



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**GEBELİK SÜRESİNCE İNEK PLASENTASINDA LEPTİN, GHRELİN,
OBESTATİN İLE RESEPTÖRLERİNİN DAĞILIMI**

Bayram BAYRAM

DOKTORA TEZİ

Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ

DİYARBAKIR-2020



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Bayram BAYRAM'ın hazırladığı **“Gebelik Süresince İnek Plasentasında Leptin, Ghrelin ve Obestatin ile Reseptörlerinin Dağılımı”** başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:/.../20..

Danışman Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı Prof. Dr. M.Aydın KETANİ

Üye Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ

Üye Doç. İbrahim KÜÇÜKASLAN

Üye Doç. Dr. Deniz KORKMAZ

Üye Doç. Dr. İsmail Şah HAREM

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../20.. 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.

18/06/2020

Bayram BAYRAM

TEŞEKKÜRLER

Lisansütü eğitimim süresince emeklerini esirgemeyen başta danışmanım Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ hocam olmak üzere, Anabilim Dalımız Öğretim Üyeleri Prof. Dr. M. Aydın KETANİ, Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN ve Doç. Dr. M. Erdem AKBALIK hocalarıma,

Tez dönemim süresince arkadaşlığı ve yardımlarıyla sürekli yanımda olan Araştırma görevlisi Uğur TOPALOĞLU'na,

Tez yazım döneminde sevgisi ve desteğini eksik etmeyen sevgili eşim Ruken MİROĞLU BAYRAM'a ve mutluluğun en güzelini yaşatan kızım Lilav BAYRAM'a,

Hayatım boyunca desteklerini eksik etmeyen sevgili aileme teşekkürü borç bilirim.

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri (DÜBAP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: VETERİNER.19.005)

İÇİNDEKİLER

Ön Sayfalar	Sayfa No
ONAY.....	I
BEYAN.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	X
KISALTMALAR LİSTESİ.....	XI
1. ÖZET SAYFALAR	
1.1. TÜRKÇE ÖZET.....	1
1.2. İNGİLİZCE ÖZET.....	3
2. TEZ METNİ	
2.1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	5
2.2. GENEL BİLGİLER	9
2.2.1- Uterus Embriyolojisi.....	10
2.2.2- Uterusun Anatomisi.....	10
2.2.3- Uterusun Histolojisi.....	10
2.2.4- Gebelik ve Plasentasyon.....	11
2.2.5- Metabolik Hormonlar ve Reseptörleri.....	14
1. 2.2.5.1.1- Leptin ve Reseptörü.....	14
2. 2.2.5.1.2- Leptin ve Üreme Sistemi.....	15
3. 2.2.5.2.1- Ghrelin ve Reseptörü.....	15
4. 2.2.5.2.2- Ghrelin ve Üreme Sistemi.....	17
5. 2.2.5.3- Obestatin ve Reseptörü.....	18
2.3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21

1. 2.3.1- Doku Örneklerinin Toplanması.....	22
2. 2.3.2- Histolojik Takip.....	22
3. 2.3.3- İmmunohistokimyasal Boyama.....	22
4. 2.3.4- Yarı Kantitatif Değerlendirme.....	24
5. 2.3.5- İstatiksel Analizler.....	24
2.4. BULGULAR.....	26
2.4.1 Morfoloji	26
2.4.2 Genel Histoloji.....	26
2.4.3 İmmunohistokimyasal Ekspresyonlar.....	29
2.4.3.1 Leptin.....	33
2.4.3.2 Leptin Reseptörü (OB-R ya da Lep-R).....	36
2.4.3.3 Ghrelin.....	39
2.4.3.4 Ghrelin Reseptörü (GHS-R).....	42
2.4.3.5 Obestatin.....	45
2.4.3.6 Obestatin Reseptörü (GPR39).....	48
2.5. TARTIŞMA	51
2.6. SONUÇ ve ÖNERİLER	63
3.KAYNAKLAR.....	64
4. ÖZGEÇMİŞ.....	80
5.EKLER.....	81
5.1. Yayımlanan Makale.....	81
6. ORJİNALLİK RAPORU.....	82

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil-2.3.1.** İnek fötüsünde baş-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki ilişki (2. dönem) **21**
- Şekil-2.4.2.1.** (A), Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük), (B), ikinci döneminde (111 günlük), (C) , üçüncü döneminde (202 günlük), gözlenen inek plasentasının histolojik görüntüsü. FE: Fötal epitelyum, FS: Fötal stroma, LE: Luminal epitel, MS: Maternal stroma, B: Endometriyal bez, M: Miyometriyum, Bar: 100 µm. **28**
- Şekil-2.4.2.2.** (A,B), Gebelik süresince inek interplasentomal bölgenin histolojik görüntüsü L:Lumen, LE: Luminal epitel S:Stroma B:Bez, Bar: 50 µm. **29**
- Şekil-2.4.3.1** (A,B,C) Plazenta ve (D,E,F) uterusaleptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörler için yapılan negatif kontrol immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma B: Endometriyum bezi, D: Damar, M: Miyometriyum, ME: Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitelyum, FS: Fötal stroma Bar: (A-D) 50 µm, (E) 100, (F) 25 **31**
- Şekil-2.4.3.2.** Leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörler için mide dokusunda yapılan pozitif kontrol immunreaktivitesi. MB: Mide bezleri, TM: Tunica muskularis Bar: 50 µm **32**
- Şekil-2.4.3.1.1.** (A), Gebeliğin ilk döneminde (59 günlük), (B), ikinci döneminde (157 günlük), (C), üçüncü döneminde (214 günlük), maternal ve fötal plasentadaki gözlenen Leptin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm. **34**

Şekil-2.4.3.1.2 (A), Gebeliğin ilk döneminde (71 günlük), (B), ikinci döneminde (113 günlük), (C), üçüncü döneminde (202 günlük), uterusda gözlenenLeptin immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, D: Damar, yıldız: Bez epiteli, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 50 µm. **35**

Şekil-2.4.3.2.1(A), Gebeliğin ilk döneminde (80 günlük), (B), ikinci döneminde (106 günlük), (C), ikinci döneminde (106 günlük), (D), üçüncü döneminde (231 günlük), maternal ve fetal plasentada gözlenen Leptin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fetal epitel, FS: Fetal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, D: Damar, Bar:25 µm. **37**

Şekil-2.4.3.2.2(A), Gebeliğin ilk döneminde (83 günlük), (B), ikinci döneminde (128 günlük), (C), üçüncü döneminde (207 günlük), uterusda gözlenenLeptin immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 25 µm **38**

Şekil-2.4.3.3.1 (A),Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük), (B), ikinci döneminde (133 günlük), (C), üçüncü döneminde (207 günlük), (D), üçüncü döneminde (207 günlük), maternal ve fetal plasentadaki gözlenen Ghrelin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fetal epitel, FS: Fetal stroma, D: Damar,

Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi,
Bar:25 µm. **40**

Şekil-2.4.3.3.2(A), Gebeliğin ilk döneminde (67 günlük), (B), ikinci döneminde (137 günlük), (C) ,üçüncü döneminde (202 günlük), uterusda gözlenenGhrelin immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, Bar: 25 µm. **41**

Şekil-2.4.3.4.1(A), Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük), (B), ikinci döneminde (102 günlük), (C), üçüncü döneminde (231 günlük), maternal ve fetal plasentadaki gözlenen Ghrelin Reseptörünün (GHS-R) immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fetal epitel, FS: Fetal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm **43**

Şekil-2.4.3.4.2(A), Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük), (B), ikinci döneminde (106 günlük), (C),üçüncü döneminde (271 günlük), (D), üçüncü döneminde (231 günlük), uterusda gözlenenGhrelin Reseptörü (GHS-R) immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 50 µm. **44**

Şekil-2.4.3.5.1 (A), Gebeliğin ilk döneminde (63 günlük), (B), ikinci döneminde (111 günlük), (C), üçüncü döneminde (202 günlük), maternal ve fetal plasentadaki gözlenen Obestatin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fetal epitel, FS: Fetal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm **46**

Şekil-2.4.3.5.2(A), Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük), (B), ikinci döneminde (140 günlük), (C), üçüncü döneminde (214 günlük), uterustagözlenenObestatin immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 50 µm. **47**

Şekil-2.4.3.6.1 (A), Gebeliğin ilk döneminde (67 günlük), (B), ikinci döneminde (138 günlük), (C), üçüncü döneminde (231 günlük), maternal ve fetal plasentadaki gözlenen Obestatin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fetal epitel, FS: Fetal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm **49**

Şekil-2.4.3.6.2 (A), Gebeliğin ilk döneminde (83 günlük), (B), ikinci döneminde (127 günlük), (C), üçüncü döneminde (214 günlük), (D), birinci döneminde (67 günlük), uterusta gözlenenObestatin reseptörü (GPR39) immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: (A) 25 µm, (B-D) 50 µm. **50**

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Baş sağrı uzunluklarına göre gebelik süreleri 25

Tablo 2.2. Gebelik süresince feto-maternal dokular ile interplasental bölgedeki uterus mukozasındaki leptin, ghrelin, obestatin ve reseptörlerinin (Lep-R, GHS-R ve GPR39) ekspresyon yoğunlukları 30

KISALTMALAR

ACTH	Adrenokortikotropin Hormon
APES	3-AminoPropil-Etoksisilan
BE	Bez Epitel
CL	Korpus Luteum
CRL	Baş-Sağrı uzunluğu
DAB	3'3-diaminobenzidine hydrochloride
FE	Fötal Epitel
FS	Fötal Stroma
GH	Büyüme Hormonu
GHS-R	Büyüme hormonu sekretagogu reseptörü
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GOAT	Ghrelin O-asiltransferaz
GPCR	G-protein çiftli reseptörü
GPR39	G-Protein Coupled Receptor
LE	Luminal Epitel
LEP-R	Leptin Reseptörü
LH	Lüteinleştirici hormon
ME	Maternal Epitel
MS	Maternal Stroma
OB-R	Leptin Reseptörü

PBS	Phosphate Buffer Solüsyonu
PL-II	Plasental Laktojen 2
PpGHREL	Preproghrelin Geni
PRL	Prolaktin Hormonu
TGC	Trofoblastik Dev Hücre
UTC	Tek Çekirdekli Trofoblast Hücresi



1.1. ÖZET

Gebelik Süresince İnek Plasentasında Leptin, Ghrelin, Obestatin İle Reseptörlerinin Dağılımı

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Bayram BAYRAM

Danışmanı: Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ

Anabilim Dalı: Veteriner Histoloji ve Embriyoloji

Amaç: Bu çalışmada amaç, inek plasentasında gebelik süresince Leptin, Ghrelin ve Obestatin ile reseptörlerinin hücre lokalizasyonları ve olası fizyolojik fonksiyonlarının belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 44 adet gebe Holstein inek uterusu ve plasentası kullanıldı. Uterus ve plasentaların gebeliğin hangi dönemine ait olduğunu belirlemek için fötusların baş-sağrı uzunluğu ölçülüp, yaş tayinleri yapıldı. Doku örnekleri ise gebe kornunun plasentomal ve interplasentomal olmak üzere iki farklı bölgesinden alınarak %10 nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin histolojik takipten sonra parafinde bloklanan dokulardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak lamlara yerleştirildi. Elde edilen kesitlerde leptin, ghrelin ve obestatin ve bunlara ait reseptörleri (Lep-R, GHS-R, GPR39) belirlemek amacıyla strepavidin peroksidaz yöntemi ile boyandı.

Bulgular: Gebelik süresince plasentanın fötal trofoblast ve maternal epitel hücrelerinde, uterusun luminal ve bez epitel hücrelerinin sitoplazmalarında leptin, ghrelin ve obestatin ve bunlara ait reseptörleri (Lep-R, GHS-R, GPR39) için pozitif immunreaksiyonlar belirlendi. Fötomaternal stromal hücreler ve uterusdaki stromal hücrelerin bu faktörler için zayıf immunreaksiyonlar gösterdiği gözlemlendi. Özellikle obestatinin fötal trofoblastlarda gebeliğin her üç döneminde de güçlü bir ekspresyon gösterdiği saptandı.

Sonuç:İneklerde gebeliğin farklı dönemlerinde plasentanın fto-maternal bölümü ile interplasentomal bölgedeki uterus mukozasından leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörleri (Lep-R, GHS-R, GPR39) değişik oranlarda lokalize olması, diğer memeli türlerinde olduğu gibi plasental gelişimde ve gebeliğin devamlılığında bu faktörlerin ineklerde de önemli olduğunu göstermiştir. Plasentasyon süresince leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörleri (Lep-R, GHS-R, GPR39) lokalize oldukları bu hücrelerin büyümesi, farklılaşması, migrasyonu ve hayatta kalma sürelerinin düzenlenmesinde fizyolojik bir rol oynayabileceğini gl bir şekilde desteklemiştir.

Anahtar kelimeler: İnek, Placenta, Leptin, Ghrelin, Obestatin, OBR, GHS-R, GPR39

1.2. ABSTRACT

Distribution of Leptin, Ghrelin, Obestatin and Receptors in Cow Placenta During Pregnancy

Student's Surname and Name: Bayram BAYRAM

Adviser of thesis: Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ

Department: Veterinary Histology and Embryology

Aim: The purpose of this study was to determine the cell localization and possible physiological functions of Leptin, Ghrelin and Obestatin and Receptors during pregnancy in cow placenta.

Materials and Methods: In our study, 44 pregnant Holstein cow uterus and placenta were used. To determine the period of pregnancy of the uterus and placenta, the forehead-rump length of the fetuses were measured and age determinations were made. Tissue samples were taken from placentomal and interplacentomal pregnant cornu, and fixed in 10% neutral formalin solution. Following routine histological procedure, the tissues were blocked in paraffin. 5 micrometer sections were taken from the prepared blocks and placed on slides. In the sections obtained, to determine leptin, ghrelin and obestatin and its receptors (Lep-R, GHS-R, GPR39) streptavidin peroxidase method was applied.

Results: Localization of leptin, ghrelin, obestatin and its receptors (Lep-R, GHS-R, GPR39) from the uterine mucosa in the interplacentomal region and the fetal/maternal part of the placenta at different periods of pregnancy in cows, It has shown that these factors are important in placental development and maintenance of pregnancy, as in other mammalian species. It strongly supported that leptin, ghrelin,

obestatin and their receptors (Lep-R, GHS-R, GPR39) may play a physiological role in growth, differentiation, migration and regulation of survival time during placentation.

Key words: Cow, Placenta, Leptin, Ghrelin, Obestatin, OBR, GHS-R, GPR39



2.1-GİRİŞ VE AMAÇ

Üreme hayvancılık işletmelerinin vazgeçilmez öğelerinden biridir (1). İşletmelerde reproduktif performans hedeflerine ulaşamaması ciddi ekonomik kayıplara neden olmakta. Özellikle, reproduktif sürü sağlığında amaç ineklerin buzağıladıktan sonra optimal sürede tekrar gebe kalmalarını sağlamaktır. Dolayısıyla da, iki buzağılama arasındaki süreyi ekonomik sınırlar içinde tutmak gerekir (2). İneklerin doğumdan sonra en kısa sürede tekrar gebe kalması, karlılık için vazgeçilmez bir unsurdur (3). Bu bağlamda da, ekonomik kayıpların önüne geçebilmek için gebelik süresince etkin rol oynayan hormonal ve moleküler mekanizmaların en iyi şekilde anlaşılması gerekir.

Dişi üreme sisteminin önemli bir organı olan uterus, yeni bir canlıyı oluşturmak için gerekli donanıma sahip bir organdır. Kas kontraksiyonları sayesinde spermatozoonların ovidukta iletilmesi, fötüs ve plasantanın dışarı atılması, konseptusun gelişimi, plasentaya maternal katkı, siklusun kontrolü ve luteolizisi, absorpsiyon ve fagositoz gibi birçok önemli fonksiyonu yerine getirir. Bilindiği gibi insan ve memeli hayvanlarda üreme, olgun erkek (spermatozoon) ve dişi (ovum) eşey hücrelerinin birleşmesi ile meydana gelen zigot ve bu hücrenin bölünüp gelişerek önce embriyo daha sonra da fötüsü şekillendirmesi ile karakterize olan bir süreci kapsar. Prenatal dönemde meydana gelen bu olaylar memelilerde uterus içinde devam eder ve bu sayede uterus hem yeni bir canlının oluşması hem de türlerin devamlılığının sağlanmasına aracılık ederek yaşamın temel amaçlarından biri olan üremeye hizmet etmiş olur. Bunun için ise başarılı bir gebeliğe ihtiyaç vardır ki, bu da embriyonik gelişim ve uterus arasında karşılıklı etkileşim ile gerçekleşebilecek

dinamik bir süreci gerektirir. Bu süreçte uterus; östrojen ve progesteron başta olmak üzere birçok hormonal uyarımın hedef organıdır ve bu etkileşimlerin uterusun gebeliğe hazırlanmasında ve devamlılığında önemli rolleri vardır (4).

Vivipar hayvanlarda, fetus ve anne arasında besinlerin, gazların, hormonların ve atık ürünlerin fizyolojik değişimini sağlayan bir bağlantı olması gerekir (5). Memelilerde bu organ plasentadır ve öteniyen (plasental) memelilerde oldukça gelişmiştir. Tüm ötener plasentalar koryo-allantoik zardan gelişmesine rağmen, memelilerde çok çeşitli plasenta tipleri ve yapıları mevcuttur. Plasenta, memelilerde allantoisden koryona doğru ilerleyen damarlar ile koryonun uterus epiteline füzyonundanya da bağlanmasından (apozisyonundan) gelişir(6). Bundan dolayıda, memelilerde plasenta, gebelik süresince fetusun intrauterin gelişimi ve büyümesi için anahtar bir öneme sahiptir.

Plasentaların sınıflandırılması klasik olarak şekil ve yapıya dayanmaktadır.İnek plasentası, fötal doku (kotiledonlar) ile non-glandular uterus epitelinin (Karankullar)karşı karşıya gelmesi sonucu çok sayıda küçük bağlantı alanına sahip olduğu için kotiledonarplasenta(7) olarak sınıflandırılır.Koryon villusları, fetal doku üzerinde oluşur ve karankullerdeki kriptlere gömülürler (8,9).İnek plasentasının yapısı fötal dokunun maternal endometriyal bağ dokusuna bağlanmasından dolayı sindesmokoryal plasenta (7) olarak tanımlanmıştır.Bununla birlikte, ineklerde spesifik binükleer trofoblast hücrelerinin fötal dokudan maternal epitele göçü olmasına karşın, ineklerde Wooding (1992) koryonun doğrudan maternal epitelebağlandığını (maternal doku kaybı veya invazyonu yoktur) göstermiştir.Dolayısıyla, inek plasentası şu anda sinepitelyokorial olarak sınıflandırılmaktadır (9).

Evcil hayvanlarda plasentasyonla ilgili komparatif çalışmalar implantasyonun türler arasında benzer olduğunu göstermiştir. Ancak, endometriumdaki çeşitli moleküller arasındaki farklılıklar yeni yeni keşfedilmeye başlanmıştır. Özellikle, ruminantlarda plasentasyon non-invaziv olarak sınıflandırılır ve maternal dokuya doğru koryonik hücre gleri luminal epitel bölümü ile sınırlıdır. İneklerde plasental hücreler ile dokuların biyolojisi ile ilgili bilgiler çok sınırlıdır. Bazı çalışmalarda leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörlerin embriyo gelişimi, etkili hücre büyümesi, hücre göçü ve farklılaşması süresince önemli roller oynadıkları gösterilmiştir (10-12). Bu hormonların metabolik etkilerinin yanında üreme ile olan ilişkisi son zamanlarda yoğun olarak çalışılmaya başlanmıştır. Bu metabolik hormonların üreme sistemi ile olan bağlantılarını inceleyen ilk çalışmalar daha çok laboratuvar hayvanları ve insanlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Özellikle leptin eksikliği olan farelerin seksüel olgunluğa erişemedikleri ve infertil oldukları gözlenmiştir. Embriyonik gelişim ve trofoblast invazyonu esnasında leptin, ghrelin ve obestatinin etkili olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak önceleri enerji dengesi ve vücut yağ dağılımı üzerinde etkili hormonlar olarak tanımlanan leptin, ghrelin ve obestatinin günümüzde fetal büyümeden pubertal gelişmeye, hematopoezden iskelet sistemi gelişimine kadar fizyolojik fonksiyonlardaki rolü incelenmektedir.

Son yıllarda leptin, ghrelin ve obestatin ile bunların reseptörleri ile ilgili bilgilerimiz artmış olsada bu konuda halen aydınlatılmayı bekleyen birçok soru bulunmaktadır. Önümüzdeki yıllarda bu metabolik hormonların plasentasyon ve gelişimdeki rolleri, ekspresyon ile fonksiyonları, sinyal iletimindeki rolü ve bunun diferansiyasyona etkisinin incelenerek aydınlatılması gerekmektedir. Bu tez ile ineklerde metabolik hormonlardan olan leptin, ghrelin ve obestatin ile

reseptörlerinin gebelik süresince endometrial dokunun ve koryon villuslarının gelişiminde rol oynayıp oynamadıklarının ortaya konmasına katkı sağlanacaktır.

Bu tez çalışmasında, leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörlerin gebelik süresince ineklerin plasental dokularındaki hücrelerindeki lokalizasyonları ile ekspresyonlarını, plasentanın gelişim sürecinde değişip değişmediklerini, gebeliğin devamlılığında etkili olup olmadıklarının tanımlanması yönelik temel bilgilerin elde edilmesi amaçlanmaktadır.



2.2-GENEL BİLGİLER

Memelilerde üreme sistemi; bir çift ovaryum, ovidukt, uterus, serviks, vagina, vestibulum ve dış genital bölgeden oluşur. Uterus, interkornual ligament ile birbirine bağlanan serviks, korpus uteri ve iki adet kornu uteriden oluşan bir organdır. Serviks, östrus ve doğum hariç, sıkıca kapalı olan kalın duvarlı kassel bir organdır. Uterus gövdesi 2-4 cm uzunluğundadır ve iç servikal os'tan uterus boynuzlarının çatallanmasına kadar uzanır. Kornu uteri 20 ila 45 cm uzunluğundadır ve embriyo implantasyonu ve fetal gelişim bölgeleridir (13).

Memelilerde uterus, yeni bir canlıyı meydana getirebilmek için gerekli donanıma sahip bir ortam oluşturur. Uterus; yavrunun gelişimi, fötüs ve plasentanın dışarı atılması, plasentaya maternal katkı, siklusun kontrolü ve luteolizisi, absorpsiyon ve fagositoz gibi birçok önemli fonksiyona sahiptir. Bilindiği gibi insan ve memeli hayvanlarda üreme, olgun erkek (spermatozoon) ve dişi (oosit) eşey hücrelerinin birleşmesi ile meydana gelen zigot ve bu hücrenin bölünüp gelişerek önce embriyo daha sonra da fötüsü şekillendirmesi ile karakterize olan bir süreci kapsar. Prenatal dönemde meydana gelen bu olaylar memelilerde uterus içinde devam eder ve bu sayede uterus hem yeni bir canlının oluşması hem de türlerin devamlılığının sağlanmasına aracılık ederek yaşamın temel amaçlarından biri olan üremeye hizmet etmiş olur. Bunun için ise başarılı bir gebeliğe ihtiyaç vardır ki, bu da embriyonik gelişim ve uterus arasında karşılıklı etkileşim ile gerçekleşebilecek dinamik bir süreci gerektirir. Bu süreçte uterus; östrojen ve progesteron başta olmak üzere birçok hormonal uyarımın hedef organıdır ve bu etkileşimlerin uterusun gebeliğe hazırlanmasında ve devamlılığında önemli rolleri vardır (4).

