



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLGULARINDA
ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTEDE ADEZYON VE ANTI-ADEZYON
MOLEKÜLLERİ İLE TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Şule KIZIL

**HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Sevim AYDIN**

**2013-ANKARA
TÜRKİYE CUMHURİYETİ**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI OLGULARINDA
ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTEDE ADEZYON VE ANTI-ADEZYON
MOLEKÜLLERİ İLE TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Şule KIZIL

**HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Sevim AYDIN**

**Bu tez Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından
13L3330011 proje numarası ile desteklenmiştir.**

2013-ANKARA

KABUL VE ONAY SAYFASI

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	viii
Tablolar	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Uterus	1
1.2. Uterusun Gelişimi	2
1.3. Uterusun Histolojisi	3
1.3.1. Perimetriyum	4
1.3.2. Miyometriyum	4
1.3.3. Endometriyum	4
1.3.3.1. Mensturial Döngü: Endometriyumun Döngüsel Değişimi	7
1.4. İmplantasyon	10
1.4.1. İmplantasyon Mekanizması	11
1.4.2. İmplantasyon Penceresi: Endometriyal Reseptivite	13
1.4.2.1. Ovaryan Steroidler ve Reseptivite	14
1.4.2.2. Reseptivitenin Morfolojik Belirteçleri: Pinopodlar	16
1.4.2.3. Reseptivitenin Moleküler Belirteçleri	18
1.4.2.3.1. Adezyon Molekülleri	18
1.4.2.3.2. Anti-Adezyon Molekülleri	20
1.4.2.3.3. Sitokinler ve Büyüme Faktörleri	20
1.4.2.3.4. Prostoglandinler	22
1.4.2.3.5. Homeobox (HOX) Transkripsiyon Faktörleri	22
1.4.3. Tekrarlayan Gebelik Kayıpları (TGK)	23
2. GEREÇ VE YÖNTEM	27
2.1. Kullanılan Dokuların Eldesi	27
2.2. Işık Mikroskopik (IM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar	28
2.2.1. %10'luk Tamponlu Formalin İçin Uygulanan Takip Protokolü	28
2.2.2. Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama Protokolü	29
2.3. İmmünohistokimyasal İnceleme İçin Yapılan Çalışmalar	29
2.3.1. İmmünohistokimya Boyama Protokolü	29
2.4. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar	30
2.4.1. Yarı İnce Kesit Boyama Protokolü	31
2.4.2. İnce Kesit Boyama Protokolü	32
2.5. İstatistiksel Değerlendirme İçin Yapılan Çalışmalar	32
3. BULGULAR	34
3.1. IM ile Elde Edilen Bulgular	34
3.1.1. İmmünohistokimyasal Bulgular	39
3.1.1.1. Gal-3 Bulguları	39
3.1.1.2. MUC2 Bulguları	41
3.1.1.3. MUC4 Bulguları	44

3.1.1.4. HOXA10 Bulguları	46
3.2. TEM ile Elde Edilen Bulgular	50
3.3. İstatistiksel Bulgular	57
4. TARTIŞMA	58
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
ÖZET	64
SUMMARY	65
KAYNAKLAR	66
EKLER	71
EK-1: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı	71
EK-2: Eğitim Planlama ve Koordinasyon Başkanlığı Kararı	73
ÖZGEÇMİŞ	75

ÖNSÖZ

Tekrarlayan gebelik kayıplarının (TGK) etiyolojisi günümüzde tam olarak aydınlatılmamıştır ve bu nedenle oluşmasındaki mekanizmalar araştırmacılar tarafından merak konusu olmuştur. Bu yüksek lisans tezi çalışmasında da TGK olan hastaların endometriyum örnekleri ile fertil endometriyum örneklerinde implantasyon penceresi döneminde etkili olan adeziv ve anti-adeziv moleküllerin ve bu dönemde morfolojik olarak ortaya çıkan pinopodların oluşumunu düzenleyen transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Ofisi tarafından 13L3330011 proje numarası ile desteklenmiştir.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca yetişmemde büyük emekleri geçen, her zaman destek ve anlayışla yaklaşan Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Canan AKBAY'a,

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarımda bilgi ve donanımını benden esirgemeyen, her konuda destek ve anlayışla yaklaşan değerli tez danışmanın Sayın Doç. Dr. Sevim AYDIN'a,

Eğitimim boyunca emekleri geçen kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Cengiz Güven'e, Sayın Prof. Dr. Nurşen Saraç'a, Sayın Prof. Dr. Alp Can'a, Sayın Prof. Dr. Esra Erdemli'ye, Sayın Prof. Dr. Bizden Sabuncuoğlu'na, Sayın Prof. Dr. Belgin Can'a, Sayın Prof. Dr. Oya Evirgen'e, Sayın Doç. Dr. Özgür Çınar'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Deniz Billur'a, kendisinden çok şey öğrendiğim Sayın Uzm. Dr. Ferda Topal Çelikkan'a,

Deneylerim ve gözlemlerim sırasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Berfu Demir'e, Sayın Dr. Burcu Sağlam Ada'ya, Sayın Dr. Yeliz Aykanat'a,

Labaratuvar uygulamaları sırasında bilgi ve deneyimlerimin artmasına katkıları olan Hüseyin Solmaz, Remzi Ata, Erdoğan Çalışkan, Nezihe Akçakaya, Bahar Süme; günlük iş koşuşturmasında çalışmamızı kolaylaştıran İlkay Bektaş ve Kerim Dilbaz'a,

Destek ve yardımlarını benden esirgemeyen kıymetli arkadaşlarım Uzm. Dr. Hilal Göktürk'e, Uzm. Bio. Nazlı Hayırlı'ya, Vet. Hek. Masoud Afshani'ye, Dr. Zeynep Gülhan'a, Gülay Koç'a, Dr. Evin Taşatan'a, Vet. Hek. Pınar Bayram'a, Uzm. Bio Duru Aras'a, Bio. Zeynep Çakar'a,

Bu günlere gelmemde her türlü emeği ve sabrı gösteren annem, babam ve kardeşlerime,

Tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

SİMGELELER VE KISALTMALAR

AMH	: Anti-Müllerian Hormon
APA	: Antifosfolipid antikor
APS	: Antifosfolipid Sendromu
Ca²⁺	: Kalsiyum iyonu
COX-2	: Siklooksijenaz
CRH	: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
CSF	: Koloni Stimüle Edici Faktör
DAB	: 3,3'-diaminobenzidine
DES	: Dietilstilbestrol
DM	: Dibetetes Mellitus
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
ESHRE	: European Society of Reproduction and Embryology
ET	: Embriyo Transferi
FASL	: Fas Ligand
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
Gal-3	: Galectin-3
Glx	: Glutaredoxin
HB-EGF	: Heparin Bağlayıcı EGF-Benzeri Büyüme Faktörü
hCG	: İnsan Koryonik Gonadotropini
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
HOX	: Homeobox gen ailesi
ICSI	: İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
Ig	: İmmünglobulin
IG-FBP	: İnsülin-Benzeri Büyüme Faktörü-Bağlayıcı Protein
IL	: İnterlökin
IM	: Işık Mikroskobu
IUGR	: İntrauterin Gelişme Geriliği

IVF	: <i>in vitro</i> Fertilizasyon
LFY	: Luteal Faz Yetmezliği
LH	: Lüteinize Edici Hormon
LIF	: Lösemi Baskılayıcı Faktör
M	: Molar
MIS	: Müllarian İnhibe Edici Madde
mm	: Milimetre
mm³	: Milimetre küp
µm	: Mikrometre
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MUC	: Musin
NaOH	: Sodyum hidroksit
nm	: Nanometre
PBS	: Fosfat Tamponlu Solüsyon
PCOS	: Polikistik Over Sendromu
PGD	: Preimplantasyon Genetik Tanı
PGF2α	: Prostoglandin F2α
SRY	: Sex-determining region of the Y chromosome
TDF	: Testis Belirleyici Faktör
TEM	: Transmisyon Elektron Mikroskobu
TGF	: Farklandırıcı Büyüme Faktörü
TGK	: Tekrarlayan Gebelik Kayıpları
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Uterus ve bağlantılı yapılar (W. K. OVALLE, Netter Temel Histolojiden alınmıştır).

Şekil 1.2. Endometriyumun histolojik görüntüsü (Canan AKBAY Tıbbi Histoloji - Embriyoloji Uygulama Kılavuzu'ndan alınmıştır).

Şekil 1.3. Uterusun kanlanması (W. K. OVALLE, Netter Temel Histolojiden alınmıştır).

Şekil 1.4. Endometriyumun kanlanması (W. K. OVALLE, Netter Temel Histolojiden alınmıştır).

Şekil 1.5. Mensturiyal döngüde hipofiz, ovaryum ve endometriyum arasındaki ilişkiler (W. K. OVALLE, Netter Temel Histolojiden alınmıştır).

Şekil 1.6. Mensturiyal döngü endometriyum epitel hücreleri ve bezlerin yapısal olarak değişimleri (Luiz Carlos JANQUEİRA JC. Temel Histoloji Text & Atlas'tan alınmıştır).

Şekil 1.7. Blastokistin endometriyuma implantasyonu. A. 107 hücreli insan blastokisti B. Blastokistin şematik görünümü C. Blastokistin endometriyuma invazyonu (Thomas W Sadler. Langman's Medical Embryology'den alınmıştır).

Şekil 1.8. Ovaryan steroidler ve reseptivite (Cha et al., 2012'den alınmıştır).

Şekil 1.9. İnsan endometriyumunda pinopod oluşum evreleri. M; mikrovilluslu hücreler, S; silyalı hücreler, P; olgun pinopod (Quinn and Casper, 2009'dan alınmıştır).

Şekil 3.1. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey ve bez epiteli. Ok; yüzey epiteli, yıldız; endometriyum bezleri, L; bez lümeni.

Şekil 3.2. Kontrol grubunun yüzeyinde tek katlı prizmatik kinosilyalı epitel, stroma ve stromada bulunan bez epitelleri olağan görünümündedir. Ok; yüzey epiteli, yıldız; endometriyum bezleri.

Şekil 3.3. TGK'lı gruba ait endometriyum yüzey ve bez epiteli. Ok; yüzey epiteli, yıldız; endometriyum bezleri, L; bez lümeni.

Şekil 3.4. TGK'lı hasta grubunun endometriyum biyopsi örneğinde yüzey epitelinde tek katlı kübik kinosilyalı epitel izlenmektedir. Stroma normal görünümündedir. Ok; yüzey epiteli.

Şekil 3.5. Kontrol grubuna ait yarı ince kesitlerde tek katlı prizmatik kinosilyalı yüzey epiteli izlenmekte. Ok; kinosilyumlar.

Şekil 3.6. Kontrol grubuna ait yarı ince kesitlerde pinopod içeren tek katlı prizmatik yüzey epiteli ve stroma içinde bez epiteli görülmektedir. Bez epiteli hücrelerinde sitoplazmada çok sayıda vakuol dikkat çekmektedir. Ok; pinopodlar, L; bez lümeni.

Şekil 3.7. TGK'lı hasta grubunda yüzey epitelinde kinosilyum ve pinopod kaybı izlenmektedir. Ok; tek katlı basit prizmatik epitel, yıldız; endometriyum bez epiteli, e; eritrositler.

Şekil 3.8. TGK'lı hasta grubunda endometriyum bez epitelinde pinopod oluşumları dikkat çekmektedir. Ok; pinopodlar, L; damar lümeni.

Şekil 3.9. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey ve bez epitelinin Gal-3 ekspresyonuna ait mikrografta kuvvetli immünreaktivite izlenmektedir. Ok; pinopodlar, L; endometriyum bez lümeni.

Şekil 3.10. Kontrol grubuna ait endometriyum bez epitelinde kuvvetli ve orta şiddette Gal-3 ekspresyonu izlenmektedir. L; lümen.

Şekil 3.11. TGK'lı hasta grubunda endometriyum yüzey epitelinde Gal-3 ekspresyonu zayıf şiddette izlenmektedir. Ok; yüzey epiteli.

Şekil 3.12. TGK'lı hasta grubunda endometriyum bez epitelinde Gal-3 ekspresyonu zayıf şiddette izlenmektedir. L; lümen.

Şekil 3.13. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde MUC2 ekspresyonuna rastlanmamıştır. Ok; yüzey epiteli.

Şekil 3.14. Kontrol grubuna ait endometriyum bez epitelinde MUC2 ekspresyonu izlenmemektedir. L; lümen.

Şekil 3.15. TGK'lı hasta grubunda endometriyum yüzey epitelinde zayıf şiddette MUC2 ekspresyonu izlenmektedir. Ok; yüzey epiteli.

Şekil 3.16. TGK'lı hasta grubunda endometriyum bez epiteli hücrelerinin bazal bölgelerinde zayıf şiddette MUC2 ekspresyonu izlenmektedir. L; lümen.

Şekil 3.17. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde MUC4 ekspresyonu izlenmemektedir. Ok; yüzey epiteli.

Şekil 3.18. Kontrol grubuna ait endometriyum bez epitelinde MUC4 ekspresyonu izlenmemektedir. L; lümen.

Şekil 3.19. TGK'lı hasta grubuna ait endometriyum yüzey epitelinin apikal bölgesinde MUC4 immünreaktivitesi özellikle pinopodların yüzeyinde zayıf olarak izlenmektedir. Ok; yüzey epiteli.

Şekil 3.20. TGK'lı hasta grubunun bez epitelinde MUC4 ekspresyonu zayıf olarak izlenmektedir. L; lümen.

Şekil 3.21. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epiteli ve stromanın HOXA10 için güçlü immünreaktivite gösterdiği izlenmektedir. Ok; yüzey epiteli.

Şekil 3.22. Kontrol grubuna ait endometriyum bezlerinin apikal bölgesinde HOXA10 için güçlü immünreaktivite gözlenmektedir. L; lümen.

Şekil 3.23. TGK'lı hasta grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde orta şiddette HOXA10 ekspresyonu görülmektedir. Ok; yüzey epiteli.

Şekil 3.24. TGK'lı hasta grubunda endometriyum bez epitelinde orta şiddette HOXA10 ekspresyonu izlenmektedir. L; lümen.

Şekil 3.25. TGK'lı hasta grubunda endometriyum bez epitelinde zayıf şiddette HOXA10 ekspresyonu izlenmektedir. L; lümen.

Şekil 3.26. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde mikrovilluslar görülmektedir. Ok; mikrovilluslar.

Şekil 3.27. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde pinopodlar dikkat çekmektedir. Ok; pinopod, n; nükleus.

Şekil 3.28. Kontrol grubuna ait yüzey epitel hücreleri arasında bağlantı bileşikleri sağlam olarak izlenmektedir. Ok; bağlantı bileşikisi.

Şekil 3.29. TGK'lı hasta grubunda yüzey epiteli hücreleri arasında hücreler arası aralıkta düzensiz genişlemeler izlenmektedir. Ok; genişlemiş hücreler arası aralık, n; nükleus.

Şekil 3.30. TGK'lı hasta grubunda yüzey epiteli hücreleri arasında hücreler arası aralıkta düzensiz genişlemeler izlenmektedir.

Şekil 3.31. TGK'lı hasta grubunda yüzey epiteli hücreleri arasındaki bağlantı bileşikleri ve epitel hücreleri arasındaki düzensiz genişlemeler izlenmektedir.

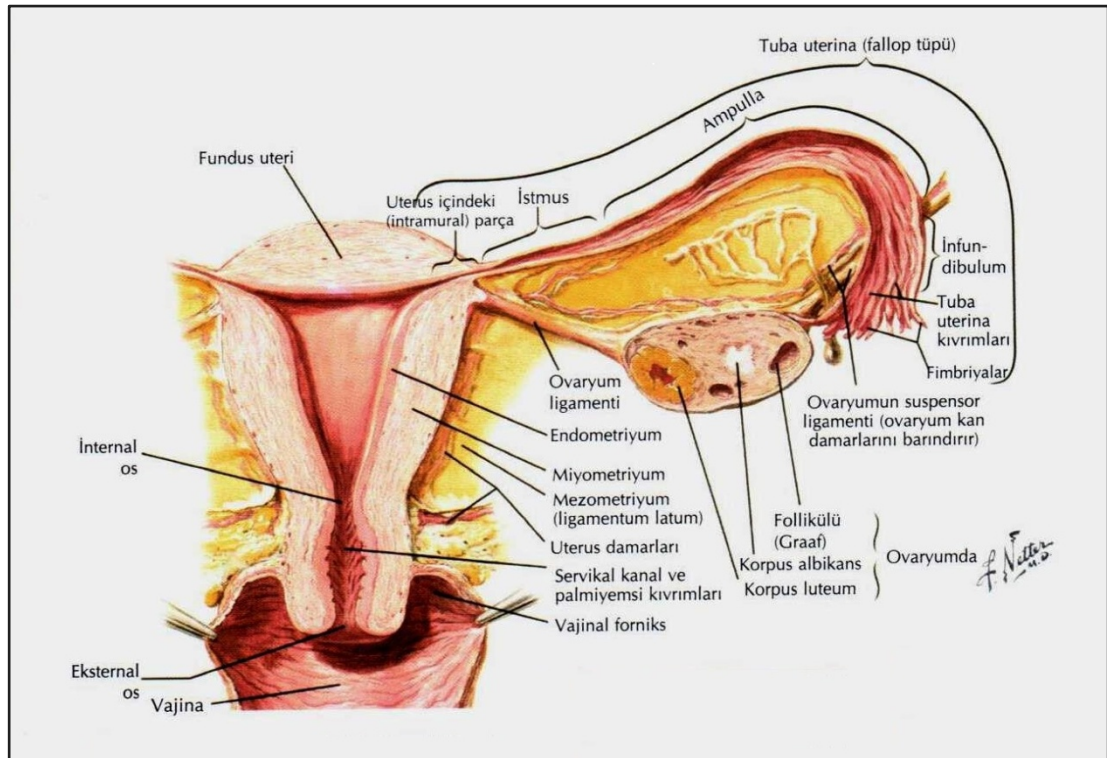
TABLÖLAR

Tablo 3.1. Kontrol ve TGK hasta grubunun immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması.

1.GİRİŞ

1.1. Uterus

Uterus; pelviste mesane ile rektum arasında uzanan, kalın müsküler bir duvara sahip, içi oyuk armut biçimli bir organdır. 7 cm uzunluğunda, 4 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlığındadır. Organın genişlemiş üst bölümü gövde veya korpus bölümüdür. Tepedeki kubbe biçimli bölümü fundus olarak adlandırılır ve bu bölümün duvarından fallop tüpleri (tuba uterina) organın içine girer. Organın en dar ve en alt bölümü olan serviks, vajinaya açılır (şekil 1.1). Korpus ve fundus histolojik olarak hemen hemen aynıdır, ancak serviks bazı önemli yapısal farklılıklar gösterir (Tekelioğlu, 2002; Ovalle, 2009).



şekil 1.1. Uterus ve bağlantılı yapılar (W. K. OVALLE, Netter Temel Histolojiden alınmıştır).

1.2. Uterusun Gelişimi

Erken dönem genital sistemler her iki cinste de benzerdir. Cinsiyet farklanması otozomal genlerin de katıldığı birçok geni içeren karmaşık bir olaydır. Farklanma Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki SRY (sex-determining region of the Y chromosome) bölgesinden eksprese edilen testis farklılaştırıcı faktörün (TDF - testis determining factor) varlığında gerçekleşir. Bu faktörün yokluğunda veya hatalı olmasında dişi gonadı gelişir (Tekelioğlu, 2002).

Gonadların erkek veya dişi yapısal özelliklerini kazanması gelişmenin 7. haftasında gerçekleşir. Bu nedenle bu dönem farklanmamış dönem olarak adlandırılır. Farklanmamış dönemde erkek ve dişi embriyoların her ikisi de iki çift genital kanala sahiptir:

- Mezonefrik kanallar (Wolff kanalları)
- Paramezonefrik kanallar (Müller kanalları)

Mezonefrik kanallar, mezonefrozun dış kısmında yukarıdan aşağı doğru uzanır ve erkek üreme sisteminin gelişiminde önemli rol oynar. Dişi fetuslarda ise geride birkaç işlevsiz kalıntı bırakarak körelir (Keith L. Moore, 2009).

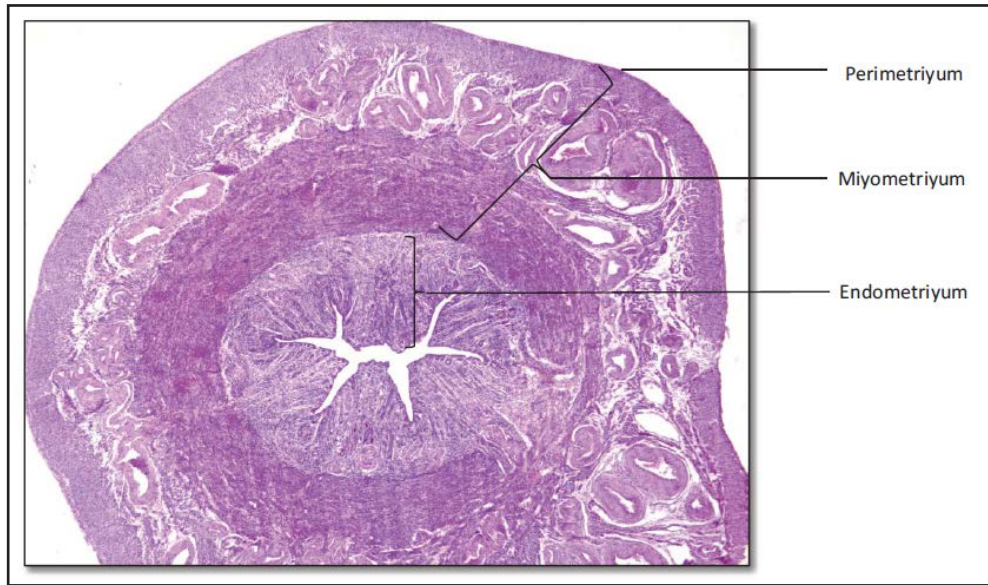
Embriyonik gelişimin 5. haftasında dişi embriyolarda testosteron ve Müller inhibe edici madde (MIS - AMH; anti-müllerian hormon) yokluğundan dolayı mezonefrik kanallar körelirken paramezonefrik kanallar gelişir. Paramezonefrik kanallar, gonadal kabartının ön yan yüzünde sölom epitelinin uzunlamasına invajinasyonu şeklinde yükselir. Kranial kısmı sölom boşluğuna açılırken kaudal kısmı önce mezonefrik kanalın dış kısmında ilerleyerek onu çaprazlar ve her iki tarafın paramezonefrik kanalları gelişimin 8. haftasında orta hatta birbiriyle kaynaşır. Paramezonefrik kanalların kaynaşmayan kranial

parçalarından tuba uterinalar gelişir. Bu kanalların kaudaldeki kaynaşmış bölümleri uterus ve vajinanın geliştiği uterovajinal taslağı oluşturur. Endometriyal stroma ve miyometriyum ise splanknik mezodermden gelişir (Keith L. Moore, 2009; Sadler, 2010).

Paramezonefrik kanalların orta hatta birleşip kaynaşmanın hiç olmaması ya da yetersiz olmasından dolayı çeşitli anatomik uterus anomalileri ortaya çıkabilir. Bu anomaliler infertilite, tekrarlayan düşükler, erken doğum, erken membran rüptürü veya intrauterin ölümlere neden olabilir (Sadler, 2010).

1.3. Uterusun Histolojisi

Uterus duvarı 3 histolojik katmana sahiptir (Şekil 1.2): perimetriyum, miyometriyum ve endometriyum (Ross MH, 2011).



Şekil 1.2. Endometriyumun histolojik görüntüsü (Canan AKBAY Tıbbi Histoloji - Embriyoloji Uygulama Kılavuzu'ndan alınmıştır).

1.3.1. Perimetriyum

Peritoneal mezotel ile örtülü ve gevşek bağ dokusu yapısındaki dış seröz katmandır. Fundus ve korpus kısmının arka yüzeyleri visseral periton ve bağ dokusundan oluşan seroza ile kaplıyken mesaneye komşu olan ön yüzeyi adventisya ile kaplıdır (Tekelioğlu, 2002; Ross MH, 2011).

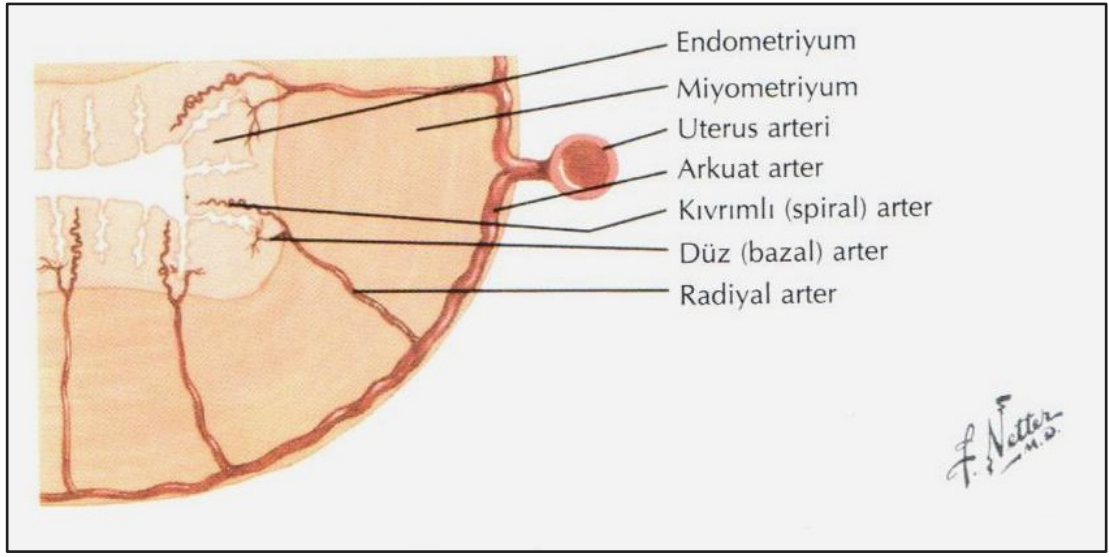
1.3.2. Miyometriyum

12 mm kalınlığında, longitudinal ve sirküler kas demetlerinden oluşmuş en kalın bölümdür. İç ve dışta longitudinal ve ortada sirküler düzenlenen birbiri içine geçmiş kaslardan oluşur. Orta tabakada büyük kan ve lenf damarları bulunur; arkuat arterlerin yer aldığı bu bölge "stratum vaskulare (vasküler kat)" adını alır. Uterus servikse doğru daralırken kas dokusu incelerek yerini fibröz bağ dokusuna bırakır. Miyometriyum kalınlığı, ovaryumlardan salınan östrojen hormonunun etkisi altında değişir (Kierszenbaum, 2012).

