

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONTROLLÜ OVARYEN STİMÜLASYON
UYGULANMIŞ SIÇANLARDA SİLDENAFİL
SİTRATIN ENDOMETRİYUM RESEPTİVİTESİNDE
ROL OYNAYAN FAKTÖRLERE ETKİSİ

Pelin COŞTUR BIYIKSIZ

Kocaeli Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Programı için Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ

2009

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONTROLLÜ OVARYEN STİMÜLASYON
UYGULANMIŞ SIÇANLARDA SİLDENAFİL
SİTRATIN ENDOMETRİYUM RESEPTİVİTESİNDE
ROL OYNAYAN FAKTÖRLERE ETKİSİ

Pelin COŞTUR BIYIKSIZ

Kocaeli Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Programı için Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi (Proje No: 2007/078) ve
TÜBİTAK tarafından (107S444) desteklenmiştir

Danışman:

Doç. Dr. Serdar FİLİZ

KOCAELİ

2009

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ' NE

Tez Adı: Kontrollü Ovaryen Stimülasyon Uygulanmış Sıçanlarda Sildenafil Sitratin Endometriyum Reseptivitesinde Rol Oynayan Faktörlere Etkisi

Tez Yazarı : Pelin Coştur Bıyüksüz

Tez Savunma Tarihi : 19.06.2009

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Serdar Filiz

JÜRI ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN:	Prof. Dr. Süreyya Ceylan	
ÜYE(DANIŞMAN):	Doç. Dr. Serdar Filiz (Danışman)	
ÜYE:	Prof. Dr. Hakkı Dalçık	
ÜYE:	Doç. Dr. Sebiha Özkan (Kocaeli Üniv. Kadın Has. ve Doğum AD.)	
ÜYE:	Doç. Dr. Emin Türkay Korgun (Akdeniz Üniv. Tıp Fak. Histoloji ve Emb. AD.)	

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

..../..../2009

Prof.Dr. Ümit BİÇER

Enstitü Müdürü

ÖZET

Kontrollü Ovaryen Stimülasyon Uygulanmış Sıçanlarda Sildenafil Sitratın Endometriyum Reseptivitesinde Rol Oynayan Faktörlere Etkisi

Bu çalışmada KOH (Kontrollü ovaryen stimülasyon) uygulanmış sıçanlarda Sildenafil sitratın (Ss) endometriyum reseptivitesinde rol oynayan faktörlere etkisini araştırdık. Çalışmamızda, 3 aylık 220-250 gram ağırlığında en az iki düzenli 5 günlük östrus siklusu geçiren toplam 60 adet Wistar albino dişi sıçan kullandık. Bunlar; Kontrol grubu (saat 10:00 ve saat 16:00 da serum fizyolojik subkutan (sc) verilen grup), Ss grubu (saat 10:00 ve saat 16:00 da oral gavaj yoluyla Ss verilen grup), KOH grubu (saat 10:00 da Cetrotide+Puregon (sc) ve saat 16:00 da Puregon (sc) verilen grup), KOH + Ss grubu (saat 10:00 da Cetrotide+Puregon (sc), Ss (oral gavaj) ve saat 16:00 da Puregon (sc), Ss (oral gavaj) verilen grup) olmak üzere dört ana gruba ayırdık. Sıçanlara yaptığımız bu 3 günlük uygulamadan sonra 4. gün (KOH ve KOH + Ss gruplarına saat 16:00 da Pregnyl (sc) uygulandı) çiftleşmek üzere erkek sıçanlarla bir gece bıraktık. Ertesi gün vajinal smearda spermatozoa görülmesi gebeliğin 0. günü olarak kabul edildi ve gebeliğin 3.,4. ve 5. günlerinde her grupta 5 sıçan bulunacak şekilde sakrifiye edildi. Uterusları çıkarıldı, doku takipleri yapıldı. Ve immünohistokimyasal yöntemlerle boyama yapılarak bulgular değerlendirildi. Çalışmamızın sonucunda, Ss uyguladığımız sıçanlarda endometriyum reseptivite belirteçlerinden LIF, HOXA-10, β 3 integrin, VEGF ve Aktin ekspresyonlarını daha yoğun ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğunu bulduk.

Anahtar Kelimeler: Kontrollü ovaryen stimülasyon, endometriyum reseptivitesi, uterus, sildenafil sitrat

ABSTRACT

The Effect of Sildenafil citrate on Factors Acting on Endometrium Receptivity of Ovarian Hyperstimulated Rats

In this study; we investigated the effect of Sildenafil citrate on factors acting on endometrium receptivity of controlled ovarian hyperstimulated rats. In our study; we used a total of 60 Wistar albino, 3-month, 220-250 gr rats having minimum two regular 5-day estrus cycles. We grouped them into four as; Control group (group having subcutaneous (sc) serum physiological between 10 a.m. and 4 p.m.), Sildenafil citrate (group having Sildenafil citrate by oral gavage between 10 a.m. and 4 p.m.), Controlled Ovarian Stimulation Group (group having cetrotide+puregon s.c. at 10 a.m. and puregon s.c. at 4 p.m.), Controlled Ovarian Stimulation + Sildenafil citrate group (group having cetrotide+puregon s.c. and Sildenafil citrate (oral gavage) at 10 a.m., puregon s.c. and Sildenafil citrate (oral gavage) at 4 p.m.). After this 3-day procedure, on day 4 (Sildenafil citrate and Controlled Ovarian Stimulation + Sildenafil citrate groups received Pregnyl (sc) at 16:00 p.m) we left them with male rats for intercourse whole night. Next day was referred as 0 day of pregnancy by determination of spermatozoa in vaginal smear and 5 rats in each group were sacrificed on day 3, 4 and 5. Their uteri were removed, tissue follow-up was taken. Immunohistochemical methods applied to sections and results were evaluated. At the end of our study; we found that expression of endometrium receptivity markers, LIF, HOXA-10, β 3 integrin, VEGF and actin are denser and statistically significant Sildenafil citrate administered rats.

Key Words: Controlled ovarian stimulation, endometrium receptivity, uterus, Sildenafil citrate

TEŞEKKÜR

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalındaki doktora tez çalışmam sırasında eşsiz destek ve yardımlarını gördüğüm danışmanım;

Doç. Dr. Serdar Filiz' e

Eğitimim boyunca her türlü bilgi birikimlerini ve deneyimlerini paylaşan değerli hocam;

Prof. Dr. Hakkı Dalçık' a

Eğitimim süresince destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım;

Prof.Dr.Süreyya Ceylan ve Prof.Dr.Melda Yardımoğlu Yılmaz' a

Değerli Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi;

Doç.Dr. Süheyla Gonca' ya

Değerli Çalışma Arkadaşlarım;

Öğr. Gör. Dr. Yusufhan Yazır

Bio. Elif Gelenli

Uzm. Mol. Bio. Ender Yalçınkaya

Uzm. Bio. Özcan Budak' a

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Eski Öğretim Üyesi

Doç. Dr. Birol Vural' a

İstatistiksel testlerin yapılmasında katkısı olan

Aile Hekimliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi;

Doç. Dr. T. Müge Filiz' e

Sonsuz Desteğini ve Sevgisini Her Zaman Yanımda Hissettiğim

Annem, Babam ve Canım Kardeşim Selin' e

Her Zaman Yanımda Olan Sevgili Eşim

Oğuzhan Bıyıkız' a

Canımmmm Oğlum

Batuhan' a

TEŞEKKÜR EDERİM.....

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Dişi Üreme Sistemi Histolojisi	5
1.2.1. Dişi Üreme Sistemi Organları.....	5
1.2.1.1. Ovaryum.....	5
1.2.1.1.1. Ovaryum Folikülleri.....	7
1.2.1.2. Ovidukt.....	10
1.2.1.3. Uterus.....	11
1.2.2. Menstrual Siklus.....	13
1.2.3. İmplantasyon ve Desidualizasyon	16
1.2.3.1. İmplantasyonun Başlangıcındaki Sinyalleşme.....	18
1.2.3.2. İmplantasyon Hazırlığındaki LE'de Meydana Gelen Değişiklikler ve Desidualizasyon.....	19
1.2.3.3. Fare ve ratlarda implantasyon.....	20
1.3. Endometriyum Reseptivitesi.....	22
1.3.1. Uterin reseptivitenin düzenlenmesi.....	26
1.3.2. Endometriyum Reseptivitesinde Rol Oynayan Faktörler.....	28
1.3.2.1. LİF.....	28
1.3.2.2. HOXA-10.....	29
1.3.2.3. VEGF.....	30
1.3.2.4. İntegrin β 3	32
1.3.2.5. Aktin.....	35
1.4. Sildenafil Sitrat (Viagra®).....	37
2. AMAÇ VE KAPSAM.....	39

3.	GEREÇVE YÖNTEM.....	41
3.1.	Deney Hayvanları.....	41
3.2.	Laboratuar Çalışmaları.....	43
3.3.	İstatistiksel Değerlendirme.....	44
4.	BULGULAR.....	45
4.1.	LİF Grubu Bulguları.....	45
4.1.1.	Kontrol Grubu Bulguları.....	45
4.1.2.	Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	45
4.1.3.	KOH Grubu Bulguları.....	46
4.1.4.	KOH + Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	46
4.2.	HOXA-10 Grubu Bulguları.....	47
4.2.1.	Kontrol Grubu Bulguları.....	47
4.2.2.	Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	47
4.2.3.	KOH Grubu Bulguları.....	48
4.2.4.	KOH + Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	48
4.3.	VEGF Grubu Bulguları.....	48
4.3.1.	Kontrol Grubu Bulguları.....	48
4.3.2.	Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	49
4.3.3.	KOH Grubu Bulguları.....	49
4.3.4.	KOH + Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	50
4.4.	İntegrin β 3 Grubu Bulguları.....	50
4.4.1.	Kontrol Grubu Bulguları.....	50
4.4.2.	Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	51
4.4.3.	KOH Grubu Bulguları.....	51
4.4.4.	KOH + Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	52
4.5.	Aktin Grubu Bulguları.....	52
4.5.1.	Kontrol Grubu Bulguları.....	52
4.5.2.	Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	53
4.5.3.	KOH Grubu Bulguları.....	53
4.5.4.	KOH + Sildenafil sitrat Grubu Bulguları.....	54
5.	TARTIŞMA.....	77
6.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	90
	KAYNAKLAR.....	92
	ÖZGEÇMİŞ.....	121

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cGMP	:	Cyclic Guanosine Monophosphate
CSF-1	:	Colony Stimulating Factor
COX-2	:	Cyclooxygenase
CT	:	Sitotrofoblast
E2	:	Estrodiol
EGF	:	Epidermal Growth Factor
EIN	:	Endometriyal İntegrin
ErbBs	:	EGF Receptor Family Members
ESM	:	Ekstraselular Matriks
FGF	:	Fibroblast Growth Factor
FDE	:	Fosfodiesteraz
FSH	:	Folikül Stimulan Hormon
GnRH	:	Gonadotropin Releasing Hormon
GE	:	Glandular Epitel
HB-EGF	:	Heparin binding-EGF like Growth Factor
hCG	:	human Chorionic Gonadotophin
HOXA	:	Homeobox gen
IGF	:	İnsülin like Growth Factor
IVF	:	İnvitro Fertilizasyon
IGFBP-1	:	İnsulin-like Growth Factor Binding Protein 1
IL-1	:	Interleukin-1
IL-1 β	:	Interleukin-1 Beta
KOH	:	Kontrollü Ovaryen Stimülasyon
LE	:	Luminal Epitel
LH	:	Lüteinizan Hormon
LİF	:	Leukaemia İnhibitory Factor
LIF-R	:	Leukaemia İnhibitory Factor Receptor
MMP	:	Matriks Metalloproteinazlar
MUC	:	Musin
NO	:	Nitrik Oksid

NK	:	Naturel Killer
PP-14	:	Plasental Protein 14
P4	:	Progesteron
P	:	Pinopod
PDGF	:	Platelet-Derived Growth Factors
PGs	:	Prostoglandin
PPAR	:	Peroxisome Proliferator-Activated Receptors
PZD	:	Primer Desidual Zon
rFSH	:	recombinant Folikül Stimulan Hormon
Ss	:	Sildenafil sitrat
ST	:	Sinsityotrofoblast
TGF- α	:	Transforming Growth Factor--alpha
TGF- β	:	Transforming Growth Factor-beta 1
TIMMP	:	Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü
TIN	:	Trofoektodermal integrin
VCAM	:	Vasculer Cell Adhesion Molecule
VEGF	:	Vascular Endothelial Growth Factor

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	İmplantasyon dönemleri.....	1
Şekil 2.	Dişi iç genital organlar.....	6
Şekil 3.	Sıçan dişi iç genital organlar.....	6
Şekil 4.	Menstrual Siklus.....	14
Şekil 5.	İmplantasyon evreleri.....	21
Şekil 6.	İmplantasyonda rol oynayan moleküllerin ekspresyon zamanları.....	27
Şekil 7.	Fare implantasyon sürecindeki moleküler olaylar.....	32
Şekil 8.	Blastosist endometriyum etkileşimi.....	32
Şekil 9.	İntegrin alt üniteleri.....	33
Şekil 10.	Reseptif endometriyumda integrin profili.....	34
Şekil 11.	Sildenafilin etki mekanizması.....	38
Şekil 12a.	LİF kontrol grubu 3. gün.....	57
Şekil 12b.	LİF kontrol grubu 4. gün.....	57
Şekil 12c.	LİF kontrol grubu 5. gün.....	57
Şekil 13a.	LİF Sildenafil sitrat grubu 3.gün	58
Şekil 13b.	LİF Sildenafil sitrat grubu 4.gün	58
Şekil 13c.	LİF Sildenafil sitrat grubu 5.gün	58
Şekil 14a.	LİF KOH grubu 3.gün	59
Şekil 14b.	LİF KOH grubu 4.gün	59
Şekil 14c.	LİF KOH grubu 5.gün.....	59
Şekil 15a .	LİF KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün	60
Şekil 15b.	LİF KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün	60
Şekil 15c.	LİF KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün	60
Şekil 16a.	HOXA-10 kontrol grubu 3. gün.....	61
Şekil 16b.	HOXA-10 kontrol grubu 4. gün	61
Şekil 16c.	HOXA-10 kontrol grubu 5. gün.....	61
Şekil 17a.	HOXA-10 Sildenafil sitrat grubu 3.gün.....	62
Şekil 17b.	HOXA-10 Sildenafil sitrat grubu 4.gün.....	62

Şekil 17c.	HOXA-10 Sildenafil sitrat grubu 5.gün.....	62
Şekil 18a.	HOXA-10 KOH grubu 3.gün.....	63
Şekil 18b.	HOXA-10 KOH grubu 4.gün.....	63
Şekil 18c.	HOXA-10 KOH grubu 5.gün	63
Şekil 19a.	HOXA-10 KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün.....	64
Şekil 19b.	HOXA-10 KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün	64
Şekil 19c.	HOXA-10 KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün	64
Şekil 20a.	VEGF kontrol grubu 3. gün.....	65
Şekil 20b.	VEGF kontrol grubu 4. gün	65
Şekil 20c.	VEGF kontrol grubu 5. gün	65
Şekil 21a.	VEGF Sildenafil sitrat grubu 3.gün	66
Şekil 21b.	VEGF Sildenafil sitrat grubu 4.gün.....	66
Şekil 21c.	VEGF Sildenafil sitrat grubu 5.gün.....	66
Şekil 22a.	VEGF KOH grubu 3.gün	67
Şekil 22b.	VEGF KOH grubu 4.gün.....	67
Şekil 22c.	VEGF KOH grubu 5.gün	67
Şekil 23a.	VEGF KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün	68
Şekil 23b.	VEGF KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün	68
Şekil 23c.	VEGF KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün	68
Şekil 24a.	İntegrin β 3 kontrol grubu 3. gün.....	69
Şekil 24b.	İntegrin β 3 kontrol grubu 4. gün	69
Şekil 24c.	İntegrin β 3 kontrol grubu 5. gün	69
Şekil 25a.	İntegrin β 3 Sildenafil sitrat grubu 3.gün	70
Şekil 25b.	İntegrin β 3 Sildenafil sitrat grubu 4.gün	70
Şekil 25c.	İntegrin β 3 Sildenafil sitrat grubu 5.gün	70
Şekil 26a.	İntegrin β 3 KOH grubu 3.gün	71
Şekil 26b.	İntegrin β 3 KOH grubu 4.gün	71
Şekil 26c.	İntegrin β 3 KOH grubu 5.gün	71
Şekil 27a.	İntegrin β 3 KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün	72
Şekil 27b.	İntegrin β 3 KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün	72
Şekil 27c.	İntegrin β 3 KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün.....	72
Şekil 28a.	Aktin kontrol grubu 3. gün.....	73
Şekil 28b.	Aktin kontrol grubu 4. gün.....	73
Şekil 28c.	Aktin kontrol grubu 5. gün	73

Şekil 29a.	Aktin Sildenafil sitrat grubu 3.gün	74
Şekil 29b.	Aktin Sildenafil sitrat grubu 4.gün	74
Şekil 29c.	Aktin Sildenafil sitrat grubu 5.gün	74
Şekil 30a.	Aktin KOH grubu 3.gün	75
Şekil 30b.	Aktin KOH grubu 4.gün.....	75
Şekil 30c.	Aktin KOH grubu 5.gün	75
Şekil 31a.	Aktin KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün	76
Şekil 31b.	Aktin KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün	76
Şekil 31c.	Aktin KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün	76

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.	İmplantasyon dönemine göre endometriyum reseptivitesi ve belirteçler.....	22
Çizelge 2.	Endometriyum reseptivitesi ile ilgili belirteç moleküller.....	23
Çizelge 3.	İmmünohistokimyasal Boyanma Dereceleri.....	56

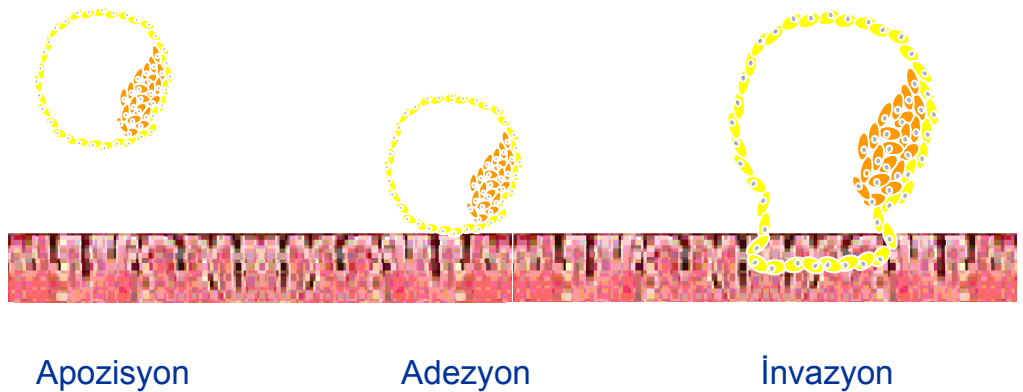
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Uterusun iç kısmını döşeyen endometriyum sürekli yenilenme dönemleri yaşayan ve gebelikte çok önemli rol oynayan bir dokudur. Menstrual siklus süresince östrojene bağlı preovulatuvar proliferasyon fazı, progesterona bağlı postovulatuvar sekresyon fazı ve progesteronun düşmesine bağlı menstrual faz değişiklikleri gösterir (Jabbour et al. 2006). Embriyo implantasyonu ise pek çok türün üreme faaliyetleri açısından çok kritik bir basamaktır. Başarılı bir implantasyon için reseptif endometriyum, gelişiminin blastosist evresinde olan normal ve fonksiyonel bir embriyo ile maternal ve embriyonik dokular arasında eşzamanlı bir ilişki olmalıdır (Simon et al. 2000).

İmplantasyon, Enders'in 1967 yılında tanımladığı şekilde üç evrede sınıflandırılabilir: apozisyon, adezyon ve invazyon (Achache and Revel, 2006). İmplantasyon uterusun luminal epiteliyle serbest yüzen blastosist evresindeki embriyonun karşı karşıya gelmesiyle başlar (apozisyon), kısa zaman sonra blastosist endometriyuma nazikçe yapışır (adezyon) ve sonra trofoblastlar luminal epitel boyunca geçedip endometriyumun altına gömülür (invazyon) (Norwitz et al. 2001).

Şekil1. İmplantasyon dönemleri.



Blastosistin endometriyuma implantasyonu sadece düzenli bir menstrual siklusun 20.-24. günleri arasında kendini sınırlayan bir zaman diliminde gerçekleşir (Wilcox et al. 2001) ve bu dönem Psychoyos tarafından implantasyon penceresi olarak adlandırılmıştır (Achache and Revel, 2006). İmplantasyon pencere dönemi: plazma membran transformasyonu, bazı spesifik adezyon molekülleri, kemokinler, sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar, homeobox genleri, prostaglandinler, serbest radikaller ve ekstraselüler matriksi yıkan enzimler gibi pek çok faktörün rol aldığı endometriyumdaki morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerle karakterizedir (Lessey et al. 1992a, Tabibzadeh and Babaknia, 1995, Paria et al. 2002, Kodaman and Taylor, 2004). Sekretuar faz boyunca endometriyum, Leukaemia Inhibitory Factor (LİF), Heparin binding-EGF like Growth Factor (HB-EGF), Transforming Growth Factor-alpha (TGF- α) sentezlemekle birlikte integrin gibi özel yüzey yapılarını da sentezler (Halberszadt et al. 2006). İmplantasyon başarısızlıklarının en önemli sebeplerinden biri endometriyumun nonreseptiv olmasıdır. İmplantasyonda rol oynayan moleküllerin herbiri düzenli olarak eksprese edildiğinde ya da inhibe edildiğinde endometrial reseptiviteye ya da nonreseptiviteye katkıda bulunurlar (Giudice,1999).

LİF fare myeloid lösemi hücre serilerinde makrofaj farklılaşmasını indüklemesi nedeniyle bir hematopoetik faktör olarak tanımlanmıştır (Hilton, 1992). LİF'in çoğalma, farklılaşma ve hücrenin yaşam süresine otokrin ve parakrin etkileri araştırmacıları blastosist gelişimi ve implantasyondaki olası etkilerini araştırmaya yönlendirmiştir. LİF implantasyondan hemen önce endometriyum bez epitelinde eksprese olur (Steward et al. 1992) ve en yüksek seviyesine implantasyon penceresi döneminde ulaşır (Charnock-Jones et al. 1994). Hem LİF hem de LİF reseptörünün insan endometriyumunda bulunması LİF'in insan embriyo implantasyonunda önemli olduğunu düşündürmektedir. Farelerdeki LİF geninin hedefli delesyonları implantasyondaki başarısızlık yüzünden infertiliteyle sonuçlanmıştır (Ware et al. 1995). Embriyoların LİF ile muamele edilmesi sonucunda hem embriyo kalitesinin hem de blastosist evresine ulaşan embriyo sayısının arttığı gösterilmiş ve böylece endometriyal LİF ekspresyonunun embriyoyu kontrol ettiği ileri sürülmüştür

(Dunlison et al. 1996). LİF aynı zamanda desidualizasyonda da rol alır (Steward et al. 1994).

HOX genleri üreme kanalının gelişimini de içeren embriyo gelişiminin yönetiminde önemli rol oynayan transkripsiyon düzenleyicileridir. HOXA-10 bir homeobox genidir ve ekspresyonu hem pinopod gelişimi hem de blastosist implantasyonu için endometriyal reseptivitenin sağlanması için gereklidir. Ayrıca, endometriyal stromal hücrelerin çoğalmasıyla birlikte epitelyal hücre morfogenezisinde de düzenleyici rol oynar (Bagot et al. 2001). HOXA-10 ve HOXA-11'in insan embriyosunda menstrual siklus bağımlı bir şekilde orta-sekretuar fazda ekspresyonu en yüksek değere ulaşır (Taylor et al. 1998). Bu genlerin mutasyonlarında implantasyon başarısızlığına bağlı olarak infertilite (Ma et al. 1998) ve desidualizasyon defektleri görülür (Lim et al. 1999). Aynı zamanda, insan $\beta 3$ integrininin ekspresyonun da HOXA-10 ile düzenlendiği gösterilmiştir (Daftary et al. 2002).

Endometriyumun yetersiz damarlanması implantasyonun başarısızlığına ve infertiliteye neden olabilir. Östrojen ve progesteronun bu vasküler yatağın oluşmasında çok önemli rolü vardır. Endometriyumda eksprese edilen Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), angiopoietin-1 ve angiopoietin-2 ve bunların reseptörleri vasküler gelişimin yeniden yapılanmasında birbirleriyle etkileşirler. Endometriyal bez epitel ve stromal hücrelerin VEGF ekspresyonu östrojen ile düzenlenir (Albrecht and Pepe, 2003b). Farelerde yapılan çalışmalarda, VEGF'in implantasyon öncesinde uterusda eksprese edildiği, bu ekspresyonun orta sekretuar faz boyunca devam ettiği ve başarılı implantasyon için gerekli artmış damarlanma ve damar geçirgenliğinde rol oynadığı gösterilmiştir (Chakraborty et al. 1995).

Hücre adezyon molekülleri doku integrasyonunda, yara iyileşmesinde, morfogenetik olaylarda, hücresel göçlerde ve tümör metastazlarında rol oynayan çok önemli moleküllerdir. Pekçok bazal membran ve ekstraselüler matriks proteinleri invitro olarak blastosistin adezyonunu ve gelişmesini sağlar. Blastosistin adezyonunu artıran bazı proteinlerin uterus yüzey epitelinin bazal laminasının parçası olduğu bazılarının ise alttaki stromanın ağısı yapısını desteklediği bulunmuştur. İntegrinler ile ekstraselüler matriks arasındaki etkileşim hücre iskeletindeki değişiklikleri uyarır (Ruoslahati,

1991). Postovulasyondaki 5. ve 6. günlerde yani menstrüel siklusun 19.-20. günlerinde endometriyal epitelyal hücrelerde $\alpha\beta3$ (vitronektin reseptörü) integrin ortaya çıkar (Lessey et al. 1992a) ve implantasyon penceresi dönemince ekspresyonu yüksek kalır (Lessey et al. 1994b). İntegrin $\beta3$ 'ün artışı blastosistin endometriyal epitel hücrelerine yapışma kabiliyetinin artırmasıyla ilişkili olduğu (Simon et al. 1998a) ve $\alpha\beta3$ integrin ekspresyonundaki bir bozukluğun luteal faz defektiyle direkt ilgili olduğu gösterilmiştir (Lessey et al. 2000).

İmplantasyonla birlikte endometriyum stromasındaki fibroblastlarda desidual fenotipe doğru farklılaşma başlar. Desidualizasyon primat endometriyumunda gebelik oluşumunda görülen büyük bir değişikliktir ve stromal hücrelerin desidual hücrelere dönüşmesi hücre içindeki aktin filamentlerin ekspresyonu ile karakterize edilirler (Kim and Fazleabas, 2004).

Endometriyumdaki nitrik oksid (NO) üretimi lokal vazodilatasyon ve immünosupresyon etkilerinden dolayı implantasyonun başarılı olmasında ve plasentanın gelişiminde rol oynar (Norman and Cameron, 1996). NO cGMP aracılı bir yolla damar düz kaslarını gevşetir (Ballard et al. 1998), ayrıca, NO sentaz izoformları uterusu belirlemiştir (Telfer et al. 1997). Sildenafil sitrat bir tip 5- spesifik fosfodiesteraz inhibitörüdür ve cGMP nin yıkılımını önleyerek NO'nun vazodilatatör etkilerini artırır (Sher and Fisch, 2000). 1997 yılından beri erkek erektil disfonksiyon tedavisinde büyük bir başarıyla kullanılmasına rağmen kadınlardaki etkileri henüz tam olarak belirlenmemiştir. Yapılan az sayıdaki çalışmada, Sildenafil sitratın uterus kan akımını artırarak endometriyal gelişimi artırdığı (Sher and Fisch, 2000), vaginal yolla kullanımı sonrası gebelik oranları düşük kadınlarda yüksek implantasyon oranları elde edildiği (Sher and Fisch, 2002) ve son olarak endometriyal kalınlığı artırarak gebelik şansını artırdığı gösterilmiştir (Zinger et al. 2006).

Bu çalışmanın amacı; endometriyum reseptivitesinde oldukça önemli rol oynayan LİF, HOXA-10, VEGF, İntegrin $\beta3$ ve Aktin'in ekspresyonlarını sıçanlarda implantasyon penceresi döneminde immünohistokimyasal olarak göstermek ve endometriyum üzerindeki etkileri net olarak bilinmeyen Sildenafil sitratın bu belirteçler üzerine

etkilerini araştırmaktır. Çalışmamızın sonucunda elde edeceğimiz bulgular erkeklerde erektil disfonksiyon tedavisi üzerine son derece etkin olan sildenafil sitratın kadınlardaki endometriyum reseptivitesine olan etkilerini ortaya çıkaracak ve olası bir tedavi yöntemi oluşturulabilecektir.

1.2. DIŞI ÜREME SİSTEMİ HİSTOLOJİSİ

Dişi üreme sistemi iki ovaryum, iki ovidukt, uterus, vajina ve dış genital organlardan oluşur. Sistem menarŐ ile menapoz arasında yapı ve fonksiyon aktivitesi bakımından döngüsel değişikliklere uğrar. Bu değişiklikler nörohumoral mekanizmalar ile kontrol edilir.

1.2.1. Dişi Üreme Sistemi Organları

1.2.1.1. Ovaryum

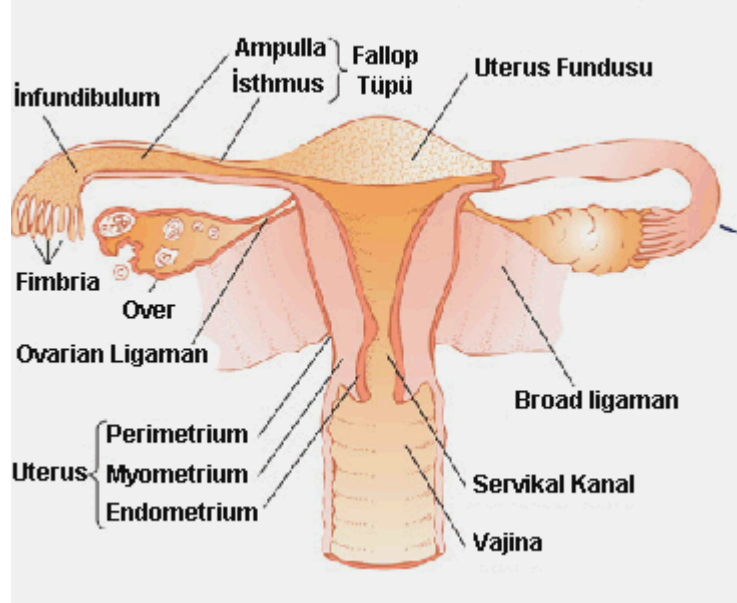
Ovaryum 3 cm. uzunluk, 1,5 cm genişlik ve 1 cm. kalınlıkta badem Őeklinindedir. Organ gevşek bağ dokusu içinde damardan zengin bir yapı gösteren medüller bölge ile oosit içeren ovaryum foliküllerinin bol miktarda bulunduğu bir kortikal bölgeden meydana gelir. Korteks ile medulla arasında kesin bir sınır görülmez. Embriyonik hayatın birinci ayından sonra, primordiyal germ hücreleri (oogonyumlar) vitellus kesesinin endodermi içinde ortaya çıkarlar. Bu hücreler genital kabartı bölgesine g ederken birkaç defa mitoz bölünme geçirirler. Oogonyumlar oluŐacak ovaryum korteksi içinde toplanırlar. Mitoz bölünmeler fetal hayatın beŐinci ayına kadar devam eder. Bu zamanda her bir ovaryum 3 milyonun üzerinde oogonyum içerir. Fetal hayatın üçüncü ayından itibaren bazı oogonyumlar birinci mayoz bölünmenin profazına girerler ve primer oositler haline dönüşürler.

İnsan fetusunda bu iŐlem gebelik sürecinin yedinci ayının sonuna kadar tamamlanır. Bu dönem içinde birçok primer oosit atrezi denilen bir dejeneratif süreç sonucunda ortadan kaybolur.

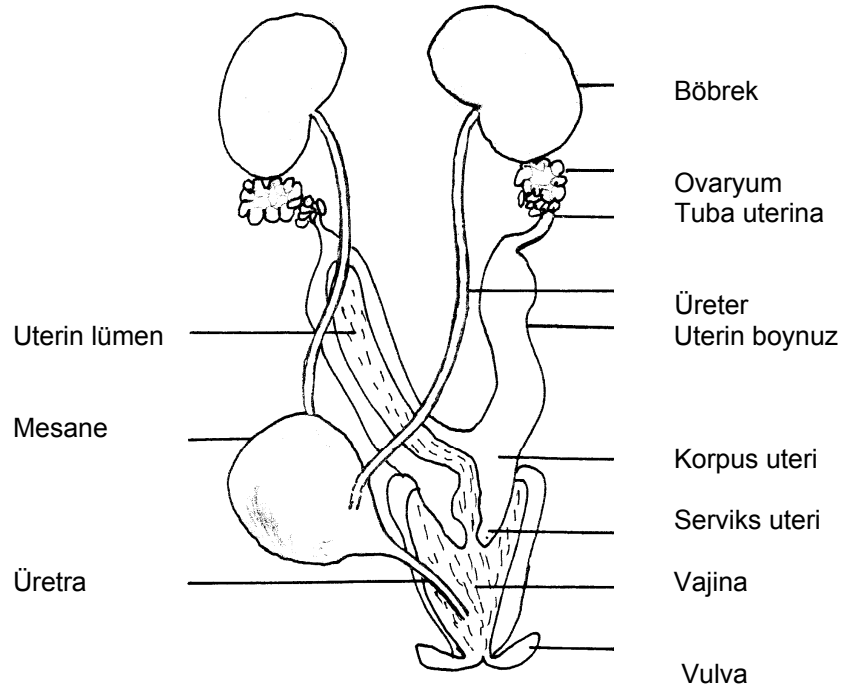
Korteks bölgesinin stroması karakteristik iğsi Őekilli fibroblastlardan meydana gelir. Bu hücreler hormonal uyarılara karşı diğer organlardaki

fibroblastlardan farklı bir yanıt oluştururlar. Ovaryum yüzeyi tek katlı yassı ya da kübik germinal epitel ile örtülüdür. Germinal epitelin altında stroma, tunika albuginea denen sınırları belirsiz bir sıkı bağ dokusu tabakası oluşturur. Tunika albuginea ovaryumun açık renkte görülmesini sağlar (B.Young, 2000; Leslie P. Gartner, 2001; Luiz C. Junqueira, 2003).

Şekil 2. Dişi iç genital organlar (<http://yilmazcebi.com>)



Şekil 3. Sığan dişi iç genital organlar



1.2.1.1.1. Ovaryum Folikülleri

Ovaryum folikülleri korteksin stroması içinde yer alır. Bir folikül, bir ya da daha fazla tabaka oluşturmuş folikül hücreleriyle (granüloza hücreleri) çevrili bir oositten meydana gelir. Foliküler gelişimin birkaç evresi vardır:

Primordiyal foliküller: primordiyal foliküllerin en çok sayıda bulunduğu dönem doğum öncesidir. Her bir primordiyal folikül tek sıra yassı folikül hücreleriyle çevrili bir primer oositten oluşur. Primordial foliküldeki oosit yaklaşık 25 µm çaplı küre şeklinde bir hücredir. Hafifçe ekzantrik olarak yerleşmiş büyük bir nükleusu ve büyük bir nükleolusu bulunur. Kromozomlar çoğunlukla açılmış haldedir ve koyu olarak boyanamazlar. Sitoplazmadaki organeller nükleusa yakın bir küme oluşturma eğilimi gösterirler. Sitoplazmada çok sayıda mitokondri, birkaç golgi kompleksi ve endoplazma retikulumu sisternası bulunur. Yassı folikül hücreleri birbirlerine desmozomlarla bağlanırlar. Folikül hücrelerinin altında bir bazal lamina bulunur ve damardan yoksun folikülleri stromadan ayıran sınırı oluşturur.

Büyümekte olan foliküller: Foliküllerin büyümesi esas olarak folikül hücrelerinin ve bununla birlikte primer oositin ve folikülü çevreleyen stromanın büyümesi ile olur. Bu esnada oositin çapı maksimum 125-150 µm ye ulaşır. Nükleus büyür ve bu durumla germinal vezikül adını alır. Mitokondri sayısında artış olur, endoplazmik retikulum hipertrofiye olur ve golgi kompleksleri de hücre yüzeyinin altına göç eder. Folikül hücreleri tek tabakalı kübik hücreler haline geldiğinde unilaminer (tek tabakalı) primer folikül ismi verilir. Folikül hücreleri mitozla çoğalırlar ve çok katlı foliküler epiteli ya da granüloza tabakasını oluştururlar. Folikülün bu haline multilaminer (çok tabakalı) primer folikül ismi verilir. Oositi çevreleyen kalın bir örtü olan zona pellusida en az üç farklı glikoprotein içerir. Zona pellucida sentezinin, hem oositler hem de folikül hücreleri tarafından yapıldığı düşünülmektedir. Folikül hücrelerinin uzantıları (filopodya) ile oosit mikrovillusları zona pelusida içine uzanırlar ve gap junctionlar ile birbirleriyle temas kurarlar. Folikülde bu değişiklikler oluşurken, folikülün etrafını saran stroma farklılaşma göstererek teka foliküliyi oluşturur. Daha sonra bu tabaka teka interna ve teka eksterna olarak farklılaşır. Teka

internanın hücreleri tamamen farklılaştığında steroid üreten hücreler ile aynı ultrastrüktürel özelliklere sahip olurlar. Bu hücrelerin sentezlediği androstenedion granüloza hücreleri tarafından östradiole dönüştürülür. Endokrin fonksiyona sahip tüm organlar gibi teka interna da damardan zengindir. Teka eksterna esasen bağ dokusundan ibarettir, içinden geçen küçük damarlar teka internanın sekretuar hücreleri etrafında zengin kapiller ağlar oluşturur. Folikülün büyümesi esas olarak granüloza hücrelerinin büyüklüğünün ve sayısının artması ile olur. Bu esnada hücreler arasında folikül sıvısı toplanmaya başlar. Sıvıyı içeren boşluklar birleşerek tek bir boşluk (antrum) oluşturur. Bu özelliklerinden dolayı foliküle sekonder (veziküler) folikül ismi verilir. Folikül sıvısı içerisinde plazma, glikozaminoglikanlar, steroid bağlayıcı proteinleri de içeren bazı proteinler ve yüksek konsantrasyonda steroidler (progesteron, androjen ve östrojenler) içerir.

