

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PERİ-İMLANTİF DÖNEM FARE UTERUS VE
İMLANTASYON BÖLGELERİNDE HİPPO SİNYAL
YOLAĞININ ARAŞTIRILMASI**

Ezgi GOLAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2020-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PERİ-İMLANTİF DÖNEM FARE UTERUS VE
İMLANTASYON BÖLGELERİNDE HİPPO SİNYAL
YOLAĞININ ARAŞTIRILMASI

Ezgi GOLAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nuray ACAR AYDEMİR

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2018-3578 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2020-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu alışma jürimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Üreme Biyolojisi Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 28 Ocak 2020

İmza

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Nuray ACAR AYDEMİR
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. iler ÇELİK ÖZENCİ
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Dr. Öğretim Üyesi Hakan SOYLU
Düzce Üniversitesi



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Öğrenci

Ezgi GOLAL

İmza

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Nuray ACAR AYDEMİR

İmza

TEŐEKKÜR

Sayın danışman hocam Doç. Dr. Nuray AYDEMİR'e tezimin gerçekteőtirilebilmesi için göstermiş olduğu maddi, manevi ve bilimsel katkılarının yanı sıra kişisel geliőimime olan katkıları ve benim için her zaman danışman hocadan çok daha fazlası olması sebebiyle,

Saygı değer Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL'e maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim için,

Yüksek lisans eğitim sürecim boyunca, bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım tüm Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri baőta olmak üzere tüm arkadaőlarıma,

Her zaman yanımda olan ekip arkadaőlarım Kübra AKSU ve Cemre Nur BALCI'ya,

Yüksek lisans sürecimin ilk gününden itibaren her anıma tanıklık eden ve yürekten destek olan Sendegöl YILDIRIM'a,

Güler yüzleri ile her sorumuza ve sorunumuza yardımcı olan Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün değerli tüm çalıőanlarına,

Yıllardır süren eğitim hayatımın her aşamasında beni destekleyen, ideallerimi gerçekteőtirmemde maddi ve manevi desteğini bir an olsun benden esirgemeyen çok kıymetli babam Dindar GOLAL'a ve annem Zeynep GOLAL'a, canım kardeőim Gizem GOLAL DARICI'ya sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Gebeliğin sağlıklı bir şekilde ilerlemesi ve sonlanması için peri-implantif dönem uterusunda gerçekleşen olaylar çok kritiktir. Bunlar embriyonun gelişimi, uterus reseptivitesinin kazanılması, implantasyon ve desidualizasyon süreçlerini kapsar. Hippo sinyal yolağı ilk kez *Drosophila melanogaster*'de organ büyüklüğünü düzenleyen sinyal yolağı olarak keşfedilmiş, daha sonra memelilerdeki varlığı kanıtlanmıştır. Hippo sinyal yolağı hücre proliferasyonu, apoptozu ve farklılaşmasını regüle ederek hücre sayısını düzenler. Çalışmamızda peri-implantif dönem fare uterus ve implantasyon bölgelerinde Hippo sinyal yolağı üyelerinden olan YAP, pYAP, TEAD1 ve CTGF'nin lokalizasyon ve ekspresyonlarını belirlemeyi amaçladık.

Yöntem: Bir erkek ve iki dişi Balb/C ırkı fare gece boyu aynı kafeste tutuldu, ertesi gün vajinal plağı olan dişi fareler gebeliğin birinci gününde kabul edildi. Gebeliğin 1, 4, 5, 6 ve 8. günlerindeki farelerin uterus ve implantasyon bölgeleri ile östrus fazındaki farelerin uterusları elde edildi. Bu dokulardaki YAP, pYAP, TEAD1 ve CTGF ekspresyonları Western blot ile lokalizasyonları ise immünohistokimya ile belirlenerek semi-kantitatif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Gebeliğin farklı günlerine ait uterus ve implantasyon bölgelerinde YAP, pYAP, TEAD1 ve CTGF farklı yoğunluklarda ekspre olmuşlardır. Proliferasyonun gerçekleştiği bölgelerde YAP-TEAD1 ve CTGF ekspresyonlarının arttığı; farklılaşmanın gerçekleştiği bölgelerde pYAP ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. İmplantasyonun gerçekleştiği gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki lümen epitelinde pYAP ekspresyonunun yüksek, YAP, CTGF ekspresyonlarının düşük olduğu gözlenmiştir. Desidualizasyonun gerçekleştiği gebeliğin 6. gününe ait implantasyon bölgelerinde pYAP ekspresyonunun düşük, YAP, CTGF ekspresyonlarının yüksek olduğu gözlenmiştir.

Sonuç: Bulgularımız farede implantasyon ve desidualizasyon süreçlerinde Hippo sinyal yolağının rolü olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: implantasyon, YAP, pYAP, TEAD1, CTGF

ABSTRACT

Objective: The events in uterus during peri-implantation period are critical for healthy progression and termination of pregnancy. These include development of embryo, acquisition of uterine receptivity, implantation and decidualization. Hippo signaling pathway was first discovered in *Drosophila melanogaster* that regulates organ size and then was demonstrated in mammals too. Hippo signaling pathway regulates cell number by regulating cell proliferation, apoptosis and differentiation. In this study, we aimed to determine localization and expressions of YAP, pYAP, TEAD1 and CTGF which are members of Hippo signaling pathway in peri-implantation mouse uteri and implantation sites.

Method: One male and two female Balb/C mice were kept in same cage overnight, following day female with vaginal plaque were accepted on first day of pregnancy. Uteri and implantation sites of mice on days 1, 4, 5, 6 and 8 of pregnancy and uteri of female mice in estrous phase were obtained. Expressions of YAP, pYAP, TEAD1 and CTGF in these tissues were quantitatively determined by Western blot, localizations were determined by immunohistochemistry and were evaluated semi-quantitatively.

Results: YAP, pYAP, TEAD1 and CTGF were expressed at different concentrations in uteri and implantation sites of different pregnancy days. In regions where proliferation takes place, YAP-TEAD1 and thus CTGF expressions increased; pYAP expression was increased in regions where differentiation occur. It was observed that pYAP expression was high, YAP and CTGF expressions were low in lumen epithelium of implantation sites on 5th day of pregnancy when implantation takes place. It was observed that pYAP expression was low, YAP and CTGF expressions were high in implantation sites on 6th day of pregnancy when decidualization occurs.

Conclusion: Our findings suggest that Hippo signaling pathway may have a role in implantation and decidualization in mice.

Key words: implantation, YAP, pYAP, TEAD1, CTGF

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| İÇİNDEKİLER | iii |
| TABLolar DİZİNİ | vi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | vii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | xv |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Uterusun Embriyonik Gelişimi | 3 |
| 2.2. Dişi Farede Genital Sistem Anatomisi | 4 |
| 2.2.1. Ovaryum | 4 |
| 2.2.2. Ovidakt | 4 |
| 2.2.3. Uterus | 4 |
| 2.2.4. Vajina ve Klitoris | 5 |
| 2.3. Farelerde Uterus Histolojisi | 5 |
| 2.4. Dişi Farelerde Üreme Fizyolojisi | 6 |
| 2.5. İnsanda Uterus Histolojisi | 8 |
| 2.6. İnsanda Uterusun Siklusa Bağlı Fizyolojik Değişimleri | 9 |
| 2.6.1. Proliferatif Faz | 10 |
| 2.6.2. Sekretuar Faz | 11 |
| 2.7. İnsan ve Farelerde Uterus Reseptivitesi | 11 |
| 2.8. İnsan ve Farede Preimplantif Dönem Embriyo Gelişimi | 12 |
| 2.9. Embriyo İmplantasyonu | 13 |
| 2.9.1. İmplantasyon Evreleri | 13 |
| 2.9.2. İmplantasyon Tipleri | 14 |
| 2.9.3. Peri-İmplantasyon Sürecinde Endometriyumdaki Hücresel Olaylar | 15 |
| 2.10. Reseptif Uterusta Vasküler Geçirgenlik | 16 |
| 2.11. Desidualizasyon | 17 |
| 2.12. Hippo Sinyal Yolağı | 17 |
| 2.12.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'de Hippo Sinyal Yolağı | 17 |

| | |
|--|----|
| 2.12.2. Memelilerde Hippo Sinyal Yolağı | 19 |
| 2.12.3. Hippo Sinyal Yolağı ve DNA Bağlanma Partnerleri | 20 |
| CTGF (Connective Tissue Growth Factor/Bađ Dokusu Býýme Faktörü) | 23 |
| 2.12.4. Hippo Sinyal Yolağı ve Üst Düzenleyicileri | 23 |
| 2.12.5. Hippo Sinyal Yolağı ve Post-translasyonel Modifikasyonlar | 25 |
| Hippo Sinyal Yolağının Fosforilasyonu | 26 |
| Hippo Sinyal Yolağının Ubikitasyonu | 26 |
| 2.12.6. Hippo Sinyal Yolağı ve Diğer Faktörlerle İlişkisi | 27 |
| Hippo Sinyal Yolağı ve Mutasyonlar | 27 |
| Hippo Sinyal Yolağı ve miRNA'lar | 27 |
| 2.12.7. Hippo Sinyal Yolağı ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar | 28 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 29 |
| 3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması | 29 |
| 3.3. İmmünohistokimyasal Gözlemler | 33 |
| 3.3.1. Kullanılan Solüsyonlar/Kimyasallar | 33 |
| 3.4. Histolojik Skorum (H-Score) Analizi | 36 |
| 3.5. Western Blot | 36 |
| 3.5.1. Doku Homojenatlarının Elde Edilmesi İçin Kullanılan Solüsyonlar | 36 |
| 3.5.2. Deney Grubu Dokularından Lizat Elde Edilmesi | 37 |
| 3.5.3. Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi | 37 |
| Kullanılan Solüsyonlar, Kimyasallar ve Cihazlar | 37 |
| 3.5.4. SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi) Protokolü | 38 |
| Kullanılan Solüsyonlar | 38 |
| 3.5.5. Western Blot Bantlarının Kantitatif Değerlendirilmesi | 42 |
| 3.6. İstatistiksel Analizler | 42 |
| 4. BULGULAR | 43 |
| 4.1. İmmünohistokimya Bulguları | 43 |
| 4.1.1. pYAP için İmmünohistokimya Bulguları | 43 |
| Lümen Epitelinde pYAP İçin İmmünohistokimya Bulguları | 43 |
| Bez Epitelinde pYAP İçin İmmünohistokimya Bulguları | 46 |
| Stromada pYAP İçin İmmünohistokimya Bulguları | 49 |

| | |
|--|------------|
| 4.1.2. YAP İçin İmmünohistokimya Bulguları | 52 |
| Lümen Epitelinde YAP İçin İmmünohistokimya Bulguları | 52 |
| Bez Epitelinde YAP İçin İmmünohistokimya Bulguları | 54 |
| Stromada YAP için İmmünohistokimya Bulguları | 57 |
| 4.1.3. TEAD1 İçin İmmünohistokimya Bulguları | 60 |
| Lümen Epitelinde TEAD1 İçin İmmünohistokimya Bulguları | 60 |
| Bez Epitelinde TEAD1 İçin İmmünohistokimya Bulguları | 63 |
| Stromada TEAD1 İçin İmmünohistokimya Bulguları | 65 |
| 4.1.4. CTGF İçin İmmünohistokimya Sonuçları | 68 |
| Lümen Epitelinde CTGF İçin İmmünohistokimya Bulguları | 69 |
| Bez Epitelinde CTGF İçin İmmünohistokimya Bulguları | 71 |
| Stromada CTGF İçin İmmünohistokimya Bulguları | 73 |
| 4.2. Western Blot Bulguları | 76 |
| 4.2.1. pYAP için Western Blot Sonuçları | 76 |
| 4.2.2. YAP için Western Blot Sonuçları | 77 |
| 4.2.3. TEAD1 için Western Blot Sonuçları | 79 |
| 4.2.4. CTGF için Western Blot Sonuçları | 80 |
| 5. TARTIŞMA | 83 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER | 94 |
| KAYNAKLAR | 95 |
| ÖZGEÇMİŞ | 114 |

TABLolar DİZİNİ

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tablo 3.1: | İmmünohistokimya için kullanılan primer ve sekonder antikorlar ile dilüsyonları. | 36 |
| Tablo 3.2: | Western Blot için kullanılan primer ve sekonder antikorlar ile dilüsyonları. | 42 |



ŞEKİLLER DİZİNİ

| | | |
|-------------|---|----|
| Şekil 2.1. | Dişi farede genital sistem anatomisinin gösterimi. | 5 |
| Şekil 2.2. | Dişi farelerde vajinal simirin hematoksilen&eoazin boyanması ile östrus fazlarının gösterilmesi. | 8 |
| Şekil 2.3. | Uterus ve kısımlarının gösterim. | 8 |
| Şekil 2.4. | Gonadotropinler ile ovaryan hormonlar aracılığı ve ovaryum - uterus senkronizasyonu | 10 |
| Şekil 2.5. | İnsan ve farede uterus reseptivitesinin evrelerini gösteren grafikler. | 12 |
| Şekil 2.6. | Embriyo implantasyonu, invazyonu ve desidualizasyonunu gösteren çizim. | 14 |
| Şekil 2.7. | Memeliler için implantasyon tiplerini gösteren çizim. | 14 |
| Şekil 2.8. | Farelerde gebelik günlerine göre uterus reseptivitesi. | 16 |
| Şekil 2.9. | Dişi farede Chicago mavisi enjeksiyonu sonrası uterusda görülen implantasyon bölgeleri. | 16 |
| Şekil 2.10. | a) Vahşi tip <i>Drosophila melanogaster</i> , b) Hippo genlerinden <i>Wts</i> mutant <i>Drosophila melanogaster</i> | 18 |
| Şekil 2.11. | <i>Drosophila melanogaster</i> 'de Hippo sinyal yolağı bileşenleri. | 19 |
| Şekil 2.12. | Memelilerde Hippo sinyal yolağı bileşenleri. | 20 |

| | | |
|--------------------|---|----|
| Şekil 2.13. | Yes ilişkili protein (YAP)'in genel yapısı | 21 |
| Şekil 2.14. | TAZ (PDZ'ye bağlanan motifli transkripsiyonel koaktivatör)'in genel yapısı | 22 |
| Şekil 2.15. | Hippo sinyal yolağı ve üst düzenleyicileri | 24 |
| Şekil 2.16. | GPCR (G-protein eşlenmiş reseptör)-Hippo sinyal yolağı ilişkisi | 25 |
| Şekil 3.1. | Krezil viyole boyaması ile vajinal simirde gözlenen östrus fazındaki dişi fareye ait yassı epitel hücreleri | 30 |
| Şekil 3.2. | Östrus fazında bulunan dişi farenin uterus görüntüsü. | 30 |
| Şekil 3.3. | Gebeliğin 1. gününde elde edilen bir hücreli embriyo (zigot) görüntüsü. | 30 |
| Şekil 3.4. | Gebeliğin 4. gününde uterus boynuzlarından birinin yıkanması sonucu elde edilen blastosist görüntüsü. | 31 |
| Şekil 3.5. | Gebeliğin 5. gününde Chicago mavisi enjeksiyonu sonucu elde edilen uterus görüntüsü | 31 |
| Şekil 3.6. | Gebeliğin 6. gününde Chicago –mavisi enjeksiyonu sonucu elde edilen uterus görüntüsü | 32 |
| Şekil 3.7. | Gebeliğin 8. gününde elde edilen uterus görüntüsü | 32 |

- Şekil 4.1.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1 ve 4. günü uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki pYAP ekspresyonu 44
- Şekil 4.2.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki pYAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi 46
- Şekil 4.3.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki pYAP ekspresyonu 47
- Şekil 4.4.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki pYAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi 48
- Şekil 4.5.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada pYAP ekspresyonu 50
- Şekil 4.6.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromadaki pYAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi 52

- Şekil 4.7.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki YAP ekspresyonu 53
- Şekil 4.8.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki YAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi 54
- Şekil 4.9.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki YAP ekspresyonu 55
- Şekil 4.10.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki YAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi 57
- Şekil 4.11.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada YAP ekspresyonu 58
- Şekil 4.12.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada YAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi 60

- Şekil 4.13.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki TEAD1 ekspresyonu 61
- Şekil 4.14.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki TEAD1 ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi 63
- Şekil 4.15.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki TEAD1 ekspresyonu 64
- Şekil 4.16.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki TEAD1 ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi 65
- Şekil 4.17.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromadaki TEAD1 ekspresyonu 66
- Şekil 4.18.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada TEAD1 ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi 68

- Şekil 4.19.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki CTGF ekspresyonu 69
- Şekil 4.20.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki CTGF düzeylerinin H-Score analizi 71
- Şekil 4.21.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki CTGF ekspresyonu 72
- Şekil 4.22.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1.ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5. ve 6. gün implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 5. gün inter implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki CTGF düzeylerinin H-Score analizi 73
- Şekil 4.23.** Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada CTGF ekspresyonu 74
- Şekil 4.24.** Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromadaki CTGF düzeylerinin H-Score analizi 75

- Şekil 4.25.** Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ,5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan pYAP ve Aktin Western blot sonuçları
77
- Şekil 4.26.** Östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde pYAP/Aktin Western Blot analiz sonuçları
77
- Şekil 4.27.** Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ,5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan YAP ve Aktin Western blot sonuçları
78
- Şekil 4.28.** Östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde YAP/Aktin Western Blot analiz sonuçları
79
- Şekil 4.29.** Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ,5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan TEAD1 ve Aktin Western blot sonuçları
80
- Şekil 4.30.** Östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde TEAD1/Aktin Western Blot analiz sonuçları
80

Şekil 4.31. Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ,5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan CTGF ve Aktin Western blot sonuçları

82

Şekil 4.32. Östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde CTGF/Aktin Western Blot analiz sonuçları

82



SİMGELER ve KISALTMALAR

| | |
|------------------------|--|
| 3'-UTR | : 3'-Transle Edilmeyen Bölge |
| APS | : Amonyum Persülfat |
| AREG | : Amfiregülin |
| BCA | : Bicinchoninic Asit |
| BCL2L1 | : Bcl-2 Benzeri 1 |
| BSA | : Bovin Serum Albumin |
| CDX2 | : Kaudal İlişkili Homeobox Transkripsiyon Faktörü 2 |
| CK1 | : Kazein Kinaz 1 |
| Crb | : Apikal Transmembran Protein Crumbs |
| CTGF | : Bağ Doku Büyüme Faktörü |
| CYR61 | : Sistein Bakımından Zengin Anjiyogenik İndükleyici 61 |
| DAB | : Diaminobenzidin |
| Dco | : Disc Overgrown (Büyümüş Disk) |
| dH₂O | : Distile Su |
| dPRL | : Desidual Prolaktin |
| Ds | : Dachsous |
| DSS | : Dekstran Sülfat Sodyum |
| E₂ | : Östrodiol |
| EMT | : Epitelyal Mezenkimal Dönüşüm |

| | |
|-----------------|--|
| ER | : Endoplazmik Retikulum |
| ESCs | : Endometriyal Stromal Hücreler |
| Ex | : Expanded |
| F-Aktin | : Filamentöz Aktin |
| FSH | : Folikül Stimüle Edici Hormon |
| Ft | : Protokaderin Fat |
| G-Aktin | : Globüler Aktin |
| GCT | : Granüloza Hücre Tümörü |
| GPCR | : G-Protein Eşlenmiş Reseptör |
| HCl | : Hidroklorik Asit |
| IGFBP1 | : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein 1 |
| IVF | : İn Vitro Fertilizasyon |
| LATS 1/2 | : Büyük Tümör Baskılayıcı 1/2 |
| LH | : Luteinize Edici Hormon |
| LPA | : Lisofosfatidik Asit |
| Mats | : Mob Tümör Baskılayıcı |
| MCAT | : Kas CAT Element |
| MCF-7 | : Michigan Kanser Vakfı-7 |
| Mer | : FERM Alanı İçeren Protein Merlin |
| MOB1 | : Mps 1 Bağlayıcı |

| | |
|----------------------|---|
| mRNA | : Mesajcı Ribonükleik Asit |
| MST 1/2 | : Ste (Steril) 20 Benzeri 1/2 Kinaz |
| NaCl | : Sodyum Klorür |
| NaOH | : Sodyum Hidroksit |
| NF2 | : Nörofibromin 2 |
| P₄ | : Progesteron |
| PBS | : Fosfat Tamponlu Tuz Solüsyonu |
| PCAF | : P300/CBP-İlişkili Faktör |
| PDT | : Fotodinamik Tedavi |
| PDZ | : Primer Desidua Zonu |
| PE | : Pre-eklampsi |
| PERK | : Protein Kinaz R Benzeri Endoplazmik Retikulum Kinaz |
| PIK | : Protein İnhibitör Kokteyl |
| PR | : Progesteron Reseptörü |
| RNA | : Ribonükleik Asit |
| RUNX | : Runt İlişkili Transkripsiyon Faktörü |
| S1P | : Sfingosin 1-Fosfat |
| SCRIB | : Memeli Scribble |
| Sd | : Scalloped |
| SDZ | : Sekonder Desidua Zonu |

| | |
|---------------|--|
| SDS | : Sodyum Dodesil Sülfat |
| SIAH2 | : Siah E3 Ubiquitin Protein Ligase 2 |
| SLC1A5 | : Solute Taşıyıcı Aile 1 Üye 5 |
| TAZ | : PDZ'ye Bağlanan Motifli Transkripsiyonel Koaktivatör |
| TBX5 | : T-Box Transkripsiyon Faktörü 5 |
| TEAD | : TEA Domain |
| TEMED | : N, N, N', N'-Tetramethylethylenediamidine |
| YAP | : Yes İlişkili Protein |
| Yki | : Yorkie |

1. GİRİŞ

Embriyonun uterusu yerleşme süreci olarak basit bir şekilde tanımlanabilen implantasyonun mekanizmaları hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Gebeliğin sağlıklı bir şekilde ilerleyebilmesi ve sonlanabilmesi için hem blastosistin sağlıklı gelişimi hem de uterusun senkronize bir şekilde reseptif evreye ulaşması gerekmektedir (Li ve ark., 2015). İnsanlarda implantasyon çalışmaları hem etik sorunlar hem de zorlukları nedeniyle mümkün olamamakta bu nedenle bu alandaki bilgilerin fare ve sıçanlarda yapılan çalışmalardan elde edilmektedir.

Hippo sinyal yolağı ilk kez *Drosophila melanogaster*'de organ büyüklüğünü düzenleyen sinyal yolağı olarak keşfedilmiş, daha sonra memelilerdeki varlığı kanıtlanmıştır (Dong ve ark., 2007; Zhao ve ark., 2007; Bao, Hata, ve ark., 2011). Hippo sinyal yolağı hücre proliferasyonu, apoptozu ve farklılaşmasını regüle ederek hücre sayısını düzenler. Hippo yolağının hücre apoptozu ve farklılaşmasını tetiklediği ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Yu ve Guan, 2013).

Omurgalılarda Hippo yolağının temel bileşenleri arasında MST (mammalian Ste (sterile) 20-like /memeli STE (steril) 20-benzeri) 1/2 kinazları bulunur. Sav1'i fosforile ederek aktif bir kompleks oluştururlar. MST1/2 daha sonra LATS (large tumour suppressor/büyük tümör baskılayıcı) 1/2 kinazları ve koaktivatörleri MOB1'i (Mps one binder/Mps 1 bağlayıcı) fosforile eder. LATS1 veya LATS2 daha sonra Hippo yolağının alt hedefleri olan YAP (Yes associated protein/Yes-ilişkili protein) ve TAZ'ı (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif/PDZ'ye bağlanan motifli transkripsiyonel koaktivatör) fosforile eder. Böylece YAP/TAZ 14-3-3 proteinleri ile sitoplazma içinde tutulur veya degrade edilir. Yolağın üstünde bulunan kinazlar inaktif olduğunda YAP/TAZ defosforile olur ve gen ekspresyonu sağlamak için nükleusa transloke olurlar (Kanai ve ark., 2000; Dong ve ark., 2007; Zhao ve ark., 2007; Lei ve ark., 2008; H. Oh ve Irvine, 2008; Ren ve ark., 2010; Cherrett ve ark., 2012; Kodaka ve Hata, 2015).

Literatürde Hippo sinyal yolağının peri-implantif dönem fare uterus ve implantasyon bölgelerindeki ekspresyonları ve muhtemel rollerini araştıran bir çalışma

bulunmamaktadır. Bu çalışmada gebeliğin 1, 4, 5, 6 ve 8. günlerindeki farelere ait uterus ve implantasyon bölgeleri ile östrus fazındaki farelere ait uteruslarda Hippo sinyal yolağı üyelerinden YAP, pYAP, TEAD1 ve CTGF'nin lokalizasyon ve ekspresyonları araştırılmıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz Hippo sinyal yolağının implantasyon ve desidualizasyondaki olası rolleri bulgusunun ileride klinikte karşılaşılan implantasyon başarısızlığı ve tekrarlayan gebelik kayıplarının mekanizmalarının aydınlatılmasında önemli olabileceğini düşünmekteyiz.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterusun Embriyonik Gelişimi

Genital sistem mezoderm kökenlidir. Hem dişi hem erkek embriyolarda mezonefrik ve paramezonefrik kanal olmak üzere iki çift genital kanal bulunur. Paramezonefrik kanal, ürogenital kabarıklığın ön – yan yüzeyinde, sölom epitelinin uzunlamasına bir girintisi halinde ortaya çıkar. Kanal, kraniyal uçtan huni şeklinde bir uzantıyla sölom boşluğuna uzanır. Boşluğu çaprazlayıp kaudomedial yönde ilerlemeyi sürdürür. Orta hatta bulunan diğer paramezonefrik kanala tersi yönden yaklaşır. Başlangıçta bir septumla ayrılan bu iki kanal, birleşerek uterus kanalını oluştururlar. Birleşen kanalların kaudal kısmı, ürogenital sinusun arka duvarına ilerleyerek paramezonefrik ya da Müller tüberkülü olarak adlandırılan küçük şişkinliği oluşturur (Sadler ve ark., 1996).

Müller tüberkülünün her iki yanından ürogenital sinusa mezonefrik kanallar açılır. Mezonefrik kanallar, dişi embriyolarda testosteron yokluğu nedeniyle geriler. Paramezonefrik kanallar Anti-müllerian (Müller baskılayıcı) hormon yokluğu nedeniyle dişi cinsiyete farklılaşmaktadır (Sadler ve ark., 1996).

Dişide asıl genital kanalları paramezonefrik kanallar oluşturur. Başlangıç olarak her bir kanalda üç bölüm gözlenir. Bu bölümler: 1- Sölom boşluğuna açılan kraniyal vertikal bölüm 2- Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal bölüm 3- Karşı taraftaki eşiyile birleşen kaudal vertikal bölüm. Paramezonefrik kanalların ilk iki bölümünden tuba uterinalar gelişir. Uterusu oluşturmak üzere kaudal bölümler birleşir. Başlangıçta kanalların birleşmesiyle oluşan dikey septum daha sonra dejenere olarak ortadan kalkar. Paramezonefrik kanalın ikinci bölümünün mediyakaudal yönde hareket etmesiyle ürogenital şişkinlikler transvers bir düzleme gelirler (Sadler ve ark., 1996; Moore ve ark., 2002).

Orta hatta birleşen kanallar, geniş bir transvers pelvik katlantı oluştururlar. Bu katlantıya ligamentum latum uteri adı verilmektedir. Bu ligamentin üst sınırında tuba uterinalar, arka yüzünde de ovaryumlar yer alır. Uterovajinal taslaktan uterusun fundus, korpus, isthmus ve endometriyum epitelini ile bezleri gelişir. Endometriyum stroması ve miyometriyum komşu splanik mezodermden köken alır (Sadler ve ark., 1996).

2.2. Dişi Farede Genital Sistem Anatomisi

Farelerde genital sistem bir çift ovidakt, bir çift ovaryum, vajina, uterus, serviks ve klitoristen oluşur (Şekil 2.1).

2.2.1. Ovaryum

Farelerde ovaryumlar, böbreklerin yakınında bulunan organlardır. ovaryumlar bursa veya kapsülle sarılı bir şekilde karın boşluğunda bulunmaktadır. Ovaryuma kan akışı aorttan dallanmış ovaryan arterler ile sağlanır. Ovaryumlar, medulla ve korteks olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Hilus bölgesinden ovaryuma kan ve lenf damarları ile sinirlerin giriş çıkışı sağlanır. Ovaryum tek katlı kübik epitel tabakasına sahiptir (Fox, 2006). (Şekil 2.1).

2.2.2. Ovidakt

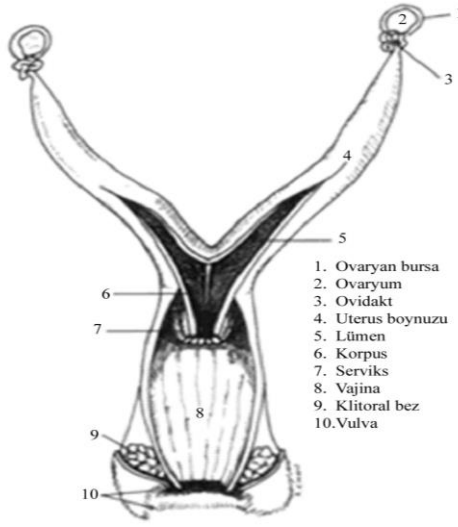
Dorsal vücut duvarından mezotubaryum tarafından ayrılan ovidaktlar, periovaryan boşluğu uterus boynuzuna bağlamaktadır. Kıvrımlı ve 1.8 cm uzunluğunda tüp şeklindedir. Ovidakt sirküler yerleşimli düzenlenen kas tabakası ile silli mukoza tabakası ile çevrilidir. İsthmus, ampulla, infundibulum ile fimbriya kısımları bulunmaktadır. İsthmus ovidaktın dar kısmı olup ampullaya kadar uzanmaktadır. İfundibulum ile istmusu ise birbirine ampulla bağlamaktadır. İfundibulumdan sonra ise ovidakt fimbriya adı verilen saçak benzeri yapılar ile periovaryan boşluğa açılmaktadır (Fox, 2006; Mara H. Rendi, 2012) (Şekil 2.1).

2.2.3. Uterus

Farelerde uterus, 2 lateral boynuzdan (kornua) oluşan Y şeklinde tübül yapısındadır. Tek medyan gövdeye (korpus) sahiptir. Uterusun boynuzları korpusu oluşturmak üzere ovidaktlardan posteromediyal şekilde mesaneye dorsal pozisyonda uzanır ve kan, lenf damarları ve sinirlerin bulunduğu ligamentler ya da mezometriyumla vücudun dorsal duvarından ayrılır. Uterus gövdesi kraniyal ve kaudal kısımlardan oluşmaktadır. Kraniyal kısmı, medyan septumla ayrılmıştır ve iki boşluk bulundurmaktadır. Kaudal kısmı ise vajina boşluğuna açılan serviks kısmından oluşur (Fox, 2006; Mara H. Rendi, 2012) (Şekil 2.1).

2.2.4. Vajina ve Klitoris

Farelerde vajina kısa, kalın ve müsküler bir yapıdan oluşmaktadır. Serviksten anüsün anteriorundaki eksternal açıklığa uzanmaktadır. Vajina ventralde üretraya, dorsalde rektuma gevşek şekilde tutunmuştur. Klitoris, vajinal açıklığın anterior duvarında ventrale uzanan ykseltilerdir ve anterior ile posterior yüzeyleri kıl ve deriyle kaplıdır. Klitorisin ucunda bulunan ve klitoral fossaya açılan derin olmayan oknt retradır. Klitoral bezler armut şeklinde olup anterolateral olarak subkutan bağ dokusu içerisinde-dir. Klitoral bezlerden çıkan kanallar klitoral fossanın lateral duvarındaki açıklığa uzanmaktadır (Fox, 2006; Mara H. Rendi, 2012) (şekil 2.1).



şekil 2.1. Dişi farede genital sistem anatomisinin gösterimi (S. R. Glasser, Aplin, J. D., Giudice, L. C., & Tabibzadeh, S., 2004).

2.3. Farelerde Uterus Histolojisi

Gebe olmayan farelerde uterus 3 tabakalıdır. En dışta bulunan perimetriyum, mezometriyumla devamlılık gösterir. Bu tabakaları kas tabakası olan miyometriyum takip eder. Miyometriyumun kas tabakaları ite sirküler dışta longitudinal yerleşimlidir. Bu kas tabakalarının arasında stratum vaskulozum olarak adlandırılan vasküler yapıda bir gevşek bağ dokusu bulunmaktadır. En iç kısımda ise endometriyum tabakası yer almaktadır. Endometriyum sinirler ile kan damarlarını içermektedir. Epiteli basit prizmatik epitel yapısındadır ve stromaya girinti yapan dallı tübüler bezlere uzanmaktadır. Endometriyum stromasında lenfosit içeren retiküler bağ dokusu ile çok

sayıda küçük polihedral yapıda hücre bulunmaktadır. Uterus boynuzları orta hatta birleştiğinde mediyal duvarları serozayı, stratum vaskulozum ile bazı kas liflerini kaybederler. Uterus gövdesinin anterior kısımlarının epiteli basit prizmatik epitel karakterindedir. Diğer bölgelerde, özellikle medyal duvarlarda çok katlı yassı epitel görülmektedir. Serviks ile vajinanın epiteli de çok katlı yassı epiteldir. Serviks kranial ve kaudal kısımlardan oluşmaktadır. Kranial kısmın duvarının üçte ikisinde sirküler yerleşimli düz kas, kaudal kısmın duvarının üçte birinde kollajen lif demetleri bulunmaktadır (Sezer, 2005; Mara H. Rendi, 2012).

2.4. Dişi Farelerde Üreme Fizyolojisi

Memelilerde hipotalamus, hipofiz ve ovaryumdan salınan hormonlar benzerlik göstermektedir. Hipotalamustan, gonadotropin salgılatıcı hormon, hipofizden, folikül stimüle edici hormon (FSH) ile luteinize edici hormon (LH) ve ovaryumdan östrojen (E₂) ve progesteron (P₄) salgılanmaktadır. Bu benzerlik memelilerde üreme sisteminin benzerlik göstermesine yol açmaktadır. Fakat türler detaylı olarak incelendiği zaman önemli farklılıklar da ortaya çıkmaktadır. Farklılıklardan biri, östrus siklusu görülen hayvanların gebeliğin gerçekleşmemesi sonucu endometriyumlarını absorbe edebilmeleridir. Menstrual siklus görülen hayvanlar, menstruasyon ile endometriyumlarını dökerler. Bir diğer fark, seksüel aktivitedir; menstrual siklusa sahip hayvanlar sikluslarının herhangi bir döneminde, ovulasyon gerçekleşmediği durumlarda bile seksüel olarak aktif durumda olabilirler. Östrus siklusuna sahip hayvanlar ise sadece östrus fazında seksüel olarak aktif durumdadır. Fareler poliöstrik hayvanlardır. Puberte döneminden yaşlılığa kadar, mevsim bağımsız, döngüsel bir şekilde seksüel aktivite gösterebilirler. Farelerin östrus siklusu 4 fazdan oluşur ve 4-5 gün kadar sürmektedir (<http://en.wikipedia.org/wiki/Estrus#Estrus>). Östrus siklusu 2 ovaryan faza da ayrılabilir, bu fazlardan birincisi ovaryan foliküllerin geliştiği foliküler faz, ikincisi ise korpus luteumun oluştuğu, fonksiyon gördüğü luteal fazdır. Luteal faz metöstrus ve diöstrusu içerir (<http://en.wikipedia.org/wiki/Estrus#Estrus>).

Proöstrus

Ovaryumda büyük foliküller oluşur ve vajina kırmızı-pembe renkli, nemli durumdadır. Seksüel olarak reseptivite söz konusu değildir (Sezer, 2005) (Şekil 2.2.).

Östrus

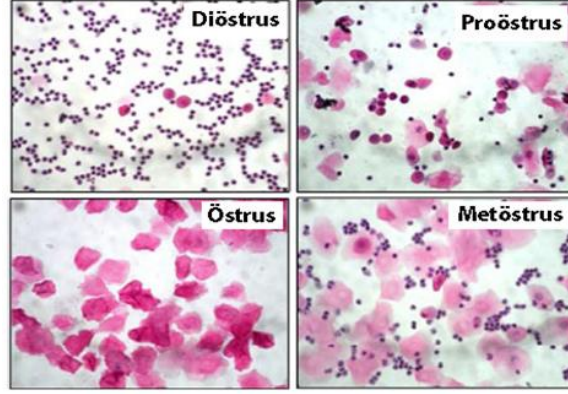
Kızgınlık evresi olarak adlandırılan östrus evresinde dişi seksüel olarak reseptif durumdadır. Bu evrede foliküller gonadotropik hormonların etkisiyle olgunlaşır ve östrojen etkisini en üst seviyede gösterir. Ovulasyon gerçekleşir. Proöstrus evresine oranla vajina daha açık renklidir (Sezer, 2005). Dolaşımdaki yüksek miktardaki östrojen etkisinde uterusu sıvı birikimi gözlenir ve vasküler geçirgenlik artar bu nedenle uterus şişkin bir görünüm alır (Şekil 2.2.).

