

Ratlarda Gebeliğin Değişik Dönemlerinde Trofoblastların Özellikleri Üzerinde Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal Çalışmalar **

İsmail Şah HAREM¹, Belma ALABAY²

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Geliş Tarihi: 24.06.2018

Kabul Tarihi: 12.11.2018

Özet: Bu çalışmada, ratlarda gebeliğin değişik dönemlerinde plasentada bulunan trofoblastlar ve plasentaya ait diğer yapıların (desidua hücreleri, dev hücreler, glikojen hücreleri) histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlandı. Materyal olarak gebeliğin değişik dönemlerinde bulunan, erişkin ve sağlıklı 20 adet rat kullanıldı. Histokimyasal olarak yapılan incelemeler sonucunda, gebeliğin ilk yarımında sitotrofoblastlar ve dev hücrelerinde kuvvetli PAS (+), sinsisyotrofoblastlarda ise kuvvetli AB (+) reaksiyon gözlemlendi. Gebeliğin ikinci yarımında görülen glikojen hücrelerinde mor renkli granüller halinde PAS/AB (+) boyanma gözlenirken, küçük bazofilik hücreler gittikçe artan miktarda AB (+) reaksiyon gösterdiler. Gebeliğin ilerleyen dönemlerinde vakuollü yapı gösteren desidua hücrelerinde de artan miktarda PAS (+) reaksiyon saptandı. İmmunohistokimyasal incelemelerde, trofoblast ve dev hücrelerinde implantasyonun olmasından gebeliğin sonuna kadar, hormonal aktivite oldukça fazla görüldü. Östrogen ve progesteron hormonlarına ait reseptörler hücrelerin sitoplazma ve çekirdeklerinde yoğun olarak bulunuyordu. Gebeliğin sonuna doğru progesteron reseptörlerinde azalmanın olduğu, fakat gebeliğin her döneminde iki hormona ait reseptörlerde, reaksiyon şiddetinin fazla olduğu dikkati çekti.

Anahtar Kelimeler: Histokimya, İmmunohistokimya, Plasenta, Rat, Trofoblast.

Histochemical and Immunohistochemical Investigation on Trophoblasts Characteristic in Different Stages of Pregnancy in Rats

Abstract: In this study, it was aimed to examine trophoblast cells and other placental structures (decidua cells, giant cell, glycogen cell) histochemically and immunohistochemically in various periods of gestation in rats. Twenty adult, healthy and pregnant rats were used as materials. By histochemical examinations it was observed that there were significant AB (+) reactions in syncytiotrophoblasts, PAS (+) reactions in giant cells and cytotrophoblasts in the first half of gestation. In the second half of gestation, glycogen cells were stained with PAS/AB (+) in purple coloured granules and small basophilic cells showed gradually increasing AB (+) reactions. In the advanced state of gestations, decidual cells having vacuoles showed increasing PAS (+) reactions. In immunohistochemical examinations, hormonal activities increased significantly in trophoblasts and giant cells during the period staining from the implantation to the end of gestation. Oestrogen and progesterone receptors were found in high density in the cytoplasm and nucleus of the cells. Progesterone receptors decreased slightly towards the end of pregnancy, however, reactions were high in receptors belonging to both hormones in every period of pregnancy.

Keywords: Histochemistry, Immunohistochemistry Placenta, Rat, Trophoblast.

Giriş

Gebeliğin başlangıcı ve bitiş arasındaki süreçte, canlı vücudunda meydana gelen değişiklikler, gebeliğin sorunsuz devam etmesini ve sonlanmasını sağlayan etkenler araştırılmaya değer konulardır. Bu çalışmada temel amaç, östrogen ve progesteron reseptörlerinin, bilinen hedef dokularında aktivitelerinin histokimyasal metotlar yanında daha dinamik, belirleyici bir yöntem olan immunohistokimyasal metot ile araştırılması, bu hormonların ve bu hormonları salgılayan hücrelerin

gelişim üzerindeki etkileri ve önemini vurgulamaktır. Besleme ve bakım koşullarının uygunluğu, genetik ve fizyolojik olarak insana yakın oluşu embriyolojik çalışmalarda ratların kullanılmasına olanak sağlamıştır. Blastosölü çevreleyen ektoderm katına trofoblast denir. Nodus embriyonalisi örten trofoblastlara polar trofoblast (Rauber tabakası), blastosölü çevreleyenlere de parietal trofoblast ismi verilir (Hassa ve Aştı, 1997). Plasenta hem östrogen, hem de progesteron hormonunun ana kaynağıdır

(Ogle, 1986; Özer, 1997; Rivera ve Cano, 1989). Trofoblast hücrelerinin bol mitoz geçirerek sayılarını arttırmaları ile iki tabaka gelişir. İçteki tabaka sitotrofoblastlar, uterus endometriyumu ile yakın temasta olan dıştaki tabaka ise sinsisyotrofoblast hücrelerinden oluşur (Dellmann ve Eurell, 1998; Enders ve Schlafke, 1967; Gartner ve Hiatt, 1997; Gürsoy ve Koptagel, 1997). Ultrastrüktürel özellikleri sinsisyotrofoblastların chorionic gonadotropin, plasental lactogen, östrojen ve progesteron hormonunun (steroidler) sekresyonunda önemli rol oynadığına işaret etmektedir (Demir, 1995; Gürsoy ve Koptagel, 1996; Ogle ve ark., 1989; Strauss ve ark., 1997). Yapılan çalışmalarla sitotrofoblastların human chorionic gonadotropin (hCG) (Demir, 1995), kortikotropin relasing faktör (CRF), gonadotropin relasing hormon (GnRH, plasental LRF), nöropeptid-Y (NPY), inhibin (Petraglia, 1987; Petraglia, 1989) salgıladığı gösterilmiştir.

Materyal ve Metot

Araştırmada materyal olarak gebeliğin farklı dönemlerindeki (6, 10, 15 ve 20 günlük) 20 adet sağlıklı ve erişkin Wistar albino rat kullanıldı. Dişi ratlar kafeslere konularak siklik takibe alındılar. Takip edilen ratlardan vaginal smear alınarak, sitolojik olarak östrusta olduğu saptanan dişi ratların kafeslerine erkek rat bırakılmıştır. Alınan smear örnekleri Papanicolaou boyama tekniğine göre boyanmış (Papanicolaou, 1942), smearlerde muköz plakların, yoğun lökosit infiltrasyonunun, intermediyer, az sayıda parabazal ve keratinize hücrelerin görülmesiyle gebeliğin oluştuğu anlaşılmıştır. Gebeliğin farklı dönemlerindeki ratlardan eter anestezisi altında doku örnekleri alınarak, materyal histokimyasal ve immunohistokimyasal amaçla işlendi.

Histokimyasal incelemeler için doku örnekleri Bouin ve %10'luk nötral Formol solüsyonlarında tespit edildi. Daha sonra rutin histolojik aşamalardan geçirilerek hazırlanan bloklardan 6-7 mikron kalınlığında seri kesitler alındı ve dokunun genel yapısını ortaya koymak amacıyla Crossmon tarafından modifiye edilen Mallory'nin üçlü boyama tekniği, nötral mukosubstans için Periyodik Asit Schiff (PAS) reaksiyonu (Denk ve ark., 1989), asidik mukosubstans için Alcian Blue (AB) pH 2.5 metodu (Culling ve ark., 1985), nötral ve asidik mukosubstansın birlikte demonstrasyonu için PAS/AB pH 2.5 kombine boya yöntemi (Denk ve ark., 1989) uygulandı. İmmunohistokimyasal incelemeler için parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında seri kesitler adhezivli lamlara alındı. Trofoblast hücrelerindeki östrojen ve progesteron

