

**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GEBELİK SÜRESİNCE İNEK UTERUSUNDA ErbB
RESEPTÖRLERİ İLE EPİDERMAL BÜYÜME FAKTÖRÜ,
AMFİREGULİN VE NÖROGULİN DAĞILIMININ
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
GÖSTERİLMESİ**

**Doktora Tezi
Uzm. Mehmet Erdem AKBALIK**

**Danışman
Prof. Dr. Muzaffer Aydın KETANİ**

Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**Doktora Tezi Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından
DÜBAP-09-VF-41 no'lu proje olarak desteklenmiştir.**

Diyarbakır 2011

TEŞEKKÜR YAZISI

Tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocam Prof. Dr. M. Aydın KETANİ'ye, aktardığı değerli bilgiler ve yardımları için Anabilim Dalı Öğretim üyelerinden Doç. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN'a ve değerli arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Hakan SAĞSÖZ'e, ayrıca yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Serkan ERDOĞAN'a, doktora eğitimim süresince bana destek olan canım eşim Hatice Gül AKBALIK'a ve bu araştırmanın projelendirilmesini sağlayan ve maddi destekte bulunan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (DÜBAP) teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

1. Ön Sayfalar	Sayfa No
1.1. Kapak	
1.2. İç Kapak	
1.3. Onay Sayfası.....	i
1.4. Teşekkür Sayfası	ii
1.5. İçindekiler Dizini	iii
1.6. Şekiller Dizini	v
1.7. Tablolar Dizini	xii
1.8. Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	xiii
2. Özet Sayfaları	
2.1. Türkçe Özet	xv
2.2. İngilizce Özet.....	xvi
3. Tez Metni	
3.1. Giriş ve Amaç.....	1
3.2. Genel Bilgiler.....	4
3.2.1- Uterusun Embriyolojik Gelişimi	4
3.2.2- Uterusun Anatomik Yapısı	4
3.2.3- Uterusun Histolojik Yapısı	5
3.2.4- Gebelik ve Plasentasyon	7
3.2.5- Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri	9
1. 3.2.5.1- ErbB Ailesi ve Ligandları	11
1. 3.2.5.1.1- Reseptörün Yapısı	12
2. 3.2.5.1.2- Ligandlar	12
3. 3.2.5.1.3- Sinyal İletimi	13
2. 3.2.5.2- Epidermal Büyüme Faktörü ve Reseptörü (EGF-ErbB1/EGFR)	14
3. 3.2.5.3- Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (ErB2/Neu)	15
4. 3.2.5.4- Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 3 (ErB3/HER3)	16
5. 3.2.5.5- Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 4 (ErB4/HER4)	16
6. 3.2.5.6- Amfiregulin (AREG)	17
7. 3.2.5.7- Nörogulin1 (NRG1)	17

3.3. Gereç ve Yöntem.....	19
1. 3.3.1- Doku Örneklerinin Toplanması	19
2. 3.3.2- Rutin Histolojik Takip ve Boyama	22
3. 3.3.3- İmmunohistokimyasal Boyama	22
4. 3.3.4- İmmunohistokimyasal Boyanma Sonuçlarının Değerlendirilmesi	24
3.4. Bulgular.....	26
1. 3.4.1- Uterusun Yapısal Özellikleri	26
2. 3.4.2- Uterusun İmmunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi	28
1. 3.4.2.1- ErbB1 Reseptörü (EGFR/HER1)	30
2. 3.4.2.2- ErbB2 Reseptörü (HER2)	37
3. 3.4.2.3- ErbB3 Reseptörü (HER3)	44
4. 3.4.2.4- ErbB4 Reseptörü (HER4)	50
5. 3.4.2.5- Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	55
6. 3.4.2.6- Amfiregulin (AREG)	62
7. 3.4.2.7- Nörogulin1 (NRG1)	69
3.5. Tartışma.....	74
3.6. Sonuç ve Öneriler.....	91
4. Kaynaklar	92
5. Ekler	
6. Özgeçmiş	109

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil-2.1: ErbB reseptörleri ve ligandlarının spesifik bağlanma ilişkisi.....	13
Şekil-3.1: Sığır fötusunda alın-sağrı uzunluğunun (CRL) ölçümü.....	19
Şekil-3.2: Sığır fötuslarında alın-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki doğrusal ilişki.....	20
Şekil-4.1: Gebeliğin 74. gününde plasentomun genel görünümü, yıldız: Maternal stroma, oklar: Koryon villusları, K: Kan damarları, üçlü boyama X4.....	27
Şekil-4.2: Gebeliğin 168. gününde interplasentomal bölgenin genel görünümü, E: Endometrium epiteli, MS: Maternal stroma, M: Myometrium, yıldızlar: Uterus bezleri, T: Koryonun trofoblast hücreleri, FS: Fötal stroma, ok: Fötal kan damarı, üçlü boyama X10.....	27
Şekil-4.3: Gebeliğin 207. gününde plasentomun genel görünümü, MS: Maternal stroma, K: Kan damarı, ince oklar: Maternal epitel hücreleri, yıldızlar: Koryon villusları, okbaşılar: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücreleri, kalın oklar: Çift çekirdekli trofoblast dev hücreleri, kıvrımlı ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, üçlü boyama X20.....	28
Şekil-4.4: Primer antikor yerine non-immun serumun konduğu negatif kontrol, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, M: Myometrium, yıldızlar: Uterus bezleri, X10....	29
Şekil-4.5: Primer antikoru yerine non-immun serumun konduğu negatif kontrol, MS: Maternal stroma, K: Kan damarı, ince oklar: Maternal epitel hücreleri, okbaşılar: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, kalın oklar: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kıvrımlı ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X20.....	29
Şekil-4.6: Gebeliğin son döneminde (231 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, L: Lumen, S: Stroma, X40.....	30
Şekil-4.7: Gebeliğin ilk döneminde (67 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, S: Stroma, yıldız: Uterus bezi, oklar: Stromal hücre, okbaşılar: Bez epitel hücreleri, X40.....	31
Şekil-4.8: Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, S: Stroma, ok: Stromal hücre, okbaşılar: Bez epitel hücreleri, X40.....	31

Sayfa No

Şekil-4.9: Gebeliğin ilk döneminde (63 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, L: Lumen, S: Stroma, oklar: Stromal hücre, okbaşıları: Bez epitel hücreleri, X40.....	32
Şekil-4.10: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, M: Myometrium, S: Stroma, yıldız: Uterus bezi, oklar: Düz kas hücreleri, okbaşıları: Bez epitel hücreleri, X40.....	32
Şekil-4.11: Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, M: Myometrium, ok: Düz kas hücresi, X40.....	33
Şekil-4.12: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusu, ince oklar: Maternal epitel hücreleri, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşıları: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, 40.....	34
Şekil-4.13: Gebeliğin orta döneminde (111 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusu, ince oklar: Maternal epitel hücreleri, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X40.....	34
Şekil-4.14: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, T: Koryon epiteli, FS: Fötal stroma, okbaşıları: Trofoblast hücreleri, X100.....	35
Şekil-4.15: Gebeliğin son döneminde görülen (202 günlük) ErbB2 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, K: Kan damarı, ok: Stromal hücre, okbaşıları: Yüzey epitel hücreleri, X40.....	37
Şekil-4.16: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi, M: Myometrium, S: Stroma, K: Kan damarı, ince oklar: Düz kas hücreleri, kalın oklar: Stromal hücreler, okbaşıları: Bez epitel hücreleri, X40.....	38
Şekil-4.17: Gebeliğin orta döneminde (138 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi, M: Myometrium, S: Stroma, K: Kan damarı, ok: Düz kas hücreleri, okbaşı: Bez epitel hücreleri, X40.....	38
Şekil-4.18: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi, FS: Fötal stroma, K: Kan damarı, oklar: Fötal stromal hücre, okbaşıları: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X100.....	39

Sayfa No

- Şekil-4.19:** Gebeliğin orta döneminde (138 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi, FS: Fötal stroma, K: Kan damarı, ok: Fötal stromal hücre, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X40.....**40**
- Şekil-4.20:** Gebeliğin son döneminde (251 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi, FS: Fötal stroma, ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, okbaşı: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, X100.....**40**
- Şekil-4.21:** Gebeliğin orta döneminde (106 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi, FS: Fötal stroma, ince ok: Fötal stromal hücre, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşı: Üç çekirdekli föto-maternal hibrid hücre, X100.....**41**
- Şekil-4.22:** Gebeliğin orta döneminde (133 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusu, oklar: Maternal epitel hücreleri, okbaşı: Maternal stromal hücreler, X40.....**42**
- Şekil-4.23:** Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusu, ok: Maternal stromal hücre, okbaşı: Maternal epitel hücreleri, X100.....**42**
- Şekil-4.24:** Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşı: Stromal hücreler, X40.....**44**
- Şekil-4.25:** Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşı: Stromal hücreler, X100.....**45**
- Şekil-4.26:** Gebeliğin ilk döneminde (67 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi, S: Stroma, K: Kan damarı, yıldız: Uterus bezi, okbaşı: Stromal hücre, X40.....**45**
- Şekil-4.27:** Gebeliğin orta döneminde (146 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi, S: Stroma, yıldız: Uterus bezi, okbaşı: Stromal hücre, X40..**46**
- Şekil-4.28:** Gebeliğin orta döneminde (102 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi, FS: Fötal stroma, ince ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, kalın ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, okbaşı: Fötal stromal hücreler, X40.....**47**
- Şekil-4.29:** Gebeliğin son döneminde (202 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince ok: Maternal

Sayfa No

stromal hücre, kalın ok: Fötal stromal hücre, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, kıvrımlı ok: Maternal epitel hücre, dirsekli ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.....	47
Şekil-4.30: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, oklar: Maternal epitel hücreler, okbaşı: Maternal stromal hücreler, X40.....	48
Şekil-4.31: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi, M: Myometrium, S: Stroma, yıldızlar: Uterus bezi, X40.....	50
Şekil-4.32: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşı: Stromal hücre, X100.....	51
Şekil-4.33: Gebeliğin son döneminde (207 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşı: Stromal hücreler, oklar: Bez epitel hücreleri, X20.....	51
Şekil-4.34: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi, FS: Fötal stroma, okbaşı: Fötal stromal hücreler, X100.....	52
Şekil-4.35: Gebeliğin orta döneminde (155 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, FS: Fötal stroma, ince ok: Maternal epitel hücre, okbaşı: Maternal stromal hücreler, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, dirsekli oklar: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücreler, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.....	53
Şekil-4.36: Gebeliğin son döneminde (202 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, oklar: Maternal epitel hücre, okbaşı: Maternal stromal hücre, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, dirsekli ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.....	53
Şekil-4.37: Gebeliğin ilk döneminde (89 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşı: Stromal hücreler, X40.....	55
Şekil-4.38: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi, S: Stroma, K: Kan damarı, yıldızlar: Uterus bezi, okbaşı: Stromal hücreler, X40.....	56
Şekil-4.39: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi, M: Myometrium, S: Stroma, yıldızlar: Uterus bezi, okbaşı: Stromal hücre, X40.....	56

Sayfa No

- Şekil-4.40:** Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi, S: Stroma, K: Kan damarı, yıldızlar: Uterus bezi, okbaşıları: Stromal hücreler, X40.**57**
- Şekil-4.41:** Gebeliğin orta döneminde (168 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, yıldızlar: Uterus bezi, okbaşıları: Stromal hücreler, X20.....**58**
- Şekil-4.42:** Gebeliğin son döneminde (231 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi, M: Myometrium, okbaşıları: Düz kas hücreleri, X20.....**58**
- Şekil-4.43:** Gebeliğin son döneminde (202 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşıları: Stromal hücreler, X40.....**59**
- Şekil-4.44:** Gebeliğin ilk döneminde (89 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince oklar: Maternal epitel hücreler, okbaşıları: Fötal stromal hücreler, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, dirsekli ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.....**60**
- Şekil-4.45:** Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince ok: Maternal epitel hücre, okbaşı: Fötal stromal hücre, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, dirsekli ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.....**60**
- Şekil-4.46:** Gebeliğin orta döneminde (123 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşıları: Stromal hücreler, X40.....**62**
- Şekil-4.47:** Gebeliğin son döneminde (207 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşıları: Stromal hücreler, X40.....**63**
- Şekil-4.48:** Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi, S: Stroma, K: Kan damarı, kalın ok: Stromal hücre, ince ok: İmmun reaksiyonun şekillenmediği bez epitel hücre çekirdeği, okbaşı: İmmun reaksiyonun şekillendiği bez epitel hücre çekirdeği, X40.....**64**
- Şekil-4.49:** Gebeliğin orta döneminde (98 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi, S: Stroma, kalın ok: Stromal hücre, ince ok: İmmun reaksiyonun

Sayfa No

şekillenmediği bez epitel hücre çekirdeği, okbaşı: İmmun reaksiyonun şekillendiği bez epitel hücre çekirdeği, X40.....	64
Şekil-4.50: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi, M: Myometrium, okbaşı: Düz kas hücre çekirdeği, X40.....	65
Şekil-4.51: Gebeliğin son döneminde (271 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi, M: Myometrium, kalın ok: Düz kas hücre çekirdeği, ince ok: İmmun reaksiyonun şekillenmediği bez epitel hücre çekirdeği, okbaşı: İmmun reaksiyonun şekillendiği bez epitel hücre çekirdeği, X40.....	65
Şekil-4.52: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi, FS: Fötal stroma, okbaşıları: Fötal stromal hücreler, ince ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, kıvrımlı ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, X40.....	66
Şekil-4.53: Gebeliğin son döneminde (187 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, ince ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, kalın ok: Maternal epitel hücre, kıvrımlı ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, X40.....	67
Şekil-4.54: Gebeliğin ilk döneminde (71 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, okbaşı: Fötal stromal hücre, ince ok: Maternal epitel hücre, kalın ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X20.....	67
Şekil-4.55: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşıları: Stromal hücreler, X40.....	69
Şekil-4.56: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi, M: Myometrium, S: Stroma, K: Kan damarı, yıldız: Uterus bezi, okbaşıları: Stromal hücreler, X40.....	70
Şekil-4.57: Gebeliğin son döneminde (207 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epiteli, S: Stroma, yıldız: Uterus bezi, okbaşıları: Stromal hücreler, X20.....	70
Şekil-4.58: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince ok: Maternal epitel hücre, kalın	

Sayfa No

ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, kıvrımlı ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.....**71**

Şekil-4.59: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi, FS: Fötal stroma, K: Kan damarı, okbaşı: Fötal stromal hücre, ince ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, kalın ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X40.....**72**

Şekil-4.60: Gebeliğin son döneminde (202 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi, MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince oklar: Maternal epitel hücreler, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X40.....**72**

TABLOLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo-3.1: Kullanılan materyalin gruplandırılması.....	20
Tablo-3.2: Fötüs yaşlarına dayanarak gebe uterus yaşları.....	21
Tablo-3.3: Kullanılan antikorlara ait bilgiler.....	22
Tablo-3.4: Antikorların hücrel lokalizasyonları.....	24
Tablo-4.1: İnek uterusunda gebelik süresince ErbB1/EGFR reseptörü boyanmasının toplam skoru.....	36
Tablo-4.2: İnek uterusunda gebelik süresince ErbB2 reseptörü boyanmasının toplam skoru.....	43
Tablo-4.3: İnek uterusunda gebelik süresince ErbB3 reseptörü boyanmasının toplam skoru.....	49
Tablo-4.4: İnek uterusunda gebelik süresince ErbB4 reseptörü boyanmasının toplam skoru.....	54
Tablo-4.5: İnek uterusunda gebelik süresince EGF boyanmasının toplam skoru.....	61
Tablo-4.6: İnek uterusunda gebelik süresince AREG boyanmasının toplam skoru..	68
Tablo-4.7: İnek uterusunda gebelik süresince NRG1 boyanmasının toplam skoru...	73

KISALTMALAR

AREG	Amfiregulin
BTC	Betaselulin
DAB	3'3-diaminobenzidin hidroklorit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
EPG	Epigen
EPR	Epiregulin
ErbB1/HER1	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 1
ErbB2/HER2	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 2
ErbB3/HER3	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 3
ErbB4/HER4	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 4
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
HB-EGF	Heparin Bağlayan EGF Benzeri Büyüme Faktörü
HGF	Hepatosit Büyüme Faktörü
IGF-I	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü I
IGF-II	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü II
ILs	İnterlökinler
MAPK	Mitojen Aktivasyonlu Protein Kinaz
NGF	Sinir Büyüme Faktörü
NRG1	Nörogulin 1
NRG2	Nörogulin 2
NRG3	Nörogulin 3
NRG4	Nörogulin 4
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
PDGFs	Platelet Kökenli Büyüme Faktörleri
PI3K	Fosfatidil inositol-3 kinaz
RTKs	Reseptör Tirozin Kinazlar
TGC	Çift Çekirdekli Trofoblast Dev Hücresi
TGF- α	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-alfa
TGF- β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-beta
UTC	Tek Çekirdekli Trofoblast Hücresi

ÖZET

Bu araştırma, gebelik süresince inek uterusunda Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörleri ile Epidermal Büyüme Faktörü (EGF), Amfiregulin (AREG) ve Nörogulin1 (NRG1) dağılımını belirlemek amacıyla planlanmıştır. Çalışmada Diyarbakır'da bulunan özel kesimhanelerden temin edilen toplam 30 adet Holstein ırkı gebe inek uterusu kullanıldı. Uterusların gebeliğin hangi dönemine ait olduğunu belirlemek amacıyla taşımış olduğu fötusların yaşları hesaplandı ve bu amaçla fötusların alın-sağrı uzunluğu ölçüldü. Bu yaş tayinine dayanarak gebeliğin ilk, orta ve son dönemine ait uteruslar her grupta 10 uterus bulunacak şekilde üç ayrı grup altında toplandı. Bütün gruplardan alınan uterus dokuları %10 nötral formalin solüsyonunda 24 saat tespit edildikten sonra rutin histolojik işlemlerden geçirilerek paraplasta bloklandı. Uterus ve plasentanın histolojik yapısını incelemek üzere bu kesitlerden bir bölümüne Crossman'ın üçlü boyaması, diğerlerine ise immunohistokimya boyaması yapıldı.

Bu çalışmadan elde edilen verilerin Kruskal Wallis ve Mann-Whitney U testi ile istatistiksel analizleri yapıldı ve gebelik dönemleri arasında önemli bir farklılık ($p<0,05$) olduğu saptandı. Plasentomal ve interplasentomal bölgeler dikkate alındığında hem uterus hem de plaseenta için, yavruya (fötalıs) ve anneye ait (maternalıs) kısımlar saptanırken trofoblastik hücrelerin tüm gebelik süresince varlıklarını sürdürdükleri görülmüştür. Streptavidin-peroksidaz yöntemi kullanılarak elde edilen immunohistokimyasal boyamada, gebelik süresince inek uterusunda ErbB reseptörleri ile EGF, AREG ve NRG1 ligandlarının farklı yoğunluklarda ancak belirgin olarak yüzey ve bez epitel hücrelerinde lokalize olduğu gözlenmiştir. Endometrial fonksiyonların düzenlenmesinde ErbB reseptörlerinin etkin rol oynaması, buna ek olarak EGF, AREG ve NRG1'in de hem maternal hem de fötal kısımda immunoreaktivite göstermesi, gebelik süresince EGF reseptör-ligand bağlantısında fonksiyonel ilişkinin anlaşılmasını sağlamıştır.

ErbB reseptörleri ile EGF, AREG ve NRG1 ligandlarının; uterusunda gebelik süresince hücrelerde çoğalma ve farklılaşmayı sağlamakla kalmayıp aynı zamanda plaseenta yoluyla embriyo-uterus arasındaki hücresel iletişimde de önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: ErbB, EGF, AREG, NRG1, immunohistokimya, gebe uterus, inek

ABSTRACT

Immunohistochemical Expression of ErbB Receptors and Epidermal Growth Factor, Amphiregulin and Neuregulin Distribution in Bovine Uterus During Gestation

This research was planned in order to determine the distribution of Neuregulin1 (NRG1), Amphiregulin (AREG), Epidermal Growth Factor (EGF) and Epidermal Growth Factor Receptors in cow uterus during pregnancy period. 30 pregnant Holstein cattle uterus that obtained from local slaughterhouses in Diyarbakır were used in study. Ages of fetus were evaluated in order to determine the uterus' pregnancy period and for this reason the crown rump length of fetus was measured. In terms of this age assignation the uterus which belongs to the early, mid and late period of pregnancy were collected in groups with 10 uterus samples existing in each group. All uterus tissues taken from all groups were fixed in %10 neutral formaline solution for 24 hours and then blocked in paraplast after routine histological processing. For analysis of histological structure of placenta and uterus, a part of cross section was painted with Crossman's triple and another part was painted with immunohistochemistry.

Statistical analyses of data obtained from this study was performed by Kruskal Wallis and Mann-Whitney U test and the significant differences ($p < 0,05$) among the terms of gestation was detected. When placentomal and interplacentomal regions for both uterus and placenta were considered, trophoblastic cells perpetuated their presence during the fixation of the parts that belongs to fetalis and maternalis. It is observed that in immunohistochemical staining which was obtained streptavidin-peroxidase method ErbB receptors and ligands of EGF, AREG and NRG1 were localized clearly on surface and gland epithelium cells but with different densities during pregnancy in cow uterus. The active role of ErbB receptors in design of endometrial functions and additionally the immunoreactivite demonstration of EGF, AREG and NRG1 in both maternal and fetal parts made the functional relationship to be understood during pregnancy period in EGF receptor and ligand connections.

It's thought that ErbB receptors and ligands of EGF, AREG and NRG1 were not only making proliferation and differentiation in cells during pregnancy but they

were also playing an active role on cellular contact between embryo and uterus through placenta.

Key words: ErbB, EGF, AREG, NRG1, immunohistochemistry, pregnant uterus, bovine.

3.1- GİRİŞ VE AMAÇ

Memelilerde dişi üreme sisteminin önemli bir organı olan uterus, yeni bir canlıyı meydana getirebilmek için gerekli donanıma sahip muazzam bir ortam oluşturur. Uterus; kas kontraksiyonları sayesinde spermatozoonların ovidukta nakledilmesi, kısmen de olsa fertilizasyon için spermatozoonların kapasitasyonu, fötüs ve plasentanın dışarı atılması, konseptusun gelişimi, 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 (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 (1).

İneklerde uterus, luminal epitelle örtülü stromal aglandular yapılar olan geniş karunkullardan ve çok miktarda glandular epitel içeren interkarunkular alanlardan oluşur. Karunkular alanlar implantasyon alanları olup (2), trofoektoderm'in % 15-20'sini oluşturan intraepitelyal çift çekirdekli hücreler, bu karunkular alanlarda uterus epiteline ilk bağlantıyı sağlarlar (3). Bu hücreler, luminal epitel hücreleriyle kaynaşp besin ve gaz alışverişine aracılık eden plasentomları da meydana getirirler (4).

Hücreler, büyüme faktörleri olarak bilinen polipeptidlerden gelen sinyaller yoluyla büyür ve farklılaşırlar. Peptid kaynaklı büyüme faktörleri memelilerde; fizyolojik gelişim ve büyüme ile ilgili olduğu kadar patolojik değişiklikleri de koordine eden moleküllerdir (5). Hem lokal hem de uzun mesafeler boyunca etki edebilen bu büyüme faktörlerinin farklı hücre tiplerinde varlığı ortaya konmuştur. Büyüme faktörlerinin bir kısmı, hücre içinde proteolitik ayrışma yoluyla çözünen prekürsörlerden köken alırken, bir kısmı da membran-gömülü moleküller olarak

sentez edilir, ayrıca reseptör tirozin kinazlar (RTKs)'ın ekstraselüler bölgesi ile etkileşerek kendi biyolojik etkilerini hücre yüzeyinde gösterebilir ve böylece jukstrakrin etki diye de adlandırılan hücre-hücre teması yoluyla uyarılmaya aracılık etmiş olurlar. Hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak bir sinyal ileti yolağını aktive eden büyüme faktörleri böylece gen ekspresyonunu, hücre metabolizmasını, farklılaşmayı, çoğalmayı, göçü ve apoptozisi düzenlerler (6).

Büyüme faktörleri gebelik döneminde uterusu büyüme, farklılaşma ve fonksiyon ile ilgili birçok etki gösterir. Uterus gelişiminin bu aşamalarında, uterus kaynaklı büyüme faktörleri; parakrin ve otokrin mekanizmalar aracılığıyla hücreler DNA sentezini teşvik edebilirler. Aynı zamanda epitel ve stroma etkileşimlerine aracılık ederek blastosist implantasyonunu kolaylaştırır, plasental kan dolaşımını artırır, fetal büyüme ve gelişmeyi hızlandırır ve ekstraselüler matriksi yeniden biçimlendirmek için indüklerler (7, 8).

Birçok peptid büyüme faktörü izole ve karakterize edilmiş olup, bunlar arasında Sinir Büyüme Faktörü (NGF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri (IGF-I ve II), Platelet Kökenli Büyüme Faktörleri (PDGFs), Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF), İnterlökinler (ILs), Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF), Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β (TGF- β) ve Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) sayılabilmektedir (9).

EGF ailesinin üyeleri, transmembran reseptör tirozin kinaz (RTKs) ailesinin ekstraselüler bölgelerine bağlanır ve onları aktive eder (6, 10-14). RTKs aktivitesine sahip Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR) ailesi 4 üyeden oluşur: ErbB1 (HER1 veya EGFR) (10), ErbB2 (Neu veya HER2) (15, 16), ErbB3 (HER3) (12, 17) ve ErbB4 (HER4) (13).

ErbB reseptörleri, EGF-benzeri peptid büyüme faktörü ailesinden 11 üye ile seçici ve spesifik bir şekilde etkileşime girer. ErbB reseptörlerinin aktivasyonunu düzenleyen bu ligandlar şunlardır: Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) (18-20), Dönüştürücü Büyüme Faktörü- α (TGF- α) (21), Amfiregulin (AREG) (22), Epigen (EPG) (23), Heparin Bağlayan EGF Benzeri Büyüme Faktörü (HB-EGF) (24), Betaselulin (BTC) (25), Epiregulin (EPR) (26) ve Nörogulinler 1-4 (NRG 1-4) (27-33).

ErbB1 ve ligandları üremede önemli etkilere yol açarlar. Bu fonksiyonel ilişkiyi araştıran birçok çalışma yapılmış olup, farklı EGFR ligandlarının, daha çok

oosit maturasyonu ve ovulasyonda (34-37), peri-implantasyon safhasında (38) ve implantasyonda (39-41) rol aldığı gösterilmiştir. Yine EGFR ve ligandlarıyla ilgili olarak insan (42), maymun (43, 44), kedi (45), tavşan (46), sıçan (47) ve domuz (48) gibi birçok türde yapılan çalışmalar da daha çok gebeliğin belli bir dönemini kapsamaktadır.

Yapılan literatür taramalarında, hayvanlarda tüm gebelik boyunca uterusu EGF ailesi üyelerinin gösterimi ile ilgili bilgiye az rastlanması, özellikle inekte tüm gebelik süresince bu faktörlerin varlığını ortaya koyan ve fonksiyonel ilişkisini araştıran herhangi bir çalışmaya ulaşılmaması, daha ziyade implantasyon dönemindeki gösterimine ağırlık verilmesi ve özellikle bu üyelerin gebeliğin orta ve son dönemlerine katılıp katılmadıklarının ortaya konmak istenmesi bu çalışmanın tasarlanmasında etkili olmuştur.

Bu araştırma, gebelik süresince inek uterusunda ErbB reseptörleri ile epidermal büyüme faktörü, amfiregulin ve nörogulin1 dağılımını immunohistokimyasal olarak belirlemek amacıyla planlanmış ilk çalışmadır. Gebelik sürecinde inek uterusunda bu faktörlerin rolünün değerlendirilmesine ve feto-maternal birleşimde EGF reseptör-ligand bağlantısındaki fonksiyonel ilişkinin yorumlanmasına katkı sağlayacaktır. Bunun yanı sıra bu çalışmanın özellikle insan ve memeli hayvanlarda uterus hastalıklarının gelişim mekanizmalarının anlaşılmasına, hayvanlarda üreme ve döl verimi özellikleri ile ilgili ilişkilerin ortaya konulmasına, ayrıca gebe uterusu yapılacak deneysel çalışmalara yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

3.2- GENEL BİLGİLER

3.2.1- Uterusun Embriyolojik Gelişimi

Crista genitalis'ler (gonad'lar) kendilerini saran sölom epiteli ile birlikte boğumlanıp karın boşluğuna sarkarak ovaryumları meydana getirirler. Bunların gerisindeki sölom epiteli ise belaltı bölgesinden cloaca'ya doğru uzayan bir dürüm yapar. Bu dürümün serbest kenarı, sonraki gelişmelerde önce oluklaşır sonra da kanal (Müller kanalı) halini alır. İki taraflı gelişen Müller kanalları pelvis boşluğunda birbirlerine yaklaşıp kaynaşır ve tek kanal meydana getirirler. Bu gelişmede crista genitalis'ler ovaryumları, iki Müller kanalı yumurta yollarını, bu kanalların kaynaşması ile oluşan tek kanal da uterus ve vagina'yı yapar (49).

3.2.2- Uterusun Anatomik Yapısı

Uterus, içi boş kassal bir organdır. Önde tuba uterina, arkada vagina ile iştirak halindedir. Büyük kısmı karın boşluğunda, küçük bir kısmı da pelvis boşluğunda yer alır. Uterus, evcil hayvanlarda önden arkaya doğru sıralanmış üç bölümden oluşur. Bunlar; cornu uteri, corpus uteri ve cervix uteri'dir (50).

Gebeliğin şekillendiği cornu uteri'ler büyük ruminantlarda 30-40 cm uzunluğunda olup caudodorsalden caudoventrale doğru uzanır. Birbirinden biraz uzaklaşmış halde biri sağ diğeri sol olmak üzere karın boşluğunda yer alırlar. Equidede cornu uteri'ler öne ve yukarı dönük, ruminantlarda ise aşağıya ve arkaya dönük bir durum gösterir. Karnivorların cornu uteri'leri ise "V" harfi biçimindedir. Sus'ta her iki lateral tarafa doğru uzanan oldukça uzun bağırsak benzeri cornu uteri'ler gözlenir. Silindirik ve kıvrık olan cornu'lar, corpus uteri'ye doğru giderek artan bir genişleme gösterir. Cornu uteri'ler bazı bağırsak kesimleri ile ve ruminantlarda ayrıca rumen'in saccus cecus caudoventralis'i ve vesica urinaria ile komşuluk yapar (50, 51). Memelilerde uterus, cornu uteri'lerin anatomik özelliklerine göre üç sınıfa ayrılır.

- ❖ **Uterus duplex:** Kemirgenlerde, tavşanlarda ve keseli memelilerde gözlenen uterus tipidir. Ayrı olarak bulunan iki cornu uteri, iki cervix uteri mevcut iken corpus uteri görülmez ve her bir cornu uteri vagina'ya bağımsız olarak açılır (52).
- ❖ **Uterus bicornis:** İnek, kısırak, koyun, domuz ve karnivorlarda gözlenen uterus tipidir. Bağımsız iki cornu uteri, bir cervix uteri ve bir

corpus uteri'den oluşur. Ruminantlarda cornu uteri'ler hemen hemen cervix uteri'ye kadar uzanır ve oldukça kısa bir corpus uteri'den bahsedilirken kısırta çok daha uzun bir corpus uteri mevcuttur. Domuzda ve karnivorda ise her bir cornu uteri, corpus uteri'nin kranial bölümüne kadar uzanır ve kısa bir corpus uteri gözlenir.

- ❖ **Uterus simplex:** Primatlarda ve insanda gözlenen uterus tipidir. Cornu uteri'ler gözlenmezken bir adet cervix uteri ve hacimli bir corpus uteri mevcuttur (52, 53).

Corpus uteri, uterusun ortada yer alan parçası olup ruminantlarda dıştan equideninkine yaklaşan bir uzunluk göstermesine karşın içten 3-4 cm kadardır. Corpus uteri'nin boşluğuna cavum uteri denir ve cavum uteri ön uçta cornu uteriler ile, belirgin bir daralma gösterdiği arka uçta ise cervix uteri ile iştirak halindedir. Cervix uteri, uterus'un vagina ile birleşen kesimidir. Dıştan belirgin bir sınırı yoktur ve corpus uteri ile vagina arasındaki genital yolun kalınlaşmasından oluşmuştur. Bu nedenle cervix duvarının kalınlığı oldukça fazladır. İnekte yaklaşık 10 cm uzunluğunda ve 3-4 cm çapındadır. Cervix uteri equide ve sus'ta uzunlamasına düğümler (plicae longitudinales), ruminantlarda ise halka şeklinde kıvrımlar (plicae circulares) gösterir. Düz kas liflerinden oluşan bu kıvrımlar, canalis cervicis uteri'nin zikzaklı bir görünüm almasına sebep olur (50, 53).

3.2.3- Uterusun Histolojik Yapısı

Memelilerde yavrunun geliştiği organ olan uterusun, tüm boşluklu organlardaki gibi duvarı tunica mucosa (endometrium), tunica muscularis (myometrium) ve tunica serosa (perimetrium) olmak üzere üç ana katmandan oluşur (54-58).

Endometrium, lamina epithelialis ve lamina propria olmak üzere iki katmandan oluşur. Endometrium'un epiteli kısırak, köpek ve kedide tek katlı kübik ya da prizmatik, ruminantlarda ve domuzlarda ise çok katlı ya da yalancı çok katlı prizmatiktir. Gerek tek katlı gerekse yalancı çok katlı diziliş gösteren prizmatik epitel hücrelerinin bir kısmı kinosilyumludur. Silyum içermeyen hücrelerin sitoplazmalarında salgı granülleri bulunur. Lamina propria, kan damar ağı ile fibroblast, makrofaj ve mast hücrelerinden zengin gevşek bağ doku ve uterus bezlerini içerir. Uterus bezleri, yer yer dallanma gösteren basit tubuler bezler olup

siklusa bağılı olarak değişik görünüm kazanırlar. Diğer türlerden farklı olarak ruminantlarda lamina propria'nın bez içermeyen bölgeleri vardır. Bunlar gebelikte düğme şeklinde çok belirgin "caruncula" denilen oluşumlara dönüşürler ve plasentanın maternal yarımını oluştururlar (54, 58).

Uterusun duvarı özellikle de endometrium, monoöstrik hayvanlarda poliöstrik hayvanlardan daha büyük bir değişime uğrar ancak bu değişimler poliöstrik hayvanlarda daha belirgin gözlenebilmektedir. Evcil hayvanlar ya monoöstrus ya da poliöstrus gösterirler. Köpek gibi monoöstrik hayvanlar yılda bir östrus siklusuna sahiptir. Her siklus uzun bir anöstrus periyodu ile takip edilir. Poliöstrik hayvanlar ya inek ve domuz gibi anöstrus periyodu olmadan devamlı siklus gösterir ya da koyun, keçi, kısırak ve kedi gibi anöstrus periyodu ile mevsime bağılı siklus gösterirler.

Uterus, östrus siklusu boyunca değişim gösterir. İneklerde proöstrusta; endometrial bezler en düşük hacimdedir. Östrojen, ovariumda gelişen folikülün granuloza hücrelerinden salgılanır. Epitel hücrelerinde hipertrofi gözlenirken uterus bezlerinde proliferasyon şekillenmeye başlar ve kan dolaşımı da artar. Östrusta; ovulasyon sonrası progesteron corpus luteum'daki granuloza ve teka hücreleri tarafından salınır. Epitel hücrelerinde hipertrofi devam ederken, uterus bezlerinde de proliferasyon ve kan dolaşımı artar. Metöstrusta; progesteron seviyesi yüksek düzeyini korurken ve bezlerde salgı aktivitesi devam ederken uterus bezleri kıvrımlaşmaya başlar. Diöstrusta; endometrial bezler, kıvrılma ve salgı aktivitesi yönünden maksimum seviyeye ulaşır. Döllenme şekillenmiş ise gebelik boyunca yavrunun beslenmesi için salgı aktivitesinin devamlılığı korunur. Döllenmenin olmadığı durumda salgı aktivitesi durdurulur ve tüm duvarın vaskularizasyonu azalmaya başlar. Böylece uterus duvarı proöstrus dönemindeki uterusu benzer bir hal alır (59).

Myometrium, uterus duvarının en kalın katmanını oluşturur. Canlının gelişimine uygun olarak hipertrofi ve hiperplazi gösterebilecek düz kas hücrelerinden oluşur. Gebelik esnasında birçok düz kas hücresinde aktif protein sentezi başlar. Doğum sonrasında ise hücrelerin boyutlarında azalma görülür ve uterusun gebelikteki çapı zamanla küçülür. Buradaki düz kas hücreleri, içte (endometrium tarafında) sirküler yönlüdür ve daha kalın bir katman oluştururlar. Dışta (perimetrium tarafında) bulunan katman ise longitudinal yönlü kas hücrelerinden şekillenir ve daha

incedir. Bu iki kas katmanı arasında kan ve lenf damarlarından zengin stratum vasculare bulunur. Buradaki kan damarları ve sinirler ligamentum latum uteri'nin içinde seyrederek organa gelir. Subperitoneal bağ dokudan (parametrium) oluşan bu ligament, uterusu pelvis boşluğunda asılı tutan elastik bağı yapar (54, 58).

Peritonun viseral yaprağından gelen perimetrium, uterusun en dış katmanıdır ve mezotel hücreleri ile sarılı gevşek bağ dokusundan ibarettir. Perimetriumda çok sayıda lenf, kan damarı, sinir telleri ve oldukça az sayıda düz kas hücreleri mevcuttur (54, 57, 58).

3.2.4- Gebelik ve Plasentasyon

Ruminantlarda gebeliğin şekillenmesi blastosist aşamasında başlar ve bu süreç gebeliği tanıma sinyali, konseptus implantasyonu ve plasentasyonu içerir (60-63). 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 (61). İneklerde 9-10. günde zona pellucida'nın yırtılmasından sonra 13. günde blastosist, oval veya tüp şeklinde gelişir ve yapı konseptus diye adlandırılır (61, 64). 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 (65-67).

Gebelikte uterusun büyümesi sadece steroid hormonların etkisinde değil, fötusun büyümesi sonucunda uterusun mekanik olarak gerilmesine de bağlıdır. Uterus oldukça esnektir ve büyüme birdenbire olmadığından intrauterin hacim artışı yavaş şekillenir (68). Kas hücrelerinin büyümesinin yanında bağ dokusu ve interselüler matrikste de bir artış söz konusudur. Böylece oluşan ağ, uterus duvarının sağlamlığına katkıda bulunur. Bunlara damar ve lenfatiklerin sayısı ve çap olarak artışı da eşlik eder. Bunun yanında gebeliğin ilk birkaç ayında uterustaki hipertrofi özellikle östrojen hormonunun etkisine bağlı olup progesteronun rolü sınırlıdır. Söz konusu süreçte çeşitli büyüme faktörleri de tek başlarına veya steroid hormonlarla sinerjistik olarak etki yapar (69).

Yumurtanın döllelenmesinden doğum sürecine kadar gebeliğin sürdürülmesi ve sağlıklı bir canlının hayata başlamasında feto-maternal iletişimin etkisi çok büyüktür. Fötüs için gerekli besinlerin alınması; oksijen, karbondioksit gibi gazların ve atıkların değişimi feto-maternal ilişki ile yani plasenta yoluyla sağlanır (70, 71).

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 desidua, plasenta adesidua ve plasenta intermedia olarak üç gruba ayrılır (72).

Ruminantlarda plasenta, koryon ile uterus mukozası arasındaki ilişkinin derecesine göre yarım (semi) plasenta grubuna girer. Ruminant koryonunda, koryon villusları belli odaklarda topluluk halinde bulunur ve bu yapılar kotiledon olarak isimlendirilir. Büyük ruminantlarda uterus mukozası ile koryon arasındaki ilişki yüzeysel olduğu için desidua şekillenmez. Bunun yanında küçük ruminantlarda, uterus epitelinde yer yer erimeler olduğundan koryon villusları uterus bağdokusu ile karşı karşıyadır. Küçük ruminantlarda plasenta, uterus epitelindeki yüzeysel erimeler nedeniyle desiduata plasentalar ile adesidua tipi plasentalar arasında yer alır ve bu nedenle intermedier tip plasentadan söz edilebilir. Buna göre ruminantlardan inekte plasenta epiteliyo-koryal (epithelio-chorial), koyun ve keçide sindesmo-koryal (syndesmo-chorial) plasenta tipi görülür (73).