1.3.3. Endometriyum

Uterusun en ince tabakası olan endometriyum, tek katlı kinosilyalı prizmatik epitel ve altındaki gevşek bağ dokusu yapısındaki lamina propriyadan oluşur. Epitelde, silyalı hücrelerin yanı sıra silya içermeyen salgı hücreleri de bulunur. Lamina propriyada miyometriyuma kadar uzanan ve yüzey epitelinden farklı olarak epitelinde silyalı hücreler bulunmayan basit tübüler yapıda bezler bulunur. Bezler arasındaki bağ dokusu endometriyal stroma adını alır; bol miktarda hücre içeren, kollajen ve retikulum telciklerinin ağ şeklinde seyrettiği özel bir dokudur (Kierszenbaum, 2012).

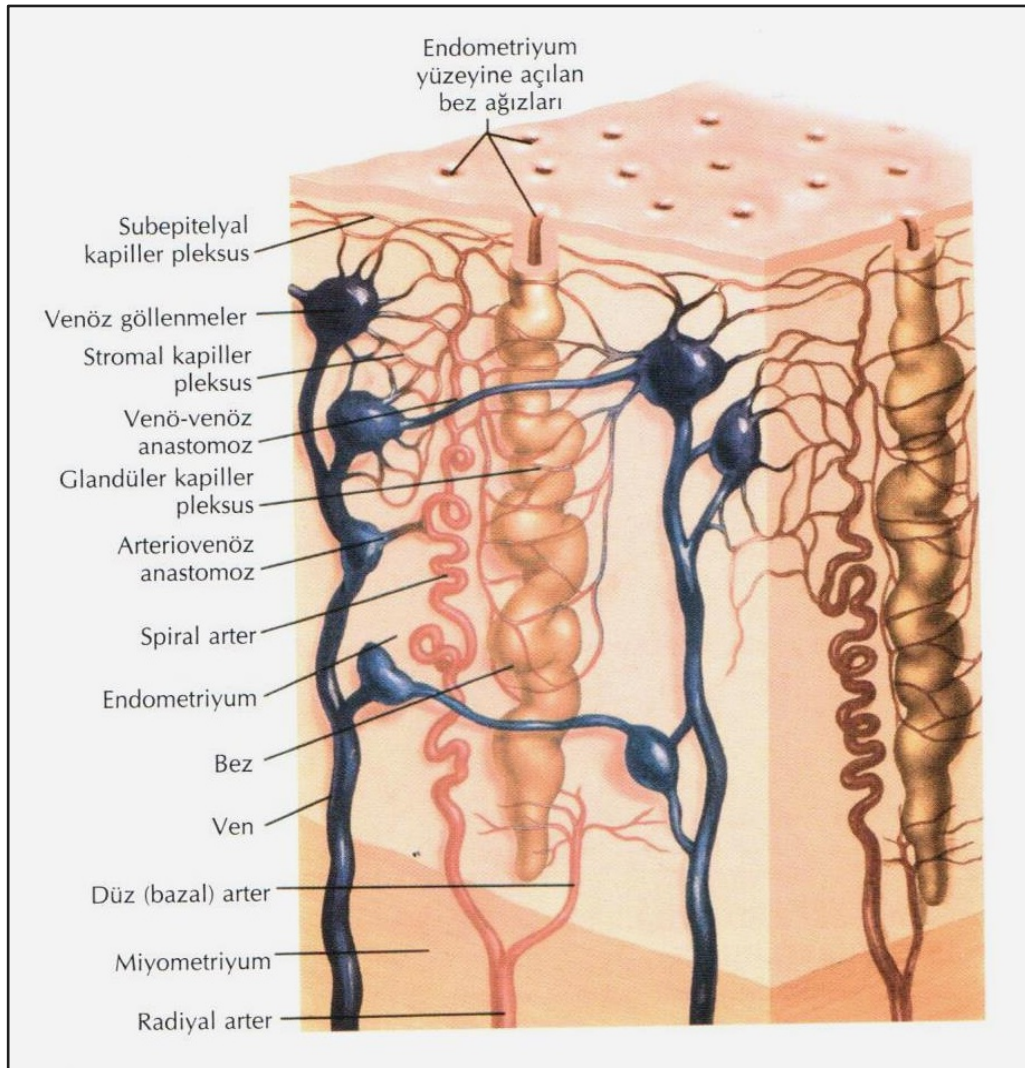
Endometriyum iki farklı tabakadan oluşur: fonksiyonel tabaka ve bazal tabaka. Fonksiyonel tabaka aylık döngüsel değişim gösteren ve mensturiyal kanamayla birlikte atılan üstteki 2/3' lük bölümdür. Bazal tabaka ise miyometriyuma komşu olan 1/3' lük alt bölümdür. Hormonal değişikliklerden etkilenmez ve fonksiyonel tabakanın rejenerasyonuna yardım eder (Tekelioğlu, 2002).



Şekil 1.3. Uterusun kanlanması (W. K. OVALLE, Netter Temel Histolojiden alınmıştır).

Endometriyumu besleyen kan damarları bu tabakanın büyük bir bölümünün periyodik olarak dökülmesinde özel bir öneme sahiptir. İki tabakanın kanlanması iki ayrı kaynaktan olur (Şekil 1.3). Uterus arteri, serozanın hemen altında uterusu çepeçevre kuşatan 6-10 arkuat artere dallanır. Arkuat arterlerden ayrılan radyal arterler, miyometriyumun iç kas tabakasının içine penetre olarak bazal arterler ve spiral arterlere dallanır. Kısa ve düz olan bazal arterler, bazal tabakayı kanlandırarak, dolaşımın kesintisiz olmasını sağlar. Spiral arterler ise uterus bezlerine paralel olacak şekilde uzanarak endometriyal yüzeye ulaşıp çevrede bulunan yoğun kapiller ağa drene

olurlar. Kapiller ağ ince duvarlı venöz göllenmelere, bunlar da efferent venlere drene olur (Şekil 1.4). Spiral arterlerin distal segmentleri her mensturiyal döngüde dejenere ve rejenere olur. Menstruasyondan yaklaşık bir gün önce bu arterlerde ortaya çıkan güçlü vazokonstrüksiyonlar, bu damarlardan kanlanan kapillerde iskemi ve rüptürlere neden olur. Uterus bezleri nekroze olur; kan, uterus sekresyonları ve doku artıkları endometriyumdan dökülerek vajinadan dışarı atılır (Ovalle, 2009; Janquiera, 2009).



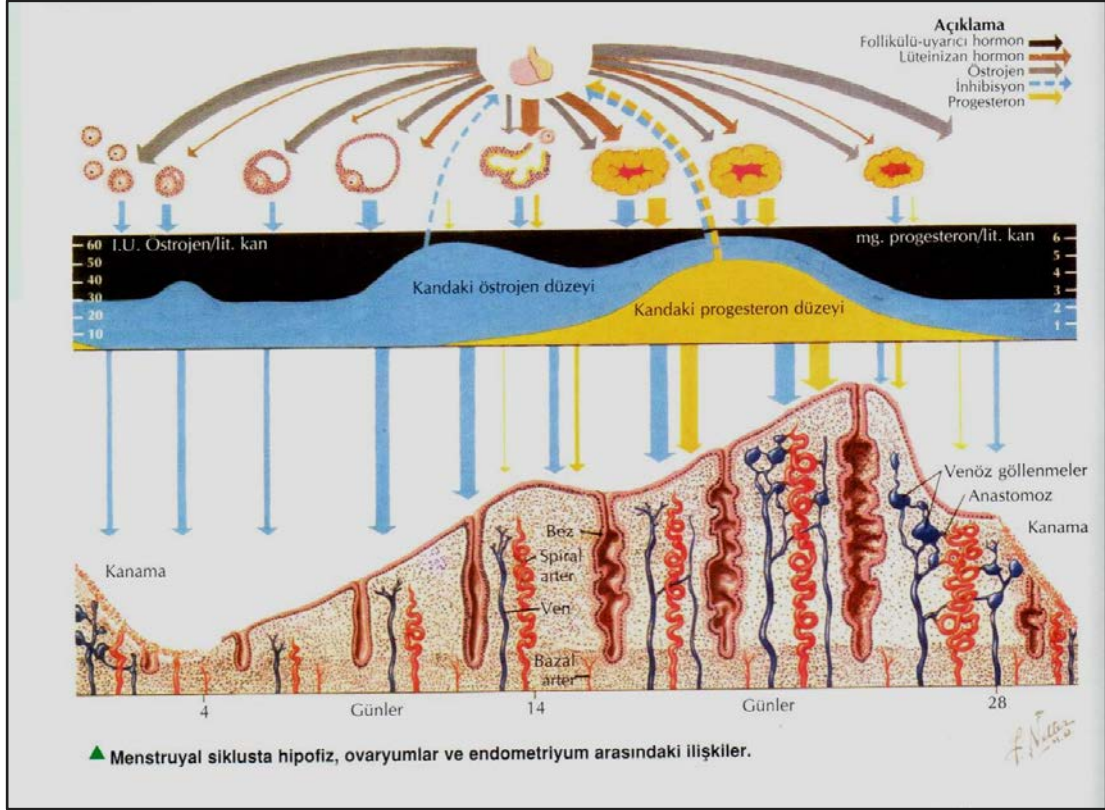
Şekil 1.4. Endometriyumun kanlanması (W. K. OVALLE, Netter Temel Histolojiden alınmıştır).

1.3.3.1. Mensturiyal Döngü: Endometriyumun Döngüsel Değişimi

Mensturiyal döngü, doğurgan dönemdeki kadınlarda gebelik olmadığı durumlarda her 28 günde bir tekrarlayan bir dizi morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerdir. Endometriyum ve ovaryumlar; hipofiz, ovaryum folikülleri ve korpus luteum tarafından salgılanan hormonların karşılıklı etkileşimleri sonucu döngüsel değişiklikler geçirirler (Şekil 1.5). Döngüde hipofizin ön lobundan (pars distalis) salgılanan FSH (folikül stimüle edici hormon), LH (lütinize hormon) ve prolaktin ile ovaryumlardan salınan östrojen ve progesteron hormonları rol oynar. Mensturiyal döngü birbirini izleyen 4 evreden oluşur:

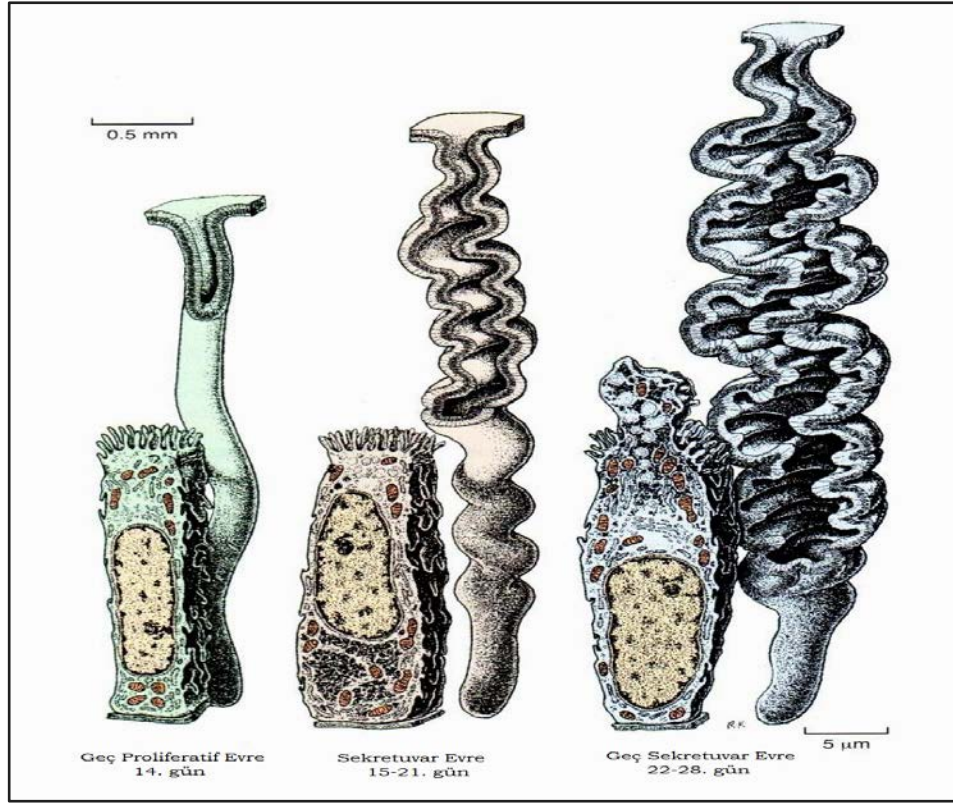
- mensturiyal evre (1-4. günler)
- proliferatif ya da foliküler evre (4-14. günler)
- sekretuar ya da luteal evre (14-27. günler)
- iskemik ya da premensturiyal evre (28.gün) (Kierszenbaum, 2012).

Mensturiyal Evre: Fertilizasyon ve implantasyon gerçekleşmediği takdirde korpus luteum 14 gün sonra işlevini kaybeder. Progesteron ve östrojen seviyesi hızla düşer. Sekretuar evrenin sonunda spiral arterlerde gerçekleşen kontraksiyon sonucu kan akımı durur; bunu iskemi ve nekroz takip eder. Beslenemeyen fonksiyonel kısım ve yüzey epiteli mensturiyal kanama şeklinde atılır. Endometriyumda involüsyon ve bölgesel ayrılmalar olur. Bezlerde salgı durur. Bazal tabaka ise sağlam kalır (Tekelioğlu, 2002).



Şekil 1.5. Menstrüyal döngüde hipofiz, ovaryum ve endometriyum arasındaki ilişkiler (W. K. OVALLE, Netter Temel Histolojiden alınmıştır).

Proliferatif (Foliküler) Evre: Menstrüyal döngünün bu evresinde Graff folikülü gelişimi gerçekleşir ve östrojen seviyesi artar. Menstrüyasyondan sonra geriye kalan bazal tabakadan hızlı bir şekilde endometriyum rejenerasyonu başlar. Uterus bezlerinin bazal bölümlerindeki epitel çoğalarak dökülmüş durumdaki mukozal yüzeyi örtmek üzere gelişir. Bezlerin prizmatik epitel hücrelerinde yüksek oranda mitoz görülür, stromadaki bağ dokusu hücreleri çoğalır ve lamina propriya yeniden yapılanır. Uterus bezleri uzayarak sıkıca bir arada bulunacak şekilde düzenlenirler (Şekil 1.6). Bezlerle eş zamanlı olarak spiral arterler de bazal tabakadan yüzeydeki rejenerasyon olmuş dokuya doğru büyüyerek ilerler.



Şekil 1.6. Mensturiyal döngü endometriyum epitel hücreleri ve bezlerin yapısal olarak değişimleri (Luiz Carlos JANQUEIRA JC. Temel Histoloji Text & Atlas'tan alınmıştır).

Geç proliferatif evrede bezler kıvrımlı duruma gelerek tirbuşon benzeri sarmallar yapmaya başlar. Stromal hücreler ödematöz sıvı ile birbirlerinden ayrılır, mitoz artar, epitel boyu yükselir. Proliferatif evre boyunca endometriyum kalınlığı 0,5 mm'den 2-3 mm'ye kadar artar (Tekelioğlu, 2002).

Sekretuar (Luteal) Evre: Ovulasyondan 2-3 gün sonra bez epitel hücrelerinde ve mukozal yüzeyde, progesteron tarafından uyarılan sekretuar aktivitenin ilk belirtileri görülür. Yüzeyel tabakalardaki ödem kaybolduğu için endometriyum hafifçe büzülür. 21-25. günlerde aktif salgılamayla birlikte başlarda hücrelerin bazal bölgelerinde birikim gösteren glikojenin, hücrelerin daha apikalinde lokalize olduğu görülür. Uterus bezlerindeki hipertrofi ve artmış ödem

nedeniyle endometriyal kalınlık 4 mm veya daha fazla olacak şekilde maksimum kalınlığa ulaşır. Yüksek oranda glikojen ve glikoprotein içeren yoğun ve mukoid karakterdeki salgılar bezlerin lümenine verilir. Spiral arterler endometriyum yüzeyine yaklaşırlar. Gebelik gerçekleşirse stromada oldukça büyük halde görünen hücreler lipid ve glikojen depolayan desidual hücrelere dönüşür (Ovalle, 2009; Kierszenbaum, 2012).

İskemik Evre: Ovulasyondan 13-14 gün sonra başlar. Korpus luteum involüsyonu ve progesteron seviyesinde azalma ile meydana gelir. İleri derecede vasküler değişiklikler ile karakterizedir. Bu evrede spiral arterlerin büzülmesine neden olan prostaglandinler ve sitokinler etkin durumdadır. Fonksiyonel tabakada anemi, anoksi ve nekroz ile sonuçlanır ve mensturiyasyon ile devam eder (Kierszenbaum, 2012).

1.4. İmplantasyon

Gebelik implantasyon, desidualizasyon, plasentasyon ve son olarak doğumu kapsayan kompleks bir süreçtir. Bu süreçte yer alan her bir olgunun başarısı sürecin sonraki aşamalara ilerlemesinde etkin rol oynar (Cha ve ark., 2012).

İnsan gelişimi oosit ile spermin fertilizasyonu ile başlar. Blastokist ve endometriyumun fiziksel ve fizyolojik etkileşimleri sonucu implantasyon süreci başlar (Red-Horse ve ark., 2004; Wang ve Dey, 2006). Optimal koşullarda maksimum implantasyon başarısı döngü başına % 40 olup, bu oran yaş ile azalmaktadır. Gebelik kayıplarının çoğunda başlıca neden (yaklaşık %75) implantasyon kusurlarıdır. *in vitro* fertilizasyon ve embriyo transferi (IVF-ET) teknolojilerindeki gelişimler sonucu infertilitenin altında yatan nedenlerin

anlaşılmasıyla birlikte başarılı gebeliklerin sayısında artış görülmüştür (Norwitz ve ark., 2001; Miller ve ark., 2012).

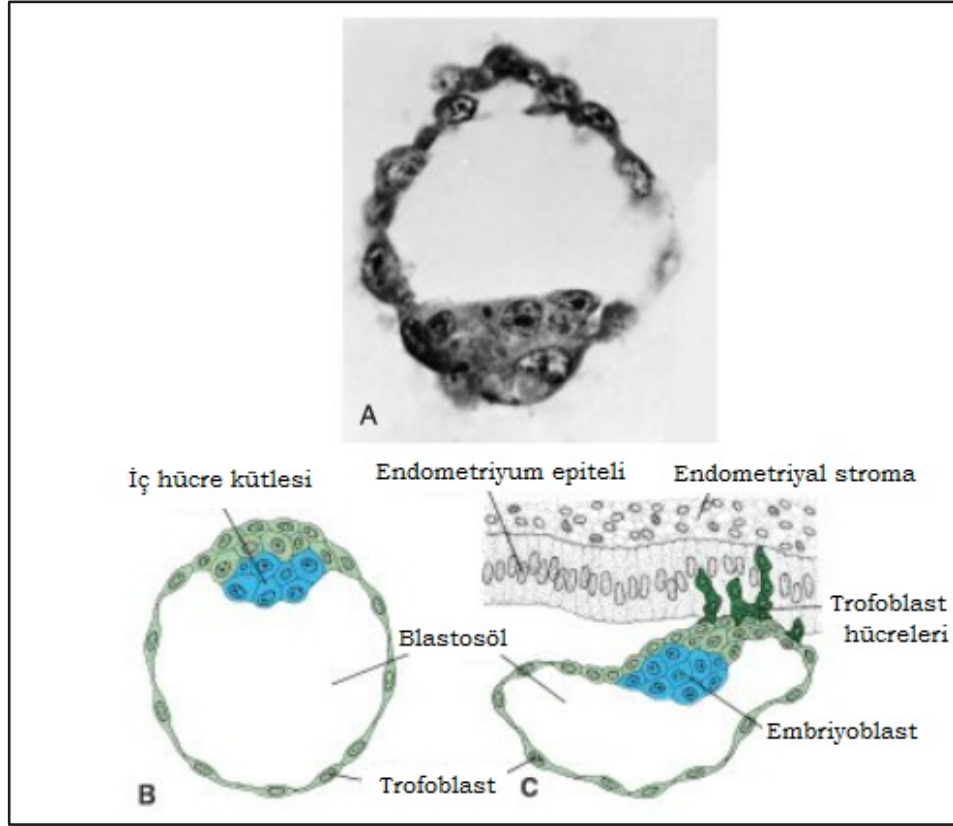
Başarılı bir implantasyonda, reseptif aşamadaki endometriyum ile implantasyona uygun blastokist arasındaki senkronizasyona ihtiyaç duyulur (Dey ve ark., 2004; Tranguch ve ark., 2005; Wang ve Dey, 2006). Bu iki olay başta östrojen ve progesteron olmak üzere maternal hormonlar tarafından düzenlenir (Zhang ve ark., 2013).

İmplantasyon sürekli değişen bir süreçtir. Uterus “implantasyon penceresi” olarak adlandırılan kısa bir süre için embriyonun implantasyonuna uygundur. Bu dönemin dışında implantasyon olanaksızdır (Rogers ve ark., 1989; Ma ve ark., 2003). İmplantate olan embriyoya cevap olarak endometriyum stroması embriyonik büyüme ve invazyonu düzenlemek üzere desidualizasyon adı verilen hücresel transformasyona uğrar (Lim ve Wang, 2010). Desidua embriyonun sağkalımını destekler ve semi-allojenik embriyoyu maternal immünolojik reaksiyondan korur (Zhang ve ark., 2013).

1.4.1. İmplantasyon Mekanizması

Ovulasyondan 24-48 saat sonra fallop tüplerinde fertilizasyon gerçekleşir. Zigot 16 hücreli morulaya gelişirken embriyonun dış tarafında adezyon özelliği göstermeyen zona pellusidasını kaybeder. Fertilizasyondan 4 gün sonra morula uterus lümenine girer. Uterus sıvısının zona pellusida içerisine girmesiyle morula içerisinde içi sıvıyla dolu blastokistik kavite (blastosöl) oluşur. Boşluktaki sıvı miktarı arttıkça blastomerler iki kısma ayrılır: iç tarafta ilerde embriyoyu oluşturacak olan embriyoblast ve dış tarafta plasentanın embriyonik bölümünü oluşturacak olan trofoblast. Bu evredeki

embriyo blastokist adını alır. Blastokist yaklaşık olarak 2 gün boyunca uterus boşluğunda yüzdükten sonra zona pellusida dejenere olur ve blastokist zona pellusidadan kurtulur (Cockburn ve Rossant, 2010; Zhang ve ark., 2013).



Şekil 1.7. Blastokistin endometriyuma implantasyonu. A. 107 hücreli insan blastokisti B. Blastokistin şematik görünümü C. Blastokistin endometriyuma invazyonu (Thomas W Sadler. Langman's Medical Embryology'den alınmıştır).

Fertilizasyondan sonraki 6-7. günde implantasyon uterusun üst fundal bölgesinde gerçekleşir. Diğer birçok primatta olduğu gibi insanda da implantasyon üç aşamada gerçekleşir: apozisyon, adezyon ve invazyon. Bu aşamalardan ilki apozisyon olarak adlandırılan blastokistin endometriyuma ilk adezyonunun gerçekleştiği andır. Trofoblast hücrelerinin apikal yüzeyindeki mikrovilluslar ile endometriyum epitelindeki pinopod adı verilen geniş ve düz membran uzantıları arasında tutunma gerçekleşir.

Endometriyum epiteline tutunma ile birlikte trofoblastlar çoğalarak iki farklı hücre tabakasını oluştururlar: iç kısımda bulunan sitotrofoblast ve dış kısımda hücrelerin füzyonu sonucu ortaya çıkan çok çekirdekli sinistyotrofoblast. Sinsityotrofoblastların parmaklı çıkıntıları endometriyum epiteline yayılır ve endometriyum stromasına kadar ilerler. Birinci haftanın sonunda blastokist endometriyumun kompakt tabakasına yüzeyel olarak implante olmuştur ve besin ihtiyacını aşındırdığı maternal dokudan karşılar. Oldukça invaziv olan sinsityotrofoblastlar embriyoblast çevresinde hızla genişleyerek embriyonik kutbu oluştururlar. Sinistyotrofoblastlar maternal dokuları aşındıran proteolitik enzimler üreterek blastokistin endometriyuma gömülmesine olanak tanırırlar (Norwitz ve ark., 2001) (Şekil 1.7).