Metöstrus

Östrojen salınımının azaldığı, korpus luteumun oluştuğu evredir. Uterus epiteli dejenere olur ve uterus dokusundaki şişlik ile hiperemi azalır. Vajinal ödem azalmıştır ve kuru, solgun bir görünümde (Sezer, 2005) (Şekil 2.2.).

Diöstrus

Oluşan korpus luteumun progesteron üretmesiyle karakterize bir evredir. Gebelik oluşmazsa korpus luteum geriler ve bu evre sona erer. Endometriyum tabakasında dökülme gerçekleşmez, gelecek siklus için yeniden şekillenir. Ovaryum foliküllerinin gelişmeye başladığı evredir. Uterustaki şişkinlik ortadan kalkmıştır. Vajina da benzer görünüm sergileyip kapalı durumdadır (Sezer, 2005). Farelerde çiftleşme monogami ve poligami olmak üzere iki şekilde yapılabilir. Monogami, bir erkek ve bir dişi farenin birleştirilmesidir. Poligami ise bir erkeğin 2-4 dişi fare ile birleştirilmesidir. Farelerde çoğu zaman çiftleşme, östrus ve ovulasyon gece meydana gelmektedir. Çiftleşme olduktan sonra dişi farenin vajinal salgıları ve erkek farenin spermiyle yardımcı bezlerinin salgılarının pıhtılaşması sonucu balmumu şeklinde bir tıpa görünür. Bu tıpa vajinal plak (çiftleşme tıpası) olarak adlandırılır ve çiftleşmeden yaklaşık 24 ile 36 saat sonra atılımı gerçekleşir (Sezer, 2005).

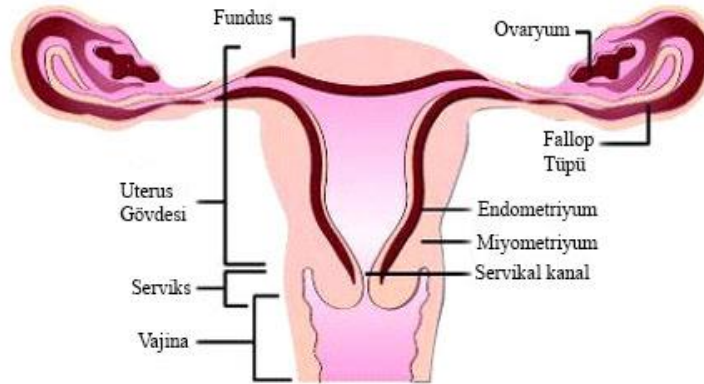


Şekil 2.2. Dişi farelerde vajinal simirin hematoksilen&eoizin boyanması ile östrus fazlarının gösterilmesi (Zenclussen ve ark., 2014).

2.5. İnsanda Uterus Histolojisi

Uterus, armut şeklinde bir organ olup, bir gövde (korpus), uterus kavitesinin daraldığı bir iç ağız (internal os) ve iç ağızdan aşağı uzanan silindirik yapıda serviksten oluşmaktadır. Gövdesinin kubbe şeklinde biçim aldığı kısmı fundus olarak isimlendirilir. Uterus duvarı üç tabakadan oluşur (Şekil 2.3).

- Perimetriyum:** Organı en dıştan saran kısımdır. Uterusun farklı bölümlerine göre bu tabaka seroza (bağ dokusu ve mezotelyum) veya adventisya (bağ dokusu) dokusudur.
- Miyometriyum:** Kalın düz kas tabakasıdır.
- Endometriyum:** En iç tabakadır (uterus mukozası) (Junqueira ve ark., 1993).



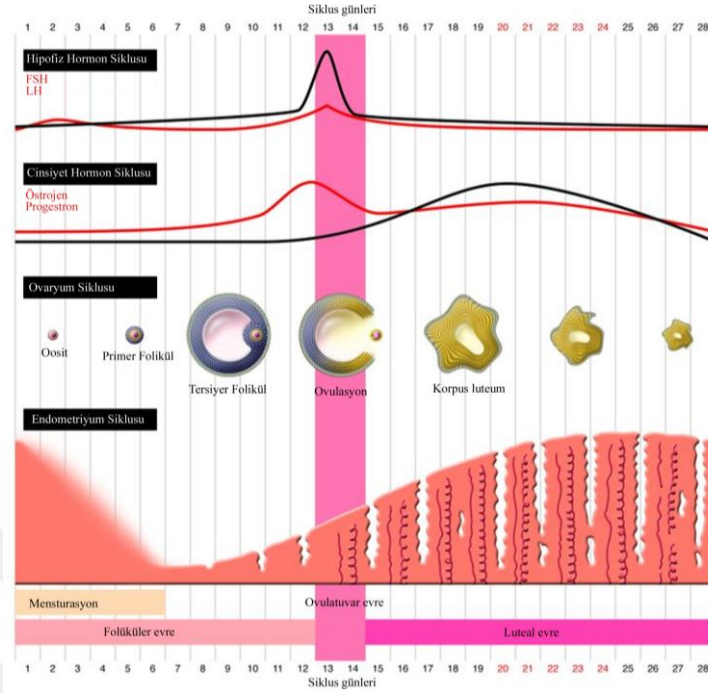
Şekil 2.3. Uterus ve kısımlarının gösterim (Andrew Murphy).

Bağ dokusuyla ayrılmış düz kas tabakasından oluşan miyometriyum, uterusun en kalın tabakasıdır. Miyometriyum dışta longitudinal içte sirküler düzenlenim gösterir. Longitudinal ve sirküler kas tabakasının arasında vasküler yapıda olan gevşek bağ dokusu stratum vaskulozum olarak adlandırılır. Endometriyum basit tübüler yapıda bezler içeren lamina propriyadan oluşmaktadır ve epiteli tek katlı silyalı silindirik epitel karakterindedir. Endometriyumun miyometriyuma yakın kısımlarında bulunan bezler dallanmalar gösterebilir ve endometriyumun bağ dokusu fibroblastlardan zengin olup bol miktarda temel madde içermektedir. Bağ dokusunu oluşturan lifler çoğunlukla tip III kollajenden oluşmaktadır. Endometriyumda bazal ve fonksiyonel tabaka olmak üzere iki kısım vardır. Bazal tabaka lamina propriya ve uterus bezlerinin başlangıç kısmını içerirken, fonksiyonel tabaka lamina propriya, bezlerin geri kalanı ve yüzey epitelini içermektedir. Miyometriyumdaki arkuat arterlerden endometriyumu besleyen iki grup damar çıkmaktadır. Birincisi bazal tabakayı besleyen düz arterler, ikincisi fonksiyonel tabakaya kan taşıyan kıvrımlı/spiral arterlerdir. Aylık döngüde bazal tabaka değişmeden kalırken fonksiyonel tabaka her ay yenilenmektedir (Junqueira ve ark., 1993).

2.6. İnsanda Uterusun Siklusa Bağlı Fizyolojik Değişimleri

Puberteye girişle birlikte hipotalamus gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) aracılığıyla ön hipofiz bezini uyararak gonadotropinlerin (FSH, LH) salınımını başlatır. Salgılanan gonadotropinler 1. mayoz bölünmenin duraklama aşamasında (diploten) olan primer/preantral folikülleri uyarır ve endometriyumun da senkronize olduğu bir döngü başlatır (Junqueira ve ark., 1993; Cha ve ark., 2012; Mara H. Rendi, 2012).

Puberteden itibaren menapoza kadar 28 günde bir devam eden döngü menstrual siklus olarak adlandırılır ve ortalama 4-5 gün sürer. Sonrasında ise çoğalma evresi (proliferasyon) ile salgılanma/sekretuar (luteal) evre gelmektedir (Junqueira ve ark., 1993; Mara H. Rendi, 2012) (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. . Gonadotropinler ile ovaryan hormonlar aracılığı ve ovaryum - uterus senkronizasyonu (Lim ve Wang, 2010)

Primer foliküllerin, folikül uyarıcı hormonun (FSH) etkisiyle uyarılması sonucu folikül gelişimine devam ederek östrojen salgılar ve plazmada östrojen miktarı giderek artar. Östrojenin artması sonucu endometriyum proliferatif faza girmiş olur ve bu faz luteinize edici hormonun (LH) artışıyla gerçekleşen ovulasyona kadar devam eder. Proliferasyon fazı yaklaşık 14 gün sürmektedir. Ovulasyon gerçekleştikten sonra geriye kalan folikül, korpus luteuma dönüşüp progesteron salgılamaya başlar. Progesteronun salgılanmasıyla birlikte endometriyum sekretuar faza geçer ve bu faz yaklaşık 14 gün sürer. (Şekil 2.4). Hormonların aracılık ettiği bu süreç endometriyumun gebeliğe hazırlanmasında önemli rol oynamaktadır (Cha ve ark., 2012; Mara H. Rendi, 2012; Maybin ve Critchley, 2015).

2.6.1. Proliferatif Faz

Menstrual sıklusta dökülen endometriyumun fonksiyonel tabakası proliferatif fazda yeniden oluşmaktadır. Bu oluşum östrojenin endometriyumdaki mitotik etkisi ile sağlanmaktadır. Endometriyal bezler, kapillerler, stroma ile endometriyum epitel hücrelerinin proliferasyonu gerçekleşmektedir. Tek katlı silindirik epitelden oluşan bezler, dar lümenli düz tübüller oluşturur ve salgılama için hazırlık yaparak endoplazmik retikulum sistemaları ile Golgi kompleksi boyutlarını artırmaktadır. Proliferatif faz

sonunda endometriyum kalınlığı 3-4 mm'ye ulaşmaktadır (Junqueira ve ark., 1993; Mara H. Rendi, 2012).

2.6.2. Sekretuvar Faz

Korpus luteumdan salgılanan progesteron ve östrojenin etkisiyle gelişen bezlerin sekresyon için uyarılması sekretuvar faz olarak isimlendirilir. Üretilen glikoprotein yapısındaki salgı ürünleri sekresyon yapacak bezlerin lümeninin genişlemesine neden olmaktadır. Bezler kıvrımlı bir hal almaya başlamaktadır. Sekretuvar fazda salgıların artması sonucu oluşan ödem nedeniyle endometriyum kalınlığı 5-6 mm'ye kadar ulaşmaktadır ve hücre bölünmesi sınırlı hale gelmektedir (Junqueira ve ark., 1993; Mara H. Rendi, 2012).

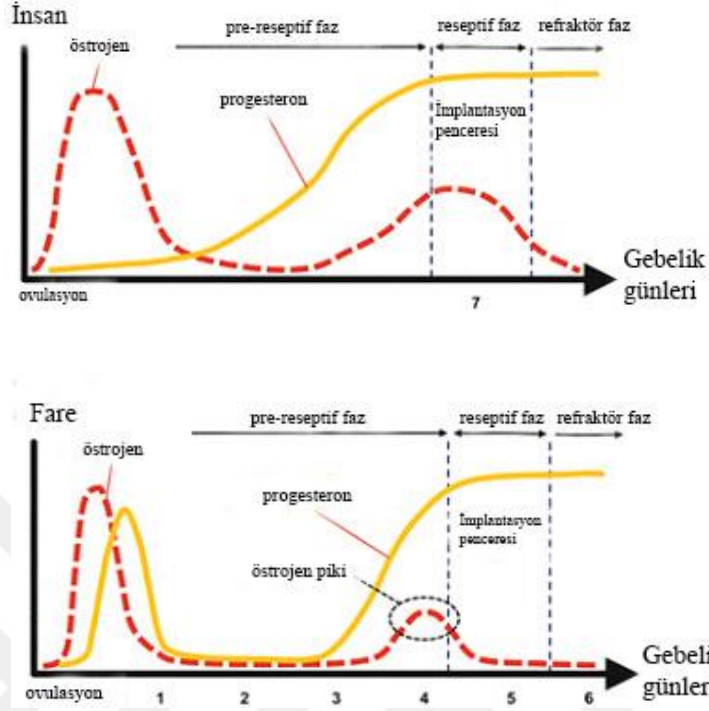
2.7. İnsan ve Farelerde Uterus Reseptivitesi

Maternal endometriyumun blastosistin implantasyonuna izin vermesi uterus reseptivitesi ya da endometriyal reseptivite adı verilmektedir. Uterus östrojen ile progesteron hormonlarının değişimine özgün bir şekilde yanıt vermektedir. Bu nedenle endometriyal reseptivite bu hormonlar ile kontrol edilmektedir (Wang ve Dey, 2006; Cha ve ark., 2012; S. Zhang ve ark., 2013; Tu ve ark., 2014).

Fareler ve insanlarda endometriyal reseptivitenin 3 fazı bulunmaktadır. Bunlar;

- a.** Pre-reseptif (nötral) faz
- b.** Reseptif faz
- c.** Non-reseptif (refraktör) faz

İnsanlarda ovulasyonu takip eden 7. güne kadar uterus pre-reseptif fazdadır. 7-10. günler arası ise reseptif fazdadır. 10. günden sonra blastosist varlığında bile yanıt oluşturmaz, non-reseptif fazda bulunmaktadır (Şekil 2.5). Farelerde ise endometriyum yalnızca 4 ve 5. günde reseptif durumdadır. 5. gün öğleden sonra ise non-reseptif duruma geçer ve blastosist varlığına yanıt vermez (Wang ve Dey, 2006; Cha ve ark., 2012; S. Zhang ve ark., 2013) (Şekil 2.5.)



Şekil 2.5. İnsan ve farede uterus reseptivitesinin evrelerini gösteren grafikler (Hirota, 27 May 2016).

2.8. İnsan ve Farede Preimplantif Dönem Embriyo Gelişimi

Preimplantif embriyo gelişimi ile aktivasyonunda görülen iki temel olay zigotun yarıklanması ve embriyonik hücrelerin blastosist aşamasında iç hücre kitlesi ile trofoektoderme farklılaşmasıdır (Yoshinaga K., 1988; Stewart ve Cullinan, 1997). Fare ile insanda preimplantif dönem embriyo gelişiminde ortak olaylardan biri embriyonun zigot evresinden blastosist evresine geldikten sonra uterusu ulaşmasıdır. Bunun yanısıra preimplantif embriyo gelişimi zamanlama olarak farklılık göstermektedir. Hem insanlar hem de fareler için döllenmenin gerçekleştiği gün gebeliğin 0,5. günü olarak kabul edildiğinde insanda erken blastosist oluşumu embriyonik 5. günde, farede ise embriyonik 3,5. günde meydana gelmektedir. Geç blastosist oluşumu ise insanda 6. günde farede 4,5. günde tamamlanmaktadır (Magnuson T, 1987; Cockburn ve Rossant, 2010). Embriyonik 4,5. günde embriyo gelişimini sağlayacak primitif ektoderm, primitif endoderm ile trofoblastları oluşturacak trofoektoderm oluşmaktadır (Gardner, 1982; Snell GD, 1996). Trofoektoderm embriyonun yaşaması için implantasyona aracılık etmektedir. Daha sonra anne ve fetüs arasında gaz ve besin değişimini sağlayan plasentanın yapısına katılmaktadır (Dickson, 1963; Rossant J, 2002).

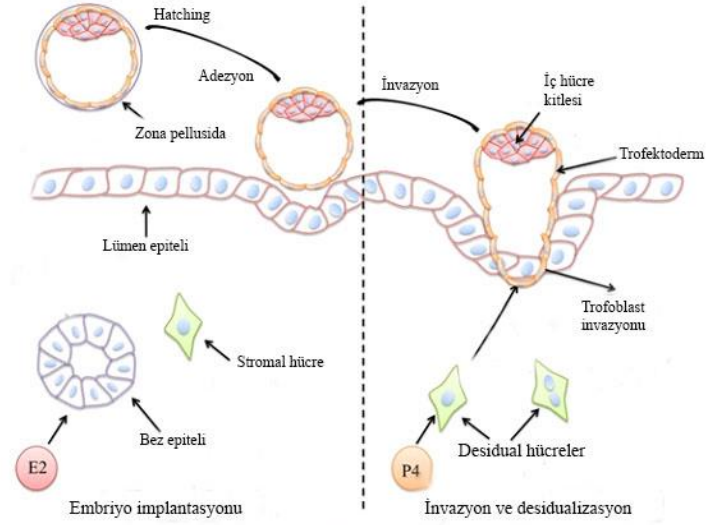
2.9. Embriyo İmplantasyonu

Embriyonun uterusu yerleşme süreci implantasyon olarak adlandırılmaktadır. Gebeliğin sağlıklı bir şekilde devam edebilmesi için sağlıklı embriyo gelişimi, implantasyon ve desidualizasyonun doğru bir şekilde gerçekleşmesi gerekmektedir (Psychoyos, 1973). İmplantasyon, blastosistin uterusu yakınlaştığı alanda kapiler geçirgenlik ile kan akışının artması, blastosistin endometriyum lümen epiteline tutunmasından sonra çevresindeki endometriyal stromanın bölgesel desidualizasyonu, embriyonik trofoblastlar tarafından gerçekleştirilen kontrollü uterus invazyonu ve semiallojenik embriyonun annenin immünolojik yanıtlarından kaçması şeklinde özetlenebilmektedir (Psychoyos, 1973; Beer, 1978). Bu olaylar, progesteron ve östrojen aracılı ve hücre tipine özgüdür. Bu hormon aracılı sürecin moleküler mekanizmaları henüz net olarak aydınlatılamamıştır. İnsanlarda embriyo-uterus etkileşimini moleküler düzeyde incelemek etik kısıtlamalar nedeniyle zordur. Bu nedenle konu ile ilgili elde edilen bilgiler çoğunlukla fare ve sıçanlarda yapılan çalışmalarla sağlanmaktadır (S. Zhang ve ark., 2013).

2.9.1. İmplantasyon Evreleri

Enders ve Schlafke implantasyonu 3 evreye ayırmışlardır. Bu evreler;

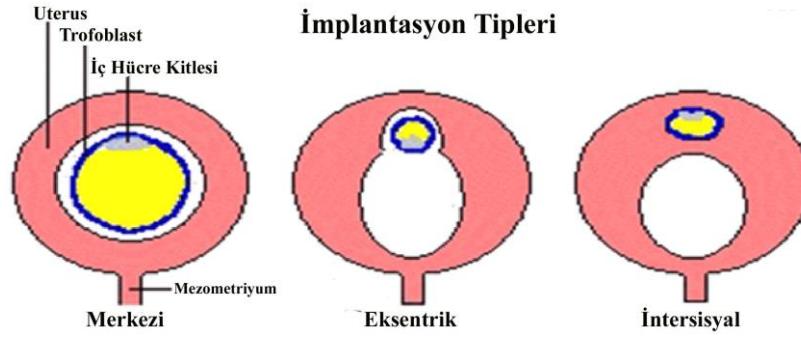
- a. **Apozisyon (yakınlaşma):** Embriyonik trofoektoderm hücreleri lümen epiteline yakınlaşır.
- b. **Adezyon (tutunma):** Trofoektoderm ve lümen epiteli arasındaki ilişki yıkamayla uzaklaştırılmayacak kadar ilerler.
- c. **Penetrasyon (içine girme):** Trofoektoderm lümen epiteli içerisine invaze durumdadır (Enders ve Schlafke, 1969; Fitzgerald ve ark., 2008). (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. Embriyo implantasyonu, invazyonu ve desidualizasyonunu gösteren çizim (Qi ve ark., 2014).

2.9.2. İmplantasyon Tipleri

İmplantasyon süreci memelilerde bir çok ortak özellik içermesine rağmen yakından incelendiğinde türden türe oldukça farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir. Bonnet blastosist ile uterus etkileşimini temel alarak implantasyonu 3 tipe ayırmıştır (R., 1884) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Memeliler için implantasyon tiplerini gösteren çizim (Bowen, 2000).

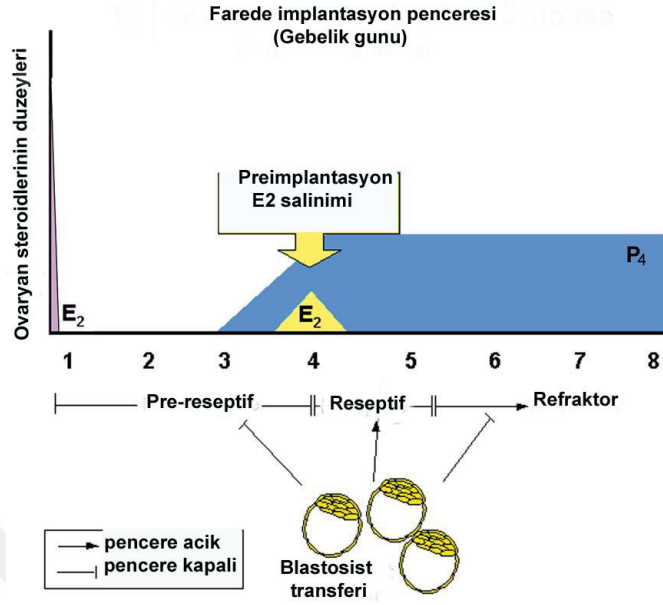
- Merkezi implantasyon:** bazı keselilerde, tavşan ve dağ gelinciği gibi türlerde bu implantasyon tipine rastlanmaktadır. Merkezi implantasyonda blastosist yoğun bir biçimde genişler. Maternal uterus ile ilk dokunma süreci bu şekilde gerçekleşmektedir.
- Ekzentrik implantasyon:** Sıçan, fare ve hamster gibi kemirgen türlerinde gözlenen implantasyon tipidir. Bu tip implantasyonda blastosist çok az yüzeyel genişleme göstermektedir. Uterus lümeni invaginasyonla cep oluşturur ve bu

şekilde blastosistle endometriyum arasındaki temas sağlanmaktadır. İmplantasyon da bu temas sonrası gerçekleşmektedir.

- c. İntersitisyal implantasyon:** İnsanda görülen implantasyon tipidir. Blastosist lümen epitelinden geçerek hemen altındaki stroma ile etkileşmektedir. Bu implantasyon tipi kobay, şempanze gibi türlerde de görülmektedir (R., 1884).

2.9.3. Peri-İmplantasyon Sürecinde Endometriyumdaki Hücresel Olaylar

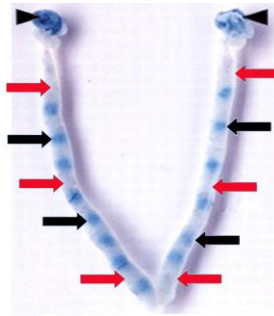
Kemirgenlerde apozisyondan önce stromada ödem oluşmaktadır. Oluşan bu ödem, uterusun lümeninin daralmasına sebep olmaktadır. Lümenin daralması ise trofektodermin mikrovillusları ve parmaksı çıkıntılar oluşturan lümen epitelinin birbirlerine yaklaşmasına sebep olmaktadır. Embriyo epitele tutunduktan sonra blastosistin olduğu kısımda stromal vasküler geçirgenlik bölgesel şekilde artış gösterir. Gebelik sürecinde lümen daralması blastosist varlığından bağımsız bir şekilde tüm uterusu gerçekleşmektedir. Stromal ödem ve uterus lümeninin daralması ile kapanması progesteron olmadığında gerçekleşmemektedir (S. Zhang ve ark., 2013; Croy, 2014). Bu süreçten sonra gerçekleşen adezyon ve bölgesel stromal vasküler geçirgenlikteki artış östrojen bağımlı bir süreçtir (Harper, 1989; S. Zhang ve ark., 2013). Farelerde lümen epitelinin kan damarlarınca zengin bölgesi olan mezometriyumun zıt kutbunda bulunan anti-mezometriyal alanda implantasyon gerçekleşir (S. Zhang ve ark., 2013; Croy, 2014). İmplantasyon sürecinde blastosistin hangi mekanizmalarla anti-mezometriyal alana yönlendirildiği tam olarak açıklanamamıştır. Farelerde lümenin kapanmasıyla birlikte blastosist uterus eksenine boyunca lümenin anti-mezometriyal kutbuna yerleşmektedir ve tutunmayla beraber blastosistin iç hücre kitlesindeki hücreler mezometriyal alana bakacak şekilde pozisyon almaktadır (Wang ve Dey, 2006; S. Zhang ve ark., 2013). Farede ilk tutunma reaksiyonu belirtisi gebeliğin 4. günü gece saatlerinde (20.00-24.00) görülmektedir (Psychoyos, 1973). İnsan ve farede lümen epitel hücreleri tutunma reaksiyonundan sonra apoptoza uğramaktadır. Blastosistin etrafını çevreleyen stroma hücrelerinde desidualizasyon meydana gelmektedir. Sonuç olarak embriyo anti-mezometriyal stromaya gömülmektedir (S. Zhang ve ark., 2013) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Farelerde gebelik günlerine göre uterus reseptivitesi (Acar, 2012).

2.10. Reseptif Uterusta Vasküler Geçirgenlik

Blastosistin uterusu yaklaştığı yerde (apozisyon) endometriyal vasküler geçirgenliğin artması implantasyon için en erken gözlenebilen belirtidir. Bu vasküler yanıt gözlenebilir hale getirmek için Chicago mavisi gibi makromoleküler boyalar hayvanı sakrifiye etmeden 5-10 dakika önce intravenöz enjekte edilmelidir. Enjeksiyondan sonra implantasyon bölgeleri mavi bantlar şeklinde görülmektedir (Pakrasi ve ark., 1985; Dey ve Johnson, 1986; Kennedy, 1986; Shelesnyak, 1986; Harper, 1989) (Şekil 2.9). Fareler ve sıçanlarda vasküler geçirgenlik için progesteron tarafından hazırlanmış endometriyuma östrojen gerekmektedir.



Şekil 2.9. Dişi farede Chicago mavisi enjeksiyonu sonrası uterusu görülen implantasyon bölgeleri. Siyah oklar implantasyon bölgelerini, kırmızı oklar inter implantasyon bölgelerini, ok başları ovaryumları göstermektedir (H. Song ve ark., 2002).

2.11. Desidualizasyon

İlk olarak blastosistin implante olduğu anti-mezometriyal alanda desidual hücre reaksiyonu gerçekleşir. Bu reaksiyonda stromal hücreler glikojen ve lipit açısından zenginleşir, polinükleer bir görünüm alırlar. Desidual hücreler, korpus luteumun gelişimini desteklemek için desidual prolaktin, implantasyon alanında lenfosit, makrofaj ve nötrofillerin toplanması için prostaglandin, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) gibi çok sayıda faktör salgırlar (Junqueira ve ark., 1993; Cha ve ark., 2012; Mara H. Rendi, 2012).

Blastosistin çevresindeki stromal hücreler gebeliğin 5. gününde primer desidual bölgeyi (PDB) oluştururlar. PDB avaskülerdir. Desidual hücrelerle paketlenmiş şekildedir. Sekonder desidual bölge (SDB), altıncı günde PDB etrafında oluşur. Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) sentezi, PDB'de düşükken SDB'de yüksektir. Sekizinci güne kadar, PDB dejenere olur. SDB, sekizinci günde desidua kapsülaris tabakasına dönüşür. Desidua bazalisi ise mezometriyal desidual hücreler oluşturmaktadır. Desiduanın, embriyoyu annenin immünolojik yanıtlarından korumak, uterus stromasına trofoblast invazyonunu düzenlemek ile gelişen embriyoya besin sağlamak gibi fonksiyonları vardır (RH., 1937; Huet-Hudson YM, 1989).

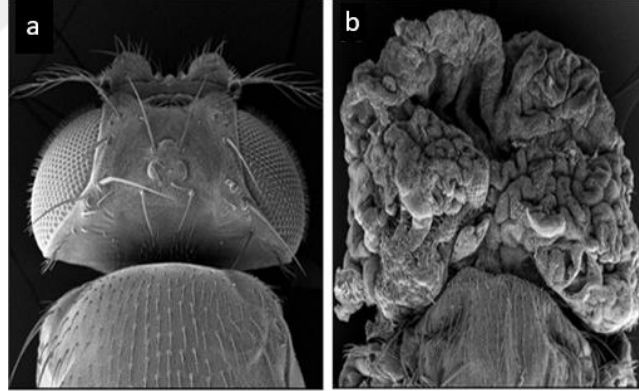
2.12. Hippo Sinyal Yolağı

Hippo sinyal yolağı organ boyutu ve hücre sayısını kontrol eden bir sinyal yolağıdır. Hücre büyümesi ve çoğalmasını kısıtlayarak apoptozu tetikler. Bu da organ gelişimi, doku yenilenmesi ve kök hücre korunmasında önemli rol oynamaktadır. Hippo sinyal yolağındaki bozulmaların çok çeşitli insan kanserleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Zhao, Lei, ve ark., 2008; Pan, 2010; Harvey ve ark., 2013; Johnson ve Halder, 2014). Hippo sinyal yolağı hücre-hücre teması, hücre dışı matriksin yoğunluğu, stres sinyalleri ve hücre polaritesi gibi bir çok iç ve dış sinyal ile aktive olabilmektedir (Pan, 2010; Yu ve ark., 2015; Meng ve ark., 2016; Pflieger, 2017; Fulford ve ark., 2018).

2.12.1. *Drosophila melanogaster*'de Hippo Sinyal Yolağı

Hippo sinyal yolağı ilk olarak *Drosophila melanogaster*'de organ büyüklüğünü düzenleyen bir sinyal yolağı olarak keşfedilmiştir (Bao, Hata, ve ark., 2011). Hippo ismi mutantlarının hipopotama benzeyen aşırı büyümüş kafa fenotipi nedeniyle verilmiştir

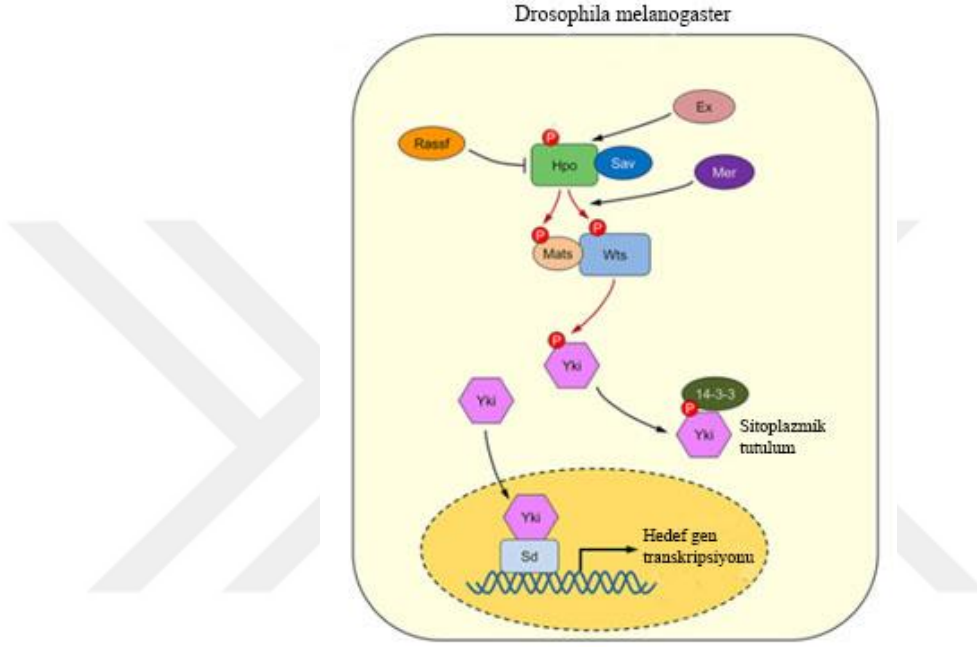
(Cherrett ve ark., 2012) (Şekil 2.10). Yapılan ilk çalışmalarda *Drosophila melanogaster*'de Hippo sinyal yolağının dört bileşeni tespit edilmiştir. Bunlar, NDR ailesi protein kinaz Warts (Wts) (Nüklear DBF2 ilişkili kinaz) (Justice ve ark., 1995; Xu ve ark., 1995), WW alanı içeren protein Salvador (Sav) (Kango-Singh ve ark., 2002; Tapon ve ark., 2002), Ste20 benzeri protein kinaz Hippo (Hpo) (Harvey ve ark., 2003; Jia ve ark., 2003; Pantalacci ve ark., 2003; Udan ve ark., 2003; S. Wu ve ark., 2003) ve adaptör protein Mob tümör baskılayıcı (Mats)'dır (Lai ve ark., 2005). Hippo sinyal yolağının dört temel bileşenine ek olarak yedi tane daha tümör baskılayıcı keşfedilmiştir. Bunlar; FERM alanı içeren protein Merlin (Mer) ve Expanded (Ex), protokaderin Fat (Ft) ve Dachshous (Ds), CK1(Kazein kinaz 1) ailesi kinaz Disc overgrown (Dco), WW ve C2 alanı içeren protein Kibra ve apical transmembrane protein Crumbs (Crb) (Pan, 2010). Merlin ve Expanded Hpo'nun yukarı akış düzenleyicileri olarak tanımlanmıştır (Hamaratoglu ve ark., 2006). Mer ve Ex'in aşırı ekspresyonunun Wts fosforillenmesini teşvik ettiği gösterilmiştir (Pan, 2010).



Şekil 2.10. a) Vahşi tip *Drosophila melanogaster*, b) Hippo genlerinden *Wts* mutant *Drosophila melanogaster* (Snigdha ve ark., 2019).

Büyüme düzenleyen bu kinaz kaskadının asıl hedefi transkripsiyonel koaktivatör olan Yorkie (Yki)'dir (J. Huang ve ark., 2005). Yki bir onkogen olarak çalışmaktadır ve Hpo, Sav ya da Wts'nin aşağı akışında bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda Wts'nin, yolağın düzenlenmesinde Yki'yi direk fosforillediği ve inaktif ettiği gösterilmiştir (J. Huang ve ark., 2005). Yorkie (Yki) transkripsiyonel bir düzenleyicidir ve DNA bağlanma bölgesi bulundurmamaktadır (Atkins, 2019). Daha sonra araştırmacılar Yki'nin DNA bağlanma partneri olan Scalloped (Sd)'i keşfetmişlerdir (Goulev ve ark., 2008; S. Wu ve ark.,

2008; L. Zhang ve ark., 2008). Yki'nin Wts aracılı fosforilasyonu sonucu, Yki, 14-3-3 proteinleri (Basu ve ark., 2003) ile sitoplazmada tutulmaktadır. Bunun sonucunda Yki nükleusa lokalize olamamaktadır ve hedef gen ekspresyonunu gerçekleştirememektedir (Dong ve ark., 2007; H. Oh ve Irvine, 2008; Ren ve ark., 2010) (Şekil 2.11).

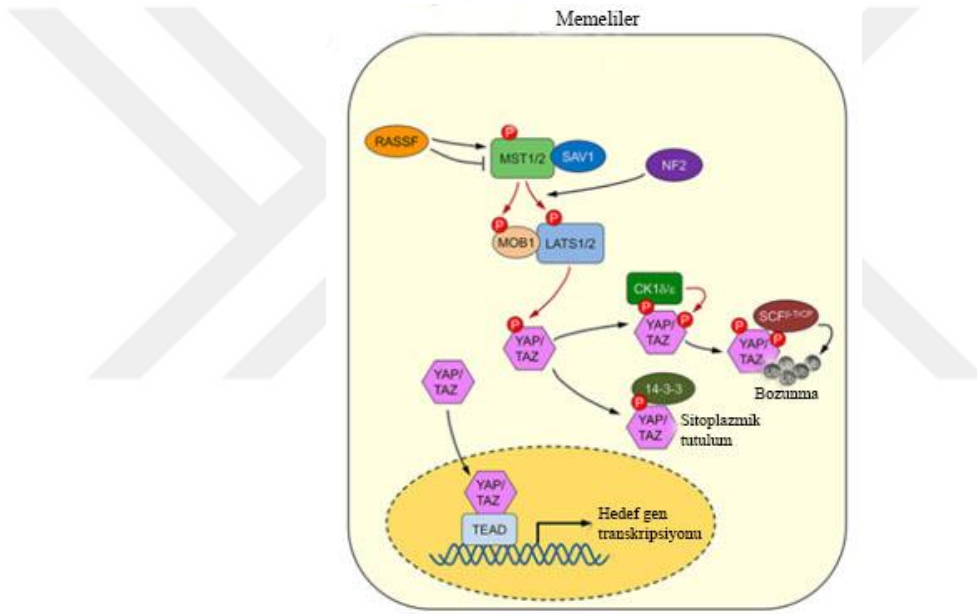


Şekil 2.11. *Drosophila melanogaster*'de Hippo sinyal yolağı bileşenleri (Bae ve Luo, 2018).

