

TEMEL TIP BİLİMLERİ

Histoloji

İnsan Plasentasında Ultrason ve İmmünohistokimyasal Aktivite

Ramazan DEMİR*
İsmail ÜSTÜNEL*

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Gebelik süresince anne ile fetüs arasındaki her türlü madde ve gaz alışverişini sağlayan plasenta, aynı zamanda, gebelik için gerekli olan hormonları da üretilen salgılayan geçici endokrin bir organdır. Tüm bu fonksiyonlar, plasental bariyer tarafından başlanır. Bu bariyerin ilk halkasını trofoblastik hücre tabakaları oluştururlar. Anne ile fetüs arasındaki substans geçişimi, hücre bazında, birçok enzim ve hormonlar aracılığıyla gerçekleştirilir. Plasental bariyerin ince yapısı kadar, bariyerin hücre biyokimyasal reaksiyonları da son derece karmaşık bir düzen gösterirler. Bu konuda yapılmış birçok araştırma olmasına rağmen, plasental bariyerin ultrason ve immünohistokimyası üzerindeki tartışmalar günümüzde hala sürmektedir. Konuya tartışılan görüş ve araştırma sonuçlarını tarayarak yaklaşımda bulunmayı amaçladığımız bu derleme makalemizde; 1) plasental alkalik fosfat (ALP), 2) plasental asit fosfat (ACP), 3) Na^+/K^+ ATPaz, 4) Ca^{++} ATPaz, 5) Mg^{++} ATPaz, 6) nükleotid difosfat (NDPaz), 7) 5'-Nükleotidaz gibi enzimlerin lokalizasyonu ve, 8) plasental prolaktin (PRL), 9) human koryonik gonadotropin (hCG), 10) human Plasenta laktojen (hPL) 11) renin (REN), 12) oksitosin (OXT) gibi hormonların bulunduğu plasenta bölgeleri, gebelik yaşına bağlı olarak ortaya çıkış şiddetleri üzerinde yoğunlaştık.

II. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

a) Plasental Fosfatlar (Ultrasonik kimyasal görünüm)

Histokimyasal olarak uygulanan birçok metod yardımıyla ışık mikroskopu düzeyinde temel fosfatlar olan ACP ve ALP'ların insan plasentasında mevcut olduğu (1-7) ancak bunları ultrasonik kimyasal olarak belirlemede metodolojik tartışmaların devam ettiği (8,12), sitokimyasal özelliklerin açığa çıkarılmasıyla daha spesifik olan diğer fosfatların belirlenmesinde yardımcı olunacağı görüşü (13) önem kazanmaktadır.

Plasental fosfatların belirlenmesinde ACP, ALP için kurşun sitrat ve cerium (14-16) metodları yaygın olarak kullanılmıştır. ALP'in ultrasonik kimyasal olarak plasental bariyerin sinsiyotrofoblast apikal plazma membranında bulunduğu (7-12) genelde kabul görmektedir. Bu enzimin sitotrofoblast hücrelerinde ve ona komşu sinsiyal bazal plazma membranında bulunup bulunmadığı tartışmalıdır. Bu konuda yapılan araştırmaların sonucuna göre, bu enzimin sinsiyal bazal plazma membranında bulunduğu fakat sitotrofoblast hücrelerinde (13), aynı enzimin mikroviller yapıdan başka hem sinsiyal bazal plazma membranında hem de sitotrofoblast hücrelerinde ve fetal damar bazal laminasında yoğun olarak bulunduğunu belirttiler. Aynı araştırmacılar, ultrasonik kimyasal deneylerini substanstan yoksun

*Akdeniz Üniv. Tıp Fak. Histoloji-Embriyoloji ABD

inkübasyon ortamları ve L-phenylalanine ile yaptıkları kontrollerle de doğruladılar.

ACP'in insan plasentasında hiç bulunmadığına (11) dair görüşlere karşılık Martin ve arkadaşları (12) ACP'nin plasenta lizozomlarında bulunduğunu, Jones ve arkadaşları (9) bu enzimin sitotrofoblast Golgi kompleksinde varlığını göstererek konuyu tartışmaya açtılar. Bazı araştırmacılar, bu bulguların doğruluğuna itiraz ettiler (17,18). Matsubara ve arkadaşları (13) ise sinsisyo ve sitotrofoblastın hem lizozomlarında hem de Golgi apparatusunda ACP'nin varlığını gösterdi. Diğer yandan ACP'nin insan plasentasında farklı üç tip halinde bulunduğu, bunların molekül düzenlerine göre tip I, II ve III olarak adlandırılabilceği vurgulandı (19). Hoffman ve Di Pietro (18) substrat olarak p-nitrofenil fosfatı kullanarak tip III ACP'in insan plasentasında mikrovilluslarında bulunduğunu gösterdiler. Matsubara ve arkadaşları (13) ise B-glyccrophosphatin substrat olarak kullanıldığı bu çalışmada mikrovilli üzerinde gözledikleri reaksiyonun doğruluğu için ek çalışmalara gerek olduğu yönünden fikir beyan etmekle yetindiler. ACP'nin intrasellular sindirim ve sekresyonunda rol aldığı eskiden beri biliniyor (20). Bu fosfatazları ek olarak son derece spesifik özellikleri olan Na^+/K^+ ATPaz (21,22) ve Ca^{++} ATPaz (23,24) ile 5'-Nükleotidaz (25,26) in de plasental fizyolojide önemli roller oynadığı belirtilmiştir.

b) Nükleotidazlar

5'-Nükleotidazın insan plasentası sinsisyotrofoblastının sadece mikrovillus membranlarında bulunduğu, sinsisyum bazal plazma membranı, sitotrofoblast, stroma ve elemanlarında bulunmadığı (27) uygulanan kurşun nitrat ve cerium metodlarıyla aynı sonuçlarla gösterildi.