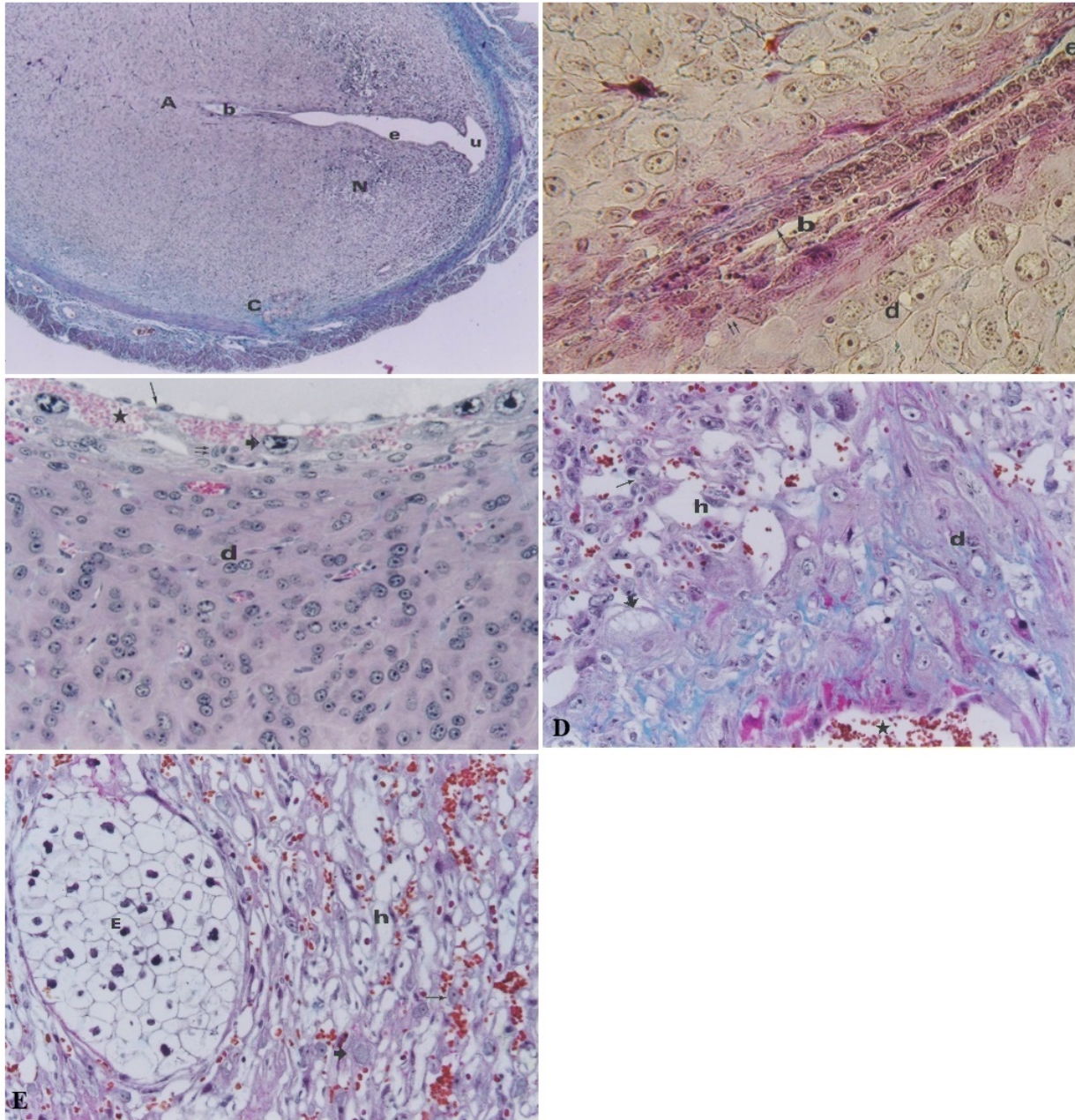
reseptörlerini ortaya koymak için Labelled Streptavidin-biotin metodu uygulanarak, kullanıma hazır Estrogen/Progesterone Receptor Kit (DAKO ER/PR System, K1900 1D5-1A6) kullanıldı.

Bulgular

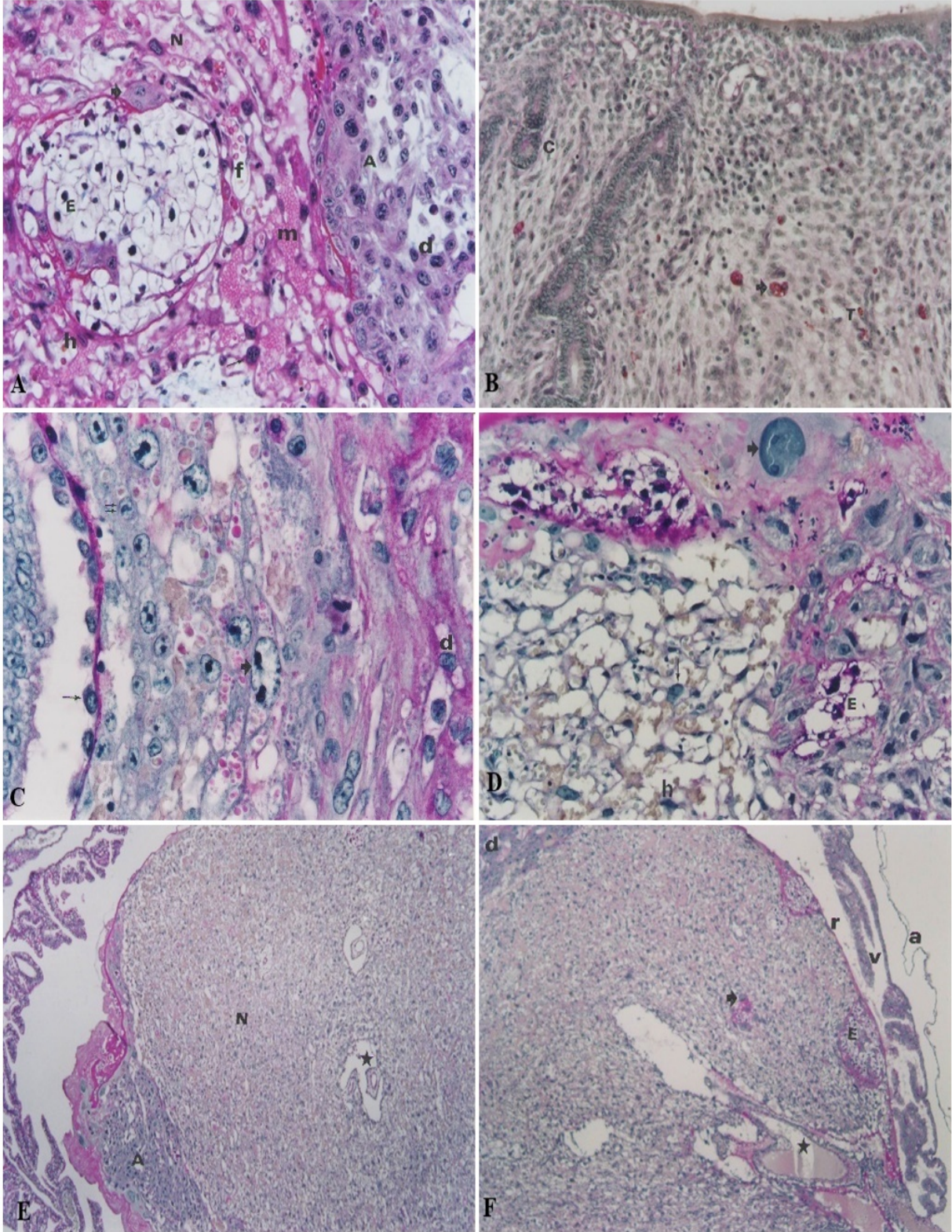
Gebeliğin 6. gününde üçlü boyamada, luminal epitel tek katlı prizmatik hücrelerden oluşuyordu. Desidua hücreleri büyüktü. Miyometriyuma komşu olan bölgede uterus bezleri vardı (Şekil 1A). Blastosist etrafında yerleşim gösteren sito ve sinsisyotrofoblastlar görüldü. Labirint ve desidual bölgede trofoblastik dev hücrelerine rastlandı (Şekil 1B). Onuncu günde, sitotrofoblastlar oval ve koyu boyanan çekirdekleri ile ayırt edildi. Bunların hemen altında hücre sınırları belirgin olmayan, çekirdekleri açık boyanan sinsisyotrofoblastlar gözlemlendi (Şekil 1C). On beşinci günde, labirint bölgesinde topluluklar yapmış glikojen hücreleri gözlemlendi (Şekil 1D). Büyük çekirdekleri ve geniş sitoplazmaları ile karakterize dev hücreleri görüldü. Bu bölgede, maternal damarlara bitişik pozisyonunda, büyük çekirdeğe ve veziküler sitoplazmaya sahip küçük bazofilik hücreler, dev hücreleri ve vakuollü glikojen hücreleri görüldü (Şekil 1E). Yirminci günde, dev hücreler, desidual bölgede yer yer vakuollü hücreler gözlemlendi. Maternal ve fetal damarlar etrafında koyu çekirdekleriyle küçük bazofilik hücreler ve 1-2 çekirdekli sitotrofoblast hücreleri gözlemlendi (Şekil 2A). Gebeliğin 6. gününde PAS boyamasında, sinsisyotrofoblastlar ve dev hücrelerin sitoplazmalarında kuvvetli PAS (+) reaksiyon vardı (Şekil 2B). Onuncu günde, dev hücrelerin sitoplazmalarında granül tarzında, sitotrofoblastların bazalinde oldukça kuvvetli, sinsisyotrofoblastlarda ise daha zayıf PAS (+) reaksiyon gözlemlendi (Şekil 2C). On beşinci günde, glikojen hücrelerini çevreleyen kapsülde oldukça kuvvetli PAS (+) reaksiyon görüldü. Dev hücrelerinin sitoplazmasında diffuz reaksiyon gözlemlendi (Şekil 2D). Küçük bazofilik hücrelerde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 2E). Yirminci günde, dev hücrelerin sitoplazmalarında ve glikojen hücre topluluklarını çevreleyen kapsülde kuvvetli PAS (+) reaksiyon görüldü (Şekil 2F). Gebeliğin 6. gününde AB boyamasında, sinsisyotrofoblastların sitoplazmasında kuvvetli AB (+) reaksiyona rastlandı (Şekil 3A, 3B). Onuncu günde, trofoblastlardaki reaksiyon oldukça zayıftı. Dev hücrelerin sitoplazmaları ve etrafını saran kapsül az boyanmıştı (Şekil 3C). On beşinci günde, glikojen hücre topluluklarında reaksiyon çok azdı. Dev hücrelerinin sitoplazmaları oldukça soluk boyanmıştı (Şekil 3D). Yirminci günde, dev hücrelerin sitoplazmasında çekirdeğe yakın bölgede AB (+) reaksiyon görüldü

