştırmacı ve katılımcı hakkında bilgiler

Araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapılacaktır. Araştırmaya sağlıklı ve hipotiroidi tanısı konmuş gebeler katılacaktır. Araştırmamızın 24 ay sürmesi planlanmaktadır.

Araştırma kapsamında nasıl bir uygulama yapılacaktır? Yöntem ve işlemler nelerdir?

Araştırmamızda doğum sonrası atılacak olan plasentayı alarak doku üzerinde araştırma yapmayı planlamaktayız. Plasenta gebeliğiniz süresince siz ve bebeğiniz arasındaki ilişkiyi sağlayan geçici bir organdır. Doğum sonrası normal bir süreç olarak

yaklaşık yarım saatlik bir sürede vücudunuz plasentayı atmaktadır. Bu nedenle yapacağımız bu araştırmanın size ve bebeğinize herhangi bir etkisi olmayacaktır çünkü dokuyu vücudunuzdan atıldıktan sonra alacağız. Çalışma ile ilgili toplanan plasental örnekler benzer histolojik çalışmalarda da kullanılabilecektir.

Araştırmanın bilime ve size olası faydaları nelerdir?

Annede gözlenen hipotiroidinin hem sizin için hem de bebeğinizin gelişimi için zararlı olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Plasentada gözlenen yapısal bozulmanın etki kaynağını belirlemek amacıyla bu çalışmayı yapmayı amaçlamaktayız. Böylece bu hastalığın tedavisini hedefleyen diğer çalışmalarda bulduğumuz sonuçlar yol gösterici olacaktır.

Bu araştırmaya katılmalı mıyım?

Bu araştırmada yer almak tamamen size bağlıdır. Şimdi bu formu imzalasanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin araştırmadan ayrılmakta özgürsünüz. Eğer katılmak istemez iseniz veya araştırmadan ayrılırsanız, sizin için en uygun tedavi planı bu kararınızdan etkilenmeksizin uygulanacaktır. Eğer araştırmayı yürüten doktorunuz araştırmaya devam etmenizin sizin için yararlı olmayacağına karar verirse sizi araştırma dışı bırakabilir, bu durumda da sizin için standart olarak verilmesi gereken en uygun tedavi uygulanacaktır.

Araştırmanın size getirebileceği ek risk ve rahatsızlıklar nelerdir?

Bu araştırmanın ne size ne de bebeğinize herhangi bir zararı olmayacaktır. Doğal süreçte vücudunuzdan atılacak olan plasenta dokusunu alacağız.

Araştırmanın olası riskleri konusunda ne gibi önlemler alınacaktı?

Araştırma ile ilgili ortaya çıkabilecek herhangi bir sağlık probleminde her türlü tıbbi girişim tarafımızdan yapılacak; bu konudaki tüm harcamalar da tarafımızdan karşılanacaktır

Bu araştırmaya katılmamın maliyeti nedir?

Bu araştırmada yer almak tümüyle sizin isteğinize bağlıdır. Bu araştırma için size herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Araştırma sırasında oluşabilecek masraflar size ve bağlı olduğunuz kuruma ödetilmeyecektir.

Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak?

Araştırmayı yapan doktorunuz kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz tıp etiği ve KVKK düzenlenmelerine uygun şekilde gizli tutulacaktır. Araştırma için kullanılacak bilgileriniz üçüncü kişilerle paylaşılmayacaktır.

Yalnızca gereği halinde, sizinle ilgili bilgileri etik kurullar ya da resmi makamlar inceleyebilir. Araştırmanın sonunda, kendi sonuçlarınızla ilgili bilgi istemeye hakkınız vardır. Araştırma sonuçları araştırma bitiminde tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır.

KATILIMCININ/HASTANIN BEYANI

DEÜTF Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalında, Dr. ……. tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımıma ve doktorum ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (*Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim).* Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabileceğim konusunda bilgilendirildim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

Araştırmadan elde edilen benimle ilgili kişisel bilgilerin gizliliğinin korunacağını biliyorum.

Araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Mehmet Eyüphan ÖZGÖZEN' nolu telefondan ve Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nden arayabileceğimi biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

Ek 4: Özgeçmiş

GÖKÇEN BİLİCİ GÜLER

Kişisel Bilgiler

İletişim Bilgileri

İletişim Adresi

Telefon

E-posta

İnternet Sayfası

Öğrenim Bilgileri

01 Şubat 2018 - Şu Anda (6 yıl 7 ay)
Doktora, Doktora, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (DR)