2.12.2. Memelilerde Hippo Sinyal Yolağı

Hippo sinyal yolağı ve fonksiyonu memelilerde de korunmuş durumdadır (Dong ve ark., 2007; Zhao ve ark., 2007). Hippo sinyal yolağı hem *Drosophila* hem de memelilerde hücre proliferasyonu, ölümü ve farklılaşmasını regüle ederek hücre sayısını düzenler. Hippo yolağının hücre ölümü ve farklılaşmasını tetiklediği ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Yu ve Guan, 2013). Omurgalılardaki yolağın temel bileşenleri arasında MST (mammalian Ste (sterile) 20-like /memeli Ste (steril) 20-benzeri) 1/2 kinazları (*Drosophila* homologu Hpo) bulunmaktadır. Her biri kendini otofosforile eder ve ardından Sav1'i (*Drosophila* homologu Sav) fosforile ederek aktif bir kompleks oluşturur. MST1/2, daha sonra LATS (Büyük tümör baskılayıcı) 1/2 kinazları (*Drosophila* homologu Wts) ve koaktivatörleri MOB1'i (Mps one binder/Mps 1 bağlayıcı) (*Drosophila* homologu Mats) fosforile etmektedir. LATS1 veya LATS2 daha sonra Hippo yolağının alt hedefleri olan YAP (Yes-ilişkili protein) ve TAZ'ı

(PDZ'ye bağlanan motifli transkripsiyonel koaktivatör) fosforile ederek, YAP/TAZ'ı sitoplazma içinde bağlamaktadır ve protein degradasyonu sağlamak için 14-3-3 proteinlerini aktifleştirmektedir. YAP1'in S127 ve TAZ'ın S89 rezidülerinden fosforile olması 14-3-3 bağlanma bölgelerini oluşturmaktadır (Cherrett ve ark., 2012; Kodaka ve Hata, 2015). Üst kinazları inaktif olduğunda YAP/TAZ defosforile olmaktadır ve gen ekspresyonu sağlamak için nükleusa transloke olmaktadır (Kanai ve ark., 2000; Dong ve ark., 2007; Zhao ve ark., 2007; Lei ve ark., 2008; H. Oh ve Irvine, 2008; Ren ve ark., 2010) (Şekil 2.12.).



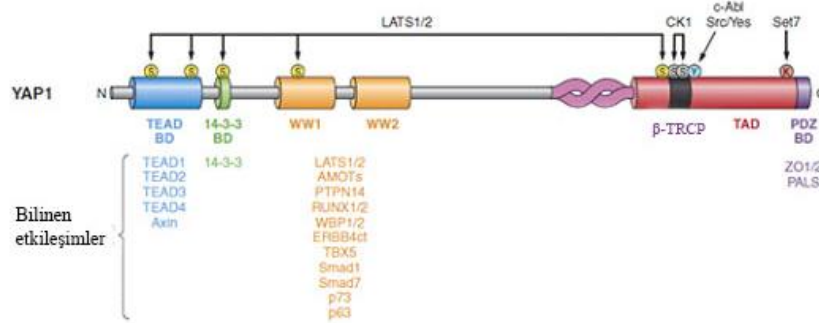
Şekil 2.12. Memelilerde Hippo sinyal yolağı bileşenleri (Bae ve Luo, 2018).

YAP/TAZ başlangıçta onkogen olarak sınıflandırılmıştır fakat YAP ayrıca tümör baskılayıcı rol de oynayabilmektedir. YAP, RUNX'ler ve p73 dahil olmak üzere DNA bağlayıcı tümör baskılayıcılara bağlanabilmektedir. Bu nedenle YAP, DNA bağlayıcı partnerlerine bağlı olarak onkogen veya tümör baskılayıcı olarak görev yapabilmektedir (M. K. Kim ve ark., 2018).

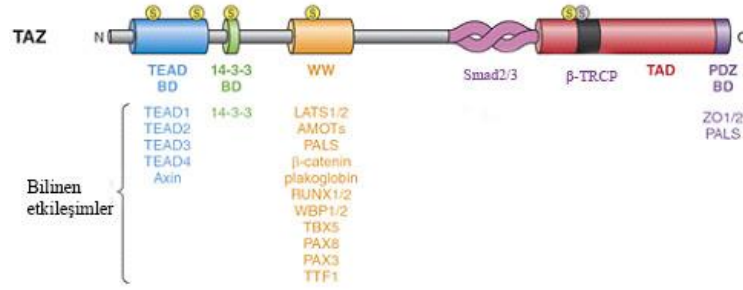
2.12.3. Hippo Sinyal Yolağı ve DNA Bağlanma Partnerleri

Hippo sinyal yolağının bileşenlerinden olan transkripsiyonel koaktivatör olan YAP ve TAZ, tek başına DNA'ya bağlanma aktivitesine sahip değildir. Hedef gen ekspresyonunu sağlayabilmek için bir transkripsiyon faktörüyle etkileşime girmeleri

gerekmektedir. YAP/TAZ hücre proliferasyon genlerini aktive edebilmek için başlıca TEA alanı (TEA Domain/TEAD) ailesi üyeleriyle etkileşime girmektedir. YAP-TEAD kompleksi hücre proliferasyonunda rol oynamaktadır (H. Zhang ve ark., 2011). TEAD transkripsiyon faktörleri, YAP/TAZ'ın en iyi karakterize edilmiş bağlayıcı partnerleridir (Vassilev ve ark., 2001) (Şekil 2.13 ve 2.14). Memelilerde aynı alan yapısına sahip dört adet TEAD geni (TEAD 1-4) bulunmaktadır (Kaneko ve DePamphilis, 1998). Bu TEAD genleri yapısal olarak benzer olmalarına rağmen kendilerine özgü işlevleri bulunmaktadır (Jacquemin ve ark., 1998; Kaneko ve DePamphilis, 1998). YAP/TEAD'ın fiziksel etkileşimine YAP'ın N-terminal bölgesi, TEAD'ın ise C-terminal bölgesi aracılık etmektedir (Vassilev ve ark., 2001). TEAD ailesi üyeleri normal hücre büyümesinde anahtar rol oynamaktadır. Bu genlerin düzensizliği tümör oluşumuyla ilişkilidir (Zhao, Lei, ve ark., 2008). TEAD ekspresyonu meme kanseri (Hiemer ve ark., 2014; Rashidian ve ark., 2015), akciğer kanseri (You ve ark., 2015), ovaryum kanseri (H. Cai ve Xu, 2013) gibi bir çok kanser türünde artmaktadır. YAP/TAZ-TEAD kompleksinin hedef genleri CYR61 (Cysteine-rich angiogenic inducer 61/Sistein bakımından zengin anjiyogenik indükleyici 61) (H. Zhang ve ark., 2011), CTGF (Connective tissue growth factor/Bağ doku büyüme faktörü) (Zhao, Ye, ve ark., 2008), AREG (Amfiregülün) (Yang ve ark., 2012), vimentin (Thongon ve ark., 2016) gibi genlerdir.



Şekil 2.13. Yes ilişkili protein (YAP)'in genel yapısı (Piccolo ve ark., 2014).



Şekil 2.14. TAZ (PDZ'ye bağlanan motifli transkripsiyonel koaktivatör)'ün genel yapısı (Piccolo ve ark., 2014).

p73, p53 gibi hücre döngüsünün durmasını ve apoptozu tetiklemektedir. Bu nedenle tümör baskılayıcı olarak sınıflandırılmaktadır (Zawacka-Pankau ve ark., 2010). YAP, p73'ün transkripsiyonel koaktivatörü olarak görev yapmaktadır (Strano ve ark., 2001) ve BAX, p53AIP1'i indükleyerek p73 kaynaklı apoptozu teşvik etmektedir (Basu ve ark., 2003; Strano ve ark., 2005). YAP/p73 etkileşimi, YAP'ın WW alanı ve p73'ün PPPY motifi ile gerçekleşmektedir (Strano ve ark., 2001). Bu etkileşim YAP'ın p73 aracılı proapoptotik aktivitesi için gereklidir (Oka ve ark., 2008).

YAP, β-katenin ve TBX5 (T-box transkripsiyon faktör 5) ile beraber bir kompleks oluşturmaktadır ve BCL2L1 (Bcl-2-like 1/Bcl-2 benzeri 1) ve BIRC5 (Baculoviral inhibitor of apoptosis repeat-containing 5) gibi hedef genlerin ekspresyonunu teşvik etmektedir. Bu etkileşim β-katenin-aktif kanser hücre hatlarının hayatta kalması ve formasyonu için gereklidir (Rosenbluh ve ark., 2012). TAZ ise doğrudan TBX5, p300 ve PCAF (P300/CBP-associated factor/ P300/CBP-ilişkili faktör) ile etkileşime girerek TBX5 bağımlı transkripsiyon komplekslerinde merkezi bir görev görür (Murakami ve ark., 2005).

RUNX (Runt-related transcription factor 1/RUNT-ilişkili transkripsiyon faktör) ailesi üyeleri gelişim için ana düzenleyiciler olarak görev yapan DNA-bağlayıcı transkripsiyon faktörleridir. Üç RUNX ailesi üyesinden (RUNX1, RUNX2 ve RUNX3) biri olan RUNX2 iskelet gelişimi ve homeostazını düzenleyen bir osteojenik ana düzenleyici olarak işlev görmektedir (Komori ve ark., 1997; Otto ve ark., 1997; Zaidi ve ark., 2004). YAP'ın WW alanı ile RUNX2'nin PPPY motifi etkileşim kurmaktadır (Yagi ve ark., 1999).

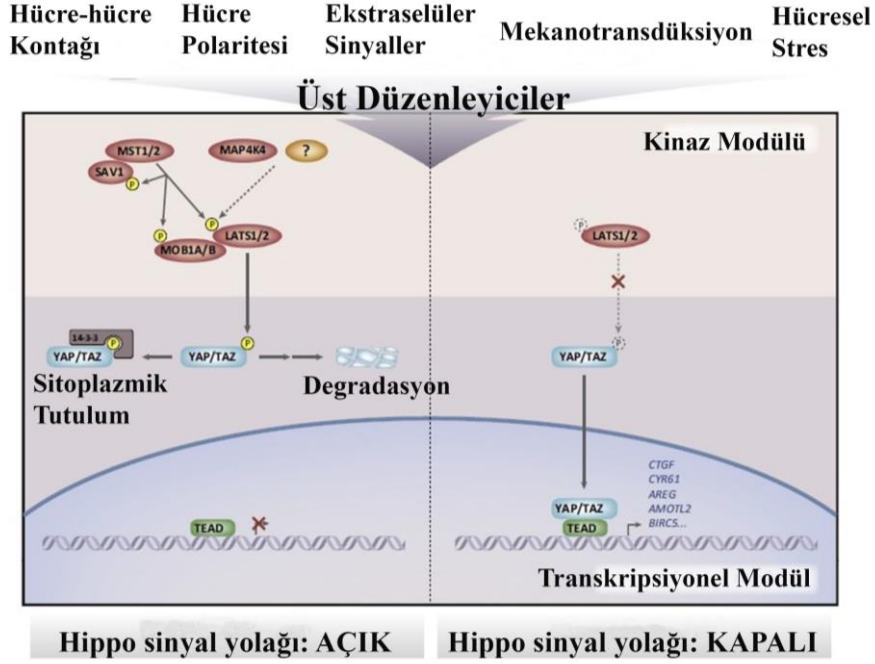
RUNX3, TEAD4 ve YAP ile üçlü bir kompleks oluşturur. TEAD4'ün C-terminal bölgesi ile RUNX3'ün Runt alanı ve YAP'ın WW alanı ile RUNX3'ün PPPY motifi etkileşime girer. Bu üçlü kompleks TEAD'ın DNA'ya bağlanabilme özelliğini önemli ölçüde azaltır (Qiao ve ark., 2016).

CTGF (Connective Tissue Growth Factor/Bağ Dokusu Büyüme Faktörü)

CTGF ilk kez 1991'de *in vitro*'daki insan vasküler endotel hücrelerinin 38 kDa'luk bir ürünü olarak tanımlanmıştır (Bradham ve ark., 1991). CTGF'nin ateroskleroz (Oemar ve Luscher, 1997; Hishikawa ve ark., 1999), scleroderma (Igarashi ve ark., 1995; Igarashi ve ark., 1996), dezmoplazi (K. S. Frazier ve Grotendorst, 1997; Wenger ve ark., 1999), pulmoner fibroz (Allen ve ark., 1999) ve renal fibroz (Ito ve ark., 1998) gibi birçok patolojik durumda yüksek düzeyde ekspres edildiği gösterilmiştir. CTGF'nin mekanik doku yaralanmalarına yanıt olarak da üretilmesi bu büyüme faktörünün doku tamiri ve rejenerasyonda rol aldığını düşündürmektedir. CTGF'ye yanıt veren hücreler arasında fibroblastlar (Bradham ve ark., 1991; Igarashi ve ark., 1993; Brigstock ve ark., 1997; Kireeva ve ark., 1997), vasküler düz kas hücreleri (Brigstock ve ark., 1997), endotel hücreleri (Kireeva ve ark., 1997; Shimo ve ark., 1998), kondrositler (Nakanishi ve ark., 2000) ve epitel hücreleri (Kireeva ve ark., 1997) yer almaktadır. CTGF'nin biyolojik etkileri arasında hücre proliferasyonu, ekstraselüler matris üretimi, hücre adezyonu yer alır (Bradham ve ark., 1991; Igarashi ve ark., 1993; K. Frazier ve ark., 1996; Brigstock ve ark., 1997; Kireeva ve ark., 1997; Ball ve ark., 1998; Steffen ve ark., 1998). CTGF'nin apoptozda da rol aldığı gösterilmiştir (Hishikawa ve ark., 1999).

2.12.4. Hippo Sinyal Yolağı ve Üst Düzenleyicileri

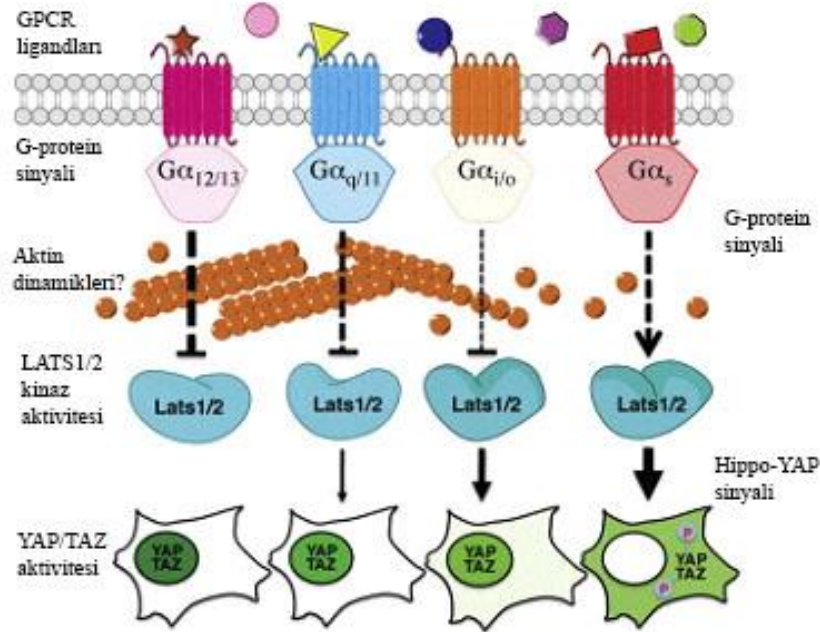
Hippo sinyal yolağı hücrel çevreden mekanik sinyaller, hücrel stres, ekstraselüler stimülasyon, polarite ve adezyon gibi çeşitli yukarı akış düzenleyicileriyle aktive olmaktadır (Şekil 2.15). Aktive olan sinyal yolağı fosforillenir ve YAP/TAZ'ın sitoplazmik tutulumu ve degradasyonu ile TEAD aracılı transkripsiyon engellenir (H. Oh ve Irvine, 2010; Pan, 2010; Varelas, 2014) (Şekil 2.12).



Şekil 2.15. Hippo sinyal yolağı ve üst düzenleyicileri (Hansen ve ark., 2015).

YAP/TAZ yoğun hücrelerin sıkı bağlantı kısımlarında sitoplazmada bulunurken, seyrek hücrelerde nükleusa transloke olur ve TEAD aracılı transkripsiyonu aktive eder (Zhao ve ark., 2007; Zhao, Ye, ve ark., 2008). Bu düzenlemeye kinaz kaskadını aktive eden homofilik hücre-hücre etkileşimi aracılık eder (Zhao ve ark., 2007; N. G. Kim ve ark., 2011). Memeli Scribble (SCRIB) gibi bazolateral bağlantı proteinleri, memeli epitel hücrelerinde MST ve LATS kinazlarının aktivasyonunu kolaylaştırır ve YAP/TAZ'ın nüklear aktivitelerini inhibe eder (Cordenonsi ve ark., 2011).

GPCR (G-protein eşlenmiş reseptör)'ler ve benzer ligandları Hippo sinyalinin düzenlenmesinde rol almaktadırlar. GPCR'ler küçük heterotrimerik G proteinlerine bağlanır ve YAP/TAZ nüklear aktivitesi, aktif reseptörlere bağlanan G proteinlerine bağlı olarak aktive veya inhibe edilir. Lisofosfatidik asit (LPA) ve sfingosin 1-fosfat (S1P) gibi ligandlar GPCR'ler üzerinden Gα12 / 13 aracılığıyla işlev görür. Hippo kinaz kaskadını inhibe ederek nüklear YAP/TAZ'ı aktive eder (Bao, Nakagawa, ve ark., 2011; Miller ve ark., 2012; Mo ve ark., 2012; Yu ve ark., 2012) (Şekil 2.16).



Şekil 2.16. GPCR (G-protein eşlenmiş reseptör)-Hippo sinyal yolağı ilişkisi (Yu ve ark., 2012).

Hippo sinyal yolağı hücrel strese çok çeşitli yanıtlar vermektedir. Sitokinez hataları ve ekstra sentromerler G protein sinyalini ve LATS2 aktivitesini değiştirir. LATS2, YAP/TAZ'ı inhibe eder ve p53 seviyesi stabilize edilir. Hücre G1 fazında durdurulur ve tümörögenezden korunur (Ganem ve ark., 2014).

DNA hasarı, tirozin kinaz ABL'yi, ATM-JNK sinyali üzerinden aktive eder. Bu aktivasyon YAP-p73 kompleksiyle proapoptotik fonksiyonların uyarılması için YAP'ı fosforile eder (Basu ve ark., 2003). Endoplazmik retikulum stresi PKR (Protein kinaz R) benzeri ER (Endoplazmik retikulum kinaz) kinaz (PERK) üzerinden hücre ölümünü önlemek için PERK-eIF2a-ATF4 ekseni boyunca YAP ekspresyonunu indüklerken, uzun süreli ER stresi YAP'ı inhibe eder ve apoptozu sağlamak için Hippo sinyalini aktive eder (H. Wu ve ark., 2015).

2.12.5. Hippo Sinyal Yolağı ve Post-translasyonel Modifikasyonlar

Hippo sinyal yolağı fosforilasyon, asetilasyon, metilasyon ve übikitinasyon gibi post-translasyonel modifikasyonlarla düzenlenmektedir. Bu post-translasyonel modifikasyonlarda meydana gelebilecek düzensizlik ve fonksiyon bozuklukları tümör oluşumu ve ilerlemesine neden olabilir (M. He ve ark., 2016).

Hippo Sinyal Yolağının Fosforilasyonu

LATS1 ve LATS2, doğrudan YAP/TAZ'ı fosforile ederler ve 14-3-3 proteinleriyle sitoplazmada tutulumu ve β -TrCP aracılı ubiquitin-proteozom sistemiyle degradasyonu sağlar. LATS'a bağlı fosforilasyonun aktivitesi bozulduğunda, transkripsiyonel koaktivatör YAP ve TAZ'ın aktivitesi inhibe olur YAP ve TAZ hedef gen ekspresyonunu sağlamak için nükleusa transloke olmaktadır. LATS1/2'nin fazla olması ya da aktivitesinin bozulması YAP/TAZ üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir (Zhao ve ark., 2007). Adaptör protein MOB1, Hippo yolağında LATS1/2'nin anahtar düzenleyicisidir. MOB1, oto-inhibe edilmiş formda bulunur ve MST1/2 aracılı fosforillenmeyle aktive olmaktadır. Fosforile MOB1, MST1/2'nin LATS1/2'yi hidrofobik bölge Thr1079/1041'da fosforile etmesine yardım eder. Ayrıca MOB1'in MST1/2 tarafından fosforillenmesi; LATS1/2'ye bağlanma afinitesini artırır, Ser909/872 üzerinde LATS1/2'nin oto-fosforilasyonuna sebep olur ve tam aktivasyon için kinaz aktivitelerini artırır (Chan ve ark., 2005; Wei ve ark., 2007; Praskova ve ark., 2008). MST1/2'nin kofaktörü olan SAV1, MST1 ve LATS1/2 arasında bir köprü görevi görür ve MST1 tarafından fosforillenen LATS1/2 aktivasyonunu artırır (Tapon ve ark., 2002; Callus ve ark., 2006).

Hippo Sinyal Yolağının Ubikitinasyonu

LATS1/2, prolin bakımından zengin peptid sekanslarını tanıyan ve protein-protein etkileşimine aracılık eden, WW alanları ile etkileşime gire PPxy motifi taşımaktadır (H. I. Chen ve Sudol, 1995). WW alanı içeren E3 ligaz, LATS1/2'nin ubikitinasyonuna ve daha sonra degradasyonuna neden olur. Böylece hücre büyümesi ve hayatta kalımı sağlanır (Ho ve ark., 2011; Salah ve ark., 2011). NEDD4, WWP1 ve Smurf gibi WW alanı içeren diğer E3 ligazları da PPxY motiflerine bağlanır ve LATS1 / 2'nin degradasyonunu destekler. NEDD4, LATS1/2'nin ubikitinasyonunu sağlayarak kararsızlaştırır. Dolayısıyla YAP'ın transkripsiyonel aktivitesi artar (Salah ve ark., 2013; Bae ve ark., 2015). LATS1/2'nin ubikitinasyonu stres yanıtında da rol oynamaktadır. Hipoksiyle aktive olan E3 ligaz SIAH2, LATS1/2'yi degrade edip inhibe edilmiş YAP aktivitesini indükleyerek tümör oluşumuna neden olur (B. Ma ve ark., 2015).

E3 ubikutin protein ligaz olan praja2 MOB1'e doğrudan bağlanır ve ubikitinasyona neden olur. MOB1'in ubikitinasyonla degradasyonu LATS1/2 miktarını azaltır böylece Hippo sinyali zayıflar ve glioblastoma gelişebilir. MOB1 seviyesi glioma ile ters ilişkilidir ve praja2 fazlalığında MOB1 stabilitesinin kontrolü yapılan *in vivo* çalışmalarla desteklenmiştir (Lignitto ve ark., 2013).

2.12.6. Hippo Sinyal Yolağı ve Diğer Faktörlerle İlişkisi

Hippo Sinyal Yolağı ve Mutasyonlar

Yaygın insan kanseri türlerinde Hippo sinyal yolağı genlerinin somatik ve germ hücre mutasyonları nadir görülmektedir (Harvey ve ark., 2013). Fakat genom projelerinin gelişmesiyle beraber mutasyonlar saptanmaya başlanmıştır. LATS2'nin mutasyonları özefagus ve küçük hücreli akciğer kanserinde saptanmıştır (Ishizaki ve ark., 2002; Strazisar ve ark., 2009). LATS1-2 mutasyonu deride bazal hücre kanserinde tespit edilmiştir (Bonilla ve ark., 2016). NF2 (Merlin olarak da adlandırılır) önemli bir tümör baskılayıcıdır ve mutasyonları tip II nörofibromatoz ile ilişkilidir (Johnson ve Halder, 2014). Mutasyonlar dışında heterozigotluk kaybı, genomik delesyonlar ve hipermetilasyonlar da Hippo sinyal yolağının DNA seviyesinde ekspresyonunu etkilemektedir. LATS1 heterozigotluk kaybı ovaryum ve meme kanserinde rapor edilmiştir (Lee ve ark., 1990; Novello ve ark., 1996; Theile ve ark., 1996).

Hippo Sinyal Yolağı ve miRNA'lar

Mikro RNA'lar (21-25 nükleotitten oluşan kodlanmamış RNA'lar), gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel ya da translasyonel seviyede (L. He ve Hannon, 2004) negatif düzenlemektedir ve bu RNA seviyesi Hippo sinyal yolağıyla ve karsinogenezle yakından ilişkilidir. Endometriyal kanserlerde miRNA 31, LATS2 mRNA'sının 3'-UTR (3'-transle edilmeyen bölge)'sine bağlanabilir ve bu bağlanma Siklin D1 transkripsiyonuna ve nükleusta YAP birikimine neden olur (Mitamura ve ark., 2014). Ovaryum kanserinde miRNA-129-5p, TEAD transkripsiyonunu inhibe edip, CTGF ve Siklin A ekspresyonunun azalmasına neden olmaktadır (G. Tan ve ark., 2015).

2.12.7. Hippo Sinyal Yolağı ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Hippo yolağının organ boyutu kontrolündeki fonksiyonu memelilerde korunmaktadır. Örneğin, YAP'ın fare karaciğeri ya da kalbinde dokuya özgü overekspresyonu karaciğer veya kalp boyutunun çarpıcı artışı ile sonuçlanmıştır (Camargo ve ark., 2007; Dong ve ark., 2007; von Gise ve ark., 2012). MCF10A hücrelerinde YAP overekspresyonu, sıklıkla kanser metastazı ile ilişkilendirilen epitelyal mezenkimal dönüşümü (EMT) tetikler (Overholtzer ve ark., 2006). YAP^{-/-} fareler embriyonik 8.5. günde vitellus kesesi defektlerinden dolayı ölürlere (Kaneko ve DePamphilis, 1998), fakat TAZ^{-/-} fareler amfizem benzeri akciğer bozuklukları ve polikistik böbrek gözlenmesine rağmen yetişkinliğe kadar yaşayabilirler (Hossain ve ark., 2007; Makita ve ark., 2008). Farelerde ovarium granuloza hücrelerinde CCN2/CTGF'nin delesyonu subfertilite ve anormal folikül gelişimine yol açmıştır (Nagashima ve ark., 2011). Hippo yolağının kök hücrelerin fonksiyonlarını regüle ettiği gösterilmiştir. YAP, fare embriyonik kök hücrelerinde pluripotensinin sürdürülmesi için gereklidir (Lian ve ark., 2010; Qin ve ark., 2012). Transgenik ya da knockout farelerde artan YAP/TAZ aktivitesi dokuya özgü kök hücrelerde artışa ve hücre farklılaşmasının engellenmesine yol açar (Camargo ve ark., 2007; Zhou ve ark., 2009). Hippo yolağı doku rejenerasyonunda da rol oynar. Fare bağırsaklarında dekstran sülfat sodyum (DSS)-indüklü yaralanmaları takiben YAP protein seviyeleri çarpıcı bir biçimde artmıştır ve hasarlı bağırsak epiteli rejenerasyona gitmiştir, fakat YAP'ın inaktivasyonu rejenerasyonun şiddetli bir biçimde bozulmasına neden olmuştur (J. Cai ve ark., 2010). YAP erken embriyonik gelişimde de önemli roller oynar. Normal bir blastosistte YAP trofoektodermde nükleer lokalizasyon ve iç hücre kitlesinde sitoplazmik lokalizasyon gösterir ve YAP'ın bu farklı dağılımı pre-implantif fare embriyolarında soy özelleşmesi için önemlidir (Yu ve Guan, 2013). Yapılan bir çalışmada artan YAP, azalan fosforile YAP miktarlarıyla birlikte Hippo sinyali yolağının endometriyozda kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir (Y. Song ve ark., 2016). İnsan endometriyal stroma hücrelerinin desidualizasyonunda YAP'ın rol alıp almadığı araştırılmış ve insan endometriyal stroma hücrelerine kıyasla desidua hücrelerinde YAP ekspresyonunun arttığı ve YAP'ın desidualizasyonda rolü olduğu sonucuna varılmıştır (H. Chen ve ark., 2017).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu tez çalışması Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından 16.02.2018 tarihli B.30.2.AKD.0.05.07.00/ sayılı etik kurul onayı alındıktan sonra gerçekleştirildi.

Bu araştırmada Akdeniz Üniversitesi 'Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edilen daha önce hiç deneye girmemiş, çiftleşmemiş Balb/C ırkı 60 adet dişi ve 30 adet erkek fare kullanıldı. 6-8 haftalık Balb/C ırkı dişi fareler su ve besin kısıtlaması olmaksızın 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsünde tutuldu.

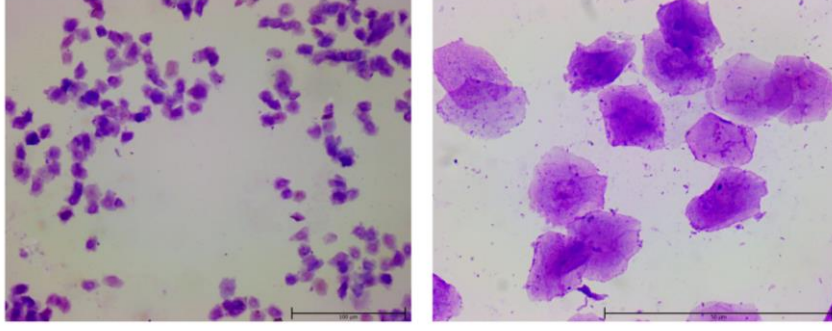
3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

İki ya da üç dişi fare bir Balb/C ırkı erkek fare ile aynı kafeste bırakılarak çiftleşmeleri sağlandı ve ertesi gün vajinal plak kontrolü yapıldı. Vajinal plağın görüldüğü dişiler gebeliğin 1. gününde kabul edilerek deney grupları aşağıdaki gibi oluşturuldu:

1. **Grup (Östrus):** Gebe olmayan östrus fazındaki dişi fareler (**n=10**)
2. **Grup (G1):** Gebeliğin 1. günü sakrifiye edilen dişi fareler (**n=10**)
3. **Grup (G4):** Gebeliğin 4. günü sakrifiye edilen dişi fareler (**n=10**)
4. **Grup (G5):** Gebeliğin 5. günü sakrifiye edilen dişi fareler (**n=10**)
 - a) İmplantasyon bölgeleri (**G5**)
 - b) İnter-implantasyon bölgeleri (**G5-inter**)
5. **Grup (G6):** Gebeliğin 6. günü sakrifiye edilen dişi fareler (**n=10**)
6. **Grup (G8):** Gebeliğin 8. günü sakrifiye edilen dişi fareler (**n=10**)

1. grupta bulunan gebe olmayan östrus fazındaki dişi farelere ait uteruslar ile 2, 3, 4, 5 ve 6. gruplarda belirtilen gebelik tarihlerinde sakrifiye edilen gebe farelere ait implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri toplandı.

Kontrol grubunu oluşturan östrus fazındaki gebe olmayan dişi farelerin östrus fazında olduklarından emin olmak için vajinal simir yapıldı. Bunun için dişi farenin vajinası Pastör pipeti yardımıyla fosfat tamponlu tuz solüsyonu (PBS) ile yıkandıktan sonra elde edilen yayma Krezil viyole ile boyandı. Yassı yapıda olan, büyük, çekirdeksiz epitel hücrelerinin baskın olduğu fareler deneye dahil edildi (Şekil 3.1.).

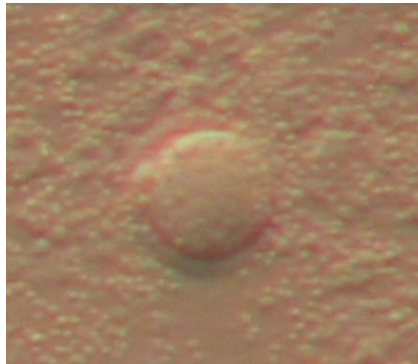


Şekil 3.1. Krezil viyole boyaması ile vajinal simirde gözlenen östrus fazındaki dişi fareye ait yassı epitel hücreleri.



Şekil 3.2. Östrus fazında bulunan dişi farenin uterus görüntüsü.

Gebeliğin 1. günündeki dişi farelerin (G1) gebe olduklarından emin olmak için ovidaktları parçalanarak bir hücreli embriyoların olup olmadığı gözlemlendi. Bir hücreli embriyo (zigot) görülen dişiler deneye dahil edildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Gebeliğin 1. gününde elde edilen bir hücreli embriyo (zigot) görüntüsü.

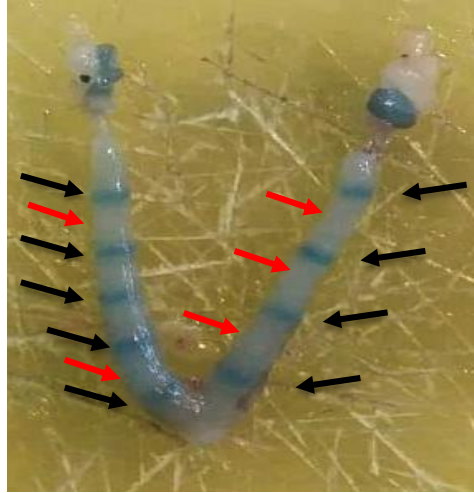
Gebeliğin 4. günündeki dişi farelerin (G4) gebe olup olmadığını belirlemek için uterus boynuzlarından biri PBS ile yıkanarak, yıkama sonrası elde edilen tubal sıvı mikroskop

altında incelendi ve blastosist olup olmadığı incelendi. Blastosist görülen farelerin yıkanmayan diğer uterus boynuzu alındı (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Gebeliğin 4. gününde uterus boynuzlarından birinin yıkanması sonucu elde edilen blastosist görüntüsü.

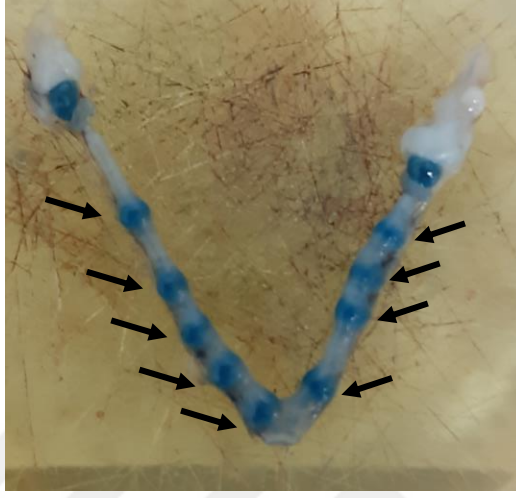
Gebeliğin 5. günündeki dişi farelerin (G5) gebe olup olmadığını belirlemek için dişilere kuyruk veninden Chicago mavisi enjeksiyonu yapıldı, fareler 3-4 dakika sonra sakrifiye edildi. İmplantasyon bölgeleri mavi bantlar şeklinde gözlenen farelerin gebe olduğu doğrulanarak mavi bant görülen dişiler deneye dahil edildi. Mavi bant şeklinde görülen implantasyon bölgeleri ve implantasyon bölgelerinin arasında kalan inter implantasyon bölgeleri alındı (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. Gebeliğin 5. gününde Chicago mavisi enjeksiyonu sonucu elde edilen uterus görüntüsü (Siyah oklar implantasyon bölgelerini, kırmızı oklar inter implantasyon bölgelerini işaret etmektedir).

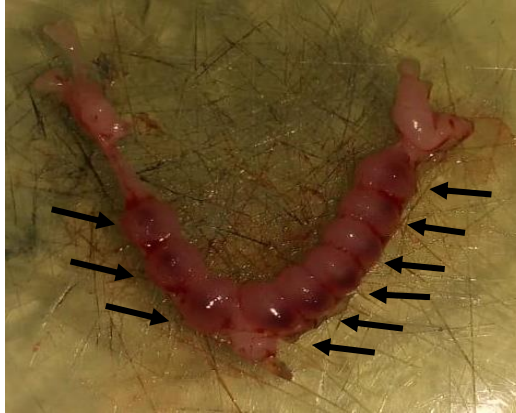
Gebeliğin 6. günündeki dişi farelerin (G6) gebe olup olmadığını belirlemek için dişilere kuyruk veninden Chicago mavisi enjeksiyonu yapıldı, fareler 3-4 dakika sonra sakrifiye edildi. İmplantasyon bölgeleri mavi bantlar şeklinde gözlenen farelerin gebe olduğu

doğrulanarak mavi bant görülen dişiler deneye dahil edildi. Mavi bant şeklinde görülen implantasyon bölgeleri alındı (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Gebeliğin 6. gününde Chicago –mavisi enjeksiyonu sonucu elde edilen uterus görüntüsü (Siyah oklar implantasyon bölgelerini göstermektedir).