(Şekil 4A, 4B). Gebeliğin 6. gününde PAS/AB boyamasında, trofoblastların sitoplazmasında asidik mukosubstansların ve nötral mukosubstansların az ve soluk olduğu görüldü (Şekil 4C). Dev hücrelerin sitoplazmasında çok az nötral mukosubstans vardı ve asidik mukosubstans görülmedi (Şekil 4D). Onuncu günde, sitotrofoblastların bazal membranında asidik mukosubstanslar görüldü. Sinsisyotrofoblastlarda asidik ve nötral

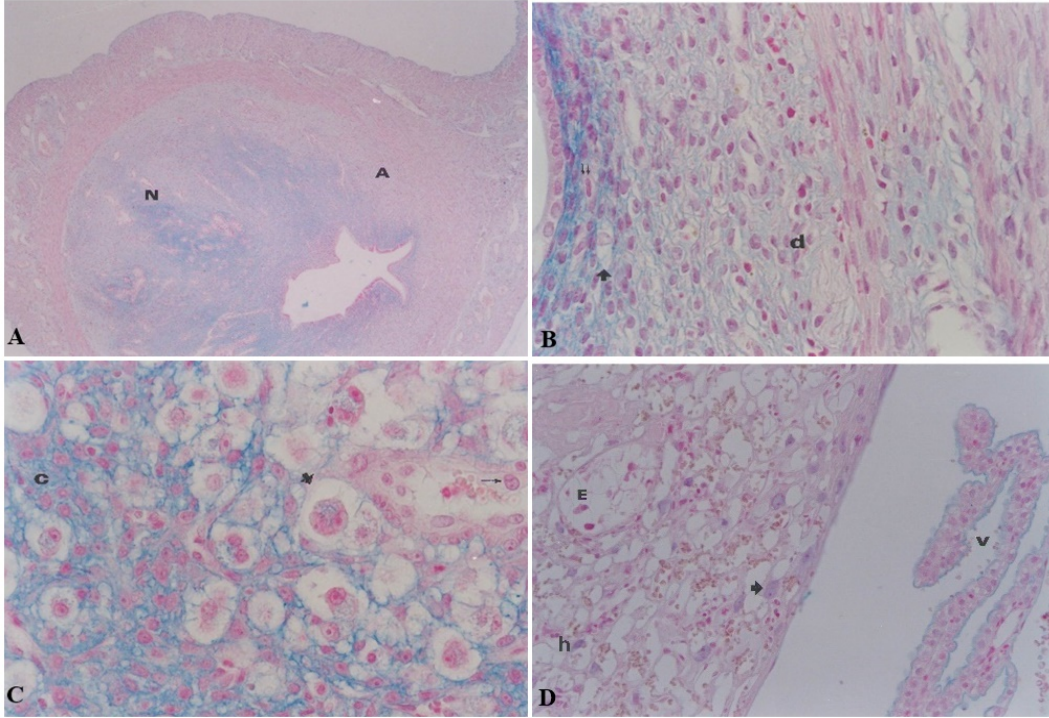
mukosubstans azdı. Dev hücrelerinin sitoplazmasında asidik mukosubstansa rastlandı (Şekil 5A). On beşinci günde, dev hücrelerinin sitoplazmasında nötral mukosubstans fazlaydı. Sitotrofoblastlardaki nötral ve asidik mukosubstans yoğunluğu azdı (Şekil 5B). Yirminci günde, dev hücrelerde ve trofoblastlarda asidik mukosubstans az olarak görüldü (Şekil 5C, 5D).



