



T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEBELİĞİN ERKEN DÖNEMLERİNDE SIÇAN UTERUS
DOKUSUNDA HEPARİN'İN MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-2, -9 (MMP-2 ve MMP-9)
EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

Derya AKALIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Jale ÖNER

BURDUR-2016

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEBELİĞİN ERKEN DÖNEMLERİNDE SIÇAN UTERUS
DOKUSUNDA HEPARİN'İN MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ-2, -9 (MMP-2 ve MMP-9)
EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

Derya AKALIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Jale ÖNER

Bu tez çalışması Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0230-YL-14 numaralı yüksek lisans projesi ile desteklenmiştir.

BURDUR-2016


KABUL VE ONAY SAYFASI

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Derya AKALIN tarafından Prof.Dr. Jale ÖNER yönetiminde hazırlanan "Gebeliğin Erken Dönemlerinde Sıçan Uterus Dokusunda Heparin'in Matriks Metalloproteinaz-2, -9 (MMP-2, -9) Ekspresyonları Üzerine Etkisi" başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi.16.12.2016


Prof. Hakan ÖNER
Mehmet Akif Ersoy Üniv.
Veteriner Fak.
Başkan


Prof. Dr. Jale ÖNER
Mehmet Akif Ersoy
Üniv. Veteriner Fak.
Jüri


Doç. Dr. Muzaffer Başak
ULKAY
Mehmet Akif Ersoy Üniv.
Veteriner Fak.
Jüri

ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 28/12/2016 Tarih ve 34 Sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. M. Doğa TEMİZSOYLU
Müdür
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

TEŐEKKÖR

Yüksek Lisans eğitiminin boyunca tezin her aşamasında benden desteğini ve bilgi birikimini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Jale ÖNER' e ve Yüksek Lisans eğitiminin boyunca Histoloji ve Embriyoloji alanında gerek ders aşamasında gerekse laboratuvar çalışmaları esnasında yardım ve görüşlerine başvurduğum diğer Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ederim. Ayrıca deney hayvanları kullanımı sırasında bana yardımcı olan biyolog ve veteriner hekim arkadaşlarıma ve her zaman maddi ve manevi olarak arkamda olan aileme ve sevdiklerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



BEYAN

“Gebeliğin Erken Dönemlerinde Sıçan Uterus Dokusunda Heparin’in Matriks Metalloproteinaz-2, -9 (MMP-2 ve MMP-9) Ekspresyonları Üzerine Etkisi” başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda 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.

16./12/2016

Derya AKALIN



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	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Memelilerde Embriyonal Gelişim	3
2.1.1. Zigotun Yarıklanması	3
2.1.2. Morula	3
2.1.3. Blastosist	4
2.2. İmplantasyon	7
2.2.1. İmplantasyon Tipleri	9
2.2.2. İmplantasyonun Oluş Mekanizmaları	10
2.3. İmplantasyonun Moleküler Mekanizmaları	10
2.3.1. Hücre Adezyon Molekülleri	10
2.3.2. Musinler (MUC)	11
2.3.3. Sitokinler	12
2.3.4. Heparin Bağlayan Epidermal Büyüme Faktörü (HB-EGF)	12
2.3.5. Lökemi İnhibitör Faktör (LIF)	12
2.3.6. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör (VEGF)	12
2.3.7. Transforming Büyüme Faktör β (TGF- β)	12
2.3.8. Siklooksijenazlar (COX)	13

2.3.9. Prostoglandinler	13
2.4. Desidualizasyon	13
2.5. Ekstrasellüler Matriks (ECM)	15
2.5.1. Ekstrasellüler Matriks Proteinleri (ECM)	15
2.5.2. İmplantasyonda ECM'nin Önemi	15
2.6. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)	16
2.6.1. Matriks Metalloproteinazların Yapısı	18
2.6.2. MMP'lerin Sınıflandırılması	18
2.7. Erken Gebelikte MMP'lerin Rolü	23
2.8. Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında MMP'lerin Rolü	25
2.9. Heparin	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. İmmunohistokimyasal Prosedür	28
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
7. KAYNAKLAR	53
8. ÖZGEÇMİŞ	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1.** Zigotun yarıklanması ve blastosist oluşumu (63). 6
- Şekil 4.1.** Gebeliğin 0. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 31
- Şekil 4.2.** Gebeliğin 2.gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 31
- Şekil 4.3.** Gebeliğin 4. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 32
- Şekil 4.4.** Gebeliğin 6. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. PDZ: Primer desidual zon; AMZ: Antimezometrial alan; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Mavi ok: Kapiller 32
- Şekil 4.5.** Gebeliğin 8. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. MZ: Mezometrial alan; AMZ: Antimezometrial alan; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Mavi ok: Kapiller 33
- Şekil 4.6.** Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 33
- Şekil 4.7.** Heparin uygulanan grupta gebeliğin 2. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 34
- Şekil 4.8.** Heparin uygulanan grupta gebeliğin 4. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 34
- Şekil 4.9.** Heparin uygulanan grupta gebeliğin 6. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. PDZ: Primer desidual zon; ES: Endometrial stroma; MYM:Myometriyum;Maviok:Kapiller 35
- Şekil 4.10.** Heparin uygulanan grupta gebeliğin 8. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. MZ: Mezometrial alan; AMZ: Antimezometrial alan; PDZ: Primer desidual zon; MYM: Myometriyum; Sarı ok: embriyo; Mavi ok: Kapiller 35

Şekil 4.11. Gebeliğin 0. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 38

Şekil 4.12. Gebeliğin 2. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 38

Şekil 4.13. Gebeliğin 4. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 39

Şekil 4.14. Gebeliğin 6. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. AMZ: Antimezometrial alan; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 39

Şekil 4.15. Gebeliğin 8. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. PDZ: Primer desidual zon; AMZ: Antimezometrial alan; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller; Sarı ok: Embriyo 40

Şekil 4.16. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 40

Şekil 4.17. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 2. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 41

Şekil 4.18. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 4. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 41

Şekil 4.19. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 6. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. PDZ: Primer desidual zon; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller 42

Şekil 4.20. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 8. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. MZ: Mezometrial alan; AMZ: Antimezometrial alan; Sarı ok: embriyo; mavi ok: kapiller 42

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. MMP enzimlerinin substrat özgülüğüne göre sınıflandırılması (72)	19
Tablo 4.1. Heparin uygulanmayan gebe sıçanların uterus dokusunda MMP-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semiquantitatif analizi	43
Tablo 4.2. Heparin uygulanan gebe sıçanların uterus dokusunda MMP-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semiquantitatif analizi	43
Tablo 4.3. Heparin uygulanmayan gebe sıçanların uterus dokusunda MMP-9 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semiquantitatif analizi	43
Tablo 4.4. Heparin uygulanan gebe sıçanların uterus dokusunda MMP-9 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semiquantitatif analizi	43

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAA:	Abdominal Aortik Protein
AMZ:	Antimezometrial Alan
APS:	Antifosfolipid Sendromu
COX:	Siklooksijenazlar
DMAH:	Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin
ECM:	Ekstrasellüler Matriks Proteinleri
ES:	Endometrial Stroma
HB-EGF:	Heparin Bağlayan Epidermal Büyüme Faktörü
HIP:	Heparin Etkileşimli Protein
IL-1:	İnterlökin-1
LE:	Lümen Epiteli
LIF:	Lökemi İnhibitör Faktör
MMP:	Matriks Metalloproteinleri
MMP-2:	Jelatinaz A
MMP-9:	Jelatinaz B
MT-MMP:	Membran Tipi MMP
MUC:	Musin
MYM:	Miyometriyum
MZ:	Mezometrial Alan
PDZ:	Primer Desidual Zon
SDZ:	Sekonder Desidual Zon
SES:	Subepitelyal Stroma
TIMP:	Matriks Proteinlerinin Doku İnhibitörleri
TGF-β:	Transforming Büyüme Faktörü β
TGK:	Tekrarlayan Gebelik Kaybı
TNF-α:	Tümör Nekrozis Faktör-α
VEGF:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör
VTE:	Venöz Tromboemboli

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Yüksek Lisans Tezi
Gebeliğin Erken Dönemlerinde Sıçan Uterus Dokusunda Heparin'in Matriks Metalloproteinaz-2, -9 (MMP-2 ve MMP-9) Ekspresyonu Üzerine Etkisi
Derya AKALIN
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı
Prof. Dr. Jale ÖNER
BURDUR-2016
ÖZET

Blastosist implantasyonu, uterusu ekstrasellüler matriks (ECM) yıkımını ve doku yenilenmesini içine alan bir süreçtir. Çeşitli ECM ve bazal membran (BM) makromoleküllerin yıkımlanmasını, Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) katalize ederler. Antikoagulant ve antiinflamatuvar özelliklerinden faydalanmak suretiyle çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan heparinin, aynı zamanda implantasyonda, özellikle trofoblast invazyonu ve farklılaşmasında etkili olduğu bildirilmiş, damar hastalıklarının tedavisi esnasında serum MMP seviyelerini de etkilediği kaydedilmiştir. Ancak, normal gebe uterus dokusunda MMP'ler üzerinden bir etkiye sahip olup olmadığına ait bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu çalışmada, gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda heparin'in MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonları üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada heparin uygulanacak sıçanlara gebeliğin 0. gününden itibaren 50 IU/kg heparin, intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Gebeliğin 0, 2, 4, 6 ve 8. günlerinde, heparin uygulanan ve uygulanmayan sıçanlardan immunohistokimyasal analizler için uterus doku analizler uterus doku alanları toplanmış, MMP-2, -9 immünlokalizasyonları belirlenmiş, elde edilen sonuçlar semiquantitatif olarak değerlendirilmiş ve boyalı doku örnekleri fotoğraflanmıştır. Yapılan çalışmada, erken gebelik döneminde heparin kullanımının sıçan uterus dokusunda MMP-2 ve MMP-9 immunekspresyonlarını semiquantitatif olarak artırdığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: erken gebelik, heparin, MMP, sıçan

T.C.

MEHMET AKİF ERSOY UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCE

Master of Science Thesis

The effect of Heparin on expression of Matrix Metalloproteinase-2, -9 (MMP-2, -9) in rat uterine tissue during early pregnancy

Derya AKALIN

The Department of Internal Medicine

Supervisor:

Prof. Dr. Jale ÖNER

BURDUR-2016

ABSTRACT

Blastocyst implantation is a process involving the destruction and remodelling extracellular matrix in uterus. Matrix metalloproteinases (MMPs) catalyze degradation of extracellular matrix and basal membrane macro molecules. It has been reported that heparin is used treatment of various disease by utilize anticoagulant and antiinflammatory speciality have influence on implantation, specially trophoblast invasion and differentiation, and on MMPs levels during treatment of vascular diseases. But it has not been reported that whether influence on pregnant rat uterine tissue or not. We investigated that whether heparin has an effect via MMP in rat uterine tissue during early pregnancy or not. 50 IU/kg heparin injected into pregnant rat from day 0 of gestation. The obtained tissue samples from heparin treated and untreated pregnant rat at 0, 2, 4, 6 and 8 day of gestation for immunohistochemical analyses determined MMP-2, -9 immunolocalization results evaluated semiquantitatively and photographed. It has been determined in this study heparin used during early pregnancy increased the MMP-2 and -9 immunexpression in rat uterine tissue semiquantitatively.

Key words: early pregnancy, heparin, MMP, rat

1. GİRİŞ

Memelilerde blastosistin endometriuma yapışması, bir takım özel olayları içeren önemli bir süreçtir. Endometriyum ‘implantasyon penceresi’ olarak bilinen, menstrual siklusun kısa bir periyodu hariç blastosist yapışmasını kabul etmez. Trofoektodermin dış yüzeyinde ve endometriyal epitelin lümene bakan yüzünde endometriyal blastosist yapışmasını sağlayan, aktive eden faktörler kadar blastosist yapışmasını azaltan veya önleyen inhibitör faktörlerin de var olduğu kabul edilir (72).

İmplantasyon, blastosist trofoblastı ve uterus lümen epitelinin apikal plazma membranlarının kaynaşması ile başlar. Sonra embriyoya komşu uterus epitel hücreleri apoptozise uğrar ve altındaki bazal membrandan ayrılır. Böylelikle embriyo ekstrasellüler matriksten oluşan bazal membrana ulaşır. Daha sonra bazal membranın yıkımlanmasıyla blastosist endometriyumuna gömülür. İmplantasyonu takiben, plasantasyon olarak da isimlendirilen evrede, plasenta oluşumu ile implantasyon olayı tamamlanır ve gebelik döneminin sonuna kadar embriyoyu destekleyecek olan yapı kurulmuş olur (11, 71, 72).

Gebelik esnasında, uterus endometriyumunda çok dinamik bir şekilde, kontrollü olarak yapısal değişiklikler olur. Bu yapısal değişiklikler, ekstrasellüler matriksin (ECM) yıkımlanarak bozulması ve yeniden şekillenmesi ile karakterizedir. ECM’in yıkımlanarak yeniden şekillenmesi, başarılı bir implantasyon ve plasantasyon için oldukça önemlidir (38, 76, 100). ECM’nin yıkımlanarak yeniden şekillenmesi, özellikle trofoblastlardan salgılanan matriks metalloproteinazlar (MMP’ler) ve trofoblastik ve desidual dokular tarafından üretilen matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP’lar) tarafından düzenlenir. MMP-2 ve -9 bazal membranların yapısal elemanlarından tip IV kollajeni yıkmalar. MMP ve TIMP’ların aynı zamanda, gebelik esnasında desidualizasyon ve trofoblast invazyonunda da rol oynadığı çeşitli çalışmalarda kaydedilmiştir (72).

Fertilite bozukluklarının nedeni birçok yazar tarafından hem doku hem de moleküler düzeyde açıklanmaya çalışılmış, MMP’ların özellikle tekrarlayan gebelik kayıplarının etiolojisinde yer aldığı çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur.

Antikoagulant ve antiinflamatuvar özelliklerinden faydanılmak suretiyle, trombotik hastalıkların tedavisinde başarı ile kullanılan heparin, son yıllarda tekrarlayan gebelik kayıplarının önlenmesi ve tedavisinde de yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, düşük molekül ağırlıklı heparin'in, implantasyonda, özellikle trofoblast invazyonu ve farklılaşmada etkili olduğu bildirilmiştir. Kronik damar hastalıkların tedavisinde başarı ile kullanılan heparin'in bu hastalıklarda aynı zamanda MMP seviyelerini de etkilediği kaydedilmiştir. Düşük molekül ağırlıklı heparinin, gebelik kayıplarının önlenmesi ve tedavisinde nasıl bir etki mekanizması gösterdiği araştırılrsa da, özellikle erken gebelikte, doku seviyesinde, MMP'ler üzerinden bir etkiye sahip olup olmadığına dair bir bilgiye rastlanmamıştır. Buradan yola çıkılarak, gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda, düşük molekül ağırlıklı heparin uygulamasının, doku MMP seviyeleri üzerine etkisini araştırmak heparinin bilinen etki mekanizmaları dışından da bir etkiye sahip olup olmadığını göstermek açısından yararlıdır.

Bu tez çalışması ile gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda düşük molekül ağırlıklı heparinin MMP-2 ve -9 ekspresyonları üzerine etkisi, immunohistokimyasal teknik ile araştırılarak erken gebelikteki etkileri hakkında yeni bilgiler elde edilmeye çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Memelilerde Embriyonal Gelişim

Organizmadaki hücreler diploid kromozom sayısına sahip olup haploid kromozom sayısındaki gametlerin fertilizasyonu sonucu oluşur ve gametler birleşerek zigotu oluşturur (74).

2.1.1. Zigotun Yarıklanması

Yarıklanma, zigotun tekrarlayan mitoz bölünmeleri ile hücre sayısında hızlı bir artış olmasıdır yani zigotun bölünerek çoğalmasıdır (63). Bölünme, döllenmiş yumurta hücresinin sitoplazmadan zengin olan animal kutbunda, kutup hücresine yakın bir yerde başlar ve vejetatif kutupta sonlanır. Bu durum yumurta tipine bağlıdır (44). İlk bölünme ve onu takip eden bölünmeler sonucu meydana gelen yavru hücrelere blastomer denir (24, 44). Blastomerler her yarıklanma bölünmesiyle daha da küçülür. Yarıklanma sırasında zigot oldukça kalın zona pellusida içerisindedir. Zigotun blastomerlere bölünmesi insanda fertilizasyondan yaklaşık 30 saat sonra başlar (63).

İlk bölünme animal ve vejetatif kutuplardan geçecek şekilde meridyonal bir yön takip eder ve böylece iki eşit blastomer meydana gelir. Birbirlerine yapışık bulunan bu iki blastomer yine meridyonal olmak üzere, fakat birinciye dik biçimde ikinci bir bölünme geçirir, ortadan yani ekvatoryal bir yönde olur ve bu defa 8 blastomer meydana gelir. Bu üçüncü bölünmeyi takip eden her bölünme bir meridyonal bir ekvatoryal olmak üzere devam ederek 8, 16, 32, 64 vb. çok blastomerli bir hücre kümesi ortaya çıkar (44).

2.1.2. Morula

Blastomer sayısının artması ve dut benzeri görünüm kazanmasıyla morula dönemi başlar (42). Bu basamağa kadar hücrelerin etrafı zona pellusida ve korona radiata ile sarılı iken morula aşamasından sonra sadece zona pellusida ile sarılıdır (74).

Yarıklanma sürerken tuba uterinanın silyalı epiteli, oluşmakta olan embriyo taslağını ileriye, uterusu doğru itmektedir. Dölleneden itibaren 4. günde (yaklaşık 90-96 saat sonra) uterusu ulaşan embriyo taslağı 16 blastomer içerir (24).

İnsanlarda gelişmenin 4. gününde morula 9-16 hücrelidir. Evcil memeli hayvanlarda ise 16-64 hücre içerir. Morulanın hücreleri küre şeklindeki görünümünü kaybederek birbiriyle yan yana çok sıkı ilişki içerisine girerek kuvvetli bağlarla tutunan kompakt bir hücre kümesi halini alırlar. Bu durum kompaksiyon adıyla tanımlanır. Bu süreçte iç hücreler dış hücrelerden ayrılır ve morulanın iç hücreleri iç hücre kitlesi'ni, dış hücreleri de dış hücre kitlesi'ni oluştururlar. İç hücre kitlesinden embriyonun dokuları; dış hücre kitlesinden plesentayı oluşturacak trofoblastlar gelişir (74).

Morulanın periferine yerleşik hücreler, merkezdekilere göre daha açık renktedir ve poligonal hücreler arasında belirgin bir yapısal farklılık gözlenmez. Morulanın çevresi böğürtlen tanesi görünümünde iken, iç kısmı, iri, poligonal, ışık mikroskopunda vakuollü, elektron mikroskopta kısmen açık renk sitoplazmalı, iri nükleuslu, bol miktarda ribozom içeren hücrelerden oluşmuştur (24).

Morula aşamasındaki hücreler çoğalırlar, hücreler arasında sıvı birikmeye başlar ve hücreler birbirinden uzaklaşır. Başlangıçta küçük olan boşluklar, blastodermik veziküller, birleşerek tek bir boşluk oluştururlar. Bu boşluğa blastosist boşluğu veya blastosöl denir (24). Embriyo, blastula olarak tanımlanan bu basamakta uterus lümeninde uterus epiteli ile karşı karşıya gelmiş durumda olup blastosist aşaması olarak tanımlanır (74) ve uterus lümeninde varlığını belirten birçok kimyasal, elektriksel mesajlar yüklü biyomoleküller üreterek gerekli bilgiyi çevreye verir. Böylece gelişmenin birinci haftası sonunda insan zigotu morula ve blastosist dönemlerini tamamlayarak uterus mukozasına implante olmaya hazırdır (24).

