



**HİYALURONİK ASİT'İN ENDOMETRİYUM DOKUSUNDA α V β 3
İNTEGRİN VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ
EKSPRESYONUNA ETKİSİ**

Hatice ORUÇ

**Temmuz 2013
DENİZLİ**

**HİYALURONİK ASİT'İN ENDOMETRİYUM DOKUSUNDA α V β 3
İNTEGRİN VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ
EKSPRESYONUNA ETKİSİ**

**Pamukkale Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı**

Hatice ORUÇ

Danışman: Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE

**Temmuz, 2013
DENİZLİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

Hatice ORUÇ tarafından, Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE yönetiminde hazırlanan "Hyaluronic Asid'in Endometrium Dokusunda $\alpha 5\beta 3$ İntegrin ve Metalloproteinaz Ekspresyonuna Etkisi" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Recep KUTLUBAY
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE
Jüri Üyesi(Danışman)



Prof. Dr. Kenan ÇOYAN
Jüri Üyesi

Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 14.12.13 tarih ve 13/12-2 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Z. Melek BOR KÜÇÜKATAY
Müdür

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimseletiğe ve akademik kurallara özenliyet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimseletiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza :
Öğrenci Adı Soyadı : Hatice ORUÇ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda yanımda olan, manevi yönden desteğini hissettiren; tezimin planlanmasında, içeriğinin düzenlenmesinde, tez sonuçlarının yorumlanmasında, tez çalışması için ortamın sağlanmasında ve tezin her aşamasında özverilerini, bilgilerini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE'yesonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Deneyslerimin yürütülmesi esnasında, tüm laboratuvar imkânlarından faydalanmamı sağlayan ve laboratuvar çalışmalarında önerileri ile bana yol gösterici olan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Recep KUTLUBAY'a, Sayın Prof. Dr. A. Çevik TUFAN'a, Sayın Prof. Dr. Kenan ÇOYAN'a, Sayın Doç. Dr. E. Oğuzhan OĞUZ'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Erdoğan KOCAMAZ'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Nazan KESKİN'e, tezimin histolojik preparasyon aşamalarında tecrübelerinden yararlandığım Teknisyen Sayın Erdinç KARATAŞ'a, deney aşamasında her türlü imkanı sağlayan Veteriner Hekim Barbaros ŞAHİN'e, tez yazım aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen Semih TAN ve Buket ER'e ve Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda çalışan ve tezimin yapılmasında emeği geçen herkese ayrıca tez projemi destekleyen Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne teşekkür ederim.

Varlıkları ile kendimi şanslı ve güvende hissetmemi sağlayan, her türlü konuda yanımda olarak beni cesaretlendiren, hayatımdaki en önemli insanlar babam Mehmet ORUÇ, annem Pakize ORUÇ ve kardeşim Nazire GECE, Eşe ORUÇ ve Gizem ORUÇ'a; ayrıca hayatıma renk katan ve beni mutlu kılan tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

ÖZET

HİYALURONİK ASİT'İN ENDOMETRİYUM DOKUSUNDA α V β 3 İNTEGRİN VE METALLOPROTEİNAZ EKSPRESYONUNA ETKİSİ

Oruç, Hatice

Yüksek Lisans Tezi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE

Temmuz 2013,63sayfa

İmplantasyon hem endometriyumdan hem de embriyodan köken alan çeşitli faktörlerin rol aldığı kompleks bir süreçtir.

Bu çalışmada 48 adet dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar iki gruba ayrıldı her iki gruptan 6' şar sıçana çift taraflı ovariectomi yapıldı. Deney grubu sıçanlara 0,6 ml hiyaluronik asit verildi. Enjeksiyondan 24 saat sonra ovariectomi yapılmayan sıçanların menstrüel döngüleri servikal dislokasyon yapılmadan önce vajinal smear yöntemiyle belirlendi. Östrus (n=6), diöstrus (n=6) ve proöstrus (n=6) dönemlerindeki sıçanların ve overiectomi yapılan sıçanların(n=6) uterusları alındı.

Kontrol grubunda ovariectomi yapılmayan sıçanların menstrüel döngüleri vajinal smear yöntemiyle belirlendi. Östrus (n=6), diöstrus (n=6) ve proöstrus (n=6) dönemlerindeki sıçanların uterusları ve overiectomi yapılan sıçanların(n=6) uterusları servikal dislokasyon yapılarak alındı. Dokulara alışlagelmiş ışık mikroskop takip yöntemi uygulandıktan sonra parafin bloklardan kesitler alındı. Kesitlere α V, β 3 ve matriks metalloproteinazların reaksiyonun belirlenmesi amacıyla immunohistokimyasal işlem uygulandı.

Çalışmamızın en önemli bulgusu östrus, diöstrus ve ovariectomi gruplarında izlendi. Bu grupta α V ve β 3 integrin hem yüzey epitel hücrelerinde hem de bez epitel hücrelerinde negatif boyanma göstermişti. Hiyaluronik asit uygulanan deney grubunda ise her iki fazda da bez ve yüzey epitel hücrelerin pozitif göstermesi oldukça ilginçti. Boyanma östrus grubunda hem nükleer hemde sitoplazmik olurken diöstrus grubunda yalnızca sitoplazmikti. Ayrıca östrus fazında stromal hücre reaksiyonu deney ve kontrol grubunda aynı idi. Her iki grupta da stromal hücrelerde reaksiyon izlenmezken liflerde reaksiyon zayıftı.

Sonuç olarak hiyaluronik asit, α V, β 3 integrin ve matriks metalloproteinazların ekspresyonun arttırdığı saptandı.

Anahtar Kelimeler: Hiyaluronik Asit, Metalloproteinazlar, α V β 3 İntegrin

ABSTRACT**THE EFFECT OF HYALURONIC ACID ON α V β 3 INTEGRIN AND MATRIX METALLOPROTEINASE EXPRESSION IN ENDOMETRIAL TISSUE**

Oruç, Hatice

M.Sc. Thesis in Histology and Embryology Department

Supervisor: Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE

July 2013, 63pages

Implantation is a complex process which various factors from the embryo and the endometrium takes place.

In this study we use 48 female rat. The rats were divided in two groups and from each group 6 rats bilateral ovariectomized. 0,6 ml hyaluronic acid given to experimental group rats. 24 hours after injection menstrual cycles of rats which are not ovariectomized, detected by vaginal smears prior to cervical dislocation. Cervical dislocation done to eustrus (n=6), dieustrus (n=6), proeustrus (n=6) rats and ovariectomy (n=6) rats.

In control group menstrual cycles of rats which are not ovariectomized, detected by vaginal smears prior to cervical dislocation. Cervical dislocation done to eustrus (n=6), dieustrus (n=6), proeustrus (n=6) rats and ovariectomy (n=6) rats. Followed by conventional light microscopy method, the tissue sections were cut from paraffin blocks. Immunohistochemical procedures were performed in order to determine the reaction of α V, β 3 and matrix metalloproteinases to tissue sections.

The important results of our study taken from the eustrus, dieustrus and ovariectomy groups. In this groups α V and β 3 integrin showed negative staining for both surface epithelial cells and glandular epithelial cells. In the experimental group which hyaluronic acid given, in both phases glandular and surface epithelial cells shows positive staining interestingly. In eustrus group staining is both nuclear and cytoplasmic but in dieustrus group staining is only cytoplasmic. In both groups there is no reaction in stromal cells but weak reaction seen in fibers.

As a result hyaluronic acid was found to increase the expression of α V, β 3 integrin and matrix metalloproteinases.

Key Words:Hyaluronic Acid, Metalloproteinase, α V β 3 Integrin

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Özet	iii
Abstract	iv
İçindekiler	v
Şekiller Dizini	vii
Tablolar Dizini	ix
Simge ve Kısaltmalar Dizini	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve LİTERATÜR TARAMASI	3
2.1. Uterus.....	3
2.1.1. Uterusun embriyolojisi.....	3
2.1.2. Uterusun anatomisi.....	4
2.1.3. Uterusun histolojisi.....	5
2.1.3.1. Perimetriyum.....	6
2.1.3.2. Miyometriyum.....	6
2.1.3.3. Endometriyum.....	7
2.2. Sıçanlarda Östrus Siklusu.....	12
2.2.1. Östrus.....	12
2.2.2. Metöstrus.....	13
2.2.3. Diöstrus.....	13
2.2.4. Proöstrus.....	14
2.3. Matriks Metalloproteinazlar.....	14
2.4. Adezyon Molekülleri.....	16
2.5. Hiyaluronik Asit.....	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1. Hayvanlar ve Bakım Şartları.....	26
3.2. Deneysel Uygulama.....	26
3.3. Reaktif Hazırlanması.....	27
3.4. Uygulanan Teknikler.....	27
3.4.1. Doku takip yöntemi.....	27
3.4.2. İmmünohistokimyasal boyama.....	28
3.4.3. İstatistiksel Analiz.....	30
4. BULGULAR	31
4.1. Kontrol Grubu Bulguları.....	31
4.1.1. Proöstrus Fazı.....	31

4.1.2.Östrus Fazı	34
4.1.3.Diöstrus Fazı	36
4.1.4.Ovariektomi Yapılan Grup.....	39
4.2. Hiyaluronik Asit Verilen Grup	41
4.2.1. Proöstrus Fazı.....	41
4.2.2. Östrus Fazı	44
4.2.3. Diöstrus Fazı	46
4.2.4. Ovariektomi Yapılan Grup.....	49
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR	57
7. KAYNAKLAR	58
8. ÖZGEÇMİŞ.....	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Dişi üreme sisteminin iç organları	5
Şekil 2.2 Uterusun histolojik yapısı	5
Şekil 4.1 α V integrin alt biriminin proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	32
Şekil 4.2 β 3 integrin alt biriminin proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	33
Şekil 4.3 MMP-2'nin proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	33
Şekil 4.4 α V integrin alt biriminin östrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	35
Şekil 4.5 β 3 integrin alt biriminin östrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	35
Şekil 4.6 MMP-2'nin östrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	36
Şekil 4.7 α V integrin alt biriminin diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	37
Şekil 4.8 β 3 integrin alt biriminin diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	38
Şekil 4.9 MMP-2'nin diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	38
Şekil 4.10 α V integrin alt biriminin ovariektomi yapılan sıçanların endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	40
Şekil 4.11 β 3 integrin alt biriminin ovariektomi yapılan sıçanların endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	40
Şekil 4.12 MMP-2'nin ovariektomi yapılan sıçanların endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımı	41
Şekil 4.13 HA uygulanan proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki α V integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımı	42
Şekil 4.14 HA uygulanan proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki β 3 integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımı	43
Şekil 4.15 HA uygulanan proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki MMP-2'nin yerleşimi ve dağılımı	43
Şekil 4.16 HA uygulanan östrus dönemi endometriyum dokusunda ki α V integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımı	45
Şekil 4.17 HA uygulanan östrus dönemi endometriyum dokusunda ki β 3 integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımı	45

Şekil 4.18 HA uygulanan östrus dönemi endometriyum dokusunda ki MMP-2'nin yerleşimi ve dağılımı.....	46
Şekil 4.19 HA uygulanan diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki αV integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımı.....	47
Şekil 4.20 HA uygulanan diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki $\beta 3$ integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımı.....	48
Şekil 4.21 HA uygulanan diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki MMP-2'nin yerleşimi ve dağılımı.....	48
Şekil 4.22 HA uygulanan ovariektomi yapılmış sıçanların endometriyum dokusunda ki αV integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımı	50
Şekil 4.23 HA uygulanan ovariektomi yapılmış sıçanların endometriyum dokusunda ki $\beta 3$ integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımı	50
Şekil 4.24 HA uygulanan ovariektomi yapılmış sıçanların endometriyum dokusunda ki MMP-2'nin yerleşimi ve dağılımı.....	51

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1 Menstrual siklus sırasında endometriyumda integrin altünitelerinin dağılımı ...	20
Tablo 4.1 Kontrol Grubu Proöstrus Dönemi Endometriyumunda α V, β 3 ve Matriks Metalloproteinaz İfadesi.....	32
Tablo 4.2 Kontrol Grubu Östrus Dönemi Endometriyumunda α V, β 3 ve Matriks Metalloproteinaz İfadesi.....	34
Tablo 4.3 Kontrol Grubu Diöstrus Dönemi Endometriyumunda α V, β 3 ve Matriks Metalloproteinaz İfadesi.....	37
Tablo 4.4 Ovariectomi Yapılan Sıçanların Endometriyumundaki α V, β 3 ve Matriks Metalloproteinaz İfadesi.....	39
Tablo 4.5 HA uygulanan Proöstrus Dönemi Endometriyumunda α V, β 3 ve matriks metalloproteinaz İfadesi	42
Tablo 4.6 HA Uygulanan Östrus Dönemi Endometriyumunda α V, β 3 ve Matriks Metalloproteinaz İfadesi.....	44
Tablo 4.7 HA Uygulanan Diöstrus Dönemi Endometriyumunda α V, β 3 ve Matriks Metalloproteinaz İfadesi.....	47
Tablo 4.8 Ovariectomi Yapılan ve HA Uygulanan Sıçanların Endometriyumundaki α V, β 3 ve Matriks Metalloproteinaz İfadesi	49
Tablo 4.9 İstatistiksel analiz sonuçları	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

COCs	Kumulus-oosit Kompleksleri
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ECM	Ekstrasellüler matriks
FSH	Folikül Stimüle Eden Hormon
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GAG	Glukozaminoglikan
HA	Hyaluronik Asit
HRP-SA	Horseradish Peroksidaz Konjugatı Streptavidin
ICSI	İntra- sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IkBα	İnhibitör Kappa B LH
Luteinizan Hormonu	MMP
Matriks Metalloproteinaz	NFκB
Nükleer Faktör Kappa B	
NIK	Nükleer Faktör İndükleyici Kinaz
PBS	Phosphate Buffered Saline
RGD	Arjinin- Glisin- Aspartik asid
TIMP	Matriks Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörü

1.GİRİŞ

Hücre adezyon molekülleri, hemen hemen tüm hücrelerin yüzeyinde eksprese olan glikoprotein yapıda moleküllerdir. Bu moleküller; reseptör protein tirozin fosfatazlar, Ig süperaillesi, kadherinler, integrinler, hiyalurinat reseptörleri ve selektinler olmak üzere 6 gruba ayrılırlar (Ergürel vd 2002).

İntegrinler, tüm insan hücrelerinde bulunan, hücre-hücre ve hücre-ekstrasellüler matriks ilişkilerine katılan adhezyon molekül sınıfıdır (Özcan 2010). İntegrinler, heterodimer transmembran proteinlerdir ve aktif ya da inaktif halde birbirine kovalent olmayan bağlarla bağlı alfa (α) ve beta (β) subünitleri vardır. İntegrin ailesi en az 14 α subünit 8 veya daha fazla β subünitinden oluşmaktadır (Ergürel vd 2002).

α V β 3, menstürel siklusun 19. günü endometrial epitelde belirlemektedir. Bu ekspresyonun başlangıcı varsayılan açık implantasyon penceresine denk gelmektedir, bu da bu integrinin implantasyonda önemli rol oynadığı sonucunu göstermektedir (Atabekoğlu vd 2002).

Hiyaluronik asit (HA), tekrarlayan disakkarit birimlerinden oluşan bir polimerdir ve sentezi aynı zamanda glukozamine bağlıdır. HA, hyaluronat veya hyaluronan olarak da bilinir. HA, deri, kıkırdak, umbilikal kord, vitröz humör ve sinovyal sıvı gibi dokuların ekstrasellüler matriksinde bulunmaktadır (Şimşek 2004). HA'nın sentezi plazma membranında meydana gelir. Yapılan çalışmalarda, HA zincir uzamasının ekstrasellüler olduğu ve HA'nın diğer glikozaminoglikanlar gibi golgi organında sentezlenmediği gösterilmiştir. Hiyaloaderinler olarak adlandırılan HA bağlı proteinlerin geniş bir yelpazesi tanımlanmıştır. Bunlar iki ana gruba ayrılmıştır. Ekstrasellüler matriks (ECM) içinde HA ile etkileşime giren proteinler hücrelerin plazma membranlarında bulunan ve HA reseptörleri olarak adlandırılan HA'ya bağlı proteinlerdir. HA reseptörleri hücre davranışında HA'nın direk etkisinde aracılık etmede anahtar rol oynar (Akkuş 2005).

İntegrinler hücre matriksine ve embriyolojik gelişim dahil birçok fizyolojik olaya katılırlar. Mid-luteal fazda integrin ekspresyonundaki artışimplantasyon penceresini gösterir (Lessey 2000). $\alpha V\beta 3$ integrin ve ligandı osteopontin, trofoblastın ilk temas ettiği endometrial yüzey epitelde saptanmıştır. (Apparao vd 2001) İmplantasyon embriyonun endometriyum içine girmesi ve ilerlemesiyle gerçekleşir. Embriyo ve endometriyum ilişkisinde ve implantasyonda pek çok molekül ve sitokinler rol oynamaktadır. Günümüzde $\alpha V\beta 3$ integrinleri implantasyon için işlevsel belirteç olarak kabul edilmekte ve $\alpha V\beta 3$ yetersiz sentezi sonucunda; düşükler ve implantasyonda başarısızlık görülür (Ergürel vd 2002, Tei vd 2003).