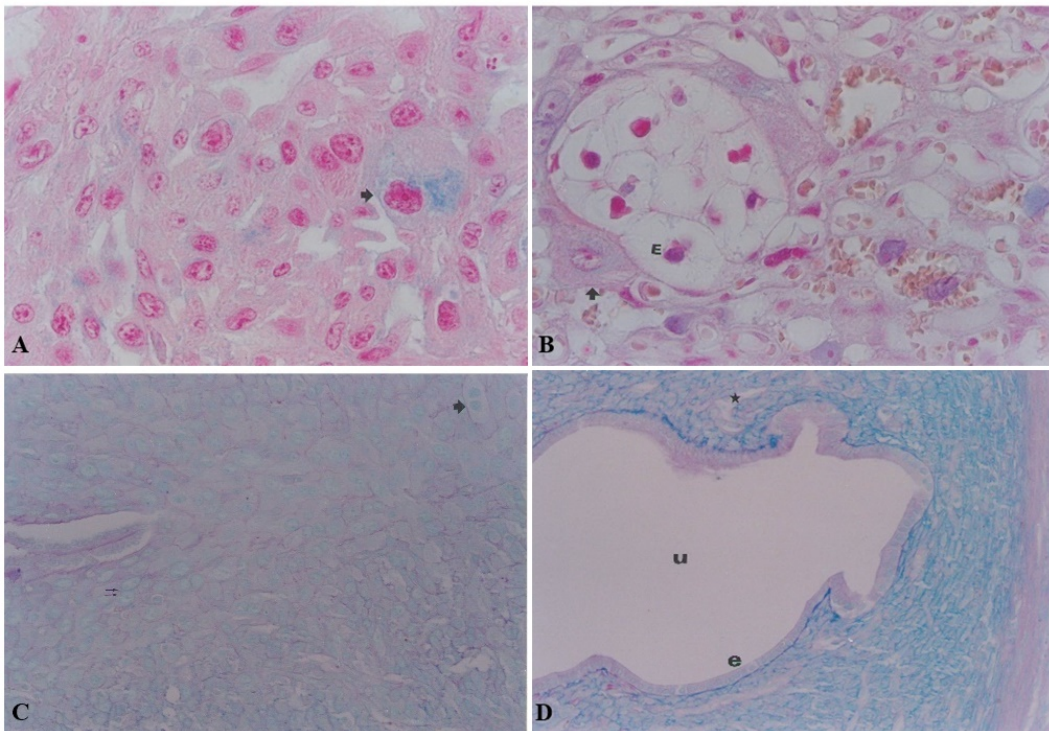
Şekil 1. (A) Gebeliğin 6. günündeki rat plasentasında desidual bölge (A), labirint bölgesi (N), uterus bezleri (C), uterus lumeni (u), uterus epiteli (e), blastosist (b) Triple x62. (B) Gebeliğin 6. gününde blastosist (b), sitotrofoblast (uzun ok), sinsisyotrofoblast (çift ok), desidua hücresi (d), uterus epiteli (e) Triple x650. (C) Gebeliğin 10. gününde plasenta. Sitotrofoblast (uzun ok), sinsisyotrofoblast (çift ok), dev hücre (kalın ok), desidua hücresi (d), kan damarı (★) Triple x300. (D) Gebeliğin 15. gününde plasentada sitotrofoblast (uzun ok), desidua hücresi (d), küçük bazofilik hücre (h), dev hücre (kalın ok), kan damarı (★) Triple x270. (E) Gebeliğin 15. gününde sitotrofoblast (uzun ok), dev hücre (kalın ok), glikojen hücre topluluğu (E), küçük bazofilik hücre (h) Triple x300.



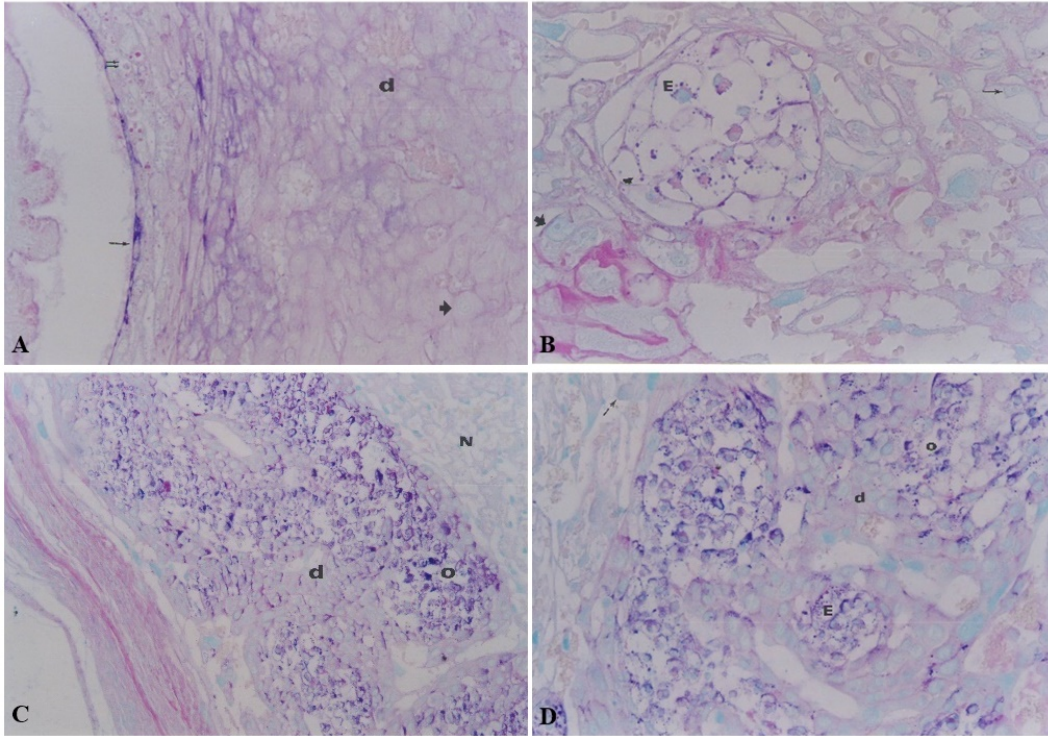
Şekil 2. (A) Gebeliğin 20. gününde labirint bölgesi (N), desidual bölge (A), sitotrofoblast (uzun ok), desidia hücresi (d), dev hücre (kalın ok), glikojen hücre topluluğu (E), küçük bazofilik hücre (h), fetal damar (f), maternal damar (m) Triple x297. (B) Gebeliğin 6. günü, trofoblast (T), dev hücre (kalın ok), uterus bezleri (C) PAS x290. (C) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), sinsisyotrofoblast (çift ok), dev hücre (kalın ok), desidia hücresi (d) PAS x590. (D) Gebeliğin 15. gününde sitotrofoblast (uzun ok), glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok), küçük bazofilik hücre (h) PAS x295. (E) Gebeliğin 15. günde desidual bölge (A), labirint bölgesi (N), kan damarı (★) PAS x62. (F) Gebeliğin 20. gününde glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok), desidia hücresi (d), kan damarı (★), amniyon (a), vitellüs kesesi (v), Reichert's membranı (r) PAS x60.



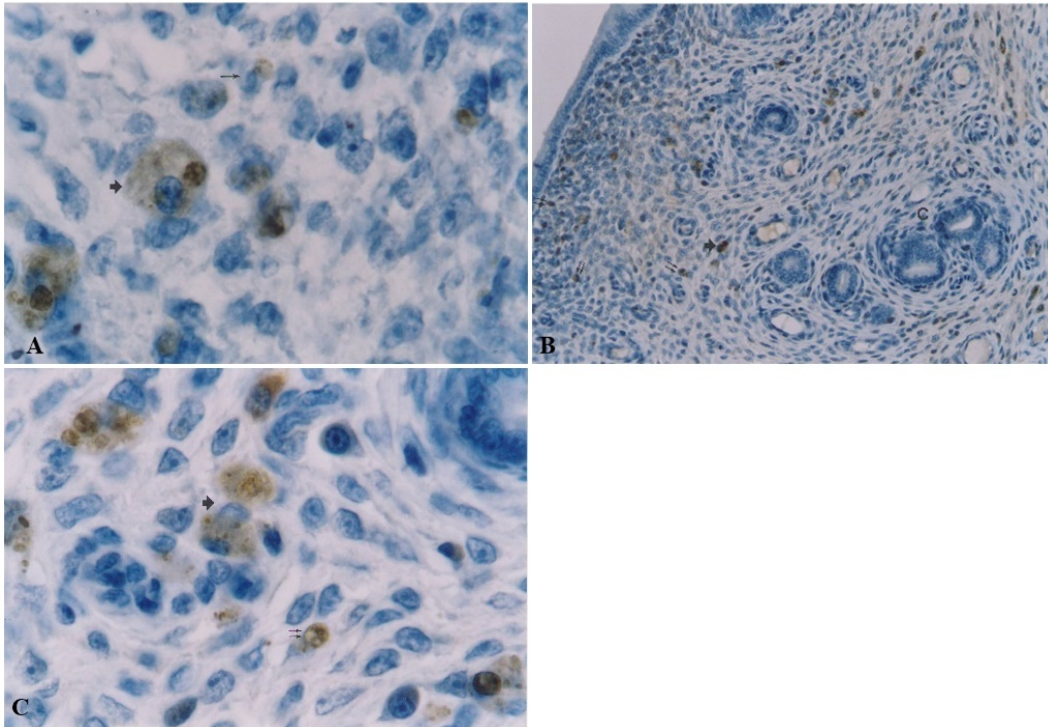
Şekil 3. (A) Gebeliğin 6. gününde desidual bölge (A), labirint bölgesi (N) AB x56. (B) Gebeliğin 6. gününde sinsisyotrofoblast (çift ok), desidua hücresi (d), dev hücre (kalın ok) AB x550. (C) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), dev hücre (kalın ok), bağdoku (c) AB x620. (D) Gebeliğin 15. gününde glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok) küçük bazofilik hücre (h), vitellüs kesesi (v) AB x310.