Olgun Foliküller: Olgun folikül yaklaşık 2,5 cm. çapındadır ve ovaryum yüzeyinden dışarı doğru şişkinlik yapan saydam bir vezikül olarak görülebilir. Sıvı toplanmasının bir sonucu olarak, folikül boşluğunun genişliğinde bir artış olur ve oosit granüloza hücreleri tarafından oluşturulan bir sap ile folikül duvarına bağlanır. Granüloza hücreleri, sıvı toplanmasıyla doğru orantılı bir biçimde çoğalma göstermedikleri için granüloza tabakası daha ince bir hale gelir. Ovum etrafındaki ilk tabakayı oluşturan granüloza hücreleri zona pellusida ile yakın temastadır. Bu hücreler uzayarak korona radyatayı oluşturur. Korona radyata ovum ovaryumu terk ederken ona eşlik eder. Korona radyata spermatozoonun ovumu dölediği zamanda dahi mevcuttur ve ovumun ovuduktan geçişi esnasında da bir süre kalır (Michael H.Ross, 2003; Luiz C. Junqueira, 2003; Abraham L. Kierszenbaum, 2006).

Ovulasyon

Ovulasyon, olgun folikülün rüptüre olması ve oviduktun genişlemiş ucu tarafından yakalanacak ovumun serbest kalmasıdır. Kadında ovulasyon zamanında ovaryumdan çoğunlukla sadece bir ovum serbest bırakılır, ancak aynı anda iki ya da daha fazlası da atılabilir. Ovulasyon menstrual siklusun ortalarında, yani 28 günlük bir siklusun yaklaşık 14. günü civarında

meydana gelir. Uyarımı oluşturan, ön hipofiz bezinden salgılanan luteinizan hormondaki (LH) bir dalgalanmadır. Kanda LH'daki artıştan sonra birkaç dakika içinde ovaryumun kanlanması bir artış görülür ve plazma proteinleri kapiller ve postkapiller venüllerden sızarak ödeme yol açarlar. Lokal olarak, prostaglandinler, histamin, vazopressin ve kollajenaz salınır. Granüloza hücreleri daha fazla hyaluronik asit üretirler ve gevşek bir hal alırlar. Kollajen yıkımı, iskemi ve üstteki bazı hücrelerin ölmesi folikül dış duvarında bir zayıflamaya yol açar. Bununla beraber antral sıvı basıncının artması ve muhtemelen düz kas hücrelerinin kasılması folikül dış duvarında rüptüre ve ovulasyona neden olur. Zona pellusida ve etrafındaki hücrelerle birlikte ovum ve bir miktar antral sıvı ovaryumu terk eder ve ovidukta girer.

Oviduktun ovaryum yüzeyine bakan ucu huni şeklindedir ve fimbriya ismi verilen çok sayıda parmaklı uzantılardan oluşan bir saçaklanma gösterir. Ovulasyon anında bu uç ovumu tutar. Kas kontraksiyonu ve silyalı hücrelerin aktivitesinin oluşturduğu itici güç ile ovum, döllenebileceği yere, oviduktun infundibulumuna girer. Döllenmiş ovuma zigot ismi verilir. Zigot yarıklanmaya başlar ve yaklaşık 5 gün sürecek bir yolculukla uterusu taşınır. Ovum ovulasyondan sonraki ilk 24 saat içinde döllenmezse dejenerasyona uğrar ve fagosite edilir.

Korpus Luteum

Ovulasyondan sonra, ovaryum içinde kalan granüloza ve teka interna hücreleri korpus luteum denen geçici bir endokrin bezi oluştururlar. Ovaryumun korteks bölgesinde yerleşen korpus luteum, progesteron ve östrojen hormonlarını salgılar. Progesteron yeni ovaryum foliküllerinin gelişmesini engelleyerek ovulasyona engel olur.

Folikül sıvısının boşalması ile folikül duvarı büzülür ve katlantılı hale gelir. Folikül boşluğunda bir miktar kanama olur. Bu kan burada koagüle olur ve daha sonra yerini bağdokusuna bırakır. Bu bağ dokusu ile giderek ortadan kaldırılmakta olan kan pıhtısı artıkları korpus luteumun en iç kısmına yerleşir.

Ovulasyondan sonra granüloza hücreleri bölünmez ancak büyüklüklerinde büyük bir artış görülür. Bunlar korpus luteum parenkimasının yaklaşık %80'ini oluşturur ve granüloza lutein hücreleri ismini alır. Bu hücreler steroid salgısı yapan hücrelerin özelliklerine sahiptirler. Teka interna hücreleri de teka lutein hücrelerini oluşturarak korpus luteumun oluşumuna katılırlar. Bu hücreler granüloza lutein hücrelerine benzer yapıdadır, ancak daha küçüktür ve daha koyu boyanırlar. Bu hücreler korpus luteum duvarının katlantılarında yerleşirler. Korpus luteum tarafından üretilen progesteron, LH üretimi üzerinde baskılayıcı bir etkiye sahiptir. Gebelik meydana gelmediği zaman, korpus luteum yalnızca 10-14 gün yani menstrual siklusun sadece ikinci yarısı boyunca kalır (menstruasyon korpus luteumu). Bu süreden sonra, LH eksikliği korpus luteumun dejenere olup ortadan kalkmasına yol açar. Gebelik meydana gelirse, placentadan üretilen koryonik gonadotropin korpus luteumu uyarır. Böylece, korpus luteum 6 ay kadar bir süre kalır ancak daha sonra yavaş yavaş etkisini kaybeder. Buna gebelik korpus luteumu denir. Gebelik korpus luteumu aynı zamanda bir polipeptid hormon olan relaksin salgılar. Bu hormon simfisiz pubisin bağ dokusunu yumuşatıp gevşeterek doğumun kolaylaşmasına yardımcı olur (Ross, 2003; Junqueira, 2003; Kierszenbaum, 2006).

2.1.1.2. Ovidukt

Ovidukt (tuba uterina) büyük hareketlilik gösteren musküler bir kanaldır. 12 cm kadar bir uzunluğa sahiptir. Bir ucu ovaryum yakınında periton boşluğuna açılırken diğeri uterus duvarını geçer ve bu organın iç kısmına açılır. Oviduktun serbest ucu fimbriya denen çok sayıda parmaklı uzantılardan oluşan bir saçaklanma gösterir.

Ovidukt anatomik olarak infundibulum, ampulla, istmus ve intramural bölgelerine ayrılırken, duvarı üç tabakadan yapılmıştır: mukoza, muskularis ve seroza.

Mukoza epiteli tek katlı prizmatik olup iki tip hücre içerir. Bunlardan biri silya içerirken, diğeri salgı yapıcı özellik gösterir. Silyalar uterusu doğru hareket ederek oviduktun yüzeyini örten ince visköz bir sıvı tabakasının

hareketini sağlar. Bu sıvı esas olarak silyalı hücreler arasına serpiştirilmiş sekretuvar hücrelerin ürünlerinden ibarettir. Bu sekresyon ovum için besleyici ve koruyucu fonksiyonlara sahiptir. Aynı zamanda, spermatozoonun aktivitesini (kapasitasyon) sağlar. Ovidukt mukozasını kaplayan ince sıvı tabakanın hareketi ile birlikte kas tabakasının kontraksiyonları ovum ya da zigotun uterusu doğru taşınmasına yardım eder. Bu sıvı akımı aynı zamanda uterusun periton boşluğuna mikroorganizmaların geçişine engel olur.

Mukozanın lamina propriası gevşek bağ dokusundan oluşur. Kas tabakası ise içte sirküler ya da spiral, dışta ise uzamına bir tabaka olarak düzenlenmiş düz kas liflerinden ibarettir.

Ovidukt, ovaryum tarafından serbest bırakılan ovumu yakalayıp onu uterusu doğru taşır. Lümeni döllenmeye elverişli bir ortam oluşturur ve salgıları gelişmenin erken safhaları esnasında embriyonun beslenmesine yardımcı olur. Döllenme, genellikle oviduktun ampulla bölgesinde olur (Michael H. Ross, 2003; Luiz C. Junqueira, 2003; Abraham L. Kierszenbaum; 2006).

1.1.1.3. Uterus

Uterus armut şeklinde bir organ olup, uterus kavitesinin daraldığı internal os'un yukarısında yer alan gövde (korpus) ile internal os'dan aşağıya doğru uzanan silindirik bir yapı olan servikten ibarettir. Oviduktların uterusu girdiği bölgelerin yukarısında kalan gövde kısmına fundus ismi verilir. Uterus duvarı nispeten kalın olup üç tabakadan meydana gelir: içte endometriyum, kalın bir düz kas tabakası olan miyometriyum ve dışta seroza ya da adventisya yer alır.

Endometriyum: Endometriyum, epitel ile basit tübüler bezler içeren lamina propriadan oluşur. Bezler miyometriyuma yakın alt bölümlerinde bazen dallanmalar gösterir. Epitel tek katlı prizmatiktir, silyalı hücreler ile sekretuvar hücrelerden oluşur. Uterus bezlerinin epiteli yüzey epiteline benzerse de silyalı hücreler bu bezlerde nadir olarak bulunur. Lamina

proprianın bağ dokusu fibroblastlardan zengindir ve bol miktarda amorf temel madde içerir. Bağ dokusu lifleri çoğunlukla retikülerdir.

Endometriyum tabakası iki zon ile alt bölümlere ayrılabilir; bunlar, her menstrual siklus esnasında menstruasyonla dökülen ve tekrar yenilenen bölümü oluşturan fonksiyonalis ile menstruasyon sonrasında arta kalan ve hemen çoğalarak endometriyumun yeniden oluşturulması için yeni bir epitel ile lamina propriayı yapan bazalidir. Bazalis içinde derin kısımlarda bulunan uterus bezlerinin tabanları, bölünen ve menstrual fazdaki endometriyumun açığa çıkan bağ dokusu üzerine göç eden hücrelere kaynak oluşturur. Bu şekilde menstruasyondan sonra uterusun yeni yüzey epiteli sağlanmış olur.

Endometriyumu besleyen kan damarları bu tabakanın büyük bir bölümünün periyodik olarak dökülmesinde özel bir öneme sahiptir. Arkuat arterler dairesel olarak miyometriyumun orta tabakalarında yerleşir. Bazalisi kanlandıran düz arterler ve fonksiyonalise kan getiren spiral arterler Arkuat arterlerden köken alır.

Miyometriyum: Miyometriyum bağ dokusu ile ayrılmış düz kas lif demetlerinin oluşturduğu uterusun en kalın tabakasıdır. Düz kas demetleri sınırları iyi belirlenemeyen dört tabaka oluşturur. Birinci ve dördüncü tabaka esas olarak longitudinal yani organın uzun eksenine paralel yerleşmiş liflerden oluşur. Orta tabakalar ise daha büyük kan damarlarını içerir.

Gebelik esnasında, miyometriyum büyük bir büyüme dönemine girer. Büyüme hem hiperplazi hem de hipertrofi sonucu gelişir. Gebelik esnasında birçok düz kas hücresi protein salgısı yapan hücrelerin ultrastrüktürel özelliklerini gösterir ve aktif olarak kollojen sentez ederler. Böylece, uterus kollojen içeriğinin önemli derecede artmasına neden olurlar. Gebelik sonrasında, bazı düz kas hücrelerinde harabiyet, diğerlerinin boyutlarında azalma ve kollojen enzimatik yıkımı izlenir. Böylece uterusun boyutları gebelik öncesine yakın değerlere iner (Michael H. Ross, 2003; Luiz C. Junqueira, 2003; Abraham L. Kierszenbaum, 2006).

Serviks Uteri

Serviks uterusun alttaki silindirik kısmıdır. Bu bölge uterusun diğer kısımlarından histolojik yapı olarak farklıdır. Yüzeyde mukus salgısı yapan tek katlı prizmatik epitel bulunur. Serviks az sayıda düz kas lifi içerir, esas olarak sıkı bağ dokusundan (%85) ibarettir. Vajina lümenine doğru çıkıntı yapan serviksin dış kısmı ise çok katlı yassı epitel ile örtülüdür.

Serviksin mukozası oldukça dallanmış, müköz servikal bezler içerir. Bu bezler menstrual siklus esnasında küçük yapısal değişikliklere uğrar. Buna karşın bu mukoza menstruasyon esnasında dökülmez. Gebelik esnasında, servikal müköz bezler çoğalarak daha visköz ve bol mukus yaparlar.

Servikal salgılar ovumun döllenesinde önemli bir rol oynar. Ovulasyon anında müköz salgılar sulanır ve spermin uterusu girişine olanak sağlar. Luteal fazda ya da gebelikte, progesteron düzeyleri müköz salgıların daha visköz bir hale gelmesinde rol oynar. Bu durumda uterus gövdesi içine sperm ile mikroorganizmaların geçişi engellenir. Doğumdan önce servikte görülen genişleme, şiddetli kollojenolizise ve bunun yol açtığı yumuşamaya bağlıdır (Michael H. Ross, 2003; Luiz C. Junqueira, 2003; Abraham L. Kierszenbaum, 2006).

1.2.2. Menstrual Siklus

Hipofizin ön lobunun uyarımı altındaki ovaryum hormonlarının (östrojen ve progesteron) etkisi endometriyumun menstrual siklus esnasında döngüsel yapısal değişikliklere girmesine neden olur. Menstrual siklus süresi değişkenlik gösterebilir ortalama 28 günde bir tekrarlanır.

Menstrual sikluslar genellikle 12-15 yaşlar arasında başlar ve 45-50 yaşına kadar devam eder. Menstrual sikluslar, ovum üretimi ile bağlantılı ovaryum değişimlerinin sonucu olarak ortaya çıkar. Bu yüzden dişi sadece menstruasyon gördüğü yıllar boyunca fertil kalır. Bu durum seksüel aktivitenin menopoza sonlanması anlamına gelmez, sadece fertilité sona erer.

Pratik olarak menstrual siklusun başlangıcı menstrual kanamanın görüldüğü gün olarak alınır. Menstrual akıntı kan damarlarından gelen kanın

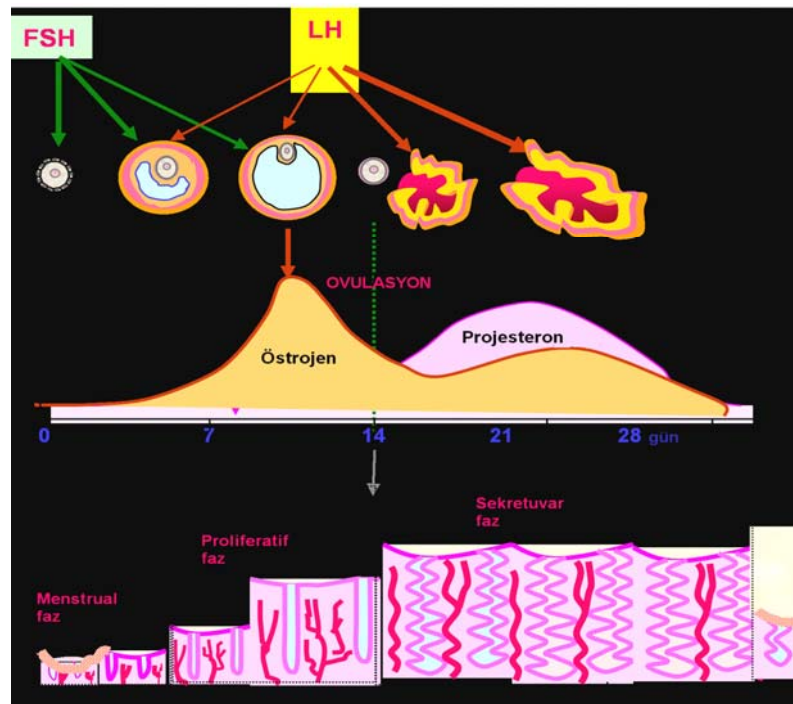
dejenere olan endometriyumla karışımından ibarettir. Menstrual faz siklusun ilk dört günü olarak tanımlanır. Proliferatif faz 5 ile 14'üncü günler arasını kapsar. Sekretuar faz ise 15 ile 28'inci günler arasını kapsar. Her fazın süresi değişebilir. Belirtilen aralıklar sadece ortalama değerlerdir.

Menstrual siklusta bir proliferatif faz, bir sekretuar ya da luteal faz ve bir menstrual faz bulunmasına karşın siklus süresince görülen yapısal değişiklikler kademeli olarak gerçekleşir. Burada bahsedilen fazlar arasındaki belirgin ayrımlar gerçekte eğitici olması amacıyla yöneliktir.

Proliferatif Faz: Menstrual fazdan sonra, uterus mukozası bezlerin bazal kısımlarını içeren küçük bir lamina propriadan ibarettir. Proliferatif faz aynı zamanda ovaryum foliküllerinin geliştiği ve östrojenlerin üretildiği dönemle çakışması sebebiyle foliküler faz olarak da bilinir.

Tüm proliferatif faz boyunca hücresel çoğalma devam eder. Böylece hem bezler hem de endometriyumun yüzey epiteli yenilenir. Ayrıca, bağ dokusu hücreleri çoğalır ve lamina propria içinde temel madde birikir. Bu da endometriyumun bir bütün olarak büyümesine sebep olur (Michael H. Ross, 2003; Luiz C. Junqueira, 2003; Abraham L. Kierszenbaum, 2006).

Şekil 4. Menstrual Siklus (<http://centrum.com>)



Proliferatif fazın sonunda, endometriyum 2-3 mm kalınlığa ulaşır. Tek katlı prizmatik epitel hücreleri içeren bezler dar lümenli düz tübüller oluştururlar. Bu faz esnasında, epitel hücrelerinde kaba endoplazmik retikulum sisterna sayısında ve golgi kompleksi boyutlarında giderek bir artış izlenir ve bu şekilde hücreler salgılama aktivitesi için hazırlık yapar. Spiral arterler yenilenmekte olan stroma içine doğru ilerler.

Sekretuar ya da Luteal Faz: Bu faz ovulasyondan sonra başlar. Korpus luteum tarafından salgılanan progesteron hormonunun etkisi altındadır. Östrojenin etkisi ile gelişmiş olan bezler, progesteron etkisiyle glikoproteinleri salgılar. Bu glikoproteinler implantasyondan önce embriyonun en büyük beslenme kaynağı olacaktır.

Bezler fazlasıyla kıvrıntılı, spiral bir hale gelir ve epitel hücreleri nükleuslarının altında glikojen depolamaya başlar. Daha sonra, glikojen miktarında düşme olur. Glikoprotein salgı ürünleri, bezlerin lümenini genişletir. Bu fazda endometriyum, salgı ürünlerinin birikmesi ve stromadaki ödemin bir sonucu olarak maksimum kalınlığa (5 mm) ulaşır. Mitozlara sekretuar faz esnasında nadir olarak rastlanır. Spiral arterlerin uzaması ve kıvrılması devam eder ve endometriyumun yüzeysel kısmı içine uzanır. Progesteron miyometriyumun düz kas hücrelerinin kontraksiyonunu inhibe ederek embriyonun implantasyonu tehlikeden korur.

Menstrual Faz: Ovaryum tarafından serbest bırakılan ovumun döllenişi ve implantasyonu gerçekleşemediği zaman, korpus luteumun fonksiyonu yaklaşık 14 gün sonra kendiliğinden durur. Bu durumda kandaki progesteron ve östrojen düzeyleri süratle düşer. Bu hormonların etkisiyle gelişmiş olan endometriyumda gerileme başlar ve endometriyum kısmi olarak dökülür. İmplantasyon gerçekleştiği takdirde gelişmekte olan embriyo tarafından insan koryonik gonadotropini (hCG) sentezlenmeye başlar. Bu hormonun etkisiyle korpus luteum yaşamına devam eder ve menstruasyon oluşmaz.

Sekretuar fazın sonunda, spiral arterlerin duvarları kasılır, kan akımı engellenir ve oluşan iskemi damar duvarının ve endometriyumun fonksiyonals tabakasının nekrozuna neden olur. Bu esnada kasılan damarların yukarısında bulunan kan damarları yırtılır ve kanama başlar. Endometriyum kısmen ayrılmış bir hale gelir. Dökülen miktar farklı

kadınlarda hatta aynı kadında farklı dönemlerde bile değişkenlik gösterir. Menstrual fazın sonunda endometriyumdan geriye, endometriyum bezlerinin bazal uçlarını içeren bazal tabakadan başka bir şey kalmaz, buradan bez hücrelerinin çoğalması ve bunların yüzeye göç etmeleri ile proliferatif faz ve siklus tekrar başlar (Michael H. Ross, 2003; Luiz C. Junqueira, 2003; Abraham L. Kierszenbaum, 2006).

1.2.3. İmplantasyon ve Desidualizasyon

İmplantasyon, blastosistin dış tabakası olan trofektodermin (TE), uterusun luminal epiteli (LE) ile etkileşime girmesidir. Bu olayda genetik olarak farklı olan embriyonik ve maternal dokular arasında başarılı bir kaynaşma meydana gelir (Sarani et al. 1999, Kimber, 2000).

İnsan oositinin döllenmesi oviduktun genellikle ampulla bölgesinde olur. Zigot pasif olarak uterusu doğru taşınırken yarıklanmaya başlar. Sonra gerçekleşen mitozlarla, sıkı bir hücre topluluğu olan morula oluşur. Zona pellusida ile örtülü bulunan morula, zigotla yaklaşık aynı büyüklüktedir. Zigotun segmentasyonu sonucu ortaya çıkan hücrelere blastomer denir.

Oviduktun lümeninden aktarılan sıvının giderek birikmesi sonucunda morulanın merkezinde bir boşluk oluşur. Hücrelerin oluşturduğu bu içi sıvı dolu küreye, blastosist denir. Blastomerler periferik bir tabaka (trofoblast) şeklinde düzenlenirler. Bu tabaka iç hücre kitlesi denen bir hücre topluluğunun blastosist boşluğuna doğru çıkıntı yaptığı noktada kalınlaşmıştır. Gelişimin bu evresi ovulasyondan sonraki yaklaşık 4 ya da 5'inci günlere rastlar. Bu zamanda embriyo uterusu ulaşır. Blastosist uterus lümeninde 2 ya da 3 gün kalır. Burada endometriyum salgısı içinde endometriyum yüzeyiyle temas eder.

Blastosist evresinde, zona pellusida daha ince bir hale gelir ve daha sonra kaybolur. Böylece mukozayı delme kapasitesine sahip olan trofoblast hücrelerinin endometriyuma doğrudan temas etmesine olanak sağlar. Bundan hemen sonra trofoblast hücreleri hızlı bir şekilde çoğalmaya başlayarak, endometriyumun da yardımıyla embriyonun beslenmesini sağlar. Bu evre esnasında embriyo iç hücre kitlesi hafifçe büyür.

İmplantasyon ya da nidasyon çok az nekroza yol açarak uterus epitelinde penetrasyon ile olur. İnterstisyel implantasyonun bu tipi insanda ve diğer birkaç memelide görülür. İmplantasyon, endometriyum sekretuar fazdayken meydana gelir. Uterus bezleri glikoproteinler salgılar, damarlar genişler ve lamina propria hafifçe şişer. İmplantasyon, ovulasyondan sonraki 7'inci gün civarında başlar; ovulasyondan sonraki 9. gün civarında embriyo artık gebelik boyunca kendisini koruyup besleyecek olan endometriyumun içine tamamen gömülmüş durumdadır.

İmplantasyon esnasında trofoblast, sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast olmak üzere iki tabakaya farklılaşır. Çok çekirdekli sinsityal bir dış tabaka olan sinsityotrofoblast tabakası tek çekirdekli sitotrofoblastların birleşmesi ile ortaya çıkar. Sitotrofoblast sinsityotrofoblastın hemen altında tek çekirdekli ovoid hücrelerin oluşturduğu düzensiz bir tabaka halinde bulunur.

Sinsityotrofoblastların yüzeyi düzensiz mikrovilluslara sahiptir. Yüzeğe yakın sitoplazma düzgün membranlarla örtülü veziküller içerir. Bu durum sinsityotrofoblastta, maternal dolaşımdan fetusa materyal taşınmasına bağlı olarak yoğun bir pinositotik sürecin söz konusu olduğunu düşündürmektedir. Bu seviyenin altında ise sinsityotrofoblastın sitoplazması bol miktarda kaba ve düz endoplazma retikulumu, iyi gelişmiş bir Golgi kompleksi ile çok sayıda mitokondri içerir. Bu ultrastrüktürel özellikler koryonik gonadotropin, plasental laktojen ve östrojen ile progesteron sekresyonunda sinsityotrofoblastın aldığı rollere uygun bir görüntü verir. Sitotrofoblastların içerdiği lipid damlacıklarında steroid hormonların öncülü olan kolesterolün bulunduğu sitokimyasal yöntemlerle belirlenmiştir. Ekstrasitoplazmik boşlukların sınırlarını sinsityotrofoblastlar oluşturur. Bu boşlukların boyutlarının artması ve birbirleriyle ilişki kurmaları sonucunda süngerimsi bir yapı oluşur. Böylece sinsityotrofoblastlarla döşeli lakünalar meydana gelir. Sinsityotrofoblastın litik etkisi ile arteriyel ve venöz maternal kan damarları rüptüre olur ve bu laküner boşluklara aşırı bir kan akımı gelişir. Kan arteriyel damarlardan lakünelere ve oradan da venlere geçer (Ross, 2003; Junqueira, 2003; Kierszenbaum, 2006).

İmplantasyonun düzenli hücresel ve moleküler olaylarını açıklayabilmek için çeşitli dönemler tanımlanmıştır.

Dönem 1: Metafaz II oositin fertilizasyonu ile başlar.

Dönem 2: Zigotun bölünme evresinin başlangıcını gösterir.

Dönem 3: Morula, uterus boşluğuna girer ve kısa zaman sonra blastosist oluşur. Bu nedenle bu dönem blastosist implantasyonunda Faz I olarak isimlendirilir. Blastosist endometriyal kavite içinde serbesttir ve henüz yüzey epiteli ile temas etmemiştir.

İnsanlarda morulanın uterusu ulaşması ovulasyon/fertilizasyondan yaklaşık 72-96 saat (3-4. gün) sonra olmaktadır. Zona pellusida 5. günde (yaklaşık ovulasyon/ fertilizasyondan 110-120 saat sonra) erimeye başlar.

Dönem 4: Blastosist yüzey epiteline yapışır ve daha sonra epitele ve hemen ardından stromaya penetre olur. Bu dönem blastosist implantasyonunda Faz II olarak isimlendirilir.

Dönem 5-9: İmplantasyonun en belirgin özelliği olan plasentasyon olur. Bu dönem Faz III olarak isimlendirilir (Parr et al. 1987).

Blastosist TE ile LE'nin adeziv etkileşimi ve blastosistin stroma içine penetrasyonu için gerekli olan moleküler olayların aynı anda ortaya çıkması gerekmektedir. Blastosistler, sadece implantasyonun pencere döneminde LE ile implantasyon etkileşimine girebilirler (Kimber, 2000). Bunu belirleyen ise, korpus luteumdan salgılanan progesteronun endometriyumdaki etkileri ve bunları takip eden gebeliğin 4. günündeki küçük bir östrojen pikidir. İnsanlarda uterusun implantasyona elverişli olduğu dönem standart bir menstrual devrenin 19- 24. günleri arasındadır (Bibhash et al. 1998) .

1.2.3.1. İmplantasyonun Başlangıcındaki Sinyalleşme

Blastosist ve LE arasındaki sinyalleşme, hücrelerden salınan eriyebilir moleküller yoluyla ortaya çıkabileceği gibi, zara bağlı sinyal molekülleri yoluyla da ortaya çıkabilir. 1994'te yapılan bir çalışmada, fare endometriyumunun yüzey epiteline blastosistin bağlanmasından hemen önce Heparin Binding-Epidermal Growth Factor (HB-EGF) salgılandığı gösterilmiştir. HB-EGF, östrojen kontrolü altındaki fare endometriyal epiteli ve progesteronun kontrol ettiği stroma tarafından eksprese edilir. HB-EGF, östrojenin hücre çoğalmasındaki etkilerine aracılık eder. Gebeliğin 2. ve 3. günlerinde LE'de HB-EGF mRNA bulunmaz ancak, olasılıkla blastosist

bağlanma zamanından 6-7 saat önce, LE'in apikal yüzeyinde blastosiste komşu bölgede eksprese edilir (Paria et al. 2000, Kimber, 2000).

1.2.3.2. İmplantasyon Hazırlığındaki LE'de Meydana Gelen Değişiklikler ve Desidualizasyon

İmplantasyon öncesinde LE'de bir takım değişiklikler meydana gelir. İmplantasyon anında LE hücrelerinin apikal bazal polaritesi, apikal membrandaki bazolateral belirteçlerin ortaya çıkması ile belirginliğini kaybeder ve daha sıklık hale gelir. Hücreler artık daha yassılaştır ve mikrovillusların sayısı azalır. Birçok türde mikrovillusların yerini pinopodlar alır. Bazal membran kalınlığı dikkat çekecek derecede azalır (Bentin-Ley et al. 1998). Hücre yüzeyi moleküllerinin apikolateral dağılımında değişiklikler ortaya çıkar. Örneğin, sekretuar evrede integrin 6'nın dağılımı, bazal ve laterale doğru değişir. Bu durum, implantasyon anında LE'nin hücrelerarası etkileşimdeki değişimine işaret eder. Desmozomal proteinler, fare LE'sindeki lateral hücre yüzeyleri boyunca tekrar dağıtılır ve düzenlenirler. İnsan ve fare LE'sinde implantasyon zamanı desmozom yoğunluğu azalır (Illingworth et al. 2000). Zaman içerisinde insan da dahil bazı türlerde lateral membrandaki sıkı bağlantı dağılımı da değişir (Murphy et al. 1992). Buna ek olarak, özgün gap junctionlar, implantasyonun olduğu epitelde açığa çıkar ve ovaryum steroidlerince sıkı bir şekilde düzenlenirler. İnsanlarda endometriyal epitelin yeniden organizasyonu diğer memelilerdekine paralel ek unsurları içerir. LE hücrelerindeki düzenli mikrovilluslar ovulasyondan yaklaşık 6 gün sonra yerlerini pinopodlara bırakırlar (Kimber et al. 2000).

İnsan uterus epitel hücre serilerinin embriyonun tutunmasını destekleyebilmesi için, E-kadherin, integrin 1, 4 ve 6 gibi bazı bazolateral hücre adezyon moleküllerinin apikal ekspresyonları gerekmektedir (Duc-Goiran et al. 1999)

Embriyonun implantasyondan sonra endometriyum büyük değişikliklere uğrar ve desidua ismini alır. Gebeliğe bağlı olarak endometriyumda gelişimin ikinci haftasında oluşan hücresel ve vasküler değişikliklere desidual reaksiyon adı verilir (Moore, 2009). İmplantasyon

sırasında artmış progesteron seviyesine bağı olarak endometriyumdaki stromal hücreler farklılaşarak desidua hücrelerine dönüşürler. Stroma hücreleri genişler, poligonal hale gelir ve desidual hücreler ismini alırlar. Desidual hücreler bol miktarda glikojen ve lipid depolayarak gelişen embriyonun beslenmesine yardımcı olurlar.

İmplantasyon bölgesine göre desidua üç ayrı bölge gösterir:

1. Embriyo ile miyometriyum arasında kalan kısım desidua bazalis,
2. Embriyo ile uterus lümeni arasında kalan kısım desidua kapsülaris,
3. Bunların dışında kalan desidua kısmı desidua pariyetalis (Ross, 2003; Junqueira, 2003; Kierszenbaum, 2006).

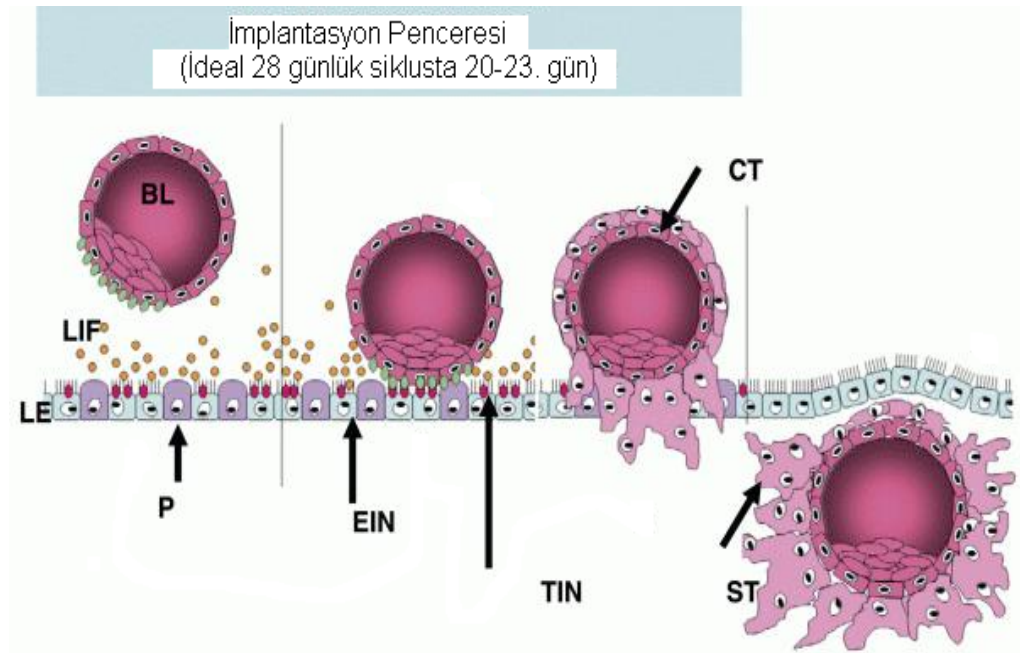
Desidua kapsülaris ile temas halindeki trofoblastlar, beslenmenin yetersiz olması sebebiyle sadece hafif bir gelişme gösterir. Miyometriyuma bakan embriyo kısmında trofoblastların büyümesi maternal kan tarafından sağlanır ve oldukça süratlidir. Trofoblastın bu kısmından primer villus denen uzun çıkıntılar oluşur. Bunların başlıca özelliği yapılarında sadece sitotrofoblastlar ile dışta bir sinsityotrofoblast örtüsü bulunmasıdır. Embriyonik gelişimin bu evresinde ekstraembriyonik mezenşim intraembriyonik mezenşimden önce ortaya çıkar ve plasenta ile fetal membranların oluşmasına katkıda bulunur. Ekstraembriyonik mezenşim ve trofoblast koryonu oluşturur. Desidua kapsülaris tarafında koryon çok az gelişir. Desidua bazalis tarafında ise koryon oldukça fazla gelişir ve koryon frondosumu yapar.

1.2.3.3. Fare ve sıçanlarda implantasyon

Fare ve sıçanlarda apozisyon, adezyon ve invazyonun 6 saatte meydana geldiği son derece hızlı bir implantasyon görülür. Zona pellusidanın kaybindan sonra uterus lümeni blastosisti örter. Blastosist endometriyumun anti mezometriyal kenarına mezometriyal yönlendirmelerle iç hücre kitlesinin bulunduğu noktadan tutunur. Blastosist epitel tabakası ile ilişki kurduktan sonra blastosistin duvarındaki trofoblastik hücreler tarafından yapılan fagositozla epitelyal penetrasyon başlar. İç hücre kitlesinin mezometriyal yönlendirmesi blastosistin bir paket halinde desidual zona invaze olmasını sağlar. Primer desidual zonun farklılanmasıyla embriyonun

büyümesi için trofoblast ile maternal kan sağlayan plasenta şekillenir. Apozisyon, adezyon ve invazyonun hızlı olması yüzünden erken implantasyonun fiziksel mekanizmalarının anlaşılması için fare ve sıçanlar iyi bir aday değildir. Ancak, trofoblastik tutunmanın olmadığı durumlarda desidual cevap ortaya çıktığı ve gebe farelerde desidualizasyon bölgesi kolayca ayırt edilebildiğinden dolayı fare ve sıçanlarda desidualizasyon mekanizmasının çalışılması için iyi bir modeldir (Lee and DeMayo, 2004).

Şekil 5. İmplantasyon evreleri (Fitzgerald et al. 2007'den alınmıştır).



Apozisyon

Adezyon

İnvazyon

Tamamlanmış

İmplantasyon

P: pinopod, EIN: Endometriyal integrin, TIN: Trofoektodermal integrin, LE: Luminal epitel, ST: Sinsityotrofoblast, CT: Sitotrofoblast

1.3. Endometriyum Reseptivitesi

İmplantasyon pencere döneminde endometriyumda eksprese olan reseptivite belirteçleri Çizelge 1’de özetlenmiştir.

Çizelge 1. İmplantasyon dönemine göre endometriyum reseptivitesi belirteçler (Hassa, 2003’den alınmıştır).

I. Apozisyon ve Adezyon	II. İmplantasyonun invazyon dönemi
Pinopod oluşumu, sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri, MUC-1, epitelyumyal integrinler, östrojen/progesteron reseptörleri, glikodelin (PP-14), Ca-125, hCG, prolaktin, trofinin/testin, lösemi inhibe edici faktör (LİF), CSF-1, IL-1 β , TGF- β , IGFBP-1, VEGF, FGF, anjiopietin, heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü (HB-EGF), matriks metalloproteinazlar (MMP), MMP doku inhibitörleri (TIMMP), Hoxa-10, Hoxa-11 gen ekspresyonu, siklooksijenaz-2 ekspresyonu, kalsitonin.	İntegrinler, MMP, TIMMP

Embriyo, implantasyon öncesinde kendi gelişimini ve nidasyonunu uyarıcı sinyalleri endometriyuma iletir. Böylece kendi gelişimini kolaylaştırır. Endometriyum bu aşamada sadece pasif bir görev almaz ve kendisinde selektif olarak embriyonal sinyallere yanıt verir. (Ergen ve Tekin, 1999)

Endometriyumun implantasyon için hazırlanması hedef dokunun östrojen ve progesterona maruz kalmasıyla gerçekleşir. Progesteron endometriyal farklılaşma için çok önemli bir steroiddir (Hilary et al. 2006).