01 Ocak 2015 - 01 Aralık 2017 (3 yıl)
Yüksek Lisans, Tezli Program, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (YL)
Tez Başlığı: Gebe Ratlarda Hipotiroidi Ve Hipertiroidinin Sonuçları Ve Hofbauer Hücre Davranışı
Tez Konusu: Gebe Ratlarda Maternal Hipotiroidi Ve Hipertiroidi Durumunun Plasental Makrofajlar (hofbauer Hücresi) Ve Fetüs Iskelet Sistemi Gelişimi Üzerindeki Etkisini Incelemek
Tarih: 2017
Tez Danışmanı: GÜVEN ERBİL
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 3.66 / 4.0

05 Eylül 2010 - 05 Eylül 2014 (4 yıl 1 ay)
Lisans, İkinci Öğretim, EGE ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
FEN FAKÜLTESİ, BİYOLOJİ BÖLÜMÜ

Yabancı Dil Bilgileri

İNGİLİZCE (Okuma: İyi, Yazma: İyi, Konuşma: İyi)

Bilimsel Teknolojik Faaliyet Alanları

Anahtar Kelimeler

Histoloji ve Embriyoloji

Plasenta

Üreme İmmünolojisi

Gelişim Biyolojisi

Makrofajlar

Ar-Ge Yetkinlik

Kitaplar

G. BİLİCİ GÜLER & G. ERBİL, Hipodermis ve Ter Bezleri, M. KURUŞ, Y. UYANIKGİL & G. ERBİL [Editörler], Bir Bakışta Histoloji: İstanbul Tıp Kitabevi, 01 Ocak 2018, Kitapta Bölüm.

G. BİLİCİ GÜLER & G. ERBİL, Kıl, Sebase Bezler ve Trınaklar, Y. UYANIKGİL, M. KURUŞ & G. ERBİL [Editörler], Bir Bakışta Histoloji: İstanbul Tıp Kitabevi, 01 Ocak 2018, Kitapta Bölüm.

G. BİLİCİ GÜLER & G. ERBİL, Epidermis, M. KURUŞ, Y. UYANIKGİL & G. ERBİL [Editörler], Bir Bakşta Histoloji(48 - 49), ISBN: 978-605-9528-63-4, TÜRKİYE: Istanbul Tıp Kitabevi, 01 Ocak 2018, Kitapta Bölüm.

Makaleler

O. ULUSOY, M. ŞENCAN, O. ATEŞ, F. G. HAKGÜDER, M. OLGUNER, G. BİLİCİ GÜLER, G. ERBİL & F. M. AKGÜR, Addition of Transfixation Suture to Purse String Suture During Intraperitoneal Inguinal Hernia Repair Increases Peri-Hernia Sac Neck Collagen Formation, journal of pediatric surgery, 2023, 1531-5037, xx, xxx, xx.

G. BİLİCİ GÜLER, C. URAL ÖZKAN, U. SAÇIK, Z. ÇAVDAR & G. ERBİL, The effects of hypothyroidism and hyperthyroidism on placental Hofbauer cells of pregnant rats, Biotechnic & Histochemistry, 2022, 1052-0295, 97, 2, 126-135.

N. SEMERCİ, G. BİLİCİ GÜLER, F. YILMAZ, Z. ÇAVDAR, U. SAÇIK, Ü. KAYIŞLI & G. ERBİL, The Effects of Immobilization Stress on Placenta and Fetus in Pregnant Mice, Med J SDU, 2021, 1300-7416, 28, 1, 31-39.

A. KARA ÖZENLER, A. S. KOÇTÜRK, G. BİLİCİ GÜLER & H. HAVITÇIOĞLU, Development of biological meniscus scaffold: Decellularization method and recellularization with meniscal cell population derived from mesenchymal stem cells, Journal of Biomaterials Applications, 2021, 0885-3282, 0, 0, 0885328220981189.

A. KARA ÖZENLER, O. ÇOLPANKAN GÜNEŞ, A. ALBAYRAK, G. BİLİCİ GÜLER, G. ERBİL & H. HAVITÇIOĞLU, Fish scale/poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanofibrous composite scaffolds for bone regeneration, Journal of Biomaterials Applications, 2020, 1530-8022, 34, 9, 1201-1215.

S. ALKAN ÖZDEMİR, N. ÖZDEMİR, Ö. AKSAN, B. KINALI, G. BİLİCİ GÜLER, G. ERBİL, E. ÖZER & E. ÖZER, Effect of humic acid on oxidative stress and neuroprotection in hypoxic-ischemic brain injury: part 1, The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2020, 1476-4954, 0, 0, 0.

M. A. OKTAN, C. HEYBELİ, C. URAL ÖZKAN, A. KOÇAK SEZGİN, G. BİLİCİ GÜLER, Z. ÇAVDAR, S. ÖZBAL, Ş. ARSLAN, O. YILMAZ & C. ÇAVDAR, Alpha-lipoic acid alleviates colistin nephrotoxicity in rats, human&experimental toxicology, 2020, 0960-3271, 1, 11, 32-43.