Histolojik olarak inek plasentası, çift çekirdekli trofoblast dev hücreleri ile uterus epitel hücrelerinin füzyonu sonucu ve feto-maternal sinsityumun şekillenmesi nedeniyle sinepiteliokoryal kotiledonata tipi plasenta olarak adlandırılır (4). Fötal koryon villusları (cotyledon) ile maternal kriptlerin (caruncula) karşı karşıya gelmesi ile oluşan plasentomlar, feto-maternal proliferasyon alanlarıdır. Bu yapılar, anne ile yavru arasında besin unsurları ve metabolik atıkların değişimini sağlar (74, 75).

Koryon villuslarının dış yüzü, trofoblast hücreleri tarafından örtülmüştür. Bu hücreler, fonksiyonel bir corpus luteum'dan progesteron üretiminin devamını sağlayan gebelik sinyalinin sorumludur (76). 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 artışını 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 (4, 77).

Çift çekirdekli trofoblast dev hücreleri, ruminant plasentasının karakteristik bir özelliğidir (4, 78). TGC, tek çekirdekli trofoblast hücrelerinden gelişir ve asitokinetik mitoz ile çift çekirdekli hale gelir (4, 78, 79). Hücre olgunlaşması sırasında TGC'de poliploidi görülür (77) ve sitoplazmalarında büyük miktarlarda veziküller birikir. Olgun TGC, uterus epiteline doğru göç eder ve uterusun epitel hücreleri ile kaynaşır (4). Bu esnada granüllerini bazal membrandan uterus epiteline serbestleyerek üç çekirdekli feto-maternal hibrid hücrelerinin oluşumunu sağlar (80). Bu süreçlerin fonksiyonu hala belirsizliğini korumakla beraber bu farklı hücre formlarının, büyük sinyal moleküllerinin feto-maternal bariyer boyunca taşınmasına hizmet ediyor olabileceği düşünülmüştür.

TGC'nin iki temel özelliği vardır: Bunlardan birincisi, yukarıda da değinildiği gibi bu hücreler, uterusun epitel hücreleri ile kaynaşarak plasentomal büyüme ve implantasyon için gerekli feto-maternal hibrid dokunun oluşumunu sağlar. İkincisi ise, bu hücreler yoğun salgı granüllerine sahiptir ve bu granül içeriklerini (protein ve steroid hormon) maternal sisteme aktarırlar (4).

3.2.5- Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri

Geçmişten bugüne büyüme faktörü olarak adlandırılan peptidler, hücre çoğalması üzerine güçlü stimülasyon veya inhibitör etki gösterir. Üstelik peptid büyüme faktörleri sinyal iletimi, hücre sağkalımı, farklılaşması, hücre adezyonu, hücre göçü, bağışıklık yanıtı, hematopoez, inflamasyon, doku onarımı, ateroskleroz ve kanser gibi kısmen de olsa büyüme ile ilgili diğer birçok kritik hücre fonksiyonlarını da düzenler. Peptid büyüme faktörleri bir hücrenin yakın çevresiyle iletişime geçmesi ve dokuyu oluşturan birçok hücre arasında lokal homeostazisin

sağlanması için gerekli yolu sağlar (5). Normal hücre büyümesi ve çoğalması, pek çok sinyalizasyon yolağı ile düzenlenir. Sinyalizasyon yolağını, ekstraselüler ortamdaki büyüme faktörleri, nörotropinler, sitokinler ve hematopoetinler kontrol eder (81).

Büyüme faktörleri, genellikle 6-30 kDa büyüklüğünde geniş bir regülatör molekül grubudur. Bu faktörlerin bir kısmı hücre içinde proteolitik ayrışma yoluyla çözünen prekürsörlerden köken alırken, diğer kısmı membran-gömülü büyüme faktörleri olarak reseptör tirozin kinazlar (RTKs)'ın ekstraselüler bölgesi ile etkileşip kendi biyolojik etkilerini hücre yüzeyinde gösterebilir ve bu sayede intraselüler sinyal yollarını tetiklemiş olur. Büyük bir aile olan bu moleküller de kendi içinde gruplara bölünmüştür. Reseptörleri intrinsik tirozin-kinaz aktivitesine sahiptir. Son yıllarda reseptörlerin bir bölümünün serin/treonin-kinaz aktivitesi gösterdiği de tespit edilmiştir (TGF- β ailesi gibi). Büyüme faktörleri, hücre fonksiyonları endokrin, parakrin, otokrin veya intrakrin mekanizmalarla sağlar. Bu mekanizmaların harekete geçmesi çoğunlukla hücre bölünmesiyle sonuçlanır. (6, 14, 82-84).

Bir hücre hem bir büyüme faktörü hem de onun reseptörünü taşıyorsa, kendisini uyaran büyüme halkasına sahip demektir. Buna "Otokrin Büyüme Halkası" denir. Otokrin büyüme halkası normal hücrelerde bulunur, ancak sadece fizyolojik uyarılara yanıt verir (85). Büyüme faktörlerinin herhangi bir hücreyi etkileyebilmesi, o hücrenin, o faktör için reseptöre sahip olmasına bağlıdır. Reseptöre bağlanma sonucu hücre içinde özgün bir cevaba neden olan bir seri sinyal ortaya çıkar. Etki, çoğunlukla tirozin kinaz uyarılarak sağlanır. Her hücrenin farklı büyüme faktörleri için farklı sayıda reseptörü bulunur. Büyüme faktörlerinin o bölgedeki konsantrasyonu ve reseptöre bağlanan miktarı, elde edilecek sonucu belirler (86).

Birçok peptid büyüme faktörü izole ve karakterize edilmiş olup bunlar arasında Sinir Büyüme Faktörü (NGF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri (IGF-I and II), Platelet Kökenli Büyüme Faktörleri (PDGFs), Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF), İnterlökinler (ILs), Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF), Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β (TGF- β) ve Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) sayılabilmektedir (9).

Büyüme faktörü reseptörleri membran içi bölge, sitoplazmik bölge ve hücre membranı dışında bulunan bir amino ucuna sahiptir. Hücre dışındaki bölüm, ikisi

ligand bağlayan, ikisi yön tayin eden toplam dört kısımdan oluşur. Membran içi bölge reseptörlerin birbiriyle temasından ve dimerleşmesinden sorumludur. Sitoplazmik bölge; ligand bağlama özelliklerini değiştiren fosforilasyon bölgesi, ikinci haberci sistemi ile etkileşerek bu sistemi harekete geçiren fosforilasyon bölgesi ve tirozin kinaz bölgesi olmak üzere üç kısımdan oluşur. Büyüme faktörü reseptörlerinde aktivite artışı üç şekilde gerçekleşebilir:

- Reseptörlerin yapısında ve sayısında bir değişiklik olmadığı halde ligand sayısında artış nedeniyle reseptör aktivitesi artar,
- Reseptör molekülü normal yapısını koruduğu halde transkripsiyon ve/veya gen amplifikasyonu sonucunda aktivasyon yükselir,
- Reseptör molekülü, üzerinde gerçekleşen mutasyonlar sonucu aktivasyonu devam ettirir (87).

Gelişmenin olduğu büyüme ve farklılaşma evrelerinde çok sayıda faktörün etkili olduğu, hücrenin büyüme ve çoğalmasında ise büyüme faktörlerinin temel rolü oynadığı gözlenmiştir. Bu açıdan bakıldığında hücre çoğalmasını sağlayan sinyal yollarında görevli büyüme faktörü reseptörlerinin ya da başka proteinlerin kontrolsüz aktivitesi anormal büyüme ve gelişmeye yol açabilir. Bununla birlikte büyüme faktör reseptörlerinin aşırı üretimi de tümöral gelişimde önemli bir rol oynar. Birçok tümörde, bu reseptörlerin normal şekillerinin mutasyonu ve ileri derecede artışı da ortaya konmuştur. Özellikle uterus tümörleri, karnivor ve equide gibi türlerde daha az görülmesine karşın sığır ve insanlarda daha yaygındır, ayrıca sığırdaki uterus tümörleri, cornu'ların bulunduğu bölümde daha sık görülmektedir (88-90).

3.2.5.1- ErbB Ailesi ve Ligandları

Hücre içine ekstraselüler ortamdan bilgi akışı, biyolojik sistemin fonksiyonel bir gerekliliğidir. RTKs birçok sinyalin primer aracısıdır ve böylece hücrenin büyümesine, farklılaşmasına, göçüne veya ölüp ölmeyeceğine karar verilir. RTKs, ekstraselüler ligand-bağlayan bölgeden intraselüler kinaz bölgeyi ayıran tek bir transmembran bölgeye sahip hücre yüzeyindeki allosterik enzimlerdir (91).

RTKs alt sınıf I'e mensup olan ErbB ailesi dört üyeden oluşur: ErbB1 (EGFR ya da HER1), ErbB2 (Neu ya da HER2), ErbB3 (HER3) ve ErbB4 (HER4) (92, 93). Bu reseptörler, avian erythroblastic leukemia viral oncogene v-erb-B ile EGFR'nin yakın benzerliğinden ötürü ErbB diye adlandırılmıştır (94). HER kısaltması ise

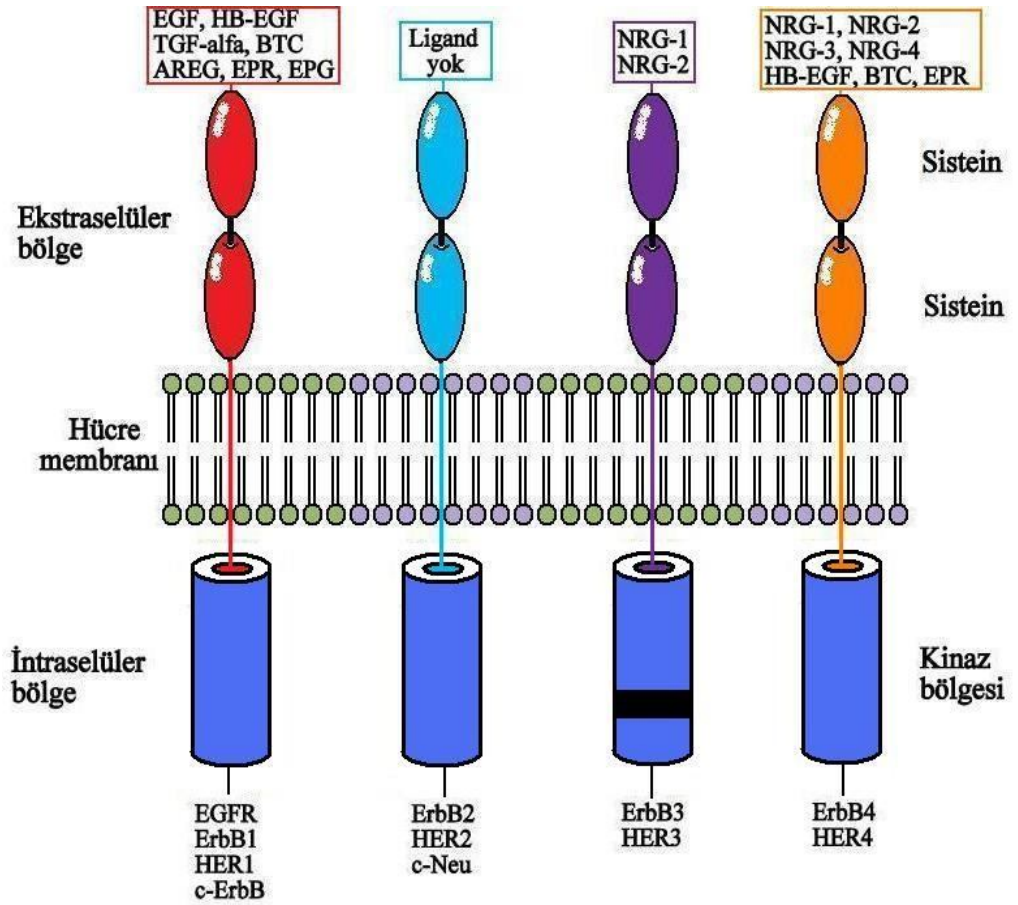
“Human EGF Receptor” kelimelerinin baş harflerinden gelir. Neu kısaltması da sıçanlarda neuroblastoma’ya neden olabilen c-neu oncogene ile HER2’nin bir dizi homologundan türetilmiştir (16).

3.2.5.1.1- Reseptörün Yapısı

Tüm ErbB reseptörleri yaklaşık 170-180 kDa büyüklüğünde glikozillenmiş ve disülfid-bağlı ekstrasellüler bölge, tek bir hidrofobik transmembran bölge, tirozin kinaz içeren intraselüler bölge ve birden fazla fosforilasyon alanına sahip transmembran proteinlerdir. Her ErbB reseptörünün ekstrasellüler alanı dört bölgeye ayrılabilir. I. ve III. bölge ligand bağlanmasına; sisteinden zengin II. ve IV. bölge ise reseptör dimerleşmesine katılır (95).

3.2.5.1.2- Ligandlar

ErbB reseptörlerinin aktivasyonu benzer ligandların etkileşimi ile düzenlenir. ErbB reseptörleri, EGF-benzeri peptid büyüme faktörü ailesinden 11 üye ile seçici ve spesifik bir şekilde etkileşime girer. Bu ligandlar şunlardır: Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) (18-20), Dönüştürücü Büyüme Faktörü- α (TGF- α) (21), Amfiregulin (AREG) (22), Epigen (EPG) (23), Heparin Bağlayan EGF Benzeri Büyüme Faktörü (HB-EGF) (24), Betaselulin (BTC) (25), Epiregulin (EPR) (26) ve Nörogulinler 1-4 (NRG 1-4) (27-33). Ayrıca farklı ek varyasyonlarla ErbB ligandlarının sayısı çoğaltılabilir. Örneğin alternatif ekleme sonucu NRG1 geninden en az 15 farklı izoform üretilir (96).



Şekil-2.1: ErbB reseptörleri ve ligandlarının spesifik bağlanma ilişkisi. ErbB3'ün kinaz bölgesi (siyah bant) fonksiyonel değildir.

Her ErbB ligandı, kendi bağlama spesifitesini belirleyen EGF benzeri bir bölge içerir ve bu ligandlar spesifik bağlanma özelliklerine göre üç gruba ayrılır. Birinci grubu EGFR için spesifik olan ligandlardan EGF, TGF- α , AREG ve EPG; ikinci grubu hem EGFR hem de ErbB4'e spesifik olan HB-EGF, EPR ve BTC; üçüncü grubu ise ya ErbB3 ve ErbB4'e (NRG1 ve NRG2) ya da sadece ErbB4'e bağlanabilen (NRG3 ve NRG4) NRG'ler oluşturur (**Şekil-2.1**), (31-33, 92, 97).

3.2.5.1.3- Sinyal İletimi

Ligand'ın ErbB reseptörlerinin dış bölgesine bağlanması, reseptör dimerleşmesine ve yapı değişikliklerine yol açar. ErbB reseptörleri hem homo hem de heterodimerler oluşturabilir. ErbB3 reseptörü aktif bir tirozin kinaza sahip değildir, bu yüzden diğer ErbB reseptörleri ile heterodimerler oluşturur (98).

ErbB'nin eksternal II. bölgesi, ligand bağlandıktan sonra ortaya çıkan bir dimerizasyon koluna sahiptir. Ligand reseptöre bağlanmadığında, II. bölgenin dimerizasyon kolu ile IV. bölge etkileşime girer ve dimerleşme mümkün olmaz (95). Dimerleşme sonuç olarak reseptörlerin tirozin kinaz aktivitesini stimüle eder ve sitoplazmik kuyrukta spesifik tirozin kalıntılarının otofosforilasyonunu başlatır. Bu fosforlanmış kalıntılar, intraselüler sinyal yollarının düzenlenmesini sağlayan sinyal moleküllerinin, Src homologu 2 (SH2) ya da fosfotirozin bağlayan (PTB) alanları gibi hizmet eder (93).

3.2.5.2- Epidermal Büyüme Faktörü ve Reseptörü (EGF-ErbB1/EGFR)

EGF ve reseptörlerinde büyüme faktörü-aracılı sinyallerin mekanizmasını açıklayan paradigmalara dayalı birçok araştırma yapılmıştır. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) keşfedilen ilk büyüme faktörlerinden birisidir (92, 99-102). EGF, ilk kez 1962 yılında Dr. Stanley Cohen tarafından erkek farelerin submandibular tükürük bezinden izole edilmiştir. Cohen, NGF izole etmek üzere çalışmalar yaparken, bezlerden hazırladığı ekstrenin NGF'den farklı etkide bulunduğunu gözlemiştir. Bunu yeni doğan farelere her gün enjekte ettiğinde göz kapaklarının erken açıldığını, dişlerin erken patladığını saptamıştır. Daha sonraki çalışmalarında bu etken maddeyi izole etmiş, bunun epidermis gelişimini hızlandığını gözlemiş ve bu etken maddeye epidermal büyüme faktörü adını vermiştir (18, 100).

EGF, 53 aminoasitli bir polipeptid olup alanin, fenilalanin ve lizin dışında tüm aminoasitleri bünyesinde bulundurur. Molekül ağırlığı 6040 daltondur. Epidermal ve mezotelyal hücrelerde mitojenik özelliğe sahiptir. Etkili olduğu hücrelerde iyon alınımlarını, glikolizisi, DNA ve RNA ile protein yapımını artırıcı özellik gösterir. İdrarda, mide ve pankreas salgısında, seminal ve prostat sıvısında, sütte ve kanda bulunmaktadır. Aynı zamanda çok çeşitli dokularda da varlığı saptanmıştır (103-105).

EGF genelde hücre yüzeyinde bulunan özel reseptörlere bağlanarak işlev görür. EGF reseptörleri O'Keefe ve arkadaşlarınca belirlenmiş ve Cohen tarafından izole edilmiştir. EGF reseptörü kan hücreleri dışında çok geniş hücre ve doku grubunda saptanmıştır (106-108).

170 kDa molekül ağırlığında ve glikoprotein yapısındaki EGF reseptörleri, üç ana birimden oluşur. Birinci kısım EGF'yi bağlayan hücre yüzeyindeki kısımdır ve

sistein grubu karbonhidratlardan zengindir. Karbonhidrat içeriği EGF'nin reseptöre bağlanmasında önemlidir. İkinci kısım hücre zarı boyunca uzanan orta parçasıdır. Üçüncü kısım ise, karboksil uç olarak isimlendirilen sitoplazmik kısımdır ve burası reseptörün katalitik bölgesi sayılabilir (100, 109, 110).

Hücre dışında reseptörü ile birleşen EGF, reseptörün tirozine özgü protein kinaz bölgesini aktive ettikten sonra hücrede bir seri agregasyon ve fosforilasyon olayları gelişir. Sonuçta EGF reseptörü sitoplazmaya geçer. Bu düzenek şöyle gerçekleşmektedir: EGF ve reseptör, hücre zarının sitoplazmik kısmının kalatrinle kaplı oyuğu içinde kümeler oluşturur. Daha sonra bu kısım endositozla hücre içine alınır. Reseptozom denilen bu yapının içindeki bağlanma bölgelerinin çoğunluğu Golgi kompleksi yoluyla lizozomlara taşınır ve parçalanır. Bazen reseptozomlar ekzositoz ile hücre dışına verilir. Seçici bir yol olarak da EGF ve reseptör doğrudan çekirdeğe gider ve orada kopyalanmayı başlatır (100, 110, 111).

Dişi üreme sisteminde büyüme ve gelişim, ovaryan steroidleri ve endojen olarak üretilen çeşitli büyüme faktörlerinin kontrolü altındadır. Bunlardan EGF, uterusda büyümeyi teşvik edici etkiye sahiptir ve trofoblastın çoğalma, istila ve farklılaşma fonksiyonlarını da kontrol eder. Büyüme faktörü ailesindekiler gibi EGF'de etkisini EGFR aracılığı ile gösterir (42, 99, 112-114).

3.2.5.3- Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (ErbB2/Neu/HER2)

ErbB2, ErbB reseptörler ailesi olarak bilinen sınıf I reseptör tirozin kinaz ailesinin bir üyesidir (115). ErbB2, v-erb-b2 eritroblastik lösemi, viral onkojen homolog 2 geni tarafından kodlanan, 185-kDa ağırlığında olan ve hücre sinyalinde merkezi role sahip bir elementtir (116, 117). ErbB2 reseptörü, normal koşullarda ve patolojik durumlarda büyüme hormonlarına karşı oluşan hücrel yanıtarda etkilidir (118). Diğer ErbB üyelerinin ligandları bilinmesine karşın ErbB2'nin ligandı tanımlanamamıştır (119). Bunun yerine ligand ile aktive olmuş ErbB1, ErbB2'nin heterodimerizasyon oluşumu için ortaklığını yaparak mitojenik uyarı sinyalinin artmasına sebep olur (120). ErbB2'de ekstraselüler bölgenin yapısı diğer reseptörlerden oldukça olup II. ve IV. bölge etkileşimi yoktur ve II. bölgenin dimerizasyon halkası açığa çıkar (121, 122). Bu yapı ve diğer ligand bağlı reseptörler ile sağlanan kalıcı etkileşim sayesinde ErbB2, diğer aktif ErbB reseptörleri için özellikle tercih edilen bir ortaklıdır (95).

ErbB2, ligandsız mekanizmalarla aktive olabilir. ErbB2 geninin amplifikasyonu veya gösterimi özellikle göğüs ve ovaryum kanserinde yapılmıştır (123, 124). Ayrıca ErbB2'nin gen gösterimi fare uterus epitelinde de yapılmış ve gebelik dönemlerinde değişiklik saptanmıştır. ErbB2 bunun yanında, gözyaşı ve tükürük bezleri gibi salgı epitelinde de gösterilmiştir (125-128).

3.2.5.4- Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 3 (ErbB3/HER3)

ErbB ailesinin üçüncü üyesi olan ErbB3, yaygın olarak normal dokularda ortaya konmuştur. ErbB3 ve diğer aile üyeleri arasındaki en önemli fark; tirozin kinaz aktivitesinin yokluğu veya çok az olmasıdır. Böylelikle, ErbB3'ün homodimerleri etkin olmasa da, heterodimer oluşumu içinde EGFR veya ErbB4 ile eşleşerek ve daha çok ErbB2 ile ortaklığı tercih ederek etkili bir biçimde sinyal oluşturabilmektedir. ErbB3 proteini de ErbB2 gibi insan malignite dağılımında yüksek seviyelerde gösterilmiştir (129-132).

ErbB3'te diğer reseptörlerin aksine intrinsik tirozin kinaz aktivitesi bulunmamakta, bunun yerine hücre içi altı adet fosfatidil inositol-3 kinaz (PI3K) bağlanma bölgesi bulunmaktadır. PI3K ve mitojen aktivasyonlu protein kinaz (MAPK) yolları EGFR ile aktive olan sinyal yollarının önemli kısmını oluştururlar (133, 134). ErbB3'ün kinaz bölgesi katalitik olarak aktif olmadığından aktivite için bir heterodimerizasyon ortağına ihtiyaç duyar (135).

3.2.5.5- Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 4 (ErbB4/HER4)

ErbB ailesinin dördüncü ve son tanımlanan üyesi ErbB4, normal dokular için yakın zamanlarda detaylı olarak tasvir edilmiş 180.000 M_r glikozillenmiş bir reseptördür. Bu reseptörün kanserin yanı sıra normal dokularda da varlığı sıklıkla rapor edilmiştir (13, 136-139).

ErbB4, ErbB1 gibi homodimerler oluşturarak aktive edilir. Ligandın indüklediği ErbB4, kinaz bölgesinin otofosforilasyonu sonrası ErbB1 ile aktive edilmiş mekanizmayla benzer şekilde çalışır (140).

ErbB4 reseptörü için spesifik agonist ve antagonistler bilinmemektedir. EGF ailesindeki peptid hormonların tamamı, ErbB ailesinin diğer üyelerinden en az biri ErbB4 ile bağlanma yeteneğindedir. ErbB ailesindeki reseptörlere bağlanmayan ligandlar, ligand uyaran reseptör heterodimerizasyonu yoluyla değişime uğratarak uyarımları aktive ederler. Sonuç olarak ErbB4'ü doğrudan aktive eden ve bağlayan

ligandlar (Nörogulin gibi) ErbB1, ErbB2 ve ErbB3 sinyallerini de uyarırlar (141, 142).

3.2.5.6- Amfiregulin (AREG)

Amfiregulin (AREG) diğer EGFR ligandlarından farklıdır ve çeşitli hücre tiplerinin çekirdeğini hedef aldığına inanılan, hidrofilik NH₂-terminal bölgesine sahip iki nükleer lokalizasyon dizisini içerir. (22, 143-147). Buna rağmen AREG'in diğer EGFR ligandları ile birçok benzerliği de vardır. Örneğin AREG reseptöre bağlanır, p185^{erbB2} ve EGFR'nin otofosforilasyonunu indükler (148) ve hücre yüzey reseptörüne benzer büyük bir transmembran prekürsörden proteolitik olarak ayrılır (149). Büyüme faktörünün çözünür, olgun formu bu prekürsörün ekstraselüler bölgesine lokalize olur ve prekürsörün COOH-terminal bölgesi EGF nin %38 ve TGF- α 'nın %32 oranında sekans homologunu içerir. AREG bunun yanında EGF benzeri proteinlerin karakteristiği olan üç molekül içi disülfid bağını oluşturmak için etkileşen altı sistein kalıntısı içerir (150).

AREG, 78 ve 84 aminoasitten oluşan iki büyük çözünür form ve 252 aminoasit'lik bir transmembran glikoprotein şeklinde sentezlenir (22, 92). Kelime anlamı olarak, temel fonksiyonunun çift yönlü olduğu manasına gelir. Yani hücre çoğalmasını hem olumlu hem de olumsuz olarak düzenler. Gerçekte AREG, normal ve neoplastik meme epitel hücreleri, fibroblastlar ve keratinositleri içeren birçok hücre tipinin büyümesini teşvik ederken diğer bazı hücre dizilerinin büyümesini ise inhibe eder (143, 146, 151-153).

AREG, fare uterusunun epitelinde tespit edilmiş ve bu ekspresyon insan ovaryum epitel hücrelerinde de ortaya konmuştur. Aynı zamanda, EGF ailesi içinde glikoprotein yapıdaki AREG'in başarılı bir embriyonik implantasyon için gerekli olduğu da ileri sürülmüştür (39, 143).

3.2.5.7- Nörogulin1 (NRG1)

Nörogulinler, ErbB reseptörlerine bağlanan, aktivasyonu sağlayan aynı zamanda hücre-hücre etkileşimlerine aracılık eden ligandlar olup; NRG1, NRG2, NRG3 ve NRG4 olmak üzere dört farklı gen ile kodlanmışlardır (92, 93, 96).

Nörogulinler, EGF ailesine bağlı parakrin, otokrin ve jukstrakrin sinyal peptidleridir (96). Başlangıçta, NRG çeşitli şekillerde; 1) onkojen ErbB2 için bir ligand (27, 28, 154) 2) glial büyüme faktörü (30, 155) ya da 3) kaslarda asetilkolin

reseptör sentezini uyaran bir faktör (156) olarak tarif edilmiştir. Şimdi ise çok farklı fonksiyonları olan bu peptidlerin, tek bir genden (NRG1) meydana geldiği kabul edilmektedir. NRG1, EGF ailesindeki diğer üyelerinin aksine geniş alternatif bağlanmalara tabidir. NRG1, gelişimsel olarak düzenlenmiş en az on beş farklı protein üretir (96).

NRG1; 1) membran oryantasyonu ve glikozilasyon örneklerini etkileyen N-terminal bölge, 2) reseptöre affinitesi olan ve direk bağlanan EGF-benzeri bölge 3) hücre membranından faktörü serbest bırakmak için ayrılmış olan jukstamembran bölge ve 4) intraselüler trafiği etkileyen C-terminal bölge olmak üzere farklı alanlara sahiptir. İşlevsel olarak, bu genin çeşitli ürünleri embriyogenez, anjiyogenez, meme kanseri, sinir sistemi gelişimi, miyogenez, gonadogenez gibi çeşitli biyolojik süreçlerden sorumlu tutulmuştur (157).

Nörogulinler, ErbB ailesinin transmembran tirozin kinaz reseptörleri ile etkileşerek hedef hücrelere sinyal gönderirler. Reseptör-ligand etkileşimleri, reseptör monomerlerin heterodimerizasyonunu harekete geçirir ve bu şekilde hücrelerde çoğalma, göç ve farklılaşmayı uyarır. İn vivo ortamda fonksiyonel NRG1, ErbB3 veya ErbB4 molekülleri ile heterodimerler oluşturur. NRG1, bahsedilen reseptör tiplerine spesifik ilgisinin yanı sıra sinyal yolunun biyolojik fonksiyonlarına da etki ederek spesifite özelliği kazandırabilir (158). NRG1, embriyo-uterus bağlantı noktasında görünen implantasyon-spesifik genler olup başarılı bir blastosist implantasyonu için de gereklidir (159).

3.3- GEREÇ VE YÖNTEM

3.3.1- Doku Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmada toplam 30 adet Holstein ırkı gebe inek uterusu kullanıldı. Uteruslar Diyarbakır'da bulunan özel kesimhanelerden temin edildi. Uterusların gebeliğin hangi dönemine ait olduğunu belirlemek amacıyla taşımış olduğu fötusların yaşları hesaplandı. Bu amaçla, fötusların alın-sağrı uzunluğu (Crown-rump length: CRL) ölçüldükten sonra (**Şekil-3.1**), yaş tayinleri Harris ve ark. (160)'nın verdiği metoda göre, alın-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki doğrusal ilişki sonucunda elde edilen $y:54,6+2,46(x)$ eşitliği kullanılarak yapıldı. Bu eşitlikte y fötal yaşı, x ise alın-sağrı uzunluğunu temsil etmektedir (**Şekil-3.2**). Bu yaş tayinine dayanarak gebeliğin ilk, orta ve son dönemine ait uteruslar her grupta 10 uterus bulunacak şekilde üç ayrı grup altında toplandı (**Tablo-3.1**).

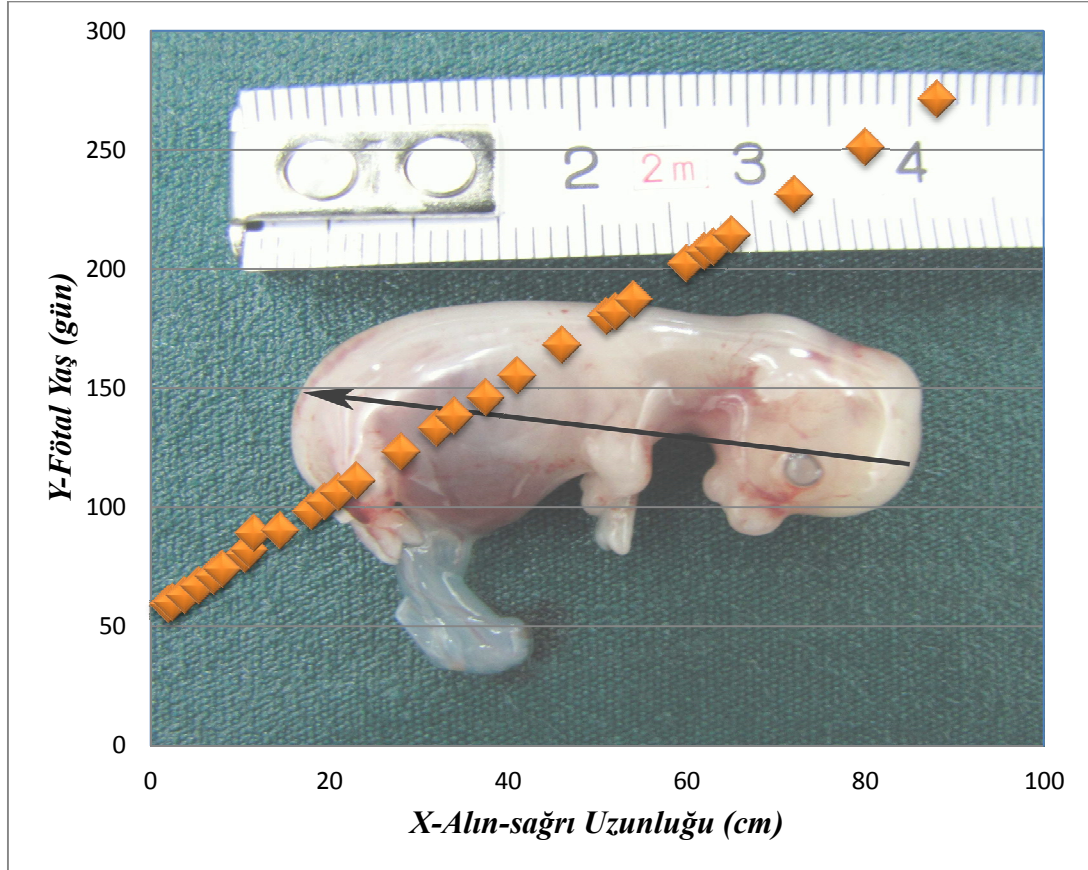
Materyal toplama aşamasında; kesim sonrası dışarı alınan uterusun gebeliğin şekillendiği kornusuna lateral kenarı boyunca yavrunun dışarı çıkabileceği genişlikte bir ensizyon yapıldı. Yavru zarları kesildikten ve yavru suları boşaltıldıktan sonra her bir fötus, alın-sağrı uzunluğu ölçülmek üzere ayrı bir yerde toplandı. Doku örnekleri ise gebe kornunun plasentomal ve interplasentomal olmak üzere iki farklı bölgesinden alındı. Çalışmada kullanılan uterusların, fötus yaşlarına dayanarak belirlenen gebelik yaşları **Tablo-3.2**'de gösterilmiştir.



Şekil-3.1: Sığır fötusunda alın-sağrı uzunluğunun (CRL) ölçümü.

Tablo-3.1: Kullanılan materyalin gruplandırılması

	1. Grup	2. Grup	3. Grup
Gebelik Dönemi	İlk Dönem	Orta Dönem	Son Dönem
Gebe uterus yaşı	59-90 günlük	98-168 günlük	180-271 günlük
Uterus sayısı	10	10	10

**Şekil-3.2:** Sığır fötuslarında alın-sağrı uzunluğu ve fötal yaş arasındaki doğrusal ilişki.

Tablo-3.2: Fötüs yaşlarına dayanarak gebe uterus yaşları

Örnek Sayısı	Alın-Sağrı Uzunluğu (CRL)	Fötal Yaş / Uterus Yaşı
1	2 cm	59 günlük
2	2,4 cm	60 günlük
3	3,6 cm	63 günlük
4	5,2 cm	67 günlük
5	6,8 cm	71 günlük
6	8 cm	74 günlük
7	10,5 cm	80 günlük
8	11 cm	82 günlük
9	14 cm	89 günlük
10	14,5 cm	90 günlük
11	17,5 cm	98 günlük
12	19,5 cm	102 günlük
13	21 cm	106 günlük
14	23 cm	111 günlük
15	28 cm	123 günlük
16	32 cm	133 günlük
17	34 cm	138 günlük
18	37 cm	146 günlük
19	41 cm	155 günlük
20	46 cm	168 günlük
21	51 cm	180 günlük
22	52 cm	182 günlük
23	54 cm	187 günlük
24	60 cm	202 günlük
25	62 cm	207 günlük
26	63 cm	209 günlük
27	65 cm	214 günlük
28	72 cm	231 günlük
29	80 cm	251 günlük
30	88 cm	271 günlük

3.3.2- Rutin Histolojik Takip ve Boyama

Bütün gruplardan alınan uterus dokuları %10 nötral formalin solüsyonunda 24 saat tespit edildi ve ardından bir gün süreyle akarsu altında yıkandı. Yıkama işlemini takiben dokular dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek paraplasta bloklandı. Hazırlanan parafin bloklarından, rotary mikrotomunda (Leica RM-2125, Germany) 5 mikrometre kalınlığında seri kesitler alındı.

Uterusun ve plasentanın histolojik yapısını incelemek üzere bu kesitlerden bir bölümüne Crossman'ın üçlü boyaması (161) uygulandı. Seri kesitlerin diğerleri ise Poly-L-Lysine (PLL, Menzel-Glaser, Art. No. J2800AMNZ) kaplı lamlara alınarak immunohistokimya boyaması yapıldı.

3.3.3- İmmunohistokimyasal Boyama

PLL kaplı lamlara alınan parafin kesitlerde ErbB reseptörleri ile EGF, AREG ve NRG1'in varlığı immunohistokimyasal yöntemlerden indirekt streptavidin-biotin-kompleks yöntemi kullanılarak gösterildi (47, 162, 163).

Tablo-3.3: Kullanılan antikorlara ait bilgiler

Antikorum Adı	Antikorum Türü	Katalog Numarası
1- Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (ErbB1/EGFR)	Rabbit Polyclonal	Santa Cruz, sc-03
2- ErbB2 Reseptörü	Mouse Monoclonal	Santa Cruz, sc-7301
3- ErbB3 Reseptörü	Rabbit Polyclonal	Santa Cruz, sc-285
4- ErbB4 Reseptörü	Rabbit Polyclonal	Santa Cruz, sc-283
5- Epidermal Büyüme Faktörü	Rabbit Polyclonal	Santa Cruz, sc-275
6- Amfiregulin	Rabbit Polyclonal	Santa Cruz, sc-25436
7- Nörogulin1	Rabbit Polyclonal	Santa Cruz, sc-28916

Seri alınan kesitler ksilolde deparafinizasyon ve dereceli alkollerde dehidrasyon işlemine tabi tutulduktan sonra distile suya alındı. Antijenlerin açığa çıkarılması (antigen retrieval) işlemi uygulanmaksızın, dokulardaki endojen

peroksidaz aktivitesini engellemek için distile suda hazırlanmış % 3'lük H_2O_2 'de 25 dakika inkübe edildi. Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (phosphate buffer saline; PBS) ile yıkandı (3x5 dakika) ve bundan sonraki işlemler nem kamerası içerisinde gerçekleştirildi. Kesitler spesifik olmayan boyanmayı önlemek üzere protein blocking çözeltisi (Ultra V Block) ile oda ısısında 10 dk. inkübasyona bırakıldı. Bu işlemde sonra dokular yıkanmadan; normal preparatlar primer antikor ile, negatif kontrol preparatları ise PBS ile $+4^0$ C'de 1 gece inkübasyona bırakıldı. Preparatlar, PBS ile yıkandıktan (3x5 dakika) sonra 20 dk. biotinlenmiş sekonder antikor (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Bunu takiben PBS ile yıkandı (3x5 dakika) ve preparatlar 20 dk. streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) etkin bırakıldı, böylece enzimin biotine bağlanması sağlandı. PBS ile yıkandıktan (3x5 dakika) sonra antiijen-antikor reaksiyonunda renklendirme amacıyla kromojen olarak 3'3'-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) substrate ile 10 dk. inkübe edildi. İmmunoreaktivitenin oluşumuna göre reaksiyon durdurularak preparatlar distile suya alınıp yıkandı. Çekirdek boyaması için Gill hematoksilende 15 saniye tutuldu. Akar suda 10 dk. yıkandı. Daha sonra distile suda da yıkanan preparatlar hızlı bir şekilde seri alkollerden geçirilerek ksilolde 30 dk. parlamaya bırakıldı. Son olarak DAB ile işaretlenen preparatlar, ksilol bazlı yapıştırıcı olan entellan ile kapatıldı. Pozitif kontrol olarak önerilen kolon ya da meme tümörleri temin edilemediğinden, boyanmaların sağlanmasında negatif kontroller kullanıldı.

Tüm bu işlemlerden sonra preparatlar dijital fotoğraf makinası (Nikon Coolpix-4500) ataçmanlı araştırma mikroskopunda (Nikon Eclipse E-400, Tokyo/Japan) incelenip fotoğraflandı.