Çizelge 2. Endometriyum reseptivitesi ile ilgili belirteçler (Brenner and West, 1975 ve Delilbaşı 2008' den derlenmiştir)

Biomarker	Hücre Tipi	Fonksiyonu
Hormon/reseptör Kalsitonin	Glandular ve luminal epitel	Embriyo kalitesini artırma
IGF-II	Glandular ve luminal epitel	Mitojen
Progesteron reseptörü	Glandular epitel/stroma	Sekretuar aktivite/desidualizasyon
Sitokin/Büyüme faktörü/reseptörleri		
CSF-1	Luminal epitel	Embriyo kalitesini artırma
LIF	Glandular ve luminal epitel	Embriyo kalitesini artırma
HB-EGF	Glandular ve luminal epitel	Embriyo kalitesini artırma
IL-1	Glandular ve luminal epitel	Embriyo kalitesini artırma
Hücre adezyon molekülleri İntegrinler ($\alpha v\beta 3, \alpha 4\beta 1$)	Glandular ve luminal epitel	Hücre adezyonları
Trophinin-tastin	Glandular ve luminal epitel	Hücre adezyonları
Ephrin	Glandular ve luminal epitel	Hücre migrasyonları
L-selektin	Glandular ve luminal epitel	Hücre adezyonları
MUC-1	Glandular ve luminal epitel	Anti adezyon
Desidual proteinler		
IGF-BP1	Desidua	Trofoblast invazyon kontrolü
Kaderin	Desidua	Bağlantı kurma-adezyon
Transkripsiyon faktörleri HOXA-10	Epitelyum ve stroma	Gen ekspresyonu regülasyonu
HOXA-11	Stroma	Gen ekspresyonu regülasyonu
Telomeraz	Epitelyum ve stroma	DNA tamiri
Yapısal oluşumlar		
Pinopodlar	Luminal epitel	Yapışmayı sağlama
Uterin kan akımı	Uterus	Trofoblast invazyonu
Uterin kasılma	Miyometriyum	Adezyon
Serum belirteç molekülleri		
Glikodelin (PP14)	Glandular epitel	İmmünolojik supresyon
Progesteron	Korpus Luteum	Desidualizasyon

(IGF, İnsülin like growth factor; CSF, colony-stimulating factor; EGF, epidermal growth factor; IL, interleukin; MUC, musin; BP, binding protein).

EGF, FGF ve VEGF anjiyogenezisle ilgili büyüme faktörleridir. Çalışmalar, oviduktan salgılanan biyolojik faktörlerin zigotun blastosiste gelişmesine katkıda bulunduğunu göstermiştir. Uterusun implantasyon için hazırlanmasında steroid hormonlarının, çeşitli büyüme hormonlarının, sitokinlerin, lipid mediatörleri ve transkripsiyon faktörlerinin sekresyonu ve zaman-uzamsal sentezi gerçekleşir. Sıçan, fare ve koyunda implantasyon bölgesinin çevresinde, insan ve sıçan uterusunda VEGF izoformları ve bunların reseptörlerinin bolluğu dikkat çekicidir ve domuzlarda gebelik süresince maternal fetal yüzde ve domuz desiduasında yüksek miktarda VEGF bulunmaktadır. Yapılan deneylerde gebeliğin 1. günü ve 2. gününde VEGF artışında progesteronun anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Bu gözlem hormon replasman tedavisinin sonuçlarıyla desteklenmektedir. Bu büyüme faktörlerinin, domuzlarda gebeliğin kurulmasında ve devamında parakrin ağı desteklediği düşünülmektedir (Wollenhaupt et al. 2004).

IVF'te kullanılan kontrollü ovaryen hiperstimülasyonun (KOH) yarattığı ana problemlerden biri endometriyal faktörlerdeki değişimlerdir. IVF sikluslarında fazla sayıda oosit elde etmek için yapılan ovulasyon indüksiyon ilaçları suprafizyolojik seviyelerde steroid hormon üretimine yol açarak endometriyal reseptiviteyi ve takiben implantasyonu olumsuz etkilemektedir (Macklon et al. 2008).

Elektron mikroskopik çalışmalarda, uterin reseptivite döneminde membran morfolojisinde dramatik değişikliklerin olduğu gösterilmiştir. Özellikle birçok türde pinopod adı verilen uterin epitelden uzanan geniş sitoplazmik projeksiyonlar tanımlanmıştır. Pinopodların ortaya çıkış zamanı endometriyal reseptivite dönemi ile eş zamanlı olup siklusun 19.-21. günleri arasında 24-48 saat süreyle devam etmektedir. Pinopodların fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte endometriyal reseptivite döneminde ortaya çıkmaları implantasyon aralığının tespitinde morfolojik belirteç olarak kullanabileceklerini düşündürmektedir (Martel et al. 1991, Lopata et al. 2002).

İmplantasyonu takiben embriyo tarafından salınan östrojen ve hCG lokal olarak etki ederek endometriyumun desidualizasyonunu sağlar. Progesteron bir yandan prostaglandin E2' nin makrofajlar tarafından sentezini artırarak endometriyumun desidualizasyonunu hızlandırırken diğer yandan uterusun iritabilite ve kontraktilitesini azaltır. Ayrıca, progesteronun immüsupresif özelliğinin hCG ile birlikte fetal allogreftin kabulünü kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Gardner et al. 1997).

Gebeliğin periimplantasyon döneminde, ovaryen hormonlar ile blastosist ve uterus arasındaki sinyal mekanizmalarının etkisi altındaki uterin stromada, gelişen blastosiste cevap olarak desidual reaksiyon adı verilen bazı değişiklikler meydana gelir. Prolifere olan endometriyal stromal fibroblastlar morfolojik ve fizyolojik farklılaşmalar gösterirken, ekstrasellüler matriks (ESM) moleküllerinin yapısı da yeniden şekillenir. Bu dönemde desidual hücrelerin sekresyon ve sentez aktivitelerinin artışına bağlı olarak ESM moleküllerinin endometriyal stromadaki dağılımlarında ve kompozisyonunda büyük değişiklikler gözlenir. İmplantasyon için uygun ortamın hazırlanmasında, endometriyal stromanın, özellikle de ESM yapısının yeniden nasıl şekillendiği tam olarak bilinmemektedir. Desidualizasyon olaylarında ESM moleküllerinin katıldığı sinyal mekanizmaları hakkındaki bilgiler oldukça sınırlıdır.

Blastosist implantasyonu için sadece implantasyon penceresi olarak bilinen luteal fazdaki kısa bir periyod boyunca endometriyumun reseptif olduğu kabul edilmektedir. Son on yıldaki yoğun araştırmalar reseptivite için özel belirteçler olduğunu göstermiştir. Endometriyumda eksprese edilen fizyolojik sinyallerin büyük çoğunluğu, salgılanan proteinlerin içeriği, hücre yüzey reseptörleri, nükleer transkripsiyon faktörleri, hücre yüzey morfolojisindeki değişiklikler luteal faz boyunca araştırılmıştır (Creus et al. 2002). İmplantasyon pencere dönemi ve implantasyon ovaryen steroidleri tarafından kontrol edilir (Meseguer et al. 1998).

İnsan endometriyumu; endometriyal bezler, stromal hücreler, fibroblastlar, endotelyal hücreler, lenfoid hücreler, endometriyum duvarını çevreleyen düz kas hücreleri gibi farklı hücrelerden oluşur. Endometriyumun bu kompleks yapısı kuşkusuz hücre dağılımına, hücre trafiğine ve hücreler arası iletişime katkıda bulunan farklı hücrelerin

düzenlenişini sağlayan fibronektin ve laminin gibi başka molekülleri gerektirir. Menstrüel siklus sırasında endometriyum implantasyona hazırlanmak için bir seri dikkate değer değişiklikler gösterir ve bu değişiklikler erken gebelik döneminde de devam eder. Döngüsel endometriyal yenilenme, implantasyon, gebelik ve doğum, spesifik hücre-hücre veya hücre-ekstrasellüler matriks arası etkileşime gerek duyar (Atabekoğlu 2002).

1.3.1. Uterin reseptivitenin düzenlenmesi

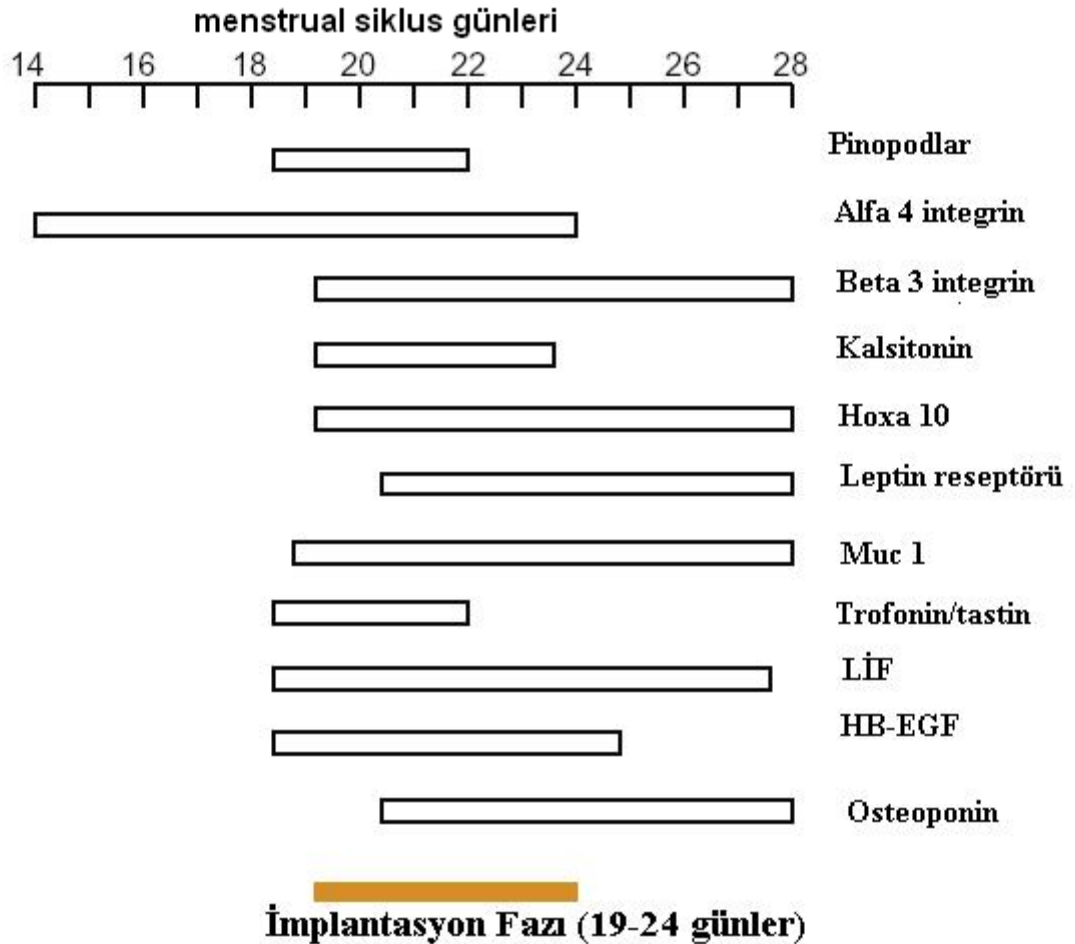
Menstruasyon döneminden sonra, gelişen foliküllerden salınan estradiolün etkisiyle glanduler epitelin büyümesi proliferatif fazda gerçekleşir. Ovulasyonla, korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisiyle endometriyum sekretuar doku haline dönüşür (Brenner and West, 1975). Temel olarak, endometriyal siklus boyunca endometriyal büyüme ve gelişme sırasında meydana gelen önemli olayların büyük kısmı bu iki hormon ve onların reseptörleri tarafından kontrol edilir (Lessey, 1998). İnsanlarda ve pekçok türe ait çalışmalarda, östrojen ve progesteron reseptörleri stromal bölgede devam ederken implantasyon zamanında epitelyal hücrelerde azaldığı görülmüştür. Bu azalma mekanizmaları progesteron bağımlıdır ve luteal faz defektlerinde gecikebilir (Lessey, 1996a). Normal implantasyonda, implantasyon penceresi döneminde progesteronun artması pekçok proteinin ekspresyonuna neden olması sebebiyle çok önemlidir. Endometriyal epitelyal fonksiyon üzerine stromanın parakrin etkisinde ve epitelyal gen ekspresyonu üzerinde progesteronun direkt etkisi vardır (Lessey and Arnold, 1998b). Bununla birlikte bu parakrin yollar, hem EGF ailesinin bir üyesi olan $\alpha\beta 3$ integrinle hem de osteopontin ligandı ile düzenlenir. EGF; 6 kDa büyüklüğünde çeşitli hücre tiplerinin proliferasyonunu uyaran mitojen bir biyolojik güce sahip büyüme faktörüdür. Endometriyumun büyüme ve gelişmesinde potansiyel bir role sahiptir (Fisher and Lakshmanan, 1990).

İmplantasyon ve trofoblast invazyonu halen gebeliğin oluşumundaki en önemli kısıtlayıcı faktör olarak gösterilmektedir. Adezyon ve sonrasındaki invazyon esnasında anne ile embriyo arasında görülen moleküler

etkileşimler embriyonun implante olabilmesi için hayati önem taşır. Gebeliklerin %60 kadarı periimplantasyon döneminde kaybedilir. Bu dönemdeki kayıpların en önemli sebeplerinden biri embriyo-maternal sinyal sisteminde görülen bozukluklardır (Duvan ve ark. 2003).

İmplantasyon aşamasında hem desidua hem de trofoblastlar tarafından birçok büyüme faktörü sitokin ve parakrin faktör yanında adezyon faktöründe sentezlenir. Trofoblastlar ile endometriyum arasındaki ilişki sitokinler (IL-1,3,4,6,7,8,11,12) ile büyüme faktörleri (EGF, FGF, PDGF, IGF, TGF) arasındaki interselüler sinyallerle düzenlenir (Duvan ve ark. 2003).

Şekil 6. İmplantasyonda rol oynayan bazı moleküllerin ekspresyon zamanı



1.3.2. Endometriyum Reseptivitesinde Rol Oynayan Faktörler

1.3.2.1. LİF

Çeşitli sistemlere ait dokularda biyolojik etkilere sahip, interlölin-6 ailesininden bir sitokindir. LİF ilk kez M1 fare miyeloid lösemi hücre serisinde makrofaj farklılaşmasını uyarması nedeniyle hemopoetik faktör olarak tanımlanmıştır (Hilton, 1992). Kendi özel reseptörüne bağlanırken, gp 130'u da paylaşılmış sinyal iletici reseptör partneri olarak kullanır. Gp 130 ile birleşmesi JAK/Tyk tirozin kinazları aktive eder ve böylece fonksiyonun gerçekleştirir (Daikoku et al. 2004). LİF'in, fare ve insanı da içeren birçok türde düzenleyici rollere sahip olduğundan implantasyon için gerekli olduğu ifade edilmiştir. Embriyo ve yetişkin dokularında özellikle uterusu da yüksek düzeylerde salgılanır (Kimber, 2005).

LİF, blastosist implantasyonu sırasında meydana gelen hücresel farklılaşma, çoğalma ve apoptozis olaylarında etkili bir sitokindir (Daikoku et al. 2004). Fare embriyosunun implantasyonun başarısında çok önemlidir. İnsan endometriyumundan salgılanan LİF maksimum sekresyonuna menstrual siklusun 19.-25. günlerinde ulaşır, bu da implantasyon pencere dönemine uymaktadır. LİF aynı zamanda, oviduktun epitel hücrelerinden de sentezlenir (Senturk and Arici, 1998, Kimber, 2005). Farede LİF geninin hedefli delesyonları blastosistin uyku halinde kalmasına dolayısıyla implantasyon başarısızlıklarına yol açar (Daikoku et al. 2004). İmplantasyon için uterusun hazırlanması amacıyla gebeliğin 4. günü fare uterus bezlerinden LİF'in salgılandığı gösterilmiştir (Bhatt et al. 1991; Hambartsoumian, 1998). Son yıllardaki çalışmalar, gebeliğin 4. gününde LİF ekspresyonunun bifazik olduğunu ve sadece uterin bezlerden değil aynı zamanda blastosist çevresindeki stromal hücrelerden de salgılandığını göstermiştir (Song et al. 2000).

İnsan sitotrofoblastik hücrelerinin invaziv davranışlarının düzenlenmesinde LİF'in etkin olduğu gösterilmiştir (Bischof et al. 1995). LİF, trofoblastlar ile maternal desidual lökositler arasındaki etkileşime aracılık ederken erken plasentasyon döneminde de önemli role sahiptir (Tapia et al. 2008). LİF, trofoblast hücreleri tarafından hCG salınımını da

uyarır (Kimber, 2005). Multipar kadınlarda ve tekrarlayan implantasyon başarısızlığı bulunan hastalarda LİF düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasada açıklanamayan infertilite ve tekrarlayan implantasyon başarısızlığı bulunan durumlarda LİF ekspresyon defektleri görülmüştür (Kimber, 2005, Hambartsoumian, 1998). LİF ekspresyonunun düzenlenmesinde blastosistin rolü olduğu gösterilmiştir (Perrier d'Hauterive et al. 2004). LİF'ten yoksun farelerde luminal epitel yüzeyinde kalın glikokaliks ve glikozil kalıntılarının anormal birikiminde ve pinopod gelişiminde başarısızlıklar görülmüştür (Kimber, 2005).

LİF'in *invivo* olarak temel fonksiyonunun blastosistin büyümesini düzenlemek ve implantasyonu başlatmak olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, LİF'in sitotrofoblastlarda hem fibronektin sentezini artırarak hem de hCG sentezini azaltarak trofoblastların daha invaziv hale gelmelerini sağladığı da rapor edilmiştir (Bischof et al. 1995, Nachtigall et al. 1996, Laird et al. 1997).

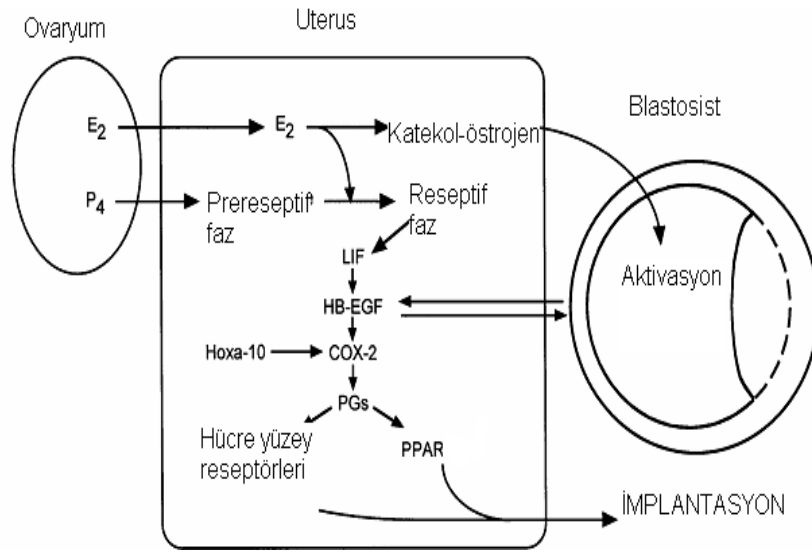
1.3.2.2. HOXA-10

HOX genleri gelişimsel olarak düzenlenen ve evrimsel olarak yüksek oranda multigen ailesine ait transkripsiyon faktörleridir. Bir HOX geni olan HOXA-10 gelişen embriyoda genitoüriner bölgede ve yetişkin uterusunda menstruel siklus ve gebelik boyunca endometriyal bezlerde ve stromada eksprese edilir (Krumlauf, 1994). Progesteronun fareler ve insanlarda HOXA-10 ekspresyonunun primer düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir (Taylor et al. 1998, Lim et al. 1999).

Farelerde; blastosist, gebeliğin 4. gününde uterin luminal epitele bağlanır. Tutunmanın başlamasıyla implante olan blastosistin çevresindeki endometriyal stroma hücrelerinde desidualizasyon denilen değişim meydana gelir (Dey et al. 2004). Farelerde yapılan çalışmalarda, HOXA-10'nun gebeliğin 4. gününde uterin stromadan eksprese edildiği, 5. günde blastosist çevresinde olan desidual değişimin stromal hücrelerdeki HOXA-10 geninin çarpıcı şekilde artmasıyla meydana geldiği ve 6.-8. günlerde implantasyon bölgesinin hem mezometriyal hem de anti-mezometriyal kutbunda desidualize stromada ekspresyonun giderek arttığı gösterilmiştir (Daikoku et

al. 2004, Rahman et al. 2006). Aynı zamanda, farelerdeki genetik çalışmalar da HOXA-10 ekspresyonunun desidualizasyon için gerekli olduğunu ortaya koymuştur (Benson et al. 1996). Farelerde HOXA-10'nun hedefli delesyonları, progesterona duyarlı stromal hücrelerin azalması yüzünden ciddi desidualizasyon defektlerine sebep olur (Rahman et al. 2006).

Şekil 7. Fare implantasyon sürecindeki moleküler olaylar (Paria and et al. 2000'den alınmıştır)



İnsanlarda endometriyal epitel hücrelerinde de HOXA-10 ekspresyonunun implantasyon pencere dönemine karşılık gelen orta-sekretuar faz boyunca arttığı gösterilmiştir (Taylor et al. 1998). HOXA-10'un hem farelerde hem de insanlarda fertilité ve implantasyon için gerekli olduğu belirtilmiştir (Satokata et al. 1995). Uterusa HOXA-10 inhibitörünün verilmesinin insan ve farelerde implantasyonu ciddi oranda azalttığı ifade edilmiştir (Daftary and Taylor, 2000).

1.3.2.3. VEGF

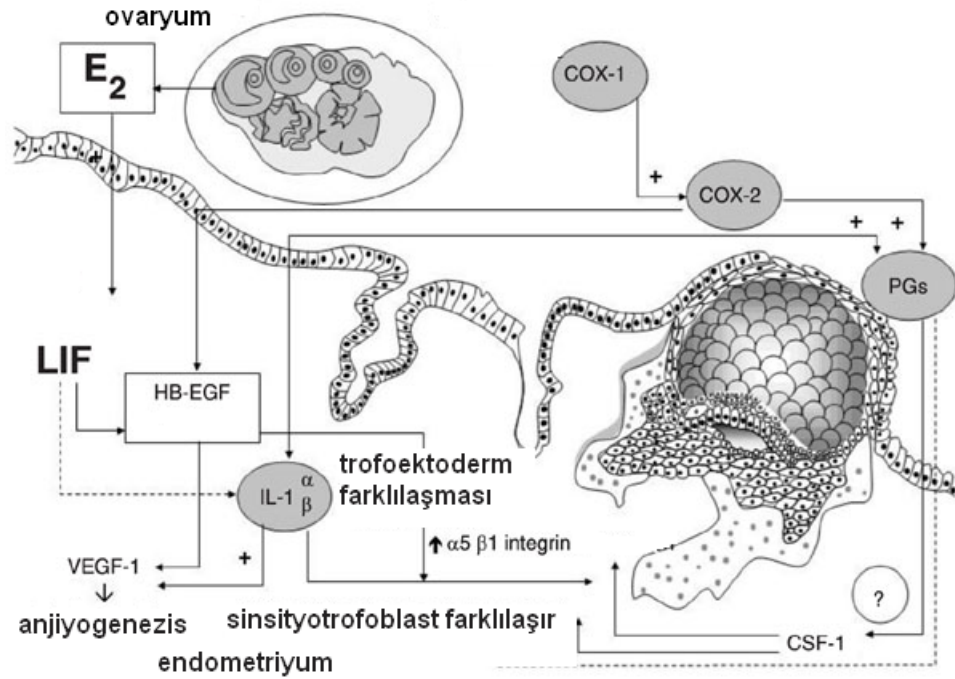
VEGF ailesi VEGF-A, B, C, D, E, F ve PlGF içerecek şekilde yedi üyeden oluşur. Dokularda en yaygın bulunan form VEGF-A olup akciğer, böbrek, kalp, adrenal bezler ve karaciğerde yüksek oranda eksprese olur

(Poltorak et al. 1997). VEGF endotel hücreleri için güçlü bir mitojendir ve hem mikrovasküler permeabiliteyi artıran (Hoeben et al. 2004) hem de vaskülogenezis ile anjiogenezisi düzenleyen anahtar bir büyüme faktörüdür (Ferrera and Davis, 1997). VEGF'in üreme sisteminde de önemli fonksiyonları vardır. Ovaryumda luteal faz anjiogenezisinde önemli olduğu kadar folikül gelişiminde de önemlidir. Foliküler sıvıda yüksek konsantrasyonda VEGF bulunması oositin daha iyi fertilize olmasına ve embriyo gelişiminin daha iyi olmasına yol açar (Hazzard and Stouffer, 2000).

Shifren et al. (1996) insan endometriyumunda dönemsel olarak glandular epitel hücre sitoplazmasında ve stromada bol miktarda VEGF-A mRNA ve proteini olduğunu, VEGF ekspresyonunun sekretuar faz boyunca arttığını ve ekspresyonun östrojen ve progesteron ile indüklendiğini göstermişlerdir. Erken embriyonik gelişim boyunca embriyonun endometriyum ile ilişki kurmasından hemen sonra canlılığının devam edebilmesi için anjiogenezis gereklidir ve anjiogenezis için VEGF çok önemli bir faktördür (Krüssel et al. 2003, Wollenhaupt et al. 2004, Lecouter et al. 2004). VEGF bu anjiyogenik hareketi, endotel hücresi üzerinde bulunan VEGFR-2'nin tirozin kinaz reseptörüne bağlanması yoluyla düzenler (Hanahan and Folkman, 1996).

Uterin damarlar, fetusun artan ihtiyacına cevap olarak hem yeni dallar oluşturur hem de genişler. Endometriyum, desidua ve plasenta anjiyogenik büyüme faktörleri açısından zengindir. Genellikle, anjiyogenez süreci VEGF, bazik Fibroblast Growth Factor (bFGF) veya Plasental Growth Factor (PlGF) tarafından başlatılır. Anjiyogenez sürecinde yeni damarların fonksiyonel olarak olgunlaşması ekstraselüler matriks-indirgeyici proteazlar ve spesifik adezyon reseptörlerinin ekspresyonları ile gerçekleşir.

Şekil 8. Blastosist endometriyum etkileşimi. (Castro-Rendon et al. 2006'dan alınmıştır)



Dişi üreme yaşamı boyunca anjiyogenezis korpus luteum ve endometriyumun menstrual siklusu boyunca düzenli olarak meydana gelir (Caroline et al. 2001). Yapılan bir çalışmada, blastosistlerin VEGF mRNA ekspresyon ettikleri gösterilerek embriyonun anjiyogenezisi indüklediği ileri sürülmüştür (Satokata et al. 1995).

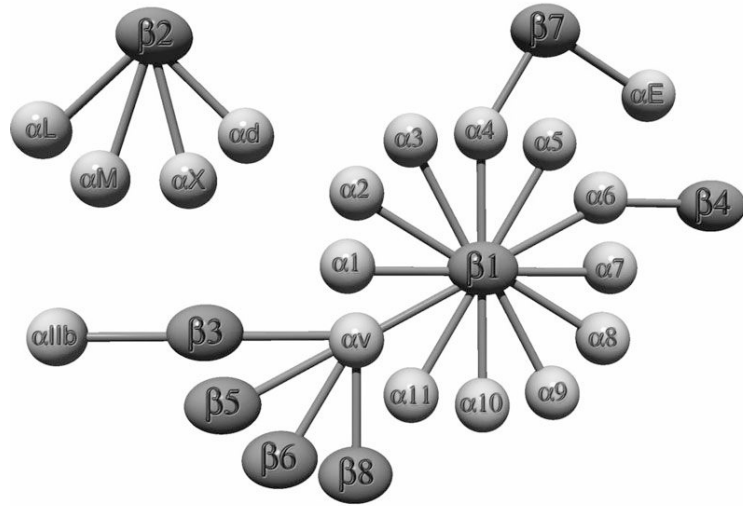
1.3.2.4. İntegrin β3

İntegrinler Ca^{+2} ve Mg^{+2} bağımlı hücre yüzey glikoproteinleridir. Alfa ve beta olarak tanımlanan iki farklı alt birimden meydana gelirler. Bugüne kadar çeşitli hücrelerde 18 alfa ve 8 beta alt birimi tesbit edilmiştir. İntegrinler, ligandları aracılığıyla ECM ve hücre iskeleti arasında bağlantı kurarlar. İntegrin ligandları arasında, kollojen, laminin, fibronektin, epiligrin, tenascin, Won Willebrand faktör, trompospondin, Vascular Endothelial Adhesion Molecule (VCAM) bulunmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, integrinlerin üreme ile çok yakın ilişkili olduğu göstermektedir. Endometriyal maturasyon ve reseptivitenin

değerlendirilmesinde farklı integrin altbirimlerinin rolü olduğu düşünülmektedir. İntegrinlerin fertilizasyon, embriyogenezis ve implantasyon sürecinde çok önemli rolleri olduğu ve endometriyal hücrelerde integrin alt birimlerinin zayıf veya eksik ekspresyonunun implantasyon ve embriyo-endometriyal etkileşimlerdeki başarısızlığa yol açtığı ifade edilmektedir. Alfa ve beta integrin alt birimleri menstrüel siklusun farklı devrelerinde farklı dağılım gösterirler, bu dağılım paternindeki değişiklikler infertilitenin nedenlerinin bir bölümünden sorumlu olabilir (Atabekoğlu, 2002). Kadın infertilitesi ile ilişkili moleküler defektlerin pek çoğu hala anlaşılammıştır (Reddy et al. 2001).

Şekil 9. İntegrin alt üniteleri

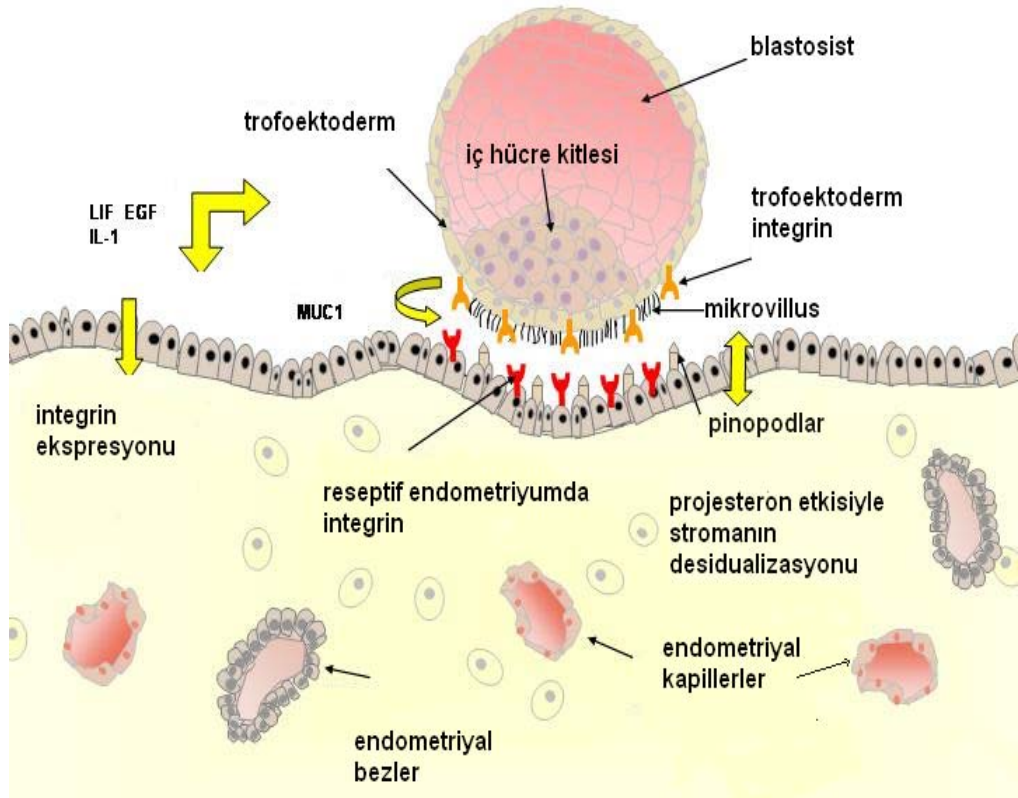


İntegrinler embriyogenezis boyunca hücre-hücre tutunmasını, hücre göçünü ve apoptozisi düzenler. Embriyonun invazyonu ve kanserin yayılımı arasında pek çok benzerlik vardır. İmplantasyon boyunca benzer spesifik hücre adezyon reseptörleri, onların ekstraselüler matriks ligandları ve enzimlerinin ekspresyonlarına bağlı olarak hücreler arası etkileşim ve göç meydana gelir. İmplantasyon boyunca, integrinler hücre polaritesinin sürdürülmesinde, sinyal iletiminde ve plasental sitotrofoblastın ilerleyerek gelişimlerinde de rol oynarlar. Yapılan deneylerle uterin reseptivitenin kurulmasında integrinin önemli rolü olduğu gösterilmiştir (Carson 1997).

β_3 integrin, α_v integrin alt birimi ile kovalent olmayan bağ yaparak fonksiyonel bir reseptör oluşturur. Böylece fibronektin ve vitronektin gibi çeşitli özgül hücre dışı matriks proteinlerine bağlanır (Blystone et al. 1997)

Embriyonun uterus duvarına ilk olarak tutunmasından sorumlu olan adezyon molekülleri integrin ve kaderinlerdir. Lessey et al. (1994) integrinlerin implantasyon penceresi döneminde rol aldığını ve siklusun 20.-24. günleri arasındaki dört günlük periyotta özellikle glandular epitelde sekresyonlarının arttığını rapor etmişlerdir. Siklusun 20. gününde aniden ortaya çıkan ve vitronektin reseptörü olan $\alpha_v\beta_3$ 'ün implantasyon penceresini açtığını ve ovulasyondan siklusun 24. gününe kadar mevcut olan fibronektin reseptörü $\alpha_4\beta_1$ 'in ortadan kalkmasının ise implantasyon penceresini kapattığı göstermişlerdir (Lessey and et al. 1994).

Şekil 10. Reseptif endometriyumda integrin profili (Staun-Ram and Shalev 2005'den alınmıştır).



Östrojen ve progesterona bağımlı olarak insan endometriyum epitelinde, implantasyon penceresi döneminde en iyi iki belirtecin, $\alpha\beta3$ integrin sekresyonu ve pinopod oluşumu olduğu belirlenmiştir. Son zamanlardaki deneysel çalışmalarda, endometriyal hücrelerdeki maternal HOXA-10 geninin $\beta3$ integrin ve pinopod oluşumu üzerinde çok önemli düzenleyici etkisi olduğu gösterilmiş ve ovulasyondan sonraki 7.-8. günde endometriyum epitelinde $\alpha\beta3$ integrinin ekspresyon yoğunluğunun aşırı derecede arttığı görülmüştür (Creus et al. 2002).

Gebeliğin başlangıcında trofoblast tutunmasıyla integrindeki değişimler eşzamanlıdır. İntrauterin büyüme geriliğine neden olan luteal faz defektleri ve vasküler problemler integrinlerdeki anomalilerle açıklanabilir (Merviel et al. 2001).

$\alpha\beta3$ spesifik bir vitronektin reseptörü olup, menstürel siklusun 19. gününde endometrial epitelde belirlemektedir. Bu ekspresyonun başlangıcı, varsayılan açık implantasyon penceresine denk gelmektedir. Bu ekspresyon $\alpha\beta3$ 'ün implantasyonda önemli rol oynadığı gösterir (Atabekoğlu, 2002).

1.3.2.5. Aktin

Mikrofilamentler hücre içinde çeşitli şekillerde organize olabilirler. Çoğu hücrede mikrofilamentler plazmalemmanın hemen altında hücre korteksi denilen ince bir kılıf oluştururlar. Bu mikrofilamentler endositoz, ekzositoz ve hücre hareketi gibi zar fonksiyonlarıyla ilgilidirler. Filamentlerin sitoplazmik bileşenlerin hareketlerinde önemli rol oynadıklarına inanılmaktadır. Aktin filamentleri kas hücrelerinde yapısal olarak kararlı olsalarda diğer hücrelerde kolayca ayrılıp tekrar bir araya gelebilirler. Aktin filamentleriyle ilgili etkinliklerin çoğu miyozinle aktinin etkileşimi sonucu olur (Ross, 2003; Junqueira, 2003; Kierszenbaum, 2006)

Implante olan blastosist çevresinde endometriyal stromanın değişmesiyle meydana gelen desidual reaksiyon, kemirici ve diğer memeli türlerinin gebeliklerinin başarılı bir şekilde kurulmasında çok önemlidir. Fibroblast benzeri stromal hücrelerin desidual hücrelere dönüşümü, yeni bir doku tipinin morfogenezini ve bu hücrelerin yapısal ve biyokimyasal

yapısında belirgin değişiklikleri içerir (Timothy et al. 1998). Desidual reaksiyon, implante olan blastosistte maternal immünoglobülinlerin geçişine izin vermeme ve embriyo invazyonunun sınırlandırılması gibi özellikleri de içerir. Desidual hücrelerde makromoleküllerin senteziyle birlikte intermediyet filamentler, lipid ve glikojen biriktirilir. Bu hücreler arasında gap ve adherens bağlantıları bulunmaktadır ve prostaglandinlerin üretildiğine dair kanıtlar vardır. Stromal fibroblastların başlattığı desidual farklılaşma süreci aktin filamentlerinin ekspresyonuyla karakterize edilir. Desidual değişime maruz kalan sıçan stromal hücrelerinde, luteotropik faktör ve desmin gibi farklı moleküllerin üretildiği de gösterilmiştir (Abrahamsohn and Zorn 1993, Timothy et al. 1998).

İmplantasyon periyodu boyunca desidual hücrelerin oluşumuyla uterin stromal hücrelerde hücre iskeletine ait elementlerin değişimi gibi hücreyel değişimler görülür (Carson et al. 1992). İntermediyet filamanlar epitel hücrelerinin mekanik stabilitesinin sağlanmasında önemli role sahiptir (Makker and Singh, 2006). Bu değişimler; alfa düz kas aktininin (α -SMA) artışını, desmin gibi intermediyet filamentlerin ve lamininin hücreyel artışını içerir. Sıçan uterusunda desidualizasyon boyunca uterin stromal hücrelerdeki α -SMA'nın arttığı ve erken gebelik boyunca uterus epitelinde aktinle ilişkili proteinler ve aktin filamentlerinin dağılımının değiştiiği belirlenmiştir (Timothy et al. 1998).

Desidualizasyon boyunca stromal hücreler, konseptustan bağımsız olarak ilk önce çoğalır ve ardından farklılaşırlar. İn vivo ve in vitro çalışmalar desidualizasyon sürecinde iki faz olduğunu göstermiştir. İlk faz; proliferatif fazdır ve stromal fibroblastlar tarafından α -SMA eksprese edilir. İkinci faz ise; desidualize stromal fibroblastlardan α -SMA'nın down-regülasyonu ve insulin-like growth factor binding protein-1'in (IGFBP-1) ekspresyonu ile karakterizedir. IGFBP-1 ekspresyonu konseptusun varlığına bağımlıdır ve hormonlar tarafından düzenlenir. Ekstraselüler matriks proteinleri ve stromal hücre integrinleri arasındaki ilişki α -SMA tarafından düzenlenir (Kim et al. 1999).

