

ÖZET

İnsan hekimliğinde çiftlerin bir yıl boyunca düzenli olarak ve korunmaksızın cinsel ilişkiye girmelerine karşın çocuk sahibi olamamaları olarak tanımlanan infertilite, tüm dünya genelinde toplumun %7'sini etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Günümüzde, infertilite tedavisinde başta *in vitro* fertilizasyon (tüp bebek), *in vitro* embriyo kültürü ve embriyo transferi olmak üzere çeşitli üremeye yardımcı tedavi (ÜYTE) yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, infertilite tedavisi sonucunda dünyaya gelen bebeklerin normal bebeklere oranla enfeksiyonlara ve astım gibi alerjik solunum yolu hastalıklarına daha duyarlı olduklarını göstermektedir. Buna karşın, optimum olmayan koşullarda gerçekleştirilen *in vitro* embriyo kültürünün fötal trakeya dokusunda bazal hücrelerin sayısı üzerine her hangi bir etkisinin olup olmadığı bilinmemektedir. Trakeyadan başlayarak akciğerlere kadar uzanan solunum yollarının yüzeyini örten epitel dokusu, sürekli olarak kendini yenilemektedir. Solunum sisteminin trakeyadan başlayarak bronşiyollere kadar uzanan kısmında bazal membran ile sıkı bir bağlantı içerisinde olan ve transkripsiyon faktörü transformasyon-ilişkili protein 63 (TRP63)'ü, sitokeratin 5 ve 14 (KRT 5 ve KRT 14) faktörlerini eksprese etmeleri ile karakterize olan bazal hücreler, bu yenilenme sürecinde rol oynayan en önemli hücre popülasyonunun oluşturmaktadırlar. Bir kök hücre olarak işlev görerek kendilerini yenileme (self-renewal) yeteneğine sahip olan bazal hücreler bu işlevlerini, gerektiğinde Clara hücrelerine ve silli epitel hücrelere farklılaşabilme yetenekleri sayesinde gerçekleştirmektedirler. Sunulan tez çalışmasının amacı, fizyolojik olmayan atmosferik oksijen konsantrasyonunda gerçekleştirilen *in vitro* fare embriyo kültürü ve embriyo transferinin fötal trakeya dokusunda bazal hücrelerin sayısı üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığını test etmektir. Sunulan tez çalışmasında, bir adet kontrol grubu ve bir adet deney grubu olmak üzere toplam iki grup bulunmaktadır. Kontrol grubu, süperovulasyonu sağlamak amacıyla *in vitro* fertilizasyon çalışmalarında rutin olarak kullanılan PMSG ve hCG uygulaması yapılmamış olan 8-12 haftalık dişilerin, aynı yaştaki erkeklerle çiftleştirilmelerinden elde edilmiş olan fötuslardan oluşturulmuştur. Deney grubu ise, süperovulasyon uygulanan dişilerden hCG uygulamasından 22 saat sonra oviduktun ampulla kısmından toplanan döllenmiş yumurta hücrelerinin (zigot) atmosferik oksijen konsantrasyonunda 95 saat süreyle büyütülmesiyle elde edilen, dolayısıyla *in vitro* ortamda gelişen, blastosist aşamasındaki embriyoların yalancı gebe dişilere transferiyle elde edilmiş olan fötuslardan oluşturulmuştur. Embriyo transferi yapılan Deney grubunda, embriyo

gelişim oranları belirlenmiştir. Deney grubunu oluşturmak amacıyla, toplam 30 adet blastosist aşamasında bulunan embriyo, üç adet yalancı gebe dişiye transfer edilmiştir. Her iki grupta da, gebeliğin 18. gününde (18.5 d.p.c) servikal dislokasyonla ötenazi edilerek, gebe dişilerden izole edilen fötuslar uzaklaştırılarak, canlı ağırlıkları belirlenmiş ve bireysel olarak trakeya doku örnekleri alınmıştır. Her bir fötusa ait trakeya dokusunda, dokunun genel histolojik görünümünü belirlemek amacıyla üçlü boyama yöntemi uygulanmıştır. Dokuda bulunan bazal hücrelerin sayılarını, belirlemek amacıyla immunoflüoresan ve immunohistokimya yöntemleri kullanılmıştır. İmmunohistokimya yöntemi uygulanan kesitlerde ayrıca epitel kalınlıkları ve lümen yüzey alanları da belirlenmiştir. Sunulan tez çalışmasından elde edilen bulgular, *in vitro* embriyo kültürü ve embriyo transferi ile elde edilen ve Deney grubunu oluşturan fötuslarda canlı ağırlığın önemli ölçüde azaldığını göstermektedir. Kontrol grubuna ait fötuslarda lümen yüzey alanının Deney grubuna ait fötuslardan önemli ölçüde yüksek olduğu, epitelyum kalınlığında ise iki grup arasında bir fark olmadığı belirlenmiştir. Fötal canlı ağırlığın yanısıra, *in vitro* embriyo kültürü ve embriyo transferine bağlı olarak trakeya dokusunda bazal hücre popülasyonunun da etkilendiği belirlenmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, düşük canlı ağırlığa sahip olan Deney grubunda bazal hücre sayısının önemli ölçüde artmış olması sunulan tez çalışmasından elde edilen en ilginç veri setlerinden birisini oluşturmaktadır. Elde edilen veriler, bu durumun vücut ağırlığı ve lümen yüzey alanından bağımsız olarak ortaya çıktığını göstermektedir. Elde edilen bulgular doğrultusunda, Deney ve Kontrol grupları arasında bazal hücre sayıları açısından gözlemlenen farklılığın hücre proliferasyonu ve/veya apoptosis ya da bazal hücrelerin silli hücreler ile sekretorik hücrelere farklılaşması ile ilişkili olup olmadığının test edilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Fötal trakeya, bazal hücre, p63, *in vitro* embriyo kültürü ve embriyo transferi