TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNEKLERDE GEBELİK SÜRESİNCE PLASENTADA BAZI HOMEOBOX (HOX) PROTEİNLERİNİN DAĞILIMI

Arş. Gör. Uğur TOPALOĞLU

DOKTORA TEZİ

VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Aydın KETANİ

DİYARBAKIR-2020

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Uğur TOPALOĞLU'nun hazırladığı "**İneklerde Gebelik Süresince Plasentada Bazı Homeobox (HOX) Proteinlerinin Dağılımı**" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel yönden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 10/07/2020

Danışman Prof. Dr. M. Aydın KETANİ

Jüri Üyeleri İmza

Jüri Başkanı	Prof. Dr. M. Aydın KETANİ
Üye	Prof. Dr. Nihat ÖZYURTLU
Üye	Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ
Üye	Doç. Dr. Deniz KORKMAZ
Üye	Doç. Dr. İsmail Şah HAREM

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …/…/2020 tarih ve ……..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

…../…../……

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

10/07/2020

Uğur TOPALOĞLU

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren danışmanım sayın Prof. Dr. M. Aydın KETANİ'ye, tavsiye ve önerileri ile her konuda bana katkı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN, Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ ve Doç. Dr. M. Erdem AKBALIK'a,

Tezin laboratuvar aşamalarında bana destek olan bölümümüz doktora öğrencilerinden sevgili arkadaşım Veteriner Hekim Bayram BAYRAM'a,

Tez çalışmamın istatistik yönden değerlendirilmesinde büyük yardımlarda bulunan değerli büyüğüm Biyolog. Dr. Uğur ŞEKER'e,

Bu günlere gelmemde ve eğitim hayatım boyunca çok büyük emeği olan değerli aileme, doktora süresince desteğini yanımda hissettiğim canım eşim Belgin TOPALOĞLU'na ve bu süreçte varlığı ile beni motive eden biricik oğlum Ulaş TOPALOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından VETERİNER.19.004 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

BEYAN I
TEŞEKKÜR II
İÇİNDEKİLER DİZİNİ III
ŞEKİLLER LİSTESİ VIII
TABLOLAR LİSTESİ XII
1. ÖZET 1
1.1. TÜRKÇE ÖZET 1
1.2. ABSTRACT 3
2. GİRİŞ VE AMAÇ 5
3. GENEL BİLGİLER 8
3.1. Uterus 8
3.1.1. Uterus Embriyolojisi 8
3.1.2. Uterusun Anatomik Yapısı 9
3.1.3. Uterusun Histolojik Yapısı 10
3.1.4. Gebelik ve İmplantasyon 12
3.1.5. Plasenta Yapısı ve Sınıflandırılması 13
3.2. Homeobox Genler ve Alt Üniteleri 17
3.2.1. HOXA10 19
3.2.2. HOXA11 21
3.2.3. HOXB6 21
3.2.4. HOXC6 22
3.2.5. TLX1 23
3.2.6. Dlx-5 23
3.2.7. HLX 24
4. GEREÇ VE YÖNTEMLER 26

4.1. Doku Örneklerinin Temini 26
4.2. Rutin Histolojik Doku Takibi ve Boyama 30
4.3. İmmunohistokimyasal Boyama 30
4.4. İmmunohistokimyasal Boyanma Sonuçlarının Değerlendirilmesi 31
5. BULGULAR 33
5.1. İmmunohistokimyasal Bulgular 33
5.1.1. HOXA10 33
5.1.2. HOXA11 37
5.1.3. HOXB6 41
5.1.4. HOXC6 45
5.1.5. TLX1 49
5.1.6. Dlx-5 53
5.1.7. HLX 57
5.2. İstatistiksel Bulgular 62
5.2.1. HOXA10 62
5.2.2. HOXA11 63
5.2.3. HOXB6 64
5.2.4. HOXC6 65
5.2.5. TLX1 66
5.2.6. Dlx-5 67
5.2.7. HLX 69
6. TARTIŞMA 70
8. KAYNAKLAR 92
9. ÖZGEÇMİŞ 116
10. EKLER 117
EK-1. Etik Kurul Karar Belgesi 117

EK-2. Yayımlanan Makale Bilgisi 118
11. TEZ SAVUNABİLİRLİK VE ORJİNALLİK BEYAN FORMU 119
11.1. ORJİNALLİK RAPORU 120

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

Abd-B	:	Abdominal B
AMH	:	Anti-Mullerian Hormon
BE	:	Bez Epiteli
BMP7	:	Kemik Morfojenik Protein 7
CL	:	Korpus Luteum
CNS	:	Merkezi Sinir Sistemi
DAB	:	3’3-diaminobenzidine hydrochloride
Dll	:	Drosophila'nın Distal-az (Distal-less)
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
EVT	:	Extra Villous Trophoblast
FGF	:	Fibroblast Growth Factors
FGFR2	:	Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü 2
IFNT	:	İnterferon tau
IGFBP-3	:	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein3
IGFBP-1	:	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein1
IVF	:	İn Vitro Fertilizasyon
LE	:	Luminal Epitel
MLL2	:	Mixed Lineage Leukemia Proteini 2
MLL3	:	Mixed Lineage Leukemia Proteini 3
PBS	:	Phosphate Buffer Saline
PD	:	Proksimo-Distal
PDGFRA	:	Trombosit Türevi Büyüme Faktörü Reseptörü α

PGF2α	:	Prostaglandin 2 α
PSPB	:	Gebelik Spesifik Protein B
PAG	:	Gebelik ilişkili glikoprotein
P4	:	Corpus Luteum Türevi Olan Steroid Progesteron
T-ALL	:	T Hücresi Akut Lenfoblastik Lösemisi
TGC veya BNC	:	İki Çekirdekli Trofoblast Dev Hücreleri
TGF	:	Transforming Growth Factor
TLX	:	T-hücresi Lösemi Translokasyonu
TNC	:	Hibrid Fötomaternal Sinsitial Plak Hücreleri
UTC	:	Tek Çekirdekli Trofoblast Hücreleri

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa no

Şekil-1: Homeobox genlerinin drosophilada 3' deki HOM-C kümesi ile insan ve farelerin farklı kromozomlarında bulunan HOX/hox A/a, B/b, C/c D/d şeklindeki dört alt kümenin ayrıntılı gösterimi...……...……..**18**

Şekil-2: Gelişmekte olan paramezonefrik kanalı kodlayan; HOXA9, HOXA10, HOXA11 ve HOXA13'ün eksprese olduğu organ ve kısımları…..……..….**20**

Şekil-3: İnek fötüsünde baş-sağrı uzunluğunun (CRL) ölçümü (ilk dönem)….....**26**

Şekil-4: İnek fötüsünde baş-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki ilişki (orta dönem) ……...**27**

Şekil-5: İnek fötüsünde baş-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki ilişki (son dönem)…….....**27**

Şekil-6: Gebeliğin ilk döneminde (69 günlük), (A,B,b), ikinci döneminde (99 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (190 günlük), (E,F,e) uterusta gözlenen HOXA10 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometrium, Ok: Miyometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 25 µm, (D) 50 µm..**……..…34**

Şekil-7: Gebeliğin ilk döneminde (69 günlük), (A,B), ikinci döneminde (99 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (190 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HOXA10 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm……..…….....**36**

Şekil-8: Gebeliğin ilk döneminde (79 günlük), (A,B), ikinci döneminde (106 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (249 günlük), (E,F) uterusta gözlenen HOXA11

immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Bar:25 µm…….…….…….**38**

Şekil 9: Gebeliğin ilk döneminde (79 günlük), (A,B), ikinci döneminde (106 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (249 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HOXA11 immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi,. Bar:25 µm……..…..…**40**

Şekil-10: Gebeliğin ilk döneminde (86 günlük), (A,B), ikinci döneminde (114 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (227 günlük), (E,F) uterusta gözlenen HOXB6 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Miyometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 25 µm, (F) 50 µm..……..**42**

Şekil-11: Gebeliğin ilk döneminde (86 günlük), (A,B), ikinci döneminde (114 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (227 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HOXB6 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm……..…….**44**

Şekil-12: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük), (A,B), ikinci döneminde (178 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (257 günlük), (E,F) uterusta gözlenen HOXC6 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometrium, Ok: Miyometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 25 µm, (B, F, D) 50 µm……...…**46**

Şekil-13: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük), (A,B), ikinci döneminde (178 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (257 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HOXC6 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma,

FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm…… ……**48**

Şekil-14: Gebeliğin ilk döneminde (87 günlük), (A,B), ikinci döneminde (140 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (269 günlük), (E,F) uterusta gözlenen TLX1 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, M: Miyometriyum, Bar (A, B, D, E): 25 µm, (F) 50 µm……..……..……...**50**

Şekil-15: Gebeliğin ilk döneminde (87 günlük), (A,B), ikinci döneminde (140 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (269 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen TLX1 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Fötal stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm…… …….**52**

Şekil-16: Gebeliğin ilk döneminde (73 günlük), (A,B), ikinci döneminde (102 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (219 günlük), (E,F) uterusta gözlenen Dlx-5 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Düz kas hücresi, Bar: 25 µm, (B, F) 50 µm……**54**

Şekil-17: Gebeliğin ilk döneminde (73 günlük), (A,B), ikinci döneminde (102 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (219 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen Dlx-5 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Fötal stromal hücre (**B)** Maternal stroma hücresi (A, E) , Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm……..…….….**56**

Şekil-18: Gebeliğin ilk döneminde (75 günlük), (A,B), ikinci döneminde (123 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (202 günlük), (E,F) uterusta gözlenen HLX immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, M: Miyometriyum, Bar (A, C, D, E): 25 µm, (B, F) 50µm…….**58**

Şekil-19: Gebeliğin ilk döneminde (75 günlük), (A,B), ikinci döneminde (123 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (202 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HLX immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Fötal stromal hücre, (B) Maternal stroma hücresi (A, E) , Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm……..……..…**60**

Şekil-20: HOXA10, HOXA11, HOXB6, HOXC6, TLX1, Dlx-5 ve HLX Proteinleri için yapılan negatif kontrol immunoreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal Epitel, B: Endometriyum Bezi, S: Stroma, yıldız: Bez epiteli, M: Miyometriyum, D: Damar, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, FM: Fötal mezenşim, Me: Maternal epitel**…….61**

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa no

Tablo-1: Kullanılan materyalin gruplandırılması..…….…….....**28**

Tablo-2: Belirlenen fötus yaşlarına bağlı olarak gebelik süreleri……. **29**

Tablo-3: Kullanılan antikorlara ait veriler……..……...……..…**31**

Tablo-4: İnek uterus ve plasentasında HOXA10 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar……..……**61**

Tablo-5: İnek uterus ve plasentasında HOXA11 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar ……..…….**63**

Tablo-6: İnek uterus ve plasentasında HOXB6 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar ……..…....**64**

Tablo-7: İnek uterus ve plasentasında HOXC6 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar ……..…..…**65**

Tablo-8: İnek uterus ve plasentasında TLX1 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar ……..**66**

Tablo-9: İnek uterus ve plasentasında Dlx-5 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar ……...**67**

Tablo-10: İnek uterus ve plasentasında HLX proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar ……...**68**

1.ÖZET

İneklerde Gebelik Süresince Plasentada Bazı Homeobox (HOX) Proteinlerinin Dağılımı

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Uğur TOPALOĞLU

Danışmanı: Prof. Dr. M. Aydın KETANİ

Anabilim Dalı: Veteriner Histoloji ve Embriyoloji

1.1. TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Bu çalışma, gebelik süresince inek uterus ve plasentasında bazı Homeobox proteinlerinin (HOXA10, HOXA11, HOXB6, HOXC6, TLX1, Dlx-5, HLX) dağılımlarını tespit etmek amacıyla tasarlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmada Diyarbakır ve Hatay'da bulunun özel kesimhanelerden elde edilen toplam 27 adet Holstein ırkı gebe inek uterus ve plasentası kullanıldı. Kullanılan materyalin gebeliğin hangi dönemine ait olduğunu saptamak için fötusların alın sağrı uzunluğu ölçülerek fötusların yaşları belirlendi. Böylece belirlenen fötus yaşlarına dayanarak dokular gebeliğin ilk, orta ve son dönemine ait olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Kullanılan bütün doku örnekleri %10'luk nötral formalin solüsyonunda 24 saat boyunca tespit edildi ve daha sonra dokular rutin histolojik aşamalardan geçirilerek parafinde bloklandı. Hazırlanan parafin bloklarından, 5 mikrometre kalınlığında seri kesitler alındı ve alınan kesitler çalışmada belirlenen genlerle uygun antikorlar kullanılarak immunohistokimya boyamasına tabi tutuldu.

Bulgular: Bu araştırmadan elde edilen immunohistokimyasal bulguların değerlendirilmesi sonucunda, gebelik sürecindeki dönemlere bağlı olarak uterus ve plasentada değişik yoğunluklarda immunreaksiyonun görüldüğü tespit edildi. İmmunreaksiyon özellikle, uterusun luminal ve glanduler epitel hücreleri ile stromal ve bazı endotel hücrelerde gözlenmesinin yanı sıra HOXA10, HOXB6, HOXC6 ve Dlx-5 genlerinin düz kas hücrelerinde de reaksiyon verdiği belirlendi. Bunlarla birlikte, plasentanın yapısına katılan maternal epitel ve fötal trofoblastlarda da immunoreaktivitenin olduğu saptandı.

Sonuç: Sonuç olarak; bazı Homeobox proteinlerin, endometriyal fonksiyonların düzenlenmesinde, endometriyal ve plasental hücrelerin çoğalıp farklılaşmasında

kritik rollere sahip olabileceği düşünüldü. Bunun yanı sıra plasenta oluşumu ve gelişiminde olduğu gibi gebeliğin sürdürülmesinde de fizyolojik rollere sahip olabilecekleri anlaşıldı.

Anahtar Sözcükler: Gebe uterus, Homeobox, İnek, Plasenta, Trofoblast

Distribution of Some Homeobox (HOX) Proteins in Placenta During Pregnancy in Cows

Student's Surname and Name: TOPALOĞLU, Uğur

Adviser of Thesis: Prof. Dr. M. Aydın KETANİ

Department: Veterinary Histology and Embryology

1.2. ABSTRACT

Aim: This study was designed to determine the distribution of some Homeobox proteins (HOXA10, HOXA11, HOXB6, HOXC6, TLX1, Dlx-5, HLX) in the cow uterus and placenta during pregnancy**.**

Material and Method: A total of 27 Holstein breed pregnant cows uterus and placenta obtained from private slaughterhouses in Diyarbakır and Hatay were used in the study. The age of the fetuses was determined by measuring the frontal rump length of the fetuses in order to determine the term of pregnancy of the material used. Based on the determined fetus age, the tissues were divided into three groups, belonging to the first, middle and last period of pregnancy. All tissue samples used were fixed in a 10% neutral formalin solution for 24 hours and then the tissues were passed through routine histological stages and blocked in paraffin. Serial sections 5 micrometers thick were taken from the prepared paraffin blocks and the sections were subjected to immunohistochemical staining using appropriate antibodies related to the genes indicated in the study.

Results: As a result of the evaluation of the immunohistochemical findings obtained from this research, it was determined that different intensities of immunreactivity were observed in the uterus and placenta, depending on the periods during pregnancy. In particular, the immunreaction was observed in the luminal and glandular epithelial cells, stromal and some endothelial cells of the uterus, as well as the HOXA10, HOXB6, HOXC6 and Dlx-5 genes were localized in smooth muscle cells. In addition to these, immunoreactivity was also found in maternal epithelial and fötal trophoblasts involved in the structure of the placenta.

Conclusion: As a result, it was thought that some Homeobox proteins may have critical roles in the regulation of endometrial functions, in the proliferation and differentiation of endometrial and placental cells. In addition, it was understood that

they may have physiological roles in maintaining pregnancy as well as placenta formation and development.

Key Words: Cow, Homeobox, Placenta, Pregnant Uterus, Trophoblast

2. GİRİŞ ve AMAÇ

Oogenez ile dişi gametlerin meydana geldiği dişi üreme sistemi, döllenme ve fötusun gelişimi için uygun şartlar sağlayan çok yönlü bir sistemdir. Dişi üreme sistemi iç ve dış genital organları olmak üzere iki kısımdan oluşur. İç genital organlar; ovaryumlar, ovidukt (tuba uterina), uterus ve vajinadır. Dış genital organlar ise mons pubis, labiamajor, labiaminör, klitoris ve vestibülden oluşmaktadır (1).

Uterus; kas kontraksiyonları yardımıyla spermatozoonların ovidukta taşınması, kısmende olsa fertilizasyon için spermatozzonların kapasitasyonu ve döllenmiş oositin yerleşmesini takiben, canlının embriyonik ve fötal gelişimi doğrultusunda endokrin sistemin kontrolü ile morfolojik ve fonksiyonel olarak büyük değişimler gösteren eşsiz bir organdır (2). Uterusun fonksiyonları öncelikle ovaryum steroid hormonları olan östrojen ve progesteron ile düzenlenir. Bunlara ilaveten sitokinler, büyüme faktörleri gibi mediatörler de uterusun luminal epiteli, glandular epiteli ve stroması ile uterusun alıcılığı ve blastosistin implantasyonunu önemli derecede etkilemektedir (3).

İneklerde uterus, luminal epitelle örtülü stromal bezlerin bulunmadığı farklı bir vasküler organizasyona sahip olan ve karunkula olarak isimlendirilen yapılardan oluşur (4). Karunkulalar çift çekirdekli trofoblast hücreleri yoluyla uterus epiteli ile aralarındaki ilk bağlantının oluştuğu ve plasentasyonun meydana geldiği alanlardır (2). İneklerde fötal koriyon villusları belli bölgelerde topluluk halinde görülür ve bunlar kotiledon olarak adlandırılır. Bu fötal koryon villusları (kotiledon) ile maternal kriptlerin (karunkula) karşı karşıya gelmesi sonucunda oluşan materno-fötal proliferasyon alanları da plasentom olarak isimlendirilir. Plasentomlar anne ile yavru arasında besin maddeleri ve gaz alışverişine aracılık eden yapılardır (5).

Plasenta; plasentomlar, trofoblastik hücreler, fötal membranlar, allantoik ve amniyotik sıvılardan oluşan bir yapıdır (6). Plasenta birçok görevinin yanı sıra hormonal fonksiyonlarının yoğunluğu ve özelliği ile karakterizedir. Trofoblastlar tarafından ve özellikle de plasenta villusunu kaplayan sinsisyotrofoblast hücrelerinden salgılanan hormonlar, gebeliğin oluşumu ve devamı, maternal organizmanın gebeliğe hazırlanması, fötusun büyümesi ve gelişmesinin yanı sıra doğum mekanizmasında da önemli rollere sahiptir (7). Fötal gelişimin düzenlenmesi çok yönlü ve karmaşık olayları kapsamaktadır. Normal fötal büyüme, genetik olarak

önceden belirlenmiş büyüme potansiyeli ile birlikte maternal, fötal, plasental ve çevresel faktörler tarafından düzenlenir. Bununla birlikte fötal büyümede plasentanın gelişimi ve vaskülarizasyonunun büyüme faktörleri, transkripsyonel faktörler ve homeobox proteinleri gibi birçok faktör tarafından düzenlendiği bildirilmişitir (8).

Homeobox proteinleri, homeodomain olarak isimlendirilen ve 60 amino asit DNA bağlayıcı motifini kodlayan önemli transkripsiyon faktörleridir. Bu genlerin plasental vasküler sistemlerin işlevi ve embriyonik morfogenezisin düzenlenmesinin yanı sıra hücre çoğalması ve farklılaşması gibi birçok önemli rolleri bulunmaktadır (9, 10). Ayrıca bu genlerin seks steroidlerinin endometriyum üzerindeki etkilerini düzenlediği, transkripsiyon faktörlerini kodladığı ve implantasyon için gerekli oldukları da bildirilmiştir (11).

Homeobox genlerinin memelilerde ve omurgalılarda Drosophila HOM-C kompleksinin gen hemolojisi sırasına göre alt ailesi belirlenmiştir. Memelilerde HOX A, B, C ve D şeklinde dört ayrı kromozal kümede düzenlenen ve 39 gen içeren bu Homeobox genleri, fonksiyonel ve yapısal özelliklerine bağlı olarak çeşitli alt ailelerde bir araya gelerek hücresel büyüme ile farklılaşmanın spesifik yönlerinin kontrolüne etki etmektedirler (12). Farklı yerleşimleri ile birlikte farklı spesifik özellikleri ve etkilerine göre bu genler, değişik kromozomlarda bulunan HOX (A, B, C, D) 1 ile 13 arasındaki farklı paralog guruplarından oluşurlar (13). Homeobox gen ailesinin alt üyesi olan ve kromozom 7 üzerindeki HOX-A gen kümesine bağlı DLX-5/Dlx-5 geni, gelişimsel farklılaşma ve embriyonun şekillenmesinde önemli rol oynayan transkripsyonel düzenleyicileri kodlar (14, 15). Ayrıca insan plasentasının ve ekstra embriyonik keselerin gelişmesi ve hücre farklılaşmasında önemli rol oynadığı da ifade edilmiştir (16). Homeobox gen ailesinin diğer bir alt üyesi olan ve daha önce HB24/HLX-1 olarak bilinen HLX geni'nin, insan ve fare plasentasında izole edildiği ve plasenta gelişiminin potansiyel bir düzenleyicisi olduğu bildirilmiştir (17, 18). Homeobox genlerinin paralog kümelerinin dışında bulunan ve Hox11 olarak da bilinen (T-hücresi lösemi translokasyonu) TLX geni, çeşitli gelişimsel yollarda yer alan yetim homeobox transkripsiyon faktörlerinin bir üyesidir. Kromozomal translokasyon nedeniyle insanlarda tanımlanan Tlx-1, farelerde normal embriyogenezis, dalak ve bazı nöronların gelişimi için kritik bir rol oynadığı ifade edilmiştir (19-21).

Yapılan literatür taramalarında memelilerde özellikle de hayvanlarda tüm gebelik süresince uterus ve plasentada homeobox proteinlerinin dağılımını gösteren kaynakların sınırlı olması, bilhassa ineklerde tüm gebelik boyunca uterus ve plasentada bu proteinlerin varlığını ortaya koyan ve fizyolojik ilişkilerini inceleyen herhangi bir araştırmaya rastlanılmaması bu çalışmanın yapılmasında etkili olmuştur. Bu çalışma bazı homeobox proteinlerin, ineklerde döl verimi ve üreme arasındaki ilişkisinde nasıl bir rol oynadığının ortaya konulmasına, insanların ve memeli hayvanların gebelik dönemindeki uteruslarında meydana gelecek değişim mekanizmalarının anlaşılmasına ve bu proteinlerin plasenta gelişimindeki rollerinin aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.

Bu tez, ineklerde gebelik süresince uterus ve plasentada bazı homeobox proteinlerinin dağılımını immunohistokimyasal olarak belirlemek ve bu proteinlerin gebelik süresince olası fizyolojik rollerini ve dönemlere bağlı farklı fonksiyonel ilişkilerini ortaya koymak amacıyla tasarlanmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Uterus

Memelilerde dişi üreme sistemi; bir çift ovaryum, ovidukt, uterus, vajina, vestibül ve dış genital bölgeden oluşur. İneklerde uterus; serviks, korpus uteri ve iki kornu uteriden oluşan, interkornual bağ ile birbirine bağlanan bir organdır (22). Üreme ile ilgili birçok fonksiyonu bulunan uterus, müller kanalından gelişen kassel yapıda içi boş bir organdır. Uterusun, döllenmenin gerçekleşmesinden önce spermatozoonların kapasitasyonu ve taşınması, implante olmuş embriyonun beslenmesi ve gelişimi için uygun ortamın sağlanması, doğum esnasında endometriyumdan salgılanan prostaglandinlerin etkisi ile yavrunun ve plasentanın atılmasının yanı sıra salgıladığı prostaglandinler (PGF2α) sayesinde korpus luteumun lizisine etki etmesi gibi birçok fonksiyonuda bulunmaktadır (23).

3.1.1. Uterus Embriyolojisi

Dişi üreme sistemi mezoderm, primordial germ hücreleri, soelomik epitel ve mezenkim olmak üzere dört yapraktan köken alır. Uterus, vajinanın üst üçte birinin, serviksin ve her iki fallop tüpünün gelişmesiyle birlikte müllerian organogenezis sırasında oluşur (24, 25). Memelilerde genital sistem fötal yaşamın beşinci ve altıncı haftasına kadar, mezonefrik (Wolffian kanalı) ve Paramezonefrik (Mullerian kanalı) olarak bilinen iki çift genital kanal şeklinde kalır. Daha sonra dişilerde, Anti-Mullerian hormon (AMH) ve SRY geninin yokluğu, Wolff kanallarının gerilemesine ve Mullerian kanalların daha fazla farklılaşmasına neden olur. Paramezonefrik (Mullerian kanalı) kısımdan vajinanın üst üçte biri, serviks, fallop tüpleri ve uterus meydana gelir. Fötal yaşamın yedinci haftası boyunca paramezonefrik kanal her mesonefrozun üst kısmında bulunan soelom epitelin fokal invaginasyonu ile sırta doğru kaudal ve lateral olarak büyür. Daha sonra sekizinci haftada, paramezonefrik kanalların dikey bir füzyonu sonucunda kaynaşmış kranial uç, uterus haline gelecek olan yapının sol ve sağ kısımlarına kaynaklık eder. Bu yapı, endometriyum ve miyometriyumu oluşturacak mezodermi içerir. Bunların sonucunda müller kanallarının kaynaşmamış kranial uçları fallop tüplerini, kanalların erimiş kaudal ucu ise vajinanın üst üçte birini oluştururken arada kalan boşluklu yapıda uterusu

meydana getirmektedir. Böylece müller kanallarından meydana gelen uterus ve diğer yapıların oluşumu gebeliğin ilk üç ayında tamamlanmış olur (26).

3.1.2. Uterusun Anatomik Yapısı

Uterus anatomik olarak canlının türüne, yaşına ve fizyolojik fonksiyonlarına göre büyük farklılıklar gösterir. Önden tuba uterina arkada ise vajina ile bağlantılı şekilde olup büyük bir bölümü karın boşluğunda, küçük bölümü ise pelvis boşluğunda yer alır. Uterus evcil memeli hayvanlarda köken aldığı paramesonefrik kanalının kaudal bölümüne göre farklı şekiller gösterir. Örneğin birçok türde kemirgenler, tavşanlar ve keseli memeliler gibi uterusun vajina ile birleşmesi sınırlıdır. Böylelikle uterus vajinaya ayrı ayrı iki tüple açılır ve buna **uterus dublex** denir. Bunun aksine çoğu primat ve insanlarda bulunur. Bu birleşmenin çok yoğun olduğu ve yalnızca tuba uterinaların çift olarak bulunduğu yapıya ise **uterus simplex** denir. Evcil memelilerden inek, koyun, kısrak, kedi, köpek ve domuzda ise bu iki formun arasında olan ve **uterus bicornis** olarak isimlendirilen yapı görülür. Uterus bicornis önden arkaya doğru bağımsız iki kornu (corni uteri), korpus uteri ve serviks uteriden meydan gelir (2, 27, 28).

Uterus karnivorlarda bağırsakların üst kısmında yer alırken ‘’V’’ harfi şeklinde olan corni uteriler böbreklerin arka kısmında yer alır ve ovaryumlara kadar uzanır. Karnivorlardan farklı olarak kısrak uterusu, uzun bir korpusa ve ayrık kornulara sahiptir. Kornular yukarı ve öne doğru dönük olup bağırsakların üzerinde yerleşmiştir. Domuzlarda ise uterus uzun bir serviks, çok kısa bir korpus uteri ve ince bağırsak kıvrımlarına benzeyen oldukça uzun kornulara sahiptir (27).

Geviş getirenlerde uterus, her biri 35 cm uzunluğunda, kendi üzerinde aşağı ve arkaya doğru kıvrılan iki kornu uteri, uterus açık olduğunda 3 cm uzunluğunda olan korpus uteri ve 8-10 cm uzunluğundaki serviks uteriden oluşmaktadır. Kornuların uçları karın boşluğuna doğru uzanırken arka kısımları interkornual ligament olarak adlandırılan yapı ile birleşir. Bu birleşmeyi sağlayan ligament rektal muayene esnasında uterusun tespit edilmesine yardımcı olmaktadır. Korpus uteri, uterusun orta bölümünde olup arka uç kısmı serviks uteri ile etkileşim halindedir. Serviks uteri, önden ostium uteri internum ile başlayıp arka bölümde ostium uteri externum ile vajinaya açılır. Bu arada bulunan kısım ‘’serviks kanalı’’ olarak isimlendirilir ve

lumeni mukoza kıvrımlarından meydana gelir. Bu mukoza kıvrımları inekte sirküler, karnivorlarda longitudinal, domuzlarda ise çıkıntı dementleri şeklinde görülür. Kanalın lumenine doğru oluşan bu kıvrımlar serviksin tıkalı kalmasını sağlamaktadır. Ayrıca geviş getirenlerde uterus iç yüzünde gebelik esnasında fötal membranların bağlanma alanları olan karunkulaların bulunması belirgin bir özelliktir (2, 27, 29).

3.1.3. Uterusun Histolojik Yapısı

Ovidukt ve vajina arasında yer alan uterus, dişi genital kanalları içerisinde en kalın duvara sahip olmasının yanı sıra gebelik süresince yavrunun büyüdüğü ve geliştiği bir organdır (30, 31). Bütün boşluklu organlarda olduğu gibi uterus duvarı tunika mukoza (endometriyum), tunika muskularis (miyometriyum), ve tunika seroza (perimetriyum) olacak şekilde üç katmandan oluşur (32).

Endometriyum, lamina epitelyalis ve lamina propria olmak üzere iki tabakadan oluşur (33). Endometriyum epiteli kısrak ve karnivorlarda tek katlı kübik ya da prizmatik, ruminant ve domuzda ise çok katlı veya yalancı çok katlı prizmatiktir (34). Ayrıca epitel hücreleri silyumlu olup salgı yapma özelliğine sahiptir (31). Lamina propriya veya submukoza tabakası ise embriyo gelişimi ve başarılı implantasyon için gerekli olan maddeleri salgılamak ve taşımak için lumene açılan gevşek bağ dokusu, kan damarları ve uterus bezlerinden oluşur (34, 35). Lamina propriyadaki uterus bezleri; karnivor, kısrak, domuz ve ruminantlarda yer yer dallanmalar gösteren basit tubuler bez şeklinde görülürler. Ayrıca diğer türlerden farklı olarak ruminantların lamina propriasında bez bulunmayan kısımlar da görülür. Karunkula olarak adlandırılan bu kısımlar gebelikte düğme şekline dönüşüp plasentanın maternal yarımını oluştururlar (36, 37).

Endometriyumun histolojik özelliği seksüel siklustaki östrojen ve progestron seviyelerinin değişmesine bağlı olarak farklılık göstermektedir (23). Evcil memeli hayvanlar seksüel siklusun özelliğine göre de monoöstrik, poliöstrik ve mevsime bağlı poliöstrik olacak şekilde sınıflandırılır. Köpekler bir östrus evresini uzun bir anöstrus izleyen monoöstrik hayvanlardır. İnek, domuz ve kemiriciler proöstrus, östrus ve diöstrüs evrelerini geçiren poliöstrik canlılardır. Kısrak ve koyunlar ise diöstrusu takiben bir anöstrüs evresi geçiren mevsimsel poliöstrik hayvanlardır (38).

Poliöstrik hayvan olan inekler yıl boyunca ortalama 21 gün (18-24) süren ve periyodik olarak gerçekleşen östrüs döngüsüne sahiptir. Bu döngü korpus luteum'un

(CL) oluşumundan ovulasyonun meydana gelmesine kadar geçen süre olan folliküler faz (proöstrus ve östrus) ve ovulasyondan CL regresyonuna kadar geçen süre olan luteal faz (metöstrus ve diöstrus) olmak üzere iki aşamada gerçekleşir (39). Endometriyum foliküler evrede östradiolün etkisi altında proliferatif durumda iken, luteal evre sırasında progesteron etkisi altında ve salgılama durumundadır. Buna bağlı olarak östrus döngüsü boyunca endometriyumun glandüler epiteli ve stromasında oldukça belirgin morfolojik değişiklikler görülür (23, 40). Uterusta meydana gelen değişiklikler ovaryumlarda folikül büyümesine ve östrojen salgılanmasına paralel olacak şekilde meydana gelir. Böylece endometriyumda kalınlaşma, lamina propria da genişleme ve uterus bezlerinde büyüme gözlenir ve bu değişim aşaması proliferasyon evresi olarak isimlendirilir. Bu evrenin başlangıcında endometriyum duvarının ince, stromanın gevşek, bezlerin ise sayıca az, basit dallanmış ve lumenlerinin dar olduğu belirtilmiştir. Daha sonra vaskülarizasyonun artması ile stromal, luminal ve glandüler hücrelerin mitoz göstermesi sonucu hem stromal hem de glandüler hücrelerin sayısı artar ve ödem meydana gelir. Bunlarla birlikte bu evrenin sonunda epitel daha yüksek görülür, stroma yoğunlaşır, bezler ise sayıca daha fazla olup, uzamış ve kıvrımlı bir şekilde görülür (23, 31, 41). Corpus luteumun aktif olduğu ve progesteron salgıladığı aşama sekresyon evresi olarak isimlendirilir. Bu evrede endometriyum duvarı maksimum kalınlığına ulaşırken, kan damarları belirgin şekilde büyür ve bezler salgılama özelliği gösterir. Ayrıca bezler sayıca artmış, kıvrımlı ve kısa görülürken, sekresyonla dolu olan lumenleri genişlemiş ve histotrof üretmeye hazırdır (23, 31, 42). Bu evrede döllenme gerçekleşmez ise sekresyon evresi son bulur ve böylece uterus bezlerinde salgılama duracağından bezler küçülür ve endometriyum duvarının kalınlığı azalır. Bu döneme de involüsyon evresi denir (31).

Endometriyumun altında, uterus hareketliliğini ve seröz membranları kontrol eden iki düz kas katmanından oluşan miyometriyum tabakası bulunur (36). Miyometriyum uterus duvarının en kalın kısmı olup, düz kas demetleri içte endometriyum tarafında sirküler yönlü, dışta perimetriyum tarafında ise longitudinal yönlü seyredip iki katman şeklinde görülürler. İç katmanın derinliklerinde ve özellikle iki katman arasında çok sayıda arter, ven ve lenf damarları yer alır. Kan damarlarından zengin bu bölgeye ‘’stratum vaskulare’’ denir. Gebelik süresince

yavrunun gelişimine paralel olacak şeklide miyometriyumdaki düz kas hücrelerinin sayısında ve büyüklüğünde artış görülür. Ayrıca gebelik esnasında bu düz kas hücrelerinden protein ve kollajen sentezi yapılarak uterus kollajen içeriğinin artması teşvik edilir. Doğumdan sonra ise bu hücrelerin sayısı ve büyüklüğünün azalmasıyla birlikte uterusun boyutunda da zamanla küçülme gözlemlenmiştir (43-45) .

Perimetriyum, peritonun visseral yaprağı ile uterusu dıştan saran seröz katmandır. Bu katman abdominal ve pelvik peritonun devamı ile mezotel hücreleri ve gevşek bağ dokudan oluşur (46). Ayrıca perimetriyumda çok sayıda lenf ve kan damarları, sinir telleri ve çok az miktarda düz kas hücreleri de bulunur (47) .

3.1.4. Gebelik ve İmplantasyon

Memelilerde gebeliğin oluşması ve sürdürülmesi, steroid hormonları, sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından düzenlenen uterus epitelindeki dinamik değişiklikleri içerir. Bu değişiklikler, gelişmekte olan embriyonun uterus luminal epitel (LE) dokusununa implante olmasının düzenlenmesi, implantasyon sonrası farklılaşmış bez epitelinin (BE) fonksiyonlarının uterus histotrof salgılaması ve annenin bağışıklık sistemi (embriyo/fötus ve ilgili ekstra embriyonik membranlar) ile gelişmekte olan semiallogenik konseptusun korunması için gereklidir (48).