1.4. Sildenafil Sitrat (Viagra®)

Sildenafil, siklik guanozin monofosfat (cGMP)-spesifik fosfodiesteraz tip 5'in (PDE5) oral etkili, güçlü ve selektif bir inhibitörüdür. Sildenafil, bu etkisiyle korporal düz kaslarda cGMP konsantrasyonunu arttırarak, nitrik oksidin gevşetici etkisini güçlendirir. Sildenafil sitratın kan akımındaki kontrolü, süngersi dokudaki endotel ve sinir hücrelerinden salgılanan nitrik oksid (NO) tarafından sağlanır. NO, atardamar duvarlarının genişlemesini sağlayan cGMP yapımını uyarır (McCann et al. 2003). Sildenafil sitrat, cinsel uyarı ile cGMP yapımı arttığında devreye girer ve ortamdaki cGMP'yi parçalayan enzimleri baskılayarak cGMP'nin etkinliğini artırıp, sertleşmeyi ve sertleşmenin uzun sürmesini sağlar. Ereksiyonun hücresel kontrolü cAMP ve daha önemlisi cGMP üzerinden gerçekleşmektedir. Post ganglionik sinir uçları ve damar endotelinde L-arjininden nitrik oksid sentetaz enzimi yardımıyla sentez edilen nitrik oksid guanilat siklazı aktive ederek guanozin trifosfattan cGMP yapımını sağlar (Refuerzo et al. 2006)

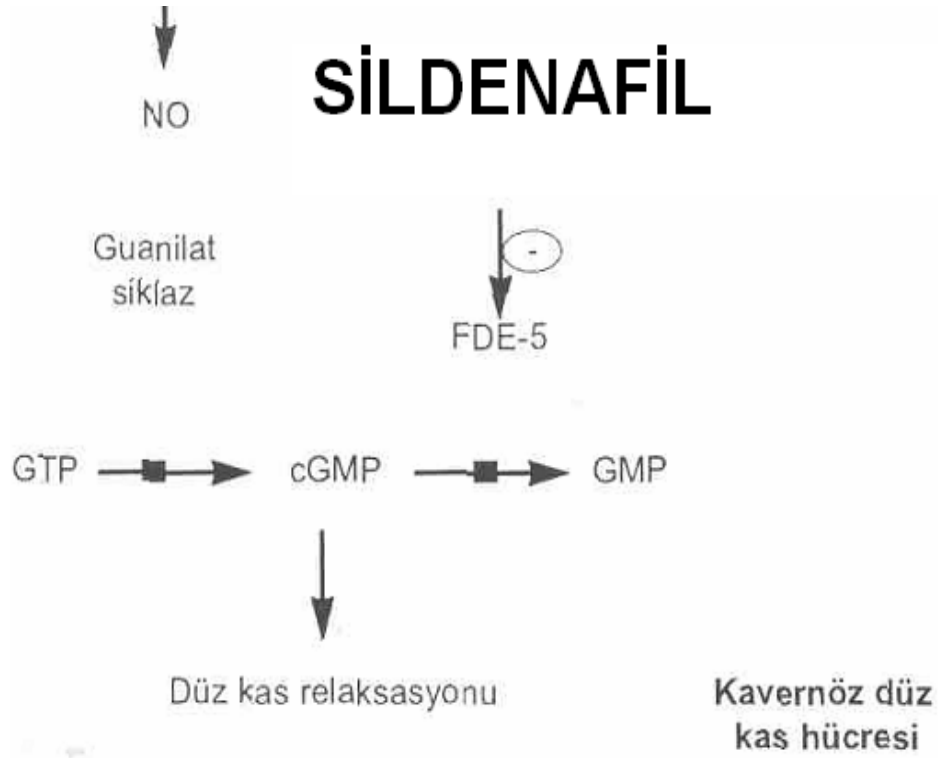
cGMP ereksiyon için mutlak gerekli olan kavernozaal düz kas gevşemesinin temel molekülüdür. Sinuzoidal gevşeme, arteriyel giriş ve venöz çıkış direncinin artması penisin rijid ereksiyonu ile sonuçlanacaktır. Bunun için, cGMP'i dokuda yüksek düzeyde tutacak bir ilaç doğal mekanizmayı indükleyerek ereksiyonla sonuçlanacaktır. cGMP'nin korpus kavernozaum düz kasında inaktif hale geçmesi için gerekli enzim fosfodiesterazdır (Ergen ve Tekin, 1999).

Son çalışmalar, sildenafil sitratın kadın üreme sisteminde de etkileri olduğunu göstermiştir. Hem hayvan modellerinde hem de gebe olmayan dişilerde Sildenafil sitrat genital kan akımını artırmaktadır. Gebelik boyunca cGMP'nin birikimi ve fosfodiesterazın inhibitör etkisiyle maternal pelvik kan damarlarının vazodilatasyonuna yol açar. Sildenafil bu yüzden pre-eklamside, sınırlı fetal büyüme gösteren olgularda ve hipokside uteroplasental kan akımını artırmasıyla teröpatik role sahip olabilir. İnfertil hastalarda, intravaginal Sildenafil sitrat kullanımıyla uterin arterde kan akımının arttığı gösterilmiştir (Refuerzo et al. 2006).

Başarılı bir implantasyon için minimal endometriyal kalınlığın 7-8 mm olması gerekmektedir. Vasküler kan akımının sağlanmasıyla endometriyal

gelişimin sağlanması mümkün olabilmektedir (Zinger et al. 2006). Jerzac et al. (2008) yaptığı çalışmada, vajinal sildenafil kullanımının doğal öldürücü hücrelerinin (NK) aktivitesini önemli oranda azalttığını, bunun aksine endometriyum kalınlığını da artırdığını göstererek üreme başarısızlığı geçmişi olan kadınlarda gebelikten önce Sildenafil sitrat kullanımının teröpatik bir seçenek olarak kullanılabilceğini açıklamıştır. Bunun yanı sıra, Nitrik oksid proliferatif fazda uterin kan akımını düzenlerken implantasyon penceresi boyunca endometriyumdaki düzeyleri zararlı etki gösterebilir (Sher and Fisch, 2000). Yapılan bir çalışmada, NO aracılı salınan TNF- α gibi sitokinlerin, NK hücrelerini aktive ederek implantasyon başarısızlıklarına sebep olduğu gösterilmiştir (Barroso et al. 1998). Ancak, embriyo transferi yapılacağı zaman endometriyumun minimal NO'e maruz kalmasının faydalı olabileceğide rapor edilmiştir (Sher and Fisch, 2000).

Şekil 11. Sildenafilin etki mekanizması.



2. AMAÇ VE KAPSAM

Bu çalışmanın amacı endometriyum reseptivitesinde oldukça önemli rol oynayan LİF, HOXA-10, VEGF, İntegrin β 3 ve Aktin'in ekspresyonlarını implantasyon penceresi döneminde immünohistokimyasal olarak göstermek ve endometriyum üzerindeki etkileri henüz bilinmeyen Sildenafil sitratın bu belirteçler üzerine etkilerini araştırmaktır. Endometriyumun reseptivitesindeki problemler gebeliğin gerçekleşmesindeki en büyük engellerden biridir ve Yardımcı Üreme Teknikleri uygulamalarında başarıyı sınırlayıcı bir etkindir. Endometriyum reseptivitesinin belirlenmesinde pek çok faktör rol oynamakta ve implantasyon penceresi olarak adlandırılan oldukça kısa bir zaman diliminde bu faktörler birbirlerini tetikleyerek reseptiviteye katkıda bulunmaktadır. Bu konuda pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen henüz reseptiviteyi sağlayabilecek bir tedavi protokolü geliştirilememiştir. Çalışmamızın sonucunda elde ettiğimiz bulgular, Sildenafil sitratın dişi sıçanlarda endometriyum reseptivitesinde kullanılan belirteçlerinden bir kısmına olan etkilerini literatürde ilk kez ortaya çıkarmış olup olası tedavi yöntemlerine ışık tutacak niteliktedir.

Çalışmamızda, Kontrollü Ovaryen Stimülasyon (KOH) uygulanmış sıçanlarda sildenafil sitratın endometriyum reseptivitesinde rol oynayan bazı belirteçlere olan etkisini araştırdık. Bilindiği gibi embriyo implantasyonu endometriyum ile blastosistin eşzamanlı etkileşimine bağlıdır. Endometriyumun reseptif olmaması implantasyon ve dolayısı ile de gebelik başarısızlığının en büyük sebebidir. Endometriyumun reseptif olduğu dönem çok kısadır, bu dönem implantasyon penceresi olarak adlandırılır ve insanlarda ovulasyon sonrası 5.-9. günde (menstruasyon döngüsünün 20.-24. günleri) ve sıçan ile farelerde çiftleşmeden sonraki 3.-5. günler arasında görülür. Endometriyum reseptivitesini blastosistten gelen sinyallerden hormonlara kadar pek çok faktör etkilemekte ve buna bağlı olarak da reseptiviteyi gösterebilecek pek çok belirteç bulunmaktadır. Ancak, bu belirteçlerin hiç birisi reseptiviteyi tek başına kesin olarak gösteremez. Biz de bu çalışmamızda, öncelikle reseptivite belirteci olarak kullanılan sitokinlerden LİF, homeobox gen proteinlerinden HOXA-10, büyüme faktörlerinden VEGF, hücre adezyon moleküllerinden İntegrin β 3 ve

desidualizasyon belirteci olarak da aktin filamentinin ekspresyonlarını eşzamanlı olarak inceledik. Bunun yanısıra erkek erektil disfonksiyon tedavisinde yıllardır başarıyla kullanılan ancak endometriyum reseptivitesi üzerine etkileri hiç bilinmeyen Sildenafil sitratın bahsettiğimiz belirteçler üzerindeki etkilerini inceledik. Ayrıca, çalışmamızda IVF tedavisine giden kadınlarda sıklıkla uygulanan KOH protokollerinden birinin uygulandığı sıçanlar ile uygulanmadığı sıçanlardaki reseptivite belirteçlerin ekspresyonları araştırılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Kocaeli Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (30.10.2007 tarih ve HAEK 30/1 sayı).

3.1. Deney Hayvanları

- 1- Çalışmamızda, daha önce çiftleşmemiş ve hiç bir deneye alınmamış, 3 aylık, 220-250gr ağırlığında ve en az iki düzenli 5 günlük östrus siklusu geçiren toplam 60 adet Wistar albino dişi sıçan kullandık.
- 2- Sıçanlardan her gün aynı saatte vajinal smear alınarak östrus siklus takibi yaptık.
- 3- Araştırmada kullanılacak dişi sıçanları dört gruba ayırdık.

Kontrol (K) grubu (n=15):

Dişi sıçanlara aşağıda belirtilen gün ve saatlerde aynı miktarda serum fizyolojik subkutan (sc) verildi. 4. gün son dozdan sonra östrüs evresinde bulunan sıçanlar, dişi/erkek oranı 2/1 olacak şekilde bir gece kafeste bırakıldılar. Ertesi sabah vajinal smearda spermiyum belirlenen dişi sıçanlar gebeliğin sıfırncı gününde kabul edildiler.

Sildenafil sitrat (Ss) grubu (n=15):

Dişi sıçanlara metöstrus (1. gün) ve diöstrus evrelerinde (2.-3. gün) saat 10.00 ve saat 16.00 da günde iki kez Sildenafil sitrat (Viagra®) 60mg/kg/gün (oral gavaj) verildi ve 4. gün saat 16.00 da östrüs evresinde bulunan sıçanlar, dişi/erkek oranı 2/1 olacak şekilde bir gece kafeste bırakıldılar. Ertesi sabah vajinal smearda spermiyum belirlenen dişi sıçanlar gebeliğin sıfırncı gününde kabul edildiler.

Kontrollü Ovaryen Stimülasyon (KOH) grubu (n=15):

Metöstrus (1.gün) saat 10.00 da: (GnRH antagonist (Cetrotide) 30µg/100gr ağırlık (SC) ve rFSH (Puregon) 5Ü (SC), saat 16.00 da: rFSH (Puregon) 5Ü (SC) uygulandı.

Diöstrus (2. gün) saat 10.00 da: GnRH antagonist 30µg/100gr ağırlık (SC) ve rFSH 5Ü (SC), saat 16.00 da: rFSH 5Ü (SC) uygulandı.

Diöstrus (3.gün) saat 10.00 da: GnRH antagonist 30µg/100gr ağırlık (SC) ve rFSH 5Ü (SC), saat 16.00 da: rFSH 5Ü (SC) uygulandı.

Preöstrus (4.gün) saat 16.00 da: hCG (Pregnyl) 5Ü (SC) uygulandı.

Son dozdan sonra östrüs evresinde bulunan sıçanlar, dişi/erkek oranı 2/1 olacak şekilde bir gece kafeste bırakıldılar. Ertesi sabah vajinal smearda spermiyum belirlenen dişi sıçanlar gebeliğin sıfıncı gününde kabul edildiler.

KOH + Ss grubu (n=15):

Metöstrus (1. gün) saat 10.00 da: GnRH antagonist 30µg/100gr ağırlık (SC), rFSH 5Ü (SC) ve Sildenafil sitrat 60mg/kg/gün (oral gavaj), saat 16.00 da: rFSH 5Ü (SC) ve Sildenafil sitrat 60mg/kg/gün, (oral gavaj) uygulandı.

Diöstrus (2. gün) saat 10.00 da: GnRH antagonist 30µg/100gr ağırlık (SC), rFSH 5Ü (SC) ve Sildenafil sitrat 60mg/kg/gün (oral gavaj), saat 16.00 da: rFSH 5Ü (SC) ve Sildenafil sitrat 60mg/kg/gün (oral gavaj) uygulandı.

Diöstrus (3. gün) saat 10.00 da: GnRH antagonist 30µg/100gr ağırlık (SC), rFSH 5Ü (SC) ve Sildenafil sitrat 60mg/kg/gün (oral gavaj), saat 16.00 da: rFSH 5Ü (SC) ve Sildenafil sitrat 60mg/kg/gün (oral gavaj) uygulandı.

Preöstrus (4. gün) saat 16.00 da: hCG 5Ü (SC) uygulandı.

Son dozdan sonra östrüs evresinde bulunan sıçanlar, dişi/erkek oranı 2/1 olacak şekilde bir gece kafeste bırakıldılar. Ertesi sabah vajinal smearda spermiyum belirlenen dişi sıçanlar gebeliğin sıfıncı gününde kabul edildiler.

3.2. Laboratuvar Çalışmaları

Her gruptan gebeliğin 3. gününde (n=5), 4. gününde (n=5) ve 5. günlerinde (n=5) eter anestezisi altında hayvanları uyutarak sakrifiye ettik ve uteruslarını çıkartıp %4 paraformaldehit içerisinde fikse ettik. Daha sonra çıkarılmış tüm dokulara normal doku takibi protokolü uygulandı ve dokular parafinle bloklandı. 5µm kalınlığında kesitler alarak LIF, HOXA-10, VEGF, İntegrin β3 ve Aktin antikörlerinin varlığı ve dağılımını göstermek için immünohistokimya tekniği uyguladık.

Boyama aşaması bittikten sonra fotoğraf ataçmanlı Olympus BX50F ışık mikroskobu ile tüm kesitleri inceledik ve gruplar arasındaki protein ekspresyonu farklılıkları belirledik.

İmmünohistokimyasal protokol

Lamlara alınan doku kesitleri 55°C'de bir gece, 65 °C'de 1 saat bekletildi, deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemlerinden sonra distile suda ve fosfat tuzu tamponunda (PBS, pH: 7.2-7.4) yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesinin inhibisyonu için kesitler absölu metanol içerisinde hidrojen peroksid (Biogenex HK 111-5K, % 3) ile 10dk muamele edildi. PBS'de yıkandı. Antijenik maskelenmenin giderilmesi için kesitler 300 ml sitrat tamponu (0.01M, pH: 6.0, 978ml dH₂O içinde 2.94gr Tri-sodyum sitrat ve 22ml HCl) içinde mikrodalga fırında iki kez üçer dakika 750W da muamele edildi. PBS'de yıkanan kesitler, LIF (N-18) (sc-1336), HOXA-10 (N-20) (sc-17158), VEGF (C-1) (sc-7269), İntegrin β3 (MHF-4) (sc-53351) ve anti-aktin (Sigma A-2066) primer antikörleriyle oda ısısında bir gece inkübe edildi. Distile su ve PBS'den geçirilen kesitlere sıra ile 30'ar dakika biyotinli sekonder antikor (Histostain-Plus Kit, 85-9943, Zymed / Donkey anti-goat IgG, sc-2042, Santa Cruz / Goat anti-mouse IgG, sc-2039, Santa Cruz) ve streptavidin-peroksidaz kompleksi (Histostain-Plus Kit, 85-9943, Zymed) uygulandı. PBS'den geçirilen kesitler, 3,3' Diaminobenzidine Tetrahydrochloride (DAB-Kit, 00-2020, Zymed) ile 2-5 dakika muamele edildi. Distile su ile yıkanan kesitlerin takipleri yapılarak kapatma solüsyonu ile kapatıldı. İmmünohistokimyasal kontrol kesitlerine primer

antikor uygulanmayıp süre boyunca sadece PBS de bekletildi. İmmunohistokimya uygulanan doku kesitleri Olympus BX50F ışık mikroskobunda değerlendirildi.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Kesitlerde immünreaktivite gösteren bölgelerin değerlendirilmesi birbirinden bağımsız iki histolog tarafından körlemesine yapıldı. Olympus mikroskopta x 400 büyütmede her kesit için beş alanda immünreaktivite yoğunluğu incelendi. Boyanmanın olmaması (-), zayıf boyanma (+), ılımlı boyanma (++) , yoğun boyanma (+++) olarak değerlendirildi.

İmmünreaktivitenin istatistiksel olarak değerlendirilmesi için Wilcoxon'un işaret testi uygulandı. İstatistiksel önemlilik $p < 0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. LİF Grubu Bulguları

4.1.1. Kontrol Grubu Bulguları

3. gün: Luminal epitelde (LE) (++) apikal yüzey ve (+) sitoplazma boyanması mevcut. Glandular epitelde (GE) (+) apikal ve bazal yüzey boyanması var. Stromada dağınık durumda (++) stromal hücre boyanması varken, damarların endotelinde (+) boyanma var. Miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey boyanması mevcut. GE'de (+) apikal ve bazal yüzey boyanması var. Stromal hücrelerde (+) boyanma var. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey ve sitoplazma boyanma var. GE'de (++) apikal yüzey ve sitoplazma boyanması var. Stromada yer yer (+) stromal hücre boyanması var. Küçük damarlarda (++) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

4.1.2. Sildenafil sitrat Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (+++) apikal yüzey ve (++) sitoplazma boyanması var. GE'de (++) apikal yüzey ve sitoplazma boyanma var. Stromada bazı bölgeler de daha fazla olmak üzere yaygın (++) stromal hücre boyanması var. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de (+++) apikal yüzey boyanması ve yer yer (++) sitoplazma boyanması var. GE'de (++) apikal yüzey ve sitoplazma boyanma var. Stromada yaygın olarak (++) stromal hücre boyanması var. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması varken, miyometriyumda spesifik boyanma yok.

5. gün: LE'de (+++) apikal yüzey ve sitoplazma boyanması var. GE'de yer yer (+) apikal yüzey boyanması var. Stromada az sayıda stromal hücrelerde (+) boyanma var. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

4.1.3. KOH Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (+) apikal yüzey boyanması var. GE'de kısmen (+) apikal yüzey ve sitoplazma boyanma var. Stromal hücrelerde boyanma yok. Küçük damarlarda yer yer (+) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de kısmen (++) apikal yüzey boyanması var. GE'de yer yer (+) apikal yüzey boyanması mevcut. Stromal hücrelerde (+) boyanma var. Damarlarda boyanma yok. Miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de yer yer (+) apikal yüzey boyanması var. GE'de boyanma yok. Az sayıda stromal hücrede (+) ve damarlarda yer yer (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

4.1.4. KOH + Ss Grubu Bulguları

3. gün: LE'de ve GE'de yer yer (+) apikal yüzey boyanması var. Stromal hücre boyanması yok. Küçük damarlarda yer yer (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de yer yer (+) apikal yüzey boyanması varken GE'de (+) apikal yüzey ve yer yer (+) bazal yüzey boyanması mevcut. Stromada (++) stromal hücre boyanması mevcut. Küçük damarlarda yaygın (+) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

5.gün: LE'de yer yer (++) apikal sitoplazma ve bazal yüzey boyanması var. GE'de yer yer (+) apikal sitoplazma boyanması var. Stromada yaygın (++) stromal hücre boyanması var. Damarlarda (+) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

4.2. HOXA-10 Grubu Bulguları

4.2.1. Kontrol Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey boyanması var. Az sayıda GE'de (+) apikal ve bazal yüzey boyanması var. Stromada az sayıda stromal hücrede (+) boyanma var. Damarlarda (+) endotel boyanması var, miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de genel olarak (++) apikal yüzey boyanması var. GE'lerde (+) apikal yüzey ve bazal yüzey boyanması mevcut. Stromada az sayıda stromal hücrede (+) boyanma varken, damarların endotelinde (+) boyanma var. Miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de yer yer (+) apikal yüzey boyanması var. GE'de (+) bazal yüzey boyanması var. Stromada az sayıda stromal hücrede (+) boyanma var. Az sayıda damarda (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

4.2.2. Sildenafil sitrat Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yaygın şekilde (++) bazal yüzey boyanması ve (+) apikal yüzey boyanması varken GE'de (++) apikal ve bazal yüzey boyanması mevcut. Stromada oldukça yaygın şekilde stromal hücrelerde (+++) boyanma var. Damar endotelinde yaygın olarak (++) boyanma varken, miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de (++) apikal ve bazal yüzey boyanması varken GE'de (+) apikal yüzey boyanması mevcut. Stromada çok yaygın şekilde stromal hücrelerde (+++) boyanma var. Damar endotelinde (++) boyanma varken, miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de yer yer (++) apikal ve bazal yüzey boyanması var. GE'de yer yer (+) apikal ve bazal yüzey boyanması var. Stromal hücrelerde (++) boyanma var. Az sayıda damarda (+) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

4.2.3. KOH Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey boyanması var. GE'lerin bir kısmında (++) apikal yüzey boyanması var. Stromada az sayıda stromal hücrede (+) boyanma varken küçük damarlarda yer yer (+) endotel boyanması gözlemlendi. Miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey boyanması var. GE'lerin bazılarında (++) apikal yüzey boyanması var. Stromal hücrelerde (++) boyanma var. Küçük damarlarda yer yer (++) endotel boyanması gözlemlendi. Miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de (++) apikal yüzey boyanması var. GE'de (+) apikal yüzey boyanması var. Stromada az sayıda str hücrede (+) boyanma var. Damarlarda genel olarak (++) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

4.2.4. KOH + Ss Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey boyanması varken GE'de (++) apikal ve bazal yüzey boyanması var. Stromada az sayıda stromal hücrede (+) boyanma var. Damarlarda (+) endotel boyanması varken miyometriyumda spesifik boyanma yok.

4. gün: LE'de (++) apikal yüzey boyanması var. GE'de (++) apikal yüzey ve bazal yüzey boyanması var. Stromada 3. güne göre daha fazla sayıda stromal hücrede (++) boyanma gözlenirken küçük damalarda (++) endotel boyanması gözlemlendi. Miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de yaygın (++) apikal yüzey ve GE'de (++) apikal ve bazal yüzey boyanması var. Stromal hücrelerde (++) boyanma var. Damar endotelinde genel olarak (++) boyanma varken miyometriyumda boyanma yok.

4.3. VEGF Grubu Bulguları

4.3.1. Kontrol Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (+) apikal yüzey boyanması var. GE'de yer yer (+) bazal yüzey boyanması var. Stromada az sayıda stromal hücrede (++) boyanma var. Küçük damarlarda (++) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de kısmen (+) apikal yüzey boyanması var. GE'de yer yer (+) apikal ve bazal yüzey boyanması var. Stromal hücrelerde (+) boyanma var. Küçük damarlarda (++) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey ve sitoplazmik boyanma var. GE'de (+) sitoplazmik boyanma var. Stromada az sayıda stromal hücrede (+) boyanma var. Küçük damarlarda yer yer (++) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyama yok.

4.3.2. Sildenafil sitrat Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey boyanması var. GE'de genellikle (+) sitoplazmik boyanma gözlemlendi. Stromada yaygın şekilde (++) stromal hücre boyanması mevcut. Küçük damarlarda (++) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de yer yer (++) boyanma var. GE'de (+) sitoplazmik boyanma mevcut. Stromal hücrelerde (+) boyanma gözlemlendi. Küçük damarlarda (++) endotel boyanması gözlemlendi. Miyometriyumda belirgin bir boyanma yok.

5. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey ve sitoplazma boyanması mevcut. GE'lerin bir kısmında (+) bazal yüzey boyanması var. Stromada yer yer (++) stromal hücre boyanması mevcut. Damarların hepsinde (++) endotel boyanması var. Miyometriyumda sps boyanma yok.

4.3.3. KOH Grubu Bulguları

3.gün: LE'de boyanma saptanmadı. GE'de (+) sitoplazmik boyanma görüldü. Stromada bazale yakın kısımlarda (+) stromal hücre boyanması var. Küçük ve orta tip damarlarda (++) endotelde boyanma var. Miyometriyumda belirgin boyanma yok.

4. gün: LE'de ve GE'de (+) sitoplazmik boyanma var. Stromada bazalde az sayıda stromal hücrede (+) boyanma var. Küçük damarlarda (++) endotel boyanması varken miyometriyumda spesifik boyanma yok.

5. gün: LE'de (++) sitoplazmik boyanma varken GE'de (+) sitoplazmik boyanma var. Stromal hücrelerde (+) boyanma var. Küçük ve orta tip damarlarda (+) endotel ve duvar boyanması var. Büyük damarlarda yer yer (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda (+) boyanma gözlemlendi.

4.3.4. KOH + Ss Grubu Bulguları

3. gün: LE ve GE'de (+) sitoplazma boyanması mevcut. Stromal hücrelerde (+) boyanma var. Küçük damarlarda yer yer (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de (++) sitoplazmik boyanma gözlenirken GE'de yer yer (+) sitoplazmik boyanma gözlemlendi. Stromada yer yer (+) stromal hücre boyanması varken küçük damarlarda (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de (+++) sitoplazma boyanma gözlemlendi. GE'de yer yer (+) sitoplazma boyanması var. Stromada bazale yakın yerlerde (++) boyanma var. Damarlanma çok artmış, küçük damarlarda (++) endotel boyanması varken orta tip damarlarda yer yer (+) endotel ve çok az duvar boyanması var, büyük damarlarda boyanma yok. Miyometriyumda boyanma yok.

4.4. İntegrin β 3 Grubu Bulguları

4.4.1. Kontrol Grubu Bulguları

3. gün: LE'de (++) apikal yüzey ve membran boyanması var. GE'de (+) membran boyanması var. Stromada dağınık ve seyrek şekilde (+) stromal hücre boyanması var. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de ve GE'de (+) apikal yüzey boyanması var. Stromada stromal hücre boyanması yok. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de (++) apikal yüzey, bazal yüzey ve yer yer ve az miktarda membran boyanması var. GE'de yer yer ve az miktarda (+) apikal yüzey boyanması var. Stromada yer yer (++) stromal hücre boyanması var. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda belirgin boyanma yok.

4.4.2. Sildenafil sitrat Grubu Bulguları

3. gün: LE'de çok yaygın (+++) apikal yüzey ve membran boyanması var. GE'de yer yer (+++) apikal yüzey, membran ve yer yer de bunlarla birlikte bazal yüzey boyanması mevcut. Stromada oldukça yaygın (+++) stromal hücre boyanması var. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması varken miyometriyumda belirgin boyanma yok.

4. gün: LE'de (+++) apikal yüzey, bazal yüzey ve membran boyanması var. GE'de (++) membran boyanması var. Stromada yaygın (+++) stromal hücre boyanması mevcut. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması varken miyometriyumda belirgin boyanma yok.

5. gün: LE'de (++) apikal yüzey ve yer yer membran boyanması var. GE'de yer yer (++) apikal yüzey boyanması var. Stromada (++) stromal hücre boyanması var. Az sayıda damarda (+) endotel boyanması varken, miyometriyumda belirgin boyanma yok.

4.4.3. KOH Grubu bulguları

3. gün: LE'de (++) apikal yüzey boyanması varken GE'de yer yer (++) apikal yüzey ve membran boyanması var. Stromada az sayıda stromal hücrede (+) boyanma var. Küçük damarlarda (+) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de (++) apikal yüzey boyanması varken GE'de (+) membran boyanması var. Stromada az sayıda stromal hücrede (+) boyanma var.

Küçük damarlarda yer yer (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanması boyanma yok.

5. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey ve membran boyanması varken GE'de yer yer (+) membran boyanması var. Stromada az sayıda stromal hücrede (+) boyanma varken damarlarda boyanma gözlenmedi. Miyometriyumda belirgin boyanma yok.

4.4.4. KOH + Ss Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (+++) apikal yüzey ve bazal yüzey boyanması ve yer yer çok az membran boyanması var. GE'de (++) apikal yüzey ve yer yer membran boyanması var. Stromada yaygın (++) stromal hücre boyanması var. Küçük damarlarda (++) endotel boyanması varken miyometriyumda boyanma yok.

4. gün: LE'de çok az yerde (+) apikal yüzey boyanması var. GE'de yer yer (+) apikal yüzey boyanması var. Stromada yer yer (+) stromal hücre boyanması varken az sayıda damarda (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

5. gün: LE'de az bölgede (+) apikal yüzey boyanması var. GE'de kısmen (+) apikal yüzey boyanması var. Stromada yer yer (++) stromal hücre boyanması varken küçük damarlarda (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda boyanma yok.

4.5. Aktin Grubu Bulguları

4.5.1. Kontrol Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer apikal yüzeyde yoğun olmak üzere (++) boyanma var. GE'de yer yer belirgin (+) apikal yüzey ve daha az bazal yüzey boyanması mevcut. Stromada bazal bölgede daha çok olmak üzere (+) stromal hücre boyanması var. Damarlarda (+) endotel boyanması mevcut. Miyometriyumda (+) boyanma gözlendi.

4. gün: LE'de (+) apikal yüzey boyanması var. Bazale yakın az sayıda GE'de (+) bazal yüzey boyanması mevcut. Bazale yakın bazı stromal hücrelerde (+) boyanma var. Küçük kan damarlarında (++) endotel boyanması var. Miyometriyumda yer yer (++) boyanma mevcut.

5. gün: LE'de yaygın ve yer yer (++) boyanma mevcut. GE'nin çoğunda lateral, apikal ve bazal yüzde (++) boyanma mevcut. Stromal hücrelerde (++) boyanma mevcut. Damar endotel ve duvarında (++) boyanma gözlenirken miyometriyumda yer yer (+) boyanma gözlemlendi.

4.5.2. Sildenafil sitrat Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yaygın ve özellikle apikal yüzeyde (++) boyanma mevcut. Bazı GE'lerin bazalinde, bazılarının apikalinde, bir kısmında hem bazal hem apikalinde (++) boyanma mevcut. Stromada bazale yakın kısımda daha fazla olmak üzere yer yer yüzeye yakın kısımlardaki stromal hücrelerde (++) boyanma mevcut. Bazı damar duvarlarında (+) boyanma var. Miyometriyumun yer yer (++) boyanma mevcut.

4. gün: LE'de apikal yüzeyde daha belirgin olmak üzere (+++) sitoplazmik boyanma mevcut. GE'de (++) sitoplazmik ve bazal membran boyanması görünüyor. Yüzeye yakın bölgelere kadar uzanan (+++) stromal hücre boyanması var. Damar endotel ve duvarında (++) boyanma mevcut. Miyometriyumda (++) boyanma mevcut.

5. gün: LE'de yaygın (++) sitoplazmik boyanma var. GE'de (++) belirgin sitoplazma boyanması mevcut. Stromada bazalden yüzeye kadar uzanan (++) stromal hücre boyanması var. Damarlarda (++) belirgin endotel ve duvar boyanması mevcut. Miyometriyumda sirküler ve longitudinal tabakada yer yer (++) boyanma mevcut.

4.5.3. KOH Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (++) apikal yüzey boyanması mevcut. GE'de yer yer (+) apikal, bazal yüzey ve sitoplazmik boyanma var. Stromada çok az stromal hücrede (+) boyanması var. Damarlarda (+) endotel boyanması var. Miyometriyumda (++) boyanma gözlemlendi.

4. gün: LE'nin kısmen apikal yüzeyinde (++) boyanma mevcut. Glandlarda apikal yüzeyinde (+) boyanma mevcut. Stromada bazale yakın kısımda az sayıda stromal hücrede (+) boyanma var. Tüm damarların endotel ve duvarında (++) boyanma var. Miyometriyumda yer yer (++) boyanma mevcut.

5. gün: LE'de çok az kısmında (+) apikal yüzey boyanması varken GE'de (+) sitoplazmik boyama gözlemlendi. Stromada bazal bölgede yoğun olmak üzere (+) stromal hücre boyanması var. Damarlarda (++) endotel ve duvar boyanması var. Miyometriyumda yer yer (++) boyanma var.

4.5.4. KOH + Ss Grubu Bulguları

3. gün: LE'de yer yer (++) apikal sitoplazma boyanması mevcut. GE'de yer yer (+) apikal ve bazal yüzey boyanması mevcut. Stromal hücrelerde (+) boyanma gözlemlendi. Büyük damarlar hariç damarların çoğunda (++) endotel ve duvar boyanması var. Miyometriyumda (+) boyanma var.

4. gün: LE'de yer yer (++) apikal ve sitoplazmik boyanma var. GE'de yer yer (++) bazal yüzey ve sitoplazma boyanma var. Stromada dağınık durumda ve 3. güne göre daha fazla sayıda (++) stromal hücre boyanması var. Damarlarda (++) endotel boyanması var. Miyometriyumda (++) boyanma var.

5.gün: LE'de (++) apikal yüzey ve sitoplazma boyanması var. GE'de (+) bazal yüzey boyanması var. Stromada dağınık durumda olmak üzere (++) stromal hücre boyanması var. Damarlarda (++) endotel boyanması var. Miyometriyumda (++) boyanma gözlemlendi.

İstatistiksel Değerlendirme

LİF: 3. gün; LE ve GE'de en yoğun immünreaktivite Ss grubunda, stromal hücrelerde ise Ss ve kontrol grubunda bulundu.

4. gün; LE ve GE'de en fazla Ss, stromal hücrelerde ise Ss ve KOH+Ss grubunda anlamlılık bulundu

5. gün; LE'de Ss grubunda, GE'de Kontrol, Ss ve KOH+Ss grubunda, stromal hücrelerde ise KOH+Ss grubunda anlamlılık vardı.

HOXA-10: 3. gün; GE'de en fazla Ss ve KOH+Ss grubunda, stromal hücrelerde ve endotelde ise Ss grubunda anlamlılık vardı.

4. gün; GE'de en fazla KOH+Ss grubunda, stromal hücrelerde ise Ss grubunda anlamlılık vardı.

5. gün; GE'de en fazla KOH+Ss grubunda, stromal hücrelerde Ss ve KOH+Ss grubunda, endotelde ise KOH+Ss grubunda anlamlılık bulundu.

VEGF: 3. gün; LE'de en fazla Ss, stromal hücrelerde ise KOH+Ss grubunda anlamlılık bulundu

4. gün; LE'de anlamlı farklılık KOH+Ss grubunda bulundu.

5. gün; LE'de anlamlılık KOH+Ss grubunda, stromal hücrelerde ise Ss ve KOH+Ss grubunda bulundu.

İntegrin β 3: 3.gün; LE'de anlamlı farklılık Ss ve KOH+Ss grubunda, stromal hücrelerde Ss grubunda, endotelde ise KOH+Ss grubunda bulundu.

4. gün; LE, GE ve stromal hücrelerde anlamlı farklılık Ss grubunda bulundu

5. gün; GE'de anlamlı farklılık Ss grubunda bulundu.

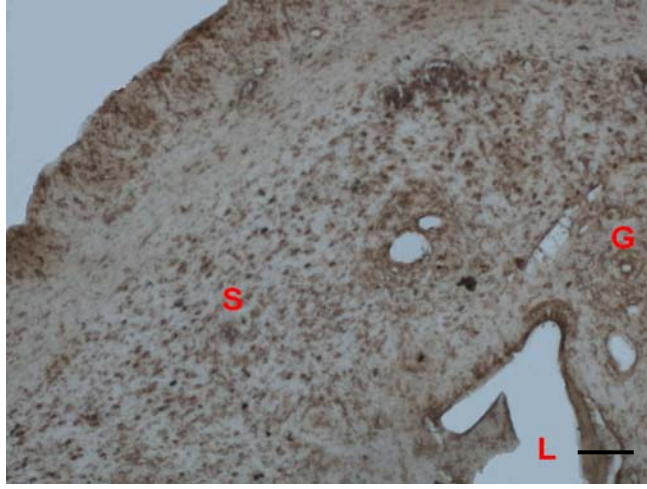
Aktin: 3. gün; GE ve stromal hücrelerde anlamlılık Ss grubunda, endotelde ise Ss, Kontrol ve KOH+Ss grubunda bulundu.

4. gün; LE, GE ve stromal hücrelerde anlamlı farklılık Ss grubunda bulundu

5. gün; LE ve endotelde anlamlı farklılık Kontrol, Ss ve KOH+Ss grubunda bulundu.

Çizelge 3. İmmünohistokimyasal Boyanma Dereceleri.