1.4.2. İmplantasyon Penceresi: Endometriyal Reseptivite

Üreme tıbbındaki son ilerlemelere rağmen, insan infertilitesine katkıda bulunan endometriyal reseptivitenin oynadığı rol açık değildir. İmplantasyon başarısızlığı IVF gebelik oranlarında başarıyı etkileyen en önemli etmenlerden biridir (Achache ve Revel, 2006; Nardo ve ark., 2006). Çok sayıda protein ve molekül endometriyal gelişmeyi etkileyebilir, ancak bu protein ve moleküllerin implantasyon sürecine katkısı ve klinik kullanıma geçişi yeterince anlaşılmamıştır. İnsan endometriyumu fertilitate belirleyici bir faktör olarak düşünülebilir (Strowitzki ve ark., 2006).

İnsan embriyosunun implantasyon süreci, endometriyum ve embriyo arasında uygun bir diyaloga ihtiyaç duyar. Maternal açıdan reseptif endometriyum, implantasyon için önkoşuldur (Giudice, 1999). İmplantasyonun blastokist ve endometriyum tabakaları arasında

kendiliğinden gelişen dinamik bir süreç olmasına rağmen, implantasyon penceresi boyunca endometriyumun hazırlanması tamamen maternal kaynaklıdır. Yetersiz endometriyal reseptivite, implantasyon başarısızlığının yaklaşık üçte ikisinden sorumludur (L. Bahar, 2008).

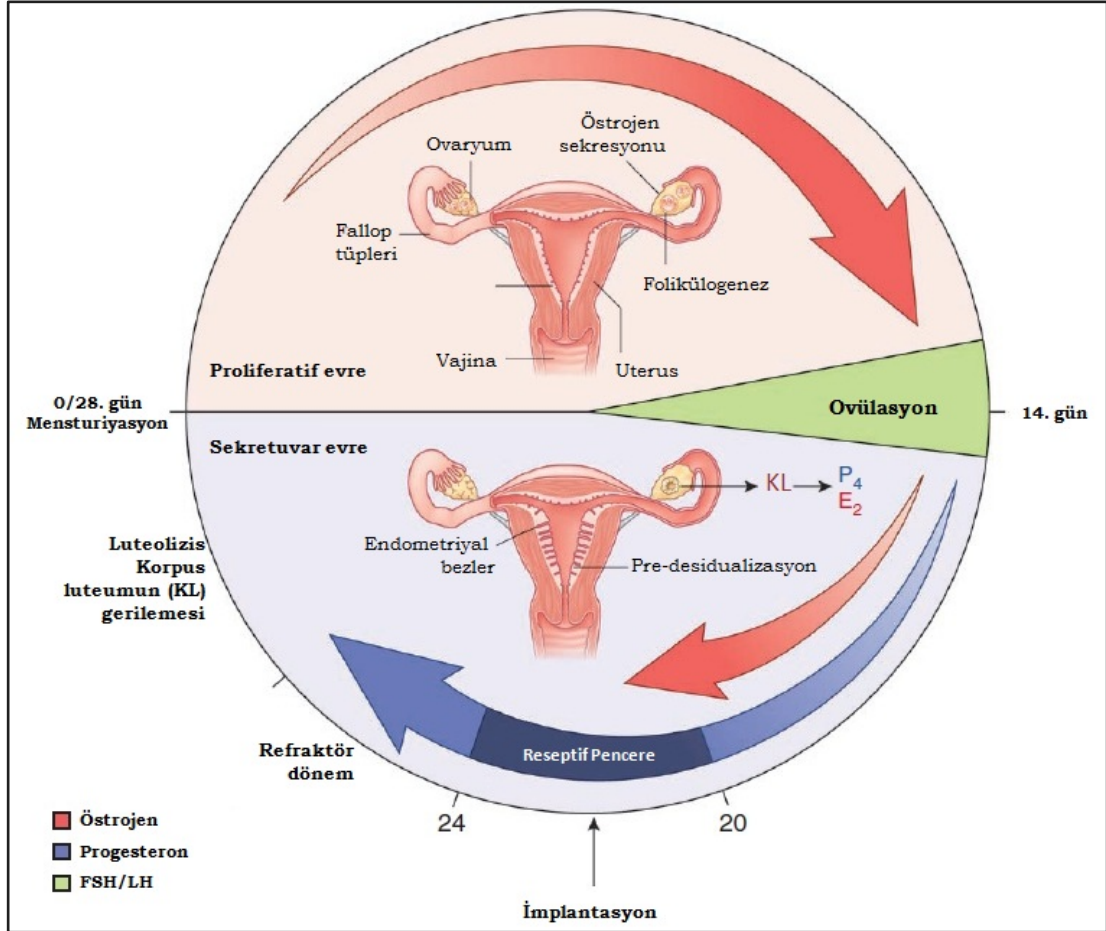
Transformasyon ve stromal desidualizasyon oluşan sekretuar evre endometriyumunda belirleyici hormon progesteron iken, proliferatif evrenin baskın hormonu östrojendir (Hoozemans ve ark., 2004). İmplantasyonda ovaryan steroidlere yanıt olarak oluşan endometriyal duyarlılık prereseptif, reseptif ve non-reseptif (refraktör) şeklinde üç fazda programlanır.

Endometriyumda çeşitli yapısal, hücrel ve moleküler olaylar dizisi implantasyon penceresi ile kontrol edilir ve bu durumun sonucunda endometrial reseptiviteyi sağlayan gerekli elemanlar ortaya çıkabilir. Blastokistler, endometriyum epiteli ile sadece implantasyon penceresi döneminde etkileşime girebilirler. Bunu belirleyende korpus luteumdan salgılanan progesteronun, endometriyumdaki etkileri ve bunları takip eden gebeliğin 4. günündeki küçük bir östrojen pikidir (Bahar, 2012).

1.4.2.1. Ovaryan Steroidler ve Reseptivite

Çok dar bir östrojen düzeyi aralığında endometriyumda implantasyon penceresi açık kalmaktadır (Şekil 1.8). Bu pencere düşük doz östrojen verilmesi ile uzun süre açık kalabilir. Fakat yüksek östrojen konsantrasyonlarında uterus hızla refraktör döneme geçer. Östrojenin hazırladığı endometriyuma, ardından gelen progesteron etkisi ile açılan implantasyon penceresi; progesteron üretimi veya

verilmesinden 6 gün sonra açılıp, 9-10. gün kapanmaktadır. Yani insanlardaki reseptif dönem 20-24. günlerle sınırlıdır (Cha ve ark., 2012).



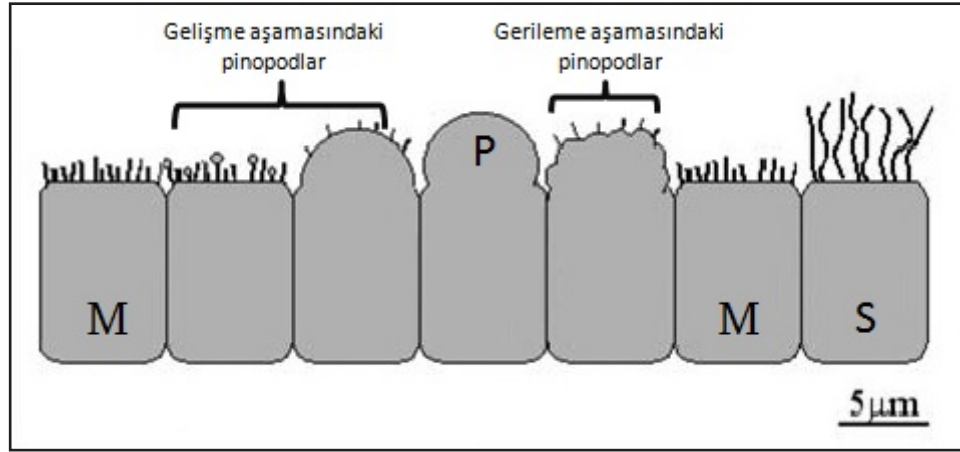
Şekil 1.8. Ovaryan steroidler ve reseptivite (Cha ve ark., 2012'den alınmıştır).

Östrojen ve progesteronun etkilerini düzenleyen moleküler mekanizma hala tam olarak net değildir. Sitokinler, büyüme faktörleri, matriks metalloproteinazlar (MMP), adezyon molekülleri, ekstrasellüler matrix komponentleri ve homeobox (HOX) element-içeren genler (transkripsiyon faktörleri) implantasyonda rol alıp, östrojen ve progesteron ile düzenlenen moleküllerdir (Zhang ve ark., 2013).

1.4.2.2. Reseptivitenin Morfolojik Belirteçleri: Pinopodlar

Endometriyum reseptif olana kadar belirli morfolojik değişiklikler geçirir. Bu morfolojik değişiklikler ilk olarak 1950' lerde Noyes ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Reseptivite olarak adlandırılan bu kısa ve kesin periyot 48 saatten azdır. Bu süreç endometriyum epitel hücrelerinin apikal membranları üzerinde gelişen geniş ve düz uzantıların olduğu bir dönemi kapsayıp implantasyon penceresi olarak adlandırılır (Noyes ve ark., 1975). İmplantasyon döneminde uterus boşluğuna uzanan epitel hücrelerinin apikal membranları mikrovilluslarını kaybeder, geniş ve düz membran uzantıları gelişir. Pinositik fonksiyonları olduğu düşünülerek bu uzantılara, 1973' te Enders ve Nelson tarafından Latince (pino podi) "içen ayaklar" anlamına gelen "pinopod" adı verilmiştir (Enders ve Nelson, 1973). Daha sonraki dönemlerde ise genel bir terim olarak "uterine-dome" olarak adlandırılmıştır (Nardo ve ark., 2002).

Pinopodların ince yapılarına bakıldığında sitoplazmalarında mitokondriyon, golgi kompleksi, sekretuar veziküller ve düz endoplazma retikulumu (DER) gibi organellere sahip oldukları görülmüştür (Bentin-Ley ve ark., 2000). İnsanlarda menstriyal döngünün luteal evresinde pinopodlarda çeşitli morfolojik değişimler gözlenir. Pinopod gelişiminde her bir fazın yaklaşık olarak 24 saat sürdüğü üç farklı dönem tanımlanmıştır: gelişme aşamasında, olgun ve gerileyen pinopod (Şekil 1.9). Gelişmekte olan pinopodlar kısa mikrovilluslara sahiptir ve uterus lümenine doğru çıkıntı yapmaya başlar. Lümene maksimum çıkıntı oluşturmuş apikal yüzeyinde mikrovillus içermeyen hücreler olgun pinopodlardır. Gerileyen pinopodlar az oranda büzüşme gösterirler ve bu hücrelerin apikalinde mikrovillusların oluşmaya başladığı gözlenir (Quinn ve Casper, 2009).



Şekil 1.9. İnsan endometriyumunda pinopod oluşum evreleri. M: Mikrovilluslu hücreler, S: Silyalı hücreler, P: Olgun pinopod (Quinn ve Casper, 2009'dan alınmıştır).

Reseptif dönemde lüminal epitel yüzeyinin pinopodlar ile kaplanma oranı araştırıldığında ortaya farklı sonuçlar çıkmıştır. Ratlarda bu oran %5,5 ile %20 arasında iken; insanlarda yapılan hem normal döngü hem de kontrollü ovaryan hiperstimulasyon çalışmalarında luteal evrede pinopod oranı %2,3 ile %7-9 arasında değişiklik göstermiştir (Novotny ve ark., 1999; Creus ve ark., 2003). Reseptif dönemde pinopodların hangi zaman aralıklarında endometriyum yüzeyinde kaldığı üzerine yapılan araştırmaların bazılarında bu sürenin mid-luteal evrede 48 saatten daha az bir sürede (Develioglu ve ark., 1999; Aghajanova ve ark., 2003), bazılarında ise ovulasyondan kısa bir süre sonra ortaya çıkıp luteal evrenin sonuna kadar endometriyum yüzeyinde kaldığı gösterilmiştir (Quinn ve ark., 2007).

Pinopod formasyonu progesteron bağımlıdır ve yüksek dozda östrojen pinopod formasyonunu ve dolayısıyla implantasyonu inhibe eder. Pinopod formasyonunda LIF, integrin $\alpha V\beta 3$, HOXA10, HB-EGF (heparin binding EGF-like growth factor) ve Glrx (glutaredoxin) gibi

çeşitli moleküler belirteçler rol oynamaktadır (Quinn ve Casper, 2009).

1.4.2.3. Reseptivitenin Moleküler Belirteçleri

1.4.2.3.1. Adezyon Molekülleri

Hücre adezyon molekülleri, hücrelerin özgül olarak dokulara yönelmeleri, birbirlerini tanımaları, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve inflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev alırlar. Adezyon molekülleri bugün dört sınıfta incelenmektedirler: kadherinler, selektinler, integrinler ve immünglobulin (Ig) süper ailesi.

Kadherinler; yapı ve fonksiyonları açısından Ca^{+2} bağımlı transmembran proteinleridir. Embriyoda morfogenezden, erişkin organizmada seçici hücre tanınmasından ve yaşam boyu normal doku mimarisinden sorumlu hücre yüzey glikoproteinleridir. Bazolateral adezyon molekülü olan E-kadherin'in (epitelyal kadherin) apikal ekspresyonlarıyla birlikte endometriyum epitel hücre serilerinde embriyonun tutunmasını destekledikleri daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Singh ve Aplin, 2009). E-kadherin'in regülasyonu, hücreler arası kalsiyum tarafından yapılır. Kalsiyumdaki artış, ara bağlantılardaki E-kadherin'in dağılımını ve hücre iskeletinin yeniden organize olmasını sağlayan anahtar sinyal yollarının aktive olmasına yol açar. Hücreler arası kalsiyum konsantrasyonundaki değişiklikler, hücre adezyon moleküllerinin yeniden yapılanmasını tetikler ve bu durumdan epitel hücrelerinin yapışıklık ve polaritesi etkilenmektedir (Bahar, 2012).

Selektinler; Ca^{2+} bağımlı hücre adezyon molekülleridir. İmplantasyonda en etkili olanı L-selektin alt grubudur. Erken blastokistin endometriyum epiteli ile ilişkisinde rol oynamaktadır (Achache ve Revel, 2006; Foulk ve ark., 2007; Fukuda ve Sugihara, 2008).

İntegrinler; ekstraselüler matriks ile intraselüler ortam arasında integrasyonu sağlayan hücre yüzey glikoproteinlerdir. Embriyolojik gelişmenin hücre-matriks ve hücre-hücre yapışmasını içeren önemli fizyolojik olayların çoğuna katılır (Apparao ve ark., 2001). Mid-luteal ekspresyonlarındaki artış implantasyon penceresini göstermektedir. $\alpha V\beta 3$ integrin ve ligandı osteopontin, trofoblastın ilk temas ettiği endometriyal epitel yüzeyinde saptanmıştır (L. Bahar, 2008).

İmmünglobulinler; endometriyumun hem stroma hem de epitel hücrelerinden salındıkları için patofizyolojide önemlidirler. Ig süper ailesinin üyeleri; morfogenez, inflamasyon, hemostaz ve immünite sırasında birçok hücre tanıma olaylarını yönetir.

Adezyon fonksiyonuna katılan ancak yukarıda bahsedilen dört grup içerisinde sınıflandırılmayan adezyon molekülleri de vardır. Bu moleküllerden galektin (gal-3), lektin süper ailesine ait Ca^{2+} bağımlı bir adezyon molekülüdür. İmmünomodülasyon, adezyon ve kemotaksi gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynadığı bilinmektedir. Mensturiyal döngünün sekretuar evresinde ekspresyonları artar. İnfertilite de nasıl bir rol oynadığı tam olarak açıklanmamıştır (Yang ve ark., 2012).

1.4.2.3.2. Anti-Adezyon Molekülleri

Adezyon moleküllerinin aksine endometriyum epitelinde adeziv ligandları maskeleyen görevi görürler. Musinler büyük, glikozillenmiş moleküllerdir ve hücre yüzeylerini enzimatik etkilere karşı korurlar. Yapısal özelliklerinden dolayı hücresel ilişkileri engelledikleri bilinmektedir. Ovaryan steroidlerin kontrolü altında ortaya çıkan musinler, blastokist implantasyon için doğru yer ve doğru zaman bulana kadar blastokisti endometriyum yüzeyinden uzak tutar. Musinler, implantasyon penceresi döneminde lüminal epitel yüzeyinde bolca eksprese edilir. Fertil ve infertil kadınların endometriyumunda MUC1 ekspresyonlarının farklı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. MUC1 gibi hücre yüzey glikoproteinleri, integrin reseptörlerinin ligandlarına yönelimini engelleyerek trofoblast invazyonu için bir bariyer oluştururlar. Proliferatif fazdan sekretuar faza geçerken endometriyumda MUC1 ekspresyonunda artış görülürken, geç sekretuar fazda MUC1 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. İnsan endometriyumunda en çok çalışılan musin MUC1'dir. Yapılan son çalışmalarda MUC2 ve MUC4 polimorfizminin infertilite de rol oynadığı bilinmektedir (Fukuda ve Sugihara, 2012).

1.4.2.3.3. Sitokinler ve Büyüme Faktörleri

Çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan polipeptid yapıda olan bu moleküller, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve inflamatuvar olayları düzenler.

İnterlökinler (IL), monosit ve makrofajlarda üretilirler. Hücre proliferasyon ve diferansiyasyonunu düzenler. Endometriyumda

birçok molekülün (IL-6, IL-8, LIF, TNF- α , COX-2, PGF2 α , MMP-1,9 vs.) ekspresyonunu regüle eder. Endometriyum dokusundaki IL ekspresyonunda değişimlerin olması infertil vakalarla bağlantılıdır (Linjawi ve ark., 2004; Laird ve ark., 2006; Haddad-Filho ve ark., 2007) .

LIF (Leukemia Inhibitory Factor); embriyonik, hematopoyetik ve endotel hücrelerinde proliferasyon ve diferansiyasyon etkisi vardır. İmplantasyon sırasında endometriyum bezlerinden en yüksek konsantrasyonlarda eksprese olmaktadır. İnsan implantasyonunda LIF ve reseptif fazda üretilen IL-11' in disregülasyonunun infertilite ile ilişkili olduğu düşünölmektedir (Dimitriadis ve ark., 2006).

CSF (Colony Stimulatin Factor); blastokist trofoektodermal hücre sayısını ve preimplante sıçan embriyo gelişim oranlarını arttırdığı gösterilmiştir. Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıpları olan kadınların desidual T hücre klonlarında azalmış CSF ve LIF üretimi saptanmıştır (Dimitriadis ve ark., 2005).

TNF- α (Tumor Necrosis Factor); trofoblast hücresinin laminine adezyonunu etkileyerek ve *in vitro* trofoblast hücre motilitesini inhibe ettiği düşünölmektedir.

TGF- β (Transforming Growth Factor); implantasyondaki maternal immün toleransı ve implantasyonla ilgili birçok molekülö (VEGF, MMP- 9, IGFBP-1 ve LIF) *in vitro* düzenlediği gösterilmiştir.

1.4.2.3.4. Prostoglandinler

İmplantasyon penceresinde zamanlama açısından önemlidirler. Blastokist implantasyonunda zamanlamada gecikme, embriyonun serviks duvarına tutunmasına, anormal plasentasyona ve ftal emilime neden olabilir.

COX (Cyclooxygenase); araşidonik asitin prostoglandine dönüşümünde hız sınırlayıcı bir enzim olarak rol oynar. Endometriyumda progesteron ve östrojene cevap olarak COX-1 ekspresyonunda artış olur ve mid-luteal fazda implantasyon ihtimaline karşı ani bir düşüş gösterir. Buna karşılık, steroid hormonlardan etkilenmeyen COX-2' nin ekspresyonu implantasyona hazır bir blastokistin varlığını gösterir.

1.4.2.3.5. Homeobox (HOX) Transkripsiyon Faktörleri

HOXA10; HOX gen ailesine ait embriyonik gelişimin genetik kontrolünde, hücre kadherinin belirlenmesinde ve gelişim sürecinin çeşitli alanlarında rol alan bir transkripsiyon faktörüdür. Pinopodların gelişiminde etkili olduğu ve desidual prolaktin sentezini kontrol altında tuttuğu için implantasyon penceresi döneminde eksprese olmaması durumunda implantasyon gerçekleşmemektedir (Cakmak ve Taylor, 2011). İnfertil kadınlarda mid-sekretuvar endometriyumda DNA hipermetilasyonu gibi çeşitli mekanizmaların HOXA10 ekspresyonlarının susturulmasında etkili olduğu grlmştr. Mensturiyal döngünün mid-sekretuvar fazında azalan HOXA10 ekspresyonu polikistik over sendromu (PCOS), submukozal uterin leiomyomu, hidrosalfinks ve endometriozis gibi bozulmuş

implantasyonla ilişkili koşullarda da ortaya çıkar (Matsuzaki ve ark., 2009).

1.4.3. Tekrarlayan Gebelik Kayıpları (TGK)

Tekrarlayan gebelik kayıpları, 2005 ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) Preimplantasyon Genetik Tanı (PGD) Kurulu tarafından gebeliğin yirminci haftasından önce arka arkaya gerçekleşen üç ve üzerinde spontan düşükler olarak tarif edilmiştir (Thornhill ve ark., 2005). İnsidans açısından bakıldığında toplumda bir kez düşük yapma olasılığı %15-40, iki kez düşük gerçekleşmesi %2-5 ve üç kez arka arkaya düşük oluşma oranı ise %1'den azdır. Epidemiyolojik bulgulara göre yaşanmış bir düşük olayını takiben tekrar düşük olma olasılığı ailenin yaşayan çocuğu varsa %24, yoksa %46 civarındadır (Cakmak ve Taylor, 2011).

Tekrarlayan gebelik kayıplarının etiyolojisi günümüzde yedi ana başlıkta incelenmektedir:

Genetik nedenler: Anormal kromozom yapısına sahip embriyoların yaklaşık olarak %90'ının implantasyonu endometriyum tarafından mekanizması tam bilinmemekle birlikte reddedilir (abortus). Abortus materyalinde sık olarak trizomiler, monozomi X (gonadal disgenezi - Turner Sendromu) ve triploidilere rastlanır. İlerleyen anne yaşı ile fetal kromozomal anomali riski belirgin olarak artmaktadır. Aynı şekilde baba yaşının ellinin üzerinde olması da anormal kromozomal yapıdaki spermiler ile fertilizasyon olasılığını artırmaktadır (Suzumori ve Sugiura-Ogasawara, 2010).

Endokrin nedenler: Lüteal faz yetmezliği (LFY), hiperprolaktinemi, polikistik over sendromu (PCOS) gibi hiperandrojenik durumlar, tiroid fonksiyon bozuklukları ve Diabetes Mellitus (DM) gibi endokrinopatiler TKG nedenleri arasında sayılmaktadır.

Mensturiyal döngü günü ile histolojik günleme arasında en az 3 gün fark bulunması ve bunun en az iki döngüde gösterilmesi şeklinde tarif edilen LFY, tekrarlayan abortusların tartışmalı nedenleri arasında yer alır.

Genel popülasyonda %1 oranında rastlanan mensturiyal kanamanın her ay gecikerek daha seyrekleşmesi olarak açıklanan oligomenore, TKG gösteren kişilerde daha sık görülmektedir. PCOS gibi oligomenore ve hiperandrojenemi ile karakterize durumlarda, endometriyal reseptivitede oluşan değişiklikler implantasyonu etkileyerek TKG riskini artırmaktadır (Smith ve Schust, 2011).

Enfeksiyona bağlı nedenler: Geçmişde Mycoplasma hominis, Ureaplasma urelyticum, Toxoplasma gondii, Rubella, Herpes simplex, Cocksackievirus, Cytomegalovirus, Chlamydia ve β -Hemolitik Streptokoklar gibi birçok organizma gebelik kayıplarıyla ilişkilendirilmiştir. Genel olarak TKG etiyojisinde birçok enfeksiyon ajanı suçlanmışsa da günümüze kadar TKG'da rolü ispatlanmış hiçbir enfeksiyon etkeni bulunmamaktadır.

Anatomik nedenler: Müllerian anomaliler, Dietilstilbestrol (DES) kullanımına bağlı uterus anomalileri, Ascherman Sendromu, iatrojenik anomaliler ile uterin septum, hemiuterus, çift uterus gibi konjenital anomaliler gibi uterus patolojileri tekrarlayan düşüklerin %15'inden sorumludur. Uterin septumun varlığı uterus boşluğunda

daralma, plasental vaskülarizasyon ve implantasyon ortamının bozulmasına yol açarak abortuslara neden olmaktadır.

İmmünolojik nedenler: Antifosfolipid Sendrom (APS); vasküler tromboz ve/veya TGK, IUGR (intrauterin gelişim geriliği), preeklampsi ve açıklanamayan fötal ölümler gibi obstetrik morbiditelere neden olan yüksek seviyelerde antifosfolipid antikor (APA) konsantrasyonlarının tespit edildiği otoimmün bir hastalıktır. Bu hastalık TGK'larının %5-10'undan sorumludur. Abortusa yol açtığı iddia edilen mekanizmalar arasında uteroplazental dolaşımında tromboz oluşumu ve/veya oluşan antikorların trofoblastların maternal spiral arterlere yeterli invazyonunu engelleyerek etkin fötoplazental dolaşımın gerçekleşmemesi yer almaktadır.

Alloimmün olarak ise endometriyumda bulunan immün ve inflamatuvar hücrelerden üretilen sitokinler implantasyonda etkilidirler. Embriyonun genetik olarak yarısının paternal kökenli olması maternal immünolojik toleransı gerektirir. TGK maternal immünolojik ret sık rastlanan olgulardandır (Fukui ve ark., 2011). Anne-baba arasındaki HLA (Human leukocyte antigen) uyumu, maternal blokan antikor yokluğu ve maternal lökositotoksik antikorların yokluğu TGK oluşmasında öne sürülen mekanizmalar arasındadır.

