



T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEBELİĞİN ERKEN DÖNEMLERİNDE SIÇAN UTERUS
DOKUSUNDA SİKLOOKSİJENAZ-2 (COX-2) EKSPRESYONU
ÜZERİNE HEPARİN'İN ETKİSİ**

Fatma ERYAVUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Jale ÖNER

BURDUR-2018

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEBELİĞİN ERKEN DÖNEMLERİNDE SIÇAN UTERUS
DOKUSUNDA SİKLOOKSİJENAZ-2 (COX-2) EKSPRESYONU
ÜZERİNE HEPARİN'İN ETKİSİ**

Fatma ERYAVUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Jale ÖNER

Bu araştırma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0279-YL-16 proje numarası ile desteklenmiştir.

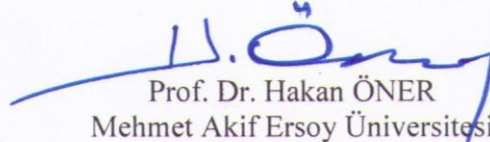
BURDUR-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

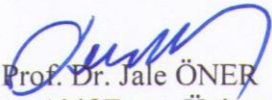
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Fatma ERYAVUZ tarafından *Prof. Dr. Jale ÖNER* yönetiminde hazırlanan “*Gebeliğin Erken Dönemlerinde Sıçan Uterus Dokusunda Siklooksijenaz-2 (COX-2) Ekspresyonu Üzerine Heparin'in Etkisi*” başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

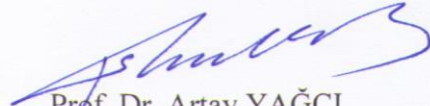
12/01/2018


Prof. Dr. Hakan ÖNER
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Başkan


Prof. Dr. Jale ÖNER
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Jüri


Prof. Dr. Artay YAĞCI
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Jüri

ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür ve Enstitü Yönetim Kurulu 05/02/18 tarih ve 8... sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M. Doğa TEMİZSOYLU
Müdür

Sağlık Bilimleri Enstitüsü



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, sabırla ve ilgiyle bana klavuzluk eden danışman hocam sayın Prof. Dr. Jale ÖNER'e, çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof.Dr. Hakan ÖNER'e, Yrd. Doç. Dr. Duygu MUTLUAY'a ve Arş. Gör. Mehmet ÖZBEK'e, yüksek lisans eğitimine birlikte başladığım sevgili arkadaşlarım Büşra ŐEN YAMAN ile Sinem PEKŐEN'e, Deney Hayvanları Laboratuvarı ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına verdikleri desteklerinden dolayı teşekkürü borç bilirim.

Fatma ERYAVUZ

BEYAN

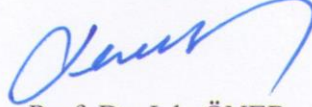
“Gebeliğin Erken Dönemlerinde Sıçan Uterus Dokusunda Siklooksijenaz-2 (COX-2) Ekspresyonu Üzerine Heparin’in Etkisi” başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün çalışmalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

12.12.2018

Fatma ERYAVUZ



ONAY



Prof. Dr. Jale ÖNER

Danışman

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Memelilerde Embriyonal Gelişim	3
2.1.1. Zigotun Yarıklanması	3
2.1.2. Morula	4
2.1.3. Blastosist	4
2.2. İmplantasyon	6
2.2.1. İmplantasyon Türleri	8
2.2.2. İmplantasyonun Oluş Mekanizmaları	9
2.3. Östrus Siklusu ve İmplantasyon Esnasında Endometriyumun Özellikleri	11
2.4. İmplantasyon Esnasında Endometriyumda Gerçekleşen Moleküler Mekanizmalar	14
2.5. Desidualizasyon	15
2.6. COX	17
2.6.1. COX'ların Tarihçesi	18
2.6.2. COX'ların Biyolojik Aktiviteleri	18
2.6.3. COX'ların Genetik Yapıları	20
2.7. Erken Gebelikte COX'ların Rolü	20
2.8. Heparin	22
2.8.1. Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24

3.1.İmmunohistokimyasal Prosedür	25
3.2.İmmunohistokimyasal Prosedürde Kullanılan Kimyasal Çözelti ve Malzemeler	26
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
7. KAYNAKLAR	48
8. ÖZGEÇMİŞ	61



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Zigotun yarıklanması ve blastosist oluşumu.	6
Şekil 2.2. Sentral (süperfisial) tip implantasyon. B) Ekzentrik tip implantasyon. C) İnterstisiyel tip implantasyon.	9
Şekil 2.3. İmplantasyon aşamaları.	11
Şekil 2.4. Pinopodlar.	13
Şekil 2.5. Rat uterusunda embriyonal yerleşim bölgeleri.	17
Şekil 2.6. İmplantasyon esnasında COX-2 aktivitesi.	18
Şekil 4.1. Kontrol grubunda gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.	30
Şekil 4.2. Kontrol grubunda gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.	30
Şekil 4.3. Kontrol grubunda gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.	31
Şekil 4.4. Kontrol grubunda gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.	31
Şekil 4.5. Kontrol grubunda gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.	32
Şekil 4.6. Kontrol grubunda gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.	32
Şekil 4.7. Kontrol grubunda gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; AMZ: Antimezometriyal Alan; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.	33

Şekil 4.8. Kontrol grubunda gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400. 33

Şekil 4.9. Kontrol grubunda gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. AMZ: Antimezometrial Alan, PDR: Primer Desidual Reaksiyon, SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; MYM: Myometriyum; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller; sarı ok: Embriyo. X100. 34

Şekil 4.10. Kontrol grubunda gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X200. 34

Şekil 4.11. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100. 35

Şekil 4.12. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli. X400. 35

Şekil 4.13. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100. 36

Şekil 4.14. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400. 36

Şekil 4.15. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100. 37

Şekil 4.16. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400. 37

Şekil 4.17. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; AMZ: Antimezometriyal Alan; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100. 38

Şekil 4.18. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400. 38

Şekil 4.19. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; MYM: Myometriyum; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100. 39

Şekil 4.20. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; siyah ok: Kapiller. X200. 39



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Deney Grupları.	24
Tablo 3.2. İmmunohistokimyasal prosedürde kullanılan malzemeler.	26
Tablo 3.3. 0,01 M Sitrata tamponu (500ml için)	26
Tablo 3.4. Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS) (1000ml için)	26
Tablo 3.5. PBS+ %0,2 Tween 20 solüsyonu (500ml için)	27
Tablo 3.6. PBS+%0,1 Tween 20 solüsyonu (500ml için)	27
Tablo 4.1. Kontrol gruplarında gebe sıçanların uterus dokusunda COX-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semikuantitatif analizi.	40
Tablo 4.2. Heparin uygulanan gruplarda gebe sıçanların uterus dokusunda COX-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semikuantitatif analizi.	40

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA	: Araşidonik Asit
APA	: Antifosfolipid Antikor
APS	: Antifosfolipid Sendromu
AMZ	: Antimezometriyal Zon
ATGK	: Açıklanamayan Tekrarlayan Gebelik Kayıpları
COX	: Siklooksijenaz
ES	: Endometriyal Stroma
DMAH	: Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin
ICM	: İç Hücre Kitlesi
IFN-γ	: Gama İnterferon
IFN-T	: İnterferon
IP	: İnositol Fosfat
MYM	: Myometriyum
PDR	: Primer Desidual Reaksiyon
PG	: Prostaglandin
PGG₂	: Prostaglandin G ₂
PGH₂	: Prostaglandin H ₂
PGHS	: Prostaglandin H ₂ sentaz
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
PGI₂	: Prostatiklin
PPAR	: Peroksizom proliferatör-aktive reseptörler
SDR	: Sekonder Desidual Reaksiyon
SES	: Subepitelyal Stroma
TE	: Trofoektoderm
TGK	: Tekrarlayan Gebelik Kayıpları
uNK	: Uterus Doğal Katil Hücreleri

VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

VTE : Venöz Tromboemboli



T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

**Gebeliğin Erken Dönemlerinde Sıçan Uterus Dokusunda Siklooksijenaz-2
(COX-2) Ekspresyonu Üzerine Heparin'in Etkisi**

Fatma ERYAVUZ
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman
Prof. Dr. Jale ÖNER

BURDUR-2018

ÖZET

İmplantasyon sürecinin penetrasyon fazında, implantasyon alanı çevresinde vasküler değişimler meydana gelir. Bu vasküler fizyolojinin düzenlenmesinde etkili olduğu bilinen COX-2, tekrarlayan gebelik kayıplarının (TGK) etyolojisinde de önemli rol oynamaktadır. TGK'nın büyük oranda penetrasyon fazında ve gebeliğin 8-12. haftalarında oluşması, blastosist implantasyon sürecindeki olumsuzluklara bağlı olarak gelişebileceğini düşündürmektedir. TGK'nın tedavisinde, klinikte sıklıkla kullanılan düşük molekül ağırlıklı heparinin (DMAH), antikoagulan etkisinin yanında antiinflamatuvar etkilerinin de fayda sağlayabileceği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu çalışma da, sıçanlara gebeliğin 0, 1, 3, 5 ve 7. günlerinde 50 IU/kg enaksoparin sodyum, intraperitoneal olarak uygulanmış ve toplanan uterus dokularında COX-2 immunlokalizasyonları belirlenmiştir. DMAH'ın gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda TGK etyolojilerinde yer aldığı bilinen COX-2 ekspresyonu üzerinden bir etkiye sahip olup olmadığı araştırılmış ve DMAH uygulamasının, immunohistokimyasal seviyede ve semiquantitatif gözlemde COX-2 immun ekspresyonu üzerine bir değişiklik oluşturmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Erken gebelik, Sıçan, Uterus, COX-2, Heparin.

Bu araştırma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: 0279-YL-16.

**Mehmet Akif Ersoy University
Institute of Health Science**

Master of Science

**The Effect of Heparin, on Expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in The Rat
Uterine Tissue During Early Pregnancy**

**Fatma ERYAVUZ
Histology ve Embryology Department**

**Supervisor
Prof. Dr. Jale ÖNER**

BURDUR-2018

ABSTRACT

COX-2 known to be effective in regulating the vascular physiology, plays important role in etiology of the recurrent pregnancy loss. The formation of recurrent pregnancy loss widely in generation phase and at 8-12 weeks of gestation suggests that the blastocyst implantation process may be affected by the negativity of the blastocyst implantation process. It has been reported that, anticoagulant and anti-inflammatory effect of low molecular weight heparin can be useful in recurrent pregnancy loss treatment. Rats were treated with 50 IU/kg enoxaparin sodium intraperitoneal in 0, 1, 3, 5 and 7 days of gestation and COX-2 immunlocalizations were determined in collected uterine tissues. It was examined whether if low molecular weight heparin effect on COX-2 expression involved in etiology of recurrent pregnancy loss and concluded that low molecular weight herarin treatment was not caused change on COX-2 immun expression at immunohistochemical level and semiquantitative observation.

Key Words: Early Pregnancy, Rat, Uterine, COX-2, Heparin.

This study, was supported by Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research
Projects Unit. Project Number: 0279-YL-16.

1. GİRİŞ

Gebelik implantasyon, desidualizasyon, plasentasyon ve son olarak doğum süreci ile yavrunun doğumunu kapsayan çeşitli olayların yer aldığı karmaşık bir süreçtir (23, 24, 38). Bu olaylardan her biri, bir sonraki evre için basamaktır. Başarılı bir gebelik için gerekli olan ve implantasyon esnasında başlatılan fizyolojik ve moleküler değişim süreci karmaşık olmasına karşın çok iyi organize olmuştur (24).

Embriyonun implantasyonu, endometriyum epiteline blastosistin bağlanmasıyla başlayan, belirgin plasentanın oluşumu ile sona eren, embriyo ve endometriyum arasında karmaşık etkileşimleri kapsar. Embriyo ve endometriyum etkileşimleri yalnızca embriyo ve endometriyumun belirgin bir olgunlaşma evresine ulaşmasıyla başlar (67).

İmplantasyonun ilk fark edilebilir işaretlerinden biri, desidual hücre reaksiyonunun başlangıcında ve blastosist apozisyon alanında endometriyal permeabilitede artıştır (29, 103). Endometriyum epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde, endoplazmik retikulum ve çekirdekte yerleşmiş olan siklooksijenazlar da (COX) endometriyumdaki değişikliklere eşlik ederek, implantasyon esnasında anjiogenezisin oluşumu ve vasküler geçirgenliği artırmak suretiyle endometriyumun alıcı hale gelmesine katkı sağlamaktadır. Şimdiye kadar belirlenmiş üç COX izoformu bulunmakla beraber, özellikle COX-1'in doğum esnasında önemli rol oynadığını ve COX-2'nin ise ovulasyon, fertilizasyon, implantasyon ve desidualizasyon esnasında önemli rol oynadığını ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır (25, 29). Yine yapılan çalışmalarda tekrarlanan gebelik kaybında (TGK), endometriyumda COX-2 mRNA seviyelerinin düşük olduğuna ilişkin bilgiler mevcuttur (130).

TGK, üç veya daha fazla ardışık düşüğün görülmesi olarak tanımlanır (33, 40, 62) ve fertil kadınların %1-5'ini etkileyen duygusal, sosyal ve ekonomik problemler yaratan bir sağlık sorunudur (18, 96). TGK'ya neden olan olası etyolojik faktörler; genetik nedenler, endokrin nedenler, uterusu ait nedenler, immunolojik faktörler, trombofilik bozukluklar olabildiği gibi çevresel faktörler ve ovaryan rezerv düşüklüğü de bu faktörler arasında yer alabilmektedir (22, 52, 74). Günümüzde

bilinen etyolojik faktörlerin hepsi incelense de TGK nedeniyle başvuran hastaların yaklaşık yarısında belirgin bir neden saptanamamaktadır (5).

TGK nedenleri içerisinde yer alan Antifosfolipid sendromu (APS), TGK olgularının %5-15'inde görülmektedir. APS'de gebelik kaybı için altta yatan mekanizma plasental vasküler trombozdur. Antifosfolipid antikorları/ β 2-glikoprotein kompleksleri maternal spiral arterlere trofoblast proliferasyonunu ve invazyonunu inhibe etmekte ve plasentada doku ölümü, nekroz ve trombozlara neden olmaktadır (26, 52). Başta APS olmak üzere nedeni bilinmeyen TGK'ların tedavisinde profilaktik amaçlı olarak düşük doz aspirin ve subkutan heparinin kombine tedavisi yaygın şekilde kullanılmaktadır (40, 75).

Bu tez çalışması ile TGK'larda gebeliğin sürdürülmesinde olumlu etkileri saptanmış olan düşük molekül ağırlıklı heparinin, klinikte kullanılmasına bağlı olarak, gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda TGK etyolojilerinde yer aldığı bilinen COX-2 ekspresyonu üzerinden de bir etkiye sahip olup olmadığı araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Memelilerde Embriyonal Gelişim

İnsanda döllenmiş yumurta hücresi olan zigot, organizmayı oluşturan sistem ve organları meydana getirmek üzere 8. haftanın sonuna kadar bir seri mitoz geçirir. Bu şekilde gelişen yapıya embriyo ve gelişen sürece de embriyonik gelişim adı verilir (4). Embriyonal gelişim zigot oluşumundan itibaren sırası ile şu evrelere sahiptir;

2.1.1. Zigotta Yarıklanma

Organizmadaki hücreler diploid kromozom sayısına sahip olup haploid kromozom sayısındaki gametlerin fertilizasyonu sonucu oluşur. Gametler diploid bir zigot oluşturmak üzere tuba uterinanın ampulla bölgesinde birleşirler. Bu birleşme gerçekleşmeden önce haploid olan erkek ve dişi pronüklouslar kendi DNA'sını replike etmek zorundadır. Kromozom çiftleri sentromer bölgesinden uzunlamasına ayrılır ve kromatidler, zigotun her hücresi normal diploid sayıda kromozom içerecek şekilde karşı kutuplara doğru çekilir. Kromatidlerin bu hareketi sırasında hücrenin yüzeyinde sitoplazmayı zamanla iki parçaya bölen derin çizgi belirir ve bu bölüm *yarıklanma* olarak adlandırılır. Yarıklanma zigot, fertilizasyonun gerçekleştiği ampulla bölgesinden uterusu doğru yol alırken gerçekleşir (98). İlk yarıklanma sonucu embriyo iki eşit büyüklükte hücreden oluşur ve daha sonra senkronize bir şekilde dört hücreli, sekiz hücreli gibi devam eder (28, 84).

Zigot iki hücreli evreye ulaşırken ikinci yarıklanma birinci yarıklanmaya dik olarak gerçekleşir, bu bölünmeler meridyonal bölünme olarak tanımlanır. Bunu ekvatorial yönde olan bölünme izler. Daha sonra bir meridyonal, bir ekvatorial bölünmeler sonucunda birçok küçük kardeş hücre şekillenir ve bunlara *blastomer* adı verilir (98). İkinci bölünme sonunda oluşan 4 hücreli blastomer, tuba uterinanın distal bölgesinde zona pellusida ve kısmen de korona radiatayı oluşturan granuloza hücreleri ile sarılıdır (98). Üçüncü yarıklanma ekvatorial düzlemde gerçekleşir. Bölünmenin geçtiği düzleme bağlı olarak, bu bölünmeyle 4'ü de vejetal yarım kürede yerleşmiş olan 8 blastomer şekillenir (85). Sekiz hücre evresine kadar gevşek bir hücre kümesi halindedirler (98). İnsanda 8 blastomerli safhaya ulaşıldığında

spesifik embriyonal protein sentezi başlar, blastomerler belirgin bir şekilde farklılaşır. Blastomerler belirgin çeşitli yüzey antijenlerini ve enzimleri üretirler (135). Başlangıçta yarıklanma sırasında, tüm blastomerler morfolojik ve potansiyel olarak aynı özelliklere sahiptir. Ancak, sekiz hücre aşamasında kompaktlaşma ve polarizasyon olayları gerçekleşmektedir. Hücreler sekizden 16-32 hücreli evreye geçtiğinde, bu hücre kümesinin dışında yer alan hücreler polarize özelliklerini sürdürürler ancak, merkezdeki hücreler apikal özelliklerini kaybederler ve morfolojik olarak apolar fenotip gösterirler. Gelişmekte olan embriyodaki hücrelerin pozisyonu ve/veya hücre polarizasyonu onların iç hücre kitlesi (ICM) veya trofoektoderm (TE) hücre yapılarına katılma sürecini etkilemektedir. Dış polarize hücreler TE'yi oluştururken, iç kısımda yer alan apolar hücreler ICM'ni meydana getirirler. Bu durum, "iç-dış hipotez" veya "konum hipotezi" olarak ifade edilmekte ve embriyonun kaderini belirlemektedir. Blastomerler, simetrik veya asimetrik olarak bölünürler. Simetrik bölünmeler ile iki polar hücre, asimetrik bölünmeler ile ise bir dış polar ve bir iç apolar hücre oluşmaktadır (3, 59, 134).

2.1.2. Morula

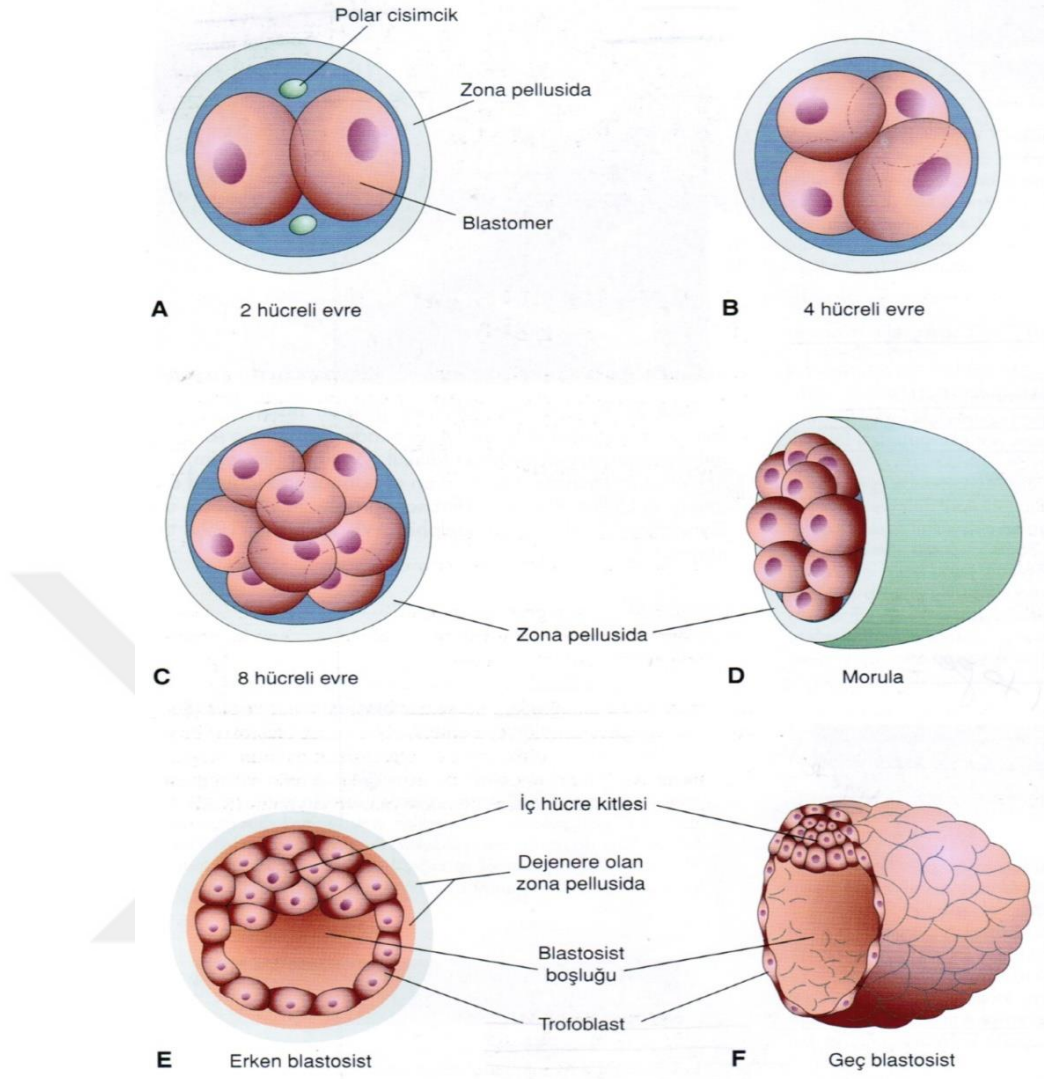
Zigotta meydana gelen bölünmeler aynı düzen içerisinde devam ederek oldukça sıkı ilişki içerisinde olan salkım görüntüsündeki hücrelere sahip olurlar (98). Embriyonun 16 hücreli bu hali *morula* olarak isimlendirilir ve bu evreye insanda fertilizasyondan yaklaşık 3 gün sonra (90) farede ise yaklaşık 60 saat sonra ulaşılır (28, 84). Evcil memeli hayvanlarda morula 16-64 hücre içerir. Morula hücreleri *kompaksiyon* adı verilen bir olay ile küre şeklindeki görünümünü kaybederek birbirine çok sıkı bağlarla tutunan kompakt bir hücre kümesi halini alırlar (98).