Bildiriler

G. BİLİCİ GÜLER & S. CİLAKER MICILI, Maternal Hipotiroidili Gebelerde Tiroid Hormon Reseptör Ekspresyonlarının İmmünohistolojik İncelemesi, Sözlü Sunum, 4. Ulusal Bilimsel Araştırmalar Kongresi, 16 Temmuz 2024, 17 Temmuz 2024.

S. TOPAL, İ. DEVRİM, G. ERBİL, G. BİLİCİ GÜLER, S. N. BAYRAM, H. AĞIN, Z. S. ALTUN & O. YILMAZ, Deneysel sıçan modelinde etambütol ile oluşan göz toksisitesine karşı A vitamininin koruyucu etkisinin olup olmadığının incelenmesi, Sözlü Sunum, 64. Türkiye Milli Pediatri Kongresi, 15 Aralık 2020, 20 Aralık 2020.

G. BİLİCİ GÜLER, G. ERBİL, Z. ÇAVDAR & C. URAL ÖZKAN, Gebe Ratlarda Hipotiroidi Ve Hipertiroidinin Sonuçlar Ve Hofbauer Hücre Davranş, Poster Sunumu, 14. Ulusal Histoloji Ve Embriyoloji Kongresi, 10 Mayıs 2018, 13 Mayıs 2018, 13092375, 6, 203 - 205.

O. ÇOLPANKAN GÜNEŞ, A. KARA ÖZENLER, A. ZİYLAN, H. HAVITÇIOĞLU, G. BİLİCİ GÜLER & G. ERBİL, Development Of Fish Scale Reinforced Phbv Nanofibrous Sponge-like Scaffold For Bone Tissue Regeneration, Sözlü Sunum, European Congress And Exhibition On Advanced Materials And Processes (euromat 2017), 17 Eylül 2017, 22 Eylül 2017.

A. KARA ÖZENLER, C. KIZMAZOĞLU, R. B. HÜSEMOĞLU, G. BİLİCİ GÜLER, S. K. GEZER & H. HAVITÇIOĞLU, Is It Possible To Develop Allograft Dura Mater Scaffold By Decellularization Method?, Sözlü Sunum, Eors 2017 Munich European Orthopedic Research Society, 13 Eylül 2017, 15 Eylül 2017.

A. KARA ÖZENLER, B. ÇEÇEN, F. ERTEM, G. BİLİCİ GÜLER & H. HAVITÇIOĞLU, Loofah And Collagen Scaffolds With Prp For Cartilage Tissue Engineering: Comparative In Vivo Study, Poster Sunumu, 25th Annual And Anniversary Eors Congress, 13 Eylül 2017, 15 Eylül 2017.

Projeler

TEMEL ARAŞTIRMA, BURSİYER, Maternal Hipotiroidinin Hofbauer Hücre Polarizasyonuna Etkisi, Yürütülen Kuruluş: DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, Destek Alınan Kuruluş: TÜRKİYE SAĞLIK ENSTİTÜLERİ BAŞKANLIĞI (Yurt İçi) (Devam ediyor) .

TÜBİTAK Burs ve Destekleri

Panelistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Görev	ARDEB	BİDEB	BİLİM TOPLUM	UİDB	TEYDEB	Toplam
Hakemlik/Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı	0	0	0	0	0	0
Moderatorlük Sayısı	0	0	0	0	0	0
İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	0	0	0	0	0	0
Raportörlük Sayısı	0	0	0	0	0	0
Katılmadığı Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı	0	0	0	0	0	0

Ek 5: Tez ile İlişkili Yayınlar

1. SCIE kapsamındaki dergide (Biotechnic & Histochemistry) basılan, tez sahibinin ilk isim olduğu tez ile ilişkili araştırma makalesi

Bilici G, Ural C, Sacik U, Cavdar Z, Erbil G. The effects of hypothyroidism and hyperthyroidism on placental Hofbauer cells of pregnant rats. Biotechnic & Histochemistry, 2022; 97(2):126-135. DOI: 10.1080/10520295.2021.1912828.