Gebeliğin 8. günündeki farelerin (G8) implantasyon bölgeleri çıplak gözle görülmekteydi (Şekil 3.7). İmplantasyon bölgeleri alındı.



Şekil 3.7. Gebeliğin 8. gününde elde edilen uterus görüntüsü (Siyah oklar implantasyon bölgelerini göstermektedir).

Gruplardan elde edilen dokuların bir kısmı sıvı nitrojende Western blot için saklanırken, bir kısmı da parafin gömme için doku takibine alındı.

3.2. Doku Takibi ve Parafine Gömme

Bütün deney gruplarından elde edilen uteruslar ve implantasyon bölgeleri doku takibi yapılmak üzere %10'luk formalin çözeltisi içerisine alındı. Bu çözeltide yaklaşık 24 saat bekletilerek dokunun fiksasyon işlemi sağlandı. Fiksatifin uzaklaştırılması için 3-4 saat boyunca çeşme suyu ile yıkandıktan sonra birer gün boyunca sırasıyla %70, %80, %90 alkol serilerinde bekletildi. Ertesi gün son olarak 3 saat %100 lük alkolde bekletildikten sonra ksilol serilerinde ortalama 1-3 dakika tutularak şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Şeffaflaştırılan dokular 56°C'lik etüvde bulunan parafin serilerinde birer saat tutulduktan sonra kasetler içerisinde parafine gömülerek bloklar hazırlandı. Bloklar mikrotoma yerleştirilerek 5 mikrometre kalınlığında kesitler alındı, su banyosunda düzleşmeleri sağlandıktan sonra süperfrost lamalar üzerine aktarıldı. Kesitler gece boyunca oda ısısında kurutuldu. İmmünohistokimya gerçekleştirilmeden önce kesitler 56°C'lik etüvde gece boyu bekletildi.

3.3. İmmünohistokimyasal Gözlemler

3.3.1. Kullanılan Solüsyonlar/Kimyasallar

1X PBS (Phosphate Buffer Saline-Fosfat Tamponlu Tuz Solüsyonu)

2 litre distile su içinde

2,85 gr Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)(#567547; Merck)

16 gr Sodyum klorür (NaCl)(#1.06400.1000; Merck)

0,8 gr Potasyum hidrojen fosfat (KH_2PO_4)(# M1048771000; Merck)

çözülerek pH=7,2-7,4'e ayarlandı.

Sitrik Asit Tamponu

900 ml distile su içerisinde 2,1 gr sitrik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (#1.0044.1000; Merck) çözüldü ve 2M NaOH ile pH=6,0 olacak şekilde ayarlandı.

Bloklama Solüsyonu

Ultra V Block (#TA-125-UB; Thermo Scientific/LabVision)

%3'lük H₂O₂ Solüsyonu

63 ml metanol (CH₃OH) (#1.06009.2500; Merck) ve 7 ml %30'luk H₂O₂ (#18312; Sigma Aldrich) karıştırılıp hazırlandı.

Primer Antikor

pYAP, ab76252

YAP, ab205270

TEAD1, ab133533

CTGF, ab6992

İzotip Kontrol

Tavşan serumu (#S-5000; Vector)

Sekonder Antikor

Biyotin işaretli anti-tavşan IgG (keçide üretilmiş) (#BA-1000; Vector Laboratories)

Streptavidin Peroksidaz Kompleksi

Streptavidin Peroxidase (# TS-125-HR; Thermo Scientific /Lab Vision)

Kromojen

3,3'-Diaminobenzidine (#D4168; Sigma Aldrich)

Mayer Hematoksilen

#1.09249.0500; Merck

Entellan

#1.07961.0100; Merck

pYAP, YAP, TEAD1 ve CTGF protein lokalizasyonlarının değerlendirilmesinde immünohistokimya tekniği kullanıldı. Kullanılan primer antikorlar ve sekonder antikorlar kullanıldıkları dilüsyonlarla beraber Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler, superfrost lam üzerine alınarak bir gece 56 °C’lik etüvde bekletildi. Deparafinizasyon işlemi için iki kez 10’ar dakika ksilollerden geçirilip her birinde 5 dakika olacak şekilde %100, %90, %80, %70’lik alkol serilerinde bekletildi. Son olarak 5 dakika boyunca distile suda bekletildi ve daha sonra antijenik maskelenmenin giderilmesi amacıyla sitrat tamponu çözeltisinde (pH:6.0) 750 watt’ta iki kez 5 dakika, bir kez 3 dakika olacak şekilde kaynatıldı. ve 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakıldı. Soğuyan kesitler PBS (Phosphate Buffer Salin, pH: 7.2-7.4)’te yıkandıktan sonra, dokudaki endojen peroksidaz aktivitesini baskılayabilmek için %3’lük hidrojen peroksit solüsyonuyla kesitler 15 dakika muamele edildi. Daha sonra kesitler PBS solüsyonunda 3 kez 5’er dakika yıkandı ve hidrofobik kalemle dokuların etrafı çizildi. Oda sıcaklığında ve nemli ortamda özgül olmayan immunoglobulin (Ig) bağlanmalarını önlemek amacıyla, bloklama serumuyla 7 dakika inkübe edildi. Bloklama işleminden sonra primer antikorlar Tablo1’de belirtilen dilüsyonlarda kesitler üzerine damlatıldı. İzotip kontrol kesitlerine primer antikor yerine IgG konsantrasyonu primer antikor ile aynı olacak şekilde hazırlanan tavşan serumu uygulandı. Tüm kesitler +4 derecede gece boyu inkübe edildi.

Ertesi gün PBS solüsyonunda 3 kez 5’er dakika yıkandıktan sonra kesitler üzerine sekonder antikor damlatılarak 40 dakika oda ısısında (25 derece) bekletildi. Sekonder antikor ile inkübasyondan sonra PBS solüsyonunda 3 kez 5’er dakika yıkanan kesitler streptavidin peroksidaz solüsyonuyla 20 dakika oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası DAB kromojeni uygulanarak reaksiyon görünür hale getirildi. Kesitlere Mayer hematoksilenle zıt boyama yapıldı ve rehidratasyon için kesitler sırasıyla %70, %80, %90 alkole batırılıp çıkartıldı. %100 alkolde 3 dakika bekletildi ve iki kez 10’ar dakika ksilollerden geçirildi. Kesitler entellan ile kapatıldı. Sonrasında pYAP, YAP, TEAD1 ve CTGF boyanmaları ışık mikroskobunda değerlendirilerek fotoğraflandı.

Tablo 3.1: İmmünohistokimya için kullanılan primer ve sekonder antikorlar ile dilüsyonları.

| Primer Antikor/ Kullanılan Dilüsyon | Firma Adı/ Katalog Numarası | Sekonder Antikor/ Kullanılan Dilüsyon | Firma Adı/ Katalog Numarası |
|--|--|---|--|
| pYAP / 1:100 | Abcam/ab76252 | Biyotinlenmiş Keçi Anti-Tavşan IgG / 1:500 | Vector Lab.-BA 1000 |
| YAP / 1:1000 | Abcam/ab205270 | Biyotinlenmiş Keçi Anti-Tavşan IgG / 1:500 | Vector Lab.-BA 1000 |
| TEAD1 / 1:100 | Abcam/ab133533 | Biyotinlenmiş Keçi Anti-Tavşan IgG / 1:500 | Vector Lab.-BA 1000 |
| CTGF / 1:1000 | Abcam/ab6992 | Biyotinlenmiş Keçi Anti-Tavşan IgG / 1:500 | Vector Lab.-BA 1000 |

3.4. Histolojik Skorum (H-Score) Analizi

Her bir kesit için ışık mikroskobu altında 200X büyütmede uterus endometriyumuna ait lümen epiteli, bez epiteli ve stroma hücrelerindeki sitoplazmik veya nükleer boyanmalar değerlendirildi. Boyanma yoğunluklarına göre; 0 (boyanma yok), 1 (zayıf, fakat tespit edilebilir boyanma), 2 (orta şiddetli boyanma) ya da 3 (yoğun boyanma) değerleri verilerek aşağıdaki formülde hesaplamalar gerçekleştirildi (Hirsch ve ark., 2003; H. Ishibashi ve ark., 2003; John ve ark., 2009).

(3 x Yoğun boyanan hücre yüzdesi + 2 x Orta şiddette boyanan hücre yüzdesi + 1 x Zayıf şiddette boyanan hücre yüzdesi + 0 x Boyanmayan hücre yüzdesi)

Skorum sonucunda ekspresyon yoğunluğunu ifade eden değer aralığı 0 ile 300 arasında olacak şekilde hesaplandı (Hirsch ve ark., 2003; H. Ishibashi, T. Suzuki, 2003; John ve ark., 2009). Elde edilen değerler gruplar arasında karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.5. Western Blot

3.5.1. Doku Homojenatlarının Elde Edilmesi İçin Kullanılan Solüsyonlar

100X Na- Ortovanadat

0,184 gr Na-ortovanadat 10 ml Tris (pH: 10) içinde çözülür.

Liziz Tamponu

10 ml 0,1 M Tris (pH: 7,4) (#161-0719, Bio-Rad)

40 ml distile suda 0,6 gr Tris çözülür ve HCl yardımıyla pH:7,4'e ayarlanır ve son hacim 50 ml'ye tamamlanır.

90 ml dH₂O

1 ml 100X Na-ortovanadat

1 gr SDS

Proteaz İnhibitör Kokteyli

1 adet (#11697498001;cOmplete) proteaz inhibitör kokteyl (PİK) tableti 2 ml steril suda çözülerek 25X'lik PİK hazırlanır ve steril suyla 1X'e dilüye edilip kullanılır.

3.5.2. Deney Grubu Dokularından Lizat Elde Edilmesi

Sıvı nitrojende tutulan dokular cam levha üzerine alındı ve dokular bistüriyle mekanik olarak iyice parçalandı ve darası alınan ependorflara konuldu. Daha sonra dokuların içerisinde olan ependorflara, 0.2 gr doku için 600 µl liziz tamponu ve 10 µl proteaz inhibitör kokteyli (PİK) solüsyonları eklendi. Bir saat boyunca +4°C'de inkübe edildi ve her 15 dakikada bir vortekslendi. Daha sonra sonikatör yardımı ile homojenize edildi. Tüm örnekler +4°C'de 15000 g'de 10 dakika soğuk santrifüj edildi ve süpernatant kısımları yeni ependorflara alındı. Homojenatlar içerdikleri protein konsantrasyonunu belirlemek üzere -80°C'ye kaldırıldı.

3.5.3. Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Kullanılan Solüsyonlar, Kimyasallar ve Cihazlar

1. Bovine Serum Albumin (BSA) (#A-420-100, GoldBio)
2. Bicinchoninic Acid (BCA) Kit
3. Bicinchoninic asit solüsyonu (#B9643, Sigma Aldrich)
4. Bakır (II) sülfat solüsyonu (#C2284, Sigma Aldrich)

5. İnkübatör: Nüve EN 500

6. Spektrofotometre: µQuant BioTek Spectrophotometer

Protein konsantrasyonu ölçümünde standart protein olarak BSA kullanıldı. 1 mg/ml BSA (S0) hazırlandı, hazırlanan BSA steril suyla dilüye edilip S1 (500 µg/ml protein), S2 (250 µg/ml), S3 (125 µg/ml), S4 (62,5 µg/ml), S5 (31,3 µg/ml), S6 (15,6 µg/ml), S7 (7,8 µg/ml) standart proteinleri elde edildi. Lizatlar, 1:50 oranında liziz tamponu (600 µl) ve PİK (10 µl) karışımı ile dilüye edilerek vorteksledi. Liziz tamponu-PİK karışımı blank (kör) olarak kullanıldı. BCA kit içeriğindeki Bicinchoninic asit solüsyonundan 1 ml ve bakır (II) sülfat solüsyonundan 20 µl karıştırılarak çalışma solüsyonu hazırlandı. Ependorflara 25 µl olacak şekilde standart, blank ve örnekler eklendi. Üzerlerine 400 µl olacak şekilde çalışma solüsyonu eklendi. 96 kuyucuklu plate kuyucuklarına çalışma solüsyonundan 200 µl eklendi ve üzeri ışığı geçirmemesi için alüminyum folyo ile kapatıldı. 60°C'lik inkübatörde 15 dakika inkübasyondan sonra spektrofotometrede 562 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Standartlar ile karşılaştırılarak her bir örneğin protein konsantrasyonu tespit edildi. Örnekler protein konsantrasyonları eşit olacak şekilde lemli tamponu (#S-3401, Sigma Aldrich) ve steril su kullanılarak hazırlandı. Örnekler 5 dakika kaynatıldıktan sonra kullanıma hazır hale getirildi.

3.5.4. SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi)

Protokolü

Kullanılan Solüsyonlar

%30 Akrilamid-Bisakrilamid

40 ml distile su içerisinde 15,4 gr 37,5:1 oranındaki akrilamid-bisakrilamid (#161-01-25, Biorad) çözüldü.

4X Tris-HCl/SDS pH: 6,8

20 ml distile su içerisinde 3,025 gr Tris (#1.08387.2500, Merck) çözüldü. HCl ile pH 6,8'e ayarlandı. Distile su ile toplam hacim 50 ml'ye tamamlandı. Üzerine 0,2 gr SDS (#161-0301, Biorad) eklendi.

4X Tris-HCl/SDS pH: 8,8

40 ml distile su içerisinde 18,15 gr Tris (#1.08387.2500, Merck) çözüldü. HCl ile pH 8,8'e ayarlandı. Son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve 0,4 gr SDS eklendi.

%10'luk Amonyum Persülfat (APS)

1 ml distile su içerisinde 0,1 gr APS (#7727-54; Amresco) çözüldü.

N, N, N',N'-Tetramethylethylenediamidine (TEMED)

#T-7024; Sigma Aldrich

5X Elektroforez Solüsyonu

9 gr Tris (#161-0719, Bio-Rad)

43.2 gr Glisin (#161-0718, Bio-Rad)

3 gr SDS (#L4390, Sigma Aldrich)

600 ml distile su

Distile su ile 1X olacak şekilde dilüye edilerek kullanıldı.

Transfer Solüsyonu

14.3 gr Glisin (#161-0718, Bio-Rad)

3 gr Tris (#161-0719, Bio-Rad)

700 ml distile su içerisinde çözüldü.

Bu solüsyona 200 ml metanol (#1.06.008.2500, Merck) eklendi ve toplam hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

Bloklama Solüsyonu

100 ml TBS-T içerisinde 5 gr BSA (#A-420-100, GoldBio) veya 100 ml TBS-T içerisinde 5 gr süt tozu (#170-6404, Bio-Rad) çözüldü.

10X TBS Tamponu

60.55 gr Tris (#161-0719, Bio-Rad)

87.66 gr NaCl (#368257, Carlo Erba)

800 ml distile suda çözölüp HCl pH'sı ile 7.4'e ayarlandı. Toplam hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

TBS-T Solüsyonu

1 litre 1X TBS içerisine 1000 µl Tween-20 (#TA-125-TW, Lab Vision) eklendi.

Developer (#1757855, Ilford)

Fixer (#1984565, Ilford)

pYap, YAP, TEAD1 ve CTGF antikorları için ayırıcı poliakrilamid jel hazırlamada kullanılan solüsyonlar;

%30 Akrilamid-bisakrilamid

4X Tris-HCl/SDS pH: 8,8

dH₂O

%10 Amonyum persülfat

TEMED

Toplayıcı poliakrilamid jel için kullanılan solüsyonlar;

%30 Akrilamid-bisakrilamid

4X Tris-HCl/SDS pH: 6,8

dH₂O

%10Amonyum persülfat

TEMED

Proteinlerin kilodalton (kDa) ağırlığı dikkate alınarak uygun yüzdelerde jeller hazırlandı. Her kuyucuğa 10 mikrolitre numune yüklendi ve jel elektroforezi gerçekleştirildi. Elektroforez sonrasında blotlama yapıldı ve jeldeki proteinlerin membrana geçmesi sağlandı. Proteinlerin PVDF membrana transferinden sonra, membran 1 saat süreyle oda sıcaklığında pH'sı 7.2-7.4 olan, % 0.1 Tween-20 ilaveli Tris Buffer Solüsyonu ile hazırlanan % 5'lik yağsız süt tozu ya da %5'lik BSA ile bloklandı. Membran pYAP, YAP, TEAD1, CTGF ve Beta Aktin antikorları ile uygun sıcaklık ve sürede karıştırıcı üzerinde inkübe edildi. Primer ve sekonder antikorların dilüsyonları liste halinde Tablo 3.2.'de gösterilmiştir. İnkübasyon sonrasında membran 3 kere 10 dakika TBS-T ile yıkandı ve sekonder antikorla oda ısısında karıştırıcı üzerinde 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında tekrar 3 kere 10 dakika TBS-T solüsyonu ile yıkandı. Membran kemiluminisan ile uygun sürede geliştirilip membrandaki protein bantları karanlık odada hiperfilme aktarıldı.

Tablo 3.2: Western Blot için kullanılan primer ve sekonder antikorlar ile dilüsyonları.

| PrimerAntikor/ Dilüsyon | Firma Adı/ Katalog Numarası | Sekonder Antikor/ Dilüsyon | Firma Adı/ Katalog Numarası |
|---|--|---|--|
| pYAP/ 1:1000 | Abcam/ab76252 | Peroksidaz İşaretli Keçi Anti-Tavşan IgG / 1:3000 | Vector Lab.-PI-1000 |
| YAP/ 1:1000 | Abcam/ab205270 | Peroksidaz İşaretli Keçi Anti-Tavşan IgG / 1:50000 | Vector Lab.-PI-1000 |
| TEAD1/ 1:1000 | Abcam/ab133533 | Peroksidaz İşaretli Keçi Anti-Tavşan IgG / 1:10000 | Vector Lab.-PI-1000 |
| CTGF/ 1:1000 | Abcam/ab6992 | Peroksidaz İşaretli Keçi Anti-Tavşan IgG / 1:3000 | Vector Lab.-PI-1000 |
| Beta Aktin/ 1:1000 ve 1:5000 | Cell Signaling/13E5 | Peroksidaz İşaretli Keçi Anti-Tavşan IgG / 1:3000 | Vector Lab.-PI-1000 |

3.5.5. Western Blot Bantlarının Kantitatif Değerlendirilmesi

pYAP, YAP, TEAD1 ve CTGF için elde edilen Western blot bantları tarayıcıda tarandıktan sonra Image J Programı (National Institutes of Health) ile değerlendirilmiştir. Her bir protein (pYAP, YAP, TEAD1 ve CTGF) için elde edilen matematiksel değerler beta aktin için elde edilen değerlere bölünüp gruplar arası karşılaştırma yapılmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

3.6. İstatistiksel Analizler

Sonuçların istatistiksel analizi one way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ve post-hoc analizler kullanılarak yapılmıştır. Değerler ortalama \pm standart hata (SEM) olarak belirtilmiştir ve $p < 0.05$ altında bulunan değerler anlamlı olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler GraphPad Prism versiyon 5 ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İmmünohistokimya Bulguları

Östrus fazı ve peri-implantasyon dönemi endometriyum ve implantasyon bölgelerinde pYAP, YAP, TEAD1 ve CTGF proteinlerinin varlık ve lokalizasyonları immünohistokimya yöntemiyle belirlendi ve H-Score analiziyle değerlendirildi.

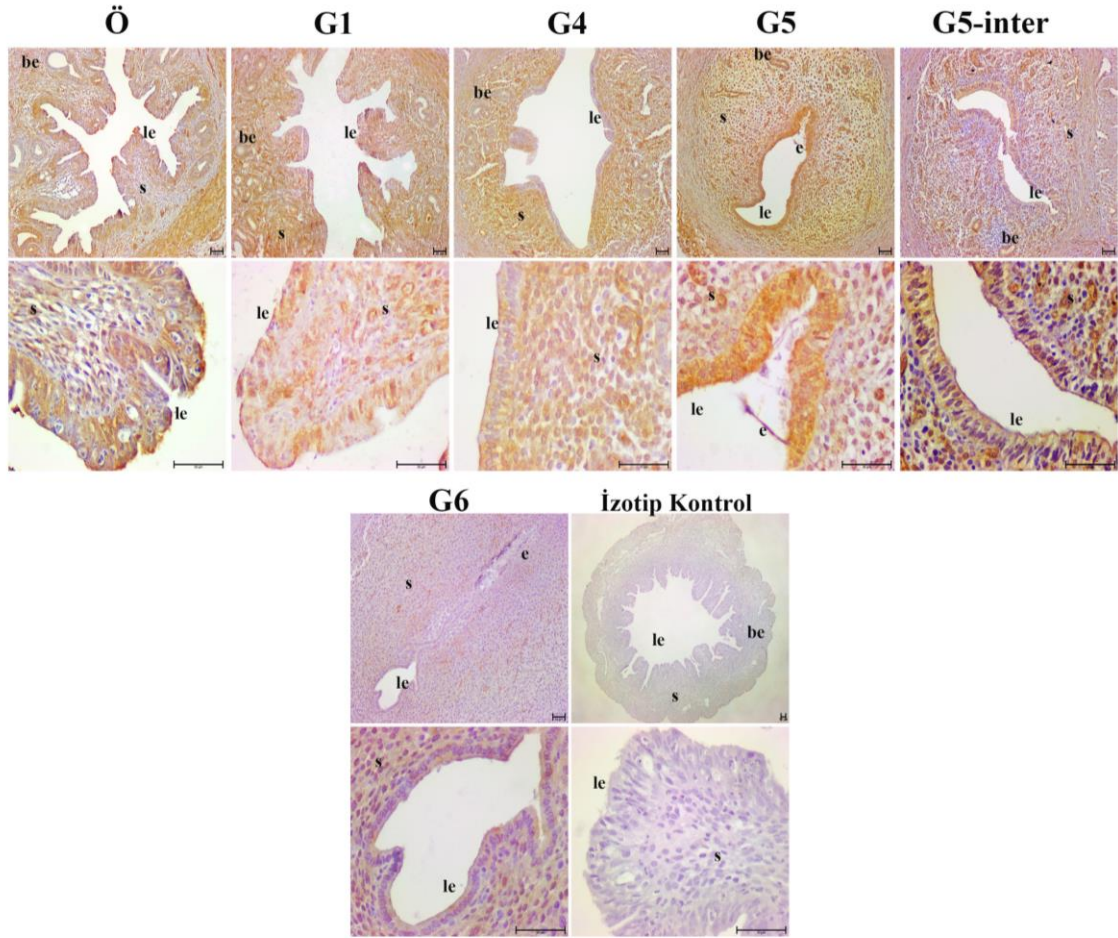
4.1.1. pYAP için İmmünohistokimya Bulguları

Östrus fazı uterusu ile gebeliğin 1. ve 4. günlerine ait uteruslarla, gebeliğin 5., 6. ve 8. günlerine ait implantasyon bölgeleri ve 5. güne ait inter-implantasyon bölgelerinde yapılan pYAP immünohistokimyası değerlendirildi. pYAP'ın yoğunluğunun gruplar arasında farklılık gösterdiği ve sitoplazmik olarak lokalize olduğu gözlemlendi.

Tüm gruplarda endometriyumun lümen epiteli, bez epiteli ve stroma alanlarındaki pYAP ekspresyonu H-Score analiziyle değerlendirildi. İstatistiksel olarak karşılaştırma yapıldı.

Lümen Epitelinde pYAP için İmmünohistokimya Bulguları

pYAP; östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. günlerine ait uteruslarla, gebeliğin 5. ve 6. günlerine ait implantasyon bölgeleri ve 5. gün inter-implantasyon bölgelerine ait lümen epitelinde sitoplazmik lokalizasyon göstermiştir. Lümen epitelinde pYAP ekspresyonunun, östrus grubu, gebeliğin 1. ve 4. günlerinde benzer şekilde yoğun olmayan bir ekspresyon gösterdiği, ekspresyonun gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerinde tüm gruplara kıyasla çarpıcı bir şekilde artarak çok yoğun olduğu gözlemlenmiştir. pYAP gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde, gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla nispeten azalan bir ekspresyon sergilemiştir. Gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonu gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla azalmıştır ve tüm deney grupları içinde en düşük seviyededir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1 ve 4. günü uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki pYAP ekspresyonu (le: lümen epitel, be: bez epitel, s: stroma, e: embriyo).

Lümen epitelindeki pYAP ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

Lümen epitelinde yapılan pYAP H-Score analizlerine göre östrus grubu uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. ve 4. gün ($p < 0,05$) uteruslarındaki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Östrus grubu uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken ($p < 0,0001$), gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Östrus grubu uterusları ile gebeliğin 5. gün inter-implantasyon

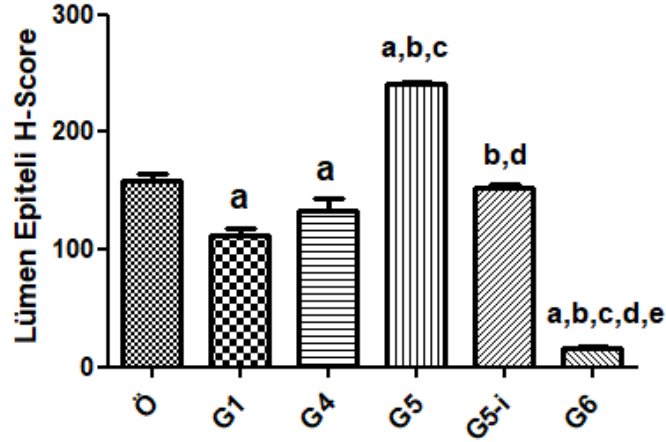
bölgelerindeki pYAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Lümen epitelinde pYAP ekspresyonunda, gebeliğin 1. gün uterusları ile gebeliğin 4. gün uterusları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$). Gebeliğin 4. gün uterusları ile gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri arasında pYAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. günü implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 5. günü inter-implantasyon ve 6. günü implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

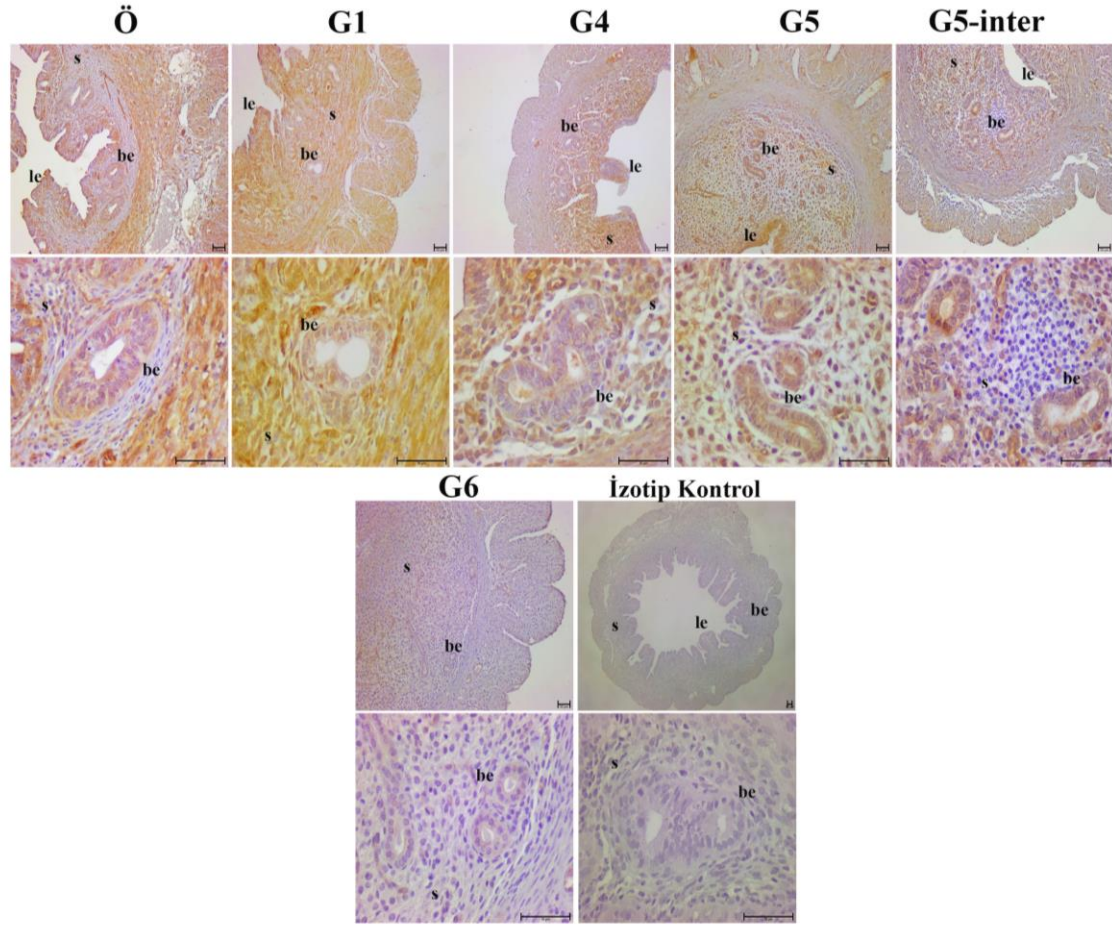
Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki pYAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

Bez Epitelinde pYAP İçin İmmünohistokimya Bulguları

Bez epitelinde pYAP ekspresyonunun östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri arasında anlamlı bir farklılık göstermediği bununla birlikte gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde anlamlı bir azalma gözlenmiş ve tüm gruplara kıyasla da gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda çarpıcı bir azalmanın olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki pYAP ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

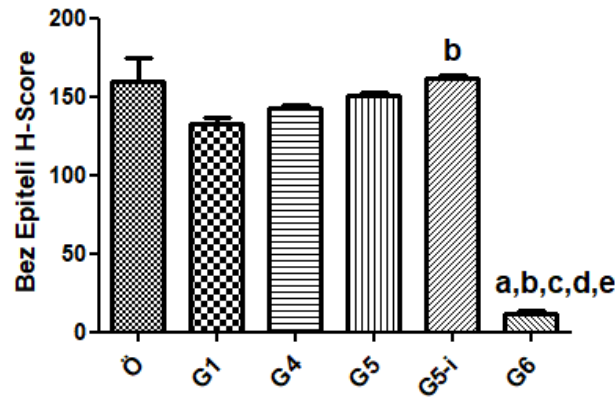
Bez epitelindeki pYAP ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir.

Yapılan H-Score analizlerine göre östrus grubu uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. ve 4. günü uterusları, ve gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonlarında bir miktar azalmanın olduğu fakat bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Östrus grubu uterusları ile gebeliğin 5. günü inter-implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonu açısından bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir. Östrus grubu uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. günü implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azaldığı gözlenmiştir ($p < 0,0001$).

Gebeliğin 1. günü uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. günü uterus, gebeliğin 5. günü implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunun arttığı ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$). Gebeliğin 1. günü uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde pYAP ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artmıştır ($p<0,05$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. günü implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalmıştır ($p<0,0001$).

Gebeliğin 4. günü uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. günü implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunun bir miktar arttığı ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$). Gebeliğin 4. günü uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. günü implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalmıştır ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. günü implantasyon bölgelerine kıyasla 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunun arttığı ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$). Gebeliğin 5. günü implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. günü implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalmıştır (Şekil 4.4).



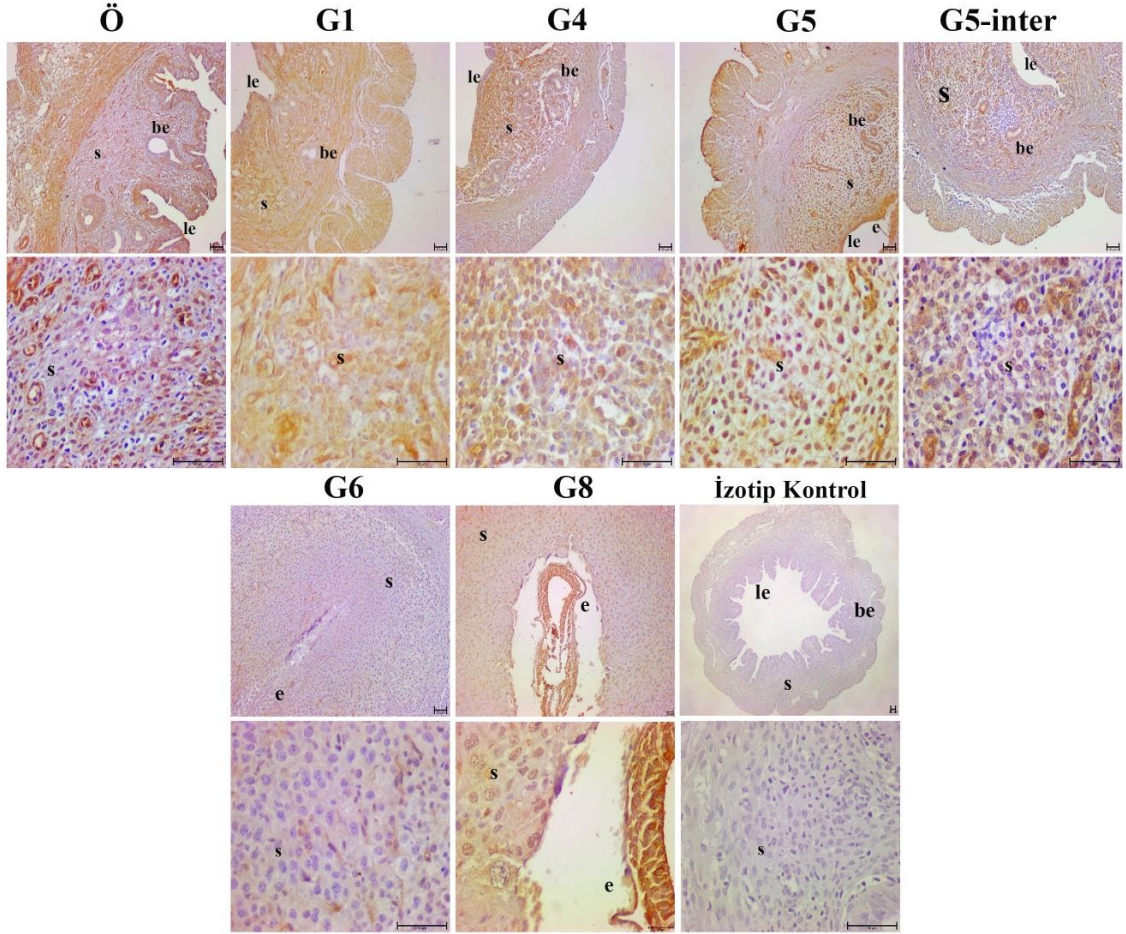
Şekil 4.4. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki pYAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

Stromada pYAP İçin İmmünohistokimya Bulguları

pYAP, östrus fazına ait uteruslarda, gebeliğın 1. ve 4. gün uteruslarında, 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde stromada sitoplazmik ekspresyon göstermiştir. Stromada pYAP ekspresyonunun östrus fazı uteruslarına, gebeliğın 1. ve 4. gün uteruslarına, gebeliğın 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile gebeliğın 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğın 5. gün implantasyon bölgelerinde çarpıcı bir biçimde arttığı gözlenmiştir. Gebeliğın 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğın 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde pYAP ekspresyonu nispeten azalırken, gebeliğın 6. günündeki pYAP ekspresyonunun tüm gruplara oranla belirgin şekilde azaldığı gözlenmiştir.

Stromayı primer ve sekonder desidua zonları olarak incelediğimizde gebeliğın 6. gününe ait primer desidual zonda pYAP ekspresyonun az, sekonder desidual zonda ise yok denilecek kadar az olduğunu gözledik. Gebeliğın 8. gününe ait sekonder desidual zonda pYAP ekspresyonun yok denilecek kadar az olduğunu belirledik.