Plasental sinsisyotrofoblast mikrovilli diplrindirindeki pinositotik veziküllerin plazma membranında kuvvetli, sinsisyal bazal plazma membranında zayıf Ca^{++} ATPaz aktivitesi bulunduğu, sitotrofoblast plazma membranında gözlenen az sayıdaki çöküntülerin gerçek enzimatik aktivite olup olmadığına karar vermenin güç olacağı görüşleri, kontrollü deneylerle belirlendi (25-27).

Mg^{++} ATPaz ve nükleotid difosfatın (NDPaz) sadece sinsisyotrofoblast apikal mikrovilli mernbranlarında bulunduğu, substratsız kontrollü

deneylerde veya beta-glycerophosphatase kontrollerinde aktivitenin kaybolduğu, Ca^{++} ATPaz Mg^{++} ATPaz ve NDPaz aktivitesinin hem sinsisyum ve sitotrofoblast sitoplazmalarında hem de villus strome elemanlarında bulunmadığı gözlenmiştir (27-31).

Ca^{++} ve Mg^{++} ile situmule edilmiş nükleotidazların (ATPaz, NDPaz-5'-N), sitokimyasal özellikleriyle damar intima ve mediasında yoğun olarak bulunduğu (32-34), bu nükleotidazların indirgeme sonucu ATP'yi ADP ve AMP ye ve sonuçta adenezine kadar indirgeceği biliniyor (21,23,32,33). Plasental bariyerde varlığı belirlenen spesifik nükleotidazların (25,28-31) plasental fizyolojide nasıl bir rol oynayabilecekleri üzerinde çeşitli görüşler ortaya atılmıştır. Nükleotidaz sistemin plasental trombosit agregasyonunu etkileyerek plasental mikrovaskülasyon kontrolünü yapabileceği (27) görüşü dikkat çekicidir. Ogawa ve arkadaşları (33), aortik endotelde Ca^{++} ATPaz ve Na^+ ATPaz lokalizasyonunu, ultrastrüktürel olarak göstermeyi başardılar ve bu nükleotidaz aktivitenin endoteliumda agregatorik aktivitenin düzenlenmesinde önemli rol oynayacağını ileri sürdüler. Gerçi bu mekanizma plasentadaki trombosit agregasyonunu açıklayamayabilir; ancak Barradas ve arkadaşları (30), insan plasentasının etkili bir antiagregatorik aktiviteye sahip olduğu ve bunun da ADP'nin NDPaz ve 5'-N ile adenezine indirgenmesiyle sağlanabileceğini ileri sürdüler.

Nükleotidaz sistem, özellikle 5'-N, fto-plasenta-maternal zincirde vazoaaktiviteyi değiştirebilir (23,26,27,30). Nitekim kardiyak kas dokusunda adenezinin vazodilatatör bir etkiye sahip olduğu, koroner sirkülasyonunda metabolik regülasyonun bir mediatörü gibi rol yaptığı ve kalbin öz gereksinme değişiklikleri için koroner akışın hızla değiştirilmesi gibi fonksiyonları bulunduğu (35) görüşü vardır.

Bilindiği gibi insanda innervasyonu olmayan yegâne doku plasentadır. Plasentada adenezinin varlığı önceki çalışmalarla biliniyor (36). Plasentada kan akışı, ftoal gelişim ve gebeliğin seyri için çok önemlidir. Plasental yetersizlik, gebelik toksemiası ve sigara içimi gibi patolojik durumlarda (37-39) plasental kan akımında önemli azalmalar olur. Sonuçta plasental bariyerde önemli yapısal defektlere sebep olur. Bunun sonuçları fetusa yansır (37). Normal doğum sancıları esnasında,

utcrus kasılmaları nedeniyle, normal plasental kan akışı azalır ve buna bağlı olarak trofoblastik dokuda lokal iskemik oluşur (27). İskemik alanların oluşması, plasental yüzeyin desidüadan ayrılmasını kolaylaştırır (37). İnnervesiz doku vazoaktivitesinin lokal regülatör mekanizması tam bilinmiyor. Ancak adenozinin bu mekanizma içinde rol aldığı sanılıyor. Adenozinin damarlarda etkili vazodilatatör olduğu (40), anne kanına komşu sinsisyal mikrovillus membranlarında 5'-N aktivitesinin çok yüksek bulunduğu (27), doğum olayının başlamasından sonraki dokuda, doğum öncesi normal plasental dokuya göre, adenozin konsantrasyonunun yüz kat daha arttığı (36) tartışılan deney sonuçlarıdır. Adenozin konsantrasyonundan bu artış, plasental damarlarda vazodilatatör bir regülatör gibi rol oynayabileceği fikrini telkin etmektedir. Miyokardiyal iskemide nükleotid regülasyonuna (35) benzer bir şekilde (hipoksi, asidosis ve diğerleri gibi), plasental 5'-N'in de vazoaktiviteyi düzenleyebileceği düşünülmelidir (27). Bu nükleotidaz regülasyonuna ek olarak adenoze duyarlı plasental bölgeler seçildi.