BIOTECHNIC & HISTOCHEMISTRY
https://doi.org/10.1080/10520295.2021.1912828

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

Check for updates

The effects of hypothyroidism and hyperthyroidism on placental Hofbauer cells of pregnant rats

Gökçen Bilici [a], Cemre Ural [b], Uygar Saçik [a], Zahide Çavdar [b], and Güven Erbil [a]

[a]Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey; [b]Department of Molecular Medicine, Graduate School of Health Sciences, Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey

ABSTRACT

We investigated the effects of maternal thyroid disorders on Hofbauer cells of both the placenta and the fetus in pregnant rats. We divided 21 rats into three groups: control group, induced hypothyroidism (hypo) group and induced hyperthyroidism (hyper) group. Hypothyroidism was induced using propylthiouracil and hyperthyroidism was induced using L-thyroxine. We measured maternal weight, maternal free thyroxine, fetal weight, fetal viability and placental morphology. At the end of the experiment, fetuses of the hypo and hyper groups were less developed than those of the control group. In the hypo and hyper groups, the thickness of the labyrinth zone was decreased, but thickness of the basal zone and decidua basalis was increased. The number of Hofbauer cells was increased in both the hypo and hyper groups. Vascular endothelial growth factor expression was increased in both the hypo and hyper groups compared to controls. Our findings indicate that maternal thyroid disorders exert a negative effect on fetal growth and placental development.

KEYWORDS

Hofbauer cell; hyperthyroidism; hypothyroidism; intrauterine growth restriction; placenta; rats; vascular endothelial growth factor

The effects of hypothyroidism and hyperthyroidism on placental Hofbauer cells of pregnant rats

By Are you this author?

Bilici, G (Bilici, Gokcen) [1] ; Ural, C (Ural, Cemre) [2] ; Saçik, U (Sacik, Uygar) [1] ; Çavdar, Z (Cavdar, Zahide) [2] ; Erbil, G (Erbil, Guven) [1]

View Web of Science ResearcherID and ORCID (provided by Clarivate)

Source BIOTECHNIC & HISTOCHEMISTRY
Volume: 97 Issue: 2 Page: 126-135
DOI: 10.1080/10520295.2021.1912828

Published FEB 17 2022

Early Access APR 2021

Indexed 2021-05-14

Document Type Article

This record is from:

Web of Science Core Collection

- Science Citation Index Expanded (SCI-EXPANDED)

2. **Hakemli dergide (SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi) yayınlanmış tez ile ilişkili araştırma makalesi**

Semerci N, **Bilici G**, Yılmaz F, Çavdar Z, Sacık U, Kayışlı Ü, Erbil G. The Effects of Immobilization Stress on Placenta and Fetus in Pregnant Mice. Med J SDU 2021; 28(1): 31-39. DOI: 10.17343/sdutfd.651091.



ÖZGÜN ARAŞTIRMA ORIGINAL RESEARCH

Med J SDU / SDÜ Tıp Fak Derg ▶ 2021:28(1):31-39 doi: 10.17343/sdutfd.651091

THE EFFECTS OF IMMOBILIZATION STRESS ON PLACENTA AND FETUS IN PREGNANT MICE

FARE GEBELİK DÖNEMİNDE HAREKETSİZLİK STRESİNİN PLASENTA VE YAVRUYA ETKİLERİ

Nihan SEMERCİ[1], Gökçen BİLİCİ[2], Filiz YILMAZ[2], Zahide ÇAVDAR[3], Uygar SACIK4, Ümit KAYIŞLI[1], Güven ERBİL[2]

[1]Depart. of Obstetrics and Gynecology, Uni.. of South Florida, Morsani College of Medicine, Tampa, Florida, USA
[2]Department of Histology and Embryology, Dokuz Eylul University, School of Medicine, Izmir, Turkey
[3]Department of Molecular Medicine, Dokuz Eylul University, Institute of Health Sciences, Izmir, Turkey
[4]Department of Histology and Embryology, Yıldırım Beyazıt University, School of Medicine, Ankara, Turkey

Cite this article as: Semerci N, Bilici G, Yılmaz F, Çavdar Z, Sacık U, Kayışlı Ü, Erbil G. The Effects Of Immobilization Stress On Placenta And Fetus In Pregnant Mice. Med J SDU 2021; 28(1): 31-39.