2.2.1-Uterus Embriyolojisi

Endometrium ve miyometriyum mezodermal kökenlidir ve her iki yapı da sekizinci ve dokuzuncu postovulatuvar haftalar arasında mullerian kanallarının füzyonunda ikincil olarak oluşur. Gebeliğin 20.haftasına kadar, endometriyum kalın bir fibroblastik stromal tabaka ile desteklenen epitel katmanından oluşur. Gebeliğin 20. haftasındayüzey epiteli alttaki stromaya doğru ilerler ve miyometriuma doğru uzanan bezselsel yapıları oluşturur. Yavrularda doğumdan hemen sonrada, büyük bir kısmı serviks'ten oluşan yaklaşık 4 cm uzunluğundaküçük bir organdır (14).

2.2.2-Uterusun Anatomisi

Memelilerde uterus, korpus uteri, iki adet kornu uteri ve serviksten oluşan Y şeklinde bir yapıdır.Uterusun büyüklüğü ve şekli türlere göre değişir.Uterusun üst bölümüovidukt veya fallop tüplerine ilerleyen iki uterus kornusundan meydana gelir.At hariç çoğu türde gebelikkornu uterideoluşur ve devam eder.

İneklerde de uterus serviks, gövde ve iki kornudan oluşur; kraniyaldeovidukta ve kaudalde vaginaya devam eder. Uterusun gövdesi kısadır. Kraniyal olarak, iki kornuda geniş bir ligament tarafından karın içinde ters bir virgül şeklinde asılıdır. Böylece deovaryumlar iki kornunun bifurkasyon bölgesinde uterus gövdesine bitişik olarak uzanır (15).Endometriyumun bazı bölgelerinde sayıları 70-120 arasında değişen boyuna sıra halinde oluşturulmuş karankul adı verilen yapılar mevcuttur (16).

2.2.3-Uterusun Histolojisi

Histolojik olarak uterus perimetriyum, miyometriyum ve endometriyumdan oluşur; perimetriyum uterus dış yüzeyinde bulunur, peritona doğru uzayan seröz ve ince bir bağ dokusu tabakasıdır. Myometrium, içte kalın sirküler, dışta daha ince

longitudinal düz kas tellerinden oluşur. Bu iki katmanıvasküler bir tabaka ayırır. Endometrium mukozası, östrus siklusu ve gebeliğin dönemlerine göre hormonların etkisi ile değişiklikler gösterir.Histolojik olarak, lamina epiteliyalis ve lamina propria olmak üzere iki katmandan oluşur.Lamina epiteliyalis kısarak, köpek ve kedide tek katlı kübik yada prizmatik, ruminantlarda ve domuzlarda ise çok katlı ya da yalancı çok katlıprizmatik özelliktedir. Prizmatik epitelhücrelerinin bir kısmı kinosilyumludur. Luminal epitel altında uterus bezlerini içeren bağ dokukatmanı (lamiana propriya) bulunur.Stromada yerleşen uterus bezleribasit ve dallanmış tübüler özelliktedir, histotrofik sekresyon üretirler ve karankuller hariç tüm endometriyum boyunca dağılırlar (16). Gebeliğin erken döneminde, endometriyal bezlerin salgıları(uterus sütü) embriyo için beslenme sağlar. Bu nedenle, ineklerde östrus siklusunun farklı dönemleri ile gebelik süresince endometriyal bezlerin anatomik ve fizyolojik özellikleri değişimler gösterir (13).

2.2.4-Gebelik ve Plasentasyon

Ruminantlarda gebeliğin şekillenmesi blastosist aşamasında başlar ve bu süreç gebeliği tanıma sinyali, konseptus implantasyonu ve plasentasyonu içerir (17,18). Çiftleşmeden sonraki 4-6. günde morula safhasındaki embriyo, uterusu giriş yapar ve daha sonra trofektoderm'in tek katmanı ile çevrelenmiş merkezi bir boşluk (blastosöl) ve iç hücre katmanını içeren blastosist'i oluşturur (18). İneklerde 9-10. günde zona pellucida'nın yırtılmasından sonra 13. günde blastosist, oval veya tüp şeklinde gelişir ve yapı konseptus diye adlandırılır (17). Oval şekilli konseptus 14. günde uzamaya başlar ve 19. günde filamentöz bir hal alır. Konseptusun büyümesi; ekstraembriyonik membranların farklılaşmasının yanında trofektoderm'in gittikçe artan ağırlığı ve uzunluğu ile sağlanırken endometrium'un yüzey ve bez epitelinden

salgılanan ve histotrof olarak adlandırılan aminoasit, iyon, glukoz, enzim, büyüme faktörleri, hormonlar, protein ve diğer maddelerden oluşan bir komplekse de ihtiyaç vardır (19,20).

Plasenta, gebelik boyunca yavruya ait koryon ile uterus mukozası arasında, yavrunun büyümesi ve korunması için gelişen ekstraembriyonal dokudur. Plasenta, insan ve hayvan türlerine göre değişik özellikler gösterir. Bu nedenle plasentalar anatomik, histolojik ve jinekolojik olarak sınıflandırılabilir. Anatomik olarak; diffuz ve lokal plasenta olarak ikiye ayrılır. Diffuz plasentada koryon villusları yaygındır. Bu tip plasenta kısırak, eşek ve domuzda görülür. Lokal plasentalarda ise koryon üzerinde bulunan villuslar (villi choriales), belli noktalar üzerinde yerleşim gösterirler. Buna göre lokal plasentalar, ruminantta plasenta cotyledonata, kedi ve köpekte plasenta zonaria, insan ve maymunda plasenta discoidea olarak görülür. Jinekolojik olarak plasenta; plasenta desiduata, plasenta adesiduata ve plasenta intermedia olarak üç gruba ayrılır (21).

Ruminantlarda implantasyon non-invaziv olup trofoblast hücrelerinin maternal dokular içine migrasyonu (göçü) sınırlıdır. Ruminantlarda plasenta koryon ile uterus mukozası arasındaki ilişkinin derecesine göre yarım (semi) plasenta grubunda yer alır. Ruminantlarda koryon kesesi villusları belli odaklarda topluluk halinde bulunur ve bu yapılar kotiledon olarak adlandırılır. İneklerde uterus mukozası ile koryon arasındaki ilişki yüzeysel olduğu için desidua şekillenmez. Bundan dolayı da inek plasentasını epiteliyo-koryal (epithelio-chorial) olarakta isimlendirilir. Çeşitli çalışmalarda, endometriyumun implantasyon için hazırlandığı ve buradaki çeşitli yapısal, hücresel ve moleküler olayların implantasyonun gerçekleşmesini sağladığı gösterilmiştir. Özellikle adezyon molekülleri, sitokinler,

büyüme faktörleri, anjiogenik faktörler gibi lokal faktörler implantasyonun gerçekleşmesine aracılık etmektedir (4,22).

Histolojik olarak inek plasentası, çift çekirdekli trofoblast dev hücreleri ile uterus epitel hücrelerinin füzyonu sonucu ve föto-maternal sinsityumun şekillenmesi nedeniyle sinepiteliokoryal kotiledonata tipi plasenta olarak adlandırılır (23). Fötal koryon villusları (cotyledon) ile maternal kriptlerin (caruncula) karşı karşıya gelmesi ile oluşan plasentomlar, föto-maternal proliferasyon alanlarıdır. Bu yapılar, anne ile yavru arasında besin unsurları ve metabolik atıkların değişimini sağlar (24,25).

Koryon villuslarının dış yüzü, trofoblast hücreleri tarafından örtülmüştür. Bu hücreler, fonksiyonel bir corpus luteum'dan progesteron üretiminin devamını sağlayan gebelik sinyalinden sorumludur (25). Koryon epiteli temelde tek çekirdekli trofoblast hücresi (UTC) ve çift çekirdekli trofoblast dev hücresi (TGC) olmak üzere iki tip trofoblast hücresinden oluşur. Tek çekirdekli trofoblast hücrelerinin yoğun proliferatif aktivitesi ile sürekli bir trofoblast dev hücre yedeklemesi yapılır ve gen artışı da içeren trofoblast hücrelerinde farklılaşma sağlanır. Böylece inek trofoblast hücrelerinin büyük bir bölümü tek çekirdekli trofoblast hücresi ile olgun trofoblast dev hücresi arasında, yani farklılaşmanın ara aşamasında kalır (23,26).

Çift çekirdekli trofoblast dev hücreleri, ruminant plasentasının karakteristik bir özelliğidir (20). TGC, tek çekirdekli trofoblast hücrelerinden gelişir ve asitokinetik mitoz ile çift çekirdekli hale gelir (26). Hücre olgunlaşması sırasında TGC'de poliploidi görülür (26) ve sitoplazmalarında büyük miktarlarda veziküller birikir. Olgun TGC, uterus epiteline doğru göç eder ve uterusun epitel hücreleri ile kaynaşır (23). Bu esnada granüllerini bazal membrandan uterus epiteline boşaltarak üç çekirdekli föto-maternal hibrid hücrelerinin oluşumunu sağlar. Bu süreçlerin

fonksiyonu hala belirsizliğini korumakla beraber bu farklı hücre formlarının, büyük sinyal moleküllerinin feto-maternal bariyer boyunca taşınmasına hizmet ediyor olabileceği düşünülmüştür(27).

2.2.5-Metabolik Hormonlar ve Reseptörleri

Tüm canlılarda, hangi gıdaların beslenmeye uygun olduğunun belirlenmesinde, lezzet algısının oluşmasında, vücut ağırlığının ve enerji dengesinin devamlılığının sağlanmasında etkili ve farklı tatlar önemlidir. Yukarıda bahsedilen ve tüm canlılar için hayati öneme sahip olan bu olaylar zinciri birçok moleküler proteinler ile hormonlar tarafından (leptin, gherilin v.b.) düzenlenmektedir ve bu faktörler arasında oldukça güçlü bağlar olduğu açıkça görülmektedir (10-12). Bunlardan, leptin memelilerde gıda maddelerinin tüketiminin kontrolünde, beslenme adaptasyonunun sağlanmasında, enerji homeostazisinin ve yağ depolarını düzenlemesinde önemli roller oynamaktadır. Aynı preproghrelin (ppGHREL) geni tarafından kodlanan ghrelin ve obestatin ise, gıda alımı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde rol oynar.

2.2.5.1.1-Leptin ve reseptörü

Leptin, Yunanca leptos kelimesinden türetilmiş olup zayıflatıcı anlamına gelen besin ve kilo alımını düzenleyen 16kDA ağırlığında bir peptid hormondur. Obezite geninin 167 aminoasitli hormonal proteini olan leptin, polipeptid ve tek zincirli yapıda bir hormondur. Leptin metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sisteminde ve periferik dokularda bulunan reseptörleri ile etkileşerek göstermektedir. Leptin'in üretim yeri öncelikli olarak beyaz yağ doku ve az miktarda kahverengi yağ dokudur (28-30). Bunun dışında, karaciğer, mide, meme dokusu, kemik iliği, barsak, ovaryum, testisler, iskelet kası, mide fundusu ve plasentadan da sentezlendiği ortaya konulmuştur (30-32). Leptin yem tüketimi ve enerji harcanması yanında

termogenezis, karbonhidrat-yağ depolanması ve metabolizması, kardiovasküler ve immun fonksiyonların düzenlenmesi üzerine hem merkezi hem de periferik olarak etki eder (33,34). Ayrıca, nöroendokrin, reproduktif, tiroit, adrenal sistem ve büyüme hormonu üzerine etkileri de içerir (35, 36).

2.2.5.1.2-Leptin ve Üreme Sistemi

İnsan plasenta leptini sentezleyip fetal dolaşıma ve amniyotik sıvıya salgılar (37). Leptin aynı zamanda erişkin ovaryum foliküllerinde üretilir (38). Leptin hormonunun üreme ile olan ilişkisi son yıllarda yoğun çalışılmaya başlanmıştır. Üreme sistemi ile ilişkili ilk çalışmalar leptin eksikliği olan ob/ob farelerde yapılmıştır. Bu farelerin seksüel olgunluğa erişemediği ve infertil olduğu belirlenmiştir. Üreme'nin ve gonadotropin hormon seviyelerinin düşük olduğu ortaya konulmuştur. Leptin gebelik ve laktasyon esnasında plasenta ve meme bezlerindeki sekretör epitelial hücreler tarafından üretilerek, maternal sütün özellikle lipid parçacıklarına geçer ve buradaki fonksiyonlarda etkin olur (39-41).

2.2.5.2.1-Ghrelın ve reseptörü

Ghrelın, 28 amino asitli oktanoilathı peptit hormonudur ve ser3O-oktanoilasyon ile modifikasyonu sonucu doğal olarak oluşın peptittir (42). Bu modifikasyon, grelin aktivitesi ve daha sonra spesifik reseptörünün aktivasyonu için gereklidir. Preproghrelın, ghrelın için bir polipeptit öncüsüdür (43). Preproghrelın geni, 23 amino asit sinyal peptidi, 28 amino asit olgun ghrelın ve 66 amino asit kuyruğu içeren 117 amino asit uzunluğında bir peptidi kodlar (44). Alternatif birleştirme veya kapsamlı post-translasyonel modifikasyonlardan sentezlenen

ghrelin, obestatinin molekülünü de kodlar. Ghrelin ve obestatin aynı genden elde edilmelerine rağmen, karşıt etkileri vardır (45).

Ghrelin, hem hipotalamus hem de hipofiz düzeylerinde hareket ederek büyüme hormonu (GH), adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin (PRL) gibi diğer hipofiz hormonlarının salgılanmasını uyarır. Ayrıca ghrelin, kemirgenlerde ve insanlarda gıda alımını arttırdığından enerji dengesinin önemli bir düzenleyicisidir. Buna göre, dolaşımdaki ghrelin düzeyleri beslenme durumundaki akut ve kronik değişikliklerden etkilenir (46). Yetişkin insanlarda ghrelin'in serum prolaktin seviyesi üzerinde uyarıcı etkileri gösterilmiştir. Bununla birlikte, sıçanda ghrelinin, esas olarak hipotalamusta etkili olan prepubertal erkek ve kadınlarda prolaktin sekresyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir. Özellikle, uterus sıvısında ghrelin seviyelerinin farelerde açlık sırasında önemli ölçüde arttığı ve ghrelinin in vitro olarak fare preimplantasyon embriyolarının gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir (47).

Ghrelin büyüme hormonu sekretagogu reseptörüne (GHS-R) bağlanarak etkisini gösterir. Ghrelin reseptörü GHS-R – GHS-R1a ve GHS-R1b'nin iki farklı formu vardır (48, 49). GHS-R1a, fonksiyonel ghrelin reseptörü olarak tarif edilir ve çoğunlukla hipotalamik hücrelerden eksprese edilir (50,51). GHS-R1a ekspresyonu hipofiz bezinde ve merkezi sinir sistemi dışında tiroid, kalp, akciğerler, bağırsaklar, pankreas, adrenal bez, testisler ve ovaryumlarda da gösterilmiştir (52). Ghrelin'in fonksiyonel reseptörüne bağlanması için, enzimi olan ghrelin O-asiltransferaz (GOAT) tarafından post-translasyonel olarak modifiye edilmelidir. GOAT, ghrelinin üçüncü amino asidi olan serin grubuna bir oktanoil grubu ekleyerek modifikasyonu kolaylaştırır (53,54). Bu nedenle, oktanoillenmiş form (aktif form) ve oktanoillenmemiş form olmak üzere iki tür ghrelin vardır. Des-açıl ghrelin olarak da

adlandırılan oktanilloillenmemiş form, plazmada oktanilloillenmiş ghrelinden daha yüksek seviyelerde dolaşır ve GHS-R1a reseptörüne bağlanamadığından büyüme hormonu uyarma aktivitesi dışında etkileri demevuttur (55). Des-açıl ghrelinin başka işlevlere sahip olduğu ve ghrelin aktivitelerine aracılık eden alternatif bir ghrelin reseptörüne sahip olduğu varsayılmıştır (56,57).

2.2.5.2.2-Ghrelin ve Üreme sistemi

Üreme fonksiyonu, yüksek miktarda enerji tüketen fizyolojik olarak maliyetli bir süreç olarak kabul edilmektedir. Gebelikle birlikte artan gıda alımı ve yağ kütlesinde önemli bir birikim sözkonusudur. Ghrelin, üreme fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayabilir. Oksitlenebilir substratlar az olduğu durumlarda ghrelinGnRH ve LH salgılanmasının inhibisyonuna neden olarak üreme fonksiyonlarında ve cinsel davranışlarda değişikliklere neden olabilmektedir. Ghrelin sıçanlarda ve yetişkin insanlarda prolaktin salgılanmasını uyarır. Ghrelin kaynaklı prolaktin salınımı insanlarda normal menstrual siklus sırasında değişmez (58).

Ghrelin'in insan plasentasından eksprese edildiğinedair bilgiler mevcut olsada, embriyonal implantasyon ve ghrelin arasındaki ilişki hakkında çok az çalışma bulunmakatadır (59). Ghrelin ve GHS-R ekspresyonlarının farelerdeembriyonal evre süresince etkin olduğusaptanmıştır (60).

Hem ghrelin hem de reseptörünün, ovaryum, uterus, testisler ve plaseenta gibi üreme organları dahil olmak üzere çok çeşitli dokulardan eksprese edildiği bildirilmiştir. Ayrıca, gonadotropin salınımı ve pubertinin düzenlemesine yardımcı olduğu düşünülmektedir (61).

2.2.5.3-Obestatin ve reseptörü

Midenin oksintik mukozasından izole edilen obestatin, preproghrelinin enzimatik parçalanmasıyla üretilen 23-amino asit anoreksijenik bir peptid hormonudur. 'Obestatin' adı iştah bastırıcı potansiyeli nedeniyle verilmiştir (62). Obestatin ayrıca mide mukozası, duodenum, jejunum, kolon, pankreas, dalak, meme bezleri, süt, testis Leydig hücrelerinde, tükürük ve plazmada da bulunur. İşaretlenmiş obestatin kullanılan deneylerde, obestatinin jejunum, ileum, mide, hipofiz ve hipotalamusu yüksek afinite ile bağladığını ortaya koymuştur. (63).

Obestatin reseptörü üzerine tartışmalar olsada, GPR39'un obestatin için bağlayıcı bölge olduğuna inanılmaktadır. GPR39, ghrelin reseptörü alt ailesi olan sınıf A-7 transmembran etki alanı G-protein çiftli reseptörleri ailesine (GPCR'ler) aittir. GPR39, jejunum, ileum, mide, hipofiz ve hipotalamus ve testisler gibi çeşitli dokularda bulunur (62).

Obestatin, beyne tokluk veya açlık hakkında sinyaller veren karmaşık bir bağırsak-beyin ağının parçası gibi görünmektedir. Sıçanlarda hiperfaji ve obeziteye neden olan ghrelin'in aksine, obestatinin anoreksik bir hormon gibi hareket ettiği, gıda alımını azalttığı, gastrik boşalmayı ve jejunal motiliteyi yavaşlattığı ve kemirgenlerde vücut ağırlığı artışını azalttığı görülmektedir. Ayrıca, bu hormonun serum düzeylerinin vücut kitle indeksi ve bel çevresi gibi obezite ölçümleri ile insülin konsantrasyonu ve insülin direnci ile ilişkili olduğu bulunmuştur (64). Obestatinin üreme fonksiyonlarına katılımı ile ilgili veriler halen eksiktir, ancak obestatinin kültüre edilmiş domuz granüloza hücrelerinde progesteron sekresyonunu önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur (65). Ayrıca yetişkin erkek sıçanlarda, obestatinin testosteron sekresyonunu indükleyebileceği de bildirilmiştir (66).

Genel olarak, obestatin ile ilgili yapılan çalışmalar, metabolizma üzerindeki etkileri konusunda tartıřmalđ ifadeler bulundursa da veriler glukoz ve lipit metabolizması üzerindeki etkileri, hücre proliferasyonunun uyarılması, anti-inflamatuvar etkileri gibi birçok fonksiyona sahip olduğunu ortaya koymaktadır (67).

İnsan vücudunda orta seviyede bulunan obestatin, vagal nöronlar üzerine dolaylı yollardan etki ederek ya da diğer hormonların salgılanmasını uyararak, anksiyetenin önlenmesinde ve uyku düzeninin sağlanması yardımcı olmaktadır (68). Obestatinin periferik doku ve hücrelerde, apoptozu inhibe ederken, yağ dokusu hücrelerinde ise hücre fonksiyonlarını düzenleyip farklı hücre tiplerinde çoğalmayı sağlamaktadır (69). Obestatin düzeylerinin açlık durumunda miktarının düştüğü belirtilmiş, ayrıca ergenlik dönemlerinde yapılan fiziksel aktivite seviyelerine göre obestatin hormon salınımının düzenlendiği bildirilmiştir (70). Parakrin ve otokrin etkiler gösteren obestatin, kan beyin bariyerini geçememektedir (69).

Başlangıçta, obestatinin GPR39 olarak adlandırılan bir Orphan (yetim) G protein-çifti reseptöre bağlandığı ngrlmştir (71). Yüksek seviyelerde GPR39 mRNA amigdala (serebral hemisfer gri maddesi), hipokampus ve işitsel kortekste bol miktarda bulunduğu, ancak hipotalamusta bulunmadığı bildirilmiştir (72). Bununla birlikte, obestatinin GPR39 için endojen kognat ligandı olmadığını belirtilirken, daha yakın tarihli bir çalışma obestatinin gastrointestinal ve yağ dokularında GPR39'a bağlanabilen ve çeşitli biyolojik fonksiyonları düzenleyebilen metabolik bir hormon olduğunu göstermiştir (69,73,74).

Bununla birlikte, Holst ve ark. Üç farklı radyodinatlđ obestatin formu kullanılarak iki farklı tipte GPR39 eksprese eden hücrede hiçbir obestatin bağlanması tespit edilemediğini bildirmişlerdir (74). Başka bir çalışma,obestatinin

GPR39'a bağlanamadığını veya hipotalamusta bu reseptörü aktive edemediğini açıkça göstermiştir. Bu nedenle, obestatin/GPR39 sisteminin enerji dengesinin düzenlenmesindeki rolü belirsizliğini korumaktadır (63). Bu çalışmalar obestatinin başlangıçta iddia edildiği gibi GPR39 için aynı kökenli ligand olma olasılığının düşük olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, obestatin için doğal reseptör hala açıklığa kavuşturulmamıştır (75).



2.3-GEREÇ VE YÖNTEM

2.3.1 Doku Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmada toplam 44 adet gebe Holstein inek uterusu kullanıldı. Uteruslar Diyarbakır, Şırnak ve Kayseri’de bulunan özel kesimhanelerden temin edildi. Uterusların gebeliğin hangi dönemine ait olduğunu belirlemek amacıyla taşımış olduğu fötusların yaşları hesaplandı. Bu amaçla, fötusların baş-sağrı uzunluğu (Crown-rump length: CRL) ölçüldükten sonra, yaş tayinleri Harris vd. (1983)’nin verdiği metoda göre, baş-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki doğrusal ilişki sonucunda elde edilen $y:54,6+2,46(x)$ eşitliği kullanılarak yapıldı(Şekil-2.3.1). Bu eşitlikte y fötal yaşı, x ise baş-sağrı uzunluğunu temsil etmektedir. Bu yaş tayinine dayanarak hayvanlar gebeliğin 1. dönemi (59-90 günlük), 2. dönemi (98-175 günlük) ve 3. dönemi (200-271 günlük) olmak üzere üç ayrı grup altında toplandı.



Şekil-2.3.1 İnek fötüsünde baş-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki ilişki (2. dönem)

Materyal toplama aşamasında; kesim sonrası dışarı alınan uterusun gebeliğin şekillendiği kornusunun lateral kenarı boyunca yavrunun dışarı çıkabileceği genişlikte bir ensizyon yapıldı. Yavru zarları kesildikten ve yavru suları boşaltıldıktan sonra her bir fötüs, baş-sağı uzunluğu ölçülmek üzere ayrı bir yerde toplandı. Doku örnekleri ise gebe kornunun plasentomal ve interplasentomal olmak üzere iki farklı bölgesinden alındı. Çalışmada kullanılan uterusların, fötüs yaşlarına dayanarak belirlenen gebelik yaşları Tablo-2.1’de gösterilmiştir.