İneklerde gebelik üç aşamaya bölünen ve ortalama 282 gün süreye sahip olan bir süreçtir. İlk aşama, zigot oluşumu ve embriyonun implantasyonu ile başlar. Daha sonra ikinci aşamada, endometriumda trofoektodermal adezyonun başlaması ve embriyonik farklılaşma döneminin en üst seviyeye ulaşmasıyla birlikte fötal kemik mineralizasyonu görülür. Son aşama fötal kemik mineralizasyonunun başlangıcı ile fetüsün atılma anı arasındaki dönem olarak bilinir ve fötal faz olarak adlandırılır (49). Ovidukt'ta gerçekleşen döllenmeden sonra, tek hücreli embriyolar uterusa doğru ilerlerken zigotlar beş veya altı hızlı mitoz hücre bölünmesine maruz kalır ve toplam hacimlerinde artma görülmez. Zigotun bölünmesi, zigotun tekrarlanan mitotik bölünmeleri olarak tanımlanır ve bu durum hücrelerin (blastomerler) sayısında hızlı bir artışa neden olur. Zigot önce iki blastomere bölünür ve daha sonra bu iki hücre sırası ile dört blastomere, sekiz blastomere ve benzer şekilde katlanarak bölünmeye devam eder. Bu bölünme, döllenmeden yaklaşık 30 saat sonra başlar ve art arda gelen bölünmelerle küçük blastomerler oluşur (49, 50). Blastomerler sekiz hücreli aşamaya kadar bir küme meydana getirir. Daha sonra tekrar bölünerek birbirleriyle

temasını en üst düzeye çıkarır ve sıkıştırma olarak isimlendirilen kompakt bir hücre kümesini meydana getirirler. Bu sıkıştırılmış embriyonik yapının hücreleri de döllenmeden yaklaşık üç gün sonra tekrar 16 hücre (morula) oluşturmak üzere bölünür. Bununla beraber morula haline gelen embriyo büyümeye devam eder ve blastomerler iki tür hücreye dönüşür. Bunlar iç hücre kütlesi, yani embriyo dokusunu meydana getirecek olan morula'nın iç hücreleri ve dış hücre kütlesi yani plasentanın oluşumuna katkı sağlayacak olan çevresindeki hücrelerdir (49, 51). Döllenmeden yaklaşık 4-5 gün sonra morula evresindeki embriyo uterus içinde birkaç gün serbest şekilde yüzer ve yaklaşık 100 hücreden oluşan bir top büyüklüğüne dönüşüp blastosist adını alır (49).

Geviş getiren hayvanlarda preimplantasyon döneminde trofektoderm hücrelerinin hızlı çoğalması ile zona pellucidanın yırtılması sonucu yumurtadan çıkan blastosist önce küre biçiminde oval, daha sonra da tubuler ve son olarak iplik biçiminde olacak şekilde önemli morfolojik değişikliklere uğrar. İneklerde 12-14. günler arasında, gerçekleşen bu kritik değişiklikler sonucunda oluşan yapı ‘’konseptus’’ olarak adlandırılır (52). Konseptusun bu şekildeki değişimleri, uterus lümen sıvısını veya histotrofu oluşturan endometriyal sekresyonlar vasıtasıyla düzenlenir (53). Konseptusun uterusa implantasyonunun sağlanması ve gebeliğin başarısı için; steroid hormonları, sitokinler, büyüme faktörleri, histotrof (glikoz, iyon, enzim büyüme faktörleri, hormon, protein) gibi değişiklikler gereklidir. Bunlarla birlikte endometriyumda corpus luteumun devamlılığı, büyümesi ve gelişmekte olan embriyoya uygun bir ortam oluşması trofoblastlardan salgılanan gebelik serum protein B (PSPB veya PAG), corpus luteum türevi olan steroid progesteron (P4) ve geviş getiren hayvanlarda konseptus türevi olan IFNT (interferon tau) tarafından düzenlenir (49, 54-56). Embriyoya histotrofik beslenmenin yetersiz gelmesi implantasyon yani uterus ile embriyo arasında bağlantılar oluşmaya başlar. Böylece fötus için gerekli besinlerin alımı, oksijen karbondioksit gibi gazların ve artıkların değişimi föto- maternal yapı vasıtası ile yani plasenta yoluyla gerçekleşir (56, 57).

3.1.5. Plasenta Yapısı ve Sınıflandırılması

Gebeliğin sürdürülmesi için plasentasyon çok önemlidir. Plasentasyon yavrunun koryonik epiteli ile annenin endometriyumu arasındaki iletişim, beslenme, gaz alış verişi, immunolojik ve fiziksel korumanın yanı sıra atık ürünün uzaklaştırılmasını da

sağlayarak fötal gelişimi ve hayatı destekler. Ayrıca plasentadan, gebeliği desteklemek için önemli olan çeşitli moleküller ve hormonlar (östrojenler, progesteron, plasental laktojenler vb.) salgılanır (58, 59). Blastosistin uterus duvarına implantasyonu ile gelişmeye başlayan plasenta, anneye ait maternal (uterusun epiteli, bağdokusu ve kan damarı) ile yavruya ait fötal (blastosist yüzeyini oluşturan hücresel ektodermal epiteli (trofoblast veya trofektoderm)) olmak üzere iki bileşenden meydana gelir (60, 61). Fötal kısma ait olan fötal membranlar (ekstra embriyonik membranlar); koryon, amniyon, vitellus kesesi ve allantois olmak üzere dört kısımdan oluşur. Bu membranların, embriyonun fizyolojik gelişimi ve korunması için gerekli yapıların oluşumunda önemli etkiye sahiptir (62).

Koryon, trofektoderm ve vasküler olmayan mezoderm "somatopleura" olarak da bilinen yapıdan köken alır. Koryon, sıvı dolu bir kese iken, amniyon oluşturmak üzere embriyoyu saran kıvrımlar oluşturur ve amniyon vezikülü meydana gelir ve böylece embriyo amniyon içinde basınca dayanıklı olacak şekilde büyür. Daha sonra endodermal bir vezikül, embriyonik bağırsağın arka ucundan, vasküler splanik mezoderm tarafından oluşan allantoik vezikülü meydana getirir. Ardından allantois, embriyonun gelişen ürogenital sistemi ile sürekli hale gelir ve atık biriktirme yeri olarak işlev görür. Daha da önemlisi, zengin kan kaynağı ekzosoelomdan koryoallantoisi oluşturmak için embriyoyu çevreleyen koryonla kaynaşarak büyüdüğünde bir gaz alış veriş organı olarak gelişmesine yardımcı olur (60, 61). Endoderm ve ekstraembriyonik splanik mesodermden köken alan vitellus kesesi gebeliğin erken dönemlerinde, organogenezise yol açan yoğun bölünme, beslenme ve bakımdan sorumlu tek bir zardır. Geviş getiren hayvanlarda yapısal olarak farklı olmasına rağmen, vitellus kesesi ekstraembriyonik boşluk ile çevrili, büyük, uzun ve vaskülarize bir membrandır. İneklerde gebeliğin 30. gününe kadar vaskülarize bir membran olarak gelişir ve gebeliğin 50. gününe kadar varlığını sürdürür (60, 63, 64).

Plasentalar memelilerde, fötal membranlara göre koryon ile vitellus kesesi (koryovitellin plasenta) ve koryoallantoik plasenta olmak üzere iki tipte sınıflandırılır. Koriyovitellin plasenta genellikle allantoik dolaşım kurulmadan önce erken postimplantasyon döneminde geçici bir plasenta olarak rol oynar. Çoğu memelide, koriyovitellin plasenta kemirgenler ve tavşanlar hariç, ilk trimesterden sonra körelir. Koryoallantoik plasenta ise anne endometriyum ile embriyonun

trofektoderminden oluşur ve gebeliğin ilk trimesterdan sonra memelilerde ana plasenta olarak kalır (65).

Plasenta morfolojik (anatomik), histolojik ve jinekolojik olmak üzere üç grupta sınıflandırılır. Morfolojik olarak lokal ve diffuz plasenta olacak şekilde gruplandırılır (57). Diffuz plasentada endometriyum ile temas halinde olan koryonun villusları veya kıvrımları, koryon kesesinin tüm yüzeyine dağılmıştır. Bu tip plasenta domuz, eşek ve kısrakta görülür (66). Lokal plasenta ise villuslar koryon üzerinde belli alanlarda yerleşim gösterirler. Bu tip plasenta ruminantlarda plasenta kotiledonata olarak adlandırılır ve koryonik villus ile uterus boynuzlarının tüm hacmini kaplayan koryonik kesede, demet veya kotiledonlar halinde görülür. Karnivorlarda plasenta, zonaria yapısında olup bu yapıda villuslar koryonik kesenin etrafında bir kuşak oluşturacak şekilde görülür. İnsan ve kemirgenlerde ise plasenta, diskoidal şeklinde olup, villusların disk üzerinde toplandığı görülür (60, 66, 67). Jinekolojik olarak plasenta da; plasenta desiduata, plasenta adesiduata ve plasenta intermedia olmak üzere üç gruba ayrılır (57).

Geviş getiren hayvanlarda plasenta, koryon ile uterus mukazası arasındaki ilişki durumuna göre semi (yarım) plasenta sınıfında yer alır. İneklerde uterus mukozası ile koryon arasındaki ilişki gevşek yani karşılıklı temas halinde olduğundan ve doğum sırasında kanama görülmediğinden plasenta adesiduata sınıfında yer alır. Bununla birlikte koyun ve keçi uterus mukozasında yer yer erimeler meydana geldiğinden koryon villusları uterus bağdokusu ile karşı karşıya gelir ve buradaki plasenta desidualı ile desiduasız arasındaki intermediyer plasenta olarak kabul edilir (68).

İnek plasentasında koryon ile uterus gebelik süresince korunduğundan epitelio-chorial olarak isimlendirilir. Ancak koyun ve keçide ise uterus mukozasında kayıplar görüldüğünden plasenta sindesmokoryal olarak adlandırılır (69). Histolojik olarak inek plasentası, çift çekirdekli trofoblast hücreleri ile uterus epitel hücrelerinin füzyonu ile föto-maternal sinsityumun oluşması nedeniyle sinepitelyokoryal kotiledonata tip plasenta olarak adlandırılır (70). İneklerde koryon villusları toplu halde kümeler meydana getirir ve bunlar da kotiledon olarak isimlendirilir. Fötal trofoblastın (koryonik epitelin) oluşturduğu kotiledonlar ile anneye ait kriptlerin (karunkula) karşı karşıya gelmesi sonucunda meydana gelen föto-maternal proliferasyon alanlarına plasentom denir. Ortalama 37. güne kadar makroskobik

olarak görülmeyen, düz ve kubbeli yarım daire şeklinde olan plasentomlar başlangıçta sadece embriyoyu çevreleyen bölgede tespit edilirler. Fakat daha sonra 60. güne gelindiğinde, embriyo ile birlikte kornu uterinin hem proksimal hem de distal alanlarında bulunurlar. Bu alanlarda görülen plasentomların sayıları hayvan türlerine göre farklılıklar gösterir. İneklerde başlangıçta, 37 ile 40. günler arasında, embriyodaki koryonik yüzeyde maksimum 20 plasentom gözlenirken, 40 ile 50. günlere gelindiğinde ise plasentom sayısının üç katına çıktığı gözlenir. Daha sonra sayı, koryoallantoik yüzeyde gözlenen kotiledonların sayısına bağlı olarak, yaklaşık 80 ile 90 (aralık, 20-120) arasında olmak üzere 70. güne kadar kademeli olarak artar. İneklerde 70-142, koyunda 80-100, keçide 160-180 ve geyikte 4-6 adet plasemtomun bulunabileceği bildirilmiştir (71, 72). Ayrıca plasentomların boyutları bulundukları yere, şekilleri ise hayvan türlerine bağlı olarak değişir. Örneğin en büyük palsentomlar, fötusü içeren kornu uterinin ortasına daha yakın yerde bulunanlardır. Şekil bakımından ise plasentomların, yavru tarafındaki yüzü ineklerde konveks, keçide düz iken koyunda konkavdır (61, 68).

Koryon villuslarının dış yüzü trofoblast hücreleri ile döşenmiştir. Ruminantlarda tek çekirdekli trofoblast hücreleri (%80- UTC), iki çekirdekli trofoblast dev hücreleri (%20- TGC veya BNC), ve türe göre değişen oranlarda hibrid fötomaternal sinsityial plak hücreleri (TNC) olmak üzere üç farklı trofoblast hücre türü vardır (70, 71, 73). Gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak tek çekirdekli trofoblast hücreleri (UTC) sitokinez olmadan karyokinez ile çoğalıp farklılaşması sonucunda olgun UTC veya iki çekirdekli trofoblast dev hücrelerine (TGC) dönüştüğü bildirilmiştir. Böylece oluşan TGC'nin varlığı ruminant plasentasının karakteristik bir özelliğidir (61, 74). TGC olgunlaşınca trofoektodermden uterus epiteline doğru göç eder ve veziküller oluşturarak uterus epiteli ile kaynaşır ve böylece föto-maternal hibrid trinüklear hücreleri (TNC) meydana getirir (71).

Koryon epitelindeki trofoblast hücreler olan UTC, TGC ve TNC; endokrin, otokrin ve parakrin etki mekanizmaları ile östrojen, progesteron ve prostoglandini uyararak gebeliğin ve doğumun düzenlenmesine yardımcı olmaktadırlar (76). UTC'ler gebeliğin erken döneminde embriyonun anne tarafından tanınması, hayatta kalması ve hayatını sürdürebilmesi için gerekli olan interferonların salgılanmasında kritik rol oynamaktadır. TGC'ler de plasenta laktojenlerinin salgılanmasının yanı sıra

östrojen, progesteron ve prostoglandin gibi hormonların sentezinde de önemli rol alırlar (61, 76, 77). Bu hücrelerden salgılan plasental laktojen ve prolaktinle ilişkili gebelik proteinleri gebelik ilerledikçe anne serumunda görülür ve bu da gebelik teşhisi için önemli bir parametre olarak kullanılır (61,78).

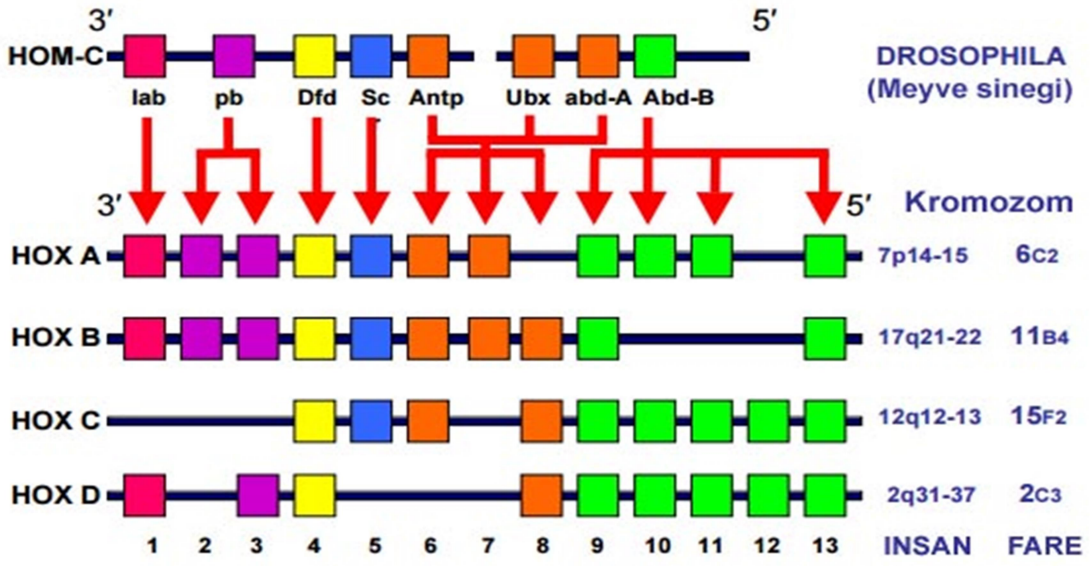
3.2. Homeobox Genler ve Alt Üniteleri

Canlıların vücut morfolojisinin oluşumunu sağlayan evrimsel süreci anlamak, şüphesiz en etkileyici bilimsel çabalardan biri olmuştur. Bu çabalar sonucu, vücut modeli oluşumu ve değişiminin moleküler temeli ile ilgili olarak bilinen transkripsiyonel faktörlerden olan Homeobox gen ailesinin merkezi bir rol üstlendiği ortaya konulmuştur (79). Buna bağlı olarak Hox gen kümesi, gelişimsel biyoloji içinde önemli bir paradigma olarak kurulmuş ve evrimsel gelişim biyolojisinde önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (80).

Tüm metazonların, insan ve omurgalılar da dahil olmak üzere sahip olduğu Homeobox genler, 1915'te Calvin Bridges tarafından bithorax adında bir mutant yardımı ile meyve sineği olan Drosophila Melanogaster'da keşfedilmiştir. Homeobox proteinleri bithoraxın kısmi duplikasyonu ile vücudun çeşitli segmentlerine gelişimsel kimlik sağlayan genler olarak tanımlandı. Daha sonra hox genlerinin mutasyonu sonucu sineklerde antennapedia adlı bir mutanat keşfedildi ki, bu mutant anten yerine bacakları göstermekteydi. Böylece Hox genleri kromozom 3' de bulunan ve vücudun anteroposterior (ön-arka) ekseni boyunca kimliğini belirlemede önemli bir rol oynayan iki kompleks (Bithoraks ve Antennapedia) olacak şekilde gruplandırıldı. Daha sonra homeobox genlerinin evrimiyle birlikte türler arasında farklı sayıda ve kümede gruplandırmalar yapılmıştır. Örneğin, omurgasızlar tipik olarak tek bir kümeye sahipken, fare ve insan gibi omurgalıların servikal, torasik ve lumbosakral şeklinde üç farklı ekseni kodlayan dört gen kümesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıklara rağmen tüm türlerde vücut yapısının oluşumunda ve düzenlenmesinde hox proteinlerinin önemli rolü olduğu belirlenmiştir (11, 81).

Drosophila genomunun bir bölgesinde, birlikte kümelenmiş sekiz homeobox geni bulunur ve bunlar toplu olarak homeotik kompleks HOM-C olarak isimlendirilir. Ayrıca insan ve diğer tür omurgalılarda ki genomlar HOX/hox, DLX/Dlx, MSX/Msx, HMX/Hmx, PBC gibi çok sayıda alt ünitesi bulunan homeobox genlerini içerir (83). Homeobox genlerinin normal embriyonik

gelişimdeki rolleri en iyi homeobox gen ailesinin en büyük alt ünitesi olan Hox genleri tarafından temsil edilir. 39 memeli HOX/hox geni, insanlarda sırasıyla 7p14, 17q21, 12q13 ve 2q31 kromozomlarında bulunan HOXA, HOXB, HOXC ve HOXD, farelerde ise 6C2, 11B4, 15F2 ve 2C3 kromozomlarında bulunan Hoxa, Hoxb, Hoxc, Hoxd adlı dört kümede ve 13 paralog gurubunda sınıflandırılır (Şekil-1) (11, 13, 83, 84).



Şekil-1: Homeobox genlerinin drosophılada 3' teki HOM-C kümesi ile insan ve farelerin farklı kromozomlarında bulunan HOX/hox A/a, B/b, C/c D/d şeklindeki dört alt kümenin ayrıntılı gösterimi (84).

Homeobox genleri, kodlanmış proteinlerin çeşitli gelişimsel süreçlerde önemli rolleri bulunan transkripsiyon faktörleri olarak bir deoksiribonükleik asit (DNA) bağlayıcı motifi olan homeodomaini kodlamaktadırlar. Homeodomain, homeobox olarak bilinen 183-baz çifti benzeri bir diziye sahip olan hox genlerinin, yüksek oranda korunmuş 61-amino asit alanını kodladığı ve 5′TAAT'3' çekirdek dizisini içerdiği bölgedir (83, 86). Anterio-posterior (AP) ekseni boyunca Hox genlerinin uzamsal ve zamansal ekspresyon kalıpları kromozom üzerindeki konumlarını yansıtır. 3′ ucundaki genler daha önce ve embriyonun daha ön kısımlarında (kafa bölgesi), 5′ pozisyondaki genler ise daha sonra ve embriyonun daha arka kısımlarında (sakral bölgesi) gelişimin olduğunu ifade eder (86). Hox genleri kendi

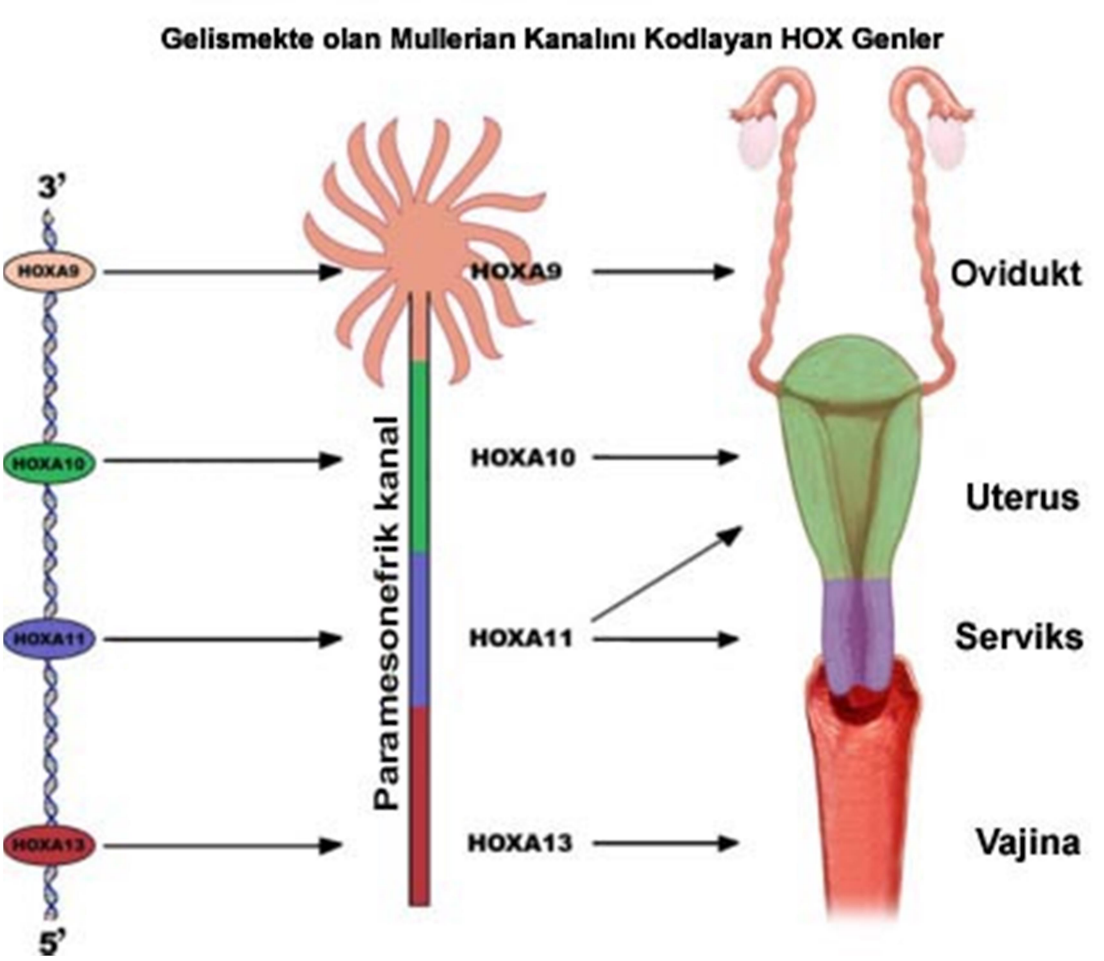
proteinleri ve ürünlerinin yanı sıra retinoik asit, aktivin, TGF (transforming growth factor), ve FGF (fibroblast growth factors) gibi peptit büyüme faktörleri ile birlikte estradiol, progesteron, testosteron ve D vitamininin de hox gen ekspresyonu üzerinde etkileri olduğu bildirilmiştir (87, 88).

Hox genleri transkripsiyon faktörleri olduğundan alt hedef genlerin düzenleyici bir bölgesine bağlanır ve transkripsiyonu aktive eder veya baskılarlar. Bu koordineli bağlanma sonucu genler uygun bölgeye özgü vücut yapılarına yol açmış olurlar (89). Ayrıca bu genlerin omurgalılarda, gastrulasyon aşamasındaki embriyoda ektoderm, endoderm ve mezodermin oluşumuna katkı sağladıkları ve ilk olarak erken gastrulasyon sırasında mezodermde eksprese edildikleri ifade edilmiştir (90).

HOX genleri, embriyonik gelişim sırasında hücre kimliği ve hücre kaderinin ana düzenleyicileri olup, embriyonik kök hücre farklılaşmasında ve morfogeneziste önemli bir rol oynarlar. Hox genlerinin bulundukları kromozumlar üzerindeki sıraları, konumları ve aktive edilme özelliklerine göre implantasyonda, gelişmekte olan embriyoların hücre ve doku farklılaşmasında, hematopoeziste, embriyonun erişkin süreçlerinin neovaskülogenezis ile anjiyogenezisinde, omurgalı sinir sistemi, üreme sistemi ve arka beyin bölgesinin gelişimi gibi birçok önemli rollere sahip oldukları ifade edilmiştir. Ayrıca yetişkinlerde, plasentanın ekstraembriyonik gelişiminin kontrolünde, gebelik sırasında uterusun embriyo kabulünde ve seksüel siklusun düzenlenmesinde katkı sağladıkları bildirilmiştir (8, 91, 92). Bunlarla birlikte Homeobox gen ailesinin alt ünitesi olan genlerde mutasyon ve anormal ekspresyon gözlenmesi infertilite görülmesinde, yetişkin kök hücrelerinin kanser kök hücrelerine dönüşmesinde, prostat, lösemi, ovaryum ve uterus kanseri gibi birçok kanser olayının meydana gelmesinde rol aldıkları rapor edilmiştir (91, 93).

3.2.1. HOXA10

Omurgalıların fallop tüpü (ovidukt), uterus, serviks ve üst vajina tek tip paramesonefrik kanaldan gelişen embriyonik dişi üreme sistemi, daha önce anlatılanlara benzer bir gelişimsel eksenden meydana gelir. Bu eksen boyunca konumsal kimliğin belirlenmesinde Hox genleri önemli rol oynar. Bu genlerin ekspresyonu gelişmekte olan paramezonefrik kanalın ekseni boyunca farklı bir dağılım gösterirken, gelişmekte olan uterusta HOXA10/hoxa10'nun ekspresse olmaktadır (Şekil-2) (91, 94).



Şekil-2: Gelişmekte olan paramezonefrik kanalı kodlayan; HOXA9, HOXA10, HOXA11 ve HOXA13'ün ekspresse olduğu organ ve kısımlar (91).

Homeobox genlerinin 5′ gen ucunda bulunan abdominal B (Abd-B) tipi HOX geninin üyesi olan Homeobox A10'nun (HOXA10), gelişim sırasındaki uterus homeozisinden sorumlu olduğu ve yetişkin fare uterusunun alıcılığında, desidualizasyon ve embriyo implantasyonunda da önemli rolleri bulunduğu bildirilmiştir (95). Ayrıca yetişkinlerde HOXA10, östrojen ve progesteronun etkisi altında implantasyon sırasında pik seviyede olmasının yanı sıra doku farklılaşmasındaki rolüne uygun olarak, yüksek değişim özelliğine sahip dokularda da (kemik iliği ve endometriyum) eksprese edilmiştir. Sonuç olarak Hoxa10 / HOXA10, homeotik gen Emx2 / EMX2, ß3-integrin, insülin büyüme faktörü bağlayıcı protein-1 (IGFBP-1), sikline bağlı kinaz inhibitörü, Wnt ailesinin genleri, FK506 bağlayıcı protein 4, ve prostaglandin reseptörleri EP-3 ve EP-4 genlerinin düzenlenmesine etki eder. Bundan dolayı HOXA10'nun dişi genital sisteminin

işlevini yerine getirmesinde, uterus embriyogenezisinde ve organogenezis aşamasındaki hücrelerin farklılaşmasında önemli bir role sahip olduğu ifade edilmiştir (91, 96).

3.2.2. HOXA11

Memelilerde, paramezonefrik (müllerian) kanalı boyunca abdominal-B (Abd-B) ile ilgili olan HOXA genlerinden, HOXA11'in dişi genital kanalının oluşumunda etkili olduğu ve servikste ekspresse edildiği gösterilmiştir (Şekil-2, 91). Ayrıca serviksin bezlerinde ve epitelinde olduğu gibi uterusun korpus kısmında da lokalize olduğu gözlenmiştir. Ekspresyonu dişi üreme sisteminin gelişimi ve fonksiyonu için çok önemli olan HOXA11'in memelilerde blastosistin başarılı şekilde implantasyonu için de gerekli olduğu ifade edilmiştir (96, 97). Bunlarla birlikte HOXA11 endometriyal hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşmasında, uterusun embriyoyu tanımasında ve gebeliğin sürdürülmesinde de etkin bir rol oynamaktadır (98).

HOXA11, memelilerin üreme biyolojilerindeki radikal değişikliklere, özellikle dişi üreme organları olan uterus, serviks, vajina ve plasenta gibi organların hücresel işlevlerindeki değişikliklere etki etmektedir. Bununla birlikte HOXA11 ekspresyonu, değişen östrojen ve progesteron konsantrasyonlarına yanıt olarak endometriyumun farklılaşmasında, erkek ve dişilerin doğurganlığında önemli etkileri olduğu bildirilmiştir. Mutasyonu durumunda ise başta uterus olmak üzere dişi genital sistemi organlarında defektler oluşmasına neden olduğu ve bunun sonucunda da infertilitenin meydana geldiği rapor edilmiştir (10, 97-99).

3.2.3. HOXB6

HOXB6, homeobox DNA bağlayıcı alanı olan bir proteini kodlayan ve kromozom 17'de bulunan homeobox B ailesinin alt üyesidir**.** HOXB6, memeli vücudunun şekillenmesini yöneten bir homeotik gen olup kodlanmış protein; böbrek, akciğer, deri, endometriyum ve plasenta dahil olmak üzere bir çok organın gelişimde yer alan hem çekirdek hem de sitoplazmaya lokalize olan özgü bir transkripsiyon faktörü olarak işlev görür. Fare embriyolarında HOXB6'nın, gelişmekte olan uzuvlar, ventrolateral ve visseral mezenkim, ventral omurilik, mezonefrik tübüller ve kanallarda gösterilmiştir. Ayrıca memeli plasentasında trofoblast hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasıda da etkin rol oynayacağı bildirilmiştir. Bunların aksine

ise bu genin mutasyona uğraması; trofoblastik hücre kanseri, kolorektal kanser, akut miyeloid lösemi ve mezodermden türeyen servikal ve thorasik vertebra kusurlarına yol açabileceği ifade edilmiştir (100-102).

Yapılan çalışmalarda HOXB6'nın, gelişmekte olan fare embriyosunun 8,5 gününde arka bağırsak endodermine, nörektodermden, 10,5 ile 14,5 günlerinde merkezi sinir sistemi ve mezoderm kaynaklı tüm dokulardan ekspresse edilmesi embriyogenezis bakımından önemli olduğunu göstermiştir (103-105). Böylece diğer homeobox genlerinde olduğu gibi HOXB6'nın da embriyogenezise etki etmesi, birçok dokuda ekspresse edilmesi ve mutasyonunda kanser ve doku defektlerine neden olması bakımından önem arz etmektedir.

3.2.4. HOXC6

HOXC6, kromozom 12 üzerinde bulunan bir kümede yer alan çok hücreli organizmaların morfogenezisinde önemli bir rol oynayan ve transkripsiyon faktörlerini kodlayan homeobox ailesine ait bir gendir (106, 107). HOXC6'nın; MLL2 (mixed lineage leukemia2), MLL3 (mixed lineage leukemia) proteinleri, TGF, sitokinler ve hormonlar (östrojen ve FSH) tarafından düzenlendiği bildirilmiştir. Bununla birlikte hem onkojenik hem de tümör baskılayıcı aktivitelerinin yanı sıra epigenetik etkilere sahip olan HOXC6'nın CD44, CNTN1, DKK3, W1F1, MDR1, Bcl2 ve PI3K / AKT gibi genleri düzenlediği de ifade edilmiştir (108, 109).

Embriyogenezis sırasında bölgesel farklılıklara bağlı olarak ekspresyonu değişiklik gösteren HOXC6, fibroblastlarda, deride, meme epitelyumunda, timus kök hücrelerinde ve ayrıca kemik, omurilik ve oositlerin miyeloid progenitörlerini içerecek şekilde birden fazla hücre tipinde ve dokuda bir grup transkripsyon faktörü ile birlikte bulunur (107, 109). Bunlarla birlikte normal trofoblastın yanı sıra meduloblastomlarda, osteosarkomlarda, meme, akciğer, gastrointestinal, baş ve boyun skuamöz ve prostat karsinomlarında, lösemide yüksek HOXC6 ekspresyonunun görüldüğü bildirilmiştir (110, 111). Özellikle, meme bezi gelişimi ve süt üretiminde kritik bir oyuncu olan HOXC6; birçok doku ve hücre karsinomunda eksprese edildiği ve prostat hücrelerinde BMP7 (kemik morfojenik protein 7), FGFR2 (fibroblast büyüme faktörü reseptörü 2), IGFBP3 (insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3) ve PDGFRA'nın (trombosit türevi büyüme faktörü reseptörü α) ekspresyonunu düzenlediği rapor edilmiştir. HOXC6 hormonal

olarak düzenlenmiş birçok gelişimsel süreç ve hastalıkta kritik rol almasına rağmen birçok organ ve sistemdeki etki mekanizması henüz tam olarak anlaşılmamıştır (112, 113).

3.2.5. TLX1

Başlangıçta bir kromozomal translokasyon nedeniyle insanlarda tanımlanan TLX1 (daha önce HOX11 veya TCL3 olarak bilinen T-hücresi lösemi homeobox 1), homeobox genlerinin dağınık NKL (NK-Like (benzer) veya NK-Linked (bağlantılı)) alt sınıfının evrimsel olarak korunmuş bir üyesidir. Farelerde de buna karşılık gelen homologu olup gelişmekte olan embriyo içinde çok karmaşık deseni bulunmaktadır. TLX1/Tlx-1'in implantasyon sonrası gelişmekte olan embriyoların boyun bölgesinin yüzey ektoderm ve ventral mezenkiminde, farinksin ön kısmında, pankreasta, kulak epidermisinde ve kranial duyusal yolakların gelişiminde rol oynayabilen bir transkripsiyon faktörü olduğu ve normal dalak gelişimi ile bazı kraniyal sinir gangliyonlarının gelişimi için kritik bir rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca Hox11L1/ Tlx-2 ve Hox11L2 / Tlx-3 şeklinde iki ek aile üyesinin izole edildiği ve tüm Tlx aile üyelerinin merkezi ve / veya periferik sinir sisteminde ekspresse olduğu da ifade edilmiştir (21, 114-117).

TLX1, farklı hücresel sistemlerde hücresel çoğalma ve farklılaşmayı düzenlemesinin yanı sıra embriyogenezis sırasında hem ektoderm hem de endoderm kaynaklı dokulardaki ekspresyonu, TLX1'in postimplantasyonda birden fazla rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ancak TLX1 hematopoietik sistemde ifade edilmemesine rağmen, anormal aktivasyonunun insan T hücresi akut lenfoblastik lösemisine (T-ALL) neden olduğu ve ekspresyonunun bozulması ile onkogenezisi ve neoplastik dönüşümü indüklediği de ifade edilmiştir (113, 117-120).

3.2.6. Dlx-5

Drosophila'nın Distal-az (Distal-less) (Dll) geni, torasik segmentlerin bacak primordisinde ve Drosophila embriyosunun ön bölgelerinde ifade edilen bir homeodomain proteinini kodlar. Sineklerin tüm larva süresince Dll'nin, sinek uzuvlarının gelişimi sırasında büyüyen bacak primordiyumunun merkezinde ve bacağın distal segmentlerinde bulunduğu ifade edilmiştir. Distal-az mutant Drosophila, yetişkin uzuvdaki bacakların distal segmentlerinde görülen boyut

küçülmesini ve dismorfogenezisin çeşitli boyutlarını gösterir, bu da erken larva aşamalarında tüm uzuvların gelişimi ve doğru proksimo-distal (PD) organizasyonu için Dll aktivitesinin gerekli olduğunu gösterir. Dll Drosophila embriyosunun ön bölgelerinde, anten, maksiller ve labial primordiada eksprese edilir. Dll-mutant sineklerinde ise, doğru proksimo-distal (PD) büyümesi ve morfogenez defekti ile uyumlu anormallikler görülür. Tüm ilgili genler, Hydra'dan insana çeşitli türlerde tanımlanmış ve klonlanmıştır. Dll'nin insan ve farelerde karşılığı, Hox kümelerinin yakınında bulunan 3' gen boyunca birbirine bakan çiftler olarak düzenlenmiş DLX/Dlx genleridir (121). Bu genlerin birden fazla omurgalıda (insan, fare, tavuk, zebra balığı), embriyogenezis sırasında gelişen uzuvlar dahil olmak üzere epitelio-mezenkimal etkileşimlerle karakterize edilen bölgelerde eksprese olduğu rapor edilmiştir (122).

Omurgalı Dlx genleri, Drosophila distalsiz geni ile yüksek oranda korunmuş bir homeodomain paylaşır. Fare ve insanda altı adet olan Dlx genleri, ikişerli olacak şekilde yerleşmiş üç çift genden oluşmuştur. DLX1 ve DLX2, DLX5 ve DLX6, DLX3 ve DLX7 (DLX4 olarak ta bilinen) olacak şekilde her bir çifti HOX gen kümesine bağlıdır. DLX1 ve DLX2 genleri kromozom 2 üzerindeki HOX-D gen kümesine bağlanırken, DLX3 ve DLX7 (DLX4) genleri, 17q21 kromozomu üzerindeki HOX-B gen kümesinin yakınına bağlanır. Bununla birlikte DLX5 ve DLX6 genleri ise de kromozom 7'deki HOX-A kümesine bağlanır (121, 123-126).