DergiPark AKADEMİK

SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi

RESEARCH ARTICLE EN TR

PDF BibTex Cite

THE EFFECTS OF IMMOBILIZATION STRESS ON PLACENTA AND FETUS IN PREGNANT MICE

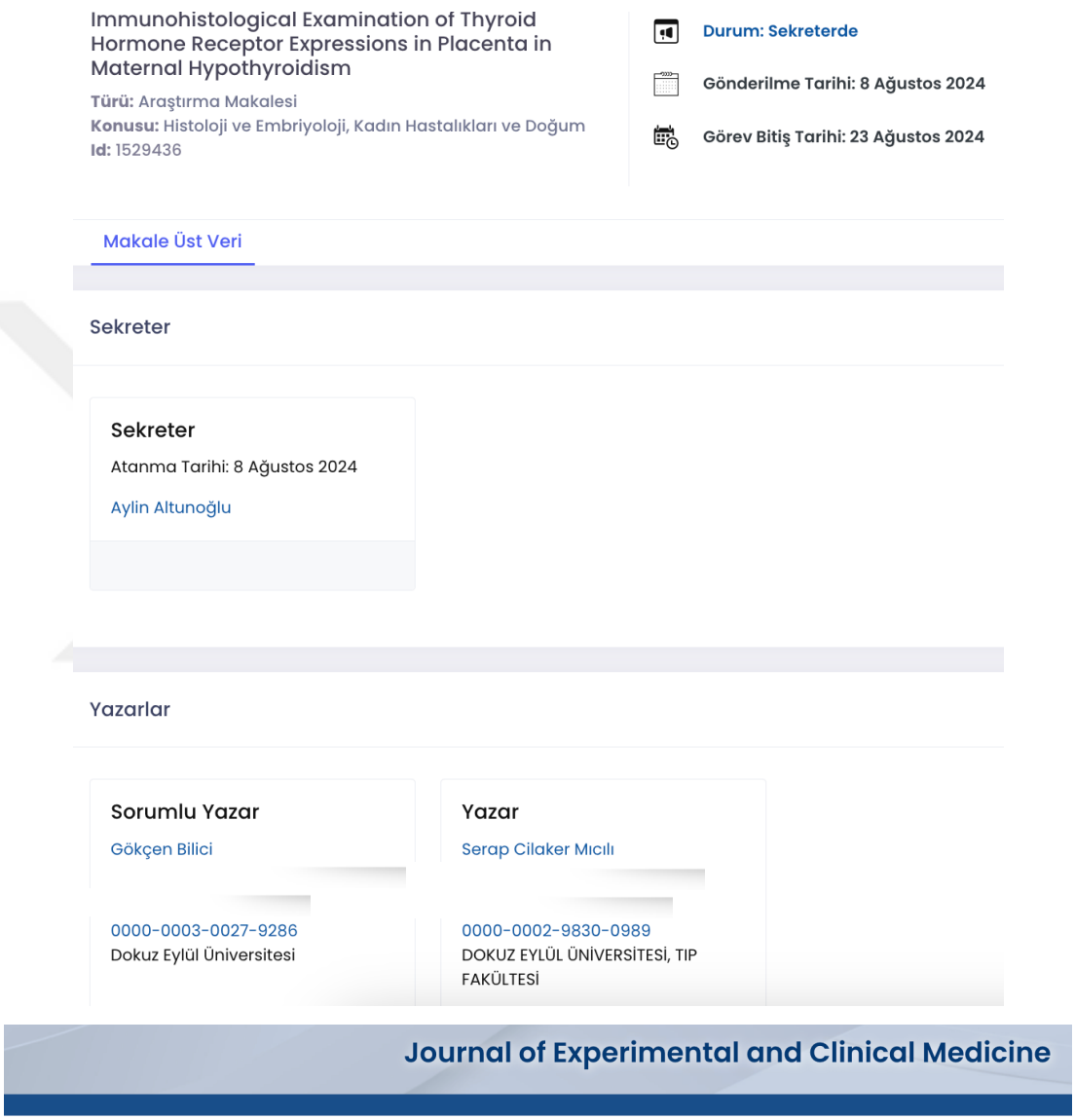
Year 2021, , 31 - 39, 11.03.2021

Nihan SEMERCİ Gökçen BİLİCİ Filiz YILMAZ * Zahide ÇAVDAR Uygar SACIK Ümit KAYIŞLI Guven ERBİL

https://doi.org/10.17343/sdutfd.651091

3. **Hakemli dergiye gönderilmiş (manuscript) tez ile ilişkili araştırma makalesi**