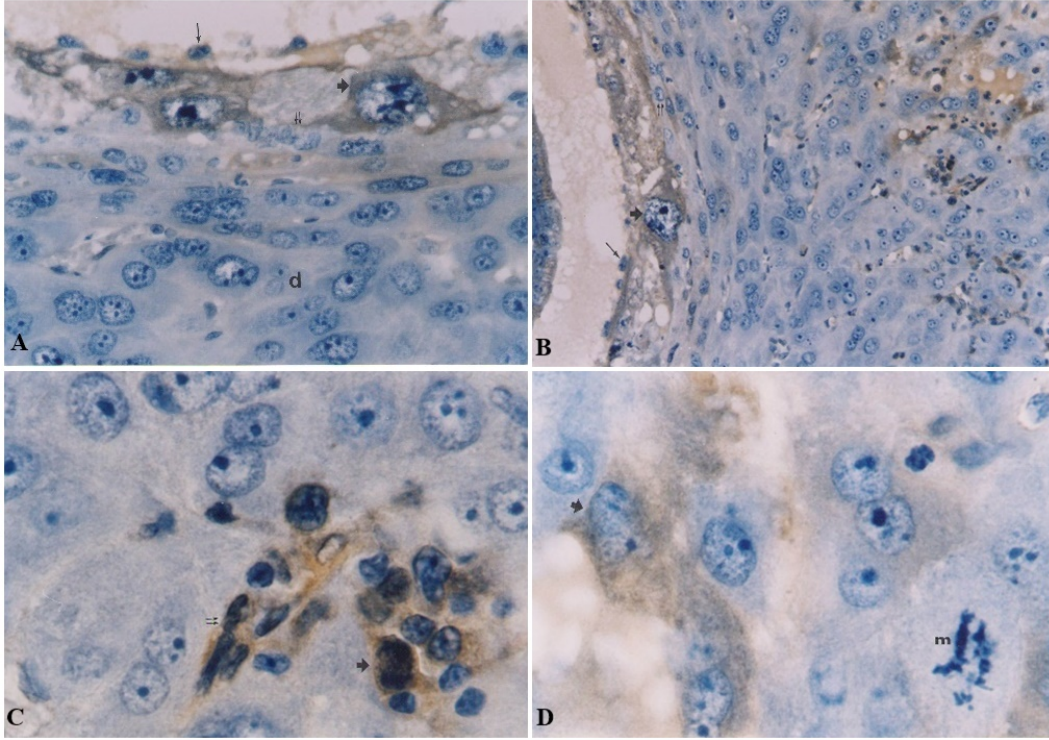
Şekil 4. (A) Gebeliğin 20. gününde dev hücre (kalın ok) AB x600. (B) Gebeliğin 20. gününde glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok) AB x610. (C) Gebeliğin 6. gününde sinsisyotrofoblast (çift ok), dev hücre (kalın ok) PAS/AB x300. (D) Gebeliğin 6. gününde uterus lumeni (u), uterus epiteli (e), kan damarı (★) PAS/AB x290.



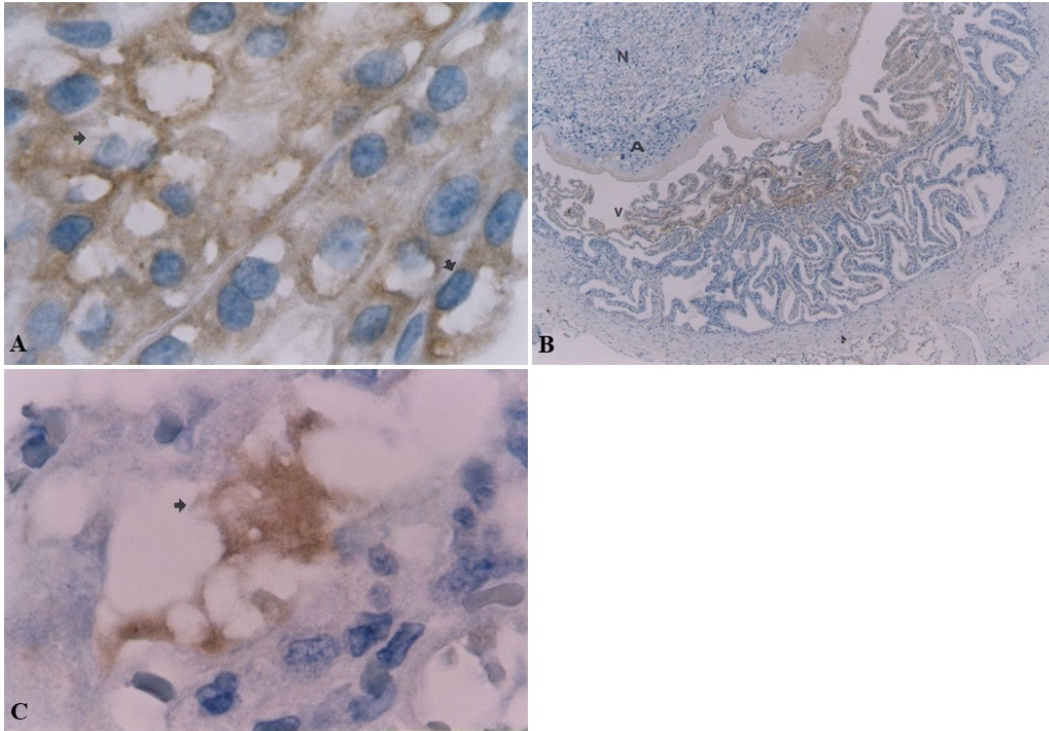
Şekil 5. (A) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), sinsisyotrofoblast (çift ok), dev hücre (kalın ok), desidua hücresi (d) PAS/AB x300. (B) Gebeliğin 15. gününde sitotrofoblast (uzun ok), glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok) PAS/AB x615. (C) Gebeliğin 20. gününde desidua hücresi (d), labirint bölgesi (N), vakuollü hücreler (o) PAS/AB x150. (D) Gebeliğin 20. gününde sitotrofoblast (uzun ok), desidua hücresi (d), glikojen hücre topluluğu (E), vakuollü hücreler (o) PAS/AB x290.