Tablo-3.4: Antikorların hücresel lokalizasyonları

Antikor	Hücre Lokalizasyonu			
	Hücre membranı	Sitoplazma	Çekirdek	Ekstraselüler matriks
ErbB1	+	-	-	-
ErbB2	+	-	-	-
ErbB3	+	+	-	-
ErbB4	+	+	-	-
EGF	-	+	-	-
Amfiregulin	-	+	+	-
Nörogulin1	-	+	-	-

3.3.4- İmmunohistokimyasal Boyanma Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İmmunohistokimyasal boyanma, yoğunluk (Intensity score) ve oransal skordan (Proportional score) oluşan total skor (Quick score) olarak isimlendirilen ikili derecelendirme yöntemi kullanılarak semikantitatif olarak değerlendirildi (164, 165). Yoğunluk skorunda (I), hücrelerdeki pozitif boyanma yoğunlukları değerlendirilirken, oransal skorda (P) ise pozitif boyanan hücrelerin yüzde oranı belirlendi. Seri kesitlerde, X40 objektif büyütmede gelişi güzel seçilen üç farklı bölgede 100 adet hücre sayıldı. Daha sonra elde edilen değerlerin ortalaması alınarak her bir hayvan için tek bir değer elde edildi.

İmmunohistokimyasal boyanma sonuçlarındaki skortlama işlemi aşağıdaki gibi yapıldı.

Yoğunluk skoru

- 0: Negatif (yüksek büyütmede hiçbir hücrede boyanma yok)
- 1: Zayıf (sadece yüksek büyütmede görülen boyanmış hücreler)
- 2: Orta (düşük büyütmelerde kolaylıkla görülen boyanmış hücreler)
- 3: Güçlü (çok düşük büyütmelerde görülen boyanmış hücreler)

Oransal skor

0: 0

% 1<: 1

% 1-10: 2

% 11-33: 3

% 34-66: 4

% 67-100: 5

Yoğunluk skoru ve oransal skor toplandığında 0-8 arasındaki “Quick score-total skor” elde edildi.

Elde edilen bütün veriler bilgisayara girildi ve SPSS 13.0 (SPSS 13.0, SPSS, Inc., 2004, Chicago, IL, USA) programı ile istatistiksel analizleri yapıldı. Gruplar arasında farklılık olup olmadığını belirlemek için non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis testi, farklılık varsa bunun hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için de Mann-Whitney U testi uygulandı ($p<0,05$) (166).

3.4- BULGULAR

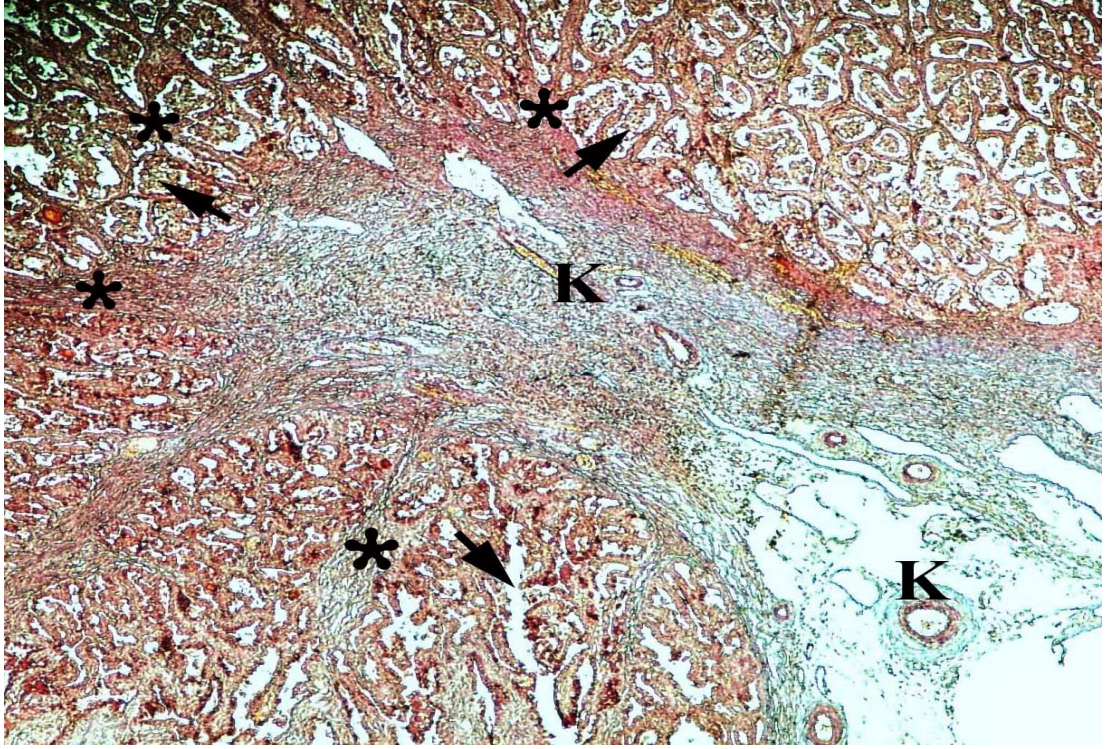
3.4.1- Uterusun Yapısal Özellikleri

Çalışmamızda gebeliğin farklı dönemlerine ait 30 adet uterus dokusu plasentası ile birlikte alınmış ve uteroplazental doku, Crossman'ın üçlü boyama yöntemi ile boyanıp incelenmiştir.

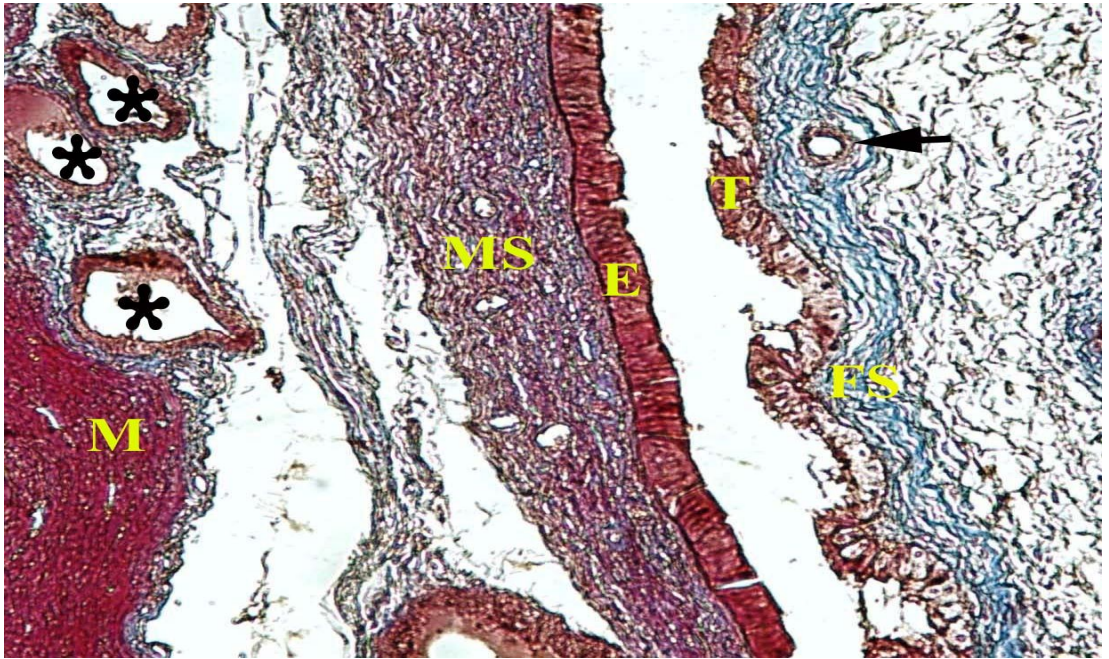
Gebeliğin şekillendiği cornu uteri'nin makroskopik bakıda gittikçe gelişmekte olduğu, özellikle de gebeliğin son dönemine doğru aşırı büyüdüğü, hatta plasentomların gebeliğin şekillenmediği diğer cornu uteri'nin içine kadar uzandığı gözlemlendi. Plasentomal ve interplasentomal bölgeler dikkate alındığında hem uterus hem de placentanın için, yavruya (fötal) ve anneye ait (maternal) kısımlar saptandı.

Kotiledon ve karunkula'dan oluşan plasentomların konveks bir yapı gösterdiği ve plasentomun iç kısmının da tıpkı bir ağaç dallanmasına benzer şekilde stromal uzantılara sahip olduğu belirlendi. Bu uzantıların, aralarındaki koryon villus kümeleri ile bağlantılı oldukları ve birlikte ileri derecede dallanmalar yaptıkları görüldü. Bununla birlikte plasentomal bölgede bolca kan damarının olduğu fakat bu bölgenin bezden yoksun olduğu dikkati çekti (**Şekil-4.1**).

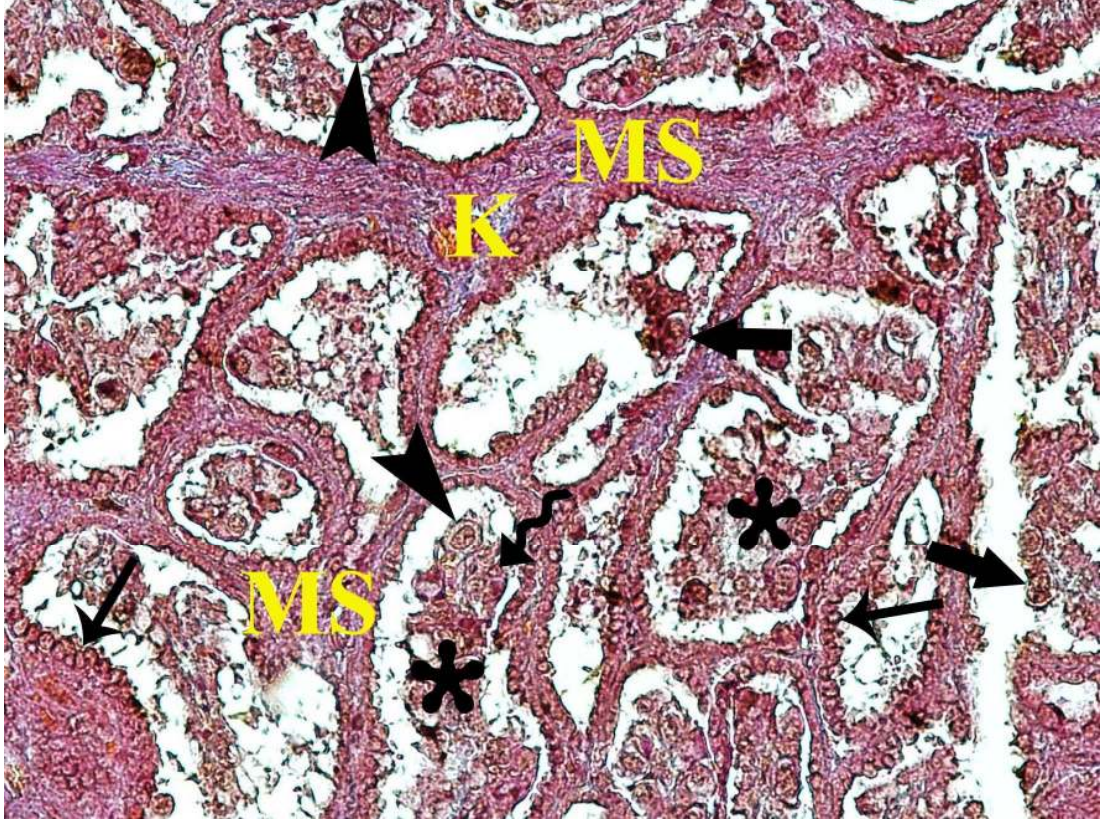
İnterplasentomal bölgede, uterus mukozasının (endometrium) epiteli, hemen altında uterus bezlerinin de olduğu bağ dokusu ve düz kas hücrelerinden oluşan myometrium katmanı ayırt edildi. Endometrium epiteli, yalancı çok katlı prizmatik epitel olarak görüldü. Placentanın fötal kısmında, koryon epitelini oluşturan trofoblast hücreleri, koryon mezenşimi (embriyonal bağ dokusu) ve fötal kan damarları; placentanın maternal kısmında ise epitel, bağ dokusu ve kan damarları gözlemlendi. Koryon villus kümelerinde tek çekirdekli trofoblast hücreleri ve çift çekirdekli trofoblast dev hücreleri izlendi. Ayrıca bu trofoblastik hücrelerin tüm gebelik süresince de varlıklarını sürdürdükleri saptandı (**Şekil-4.2, 4.3**).



Şekil-4.1: Gebeliğin 74. gününde plasentanın genel görünümü. Yıldız: Maternal stroma, oklar: Koryon villusları, K: Kan damarları, üçlü boyama X4.



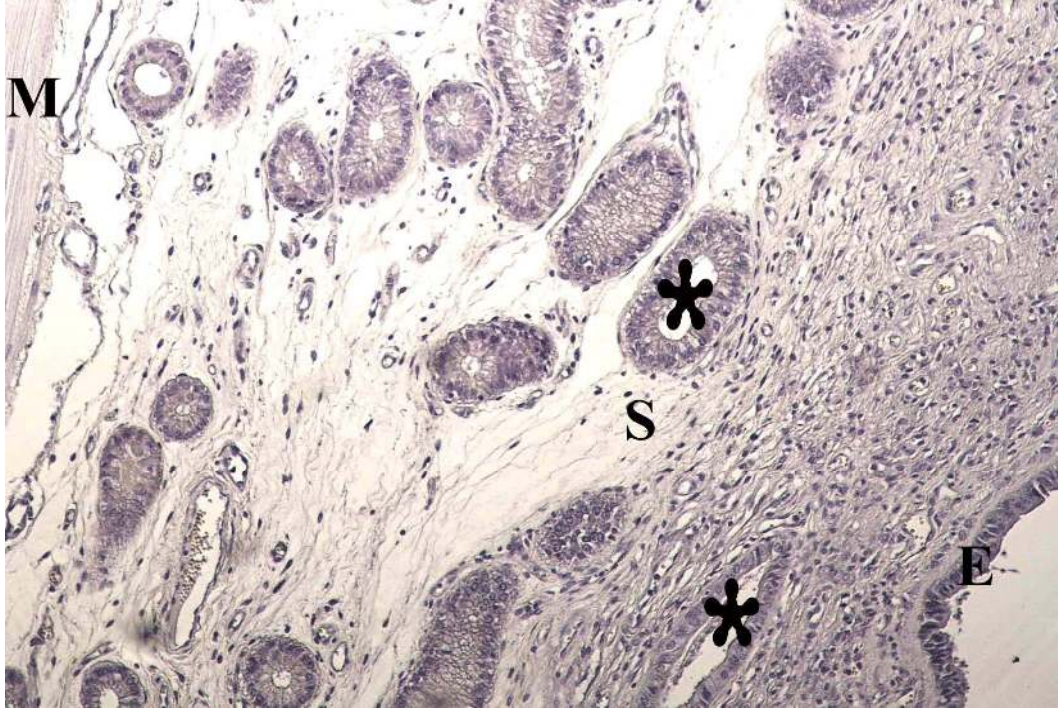
Şekil-4.2: Gebeliğin 168. gününde interplasental bölgenin genel görünümü. E: Endometrium epiteli, MS: Maternal stroma, M: Myometrium, yıldızlar: Uterus bezleri, T: Koryonun trofoblast hücreleri, FS: Fötal stroma, ok: Fötal kan damarı, üçlü boyama X10.



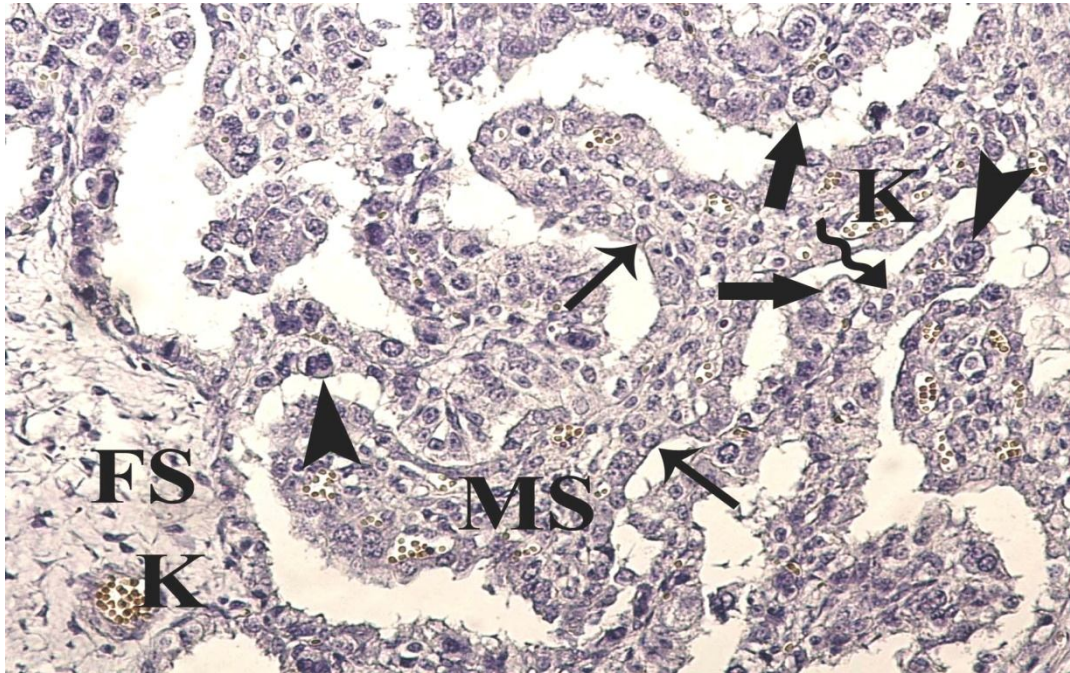
Şekil-4.3: Gebeliğin 207. gününde plasentomun genel görünümü. MS: Maternal stroma, K: Kan damarı, ince oklar: Maternal epitel hücreleri, yıldızlar: Koryon villusları, okbaşları: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücreleri, kalın oklar: Çift çekirdekli trofoblast dev hücreleri, kıvrımlı ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, üçlü boyama X20.

3.4.2- Uterusun İmmunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi

Gebeliğin tüm dönemleri için primer antikorları içermeyen negatif kontrol preparatlarında herhangi bir işaretlenme gözlenmedi (Şekil-4.4, 4.5). ErbB1, ErbB2, ErbB3, ErbB4, EGF, AREG ve NRG1 antikorlarının ise DAB kromojen ile boyanarak immun reaksiyon verdiği görüldü.



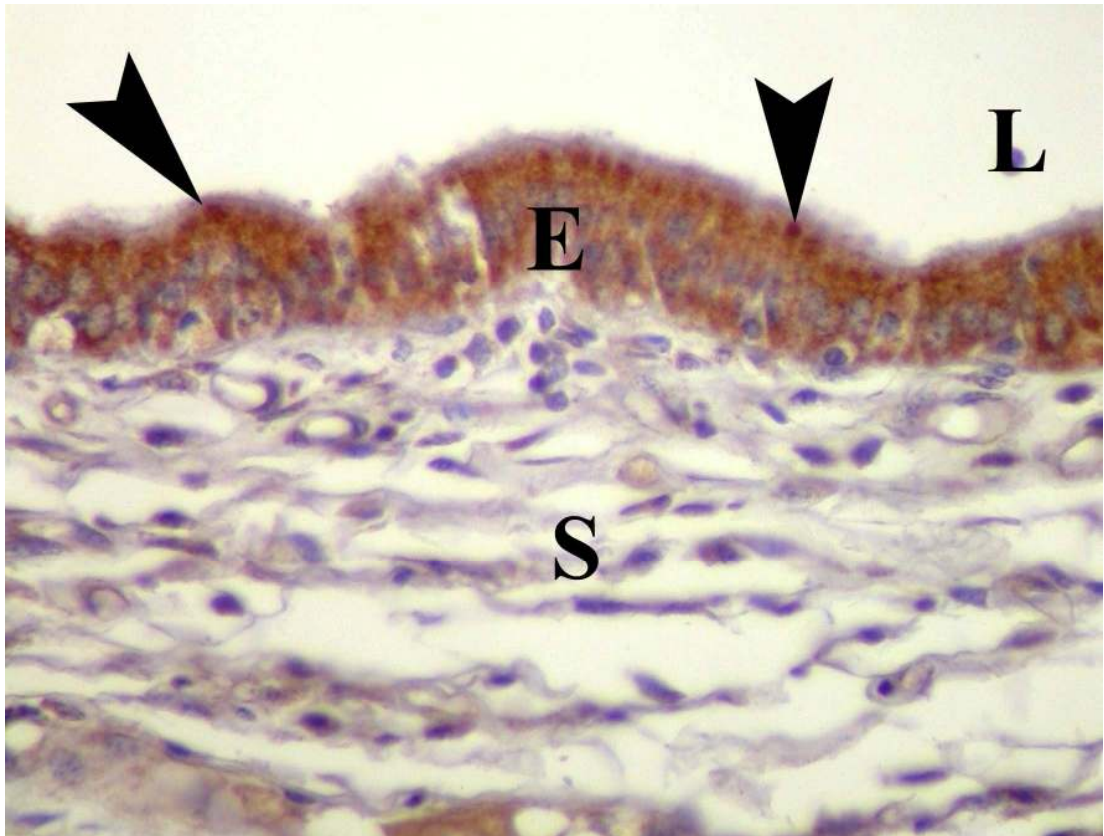
Şekil-4.4: Primer antikor yerine non-immun serumun konduğu negatif kontrol. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, M: Myometrium, yıldızlar: Uterus bezleri, X10.



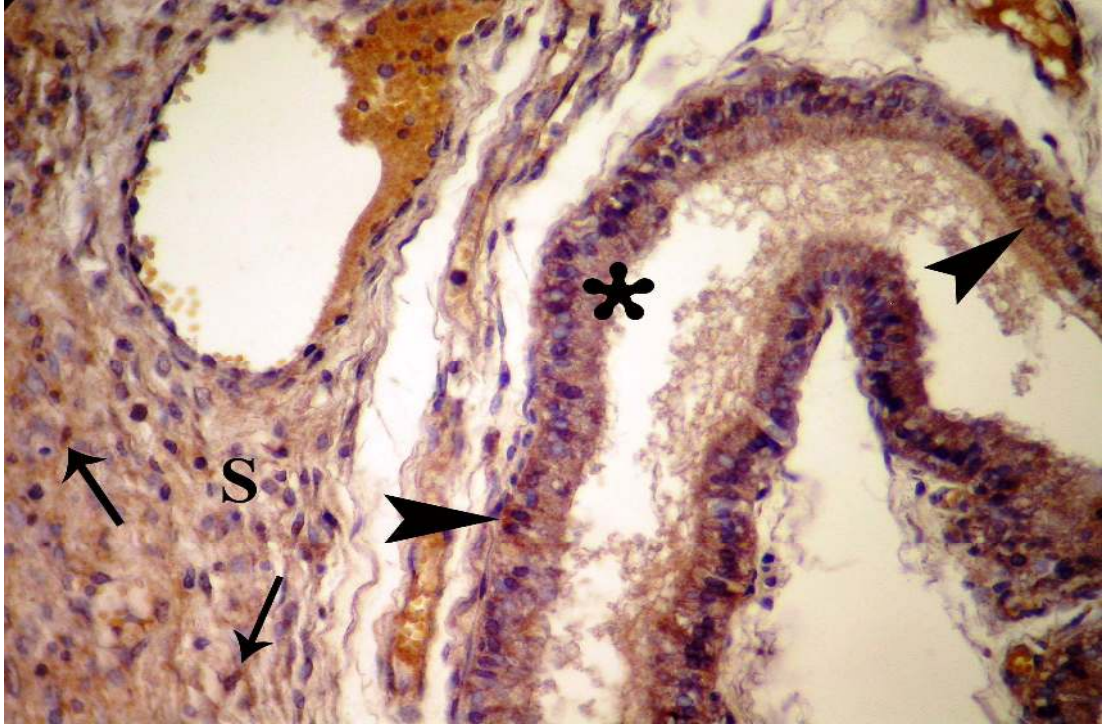
Şekil-4.5: Primer antikorun yerine non-immun serumun konduğu negatif kontrol. MS: Maternal stroma, FS: Fötal stroma, K: Kan damarı, ince oklar: Maternal epitel hücreleri, okbaşları: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, kalın oklar: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kıvrımlı ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X20.

3.4.2.1- ErbB1 Reseptörü (EGFR/HER1)

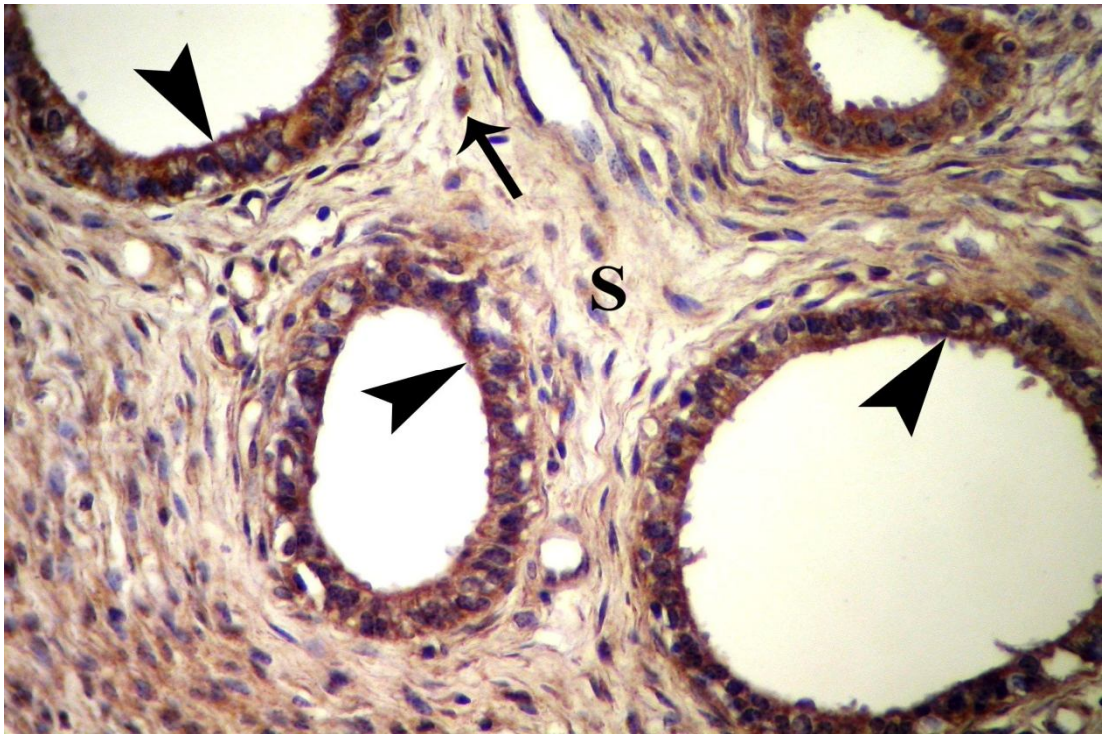
Gebeliğin her üç döneminde de uterus mukozasını örten epitel hücrelerinin membran ve sitoplazmasında pozitif boyanma olduğu görüldü. Özellikle gebeliğin son döneminde, yüzey epitel hücrelerinin diğer dönemlere oranla daha yoğun boyandığı gözlemlendi (**Şekil-4.6**). Dolayısıyla epitel hücrelerindeki total boyanma skorunun gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) derecede artış gösterdiği saptandı. Her üç dönem kıyaslandığında yüzey epitel hücrelerinde olduğu gibi bez epitel hücrelerinde de immunoreaktivitenin izlendiği ve apikal hücre membranında tutulumun zayıftan güçlüye doğru değiştiği belirlendi (**Şekil-4.7, 4.8**). Endometriumdaki stromal hücrelerin ve düz kas hücrelerinin gebeliğin ilk döneminde orta düzeyde boyandığı (**Şekil-4.9, 4.10**), orta ve son dönemde ise boyanmanın azaldığı dikkat çekti (**Şekil-4.8, 4.11**) ve gebeliğin ilk dönemi ile diğer dönemleri arasında istatistiksel olarak farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu gözlemlendi (**Tablo-4.1**).



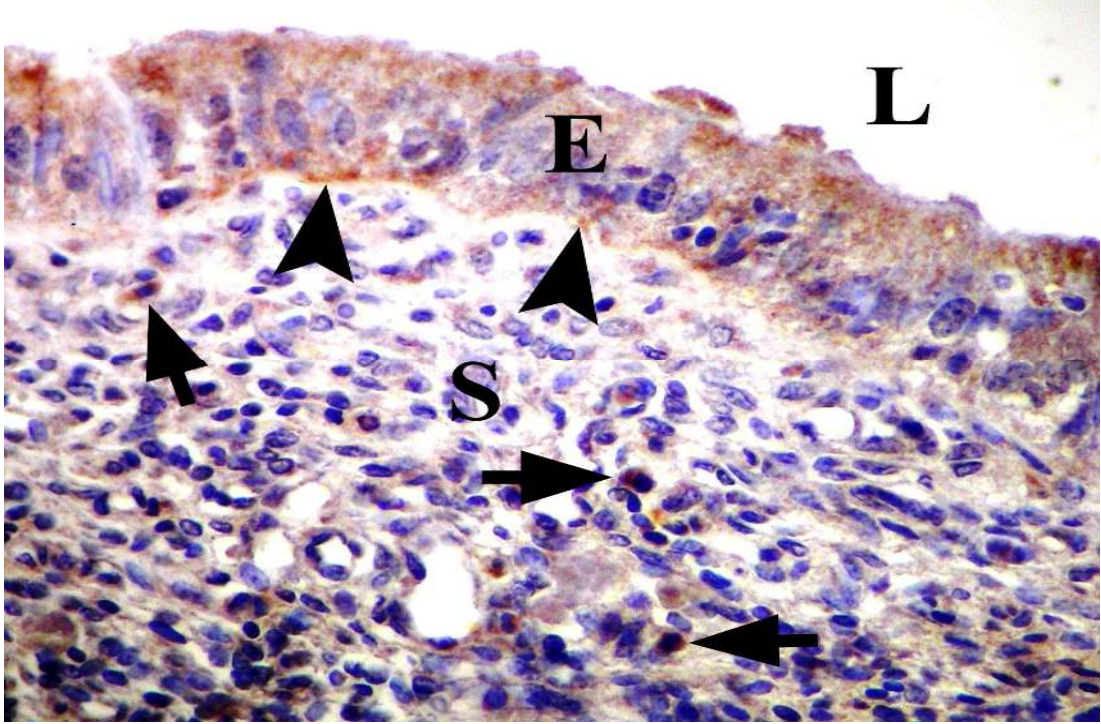
Şekil-4.6: Gebeliğin son döneminde (231 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi, E: Endometrium epitel, L: Lumen, S: Stroma, X40.



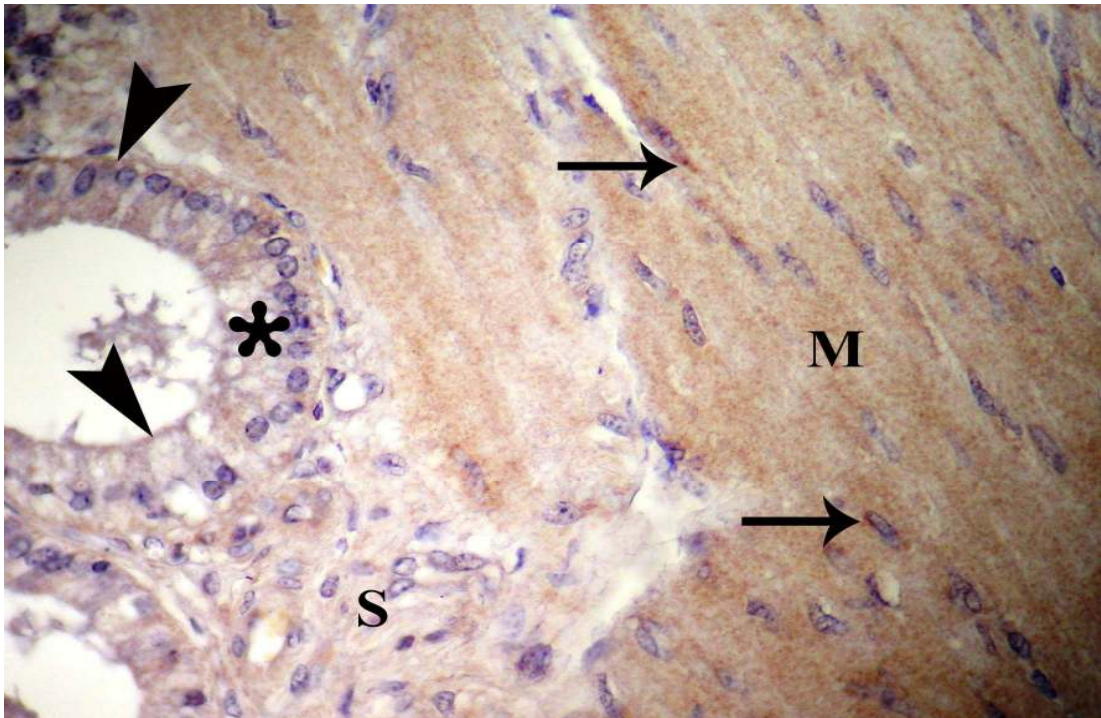
Şekil-4.7: Gebeliğin ilk döneminde (67 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi. S: Stroma, yıldız: Uterus bezi, oklar: Stromal hücre, okbaşıları: Bez epitel hücreleri, X40.



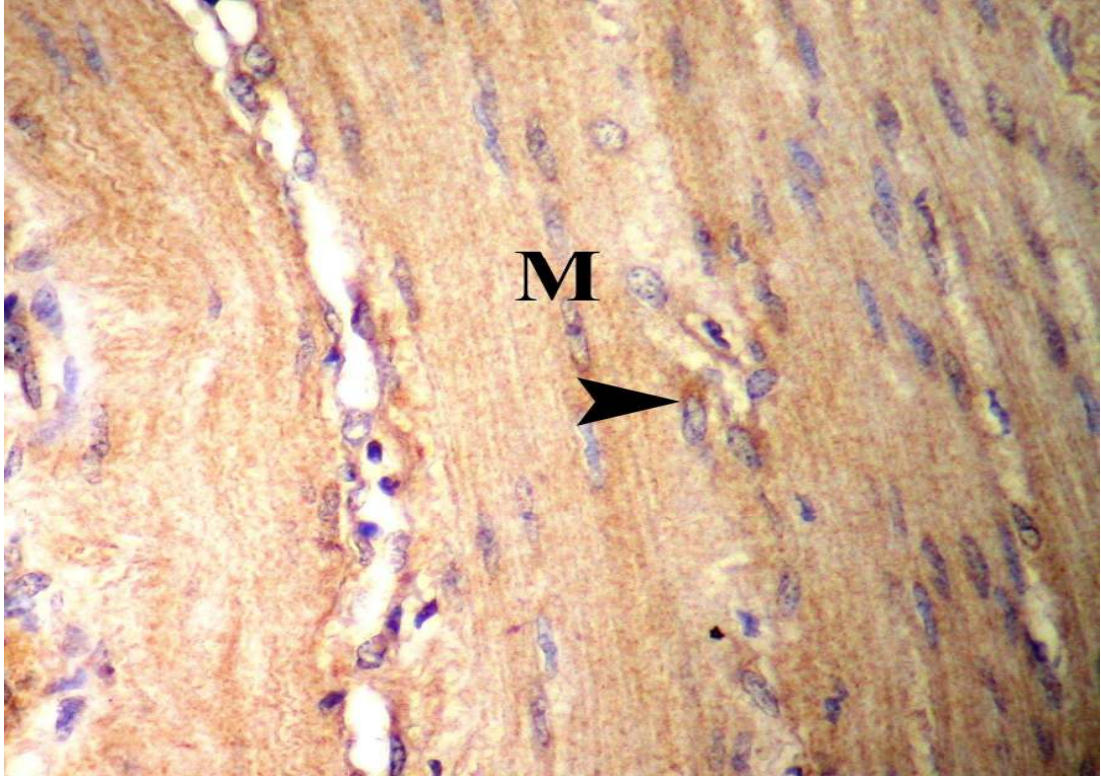
Şekil-4.8: Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi. S: Stroma, ok: Stromal hücre, okbaşıları: Bez epitel hücreleri, X40.



Şekil-4.9: Gebeliğin ilk döneminde (63 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, L: Lumen, S: Stroma, oklar: Stromal hücre, okbaşları: Bez epitel hücreleri, X40.

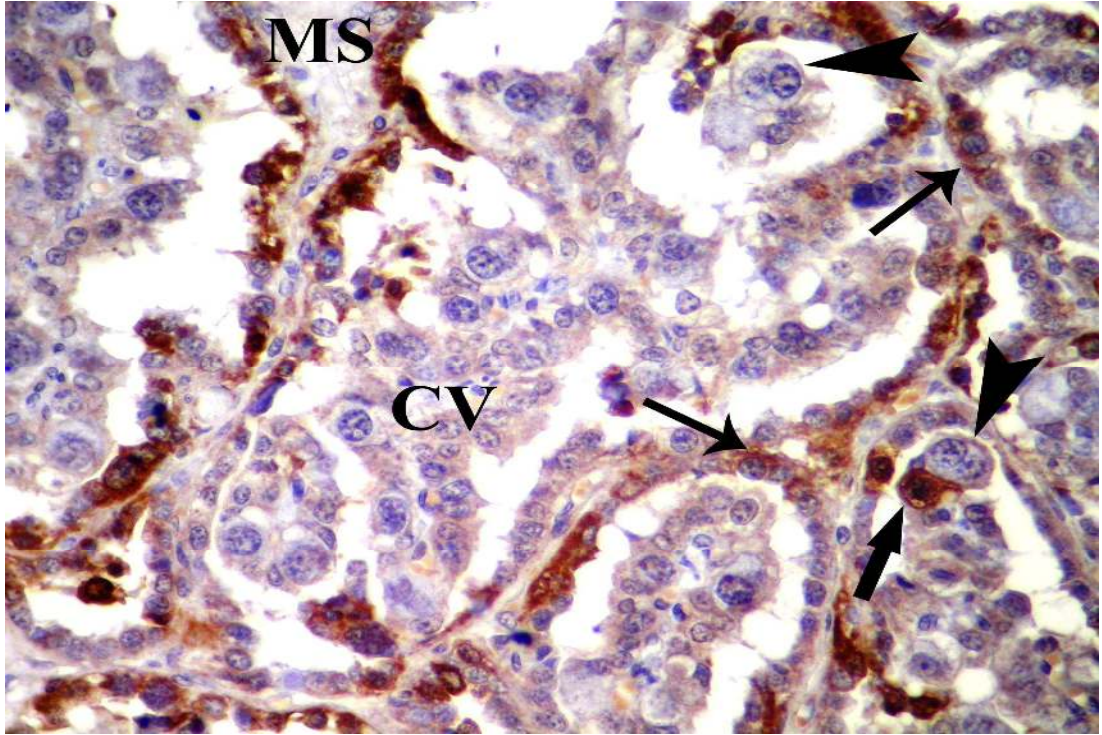


Şekil-4.10: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi. M: Myometrium, S: Stroma, yıldız: Uterus bezi, oklar: Düz kas hücreleri, okbaşları: Bez epitel hücreleri, X40.