		3. gün					4. gün					5. gün				
		LE	GE	STR	END	MIYO	LE	GE	STR	END	MIYO	LE	GE	STR	END	MIYO
LİF	Kontrol	++	+	++	+	-	++	+	+	+	-	++	++	+	++	-
	Ss	+++	++	++	+	-	+++	++	++	+	-	+++	+	+	+	-
	KOH	+	+	-	+	-	++	+	+	-	-	+	-	+	+	-
	KOH+Ss	+	+	-	+	-	+	+	++	+	-	++	+	++	+	-
HOXA-10	Kontrol	++	+	+	+	-	++	+	+	+	-	+	+	+	+	-
	Ss	++	++	+++	++	-	++	+	+++	++	-	++	+	++	+	-
	KOH	+	+	+	+	-	+	+	+	++	-	++	+	+	++	-
	KOH+Ss	++	++	+	+	-	++	++	++	++	-	++	++	++	++	-
VEGF	Kontrol	+	+	++	++	-	+	+	+	++	-	++	+	+	++	-
	Ss	++	+	++	++	-	++	+	+	++	-	++	+	++	++	-
	KOH	-	+	+	++	-	+	+	+	++	-	++	+	+	+	-
	KOH+Ss	+	+	+	+	-	++	+	+	+	-	+++	+	++	++	-
İNTEGRİN β3	Kontrol	++	+	+	+	-	+	+	-	+	-	++	+	++	+	-
	Ss	+++	+++	+++	+	-	+++	++	+++	+	-	++	++	++	+	-
	KOH	++	++	+	+	-	++	+	+	+	-	++	+	+	-	-
	KOH+Ss	+++	++	++	++	-	+	+	+	+	-	+	+	++	+	-
AKTİN	Kontrol	++	+	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	+
	Ss	++	++	++	+	++	+++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++
	KOH	++	+	+	+	++	++	+	+	++	++	+	+	+	++	++
	KOH+Ss	++	+	+	++	+	++	++	++	++	++	++	+	+	++	++



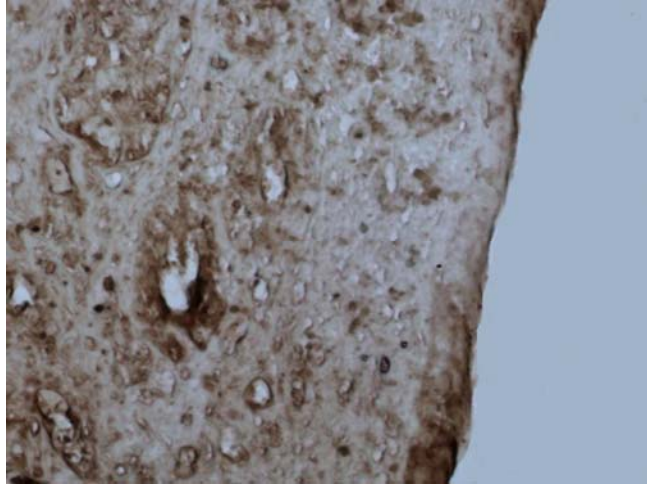
S: Stroma

G: Gland

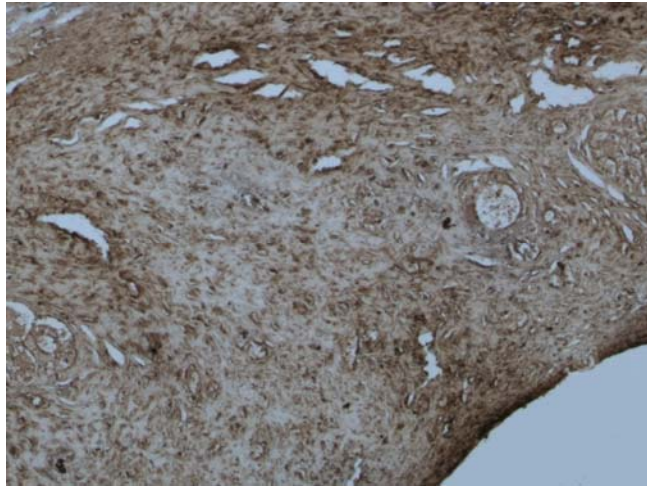
L: Lümen

Tüm büyütmelelerdeki ölçekler 100 µm dir.

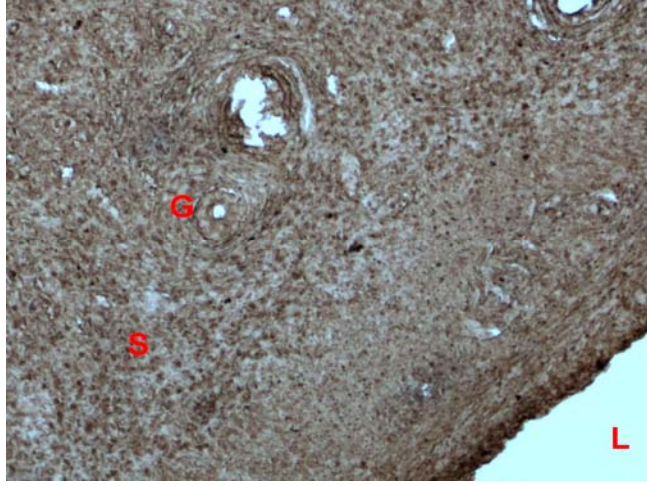
Şekil 12a. LİF kontrol grubu 3. gün X 160



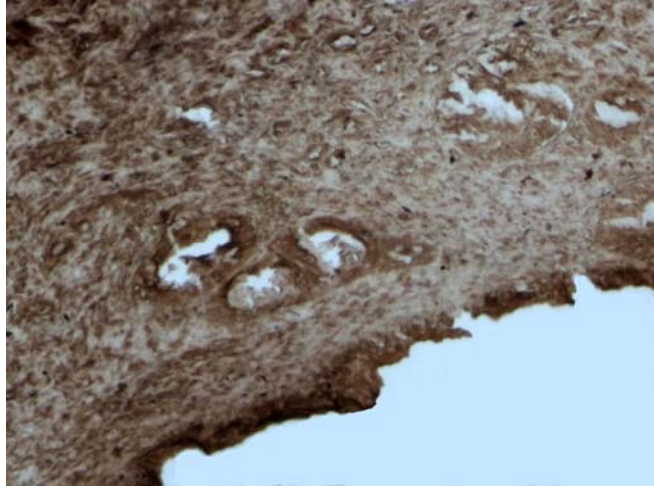
Şekil 12b. LİF kontrol grubu 4. gün X 160



Şekil 12c. LİF kontrol grubu 5. gün X 160



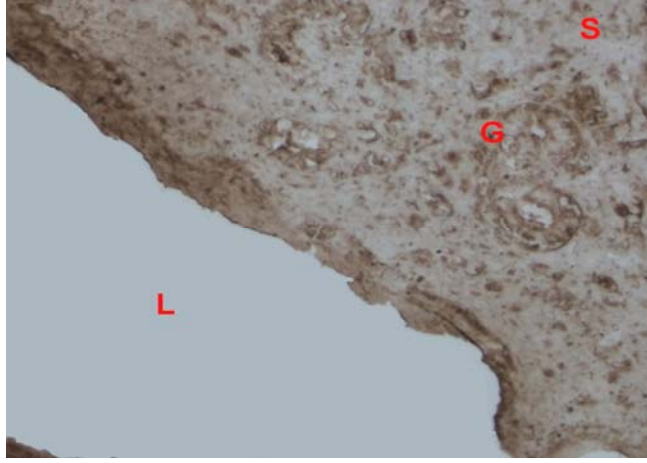
Şekil 13a. LİF Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 160



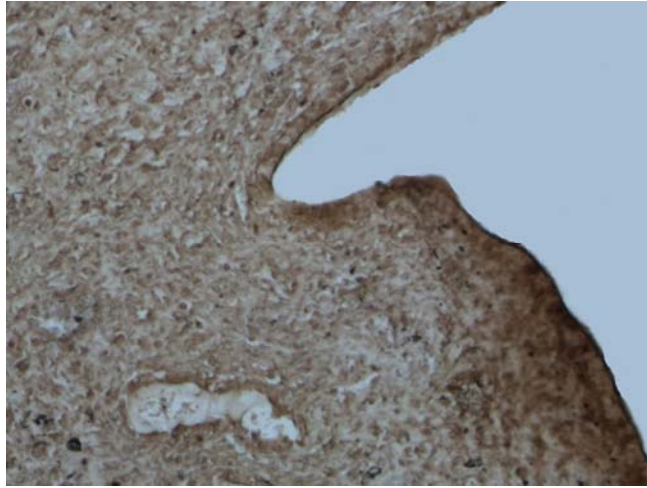
Şekil 13b. LİF Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 160



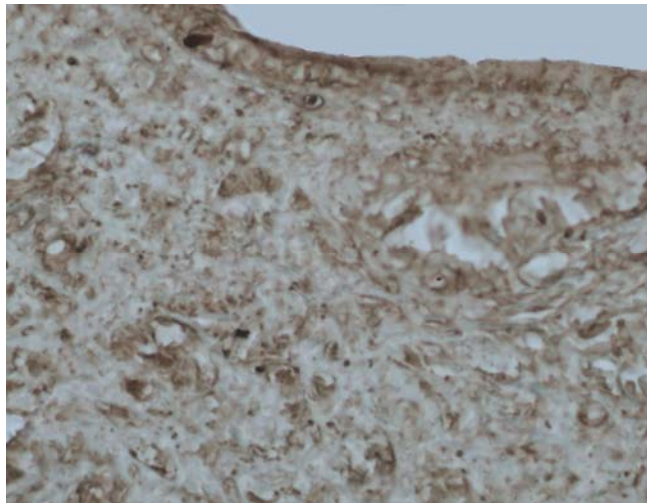
Şekil 13c. LİF Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 64



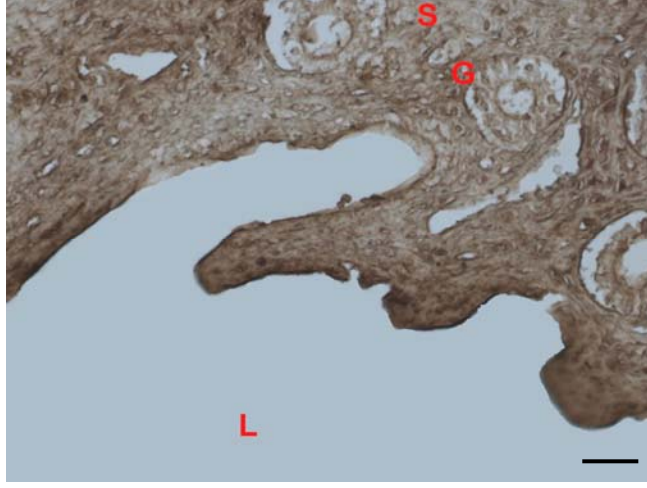
Şekil 14a. LİF KOH grubu 3.gün X 160



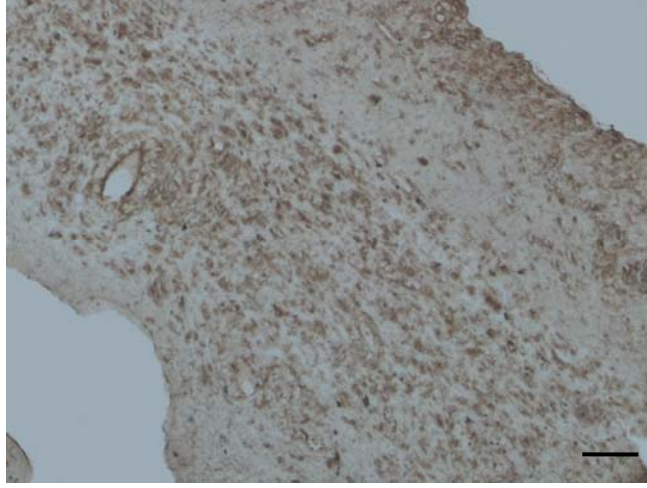
Şekil 14b. LİF KOH grubu 4.gün X 160



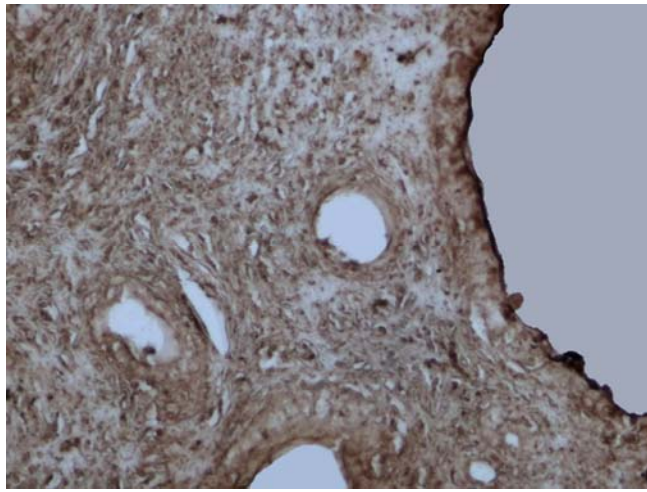
Şekil 14c. LİF KOH grubu 5.gün X 160



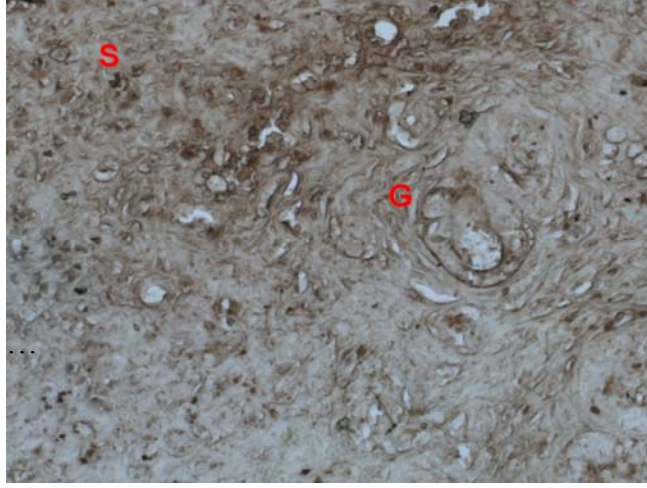
Şekil 15a. LİF KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 200



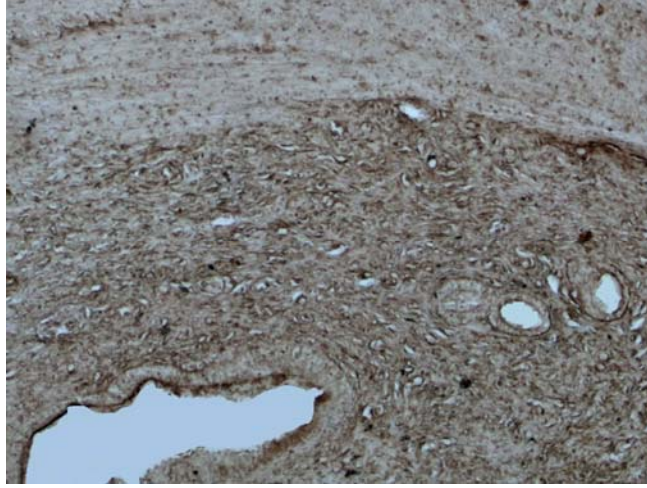
Şekil 15b. LİF KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 100



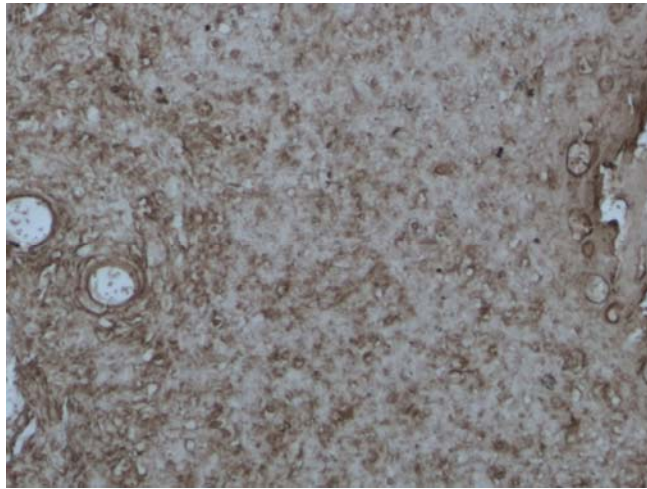
Şekil 15c. LİF KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 160



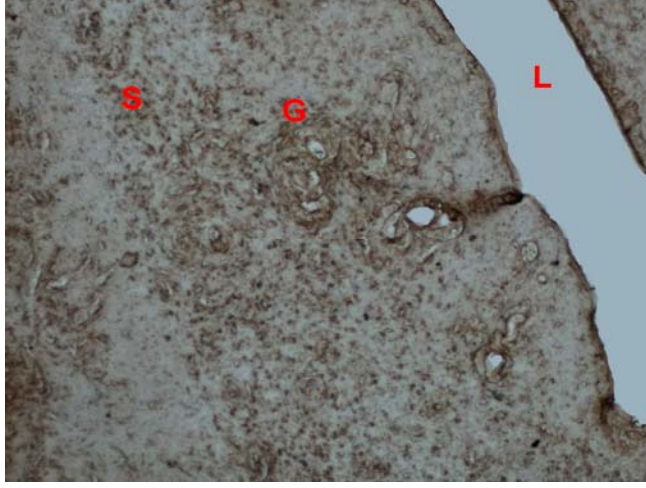
Şekil 16a. HOXA-10 kontrol grubu 3. gün X 200



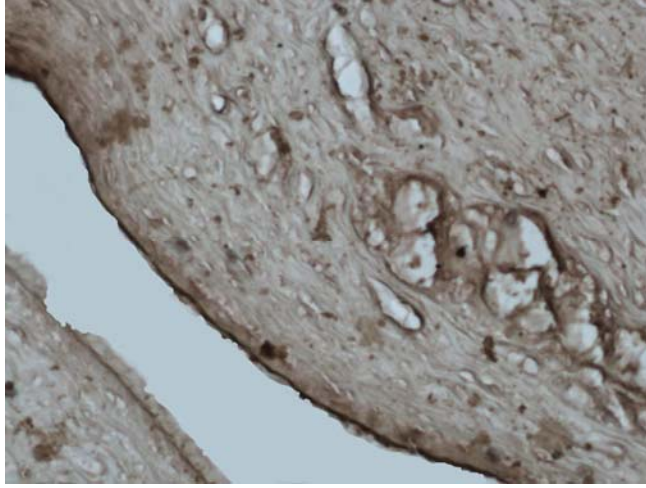
Şekil 16b. HOXA-10 kontrol grubu 4. gün X 100



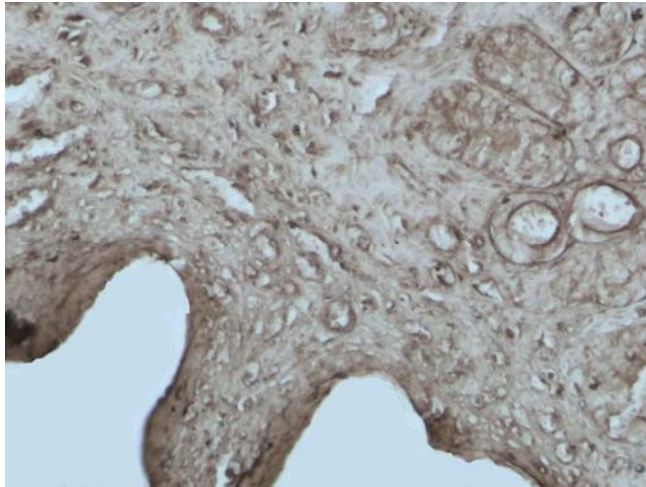
Şekil 16c. HOXA-10 kontrol grubu 5. gün X 100



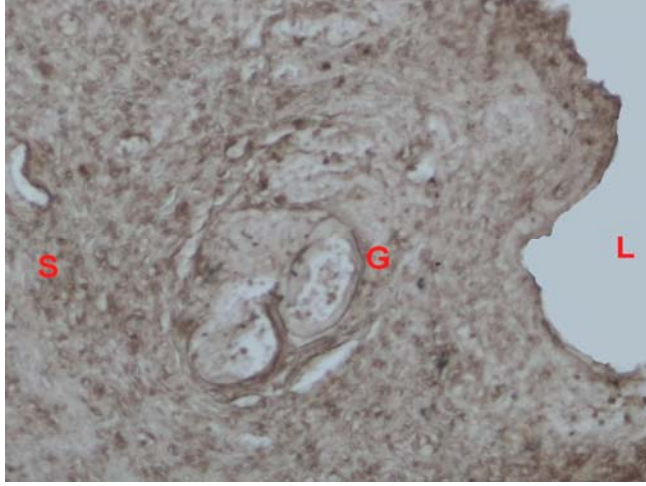
Şekil 17a. HOXA-10 Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 40



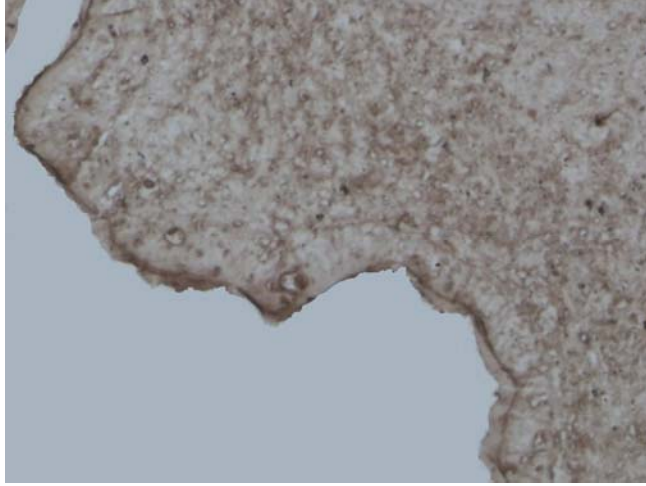
Şekil 17b. HOXA-10 Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 200



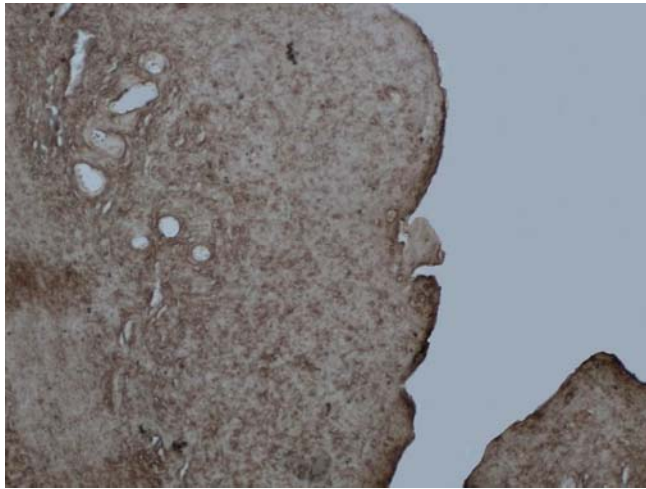
Şekil 17c. HOXA-10 Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 100



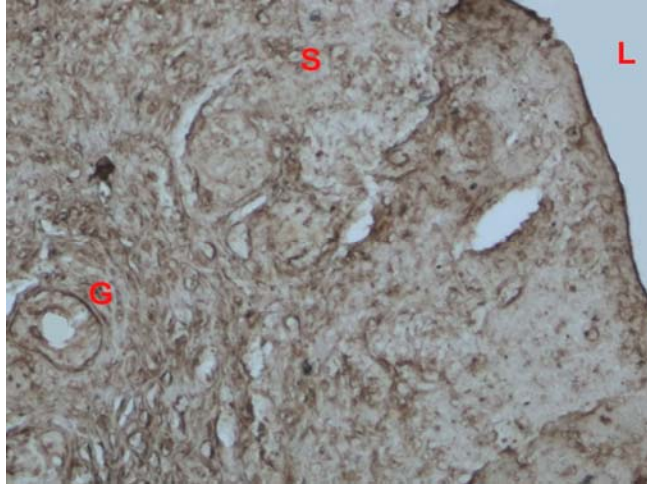
Şekil 18a. HOXA-10 KOH grubu 3.gün X 100



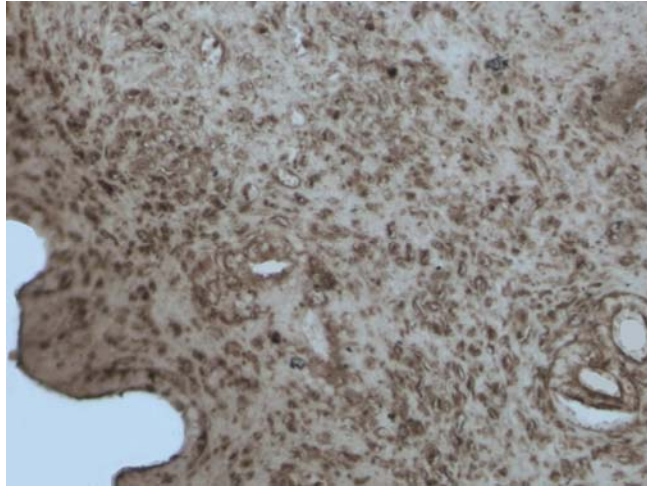
Şekil 18b.HOXA-10 KOH grubu 4.gün X 100



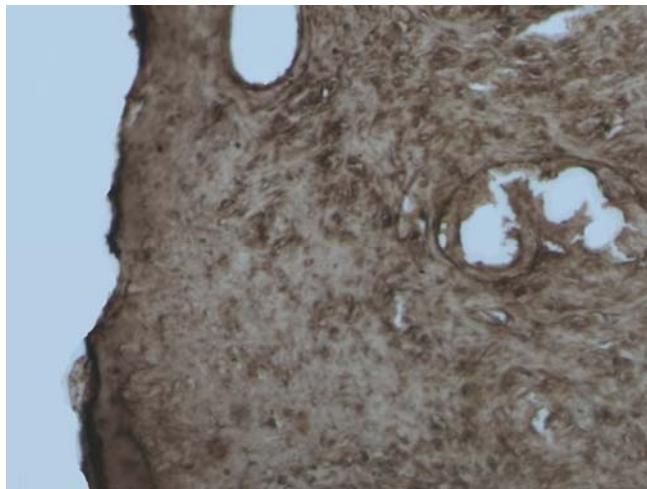
Şekil 18c. HOXA-10 KOH grubu 5.gün X 100



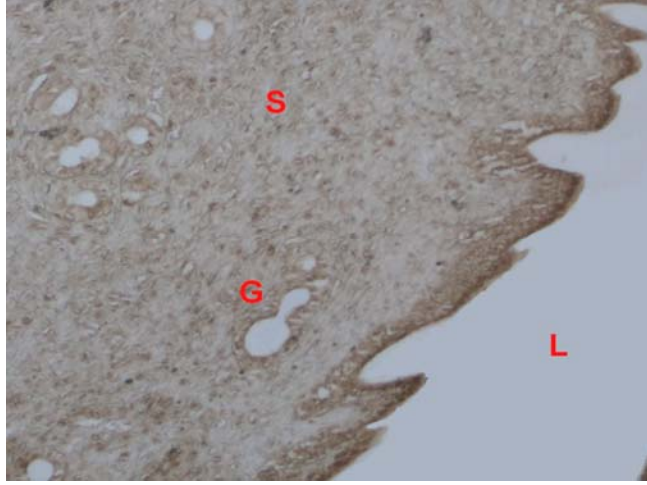
Şekil 19a. HOXA-10 KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 160



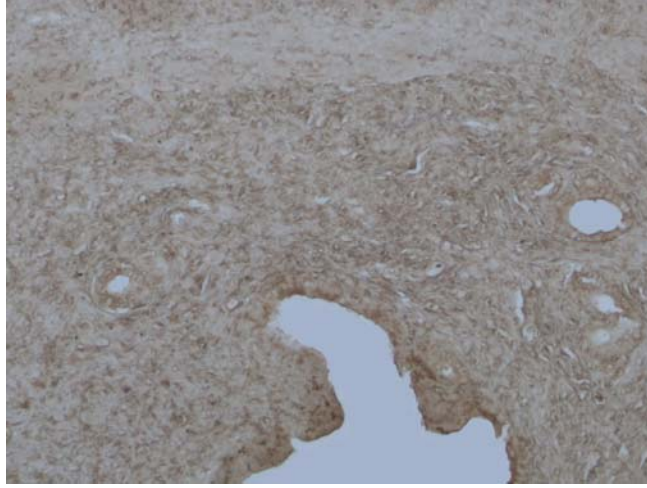
Şekil 19b. HOXA-10 KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 160



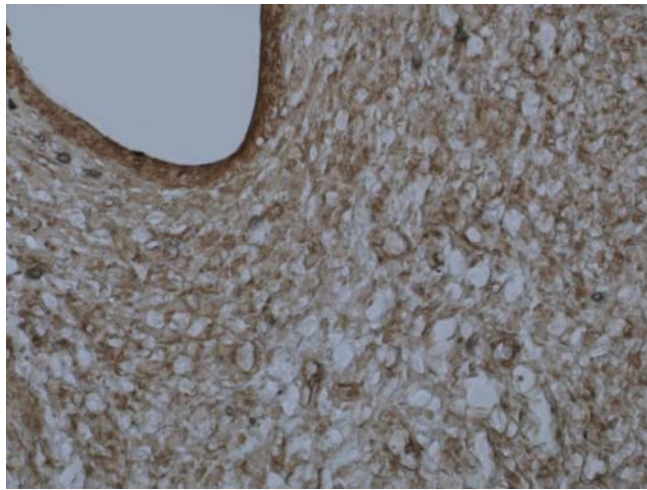
Şekil 19c. HOXA-10 KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 160



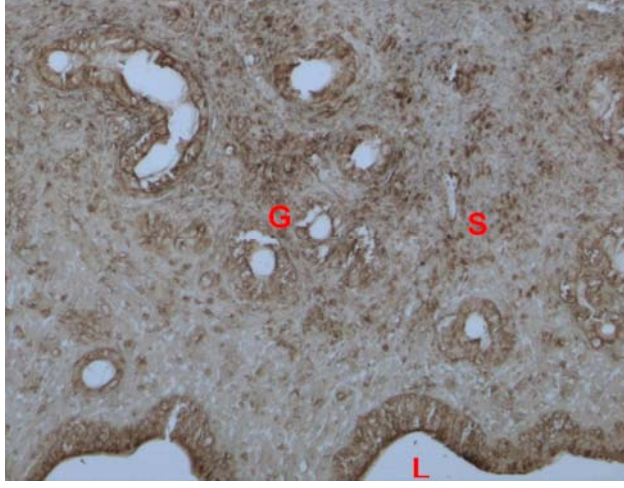
Şekil 20a. VEGF kontrol grubu 3. gün X 100



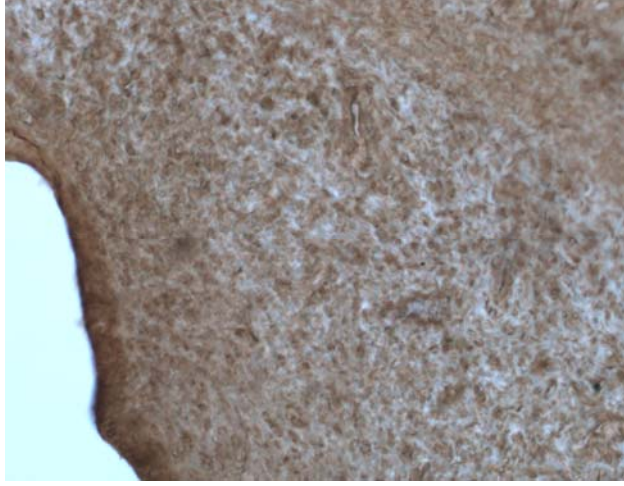
Şekil 20b. VEGF kontrol grubu 4. gün X 100



Şekil 20c. VEGF kontrol grubu 5. gün X 200



Şekil 21a. VEGF Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 100



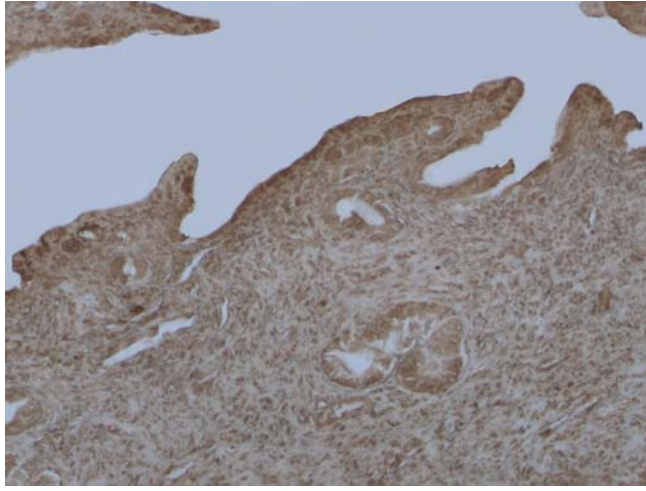
Şekil 21b. VEGF Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 200



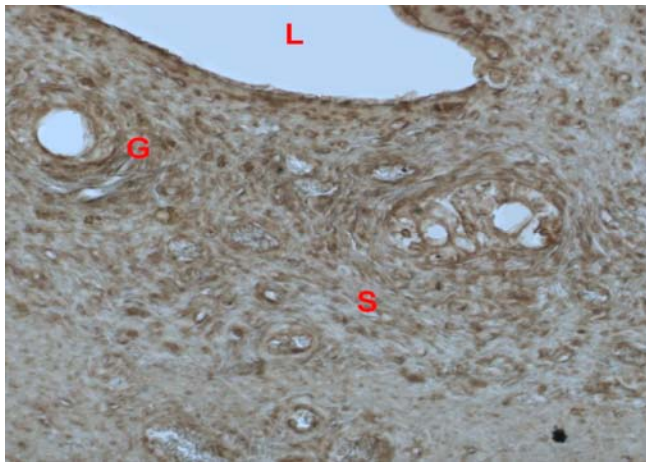
Şekil 21c. VEGF Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 40



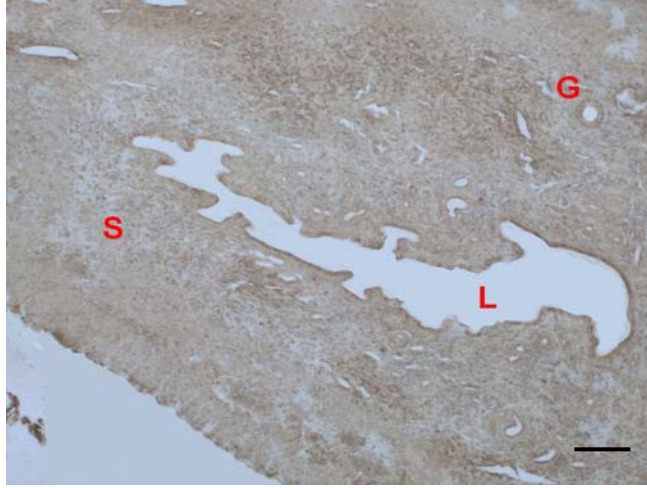
Şekil 22a. VEGF KOH grubu 3.gün X 200



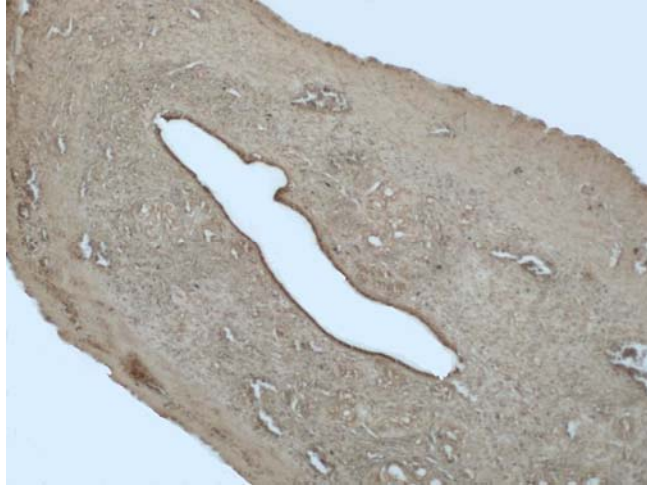
Şekil 22b. VEGF KOH grubu 4.gün X 100



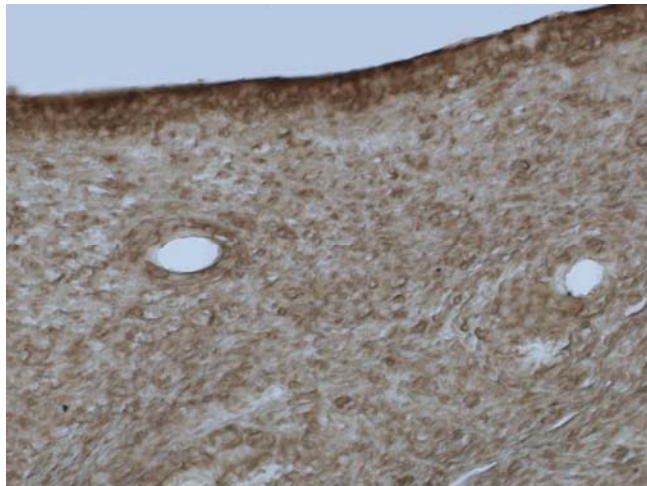
Şekil 22c. VEGF KOH grubu 5.gün X 200



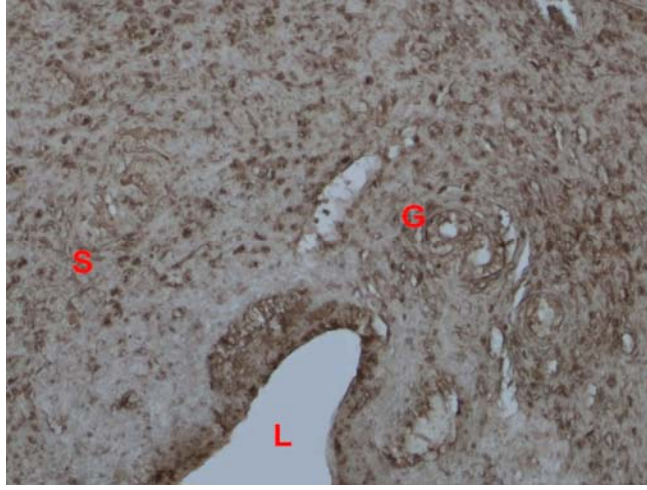
Şekil 23a. VEGF KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 40



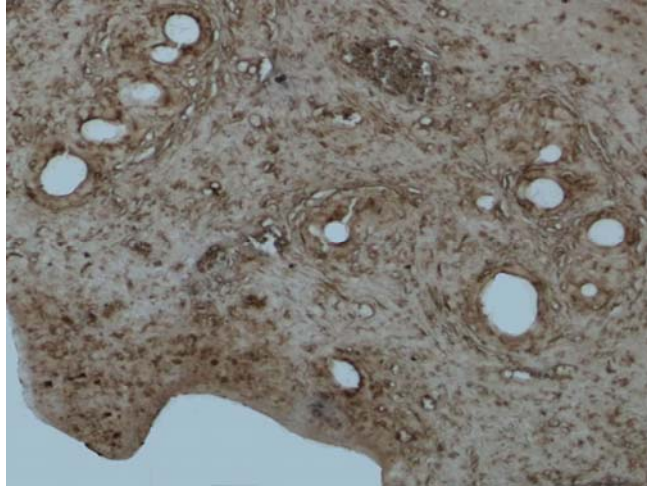
Şekil 23b. VEGF KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 40



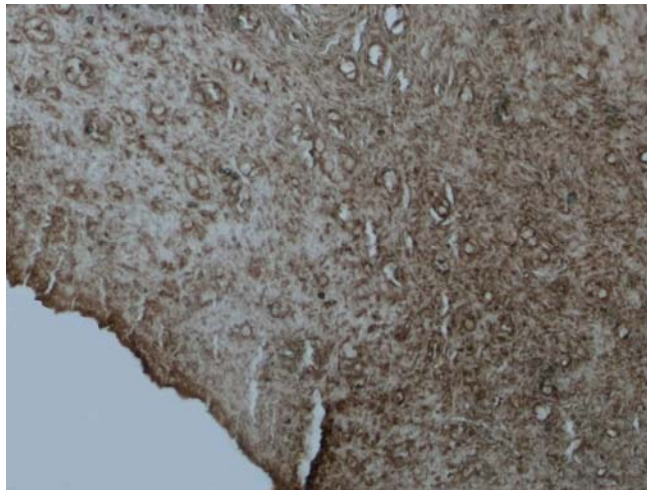
Şekil 23c. VEGF KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 200