Trombofililer: Trombofili, tromboz eğiliminin arttığı bir grup pıhtılaşma bozukluklarını içerir. Koagülasyona artmış eğilim edinsel veya kalıtsal nedenlerle olabilir. Edinsel trombofililerin en tipik örneği APS'dir (Kuperman ve ark., 2011). Preeklampsi, IUGR, plasental ablasyon, fötal ölüm gibi komplikasyonları yaşayan kadınlarda trombofilik gen mutasyonları görülme olasılığı %52 iken diğer tüm

gebeliklerde görülme olasılığının %5 olması trombofilik mutasyonlar ile TGK bağlantısı arasında bir bağlantı olabileceğini göstermektedir.

Diğer faktörler: Günümüzde bilinen yöntemlere rağmen TGK nedeniyle incelenen hastaların yaklaşık yarısında kesin bir etiyolojik faktör bulunamamaktadır. Kafein, etanol, nikotin ve diğer sigara metabolitlerinin üreme sisteminde doza bağımlı negatif etkileri vardır. Aynı şekilde arsenik, cıva, kurşun, etilen oksit, formaldehit ve benzeri kimyasallar ile radyasyon gibi etkenler de üremeyi olumsuz etkilemektedir.

Tekrarlayan gebelik kayıplarının yukarıda ifade edilen nedenleri olmasına rağmen günümüzde etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle TGK olgularının oluşmasındaki mekanizmalar araştırmacılar tarafından merak konusu olmuştur. Bu yüksek lisans tezi çalışmasında da TGK hastalarının endometriyum örnekleri ile fertil endometriyum örneklerinde implantasyon penceresi döneminde etkili olan adeziv ve anti-adeziv moleküllerin ve bu dönemde morfolojik olarak ortaya çıkan pinopodların oluşumunu düzenleyen transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Kullanılan Dokuların Eldesi

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 25.03.2013 tarih ve 05-215-13 karar numaralı onayı ve Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Eğitim Planlama ve Koordinasyon Başkanlığı'nın 27.05.2013 tarih ve 165 karar numaralı onayı alındıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Bu araştırma için Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfertilite Polikliniğine müracaat eden tekrarlayan gebelik kaybı olgusuyla başvuran hastalar çalışma grubunu, çocuk sahibi olup çeşitli nedenlerle aynı hastaneye müracaat eden ve tekrarlayan düşük dışında rahim duvarı örnekleme yapılmasını gerektiren tıbbi bir endikasyonu bulunan hastalar kontrol grubunu oluşturmaktadır. Hasta onamı alındıktan sonra, adet başlamasından sonraki 20-24. günler arasında pipelle ile rahim duvarından alınan örneklerden, patolojiye gönderilecek materyal ayrıldıktan sonra geri kalan materyal patolojik tanıyı engellemeyecek şekilde çalışma amacıyla Ankara Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gönderilmiştir.

Çalışma grubunda yer alan hastalar 18-39 yaş aralığında, tekrarlayan gebelik kaybı (2 ve üzerinde ilk trimester gebelik kaybı) yaşamış, edinsel ve kalıtsal trombofilisi olmayan, karyotip analizi normal, tiroid fonksiyon testleri ve prolaktin seviyeleri normal ve rahim anomalisi saptanmayan kişilerden seçilmiştir. Bu özelliklere sahip 12 hasta çalışma grubuna dahil edilmiştir.

Kontrol grubunda yer alan hastalar 18-39 yaş aralığında, rahim anomalisi olmayan, fertil olan, rahim içinde herhangi bir araç bulunmayan, doğum kontrol hapı kullanmayan ve tekrarlayan düşük dışında rahim duvarından örnekleme yapılmasını gerektiren tıbbi bir endikasyonu bulunan hastalardan seçilmiştir. Bu özelliklere sahip 7 hasta çalışmamızın kontrol grubuna dahil edilmiştir.

Rahim duvarı örnek alınmasına engel enfeksiyon varlığı ve endometriyal reseptiviteyi engelleyebilecek rahim içi patoloji varlığı tespit edilen 3 kontrol ve 8 çalışma grubu, toplamda 11 hasta durumlarından dolayı çalışma dışında tutulmuştur.

2.2. Işık Mikroskopik (IM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar

Kontrol ve çalışma gruplarından alınan endometriyum biyopsileri tespit amacıyla %10'luk fosfat tamponlu formalin solüsyonunda 24-72 saat süreyle fikse edildi. Fikse olan endometriyum dokularının takip işlemleri aşağıdaki protokole göre yapıldı.

2.2.1. %10'luk Tamponlu Formalin İçin Uygulanan Takip Protokolü

Dehidratasyon işleminden sonra ksilen ile şeffaflaştırılan dokular iki değişim sıvı parafinle 60 °C'lik etüvde 3 saat inkübe edildi. Sıvı parafin infiltrasyonunu takiben doku örnekleri sert parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklar buzdolabı alt rafında (+4°C) kesit alınana kadar bekletildi. Kesit işlemine başlamadan önce -18°C' ye alınan bloklardan Leica RM 2125RT model sliding mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Sıcak su banyosundan lam üzerine alınan kesitler 60°C'lik etüvde deparafinizasyon amacıyla 1 saat bekletildi.

Histolojik boyamaya hazır hale getirilen doku kesitlerine Hematoksilen-Eozin boyası uygulandı.

2.2.2. Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama Protokolü

- Ksilen ile deparafinizasyon
- %100, %96 ve %75 etanol serisi ile hidratasyon
- Yıkama (çeşme suyunda)
- Hematoksilen solüsyonu, 1 dakika
- Yıkama (çeşme suyunda)
- Eozin solüsyonu, 1 dakika
- Yıkama (çeşme suyunda)
- %75, %96 ve %100 etanol serisi ile dehidratasyon
- Ksilen ile şeffaflandırma
- Entellan kullanarak lamelle kapama

2.3. İmmünohistokimyasal İnceleme İçin Yapılan Çalışmalar

Rutin takip işlemlerinden sonra sert parafin bloklara gömülen endometriyum dokularından 4 µm kalınlığında alınan kesitler polilizin kaplı lamalar üstüne alınarak gece boyunca 60°C'lik etüvde deparafinize edildi. Gal-3, MUC2, MUC4 ve HOXA-10 primer antikörlerinin boyanmaları aşağıdaki protokole göre gerçekleştirildi.

2.3.1. İmmünohistokimya Boyama Protokolü

- Ksilen ile deparafinizasyon
- %95, %80, %70 ve %60 etanol serisinde hidratasyon

- Yıkama (distile su)
- Sitrat buffer ile antijenik maskelenmenin engellenmesi
- Yıkama (PBS; Phosphate buffered saline)
- Hidrojen peroksidaz ile endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi (5 dakika)
- Yıkama (PBS)
- Bloking solüsyonu (1 saat)
- Primer antikör (oda sıcaklığında, 2 saat)
- Yıkama (PBS)
- Biotinlenmiş sekonder antikör (30 dakika)
- Yıkama (PBS)
- Streptavidin-peroksidaz kompleksi (30 dakika)
- Yıkama (PBS)
- DAB (3,3'-diaminobenzidine) boyaması (3 dakika)
- Yıkama (distile su)
- Mayer' s Hematoksilen ile boyama (1-2 dakika)
- Yıkama (distile su)
- %80 ve %90 etanol serisinde dehidratasyon
- Ksilen ile şeffaflandırma
- Entellan kullanarak lamelle kapama

Boyanan preparatlar, Zeiss Axio Scope A1 marka ışık mikroskopuyla incelendi ve fotoğraflandı.

2.4. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar

Kontrol ve çalışma gruplarına ait endometriyum dokularından 1 mm³ hacmindeki bir parça % 2,5'lük gluteraldehit içerisine alındı. TEM için tespit ve takip işlemleri aşağıdaki sıra ile uygulandı.

- 1. Tespit (ön tespit): 0,2 M fosfat tamponu içerisinde % 2,5 glutraldehit ve % 2 paraformaldehit (pH=7.2-7.4) (+4⁰C' de 2-4 saat)
- 1. Yıkama: 0,1 M fosfat tamponunda (2 x 15 dakika, rotatorda)
- 2. Tespit: 0,1 M fosfat tamponunda % 1 OsO₄ (rotatorda ve karanlıkta, 2 saat)
- 2. Yıkama: 0,1 M fosfat tamponunda (3 x 20 dakika)
- Distile su ile yıkama
- Blok boyama: % 70 etanolde % 0,05 uranil asetat ve % 1 fosfotungustik asit (rotatorda ve karanlıkta, 2 saat)
- Dehidratasyon: % 70, % 96, %100 etanol, propilenoksit
- 1:1propilen / Araldite (rotatorda 1 saat)
- Araldite (2 saat)
- Bloklama: blok kalıbı içerisine endometriyum dokuları konuldu, üzerine araldite eklendi.
- Polimerizasyon: hazırlanan bloklar 80⁰C' de 1 gece süre ile tutuldu, sonrasında etüv kapatılarak bloklar kendi halinde soğumaya bırakıldı.

2.4.1. Yarı İnce Kesit Boyama Protokolü

- Ultramikrotom ile 700-1000 nm kalınlığında kesitler alındı
- Kesitler ısıtıcıda kurutuldu
- Distile su içinde Toluidin mavisi / Azur II boyası (%1 boraks, %1 Toluidin mavisi, %1 Azur II) ile boyandı (50 – 60⁰C ısıtıcıda boya kuruyana kadar)
- Distile su ile yıkandı
- Kesitler tekrar ısıtıcıda bekletildi
- Kurutma ve soğutma işlemleri uygulandı
- Entellan ile kapatıldı.

Boyanan preparatlar kuruduktan sonra Zeiss Axio Scope A1 marka ışık mikroskopuyla incelendi ve fotoğraflandı.

2.4.2. İnce Kesit Boyama Protokolü

- Ultramikrotom ile 70 – 90 nm kalınlığında kesitler alındı
- Kesitler boyama setine yerleştirildi
- Distile suda 1-2 dakika
- %8' lik uranil asetatda 45 dakika
- Distile suda 1-2 dakika
- 0,1 N NaOH içerisinde yıkandı
- %0,7 kurşun sitrat / %0,9 sodyum sitrat solüsyonunda 20 dakika
- 0,1 N NaOH içerisinde yıkandı
- Distile suda 1-2 dakika

Boyanarak hazırlanan gridler kurumaları için kurutma kağıdına alındı, daha sonra grid kutusuna yerleştirildi. İncelemeler LEO 906E marka TEM ile yapıldı. Görüntülemeler Sharpeye CCD ve Image SP (Germany) dijital görüntüleme sistemi programı ile gerçekleştirildi.

2.5. İstatiksel Değerlendirme İçin Yapılan Çalışmalar

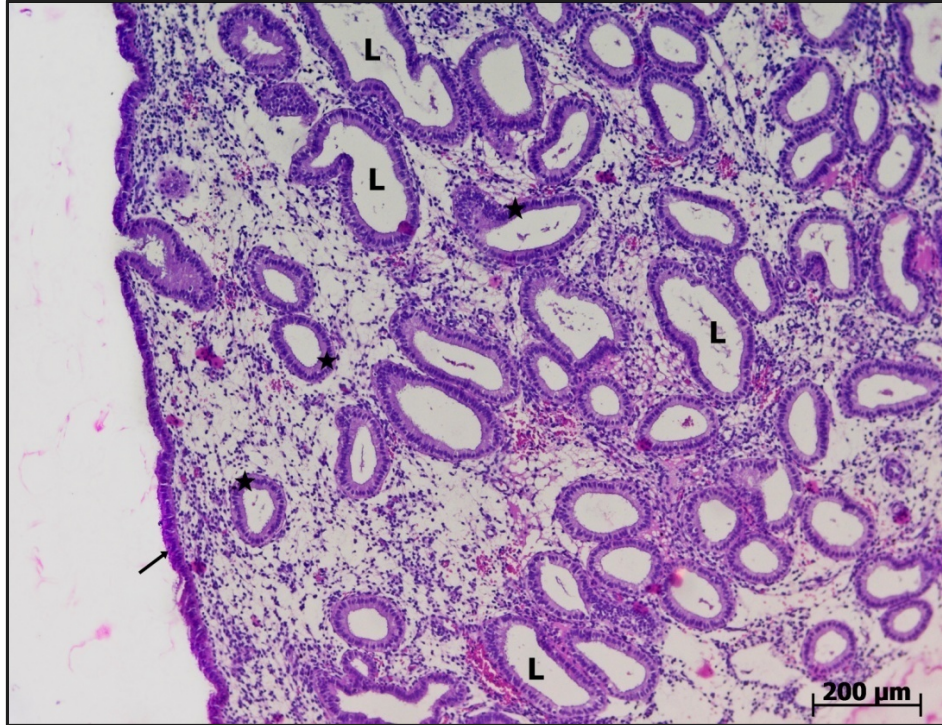
Grupların immünohistokimyasal boyanmalarında, boyanma yoğunluğu (i) 1 (zayıf), 2 (orta) ve 3 (yoğun) olarak belirlendi. Boyanan yüzey ve bez epitel hücrelerinin yüzdesi (P_i) %0-100 arasında değerlendirildi. İmmünboyanma HSCORE histolojik skorlama sistemi ile $HSCORE = \sum P_i (i + 1)$ denklemine göre hesaplandı. 1 optik yoğunluğun düzeltilmesi için kullanıldı. Sonuçlar hiç boyanmayan

için 0 ve maksimum boyanma için 4 olarak elde edildi. Gal-3, MUC2, MUC4 ve HOXA10 immünohistokimya boyanmalarının istatistiksel analizleri SPSS 20 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel olarak anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

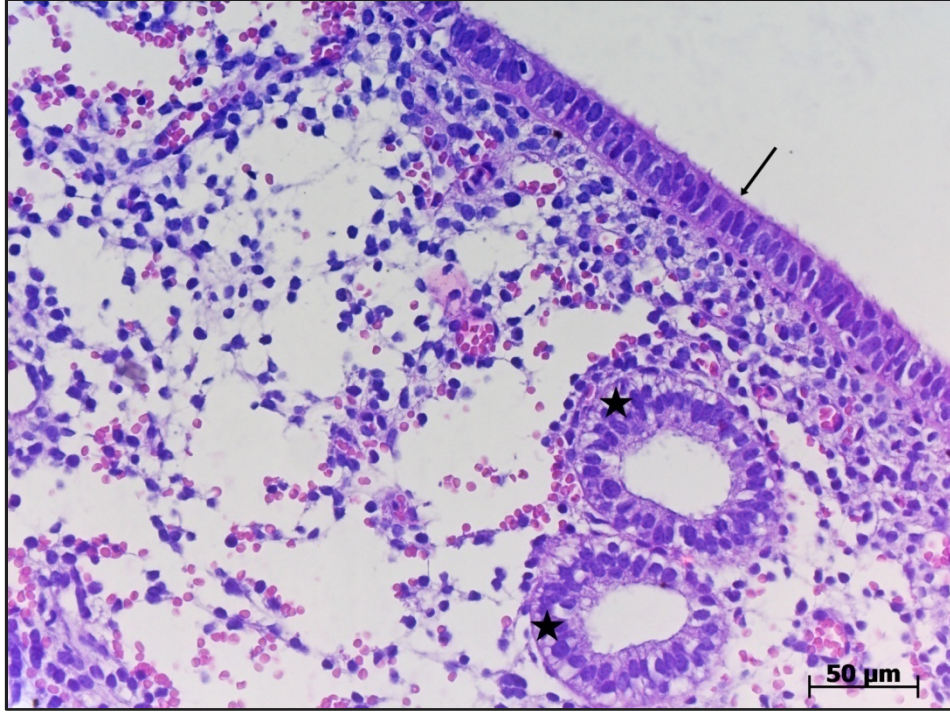
3. BULGULAR

3.1. IM ile Elde Edilen Bulgular

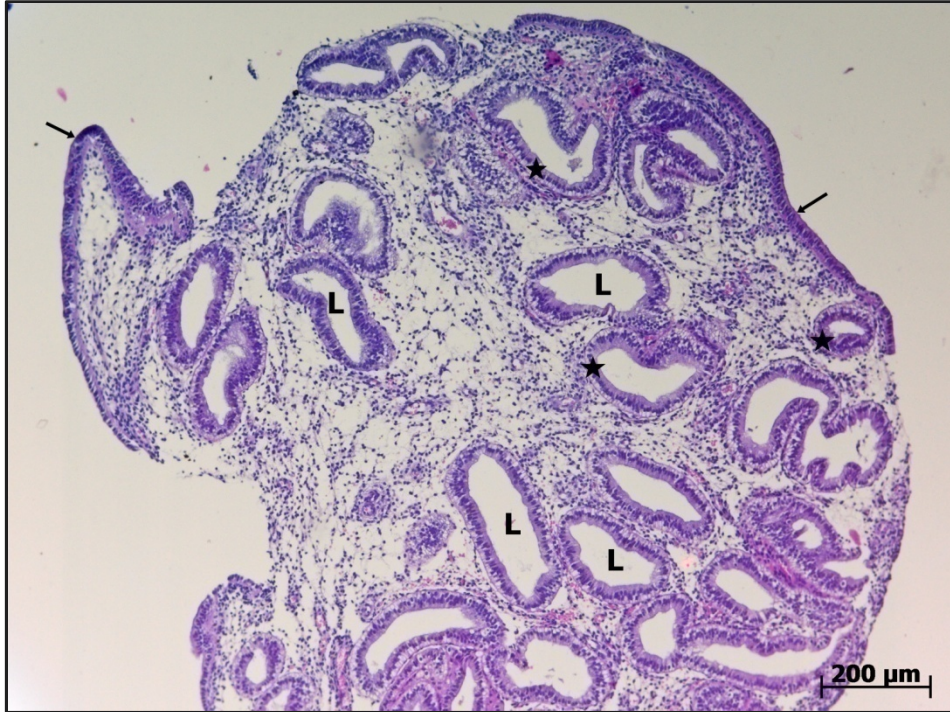
Kontrol grubuna ait HE ile boyanan kesitlerde endometriyum yüzey epiteli tek katlı prizmatik kinosilyalı olarak izlendi. Endometriyum stromasında bol miktarda salgı bezlerine rastlandı (Şekil 3.1). Bu bezlerin epitelleri incelendiğinde hücrelerin sitoplazmalarında yoğun olarak salgı vakuolleri görüldü (Şekil 3.2). TGK'lı hastalara ait endometriyal stromada salgı bezleri ve bez epitelinde salgı vakuolleri görüldü (Şekil 3.3). Yüzey epitelinin boyu bazı vakalarda kontrol grubuna benzer biçimde yüksek olarak görüldüyse de çoğunda alçak prizmatik veya kübik olarak gözlemlendi (Şekil 3.4).



Şekil 3.1. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey ve bez epiteli. Ok; yüzey epiteli, yıldız; endometriyum bezleri, L; bez lümeni.



Şekil 3.2. Kontrol grubunun yüzeyinde tek katlı prizmatik kinosilyalı epitel, stroma ve stromada bulunan bez epitelleri olağan görünümündedir. Ok; yüzey epitelini, yıldız; endometriyum bezleri.

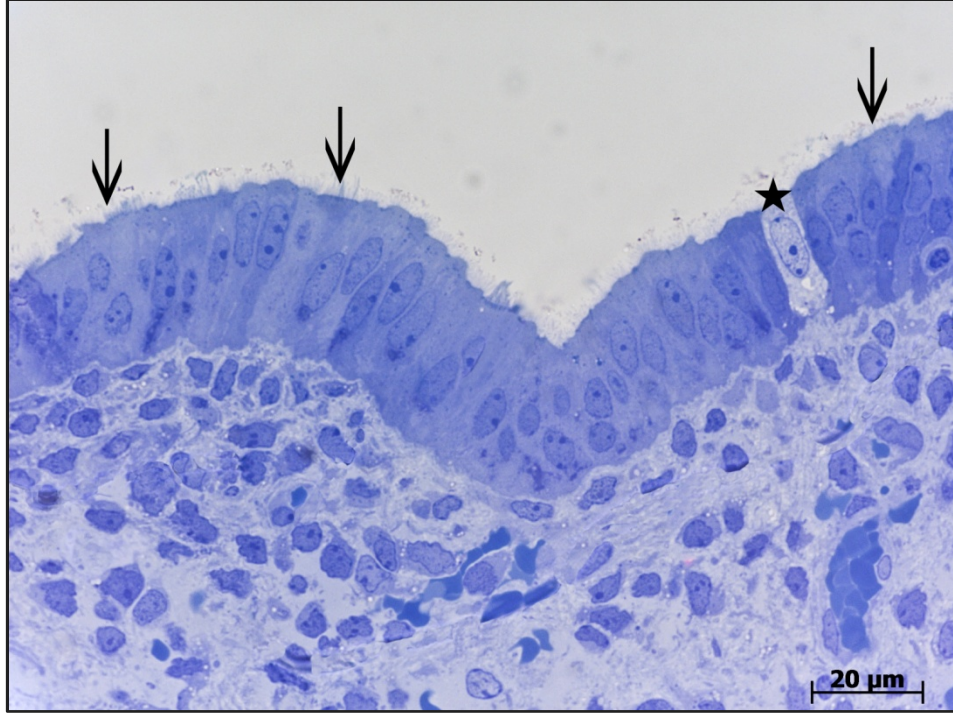


Şekil 3.3. TGK'lı gruba ait endometriyum yüzey ve bez epitelini. Ok; yüzey epitelini, yıldız; endometriyum bezleri, L; bez lümeni.

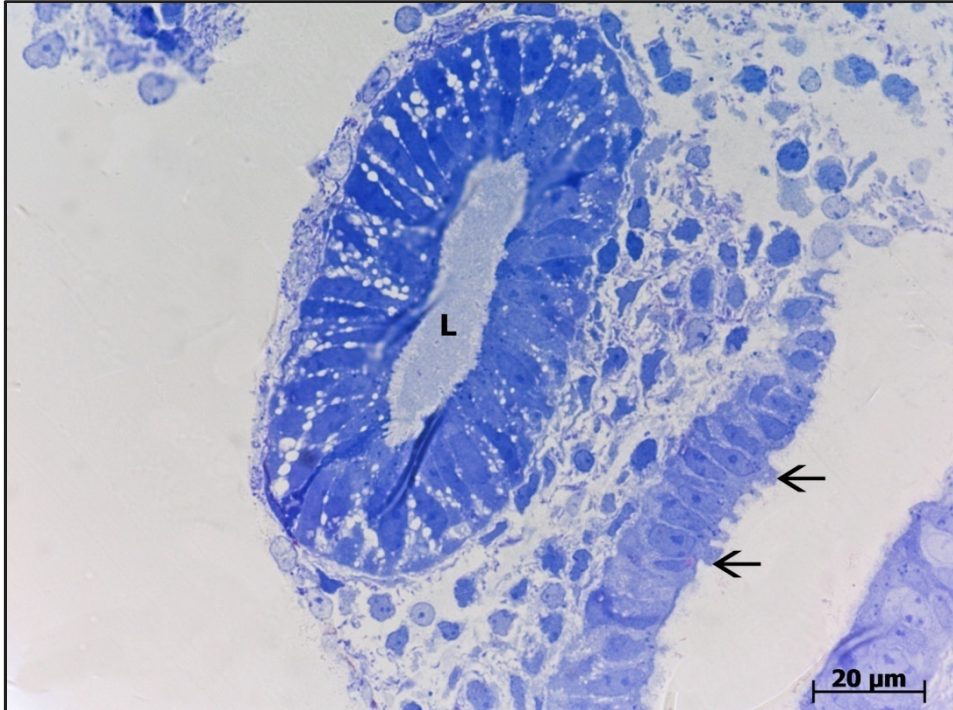


Şekil 3.4. TGC'lı hasta grubunun endometriyum biyopsi örneğinde yüzey epitelinde tek katlı kübik kinosilyalı epitel izlenmektedir. Stroma normal görünümündedir. Ok; yüzey epiteli, yıldız; endometriyum bezleri.

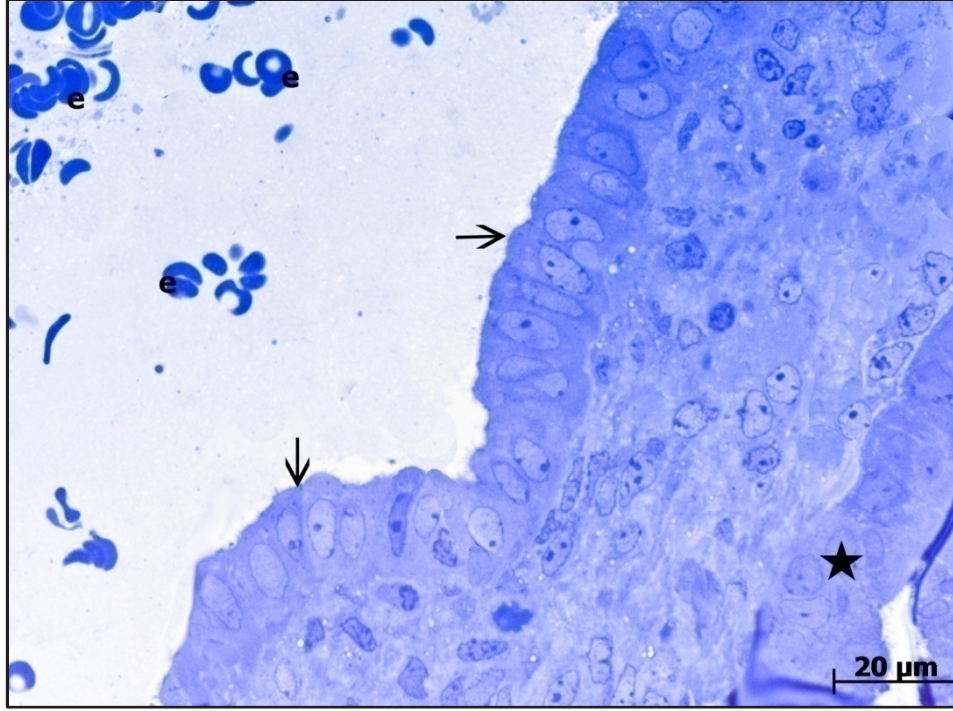
Kontrol grubuna ait yarı ince kesitlerde yüzey epitelinde kinosilyumlu tek katlı prizmatik hücreler görüldü (Şekil 3.5).Kinosilyalı hücrelerin arasında apikal yüzeylerinde pinopod içeren hücreler gözlemlendi (Şekil 3.6). TGC'lı hasta grubunda ise yüzey epitelinde kontrol grubuna oranla daha az sayıda kinosilyum ve pinopoda sahip hücreler izlendi (Şekil 3.7). Endometriyum bez epitelinde pinopod oluşumları dikkat çekti (Şekil 3.8).