İnsan plasentasında adenilat siklaz (ACLaz) aktivitesinin ultrahistokimyasal olarak belirlenmesi (41), ACLazın adenoze duyarlı birçok bölgede bulunması (42) adenoze ve ACLaz ilişkisine yeni boyutlar kazandırdı.

Plasental nükleotidaz sistem tarafından oluşturulan adenozinin intrasellüler siklik AMP düzeyini düzenleyebileceği (27,43), plasental fonksiyonların regülasyonunun adenoze aktivitesiyle ilgili olduğu ve bu maddenin direkt olarak bir trombosit antiagregatörü veya vazodilatatör gibi rol oynadığı (41-44) ileri sürülmüştür. Tüm deneysel ultrahistokimyasal çalışmalardan plasental nükleotidazların sinsisyotrofoblastta yoğun ve aktif olduğu, özellikle 5'-N'in plasental fizyolojide ön planda regülatör görevi yaptığı ve sinsisyotrofoblastta siklik AMP (cAMP) düzeylerini etkilediği, plasental mikrosirkülasyonun fonksiyonunda görev aldığı sonucu çıkarılabilir.

Na^+/K^+ ATPaz ve Ca^{++} ATPaz gibi son derece spesifik özellikleri olan fosfatazların ancak yüksek alkalik ortamlarda belirlenebileceğini (45-47), spesifik olmayan güçlü ALP'in plasentada bu özel fosfatazların ortaya çıkmasına engel olacağı

(23,26,27), ALP ve ACP lokalizasyonlarının çeşitli okullarda belirlenmesiyle daha spesifik enzimlerin sitokimyasal olarak gösterilmesinde (48-50) yardımcı bir bulgu olduğu sonucuna varılabilir. (13,23,26,27).

Yapılan tüm bu histo ve ultrastokimyasal çalışmaların sonucu olarak;

a) ALP'in plasental mikrovillide, sinsisyum bazal membran ve sitotrofoblast hücreleri ile fetal damar bazal laminaasında bulunduğu,

b) ACP'in da sinsisyum ve sitotrofoblastın hem lizozomlarında hem de Golgi kompleksinde lokalize olduğu,

c) Bu enzimlerin belirlenmesinde kurşun ve cerium metodlarının aynı sonucu verdiği,

d) İnce bağırsak ve böbrek tubulusunda olduğu gibi plasenta! bariyerin trofoblastik tabakalarında da absorpsiyon görevinde ALP'in önemli rol oynadığı, substansların transportunda katkıda bulunduğu,

e) Plasental nükleotidaz sistemin plasental kan akımı regülasyonunda önemli görevler üstlendiği, vazodilatatorik ve antiagregatorik aktivitelerin gerçekleşmesinde rol aldığı kanısına varılmaktadır.

c) Plasental Hormonlar

(İmmünohistokimyasal görünümü)

İnsan plasentasında PRL, hPL, hCG, OXT hormonların immünohistokimyasal tanımını belirlemek amacıyla Sternberger ve arkadaşlarının (51) peroksidaz-anti-peroksidaz (PAP), renin (REN) belirlenmesinde Michel ve arkadaşları (52), Pautier ve arkadaşları (53) tarafından geliştirilen metodlar uygulanarak birçok çalışma yapılmıştır. Bu hormonların gebelik yaşına bağlı olarak plasentadaki dağılımları ve bu konuda ileri sürülen görüşlerin özetleri şöyle belirlenebilir:

Prolaktin (PRL)

Gebeliğin I. ve III. trimesterlerinde olan plasentalardaki PRL dağılımı birbirinden farklıdır. I. trimesterde sadece sinsisyotrofoblastta gözlenmesine karşılık (54,55), III. trimesterde hem koriyal hem de bazal plâk sinsisyotrofoblastında ve amniyon epitelinde gözlenir (55).

Sinsisyotrofoblastın steroid üretim alanı olduğu (56) ve özellikle I. trimesterde steroidogenesisde rol aldığı (55) bilinir. III.

trimeslerde koriyal ve bazal plâk trofoblastında belirlenen PRL'nin başka bir fizyolojik rolünün olduğu, bunun bu desidual hücreler tarafından salgılanan PRL ile karıştırılmaması gerektiği (54,57-61), bu görüşe tamamen zıt şekilde, PRL'nin sitotrofoblast orijinli olduğu (55) ve koryonik sitotrofoblastın salgıladığı PRL'nin amnion epiteli yoluyla amnion sıvısına dahil edildiği (62) ileri sürülmüş ve amnion epitelinde PRL hormonunun varlığı üzerinde tartışmalar yapılmıştır. Bazı araştırmacıların, PRL'nin amnion epitelinde varlığını göstermelerine karşın (58,63,64), bir kısım araştırmacılar bunu mümkün görmediler (54,59-61). PRL'nin amnion epitelinde gözlenmesi, amnion sıvısındaki düzeyin artışına bağlı olacağını vurgulayan araştırmacılara (58,64), amnion epiteli mikrovillus diplerindeki kanalların varlığını gösteren Van Hrendael ve arkadaşları (65) destek verdi ve yüksek permabiliteye bağlı olarak PRL'nin amnion epiteli içinde bulunduğunu savundu. Mc Coshen ve arkadaşları (64) amnion epitelinde I¹²⁵ yardımıyla PRL varlığını (amnion epiteli açık hücrelerinde) göstermeyi başardılar. Unnikumar ve arkadaşları (55) ise uyguladıkları kurşun ve cerium metodlarıyla PRL hormonunun amnion epitelinin hem açık hem de koyu hücrelerinde bulunduğunu ve bu sonuçların kesinliği üzerinde iddiada bulundular. Diğer yandan, gebelik süresi boyunca koryon ve desidual kökenli PRL hormonunun üretilirken kısmen hCG hormonu üretiminin de kontrol edildiği ileri sürüldü (57).