2.1.3. Blastosist

Morula evresindeki hücrelerin çoğalması ve sekresyonlarını hücreler arasında biriktirmeye başlaması ile hücreler birbirinden uzaklaşır ve *blastosöl* şekillenir. Embriyo bu aşamada uterus lumeninde uterus epiteli ile karşı karşıya gelmiş olup *blastosist* olarak isimlendirilir (98). Blastosist içinde sıvı arttıkça, blastomerleri trofoblast ve embriyoblast olmak üzere iki bölüme ayırır. Trofoblast, ince, dış tabakadır ve plasentanın embriyonik kısmını oluşturur. Embriyoblast ise merkezi yerleşim gösteren bir grup blastomerdur ve embriyonun başlangıcını oluşturur (90).

İnsanları ve maymunları kapsayan birçok çalışma da, blastosistin oluşum evresinde zonada oluşan bir çentiğin, blastosistin genişlemesine neden olduğu bildirilmiştir. Bu genişleme hidrostatik basıncın artmasıyla devam eder ve bu oluşum sonrası zona büyük ölçüde bozulmadan kalır (80, 109). Bu olay aynı zamanda fare (12), sıçan (122) ve inek (83) gibi pek çok tür de gözlemlenmiştir. Bununla beraber hamsterlarda, önce blastosist genişler sonra küçülür ve zonanın tamamen erimesiyle yapışma sağlanır (60, 61, 86, 108). Blastula evresi süresince zona pellisuda yırtılır, embriyo serbest kalır ve böylece embriyonun uterusu implantasyonuna imkan sağlanır (98). Zona pellisudanın blastosistten ayrılması sıçanlarda yaklaşık olarak gebeliğin 3,5-4,5. günlerine rastlar (140).

İmplantasyonun olabilmesi için biyomoleküller aracılığı ile hücresel sinyalizasyon gerçekleştirilir ve uterus epiteli ile temas edecek olan trofoblastların yüzeyinde değişik boyutlarda çok sayıda mikrovillus belirir (98). İnsanda fertilizasyondan yaklaşık 6 gün sonra blastosist, iç hücre kitlesine yakın bölgeden endometriyum epiteline tutunur (90). Blastosistin endometriyum epiteline invazyonundan sonra, embriyonik kutuptaki trofoblast hücreleri çoğalarak çift tabakalı trofoblast dizisini oluşturur. Bunlardan iç tabakadaki tek çekirdekli hücreler sitotrofoblast olarak adlandırılırken, dış tabakayı da sitotrofoblastların çoğalması ve kaynaşması ile oluşan ve ilerde maternal doku ile direkt olarak temas eden çok çekirdekli sinsisyotrofoblastlar meydana getirir (36,54). Trofoblast hücreleri, anne ile yavru arasında oksijen ve besinlerin taşınması yanı sıra, blastosistin endometriyuma tutunmasından başlayarak gebeliğin sonuna kadar diğer işlevlerin yerine getirilmesinde de görev alan hücrelerdir (48). İnvazyon sırasında sinsisyotrofoblast hücreleri, üreme yeteneklerini kaybederler, sitotrofoblast hücreleri ise trofoblastların sürekli çoğalarak büyümesini ve kaynaşmasını sağlayan kök hücre özelliğindedir (17, 35, 36, 54). İmplantasyonun erken evrelerinde sinsisyotrofoblastların eritici aktivitesiyle maternal dokular erozyona uğrar. Sitotrofoblastlar invazyonun ilerlemesinden ve implantasyon alanının genişlemesinden sorumlu olan hücrelerdir (54).



Şekil 2.1. Zigotun Yarıklanması ve Blastosist Oluşumu (90).

2.2. İmplantasyon

Embriyonun implantasyonu, endometriyumun lumen epiteline blastosistin bağlanmasıyla başlayan, belirgin plasenta oluşumu ile sona eren, embriyo ve endometriyum arasında bir dizi kompleks ardışık etkileşimleri kapsayan bir süreçtir (67, 102).

İmplantasyon sırasında endometriyumda meydana gelen moleküler değişiklikler sonucunda blastosist aşamasındaki embriyo taslağı, üzerini kaplayan

zarlar aracılığı ile uterus mukozasına bağlanır. Plasentayı meydana getiren bu bağlantıya "*İmplantasyon*" denir (54).

İmplantasyonun başarısı, blastosist evresi için uygun embriyo gelişimi ve aynı zamanda embriyo için alıcı endometriyumun gelişim başarısına bağlıdır (114). Ovaryumdan salgılanan steroidlerin etkisi altında uterusda meydana gelen farklılaşma ve blastosistin etkinliği implantasyonun başarısını belirler (54).

Endometriyumun alıcılık olayı ilk olarak sıçanda belirlenmiş ve daha sonra da diğer türlerde onaylanmıştır (103). Endometriyumun, kemirgenlerde ve insanlarda yalnızca kısa periyodlar için alıcı olduğu bilinir. Bu alıcı periyod haricinde embriyo, gelişen endometriyum ile başarılı bir şekilde iletişim kuramamaktadır. Bu nedenle alıcı endometriyuma embriyonun zamanında varışı başarılı bir implantasyon için çok önemlidir (81). Bu zaman periyodu '*implantasyon penceresi*' olarak adlandırılır. Bu süre boyunca uterus ortamı blastosist implantasyonuna uygundur. Uterus hücreleri ile embriyo dokusunun bu fiziksel etkileşimine ilaveten bu süreç, annenin steroid hormonlarından, büyüme faktörlerinden ve stokinlerden kesinlikle etkilenmektedir. Dolayısıyla embriyonik sinyalizasyon da önemli rol oynar (112, 113, 114).

Blastosist tarafından verilen ilk sinyal kimyasaldan ziyade fizikseldir (67). İmplantasyonun erken evrelerinin ultrastrüktürel çalışmaları, endometriyum lumen epitel hücreleri ve blastosistin trofoblastik hücreleri arasında fiziksel bir etkileşim olduğunu göstermektedir. Endometriyal vasküler permeabilite yanıtı, trofoblastik ve epitel hücreleri üzerindeki mikrovillusların ve ardından hücre membranlarının dış kısımlardan kenetlenmesiyle başlamaktadır (42, 67, 100, 107). Endometriyum ve blastosist arasındaki bu ilişki, periimplantasyon periyodunda, uterus lumenindeki sıvının uzaklaştırılması sonucu embriyonun lumen epiteli ile yakın temas kurması suretiyle kolaylaştırılır (67). Başlangıç sinyali fiziksel tabiatta olsa da, daha sonra lumen epitel hücrelerinin vaskülarizasyon ve desidualizasyonun gerçekleşebilmesi için bu sinyali stromaya iletmesi gerekir. Bu durum epitel hücreler aracılığıyla fiziksel sinyalin kimyasal sinyale dönüşümünü gerektirir. Bu sinyal iletimini destekleyen çalışmalar, endometriyum lumen epitelinin desidualizasyonda esas role sahip olduğunu göstermiştir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, stromal hücrelerin desidual hücrelere dönüştüğü 5. günde, embriyo etrafındaki lumen epitelinin hala

bozulmadığı ve lumen epitelinin yok edildiği veya ortadan kaldırıldığı durumlarda da desidualizasyonun gerçekleşemediği bildirilmiş ve bu durum embriyonik sinyallerin epitel hücreler aracılığı ile stromaya iletilmesi ile ilişkilendirilmiştir (44, 77). İnsanda ise desidualizasyonun başlatılması için konseptusun varlığı gerekli değildir (67) ancak blastosistin implantasyonu ile daha sağlıklı hale gelir (24).

Preimplantasyon evresi süresi türler arasında farklılık gösterir. Farelerde implantasyonun koitus sonrası 4. günde, insanda ortalama 9. günde (76, 133) sıçanlarda ise 5. günün gecesinde olduğu bildirilmiştir (116).

İnsanda 20-21. günler, fare ve sıçanda 4. gün akşamında, oluşan güçlü bağlanmanın ilk izleri görünür ve bu olay blastosistin bağlandığı alan üzerinde stromal vasküler permeabilitede lokalize artış ile aynı zamana rastlar (111, 114).

Kemirgende implantasyon, blastosistin zona pellisudadan kurtulması (gebeliğin 3,5-4,5. günü), lumen epiteli ve embriyonun trofoektodermi arasında adezyon ve bağlanma reaksiyonu (gebeliğin 4,5-5,5. günü) (2), blastosistin apozisyon alanı üzerindeki lumen epitelinin apoptozisi ve stromanın desidualizasyonu (gebeliğin 5-6. günü) (101, 123), trofoblast hücrelerinin bazal membrana penetrasyonu (gebeliğin 6-7. günü), stromaya invazyonu (gebeliğin 7. günü ve yukarısı) (106) gibi olayları içeren karmaşık süreçler zinciridir (138).

Farede implantasyona hazırlanan uterus, üç ana periyod geçirir: alıcılık öncesi periyod (1-3. günler), alıcı periyod (4. gün) ve alıcı olmayan periyod (5. gün ve devamı) (38, 132). Vaktinde implantasyon yalnızca alıcı periyod esnasında meydana gelir. Embriyolar alıcılık öncesi faz da yerleşemez ve alıcı fazda uterus dönüşümü için östrojen salınımını takiben artan progesteron salınımı ile hazırlanma gerekir (81, 102). Uterusun kendiliğinden refraktör faza dönüşmesiyle alıcılık penceresinin kapanması üzerine artık uterus ortamı blastosist tutulumu için uygun değildir (24).

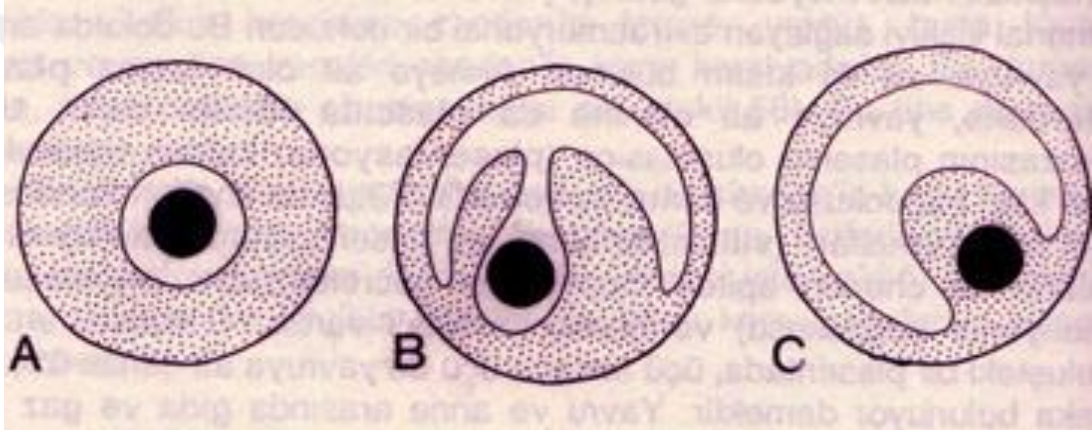
2.2.1. İmplantasyon Türleri

İmplantasyon maternal ve fetal yarımlarının bağlantı türüne göre üç tipe ayrılır (99).

Sentral tip implantasyon: Embriyo uterus boşluğunun merkezinde ve uterus mukozasıyla temas halindedir ancak gömülme yoktur. Tek tırnaklılarda, ruminantlarda, karnivorlarda, domuzda ve bazı tür maymunlarda görülür.

Ekzentrik tip implantasyon: Embriyonal dokular büyük oranda uterus mukozasına gömülmüştür. Kunduz ve sincaplarda görülür.

İnterstisiyel tip implantasyon: Embriyonal dokular tamamen uterus mukozasına gömülür ve embriyo uterus mukozası ile örtülür. İnsan, karnivor, kemirici ve bazı tür maymunlarda görülür (99).



Şekil 2.2. A) Sentral (süperfisial) tip implantasyon. B) Ekzentrik tip implantasyon. C) İnterstisiyel tip implantasyon (8).

2.2.2. İmplantasyonun Oluş Mekanizmaları

İmplantasyon esnasında, blastosist trofoblastları ile uterus epiteli arasında, diğer bir deyişle embriyo taslağı ile maternal doku arasında ileri derecede fizyolojik ve biyokimyasal etkileşmeler, yapısal farklılaşmalar gerçekleşir. Karşılıklı etkileşme hücresel, hormonal ve tanımlanamayan diğer faktörler düzeyinde olur. Bu süreç içine giren implantasyon olayı türden türe değişmektedir. Blastosist trofoblastı ile uterus epitelinin apikal sitoplazması arasında hücresel bir ilişkinin kurulmasıyla fiziksel etkileşme başlamış olur. Bu başlangıcın gerçekleşmesinde, tetikleyici bir etken olarak blastosist örtülerinin yapı düzeni, biyokimyasal içerikleri, birbirleriyle ve çevre ile etkileşimlerinin önemi büyüktür (36).

Apozisyon Faz: Appozisyon fazında, blastosist hareketsizdir. Trofoblast ve uterus epitel hücre membranları arasında ileri bir yaklaşma olur ve temas alanlarında, her iki implantif doku hücre apikal sitoplazmalarında bazı değişiklikler gözlenir. Kemirgenlerde bu tip yapılar yaygın olarak belirlenebilir (36).

Adezyon Faz: Blastosist örtülerinin erimesinden hemen sonra başlar ve embriyo-maternal ilişki gerçekleşir. Trofoblast ve uterinal epitel yüzeylerinde dejeneratif düzeyde ileri bir morfolojik değişim ve faaliyet olmadan blastosist uterus yüzeyine tutunur. Trofoblast ile uterus epiteli arasında gerçek düğüm şeklinde sitoplazmik köprüler kurulur (36).

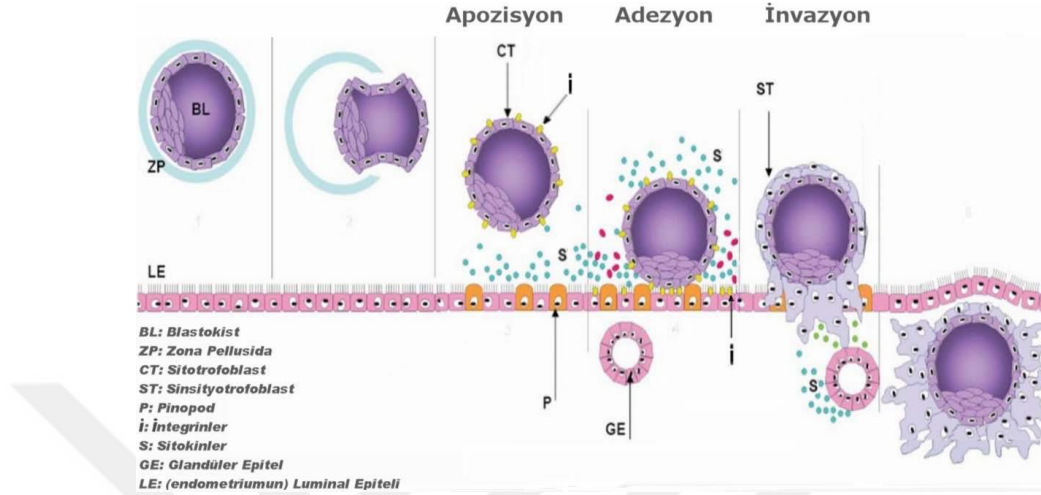
Penetrasyon ve İnvazyon Faz: Penetrasyon ve invazyon faz, memeli türüne göre değişebilir. Hormonal ve mekanik etkenler, genetik faktörler, desidual bariyer hazırlıkları trofoblasta karşı direncin ortadan kalkmasını sağlar. İmplantasyonun gerçekleşme sürecinde trofoblastın endometriyuma gömülmesi 3 şekilde olmaktadır (36).

Yer değiştirerek penetrasyon: Trofoblast için hedef nokta, uterus epitelini ortadan kaldırmak ve onun yerine geçmektir. Tipik olarak kemiricilerde gözlenir. Daha sonra bu hücreler dejenere olarak bazal laminadan ayrılır. Sonuç olarak bazal laminanın penetrasyonu, trofoblastın kendi penetratif aktivitesinden ziyade, alttaki desidual hücrelerce başlatılır (36).

Kaynaşarak penetrasyon: İnvaziv dokunun hedef noktası, sinsisyum aracılığı ile uterus duvarına kaynaşmaktır. Tutunan trofoblastın apikal plazma membranı, uterus epitel hücreleri apikal membranları ile kaynaşarak mikst bir sinsisyum oluştururlar ve hem maternal hem de trofoblast hücrelerden köken alırlar. Daha sonra sinsisyum, bazal lamina ve endometriyal bağ dokusuna aktif olarak penetre olur. İnsanda gerçekleşen implantasyon tipi bu tip olabilir (36).

Zorla Penetrasyon: Uterus epitel hücreleri ile sinsisyum uzantıları bağlantılar yaparak hücreler arası aralıklara girer ve epitel hücre aralıklarından oluşan bu yarıkları doldurur. Ayrıca trofoblast ve uterus epiteli arasında da yeni bağlantı kompleksleri oluşur. Bu tip implantasyon, endotelyokoriyal tip plasentasyonlarda çok derinleşmez fakat primatlarda ve insanda gözlenen hemokoriyal

plasantasyonlarda derinleşir ve bu implantasyon şekli insana özgü bir özellik kazanır (36).



Şekil 2.3. İmplantasyon aşamaları (64).

2.3. Östrus Siklusu ve İmplantasyon Esnasında Endometriyumun Özellikleri

İmplantasyon ve embriyonun gelişiminin gerçekleştiği uterus korpus, kornu ve serviks kısımlarından oluşur. Morfolojisi hayvan türlerine göre değişiklik gösteren uterus, kemirgenlerde gövde, iki kornu ve tek serviksten oluşan bir yapıdadır (97). İnsanlarda ise uterus armut şeklinde, kalın duvarlı, kaslı bir yapıya sahip olup, gövde ve serviksten ibarettir (89). Uterus duvarı, içten dışa doğru endometriyum, myometriyum ve perimetriyum katmanlarından meydana gelir. Endometriyum, biyokimyasal faktörlerin çoğunun üretildiği ve damarsal yapı olarak değişen derecelerde kanlanan karmaşık bir dokudur (11). Lamina epitelyalis tek katlı prizmatik epitel hücrelerinden oluşmaktadır. Buradan köken alan bezler lamina propriya ve submukozaya kadar uzanır. Lamina propriya ve submukoza gevşek bağ dokudan oluşmaktadır. Myometriyum, içte sisküler dışta longitudinal seyirli düz kas katmanıdır. Perimetriyum ise, peritonun visseral yaprağından oluşmuş ve bazal membran üzerinde oturmuş mezotel hücrelerinden ibarettir (97).

Sıçanlarda diöstrus başlangıcında uterus küçük ve inaktiftir. Kornular vaskülarizasyon açısından yetersizlik ve genellikle yarıklı şekilde lumene sahiptir.

Zaman zaman kübik ve silindirik şekilli olan epitel hücreleri dejenerasyon göstererek düzleşir. Başlangıçta çok az mitoz çok azdır ve bezler özellikle inaktif durumdadır. Bu fazın ilerlemesi ile beraber bezler aktifleşmeye başlar. Aynı zamanda fazın sonuna doğru endometriyum epiteline bitişik olan stromada hafif bir ödem görülebilir (131).

Proöstrus aşamasında, uterusun endometriyum katmanı epitel hücreleri kübik ve silindirik epitel hücrelerine dönüşmektedir. Endometriyumda vaskülarizasyon belirgindir ve stromada proöstrusun sonuna doğru lumenin önemli bir şekilde genişlemesiyle beraber bir miktar ödem görülebilir (131).

Östrus aşamasında endometriyum epitelindeki değişiklikler östrusun başladığını ifade eder. Önce bezlerdeki dejenerasyon alanları ortaya çıkar. Bunu epitelin incilmesi takip eder. Buna mitotik aktivitenin kaybolması ve lökosit infiltrasyonu eşlik eder. Lumen dilatasyonu her zaman geçerli olmamakla beraber östrusun geç safhasına kadar devam edebilir. Östrusun sona ermesiyle endometriyumun mitotik aktivitesi eski halini alır (131).