Sıçan endometriyum epitelyum hücrelerinde endometrial reseptivitenin bir belirteci olarak $\alpha V\beta 3$ ekspresyonu ve bu molekülün bu türlerde implantasyon sürecinde kaçınılmaz olduğu immünohistokimyasal, immünohistokimyasal ve flow-sitometrik çalışmalarla gösterilmiştir (Srinivasan vd 2009) .

İmplantasyon için bu kadar önemli olan $\alpha V\beta 3$ integrin kanser hücrelerinde en önemli adezyon molekülüdür. Tümör hücreleriyle yapılan çalışmalarda HA'nın $\alpha V\beta 3$ integrin sinyal yolağını uyardığı ve bu uyarım sonucunda matriks metalloproteinazların aktive olduğu ve ECM'yi bozarak tümörün yayılmasına neden olduğu bildirilmektedir (Prakash vd 2011).

Matriks metalloproteinazlar çinko bağımlı endopeptidaz sınıfında olup ECM bileşenlerini sindirebilme böylece hücre göçünü artırabilme özelliğine sahip moleküllerdir(Beaudoux vd 2004).

Bu çalışma hiyaluronik asitin tümör hücrelerinin yayılımını artırması özelliği temel alınarak planlandı. Amacımız tümör hücrelerinde $\alpha V\beta 3$ integrin yolağını kullanarak hücre göçünü artıran HA'nın embriyonun endometriyum implantasyonunda ve ilerlemesinde rol alıp almadığını ve bu rolde integrin yolağını kullanıp kullanmadığını araştırmaktır. Bu nedenle HA uygulamasının menstrüel siklus süresince αV , $\beta 3$ integrin ekspresyonuna ve hücre göçünde rol oynayan matriks metalloproteinaz ekspresyonuna etkisi araştırılmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI

2.1. Uterus

2.1.1. Uterusun embriyolojisi

Embriyolojik olarak genital sistem mezoderm kökenlidir. Dişi ve erkek embriyonlarda iki çift mezonefrik (Wollfian) ve paramezonefrik (Müllerian) kanallar bulunmaktadır. Bunlar gelişimin 5. ve 6. haftalarında genital sistemin farklanmamış evresinde her iki cinste de izlenirler. Mezonefrik kanallar erkek üreme sisteminin gelişiminde önemli iken, paramezonefrik kanallar dişi üreme sisteminde önem taşımaktadır. Testesteron hormonu dişi embriyolarda olmadığından mezonefrik kanallar geriler. Sertoli hücrelerince salgılanan Müller baskılayıcı madde yokluğundan paramezonefrik kanal gelişir.

Dişilerde esas genital kanallar paramezonefrik kanallardan oluşur. Paramezonefrik kanal gonadların ve mezonefrik kanalların lateralinde ürogenital kabarıklığın ön-yan yüzeyinde kölom epitelinin uzunlamasına bir girintisi halinde belirir. Kanalın kranial uçları huni şeklinde kölom boşluğuna açılır.

Paramezonefrik kanalda başlangıçta üç kısım tanımlanabilir.

- Kölom boşluğuna açılan kranial vertikal parça
- Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal parça
- Karşı taraftan gelen eşiyile birlesen kaudal vertikal parça (Turhan 2007).

Ovaryumların inmesiyle paramezonefrik kanalların ilk iki bölümünden tuba uterinalar gelişir. Kaudal bölümler de uterusu oluşturmak üzere kaynaşırlar. Başlangıçta birleşen bu kanallardan oluşan dikey septum daha sonra dejenere olarak ortadan kalkar. Paramezonefrik kanalın ikinci bölümü mediakaudal yönde hareket ettiğinde, ürogenital şişkinlikler giderek daha transvers bir düzleme gelmeye başlar. Kanallar orta hatta birleştikten sonra, geniş bir transvers pelvik katlantı oluşur. Kaynaşmış haldeki paramezonefrik kanalların lateralinden pelvis duvarına kadar uzanan bu katlantıya ligamentum latum uteri denir. Bu ligamentin üst sınırında tuba uterinalar, arka yüzünde de ovaryumlar yer alır. Uterovaginal taslaktan uterusun fundus, korpus, isthmus ve endometriyum epiteli ile bezleri gelişir. Endometriyum stroması ve miyometriyum komşu splanknik mezodermden köken alır (Sözen 2008).

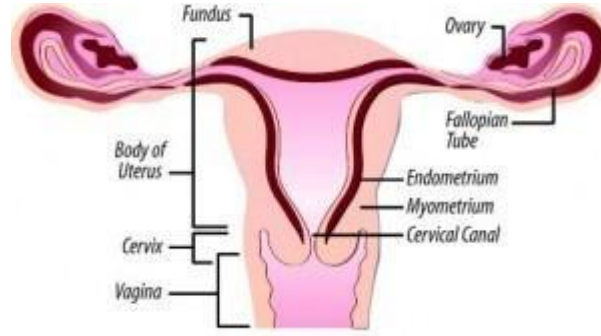
2.1.2.Uterusun anatomisi

Uterus, pelviste mesane ile rektum arasında, vajinanın üst kısmında bulunur (Sözen 2008). Uterus, kalın müküler bir duvara sahip, lümeni müköz membranla örtülü armut şeklinde bir organdır (Ovalle ve Nahirney 2009).

Uterus anatomik olarak 3 bölümdür;

- Gövde (korpus uteri)
- Fundus (fundus uteri)
- Boyun (serviks uteri) (Sözen 2008).

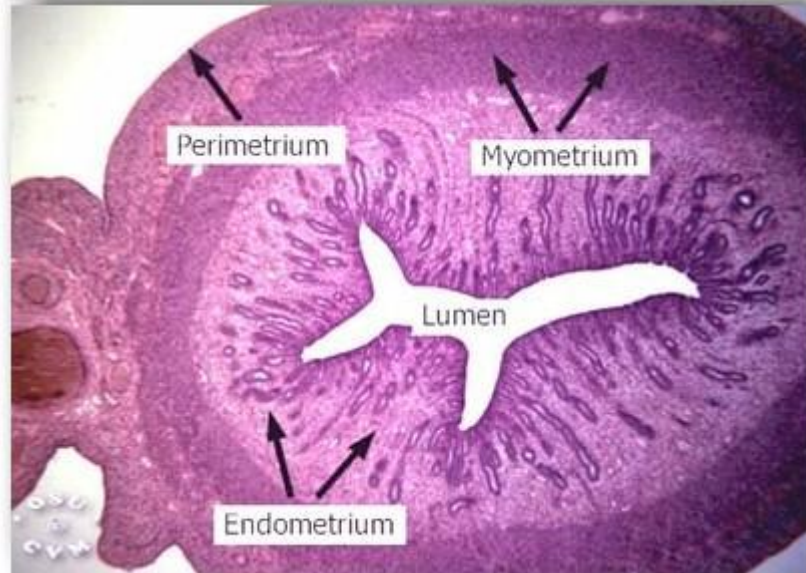
Organın geniş üst bölümü gövde veya korpus bölümüdür (Ovalle ve Nahirney 2009). Tuba uterinaların uterusu bağlandıkları yerlerin üstünde kalan kısım ise fundus olarak adlandırılır (Sözen 2008). Korpusun altındaki, uterusun daha dar ve son bölümü servikstir. Serviks vajinaya doğru çıkıntı yapar ve vajinaya açılır (Eroschenko 2008). Korpus ve fundus histolojik olarak hemen hemen aynıdır, ancak serviks bazı yapısal farklılıklar gösterir (Ovalle ve Nahirney 2009).



Şekil 2.1 Dişi üreme sisteminin iç organları (<http://www.saglik.ca/uterus/>)

2.1.3. Uterusun histolojisi

Uterus duvarı histolojik olarak 3 tabakadan oluşur (Karaöz 2002). Dışta uterusun farklı bölümlerine göre ya adventisya (bağ dokusu) ya da seroza (bağ dokusu ve mezotelyum) yer alır. Diğer uterus katmanları ise kalın bir düz kas tabakası olan miyometriyum ile içte epitel, uterus bezleri ve lamina propriyadan oluşan endometriyumdur (Eroschenko 2008, Junqueira ve Carneiro 2009).



Şekil 2.2 Uterusun histolojik yapısı (<http://legacy.owensboro.kctcs.edu/gcapan/anat2/histology/histo%20c%20fe%20male%20reproductive.htm>)

2.1.3.1.Perimetriyum

En dışta bulunan perimetriyum bağ dokusu yapısındadır. Bazı alanlarda serozayı oluşturmak üzere peritoneal mezotel ile örtülüdür (Ovalle ve Nahirney 2009).

2.1.3.2.Miyometriyum

Miyometriyum bağ dokusu ile birbirinden ayrılmış düz kas demetlerinden oluşan uterusun en kalın tabakasıdır (Junqueira ve Carneiro 2009).

Uterusun işleviyle ilişkili olarak düz kaslar sınırları tam ayırt edilemeyen 3 tabaka şeklinde düzenlenmiştir (Ovalle ve Nahirney 2009). Mukozanın altında bulunan iç tabaka ve dış tabaka uzunlamasına uzanan düz kaslardan oluşur (Sözen 2008). Miyometriyumun orta tabakasında ise kaslar sirküler seyirlidir ve bu tabaka çok sayıda kan damarı ve lenf damarı içerir (Ross vd 1995). Bu tabakaya çok sayıda kan damarı bulunduğu için stratum vaskulare de denir (Gartner ve Hiatt 2009). Miyometriyum korpus ve fundusun orta bölümlerinde daha kalın, tuba uterinaların açıldığı yerde ise daha incedir (Sözen 2008).

Miyometriyum genellikle düzenli ve farkına varılmayan aralıklı kontraksiyonlar yapar. Kontraksiyonlar cinsel stimulasyonda ya da menstruasyon sırasında artabilir. Gebelik döneminde kontraksiyonlar gebelik korpus luteumundan salgılanan relaksin nedeniyle azalır. Doğumda ise anne nörohipofizinden oksitosin ve fetal membranlardan prostaglandinlerin aşırı miktarda salınmasıyla kuvvetli kontraksiyonlar oluşur ve fetal dışarı atılır (Şeftalioğlu 1998).

Gebelik sırasında, miyometriyum hem düz kas hücrelerinin sayısında artış (hiperplazi) hem de hücrenin boyutlarının artması (hipertrofi) sonucu büyür. Gebelik sırasında pek çok düz kas hücresi aktif olarak kolajen sentezler. Böylece uterusun kolajen içeriği artar (Junqueira ve Carneiro 2009). Kollojen miyometriyumu hamilelik güçlendirme fonksiyonuna sahiptir (Ross vd 1995).

Gebelik sonrasında, bazı düz kas hücrelerinde bozulmalar görülür. Bazılarının boyutları azalır ve kolajen enzim etkisiyle yıkılır. Böylece uterus gebelik öncesindeki boyutlara ulaşır (Junqueira ve Carneiro 2009).

2.1.3.3.Endometriyum

Uterusun en iç tabakası olan endometriyum geç blastosist dönemindeki zigotun gömülmesi için ortam hazırlar ve plasentanın anneye ait olan kısmını oluşturur (Şeftalioğlu 1998). Endometriyum, tek katlı silyalı salgılayıcı silindirik epitel ile basit tübüler bezler içeren lamina propiadan oluşur (Junqueira ve Carneiro 2009, Ovalle ve Nahirney 2009). Bezler bazen miyometriyuma yakın alt bölümlerde dallanmalar yapar (Junqueira ve Carneiro 2009). Uterus bezlerinin hücreleri yüzey epiteline benzemesine karşın bezlerde silyalı hücreler daha azdır. Genelde tek katlı prizmatik salgı yapan hücrelerden oluşur.

Lamina propria yoğun, düzensiz kollojen lifler içeren gevşek bağ dokusudur (Sözen 2008). Bağ dokusu fibroblastlarca zengindir ve çoğunlukla tip III kollojenden oluşmuştur (Junqueira ve Carneiro 2009).

Endometriyum iki katmandan oluşmuştur. Endometriyumun 2/3 yüzeysel bölgesi bezlerinin boyun gövde kısımları ile yüzey epitelini içerir. Bu katmana endometriyum fonksiyonalis denir (Turhan 2007, Junqueira ve Carneiro 2009). Bu katman menstrüasyon sırasında dökülür (Turhan 2007). Fonksiyonel tabakanın kalınlığı ve yapısı menstrüel siklusun evrelerine göre değişiklik gösterir (Gartner ve Hiatt 2009). Fonksiyonel tabaka bezlerinde epitel kökenli dört tip hücre bulunur. Bunlar; proliferatif hücreler, silyalı hücreler, salgı hücreleri ve bazal hücrelerdir. Endometriyumun 1/3 derin kısmını oluşturan, uterus bezlerinin son kısımlarını içeren, miyometriyuma komşu olan bölgeye endometriyum bazalis denir. Bu katman menstrüasyon sırasında yapısal değişikliğe uğramaz ve fonksiyonel katmanın yenilenmesi için kaynak oluşturur.

Proliferatif ve bazal tip hücrelerin çekirdek kromatinleri yoğundur, belirsiz bir çekirdekçik içerir ve sitoplazmaları bazofiliktir. Proliferasyon evresinde hücre sayısı

artar ve çekirdek sayısının çokluğu bez epiteline yalancı çok katlı epitel görünümü verir (Sözen 2008).

Salgı yapan hücrelerinin sitoplazmaları müsinoz olmayan bir salgı kapsar. Salgı önce çekirdek altı sitoplazmada birikir (Turhan 2007).

Silyalı hücreler proliferasyon evresinde daha belirgindir. Sitoplazmaları şeffaf açık renklidir. Sekresyon evresinde ince yapı düzeyinde dev mitokondriyonlar ve çekirdeklerinde kanal sistemi tanımlanmıştır (Sözen 2008).

Fonksiyonalis katmanı gebelik ve sekresyon evresinde iki katmandan oluşur. 2/3 üst bölümü bezlerin daralıp kapanmış olan boyun bölgelerini içerir ve kompakt tabaka adını alırken alt bölümü ise süngerimsi yapıdadır ve spongiöz tabaka adını alır (Turhan 2007).

Endometriyumu besleyen kan damarları bu tabakanın büyük bölümünün periyodik olarak dökülmesinde önemlidir (Junqueira ve Carneiro 2009). İki tabakanın kanlanması iki ayrı kaynaktan olur. Uterus arteri, uterusu çepeçevre kuşatan arkuat artere dallanır (Ovalle ve Nahirney 2009). Arkuat arterler, miyometriyumda dairesel olarak yerleşmişlerdir. Arkuat arterlerden endometriyuma doğrusal ışımsal dallar çıkar (Turhan 2007). Bu ışımsal (radial) arterler endometriyuma kan sağlayan düz ve spiral arterleri oluşturur (Turhan 2007, Eroschenko 2008). Düz arterler kısadır ve endometriyum bazalis tabakasını besler. Spiral arterler ise uzun ve kıvrıntılıdır ve endometriyum fonksiyonalis tabakasını kanlandırır. Düz arterlerin aksine spiral arterler menstrüel siklus boyunca değişen hormon düzeylerine (östrojen ve progesteron) oldukça duyarlıdır. (Eroschenko 2008) Spiral arterler, fonksiyonalis katmanının daha üst kısımlarında incelenerek arteriol ve kapillere dönüşür. Kapiller ağı yüzey epitelinin hemen altındadır (Sözen 2008). Arterioller kapiller ağı ve ince duvarlı geniş lakunaları besler. Ayrıca endometriyumda venüller ağı ve sinüsoidal genişlemeler yapan venöz sistemde bulunur (Şeftalioğlu 1998).

Endometriyumda lenfatik damarlar genellikle bazal katmanda bulunur. Miyometriyumun lenf damarları ise serozoya gidildikçe artar. Serozanın altında özellikle arka duvarında lenfatik bir pleksus yaparlar.

Yeni doğanda endometriyum genellikle proliferasyon evresindeki görünümündedir. Doğumdan sonraki iki haftada endometriyum gerileme gösterir, incilir ve aktif olmayan bezler içerir.

Puberte de endometriyum epiteli önce tek katlı, alçak kübiktir ve ince bir stromayla desteklenir. Stromaya doğru çökmüş az sayıda tübüler bezler içerir. Doğurganlık evresinde damarlar, epitel hücreleri ve stomal hücreler çoğalır. Menarş ve menapoz arasında ise endometriyum epiteli tek katlı prizmatik epitelden ve lamina propriyadan oluşmaktadır. Menapozda endometriyum ve miyometriyum atrofiye uğrar ve endometriyum bezleri büyük oranda kaybolur (Turhan 2007).

Hipotalamusta bulunan nörosekretuar hücreler, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sentezler. Bu hormon hipofiz bezinin ön lobunu uyararak iki hormonun salınmasını uyarır; bu hormonlar ovaryum folikülünün gelişimini ve folikül hücrelerinden östrojen salınımını uyaran folikül stimule eden hormon (FSH) ve ovulasyonu tetikleyen, folikül hücreleri ve korpus luteumu uyararak progesteron üretimine neden olan luteinizan hormon (LH)'dır (Moore ve Persuad 2002).