Stroma içerisinde ve miyometriyumda yer alan kan damarlarına ait endotel hücrelerinde pYAP ekspresyonu gözledik. pYAP gebeliğın farklı günlerinde endotelde, farklı seviyelerde ekspre olmuştur. Östrus grubuna ait uteruslar, gebeliğın 5. günü implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri ile 8. gününe ait implantasyon bölgelerinde çok şiddetli pozitif; gebeliğın 1. gününe ait uterusda şiddetli pozitif; gebeliğın 4. gününe ait uterus ile 6. gününe ait implantasyon bölgelerinde pozitif pYAP ekspresyonu gözledik (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada pYAP ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

Stromadaki pYAP ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

pYAP için yapılan H-Score analizlerine göre östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Östrus fazı uteruslarına göre gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,001$). Östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. ve 4. gün uteruslarındaki pYAP ekspresyonunda bir miktar artış gözlenmiş fakat bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Östrus fazı uteruslarına kıyasla 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonu azalmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 8.

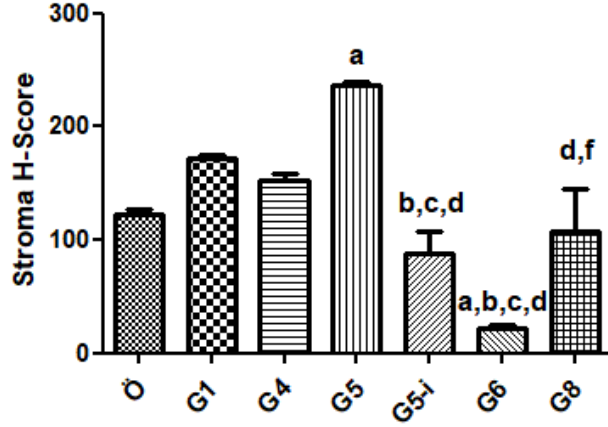
gün implantasyon bölgeleri arasında pYAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ($p<0,05$) ve gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uteruslarındaki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda artış, 8. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda ise azalma gözlenmiş fakat bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki ($p<0,05$) ve gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda artış gözlenirken, 8. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda ise azalma gözlenmiştir fakat bu artış ve azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. gün ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine oranla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda bir miktar azalma gözlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine oranla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda ise bir miktar artış gözlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerine kıyasla, gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.6. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromadaki pYAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı, f: gebeliğin 6. gününe göre anlamlı).

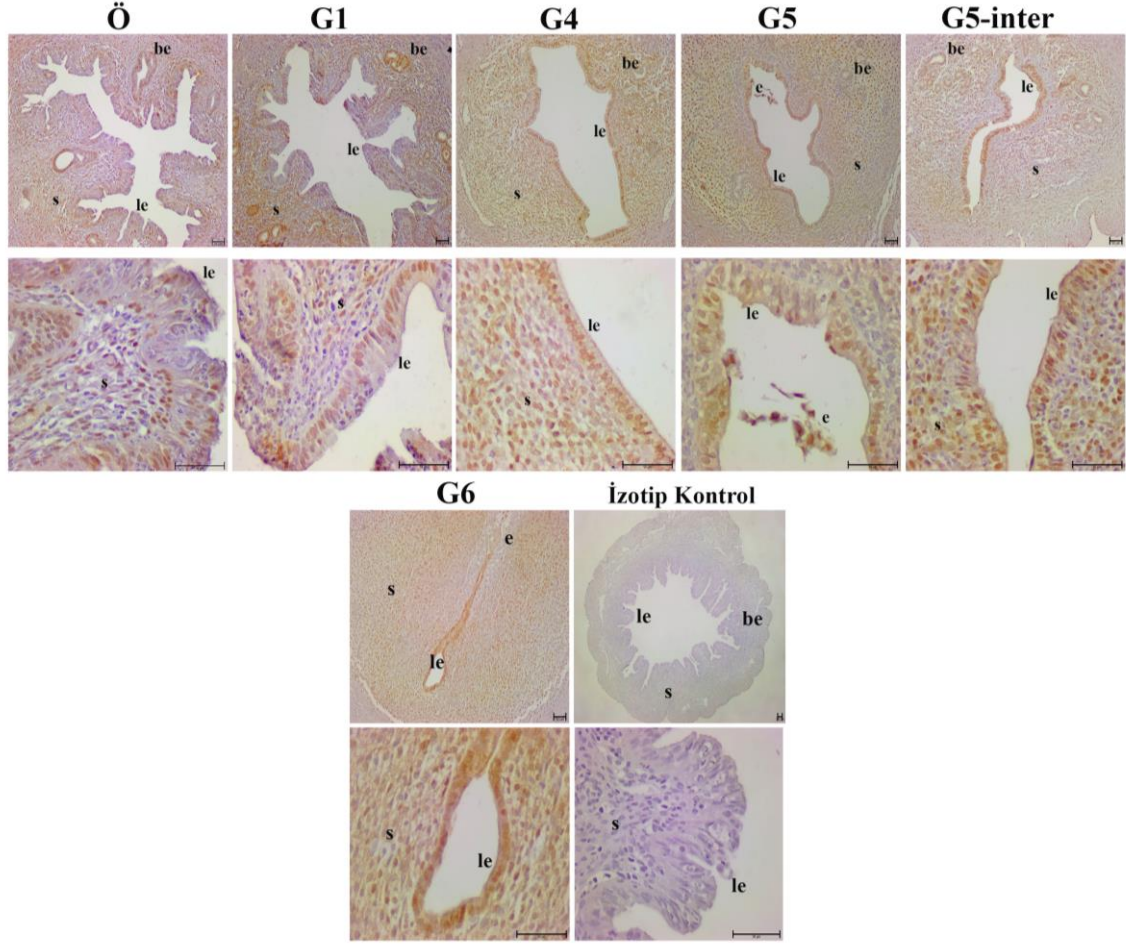
4.1.2. YAP İçin İmmünohistokimya Bulguları

Östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan YAP immünohistokimyası değerlendirildi. YAP'ın yoğunluğunun gruplar arasında farklılık gösterdiği ve nüklear olarak lokalize olduğu gözlemlendi.

Tüm gruplarda endometriyum lümen epiteli, bez epiteli ve stroma alanlarındaki YAP ekspresyonu H-Score analiziyle değerlendirildi ve istatistiksel olarak karşılaştırma yapıldı.

Lümen Epitelinde YAP İçin İmmünohistokimya Bulguları

YAP, östrus fazına ait uteruslar ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde lümen epitelinde nüklear ekspresyon göstermiştir. YAP ekspresyonunun lümen epitelinde östrus grubu uteruslarına göre gebeliğin 1. gününe ait uteruslarda, gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerinde ve gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde artış gösterdiği gözlemlendi. Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerinde ve gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde artış gösterdiği izlendi. Tüm gruplara kıyasla gebeliğin 6. gününde lümen epitelinde çarpıcı bir YAP ekspresyonu gözlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki YAP ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

Lümen epitelindeki YAP ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.8’de gösterilmiştir.

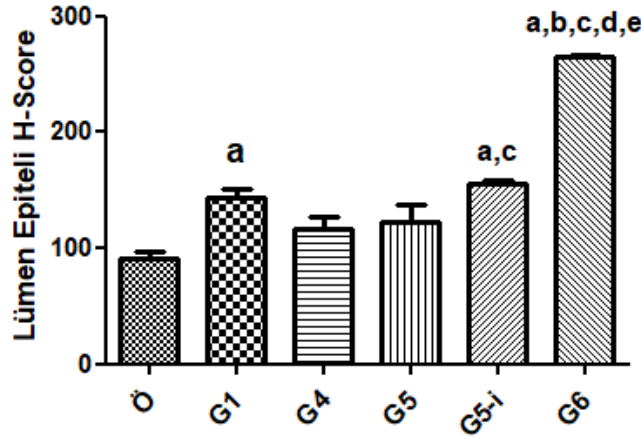
Yapılan H-Score analizlerinde östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. gün uterusları ($p < 0,001$), gebeliğin 6. gün implantasyon bölgeleri ($p < 0,0001$) ve gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki ($p < 0,0001$) YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri arasında YAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Gebeliğin 1. günü uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki ($p<0,0001$) arasında YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla, gebeliğin 6. gün implantasyon bölgeleri ($p<0,001$) ve gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir ($p<0,0001$) (Şekil 4.8).

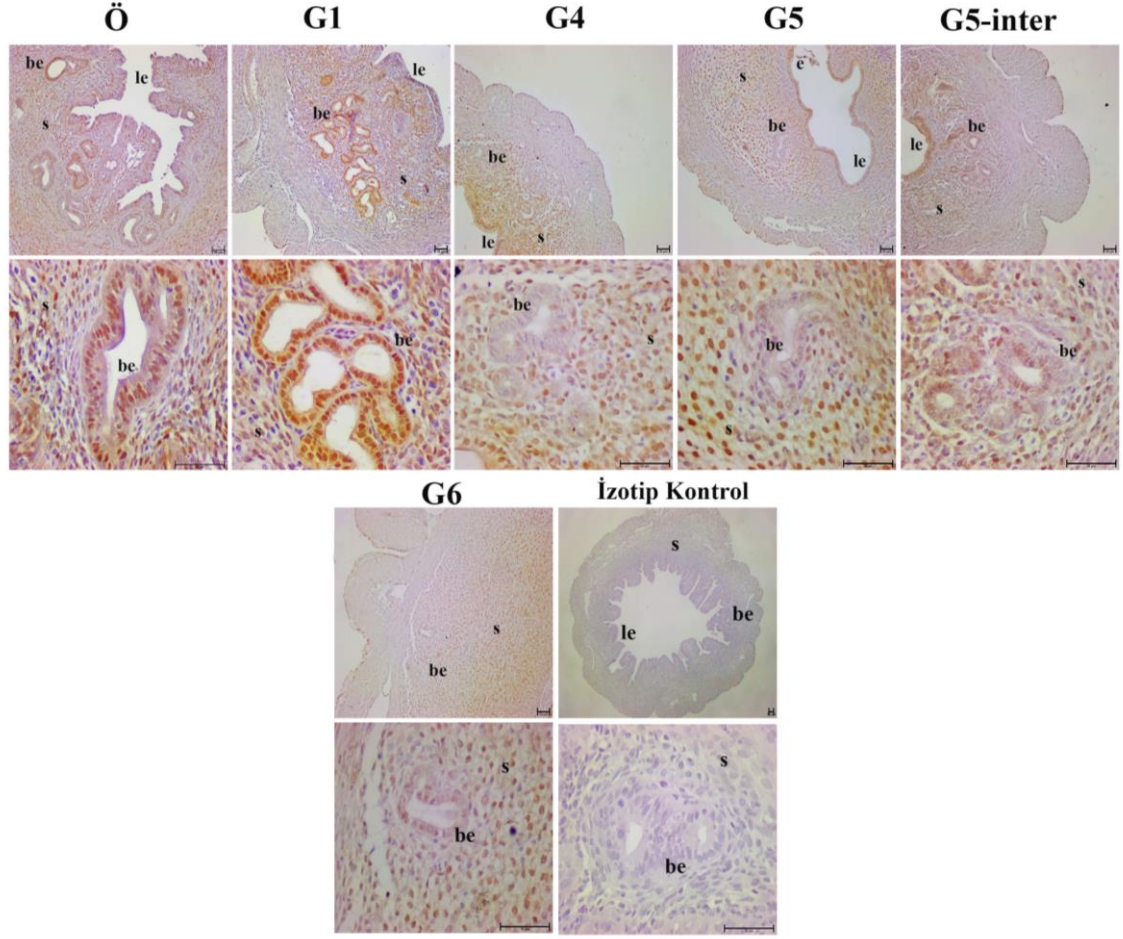


Şekil 4.8. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki YAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

Bez Epitelinde YAP İçin İmmünohistokimya Bulguları

YAP, östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde bez epitelinde nükleer ekspresyon göstermiştir. Bez epitelindeki YAP ekspresyonu östrus grubu uteruslarına ait kıyasla gebeliğin 1.gün uteruslarında artmış ve tüm deney grupları arasında en yüksek düzeyine

ulaşmıştır. Gebeliğin 4. gün uteruslarındaki YAP ekspresyonu östrus ve gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla azalmıştır. Gebeliğin 5. gün implantasyon ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonu birbirine yakın olup gebeliğin 4. gün uterusundakine kıyasla artmıştır. Gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonu azalarak deney grupları arasında en düşük seviyeye ulaşmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki YAP ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

Bez epitelindeki YAP ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

Yapılan H-Score analizlerine göre, östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. gün uteruslarındaki YAP ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,0001$). Östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları

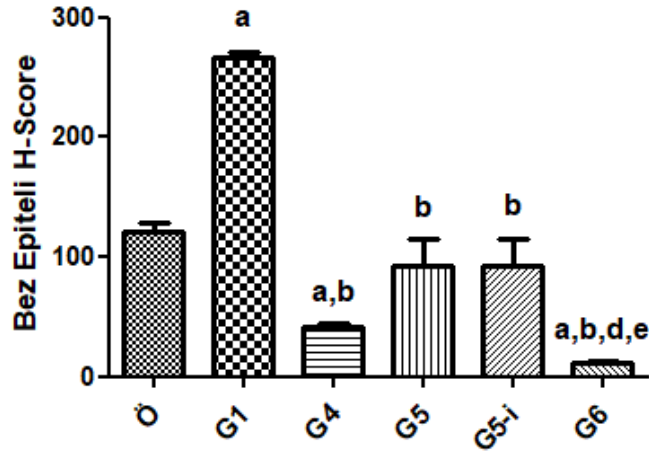
($p < 0.001$) ve gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Östrus fazına ait uteruslar ve gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla, gebeliğin 4. gün uterusları, 5. ve 6. gün implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$).

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla, gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda bir miktar artış gözlenmiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda azalma gözlenmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla, gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,001$). Gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri arasında YAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla, gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,001$) (Şekil 4.10).

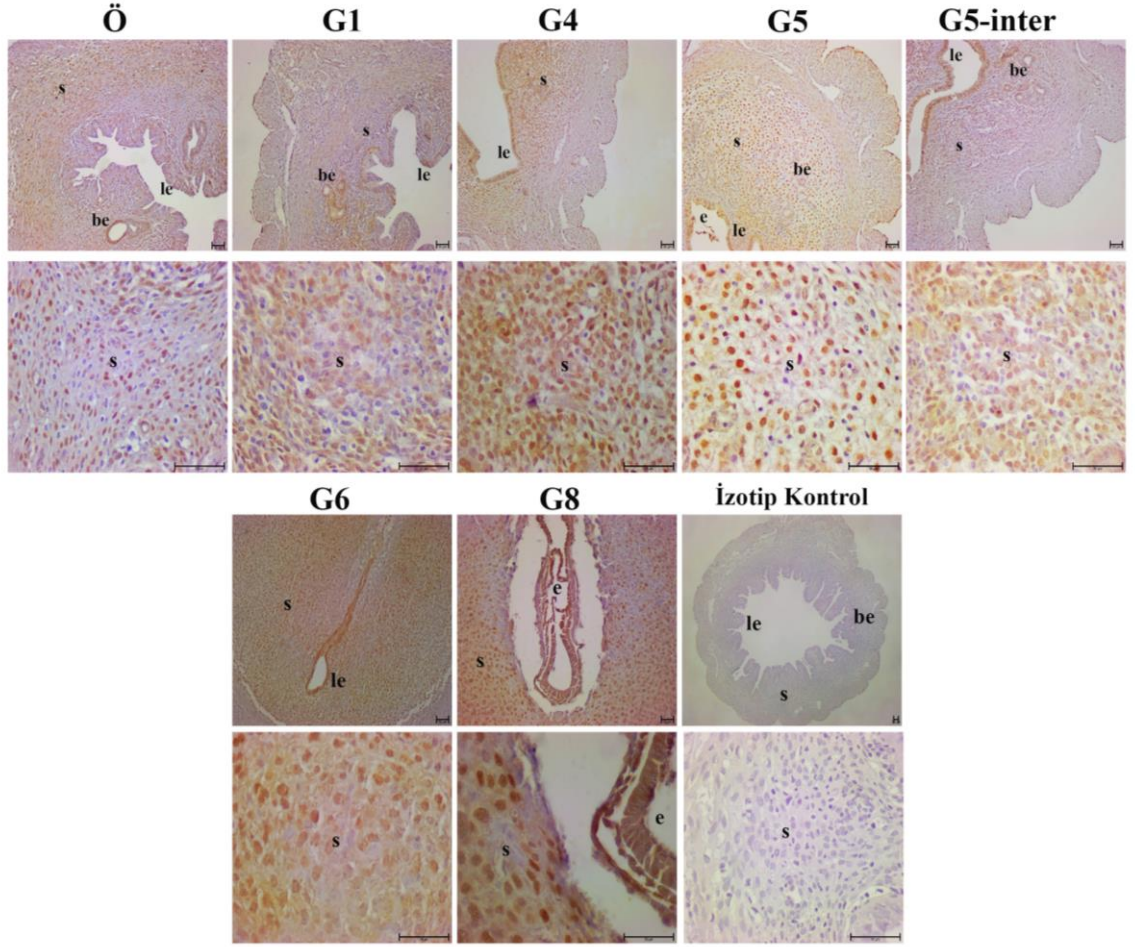


Şekil 4.10. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki YAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

Stromada YAP için İmmünohistokimya Bulguları

YAP, östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ve 5. gün inter implantasyon bölgelerinde stromada nükleer ekspresyon göstermiştir. Stromada YAP ekspresyonunun östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ve 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde farklı yoğunluklarda olduğu gözlenmiştir. Östrus grubu, gebeliğin 1.gününe ait uteruslarda ve gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde ekspresyonun birbirine yakın olduğu, gebelik günleri ilerledikçe ekspresyonun arttığı ve gebeliğin 5. ve 6. günündeki implantasyon bölgelerinde gruplar arasında en yüksek düzeyine ulaştığı gözlenmiştir.

Stromayı primer ve sekonder desidua zonları olarak incelediğimizde gebeliğin 6. gününe ait primer desidual zonda YAP ekspresyonu gözlenmezken sekonder desidual zonda YAP ekspresyonu gözlenmiştir. Gebeliğin 8. gününe ait sekonder desidual zonda YAP ekspresyonu gözlenmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada YAP ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

Stromadaki YAP ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.12’de gösterilmiştir.

Yapılan H-Score analizlerine göre, östrus fazına ait uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları ($p < 0.05$), gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. gün uterusları ve gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Gebeliğin 1. gününe kıyasla, gebeliğin 4. günü uterusları ($p < 0,001$), 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış

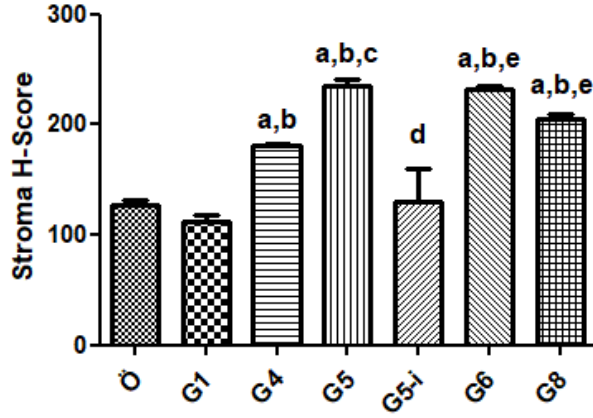
gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Gebeliğin 1. günü uterusları ile gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri arasında ise YAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,05$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonu bir miktar azalmış, gebeliğin 6. ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki ise ekspresyon artmıştır ancak bu azalma ve artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla, gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Fakat gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri arasında YAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün ($p < 0,0001$) ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,001$).

Gebeliğin 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri arasında YAP ekspresyonu açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$) (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada YAP ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

4.1.3. TEAD1 İçin İmmünohistokimya Bulguları

Östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan TEAD1 immünohistokimyası değerlendirildi. TEAD1'in yoğunluğunun gruplar arasında farklılık gösterdiği ve nüklear lokalizasyon gösterdiği gözlemlendi.

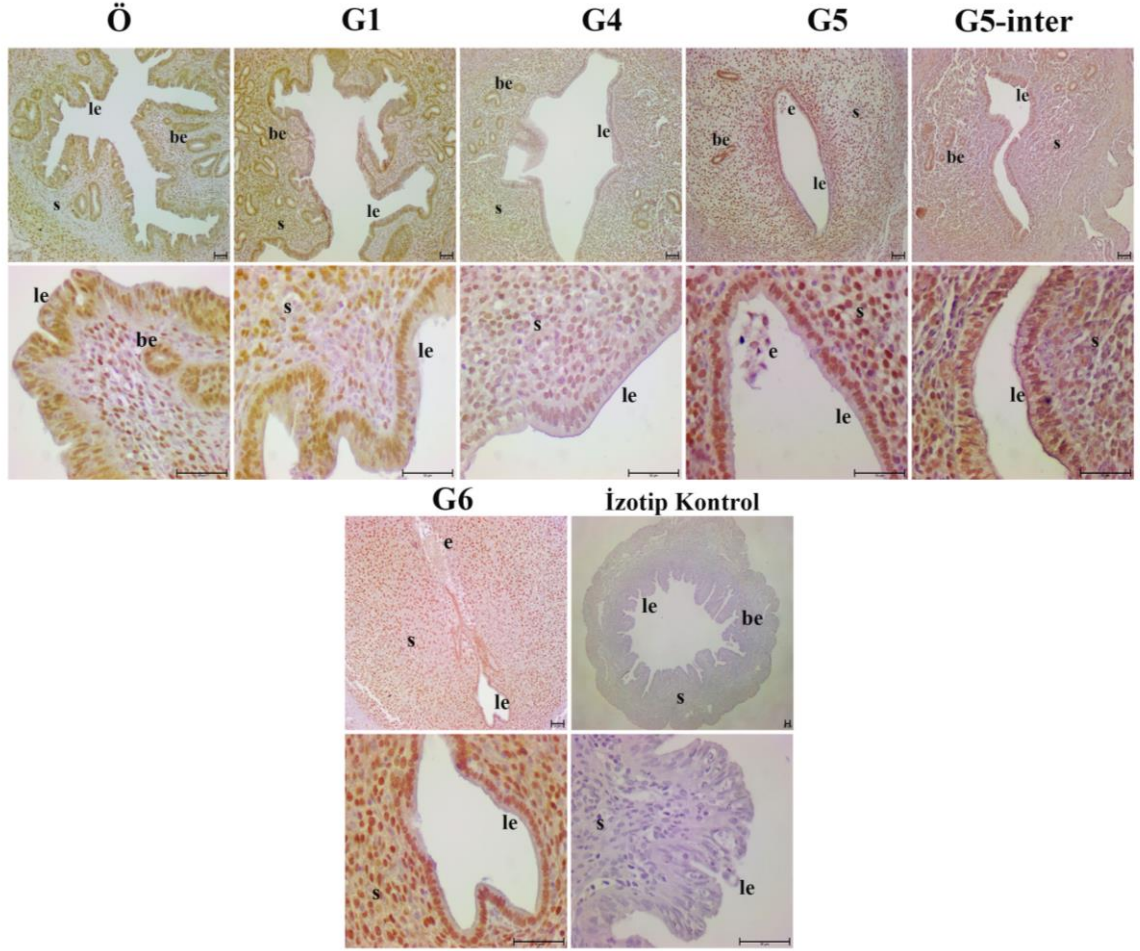
Tüm gruplarda endometriyum lümen epiteli, bez epiteli ve stroma alanlarındaki TEAD1 ekspresyonu H-Score analiziyle değerlendirildi ve istatistiksel olarak karşılaştırma yapıldı.

Lümen Epitelinde TEAD1 İçin İmmünohistokimya Bulguları

TEAD1, östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelinde nüklear lokalizasyon göstermiştir.

Lümen epitelinde TEAD1 ekspresyonunun östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ve 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde farklı yoğunluklarda olduğu gözlenmiştir. Östrus grubuna ait uteruslardakine kıyasla gebeliğin 1. gün ve 4. gün uteruslarında TEAD1 ekspresyonun

azaldığı gözlemlendi. Gebeliğin 4. gününden itibaren ise TEAD1 ekspresyonunun arttığı ve gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerinde gruplar arasındaki en yüksek düzeyine ulaştığı gözlemlendi (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki TEAD1 ekspresyonu (le: lümen epitel, be: bez epitel, s: stroma, e: embriyo).

Lümen epitelindeki TEAD1 ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.14'te gösterilmiştir.

Yapılan H-Score analizlerine göre, östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. gün uteruslarındaki TEAD1 ekspresyonunda bir miktar azalma gözlenmiştir fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Östrus fazına ait uteruslara oranla gebeliğin 4. gün uteruslarındaki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,05$). Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri

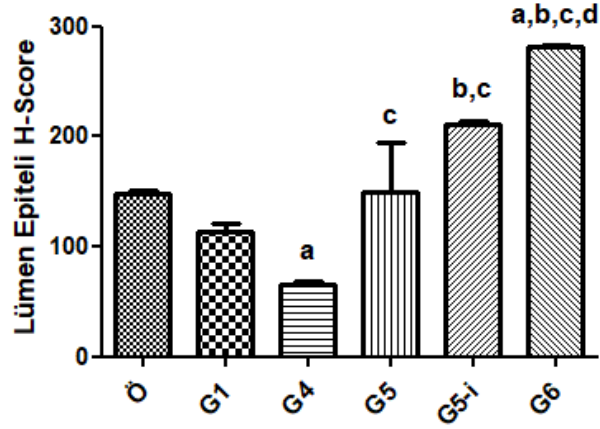
arasında TEAD1 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiş, gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde östrus grubuna kıyasla gözlenen TEAD1 ekspresyonu artışının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$). Östrus fazına ait uteruslara kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uteruslarında TEAD1 ekspresyonunda bir miktar azalma ve gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerinde bir miktar artış gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla, gebeliğin 5. gün inter-implantasyon ($p<0,001$) ve 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda artış gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla, gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ($p<0,05$) ve gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda bir miktar artış gözlenmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda artış gözlenmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 4.14).

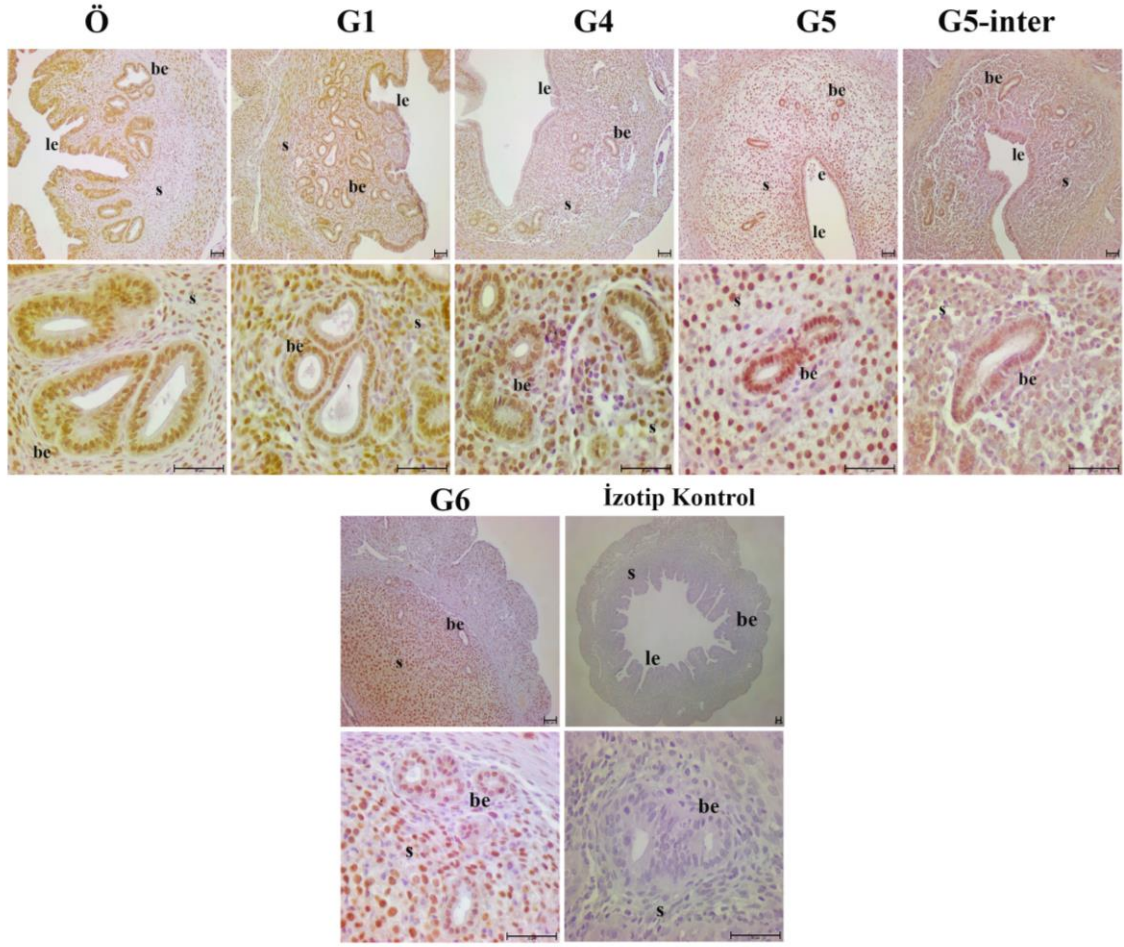


Şekil 4.14. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki TEAD1 ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

Bez Epitelinde TEAD1 İçin İmmünohistokimya Bulguları

TEAD1, östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelinde nükleer lokalizasyon göstermiştir.

Bez epitelinde TEAD1 ekspresyonları östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde birbirlerine yakın ekspresyonlar sergilemiştir. Gruplar arasındaki en yüksek ekspresyon gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerinde gözlenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki TEAD1 ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

Bez epitelindeki TEAD1 ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.16’da gösterilmiştir.

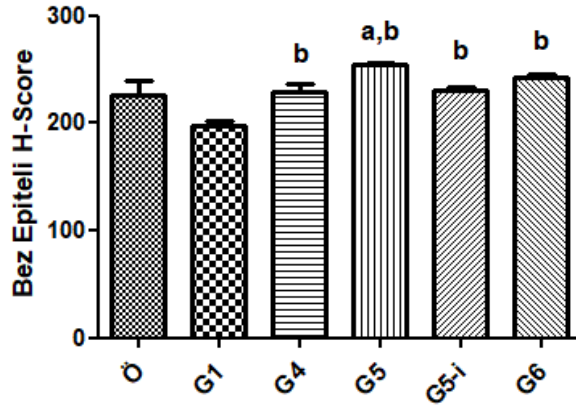
Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla, gebeliğin 4. gün uterusları ($p < 0,05$), gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ($p < 0,0001$) ve gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ($p < 0,05$) ile gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki ($p < 0,0001$) TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir.

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonu bir miktar artış göstermiş fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Gebeliğin 4. gün uterusları ile gebeliğin 5. gün inter-

implantasyon bölgeleri ve 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla, gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda bir miktar azalma gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.16).



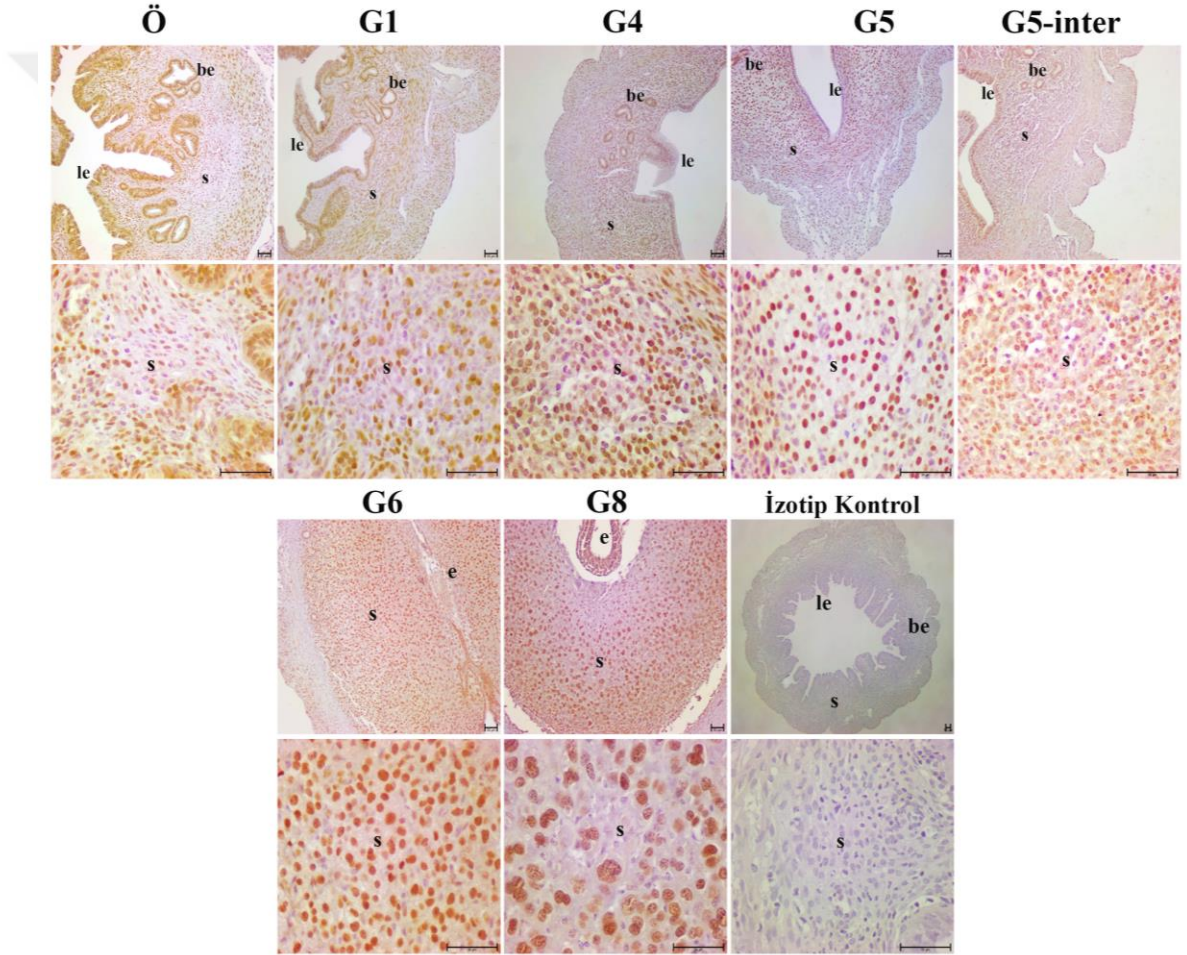
Şekil 4.16. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki TEAD1 ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

Stromada TEAD1 İçin İmmünohistokimya Bulguları

TEAD1, östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada nükleer ekspresyon göstermiştir.

Stromada TEAD1 ekspresyonları değerlendirildiğinde östrus grubu uteruslarına ve gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uteruslarında, gebeliğin 5. gün

implantasyon bölgeleri ve inter-implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda bir artış vardır.ve en fazla artış gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerinde gözlenmiştir Gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda tüm gruplara oranla bir azalma gözlenmiştir. Stromayı primer ve sekonder desidua zonları olarak incelediğimizde gebeliğin 6. gününe ait primer ve sekonder desidual zonlar ile gebeliğin 8. gününe ait sekonder desidual zonda TEAD1 ekspresyonun olduğunu belirledik (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromadaki TEAD1 ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

Stromadaki TEAD1 ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.18’de gösterilmiştir.

Yapılan H-Score analizlerine göre, östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. gün uteruslarında TEAD1 ekspresyonunda bir miktar azalma gözlenmiş fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları ($p<0,0001$), gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ($p<0,001$), gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ($p<0,0001$) ve gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki ($p<0,0001$) TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,001$).

Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla, gebeliğin 4. gün uterusları, gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda azalma gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

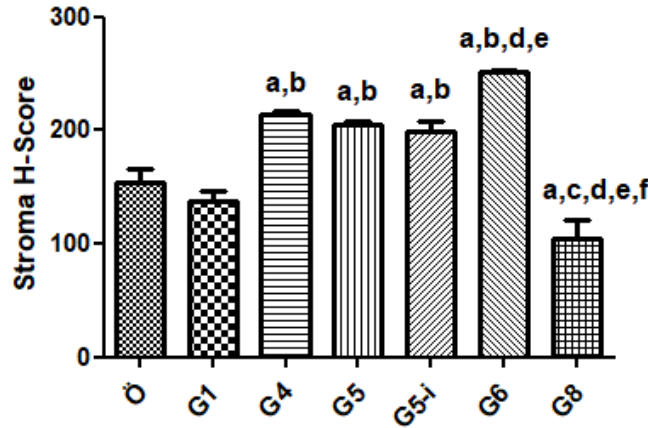
Gebeliğin 4. gün uterusları ile gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda bir miktar artış gözlenmiş fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. günü implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgeleri arasında TEAD1 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 5. günü implantasyon bölgelerine kıyasla, gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı

bir artış gözlenirken ($p<0,05$), gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,001$). Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$) (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada TEAD1 ekspresyonu düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine göre anlamlı, f: gebeliğin 6. gününe göre anlamlı).