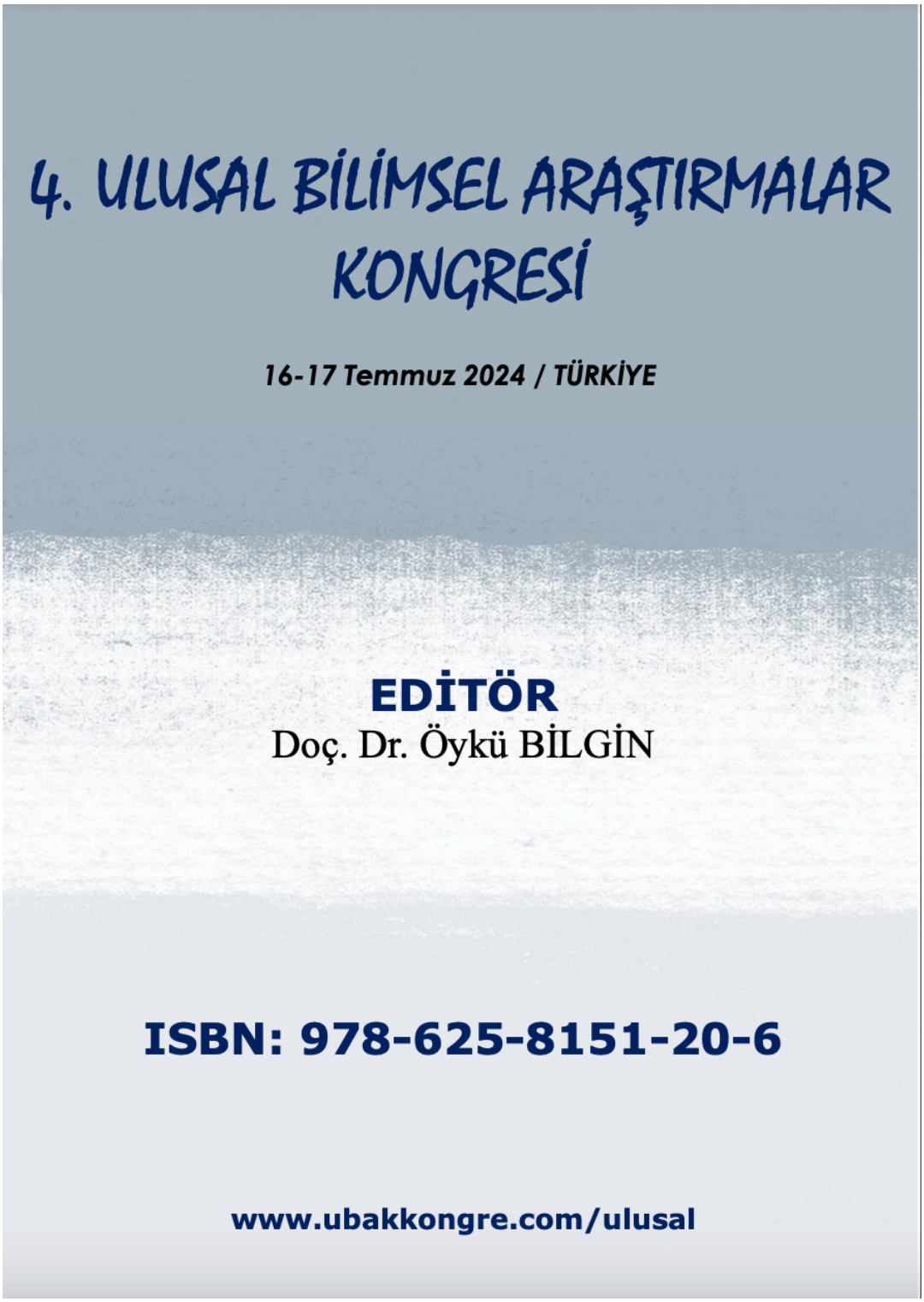
Bilici G, Cilaker Mıcılı S. Immunohistological Examination of Thyroid Hormone Receptor Expressions in Placenta in Maternal Hypothyroidism. Journal of Experimental and Clinical Medicine





4. **Tezi ile ilgili çalışmaları hakkında ulusal/uluslararası etkinliklerde sözlü, yazılı ve görsel sunum**

Bilici Güler G., Cilaker Mıcılı S. Maternal Hipotiroidili Gebelerde Tiroid Hormon Reseptör Ekspresyonlarının İmmünohistolojik İncelenmesi, Sözlü Sunum, 4. Ulusal Bilimsel Araştırmalar Kongresi. 16 – 17 Temmuz 2024, 35.



4. ULUSAL BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR KONGRESİ
16-17 Temmuz 2024 / Ankara
WEB: https:// www.ubakkongre.com/ulusal
E-MAIL: akademikkongre@gmail.com

MATERNAL HİPOTİROİDİLİ GEBELERDE TİROİD HORMON RESEPTÖR EKSPRESYONLARININ İMMÜNOHİSTOLOJİK İNCELENMESİ

Gökçen BİLİCİ GÜLER
Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
ORCID: 0000-0003-0027-9286

Serap CİLAKER MIÇILI
Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim
ORCID: 0000-0002-9830-0989