Östrojen ve progesteron dişi üreme sistemi organlarını kontrol eder. Bu hormonların etkisiyle epitel hücrelerinin ve bağ dokusunun çoğalması ve farklılaşması gerçekleşir. Doğumdan önce anne kanında bulunan ve plasenta yoluyla fetüse ulaşan östrojen ve progesterondan dişi üreme sistemi organları etkilenir. Menapozdan sonra bu hormonların sentezindeki azalmayla üreme organlarında genel bir gerileme olur. Ayrıca östrojen ve progesteron hormonlarının etkisiyle endometriyumda yapısal değişimler olur (Junqueira ve Carneiro 2009). Buna menstrüel döngü denir (Turhan 2007). Menstrüel döngü ortalama 28 gündür (Junqueira ve Carneiro 2009). Bu döngü 12-15 yaşlarında başlar ve menapoza kadar sürer. Menstrüel döngü 3 evreden oluşmaktadır (Turhan 2007).

Proliferasyon (çoğalma) evresi foliküler yada östrojenik evre olarak da bilinir (Junqueira ve Carneiro 2009). Kanamadan sonra ki yaklaşık 4 -14 günler arasındaki yapısal değişimleri içerir (Sözen 2008). Ovaryum foliküllerinin gelişip teka internalarından östrojen salgılamasıyla eş zamanlıdır (Junqueira ve Carneiro 2009). Proliferasyon evresi başladığında menstruasyon bitmiş ve endometriyum fonksiyonalsi tamamen dökülmüştür. Geride yalnızca yaklaşık 1 mm kalınlığındaki bazal tabaka kalmıştır. Bu evrede foliküllerin salgıladıkları östrojen hormonunun etkisiyle dökülen endometriyum fonksiyonalsi yapım aşamasındadır (Şeftalioğlu 1998). Bazal tabakadaki bezlerin silindirik epitel hücreleri mitoz ile çoğalırlar ve yüzeye doğru uzanan yeni endometriyum fonksiyonalsi bezlerini ve dökülen yüzey epitel hücrelerini oluştururlar (Şeftalioğlu 1998, Ovalle ve Nahirney 2009). Stromadaki bağ dokusu hücreleri de çoğalır ve lamina propriya yeniden yapılırlar (Ovalle ve Nahirney 2009). Bezler başlangıçta basit ve düz durumdadır ancak glikojen birikimi başlamıştır (Sözen 2008, Ovalle ve Nahirney 2009). Bezlerle eş zamanlı olarak spiral arterlerde bazal tabakadan fonksiyonel tabakaya doğru büyüyerek ilerler (Ovalle ve Nahirney 2009). Geç foliküler fazda bezlerin lümenleri genişler ve kıvrımlı bir görünüm alır (Şeftalioğlu 1998, Ovalle ve Nahirney 2009). Epitel boyu yükselerek çekirdeklerin farklı seviyelerde lokalize olduğu daha yüksek silindirik hale gelir (Ovalle ve Nahirney 2009). 14. günde endometriyum tümüyle yenilenmiştir (Sözen 2008). Proliferasyon evresi sonunda endometriyum kalınlığı 2-3 mm'ye ulaşır (Junqueira ve Carneiro 2009). Sekresyon evresi luteal evre olarak da bilinir ve menstrüel döngüsünün 14-27. günleri arasında olaylanır. Bu evrede, ovaryumda, ovulasyon olmuş ve LH stimülasyonu ile korpus luteum oluşmuştur. Korpus luteum, progesteron ve az miktarda östrojen hormonu salgılar (Şeftalioğlu 1998). Progesteron, östrojenin etkisiyle gelişmiş bezleri daha da uyarır (Junqueira ve Carneiro 2009). Bezler uzar ve son derece kıvrımlı bir hal alır (Şeftalioğlu 1998). Bez epitel hücreleri çekirdeğin altında glikojen depolar (Junqueira ve Carneiro 2009). Daha sonra yüksek oranda glikojen ve glikoprotein içeren yoğun ve mukoid karakterdeki salgı ürünleri bezlerin lümenine verilir (Ovalle ve Nahirney 2009). Spiral arterler endometriyum yüzeyine kadar gelişip uzarlar (Şeftalioğlu 1998). Bu evrede endometriyum, salgıların birikmesi ve stromadaki ödeme bağlı olarak en kalın (5mm) durumuna ulaşır (Junqueira ve Carneiro 2009).

Sekresyon evresi sonunda oluşan değişimler sonucunda endometriyumda 3 tabaka dikkati çeker;

- Yüzeyel kompakt tabaka: Bezlerin boyun kısımlarını içerir ve çok az ödemli görünümündedir.
- Kalın spongiyöz tabaka: Bezlerin kıvrıntılı kısımlarını içerir ve çok ödemli görünümündedir.
- Derin bazal tabaka: Bezlerin kök kısımlarını ve spinal arterlerin alt parçalarını içerir(Şeftalioğlu 1998).

Eğer fertilizasyon olmazsa; korpus luteum dejenere olur ve östrojen ve progesteron düzeyleri düşmeye başlar. Endometriyum iskemik faza girer ve menstrüasyon gerçekleşir (Moore ve Persuad 2002).

Ovulasyondan sonra dölleme gerçekleşirse stromal hücreler lipid ve glikojen depolayan desidua hücrelere dönüşür (Ovalle ve Nahirney 2009). Bu yapı blastosistin gömülmesi ve gelişmesi için en uygun ortamdır ve endometriyum gebelik safhasına girer (Şeftalioğlu 1998). Progesteron miyometriyumun düz kas hücrelerinin kasılmasını baskılayarak implantasyonu sağlar.

Menstrüasyon evresi, döngünün 1-4 günleri arasındaki evredir (Turhan 2007). Korpus luteumun dejenere olması ile salgılanan hormon seviyelerinin düşmesi damarlarda kasılmaya neden olur. Ayrıca hormon seviyesinin azalmasına bağlı olarak bezlerin salgısı durur. İntertisiyel sıvı azalır ve endometriyum küçülür (Moore ve Persuad 2002). Bu damarlardaki daralma fonksiyonel tabakayı oksijenli kandan yoksun bırakır ve iskemiye neden olur (Eroschenko 2008). İskemi olayından sonra fonksiyonel tabaka nekroz gösterir (Şeftalioğlu 1998). Hemen ardından spiral arterler yeniden genişlemeye başlar(Sözen 2008). Kan yeniden damarlara akınca iskemik evrede yıpranmış spiral arterler yırtılır(Şeftalioğlu 1998). Kan endometriyuma yayılır. Nekrotik fonksiyonel tabaka bez salgı enzimlerinin de etkisiyle parçalanır ve kanla karışık uterus lümenine dökülmeye başlar. Dökülme bazal tabaka kalıncaya

kadar devam eder. Menstürasyon evresi öncesi ve süresince bazalis tabakası düz arterlerden beslenmeyi sürdürür (Turhan 2007). Bu tabakadaki bezlerin bazal hücreleri çoğalır ve yeni oluşan hücreler yüzeye doğru göç ederler(Sözen 2008). Ayrıca bu tabakadaki damar endoteli ve stroma hücreleri çoğalır. Stromadaki hücrelerden kollojen lifler ve ara madde salgılanır. Bu evreye yenilenme evresi denir ve yeni döngünün proliferasyon evresi başlar(Turhan 2007).

2.2. Sıçanlarda Östrus Siklusu

Sıçanlarda östrus siklusu 14 günde bir 4-5 gün sürmektedir. Östrus siklusu laboratuvar kolonilerinde mevsimden bağımsız olarak yıl boyu sürmektedir (Sözen 2008, Mülazımoğlu vd 2012). Siklusun kısa süreli olması nedeniyle ovaryumlarda çeşitli evrelerdeki foliküller ve geçmiş östrus sikluslarına ait korpus luteumlar birlikte görülür (ayrıntılı bilgiyewww.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt adresinden ulaşılabilir).

Ratlarda, insanlardakine benzer olarak, genital siklus çeşitli hormonlar ile kontrol edilir. Östrus siklusu, proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olmak üzere başlıca 4 fazdan oluşur. Proöstrus fazı 12 saat, östrus fazı 12-24 saat, metöstrus fazı 6-8 saat, diöstrus fazı ise 52-60 saat sürer (Sapmaz Metin 2008).

Sıçanlarda östrus siklusu ile ilişkili hormonal, sitolojik ve davranışsal değişiklikler iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Teknik açıdan kolay olması ve net biyolojik sonuçlar vermesi nedeniyle vajinal sürüntülerin mikroskopik incelemesi pek çok memeli türünde östrus fazını belirlemek ve üreme fonksiyonu üzerine etkileri değerlendirmek için yararlanılan bir metottur (ayrıntılı bilgiyewww.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt adresinden ulaşılabilir).

2.2.1. Östrus

Bu evre bireyin kızgınlık evresidir. Dişi birey, erkek bireyin çiftleşmesine ancak bu evrede müsaade eder. Uteruslar büyürler ve lümenlerine sıvı dolması nedeniyle

şişerler. (ayrıntılı bilgiyewww.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt adresinden ulaşılabilir) LH en düşük düzeydedir. Progesteron düzeyinde artma olur. FSH en yüksek değerine ulaşır (Sözen 2008). FSH etkisi ile 12 veya daha fazla sayıda folikül ani olarak büyür. Böylelikle östrus evresinde östrojen salgısı artar (ayrıntılı bilgiyewww.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt adresinden ulaşılabilir). Östradiol düzeyi düşmeyi sürdürür ve bu evrenin sonlarına doğru en alt düzeydedir. Östrusun sonuna doğru ovulasyon gerçekleşir (Sözen 2008). Östrus dönemindeki vajinal yayma büyük kornifiye hücrelerin varlığı ile karakterizedir (Yılmaz Dilsiz 2008). Lökositlerde artış olur (Sözen 2008).

2.2.2. Metöstrus

Hemen ovulasyondan sonra başlar. Bu evrede kopulasyona dışı birey tarafından izin verilmez. Uterus dokusundaki kan damarları küçülmüş, kaslardaki kasılmalar azalmıştır. Ovaryumda yumurtası atılan folüküllerden oluşan korpus luteumlar ve küçük foliküller vardır (ayrıntılı bilgiyewww.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt adresinden ulaşılabilir). Korpus luteumdan salgılanan progesteron metöstrus süresince yüksektir (Mülazımoğlu vd 2012). Genellikle vaginal yaymada çok sayıda nötrofil ve dağınık yassı epitel hücreleri izlenir (Baka vd 2010).

2.2.3. Diöstrus

Uteruslar iyiden iyiye küçülmüşlerdir ve kasların kasılması azdır (ayrıntılı bilgiyewww.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt adresinden ulaşılabilir). Ovaryumdaki korpus luteumlar gerilemeye başlar. Buna bağlı olarak progesteron seviyesi azalır (Mülazımoğlu vd 2012). Diöstrus evresinde; LH ve FSH düzeyleri düşüktür. Bu evrede östradiol düzeyinde de azalma sürer, proöstrus dönemine doğru en düşük düzeye ulaşır (Sözen 2008). Diöstrus 57 saate kadar uzar ve belirgin nötrofillerin varlığının yanı sıra bir miktar kornifiye olmamış epitelyal hücreler vardır (Baka vd 2010).

2.2.4.Proöstrus

Ovaryumlardaki korpus luteumlar tamamen fonksiyonlarını yitirmişlerdir. Uterus lümeninde sıvı birikimi olur ve uterus kasları kasılmaya başlar. Gebelik meydana geldiğinde, östrus siklusu, gebelik periyodu ile kesintiye uğrar. Sığıçanda gebelik 20-22 gün sürer. Gebeliğin sonrası süt verme periyodudur. Yeni östrus siklusu, süt verme periyodundan sonra başlar (ayrıntılı bilgiyewww.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt adresinden ulaşılabilir). Proöstrus evresinde LH ve östrodiol en üst düzeye ulaşır. Östrodiol, evrenin başlangıcında en düşük düzeydeyken, evrenin ortalarına doğru en yüksektir. Östrus evresine geçerken östrodiol düzeylerinde hafif bir azalma olur. FSH'da da yavaş bir artış görülür. Proöstrus 3-12 saat sürer ve belirgin olarak çekirdekli kornifiye olmamış epitelyal hücre hakimiyeti vardır (Baka vd 2010).

2.3.Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinaz (MMP)'lar matriks döngüsünü (yıkım, yapım ve hücre göçü aşamaları) düzenleyen, çinko bağımlı, normal pH'sı olan, endopeptidaz özellikte, proteolitik enzim grubudur. İmmunohistokimya ile MMP'lerin lokal dağılımları bilinse de aktif ve latent formlarını zimografi tekniği gibi özel teknikler olmadan saptamak mümkün değildir. MMP'ler dokuların rejenerasyonu, morfogenezi, yara iyileşmesi ve histogenez gibi fizyolojik süreçlerde önemli rol oynadıkları bilinmektedir(Engin vd 2001, Beceriklisoy 2007).

MMP'lerin spesifik doku inhibitör (TIMP)'lerince in vivo koşullarda inhibisyonu sağlanmaktadır. TIMP ve MMP arasındaki oran çeşitli patolojik durumlarla neden sonuç ilişkisi içersindedir yani bazı patolojilerde TIMP/MMP oranı değişebilirken, bu oranın değişimi de yeni patolojiler doğurabilmektedir (Beceriklisoy 2007). TIMP'ler ve MMP'lerdeki artış, yavru gelişimi için de gereklidir. TIMP-1'in fötal trofoblastın yayılmasına set çekerek metastaz sırasında organ gelişimine engel olduğu düşünülmektedir.

MMP'ler, ECM sentez, dejenerasyon ve rejenerasyon süreçlerinde öneme sahiptir. Proenzim olarak osteoblastlar, kondrositler, endotel hücreleri gibi çeşitli bağ doku hücrelerinden salınırlar. Dokulardaki fizyolojik süreçlere etkilerinin yanı sıra artrit, tümör invazyonu ve metastaz gibi onkojenik durumlarda da rol almaktadır. İnsan endometriumunda MMP'ye özgül ekspresyon yolları bulunmaktadır. Endometriyum stromasında MMP-1 ve MMP-3 güçlü, MMP-2 ve MMP-9 zayıf eksprese edilirken, epitelinde MMP-7' nin güçlü bir şekilde eksprese edildiği görülmüştür (Engin vd 2001). MMP-2 ve MMP-9 ekspersyonu endometriyum kanseri derece ve derinliği ile orantılı olarak artmaktadır.

MMP'ler implantasyon ve desidua oluşumunun sinyalcisidir. MMP'ler ECM'i degrede etmesi yoluyla uterus stromasının yıkımını engelleyerek implantasyonun gerçekleşmesine olanak sağlamaktadır.

Yapı ve fonksiyonlarına göre beş grup MMP bulunmaktadır;

1. Kollejenazlar: MMP-1, MMP-8 (Nötrofil kollejenaz), MMP-13 (kollajenaz 3), MMP-18
2. Jelatinazlar: MMP-2(Jelatinöz A) ,MMP-9 (Jelatinöz B)
3. Stromelisinler: MMP-3 (stromelisin 1, transin),MMP-7, MMP-10 (stromelisin 2), MMP-11(stromelisin 3), MMP-12
4. Membran tip metalloproteinazlar: MT-MMP-14, -15, -16, -17
5. Diğer MMP ve TIMP' ler

Alexander ve ark., 1996' da yaptığı çalışmada, gebe farelerde MMP-2' nin uterusu, subepitel stromada ve blastosistlerin implantasyonundan hemen önce ve sonra salındığını göstermiştir. Laird ve ark. (1999), MMP-2 aktivitesinin menstüral siklus sırasında sekresyon dönemindeki seviyesi, proliferasyon ve menapoz

döneminden daha yüksek olduğunu bulmuştur. Dai ve ark. (2003) araştırmaları gebeliğin 13. gününde ölen rat embriyolarında MMP-2 aktivitesinin daha az olduğunu göstermiştir. Choi ve ark. (2003), yetersiz gelişim gösteren gebeliklerde villi korialislerde de düşük MMP-2 düzeyi elde etmiştir (Beceriklisoy 2007).

2.4. Adezyon Molekülleri

Adezyon molekülleri hücre yüzeyinde yapısal olarak bulunan ve hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşmesinde rol alan moleküllerdir. Hücre korunmasında, yara iyileşmesinde, doku bütünlüğünün sağlanmasında adezyon molekülleri görev alır. Adezyon molekülleri aracılığıyla hücrelerin çoğalması ve göçü gibi önemli hareketlerin başlatılması, endotel ve epitel hücrelerinin seçici bir bariyer oluşturması, hücrelerin birbirlerine ve matrikse bağlanması gerçekleştirilir. Ayrıca hücre içi ya da hücreler arası sinyal iletiminin düzenlenmesinde de önemli rol üstlenmektedirler. Bunlara ek olarak, hücre iskeleti aracılığıyla hücre hareketinin organizasyonunda önemli görevleri vardır. Hücre adezyon molekülleri ve onların ligandları; gelişim, farklılaşma, göç, tümör oluşumu ve metastazı gibi olayların gelişmesinde organizmadaki çeşitli kontrol fonksiyonlarına sahiptirler. Adezyon molekülleri ve ECM arasındaki ilişkilerin; hücre aktivasyonu, proliferasyonu, tümör oluşumu ve apoptozda önemli olduğu gösterilmiştir (Ergürel vd 2002).