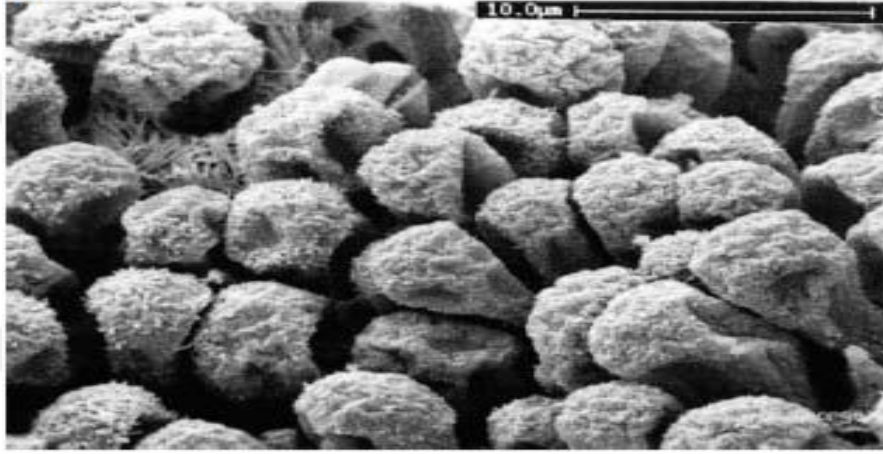
Metöstrus aşaması sırasında uterus endometriyum epitelinde devam eden vakuolar dejenerasyon görülür, fakat aynı zamanda mitotik aktivitede belirgin bir geri dönüş vardır. Değişken lökosit infiltrasyonu vardır (131).

İnsanda uterus siklusu esnasında, endometriyumda bir seri değişimler olur ve epitel altındaki lamina propria, desidua olarak bilinen yapısal bir dönüşümle en ileri özellikler gösterir. Ancak, bu süreçte uterus epiteli tüm özelliklerini korur. Desidua, uterus siklusunun sekresyon fazındaki ileri gelişme ve değişmelerin bir bütün olarak ifadesidir (36).

İmplantasyon periyodu esnasında endometriyum over kaynaklı steroidlerin etkisi altında morfolojik ve fonksiyonel olarak değişime uğrar ve blastosistin tutunmasına uygun hale gelir. Bununla beraber östrojen ve progesteron endometriyumun gelişiminde baskın hormonal düzenleyicilerdir. Progesteron tüm memelilerde implantasyon ve gebeliğin devamı için esastır, oysaki östrojen gereksinimi türlere göre farklılık gösterir (38). Preimplantasyonda östrojen artışı fare de esas iken over kaynaklı östrojen maymunların implantasyonunda zorunlu değildir

(46). Stroma ve epitel alanların östrojen ve progesteron reseptörlerinin mevcudiyetini gösteren çalışmalar, hormonların ve reseptörlerinin başarılı bir implantasyon için önemli olduğunu ortaya koymuştur (78, 81, 114).

Endometriyal kabul, progesteron etkisi altındaki lumen epitel hücrelerinin apikal mikrovilluslarının düzleşerek, onun yerine; bu süreç içinde oluşup sonra kaybolan yumuşak çıkıntılar olan “*pinopodlar*” tarafından sağlanmaktadır. Pinopodlar, implantasyon bölgesindeki endometriyal kavite sıvı konsantrasyonunu etkileyerek; gerekirse bir miktar emilimini sağlayarak blastosistin adezyon ve invazyon süreçlerine katkı sağlar (64).



Şekil 2.4. Pinopodlar (64).

İnsanda epitel hücrelerinin ince yapı düzeyinde oluşturdukları farklılıklar, döllenme anı ile implantasyon anı arasında geçen yaklaşık 6-7 günlük sürenin değişik zaman dilimlerindeki durumuna göre farklılıklar gösterir. Gebeliğin olmadığı durumlarda uterus epiteli, yüzeyindeki mikrovillusları, sitoplazmik elemanları ve komşu hücrelerle olan ilişkisi bakımından normal konumda olmasına karşın, preimplantasyon aşamasında uterus epitel yüzeyinde meydana gelen sitoplazmik çıkıntılar ve köprüler gebeliğin farkını ortaya koymaktadır. Benzer değişikliklerin uterus bezlerinin yapısında da görülmesi, gebelikte hormonal kontrolün üstünlüğünü işaret etmektedir (36).

2.4. İmplantasyon Esnasında Endometriyumda Gerçekleşen Moleküler Mekanizmalar

Gebelik esnasında uterusu etkili olan moleküller, sitokinler, büyüme faktörleri, adezyon molekülleri ve ekstrasellüler matriks komponentlerini içerirler (11).

Hücre Adezyon Molekülleri: Hücre yüzeyinde bulunurlar ve hücrelerin birbirleri ile ekstrasellüler matrikse bağlanmasını sağlayan moleküler proteinlerdir (10). Embriyogenez, hücre büyümesi, farklılaşması ve inflamasyon gibi olaylarda görev alırlar (51).

Musinler (MUC): Apozisyonda rol oynadıklarına inanılan (41) anti-adeziv etkili bir gruptur. Musin ailesinden olan MUC-1, implantasyon için uygun yer ve zamanı bulana kadar embriyoyu kovan bir moleküldür (48).

Sitokinler: İmplantasyon bölgesinde trofoblast farklılaşmasında rol oynarlar (11).

Heparin Bağlayan Epidermal Büyüme Faktörü (HB-EGF): Blastosist gelişmesini, zonanın delinmesini ve trofoblast büyümesini uyarır (41). Östrojen kontrolü altındaki fare endometriyum epiteli ve progesteronun kontrol ettiği stroma tarafından eksprese edilir. Östrojenin hücre çoğalmasındaki etkilerine aracılık eder (48).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF): Endotelial ve trofoblast hücre farklılaşması, çoğalma, migrasyon, invazyon, anjiogenezis ve vasküler endotelial hücre fonksiyonunun devamlılığını desteklemektir (130).

Transforming Büyüme Faktörü β (TGF- β): Büyüme faktörlerinden TGF- β , uterusu desidual stromal hücreler tarafından salgılanır. Metalloproteinaz doku inhibitörünü artırmak sureti ile trofoblastın total jelinolitik aktivitesini baskılayarak trofoblast invazyonunda etkili olduğu düşünülmektedir (48).

Siklooksijenazlar (COX): Prostaglandin sentezinin hız sınırlayıcı enzimleridir ve 3 izoformu vardır, COX-1, COX-2 ve COX-3 (125). Üretimine aracılık ettiği PG'ler yoluyla hücre çoğalması, farklılaşması ve bağışıklık fonksiyonlarına,

angiogenesis ve damar tonusu gibi damar fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde görevlidirler (130).

2.5. Desidualizasyon

İnsan ve fare gibi invaziv hemo-koryal ya da hemo-endotelyal plasentasyona sahip türlerde, uterus dokusunda gebeliğe bağlı meydana gelen en önemli histolojik değişimdir. Desidualizasyon sırasında endometriyumdaki fibroblast benzeri hücreler çoğalıp farklılaşarak desidual hücrelere dönüşürler ve oluşan bu yeni dokuya *desidua* adı verilir (55, 121). Desidua, gebelikte östrojen, progesteron ve muhtemelen korpus luteumdan salgılanan relaksin etkisiyle bir takım karakteristik yapısal değişiklikler gösterir (21). Bu süreçte stroma proliferer olur ve desidualizasyonun başladığı bu alanda primer desidual reaksiyon (PDR) şekillenir. Sonrasında implantasyon alanındaki uterus lumen epiteli apoptozise uğrar, embriyonun uterusu gömülmesi için lumen altındaki bazal membran dejenerer olur. Devam eden süreçte PDR alanı apoptozis geçirerek kaybolur ve implantasyon alanını çevreleyen sekonder desidual reaksiyon (SDR) gerçekleşir. Oluşan bu reaksiyon alanına da sekonder reaksiyon alanı adı verilir (32). İnsanda desidualizasyonun başlaması için konseptusun varlığı gerekli değil iken (67), farede blastosistin varlığı desidualizasyon için uyarıcıdır. İmplantate blastosisti çevreleyen stroma hücreleri, kapsamlı şekilde değişim ve farklılaşmaya uğrayarak, özelleşmiş hücre tipleri şeklinde *desidual hücreler* ismini alır (24). Bu değişim esnasında implantasyon yerinin etrafında bulunan bağ doku hücreleri, embriyonik beslenmeye kaynak oluşturmak için sinsisyotrofoblast tarafından kullanılmak üzere glikojen ve lipidleri depolarlar (90).

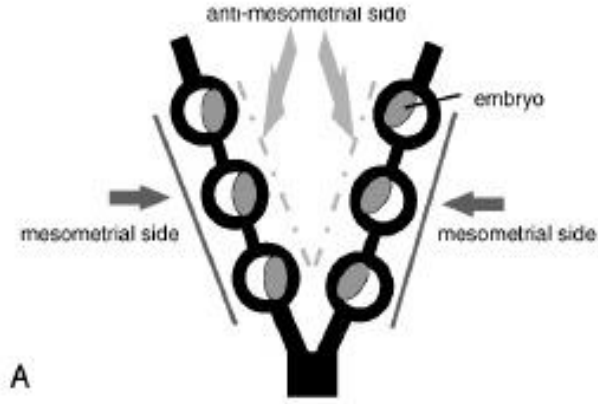
Foliküler faz etkisi altında bulunan endometriyumun fibronektin, tip I, III, V ve VI kollojen içeren ekstraselüler matriksi, desidualizasyon sırasında laminin, heparan sulfat, perlekan ve tip IV kollojen içeren desidua dokusuna dönüşür (50). Desidualizasyon sırasında uterusu ekstraselüler matriks yıkımı meydana gelir. Bu nedenle ekstraselüler matriks implantasyonda önemli bir rol oynar (79, 95). Desidualizasyon esnasında stromada meydana gelen farklılaşma ekstraselüler matriksdeki değişiklikler ile karakterizedir. Farelerde bu değişiklikler implantate olan blastosist ile tetiklenmektedir. İnsanlarda desidual farklılaşma, endometriyal siklusda progesteronun hakim olduğu luteal fazda ortaya çıkmaktadır (48).

Mikrofilament, mikrotubul ve intermedier filament gibi sitoplazmik yapılar hücre morfolojisi ve fonksiyonunda olduğu kadar desidua oluşumunda da önemlidir (6). Erken gebelik sürecinde desmin ve vimentin filamentlerinin hücre farklılaşmasına yönelik davranış gösterdikleri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (73).

Desidualizasyon esnasında, endometriyumda, uterus doğal katil (uNK) hücreleri başta olmak üzere birçok hücre tipinin sayı ve dağılımında değişimler meydana gelmektedir (72, 121). Trofoblastların desidua dokusuna yayılmasını ve yerleşmesini kolaylaştıran uNK hücrelerinin özellikle spiral arterlerin yakınında ve içinde yer aldığı ve salgılamış oldukları gama interferonun (IFN- γ), uterus spiral arterlerindeki değişimden ve gelişmekte olan fetusun ihtiyaç duyduğu kanın sağlanması amacı ile mezometriyal bölgedeki spiral arterlerin duvarında meydana gelen incelme ve dilatasyonlardan sorumlu olduğu bildirilmektedir (55, 121).

Fare ve sıçanda, uterus epitelinin apozisyon, adezyon ve penetrasyonu ile karakterize ekzentrik implantasyon 6. saatte tamamlanır. Zona pellisudanın kaybindan sonra, uterus lumeni, blastosistin üzerine yuvarlanarak kapanır ve apozisyon sonlanır (38). Blastosist, ICM ile uterusun antimezometriyal alanına bağlanır. Blastosist ile temas halinde olan epitel tabaka blastosist duvarındaki dev hücreler tarafından fagosite edilir ve epitelyal penetrasyon başlar. Trofoblast hücreleri uterus lumeninden geriye kalan bazal lamina boyunca penetre olurlar. Şekillenen desidua alanı içe doğru kıvrılarak blastosist için bir cep meydana getirir. Primer desidual alan, trofoblastların plasentayı oluşturmak üzere maternal kan damarları ile temasını başlatmak için farklılaşır ve bozulur (23, 76).

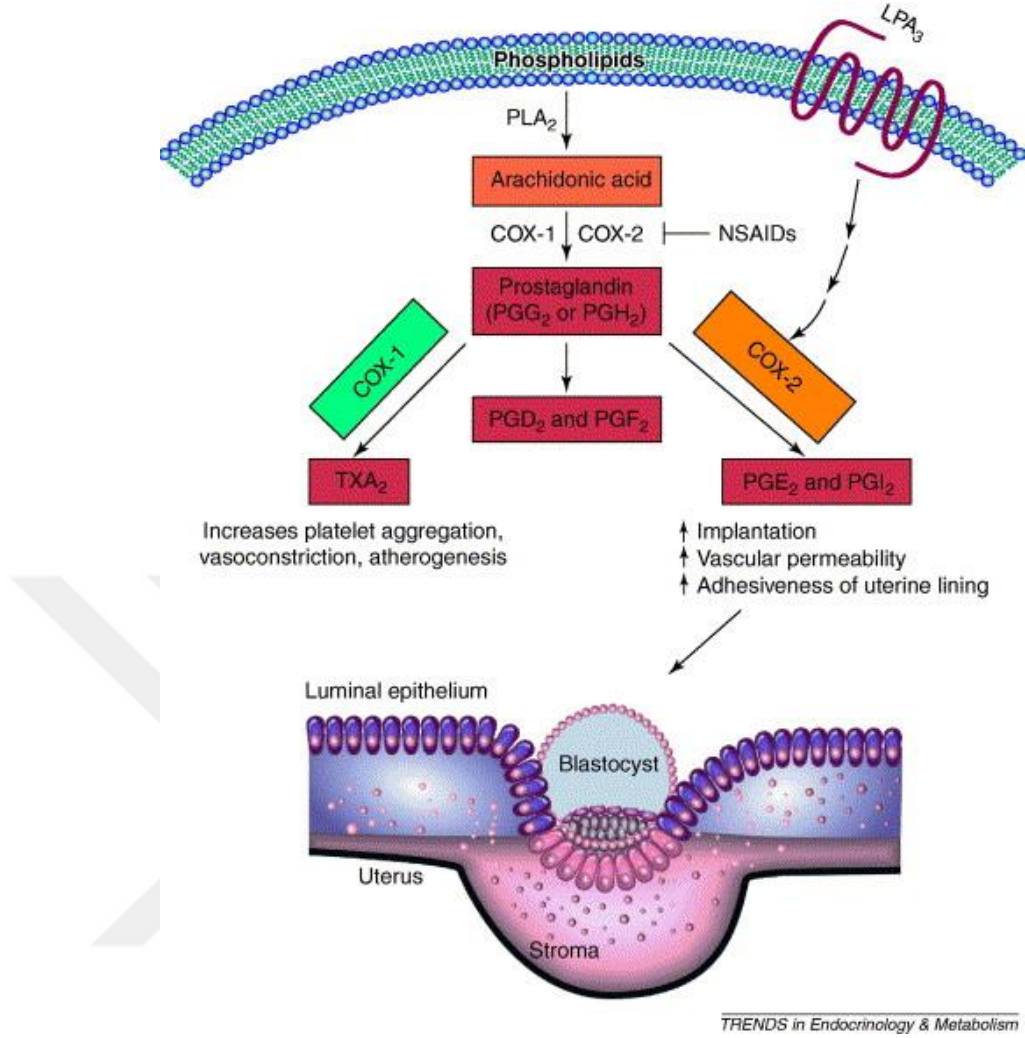
Kemiricilerde desidual endometriyum; bazal zon, kapsül, antimezometriyal desidua, mezometriyal desidua ve glikojenik bölge olmak üzere 5 farklı bölgeden meydana gelir. Sıçanlarda implantasyon ve desidualizasyon olayları, uterusun antimezometriyal bölgesinde özellikle primer desidual alanda gerçekleşmektedir (93, 73).



Şekil 2.5. Rat uterusunda embriyonal yerleşim bölgeleri (34).

2.6. Siklooksijenazlar (COX)

Siklooksijenazlar (COX), araşidonik asitten prostaglandin sentezlenmesinde rol onayan anahtar enzimlerdir (70). Bu reaksiyonda, moleküler oksijen araşidonik asitin içine katılır ve prostaglandin G₂ (PGG₂) adlı ara ürün oluşur. PGG₂, COX'un peroksidaz aktivitesi sayesinde hızlıca prostaglandin H₂ (PGH₂) ye dönüşür. Daha sonra, spesifik izomerazların etkisi ile PGH₂'yi farklı prostaglandinlere ve tromboksanlara dönüştürür. PGH₂'den dönüşen her maddenin kendine özgü önemli biyolojik aktiviteleri vardır (58).



Şekil 2.6. İmplantasyon esnasında COX-2 aktivitesi (19).

2.6.1. COX'ların Tarihçesi

PG'lerin keşfinden sonra, John Vane 1971 yılında yaptığı çalışmalar sonucunda COX enzimini ilk defa tanımlamış ve bu buluşu ile Nobel ödülü almıştır (7, 127). 1976 da ilk defa ayrıştırılmış ve 1988 yılında COX klonlanmıştır (37, 137, 128). 1991 yılında, ikinci bir gen tanımlanmış ve COX-2 olarak isimlendirilmiştir (128).

2.6.2. COX'ların Biyolojik Aktiviteleri

Araşidonik asit (AA), hücre membran fosfolipidlerinin hidrolizi sonucunda serbest hale geçen polidoymamış yağ asitidir (49). PG'lerin öncü ürünü olan AA, 20 karbonlu doymamış yağ asiti esteridir (58). Çeşitli faktörlerin etkisiyle aktif hale

geçen fosfolipaz A₂, membran fosfolipidlerinin hidrolizi sonucu araşidonik asitin salınımını sağlamaktadır (49). Serbest hale geçen AA bir sonraki adımda, COX enzimlerinin aktivasyonu ile spesifik PG'lere dönüşür (136).

Organizmanın fizyolojik ve birçok patofizyolojik durumunda, COX enzimi ile araşidonik asit metabolizması ve ürünlerinin etkinliği ile ilgili çok sayıda bilgi mevcuttur (70). Bu enzimin daha önceleri hücre membranına gömülü şekilde bulunduğu düşünülürken, aslında bu enzimin endoplazmik retikulum ve çekirdek membranında ve glikoprotein yapısında olduğu bildirilmiştir. Ayrıca COX enziminin farklı formlarının (COX 1, 2, 3) var olduğu ve bu farklı izoformların fizyolojik olarak farklı görevler üstlendiği bildirilmiştir (118, 125).

COX-1; birçok dokuda ekspre edilen bir enzim olarak bilinmekte ve organizmanın normal fizyolojik fonksiyonları için PG'lerin sentezinde yer alan kurucu bir izoform olduğu düşünülmektedir (14).

COX-2'nin ekspresyonunun, inflamatuvar uyarı ya da sitokinaz/growth faktör (14), mitojenler ve tümör destekleyiciler tarafından farklı indüklendiği bildirilmektedir. COX-2 ağırlıklı olarak endoplazmik retikulumda ve çekirdek zarında lokalizedir; böylece üretiminden sorumlu olduğu PG'ler iki farklı reseptör sinyalizasyonu aracılığı ile faaliyet gösterebilmektedir. Endoplazmik retikulumdan üretilen PG'ler hücre zarına doğru salınarak hücre membranındaki G proteine bağlı reseptörleri etkilemektedir. PGI₂ için inositol fosfat (IP) ilgili hücre yüzey reseptörüdür. Çekirdek zarında üretilen PG'ler ise etkilerini Peroksizom proliferatör-aktive reseptör (PPAR)'ler yoluyla göstermektedir ve PPAR'lar çekirdek hormon reseptör süper ailesinin üyeleridir (130).

Yapılan ilk çalışmalarda, COX-2'nin sadece inflamasyon alanlarında uyarıyla sentezlenen bir enzim olduğu düşünülürken, daha sonraki çalışmalar normal şartlarda da dokularda eksprese edildiğini ve önemli rollerinin olduğunu ortaya koymuştur. COX-2'nin; bazı beyin ve sinir fonksiyonlarının düzenlenmesinde, gastrointestinal mukozanın korunmasında, uterus, over fonksiyonlarında, normal doğum fizyolojisinde, kemik yapım ya da yıkım sürecinde, Alzheimer hastalığında,

inflamasyon ağrı gelişiminde (63, 119) ve böbrek fizyolojisinde oldukça önemli rolleri olduğu bildirilmiştir (70).

COX-3 enziminin ise COX-1'in bir varyantı olduğu ve aynı genenden elde edildiği belirtilmiştir. COX-3'ün önemini, parasetamol ve diğer antipiretik analjezik ilaçların farmakolojik etkileri açıklayabilmektedir (16, 87).

2.6.3. COX'ların Genetik Yapıları

COX-1 ve COX-2 boyut (70 ve 72 kDa) ve protein seviyelerinde önemli benzerlikler gösterir, amino asit dizilişleri %60 aynıdır, yapısal ve fonksiyonel etki alanları yüksek şekilde korunmuştur. Buna rağmen, iki izoform, farklı kromozomlar üzerine oturmuş farklı genlerle kodlanır ve mRNA'ları farklı boyuttadır (14, 56, 115). Yetişkin memelilerde COX-1 ve COX-2 sırasıyla 576 ve 587 amino asitten oluşmaktadır (49, 92). Amino asit dizilimindeki farklılıklardan dolayı COX-2 enziminin aktif bölgesi COX-1'den %20 daha büyüktür (49, 45).