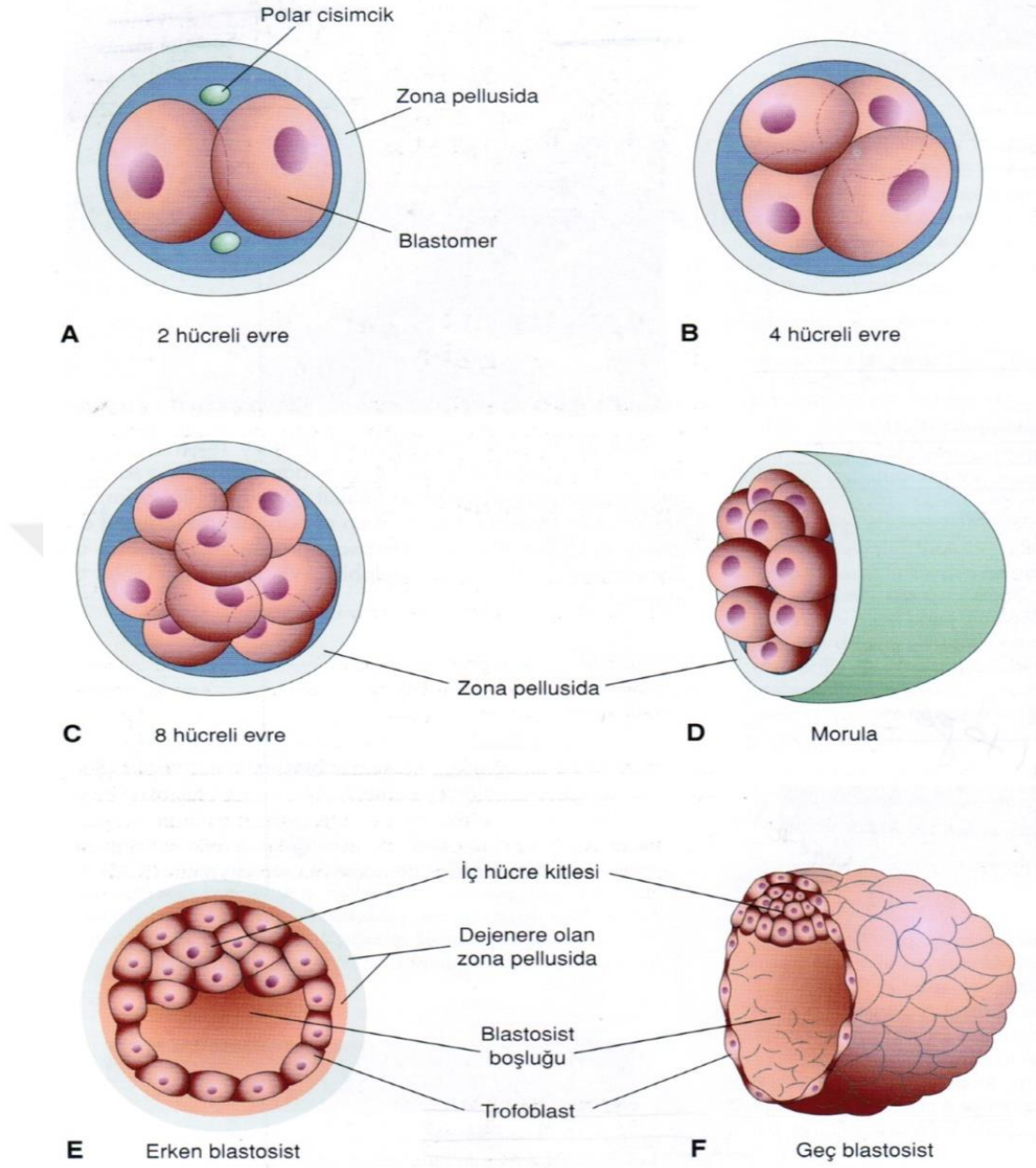
2.1.3. Blastosist

Blastosistin oluşumu, blastosölün belirmesiyle başlar ve çevredeki zona pellusida çözülerek erir. Çünkü zona pellusida çevrede olduğu süreçte implantasyonun olması mümkün değildir (24). Eriyen zona pellusidanın yerine

implantasyonu engelleyici değil teşvik edici yeni örtüler şekillenir (74). Zona pellusidanın blastosistten ayrılması kemiricilerde yaklaşık olarak gebeliğin 3,5-4,5. günlerine rastlar (107).

Blastosist içinde sıvı arttıka, blastomerleri iki bölüme ayırır. Blastosln çevresini ve ortadaki hücreleri saran ve koruyan trofoblast hücreler ile ileride embriyo diskini oluşturacak olan embriyoblast hücreler (63). Nodus embriyonalis'i örten trofoblast hücrelerine polar trofoblast, blastosel'i vreleyenlere de pariyetal trofoblast ismi verilir (42).





Şekil 2.1. Zigotun Yarıklanması ve Blastosist Oluşumu (63).

Memeli trofoblast hücreleri gebelik esnasında plasentanın farklı tiplerinde endometriyuma doğru farklı derecelerde invazivlik gösterir. Hemokorial (kemirgen, primat) ve endokorial (karnivor) tip plasentalarda, trofoblast hücreleri oldukça invazivdir, oysaki epitelya-korial (suiformes, boynuzlular), syndesmokorial (perissodactylas) ve synepitelya-korial (bovidae) tip plasentalarda ya sınırlı invaziv gösterirler ya da invaziv değildir (97).

2.2. İmplantasyon

İmplantasyon, genetik olarak farklı olan maternal ve embriyonik dokular arasında gelişen başarılı bir kaynaşmadır ve bu süreç karmaşık şekilde gerçekleşir (105). Embriyonal doku uterusu geldikten kısa bir süre sonra uterus duvarıyla temas eder ve uterus mukozasına çok sıkı veya gevşek bir şekilde bağlanır. Placentayı oluşturan bu bağlantıya implantasyon denir (73). İmplantasyon başarısı için, embriyo ile maternal doku arasındaki iletişim korunmalıdır. İmplantasyon başlamadan önce endometriyum ve blastosist arasında sinyaller aracılığıyla etkileşim meydana gelir (105). Endometriyal hücrelerin mikrovillusları (pinopodlar), hücre adezyon molekülleri, sitokinler, prostoglandinler, homeobox genleri, büyüme faktörleri ve matriks metalloproteinleri (MMP) endometriyumu alıcı hale getirmede rol oynarlar (63).

İmplantasyon sürecinde, blastosist aşamasındaki embriyonun senkronize gelişimi, blastosistin zona pellusidadan kurtulması ve alıcı durumdaki uterusun farklılaşması gibi olayların meydana gelmesi esastır. Tüm bu olaylar, öncelikle östrojen ve progesteronun koordineli etkilerine bağlıdır (22).

Başarılı bir implantasyonun şekillenmesi için, zona pellusida'nın dejenere olması gerekir. Zona pellusidanın kaybolması; blastosistin genişlemesi ve zona pellusidayı kuşatan ve kısmen içine girmiş olan spermlerin akrozomlarından salınan litik enzimler sayesinde olur (63). Bu olay kemiricilerde gebeliğin 3,5-4,5. günü gerçekleşir. Sonrasında blastosist, endometriyal epitele yapışır. Uterus lümen epiteli ve embriyo trofoektodermi arasındaki yapışma kemiricilerde gebeliğin 4,5-5,5. gününe rastlar (2, 107). Hemokorial plasentalı kemiricilerde penetrasyonda, trofoblastların hedefi uterus epitelinin ortadan kaldırılması ve onun yerine geçmesi şeklindedir. Blastosist, uterus epitelinin plazma membranının apikal yüzeyine tutunur. Epitel hücrelerin apikal yüzeyine tutunan trofoblastik hücreler direk sitotoksik etki ile apoptozise yol açar, bundan sonra epitelyal hücreler apoptozise uğrayarak ölür ve trofoblastlar tarafından fagosite edilerek bazal laminadan ayrılır (77). Gelişen embriyodaki trofoblast hücreleri, anneden fetüse oksijen ve besinlerin taşınmasıyla, implantasyon süresi sırasında blastosistin endometriyuma tutunmasından başlayarak gebeliğin başından sonuna kadar diğer işlevlerin yerine

getirilmesinde görevli hücrelerdir. Gebeliğin devamını sağlayan bu işlevler; uterus dokusuna düzenli invazyon, çoğalma, farklılaşma ve immunoendokrin fonksiyonlardır (37).

Yapışma sonrasında trofoblast iki tabakaya farklılaşır: sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast (63). Sinsityotrofoblastlar koryon villus yapısının dış kısmında bulunur, hücre sınırları, sitoplazmaları birbirine karıştığı için belli değildir ve çok çekirdeklidir (24). Bu tabakanın hemen altında koryon'un esas epiteli gelir ki, burada hücrelerin sınırları bellidir ve sitoplazmaları birbirine karışmamıştır. Bu hücrelerin oluşturduğu tek sıralı epitel kata da sitotrofoblast denir (44).

Sinsityotrofoblast, endometriyal dokuları aşındırır ve blastosist endometriyum içine gömülmeye başlar. Sinsityotrofoblast içinde kan ile dolu lakünalar görülür. Blastosist endometriyal epitelin altına gömülür ve burada oluşan hasar bir kapatacı tıkaç ile doldurulur. Bitişik lakünaların birleşmesiyle laküner ağ yapıları oluşur. Sinsityotrofoblast endometriyal damarları aşındırarak maternal kanın laküner ağ yapılarının içine ve dışına sızmasına izin verir, böylece bir uteroplazental dolaşım kurulur. Endometriyal epiteldeki hasar onarılır. Primer koryonik villuslar gelişir. Blastosist endometriyuma implantasyonunu tamamlarken trofoblastta hızlı çoğalma ve farklılaşma olur. İmplantasyona hazırlıkta bu dokuların uyumu sonucu oluşan endometriyal değişimler desidual reaksiyonlar olarak bilinir (63). Epitel hücreler apoptozis ile bazal membrandan ayrılana ve ortadan kalkana kadar trofoblast ve epitel hücreleri arasındaki invaziv ilişki devam eder. Epitelyal ayrılma ve bazal membranın parçalanmasına takiben embriyo direkt olarak desidual hücrelere bağlanır (2, 107).

Kemiricilerde penetrasyonda, trofoblastların hedefi uterus epitelinin ortadan kaldırılması ve onun yerine geçmesi şeklindedir. Blastosist, uterus epitelinin plazma membranının apikal yüzeyine tutunur, buradaki hücreler dejenere olur ve bazal laminadan ayrılır. Sonuçta bazal laminanın penetrasyonu, trofoblastın kendi penetratif aktivitesinden ziyade alttaki desidual hücrelerce başlatılır. İnsanlarda ise invaziv dokunun hedefi sinsityum aracılığı ile uterus duvarına kaynaşmaktır. Tutunmuş olan trofoblastın apikal plazma membranı, uterus epitel hücreleri apikal membranları ile kaynaşarak miks bir sinsityum oluşturur (24).

Kemiricilerde implantasyonun ilk dikkat çekici işareti, blastosistin temas yerinde endometriyal vasküler permeabilitenin artışının başlamasıdır (23, 81). Bu olay uterus lümen epiteli (LE) ve trofoektoderm (23, 30) arasında ilk yapışmanın başlamasına eş zamanlıdır (23). Anjiyogenezis esnasında subendotelyal bazal membran endotelyal hücrelerin göçünü kolaylaştırmak için yeniden modellenir (21).

Blastosistin genelde implante olduğu yer uterusun tavanıdır ve iki uterus bezinin lümenine açıldığı bölgeye yerleşmeye çalışır. Blastosistin kabul veya reddi, uterus epiteli ile yaptığı haberleşme sonunda anlaşılır (24).

2.2.1. İmplantasyon Tipleri

İmplantasyon maternal ve fetal yarımalarının ilişki derecesine göre üç tipe ayrılır.

1. Sentral (süperfisial) tip implantasyon: Fötal dokular uterus mukozasıyla temas halindedir, gömülme yoktur, yavru uterus boşluğunda merkezdedir. Tek tırnaklılarda, geniş getirenlerde, etçillerde, domuzda ve bazı tür maymunlarda görülür.

2. Ekzentrik tip implantasyon: Fötal dokuların büyük bir kısmı uterus mukozasına gömülmüştür. Kunduz ve sincaplarda görülür.

3. İnterstisyel tip implantasyon: Fötal dokular uterus mukozasına tamamen gömülür ve uterus mukozası embrioyu örter. Bu olaya nidasyon denir. İnsan, karnivor, kemirici ve bazı tür maymunlarda görülür (73).

Ekzentrik veya intersitisyel implantasyonda blastosistin bulunduğu bölge, blastosistin uterus içindeki pozisyonunun mezometriyumla ilişkisi dikkate alınarak tanımlanır. Blastosist mezometriyumun tutunma bölgesi ile aynı taraftaki endometriyuma implante olursa, bu mezometriyal implantasyondur. Eğer implantasyon mezometriyumun tutunma bölgesinin karşı tarafında ise bu implantasyon anti-mezometriyal implantasyondur (60). Kemiricilerde embriyo implantasyonu her zaman stromal hücrelerin implantasyonla uyarılması sonucunda desidual hücrelere farklılaştığı antimezometriyal kutupta olur (2, 107).

2.2.2. İmplantasyonun Oluş Mekanizmaları

İmplantasyon süreci preimplantasyon faz ve aktüel implantasyon olmak üzere 2 fazdan oluşmaktadır. Preimplantasyon: İnterimplantasyon faz ve prekontakt faz olmak üzere 2 fazdan oluşmaktadır. Aktüel implantasyon ise; appozisyon faz, adhezyon faz, penetrasyon ve invazyon faz olmak üzere 3 alt fazdan oluşur (24).

2.3. İmplantasyonun Moleküler Mekanizmaları

Gebelik sırasında uterusu etkili olan moleküller, adhezyon molekülleri, ekstrasellüler matriks (ECM) komponentleri, musinler, sitokinler, büyüme faktörleri, siklooksijenazlar ve matriks metalloproteinazları (MMP) içerir (10).

2.3.1. Hücre Adhezyon Molekülleri

Hücre adhezyon molekülleri, hücre yüzeyinde bulunan, hücrelerin birbirlerine ve ekstrasellüler matrikse bağlanmasını sağlayan protein molekülleridir (8). Hücre korunmasında, yara iyileşmesinde, doku bütünlüğünün sağlanmasında (31), hücrelerin özgül olarak dokulara yönelmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması gibi olayların düzenlenmesinde görev alırlar (40). Hücre adhezyon molekül ailesi; integrinler, kadherinler, selektinler ve immunoglobulinlerdir (10).

2.3.1.1. İntegrinler

İntegrinler, endometriyal, desidual ve ekstrasellüler sitotrofoblast (EVCT) hücrelerinde bulunan adhezyon molekülleridir (37).

2.3.1.2. Kadherinler

Kadherinler kalsiyum bağımlı hücre-hücre adhezyon mekanizmasından sorumlu glikoproteinlerin bir grubudur (10). Kadherinler üzerinde buldukları dokulara göre isimlendirilirler ve bugün bilinen beş kadherin grubu vardır (4, 40).

E-kadherinler: Epitel hücrelerinde eksprese olurlar.

P-kadherinler: Plesentada eksprese olurlar ancak belirli dönemlerde diğer dokularda da buldukları bildirilmiştir.

V-kadherinler: Endotel hücreleri üzerinde eksprese olurlar.

N-kadherinler: Nöral dokularda ve kas hücrelerinde eksprese olurlar.

H-kadherinler: Kalp kasında eksprese olurlar (40, 53).

2.3.1.3. Selektinler

Selektinler de kadherinler gibi üzerinde buldukları dokulara göre isim alan üç ana grupta incelenir (40).

L-selektinler: Bu ailenin ilk tanımlanmış üyesidir. Lökositlerde yapısal olarak bulunur ve endotel hücresindeki ligandı ile etkileşir. (28, 95).

E-selektinler: Endotel hücre yüzeylerinde; endotoksin, Tümör Nekrozis Faktör- α (TNF- α) ya da İnterlökin-1 (IL-1) uyarısı sonucu eksprese edilirler. Lökositlerin gevşek olarak endotele tutunmasını sağlarlar (95).

P-selektinler: Trombositler ve endotel hücreleri üzerinde bulunurlar (40, 49).

2.3.1.4. İmmunglobulinler

İmmunglobulinler, endometriyumun hem stroma hem de epitel hücrelerinden salındıkları için, patofizyolojisinde önemlidir (10).

2.3.2. Musinler (MUC)

Adhezyon sağlayan moleküllerin aksine anti-adeziv etkili bir gruptur. Endometriyal musinlerin salınımı ilginçtir. Musin ailesinden olan MUC-1, embriyo implantasyon için doğru yer ve doğru zamanı bulana kadar embriyoyu kovan bir moleküldür. Bu durumda lokal aktivasyon mekanizmalarına ihtiyaç vardır. Embriyonun MUC-1 engelini aşmak için eksprese ettiği tetikleyici faktörler olabilir (10).

2.3.3. Sitokinler

Sitokinler çok sayıda fizyolojik role sahip olan multifonksiyonel glikoproteinlerdir. Bu moleküllerin davranışları, vücuttaki implantasyon ve immun fonksiyon ile ilgili çoğu süreçle bağlantılıdır. Sitokinler ve kimokinler, implantasyon bölgesinde trofoblast farklılaşmasında ve trafiğinde rol oynarlar. İmplantasyon ve plasentasyonda önemli bir potansiyele sahiptir (10).

2.3.4. Heparin Bağlayan Epidermal Büyüme Faktörü (HB-EGF)

HB-EGF, amfiregulin ve betaselülin EGF ailesinin üyeleridir. Bunlar EGF reseptörü üzerinden etki gösterirler ve mitozu artırırlar. HB-EGF blastosist gelişmesini, zona delinmesini ve trofoblast büyümesini uyarır (29).

2.3.5. Lökemi İnhibitör Faktör (LIF)

LIF, çoğalma ve farklılaşma etkileri olan bir glikoproteindir. LIF'in sitotrofoblastlarca fibronektin sentezini artırarak ve hCG sentezini azaltarak trofoblastların fenotipini daha yapışkan ve invaziv olma yönünde değiştiği gösterilmiştir (29). LIF, fare endometriyumunda implantasyon anında üretilmektedir. LIF'in salgılanması bu türlerde implantasyon için ön koşuldur (37).

2.3.6. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

Vasküler Endotel Büyüme faktörü (VEGF), endotel hücrelerine özgü spesifik bir büyüme faktörüdür. Vaskülojenez ve anjiyojenezini artırır (32).

2.3.7. Transforming Büyüme Faktörü β (TGF- β)

Transforming Büyüme Faktörü (TGF- β) ailesi çok yönlü kontroleden ekstrasellüler büyüme faktörlerinin büyük bir grubudur. Organizmanın tüm dokularının gelişiminde, homeostazisinde ve onarımında çok önemli rol oynayan TGF- β ailesi, yapısal olarak ilişkili çok sayıda polipeptid büyüme faktörleri içerir, bunların her biri hücre proliferasyonu, farklılaşması, motilitesi, adezyonu ve ölümü gibi hücresel süreçleri düzenleme yeteneğine sahiptir (59, 94).

2.3.8. Siklooksijenazlar (COX)

Siklooksijenazlar, prostoglandin sentezinde hız sınırlayıcı enzimdir ve 2 izoformu vardır, COX-1 ve COX-2. Sıçanda COX-2'nin selektif inhibisyonunun çok sayıda reproduktif patolojiye yol açtığı ve ovulasyon, fertilizasyon, implantasyon ve desidualizasyonun bozulduğu bildirilmiştir (29).

2.3.9. Prostaglandinler

Prostaglandinler implantasyon penceresinde zamanlama aşamasında önemlidir. Blastosist implantasyonunda zamanlamada gecikme, embriyonun serviks duvarına tutunmasına, anormal plesentaya ve fenal emilime neden olabilir (10).

2.4. Desidualizasyon

İmplantasyonun meydana gelebilmesi için endometriyumun desiduaya dönüşmesi gerekmektedir. Bu süreç, endometriyal stroma hücrelerinde, uterus bezlerinde, uterus damarlarında aynı zamanda uterus immun hücrelerinin popülasyonunda bir takım düzenlemelerin yapıldığı bir süreçtir (88). Kemiricilerde blastosistin antimezometriyal alana yapışması ile beraber trofoblastik dev hücreler endometriyuma invaze olmaya başlar. Aynı zamanda alttaki stroma proliferer olur ve desidualizasyon başlayarak primer desidual zon (PDZ) meydana gelir. Bu işlem yapışma yerindeki uterus lümen epitelinin apoptozisi ile devam eder. Alttaki bazal membran embriyonun uterusu gömülmesi için parçalanır. İlerleyen günlerde PDZ programlı hücre ölümü geçirir ve kaybolur ve implantasyon alanını çevreleyen sekonder desidual zon (SDZ) şekillenir (21). Kemiricilerde blastosistin yapışma alanındaki stromanın desidual dokuya dönüşümü yaklaşık olarak gebeliğin 5-6. günlerine rastlar. Ancak trofoblastların alttaki bazal membrana penetrasyonu ve trofoblastların stromaya invazyonu 7. günde gerçekleşir (107).

İmplantasyon yerinin etrafındaki bağ dokusu hücreleri, glikojen ve lipidleri depolayarak polihedral görünüm kazanırlar. Bu hücrelerin bazılarını desidual hücreler denir ve invazyon gösteren sinsisyotrofoblast hücrelerinin yakınında dejenere olurlar. Embriyonik beslenme için zengin bir kaynak oluşturan bu dejenere hücreler, sinsisyotrofoblast tarafından alınarak kullanılır (63).

Uterusun lamina propriyasında meydana gelen hücresel ve fibrillar değişiklikler, blastosistin gömülebilmesi için gereklidir. Fibroblast karakterindeki hücreler, endometriyumun desidual özellik kazanmasında esas olan hücrelerdir. Bağ dokusu hücrelerinin içerikleri glikojen ve kismende lipidden zengin hale gelirler. Sıkı bir yapı düzeni halinde tertiplenen poligonal, iri çekirdekli hücreler, desiduaya sıkı bir özellik kazandırır. Bu kompakt bölgenin altında ise uterus bezi hücrelerinde sayısal olarak çoğalma ve paralel olarak ileri büyüme ve genişleme olur. Bezlerdeki büyüme ve uzama hızı ile endometriyal kalınlaşma, aynı zamanda ve aynı hızda olmadığı için dar alana daha çok bez sığdırmak amacıyla kıvrımlar oluşur. Bezler arasındaki bağ doku elemanları en aza indirilir. Bu nedenle mikroskopik gözlemlerde bu bölge sünger gibi gözenekli gözükür (24).

Gebeliğin preimplantasyon döneminde, proliferen olan endometriyal stromal fibroblastlar morfolojik ve fizyolojik farklılaşmalar gösterirken ECM moleküllerinin yapısı da yeniden şekillenir. Bu dönemde desidual hücrelerin sekresyon ve sentez aktivitelerinin artışına bağlı olarak ECM moleküllerinin endometriyal stromadaki dağılımlarında ve kompozisyonunda büyük değişiklikler gözlenir. İmplantasyon için uygun ortam hazırlanmasında, endometriyal stromanın, özellikle de ECM yapısının, yeniden nasıl şekillendiği tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca desidualizasyon olaylarında, ECM moleküllerinin katıldığı sinyal mekanizmaları hakkındaki bilgiler oldukça sınırlıdır.

Gebelik süresine giren endometriyumda ECM proteinleri ile adhezyon reseptörleri, gebeliğin habercisi olan desidualizasyonun belirleyicileri olabilir. ECM proteinlerinin ve adhezyon moleküllerinin desidualizasyon sürecinde rol almaları kaçınılmaz bir olgu olmalıdır (50).