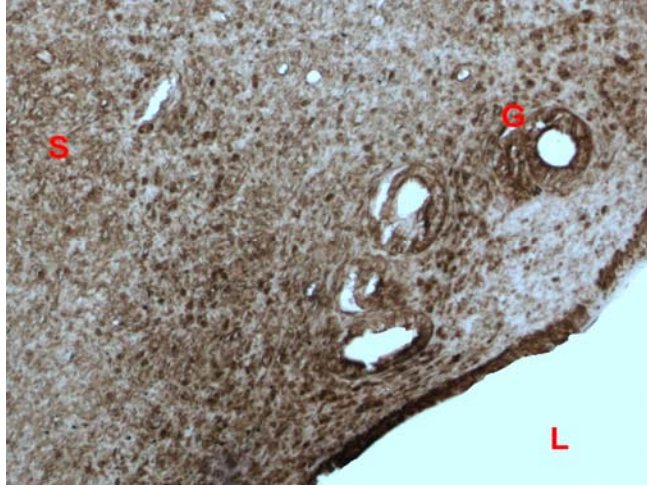
Şekil 30a. İntegrin β 3 kontrol grubu 3.gün X 100



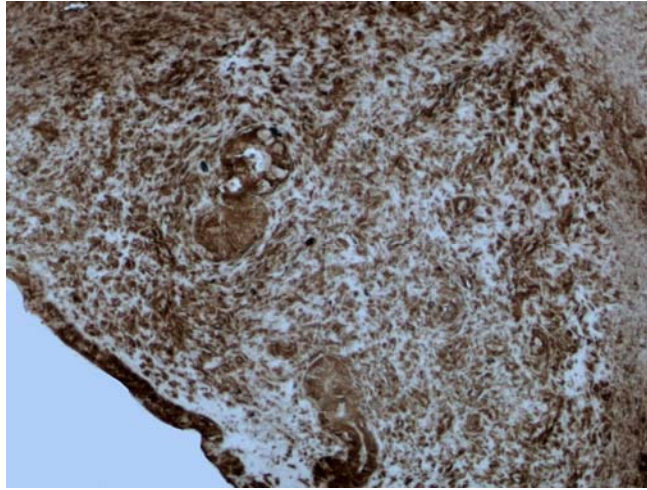
Şekil 30b. İntegrin β 3 kontrol grubu 4.gün X 100



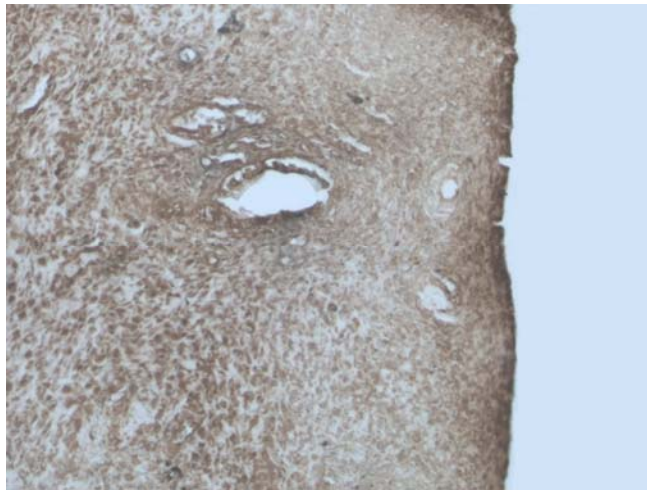
Şekil 30c. İntegrin β 3 kontrol grubu 5.gün X 100



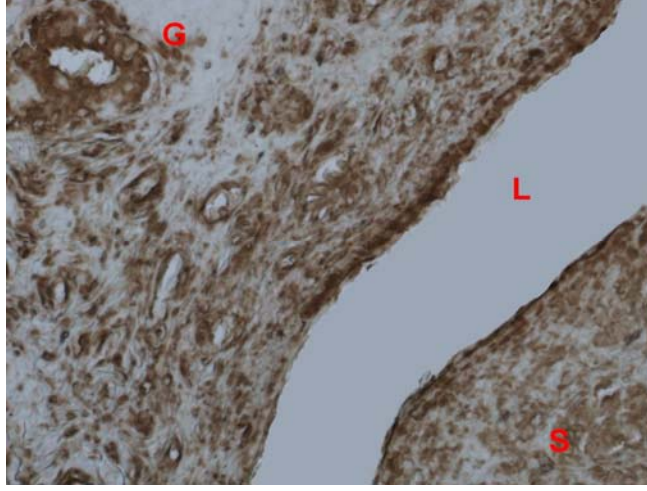
Şekil 30a. İntegrin β 3 Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 100



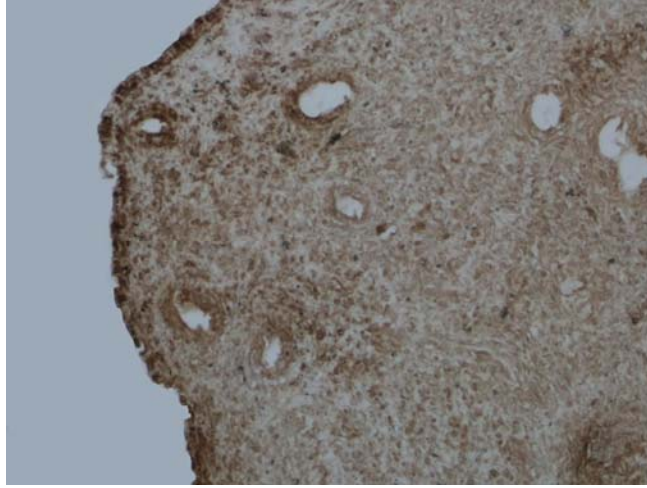
Şekil 30b. İntegrin β 3 Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 100



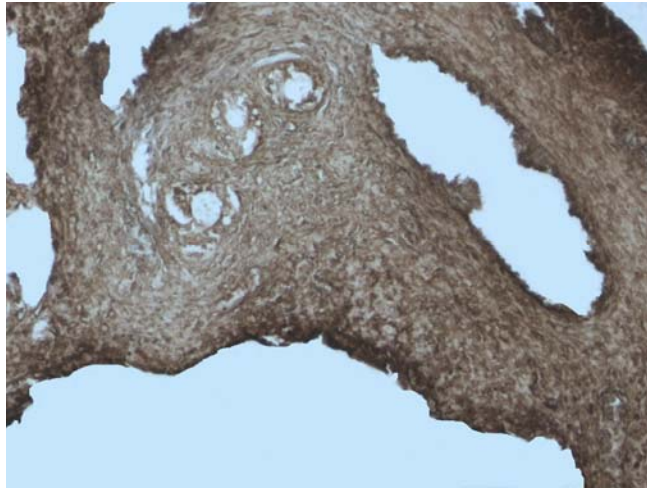
Şekil 30c. İntegrin β 3 Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 100



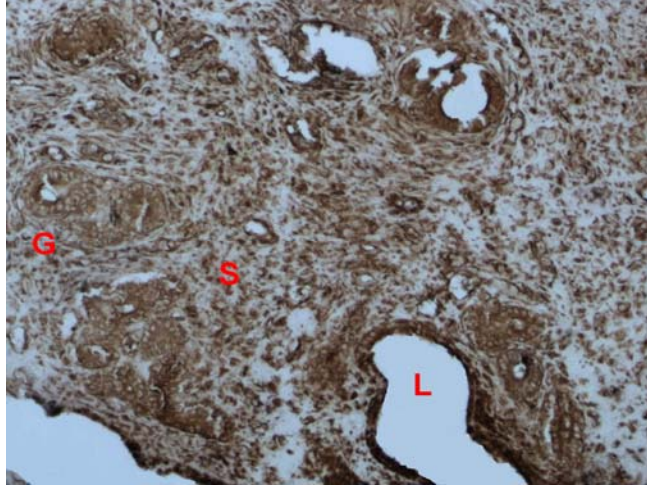
Şekil 30a. İntegrin β 3 KOH grubu 3.gün X 200



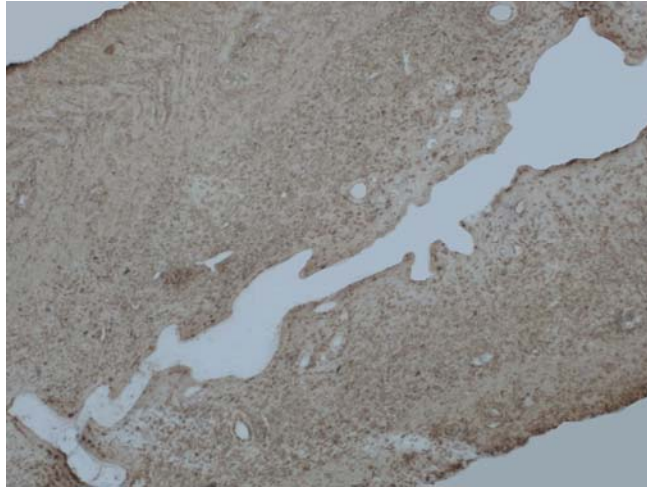
Şekil 30b. İntegrin β 3 KOH grubu 4.gün X 100



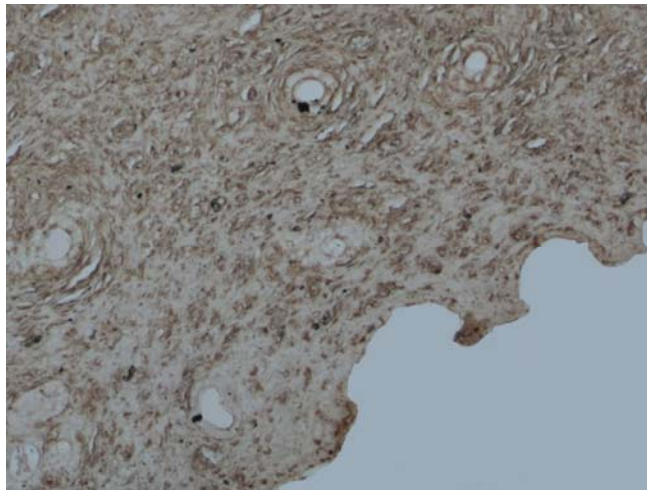
Şekil 30c. İntegrin β 3 KOH grubu 5.gün X 100



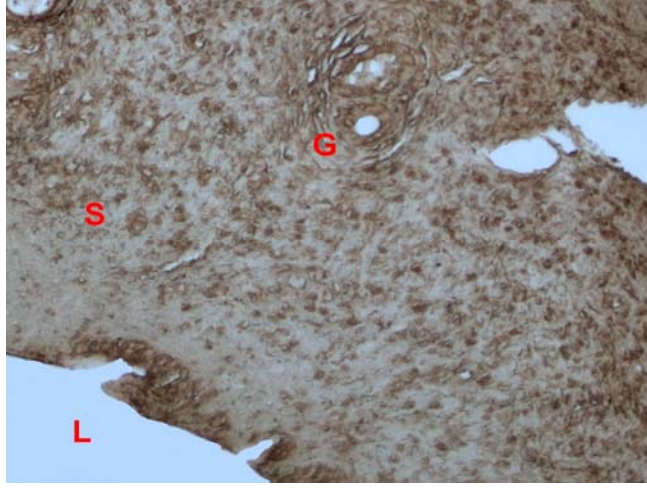
Şekil 31a. İntegrin β 3 KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 100



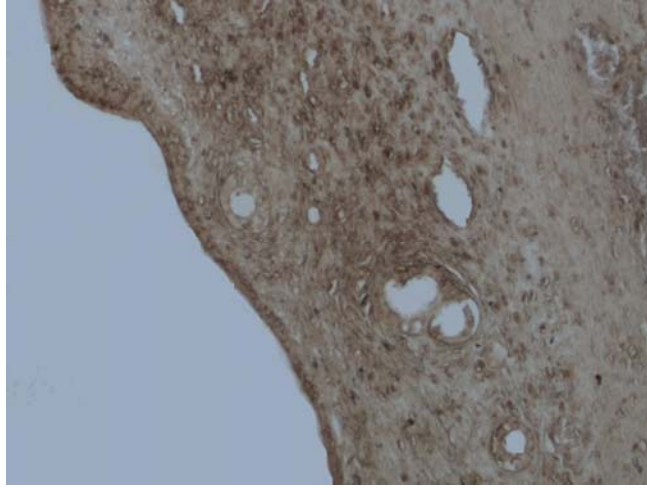
Şekil 31b. İntegrin β 3 KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 100



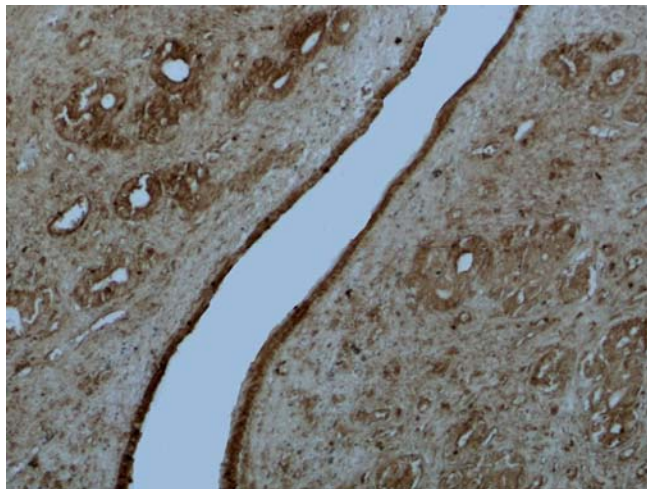
Şekil 31c. İntegrin β 3 KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 40



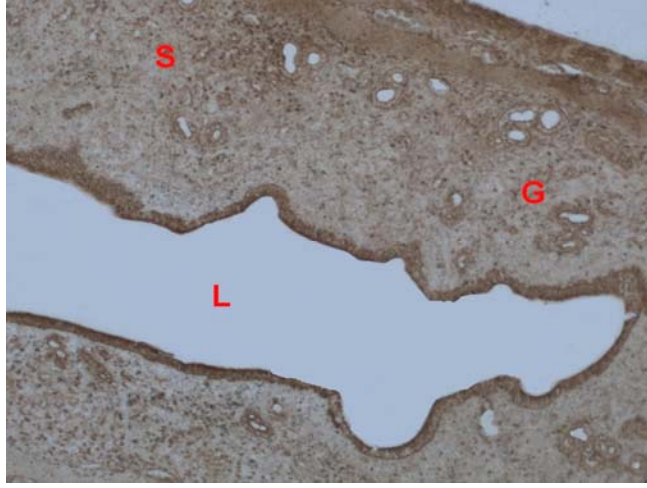
Şekil 28a. Aktin kontrol grubu 3. gün X 100



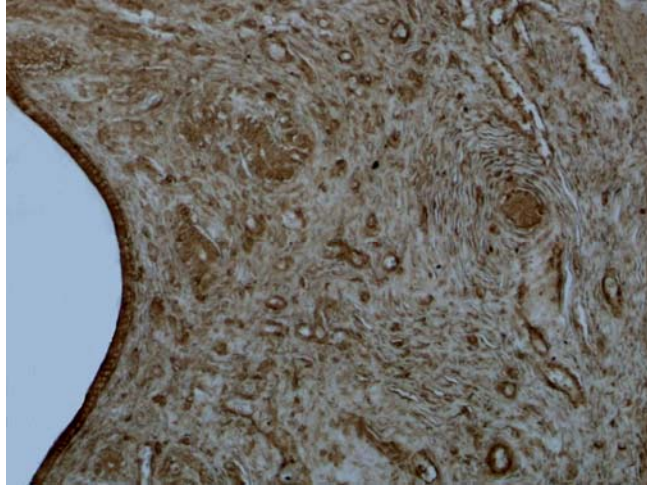
Şekil 28b. Aktin kontrol grubu 4. gün X 200



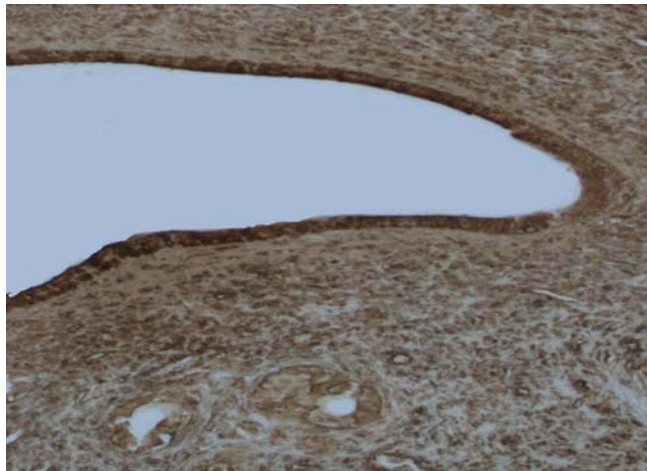
Şekil 28c. Aktin kontrol grubu 5. gün X 100



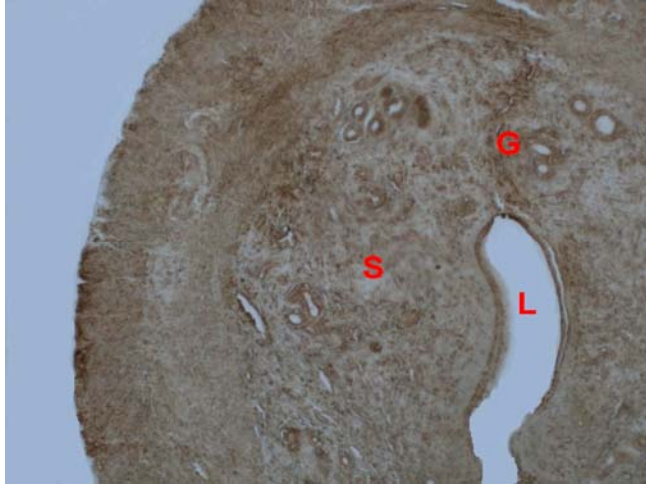
Şekil 29a. Aktin Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 40



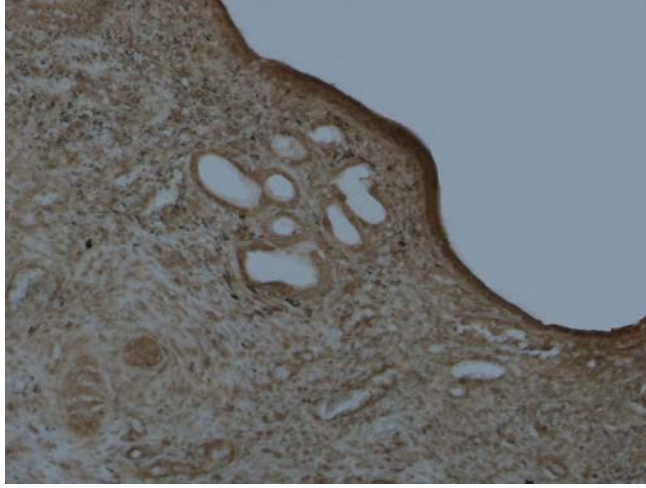
Şekil 29b. Aktin Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 100



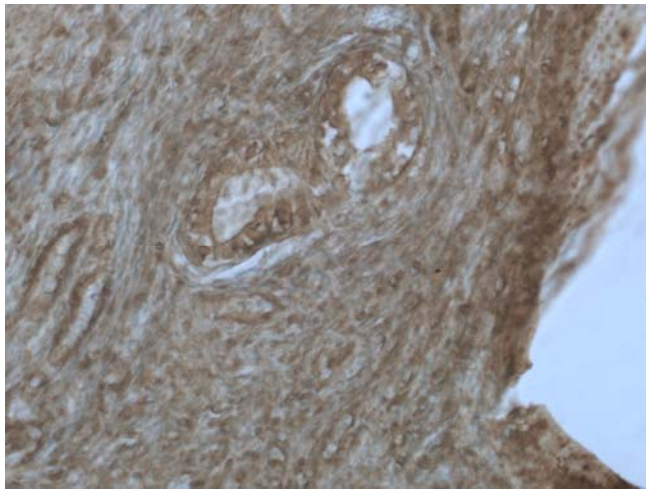
Şekil 29c. Aktin Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 200



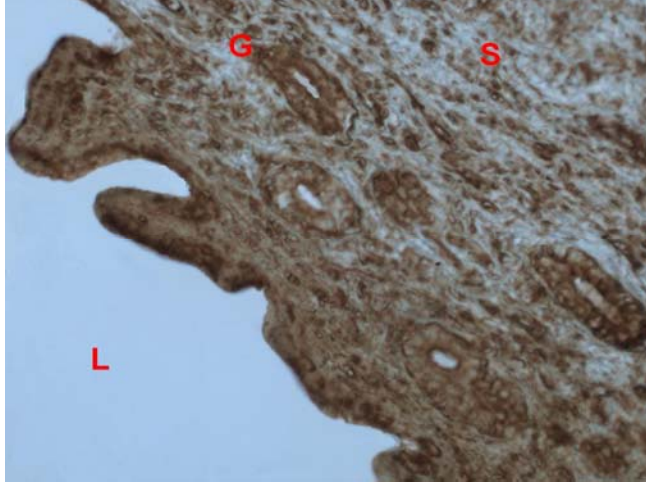
Şekil 30a. Aktin KOH grubu 3.gün X 40



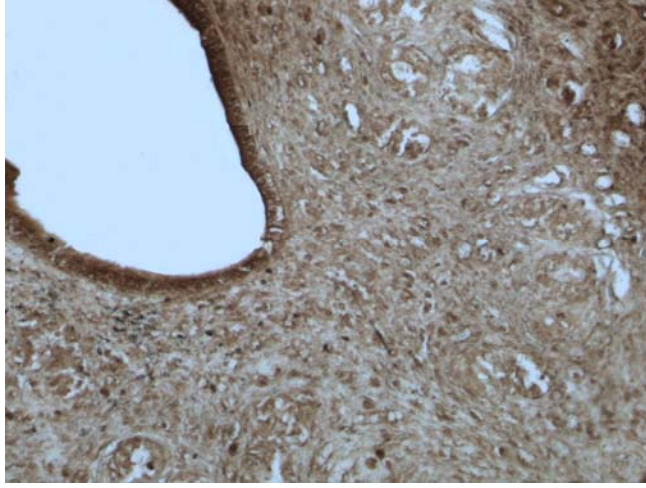
Şekil 30b. Aktin KOH grubu 4.gün X 100



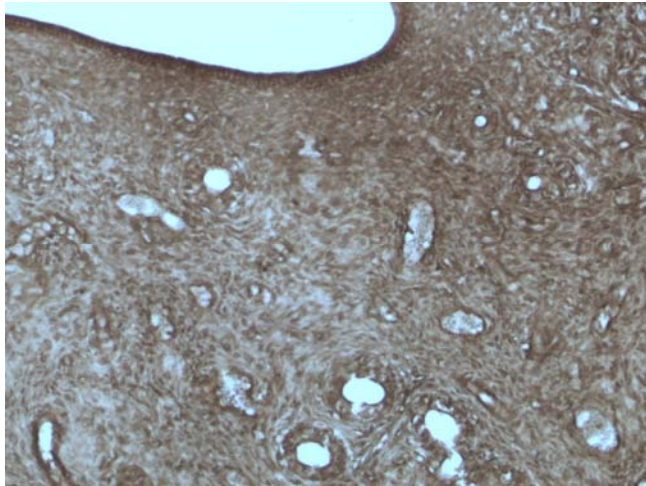
Şekil 30c. Aktin KOH grubu 5.gün X 100



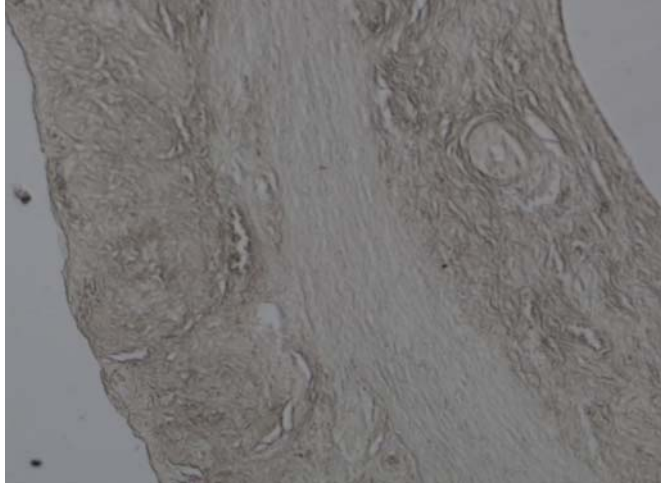
Şekil 31a. Aktin KOH + Sildenafil sitrat grubu 3.gün X 200



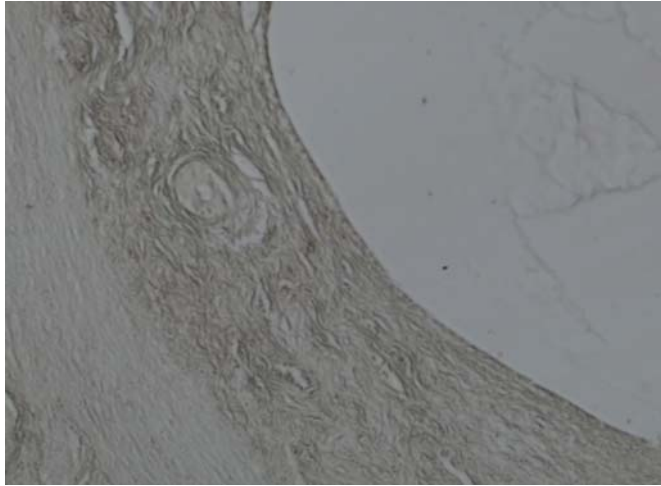
Şekil 31b. Aktin KOH + Sildenafil sitrat grubu 4.gün X 100



Şekil 31c. Aktin KOH + Sildenafil sitrat grubu 5.gün X 100



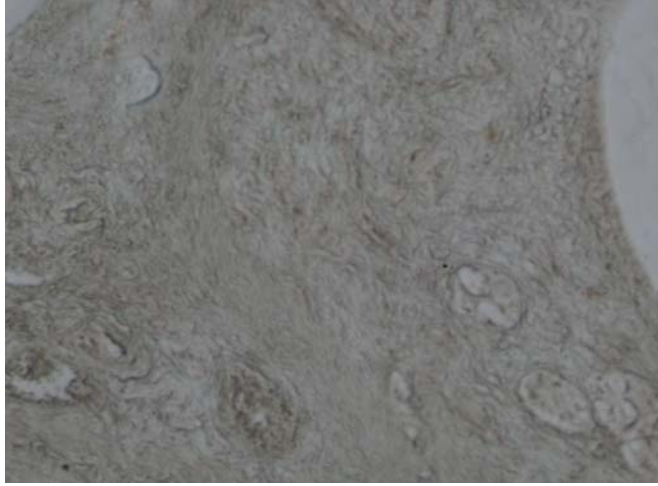
LIF primersiz boyanma X40



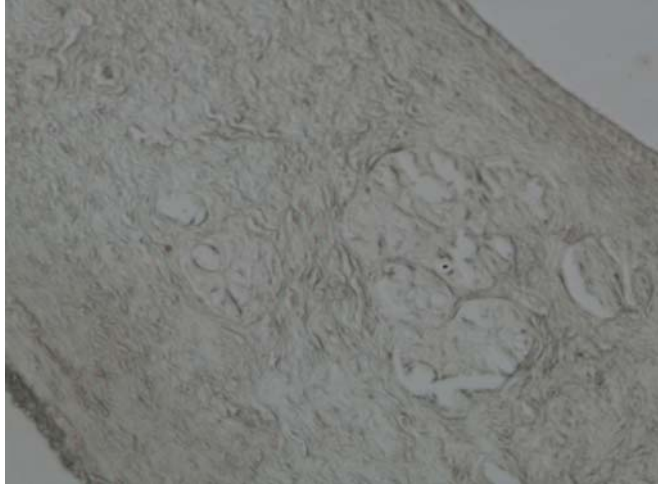
HOXA-10 primersiz boyanma X40



VEGF primersiz boyanma X100



İntegrin $\beta 3$ primersiz boyanma X64



Aktin primersiz boyanma X40

5. TARTIŞMA

Embriyo implantasyonu pekçok tür için üremenin olmazsa olmaz adımıdır. Başarılı bir implantasyon için; reseptif bir endometriyum, blastosist evresindeki normal ve fonksiyonel bir embriyo ve her ikisi arasında eşgüdümlü iletişime gerek vardır. Üreme tıbbında implantasyon başarısızlıkları halen çözülememiş en önemli problemlerden biridir. İmplantasyon başarısızlıklarının yaklaşık 2/3'ünün yetersiz uterin reseptivitesinin, 1/3'ünden de embriyonun sorumlu olduğu düşünülmektedir (Simon and et al. 1998b, Ledee-Bataille et al. 2002)

Fare ve sıçanlarda progesteron ve östrojenin uterus hücrelerinin proliferasyon ve/veya farklılaşmasını zaman-uzamsal şekilde düzenleyen eşgüdümlü etkileri implantasyon penceresini oluşturur. Örneğin, gebeliğin birinci gününde uterus epitel hücreleri preovulatuvar östrojen salgısı etkisi ile proliferasyona başlar. Yeni oluşmuş korpus luteumdan salgılanan progesteron düzeyinin yükselmesi 3. günden itibaren stromal hücre proliferasyonunu başlatır. Stromal hücrelerin proliferasyonu 4. gebelik gününde salgılanan ovaryen az miktarda östrojen ile daha da uyarılır. Progesteron ve östrojenin bu eşgüdümlü etkileri uterus epitel hücre proliferasyonunun durması ve farklılaşmanın başlamasına yol açar (Huet et al. 1989).

Normal gebelik sırasında fare uterusunda aktif blastosist varlığı implantasyon reaksiyonu için uyarıcıdır. Tutunma reaksiyonu 4. günün tamamlanması ile başladıktan sonra implante olmakta olan blastosisti çevreleyen stromal hücreler yaygın şekilde proliferasyon gösterir ve desidua hücrelerine farklılaşırlar (Lundkvist and Nilsson, 1982, Paria and et al. 2001).

Uterus duyarlılığı, steroid hormonları ve implantasyon yönünden, prereseptif, reseptif ve nonreseptif (refrakter) olarak sınıflanmıştır (Psychoyos, 1973). Farede uterus gebeliğin 4. gününde tam olarak reseptif iken 1.-3. günler arasında prereseptif olarak değerlendirilir. Fare uterusu 24-48 saat progesteron ile hazırlandıktan sonra az miktarda östrojene maruz bırakıldığında blastosist implantasyonuna reseptif hale getirilir. Kanıtlar

uterusun en fazla 4. günde reseptif olduğunu ve implantasyon etkinliğinin zamanla azaldığını göstermiştir. Siklusun 6. gününde uterus blatosist implantasyonuna tamamen refrakterdir (Huet and Dey, 1990, Paria and et al. 1993).

Sıçanların implantasyon penceresi olarak bilinen fertilizasyondan sonraki 3. ve 5. günlerde birbirleri ile uyumlu olarak peşpeşe etkilerini gösteren pek çok endometriyum reseptivite belirteçlerinden birkaçı olan LİF, HOXA-10, VEGF, İntegrin β_3 ve Aktin ile yaptığımız bu kontrollü deneysel çalışmamızda en çarpıcı bulgularımızı özetlersek;

En yoğun **LİF** immünreaktivitesi 3. ve 4. günlerde luminal ve glandular epitelde Sildenafil sitrat (Ss) grubunda gözlemlendi.

En yoğun **HOXA-10** immünreaktivitesi 3., 4. ve 5. günlerde stromal hücrelerde Ss grubunda gözlemlendi.

En yoğun **VEGF** immünreaktivitesi 3. günde luminal epitelde Ss grubunda gözlemlendi.

En yoğun **İntegrin β_3** immünreaktivitesi 3. ve 4. günlerde luminal epitel, glandular epitel ve stromal hücrelerde Ss grubunda gözlemlendi.

En yoğun **Aktin** immünreaktivitesi 4. günde luminal epitel, glandular epitel ve stromal hücrelerde Ss grubunda gözlemlendi.

LİF, β_3 , HOXA-10, VEGF ve **Aktin**'in en az immünreaktif olduğu sıçanlar (KOH) grubunda yer aldı.

LİF bulgularımız ve literatür

Endometriyal luminal ve glandular epitel hücrelerinde LİF immünreaktivitesinin 3. ve 4. günlerde Ss grubunda diğer gruplardan daha yoğun olduğunu bulduk. Stromal hücrelerde ise immünreaktivite 3. günde Ss ve kontrol grubunda, 4. günde Ss ve KOH+Ss grubunda benzer iken, 5. günde ise en fazla KOH+Ss grubunda gözledik.

LİF ve reseptörleri hem çözünebilir hem de zara bağlı halde bulunurlar. İmmünohistokimyasal çalışmalarda LİF proteini luminal ve glandular epitel yanı sıra stromada da gösterilmiştir (Achache and Revel, 2006). LİF farelerde gebeliğin 4. gününde uterus bezlerinde eksprese olması nedeni ile implantasyonda rol aldığı düşünülmektedir (Bhatt et al. 1991). LİF'in 4.

gündeki ekspresyonunun bifazik olduğuna ilişkin çalışma bulguları da vardır; LİF sadece bezlerde değil tutunma aktivitesi sırasında blastosistin etrafındaki stromal hücrelerde de eksprese olmaktadır (Rathjen et al. 1990). Bu bulgu bizim bulgularımızla örtüşmekte ve LİF'in uterusu hazırlamak, tutunma reaksiyonunda ve desidualizasyonda yer almak şeklinde ikili rolü olduğunu düşündürmektedir.

LİF'in implantasyon üzerine moleküler düzeydeki etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Eksojen LİF verilmesi pek çok türde embriyo sağkalımını ve endometriyuma tutunmasını iyileştirmiştir (Fry, 1992, Escary et al. 1993, Song et al. 2000). LİF reseptörü olmayan embriyolar blastosist evresine ilerleyip normal olarak implante olmalarına rağmen prenatal dönemde ölmektedirler (Ware et al. 1995). İmplantasyon döneminde en yüksek düzeyde olan LİF ekspresyonu pek çok türde progesteron ile düzenlenmekle birlikte (Yoshida et al. 1996) fare uterusunda LİF ekspresyonu östrojen tarafından düzenlenir. Gebeliğin 1. gününde, siklusun östrus evresinde uterus östrojen etkisi altındayken LİF ekspresyonu gösterilmiştir (Bhatt et al. 1991, Shen and Leder, 1992, Yang et al. 1996). Deneysel olarak geciktirilmiş implantasyon sırasında uterusda LİF eksprese olmamakla beraber östrojen enjeksiyonunu takiben eksprese olduğu ifade edilmiştir (Bhatt et al. 1991, Song et al. 2000). Gonadotropin uygulanmış farelerde gebeliğin 4. gününde yapılan immünohistokimyasal bir çalışmada LİF ekspresyonunun luminal epitel apikal sitoplazmasında, glandular epitel sitoplazmasında ve myometriyumda yoğun olarak bulunurken, stromadaki ekspresyon daha az bulunmuştur. Endometrial epitel hücre kültüründe endometrial LİF sekresyonunun doza bağlı olarak hCG ile de kontrol edildiği bildirilmiştir. (Perrier d'Hauterive et al. 2004). Bu araştırmalar bizim bulgularımızı destekler niteliktedir. Özellikle 4. ve 5. günlerde stromal hücrelerdeki LİF immünreaktivitesinin yoğun olarak KOH+Ss grubunda görülmesi, gonadotropinlerin Sildenafil sitratla desteklendiğinde stromal hücrelerin desidualizasyonunda önemli rol oynayabileceğini göstermektedir.

HOXA-10 bulgularımız ve literatür

Bulgularımıza göre endometriyal glandular epitelde HOXA-10 immünreaktivitesi 3. günde en yoğun Ss ve KOH+Ss grubunda görülürken 4. ve 5. günlerde KOH+Ss grubunda daha yoğundu. Stromada ise 3. ve 4. günde immünreaktivite Ss grubunda en yoğun iken 5. günde Ss ve KOH+Ss grubu benzerlik gösteriyordu.

İnsanlar ve farelerde HOXA-10 ekspresyonunun primer düzenleyicisi progesterondur (Bentin-Ley et al. 1999). Blastosist tutunması endometriyal pinopodların tepesinde gerçekleşir. Blastosist adezyonu için gerekli reseptörler pinopod yüzeyinde lokalizedir. Endometriyal pinopodların gelişimi orta luteal fazda LİF, progesteron ve $\alpha\beta3$ ekspresyonunun artması ile ilişkilidir. HOXA-10 ekspresyonu endometriyal yüzey epitelinde önemli morfolojik değişikliklere yol açarak pinopod oluşumunu kolaylaştırır (Bagot et al. 2001).

Farede HOXA-10 gebeliğin 4. gününde uterin stromadan eksprese edilir. İmplantasyonun devamındaki 5. günde blastosist çevresindeki desidual değişim stromal hücrelerdeki HOXA-10 geninin artışı ile birlikte meydana gelir. Bu ekspresyon 6. ve 8. günlerde implantasyon bölgesinin hem mezometriyal hem de anti-mezometriyal kutbundaki desidualize stromada giderek artar. HOXA-10 ekspresyonu stromal hücre proliferasyonunu düzenleyerek desidualizasyonu başlatır (Bagot et al. 2001). Farelerde yapılan genetik çalışmalarda da desidualizasyon için HOXA-10'un gerekli olduğu gösterilmiştir (Taylor et al. 1998, Lim et al. 1999, Paria and et al. 2000, Daikoku and et al. 2004, Mohammed and et al. 2006). İnsanlarda yapılan bir prospektif kontrollü çalışmada GnRH antagonistlerinin uterus reseptivitesi üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

HOXA-10 ekspresyonunun GnRH antagonisti uygulanan sikluslarda GnRH agonist verilen ya da doğal seyrine bırakılan kontrol hastalara göre daha az olduğu bulunmuştur. Bu üç grup arasında glandular hücrelerde HOXA-10 ekspresyonunun farklı bulunmamasına rağmen GnRH antagonistlerinin kullanımının endometriyal reseptiviteyi bozduğu yönünde yorumlanmıştır (Rackow and et al. 2008). Godbole et al. (2007) luteal fazdaki babun endometriyumunda luminal epitelin çekirdek ve

sitoplazmasında, glandular epitelde ve stromada HOXA-10 ekspresyonu göstermişlerdir. Luminal epitel hücrelerinin sitoplazma ve çekirdeklerindeki ekspresyon çok belirginken luminal çıkıntılarının apikal bölgelerinde de ekspresyon olduğunu gözlemişlerdir. Yaptıkları semikantitatif değerlendirme, fonksiyonel tabakadaki HOXA-10 ekspresyonunun bazal tabakadakinden iki kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Benzer bulgular insan ve farede de gösterilmiştir (Daftary and Taylor, 2006).