Sperm üzerinde de hücre adezyon moleküllerinin özellikle integrinlerin gametlerin bağlanmasında önemli rolleri vardır. Sperm üzerinde bulunan adezyon moleküllerinin kaynağı iki yer olabilir: Spermatogenez sırasında sperm tarafından kazanılmış olabilirler veya seminal plazmadan gelebilirler (ayrıntılı bilgiye <http://www.kaanaydos.com.tr/sperm-membran-yapisi-ve-fertilizasyonda-fonksiyonlari.html> adresinden ulaşılabilir).

Adezyon molekülleri yapısal ve fonksiyonel özellikleri göz önünde tutularak 6 grup altında toplanabilir;

1. Reseptör protein tirozin fosfatazlar,

2. Ig süperailesi,
3. Kadherinler,
4. İntegrinler,
5. Hiyalürinat reseptörleri,
6. Selektinler

Bu gruplardan ilk dört tanesi protein-protein arasındaki etkileşime, diğerleri ise protein-karbonhidrat arasındaki etkileşime sahiptir (Ergürel vd 2002).

İntegrinler; insanda tüm hücrelerde bulunan hücre adezyon moleküllerinin bir sınıfıdır (Özcan 2010). İntegrinlerin α ve β olmak üzere 2 alt birimi vardır. 14α ve 8β alt birimi tanımlanmış olup toplam 22 “heterodimerik” birimden oluşurlar. Bu iki alt birim birbirlerine kovalent olmayan bağlarla bağlıdır. İntegrin ligand bağlanmasında, Ca^{+2} ve Mg^{+2} 'a ihtiyaç duyulmaktadır (Ergürel vd 2002).

İntegrin reseptörlerinin birçoğu ECM bileşenlerinde gözlenen arjinin-glisin-aspartik asid (RGD) aminoasit dizisine sahip moleküllere bağlanır (Güç 2004, Özcan 2010). ECM’de bulunan ve integrinlere bağlanan bazı matriks proteinleri fibronektin, laminin, kollagen IV, glikozaminoglikan (GAG)’lar ve vibronektindir (ayrıntılı bilgiye <http://www.kaanaydos.com.tr/sperm-membran-yapisi-ve-fertilizasyonda-fonksiyonlari.html> adresinden ulaşılabilir).

Hücre yüzeyinde bulunan integrinler, plazma membranından dışarı doğru uzanırlar ve hücre iskelet sistemi ile ECM’de bulunan proteinler arasında bir köprü oluştururlar. Hücrenin iç kompartmanına doğru uzanan kısımlarıyla integrinler hücre iskeletinin yapısı ve organizasyonunda görev alır (ayrıntılı bilgiye <http://www.kaanaydos.com.tr/sperm-membran-yapisi-ve-fertilizasyonda-fonksiyonlari.html> adresinden ulaşılabilir). İntegrinlerin ekstrasellüler bağlanması

adezyon, proliferasyon, yaşamı sürdürme ya da apoptozis, polarite, motilite, gen ekspresyonu gibi hücre davranışlarını ayarlayan çeşitli sinyal geçiş olaylarının büyük kısmını başlatır (Özcan 2010).

İntegrinler, embriyolojik gelişim, hemostazis, yara iyileşmesi, immün ve immün olmayan savunma mekanizmaları gibi birçok fizyolojik olayda hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonuna katılırlar. Ayrıca, fertilizasyon, implantasyon ve ilk blastula oluşumunu içeren erken gelişimsel olaylarda önemli rol oynarlar (Özcan 2010).

Floresan mikroskopi çalışmaları ile spermatozoa yüzeyinde adezyon molekülleri'nin lokalizasyonları analiz edilmiştir. $\beta 4$ integrin esasen ekvatorial membranda $\alpha 3$, $\alpha 4$, αV ve $\beta 1$ integrinler akrozomal ve ekvatorial membranda tespit edilmişlerdir. $\alpha 4$ integrin postakrozomal ve az miktarda akrozomal bölgede bulunmuştur. $\beta 2$, αV ve $\beta 3$ reseptörlerine ise postakrozomal lokalizasyonda rastlanılmıştır (ayrıntılı bilgiye <http://www.kaanaydos.com.tr/sperm-membran-yapisi-ve-fertilizasyonda-fonksiyonlari.html> adresinden ulaşılabilir).

Anjiogenezde adezyon molekülleri rol aldığı bilinmektedir. Büyüme faktörü reseptörleri ve integrinlerin oluşturduğu sinyaller kapiller oluşumu esnasında endotelial hücre proliferasyon ve invazyonunu kordine etmektedir (Olgar ve Yetgin 2003). Cheres ve ark. (Özcan 2010), anjiogenezde $\alpha V\beta 3$ integrinin önemli olduğunu göstermiştir. İmplantasyon zamanında bu integrinin nötralizasyonu, implantasyon bölgesinde yeni damar oluşumunu önleyerek embriyo yaşamını azaltabilir.

$\alpha V\beta 3$ integrin endotel hücreleri, düz kas hücreleri, fibroblast, makrofaj gibi kan damarlarındaki çeşitli hücrelerde, mezenkimden orijin alan hücrelerin neredeyse tümünden eksprese edilen bir integrindir. Anjiogenez dışında vasküler düz kas hücrelerinin göçü, kemik matriksine osteoklastların adezyonu ve implantasyon gibi birçok biyolojik olaya aracılık ettiği eder (Özcan 2010). Granülasyon doku ve kanser hücrelerinde $\alpha V\beta 3$ ekspresyonu oldukça yüksektir (Öksüz 2006).

$\alpha V\beta 3$ integrin, RGD etkileşimi ile vitronektin, fibronektin, fibrinojen, osteopontin ve trombospondin gibi çok farklı ligandlara bağlanabilir(Özcan 2010).

Endometriyum integrinlerce zengin bir bölgedir. İnsanda uterusun lumial epitelinde $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 6$, $\alpha 9$, αV , $\beta 1$, $\beta 4$ ve $\beta 6$ integrin alt birimleri tanımlanmıştır (Özcan 2010). $\beta 5$ altbirimi bez epiteli ve lümen epitelinin apikal sitoplazmasında bulunur (Ergürel vd 2002). Uterin luminal yüzeyde $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$, $\alpha 9\beta 1$, $\alpha V\beta 1$, $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$ ve $\alpha V\beta 6$ integrinleri içerir(Özcan 2010). Stromal hücrelerde ise $\alpha 1\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha V\beta 1$ integrinlerini eksprese edilir (Ergürel vd 2002).

Endometrial integrinler hormon bağımlıdır ve menstürel siklus boyunca değişkendir(Çimen 2011).

Tablo 2.1 Menstrual siklus sırasında endometriyumda integrin altünitelerinin dağılımı (Özcan 2010)

Siklus fazı	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 3$	$\alpha 4$	$\alpha 6$	αV	$\beta 1$	$\beta 4$	$\beta 3$
Proliferatif faz (8/9. gün)									
Epitel hücreleri	-	+	+	-	+	-	+	+	-
Stromal Hücreler	-	±	±	-	+	-	+	+	-
Ovulatuvar faz (14/15. gün)									
Epitel hücreleri	±	±	±	+	+	-	+	+	-
Stromal hücreler	±	±	±	+	+	-	+	+	-
Mid-luteal faz (19/20.gün)									
Epitel hücreleri	+	+	+	++	++	+++	+	+	+++
Stromal hücreler	±	+	+	++	++	+++	+	+	+++
Menstrual faz (26/27. gün)									
Epitel hücreleri	-	-	±	±	+	-	±	±	-
Stromal hücreler	-	-	±	-	+	-	±	±	-

$\alpha V\beta 3$ integrin endometriyumun luminal epitelinde en iyi karakterize edilmiş hücre adezyon molekülüdür (Özcan 2010). Bu integrin endometrial epitelde menstürel siklusun 19. günü belirlemektedir. Bu integrinin ekspresyonu varsayılan açık implantasyon penceresine denk gelmektedir (Atabekoğlu vd 2002). $\alpha V\beta 3$ integrin, implantasyon penceresi sırasında uterusun luminal ve glandular epitelinde eksprese edilmektedir. Bu periyot maksimum uterin reseptivite ile aynı zamana denk gelir. Fare ve tavşanda yapılan çalışmalarda $\alpha V\beta 3$ integrinin blokajı implantasyonu bozduğu, fakat αV 'siz farelerin fertil olduğu görülmüştür (Özcan 2010).

2.5. Hiyaluronik Asit

Hücre dışı matris üç çeşit biyomolekül içermektedir. Bunlar; özelleşmiş proteinler (örnek: laminin, fibronektin vs.), yapısal proteinler (örnek: elastin, kollojen vs.) ve proteoglikanlardır. Proteoglikanlar, GAG zincirlerinin bağlandığı bir çekirdek protein içerir. İnsan vücudunda bulunan GAG'lar; heparan sülfat, heparin, kondroitin sülfat, keratan sülfat I ve II, dermatan sülfat ve hiyalüronandır (Aytekin ve Çaylak 2009).

Hiyaluronat veya hiyaluronan olarak da bilinen hiyaluronik asit (HA) yüksek molekül ağırlıklı bir glukozaminoglikandır. HA β 1,4- D glukoronit asitle β 1,3- N asetil glukozaminin bağlanmasıyla oluşan bir makromoleküldür (Şimşek 2004). Diğer GAG'lar golgide sentezlenirken HA plazma membranında sentezlenir (Akkuş 2005). Ayrıca HA'nin nonsülfat olması ve proteinlere kovalent olarak bağlanması HA'yı diğer GAG'lardan ayırır (Şimşek 2004).

İlk olarak 1934 yılında vitröz hümörde keşfedilmiştir (Aytekin ve Çaylak 2009). En yüksek HA konsantrasyonu umbilikal kord, sinoviyal sıvı, deri ve vitröz hümör gibi dokuların bağ dokularında bulunmaktadır. Akciğer, beyin, böbrek ve kaslarda kayda değer miktarda bulunurken karaciğerde az bulunur. En düşük konsantrasyonu ise kan serumundadır.

Bu makromolekül diğer proteoglikanlarda karşılıklı etkileşime girer ve normal fizyolojik şartlar altında tüm dokuların ECM'ne stabilite, elastikiyet ve yüzey doldurucu yapı özelliği kazandırır. Önceleri HA ECM'nin pasif, yapısal bir bileşeni olarak düşünülmekteydi ama günümüzde hücre migrasyonu ve morfogenezisin de içinde bulunduğu birçok biyolojik olayda yer aldığı bilinmektedir (Şimşek 2004). HA'nın biyolojik rolü fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve membran reseptörleri aracılığıyla farklı hücrelerle etkileşime girebilme yeteneğiyle bağlantılıdır (Akkuş 2005). HA polisakkarit olan hücre farklılaşması, motilitesi ve hücrelerin adherensi üzerinde çok önemli bir etkiye sahiptir. HA aktif hücre büyüme bölgelerinde bulunan spesifik reseptörlere bağlanabilir. Hücre siklusunun ayrılma periyoduyla ilişkili bu reseptörler bölünmeyen hücrelerde bulunmaz (Şimşek 2004).

Hyaluronan molekülünün en önemli fonksiyonları arasında su homeostazisi, anjiyogenezis ve hücre göçünün düzenlenmesi vardır. Hasarlı dokuların tamirinde ECM’de miktarı artar (Aytekin ve Çaylak 2009). Bu nedenle doku onarım amaçlı olarak yaralara uygulanır (Gökmen 2012). Yara iyileşmesinde inflamasyonun etkilerini yavaşlatma, hücre proliferasyonu, re-epitelizasyonu destekler ve kollojen oluşumunu engelleyerek skar oluşumunu azaltmaktadır (Çakır vd 2011). Fizyolojik olarak HA’nın en önemli görevleri; eklemlerde eklem sıvısında yer alarak kayganlık sağlaması, dokularda metabolik ürünlerin taşınmasına imkan vermesi ve infeksiyon etkenlerinin geçmesine set oluşturmastır. Ayrıca amfizem, astım ve akciğer fibrozisi gibi akciğer hastalıklarının patogenezi anormal ECM’nin oluşmasında rol oynar.

HA dokular etrafında oluşan tümör invazyonunda önemli bileşenler arasındadır. HA’nın proanjiyogenezis etkisinin vasküler endotel büyüme faktörü ile yükselmesi bu molekülün tümör damarlaşmasında etkili olduğu düşünülmektedir (Aytekin ve Çaylak 2009). Tümör hücrelerinin yüzeyinde bulunan HA seviyesinin kanser derecesi ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. HA’nın hücrelerde birikmeye başlaması malignite gelişiminin en önemli belirtisi olduğu öne sürülmüştür. Sağlıklı hücrelerde tek epitel tabakası ve düşük HA konsantrasyonu varken malign hücrelerin epitelinde hem çok katlı epitel hem de yüksek HA konsantrasyonu olduğu belirtilmiştir (Çakır vd 2011).

Hyaluronan ayrıca estetik cerrahi alanında dolgu maddesi olarak da kullanılır (Aytekin ve Çaylak 2009).

Doğadaki en hidroskobik moleküllerden birisi de HA’dır. Fetüste embriyonik gelişim sırasında HA’nın seviyesi artar. Buna ek olarak hücre migrasyonu içinde önemlidir. HA, ECM’de hücre bağlanmasını zayıflatarak geçici bir ayrılmaya olanak sağlar ve hücre migrasyonu ile hücre bölünmesini kolaylaştırır. HA’nın visköz yapısı hücre çevresindeki viral ve bakteriyel pasaj gecikmesine yardım eder. HA fizyolojik durumlarda tam olarak iyonize halde bulunur. Bu sayede hücre çevresindeki matrikste hücrel sinyallerde önemli olan iyon akımına yardım eder. HA aynı zamanda serbest radikalleri tutarak antioksidan olarak da görev yapar. Bu

fonksiyonuyla güneş radyasyonuna karşı koruyucu etki eder. Hem de doku yıkan enzimleri ortadan uzaklaştırarak koruyucu etki oluşturur (Gökmen 2012).

İnsan embriyoları, oositten blastosist dönemine kadar gelişimleri boyunca yüzeylerinde HA'nın reseptörü olan CD44'e sahiptir (Afify vd 2006). Bu reseptörler sayesinde embriyo bol miktarda HA içeren endometriyal stromaya bağlanabilir. HA'nın anjiogenik davranışları implantasyonu geliştirir ve plasenta oluşumunda önemli biyolojik role sahiptir.

HA'nın embriyonun implantasyonu için endometrial stromanın hazırlanmasına, endometrial fibroblastların desidual hücrelere farklılaşmasını, hücre proliferasyonunu, endometrial stromanın yeniden düzenlenmesini içeren hücre sürece katıldığı gösterilmiştir (San Martin vd 2003).

Perivitellin alan, oositlerde zona pellusida ve plazma membranı arasındaki boşluktur. HA, perivitellin alanda bulunur. HA'nın özelliklerinden biri de suyu tutmasıdır. Bu nedenle, HA perivitellin alanın genişlemesine neden olan suyu absorbe eder.

FSH ve LH uyarımı ile kumulus hücrelerinde sentezlenen HA salgılanır ve kumulus hücrelerinin ECM'de HA bulunur (Ueno vd 2009). Oosit olgunlaşması boyunca, kumulus-oosit kompleksleri (COCs) önemli ölçüde genişler, bu olaya kumulus genişlemesi denir. Kumulus genişlemesi kumulus hücreleri tarafında HA'nın birikimi ve sentezi sonucu oluşur. COCs'un bu hacimsel artışı sadece HA'nın sentezi tarafından değil aynı zamanda COCs içinde birikmesi ile düzenlenmektedir. Kumulus hücrelerinde salgılanan HA, COCs'un ECM'si içinde kalır ve hiyaluronan- binding proteinleri tarafından stabilize edilir. Bu nedenle, kumulus genişlemesi derecesi ve HA birikimi arasında yakın bir ilişki vardır (Yokoo vd 2008).

Spermiyogenezisde sitoplazmik çıkarma ile aynı anda HA bağlama yerlerinin oluşumunu kolaylaştıran plazma membranının yeniden düzenlenmesi vardır (Mokanszki vd 2012). Sperm hücreleri hücre yüzeylerinde HA reseptörleri eksprese

eder ve bu HA bağlayıcı reseptörler fertilizasyon, hücre olgunlaşması ve motilitisinde önemli bir role sahiptir (Darzynkiewicz ve Balazs 2012). Sperm üzerinde HA reseptörlerinin varlığı sperm gelişimi ile ilgilidir. HA bağlama yeteneği olan sperm canlıdır ve HA seçilmiş sperm DNA bozulmasından yoksundur (Mokanszki vd 2012). Olgunlaşmamış sperm çoğunlukla HA bağlama yeteneğine sahip değildir (Petersen vd 2010). Akrozom reaksiyonu vermiş ve cansız spermler HA bağlama kapasitelerini kaybederler (Mokanszki vd 2012).

Tartışmalar olsa bile, HA bağlama yeteneği olgunluğuna ulaşmış spermatozoaları seçmek için önerilir ve veterinerlikte kullanılır (Junca vd 2012). İntra-sitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) için HA ile sperm seçimi potansiyel genetik komplikasyonları azaltabilir. HA- bağlı sperm enjeksiyonu embriyonun kalitesini ve gelişmesini önemli ölçüde geliştirir, fakat fertilizasyon oranını geliştirmez (Mokanszki vd 2012).