Gebelik söz konusu değilken, endometriyal stroma ECM’i tip I, III, V ve VI kollajeni, fibronektin ve periglandular tenaskin birikintilerini içermektedir. Desidualizasyon sırasında ise hücre tip IV kollajen, heparan sülfat, proteoglikan ve laminin 2 ve 4 içeren bir ECM üretir. Stromal farklılaşma veya desidualizasyon, ECM’deki değiklikler ile karakterizedir. Farede bu değişiklikler implante olan blastosist ile uyarılmaktadır (37).

Desidualizasyon sırasında, endometriyumun ECM yeniden modellenmeye maruz kalır, farklılaşmamış stromal hücrelerin altında yatan fibrillar kollajen matriks, çok sayıda kollajen bileşenlerinin uzaklaştırılması yüzünden daha az lifli hale gelir (64). Ardından yakın zamanda farklılaşmamış desidual hücreler laminin, entaktin ve tip IV kollajen dahil olmak üzere (101) birçok bazal membran bileşenlerini üretir (36, 67, 101).

2.5. Ekstrasellüler Matriks (ECM)

2.5.1. Ekstrasellüler Matriks Proteinleri (ECM)

ECM, proteinleri ve proteoglikanları içeren, organizmaya yapısal destek sağlamanın yanı sıra hücre proliferasyonu, farklılaşması ve migrasyonu ile yapışma, doku morfogenezisi gibi pek çok biyolojik aktivitede etkisi olan karmaşık ve dinamik bir oluşumdur (3). Bazal membran laminin, fibronektin, çeşitli tip kollajen, heparan sülfat, proteoglikan gibi çeşitli ECM bileşenlerini içerir. Ayrıca epitel ve epitel olmayan hücreler ECM bileşenleri için reseptörlere sahiptir. İntegrinler hücre biçimi ya da adezyonunu değiştirerek veya fokal temaslar kurarak, ECM ile hücre etkileşimlerini kuvvetlendirerek hücre iskeleti ile etkileşir (63).

2.5.2. İmplantasyonda ECM'nin Önemi

Memeli uterus endometriyumu, gebelik ve östrus siklus evresinde devamlı olarak dinamik, yapısal ve fizyolojik değişikliklere uğrar. İmplantasyon ve gebeliğin korunmasında, embriyonik gelişim ve spermin olgunlaşmasında uygun bir mikroçevrenin sağlanması için uterus lumen sıvı bileşimi değişir. ECM'nin yapısal değişiklikleri, konseptus implantasyonu ve placentasyon için esas olan ve ECM-doku remodellenmesi olarak bilinen ECM yıkımı ve rejenerasyonunu içerir. Fizyolojik değişiklikler ise proteaz ve onların inhibitörleri, büyüme faktörleri ve sitokinlerin epitelyal bağlantı veya embriyodan uterus sıvısına doğru salınımını içerir (86).

İmplantasyon esnasında ECM moleküllerinin endometriyal stromadaki dağılımlarında ve kompozisyonunda büyük değişiklikler gözlenir. İmplantasyon için uygun ortamın hazırlanmasında, endometriyal stromanın, özellikle de ECM yapısının, yeniden nasıl şekillendiği tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca

desidualizasyon olaylarında, ECM moleküllerinin katıldığı sinyal mekanizmaları hakkındaki bilgiler oldukça sınırlıdır (50).

Trofoblastik hücreler, uterus duvarından içeri girmeleri sırasında çeşitli matriks proteinleri ve bazal membran ile karşı karşıya kalırlar. Kollajenler, fibronektin, laminin, vitronektin, trofin ve tastin gibi ECM bileşenleri integrinlere bağlanarak hücre fonksiyonlarını etkilerler. Dolayısıyla bu moleküller adhezyona, migrasyona, farklılaşmaya ve yayılmaya etki ederler (14).

Desidualizasyon sırasında implantasyon sahasına en yakın uterus mezenşimal hücreler farklılaşmaktadır. Temel hücre özellikleri stromaldan para-epitele dönüşmektedir. Hücreler kendi aralarında geniş kapsamlı bağlantılar kurar, stromal hücre hacimleri 10 kat artar, poliploid hale gelir ve her bir hücrenin etrafında bazal membrana benzer ECM ortaya çıkar (5).

Desidualizasyon sırasında, foliküler fazda bulunan endometriyumun fibronektin, Tip I, III, V ve VI kollajen içeren intersitisyel tip ECM'i, laminin, heparan sülfat, perlekan ve tip IV kollajen içeren desidua dokusuna dönüşür (72). Desidualizasyon sırasında uterus ECM yıkımı oluşur. Bu nedenle ECM ve ECM yıkımını gerçekleştiren mediatörler başarılı bir implantasyon ve gebelik için önemlidir (71).

ECM yıkımınası ve yenilenmesi kısmen, matriks metalloproteinazlar ve onların doku inhibitörleri (TIMP) tarafından düzenlenir. MMP ailesi proteolitik enzimlerin en az 25'ini kapsar ve çinko-katalizli bir mekanizma boyunca ECM bileşenlerini indirgeme yeteneği vardır (9, 65, 86).

2.6. Matriks Metalloproteinazlar (MMP)

MMP'ler bağ dokuda bulunan, çeşitli hücre tiplerinden salgılanan, ECM'nin normal fizyolojik döngüsünde yer alan, ECM'nin ve kıkırdağın yıkımına karıştığı düşünülen, çinko (Zn)'ya bağlı ve 20'den fazla enzimi içeren, homolog bir endopeptidazlar ailesidir (7).

MMP'ler ilk olarak 1962'de iribaş kuyruğunda, metamorfoz esnasında, fibriler kollajeni yıkılmayan bir enzim olarak tanımlanmıştır (75). Türlerine göre endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri, T lenfositler,

trombositler, kondrositler, keratinositler, epitel hücreleri, mezenşimal hücreler, nötrofiller, trofoblastlar, osteoblastlar gibi oldukça çeşitli hücre tipi tarafından eksprese edilirler (35, 65). Bütün MMP'ler başlangıçta inaktif proenzimler olarak salınırlar. Pro-MMP'lerin aktivasyonu katalitik parçalarının aktif kısmında mevcut olan çinko ve propeptidlerinde yer alan tiyol grubu arasındaki koordinasyonun bozulması ile gerçekleşir (65).

Matriks metalloproteinaz ailesi aşağıdaki özelliklere sahiptir

1. Ekstrasellüler matriksin en az bir komponentini parçalayan proteinazlardır.
2. Zn iyonu içerirler ve bu nedenle şelatlayıcı ajanlarla inhibe olabilirler.
3. Latent formda salgılanırlar ve proteolitik aktivitelerini göstermeleri için aktive olmaları gereklidir. İn-vitro olarak organomerküriyel bileşenlerle aktive olabilirler.
4. Metalloproteinazlara spesifik doku inhibitörleri ile inhibe olurlar.
5. Moleküler klonlama yöntemleri ile çeşitli grup üyelerinin aminoasit benzerlikleri olduğu gösterilmiştir (3).

MMP'ler yara iyileşmesi, kemiğin yeniden yapılanması, uterus ve meme dokusu fonksiyonları, ovulasyon, embriyo implantasyonu, embriyogenezis, laktasyon gibi fizyolojik olayların yanı sıra artrit, tümör hücrelerinin invazyonu ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de rol oynarlar (3). Ayrıca, desidualizasyon sırasında doku yenilenmesinde ve blastosist invazyonu sırasında (11) ECM yıkımından sorumludur (29, 50, 62).

Bu parçalayıcı enzimlerin hedefleri; yapısal ECM molekülleri (yani interstisyel kollagenler dahil, lamininler, fibronektinler, heparan sülfat proteoglikanları), hücre-adhezyon molekülleri, hücre yüzeyi reseptörleri, büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer proteinazlarla birlikte kemoatraktan maddelerdir (62).

MMP ekspresyonu ve bunların aktiviteleri TIMP'ler olarak adlandırılan spesifik inhibitörleri ile büyük ölçüde modüle edilmesiyle düzenlenir (58, 62). TIMP'ler MMP aktivitelerinin önemli endojen regülatörleridir ve şimdiye kadar dört homoloğu tespit edilmiştir (65, 86). ECM'nin yeniden şekillenmesinde kontrollü bir

düzenleme için TIMP ve MMP'lerin aktiviteleri arasında hassas bir denge mevcuttur (86).

2.6.1. Matriks Metalloproteinazların Yapısı

Yapısal olarak incelendiğinde MMP'ler 5 ana kısımdan oluşur:

1. Sinyal Peptit: Endoplazmik retikulumdan ilk sentezlenen proteindir.
2. Propeptit Bölge: Katalitik çinko bağlayan bölge ile etkileşerek enzimin inaktif formda kalmasını sağlayan bölge ile etkileşerek enzimin inaktif formda kalmasını sağlayan bölgedir.
3. Katalitik bölge: Propeptit bölgenin ayrılması ile yapısındaki çinko iyonları sayesinde enzim aktivitesini sağlayan bölgedir (70).
4. Katalizör kısmı hemopeksin benzeri kısma bağlayan prolinden zengin bölge: Katalitik bölge ve son bölge arasında yer alır (3, 70).
5. Hemopeksin benzeri bölge: Bu bölge N ve C terminal kısımları bağlayan disülfid bağı içerir ve katalitik bölgeye 5-10 aminoasitlik prolinden zengin bir bölge ile bağlanır (3).

2.6.2. MMP'lerin Sınıflandırılması

Proteinazlar genel olarak katabolik mekanizmalarına göre 4 alt gruba ayrılır; Serin proteinazlar, Sistein proteinazlar, Aspartik proteinazlar ve Metalloproteinazlar (7, 17, 18, 68).

MMP'ler ise kollagenazlar, jelatinazlar, stromelisinler, membran tipi MMP'ler ve diğer enzimler de dahil olmak üzere 5 alt grupta sınıflandırılmıştır (65, 70).

Tablo 2.1. MMP enzimlerinin substrat özgülüğüne göre sınıflandırılması (72).

Grup adı	Tanımlayıcı isim	Numara	Temel substrat
Kollojenazlar	İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajen Tip 1, 2, 3, 7 ve 10, jelatin, PG
	Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen Tip 1, 2, 3, PG
	Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajen Tip 1, 2, 3
	Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen I
Jelatinazlar	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, kollajen IV, V, VII; X, XI, elastin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin, kollajen IV, V, XIV, elastin, PG
Stromelisinler	Stromelisin 1	MMP-3	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 2	MMP-10	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 3	MMP-11	PG, laminin, elastin, entaktin, tenaskin, versikan, jelatin, kollajen III, IV, IX, X
Membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler)	MT1-MMP	MMP-14	Kollajen I, II, III, FN, laminin, VN
	MT2-MMP	MMP-15	Agrekan, FN, laminin, tenaskin
	MT3-MMP	MMP-16	Kollajen III, FN, jelatin
	MT4-MMP	MMP-17	Jelatin
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT6-MMP	MMP-25	Kollajen IV, fibrin, FN, jelatin
Diğerleri	Matrilisin 1	MMP-7	Serin proteaz inhibitörleri
	Metaloelastaz	MMP-12	Kollajen I, IV, elastin, FN, jelatin, laminin, VN
	RASI-1	MMP-19	Kollajen IV, entaktin, FN, jelatin, laminin, tenaskin
	Enamelisin	MMP-20	Agrekan, amelogenin
	X-MMP	MMP-21	Tanımlanmamıştır
	CA-MMP	MMP-23	Tanımlanmamıştır
	Matrilisin 2	MMP-26	Kollajen IV, FN, jelatin, VN
	CMMP (Horoz)	MMP-27	Tanımlanmamıştır

Kollajenazlar

Kollajenazlar; MMP'lerin çözünemeyen fibriler kollajenleri (özellikle tip-I ve tip-II) yıkımlayabilen yüksek düzeyde spesifik bir grubudur. Sadece kollajenazlar ve MT MMP-1 fibriler kollajenin yıkımıyla ilişkilidir ki bu da enzimlerin doku yenilenmesinde kritik olduklarını düşündürür (7).

1) İnterstisyel kollajenaz (MMP-1, Fibroblast kollajenaz)

MMP ailesinin prototipik üyesidir, 1962 de ilk kez kurbağa yavrusunun kuyruk kısmının çözünmesini sağlayan bir proteaz olarak tanımlanmıştır. Latent formu 55 kDa ağırlığında, aktif formu 43 kDa ağırlığındadır (3).

Kollajenazlar; intersitisyel kollajenler -I, -II ve -III'ün helikal kısmını sindiren tek memeli proteinazlarıdır. İnterstisyel kollajenler bazal membranda bulunan tip IV kollajenden ve perisellüler olarak bulunan tip V kollajenden farklıdır. Ayrıca tip V, II ve X kollajenin yıkılmasında rol oynar (7).

2) Nötrofil kollajenaz

75 kDa büyüklüğünde proenzimdir ve aktif formu 58 kDa büyüklüğündedir. Tip I, II, III interstisyel kollajeni yıkar, nötrofillerce üretilir. Nötrofil kollajenazda, fibroblast kollajenazda bulunmayan altı glikozilasyon sahası vardır (3).

3) Kollajenaz 3(MMP 13)

Tip I kollajeni yıkar.

MMP-1; entaktin, kollajen-X, jelatinler, agrekan ve kıkırdak zincir proteinini parçalar.

MMP-8; agrekan, jelatinler ve kıkırdak zincir proteinini parçalar.

MMP-13; tercihen agrekan, tip-IV, -IX, -X ve -XIV kollajenlerini, fibronektin ve tenaskini hidrolize eder (3, 68).

Jelatinazlar

Jelatinazlar, diğer MMP'lerden farklı olarak katalizör bölge ile aktif bölgesi arasında jelatin bağlayıcı bölge içeren enzim grubudur. Jelatinazlar Tip IV, V, VII, X, XI ve XIV kollajen, jelatin, elastin, proteoglikan kor proteinleri, myelin temel

proteini, fibronektin, fibrillin 1, TNF- α , interleokin-1 β öncüllerini yıkma özelliğine sahiptirler (41, 69, 103).

Jelatinaz A (MMP-2)

MMP-2 tüm MMP'lerin en yaygın olanıdır. Fibroblastlar, endotelial hücreler ve alveolar epitelyal hücreler, keratinositler, fibroblastlar, kondrositler, osteoblastlar, monositler gibi pek çok değişik hücre ve transforme olmuş değişik hücreler tarafından üretilir (12, 41).

MMP-2'nin latent formu 72 kDa, aktif formu 66 kDa ağırlığındadır. Tip IV kollajeni, gelatini, ek olarak tip V, VII, X kollajeni, elastin ve fibronektini, laminini parçalar (3). MMP-2 aynı zamanda tip I kollajeni; MMP-9 ise asidik ortamda tip I kollajenin N-terminalini yıkarak ECM'nin yeniden modellenmesi olayında önemli rol üstlenir (41, 69, 103). MMP-2'nin endometriyal dokunun trofoblast invazyonunda rol oynadığı bildirilmiştir. MMP up-regülasyonu, hücrel büyüme, anjiyogenezisi, hücrel migrasyonu teşvik ederek bazal membranın ve ECM'nin proteolitik parçalanmasıyla sonuçlanır (91).

MMP-2 tümör hücrelerinin yanı sıra, sinovial fibroblastlar ve kondrositler tarafından da salgılanır (7).

Jelatinaz B (MMP-9)

MMP-9 (Jelatinaz B), ilk olarak 1974 yılında Sapota ve Dancemicz tarafından polimorfonükleer lökositlerden salgılanan bir jelatinolitik enzim olarak tanımlanmıştır (41, 103).

Gelatin ve tip IV bazal membran kollajeni için substrat spesifiktir. Latent formu 92 kDa, aktif formu 84 kDa ağırlığındadır. Diğer substratları tip I, III, V kollajen, elastin ve fibronektindir (3).

MMP-9, MMP ailesinin en büyük üyesidir. Sinyal peptidi, propeptit bölgesi, çinko atomu bağlayıcı bölüm, COOH-terminal hemopeksin benzeri bölüm olmak üzere 7 bölümden oluşur. Ayrıca katalitik bölüm ve hemopeksin benzeri bölüm arasında proline zengin bağlayıcı bölge yer alır. C-terminal hemopeksin benzeri bölüm substrat spesifitesini belirlemede anahtar rolü oynar. Fibronektin benzeri bölüm kollajen ve jelatinlere bağlanmayı kolaylaştırır (41, 54).

MMP-9, tümör hücresi, nötrofil, eozinofil, monosit, lenfosit ve alveolar makrofaj gibi inflamatuvar hücreler tarafından üretilir. Belirli şartlarda endotelial ve alveolar epitel hücreler gibi MMP-2 sentezleyen hücreler tarafından üretilir. Salgılanan MMP-9, aşırı derecede glikozillenmiştir (12).

Stromelisinler

Stromelisin kollajen Tip-II, -IX, -X ve -XI'i parçalayabilme kapasitesi vardır. Kondrositler ve sinovial hücreler tarafından sentezlenir (7).

Stromelysin 1 (MMP-3,Transin 1)

İnaktif şekli 57, aktif şekli 46 kDa ağırlığındadır. Proteoglikanlar, laminin, fibronektin, Tip III, IV, V, IX kollajen ve jelatinlere etki eder. Fibroblast ve kondrositlerde, büyüme faktörleri, sitokinler ve tümör promoterleri stromelysin salgılanmasını teşvik eder.

Stromelysin 2 (MMP-10, Transin 2)

İnaktif şekli 57 kDa, aktif şekli 46 kDa ağırlığındadır. Fibronektin, jelatin, tip III, IV ve V kollajenlere etki eder. Transin 2 olarak da bilinen ve insan tümörlerinden kopyalanan bu molekülün aminoasit dizilini, büyüklüğü ve substrat seçiciliği stromelysin 1 ile benzer özellikler taşımaktadır.

Stromelysin 3 (MMP 11)

Stromelysin 1 ve stromelysin 2 ile aminoasit dizi benzerliği olup bir proteaz inhibitörüdür. Uterus, plasenta ve insan embriyosunda tespit edilmiştir (12).

Matrilysin (MMP-7, PUMP-1)

PUMP-1 olarak bilinen matrilisin (MMP-7) post partum involu olan rat uterusunda, mono nükleer fagositlerde ve bazı tümör hücrelerinde bulunmuştur. MMP-7'nin proteoglikan, fibronektin, jelatinler, kollajen IV, elastin ve entaktine karşı güçlü bir proteolitik aktivitesi vardır (7).

Membran Tipi MMP'ler (MT MMP)

MT-MMP'lerin temel özelliği hücre zarı üzerinde ekspresyon ve C-terminal bölgesinde transmembran alanı ile donatılmış olmalarıdır. Grubun ilk üyesi, şu anda bilinen MT-MMP, insan plasentasında orijinal şekilde cDNA grubu taranarak izole

edilmiştir. MT1-MMP proteolitik açıdan proMMP-2 ve proMMP-13 aktif formlara dönüşürler ve invaziv kanser hücreleri tarafından olduğu gibi embriyogenez ya da yara iyileşmesi sırasında göç eden hücreler tarafından salınan matriks proteinlerinin perisellüler parçalanmasından sorumludur. Tip I kollajen, jelatin ve fibronektinler gibi matriks proteinlerin belirli tipleri MT1-MMP tarafından parçalanır (97).

MT-MMP ailesinin ilk olarak keşfedilen üyesi olan MT1-MMP, 63 kDa olup Sato ve arkadaşları tarafından izelenmiştir (46, 79). Kanser invazyonunu ve metastazını ilerlettiği gösterilmiştir (46). Mide, akciğer, meme, kolon, baş, boyun ve malignant beyin tümörleri gibi çeşitli insan karsinomlarında MT1-MMP ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (12, 79).

Sınıflandırılmayan MMP'ler

MMP-23; MMP üyeleri arasında tek peptidi, sistein anahtar motifi ve hemopeksin benzeri kısmının eksikliğinden dolayı farklıdır, fakat pro-peptidde bir transmembran bölgesi bulunur.

MMP-12; elastin ve $\alpha 1$ proteinaz inhibitörünü sindirir.

MMP-19; agrekan ve jelatini sindirir.

MMP-20; enamelini parçaladığından beri enamelisin olarak ifade edilir, fakat biyokimyasal özellikleri ayrıntılı olarak belirtilmemiştir.

MMP-23; MMP'lerin sentetik bir substratını hidrolize eder, fakat ECM substratları iyi bilinmemektedir (7, 68).

2.7. Erken Gebelikte MMP'lerin Rolü

MMP'lerin endometriyal kabul ve implantasyondaki rolleri son yıllarda birçok çalışmaya konu olmuştur. MMP'lerin gebelikte, implantasyon sırasında ECM'nin yıkılmasında ve yeniden yapılanması sürecinde, spiral arter yenilenmesinde, büyüme faktörleri (TGFB ve IGF) sitokinler ve anjiojenik faktörlerin (endotelin) bioaktivitesinin düzenlenmesinde, desidualizasyonda, trofoblastin invazyonda önemli rol oynadığı bu nedenle de gebeliğin şekillenmesi ve devamında önemli olduğu bildirilmiştir. Gebelikte MMP ekspresyonlarının belirlenmesine ilişkin yapılan çalışmalar MMP ve doku inhibitörleri olan TIMP'ların

gebeliğin erken dönemlerinde, özellikle blastosist implantasyonu esnasında ECM'nin yıkılanması ve yeniden yapılanması sürecinde ve trofoblast invazyonunda aktif rol oynadığını, bu nedenle de gebeliğin şekillenmesi ve devamında önemli olduğunu göstermektedir (72).