DLX-5/6 geni, embriyonun erken gelişimi sırasında duyu organları, merkezi sinir sistemi (CNS), genital çıkıntı ve yüz iskeletinin gelişiminde olduğu gibi osteogenez ve kondrogenezisde de etkin rollere sahiptir. Bunlarla birlikte uterus adenogenezisine ve ovaryum gelişimine etki ettiği, eksikliğinde kısırlığa, uterusun embriyoyu kabulünde ve foliküllerin sayı ve şekillerinde bozulmalara neden olduğu bildirilmiştir (127, 128). Ayrıca testislerde testiküler steroidogenezisden sorumlu olan leydig hücrelerinde de ekspresse edilmesi bu genlerin erkek üreme sistemi açısından da önemli rollere sahip olduğunu ortaya koymaktadır (129).

3.2.7. HLX

Drosophila'nın homeobox geni H2.0'dekine benzer olan Hlx, memeliler, kuşlar ve balıklar arasında ekspresyonu ve protein dizisi yüksek oranda korunan farklı bir homeobox transkripsiyon faktörü olan bir gendir. Başlangıçta farelerde

miyelomonositik ve B lenfosit soylarının hematopoietik hücrelerinde saptanmış olan hlx, insanlardaki homologu HLX (HB24/HLX1) ile % 86,5 oranında özdeş olup homeodomain alanları tamamen korunmuştur (130,131).

HLX/Hlx visseral organogenezis ve enterik sinir sistemi gelişimi gibi önemli rollere sahip, kümelenmemiş bir homeodomain proteinidir. Hlx'in, fare embriyosunun 10,5 ile 12,5 günleri arasında, gelişmekte olan normal karaciğer, safra kesesi ve bağırsağın mezenkiminde en yüksek düzeyde olduğu tespit edildiği bildirilmiştir. Gebelikte evrimsel bir işlevi bulunan hlx geni, uğrayacağı mutasyonlar sonucunda enterik sinir sistemi olumsuz etkileneceğinden bağırsaklarda uzama ve genişleme görülmeyeceği ve embriyonik ölümle sonuçlanabileceğinden bahsedilmiştir (131, 132, 133). Bağırsak büyümesindeki kusurlara ek olarak, hlx gen bozukluğu veya yokluğu bulunan embriyolarda ciddi anemi ve karaciğer hipoplazisi (normal boyutunun %3'ü) de görülür. Bu bulgular hlx'in, visseral mezoderm büyümesi sırasında önemli gelişimsel işlevlere sahip olduğunu göstermektedir (131, 132).

Büyüme faktörü sinyal yolakları sıklıkla çekirdekteki transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna veya baskılanmasına yol açar. Bu bağlamda insan plasentasında trofoblastların fonksiyonu ile ilgili olan transkripsiyon faktörü homeobox geni HLX'dir. HLX'in extra villous trophoblast (EVT) hücrelerinin çoğalması, farklılaşması ve göç etmesinde etkin bir role sahip olduğu bildirilmiştir (134, 135). Böylece HLX'in normal plasental gelişimde kritik bir rol oynadığı ve eksikliğinde de anormal trofoblastlarla birlikte fötal büyüme geriliğine ve gebeliğin bozulmasına neden olduğu belirtilmiştir (136). Ayrıca HLX (HLX1, HB24 olarak da bilininen) interlökin-3 ve GM-CSF gibi sitokinlerin uyarılmasından sorumludur. Bunun sonucunda hematopoietik progenitör hücrelerde hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde önemli bir görev aldığı ifade edilmiştir (137). Sonuç olarak HLX/Hlx geninin yapısındaki değişiklikler sonucu farelerde sindirim sisteminde meydana gelen bozulmaların yanı sıra, insan patolojisinde akut miyeloid lösemide sınırsız klonojenite ve bloke farklılaşması ile anormal progenitör hücrelerin oluşumuna neden olduğu ve bu durumlarda HLX'in aşırı şekilde eksprese edildiği rapor edilmiştir (132, 138).

4. GEREÇ ve YÖNTEMLER

4.1. Doku Örneklerinin Temini

Bu çalışmada materyal olarak toplam 27 adet Holstein ırkı gebe inek uterusu kullanıldı. Uteruslar Diyarbakır ve Hatay'da bulunan özel kesimhanelerden elde edildi. Temin edilen uterusların taşıdığı fötusların yaşları hesaplanarak, gebeliğin hangi dönemine ait olduğu belirlendi. Bu amaçla, fötusların baş-sağrı uzunluğu Harris ve ark.'nın (139) uyguladığı metoda göre (Crown-rump lenght; CRL) ölçüldü (Şekil-3). Yaş tayinleri, baş-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki doğrusal ilişki sonucu elde edilen ''y:54,6 cm+2,46(x) cm'' eşitliği kullanılarak tespit edildi (Şekil-4, 5).



Şekil-3: İnek fötusunda baş-sağrı uzunluğunun (CRL) ölçümü (ilk dönem).



Şekil-4: İnek fötusünde baş-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki ilişki (orta dönem)



Şekil-5: İnek fötusünde baş-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki ilişki (son dönem).

Uygulanan hesaplamada y sabit olup fötal yaşı, x ise baş-sağrı uzunluğunu ifade etmektedir (139). Bu yaş hesaplama formülüne göre her grupta 9 uterus olacak şekilde üç farklı grup altında (ilk dönem, orta dönem, son dönem) sınıflandırıldı (Tablo-1).

Tablo-1: Kullanılan materyalin gruplandırılması

	1. Grup	**2. Grup**	**3. Grup**
Gebelik Dönemi	İlk Dönem	Orta dönem	Son Dönem
Gebe Uterus Yaşı	68-90 günlük	99-178 günlük	190-269 günlük
Uterus Sayısı	9	9	9

Materyalin elde edilme sürecinde; kesim sonrası alınan uterusun gebeliğin meydana geldiği kornusuna yavrunun çıkarılabileceği genişlikte bir ensizyon yapıldı. Daha sonra yavru zarları ensize edilip içindeki yavru suları da boşaltıldıktan sonra her bir fötusun baş-sağrı uzunluğu ölçüldü. Ölçümler sonucunda çalışmada kullanılan uterusların, fötus yaşlarına dayanarak gebelik süreleri belirlenmiş oldu (Tablo-2).

Tablo-2: Belirlenen fötus yaşlarına bağlı olarak gebelik süreleri

Örnek Sayısı	Baş-Sağrı Uzunluğu (CRL)	Fötal yaş / Gebelik süresi
1	6 cm	68 günlük
2	7,5 cm	73 günlük
3	8 cm	75 günlük
4	10 cm	79 günlük
5	11 cm	82 günlük
6	12,5 cm	86 günlük
7	13 cm	87 günlük
8	13,5 cm	88 günlük
9	14,5 cm	90 günlük
10	18 cm	99 günlük
11	19,5 cm	102 günlük
12	21 cm	106 günlük
13	22,5 cm	110 günlük
14	24 cm	114 günlük
15	28 cm	123 günlük
16	34,5 cm	140 günlük
17	47,5 cm	172 günlük
18	50 cm	178 günlük
19	55 cm	190 günlük
20	58 cm	198 günlük
21	60 cm	202 günlük
22	65 cm	214 günlük
23	66,5 cm	219 günlük
24	70 cm	227 günlük
25	79 cm	249 günlük
26	82 cm	257 günlük
27	87 cm	269 günlük

4.2. Rutin Histolojik Doku Takibi ve Boyama

Üç farklı gruptan da alınan uterus dokuları 24 saat boyunca %10'luk nötral formalin solüsyanunda fikze edildi ve bunu takiben dokular bir gün süreyle çeşme suyu altında yıkandı. Yıkama işleminin ardından doku örnekleri, dehidrasyonu için düşükten yükseğe olacak şekilde dereceli alkol aşamalarından geçirildi. Dehidre edilen dokular şefaflandırılmak ve sertleştirilmek amacıyla metil benzoat ve benzol serilerinden geçirildi. Bunları takiben benzol-parafin karışımı içinde 58 ºC inkübatörde 30 dk boyunca bekletilen dokular daha sonra saf erimiş parafin içerisinde 58 ºC etüvde 4 saat bekletildi. Takip işlemi tamamlanan dokular sıvı parafine gömülerek bloklar haline getirildi. Elde edilen parafin bloklarından rotary mikrotomunda (Leica RM-2125, Germany) kalınlığı 5µm olacak şekilde seri kesitler alındı. Kesitler adesivli lamlara alınarak immunohistokimya boyamasına tabi tutuldu.

4.3. İmmunohistokimyasal Boyama

Adesivli lamlara alınan seri kesitler HOXA10, HOXA11, HOXC6, HOXB6, HLX, TLX1 ve Dlx-5 proteinlerini belirlemek amacıyla indirek streptavidin-biotin kompleks yöntemi ile immunohistokimyasal boyamaya tabi tutularak gösterildi (140). Bunun için lamlara alınan seri kesitler kasetlere dizildi ve ksilolde beşer dakikadan toplamada on dakika deparafinizasyon işlemine tabi tutuldu. Daha sonra kesitlerin dehidrasyonu için yüksekten düşüğe olacak şekilde dereceli alkol serilerinden geçirildi ve sonra distile suya alındı. Ardından kesitler, dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 20 dakika boyunca metanol ile hazırlanmış % 3'lük H_2O_2'de bekletildi. Daha sonraki aşamada preparatlar üç defa 5'er dk süreyle 0.01M phosphate buffer saline (PBS)'de yıkandı. Yıkamayı takiben, kesitler antijen retrieval işlemi için sitrat tamponu (0.01 M, pH 6) içerisinde 95 ^{0}C'de 20 dk süresince kaynatıldı ve ardından soğuması için bekletildi. Soğuduktan sonra kesitler 0.01M phosphate buffer saline (PBS)'de yıkandı ve daha sonra dokularda spesifik olmayan boyanmayı engellemek amacı ile de protein blocking çözeltisinde (Ultra V Blok, Thermo Fisher Scientific, Lab Vision Corporation) oda ısısında 15 dk. inkübasyona tabi tutuldu. Ardından boyanacak kesitler 1/100 oranında seyreltilmiş primer antikorlarla (Tablo-3), kontrol preperatları ise PBS ile bir gece +4°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası preparatlar 0.01M PBS'de 5 dk boyunca üç defa yıkandı ve ardından oda sıcaklığında 20 dk boyunca biotinlenmiş sekonder

antikor (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) ile uygulamaya tabi tutularak primer antikora bağlanma sağlandı. Bu işlemden sonra preperatlar tekrar 0.01M PBS'de 5 dk boyunca üç kez yıkandı ve sonrasında streptavidin peroksidaz solüsyonunda (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) 20 dk boyunca bekletildi. Ardından son defa olacak şekilde 0.01M PBS'de 5 dakikadan üç defa yıkandı. Bu işlemlerin ardından antijen-antikor reaksiyonunu göstermek amacı ile preparatlar 3'3-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) ile 5-15 dk arasında inkübe edildi ve immunoreaksiyonun oluşumuna göre preperatlar distile suya alınarak reaksiyon durduruldu. Ardından zıt boyama için preparatlar Mayer's hematoksilende 2-3 dk. bekletildi ve hemen arkasında preparatlar akar suda yıkandı. Daha sonra distile suda da yıkanan preparatlar alkol ve ksilol serilerinden geçirilip entellan ile kapatıldı. Boyanmanın doğruluğunu kanıtlama açısından negatif kontroller kullanıldı ve bu kontrollerde primer antikor yerine PBS kullanılarak inkübasyon sağlandı. Daha sonra preparatlar dijital bir kamera (NIS Elements Imaging Software-version 3.10) ile donatılmış Nikon Eclipse E400 (Nikon, Tokyo, Japonya) araştırma mikroskobu kullanılarak fotoğraflandı.

Tablo-3: Kullanılan antikorlara ait veriler

Antikorun Adı	Antikorun Türü	Katalog Numarası
HOXA10	Rabbit polyclonal	St John's Laboratory, model no: STJ193159
HOXA11	Rabbit polyclonal	İnvitrogen, cat no: PA5-57341
HOXB6	Goat polyclonal	St John's Laboratory, model no: STJ73348
HOXC6	Rabbit polyclonal	İnvitrogen, cat no:PA5-41479
TLX1	Rabbit polyclonal	İnvitrogen, cat no: PA5-34553
Dlx-5	Rabbit polyclonal	St John's Laboratory, model no: STJ92725
HLX	Rabbit polyclonal	İnvitrogen, cat no:PA5-44857

4.4. İmmunohistokimyasal Boyanma Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İmmunohistokimyasal boyanma, yoğunluk skoruna (Intensity score) göre semikantitatif olarak değerlendirildi. Yoğunluk skorunda, hücrelerdeki pozitif boyanma yoğunlukları değerlendirildi (141, 142). Bunun için immunohistokimyasal boyanma sonuçlarındaki skorlama işlemi aşağıda gösterildiği şekilde uygulandı.

Yoğunluk Skoru

0: Negatif (Yüksek büyütmede hiçbir hücrede boyanma yok)

1: Zayıf (Sadece yüksek büyütmede görülen boyanmış hücreler)

2:Orta (Düşük büyütmelerde kolaylıkla görülen boyanmış hücreler)

3:Güçlü (Çok düşük büyütmelerde görülen boyanmış hücreler)

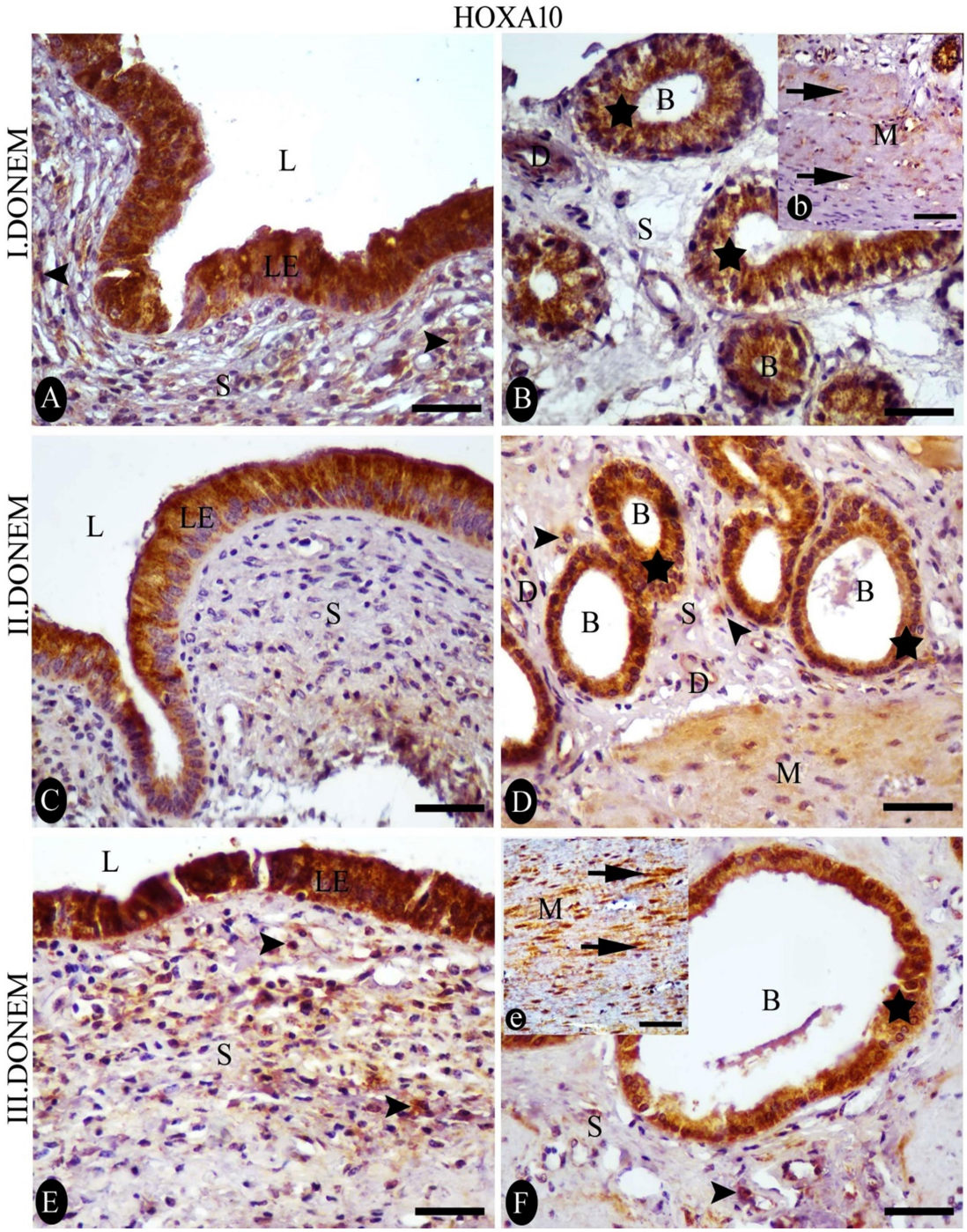
İmmunhoistokimyasal yoğunluk skorlaması yapılan kesitlerden elde edilen veriler SPSS sürüm 24.0 (IBM®, ABD) yazılımı ile istatistiksel yönden değerlendirildi. İstatistiksel analiz öncesi elde edilen skor datasetleri normallik testine tabi tutuldu. Normallik testi gerçekleştirilirken her parametredeki örneklem sayısına bağlı olarak Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi ve skorlama sonucu normallik testi $p<0,05$ elde edilen datasetler, Non-parametrik Kruskal-Wallis testi ile istatistiksel analize tabi tutuldu. Gruplar arasındaki çoklu karşılaştırmada ise Tamhane'nin T2 testi kullanıldı. Elde edilen sonuçlar ortlama±standart sapma (SD) şeklinde gösterildi ve $p<0,05$ istatistiksel yönden anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. İmmunohistokimyasal Bulgular

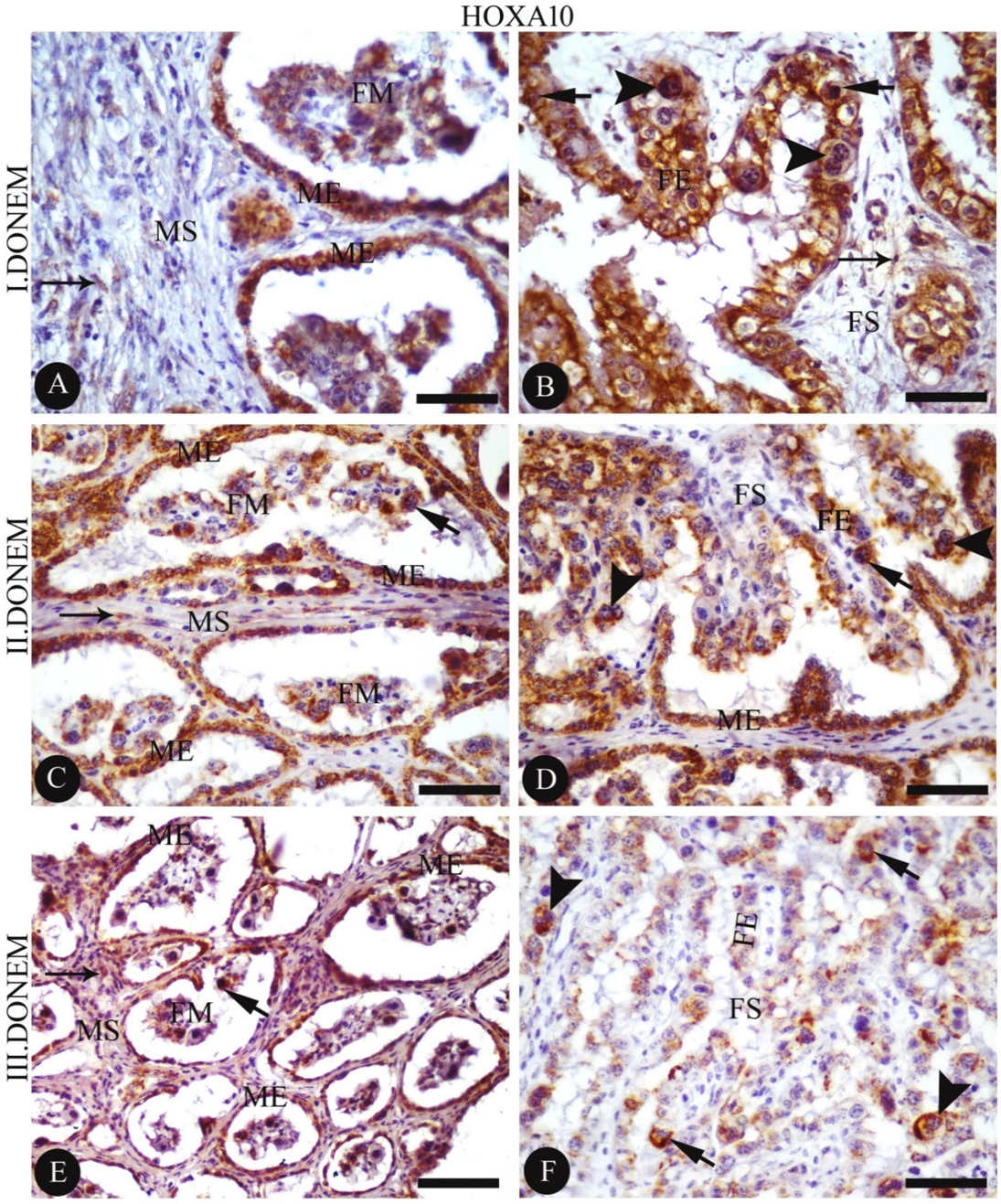
5.1.1. HOXA10

İneklerde gebeliğin her üç döneminde endometriyumun luminal epitel ve bez epitel hücrelerinin sitoplazmasında, III. dönem luminal ve bez epitel hücrelerinin ise çekirdeklerinde de pozitif bir immunreaksiyon gözlemlendi. Bununla birlikte I. ve III. dönemde endometriyumdaki bazı stromal hücrelerde ve miyometriyumdaki düz kas hücrelerinde de pozitif reaksiyonun varlığı görüldü. Ayrıca I. ve II. dönemlerde bulunan damar endotelinde de immunoreaksiyonun varlığı belirlendi (Şekil-6).



Şekil-6: Gebeliğin ilk döneminde (69 günlük), (A, B, b), ikinci döneminde (99 günlük), (C, D), üçüncü döneminde (190 günlük), (E, F, e) uterusta gözlenen HOXA10 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Miyometriyumdaki düz kas hücresi, Bar (A, B, C, F, b, e): 25 µm, (D) 50 µm.

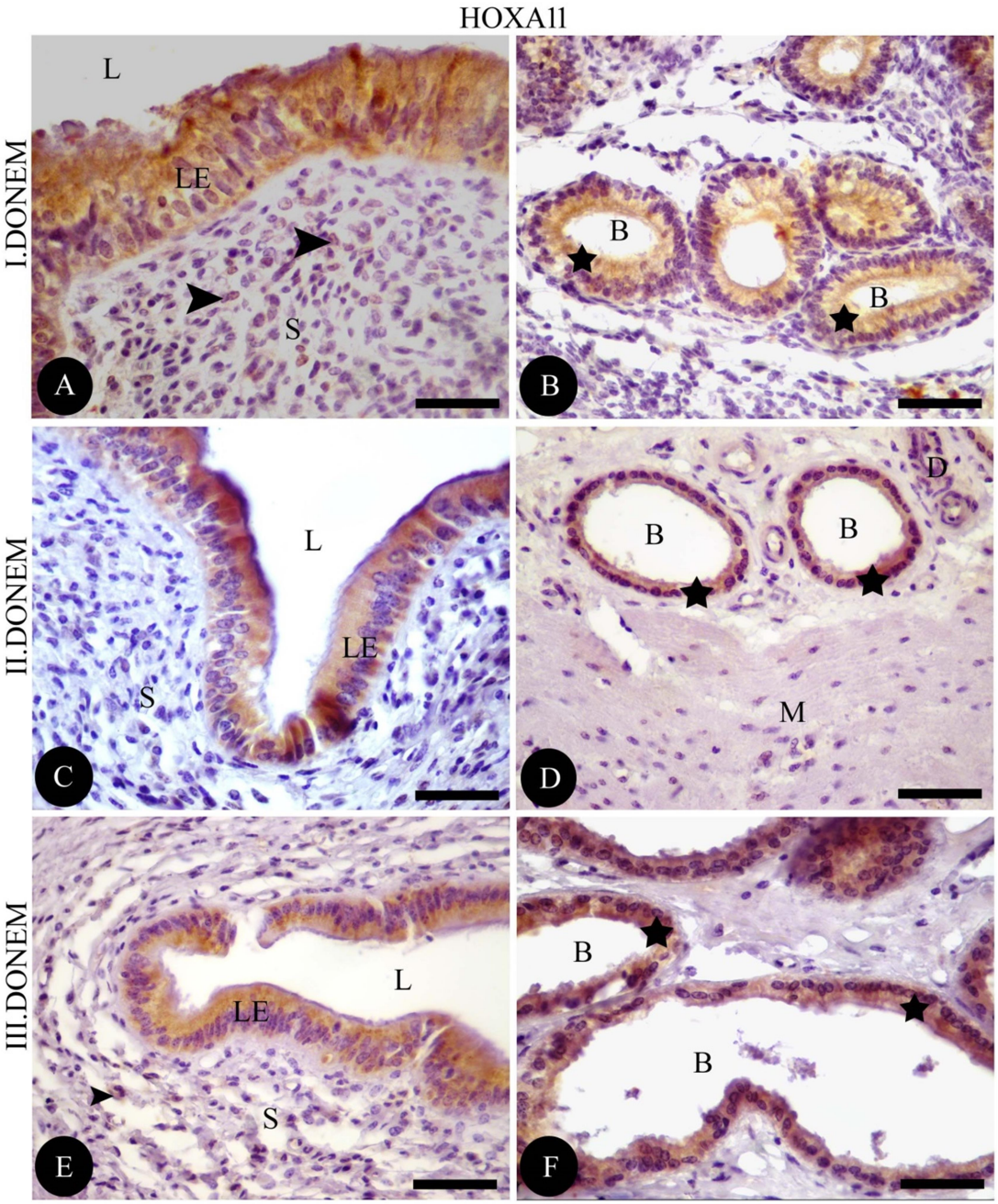
Plasenta maternalisin epitel ve stroma hücrelerinde pozitif bir boyanmanın olduğu ve maternal epiteldeki immunoreaksiyonun I. ve II. dönemlerde benzer yoğunlukta olduğu belirlendi. Üçüncü dönemde ise bu yoğunluğun azaldığı, stromal hücrelerde ise boyanmanın her üç dönemde de benzer yoğunluklarda olduğu gözlendi. Fötal kısımdaki tek çekirdekli trofoblast ve çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde immunoreaksiyonun orta düzeyde, stromal hücrelerde ise zayıf olduğu görüldü. İmmunoreaksiyon I. dönemde koryon epitelinde bulunan tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerinin sitoplazma ve çekirdeklerinde lokalize olurken diğer dönemlerde ise sitoplazmik olarak lokalize olduğu saptandı. Ayrıca fötal mezenşim hücrelerinde de zayıf bir reaksiyon olduğu dikkat çekti (Şekil-7).



Şekil-7: Gebeliğin ilk döneminde (69 günlük), (A, B), ikinci döneminde (99 günlük), (C, D), üçüncü döneminde (190 günlük), (E, F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HOXA10 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm.

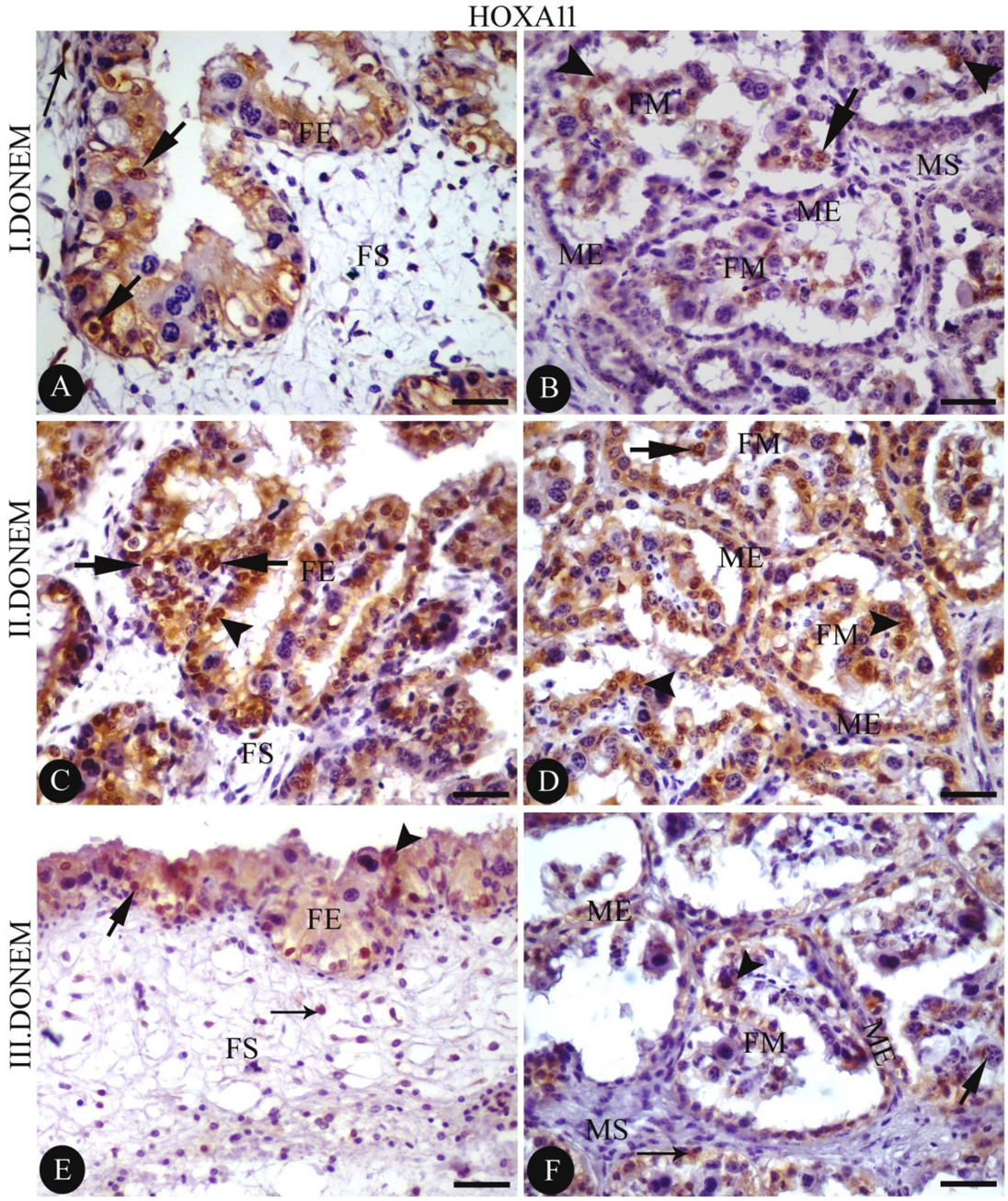
5.1.2. HOXA11

Gebeliğin her üç döneminde endometriyumdaki luminal epitel ve bez epitel hücrelerinde orta yoğunlukta pozitif bir immunreaksiyonun olduğu belirlendi. Özellikle ekspresyonun luminal ve bez epitel hücrelerinin apikal sitoplazmasında lokalize olduğu gözlendi. Ayrıca HOXA11'in, II. dönemdeki bazı damar endotel hücrelerinde, I.ve III. dönemlerdeki uterusun bazı stromal hücrelerinde de pozitif bir immunreaksiyon verdiği belirlendi. Bu reaksiyon gebeliğin I. dönemindeki bazı stromal hücrelerinde diğer dönemlere oranla yoğun olarak saptandı. Ancak, II. dönemdeki uterus stromal hücreleri ile her üç dönemdeki düz kas hücrelerinde bir reaksiyonun meydana gelmediği görüldü (Şekil-8).



Şekil-8: Gebeliğin ilk döneminde (79 günlük), (A,B), ikinci döneminde (106 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (249 günlük), (E,F) uterusta gözlenen HOXA11 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Bar: 25 µm.

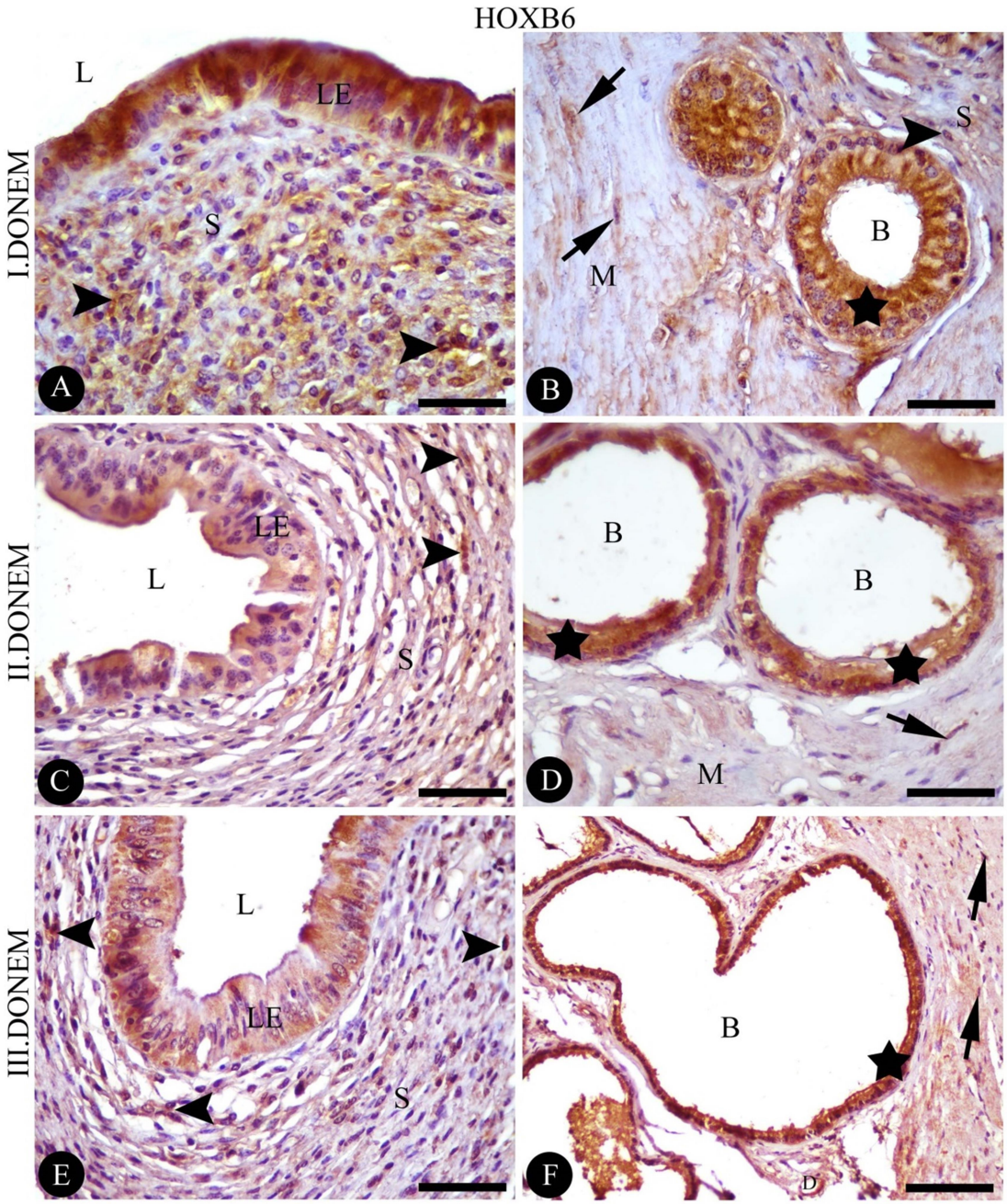
HOXA11 immunoreaksiyonunun, plasenta maternalisin epitel ve stromal hücrelerinde çok zayıf bir pozitif reaksiyon gösterdiği belirlendi. Ancak II. dönem epitel hücrelerindeki reaksiyon yoğunluğunun azda olsa diğer dönemlere oranla daha güçlü olduğu dikkat çekti. Fötal kısımda koryon epitelindeki trofoblast hücrelerinde ise reaksiyonun III. dönemde çok zayıf iken, I. ve II. dönemdeki hücrelerde orta yoğunlukta olduğu gözlendi. Reaksiyonun I. ve II. dönemdeki bazı tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerinin çekirdek ve sitoplazmasında, III. dönem hücrelerinin ise sadece sitoplazmasında lokalize olduğu saptandı. Bazı fötal stromal hücrelerle birlikte fötal mezenşiminde de zayıf bir reaksiyon olduğu gözlendi (Şekil-9).



Şekil-9: Gebeliğin ilk döneminde (79 günlük), (A, B), ikinci döneminde (106 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (249 günlük), (E, F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HOXA11 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi. Bar:25 µm.