HA, kök hücre biyolojisinde önemli rol oynadığına dair kanıtlar vardır. Kanıtların çoğu insan ve farelere ait hematopoietik kök hücreleriyle bu GAG'ın etkileşimlerini keşfeden Susan Nilsson ve Peter MacCallum Cancer Center, Melbourne'in çalışmalarıdır. Bu yazarlar HA'nın kök hücrelerin plazma membranlarında bulunan HA sentetaz tarafından sentezlendiği ve bu hücrelerin yüzeylerinde eksprese olduğunu gösterilmiştir.

Hücre yüzeyi üzerindeki HA ekspresyon seviyesi progenitör ve kök hücrelerinin farklılaşması durumları ile ilişkilidir. En yüksek HA ekspresyonu en çok primitif kök hücrelerinin yüzeyinde gözlenir ve HA ekspresyonundaki kademeli düşüş farklılaşma ile eş zamanlı olarak gözlenir.

HA, güçlü anti-inflamatuar özelliğe sahiptir ve birçok doku ve organlarda inflamasyonu ortadan kaldırmak veya azaltmak için klinikte kullanılır. HA ekzojen ve endojen oksidanları nötralize ederek hücrel genomu koruyucu etki gösterir (Darzynkiewicz ve Balazs 2012).

HA yüksek konsantrasyonda amniyonda, az miktarda koryonda bulunur. En yoğun olduğu bölge koryon ve amniyon arasındaki ara yüzeydir. HA yüksek su bağlama kapasitesinden dolayı amniyon ve koryonu ayırabilir (Meinert vd 2001).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar ve Bakım Şartları

Bu araştırma Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Çalışmamızda, Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nden alınan 48 adet dişi Wistar Albino türü dişi sıçan kullanılmıştır. Tüm denekler için önerilen optimum çevresel koşullar aynı merkez tarafından sağlanmış ve sıçanlar, ışıklandırması (12 saat aydınlık/karanlık siklusunda, 07:00-19:00 saatleri arası aydınlık), havalandırılması (%60-70 nem) ve oda ısısı (20-24°C) kontrol edilen bir odaya yerleştirilmiştir. Denekler, günlük içme suyu ve %21 ham protein içeren pelet yemlerle (purina) beslenmiştir.

3.2. Deneysel Uygulama

Bu çalışmada 48 adet ergin dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar deney ve kontrol olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Deney grubundaki 24 adet sıçanın 6 tanesine çift taraflı ovariektomi yapıldı. Deney grubundaki sıçanların tümünün uterusuna laparotomi yöntemi ile 0,6 ml HA enjekte edildi. Enjeksiyondan 24 saat sonra ovariektomi yapılmayan sıçanların menstrüel döngüleri servikal dislokasyon yapılmadan önce vajinal smear yöntemiyle belirlendi. Östrus (6), diöstrus(6) ve proöstrus (6) dönemlerindeki sıçanların ve ovariektomi yapılan sıçanların(6) uterusları alındı.

Kontrol grubundaki sıçanlardan 6 tanesine çift taraflı ovariektomi yapıldı. Ovariektomi yapılmayan sıçanların menstrüel döngüleri vajinal smear yöntemiyle belirlendi. Östrus (6), diöstrus(6) ve proöstrus (6) dönemlerindeki sıçanların uterusları ve ovariektomi yapılan sıçanların(6) uterusları servikal dislokasyon yapılarak alındı. Alınan uteruslar tespit için %10'luk formaldehit solüsyonunda

bekletildi. Dokular 72 saat tespit edildikten sonra rutin ışık mikroskopi takibine alındılar. Hazırlanan parafin bloklardan, Leica RM-2125 rotary mikrotom kullanılarak 5 µ kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere, MMP-2, α V ve β 3 ifadelerini belirlemek amacıyla immunohistokimyasal boyama işlemi yapıldı. Kesitler daha sonra Olympus BX51 marka ışık mikroskobu ve Olympus DP72 dijital kamera ile resimlendi.

3.3. Reaktif Hazırlanması

Fiksatif Solüsyonu Hazırlama: % 37'lik formaldehitden 10 ml, distile sudan 90 ml alınarak % 10'luk fiksatif solüsyonu hazırlanmıştır.

HA'nın Hazırlanması: Katı halde bulunan HA'dan(Sigma Lot#BCBG3516V) 5mg, distile sudan 1 ml alınarak süspansiyon hazırlanır.

3.4. Uygulanan Teknikler

3.4.1. Doku takip yöntemi

- a. Alınan dokular formaldehitde 72 saat bekletildi.
- b. Akarsuda 30 dakika yıkandı.
- c. %70'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- d. %80'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- e. %90'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- f. %100'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.

- g. Ksilende 1 saat bekletildi.
- h. Ksilende 1 saat bekletildi.
- i. Parafinde 1 saat bekletildi.
- j. Parafinde 1 saat bekletildi.
- k. Dokulara parafine gömme ve etiketlenme işlemi yapıldı.

3.4.2. İmmunohistokimyasal boyama

Doku takip yöntemi tamamlanan endometriyum bloklarından, mikrotom cihazıyla 5 µ' luk kesitler alınıp, kesitler benmariye bırakıldı.Ardından uygulanan protokol sırası aşağıdaki gibidir: (Reaktifler için İnvitrogen, MD 21704, USA, Lot:948867A Histostain-Plus kit kullanılmıştır.)

- a. Kesitler, benmariden lamlara alınıp lam taşıma sepetine yerleştirildi.
- b. Lam taşıma sepeti etüvde60 °C'de 1 saat bekletildi.
- c. Ksilende, deparafinizasyon işlemi için1 saat bekletildi.
- d. Kesitler sırasıyla %100, %96, %70, %50'lik etil alkol serilerinde2'şer dakika bekletildi.
- e. Alkolden çıkan preparatlar akarsuda yıkanarak 10 dakika PBS'de bırakıldı. Bu aşamada kesitler PAP pen kullanılarak işaretlendi.
- f. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesi, % 30'lukH₂O₂:Metanol (1:9) karışımı ile 30 dakikalık uygulamayla ortadan kaldırıldı.

- g.** Phosphate Buffered Saline (PBS) ile yıkanan kesitler, üzerlerine ilave edilen serum bloklama solüsyonu ile 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- h.** Kesitler üzerine uygun primer antikorlar ilave edilerek 1 gece over night yapıldı. Bu çalışmada kullanılan primer antikorlar ve kullanıldıkları dilüsyonlar şu şekildedir: MMP-2 (1:100, Boster, Lot: 01111121022-257), α V (1:100, Boster, Lot: 01411121-80553), β 3 (1:100, Santa Cruz Biotechnology, Lot: #B2410).Bütün primer antikorlar PBS ile dilüe edilmiştir.
- i.** Kesitler, PBS ile yıkandıktan sonra primer antikorlarla reaksiyon veren, biotinlenmiş afiniteye sahip sekonder antikorlarla 20 dakika muamele edilmiştir.
- j.** Tekrar PBS ile yıkanması yapılan kesitlere, biotinlenmiş-sekonder antikorlara kolayca bağlanabilen horseradish peroksidaz konjugatı streptavidin (HRP-SA) 10 dakikakadar muamele edilmiştir.
- k.** Kesitler son kez PBS ile yıkandıktan sonrakromojen boyası DAB ile 3-10 dakika kadar muamele edilmiştir.
- l.** Antijenin lokalizasyonunun daha iyi gözlenmesi için kesitlere hematoksilin(Merk Harris' hematoksilin) ile zıt boyama yapılmıştır.
- m.** Kesitler akarsu da yıkanmış ve sırasıyla %50, %70, %96, %100'lük etil alkol serilerinde 2'şer dakika bekletilmiştir.
- n.** Dokuların üzeri entellan ile kapatılmıştır.

Boyamanın değerlendirilmesinde aşağıdaki skala kullanıldı.

(+++): kuvvetli boyanma, (++): orta derecede boyanma, (+): zayıf boyanma, (+/-): çok zayıf boyanma, (-): boyanma yok.

3.4.3. İstatistiksel Analiz

Yapılan immünohistokimyasal boyamalarda stromal hücreler sayıldı, pozitif boyanan hücrelerin yüzdeleri alındı. Gruplar arasındaki farklar Mann-Whitney *U* test kullanılarak yapıldı. Veriler SSPS20,0 programı ile analiz edildi. p- değeri 0,05' den düşük olanlar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Kontrol Grubu Bulguları

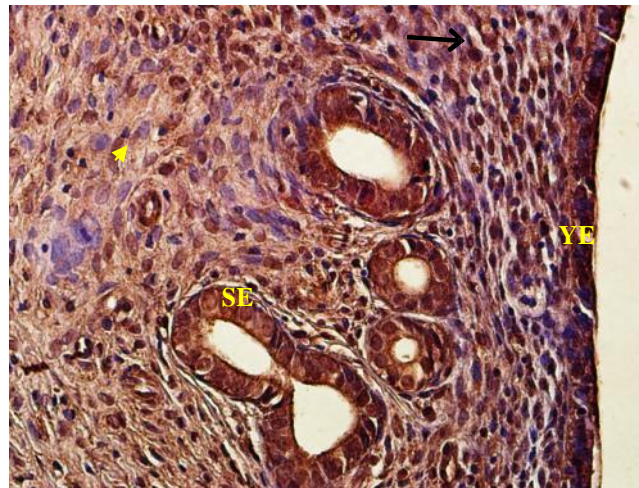
4.1.1. Proöstrus fazı

Bulgularımız tablo 4. 1’de özetlenmiştir.

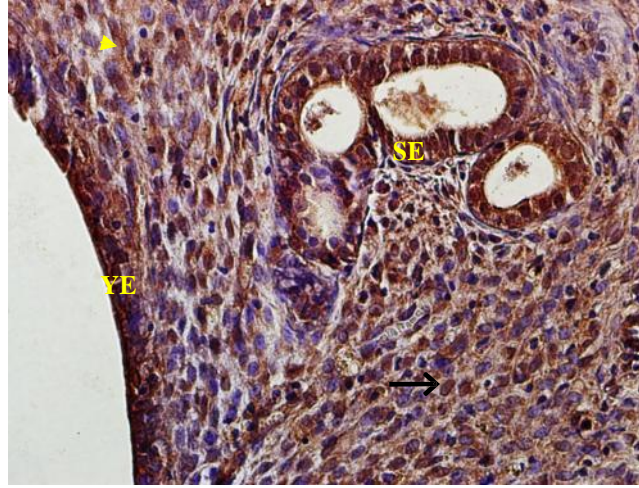
Proöstrus döneminden alınan kontrol endometrium dokularında αV ve $\beta 3$ yüzey epitelinde, salgı epitelinde ve stromal hücrelerde ve liflerde kuvvetli pozitif reaksiyon gösterdi. Reaksiyon hem nükleer hem de sitoplazmikti (Şekil 4.1, Şekil 4.2). Matriks metalloproteinaz, αV ve $\beta 3$ integrin ekspresyonuna benzer şekilde yüzey epitelinde, salgı bezi epitelinde ve stromal hücrelerde kuvvetli pozitif boyanma gösterdi (Şekil 4.3). Boyanma bu grupta sitoplazmik ve nükleerdi bununla birlikte özellikle yüzey epitelinde negatif reaksiyon gösteren hücre çekirdeklerine rastlandı.

Tablo 4.1 Kontrol grubu proöstrus dönemi endometriyumunda αV , $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz ifadesi

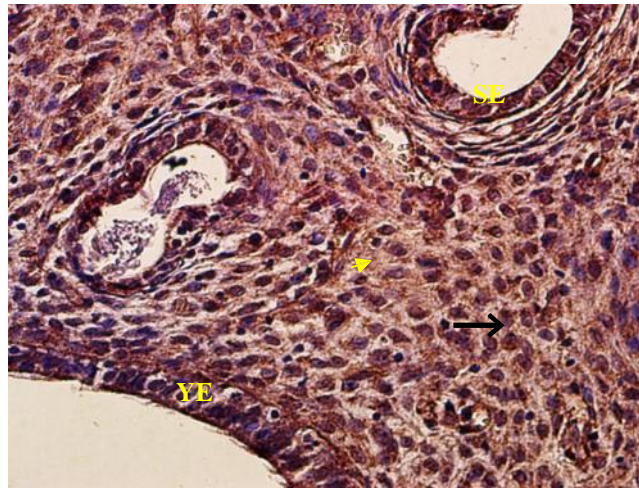
	$\alpha 5$ İntegrini	$\beta 3$ İntegrini	Matriks Metalloproteinaz
Yüzey Epitelyum Hücre Sitoplazması	+++	+++	+++
Yüzey Epitelyum Hücre Çekirdeği	+++	+++	+++
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	+++	+++	++
Salgı Epitelyum Hücre Çekirdeği	+++	+++	++
Stromal Hücreler	+++	+++,,++	+++
Stromal Lifler	++	++	+++



Şekil 4.1 αV integrin alt biriminin proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.2 $\beta 3$ integrin alt biriminin proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.3 MMP-2'nin proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).

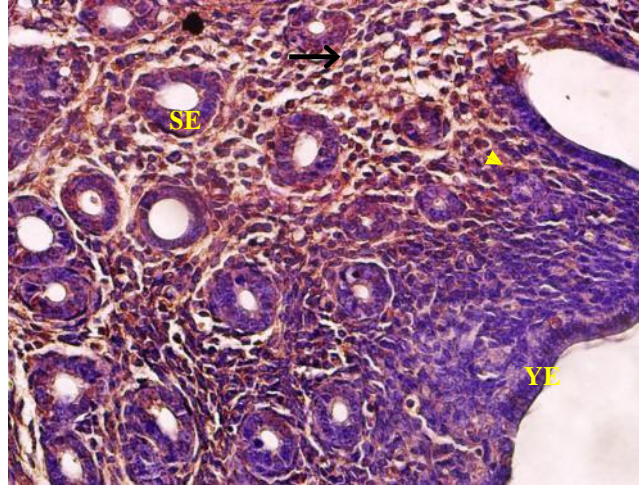
4.1.2. Östrus fazı

Bulgularımız tablo 4.2’de özetlenmiştir.

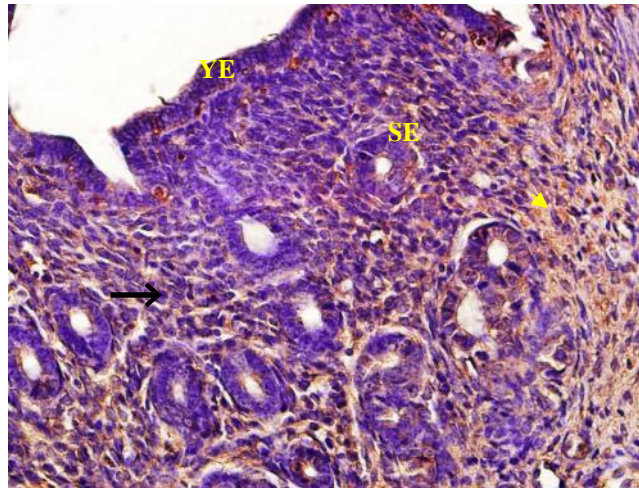
Östrus grubunda yüzey ve salgı epitelyum hücreleri ve stromal hücreler α V, β 3 ve matriks metalloproteinaz için negatifti. Yalnızca stromal liflerde zayıf ve bazı alanlarda orta derecede boyanma izlendi (Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6).

Tablo 4.2 Kontrol grubu östrus dönemi endometriyumunda α 5, β 3 ve matriks metalloproteinaz ifadesi

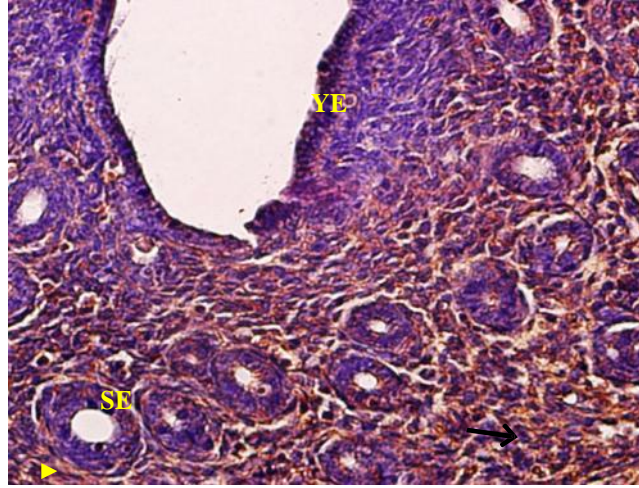
	α 5 İntegrini	β 3 İntegrini	Matriks Metalloproteinaz
Yüzey Epitelyum Hücre Sitoplazması	–	–	–
Yüzey Epitelyum Hücre Çekirdeği	–	–	–
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	–	–	–
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	–	–	–
Stromal Hücreler	–	–	–
Stromal Lifler	+/-	+/-, +	+



Şekil 4.4 αV integrin alt birimininöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.5 $\beta 3$ integrin alt birimininöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.6 MMP-2'nin östrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).