İmplantasyon sırasında uterus spiral arterlerin yeniden şekillenmesi, başarılı bir gebelik için gereklidir (10). MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki dengenin, gebelikte uterus arterlerinin yeniden şekillenmesinde önemli bir rol oynaması muhtemeldir (51). MMP-2 ve MMP-9, bazal membranın yapısal bileşeni olan Tip IV kollajeni yıkmalar. İmplant olan embriyonun uterus epiteline doğru invazyonu MMP'ler tarafından teşvik edilir (45, 102).

Desidualizasyon sırasında, endometriyumun ECM'i kapsamlı şekilde yeniden modellenir. Farklılaşmamış stromal hücrelerin altında bulunan fibriler kollajen, çok sayıdaki kollajen bileşiğinin matriksten uzaklaştırılması yüzünden daha az lifli hale gelir. Hemen ardından farklılaşmış desidual hücreler laminin, entaktin ve kollajen tip IV dahil olmak üzere birçok bazal membran bileşenleri üretir (67). Yapılan çalışmalarda, embriyo implantasyonu için esas olan ECM yıkılanması ve yeniden yapılanmasında MMP ve TIMP'ların önemli düzenleyiciler olduğu bildirilmiştir (43, 102, 106).

MMP üyeleri arasından MMP-2 ve MMP-9 bazal membran unsurlarının (Tip IV kollajen, laminin, fibronektin) yıkılanmasında anahtar olarak kabul edilir ve erken implantasyonda kabul edilen rollerinden dolayı yaygın olarak araştırılmaktadır. Desidualizasyon esnasında uterus stromal hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmasının kısmen MMP'ler ve TIMP'lar tarafından düzenlendiği bildirilmiştir (72). Memeli uterusu ve plesentası MMP-2 ve MMP-9 üretir ve bunlar hemokoriyal tip plesantasyon ve implantasyon sırasında önemli roller oynar (97).

Gebelik esnasında trofoblastik ve desidual dokular tarafından üretilen TIMP'lar da aktive olmuş MMP'ler üzerinde inhibe edici etki göstermek suretiyle doku yenilenmesinde önemli rol oynarlar ve trofoblastların invaziv potansiyelini sınırlandırarak embriyo invazyonunu kontrol altında tutarlar. Değişik metodlar kullanılarak MMP'lerin ve doku inhibitörlerinin plasenta ve gebe uterus dokusundaki dağılımları tanımlanmıştır. İnsanda plasenta gelişiminde jelatinazlardan özellikle

MMP-2 ve MMP-9 enzimlerinin etkinlik gösterdiği ve birinci trimesterin erken dönemlerinde trofoblastlarca esas olarak MMP-2'nin üretilip salgılandığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (72).

2.8. Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında MMP'lerin Rolü

Fertilite bozukluklarının faklı nedenlerini ortaya koyacak çok teknik gelişmesine rağmen, bugün hala tekrarlayan gebelik kayıplarının %50'sinin ve infertilitenin %10'unun nedeni hala anlaşılamamıştır. Çoğu yazar idiyopatik infertilite ve tekrarlayan gebelik kayıplarının etiyolojilerini hem doku hem de moleküler seviyede endometriyal bozukluklarda açıklamaya çalışmaktadır (93).

Normal gebelik esnasında, endometriyum ve plesentada, MMP ekspresyonlarının belirlenmesine ilişkin çok sayıda çalışma mevcut iken, tekrarlayan gebelik kaybı bulunan endometriyumlarda, MMP ve TIMP ekspresyonları araştırıldığında, çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bazı araştırmalarda tekrarlayan gebelik kaybı bulunan endometriyumlarda MMP ve TIMP ekspresyonlarının normale göre daha fazla olduğu tespit edilirken, bazı çalışmalarda ise daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Tekrarlayan gebelik kayıplarında, MMP'lerin rolünü belirlemek için yapılan bazı çalışmalarda, preeklemtik gebelerde serum MMP-2, -9, TIMP-1 ve TIMP-2 konsantrasyonlarının, ilk trimesterde, normal gebelere ve gebe olmayanlarla kıyasla çok daha yüksek olduğu kaydedilmiş ve MMP'lerin myogenik tonusda değişikliğe ve endotel bağımlı gevşemede yetersizliğe yol açmak suretiyle preeklemsialı gebelerin damarlaşmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, yapılan PCR çalışmalarında, kontrol ile karşılaştırıldığında, MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonlarının hem nedeni bilinmeyen infertil endometriyumlarında hem de tekrarlayan gebelik kaybı bulunan endometriyumlarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir (72). Aksine Wu ve Zhon (104) idiyopatik infertil hastaların endometriyumlarındaki MMP-9 ve TIMP-1 mRNA seviyelerinin normale göre daha düşük olduğunu bildirmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, idiyopatik infertilite ve tekrarlayan gebelik kayıplarında endometrial ECM'nin rolü olabileceğini göstermektedir.

Hayvan modelleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada, uterus stromal hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasının MMP ve TIMP ekspresyonları ile kısmen

düzenlendiği bildirilmiştir (15). Ayrıca, gebe olmayan ve normal gebe kadınlarla karşılaştırıldığında preeklamsili kadınların vaskülaritesinde MMP'lerin önemli rol oynadığı, bunu da myojenik tonuyu artırarak veya endotel bağımlı relaksasyonu bozarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (62).

2.9. Heparin

20. yüzyılın başlarından beri venöz tromboemboli (VTE) ve akut koroner hastalıkların tedavisinde kullanılan heparin, trombin ve bazı pıhtılaşma faktörlerini inhibe ederek antikoagülan etki gösteren bir moleküldür (27, 34).

Heparin'in bağ dokusu mast hücreleri tarafından sentez edildiği ve bu hücrelerde bulunduğu kabul edilmektedir. Doğal heparinin büyük bir kısmı mast hücreleri ve bazofil lökositlerinde histamin ile birleşmiş şekilde bulunmaktadır. Ayrıca damar endotelinde de sentezlendiği bildirilmiştir. Heparine ayrıca sığır, domuz ve koyun akciğerinde, domuz ince barsak mukozasında, köpek karaciğerinde, sığır etinde, yağ dokusunda, sıçan derisinde, balık plazmasında ve deniz istiridyesinde de rastanmıştır (27).

Heparin, D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukozamin dizilerinin tekrarlanmasını içeren bir glikozaminoglikandır. Pıhtılaşma önleyici olarak bilinen heparinin bu fonksiyonu yanı sıra anti-enflamatuar, alerjik reaksiyonlar ve anjiyogenezin inhibisyonu, tümör büyümesi ve metastazın önlenmesi gibi fonksiyonları içeren, çeşitli fizyolojik ve farmakolojik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (1).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada her grupta 6 adet olmak üzere toplam 60 adet (yaklaşık 180-200 gr ağırlığında, 10-12 haftalık) yetişkin dişi Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Vajinal smear ile östrus siklusunda oldukları tespit edilen dişi sıçanlar, 1 gece erkek sıçanlar ile (2 dişi/1 erkek) birlikte bırakıldı, ertesi sabah vajinal smearda sperm bulunan dişi sıçanlar gebeliğin 0. günü olarak kabul edildi. Gebeliğin 0. gününden itibaren her gün gebe sıçanlara 50 IU/kg heparin, intraperitoneal olarak enjekte edildi (1). Gebeliğin 0, 2, 4, 6 ve 8. günlerinde, gruplarda bulunan sıçanlara rompun (5mg/kg) ketamin (60mg/kg) kombinasyonu ile sağlanan genel anestezi altında, implantasyon alanlarını tesbit etmek için, 1 ml %1'lik Evans Blue, %0,9'luk NaCl içinde sağ femoral vene enjekte edildi, enjeksiyondan 5 dk sonra hayvanlar servikal dislokasyon ile öldürülerek anterior abdominal duvar açıldı ve immunohistokimyasal analizler için mavi boyalı uterus doku alanları toplandı. Alınan uterus doku örneklerinde MMP-2, -9 immünlokalizasyonları belirlendi. Deney grupları aşağıdaki gibi düzenlendi:

Deney Grupları
Grup I (Gebeliğin 0. Günü Heparin uygulanan grup)
Grup II (Gebeliğin 0. Günü Heparin uygulanmayan grup)
Grup III (Gebeliğin 2. Günü Heparin uygulanan grup)
Grup IV (Gebeliğin 2. Günü Heparin uygulanmayan grup)
Grup V (Gebeliğin 4. Günü Heparin uygulanan grup)
Grup VI (Gebeliğin 4. Günü Heparin uygulanmayan grup)
Grup VII (Gebeliğin 6. Günü Heparin uygulanan grup)
Grup VIII (Gebeliğin 6. Günü Heparin uygulanmayan grup)
Grup IX (Gebeliğin 8. Günü Heparin uygulanan grup)
Grup X (Gebeliğin 8. Günü Heparin uygulanmayan grup)

3.1.İmmunohistokimyasal prosedür

Gebeliğin 0, 2, 4, 6 ve 8. günlerinde alınan uterus doku örnekleri Bouin solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin histolojik takip yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan, 5µm kalınlığında kesitler alındı ve dehidrasyon için alkol serilerinden geçildi. Antijen maskelenmesini ortadan kaldırmak için kesitler, mikrodalga fırında (750W) 2 kez, 5'er dakika, 0,01 M sitrat buffer solüsyonuna tabi tutuldu. 20 dakika, oda ısısında soğutulan kesitler, PBS 'de yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, kesitler, %3'lük H₂O₂ solüsyonuna tabi tutuldu ve ardından PBS ile tekrar yıkandı. Daha sonra kesitler, primer Mouse monoclonal MMP-2, MMP-9 antikorları ile +4°C de, 1 gece inkübe edildi. Negatif kontroller, primer antikorun işlemlerden çıkarılması ile elde edildi. Biotinle konjuge universal LSAB Kit'in kullanılmasını takiben boyama DAB kromojeni ve Hematoksilen ile yapılan zıt boyamanın ardından dokular kapatıldı. Son olarak, elde edilen boyalı preparatlar Nikon E 600 ışık mikroskobu ile görüntülendi. Gruplara ait doku örnekleri immunboyanma şiddeti açısından semiquantitatif olarak skorlandı.

4. BULGULAR

Heparin uygulanmayan ve uygulanan gruplardaki gebe sıçanlardan gebeliğin 0, 2, 4, 6 ve 8. günlerinden alınan uterus doku kesitleri MMP-2 ve MMP-9 proteinlerinin dokudaki dağılımlarını değerlendirmek için immunohistokimyasal olarak boyandı. Nikon E-600 ışık mikroskop ile incelenen doku örnekleri immunohistokimyasal analiz açısından farklı gözlemciler tarafından incelendi ve boyanma şiddeti açısından semiquantitatif olarak skorlandı. Bu skorlanmada boyanma şiddetleri; - (boyama yok), + (zayıf), ++ (orta) ve +++ (güçlü) olarak derecelendirildi ve ilk 6 gün için Tablo 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4 de özetlendi. Grupların günlerine ait boyanma örnekleri Şekil 4.1-4.20 arasında gösterildi. Gebelik günlerine ait bölge tanımlamaları Öner H ve arkadaşlarının (71) daha önce yaptıkları çalışma referans alınarak yapılmıştır.

MMP-2 İmmunlokalizasyonu

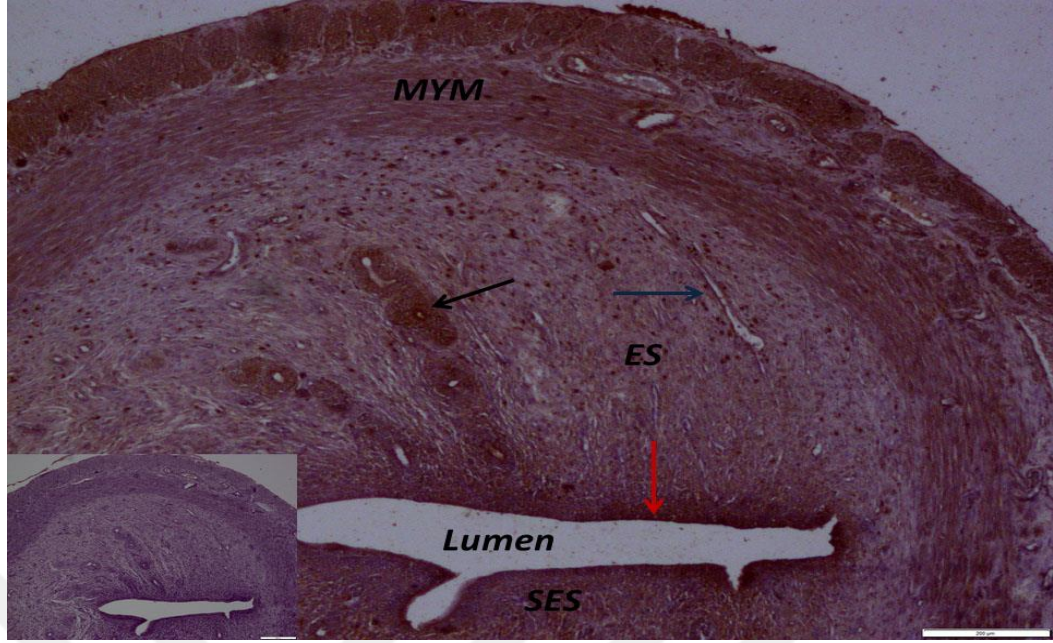
0.Gün: Endometrium ve myometrium normal yapıda gözlemlendi. Her iki grupta endometriumda MMP-2 immunlokalizasyonu lümen ve bez epitel hücrelerinin çekirdeklerinde gözlenmezken apikal sitoplazmalarında ve silyumlarda orta şiddette (++) mevcuttu. Subepitelyal ve endometrial stromada, myometrium ve kapillerlerde MMP-2 immunreaksiyonu her iki grupta orta derecede (++) mevcuttu. Gebeliğin 6. gününe kadar primer desidual alan oluşmamıştı (Şekil 4.1, 4.6).

2.Gün: Bu günde uterusun mikroskopik yapısı 0. gün ile benzer özellikte olmakla beraber, heparin uygulanan grupta epitel hücrelerinde MMP-2 immunreaksiyonu (+++), uygulanmayan gruba (++) göre biraz daha artmıştı. Diğer bölgelerdeki immunreaksiyon şiddeti 0. gün ile benzerlik göstermekteydi (Şekil 4.2, 4.7).

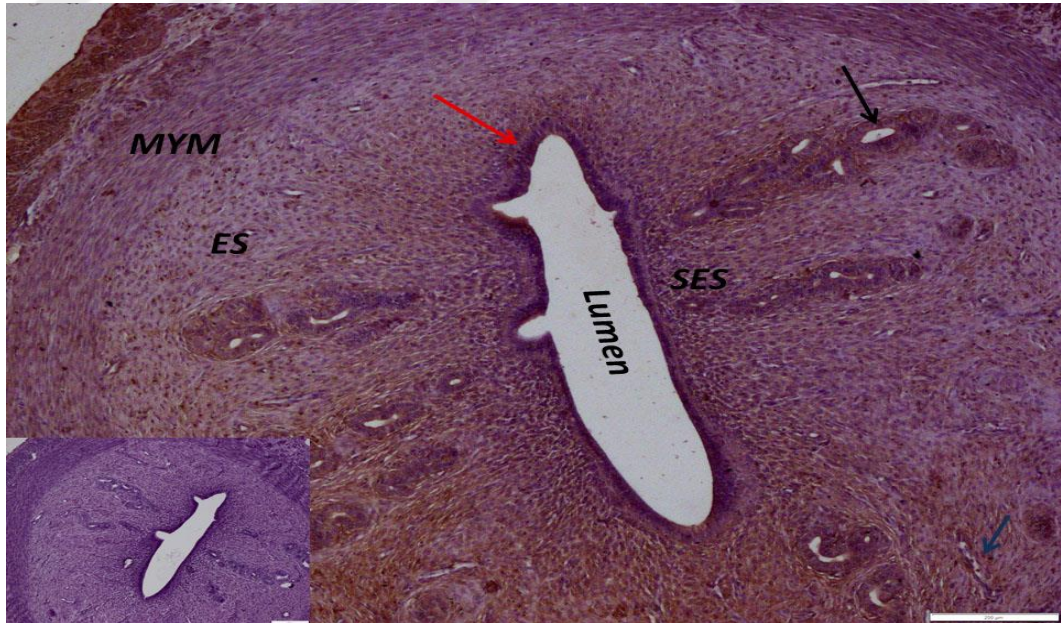
4. Gün: Gebeliğin 4. gününden itibaren kontrol gebe grubunda da lümen ve bez epitel hücrelerinde MMP-2 immunreaksiyonunun şiddetlendiği (+++) gözlemlendi. Gebeliğin ilk 2 günü ile kıyaslandığında her iki grupta da subepitelyal ve endometrial stromal hücrelerde MMP-2 immunreaksiyonunda artış (+++) mevcuttu (Şekil 4.3, 4.8).

6. Gün: En belirgin yapısal değişiklik bezlerin küçülmüş, sayılarının oldukça azalmış ve myometriuma yakın alanlarda lokalize olmuş olduğu idi. Kapillerlerin miktarı ise oldukça artmıştı. Stromal hücreler irileşmeye başlamış, implantasyonun gerçekleştiği antimezometrial alandan başlamak üzere primer desidual zon alanı şekillenmeye başlamıştı. Her iki grupta da MMP-2 immunreaksiyonu lümen ve bez epitel hücrelerinde yoğun (+++) şekilde gözlemlendi. Her 2 grupta primer desidual alanda orta şiddette (++) gözlenen MMP-2 immunreaksiyonu heparin uygulanmayan grupta kan damarlarının çok miktarda bulunduğu antimezometrial alanda myometriuma yakın stromada oldukça şiddetli (+++) idi (Şekil 4.4, 4.9).

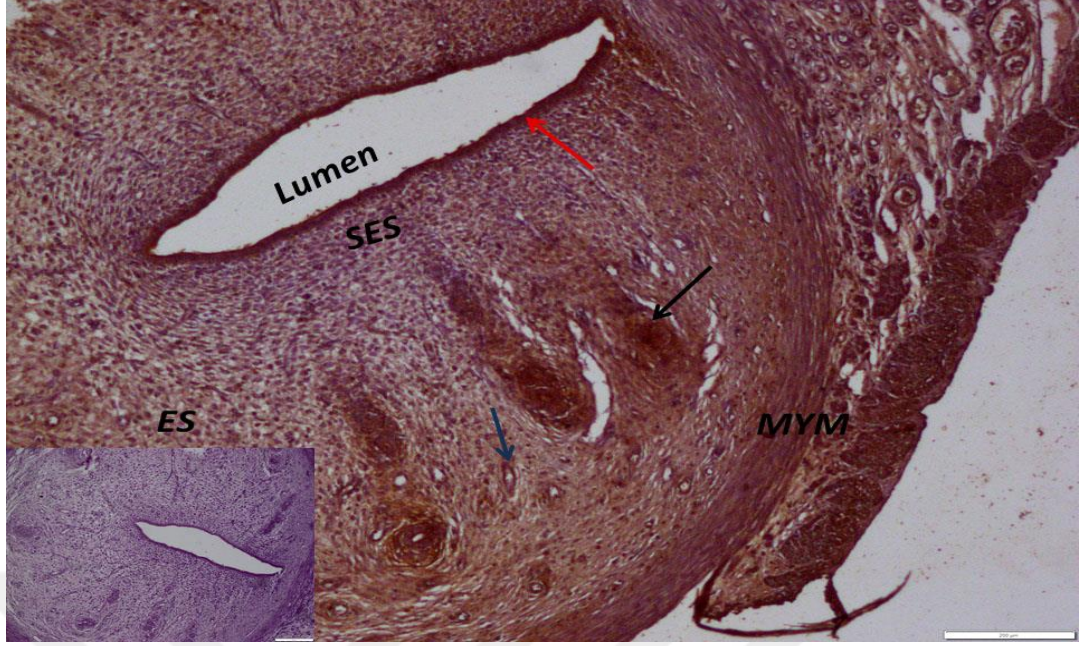
8. Gün: Uterus lümeni iyice küçülmüş, endometrial stromadaki hücreler tamamen desidual hücrelerine dönüşmüş, kapillerlerin yoğun olduğu antimezometrial alan karşısında mezometrial alan belirginleşmişti. Her 2 grupta MMP-2 immunreaksiyonu lümen ve bez epitel hücrelerinde orta (++) , myometriuma yakın stromal hücrelerde oldukça şiddetli (+++) idi. Heparin uygulanan grupta mezometrial alanda primer desidual zon hücrelerindeki immunreaksiyon heparin uygulanmayan gruba göre daha şiddetli (+++) idi. Heparin uygulanan grupta yakalanan embriyo kesitinde de MMP-2 immunreaksiyonu mevcuttu (Şekil 4.5, 4.10).