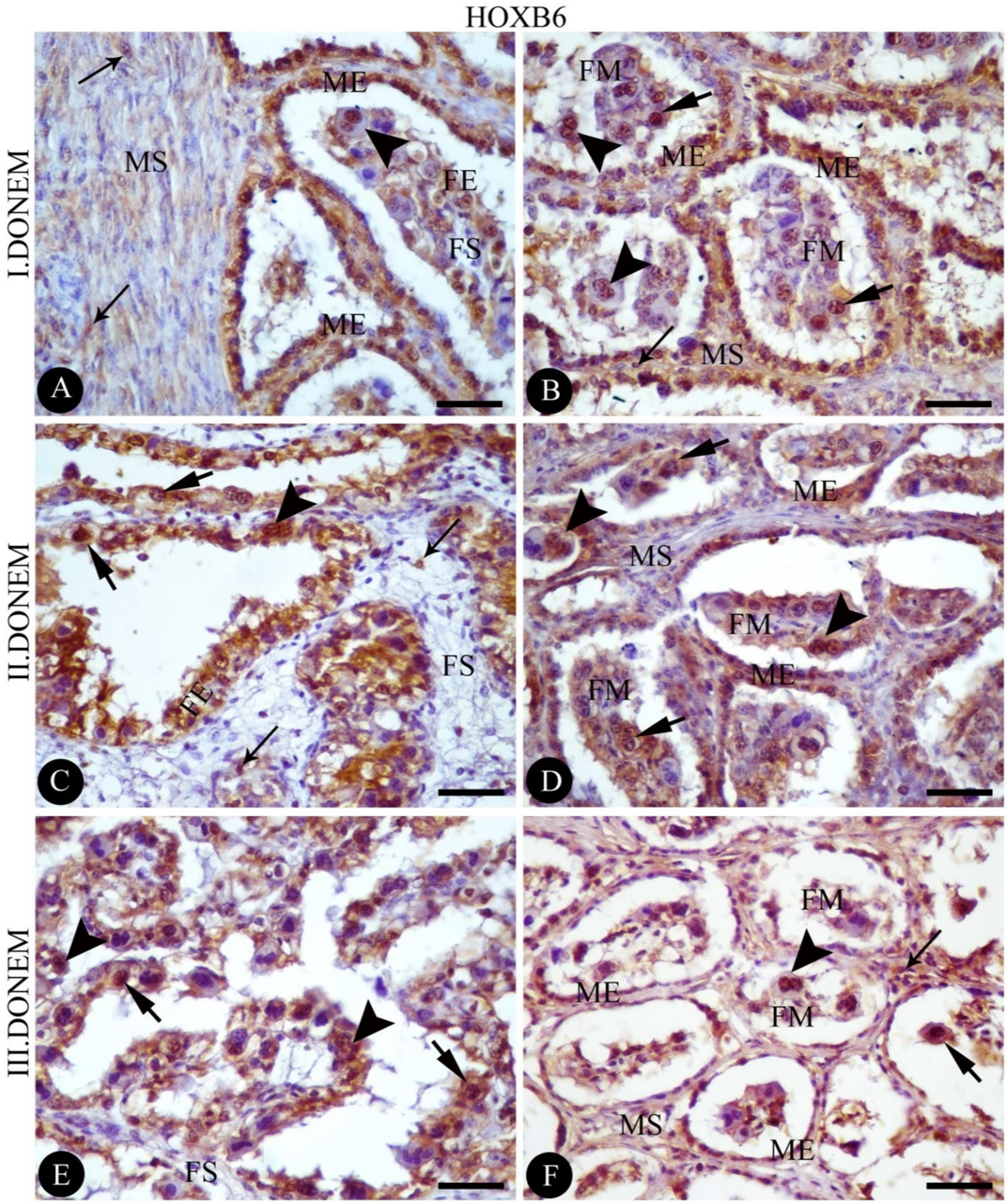
5.1.3. HOXB6

HOXB6'nın gebeliğin her üç döneminde de uterusun luminal ve bez epitel hücreleri ile düz kas hücrelerinde pozitif bir reaksiyon oluşturduğu gözlendi. Bu hücrelerin sitoplazmasında lokalize olan immunreaksiyon, I. dönemdeki luminal epitelde orta yoğunlukta iken diğer hücrelerinde daha az olarak belirlendi. Stromal hücrelerdeki reaksiyon yoğunluğu I. dönemde diğer dönemelere oranla daha güçlü ve orta şiddette olduğu görüldü. Bez hücrelerinde ise reaksiyon şiddetinin her üç dönemde de orta yoğunlukta olduğu saptandı. Bunların yanı sıra düz kas hücrelerinin dönemler arası reaksiyon yoğunluğunun orta şiddetine yakın bir güçte olduğu fakat I. dönemdeki hücrelerin diğer dönemlere kıyasla daha yoğun boyandığı görüldü. Ayrıca III. dönemdeki bazı damar endotel hücrelerinde de pozitif bir reaksiyonun varlığı dikkat çekti (Şekil-10).



Şekil-10: Gebeliğin ilk döneminde (86 günlük), (A,B), ikinci döneminde (114 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (227 günlük), (E,F) uterusta gözlenen HOXB6 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Miyometriyumdaki düz kas hücresi, Bar (A, B, C, D, E): 25 µm, (F) 50 µm.

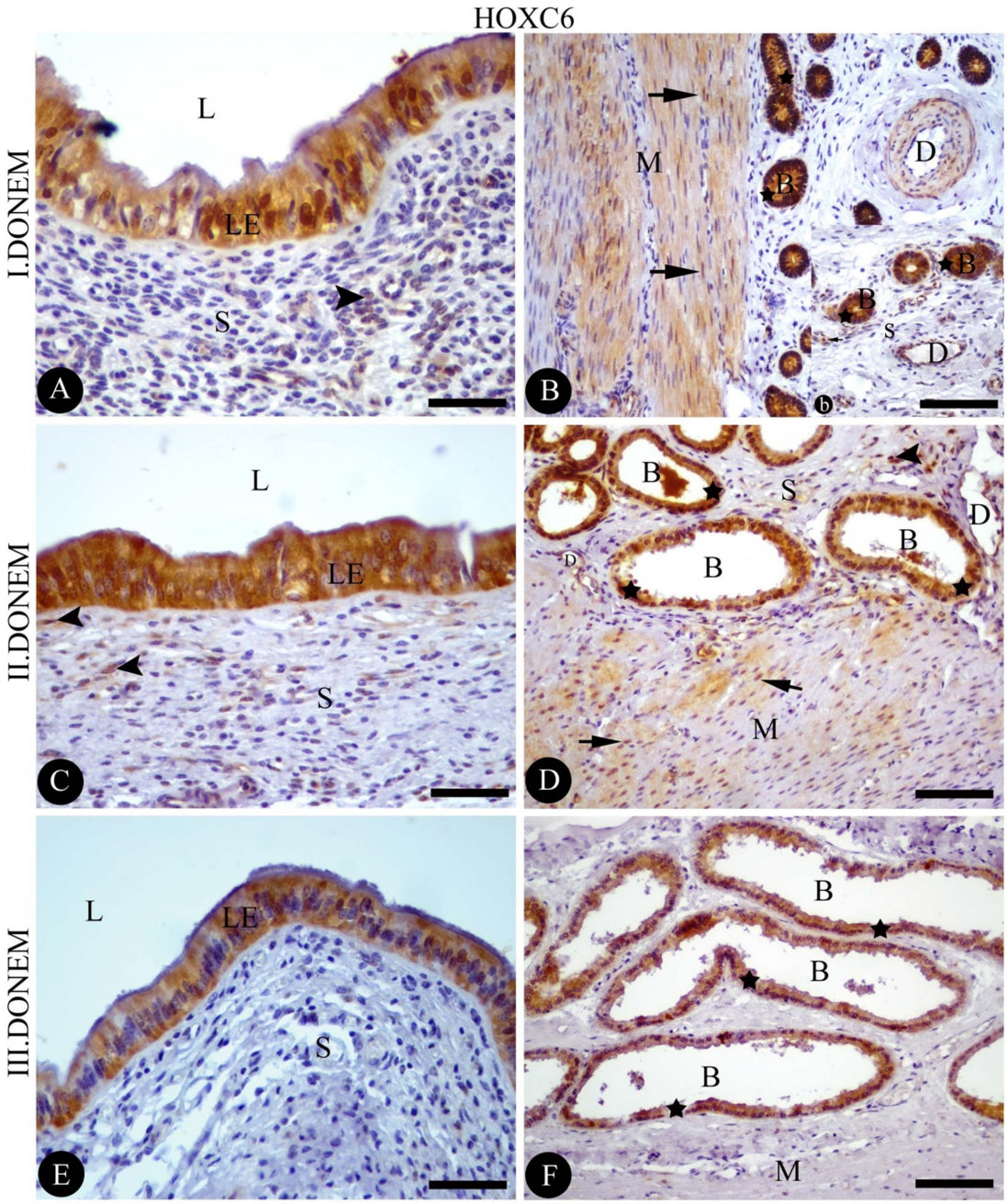
Plasentanın maternal kısımdaki epitel ve stromal hücrelerindeki pozitif reaksiyonun I. dönemdeki yoğunluğunun diğer dönemlere kıyasla daha fazla olduğu görüldü. Maternal epiteldeki yoğunluk I. dönemde ortadan güçlüye doğru eğilim gösterirken, stromal hücrelerdeki ise zayıftan ortaya doğru eğilim göstermekteydi. Plasentanın fötal kısmındaki koryon epitelinde ise gebeliğin her üç döneminde de tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerinde çekirdek ve sitoplazmda lokalize olan I. ve II. dönemlerde ortadan güçlüye eğilim gösteren ancak III. dönem çift çekirdekli trofoblast hücrelerinde ise yoğunluğu orta düzeye yakın bir reaksiyon varlığı görüldü. Bunların yanı sıra, fötal mezenşimi ve stromal bazı hücrelerde pozitif reaksiyon olduğu da saptandı (Şekil-11).



Şekil-11: Gebeliğin ilk döneminde (86 günlük), (A,B), ikinci döneminde (114 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (227 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HOXB6 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm.

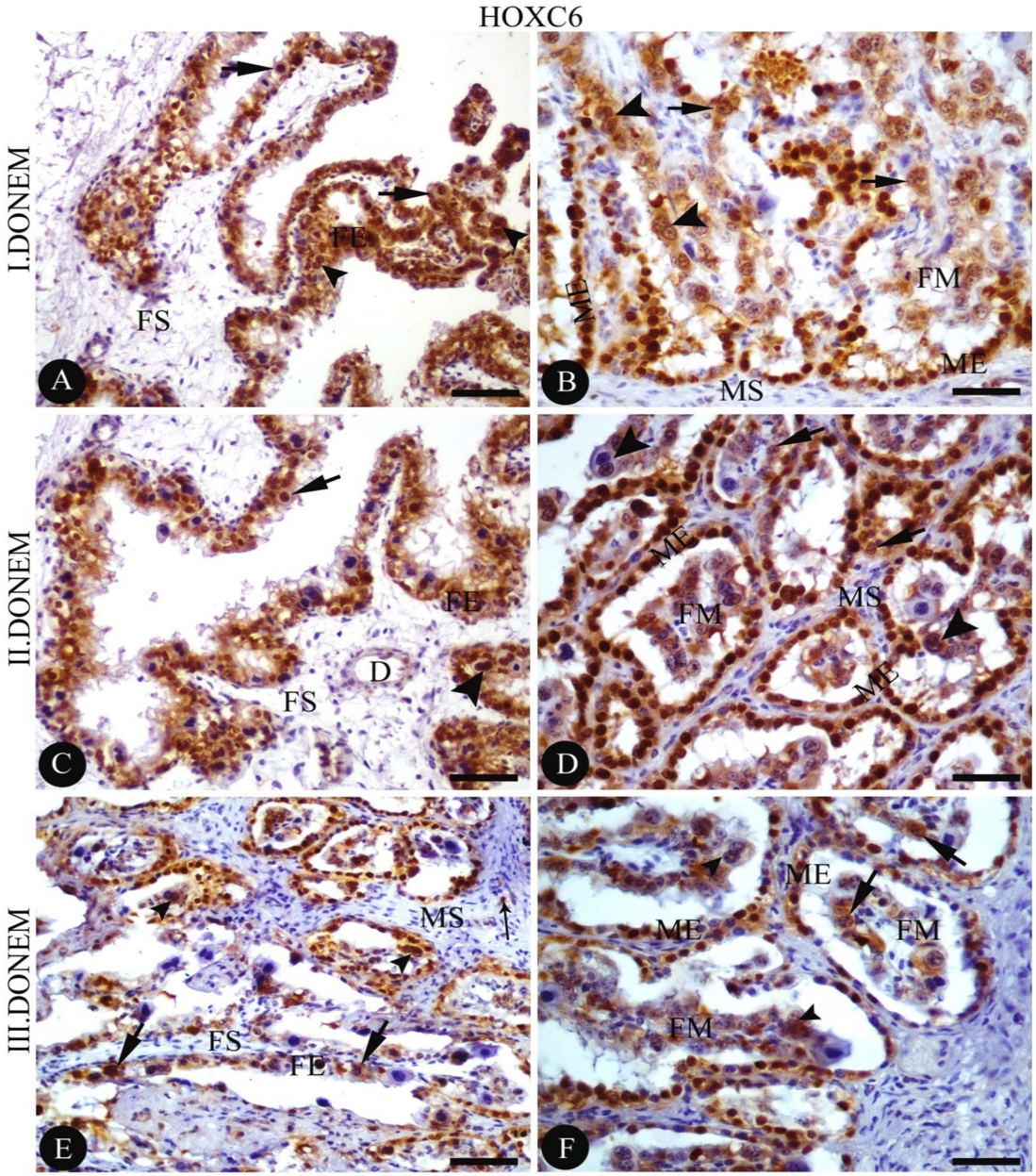
5.1.4. HOXC6

İneklerde gebeliğin her üç döneminde de HOXC6 immunoreaksiyonu, uterusun bazı luminal ve bez epitel hücrelerinin sitoplazmasında bazı hücrelerinde ise hem sitoplazmasında hem de çekirdeğinde lokalize olduğu görüldü. İmmunreaksiyon ikinci dönemdeki uterus luminal epiteli ve her üç dönemdeki bez epiteli hücrelerinde güçlü, diğer iki dönemdeki luminal epitel hücrelerinde ise orta yoğunlukta olduğu görüldü. I. ve II. dönem stromal hücrelerde zayıf bir immunreaksiyon olduğu ancak düz kas hücrelerinde güçlü bir immunreaksiyonun meydana geldiği saptandı. III. dönemdeki stromal hücrelerde kaybolan immunreaksiyon düz kas hücrelerinde ise çok zayıf olarak görüldü. I. ve II. dönemde bazı damar endotel hücrelerinde de pozitif boyanmanın olduğu dikkat çekti (Şekil-12).



Şekil-12: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük), (A,B), ikinci döneminde (178 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (257 günlük), (E,F) uterusta gözlenen HOXC6 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Miyometriumdaki düz kas hücresi, Bar (A, C, E): 25 µm, (B, F, D) 50 µm.

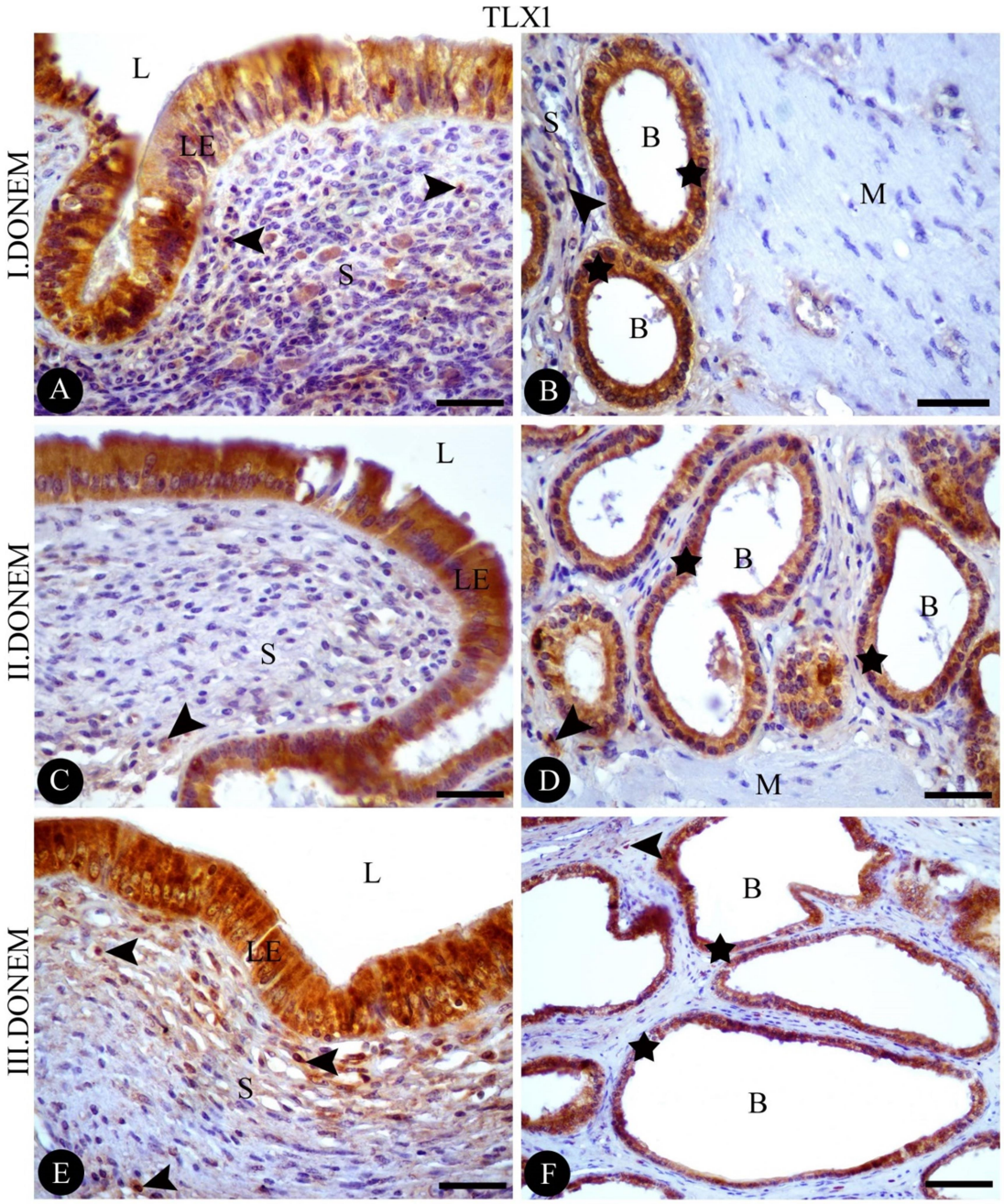
Plasenta maternalis epitelinde meydana gelen HOXC6 immunoreaksiyonu, gebeliğin I. ve II. döneminde güçlü, III. dönemde ise orta seviyede görüldü. Bununla birlikte bazı stromal hücrelerde reaksiyonun çok zayıf olduğu, bazılarında ise hiç oluşmadığı saptandı. Fötal kısma ait koryon epitelindeki tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerinde pozitif bir reaksiyon meydana geldiği belirlendi. Reaksiyon, I. dönem hücrelerinde ortadan güçlüye doğru görülürken, II. dönem hücrelerinde ise orta yoğunlukta görüldü. Reaksiyonun hücrelerin çekirdek ve sitoplazmasında lokalize olduğu saptandı. III. dönemdeki tek çekirdekli trofoblast hücrelerde çekirdek ve sitoplazmada, çift çekirdekli trofoblast hücrelerde ise sadece çekirdekte orta yoğunlukta olduğu dikkat çekti. Ayrıca tüm dönemlerdeki bazı fötal mezenşim ve stromal hücreler ile ikinci dönemdeki bazı fötal damar endotel hücrelerinde de zayıf bir reaksiyonun oluştuğu gözlendi (Şekil-13).



Şekil-13: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük), (A,B), ikinci döneminde (178 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (257 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HOXC6 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm.

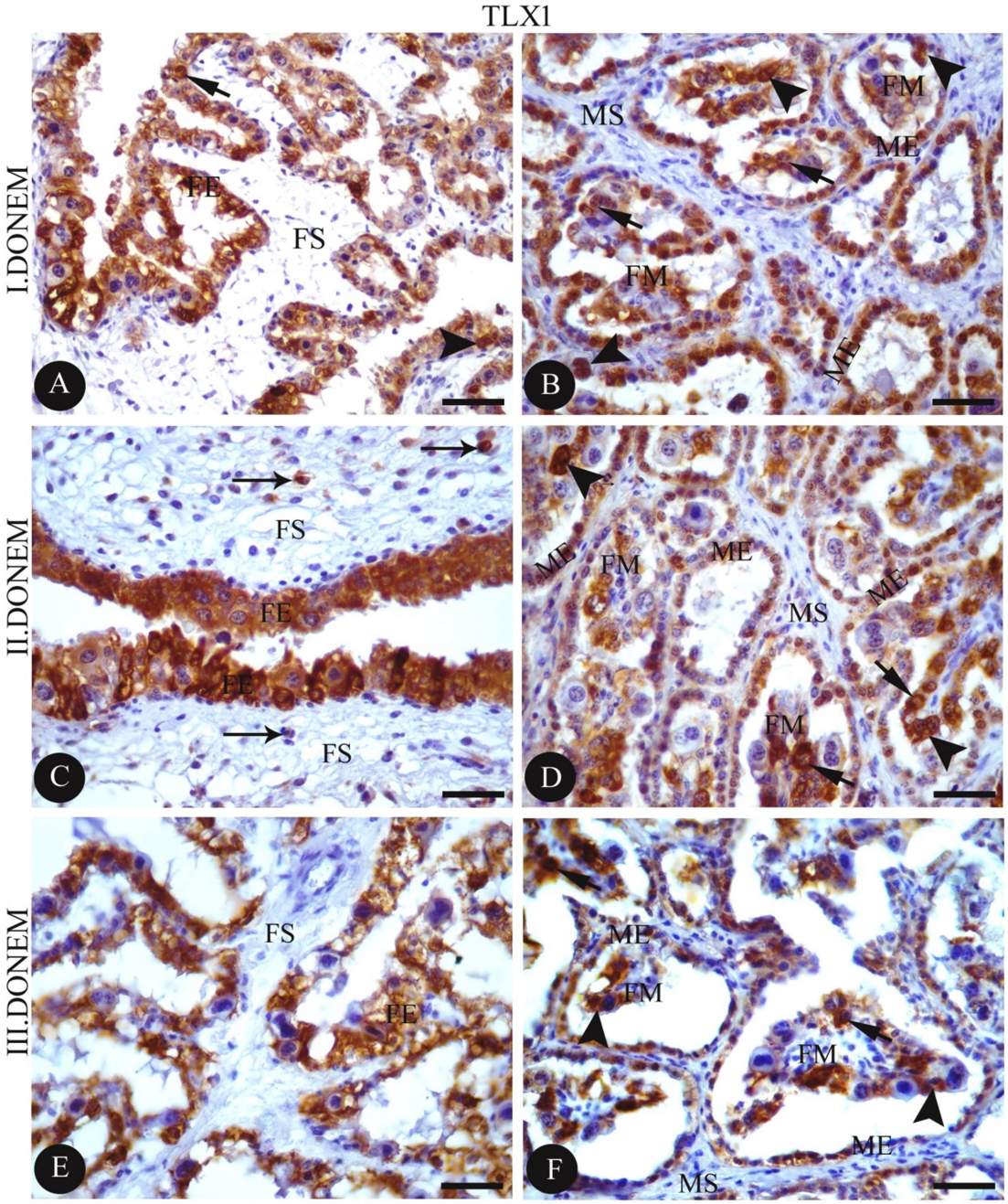
5.1.5. TLX1

İnek uterusunda gebeliğin her üç döneminde şekillenen pozitif TLX1 immunoreaksiyonunun, luminal epitel hücrelerinde I. ve II. dönemlerde sitoplazma ve membranda, III. dönem de ise sitoplazma, membran ve çekirdekte, bez epitel hücrelerinde ise gebeliğin her üç döneminde de sitoplazmada lokalize olduğu belirlendi. Bunlarla birlikte I. ve III. dönem bazı stromal hücrelerde zayıftan orta yoğunluğa doğru şekillenen reaksiyonun II. dönemdeki hücrelerde ise hemen hemen hiç oluşmadığı gözlendi. Gebeliğin her üç döneminde miyometriyumun düz kas hücrelerinde immunreaksiyonun olmadığı saptandı (Şekil-14).



Şekil-14: Gebeliğin ilk döneminde (87 günlük), (A,B), ikinci döneminde (140 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (269 günlük), (E,F) uterusta gözlenen TLX1 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, M: Miyometriyum, Bar: 25 µm, (F) 50 µm.

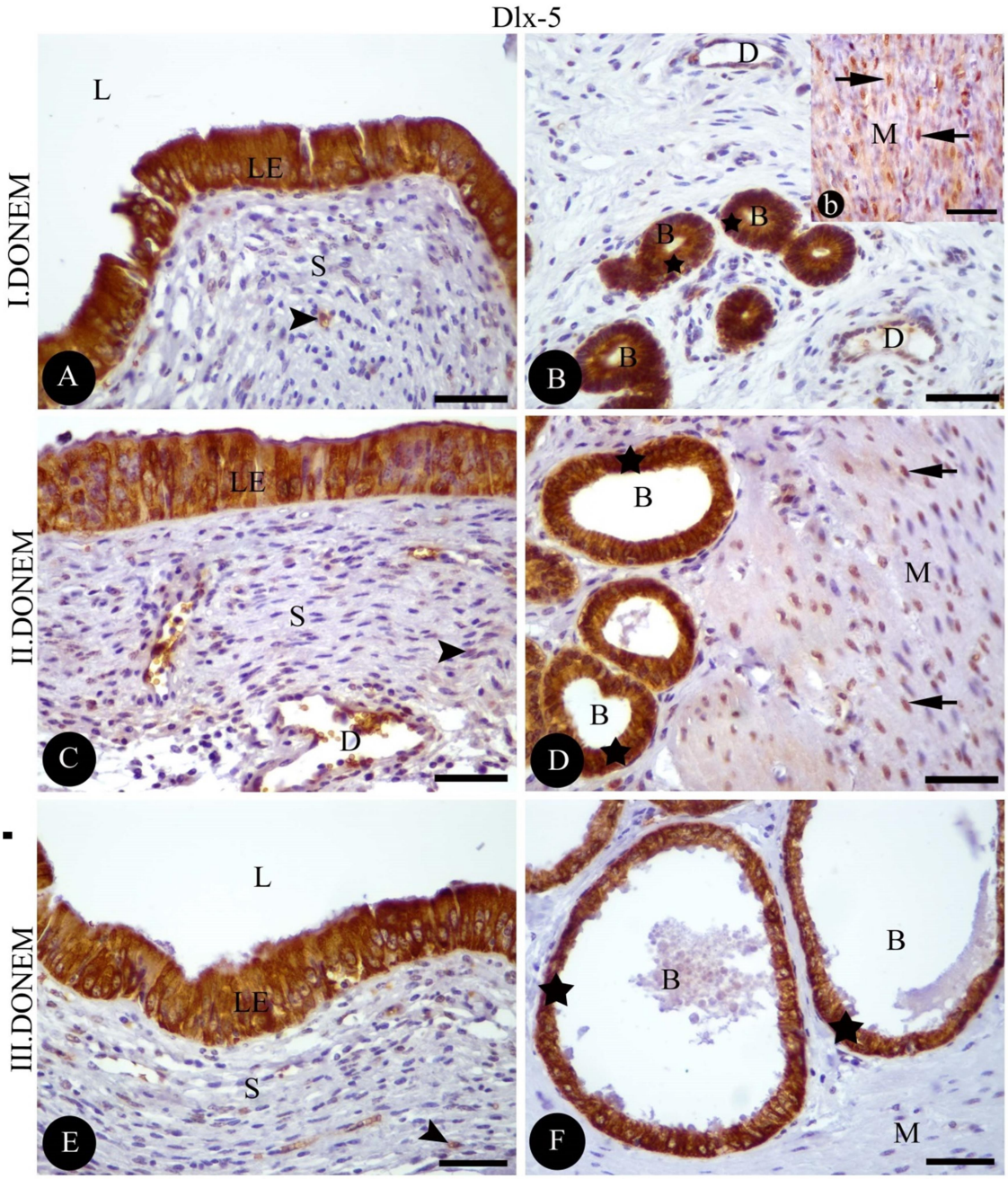
Plasenta maternalise ait olan epitel kısmındaki immunoreaksiyonun I. dönemde orta yoğunlukta, II. dönem de zayıftan orta yoğunluğa eğilimli, III. dönemde ise zayıf bir pozitif boyanma gösterdiği dikkat çekti. Maternal kısımdaki stromal hücrelerde ise gebeliğin her üç döneminde de yok denecek kadar zayıf bir reaksiyonun oluştuğu gözlendi. Fötal bölümdedeki tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerinde, II. dönemde orta yoğunlukta çekirdek ve sitoplazmda lokalize olan orta yoğunlukta immunreaksiyon tespit edilirken, I. ve III. dönemdeki bazı tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerinde çekirdeğe yerleşmiş zayıf bir immunoreaksiyonun varlığı saptandı. Ayrıca II. dönem fötal stroma ve mezenşim hücrelerinde de zayıf bir boyanmanın olduğu da görüldü (Şekil-15).



Şekil-15: Gebeliğin ilk döneminde (87 günlük), (A,B), ikinci döneminde (140 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (269 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen TLX1 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Fötal Stromal hücre, Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm.

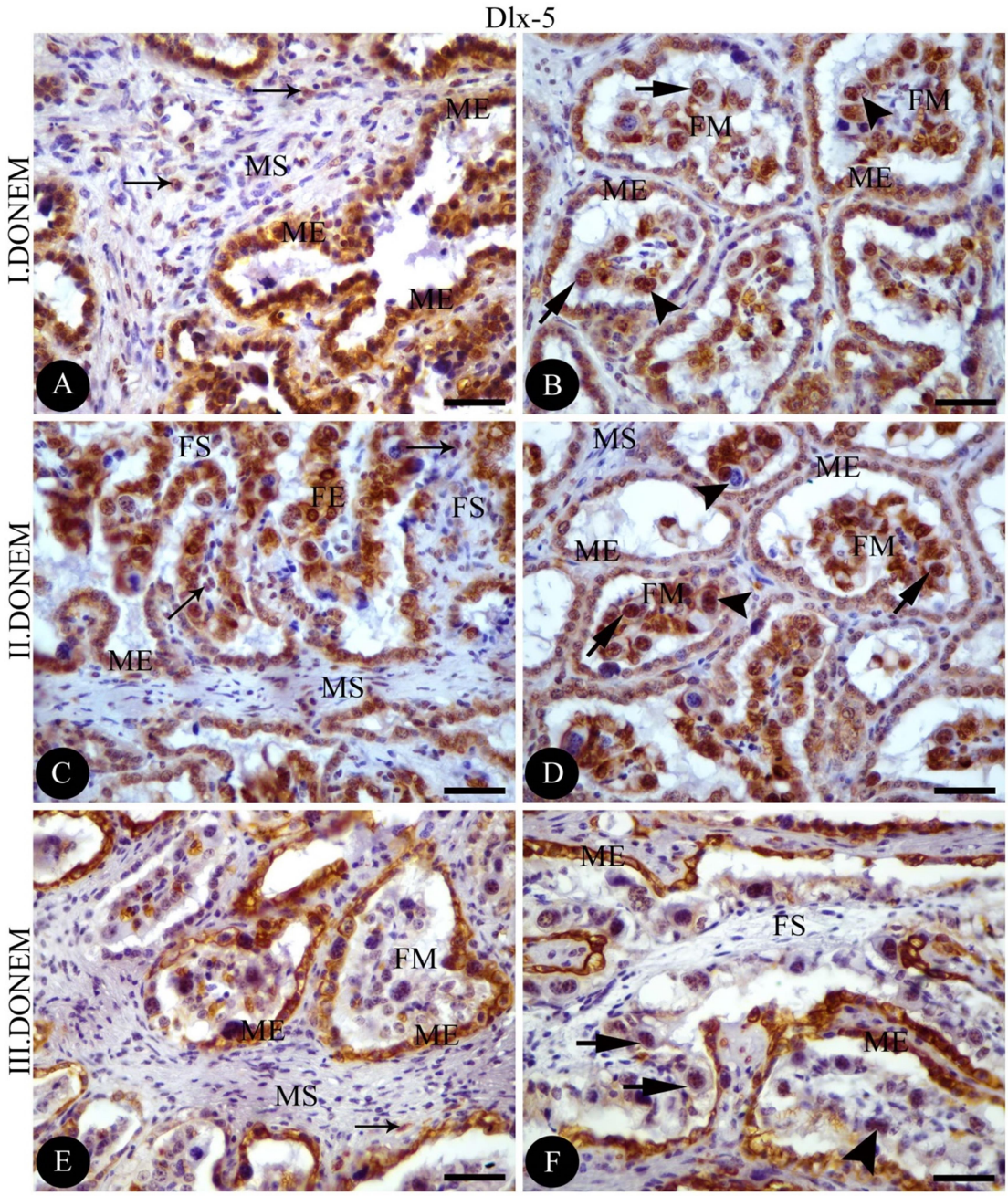
5.1.6. Dlx-5

Gebeliğin her döneminde Dlx-5 immunoreaksiyonun bazı luminal ve bez epitel hücrelerinde sitoplazma ve membranda diğerlerinde ise sitoplazma, membran ve çekirdekte lokalize olduğu tespit edildi**.** Miyometriyum katmanındaki düz kas hücrelerindeki immunreaksiyon ise birinci dönemde güçlü, II. dönemde orta, III. dönemde ise zayıf olduğu görüldü. Ayrıca her üç dönemdeki bazı stromal hücreleri ile birlikte I. ve II dönemdeki bazı damar endotel hücrelerinde de zayıf bir immunoreaksiyonun meydana geldiği gözlendi (Şekil-16).



Şekil-16: Gebeliğin ilk döneminde (73 günlük), (A,B), ikinci döneminde (102 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (219 günlük), (E,F) utrusta gözlenen Dlx-5 immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, Yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Düz kas hücresi, Bar (A, C, D, E): 25 µm, (B, F) 50 µm.

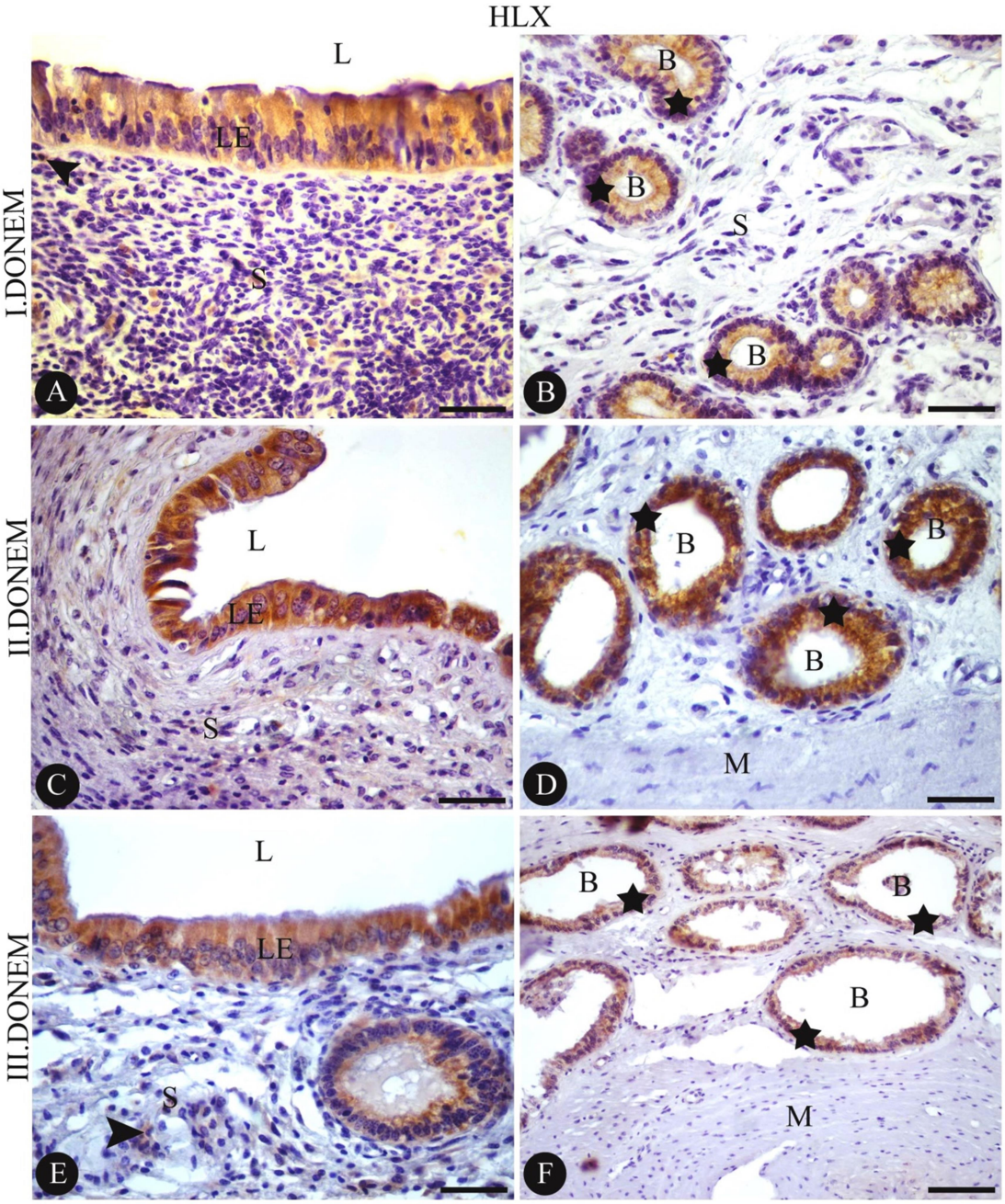
Plasenta maternalisin epitel ve stromal hücrelerinde Dlx-5, immunoreaksiyonunun pozitif olduğu saptandı. Pozitif olarak görülen bu reaksiyonun, II. dönem plasenta maternalis epitelinde ortadan güçlüye doğru, I. ve III dönem epitelinde ise orta yoğunlukta olduğu gözlendi. Bazı stromal hücrelerde ise reaksiyonun çok zayıf şekillendiği saptandı. Fötal bölümdeki koriyon epitelinde bulunan tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerinde her üç dönemde çekirdek ve sitoplazmada lokalize olan bir reaksiyonun meydana geldiği tespit edildi. II. dönemdeki hücrelerde reaksiyonun güçlü, I. dönemde orta eğilimli, III. dönem hücrelerinde ise yoğunlukta şekillendiği dikkat çekti. Fötal mezenşim ve stromal hücrelerde ise II. dönemde orta yoğunlukta gözlenen reaksiyonun I. dönemde çok zayıf, III. dönemde ise hemen hemen hiç oluşmadağı tespit edildi (Şekil-17).