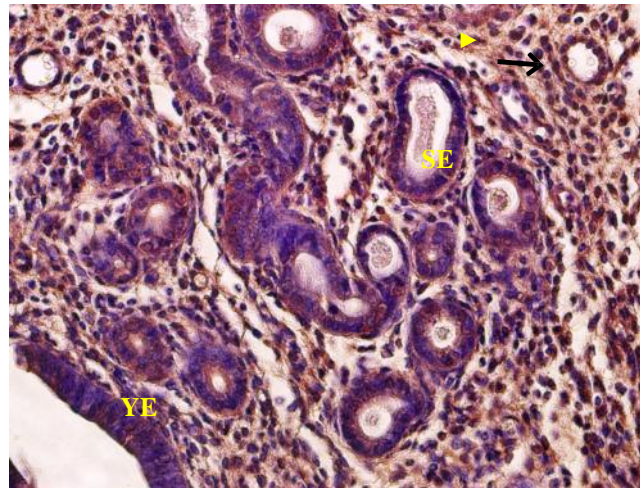
4.1.3. Diöstrus fazı

Bulgularımız tablo 4.3' te özetlenmiştir.

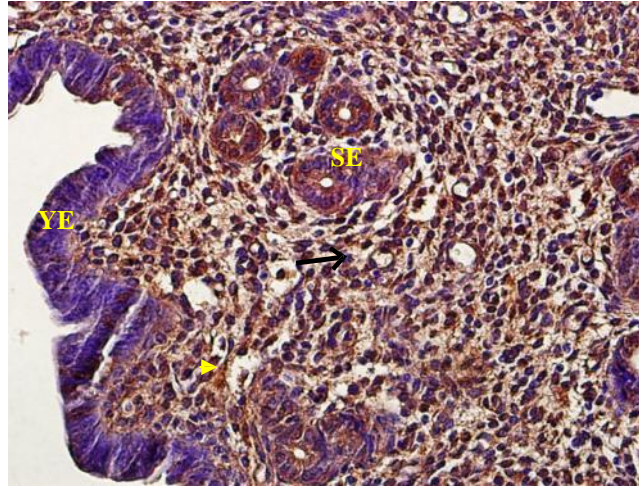
Yüzey ve salgı bezi epitel hücreleri αV için zayıf boyanma gösterdi. Boyanma hücrelerin daha çok apikal membranında idi. Stromal hücrelerde ekspresyon zayıf iken stromal liflerde orta derecede reaksiyon dikkat çekiciydi (Şekil 4.7). Bu grupta $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz ekspresyonu yüzey epitelyum hücrelerinde zayıf izlenirken salgı epitelinde orta derecede izlendi. Ancak çekirdek boyanması yoktu. Stromal hücrelerde ve liflerde ise zayıftan ortaya değişen boyanmalar ilgiyi çekti (Şekil 4.8, Şekil 4.9).

Tablo 4.3 Kontrol grubu diöstrus dönemi endometriyumunda $\alpha 5$, $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz ifadesi

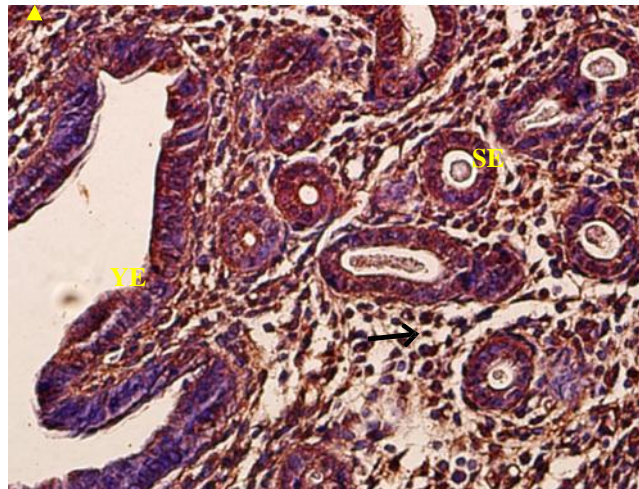
	$\alpha 5$ İntegrini	$\beta 3$ İntegrini	Matriks Metalloproteinaz
Yüzey Epitelyum Hücre Sitoplazması	+	+,-	+
Yüzey Epitelyum Hücre Çekirdeği	-	-	-
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	++	++	++
Salgı Epitelyum Hücre Çekirdeği	-	-	-
Stromal Hücreler	-,+	-,+++	-,+++
Stromal Lifler	+++	+++	+++



Şekil 4.7 αV integrin alt biriminin diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.8 $\beta 3$ integrin alt biriminin diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.9 MMP-2'nin diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).

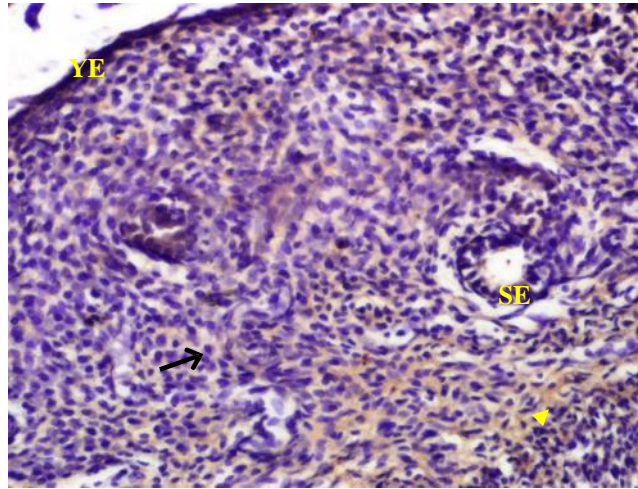
4.1.4. Ovariectomi yapılan grup

Bulgularımız tablo 4.4' de özetlenmiştir.

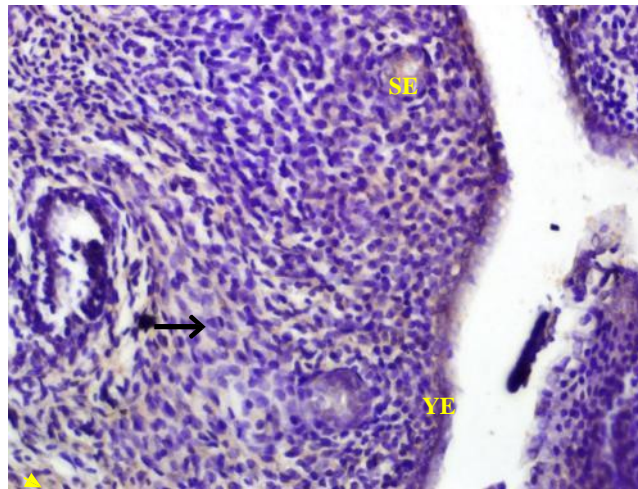
Ovariectomi yapılan grupta αV , $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz yüzey ve salgı ve bez epitelyum hücrelerinde negatif bazı alanlarda ise çok zayıf sitoplazmik boyanma gösterdi. Stromal hücreler her üç antikor için negatif reaksiyon gösterirken stromal lifler zayıf pozitif olarak izlendi (Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12).

Tablo 4.4 Ovariectomi yapılan sıçanların endometriyumunda $\alpha 5$, $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz ifadesi

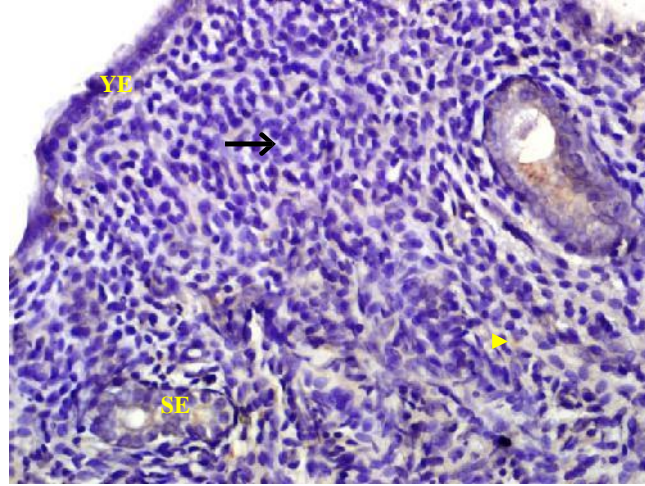
	$\alpha 5$ İntegrini	$\beta 3$ İntegrini	Matriks Metalloproteinaz
Yüzey Epitelyum Hücre Sitoplazması	-	+/_	+/_
Yüzey Epitelyum Hücre Çekirdeği	-	-	-
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	-	-	-
Salgı Epitelyum Hücre Çekirdeği	-	-	-
Stromal Hücreler	-	-	-
Stromal Lifler	+	+	+



Şekil 4.10 αV integrin alt biriminin ovariektomi yapılan sıçanların endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.11 $\beta 3$ integrin alt biriminin ovariektomi yapılan sıçanların endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.12 MMP-2'nin ovariectomi yapılan sıçanların endometriyum dokusunda ki yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).

4.2. Hiyaluronik Asit Verilen Grup

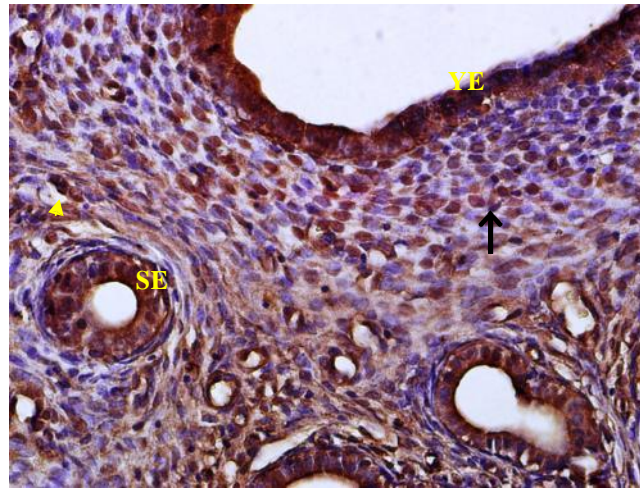
4.2.1. Proöstrus fazı

Bulgularımız tablo 4.5' de özetlenmiştir.

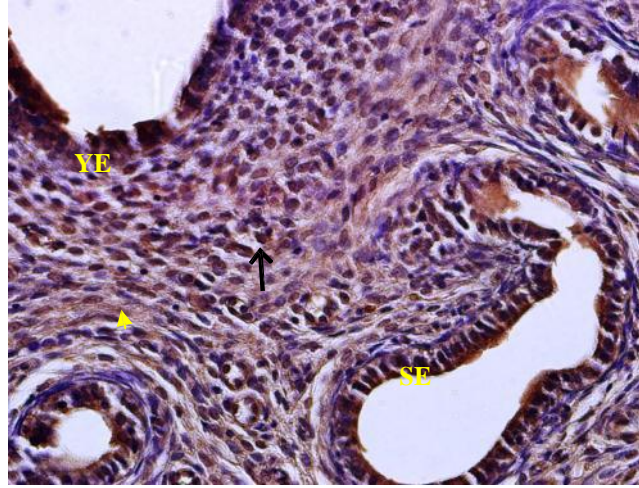
HA uygulanan deneklerden alınan endometriyum dokularında αV , $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz yüzey epitelinde, salgı epitelinde ve stromal hücrelerde ve liflerde kuvvetli pozitif reaksiyon gösterdi. Reaksiyon hem nükleer hem de sitoplazmikti. Ancak yüzey epitelinde ve salgı bezi epitelinde bazı hücrelerde çekirdeklerin negatif reaksiyon gösterdiği gözlemlendi (Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15).

Tablo 4.5HA uygulanan proöstrus dönemi endometriyumunda α V, β 3 ve matriks metalloproteinaz ifadesi

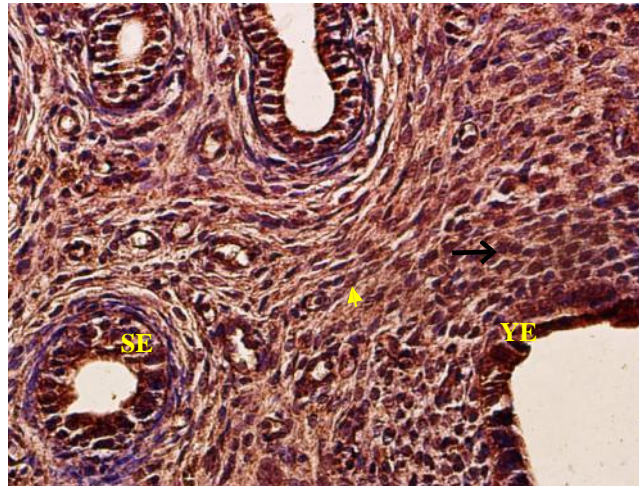
	α 5 İntegrini	β 3 İntegrini	Matriks Metalloproteinaz
Yüzey Epitelyum Hücre Sitoplazması	+++	+++	+++
Yüzey Epitelyum Hücre Çekirdeği	+++	+++	+++
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	+++	+++	+++
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	+++	+++	+++
Stromal Hücreler	+++/-	+++/-	+++/-
Stromal Lifler	+++	+++	+++



Şekil 4.13HA uygulanan proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki α V integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.14HA uygulanan proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki $\beta 3$ integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.15HA uygulanan proöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki MMP-2'nin yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).

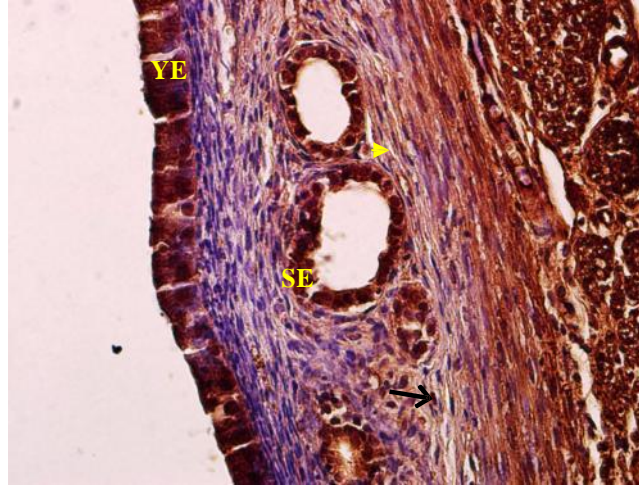
4.2.2. Östrus fazı

Bulgularımız tablo 4.6' da özetlenmiştir.

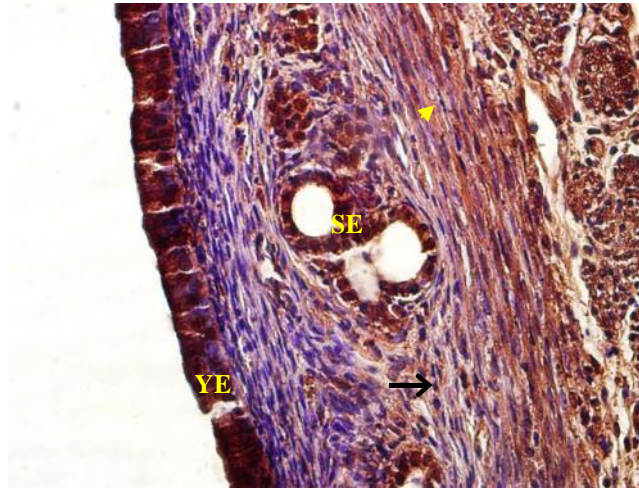
Bu grupta αV , kontrol grubundan farklı olarak yüzey ve salgı epitelyum hücreleri ve stromal hücreler kuvvetli pozitif reaksiyon gösterdi (Şekil 4.16). $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz için negatifti. Yalnızca stromal liflerde zayıf ve bazı alanlarda orta derecede reaksiyon izlendi (Şekil 4.17, Şekil 4.18).

Tablo4.6HA uygulanan östrus dönemi endometriyumunda $\alpha 5$, $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz ifadesi

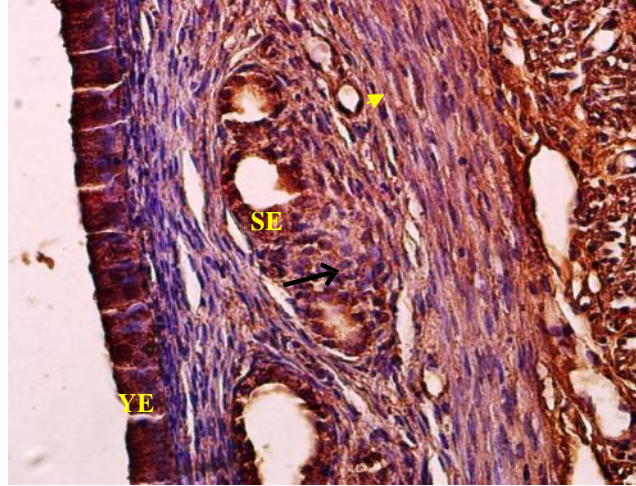
	$\alpha 5$ İntegrini	$\beta 3$ İntegrini	Matriks Metalloproteinaz
Yüzey Epitelyum Hücre Sitoplazması	+++	+++	+++
Yüzey Epitelyum Hücre Çekirdeği	+++	+++	+++
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	+++	+++	+++
Salgı Epitelyum Hücre Çekirdeği	+++	+++	+++
Stromal Hücreler	-	-	-
Stromal Lifler	-,+	-,+	-,+



Şekil 4.16HA uygulanan östrus dönemi endometriyum dokusunda ki αV integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.17HA uygulanan östrus dönemi endometriyum dokusunda ki $\beta 3$ integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.18HA uygulanan östrus dönemi endometriyum dokusunda ki MMP-2'nin yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).