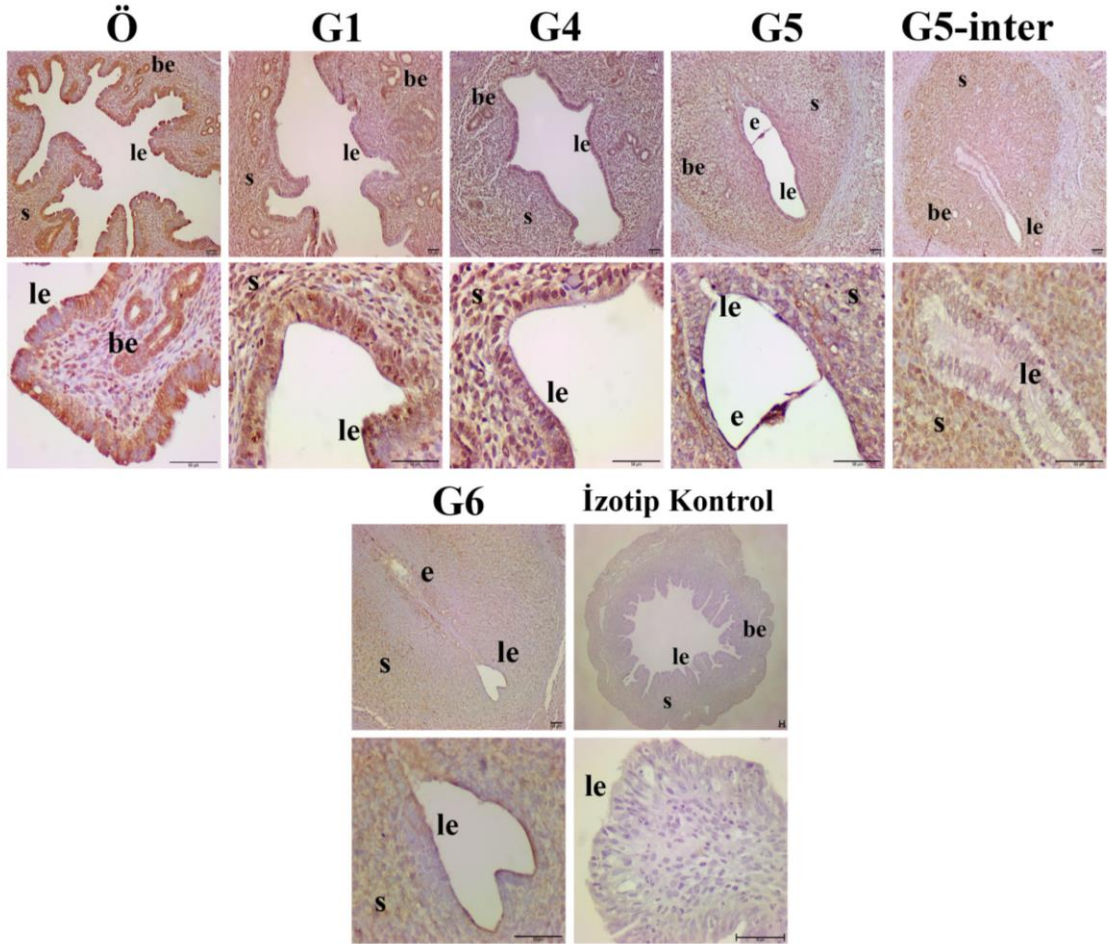
4.1.4. CTGF İçin İmmünohistokimya Sonuçları

Östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan CTGF immünohistokimyası değerlendirildi. Protein yoğunluğunun gruplar arasında farklılık gösterdiği çoğunlukla sitoplazmik lokalize olduğu gözlemlendi.

Tüm gruplarda endometriyum lümen epiteli, bez epiteli ve stroma alanlarındaki CTGF ekspresyonu H-Score analiziyle değerlendirildi ve istatistiksel olarak karşılaştırma yapıldı.

Lümen Epitelinde CTGF İçin İmmünohistokimya Bulguları

CTGF, östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ve 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelinde sitoplazmik ve nükleer ekspresyon göstermiştir. Lümen epitelinde CTGF ekspresyonu östrus grubu uteruslarından gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerine doğru kademeli bir şekilde düşüş göstermiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki CTGF ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

Lümen epitelindeki CTGF ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.20’de gösterilmiştir.

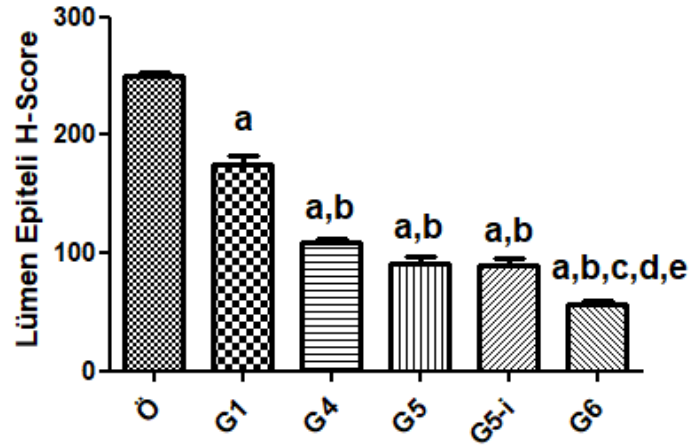
Yapılan H-Score analizlerine göre, östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri ile 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları, gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri ile 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ve inter-implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda azalma görülmüş fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,001$).

Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri arasında CTGF ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0,0001$) (Şekil 4.20).

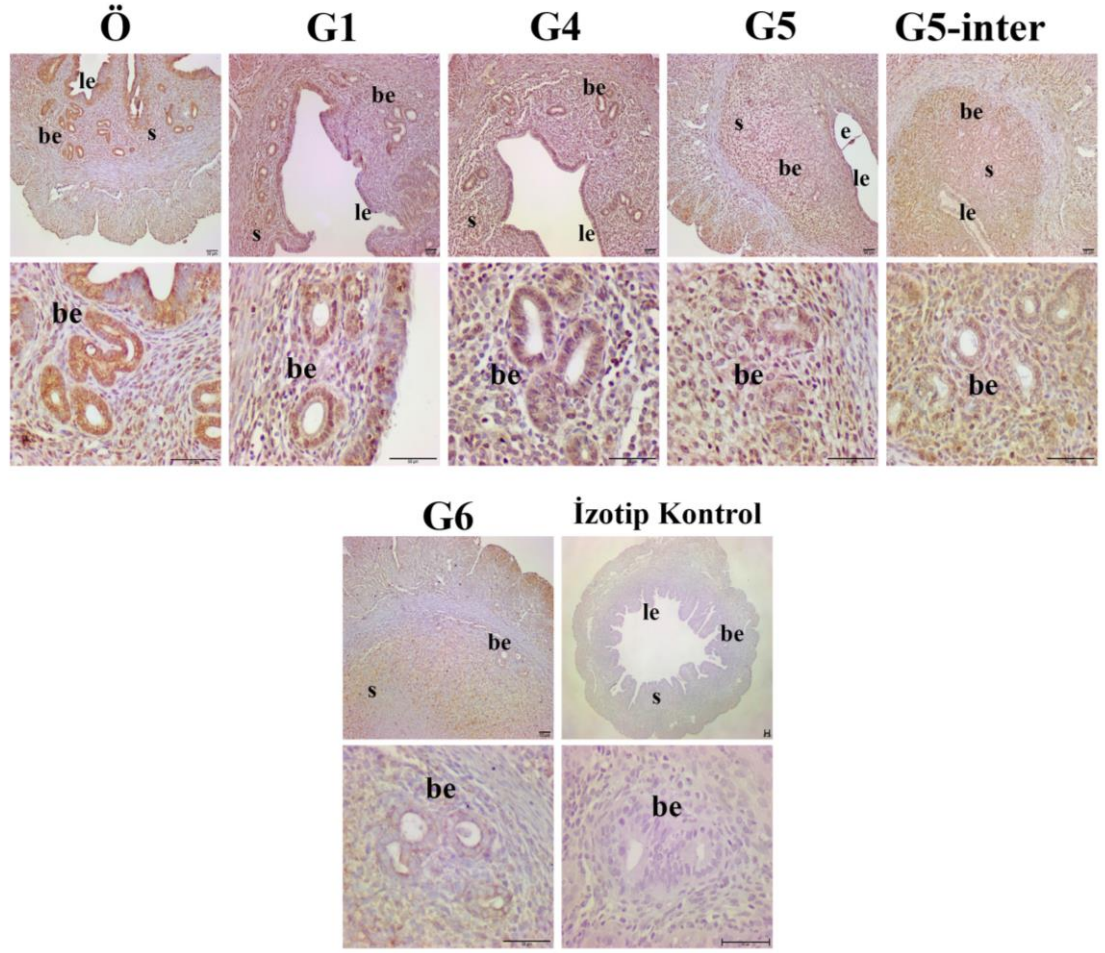


Şekil 4.20. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde lümen epitelindeki CTGF düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

Bez Epitelinde CTGF İçin İmmünohistokimya Bulguları

CTGF, östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5. ve 6. günü implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelinde sitoplazmik ve nükleer ekspresyon göstermiştir.

Östrus grubu uteruslarına ait bez epitelindeki CTGF ekspresyonu tüm gruplar içerisinde en yüksek seviyede gözlenmiştir. Östrus grubu uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonu kademeli olarak azalmıştır. (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5. ve 6. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki CTGF ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

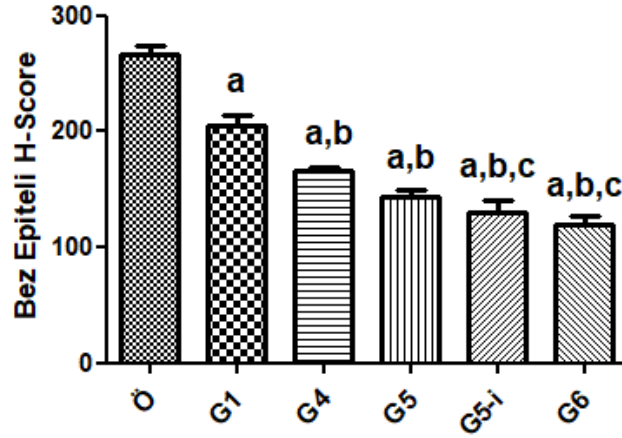
Bez epitelindeki CTGF ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.22’de gösterilmiştir.

Yapılan H-Score analizlerine göre, östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri ve 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$).

Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları, gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri ve 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$).

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ($p<0,05$) ve 6. gün implantasyon bölgelerindeki ($p<0,0001$) CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir.

Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ve 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.22).

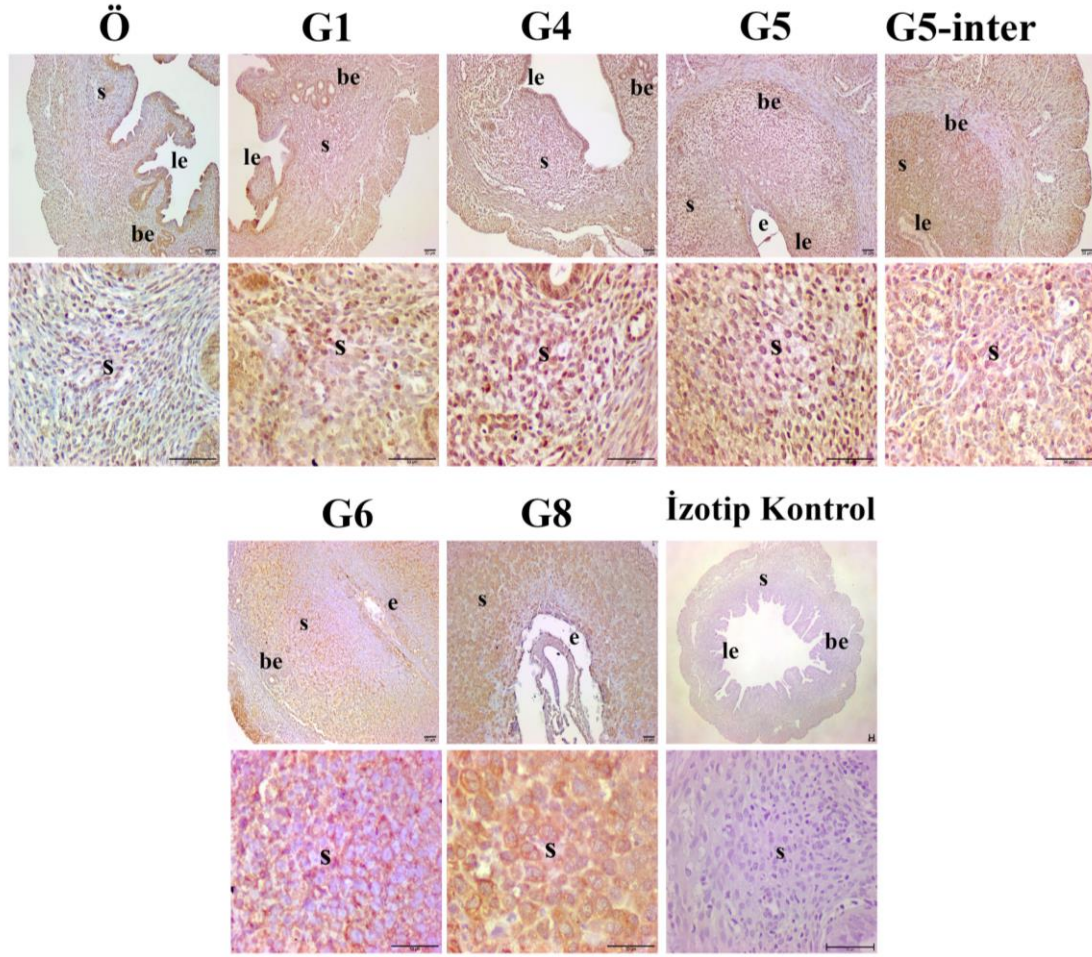


Şekil 4.22. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1.ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5. ve 6. gün implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 5. gün inter implantasyon bölgelerinde bez epitelindeki CTGF düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı)

Stromada CTGF İçin İmmünohistokimya Bulguları

CTGF, östrus fazı uterusları ve gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6 ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada sitoplazmik ve nükleer ekspresyon göstermiştir.

Östrus grubu uteruslarına ait stromalarda CTGF ekspresyonu diğer gruplara kıyasla azdır. Gebeliğin ilerleyen günlerinde CTGF ekspresyonu gözle görülür şekilde artmış ve en fazla artış gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerinde gözlenmiştir. Stromayı primer ve sekonder desidua zonları olarak incelediğimizde gebeliğin 6. gününe ait primer desidual zonda CTGF ekspresyonunun olmadığını, sekonder desidual zonda ise olduğunu gözledik. Gebeliğin 8. gününe ait sekonder desidual zonda CTGF ekspresyonu olduğunu belirledik. (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Östrus fazına ait uteruslar ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. günlerindeki implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromada CTGF ekspresyonu (le: lümen epiteli, be: bez epiteli, s: stroma, e: embriyo).

Stromadaki CTGF ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve Şekil 4.24'te gösterilmiştir.

Yapılan H-Score analizlerine göre, östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ve gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,0001$).

Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları ($p < 0,01$), gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 5. gün inter-implantasyon

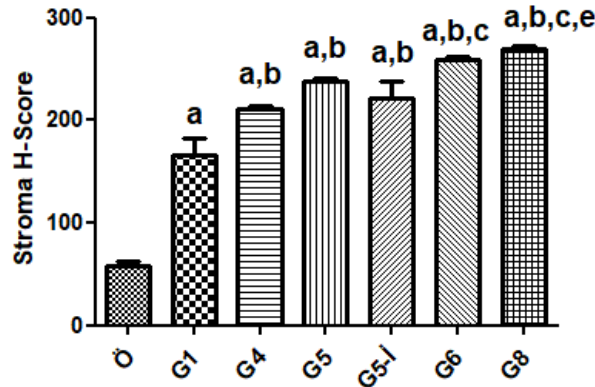
bölgelerindeki ($p<0,001$) CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$).

Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerinde CTGF ekspresyonunda bir miktar artış gözlenmiş fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün ($p<0,001$) ve 8. gün ($p<0,0001$) implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir.

Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine ve 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda artış gözlenmiş fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,001$).

Gebeliğin 6. gün implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde stromadaki CTGF düzeylerinin H-Score analizi. (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

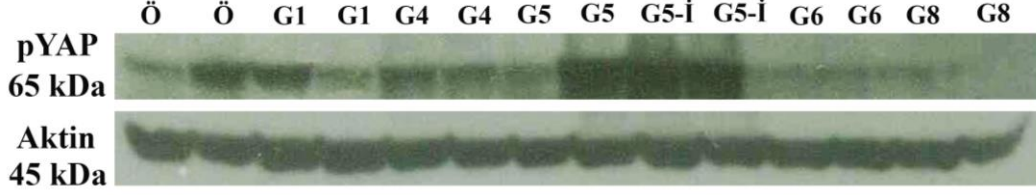
4.2. Western Blot Bulguları

Östrus fazı uterusları ve peri-implantasyon dönemindeki farelere ait uterus ve implantasyon bölgelerinde pYAP, YAP, TEAD1 ve CTGF proteinlerinin miktarı Western Blot yöntemi kullanılarak belirlendi ve kantitatif olarak değerlendirildi.

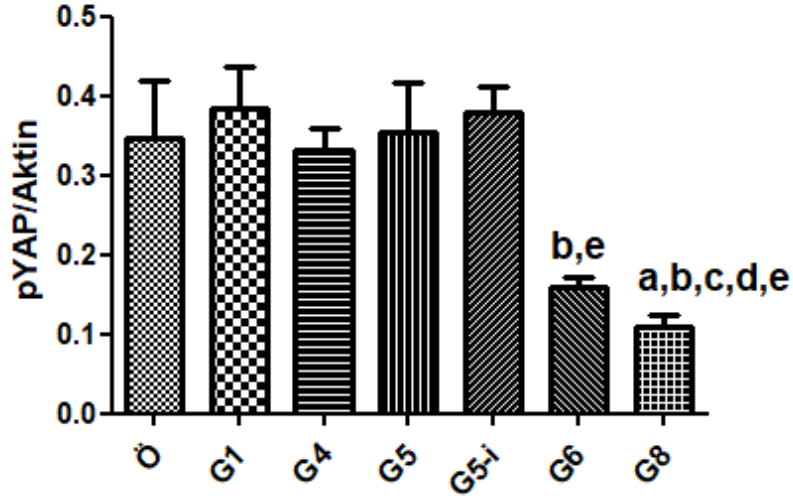
4.2.1. pYAP için Western Blot Sonuçları

pYAP ekspresyonunu belirlemek için yapılan Western Blota ait bant ve analizleri sırasıyla Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'da gösterilmiştir. Östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri ile 6., gün implantasyon bölgeleri arasında pYAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). pYAP ekspresyonunda östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları ve gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün ($p<0,05$) ve 8. gün ($p<0,001$) implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. Gebeliğin 4. gün uterusları ile gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda azalma gözlenmiş ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri arasında pYAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda azalma gözlenmiş ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,001$). Gebeliğin 5. günü inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün ($p<0,05$) ve 8.

gün ($p<0,001$) implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. Gebeliğin 6. ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki pYAP ekspresyonu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).



Şekil 4.25. Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ,5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan pYAP ve Aktin Western blot sonuçları.

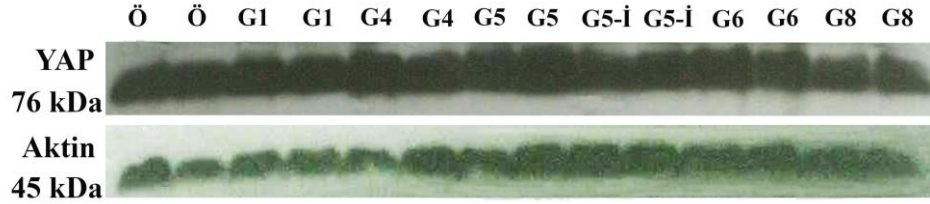


Şekil 4.26. Östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde pYAP/Aktin Western Blot analiz sonuçları (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. günü implantasyon bölgelerine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. günü inter-implantasyon bölgelerine göre anlamlı).

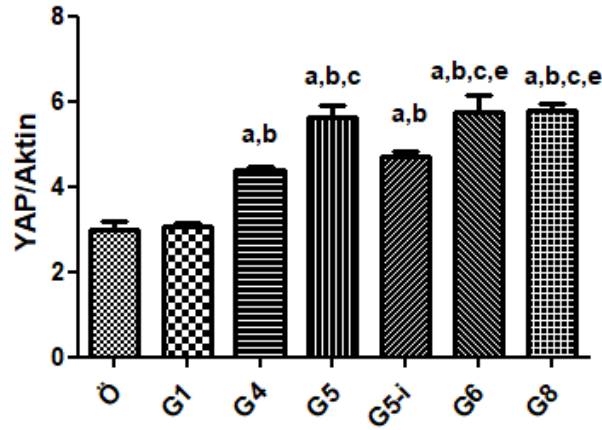
4.2.2. YAP için Western Blot Sonuçları

YAP ekspresyonunu belirlemek için yapılan Western Blota ait bant ve analizleri sırasıyla Şekil 4.27 ve Şekil 4.28'de verilmiştir. Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. gün uterusları arasında YAP ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). Östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları ($p<0,001$), gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri, gebeliğin 6. gün ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin

4. gün uterusları ($p<0,001$), gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri, 6. gün ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün, 6. gün ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,001$). Yine gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda bir miktar artış gözlenmiş ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda bir miktar azalma gözlenmiş ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ile 6 ve 8. gün implantasyon bölgeleri arasında YAP ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki YAP ekspresyonunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).



Şekil 4.27. Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ,5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan YAP ve Aktin Western blot sonuçları.

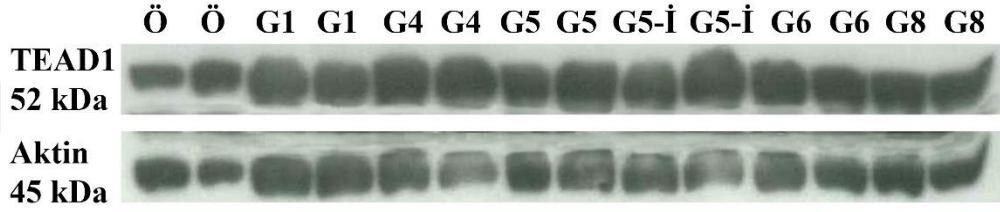


Şekil 4.28. Östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde YAP/Aktin Western Blot analiz sonuçları (a: östrus gurubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter- implantasyon bölgesine göre anlamlı)

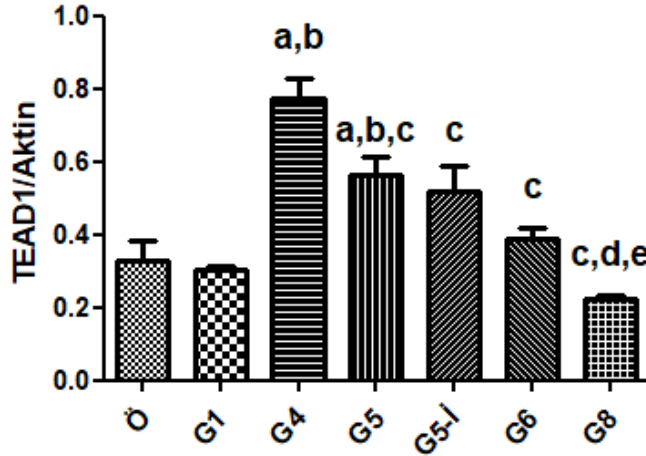
4.2.3. TEAD1 için Western Blot Sonuçları

TEAD1 ekspresyonunu belirlemek için yapılan Western Blota ait bant ve analizleri sırasıyla Şekil 4.29 ve Şekil 4.30'da verilmiştir. Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. gün uterusları arasında TEAD1 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Östrus fazı uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları ($p < 0,0001$), gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,05$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları ($p < 0,0001$), gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ($p < 0,001$) ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki ($p < 0,0001$) TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon ($p < 0,05$) ve 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ($p < 0,001$) ile gebeliğin 6. ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,0001$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonuna kıyasla 5. gün inter-implantasyon bölgeleri ile gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerinde bir miktar azalma gözlenmiş ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8.

gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün TEAD ekspresyonu azalmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p > 0,05$) ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki ($p < 0,0001$) TEAD1 ekspresyonunda bir azalma gözlenmiştir. Gebeliğin 6. gün ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki TEAD1 ekspresyonu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.29. Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ,5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan TEAD1 ve Aktin Western blot sonuçları.

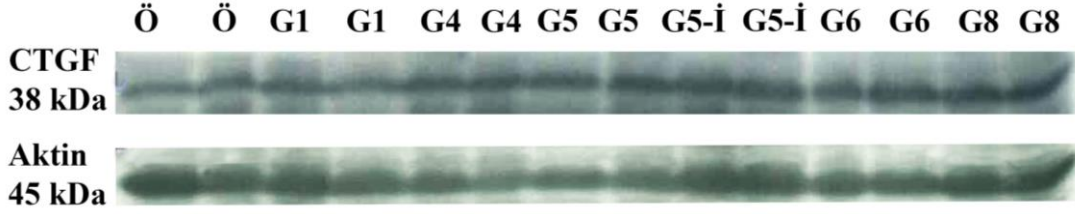


Şekil 4.30. Östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde TEAD1/Aktin Western Blot analiz sonuçları (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, c: gebeliğin 4. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. günü implantasyon bölgesine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgesine göre anlamlı).

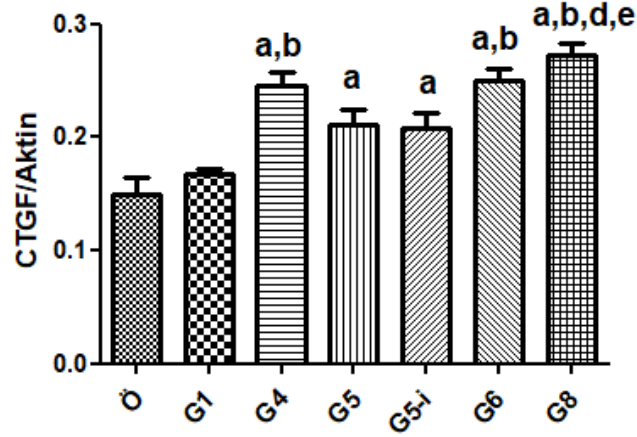
4.2.4. CTGF için Western Blot Sonuçları

CTGF ekspresyonunu belirlemek için yapılan Western Blota ait bant ve analizleri sırasıyla Şekil 4.31 ve Şekil 4.32'de gösterilmiştir. Östrus grubu uterusları ile gebeliğin

1. gün uterusları arasında CTGF ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Östrus grubu uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uterusları ($p<0,0001$), gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgeleri ($p<0,05$), 6. gün ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki ($p<0,0001$) CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 4. gün uteruslarındaki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda bir artış gözlenmesine rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 1. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 6 ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,0001$). Gebeliğin 4. gün uteruslarına kıyasla gebeliğin 5. gün implantasyon ve inter-implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonu azalmış ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Gebeliğin 4. gün uterusları ile gebeliğin 6. ve 8. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda artış gözlenmiş ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Gebeliğin 5. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,001$). Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda bir artış gözlenmiş fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,001$). Gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerine kıyasla gebeliğin 8. gün implantasyon bölgelerindeki CTGF ekspresyonunda bir miktar artış gözlenmiş ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.31. Östrus fazı uterusları ile gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları ,5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter-implantasyon bölgelerinde yapılan CTGF ve Aktin Western blot sonuçları.



Şekil 4.32. Östrus fazı uterusları, gebeliğin 1. ve 4. gün uterusları, gebeliğin 5., 6. ve 8. gün implantasyon bölgeleri ile 5. gün inter implantasyon bölgelerinde CTGF/Aktin Western Blot analiz sonuçları (a: östrus grubuna göre anlamlı, b: gebeliğin 1. gününe göre anlamlı, d: gebeliğin 5. günü implantasyon bölgesine göre anlamlı, e: gebeliğin 5. gün inter-implantasyon bölgesine göre anlamlı).

5. TARTIŞMA

Embriyonun uterusu yerleşmesi olarak tanımlanabilen implantasyon sürecinde maternal endometriyum ile embriyo arasında karşılıklı iletişimi sağlayan çok sayıda sinyal yolağı rol almaktadır (Cha ve ark., 2012; S. Zhang ve ark., 2013). İmplantasyon uterusun reseptif olduğu dönemde gerçekleşir. Uterusun reseptif olduğu dönem implantasyon penceresi olarak adlandırılır ve bu süreçte ovaryum steroid hormonlarının önemli rolleri vardır. İmplantasyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmesi için embriyonun blastosist aşamasına ve uterusun reseptif aşamaya senkronize bir şekilde gelmesi gerekir.

İnsanlarda etik kısıtlamalar ve zorluklar nedeniyle embriyo-uterus etkileşimlerinin in vivo olarak çalışılması mümkün olamamaktadır. Bu nedenle uterus reseptivitesi, implantasyon ve desidualizasyon alanındaki bilgilerin çoğu kemirgenlerde özellikle fare ve sıçanlarda yapılan çalışmalardan elde edilmektedir (Wang ve Dey, 2006; S. Zhang ve ark., 2013).

İnfertilite, global, sosyal ve ekonomik bir problem olup dünyadaki çiftlerin %15'inin infertilite nedeniyle çocukları yoktur. Bazı bireylerde in vitro fertilizasyon (İVF) ve embriyo transferi uygulamaları ile infertilite problemi çözülebilmesine karşın implantasyon başarısızlığı gebelik başarısını etkileyen önemli bir sorundur. İVF hastalarında, embriyonun non-reseptif uterusu transferi implantasyon başarısızlığı ile sonuçlanır. Bu nedenle uterus reseptivitesinin kazanılması ve embriyo implantasyonu mekanizmalarının aydınlatılması daha önemli hale gelmektedir.

Hippo sinyal yolağı ilk olarak *Drosophila melanogaster*'de organ büyüklüğünü düzenleyen bir sinyal yolağı olarak keşfedilmiştir (Bao, Hata, ve ark., 2011). Hippo sinyal yolağı ve fonksiyonu memelilerde de korunmuş durumdadır (Dong ve ark., 2007; Bae ve Luo, 2018). Memelilerde yolağın temel bileşenleri arasında MST (mammalian Ste (sterile) 20-like /memeli Ste (steril) 20- benzeri) 1/2 kinazları, Sav1, LATS 1/2 kinazları, MOB1 bulunmaktadır. Hippo yolağının alt hedeflerinde ise YAP (Yes-ilişkili protein) ve TAZ (PDZ'ye bağlanan motifli transkripsiyonel koaktivatör) bulunmaktadır. MST1/2 kendini ve ardından Sav1'i fosforilleyerek aktif bir kompleks oluşturur.

MST1/2, daha sonra LATS 1/2 kinazları ve koaktivatörü MOBI'i fosforile eder. LATS1 veya LATS2 daha sonra Hippo yolağının alt hedefleri olan YAP/TAZ'ı fosforile ederek, YAP/TAZ'ı sitoplazma içinde bağlamaktadır ve protein degradasyonu sağlamak için 14-3-3 proteinlerini aktifleştirmektedir (Cherrett ve ark., 2012; Kodaka ve Hata, 2015). Üst kinazlar inaktif olduğunda YAP/TAZ defosforile olmaktadır ve gen ekspresyonu sağlamak için nükleusa transloke olmaktadır (Kanai ve ark., 2000; Dong ve ark., 2007; Zhao ve ark., 2007; Lei ve ark., 2008; H. Oh ve Irvine, 2008; Ren ve ark., 2010). YAP/TAZ başlangıçta onkogen olarak sınıflandırılmalarına rağmen YAP, DNA'ya bağlanan tümör baskılayıcılara bağlanarak tümör baskılayıcı rol de oynayabilmektedir. Yani YAP, DNA bağlayıcı partnerlerine bağlı olarak onkogen veya tümör baskılayıcı olarak görev yapabilmektedir (M. K. Kim ve ark., 2018).

Hippo sinyal yolağının transkripsiyonel koaktivatörü olan YAP ve TAZ, tek başına DNA'ya bağlanma aktivitesine sahip değildir. Hedef gen ekspresyonunu sağlayabilmek için bir transkripsiyon faktörüyle etkileşime girmeleri gerekmektedir. YAP/TAZ hücrede proliferasyon genlerini aktive edebilmek için başlıca TEA alanı (TEA Domain/TEAD) ailesi üyeleriyle etkileşime girmektedir. YAP-TEAD kompleksi hücre proliferasyonunda rol oynamaktadır (H. Zhang ve ark., 2011). TEAD transkripsiyon faktörleri, YAP'ın en iyi tanımlanmış DNA bağlayıcı partnerleridir. YAP-TEAD kompleksinin hedef genleri arasında ise CTGF (Connective tissue growth factor/Bağ doku büyüme faktörü) geni bulunmaktadır (Zhao, Ye, ve ark., 2008). CTGF'nin biyolojik etkileri arasında hücre proliferasyonu, ekstraselüler matriks üretimi, hücre adezyonu yer alır (Bradham ve ark., 1991; Igarashi ve ark., 1993; K. Frazier ve ark., 1996; Brigstock ve ark., 1997; Kireeva ve ark., 1997; Ball ve ark., 1998; Steffen ve ark., 1998).

Song ve arkadaşları sağlıklı kadınlara ait endometriyum ile endometriyozlu kadınlara ait eutopik ve ektopik endometriyum örneklerini kullandıkları çalışmalarında normal endometriyuma kıyasla eutopik ve ektopik endometriyumlarda YAP ekspresyonunun arttığını, fosforile YAP (pYAP)'ın ise azaldığını bulmuşlardır (Y. Song ve ark., 2016). Kültüre ettikleri eutopik endometriyum stroma hücrelerinde vektör aracılığıyla YAP'ı knock-down ettiklerinde hücre proliferasyonu ile TEAD1, CTGF ve B-cell lenfoma/lökemi (BCL-2) ekspresyonlarının azalıp apoptozun arttığını bulmuşlardır.

Normal endometriyum stroma hücrelerinde YAP'ı overeksprese ettiklerinde ise hücre proliferasyonu ile TEAD1, CTGF ve B-cell lenfoma/lökemi (BCL-2) ekspresyonlarının arttığını gözlemlemişlerdir. Eutopik endometriyum stroma hücrelerine YAP-TEAD1 kompleksini bozan verteporfin uyguladıklarında proliferasyonun azalıp apoptozun arttığını; eutopik endometriyum örneklerinin verildiği farelere verteporfin uyguladıklarında endometriyotik lezyonların önemli ölçüde azaldığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar Hippo/Yap sinyal yolağının endometriyoz patogenezinde kritik bir rol oynadığı sonucuna varmışlardır.

Chen ve arkadaşları çalışmalarında insan endometriyum stroma hücrelerinin desidualizasyonunda YAP'ın rol alıp almadığını araştırmışlardır (H. Chen ve ark., 2017). Endometriyum stroma hücrelerinin in vitro desidualizasyonu boyunca YAP ve TEAD1 ekspresyon düzeylerinin arttığını ayrıca endometriyum stroma hücrelerinde YAP'ı knockdown ettiklerinde hücre morfoloji değişiminde gecikme ve prolaktin ve IGFBP-1 gibi desidual hücre belirteçlerinin ekspresyonunda azalma olduğunu yani in vitro desidualizasyonda bozulmaların olduğunu gözlemlemişlerdir. Tüm bu bulgular ışığında YAP'ın desidualizasyonda rolü olduğu sonucuna varmışlardır.

Sun ve arkadaşları 3. trimesterde alınmış pre-klamptik plasentalardaki YAP ekspresyonunun 3. ve 1. trimesterde alınan sağlıklı plasentalara kıyasla daha az olduğunu mRNA ve protein düzeyinde göstermişlerdir (Sun ve ark., 2018). YAP'ın trofoblast invazyonunu artırdığı yorumunu yapmışlardır.