Şekil-17: Gebeliğin ilk döneminde (73 günlük), (A,B), ikinci döneminde (102 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (219 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen Dlx-5 immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Fötal Stromal hücre (C) , maternal stroma hücresi (A, E) , Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm.

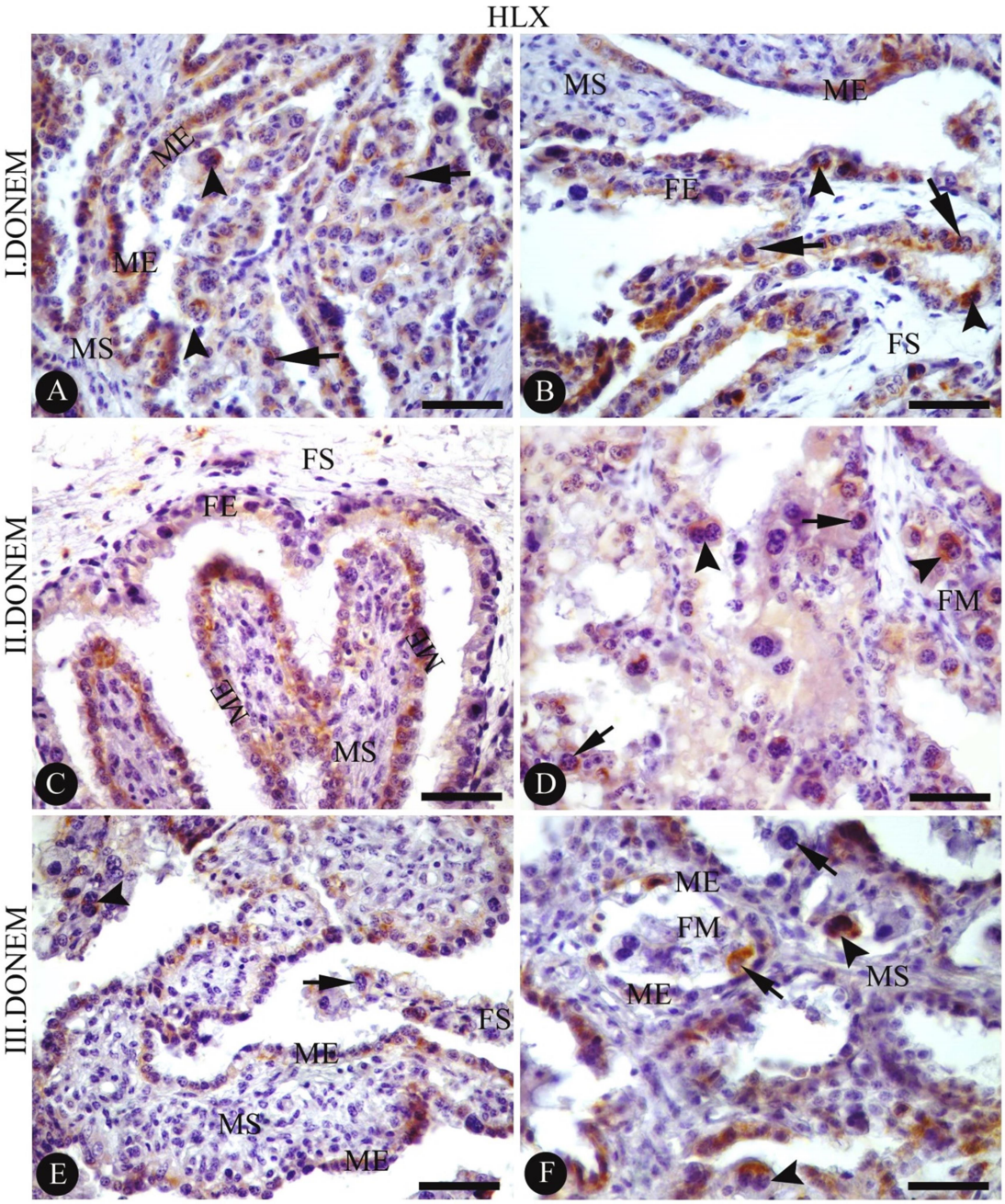
5.1.7. HLX

Gebe inek uterusunda pozitif olarak gözlemlenen HLX immuroreaksiyonu, gebeliğin her üç döneminde de luminal ve bez epitel hücrelerinde zayıftan orta yoğunluğa olacak şekilde meydana geldiği tespit edildi. Reaksiyonun bu hücrelerin sitoplazmasında lokalize olduğu gözlendi. Uterusun bazı stromal ve düz kas hücrelerinde reaksiyon oluşmazken bazılarında çok zayıf oluştuğu saptandı (Şekil-18).



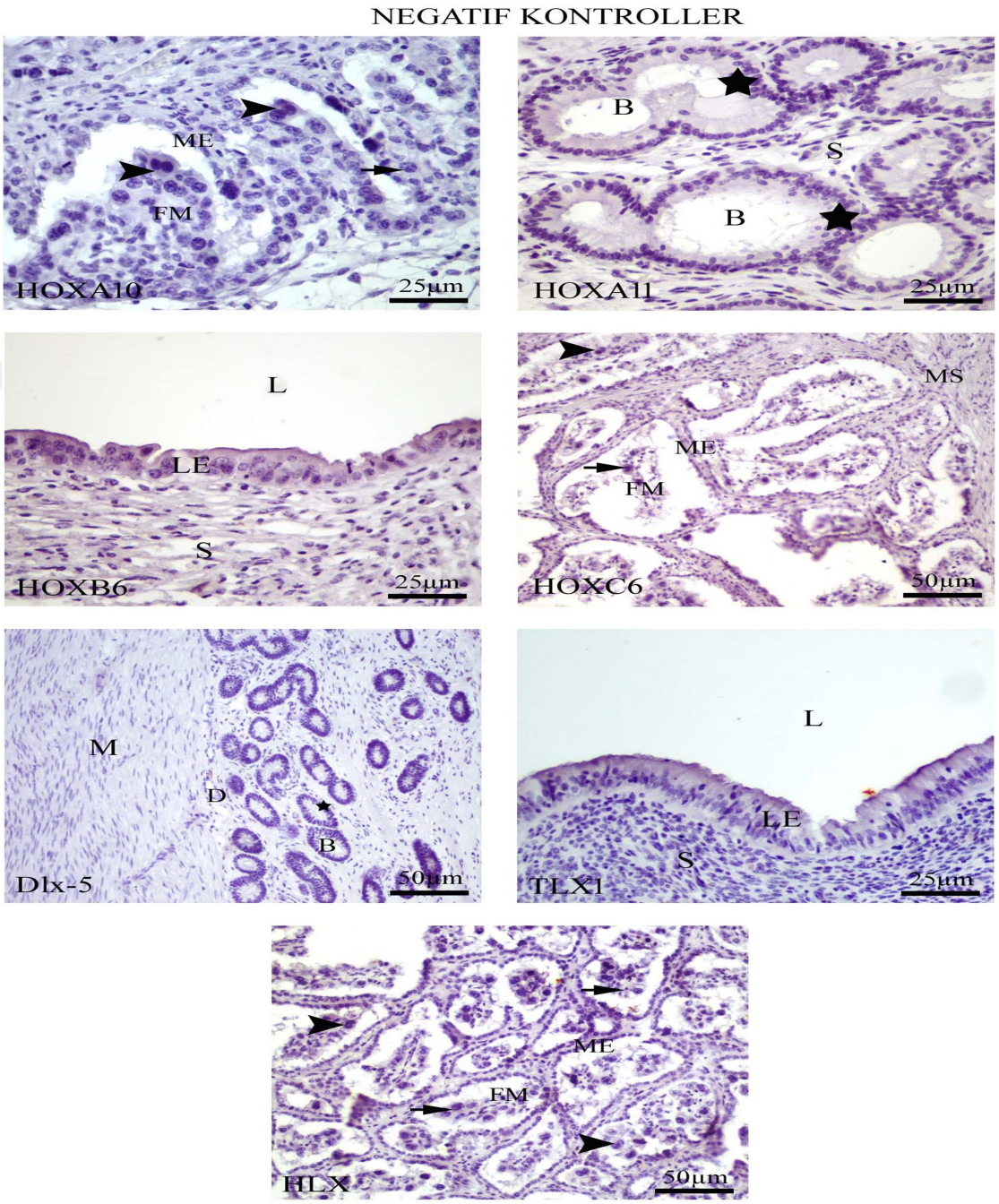
Şekil-18: Gebeliğin ilk döneminde (75 günlük), (A,B), ikinci döneminde (123 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (202 günlük), (E,F) uterusta gözlenen HLX immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, Ok başı: Stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, M: Miyometriyum, Bar (A. C, D, E): 25 µm, (B, F) 50 µm.

Plasenta maternaliste gözlenen HLX immureaksiyonunun, gebeliğin her üç döneminde epitel için zayıf ve zayıftan ortaya doğru, stroma için ise çok zayıf yoğunlukta olduğu belirlendi. Fötal kısıma ait olan koriyon epitelindeki tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerinde gözlenen immunoreaksiyonun, her üç dönemde de sitoplazmada zayıf yoğunlukta olduğu tespit edildi. Fötal stroma ve mezenşimde ise çok zayıf yoğunlukta meydana gelen bir reaksiyon görüldü (Şekil-19).



Şekil-19: Gebeliğin ilk döneminde (75 günlük), (A,B), ikinci döneminde (123 günlük), (C,D), üçüncü döneminde (202 günlük), (E,F) maternal ve fötal plasentada gözlenen HLX immunreaktivitesi. ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, FM: Fötal mezenşim, İnce ok: Fötal Stromal hücre (B) , maternal stroma hücresi (A, E) , Ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm.

Boyanmanın doğruluğunu kanıtlama açısından primer antikor yerine PBS kullanılması sonucunda negatif kontrol gruplarımızda immunoreaksiyonun şekillenmediğini gözledik (Şekil-20).



Şekil-20: HOXA10, HOXA11, HOXB6, HOXC6, TLX1, Dlx-5 ve HLX Proteinleri için yapılan negatif kontrol immunoreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, B: Endometriyum bezi, S: Stroma, yıldız: Bez epiteli, M: Miyometriyum, D: Damar, Ok başı: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, FM: Fötal mezenşim, Me: Maternal epitel.

5.2. İstatistiksel Bulgular

5.2.1. HOXA10

İnterplasentomal bölgedeki uterus luminal epiteli, kas ve bezlerin yanı sıra plasenta maternalis'in stromal bölgelerindeki HOXA10 ekspresyon düzeylerinin aynı olduğu ($p>0,05$) sonucuna ulaşıldı. Ancak HOXA10 ekspresyonu endometriyal stroma ile plasenta maternaliste gebeliğin birinci ve ikinci dönemlerinde birbirinden farklı düzeylerde eksprese olmaktaydı ($p<0,05$). Bununla birlikte gebeliğin birinci döneminin, ikinci ve üçüncü dönemlerin arasında bir değerde olduğu saptandı. HOXA10 ekspresyon seviyesini fötal plasenta düzeyinde incelediğimizde ise UTC ile TGC/BNC skorlamalarının birinci döneme kıyasla ikinci dönemde anlamlı bir şekilde düşüş sergilediği ($p<0,05$) ve üçüncü dönemin ikinci dönemle benzer olduğu ($p>0,05$) teyit edildi. Fötal plasenta stromasında HOXA10 ekspresyonu düzeyinin birinci ve ikinci dönemlerde hem sayısal hem de istatistiksel yönden benzer olduğu ($p>0,05$), ancak üçüncü dönemde bu verilerin anlamlı bir şekilde ($p<0,05$) düşüş gösterdiği sonucuna varıldı (Tablo-4).

Tablo-4: İnek uterus ve plasentasında HOXA10 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar.

HOXA10		1.Dönem(İlk) (n=9)	2.Dönem(Orta) (n=9)	3.Dönem(Son) (n=9)
Endometrium	Epitel	2,44±0,53^{a}	2,11±0,33^{a}	2,56±0,53^{a}
	Bez	2,44±0,53^{a}	2,44±0,53^{a}	2,33±0,50^{a}
	Stroma	1,22±0,67^{ab}	0,78±0,44^{a}	1,44±0,53^{b}
	Kas	2,22±0,44^{a}	2,22±0,44^{a}	2,11±0,33^{a}
Plasenta maternalis	Epitel	2,11±0,60^{ab}	2,67±0,50^{b}	1,89±0,33^{a}
	Stroma	1,33±0,50^{a}	1,44±0,53^{a}	1,67±0,50^{a}
Plasenta fötalis	UTC	2,56±0,53^{b}	1,89±0,33^{a}	1,67±0,50^{a}
	TGC/BNC	2,56±0,53^{b}	1,78±0,44^{a}	1,78±0,44^{a}
	Stroma	1,56±0,53^{b}	1,56±0,53^{b}	0,67±0,50^{a}

Aynı satırda yer alan farklı üst simgeler dönemlere bağlı ekspresyon düzeylerindeki istatistiksel farkı ($^{a-b}p<0,05$), ortak üst simgeler ise dönemler arasındaki benzerliği göstermektedir.

5.2.2. HOXA11

İneklerde tüm gebelik süresince endometriyal epitel, bez ve kas katmanının da plasenta fötalis'in stromasında HOXA11 ekspresyonu düzeyinde bir değişiklik göstermeyip ve her üç dönemin skorlaması dönemler açısından istatistiksel yönden birbirine benzer olduğu saptandı ($p>0,05$). Endometriyum'un stromasında ise HOXA11 ekspresyonu birinci döneme kıyasla ikinci dönemde anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p<0,05$). Üçüncü dönemde ekspresyon sayısal olarak bir artış göstermesine rağmen yoğunluğu açısından dönem ikiye benzer seviyede kalmıştır ($p>0,05$). Plasenta maternalis'in epitel bölgesinde ikinci dönemle beraber istatistiksel yönden anlamlı olmayan bir artış gösteren HOXA11 ekspresyonu ($p>0,05$), daha sonra bir miktar azalma göstererek birinci ve ikinci dönemler arasında bir düzeye gerilemektedir. Plasenta maternalis'in stromasında en düşük ekspresyon düzeyi birinci dönemde gözlenmektedir. İkinci dönemle birlikte sayısal olarak bir artış gözlenmiş olsa dahi bu yükselme istatistiksel yönden anlamlı olmayıp ($p>0,05$), birinci ve üçüncü dönemler arasında bir değer almıştır. Üçüncü dönemde stromadaki HOXA11 ekspresyonu birinci döneme kıyasla anlamlı şekilde artmaktadır ($p<0,05$). Fötal plasenta UTC'lerin birinci ve ikinci dönemler arasında anlamlı bir ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0,05$). Ancak üçüncü dönemle birlikte bu hücrelerde ekspresyonun skorlaması diğer iki döneme kıyasla anlamlı bir gerileme göstermiştir ($p<0,05$). TGC/BNC skorlamasında ise ikinci dönemde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sayısal yönden bir miktar artış gözlenmiştir. Bununla birlikte üçüncü dönemde TGC/BNC skorlaması ikinci döneme kıyasla anlamlı bir şekilde gerilemiş ($p<0,05$), birinci ve ikinci dönemler arasında bir değer almıştır (Tablo-5).

Tablo-5: İnek uterus ve plasentasında HOXA11 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar.

HOXA11		1.Dönem(İlk) (n=9)	2.Dönem(Orta) (n=9)	3.Dönem(Son) (n=9)
Endometrium	Epitel	2,11±0,60[a]	1,89±0,60[a]	2,00±0,50[a]
	Bez	2,00±0,7[a]	1,78±0,67[a]	1,44±0,53[a]
	Stroma	1,67±0,7[b]	0,33±0,50[a]	0,56±0,73[a]
	Kas	0,67±0,7[a]	0,44±0,53[a]	0,67±0,50[a]
Plasenta maternalis	Epitel	0,67±0,50[a]	1,67±0,50[b]	1,11±0,60[ab]
	Stroma	0,22±0,44[a]	0,56±0,53[ab]	1,11±0,60[b]
Plasenta Fötalis	UTC	1,44±0,73[b]	2,11±0,60[b]	0,67±0,50[a]
	TGC/BNC	0,89±0,60[ab]	1,33±0,50[b]	0,44±0,53 [a]
	Stroma	0,33±0,50[a]	0,67±0,71[a]	0,78±0,67[a]

Aynı satırda yer alan farklı üst simgeler dönemlere bağlı ekspresyon düzeylerindeki istatistiksel farkı ([a-b]$p<0,05$), ortak üst simgeler ise dönemler arasındaki benzerliği göstermektedir.

5.2.3. HOXB6

Gebeliğin ikinci döneminde HOXB6 ekspresyonu, endometriyal epitel ve plasenta maternalis'in stroma bölgesinde anlamlı bir şekilde gerilemiştir ($p<0,05$). Bununla birlikte gebeliğin üçüncü döneminde bu bölgelerdeki ekspresyon düzeyi hafif bir şekilde yükselme eğilimine girerek birinci ve ikinci dönemlerdeki ekspresyon seviyeleri arasında bir değer almıştır ($p>0,05$). Endometriyum'un stroması ve plasenta maternalis epitelinde HOXB6 ekspresyonu ikinci dönemde birinci döneme kıyasla hem sayısal hem de istatistiksel yönden anlamlı ($p<0,05$) bir şekilde azalmıştır. İlginç bir şekilde her iki alanda da ekspresyon düzeyleri üçüncü dönemde değişikliğe uğramamış ikinci dönemden gebeliğin sonuna kadar ekspresyon düzeyi korunmuştur. Plasenta fötalis'deki TGC/BNC'nin HOXB6 ekspresyonu birinci döneme kıyasla üçüncü dönemde anlamlı bir şekilde azalma gösterirken($p<0,05$), ikinci dönemde ara bir değer almıştır. Plasenta fötalis'in stromasında ise bu ekspresyon ikinci dönemde birinci döneme nazaran anlamlı bir şekilde düşüş göstermiş ancak üçüncü dönemde tekrar yükselme eğilimine girerek

birinci dönemdeki seviyesine gelmiştir. Bunların yanı sıra endometriyal bezlerde, kas tabakasında ve plasenta fötalis'in UTC hücrelerinde ekspresyon düzeyi yönünden döneme bağlı bir değişiklik oluşmadığı ve her dönemde ekspresyon düzeyinin benzer olduğu ($p>0,05$) sonucuna ulaşılmıştır (Tablo-6).

Tablo-6: İnek uterus ve plasentasında HOXB6 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçları.

HOXB6		1.Dönem(İlk) (n=9)	2.Dönem(Orta) (n=9)	3.Dönem(Son) (n=9)
Endometrium	Epitel	$2,22\pm0,67^{b}$	$1,44\pm0,53^{a}$	$1,56\pm0,53^{ab}$
	Bez	$2,33\pm0,71^{a}$	$2,11\pm0,60^{a}$	$2,11\pm0,60^{a}$
	Stroma	$2,22\pm0,44^{b}$	$1,33\pm0,50^{a}$	$1,33\pm0,71^{a}$
	Kas	$1,89\pm0,78^{a}$	$1,22\pm0,67^{a}$	$1,56\pm0,53^{a}$
Plasenta maternalis	Epitel	$2,44\pm0,53^{b}$	$1,56\pm0,53^{a}$	$1,56\pm0,53^{a}$
	Stroma	$1,56\pm0,53^{b}$	$0,78\pm0,44^{a}$	$1,11\pm0,60^{ab}$
Plasenta fötalis	UTC	$2,44\pm0,53^{a}$	$2,56\pm0,53^{a}$	$2,00\pm0,50^{a}$
	TGC/BNC	$2,67\pm0,50^{b}$	$2,56\pm0,53^{ab}$	$1,89\pm0,60^{a}$
	Stroma	$1,67\pm0,50^{b}$	$0,78\pm0,44^{a}$	$1,44\pm0,53^{b}$

Aynı satırda yer alan farklı üst simgeler dönemlere bağlı ekspresyon düzeylerindeki istatistiksel farkı ($^{a-b}p<0,05$), ortak üst simgeler ise dönemler arasındaki benzerliği göstermektedir.

5.2.4. HOXC6

Gebelik süresince hem endometriyal bezler ve endometriyum stromada hem de plasenta fötalis ve plasenta maternalis'in stromasında HOXC6 ekspresyonu'nun düzeyinde anlamlı bir değişiklik şekillenmediğini ($p>0,05$) gözlemledik. Bununla birlikte endometriyumun kaslarında, plasenta maternalisin epitelinde ve plasenta fötalisin UTC hücrelerinde birinci ve ikinci gebelik dönemlerinde HOXC6 ekspresyonu benzer düzeylerde üretilirken ($p>0,05$), gebeliğin son döneminde ekspresyon düzeyinin anlamlı şekilde düşüş gösterdiği görüldü ($p<0,05$). Buna karşın, endometriyum epitelinde birinci döneme kıyasla ikinci dönemde sayısal yönden ekspresyon skorlamasında artış olduğu ancak bu farkın istatistiksel yönden

bir anlamlı yaratmadığı tespit edildi (p>0,05). Üçüncü dönemde ise ekspresyonun istatistiksel yönden anlamlı olmasa dahi birinci döneminde altında bir değer aldığı ve ikinci dönemden anlamlı şekilde daha az olduğu (p<0,05) belirlenmiştir. TGC/BNC skorlamasının ise birinci döneme kıyasla ikinci dönemde anlamlı bir düşüş gösterdiği (p<0,05) ve ikinci ile üçüncü dönemlerde ekspresyon düzeyinin benzer olduğu (p>0,05) görüldü (Tablo-7).

Tablo-7: İnek uterus ve plasentasında HOXC6 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar.

HOXC6		**1.Dönem(İlk) (n=9)**	**2.Dönem(Orta) (n=9)**	**3.Dönem(Son) (n=9)**
Endometrium	Epitel	2,44±0,53^{ab}	2,78±044^{b}	2,22±0,44^{a}
	Bez	2,89±0,33^{a}	2,44±0,53^{a}	2,44±0,53^{a}
	Stroma	0,89±0,33^{a}	1,22±0,67^{a}	0,56±0,53^{a}
	Kas	2,56±0,53^{b}	2,44±0,53^{b}	1,00±0,50^{a}
Plasenta maternalis	Epitel	2,89±0,33^{b}	2,89±0,33^{b}	2,33±0,50^{a}
	Stroma	1,22±0,44^{a}	0,89±0,33^{a}	0,78±0,44^{a}
Plasenta fötalis	UTC	2,78±0,44^{b}	2,44±0,53^{b}	1,78±0,44^{a}
	TGC/BNC	2,78±0,44^{b}	2,22±0,44^{a}	2,00±0,50^{a}
	Stroma	0,89±0,60^{a}	0,89±0,33^{a}	1,22±0,44^{a}

Aynı satırda yer alan farklı üst simgeler dönemlere bağlı ekspresyon düzeylerindeki istatistiksel farkı ($^{a-b}$p<0,05), ortak üst simgeler ise dönemler arasındaki benzerliği göstermektedir.

5.2.5. TLX1

İstatistiksel değerlendirme sonucunda endometrium epiteli ve kas katmanının yanı sıra plasenta maternalis'in stromasında TLX1 ekspresyon skorlamasının dönemler arasında benzerlik gösterdiği tespit edildi (p>0,05). Endometriyal bezler ve plasenta maternalis'in stroması birinci dönemle karşılaştırıldığında sadece üçüncü dönemde anlamlı bir düşüş (p<0,05) göstermiştir. Endometriyum'un stromasında

ikinci dönemde istatistiksel yönden anlamlı olmayan bir azalma görülürken plasenta fötalisin UTC hücrelerinde ikinci dönemde istatistiksel yönden anlamlı olmayan bir artış gözlemlenmiştir. Her iki skrolama da üçüncü dönemde dengelenerek birinci dönemin düzeyine gelmiştir. Her iki alanda da ikinci ve üçüncü dönemler arasındaki ekspresyon düzeyleri arasındaki fark anlamlıdır ($p<0,05$). Plasenta fötalis'in TGC/BNC'leri ve stromasında TLX1 ekspresyonun gebeliğin ikinci döneminde anlamlı bir şekilde yükselmiş ($p<0,05$) ancak üçüncü dönemle tekrar gerileyerek birinci dönem seviyesine ulaşılmıştır (Tablo-8).

Tablo-8: İnek uterus ve plasentasında TLX1 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar.

TLX1		1.Dönem(İlk) (n=9)	2.Dönem(Orta) (n=9)	3.Dönem(Son) (n=9)
Endometrium	Epitel	2,22±0,44^{a}	2,22±0,44^{a}	2,44±0,53^{a}
	Bez	2,11±0,33^{b}	1,89±0,60^{ab}	1,44±0,53^{a}
	Stroma	1,33±0,50^{ab}	0,89±0,33^{a}	1,56±0,53^{b}
	Kas	0,44±0,53^{a}	0,33±0,50^{a}	0,33±0,50^{a}
Plasenta maternalis	Epitel	2,33±0,50^{b}	1,89±0,33^{b}	1,22±0,44^{a}
	Stroma	0,56±0,53^{a}	0,78±0,44^{a}	0,33±0,50^{a}
Plasenta fötalis	UTC	1,33±0,50^{ab}	1,78±0,44^{b}	1,22±0,44^{a}
	TGC/BNC	1,33±0,50^{a}	2,11±0,33^{b}	1,00±0,00^{a}
	Stroma	0,56±0,53^{a}	1,22±0,44^{b}	0,33±0,50^{a}

Aynı satırda yer alan farklı üst simgeler dönemlere bağlı ekspresyon düzeylerindeki istatistiksel farkı ($^{a-b}p<0,05$), ortak üst simgeler ise dönemler arasındaki benzerliği göstermektedir

5.2.6. Dlx-5

Yapılan immunohistokimyasal analiz sonucunda Dlx-5 ekspresyonu endometriyumun kas bölgesi ve plasenta fötalis'in dışındaki değerlendirilen anatomik alanlarda gebeliğin dönemlerine bağlı olarak ekspresyon seviyelerinin

değişmediği tespit edildi (p>0,05). Endometriyumun kas bölgesinde gebeliğin birinci dönemine kıyasla ikinci dönemde ekspresyon skorlamasındaki sayısal azalmanın anlamlı olmadığı (p>0,05) ancak üçüncü dönemde Dlx-5 düzeyinin anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi (p<0,05). Plasenta fötalisde ise UTC, TGC/BNC ve stromal alanlarda Dlx-5 ekspresyonunun birinci döneme kıyasla ikinci dönemde anlamlı bir şekilde artış gösterdiği (p<0,05) görülürken, gebeliğin son döneminde daha düşük bir ekspresyon izlendi (p<0,05). Ayrıca plasenta fötalisin stromal bölgesinde ikinci dönemde anlamlı şekilde yükselen ekspresyonun, üçüncü dönemle birlikte gerileyerek birinci döneme benzer (p>0,05) düzeye geldiği saptandı (Tablo-9).

Tablo-9: İnek uterus ve plasentasında Dlx-5 proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar.

Dlx-5		**1.Dönem(İlk) (n=9)**	**2.Dönem(Orta) (n=9)**	**3.Dönem(Son) (n=9)**
Endometrium	Epitel	2,67±0,50^{a}	2,67±0,50^{a}	2,56±0,53^{a}
	Bez	2,56±0,53^{a}	2,56±0,53^{a}	2,67±0,50^{a}
	Stroma	0,78±0,67^{a}	0,67±0,71^{a}	0,78±0,67^{a}
	Kas	2,44±0,73^{b}	1,67±0,71^{b}	0,89±0,60^{a}
Plasenta maternalis	Epitel	2,22±0,67^{a}	2,56±0,53^{a}	2,00±0,71^{a}
	Stroma	0,78±0,44^{a}	0,67±0,71^{a}	0,78±0,67^{a}
Plasenta fötalis	UTC	1,78±0,44^{b}	2,56±0,53^{c}	1,00±0,71^{a}
	TGC/BNC	1,78±0,44^{b}	2,67±0,50^{c}	1,00±0,71^{a}
	Stroma	0,78±0,67^{a}	2,00±0,71^{b}	0,44±0,53^{a}

Aynı satırda yer alan farklı üst simgeler dönemlere bağlı ekspresyon düzeylerindeki istatistiksel farkı ($^{a-b}$p<0,05), ortak üst simgeler ise dönemler arasındaki benzerliği göstermektedir.

5.2.7. HLX

Elde edilen skorlamaların istatistiksel değerlendirmesi sonucunda gebeliğin her dönemindeki uterus ve plasentada HLX ekspersyonu düzeyinde anlamlı bir farkın şekillenmediği (p>0,05) görüldü (Tablo-10).

Tablo-10: İnek uterus ve plasentasında HLX proteininin farklı gebelik dönemlerindeki ekspresyon skoruna ait istatistiksel sonuçlar.

HLX		1.Dönem(İlk) (n=9)	2.Dönem(Orta) (n=9)	3.Dönem(Son) (n=9)
Endometrium	Epitel	1,67±0,50[a]	1,78±0,44[a]	1,56±0,53[a]
	Bez	1,56±0,53[a]	1,78±0,44[a]	1,33±0,50[a]
	Stroma	0,89±0,33[a]	0,67±0,50[a]	0,78±0,44[a]
	Kas	0,78±0,44[a]	0,33±0,50[a]	0,56±0,53[a]
Plasenta maternalis	Epitel	1,33±0,50[a]	1,44±0,53[a]	1,11±0,60[a]
	Stroma	0,78±0,44[a]	0,78±0,44[a]	0,33±0,50[a]
Plasenta fötalis	UTC	1,22±0,44[a]	1,33±0,50[a]	0,89±0,33[a]
	TGC/BNC	1,22±0,44[a]	1,44±0,53[a]	1,00±0,00[a]
	Stroma	0,33±0,50[a]	0,67±0,50[a]	0,22±0,44[a]

Aynı satırda yer alan ortak üst simgeler ise dönemler arasındaki benzerliği göstermektedir (p>0,05).

6. TARTIŞMA

Embriyonik gelişimi kontrol eden transkripsiyon faktörlerini kodlayan Homeobox genleri, her üreme döngüsü sırasında hücre büyümesini ve farklılaşmasını düzenlemektedirler. Bununla birlikte endometriyum gelişimi östrojen ve progesteron tarafından da düzenlenir. Böylece bu hormonlarla birlikte Hox proteinlerininde endometriyumun büyümesinde ve gelişiminde rol oynadığı bildirilmiştir (81). Homeobox proteinlerinin endometriyal gelişim ve fonksiyonun düzenlenmesi ile blastosist implantasyonu ve yerleşiminde etkisi olduğu bildirilmesine rağmen, bu gen ailesine ait bazı hox proteinlerinin dişi genital sistemindeki ve gebelik sürecindeki rolleri hala tam olarak anlaşılmamıştır (80).

Homeobox proteinlerinin yetişkinlerde plasenta ve kanserli dokularda da ekspresse edildikleri bildirilmiştir. Fakat bu genlerin trofoblastların farklılaşması ve plasental gelişimdeki rolü hala tam olarak belirlenememiştir. İnsan trofoblast dokusunda HOX proteinlerinin varlığını açıklayan son çalışmalar trofoblast farklılaşmasında homeobox proteinlerinin kritik rollere sahip olduklarına dikkat çekilmiştir. Ayrıca bu proteinlerin gebelik trofoblastik hastalıklarda görüldüğü gibi anormal trofoblast hücreleriyle ilişkili onkojenik özelliklere sahip olabilecekleri de bildirilmiştir (102).

Sunulan çalışmada incelediğimiz proteinlerin; inek uterus ve plasentasında gebelik süresi boyunca birden çok rollere sahip olduğu ve farklı gebelik dönemlerinde parakrin ve otokrin mekanizmaları ile hücrelerde büyüme ve farklılaşma gibi etkilere sahip olabilecekleri düşünüldü

HOX genler başlangıçta gelişmekte olan genital sistemde tanımlanmış olup ekspresyonlarının yetişkin dişi üreme sisteminde devam ettiği ifade edilmiştir. Drosophila Abd-B sınıfı homeodomain proteinlerinin bir üyesi olan HOXA10 memeli geni, uterus gelişimi ve homeozisinde önemli bir role sahip olan bir proteindir. HOXA10, dolaşımdaki seks steroidlerine yanıt olarak döngüsel ve gelişimsel değişikliklere uğrayan endometriyumun glandüler ve stromal hücrelerinde eksprese edilmiştir. HOXA10 ekspresyonunun, östrojenin pik seviyede olduğu proliferatif fazda ortaya çıktığı ve progesteron seviyelerinin hızla yükseldiği salgılama fazında da önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (143, 144). Yapılan

araştırmalarda Hoxa10'nun fare ve insan uterusunun gelişim evresinde yetişkin endometriyumunda da tespit edildiği bildirilmiştir (143, 145).

Godbole ve ark. (146) yaptıkları çalışmada, HOXA10'nun maymun endometriyumunun epitel, stromal ve endotel hücrelerinde çekirdek ve sitoplazmada lokalize olduğunu ancak lokalizasyonun luminal epitel hücrelerinde daha fazla görüldüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca lokalizasyonun miyometriyuma doğru uzanan endometriyumun bazalis kısmında belirgin şekilde azaldığı da ortaya konulmuştur. Gebe maymun endometriyumlarındaki HOXA10 ekspresyon seviyesinin kontrol guruplarına oranla çok fazla arttığı ve stromal ile glanduler hücrelerin çekirdek ve sitoplazmasında lokaliz olduğu ve stromanın bezlerle karşılaştırıldığında ekspresyonun daha yüksek olduğuna işaret edilmiştir. Bu nedenle, stromal hücrelerin epitel hücrelerine göre embriyonik sinyallere daha duyarlı olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca primatlarda endometriyum fonksiyonalis ve bazalis bölgelerinden ekspresse edilen HOXA10'nun, progesteron ve embriyodan gelen sinyallerle modüle edilip primatlarda gebeliğin gelişme sürecine katkı sağlayabileceğine dikkat çekilmiştir.

Farelerde yapılan çalışmada, Hoxa10'nun engellenmesi sonucunda stromal hücrelerde kusurlu proliferasyonlar meydana geldiği bildirilmiştir. Böylece Hoxa10'nun stromal hücrelerin çoğalıp farklılaşmasının yanı sıra yavru ile anne arasındaki sinyallerin sağlanmasında da önemli bir role sahip olduğu öne sürülmüştür (147, 148).

Yang ve ark. (149) yaptıkları deneysel çalışmada, pre-implantasyon döneminde olan iki farklı tipteki (tekrarlayan implantasyon bozukluğu olan ve kontrol gurubu) insan endometriyumunu karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda HOXA-10 sinyalinin esas olarak stroma hücrelerinin çekirdeklerinde ve glandüler epitel hücrelerinin sitoplazmasında lokalize olduğu ortaya konulmuştur. Aynı zamanda HOXA10'nun tekraralayan düşük ve IVF sonrası implantasyon başarısızlığı olan endometruyumlardaki ekspresyonunun kontrol gurubuna göre azaldığını da rapor edilmiştir. Ayrıca HOXA-10 ekspresyonunun östrojen ve progesterona yanıt olarak endometrial glandüler ve stromal hücreleride düzenlendiği ve böylece implantasyona katkı sağladığı ifade edilmiştir. Bu bulgular sonucunda insanlarda HOXA10

proteininin gebeliğin oluşması ve sürdürülmesinde pozitif bir etki oluşturabileceğini öne sürmüşlerdir (149, 150).

Gui ve ark.'nın (151) insan endometriyumunda yapmış oldukları çalışmada da HOXA10'nun glandüler ve luminal epitel ile stromal ve endotelyal hücrelerde ekspresse olduğunu göstermişlerdir. Luminal epiteldeki ekspresyonun salgılama fazında arttığını, endotel hücrelerindeki ekspresyonun ise tüm menstrüel siklüs boyunca değişmediğini bildirmişlerdir. Böylece salgılama fazında hormonal etkileşimlere bağlı olarak ekspresyon düzeyinin etkilenebildiğine dikkat çekmişlerdir.