HOXA-10 ekspresyonunun bozulması ya da bloke edilmesi desidualizasyon ve implantasyon başarısızlıklarına yol açmaktadır (Makker and Singh, 2006). HOXA-10 aynı zamanda integrin $\beta 3$ ekspresyonunu da düzenler (Daftary and et al. 2002). Yapılan literatür araştırmaları bulgularımızın önceki bulgularla benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Çalışmamızda GnRH antagonisti kullanmış olmamıza rağmen özellikle endometriyal epitelde yoğun HOXA-10 immünreaktivitesinin KOH+SS gruplarında görülmesi Sildenafil sitratın gonadotropinlerin reseptivite üzerindeki olası olumsuz etkilerini önemli oranda azalttığı hatta tersine çevirdiği şeklinde yorumlanabilir.

VEGF bulgularımız ve literatür

Endometriyal luminal epitelde 3. günde en yoğun VEGF immünreaktivitesi Ss grubunda, 4. günde Ss ve KOH+Ss gruplarında, 5. günde ise KOH+Ss grubunda gözlemlendi. Stromal hücrelerde ise immünreaktivite 3. günde en fazla Ss ve Kontrol (K) grubunda gözlenirken 5. günde Ss ve KOH+Ss gruplarında gözlemlendi. Damarlardaki immünreaktivite açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenemedi.

İmplantasyon sırasında uterus damar geçirgenliği ve anjiyogenezde VEGF çok önemlidir. Gebelik sırasında ve steroid hormonlara yanıt olarak VEGF ve reseptörlerinin eksprese olduğuna dair bulgular gösterilmiştir (Chakraborty et al. 1995). Östrojen ve progesteronun nükleer reseptörleri aracılığı ile VEGF'in transkripsiyonel ekspresyonunu hızla artırdıkları ileri sürülmüştür (Hyder et al. 2000). Normal üreme sürecinde östrojenin uterin anjiyogenezis için güçlü bir uyarısı olduğu düşünülmektedir, çünkü vasküler

geçirgenlik anjiyogenez için bir ön şarttır. Ancak, yapılan önceki çalışmalar östrojen ve progesteronun bu süreçteki rollerinin farklı olduğunu; östrojenin uterin vasküler geçirgenliği başlatıp anjiyogenezi yoğun olarak baskımlarken progesteronun vasküler geçirgenliği çok az etkileyip esas etkisini anjiyogenez üzerinde göstermektedir (Ma et al. 1992). Bununla birlikte, sıçanlarda, östrojenin tek başına luminal epitelde VEGF gen ekspresyonunu aktive ederken progesteronun stromal bölgede aynı etkiyi başlattığı gösterilmiştir (Karuri et al. 1998). Aynı zamanda, endometriyal hücre kültüründe hCG'nin VEGF üretimini doza bağlı olarak arttırdığı ve anjiyogenik yanıtı potansiyalize ettiği de gösterilmiştir (Berndt et al. 2006). İnsan ve diğer primat endometriyumlarında VEGF mRNA ve proteininin hem stroma hem de glandular epitelde bulunduğu da belirtilmiştir (Gargett et al. 2001).

Hornung et al. (1998), endometriyal glandular epitel hücrelerinde üretilen VEGF'in daha çok apikalden bez lümenine salgılandığını ve VEGF'in anjiyogenezde yer almaktan ziyade gelişmekte olan blastosistin beslenme ve/veya apozisyonunu etkilediği öne sürülmüştür. Ancak, bazı araştırmacılar, VEGF'in epitel hücre bazal membranından önemli miktarda diffüze olarak subepitelyal kapiller komplekslerini etkileyecek gradiyenti uyardığını savunmaktadırlar (Li et al. 2001, Albrecht et al. 2003a). Goodger and Rogers (1993) embriyonun implantasyon döneminde endotel hücre proliferasyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında gebeliğin 3. gününde artan proliferasyonun 5. günde tüm endometriyumu kapsadığını göstermişlerdir. İnsan endometriyumunda menstruel siklus boyunca VEGF'in zaman-uzamsal ekspresyonuna ilişkin bulgular oldukça farklılık göstermektedir. Bazı çalışmalarda VEGF'in sekretuar fazda arttığı bazılarında ise bifazik olup orta ve geç proliferatif dönem ile sekretuar fazda arttığı bildirilmiştir (Torry et al. 1996, Shifren et al. 1996, Charnock Jones et al. 2000). Tüm bu araştırmalara karşın, endometriyal endotel hücre proliferasyonunu açıklamak için ne toplam glandular ne de stromal VEGF üretiminin yeterli olmadığı ileri sürülmüştür (Gargett et al. 1999, Gargett and Rogers, 2001).

Yapılan araştırmalarında gösterdiği gibi VEGF ve anjiogenez konusu oldukça tartışmalıdır. Bizim bulgularımıza göre, VEGF'in luminal epitelde

3. günde Ss grubunda, 4. ve 5. günlerde KOH+Ss grubunda yoğun olarak immünreaktivite göstermesi VEGF'in blastosistin implantasyonunda önemli olduğunu, gonadotropin uygulamasının VEGF üzerinde zamana bağlı olarak etkinliğini gösterdiğini ve bu etkinliği Sildenafil sitratın artırdığı şeklinde düşünülebilir. Benzer şekilde, stromal hücrelerde de VEGF immünreaktivitesinin Ss ve KOH+SS gruplarında yoğun olması Sildenafil sitratın gonadotropinlerle birlikte stromal hücreleri uyararak olası gebeliğe karşı damarlar üzerinde etki gösterdiğini düşündürmektedir. VEGF immünreaktivitesi yoğunluğunun damar endoteli üzerinde gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemesi Sildenafil sitrat ve gonadotropinler dışında başka faktörlerinde endotel üzerinde rol oynadığını göstermektedir.

İntegrin $\beta 3$ bulgularımız ve literatür

Endometriyal glandular epitel ve stromal hücrelerde 3. günde en yoğun İntegrin $\beta 3$ immünreaktivitesi Ss grubunda gözlenirken, 4. günde luminal epitel, glandular epitel ve stromal hücrelerde en yoğun immünreaktivite yine Ss grubunda gözlemlendi.

Alfa ve beta integrinlerin heterodimerleri kollojen, laminin ve fibronektin gibi ekstraselüler moleküller için reseptör rolü oynarken osteopontin gibi çözülebilir moleküllerden de sinyaller aktarırlar (Humphries, 2000). $\alpha 4$ ve $\beta 3$ gibi bazı integrinler siklus süresince hem stroma hem de epitel de siklusa bağlı gen ekspresyonu değişimi gösterirler. (Lessey et al. 1992). Normal fertil kadında $\alpha 4$ alt birimi ovulasyon döneminde glandular epitelde 14. günde artmaya başlar ve siklusun 24. günü civarında kaybolurken, $\beta 3$ ekspresyonu hem glandular hem de luminal epitelde 19.-20. günde artar. $\beta 3$ artışı ve $\alpha 4$ azalışı reseptif faza denk geldiği için bu integrinlerin endometriyumun fonksiyonel olarak reseptif olduğu zamanı belirlemek için kullanılabileceği düşünülmüştür (Lessey et al. 1994, Merviel et al. 2001). $\beta 3$ integrin artışının endometriyal epitel hücre kültürlerinde blastosist tutunmasını arttırması nedeni ile morfolojik ve işlevsel olarak önemli olduğu düşünülmektedir (Simon et al. 1998a). Bu görüşü destekler biçimde üreme performansı kötü olan kadınların çoğunda siklusun 20. gününde integrin $\beta 3$ artışında yetersizlik gösterilmiştir (Lessey

et al. 1995). Bu durum bazı fertil kadınlarda da görülmekle birlikte açıklanamayan infertilitesi olan kadınlarda, endometriozusta, hidrosalpinksde ve polikistik over sendromunda çok daha sıktır (Vandromme et al. 1995, Meyer et al. 1997, Ota and Tanaka, 1997, Lessey, 2002a).

Gen ekspresyonundaki hemen fark edilemeyen değişimler herhangi bir histolojik belirti olmadan da ortaya çıkabilir ve progesterona değişmiş cevaba işaret edebilir. İntegrin ekspresyonunda gecikmenin klinik önemi belirgin değildir çünkü vakaların çoğunda endometriyumdaki integrin ekspresyonu siklusun ilerleyen dönemlerinde arayı kapatır. Bu nedenle, $\beta 3$ ekspresyonunda gecikme ve üreme başarısı arasındaki ilişkinin açık olmaması integrin ekspresyonunun endometriyal matürasyon belirtisi olarak değerlendirilebileceği ancak $\beta 3$ ekspresyonunun fonksiyonel reseptivite için bir gösterge olamayacağı da ileri sürülmektedir (Sharkey and Smith, 2003).

$\beta 3$ integrin αv integrin alt birimi ile kovalent olmayan bağ yaparak fonksiyonel bir reseptör oluşturur. Böylece fibronektin ve vitronektin gibi çeşitli özgül hücre dışı matriks proteinlerine bağlanır (Blystone et al. 1997). İntegrin $\alpha v\beta 3$ heterodimeri arjinin-glisin-aspartik asid peptid üçlüsü (RGD) dizilimlerine bağlanarak trofoblastı uterus epiteline bağlayacak hücre-hücre etkileşimini başlatır. $\alpha v\beta 3$ hem uterus epitelinde hem de trofoblastta bulunur (Merviel et al. 2001). Farelerde blastosistde ve endometriyumda implantasyon zamanında $\alpha v\beta 3$ integrin eksprese olur. Nötralizan antikör ya da $\alpha v\beta 3$ fonksiyonunu engelleyen echistatin enjeksiyonu farede implantasyon oranlarını anlamlı oranda azaltmaktadır (Hodivala-Dilke et al. 1999, Illera et al. 2000).

Reseptif fazda luminal epitel apikal yüzünde $\alpha v\beta 3$ integrin eksprese olur (Aplin et al. 1996). Bu epitelyal yerleşim embriyonik tutunma için potansiyel bir reseptör görevi görmektedir. (Lessey et al. 1996, Lessey, 2003). $\alpha v\beta 3$ ekspresyonundaki gecikme aynı zamanda luteal faz defekti ile doğrudan ilişkilidir (Lessey et al. 2000). Desidualize endometriyum hücreleri de implantasyon zamanında integrin değişimi gösterirler (Lessey et al. 1994, Ruck et al. 1994). Sonuç olarak, endometriyal maturasyonun $\alpha v\beta 3$ integrin ekspresyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Bourgain Devroey, 2003).

Yapılmış olan bu araştırmalar bizim bulgularımız açısından oldukça önemlidir. Bulgularımıza göre integrin $\beta 3$ 'n 4. günde özellikle luminal epitelde yoğun olarak immünreaktivite göstermesi blastosistin luminal epitele tutunması açısından önemini ortaya koymuştur. Stromal hücrelerdeki $\beta 3$ immünreaktivitesi de, stromal hücrelerin ekstraselüler matriksdeki çeşitli yapısal glikoproteinlerle yakın ilişkisinden dolayı desidual reaksiyonun gerçekleşmesinde oldukça önemli katkıları olduğunu göstermektedir. Sildenafil sitrat grubunda 4. günde luminal ve glandular epitle birlikte stromal hücrelerde de en yoğun $\beta 3$ immünreaktivitesinin bulunması, Sildenafil sitratın implantasyon ve desidualizasyon açısından çok önemli etkileri olabileceğini ve gelecekte olası tedavi protokollerinde yer alabileceğini düşündürmektedir.

Aktin bulgularımız ve literatür

Endometriyal glandular epitel ve stromal hücrelerde 3. günde en yoğun Aktin immnreaktivitesini Ss grubunda gözlerken 4. günde luminal epitel, glandular epitel ve stromal hücrelerde en yoğun immnreaktiviteyi yine Ss grubunda bulduk.

Sıçan uterusunda yapılan çalışmalar, erken gebelik ve blastosist implantasyon evrelerinde maternal ve embriyo arasında ilk temas noktasını oluşturan endometriyum epitel hücrelerinin plazma membranının apikal ve bazolateral yüzeylerinde çarpıcı morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler olduğunu göstermiştir (Luxford and Murphy, 1992, Terry et al. 1996, Shaw et al. 1998). Periimplantasyon döneminde uterin epitel apikal yüzeyindeki uzun ince düzenli mikrovilluslar irregüler ve yassı çıkıntılara dönüşür (Murphy and Shaw, 1994). Bu dönemde uterin epitel hücreleri polarize bir organizasyon gösterirler. Bazal ve lateral membranlar adezyon molekülleriyle donatılır ve bunlar hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonunu sağlarlar. Apikal plazma membranları ise bu moleküllerin çoğunu kaybederken büyük ve yüklü moleküllerle doldurulup temas formasyonu inhibe edilir, böylece adeziv özelliği azaltılır (Thie and Denker, 2002). Aynı zamanda, apikal kortikal aktin hcreiskeleti de yeniden organize edilir (Luxford and Murphy, 1992). Bu değişikliklerin tamamı implantasyon

evresinin “plazma membran transformasyonu” olarak adlandırılır (Murphy, 1995).

İmplantasyonla birlikte endometriyal stroma hücrelerinde de desidualizasyon olarak adlandırılan ve aktin filamentleriyle bunları bağlayan proteinlerde belirgin değişimleri içeren çeşitli morfolojik değişiklikler oluşur. Stroma hücrelerinde intermediate filamentler vimentin, desmin ve laminin (Glasser et al. 1987, MacCalman et al. 1996) yanı sıra α -SMA da artar (Christensen et al. 1995). Prolifere olan insan endometriyumunda (Carter et al. 1991) ve desidualizasyon sırasında sıçan uterin stromal hücrelerinde (Shaw et al. 1998) aktin mikrofilament demetlerinin varlığını gösterilmiştir. Böylece, başlangıçta fibroblasta benzeyen stromal hücreler şekil ve hacimce değişikliğe uğrayarak epiteloid özellikle kazanırlar ve geniş yuvarlak-ovoid desidual hücrelere dönüşürler (Can et al.1991).

Diğer hücre tiplerindeki aktin mikrofilamanları ve bağlayıcı proteinleri hücre şeklini, hücre-hücre temasını, transmembran iletişimini ve östrojen reseptör hareketi yanı sıra protein salgılanmasını da düzenler (Carraway 1990, Rao and Cohen, 1991, Hitt and Luna, 1994, Zafar and Thampan, 1995). Koryonik gonadotropinin stromal fibroblastlar üzerindeki primer etkisi α -SMA indüksiyonudur (Fazleabas et al. 1999, Lobo et al. 2001). Stromal fibroblastlardaki bu indüksiyonun, stromal hücre zarları üzerindeki hCG'ye yanıt olarak indüklenmiş integrinlerin ekstraselüler matrikse bağlanmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir (Fazleabas et al. 1997).

Bulgularımız Sildenafil sitratın hem endometriyal epitel hücrelerinin polarizasyonunu artırarak implantasyona zemin hazırladığını hem de stromal hücrelerde desidual hücrelere dönüşüm için gerekli morfolojik değişimleri tetiklediğini düşündürmektedir.

Sildenafil sitratın olası etki mekanizmaları

Üreme sistemiyle ilgili olarak ovaryen follikülogenez, ovulasyon, GnRH salgılanması, sperm hareketliliği, fertilizasyon ve embriyo gelişiminde nitrik oksidin (NO) rol oynadığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. (Rosselli et al. 1998, McCann et al. 2003). Farelerde yapılan

çalışmalarda eNOS ve iNOS'un implantasyon bölgesinde arttığı gösterilmiştir (Purcell et al. 1999). Saxena et al.(2000) kemirgenlerde implantasyon bölgesinde östrojenin iNOS uyarısı yaptığını ve tedavi rejimine progesteron eklenmesi ile bu etkinin daha da arttığını göstermişlerdir. Uterus boynuzuna NOS aktivitesini inhibe eden L-arjinin metil ester (L-NAME) verilmesinin implantasyonu önlediği, NOS aktivitesinin azalmasının ise uterus geçirgenliğini artırarak embriyo gelişimini bozduğu bildirilmiştir (Biswas et al.1998).

İnsanlarda yapılan çalışmalarda, iNOS ve eNOS'un implantasyon evresinde glandular epitel, stroma ve miyometriyumda eksprese olduğu, eNOS'un ayrıca endometriyal mikrovasküler endotelde baskın olduğu bulunmuştur (Tefler et al. 1997, Khorram et al.1999).

Kadınlarda implantasyon pencere dönemindeki endometriyumda eNOS protein ve mRNA ekspresyonlarının pik yapması glandular sekresyonları düzenleyerek implantasyon sürecinde fizyolojik rol oynadıkları ileri sürülmüştür (Ota et al. 1998, Khorram et al.1999, Khorram 2002b). Bunlarla birlikte, insan ve rodentlerde yapılan çalışmalarda, NO'nun ovaryen steroidogenezi düzenlediği gösterilmiştir (Van Voorhis et al. 1994, Chwalisz et al. 1999). Ayrıca, iNOS yada endojen NO'nun uterin duyarlılığı artırarak direkt olarak veya endometriyal vaskulariteyi değiştirerek dolaylı olarak desidual büyümeyi etkilediği öne sürülmektedir (Spencer et al. 1998).

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınların tedavisinde Sildenafil sitrat kullanılarak yapılan çalışmalarda endometrial kan akımında, endometriyal kalınlıkta, implantasyon ve gebe kalma oranlarında artış olduğu bildirilmiştir (Sher and Fisch, 2000, Senturk and Erel, 2008). Bunun tersine, menstruel siklusun proliferatif fazında uterus kan akımını arttıran nitrik oksidin, implantasyon pencere döneminde endometriyumda zararlı olabileceği (Ota et al. 1999) ve aktive doğal öldürücü hücrelerden TNF- α gibi NO aracılı sitokinlerin salınmasının implantasyon başarısızlığı ile sonuçlanabileceği öne sürülmüştür (Barroso et al. 1998). Tekrarlayan düşüğü olan ya da endometriozisli kadınlarda NO seviyesi oldukça yüksek bulunmuştur (Wilson et al. 1997, Khorram and Lessey, 2002a). Gebeliğin başarısı için implantasyon bölgesinde NO seviyesinin yeterli seviyede olması çok önemliken yüksek seviyeler implantasyon başarısızlığına yol

açmaktadır (Ota et al. 1999). Bu nedenle, Sildenafil sitrat kullanımının hCG verilmesinden önceki gün ya da aynı gün sonlandırılması önerilmektedir (Sher and Fisch, 2000).

KOH Uygulamaları

Kontrollü ovaryen stimülasyon yapılan endometriyumda progesteron uyarısının artmış olması erken sekretuar değişimlere yol açmaktadır. Yüksek östrojen düzeyleri de daha çok artmış glandular uyumsuzluğa yol açmaktadır. Oosit eldesi için yapılan hCG ile endometriyal luteal faz morfolojisinde kesinti daha da uzatılmaktadır (Seppala et al. 1995, Ubaldi et al. 1997, Bourgain et al. 2002). Östrojen konsantrasyonu çok dar sınırlar arasında uterus reseptivite penceresini belirlemektedir; düşük östrojen düzeylerinde reseptivite açık kalırken yüksek dozlarda hızla kapanır. Bu nedenle, IVF programlarında östrojen düzeylerinin dikkatli ayarlanması kadın infertilitesi için oldukça önemlidir (Dey et al. 2004).

GnRH agonist içeren tedavilerin erken folliküler fazı durdurarak luteal fazda hipofizin toparlanmasını sağlama çabaları başarısız olmuştur (Smitz et al. 1992, Patnos et al. 1994, Beckers et al. 2000), çünkü muhtemelen, luteal fazda hipofiz fonksiyonunu baskılayan başka faktörler de vardır. GnRH antagonistinin kesilmesinden sonra hipofizer gonadotropin salınmasının hızla düzelmesi (Ditkoff et al. 1991, Fluker et al. 1991) nedeni ile GnRH antagonistinin geç folliküler fazda verilmesinden sonra luteal faz desteğinin gerekmeyeceği öne sürülmüştür (Elter and Nelson, 2001). Ancak, GnRH antagonist içeren tedavi kullanılan farklı IVF çalışmalarında luteolizin de prematür olarak başlaması sonucunda luteal faz süresinin belirgin olarak kısaldığı ve buna bağlı olarak gebelik olasılığının büyük ölçüde bozulduğu gösterilmiştir (Albano et al. 1998, Albano et al. 1999, De Jong et al. 2000, Beckers et al. 2003).

Ovaryen stimülasyon sırasında çok sayıda dominant follikülün arta kalan fazla sayıdaki korpus luteum, siklus ortasındaki hCG bolusunun yoğun luteotropik etkisi ile desteklenir. Erken luteal fazda serum progesteron ve östrojen düzeylerinin fizyolojik düzeyin çok üzerinde olması

hipofizer LH ve FSH salgısını doğal sıklısta olduğundan daha yoğun baskılayabilir (Van Der Gaast et al. 2002, Tavaniotou et al. 2002).

IVF protokollerinde siklus evresini belirlemek için yapılan hormon çalışmalarında aynı dozlarda bireyler arasında anlamlı korelasyon bulunamamıştır (Bourgain et al. 1994, Seppala and Tiitinen, 1995). Endometriyumun luteal fazda sonografik değerlendirmesi ve endometriyal biyopsi ile histolojik zamanlama arasında belirgin ilişki bulunmamıştır (Doherty et al. 1993, Ficicioglu et al. 1995, Sterizik et al. 1997, Sterzik et al. 2000).

İmplantasyon döneminde endometriyum reseptivitesi açısından zaman-uzamsal olarak birbirini etkileyen, tetikleyen ve baskılayan pek çok faktör rol oynamaktadır. Bu açıdan bakıldığında; çalışmalarda farklı protokoller, farklı çalışma grupları ve farklı zamanlar kullanılmakta ve doğal olarak bunların sonuçları da -implantasyon pencere dönemi oldukça kısa olduğu için- çalışmada kullanılan reseptivite belirteçleri açısından farklı sonuçlar ortaya çıkarabilmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Araştırmamızın sonucunda Sildenafil sitrat uyguladığımız sıçan gruplarında literatürde ilk kez endometriyum reseptivite belirteçlerinden *LIF*, *İntegrin β3*, *HOXA-10*, *VEGF* ve *Aktin*'in diğer gruplara göre daha yoğun immünreaktivite gösterdiğini saptadık.
- Sildenafil sitrat, sıçanlara verdiğimiz şekliyle ve uyguladığımız dozda, araştırılan endometriyum reseptivite belirteçleri üzerinde diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı ve olumlu sonuçlar vermiştir. Bu bulgular, Sildenafil sitratın implantasyon pencere döneminde etkili olabileceğini gösteren literatürdeki ilk çalışmadır.
- Sildenafil sitrat uygulanmış sıçanlarda araştırılan endometriyal reseptivite belirteçlerinin hem endometriyal epitelde hem de stromal hücrelerde artmış olması Sildenafil sitratın implantasyonla birlikte desidualizasyonda da önemli rolü olan faktörleri etkilediğini göstermiştir.
- İmplantasyon başarısızlıkları ve infertilite için kullanılan oldukça fazla ilaç ve uygulama protokolü vardır. Kullanılan her ilacın ve protokolün endometriyum reseptivitesi üzerine olumlu ya da olumsuz etkileri olabilir.
- Endometriyum reseptivitesini saptamak için kullanılan pek çok belirteç vardır ancak bunların hiçbiri kendi başına reseptiviteyi tam olarak saptayacak nitelikte ya da saptamaya yeterli değildir. Endometriyumun reseptif olduğu dönem oldukça kısadır ve pek çok faktör reseptiviteye olumlu ya da olumsuz katkıda bulunmaktadır.
- İmplantasyon başarısızlığına ve endometriyum reseptivitesinde yetersizliğe neden olan sorun ya da hastalık her ne kadar bireysel olsa da genel anlamda sorunu yaratan temel mekanizmaları ortaya koymak için daha fazla araştırma yapılmalıdır.
- Araştırmalarda daha fazla moleküler teknik kullanılmalı, verilen ilaçların etkinliği ve reseptivitede neden olabileceği olumsuzlukların

araştırılmasına daha fazla önem verilmeli, çok daha fazla belirteç incelenmeli, bunların birbirini nasıl tetiklediğini ya da baskıladığını ortaya çıkarabilecek moleküler mekanizmalar üzerine daha fazla ağırlık verilmelidir.

- Farklı çalışmaların bulguları ile kendi bulgularımızı bire bir karşılaştırmak oldukça zordur çünkü stimülasyon protokolleri, kullanılan medikal ajanlar ve bunların verilme yolları farklıdır. Sildenafil sitrat için de özellikle suboptimal dozda kullanım protokolleri mevcuttur. Endometriyal dokunun elde edildiği zaman konusunda da çalışmalar arasında farklılıklar vardır. Yapılan diğer çalışmalarda da belirtildiği gibi, aynı hayvanda endometriyal bulgular saatler içinde bile değişiklik göstermektedir ve bu farklılık aynı hayvanlardaki siklusun farklı evrelerinde olma olasılıkları nedeni ile daha da artmaktadır. Bununla birlikte, siklus evrelerini belirleme metodları ve incelenen endometriyal parametreler arasında da çalışmalar arası fark dikkat çekicidir.
- Yaptığımız araştırmanın zamansal hormon seviyeleri, farklı doz uygulamaları, farklı deney hayvanları, farklı protokoller, farklı belirteçler, ileri moleküler ve mikroskopi teknikleri ile desteklenmesi gerekmektedir.
- Sildenafil sitratla ilgili ulaştığımız immünohistokimyasal bulguların gelecekte tekrarlayan implantasyon başarısızlıkları ve endometriyal reseptivite bozuklukları yaşayan kadınlarda yeni tedavi protokollerinin oluşturulmasında önveriler olarak umut verici olduğunu düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

Abrahamsohn, P.A., Zorn, T.M. (1993). Implantation and decidualization in rodents. *J Exp Zool*, 266(6):603-28.

Abraham L. Kierszenbaum (2006), *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*, Palme Yayıncılık

Achache, H., Revel, A. (2006). Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update*, 12:731-36.

Albano, C., Grimbizis, G., Smitz, J., Riethmuller-Winzen, H., Reissmann, T., Van Steirteghem, A., Devroey, P. (1998). The luteal phase of nonsupplemented cycles after ovarian superovulation with human menopausal gonadotropin and the gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix. *Fertil Steril*, 70:357-359.

Albano, C., Smitz, J., Tournaye, H., Riethmuller-Winzen, H., Van Steirteghem, A., Devroey, P. (1999). Luteal phase and clinical outcome after human menopausal gonadotrophin/ gonadotrophin releasing hormone antagonist treatment for ovarian stimulation in in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Hum Reprod*, 4:1426-1430.

Albrecht, E.D., Aberdeen, G.W., Niklaus, A.L., Babischkin, J.S., Suresch, D.L., Pepe, G.J. (2003a). Acute temporal regulation of vascular endothelial growth/permeability factor expression and endothelial morphology in the baboon endometrium by ovarian steroids. *J Clin Endocrinol Metab*, 88:2844-2852.

Albrecht, E.D., Pepe, G.J. (2003b). Steroid hormone regulation of angiogenesis in the primate endometrium. *Front Biosci*, 1:416-29.
and related growth factors in mammals. *Endocr. Rev.* 11, 418–442.

Aplin, J.D., Spanswick, C., Behzad, F., Kimber, S.J., Vicovac, L. (1996). Integrins $\beta 5$, $\beta 3$, αv are apically distributed in endometrial epithelium. *Mol. Hum. Reprod*, 2:527-534.

Atabekoğlu C.S., Engin, Y., Üstün, Y., Aytaç, R. (2002). Üreme Fizyolojisi ve Adhezyon Molekülleri. *Ankara Üniv. Tıp Fak Mecmuası* 55:

Bagot, C.N., Kliman, H.J., Taylor, H.S. (2001). Maternal Hoxa 10 is required for pinopod formation in the development of mouse uterine receptivity to embryo implantation. *Dev Dyn*, 222: 538-44.

Ballard, S.A., Gingell, C.J., Tang, K., Turner, L.A., Price, M.E., Nalor, A.M. (1998). Effects of sildenafil on the relaxation of human corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes. *J Urol*, 159: 2164-71.

Barroso, R.P., Osuamkpe, C., Nagamani, M., Yallampalli, C. (1998). Nitric oxide inhibits development of embryos and implantation in mice. *Mol Hum Reprod*, 4(5):503-7.

Beckers, N.G., Laven, J.S., Eijkemans, M.J., Fauser, B.C. (2000). Follicular and luteal phase characteristics following early cessation of gonadotrophin-releasing hormone agonist during ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod*, 15:43-49.

Beckers, N.G., Macklon, N.S., Eijkemans, M.J., Ludwig, M., Felberbaum, R.E., Diedrich, K., Bustion, S., Loumaye, E., Fauser, B.C. (2003). Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce

final oocyte maturation in *in vitro* fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. *J Clin Endocrinol Metab*, 88:4186-4192.

Benson, G.V., Lim, H., Paria, B.C., Satokata, I., Dey, S.K., Maas, R.L. (1996).. Mechanisms of reduced fertility in *Hoxa-10* mutant mice: uterine homeosis and loss of maternal *Hoxa-10* expression. *Development*, 122:1696-2687.

Bentin-Ley, U., Sjogren, A., Nilsson, L., Hamberger, L., Larsen, J.F., Horn, T. (1999).. Presence of uterine pinopodes at the embryo–endometrial interface during human implantation *in vitro* *Hum Reprod*, 14(2):515-520.

Berndt, S., Perrier d'Hauterive, S., Blacher, S., Péqueux, C., Lorquet, S., Munaut, C., Applanat, M., Herve, M.A., Lamande, N., Corvol, P., Van den Brule, F., Frankenne, F., Poutanen, M., Huhtaniemi, I., Geenen, V., Noel, A., Foidart, J.M. (2006). Angiogenic activity of human chorionic gonadotropin through LH receptor activation on endothelial and epithelial cells of the endometrium. *FASEB J*, 20(14):2630-2632.

Bhatt, H., Brunet, L.J., Stewart, C.L. (1991). Uterine expression of leukemia inhibitory factor coincides with the onset of blastocyst implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 15;88(24):11408-11412.

Bischof, P., Haenggeli, L., Campana, A. (1995). Effect of leukemia inhibitory factor on human cytotrophoblast differentiation along the invasive pathway. *Am J Reprod Immunol*, 34:225-30.

Biswas, S., Kabir, S.N., Pal, A.K. (1998). The role of nitric oxide in the process of implantation in rats. *J Reprod Fertil*, 114:157-161.

Blystone, S.D, Williams, M.P., Slater, S.E., Brown, E.J. (1997). Requirement of integrin beta3 tyrosine 747 for beta3 tyrosine

phosphorylation and regulation of alphavbeta3 avidity. *J Biol Chem*, 7;272(45):28757-28761.

Bourgain, C., Devroey, P. (2003). The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Hum Reprod Update*, 9(6):515-22.

Bourgain, C., Smitz, J., Camus, M., Erard, P., Devroey, P., Van Steirteghem, A.C., Kloppel, G. (1994). Human endometrial maturation is markedly improved after luteal supplementation of gonadotrophin-releasing hormone analogue/human menopausal gonadotrophin stimulated cycles. *Hum Reprod*, 9(1):32-40.

Bourgain, C., Ubaldi, F., Tavaniotou, A., Smitz, J., Van Steirteghem, A.C., Devroey, P. (2002). Endometrial hormone receptors and proliferation index in the periovulatory phase of stimulated embryo transfer cycles in comparison with natural cycles and relation to clinical pregnancy outcome. *Fertil Steril*, 78(2):237-244.

Brenner, R.M., West, N.B. (1975). Hormonal regulation of the reproductive tract in female mammals. *Annu Rev Physiol*, 37:273-302.

B.Young (2000), Wheater's Functional Histology, Churchill Livingstone, UK.

Can, A., Tekelioğlu, M., Biberoglu, K. (1991). Structure of premenstrual endometrium in HMG + HCG induced anovulatory women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 42:119-129.

Carraway, KL. (1990). Membranes and microfilaments: interactions and role in cellular dynamics. *Bioessays*, 12(2):90-92.

Carson, D.D., Julian, J., Jacobs, A.L. (1992). Uterine stromal cell chondroitin sulfate proteoglycans bind to collagen type I and inhibit embryo outgrowth in vitro. *Dev Biol*, 149(2):307-316.

Carson, D.D. (1997). Embryo Implantation. Molecular, Cellular and Clinical Aspects. Springer.

Carter, C.A., Rinehart, C.A., Bagnell, C.R., Kaufman, D.G. (1991). Fluorescent laser scanning microscopy of F-actin disruption in human endometrial stromal cells expressing the SV40 large T antigen and the EJ ras oncogene. Pathobiology, 59(1):36-45.

Castro-Rendon, W.A., Castro-Alvarez, J.F., Guzman-Martinez, C., Bueno-Sanchez, J.C. (2006). Blastocyst-endometrium interaction: intertwining a cytokine network. Braz J Med Biol Res, 39:1373-1385.

Chakraborty, I., Das, S.K., Dey, S.K. (1995). Differential expression of vascular endothelial growth factor and its receptor mRNAs in the mouse uterus around the time of implantation. J Endocrinol, 147:339-352.

Charnock, J.D., Macpherson, A.M., Archer, D.F., Leslie, S., Makkink, W.K., Sharkey, A.M., Smith, S.K. (2000). The effect of progestins on vascular endothelial growth factor, oestrogen receptor and progesterone receptor immunoreactivity and endothelial cell density in human endometrium. Hum Reprod, 15 Suppl 3:85-95.

Charnock-Jones, D.S., Sharkey, A.M., Fenwick, P., Smith, S.K. (1994). Leukaemia inhibitory factor mRNA concentration peaks in human endometrium at the time of implantation and the blastocyst contains mRNA for the receptor at this time. J Reprod Fertil, 101:421-426.

Chennazhi, K.P., Nayak, N.R. (2009). Regulation of angiogenesis in primate endometrium: vascular endothelial growth factor. Semin Reprod Med, 27(1):80-9.

Christensen, S., Verhage, H.G., Nowak, G., De Lanerolle, P., Fleming, S., Bell, S.C., Fazleabas, A.T., Hild-Petito, S. (1995). Smooth muscle myosin II and alpha smooth muscle actin expression in the baboon (*Papio anubis*).

uterus is associated with glandular secretory activity and stromal cell transformation. *Biol Reprod*, 53(3):598-608.

Chwalisz, K., Winterhager, E., Thiemel, T., Garfield, R. (1999). Synergistic role of nitric oxide and progesterone during the establishment of pregnancy in the rat. *Hum Reprod*, 14:542-552.

Creus, M., Ordi, J., Fabregues, F., Casamitjana, R., Ferrer, B., Coll, E., Vanrell, J.A., Balasch, J. (2002). α v β 3 integrin expression and pinopod formation in normal and out-of-phase endometria of fertile and infertile women. *Hum Reprod*, 17(9):2279-2286.

Critchley, H.O., Kelly, R.W., Baird, D.T., Brenner, R.M. (2006). Regulation of human endometrial function: mechanisms relevant to uterine bleeding. *Reprod Biol Endocrinol*, 4(Suppl 1):S5.

Daftary, G., Taylor, H.S. (2000). Implantation in the human: the role of Hox genes. *Semin Reprod Med*, 18(3):311-320.

Daftary, G., Troy, P.J., Begot, C.N., Young, S.L., Taylor, H.S. (2002). Direct regulation of β 3 integrin subunit gene expression by HOXA-10 in endometrial cells. *Mol Endocrinol*, 16:571-576.

Daftary, G.S., Taylor, H.S. (2006). Endocrine regulation of HOX genes. *Endocr Rev* 27:331-355.

Daikoku, T., Song, H., Guo, Y., Riesewijk, A., Mosselman, S., Das, S.K., Dey, S.K. (2004). Uterine Msx-1 and Wnt4 signaling becomes aberrant in mice with the loss of leukemia inhibitory factor or Hoxa-10: evidence for a novel cytokine-homeobox-Wnt signaling in implantation. *Mol Endocrinol*, 18,1238-1250.

Dawood, M.Y., Lau, M., Khan-Dawood, F.S. (1998). E-cadherin and its messenger ribonucleic acid in periimplantation phase human endometrium

in normal and clomiphene-treated cycles. *Am J Obstet Gynecol*, 178(5):996-1001.

De Jong, D., Macklon, N.S., Fauser, B.C. (2000). A pilot study involving minimal ovarian stimulation for in vitro fertilization: extending the “follicle-stimulating hormone window” combined with the gonadotropin-releasing hormone antagonist cetrorelix. *Fertil Steril*, 73:1051-1054.

Delilbaşı L. (2008).. *İn vitro fertilizasyon (IVF). laboratuvar yöntemleri. İmplantasyon s.277.*

Dey, S.K., Lim, H., Das, S.K., Reese, J., Paria, B.C., Daikoku, T., Wang, H. (2004). Molecular cues to implantation. *Endocr Rev*, 25(3):341-73.

Ditkoff, E.C., Cassidenti, D.L., Paulson, R.J., Sauer, M.V., Paul, W.L., Rivier, J., Yen, S.S., Lobo, R.A. (1991). The gonadotropin-releasing hormone antagonist (Nal-Glu). acutely blocks the luteinizing hormone surge but allows for resumption of folliculogenesis in normal women. *Am J Obstet Gynecol*, 165:1811-1817.

Doherty, C.M., Siliver, B., Binor, Z., Molo, M.W., Radwanska, E. (1993). Transvaginal ultrasonography and the assessment of luteal phase endometrium. *Am J Obstet Gynecol*, 168:1702-1707.

Duc-Goiran, P., Mignot, T.M., Bourgeois, C., Ferre, F. (1999). Embryo-maternal interactions at the implantation site: a delicate equilibrium. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 83(1):85-100.

Dunglison, G.F., Barlow, D.H., Sargent, I.L. (1996). Leukaemia inhibitory factor significantly enhances the blastocyst formation rates of human embryos cultured in serum-free medium. *Hum Reprod*, 11:191-196.

Duvan, C.I., Şatıroğlu, H., Berker, B., Çetinkaya, E., Kahraman, K. (2003). Yardımla üreme tekniklerinde implantasyon ve gebelik oranlarını etkileyen faktörler. *T Klin Jinekoloj Obst*, 13:466-475.

Etler, K., Nelson, L.R. (2001). Use of third generation gonadotropinreleasing hormone antagonists in in vitro fertilization-embryo transfer: a review. *Obstet Gynecol Surv*, 56:576-588.

Emiliani, S., Delbaere, A., Devreker, F., Englert, Y. (2005). Embryo-maternal interactive factors regulating the implantation process: implications in assisted reproductive. *Reprod Biomed Online*, 10(4):527-40.

Ergen, A., Tekin, A. (1999). Erektıl Disfonksiyon Tedavisinde Yeni Oral Ajan Sildenafil Sitrat. *Turkish J Geriatrics*, 2(1):26-28.