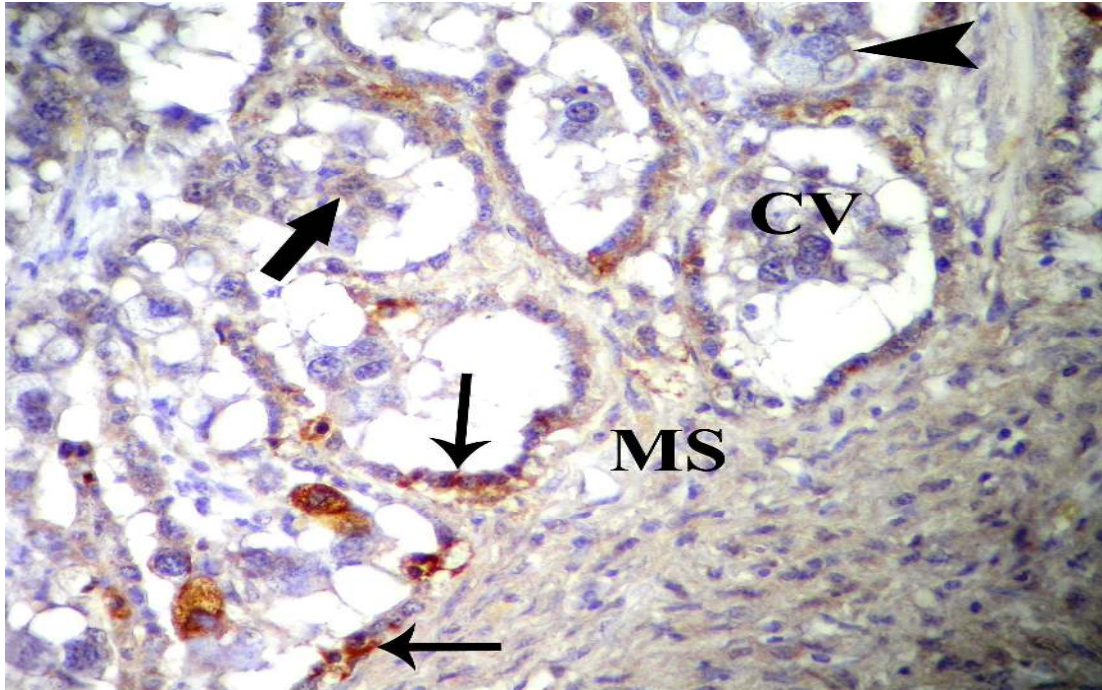


Şekil-4.11: Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi. M: Myometrium, ok: Düz kas hücresi, X40.

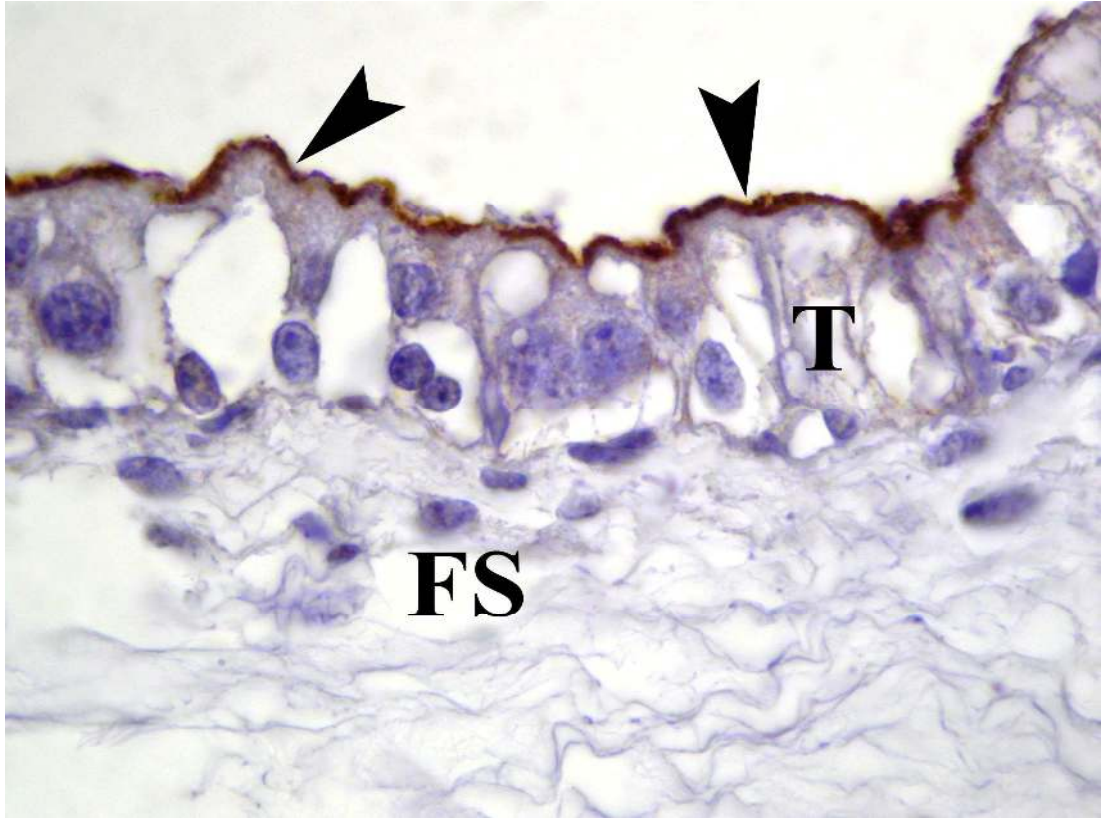
Plasentanın fetal kısmında bulunan koryon villuslarının tek çekirdekli trofoblast hücrelerinin membranlarında immunoreaktivitenin ilk dönemde orta düzeyde olduğu, ancak gebeliğin orta ve son dönemine doğru önemli ($p<0,05$) derecede azaldığı görüldü. Bunun yanı sıra çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerin membranlarında ise immun reaksiyonun, gebeliğin ilk döneminde zayıf olduğu ve hem orta hem de son dönemde daha da azaldığı belirlendi (**Şekil-4.12, 4.13**). Gebeliğin ilk dönemi ile diğer dönemler arasındaki istatistiksel farklılık önemli ($p<0,05$) iken gebeliğin orta ve son dönemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Koryon villuslarının stromal hücrelerinde ErbB1 immunoreaktivitesi gözlenmedi (**Şekil-4.14**), (**Tablo-4.1**).



Şekil-4.12: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusu, ince oklar: Maternal epitel hücreleri, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşıları: Çift çekirdekli trofoblast dev hücreleri, X40.



Şekil-4.13: Gebeliğin orta döneminde (111 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusu, ince oklar: Maternal epitel hücreleri, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X40.



Şekil-4.14: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen ErbB1 immunoreaktivitesi. T: Koryon epiteli, FS: Fötal stroma, okbaşları: Trofoblast hücreleri, X100.

Plasentanın maternal kısmında, epitel hücrelerinde gebeliğin ilk dönemi boyunca son derece baskın görülen immunoreaktivitenin orta ve son döneme doğru gidildikçe azaldığı saptandı (**Şekil-4.12, 4.13**). İstatistiki olarak da gebeliğin tüm dönemleri arasındaki farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Bunun aksine maternal stromal hücrelerinde ise ErbB1 immunoreaktivitesine rastlanmadı (**Tablo-4.1**).

Tablo-4.1: İnek uterusunda gebelik süresince ErbB1/EGFR reseptörü boyanmasının toplam skoru

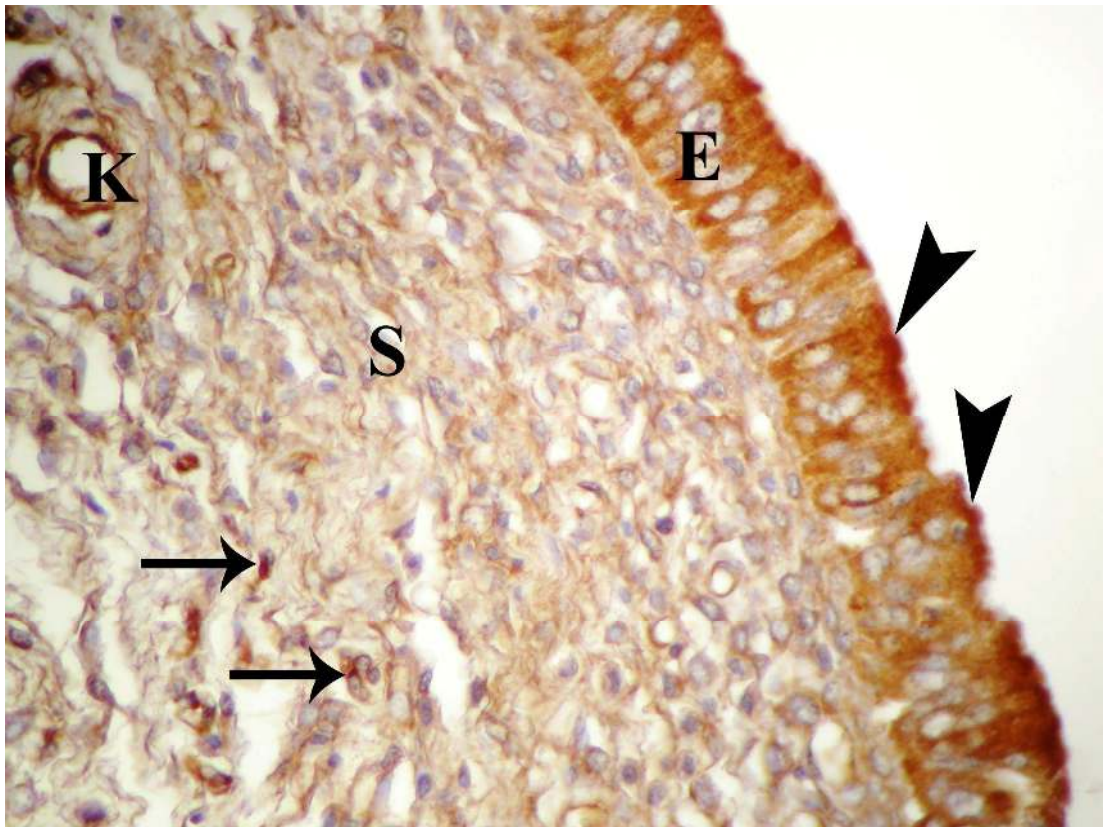
ErbB1		1.Dönem (İlk) (n=10)	2.Dönem (Orta) (n=10)	3.Dönem (Son) (n=10)
<i>Endometrium</i>	Epitel	4,02±0,07 ^a	4,82±0,61 ^b	5,46±0,52 ^c
	Bez	4,3±0,1 ^a	4,84±0,53 ^b	5,36±0,57 ^c
	Stroma	3,55±0,56 ^a	2,45±0,1 ^b	2,5±0 ^{bc}
	Kas	3,25±0,63 ^a	2,78±0,56 ^b	3,06±0,57 ^{ab}
<i>Plasenta maternalis</i>	Epitel	6,49±0,49 ^a	4,97±0,61 ^b	2,75±0,52 ^c
	Stroma	0	0	0
<i>Plasenta fetalıs</i>	UTC	3,82±0,12 ^a	3,52±0,1 ^b	2,87±0,6 ^c
	TGC	2,37±0,13 ^a	2,25±0 ^b	2,25±0 ^b
	Stroma	0	0	0

(UTC: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, TGC: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi)

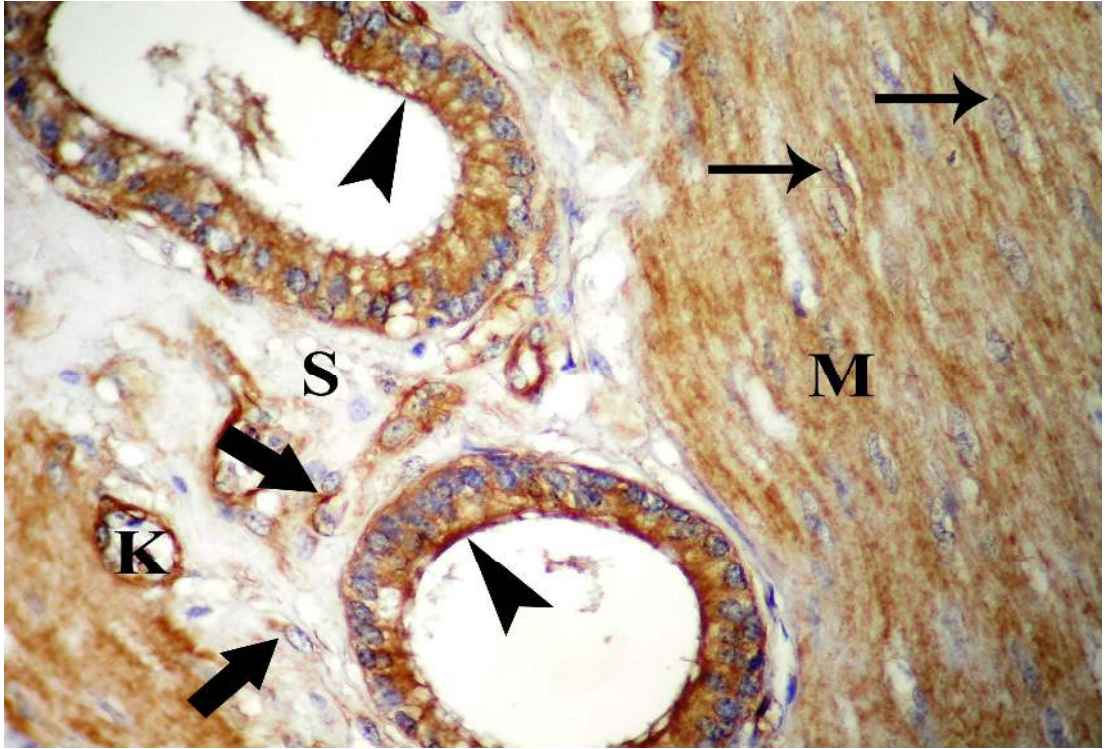
Aynı satırda bulunan değişik harfler için farklılık önemli (P<0,05)

3.4.2.2- ErbB2 Reseptörü (HER2)

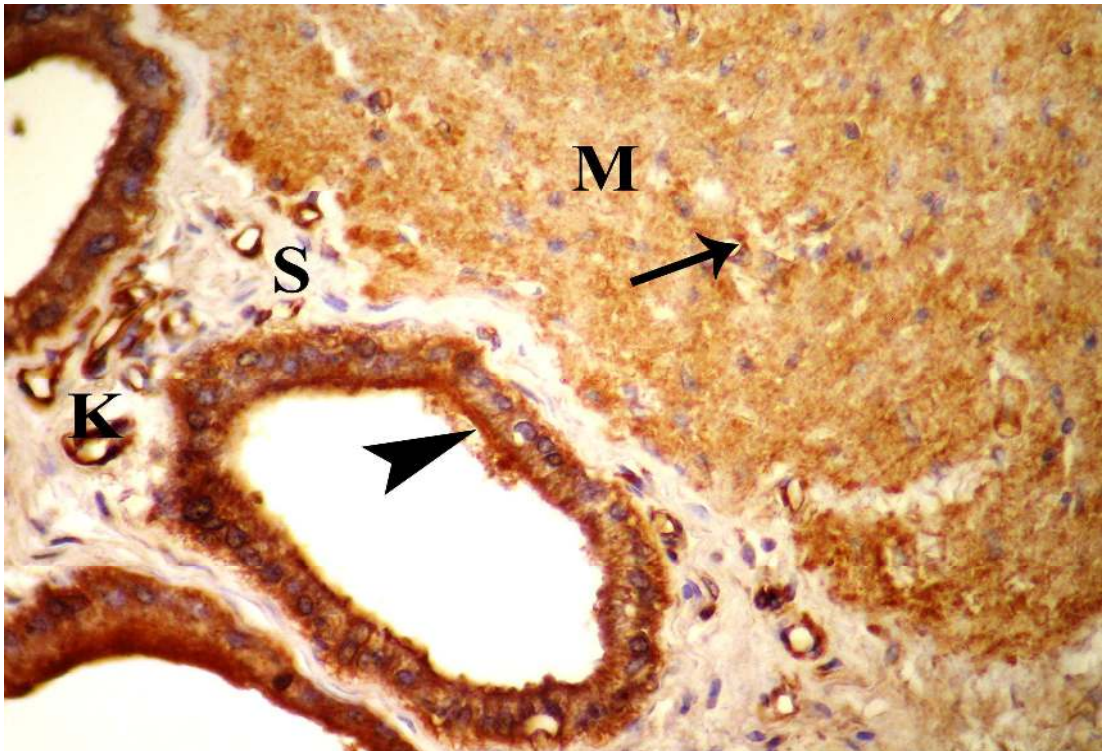
Gebeliğin tüm dönemlerinden alınan doku örneklerindeki ErbB2 immün boyamasında, yüzey ve bez epitel hücreleri, stromal hücreler ve düz kas hücrelerinde tutulumun membran, sitoplazma ve bir kısım epitel hücresinde çekirdek olduğu izlendi (**Şekil-4.15**). Stromal hücrelerde orta derece boyanma yoğunluğu gözlenirken diğer hücrelerin ortadan güçlüye doğru bir boyanma benzerliği gösterdiği izlendi (**Şekil-4.16, 4.17**). Bunun yanında kan damarlarının endotel hücrelerinde de immunoreaktivite olduğu belirlendi. Hem yüzey hem de bez epitel hücrelerinin apikal membranlarında immunoreaktivite izlenmesine karşın epitel hücreleri ve stromal hücreler için gebeliğin her üç dönemi arasında istatistiksel anlamlılığa rastlanmadı ($p>0,05$). Düz kas hücrelerinde ise gebeliğin sadece ilk ve orta dönemi arasındaki istatistiki farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu görüldü (**Tablo-4.2**).



Şekil-4.15: Gebeliğin son döneminde (202 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi. E: Endometrium epitel, S: Stroma, K: Kan damarı, oklar: Stromal hücreler, okbaşıları: Yüzey epitel hücreleri, X40.

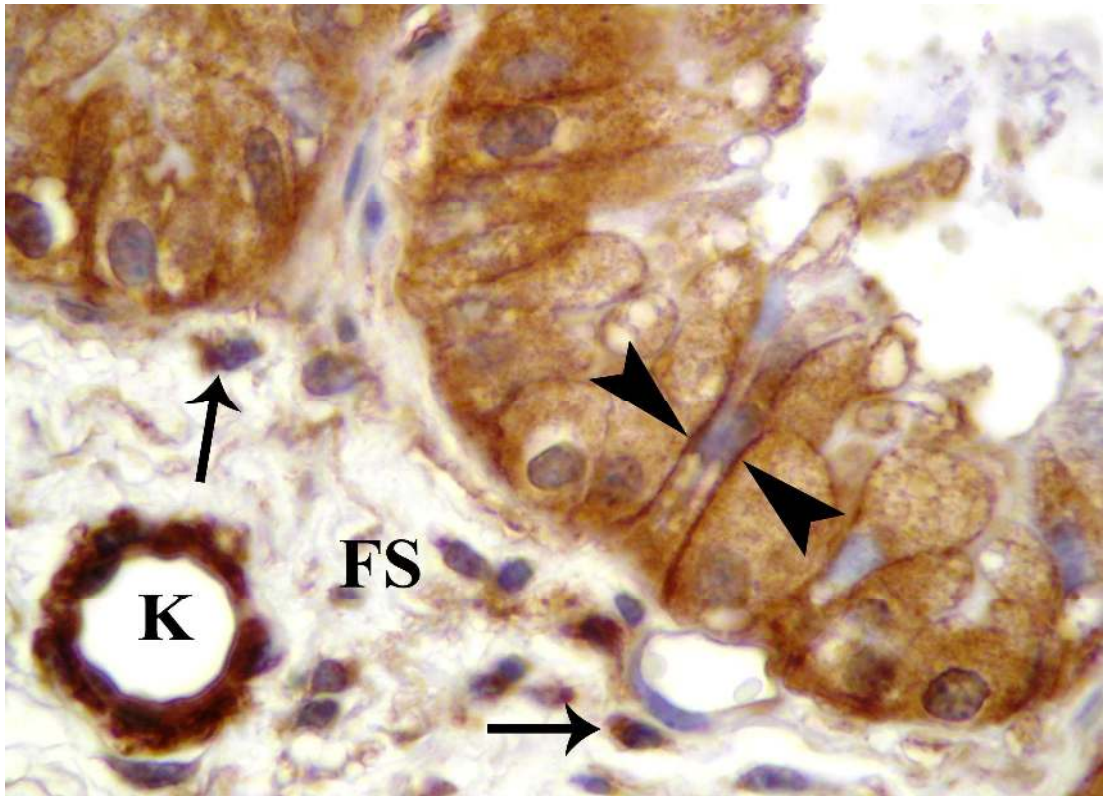


Şekil-4.16: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi. M: Myometrium, S: Stroma, K: Kan damarı, ince oklar: Düz kas hücreleri, kalın oklar: Stromal hücreler, okbaşı: Bez epitel hücreleri, X40.

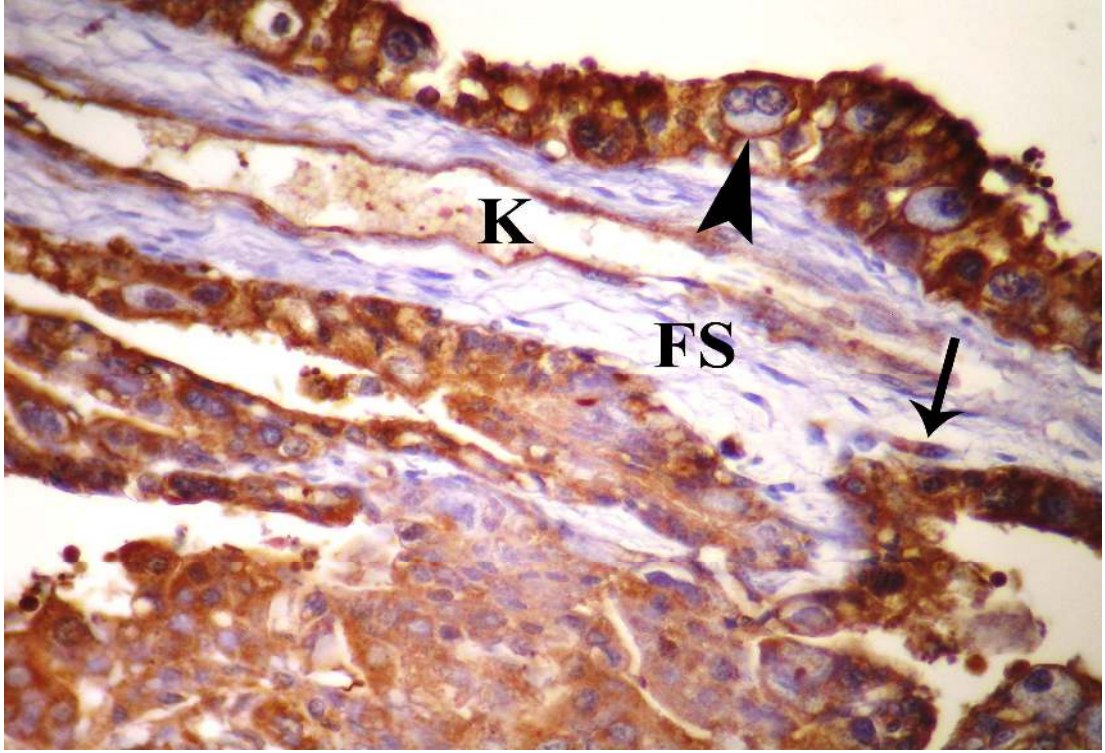


Şekil-4.17: Gebeliğin orta döneminde (138 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi. M: Myometrium, S: Stroma, K: Kan damarı, ok: Düz kas hücresi, okbaşı: Bez epitel hücresi, X40.

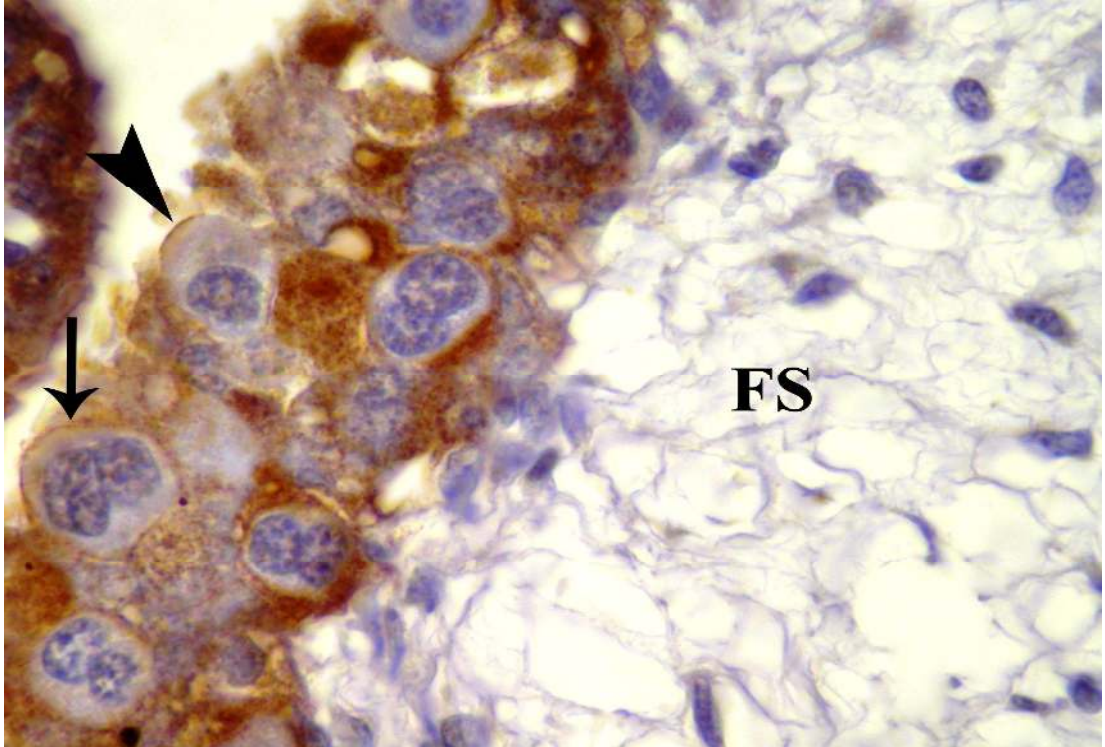
Koryon villuslarındaki tek çekirdekli trofoblast hücrelerinin güçlü boyanma özelliğine sahip olduğu gözlemlendi. Gebeliğin ilk döneminden son dönemine gidildikçe total skorun azaldığı (**Şekil-4.18, 4.21**), istatistiki olarak da gebeliğin tüm dönemleri arasında farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu ortaya kondu. Çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinin membranlarında boyanmanın orta düzeyde olduğu (**Şekil-4.19**), aynı şekilde gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru gidildikçe boyanmanın azaldığı (**Şekil-4.20**) ve gebeliğin tüm dönemleri arasında istatistiksel açıdan bir farklılık olduğu ($p<0,05$) saptandı. Koryon villuslarının stromal hücrelerinde orta düzeyde immunoreaktivite görülmekle beraber bu hücreler için gebeliğin sadece ilk dönemi ve ikinci dönemi arasındaki farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu izlendi (**Tablo-4.2**). Bunun yanında gebeliğin ikinci döneminde çift çekirdekli trofoblast dev hücreleri ile endometrial epitel hücrelerinin füzyonu sonucu oluşan üç çekirdekli feto-maternal hibrid hücresinin membranında zayıf immunoreaktiviteye rastlandı (**Şekil-4.21**). Ayrıca villusların fetal kan damarlarında da immunoreaktivite gözlemlendi.



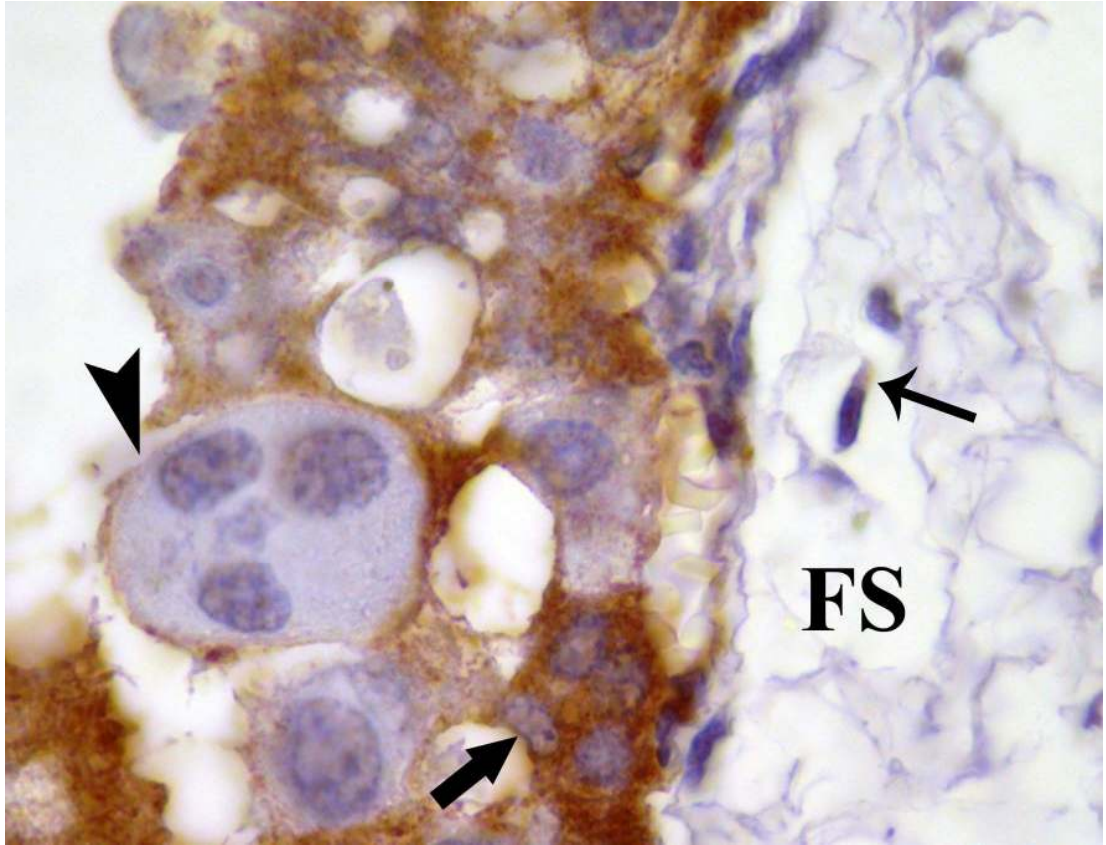
Şekil-4.18: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi. FS: Fötal stroma, K: Kan damarı, oklar: Fötal stromal hücreler, okbaşları: Tek çekirdekli trofoblast hücreleri, X100.



Şekil-4.19: Gebeliğin orta döneminde (138 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi. FS: Fötal stroma, K: Kan damarı, ok: Fötal stromal hücre, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X40.

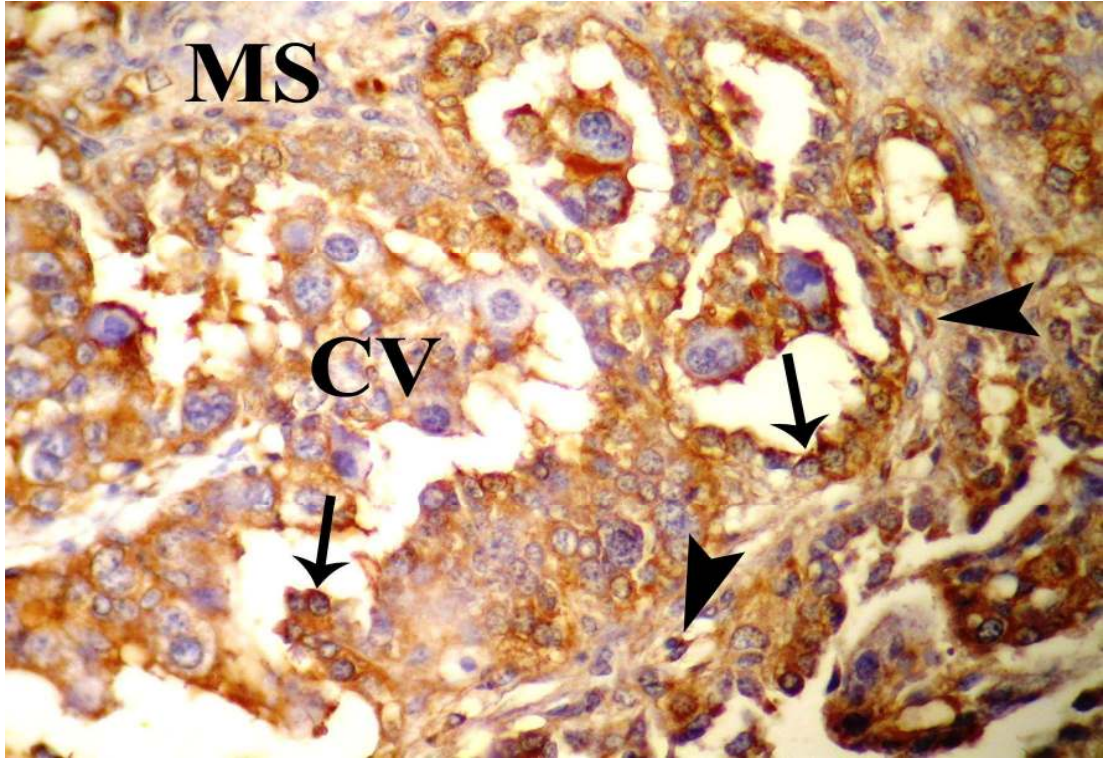


Şekil-4.20: Gebeliğin son döneminde (251 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi. FS: Fötal stroma, ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, okbaşı: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, X100.

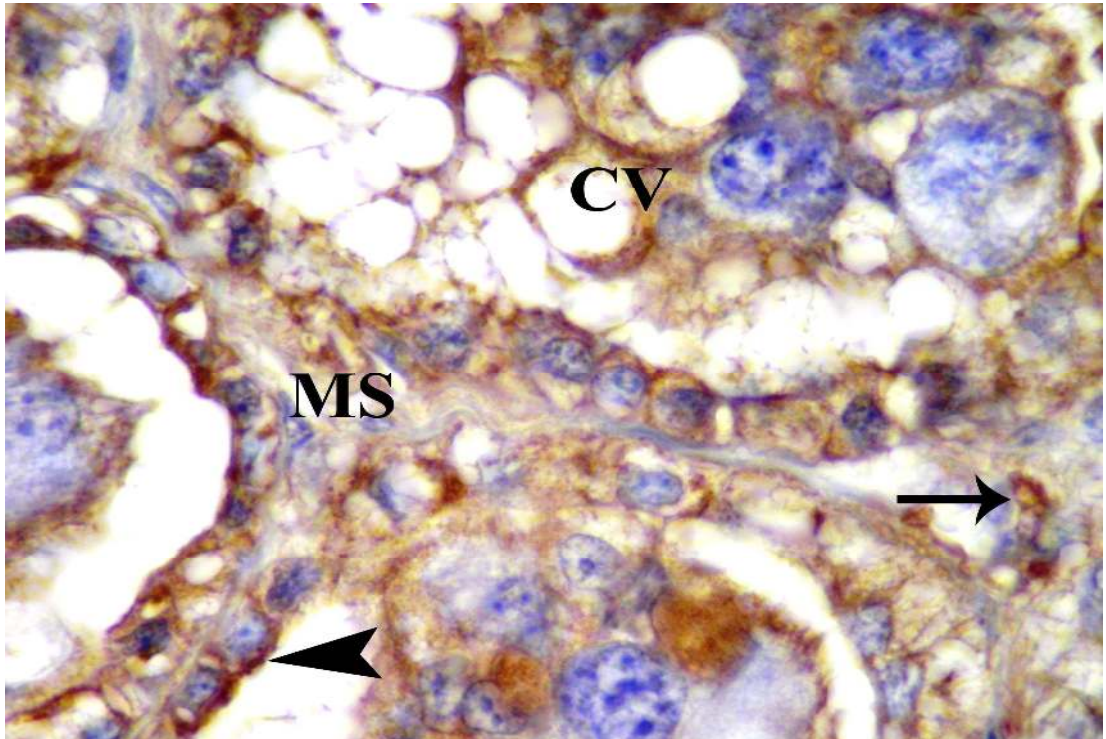


Şekil-4.21: Gebeliğin orta döneminde (106 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi. FS: Fötal stroma, ince ok: Fötal stromal hücre, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşı: Üç çekirdekli föto-maternal hibrid hücresi, X100.

Maternal kısımdaki epitel hücrelerinde tüm gebelik süresince orta düzeyde bir boyanma olduğu izlenirken gebeliğin her üç dönemi arasında da istatistiksel açıdan önemli bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$). Bunun yanında maternal kısımdaki stromal hücrelerde zayıf immunoreaktivite gözlenirken (**Şekil-4.22, 4.23**) gebeliğin ilk dönemi ile orta dönemi arasında istatistiksel açıdan farklılığın önemsiz ($p>0,05$) olduğu, gebeliğin orta ve son dönemi arasında ise istatistiki farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı (**Tablo-4.2**).



Şekil-4.22: Gebeliğin orta döneminde (133 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusu, oklar: Maternal epitel hücreleri, okbaşları: Maternal stromal hücreler, X40.



Şekil-4.23: Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen ErbB2 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusu, ok: Maternal stromal hücre, okbaşı: Maternal epitel hücresi, X100.