Yapılan bir diğer deneysel araştırmada erken doğum sonrasındaki rat endometriyumunda östrojen eksikliği maruziyetine bağlı olarak Hoxa10 proteinin ekspresyonunda negatif yönde bozulmalar meydana geldiği ve bunun sonucunda stromal hücrelerde proliferasyon yetmezliğinin ortaya çıktığı görülmüştür. Bunun da implantasyonu olumsuz yönde etkileyebileceği bildirilmiştir. Çalışmada Hoxa10 ile östrojen hormonu arasında sinerjik bir ilişki olduğunu ve bu etkileşimin stromal hücreleri pozitif anlamda etkilediğini ifade etmişlerdir (152).

Farelerde Hoxa10'nun uterustaki lokalizasynonun bozulması infertilitinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Son zamanlarda yetişkin insan uterusunda da HOXA10'nun ekspresse edildiği not edilmiştir. Bu ekspresyonun, uterusun stromal ve glanduler hücrelerinde yerleştiği görülmüştür. Ayrıca HOXA10 ekspresyonunun menstrüel siklusun orta salgılama fazında progesteron konsantrasyonun artmasına pararlel olarak arttığı da ortaya konmuştur. Bunların sonucunda da HOXA10'nun menstrüel siklusun düzenlemesinde, implantasyonda etkileri olduğu ortaya konmuştur (153).

Cermik ve ark. (154) insan endometriyumunda yapmış oldukları araştırmada HOXA10'un glanduler ve luminal epitel ile miyometriyumda eksprese olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmada miyometriyumdaki HOXA10'nun menstrüel siklüsun proliferatif fazındaki ekspresyonunun yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Böylece HOXA10'nun lokalizasyonundaki değişimin, siklusun farklı dönemlerindeki hormonal değişime bağlı olduğuna işaret etmişlerdir. Ayrıca gebelik dışındaki fonksiyonu bilinmeyen miyometriyumun, ovaryum steroidleri tarafından

düzenlendiği ve buna bağlı olarak HOXA10'un hücrelerin gelişip farklılaşmasını tetikleyerek gebeliğe katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

Blitek ve ark. (155, 156) yaptıkları çalışmada domuz endometriyumunda HOXA10 proteinin ekspresyonu ve etkilerini ortaya koymayı amaçlamışlardır. Çalışmalarda HOXA10'nun luminal epitelde ve stromal hücrelerde, glanduler epitel hücrelerinde, kan damarlarında ve miyometriyumda eksprese olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca estradiol, progesteron ve konseptusun uyarımlarına bağlı olarak HOXA10'nun implantasyona katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

Guo ve ark. (157) yapmış oldukları deneysel çalışmada erken gebelik dönemindeki köpek uterusunda, Hoxa10 ekspresyonunu farklı koşullar altındaki etkilerini araştırmışlardır. Hoxa10 esas olarak köpek uterusunun glandüler epitel ve miyometriyumda lokalize olduğunu ifade etmişlerdir. Gebeliğin 6. , 12. ve 17. günlerinde Hoxa10 ekspresyon yoğunluğunun glandüler epitelde düşük düzeyde iken, gebeliğin 20. gününde embriyo implante olduğunda arttığı görülmüştür. Luminal epitelde ise ekspresyonun görülmediğine dikkat çekmişlerdir. Miyometriyumda ise gebeliğin 6. , 12. ve 17. günlerinde düşük bir Hoxa10 lokalizasyonunun olduğu, ancak 20. günde yüksek bir seviyeye ulaştığı bildirilmiştir. Bunlarla birlikte östrojen döngüsü sırasında, östrojen pik seviyede iken Hoxa10 ekspresyonunun görülmesi, ovariektomize köpek uterusunda ise Hoxa10 mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde azalması, Hoxa10 ekspresyonunun köpek embriyo implantasyonu ile yakından ilişkili olduğunu ve östrojen ile progesteron tarafından regüle edilebildiğini göstermiştir.

Çalışmamız gebe inek uterusunda HOXA10'nun ekspresyonunu gösteren ilk çalışma olup maymun (146), insan (149, 150, 151, 154), fare (147, 148, 152, 153), domuz (155, 156) ve köpek (157) de yapılan çalışmalara paralel şekilde uterusun luminal ile glanduler epitelinden ve bazı stromal hücrelerden ekspresse edildiği gözlendi. Gözlenen reaksiyon istatistiksel yönden değerlendirildiğinde endometriyal epitel, kas ve bezlerde gebeliğin dönemlerine bağlı olarak HOXA10 ekspresyonunun aynı olduğu ($p>0,05$), ancak stromal hücrelerde gebeliğin birinci ve ikinci dönemlerinde birbirinden farklı düzeylerde olduğu ($p<0,05$) saptandı. Böylece HOXA10'nun epitel hücrelerin çoğalmasında fonksiyonel rol üstlendiği, stromal ve glanduler hücrelerde ise otokrin/parakrin etkisi göstererek uterustaki diğer hücrelerle

etkileşimde olmalarına katkı sağlayabildiği söylenebilir. Ayrıca farelerdeki durumun aksine insan, domuz, köpek ve maymunlardaki çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamız da miyometriyumdaki düz kas hücrelerinde ekspresyon gözlendi. Bu ekspresyon düzeyi her üç dönemde de aynıydı ($p>0,05$). Bu durum HOXA10'nun ineklerde miyometriyum fizyolojisine katkı sağladığını, düz kas hücrelerinin büyümesine yardımcı olduğunu ve böylece sağlıklı bir gebeliğin sürdürülmesine katkı sağlayabildiğini göstermektedir.

Embriyogenezis, organogenezis ve ekstraembriyonik kese olan plasentanın gelişiminde önemli rolü olan HOXA10'nun, gebelik boyunca insan plasentasının villuslarında, stromal hücrelerde ve gebeliğin birinci ve üçüncü dönemlerindeki sinsityotrofoblastların çekirdeklerinde ekspresyonunun görüldüğü bildirilmiştir. Ekspresyon düzeyinin, gebeliğin ikinci ve üçüncü dönemlerinde birinci döneme oranla azaldığı gözlenirken, koryon villuslarının stromasında da zayıf bir ekspresyonun olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ile gebelik boyunca plasentanın, maternal ve fötal dolaşımlar arasındaki aktif besin taşınmasının temel rollerini sürdürmek, fötüsu maternal bağışıklık reddinden korumak, bazı hormon ve büyüme faktörlerini üretmek ve salgılamak gibi süreçlerin düzenlenmesinde Homeobox (HOXA10) genlerin rol oynayabileceği ortaya konulmuştur. Böylece HOXA10'nun trofoblastların proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozisinin uyarılmasında kritik rol oynayabileceğine işaret edilmiştir (12).

Scotti ve Kmita (152) farelerde yapmış oldukları çalışmada ekstra embriyonik keselerden olan allantoiste HOXA10'nun ekspresse olduğunu ortaya koymuşlardır. Böylece HOXA10'nun fare embriyolarının hayatta kalması açısından ve plasental türleri karakterize eden gelişimsel stratejide kritik bir rolü olabileceğine dikkat çekmişlerdir.

İnsan ve babonlarda (maymun) yapılan çalışmada HOXA10'nun desidual hücreler üzerindeki etkilerinin trofoblastlara olan etkisini araştırmışlardır. Yapılan yarı kantitatif analiz ile luteal fazlı insan endometriyumu ile desidual doku karşılaştırıldığında ekspresyonun desidual dokuda ciddi bir şekilde azaldığını gözlemişlerdir. Ayrıca HOXA10 ekspresyonunun birinci trimester insan desidual dokusunda luteal fazlı insan endometriyumuna göre daha da zayıf olduğu ortaya konulmuştur. Gebe babonlarda (maymun) ise HOXA10'nun, implantasyon

aşamasındaki endometriyum stromal hücrelerinin çekirdek ve sitoplazmasında (son adet kanamasından 18 ila 25 günler) lokalize olduğu tespit edilmiştir. İmplantasyondan sonra (40 ila 60. günler), endometrial stromal hücrelerin desidual hücrelere dönüştüğünde, HOXA10 ekspresyon yoğunluğunun daha düşük olduğu ve genelde sitoplazmada lokalize olduğu saptanmıştır. Yarı kantitatif analiz ile babonlarda, implantasyon aşaması endometriyuma kıyasla postimplantasyon aşaması desiduada hücrelerinde HOXA10 ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığı ortaya konulmuştur. Ayrıca, villus ve plasental villusun olmadığı desidual doku karşılaştırıldığında, plasentaya bitişik desidual hücrelerde ekspresyon seviyelerinin nispeten daha düşük olduğunu gözlemişlerdir. Bununla birlikte implantasyon bölgesindeki babun desidual hücrelerinde HOXA10 mRNA seviyelerinin, implantasyon yerinde olmayan bölgelere kıyasla daha düşük olduğu da belirtilmiştir. Bu çalışma desidual hücrelerdeki HOXA10 ekspresyonundaki azalmanın trofoblast istilası ile bir ilişkisi olabileceğini, HOXA10'nun insan ve babonlarda implantasyon ile plasentasyon için vazgeçilmez olduğunu ve başarılı desidual dönüşümün fonksiyonel düzenleyicisi olarak kabul edilebileceğini ortaya koymuşlardır (158).

Çalışmamızda plasenta maternalis'in stromal bölgelerindeki HOXA10 ekspresyonunun gebeliğin tüm dönemlerinde aynı düzeyde olduğu görülmüştür ($p>0,05$). Bununla birlikte ekspresyonun plasenta maternalisin epitelinde gebeliğin birinci ve ikinci döneminde birbirinden farklı düzeylerde olduğu ($p<0,05$), tespit edildi. Fötal plasentada ise UTC, TGC/BNC skorlamalarının birinci dönemde yüksek ikinci ve üçüncü dönemde anlamlı bir şekilde düşük olduğu ($p>0,05$) belirlendi. Fötal plasenta stromasında HOXA10 ekspresyonunun birinci ve ikinci dönemlerde benzer olduğu ($p>0,05$) ancak üçüncü dönemde anlamlı bir şekilde ($p<0,05$), düşüş gösterdiği sonucuna ulaşıldı. Çalışma sonucunda HOXA10'nun, insan, fare ve maymunlarda olduğu gibi inek plasentasında da trofoblast hücrelerinin çoğalıp farklılaşmasında, gebeliğin oluşumu ve sürdürülmesinde fonksiyonel olarak kritik roller üstlenebileceği sonucuna varıldı.

Memelilerde endometrial gelişim, östrojen ve progesteron hormanlarına bağlı olarak gerçekleşir. Bunun yanında implantasyonun moleküler belirteçleri olmasına rağmen, seks steroidlerinin implantasyondaki rolü moleküler düzeyde tam olarak anlaşılmamıştır. Hox proteinleri bu moleküler mekanizmalarından biri olup, Hoxa10

ve Hoxa11, embriyonik dönemde uterusun organogenezini düzenleyen ve yetişkin endometriyumunda menstrüel döngü boyunca belirgin şekilde ekspresse edildikleri belirlenen proteinlerdir. Son çalışmalar, embriyodaki doku kimliğinin ana düzenleyicileri olan Hox proteinlerinin, endometrial gelişim ve endometrial reseptivite için de gerekli olduğunu göstermiştir. Ayrıca, seks steroidleri ile implantasyonun çeşitli moleküler ve hücresel belirteçlerinin, Hoxa10 ve Hoxa11'in ekspresyon yoğunluklarının düzenlenmesine etki ettiklerine dair kanıtlarda vardır (159).

Hox genleri, hem embriyonik (organojenik farklılaşma) hem de yetişkin dönemde (fonksiyonel farklılaşma) üreme sisteminin gelişimi için gerekli olan bir transkripsiyon faktörleri ailesidir. Dişilerin doğurganlığı için gerekli olan HOXA11'in, dişi genital kanalın gelişim sırasında uterusun alt segmentiyle birlikte serviksten eksprese olduğu ifade edilmiştir (153, 160).

HOXA11/Hoxa11 proteinin yetişkin insan ve fare endometriyumunda eksprese olduğu belirtilmiştir. Ekspresyonun östrüs siklusunun proliferatif fazında ortaya çıktığı ve östrojen ile progesterona bağlı olarak salgılama fazında en yüksek seviyeye ulaştığına dikkat çekilmiştir. Fare (Hoxa11) ve insanlardaki (HOXA11) bu hox proteinin östrus döngüsü boyunca endometriyal bezlerde ve stromada eksprese edilmesinin yanı sıra embriyo implantasyonunda da kritik bir rol aldığı ifade edilmiştir. Ancak farelerde Hoxa11 mutasyonu sonucunda uterusun embriyonun kabulünde kusurların oluştuğu ve buna bağlı olarak başarılı implantasyonun şekillenemediği bildirilmiştir. (90).

Hsieh-Li ve ark. (99) vahşi tip farelerde yapmış oldukları deneysel çalışmada Hoxa11 geninin endometriyumdaki stromal hücrelerde lokalize olduğunu ancak glanduler epitelde olmadığını ifade etmişlerdir. Bununla birlikte bu genin mutasyonu sonucunda uterus anomalilerine bağlı olarak infertilitenin meydana geldiğine de işaret etmişlerdir. Bu çalışmaya paralel sonuçlar ortaya koyan Gendron ve ark. (161) Hoxa-11'in, gebeliğin erken evrelerinde uterusun stromal hücreleri, bezleri ve embriyo implantasyonu için kritik role sahip olan Leukemia inhibitory factor (LIF) üretme kapasitesi için gerekli olduğunu da ortaya koymuşlardır.

İnsan ve farelerde yapılan başka bir çalışma normal endometriyumun salgılama fazında yüksek seviyede görülen HoxA11 ekspresyonun endometriyozisli fare ve

kadınlarda görülmediğini bildirmişlerdir. Buna bağlı olarak başarılı bir implantasyon için sağlıklı bir endometriyumun olması gerektiği görülmüştür. Ayrıca bu genin ekspresyonu bozulduğunda, epitelyal over neoplazisine yol açan anormal epitel hücre farklılaşmasının teşvik edildiği, HOXA11 geni olmayan farelerde ise glandüler ve stromal doku gelişiminde azalma görüldüğü ifade edilmiştir (81).

Xu ve ark. (162) insanlarda yapmış oldukları çalışmada HOXA11'in endometriyum stromal, glanduler ve luminal epitel hücre çekirdeklerinde güçlü şekilde lokalize olduğunu belirtmişlerdir. Böylece HOXA11'in endometriyumun gelişimi, farklılaşması ve embriyo implantasyonunun düzenlenmesinde önemli rollere sahip olabileceğine dikkat çekmişlerdir.

Lin ve ark. (163) yaptıkları çalışmada gebe domuzlarda, gebeliğin 15, 26 ve 50. günlerinde HOXA11 geninin endometriyumdaki ekspresyonunu incelemişlerdir. Ekspresyonun gebeliğin 15. gününde en yüksek iken, 26. günde azalmış, 50. günde ise en düşük seviyeye gerilemiştir. Böylece Hox gen ailesinin önemli bir üyesi olan HOXA11'in, domuzlarda embriyo implantasyonunda anahtar bir role sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Sunulan çalışmada insan, fare (90) ve domuz (163) çalışmalarında olduğu gibi HOXA11'in inek endometriyumunda da lokalize olduğu gözlenmiştir. Hsieh-li ve ark. (99) diğer çalışmalardan farklı olarak vahşi tip fare endometriyumundaki glanduler epitelde reaksiyonun meydana gelmediğini bildirmişlerdir. Xu ve ark.'nın (162) belirttiklerine paralel olarak bizim çalışmamızda da luminal, glandular ve bazı stromal hücrelerde gebeliğin her üç döneminde birbirine benzer ($p>0,05$) ekspresyon oluştuğu saptandı. Ancak çalışmamızda gebeliğin II. ve III. döneminde stromal hücrelerde anlamlı bir düşüş olduğu ($p<0,05$) tespit edildi. Elde edilen bu bulgular sonucunda, HOXA11'in gebelik boyunca endometriyal fonksiyonlara, epitel ve glanduler hücrelerin çoğalıp farklılaşmasına ve implantasyon fizyolojisine katkı sağlayabileceği söylenebilir. Bununla birlikte ikinci dönemde stromal hücrelerde görülen düşüşün stromal hücrelerin farklılaşmasının yavaşlamasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Bunların yanı sıra bazı damar endotelinde HOXA11 immunoreaktivitesinin gözlenmesi, bu proteinin bazı endotel hücrelerin çoğalmasında da rol oynayabileceğini akla getirmiştir.

Homeobox genlerin plasental hücrelerde lokalize olduğu bilinmektedir ancak rolleri hakkında bilgiler kısıtlıdır. İnsan plasentasında yapılan çalışmada HOXA11'in gebeliğin son dönemindeki plasenta villuslarının sitotrofoblast, ara trofoblast ve sinsityotrofoblast hücrelerinde yaygın bir pozitif reaksiyon verdiği görülmüştür. Buda HOXA11 geni ekspresyonunun insan plasentasının oluşumu ve gelişimi ile birlikte trofoblast hücrelerinin farklılaşması ve çoğalmasının düzenlenmesinde önemli rollere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca bu genin koriyokarsinomlu plasenta hücrelerinde eksprese olması, tümör hastalıklarının gelişimi ve patogenezinde de rol oynadığını göstermektedir (101). Sitotrofoblast çekirdeklerinde güçlü bir immunoreaksiyon gösteren HOXA11, bu hücrelerin sinsityotrofoblastlara farklılaşması ile azalmıştır. Genin ayrıca trofoblastların farklılaşması, gelişmekte olan embriyoyu desteklemek için gerekli olan hormonal ortamın korunmasına katkı sağladığı düşünülmektedir. HOXA11'in sitotrofoblastlara etki ederek bu hormonal ortamın oluşumunda rol alabileceğine dikkat çekilmiştir (164).

HOXA11'in plasentadaki ekspresyonu ile ilgili çalışmalar kısıtlı olup fonksiyonu tam olarak ortaya konulmamıştır. Yapılan çalışmalarda insan (101, 164) plasentasında, trofoblastların farklılaşmasına etki edebileceği ifade edilmiştir. Bu çalışmalara paralel şekilde bizim çalışmamızda da HOXA11'in inek plasentasında ekspresse olduğu saptandı. Elde ettiğimiz bulgular ile gebeliğin tüm dönemleri istatistiksel olarak incelendiğinde, plasenta maternalis'in epitel bölgesinde ikinci dönemle beraber pik yapan HOXA11 ekspresyonun, daha sonra bir miktar azaldığı görüldü. Birinci ve ikinci dönemler arasındaki ekspresyon farkının istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$) olduğu saptandı. Plasenta maternalis'in stromasında birinci dönemde düşük olan ekspresyonun üçüncü dönemde anlamlı şekilde arttığı ($p<0,05$) tespit edildi. Fötal plasentada tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde (UTC) birinci ve ikinci dönemler arasında anlamlı bir fark gözlenmezken, üçüncü dönemle bu hücrelerde anlamlı bir gerileme saptanmıştır ($p<0,05$). TGC/BNC (çift çekirdekli trofoblat hücresi) skorlamasında ise ikinci dönemdeki sayısal artış istatistiksel olarak anlamsız bir artış göstermiştir. Bununla birlikte üçüncü dönemden itibaren TGC/BNC skorlaması ikinci döneme kıyasla anlamlı bir şekilde gerilemiştir ($p<0,05$). Bu bulgular HOXA11'in inek plasentasındaki stromal hücrelerde otokrin ve/veya parakrin fonksiyonlarını gösterebileceği ve trofoblastların çoğalıp

farklılaşmasında, plasental gelişim ve devamlılığında kritik rollere sahip olabileceği düşünüldü. Ayrıca palsenta maternalisin ikinci döneminde pik yapmasının farklılaşan epitel hücrelerin metabolik aktivitelerine bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir.

HOXB6'nın; fare embriyosunda gelişmekte olan uzuvlar, mezonefrik tübüller ve kanallar dahil olmak üzere birçok transgende eksprese olduğu bildirilmiştir. Ayrıca gelişmekte olan fare embriyosunun mezoderm kaynaklı tüm dokularında da ekspresse edildiği belirtilmiştir. Bu bulgular sonucunda HOXB6'nın embriyogenezise katkı sağlayabileceği ifade edilmiştir (100, 103, 104, 165).

Bir başka çalışmada insan uterusunda normal ve neoplastik serviks dokularının karşılaştırmalı incelemelerinde HOXB6'nın bazal epitelde eksprese olduğu görülmüştür. HOXB6 ile HOXB üyelerinin çoğunun servikal epitelde transkripsiyonel olarak aktif oldukları ve bulundukları yere göre, servikal epitelin çoğalmasına ve farklılaşmasına yardımcı olabilecekleri bildirilmiştir (166). Xu ve ark. (162) ve He ve ark. (167) yapmış oldukları çalışmalarda insan endometriyumunda menstrüel döngünün tüm aşamalarında HOXB6'nın eksprese olduğunu ve özellikle salgılama fazında da en yüksek seviyeye ulaştığını ortaya koymuşlardır. Böylece HOXB6 geninin endometriyum fonksiyonlarının yerine getirilmesine, hücrelerinin farklılaşmasına ve implantasyona katkı sağlayabileceğine dikkat çekilmiştir.

Yapılan çalışma, gebe ineklerde uterus ve plasenta dokularındaki hücrelerde HOXB6 proteinin dağılımını gösteren ilk araştırma olup, gebeliği üç farklı dönemde değerlendirdik. Diğer çalışmalara (162, 166, 167) paralel olacak şekilde, HOXB6 ineklerde gebeliğin her üç döneminde uterusun luminal ve bez epitel hücreleri ile düz kas hücrelerinde pozitif bir reaksiyon oluşturduğu gözlendi. Gebeliğin ikinci döneminde HOXB6 ekspresyonunun endometriyal epitel ve stromal hücrelerde istatistiksel yönden anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$), ancak gebeliğin üçüncü döneminde bu bölgelerdeki ekspresyon değişimin anlamsız ($p>0,05$) olduğu tespit edildi. Ayrıca endometriyal bezlerde ve kas tabakasında ekspresyon düzeyi yönünden dönemlere bağlı anlamlı bir değişiklik oluşmadığı ($p>0,05$) sonucuna ulaşılmıştır. HOXB6 ekspresyonunun gebeliğin ilk döneminde daha fazla olmak üzere tüm dönemlerde görülmesi bu proteinlerin gebeliğin sürdürülmesine ve doğuma yardımcı olabileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca üçüncü dönemde bazı

damar endotel hücrelerinde pozitif bir reaksiyonun olmasıda HOXB6'nın endotel hücrelerinin çoğalmasında fonksiyonel bir rol üstlenebileceğini göstermektedir.

HOX proteinlerinin, trofoblastik hücrelerin farklılaşması ve plasentadaki rolü hakkındaki bilgiler hala kısıtlı olsa da HOXB6'nın insan plasentasında ekspresse olduğu belirtilmiştir (164). Amesse ve ark. (101) gebeliğin son dönemindeki insan plasentasında yaptıkları çalışmada HOXB6 geninin sitotrofoblast, ara trofoblast ve sinsityiotrofoblast hücrelerinde sitoplazmik ve nüklear olarak lokalize olduğunu fakat stromal hücrelerde reaksiyonun şekillenmediğini ortaya koymuşlardır. Böylece bu ekspresyonun plasental büyüme ile trofoblast hücrelerinin çoğalıp farklılaşmasına katkı sağlayabileceği ortaya konulmuştur. Yine Zhang ve ark. (164) insan plasentasında yaptıkları çalışmada, HOXB6 geninin trofoblastik hücrelerde ekspresse edildiği ve trofoblastların farklılaşması ve plasentadaki embriyonun gelişimi için gerekli olan fizyolojik değişime katkı sağladığını bildirmişlerdir.

İnsanlarda yapılan çalışmalara (101, 164) paralel şekilde bizim çalışmamızda da HOXB6'nın, gebeliğin her üç döneminde plasentanın fötal kısmındaki koryon epitelinde bulunan tek çekirdekli trofoblast (UTC) hücrelerin çekirdek ve sitoplazmalarında lokalize olduğu görüldü. UTC hücrelerin HOXB6 ekspresyon düzeyinde dönemlere bağlı bir değişiklik oluşmadığı ($p>0,05$) belirlendi. Plasenta fötalis'in çift çekirdekli trofoblast (TGC/BNC) skorlamasına göre üçüncü dönemde, birinci döneme kıyasla HOXB6 ekspresyonu anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,05$). Buda HOXB6'nın trofoblast hücrelerinin fizyolojisinde ve farklılaşmasında önemli bir role sahip olabileceğini akla getirmiştir. Bununla birlikte Amesse ve ark. (101) aksine, bizim çalışmamızda stromal hücrelerde ekspresyonun görüldüğü ve istatistiksel olarak gebeliğin ikinci döneminde ekspresyonunun maternal palsentanın stromal ve epitel hücrelerinde anlamlı olarak azaldığı ($p<0,05$) belirlendi. Gebeliğin üçüncü döneminde ise stromal hücrelerdeki ekspresyon düzeyi hafif bir şekilde yükselme eğilimine girerek birinci ve ikinci dönemlerdeki ekspresyon düzeyinin rakamsal artışı istatistiksel yönden anlamsız bulunmuştur ($p>0,05$). Maternal epitelde ise ekspresyon yoğunluğunun ikinci dönemdeki yoğunluğuna benzer kaldığı saptanmıştır. Elde edilen bulgular, ineklerde gebeliğin oluşumu ve sürdürülmesinde, trofoblast ve maternal epitel ile stromal hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasında HOXB6'nın fizyolojik rollere sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Hox ailesinin bazı üyelerinin kardiyovasküler sistemin embriyonik gelişiminde önemli bir rol oynadığı ve erişkinlerde anjiyogenezi düzenlediği bildirilmiştir. Hox transkripsiyon faktörleri olan HoxC6 ve HoxC8'in, olgun endotelyal hücrelerdeki ekspresyonları bu proteinlerin anjiyogenezisi modüle ettiğini göstermektedir (81, 168). HOXC6 geninin thorasik bölgededeki organ ve dokuların farklılaşmasına etki etmesi ve bu bölgedeki organlarda ekspresse olması bakımından önemlidir. Yapılan çalışmalarda HOXC6'nın, meme ve prostat kanserlerinin başlamasına katkıda bulunan kritik bir oyuncu olduğu ve dişilerde süt kanallarının normal hücrelerinin yanı sıra karsinomlu serviks organınında da yüksek düzeyde eksprese olduğu bildirilmiştir (169).

HOXC6'nın dişi genital sisteminin normal dokularındaki ekspresyonu ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bundan dolayı yaptığımız çalışmanın sonradan yapılacak araştırmalara ışık tutması bakımından önemli olacağı düşünülmektedir. Çalışma sonucunda, gebe ineklerde endometriyal bez ve stromal hücrelerde HOXC6 ekspresyon düzeyinde anlamlı bir değişiklik şekillenmediğini ($p>0,05$), gebelik süresince sabit bir şekilde eksprese edildiğini gözlemledik. Buna karşın, endometriyum epitelinde gebeliğin ikinci döneminde istatistiksel olarak anlamsız bir rakam artışı ($p>0,05$) belirlendi. Ancak epitel hücrelerinde gerçekleştirdiğimiz skorlama sonucunda üçüncü dönemde ekspresyonun birinci dönemindeki ekspresyon düzeyinin altında bir değer aldığı ve ikinci döneme göre anlamlı şekilde azaldığı ($p<0,05$) sonucuna ulaşıldı. Endometriyumun düz kaslarında ise, HOXC6 ekspresyonu birinci ve ikinci gebelik dönemlerinde benzer düzeylerde gözlenirken ($p>0,05$), gebeliğin son döneminde ekspresyon düzeyinin anlamlı şekilde düşüş gösterdiği saptandı ($p<0,05$). Bu bulgular sonucunda HOXC6'nın uterus hücrelerinin farklılaşmasında, gebelik için uygun ortamın oluşturulmasında ve gebeliğin sürdürülmesinde kritik rolleri olabileceğini düşündürmüştür. Düz kaslarda lokalize olması da uterusun büyümesinde etkili olan düz kas hücrelerinin fizyolojik rollerine katkı sağlayabileceğini akla getirmiştir. Ayrıca daha önce yapılan çalışmada (168) belirtildiği gibi çalışmamızda da HOXC6'nın endotel hücrelerde ekspresse olması, endotel hücrelerinin çoğalmasına ve anjiyogenezise katkı sağlayabildiğini düşündürmüştür.

HOXC6'nın plasenta ve normal trofoblastlarda eksprese olduğu ifade edilmiştir (109). Amesse ve ark. (101) yapmış oldukları çalışmada HOXC6'ın insan plasentasında sitotrofoblast, ara trofoblast ve sinsityotrofoblastların sitoplazmasında lokalize olduğunu ortaya koymuşlardır. Bunun sonucunda da HOXC6'nın; trofoblastik regülasyon, farklılaşma ve proliferasyonun yanı sıra neoplastik transformasyonun çeşitli aşamalarında birçok role sahip olabileceğini ifade etmişlerdir. Bir başka araştırmada Zhang ve ark. (164) HOXC6'nın insanlarda olgun plasenta dokusunda ve trofoblastlarda eksprese olduğunu ancak sitotorofoblastlarda görülen ekspresyonun çekirdekte güçlü olmadığını bildirmişlerdir.

İnsan plasentasında (109, 164) olduğu gibi bizim yaptığımız çalışmada da plasentada HOXC6 immunoreaksiyon varlığı gözlemlendi. Gözlemlenen reaksiyon düzeyinin dönemlere göre değişkenlik gösterdiği ve bununda farklı dönemlerdeki hücrelerin metabolik ve hormonal aktivitelerindeki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünüldü. Bu veriler doğrultusunda HOXC6'nın, plasenta oluşumu ve gelişimi, trofoblast hücrelerinin çoğalıp gebeliğin devamına katkı sağlaması gibi birçok kritik rolü olabileceği düşünülmektedir.

TLX1 (daha önce HOX11 veya TCL3 olarak bilinen T hücreli lösemi homeobox 1), splenogenez ve belirli nöronların gelişimi için gerekli olan nkl (natural killer like) homeobox genlerinin alt sınıfının evrimsel olarak korunmuş bir üyesidir. TLX1 hematopoetik sistemde ifade edilmese de, anormal aktivasyonu insan T hücreli akut lenfoblastik lösemide (T-ALL) tekrarlayan bir olaydır (114, 119). TLX1/Tlx1'in farelerde gelişmekte olan bronşiyal kemerlerin yüzey ektodermi ve merkezi mezenşimi, dilin kas ve papillaları, diş primordiaları, dış kulak, farinks, sinirler ve gelişmekte olan dalak dahil olmak üzere çeşitli dokularda eksprese edildiği ve aşırı ekspresyonunun lösemogenezise katkıda bulunduğu bildirilmiştir (170). Ayrıca embriyogenezis sırasında hem kodlanan hem de endodermiye edilmiş dokularda bulunabileceği belirtilen TLX1/Tlx-1'in postimplantasyonda kritik rolleri olabileceği de düşünülmüştür. Bunların yanı sıra incelenen tüm yetişkin dokularda herhangi bir Tlx-1 ekspresyonunun görülmediği de bildirilmiştir (117). TLX1 tarafından düzenlenen hedef genlerin TLX1'in fizyolojik fonksiyonunu düzenleme mekanizması açık değildir. Genin; fare, zebra balığı, civciv ve insanlarda farklı hücresel sistemlerin çoğalma ve farklılaşmasını düzenlediği ifade edilmiştir (170, 171).

Yapılan çalışmada, TLX1'in gebe inek endometriyumunda eksprese olduğunu saptadık. Endometriyum epitelinde, TLX1 ekspresyonunun gebeliğin tüm dönemlerinde benzer olduğu görüldü ($p>0,05$). Buda TLX1'in gebeliğin oluşumu, devamı ve sonlandırlmasında otokrin ve/veya parakrin türde fonksiyonel görevleri olabileceğini düşündürdü. Endometriyal bezlerdeki ekspresyonun da birinci dönemle karşılaştırıldığında sadece üçüncü dönemde anlamlı bir düşüş gösterdiği ($p<0,05$) gözlendi. Endometriyumun stromal hücrelerdeki ekspresyonun birinci ve üçüncü dönemde benzer düzeyde olduğu ve bununda TLX1'in gebeliğin başlangıcı ile sonlarında stromal hücrelerin metabolik aktivitelerine bağlı olmasından kaynaklandığı düşünüldü. Bunlarla birlikte TLX1'in uterusta hücre çoğalması ve farklılaşmasına etki edebileceği ve bezlerde resöptör görevi alabileceği düşünülmüştür.

İnsan plasentasında, anjiyogenezis ve endotel hücrelerinin oluşumu transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlenir. Homeobox genleri, embriyonik ve yetişkin dokularda vasküler gelişimi düzenleyen önemli transkripsiyon faktörleridir. İnsan plasentadan izole edilen mikrovasküler plasental endotel hücrelerinde, TLX1 ve TLX2 gibi bazı homeobox genlerinin ekspresyonunun gözlenmesi bu genlerin vasküler gelişime katkı sağlayabileceklerini göstermektedir. TLX1'in trofoblast ve endotel progenitör hücrelerdeki ekspresyonu gebelik boyunca normal bir anjiyogenez için bu proteinin belirleyici olabildiğini göstermektedir (172). Novakovic ve ark. (12) yapmış oldukları çalışmada özellikle insan plasentası üzerinde TLX1 proteininin, gebelik boyunca plasenta villuslarında, özellikle sinsitiotrophoblast çekirdeklerinde ve villus stromal hücrelerinde lokalize olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca sinsitiotrophoblast ve stromal hücrelerdeki ekspresyon yoğunluğunun gebeliğin ikinci ve üçüncü yarısında, birinci yarısına oranla azaldığını ortaya koymuşlardır. Buda TLX1'in plasental gelişim sırasında epigenetik regülasyon için önemli olduğunu, birinci ve üçüncü trimester arasında ekspresyon durumu bakımından ters ilişki olduğunu göstermektedir. Ayrıca TLX1 proteininin trofoblast hücrelerin çoğalıp farklılaşması ve apoptozis gibi fonksiyonel rollere sahip olduğunu da göstermektedir. Bizim çalışmamızda da insan plasentasında (12, 172) olduğu gibi TLX1 immunoreaksiyonu görülmüştür. Gözlemlenen immunoreaksiyonun, dönemlere bağlı olarak plasental hücrelerde farklı seviyelerde şekillendiği

belirlenmiştir. Bunun da hücrelerin mitotik özelliklerinin azalmasına ve hormonal sinyallerin değişimine bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmüştür. Sonuç olarak inek plasentası ile insan plasentası karşılaştırıldığında gebeliğin farklı dönemlerinde farklı yoğunluklar gözlemlenmiştir. Bununda türler arasındaki plasental fonksiyon farklılığına bağlı şekillendiği düşünülmüştür. İnsanlarda olduğu gibi ineklerde de TLX1'in trofoblastların çoğalıp farklılaşmasına, gebeliğin korunup devamlılığına etki eden fonksiyonel rollere sahip olabileceği akla gelmektedir.

Drosophila'nın Distal'siz (Dll) geni ile ilgili altı omurgalı geninden biri olan DLX5, kraniyofasiyal ve uzuv gelişiminin yanı sıra duyusal organ morfogenezinde de önemli bir rol oynar. Ayrıca DLX5, bir DNA bağlanma faktörünü kodlar ve birçok insan kanserinde transkripsiyon ve hücre döngüsü ilerlemesini düzenler. Ayrıca proteinin lenfomalar ile akciğer kanserlerinde tümör hücresi çoğalmasını desteklediği de bilinmektedir. DLX genleri, öncelikle erken embriyogenez sırasında eksprese edilen homeodomain transkripsiyon faktörlerini kodlar ve benzer hücreleri uyarmak ve modellemek için kritik olan nöral ile nöral olmayan ektoderm arasındaki hücreler arası sinyalleri düzenler (173). Fakat DLX5/Dlx5'in dişi genital sistemdeki rolü ve ekspresyonu ile ilgili çalışmalar hala kısıtlıdır.

Talbi ve ark. (174) insanlarda yapmış oldukları çalışmada DLX5 geninin endometriyumda eksprese edildiğini ve ekspresyonun güçlü glandüler aktivite dönemine karşılık gelen erken ve geç salgılama aşamalarında yüksek yoğunlukta görüldüğünü belirtmişlerdir. Bir diğer araştırmada Bellessort ver ark. (175) insan uterusunda DLX5 ekspresyonunun östrüs siklusu boyunca luminal, glanduler epitelde ve stromal hücrelerde eksprese olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra normal endometriyum ile lezyonlu endometriyumdaki DLX5 ekspresyonu kıyasladıklarında, lezyonlu endometriyumdaki epitelde mofolojik değişiklikler olduğu ve ekspresyonun azaldığı gözlenmiştir. Bulgular sonucunda DLX5'in uterus fonksiyonlarının yerine getirilmesi, stromal ve epitel hücreler arasındaki etkileşimin oluşması ile stromal hücrelerin proliferasyonuna etki etmesi gibi birden fazla role sahip olabileceği ortaya konulmuştur.