2.7. Gebeliğin Erken Dönemlerinde COX-2'nin Rolü

Prostaglandin sentezinde hız sınırlayıcı bir enzim olarak tanımlanan COX-2, araşidonik asitin PGH₂'ye dönüşümüne aracılık eder. PGH₂ de spesifik enzimler tarafından, PGF₂, PGD₂, PGE₂ ve PGI₂'ye dönüştürülür. PG'ler hücre çoğalması, farklılaşması ve bağışıklık fonksiyonlarına ilaveten anjiogenezis ve damar tonusu gibi damar fizyolojik fonksiyonları da düzenlemektedir (130). İmplantasyonun ilk fark edilebilir işaretlerinden biri, desidual hücre reaksiyonunun başlangıcında ve blastosist apozisyon alanında endometriyal permeabilitede artıştır (29, 103). Birçok çalışma, embriyonun gelişim sürecinde, COX-2 kaynaklı PG'lerin etkili olduğunu göstermiştir. İmplantasyonun penetrasyon fazında, implantasyon alanı çevresinde vasküler değişimler meydana gelmektedir ve endometriyal anjiogenezis ile damar geçirgenliğinde artış gözlemlenmektedir. Vasküler fizyolojinin düzenlenmesinde COX-2 katalizörlerinin rol oynadığı, bu nedenle COX-2 sinyal yolunun erken gebeliğin devamı için önemli olduğu bildirilmektedir (130).

Endometriyumun normal periyodunda, COX-2 ekspresyonu, menstrual siklus esnasında östrojen ve progesteron seviyelerine göre değişiklik gösterir (82). Östrojen

COX-2 ekspresyonunu uyardırma etkilidir (20). Progesteron ise gecikmiş luteal faz esnasında bez epitellerinde COX-2 ekspresyonu azaltarak ters etki gösterir (82, 124).

COX-2 kaynaklı PG'lerin implantasyona ilişkin rollerini araştıran çalışmalar sonunda:

Prostaglandin E₂ (PGE₂) ve prostaglandin I₂'nin, endometriyal vasküler permeabilite ve desidulizasyonda etkili olabileceği (29, 53, 66, 68, 69), embriyonun implantasyonundan önceki periyotta artarak desidua bazalisin gerilemesinde rol oynayabileceği ortaya konulmuş ve PGE₂ ve PGI₂'nin desidualizasyondaki önemi vurgulanmıştır (120).

Prostaglandin F₂ (PGF₂) prostaglandin F₂ sentazın etkinliği ile sentezlenir. F serisi PG'lerden PGF_{2 α} , gebelikte uterus düz kaslarının kasılmasını sağlamaktadır. Örneğin keçi ve koyunlarda, gebelik döneminin başlangıcında PGF_{2 α} 'nın uterus ve plasentada salınımı azdır. Doğum sancılarının başlaması ve hormon düzeylerinin değişimiyle birlikte PGF_{2 α} 'nın salınımının artması ile uterus düz kaslarının kasılması sağlanmaktadır. Gebeliğin olmadığı durumlarda PGF_{2 α} korpus luteum üzerinde gerileme etkisi göstermektedir. Ayrıca koitus sonrası uterusu oluşturduğu kas kasılmasıyla spermatozoonların tubaya taşınması ve tuba uterinalardaki düz kasların kasılmasını sağlayarak da embriyonun uterus içine ulaşmasını sağladığı düşünölmektedir (136).

Erken gebelik esnasında fare uterusunda, COX-1'in; lumen epiteli ve subepitelyal stromal hücrelerde implantasyondan önce mevcut olduğu oysa COX-2'nin embriyonun yapışma anında implante olmuş blastosisti çevreleyen bölgede lokal olarak ekspre edildiği bildirilmiştir (25, 29).

alışmalar COX-1'in doğum esnasında da önemli rol oynadığını, COX-2'nin ise ovulasyon, fertilizasyon, implantasyon ve desidualizasyon esnasında önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu olgu, nakavt edilmiş gen çalışmaları tarafından desteklenmiş ve COX-1'i baskılanmış dişi farelerin, spesifik doğum defektleri ile fertil olduğu, ancak COX-2'si baskılanmış dişilerin, ovulasyon, fertilizasyon, implantasyon ve desidualizasyonda anomaliler ile infertil olduğu belirtilmiştir. Ovulasyon ve implantasyon süreçlerinin, proinflatuar

yanıtları benzer niteliktedir; bu süreçlerde PG'lerin ilişkisi uzun zaman tartışmalı olmuştur (120). Örneğin, PGE₁, PGE₂ ve PGF_{2α} uterusda, PGF₁ ve PGF₂ tuba uterina düz kaslarında kasılma neden olurken, PGE₁ ve PGE₂ tuba uterinanın etkinliğinin azalmasına neden olmaktadır. Bu etkilerinden dolayı uterustan emilen prostaglandinlerin spermatozoonların uterus ve tuba uterinaya geçmesini ve yumurtanın döl lenmesini kolaylaştırdığı sanılmaktadır (136).

Memelilerde (insanlarda), blastosist implantasyonu için gerekli dört biyolojik makromolekülden birisi olarak gösterilen COX-2'nin, implantasyondan sonra penetrasyon evresinde de kritik rolünün olduğu bildirilmiştir (130).

2.8. Heparin

Sülfatlanmış polisakkarid ve glukozaminoglikan olan heparin, sığı r akciğerlerinden ve domuzların ince bağırsak mukozasından ekstraksiyon ve saflaştırma ile elde edilmiş olup, 20. yüzyılın başlarından itibaren venöz tromboemboli ve akut koroner hastalıkların tedavisinde trombin ve bazı pıhtılaşı ma faktörlerini baskılayarak antikoagulan etki gösteren bir moleküldür.

Mast hücrelerinin salgıladığı heparin, ilaç olarak kullanılanlara göre daha büyük moleküldür. İlaç olarak hazırlanan heparin, ekstraksiyon sırasında glukozaminoglikan zincirlerinin kırılmaları sonucu oluşan 5000 ile 30000 dalton arasında değişen heparin fragmentlerinin heterojen bir karışımıdır. Heparin güçlü bir anyonik maddedir ve vücutta oluşan en asidik madde olarak nitelendirilebilir. Heparin preperatlarının etkinliği, elde edildiği kaynağa ve içeriğinde bulunan öğelerin molekül ağırlığına göre farklılık gösterir.

Heparin, inaktif durumda bulunan ve karaciğer K vitaminine bağımlı olarak sentez edilen antitrombin III'ü aktif hale getirerek antikoagulant etki gösterir (65).

2.8.1. Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin

Düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH)'ler; standart heparinin yararlılığını artırmak ve sakıncalarını azaltmak amacıyla standart heparin içindeki polisakkarid molekülünün depolimerizasyon yöntemiyle parçalanması sonucu veya standart

heparinin fraksiyonlanması suretiyle oluşturulan kısa fragmentlerin (molekül ağırlığı 500-8000 dalton veya daha az) bir karışımıdır (65).

Düşük molekül ağırlığından dolayı plazma proteinlerine ve hücrelere daha az bağlanırlar. Fraksiyone olamayan heparin gibi faktör Xa'yı inaktive eder ve plazma proteinlerine daha az bağlandığı için daha düşük dozda daha belirgin etki gösterirler (30).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarından temin edilen, her grupta 6 adet olmak üzere toplam 60 adet (yaklaşık 180-200 gr ağırlığında, 10-12 haftalık) yetişkin Wistar albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Çalışma süresince sıçanlar, ayrı kabinlerde standart yem ile su verilerek, 21C°de, %55 nem oranında ve 12 saat karanlık/aydınlık olacak şekilde tutuldu. Vajinal smear ile östrus evresinde oldukları belirlenen dişi sıçanlar, 1 gece erkek sıçanlar ile (2 dişi/1 erkek) birlikte bırakıldı. Ertesi sabah tekrar vajinal smearde sperme rastlanan dişi sıçanlar gebeliğin 0. günü olarak kabul edildi. Gebeliğin 0. gününden itibaren her gün gebe sıçanlara 50 IU/kg enoxaparin sodyum (4000 anti-Xa) (1), intraperitoneal olarak enjekte edilerek bu sıçanlar Heparin uygulanan gruba dahil edildi. Gebeliğin 0, 1, 3, 5 ve 7. günlerini dolduran gruplardaki sıçanlar rompun (5mg/kg) ve ketamin (60mg/kg) kombinasyonu ile genel anestezi altında servikal dislokasyon ile ötenazi uygulanarak anterior abdominal duvar açılıp uterus dokuları alındı. İmmunohistokimyasal analizler için alınan uterus dokuları trimlenerek fikzasyon için %10 formaldehit solüsyonu içine konuldu. Alınan örneklerde immunohistokimyasal prosedür uygulanarak COX-2 immunlokalizasyonları belirlendi. Çalışmada kullanılan sıçanlar aşağıdaki tabloda olduğu gibi deney gruplarına dahil edildi.

Tablo 3.1. Deney grupları.

Deney Grupları	
Grup I	Gebeliğin 0. günü heparin uygulanan grup
Grup II	Gebeliğin 0. günü kontrol grup
Grup III	Gebeliğin 1. günü heparin uygulanan grup
Grup IV	Gebeliğin 1. günü kontrol grup
Grup V	Gebeliğin 3. günü heparin uygulanan grup
Grup VI	Gebeliğin 3. günü kontrol grup
Grup VII	Gebeliğin 5. günü heparin uygulanan grup
Grup IX	Gebeliğin 5. günü kontrol grup
Grup XI	Gebeliğin 7. günü heparin uygulanan grup
Grup X	Gebeliğin 7. günü kontrol grup

3.1. İmmunohistokimyasal Prosedür

Gruplara ait sıçanlardan alınan uterus doku örnekleri %10 formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra ışık mikroskopik takip yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. 5µm kalınlığında alınan kesitler dehidrasyon için alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra kesitler, antijen maskelenmesini ortadan kaldırmak için ısıya dayanıklı kap içerisinde üzerini kaplayacak kadar 0,01M sitrat tamponu (ph:6) eklenerek mikrodalga fırında (750 W) 2 kez, 5'er dakika işleme tutuldu. Daha sonra kesitler oda ısısında (20 dk) soğutuldu. Kalem ile sınırlandırılan kesitler, PBS+%0,2 Tween 20 solüsyonu ve distile su ile yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, oda ısısında ve nemli ortamda, %3'lük H₂O₂ solüsyonunda (25dk) bekletildi. Tekrar fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS)+%0,2 Tween 20 solüsyonu ile yıkandı. Daha sonra kesitler, 1/100µ oranında dilüe edilen primer mouse monoclonal COX-2 antikorları ile +4C°de nemli ortamda bir gece bekletilerek inkübasyonu sağlandı. Negatif kontroller, primer antikorun işlemlerden çıkarılması ile elde edildi. Ertesi sabah dokular PBS+%0,1 Tween 20 solüsyonu ile yıkandıktan sonra Biotinle konjuge universal LSAB Kit'inde oda ısısında nemli ortamda (30dk) tutuldu. Tekrar PBS+%0,1 Tween 20 solüsyonu ile yıkandıktan sonra oda sıcaklığında ve nemli ortamda HRP solüsyonunda (30dk) bekletildi. Uygulama sonrasında kesitler PBS+%0,1 Tween 20 solüsyonu ile yıkandı ve akabinde mikroskop altında DAB kromojeni uygulandı. Daha sonra kesitler distile suda (5dk) yıkandı ve Hematoksilen (4dk) ile zıt boyama yapıldı ve alkol serilerinden geçirildikten sonra kapatıldı. Elde edilen preparatlar Nikon E 600 ışık mikroskobu ile görüntülenerek gruplara ait doku örnekleri immunboyanma şiddeti açısından semiquantitatif olarak skorlandı.

3.2. İmmunohistokimyasal Prosedürde Kullanılan Kimyasal Çözelti ve Malzemeler

Tablo 3.2. İmmunohistokimyasal prosedürde kullanılan malzemeler.

Kimyasal Malzemenin Adı	Markası	Kodu
Peroxidase-Blocking Solution	Dako REAL™	S2023
Protein Block Serum-Free Ready-To-Use	Dako	X0909
COX-2 (D-5) Mouse Monoclonal IgM	Santa Cruz Biotechnology	Sc-514489
Biotinlated Link Streptavidin-HRP	Dako	K0609
DAP+ Chromogen DAP+ Substrate	Dako	K3468

Tablo 3.3. 0,01 M Sitrata Tampon Solüsyonu (500ml için)

Kimyasal Malzemenin Adı	Miktarı
Citric asit	0,96 gr
Distile su	500ml
10N NaOH	Ph:6 olana kadar eklenir.

Tablo 3.4. Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS) (1000ml için)

Kimyasal Malzemenin Adı	Miktarı
Na₂HPO₄	1,48gr
KH₂PO₄	0,43
NaCl	7,2gr
Distile su	1000ml

Tablo 3.5. PBS+ %0,2 Tween 20 solüsyonu (500ml için)

Kimyasal Malzemenin Adı	Miktarı
PBS	500ml
Tween 20	0,5ml

Tablo 3.6. PBS+%0,1 Tween 20 solüsyonu (500ml için)

Kimyasal Malzemenin Adı	Miktarı
PBS	500ml
Tween 20	0,25ml

4. BULGULAR

Yapılan çalışmada, gebelik süresi boyunca heparin enjekte edilen ve edilmeyen sıçanlarda, gebeliğin 0, 1, 3, 5 ve 7. günlerinde alınan uterus doku kesitlerinde COX-2 proteinlerinin dokudaki immunlokalizasyonları belirlenerek Nikon E-600 ışık mikroskop ile farklı gözlemciler tarafından değerlendirildi ve boyanma şiddeti açısından semiquantitatif olarak skorlandı. Bu skorlanmada boyanma şiddetleri; - (boyama yok), + (zayıf), ++ (orta) ve +++ (güçlü) olarak derecelendirildi, Tablo 4.1. ve 4.2.'de özetlendi. Çalışma gruplarının günlerine ait boyanma örnekleri Şekil 4.1.- 4.20. arasında gösterildi. Gebelik günlerine ait alan isimlendirmeleri Öner H ve arkadaşlarının (94) daha önce yaptıkları çalışma referans alınarak yapıldı.

COX-2 İmmunlokalizasyonu

0.Gün: Endometriyum ve myometriyum normal yapıda gözlendi. Her iki grupta endometriyumda COX-2 immunlokalizasyonu lumen ve bez epitel hücrelerinin sitoplazmalarında, az sayıda subepitelyal ve endometriyal stromal hücrede, myometriyum ve kapiller duvarında orta şiddette (++) gözlendi. Gebeliğin 5. gününe kadar desidual reaksiyon alanı oluşmamıştı (Şekil 4.1., 4.2., 4.11., 4.12.).

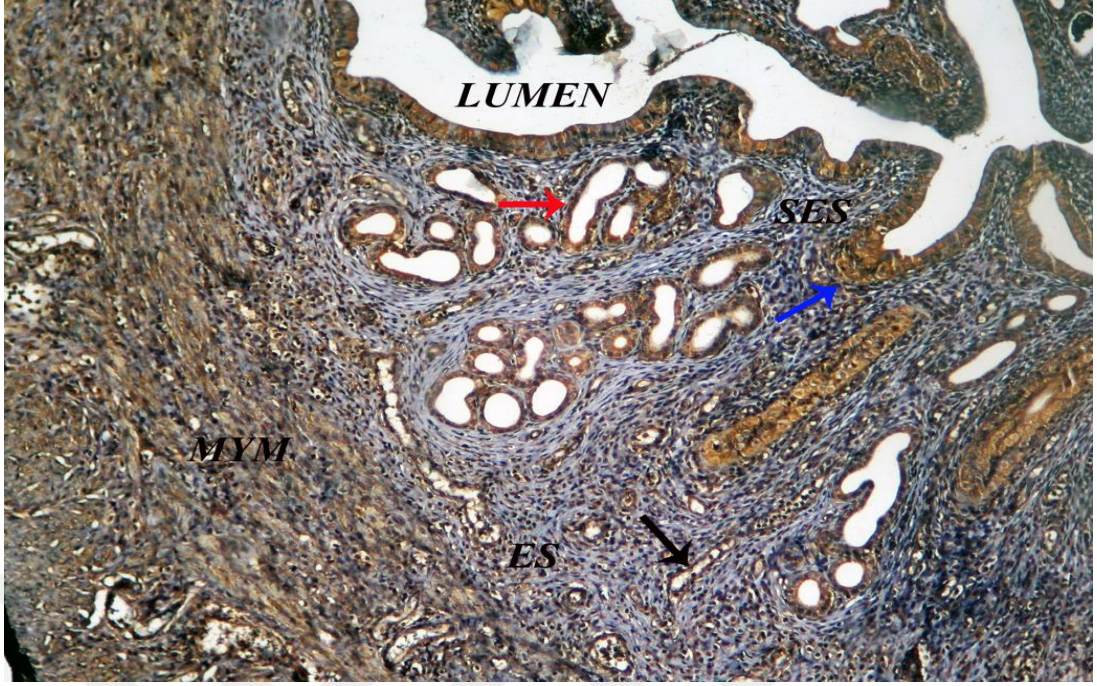
1.Gün: Gebeliğin 1. gününde uterusun mikroskobik yapısı ve COX-2 immunreaksiyon alanları 0. gün ile benzerlik taşımakta idi. Subepitelyal ve endometriyal stromada COX-2 pozitif reaksiyon gösteren hücre sayısında artış mevcuttu (Şekil 4.3., 4.4., 4.13., 4.14.).

3.Gün: Gebeliğin 3. gününden itibaren kontrol ve heparin enjekte edilen gruplarda lumen ve bez epitel hücrelerinde ve myometriyumda COX-2 immunreaksiyonunun şiddetlendiği (+++) gözlendi. Subepitelyal ve endometriyal stromada ve kapiller duvardaki COX-2 immunreaksiyonu 1. gün ile benzerlik göstermekte idi (Şekil 4.5., 4.6, 4.15, 4.16).

5.Gün: En belirgin yapısal değişiklik bezlerin sayılarının oldukça azalmış, kapillerlerin miktarının ise artmış olduğu idi. İmplantasyonun ilk belirleyici işaretlerinden biri olan desidual reaksiyon alanı, primer desidual reaksiyon alanı

(PDR) şeklinde doğru lumen epitelinin altında yayılmış, ancak lumen epitelinden stromaya doğru dar bir alanda gözlenmeye başlamıştı. COX-2 immunreaktivitesi her iki grupta da lumen ve bez epiteli, kapillerler, PDR ve bu alanın dışındaki endometriyal stromal alanlardaki hücrelerde ve myometriyumda güçlü (+++) şekilde gözlemlendi (Şekil 4.7., 4.8, 4.17, 4.18.)

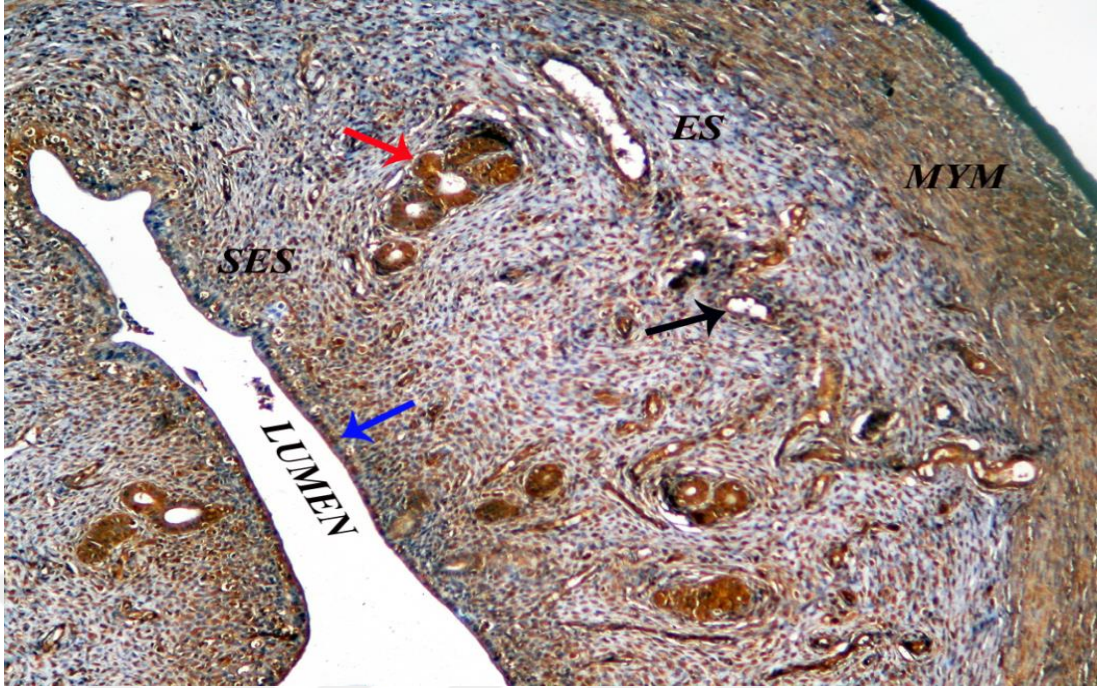
7.Gün: Uterus lumeni iyice küçülmüş, endometriyal stromadaki hücreler tamamen desidua hücrelerine dönüşmüş, kapillerlerin yoğun olduğu PDR alanının dışında mezometriyal alana doğru sekonder desidual reaksiyon alanı (SDR) belirginleşmişti. Bezler oldukça küçük ve myometriyuma yakın yerleşimde idi. COX-2 immunreaktivitesi PDR alanına göre SDR alanında daha yoğundu. Her 2 grupta immunreaktivite alanlarında boyanma şiddeti güçlü (+++) idi (Şekil 4.9., 4.10., 4.19., 4.20.).