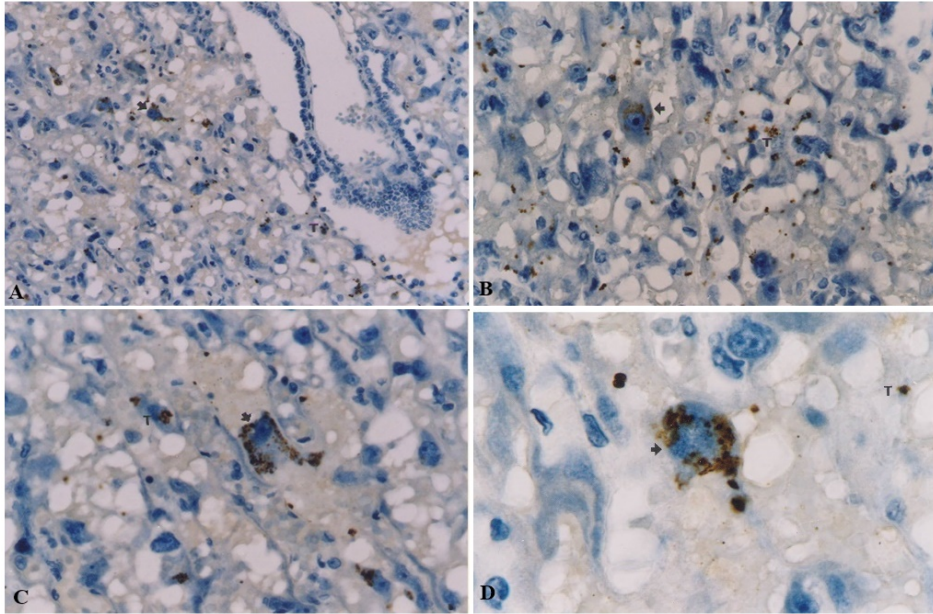
Şekil 6. (A) Gebeliğin 6. gününde sitotrofoblastlarda (uzun ok) ve dev hücrede (kalın ok) östrojen reseptörleri x1540. (B) Gebeliğin 6. gününde sinsisyotrofoblast (çift oklar) ve dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü, uterus bezleri (C) x295. (C) Gebeliğin 6. gününde sinsisyotrofoblast (çift ok) ve dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü x1430.



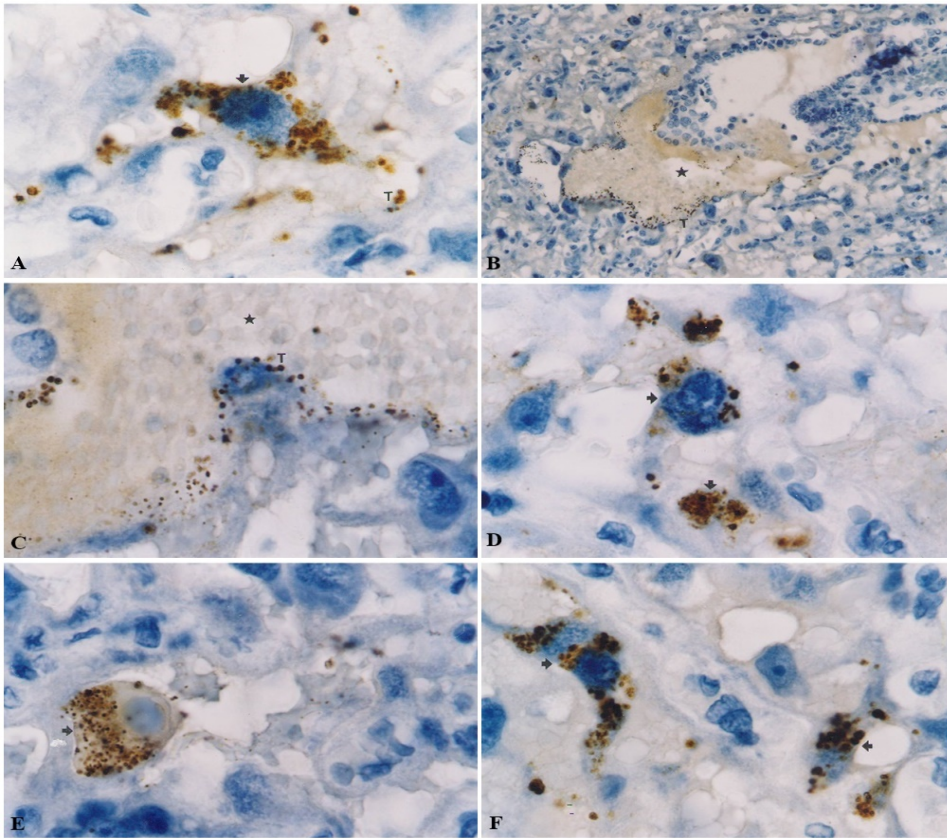
Şekil 7. (A) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), sinsiyotrofoblast (çift ok), dev hücresi (kalın ok) ve desidua hücresinde (d) östrojen reseptörleri x610. (B) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), sinsiyotrofoblast (çift ok) ve dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü x310. (C) Gebeliğin 10. gününde sinsiyotrofoblast (çift ok) ve dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü x1500. (D) Gebeliğin 10. gününde dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü ve mitotik figür (m) x1450.



Şekil 8. (A) Gebeliğin 15. gününde dev hücrelerinde (kalın ok) östrojen reseptörü x1480. (B) Gebeliğin 15. gününde desidua bölgesi (A), labirent bölgesi (N), vitellüs kesesi (v) progesteron reseptörü x60. (C) Gebeliğin 15. gününde dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü x1500.



Şekil 9. (A) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x310. (B) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x595 (C) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x590. (D) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x1470.



Şekil 10. (A) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x1550. (B) Gebeliğin 20. gününde trofoblastlardaki (T) progesteron reseptörü, kan damarı (★) x300. (C) Gebeliğin 20. gününde trofoblast'taki (T) progesteron reseptörü, kan damarı (★) x1485. (D) Gebeliğin 20. gününde dev hücrede (kalın ok) diffuz sitoplazmik progesteron reseptörü x1485. (E) Gebeliğin 20. gününde dev hücre (kalın ok) sitoplazmasında nokta şeklinde progesteron reseptörü x1430. (F) Gebeliğin 20. gününde dev hücrenin (kalın ok) sitoplazma ve çekirdeğindeki progesteron reseptörleri x1470.

Gebeliğin 6. gününde immunohistokimyasal boyama sonucunda, trofoblast hücrelerinde östrojen reseptörleri (Re) bol olarak görüldü. Trofoblastik dev hücrelerde nükleer östrojen reseptörü (Ren) az, sitoplazmik reseptörler hem diffuz hem de nokta şeklinde yoğun olarak bulunuyordu (Şekil 6A). Labirint bölgesindeki trofoblast hücrelerinde sitoplazmik progesteron reseptörü (Rpc) fazla, nükleer reseptörler (Rpn) az sayıda görüldü (Şekil 6B). Dev hücrelerin sitoplazmik progesteron reseptörü hem diffuz hem de granüler bir dağılım gösteriyorlardı. Bu hücrelerin nükleer reseptörleri az sayıda ve nokta şeklindeydi (Şekil 6C). Onuncu günde, sito- ve sinsisyotrofoblastların sitoplazmasında diffuz şekilde Ren görüldü. Dev hücrelerinin Ren'i hücrenin her tarafında görülüyordu (Şekil 7A). Sito- ve sinsisyotrofoblastlardaki progesteron reseptörleri sitoplazmik olarak yerleşim gösteriyorlardı (Şekil 7B, 7C). Dev hücrelerin sitoplazmalarında reseptörler diffuz bir dağılım sergiliyorlardı (Şekil 7D). On beşinci günde, sitotrofoblastlarda östrojen reseptörleri diffuz ve oldukça fazlaydı. Dev hücrelerin sitoplazmalarında da sitoplazmik reseptörler diffuz olarak görüldü (Şekil 8A). Labirint bölgesindeki trofoblastlarda sitoplazmik progesteron reseptörleri görüldü (Şekil 8B). Dev hücrelerde progesteron reseptörleri sitoplazmik ve diffuz bir dağılım gösteriyordu (Şekil 8C). Yirminci gününde, trofoblast hücrelerinde östrojenin sitoplazmik reseptörleri nükleer reseptörlere oranla daha fazla görüldü. Bu reseptörler hem diffuz hem de nokta şeklinde bir dağılım gösteriyorlardı (Şekil 9A, 9B, 9C). Trofoblastik dev hücrelerde hem sitoplazmik hem de nükleer reseptörler oldukça yoğun bir dağılım gösteriyorlardı (Şekil 9D, 10A). Damarların etrafındaki trofoblast hücrelerinin sitoplazmalarında nokta şeklinde progesteron reseptörleri belirlendi (Şekil 10B, 10C). Dev hücrelerdeki sitoplazmik reseptörler hem diffuz hem de nokta şeklinde oldukça fazla görüldü. Nükleer reseptörlerin yoğunluğu oldukça azdı. Genel tabloya bakıldığında gebeliğin 20. gününde östrojen reseptörlerinin yoğunluğu progesteron reseptörlerine göre fazlaydı (Şekil 10D, 10E, 10F).