Desidual orijinli PRL hormonunun, amniotik sıvı osmotik basıncını regüle edebileceği (66,67), amnion sıvısından epitelinc PRL hormonunun geri alınabileceği ve epiteldeki PRL düzeyinin artacağı görüşü de kabul gördü (58,64).

Sonuç olarak PRL hormonunun, amnion epiteli yoluyla amniotik sıvıya erişmesi beklenir. Amniotik sıvı içindeki PRL konsantrasyon düzeyinin amniotik epitelin selektif filtre gibi görev yapma ilişkisi dikkate alınmalıdır (55).

İnsan Plasenta Laktogeni (hPL)

Plasental villi sinsisyotrofoblastında, koryal ve bazal plâk sinsisyumunda hPL aktif olarak bulunur (54,55,61,68,69). Sinsisyal tabakadan başka desiduada sonlanan trofoblastik hücre adacıklarının yapısında da hPL varlığı, Kaduk ve arkadaşları (69) tarafından immünofluoresan

teknikle gösterildi. Plasental gelişme ve maturasyonunda desiduada adacıklar halinde gözlenen trofoblastik hücrelerin varlığı özel bir fonksiyonun ifadesidir (70,71). İntra ve ekstravillöz alanlarda yer alan sitotrofoblast hücrelerinin hormon ve enzimlerin çoğunu sentezleyip depo etme yeteneğinde olduğu (60,61,72,73) bilinmektedir. hPL için gebelik süresince ve doğum olayında önemli fizyolojik regülasyon özelliklerine sahip olduğu da biliniyor. Gebelik boyunca trofoblastın bu hormon aracılığıyla regülatif bir parametre olarak algılanması gerektiği (69) ve ayrıca polihidramniosda hPL'nin önemli rolü olduğu (74) unutulmaması gerektiği bilinmelidir.

İnsan Koryonik Gonadotropin (hCG)

Gebeliğin her döneminde plasenta sinsisyotrofoblastında hCG hormonunun varlığı yaygın olarak araştırma sonuçlarıyla belirlenmiştir (55,72,75,76). Ancak konunun metodolojik yönden sürekli yeni gelişmelere açık olması nedeniyle, hCG'nin plasentadaki lokalizasyon alanları hakkında yeni bulgular elde edilmiştir. Tabarelli ve arkadaşları (61), sinsisyotrofoblasttaki hCG yaygınlığına ek olarak bu hormonun plasental septumlardaki sitotrofoblast ve IVA içindeki hücre adacıklarında da bulunduğunu ileri sürdüler. Morrish ve arkadaşları (77) uyguladıkları iki ayrı metod (Biotrin-avidin kompleks ve protein gold A) ile hCG'nin plasental sinsisyumda bulunduğunu ve bu hormonun beta ve alfa subgruplara sahip olduğunu ileri sürdüler. Bu çalışmayı destekleyici bulgular elde eden Unnikumar ve arkadaşları (55), subunitlerinin ortaya çıkmasının hCG'in konsantrasyonlarından farklılıktan doğduğunu, hCG hormonu alfa ve beta zincirlerinin ters tepkime gösterdiğini, her iki sub-unitin birinci trimesterde bulunmasına karşın üçüncü trimesterde sadece alfa-hCG tipinin bulunduğunu ileri sürdü. Sinsisyotrofoblast, plasentanın en çok steroid üretimi ile ilgili trofoblastik tabakasıdır; hCG hormonu gibi PRL hormonu üretiminde de rol alır ve hCG hormonunun fizyolojik olarak PRL hormonu üretimini regüle ettiği görüşü vardır (55,61).

Oksitosin (OXT)

Plasental dokuda oksitosinin varlığı peroksidaz-anti-peroksidaz (PAP) ve radioimmünoessey metodlarıyla araştırılmış ve sinsisyotrofoblastın

büyük miktarda oksitosin içerdiği belirlenmiştir (55,78,79,80). Plasental oksitosinin immunoreaktif olduğuna, sentezleme ve depolama işlemlerinin aynı zamanda gerçekleştiğine, bu konuda daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiğine inanılmaktadır (81).