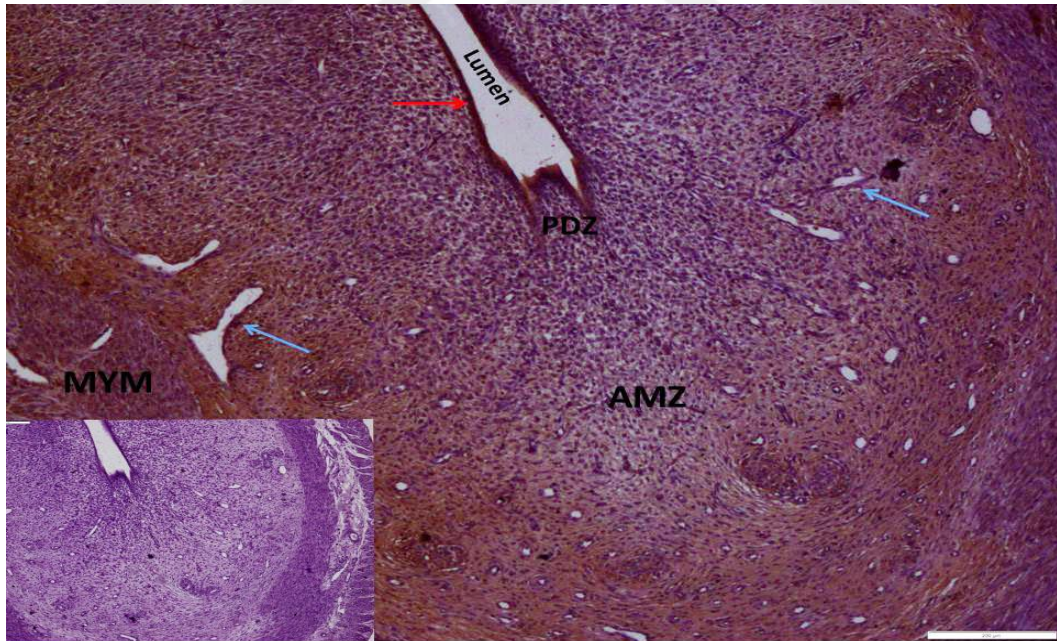
Şekil 4.1. Gebeliğin 0. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



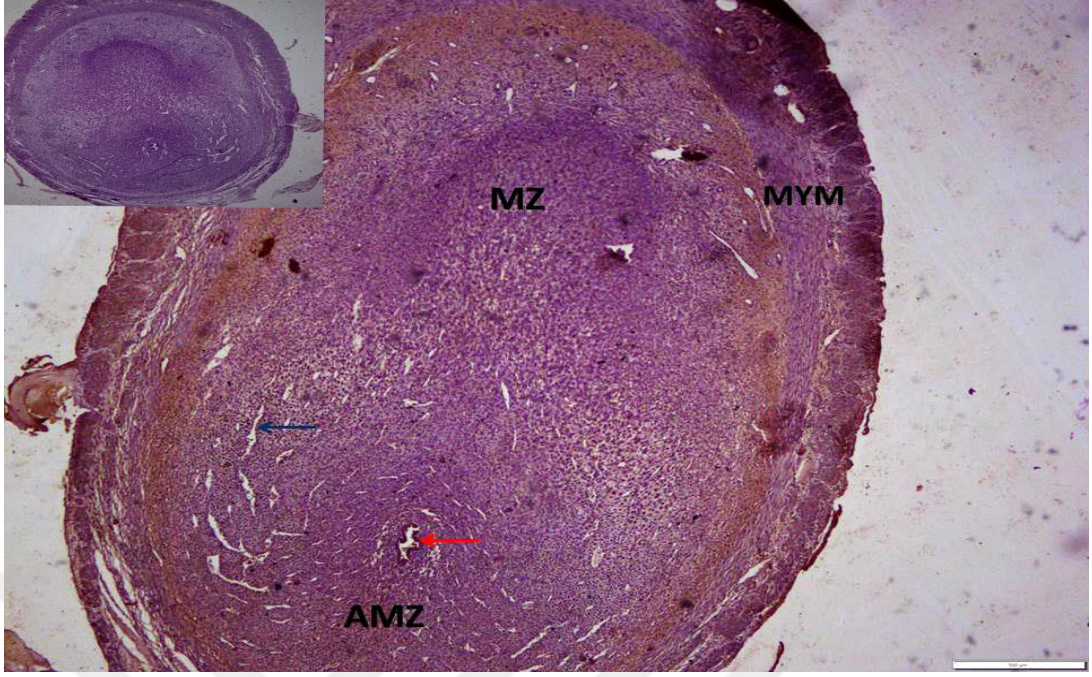
Şekil 4.2. Gebeliğin 2.gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



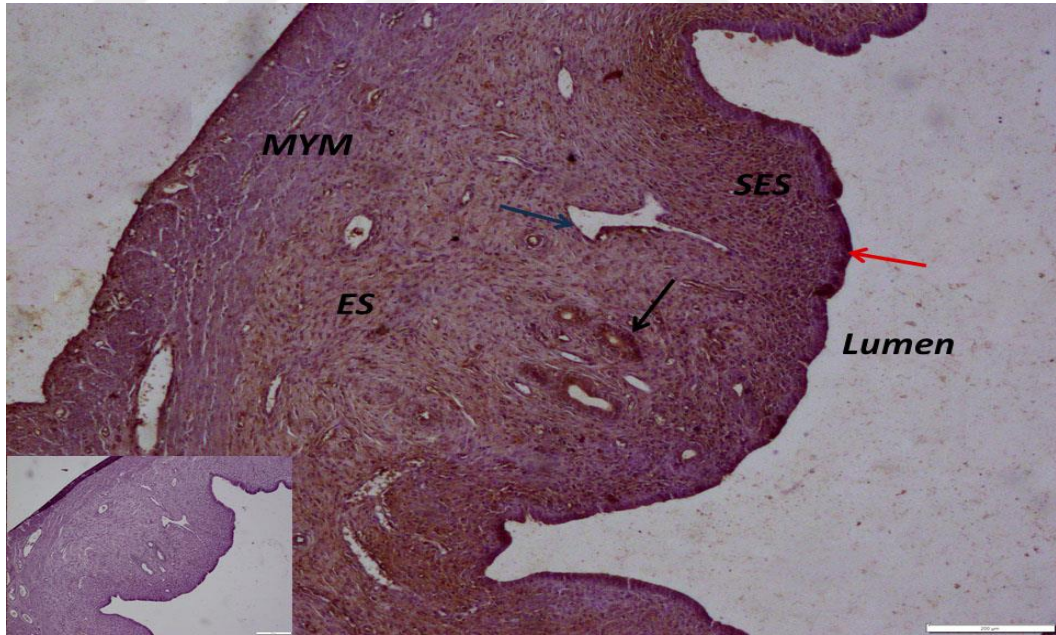
Şekil 4.3. Gebeliğin 4. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



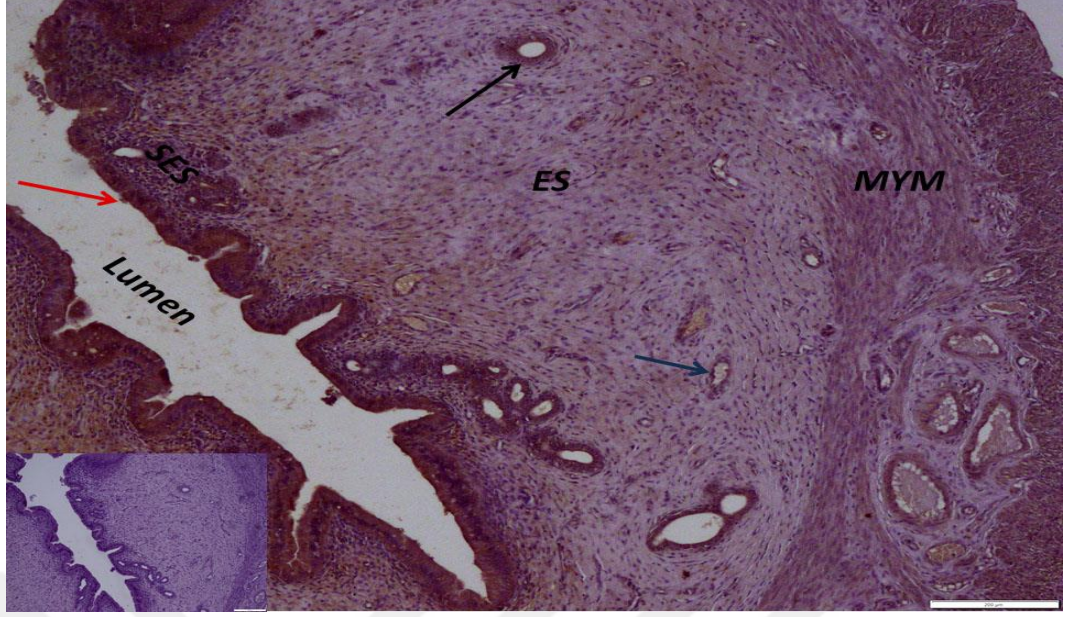
Şekil 4.4. Gebeliğin 6. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. PDZ: Primer desidual zon; AMZ: Antimezometrial alan MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Mavi ok: Kapiller



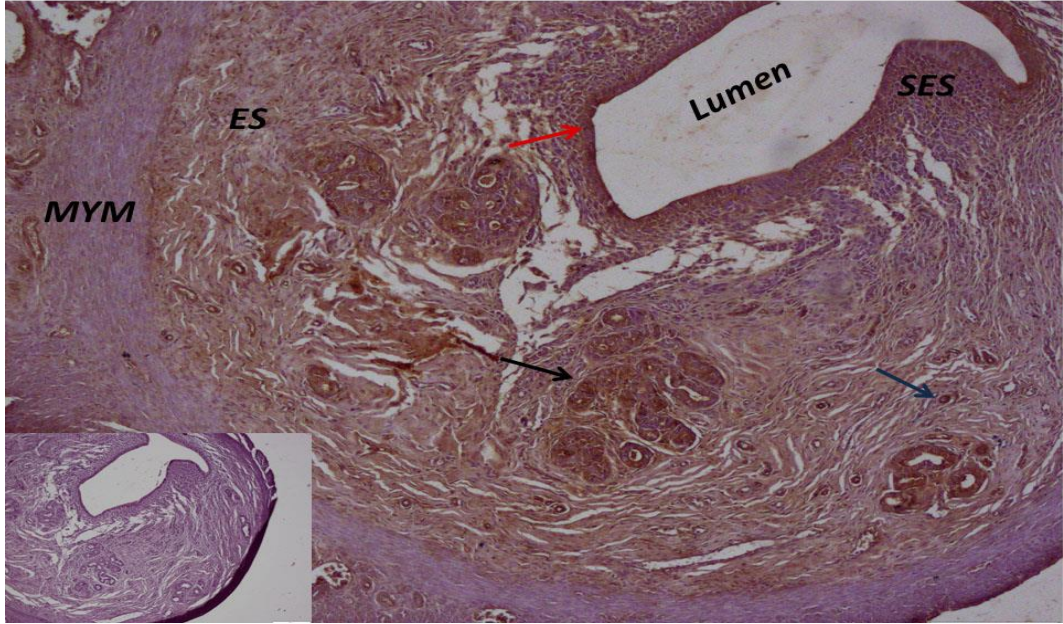
Şekil 4.5. Gebeliğin 8. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. MZ: Mezometrial Alan; AMZ: Antimezometrial Alan; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Mavi ok: Kapiller



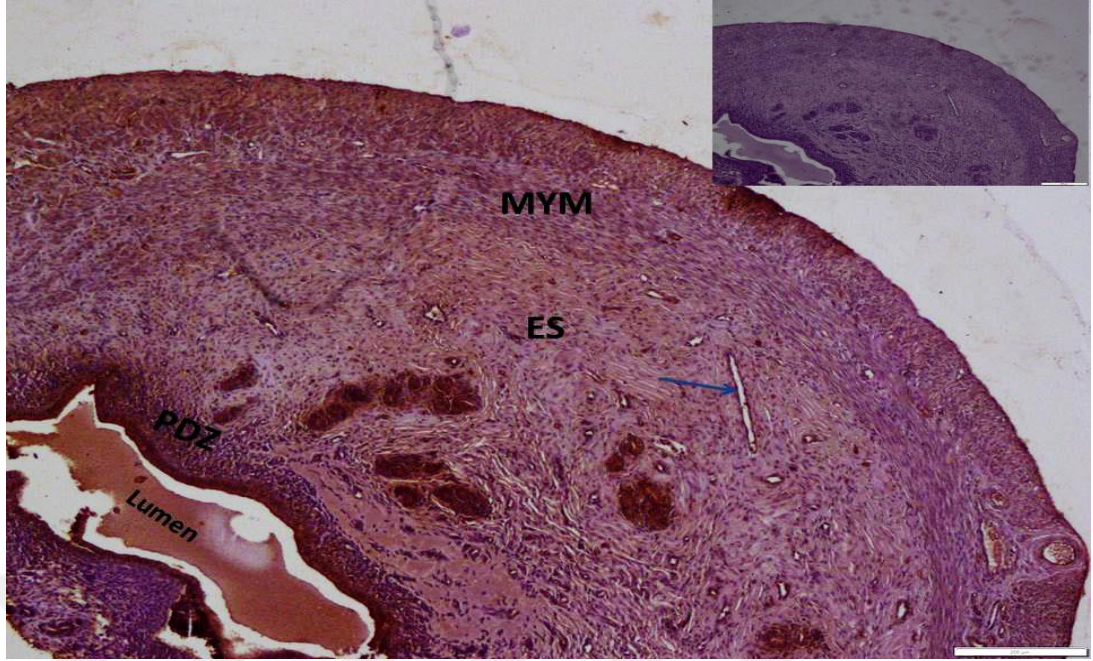
Şekil 4.6. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



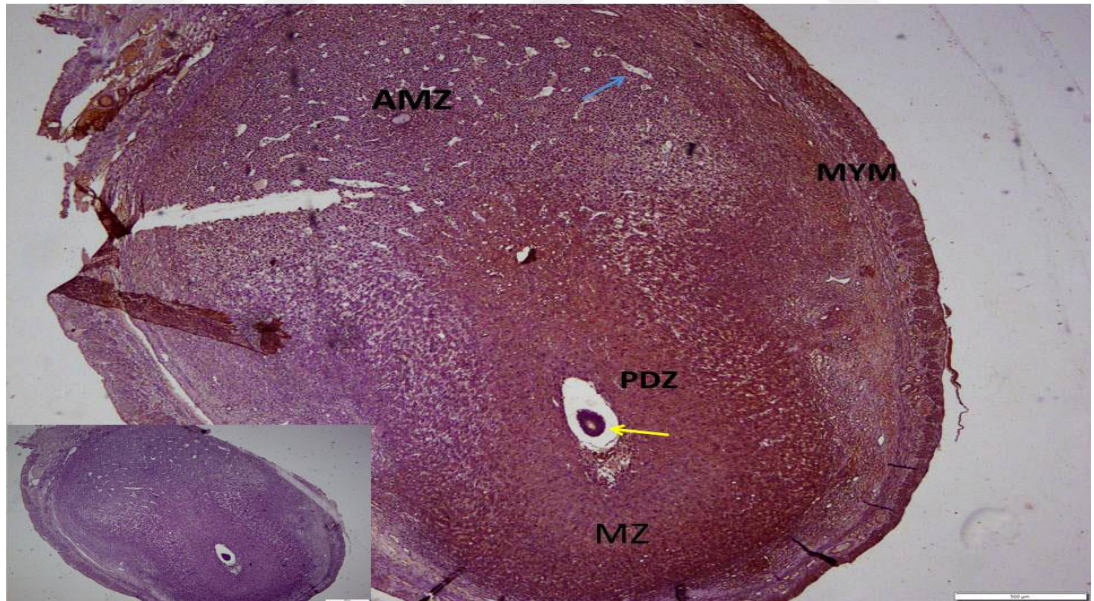
Şekil 4.7. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 2. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



Şekil 4.8. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 4. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



Şekil 4.9. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 6. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. PDZ: Primer desidual zon; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Maviok: Kapiller



Şekil 4.10. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 8. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-2 immunreaksiyonu. MZ: Mezometrial Alan; AMZ: Antimezometrial Alan; PDZ: Primer desidual zon; MYM: Myometriyum; Sarı ok: embriyo; Mavi ok: Kapiller

MMP-9 İmmunlokalizasyonu

0. Gün: Endometrium ve myometrium normal yapıda gözlemlendi. Her iki grupta endometriumda MMP-9 immunlokalizasyonu lumen ve bez epitelinin çekirdek ve stoplazmalarında ve endometrial stromal hücrelerde ve myometriumda orta şiddette (++) mevcuttu. Bütün günlerde her iki grupta kapiller immunreaksiyonu güçlü (+++) şekilde idi. Gebeliğin bu gününde henüz primer ve sekonder desidial alan oluşmamıştı. (Şekil 4.11, 4.16).

2. Gün: Bu günde uterusun mikroskopik yapısı ve 0. gün ile benzer özellikte idi. Heparin uygulanan grupta(+++) diğer gruba (++) göre hem lümen hem de bez epitel hücrelerinde daha şiddetli boyanma mevcuttu. Stromal hücreler, myometrium ve kapillerlerdeki boyanma her iki grupta benzer şiddette ve gebeliğin 0. gününe yakın şekilde idi. (Şekil 4.12, 4.17).

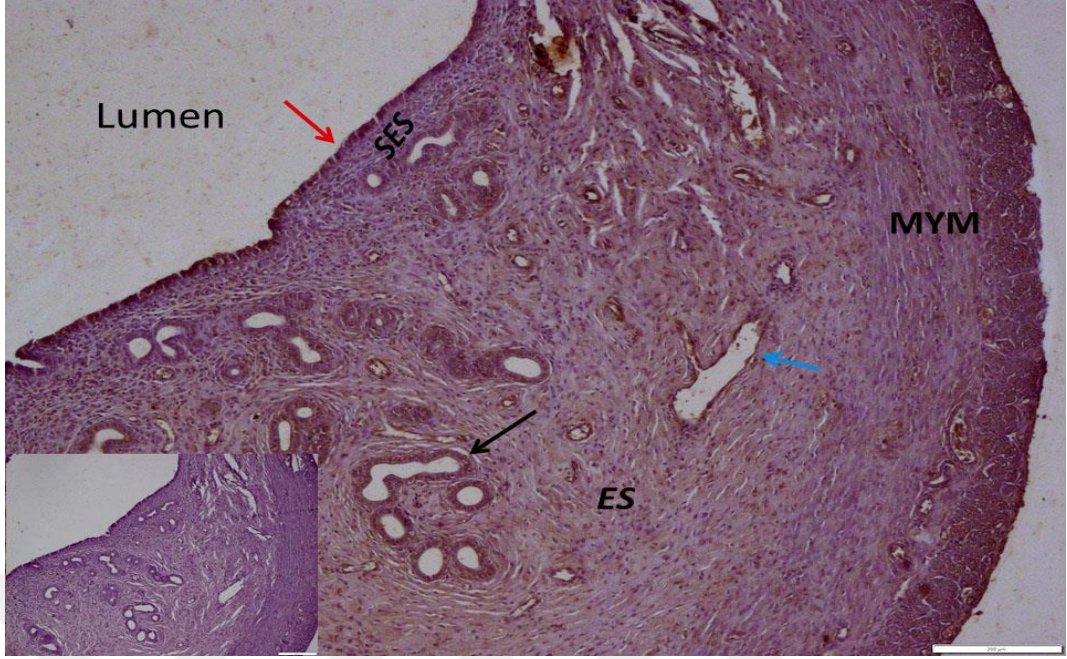
4. Gün: Heparin uygulanmayan grupta epitel ve stromal hücrelerdeki boyanma şiddeti 2. güne benzer özellikte idi. Oysaki heparin uygulanan grupta bütün stromal hücrelerde MMP-9 immunreaksiyonunun şiddetlendiği (+++) gözlemlendi. (Şekil 4.13, 4.18).

6. Gün: Bu günde bezlerin küçüldüğü, sayılarının azaldığı, stromal hücrelerin irileşmeye başladığı gözlemlendi. En belirgin yapısal değişiklik ise embriyonun implante olduğu antimezometrial alandan başlamak üzere primer desidial zon şekillenmeye başlamıştı, ancak MMP-9 immunreaksiyonu oldukça zayıftı (+). Antimezometrial alanda kapillerlerin sayısında artış mevcuttu. Bu günde artık her iki grupta lümen ve bez epitel hücrelerinde MMP-9 immunreaksiyonu kuvvetli şekilde (+++) idi. MMP-9 immunboyanması her iki grupta özellikle myometriuma yakın stromal hücrelerde daha belirgindi (+++). (Şekil 4.14, 4.19).

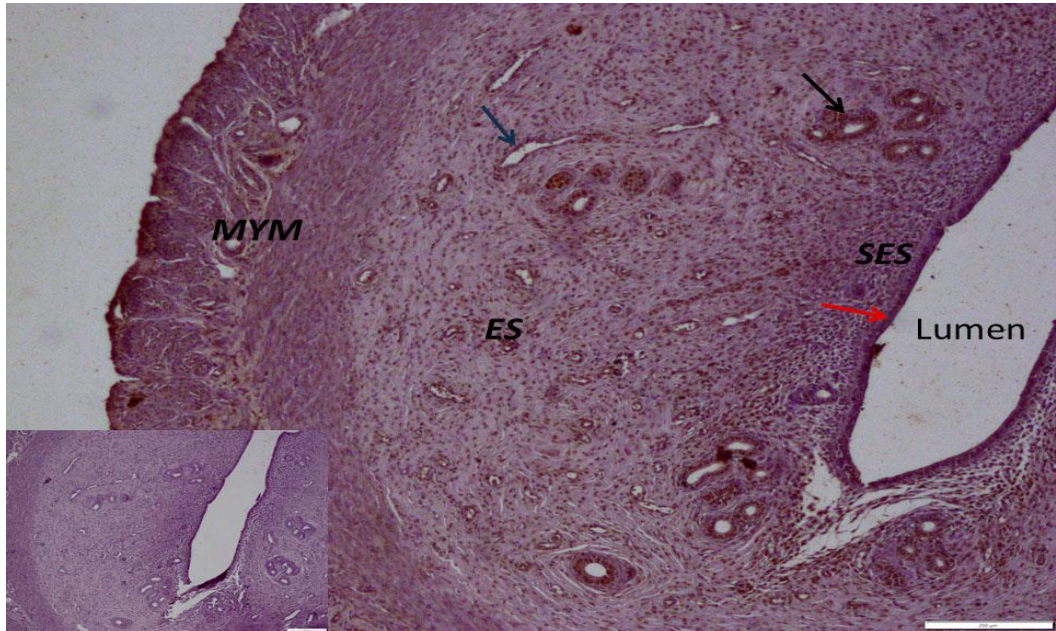
8.Gün: Heparin uygulanmayan gruplarda MMP-9 immunreaksiyonunun epitel hücrelerinde ve kapillerlerde oldukça şiddetli olduğu (+++) gözlemlendi. Antimezometrial alanda primer desidial zon iyice genişlemişti ve MMP-9 immunreaktivitesi bu alanda hafif (+) şekilde idi. Heparin uygulanan gruplarda embriyonun geçtiği kesitlerde MMP-9 immunreaksiyonunun kapillerlerin yoğun olduğu antimezometrial alandan mezometrial alana doğru yayıldığı ve boyanma

şiddetinin güçlü (+++) olduğu gözlemlendi. Bu grupta embriyoda da MMP-9 immunreaksiyonu güçlü şekilde (+++) mevcuttu. (Şekil 4.15, 4.20).