Maybin ve arkadaşları menstrüel siklusun farklı fazlarına ait insan uteruslarında CTGF ekspresyonunu kantitatif real time PCR ve immünohistokimya ile belirlemişlerdir (Maybin ve ark., 2012). En yüksek CTGF ekspresyonunu mRNA düzeyinde menstrüasyon fazında, protein düzeyinde ise proliferasyon fazında bulmuşlardır. Araştırmacılar CTGF'nin endometriyal tamir ve rejenerasyonda rol aldığı yorumunu yapmışlardır.

Uzumcu ve arkadaşları proliferasyon, sekresyon fazlarındaki insan uterusları ve desidualarındaki CTGF ekspresyonunu Northern blot ve immünohistokimya ile araştırmışlardır (Uzumcu ve ark., 2000). Proliferasyon fazı örneklerinde epitel ve

vasküler endotel hücrelerinin şiddetli, stroma hücrelerinin ise ya hiç ya da çok az CTGF ekspre ettiğini; sekresyon fazında epitel ve endotel hücrelerinin CTGF ekspre ettiğini ve stroma hücrelerinin şiddetli CTGF ekspre ettiğini belirtmişlerdir. Gebelik boyunca ise epitel, endotel ve desidua hücrelerinde CTGF ekspresyonu gördüklerini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar hücre ve siklusa spesifik olarak ekspre edilmesinin CTGF'nin menstrüel siklus ve gebelik boyunca hücre büyümesi, göçü ve matriks üretiminin düzenlenmesinde önemli olabileceği yorumunu yapmışlardır.

Waddell ve arkadaşları insana ait birinci trimester desidua (7-12 haftalık) ile gebe olmayan endometriyum örneklerinde CTGF ekspresyonunu kantitatif real time PCR ve immüno Floresan ile belirlemişlerdir (Waddell ve ark., 2011). Gebe olmayan endometriyumlara kıyasla desidua örneklerinde CTGF ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir. Trofoblast kökenli HTR-8/Svneo hücrelerini CTGF ile muamele ettiklerinde bu hücrelerin kollajen 4'e adezyonlarının arttığını ve matrijelde kapiller-benzeri ağ oluşturduklarını gözlemişlerdir. Bu bulgulardan yola çıkarak CTGF'nin trofoblastların maternal spiral arterlerin yeniden şekillenmesinde rol alabileceği yorumunu yapmışlardır.

Oh ve arkadaşları sağlıklı ve pre-eklamptik kadınlara ait plasentalarda CTGF ekspresyonunu kantitatif real time PCR, immünohistokimya ve Western blot ile araştırmışlardır (S. Y. Oh ve ark., 2009). Gebeliğin 1, 2 ve 3. trimesterine ait sağlıklı plasentalarda CTGF'nin villöz trofoblastlarda ekspre edildiğini göstermişlerdir. Ciddi pre-eklampsisi veya idiyopatik fetal büyüme geriliği görülen gebeliklere ait plasentalarda CTGF transkriptlerinin arttığını ancak protein miktarının değişmediğini ve pre-eklamptik kadınların serumlarında CTGF protein düzeyinin arttığını göstermişlerdir. Araştırmacılar pre-eklamptik kadınlara ait plasentalarda trofoblastik CTGF'nin sinsisyal tabakadan maternal kana salgılandığı ve CTGF'nin pre-eklampsisi patofizyolojisinde rol alabileceği yorumunu yapmışlardır.

Yuan ve arkadaşlarının 2019'da yayınlanan çalışmalarında (Yuan ve ark., 2019) hücre polaritesi, adezyonu ve proliferasyonunda rol alan çok fonksiyonlu bir katlanma proteini olan Scrib'i uterusunda kondisyonel olarak knock-out edip gebelik üzerindeki etkilerini

incelemişlerdir. Çalışmaları sonucunda Scrib'in Hippo sinyal yolağını aktif hale getirerek stroma hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edip PDZ oluşumunu başlattığı sonucuna ulaşmışlardır.

Literatürde Hippo sinyal yolağının farklı koşullardaki uterus, endometriyum stroma hücreleri, plasentada ekspresyonlarını ve/ya rollerini araştıran çalışmalar vardır ancak bu yolağın farelerde implantasyon ve/ya desidualizasyon süreçlerinde rollerinin olup olmadığına dair literatürde bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda peri-implantif dönem fare uterus ve implantasyon bölgelerinde Hippo sinyal yolağı üyelerinden olan YAP, pYAP, TEAD1 ve CTGF'nin lokalizasyon ve ekspresyonlarını araştırdık.

Uterus, steroid hormonların etkisi altında proliferasyon ve farklılaşma süreçlerini geçirir. Bu süreçler boyunca en aktif hücreler endometriyumdaki hücrelerdir (C. C. Huang ve ark., 2012). Endometriyumun morfolojik ve moleküler değişimi endometriyal reseptivitenin kazanılması için önemlidir. Biz de çalışmamızda YAP, pYAP, TEAD1 ve CTGF'nin lokalizasyonlarını endometriyumun lümen epiteli, bez epiteli ve stroma alanlarında değerlendirdik.

Kemirgenlerde östrus siklusu 4-5 gün sürer ve proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus fazlarından oluşur (Champlin ve ark., 1973; Byers ve ark., 2012). Uterusun dinamik değişimi E₂ ve P₄ tarafından düzenlenir. Farelerde östrodiol ovulasyondan önce yani östrus fazında pik yapar (Walmer ve ark., 1992; Fata ve ark., 2001).

Çalışmamızda östrus fazındaki farelere ait uteruslarda YAP, pYAP, TEAD1 ve CTGF'nin farklı düzeylerde ekspre olduğunu gözledik. Wood ve arkadaşları (2007) östrus siklusunun farklı safhalarındaki farelerin uteruslarında PCNA ekspresyonunu değerlendirmişler ve lümen epiteli ve stromadaki en yüksek ekspresyonun östrus fazında olduğunu bulmuşlardır (Wood ve ark., 2007). Çalışmamızda östrus fazı uteruslarına ait lümen ve bez epitelinde YAP, TEAD1 ve CTGF'nin ekspre olduğunu gözledik. Bu da bize östrodiol etkisi altında lümen ve bez epitelinin proliferasyonu olduğunu düşündürdü. Stromada ise YAP, TEAD1 ve CTGF'nin lümen ve bez epitelindekine kıyasla daha düşük ekspre olduğunu gözledik. Bu da bize stromada proliferasyonun henüz başlamadığını düşündürdü. Stromaya ait bulgumuz Wood ve arkadaşlarının bulguları ile

uyumlu değildi. Fakat PCNA proliferasyonun kesin belirteci değildir ve literatürde stroma proliferasyonunun gebeliğin 4. gününde başladığını belirten yayınlar bulunmaktadır (Huet-Hudson ve ark., 1989; Cha ve ark., 2012).

Uterustaki lümen epiteli, bez epiteli ve stroma hücreleri E₂ ve P₄'e farklı yanıtlar verirler. E₂ ve P₄ beraber etki göstererek uterus hücrelerinin proliferasyonu ve/ya farklılaşmasını düzenlerler. Farelerde gebeliğin 1. gününde uterus epitel hücreleri pre-ovulatuvar E₂'nin etkisiyle proliferer olur. Korpora luteadan salınan ve düzeyleri giderek artan P₄, 3. günden itibaren stroma hücrelerinin proliferasyonunu başlatır. Stromadaki proliferasyon gebeliğin 4. günü sabahı salgılanan ovaryan E₂ ile daha fazla uyarılır, epitel hücrelerinin proliferasyonu durur ve farklılaşma başlar (Huet-Hudson ve ark., 1989).

Gebeliğin 4. gününde stromada YAP, TEAD1 ve CTGF ekspresyonlarının arttığını buna karşın lümen epiteli ve bez epitelinde azaldığını gözledik. Bu da bize stroma hücrelerinde artan progesteron etkisi altında proliferasyonun gerçekleştiğini ve artık epitel hücrelerinde proliferasyonun durduğunu düşündürdü.

İmplantasyonun gerçekleştiği gebeliğin 5. gününe ait implantasyon bölgelerindeki lümen epitelinde pYAP ekspresyonunun diğer deney gruplarına ait lümen epitellerine kıyasla en yüksek seviyede, YAP, TEAD 1 ve CTGF ekspresyonlarının ise düşük seviyede olduğunu gözledik. Farelerde gebeliğin 5. gününde lümen epitelinin proliferer olmadığı ve farklılandığı bilinmektedir (Huet-Hudson ve ark., 1989). Bu açıdan bakıldığında bulgularımız literatür ile uyumludur. Gebeliğin 5. gününe ait implantasyon bölgelerindeki stromada ise hem YAP hem pYAP ekspresyonlarının yüksek olduğunu gözledik. pYAP'ı desidualizasyon sürecine katılmak üzere farklılaşmaya giden hücrelerin ekspre ettiğini düşünmekteyiz. YAP'ı ise primer desidua zonunun (PDZ) etrafında oluşacak sekonder desidua zonunun (SDZ) yapısına katılacak olan stroma hücrelerinin proliferer olmak için ekspre ettiklerini düşünmekteyiz. YAP ekspresyonunun blastosist etrafındaki stroma hücrelerinde diğer stroma alanlarına oranla daha az ekspre edilmesi bu düşüncemizi destekler nitelikteydi. Benzer şekilde YAP-TEAD1 kompleksinin ekspresyonunu indüklediği CTGF'nin de blastosist etrafındaki stroma

hücrelerinde diğer stroma alanlarına oranla daha az ekspre edildiğini gördük. Bu da bize PDZ dışında kalan stroma hücrelerinin proliferere olduğunu düşündürdü. Bu düşüncemizi Yuan ve arkadaşlarının bulgusu destekler nitelikteydi. Yuan ve arkadaşları gebeliğin 5. gününde Scrib/f farelerin (çalışmalarında kontrol grubu olarak kullanmışlardır) implantasyon bölgelerinde yaptıkları Ki67 immünohistokimyasında embriyonun hemen etrafındaki stroma hücrelerinin Ki67 ekspre etmediğini yani proliferasyonu durdurarak PDZ'yi oluşturmak üzere farklılaşmaya gittiği yorumunu yapmışlardır (Yuan ve ark., 2019).

Gebeliğin 6. gün implantasyon bölgelerine ait lümen epitelinde YAP ve TEAD1 ekspresyonlarının yüksek buna karşın CTGF ekspresyonunun düşük olduğunu gözledik. Bu da bize bu gündeki lümen epitelinde proliferasyonun ya çok az olduğunu ya da olmadığını düşündürdü. Gebeliğin 6. gününde epitelde proliferasyonun olmaması beklenir çünkü bu günde epitel hücreleri entosisin ardından gerçekleşen apoptoz ile ortadan kaldırılmaktadır (Li ve ark., 2015). Ota ve arkadaşları da fare embriyolarında yaptıkları çalışmada YAP ve TEAD1 dağılımının her zaman proliferasyonla korele olmadığını göstermişlerdir (Ota ve Sasaki, 2008). Gebeliğin 6. ve 8. günlerine ait implantasyon bölgelerindeki YAP, TEAD1 ve CTGF Western blot sonuçları ile bu günlere ait stromalardaki H-Score sonuçlarına baktığımızda iki günde de YAP ekspresyonunun yüksek; TEAD1 ekspresyonunun 8. günde daha düşük olmakla birlikte iki günde de düşük; CTGF ekspresyonunun ise iki günde de yüksek olduğunu gördük. Bu da bize YAP'ın başka bir TEAD (TEAD 2, 3 veya 4) ile kompleks oluşturarak CTGF ekspresyonunu indükleyebileceğini düşündürdü. Zhao ve arkadaşları HEK293, HEK293-T, NIH-3T3 ve ACHN hücrelerinde YAP'ın TEAD4 ile kompleks oluşturarak CTGF ekspresyonunu indüklediğini göstermişlerdir (Zhao, Ye, ve ark., 2008).

Benzer şekilde tüm deney gruplarına ait bez epitelindeki YAP ve TEAD1 ekspresyonuna baktığımızda korele şekilde ekspre olmadıklarını gördük. Örneğin, gebeliğin 4., 5. ve 6. günlerinde YAP ekspresyonu düşükken TEAD1 ekspresyonu yüksekti. Ancak YAP-TEAD1 kompleksinin ekspresyonunu indüklediği CTGF'nin bez epitelinde gebelik günleri ilerledikçe daha az ekspre olduğunu gördük. Gebeliğin yaklaşık 4. gününden itibaren proliferasyonun epitel hücrelerinden stroma hücrelerine kaydığı bilinmektedir

(Huet-Hudson ve ark., 1989). Bu açıdan bulgumuz literatür ile uyumludur. YAP ve TEAD1 arasında korele bir ekspresyonun olmaması bize TEAD1'in YAP dışında başka koaktivatörlerle de kompleks oluşturarak farklı genlerin ekspresyonunu sağlayabileceğini düşündürdü. Malt ve arkadaşları HeLa, MCF7 ve BUA hücre hatlarını kullandıkları çalışmalarında TEAD1'in Livin ile kompleks oluşturarak apoptozda rol aldığını göstermişlerdir (Landin Malt ve ark., 2012). Ayrıca Osman ve arkadaşları Tead1 heterozigot farelere ait vasküler düz kas hücrelerinde yaptıkları çalışmada TEAD1'in MCAT (muscle CAT element) ile kompleks oluşturarak SLC1A5'in transkripsiyonel indüksiyonunu sağlayarak vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu sağladığını göstermişlerdir (Osman ve ark., 2019).

Farelerde uterus sadece gebeliğin 4. günü reseptif olur, 5. gün öğleden sonra artık non-reseptif duruma geçer (Wang ve Dey, 2006). İmplantasyonu takiben gerçekleşen olaylardan birisi embriyo gelişimini desteklemek üzere stroma hücrelerinin desidua hücrelerine farklılaşmasıdır. Kemirgenlerde blastosistin etrafındaki stroma hücreleri proliferasyonu bırakır ve farklılaşarak primer desidua zonunu (PDZ) oluştururlar (Paria ve ark., 1999; J. Tan ve ark., 2002). PDZ avasküler bir zondur. Epitel-benzeri hücrelerin oluşturduğu bu zonun embriyoyu immün hücreler, mikroorganizmalar veya diğer zararlı ajanlardan bir bariyer oluşturarak koruduğu düşünülmektedir (Tung ve ark., 1986). PDZ gebeliğin 5. günü öğleden sonra oluşmaya başlar ve gebeliğin 6. gününde tamamen oluşmuştur (J. Tan ve ark., 2002). Sekonder desidua zonun (SDZ) oluşmaya başlamasıyla PDZ ortadan kalkar. SDZ, PDZ etrafında proliferasyonu olan ve farklılaşan stroma hücreleri tabakasıdır ve gebeliğin 8. gününde pik yapar.

Desidualizasyon sürecinde DNA sentezi, laminin ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks (ESM) bileşenlerinin sentezi ve depolanması gerçekleşir (S. R. Glasser ve ark., 1987; Armant, 1991; Rider ve ark., 1992). CTGF, DNA sentezi, kemotaksi, hücre proliferasyonu, fibronektin, tip 4 kollajen ve $\alpha 5$ integrin gibi ESM bileşenlerinin üretimi (Bradham ve ark., 1991; K. Frazier ve ark., 1996; Brigstock ve ark., 1997; Kireeva ve ark., 1997) gibi görevleri ile endometriyumun farklılaşmasında rol alıyor olabilir.

Gebeliğin 6. gününe ait implantasyon bölgelerindeki stroma alanlarında pYAP'ın hem PDZ hem SDZ'de yok denecek kadar az ekspre olduğunu; YAP'ın PDZ'de ekspre olmazken SDZ'de ekspre olduğunu; TEAD1'in hem PDZ hem SDZ'de ekspre olduğunu; CTGF'nin ise PDZ'de ekspre olmazken SDZ'de ekspre olduğunu gözledik. Bu bulgularımız bize gebeliğin 6. gününde PDZ gerilediği ve SDZ proliferasyona devam ettiği için YAP-TEAD1 kompleksinin CTGF ekspresyonunu uyararak SDZ'de proliferasyonu sağladığını düşündürdü. PDZ'de TEAD1 ekspre olurken YAP'ın ekspre olmaması bize TEAD1'in başka koaktivatörlerle kompleks oluşturarak başka fonksiyonlarının olabileceğini tekrar düşündürdü. TEAD1'in Livin ile kompleks oluşturarak apoptozda rol alması (Landin Malt ve ark., 2012), MCAT (muscle CAT element) ile kompleks oluşturarak SLC1A5'in transkripsiyonel indüksiyonunu sağlaması (Osman ve ark., 2019) bunlara birer örnektir.

Surveyor ve arkadaşları çalışmalarında farelerde östrus siklusu ve erken gebelik boyunca CTGF lokalizasyonunu immünohistokimya yöntemi ile incelemişlerdir (Surveyor ve ark., 1998). Diöstrus ve erken proöstrus boyunca CTGF'nin lümen ve bez epitelinde yüksek, östrus fazında ise daha düşük düzeyde ekspre edildiğini belirlemişlerdir. Gebeliğin 1.5-3.5.günlerinde CTGF'nin başlıca epitel hücrelerinde yerleşim gösterdiğini gebeliğin 4.5. gününde ise ekspresyonun oldukça azaldığını göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda lümen ve bez epitelindeki CTGF ekspresyonlarının östrus fazından gebeliğin 8. gününe kadar kademeli bir şekilde azaldığını; gebeliğin 5. gününde lümen ve bez epitelindeki CTGF ekspresyonunun gebeliğin 1 ve 4. günlerindeki kıyasla azaldığını gözledik. Surveyor ve arkadaşları gebeliğin 5.5 gününde desidua hücrelerine farklı stroma hücrelerinde yüksek düzeyde, desidualizasyon zonuna bitişik farklı stroma hücrelerinde ise zayıf CTGF ekspresyonu tespit etmişlerdir. Gebeliğin 6.5 gününde desidualize olan çoğu stroma hücrelerinin şiddetli CTGF eksprese ettiğini belirlemişlerdir. Biz ise çalışmamızda Surveyor ve arkadaşlarından farklı olarak CTGF'nin gebeliğin 6. gününde embriyoyu hemen çevreleyen bölgede yani PDZ'de düşük, SDZ'de ise yüksek düzeyde ekspre edildiğini gözledik. Gebeliğin 8. gününde SDZ'de yüksek düzeyde CTGF ekspresyonu gözledik.

Rageh ve arkadaşları çalışmalarında yalancı gebeliğin farklı günlerindeki (vajinal plağın görüldüğü günü yalancı gebeliğin 0.5 günü olarak kabul etmişlerdir) ve overektomize edildikten sonra E₂ ve/veya P₄ uygulanan farelerdeki CTGF ekspresyonunu incelemişlerdir (Rageh ve ark., 2001). Çalışmalarında yalancı gebeliğin 0.5-2.5. günlerinde CTGF'nin çoğunlukla epitel hücrelerinde olduğunu, 3.5-4.5. günlerinde epitelde CTGF ekspresyonunun azalıp stroma ve endotelde arttığını belirlemişlerdir. Bu bulgular bizim gerçek gebelik günlerinde elde ettiğimiz bulgularla uyumludur. Araştırmacılar sonuç olarak CTGF ekspresyonunun blastosistten bağımsız olduğunu ve maternal faktörlere bağlı olduğunu, steroid hormonlar tarafından düzenlendiği yorumunu yapmışlardır.

CTGF'nin endotel hücre fonksiyonu ve anjiyogenezin düzenlenmesinde rolleri vardır. CTGF'nin in vitroda endotel hücrelerin büyümesi, göçü, adezyonu ve yaşamını sürdürmesini sağladığı gösterilmiştir. VEGF'e yanıt olarak endotel hücrelerinde CTGF ekspresyonunun aktive olduğu, endotel hücre proliferasyonunun in vitroda CTGF antagonistleri tarafından baskılandığı gösterilmiştir. CTGF knock-out farelerde embriyogenez boyunca vasküler defektler görülmüştür (Brigstock, 2002). Östrojen ve progesteronun in vivo da anjiyogenez üzerinde farklı etkileri olduğunu bilinmektedir. Östrojen uterusu vasküler geçirgenliği artırırken anjiyogenezini inhibe etmekte progesteron ise vasküler geçirgenlik üzerinde çok az etkiye sahipken anjiyogenezini indüklemektedir (W. Ma ve ark., 2001). Östrojen ve progesteronun bu etkilerine uterusdaki anjiyogenik faktörler aracılık etmektedir.

Çalışmamızda östrus fazından gebeliğin 8. gününe kadar olan örneklerin stromalarında CTGF ekspresyonunun arttığını gözledik. Bu da bize gebelik boyunca stromada ekstraselüler matriks yeniden modellenmesi ve anjiyogenez süreçleri gerçekleşirken CTGF'nin rol alabileceğini düşündürdü. Östrojenin daha fazla etkili olduğu östrus fazı ve gebeliğin 1. gününe ait uteruslarda CTGF'nin ekspresyonunun daha düşük olduğunu ve dolayısıyla anjiyogenezin henüz gerçekleşmediğini, gebeliğin 4. gününden itibaren artan progesteron ve CTGF etkisiyle anjiyogenezin arttığını düşünmekteyiz.

Moon ve arkadaşları çalışmalarında östrus siklusunun farklı safhalarındaki farelerin uteruslarında STK3/4 (serin/threonine kinaz 3/4) diğer adıyla MST1/2 ekspresyonunu incelemişlerdir (Moon ve ark., 2019). Araştırmacılar STK3/4'ün diöstrus fazından itibaren artarak östrus fazında en yüksek seviyesine ulaştığını, pSTK3/4'ün de östrus fazında arttığını göstermişlerdir. Ayrıca overektomize farelere E₂ uyguladıklarında STK3/4 ekspresyonunun arttığını ancak P₄ uyguladıklarında artmadığını, östrojen reseptör antagonisti ICI182,780 uyguladıklarında ise STK3/4 ve fosforile formunun ekspresyonlarının azaldığını göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda MST1/2'nin fosforillemesinden sonra fosforilasyonunu sağladığı YAP'ın östrus fazına ait uteruslarda ekspre edildiğini gözledik. Dolayısıyla çalışmamız ve Moon ve ekibinin çalışmasından elde edilen bulgular ile östrus siklusu boyunca değişimler geçiren uterusda Hippo sinyal yolağının rolü olduğu yorumunu yapabiliriz.

Endometriyum hücreleri steroid hormonlar tarafından düzenlenen moleküllerin etkisiyle proliferasyon, farklılaşma, ekstraselüler matriks yeniden şekillenmesi süreçlerini geçirir. Embriyonun sağlıklı gelişiminin yanısıra uterusun senkronize olarak reseptif hale gelmesi, embriyo-uterusun karşılıklı konuşması, stroma hücrelerinin desidua hücrelerine farklılaşması, anjiyogenez ve plasenta gelişimi gebeliğin başarılı bir şekilde sonlanması için oldukça kritiktir. Biz de çalışmamızda peri-implantasyon dönemindeki farelere ait uterus ve implantasyon bölgelerinde Hippo sinyal yolağı üyelerinden YAP, pYAP TEAD1 ve CTGF'nin ekspresyonlarını inceledik. Sonuç olarak Hippo sinyal yolağının östrus siklusu ve erken gebelik döneminde rolleri olduğunu söylememiz mümkündür.

Çalışmamız Hippo sinyal yolağının peri-implantif dönem fare uterus ve implantasyon bölgelerindeki rolünü in vivo olarak ortaya koyan ilk araştırmadır. Bu bulgularımızın ileride klinikte karşılaşılan implantasyon başarısızlığı ve tekrarlayan gebelik kayıpları gibi mekanizmaların aydınlatılabilmesi için önemli olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada; gebeliğin 1, 4, 5, 6 ve 8. günlerinde bulunan farelere ait uterus ve implantasyon bölgeleri ile östrus fazındaki farelere ait uteruslarda Hippo sinyal yolağı üyelerinden YAP, pYAP, TEAD1 ve CTGF'nin lokalizasyon ve ekspresyonları immünohistokimya ve Western blot yöntemleri ile araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre sonuçlar maddeler halinde özetlenmiştir:

1. Çalışmamız fare östrus fazı uterusları ve peri-implantif dönem uterus ve implantasyon bölgelerinde Hippo sinyal yolağı üyelerinden YAP, pYAP, TEAD1 ve CTGF'nin lokalizasyon ve ekspresyonlarını gösteren literatürdeki ilk çalışmadır.
2. pYAP, implantasyonun gerçekleştiği gebeliğin 5. gününde lümen epitelinde en yüksek ekspresyon seviyesine ulaşmıştır.
3. YAP, desidualizasyonun gerçekleştiği gebeliğin 6. ve 8. gün implantasyon bölgelerinde stroma alanlarında en yüksek ekspresyon seviyededir.
4. YAP ile kompleks oluşturarak CTGF'nin ekspresyonunu sağlayan bir transkripsiyon faktörü olan TEAD1 ekspresyonu her zaman YAP ve CTGF ile korele şekilde izlenmemiştir.
5. CTGF'nin, lümen epiteli ve bez epitelinde östrus fazından gebeliğin 8. gününe kadar kademeli olarak azaldığı; stromada ise östrus fazından gebeliğin 8. gününe kadar kademeli olarak arttığı gözlenmiştir.
6. Çalışmamızın bulguları erken gebelik sürecinde Hippo sinyal yolağının embriyo implantasyonu ve desidualizasyon ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür.
7. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgular implantasyon ve desidualizasyon ile ilgili yapılacak başka çalışmalar için temel oluşturacaktır.
8. Bulgularımızın ileride klinikte tekrarlayan gebelik kayıpları ve implantasyon bozuklukları mekanizmalarına ışık tutabilecek ve tüp bebek tedavi süreçlerine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Acar, N. Farelerde gebelik boyunca fkbp52 ile prdx6 arasındaki etkileşimler. 2012.
- Allen, J. T., Knight, R. A., Bloor, C. A., & Spiteri, M. A. Enhanced insulin-like growth factor binding protein-related protein 2 (connective tissue growth factor) expression in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary sarcoidosis. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 1999; 21 (6): 693-700.
- Andrew Murphy, D. M. R. Gross anatomy, uterus. *Radiopaedia*.
- Armant, D. R. Cell interactions with laminin and its proteolytic fragments during outgrowth of mouse primary trophoblast cells. *Biol Reprod*. 1991; 45 (5): 664-672.
- Atkins, M. *Drosophila* genetics: The power of genetic mosaic approaches. *Methods Mol Biol*. 2019; 1893: 27-42.
- Bae, S. J., Kim, M., Kim, S. H., Kwon, Y. E., Lee, J. H., Kim, J., . . . Seol, J. H. Nedd4 controls intestinal stem cell homeostasis by regulating the hippo signalling pathway. *Nature communications*. 2015; 6: 6314.
- Bae, S. J., & Luo, X. Activation mechanisms of the hippo kinase signaling cascade. *Bioscience reports*. 2018; 38 (4).
- Ball, D. K., Surveyor, G. A., Diehl, J. R., Steffen, C. L., Uzumcu, M., Mirando, M. A., & Brigstock, D. R. Characterization of 16- to 20-kilodalton (kda) connective tissue growth factors (ctgfs) and demonstration of proteolytic activity for 38-kda ctgf in pig uterine luminal flushings. *Biol Reprod*. 1998; 59 (4): 828-835.
- Bao, Y., Hata, Y., Ikeda, M., & Withanage, K. Mammalian hippo pathway: From development to cancer and beyond. *Journal of biochemistry*. 2011; 149 (4): 361-379.
- Bao, Y., Nakagawa, K., Yang, Z., Ikeda, M., Withanage, K., Ishigami-Yuasa, M., . . . Hata, Y. A cell-based assay to screen stimulators of the hippo pathway reveals the inhibitory effect of dobutamine on the yap-dependent gene transcription. *J Biochem*. 2011; 150 (2): 199-208.

Basu, S., Totty, N. F., Irwin, M. S., Sudol, M., & Downward, J. Akt phosphorylates the yes-associated protein, yap, to induce interaction with 14-3-3 and attenuation of p73-mediated apoptosis. *Mol Cell*. 2003; 11 (1): 11-23.

Beer, A. E. a. R. E. B. Immunoregulatory aspects of pregnancy. *Fed Proc*. 1978: 2374-2378.

Bonilla, X., Parmentier, L., King, B., Bezrukov, F., Kaya, G., Zoete, V., . . . Nikolaev, S. I. Genomic analysis identifies new drivers and progression pathways in skin basal cell carcinoma. *Nat Genet*. 2016; 48 (4): 398-406.

Bowen, R. Attachment and implantation. 2000.

Bradham, D. M., Igarashi, A., Potter, R. L., & Grotendorst, G. R. Connective tissue growth factor: A cysteine-rich mitogen secreted by human vascular endothelial cells is related to the src-induced immediate early gene product cef-10. *The Journal of cell biology*. 1991; 114 (6): 1285-1294.

Brigstock, D. R. Regulation of angiogenesis and endothelial cell function by connective tissue growth factor (ctgf) and cysteine-rich 61 (cyr61). *Angiogenesis*. 2002; 5 (3): 153-165.

Brigstock, D. R., Steffen, C. L., Kim, G. Y., Vegunta, R. K., Diehl, J. R., & Harding, P. A. Purification and characterization of novel heparin-binding growth factors in uterine secretory fluids. Identification as heparin-regulated mr 10,000 forms of connective tissue growth factor. *The Journal of biological chemistry*. 1997; 272 (32): 20275-20282.

Byers, S. L., Wiles, M. V., Dunn, S. L., & Taft, R. A. Mouse estrous cycle identification tool and images. *PloS one*. 2012; 7 (4): e35538.

Cai, H., & Xu, Y. The role of lpa and yap signaling in long-term migration of human ovarian cancer cells. *Cell Commun Signal*. 2013; 11 (1): 31.

Cai, J., Zhang, N., Zheng, Y., de Wilde, R. F., Maitra, A., & Pan, D. The hippo signaling pathway restricts the oncogenic potential of an intestinal regeneration program. *Genes & development*. 2010; 24 (21): 2383-2388.

Callus, B. A., Verhagen, A. M., & Vaux, D. L. Association of mammalian sterile twenty kinases, mst1 and mst2, with hsalvador via c-terminal coiled-coil domains, leads to its stabilization and phosphorylation. *FEBS J*. 2006; 273 (18): 4264-4276.

- Camargo, F. D., Gokhale, S., Johnnidis, J. B., Fu, D., Bell, G. W., Jaenisch, R., & Brummelkamp, T. R. Yap1 increases organ size and expands undifferentiated progenitor cells. *Current biology : CB*. 2007; 17 (23): 2054-2060.
- Cha, J., Sun, X., & Dey, S. K. Mechanisms of implantation: Strategies for successful pregnancy. *Nature medicine*. 2012; 18 (12): 1754-1767.
- Champlin, A. K., Dorr, D. L., & Gates, A. H. Determining the stage of the estrous cycle in the mouse by the appearance of the vagina. *Biol Reprod*. 1973; 8 (4): 491-494.
- Chan, E. H., Nousiainen, M., Chalamalasetty, R. B., Schafer, A., Nigg, E. A., & Sillje, H. H. The ste20-like kinase mst2 activates the human large tumor suppressor kinase lats1. *Oncogene*. 2005; 24 (12): 2076-2086.
- Chen, H., Song, Y., Yang, S., Fu, J., Feng, X., & Huang, W. Yap mediates human decidualization of the uterine endometrial stromal cells. *Placenta*. 2017; 53: 30-35.
- Chen, H. I., & Sudol, M. The ww domain of yes-associated protein binds a proline-rich ligand that differs from the consensus established for src homology 3-binding modules. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1995; 92 (17): 7819-7823.
- Cherrett, C., Furutani-Seiki, M., & Bagby, S. The hippo pathway: Key interaction and catalytic domains in organ growth control, stem cell self-renewal and tissue regeneration. *Essays in biochemistry*. 2012; 53: 111-127.
- Cockburn, K., & Rossant, J. Making the blastocyst: Lessons from the mouse. *J Clin Invest*. 2010; 120 (4): 995-1003.
- Cordenonsi, M., Zanconato, F., Azzolin, L., Forcato, M., Rosato, A., Frasson, C., . . . Piccolo, S. The hippo transducer taz confers cancer stem cell-related traits on breast cancer cells. *Cell*. 2011; 147 (4): 759-772.
- Croy, A. *The guide to investigation of mouse pregnancy*. Elsevier. 2014.
- Dey, S. K., & Johnson, D. C. Embryonic signals in pregnancy. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1986; 476: 49-62.

- Dickson, A. D. Trophoblastic giant cell transformation of mouse blastocysts. *Journal of reproduction and fertility*. 1963; 6: 465-466.
- Dong, J., Feldmann, G., Huang, J., Wu, S., Zhang, N., Comerford, S. A., . . . Pan, D. Elucidation of a universal size-control mechanism in drosophila and mammals. *Cell*. 2007; 130 (6): 1120-1133.
- Enders, A. C., & Schlafke, S. Cytological aspects of trophoblast-uterine interaction in early implantation. *Am J Anat*. 1969; 125 (1): 1-29.
- Fata, J. E., Chaudhary, V., & Khokha, R. Cellular turnover in the mammary gland is correlated with systemic levels of progesterone and not 17beta-estradiol during the estrous cycle. *Biol Reprod*. 2001; 65 (3): 680-688.
- Fitzgerald, J. S., Poehlmann, T. G., Schleussner, E., & Markert, U. R. Trophoblast invasion: The role of intracellular cytokine signalling via signal transducer and activator of transcription 3 (stat3). *Hum Reprod Update*. 2008; 14 (4): 335-344.
- Fox, J. G., Barthold, S., Davisson, M., Newcomer, C. E., Quimby, F. W., & Smith, A. *The mouse in biomedical research: Normative biology, husbandry, and models* (vol. 3). Elsevier; p: . 2006.
- Frazier, K., Williams, S., Kothapalli, D., Klapper, H., & Grotendorst, G. R. Stimulation of fibroblast cell growth, matrix production, and granulation tissue formation by connective tissue growth factor. *The Journal of investigative dermatology*. 1996; 107 (3): 404-411.
- Frazier, K. S., & Grotendorst, G. R. Expression of connective tissue growth factor mrna in the fibrous stroma of mammary tumors. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 1997; 29 (1): 153-161.
- Fulford, A., Tapon, N., & Ribeiro, P. S. Upstairs, downstairs: Spatial regulation of hippo signalling. *Curr Opin Cell Biol*. 2018; 51: 22-32.
- Ganem, N. J., Cornils, H., Chiu, S. Y., O'Rourke, K. P., Arnaud, J., Yimlamai, D., . . . Pellman, D. Cytokinesis failure triggers hippo tumor suppressor pathway activation. *Cell*. 2014; 158 (4): 833-848.

Gardner, R. L. Investigation of cell lineage and differentiation in the extraembryonic endoderm of the mouse embryo. *Journal of embryology and experimental morphology*. 1982; 68: 175-198.

Glasser, S. R., Aplin, J. D., Giudice, L. C., & Tabibzadeh, S. *The endometrium*: Crc press. 2004.

Glasser, S. R., Lampelo, S., Munir, M. I., & Julian, J. Expression of desmin, laminin and fibronectin during in situ differentiation (decidualization) of rat uterine stromal cells. *Differentiation; research in biological diversity*. 1987; 35 (2): 132-142.

Goulev, Y., Fauny, J. D., Gonzalez-Marti, B., Flagiello, D., Silber, J., & Zider, A. Scalloped interacts with yorkie, the nuclear effector of the hippo tumor-suppressor pathway in drosophila. *Curr Biol*. 2008; 18 (6): 435-441.

Hamaratoglu, F., Willecke, M., Kango-Singh, M., Nolo, R., Hyun, E., Tao, C., . . . Halder, G. The tumour-suppressor genes *nf2/merlin* and *expanded* act through hippo signalling to regulate cell proliferation and apoptosis. *Nat Cell Biol*. 2006; 8 (1): 27-36.

Hansen, C. G., Moroishi, T., & Guan, K. L. *Yap* and *taz*: A nexus for hippo signaling and beyond. *Trends Cell Biol*. 2015; 25 (9): 499-513.

Harper, M. J. Platelet-activating factor: A paracrine factor in preimplantation stages of reproduction? *Biology of reproduction*. 1989; 40 (5): 907-913.

Harvey, K. F., Pflieger, C. M., & Hariharan, I. K. The drosophila *mst* ortholog, *hippo*, restricts growth and cell proliferation and promotes apoptosis. *Cell*. 2003; 114 (4): 457-467.

Harvey, K. F., Zhang, X., & Thomas, D. M. The hippo pathway and human cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13 (4): 246-257.