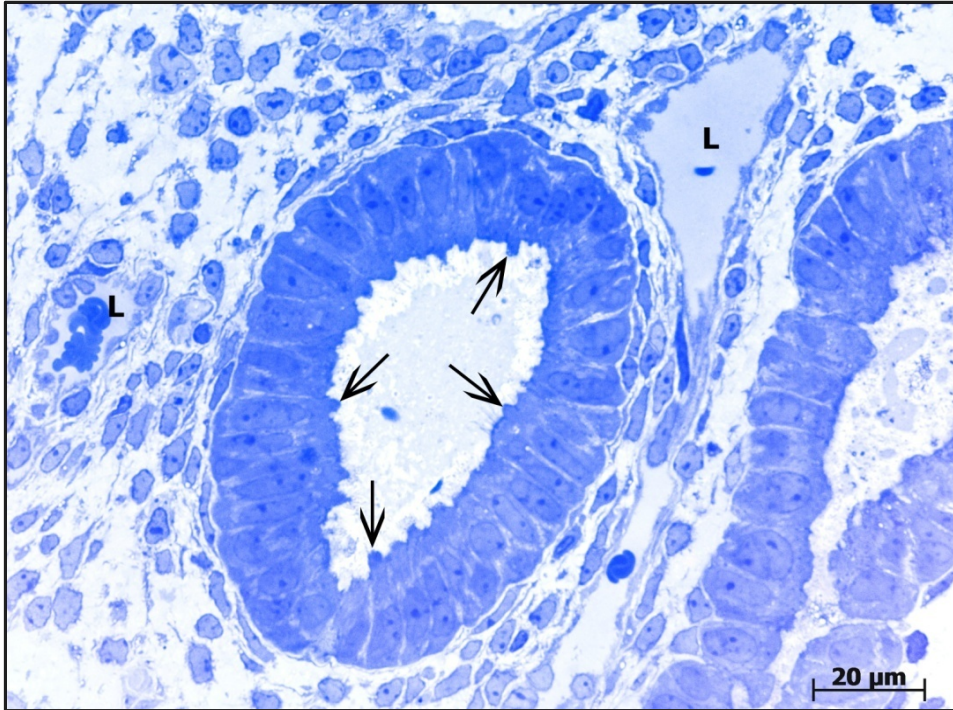
Şekil 3.5. Kontrol grubuna ait yarı ince kesitlerde tek katlı prizmatik kinosilyalı yüzey epiteli izlenmektedir. Ok; kinosilyumlar, yıldız; Peg (salgı hücresi).



Şekil 3.6. Kontrol grubuna ait yarı ince kesitlerde pinopod içeren tek katlı prizmatik yüzey epiteli ve stroma içinde bez epiteli görülmektedir. Bez epiteli hücrelerinde sitoplazmada çok sayıda vakuol dikkat çekmektedir. Ok; pinopodlar, L; bez lümeni.



Şekil 3.7. TGC'lı hasta grubunda yüzey epitelinde kinosilyum ve pinopod kaybı izlenmektedir. Ok; tek katlı basit prizmatik epitel, yıldız; endometriyum bez epiteli, e; eritrositler.

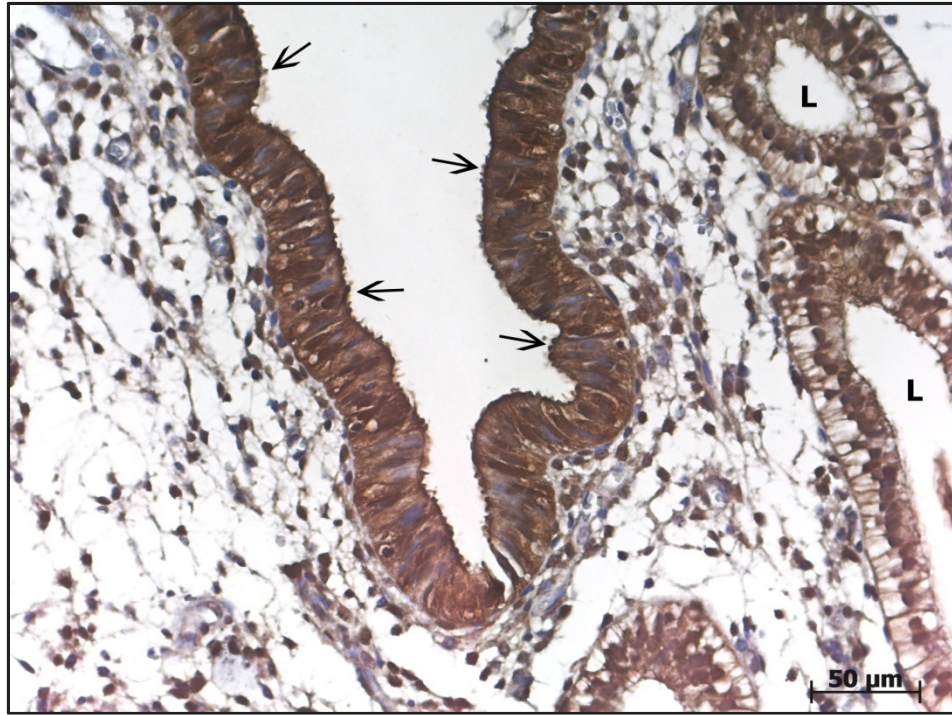


Şekil 3.8. TGC'lı hasta grubunda endometriyum bez epitelinde pinopod oluşumları dikkat çekmektedir. Ok; pinopodlar, L; damar lümeni.

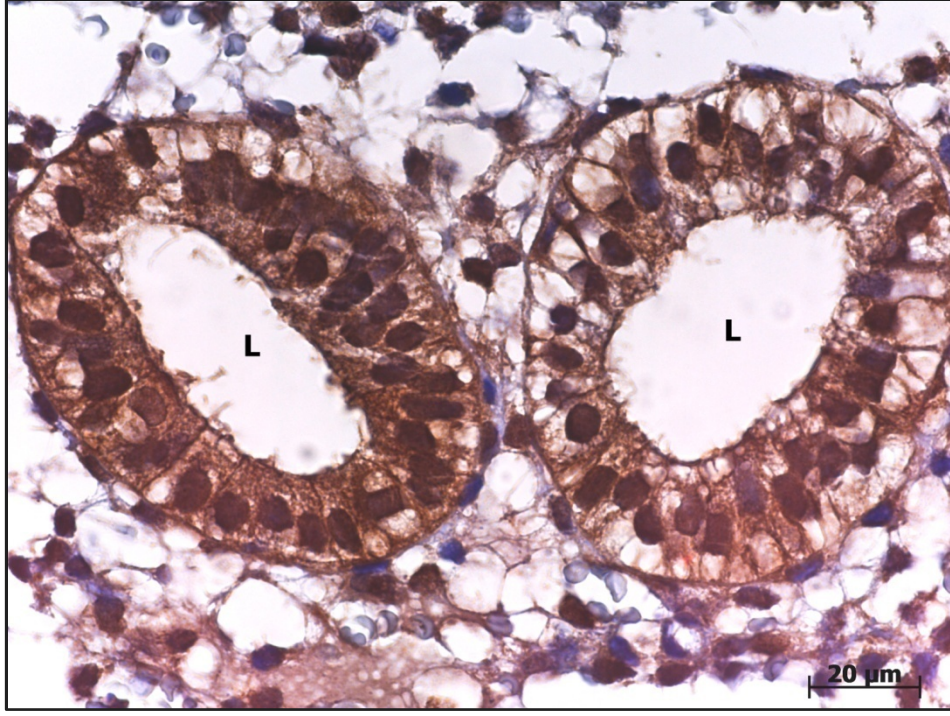
3.1.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.1.1.1. Gal-3 Bulguları

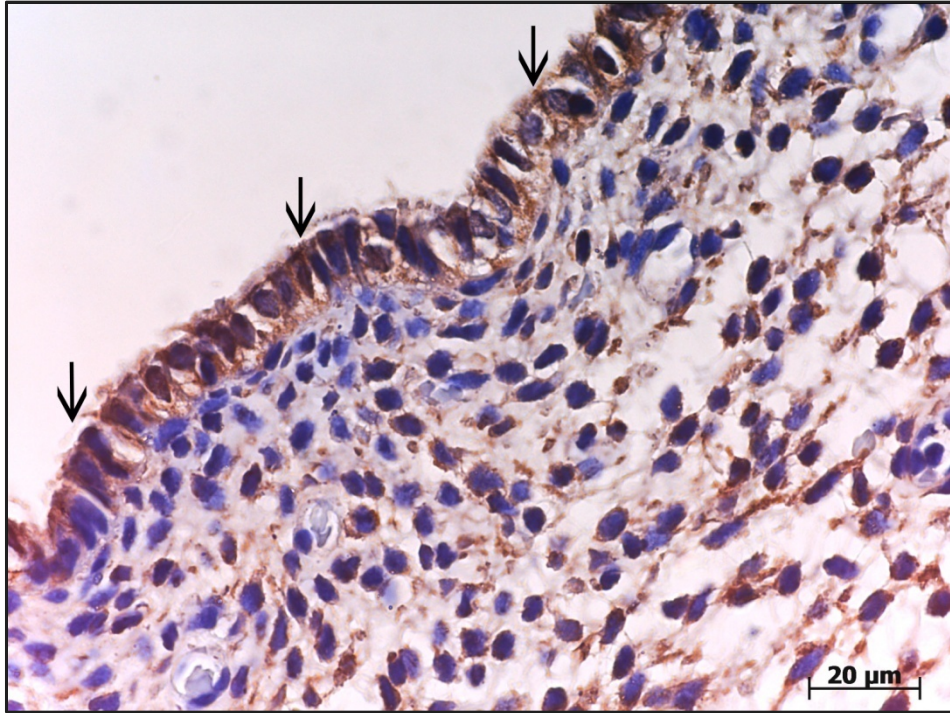
Kontrol grubuna ait endometriyum örneğinde Gal-3 immünreaktivitesine bakıldığında yüzey epitelinde güçlü, bez epitelinde ise orta şiddette boyanma görüldü (Şekil 3.9; Şekil 3.10). Endometriyum stromasında da immünreaktif hücrelere rastlandı. TGK'lı hasta grubunun yüzey epiteli ve bez epitelinde zayıftan orta derecelere kadar boyanma görüldü (Şekil 3.11; Şekil 3.12).



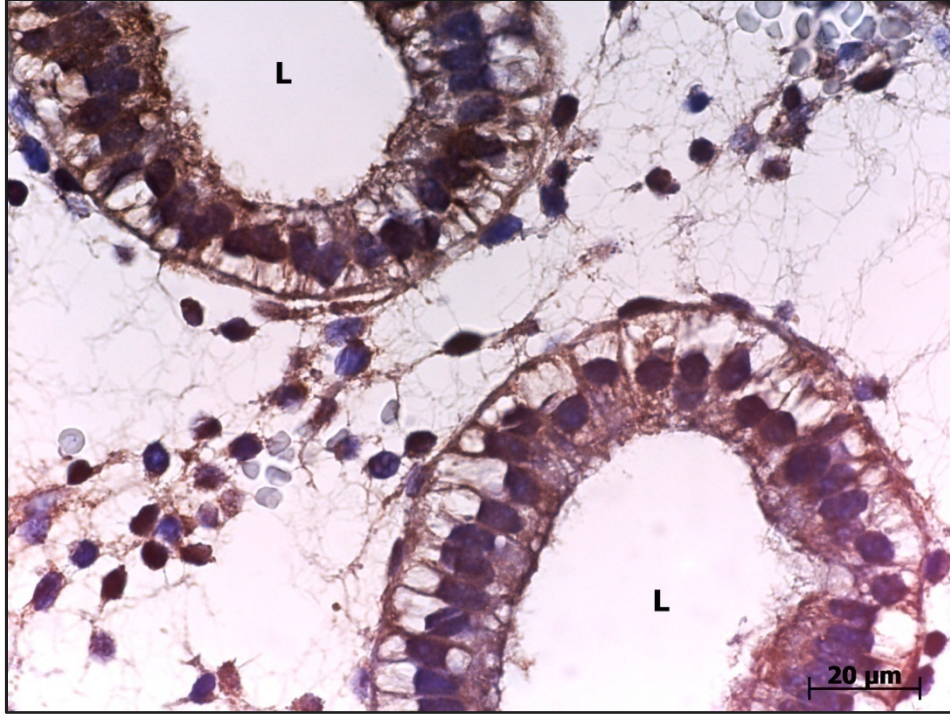
Şekil 3.9. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey ve bez epitelinin Gal-3 ekspresyonuna ait mikrografta kuvvetli immünreaktivite izlenmektedir. Ok; pinopodlar, L; endometriyum bez lümeni.



Şekil 3.10. Kontrol grubuna ait endometriyum bez epitelinde kuvvetli ve orta şiddette Gal-3 ekspresyonu izlenmektedir. L; lümen.



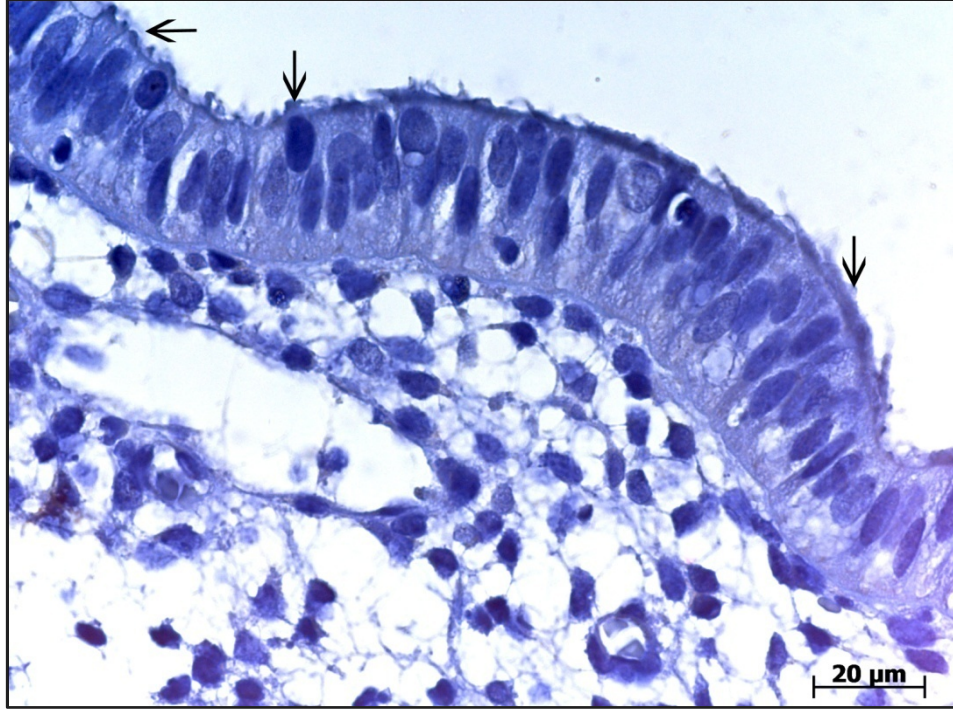
Şekil 3.11. Tgk'lı hasta grubunda endometriyum yüzey epitelinde Gal-3 ekspresyonu zayıf şiddette izlenmektedir. Ok; yüzey epiteli.



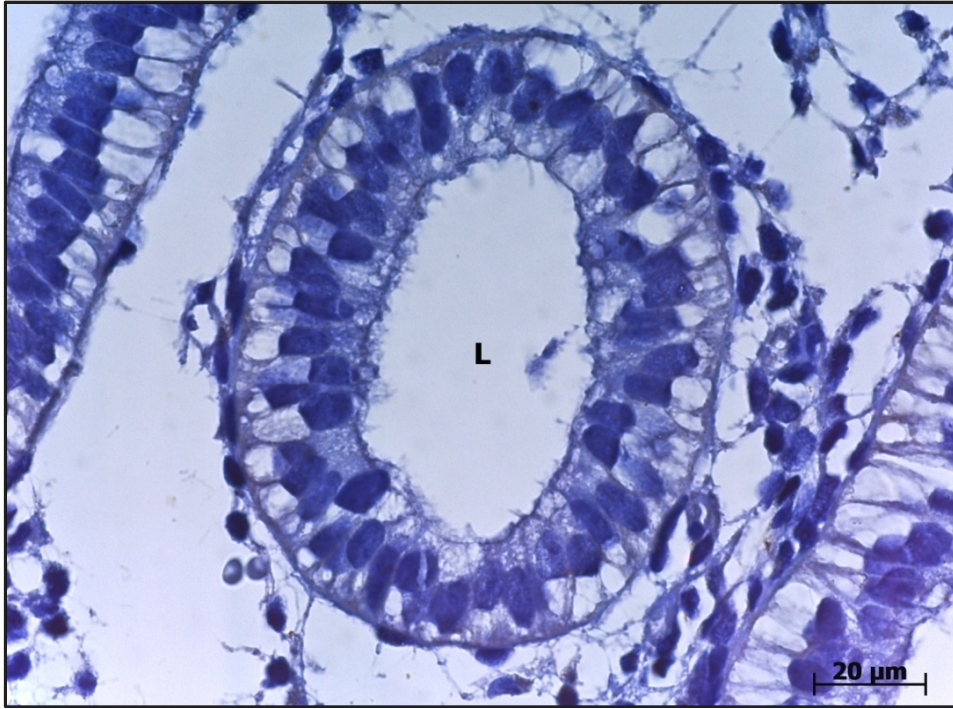
Şekil 3.12. TGK'lı hasta grubunda endometriyum bez epitelinde Gal-3 ekspresyonu zayıf şiddette izlenmektedir. L; lümen.

3.1.1.2. MUC2 Bulguları

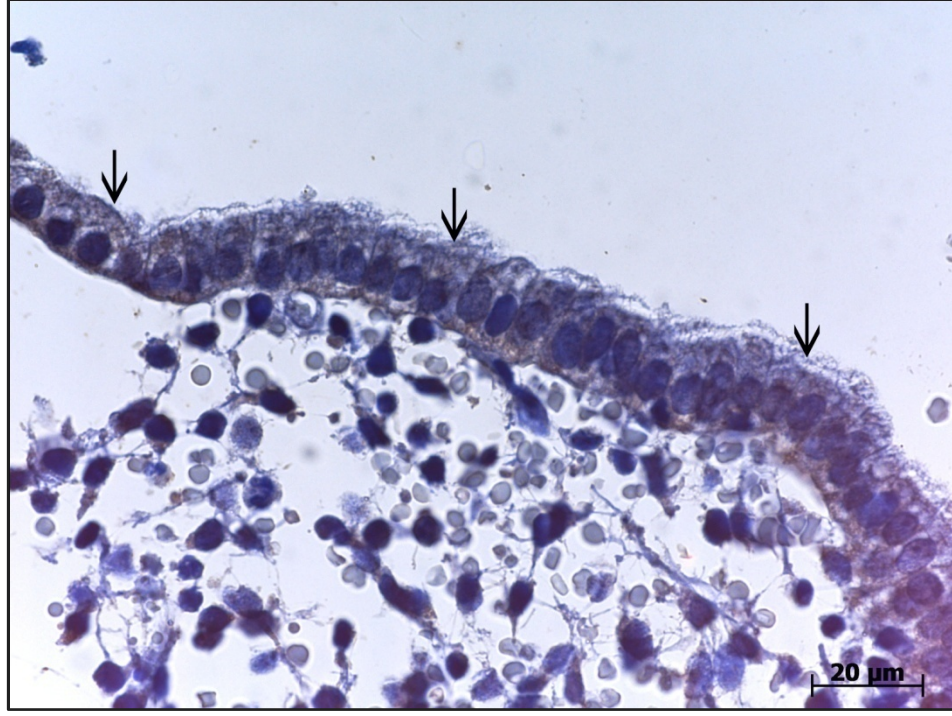
MUC2 immünreaktivitesi değerlendirildiğinde kontrol grubunda yüzey ve bez epitelinde boyanma görülmedi (Şekil 3.13; Şekil 3.14). TGK'lı hasta grubuna ait endometriyum yüzey epiteli hücrelerinin apikalinde ve bez epiteli hücrelerinin bazal bölgelerinde zayıf şiddette immünreaktivite izlendi (Şekil 3.15; Şekil 3.16).



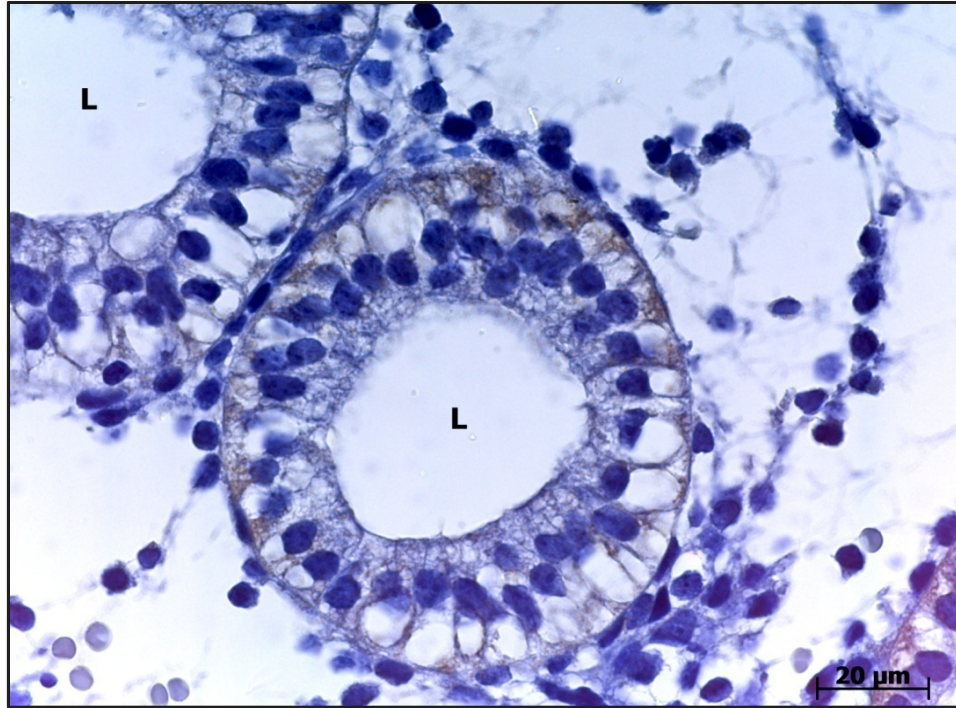
Şekil 3.13. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde MUC2 ekspresyonuna rastlanmamıştır. Ok; yüzey epiteli.



Şekil 3.14. Kontrol grubuna ait endometriyum bez epitelinde MUC2 ekspresyonu izlenmemektedir. L; lümen.



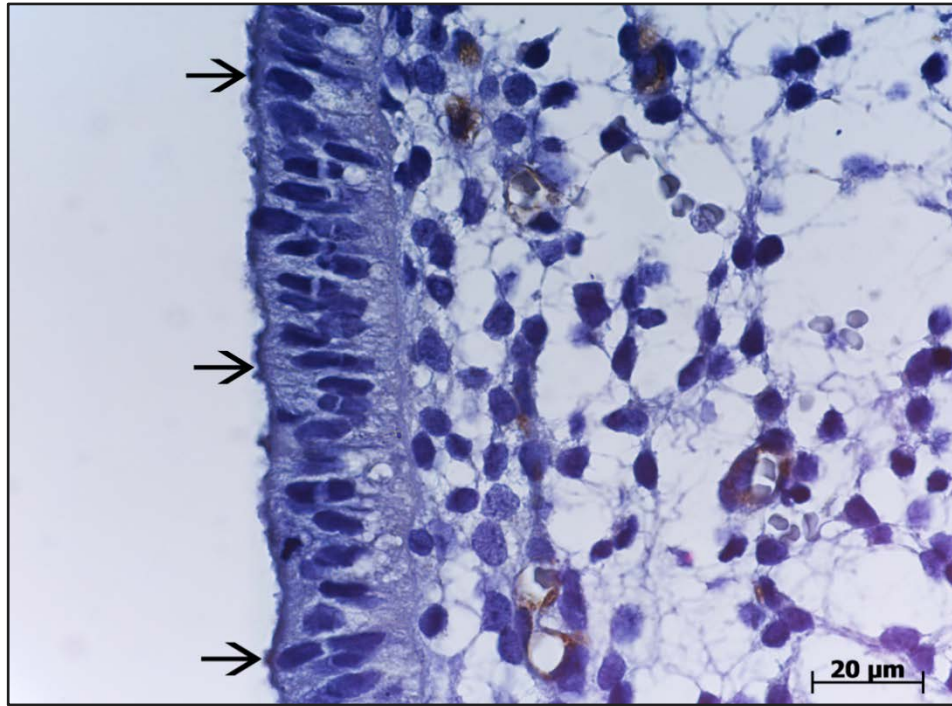
Şekil 3.15. TGK'lı hasta grubunda endometriyum yüzey epitelinde zayıf şiddette MUC2 ekspresyonu izlenmektedir. Ok; yüzey epiteli.