Farelerde yapılan çalışmada embriyogenezis sırasında Dlx5'in eksprese edildiği bildirilmiştir. Bu ekspresyonun fötal hayatta uterusun epitelinde, postnatal uterusta ise uterus bezlerini oluşturan luminal ve bez epitel hücrelerinde de görüldüğünü

ortaya koymuşlardır. Bununla birlikte yetişkin uterusunda da Dlx5 ekspresyonunun kısmen luminal ve glandular epitel boyunca görüldüğünü bildirmişlerdir. Dlx5 inaktive edilmiş fare uteruslarında ise uterus bez sayısında çok ciddi bir azalma olduğu, prizmatik yapıda olan luminal epitelin kübikleştiği ve epiteldeki ekspresyonun da azaldığı görülmüştür. Böylece Dlx5'in uterus olgunlaşması, embriyonun sağlıklı implantasyonu ve gelişimi için önemli bir aktör olmasının yanı sıra, luminal epitel morfolojisinede etki ederek fertilitenin sağlanmasında rol oynadığı saptanmıştır (129, 176).

Cheng ve ark. (177) yaptıkları çalışmada DLX5 genin, domuz uterusunda eksprese olmadığını ve bununda türler arası farklılıklara bağlı olabileceğini belirtmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda domuzdakinden (177) farklı, insan (174,175) ve farelerde (129, 176) aynı olmak üzere inek uterusunda Dlx-5 ekspresyonunn varlığı gözlendi. Yapılan immunohistokimyasal analiz sonucunda Dlx-5 ekspresyonunun endometriyum'un kas tabakası dışında diğer tüm kısımlarda gebeliğin dönemlerine bağlı olarak güçlü ekspresyon gösterdiği tespit edilmiştir ($p>0,05$). Endometriyum'un kas bölgesinde ise gebeliğin birinci dönemine kıyasla ikinci döneminde ekspresyonda sayısal azalma olduğu ancak son dönemdeki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0,05$). Bulgular gebeliğin tüm dönemlerinde luminal ve glandular epitel hücreler ile stromal hücrelerde de ekspresyon düzeyinin değişmediğini göstermiştir. Buda Dlx5'in inek uterusunda implantasyon, gebeliğin oluşumu ve gelişimi ile devamlılığı için gerekli olmasının yanı sıra uterus fonksiyonlarının yerine getirilmesinde kritik rol oynayabildiğini göstermektedir. Bunlarla birlikte reaksiyonun luminal ve glandular epitelin çekirdek ve sitoplazmasında lokalize olması fonksiyonlarını otokrin ve/veya parakrin etki mekanizması ile gösterebileceğini akla getirmektedir.

Miyometriyumda üçüncü dönemde Dlx-5 ekspresyonunda görülen anlamlı azalma proteinin direk olarak düz kas hücreleri üzerinde olan etkisinin azaldığını göstermektedir ki bu son dönemde oluşabilecek kasılmaları azaltarak erken gebelik oluşumunun önlenmesinde rol alabileceğini ve uterus büyümesinin durduğunu düşündürmektedir. Ayrıca gebeliğin I. ve II. dönemindeki kan damarlarının endotel

hücrelerinde de ekspresyon görülmesi, Dlx5'in endotel hücre çoğalmasında da etkili olabileceğini akla getirmektedir.

İnsan plasentasında yaygın olarak görülen Homeobox genleri embriyonik ve plasental gelişmeyi düzenler. Homeobox transkripsiyon faktörü gen ailesinin bir üyesi olan DLX5, nörodavranışsal gelişim ve kök hücre fonksiyonunun düzenlenmesi yoluyla plasental gelişim için de önemli rol oynamaktadır (178).

Novakovic ve ark. (12) insan plasentasında yapmış oldukları çalışmada DLX5 proteininin, gebelik boyunca plasenta villuslarının sinsitiotrophoblast hücreleri ile villusların stromal hücrelerinin çekirdeklerinde lokalize olduğunu saptamışlardır. Fakat stromal hücrelerde görülen ekspresyonun zayıf olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte gebeliğin birinci dönemindeki sinsitiotrophoblast ve stromal hücrelerde görülen ekspresyon yoğunluğunun ikinci ve üçüncü döneminde azaldığını saptamışlardır. Bununda DLX5'in plasental gelişim esnasında epigenetik regülasyon için aday olabileceğini ve dönemler arasında görülen farklı ekspresyon yoğunluğuna bağlı olarak da trofoblast hücrelerinin çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozisi etkileyen fonksiyonel rollerinin bulunabileceğini bildirmişlerdir.

Zadora ve ark. (179) insan, fare ve maymun plasentasında yapmış oldukları çalışmada DLX5 proteinin insan plasentasının villuslardaki trofoblast hücrelerinin çekirdeklerinde ekspresse olduğunu bildirmişlerdir. Bulgular DLX5'in, insan embriyolarında 4 ile 5'inci embriyonik günde ortaya çıktığı ve bunun da DLX5'i insan trofektoderminde en erken eksprese edilmiş genlerden biri haline getirdiğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte Dlx-5 ekspresyonu maymun embriyolarının geç dönem trofektoderminde de gözlenmiş ancak sıçangil preimplantasyon embriyosunda saptanmamıştır. Bulgular insan ve maymun trofoblast hücrelerinde DLX5 ekspresyonu gözlenirken, farelerde gözlenmediğini göstermektedir. Bunun sonucunda Dlx5'in preimplantasyon embriyolarındaki varlığı ile plasentadaki varlığı arasında pozitif bir ilişki olduğu ve trofoblastların büyüyüp farklılaşmasına etki edebileceği ifade edilmiştir. Bunlarla birlikte DLX5'in spesifik rolü ve gebelik sırasındaki artışının tam açıklanamamakla birlikte aşırı ekspresyonunun, çeşitli kanser hücrelerinde hücre çoğalmasına neden olabileceği ve trofoblast hücrelerinin gelişimsel kararlarını belirlemede anahtar bir gen olabileceğini bildirmişlerdir.

DLX5/Dlx5 ekspresyonunun insan ve maymun (12,179) plasentasında olduğu gibi inek plasentasında da görüldüğü saptandı. Fakat fare plasentasında bizim çalışmamızın aksine Dlx-5 proteininin ekspresse olmadığı görülmüş bununda türler arası plasental hücrelerin metabolik aktivitelerine bağlı değişkenlik gösteren bir durum olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda plasenta maternalise ait kısımlarda gebelik dönemlerine bağlı olarak Dlx-5 ekspresyon düzeyinin değişmediği görülmüştür($p>0,05$). Bu durum Dlx5'in plasenta oluşumu ve gelişimi için gerekli bir gen olduğunu akla getirmektedir. Plasenta fötalis kısmındaki hücrelerin ekspresyon düzeylerinde ise dönemlere bağlı olarak değişkenlik gözlendiğini saptanmıştır. Bu değişkenliğin hücrelerin bölünebilme ve salgılama karekterlerinin azalmasına ve hücreler arası sinyalizasyonun zayıflamasına bağlı olabileceğini akla gelmektedir. Dlx5'in inek plasentasında gebeliğin devamlılığı ve plasental hücrelerin çoğalıp farklılaşması için önemli rollere sahip olan bir reseptör görevi üstlendiği düşünülmektedir. Özellikle gebeliğin son dönemindeki trofoblast hücrelerinde görülen ekspresyondaki anlamlı düşüşün bu hücrelerin metabolik ve mitojenik aktivitelerinin azalmasına bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Önceden HB24 olarak bilenen HLX geninin; sıçanlarda Hlx, insanlarda ise HLX1 olarak adlandırıldığı ve plasental gelişim için potansiyel düzenleyici olduğu ifade edilmiştir (180). İnsan endometriyum morfogenezisi, epitelyo-mezenkimal hücre etkileşimlerine bağlı olan doku gelişimlerinin kontrol edilmesi ile sağlanır. Bu gelişimin kontrol edilebilmesi için de ortak bir moleküler mekanizma gereklidir.Bu moleküler mekanizmanın üyelerinden birinin de HB24 (HLX) olduğu ifade edilmiştir (181).

Quiin ve ark. (182) yapmış oldukları çalışmada insan endometriyumunda HB24 (HLX) proteininin eksprese olduğunu belirtmişlerdir. Ekspresyonun proliferatif fazdaki endometriyumun, glanduler ve luminal epitel hücreleri ile stromadaki mezenkimal hücrelerde, salgı fazındaki endometriyumunda ise glanduler epitel hücreleri ile stromal hücrelerde tespit edildiği bildirilmiştir. Ayrıca endometriyumun öncü epitel hücrelerinde de ekspresyon görülmüşlerdir. Bulguları sonucu bu proteinin endometriyal hücre farklılaşmasında ve epitelyo-mezenkimal hücre etkileşimlerinin kontrol edilmesinde rol oyanayabileceğini belirtmişlerdir.

HLX'in sıçanlardaki homologu olan Hlx grninin, endometriyal veya plasental gelişim üzerindeki etkileri bilinmemesine rağmen, yetişkin farelerde Hlx en çok akciğer, kalp, iskelet kası ve hematopoietik doku ve hücrelerde, daha az düzeyde karaciğer, uterus ve yumurtalıklarda, eser düzeyde de beyin, böbrek ve testiste eksprese edildiği ifade edilmiştir (181,183).

Yapılan araştırmalarda insan (182) ve fare (183) endometriyumunda HLX'in eksprese olmasına paralel olarak ineklerde de immunoreaktivite gözlendi. İmmunreaksiyonun gebeliğin her üç döneminde luminal ve bez epitel hücrelerinde zayıftan orta yoğunluğa doğru olacak şekilde hücrelerin sitoplazmasında şekillendiği saptandı. Ayrıca bazı stromal ve düz kas hücrelerinde de çok zayıf bir reaksiyonun meydana geldiği görüldü. Bulguların istatistiksel değerlendirmesi sonucunda ise tüm gebelik dönemlerinde uterusun tüm kısımlarında HLX ekspersyonu düzeyinde anlamlı bir farkın şekillenmediği ($p>0,05$) belirlendi. Böylece HLX'in, insan ve farelerde olduğu gibi inek uterusunun normal fizyolojisinde, uterusun gebeliğe hazırlanmasında ve gebeliğin sürdürülmesinde fonksiyonel rollere sahip olabileceği düşünüldü.

Büyük bir transkripsyon ailesine sahip olan homeobox gen ailesinin bir üyesi olan HLX (daha önce HLX1 ve HB24 olarak biliniyordu), trofoblast fonksiyonu ile ilgili olan transkripsiyon faktörü olup, normal plasentasyon için önemli bir role sahiptir. HLX'in plasenta gelişiminde özellikle trofoblast gelişim ve farklılaşmasında önemli bir etkiye sahip olabileceğine dair kanıtlar ortaya konmuştur (135, 136, 184) .

İnsan plasentası için önemli bir düzenleyici görevi bulunan HLX'in, plasentada villus ve ekstravillus sitotrofoblast hücrelerinin yanı sıra endotelyal hücreler ile fötal mikrokapillarda eksprese edildiği bildirilmiştir (136). İnsanda yapılan bir diğer araştırmada ise fötal büyüme sorunu olmayan plasentelarla kıyaslandığında büyüme sorunu olan plasenta trofoblastlarındaki HLX ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (184) .

Yuen ve ark. (185) yapmış oldukları çalışmada normal ikiz gebelik plasentası ile fötal büyüme kısıtlanması olan ikiz plasentasını HLX ekspresyonu bakımından karşılaştırmışlardır. Normal ikiz plasentasında sitotrofoblastlar stromal hücreler ve fötal kılcal damarlarında görülen HLX ekspresyonunun, fötal büyüme kısıtlaması olan plasentada çok azaldığı hatta stromal hücrelerde hiç görülmediği bildirilmiştir.

Bu bulgular sonucunda araştırmacılar, HLX'in plasental gelişim için kritik rollere sahip olabileceğini belirtilmişlerdir.

Rajaraman ve ark. (135) yapmış oldukları çalışmada, insan plasentasının erken gebelik dönemine ait trofoblastlarda görülen HLX ekspresyonun, çekirdekte yoğun sitoplazmada zayıf olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca ekspresyonun villus sitotrofoblastlarında gözlenirken sinsitiotrophoblast veya sinsityal filizlerde görülmediği ifade edilmiştir. Bunlara ek olarak fötal damar endotel hücreleri ile villus stromal hücrelerde zayıf bir ekspresyon olduğunu da bildirmişlerdir. Bu çalışma ile HLX homeobox geninin öncelikle erken plasenta gelişiminde sitotrofoblast hücre tiplerinin çoğalmasında eksprese edildiği ve HLX'in düzensizliği ile de anormal şekilde sitotrofoblastların çoğalıp farklılaştığı görülmüştür. Bu proteinin plasenta koriyokarsinomu gibi patolojik durumların tespitine katkıda bulunabileceğine işaret etmektedir. Çalışmada sitotrofoblast farklılaşması için HLX seviyelerinin düşük ve düzenli olması gerektiğini belirtmişlerdir.

Liu ve ark. (186) gebeliğin 8-12 haftalarındaki insan plasentasında yapmış oldukları çalışmada HLX'in, ilk trimester plasenta dokusunun koryonik villusundaki vasküler endotel hücreler ile stromal hücrelerde, çekirdek ağırlıklı bir immunoreaktivite gösterdiğini saptamışlardır. HLX'in mezenşimal koryonik kök/stromal hücrelerin çoğalıp farklılaşmasını düzenleyerek villus trofoblastlarına etki edebileceğine dikkat çekmişlerdir.

Yine insanda yapılan bir başka çalışmada HLX'in villuslarda, intertisyel sitotrofoblastlarda, endovasküler ve multinükleer (dev hücreler) sitotrofoblastlarda ve föto-maternal endotel hücrelerde eksprese olduğu ifade edilmiştir. Böylece HLX proteininin, ekstra villus trofoblast hücrelerinin gelişimi ve farklılaşmasında fonksiyonel bir etkiye sahip olduğu varsayılmıştır (187).

Farelerde Hlx olarak bilinen HLX1'in visseral organogenezis ve sindirim sistemi organlarının gelişimi için kritik rollere sahip olduğu bilinmektedir. Bunlarla birlikte fare plasentasında Hlx'in plasentanın labirent tabakasında, ikincil dev hücrelerde ve süngeriotrofoblast tabakasında eksprese olduğu bildirilmiştir. Burda belirtilen süngeriotrofoblast tabakasının plasentanın yapısal desteği için gerekli olduğu da ifade edilmiştir. Ayrıca Hlx'in fare plasentasındaki varlığı tam ortaya konulmamasına rağmen, mutant farelerde 10,5, 13,5 ve 19,5 günlerde toplanan

plasental dokularda morfolojik bakımdan süngeriotrofoblast tabakasında bozulmalar şekillendiği, ancak üstteki dev hücrelerin bulunduğu tabakanın etkilenmediği ortaya konulmuştur. Bu sonuçlar, Hlx'in farelerde normal plasental gelişim için gerekli olduğunu göstermiştir (188). Hlx mutant farelerde yapılan bir diğer araştırmada ise, yine plasental gelişimde kusurların olduğu ve fötal büyüme geriliğine neden olduğu belirtilmiştir (189, 190).

Yapılan çalışmalarda HLX'in, insanlarda (12, 135, 136, 185-187) ve farelerde (188-190) eksprese olduğu saptanmıştır. Bu çalışmalarla HLX geninin embriyogenez ve organogenezde, normal ve patolojik insan plasental gelişiminde potansiyel olarak rol oyandığı ortaya konulmuştur. Bunlarla birlikte HLX ekspresyonunun, primer olarak sitotrophoblast hücre tiplerinin çoğalması ve göç etmesine, plasental gelişim sırasında mezenkimal kök/stromal hücrelerin farklılaşmasında etkili olduğu ifade edilmiştir. Bununla birlikte insan idiyopatik fötal büyüme kısıtlamasında HLX ekspresyonunun azaldığı ve aşırı ekspresyonlarının kansere neden olabildiği bildirilmiştir. Bu bulgular sonucunda farelerde de Hlx geninin plasental gelişim ve büyüme için kritik öneme sahip olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmalara paralel olacak şekilde bizim çalışmamızda da inek plasentasında HLX ekspresyonunun olduğu saptanmıştır. Görülen ekspresyonun plasenta maternalisin epitel ve stromal hücreleri ile tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerinde orta yoğunlukta iken fötal stromada çok zayıf olduğu gözlendi. İstatistiksel değerlendirmede gebeliğin her üç döneminde de HLX ekspersyonu düzeyinde anlamlı bir farkın şekillenmediği ($p>0,05$) saptandı. Bu veriler sonucunda, HLX'in insan ve fare plasentasında olduğu gibi ineklerde de trofoblastların çoğalıp farklılaşmasında, plasentanın oluşumu, büyümesi ve gelişmesinde, gebeliğin devamlılığında çok önemli rollere sahip olabileceği düşünülmektedir.

7. SONUÇ

İneklerde gebelik boyunca uterus ve plasentada HOXA10, HOXA11, HOXB6, HOXC6, TLX1, Dlx-5, HLX protein immunreaktiviteleri farklı yoğunluklarda gözlendi. Bulgulara bakıldığında, homeobox gen ailesinin birer alt üyesi olan bu proteinlerin uterusta luminal ve glanduler epitel hücrelerinden salgılandığı saptandı. Böylece bu hücrelerin faaliyetlerini otokrin/parakrin mekanizması ile yaptıkları düşünüldü. Bunlarla birlikte bazı stromal hücrelerde görülen pozitif reaksiyon, bu hücrelerin reseptör ve salgı görevi yapabildiğini düşündürdü. Ayrıca HOXA10, HOXB6, HOXC6, Dlx-5 proteinlerinin endometriyumdaki damar endotel hücrelerinde ve miyometriyumdaki düz kas hücrelerinde lokalize olmaları, endotel hücrelerin çoğalıp farklılaşmasına ve miyometriyum fonksiyonlarının yerine getirilmesinde bu proteinlerin katkı sağlayabileceklerini gösterdi. Belirttiğimiz bu proteinlerin, endometriyumun fonksiyonel görevlerinin yerine getirilmesinde ve anjiyogeneziste kritik rollere sahip olabileceklerini düşündürdü. Ayrıca bu proteinlerin, maternal ve fötal plasenta bölümlerinde görülmeleri plasentanın oluşum ve büyümesinden sorumlu olabileceklerini akla getirdi. Fötal bölümdeki tek ve çift çekirdekli trofoblast hücrelerde ise otokrin/parakrin etkili olabilecekleri ve bu hücrelerin çoğalıp farklılaşmasının düzenlenmesine katkı sağlayabilecekleri varsayıldı. Bulgular bu proteinlerin; implantasyon oluşumunda, plasenta yoluyla embriyo-uterus arasındaki hücresel etkileşimde ve gebeliğin sürüdürülüp sürdürülemeyeceğinin belirlenmesinde kritik rollere sahip olabileceğini akla getirdi.

Çalışmamızda elde edilen immunohistokimyasal bulguların, memeli uterus ve gebelik fizyolojisi ile ilgili yapılacak araştırmalara ışık tutacağı, plasenta ile fötusa ait kalıtsal ve patolojik problemlerin engellenmesi ve tedavi edilmesi için yeni metodların ortaya çıkmasına katkı sağlayabileceği düşüncesindeyiz.

8. KAYNAKLAR

1. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. Medipres Matbacılık Ltd. Şti., Malatya; 2009, s: 221.

2. Akbalık ME. Gebelik Süresince İnek Uterusunda ErbB Reseptörleri ile Epidermal Büyüme Faktörü, Amfiregulin ve Nörogulin Dağılımının İmmunohistokimyasal Olarak Gösterilmesi. D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2011, Diyarbakır (Danışman: Prof. Dr. M. Aydın KETANİ).

3. Kelleher AM, Burns GW, Behura S, Wu G, Spencer TE. Uterine Glands İmpact Uterine Receptivity, Luminal Fluidhomeostasis and Blastocyst İmplantation. Sci. Rep. 2016; 6(38078):1-18.

4. Wooding FBP, Morgan G, Adam CL. Structure and Function in the Ruminant Synepitheliochorial Placenta: Central Role of the Trophoblast Binucleate Cell in Deer. Mıcroscopy Research and Technıqu. 1996; 38: 88–99.

5. Karaca T, Yörük M. Ruminant Plasentalarının Yapı ve Fonksiyonu. YYU Veteriner Fakultesi Dergisi. 2010; 21(3):191-194.

6. Santos RB, Silva JM, Beletti ME. Ultrastructure of Bovine Placenta During All Gestational Period. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2017; 69 (6): 1376-1384.

7. Palmer PC, Tarrade A. Placentation in Different Mammalian Species. Annales d'Endocrinologie. 2016; 77: 67-74.

8. Murthi P, Rajaraman G, Brennecke SP, Kalionis B. The Role of Placental Homeobox Genes in Human Fetal Growth Restriction. Journal of Pregnancy. 2011; 1: 548171.

9. Murthi P, Hiden U, Rajaraman G, Liu H, Borg aj, Coombes F, Desoye G. Ett. all. Novel Homeobox Genes are Differentially Expressed in Placental

Microvascular Endothelial Cells Compared with Macrovascular Cells. Placenta. 2008; 29: 624-630.

10. Zhu Y, Cheng Z, Wang J, Liu B, Cheng L, Chen B, Cao Y, Wang B. 2017. A Novel Mutation of HOXA11 in a Patient with Septate Uterus. Orphanet Journal of Rare Diseases. 2017; 12 (1):178-184.

11. Daftary GS, Taylor HS. Implantation in the Human: The Role of HOX Genes. Semin Reprod Med. 2000; 18 (3): 311-320.

12. Novakovic B, Fournier T, Harris LK, James J, Roberts CT, Yong HEC. Increased Methylation and Decreased Expression of Homeobox Genes TLX1, HOXA10 and DLX5 in Human Placenta are Associated with Trophoblast Differentiation. Sci Rep. 2017; 7 (1): 4523.

13. Lufkin T. Hox Genes: Embryonic Development. Encyclopedıa of Lıfe Sciences. 2005.

14. Chui A, Pathirage NA, Johnson B, Cocquebert M, Fournier T, Evain-Brion D, Roald B, Manuelpillai U, Brennecke SP, Kalionis B, Murthi P. Homeobox Gene Distal-less 3 is Expressed in Proliferating and Differentiating Cells of the Human Placenta. Placenta. 2010; 31(8): 691-697.

15. Anderson SA, Eisenstat DD, Shi L, Rubenstein JL. Interneuron Migration From Basal Forebrain to Neocortex: Dependence on Dlx Genes. Science. 1997; 278 (5337): 474-476.

16. Quinn LM, Johnson BV, Nicholl J, Sutherland GR, Kalionis B. Isolation and identification of homeobox genes from the human placentaincluding a novel member of the Distal-less family, DLX4. Gene. 1995; 187 (1): 55-61.

17. Murthi P, Doherty V, Said J, Donath S, Brennecke SP, Kalionis B. Homeobox Gene HLX1 Expression Is Decreased in Idiopathic Human Fetal Growth Restriction. American Journal of Pathology. 2006; 168(2): 511-518.

18. Rajaraman G, Murthi P, Quinn L, Brennecke SP, Kalionis B. Homeodomain Protein HLX is Expressed Primarily in Cytotrophoblast Cell Types in the Early Pregnancy Human Placenta. Reprod Fertil Dev. 2008; 20 (3): 357-67.

19. Dube ID, Kamel-Reid S, Yuan CC, Lu M, Wu X, Corpus G, Raimondi SC, Crist WM, Carroll AJ, Minowada J, Baker JB. A Novel Human Homeobox Gene Lies at the Chromosome 10 Breakpoint in Lymphoid Neoplasias with Chromosomal Translocation t(10;14). Blood. 1991; 78 (11): 2996-3003.

20. Hatano M, Roberts CW, Minden M, Crist WM, Korsmeyer SJ. Deregulation of a Homeobox Gene, HOX11, by the t (10;14) in T Cell Leukemia. Science. 1991; 253 (5015): 79-82.

21. Logan C, Wingate RJT, McKay LJ, and Lumsden A. Tlx-1 and Tlx-3 Homeobox Gene Expression in Cranial Sensory Ganglia and Hindbrain of the Chick Embryo: Markers of Patterned Connectivity. The Journal of Neuroscience. 1998; 18 (14): 5389-5402.

22. Ramírez-Garzon HO. Effect of Endometrial Biopsy on Uterine Health in Tropically Adapted Beef Cattle. The University of Queensland in School of Veterinary Scienc. Doctoral Thesis, 2007, Australia (Principal Supervisors: Professor Michael Holland and Michael McGowan).

23. Espejel MC and Medrano A. Histological Cyclic Endometrial Changes in Dairy Cows: An Overview. Dairy and Vet Sci J. 2017; 2(1): 555577.

24. Kobayashi A, Behringer RR. Developmental Genetics of the Female Reproductive Tract in Mammals. Nat. Rev. Genet. 2003; 4 (12): 969-980.

25. Witschi E. Embryology of the Uterus: Normal and Experimental. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1959; 75: 412-35.

26. Moncada-Madrazo M, Valero CR. Embryology, Uterus. Stat Pearls Content is King, Reasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC, 2019, PMID: 31613528.

27. König HE, Liebich HG. Veterinary Anatomy of Domestic Mammals (6th Edition). Çeviren: Kürtül İ, Türkmenoğlu İ. Veteriner Anatomi (Evcil Memeli Hayvanlar Metin ve Renkli Atlas). 6. baskı, Medipres Yayıncılık, Malatya; 2015, s: 440.

28. Schatten H, Constantinescu GM. Animal Models and Human Reproduction. John Wiley&Sons, Inc. , Hoboken, New Jersey; 2017, p: 34-71.

29. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Textbook of Veterinary Anatomy Fourth Edition. Çeviren; Hazıroğlu M, Çakır A. Veteriner Anatomi Konu Anlatımı ve Atlas 4. Baskı, Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara; 2018, s:702.

30. Garther PL, Hiatt JL. Color Atlas of Histology. Çeviren: Dağdeviren A, Müftüoğlu SF, Karabay G. Renkli Histoloji Atlası. Dördüncü Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara; 2009, s:343-348.

31. Özer A. Veteriner Özel Histoloji. Geliştirilmiş 3. basım, Nobel Akademi Yayıncılık, Ankara, 2011, s: 234.

32. Tanyolaç A. Özel histoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti., Ankara; 1993, s:148.

33. Özer A. Veteriner Özel Histoloji. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara; 2008, s:234-238.

34. Aughey E, Frye FL. Comparative Veterinary Histology With Clinical Correlates. Manson Publishing Ltd., London; 2001, p:189-202.

35. Mullen MP, Elia G, Hilliard M, Parr MH, Diskin MG, Evans ACO, Crowe MA. Proteomic Characterization of Histotroph During the Preimplantation Phase of the Estrous Cycle in Cattle. Journal of Proteome Research. 2012; 11**:** 3004-3018.

36. Bacha WJ. & Bacha LM. Color Atlas of Veterinary Histology. 3 st ed. Wiley-Blackwell: Chichester-West Sussex; 2012.

37. Tanyolaç A. Özel histoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti., Ankara; 1999, s: 153-156.

38. Samuelson DA. Textbook of Veterinary Histology. Saunders Elsevier: St. Louis; 2007.

39. Forde N, Beltmana ME, Lonergana P, Diskinc B, Rochea JF, et al. Oestrous Cycles in Bos Taurus Cattle. Anim Reprod Sci. 2011; 124(3-4): 163- 169.

40. Cole HH. A Study of The Mucosa of the Genital Tract of the Cow, with Special Reference to the Cyclic Changes. American Journal of Anatomy. 1930; 46(2): 261-301.

41. Kojima Y, Zellforsch U. Cyclical Changes in the Fine Structure of Bovine Endometrial Gland Cells. Mikrosk Anat. 1970; 104(1): 69-86.

42. Wang CK, Robinson RS, Flint AP, Mann GE. Quantitative Analysis of Changes in Endometrial Gland Morphology During the Bovine Oestrous Cycle and Their Association with Progesterone Levels. Reproduction. 2007; 134(2): 365-371.

43. Özer A. Veteriner Özel Histoloji. Geliştirilmiş 3. Baskı, Nobel Akademi Yayıncılık, Ankara; 2011, s:236-237.

44. Junquerira C, Carneiro J. Basic Histology Text&Atlas tenth edition. 10 ed., McGraw-Hill/Appleton & Lange: New York; 2002, p:458.

45. Tekelioğlu M. Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme. Antıp Yayınları, Ankara; 2002, s: 224-225.

46. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology A Text and Atlas. Fourth Ed. Lippincott Williams& Wilkins: USA; 2003, p:727-751.

47. Özer A. Veteriner Özel Histoloji. Geliştirilmiş 3. Baskı, Nobel Akademi Yayıncılık, Ankara; 2011, s:238.

48. Satterfield MC, Dunlap KA, Hayashi K, Burghardt RC, Spencer TE, and Bazer FW. Tight and Adherens Junctions in the Ovine Uterus: Differential Regulation by Pregnancy and Progesterone. Endocrinology. 2007; 148(8): 3922–3931.

49. Valadão L, da Silva HM and da Silva FM. Bovine Embryonic Developmentto Implantation. Chapters'Textbook of Embryogenesis. IntechOpen. 2019, p:1-10.

50. Moore KL, Persaud TVN. Embriologia Básica. 5th ed. Elsevier: Guanabara Koogan São Paulo-Brasil; 2000, p:453.

51. Sadler TW. Langman Embriologia Médica. 9th ed. Gen IO: Paulo-Brasil; 2005, p:347.

52. Fléchon JE, Fléchon B, Degrouard J, & Guillomot M. Cellular Features of the Extra-Embryonic Endoderm During Elongation in the Ovine Conceptus. Genesis, 2007; 45(11): 709-715.

53. Spencer TE, Hansen TR. Implantation and Establishment of Pregnancy in Ruminants. Adv Anat Embryol Cell Biol. 2015; 216, 105–135.

54. Sánchez JM, Mathew DJ, Passaro C, Fair T, Lonerga P. Embryonic Maternal İnteraction in Cattle and İts Relationship With Fertility. Reprod Dom Anim. 2018; 2: 20-27.

55. Metelo R, Sulon J, Moreira daSilva F, Beckers JF. Preliminary Results for Measuring Bovine PAG in Milk Simples. 7ème Journée de RencontreBioforum, BioLiège, Association des Biotechnologistes Liégeois, Liège. 2002; p. 32

56. Betteridge KJ, Flechon JE. The Anatomy and Physiology of Pre-Attachment Bovine Embryos. Theriogenology. 1988; 29(1): 155-187.

57. Davis CJ, Fisher, PJ, Schlafer DH. Temporal and Regional Regulation of Major Histocompatibility Complex Class I Expression at the Bovine Uterine/Placental İnterface. Placenta. 2000; 21(2-3): 194-202.

58. Barreto RSN, Bressan FF, Oliveira LJ, Pereira FTV, Perecina F, Ambrósio CE, Meirelles FV, M. Miglino MA. Gene Expression in Placentation of Farm Animals: An Overview of Gene Function During Development. Theriogenology. 2011; 76(4): 589–597.

59. Leiser R, Kaufmann P. Placental Structure: in a Comparative Aspect. Exp Clin Endocrinol. 1994; 102(3): 122–34.

60. S. Hafez. Comparative Placental Anatomy: Divergent Structures Serving a Common Purpose. Prog Mol Biol Transl Sci. 2017; 145:1-28.

61. Peter AT. Bovine placenta: A review on Morphology, Components, and Defects From Terminology and Clinical Perspectives. Theriogenology. 2013; 80: 693-705.

62. Wooding P, Burton G. Comparative Placentation: Structures, Functions and Evolution. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Switzerland; 2008, p:1-81.

63. Galdos-Riveros AC, Favaron PO, Will SEAL, Miglinoand MA, Maria DA. Bovine Yolk Sac: From Morphology to Metabolomic and Proteomic Profiles. Genet. Mol. Res. 2015; 14 (2): 6223-6238.

64. Assis-Neto AC, Pereira FTV, Santos TC, Ambrósio CE, et al. Morpho-Physical Recording of Bovine Conceptus (Bos indicus) and Placenta From Days 20 to 70 of Pregnancy. Reprod. Domest. Anim. 2010; 45: 760-772.

65. Furukawa S, Kuroda Y, Sugiyama A. A Comparison of the Histological Structure of the Placenta in Experimental Animals. J Toxicol Pathol. 2014; 27: 11–18.

66. Chavatte-Palmer P, Tarrade A. Placentation in Different Mammalian Species. Annales d'Endocrinologie. 2016; 77 (1): 67–74.

67. Wynn RM, Corbett JR. Ultrastructure of the Canine Placenta and Amnion. Am J ObstetGynecol. 1969;103:878–887.

68. Hassa O, Aşti RN. Embriyoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti., Ankara; 2003, s:79-86.

69. Yakışık M, Özfiliz N, Erdost H, Zık B. Veteriner Embriyoloji. 2. baskı, UÜ Veteriner Fakültesi Yayınları, Bursa; 2005, s:120.

70. Wooding, FBP. The Synepitheliochorial Placenta of Ruminants: Binucleate Cell Fusion and Hormone Production. Placenta. 1992; 13 (1) :101–113.

71. Wooding FBP, Morgan G, Adam CL. Structure and Function in the Ruminant Synepitheliochorial Placenta: Central Role of the Trophoblast Binucleate Cell in Deer. Mıcroscopy Research and Technıque. 1997; 38: 88–99.

72. Assis-Neto AC, Santos EC, Pereira FT, Miglino MA. Initial Development of Bovine Placentation (Bos indicus) From the Point of View of the Allantois and Amnion. Anat Histol-Embryol. 2009; 38: 341-347.

73. Wooding FBP. Role of Binucleate Cells in Fetomaternal Cell Fusion at İmplantation in the Sheep. Am J Anat. 1984; 170: 233-250.

74. Bjorkman NH. Fine Structure of Cryptal and Trophoblastic Giantcells in the Bovine Placentome. J Ultrastruc Res. 1968; 24: 249-58.

75. Attupuram NM, Kumaresan A, Narayanan K, Kumar H. Cellular and Molecular Mechanisms Involved in Placental Separation in the Bovine: A Review. Molecular Reproduction & Development. 2016; 83: 287-297.

76. Roberts RM, Cross JC, Leaman DW. Interferons as Hormones of Pregnancy. Endocr Rev. 1992; 3: 432-52.

77. Forde N, Carter F, Spencer TE, Bazer FW, Sandra O, Mansouri-Attia N,et al. Conceptus-İnduced Changes in the Endometrial Transcriptome: How Soon does the Cow Know She is Pregnant?. Biol Reprod. 2011; 85: 144-156.

78. Alvarez-Oxiley AV, De Sousa NM, Beckers JF. Native and Recombinant Bovine Placental Lactogens. Reprod Biol. 2008; 8: 85-106.

79. Leite-Castro J, Rodrigues PN, Freitas R. Hoxgene Regulation in Vertebrates. Trends in Developmental Biology. 2014; 8: 78-95.

80. Ferrier DE. Evolution of the Hox Gene Cluster. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester; 2012, p:1-8.

81. Nova-Lampeti E, Aguilera V, Oporto K, Guzmán P, Ormazábal V, Zúñiga F, Escudero C, Aguayo C. Hox Genes in Adult Tissues and Their Role in Endothelial Cell Differentiation and Angiogenesis. In: Endothelial Dysfunction old Conseptus and New Challenges. IntechOpen: London; 2018.

82. Daftary GS, Hsieh-Li HS. 2000. Implantation in the Human: The Role of HOX Genes. Seminars in Reproductive Medicine. 2000; 18(3): 311-320.

83. He B, Ni Z, Kong Sb, Lu Jh, Wang Hb. Homeobox Genes for Embryo İmplantation: From Mouse to Human. Anim Models Exp Med. 2018; 1: 14-22.

84. Nam J, Nei M. Evolutionary Change of the Numbers of Homeobox Genes in Bilateral Animals. Mol Biol Evol. 2005; 22 (12): 2386-2394.

85. Affloter M, Percival-Smith A, Muller M, Leupin W, Gehring WJ. DNA Binding Properties of the Purified Antennapedia Homeodomain. Proc Natl Acad Sci USA. 1990; 87: 4093-4097.

86. Hrycaj SM, Wellik DM. Hox Genes and Evolution [Version 1; Peer Review: 3 Approved]. F1000 Research Open for Science. 2016; 859: 1-7.

87. Daftary GS, Taylor HS. 2006. Endocrine Regulation of HOX Genes. Endocrine Reviews. 2006; 27 (4): 331-355.

88. Magli MC, Largman C, Lawrence HJ. Effects of HOX Homeobox Genes in Blood Cell Differentiation. Journal of Cellular Physiology. 1997; 173:168-177.

89. Mcginnis W, Krumlauf R. Homeobox Genes and Axial Patterning. Cell. 1992; 68: 283-302.

90. Du H, Taylor HS. The Role of Hox Genes in Female ReproductiveTract Development, Adult Function, and Fertility. Cold Spring Harb Perspect Med. 2016; 6 (1): a023002.

91. Zanatta A, Rocha AM, Carvalho FM, Pereira RM, Taylor HS, Motta EL, Baracat EC, Serafini PC. The Role of the Hoxa10/HOXA10 Gene in the Etiology of Endometriosis and İts Related İnfertility: A review. Journal of Assisted Reproduction and Genetics. 2010; 27 (12): 701-710.