Tartışma ve Sonuç

Abrohomsohn ve Zorn (1993), Demir ve ark. (1989), Enders ve Schlafke (1967), Tachi ve ark. (1970), implantasyonun ratlarda 6. günde olduğunu söylemişlerdir. Bu çalışmada alınan kesitler incelendiğinde implantasyonun gebeliğin 6. gününde olduğu görülmüştür. Bazı araştırmacılar (Abrohomsohn ve Zorn, 1993; Benirschke, 2002;

Gürsoy ve Koptagel, 1997) laboratuvar rodentlerinde implantasyonun antimezometriyal olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda bölgesel ayırım yapıldığında, bulguların araştırmacıların bulgularıyla uygunluk gösterdiği saptanmıştır. Dellmann ve Eurell (1998), Enders ve Schlafke (1967) ve Gürsoy ve Koptagel (1997) trofoblastlarda mitozun bol olarak görüldüğü ve bu hücrelerin sito- ve sinsisyotrofoblast adı verilen iki tabaka halinde şekillendiği vurgulanmaktadır. Sunulan bu çalışmada da bu iki tabakanın ayrımı yapılmış ve çok sayıda mitotik figür belirlenmiştir. Trofoblastın maternal doku, maternal kan veya bunların salgılarıyla doğrudan doğruya temas kurduğunu Johnson ve Selwood (1996) ile Ogle ve ark. (1997) çalışmalarında ortaya koymuşlardır. Elde edilen bulgular araştırmacıların bulgularıyla paralellik göstermektedir. Bir grup araştırmacı (Davies ve Glasser, 1968; Enders, 1965; Soares ve ark., 1996) yaptıkları çalışmalarda, koriyoallantoik plasentada morfolojik ve fonksiyonel olarak iki ayrı bölgenin oluştuğunu ve bu bölgelerin bağlantı bölgesi (bazal bölge, junctional bölge) ve labirint bölge olarak adlandırıldığını, bazal bölgenin maternal yüzeyle bağlantı halinde olduğunu, trofoblastik dev hücrelerini, glikojen hücrelerini ve desidua hücrelerini içerdiğini, plasental labirintin plasentanın büyük bir kısmını kapladığını, bu bölgede oldukça ince olan fetal damarların bulunduğunu ve bu damarların etrafında trofoblast hücrelerinin yerleştiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmadaki bulgular araştırmacıların bulgularıyla tamamen uyumaktadır. Benirschke (2002) ve Davies ve Glasser (1968)'in yaptıkları çalışmada, gebeliğin 14. gününden sonra bazal bölgede küçük bazofilik hücreler, dev hücreleri ve vakuollü glikojen hücreleri tespit etmişlerdir. Çalışmamızda hazırlanan kesitleri incelendiğimizde aynı bölgede bu hücreler tanımlanmıştır. Placenta bariyerinin fötusun koriyon epitelini (trofoblast hücreleri), koriyon mezenseimi (embriyonal bağdokusu) ve damar endoteli ile uterus mukozasında da epitel katı, bağdokusu ve damar endotelinden oluştuğunu Enders (1965) belirtmiştir. Araştırmamızda da bariyeri oluşturan bu yapılar görülmüştür ve elde edilen bulgular araştırmacının bulgularıyla aynıdır. Junqueira ve ark. (1992), polisakarit olan glikojenin PAS reaksiyonu ile gösterilebileceğini söylemişlerdir. Sunulan bu çalışmadaki bulgular ve uygulanan PAS reaksiyonu sonucunda elde edilen veriler diğer araştırmacıların bulgularıyla örtüşmektedir. Benirschke (2002) fareler üzerinde yaptığı çalışmada, dev hücrelerinde mitoz görülmediğini vurgulamıştır, bu çalışmada da gebeliğin 10. günündeki rat plasentasında dev hücrede mitotik

figüre benzeyen oluşumlar bulunmuştur. Bu nedenle aynı türden olan rat ve farelerdeki bu farklılık araştırıcının bulgusuyla uymamaktadır. Yine aynı çalışmada, dev hücrelerin gebeliğin 12. gününde daha büyük olarak görüldüğü ve her bir hücrenin PAS ile pozitif reaksiyon verdiği ileri sürülmüştür. Çalışmada da yapılan PAS boyaması ile bu hücrelerin pozitif reaksiyon verdiği saptanmıştır. Ayrıca Deane ve ark. (1962)'nin rat ve farelerde yaptıkları araştırmada PAS boyaması ile dev hücrelerinin sitoplazmasında orta derecede fakat farklı miktarda boyanan, bazen küçük nokta şeklinde granüller, bazen de daha büyük kitleler halinde boyanan materyal bulunduğunu bildirmişlerdir. Kesitlere uygulanan PAS reaksiyonu sonucunda araştırıcının bulguları bizim bulgularımızı desteklemektedir. Dev hücrelerinin trofoblast kökenli olduğu, östrojen ve progesteron hormonlarını ve dolayısıyla bu hormonların reseptörlerini de taşıdıklarını Abrahamsohn ve Zorn (1993), Davies ve Glasser (1968), ile Hiroi ve ark. (1999) yaptıkları çalışmalarda bildirmişlerdir. İmmunohistokimyasal boyamalardan elde edilen bulgularda da, bu hücrelerin her iki hormona ait reseptörleri fazla sayıda bulduklarını bildirmişlerdir. Bir grup araştırıcı (Dellmann ve Eurell, 1998; Demir, 1995; Denker, 1993; Enders, 1965; Enders ve Schlafke, 1967; Enders ve Schlafke, 1969; Gürsoy ve Koptagel, 1997) yaptıkları çalışmalarda, trofoblast hücrelerinin bol mitoz geçirip sayılarını arttırdıklarını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da bu hücrelerde oldukça bol miktarda mitotik figür tespit edilmiştir. Demir (1995), Gürsoy ve Koptagel (1997), Junqueira ve ark. (1992), Ogle ve ark. (1989) ile Strauss ve ark. (1996)'nın çalışmalarında sinsisyotrofoblastların östrojen ve progesteron hormonunun sekresyonunda önemli rol oynadıklarına işaret etmişlerdir. Yapılan çalışmada, hücrelerde hem östrojen hem de progesteron reseptörleri tespit edilmiştir, bu bulgular araştırıcıların bulgularıyla paralellik göstermektedir. Östrojen ve progesteron reseptörlerinin sitoplazmik ve nükleer olmak üzere iki alt tipinin olduğu, progesteron reseptörünün ratlarda gebeliğin 9. gününde çok fazla olduğu, östrojen reseptörlerinin de benzer bir dağılım gösterdiği, Ogle ve ark. (1989) ile Ogle ve ark. (1997) tarafından yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Guyton (1986)'da aynı bilgileri vermiş ve gebelik boyunca her iki hormonun seviyesinin giderek arttığını, fakat gebeliğin sonuna doğru progesteron miktarının sabit kaldığını hatta biraz azaldığını bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada hormon seviyeleri ölçülmemiş fakat uygulanan immunohistokimyasal metot ile bu hormonların taşıdıkları reseptörlerin yoğunluğu tespit edilmiş ve

elde edilen bulguların araştırıcıların bulgularıyla uyumlu olduğu görülmüştür.