Escary, J.L., Perreau, J., Dumenil, D., Ezine, S., Brulet, P. (1993). Leukaemia inhibitory factor is necessary for maintenance of haematopoietic stem cells and thymocyte stimulation. *Nature*, 363:361-364.

Fazleabas, A.T., Bell, S.C., Fleming, S., Sun, J., Lessey, B.A. (1997). Distribution of integrins and the extracellular matrix proteins in the baboon endometrium during the menstrual cycle and early pregnancy. *Biol Reprod*, 56(2):348-356.

Fazleabas, A.T., Donnelly, K.M., Srinivasan, S., Fortman, J.D., Miller, J.B. (1999). Modulation of the baboon (*Papio anubis*). uterine endometrium by chorionic gonadotrophin during the period of uterine receptivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2;96(5):2543-2548.

Ferrara, N., Davis, S.T. (1997). The biology of vascular endothelial growth factor *Endocr Rev*, 18: 4-25.

Ficicioglu, C., Tasdemir, S., Arioglu, P.F., Unlu, R., Yorgance, C. (1995). The use of transvaginal ultrasonography in the evaluation of luteal phase endometrium. *Acta Eur Fertil*, 26:35-40.

Fisher, D.A., Lakshmanan, J. (1990).. Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals. *Endocr Rev*, 11:418-442.

Fitzgerald, J.S., Poehlmann, T.G., Suman, P., Gupta, S.K., Schleussner, E., Markert, U.R. (2007). Signal Transducer and Activator of Transcription 3(STAT3). and Trophoblast Invasion. *J Reprod Endocrinol*, 4(6):322-330.

Fluker, M.R., Marshall, L.A., Monroe, S.E., Jaffe, R.B. (1991). Variable ovarian response to gonadotropin-releasing hormone antagonist-induced gonadotropin deprivation during different phases of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 72:912-919.

Fry, R.C. (1992). The effect of leukaemia inhibitory factor (LIF). on embryogenesis. *Reprod Fertil Dev*, 4:449-458.

Fujimoto, J., Ichigo, S., Hori, M., Tamaya, T. (1996). Alteration of E-cadherin, alpha- and beta-catenin mRNA expression in human uterine endometrium during the menstrual cycle. *Gynecol Endocrinol*, 10(3):187-91.

Gardner, D.K., Lane, M. (1997). Culture and selection of viable blastocysts: a feasible proposition for human IVF? *Hum Reprod Update*, 3(4):367-82.

Gargett, C.E., Lederman, F., Heryanto, B., Gambino, L.S., Rogers, P.A. (2001). Focal vascular endothelial growth factor correlates with angiogenesis in human endometrium. Role of intravascular neutrophils. *Hum Reprod*, 16:1065-1075.

Gargett, C.E., Lederman, F.L., Lau, T.M., Taylor, N.H., Rogers, P.A. (1999). Lack of correlation between vascular endothelial growth factor production and endothelial cell proliferation in the human endometrium. *Hum Reprod*, 4(8):2080-2088.

Gargett, C.E., Rogers, P.A. (2001). Human endometrial angiogenesis. *Reproduction*, 121(2):181-6.

Giudice, L.C., Mark, S.P., Irwin, J.C. (1998). Paracrine actions of insulin-like growth factors and IGF binding protein-1 in non-pregnant human endometrium and at the decidual-trophoblast interface. *J Reprod Immun*, 39:133-148.

Giudice, L.C. (1994). Growth factors and growth modulators in human uterine endometrium: their potential relevance to reproductive medicine. *Fertil Steril*, 61:1-17.

Giudice, L.C. (1999). Potential biochemical markers of endometrial receptivity in clinical practice. *Hum Reprod*, 14 (Suppl 2): 3-16.

Glasser, S.R., Lampelo, S., Munir, M.I., Julian, J. (1987). Expression of desmin, laminin and fibronectin during in situ differentiation (decidualization) of rat uterine stromal cells. *Differentiation*, 7;35(2):132-42.

Godbole, G.B., Modi, D.N., Puri, C.P. (2007). Regulation of homeobox A10 expression in the primate endometrium by progesterone and embryonic stimuli. *Reproduction*, 134(3):513-23.

Goodger, A.M., Rogers, P.A. (1993). Uterine endothelial cell proliferation before and after embryo implantation in rats. *J Reprod Fertil*, 99(2):451-457.

Gumbuner, B., Stevenson, B., Grimaldi, A. (1988). The role of the cell adhesion molecule uvomorulin in the formation and maintenance of the epithelial junctional complex. *J Cell Biol*, 107:1575-1587.

Halbersztadt, A., Pajak, J., Nowicki, P., Jałocha, I., Gabrys, M.S. (2006). Implantation and antigenicity of human endometrium. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 60:71-77.

Hambartsoumian, E. (1998). Endometrial leukemia inhibitory factor (LIF) as a possible cause of unexplained infertility and multiple failures of implantation. *Am J Reprod Immunol*, 39:137-143.

Hanahan, D., Folkman, J. (1996). Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis *Cell*, 86:353-364.

Hassa, H. (2003). İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF laboratuvar Uygulamaları. *Uterin Reseptivite Ve İmplantasyon*. s 105.

Hazzard, T.M. Stouffer, R.L. (2000). Angiogenesis in ovarian follicular and luteal development. *Balliere's Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 14:883-900.

Hilton, D.J. (1992). LIF: lots of interesting functions. *Trends Biochem Sci*, 17:72-76.

Hitt, A.L., Luna, E.J. (1994). Membrane interactions with the actin cytoskeleton. *Curr Opin Cell Biol*, 6(1):120-130.

Hodivala-Dilke, K.M., McHugh, K.P., Tsakiris, D.A., Rayburn, H., Crowley, D., Ullman-Cullere, M., Ross, F.P., Coller, B.S., Teitelbaum, S., Hynes, R.O. (1999). Beta3 integrin deficient mice are a model for Glanzmann thrombasthenia showing placental defects and reduced survival. *J Clin Invest*, 103:229-238.

Hoeben, A., Launduyt, B., Hingley, M.S., Wildiers, H., Van Oosterom, A.T., De Bruijn, E.A. (2004). Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. *Pharmacol Rev*, 56:549-580.

Hornung, D., Lebovic, D.I., Shifren, J.L., Vigne, J.L., Taylor, R.N. (1998). Vectorial secretion of vascular endothelial growth factor by polarized human endometrial epithelial cells. *Fertil Steril*, 69:909-915.

Huang, H.Y. (2006). The cytokine network during embryo implantation. *Chang Gung Med J*, 29(1):25-36.

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

Huet, H., Dey, S.K. (1990). Requirement for progesterone priming and its long-term effects on implantation in the mouse. *Proc Biol Med*, 193:259-263.

Humphries, M.J. (2000). Integrin structure. *Biochem Soc Trans*, 28:311-339.

Hyder, S.M., Nawaz, Z., Chiappetta, C., Stancel, G.M. (2000). Identification of functional estrogen response elements in the gene coding for the potent angiogenic factor vascular endothelial growth factor. *Cancer Res*, 60:3183-3190.

Illera, M.J., Cullinan, E., Gui, Y., Yuan, L., Beyler, S.A., Lessey, B.A. (2000a). Blockade of the $\alpha(v)\beta(3)$ integrin adversely affects implantation in the mouse. *Biol Reprod*, 62:1285-1290.

Illingworth, I.M., Kiszka, I., Bagley, S., Ireland, G.W., Garrod, D.R., Kimber, S.J. (2000b). Desmosomes Are Reduced in the Mouse Uterine Luminal Epithelium During the Preimplantation Period of Pregnancy: A Mechanism for Facilitation of Implantation. *Biol Reprod*, 63:1764-1773.

Iruela-Arispe, M.L., Rodriguez-Manzaneque, J.C., Abu-Jawdeh, G. (1999). Endometrial endothelial cells express estrogen and progesterone receptors

and exhibit a tissue specific response to angiogenic growth factors. *Microcirculation*, 6:127-140.

Jabbour, H.N., Kelly, R.W., Fraser, H.M., Critchley, H.O. (2006). Endocrine Regulation of menstruation. *Endoc Rev*, 27(1):17-46.

Jerzak, M., Kniotek, M., Mrozek, J., Gorski, A., Baranowski, W. (2008). Sildenafil citrate decreased natural killer cell activity and enhanced chance of successful pregnancy in women with a history of recurrent miscarriage. *Fertil Steril*, 90(5):1848-1853.

Junqueira L.C., Carneiro J., *Temel Histoloji*, eds: Aytekin Y., Solakoglu S., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, (2006). Pp: 449-64.

Karuri, A.R., Kumar, A.M., Mukhopadhyay, D. (1998). Differential expression and selective localization of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in the rat uterus during the estrous cycle. *J Endocrinol*, 159(3):489-99.

Kayisli, U.A., Asar, M., Demir, R. (2000). Ratlarda Desidualizasyon Süresince Ekstrasellüler Matriksin Yeniden Modellenmesinde Laminin ve Fibronektin ile Reseptör Altbirimleri Integrin b4 ve a5'in Dağılımları ve Muhtemel Roller. *Turk J Biol*, 24:379-395.

Khorram, O., Garthwaite, M., Magness, R.R. (1999). Endometrial and myometrial expression of nitric oxide synthase isoforms in pre and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 84:2226-2232.

Khorram, O., Lessey, B.A. (2002a). Alterations in expression of endometrial endothelial nitric oxide synthase and alpha(v).beta(3). integrin in women with endometriosis. *Fertil Steril*, 78(4):860-864.

Khorrarn, O. (2002b). Nitric oxide and its role in blastocyst implantation. *Rev Endocr Metab Disord*, 3(2):145-149.

Kierszenbaum A.L., *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*, eds:Demir R, Palme Yayıncılık, Ankara, (2006). Pp:565-607.

Kim, J.J., Fazleabas, A.T. (2004). Uterine receptivity and implantation: the regulation and action of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), HOXA10 and forkhead transcription factor-1 (FOXO-1) in the baboon endometrium. *Reprod Biol Endocrinol*, 16:2-34.

Kim, J.J., Jaffe, R.C., Fazleabas, A.T. (1999). Blastocyst invasion and the stromal response in primates. *Hum Reprod*, 14 Suppl 2:45-55.

Kimber, S.J. (2000). Molecular Interactions at the Maternal-Embryonic Interface During the Early Phase of Implantation. *Semin Reprod Med*, 18(3):237-253.

Kimber, S.J. (2005). Leukaemia inhibitory factor in implantation and uterine biology. *Reproduction*, 130:131-145.

Kodaman, P.H., Taylor, H.S. (2004). Hormonal regulation of implantation. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 31(4):745-766.

Krumlauf, R. (1994). Hox genes in vertebrate development. *Cell*, 78:191-201.

Krüssel, J.S., Bielfeld, P., Polan, M.L., Simon, C. (2003). Regulation of embryonic implantation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 22;110 Suppl 1:S2-9.

Kumar, S., Zhu, L.J., Polihronis, M., Cameron, S.T., Baird, D.T., Schatz, F., Dua, A., Ying, Y.K., Bagchi, I.C. (1998). Progesterone induces calcitonin gene expression in human endometrium within the putative window of implantation. *J Clin Endocrinol Metab*, 83:4443-4450.

Laird, S.M., Tuckerman, E.M., Dalton, C.F., Dunphy, B.C., Li, T.C., Zhang, X. (1997). The production of leukaemia inhibitory factor by human endometrium: presence in uterine flushings and production by cells in culture. *Hum Reprod*, 12:569-574.

Lecouter, J., Lin, R., Ferrara, N. (2004). EG-VEGF: a novel mediator of endocrine-specific angiogenesis, endothelial phenotype, and function. *Ann N Y Acad Sci*, 1014:50-57.

Ledee-Bataille, N., Lapree-Delage, G., Taupin, J.L., Dubanchet, S., Frydman, R., Chaouat, G. (2002). Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation. *Hum Reprod*, 17(1):213-218.

Lee, K.Y., DeMayo, F.J. (2004). Focus on Implantation Animal models of implantation. *Reproduction*; 128 679–695.

Lessey, B.A., Damjanovich, L., Coutifaris, C., Castelbaum, A., Albelda, S.M., Buck, C.A. (1992). Integrin adhesion molecules in the human endometrium. Correlation with the normal and abnormal menstrual cycle. *J Clin Invest*, 90:188-195.

Lessey, B.A., Castelbaum, A.J., Buck, C.A., Lei, Y., Yowell, C.W., Sun, J. (1994). Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril*, 62(3):497-506.

Lessey, B.A., Castelbaum, A.J., Sawin, S.W., Sun, J. (1995). Integrins as markers of uterine receptivity in women with primary unexplained infertility. *Fertil Steril*, 63:535-542.

Lessey, B.A., Yeh, I.T., Castelbaum, A.J., Fritz, M.A., Ilesanmi, A.O., Korzeniowski, P., Sun, J., Chwalisz, K. (1996a). Endometrial progesterone receptors and markers of uterine receptivity in the window of implantation. *Fertil Steril*, 65:477-483.

Lessey, B.A., Ilesanmi, A.O., Sun, J., Lessey, M.A., Harris, J., Chwalisz, K. (1996b). Luminal and glandular endometrial epithelium express integrins differentially throughout the menstrual cycle: implications for implantation, contraception, and infertility. *Am J Reprod Immunol*, 35: 195-204.

Lessey, B.A. (1998a). Endometrial integrins and the establishment of uterine receptivity. *Hum Reprod*, 13(3):247-258.

Lessey, B.A., Arnold, J.T. (1998b).. Paracrine signaling in the endometrium: integrins and the establishment of uterin receptivity. *J Reprod Immunol*, 39(1-2):105-116.

Lessey, B.A., Castelbaum, A.J., Wolf, L., Grene, W., Paulson, M., Meyer, W.R., Fritz, M.A. (2000). Use of integrins to date the endometrium. *Fertil Steril*, 73:779-787.

Lessey, B.A. (2002a). Implantation defects in infertile women with endometriosis. *Ann NY Acad Sci*, 955: 265-280.

Lessey, B.A. (2002b). Adhesion molecules and implantation. *J Reprod Immunol*, 55:101-112.

Lessey, B.A. (2003). Two pathways of progesterone action in the human endometrium: implications for implantation and contraception. *Steroids*, 68(10-13):809-815.

Leslie P. Gartner (2001), *Color Textbook of Histology*, W.B.Saunders Company, USA

- Li, M., Bullock, C.M., Knauer, D.J., Ehlert, F.J., Zhou, Q.Y. (2001). Identification of two prokineticin cDNAs: recombinant proteins potently contract gastrointestinal smooth muscle. *Mol Pharmacol*, 59:692-698.
- Li, Q., Wang, J., Armant, D.R., Bagchi, M.K., Bagchi, I.C. (2002). Calcitonin down-regulates E-cadherin expression in rodent uterine epithelium during implantation. *J Biol Chem*, 277: 46447-46455.
- Lim, H., Ma, L., Ma, W.G., Maas, R.L., Dey, S.K. (1999). Hoxa-10 regulates uterine stromal cell responsiveness to progesterone during implantation and decidualization in the mouse. *Mol Endocrinol*, 13(6):1005-1017.
- Lobo, S.C., Srisuparp, S., Peng, X., Fazleabas, A.T. (2001). Uterine receptivity in the baboon: modulation by chorionic gonadotropin. *Semin Reprod Med*, 19(1):69-74.
- Lopata, A., Bentin-Ley, U., Enders, A. (2002). "Pinopodes" and implantation. *Rev Endocr Metab Disord*, 3(2):77-86.
- Luiz C. Junqueira (2003), *Temel Histoloji*, Nobel Tıp Kitabevleri
- Lundkvist, O., Nilsson, B.O. (1982). Endometrial ultrastructure in the early uterine response to blastocysts and artificial decidualogenic stimuli in rats. *Cell Tissue Res*, 225:355-364.
- Luxford, K.A., Murphy, C.R. (1992). Reorganization of the apical cytoskeleton of uterine epithelial cells during early pregnancy in the rat: a study with myosin subfragment 1. *Biol Cell*, 74:195-202.
- Ma, L., Benson, V., Lim, H.J., Dey, S.K., Maas, R.L. (1998). Abdominal B (AbdB). Hoxa genes: regulation in adult uterus by estrogen and progesterone and repression in müllerian duct by the synthetic estrogen diethylstilbestrol (DES).. *Dev Biol*, 197:141-154.

Ma, W., Tan, J., Matsumoto, H., Robert, B., Abrahamson, D.R., Das, S.K., Dey, S.K. (2001). Adult tissue angiogenesis: evidence for negative regulation by estrogen in the uterus. *Mol Endocrinol*, 15:1983–1992.

MacCalman, C.D., Furth, E.E., Omigbodun, A., Bronner, M., Coutifaris, C., Strauss, J.F. (1996). Regulated expression of cadherin-11 in human epithelial cells: a role for cadherin-11 in trophoblast-endometrium interactions? *Dev Dyn*, 206(2):201-211.

MacCalman, C.D., Getsios, S., Chen, G.T. (1998). Type 2 cadherins in the human endometrium and placenta: their putative roles in human implantation and placentation. *Am J Reprod Immunol*, 39(2):96-107.

Macklon, N.S., Van der Gaast, M.H., Hamilton, A., Fauser, B.C., Giudice, L.C. (2008). The impact of ovarian stimulation with recombinant FSH in combination with GnRH antagonist on the endometrial transcriptome in the window of implantation. *Reprod Sci*, 15(4):357-365.

Makker, A., Singh, M.M. (2006). Endometrial receptivity: clinical assessment in relation to fertility, infertility, and antifertility. *Med Res Rev*, 26(6):699-746.

Martel, D., Monier, M.N., Roche, D., Psychoyos, A. (1991). Hormonal dependence of pinopode formation at the uterine luminal surface. *Hum Reprod*, 6(4):597-603.

McCann, S.M., Haens, G., Mastronardi, C., Walczewska, A., Karanth, S., Rettori, V., Yu, W.H. (2003). The role of nitric oxide (NO) in control of LHRH release that mediates gonadotropin release and sexual behavior. *Curr Pharm Des*, 9(5):381-390.

Merviel, P., Challier, J.C., Carbillon, L., Foidart, J.M., Uzan, S. (2001). The role of integrins in human embryo implantation. *Fetal Diagn Ther*, 16(6):364-371.

Meseguer, M., Pellicer, A., Simon, C. (1998). MUC-1 and endometrial receptivity. *Mol Hum Reprod*, 4(12):1089-1098.

Meyer, W.R., Castelbaum, A.J., Somkuti, S., Sagoskin, A.W., Doyle, M., Harris, J.E., Lessey, B.A. (1997). Hydrosalpinges adversely affects markers of endometrial receptivity. *Hum Reprod*, 12:1393-1398.

Michael H.Ross (2003), *Histology A Text and Atlas*, Lippincott Williams & Wilkins, USA

Moore (2009). *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Nobel yayınevi.

Murphy, C.R., Rogers, P.A., Hosie, M.J., Leeton, J., Beaton, L. (1992). Tight junctions of human uterine epithelial cells change during the menstrual cycle: a morphometric study. *Acta Anat*, 144(1):36-38.

Murphy, C.R., Shaw, T.J. (1994). Plasma membrane transformation: a common response of uterine epithelial cells during the peri-implantation period. *Cell Biol Int*, 18(12):1115-1128.

Murphy, C.R. (1995). The cytoskeleton of uterine epithelial cells: a new player in uterine receptivity and the plasma membrane transformation. *Hum Reprod Update*, 1(6):567-580.

Nachtigall, M.J., Kliman, H.J., Feinberg, R.F., Olive, D.L., Engin, O., Arici, A. (1996). The effect of leukemia inhibitory factor (LIF) on trophoblast differentiation. A potential role in human implantation. *J Clin Endocrinol Metab*, 81:801-806.

Norman, J.E., Cameron, I.T. (1996). Nitric oxide in human uterus. *Rev Reprod*, 1:61-68.

Norwitz, E.R., Schust, D.J., Fisher, S.J. (2001). Implantation and the survival of early pregnancy. *N Eng J Med*, 345:1400-1408.

Ota, H., Tanaka, T. (1997). Integrin adhesion molecules in the endometrial glandular epithelium of patients with endometriosis and adenomyosis. *J Obstet Gynaecol Res*, 23:485-491.

Ota, H., Igarashi, S., Hatazawa, J., Tanaka, T. (1998). Endothelial nitric oxide synthase in the endometrium during the menstrual cycle in patients with endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril*, 69(2):303-308.

Ota, H., Igarashi, S., Oyama, N., Suzuki, Y., Tanaka, T. (1999). Optimal levels of nitric oxide are crucial for implantation in mice. *Reprod Fertil Dev*, 11(3):183-188.

Patnos, K., Meimeth-Damianaki, T., Vaxevanoglou, T., Kapetanakis, E. (1994). Prospective study of a modified gonadotropin-releasing hormone agonist long protocol in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril*, 61:709-713.

Paria, B.C., Huet, H., Dey, S.K. (1993). Blastocyst's state of activity determines the "window" of implantation in the receptive mouse uterus. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:10159-10162.

Paria, B.C., Lim, H., Wang, X.N., Liehr, J., Das, S.K., Dey, S.K. (1998). Coordination of Differential Effects of Primary Estrogen and Catecholestrogen on Two Distinct Targets Mediates Embryo Implantation in the Mouse. *Endocrinology*, 139(12):5235-5246.

Paria, B.C., Lim, H., Das, S.K., Reese, J., Dey, S.K. (2000). Molecular signaling in uterine receptivity for implantation. *Semin Cell Dev Biol*, 11(2):67-76.

Paria, B.C., Ma, W., Tan, J., Raja, S., Das, S.K., Dey, S.K., Hogan, B.L. (2001). Cellular and molecular responses of the uterus to embryo implantation can be elicited by locally applied growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98:1047-1052.

Paria, B.C., Reese, J., Sanjoy, K.D., Dey, S.K. (2002). Deciphering the cross-talk of implantation: Advances and challenges. *Science*, 296:2185-2188.

Parr, E.L., Tung, H.N., Parr, M.B. (1987). Apoptosis as the mode of uterine epithelial cell death during embryo implantation in mice and rats. *Biol Reprod*, 36(1):211-225.

Perrier d'Hauterive, S., Charlet-Renard, C., Berndt, S., Dubois, M., Munaut, C., Goffin, F., Hagelstein, M.T., Noel, A., Hazout, A., Foidart, J.M., Geenen, V. (2004). Human chorionic gonadotropin and growth factors at the embryonic-endometrial interface control leukemia inhibitory factor (LIF) and interleukin 6 (IL-6) secretion by human endometrial epithelium. *Hum Reprod*, 19(11):2633-2643.

Poltorak, Z., Cohen, T., Sivan, R., Kandelis, Y., Spira, G., Vlodaysky, I., Keshet, E., Neufeld, G. (1997). VEGF145, a secreted vascular endothelial growth factor isoform that binds to extracellular matrix. *J Biol Chem*, 272:7151-7158.

Psychoyos, A. (1973). Hormonal control of ovoimplantation. *Vitam Horm*, 31:201-256.

Purcell, T.L., Given, R., Chwalisz, K., Garfield, R.E. (1999). Nitric oxide synthase distribution during implantation in the Mouse. *Mol Hum Reprod*, 5:467-475.

Rackow, B.W., Kliman, H.J., Taylor, H.S. (2008). GnRH antagonists may affect endometrial receptivity. *Fertil Steril*, 89(5):1234-1239.

Rahman, M.A., Li, M., Li, P., Wang, H., Dey, S.K., Das, S.K. (2006). Hoxa-10 deficiency alters region-specific gene expression and perturbs differentiation of natural killer cells during decidualization. *Dev Biol*, 290:105-117.

Rao, K.M., Cohen, H.J. (1991). Actin cytoskeletal network in aging and cancer. *Mutat Res*, 256(2-6):139-148.

Rathjen, P.D., Toth, S., Willis, A., Heath, J.K., Smith, A.G. (1990). Differentiation inhibiting activity is produced in matrix-associated and diffusible forms that are generated by alternate promoter usage. *Cell*, 62:1105-1114.

Reddy, W.R., Gupta, S.M., Meherji, P.K. (2001). Expression of Integrin Receptors on Peripheral Lymphocytes: Correlation with Endometrial Receptivity. *AJRI*, 46:188-195.

Refuerzo, J.S., Sokol, R.J., Aranda, J.V., Hallak, M., Hotra, J.W., Kruger, M., Sorokin, Y. (2006). Sildenafil Citrate and Fetal Outcome in Pregnant Rats. *Fetal Diagn Ther*, 21(3):259-263.

Ross M.H., Kaye G., Pawlina W., *Histology A Text and Atlas*, Lippincott Williams & Wilkins, 4th ed., Philadelphia, USA, (2003). Pp:726-87.

Rosselli, M., Keller, P.J., Dubey, R.K. (1998). Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update*, 4(1):3-24.

Ruck, P., Marzusch, K., Kaiserling, E., Horny, H.P., Dietl, J., Geiselhart, A., Handgretinger, R., Redman, C.W. (1994). Distribution of cell adhesion molecules in decidua of early human pregnancy. An immunohistochemical study. *Lab Invest*, 71(1):94-101.

Ruoslahati, E. (1991). Integrins. *J Clin Invest*, 87:1-5.

Sarani, S.A., Ghaffari-Novin, M., Warren, M.A., Dockery, P., Cooke, I.D. (1999). Morphological evidence for the 'implantation window' in human luminal endometrium. *Hum Reprod*, 14(12):3101-3106.

Satokata, I., Benson, G., Maas, R. (1995). Sexually dimorphic sterility phenotypes in Hoxa-10 deficient mice. *Nature*, 374:460-463.

Saxena, D., Purohit, S.B., Kumer, G.P., Laloraya, M. (2000). Increased appearance of inducible nitric oxide synthase in the uterus and embryo at implantation. *Nitric Oxide*, 4(4):384-391.

Senturk, L.M., Arici, A. (1998). Leukemia inhibitory factor in human reproduction. *Am J Reprod Immunol*, 39(2):144-51.

Senturk, L.M, Erel, C.T. (2008). Thin endometrium in assisted reproductive technology. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 20(3):221-228.

Seppala, M., Tiitinen, A. (1995). Endometrial responses to corpus luteum products in cycles with induced ovulation: theoretical and practical considerations. *Hum Reprod*, 10(Suppl 2):67-76.

Shapiro, L., Fannon, A.M., Kwong, P.D., Thompson, A., Lehmann, M.S., Grübel, G., Legrand, J.F., Als-Nielsen, J., Colman, D.R., Hendrickson, W.A. (1995). Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins. *Nature*, 374(6520):306-307.

Sharkey, A.M., Smith, S.K. (2003). The endometrium as a cause of implantation failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 17(2):289-307.

Shaw, T.J., Terry, V., Shorey, C.D., Murphy, C.R. (1998). Alterations in distribution of actin binding proteins in uterine stromal cells during decidualization in the rat. *Cell Biol Int*, 22(3):237-243.

Shen, M.M., Leder, P. (1992). Leukemia inhibitory factor is expressed by the preimplantation uterus and selectively blocks primitive ectoderm formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89:8240-8244.

Sher, G., Fisch, J.D. (2000). Vaginal sildenafil (Viagra): a preliminary report of a novel method to improve uterine artery blood flow and endometrial development in patients undergoing IVF. *Hum Reprod*, 15:806-809.

Sher, G., Fisch, J.D. (2002). Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. *Fertil Steril*, 78:1073-1076.

Shifren, J.L., Tseng, J.F., Zaloudek, C.J., Ryan, I.P., Meng, Y.G., Ferrara, N., Jaffe, R.B., Taylor, R.N. (1996). Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 81:3112-3118.

Shiozaki, H., Oka, H., Inoue, M., Tamura, S., Monden, M. (1996). E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells. *Cancer*, 15;77(8 Suppl):1605-1613.

Simon, C., Moreno, C., Remohi, J., Pellicer, A. (1998a). Cytokines and embryo implantation. *J Reprod Immunol*, 39(1-2):117-131.

Simon, C., Moreno, C., Remohi, J., Pellicer, A. (1998b). Molecular interactions between embryo and uterus in the adhesion phase of human implantation. *Hum Reprod*, 13(Suppl 3): 219-232.

Simon, C., Martin, J.C., Pellicer, A. (2000). Paracrine regulators of implantation. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 14:815-826.

Smitz, J., Van Den, A.E., Bollen, N., Camus, M., Devroey, P., Tournaye, H., Van Steirteghem, A.C. (1992). The effect of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) agonist in the follicular phase on in-vitro fertilization outcome in normo-ovulatory women. *Hum Reprod*, 7:1098-1102.

Song, H., Lim, H., Das, S.K., Paria, B.C., Dey, S.K. (2000). Dysregulation of EGF family of growth factors and COX-2 in the uterus during the preattachment and attachment reactions of the blastocyst with the luminal epithelium correlates with implantation failure in LIF-deficient mice. *Mol Endocrinol*, 14(8):1147-1161.

Spencer, F., Chi, L., Zhu, M. (2002). Antiproliferative effects of inducible nitric oxide synthase inhibition on decidualization in pseudopregnant rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 218:45-50.

Spencer, T.E., Bazer, F.W. (2002). Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front Biosci*, 1:1879-1898.

Staun-Ram, E., Shalev, E. (2005). Human trophoblast function during the implantation process. *Reprod Biol Endocrinol*, 3:56.

Sterzik, K.K., Grab, D., Schneider, V., Strehler, E.J., Gagsteiger, F., Rosenbusch, B.E. (1997). Lack of correlation between ultrasonography and histologic staging of the endometrium in in vitro fertilization (IVF) patients. *Ultrasound Med Biol*, 23:165-170.

Sterzik, K.K., Abt, M., Grab, D., Schneider, V., Strehler, E. (2000). Predicting the histologic dating of an endometrial biopsy specimen with the use of Doppler ultrasonography and hormone measurements in patients undergoing spontaneous ovulatory cycles. *Fertil Steril*, 73(1):94-98.

Steward, C.L., Kapsar, P., Brunet, L.J., Bhatt, H., Gadil, I., Kontgen, F., Abbandanzo, S.J. (1992). Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukemia inhibitory factor. *Nature*, 359:76-9.

Steward, C.L. (1994). The role of leukemia inhibitory factor (LIF) and other cytokines in regulating implantation in mammals. *Ann N Y Acad Sci*, 734:157-165.

Sunder, S., Lenton, E.A. (2000). Endocrinology of the peri-implantation period. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 14(5):789-800.

Tabibzadeh, S., Babaknia, A. (1995). The signals and molecular pathways involved in implantation, a symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. *Mol Hum Reprod*, 10:1579-1602.

Takeichi, M. (1991). Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science*, 22;251(5000):1451-1455.

Taniguchi, F., Harada, T., Yoshida, S., Iwabe, T., Onohara, Y., Tanikawa, M., Terakawa, N. (1998). Paracrine effects of Bfgf and KGF on the process of mouse blastocyst implantation. *Mol Reprod Dev*, 50:54-62.

Tapia, A., Salamonsen, L.A, Manuelpillai, U., Dimitriadis, E. (2008). Leukemia inhibitory factor promotes human first trimester extravillous trophoblast adhesion to extracellular matrix and secretion of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and -2. *Hum Reprod*, 23(8):1724- 1732.

Tavaniotou, A., Albano, C., Smitz, J., Devroey, P. (2002). Impact of ovarian stimulation on corpus luteum function and embryonic implantation. *J Reprod Immunol*, 55:123-130.

Taylor, H., Arici, A., Olive, D., Igarashi, P. (1998). HOXA-10 is expressed in response to sex steroids at the time of implantation in the human endometrium. *J Clin Invest*, 101:1379-1384.

Tefler, J.F., Irvine, G.A., Kohnen, G., Campbell, S., Cameron, I.T. (1997). Expression of endothelial and inducible nitric oxide synthase in non-pregnant and decidualized human endometrium. *Mol Hum Reprod*, 3:69-75.

Terry, V., Shaw, T.J., Shorey, C.D., Murphy, C.R. (1996). Actin-binding proteins undergo major alterations during the plasma membrane transformation in uterine epithelial cells. *Anat Rec*, 246(1):71-77.

Thie, M. Denker, H.W. (2002). In vitro studies on endometrial adhesiveness for trophoblast: cellular dynamics in uterine epithelial cells. *Cells Tissues Organs*, 172:237-252.

Torry, D.S., Holt, V.J., Kenan, J.A., Haris, G., Caudle, M.R., Torry, R.J. (1996). Vascular endothelial growth factor expression in cycling human endometrium. *Fertil Steril*, 66(1):72-80.

Ubaldi, F., Bourgain, C., Tournaye, H., Smits, J., Van Steirteghem, A., Devroey, P. (1997). Endometrial evaluation by aspiration biopsy on the day of oocyte retrieval in the embryo transfer cycles in patients with serum progesterone rise during the follicular phase. *Fertil Steril*, 67(3):521-526.

Van Der Gaast, M.H., Beckers, N.G., Beier-Hellwig, K., Beier, H.M., Macklon, N.S., Fauser, B.C. (2002). Ovarian stimulation for IVF and endometrial receptivity-the missing link. *Reprod Biomed Online*, 5(Suppl 1):36-43.

Van Voorhis, B.J., Dunn, M.S., Synder, G., Weiner, C.P. (1994). Nitric oxide: an autocrine regulator of human granulosa-luteal cell steroidogenesis. *Endocrinology*, 135:1799-1806.

Vandromme, J., Chasse, E., Lejeune, B., Van Rysselberge, M., Delvigne, A., Leroy, F. (1995). Hydrosalpinges in in vitro fertilisation: an unfavourable prognostic feature. *Hum Reprod*, 10: 576-579.

Ware, C.B., Horowitz, M.C., Renshaw, B.R., Hunt, J.S., Liggitt, D., Koblar, S.A., Gliniak, B.C., Mc Kenna, H.J., Papayannopoulou, T., Thoma, B. (1995). Targeted disruption of the low-affinity leukemia inhibitory factor

receptor gene causes placental skeletal neural and metabolic defects and results in peri-natal death. *Development*, 121:1283-1299.

Westwood, M. (1999). Role of insulin-like growth factor binding protein 1 in human pregnancy. *Rev Reprod*, 4:160-167.

Wilcox, A.J., Baird, D.D., Weinberg, C.R. (1999). Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Eng J Med*, 340:1796-1799.

Wilson, R., McInnes, I., Leung, B., McKillop, J.H., Walker, J.J. (1997). Altered interleukin 12 and nitric oxide levels in recurrent miscarriage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 75:211-214.

Wollenhaupt, K., Welter, H., Einspanier, R., Manabe, N., Brüssow, K.P. (2004). Expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R), vascular endothelial growth factor receptor (VEGF-R) and fibroblast growth factor receptor (FGF-R) systems in porcine oviduct and endometrium during the time of implantation. *J Reprod Dev*, 50(3):269-278.

Yang, Z.M., Chen, D.B., Le, S.P., Harper, M.J. (1996). Differential hormonal regulation of leukemia inhibitory factor (LIF) in rabbit and mouse uterus. *Mol Reprod Dev*, 43:470-476.

Yoshida, K., Taga, T., Saito, M., Suematsu, S., Kumanogoh, A., Tanaka, T., Fujiwara, H., Hirata, M., Yamagami, T., Nakahata, T., Hirabayashi, T., Yoneda, Y., Tanaka, K., Wang, W.Z, Mori, C., Shiota, K., Yoshida, N., Kishimoto, T. (1996). Targeted disruption of gp130, a common signal transducer for the interleukin 6 family of cytokines, leads to myocardial and hematological disorders. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:407-411.

Zafar, A., Thampan, R.V. (1995). Association of cytoskeletal proteins with estrogen receptor in rat uterine cytosol: possible role in receptor movement into the nucleus. *Biochem Mol Biol Int*, 36(6):1197-1206.

Zinger, M., Liu, J.H., Thomas, M.A. (2006). Successful use of vaginal sildenafil citrate in two infertility patients with Asherman's syndrome. *J Womens Health*, 15:442-444.

Zygmunt, M., Herr, F., Münstedt, K., Lang, U., Liang, O.D. (2003). Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 22;110 Suppl 1:S10-18.

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : PELİN COŞTUR BIYIKSIZ
Doğum yeri ve tarihi : 27.11.1977
Uyruğu : T.C.
Medeni Durumu : EVLİ
Çalıştığı kurum : KOCAELİ ÜNV. TIP FAK. HİSTOLOJİ VE
EMBRİYOLOJİ AD.
İletişim Adresi ve
Telefonu : YAHYA KAPTAN MAH. C-3 BLOK NO:
19 İZMİT Tel: 262 311 75 51

2. Eğitimi

ÖĞRENİM DÖNEMİ	DERECE	ÜNİVERSİTE	ÖĞRENİM ALANI
2004- Devam	Doktora	Kocaeli Üniv.	Histoloji ve Embriyoloji
2001-2004	Y. Lisans	Kocaeli Üniv.	Histoloji ve Embriyoloji
1995-1999	Lisans	Balıkesir Üniv.	Biyoloji

Yabancı dili: İNGİLİZCE

3. Unvanları

Araştırma Görevlisi

4. Mesleki Deneyimi

GÖREV DÖNEMİ	ÜNVAN	ÜNİVERSİTE	BÖLÜM
2003- Devam	Araştırma Görevlisi	Kocaeli Üniv.	Histoloji ve Embriyoloji
2008- Devam	Androloji Lab. Sorumlusu	Kocaeli Üniv.Tıp Fak.	Tüp Bebek Ünitesi

5. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği (2005)

6. Bilimsel Etkinlikler

1. Sema Keceli Özcan, Fatma Budak, Ayse Willke, Serdar Fıfız, Pelin Costur and Hakkı Dalçık. Efficacies of caspofungin and a combination of caspofungin and meropenem in the treatment of murine disseminated candidiasis. *APMIS 114: 829–36, 2006 C 2006*
2. Ozkan S, Vural B, Filiz S, Coştur P, Dalçık H. Placental expression of insulin-like growth factor-I, fibroblast growth factor-basic, and neural cell adhesion molecule in preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* Nov;21(11):831-8; 2008.
3. Filiz S., H. Dalçık, C. Bıyık Pelin, S.Ö. Keçeli, F. Budak, “Farelerde *Candida Albicans*’a Bağlı Karaciğer ve Dalak Tutulumunda Caspofungin ve Caspofungin ile Meropenem Kombinasyonunun Etkinliğinin Histolojik Olarak Değerlendirilmesi”, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 25, 763-769 (2005).
4. Filiz S., S. Gonca, Coştur P., H. Dalçık, T. Utkan, “Kronik Alkolik Sıçanlarda Testis ve Penisteki Değişikliklerin Histolojik Değerlendirmesi”, *Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2005.

5. Filiz S., S. Gonca, Coştur P., H. Dalçık, T. Utkan, “Uzun Süre Sigara Dumanına Maruz Kalan Sıçanlarda Testis ve Penisteki Değişikliklerin Histolojik Değerlendirmesi”, *Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2005.