Şekil 3.16. TGK'lı hasta grubunda endometriyum bez epiteli hücrelerinin bazal bölgelerinde zayıf şiddette MUC2 ekspresyonu izlenmektedir. L; lümen.

3.1.1.3. MUC4 Bulguları

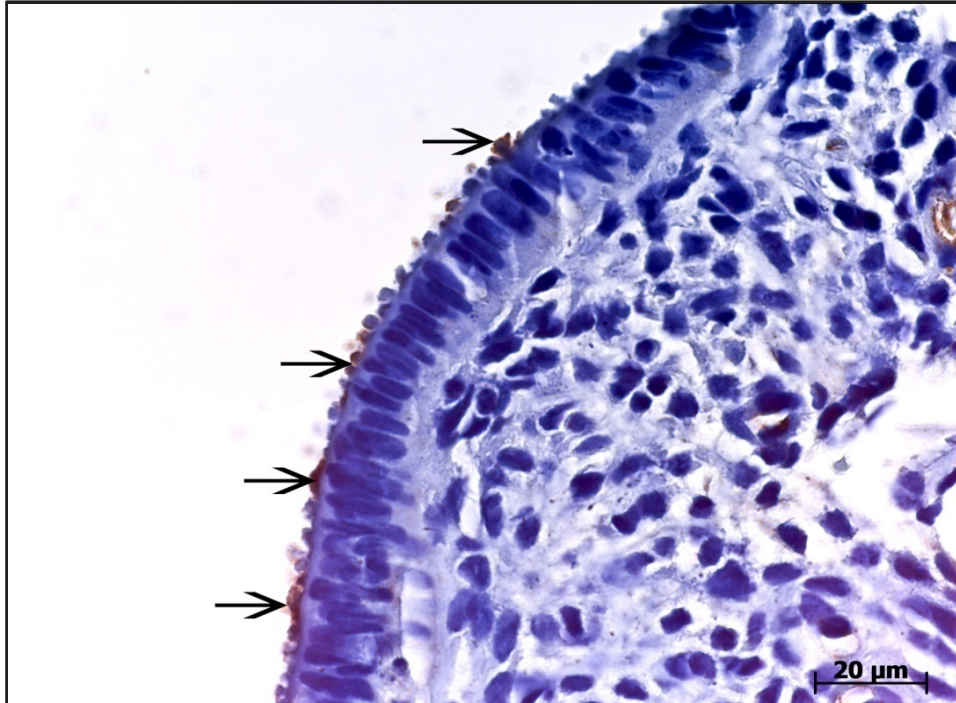
Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey ve bez epitelinde MUC4 immünreaktivitesine rastlanmadı (Şekil 3.17; Şekil 3.18). TKG'lı hasta grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde ve bez epitel hücrelerinin bazalinde zayıf MUC4 immünreaktivitesi izlendi (Şekil 3.19; Şekil 3.20). Her iki grupta da vasküler endotelde MUC4 ekspresyonu görüldü.



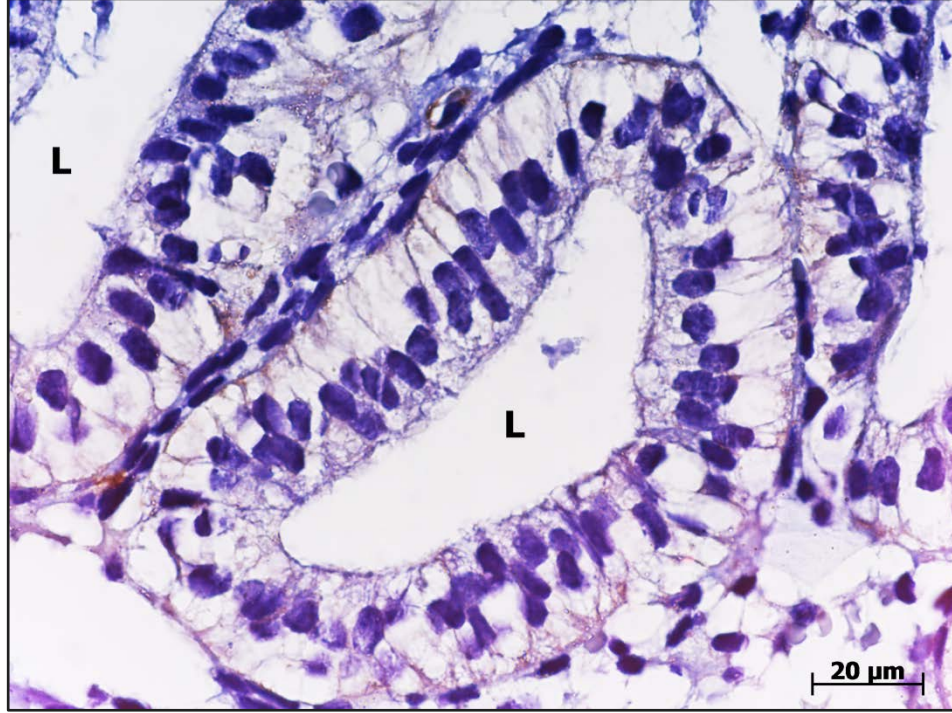
Şekil 3.17. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde MUC4 ekspresyonu izlenmemektedir. Ok; yüzey epiteli.



Şekil 3.18. Kontrol grubuna ait endometriyum bez epitelinde MUC4 ekspresyonu izlenmemektedir. L; lümen.



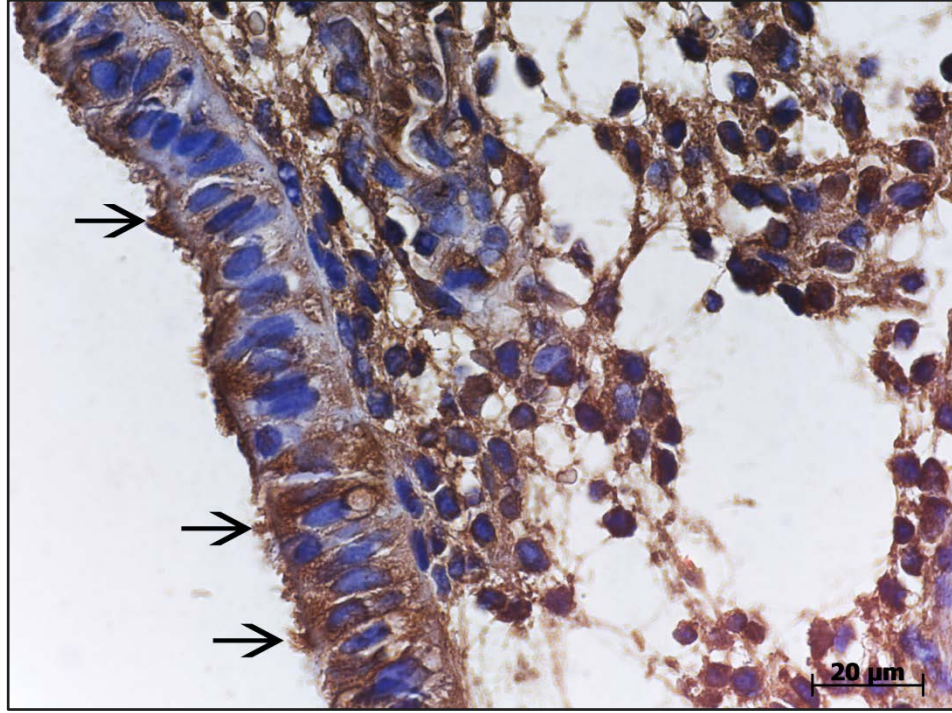
Şekil 3.19. TKG'lı hasta grubuna ait endometriyum yüzey epitelinin apikal bölgesinde MUC4 immünreaktivitesi özellikle pinopodların yüzeyinde zayıf olarak izlenmektedir. Ok; yüzey epiteli.



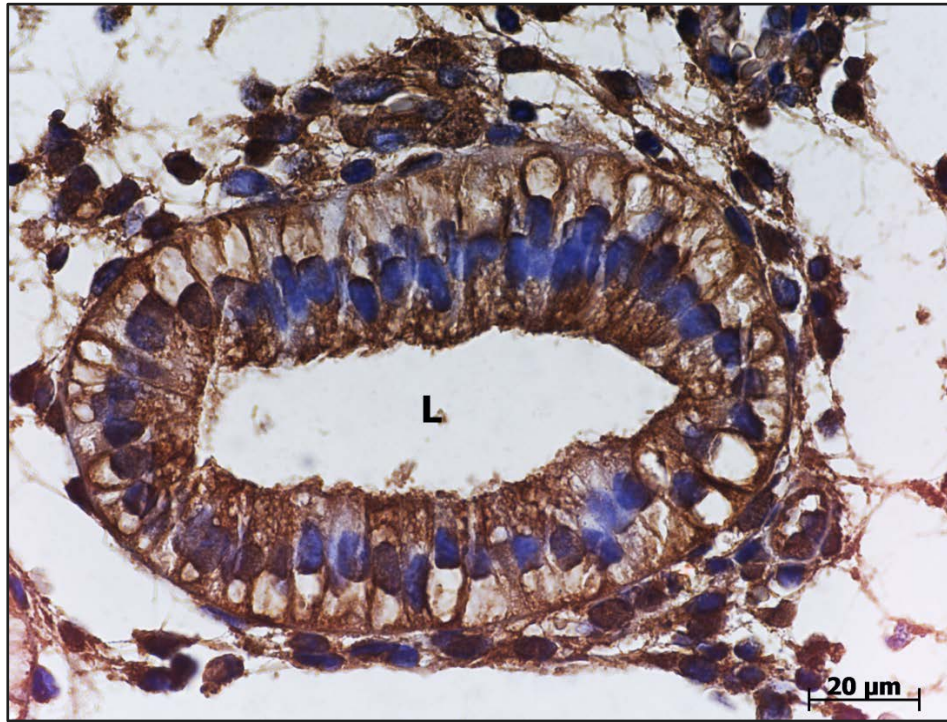
Şekil 3.20. TKG'lı hasta grubunun bez epitelinde MUC4 ekspresyonu zayıf olarak izlenmektedir. L; lümen.

3.1.1.4. HOXA10 Bulguları

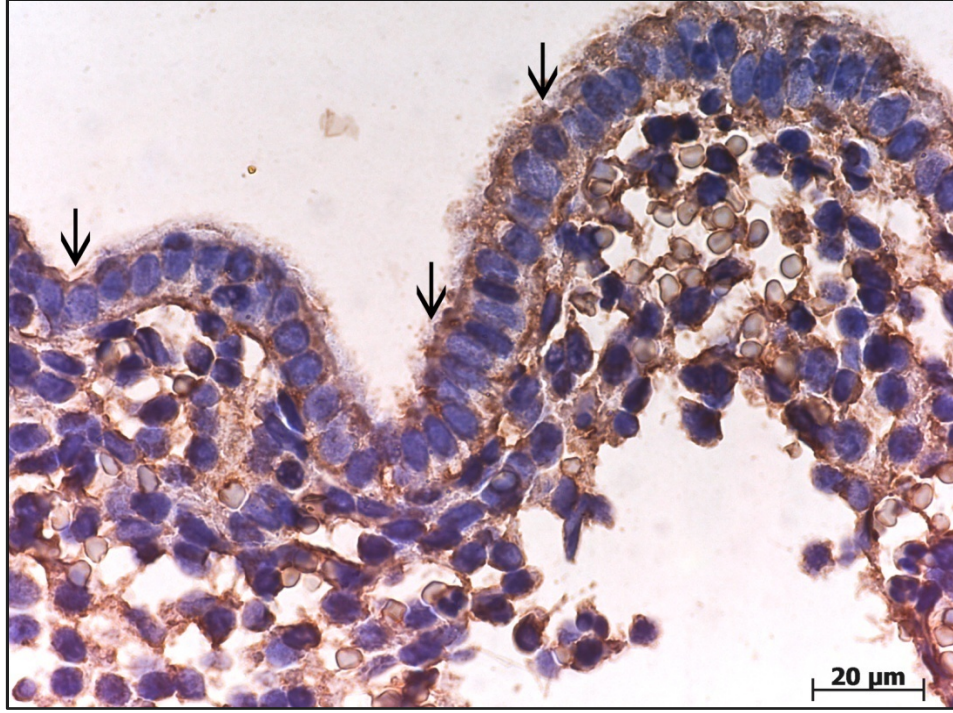
Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epiteli, bez epiteli ile birlikte endometriyum stromasında güçlü HOXA10 ekspresyonları izlendi (Şekil 3.21; Şekil 3.22). TKG'lı hasta grubunda yüzey epiteli ve bez epitelinde zayıf ile orta dereceler arasında değişen farklı şiddette immünreaktivite izlendi (Şekil 3.23; Şekil 3.24; Şekil 3.25).



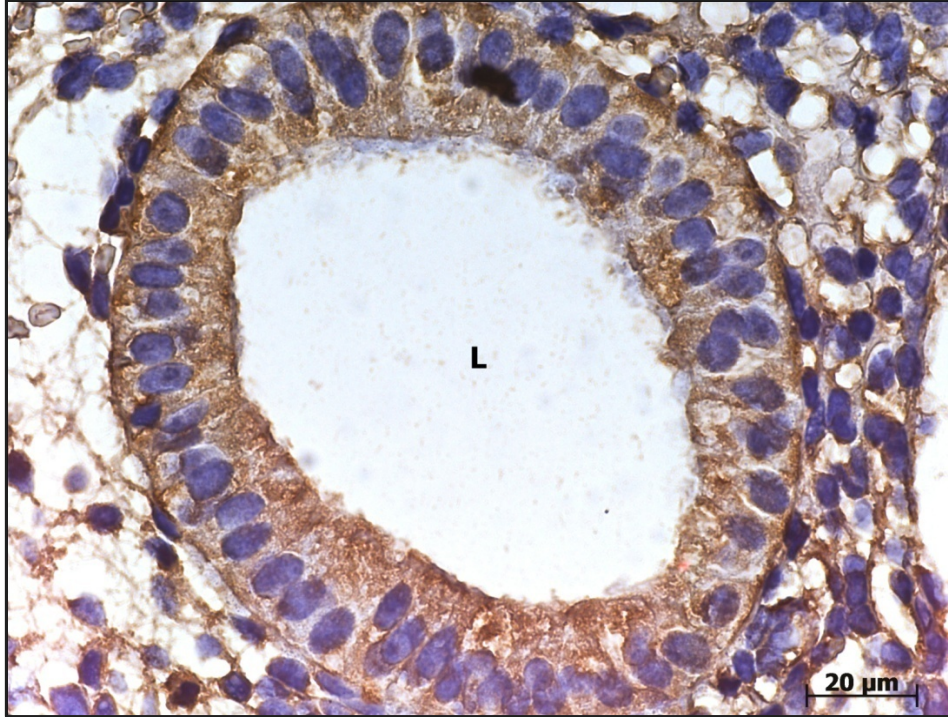
Şekil 3.21. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epiteli ve stromanın HOXA10 için güçlü immünreaktivite gösterdiği izlenmektedir. Ok; yüzey epiteli.



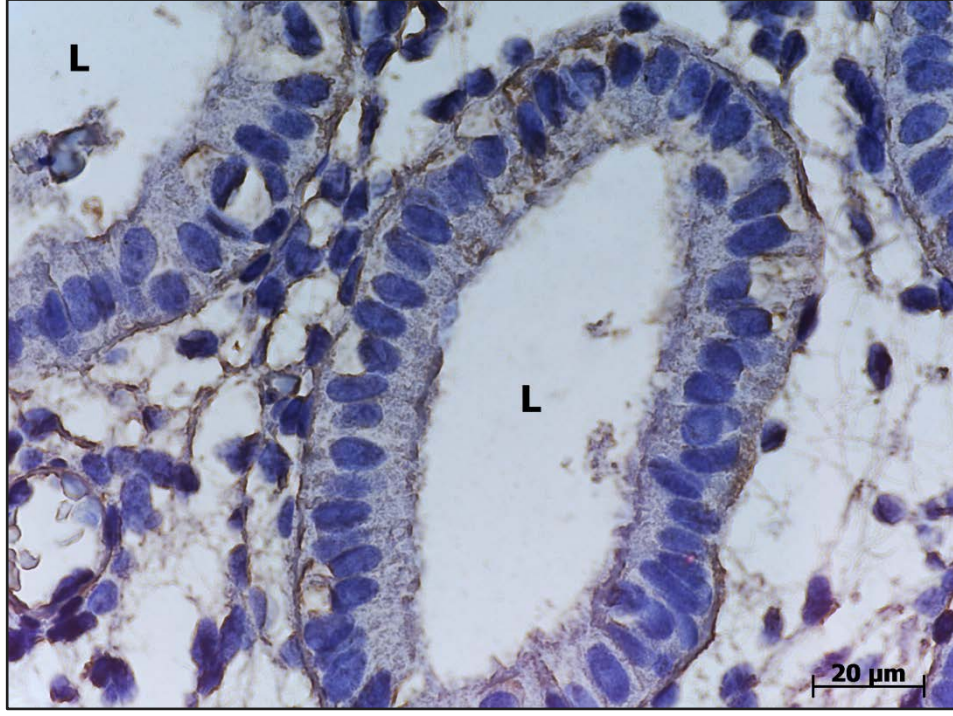
Şekil 3.22. Kontrol grubuna ait endometriyum bezlerinin apikal bölgesinde HOXA10 için güçlü immünreaktivite gözlenmektedir. L; lümen.



Şekil 3.23. TGK'lı hasta grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde orta şiddette HOXA10 ekspresyonu görülmektedir. Ok; yüzey epitel.



Şekil 3.24. TGK'lı hasta grubunda endometriyum bez epitelinde orta şiddette HOXA10 ekspresyonu izlenmektedir. L; lümen.



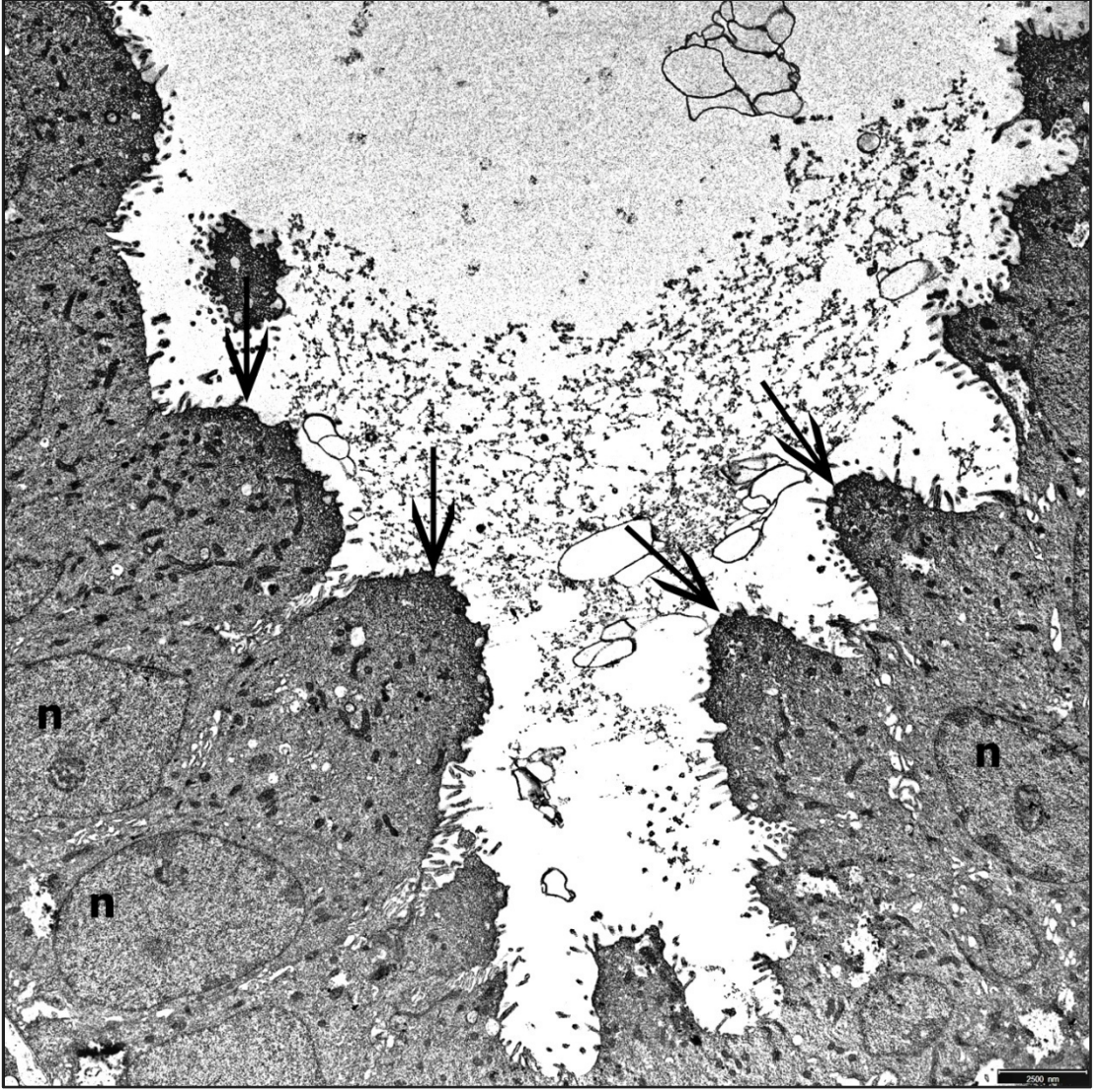
Şekil 3.25. TGK'lı hasta grubunda endometriyum bez epitelinde zayıf şiddette HOXA10 ekspresyonu izlenmektedir. L; lümen.

3.2. TEM ile Elde Edilen Bulgular

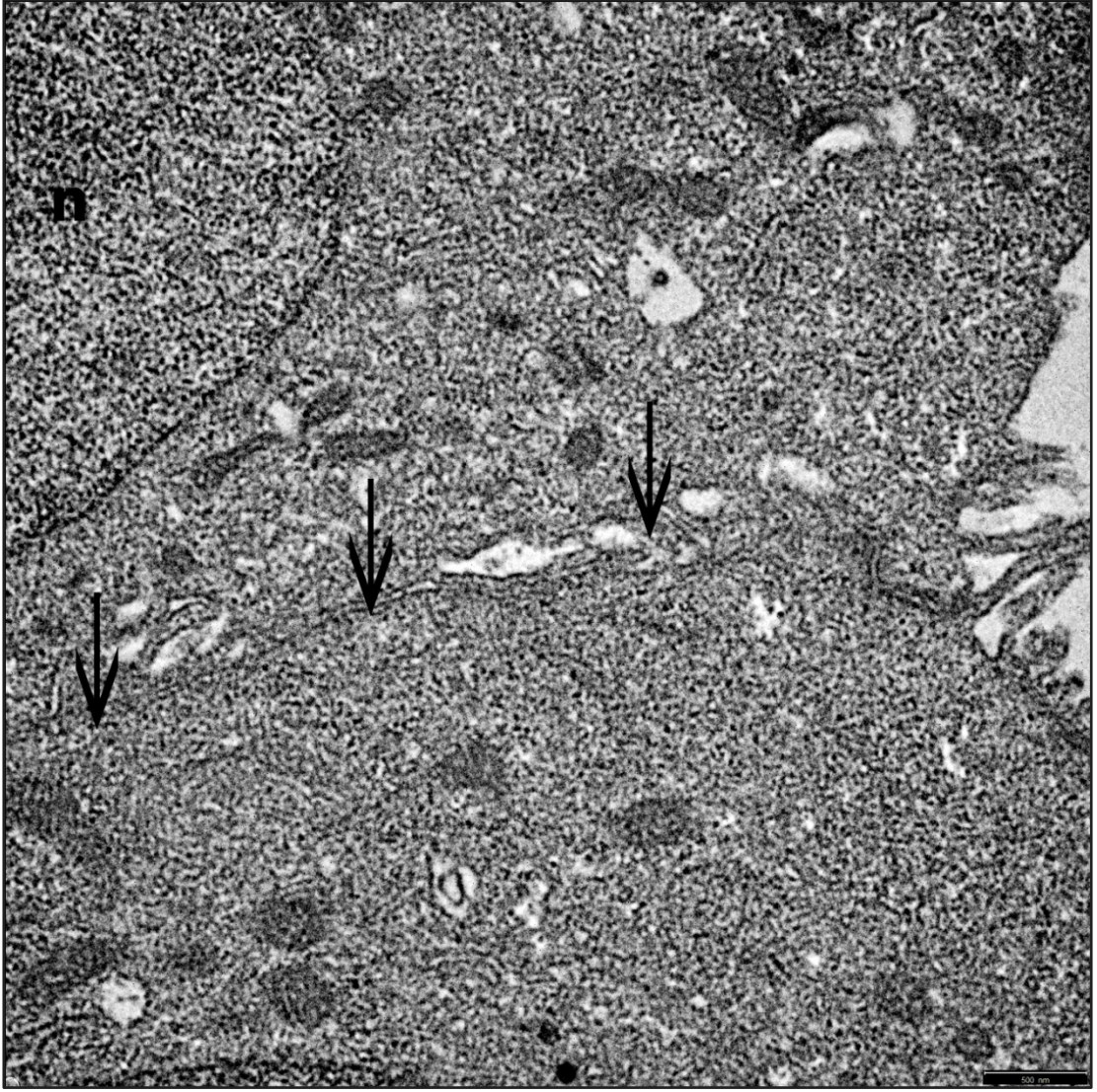
Kontrol grubunun endometriyum yüzey epiteli hücrelerinin düzgün dizilimli oldukları görüldü (Şekil 3.26). Apikal yüzeylerinde düzenli mikrovilluslar ve lümene uzantılar yapmış pinopodlar görüldü (Şekil 3.27). Epitel hücreleri arasındaki bağlantıların düzgün seyrettiği izlendi (Şekil 3.28).