Renin (REN)

Plasentanın koryal ve bazal plâklarında yerleşik sitotrofoblast hücreleri ile amnion epitelinde lokalizedir. Amnionda renin'in varlığı, ilk kez Brown ve arkadaşları (82) tarafından gösterildi. Renin sentez yerinin de koryon laeve olduğunu, Skinner ve arkadaşları (83) yaptıkları in-vitro araştırmaları gösterdiler. Son yıllarda bu konuda detaylı çalışmalar yapılmış ve reninin sentez ve lokalizasyon yerinin koryonik plâk sitotrofoblast hücreleri olduğu (84), renin'in amnion epitelinde sentezlenmediği (85) belirlenmiştir. Ihara ve arkadaşları (86) yaptıkları yeni bir çalışma ile insan koryonik plâğında insan renin DNA hibridizasyon analizi ile mRNA'nın varlığını göstermeyi başardılar. Bu çalışmaya ek olarak amnion epitelinde özel yöntemlerle pozitif renin reaksiyonlarının elde edilebileceği, bunun sebebinin de koryonik sitotrofoblastlarda üretilip amniotik sıvıya salgılanma süreci esnasında amnion epitelinden geçerken gözlenebileceği, böbrek ve koryonik hücre kültürlerinde üretilen reninin enzimatik ve antijenik benzerlikleri dikkate alınarak, fetal böbrek renininin amniotik sıvı içinde tespit

edilenin varlık sebebi olabileceği yorumu getirilmektedir (55).

Sonuç olarak

1. Plasentada sentezlenen PRL hormonunun koryal ve bazal plâk sinsisyotrofoblastları ile desidual kaynaklı olduğu, amnion epitelinde gözlenen PRL nin amnion sıvısına transportu esnasında veya amnion epitelinin reabsorpsiyonu sonucu bulunabileceği,

2. hPL'nin koryal ve bazal sinsisyo ve sitotrofoblast hücrelerinde sentezlendiği, gerektiğinde depoladığı, gebelik boyunca ve doğum sırasında fizyolojik regülasyonun temel parametresi olduğu, aynı zamanda hPL'nin polihidramnioz sebebi olabileceği,

3. hCG'nin plasental sinsisyotrofoblast tabakası ile interkotiledoner septumların sitotrofoblast ve intervillöz aralık hücre adacıklarında lokalize olduğu, PRL üretiminde fizyolojik regülasyon görevi üstlendiği,

4. Plasental sinsisyotrofoblastta oksitosinin yoğun olarak bulunduğu,

5. Renin'in koryon ve bazal plâk sitotrofoblastlarında sentezlendiği, amnion epitelinde bu hormonun üretilmediği; ancak amnion epitelinde pozitif reaksiyon veren renin komponentlerinin amniotik sıvıya transport sürecinde olan koryonik kökenli renin olduğu aynı prosedürün PRL için de geçerli olduğu sonucuna varılabilir.

KAYNAKLAR

1. Curzen P: A histochemical investigation of the concept of placental insufficiency. J Obstet. Gynec. Brit. Cwlth. 74: 385400,1967.
2. Dempo K, Kottel R.H. and Fishman WH; Demonstration of species difference of placental alkaline phosphatase isozymes in acetone fixed paraffin-embedded tissues. J Histochem. Cytochem 28: 282-284,1980.
3. Lobel BL, Deane HW and Romney S: Enzymatic histochemistry of the villous portion of the human placenta from six weeks to term. Am J Obstet Gynecol. 83: 295-299.
4. Nozawa S, Arai H, Teng C, Itakura M, Ohta I, Suzuki K, Tamura S. and Kurihara S: Shift of placental alkaline phosphatase isoenzymes in the course of pregnancy. Acta Obst Gynaec Jpn. 36: 1145-1154, 1984 (in Japanese with English abstract).
5. Wachstein M, Meagher J G. and Ortiz J: Enzymatic histochemistry of the term human placenta. Am J Obstet Gynecol. 87: 13-26,1963.
6. Wielenga G. and Willighagen R G J: The histochemistry of the syncytiotrophoblast and the stroma in the normal full-term placenta. Am J Obstet Gynecol. 84: 1059-1064, 1962.
7. Demir R: İnsan plasentasında koryonik villus yapısının ışık mikroskopu ile incelenmesi. Diyarbakır Tıp Fak.Derg.Cilt 8. Sayı:2,3,4,261-276,1979.
8. Hulstaert CE, Torringa J I., Koudstaal J, Hardonk M J and Molenaar I: The characteristic distribution of alkaline phosphatase in the full-term human placenta. Gynec Invest. 4: 24-30,1973.
9. Jones C J P and Fox H: An ultrahistochemical study of the distribution of acid and alkaline phosphatases in placenta from normal and complicated pregnancies. J Pathol. 118: 143-151,1976.
10. Kameya T, Watanabe K, Kobayashi T and Mukojima T: Enzyme and immunohistochemical localization of human placental alkaline phosphatase. Acta histochem. Cytochem. 6:124-136,1973.