92. Deb P. Epigenetic Mechanism of Regulation of Hox Genes and Neurotransmitters via Hormones and lncrna. The University of Texas at Arlington. Doctorant Thesis 2017, Texas, A.B.D (Supervising Professor: Subhrangsu S. Mandal).

93. Smith J, Zyoud A, Allegrucci C. A Case of Identity: HOX Genes in Normal and Cancer Stem Cells. Cancers. 2019; 11 (4): 512.

94. Taylor HS. The Role of HOX Genes in the Development and Function of the Female Reproductive Tract. Seminars in Reproductive Medicine. 2000; 18(1): 81-89.

95. Browne H & Taylor H. HOXA10 Expression in Ectopic Endometrial Tissue. Fertility and Sterility. 2006; 85(1): 1386-1390.

96. Kim JJ, Taylor HS, Lu Z, Ladhani O, Hastings JM, Jackson KS, et all. Altered Expression of HOXA10 in Endometriosis: Potential Role in Decidualization. Mol Hum Reprod. 2007; 13: 323-32.

97. Lynch V J, Roth JJ, Takahashi K, Dunn CW, Nonaka DF, Stopper GF, Wagner GP. Adaptive Evolution of HoxA-11 and HoxA-13 at the Origin of the Uterus in Mammals. Proc. R. Soc. Lond. 2004; 271: 2201-2207.

98. Wang LF, Luo HZ, Zhu ZM, Wang JD. Expression of HOXA11 Gene in Human Endometrium. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2004; 191(1): 767-772.

99. Hsieh-Li HM, Witte DP, Weinstein M, Branford W, Li H, Small K, Potter SS. Hoxa 11 Structure, Extensive Antisense Transcription, and Function in Male and Female Fertility. Development. 1995; 121(5): 1373-1385.

100. HOXB6 homeobox B6 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBIGene ID: 3216, updated on 24-Dec-2019, 18.02.2020

101. Amesse LS, Moulton R, Zhang YM, Pfaff-Amesse T. Expression of Hox Gene Products in Normal and Abnormal Trophoblastic Tissue. Gynecologic Oncology. 2002; 90(3): 512-518.

102. Rancourt DE, Tsuzuki T, Capecchi MR. 1995. Genetic İnteraction Between Hoxb-5 and Hoxb-6 is Revealed by Nonallelic Noncomplementation. Genes Dev. 1995; 9(1): 108-122.

103. Becker D, Jiang Z, Knodler P, Deinard AS, Eid R, Kidd KK, Shashikant CS, Ruddle FH, Schughart K. Conserved Regulatory Element Involved in the Early Onset of Hoxb6 Gene Expression. Dev. Dynamics.1996; 205(1): 73-81

104. Graham, A, Maden M, and Krumlauf R. The Murine Hox-2 Genes Display Dynamic Dorsoventral Patterns of Expression During Central Nervous System Development. Development. 1991; 112(1): 255-264.

105. Eid R, Koseki H, and Schughart K. Analysis of LacZ Reporter Genes in Transgenic Embryos Suggests the Presence of Several Cis-Acting Elements in the Murine Hoxb-6 Gene. Dev. Dynamics. 1993; 196(3): 205-216.

106. HOXC6 homeobox C6 [*Homo sapiens* (human)]Gene. NCBI Gene ID: 3223, updated on 17-Dec-2019, 11.02.2019.

107. Chariot A, Castronovo V, Le P, Gillet C, Sobel M, Gielen J. Cloning and Expression of a New HOXC6 Transcript Encoding a Repressing Protein. Biochem J. 1996; 319(1): 91-97.

108. Vinarskaja A, Yamanaka M, Ingenwerth M, Schulz WA. 2011. DNA Methylation and the HOXC6 Paradox in Prostate Cancer. Cancers (Basel). 2011; 3(4): 3714-3725.

109. David LT, Bahrani-Mostafavi Z, Vestal CG, Richardson C, Mostafavi MT. Downregulation of HOXC6 in Serous Ovarian Cancer. Cancer Invest. 2015; 33(7): 303-311.

110. Bodey B, Bodey BJR, Siegel SE, Luck JV, Kaiser HE. Homeobox B3,B4, and C6 Gene Product Expression in Osteosarcomas as Detected by İmmunocytochemistry. Anticancer Res. 2000; 20(4): 2717-2721.

111. Moon SM, Kim SA, Yoon JH, Ahn SG. 2012. HOXC6 is Deregulated in Human Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Modulates Bcl-2 Expression. J Biol Chem. 2012; 287(42): 35678-35688.

112. Ansari KI, Hussain I, Shrestha B, Kasiri S, Mandal SS. HOXC6 is Transcriptionally Regulated Via Coordination of MLL Histone Methylase and Estrogen Receptor Under Estrogen Environment. J Mol Biol. 2011; 411(2): 334-349.

113. Ramachandran S, Liu P, Young AN, Yin-Goen Q, Lim SD, Laycock N, Amin MB, Carney JK, Marshall FF, Petros JA, Moreno CS. Loss of HOXC6 Expression Induces Apoptosis in Prostate Cancer Cells. Oncogene. 2005; 24: 188-198.

114. Riz I, Lee HJ, Baxter KK, Behnam R, Hawley TS, Hawley RG. 2009. Transcriptional Activation by TLX1/HOX11 İnvolves Gro/TLE Corepressors. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2009; 380: 361-365.

115. Roberts CW, Shutter JR, Korsmeyer SJ. Hox11 Controls the Genesis of the Spleen. Nature. 1994; 368:747-749.

116. Qian Y, Shirasawa S, Chen CL, Cheng L, Ma Q. Proper Development of Relay Somatic Sensory Neurons and D2/D4 İnterneurons Requires Homeobox Genes Rnx/Tlx-3 and Tlx-1. Genes Dev. 2002; 16: 1220-1233.

117. SH, Mak TW. Molecular Characterisation of Three Murine HOX11-Related Homeobox Genes, Tlx-1,2, and -3, and Restricted Expressionof Tlx-I during Embryogenesis. Develop. Growth & Differ. 1993; 35 (6): 655-663.

118. Lenti E, Farinello D, Yokoyama KK, Dmitry Penkov D, Castagnaro L, Lavorgna G, Wuputra K. et. all. Transcription factor TLX1 Controls Retinoic Acid Signaling to Ensure Spleen Development. Journal Clinical Investigation. 2016; 126(7): 2452-2464.

119. Hawley RG, Fong AZC, Reis MD, Zhang N, Lu M, Hawley TS. Transforming Function of the HOX11/TCL3 Homeobox Gene. Cancer Res. 1997; 57(2): 337-345.

120. Owens BM, Zhu YX, Suen TC, Wang PX, Greenblatt JF, Goss PE, Hawley RG. Specific Homeodomain–DNA İnteractions Are Required for HOX11-Mediated Transformation. Blood. 2003; 101(12): 4966-4974.

121. Merlo GR, Zerega B, Paleari L, Trombino S, Mantero, Levi S. 2000. Multiple Functions of Dlx Genes. Int. J. Dev. Biol. 2000; 44(6): 619-626.

122. Ferrari D, Harrington A, Dealy CN, Kosher RA. Dlx-5 in Limb Initiation in the Chick Embryo. Dev Dynamics. 1999; 216(1): 10-15.

123. Scherer SW, Heng HH, Robinson, GW, Mahon KA, Evans JP, Tsui LC. Assignment of the Human Homolog of Mouse Dlx3 to Chromo-Some 17q21.3-q22 by Analysis of Somatic Cell Hybrids and Fluorescence in Situhybridization. Mamm Genome. 1995; 6(4): 310-311.

124. Morasso MI, Yonescu R, Griffin CA, Sargent TD. Localization of Human Dlx-8 to Chromosome 17q21.3-q22 by Fluorescent in Situhybridization. Mamm Genom. 1997; 8(4): 302-303.

125. Mc Guinness T, Porteus MH, Smıga S, Bulfone A, Kingsley C, Qıu M, Liu JK, Long JE, Xu D, Rubenstein JLR. Sequence, Organization and Transcription of the Dlx-1 and Dlx-2 Locus. Genomics. 1996; 35(3): 473-485.

126. Simeone A, Acampora D, Pannese M, D'esposito M, Stornaiuolo A, Gulisano M, Mallamaci A, Kastury K, Druck T, Huebner K, Boncinelli E. Cloning and Characterization of Two Members of The Vertebrate Dlx Gene Family. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994; 91(6): 2250-2254.

127. Samee N, Geoffroy V, Marty C, Schiltz C, Vieux-Rochas M, Levi G, Vernejou MC. Dlx5, a Positive Regulator of Osteoblastogenesis, is Essential for Osteoblast-Osteoclast Coupling. The American Journal of Pathology. 2008; 173(3): 773-780.

128. Levi G. Role of FoxL2 and Dlx5/6 on Uterine Developmentand Function: Implications for BPES. UMR 7221CNRS/MNHN Evolution des Régulations Endocriniennes Muséum National d'Histoire Naturelle. Paris-France. 2014; 1-45.

129. Bellessort MB. Etude des Genes Dlx5/6 et Foxl2 Dans le Developpement et la Fonction de l'Uterus Chez la Souris. These de Doctorat de L'Universite Pierre et Marie Curie, These de Doctorat, 2015, Paris (Directeur de These: M LEVI Giovanni).

130. Bates MD, Schatzman LC, Lints T, Hamlin PE, Harvey RP, Potter SS. Structural and Functional Characterization of the Mouse Hlx Homeobox gene. Mamm Genome. 2000; 11(10): 836-842.

131. Hentsch B, Lyons I, Li R, Hartley L, Lints TJ, Adams JM, Harvey RP. Hlx Homeo Box Gene Is Essential for an Inductive Tissue Interaction That Drives Expansion of Embryonic Liver and Gut. Genes Dev. 1996; 10(1): 70-79.

132. Prahst C, Kasaai B, Moraes F, Jahnsen ED, Larrivee B, Villegas D, Pardanaud L. et all. The H2.0-Like Homeobox Transcription Factor Modulates Yolk Sac Vascular Remodeling in Mouse Embryos. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014; 34(7): 1468-1476.

133. Lints TJ, Hartley L, Parsons LM, Harvey RP. Mesoderm-Specific Expression of the Divergent Homeobox Gene Hlx During Murine Embryogenesis. Dev Dynamics. 1996; 205(4): 457-470.

134. Irving JA, Lala PK. Functional Role of Cell Surface Integrins on Human Trophoblast Cell Migration: Regulation by TGF-beta, IGF-II, and IGFBP-1. Exp Cell Res. 1995; 217(2): 419-427.

135. Rajaraman G, Murthi P, Quinn L, Brennecke SP, Kalionis B. Homeodomain Protein HLX Is Expressed Primarily in Cytotrophoblast Cell Types in the Early Human Placenta. Reprod Fertil Dev. 2008; 20(3): 357-367.

136. Rajaraman G, Murthi P, Brennecke SP, Kalionis B. Homeobox Gene HLX Is a Regulator of HGF/c-met-Mediated Migration of HumanTrophoblast-Derived Cell Lines. Biol Reprod. 2010; 83(4): 676-683.

137. Rajaraman G, Murthi P, Leo B, Brennecke SP, Kalionis B. Homeobox Gene HLX1 Is a Regulator of Colony Stimulating Factor-1 Dependent Trophoblast Cell Proliferation. Placenta. 2007; 28(10): 991-998.

138. Kawahara M, Pandolfi A, Bartholdy B, Barreyro L, Will B, Roth M, Okoye-Okafor UC, Todorova TI, Figueroa ME, Melnick A, Mitsiades CS, Steidl U. H2.0-Like Homeobox Regulates Early Hematopoiesis and Promotes Acute Myeloid Leukemia. Cancer Cell.2012; 22(2): 194-208.

139. Harris RM, Fly DE, Synder BG, et all. The Relationship of Bovine Crown Rump Measurement to Fetal Age. Agri-Practice. 1983; 4(1): 16-22.

140. Sağsöz H. Sıçanların Meme Dokusunda Gebelik, Laktasyon ve Laktasyon Sonrası Epidermal Büyüme Faktörü (EGFR) ve Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VGFR) Reseptörlerinin Dağılımının İmmunohistokimyasal Olarak Gösterilmesi. D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2009, Diyarbakır (Danışman: Prof. Dr. M. Aydın KETANİ).

141. Akbalik ME, Ketani MA. Expression of epidermal growth factor receptors and epidermal growth factor, amphiregulin and neuregulin in bovine uteroplacental tissues during gestation. Placenta. 2013; 34: 1232-1242.

142. Detre S, Saccani JG, Dowsett M. A ‘’Quik score’’ Method for İmmunohistochemical Semiquantitation: Validation for Oestrogen Receptor in Breast Carcinoms. J Clin Pathol. 1995; 48(9) : 876-878.

143. Daftary GS & Taylor HS. Endocrine regulation of HOX genes. Endocrine Reviews. 2006; 27(4): 331-355.

144. Taylor HS, Arici A, Olive D, Igarashi P. HOXA10 is Expressed in Response to Sex Steroids at the Time of Implantation in the Human Endometrium. J. Clin. Invest. 1998; 101(7):1379-1384.

145. Satokata I, Benson G & Maas R. Sexually Dimorphic Sterilityphenotypes in Hoxa10-deficient Mice. Nature. 1995; 374(6521): 460-463.

146. Godbole GB, Modi DN, Puri CP. Regulation of Homeobox A10 Expression in the Primate Endometrium by Progesterone and Embryonic Stimuli. Reproduction. 2007; 134(3): 513-523.

147. Benson GV, Lim H, Paria BC, Satokata I, Dey SK, Mass RL. Mechanisms of Reduced Fertility in Hoxa-10 Mutant Mice: Uterine Homeosis and Loss of Maternal Hoxa-10 Expression. Development. 1996; 122(9): 2687-2696.

148. Lim H, Ma L, Ma WG, Maas RL & Dey SK. Hoxa-10 Regulates Uterine Stromal Cell Responsiveness to Progesterone During Implantation and Decidualization in the Mouse. Mol Endocrinol. 1999;13(6): 1005-1017.

149. Yang Y, Chen X, Saravelos SH, Liu Y, Huang J, Zhang J, Chiu Li T. HOXA-10 and E-Cadherin Expressionin the Endometrium of Women with Recurrent İmplantation Failure and Recurrent Miscarriage. Fertility and Sterility. 2017; 107(1): 137-143.

150. Bagot CN, Troy PJ, Taylor HS. Alteration of Maternal Hoxa10 Expression by in Vivo Gene Transfection Affects İmplantation. Gene Ther. 2000; 7(16): 1378-1384.

151. Gui Y, Zhang J, Yuan L, Lessey BA. Regulation of HOXA-10 and İts Expression in Normal and Abnormal Endometrium. Molecular Human Reproduction. 1999; 5(9): 866-873.

152. Scotti M, Kmita M. Recruitment of 5′ Hoxa Genes in The Allantois is Essential for Proper Extra-Embryonic Function in Placental Mammals. Development. 2012; 139 (4): 731-739.

153. Taylor J, Ramos JG, Bosquiazzo VL, Toro MM, Luque EH. Developmental Exposure to Bisphenol A Impairs the Uterine Response to Ovarian Steroids in The Adult. Endocrinology. 2008; 149 (11): 5848-5860.

154. Cermik D, Karaca M, Taylor HS. HOXA10 Expression Is Repressed by Progesterone in the Myometrium: Differential Tissue-Specific Regulation of HOX Gene Expression in The Reproductive Tract. J Clin Endocrinol Metab. 2001; 86(7): 3378-3392.

155. Blitek A, Morawska E, Kiewisz J, Ziecik AJ. Effect of Conceptus Secretions on HOXA10 and PTGS2 Gene Expression, and PGE_2 Release in Co-cultured Luminal Epithelial and Stromal Cells of the Porcine Endometrium at the Time of Early İmplantation. Theriogenology. 2011; 76(5): 954-966.

156. Blitek A, Kiewisz J,Waclawık A, Kaczmarek MM, Ziecik AJ. Effect of Steroids on HOXA10 mRNA and Protein Expression and Prostaglandin Production in the Porcine Endometrium. J Reprod Dev. 2010; 56(6): 643-648.

157. Guo B, Tian Z, Han BC, Zhang XM, Yang ZM, Yue ZP. Expression and Hormonal Regulation of Hoxa10 in Canine Uterus During the Peri-implantation Period. Reprod Domest Anim. 2009; 44(4): 638-642.

158. Godbole G, Suman P, Malik A, Mosami G, Joshi N, Fazleabas A, ett.all. Decrease in Expression of HOXA10 in the Decidua After Embryo Implantation Promotes Trophoblast Invasion. Endocrinology 2017; 158(8):2618-2633.

159. Eun Kwon H, Taylor HS. The role of HOX Genes in Human İmplantation. Ann N Y Acad Sci. 2004; 1034:1-18.

160. Taylor HS, Vanden Heuvel GB, Igarashi P. A conserved Hox Axis in the Mouse and Human Female Reproductive System: Late Establishment and Persistent Adult Expression of the Hoxa Cluster Genes. Biol. Reprod. 1997; 57(6): 1338-1345.

161. Gendron RL, Paradis H, Hsieh-Li HM, Lee DW, Potter SS, Markoff E. Abnormal Uterine Stromal and Glandular Function Associated with Maternal Reproductive Defects in Hoxa-11 Null Mice. Biol Reprod. 1997; 56(5): 1097-1105.

162. Xu B, Geerts D, Bu Z, Ai1 J, Jin L, Li Y, Zhang H, Zhu G. Regulation of Endometrial Receptivity by the Highly Expressed HOXA9, HOXA11 and HOXD10 HOX-Class Homeobox Genes. Human Reproduction. 2014; 29 (4): 781-790.

163. Lin R, Jia H, Chen S, Zhao S. Expression Analysis of the Porcine Homeobox A11 Gene and Its Association with Litter Size in Large White Pigs. Czech J Anim Sci. 2016; 61(5): 243-249.

164. Zhang YM, Xu B, Rote N, Peterson L, Amesse LS. Expression of Homeobox Gene Transcripts in Trophoblastic Cells. Am J Obstet Gynecol. 2002;187(1): 24-32.

165. Becker D, Eid R, Schughart K. The Limb/LPM Enhancer of the Murine Hoxb6 Gene: Reporter Gene Analysis in Transgenic Embryos and Studies of DNA-Protein İnteractions. Pharmaceutica Acta Helvetiae. 1996; 71: 29-35.

166. Lopez R, Garrıdo E, Pına P, Hıdalgo A, Lazos M, Ochoas R, Salcedo M. HOXB Homeobox Gene Expression in Cervical Carcinoma. Int J Gynecol Cancer. 2006; 16(1): 329-335.

167. He B, Ni ZL, Kong SB, Wang HB. Homeobox Genes for Embryo Implantation: From Mouse to Human. Animal Model Exp Med. 2018; 1(1): 14-22.

168. Wu Y, Moser M, Bautch VL, Patterson C. HoxB5 Is an Upstream Transcriptional Switch for Differentiation of the Vascular Endothelium from Precursor Cells. Mol Cell Biol. 2003; 23(16): 5680-5691.

169. Wang Y, Wang C, Liu N, Hou J, Xiao W, Wang H. HOXC6 Promotes Cervical Cancer Progression via Regulation of Bcl-2. FASEB J. 2019; 33(3): 3901-3911.

170. Andermann P, Weınberg ES. Expression of zTlxA, a Hox11-like Gene, in Early Differentiating Embryonic Neurons and Cranial Sensory Ganglia of the Zebrafish Embryo. Dev Dynamics. 2001; 222(4):595-610.

171. Rakowski LA, Lehotzky EA, Chiang MY. Transient Responses to NOTCH and TLX1/HOX11 Inhibition in T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia/ Lymphoma. PLoS One. 2011; 6(2):e16761.

172. Huppertz B, Abe E, Murthi P, Nagamatsu T, Szukiewicz D, Salafia C. Placental Angiogenesis, Maternal and Fetal Vessels-a Workshop Report. Placenta. 2007; 28: 94-96.

173. Proudfoot A, Axelrod HL, Geralt M, Fletterick RJ, Yumoto F, Dea con AM, et all. Dlx5 Homedomain/DNA Complex; Structure, Binding and Effect of Mutations Related to Split-Hand and Foot Malformation Syndrome. J Mol Biol. 2016; 428(6): 1130-1141.

174. Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Tulac S, Overgaard MT, Dosiou C, Le Shay, N, Nezhat CN, Kempson R, Lessey BA, Nayak NR, Giudice L. Molecular Phenotyping of Human Endometrium Distinguishes Menstrual Cycle Phases and Underlying Biological Processes in Normo-Ovulatory Women. Endocrinology. 2006; 147(3): 1097-1121.

175. Bellessort B, Name NN, Fontaine A, Hagneau A, Fernandes O, Imadalou Lim E, Gitton Y, Levi G. DLX5/6 and FOXL2 in the Uterus: Regulation and Function. Présenté au meeting annuel Ideal. CNRS, Muséum National d ’Histoire Naturelle Paris. 2012; 1-45.

176. Bellessort B, Cardinal ML, Bachelot A, Nême NN, Garagnani P, Pirazzini C, Barbieri O. et all. Dlx5 and Dlx6 Control Uterine Adenogenesis During Post-Natal Maturation: Possible Consequences for Endometriosis. Human Molecular Genetics. 2016; 25(1); 97-108.

177. Cheng HC, Zhang FW, Jiang CD, Li FE, Xiong YZ, Deng CY. Isolation and İmprinting Analysis of the Porcine DLX5 Gene and Its Association with Carcass Traits. Anim Genet. 2008; 39(4): 395-399.

178. Pereyra S, Sosa C, Bertoni B, Sapiro R.Transcriptomic Analysis of Fetal Membranes Reveals Pathways İnvolved in Preterm Birth. BMC Medical Genomics. 2019; 12(53):1-14.

179. Zadora J, Singh M, Herse F, Przybyl L, Haase N, Golic M, Yung HW, Huppertz B. et. all. Disturbed Placental Imprinting in Preeclampsia Leads to Altered Expressionof DLX5, a Human-Specific EarlyTrophoblast Marker. Circulation. 2017; 136(19): 1824-1839.

180. Murthi P, Doherty V, Said J, Donath S, Brennecke SP, Kalionis B. Homeobox Gene HLX1 Expression Is Decreased inIdiopathic Human Fetal Growth Restriction. American Journal of Pathology. 2006; 168(2): 511-518.

181. Quinn LM, Latham SE, Kalionis B. Homeobox Gene HB24, a Regulator of Hematopoiesis, Is a Candidate for Regulating Differentiationof the Extra-Embryonic Trophoblast Cell Lineage. Reprod Fertil Dev. 1997; 9(6): 617-623.

182. Quinn LM, Kilpatrick LM, Latham SE, Kalionis B. Homeobox Genes DLX4 and HB24 Are Expressed in Regions of Epithelial-Mesenchymal Cell İnteraction in the Adult Human Endometrium. Mol Hum Reprod. 1998; 4(5); 497-501.

183. Bates MD, Wells JM, Venkatesh B. Comparative Genomics of the Hlx Homeobox Gene and Protein: Conservation of Structure and Expression From Fish to Mammals. Gene. 2005; 352: 45-56.

184. Rajaraman G, Murthi P, Pathirage N, Brennecke SP, Kalionis B. Downstream Targets of Homeobox Gene HLX Show Altered Expression in Human Idiopathic Fetal GrowthRestriction. Am J Pathol. 2010; 176 (1): 278-287.

185. Yuen N, Brennecke SP, Umstad MP, Yong HEJ, Borg AJ, Rajaraman G. et. all. Expression of Homeobox Gene HLX and Its Downstream Target Genes Are Altered in Placentae From Discordant Twin Pregnancies. Twin Res Hum Genet. 2018; 21(1): 42-50.

186. Liu H, Murthi P, Qin S, Kusuma GD, Borg AJ, Knöfler M. et.all. A Novel Combination of Homeobox Genes is Expressed in Mesenchymal Chorionic Stem / Stromal Cells in First Trimester and Term Pregnancies. Reprod Sci. 2014; 21(11): 1382-1394.

187. Gabrielsen M, Nerhus M. Placentation and Expression of Homeobox Genes in Extravillous Trophoblasts in First Trimester Pregnancies. University of Oslo. Student Thesis at Faculty of Medicine, 2006, Oslo (Supervisors: Professor Borghild Roald, PhD Bill Kalionis).

188. Murthi P, Bates MD, Sankaran G, Brennecke SP, Kalionis B. Role of Homeobox Gene Hlx Expressıon ın Normal Placental Developmemt. Reproduction Fertility and Development. 2004; 16(9): 271-271.

189. Li Y, Behringer RR. Esx1 is an X-Chromosome İmprinted Regulator of Placental Development and Fetal Growth. Nature Genetics. 1998; 20(3): 309-311.

190. Sapin V, Blanchon L, Serre A. F, Lemery D, Dastugue B, Ward SJ. Use of Transgenic Mice Model for Understanding the Placentation: Towards Clinical Applications in Human Obstetrical Pathologies?. Transgenic Res. 2001; 10(5): 377-398.

9. ÖZGEÇMİŞ

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Adı	Uğur	**Soyadı**	TOPALOĞLU
Doğum Yeri	Antakya	**Doğum Tarihi**	16/10/1989
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti	**Tel**	05395457716
E-posta	ugur.topaloglu@dicle.edu.tr		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Doktora	D. Ü Sağlık Bil. Enst. Veteriner Histoloji ve Embriyoloji ABD	
Lisans	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2014
Lise	Antakya Hacı Ali Nurlu Lisesi	2006

İŞ DENEYİMİ

Görevi	**Kurum**	**Süre(Yıl-Yıl)**
Araştırma Görevlisi	Dicle Üniversitesi Veterine Fakültesi	5

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
65	73.75							

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	73,95	74,93	67
(Diğer) Puanı			

10. EKLER

EK-1. Etik Kurul Karar Belgesi

T.C.
ÇEVRE VE ORMAN BAKANLIĞI
Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü

Sayı : B.18.0.DMP.0.03.05.010.03/ 159 /5316 — 25/06/2009
Konu : Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu Kararı — 37858

YÜKSEK ÖĞRETİM KURULU BAŞKANLIĞINA
(9. Cad. 06539 Bilkent - ANKARA)

Ankara Üniversitesi Rektörlüğü'nün 09.04.2009 tarih ve 38 sayılı yazısında; Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından, iyi veterinerlik uygulamaları kapsamında teşhis ve tedavi için hayvanlara yapılan müdahalelerde (klinik uygulamalar, ölü hayvanla veya ölmüş hayvan dokusu ile yapılan çalışmalar, mezbaha materyalleri, kan alma gibi) Etik Kurul'dan izin alınmasına gerek bulunmadığına dair alınan 2009-39-183 sayılı ilke kararı Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu (HADMEK)'na bildirilmiştir.

Söz konusu karar, HADMEK'in 05.06.2009 tarihli toplantısında gündeme alınmış olup, bahse konu toplantıda **"Araştırma kapsamı dışında teşhis ve tedavi amaçlı hayvanlara yapılan; klinik uygulamalar, ölü hayvanla veya ölmüş hayvan dokusu ile yapılan çalışmalar, mezbaha materyalleri, atık fetuslar, süt sağma, dışkı veya altlık örneği toplama, kan alma, swap ile örnek alma vb. müdahalelerde Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izni alınmasına gerek olmadığına"** dair karar alınmıştır.

Bu kapsamda, HADMEK'in yukarıda belirtilen 05.06.2009 tarih ve 12 sayılı kararı ile ilgili olarak kurumunuza bağlı tüm birimlerin bilgilendirilmesi hususunda;

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Prof. Dr. M. Kemal YALINKILIÇ
Bakan a.
Genel Müdür

Dağıtım:
- Milli Eğitim Bakanlığı
  (Strateji Geliştirme Başkanlığı)
- Sağlık Bakanlığı
  (Strateji Geliştirme Başkanlığı)
- Tarım ve Köyişleri Bakanlığı
  (Strateji Geliştirme Başkanlığı)
- Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı
- Yüksek Öğretim Kurulu
- TÜBİTAK

Çevre ve Orman Bakanlığı Kat:16 A Blok Söğütözü/ANKARA : 207 60 70 : 287 11 78
: http://www.cevreorman.gov.tr/ & http://www.milliparklar.gov.tr : merkezetikkurulu@gmail.com

EK-2. Yayımlanan Makale Bilgisi

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi
http://www.dicle.edu.tr/veteriner-fakultesi-dergisi
Araştırma Makalesi/Research Article
ISSN:1307-9972 e-ISSN:1308-0679

Kekliklerin Ovaryum ve Testis Dokularında Bazı Metabolik Hormonların Dağılımı

Uğur TOPALOĞLU[1,a,✉], Mehmet Erdem AKBALIK[1,b], Hakan SAĞSÖZ[1,c], Muzaffer Aydın KETANİ[1,d], Berna GÜNEY SARUHAN[1,e]

[1] Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKIYE
[a]ORCID: 0000-0002-8306-491X; [b]ORCID: 0000-0001-9898-0593; [c]ORCID: 0000-0002-5456-697X
[d]ORCID: 0000-0002-1546-9747; [e]ORCID: 0000-0002-5111-5524

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
05.10.2019	22.12.2019	31.12.2019

Öz

Sunulan çalışma keklik ovaryum ve testisinde ghrelin, leptin ve obestatin hormonlarının dağılımlarını göstermek amacıyla yapılmıştır. Materyal olarak 5 dişi (360-420 g) ve 5 erkek (480-540 g) olmak üzere toplam 10 tane sağlıklı yetişkin keklik (Chukar partridge) kullanıldı. Keklik genital sisteminden elde edilen doku örnekleri %10'luk formol-alkol solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin histolojik işlemlerden geçirildi ve peptidlerin lokalizasyonunu göstermek amacı ile immunohistokimya boyaması yapıldı. Bu peptidlerin testisin seminifer tubullerinde ve bazı interstisyel hücrelerinde; ovaryumun ise germinatif epitelinde, folliküllerde ve stromadaki bazı bağ doku hücrelerinde lokalize olduğu gözlendi. Böylece incelenen peptidlerin kanatlı genital sistem organlarından testis ve ovaryum üzerinde fonksiyonel bir etkileri olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Ghrelin, Leptin, Obestatin, Ovaryum, Testis

Distribution of Some Metabolic Hormones in Partridge's Ovary and Testicular Tissues

Abstract

The study was conducted to show the distribution of ghrelin, leptin and obestatin hormones in partridge ovary and testis. A total of 10 healthy adult partridges (Chukar partridge) were used as material 5 females (360-420 g) and 5 males (480-540 g). Tissue samples obtained from the partridge genital system were detected in 10% formol-alcohol solution and then subjected to routine histological procedures and immunohistochemical staining was performed to show the localization of the peptides. These peptides were observed to be localized in seminiferous tubules and some interstitial cells of testes and germinative epithelium of ovary, follicles and some connective tissue cells in stroma. Thus, it was thought that the peptides examined could have a functional effect on testes and ovaries from poultry genital system organs.

Key Words: Ghrelin, Leptin, Obestatin, Ovary, Testes

GİRİŞ

Kanatlı erkek üreme sistemi, testisler, epididimis, duktus deferens ve kloakadaki erektil organı içerir. Bu türlerde testisler memelilerden farklı olarak karın boşluğunda yer alır ve işlevlerini 41-42 ºC vücut sıcaklığında sürdürür. Testislerin işlevlerini yerine getirmesi için termoregülasyonunun hava keseleri tarafından sağlandığı düşünülmektedir. Testisler dıştan fibroelastik yapıda olan bir kapsül ile sarılmıştır. Tunika albuginea olarak adlandırılan bu kapsül memelilerin aksine çok ince olup organı septalara ayırmamaktadır. Bununla birlikte seminifer tubulusları oluşturmak üzere iplik şeklinde çok ince bir bağ dokusu tunikadan içeri girmektedir. Ayrıca kanatlı testisinin ara dokusunda kan ve lenf damarları, leydig hücreleri (intersitisyel hücreler), makrofajlar, fibrositler, miyofibroblastlar ve sinir tellerinin bulunduğu ifade edilmiştir (1, 2, 3).

Kanatlı dişi genital sisteminin fonksiyonel gonadı sol ovaryum olup abdominal kavitenin sol tarafında, orta hatta yakın olacak şekilde yerleşmiş düzensiz şekilli, pembemsi bir organdır. Ovaryumlar dorsal vücut duvarına mezovaryum denen bir periton yaprağı ile tutturulmuştur. Mezovaryumda kan damarı, fibröz bağ dokusu, düz kas ve sinirler yer alır ve bunların hepsi birden ovaryan sapını meydana getirirler. Ovaryum, dışta yumurta hücrelerini barındıran folliküllerin bulunduğu korteks ile içte bağ dokusundan meydana gelen vasküler bir medulladan oluşur. Ovaryumun yüzeyi kübik germinal epitel ile kaplanmış ve dış katmanlar ile ara stromal alanlar korteks olarak ifade edilmiştir. Korteks germinal epitel, stroma ve 30 ila 400 µm arasında değişen farklı büyüklükteki ovalardan meydana gelmektedir. Ayrıca kortikal stromada vakuoler, pigment ve intertisyel olarak adlandırılan

11. TEZ SAVUNABİLİRLİK ve ORJİNALLİK BEYAN FORMU

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ SAVUNABİLİRLİK VE ORJİNALLİK BEYAN FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Uğur TOPALOĞLU
ÖĞRENCİ NO	16870001
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2019-2020
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI/BİLİM DALI	
PROGRAM	☐ Yüksek Lisans ☒ Doktora
TEZ BAŞLIĞI	İNEKLERDE GEBELİK SÜRESİNCE PLASENTADA BAZI HOMEOBOX (HOX) PROTEİNLERİNİN DAĞILIMI
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	92
BENZERLİK ORANI	**% 3**
RAPORLAMA TARİHİ	13 / 07 / 2020

Yukarıda başlığı gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam **92** sayfalık kısmına ilişkin, 13/07/2020 tarihinde şahsım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **% 3**'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

☒ Kabul/Onay sayfaları hariç,
☒ Kaynakça hariç
☐ Alıntılar hariç/dâhil
☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve bu Uygulama Esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Uğur TOPALOĞLU

14.07.2020

Yukarıda bilgileri verilen tezi bilimsel, şekilsel ve etik kurallar çerçevesinde inceledim. Tezin Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği ve Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olduğunu onaylarım. Jüri karşısında savunabilir olduğunu bilgilerinize arz ederim.

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Aydın KETANİ

14.07.2020

Formdaki bilgiler bilgisayar ortamında doldurulmalıdır. El yazısı ile doldurulan formlar geçersiz sayılmaktadır.

KGK-FRM-343/00

11.1. Orjinallik Raporu

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 13-Tem-2020 23:54 +03
NUMARA: 1357127885
Kelime Sayısı: 17065
Gönderildi: 1

Uğur TOPALOĞLU SON RAPOR
Uğur Topaloğlu tarafından

Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik
%3	Internet Sources: %1 Yayınlar: %2 Öğrenci Ödevleri: %1

< 1% match (yayınlar)
KARACA, Turan and YÖRÜK, Mecit. "Ruminant Plasentalarının Yapı ve Fonksiyonu", Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2010.

< 1% match (yayınlar)
Marisa Di Matteo, Donatella Albanese, Loredana Liguori. "Alternative Method for Hazelnuts Peeling", Food and Bioprocess Technology, 2011

< 1% match (yayınlar)
AKBALIK, Mehmet Erdem, ERDOĞAN², Serkan, SARUHAN, Berna Güney and SAĞSÖZ, Hakan. "Keklik (Alectoris chukar) bursa Fabricius'unda immun sistem hücrelerinin dağılımı", Selçuk Üniv. Veteriner Fakültesi, 2017.

< 1% match (28-Nis-2016 tarihli internet)
https://spandidos-publications.com/mmr/3/3/441/download

< 1% match (yayınlar)
Gulistan Sanem Saribas, Candan Ozogul, Meral Tiryaki, Ferda Alpaslan Pinarli, Sevtap Hamdemir Kilic. "Effects of uterus derived mesenchymal stem cells and their exosomes on asherman's syndrome", Acta Histochemica, 2020

< 1% match (yayınlar)
Sagsoz, H.. "The expression of vascular endothelial growth factor and its receptors (flt1/fms, flk1/KDR, flt4) and vascular endothelial growth inhibitor in the bovine uterus during the sexual cycle and their correlation with serum sex steroids", Theriogenology, 201106

< 1% match (23-Kas-2019 tarihli internet)
http://www.cchd.org.tr/application/files/4115/5353/3286/abstract_book_2018.pdf

< 1% match (22-Eki-2019 tarihli internet)
https://www.futourismcongress.com/ftp/dosyalar/bildiri-kitabi-2019.pdf

< 1% match (06-May-2019 tarihli öğrenci ödevleri)
Submitted to Inonu University on 2019-05-06

< 1% match (04-Oca-2020 tarihli internet)
https://www.scilit.net/articles/10/20/Newest?Search=doi%3A10.29254%2F%2A+OR+doi%3A10.31718%2F%2A&has_free_version=&open-access=&preprints=

< 1% match (yayınlar)
TETİK, Kerem and DANIŞMAN, Nuri. "İNTRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİNDE VE NORMAL FETAL GELİŞİMDE GEBE SERUMLARINDA D-DİMER ve FIBRINOJEN DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI", DNT Ortadoğu Yayıncılık Ltd. Şti., 2013.

< 1% match (yayınlar)