2.3.2 Histolojik Takip

Doku örnekleri gebe kornunun plasentomal ve interplasentomal olmak üzere iki farklı bölgesinden alındı ve %10 nötral formalin solüsyonunda 24 saat süre ile tespit edildi. Fiksasyonu takiben, örnekler akarsuda yıkandı, dereceli alkollerde suyu giderilerek parafine bloklandı. Hazırlanan parafin bloklarından, rotary mikrotomunda (Leica RM-2125, Germany) 5 mikrometre kalınlığında seri kesitler alındı. Her bir örnek için 8 lam hazırlandı ve her lam 50 µm aralıklarla en az üç kesit içermekteydi. Kesitlerin bir serisi (birinci lam) Crossmon’un triple boyaması (76) ile boyanarak gebelik dönemlerine göre plasentanın yapısal özellikleri belirlendi. Kesitlerin bir bölümü ise, 3-aminopropil-etoksisilan (APES) (Sigma-Aldrich Chemicals, St. Louis, MO, ABD) ile kaplanmış lamlara alındı ve gece boyunca oda sıcaklığında kurutuldu. Daha sonra, çalışmada belirtilen faktörlere özgü antikorlar kullanılarak immunohistokimyasal yöntemle boyandı.

2.3.3 İmmunohistokimyasal Boyama

Elde edilen kesitlerde leptin, ghrelin ve obestatin ile reseptörlerini belirlemek için strepavidin peroksidaz yöntemi (77) uygulandı. Seri kesitlere deparafinizasyon ve dehidrasyon işlemlerini takiben, antigen retrieval (Antijenlerin açığa çıkarılması)

işlemi için sitrat tamponu (0.01 M, pH6.0) hazırlanarak dokular 30 dk. 95°C’de kaynatıldı ve ardından 40°C’ye kadar soğutuldu. Daha sonra, dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için metanolde hazırlanmış % 3’lük H₂O₂’de 15 dk. inkübe edildi ve takiben fosfat buffer salin (PBS) ile 2x5 yıkandı. Kesitler özgün olmayan bağlanmaları önlemek üzere protein blocking çözeltisi (Ultra V Block) ile oda ısısında 5 dk. inkübasyona bırakıldı. Daha sonra, Leptin (ab117751) tavşan poliklonal, ghrelin (ab129383) tavşan poliklonal, obestatin (ab41704) tavşan poliklonal, Leptin Reseptörü(Lep-R) (ab104403) tavşan poliklonal, Ghrelin reseptörü (GHS-R) (ab188986) tavşan poliklonal ve Obestatin Reseptörü (GPR39) (PA 3-027) tavşan poliklonal primer antikorları ile +4⁰C’de 1 gece inkübe edildi. Preparatlar, PBS ile yıkandıktan (4x5 dakika) sonra biotinlenmiş sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz enzim kompleksi(Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) ile muamele edildi. Dokularda şekillenmiş olan antijen-antikor reaksiyonlarını göstermek amacıyla da kromojen olarak 3’3-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) substrate ile 5-10 dk. inkübe edildi. Zıt boyama için Gill hematoksileni kullanıldı. Akar suda 10-15 dk. yıkandıktan sonra, distile suda da yıkanan preparatlar seri alkollerden geçirilerek ksilolde 25 dk. parlamaya bırakıldı. Son olarak lamalar, ksilol bazlı yapıştırıcı olan entellan ile kapatıldı.İmmunohistokimyasal boyamada kullanılan antikorların ekspresyonlarının doğruluklarını göstermek için negatif ve pozitif kontroller kullanıldı. Negatif kontrol için dokulara primer antikorlar yerine normal tavşan ya da fare serumları IgG’si kullanıldı. Pozitif kontrol olarak ise antikorların önermiş olduğu insan ya da hayvan dokuları temin edildi.

Boyamalar sonrası preparatlar, Nikon-Eclipse 400 DSRI Nikon dijital fotoğraf makinesi (NIS Elements Imaging Software-version 3.10) ataçmanlı

araştırma mikroskopunda(Nikon Eclipse E-400, Tokyo/Japan) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

2.3.4 Yarı Kantitatif Değerlendirme

Leptin ve reseptörü, ghrelin ve reseptörü ile obestatin ve reseptörünün ekspresyonlarının tespiti pozitif reaksiyon gösteren hücrelerde yarı kantitatif olarak yapıldı. Pozitif hücreler boyanma yoğunluklarına göre dört seviyede skorlandı: boyanma yok (0), zayıf boyanma (1), orta düzeyde boyanma (2) ve güçlü boyanma (3) (11,12). Pozitif boyanan hücrelerin değerlendirmeleri aynı iki kör araştırmacı (N.L. ve H.S.) tarafından yapıldı ve ortalama skorlar hesaplandı. Uterus ve plasenta kesitlerinde leptin, ghrelin, obestatin ve bunların reseptörlerinin (LEPR, GHS-R, GPR39) ekspresyonları X100, X200 ve X400 objektif büyütmede incelendi. Her bir uterus ve plasenta kesiti için üç rastgele alan seçildi ve değerlendirildi. Sonuç olarak; uterus ve plasenta kesiti için lumen epitel ve bez epitel, stromal ve düz kas hücreleri, plasenta kesitlerinde ise fetal bölümde trofoblastlar ve mezenseyal hücreler, maternal bölümde ise maternal epitel ve stromal hücreler değerlendirildi.

2.3.5 İstatiksel Analizler

Sonuçların değerlendirilmesinde SPSS 15.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc., Chicago, Il., ABD) istatistik paket programı kullanıldı. Veriler $\pm$ SD değeri olarak sunuldu. $P<0.05$ değeri önemli olarak kabul edildi. Uterus ve plasentanın katmanları ve gebelik dönemlerinden elde edilen semikuantitatif sonuçlar arasında farklılıkların bulunup bulunmadığı Kruskal-Wallis testi kullanılarak ortaya konuldu. Eğer farklılıklar bulunuyorsa bunun da uterus ve plasentanın hangi katmanından veya hangi dönemde olduğunu göstermek için de Mann-Whitney U testi (77) kullanıldı.

Tablo 2.1.Baş-sağrı uzunluklarına göre gebelik süreleri

Örnek Sayısı	Baş-Sağrı Uzunluğu (CRL)	Fötal Yaş (Gebelik Süresi)
1	23 cm	111 gün (3.7 ay)
2	42 cm	157 günlük (5.2 ay)
3	11 cm	82 günlük (2.6 ay)
4	23 cm	111 gün (3.7 ay)
5	24 cm	113 günlük (3.7 ay)
6	24 cm	113 günlük (3.7 ay)
7	23 cm	111 gün (3.7 ay)
8	49 cm	175 günlük (5.8 ay)
9	62 cm	207 günlük (6.9 ay)
10	7 cm	71 günlük (2.3 ay)
11	21 cm	106 günlük (3.5 ay)
12	8 cm	74 günlük (2.4 ay)
13	30 cm	128 günlük (4.2 ay)
14	19.5 cm	102 günlük (3.4 ay)
15	8 cm	74 günlük (2.4 ay)
16	21 cm	106 günlük (3.5 ay)
17	36 cm	143 günlük (4.7 ay)
18	3.8 cm	63 günlük (2.1 ay)
19	72 cm	231 günlük (7.7 ay)
20	28 cm	123 günlük (4.1 ay)
21	32 cm	133 günlük (4.4 ay)
22	18 cm	98 günlük (3.2 ay)
23	14.5 cm	90 günlük (2.8 ay)
24	8 cm	74 günlük (2.4 ay)
25	2.4 cm	60 günlük (2 ay)
26	18 cm	98 günlük (3.2 ay)
27	5.4 cm	67 günlük (2.2 ay)
28	37.5 cm	146 günlük (4.8 ay)
29	35 cm	140 gün (4.6 ay)
30	11.5 cm	83 günlük (2.7 ay)
31	41 cm	155 günlük (5.1 ay)
32	24 cm	113 günlük (3.7 ay)
33	10.5 cm	80 günlük (2.6 ay)
34	2 cm	59 günlük (1.9 ay)
35	30.5 cm	129 günlük (4.3 ay)
36	29.5 cm	127 günlük (4.2 ay)
37	33.5 cm	137 günlük (4.5 ay)
38	34 cm	138 günlük (4.6 ay)
39	23 cm	111 günlük (3.7 ay)
40	60 cm	202 günlük (6.7 ay)
41	46 cm	168 günlük (5.5 ay)
42	65 cm	214 günlük (7.1 ay)
43	88 cm	271 günlük (8.3 ay)
44	60 cm	202 günlük (6.7 ay)

2.4-BULGULAR

2.4.1 Morfoloji

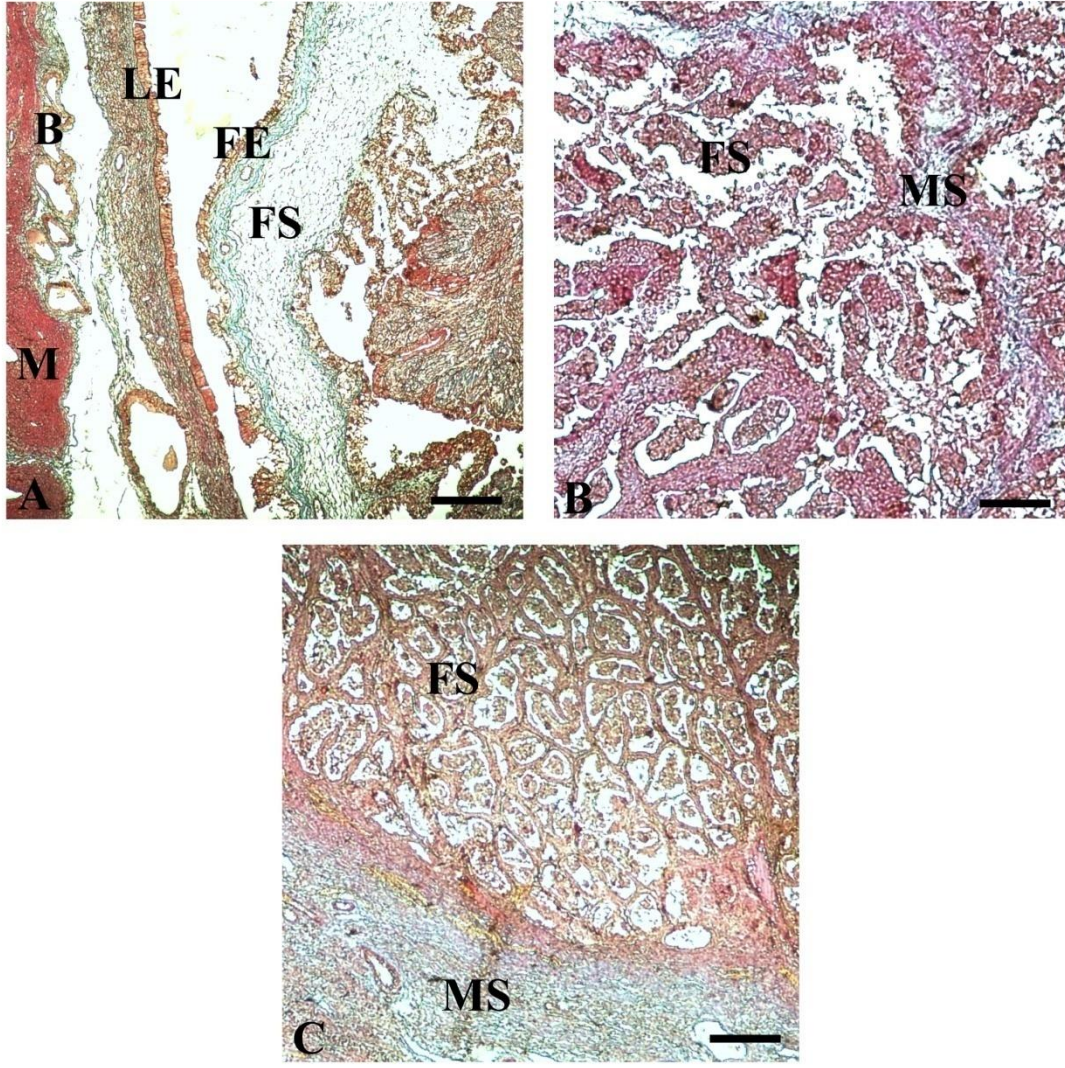
Makroskopik olarak, ilerleyen gebeliklerde ineklerde plasentanın plasentomal ve interplasentomal olmak üzere iki bölümden oluştuğu görüldü. İnterplasentomal alanın fötal membranlar ve uterus epiteli arasında basit bir yerleşimde olduğu tespit edildi. Plasentomlar ise ilerleyen gebeliklerde karankular uterin ve fötal kotilendonlar arasındaki bağlantıyı şekillendiren plasentanın fonksiyonel uniteleri olarak görüldü. Gebeliğin şekillendiği kornu uteri'nin gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak genişlemeye başladığı, özellikle de gebeliğin son dönemine doğru aşırı büyüdüğü, hatta plasentomların gebeliğin şekillenmediği diğer kornu uteri'nin içine kadar uzandığı gözlemlendi. Her iki uterinal kornuda bulunan interplasentomal bölge, plasenta içermeyen korioallantoik membranın bir bölümünü içermekteydi.

2.4.2 Genel histoloji

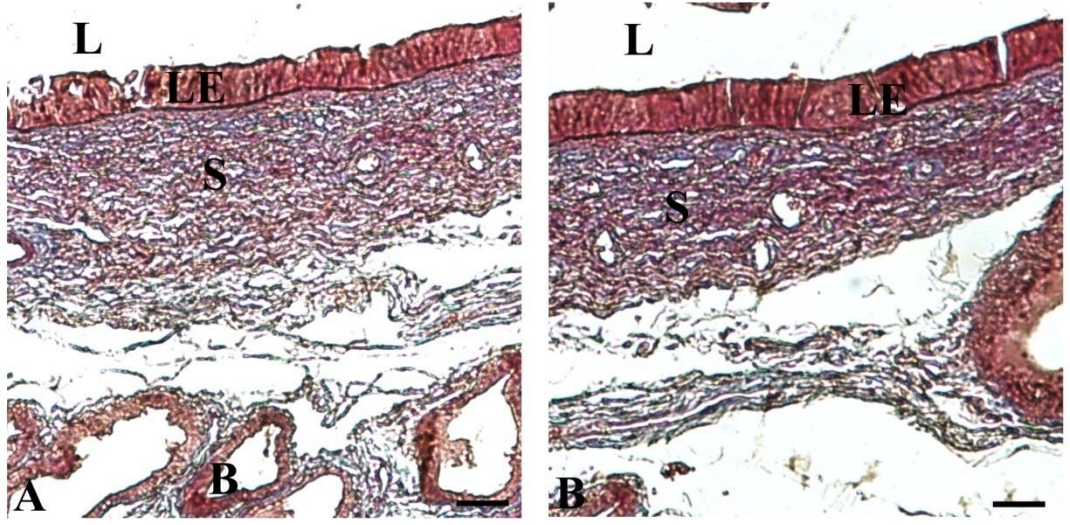
İneklerde gebeliğin ilk döneminin başlangıcında, uterus epitelinde dökülmelerin olmadığı, kotiledon ve karunkulaların tam olarak belirginleşmediği görüldü. Gebelik ilerledikçe uterus epitelinde yer yer dökülmelerin olduğu ve kotiledon ve karunkulaların belirginleşmeye başladığı saptandı.

İlk dönemin sonunda, 2. ve 3. dönemlerde kotilendonların yapısına katılan koryon villus mezenşiminin yüksek oranda vaskülarize olduğunu ve tek bir trofoblast hücre tabakasıyla kaplandığı tespit edildi. İneklerde trofoblast tabakasında, gebeliğin ilk döneminde mononükleer hücrelerin baskın olduğu ve gebeliğin ilerleyen dönemlerinde ise iki ya da daha az olarak da üç çekirdekli trofoblast dev hücrelerinin varlığı dikkati çekti. Mononükleer hücrelerin şekillerinin düzensiz olduğu, büyük yuvarlak çekirdek ve çekirdekçiğe sahip olduğu ve kriptlerin distal bölümüne doğru

çıkıntılar yaptığı belirlendi. Trofoblast dev hücrelerinin mononuklear hücreler arasında farklı pozisyonlarda yerleştiği tespit edildi. Bazen de epitel hücrelerinin trofoblastik uterus epiteline göçünün bir sonucu olarak uterus epitelinde lokalize oldukları belirlendi. Dev hücrelerin büyük bir çoğunluğunun mononuklear hücreler tarafından çevrelendiği görüldü. Maternal endometrial epitelde trofoblastlar tarafından invazyon olmadığı için dejerenerasyon ve dökülmenin de fazla olmadığı görüldü. Maternal-fötal bağlantının fötusaait damar endoteli, fötal mezenşim, koryonik epitel ya da trofoblastlar, anneye ait uterus epiteli, stroması ve maternal damar endoteli katmanlarından oluştuğu belirlendi. Her iki kornu uteride bulunan interplasental bölge, plasenta içermeyen korioallantoik membranın bir bölümünü oluşturmaktaydı. Bu bölgede koryon, areolalar şekillendirmiş olan uterus bezlerinin açılmış olduğu bölgeler dışında endometriuma bağlanmıştı (**Şekil-2.4.2.1, Şekil-2.4.2.12**).



Şekil-2.4.2.1.(A), Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük), (B),ikinci döneminde (111 günlük),(C) ,üçüncü döneminde (202 günlük), gözleneninek plasentasının histolojik görüntüsü. FE: Fötal epitelyum, FS: Fötal stroma, LE: Luminal epitel, MS: Maternal stroma,B: Endometriyal bez, M: Miyometriyum,Crossmon'un triple boyaması,Bar: 100 μ m.



Şekil-2.4.2.2. (A,B), Gebelik süresince inek interplasental bölgenin histolojik görüntüsü L:Lumen, LE: Luminal epitel S:Stroma B:Bez,Crossmon'un triple boyaması, Bar: 50 µm.

2.4.3 İmmunohistokimyasal Ekspresyonlar

Gebelik süresince leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörlerin (Lep-R, GHS-R, GPR39) ekspresyonlarına ait yoğunluk skorları Tablo 2.2' de özetlenmiştir. Genel olarak, gebelik süresince leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörlerin ekspresyonlarının plasentada fetal trofoblastlar ve maternal epitel hücrelerinde yoğun, fetal mezenşim ve maternal stromal hücrelerde az yoğun olduğu görüldü. İnterplasental bölgede ise uterusun luminal ve bez epitel hücrelerinde yoğun, stromal ve düz kas hücrelerinde ise daha az bir ekspresyon gözlemlendi ($p < 0.005$). Ayrıca, negatif kontrollerde immunohistokimyasal ekspresyonlar gözlenmezken (Şekil-2.4.3.1), pozitif kontrollerde immunohistokimyasal ekspresyonlar dikkat çekti (Şekil-2.4.3.1).

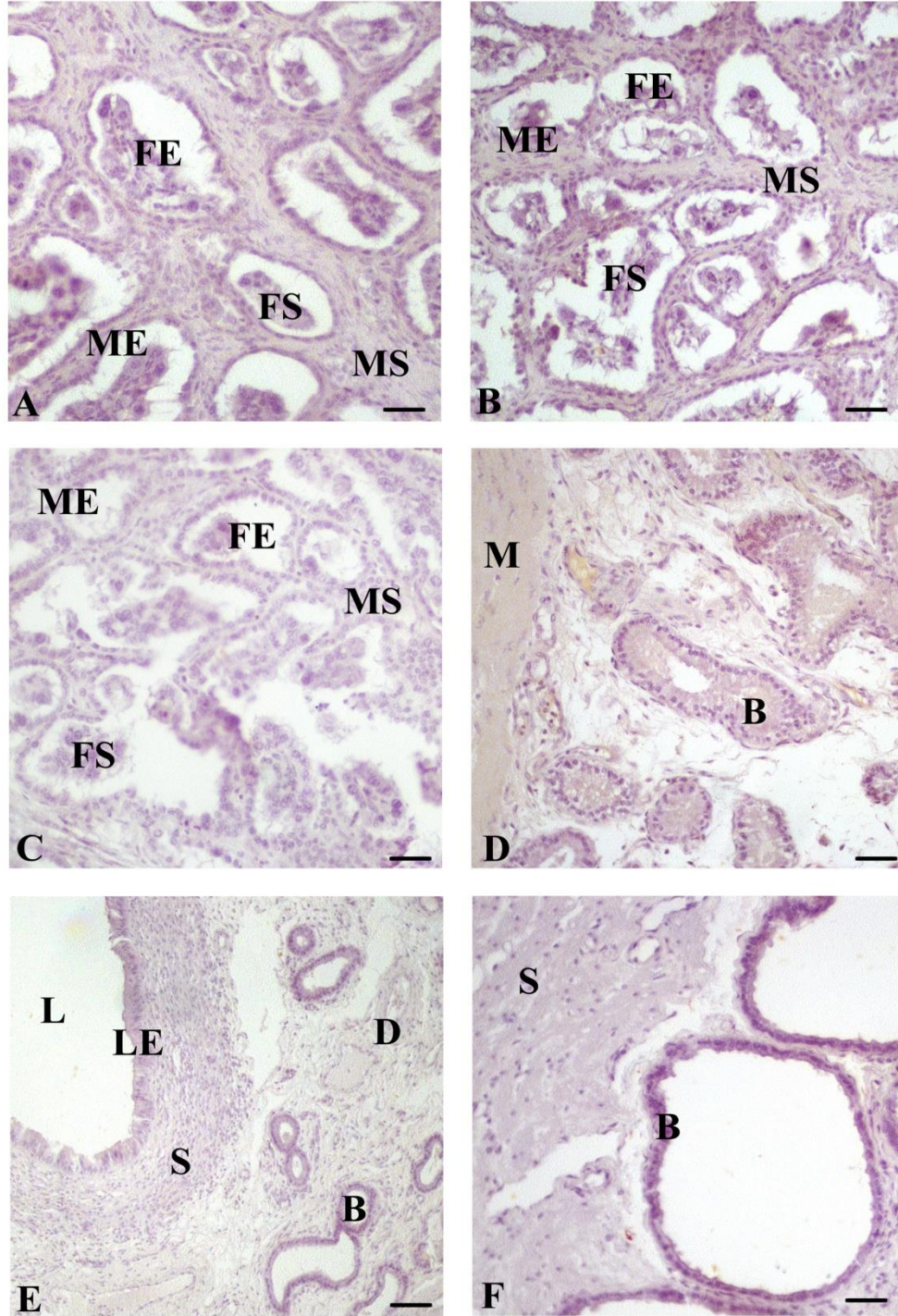
Tablo 2.2. Gebelik süresince föto-maternal dokular ile interplasental bölgedeki uterus mukozasından leptin, ghrelin, obestatin ve reseptörlerinin (Lep-R, GHS-R ve GPR39) ekspresyon yoğunlukları