He, L., & Hannon, G. J. *Micromnas*: Small rnas with a big role in gene regulation. *Nature reviews. Genetics*. 2004; 5 (7): 522-531.

He, M., Zhou, Z., Shah, A. A., Hong, Y., Chen, Q., & Wan, Y. New insights into posttranslational modifications of hippo pathway in carcinogenesis and therapeutics. *Cell Div*. 2016; 11: 4.

Hiemer, S. E., Szymaniak, A. D., & Varelas, X. The transcriptional regulators taz and yap direct transforming growth factor beta-induced tumorigenic phenotypes in breast cancer cells. *The Journal of biological chemistry*. 2014; 289 (19): 13461-13474.

Hirota, Y. Uterine receptivity in mouse embryo implantation. 27 May 2016.

Hirsch, F. R., Scagliotti, G. V., Langer, C. J., Varella-Garcia, M., & Franklin, W. A. Epidermal growth factor family of receptors in preneoplasia and lung cancer: Perspectives for targeted therapies. *Lung cancer*. 2003; 41 Suppl 1: S29-42.

Hishikawa, K., Oemar, B. S., Tanner, F. C., Nakaki, T., Fujii, T., & Luscher, T. F. Overexpression of connective tissue growth factor gene induces apoptosis in human aortic smooth muscle cells. *Circulation*. 1999; 100 (20): 2108-2112.

Ho, K. C., Zhou, Z., She, Y. M., Chun, A., Cyr, T. D., & Yang, X. Itch e3 ubiquitin ligase regulates large tumor suppressor 1 stability [corrected]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; 108 (12): 4870-4875.

Hossain, Z., Ali, S. M., Ko, H. L., Xu, J., Ng, C. P., Guo, K., . . . Hunziker, W. Glomerulocystic kidney disease in mice with a targeted inactivation of *wvtr1*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007; 104 (5): 1631-1636.

<http://en.wikipedia.org/wiki/Estrus#Estrus>.

Huang, C. C., Orvis, G. D., Wang, Y., & Behringer, R. R. Stromal-to-epithelial transition during postpartum endometrial regeneration. *PloS one*. 2012; 7 (8): e44285.

Huang, J., Wu, S., Barrera, J., Matthews, K., & Pan, D. The hippo signaling pathway coordinately regulates cell proliferation and apoptosis by inactivating yorkie, the drosophila homolog of yap. *Cell*. 2005; 122 (3): 421-434.

Huet-Hudson YM, A. G., Dey SK. Cell type-specific localization of c-myc protein in the mouse uterus: Modulation by steroid hormones and analysis of the periimplantation period. *Endocrinology*. 1989: 1683-1690.

Huet-Hudson, Y. M., Andrews, G. K., & Dey, S. K. Cell type-specific localization of c-myc protein in the mouse uterus: Modulation by steroid hormones and analysis of the periimplantation period. *Endocrinology*. 1989; 125 (3): 1683-1690.

Igarashi, A., Nashiro, K., Kikuchi, K., Sato, S., Ihn, H., Fujimoto, M., . . . Takehara, K. Connective tissue growth factor gene expression in tissue sections from localized scleroderma, keloid, and other fibrotic skin disorders. *The Journal of investigative dermatology*. 1996; 106 (4): 729-733.

Igarashi, A., Nashiro, K., Kikuchi, K., Sato, S., Ihn, H., Grotendorst, G. R., & Takehara, K. Significant correlation between connective tissue growth factor gene expression and skin sclerosis in tissue sections from patients with systemic sclerosis. *The Journal of investigative dermatology*. 1995; 105 (2): 280-284.

Igarashi, A., Okochi, H., Bradham, D. M., & Grotendorst, G. R. Regulation of connective tissue growth factor gene expression in human skin fibroblasts and during wound repair. *Molecular biology of the cell*. 1993; 4 (6): 637-645.

Ishibashi, H., Suzuki, T., Suzuki, S., Moriya, T., Kaneko, C., Takizawa, T., . . . Sasano, H. Sex steroid hormone receptors in human thymoma. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003; 88 (5): 2309-2317.

Ishibashi, H., T. Suzuki. Sex steroid hormone receptors in human thymoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003.

Ishizaki, K., Fujimoto, J., Kumimoto, H., Nishimoto, Y., Shimada, Y., Shinoda, M., & Yamamoto, T. Frequent polymorphic changes but rare tumor specific mutations of the *lats2* gene on 13q11-12 in esophageal squamous cell carcinoma. *International journal of oncology*. 2002; 21 (5): 1053-1057.

Ito, Y., Aten, J., Bende, R. J., Oemar, B. S., Rabelink, T. J., Weening, J. J., & Goldschmeding, R. Expression of connective tissue growth factor in human renal fibrosis. *Kidney international*. 1998; 53 (4): 853-861.

Jacquemin, P., Sapin, V., Alsat, E., Evain-Brion, D., Dolle, P., & Davidson, I. Differential expression of the *tef* family of transcription factors in the murine placenta and during differentiation of primary human trophoblasts in vitro. *Dev Dyn*. 1998; 212 (3): 423-436.

Jia, J., Zhang, W., Wang, B., Trinko, R., & Jiang, J. The *drosophila ste20* family kinase *dmst* functions as a tumor suppressor by restricting cell proliferation and promoting apoptosis. *Genes & development*. 2003; 17 (20): 2514-2519.

John, T., Liu, G., & Tsao, M. S. Overview of molecular testing in non-small-cell lung cancer: Mutational analysis, gene copy number, protein expression and other biomarkers of egfr for the prediction of response to tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene*. 2009; 28 Suppl 1: S14-23.

Johnson, R., & Halder, G. The two faces of hippo: Targeting the hippo pathway for regenerative medicine and cancer treatment. *Nat Rev Drug Discov*. 2014; 13 (1): 63-79.

Junqueira, L. C., Carneiro, J., Kelley, R. O., Aytekin, Y., & Solakoğlu, S. *Temel histoloji: Barış Kitabevi*; 1993, p:

Justice, R. W., Zilian, O., Woods, D. F., Noll, M., & Bryant, P. J. The drosophila tumor suppressor gene warts encodes a homolog of human myotonic dystrophy kinase and is required for the control of cell shape and proliferation. *Genes & development*. 1995; 9 (5): 534-546.

Kanai, F., Marignani, P. A., Sarbassova, D., Yagi, R., Hall, R. A., Donowitz, M., . . . Yaffe, M. B. Taz: A novel transcriptional co-activator regulated by interactions with 14-3-3 and pdz domain proteins. *The EMBO journal*. 2000; 19 (24): 6778-6791.

Kaneko, K. J., & DePamphilis, M. L. Regulation of gene expression at the beginning of mammalian development and the tead family of transcription factors. *Developmental genetics*. 1998; 22 (1): 43-55.

Kango-Singh, M., Nolo, R., Tao, C., Verstreken, P., Hiesinger, P. R., Bellen, H. J., & Halder, G. Shar-pei mediates cell proliferation arrest during imaginal disc growth in drosophila. *Development*. 2002; 129 (24): 5719-5730.

Kennedy, T. G. Prostaglandins and uterine sensitization for the decidual cell reaction. *Ann N Y Acad Sci*. 1986; 476: 43-48.

Kim, M. K., Jang, J. W., & Bae, S. C. DNA binding partners of yap/taz. *BMB Rep*. 2018; 51 (3): 126-133.

Kim, N. G., Koh, E., Chen, X., & Gumbiner, B. M. E-cadherin mediates contact inhibition of proliferation through hippo signaling-pathway components. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; 108 (29): 11930-11935.

Kireeva, M. L., Latinkic, B. V., Kolesnikova, T. V., Chen, C. C., Yang, G. P., Abler, A. S., & Lau, L. F. Cyr61 and fisp12 are both ecm-associated signaling molecules: Activities,

metabolism, and localization during development. *Experimental cell research*. 1997; 233 (1): 63-77.

Kodaka, M., & Hata, Y. The mammalian hippo pathway: Regulation and function of yap1 and taz. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2015; 72 (2): 285-306.

Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., Yamaguchi, A., Sasaki, K., Deguchi, K., . . . Kishimoto, T. Targeted disruption of cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*. 1997; 89 (5): 755-764.

Lai, Z. C., Wei, X., Shimizu, T., Ramos, E., Rohrbaugh, M., Nikolaidis, N., . . . Li, Y. Control of cell proliferation and apoptosis by mob as tumor suppressor, mats. *Cell*. 2005; 120 (5): 675-685.

Landin Malt, A., Cagliero, J., Legent, K., Silber, J., Zider, A., & Flagiello, D. Alteration of tead1 expression levels confers apoptotic resistance through the transcriptional up-regulation of livin. *PloS one*. 2012; 7 (9): e45498.

Lee, J. H., Kavanagh, J. J., Wildrick, D. M., Wharton, J. T., & Blick, M. Frequent loss of heterozygosity on chromosomes 6q, 11, and 17 in human ovarian carcinomas. *Cancer research*. 1990; 50 (9): 2724-2728.

Lei, Q. Y., Zhang, H., Zhao, B., Zha, Z. Y., Bai, F., Pei, X. H., . . . Guan, K. L. Taz promotes cell proliferation and epithelial-mesenchymal transition and is inhibited by the hippo pathway. *Molecular and cellular biology*. 2008; 28 (7): 2426-2436.

Li, Y., Sun, X., & Dey, S. K. Entosis allows timely elimination of the luminal epithelial barrier for embryo implantation. *Cell reports*. 2015; 11 (3): 358-365.

Lian, I., Kim, J., Okazawa, H., Zhao, J., Zhao, B., Yu, J., . . . Guan, K. L. The role of yap transcription coactivator in regulating stem cell self-renewal and differentiation. *Genes & development*. 2010; 24 (11): 1106-1118.

Lignitto, L., Arcella, A., Sepe, M., Rinaldi, L., Delle Donne, R., Gallo, A., . . . Feliciello, A. Proteolysis of mob1 by the ubiquitin ligase praja2 attenuates hippo signalling and supports glioblastoma growth. *Nature communications*. 2013; 4: 1822.

Lim, H. J., & Wang, H. Uterine disorders and pregnancy complications: Insights from mouse models. *The Journal of clinical investigation*. 2010; 120 (4): 1004-1015.

Ma, B., Chen, Y., Chen, L., Cheng, H., Mu, C., Li, J., . . . Wu, S. Hypoxia regulates hippo signalling through the siah2 ubiquitin e3 ligase. *Nat Cell Biol.* 2015; 17 (1): 95-103.

Ma, W., Tan, J., Matsumoto, H., Robert, B., Abrahamson, D. R., Das, S. K., & Dey, S. K. Adult tissue angiogenesis: Evidence for negative regulation by estrogen in the uterus. *Molecular endocrinology.* 2001; 15 (11): 1983-1992.

Magnuson T, E. C. The mammalian preimplantation embryo: Regulation of growth and differentiation. New York: Plenum. 1987.

Makita, R., Uchijima, Y., Nishiyama, K., Amano, T., Chen, Q., Takeuchi, T., . . . Kurihara, H. Multiple renal cysts, urinary concentration defects, and pulmonary emphysematous changes in mice lacking taz. *American journal of physiology. Renal physiology.* 2008; 294 (3): F542-553.

Mara H. Rendi, R. L. G., Kelly L. Boyd. (2012). In comparative anatomy and histology. In *Female reproductive system* (pp. 253-284.).

Maybin, J. A., Barcroft, J., Thiruchelvam, U., Hirani, N., Jabbour, H. N., & Critchley, H. O. The presence and regulation of connective tissue growth factor in the human endometrium. *Human reproduction.* 2012; 27 (4): 1112-1121.

Maybin, J. A., & Critchley, H. O. Menstrual physiology: Implications for endometrial pathology and beyond. *Hum Reprod Update.* 2015; 21 (6): 748-761.

Meng, Z., Moroishi, T., & Guan, K. L. Mechanisms of hippo pathway regulation. *Genes & development.* 2016; 30 (1): 1-17.

Miller, E., Yang, J., DeRan, M., Wu, C., Su, A. I., Bonamy, G. M., . . . Wu, X. Identification of serum-derived sphingosine-1-phosphate as a small molecule regulator of yap. *Chem Biol.* 2012; 19 (8): 955-962.

Mitamura, T., Watari, H., Wang, L., Kanno, H., Kitagawa, M., Hassan, M. K., . . . Sakuragi, N. Microrna 31 functions as an endometrial cancer oncogene by suppressing hippo tumor suppressor pathway. *Mol Cancer.* 2014; 13: 97.

Mo, J. S., Yu, F. X., Gong, R., Brown, J. H., & Guan, K. L. Regulation of the hippo-yap pathway by protease-activated receptors (pars). *Genes & development.* 2012; 26 (19): 2138-2143.

Moon, S., Lee, O. H., Lee, S., Lee, J., Park, H., Park, M., . . . Choi, Y. Stk3/4 expression is regulated in uterine endometrial cells during the estrous cycle. *Cells*. 2019; 8 (12).

Moore, K. L., Persaud, T., Yıldırım, M., Okar, İ., & Dalçık, H. Klinik yönleri ile insan embriyolojisi: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002, p:

Murakami, M., Nakagawa, M., Olson, E. N., & Nakagawa, O. A ww domain protein taz is a critical coactivator for tbx5, a transcription factor implicated in holt-oram syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005; 102 (50): 18034-18039.

Nagashima, T., Kim, J., Li, Q., Lydon, J. P., DeMayo, F. J., Lyons, K. M., & Matzuk, M. M. Connective tissue growth factor is required for normal follicle development and ovulation. *Molecular endocrinology*. 2011; 25 (10): 1740-1759.

Nakanishi, T., Nishida, T., Shimo, T., Kobayashi, K., Kubo, T., Tamatani, T., . . . Takigawa, M. Effects of ctgf/hcs24, a product of a hypertrophic chondrocyte-specific gene, on the proliferation and differentiation of chondrocytes in culture. *Endocrinology*. 2000; 141 (1): 264-273.

Noviello, C., Courjal, F., & Theillet, C. Loss of heterozygosity on the long arm of chromosome 6 in breast cancer: Possibly four regions of deletion. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 1996; 2 (9): 1601-1606.

Oemar, B. S., & Luscher, T. F. Connective tissue growth factor. Friend or foe? *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1997; 17 (8): 1483-1489.

Oh, H., & Irvine, K. D. In vivo regulation of yorkie phosphorylation and localization. *Development*. 2008; 135 (6): 1081-1088.

Oh, H., & Irvine, K. D. Yorkie: The final destination of hippo signaling. *Trends Cell Biol*. 2010; 20 (7): 410-417.

Oh, S. Y., Song, S. E., Seo, E. S., Kim, K. H., Choi, S. J., Suh, Y. L., . . . Roh, C. R. The expression of connective tissue growth factor in pregnancies complicated by severe preeclampsia or fetal growth restriction. *Placenta*. 2009; 30 (11): 981-987.

Oka, T., Mazack, V., & Sudol, M. Mst2 and lats kinases regulate apoptotic function of yes kinase-associated protein (yap). *The Journal of biological chemistry*. 2008; 283 (41): 27534-27546.

Osman, I., He, X., Liu, J., Dong, K., Wen, T., Zhang, F., . . . Zhou, J. Tead1 (tea domain transcription factor 1) promotes smooth muscle cell proliferation through upregulating slc1a5 (solute carrier family 1 member 5)-mediated glutamine uptake. *Circulation research*. 2019; 124 (9): 1309-1322.

Ota, M., & Sasaki, H. Mammalian tead proteins regulate cell proliferation and contact inhibition as transcriptional mediators of hippo signaling. *Development*. 2008; 135 (24): 4059-4069.

Otto, F., Thornell, A. P., Crompton, T., Denzel, A., Gilmour, K. C., Rosewell, I. R., . . . Owen, M. J. Cbfa1, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell*. 1997; 89 (5): 765-771.

Overholtzer, M., Zhang, J., Smolen, G. A., Muir, B., Li, W., Sgroi, D. C., . . . Haber, D. A. Transforming properties of yap, a candidate oncogene on the chromosome 11q22 amplicon. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006; 103 (33): 12405-12410.

Pakrasi, P. L., Becka, R., & Dey, S. K. Cyclooxygenase and lipoxygenase pathways in the preimplantation rabbit uterus and blastocyst. *Prostaglandins*. 1985; 29 (3): 481-495.

Pan, D. The hippo signaling pathway in development and cancer. *Developmental cell*. 2010; 19 (4): 491-505.

Pantalacci, S., Tapon, N., & Leopold, P. The salvador partner hippo promotes apoptosis and cell-cycle exit in drosophila. *Nature cell biology*. 2003; 5 (10): 921-927.

Paria, B. C., Zhao, X., Das, S. K., Dey, S. K., & Yoshinaga, K. Zonula occludens-1 and e-cadherin are coordinately expressed in the mouse uterus with the initiation of implantation and decidualization. *Developmental biology*. 1999; 208 (2): 488-501.

Pfleger, C. M. The hippo pathway: A master regulatory network important in development and dysregulated in disease. *Curr Top Dev Biol*. 2017; 123: 181-228.

Piccolo, S., Dupont, S., & Cordenonsi, M. The biology of yap/taz: Hippo signaling and beyond. *Physiol Rev.* 2014; 94 (4): 1287-1312.

Praskova, M., Xia, F., & Avruch, J. Mobk11a/mobk11b phosphorylation by mst1 and mst2 inhibits cell proliferation. *Curr Biol.* 2008; 18 (5): 311-321.

Psychoyos, A. Endocrine control of egg implantation. 1973: 187-205.

Qi, Q. R., Xie, Q. Z., Liu, X. L., & Zhou, Y. Osteopontin is expressed in the mouse uterus during early pregnancy and promotes mouse blastocyst attachment and invasion in vitro. *PloS one.* 2014; 9 (8): e104955.

Qiao, Y., Lin, S. J., Chen, Y., Voon, D. C., Zhu, F., Chuang, L. S., . . . Ito, Y. Runx3 is a novel negative regulator of oncogenic tead-yap complex in gastric cancer. *Oncogene.* 2016; 35 (20): 2664-2674.

Qin, H., Blaschke, K., Wei, G., Ohi, Y., Blouin, L., Qi, Z., . . . Ramalho-Santos, M. Transcriptional analysis of pluripotency reveals the hippo pathway as a barrier to reprogramming. *Hum Mol Genet.* 2012; 21 (9): 2054-2067.

R., B. Beitrage zur embryologie der wiederkauer, gewonnen am schafei. *Arc Anat Physiol.* 1884: 170-230.

Rageh, M. A., Moussad, E. E., Wilson, A. K., & Brigstock, D. R. Steroidal regulation of connective tissue growth factor (ccn2; ctgf) synthesis in the mouse uterus. *Molecular pathology :* MP. 2001; 54 (5): 338-346.

Rashidian, J., Le Scolan, E., Ji, X., Zhu, Q., Mulvihill, M. M., Nomura, D., & Luo, K. Ski regulates hippo and taz signaling to suppress breast cancer progression. *Sci Signal.* 2015; 8 (363): ra14.

Ren, F., Zhang, L., & Jiang, J. Hippo signaling regulates yorkie nuclear localization and activity through 14-3-3 dependent and independent mechanisms. *Developmental biology.* 2010; 337 (2): 303-312.

RH., K. Cytological studies of the decidual reaction in the rat during early pregnancy and in the production of deciduomata. *Physiol Zool.* 1937: 212-238.

Rider, V., Carlone, D. L., Witrock, D., Cai, C., & Oliver, N. Uterine fibronectin mrna content and localization are modulated during implantation. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists.* 1992; 195 (1): 1-14.

Rosenbluh, J., Nijhawan, D., Cox, A. G., Li, X., Neal, J. T., Schafer, E. J., . . . Hahn, W. C. Beta-catenin-driven cancers require a yap1 transcriptional complex for survival and tumorigenesis. *Cell.* 2012; 151 (7): 1457-1473.

Rossant J, C. J. Extraembryonic lineages, in mouse development; patterning, morphogenesis and organogenesis. San Diego: Academic; 2002, p:

Sadler, T. W., Başaklar, A. C., & Sönmez, K. Langman's medikal embriyoloji: Palme Yayıncılık; 1996, p:

Salah, Z., Cohen, S., Itzhaki, E., & Aqeilan, R. I. Nedd4 e3 ligase inhibits the activity of the hippo pathway by targeting lats1 for degradation. *Cell Cycle.* 2013; 12 (24): 3817-3823.

Salah, Z., Melino, G., & Aqeilan, R. I. Negative regulation of the hippo pathway by e3 ubiquitin ligase itch is sufficient to promote tumorigenicity. *Cancer research.* 2011; 71 (5): 2010-2020.

Sezer, D. Ergot alkaloidleri ve yarı sentetik türevlerinin uterus üzerindeki etki mekanizmaları in tıpta uzmanlık tezi. 2005.

Shelesnyak, M. C. A history of research on nidation. *Ann N Y Acad Sci.* 1986; 476: 5-24.

Shimo, T., Nakanishi, T., Kimura, Y., Nishida, T., Ishizeki, K., Matsumura, T., & Takigawa, M. Inhibition of endogenous expression of connective tissue growth factor by its antisense oligonucleotide and antisense rna suppresses proliferation and migration of vascular endothelial cells. *Journal of biochemistry.* 1998; 124 (1): 130-140.

Snell GD, S. L. Early embryology, in biology of the laboratory mouse. New York: McGraw-Hill; 1996, p:

Snigdha, K., Gangwani, K. S., Lapalikar, G. V., Singh, A., & Kango-Singh, M. Hippo signaling in cancer: Lessons from drosophila models. *Front Cell Dev Biol.* 2019; 7: 85.

Song, H., Lim, H., Paria, B. C., Matsumoto, H., Swift, L. L., Morrow, J., . . . Dey, S. K. Cytosolic phospholipase a2alpha is crucial [correction of a2alpha deficiency is crucial] for 'on-

time' embryo implantation that directs subsequent development. *Development*. 2002; 129 (12): 2879-2889.

Song, Y., Fu, J., Zhou, M., Xiao, L., Feng, X., Chen, H., & Huang, W. Activated hippo/yes-associated protein pathway promotes cell proliferation and anti-apoptosis in endometrial stromal cells of endometriosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2016; 101 (4): 1552-1561.

Steffen, C. L., Ball-Mirth, D. K., Harding, P. A., Bhattacharyya, N., Pillai, S., & Brigstock, D. R. Characterization of cell-associated and soluble forms of connective tissue growth factor (ctgf) produced by fibroblast cells in vitro. *Growth factors*. 1998; 15 (3): 199-213.

Stewart, C. L., & Cullinan, E. B. Preimplantation development of the mammalian embryo and its regulation by growth factors. *Dev Genet*. 1997; 21 (1): 91-101.

Strano, S., Monti, O., Pediconi, N., Baccharini, A., Fontemaggi, G., Lapi, E., . . . Blandino, G. The transcriptional coactivator yes-associated protein drives p73 gene-target specificity in response to DNA damage. *Mol Cell*. 2005; 18 (4): 447-459.

Strano, S., Munarriz, E., Rossi, M., Castagnoli, L., Shaul, Y., Sacchi, A., . . . Blandino, G. Physical interaction with yes-associated protein enhances p73 transcriptional activity. *The Journal of biological chemistry*. 2001; 276 (18): 15164-15173.

Strazisar, M., Mlakar, V., & Glavac, D. Lats2 tumour specific mutations and down-regulation of the gene in non-small cell carcinoma. *Lung Cancer*. 2009; 64 (3): 257-262.

Sun, M., Na, Q., Huang, L., Song, G., Jin, F., Li, Y., . . . Qiao, C. Yap is decreased in preeclampsia and regulates invasion and apoptosis of htr-8/svneo. *Reproductive sciences*. 2018; 25 (9): 1382-1393.

Surveyor, G. A., Wilson, A. K., & Brigstock, D. R. Localization of connective tissue growth factor during the period of embryo implantation in the mouse. *Biol Reprod*. 1998; 59 (5): 1207-1213.

Tan, G., Cao, X., Dai, Q., Zhang, B., Huang, J., Xiong, S., . . . Li, H. A novel role for miRNA-129-5p in inhibiting ovarian cancer cell proliferation and survival via direct suppression of transcriptional co-activators yap and taz. *Oncotarget*. 2015; 6 (11): 8676-8686.

- Tan, J., Raja, S., Davis, M. K., Tawfik, O., Dey, S. K., & Das, S. K. Evidence for coordinated interaction of cyclin d3 with p21 and cdk6 in directing the development of uterine stromal cell decidualization and polyploidy during implantation. *Mechanisms of development*. 2002; 111 (1-2): 99-113.
- Tapon, N., Harvey, K. F., Bell, D. W., Wahrer, D. C., Schiripo, T. A., Haber, D., & Hariharan, I. K. Salvador promotes both cell cycle exit and apoptosis in drosophila and is mutated in human cancer cell lines. *Cell*. 2002; 110 (4): 467-478.
- Theile, M., Seitz, S., Arnold, W., Jandrig, B., Frege, R., Schlag, P. M., . . . Scherneck, S. A defined chromosome 6q fragment (at d6s310) harbors a putative tumor suppressor gene for breast cancer. *Oncogene*. 1996; 13 (4): 677-685.
- Thongon, N., Castiglioni, I., Zucal, C., Latorre, E., D'Agostino, V., Bauer, I., . . . Provenzani, A. The gsk3beta inhibitor bis i reverts yap-dependent emt signature in pdac cell lines by decreasing smads expression level. *Oncotarget*. 2016; 7 (18): 26551-26566.
- Tu, Z., Ran, H., Zhang, S., Xia, G., Wang, B., & Wang, H. Molecular determinants of uterine receptivity. *Int J Dev Biol*. 2014; 58 (2-4): 147-154.
- Tung, H. N., Parr, M. B., & Parr, E. L. The permeability of the primary decidual zone in the rat uterus: An ultrastructural tracer and freeze-fracture study. *Biol Reprod*. 1986; 35 (4): 1045-1058.
- Udan, R. S., Kango-Singh, M., Nolo, R., Tao, C., & Halder, G. Hippo promotes proliferation arrest and apoptosis in the salvador/warts pathway. *Nature cell biology*. 2003; 5 (10): 914-920.
- Uzumcu, M., Homsy, M. F., Ball, D. K., Coskun, S., Jaroudi, K., Hollanders, J. M., & Brigstock, D. R. Localization of connective tissue growth factor in human uterine tissues. *Molecular human reproduction*. 2000; 6 (12): 1093-1098.
- Varelas, X. The hippo pathway effectors taz and yap in development, homeostasis and disease. *Development*. 2014; 141 (8): 1614-1626.
- Vassilev, A., Kaneko, K. J., Shu, H., Zhao, Y., & DePamphilis, M. L. Tead/tef transcription factors utilize the activation domain of yap65, a src/yes-associated protein localized in the cytoplasm. *Genes & development*. 2001; 15 (10): 1229-1241.

von Gise, A., Lin, Z., Schlegelmilch, K., Honor, L. B., Pan, G. M., Buck, J. N., . . . Pu, W. T. Yap1, the nuclear target of hippo signaling, stimulates heart growth through cardiomyocyte proliferation but not hypertrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012; 109 (7): 2394-2399.

Waddell, J. M., Evans, J., Jabbour, H. N., & Denison, F. C. Ctgf expression is up-regulated by prok1 in early pregnancy and influences htr-8/svneo cell adhesion and network formation. *Human reproduction*. 2011; 26 (1): 67-75.

Walmer, D. K., Wrona, M. A., Hughes, C. L., & Nelson, K. G. Lactoferrin expression in the mouse reproductive tract during the natural estrous cycle: Correlation with circulating estradiol and progesterone. *Endocrinology*. 1992; 131 (3): 1458-1466.

Wang, H., & Dey, S. K. Roadmap to embryo implantation: Clues from mouse models. *Nature reviews. Genetics*. 2006; 7 (3): 185-199.

Wei, X., Shimizu, T., & Lai, Z. C. Mob as tumor suppressor is activated by hippo kinase for growth inhibition in drosophila. *The EMBO journal*. 2007; 26 (7): 1772-1781.

Wenger, C., Ellenrieder, V., Alber, B., Lacher, U., Menke, A., Hameister, H., . . . Gress, T. M. Expression and differential regulation of connective tissue growth factor in pancreatic cancer cells. *Oncogene*. 1999; 18 (4): 1073-1080.

Wood, G. A., Fata, J. E., Watson, K. L., & Khokha, R. Circulating hormones and estrous stage predict cellular and stromal remodeling in murine uterus. *Reproduction*. 2007; 133 (5): 1035-1044.

Wu, H., Wei, L., Fan, F., Ji, S., Zhang, S., Geng, J., . . . Zhou, D. Integration of hippo signalling and the unfolded protein response to restrain liver overgrowth and tumorigenesis. *Nature communications*. 2015; 6: 6239.

Wu, S., Huang, J., Dong, J., & Pan, D. Hippo encodes a ste-20 family protein kinase that restricts cell proliferation and promotes apoptosis in conjunction with salvador and warts. *Cell*. 2003; 114 (4): 445-456.

Wu, S., Liu, Y., Zheng, Y., Dong, J., & Pan, D. The tead/tef family protein scalloped mediates transcriptional output of the hippo growth-regulatory pathway. *Developmental cell*. 2008; 14 (3): 388-398.

Xu, T., Wang, W., Zhang, S., Stewart, R. A., & Yu, W. Identifying tumor suppressors in genetic mosaics: The drosophila *lats* gene encodes a putative protein kinase. *Development*. 1995; 121 (4): 1053-1063.

Yagi, R., Chen, L. F., Shigesada, K., Murakami, Y., & Ito, Y. A ww domain-containing yes-associated protein (*yap*) is a novel transcriptional co-activator. *The EMBO journal*. 1999; 18 (9): 2551-2562.

Yang, N., Morrison, C. D., Liu, P., Miecznikowski, J., Bshara, W., Han, S., . . . Zhang, J. Taz induces growth factor-independent proliferation through activation of egfr ligand amphiregulin. *Cell Cycle*. 2012; 11 (15): 2922-2930.

Yoshinaga K., T. M. Development of preimplantation mammalian embryos and their environment. in Satellite symposium of the 8th International Congress of Endocrinology. 1988.

You, B., Yang, Y. L., Xu, Z., Dai, Y., Liu, S., Mao, J. H., . . . You, L. Inhibition of erk1/2 down-regulates the hippo/*yap* signaling pathway in human nsclc cells. *Oncotarget*. 2015; 6 (6): 4357-4368.

Yu, F. X., & Guan, K. L. The hippo pathway: Regulators and regulations. *Genes & development*. 2013; 27 (4): 355-371.

Yu, F. X., Zhao, B., & Guan, K. L. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. *Cell*. 2015; 163 (4): 811-828.

Yu, F. X., Zhao, B., Panupinthu, N., Jewell, J. L., Lian, I., Wang, L. H., . . . Guan, K. L. Regulation of the hippo-*yap* pathway by g-protein-coupled receptor signaling. *Cell*. 2012; 150 (4): 780-791.

Yuan, J., Aikawa, S., Deng, W., Bartos, A., Walz, G., Grahammer, F., . . . Dey, S. K. Primary decidual zone formation requires scribble for pregnancy success in mice. *Nature communications*. 2019; 10 (1): 5425.

Zaidi, S. K., Sullivan, A. J., Medina, R., Ito, Y., van Wijnen, A. J., Stein, J. L., . . . Stein, G. S. Tyrosine phosphorylation controls runx2-mediated subnuclear targeting of yap to repress transcription. *The EMBO journal*. 2004; 23 (4): 790-799.

Zawacka-Pankau, J., Kostecka, A., Sznarkowska, A., Hedstrom, E., & Kawiak, A. P73 tumor suppressor protein: A close relative of p53 not only in structure but also in anti-cancer approach? *Cell Cycle*. 2010; 9 (4): 720-728.

Zenclussen, M. L., Casalis, P. A., Jensen, F., Woidacki, K., & Zenclussen, A. C. Hormonal fluctuations during the estrous cycle modulate heme oxygenase-1 expression in the uterus. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014; 5: 32.

Zhang, H., Pasolli, H. A., & Fuchs, E. Yes-associated protein (yap) transcriptional coactivator functions in balancing growth and differentiation in skin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; 108 (6): 2270-2275.

Zhang, L., Ren, F., Zhang, Q., Chen, Y., Wang, B., & Jiang, J. The tead/tef family of transcription factor scalloped mediates hippo signaling in organ size control. *Developmental cell*. 2008; 14 (3): 377-387.

Zhang, S., Lin, H., Kong, S., Wang, S., Wang, H., Wang, H., & Armant, D. R. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Molecular aspects of medicine*. 2013; 34 (5): 939-980.

Zhao, B., Lei, Q. Y., & Guan, K. L. The hippo-yap pathway: New connections between regulation of organ size and cancer. *Current opinion in cell biology*. 2008; 20 (6): 638-646.

Zhao, B., Wei, X., Li, W., Udan, R. S., Yang, Q., Kim, J., . . . Guan, K. L. Inactivation of yap oncoprotein by the hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control. *Genes & development*. 2007; 21 (21): 2747-2761.

Zhao, B., Ye, X., Yu, J., Li, L., Li, W., Li, S., . . . Guan, K. L. Tead mediates yap-dependent gene induction and growth control. *Genes & development*. 2008; 22 (14): 1962-1971.

Zhou, D., Conrad, C., Xia, F., Park, J. S., Payer, B., Yin, Y., . . . Bardeesy, N. Mst1 and mst2 maintain hepatocyte quiescence and suppress hepatocellular carcinoma development through inactivation of the yap1 oncogene. *Cancer Cell*. 2009; 16 (5): 425-438.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

| | | | |
|---------------------|------------|----------------|-----------------------|
| Adı | Ezgi | Uyruğu | T.C. |
| Soyadı | GOLAL | Tel no | 0545 722 28 22 |
| Doğum tarihi | 13.08.1990 | e-posta | ezgigolal@hotmail.com |

Eğitim Bilgileri

| Mezun olduğu kurum | Mezuniyet yılı | |
|---------------------------|---|------|
| Lise | Muratpaşa Lisesi | 2007 |
| Lisans | Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü | 2016 |
| Yüksek Lisans | Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı | 2020 |
| Doktora | | |

İş Deneyimi

| Görevi | Kurum | Süre (yıl-yıl) |
|-------------------------|--------------------|-----------------------|
| Fen Bilgisi Öğretmeliği | Simge Etüt Merkezi | 2014-2017 |

| Yabancı Dilleri | Sınav türü | Puanı |
|------------------------|-------------------|--------------|
| İngilizce | YökDil | 50 |

Proje Deneyimi

| Proje Adı | Destekleyen kurum | Süre (Yıl-Yıl) |
|---|--------------------------|-----------------------|
| Peri-implantif Dönem Fare Endometriyumunda Apelin ve Apelin Reseptörü Ekspresyonlarının İncelenmesi | Akdeniz Üniversitesi | 2018-2020 |

Burslar-Ödüller:

Yayınlar ve Bildiriler:

Uluslararası kongre bildirileri:

1-Özlem Saygın, **Ezgi Golal**, Burçin Yalçın, Merve Güneş, Bülent Kaya. Genotoxicity testing of tetramethrin in the Drosophila SMART assay. Eurotox 2016, 4-7 Eylül 2016, Seville, İspanya.

Ulusal kongre bildirileri:

1-**Ezgi Golal**, Kübra Aksu, İsmail Üstünel, Nuray Acar Aydemir. Peri-implantif Dönem Fare Uterus ve İmplantasyon Bölgelerinde Hippo Sinyal Yolağı Üyesi Fosforile YAP (Yes-associated protein-Yes ilişkili protein) Ekspresyonu. 14. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 10-13 Mayıs 2018, Antalya.

2- Kübra Aksu, **Ezgi Golal**, İsmail Üstünel, Nuray Acar Aydemir. Peri-implantif Dönem Fare Uterus ve İmplantasyon Bölgelerinde Sirtuin 1 Ekspresyonu. 14. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 10-13 Mayıs 2018, Antalya.

3-**Ezgi Golal**, Kübra Aksu, İsmail Üstünel, Nuray Acar Aydemir. Perimplantif dönem fare uterus ve implantasyon bölgelerinde hippo sinyal yolağı üyesi aktif YAP'ın (yes ilişkili protein) ekspresyonu. 24. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 24-26 Nisan 2019, Edirne.

4-Kübra Aksu, Mutay Aydın Aslan, **Ezgi Golal**, İsmail Üstünel, Nuray Acar Aydemir. Parakuat ile oksidatif stres oluşturulan farelerde SRT1720'nin embriyo implantasyonu üzerindeki etkisi. 24. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 24-26 Nisan 2019, Edirne.