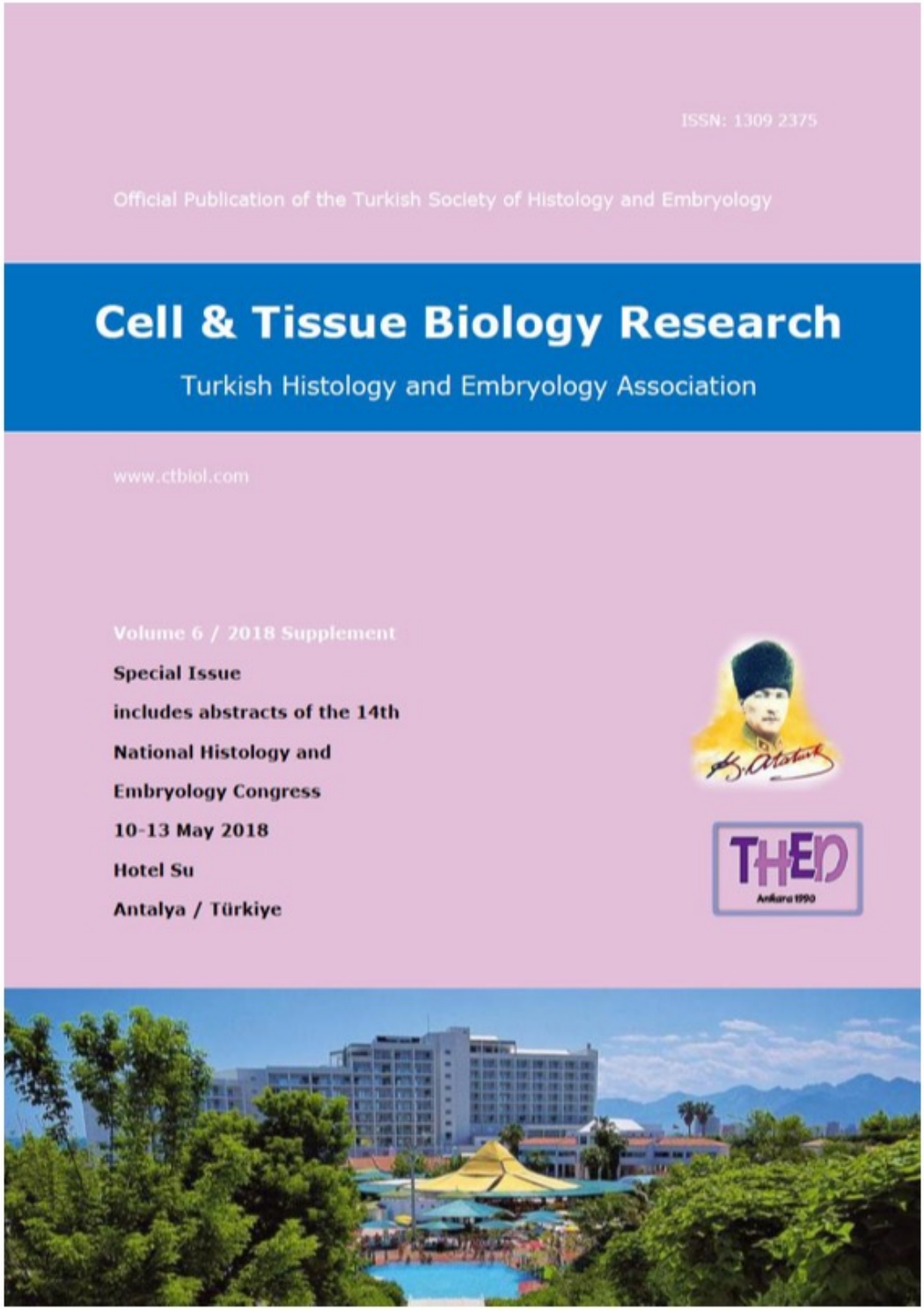
ÖZET

Tiroide bağlı hastalıklar üreme çağındaki kadınları etkileyen en sık ikinci endokrin bozukluktur. İlk trimesterde, plasentadan salgılanan insan koryonik gonadotropinindeki (hCG) kısa süreli dalgalanmalar maternal tiroid hormonu sentezini uyarmaktadır ve bu durum gebeliğin farklı dönemlerinde tiroid hormonunda değişikliklere yol açmaktadır. T_3 ve T_4 gebeliğin sürdürülebilmesi için gereklidir ve maternal hipotiroidinin erken gebelik kayıpları ile ilişkili olduğu görülmüştür. Tiroid hormonları, hedef genlerin regülatör bölgelerindeki tiroid hormonu yanıt elementlerine (TRE) bağlanarak hücresel büyüme, diferansiasyon, metabolizma, inflamasyon ve proliferasyon gibi çeşitli fizyolojik süreçleri modüle eder. Tiroid hormonu plasentada trofoblastlar tarafından alınır ve özellikle T3 nukleustaki tiroid hormon reseptörlerine (THR) bağlanarak fizyolojik etkisini gösterir.