Parametreler	Gebelik Dönemleri	Uterus Mukozası				Fötal Plasenta		Maternal Plasenta	
		LE	BE	S	M	TH	FM	ME	MS
Leptin	1. dönem	3.0±0.0 ^a	3.0±0.0 ^a	1.65±0.45 ^b	2.20±0.18 ^b	1.85±0.45 ^b	0.65±0.45 ^c	1.65±0.45 ^b	0.96±0.18 ^c
	2. dönem	2.85±0.25 ^a	3.0±0.0 ^a	1.0±0.0 ^b	1.56±0.24 ^b	1.50±0.25 ^b	0.45±0.10 ^c	1.45±0.10 ^b	1.20±0.18 ^b
	3. dönem	3.0±0.0 ^a	2.70±0.56 ^a	1.25±0.65 ^b	1.90±0.45 ^b	1.35±0.12 ^b	0.65±0.45 ^c	1.30±0.25 ^b	1.10±0.24 ^b
Ghrelin	1. dönem	2.40±0.10 ^a	2.80±0.20 ^a	1.45±0.45 ^b	2.60±0.35 ^a	2.70±0.15 ^a	0.80±0.20 ^c	1.45±0.45 ^b	1.01±0.23 ^{bc}
	2. dönem	2.30±0.15 ^a	2.75±0.25 ^a	1.0±0.0 ^b	2.56±0.24 ^b	2.90±0.25 ^a	0.75±0.12 ^{bc}	1.20±0.20 ^{bc}	1.05±0.14 ^{bc}
	3. dönem	2.05±0.10 ^a	2.70±0.56 ^a	1.25±0.55 ^b	2.80±0.25 ^a	2.90±0.25 ^a	0.70±0.36 ^c	1.35±0.55 ^{ac}	1.10±0.25 ^{ac}
Obestatin	1. dönem	3.0±0.0 ^a	3.0±0.0 ^a	2.75±0.45 ^a	2.80±0.60 ^a	3.0±0.0 ^a	1.65±0.45 ^b	1.25±0.35 ^b	0.56±0.15 ^c
	2. dönem	2.95±0.25 ^a	3.0±0.0 ^a	2.80±0.45 ^a	2.90±0.65 ^a	2.90±0.25 ^a	1.40±0.10 ^b	1.0±0.0 ^b	0.30±0.20 ^{bc}
	3. dönem	2.80±0.25 ^a	2.90±0.50 ^a	2.85±0.65 ^a	2.90±0.45 ^a	2.95±0.60 ^a	1.35±0.45 ^b	1.0±0.0 ^b	0.20±0.10 ^{bc}
Lep-R	1. dönem	3.0±0.0 ^a	3.0±0.0 ^a	1.25±0.45 ^b	2.90±0.15 ^a	1.75±0.35 ^b	0.75±0.45 ^{bc}	3.0±0.0 ^a	1.0±0.0 ^{bc}
	2. dönem	2.85±0.25 ^a	2.90±0.15 ^a	1.0±0.0 ^b	3.0±0.0 ^a	1.40±0.15 ^b	0.55±0.10 ^{bc}	2.75±0.15 ^a	0.80±0.18 ^{bc}
	3. dönem	2.55±0.20 ^a	2.40±0.36 ^a	1.15±0.45 ^b	2.75±0.25 ^a	1.35±0.12 ^b	0.65±0.45 ^{bc}	2.50±0.25 ^a	0.75±0.24 ^{bc}
GHS-R	1. dönem	2.30±0.18 ^a	2.50±0.25 ^a	1.25±0.45 ^b	0.60±0.25 ^c	2.60±0.55 ^a	0.65±0.20 ^c	1.25±0.25 ^{bc}	0.91±0.23 ^{bc}
	2. dönem	2.20±0.10 ^a	2.55±0.15 ^a	1.20±0.18 ^b	0.56±0.14 ^{bc}	2.50±0.85 ^a	0.46±0.23 ^{bc}	1.10±0.5 ^{bc}	1.0±0.0 ^{bc}
	3. dönem	2.15±0.20 ^a	2.40±0.46 ^a	1.15±0.35 ^b	0.50±0.25 ^{bc}	2.45±0.67 ^a	0.40±0.26 ^{bc}	1.05±0.15 ^b	0.85±0.25 ^b
GPR39	1. dönem	3.0±0.0 ^a	3.0±0.0 ^a	2.45±0.25 ^a	2.40±0.60 ^a	2.80±0.25 ^a	1.25±0.45 ^b	2.25±0.35 ^a	0.80±0.15 ^b
	2. dönem	2.75±0.15 ^a	3.0±0.0 ^a	2.30±0.45 ^a	2.25±0.50 ^a	3.0±0.0 ^a	1.10±0.10 ^b	1.75±0.50 ^b	0.60±0.20 ^b
	3. dönem	2.85±0.35 ^a	2.85±0.35 ^a	2.35±0.25 ^a	2.85±0.15 ^a	3.0±0.0 ^a	1.15±0.05 ^b	1.70±0.40 ^b	0.80±0.10 ^b

LE; luminal epitel, **BE;** bez epiteli, **S;** stromal hücreler, **M;**miyometriyum düz kas hücreleri, **TH;** fötal trofoblast hücreleri, **FM;**fötal mezenşim hücreleri, **ME;** maternal epitel hücreleri, **MS;** maternal stromal hücreler.

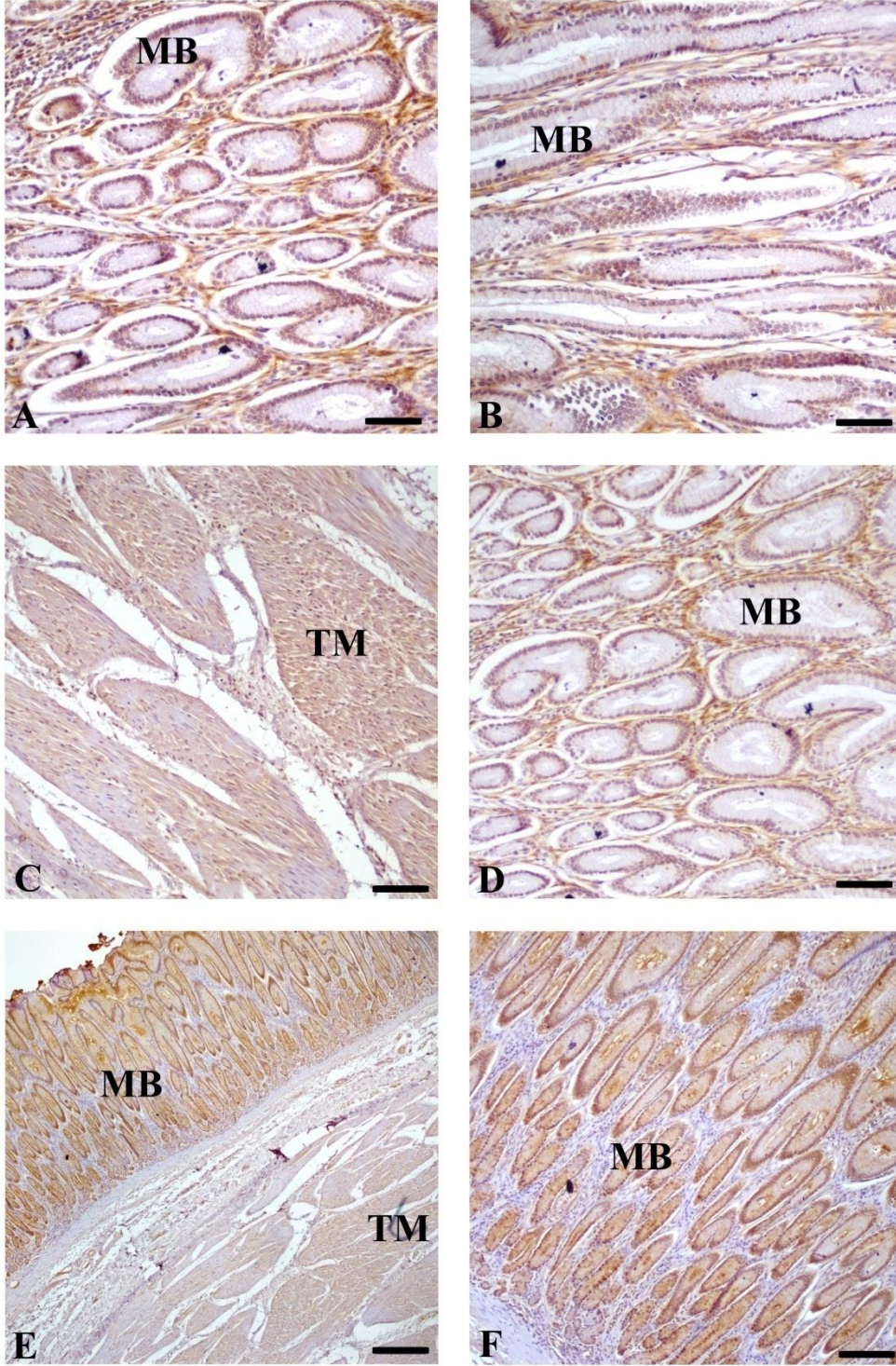
a,b,c aynı satırda farklıklar önemli (P<0.05)

NEGATIF KONTROLLER



Şekil-2.4.3.1 (A,B,C) Plasenta ve (D,E,F) uterusaleptin,ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörler için yapılan negatif kontrol immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma B: Endometriyum bezi, D: Damar, M: Miyometriyum, ME:Maternal epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitelyum, FS: Fötal stroma Bar:(A-D)50 μ m, (E) 100, (F) 25

POZITIF KONTROLLER

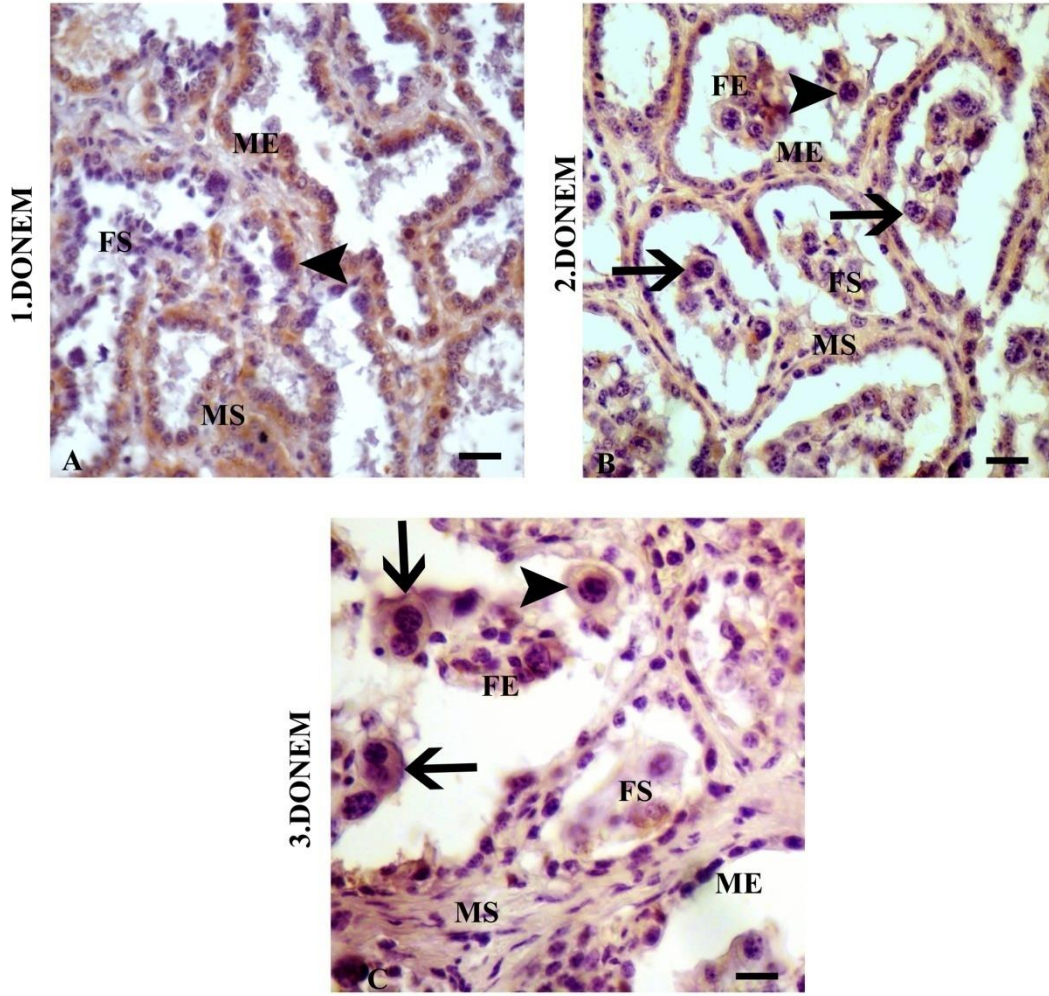


Şekil-2.4.3.2. Leptin,ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörler için inek mide dokusunda yapılan pozitif kontrolimmünreaktivitesi.MB: Mide bezleri, TM: Tunica muskularisBar: 50 µm.

2.4.3.1 Leptin

Gebelik süresince plasentanın f3tal b3l3m3nde koryon villuslarının yapısına katılan trofoblast h3crelerinde leptin ekspresyonunun bulunduğu ancak değişken olduğu tespit edildi. 3zellikle, çift çekirdekli trofoblast h3crelerin, tek çekirdekli trofoblastlara g3re daha g3l3 leptin ekspresyonu g3sterdiği belirlendi. F3tal mezenşimde stromal h3crelerin her 3 de3nemde de zayıf bir immunreaksiyon g3sterdiği ortaya konuldu. Plasentanın maternal kısmında, gebeliğin her 3 d3neminde de maternal epitel h3crelerinin leptin ekspresyonu g3sterdiği ve gebeliğin ikinci d3nemdeki immunaktivitenin epitel h3crelerinde daha g3l3 olduğu saptandı. Maternal stromal h3crelerinde 2. d3nem orta g3l3kte bir ekspresyon g3r3l3rken, 1. ve 3. D3nemlerde zayıf bir ekspresyon g3zlemlendi (**şekil-2.4.3.1.1**).

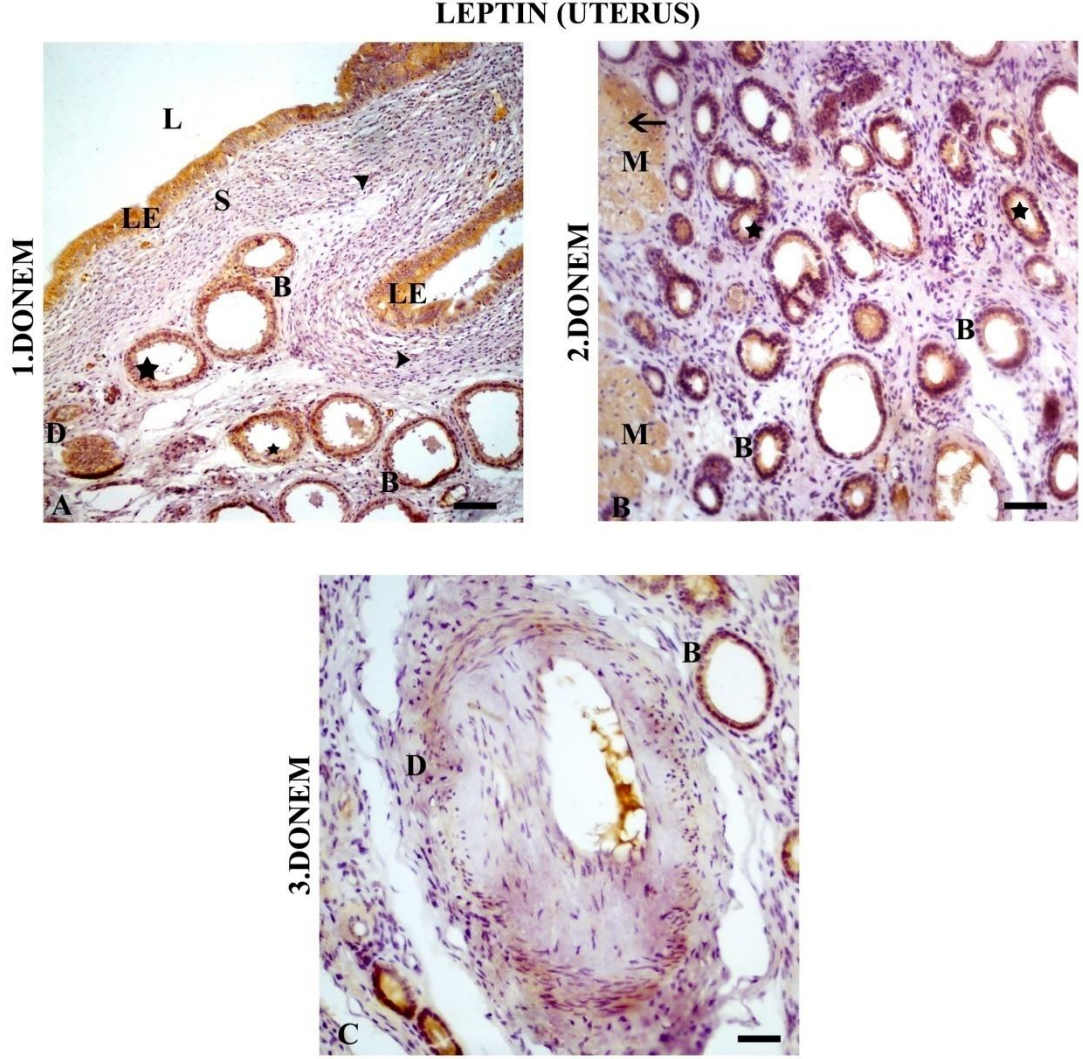
LEPTIN (PLASENTA)



Şekil-2.4.3.1.1. (A), Gebeliğin ilk döneminde (59günlük), (B), ikinci döneminde (157 günlük), (C), üçüncü döneminde (214 günlük), maternal ve fetal plasentadaki gözlenen Leptin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fetal epitel, FS: Fetal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm.

İnterplasentomal bölgede, uterus mukozasında gebeliğin her üç dönemindeluminal ve bez epitel hücrelerin sitoplazmalarında leptinin güçlü immunreaksiyon gösterdiği tespit edildi. Leptin ekspresyonunun yoğunluğu açısından gebelik dönemleri arasında epitel hücreleri arasında farklılığın olmadığı

gözlemlendi. Uterusun stromal hücrelerinde ekspresyonun her üç dönemde de zayıf olduğu, düz kas hücrelerin de ise ekspresyonları hücre sitoplazmalarında oldukça zayıf olduğu dikkati çekti (Şekil-2.4.3.1.2).



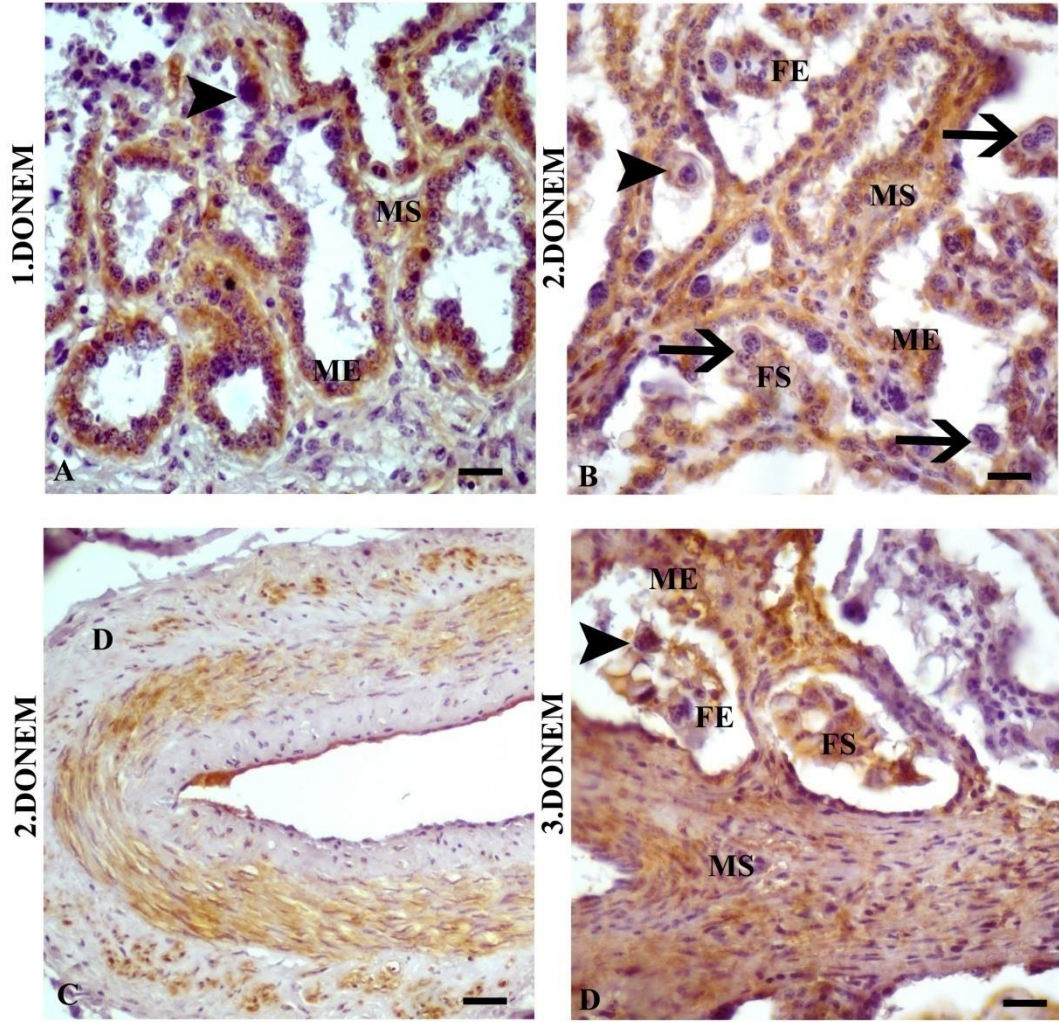
Şekil-2.4.3.1.2 (A), Gebeliğin ilk döneminde (71 günlük), (B), ikinci döneminde (113 günlük), (C), üçüncü döneminde (202 günlük),uterusta gözlenenLeptin immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, D: Damar, yıldız: Bez epiteli, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 50 µm.

Tüm gebelik süresince, feto-maternal stromadaki kan damarları ile uterus stromasında yerleşen kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinde leptin immunreaksiyonunun pozitif olduğu görüldü (Şekil-2.4.3.1.1, Şekil-2.4.3.1.2)

2.4.3.2 Leptin Reseptörü (OB-R ya da Lep-R)

Gebelik süresince plasentanın fetal bölümünden ziyade maternal bölümünde leptin reseptörlerinin daha güçlü eksprese olduğu belirlendi. Tek çekirdekli fetal trofoblastlar ile stromal hücrelerin sitoplazmalarında, çift çekirdekli trofoblastlara göre leptin reseptörünün zayıf bir ekspresyon gösterdiği ortaya konuldu. Maternal bölümde, gebeliğin ilk ve ikinci döneminde maternal epitel ve stromal hücrelerin güçlü sitoplazmik immunreaksiyon gösterdiği, gebeliğin üçüncü dönemde ise ekspresyon yoğunluğunun azaldığı belirlenmiştir (Şekil-2.4.3.2.1).

LEPTIN RESEPTÖRÜ (LEPR-PLASENTA)

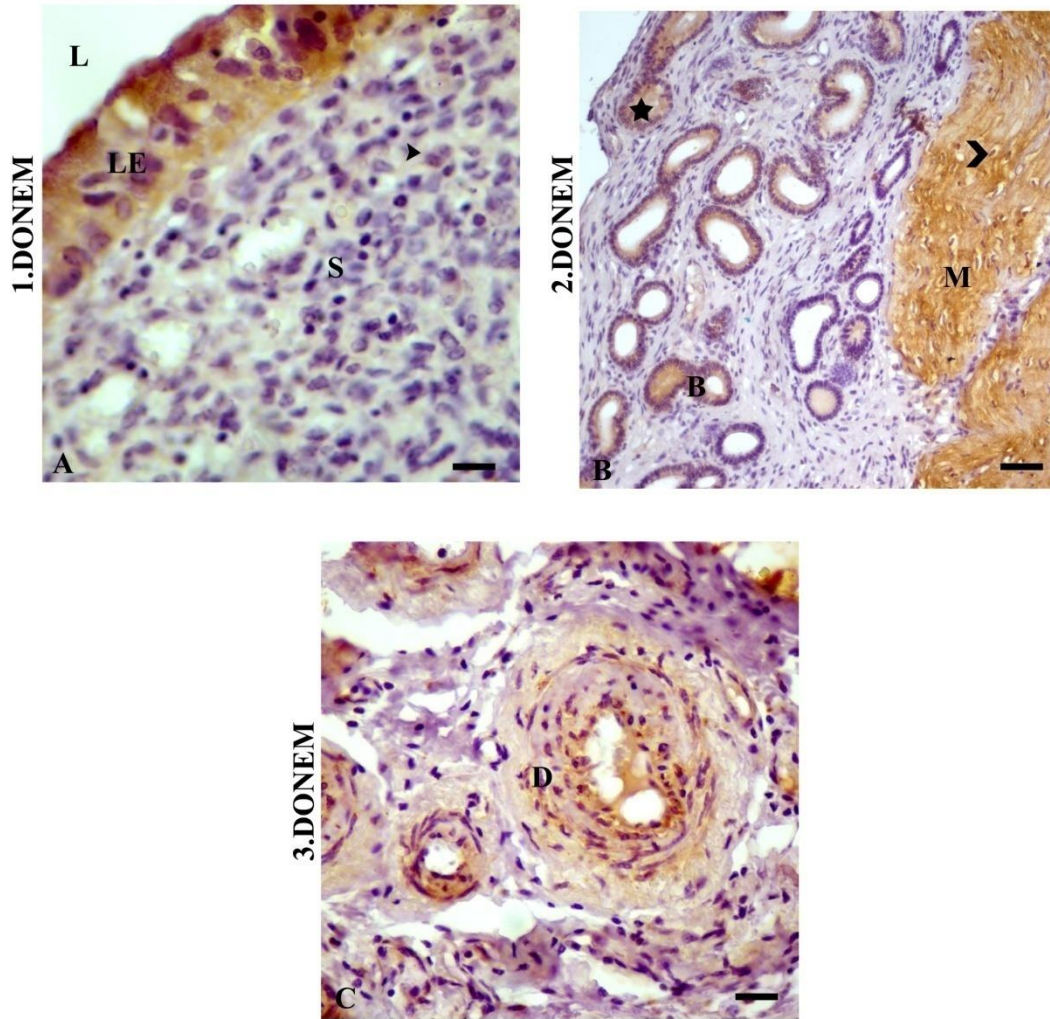


Şekil-2.4.3.2.1(A), Gebeliğin ilk döneminde (80günlük), (B), ikinci döneminde (106 günlük), (C), ikinci döneminde (106 günlük), (D), üçüncü döneminde (231 günlük),maternal ve fetal plasentada gözlenen Leptin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fetal epitel, FS: Fetal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, D: Damar,Bar:25 µm.