11. Lister U M: The localization of placental enzymes with the electron microscope. *J Obstet Gynaec Brit Cwlth.* 74: 34-39,1967.
12. Martin B J, Spicer S S and Smythe N M: Cytochemical studies of the maternal surface of the syncytiotrophoblast of human early and term placenta. *Anat Rec.* 178: 769-786, 1973.
13. Matsubara S, Taniada T and Saito T: Ultracytochemical localization of alkaline phosphatase and acid phosphatase activities in the human term placenta. *Acta histochem. Cytochem* 20: 3,283-294,1987a.
14. Gomori G: *Microscopic Histochemistry, Principles and Practice* Univ. Chicago Press, Chicago, 1952, p.189.
15. Mayahara H, Saito T, Hirano H and Ogawa K: The new lead citrate method for the ultracytochemical demonstration of non-specific alkaline phosphatase (orthophosphoric monoester phosphohydrolase). *Histochemie* 11:88-96. 1967.
16. Robinson J M and Karnovsky M J: Ultrastructural localization of several phosphatases with cerium. *J.Histochem.* 31:1197-1208,1983.
17. Body J D and Hamilton W G: *The human placenta.* W Heffferand Sons, Ltd., London, 1970,p.309.
18. Hoffman L H and DiPietro D L: Subcellular localization of human placental acid phosphatases. *Am J Obstet Gynecol.* 114:1087-1096, 1972.
19. DiPietro D L and Zengerle F S: Separation and properties of three acid phosphatases from human placenta. *J Biol Chem* 242: 3391-3396,1967.
20. Borgers M: The cytochemical application of new potent inhibitors of alkaline phosphatase. *J Histochem Cytochem.* 21:6812-824,1973.
21. Iida A : An ultrastructural study of the localization of alkaline phosphatase and Na-K ATPase in the labyrinth from IUGR rat. *Acta Obst Gynaec Jpn.* 38: 2007-2018, 1986.
22. Matsuda T, Nakano Y, Tsuji Y and Yamaguchi R: Properties of Na⁺, K⁺ATPase on a trophoblastic membrane level in normal and SFD placenta and its relation to c'-AMP. *Acta Obst Gynaec Jpn.* 31: 425-430, 1979.
23. Matsubara S, Taniada T and Saito T: Cytochemical study of the electron-microscopical localization of Ca²⁺ATPase activity in the human trophoblast. *Acta Obst Gynaec Jpn.* 39:1054-1065, 1987c.
24. Scida A, Sagesaka T, Tanaka A, Yamamoto S, Okuyama T and Furuya H: Activities of Ca²⁺ATPase and Na⁺/K⁺ATPase in human placenta. *Acta Obst Gynaec Jpn.* 32: 1625-1630,1980.
25. Maguire M H, Krishnakantha T P and Aronson D M: Human placental 5'-nucleotidase: purification and properties. *Placenta* 5:21-40,1984.
26. Matsubara S, Tamada T, Hanihara T and Saito T: Cytochemical study of the electronmicroscopical localization of 5'-nucleotidase activity in the human term placenta-with special reference to the cytochemical application of AOPCP as a potent inhibitor of 5'-nucleotidase activity-*Jichi Med Sch J* 10: 360-368,1987d.
27. Matsubara S, Tamada T, Kurahashi K and Saito T: Ultracytochemical localizations of adenosine nucleotidase activities in the human term placenta, with special reference to 5'-nucleotidase activity. *Acta Histochem. Cytochem* 20(4): 409-419,1987e.
28. Shami Y and Radde I C: The effect of the Ca²⁺/Mg²⁺ concentration ratio on placental (Ca²⁺-Mg²⁺)-ATPase activity.*Biochim.Biophys Acta*225: 675-679 1972.
29. Whisett J A: Specialization of plasma membrane of the human placenta. *J Pediatr*96: 600-604, 1980.
30. Barradas M, Khokher M, Mutton R, Craft I L and Dandona P: Adenosine-degrading activity in placenta. *Clin Sci* 64: 239-241, 1983.
31. Hutter R A, Chow F P R, Craft I L and Dandona P: inhibitors of platelet aggregation in the foeto-placental unit and myometrium with particular reference to the ADP-degrading property of placenta. *Placenta* 1: 125-130, 1980.
32. Hanihara T, Ohtsu Y, Shimonaka M and Inada Y: Ca²⁺-Mg²⁺ dependent ATPase in plasma membrane of cultured endothelial cells from bovine carotid artery. *Biochim. Biophys Acta* 734: 133-136, 1983.
33. Ogawa K S, Fujimoto K and Ogawa K: Ultracytochemical studies of adenosine nucleotidases in aortic endothelial and smooth muscle cells-Ca²⁺-ATPase and Na⁺,K⁺-ATPase. *Acta histochem Cytochem.* 19: 601-6720, 1986.
34. Pearson J D, Carleton J S and Gordon J L: Metabolism of adenosine nucleotides by ectoenzymes of vascular endothelial and smooth muscle cells in culture *Biochem J* 190: 421-429,1980.
35. Berne R M: The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. *Circ Res* 47: 807-813,1980.
36. Sim M K and Maguire M H: Presence of adenosine in the human term placenta, determination of adenosine content and pathways of adenosine metabolism. *Circ Res* 31: 779-788,1972.
37. Demir R, Kaya M, Üner M: Sigaranın insan plasentası üzerindeki etkisinin ultrastrüktürel olarak araştırılması. 1986. TÜBİTAK Projesi (TAG-527).
38. Demir R, Kaya M, Erbeni T and Üner M.: The effects of cigarette smoking on the human placenta: A histological and ultrastructural study. IInd Meeting of The European Placenta Group, Rolduc Monastery, Netherlands, September 24-27, Abstracts Placenta 7, 463,1986.
39. Demir R, Erbeni T, Kaya M, Üner M: Effect of smoking on the trophoblastic layers during initial stages of placentation. In: Institute of physics Conference Series Number 93, Volum 3, Chapter 17. Paper presented at EUREM 88, Eds H G Diskinson and P J Goodhew, pp, 257-258, York, England, 1988.