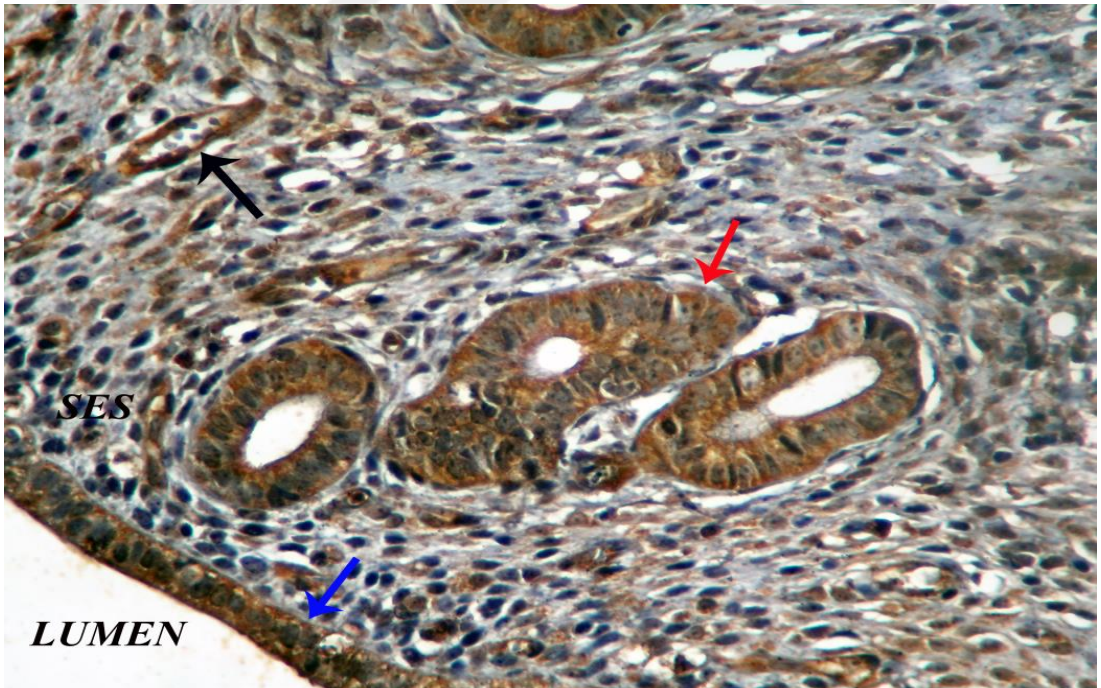
Şekil 4.1. Kontrol grubunda gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



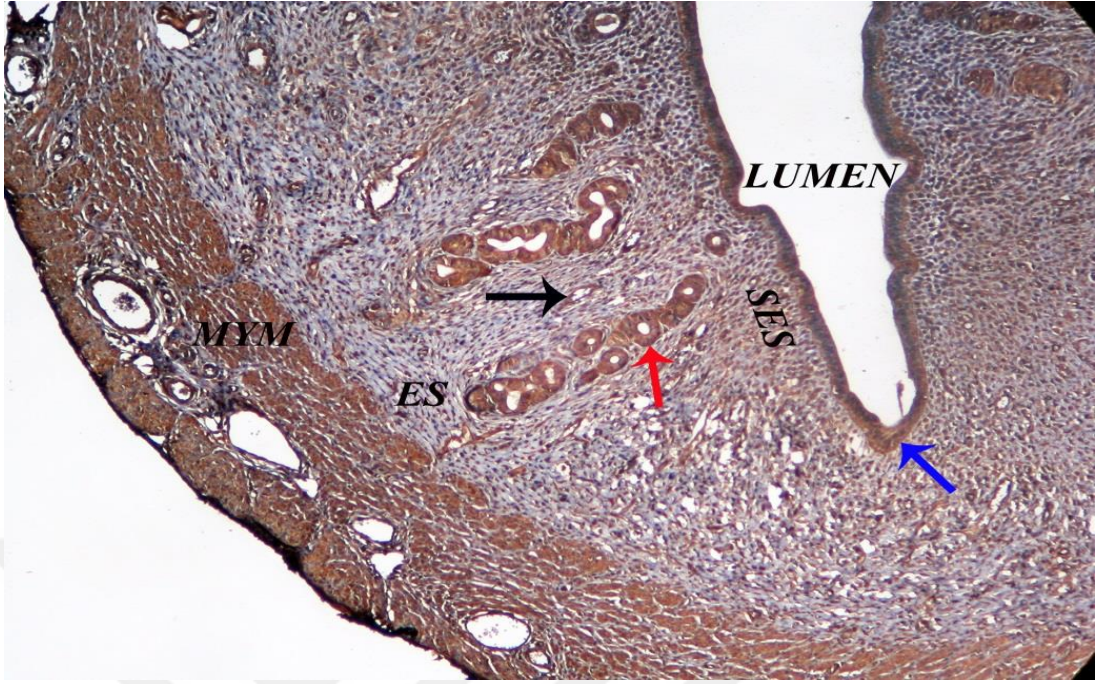
Şekil 4.2. Kontrol grubunda gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



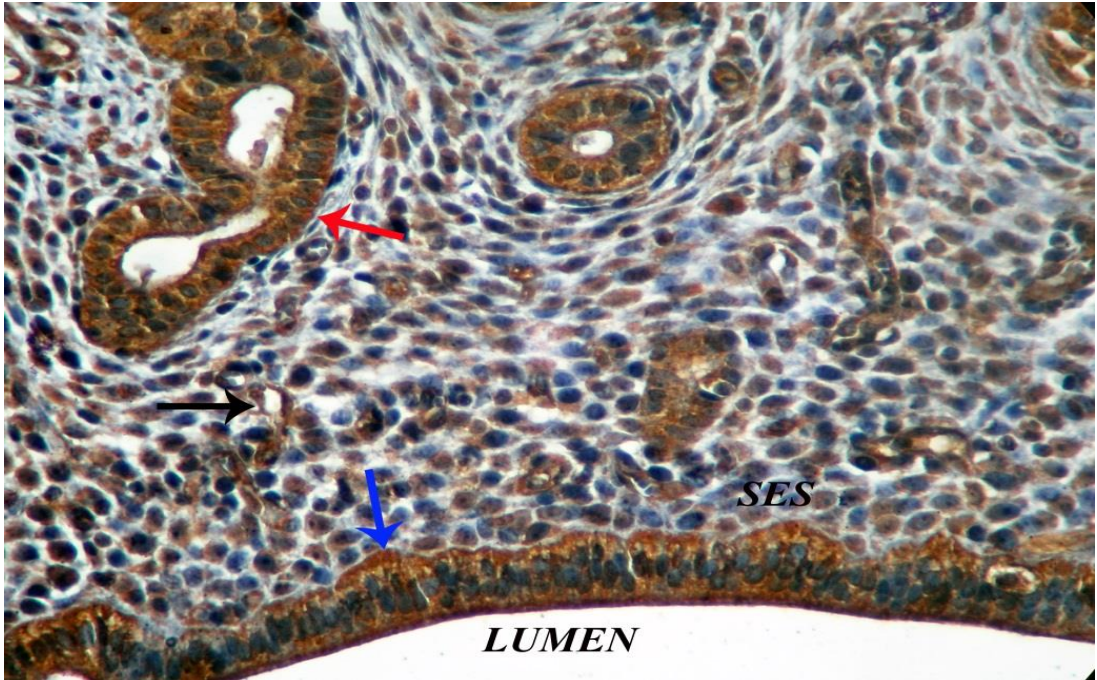
Şekil 4.3. Kontrol grubunda gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



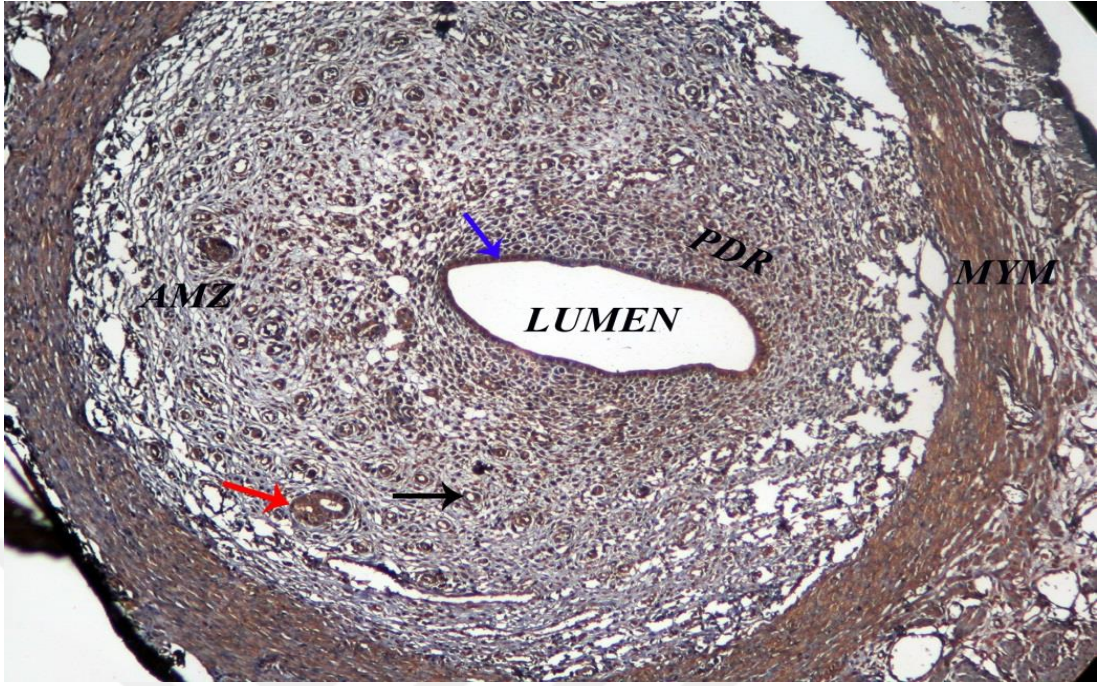
Şekil 4.4. Kontrol grubunda gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



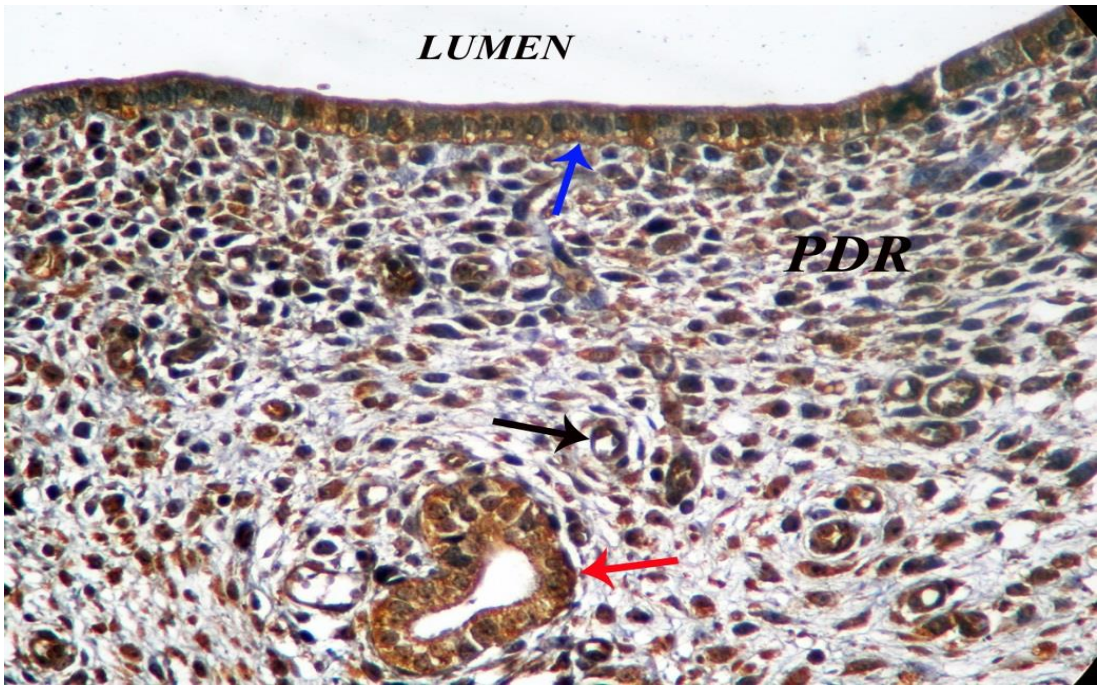
Şekil 4.5. Kontrol grubunda gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



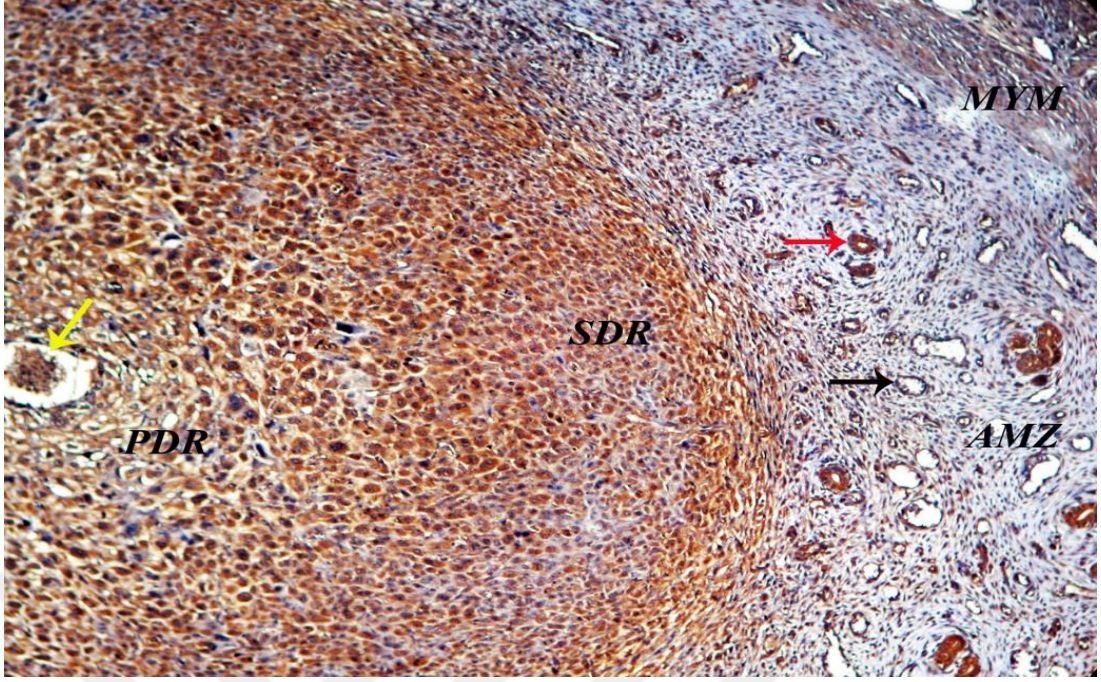
Şekil 4.6. Kontrol grubunda gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



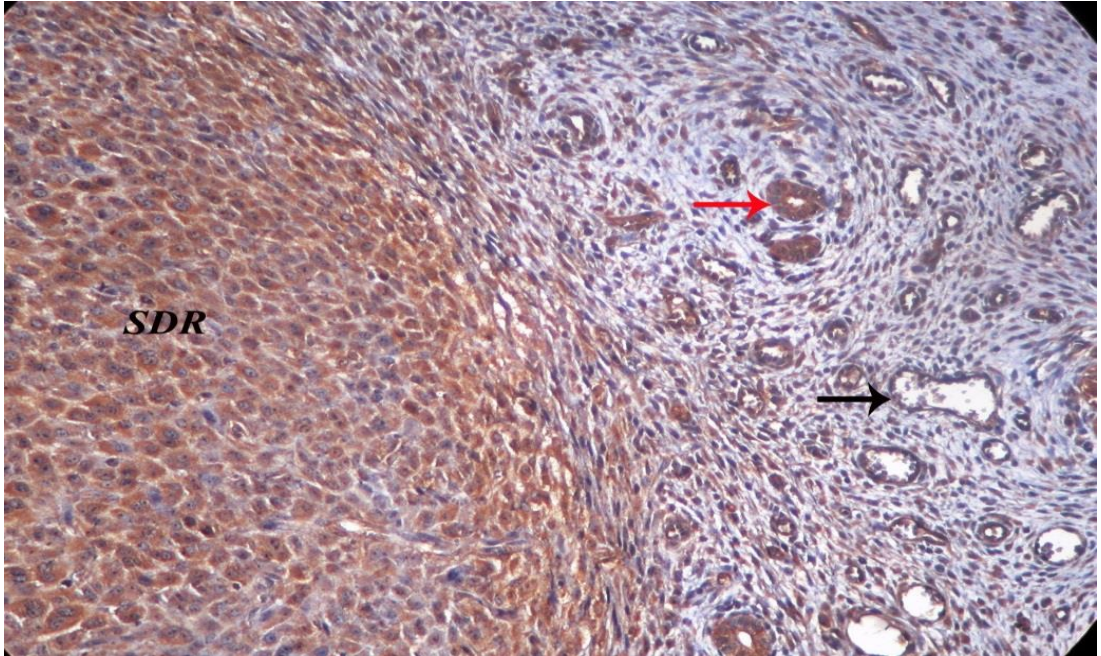
Şekil 4.7. Kontrol grubunda gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; AMZ: Antimezometriyal Alan; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



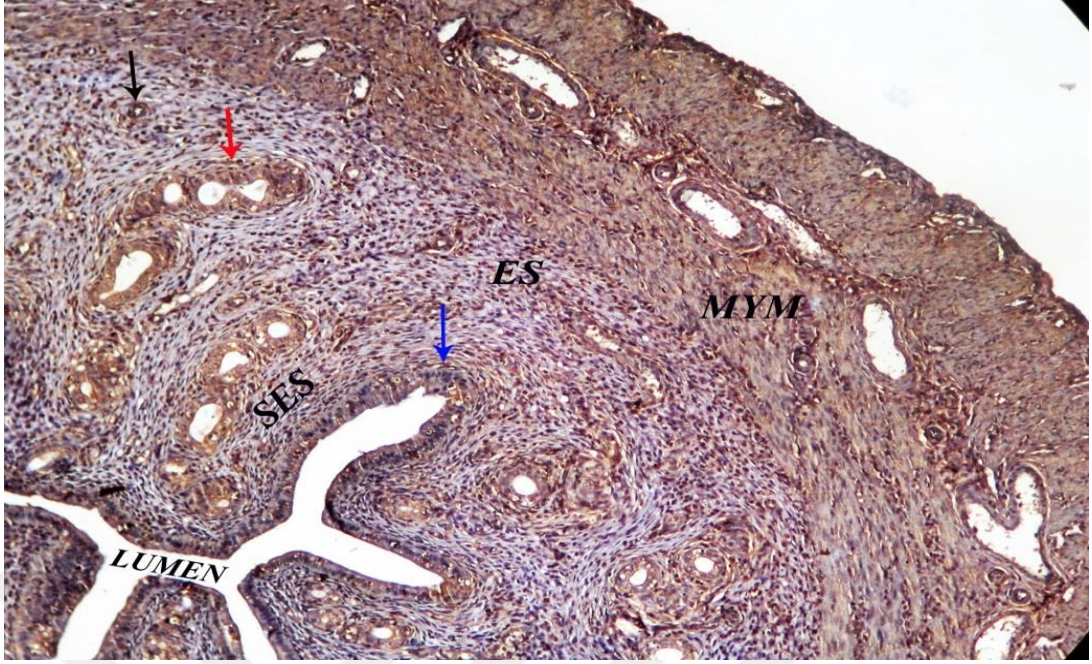
Şekil 4.8. Kontrol grubunda gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



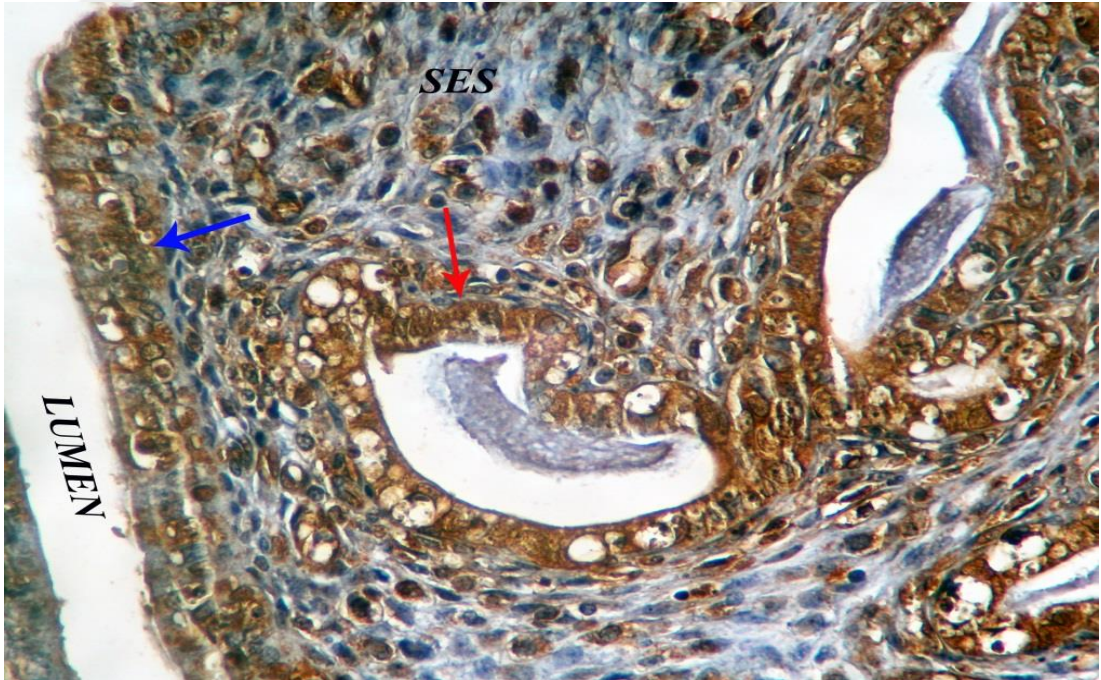
Şekil 4.9. Kontrol grubunda gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. AMZ: Antimezometrial Alan, PDR: Primer Desidual Reaksiyon, SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; MYM: Myometriyum; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller; sarı ok: Embriyo. X100.