Uterus mukozasında leptin reseptörlerinin ekspresyonunun plasental bölüme göre daha güçlü olduğu saptandı. Uterusun luminal ve bez hücrelerinde güçlü sitoplazmik bir ekspresyonun olduğu saptandı. Gebelik ilerledikçe luminal ve bez

epitel hücrelerinde ekspresyonun azaldığı gözlemlendi. Stromal hücrelerin bazılarında leptin reseptörlerinin gebeliğin her üç döneminde de zayıf bir ekspresyon gösterdiği ve gebelik dönemleri arasında immunreaksiyon yoğunluğu açısından bir farklılığın olmadığı belirlendi. Miyometriyumda düz kas hücrelerinde her üç dönemde de güçlü sitoplazmik bir ekspresyon belirlendi (Şekil-2.4.3.2.2).

LEPTIN RESEPTORU (LEPR-UTERUS)



Şekil-2.4.3.2.2(A), Gebeliğin ilk döneminde (83 günlük), (B), ikinci döneminde (128 günlük), (C), üçüncü döneminde (207 günlük), uterusda gözlenen Leptin immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal

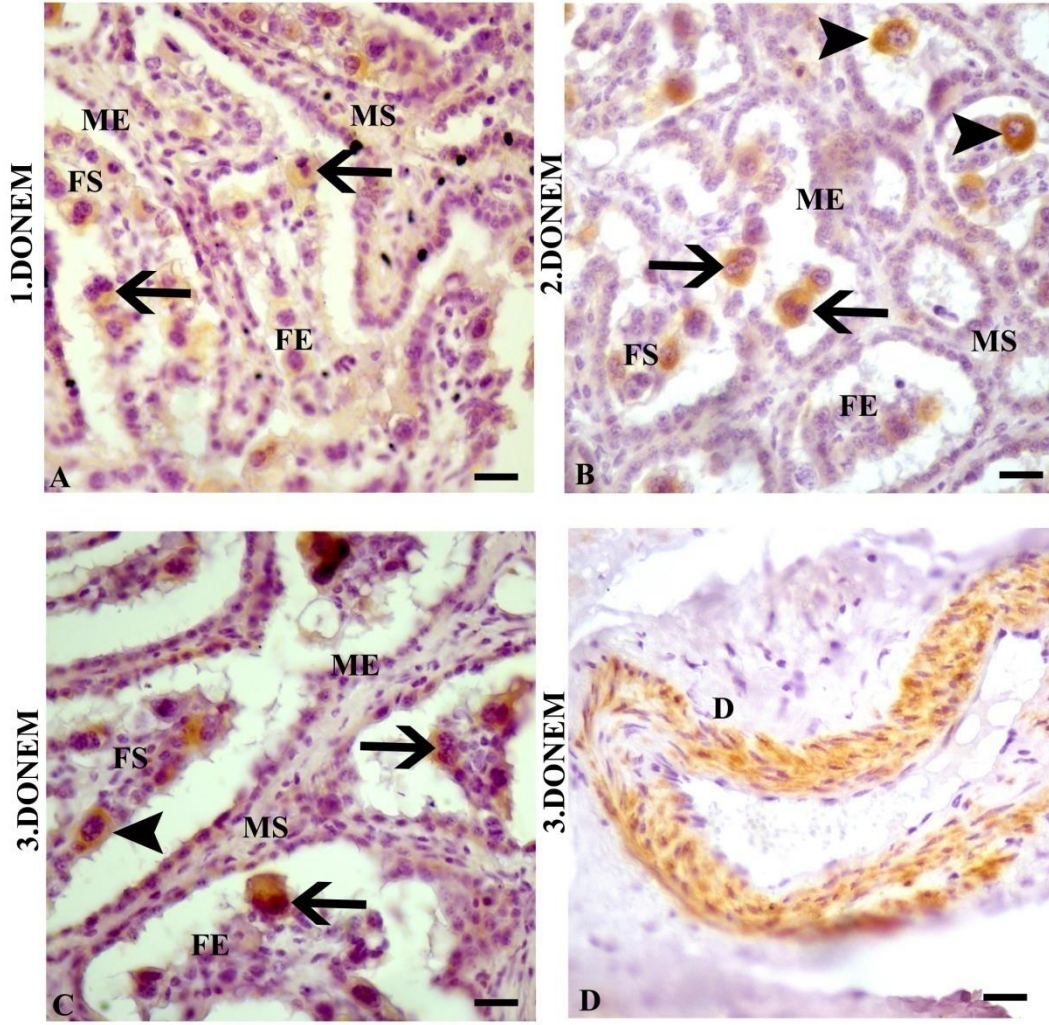
hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 25 µm

Gebelik süresince, plasental ve interplasental bölgede yerleşen kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinde sitoplazmik ekspresyonlar gözlemlendi (Şekil-2.4.3.2.1, Şekil-2.4.3.2.2).

2.4.3.3 Ghrelin

Gebeliğin her üç döneminde de, plasentanın fetal bölümünde tek ve çift çekirdekli trofoblastların güçlü ghrelin ekspresyonu gösterdiği belirlendi. Fetal mezenşimal hücrelerde her üç dönemde de zayıf sitoplazmik boyanmalar mevcuttu. Maternal epitel ve stromal hücrelerde gebeliğin her üç döneminde de ghrelin sitoplazmik ekspresyonlarının zayıf olduğu ve dönemler arasında ekspresyon yoğunluğu açısından farklılığın olmadığı görüldü (Şekil-2.4.3.3.1).

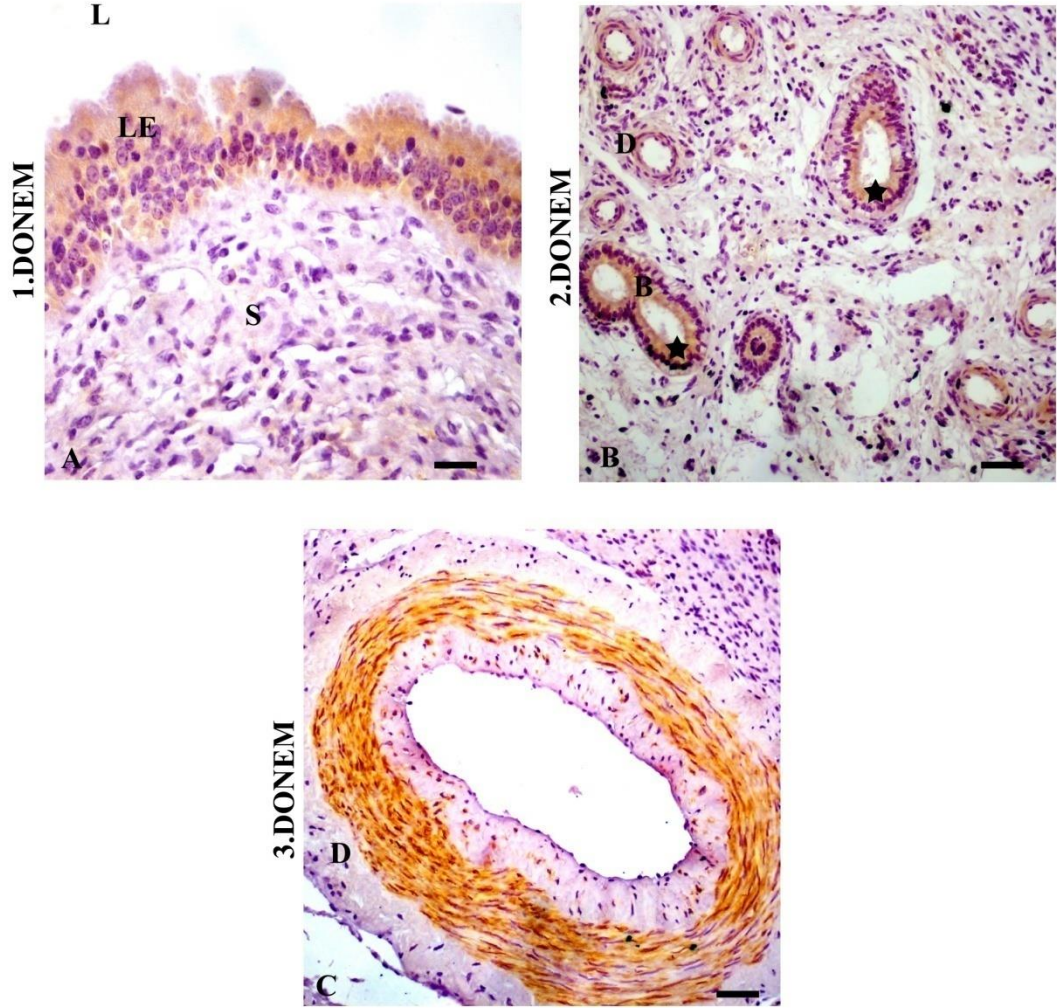
GHRELIN (PLASENTA)



Şekil-2.4.3.3.1(A),Gebeliğin ilk döneminde (74günlük), (B), ikinci döneminde (133 günlük), (C), üçüncü döneminde (207 günlük), (D), üçüncü döneminde (207 günlük), maternal ve fetal plasentadaki gözlenen Ghrelin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fetal epitel, FS: Fetal stroma, D: Damar, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm.

İnterplasentomal bölgede, uterusun luminal ve bez epitel hücreleri ile stromal hücrelerinin de gebelik süresince ghrelin ekspresyonunun nisbeten benzer olduğu dikkati çekti. Düz kas hücrelerinde, gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak ghrelin ekspresyonunun ve boyanma yoğunluğunun arttığı saptandı (**Şekil-2.4.3.3.2**).

GHRELIN (UTERUS)



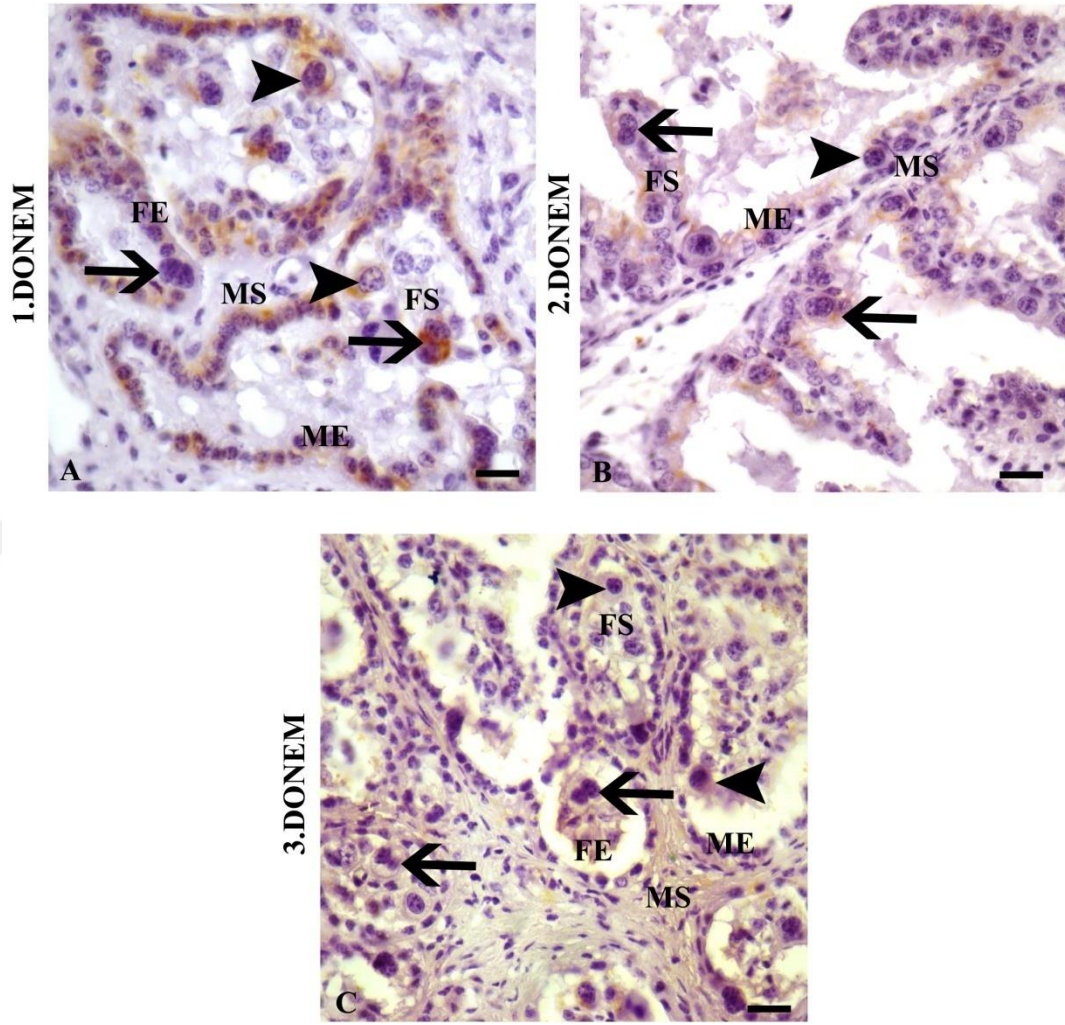
Şekil-2.4.3.3.2(A), Gebeliğin ilk döneminde (67 günlük), (B), ikinci döneminde (137 günlük), (C) ,üçüncü döneminde (202 günlük), uterusda gözlenenGhrelin immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, Bar: 25 µm.

Gebelik süresince uterusun ve plasentanın stromasında lokalize olan kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinde ghrelinin güçlü bir şekilde eksprese olduğu görüldü (Şekil-2.4.3.3.1, Şekil-2.4.3.3.2).

2.4.3.4 Ghrelin Reseptörü (GHS-R)

Gebeliğin her üç döneminde de, plasentanın f3tal b3l3mlerindeki ghrelin resept3r ekspresyonlarının ghrelin immunreaksiyonu ile benzer olduğu saptanmıştır. Ancak, maternal epitel h3crelerinde gebeliğin ilk döneminde ghrelin resept3rünün daha güçlü olduğu, gebeliğin ilerlemesine bağlı olarakda ekspresyon yoğunluğunun maternal epitel h3crelerinde azalmaya başladığı belirlenmiştir. Gebelik s3resince maternal stromal h3crelerinin bazılarında zayıf bir ekspresyonun varlığı dikkati çekmiştir (**şekil-2.4.3.4.1**).

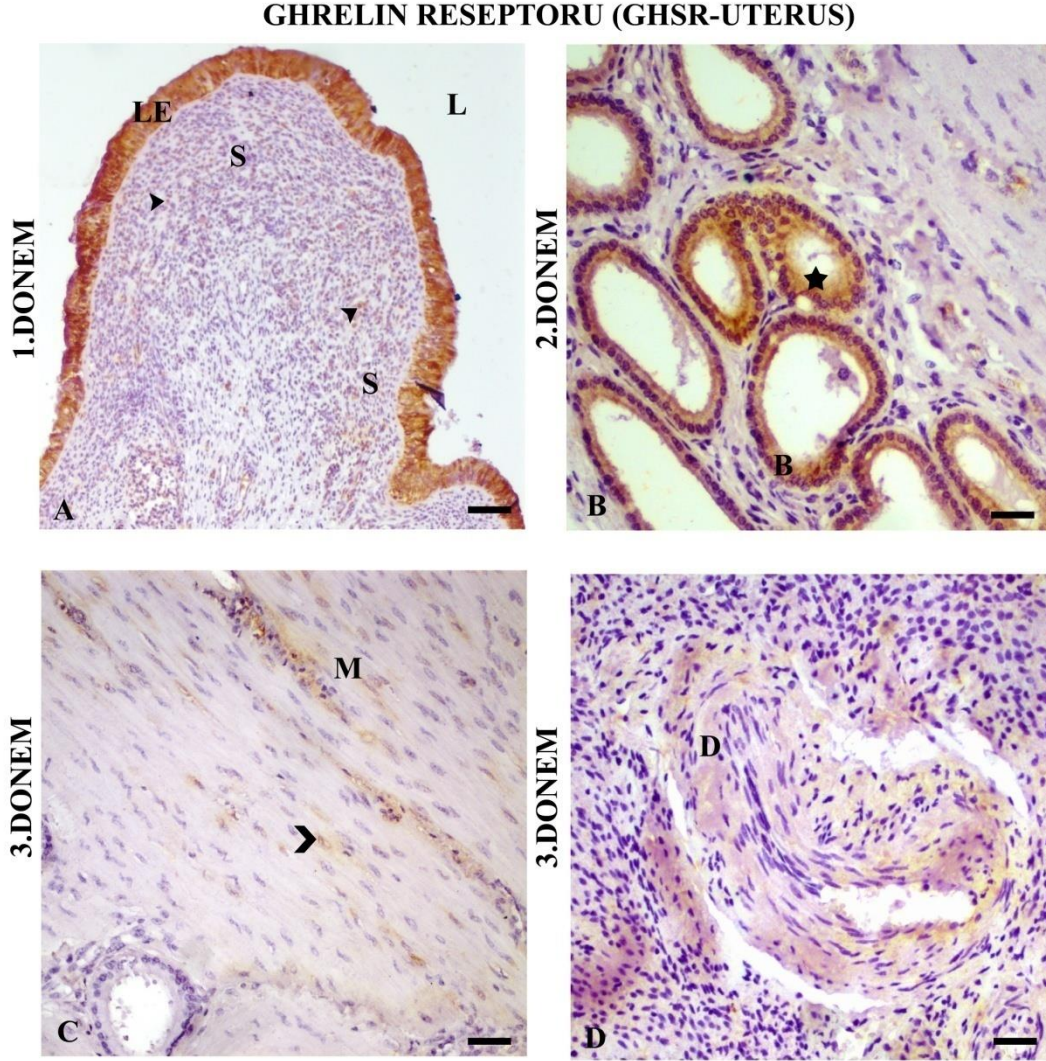
GHRELIN RESEPTORU (GHSR-PLASENTA)



Şekil-2.4.3.4.1(A), Gebeliğin ilk döneminde (74günlük), (B), ikinci döneminde (102 günlük), (C), üçüncü döneminde (231 günlük), maternal ve fetal plasentadaki gözlenen Ghrelin Reseptörünün (GHS-R) immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fetal epitel, FS: Fetal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm

Gebeliğin her üç döneminde de interplasental bölgede uterus mukozasındaki ghrelin reseptörlerinin immunreaksiyon yoğunluklarının nisbeten benzer olduğu, farklılıkların düz kas hücrelerinde dikkate değer olduğu belirlendi.

Özellikle gebelik süresince ghrelin reseptörlerinin düz kas hücrelerinde oldukça zayıf olduğu saptandı (Şekil-2.4.3.4.2).

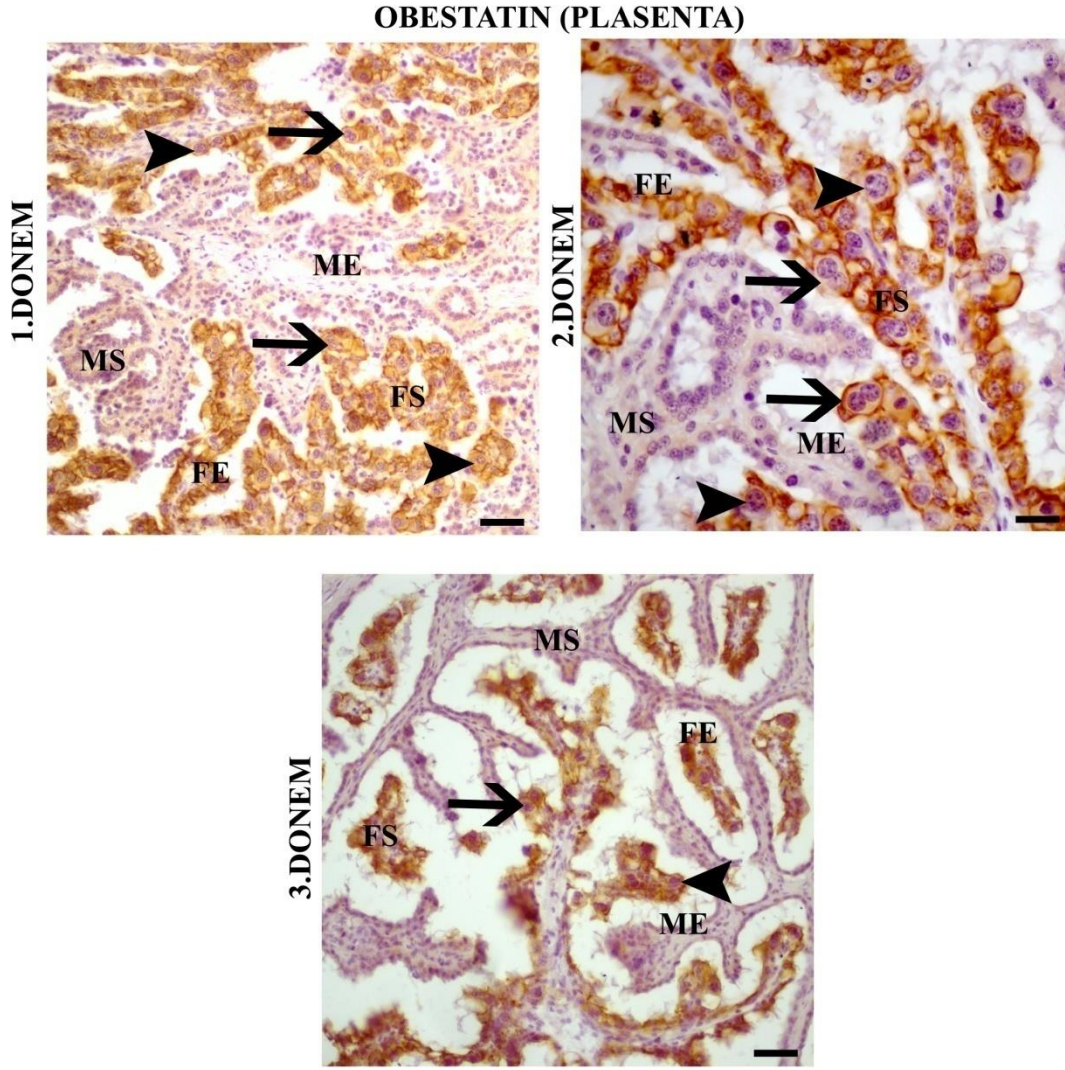


Şekil-2.4.3.4.2(A), Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük), (B), ikinci döneminde (106 günlük), (C),üçüncü döneminde (271 günlük), (D), üçüncü döneminde (231 günlük), uterusu gözlenenGhrelin Reseptörü (GHS-R) immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 50 µm.