40. Krygics J, Urban J and Malofiejew M: Influence of adenosine on contractility of isolated vessels of human placenta. *Am J Obs Obstet Gynecol.* 131: 587-589, 1978.
41. Milewich L, Hendricks T S, Graham J E, Gant N F, Schwartz B E and Man- Donald P C: Adenylate cyclase from term placenta and its regulation. *Placenta* 3: 165-180, 1982.
42. Ixmados C and Wolf J: Two distinct adenosine-sensitive sites on adenylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci.* 74: 5482-5486, 1977.
43. Matsubara S, Tamada T and Satio T: Ultracytochemical localization of adenylate cyclase and guanylate cyclase activities in the human term placenta. *Acta Obst Gynaec Jpn.* 39: 1047-1053, 1987b.
44. Fox I II and Kurpis L: Binding characteristics of an adenosine receptor in human placenta *J Biol .Chem.* 258: 6952-6955, 1983.
45. Chan, A.W.L. and Kellen J.A.: Resistance to levamisole (R 12456) in heat-stable alkaline phosphatase. *Clin.Chim.Acla* 60:91-96, 1975.
46. Mayahara T.L. Fujimoto, K., Ando, T. and Ogawa, K.: A new one step method for the cytochemical localization of ouabain-sensitive, potassium-dependent p-nitrophenylphosphatase activity. *Histochemistry* 67: 125-138, 1980.
47. Ando, T., Fujimoto, K., Mayahara, T.L., Miyajima, T. and Ogawa, K.: A new one step method for the histochemistry of Ca⁺⁺ATPase activity. *Acta histochem.Cytochem.* 14: 705-726. 1981.
48. Miller, D.M., Yang, A. and Liepman, M.: Ixukocyte alkaline phosphatase: another organ specific alkaline phosphatase. *Am J.Hematol.* 15: 171-180. 1983.
49. Robinson, I.M. and Karnovsky, M.L.: Ultrastructural localization of 5'-nucleotidase in guinea pig neutrophils based upon the use of cerium as capturing agent. *J.I Histochem. Cltochem.* 31: 1190-1196, 1983.
50. Doellgast, G.J. and Meis, P.J.: Use of specific inhibitors to discriminate alkaline phosphatase isoenzymes originating from human liver, placenta and intestine: absence of meconial alkaline phosphatase in maternal serum. *Clin. Chem.* 25: 1230-1233, 1979.
51. Sternberger, L.A., Hardy, J.R. and Cuculis, J.J., The unlabelled antibody enzyme method for immunohistochemistry. *J.Histochem* 18: 315-333, 1970.
52. Michel J.B., Bussaule J.C., Choudat L., Auzan C, Nochy D, Corvol P. and Menard J., Effects of antihypertensive treatment in one clip to kidney hypertension in rats. *Kidney intern.* 29: 1011-1020, 1986.
53. Pautier, J.T., Foote, S., Chambraud, P., Strosberg, A.D., Corvol, P. and Rougier, F., Complete amino acid sequence and maturation of submaxillary gland renin precursor. *Nature*, 298:90-92. 1982.
54. Al-Timimi, A. and Fox, I.I. Immunohistochemical localization of follicle stimulating hormone, adrenocorticotrophic hormone and prolactin in the human placenta. *Placenta.* 7: 163-172, 1986.
55. Unnikumar, K.R., Wegmann, R., Panigel, M.: Immunohistochemical profile of the human placenta. Studies on localization of prolactin, human chorionic gonadotropin, human placental lactogen renin and oxytocin cellular and molecular Biology 34 (6): 697-710, 1988.
56. Ville, D.B., Endocrine functions of placenta. In: *Placenta a neglected experimental animal*, Beaconsfield, P. and Villee, C. (eds), Pergamon Press, Oxford, 1978, pp. 74-86.
57. Yuen, B.H., Cannon, W., Lewis, J., Sy, L. and Woolley, S., A possible role for prolactin in control of human chorionic gonadotropin and oestrogen secretion by fetal-placental unit. *Am.J.Obstet. Gynecol.* 136: 286-291, 1980.
58. Bryant-Greenwood, G.D., Rees, M.C.P. and Turnbull, A.C., Immunohistochemical localization of relaxin, prolactin and prostaglandin synthase in human amnion, chorion and decidua. *J. Endocrinol.* 114: 491-496, 1987.
59. Bigazzi, M., Pollicino, G. and Nardi, F., Is human placenta a specialized endocrine organ. *J.Clin. Endocrinol. Metabol.* 49: 847-850, 1979.
60. Frame, L.T., Willey, J., and Rogol, A.D., Indirect immunofluorescent localization of prolactin to the cytoplasm of decidua and trophoblast cells in human placental membranes at term. *J.Clin. Endocrinol. Metabol.* 49: 435-437, 1979.
61. Tabarelli, M., Kofler, R. and Wick, G., Placental hormones. I. Immunofluorescence studies of the localization of chorionic gonadotropin, placental lactogen and prolactin in human and rat placenta and in the endometrium of pregnant rats. *Placenta.* 4: 379-388, 1983.
62. Healy, D.L., Kimpton, W.G., Muller, H.K. and Burger, H.G., Synthesis of immunoreactive prolactin by decidua-chorion. *Br.J.Obstet. Gynecol.* 86: 307-313, 1979.
63. Healy, D.L., Muller, H.K., and Burger, H.G., Immunofluorescence shows localization of prolactin to human amnion. *Nature.* 262: 642-643, 1977.
64. Mc Coshen, J.A., Tomita, K., Fernandez, C. and Tyson, J.E., Specific cells of human amnion selectively localize prolactin. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 55:166-169, 1982.
65. Van Herendael, B.J., Oberti, C. and Brosens, I., Microanatomy of human amniotic membranes. *Am.J.Obstet. Gynecol.* 131: 872-879, 1978.
66. Manku, M.S., Mtabaji, J.P. and Horrobin, D.E., Effect of Cortisol prolactin and ADD on the amniotic membrane. *Nature.* 258: 78-80, 1975.
67. Tyson, J.E., Mowat, G.S. and Mc Coshen, J.A., Stimulation of a probable biological action of decidual prolactin on fetal membranes. *Am.J.Obstet. Gynecol.* 148: 296-300, 1984.
68. Gaspard, U.J., Hustin, J., Reuter, A.M., Lambert, R. and Franchimont, P. Immunofluorescent localization of placental lactogen, chorionic gonadotropin and its alpha and beta subunits in organ cultures of human placenta. *Placenta.* 1: 135-144. 1980,