Tablo-4.2: İnek uterusunda gebelik süresince ErbB2 reseptörü boyanmasının toplam skoru

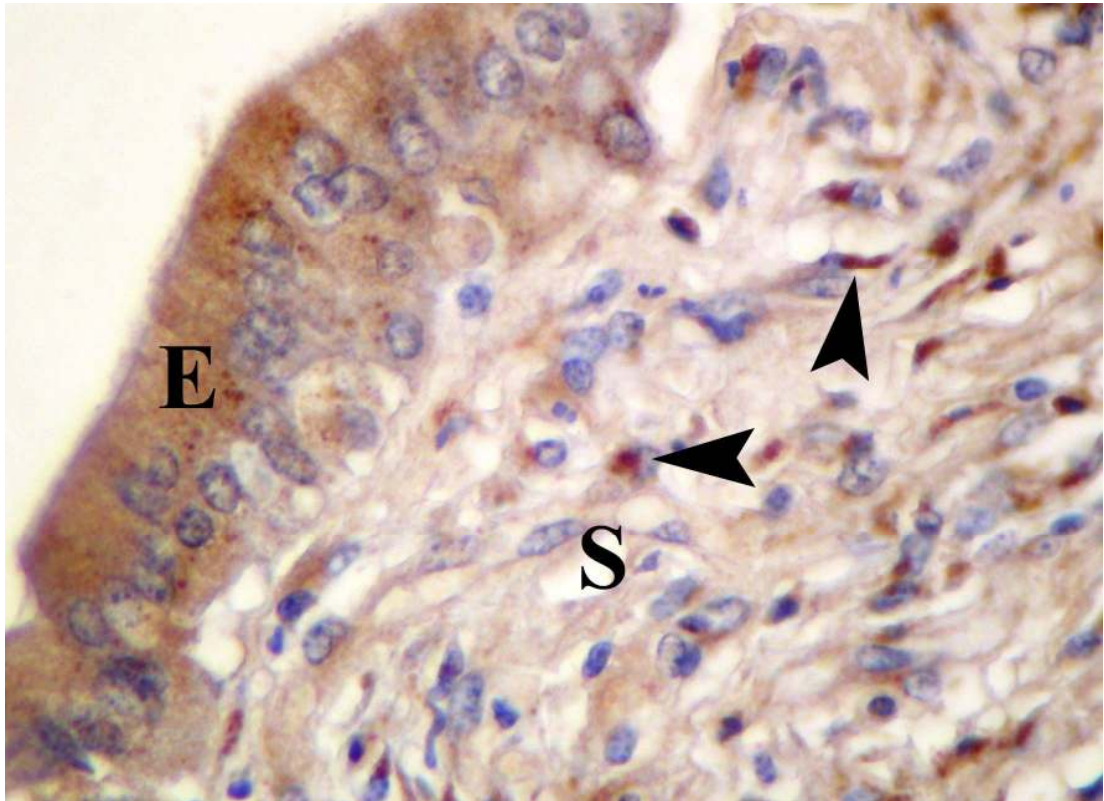
ErbB2		1.Dönem (İlk) (n=10)	2.Dönem (Orta) (n=10)	3.Dönem (Son) (n=10)
<i>Endometrium</i>	Epitel	5±0,52	5,15±0,56	5,15±0,56
	Bez	4,98±0,53	5,08±0,55	5,12±0,55
	Stroma	4,35±0,41	4,22±0,07	4,25±0
	Kas	4,94±0,57 ^a	4,52±0,37 ^b	5,1±0,52 ^a
<i>Plasenta maternalis</i>	Epitel	5,15±0,56	5±0,52	5±0,52
	Stroma	2,5±0 ^a	2,62±0,39 ^a	2,25±0 ^b
<i>Plasenta fötalis</i>	UTC	6,7±0,56 ^a	6,22±0,07 ^b	5,3±0,56 ^c
	TGC	4,36±0,08 ^a	4,22±0,06 ^b	3,94±0,09 ^c
	Stroma	3,5±0,52 ^a	2,75±0,52 ^b	2,9±0,64 ^{ab}

(UTC: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, TGC: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi)

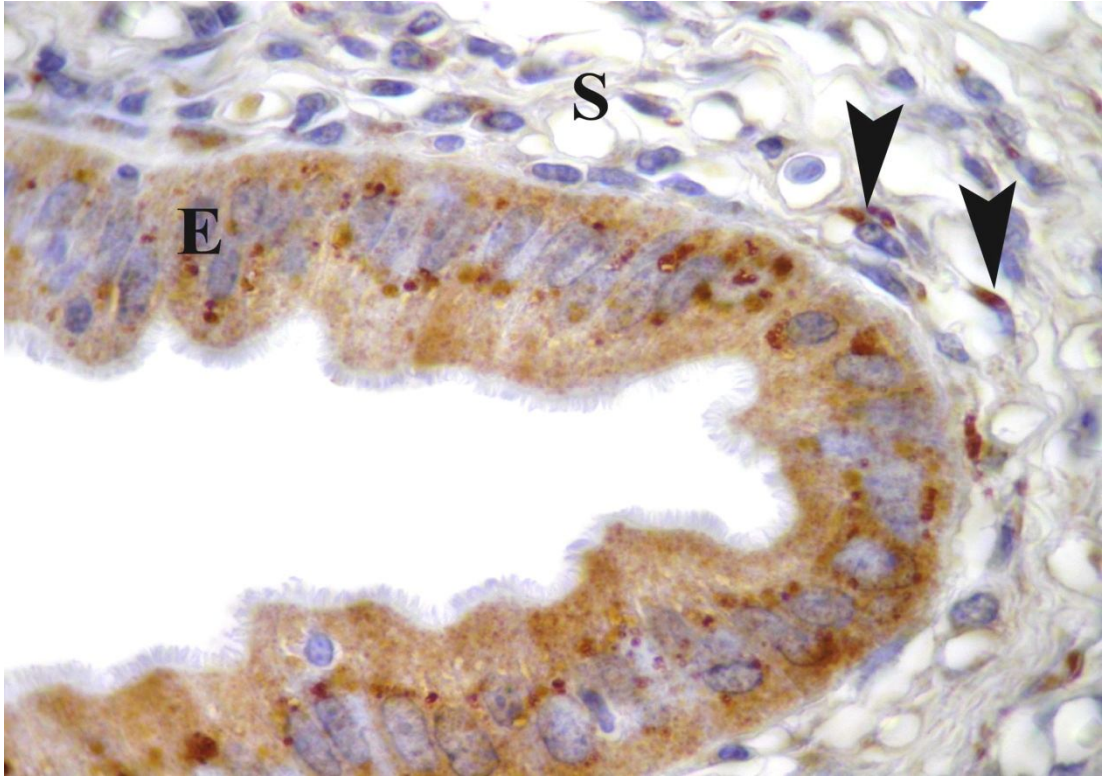
Aynı satırda bulunan değişik harfler için farklılık önemli (P<0,05)

3.4.2.3- ErbB3 Reseptörü (HER3)

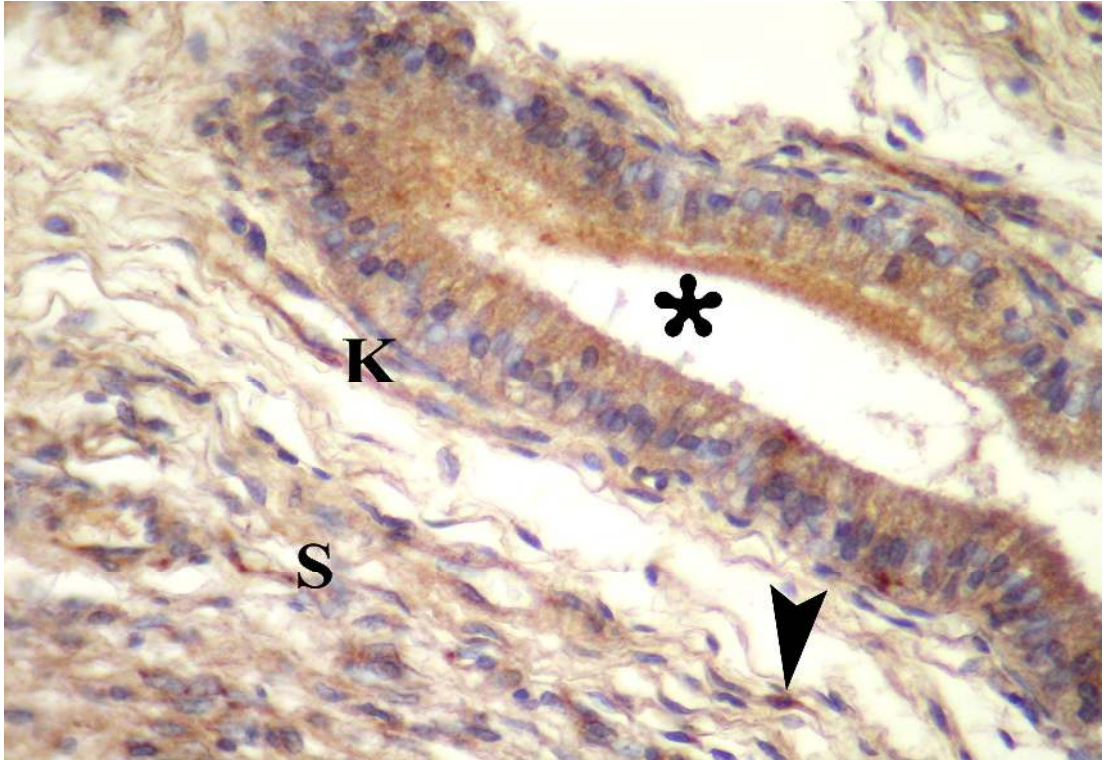
Uteroplasental doku örneklerindeki ErbB3 immun boyamasında, endometrium epitel hücreleri ve bez epitel hücrelerinde gebelik süresince ortadan güçlüye doğru bir tutulum olduğu görüldü. Reaktivitenin membrandan ziyade sitoplazmada şekillendiği gözlemlendi. Gebeliğin tüm dönemleri incelendiğinde, yüzey epitel hücreleri için istatistiki açıdan farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu ve gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru gidildikçe boyanmanın artış yaptığı dikkat çekerken (**Şekil-4.24, 4.25**), bez epitel hücreleri için gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru gidildikçe boyanmanın azaldığı (**Şekil-4.26, 4.27**), gebeliğin sadece ilk ve orta dönemleri arasında istatistiki açıdan farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Aynı şekilde stromal ve düz kas hücrelerinde ortadan güçlüye doğru bir boyanmanın olduğu görüldü ancak istatistiki açıdan gebeliğin tüm dönemleri arasında önemli bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$), (**Tablo-4.3**). Ayrıca damar endotelinde de immunoreaktivite görüldü.



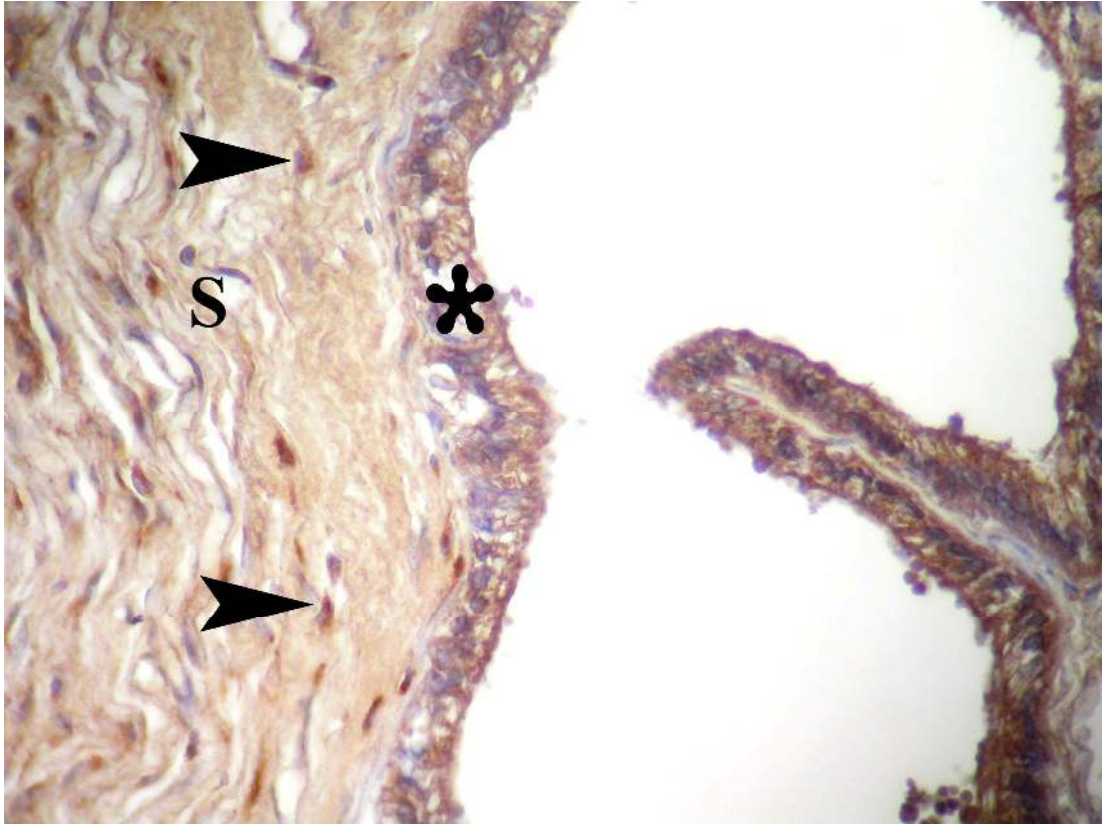
Şekil-4.24: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşları: Stromal hücreler, X40.



Şekil-4.25: Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşları: Stromal hücreler, X100.

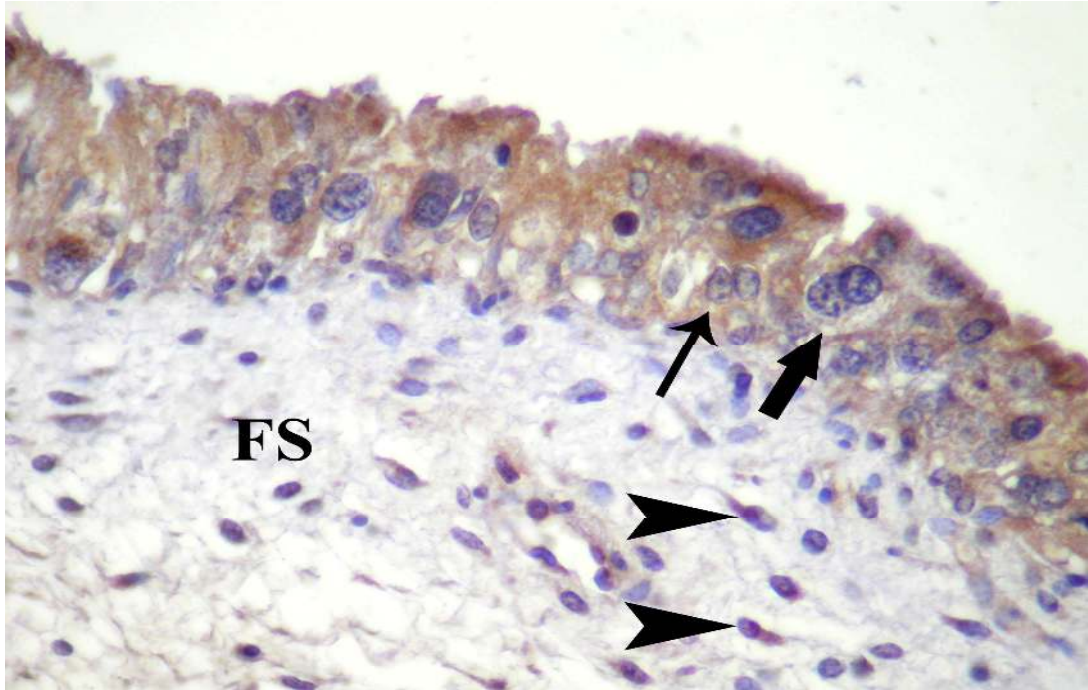


Şekil-4.26: Gebeliğin ilk döneminde (67 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi. S: Stroma, K: Kan damarı, yıldız: Uterus bezi, okbaşı: Stromal hücre, X40.

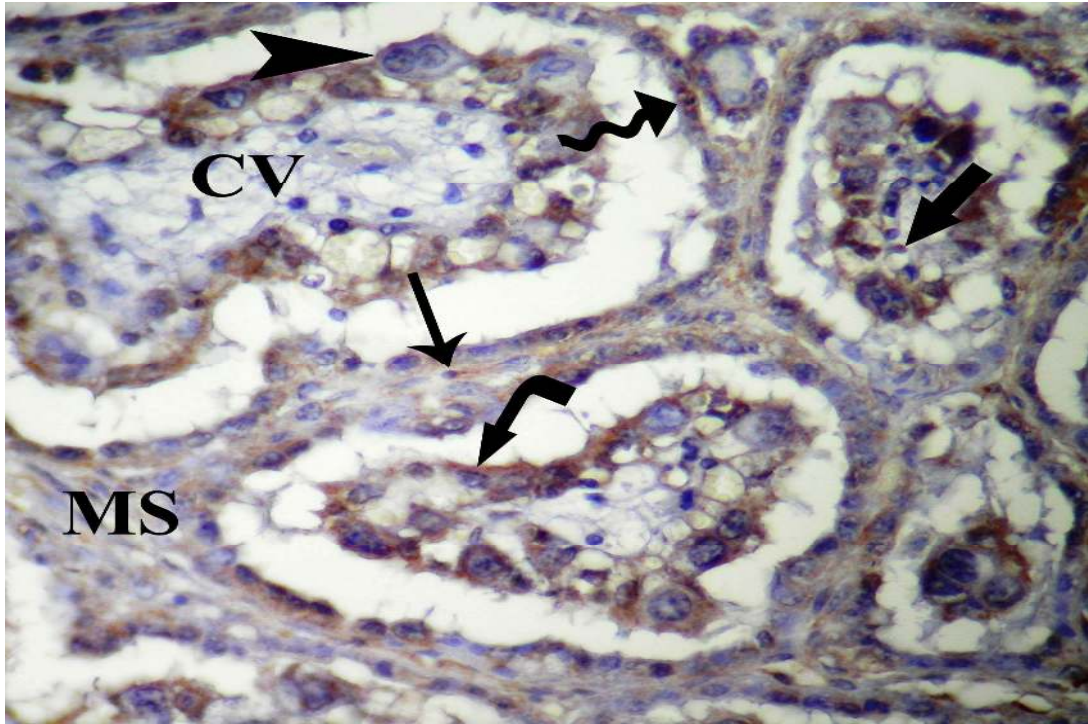


Şekil-4.27: Gebeliğin orta döneminde (146 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi. S: Stroma, yıldız: Uterus bezi, okbaşları: Stromal hücreler, X40.

Plasenta fötalis'in koryon villuslarındaki immunoreaktivitenin tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde ve stromal hücrelerinde orta düzeyde olduğu, çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde ise zayıf düzeyde olduğu izlendi. Fötal damar endotelinde de tutulumun olduğu belirlendi. Tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde, çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde ve stromal hücrelerde gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru boyanmanın azaldığı (**Şekil-4.28, 4.29**) ve bu azalmanın da istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi (**Tablo-4.3**).

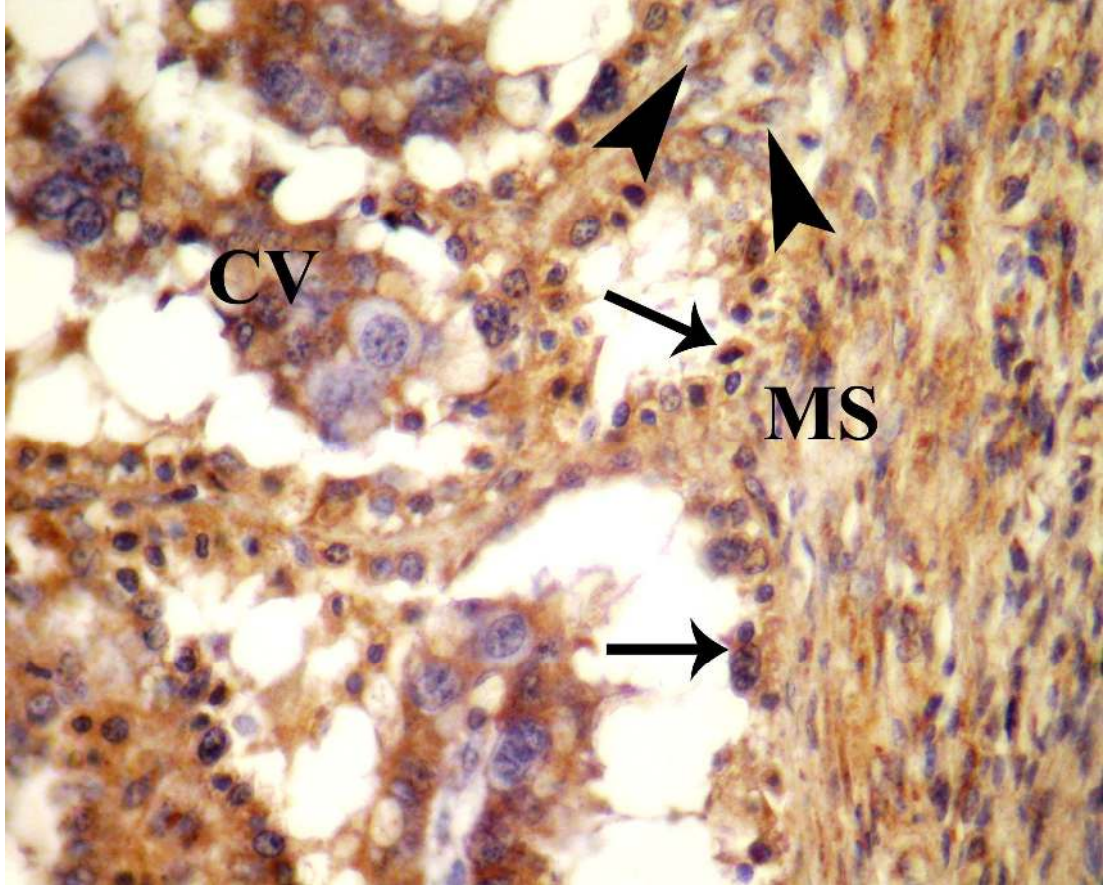


Şekil-4.28: Gebeliğin orta döneminde (102 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi. FS: Fötal stroma, ince ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, kalın ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, okbaşı: Fötal stromal hücreler, X40.



Şekil-4.29: Gebeliğin son döneminde (202 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince ok: Maternal stromal hücre, kalın ok: Fötal stromal hücre, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, kıvrımlı ok: Maternal epitel hücre, dirsekli ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.

Plasenta maternalis'in epitel ve stromal hücrelerinde orta düzeyde bir boyanma olduğu görüldü. Epitel hücreleri için gebeliğin özellikle son döneminde, stromal hücrelerde ise gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru boyanmanın önemli ($p<0,05$) derecede azaldığı belirlendi (Şekil-4.29, 4.30), (Tablo-4.3).



Şekil-4.30: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen ErbB3 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, oklar: Maternal epitel hücreler, okbaşları: Maternal stromal hücreler, X40.

Tablo-4.3: İnek uterusunda gebelik süresince ErbB3 reseptörü boyanmasının toplam skoru

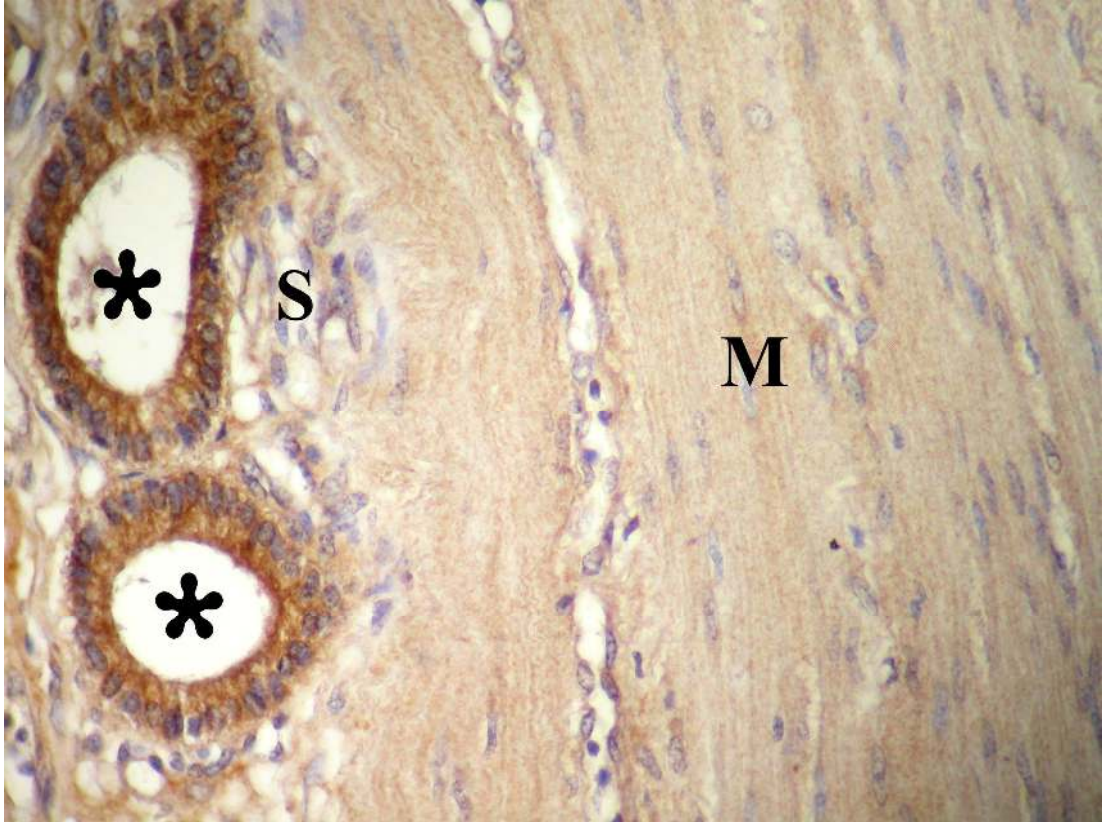
ErbB3		1.Dönem (İlk) (n=10)	2.Dönem (Orta) (n=10)	3.Dönem (Son) (n=10)
<i>Endometrium</i>	Epitel	4,8±0,63 ^a	5,37±0,6 ^b	5,97±0,07 ^c
	Bez	6,16±0,47 ^a	5,56±0,51 ^b	5,94±0,09 ^{ab}
	Stroma	4,4±0,39	4,47±0,55	4,55±0,51
	Kas	4,68±0,5	4,94±0,57	5,1±0,62
<i>Plasenta maternalis</i>	Epitel	4,07±0,12 ^a	4,02±0,14 ^{ab}	3,9±0,17 ^b
	Stroma	5±0,52 ^a	4,42±0,6 ^b	4±0 ^c
<i>Plasenta fötalis</i>	UTC	4±0,55 ^{ab}	4,15±0,12 ^a	4,02±0,07 ^b
	TGC	2,75±0,52 ^a	2,62±0,39 ^a	2,25±0 ^b
	Stroma	3,42±0,64 ^a	3,65±0,41 ^a	2,45±0,1 ^b

(UTC: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, TGC: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi)

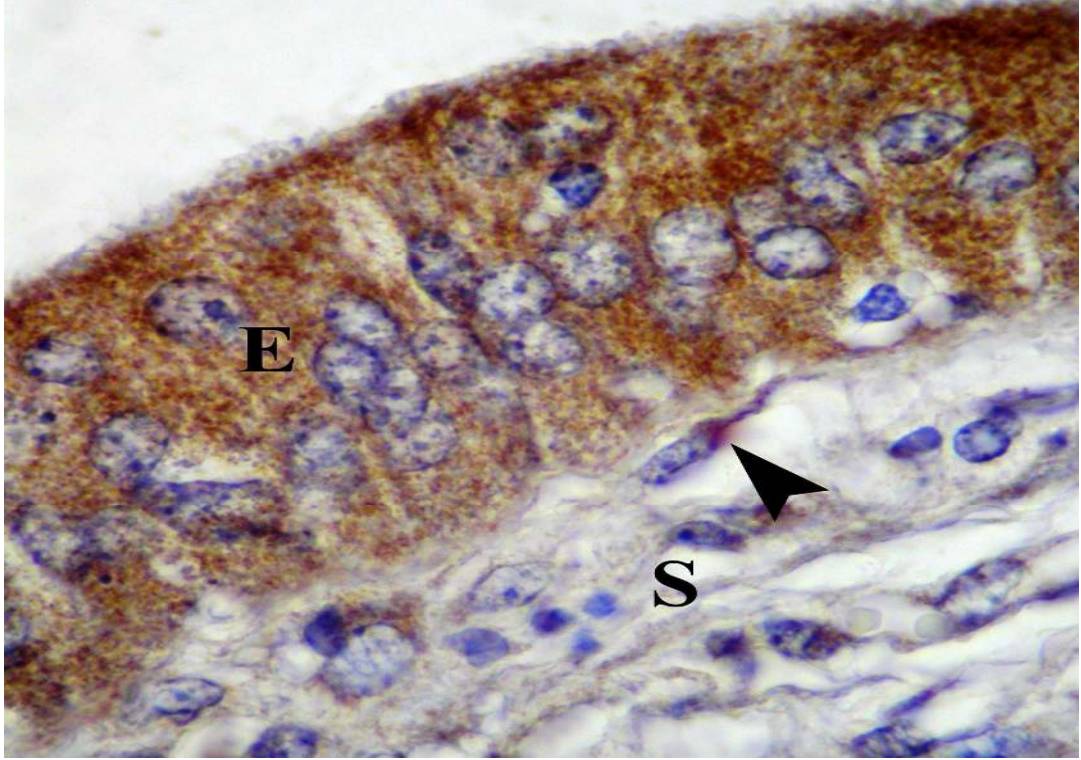
Aynı satırda bulunan değişik harfler için farklılık önemli (P<0,05)

3.4.2.4- ErbB4 Reseptörü (HER4)

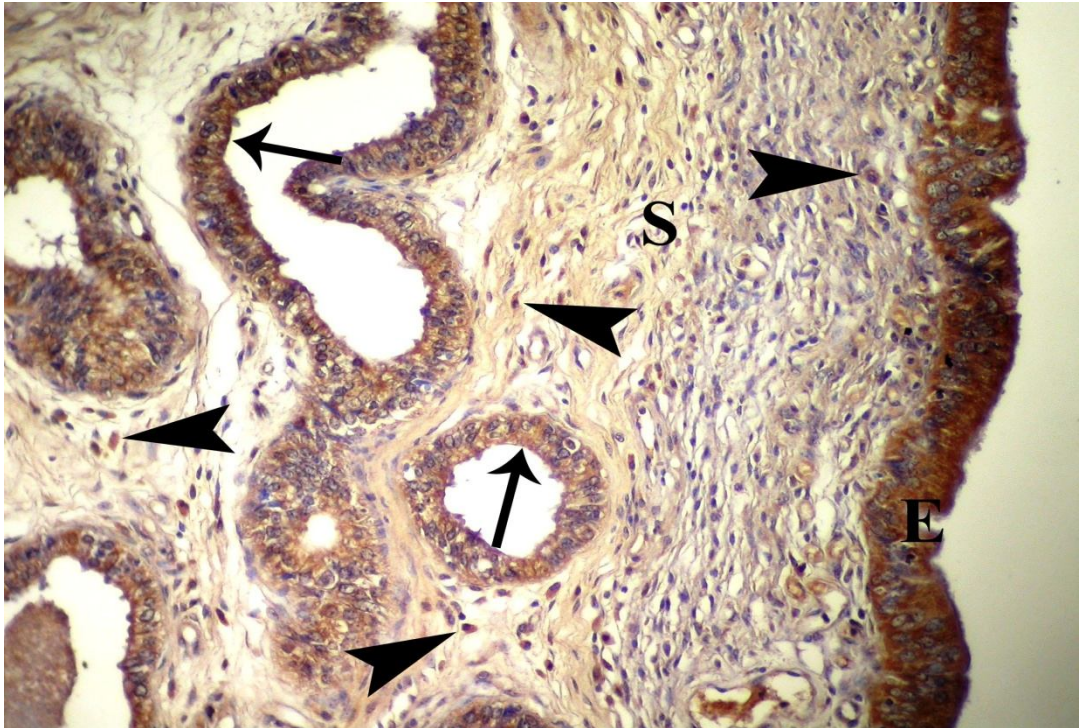
Gebeliğin tüm dönemlerine bakıldığında yüzey ve bez epitel hücreleri, stromal hücreler ve düz kas hücrelerinin immun boyamasında çekirdek, membran ve sitoplazmik tutulum söz konusuydu. Yüzey ve bez epitel hücreleri ile düz kas hücrelerinde ortadan güçlüye doğru bir boyanmanın olduğu gözlenirken stromal hücrelerde boyanmanın orta düzeyde olduğu izlendi (**Şekil-4.31**). Yüzey epitel hücreleri için gebeliğin her üç dönemi arasındaki farklılığın istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu ve gebeliğin son döneminde boyanmanın artış gösterdiği tespit edildi. Stromal hücreler için de boyanma, gebeliğin orta döneminden itibaren önemli derecede ($p<0,05$) artış gösterirken (**Şekil-4.32, 4.33**), bez epitel ve düz kas hücreleri için dönemler arasında istatistiki açıdan önemli bir fark saptanmadı ($p>0,05$), (**Tablo-4.4**).



Şekil-4.31: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi. M: Myometrium, S: Stroma, yıldızlar: Uterus bezleri, X40.



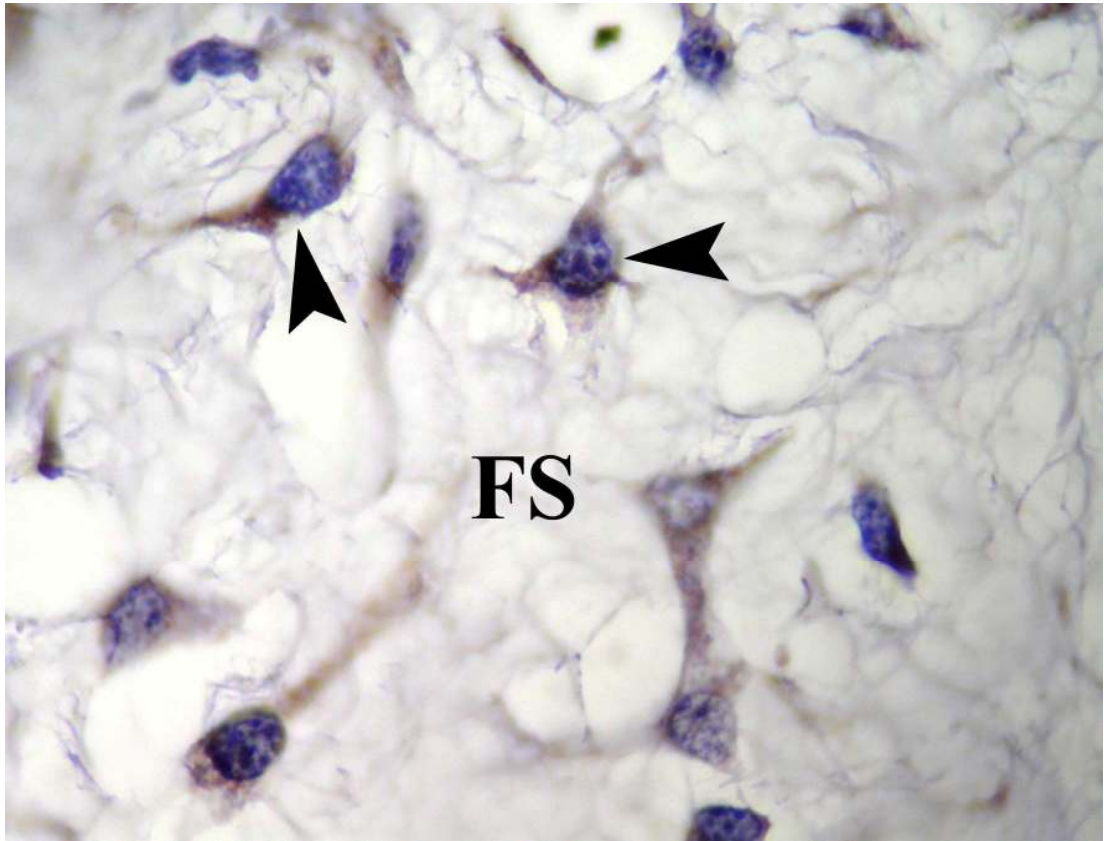
Şekil-4.32: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşı: Stromal hücre, X100.



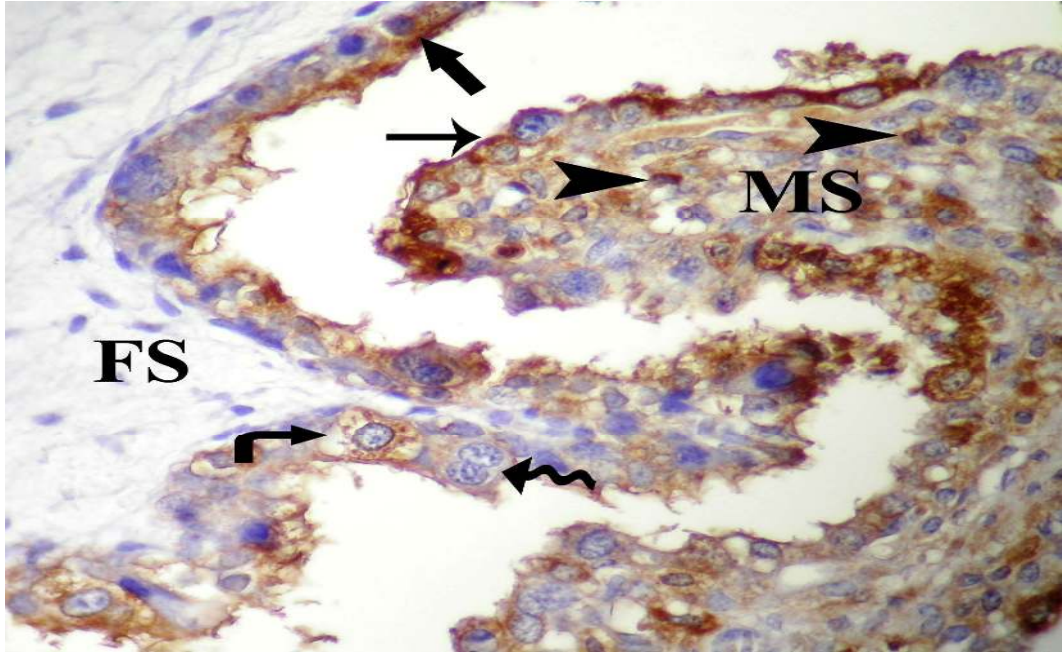
Şekil-4.33: Gebeliğin son döneminde (207 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşıları: Stromal hücreler, oklar: Bez epitel hücreleri, X20.

Tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde, çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde ve stromal hücrelerde immün reaksiyonun orta düzeyde olduğu izlendi. Gebeliğin tüm dönemleri göz önünde bulundurulduğunda tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru boyanmanın azaldığı ve istatistiki açıdan farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde ise istatistiksel yönden önemli bir farklılığın bulunmadığı ($p>0,05$) tespit edildi. Bunun yanında stromal hücrelerde gebeliğin orta döneminden sonra boyanmanın azaldığı ve bu azalmaya dair istatistiki açıdan farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi (**Şekil-4.34, 4.35, 4.36**), (**Tablo-4.4**).

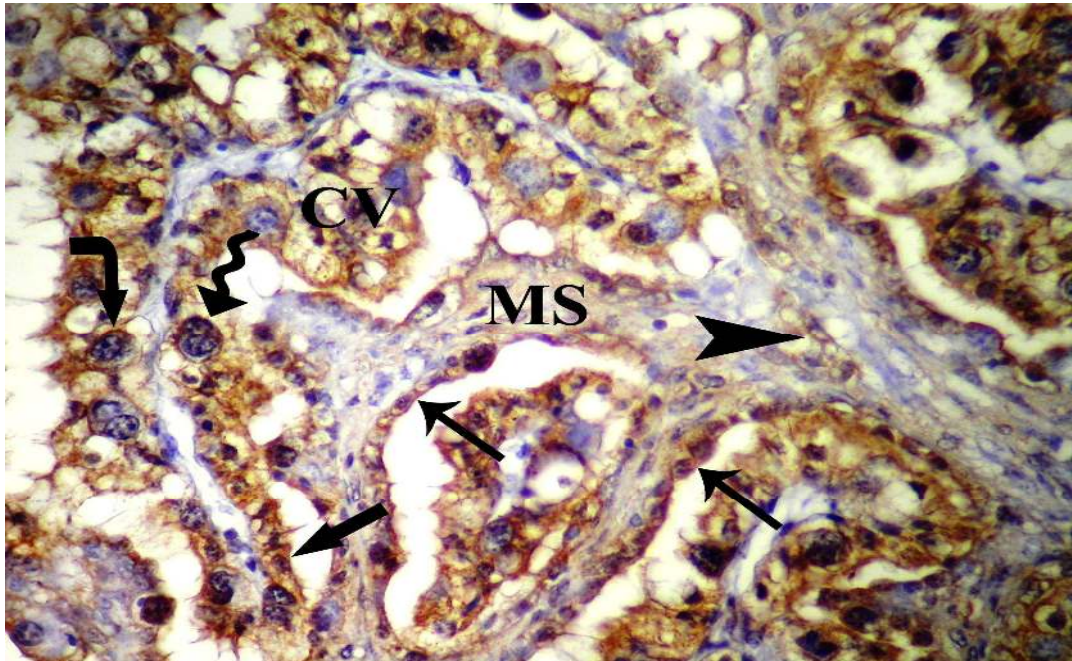
Maternal epitel ve stromal hücrelerin orta düzeyde boyandığı gözlenirken (**Şekil-4.35, 4.36**), hem epitel hem de stromal hücrede gebeliğin ilk ve orta dönemlerine göre gebeliğin son döneminde boyanmanın azaldığı ve bunun da istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı (**Tablo-4.4**).



Şekil-4.34: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi. FS: Fötal stroma, okbaşları: Fötal stromal hücreler, X100.



Şekil-4.35: Gebeliğin orta döneminde (155 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, FS: Fötal stroma, ince ok: Maternal epitel hücre, okbaşları: Maternal stromal hücreler, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, dirsekli ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.



Şekil-4.36: Gebeliğin son döneminde (202 günlük) görülen ErbB4 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, oklar: Maternal epitel hücreler, okbaşı: Maternal stromal hücre, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, dirsekli ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.