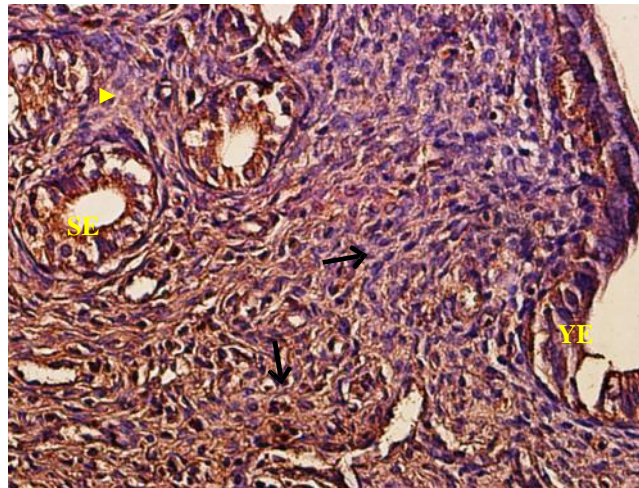
4.2.3. Diöstrus fazı

Bulgularımız tablo 4.7' de özetlenmiştir.

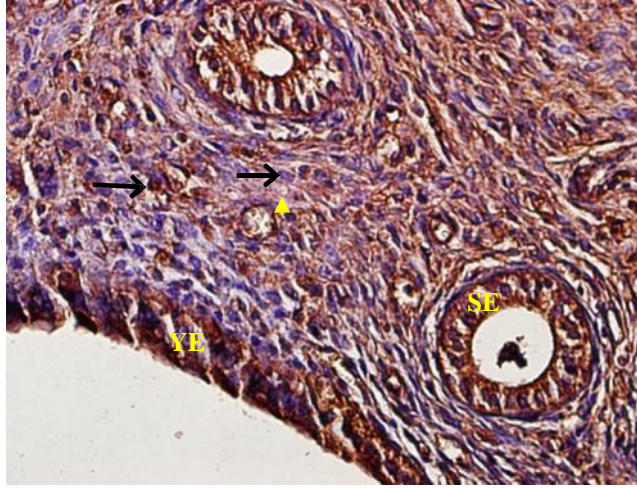
Bu grupta αV , $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz ekspresyonu kontrol grubundan farklı olarak yüzey ve salgı epitelinde kuvvetli pozitif bulundu. Boyanma sitoplazmikti. Stromal hücreler hem negatif hem de pozitif reaksiyon gösterdi. Stromal liflerin ise orta derece reaksiyon gösterdiği belirlendi (Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21).

Tablo 4.7HA uygulanan diöstrus dönemi endometriyumunda $\alpha 5$, $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz ifadesi

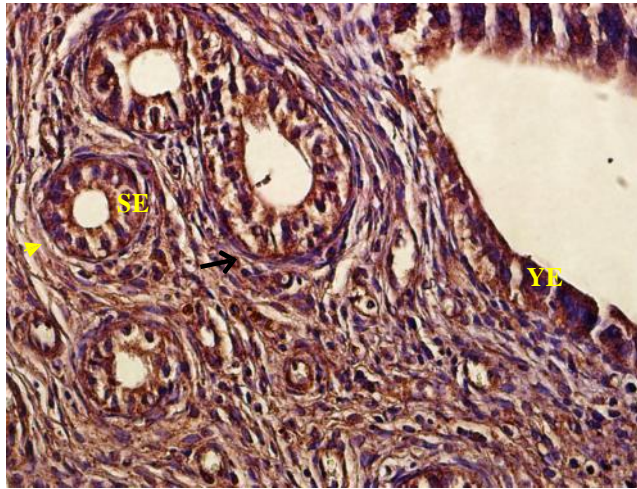
	$\alpha 5$ İntegrini	$\beta 3$ İntegrini	Matriks Metalloproteinaz
Yüzey Epitelyum Hücre Sitoplazması	+++	+++	+++
Yüzey Epitelyum Hücre Çekirdeği	-	-	-
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	+++	+++	+++
Salgı Epitelyum Hücre Çekirdeği	-	-	-
Stromal Hücreler	-,+++	-,+++	-,+++
Stromal Lifler	+,+++	++,+++	++,+++



Şekil 4.19HA uygulanan diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki αV integrin alt birimininyerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.20HA uygulanan diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki $\beta 3$ integrin alt biriminin yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.21HA uygulanan diöstrus dönemi endometriyum dokusunda ki MMP-2'nin yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).

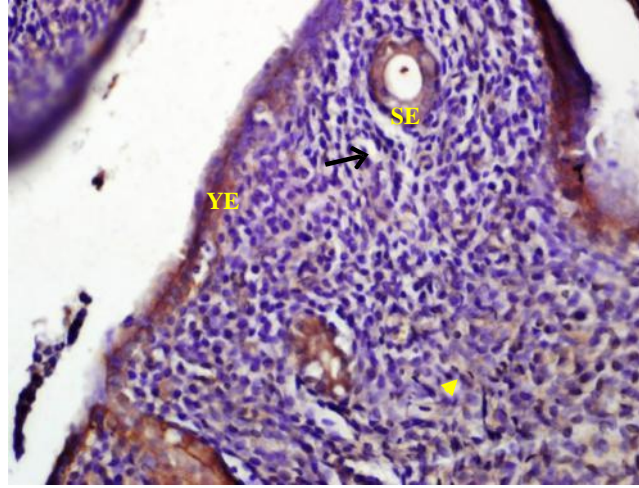
4.2.4. Ovariectomi grubu

Bulgularımız tablo 4.8' de özetlenmiştir.

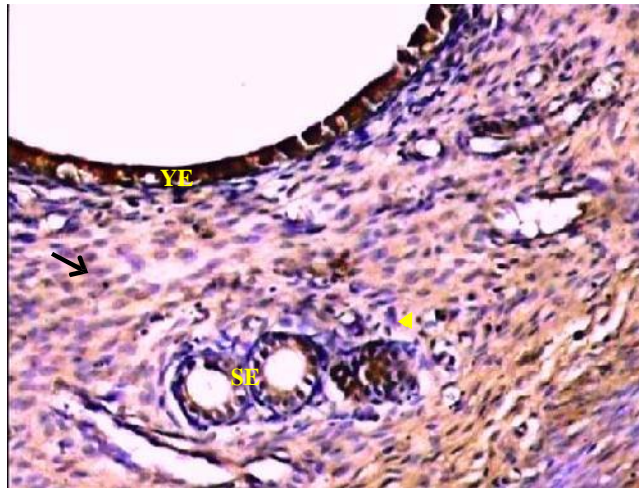
Ovariectomi yapılan grupta αV , $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz yüzey ve salgıepitelinde orta derece boyanma gösterdi. Boyanma sitoplazmik çekirdek boyanması yoktu. Bu grupta da kontrol grubuna benzer şekilde stromal hücreler her üç antikor için negatif reaksiyon gösterirken Stromal lifler zayıf pozitif (Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24). Stromal liflerdeki $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz boyanması αV integrin boyanmasına karşı daha yoğundu.

Tablo 4.8 Ovariectomi yapılan ve HA uygulanan sıçanların endometriyumunda $\alpha 5$, $\beta 3$ ve matriks metalloproteinaz ifadesi

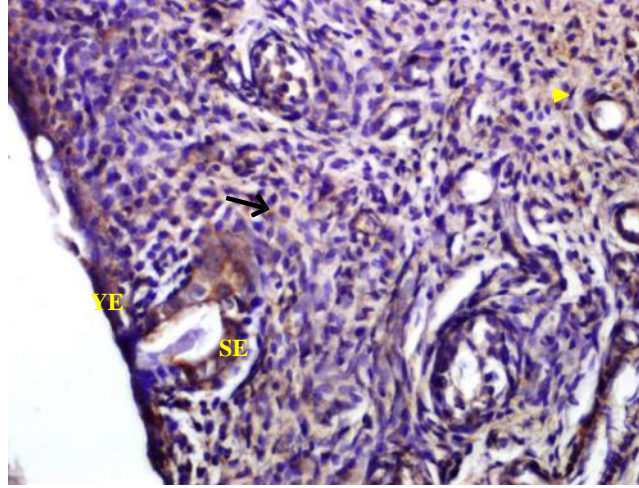
	$\alpha 5$ İntegrini	$\beta 3$ İntegrini	Matriks Metalloproteinaz
Yüzey Epitelyum Hücre Sitoplazması	++	++	++
Yüzey Epitelyum Hücre Çekirdeği	-	-	-
Salgı Epitelyum Hücre Sitoplazması	++	++	++
Salgı Epitelyum Hücre Çekirdeği	-	-	-
Stromal Hücreler	-	-	-
Stromal Lifler	+	+/-	+



Şekil 4.22HA uygulanan ovariectomi yapılmış sıçanların endometriyum dokusunda ki αV integrin alt birimininyerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.23HA uygulanan ovariectomi yapılmış sıçanların endometriyum dokusunda ki $\beta 3$ integrin alt birimininyerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).



Şekil 4.24HA uygulanan ovariectomi yapılmış sıçanların endometriyum dokusunda ki MMP-2'nin yerleşimi ve dağılımında yüzey epiteli; (YE), salgı epiteli; (SE), stromal hücre; (ok), stromal lif; (okbaşı) yapıları görülmektedir (İmmünoperoksidaz X400).

Özetle, immünohistokimyasal boyama yapılan kesitlerde pozitif boyanan stromal hücreler deney ve kontrol grubu açısından incelendiğinde;

- Östrus dönemindeki sıçanlarda $\beta 3$ integrin alt biriminin deney grubunda kontrol grubundan daha yüksek olduğu,
- Diöstrus dönemindeki sıçanlarda MMP-2'nin kontrol grubunun deney grubundan, αV integrin alt biriminin ise deney grubunun kontrol grubundan daha yüksek olduğu,
- Proöstrus dönemindeki sıçanlarda MMP-2'nin deney grubunun kontrol grubundan, αV integrin alt biriminin ise kontrol grubunun deney grubundan daha yüksek olduğu saptandı. Tüm bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,005$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9 İstatistiksel analiz sonuçları

	Östrus β 3		Diöstrus MMP-2		Diöstrus α v		Proöstrus MMP-2		Proöstrus α v	
	Kontr ol	Deney	Kontr ol	Deney	Kontr ol	Deney	Kontr ol	Deney	Kontr ol	Deney
Mean	1,08	2,08	37,67	28,50	29,00	53,83	60,00	64,83	63,33	48,67
Std. Deviation	0,49	1,1	3,72	1,05	2,61	5,23	1,26	0,75	2,87	2,25
Asymp. Sig.	0,002		0,004		0,004		0,003		0,004	

5. TARTIŞMA

İmplantasyon hem endometriyumdan hem de embriyodan köken alan çeşitli faktörlerin rol aldığı kompleks bir süreçtir (Herler vd 2003, Minas vd 2005). Yardımcı üreme teknikleriyle implantasyon oranları yükseltilmesine rağmen yinede infertilitede implantasyon defektleri en büyük sorunu oluşturmaktadır. Gardner ve arkadaşları embriyo transfer medium içine HA eklemişler ve sonuçta implantasyonun ve fetal gelişimin arttığı saptamışlardır. Fare uterusunda özellikle stromal hücrelerin implantasyon için çoğaldığı dönemde HA seviyesinin anlamlı bir şekilde artması endometriyumun implantasyona hazırlanmasında HA'nın önemli rolü olabileceği kanısını güçlendirmektedir (Gardner vd 1999).

Embriyo transfer medyumuna HA eklenmesi embriyonun transferden sonra uterus boşluğundan çıkmasını engeller. HA'nın embriyonun endometriyuma yapışmasında etkili olan faktörlerin aktivasyonunu ya da inhibisyonunu etkilediği ileri sürülmektedir (Mansour ve Aboulghar 2002, Nakagama vd 2012). Bununla birlikte HA'nın embriyo implantasyon oranını artırma mekanizması belli değildir.

Tümör hücreleri HA'dan zengindir ve yayılımı HA ile ilişkilidir. HA, $\alpha V\beta 3$ integrine bağlanır ve NF κ B nin uyarılmasına neden olur. NF κ B bu uyarıdan sonra çekirdeğe girer ve DNA'ya bağlanarak NIK ve I κ B α moleküllerinin fosforile olmasına neden olur. Fosforile I κ B α MMP'leri aktive ederek ECM'nin bozulmasına neden olur. ECM'nin bozulmasıyla engeller kalkar ve tümör hücrelerin göçü ve yayılımı başlar (Rosales ve Juliano 1996, Karin 2006, Prakash vd 2011).

Çalışmamızda tümör hücrelerinde integrin yolağını uyararak yayılımı artıran ve transfer medyumuna eklendiğinde implantasyon oranını artıran HA'nın sıçan genital siklusuna etkisi ve implantasyon oranını artırmada $\alpha V\beta 3$ integrinlerin ve dolayısı ile matriks metalloproteinazların rolünü araştırmak amaçlandı.

Endometriyum, adezyon moleküllerinden integrinlerce zengin bir bölgedir ve ekspresyonları menstrüel siklus süresince değişkenlik gösterir. Kayıslı ve arkadaşlarının (2000) yaptığı çalışmada luteal fazda $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 6$ bez epitelinde, αV ise lümen epitelinde bulunur. αV integrini desidual reaksiyon alanlarında bez ve lümen epitelinde yoğunken desidual reaksiyon olmayan alanlarda da çok zayıf immünoreaktivite gözlenmiştir (Ergürel vd 2002).

Foliküler fazda, yüksek östrojen alfa reseptörünü inhibe etmektedir. Luteal fazda ise progesteron artışı ve östrojenin azalması sonucunda belirgin integrin artışı olur (Özcan 2010). Mid luteal faz endometriyumunda integrin subünitlerinden $\alpha 1$ ve $\alpha 4$ bez epitelinde eksprese olurken, $\beta 3$ hem bez hem de yüzey epitel hücrelerinde saptanmıştır (Sülz vd 1998).

Sülz ve arkadaşlarının (1998) yaptığı çalışmada ise αV subüniti folliküler ve luteal fazda stromal hücrelerde, yüzey ve bez epitelinde izlenirken $\beta 3$ subüniti sadece luteal fazda pozitif reaksiyon göstermiştir (Sülz vd 1998).

Lessey ve arkadaşları (1992, 1996) tarafından yapılan çalışmada $\alpha V\beta 3$ 'ün ekspresyonunun esas olarak progesteron tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir. Bu çalışmada östrojen bir majör inhibitör olarak görev yaparken progesteronun $\alpha V\beta 3$ integrin ekspresyonunu uyardığı açık bir şekilde gösterilmiştir (Srinivasan vd 2009).

Bir başka çalışmada ise östrojenin tek başına $\alpha V\beta 3$ reaksiyonunu inhibe ettiği progesteronun ise uyardığı belirtilmiştir. Östrojen ve progesteronun birlikteliğinde ise integrin ekspresyonun çok yüksek olduğu saptanmıştır (Srinivasan vd 2009).

Bizim çalışmamızda hormonların en yüksek seviyede olduğu proöstrus fazı endometriyumunda yüzey ve bez epitel hücreleri, stromal hücreler ve lifler αV ve $\beta 3$ integrinleri için kuvvetli boyanma gösterdi. Bulgularımız HA uygulanan deney grubunda da aynı idi. αV ve $\beta 3$ reaksiyonu östrojenin olduğu diğer hormonların seviyesinin düştüğü östrus, progesteronun artmaya başladığı ancak seviyesinin düşük olduğu diöstrus ve ovariektomi grubunda yüzey ve bez epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde negatifti.

Farelerde ve sıçanlarda östrus siklusu postnatal 28. -42. Günlerde, vajinal açıklığın belirmesiyle ve vajinal smear yöntemi kullanılarak takip edilebilir. Yaklaşık 4-5 gün sürer.

Fare ve sıçanlarda insanlarınkine benzer şekilde genital siklus çeşitli hormonların kontrolündedir. Prolaktin, LH ve FSH proöstrusun akşam saatlerinde yükselmeye başlar ve östrodiol seviyesi proöstrusta pik seviyeye ulaşır östrus döneminde bazal seviyeye gelir. Progesteron sekresyonu diöstrus fazında artar diöstrus II de yüksektir. Diöstrus fazının ardından düşmeye başlar. Progesteron değeri ikinci pik seviyesine proöstrus fazının sonunda ulaşır.

Bizim çalışmamızda progesteron hormonun pik yaptığı proöstrus fazında hem kontrol grubunda hem de HA verilen grupta da yüzey epitel ve bez epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde αV ve $\beta 3$ integrin kuvvetli pozitif boyanma gösterdi. Boyanma hem nükleer hem de sitoplazmikti.