Şekil 4.10. Kontrol grubunda gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X200.



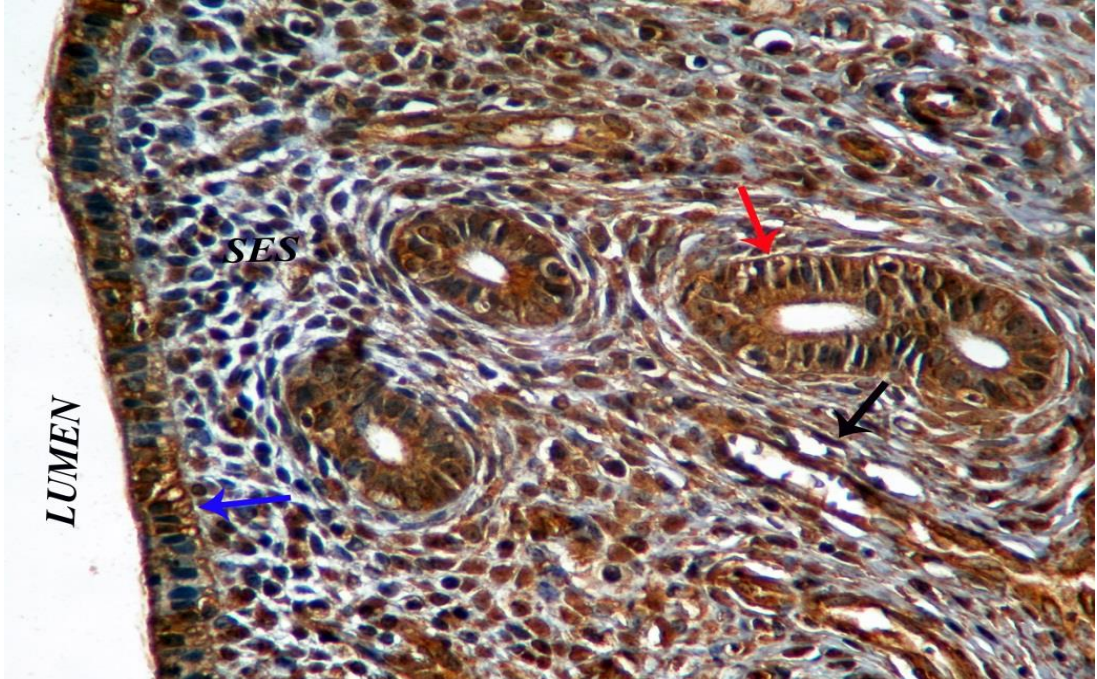
Şekil 4.11. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



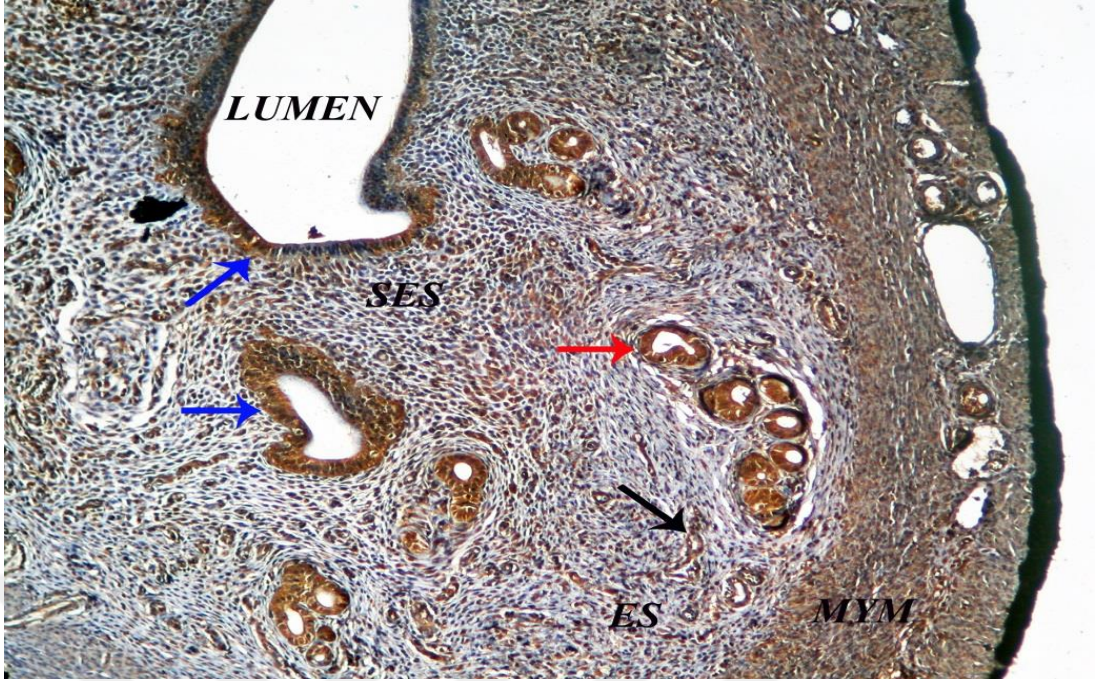
Şekil 4.12. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli. X400.



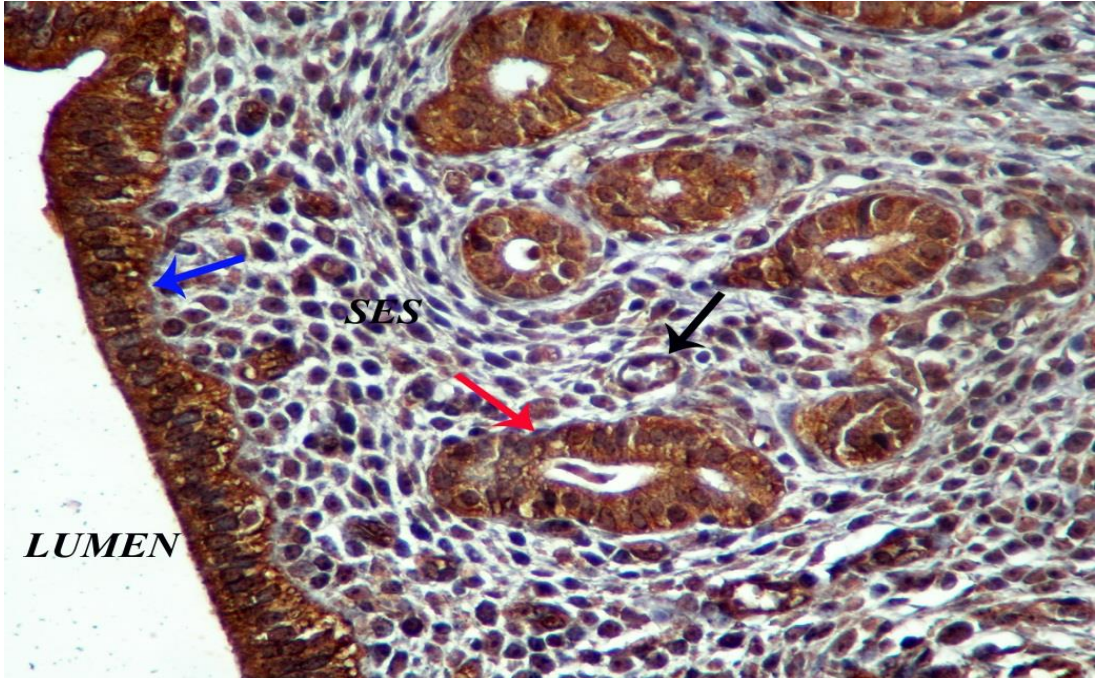
Şekil 4.13. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



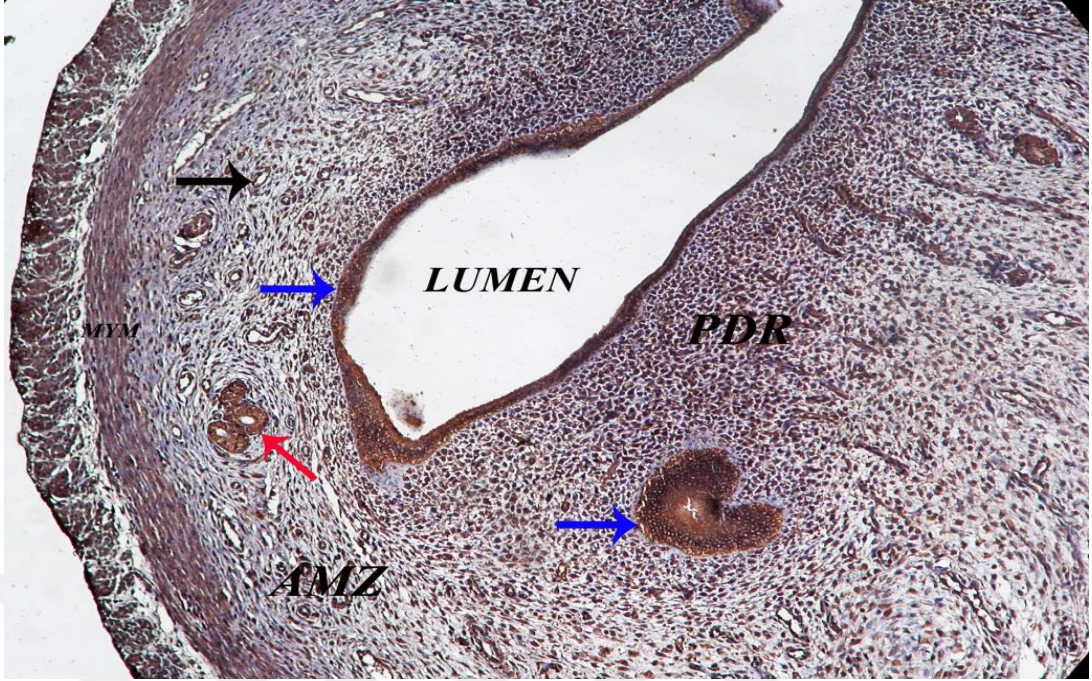
Şekil 4.14. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



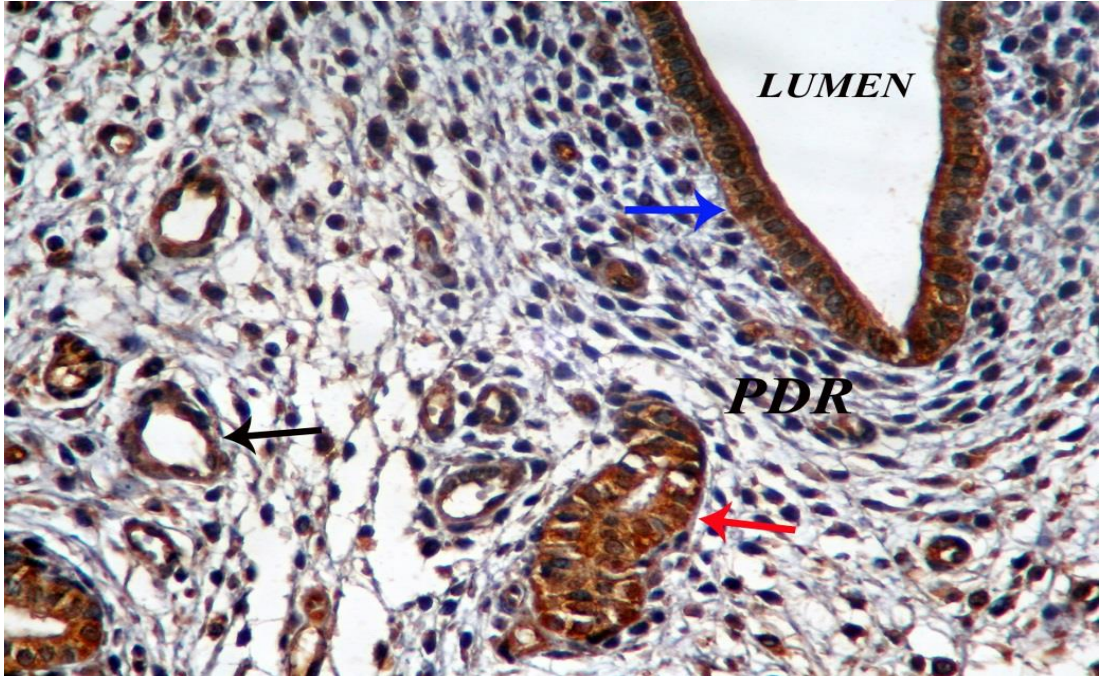
Şekil 4.15. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



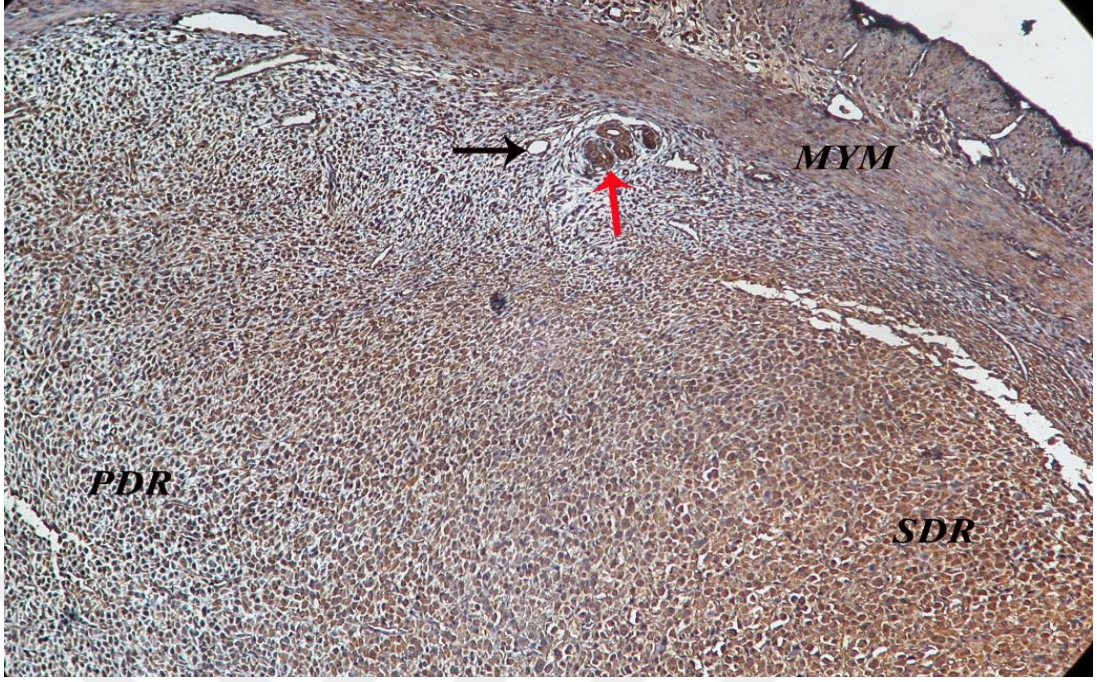
Şekil 4.16. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



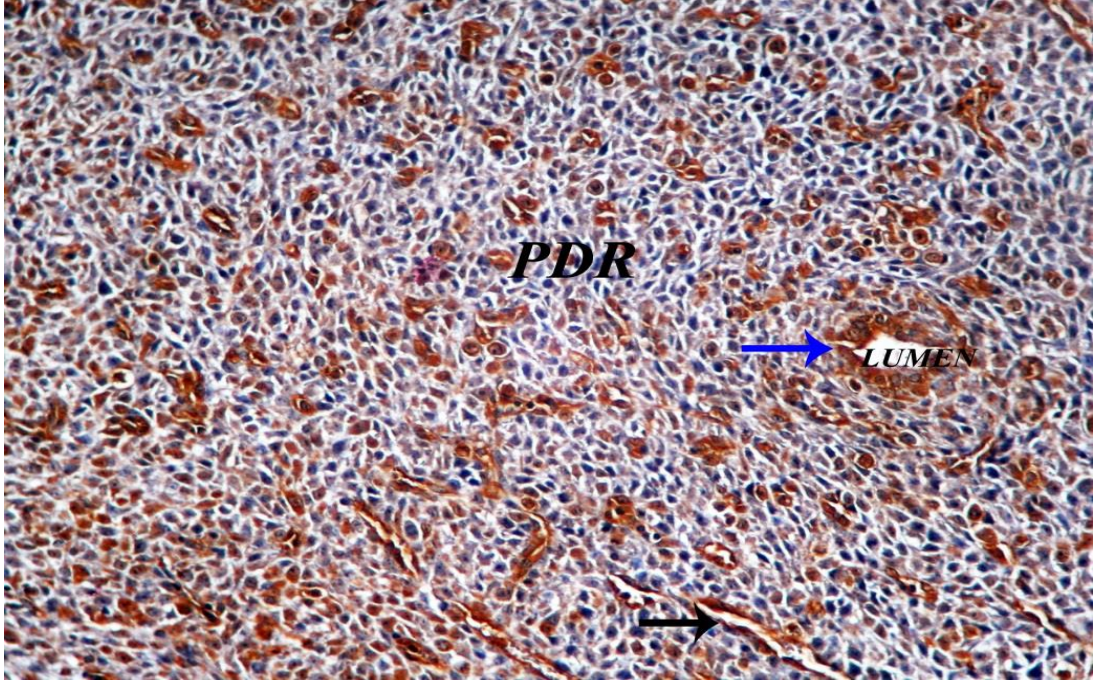
Şekil 4.17. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; AMZ: Antimezometriyal Alan; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



Şekil 4.18. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



Şekil 4.19. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; MYM: Myometriyum; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



Şekil 4.20. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; siyah ok: Kapiller. X200.

Tablo 4.1. Kontrol gruplarında gebe sıçanların uterus dokusunda COX-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semiquantitatif analizi.

Gruplar	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	SES	ES	MYM	PDR	SDR	Kapiller
0. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
1. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
3. Gün	+++	+++	++	++	+++	Yok	Yok	++
5. Gün	+++	+++	PDR	+++	+++	+++	Yok	+++
7. Gün	+++	+++	PDR	SDR	+++	++	+++	+++

Tablo 4.2. Heparin uygulanan gruplarda gebe sıçanların uterus dokusunda COX-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semiquantitatif analizi.

Gruplar	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	SES	ES	MYM	PDR	SDR	Kapiller
0. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
1. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
3. Gün	+++	+++	++	++	+++	Yok	Yok	++
5. Gün	+++	+++	PDR	+++	+++	+++	Yok	+++
7. Gün	+++	+++	PDR	SDR	+++	++	+++	+++

5. TARTIŞMA

Embriyonun endometriyuma implantasyonu esnasında lektinler, integrinler, ekstrasellular metalloproteinazlar ve onların inhibitörleri, prostaglandinler, büyüme faktörleri, sitokinler, anjiyojenik peptidler ve onların reseptörleri ve modüle eden proteinler gibi birçok molekül etkili olmaktadır. Bu moleküler iletişim hücre-hücre ve hücre-ekstrasellular matriks etkileşimleriyle karakterizedir (117).

İmplantasyonda etkili moleküllerden önemli bir tanesi olan PG'ler hücre çoğalması, farklılaşması ve bağışıklık fonksiyonlarına ilaveten anjiogenezis ve damar tonusu gibi damar fizyolojik fonksiyonları da düzenlemektedir. Ayrıca PG'lerin üreme sürecinin düzenlenmesine ve gebeliğin başarılı bir biçimde şekillenmesine büyük katkı sağladığı bilinmektedir (88,91). Araşidonik asitten prostaglandin sentezinde hız sınırlayıcı olarak işlev gören siklooksijenazların izoformlarından birisi olan COX-2'nin embriyonun gelişim sürecinde etkili olduğu bildirilmiştir (130). Bu nedenle biz çalışmamızın bir bölümünde sıçanlarda erken gebelik esnasında implantasyona kadar olan dönemde uterus dokusunda COX-2 immunlokalizasyonunu belirledik ve daha önce bu alanda yapılan çalışmalarla karşılaştırdık.

Gebeliğin çeşitli dönemlerinde fare (25), koyun (27), inek (9), at (15), babun (71) ve domuz (14) endometriyum dokularında yapılmış olan çalışmalarda COX-2 ekspresyonunun farklı türlerde farklı profiller sergilediği ortaya konulmuştur (14).

Gebe sıçanlarda immunohistokimya tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada, gebeliğin 1 ve 2. günlerinde sıçan uterusunda COX-2 immun boyamanın olmadığı, 3 ve 4. günlerde COX-2 immun boyamasının subluminal stroma hücrelerinde düşük seviyede, dağınık popülasyonda, 5. günün sabahında lumen epitelinin altında stromal hücrelerde ağırlıklı olarak, 6. günde implantasyon alanında stromal hücrelerde lokalize olduğu fakat antimezometriyal alanda primer desidual bölgede belirlenemediği, yine 6. günde inter-implantasyon alan üzerinde antimezometrial alanlarda, lumene yakın tüm stromal hücrelerde fazlasıyla belirlendiği bildirilmiştir. 7. günde ise hem sekonder desidual bölgede hemde desidual hücre katmanında lumen epitelinin altında COX-2 immun pozitifitenin

mevcut olduğu ancak primer desidual reaksiyon alanının geri kalan kısmında gözlenmediği kaydedilmiştir. Sıçan uterusunda COX-1'in implante olmuş blastosisti çevreleyen lumen epitelinde, COX-2'nin ise subluminal stromal hücrelerde belirlenmesi sonucunda yazarlar, COX-1 ve COX-2 kaynaklı PG'lerin sıçan implantasyonunda önemli rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (29).