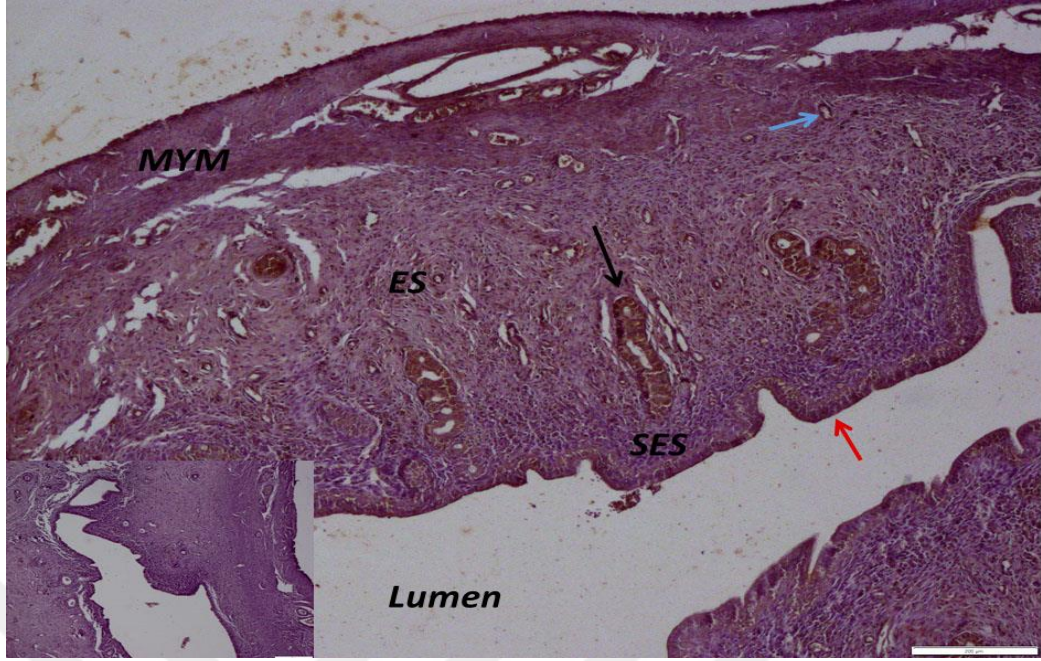




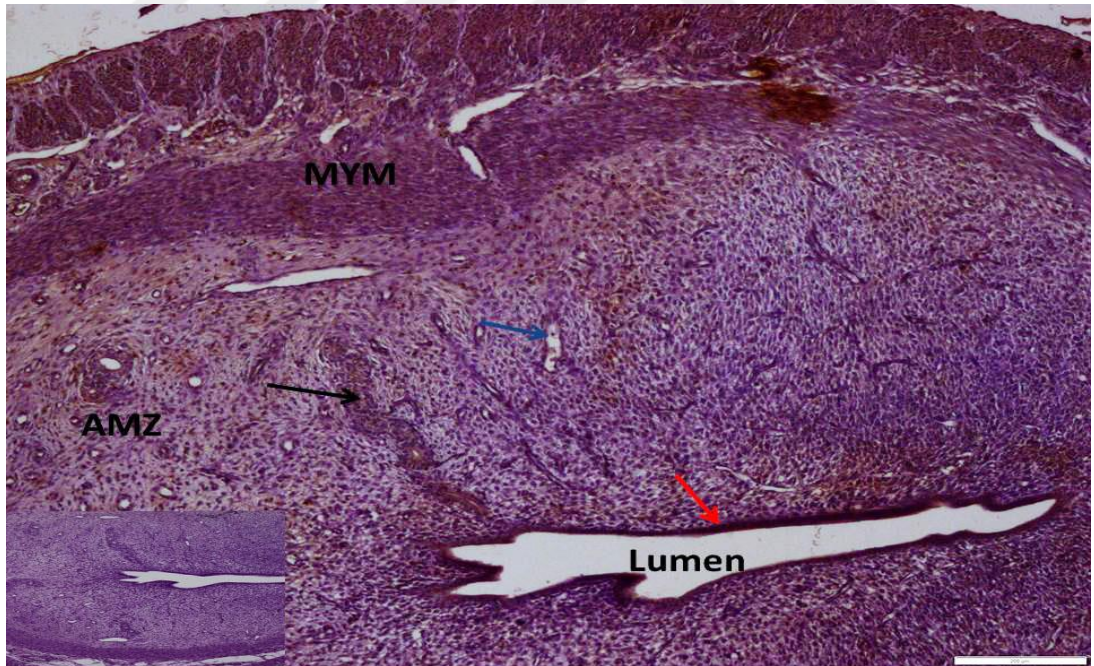
Şekil 4.11. Gebeliğin 0. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



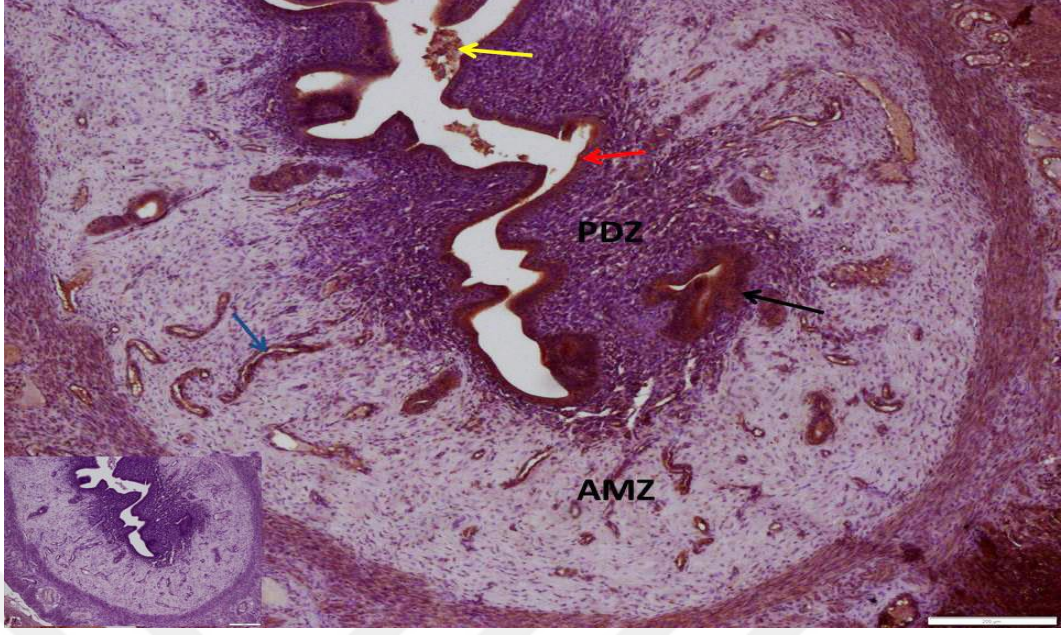
Şekil 4.12. Gebeliğin 2. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



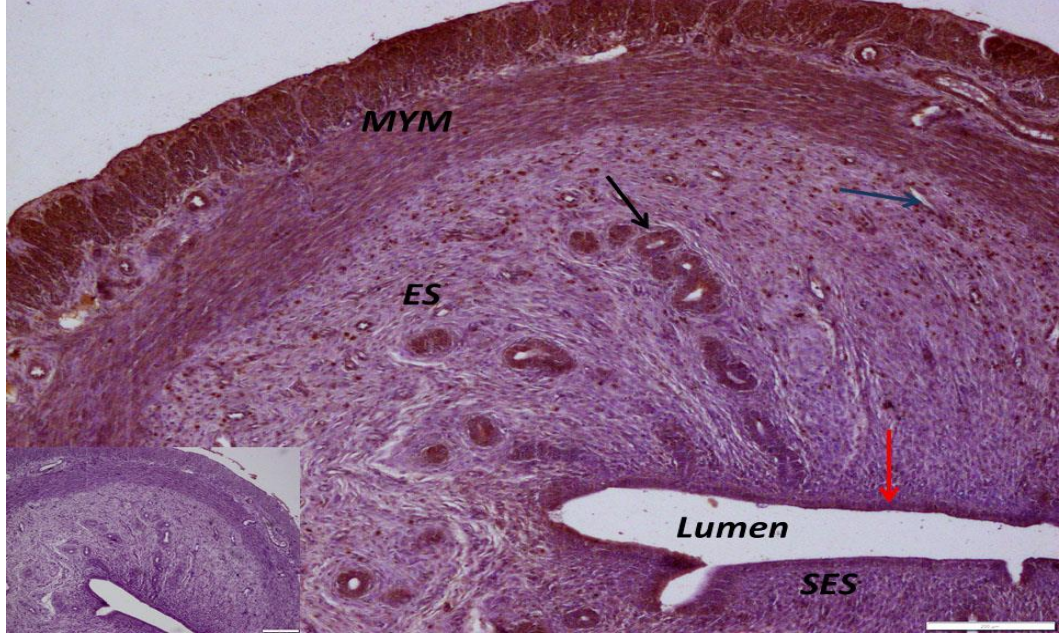
Şekil 4.13. Gebeliğin 4. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



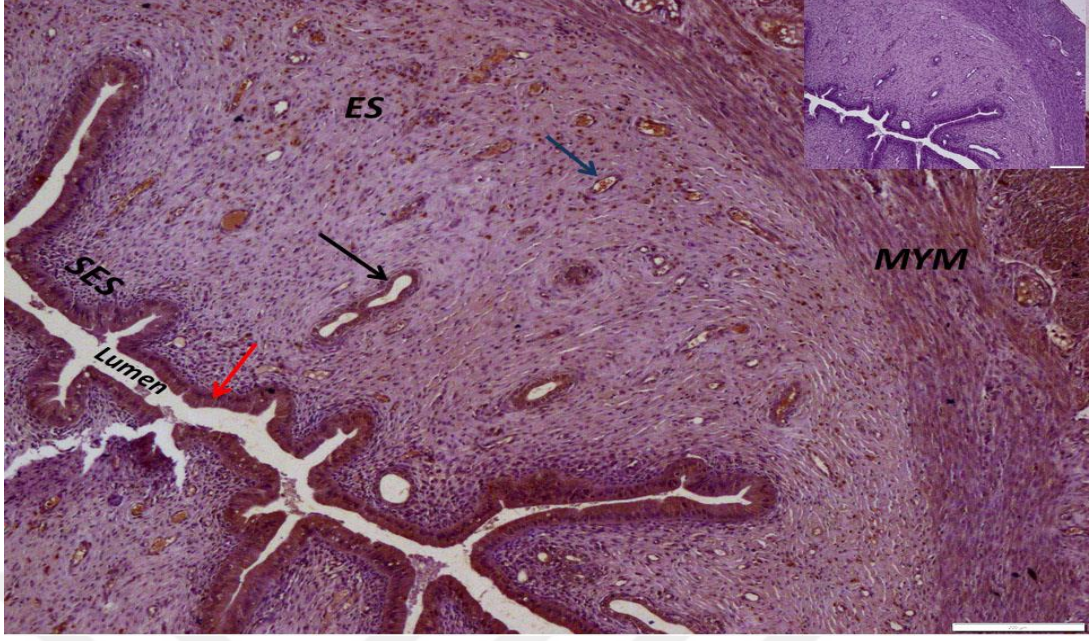
Şekil 4.14. Gebeliğin 6. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. AMZ: Antimezometrial alan; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



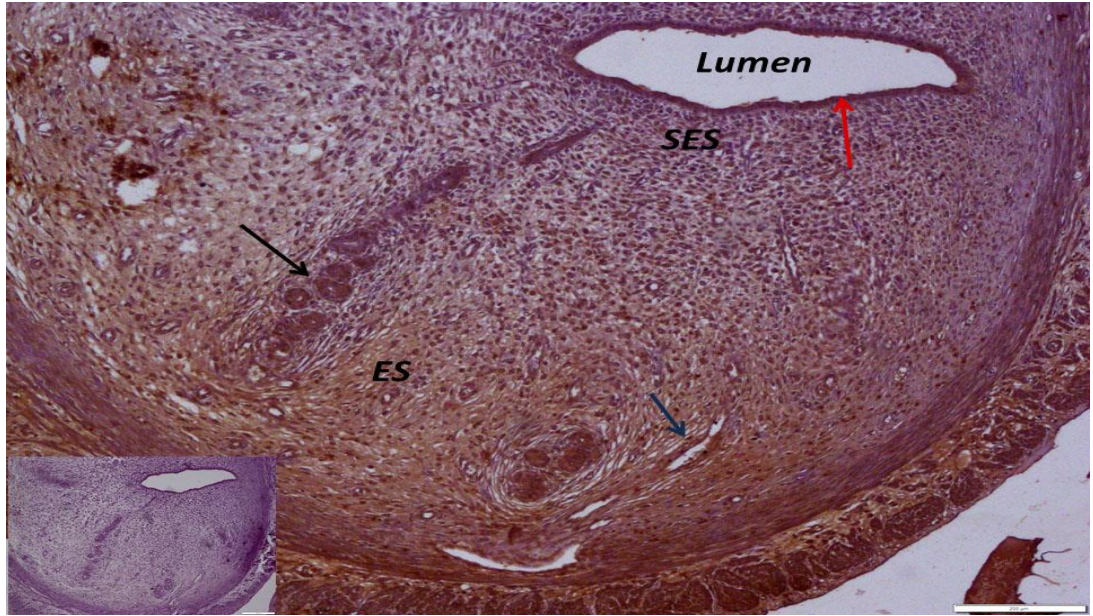
Şekil 4.15. Gebeliğin 8. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. PDZ: Primer desidual zon; AMZ: Antimezometrial alan; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller; Sarı ok: Embriyo



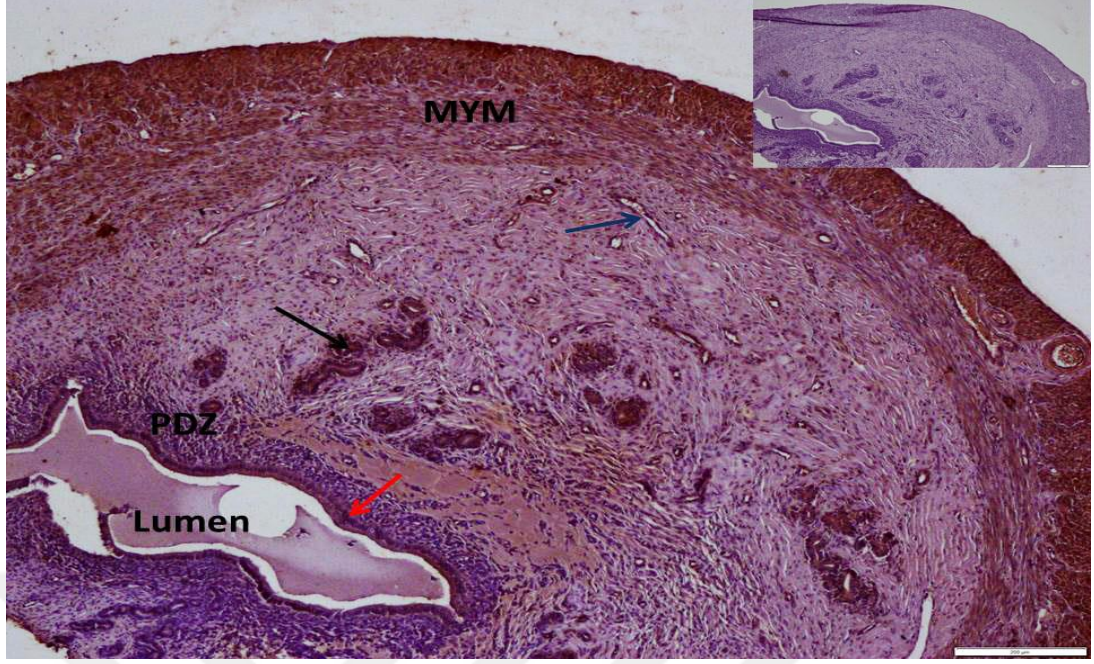
Şekil 4.16. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



Şekil 4.17. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 2. Gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



Şekil 4.18. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 4. Gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometrial stroma; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



Şekil 4.19. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 6. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. PDZ: Primer desidual zon; MYM: Myometriyum; Kırmızı ok: Lumen epiteli; Siyah ok: Bez epiteli; Mavi ok: Kapiller



Şekil 4.20. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 8. gününe ait sıçan uterus dokusunda MMP-9 immunreaksiyonu. MZ: Mezometrial alan; AMZ: Antimezometrial alan; Sarı ok: embriyo; mavi ok: Kapiller

Tablo 4.1. Heparin uygulanmayan gebe sıçanların uterus dokusunda MMP-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semiquantitatif analizi

Gebelik Günleri	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	Subepitelyal Stroma	Endometrial Stroma	Myometrium	Primer Desidual Zon	Kapilerler
0.Gün	++	++	++	++	++	Yok	++
2.Gün	++	++	++	++	++	Yok	++
4.Gün	+++	+++	+++	+++	++	Yok	++
6.Gün	+++	+++		+++	+	++	++

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

Gebelik Günleri	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	Subepitelyal Stroma	Endometrial Stroma	Myometrium	Primer Desidual Zon	Kapilerler
0.Gün	++	++	++	++	++	Yok	++
2.Gün	+++	+++	++	++	++	Yok	++
4.Gün	+++	+++	+++	+++	+	Yok	++
6.Gün	+++	+++		++	+	++	++

Tablo 4.3. Heparin uygulanmayan gebe sıçanların uterus dokusunda MMP-9 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semiquantitatif analizi

Gebelik Günleri	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	Subepitelyal Stroma	Endometrial Stroma	Myometrium	Primer Desidual Zon	Kapilerler
0.Gün	++	++	-	++	++	Yok	+++
2.Gün	++	++	+	++	++	Yok	+++
4.Gün	++	++	+	++	++	Yok	+++
6.Gün	+++	+++		+++	++	+	+++

Tablo 4.4. Heparin uygulanan gebe sıçanların uterus dokusunda MMP-9 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semiquantitatif analizi

Gebelik Günleri	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	Subepitelyal Stroma	Endometrial Stroma	Myometrium	Primer Desidual Zon	Kapilerler
0.Gün	++	++	-	++	++	Yok	+++
2.Gün	+++	+++	-	++	++	Yok	+++
4.Gün	+++	+++	+++	+++	+	Yok	+++
6.Gün	+++	+++		+++	+++	+	+++

5.TARTIŞMA

Gebelik esnasında başarılı bir implantasyon ve plasentasyon için uterus endometriumunda bir takım yapısal değişiklikler oluşur. Bu yapısal değişiklikler ECM' nin yıkımlanarak bozulması ve yeniden şekillenmesi ile karakterizedir (38, 75, 99). Dişinin üreme döngüsü ve gebelik sırasındaki değişen endokrin durumu uterusu yaygın doku yenilenmesiyle sonuçlanır (6, 101). Örneğin; insan uterusunda, tip IV kollajen, laminin, fibronektin ve proteoglikanlar gibi temel membran bileşikleri menstrual döngü ve gebelik boyunca değişikliğe uğrar (6). Aynı şekilde, farelerde uterus stromal hücreler desidualizasyon geçirirken ECM bileşenleri yeniden şekillenir. Desidualizasyon ve implantasyon sırasında matriksin yıkımlanması süreci ile ilgili olarak çok sayıda proteolitik yol bildirilmiştir ve bunlardan özellikle MMP ve TIMP'lerin anahtar rol oynayabileceği öne sürülmüştür (13, 23).

Matriks metalloproteinazlar ECM'nin ve bileşenleri olan kollajenler, proteoglikanlar ve çok sayıda glikoproteinlerin yıkımlanmasından sorumludur. 20 den fazla üyesi olan MMP ailesi içinde erken implantasyonda kabul edilen rollerinden dolayı MMP-2 (jelatinaz A) ve MMP-9 (jelatinaz B) daha çok araştırılmaktadır (100).

Gebeliğin erken dönemlerinde çeşitli deney hayvanlarının uterus dokularında MMP-2 ve MM-9 ekspresyonlarına ilişkin yapılan çalışmalarda, bu enzimlerin erken gebe uterus dokusunda mevcut olduğu ancak ekspresyon yoğunluklarının ve mevcudiyetinin günlere göre dağılımının çalışmalarda farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Örneğin, Das ve arkadaşları (23) peri-implantasyon periyodunda fare uterus dokusunda MMP ve doku inhibitörlerinin ekspresyonunu nothern blot ve in situ hibridization methodları ile araştırmışlardır. Northern blot analizi ile 1. günde çok düşük seviyede gözlenen MMP-2 mRNA seviyesinin 2. günden itibaren arttığı ve 5 ve 6. günlerde iyice yükseldiğini gözlemlemişlerdir. In situ hibridizasyon sonuçlarına göre ise MMP-2 mRNA'nın otoradyografik sinyallerinin 1 ve 2. günlerde mevcut olmadığını, 3 ve 4. günlerde subepitelyal stromada olduğunu, 5. günde de devam ettiğini, 6. günde mezometrial ve antimezometrial alanlarda sekonder desidual zonda,

7 ve 8. günlerde plasentanın gelişeceği mezometrial alanda ve myometriuma bitişik stromada daha yoğun olduğunu bildirmişlerdir. MMP-9 sinyalleri ise ilk olarak 5. günde antimezometrial kutupta az sayıda stromal hücrelerde en belirgin ekspresyon ise gebeliğin 8. gününde trofoblastik dev hücrelerde gözlenmiştir.