69. Kaduk,B.,Brand,R. and Guggenmoos-Holzmann,I., Immunohistochemical demonstration of human placental lactogen (hPL):a parameter for the functional capacity of trophoblast. *Placenta*. 4:541-548,1983.
70. Demir,R., Ustunel,L.: Distribution of some enzymes in implantation site of pregnant rats. *Placenta* 10 (5): 457456, 1989.
71. Demir,R., Ustunel,I.,Demir,N.: Light and electron microscopical observations on cellular interactions during initial stages of implantation and trophoblastic invasion in rats. *Placenta* 10 (5): 464465.
72. Dreskin R B, Spicer S S and Greene W B, Ultrastructural localization of chorionic gonadotropin in human term placenta. *J Histochem Cytochem*. 18: 862-874, 1970.
73. Duenas J L, Son Hung N, Wegmann R and Panigel M, localization de la prostaglandine deshydrogenase dans le placenta et les tissus decuduaux humains. *Cll mol Biol*. 30: 485488,1984b.
74. Phocas I, Salamalkis E, Sarandakou A and Zoulas P A, Hormonal and biochemical parameters in polyhydramnios. *Europ. J Obstet Gynecol reprod Biol*. 25: 277-286,1987.
75. Kasei K and Yoshida Y, Morphological study on the production and secretion of human chorionic gonadotropin (hCG). *Acta histochem*. 12:283-291,1979.
76. Midgley A R and Pierce G B Jr, Immunofluorescent localization of human chorionic gonadotropin. *J exp Med*. 115: 289-297,1962.
77. Morrish D W, Manickavel V, Jewell L D and Siy O, Immunolocalization of alpha and beta chains of human chorionic gonadotropin, placental lactogen and pregnancy specific beta-glycoprotein in term placenta by touch preparationmethod. *Histochemistry* 88:57-60,1987.
78. Makino T, Nakazawa K, Ishii K, Haginiwa I, Nakayama A and Iizuka R, Detection of immunoreactive human placental oxytocin and its contractile effect on the uterine muscle. *Endocrinol Japon* 30: 389-395,1983.
79. Nakazawa K, Makina T, Iizuka R, Kohsaka S and Tsukada Y Immunohistochemical study on oxytocin-like substance in the human placenta. *Endocrinol Japon*. 31: 763-768, 1984a.
80. Nakazawa K, Makina T, Nagai H, Suzuki H and Iizuka R, Immunoreactive oxytocin in human placental tissue. *Endocrin Exp*. 18:3541,1984b.
81. Sugahara M, Makino T, Suzuki H, Nakamura J and Iizuka H, Synthesis in human placental tissue. *Endocrinol Japon*. 32: 917-920,1985.
82. Brown J J, Doak P B, Davis D L, Lever A F, Robertson J I and Tree M, The presence of renin in the human amniotic fluid. *Lancet* 2: 64-65,1964.
83. Skinner A L, Lumbers E R and Symonds E M, Renin concentration in human fetal and maternal tissues. *Am J Obstet Gynecol* 101: 529-535,1968.
84. Poisner A M, Wood G M, Poisner R and Inagami T, Localization of renin in trophoblasts in human chorionic laeve at term pregnancy. *Endocriol* 109:1150,1981.
85. Acker G M, Galen F X, Devaux C, Foote S, Papernik E, Pesty A, Menard J and Corvol P Human chorionic cells in primary culture: a model for renin biosynthesis. *J Clin Endocrinol Metabol* 55: 902-909,1982.
86. Ihara Y, Taii S and Mori T. Expression of renin and angiotensinogen genes in the human placental tissues. *Endocrinol Japon* 34: 887-896,1987.