Tablo-4.4: İnek uterusunda gebelik süresince ErbB4 reseptörü boyanmasının toplam skoru

ErbB4		1.Dönem (İlk) (n=10)	2.Dönem (Orta) (n=10)	3.Dönem (Son) (n=10)
<i>Endometrium</i>	Epitel	5,8±0,1 ^a	5,3±0,56 ^b	5,92±0,12 ^c
	Bez	5,24±0,6	5,24±0,6	5,38±0,59
	Stroma	4,02±0,14 ^a	4±0,11 ^a	4,62±0,61 ^b
	Kas	4,8±0,55	4,92±0,59	5,22±0,53
<i>Plasenta maternalis</i>	Epitel	3,92±0,12 ^a	3,87±0,13 ^a	3,12±0,65 ^b
	Stroma	3,25±0,64 ^a	3,25±0,64 ^a	2,4±0,12 ^b
<i>Plasenta fötalis</i>	UTC	6±0 ^a	5,45±0,51 ^b	4,25±0,11 ^c
	TGC	3,9±0,12	3,85±0,12	3,9±0,12
	Stroma	3,17±0,71 ^a	3,52±0,54 ^a	2,6±0,41 ^b

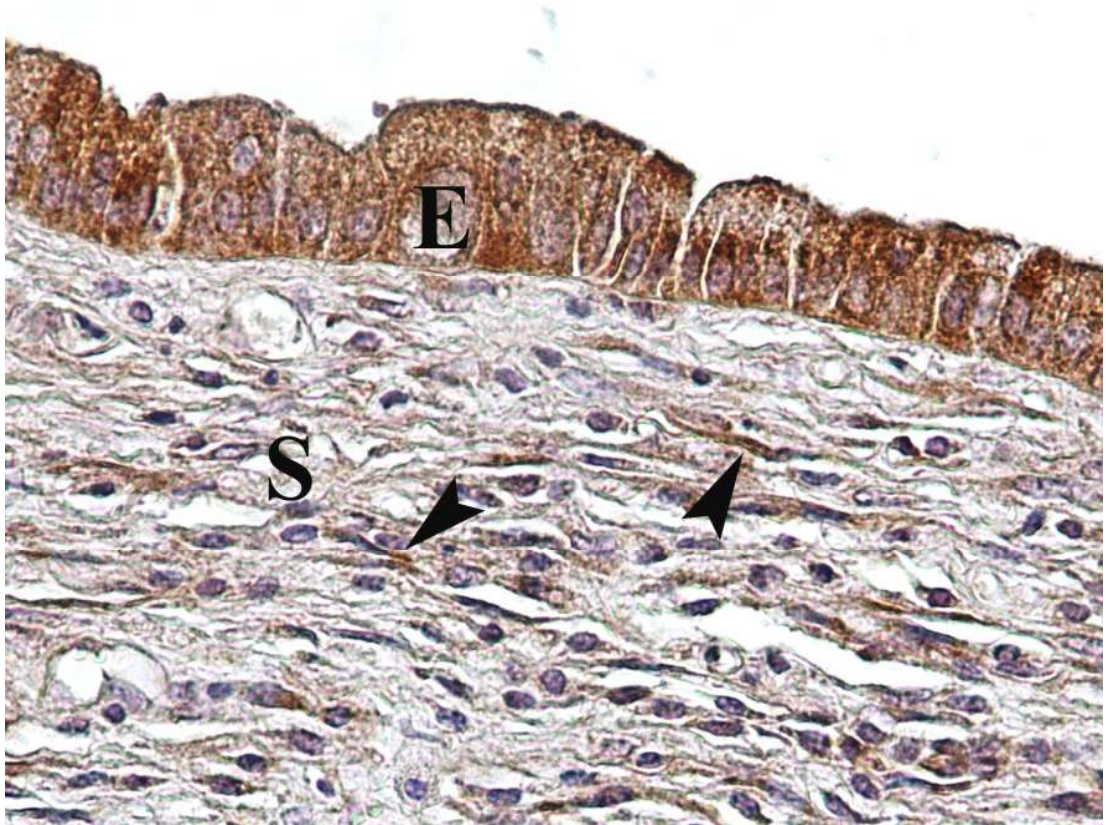
(UTC: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, TGC: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi)

Aynı satırda bulunan değişik harfler için farklılık önemli (P<0,05)

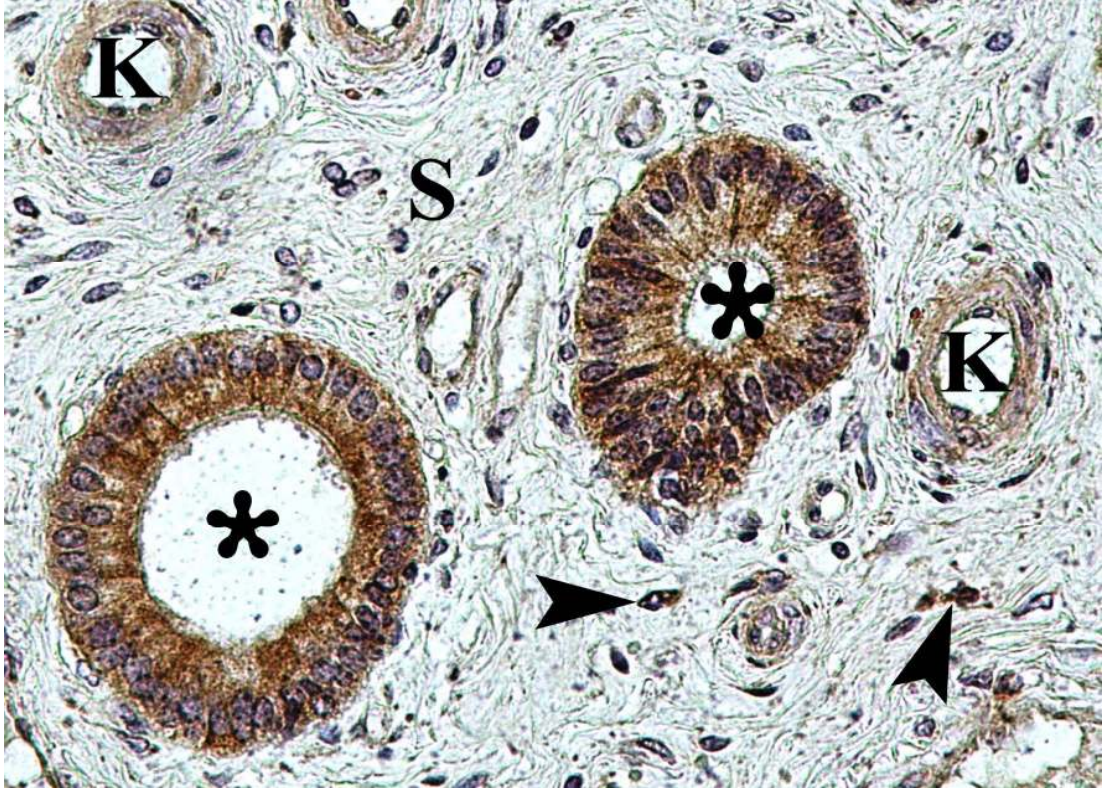
3.4.2.5- Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

EGF, gebeliğin her üç döneminde de yüzey ve bez epitel hücreleri, stromal hücreler ve düz kas hücrelerinde ortaya konurken maternal stromal hücrelerde gösterilemedi. Bununla birlikte bu hücrelerde tutulumun sitoplazmik olduğu görüldü.

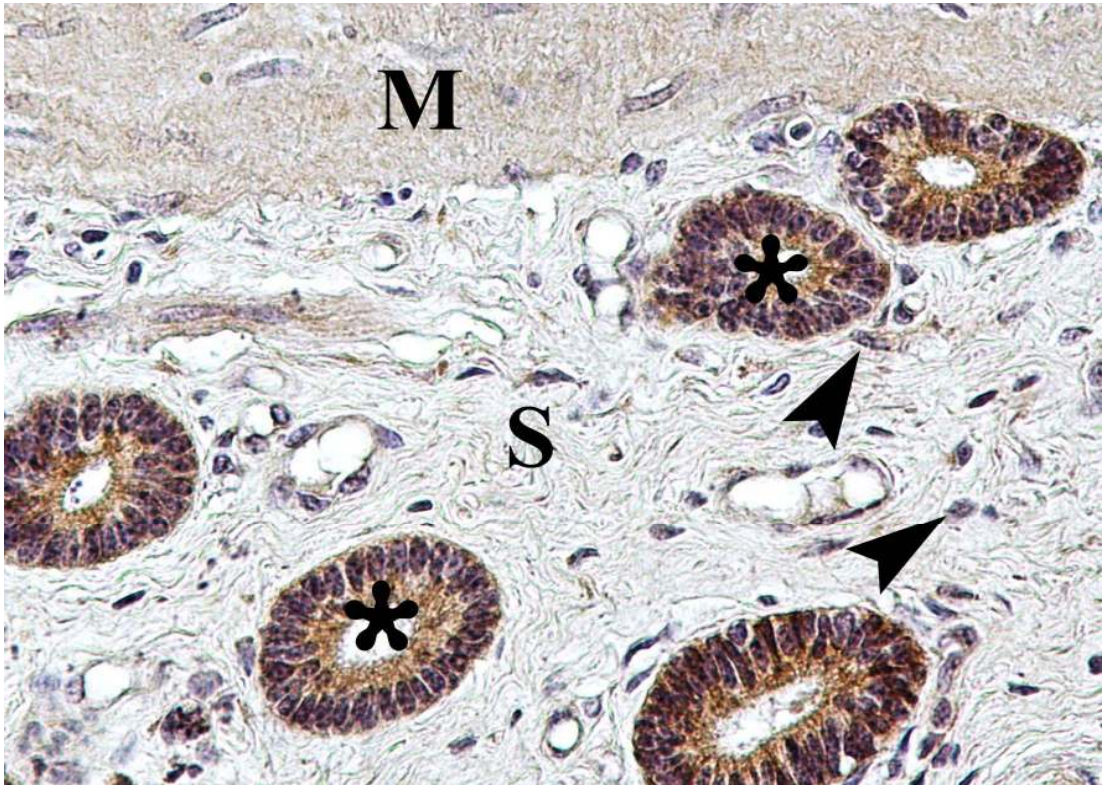
Yüzey ve bez epitel hücreleri ve düz kas hücreleri ortadan güçlüye doğru değişen boyanma yoğunluğuna sahipti (**Şekil-4.37, 4.38, 4.39**). Ayrıca bazı bez epitel hücrelerinin bazal sitoplazmalarında boyanma yoğunluğu dikkat çekti (**Şekil-4.40**). Stromal hücrelerin ise orta düzeyde boyandığı görüldü. Bunun yanında kan damarlarının endotel hücrelerinde de reaktivite olduğu izlendi.



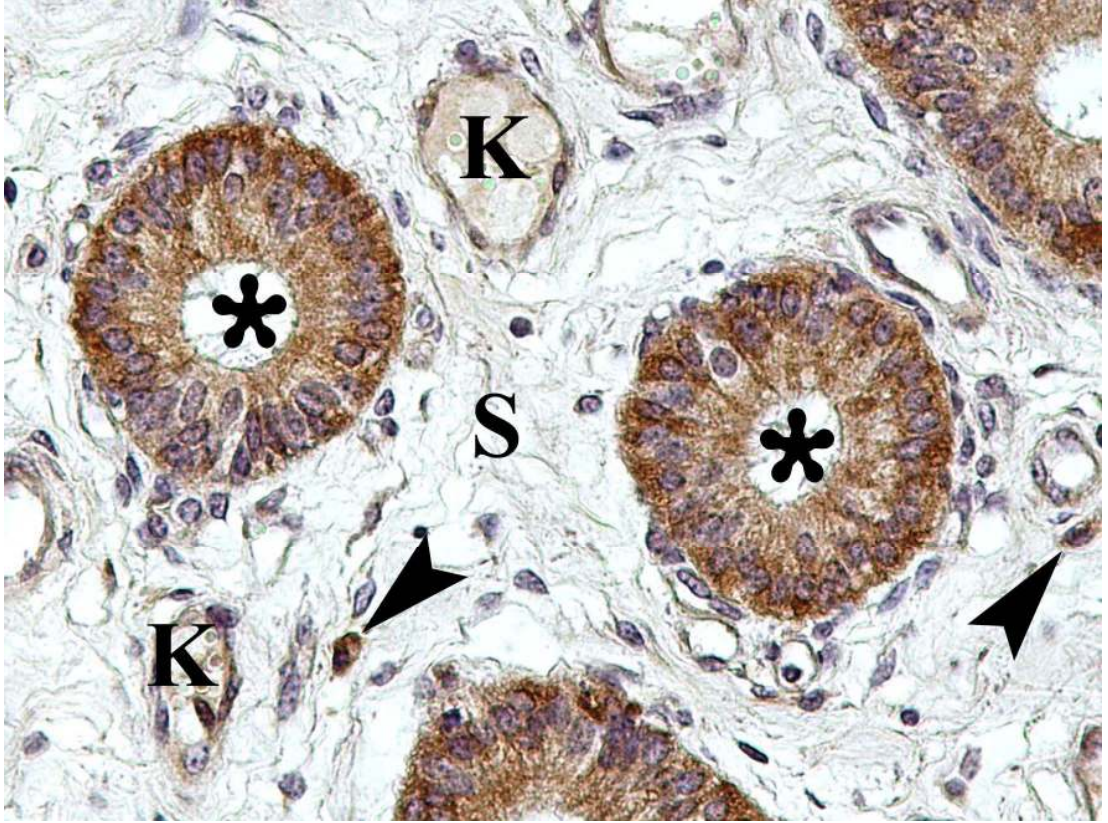
Şekil-4.37: Gebeliğin ilk döneminde (89 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşları: Stromal hücreler, X40.



Şekil-4.38: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi. S: Stroma, K: Kan damarı, yıldızlar: Uterus bezleri, okbaşları: Stromal hücreler, X40.

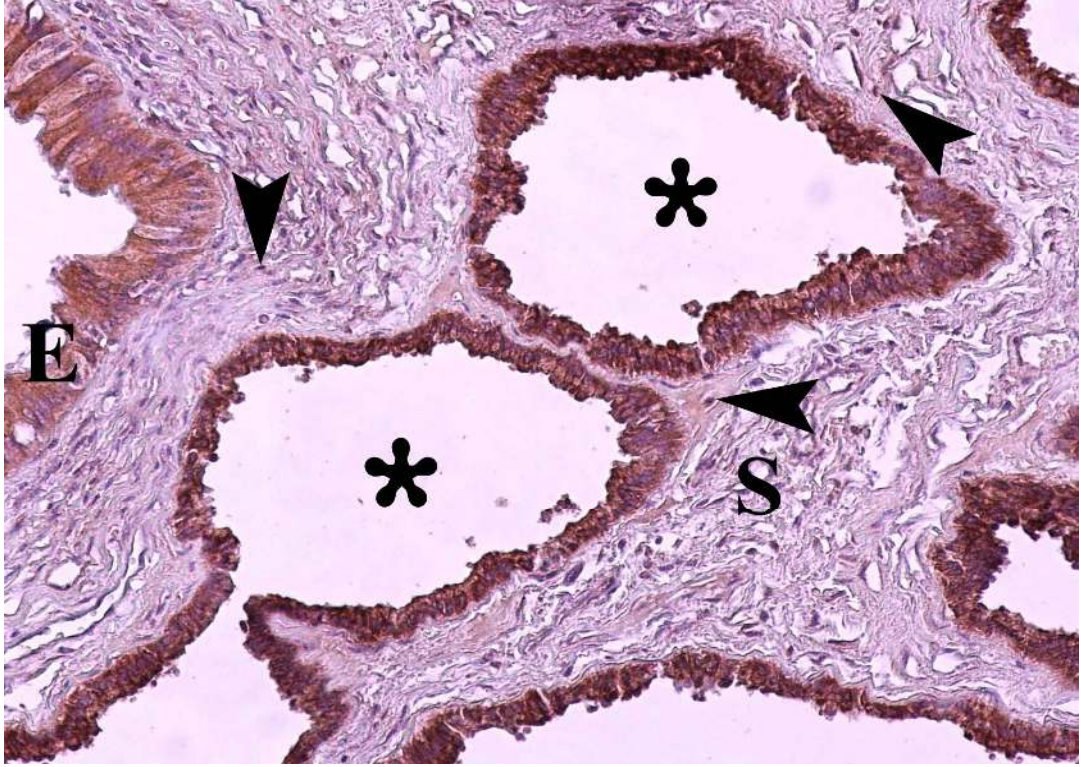


Şekil-4.39: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi. M: Myometrium, S: Stroma, yıldızlar: Uterus bezleri, okbaşları: Stromal hücre, X40.

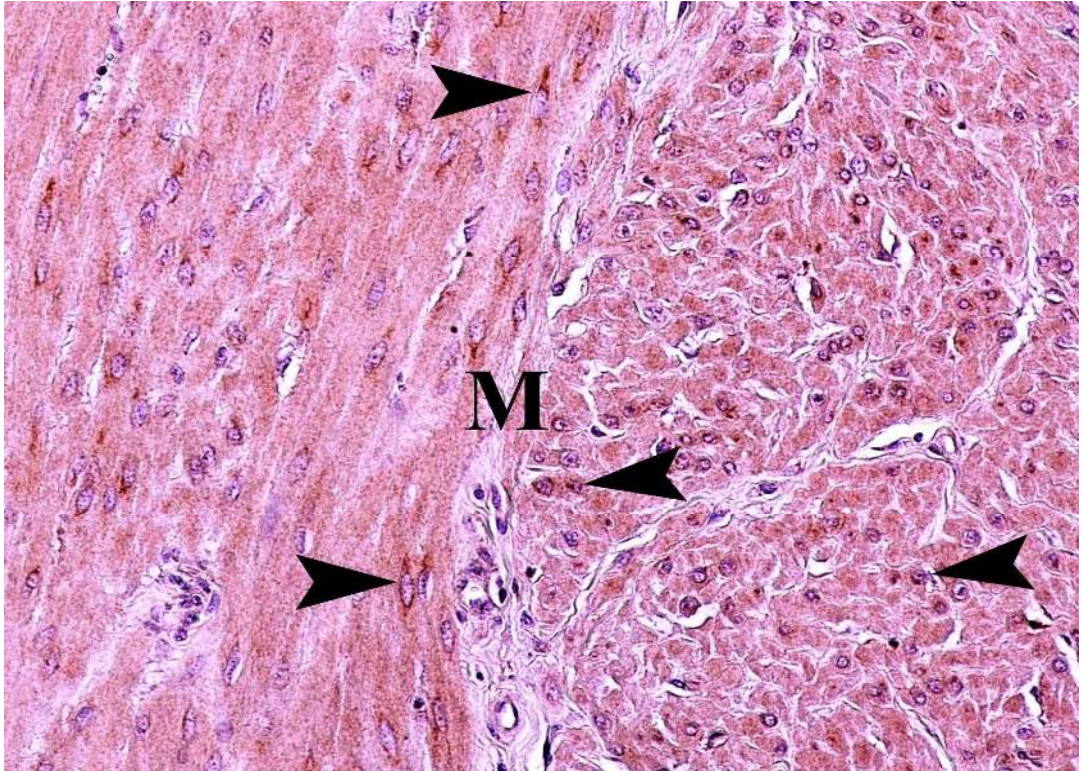


Şekil-4.40: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi. S: Stroma, K: Kan damarı, yıldızlar: Uterus bezleri, okbaşları: Stromal hücreler, X40.

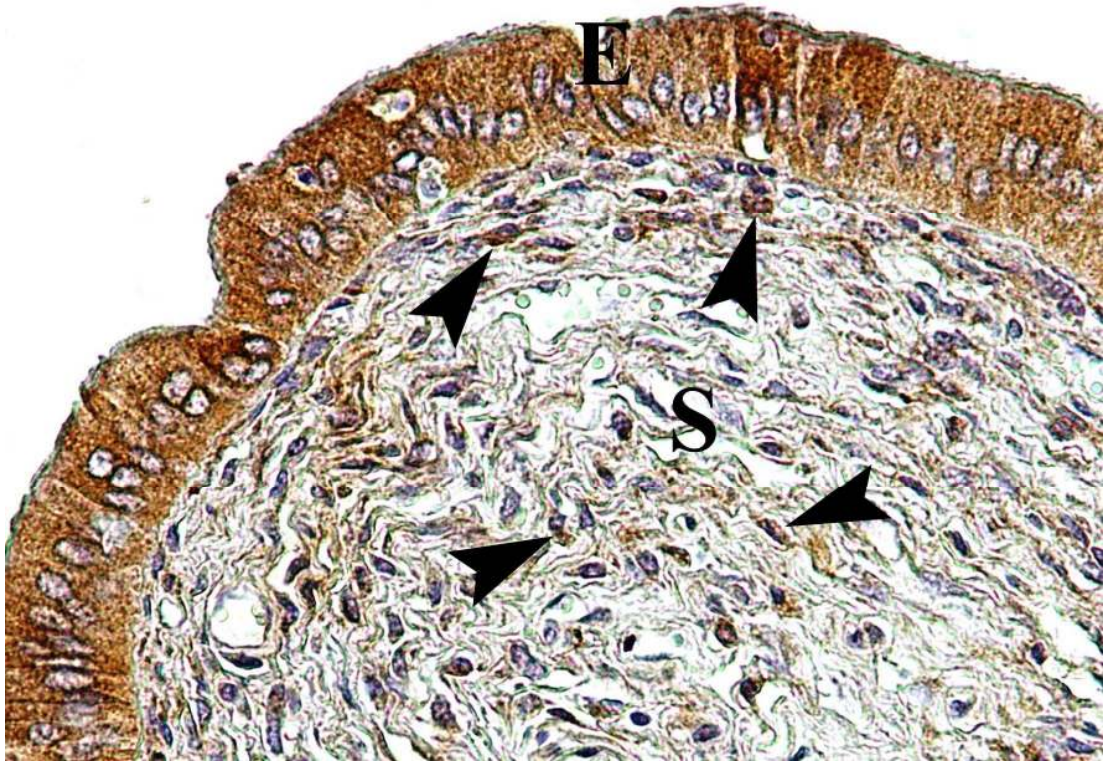
Gebelik dönemleri birbirleriyle karşılaştırıldığında, yüzey epitel hücreleri için gebeliğin orta döneminden sonra boyanmada artış olmadığı ve bunun da istatistiki açıdan önemli olmadığı ($p>0,05$); aksine bez epitel hücrelerinde gebeliğin tüm dönemleri arasında istatistiki açıdan farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu ve en yüksek boyanma yoğunluğunun gebeliğin orta döneminde olduğu tespit edildi (**Şekil-4.41**). Stromal ve düz kas hücresinde boyanmanın gebeliğin orta döneminden sonra artış gösterdiği ve bu farklılığın istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi (**Şekil-4.42, 4.43**), (**Tablo-4.5**).



Şekil-4.41: Gebeliğin orta döneminde (168 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, yıldızlar: Uterus bezleri, okbaşılar: Stromal hücreler, X20.



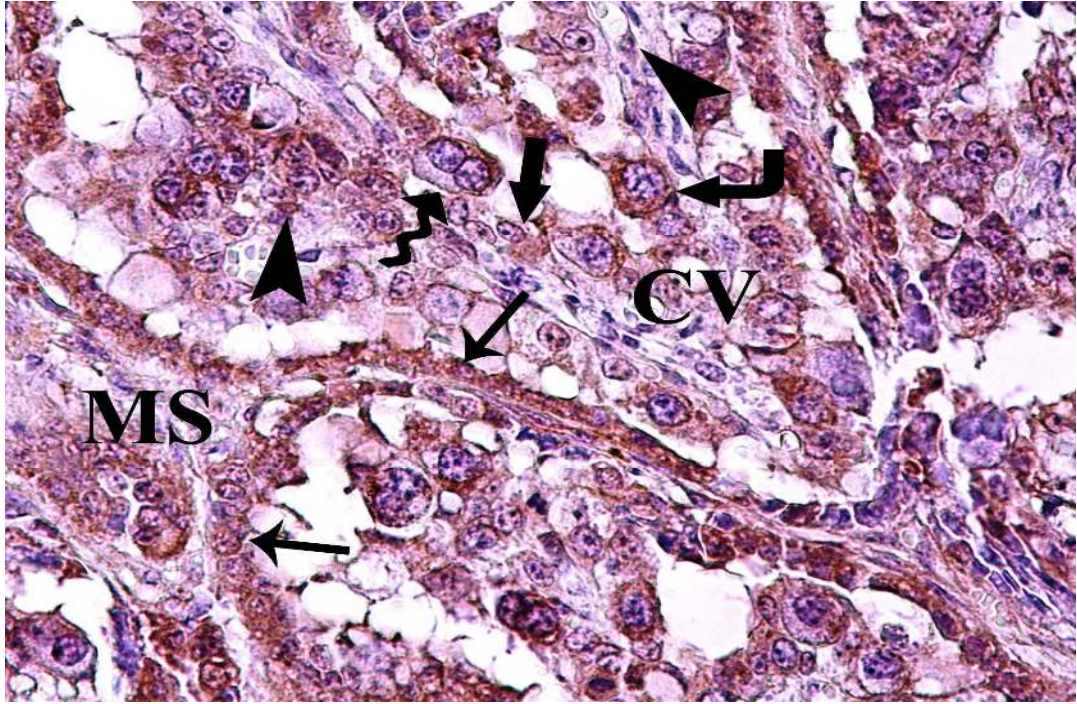
Şekil-4.42: Gebeliğin son döneminde (231 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi. M: Myometrium, okbaşılar: Düz kas hücreleri, X20.



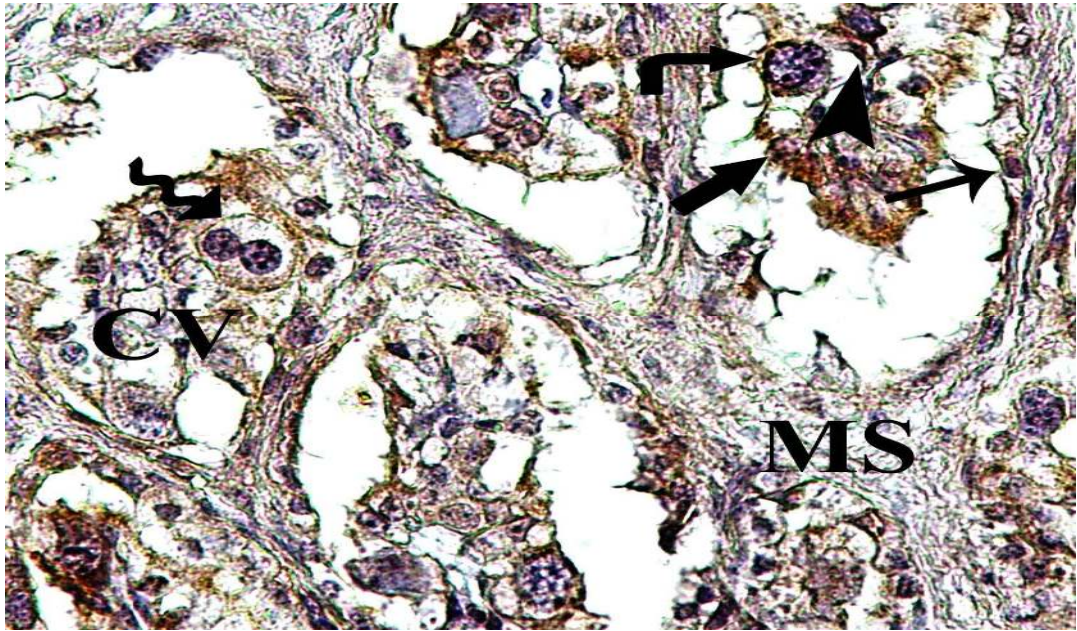
Şekil-4.43: Gebeliğin son döneminde (202 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşları: Stromal hücreler, X40.

Plasenta fötalinin koryon villuslarındaki tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde, çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde ve stromal hücrelerde orta düzeyde immunoreaktivitenin olduğu gözlemlendi (**Şekil-4.44**). Gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru boyanmanın azaldığı, özellikle de çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde ve stromal hücrelerde bu azalmanın çok daha belirgin (**Şekil-4.45**) ve istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu dikkat çekti (**Tablo-4.5**).

Plasenta maternalisin epitel hücrelerinde orta düzeyde bir boyanma olduğu ve gebeliğin ilk döneminden sonra boyanmanın önemli oranda azaldığı izlendi. Bu azalmada istatistiki açıdan farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı (**Şekil-4.44, 4.45**), (**Tablo-4.5**).



Şekil-4.44: Gebeliğin ilk döneminde (89 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince oklar: Maternal epitel hücreler, okbaşıları: Fötal stromal hücreler, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, dirsekli ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.



Şekil-4.45: Gebeliğin son döneminde (214 günlük) görülen EGF immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince ok: Maternal epitel hücre, okbaşı: Fötal stromal hücre, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, dirsekli ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.

Tablo-4.5: İnek uterusunda gebelik süresince EGF boyanmasının toplam skoru

EGF		1.Dönem (İlk) (n=10)	2.Dönem (Orta) (n=10)	3.Dönem (Son) (n=10)
<i>Endometrium</i>	Epitel	5,9±0,1 ^a	6,02±0,06 ^{bc}	6±0 ^c
	Bez	5,9±0,1 ^a	6,32±0,4 ^b	6,02±0,06 ^c
	Stroma	4,04±0,12 ^a	3,94±0,09 ^a	4,2±0 ^b
	Kas	5,84±0,08 ^a	5,86±0,09 ^a	6±0 ^b
<i>Plasenta maternalis</i>	Epitel	4,34±0,09 ^a	3,88±0,1 ^{bc}	3,82±0,06 ^c
	Stroma	0	0	0
<i>Plasenta fötalis</i>	UTC	4,36±0,08 ^a	4,22±0,06 ^b	3,94±0,09 ^c
	TGC	4,32±0,1 ^a	3,98±0,14 ^b	1,44±0,5 ^c
	Stroma	4,38±0,11 ^a	2,98±0,62 ^b	1,56±0,57 ^c

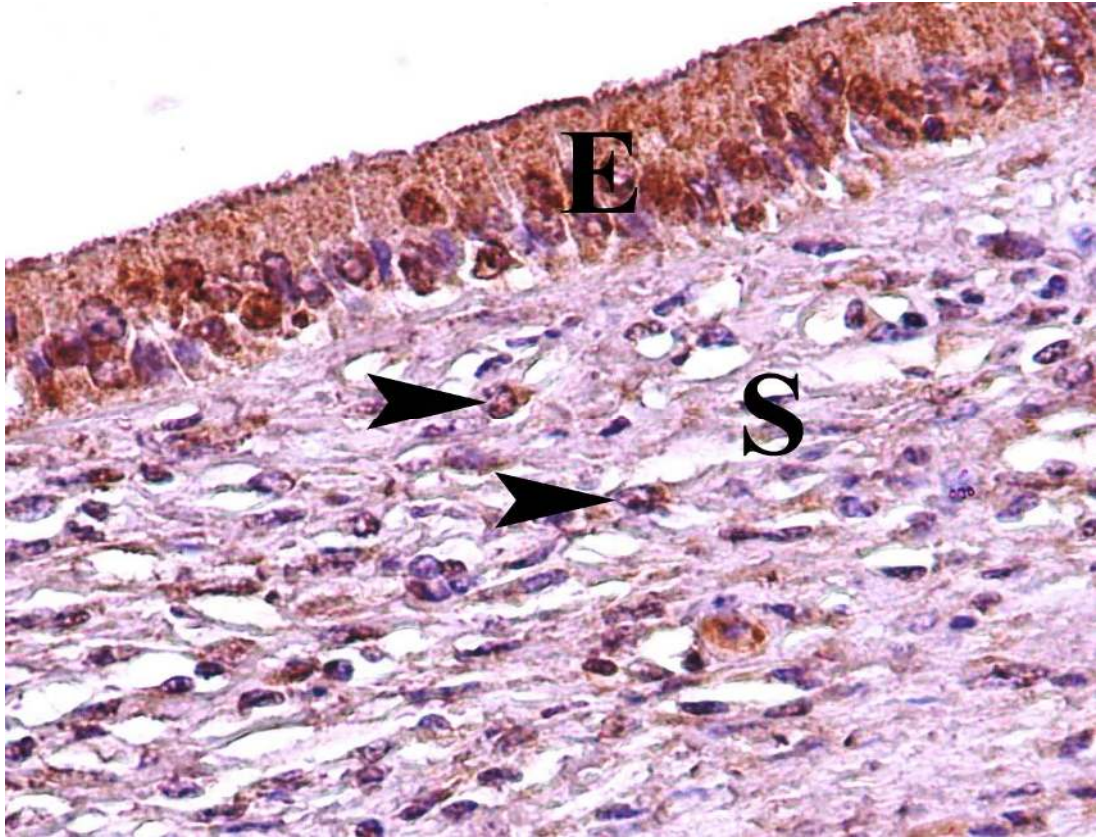
(UTC: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, TGC: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi)

Aynı satırda bulunan değişik harfler için farklılık önemli (P<0,05)

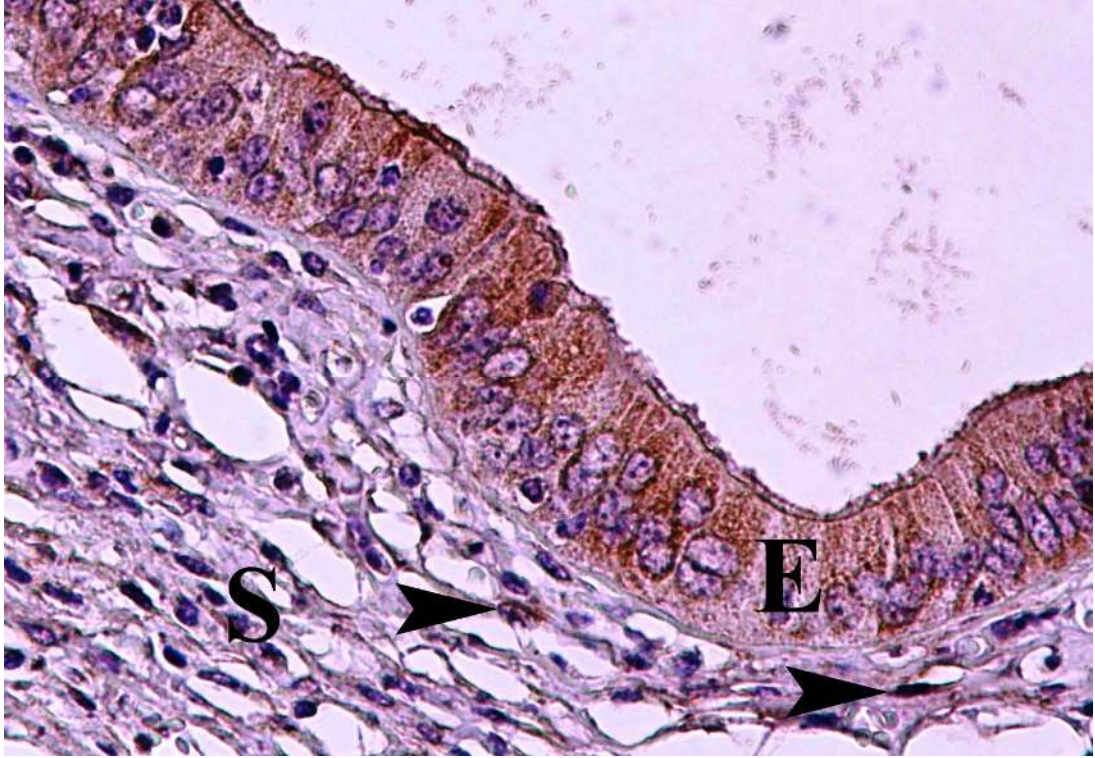
3.4.2.6- Amfiregulin (AREG)

Uterus doku örneklerindeki AREG immun boyamasında, yüzey ve bez epitel hücreleri ile düz kas hücrelerinde ortadan güçlüye doğru bir tutulum saptanırken stromal hücrelerde tutulumun orta seviyede, aynı zamanda çekirdek ve sitoplazma düzeyinde olduğu belirlendi. Kan damarlarının endotel hücrelerinde de reaktivite olduğu izlendi.

Yüzey epitel hücrelerinde gebeliğin tüm dönemleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Buna ek olarak gebeliğin ilk ve orta döneminde görülen çekirdek tutulumunun, gebeliğin son döneminde gözlenmediği dikkat çekti (Şekil-4.46, 4.47).

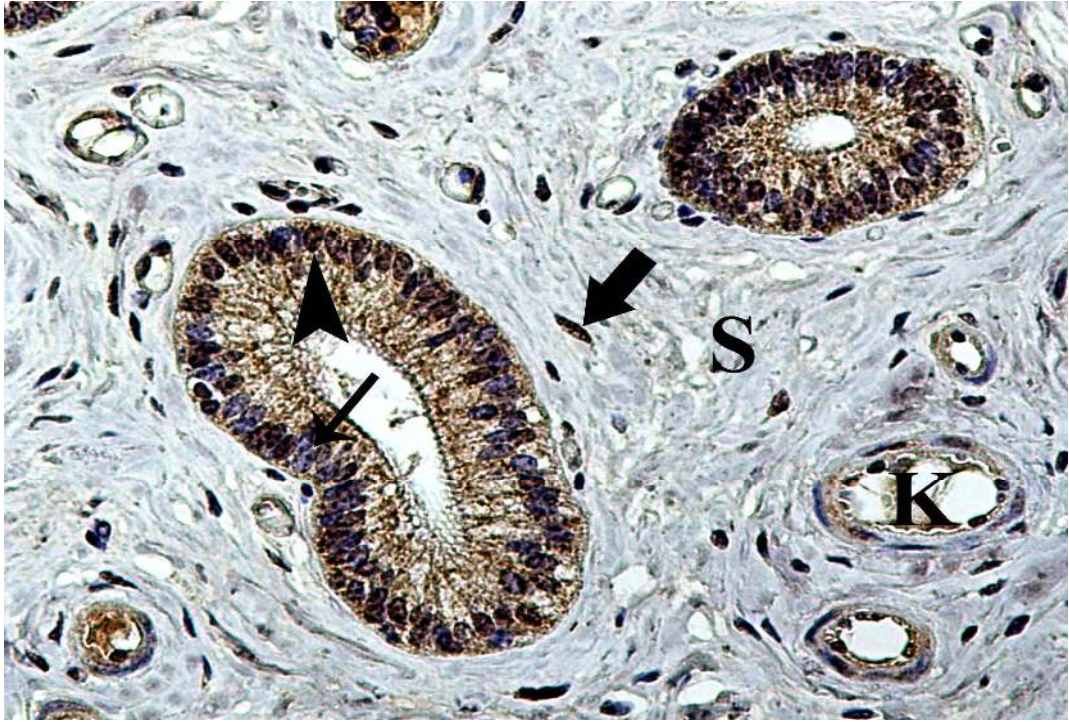


Şekil-4.46: Gebeliğin orta döneminde (123 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi. E: Endometrium epitel, S: Stroma, okbaşıları: Stromal hücreler, X40.

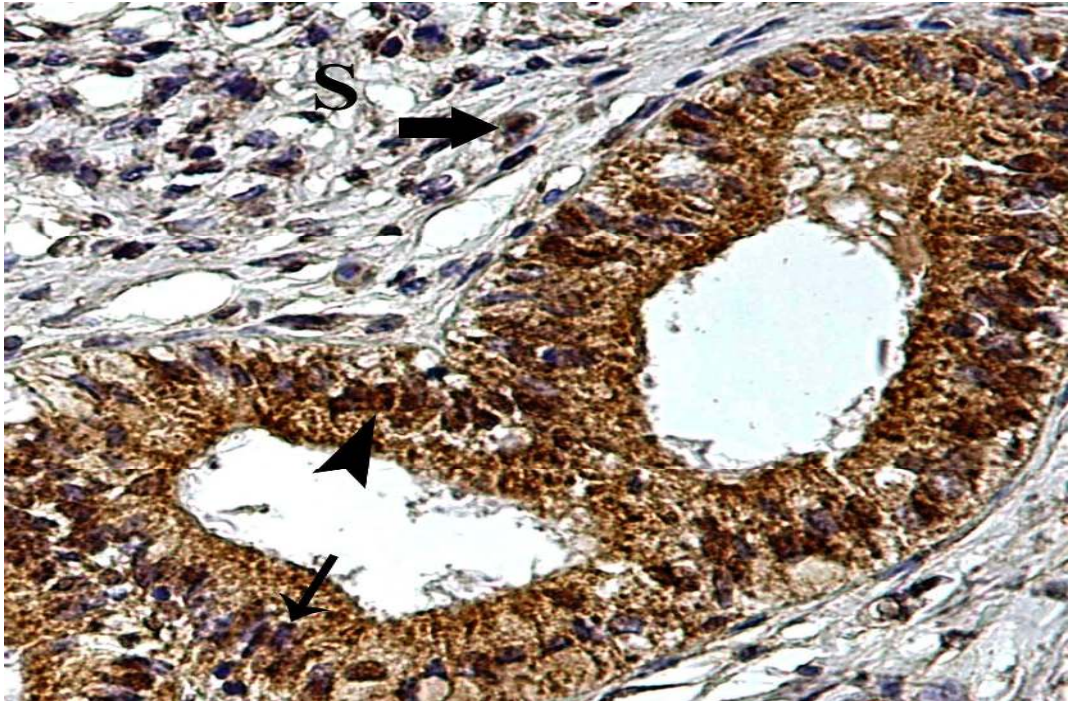


Şekil-4.47: Gebeliğin son döneminde (207 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, okbaşları: Stromal hücreler, X40.