St-Louis ve arkadaşlarının gebe sıçan endometriyumunda Western analizi ile yaptıkları çalışma, COX-2 proteininin; gebeliğin 2- 5. günlerinde endometriyal hücrelerde mevcut olduğunu ve 8-12. günlerinde artışa geçtiğini; 12. günde ise maksimum seviyeye eriştiğini göstermiştir. Araştırmacılar aynı zamanda EIA yöntemi ile PGE₂ ve PGF_{2α} metabolitlerinin serumdaki miktarının gebeliğin 10-14. günlerinde arttığını ve bu artışın COX-2 protein ekspresyonundaki artış ile paralellik gösterdiğini bildirmişler ve COX-2 artışının bu periyotta PGE₂ ve PGF_{2α} artışından sorumlu olduğunu düşünmüşlerdir. Bu nedenle COX-2'nin PGE₂ ve PGF_{2α} üretimi yoluyla desiduanın gerilemesi esnasında önemli bir rol oynadığını öne sürmüşlerdir (120).

Blitek ve arkadaşları domuz endometriyumunda immunohistokimya tekniği kullanarak yapmış oldukları çalışmalarında, COX-2'nin ovulasyondan sonra 12-16. günlerde ve gebeliğin 14-16. günlerinde lumen ve bez epitel hücrelerinde immun lokalize olduğunu ancak östrus siklusu ve gebeliğin diğer günlerinde toplanan doku örneklerinde ise çok zayıf veya saptanamayacak seviyede olduğunu ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda RT-PCR tekniği ile COX-2 mRNA seviyelerine baktıklarında, gebeliğin 10. günde en düşük, 16 ve 22-25. günlerinde ise arttığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar cyclic hayvanlarda luteolizis esnasında gözlenen COX-2 mRNA ve protein artışının, PG üretiminde artışa neden olduğunu, gebelik esnasında endometriyumda gözlenen COX-2 artışının ise konseptusun implantasyonu esnasında önemli bir rol oynadığı sonucuna varmışlardır (14).

Lamalar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise; COX-2 immun ekspresyonu gebe olan ve ovulasyonu indüklenen ancak gebe olmayan lamalarda karşılaştırılmış ve gebeliğin 8. günü ile ovulasyon indüklenmesini takip eden 8. gündeki gebe olmayan lamaların uterus lumen epitelinde COX-2 ekspresyonunun farklı olmadığı gözlemlenmiştir. 12. günde ise gebe lamaların lumen epitelinde

COX-2 ekspresyonunun gebe olmayan lamalara göre daha düşük olduğu, COX-2 pozitif hücrelerin yüzdesinin ve boyama yoğunluğunun daha az olduğu bildirilmiştir. Bez epitellerinde ise boyama yoğunluğu ve pozitif hücre miktarı açısından iki grup arasında farklılık olmadığı bildirilmiştir (13).

Gebe sıçanlar üzerinde yaptığımız mevcut çalışmada ise, gebeliğin 0 ve 1. günlerinde uterus lumen ve bez epitel hücreleri, stromal hücreler, myometriyum ve kapiller duvarında orta şiddette (++) COX-2 immun ekspresyonunu gözlemledik. 3. günde ise COX-2 immun ekspresyonunun güçlü seviyeye (+++) ulaştığını tespit ettik. İlk 3 gün boyunca normal yapıda gözlemlediğimiz gebe uterus yapısının gebeliğin 5. günü ile beraber değişmeye başladığını, implantasyonun ilk belirleyici işaretlerinden biri olan PDR alanının belirlediğini ve COX-2 immun reaktivitesinin şiddetinin 3. günde bildirdiğimiz alanlara ilaveten PDR alanında da güçlü (+++) olduğunu kaydettik. Gebeliğin 7. gününde ise PDR alanı dışında SDR alanı da belirginleşmişti ve SDR alanındaki COX-2 immun reaksiyonunun PDR alanına göre daha güçlü idi. Bu bulgular daha önce yapılan çalışmalarda da bildirildiği üzere COX-2 ekspresyonunun PG üretiminde artışa yol açmak suretiyle konseptusun implantasyonunda ve desidualizasyonunda da rol oynayabileceği hipotezini desteklemektedir.

Genellikle, insanlarda gebelik esnasında desidual vasküler permeabilite ve anjiogeneziste meydana gelen değişikliklerin embriyo implantasyonu için önemli olduğu kabul edilir, dolayısıyla vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) vasküler permeabilite ve anjiogenezis için önemli bir faktördür. Yapılan bir çalışmada, VEGF nin asıl fizyolojik fonksiyonunun; endotelial ve trofoblast hücre farklılaşması, çoğalma, migrasyon, invazyon, anjiogenezis ve vasküler endotelial hücre fonksiyonunun devamını desteklemek olduğu, COX-2'nin, erken gebeliğin devamı için, VEGF ekspresyonunu düzenlemek suretiyle blastosist implantasyon sürecinde rol aldığı bildirilmiştir (130).

İnsanlarda TGK'nın klasik tanımı, yirminci gebelik haftasından önce, arka arkaya gerçekleşen üç ve üzerinde spontan düşük olarak tarif edilmiştir (5). TGK, çok yaygın olarak rastlanan bir durum olup üreme çağındaki kadınlarda görülme olasılığı yaklaşık %1-%5 arasındadır. Büyük ölçekli çalışmalarla, TGK'lı hastaların

yaklaşık %50 sinde genetik, endokrin, bulaşıcı hastalıklar, anatomik bozukluklar ve otoimmün bozukluklar dahil olmak üzere birden çok faktör tanımlanmıştır. Ayrıca TGK vakalarının mekanizması da açıklanamamaktadır. Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıpları (ATGK)'nın çoğunluğunun penetrasyon fazı ve ötesinde, gebeliğin 8-12. haftalarında meydana geldiği, bu nedenle TGK'nın blastosist implantasyonunun penetrasyon oluşumundaki anormalliklerine bağlı olabildiği düşünülmüştür (130). Bu konuya açıklık getirmek üzere özellikle insanlarda TGK'da COX-2 ekspresyonuna ilişkin değişik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan birisi de Hua ve arkadaşlarının farelerde otoimmünite kaynaklı gebelik kaybı oluşturdukları deney modeli ile normal gebe fare uteruslarında COX-2 ekspresyonunu karşılaştırdıkları çalışmalarıdır. Bu çalışmanın sonunda, immunohistokimya, ELİSA ve PCR teknikleri ile COX-2 proteininin gebe fare desiduasında çekirdek ve sitoplazmada var olduğu ve immün ekspresyonları, serum seviyeleri ve mRNA ekspresyonlarının deney gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, otoimmünite kaynaklı TGK'larda maternal-fötal temas yüzeylerinde azalan COX-2 ekspresyonunun PG ekspresyonunda azalmaya yol açarak embriyo kaybına neden olabileceği ve bu şekilde COX-2'nin otoimmün TGK'nın patogeneziinde önemli bir rol oynayabileceği sonucuna varmışlardır (57).

Benzer şekilde sağlıklı ve ATGK yaşayan kadınlar arasında COX-2 değişkenliği RT-PCR ve Western blot analizleri ile karşılaştırılmış ve ATGK'lı hastalarda kontrol grubuna göre koryonik villuslarda hem COX-2 proteininin hem de mRNA ekspresyonunun belirgin şekilde azaldığı bildirilmiştir. Yine aynı çalışma da ATGK hastalarında COX-2 seviyesindeki düşüşe bağlı olarak, COX-2 kaynaklı PG seviyesinin değişimine bakmak amacıyla trofodermal villuslarda, PG konsantrasyonu ELİZA yöntemi ile belirlenmiş ve sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ATGK grubunda COX-2 kaynaklı PG'lerin (PGF₂, PGD₂, PGE₂ ve PGI₂) değişen derecelerde azaldığı ortaya koyulmuştur. Yine bu çalışmanın sonuçları embriyo implantasyonunun üçüncü fazında COX-2'nin kritik rolü olduğunu öne sürmektedir. Normal gebe kadınlar ile ATGK hastaları karşılaştırıldığında birinci olarak trofodermal villuslarda COX-2 ekspresyon seviyesinin düşük olduğu sonucuna

varılmış ve ATGK hastalarında embriyo implantasyonunu sonlandıran önemli faktörlerden biri olarak COX-2 ekspresyonunun azalması düşünülmüştür (130).

Zhang ve arkadaşlarının preeklampsi ve normal gebe insan desidua dokusunda COX-2 immun ekspresyonu ile ilgili yaptıkları bir diğer çalışmada, hem normal gebelik grubunda hem de şiddetli preeklampsi grubunda, desidua dokularında, COX-2'nin eksprese olduğu ve normal gebelik grubuna nazaran şiddetli preeklampsi grubunda COX-2 protein ekspresyonunun belirgin şekilde azalmış olduğu ortaya koyulmuştur. Araştırmacılar aynı zamanda kültür ortamında 0, 3 ve 6. günlerde insan endometriyal stromal hücre desidualizasyonunu indüklemişler ve bu süreçlerde COX-2'nin hem mRNA hem de protein seviyelerinde ekspresyonunun 6. günde en yüksek seviyeye ulaştığını gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlar COX-2, desidualizasyon ve preeklampsi arasında bir ilişki var olabileceğini düşündürmüştür. Yazarlar COX-2'nin embriyo gelişimi, plasenta oluşumu ve trofoblast invazyonunu içeren gebelik sürecinde insan endometriyal stromal hücre desidualizasyonunda önemli bir rol oynadığını ve desidual dokulardaki COX-2 ekspresyonundaki azalmanın hem desidualizasyon hem de onu takip eden vaskülarizasyonu tehlikeye atarak preeklampsi oluşumuna neden olabileceğini öne sürmüşlerdir (139).

TGK'da normal gebe desiduasına göre daha fazla oranda nekroz, inflamasyon ve vasküler tromboz bildirilmiştir (126). Erken dönem klinik çalışmalarda, TGK'daki temel patolojinin plasental trombozlar olması sebebi ile antikoagulan tedavinin gebelikte başarı şansını artırabileceği düşünülmektedir (30). Antikoagulan özelliğinden yararlanılarak vasküler trombozların tedavisinde yaygın olarak kullanılan heparin preparatlarının aynı zamanda inflamatuvar hücre davranışlarını etkilendiğine ve birçok organda lökosit akışını ve doku hasarını önleyerek teropatik antiinflamatuvar özellik sağladığına dair çalışmalar mevcuttur (104). Trombofili ile ilişkili TGK'nın, fetal büyüme geriliği, preeklampsi, abruptio plasenta ve intrauterin fetal ölüm gibi gebelik komplikasyonlarının engellenmesinde önemli rolleri olduğu bildirilen (31) DMAH, son yıllarda anfraksiyone heparine üstünlükleri nedeniyle gebelik kayıplarının önlenmesinde daha sık tercih edilmektedir (30). Fonksiyone olmayan heparin yerine, DMAH'ın kullanım avantajları, günde tek doz subkutan uygulanması, heparine göre yarılanma ömrünün daha uzun süreli olması (96) ve daha

fazla yanıt ön görülmesidir. Bununla beraber son günlerde, DMAH'ın koagülasyon üzerine direkt etkiye sahip olmasının yanı sıra inflamasyonu azaltması, implantasyonu desteklemesi ve komplement aktivasyonunu engellemesi ile gebeliği koruyabileceğine dair hipotezler ileri sürülmüştür (31). Di Simone ve arkadaşları heparinin in vitro olarak trofoblast farklılaşması ve invazivitesinde önemli bir artış sağladığını bildirmişlerdir (39). Bazı yazarlar heparinin doğrudan ya da dolaylı olarak blastosistin endometriyum epiteline tutunması ve invazyonunda etkili olduğunu, bunun yanısıra antikomplement etkiye sahip olması nedeni ile gebelik kayıplarını önlediğini öne sürmüşlerdir (129).

Farelerde yapılan bir çalışmada heparinin kompleman aktivasyonunu azalttığı saptanmıştır (110). Trofoblast invazyonundan sorumlu metalloproteinaz gibi spesifik proteazların aktivitesinde artış yapmaktadır. Antifosfolipid antikolar (APA) trofoblastlar üzerindeki kompleman aracılı aktivasyonunun inhibisyonuna neden olmaktadır (105). DMAH'ın direkt olarak APA'ların trofoblast hücreye bağlanmasını engelleyerek normal trofoblast invazyonunu sağladığı (47), sinsisyotrofoblastik antiapoptotik faktör Bcl-2 seviyesinde artışa neden olduğu (30, 43), lökosit aktivasyonu ile IL-1 seviyesinde artış ve antijen sunucu hücre aktivasyonu ile IL-6 üretiminde artış sağladığı (43) ve desidual E-kadherin ekspresyonunda azalma, selektin aracılı hücre adezyonunun modülasyonu, heparin bağlayıcı EGF benzeri büyüme faktörüne bağlanma, insülin benzeri büyüme faktörü 1 seviyesinde artış ile trofoblast invazyonunda artış yaptığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (30, 43).

Yukarıda açıklandığı üzere heparinin TGK'ları önlenmesindeki etki mekanizmalarını açıklamaya dair, çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İmplantasyondaki rolleri araştırılmasına rağmen, normal gebe uterus dokusunda, TGK'nın etyolojisinde de rol oynayan COX-2 üzerinden bir etkiye sahip olup olmadığı konusunda bir araştırmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışma ile DMAH'ın normal gebe sıçan uterus dokusunda, COX-2 üzerindeki etki mekanizması araştırılarak gebelik kayıplarının önlenmesindeki rolü hakkında yeni bilgiler elde edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla oluşturulan normal gebe ve DMAH uygulanan gebe sıçanların uterus dokularında, gebeliğin 0, 1, 3, 5 ve 7. günlerinde COX-2 immün reaksiyon şiddetinin değişmediği gözlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

TGK'nın önlenmesinde etkin şekilde kullanılmakta olan DMAH'ın, COX-2 ekspresyonu üzerinden de bir etkiye sahip olup olmadığını araştırmak amacıyla gebe sıçanlarda yaptığımız çalışma sonucunda elde ettiğimiz bulgular;

-Gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda COX-2 ekspresyonunun gebeliğin başından 7. gününe doğru tedricen arttığını bu nedenle bu enzimin implantasyonda ve desidualizasyonda rol oynayabileceğini,

-DMAH uygulamasının, immunohistokimyasal seviyede ve semiquantitatif gözlemlerde COX-2 immun ekspresyonu üzerine bir değişiklik oluşturmadığını göstermektedir.

Mevcut çalışmamız, immunohistokimyasal düzeyde ve semiquantitatif sonuçlara dayanmaktadır. Araştırma konumuzun daha moleküler düzeyde desteklenebilmesi için ilave bir moleküler çalışma planı yapılarak daha ayrıntılı ve quantatif değerler elde edilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. **Abe W, Ikejima K, Lang T, Okumura K, Enomoto N, Kitamura T, Takei Y, Sato N** (2007): Low molecular weight heparin prevents hepatic fibrogenesis caused by carbon tetrachloride in the rat. *Journal of Hepatology.*, **46**, 286-294.
2. **Abrahamson PA, Zorn TM** (1993): Implantation and decidualization in Rodents *J. Exp. Zool.*, **266**, 603-628.
3. **Açıkğöz E, Aktuğ H** (2015): Embriyoner gelişimde transkripsiyonel ağlar ve hücre sinyalleri. *Ege Tıp Dergisi*, **54**; 2,101-105.
4. **Aktümsek A** (2012) *Anatomi Ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi*, 7. Baskı, Nobel Akademik Yayıncılık.,s:400.
5. **Alataş E** (2004): Tekrarlayan gebelik kayıplarında tanı ve tedavinin yönlendirilmesi. *TJD Uzmanlık Sonrası Eğitim Dergisi.*, **6**, 19-25.
6. **Albers K, Fuchs E** (1992): The molecular biology of intermediate filament proteins. *Int. Rev. of Cyto.*, **134**, 243-279.
7. **Anonim**:<http://ichastaliklariromatoloji.medicine.ankara.edu.tr/files/2014/02/Non-Steroid-Anti-%C4%B0nflamatuvar-%C4%B0la%C3%A7lar-NSA%C4%B0%C4%B0.pdf>. 22.11.2017.
8. **Anonim**:<http://veterinerhistoloji.atauni.edu.tr/dersnot/plasenta%20yar%C4%B1m%20plasenta.pdf>. 08.12.2017.
9. **Arosh JA, Parent J, Chapdelaine P, Sirois J, Fortier MA** (2002): Expression of cyclooxygenases-1 and -2 and prostaglandin E synthase in bovine endometrial tissue during the estrous cycle. *Biol Reprod.*, **67**,161-169.
10. **Atabekoğlu CS, Engin Y, Üstün Y, Aytaç R** (2002): Üreme Fizyolojisi ve Adhezyon Molekülleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.*, **55**,85-92.
11. **Bahar L, Baykal T** (2008): Endometriyal Reseptivitenin İmplantasyondaki Rolü. *Mersin Univ Sağlık Bilimleri Derg.*, **1**, 1-6.
12. **Bergstrom S** (1972): Shedding of the zona pellucida of the mouse blastocyst in normal pregnancy. *J Reprod Fertil.*, **31**,275 – 277.
13. **Bianchi CP, Meikle, Benavente MA, Alvarez MA, Trasorras VL, Miragaya MH, Rodriguez E, Aba MA** (2015): Oestrogen and Progesterone receptors and COX-2 expression in endometrial biopsy samples during maternal

recognition of pregnancy in llamas (*Lama glama*), *Reprod Dom Anim.*, **50**, 980-988. DOI: 10.1111/rda.12618 ISSN 0936-6768.

14. **Blitek A, Waclawik A, Kaczmarek MM, Stadejek T, Pejsak Z, Ziecik AJ** (2006): Expression Of Cyclooxygenase-1 ve 2 İn The Porcine Endometrium During The Qestrous Cycle And Early Pregnancy. *Reprod Dom Anim.*, **41**, 251-257.
15. **Boerboom D, Brown KA, Vaillancourt D, Poitras P, Goff AK, Watanabe K, Dore M, Sirois J** (2004): Expression of key prostaglandin synthase in equine endometrium during late diestrus and early pregnancy. *Biol Reprod.*, **70**, 391-399.
16. **Botting R, Ayoub SS** (2005): COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.*, **72**, 85-87.
17. **Boyd JD, Hamilton WJ** (1970): The Human Placenta. *Heffer&Sons, Cambriidge*.
18. **Brenner B** (2007): *Should thromboprophylaxis be used in hereditary thrombophilias with RPL?*. Ed: Ja Carp H, Recurrent Pregnancy Loss Causes, Controversies and Treatment, p: 139-42.
19. **Bukhtiar HS, Kevin JC** (2005): Roles of LPA3 and COX-2 in implantation, *Trends in Endocrinology and Metabolism.*, **16**, 397-399.
20. **Bulun SE, Zeitoun KM, Takayama K, Sasano H** (2000): Molecular Basis For Treating Endometriosis With Aromatase İnhibitors. *Hum Reprod Update.*, **6**, 413-8.
21. **Buyru F** (2001): Uterusta Gebelik İçin Oluşan Değişimler, Hormonal Uyaranlara Yanıt. *Perinatoloji Dergisi.*, **9**, 24-229.
22. **Carrington B, Sacks G, Regan L** (2005): Recurrent miscarriage: Pathophysiology and outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol.*, **17**, 591-7.
23. **Carson DD, Bagchi I, Dey SK, Enders AC, Fazleabas AT, Lessey BA, Yoshinaga K** (2000): Embryo İmplantation. *Dev. Biol.*, **223**, 217-23.
24. **Cha J, Sun X, Dey SK** (2012): Mechanisms Of İmplantation: Strategies For Successful Pregnancy. *Nature Medicine.*, **18**, 1754-1767.

25. **Chakraborty I, Das SK, Wang J, Dey SK** (1996): Developmental expression of the cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 genes in the peri-implantation mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids. *J Mol Endocrinol.*, **16**, 107–122.
26. **Chamley LW, Duncalf AM, Mitchell MD, Johnson PM** (1998): Action of anticardiolipin and antibodies to beta2-glycoprotein- I on trophoblast proliferation as a mechanism for fetal death. *Lancet.*, **352**, 1037-8.
27. **Charpigny G, Reinaud P, Tamby JP, Creminon C, Martal J, Maclouf J, Guillomot M** (1997): Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in ovine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Endocrinology.*, **138**, 2163–2171.
28. **Coleman DL, Kaliss N, Dagg CP, Russell ES, Fuller JL, Staats J, Green MC** (1996): *Biology of The Laboratory Mouse*. Ed: Green EL, New York: Dover Publications, Inc.
29. **Cong J, Diao H-L, Zhao Y-C, Ni H, Yan Y-Q, Yang Z-M** (2006): Differential Expression And Regulation Of Cyclooxygenases, Prostaglandin E Synthases And Prostacyclin Synthase In Rat Uterus During The Peri-Implantation Period. *Reproduction.*, **131**,139-151.
30. **Çimen T** (2011): Tekrarlayan Gebelik Kaybı Öyküsü Olan Hastalarda Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin Kullanımının Gebeliğin Seyri ve Sonuçları Üzerine Etkisi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi*, 30.
31. **D’ippolito S, Ortiz AS, Veglia M, Tersigní C, Di Simone N** (2011): Low Molecular Weight Heparin Obstetric Care: A Review Of The Literature, *Reproductive Sciences.*, **18**, 602-613.
32. **D’Souza SS, Daikoku T, Farach-Carson MC, Carson DD** (2007): Heparanase expression and function during early pregnancy in mice. *Biol Repro.*, **77** (3), 433-41.
33. **Daya S** (1993): Evaluation and management of recurrent spontaneous abortion. *Curr Opin Obstet Gynecol.*, **8**, 188-192.