MMP'ler protein komponentlerin parçalayan çinko bağımlı bir enzimdir. Bu özelliğinden dolayı dokuların bozulmasında ve yeniden şekillenmesinde önemli rol oynar. Uzun süre metalloproteinazların fizyolojik işlevinin sadece ekstrasellüler komponentleri bozarak hücre göçünü kolaylaştırmak olduğu düşünülmekteydi. Ancak son yıllardaki araştırmalar MMP'lerin yalnızca ECM komponentlerin düzenlenmesinde değil aynı zamanda adezyon molekülleri, sitokinler, büyüme faktörleri ve reseptörleri ve pek çok çeşit enzim gibi ECM komponenti olmayan moleküllerin işlevinin düzenlenmesinde de görev aldığını göstermiştir (Beaudeau vd 2004, Libra vd 2009). Progesteron MMP'lerin işlevinde aşırı ektravillöz trofoblast invazyonun önlenmesi için negatif düzenleyici olarak görev yapar (Halasz ve Szekeres- Bartho 2013). Mountain ve arkadaşlarının 2012 yılında yapmış olduğu çalışmada ovariektomi yapılan farelerde MMP olmadığını hormon replasman tedavisinden sonra ise MMP ekspresyonunun anlamlı bir şekilde arttığını göstermiştir (Mountain vd 2013). Bir diğer çalışma da ise östrojen ve progesteronun MMP aktivitesini attırdığı bildirilmektedir (Halasz ve Szekeres- Bartho 2013).

Bizim çalışmamızda metalloproteinaz yüzey ve bez epitelinde, stromal hücrelerde proöstrus fazında pozitif diöstrus, östrus fazında ve ovariektomide ise negatif reaksiyon gösterdi.

Daha önceki çalışmalarda integrinlerin hormonların kontrolünde olduğunu ve özellikle progesteron hormonunun integrin ve MMP ekspresyonunu arttırdığı bildirilmektedir. Bizde östrojen ve progesteron hormonunun en yüksek seviyede olduğu proöstrus döneminde integrin ve MMP ekspresyonunun kuvvetli pozitif olduğunu saptadık. Bu fazda kontrol ve deney grupları arasında farklılık yoktu. Östrojen hormonunun etkisindeki östrus fazında epitel hücrelerin ve stromal hücrelerin negatif ve zayıf pozitif olması HA verilen östrus grubunda negatif boyanmanın orta derece boyanmaya olması oldukça ilginçti. Diöstrus ve ovariektomi grubunda da östrus grubuna benzer şekilde epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde negatif reaksiyon izlenirken HA verilen grupta reaksiyonun pozitif olması dikkat çekiciydi. Bununla birlikte diöstrus ve ovariektomi grubu endometriyum yüzey ve bez epitel hücrelerinde östrus grubunda izlenen çekirdek boyanması yoktur.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda αV , $\beta 3$ ve metalloproteinazın ovariektomide negatif izlenirken HA uygulamasından sonra pozitif ekspresyon göstermesi ve östrus ve diöstrus fazlarından elde edilen sonuçların proöstrus fazından farklı olması her üç molekülünde hormonların kontrolünde olduğu görüşünü güçlendirmektedir.

HA ile yapılan transferlerde implantasyon oranının arttığı bildirilmektedir Östrus, diöstrus ve ovariektomi grubunda αV , $\beta 3$ ve MMP'lerine epitel hücrelerindeki ekspresyonlarının kontrol ve deney gruplarında farklı olması HA'nın αV , $\beta 3$ integrinler aracılığı ile işlev yapıyor olabileceğini düşündürmektedir.

Endometriyumda bulunan $\alpha V\beta 3$ heterodimeri implantasyon için olmazsa olmaz moleküllerdendir. Negatif ekspresyon infertilite nedenidir. Bu nedenle bu moleküllerle ileri düzeyde çalışmaların olması infertilitenin tedavisinde yeni yaklaşımlar getirecektir.

7.KAYNAKLAR

- Afify, A. M., Craig, S., Paulino, A.F. (2006) Temporal variation in the distribution of hyaluronic acid, CD44s, and CD44v6 in the human endometrium across the menstrual cycle. **Appl Immunohistochem Mol Morphol.**, 14: (3) 328-333.
- Akkuş, Ö. (2005) Diz osteoartritli hastalarda viskosuplementasyon, Uzmanlık Tezi, **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi**, Isparta, 65s.
- 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: (10) 4991-5000.
- Atabekoğlu, C. S., Engin Y., Üstün, Y., Aytaç, R. (2002) Üreme Fizyolojisi ve adhezyon molekülleri. **Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası**, 55: (1) 85-92.
- Aytekin, M., Çaylak, E. (2009) Hiyaluronan, tanı ve tedavideki önemi. **Tüberküloz ve Toraks Dergisi**, 57: (3) 356-364.
- Baka, M., Ateş, U., Yılmaz Dilsiz, Ö., Uyanıkgil, Y. (2010) Deney Hayvanları Kullanım Kursu Kitabı, **Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**, Bornova- İzmir, s. 304- 305.
- Beaudeau, J. L., Philippe, G., Bruckert, E., Foglietti, M. J. and Chapman, M. J. (2004) Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. **Clin. Chem. Lab. Med.** 42: 121-131.
- Beceriklisoy, H. B., (2007) Köpeklerin erken gebelik döneminde matriks metalloproteinazların ve doku uyuşum antijenlerinin uterus ve plasentada belirlenmesi, Doktora Tezi, **Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 106s.
- Çakır, O., Kazancıoğlu, H. O., Ak, G. (2011) Diş hekimliğinde hyaluronik asidin yeri. **İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi**, 55: (1) 37-41.
- Çimen, T. (2011) Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan hastalarda düşük moleküler ağırlıklı heparin kullanımının gebeliğin seyri ve sonuçları üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi**, Isparta, 87s.
- Darzynkiewicz, Z., Balazs, E. A. (2012) Genome integrity, stem cells and hyaluronan. **Aging (Albany NY)**, 4: (2) 78-88.

- Engin, Y., Tezcan, S., Üstün, Y., Dündar, İ. (2001) . Endometriyum kanserinde prognostik faktörler. **Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası**, 57: (1) 57-63.
- Ergürel, G., Demir, N., Demir, R. (2002) Adezyon moleküllerinin yapısal özellikleri ve fonksiyonları. **T. Klin. J. Med. Sci.**, 22:313-327.
- Eroschenko, V. P. (2008) Difiore Histoloji Atlası, Çeviri Editörü: Ramazan Demir, **Palme Yayıncılık**, Ankara, 391-397s.
- Gardner, D. K., Rodriegez-Martinez, H., Lane, M. (1999) Fetal development after transfer is increased by replacing protein with the glycosaminoglycan hyaluronan for mouse embryo culture and transfer. **Hum Reprod.**, 14: 2575–80.
- Gartner, L. P., Hiatt, J. L. (2009) Renkli Histoloji Atlası, Çeviri Editörleri: Atilla Dağdeviren, F. Sevda Müftüoğlu, Gülten Karabay, **Güneş Tıp Kitapevleri**, Ankara, 360-362s.
- Gökmen, Z. G. (2012) Sıçan modelinde, hyaluronik asidin yarık damak operasyonu sonrası maksiller kemik gelişimi üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, **Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi**, Bursa, 38s.
- Güç, D. (2004) Adezyon molekülleri. **ANKEM Derg.**, 18 (Ek-2): 158-163.
- Halasz, M., Szekeres-Bartho, J. (2013) The role of progesterone in implantation and trophoblast invasion. **J Reprod Immunol.** 97: (1) 43-50.
- Herrler, A., Von Rango, U., Beier, H. M. (2003) Embryo-maternal signaling: how the embryo starts talking to its mother to accomplish implantation. **Reprod Biomed Online**, 6: 244–56.
- Junca, A., Gonzalez Marti, B., Tosti, E., Cohen, M., De la Fontaine, D., Benkhalifa, M., Ménézo, Y. (2012) . Sperm nucleus decondensation, hyaluronic acid (HA) binding and oocyte activation capacity: different markers of sperm immaturity? Case reports. **J. Assist Reprod. Genet.**, 29: (4) 353-5.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J. (2009) Temel Histoloji, Çeviri Editörleri: Seyhun Solakoğlu, Yener Aytekin, **Nobel Tıp Kitapevleri**, İstanbul, 444-449s.
- Karaöz, E. (2002) Özel Histoloji, **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi**, Isparta, 219- 220s.
- Karin, M. (2006) NF-kappaB and cancer: mechanisms and targets. **Mol. Carcinog.** 45: (6) 355–361.
- Lessey, B. A. (2000) Endometrial receptivity and the window of implantation. **Baillieres Best Pract. Res. Clin. Obstet Gynaecol.**, 14: (5) 775-88.

- Libra, M., Scalisi, A., Vella, N., Clementi, S., Sorio, R., Stivala, F., Spandidos, D. A. and Mazzarino, C. (2009) Uterine Cervical Carcinoma: Role Of Matrix Metalloproteinases. **International Journal Of Oncology**, 34: 897-903.
- Mansour, R. T., Aboulghar, M. A. (2002) Optimizing the embryo transfer technique. **Hum Reprod.**, 17: 1149–1153.
- Meinert, M., Eriksen, G. V., Petersen, A. C., Helmig, R. B., Laurent, C., Ulbjerg, N., Malmström, A. (2001) Proteoglycans and hyaluronan in human fetal membranes. **Am. J. Obstet Gynecol.**, 184: (4) 679-85.
- Minas, V., Loutradis, D., Makrigiannakis, A. (2005) Factors controlling blastocyst implantation. **Reprod Biomed Online**. 10: 205–16.
- Mokánszki, A., Molnár, Z., Ujfalusi, A., Balogh, E., Bazsáné, Z. K., Varga, A., Jakab, A., Oláh, É. (2012) Correlation study between sperm concentration, hyaluronic acid-binding capacity and sperm aneuploidy in Hungarian patients. **Reprod Biomed Online**. 25: (6) 620-6.
- Moore, K. L., Persuad, T. V. N. (2002) Klinik Yönleri İle İnsan Embriyolojisi, Çeviri Editörleri: Mehmet Yıldırım, İmer Okar, Hakkı Dalçık, **Nobel Tıp Kitapevleri**, İstanbul, 24-28s.
- Mountain, D. J., Freeman, M. B., Kirkpatrick, S. S., Cook, R. B., Chalk, J. E., Stevens, S. L., Goldman, M. H., Grandas, O. H. (2013) Effect of hormone replacement therapy in matrix metalloproteinase expression and intimal hyperplasia development after vascular injury. **Ann Vasc Surg.**, 27: (3) 337-45.
- Mülazımoğlu, S. B., İde, T., Aslan, S. (2012) Ratlarda üreme, **Küçük deney hayvanlarından rat**, 39-44s.
- Nakagawa, K., Takahashi, C., Nishi, Y., Jyuen, H., Sugiyama, R., Kuribayashi, Y., Sugiyama, R. (2012) Hyaluronan-enriched transfer medium improves outcome in patients with multiple embryo transfer failures. **Assist Reprod Genet.**, 29: (7) 679-85.
- Olgar, Ş., Yetgin, S. (2003) Anjiyogenezis. **Çocuk Sağlığı ve Hatalıkları Dergisi**, 46:139-147.
- Ovalle, W. K., Nahirney, P. C. (2009) Netter Temel Histoloji, Çeviri Editörleri: Sevda Müftüoğlu, Figen Kaymaz, Pergin Atilla, **Güneş Tıp Kitapevleri**, Ankara, 412-416s.
- Öksüz, E. (2006) İntraserebral sıçan C6 glioblastomada cox-1, cox-2, cox-3 düzeyleri üzerine asetaminofen, metamizol ve indometasinin etkileri, Uzmanlık Tezi, **İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi**, İstanbul, 86s.
- Özcan, T. (2010) Diyabetin, implantasyon penceresi dönemindeki sıçan endometriyumunda $\alpha\beta3$ integrin ekspresyonuna ve ince yapıya etkisi, Yüksek Lisans Tezi, **Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Mersin, 69s.

- Petersen, C. G., Massaro, F. C., Mauri, A.L., Oliveira, J. B., Baruffi, R. L., Franco, J.G. Jr. (2010) Efficacy of hyaluronic acid binding assay in selecting motile spermatozoa with normal morphology at high magnification. **Reprod. Biol. Endocrinol.**, 8:149.
- Prakash, M., Kale S., Ghosh I., Kundu, G. C., Datta, K. (2011) Hyaluronan-binding protein 1 (HABP1/p32/gC1qR) induces melanoma cell migration and tumor growth by NF-kappa B dependent MMP-2 activation through integrin $\alpha v \beta 3$ interaction. **Cell Signal**, 23: (10) 1563-77.
- Rosales, C., Juliano, R. (1996) Integrin signaling to NF-kappa B in monocytic leukemia cells is blocked by activated oncogenes. **Cancer Res.**, 56: 2302–2305.
- Ross, H. M., Romrell, J. L., Kaye, I .G. (1995) Histology, A Text and Atlas, Williams and Wilkins, **Baltimore**, 692-706s.
- San Martin, S., Soto-Suazo, M., Zorn, T. M. (2003) Distribution of versican and hyaluronan in the mouse uterus during decidualization. . **Braz J Med Biol Res.**, 36: (8) 1067-71.
- Sapmaz Metin, M. (2008) . Normal ve süperovule farelerde iyonizan radyasyonun ovaryum morfolojisi, östrus siklusu ve ovulasyon oranı üzerine etkilerinin incelenmesi, Doktora Tezi, **Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Edirne, 127s.
- Sözen, E. O. (2008) Menstrüel döngüde sıçan uterus epitelinde sıkı ve oluklu bağlantı proteinlerinin dağılımlarının immünohistokimyasal olarak belirlenmesi, Doktora Tezi, **Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 71s.
- Srinivasan, K. R., Blesson, C. S., Fatima, I., Kitchlu, S., Jain, S. K., Mehrotra, P. K., Dwivedi, A. (2009) Expression of $\alpha v \beta 3$ integrin in rat endometrial epithelial cells and its functional role during implantation. **Gen Comp Endocrinol.**, 160: (2) 124-33.
- Sülz, L., Valenzuela, J. P., Salvatierra, A. M., Ortiz, M. E. and Croxatta H. B. (1998) The expression of αv and $\beta 3$ integrin subunits in the normal human fallopian tube epithelium suggests the occurrence of a tubal implantation window. **Human Reproduction**, 13: (10) 2916-2920.
- Şeftalioğlu, A. (1998) Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi, **FeryalMatbaası**, Ankara, 53- 67s.
- Şimşek, G. (2004) Kemik defektlerinin iyileşmesinde hyaluronik asit ve heterojen kemik greftinin etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi, Dokora Tezi, Atatürk Üniversitesi **Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Erzurum, 71s.
- Tei, C., Maruyama, T., Kuji, N., Miyazaki, T., Mikami, M., and Yoshimura Y. (2003) Reduced expression of $\alpha v \beta 3$ integrin in the endometrium of unexplained

infertility patients with recurrent IVF-ET failures: improvement by danazol treatment. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, 20: (1) 13-20.

Turhan, F., (2007) Menstrüal döngüde sıçan uterus yapısındaki elektron mikroskopik değişiklikler, Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 85s.

Ueno, S., Yoshida, N., Niimura, S. (2009) Amount of hyaluronan produced by mouse oocytes and role of hyaluronan in enlargement of the perivitelline space. **J. Reprod. Dev.**, 55: (5) 496-501.

Yılmaz Dilsiz, Ö., (2008) Deneysel sıçan endometriyozis modelinde implantasyon kusurunun histolojik olarak değerlendirilmesi, Uzmalık Tezi, **Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi**, İzmir, 361s.

Yokoo, M., Kimura, N., Abe, H., Sato, E. (2008) Influence of hyaluronan accumulation during cumulus expansion on in vitro porcine oocyte maturation. **Zygote**. 16: (4) 309-14.

WEB_1. (2013). Uterus anatomisi. <http://www.saglik.ca/uterus/> (18.06.2013)

WEB_2. (2012). Uterus histolojisi. <http://legacy.owensboro.kctcs.edu/gcaplan/anat2/histology/histo%20c%20female%20reproductive.htm> (18.06.2013)

WEB_3. (2013). Sıçanlarda östrus siklusu. www.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1290982473.ppt (18.06.2013)

WEB_4. (2012). Sperm hiyaluronan. <http://www.kaanaydos.com.tr/sperm-membran-yapisi-ve-fertilizasyonda-fonksiyonlari.html> (19.06.2013)

7.ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Denizli’de doğdum. Orta öğrenimimi Denizli Çivril Emine Özcan Anadolu Lisesi’ndetamamladıktan sonra, 2005 yılında Antalya Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde lisans eğitimime başladım. 2010 yılı Ocak ayında eğitimimi tamamladım. 2010 yılı Eylül ayında Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimime başladım.

Bilimsel Toplantılarda Sunulan Bildiriler:

Ergun Mete, Gülçin Mete, Emin Oğuzhan Oğuz, Hatice Oruç. “Immunohistochemical detection of c-kit,TRA-1-60, TRA-1-81, STRO-1, CD34, CD73, CD105 expression in ovarian tissue”. ISEH Society for Hematology and Stem cells 41st Annual Scientific Meeting/Experimental Hematology 2012, Late Breaking Abstract

Gülçin Abban Mete, Hatice Oruç, Ergun Mete, Duygu Gök. Fare Endometriumda Tra-1-60, Tra-1-81, Stro-1, Cd34, Cd73, Cd105 İfadelerinin İmmunohistokimyasal Olarak Gösterilmesi. 11. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Denizli,16-19 Mayıs, 2011.

Ulusal Dergilerde Yayımlanan Yayınlar:

Asiye Usta, Hatice Oruç, Gülçin Abban Mete. Leptinin yenidoğan sıçanların testis germ hücrelerine etkisinin ışık mikroskop düzeyinde incelenmesi. Pam Tıp Derg, ;5(2):75-83(2012)