Zhao ve arkadaşlarının (107) sıçan uterusunda yaptıkları çalışmada ise gebeliğin 1-4. günleri arasında bazal stromal hücrelerde MMP-2 mRNA için çok güçlü sinyaller olduğu fakat 5. gündeki sinyallerde belirgin bir azalma olduğu bildirilmiştir. MMP-2 mRNA için zayıf sinyaller 1. günden 5. güne kadar olan günlerde epitel hücrelerde gözlenmiştir. MMP-9 mRNA'sı sadece 1. günde uterus epitel hücreleri ve miyometriyumda lokalize olmuştur. Bununla birlikte, stromal hücrelerde 2. ve 3. günde bazı sinyaller gösterilmiştir ve bu sinyaller 4. ve 5. günde subepitelyal stromal hücrelerde yoğunlaşmıştır. 6. günde implantasyonun ilerlemesi ile hem MMP-2 hem de MMP-9 mRNA'ları implante embriyoyu çevreleyen primer desidual zonda 7.günde ise tüm implantasyon alanlarında stromal hücrelerde tespit edilmiştir.

Fare uterusunda yapılan immunohistokimyasal bir çalışmada ise gebeliğin 4 ve 8. günleri arasında endometrial stroma boyunca MMP-2 immunreaktivitesine rastlanırken desidualizasyon alanlarında reaktivitenin zayıf ya da mevcut olmadığı, 6. günde MMP-2 immunreaktivitesinin endometrial stromada desidual zonun dış kısımlarında, 8. günde primer trofoblast dev hücrelerinde myometriuma bitişik farklılaşmamış stromal hücrelerde ve mezometrial kutuptaki stromal hücrelerde mevcut olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada MMP-9 immunreaktivitesi 4. günde endometriyumda ve 5-8. günler arasında inter-implantasyon alanlarında, 6. günden sonra primer desidual zonun dış kısımlarında ve en belirgin şekilde myometriuma bitişik stromada gözlenmiştir. 8. günden itibaren MMP-9 immunreaktivitesi myometriuma bitişik farklılaşmamış endometrial stromal hücrelerde ve trofoblast dev hücre alanlarında belirlenmiştir (11).

Teesalu ve arkadaşları (96) fare plasentasında Jelatinaz B olarak bilinen MMP-9'un trofoblastik dev hücrelerince üretildiğini ve bu yolla trofoblast invazyonu ve embriyo implantasyonunda rol oynadığını, MMP-2 işaretlenmesinin ise yalnızca desidua hücrelerinde olduğu gözlemlenmiştir.

MMP'lerin gebelik esnasında uterus endometriumundaki rollerini belirlemeye yönelik yapılan bir diğer çalışmada, gebeliğin 6 ve 8.günlerinde implantasyon bölgesinin mezometriyal alanında, 7 ve 8. günlerinde desidual/embriyonik dokularda kollajen seviyelerinin düşük olduğu ve bu düşüşün MMP-2'nin bu süreçteki kollajen yıkımlayıcı etkisine bağlı olabileceği bildirilmiştir (16, 23).

Alexander ve arkadaşlarının (5) jelatinaz A (MMP-2) ve jelatinaz B (MMP-9)'nin implantasyon esnasındaki rollerini belirlemeye yönelik farelerde yaptıkları çalışmada ise jelatinaz A'nın gebeliğin farklılaşmamış decidua bölgesinde, jelatinaz B'nin ise yoğun şekilde trofoblastlarda mevcut olduğunu belirlemişler ve jelatinaz A'nın gebeliğin 6,5. gününden itibaren azaldığı, jelatinaz B'nin ise trofoblast dev hücrelerin farklılaşması ile beraber 7,5. günden itibaren arttığı ve 9,5. günde en yüksek seviyesine ulaştığı gelatin zymography metodu ile belirlenmiştir. Rechtman ve arkadaşları (83), sıçanlarda MMP-2 proteinin gebeliğin 3. gününde en yüksek seviyeye ulaştığını, oysa MMP-9'un sadece 9. gününde tespit edildiğini bildirmiştir. Hurst ve Palmay (45) ise, MMP-2, MMP-9 ve TIMP-2 proteinlerini, sıçanlarda gebeliğin 6. gününden 8.gününe kadar mevcut olduğunu bildirmişlerdir.

Kanca ve arkadaşları (48) ise köpeklerde implantasyonda sonra plasental gelişimin başladığı zaman olan gebeliğin 25 ve 45. günleri arasında ve indüklenen abortus durumlarında MMP-2 ve -9 dağılımını immunohistokimyasal olarak ve kollejenaz aktivitesini gelatin zymografi yöntemi ile değerlendirmişler ve MMP-2 pozitif hücrelerin endotel ve myometrial kan damarların düz kas tabakasında; MMP-9 pozitif hücrelerin ise myometrial düz kas hücreleri, endometrial bez ve yüzey epitelinde mevcut olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca normal gebe hayvanlar ile karşılaştırıldığında plasental alanlarda abortus indüklenen köpeklerde MMP-2 ve -9 aktivitesinin daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Gebe sıçanlarda yaptığımız çalışmamızda bizde gebeliğin ilk 8 gününe kadar olan dönemde MMP-2 ve MMP-9 immunekspresyonunu araştırdık ve çalışmamız sonunda gebeliğin ilk gününden itibaren MMP-2 ve -9 immunekspresyonunun uterus lümen ve bez epitel hücrelerinde, endometrial stromada, myometrium ve kapillerlerde, 6. günden itibaren ilaveten antimezometriyal bölge (AMZ) de primer desidual zon hücrelerinde, 8. günde ise mezometriyal bölge (MZ) de mevcut olduğunu

gözlemledik. Diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar sonucunda ilk 8 güne ait gebe sıçan uterus dokularında MMP-2 ve -9 ekspresyonları farklı teknikler kullanılarak araştırılmış, ekspresyon yoğunlukları günlere göre farklılık göstermekle beraber erken gebe sıçan uterusunda ve implantasyon alanlarında mevcut olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile paralellik göstermektedir. Buradan yola çıkarak MMP-2 ve MMP-9'un erken gebelik döneminde implantasyonun oluş mekanizmasında rol oynadığını söyleyebiliriz.

Normal gebelik esnasında endometrium ve plasentada MMP ekspresyonlarının belirlenmesine ilişkin çok sayıda çalışma mevcut iken, tekrarlayan gebelik kaybı bulunan endometriumlarda MMP ekspresyonları araştırıldığında çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bazı araştırmalarda tekrarlayan gebelik kaybı bulunan endometriumlarda MMP ekspresyonlarının normal gebelere göre daha yüksek olduğu bildirilirken, bazı çalışmalarda ise daha düşük olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmalardan bir tanesi olan Montagnana ve arkadaşlarının (62) alışması normal tansiyonlu gebeler, preeklemtik gebeler ve gebe olmayan kadınların serum MMP değerlerini karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda, MMP-2 serum konsantrasyonu, gebelerde gebe olmayana göre daha yüksek, preeklamptik kadınlarda ise diğer 2 gruba göre en yüksek seviyede bulunmuştur. MMP-9 serum konsantrasyonları, gebe olmayan kadınlara karşı fizyolojik gebe kadınlarda anlamlı derecede daha yüksek bulunurken preeklemtik kadınlarda normal gebelere göre anlamlı bir artış gözlenmemiştir.

Preeklemi; hipertansiyon, proteinüri ve sistemik vazokontrksiyon ile karakterize gebeliğe ait multisistem bir rahatsızlıktır. Preeklemsinin patolojisinde, maternal spiral arterlerin trofoblastlarca yetersiz invazyonunun ftoplasental ünitelerin zayıf kanlanmasına neden olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Bu durum, maternal dolaşıma, vasküler reaktivitede ve vasküler endotel aktivasyonunda değişikliğe neden olan bir takım faktörlerin salınmasına neden olur (61, 84). Vasküler yolak üzerinde etkili olan MMP'ler, özellikle MMP-2, preeklemtik kadınların plazmasında yüksek olarak bildirilmiştir (66). MMP-2'nin vazodilatatör seviyesinde azalma ve vazokonstriktör üretimi yoluyla vazokonstrüksiyonu ilerletebileceği bildirilmiştir (56, 66).

Normal gebelikte ekstravillöz trofoblastlar maternal spiral arterlere saldırır ve onların kas tabakalarını aşındırırlar, sonrasında bu damarlar gelişen fötoplental ünitelere maternal kan sağlayan düşük dirençli yüksek kapasiteli damarlara dönüşürler (78, 80). Ekstravillöz trofoblast invazyonunun gerçekleşmesi için de TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin uyarısından sonra decidual hücrelerden MMP-9 salınımı gereklidir (55, 80). Poon ve arkadaşları (80) bu bilgilerden yola çıkarak preeklemtik kadınların serumlarında MMP-9 seviyelerini araştırmışlar ve normal gebe kadın serumları ile karşılaştırdıklarında preeklemtik kadınlarda serum MMP-9 seviyelerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bu sonuçların maternal spiral arterlerin trofoblastlar tarafından yetersiz işgali ve beraberinde plasental hipoksi ve sitokin ve MMP-9 salınımindaki yetersizlik durumu ile ilgili bir hipotezi desteklemeyeceğini öne sürmüşlerdir.

Montagnana ve arkadaşlarının çalışmasına ve sonuçlarına benzer şekilde yapılan bir diğer çalışmada sağlıklı, idiopatik infertil ve tekrarlayan gebelik kaybı bulunan hastalarda MMP-2 mRNA analizleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında normal gebelere göre diğer iki grup hastaların MMP-2 mRNA seviyelerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (47). İdiyopatik infertil kadınlarda RT-PCR ile yapılan başka bir çalışmada endometrial MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonlarının reproduktif bir sorunu olmayan kadınlara göre sırasıyla 1.3, 5.2 ve 3.9 kat, nedeni açıklanmamış tekrarlayan gebelik kaybı bulunan hastalarda ise bu oranların 2.4 ve 3.8 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlara dayanarak ECM'in endometrial kabul olayında önemli olduğunu ve ECM'deki dengesizliğin nedeni açıklanamayan infertil ve tekrarlayan gebelik kaybı durumlarına sebep olabileceğini öne sürmüşlerdir (93).

İnfertilite durumları dışında, MMP'lerin doğum sonrası gerileyen uterusdaki mevcudiyetleri de araştırılmış ve doğum sonrası belli aralıklar ile MMP analizleri yapılmıştır. Yapılan çalışmanın sonunda immunohistokimyasal olarak hem MT1-MMP hem de MMP-2 proteinlerin doğumdan sonraki 18. ve 36. saatler sonra uterus intersitisyel hücrelerin stoplazmasında lokalize olduğu, boyamanın doğum sonrası 5. günde mevcudiyetini sürdürürken 20. günde daha zayıf olduğu bildirilmiştir. MMP-2 ve MT-1 mRNA seviyelerinin ise doğum sonrasında 36. saate kadar zamana bağlı arttığı, 5. günde azaldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlar eşliğinde

sıçanlarda bu iki enzimin doğum sonrası involusyonda da önemli roller oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir (57).

Tekrarlayan gebelik kayıpları (TGK) 3 ya da daha fazla ilk trimester gebelik kaybı yaşanması durumunda kullanılan bir terimdir (9). Erken dönem klinik çalışmalarda TGK daki temel patalojinin plasental trombozlar olduğu, dolayısıyla antikoagulan tedavinin gebelikte başarı şansını artırabileceği düşünülmektedir (20). Bunun yanısıra daha önce gebelik kaybı, intrauterin büyüme geriliği, preeklampsi ve tromfobili ile ilişkili ani intrauterin ölüm hikayesi olan kadınlarda gebelik kayıplarını önlemek için antikoagulan kullanımı bildirilmiştir (52, 82). En yaygın olarak araştırılan trombofililer, antifosfolipid sendromu (APS)'dur. Bu sendromda gebelik kaybını önlemek için heparin kullanımının sebebi, bazı gebelik kayıplarına plasental trombozun neden olması ve heparinin bu süreci önleyebilmesidir (82). Ancak APS'li gebeliklerden gelen ilk trimester desidua ve placentanın incelenmesinde, spesifik trombotik plasental patolojiye ait az kanıt bulunmuştur (87, 89). Erken gebelik kaybı ile ilişkili APS'de plasental trombozdan ziyade trofoblast invazyonunun direk inhibisyonunun, hatalı desidual endovasküler trofoblast invazyonunun gebelik kaybına neden olabileceği rapor edilmiştir (26, 89, 90, 92). Bunun yanısıra DMAH'lerin; APA'ların trofoblast hücreye bağlanmasını engelleyerek normal trofoblast invazyonunu sağladığı, heparin bağlayıcı EGF benzeri büyüme faktörüne bağlanma, insülin benzeri büyüme faktörü 1 seviyesinde artış ile trofoblast invazyonunda artış sağladığı, sinsisyotrofoblastik antiapoptotik faktör Bcl-2 seviyesinde artış meydana getirdiği, trofoblast invazyonundan sorumlu metalloproteinaz gibi spesifik proteazların aktivitesinde artış sağladığı bildirilmiştir (20).

Heparin'in yanısıra heparan-sülfat, proteoglikan, heparine bağlı EGF'ye benzer büyüme faktörü ve HIP (heparin etkileşimli protein) gibi heparin ile ilişkili bazı faktörlerin, endometriyal epitelyuma blastosistlerin yapışması, blastosist invazyonu ve belirli sinsiyotrofoblast hücrelerin büyümesinin uyarılması gibi üreme fonksiyonlarında bir rolü olabileceği bildirilmiştir (33).

Heparin antikoagulant aktivitesi dışında da özelliklere sahip olan kompleks bir polisakarittir. İlk olarak heparin anti-inflamatuar etkiye sahiptir. TGK yaşayan

kadınların desiduaları normal gebeler ile karşılaştırıldığında daha fazla nekroz, akut ve kronik inflamasyon ve vasküler tromboz gösterir (98). Heparin preparatları inflamatuvar hücre davranışlarını etkiler ve birçok organda lökosit akışını ve doku hasarını önleyerek teropatik anti-inflamatuvar özellik sağlar (85). İkinci olarak, heparin implantasyonun sağlanmasında rol oynayabilir. Di Simone ve arkadaşları (25) heparinin in vitro olarak trofoblast farklılaşması ve invazivitesinde önemli bir artış sağladığını bildirmişlerdir. Yine bazı yazarlar heparin'in doğrudan ya da dolaylı olarak (heparan sülfat proteoglikanları ya da heparin bağlayıcı EGF yoluyla) blastosistin endometrial epitele tutunması ve sonucunda invazyonunda etkili olduğunu, bunun yanısıra antikomplement etkiye sahip olması nedeni ile gebelik kayıplarını önlediğini öne sürmüşlerdir (99).

Yapılan çalışmalara rağmen heparin'in placentel fonksiyonlar üzerine olan etkisi ile ilgili bilgiler sınırlıdır. MMP'lerin plasental invazyonda oynadığı rollere ilişkin yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar plasental invazyon üzerine heparin'in etkisinin MMP ve TIMP'lara bağlı olabileceğini düşündürmüştür (92). Di Simone ve arkadaşları (25) yaptıkları çalışmada spontan abortuslu ilk trimester hastalardan aldıkları plasental doku örneklerini izole etmiş ve kültür ortamında DMAH ile muamele etmişlerdir. DMAH ile muamele edilen hücre kültürlerinde MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerinin ve mRNA miktarlarının arttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar sonuç olarak heparin'in MMPler üzerinden trofoblastların yıkımlayıcı kapasitelerini düzenlediğini öne sürmüşlerdir.

Mannello ve arkadaşları (58) yüksek molekül ağırlıklı heparin'in MMP üzerine etkilerini araştırmak için sağlıklı kişilerden aldıkları kan örneklerini heparinli ve heparinsiz tüplerde biriktirmiş ve ELİSA testi kullanılarak bu kan örneklerinin serumunda bulunan MMP-2 konsantrasyonlarını karşılaştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre serum MMP-2 konsantrasyonları örnekler arasında önemli bir farklılık göstermezken MMP-9 seviyesinin heparin ile kaplı tüplerde daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Grzela ve arkadaşları (39) yaptıkları çalışmada MMP'lerin aktif şekilde etkili olduğu bir başka durumun da abdominal aortik anevrizma (AAA) olduğunu, bu durumda aort duvarının kronik harabiyetinin söz konusu olduğunu ve özellikle artmış

MMP-9 aktivitesinin de bu durumla beraber olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle AAA durumunda DMAH kullanımının MMP-2 ve MMP-9 plazma aktiviteleri üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve koagülasyon anormallikleri ile beraber olan AAA hastalarında MMP-9 plazma aktivitelerinin daha yüksek olduğunu ve 5-7 gün DMAH ile tedaviden sonra MMP-9 plazma aktivitesinin önemli derecede azaldığını gözlemlemişlerdir. MMP-9 aktivasyonundaki bu değişikliğe rağmen MMP-2 plazma aktivitesinin gruplar arasında farklı olmadığı ve DMAH uygulamasının MMP-2 aktivitesini etkilemediği bildirilmiştir.

Düşük molekül ağırlıklı heparinin, gebelik kayıplarının önlenmesi ve tedavisinde nasıl bir etki mekanizması gösterdiği araştırılsa da, özellikle sıçanlarda, erken gebelikte, doku seviyesinde, immunohistokimyasal düzeyde MMP'ler üzerinden bir etkiye sahip olup olmadığına ait bir bilgiye rastlanmamıştır. Buradan yola çıkarak, gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda, düşük molekül ağırlıklı heparin uygulamasının, doku MMP ekspresyonları üzerine etkisini araştırarak heparin'in bilinen etki mekanizmaları dışından da bir etkiye sahip olup olmadığını göstermeyi amaçladık. Bu nedenle çalışmamızda, gebelik oluşturduğumuz sıçanlara düşük molekül ağırlıklı heparin uygulaması yaparak implantasyonda etkili olduğu yaptığımız ve yapılan çalışmalarca açıklığa kavuşturulan MMP-2 ve MMP-9 immunekspresyonlarını normal gebeler ile karşılaştırdık ve elde ettiğimiz bulgular, MMP-2 ve -9'un erken gebelik döneminde uterus endometriumundaki varlığının bu enzimlerin implantasyonda etkili olduğunu ve heparin muamelesinin MMP ekspresyonlarını artırdığını göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması ile gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda düşük molekül ağırlıklı heparinin MMP-2 ve -9 ekspresyonları üzerine etkisi, immunohistokimyasal teknik ile araştırılarak erken gebelikteki etkileri hakkında yeni bilgiler elde edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla heparin uygulanan ve uygulanmayan 2 farklı grup oluşturulmuş ve gebeliğin 0, 2, 4, 6 ve 8. günlerinde her iki guruptan alınan uterus doku örneklerinde MMP-2 ve MMP-9 immun boyaması yapılmıştır.

Elde edilen bulgular eşliğinde çalışmamızın sonuçları 2 madde altında toplanabilir:

- 1) MMP-2 ve MMP-9'un erken gebelik dönemlerinde sıçan uterus dokusundaki immunekspresyonu bu enzimlerin implantasyonda rol oynayabildiğini,
- 2) Düşük molekül ağırlıklı heparin kullanımının MMP-2 ve MMP-9 immunekspresyonlarında artışa neden olmasının tekrarlayan erken gebelik kayıplarında tedavi amacı ile kullanılan heparin'in MMP aktivitesi üzerinden de etkiye sahip olabileceğini gösterir.

Uyguladığımız immünohistokimyasal teknik sonucu elde edilen bulgularımız, erken gebelik döneminde sıçan uterus dokusunda, heparin'in MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonları üzerine etkilerini semiquantitatif olarak değerlendirebilecek seviyededir. Çalışmamızın devamında hem MMP doku inhibitörleri olan TIMP ekspresyonları araştırılarak hem de mevcut yöntemimiz Western Blot Tekniği ile desteklenerek daha ayrıntılı ve quantitatif sonuçlar 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. **Abrahamsohn PA, Zorn TM** (1993): Implantation and decidualization in rodents. *J Exp Zool.*, **266**, 603-628.
3. **Aksun SA, Özmen D, Bayındır O** (2001): Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *T Klin Tıp Bilimleri*, **21**, 332-342.
4. **Alattia JR, Tong KI, Takeichi M, İkura M** (2002): Cadherins. *Methods Mol Biol.*, **172**, 199-210.
5. **Alexander CM, Hansell EJ, Behrendtsen O, Flannery ML, Kishnani NS, Hawkes SP, Werb Z** (1996): Expression and function of matrix metalloproteinases and their inhibitors at the maternal-embryonic boundary during mouse embryo implantation. *Development*, **122**, 1723-1736.
6. **Aplin JD, Charlton AK, Ayad S** (1988): An immunohistochemical study of human endometrial extracellular matrix during the menstrual cycle and first trimester of pregnancy. *Cell Tissue Res.*, **253**, 231-240.
7. **Arıcan M, Çalım KD** (2004): Köpek artritlerinin oluşumunda enzimlerinin rolü ve sağaltımına yeni bir bakış II: Matriks Metalloproteinazları, Etki Mekanizmaları, Metalloproteinaz inhibitörleri. *Vet Bil Derg.*, **20** (1), 77-83.
8. **Atabekoğlu CS, Engin Y, Üstün Y, Aytaç R** (2002): Üreme fizyolojisi ve adhezyon molekülleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, **55**, 85-92.
9. **Badawy AM, Khiary M, Sherif LS, Hassan M, Ragab A, Abdelall I** (2008): Low-molecular weight heparin in patients with recurrent early miscarriages of unknown aetiology. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **28** (3), 280-284.
10. **Bahar L, Baykal T** (2008): Endometriyal reseptivitenin implantasyondaki rolü. *Mersin Univ Sağlık Bilimleri Derg.*, **1** (2), 1-6.
11. **Bany BM, Harvey MB, Schultz GA** (2000): Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in the mouse uterus during implantation and oil-induced decidualization. *Journal of Reproduction and Fertility*, **120**, 125-134.