Şekil 3.26. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde mikrovilluslar görülmektedir. Ok; mikrovilluslar.Bar; 2500 nm.

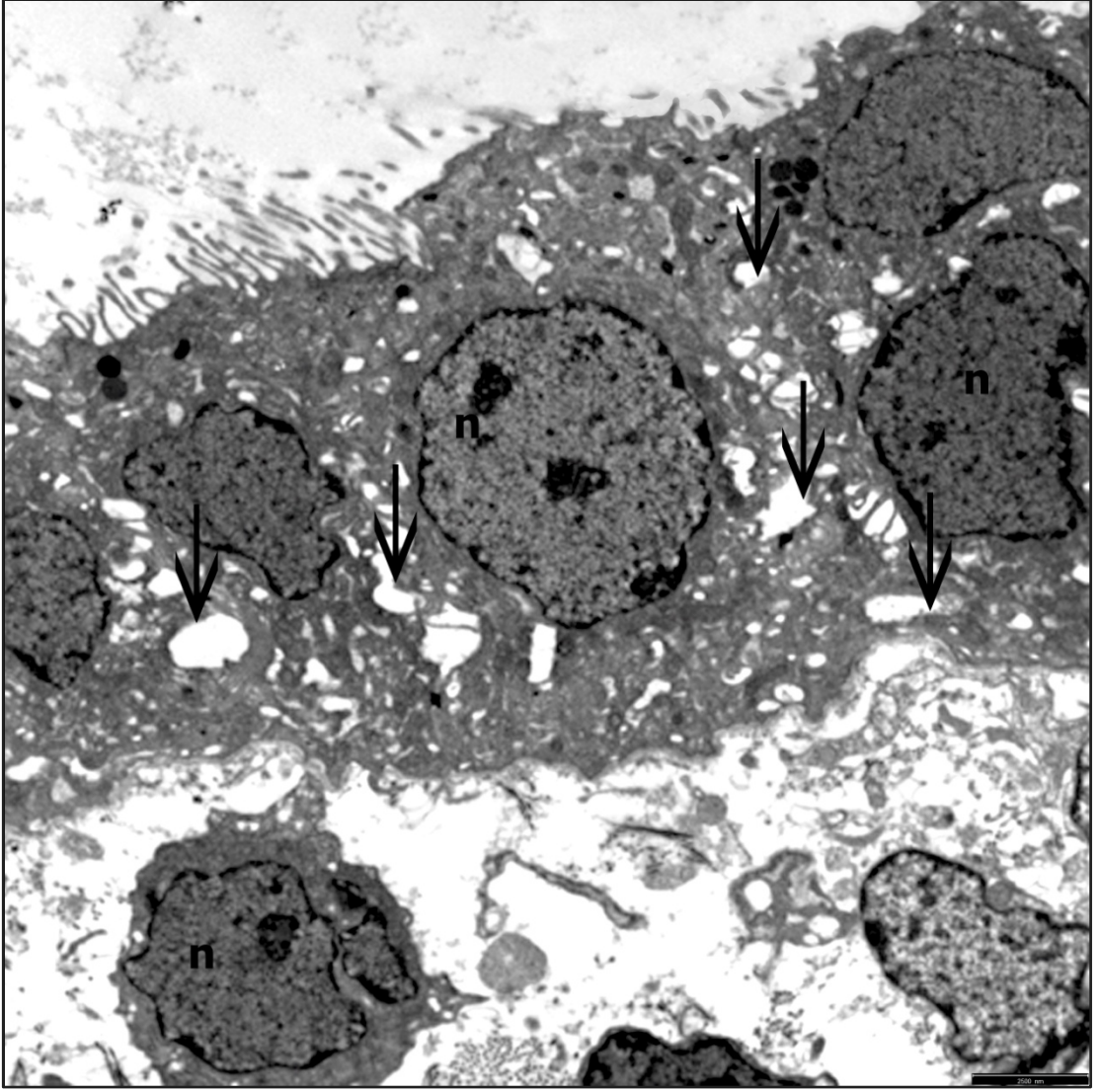


Şekil 3.27. Kontrol grubuna ait endometriyum yüzey epitelinde pinopodlar dikkat çekmektedir. Ok; pinopod, n; nükleus. Bar; 2500 nm.

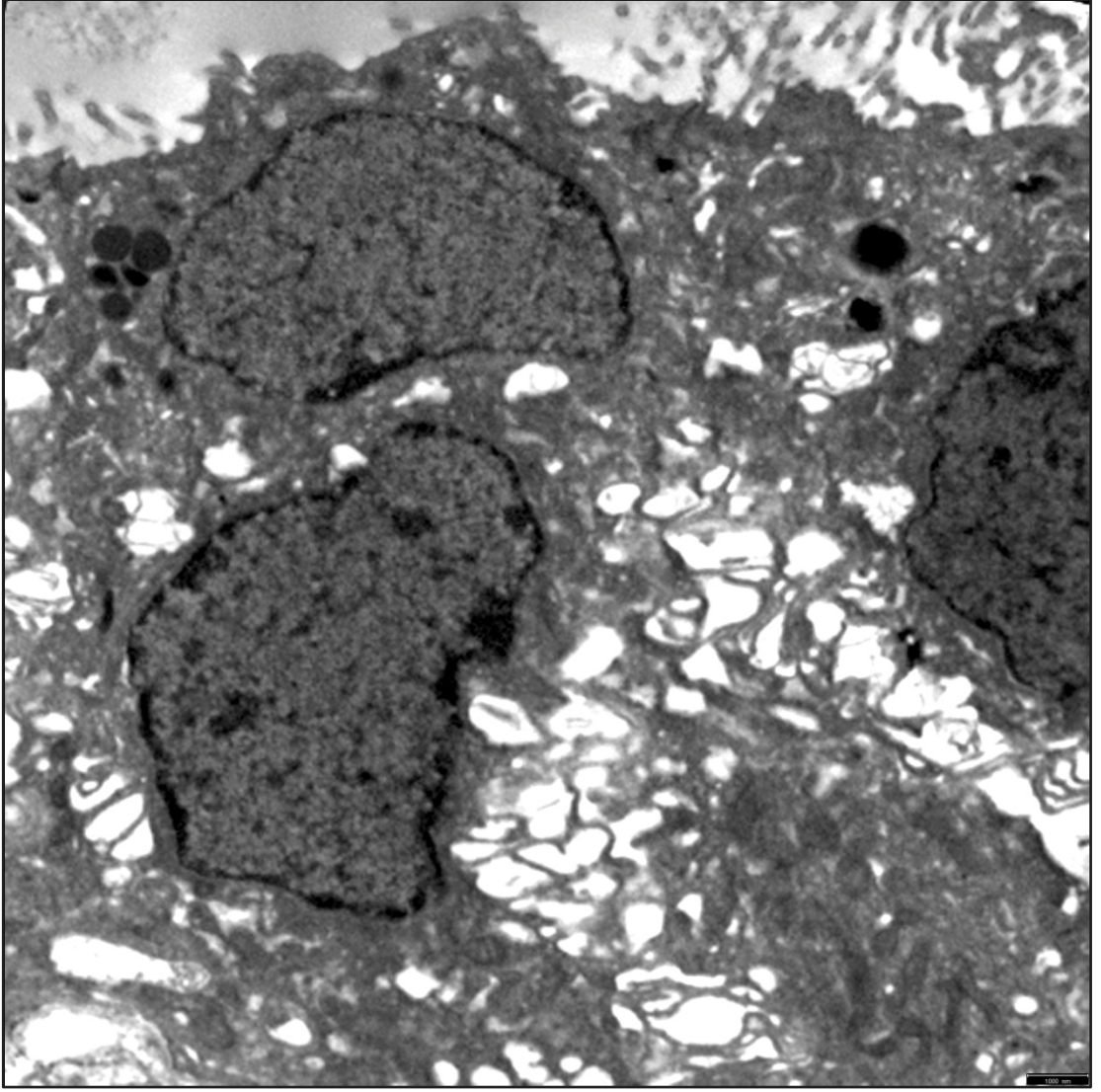


Şekil 3.28. Kontrol grubuna ait yüzey epitel hücreleri arasında bağlantı bileşkeleri sağlam olarak izlenmektedir. Ok; bağlantı bileşkesi. Bar; 500 nm.

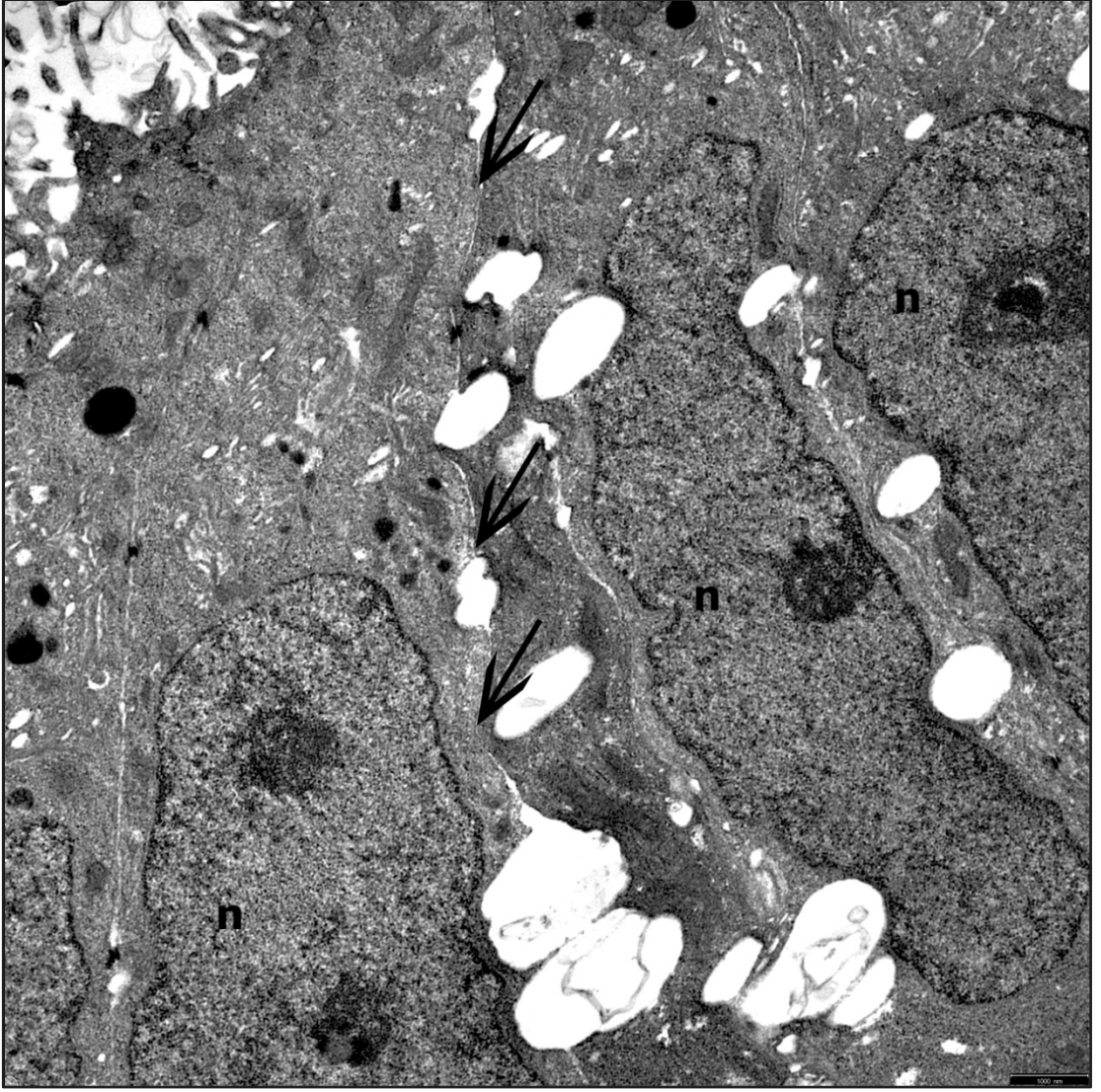
TGK'lı hasta grubunda endometriyum yüzey epiteli hücrelerinin boylarının kısaldığı görüldü (Şekil 3.29). Hücreler arasındaki aralıkta düzensiz genişlemeler izlendi (Şekil 3.30). Hücreler arası bağlantıların zayıfladığı görüldü (Şekil 3.31). Epitel hücrelerinin yüzeylerinde mikrovillusların düzensiz görünümü ve pinopod sayısının azlığı dikkat çekti.



Şekil 3.29. TKG'lı hasta grubunda yüzey epiteli hücreleri arasında hücreler arası aralıkta düzensiz genişlemeler izlenmektedir. Ok; genişlemiş hücreler arası aralık, n; nükleus. Bar; 2500 nm.



Şekil 3.30. TGK'lı hasta grubunda yüzey epiteli hücreleri arasında hücreler arası aralıkta düzensiz genişlemeler izlenmektedir. Bar; 1000 nm.



Şekil 3.31. TGK'lı hasta grubunda yüzey epiteli hücreleri arasındaki bağlantı bileşikleri ve epitel hücreleri arasındaki düzensiz genişlemeler izlenmektedir. Bar; 1000 nm.

3.3. İstatistiksel Bulgular

H-SCORE analizine göre Gal-3, MUC2, MUC4 ve HOXA10 immünohistokimya boyanmalarının istatistiksel analizleri değerlendirildi ve iki grup karşılaştırıldığında Gal-3 ve HOXA10 immünboyamasının yüzey ve bez epitelinin her ikisi için de istatistiksel olarak anlamlı olduğu; MUC2 ve MUC4 immünboyamasının yüzey ve bez epitelinin her ikisi için de istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

	Kontrol grubu (ortalama ± standart sapma)	TGK grubu (ortalama ± standart sapma)	P değeri
GAL-3 Yüzey Epiteli	3,7714 ± 0,31	2,3458 ± 1,34	0,04*
GAL-3 Bez Epiteli	3,6143 ± 0,55	2,0083 ± 1,50	0,03*
MUC2 Yüzey Epiteli	0,2857 ± 0,25	0,6583 ± 0,81	0,26
MUC2 Bez Epiteli	0,2857 ± 0,25	0,7167 ± 0,97	0,17
MUC4 Yüzey Epiteli	0,0571 ± 0,09	0,1500 ± 0,20	0,20
MUC4 Bez Epiteli	0,0286 ± 0,07	0,1167 ± 0,15	0,11
HOXA10 Yüzey Epiteli	3,3857 ± 0,80	2,0083 ± 1,15	0,01*
HOXA10 Bez Epiteli	3,1000 ± 0,42	2,0417 ± 0,97	0,01*

* $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmektedir.

Tablo 3.1. Kontrol ve TGK hasta grubunun immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması.

4. TARTIŞMA

Endometriyum, epitel ve endometriyal stromadan oluşur. Endometriyal stroma kollajen ve retiküler liflerden oluşmuş özel bir bağ dokusudur. Endometriyal stromada basit tübüler yapıda salgı bezleri görülür (Tekelioğlu, 2002). Çalışmamızın kontrol grubu endometriyum bulguları normal endometriyum yapısı ile uyumludur.

Endometriyum epitel hücrelerinin embriyonun tutunmasını destekleyebilmesi için çeşitli bazolateral hücre adezyon moleküllerinin apikal ekspresyonlarına, bazı anti-adeziv faktörlerin azaltılmasına ve çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna ihtiyaç duyulur (Achache ve Revel, 2006; Singh ve Aplin, 2009).

Bu çalışmada adezyon molekülü olan Gal-3, anti-adezyondan sorumlu MUC2 ve MUC4 ile endometriyal büyüme ve gelişmeden sorumlu olan HOXA10 transkripsiyon faktörünün TKG'lı hastalarda ekspresyonlarının değişimini araştırılmıştır.

TKG olgularında uterusun nasıl bir rol oynadığı tartışmalı konulardan biridir. Anormal endometriyal reseptivite tekrarlayan abortusların sebeplerinden kabul edilmektedir (Tuckerman ve ark., 2004). Bu sebeple normal kadınlar ile TKG gösteren kadınların endometriyal reseptivite belirteçlerinin araştırılması tekrarlayan abortusların önceden tanısında yardımcı olabilir (Xu ve ark., 2012).

Endometriyal reseptivite döneminde Gal-3 ekspresyonu endometriyum yüzey ve bez epitelinde artış göstermektedir. Yang ve ark.'nın fareler üzerinde gerçekleştirmiş oldukları çalışmalarda invazyonun gerçekleştiği fertilizasyondan sonraki 4-10. günlerden

hemen önce Gal-3 ekspresyonlarında artış olduğu bildirilmiştir (Yang ve ark., 2012). Bu sonuçlar Gal-3'ün blastokistin endometriyuma adezyonu için önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda TKG'lı hasta grubunda endometriyum yüzey ve bez epitelinde Gal-3 immünreaktivitesinin azalmış olması bu sonuçları desteklemektedir.

Musinler embriyonun implantasyonunun "doğru yer ve doğru zamanda" gerçekleşmesini sağlayan moleküllerdir. TKG gösteren kadınların endometriyumlarında mid-sekretuar evrede MUC1 ekspresyonlarında azalma görülmüştür (Aplin ve ark., 1996). MUC2 ve MUC4 moleküllerinin gen polimorfizmlerinin uterus dışında herhangi bir bölgede endometriyuma rastlanmasıyla sonuçlanan endometriozis gibi hastalıklarda ve bu hastalıklardan kaynaklanan infertilitede rol oynadığı bilinmektedir (Chang ve ark., 2011; Chang ve ark., 2012). Fakat MUC2 ve MUC4 moleküllerinin embriyo implantasyonunda rolü henüz bilinmemektedir. Çalışmamızda kontrol grubu ve TKG'lı hasta grubu endometriyum örneklerinde MUC2 ve MUC4 ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar MUC2 ve MUC4'ün insan endometriyumunda endometriyal reseptivite belirteçleri olarak uygun olmadığını düşündürmektedir.

HOX gen ailesi endometriyal büyüme, farklılaşma ve reseptivite için oldukça önemli molekülleri içerir. Embriyo implantasyonu ile östrojen ve progesteron seviyelerinin yükselmesiyle aynı zamana rastlayan orta ve geç sekretuar evrede endometriyum epiteli ve stromal hücrelerde HOXA10 ve HOXA11 ekspresyonları belirgin şekilde artmaktadır. HOXA10 ve HOXA11 knockout farelerle yapılan deneysel modelleme çalışmalarında (Hsieh-Li ve ark., 1995, Satokata ve ark., 1995) implantasyonun gerçekleşmediği gösterilmiştir.

Hox genleri pinopod, integrin $\alpha V\beta 3$ ve IG-FBP gibi implantasyon penceresine spesifik moleküler ve morfolojik belirteçlerin düzenlenmesinden sorumludur. Bagot ve ark. endometriyumdaki HOXA10 ekspresyonunun artması sonucu pinopod sayısının ve implantasyon oranlarının arttığını göstermiştir (Bagot ve ark., 2001). Bu sonuç HOXA10 ekspresyonları ile TKG arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda da HOXA10 immünreaktivitesi açısından kontrol grubu ile TKG'lı hasta grubunu karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde etmemiz bu durumu doğrulamaktadır.

Pinopodlar uzun zamandır endometriyal reseptivitenin klasik morfolojik belirteçleri olarak görülmektedir. Gelişmiş pinopodların varlığı blastokist ile endometriyum yüzeyi arasındaki iletişim alanını dolayısıyla implantasyonun gerçekleşme şansını artırır. Bu nedenle pinopoların endometriyum yüzeyindeki yoğunluğu oldukça önemlidir (Lopata ve ark., 2002).

Özellikle son yıllarda pinopodlar ve fonksiyonlarıyla ilgili çalışmaların arttığı görülmektedir. Nikas ve Markrigiannakis fertil kadınlarda implantasyon penceresi döneminde endometriyal epiteldeki pinopod yoğunluğunun %50 oranında daha fazla olduğunu ve endometriyum yüzeyindeki pinopodların %10'dan daha az yoğunlukta bulunmalarının birden fazla implantasyon başarısızlığı ile sonuçlandığını göstermişlerdir (Nikas ve Makrigiannakis, 2003). Quinn ve ark. ise pinopod oluşumu görmedikleri hastaların bir kısmında sonraki döngüde gebelik oluştuğunu görmüşler ve endometriyal reseptivite skorlamasında pinopodların yararlı olmadığını öne sürmüşlerdir (Quinn ve ark., 2007).

Çalışmamızda TEM ile yaptığımız incelemelerde Nikas ve Markrigiannakis'in sonuçlarını destekler biçimde kontrol grubu ile kıyasladığımızda pinopod sayısında azalma saptadık , bazı hastalarda ise yüzey epitelinde pinopod oluşumu hiç bir alanda gözlemedik.

Embriyo implantasyonu için endometriyumun morfolojik ve moleküler olarak geçirdiği değişimlerin araştırılması; endometriyal reseptivite ve reseptivite belirteçlerinin belirlenmesi TGK olgularının tanı ve tedavisine katkıda bulunabilir düşüncesine katılmaktayız.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kontrol grubu ve TGK'lı hastalarının endometriyum örneklerinin morfolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmesini amaçladığımız çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar şu şekilde özetlenebilir;

- Gal-3 ekspresyonu kontrol grubuna ait endometriyum örneklerinde yüzey epitelinde güçlü, bez epitelinde orta şiddette izlenirken; TGK'lı hasta grubunda yüzey ve bez epitelinde zayıftan orta derecelere kadar immünreaktivite gösterdi. Sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu. TGK gösteren kişilerde Gal-3 molekülü endometriyal reseptivite belirteci olarak kullanılabilir.
- TGK'lı hasta grubuna ait yüzey ve bez epitelinde zayıftan orta derecelere kadar MUC2 ve MUC4 ekspresyonları görülmüştür; fakat kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.
- Kontrol grubuna ait endometriyum örneklerinde yüzey ve bez epitelinde güçlü şiddette; TGK'lı hasta grubuna ait endometriyum yüzey ve bez epitelinde zayıf ile orta dereceler arasında değişen farklı şiddette HOXA10 immünreaktivitesi izlendi. Elde edilen sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Endometriyal reseptivitenin belirlenmesinde HOXA10 ekspresyonlarından yararlanılabilir.
- TEM incelemeleri sonucunda TGK'lı hastalardan alınan endometriyum örneklerinde kontrol grubu ile kıyaslandığında pinopod oluşumlarının azaldığı ve bazı vakalarda pinopod oluşumlarının olmadığı görüldü.

Başarılı ve başarısız implantasyonlarda endometriyal belirteçlerin tanımlanması ve gelişen teknolojiler TGK olgularının azalmasına katkıda bulunabilir. Biyoinformatik teknolojilerinin gelişmesi ve gelişen veritabanları ile endometriyal reseptivitenin belirlenmesinde gen ve proteinlerin kullanılması yakın zamanda olanaklı hale gelecektir. Bu doğrultuda çalışmamızdan elde ettiğimiz verilere göre Gal-3 ve HOXA10 için immunreaktivite düzeylerinin ve ultrastrüktürel düzeyde pinepodların varlığının TGK'lı hastaların takibinde yol gösterici olabileceği düşüncesindeyiz.

ÖZET

Tekrarlayan gebelik kaybı olgularında endometriyal reseptivitede adezyon ve anti-adezyon molekülleri ile transkripsiyon faktörlerinin araştırılması

İmplantasyon, endometriyum ve embriyo arasında uygun bir etkileşim gerektirmektedir. İmplantasyon penceresi döneminde endometriyumun hazırlanması tamamen maternal kaynaklıdır ve implantasyon için ön koşul maternal açıdan reseptif endometriyumdur. İmplantasyon başarısızlığının büyük çoğunluğundan yetersiz endometriyal reseptivite sorumludur. Pek çok protein ve molekülün endometriyal gelişmeyi etkilediği bilinmesine karşın bu protein ve moleküllerin implantasyon sürecine olan etkileri henüz kesinlik kazanmamıştır. Başarılı ve başarısız implantasyonlarda endometriyal belirteçlerin tanımlanması ve yapılan tüm bu araştırmalar sayesinde gelişen teknolojiler TKG olgularının azalmasına katkıda bulunabilir.

Çalışmamızda 18-39 yaş aralığında, TKG yaşamış, trombofilisi olmayan, karyotip analizi normal, tiroid fonksiyon testleri ve prolaktin seviyeleri normal ve rahim anomalisi saptanmayan kadınlar ile kontrol grubunu oluşturan kadınlardan alınan endometriyum örneklerinde ışık mikroskopik (İM), immünohistokimyasal ve transmisyon elektron mikroskopik (TEM) yöntemler ile implantasyon penceresi döneminde etkili olan adeziv ve anti-adeziv moleküllerin ve bu dönemde morfolojik olarak ortaya çıkan pinopodların oluşumunu düzenleyen transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

İM düzeyinde TKG'lı hastalara ait endometriyal stromada salgı bezleri ve bez epitelinde salgı vakuelleri varlığı ve yüzey epiteli boyunun alçak prizmatik/kübik olduğu gözlemlendi. TEM incelemesi için hazırlanan yarı-ince kesitlerde TKG'lı hasta grubunda yüzey epitelinde kontrol grubuna oranla daha az sayıda kinosilyum ve pinopoda sahip hücreler izlendi. Endometriyum bez epitelinde ise pinopod oluşumları dikkat çekti. Yapılan immünohistokimyasal incelemelerde Gal-3, TKG'lı hasta grubunun yüzey epiteli ve bez epitelinde zayıftan orta derecelere kadar immünreaktivite gösterdi. MUC2 ve MUC4 ekspresyonları değerlendirildiğinde TKG'lı hasta grubuna ait endometriyum yüzey epiteli hücrelerinin apikalinde ve bez epiteli hücrelerinin bazal bölgelerinde zayıf şiddette immünreaktivite izlendi. HOXA10 ekspresyonlarının TKG'lı hasta grubunda yüzey epiteli ve bez epitelinde zayıf ile orta derecede olduğu görüldü. TEM ile yapılan değerlendirmede TKG'lı hasta grubunda endometriyum yüzey epiteli hücrelerinin boylarının kısalması, hücreler arasındaki aralıkta düzensiz genişlemeler olması, hücrelerarası bağlantıların zayıflamış olması, epitel hücrelerinin yüzeylerinde mikrovillusların düzensizleşmesi ve pinopod sayısının az olması dikkat çekti. İstatistiksel olarak bakıldığında gruplar arasında Gal-3 ve HOXA10 ekspresyonlarının yüzey ve bez epitelinin her ikisi için de anlamlı olduğu; MUC2 ve MUC4 ekspresyonlarının yüzey ve bez epitelinin her ikisi için de anlamlı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Sonuç olarak TKG yaşayan olgular ile kontrol grubu arasında immünohistokimyasal ve ince-yapı düzeyinde fark saptanmıştır. Yapılan mikroskopik karşılaştırmalar ve bunların istatistiksel değerlendirme sonuçları ışığında Gal-3 molekülünden ve HOXA10 ekspresyonlarından endometriyum reseptivite belirteci olarak faydalanabileceğimiz düşünülmektedir. Aynı zamanda bu moleküllerin boyanma özelliklerinin ve ince-yapı düzeyinde pinopodların varlığının TKG yaşayan olguların takip ve değerlendirmesinde kullanılabileceği görüşündeyiz.