Çalışmamızda gebelikte hipotiroidi tanısı konmuş hastalardan (n=5) ve sağlıklı gebelerden (n=5) doğum sonrası alınan plasentalar değerlendirildi. THRα ve THRß ekspresyonlarına immunohistolojik olarak bakıldığında kontrol grubunda THRα kontrol ve hipotiroidi gruplarında benzer düzeyde ekspresyon gösterirken; THRß ekspresyonunun kontrol grubunda hipotiroidi grubu plasentalarına göre daha fazla eksprese olduğu görüldü. Bu durumun azalmış tiroid hormon sentezine bağlı olduğu düşünüldü. Sonuç olarak hipotiridi durumuna bağlı azalan tiroid hormon sentezi ile birlikte azalmış reseptör ekspresyonlarının fetüse daha az tiroid hormon geçişine sebep olduğu ve böylece intrauterin büyüme geriliği (IUGR), preterm doğum, missed abortus gibi durumların ortaya çıkmasına zemin hazırladığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Maternal hipotiroidi, tiroid reseptörü, plasenta

Bilici G, Erbil G, Çavdar Z, Ural C. Gebe Ratlarda Hipotiroidi ve Hipertiroidinin Sonuçlar ve Hofbauer Hücre Davranışı, Poster Sunumu, 14. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 10 – 13 Mayıs 2018, 202.



P024

Gebe Ratlarda Hipotiroidi ve Hipertiroidinin Sonuçları ve Hofbauer Hücre Davranışı

Gökçen Bilici[1], Güven Erbil[1], Zahide Çavdar[2], Cemre Ural[2]
[1]Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D
[2]Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp A.D.

Amaç: Maternal hipotiroidi ve hipertiroidi anne ve fetus arasında gaz, besin değişimi, hormon üretimi, fetüsün korunması gibi görevleri olan plasenta gelişiminde etkili olmaktadır. Literatürde, deneysel olarak oluşturulmuş hipotiroidi ve hipertiroidili gebelerde Hofbauer hücreleri ile yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Amacımız, deneysel olarak maternal hipotiroidi ve hipertiroidi oluşturduğumuz deneklerden elde edilen plasentalarda Hofbauer hücrelerinden eksprese edilen VEGF ve SPRY2'de ki değişim ile bu annelerden doğan yavrulara etkisinin morfolojik, histolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak incelemektir.
Yöntem-Gereçler: 21 adet Wistar suşu albino dişi sıçan rastgele 3 gruba (Kontrol, Hipotiroidi ve Hipertiroidi) ayrılmıştır. Kontrol grubuna distile su, Hipotiroidi grubuna 1 mg/denek gün o.g Propiltiyourasil ve Hipertiroidi grubuna 50µg/denek/gün o.g Levotiroksin uygulaması yapıldı. Katıma almadan 5 gün önce ilaç uygulamalarına başlandı ve 5. Gün denekler erkek sıçanlar ile katıma alındı. Ertesi gün erkek sıçanlardan ayrılan denekler gebe kabul edilerek bireysel olarak kafeslendi. Gebeliğin 19. gününe kadar uygulamalara devam edildi ve 19. günde eter anestezisi altında sezaryen ile plasenta ve fetüsler alındı. Denek, plasenta ve fetüs ağırlıkları ile fetüs sayıları değerlendirildi. Histolojik incelemeler (H&E, PAS ve Masson Trichrome) ve CD68, VEGF ve SPRY2 immün boyamaları yapıldı. ELISA ile serum fT4 ve VEGF protein miktarları ölçüldü.
Bulgular: Deney sonunda maternal, fetal ve plasental ağırlıklar ve fetüs sayısı hipotiroidi ve hipertiroidi grubunda daha düşük bulundu. Plasental tabaka kalınlıklarına baktığımızda hipotiroidi ve hipertiroidi grubunda, labirent zon kalınlığı azalmış, bazal zon ve desidua bazalis kalınlığı artmıştı. Bazal zondaki glikojen hücre grupları hipotiroidi ve hipertiroidi grubunda artış gösterdi. Bağ doku miktarında gruplar arası bir değişiklik saptanmadı. CD68+ Hofbauer hücrelerinin sayısı ve VEGF immünreaktivitesi hipotiroidi ve hipertiroidi grubunda artmış, SPRY2 immünreaktivitesi azalmıştı. Elde edilen fetüslere yapılan iskelet boyaması sonucunda kemikleşmenin kontrol grubu fetüslerine göre geri kaldığı görüldü. Serum fT4 değerleri bazal değerlere göre hipotiroidi grubunda azalmış, hipertiroidi grubunda artmıştı. VEGF protein ekspresyonu da kontrol grubuna göre artış göstermişti.
Sonuçlar: Elde ettiğimiz sonuçlar maternal tiroid bozukluklarının plasental makrofajlar olan Hofbauer hücreleri üzerinde sayısal değişikliğe neden olduğunu ve protein ekspresyonunda birbiri ile korelasyon içinde artış ve azalma meydana geldiğini göstermiştir. Fetüslerde de özellikle ekstremitelerde gelişme geriliği, düşük doğum ağırlığı gibi sonuçlar elde ettik.

Anahtar Kelimeler: Hipertiroidi, hipotiroidi, Hofbauer hücresi, plasenta