12. **Bayramoğlu A** (2007): Akciğer kanserli hastalarda matrix metalloproteinaz-2 geni C1306T, matrix metalloproteinaz-9 geni C1562T polimorfizmi, MMP-2, MMP-9 ve doku inhibitör metalloproteinazların ekspresyonu ve plazma MMP-2 ve MMP-9 seviyesi. Doktora tezi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.
13. **Behrendtsen O, Alexander CM, Werb Z** (1992): Metalloproteinases mediate extracellular matrix degradation by cells from mouse blastocyst outgrowths. *Development*, **114**, 447-456.
14. **Bischof P, Campana A** (2000): Molecular mediators of implantation. *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology*, **14 (5)**, 801-814.
15. **Chen L, Belton Jr RJ, Nowak RA** (2009): Basigin-mediated gene expression changes in Mouse uterine stromal cells during implantation. *Endocrinology*, **150 (2)**, 966-976.
16. **Clark DE, Hurst PR, Myers DB, Spears GF** (1992): Collagen concentrations in dissected tissue compartments of rat uterus on days 6,7 and 8 of pregnancy. *J Reprod Fertil.*, **94**, 169-175.
17. **Clegg PD, Coughlan AR, Riggs CM, Burke R, Carter SD** (1997a): Characterisation of equine matrix metalloproteinase 2 and 9 and identification of the cellular sources of these enzymes in joints. *Equine Vet J.*, **29 (5)**, 335-342.
18. **Clegg PD, Coughlan AR, Riggs CM, Burke R, Carter SD** (1997b): Matrix metalloproteinases 2 and 9 in equine synovial fluids, *Equine Vet J.*, **29 (5)**, 343-348.
19. **Curry TE, Osteen K** (2003): The matrix metalloproteinase system: Changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. *Endocr Rev.*, **24**, 428-465.
20. **Çimen T** (2011): Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan hastalarda düşük molekül ağırlıklı heparin kullanımının gebeliğin seyri ve sonuçları üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi.
21. **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.

22. **Das SK, Wang XN, Paria BC, Damm D, Abraham JA, Klagsbrun M, Andrews GK, Dey SK** (1994): Heparin-binding EGF-like growth factor gene is induced in the mouse uterus temporally by the blastocyst solely at the site of its apposition: a possible ligand for interaction with blastocyst EGF-receptor in implantation. *Development*, **120**, 1071-1083.
23. **Das SK, Yano S, Wang J, Edwards DR, Nagase H, Dey SK** (1997): Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in the mouse uterus during the peri-implantation period. *Developmental Genetics*, **21**, 44-54.
24. **Demir R** (1995): İnsan gelişimi ve implantasyon biyolojisi, Palme Yayınevi, Ankara, s:100-120.
25. **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.
26. **Di Simone N, Meroni PL, De Papa N, Raschi E, Caliandro D, De Carolis CS, Khamashta MA, Atsumi T, Hughes GR, Balestrieri G, Tincani A, Casali P, Caruso A** (2000): Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered beta-2-glycoprotein I. *Arthritis Rheum.*, **43**, 140-50.
27. **Durmaz CE** (2009): Ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş yara yeri üzerine standart heparin (heparin sodyum) ve düşük moleküllü heparinin (enoksaparin) etkilerinin histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesi. Doktora tezi, Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
28. **Ehrhardt C, Kneuer C, Bakowsky U** (2004): Selectins-an emerging target for drug deliver. *Pharmacol Res.*, **56**, 527-549.
29. **Elter K, Oral E** (2000): İmplantasyon fizyolojisi ve implantasyonu etkileyen faktörler. *Obstetrik ve Jinekolojik Sürekli Eğitim Dergisi*, **4**, 48-63.
30. **Enders AC, Schlafke S** (1967): A morphological of the early implantation stages in the rat. *Am J Anat.*, **120**, 185-226.

31. **Ergüler G, Demir N, Demir R** (2002): Adezyon moleküllerinin yapısal özellikleri ve fonksiyonları. *T Klin Tıp Bilimleri.*, **22**, 313-327.
32. **Erol N** (2007): Vasküler endotelyal büyüme faktörü ve anti-VEGF ajanlar. *Ret-Vit.*, **15**, 35-40.
33. **Fiedler K, Würfel W** (2004): Effectivity of heparin in assisted reproduction. *European Journal of Medical Research*, **9**, 207-214.
34. **Frisbie JH** (1986): Wound healing in acute spinal cord injury, effect of anticoagulation. *Arch Phys Med Rehab.*, **67**, 311-3
35. **Galis ZS, Khatri JJ** (2002): Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly. *Circ Res.*, **90 (16)**, 251-62.
36. **Glasser SR, Lampelo S, Munir MI, Julian J** (1987): Expression of desmin, laminin and fibronectin during in situ differentiation (decidualization) of rat uterine stromal cells. *Differentiation*, **35**, 132-142.
37. **Gökçimen A, Temel S** (2004): İmplantasyon ve moleküler etkileşimler. *SDÜ Tıp Fak Derg.*, **11 (4)**, 25-33.
38. **Graham CH, Lala PK** (1992): Mechanisms of placental invasion of the uterus and their control. *Biochem Cell Biol.*, **70**, 867-74.
39. **Grzela T, Brawura-Biskupski-Samaha R, Jelenska MM, Szmidt J** (2008): Low molecular weight heparin treatment decreases MMP-9 plasma activity in patients with abdominal aortic aneurysm. *European Society for Vascular Surgery*, **35**, 159-161.
40. **Güç D** (2004): Adezyon molekülleri. *ANKEM Derg.*, **18 (Ek 2)**, 158-163.
41. **Güvenç G** (2008): Akut miyokard infarktüsünde serum matrix metalloproteinaz-9 düzeyleri. Uzmanlık tezi. T.C Sağlık Bakanlığı, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi , Biyokimya ve Klinik Biyokimya, İstanbul
42. **Harem İŞ** (2013): Trofoblastların yapısal özellikleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Dergisi*, **2 (1)**, 48-53.
43. **Harvey MB, Leco KJ, Arcellana-Panlilio MY, Zhang X, Edwards DR, Schultz GA** (1995): Proteinase expression in early mouse embryos is regulated by leukaemia inhibitory factor and epidermal growth factor. *Development*, **121**, 1005-14.

44. **Hassa O, Aşti RN** (1997): *Embriyoloji*, Genişletilmiş 3.Baskı, Yorum Basın Yayın Sanayi Limited Şirketi, Ankara, s:27-28.
45. **Hurst PR, Palmay RD** (1999): Matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors during the implantation period in the rat uterus. *Reprod Fertil Dev.*, **11**, 395-402.
46. **Itoh Y, Takamura A, Ito N, Maru Y, Sato H, Suenaga N, Aoki T, Seiki M** (2001): Homophilic complex formation of MT1- MMP facilitates pro- MMP-2 activation on the cell surface and promotes tumor cell invasion. *The Embo Journal*, **20** (17), 4782-4793.
47. **Jokimaa V, Oksjoki S, Kujari H, Vuorio E, Anttila L** (2002): Altered expression of genes involved in the production and degradation of endometrial extracellular matrix in patients with unexplained infertility and recurrent miscarriages. *Molecular Human Reproduction*, **8** (12), 1111-1116.
48. **Kanca H, Walter I, Miller I, Schäfer-Somi S, Izgur H, Aslan S** (2010): Expression and activity of matrix metalloproteinases in the uterus of bitches after spontaneous and induced abortion. *Blackwell Verlag GmbH.*, **46**, 197-204.
49. **Kansas GS** (1996): Selectins and their ligands: Current concepts and controversies. *Blood*, **88**, 3259-87.
50. **Kayışlı ÜA, Asar M, Demir R** (2000): Ratlarda desidualizasyon süresince ekstrasellüler matriksin yeniden modellenmesinde laminin ve fibronektin ile reseptör altbirimleri integrin $\beta 4$ ve $\alpha 5$ 'in dağılımları ve muhtemel rolleri. *Turk J Biol.*, **24**, 379-395.
51. **Kelly BA, Bond BC, Poston L** (2003): Gestational profile of matrix metalloproteinases in rat uterine artery. *Mol Hum Reprod.*, **9**, 351-358.
52. **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.
53. **Lee SW** (1996): H-cadherin, a novel growth inhibitory function and diminished expression in human breast cancer. *Nature Med.*, **2**, 776-82.
54. **Lijnen HR** (2002): Extracellular proteolysis in the development and progression of atherosclerosis. *Biochem Soc Trans.*, **30** (2), 163-7.

55. **Lockwood CJ, Oner C, Uz YH, Kayisli UA, Huang SU, Buchwalder LF, Murk W, Funai EF, Schatz F** (2008): Matrix metalloproteinase 9 expression in preeclamptic deciduas and MMP-9 induction by tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta in human first trimester decidual cells. *Biol Reprod.*, **78** (6), 1064-1072.
56. **Majika S, McGuire PG, Das A** (2002): Regulation of matrix metalloproteinase expression by tumor necrosis factor in a murine model of retinal neovascularization. *Investing Ophthalmol Vis Sci.*,**43**, 260-266.
57. **Manase K, Endo T, Chida M, Nagasawa K, Honnma H, Yamazaki K, Kitajima Y, Goto T, Kanaya M, Hayashi T, Mitaka T, Saito T** (2006): Coordinated elevation of membrane type 1-matrix metalloproteinase and matrix metalloproteinase-2 expression in rat uterus during postpartum involution. *Reproductive Biology and Endocrinology*, **4**, 32.
58. **Mannello F, Jung K, Tonti GA, Canestrari F** (2008): Heparin affects matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases circulating in peripheral blood. *Clinical Biochemistry*, **41**, 1466-1473.
59. **Massague J** (1998): TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem.*, **67**, 753-91.
60. **McGeady TA, Quinn PJ, FitzPatrick ES, Ryan MT** (2006): *Veterinary Embryology (Veteriner Embriyoloji)*. Çeviren: Çelik İ, Öznurlu Y. Medipres Matbaacılık Ltd. Şti., Malatya, s:86.
61. **Merchant SJ, Davidge ST** (2004): The role of matrix metalloproteinases in vascular function: implications or normal pregnancy and pre-eclampsia. *BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **111**, 931-939.
62. **Montagnana M, Lippi G, Albiero A, Scevarolli S, Salvagno GC, Franchi M, Guidi GC** (2009): Evaluation of metalloproteinases 2 and 9 and their inhibitors in physiologic and pre-eclamptic pregnancy. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **23**, 88-92.
63. **Moore KL, Persaud TVN** (2009): *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology, 8th Edition (Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi)*.

Çeviren: Dalçık H, Yıldırım M. Nobel Matbacılık, 2.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti, s:35-52.

64. **Mulholland J, Aplin JD, Ayad S, Hong L, Glasser SR** (1992): Loss of collagen type VI from rat endometrial stroma during decidualization. *Biol Reprod.*, **46**, 1136-1143.
65. **Nagase H, Woessner JF** (1999): Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem.*, **274**, 21491-4.
66. **Narumiya H, Zhang Y, Fernandez-Patron C, Guilbert LJ, Davidge ST** (2001): Matrix metalloproteinase-2 is elevated in the plasma of women with preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*, **20**, 185-194.
67. **Nuttall RK, Kennedy TG** (2000): Epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor increase the production of matrix metalloproteinases during in vitro decidualization of rat endometrial stromal cells. *Endocrinology*, **141**, 629-636.
68. **Okada Y** (2000): Matrix-degrading metalloproteinases and their roles in joint destruction. *Mod Rheumatol.*, **10**, 121-128.
69. **Opdenakker G, Van den Sten PE, Dubois B, Nelissen I, Coillie EV, Masure S, Proost P, Damme JV** (2001): Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J Leukoc Biol.*, **69**, 851-859.
70. **Öncel M** (2012): Matrix metalloproteinazlar ve kanser. *Eur J Basic Med Sci.*, **2** (3), 91-100.
71. **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.
72. **Öner J, Öner H** (2013): Gebelikte Matriks Metalloproteinazlar (MMP) ve Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörleri (TIMP). *Selçuk Tıp Dergisi*, **29** (2), 95-99.
73. **Özfiliz N, Erdost H, Zık B** (2007): İmplantasyon. Editör: Özer A. Veteriner Embriyolojisi, 3.Baskı, Nobel Basım Evi, Ankara, s:113-114.
74. **Özfiliz N, Erdost H, Zık B** (2010): Evcil Hayvan Zigotlarında Yarıklanmalar, *Veteriner Embriyoloji*, 4.Baskı, Nobel Yayınevi, Ankara, s:53-67.

75. **Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z** (2007): Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodeling. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, **8**, 221-33.
76. **Paria BC, Sogh H, K Dey SK** (2001): Implantation: molecular basis of embryo-uterine dialogue. *Int J Dev Biol.*, **45**, 597-605.
77. **Parr EL, Tung HN, Parr MB** (1987): Apoptosis as the mode of uterine epithelial cell death during embriyo implantation in mice and rats. *Biology of Reproduction*, **36**, 211-225.
78. **Pijnenborg R, Vercruisse L, Hanssens M** (2006): The uterine spiral arteries in human pregnancy facts and controversion. *Placenta*, **27 (9-10)**, 939-958.
79. **Polette M, Birembaut P** (1998): Membrane-type metalloproteinases in tumor invasion. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **30**, 1195-1202.
80. **Poon LCN, Nekrasova E, Anastassopoulos P, Livanos P, Nicolaidis KH** (2009): First-trimester maternal serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and adverse pregnancy outcome. *Prenatal Diagnosis*, **29**, 553-559.
81. **Psychoyos A** (1973): Endocrine control of egg implantation. In greep RO, Astwood EG, Geiger SR(eds): ‘ ‘ Handbook of Physiology.’ ’ *Washington, DC: American Physiological Society.*, 187-215.
82. **Rai R, Cohen H, Dave M, Regan L** (1997): Randomised controlled trial of aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). *BMJ.*, **314**, 253-7.
83. **Rechtman MP, Zhang J, Salamonsen LA** (1999): Effect of inhibition of matrix metalloproteinases on endometrial decidualization and implantation in mated rats. *J Reprod Fertil.*, **117**, 169-77.
84. **Roberts JM, Redman CW** (1993): Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *Lancet*, **341**, 1447-1451.
85. **Rops AL, Van der Vlag J, Lensen JF, Wijnhoven TJ, Van den Heuvel LP, Van Kuppevelt** (2004): Heparan sulfate proteoglycans in glomerular inflammation. *Kidney International.*, **65**, 768-785.

86. **Roy SC, Ghosh** (2010): Dynamic in vivo changes in the activities of gelatinases, matrix metalloproteinases (MMPs), and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) in buffalo (*Bubalus bubalis*) uterine luminal fluid during estrous cycle and early pregnancy. *Molecular Reproduction & Development*, **77** (11), 944-953.
87. **Salafia CM, Cowchock FS** (1997): Placental pathology and antiphospholipid syndrome: a descriptive study. *Am J Perinatol.*, **14**, 435-41.
88. **Salamonsen LA, Dimitriadis E, Jones RL, Nie G** (2003): Complex regulation of decidualization: a role for cytokines and proteases-a review. *Placenta*, **24**, 76-85.
89. **Sebire NJ, Backos M, El Gaddal S, Goldin RD, Regan L.** (2003): Placental pathology antiphospholipid antibodies and pregnancy outcome in recurrent miscarriage patients. *Obstet Gynecol.*, **101**, 258-63.
90. **Sebire NJ, Fox H, Backos M, Rai R, Paterson C, Regan L** (2002): Defective endovascular trophoblast invasion in primary antiphospholipid antibody syndrome-associated early pregnancy failure. *Hum Reprod.*, **17**, 1067-71.
91. **Simone ND, Marana R, Castellani R, Nicuolo FD, D'Alessio MC, Raschi E, Borghi MO, Chen PP, Sanguinetti M, Caruso A, Meroni PL** (2010): Decreased expression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor as a newly identified pathogenic mechanism of antiphospholipid-mediated defective placentation. *Arthritis & Rheumatism*, **62** (5), 1504-1512.
92. **Simone ND, Nicuolo FD, Sanguinetti M, Ferrazzani S, D'Alessio MC, Castellani R, Bompiani A, Caruso A** (2007): Low-molecular weight heparin induces in vitro trophoblast invasiveness: Role of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors. *Placenta*, **28**, 298-304.
93. **Skrzypczak J, Wirstlein P, Mikolajczyk M, Ludwikowski G, Zak T** (2007): TGF superfamily and MMP-2, MMP-9, TIMP-1 genes expression in the endometrium of women with impaired reproduction. *Folia Histochemica Et Cytobiologica*, **45** (1), 143-148.
94. **Soyöz M, Özçelik N** (2007): TGF- β (Transforming Growth Factor- β) ve sinyal iletimi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.*, **27**, 426-433.

95. **Şensoy E, Öznurlu Y** (2009): Hücre adezyon molekülleri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimler Dergisi*, **4**, 57-68.
96. **Teesalu T, Masson R, Basset P, Blasi F, Talarico D** (1999): Expression of matrix metalloproteinases during murine chorioallantoic placenta maturation. *Developmental Dynamics*, **214**, 248-58.
97. **Uekita T, Tanaka SS, Sato H, Seiki M, Tojo H, Tachi C** (2001): Expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) mRNA in trophoblast and endometrial epithelial cell populations of the synepitheliochorial placenta of goats (*Capra hircus*). *Arch Histol Cytol.*, **64** (4), 411-424.
98. **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.
99. **Walport MJ** (2001): Complement. *New England Journal of Medicine*, **344**, 1058-1066.
100. **Wang H, Li O, Shao L, Zhu C** (2001): Expression of matrix metalloproteinase-2, -9, -14, and tissue inhibitors of metalloproteinase -1,-2, -3 in the endometrium and placenta of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) during early pregnancy. *Biology of Reproduction*, **65**, 31-40.
101. **Wever UM, Damjanov A, Weiss J, Liotta LA, Damjanov I** (1986): Mouse endometrial stromal cells produce basement-membrane components. *Differentiation*, **32**, 49-58.
102. **Whiteside EJ, Jackson MM, Herington AC, Edwards DR, Harvey MB** (2001): Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 are key regulators of extracellular matrix degradation by mouse embryos. *Biol Reprod.*, **64**, 1331-7.
103. **Woessner JF, Jr** (1991): Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J.*, **5** (8), 2145-54.
104. **Wu RJ, Zhon FI** (2003): Expression of matrix metalloproteinases-9 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 mRNA in the endometrium during midluted phase in women with unexplained infertility. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi(abstract).*, **6**, 346-9.

- 105. Yetkin D, Yılmaz BC, Yılmaz ŞN** (2013): Diyabetin, implantasyon penceresi dönemindeki fare endometriyumunda laminin ekspresyonuna etkisi. *Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg.*, **6 (3)**, 19-24.
- 106. Zhang X, Wang HM, Lin HY, Liu GY, Li QL, Zhu C** (2004): Regulation of matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) during mouse peri-implantation: role of nitric oxide. *Placenta*, **25**, 243-252.
- 107. 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: Derya AKALIN

Doğum Yeri ve Yılı: Burdur-Tefenni / 08.09.1988

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

Uyruğu: T.C.

Telefon No: 05070921373

Elektronik Posta: derya.akalin07@hotmail.com

İletişim Adresi: Cumhuriyet Mah. 625 Sok. Özyörük Apt.
No:30/16 Muratpaşa/ANTALYA

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans: Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat
Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2012



Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. Karamanlı Hakan Sevim Anadolu Öğretmen Lisesi'nde Biyoloji Öğretmeni 2014

MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı



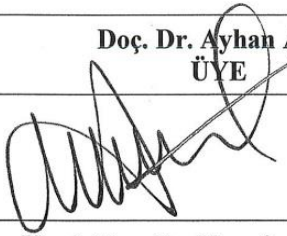

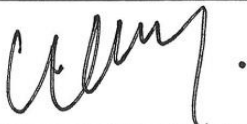

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
12.03.2014	11	61

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 12 MART 2014 tarihinde Saat 15:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır:

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Jale ÖNER'in yürütücü, Yüksek Lisans Öğrencisi Derya AKALIN'ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı "Gebeliğin Erken Dönemlerinde Sıçan Uterus Dokusunda Heparin'in Metalloproteinaz 2, -9 (MMP-2, -9) Ekspresyonu Üzerine Etkisi" başlıklı çalışma,

	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
Deney Hayvanının	SIÇAN (Wistar Albino)	D	60	10-12 Hafta /180-200 gr

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Prof. Dr. Özcan ÖZGEL BAŞKAN	Prof. Dr. Halil İbrahim GÖKÇE BAŞKAN YARDIMCISI	Doç. Dr. Ayhan ATA ÜYE
		
Doç. Dr. Tamer ALBAYRAK ÜYE	Yard. Doç. Dr. Nuri MAMAK ÜYE	Yard. Doç. Dr. Nermin SARIGÜL ÜYE
		İZİNLİ
Ufuk GÖKDUMAN ÜYE	Müşerref EVCİL ÜYE	Yard. Doç. Dr. Ali Reha AĞAOĞLU ÜYE
KATILMADI	KATILMADI	


Halil İbrahim GÖKÇE
Fakülte Sekreteri
ASLININ AYNIĞIDIR