Kan damarlarında ise ghrelin reseptörlerinin oldukça zayıf bir ekspresyon gösterdiği ortaya konulmuştur (**Şekil-2.4.3.4.1, Şekil-2.4.3.4.2**).

2.4.3.5Obestatin

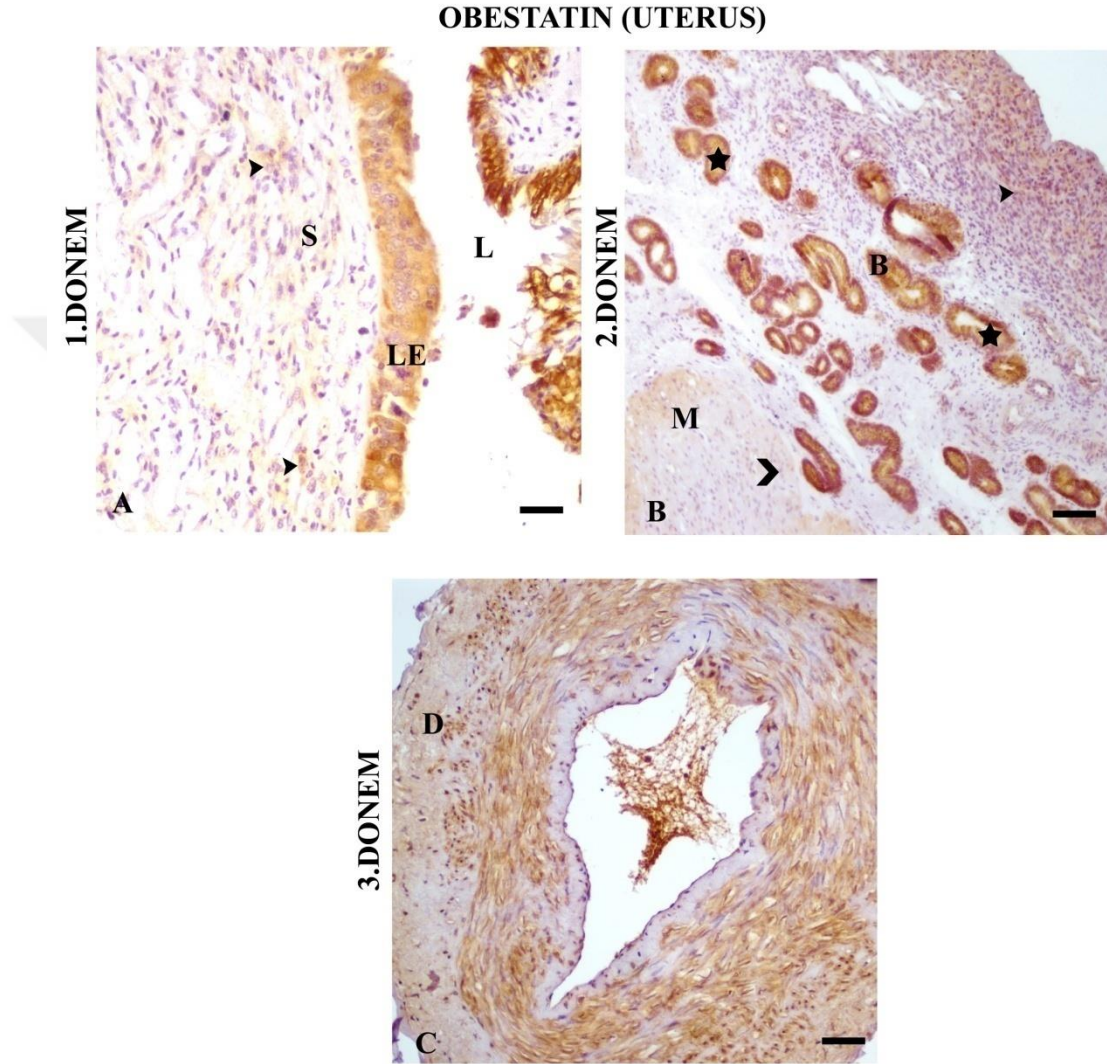
Gebelik süresince, f3tal trofoblastlar ve stromal h3crelerinde obestatin immunreaksiyonunun 3ok g3çl3 olduğu ve d3nemler arasında ekspresyon yoğunluğu a3ısından bir farklılığın bulunmadığı belirlenmiştir. 3zellikle tek ve 3ok 3ekirdekli trofoblastların sitoplazmalarında f3tal stromal h3celere g3re obestatinin oldukça g3çl3 olduğu saptanmıştır. Maternal epitel ve stromal h3crelerde ise immunreaksiyonun gebeliğin her 33 d3neminde de zayıf olduğu ortaya konulmuştur (**Şekil-2.4.3.5.1**).



Şekil-2.4.3.5.1(A), Gebeliğin ilk döneminde (63günlük), (B), ikinci döneminde (111 günlük), (C), üçüncü döneminde (202 günlük), maternal ve fetal plasentadaki gözlenen Obestatin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm

Uterus epitel ve bezlerinde obestatinin her üç dönemde de güçlü ekspresyon gösterdiği gözlemlendi. Uterusun stromal hücrelerinde boyanma yoğunlukları açısından farklılıkların olduğu, bazı hücrelerin sitoplazmalarının güçlü bazılarının ise zayıf bir ekspresyon gösterdiği saptanmıştır. Miyometriyumdaki düz kas hücrelerinde ise

gebeliğin her üç döneminde de orta yoğunlukta bir ekspresyonun olduğu, nisbeten dönemler arasında ekspresyon yoğunluğu açısından bir farklılığın bulunmadığı belirlenmiştir (Şekil-2.4.3.5.2).



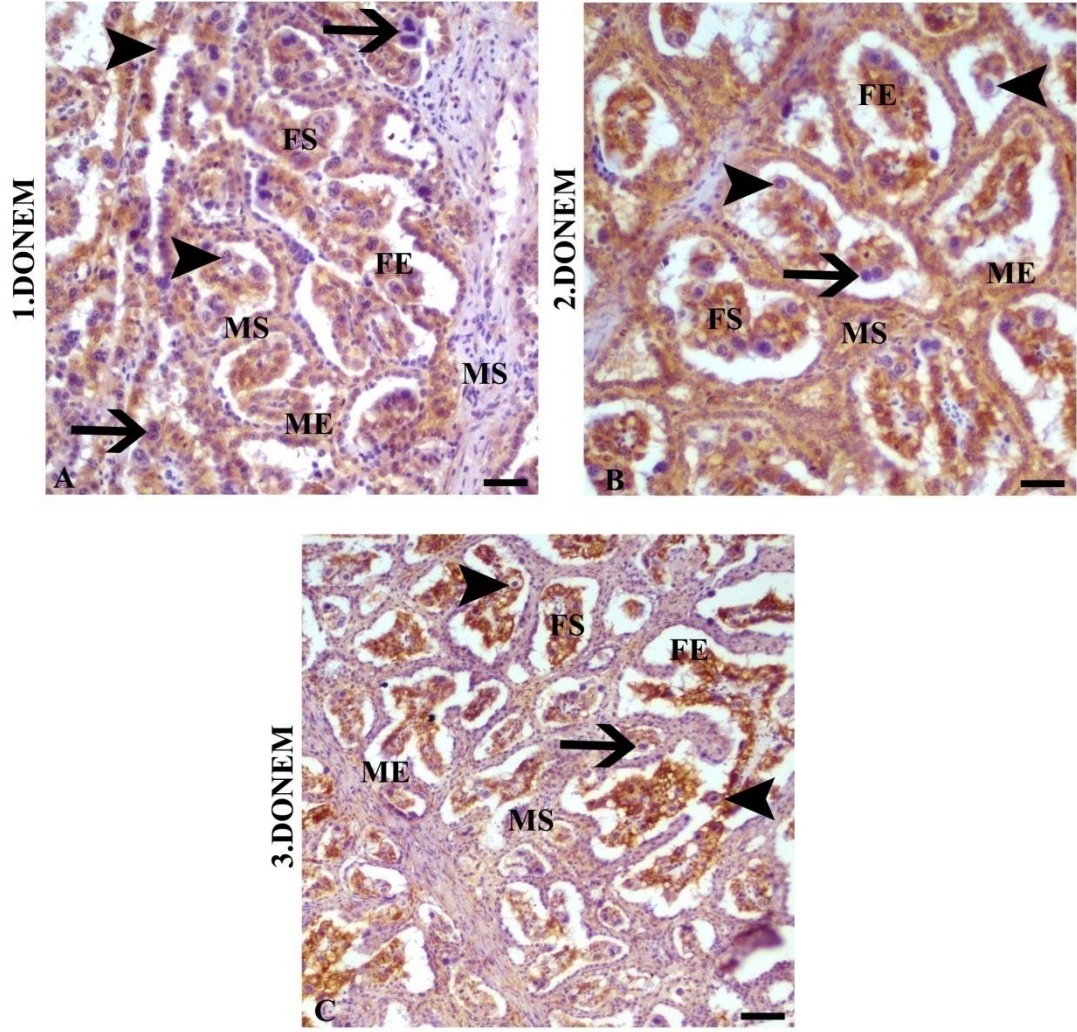
Şekil-2.4.3.5.2(A), Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük), (B), ikinci döneminde (140 günlük), (C), üçüncü döneminde (214 günlük), uterusda gözlenenObestatin immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: 50 µm.

Hem f3to-maternal stroma hem de uterus stromasında lokalize olan kan damarlarının endotel ve d3z kas h3crelerinde değişen yoğunluklarda obestatin ekspresyonu g3zlenmiştir (şekil-2.4.3.5.1, şekil-2.4.3.5.2).

2.4.3.6Obestatin Resept3r3 (GPR39)

Plasenta f3taliste gebelik s3resince, trofoblast h3crelerinde ilk d3nemden son d3neme doğru gidildikçe ekspresyon yoğunluğunun arttığı, tek çekirdekli ve çift çekirdekli trofoblast h3creleri arasında belirgin bir ekspresyon farkının bulunmadığı saptandı. F3tal stromada immunreaksiyonun trofoblastlar ile nisbeten benzer olduğu g3r3ld3. Maternal epitelde ilk d3nemde g3çl3 bir ekspresyon mevcuttu. Gebeliğin ikinci ve 3ç3nc3 d3nemlerinde ise gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak ekspresyon yoğunluğunun azalmaya başladığı saptandı(şekil-2.4.3.6.1).

OBESTATIN RESEPTORU (GPR39-PLASENTA)

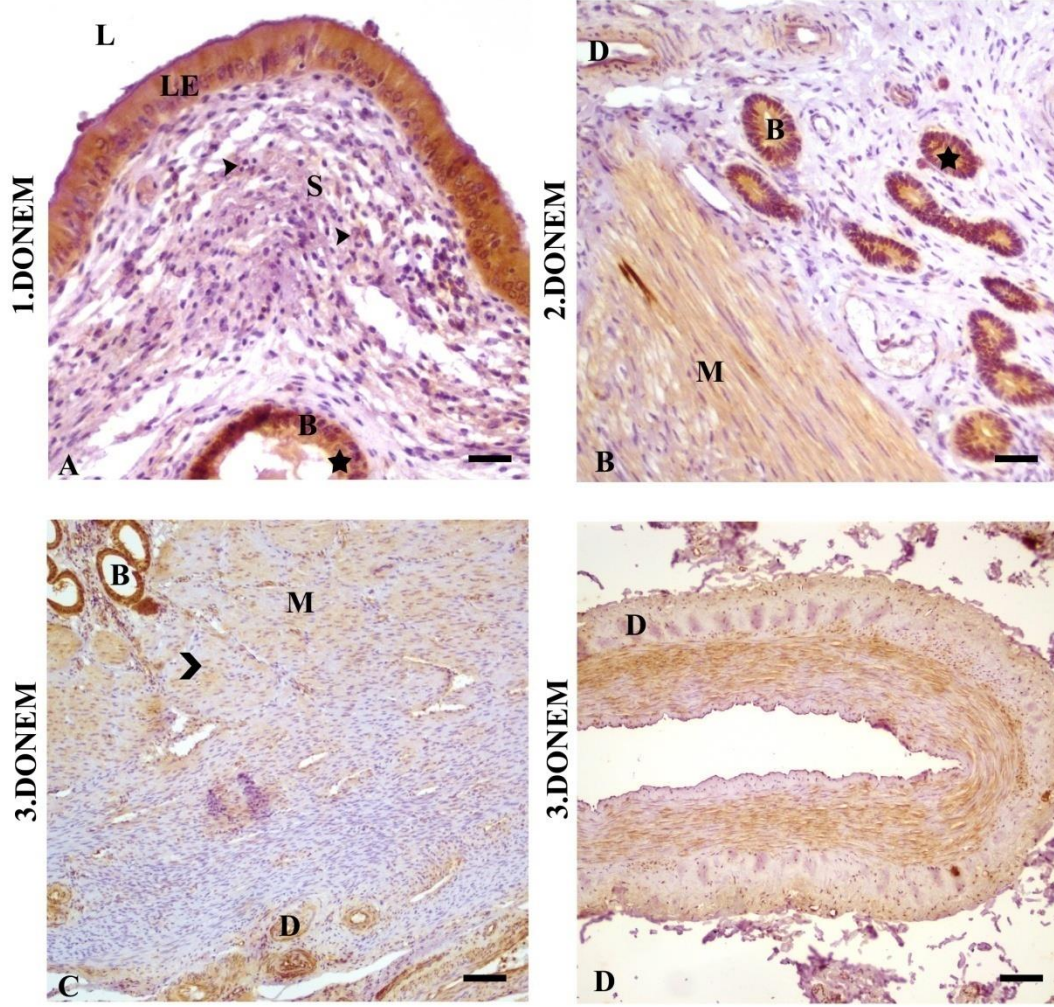


Şekil-2.4.3.6.1(A), Gebeliğin ilk döneminde (67günlük), (B), ikinci döneminde (138 günlük), (C), üçüncü döneminde (231 günlük), maternal ve fetal plasentadaki gözlenen Obestatin immunreaktivitesi. ME: Maternal Epitel, MS: Maternal stroma, FE: Fötal epitel, FS: Fötal stroma, Ok: Çift çekirdekli trofoblast hücresi, Ok başı: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, Bar:25 µm

Gebeliğin her üç döneminde de hem luminal ve bez epitel hücrelerinde, hemde stromal ve düz kas hücrelerinde ekspresyonun sitoplazmik olduğu görüldü. Luminal ve bez epitel hücrelerinde ekspresyon yoğunluğunun ortadan güçlüye doğru

değiştii, buna karşın stromal hücrelerde orta yoğunlukta olduğu izlendi. Düz kas hücrelerinde gebelik süresince orta yoğunlukta bir ekspresyonun olduğu saptandı (şekil-2.4.3.6.2).

OBESTATIN RESEPTÖRÜ (GPR39-UTERUS)



şekil-2.4.3.6.2 (A), Gebeliğin ilk döneminde (83 günlük), (B), ikinci döneminde (127 günlük), (C), üçüncü döneminde (214 günlük), (D), birinci döneminde (67 günlük), uterusta gözlenenObestatin reseptörü (GPR39) immunreaktivitesi. L: Lumen, LE: Luminal epitel, S: Stroma okbaşı: stromal hücreler, B: Endometriyum bezi, yıldız: Bez epiteli, D: Damar, M: Miyometriyum, Ok: Myometriumdaki düz kas hücresi, Bar: (A) 25 µm, (B-D) 50 µm.

Hem f3to-maternal stroma hem de uterus stromasında lokalize olan kan damarlarının endotel ve d3z kas h3crelerinde g3çl3 bir obestatin resept3r3 ekspresyonu mevcuttu(Şekil-2.4.3.6.1, Şekil-2.4.3.6.2).



2.5-TARTIŞMA

Uterus sahip olduğu zengin hücre yapısı, rejenerasyon özelliği, hormonların otokrin ve parakrin etkilerine karşı verdiği yanıtla çok yönlü, gebeliğin şekillendiği organ olması itibarıyla da fötüs için hayati bir organdır. Uterus endometriyum tabakası bezleri ve epiteli ile stromal hücrelerin farklı biyokimyasal ve fonksiyonel özellikleriyle heterojen bir dokudur. Maternal ve fötal dokular arasındaki uyum, gebeliğin şekillenmesi için büyük önem arz etmektedir. Bu bağlamda da, gebelik süresince etkin rol oynayan hormonal ve moleküler mekanizmaların rollerinin iyi bir şekilde anlaşılması gerekir.

İneklerde plasenta, koriyon ile uterus mukozası arasındaki ilişki derecesine göre: yarım (semi) plasenta grubuna girer. Histolojik olarak, inek plasentasının sinepiteliokoryal kotiledonata (synepitheliochorial cotyledonary) tip olduğu, tür içinde değişen sayılarda plasentom taşıdığı ve morfolojik olarak üniform bir yapı gösterdiği bildirilmiştir. İnek plasentalarında, binuklear trophoblast hücreleri ve uterus epitel hücrelerinin füzyonu ile fötomaternal sinsitisyumun şekillendiği için sinepiteliokoryal olarak adlandırılmaktadır (23,78). Plasentomlar anne ile yavru arasındaki besin unsurları ile metabolik atıkların değişim alanlarıdır. Plasentomlar, fötal koryon villusları (kotiledon) ile maternal kriptlerin (caruncula) karşı karşıya gelmesi ile oluşan maternofötal proliferasyon alanlarıdır (24,25). Fötal villus kümeleri kotiledon, maternal kriptler ise karunkul (caruncle) olarak adlandırılmaktadır. (79-82). Yapılan çalışmada da inek plasentasının morfolojik yapısı ile ilgili elde edilen bulgular literatür bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Tüm memelilerde plasenta, anneye ait plasenta maternalis ve yavruya ait plasenta fotalis olmak üzere iki bölümden meydana gelir. Histolojik olarak, Plasenta maternaliste, uterus mukozasının plasantasyona katılan kısımları uterus epiteli, uterus stroması ve uterus stromasında lokalize olan damarların endotel hücreleridir. Plasenta fotaliste ise koryon epiteli (trofoblastlar), koryon mezenşimi (embriyonal bağdoku) ve koryon mezenşiminde lokalize olan damarların endotel hücreleridir. Bu durumda da plasenta üçü anneden ve üçü yavrudan gelen altı katmandan oluşur. İneklerde uterus epitelinde yer yer dökülmeler olur ve koryon epiteli uterus stroması ile karşı karşıya gelir. Villus epitelinde dejenerasyon ya da döküme söz konusu değildir. Uterus epitelindeki dejenerasyon ve zedelenmeler koyun ve keçilerde daha fazla, ineklerde ise daha azdır (4, 83). Koryon villuslarının dış yüzünü üç farklı trofoblast hücresi örter. Bu hücrelerin, %20'si iki çekirdekli ve %80'i tek çekirdekli trofoblast hücrelerinden meydana gelir. Ayrıca, türe göre değişen oranlarda hibrid fötomaternal sinsitial plak hücrelerinede trofoblast hücreleri arasında rastlanabilir (Trinuclear cell) (23,83-85). Sunulan çalışmada, ineklerde daha önce yapılan çalışmalardakine benzer şekilde (78, 83), maternal ve fotal plasenta bölümlerinin net bir şekilde ayırt edildiği, gebeliğin ilk trimestrinin başlangıcında uterus epitelinde kayıp olmadığı, gebelik ilerledikçe uterus epitelinde yer yer kayıpların olduğu ortaya konuldu. Yine inek plasentasında önceki çalışmalardakine benzer şekilde (23, 78, 83-85), ilk trimesterin sonunda, 2 ve 3 trimesterlerde kotilendonların yapısına katılan koryon villuslarının trofoblast hücre tabakasıyla örtüldüğü, gebeliğin ilk döneminde trofoblastlar arasında mononükleer hücrelerin baskın olduğu ve gebeliğin ilerleyen dönemlerinde ise iki ya da üç çekirdekli trofoblast dev hücrelerinin ortaya çıktığı görülmüştür. Yapılan çalışmada, trofoblastların çoğunluğunu oluşturan mononükleer

hücrelerdüzensiz şekilli, büyük yuvarlak çekirdek ve çekirdekçiğe sahip kriptlerin distal bölümüne doğru çıkıntılar yapan hücreler olduğu saptandı. Ayrıca, trofoblast dev hücrelerinin mononuklear hücreler arasında farklı pozisyonlarda yerleştiği ya da mononuklear hücreler tarafından çevrelendiği görüldü.

Metabolik fonksiyonların düzenlenmesinde görev alan leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörler ile ilgili çalışmalar genellikle beslenme ve obezite gibi alanlara odaklanmıştır (30,31,35,45,47). Gebelik ile bu metbolik hormonlar arasındaki ilişkiyi ve gebelikteki etkilerini inceleyen az sayıda çalışma mevcuttur. İn vivo ve in vitro olarak yapılan sınırlı sayıdaki bu çalışmalarda da gebelik süresince bu proteinlerin lokalizasyonlarına bakılmış ve olası fonksiyonları ortaya konulmaya çalışılmıştır (34,39,45,62). Yapılan çalışmada da, ineklerde gebelik boyunca leptin, ghrelin, obestatin ile bunların reseptörlerinin hücresel lokalizasyonları tespit edilmeye çalışılmış, gebelik dönemleri arasında hücresel lokalizasyon farklılıklarının bulunup bulunmadığı araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar neticesinde gebelik süresince olası rolleri açıklanmaya çalışılmıştır.

İnsan ve fare plasentasında yapılan bir çalışmada leptinin trofoblastlarda lokalize olduğu, gebeliğin birinci döneminden üçüncü dönemine doğru gidildikçe artış gösterdiği bildirilmiştir (86). İneklerde erken gebelik döneminde Leptinin föto-maternal tabakadaki trofoektoderm hücrelerinden ve uterus epitelinden eksprese edildiği bildirilmiştir (87). Balogh ve Ark. Tarafından yapılan çalışmada köpek uterus ve plasentasının, gebelik süresince leptin kaynağı olduğu ve bu organların hormondan fizyolojik olarak etkilendiği bildirilmiştir. Leptin ve reseptörünün, gebelik süresince uterus ve plasentada çeşitli hücre tiplerinden farklı yoğunluklar eksprese edildiği ve bu şekilde de uterus ve plasentada parakrin/otokrin

fonksiyonlarıgerçekleştirdiği ifade edilmiştir. Köpeklerde plasentanın hem maternal hem de fetal bölümün yapısına katılan kısımlardan leptin ve reseptörünün eksprese edildiği ortaya konulmuştur (88). Ayrıca köpeklerdeleptin'in myometriyumda ve kan damarlarının endotelial hücrelerinde de güçlü bir ekspresyon gösterdiği buna karşın uterus bezlerinde leptin immunreaksiyonunun gözlemlenmediği belirtilmiştir (88). Hoggard ve ark. (1997) leptinin kemirgen, koyun ve insan plasentasında lokalize olduğunu tespit etmişlerdir (8). Kedi plasentasında yapılan çalışmada, plasentada güçlü bir leptin ekspresyonunun gözlemlendiği bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada plasentanın desiduata hücreleri ve sinsisyotrofoblastik hücrelerdeekspresyon gösterdiği, bunun dışındaki yapılarda ise ekspresyonolmadığı bildirilmiştir (89). Yapılan çalışmada leptinin trofolast hücrelerde ve maternal stromada güçlü ekspresyonlar gösterdiği, bu yönüyle de diğer çalışmalarla benzerlik göstermiştir. Ancak köpeklerde bildirilenin aksine bizim çalışmamız göstermiştir ki ineklerde uterus bezlerinde güçlü bir leptin ekspresyonu mevcuttur.