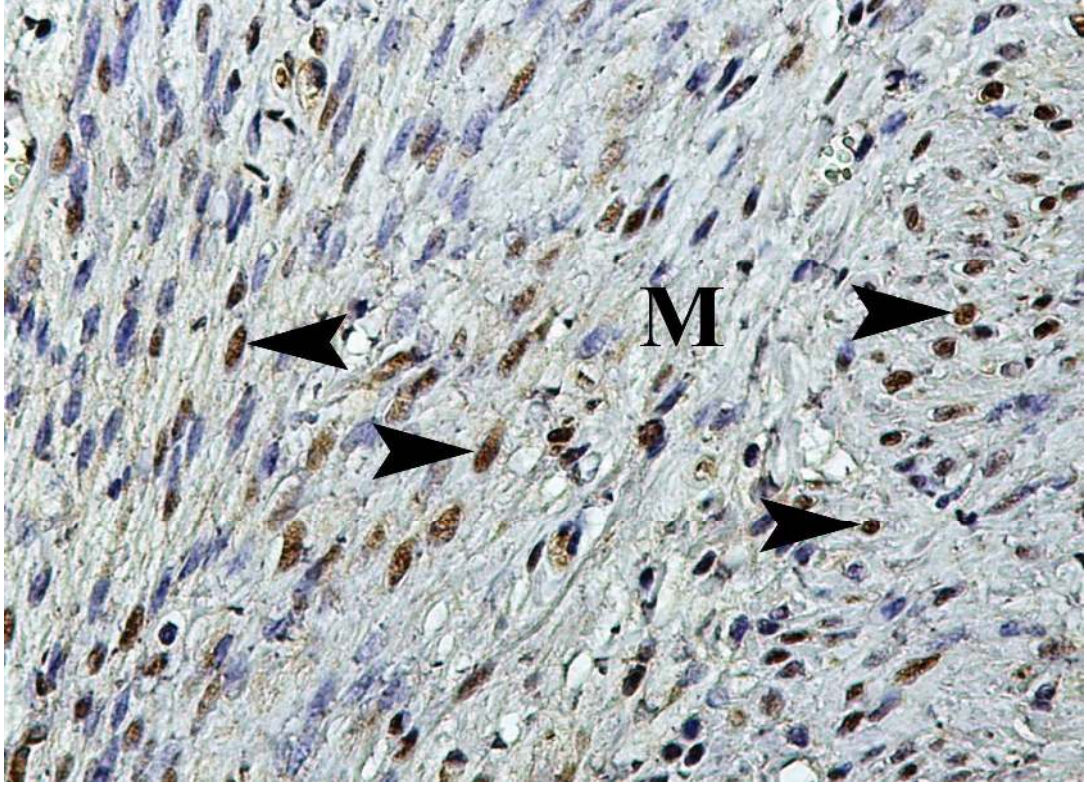
Bez epitel hücrelerinde gebeliğin ilk döneminden orta dönemine doğru boyanmanın az da olsa artış yaptığı (**Şekil-4.48, 4.49**) ve istatistiksel olarak farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu tespit edildi. Stromal hücrelerde ve düz kas hücrelerinde ise gebeliğin son döneminde boyanmada azalma olduğu (**Şekil-4.50, 4.51**) ve bunun da istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı (**Tablo-4.6**).



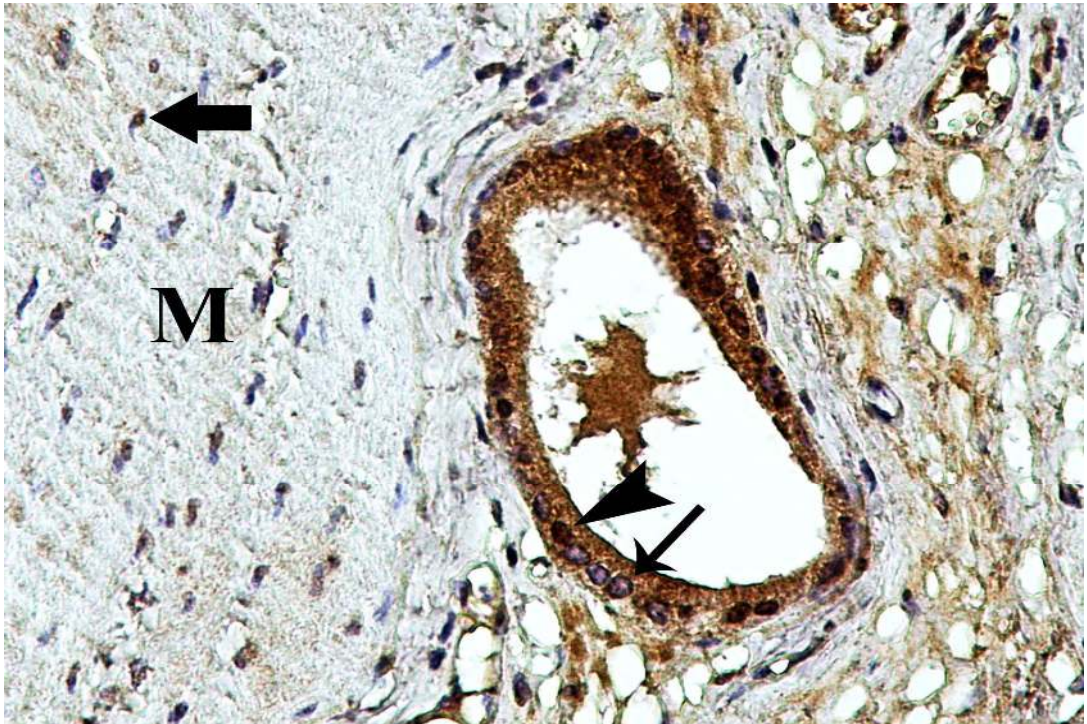
Şekil-4.48: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi. S: Stroma, K: Kan damarı, kalın ok: Stromal hücre, ince ok: İmmun reaksiyonun şekillenmediği bez epitel hücre çekirdeği, okbaşı: İmmun reaksiyonun şekillendiği bez epitel hücre çekirdeği, X40.



Şekil-4.49: Gebeliğin orta döneminde (98 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi. S: Stroma, kalın ok: Stromal hücre, ince ok: İmmun reaksiyonun şekillenmediği bez epitel hücre çekirdeği, okbaşı: İmmun reaksiyonun şekillendiği bez epitel hücre çekirdeği, X40.



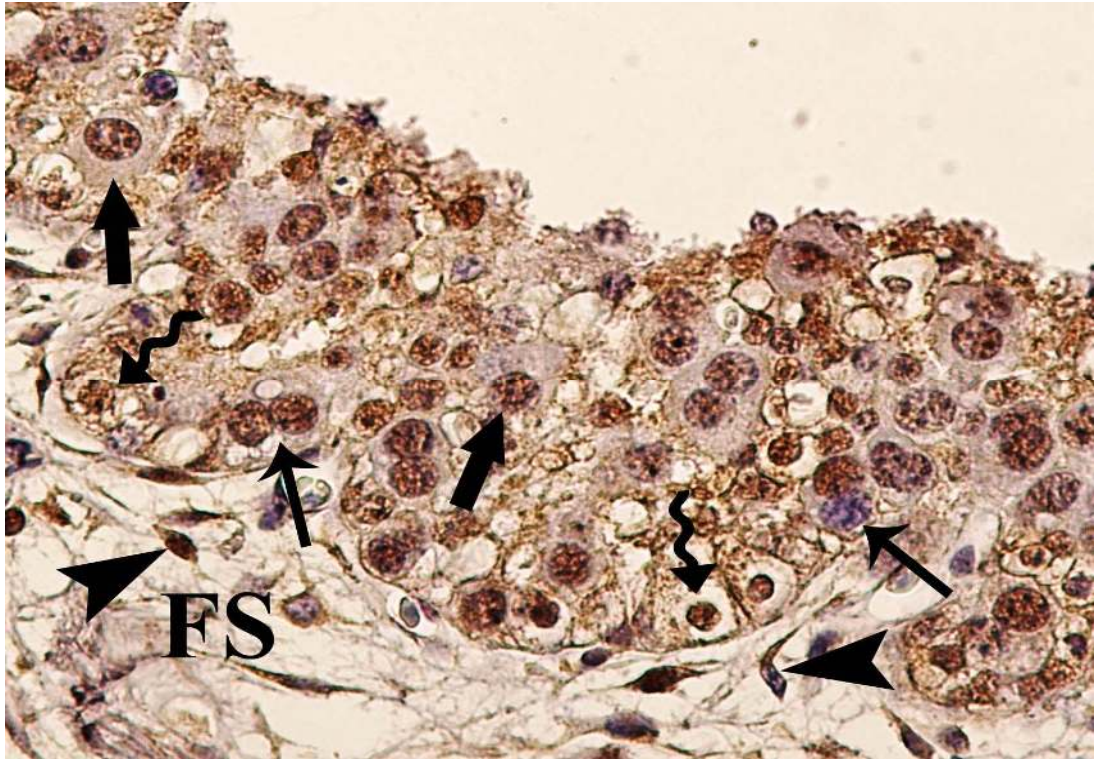
Şekil-4.50: Gebeliğin ilk döneminde (60 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi. M: Myometrium, okbaşı: Düz kas hücre çekirdeği, X40.



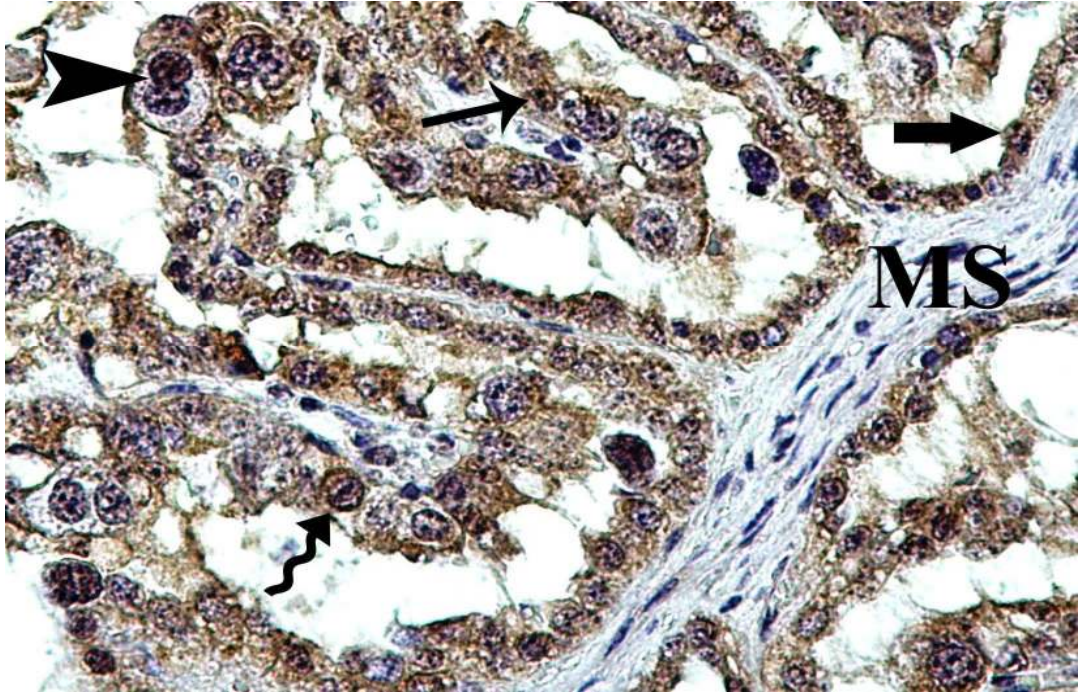
Şekil-4.51: Gebeliğin son döneminde (271 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi. M: Myometrium, kalın ok: Düz kas hücre çekirdeği, ince ok: İmmün reaksiyonun şekillenmediği bez epitel hücre çekirdeği, okbaşı: İmmün reaksiyonun şekillendiği bez epitel hücre çekirdeği, X40.

Plasentanın f3tal kısmında bulunan koryon villuslarındaki tek çekirdekli trofoblast h3crelerinde, çift çekirdekli trofoblast dev h3crelerinde ve villusların stromal h3crelerinde immunoreaktivitenin ortadan g3l3ye doğru değiştiği g3r3ld3 (şekil-4.52). Her iki trofoblast h3cre tipinde de gebeliğin son d3neminde boyanmanın 3nemli derecede azaldığı, 3zellikle çift çekirdekli trofoblast dev h3crelerinde bu azalmanın çok fazla olduğu dikkati çekti (şekil-4.53) ve bu azalmanın istatistiki açıdan 3nemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Buna karşılık stromal h3crelerde, gebeliğin t3m d3nemleri arasında istatistiksel açıdan bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$), (Tablo-4.6).

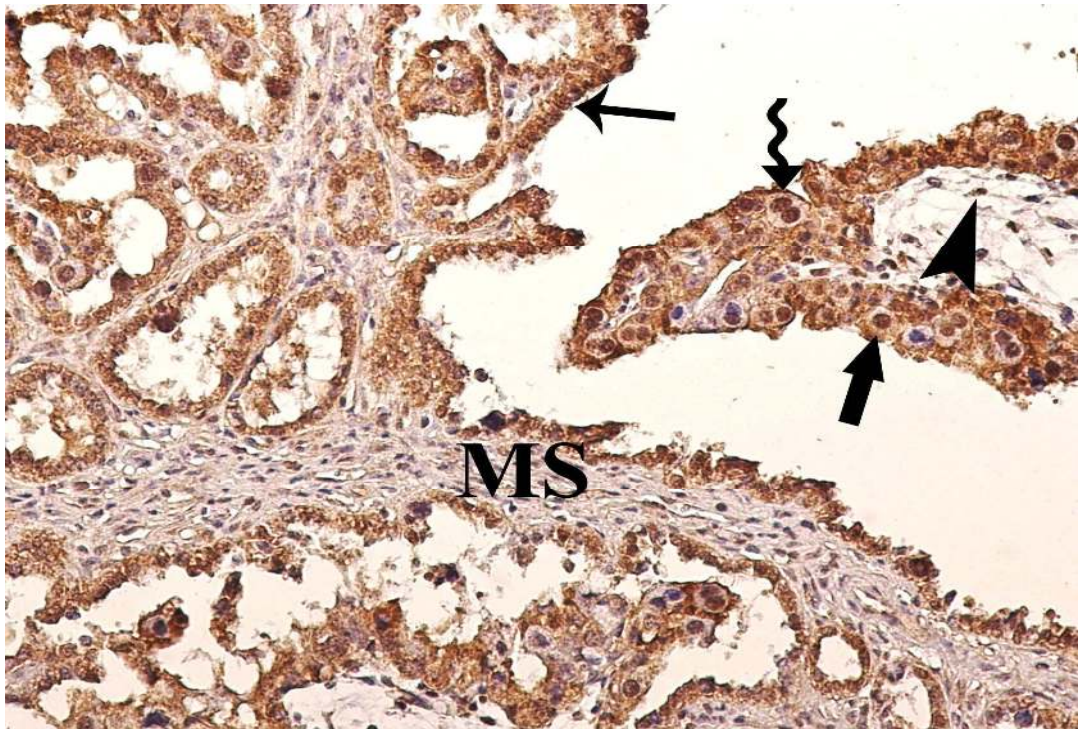
Plasentanın maternal kısmındaki epitel h3crelerinde ortadan g3l3ye doğru bir tutulum g3zlenirken gebeliğin 3zellikle son d3neminde boyanmanın azaldığı ve istatistiki açıdan farklılığın 3nemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Maternal stromal h3crelerde ise AREG immunoreaktivitesine rastlanmadı (şekil-4.53, 4.54), (Tablo-4.6).



şekil-4.52: Gebeliğin ilk d3neminde (60 g3nl3k) g3r3len AREG immunoreaktivitesi. FS: F3tal stroma, okbaşları: F3tal stromal h3creler, ince ok: Çift ekirdekli trofoblast dev h3cre, kalın ok: Tek ekirdekli trofoblast h3cre, kıvrımlı ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev h3cre, X40.



Şekil-4.53: Gebeliğin son döneminde (187 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, ince ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, kalın ok: Maternal epitel hücre, kıvrımlı ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, X40.



Şekil-4.54: Gebeliğin ilk döneminde (71 günlük) görülen AREG immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, okbaşı: Fötal stromal hücre, ince ok: Maternal epitel hücre, kalın ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücresi, kıvrımlı ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X20.

Tablo-4.6: İnek uterusunda gebelik süresince AREG boyanmasının toplam skoru

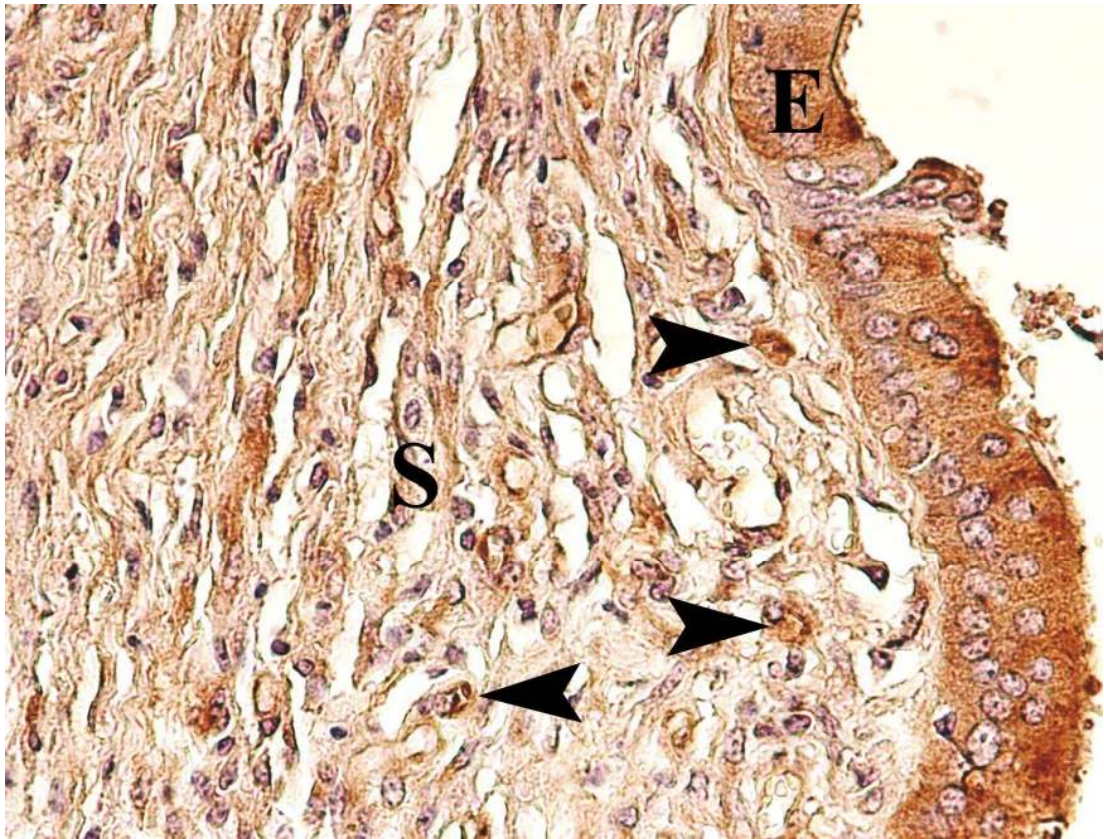
AREG		1.Dönem (İlk) (n=10)	2.Dönem (Orta) (n=10)	3.Dönem (Son) (n=10)
<i>Endometrium</i>	Epitel	5,86±0,09	5,94±0,09	5,96±0,08
	Bez	5,86±0,09 ^a	5,96±0,08 ^b	5,88±0,1 ^{ab}
	Stroma	4,04±0,12 ^a	3,94±0,09 ^a	3,1±0,52 ^b
	Kas	5,84±0,08 ^a	5,38±0,59 ^{bc}	5,54±0,49 ^c
<i>Plasenta maternalis</i>	Epitel	4,68±0,49 ^a	4,68±0,49 ^a	3,42±0,56 ^b
	Stroma	0	0	0
<i>Plasenta fötalis</i>	UTC	4,9±0,61 ^{ab}	5,1±0,52 ^a	4,58±0,38 ^b
	TGC	5,36±0,57 ^a	4,82±0,54 ^b	1,08±0,37 ^c
	Stroma	4,76±0,6	5,1±0,52	4,92±0,59

(UTC: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, TGC: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi)

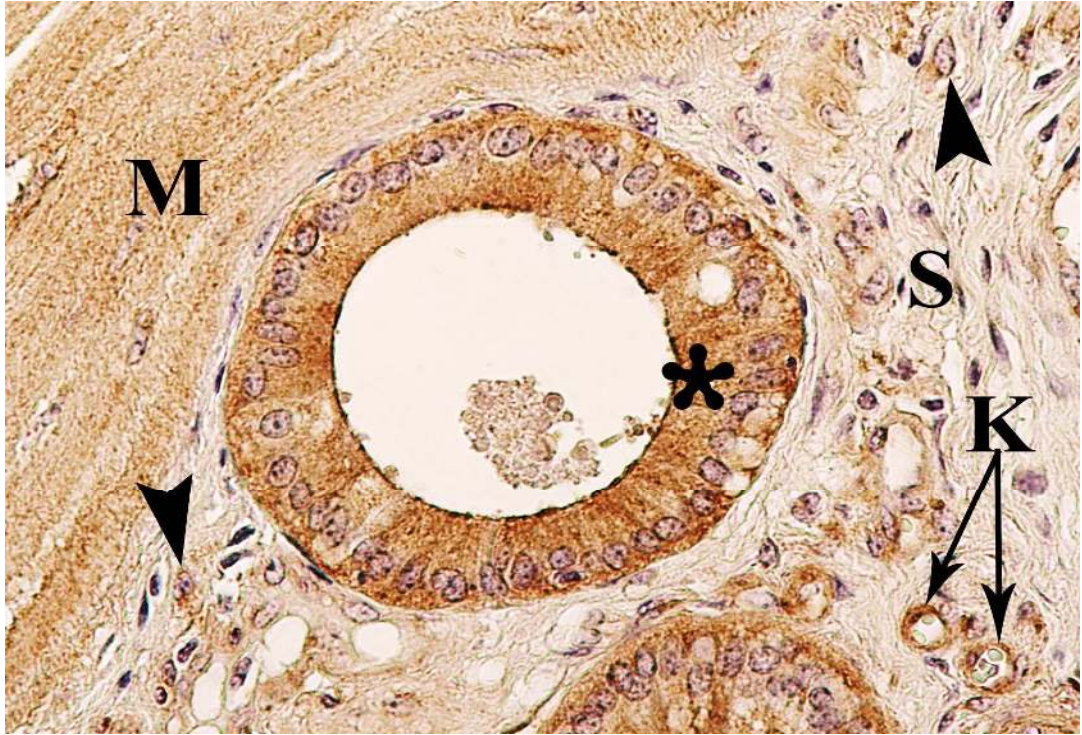
Aynı satırda bulunan değişik harfler için farklılık önemli (P<0,05)

3.4.2.7- Nörogulin1 (NRG1)

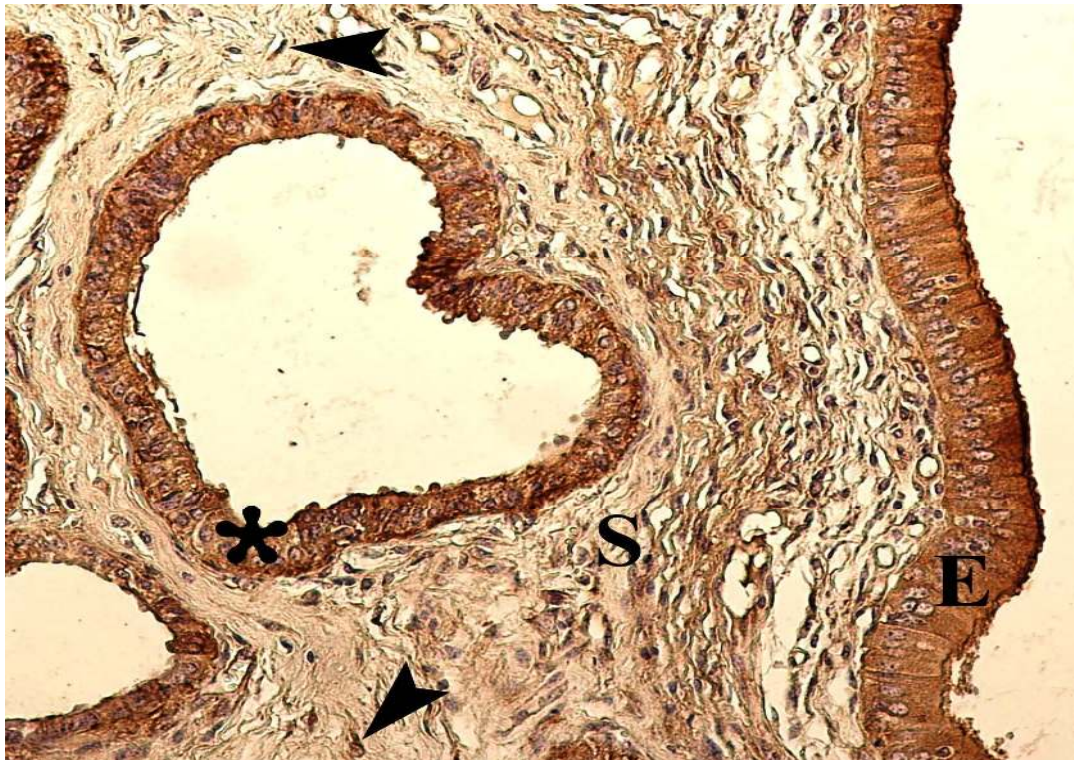
NRG1 immunoreaktivitesi, uterus mukozasını örten epitel hücrelerinde, bez epitel hücrelerinde ve düz kas hücrelerinde ortadan güçlüye doğru gözlenirken stromal hücrelerde orta düzeyde izlendi. Reaktivite sitoplazmik olarak belirlendi. Ayrıca kan damarlarının endotelinde de boyanmanın pozitif olduğu saptandı. Yüzey epitel hücreleri ve düz kas hücrelerinde tutulum açısından gebeliğin her üç dönemi arasındaki istatistiksel farklılık önemsizdi ($p>0,05$). Bez epitel hücrelerinde gebeliğin orta ve son dönemlerinde boyanma yoğunluğunun arttığı ve bunun da istatistiki açıdan önemli olduğu ($p<0,05$) saptandı. Stromal hücrelerde ise gebeliğin tüm dönemleri arasında istatistiki açıdan farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu ve gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru boyanmanın azalma yaptığı dikkati çekti (**Şekil-4.55, 4.56, 4.57**), (**Tablo-4.7**).



Şekil-4.55: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi. E: Endometrium epitel, S: Stroma, okbaşları: Stromal hücreler, X40.



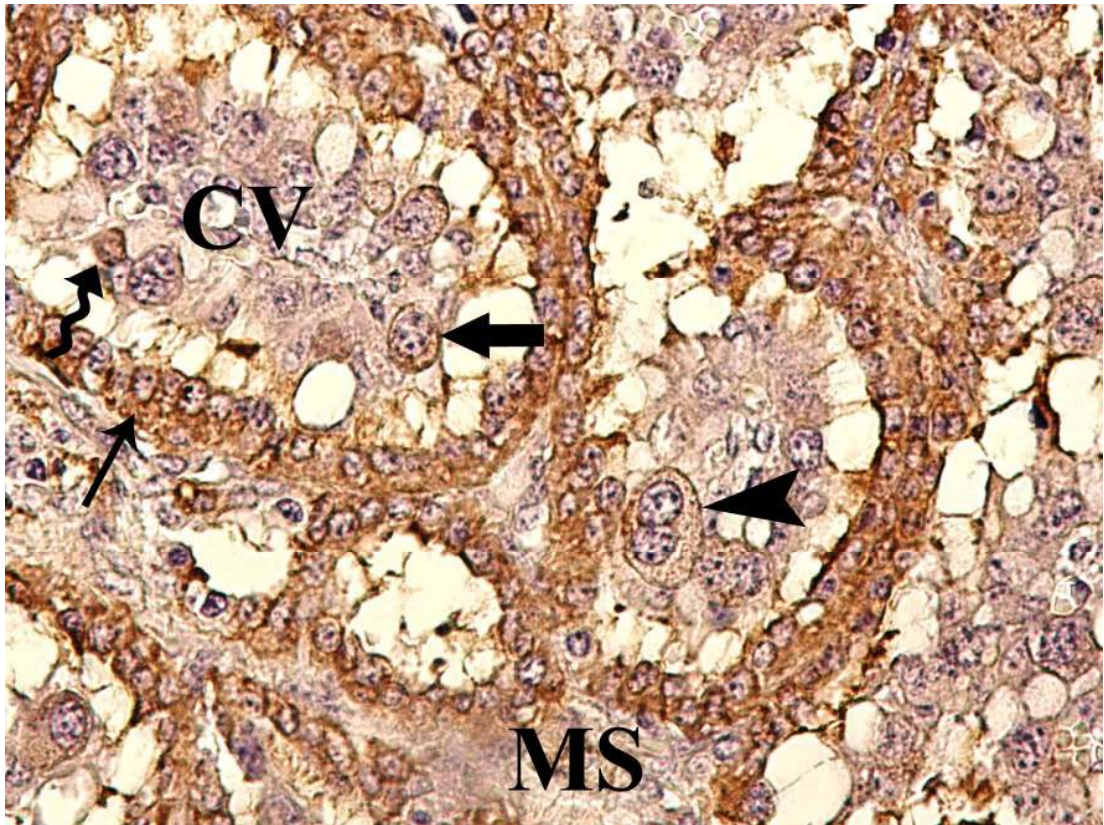
Şekil-4.56: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi. M: Myometrium, S: Stroma, K: Kan damarı, yıldız: Uterus bezi, okbaşları: Stromal hücreler, X40.



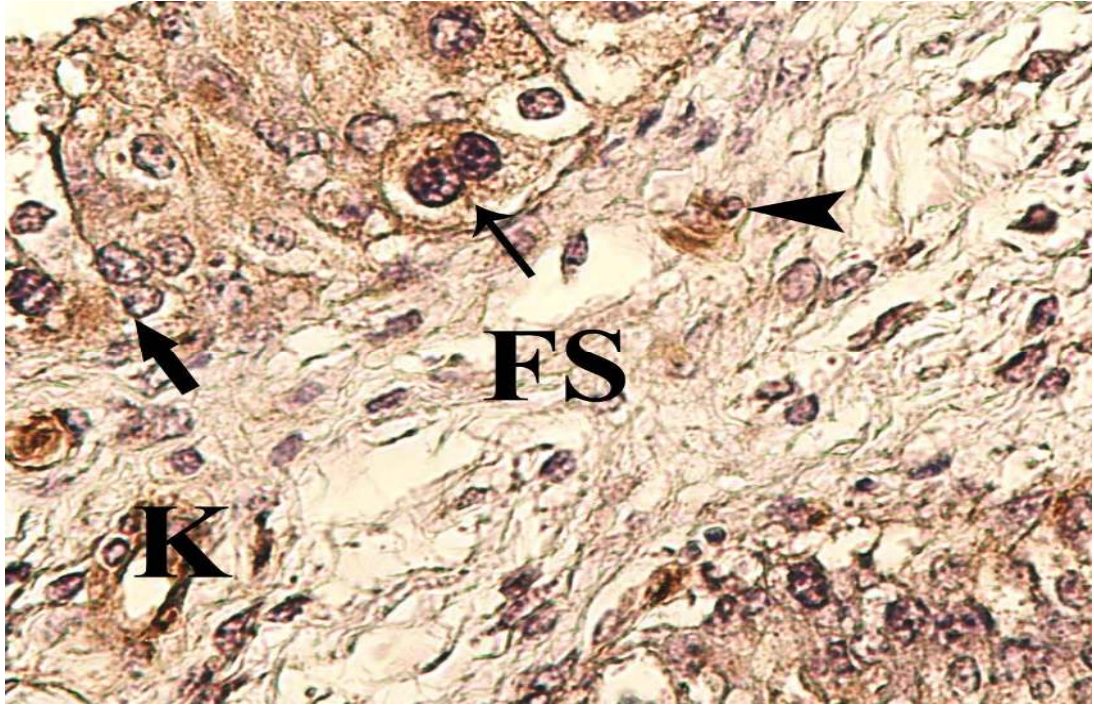
Şekil-4.57: Gebeliğin son döneminde (207 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi. E: Endometrium epiteli, S: Stroma, yıldız: Uterus bezi, okbaşları: Stromal hücreler, X20.

Uteroplasental dokudan alınan kesitlerde fetal kısımda bulunan koryon villuslarındaki tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde ve çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde immunoreaktivitenin orta, villusların stromal hücrelerinde ise zayıftan ortaya doğru değiştiği izlendi. Tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde ve çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde gebeliğin orta ve son dönemi arasında istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) bir farklılık olduğu ve gebeliğin son döneminde boyanmanın azaldığı tespit edildi. Villusların stromal hücrelerinde ise gebeliğin her üç dönemi arasında istatistiki açıdan önemli bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$), (Şekil-4.58, 4.59, 4.60), (Tablo-4.7).

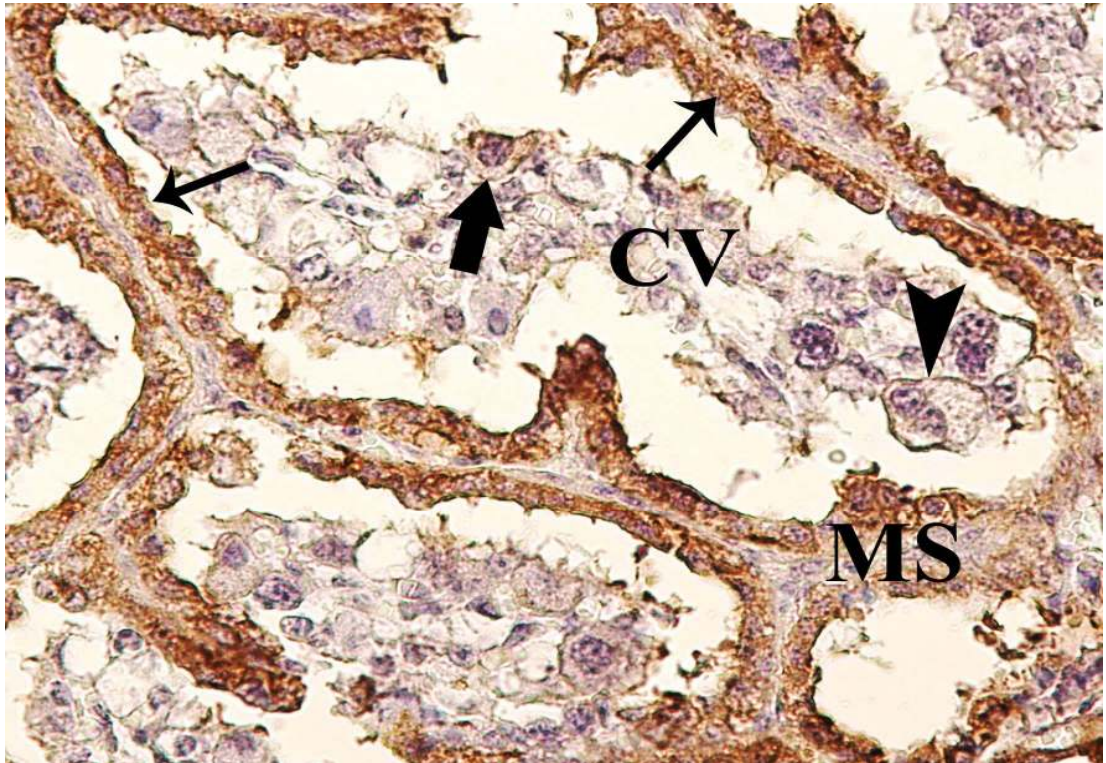
Uteroplasental dokudan alınan kesitlerde maternal kısımda bulunan epitelde ortadan güçlüye doğru bir tutulum olduğu izlendi. Özellikle gebeliğin son döneminde boyanmanın önemli derecede azaldığı ve bunun da istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Maternal stromal hücrelerde ise NRG1 immunoreaktivitesine rastlanmadı (Şekil-4.58, 4.60), (Tablo-4.7).



Şekil-4.58: Gebeliğin ilk döneminde (82 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince ok: Maternal epitel hücre, kalın ok: Olgunlaşmamış trofoblast dev hücre, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücre, kıvrımlı ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, X40.



Şekil-4.59: Gebeliğin ilk döneminde (74 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi. FS: Fötal stroma, K: Kan damarı, okbaşı: Fötal stromal hücre, ince ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, kalın ok: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X40.



Şekil-4.60: Gebeliğin son döneminde (202 günlük) görülen NRG1 immunoreaktivitesi. MS: Maternal stroma, CV: Koryon villusları, ince oklar: Maternal epitel hücreler, kalın ok: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, okbaşı: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi, X40.

Tablo-4.7: İnek uterusunda gebelik süresince NRG1 boyanmasının toplam skoru

NRG1		1.Dönem (İlk) (n=10)	2.Dönem (Orta) (n=10)	3.Dönem (Son) (n=10)
<i>Endometrium</i>	Epitel	5,86±0,09	5,84±0,08	5,84±0,08
	Bez	4,66±0,49 ^a	5,82±0,06 ^{bc}	5,84±0,08 ^c
	Stroma	4,52±0,39 ^a	4,2±0,16 ^b	3,88±0,1 ^c
	Kas	5,72±0,41	5,54±0,55	5,5±0,48
<i>Plasenta maternalis</i>	Epitel	5,72±0,41 ^a	5,7±0,4 ^a	4,82±0,54 ^b
	Stroma	0	0	0
<i>Plasenta fötalis</i>	UTC	3,22±0,53 ^a	3,54±0,49 ^b	3,08±0,59 ^a
	TGC	4,54±0,37 ^a	4,38±0,48 ^a	3,84±0,08 ^b
	Stroma	2,82±0,54	2,9±0,6	2,82±0,54

(UTC: Tek çekirdekli trofoblast hücresi, TGC: Çift çekirdekli trofoblast dev hücresi)

Aynı satırda bulunan değişik harfler için farklılık önemli (P<0,05)

3.5- TARTIŞMA

Endometrium farklı biyokimyasal ve fonksiyonel karakteristiğe sahip birçok hücre popülasyonundan oluşan heterojen bir dokudur. Farklı hücre tiplerini barındıran bu dokuda gebeliğin şekillenmesi endokrin faktörlerle özellikle de steroid hormonların kontrolünde, maternal ve fetal kısımlar arasındaki uyum sonucunda gerçekleşmektedir. Bu bağlamda hem in vitro hem de in vivo deneylerle birçok çalışma (44, 48, 189, 190) yapılmış ve bu çalışmalardan birçok bilgi elde edilmiş olmasına rağmen EGF ailesi üyelerinin genital sistemdeki özellikle de gebelik sürecindeki kritik rolü hala tam olarak ortaya konulmamıştır.

Bugüne kadar araştırmalardan elde edilen bulgular, uterusda üretilen büyüme faktörleri ve sitokinlerin, uterus fonksiyonlarının düzenlenmesinde merkezi bir rol oynadığını göstermektedir (167, 168). Aynı zamanda büyüme faktörlerinin uterusda özellikle de gebelik döneminde parakrin ve otokrin mekanizmalar aracılığıyla büyüme, farklılaşma ve fonksiyon ile ilgili birçok etki gösterebildiği vurgulanmaktadır (7, 8).

Bu çalışma ErbB reseptörleri ve bazı ligandları ile yapılan immunohistokimyasal analizler sonucunda, bu faktörlerin inek uterusunda gebelik dönemi boyunca olası rolleri ve gebeliğin dönemleri arasındaki etki farklılığının ortaya konulması amacıyla yapılmıştır.