Elde edilen bulguların sonucunda, rat plasentası epiteli, tek katlı prizmatik hücrelerden oluşuyordu. İmplantasyon antimezometriyal kısımda, plasentanın genel olarak labirint zon ve desidual zon'dan oluştuğu, labirint bölgesinin plasentada geniş bir yer tuttuğu, gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak bu bölgede lakunların sayısının arttığı, trofoblastik dev hücreler, küçük bazofilik hücreler, sitotrofoblast ve sinsisyotrofoblast hücreler, glikojen hücreleri tespit edildi. Yapılan boyamalarla trofoblast hücrelerinde ve dev hücrelerinde nötral mukosubstansın fazla olduğu, asidik mukosubstansın az olduğu görüldü. İmmunohistokimyasal boyalarla trofoblast ve dev hücrelerinde östrojen ve progesteron hormon reseptörlerinin çok olduğu görüldü. Gebeliğin sonuna doğru progesteron reseptörlerinde azalmanın olduğu, fakat her iki hormona ait reseptörlerde reaksiyon şiddetinin her dönemde fazla olduğu dikkati çekti. Bu da plasentanın, canlılığın gebeliğe hazırlanması, gebeliğin başlaması ve sorunsuz bir şekilde devam etmesi için gerekli olan materyallerin (hormonlar, enzimler, elektrolitler, su, protein v.s.) gerek salgılanması ve gerekse dışarıdan temin edilmesi için ne kadar önemli bir organ olduğunu göstermektedir. Plasenta hem östrojen hem de progesteron hormonunun ana kaynağıdır.

Östrojen ve progesteron hormonlarının hedef dokuları, bu dokuların hücre içi reseptörlerine bağlanma kapasiteleri ile belirlenir. Ratlarda bu hedef dokular uterus, ovaryum, prostat, akciğer, beyin, sidik kesesi ve kemik olarak gösterilmiştir. Sonuç olarak, çalışmadan elde edilen bulguların ışığında, başta meme ve endometriyumda görülen bir grup hastalıkta ve östrojen ve progesteron hormonlarının etkilediği diğer hedef dokularda meydana gelebilecek hastalıkların teşhisinde bu hormonlara ait reseptör yoğunluğunun tespit edilmesi son derece önemlidir. Yapılan çalışma ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin tespit edilmesinde immunohistokimyasal yöntemlerin parafinize edilmiş dokularda da rahatlıkla kullanılabileceği, çok iyi ve hızlı sonuçlar verdiği görülmüştür. Bu nedenle çalışma ileride yapılacak çalışmalara kaynak oluşturacak ve ışık tutacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Merkezi (HÜBAM) tarafından 250 proje numarası ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Abrahamsohn PA, 1983: Ultrastructural study of the mouse antimesometrial decidua. *Anatomy Embryology*, 166, 263-274.
- Abrahamsohn PA, Zorn TMT, 1993: Implantation and decidualization in rodents. *The Journal of Experimental Zoology*, 266, 603-628.
- Benirschke K, 2002: House (Domestic, laboratory) mouse. Erişim: <http://medicine.ucsd.edu/cpa/mous.html>. Erişim tarihi: 04.12.2003.
- Culling CFA, Allison RT, Barr WD, 1985: Cellular Pathology Technique. 4th Ed., Butterworths, London, pp. 214-255.
- Davies J, Glasser SR, 1968: Histological and fine structural observations on the placenta of the rat. *Acta Anatomica*, 69, 542-608.
- Deane HW, Rubin BL, Driks EC, Lobel BL, Leipsner, 1962: Trophoblastic giant cells in placentas of rats and mice and their probable role in steroid-hormone production. *Endocrinology*, 70, 407-419.
- Dellmann HD, Eurell J, 1998: Textbook of Veterinary Histology. 5th Ed. Baltimore, Philadelphia, London, Paris, Bangkok, Buenos Aires, Hong Kong, Munich, Sydney, Tokyo, Wrocław: Williams & Wilkins A Waverly Company, pp. 273-286.
- Demir R, Üstünel İ, Demir N, 1989: Light and electron microscopical observations on cellular interactions during initial stages of implantation and trophoblastic invasion in rats. *Placenta*, 10, 464-465.
- Demir R, 1995: İnsanın Gelişimi ve İmplantasyon Biyolojisi. Ankara: Palme Yayıncılık.
- Denk H, Künzele H, Plenk H, Rüschoff J, Sellner W, 1989: Romeis Mikroskopische Technik. 17, neubearbeitete Auflage. Urban und Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore, pp. 439-450.
- Denker HW, 1993: Implantation: A cell biological paradox. *The Journal of Experimental Zoology*, 26, 541-558.
- Enders AC, 1965: A comparative study of the fine structure of the trophoblast in several hemochorial placentas. *American Journal of Anatomy*, 116, 29-68.
- Enders AC, Schlafke S, 1967: A morphological analysis of the early implantation stages in the rat. *American Journal of Anatomy*, 120, 185-226.
- Enders AC, Schlafke S, 1969: Cytological aspects of trophoblast-uterine interaction in early implantation. *American Journal of Anatomy*, 125, 1-30.
- Gartner LP, Hiatt JL, 1997: Color Textbook of Histology. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: W. B. Saunders Company, pp. 382-402.
- Guyton AC, 1986: Tıbbi Fizyoloji (Textbook of Medical Physiology). 7. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi (İstanbul), 1430-1431.
- Gürsoy E, Koptagel E, 1997: Embriyoloji Atlası. Esnaf Ofset Matbaacılık.
- Hassa, O, Aştı RN, 1997: Embriyoloji. 3. Baskı (Ankara).
- Hiroi H, Inoue S, Watanabe T, Goto W, Orimo A, Momoeda M, Tsutsumi O, Taketani Y, Muramatsu M, 1999: Differential immunolocalization of estrogen receptor α and β in rat ovary and uterus. *Journal of Molecular Endocrinology*, 22, 37-44.
- Johnson MH, Selwood L, 1996: Nomenclature of early development in mammals. *Reproduction Fertilization Development*, 8, 759-764.
- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, 1992: Temel Histoloji. 7. Baskı, Barış Kitabevi (İstanbul), 532-542.
- Ogle TF, 1986: Evidence for nuclear processing of progesterone receptors in rat placenta. *Journal of Steroid Biochemistry*, 25, 183-190.
- Ogle TF, Mills TM, Soares MJ, 1989: Changes in cytosolic and nuclear progesterone receptors during pregnancy in rat placenta. *Biology of Reproduction*, 40, 1012-1019.
- Ogle TF, Dai D, George P, Mahesh VB, 1997: Stromal cell progesterone and estrogen receptors during proliferation and regression of the decidua basalis in the pregnant rat. *Biology of Reproduction*, 57, 495-506.
- Özer E, 1997: Dişi fetüs ve infantlarda östrojen ve progesteron reseptör aktivitesinin araştırılması. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 22(2), 69-77.
- Papanicolaou, GN, 1942: A new procedure for staining vaginal smears. *SCI*. 95, 438-439.
- Petraglia F, 1987: Localization, secretion and action of inhibin in human placenta. *Science*, 237, 187-189.
- Petraglia F, 1989: Identification of immunoreactive neuropeptide-Y in human placenta: localization, secretion and bindingsites. *Endocrinology*, 124, 2016-2022.
- Rivera J, Cano A, 1989: Oestrogen and progesterone receptors in human term placenta. Measurement by binding assays and immunological methods. *Placenta*, 10, 579-588.
- Soares MJ, Chapman BM, Rasmussen CA, Dai G, Kamei T, Orwig KE, 1996: Differentiation of trophoblast endocrine cells. *Placenta*, 17, 277-289.
- Strauss JF, Martinez F, Kiriakidou M, 1996: Placental steroid hormone synthesis: Unique features and unanswered questions. *Biology of Reproduction*, 54, 303-311.
- Tachi S, Tachi C, Lindner HR, 1970: Ultrastructural features of blastocyst attachment and trophoblastic invasion in the rat. *Journal of Reproduction Fertilization*, 21, 37-56.

** : Bu çalışma 2004 yılında Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında yapılan 157330 nolu Doktora tezinden özetlenmiştir.

*Yazışma Adresi: İsmail Şah HAREM
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail: harem63@hotmail.com