İnsanlarda yapılan bir çalışmada, trofoblastik hücrelerin leptin hormonu tarafından etkilenerek proliferere olduklarını belirtilmiştir. Aynı çalışmada leptinin apoptozu inhibe etmesi ve proliferasyonu teşvik etmesi nedeniyle trofoblastik hücreler için mitojenik bir faktör olduğu bildirilmiştir (90). Bizim çalışmamızda, gebeliğin her üç döneminde de leptin ekspresyonu ortaya konulmuş olup, üç trimesterde de dönemler arasında leptin açısından gözlemlenen belirgin bir farklılığın olmadığı ortaya konulmuştur. Bu nedenle de ineklerdeleptinin hücre proliferasyonunda rol oynayabileceği kanısına varılmıştır.

Schulz ve ark. (2004)leptin eksikliği olan ob/ob farelerinde yapmış oldukları leptin uygulamalarında, leptinin 10. günde trofoblast hücre invazyonunu tetiklediğini

göstermişlerdir. Aynı çalışmada leptinin hücre proliferasyonunu indüklemediğini de göstermişlerdir (10). Yapılan çalışmada farelerdeki çalışmaya benzer şekilde tofoblast hücrelerinin leptinden etkilendiğini gösterilmiştir. Cervero ve ark., (2004) insan endometriyumunda leptin reseptörlerinin alt tiplerini araştırmışlardır. Leptin reseptörünün, insan uterusunun luminal ve bez epitel hücrelerinde lokalize olduğu bildirilmiştir. Ayrıca leptin reseptörlerinin insan plasentanın sitotrofoblastlarında ve maternal desidua hücrelerinde de lokalize olduğu saptanmıştır (91). Sunulan çalışmada, ineklerde leptin reseptörünün hem uterus bölümlerinden hem de plasentadan eksprese edildiği ortaya konulmuştur. Bu bulgular, endometriyumun leptin etkisi için bir hedef doku olduğunu ve oositlerin ve preimplantasyon embriyolarının, leptinin embriyonik gelişim için gerekli olabileceğini gösteren OB-R mRNA'ya sahip olduğunu göstermektedir.

Birleşik Krallıkta düvelerde yapılan bir çalışmada leptin genindeki polimorfizmlerin perinatal mortaliteye (doğumdan sonraki 24 saat içinde ölü doğumlar ve mortalite) neden olduğu ortaya konulmuştur (92). Brickell ve ark.'nın düvelerde yaptığı bu çalışma leptinin plaseenta ve doğumun devamlılığı için önemli olduğunu, leptin alellerinin de mortalitenin insidansını etkileyebileceğini göstermişlerdir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada, uterus dolaşımındaki leptinin, hem fetal hem de plasental hacim artışı için endokrin bir sinyal gibi fonksiyon yaptığı ifade edilmiştir. Böylelikle, fütüsde leptin konsantrasyonunun bir dizi beslenme ve endokrin uyarılara cevaplar oluşturarak, gebeliğin ileri dönemlerinde glikojenez ve doku olgunlaşmasının kontrolünde ve daha sonraki yaşamda enerji dengesi için önemli nöral yolların oluşturulmasında fonksiyonlar gösterebileceğine işaret

etmişlerdir (93). İneklerde de leptin ve reseptörünün benzer fonksiyonları gerçekleştirebileceği düşünülmektedir.

Chien ve ark.'nın (1997) ratlar üzerine yapmış olduğu araştırmada, serum leptin düzeyinde 1.8 kat, uterustaki dokularda ise 2.7 kat leptin reseptörü yoğunluğu tespit etmiştir. Özellikle myometriyumda yüksek miktarda leptin reseptörü görülürken, endometriyum ve glanduler bölümlerde daha düşük konsantrasyonda leptin reseptörü tespit edilmiştir. Ayrıca leptin reseptörü plasental trofoblast hücrelerinde tespit edilirken, fetal membran, amniyon ve koriyonda tespit edilememiştir (94). Yaptığımız çalışma da myometriyumda leptin ve leptin reseptörü açısından her üç trimestırda da güçlü ekspresyonlar görüldü.

Cao ve ark.'nın (2001) çalışmasında, leptine bağlı yeni kan damarlarının fenestreli ve geçirgen olduğunu, leptinin kan damarı büyümesinin uyarılmasında FGF-2 veya VEGF ile sinerjistik bir etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma, anjiyogenezin uyarılmasında birkaç anjiyojenik faktörün tek bir molekülden daha etkili olduğunu göstermektedir. Aynı çalışma leptin plazma düzeyindeki artışın damar permeabilitesini de etkilediğini ve damarlarda leptin reseptörlerinin varlığının bir kanıtı olduğunu bildirmektedir. Çalışmanın bir diğer çarpıcı bulgusu ise leptinin damar geçirgenliğini kontrol ettiğidir. Bu veri ile leptinin plazmadaki konsantrasyonunun kendisi tarafından kontrol edildiğinin göstergesidir (95). Çalışmamızda leptin ve reseptörlerinin endometriyal damarlarda orta düzeyde bulunması ineklerin plasenta ve uterusun stromasında lokalize olan kan damarlarında da benzer fonksiyonları yerine getirdiğini düşündürmüştür.

Yamaguchi ve ark. (1998), fare plasentasının leptin reseptörlerini (sOB-R) salgılayıp salgılamadığını belirlemek ve reseptör ekspresyonunlarını göstermek için yapmış olduğu çalışmada, plasentanın gebeliğin 13. Gününde leptin reseptör ekspresyonunun başladığını ve gebeliğin 17. gününde pik seviyeye ulaştığını belirlemişlerdir. Çalışma sonuçları trofoblast hücrelerinin sOB-R'yi in vivo ve in vitro olarak farklılaştırdığını, eksprese ettiğini ve serbest bıraktığını, cAMP'nin fare plasenta tarafından sOB-R salgılanmasının birkaç güçlü düzenleyicisinden biri olduğunu düşündürmüştür (96). Sıçan plasentasında, leptin reseptörlerinin (OB-R) lokalizasyonu ve ekspresyonu ile ilgili yapılan çalışmada, insitu hibridizasyon analizi ile, OB-Rb için hibridizasyon sinyalleri ve OB-R'nin ortak hücre dışı alanı, ilk olarak gebeliğin 14. gününde plasenta labirent bölgesinin bazı hücrelerinde ve daha sonra labirent bölgesi, gebeliğin ikinci yarısı boyunca OB-Rb'yi eksprese ettiğini bulmuşlardır. Çiftli boyama, trofoblast hücrelerinden eksprese edilen OB-R sinyallerinin plasentanın labirent bölgesinde PL-II immünoreaktivitesi gösterdiğini ortaya koymuştur (97). Sıçanlardakine benzer şekilde ineklerde de leptin reseptörlerinin gebeliğin ikinci yarısından itibaren plasenta fonksiyonlarında fizyolojik bir öneme sahip olabileceğini düşünülmüştür.

Gualillo ve ark.'nın (2001), insan ve sıçan plasentasında ghrelin üzerine yaptığı çalışmada, insanlarda ghrelinin ilk trimesterde sitotrofoblast hücrelerinde yoğun, sinsisyotrofoblast hücrelerinde nadiren eksprese edildiğini göstermişlerdir. Sıçan plasentasında ghrelinin labirent trofoblastlarının sitoplazmasında bulunduğu, diğer dokularda ise görülmediğini bildirilmiştir. Plasental ghrelinin sıçanlarda, gebeliğin ilk günlerinde bulunmadığı, gebeliğin 16. günde pik seviyeye ulaştığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, insan ve sıçan plasentasında ghrelin, gebeliğin

dönemlerine bağılı olarak ekspresyon farklılıkları gösterdiği ortaya konulmuştur (98). Sunulan çalışmada ise, ineklerde tüm gebelik süresince trofoblast hücrelerinde güçlü bir ghrelin ekspresyonu gözlemlenmiştir.

Caminos ve ark.'nın siklik rat ve gebe rat ovaryumlarında yapmış oldukları çalışmada, ghrelin mRNA ekspresyonu incelenmiştir. Çalışma sonunda grelin'in CL'un fonksiyonel regresyonu boyunca azalan ekspresyon seviyeleri ile hem mevcut siklusta hem de gebelikte fonksiyonel CL'da maksimum düzeyde eksprese olduğunu bildirmişlerdir (99). Çalışma sıçan plasentasının labirent trofoblastında gebeliğin 16. gününde grelin mRNA ekspresyonunun pik yaptığını ortaya koymuştur (98). Caminos ve ark.'nın (2003), mevcut ve önceki verilerine dayanarak, LH (ve PRL) 'nin erken gebelik sırasında yumurtalıktaki ghrelin ekspresyonunu düzenlediğini, plasental laktojenin ise gebeliğin ikinci yarısı boyunca plasental ghrelin mRNA ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğini varsaymışlardır (98). Kawamura ve ark. (2003) fare oosit ve preimplantasyon embriyolarında ghrelin ve ghrelin reseptörü ekspresyonunu incelemek için yapmış oldukları çalışmada, uterus endometriyumunun ghrelin ve reseptörü için köken oluşturabileceği varsayımında bulunmuşlardır. Endometriyumla beraber, ghrelinin uterine sıvılar ve plazma yoğunluğu ile orantılı olarak artış gösterdiğini bildirdiler. Uterus endometriyumunun glanduler ve luminal epitel hücrelerinin ghrelini salgıladığını immunohistokimyasal analizlerle belirlemişlerdir (100).

Bir çalışmada, ghrelinin luminal ve bez epitel hücrelerinde eksprese edildiğini ve erken gebelik döneminde desidual hücrelerde güçlü bir sinyal verdiğini bildirilmiştir. Anti-ghrelin antikoru kullanılarak yapılan immünohistokimyasal analizde, desidual hücrelerde ve ekstravillous trofoblast hücrelerinde güçlü sinyaller

görülmüştür (101). Bu sonuç, ghrelinin embriyonal implantasyon sırasında, endometrium ve embriyo arasındaki iletişimde yer alan parakrin/otokrin faktör olduğunu düşündürmüştür (101). Sığırlarda yapılan bir çalışmada, ghrelinin PCR, insituhibridizasyon ve immünohistokimya analizlerinde, östrus siklusu ve gebeliğin başlangıcında eksprese edildiği ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, sığırlarda ghrelinin yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır (102). Ghrelinin tüm gebelik süresince koyun plasental dokularında, maternal epitelyumda, karanküllerde ve trofektodermde lokalize olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, ghrelin reseptörünün de tüm gebelik süresince fetal trofektodermde ve plasentanın kan damarlarında immunpozitif olarak saptandığı bildirilmiştir (103). Çalışmamızda, ghrelinin ineklerde luminal ve bez epitel hücrelerinde güçlü, stromal hücrelerde zayıf olması yukardaki fonksiyonlara benzer bir görevi inek uterusunda ve yavru arasında gerçekleştirebileceğini akla getirmiştir.

O'Brien ve ark.'nın (2010)ghrelinin insan miyometriyumuna etkisini öğrenmek için yapmış oldukları çalışmada, miyometriyumda güçlü ghrelin ekspresyonunun bulunması ile ghrelin hormonunun kas dokusunun kasılıp-gevşemesine katkıda bulunduğunu savunmuşlardır (104). İnsanlarda gebeliğin 38-39. haftalarında ghrelin miyometriyumdaki kaslarda güçlü bir ekspresyon gösterdiği ortaya konulmuş ve güçlü ghrelin ekspresyonunun relaksan etkisi olabileceği ancak bu etkisinin sınırlı olabileceği kanısına varılmıştır (105). Sıçan uterus miyometriyumunda gherilin ekspresyonlarının bulunduğu ve bu gherelin ekspresyonlarının da myometrial kasılmalar üzerinde inhibitör etkisini olabileceği ifade edilmiştir. (106). Yapmış olduğumuz çalışmada, ineklerde ghrelinin uterus miyometriyumunda güçlü

ekspresyon göstermesi, O'brien ve ark.'nın (2010) belirttiği fonksiyonlara benzer fonksiyonların ineklerde de oluşturduğunu düşündürmüştür.

Yapılan literatür taramalarında obestatin ve reseptörünün ekspresyonuna ilişkin bilgilerin çok sınırlı olduğu, memelilerde gebelik süresince bu hormon ve reseptörüne ilişkin herhangi bir bilginin mevcut olmadığı tespit edilmiştir. Yamamoto ve ark.'nın (2008), tavuk dokularında yapmış oldukları çalışmada, obestatin reseptörü olan GPR-39'un birçok dokuda eksprese olduğunu, özellikle oviduct, vagina ve uterusu güçlü bir ekspresyon gösterdiğini bildirilmiştir (107). Yamamoto ve ark.'nın (2009) başka bir çalışmasında ineklerde obestatinin reseptörü olan GPR-39'un, karaciğer, böbrek, abomasum, ince barsak, kolon, rektum ve uterusu güçlü bir şekilde eksprese edildiğini ortaya koymuştur (108). Sunulan çalışmada, ineklerde hem uterus hem de plasentada obestatin ve reseptörünün güçlü bir şekilde eksprese olduğu dikkati çekmiştir. Özellikle plasentanın fetal bölümünde trofoblastlar ve fetal stromal hücrelerin oldukça güçlü bir immunreaksiyon gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca, uterusun luminal ve bez epitel hücreleri ile miyometriyumunda da güçlü obestatin ve reseptörünün ekspresyonları gözlenmiştir.

İnsan, fare ve ratlarda yapılan çalışmalarda, leptin ve gherilinin kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinden eksprese olduğu, ancak bu iki peptid hormonunun vasküler etkilerinin açık olmadığı bildirilmiştir. Yazarlar, gherilin ve leptinin kan damarlarında vazodilatasyon, vazokonstriksiyon ya da damar permeabilitesinin düzenlenmesinde fonksiyon gösteriyor olabileceğini ifade etmişlerdir (109-112). Yapılan kapsamlı literatür taramalarında, kan damarlarında obestatinin eksprese olup olmadığına dair herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Sunulan çalışmada, lokalize olan kan damarlarından leptin ve gherilin ile birlikte

obestatinin de ekspresse olduğunu belirledik. Ayrıca, obestatinin kan damarlarının sadece endotel hücrelerinden ekspresse olduğunu saptadık.



2.6-SONUÇ VE ÖNERİLER

İmmunohistokimyasal analizler sonucunda, ineklerde plasentadan leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörlerin (Lep-R, GHS-R, GPR39) değişen oranlarda ekspresse olduğu gösterilmiştir. İneklerde gebeliğin farklı dönemlerinde plasentanın feto-maternal bölümü ile interplasentomal bölgedeki uterus mukozasından leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörlerin (Lep-R, GHS-R, GPR39) değişik oranlarda lokalize olması, diğer memeli türlerinde olduğu gibi plasental gelişimde ve gebeliğin devamlılığında bu faktörlerin ineklerde de önemli rolü olduğunu göstermiştir. Fötal trofoblastlar ile maternal epitel hücreleri ile fötal mezenşim ve stromal hücrelerde leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörlerin (Lep-R, GHS-R, GPR39) lokalizasyonları hücre-hücre sinyallerinin oluşumunu sağlayarak plasantasyonun başlatılması ve devamlılığının sağlanmasında etkili olabileceklerini göstermiştir. Plasantasyon süresince leptin, ghrelin, obestatin ve bunlara ait reseptörlerin (Lep-R, GHS-R, GPR39) lokalize oldukları bu hücrelerin büyümesi, farklılaşması, migrasyonu ve hayatta kalma sürelerinin düzenlenmesinde fizyolojik bir rol oynayabileceğini güçlü bir şekilde desteklemiştir.

Bu çalışmanın immunohistokimyasal ve semi-kantitatif verileri, bundan sonra yapılacak çalışmalar için yol gösterici olacaktır. Ayrıca bu sonuçların veteriner pratiğe katkıda bulunacağı ve bütün türlerde plasenta ile ilişkili anomalilerin teşhisi ve tedavisine ışık tutacağı kanaatindeyiz.

3.KAYNAKLAR

1. Leblanc SJ. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. The Veterinary Journal. 2008;176:102–114.
2. Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc SJ, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle, Theriogenology.2006;65: 1516–1530.
3. De Vries A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. Journal of Dairy Science.2006;89: 3876-3885.
4. Hassa O, Aştı RN. 1997. Embriyoloji (2. basım). Ankara: Yorum Basın Yayın Ltd. Şti. 1992
5. Mossman HW. Vertebrate Fetal Membranes: Comparative Ontogeny and Morphology, Evolution, Phylogenetic Significance, Basic Functions, Research Opportunities (Rutgers Univ. Press, New Brunswick, NJ). 1987
6. Barclay AE, Franklin KJ, Prichard MML. The foetal circulation. Oxford: Blackwell Scientific Publication, Ltd.1944
7. Grosser, O. Vergleichende anatomic und entwicklungsgeschichte der eihaut und der plasenta. Wien-Leipzig: W.braumüller.1909
8. Amoroso EC.Placentation in: Marshall’s Physiology of Reproduction (A. S. Parkes, ed.), Longmans, Green, London.1952;pp. 127–311
9. Wooding P, Burton G. Comparative placentation structures, functions and evolution. Springer. Germany. 2008
10. Schultz LC, Widmaier EP. The Effect of Leptin on Mouse Trophoblast Cell Invasion.Biology of Reproduction.2004;71: 1963–1967

11. Magarinos MP, Sanchez-Margalet V, Kotler M, Calvo JC, Varone CL. Leptin Promotes Cell Proliferation and Survival of Trophoblastic Cells, *Biology Of Reproduction*.2007;76: 203–210
12. Harrison JL, Adam CL, Brown YA, Wallace JM, Aitken RP, Lea RG, Miller DW. An immunohistochemical study of the localization and developmental expression of ghrelin and its functional receptor in the ovine placenta. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2007; 5:25
13. Orlando Ramírez-Garzon H.Effect of Endometrial Biopsy on Uterine health in Tropically Adapted Beef Cattle. University of Queensland, Australia, 2017
14. Ferenzy A. Blaustein's Patology of Female Genital Tract, *Anatomy and Histology of Uterine corpus*. 1994: 327-328
15. Benbia S, Yahia M, Boutelis S, Chennaf A, Massinissa Y. Evaluation of the cytology and histology of uterus and cervix as predictors of estrous stages in ewes and dairy cows. Department of Biology. University of El Hadj Lakhdar. Biotechnology's laboratory of the bioactive molecules and the cellular physiopathology Batna. Republic of Algeria. 2013
16. Espejel MC, Medrano A.Histological Cyclic Endometrial Changes in Dairy Cows: An Overview. *Journal of Dairy and Veterinary Science*. 2017; 2573-2196
17. Guillomot M, Flechon JE, Leroy F. Blastocyst development and implantation. In *Reproduction in Mammals and Man*. (C. Thibault, M. C. Levasseur, and R. H. F. Hunter, Eds.) , Ellipses, Paris. 1993,pp. 387-411.
18. Guillomot M. Cellular interactions during implantation in domestic ruminant. *Journal of Reproduction and Fertility*.1995;49: 39-51.

19. Bazer FW. Uterine protein secretions: Relationship to development of the Conceptus. *Journal of Animal Science*.1975;41: 1376-1382.
20. Gray CA, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW, Spencer TE. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. *Reproduction*.2002;124, 289-300.
21. Kılıçoğlu Ç, Alaçam E. Veteriner Doğum Bilgisi ve Üreme Organlarının Hastalıkları (Theriogenoloji). Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları.1985; 403, Ankara.
22. Gökçimen A, Temel S. İmplantasyon ve moleküler etkileşimle. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.2004;11: 25-33.
23. Wooding FBP. Current Topic: the synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta*.1992;13: 101–113.
24. Davis CJ, Fisher PJ, Schlafer DH. Temporal and regional regulation of major histocompatibility complex class I expression at the bovine uterine/placental interface. *Placenta*.2000; 21: 194-202.
25. Igwebuike UM. 2009. A review of uterine structural modifications that influence conceptus implantation and development in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*.2009;112: 1–7.
26. Klisch K, Hecht W, Pfarre C, Schuler G, Hoffmann B, Leiser R. DNA content and ploidy level of bovine placentomal trophoblast giant cells. *Placenta*.1999; 20: 451-458.

27. Wooding FBP, Flint APF. Placentation, in Marshall's Physiology of Reproduction. 4th Edition, Vol. 3, Pregnancy and Lactation (Lamming, G. E., ed.). Chapman and Hall, London:1994 pp. 242–460.
28. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature.1994;372: 425-432.
29. Christos S, Mantzoros MD. The role of leptin in human obesity and disease: A review of current evidence. Ann Intern Med.1999;13: 671-680.
30. Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin and resistin. Clin Chem.2004;50, 9: 1511-1525.
31. Moran O, Phillip M. Leptin: obesity, diabetes, and other peripheral effects- a review. Pediatr Diabetes.2003;4: 101-109.
32. Ahima RS, Osei SY. Leptin signaling. Physiol Behav.2004;81:223–241
33. Teker Z, Özer G, Topaloglu K, Mungan NÖ, Yüksel B. Leptin yapı ve fizyolojisi. Arşiv.2002;11: 30-40.
34. Dulloo AG, Stock MJ, Solinas G, Boss O, Montani JP, Seydoux J. Leptin directly stimulates thermogenesis in skeletal muscle. FEBS Letters.2002;515: 109-113.
35. Thong FSL, Graham TE. Leptin and reproduction: is it a critical link between adipose tissue, nutrition, and reproduction? Canadian Journal of Applied Physiology.1999;24: 317-336.
36. Caprio M, Fabbrini E, Isidori AM, Aversa A, Fabbri A. Leptin in reproduction. Trends in Endocrinology & Metabolism.2001;12: 65-72.

37. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.* 1997; 3:1029–1033.
38. Cioffi JA, Van Blerkom J, Antczak M, et al. The expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Mol Hum Reprod.* 1997; 3: 467–472.
39. Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, Johnston J, et al. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83: 1810–1813.
40. Casabiell X, Piñeiro V, Tomé MA, et al. Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82: 4270–4273.
41. Houseknecht KL, McGuire MK, Portocarrero CP, et al. Leptin is present in human milk and is related to maternal plasma leptin concentration and adiposity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 240: 742–747.
42. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: More than endogenous growth hormone secretagogue. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2010;1200:140-148.
43. Wajnrajch MP, Ten IS, Gertner JM, Leibel RL. Genomic Organization of the Human GHRELIN Gene. *Int. J. Disabil. Hum. Dev.* 2000;1(4):231–234
44. Bednarek MA, Feighner SD, Pong SS, McKee KK, Hreniuk DL, Silva MV, Warren VA, Howard AD, Van Der Ploeg LH, Heck JV. Structurefunction studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: Minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J. Med. Chem.* 2000;43(23):4370-4376.

45. Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, Hsueh AJ. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science (New York, N.Y.)*. 2005; 310(5750):996-999.
46. Cortelazzi D, Cappiello V, Morpurgo PS, Ronzoni S, Nobile De Santis MS, Irene Cetin, Beck-Peccoz P, SpadaA. Circulating levels of ghrelin in human fetuses, *European Journal of Endocrinology*. 2003; 149: 111–116
47. Barreiro ML, Tena-Sempere M. Ghrelin and reproduction: a novel signal linking energy status and fertility?, *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2005;226: 1–9
48. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656 – 660.
49. Petersenn, S, Rasch AC, Penshorn M, Beil FU, Schulte HM. Genomic structure and transcriptional regulation of the human growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology*. 2001; 142(6):2649-2659.
50. Lopez M, Lage R, Saha AK, Perez-Tilve D, Vazquez MJ, Varela L, Sangiao-Alvarellos S, Tovar S, Raghu K, Rodriguez-Cuenca S, Deoliveira RM, T. Castaneda, Datta R, Dong JZ, Culler M, Sleeman MW, Alvarez CV, Gallego R, Lelliott CJ, Carling D, Tschop MH, Dieguez C, Vidal-Puig A. Hypothalamic fatty acid metabolism mediates the orexigenic action of ghrelin. *Cell Metab*. 2008;7(5):389-399.

51. Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB, Elmquist JK. Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. *J. Comp. Neurol.* 2006;494(3):528-548.
52. Van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr. Rev.* 2004;25(3):426-457.
53. Gutierrez JA, Solenberg PJ, Perkins DR, Willency JA, Knierman MD, Jin Z, Witcher DR, Luo S, Onyia JE, and Hale JE. Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008;105(17):6320-6325.
54. Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin NV, Goldstein JL. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell.* 2008;132(3):387-396.
55. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14-Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J. Biol. Chem.* 2000b;275(29):21995-22000.
56. Bang AS, Soule SG, Yandle TG, Richards AM, Pemberton CJ. Characterisation of proghrelin peptides in mammalian tissue and plasma. *J. Endocrinol.* 2007;192(2):313-323.
57. Beasley JM, Ange BA, Anderson CA, Miller ER, Holbrook JT, Appel LJ. Characteristics associated with fasting appetite hormones (obestatin, ghrelin, and leptin). *Obesity (Silver Spring).* 2009;17(2):349-354.

58. Angelidis G, Dafopoulos K, Messini CI, Valotassiou V, Georgoulas P, Messinis IE. Ghrelin: New Insights into Female Reproductive System–Associated Disorders and Pregnancy, *Reproductive Sciences*.2012;19(9): 903-910
59. Tanaka K, Minoura H, Isobe T, Yonaha H, Kawato H, Wang Df, Yoshida T, Kojima M, Kangawa K, Toyoda N. Ghrelin Is Involved in the Decidualization of Human Endometrial Stromal Cells, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003; 88(5):2335–2340
60. Kotunia A, Zabielski R. Ghrelin In The Postnatal Development Of The Gastrointestinal Tract, *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2006;57, Supp 5: 97-111
61. Martin JR, Lieber SB, McGrath J, Shanabrough M, Horvath TL, Taylor HS. Maternal Ghrelin Deficiency Compromises Reproduction in Female Progeny through Altered Uterine Developmental Programming. *Endocrinology*. May 2011, 152(5):2060–2066
62. Hizbullah SJ, Ahmed S. Obestatin induces testosterone secretion from rat testis in vitro, *African Journal of Biotechnology*. 2011; Vol. 10(19): pp. 3921-3928.
63. Li JB, Asakawa A, Cheng K, Li Y, Chaolu H, Tsai M, Inui A. Biological effects of obestatin, *Endocr*. 2011; 39:205–211
64. Mohmmad H. M. Ibrahim, Soad A. A. Selim, Dalia I. Abd-Alaleem, Radwa M. Al-sayed. Effect of Obestatin on Gonadal Functions in High Fat-fed Albino Rats, *Basic Sciences of Medicine*. 2014; 3(3): 43-59

65. Meszarosova M, Sirotkin AV, Grossmann R, Darlak K, Valenzuela K. The effect of obestatin on porcine ovarian granulosa cell. *Anim. Reprod Sci.* 2008; 108: 196-207.
66. Jahan S, Sidrat T, Ahmed S, Wazir H, Ullah K. Effect of obestatin on morphometry of testes and testosterone secretion in male rats, *African Journal of Biotechnology.* 2011; 10 (39): 7717-7722.
67. Gesmundo I, Gallo D, Favaro E, Ghigo E, Granata R. Obestatin: a new metabolic player in the pancreas and white adipose tissue. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology.* 2013; 65(12): 976-982.
68. Shen XL, Jia FJ, Song N, Xie JX, Jiang H. Protection of MES23.5 dopaminergic cells by obestatin is mediated by proliferative rather than anti-apoptotic action. *Neuroscience Bulletin.* 2014; 30(1): 118-24.
69. Granata R, Settanni F, Gallo D, Trovato L, Biancone L, Cantaluppi V, Nano R, Annunziata M, Campiglia P, Arnoletti E, Ghè C, Volante M, Papotti M, Muccioli G, Ghigo E. Obestatin promotes survival of pancreatic-cells and human islets and induces expression of genes involved in the regulation of cell mass and function. *Diabetes.* 2008; 57(4):967-979.
70. Zizzari P, Longchamps R, Epelbaum J, Bluet-Pajot MT. Obestatin partially affects ghrelin stimulation of food intake and growth hormone secretion in rodents. *Endocrinology.* 2007; 148(4): 1648-1653
71. Zhang JV, Ren P, Avsian-Kretchmer O, Luo C, Rauch R, Klein C, Hsueh AJ. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science.* 2005; 310:996–999.

72. Jackson VR, Nothacker HP, Civelli O. GPR39 receptor expression in the mouse brain. *Neuroreport*. 2006; 17(8):813–816.
73. Yamamoto H, Kishi T, Lee CE, Choi BJ, Fang H, Hollenberg AN, Drucker DJ. And Elmquist, JK. Glucagon-like peptide-1-responsive catecholamine neurons in the area postrema link peripheral glucagon-like peptide-1 with central autonomic control sites. *The journal of neuroscience*. 2003; 23(7):2939-46.
74. Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiological reviews*. 2007 87: 1409–1439.
75. Tang SQ, Jiang QY, Zhang YL, Zhu XT, Shu G, Gao P, Feng DY, Wang XQ, Dong XY. Obestatin: Its physicochemical characteristics and physiological functions, peptides. 2008; 29: 639–645
76. Crossmon G. A Modification of mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *Anat. Rec*. 1937; 69: 33-38.
77. Sağsöz H, Akbalik ME, Saruhan BG. Localization of estrogen receptor α and progesterone receptor B in bovine cervix and vagina during the follicular and luteal phases of the sexual cycle. *Biotech Histochem* 2011; 86(4): 262-271.
78. Will SEA, Rici RE, Miglino MA, Antunes A. Trace element of bovine placenta: histological analysis and distribution maps using Msxrf. *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education A. Méndez-Vilas and J. Díaz (Eds.)*. 2010; 1039-1046.
79. Wooding FBP, Morgan G, Adam C. Structure and function in the ruminant synepitheliochorial placenta: central role of the trophoblast binucleate cell in deer. *Microscopy Research and Technique*. 1997; 38: 88–99.

- 80.** Wooding FBP, Flint APF. Placentation, in Marshall's Physiology of Reproduction. 4th Edition, Vol. 3, Pregnancy and Lactation (Lamming, G. E., ed.). Chapman and Hall, London. 1994; pp. 242–460.
- 81.** Green JA, Xie S, Roberts RM. 1998. Pepsin-related molecules secreted by trophoblast. Reviews of Reproduction. 1998; 3: 62–69.
- 82.** Wooding FBP. Analysis of the Structure of the ruminant placenta: methods of fixation, embedding, and antibody localization at light and electron microscope levels. Placenta and Trophoblast: Methods and Protocols Volume 1. 2005; pp: 315–322.
- 83.** Aires MB, Degaki KY, Dantzer V, Yamada AT. Bovine placentome development during early pregnancy. Microscopy: Advances in Scientific Research and Education. 2014; 390-396.
- 84.** Wooding FBP. Role of binucleate cells in fetomaternal cell fusion at implantation in the sheep. The American Journal of Anatomy. 1984; 170: 233–250.
- 85.** Karaca T, Yoruk M. 2010. Ruminant plasentalarının yapı ve fonksiyonu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2010; 21(3): 191-194.
- 86.** Lea RG, Hannah L, Blades J, Howe D and Hoggard N. Placental leptin in normal and abnormal pregnancies, Journal of Reproduction and Fertility, Abstract Series 21 Abstract 41. 1998.
- 87.** Ravelich SR, Shelling AN, Ramachandran A, Reddy S, Keelan JS, Wells DN, Peterson AJ, Lee RSF, and Breier BH. Altered Placental Lactogen and Leptin Expression in Placentomes from Bovine Nuclear Transfer Pregnancies, Biology of Reproduction. 2004;71: 1862–1869

- 88.** Balogh O, Staub LP, Gram A, Boos A, Kowalewski MP and Reichler IM, Leptin in the canine uterus and placenta: possible implications in pregnancy, Balogh et al. Reproductive Biology and Endocrinology.2015; 13:13
- 89.** Dall'Aglio C, Polisca A, Boiti C, Ceccarelli P. Immunolocalization of leptin and its receptor in the placenta of cats. Acta Histochem. 2012;114:719–22.
- 90.** Magarinos MP, Sanchez-Margalet V, Kotler M, Calvo JC, Varone CL. Leptin Promotes Cell Proliferation and Survival of Trophoblastic Cells, Biology Of Reproduction.2007;76: 203–210
- 91.** Cervero A, Horcajadas JA, Martín J, Pellicer A, And Simo' NC. The Leptin System during Human Endometrial Receptivity and Preimplantation Development, The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2004; 89(5):2442–2451
- 92.** Brickell JS, Pollott GE, Clempson AM, Otter N, Wathes DC. Polymorphisms in the bovine leptin gene associated with perinatal mortality in Holstein-Friesian heifers, J. Dairy Sci. 2009; 93:340–347
- 93.** Forhead AJ, Fowden AL. The hungry fetus? Role of leptin as a nutritional signal before birth, J Physiol. 2009; 587.6: pp 1145–1152
- 94.** Chien EK, Hara M, Rouard M, Yano H, Phillippe M, Polonsky KS, and Bell GI. Increase in Serum Leptin and Uterine Leptin Receptor Messenger RNA Levels during Pregnancy in Rats, Biochemical And Biophysical Research Communications 1997; 237: 476–480
- 95.** Cao R, Brakenhielm E, Wahlestedt C, Thyberg J, and Yihai Cao Y. Leptin induces vascular permeability and synergistically stimulates angiogenesis with FGF-2 and VEGF, PNAS vol. 98 no. 11. 2001;6390–6395

- 96.** Yamaguchi M, Murakami T, Yasui Y, Otani S, Kawai M, Kishi K, Kurachi H, Shima K, Aono T, Murata Y. Mouse placental cells secrete soluble leptin receptor (sOB-R): cAMP inhibits OB-R production. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;252:363–7.
- 97.** Kawai M, Murakami T, Otani S, Shima K, Yamaguchi M, Kishi K. Colocalization of leptin receptor (OB-R) mRNA and placental lactogen-II in rat trophoblast cells: gestational profile of OB-R mRNA expression in placentae. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257:425
- 98.** Gualillo O, Caminos J, Blanco M, Garcia-Caballero T, Kojima M, Kangawa K, Dieguez C, Casanueva F. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology*. 2001; 142(2):788-794.
- 99.** Caminos JE, Tena-Sempere M, Gaytan F, Sanchez-Criado JE, Barreiro ML, Nogueiras R, Casanueva FF, Aguilar E, and Dieguez C. Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary. *Endocrinology*. 2003 144(4):1594-1602.
- 100.** Kawamura K, Sato N, Fukuda J, Kodama H, Kumagai J, Tanikawa H, Nakamura A, Honda Y, Sato T, And Tanaka T. Ghrelin Inhibits the Development of Mouse Preimplantation Embryos in Vitro, *Endocrinology*.2003;144(6):2623–2633
- 101.** Tanaka K, Minoura H, Isobe T, Yonaha H, Kawato H, Wang Df, Yoshida T, Kojima M, Kangawa K, Toyoda N. Ghrelin Is Involved in the Decidualization of Human Endometrial Stromal Cells, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*.2003; 88(5):2335–2340
- 102.** Kandasamy S, Jain A, Baviskar P, Kumar R, Joshi P, Agarwal SK, Mitra A. Molecular characterization and expression profile of ghrelin gene

- during different reproductive phases in buffalo (*Bubalus bubalis*), Domestic Animal Endocrinology.2013;45: 55–63
- 103.** Harrison JL, Adam CL, Brown YA, Wallace JM, Aitken RP, Lea RG and Miller DW. An immunohistochemical study of the localization and developmental expression of ghrelin and its functional receptor in the ovine placenta, Reproductive Biology and Endocrinology. 2007; 5:25
 - 104.** O'Brien M, Padraig Earle P, Morrison JJ and Smith TJ. Ghrelin in the human myometrium, O'Brien et al. Reproductive Biology and Endocrinology 2010; 8:55
 - 105.** Hehir MP, Glavey SV, Morrison JJ. Uterorelaxant effect of ghrelin on human myometrial contractility, Am J Obstet Gynecol 2008;198: 323.e1-323.e5.
 - 106.** Mostafa AF, Samir SM. What is the effect of ghrelin on rat uterine contractility in vitro?, J Basic Clin Physiol Pharmacol 2013; 24(2): 137–142
 - 107.** Yamamoto I, Kaiya H, Tsutsui C, Sakai T, Tsukada A, Miyazato M, Tanaka M. Primary structure, tissue distribution, and biological activity of chicken motilin receptor, General and Comparative Endocrinology Volume 156, Issue 3, 1 May. 2008; pp: 509-514
 - 108.** Yamamoto I, Kimura N, Arai T And Tanaka M. cDNA Cloning and mRNA Expression of Bovine GPR39, J. Vet. Med. Sci. 2009;71(5): 641–644.
 - 109.** Callaghan B, Hunne B, Hirayama,H, Sartor DM, Nguyen TV, Abogadie FC Furness JB. Sites of action of ghrelin receptor ligands in cardiovascular control. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2012; 303(8)

- 110.** Cao R, Brakenhielm E, Wahlestedt C, Thyberg J, Cao Y. Leptin induces vascular permeability and synergistically stimulates angiogenesis with FGF-2 and VEGF. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001; 98(11): 6390– 6395.
- 111.** Liang R, Zhang W, & Song YM. Levels of leptin and IL-6 in lungs and blood are associated with the severity of chronic obstructive pulmonary disease in patients and rat models. *Molecular Medicine Reports*. 2013; 7(5): 1470–1476.
- 112.** Schroeter MR, Schneiderman J, Schumann B, Glückermann R, Grimmas P, Buchwald AB, Schäfer K. Expression of the leptin receptor in different types of vascular lesions. *Histochemistry and Cell Biology*. 2007; 128(4): 323–333.

4. ÖZGEÇMİŞ



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Adı	Bayram	Soyadı	BAYRAM
Doğum Yeri	İdil/Şırnak	Doğum Tarihi	22.02.1988
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti	Tel	05522377519
E-posta	bayram.bayram2173@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Histolojive Embriyoloji Anabilim Dalı	2020
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2013
Lise	İdil Lisesi	2006

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Veteriner Hekim	Şırnak Tarım ve Orman İl Müdürlüğü	7(2014-2020)

Yabancı Dil Sınav Notu

ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
75	77.5							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	75,95	57,27	67,63
(Diğer) Puanı			

5.EKLER

5.1. Yayımlanan Araştırma Makalesi



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



Siçan Karaciğerinde Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü ve Reseptörlerinin Dağılımı

Bayram BAYRAM^{1,a}, Hakan SAĞSÖZ^{1,b}

¹ Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır

*ORCID: 0000-0002-5738-918X; ^aORCID: 0000-0002-5456-697X

Geliş Tarihi/Received 05.03.2020	Kabul Tarihi/Accepted 10.06.2020	Yayın Tarihi/Published 30.06.2020
-------------------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------

Öz

Karaciğerin çeşitli hasarlardan sonra yenilenmesi, metabolizmanın ve detoksifikasyon gibi önemli fonksiyonlarının sürdürülmesi için gerekli bir olaydır. Rejenerasyon olayı histolojik olarak çok iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Özellikle ilgi çekici olan, karaciğer rejenerasyonunun farklı fazlarını kontrol eden sitokinler ve büyüme faktörleridir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) mikrovasküler geçirgenliği artırır ve endotelial hücreler için spesifik bir mitojendir ve anjiyogeneizde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Sunulan çalışmada, VEGF ve reseptörlerin (flt1 / fms, flk1 / KDR ve flt4) ekspresyonu immünohistokimyasal olarak incelendi. Bu çalışmada 10 adet siçan kullanıldı. VEGF ve reseptörleri için pozitif immünoreaksiyon, siçan karaciğerindeki hepatositler ile kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinde belirlendi. Bununla birlikte, vena sentralis çevresindeki hepatositlerde flt1/fms immünoreaktivitesi VEGF, flk1/KDR ve flt4 ile karşılaştırıldığında oldukça güçlü idi. Sonuç olarak, VEGF ve reseptörlerin (flt1/fms, flk1/KDR ve flt4) siçan karaciğerinin fizyolojik değişikliklerinde önemli roller oynadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Flt4, hepatosit, karaciğer, VEGF

Distribution of Vascular Endothelial Growth Factor and Receptors in Rat Liver

Abstract

The liver regenerate after various damages is a phenomenon essential for the maintenance of its important functions such as detoxification and metabolism. The regeneration process is histologically well described. Of particular interest are cytokines and growth factors, which control different phases of liver regeneration. Vascular endothelial growth factor (VEGF) increases microvascular permeability and is a specific mitogen for endothelial cells and is thought to take an important role in angiogenesis. The present study examined VEGF and receptors (flt1/fms, flk1/KDR and flt4) expression immunohistochemically. In this study, ten rats were used. Positive immunoreaction for VEGF and its receptors was determined in the hepatocyte and endothelial and smooth muscle cells of blood vessels in the rat liver. However, the flt1/fms immunoreactivity in hepatocytes around the vena centralis was quite strong compared to VEGF, flk1/KDR and flt4. As a result, the findings also indicate that VEGF and receptors (flt1/fms, flk1/KDR and flt4) played important roles in the physiological changes of rat liver.

Key Words: Flt4, hepatocyte, liver, VEGF

GİRİŞ

Karaciğer vücuttaki metabolik olayların düzenlenmesinde ve aynı zamanda da detoksifikasyonda merkezi bir rol oynar. Bu fonksiyonlardan dolayı da, organdaki hücrelerin yenilenmesinin hızlı bir şekilde gerçekleşmesi gerekir. Primer veya metastatik karaciğer hastalıkları, alkol veya ilaç kullanımları, otoimmün hastalıklar ile toksinler karaciğerde hücre kaybını meydana getirerek hasara neden olur. İlginçtir ki, karaciğer tamamen yenilenmek için eşsiz bir yeteneğe sahiptir (1, 2). Hepatositler hücre döngüsüne ilk giren hücrelerdir ve 2-3 gün içerisinde bölünme geçirirler. Bu hücreler G0'dan çıkmak ve rejenerasyon için gereken bir dizi gen ekspresyonunu başlatmak için sinyaller alırlar. Daha sonra, hücre döngüsü ilerler ve mitoz geçirirler. Bunu da sırasıyla, hepatik stellat ve Kupfferin yıldız hücreleri ile biliyer epitel hücrelerinin çoğalması izler. Ayrıca, endotel hücrelerinin çoğalması ve filizlenen anjiyogeneze, karaciğer damarlarını yeniden oluşturmak için ortaya çıkar (2).

Karaciğerdeki hücrelerin aktivasyonu, çoğalması, göçü, farklılaşması ve hayatta kalması hepatositlerden eksprese edilen veya dolaşım sistemi yolu ile karaciğere ulaşan çok sayıda büyüme faktörü ve sitokin tarafından kontrol edilir (3). Bu faktörlerden en önemlisi ve üzerinde en çok durulan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'dür. VEGF, 45 kDa'luk, homodimerik, heparin-bağımlı bir glikoprotein olup, çeşitli alt grupları tanımlanmıştır. VEGFA, B, C, D, E, ya da aminoasit sayılarına göre VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 ve VEGF206 gibi izoformları bulunmaktadır. VEGF, aktivitesini üç reseptör ile gerçekleştirir: Tirozin kinaz yapısında olan bu reseptörler VEGFR-1 (flt-1), VEGFR-2 (flk-1/KDR) ve VEGFR-3 (flt-4)'dür. Bunlardan VEGFR-1 ve R-2 endotel hücreleri üzerinde, VEGFR-3 ise lenf damarları üzerinde bulunur. VEGF reseptörlerinin aktivasyonu; fosfoinositol-3 kinaz, fosfolipaz-C ve ras GTPaz aktivatör proteinleri gibi bir dizi hücre içi sinyal iletim proteinini fosforile ederek hücrelerdeki çoğalma, göç ve farklılaşmayı uyarır (4).

Dicle Üniv Vet Fak Derg 2020;13(1):56-60

56

6. ORJİNALLİK RAPORU

Turnitin Orjinallik Raporu					
İşleme konu: 13-Tem-2020 15:48 +03 NUMARA: 1356976409 Kelime Sayısı: 9351 Gönderildi: 1					
tez son ihtihal Bayram Bayram tarafından	<table><tr><td>Benzerlik Endeksi</td><td>Kaynağa göre Benzerlik</td></tr><tr><td>%8</td><td>Internet Sources: %6 Yayınlar: %6 Öğrenci Ödevleri: %3</td></tr></table>	Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik	%8	Internet Sources: %6 Yayınlar: %6 Öğrenci Ödevleri: %3
Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik				
%8	Internet Sources: %6 Yayınlar: %6 Öğrenci Ödevleri: %3				

2% match (09-Eki-2012 tarihli internet) http://vfderrj.yyu.edu.tr/archive/2010/21_3/2010_21_(3)_191-194.pdf
1% match (20-Kas-2019 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Ordu Üniversitesi on 2019-11-20
1% match () https://doaj.org/toc/1308-9889
1% match (23-Oca-2016 tarihli internet) http://www.igdir.edu.tr/Addons/Resmi/announc/700/2015-cilt5-sayi1-99-105.pdf
< 1% match (14-Oca-2015 tarihli internet) http://fronthesnow.ca/lac-de-geneve/les-diablerets/station-de-ski.html
< 1% match (yayınlar) Lun, Z.B., "Comparison of growth rates of Tritrichomonas foetus isolates from various geographic regions using three different culture media", Veterinary Parasitology, 20000428
< 1% match (18-Ara-2018 tarihli internet) https://paperzz.com/doc/5049417/feyyaz-kocaarslan-tez---adnan-menderes-%C3%BCniversitesi
< 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 (11-Ara-2019 tarihli internet) https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/308253
< 1% match (13-Tem-2016 tarihli internet) http://www.powershow.com/view/3c2c5d-NmFjM/EMBRIYOLOJYE_GIRIS_ve_GENEL_EMBRIYOLOJYI_powerpoint_ppt_presentation
< 1% match (07-Tem-2015 tarihli internet) http://acikerisim.istanbulbilim.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11446/214/443424%20fusun_behramoglu.pdf;sequence=1
< 1% match (01-Haz-2020 tarihli internet) http://www.turkdermatolojidergisi.com/archives/archive-detail/article-preview/place-of-leptin-in-dermatology/11310
< 1% match (yayınlar) CAN, Havva Nur and DURMUS, Ali Said. "Trombositten Zengin Fibrin in Kemik İyileşmesi Üzerine Etkileri", Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri, 2015.
< 1% match (11-Eki-2016 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Konya Necmettin Erbakan University on 2016-10-11
< 1% match (23-Mar-2015 tarihli internet) http://www.espoir.com.tr/Yeni-Makaleler/leptin-hormonu-obeziye-iliskisi.html
< 1% match (yayınlar) KARACA, Turan and YÖRÜK, Mecit. "Ruminant Plasentalarının Yapı ve Fonksiyonu", Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2010.
< 1% match (10-Mar-2020 tarihli internet) https://worldwidescience.org/topicpages/e/edema+pulmonar+agudo.html

https://www.turnitin.com/newreport_printview.asp?eq=0&eb=0&esm=0&oid=1356976409&sid=0&n=0&m=2&svr=23&r=20.195756239075457&la... 1/13



DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ SAVUNABİLİRLİK VE ORJİNALLİK BEYAN
FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Bayram BAYRAM
ÖĞRENCİ NO	15870001
EĞİTİM - ÖĞRETİM YILI	2019-2020
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI/BİLİM DALI	
PROGRAM	☐ Yüksek Lisans ☒ Doktora
TEZ BAŞLIĞI	Gebelik Süresince İnek Plasentasında Leptin, Ghrelin ve Obestatin ile Reseptörlerinin Dağılımı
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	95
BENZERLİK ORANI	%8
RAPORLAMA TARİHİ	13/07/ 2020
Yukarıda başlığı gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 95 sayfalık kısmına ilişkin, 13/07/2020 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitinadlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 8'dir. 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. Bayram BAYRAM 13.07.2020	
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 olduğuna bilgilerinize arz ederim. Prof. Dr. Hakan SAGSÖZ 13.07.2020	

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

KGK-FRM-343/00