34. **De Rijk EPCT, Esch EV, Flık G** (2002): Pregnancy Dating in the Rat: Placental Morphology and Maternal Blood Parameters. *Toxicologic Pathology.*, **30**, 271–282.
35. **Demir R** (1993): Formation of mesenchymal villi in the human placental villus tree throughout pregnancy. *The Journal of Scanning Microscopy*, **15**, 81-82.
36. **Demir R** (1995): *İnsanın Gelişimi ve İmplantasyon Biyolojisi*. Palme Yayınevi, Ankara, s:78-179.
37. **DeWitt DL, Sitth WL** (1988): Priary structure of prostaglandin G/H Synthase from sheep vesicular gland determined from the complementary DNA sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **85**, 1412-16.
38. **Dey SK, Lim H, Das SK, Reese J, Paria BC, Daikoku T, Wang H** (2004): Molecular cues to implantation. *Endocrine Reviews.*, **25**, 341–373.
39. **Di Simone N, Ferrazzani S, Castellani R, De Carolis S, Mancuso S, Caruso A** (1997): Heparin and low-dose aspirin restore placental human chorionic gonadotrophin secretion abolished by antiphospholipid antibody-containing sera. *Human Reproduction.*, **12**, 2061-2065.
40. **Duz SA** (2015): Tekrarlayan gebelik kayıpları. *Medicine Science.*, **5**, 606-22. DOI: 10.5455/medscience.2015.04.8347.
41. **Elter K, Oral E** (2000): İmplantasyon Fizyolojisi ve İmplantasyonu Etkileyen Faktörler. *Obstetrik ve Jinekolojik Sürekli Eğitim Derisi.*, **4**, 48-63.
42. **Enders AC, Schlafke S** (1979): Comparative aspects of blastocyst–endometrial interactions at implantation. *Ciba Foundation Symposia.*, **64**, 3–32.
43. **Erden O, Imir A, Guvenal T** (2006): Investigation of the effects of heparin and low molecular weight heparin on E-cadherin and laminin expression in rat pregnancy by immunohistochemistry. *Hum Reprod.*, **21**, 3014–3018.
44. **Ferrando G, Nalbandov AV** (1968): Relative importance of histamine and estrogen on implantation in rats. *Endocrinology.*, **83**, 933–937.
45. **Fu JY, Masferrer JL, Seibert K, Raz A, Needleman P** (1990): The Induction and Suppression of Prostaglandin H-2 Synthase (Cyclooxygenase) in Human Monocytes. *Journal of Biological Chemistry.*, **265**, 16737.

46. **Ghosh D, Sengupta J** (1995): Another look at the issue of peri-implantation oestrogen. *Human Reproduction.*, **10**, 1–2.
47. **Girardi G** (2008): Guilty as charged: all available evidence implicates complement's role in fetal demise. *Am J Reprod Immunol.*, **59**, 183-192.
48. **Gökçimen A, Temel S** (2004): İmplantasyon ve Moleküler Değişimler. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, **11**, 25-33.
49. **Gökşen US, Kelekçi NG** (2010): Antiinflamatuvar Tedavide Yeni Bir Yaklaşım: Siklooksijenaz ve 5-Lipooksijenazın Dual İnhibitörleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi.*, **30**, 81-118.
50. **Graham CH, Lala PK** (1992): Mechanisms of placental invasion of the uterus and their control. *Biochem Cell Biol.*, **70**, 867-74.
51. **Güç D** (2004): Adezyon Molekülleri. *Ankem Derg.*, **18**, 158-163.
52. **Güven ES, Güven S, İslamoğlu GA, Demir B, Günalp S** (2006): Tekrarlayan gebelik kayıplarında güncel algoritma. *Hacettepe Tıp Dergisi.*, **37**, 117-123.
53. **Hamilton GS, Kennedy TG** (1994): Uterine vascular changes after intrauterine infusion of indomethacin and prostaglandin E2 to rats sensitized for the decidual cell reaction. *Biology of Reproduction.*, **50**, 757–764.
54. **Harem İŞ** (2013): Trofoblastların Yapısal Özellikleri. *Harran Üniv Vet Fak Derg.*, **2**, 48-53.
55. **Herington JL, Bany BM** (2007): Effect of the conceptus on uterine natural killer cell numbers and functioning the mouse uterus during decidualization. *Biol Reprod.*, **76**, 579-588.
56. **Herschman HR** (1996): Prostaglandin synthase 2. *Biochim Biophys Acta.*, **1299**, 125–140.
57. **Hua F, Li CH, Wang H, Xu HG** (2013): Relationship between expression of COX-2, TNF- α , IL-6 and autoimmune-type recurrent miscarriage. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.*, 990-994.
58. **İnce AT, Övünç O** (2005): Cyclooxygenase–2 ve Karsinogenez. *Güncel Gastroenteroloji.*, 70-77.
Erişim:<http://www.guncel.tgv.org.tr/journal/4/pdf/46.pdf>.20.11.2017.
59. **Johnson MH, McConnell JM** (2004): Lineage allocation and cell polarity during mouse embryogenesis. *Semin Cell Dev Biol.*, **5**, 583-97.

60. **Kane MT, Bavister BD** (1988a): Protein-free culture medium containing polyvinyl alcohol, vitamins, and amino acids supports development of eight-cell hamster embryos to hatching blastocysts. *J Exp Zool.*, **247**, 183– 187.
61. **Kane MT, Bavister BD** (1988b): Vitamin requirements for development of eight-cell hamster embryos to hatching blastocysts in vitro. *Biol Reprod.*, **39**, 1137 – 1143.
62. **Katz VL, Kuller JA** (1994): Recurrent miscarriage. *Am J Perinatol.*, **11**, 386-97.
63. **Kaufmann WE, Worley PF, Taylor CV** (1997): Cyclooxygenase-2 expression During Rat Neocortical Development and in Rett Syndrome. *Brain Dev.*, **19**, 25-34.
64. **Kaya S** (2009): Yardımlı Üreme Teknikleri Uygulamalarında Serviko-Vajinal Lavaj ve Serumdan İmplantasyon Belirteci Olarak Glikodelin ve Makrofaj-Koloni Stimülan Faktör Bakılmasının Klinik ve Prognostik Önemi. **Erişim:**<http://lib.baskent.edu.tr/tezbaskent1/00400.pdf>. 04.05.2015.
65. **Kayaalp SO** (2012): *Akılclı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 13. Baskı, Pelikan Yayıncılık, 512- 513.
66. **Kennedy T** (1980): Prostaglandins and the endometrial vascular permeability changes preceding blastocyst implantation and decidualization. *Prog Reprod Biol.*, **7**, 234-243
67. **Kennedy TG, Gillio-Meina C, Phang SH** (2007): Prostaglandins And The Initiation Of Blastocyst İmplantation And Desidualization. *Reproduction.*, **134**, 635–643.
68. **Kennedy TG, Lukash LA** (1982): Induction of decidualization in rats by the intrauterine infusion of prostaglandins. *Biology of Reproduction.*, **27**, 253–260.
69. **Keys JL, Kennedy TG** (1990): Effect of indomethacin and prostaglandin-E2 on structural differentiation of rat endometrium during artificially induced decidualization. *American Journal of Anatomy.*, **188**, 148–162.
70. **Kıyıkım A, Çağlar Ş** (2002): COX-2, İnhibitörleri ve Böbrek. *Türkiye Tıp Derg.*, **9**, 44-48.

71. **Kim JJ, Wang J, Bambra C, Das SK, Dey SK, Fazleabas AT** (1999): Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in the baboon endometrium during the menstrual cycle and pregnancy. *Endocrinology.*, **140**, 2672–2678.
72. **Kiso Y, McBey BA, Maso L, Croy BA** (1992): Histological assesment of mouse uterus from birth to puberty for the appearance of LGL-1+ natural killer cells. *Biol Reprod.*, **47**, 227-232.
73. **Korgun ET, Asar M, Demir N, Demir R** (1997): Erken Gebelik Döneminde Sıçan Endometriyumunda Vimentin ve Desmin'in dağılımı. *Tr. J. of Biology.*, **23**, 249–259.
74. **Kujovich JL** (2004): Thrombophilia and pregnancy complications. *Am J Obstet Gynecol.*, **191**,412-24.
75. **Kutteh WH** (1996): Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. *Am J Obstet Gynecol.*, **174**, 1584-9.
76. **Lee KY, Demayo FJ** (2004): Animal Models Of İmplantation. *Reproduction.*, **128**, 679-695.
77. **Lejeune B, VanHoeck J, Leroy F** (1981): Transmitter role of the luminal uterine epithelium in the induction of decidualization in rats. *Journal of Reproduction and Fertility.*, **61**, 235–240.
78. **Lessey BA** (2003): Two pathways of progesterone action in the human endometrium: implications for implantation and contraception. *Steroids.*, **68**, 809–815.
79. **Lockwood CJ, Krikun G, Hausknecht VA, Papp C, Schatz F** (1998): Matrix Metalloproteinase and Matrix Metalloproteinase İnhibitor Expression in Endometrial Stromal Cells during Progestin-Initiated Decidualization and Menstruation-Related Progestin Withdrawal. *Endocrinology.*, **139**, 4607-13.
80. **Lopata A, Hay DL** (1989): The potential of early human embryos to form blastocysts hatch from their zona and secrete hCG in culture. *Hum Reprod.*,**4**,87 – 94
81. **Ma WG, Song H, Das SK, Paria BC, Dey SK** (2003): Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation. *PNAS.*, **100**, 2963–2968.

82. **Maia HJ, Maltez A, Studard E, Zausner B, Athayde C, Coutinho E** (2005): Effect of the menstrual cycle and oral contraceptives on cyclooxygenase-2 expression in the endometrium. *Gynecological Endocrinology.*, **21**, 57-61, DOI: 10.1080/09513590500099602
83. **Massip A, Mulnard J** (1980): Time-lapse cinematographic analysis of hatching of normal and frozen-thawed cow blastocysts. *J Reprod Fert.*, **58**,475– 478
84. **Matur İ** (2009): Fare Embriyoları İle Partenotlarının Gelişimsel Potansiyelleri ve Morfolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı yüksek Yüksek lisans tezi.*, 8.
85. **McGeady TA, Quin PJ, FitzPatrick ES, Ryan MT** (2006): Veterinary Embryology (Veteriner Embriyoloji). Çeviren Çelik İ, Öznurlu Y, Medipres Yayıncılık, Malatya, 20-28.
86. **Mishra A, Seshagiri PB** (1998): Successful development in vitro of hamster 8-cell embryos to 'zona- escaped' and attached blastocysts: assessment of quality and trophoblast outgrowth. *Reprod Fertil Dev.*,**10**, 413– 420.
87. **Mitchell JA, Akarasereenont P, Thiemermann C, Flower RJ, Vane JR** (1993): Selectivity of non-steroidal anti-inflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **90**, 11693– 11697.
88. **Mondal S** (2009): Early embryonic loss: Genomic insight. *İnd. J Physiol Allied Sci.*, **63**, 44-51.
89. **Moore K, Persaud TVN** (2008): *The Developing Human (Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi)*. Çeviren: Dalçık H, Yıldırım M, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s:21.
90. **Moore K, Persaud TVN** (2008): *The Developing Human (Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi)*. Çeviren: Dalçık H, Yıldırım M, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s:35-38.
91. **Mor A, Mondal S, Reddy IJ, Soumya NP** (2015): Genes regulation maternal recognition of pregnancy in domestic animals: an update. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **6**, 854-863.

92. **Morita I, Schindler M, Regier MK, Otto JC, Hori T, DeWitt DL, Smith WL** (1995): Different Intracellular Locations for Prostaglandin Endoperoxide H Synthase-1 and -2. *Journal of Biological Chemistry.*, **270**, 10902.
93. **Oshea, J.D, Kleinfeld R.G, Morrow A.H** (1983): Ultrastructure of Decidualization in the Pseudopregnant Rat. *Am. J. Anat.*, **166**, 271-298.
94. **Öner H, Öner J, Demir R** (2006): Expression of nidoges in rat uterus and embriyo during decidualization and implantation. *Journal of Morphology*, **267**, 822-830
95. **Öner J, Öner H** (2011): Gebelikte Matriks Metalloproteinazlar (MMP) ve Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri (TIMP), *Selçuk Tıp Derg.*, **29**,95-99.
96. **Özdemir ED, Çağlar G, Öztaş E, Cengiz SD** (2011): Herediter Trombofili Tanısı Alan Hastalarda Aspirin ve Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin Tedavisi ile Gebelik Sonuçları, *Yeni Tıp Dergisi.*, **28**, 87-91.
97. **Özfiliz N, Erdost H, Zık B** (2007a): *İmplantasyon*. Editör: Özer A. Veteriner Embriyolojisi, 3. Baskı, Nobel Basım Evi, Ankara, s:32.
98. **Özfiliz N, Erdost H, Zık B** (2007b): *İmplantasyon*. Editör: Özer A. Veteriner Embriyolojisi, 3. Baskı, Nobel Basım Evi, Ankara, s:53-58.
99. **Özfiliz N, Erdost H, Zık B** (2007c): *İmplantasyon*. Editör: Özer A. Veteriner Embriyolojisi, 3. Baskı, Nobel Basım Evi, Ankara, s:113-117.
100. **Parkening TA** (1976): An ultrastructural study of implantation in the golden hamster. I. Loss of the zona pellucida and initial attachment to the uterine epithelium. *Journal of Anatomy.*, **121** 161–184.
101. **Parr EL, Tung HN, Parr MB** (1987): Apoptosis as the Mode of Uterine Epithelial Cell Death During Embryo İmplantation in Mice and Rats. *Biol Reprod.*, **36**, 211-225.
102. **Psychoyos A** (1973): In Handbook of Physiology, Eds RO Greep, EB Astwood & SR Geiger. *Bethesda: American Physiological Society.*, **7**,187–215.
103. **Psychoyos A** (1986): Uterine receptivity for nidation. *Annals of the New York Academy of Sciences.*, **476**, 36–42.

104. **Rops AL, Van der Vlag J, Lensen JF, Wijnhoven TJ, Van den Heuvel LP, Van K** (2004): Heparan sulfate proteoglycans in glomerular inflammation. *Kidney International.*, **65**, 768-785.
105. **Salmon JE, Girardi G** (2008): Antiphospholipid antibodies and pregnancy loss: a disorder of inflammation. *J Reprod Immunol.*, **77**, 51–56.
106. **Schlafke S, Enders AC** (1975): Cellular Basis of interaction Between Trophoblast and Uterus at Implantation. *Biol Reprod.*, **12**, 41-65.
107. **Segalen J, Chambon Y** (1983): Ultrastructural aspects of the antimesometrial implantation in the rabbit. *Acta Anatomica.*, **115**, 1–7.
108. **Sen SR, Seshagiri PB** (2013): Expression And Function Of Cyclooxygenase-2 Is Necessary For Hamster Blastocyst Hatching. *Molecular Human Reproduction.*, **19**, 938-851.
109. **Seshagiri PB, Hearn JP** (1993): In vitro development of in-vivo produced rhesus monkey morulae and blastocysts to hatched attached and post-attached blastocyst stages: morphology and early secretion of chorionic gonadotrophin. *Hum Peprod.*, **8**, 279-287.
110. **Shamonki JM, Salmon JE, Hyjek E, Baergen RN** (2007): Excessive complement activation is associated with placental injury in patients with antiphospholipid antibodies. *Am J Obstet Gynecol.*, **196**, 167.
111. **Sharkey AM, Smith SK** (2003): The endometrium as a cause of implantation failure. *Best Practice & Research, Clinical Obstetrics & Gynaecology.*, **17**, 289–307.
112. **Simon C, Martin JC, Pellicer A** (2000): Paracrine regulators of implantation. *Baillie`re`s Clinical Obstetrics and Gynaecology.*, **14**, 815–826.
113. **Simon C, Valbuena D** (1999): Embryonic implantation. *Annales d'Endocrinologie.*, **60**, 134–136.
114. **Singh M, Chaudhry P, Asselin E** (2011): Bridging Endometrial Receptivity And Implantation: Network Of Hormones, Cytokines, And Growth Factors. *Journal Of Endocrinology.*, **210**, 5–14.
115. **Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL** (1996): Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem.*, **271**, 33157–33160.

116. **Sordelli MS, Beltrame JS, Cella M, Gervasi MG, Perez Martinez S, Burdet J, Zotta E, Franchi AM, Riberio ML** (2012): Interaction between Lysophosphatidic Acid, Prostaglandins and the Endocannabinoid System during the Window of Implantation in the Rat Uterus. *Plos one.*, **7**, 46059.
117. **Spósito DR, Santos AR** (2011): Histochemical study of early embryo implantation in rats. *Int. J. Morphol.*, **29**, 187-192.
118. **Stanley DW** (2005): *Eicosanoids*. Comprehensive Molecular Insect Science, Ed(s): Gilbert LI, Iatrou K, Gill S. Elsevier, Oxford, UK, p:307- 339.
119. **Stewart WF, Kawas C, Corronda M** (1997): Risk of Alzheimer's Disease and Duration of NSAID. *Neurology.*, **48**, 626-632.
120. **St-Louis, Singh M, Brasseur K, Valerie L, Parent S, Asselin E** (2010): Expression Of Cox-1 And Cox-2 İn The Endometrium Of Cyclic, Pregnant And İn A Model Of Pseudopregnant Rats And Their Regulation By Sex Steroids. *Reproductive Biology and Endocrinology.*, **8**, 103
121. **Sur E, Öznurlu Y, Özyayın Y, Çelik İ, Aydın İ, Kadıralieva N** (2015): Gebe Farelerde Desidua Bazalis Dokusundaki PAS-Pozitif Uterus Doğal Katil hücrelerinin Dağılımı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **21**, 405-411.
122. **Surani MAH** (1975): Zona pellucida denudation, blastocyst proliferation and attachment in the rat. *J Embryol Exp Morphol .*, **33**, 343 – 353.
123. **Tassell W, Slater M Barden JA, Murphy CR** (2000): Endometrial Cell Death During Early Pregnancy in the Rat. *Histochem J.*, **32**, 373-379.
124. **Tokyo Ç, Aktepe F, Dilek FH, Şahin Ö, Arioz DT** (2009): Expression Of Cyclooxygenase-2 And Matrix Metaloproteinase-2 İn Adenomyosis And Endometrial Polyps And Its Correlation With Angiogenesis. *International Journal of Gynecological Pathology.*, **28**, 148-156
125. **Tunaz H** (2007): Prostaglandinler: Böcekler ve Memelilerdeki Prostaglandin Biyosentezinin Karşılaştırılması. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi.*, **10**, 151-155.
126. **Van Horn JT, Craven C, Ward K, Branch DW, Silver RM** (2004): Histologic features of placentas and abortion specimens from women with antiphospholipid and antiphospholipid-like syndromes. *Placenta*, **25**, 642-648.

- 127. Vane JR** (1971): Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action For Aspirin-Like Drugs. *Nature New Biology.*, **231**, 2337.
- 128. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM** (1998): Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu. Rev Pharmacol Toxicol.*, **38**, 97-120.
- 129. Walport MJ** (2001): Complement. *New England Journal of Medicine*, **344**, 1058-1066.
- 130. Wang Y, Zhao A, Lin Q** (2010): Role Of Cyclooxygenase-2 Signaling Patway Dysfunction İn Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion. *Chin Med J.*, **12**, 1543-1547.
- 131. Westwood FR** (2008): The Female Rat Reproductive cycle: A practical Histological Guide to Staging. *Toxicologic Pathology.*, **36**,375-384.
- 132. Whang H, Dey SK** (2006): Roadmap to Embriyo İmplantation, Clues From Mause Models. *Na. Rev Genet.*,**7**,185-199.
- 133. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR** (1999): Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *New England Journal of Medicine.*, **340**, 1796–1799.
- 134. Wodarz A** (2005): Molecular control of cell polarity and asymmetric cell division in Drosophila neuroblasts. *Curr Opin Cell Biol*, **5**,475-81.
- 135. Yakışık M, Özfiliz N, Erdost H, Zık B** (2005): *Evcil hayvan zigotlarında yarıklanmalar*. Ed(s): ÖZER A, *Veteriner Embriyoloji*, ÜÜ Veteriner Fakültesi Yayınları, Bursa, s-56-61.
- 136. Yılmaz B** (1990): Prostaglandinler. *A.Ü.Vet. Fak. Derg.*, **37**,516-537.
- 137. Yokohama C, Takai T, Tanabe T** (1988): Primary structure of sheep prostaglandin endoperoxide synthase deduced from cRNA sequence. *Febs Lett.*, **231**, 347- 51.
- 138. Yun-Ge Z, Ai-Zhen X, Xiu-Mei C, Cheng Z** (2002): Expression of Matrix Metalloproteinase-2,9 and Tissue İnhibitors of Metalloproteinase-1,2,3 mRNAs in Rat Uterus During Early Pregnancy, *Molecular Pepproduction and Development.*, **62**, 149-158.
- 139. Zhang D, Chang X, Bai J, Chen ZJ, Lİ WP, Zhang C** (2016): The Study Of Cyclooxygenase 2 İn Human Decidua Of Preeclampsia, *Biology of Reproduction.*, **95**, 1-8.

- 140. Zhao YG, Xiao AZ, Cao XM, Zhu C (2002):** Expression of matrix metalloproteinase -2, -9 and tissue inhibitors of metalloproteinase -1, -2, -3 mRNAs in rat uterus during early pregnancy. *Molecular Reproduction and Development.*, **62**, 149-158.



8. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Fatma ERYAVUZ
Doğum Yeri ve Yılı : BURDUR/ 11.10.1975
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Uyruğu : T.C.
Telefon No : 0 535 975 5502
Elektronik Posta : feryavuz@mehmetakif.edu.tr
İletişim Adresi : Şirinevler Mah. 39002 Sok. No:30
BURDUR



Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans: Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakóltesi /2011

Yüksek Lisans: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü /2014

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. S.D.Ü. Tıp Fak Arş Uyg Hast /1996-2009

2. MAKÜ Sağlık Kültür ve Spor Daire Başkanlığı /2009