Anahtar kelimeler: adezyon molekülleri, anti-adezyon molekülleri, endometriyal reseptivite, HOXA10, tekrarlayan gebelik kayıpları

SUMMARY

Investigation of adhesion molecules, anti-adhesion molecules and transcription factors at endometrial receptivity of recurrent pregnancy loss (RPL)

Implantation requires a convenient interaction between endometrium and embryo. Preparation of endometrium is undermaternal charge in period of implantation window and endometrial receptivity is the prerequisite for implantation. Inadequate endometrial receptivity is responsible from the most of the implantation failure. It is known that so many proteins and molecules effect development of endometrium but it is not certain yet that these proteins and molecules have any effects on implantation process. Identifying endometrial markers in successful and unsuccessful implantations and developing technologies by these researches may contribute to reducing number of RPL cases.

In our study endometrial samples were taken from RPL cases between 18-39 years old who have got normal karyotype, normal thyroid function tests and prolactin levels and who don't have got thrombophilia and uterus anomaly as study group; normal women as control group. We aimed to research adhehive and anti-adhehive molecules effecting on the period of implantation window and expression of transcription factors which are regulating formation of pinopodes by using light microscope (LM), immunohistochemistry and transmission electron microscope (TEM).

Under LM, there were secretion vacuoles at glandular cells and glandular epithelium cells of endometrial stroma of RPL cases. Surface epithelium heigth was low columnar or cuboidal in this group. In semi-thin sections of RPL cases it was found that there were less kinocilium and pinopodes at surface epithelium according to control group. Pinopodes formation at endometrial glandular epithelium was remarked at that group. In immunohistochemistry studies; Gal-3 had an immunoreactivity graded mild to moderate at RPL cases surface and glandular epithelium. Evaluating of MUC-2 and MUC-4 expressions had shown immunoreactivity of mild intensity at apikal part of surface epithelium cells and basal parts of glandular epithelium cells of endometrium in RPL cases. HOXA10 expressions were same as Gal-3 immunoreactivity, so it was mild to moderate at surface and glandular epithelium. Observations made by TEM had shown that in RPL cases there were irregular extensions between intercellular space, surface epithelium heigth got shorter, intercellular connections were weakened, microvillie of epithelium cells were irregular and number of pinopodes are fewer than control group. In statistical evaluation; Gal-3 and HOXA10 expressions were meaningful for both of the surface and glandular epithelium. There were not a statistically significant difference between MUC2 and MUC4 expressions of surface and glandular epithelium.

As a result there were some ultrastructural and immunohistochemical differences between RPL cases and control group. Under the light of findings, it is thought that we can benefit from Gal-3 and HOXA10 expressions as markers of endometrial receptivity. In addition to this, staining properties of these molecules and existence of pinopodes ultrastructurally can be used to follow-up and evaluate RPL cases.

Key Words: adhesion molecules, anti-adhesion molecules, endometrial receptivity, HOXA10, recurrent pregnancy loss

KAYNAKLAR

- ACHACHE, H. & REVEL, A. 2006. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update*, 12, 731-46.
- AGHAJANOVA, L., STAVREUS-EVERS, A., NIKAS, Y., HOVATTA, O. & LANDGREN, B. M. 2003. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium. *Fertil Steril*, 79 Suppl 1, 808-14.
- APLIN, J. D., HEY, N. A. & LI, T. C. 1996. MUC1 as a cell surface and secretory component of endometrial epithelium: reduced levels in recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol*, 35, 261-6.
- APPARAO, K. B., MURRAY, M. J., FRITZ, M. A., MEYER, W. R., CHAMBERS, A. F., TRUONG, P. R. & LESSEY, B. A. 2001. Osteopontin and its receptor alphavbeta(3) integrin are coexpressed in the human endometrium during the menstrual cycle but regulated differentially. *J Clin Endocrinol Metab*, 86, 4991-5000.
- BAGOT, C. N., KLIMAN, H. J. & TAYLOR, H. S. 2001. Maternal Hoxa10 is required for pinopod formation in the development of mouse uterine receptivity to embryo implantation. *Dev Dyn*, 222, 538-44.
- BAHAR, L. 2012. Fine structure and immunohistochemical evaluation of endometrium in fertile and infertile women with implantation failure. *Dicle Medical Journal / Dicle Tip Dergisi*, 39, 269-275.
- BENTIN-LEY, U., HORN, T., SJOGREN, A., SORENSEN, S., FALCK LARSEN, J. & HAMBERGER, L. 2000. Ultrastructure of human blastocyst-endometrial interactions in vitro. *J Reprod Fertil*, 120, 337-50.
- CAKMAK, H. & TAYLOR, H. S. 2011. Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment. *Hum Reprod Update*, 17, 242-53.
- CHA, J., SUN, X. & DEY, S. K. 2012. Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. *Nat Med*, 18, 1754-67.
- CHANG, C. Y., CHANG, H. W., CHEN, C. M., LIN, C. Y., CHEN, C. P., LAI, C. H., LIN, W. Y., LIU, H. P., SHEU, J. J. & TSAI, F. J. 2011. MUC4 gene polymorphisms associate with endometriosis development and endometriosis-related infertility. *BMC Med*, 9, 19.
- CHANG, C. Y., CHEN, Y., LIN, W. C., CHEN, C. M., CHEN, C. P., LEE, S. C., SHEU, J. J. & TSAI, F. J. 2012. MUC2 polymorphisms are associated with endometriosis development and infertility: a case-control study. *BMC Med Genet*, 13, 15.
- COCKBURN, K. & ROSSANT, J. 2010. Making the blastocyst: lessons from the mouse. *J Clin Invest*, 120, 995-1003.
- CREUS, M., ORDI, J., FABREGUES, F., CASAMITJANA, R., CARMONA, F., CARDESA, A., VANRELL, J. A. & BALASCH, J. 2003. The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in the human endometrium: a controlled study. *Hum Reprod*, 18, 683-93.

- DEVELIOGLU, O. H., HSIU, J. G., NIKAS, G., TONER, J. P., OEHNINGER, S. & JONES, H. W., JR. 1999. Endometrial estrogen and progesterone receptor and pinopode expression in stimulated cycles of oocyte donors. *Fertil Steril*, 71, 1040-7.
- DEY, S. K., LIM, H., DAS, S. K., REESE, J., PARIA, B. C., DAIKOKU, T. & WANG, H. 2004. Molecular cues to implantation. *Endocr Rev*, 25, 341-73.
- DIMITRIADIS, E., STOIKOS, C., STAFFORD-BELL, M., CLARK, I., PAIVA, P., KOVACS, G. & SALAMONSEN, L. A. 2006. Interleukin-11, IL-11 receptoralpha and leukemia inhibitory factor are dysregulated in endometrium of infertile women with endometriosis during the implantation window. *J Reprod Immunol*, 69, 53-64.
- DIMITRIADIS, E., WHITE, C. A., JONES, R. L. & SALAMONSEN, L. A. 2005. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update*, 11, 613-30.
- ENDERS, A. C. & NELSON, D. M. 1973. Pinocytotic activity of the uterus of the rat. *Am J Anat*, 138, 277-99.
- FOULK, R. A., ZDRAVKOVIC, T., GENBACEV, O. & PRAKOBPHOL, A. 2007. Expression of L-selectin ligand MECA-79 as a predictive marker of human uterine receptivity. *J Assist Reprod Genet*, 24, 316-21.
- FUKUDA, M. N. & SUGIHARA, K. 2008. An integrated view of L-selectin and trophinin function in human embryo implantation. *J Obstet Gynaecol Res*, 34, 129-36.
- FUKUDA, M. N. & SUGIHARA, K. 2012. Cell adhesion molecules in human embryo implantation. *Sheng Li Xue Bao*, 64, 247-58.
- FUKUI, A., FUNAMIZU, A., YOKOTA, M., YAMADA, K., NAKAMUA, R., FUKUHARA, R., KIMURA, H. & MIZUNUMA, H. 2011. Uterine and circulating natural killer cells and their roles in women with recurrent pregnancy loss, implantation failure and preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 90, 105-10.
- GIUDICE, L. C. 1999. Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum Reprod*, 14 Suppl 2, 3-16.
- HADDAD-FILHO, J., CEDENHO, A. P. & KATZ, S. G. 2007. Endometrial expression of IL-1RtI in patients undergoing miscarriage or unsuccessful IVF cycles. *Reprod Biomed Online*, 14, 117-24.
- HOOZEMANS, D. A., SCHATS, R., LAMBALK, C. B., HOMBURG, R. & HOMPES, P. G. 2004. Human embryo implantation: current knowledge and clinical implications in assisted reproductive technology. *Reprod Biomed Online*, 9, 692-715.
- HSIEH-LI, H. M., WITTE, D. P., WEINSTEIN, M., BRANFORD, W., LI, H., SMALL, K. & POTTER, S. S. 1995. Hoxa 11 structure, extensive antisense transcription, and function in male and female fertility. *Development*, 121, 1373-85.
- JANQUIERA, J. L. C. 2009. *Temel histoloji Text & Atlas*, Nobel Tıp Kitabevi.

- KEITH L. MOORE, T. V. N. P. 2009. *Embriyoloji ve Doğum Defektlerinin Temelleri*, Ankara, Güneş Tıp Kitabevi.
- KIERSZENBAUM, A. L. 2012. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*, Elsevier Saunders.
- KUPERMAN, A., DI MICCO, P. & BRENNER, B. 2011. Fertility, infertility and thrombophilia. *Womens Health (Lond Engl)*, 7, 545-53.
- L. BAHAR, T. B. 2008. Endometriyal Reseptivitenin İmplantasyondaki Rolü. *Mersin Univ Sağlık Bilim Derg*, 1, 1-6.
- LAIRD, S. M., TUCKERMAN, E. M. & LI, T. C. 2006. Cytokine expression in the endometrium of women with implantation failure and recurrent miscarriage. *Reprod Biomed Online*, 13, 13-23.
- LIM, H. J. & WANG, H. 2010. Uterine disorders and pregnancy complications: insights from mouse models. *J Clin Invest*, 120, 1004-15.
- LINJAWI, S., LI, T. C., TUCKERMAN, E. M., BLAKEMORE, A. I. & LAIRD, S. M. 2004. Expression of interleukin-11 receptor alpha and interleukin-11 protein in the endometrium of normal fertile women and women with recurrent miscarriage. *J Reprod Immunol*, 64, 145-55.
- LOPATA, A., BENTIN-LEY, U. & ENDERS, A. 2002. "Pinopodes" and implantation. *Rev Endocr Metab Disord*, 3, 77-86.
- MA, W. G., SONG, H., DAS, S. K., PARIJA, B. C. & DEY, S. K. 2003. Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 2963-8.
- MATSUZAKI, S., CANIS, M., DARCHA, C., POULY, J. L. & MAGE, G. 2009. HOXA-10 expression in the mid-secretory endometrium of infertile patients with either endometriosis, uterine fibromas or unexplained infertility. *Hum Reprod*, 24, 3180-7.
- MILLER, P. B., PARNELL, B. A., BUSHNELL, G., TALLMAN, N., FORSTEIN, D. A., HIGDON, H. L., 3RD, KITAWAKI, J. & LESSEY, B. A. 2012. Endometrial receptivity defects during IVF cycles with and without letrozole. *Hum Reprod*, 27, 881-8.
- NARDO, L. G., LI, T. C. & EDWARDS, R. G. 2006. Introduction: human embryo implantation failure and recurrent miscarriage: basic science and clinical practice. *Reprod Biomed Online*, 13, 11-2.
- NARDO, L. G., SABATINI, L., RAI, R. & NARDO, F. 2002. Pinopode expression during human implantation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 101, 104-8.
- NIKAS, G. & MAKRIGIANNAKIS, A. 2003. Endometrial pinopodes and uterine receptivity. *Ann N Y Acad Sci*, 997, 120-3.
- NORWITZ, E. R., SCHUST, D. J. & FISHER, S. J. 2001. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med*, 345, 1400-8.
- NOVOTNY, R., MALINSKY, J., OBORNA, I. & DOSTAL, J. 1999. Ultrastructure of endometrial surface relief in normal menstrual cycle and after hormonal stimulation. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med*, 142, 47-55.

- NOYES, R. W., HERTIG, A. T. & ROCK, J. 1975. Dating the endometrial biopsy. *Am J Obstet Gynecol*, 122, 262-3.
- OVALLE, W. K. 2009. *Netter Temel Histoloji*, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri.
- QUINN, C., RYAN, E., CLAESSENS, E. A., GREENBLATT, E., HAWRYLYSHYN, P., CRUICKSHANK, B., HANNAM, T., DUNK, C. & CASPER, R. F. 2007. The presence of pinopodes in the human endometrium does not delineate the implantation window. *Fertil Steril*, 87, 1015-21.
- QUINN, C. E. & CASPER, R. F. 2009. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity. *Hum Reprod Update*, 15, 229-36.
- RED-HORSE, K., ZHOU, Y., GENBACEV, O., PRAKOBPHOL, A., FOULK, R., MCMASTER, M. & FISHER, S. J. 2004. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J Clin Invest*, 114, 744-54.
- ROGERS, P., MURPHY, C., CAMERON, I., LEETON, J., HOSIE, M., BEATON, L. & MACPHERSON, A. 1989. Uterine receptivity in women receiving steroid replacement therapy for premature ovarian failure: ultrastructural and endocrinological parameters. *Hum Reprod*, 4, 349-54.
- ROSS MH, P. W. 2011. *Histology: A text and Atlas with correlated cell and molecular biology*, Wolters Kluwer.
- SADLER, T. W. 2010. *Langman's Medical Embryology*, Wolters Kluwer.
- SATOKATA, I., BENSON, G. & MAAS, R. 1995. Sexually dimorphic sterility phenotypes in Hoxa10-deficient mice. *Nature*, 374, 460-3.
- SINGH, H. & APLIN, J. D. 2009. Adhesion molecules in endometrial epithelium: tissue integrity and embryo implantation. *J Anat*, 215, 3-13.
- SMITH, M. L. & SCHUST, D. J. 2011. Endocrinology and recurrent early pregnancy loss. *Semin Reprod Med*, 29, 482-90.
- STROWITZKI, T., GERMEYER, A., POPOVICI, R. & VON WOLFF, M. 2006. The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update*, 12, 617-30.
- SUZUMORI, N. & SUGIURA-OGASAWARA, M. 2010. Genetic factors as a cause of miscarriage. *Curr Med Chem*, 17, 3431-7.
- TEKELIOĞLU, M. 2002. *Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme*, Ankara, ANTİP A.Ş. Yayınları.
- THORNHILL, A. R., DEDIE-SMULDERS, C. E., GERAEDTS, J. P., HARPER, J. C., HARTON, G. L., LAVERY, S. A., MOUTOU, C., ROBINSON, M. D., SCHMUTZLER, A. G., SCRIVEN, P. N., SERMON, K. D., WILTON, L. & CONSORTIUM, E. P. 2005.ESHRE PGD Consortium 'Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)'. *Hum Reprod*, 20, 35-48.
- TRANGUCH, S., DAIKOKU, T., GUO, Y., WANG, H. & DEY, S. K. 2005. Molecular complexity in establishing uterine receptivity and implantation. *Cell Mol Life Sci*, 62, 1964-73.

- TUCKERMAN, E., LAIRD, S. M., STEWART, R., WELLS, M. & LI, T. C. 2004. Markers of endometrial function in women with unexplained recurrent pregnancy loss: a comparison between morphologically normal and retarded endometrium. *Hum Reprod*, 19, 196-205.
- WANG, H. & DEY, S. K. 2006. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models. *Nat Rev Genet*, 7, 185-99.
- XU, B., SUN, X., LI, L., WU, L., ZHANG, A. & FENG, Y. 2012. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin-beta3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*, 98, 389-95.
- YANG, H., LEI, C. & ZHANG, W. 2012. Expression of galectin-3 in mouse endometrium and its effect during embryo implantation. *Reprod Biomed Online*, 24, 116-22.
- ZHANG, S., LIN, H., KONG, S., WANG, S., WANG, H., WANG, H. & ARMANT, D. R. 2013. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Mol Aspects Med*, 34, 939-80.

EKLER**EK-1: Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı****ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI**

BAŐYURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Tekrarlayan gebelik kaybı olgularında endometriyal reseptivitede adezyon ve anti-adezyon molekülleri ile transkripsiyon faktörlerinin araştırılması			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŐTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Sevim Aydın			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŐTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Histoloji Embriyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŐTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz: Laboratuvar Çalışması				
ARAŐTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARAS I <input type="checkbox"/>	

ASLI GİBİDİR

29 Mart 2013.

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>		
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
DİĞER:	<input type="checkbox"/>			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:05-215-13	Tarih: 25 Mart 2013		
	Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri ile bilgilendirilmiş gönüllü olur formu incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU				
ÇALIŞMA ESASI		Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu		
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof.Dr.Mehmet MELLİ		

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü.Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>M. Mellî</i>
Prof.Dr.Cihan YURDAYDIN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Yurtdışın da
Prof.Dr.Mehmet GÜREL	Genel Cerrahi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>M. Gürel</i>
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY	Farmakoloji	A.Ü.Eczacılık Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Yurtdışın da
Prof.Dr.Nuhan PURALI	Biyofizik	H.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>N. Puralı</i>
Prof.Dr.Cem ATBAŞOĞLU	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>C. Atbaşoğlu</i>
Prof.Dr.Serdar ÖZTÜRK	Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>S. Öztürk</i>
Prof.Dr.Serap SIVRI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>S. Sivri</i>
Prof.Dr.Zarife ŞENOCAK	Hukuk	A.Ü.Hukuk Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Z. Şenocak</i>
Prof.Dr.Banu ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>B. Çakır</i>
Doç.Dr.Güngör UTKAN	Tıbbi Onkoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>G. Utkan</i>
Doç.Dr.Derya ÖZTUNA	Biyoistatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>D. Öztuna</i>
Yrd.Doç.Dr.Nüket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>N. Kutlay</i>
Yrd.Doç.Dr.Volkan KAVAS	Tıp Tarihi ve Etik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>V. Kavas</i>
Gülsüm ASLAN	Arkeoloji	-	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>G. Aslan</i>

EK-2: Eğitim Planlama ve Koordinasyon Başkanlığı Kararı



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ETLİK ZÜBEYDE HANIM KADIN HASTALIKLARI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ



165

27.05.2013 tarihinde EPK Kurulu toplandı;

1. Haziran 2013 asistan doktor çalışma programının kabulüne,
2. Dr. Eser Çolak tarafından sunulan "Anemi Saptanan Gebelerde HbA1C Değerinin IV Demir Replasmanı Öncesi ve Sonrası Karşılaştırılması" konulu uzmanlık tezinin kabulüne ve tez danışmanı olarak Doç. Dr. Ömer Kandemir'in görevlendirilmesine,
3. Dr. Yusuf Topalakımetoğlu tarafından sunulan "Hiperemesis Gravidarum ile Depresyon ve Anksiyete Arasındaki İlişkinin Araştırılması" konulu uzmanlık tezinin kabulüne ve tez danışmanı olarak Doç. Dr. Orhan Gelişen'in görevlendirilmesine,
4. Dr. Ayşegül Yıldırım tarafından sunulan "Hiperemesis Gravidarum Tanısı ile Takip Edilen Gebelerle Asemptomatik Gebelerdeki Hiperparatiroidizm İnsidansının Karşılaştırılması" konulu uzmanlık tezinin kabulüne ve tez danışmanı olarak Doç. Dr. Orhan Gelişen'in görevlendirilmesine, ek finansman ihtiyacı ile ilgili olarak Hastane Yöneticiliği makamına bildirilmesine,

Doç. Dr. İsmail DÖLEN
iznil
Eğitim Görevlisi

Doç. Dr. Berna Dilbaz
iznil
Eğitim Görevlisi

Doç. Dr. Ömer KANDEMİR
Eğitim Görevlisi

Doç. Dr. Gökhan TULUNAY
Eğitim Görevlisi

Doç. Dr. Nihal DEMİREL
Eğitim Görevlisi

Op. Dr. Leyla MÖLLEK MAHİR MUTOĞLU

Başhekim

Yeni Etlük Caddesi 55, Etlük 06010 Ankara, Tel: (312) 567 40 00, 322 01 80, Fax: (312) 323 81 91 E-mail: etlikdogumevi@ttmail.com

www.ezh.gov.tr



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ETLİK ZÜBEYDE HANIM KADIN HASTALIKLARI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ



165

18. Doç. Dr. Berfu Demir tarafından sunulan "Tekrarlayan Gebelik Kaybı Oğularında Endometrial Receptivitede Adezyon ve Anti-adezyon Molekülleri ile Transkripsiyon Faktörlerinin Araştırılması" konulu çalışmanın kabulüne,
19. Op. Dr. Şafak Özdemirci tarafından sunulan "Adolesan ve İleri Yaş Gebeliklerinin Sonuçlarının Değerlendirilmesi" konulu çalışmanın kabulüne,
20. Op. Dr. Ali Rıza Doğan tarafından sunulan "Üriner İnkontinans Nedeniyle Opere Edilmiş Olan Hastalarda 'Tension Free Vaginal Tape'(TVT) ve 'Transobtrator Tape(TOT)' Etkinlikleri ve Yaşam Kalitesi Analizi" konulu çalışmanın kabulüne,

Doç. Dr. İsmail DÖLEN
iznil
Eğitim Görevlisi

Doç. Dr. Berna Dilbaz
iznil
Eğitim Görevlisi

Doç. Dr. Ömer KANDEMİR
Eğitim Görevlisi

Doç. Dr. Gökhan TULUNAY
Eğitim Görevlisi

Doç. Dr. Nihal DEMİREL
Eğitim Görevlisi

Op. Dr. Leyla MOLLAOĞLU MUTOĞLU



ÖZGEÇMİŞ

Şule KIZIL

Ragıp Tüzün Mh. Akın Cd. Cengiz Sk. 102/5 Yenimahalle/ANKARA

Ev: 0 (312) 343 2747 / Cep: 0 (554) 865 8644

sulekizil@hotmail.com

KİŞİSEL BİLGİLER

Uyruğu: T.C.

Doğum Tarihi: 11.09.1988

Doğum Yeri: Ankara

Cinsiyet: Kadın

Medeni Durum: Bekar

EĞİTİM BİLGİLERİ

2011-	Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Tıp Fakültesi Histoloji- Embriyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı
2006-2010	Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
2002-2006	Ankara Halide Edip Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)

KONGRE, SEMPOZYUM VE KURSLAR

- 21. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, 28-31 Mayıs 2013, Mersin
- GABİMAK- Gölbaşı, 24 Kasım 2012, Ankara

- XI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 16-19 Mayıs 2012, Denizli
- Mikroskopi, Görüntüleme ve Stereoloji Kursu, 14-15 Ocak 2012, Ankara
- 20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, 25-28 Ekim 2011, Antalya
- 1st International Conference/Workshop on Stem Cell Research and Applications, 7-9 Ekim 2011, Kayseri
- TÜRKKÖK I. Kök Hücre Öğrenci Sempozyumu, 23 Eylül 2011, Ankara
- II. TÜBA Kök Hücre Kursu ve VI. Kök Hücre Sempozyumu, 25-26 Haziran 2011, Ankara
- 4. Moleküler Biyoteknoloji Bahar Okulu, 2009, Ankara

GÖREV ALDIĞI PROJELER

- TESE Materyalinde Kan Testis Bariyeri Bütünlüğünün İnfertiliteye Etkisi, AÜ BAP (Proje No: 12B3330030, 2012-)
- Tekrarlayan Gebelik Kaybı Olgularında Endometriyal Reseptivitede Adezyon ve Anti-Adezyon Moleküller ile Transkripsiyon Moleküllerinin Araştırılması, AÜ BAP (Proje No: 13L3330011, 2013-)

ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN BİLDİRİLER

- TESE Materyalinde İnce-Yapı Özellikleri, Sperm Varlığı İle Apoptozis İlişkisi, 21. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, Mersin, 2013
- Yüksek Karbonhidrat Diyeti Etkisinin Sıçan Kalbi İnce-Yapı Bulguları İle Gösterilmesi, 21. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, Mersin, 2013
- Travmatik Spinal Kord Hasarı Sonrası Etanercept Uygulamasının Beyaz Madde Akson Yapısına Etkisi, 21. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, Mersin, 2013

YABANCI DİL

İngilizce