Büyüme faktörlerinden EGF ailesi, fonksiyonlarını hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirir. Egzotik bir tür olan kokarcada (169) ErbB1'in, yüzey ve bez epitel hücrelerinde, tanımlanamayan stromal hücre tiplerinde, myometriumdaki myositlerde ve kan damarlarında lokalize olduğu gözlenmiştir. Bununla beraber gecikmiş implantasyonda ErbB1 aktivitesinin azaldığı, embriyoda seri mitotik aktiviteden ötürü peri-implantasyon süresinde ise ErbB1 aktivitesinin arttığı görülürken ErbB1'in fonksiyonel durumundaki değişimin bu türde embriyonik gelişimle ilişkili olabileceğine işaret edilmiştir (169).

Brown ve Lamartiniere (170), kontrol grubundaki sıçanların uterusunda yüzey epitel hücrelerinde boyanmanın yok denecek kadar az olduğunu, bez epitel hücrelerinde boyanmanın zayıf olduğunu ve stromada bazı hücrelerin orta düzeyde boyandığını ortaya koymuştur. Bu çalışmaya paralel olarak erken gebelik döneminde

fare (171) uterusunda ErbB1'in sadece stroma ve myometriumda bulunduğu ancak yüzey ve bez epitelinde bulunmadığı belirlenmiştir.

Gebe kedilerde (45) gebelik süresinin 3 döneme ayrıldığı farz edilirse; gebeliğin ilk döneminden (16. gününden) son dönemine kadar ErbB1'in yüzey, bez epiteli ve stromada artarak boyandığı saptanmıştır. Aynı şekilde gebeliğin ilk döneminde hem sinsityotrofoblast hem de sitotrofoblast hücrelerinde boyanma gözlenirken gebeliğin ikinci döneminde sadece sitotrofoblast hücrelerinin boyandığı izlenmiştir. Gebeliğin son döneminde ise trofoblast hücrelerinde immun reaksiyonun şekillenmediği saptanmıştır (45).

Ejskjaer ve ark. (172) menstrüel siklus boyunca insan endometriumunda ErbB reseptörlerinin varlığını ortaya koymuş ve ErbB1'in yüzey epiteli (reaksiyon güçlü) ve yüzeye yakın yerleşimli bezlerin bazalinde lokalize olduğunu tespit etmiştir. Yine menstrüel siklus boyunca insan (173) endometriumunda ErbB1'in yüzey ve bez epitel hücrelerinde iyi reaksiyon verdiği, stromal hücreler ve kan damarlarında da gösterildiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, menstrüel siklusta ErbB1'in kan damarları (sadece arterlerde) ve stromada daha belirgin olduğu vurgulanmış, böylece ErbB1'in parakrin veya otokrin yolla arterlerde angiogenezi indükleyebileceği belirtilmiştir (173).

Yue ve ark. (44) menstrüel siklus ve erken gebelik boyunca maymun endometriumunda ErbB1'in varlığını araştırmışlardır. ErbB1'in, menstrüel siklus süresince özellikle yüzey ve bez epitel hücrelerinde ve myometriumdaki düz kas hücrelerinde lokalize olduğunu rapor etmişlerdir. Hem yüzey hem de bez epitel hücrelerinde boyanma yoğunluğu siklusun 1. ve 6. günlerinde zayıfken 9. günden itibaren artmaya başlamış ve 16-25. günlerde ise en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Menstrüel siklusun geç salgı fazı boyunca stromal hücrelerde zayıf boyanma gözlenmiştir. Ayrıca myometriumdaki düz kas hücrelerinde çok zayıf boyanma tüm siklus boyunca görülmüştür. Erken gebelik süresince hem yüzey hem de bez epitel hücrelerinde boyanma yoğunluğu 1. ve 2. günlerde zayıfken 3. günden itibaren artmaya başlamış ve 9-11. günlerde ise en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Stromada ErbB1 immunoreaktivitesine rastlanmamışken myometriumdaki düz kas hücrelerinde ise zayıf immunoreaktivite erken gebelik boyunca gözlenmiştir.

Tamada ve ark. (174) koyun uterusunda ErbB1'in immunohistokimyasal lokalizasyonunu erken implantasyon döneminde incelemişlerdir. ErbB1'in pozitif immunoreaktivitesi 14. ve 15. günde trofektoderm'de, yüzey ve bez epitelinde, karunkular ve interkarunkular stromada gözlenmiştir. Bazı yüzey ve bez epitel hücrelerinin apikal kısımları pozitif boyanırken, reaktivite 16. gün ve sonraki günlerde azalma sürecine girmiştir. Stromal hücrelerde 14. ve 15. günlerde pozitif boyanma gözlenirken bu hücrelerde güçlü boyanma 16., 18. ve 20. günlerde izlenmiştir. Myometrium incelenen dönemde hiç boyanmamış veya yok denecek kadar az reaktivite göstermiştir.

Wollenhaupt ve ark. (175) domuz endometriumunda ErbB1'in hem yüzey hem de bez epitelinde gözlendiğini, stromal hücrelerin ise oldukça zayıf boyandığını bildirmişlerdir. Bunun yanında erken gebelik döneminde (1., 6. ve 12. günde) domuz (176) endometriumuna ErbB1'in bağlanma kapasitesi 1. güne oranla 6. ve 12. günde daha yüksek çıkarken normal siklustaki domuzlardan elde edilen değerler düşük çıkmıştır. Yine bu dönemde gebe ve normal siklustaki domuzlarda steroid hormon konsantrasyonlarında farklılık gözlenmemiş, reseptör konsantrasyonundaki artışın maternal plazma steroid hormonları ile koordineli olmadığı varsayılmıştır. Böylece konseptus kaynaklı östrojenin, erken gebelik süresince ErbB1'i tetikleyerek endometrium fonksiyonları üzerine etkisini göstermiş olduğunu düşünmüşlerdir.

Domuzda (163) yapılan başka bir çalışmada da gebelik süresince EGF ailesinin daha çok implantasyon döneminde belirgin bir fark yarattığı bildirilmiştir. ErbB1 mRNA ekspresyonu gebeliğin 12. gününde tespit edilmiş, gebeliğin ilk döneminden (30. gününden) son dönemine (110. gününe) kadar azalan bir süreçte devam etmiştir.

Tavşanlar (177) üzerinde yapılan bir çalışmada implantasyon döneminde ErbB1 mRNA ve proteinin ekspresyonu, sitotrofoblastlarda gözlenirken sinsityotrofoblastlarda zayıf olarak izlenmiştir. Bununla beraber gebe olmayan, yalancı gebe ve gebeliğin 6. günündeki tavşanlarda ErbB1 immunoreaktif proteini hem yüzey hem de bez epitel hücrelerinde gözlenmiştir.

Tüm gebelik süresince sıçan (47) uterusunda ErbB1 mRNA'nın; özellikle gebeliğin ilk döneminde (3-6. gün) yüksek seviyede çıktığı, gebeliğin kalan günlerinde ise ErbB1'in tespit edilemediği veya yok denecek kadar az bulunduğu

belirlenmiştir. Sıçanlarda implantasyon 4. günde şekillendiği için ErbB1'in gebeliğin ilk dönemi içinde yani peri-implantasyon döneminde etkili olduğu söylenmiştir.

İnekte (178) gebeliğin 13. ve 16. gününde blastosist ve yine gebeliğin 13. gününde endometrium incelenmiş, ErbB1 mRNA ve proteini gebeliğin 13. gününde trofoblast hücrelerinde ayrıca endometriumun yüzey ve bazı bez epitel hücrelerinde tespit edilmiştir. ErbB1 proteinin hem blastosist hem de endometrium epitelinde tespit edilmiş olması nedeniyle, implante olan embriyonun çevresel iletişime geçmesinde ErbB1'in etkili olabileceği düşünülmüştür.

İnsanda (179) gebelik boyunca plasental dokulardaki ErbB1 mRNA'nın düzeyi, gebeliğin son dönemine oranla orta dönemde ve orta döneme oranla ilk dönemde önemli derecede yüksek çıkmıştır. ErbB1 immun reaksiyonu, gebeliğin ilk döneminde sitotrofoblast hücrelerinde izlenirken sinsityotrofoblast hücrelerinde ilk dönemden son döneme kadar gözlenmiş, aynı zamanda orta ve son döneme kıyasla gebeliğin ilk döneminde daha yoğun boyanma saptanmıştır. Bu çalışmaya paralel olarak Fukami ve ark. (180) gebeliğin ilk döneminde ErbB1'in sinsityotrofoblast hücrelerinin sitoplazmasında ve sitotrofoblastların hücre yüzeyinde pozitif boyandığını ortaya koymuş, ancak gebeliğin son döneminde her iki hücre tipinde de boyanmanın oldukça azaldığını tespit etmişlerdir.

Das ve ark. (171)'nin yüzey ve bez epiteli için, Brown ve Lamartiniere (170)'nin yüzey epiteli için bildirdiklerinin aksine ve diğer çalışmalarla (45, 169, 172, 174, 175, 177) uyumlu olarak bu çalışmada ErbB1'in yüzey ve bez epitel hücrelerinde, stromal ve düz kas hücrelerinde değişik yoğunluklarda bulunduğu tespit edilmiştir. Farklı türler arasında özellikle de kemirgenlerin (170, 171) epitel hücrelerinde reaksiyonun gözlenmemesi ErbB1'in lokalizasyonundaki spesifik ilgisi ile açıklanabilir. Boomsma ve ark. (45)'nin çalışmasında olduğu gibi özellikle yüzey epitel hücrelerindeki boyanmanın gebeliğin son dönemine gidildikçe artış gösterdiği, istatistiksel olarak da bu artışa dair farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Buna karşın stromal hücre ve düz kas hücrelerinde gebeliğin orta ve son döneminde boyanmanın azaldığı ve gebeliğin ilk dönemi ile diğer dönemler arasındaki farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu gözlemlendi. Bu sonuçla ErbB1'in epitel hücre çoğalmasında fonksiyonel bir rol üstlendiği söylenebilir. Buna ek olarak stromadaki bazı hücrelerin de bu faktörlerle boyanmış olması, ErbB1'in otokrin ve/veya parakrin

olarak uterustaki diğer hücre elemanları ile etkileşimde olduğunu düşündürmektedir. Myometriumda ise boyanma azlığı bu faktörün düz kas hücreleri üzerinde direkt etkisinin azalmasına bağlı olabilir.

Memelilerde plasenta, fötüs ve anne arasında besin ve gaz alışverişini sağlayan bağımsız ve geçici bir organ olup (181) plasental büyüme, endokrin faktörler ve/veya lokal büyüme faktörleri tarafından düzenlenir (179). Diğer çalışmalara (45, 177-179) paralel olarak sunulan çalışmada, ErbB1'in trofoblast hücrelerinde farklı yoğunluklarda bulunduğu belirlendi. Aynı zamanda her iki trofoblast hücre tipinde de özellikle gebeliğin ilk döneminden sonra boyanma yoğunluğunun azaldığı ve gebeliğin ilk dönemi ile diğer dönemler arasındaki farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Bunun yanında plasentanın maternal kısmında gebeliğin ilk dönemi boyunca epitel hücrelerinde görülen immunoreaktivitenin gebeliğin orta ve son dönemine doğru gidildikçe azaldığı izlendi. İstatistiki olarak da gebeliğin tüm dönemleri arasındaki farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Boyanma yoğunluğunun gebeliğin ilk döneminde daha yüksek olması ErbB1'in, inek trofoblast hücrelerinde çoğalmanın düzenlenmesinde otokrin/parakrin rol oynadığını düşündürmektedir. Aynı zamanda gebeliğin orta ve son dönemine doğru trofoblast hücrelerinde ErbB1 immun boyanma azlığı, ErbB1'in sekestrasyonu veya lokal sentezindeki yetersizliğe bağlı olabilir.

ErbB2 reseptörü birçok epitelde mevcuttur. ErbB2 ile hem meme bezi hem de uterus, gelişimsel olarak düzenlenir. ErbB2 geninin ekspresyonu, fare (128) uterusunun epitelinde izlenmiş ve gebeliğin seyri sırasında boyanma yoğunluğunun değiştiği gösterilmiştir. Aynı zamanda ErbB2'nin epiteldeki konumundan bahsedilmiş olup ErbB2'nin özellikle epitel hücrelerinde hem apikal hem de bazolateral yüzeyde var olabileceğine değinilmektedir (128). Sunulan çalışmada ErbB2 reseptörü için, plasentanın fötal kısmında bulunan tek çekirdekli trofoblast hücrelerindeki bazolateral tutulumun, reseptör lokalizasyonu ve hücrenin davranışı ile ilgili olabileceği düşünülebilir.

Peri-implantasyon dönemde fare (182) uterusundaki hücre çoğalmasında ErbB2 mRNA'nın gösterimi yapılmıştır. ErbB2 gösteriminin yüzey ve bez epiteli ile sınırlı olduğu ve feto-maternal kısımda 7. ve 8. günlerde embriyonun trofoblast dev (giant) hücrelerinde ErbB2 mRNA birikiminin görüldüğü vurgulanmıştır.

Farede (183) yapılan başka bir çalışmada da ErbB2 reseptörünün, peri-implantasyon safhasında uterus ve embriyoda gösterimi yapılmıştır. Bu faktörün uterus epitelinde belirgin olarak gözlemlendiği ancak farede (182) yapılan diğer çalışmanın aksine reaktivitenin stromada minimal düzeyde izlendiği belirtilmiştir.

Tavşanda (177) implantasyon döneminde ErbB reseptörlerinin, trofoblast hücrelerinde farklı gösterimi yapılmıştır. Gebeliğin 7. ve 8. günlerinde hem sitotrofoblastlarda hem de sinsityotrofoblastlarda immunoreaktivite izlenmezken gebeliğin 9. gününden sonraki günlerde ErbB2 reseptörü için sadece zayıf immunoreaktivite saptanmıştır. Gebeliğin 12. gününde desidua hücrelerinde ErbB2 gösterimi yapılmıştır. Bununla beraber gebe olmayan, yalancı gebe ve gebeliğin 6. günündeki tavşanlarda ErbB2 immunoreaktif proteini hem yüzey hem de bez epitelinde gözlenmiştir.

Ejskjaer ve ark. (172), insanda siklusun salgı fazında yüzey ve bez epitel hücrelerinin ErbB2 ile güçlü reaksiyon gösterdiğini ve bez epitel hücrelerinin yüzey epitel hücrelerine oranla daha yoğun boyandığını tespit etmişlerdir. Aynı şekilde insanda (184) yapılan başka bir çalışmada, menstrüel siklusun proliferatif fazı sırasında bez epitel hücrelerinin ErbB2 reseptörü ile pozitif reaksiyon verdiği, stromal ve düz kas hücrelerinde ise reaksiyonun negatif olduğu bildirilmiştir.

Kedilerde (185) diöstrus boyunca yüzey ve bez epitel hücrelerinin ErbB2 ile olumlu immunoreaktivite ürettiği, aksine stromal ve düz kas hücrelerinde ErbB2 immunoreaktivitesine rastlanmadığı bildirilmiştir.

Fareler (182) üzerinde yapılan çalışmaya paralel olarak bu çalışmada da yüzey ve bez epitel hücrelerinde reaksiyon görülmüş ancak farelerdekinin aksine stromal hücrelerde de farklı yoğunluklarda boyanma gözlenmiştir. Yine fare (183) uterusunda yapılan diğer bir çalışmada stromada zayıf da olsa reaktiviteye rastlanmıştır. Bazı çalışmaların (184, 185) aksine sunulan çalışmada düz kas hücrelerinde de immunoreaktivite gözlemlendi. Epitel hücreleri ve stromal hücreler için gebeliğin her üç dönemi arasında istatistiki açıdan bir fark bulunmazken düz kas hücrelerinde gebeliğin sadece ilk dönemi ve orta dönemi arasında istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) farklılık saptandı. Ayrıca kan damarlarının endotel hücrelerinde de immunoreaktivite belirlendi. Elde edilen bulgular, ErbB2'nin gebelik dönemi boyunca epitelde hücre çoğalması ve farklılaşmasını uyardığını, benzer şekilde

reaksiyonun kan damarlarının endotellerinde de izlenmesi ErbB2'nin endotel hücre çoğalmasında rol oynadığını düşündürmektedir.

Tavşan (177) ve fare (182) üzerinde yapılan çalışmalarla uyumlu olarak sunulan çalışmada trofoblast dev hücrelerinde reaksiyon gözlemlendi. Aynı zamanda trofoblast hücreleri için gebeliğin ilk, orta ve son dönemleri arasında istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) farklılık saptandı. Koryon villuslarının stromal hücrelerinde de immunoreaktivite görülmekle beraber bu hücreler için gebeliğin sadece ilk ve orta dönemi arasında istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) farklılık tespit edildi. Maternal kısımdaki epitel hücrelerinde ve maternal stromal hücrelerde de reaksiyonun varlığı görüldü ve maternal stromal hücrelerde istatistiksel olarak gebeliğin orta ve son dönemi arasında farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Bu sonuçla ErbB2'nin fetal stromal hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasında fonksiyonel bir rol oynadığı düşünülebilir.

İnek ve geyik plasentasında üç çekirdekli föto-maternal hibrid hücrelerinin oluşumu gebeliğin büyük çoğunluğunda görülen standart bir durumdur (80). Bu çalışmada da üç çekirdekli föto-maternal hibrid hücresi tespit edilmiş, ayrıca hücre membranında zayıfta olsa immunoreaktiviteye rastlanmıştır. Hücrenin tam olarak fonksiyonel mekanizması bilinmemekle beraber ErbB2'nin hücrenin fonksiyonel mekanizması üzerinde etkili olabileceği söylenebilir.

Srinivasan ve ark. (186) insan endometriumunda menstrüel siklusun hem proliferatif hem de salgı fazı boyunca bez epitel hücrelerinde ve stromal hücrelerde zayıf bir boyanma bildirmişlerdir. Bunun yanında menstrüel siklusun iki fazı arasında önem arz eden bir farklılığın olduğunu, özellikle bez epitel hücrelerinin salgı fazında daha güçlü boyandığını gözlemişlerdir. Diğer bir çalışmada Ejksjaer ve ark. (172), insan uterusunda siklusun özellikle salgı fazında yüzey epitel hücrelerinin apikal bölgelerinde zayıf ErbB3 lokalizasyonunu belirlemişlerdir.

Farede (183) ErbB3 reseptörü, uterus epitelinde belirgin olarak gözlenmiştir. Ayrıca stromal hücrelerin desidüal hücrelere dönüşümünde gebeliğin 6. ve 7. günlerinde izlenen ErbB3 mRNA'nın rolü olabileceğine işaret edilmiştir.

Tavşanda (177) implantasyon döneminde ErbB3 reseptörünün hem sitotrofoblastlarda hem de sinsityotrofoblastlarda gösterimi yapılmıştır. Gebe olmayan, yalancı gebe ve gebeliğin 6. günündeki tavşanlarda ErbB1 ve ErbB2'de

olduğu gibi ErbB3 immunoreaktif proteini hem yüzey hem de bez epitelinde gözlenmiştir. Söz konusu durum göz önüne alındığında bu reseptörlerin epitel fizyolojisinde fonksiyonel bir rolünün olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada da tavşan (177), fare (183) ve insanda (186) belirtildiği gibi ErbB3 reseptörü için endometrium epitel hücreleri ve bez epitel hücrelerinde tutulum gözlenirken Ejksjaer ve ark. (172)'nin bildirdiğinin aksine reaktivitenin membrandan ziyade daha çok sitoplazmada şekillendiği belirlendi. Gebeliğin tüm dönemleri incelendiğinde, istatistiki olarak yüzey epitel hücreleri için farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu ve gebeliğin ilk döneminden son dönemine gidildikçe boyanmanın arttığı dikkati çekerken, bez epitel hücreleri için gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru gidildikçe boyanmanın azaldığı ve bunun da istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Bu veriler ışığında ErbB3'ün endometrial olgunlaşmada ve farklılaşmada önemli rol oynayabileceğini, bezlerdeki boyanma azlığının ise bez tarafından reseptör kullanımındaki azalmadan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Srinivasan ve ark. (186)'nin belirttiği gibi bizim çalışmamızda da stromal hücrelerde boyanma görülmüştür. Bunun yanında düz kas hücrelerinde ortadan güçlüye doğru bir boyanmanın olduğu görüldü ancak istatistiki açıdan gebeliğin tüm dönemleri arasında önemli bir farklılık gözlenmedi. Ayrıca damar endotelinde de immunoreaktivite izlenmesi ErbB3'ün, ErbB2'de olduğu gibi endotel hücre çoğalmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Plasenta fötalis'in koryon villuslarındaki trofoblast hücrelerinde Klonisch ve ark. (177)'nin bildirdiği gibi farklı düzeylerde immunoreaktiviteye rastlandı. Ayrıca fetal stromal hücrelerde ve damar endotelinde de reaktivite belirlendi. Tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde, çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde ve stromal hücrelerde gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru boyanmanın azaldığı ve bu durumun da istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Plasenta maternalis'in epitel ve stromal hücrelerinde orta düzeyde bir boyanma saptanırken epitel hücrelerinde gebeliğin özellikle son döneminde boyanmanın azaldığı, stromal hücrelerde ise boyanmanın gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru azaldığı belirlendi ve bunun da istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Elde edilen bulgular, ErbB3'ün trofoblast hücrelerinde çoğalma ve farklılaşmanın düzenlenmesinde otokrin/parakrin rol oynadığını düşündürmektedir.

Srinivasan ve ark. (139) insan endometriumunda ErbB4 reseptörünün varlığını incelemişler, yüzey epitel hücrelerinin orta düzeyde immunoreaktiviteye sahip olduğunu gözlemişlerdir. Erken proliferatif fazda uterus bezlerindeki reaktivite çok zayıf veya negatifken geç proliferatif faza doğru reaktivite görülmeye başlamış ve salgı fazında güçlü immunoreaktiviteye rastlanmıştır. Endometrial stromada ise siklus boyunca orta düzeyde bir boyanma izlenmiştir. Aynı şekilde insanda (172) yapılan diğer bir çalışmada salgı fazının başında ve sonunda yüzey ve bez epitel hücrelerinin bazı kısımlarında ErbB4 immunoreaktivitesi sitoplazmik olarak belirlenmiştir. Chobotava ve ark. (187) ise menstrüel siklus boyunca özellikle salgı fazında, bez epitel hücrelerinin yüzey epitel hücrelerine kıyasla ErbB4 ile daha güçlü bir tepki verdiğini, ancak ErbB4'ün de bez epitel hücrelerine kıyasla stromal hücreler ile güçlü reaksiyon oluşturduğunu saptamışlardır.

Fare (183) uterusunda ErbB4 reseptörünün submyometrial ve myometrial bağ dokuda gösterimi yapılmıştır. Daha önce de bahsedildiği gibi diğer ErbB reseptörlerinin farklı bölgelerde gösterimleri ile ilgili olarak olası dimerizasyon tertiplenmesi varsayılmıştır.

İnsanda (179) gebelik boyunca plasental dokularda ErbB4 mRNA düzeyinin gebeliğin orta ve son dönemine oranla ilk döneminde düşük çıktığı, gebeliğin orta ve son dönemi arasında da önemli bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. ErbB4'ün gebeliğin çok erken döneminden orta dönemine kadar sinsityotrofoblast hücrelerinde immun lokalizasyonu izlenmiş ve erken dönemde boyanmanın orta döneme oranla daha yoğun olduğu bildirilmiştir. Son dönemde ise hem sitotrofoblast hem de sinsityotrofoblast hücrelerinde ErbB4 immunoreaktivitesine rastlanılmamıştır.

Yapılan diğer çalışmalarda (139, 172) belirtildiği gibi bu çalışmada da yüzey ve bez epitel hücrelerinde immunoreaktivite gözlemlendi ve reaktivitenin daha çok sitoplazmik olduğu izlendi. Chobotava ve ark. (187)'nin bildirdiklerinin aksine Srinivasan ve ark. (139) ile Lim ve ark. (183)'nin bulgularıyla uyumlu olarak stromal hücrelerde de orta düzeyde reaksiyon gözlemlendi. ErbB4 reseptörü için, yüzey epitel hücrelerinde gebeliğin her üç döneminde istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) bir farklılık izlenirken en yüksek boyanma gebeliğin son döneminde gözlemlendi. Stromal hücreler için de boyanmanın gebeliğin ikinci döneminden itibaren önemli ($p<0,05$) oranda artış gösterdiği belirlendi. Bunların aksine istatistiki açıdan bez epitel

hücreleri ve düz kas hücrelerinde dönemler arasında herhangi bir farklılık tespit edilmedi. Elde edilen bulgulara göre, ErbB4'ün gebelik süresince endometrial fonksiyonlara katkı sağlayabileceği aynı zamanda ErbB3 ile benzer bulgular göstermesi sebebiyle de her iki reseptörün sinerjik olarak çalıştığı söylenebilir.

Tanimura ve ark. (179)'nın bildirdiği gibi bu çalışmada da trofoblast hücrelerinde ErbB4 immun reaksiyonu gözlenmiş ancak yazarların belirttiğinin aksine reaksiyon gebelik boyunca azalarak devam etmiştir. Sunulan çalışmada tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru; fetal stromal hücrelerde ise gebeliğin ikinci döneminden sonra boyanmanın azaldığı ve istatistiki açıdan farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Maternal epitel ve stromal hücrelerin de orta düzeyde boyandığı ve gebeliğin son döneminde boyanmanın azaldığı gözlemlendi. Elde edilen bulgular, hem trofoblast hücrelerinin hem de fetal stromal hücrelerin çoğalmasında ErbB4'ün fonksiyonel bir rolünün olduğunu düşündürmektedir.

Epidermal büyüme faktörü epitel hücreleri, fibroblastlar ve çeşitli hücre tipleri tarafından üretilir (98, 188). Bu bağlamda farede (189) in vitro ve insanlarda (190) in vivo deneysel çalışmalarında EGF'nin uterus epitel hücrelerine bağlandığı ve çoğalmayı arttırdığı bilinmesine rağmen EGF ailesinde epitel çoğalmasını sağlayan mekanizma yeterince açık değildir.

Ovariyektomi uygulanmış kedilerin (45) uterusunda EGF'nin varlığı incelenmiş ve endometrium epiteli, uterus bezleri ve stromada boyanma gözlenmiştir. Buna karşın 7-14 günlük östrojen tedavisi gören kedilerde epitel ve bez için boyanmada devamlılık gözlenirken stromada EGF immunoreaktivitesi saptanamamıştır. Bu durum epitel ve stroma etkileşimlerine aracılık edebilecek EGF'nin östrojen tarafından baskılandığını akla getirmektedir.

Gebe kedilerde (45) gebelik süresinin 3 döneme ayrıldığı düşünüldüğünde; gebeliğin 10-18 günlük ilk döneminde ve 24 günlük orta döneminde incelenen hayvanlarda yüzey ve bez epitel hücrelerinde EGF'nin boyanma yoğunluğu artarken stromada azalmıştır. Ancak bu boyanma özelliğinin 42-63 günlük son dönemde yüzey epitel hücreleri ve stroma lehine arttığı, bez epitel hücrelerinde ise azaldığı belirlenmiştir. Plasentada ise gebeliğin ilk döneminin sonuna doğru (16. gün) koryon villuslarının trofoblast (sinsityotrofoblast) hücrelerinde boyanma gözlenirken kedi

dev hücrelerinde boyanmanın olmadığı, ancak gebeliğin orta döneminde dev hücrelerinin boyandığı saptanmıştır. Gebeliğin son döneminde ise trofoblast hücrelerinde immun reaksiyonun şekillenmediği belirlenmiştir.

Sıçan (47) uterusunda yapılan bir çalışmada EGF mRNA'nın gebeliğin ilk döneminde (0-7. gün) yüksek olduğu, gebeliğin kalan günlerinde ise EGF'nin bulunmadığı ya da yok denecek kadar az olduğu belirtilmektedir. Başka bir çalışmada (170), kontrol grubundaki sıçanların uterusunda EGF için; yüzey ve bez epitel hücrelerinin orta düzeyde boyandığı, stromal hücrelerin boyanmadığı, içte bulunan sirküler kas hücrelerinin orta düzeyde boyanırken dışta bulunan longitudinal kas hücrelerinin zayıf boyandığı bildirilmiştir.

Yue ve ark. (44) maymun endometriumunda EGF'nin hem menstrüel siklus hem de erken gebelik süresince özellikle yüzey ve bez epitel hücrelerinde lokalize olduğunu gözlemişlerdir. Menstrüel siklusa boyanma yoğunluğu ilk günlerde zayıfken 9. günden itibaren artmaya başlamış, 16-25. günlerde en yüksek seviyesine ulaşmıştır. Erken gebelik sürecinde ise 11. güne kadar artan düzeyde boyanma gözlenmiştir. Hem menstrüel siklus hem de erken gebelik süresince stromada EGF immunoreaktivitesine rastlanmamışken myometriumdaki düz kas hücrelerinde zayıf immunoreaktivite gözlenmiştir.

Möller ve ark. (173) menstrüel siklus boyunca insan endometriumunda EGF'nin özellikle yüzey, bez epitel hücreleri ve stromal hücrelerde gösteriminin yapıldığını; proliferatif fazın ortasında bez epitel hücrelerinde güçlü bir boyanma olduğunu, menstrüel faz ve salgı fazında ise boyanmanın yok denecek kadar az olduğunu bildirmişlerdir.

Diğer bir çalışmada insanda (191) EGF immunoreaktivitesi, menstrüel siklusa, gebelik desiduasında ve gebelik süresince trofoblast hücrelerinde izlenmiştir. Proliferatif endometriumda orta şiddette EGF immun boyanması; baskın olarak stromal hücrelerde ve minimal düzeyde de yüzey epitel hücrelerinde gözlenmiştir. Salgı döneminde ise yine baskın olarak stromal hücrelerde özellikle de spiral arteriollerin çevresinde yoğun EGF immun boyanması izlenirken yüzey epitelinde boyanma çok az düzeyde tespit edilmiştir. Plasentada EGF immunoreaktivitesi hem sinsityotrofoblast hem de sitotrofoblast hücrelerinde tespit edilmiş, gebeliğin ilk döneminde sitotrofoblast hücrelerinde EGF immun boyanması

zayıftan orta düzeye doğru gözlenirken sinsityotrofoblast hücrelerinde güçlü olarak izlenmiştir. Her iki hücre tipinin boyanma yoğunlukları gebeliğin orta ve son döneminde azalmıştır. Bunun yanında gebeliğin ilk döneminde villöz stromada zayıf EGF immunoreaktivitesi gözlenirken gebeliğin orta ve son döneminde bu yoğunluk artmıştır. Yine insanda yapılan bir çalışmada (179) EGF'nin villöz trofoblastlarda sitolojik lokalizasyonu belirlenmiştir. EGF, otokrin lokal faktör olarak ilk trimestırda gebelik yaşına bağlı olarak çift etki göstermiştir. 30-37 günlük plasentada trofoblast çoğalmasını, 45-90 günlük plasentada ise diferansiye trofoblast fonksiyonunu stimüle ettiği gözlenmiştir. Bu bulgular ışığında plasental büyümede EGF'nin hayati bir rol oynadığına işaret edilmiştir.

Flores ve ark. (162) keçi uterusunda EGF'nin gebeliğin 22-30. günlerinde yüzey ve bez epitel hücrelerinin apikal bölgesinde tespit edildiğini, aksine trofoblast hücrelerinde ve diğer embriyonik yapılarda bulunmadığını, ayrıca bez epitel hücrelerinin yüzey epitel hücrelerinden daha az yoğunlukta boyandığını saptamışlardır. Yine Johnson ve Chatterjee (192) sıçanlarda gebeliğin 4-6. günlerinde yüzey epiteli hücrelerinde EGF'nin varlığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Shiraga ve ark. (193) EGF'yi hem immatür hem de yetişkin farelerin yüzey ve bez epitel hücrelerinde immunohistokimyasal olarak saptamışlardır. Hem gebe hem de gebe olmayan domuzların (194) uterusunda bez epitel hücrelerinde EGF immunoreaktivitesine rastlanırken koyunlarda (195) gebeliğin 15-30. günleri arasında EGF'nin ne uterus ne de konseptusta bulunmadığı ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada EGF, gebeliğin her üç döneminde de yüzey ve bez epitel hücreleri, stromal hücreler ve düz kas hücrelerinde sitoplazmik olarak gösterildi. Gharib-Hamrouche ve ark. (195)'nin belirttiğinin aksine yüzey ve bez epitel hücrelerinde bazı çalışmalarda (44, 45, 162, 179, 192-194) olduğu gibi reaksiyon gözlemlendi. Sunulan çalışmada Brown ve Lamartiniere (170) ile Yue ve ark. (44)'nin bildirdiklerinin aksine stromal hücrelerde ve uyumlu olarak düz kas hücrelerinde immunoreaktivite izlendi. Gebelik dönemleri birbirleriyle karşılaştırıldığında yüzey epitel hücreleri için gebeliğin orta döneminden sonra boyanmada artış olmadığı, bez epitel hücrelerinde ise aksine gebeliğin tüm dönemleri arasında boyanmada meydana gelen farklılığın istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu ve bunun yanı sıra orta dönemde dikkate değer boyanma artışı olduğu tespit edildi. Gebeliğin orta

döneminde boyanma yoğunluğunun artması muhtemelen gelişen konseptusta artan talebe cevap olması nedeniyle endometrium bezlerinde aşırı faaliyetin bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Stromal ve düz kas hücrelerinde ise boyanmada gebeliğin orta döneminden sonra istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) derecede artış saptandı.

EGF immun boyanmasının özellikle gebeliğin ilk döneminde bazı bez epitel hücrelerinin bazal sitoplazmasında gözlenmesi; yoğun salgı aktivitesinin olduğunu, endometriumdaki epitel hücreleri için mitojen etki gösterdiğini ve gelişen konseptus için uygun çevre koşullarının hazırlanmasında rolü olabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda stromal hücrelerde reaksiyonun gözlenmesi EGF'nin parakrin/otokrin mekanizmalarla epitel ve stroma etkileşimlerine aracılık edebileceği şeklinde yorumlanabilir. Gardner ve ark. (196), EGF'nin uterus kontraksiyonlarını stimüle ettiğini rapor etmiş, yazarın başka bir çalışmasında da (197) östrojen verilen, ovariyektomili sıçanlardan elde edilen izole myometriumdaki EGF'nin kasılmaları uyardığı bildirilmiştir. Sunulan çalışmada myometriumdaki boyanmanın özellikle de gebeliğin orta ve son döneminde yoğun olması, EGF'nin myometriumdaki gelişime güçlü katkı sağladığını düşündürmektedir.

Sunulan çalışmada keçi (162) ve koyunda (195) bildirilenin aksine insanlardaki (191) gibi plasenta fötalinin koryon villuslarındaki trofoblast ve stromal hücrelerde orta düzeyde immunoreaktivite olduğu belirlendi. Boomsma ve ark. (45)'nin bildirdiklerinin aksine Hoffmann ve ark. (191)'nin bulgularıyla uyumlu olarak gebeliğin son döneminde yoğunluğu az da olsa trofoblast ve stromal hücrelerde boyanmanın var olduğu, hatta gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru boyanma yoğunluğunun azaldığı ve bunun da istatistiki açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu dikkat çekti. Hoffmann ve ark. (191)'nin belirttiğinin aksine çalışmada trofoblast hücrelerinde olduğu gibi fetal stromal hücrelerde de gebeliğin ilk döneminden sonra boyanmanın azalarak devam ettiği belirlendi. Plasenta maternalisin epitel hücrelerinde de orta düzeyde bir boyanma olduğu ve boyanmanın gebeliğin ilk döneminden sonra istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) derecede azaldığı saptandı. Hem tek çekirdekli trofoblast hücresinde hem de çift çekirdekli trofoblast dev hücresinde reaksiyonun gözlenmesi, EGF'nin muhtemelen bu hücrelerden salgılandığını ve hücre çoğalmasını arttırdığını, gebeliğin sonuna doğru özellikle çift çekirdekli trofoblast dev hücre boyanmasında azalma olması yine EGF'nin tek

çekirdekli trofoblast hücreleri için mitojenik faktör olabileceğini, aynı zamanda EGF'nin fõtal stromal hücrelerin çoğalmasında da fonksiyonel bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

ErbB2, ErbB3 ve ErbB4, tirozin kinaz reseptörlerinden EGF reseptörü alt sınıfının üyeleridir. Bu reseptörler, ligandın bağlandığı geniş glikozillenmiş ekstraselüler bölge, hidrofobik transmembran bölge ve tirozin kinaz aktivitesi gösteren sitoplazmik bölgeye sahip olduğu için ortak bir moleküler yapı gösterir. Yapısal ve işlevsel benzerlik olmasına rağmen, bu reseptörlerin her biri özel bağlanma aktivitesine sahiptir. Ligandları olan nörogulinler, ErbB reseptörleri ile homodimer veya heterodimerler oluşturarak birçok hücresel aktiviteyi düzenler. Böylece tirozin kinaz aktive edilerek intraselüler sinyal yolları uyarılmış olur (198).

Srinivasan ve ark. (186) insan endometriumunda hem bezlerin hem de stromanın NRG1 ile reaksiyon verdiğini gözlemişlerdir. Bu çalışmada da NRG1 immunoreaktivitesi, yüzey ve bez epitel hücrelerinde, stromal ve düz kas hücrelerinde sitoplazmik olarak belirlendi. Ayrıca kan damarlarının endotelinde de boyanmanın pozitif olduğu görülmekteydi. Bez epitel hücrelerinde gebeliğin orta ve son dönemlerinde boyanma yoğunluğunun istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) derecede arttığı, stromal hücrelerde ise gebeliğin ilk döneminden son dönemine doğru boyanmanın giderek azaldığı ve gebeliğin tüm dönemleri arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Bu veriler, NRG1'in uterus epitel hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde etkili olabileceğini akla getirmektedir.

Uteroplasental dokudan alınan kesitlerde fõtal kısımda bulunan koryon villuslarındaki tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde ve çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde immunoreaktivitenin orta, villusların stromal hücrelerinde ise zayıftan ortaya doğru değiştiği izlendi. Aynı şekilde dönemler arasında istatistiksel verilere bakıldığında tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde ve çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde gebeliğin orta ve son dönemi arasındaki farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu ve gebeliğin son döneminde boyanmanın azaldığı tespit edildi. Maternal kısımda bulunan epitelde ortadan güçlüye doğru bir tutulum olduğu ve gebeliğin son döneminde boyanmanın önemli ($p<0,05$) oranda azaldığı izlendi. NRG1'in hem maternal hem de fõtal kısımda gözlenmesi, plasental büyümeden de sorumlu

olabileceğini ve lokal büyüme faktörü olarak fonksiyonu stimüle edebileceğini düşündürmektedir.

AREG, EGF ailesi üyelerinin aminoasit homologudur ve büyümeyi düzenleyen önemli bir glikoproteindir. Etkisini EGF reseptörü ile gösterir. İnsan (199) plasentasının gebelik süresince immunohistokimyasal olarak incelenmesi sonucu; gebeliğin 83., 106. ve 136. günlerinde AREG'in sinsityotrofoblast hücrelerinde hem sitoplazma hem de çekirdekte immun reaksiyon gösterdiği, sitotrofoblast hücrelerinde ise boyanma görülmediği ancak çok az hücrede çekirdek boyanmasına rastlanıldığı bildirilmiştir. AREG'in gebeliğin ilk ve son döneminde sadece sinsityotrofoblast hücrelerinin sitoplazmasında gözlemlendiği vurgulanmıştır (180). Bunun yanında Ejksjaer ve ark. (172) menstrüel siklus boyunca insan endometriumunda AREG'in yüzey ve bez epitel hücrelerinde tespit edilemediğini fakat stromadaki bazı hücrelerde saptandığını rapor etmişlerdir.

Yue ve ark. (44) menstrüel siklus ve erken gebelik boyunca maymun endometriumunda AREG'in varlığını araştırmışlardır. Menstrüel siklus süresince özellikle yüzey ve bez epitel hücrelerinde ve myometriumdaki düz kas hücrelerinde lokalize olan AREG'in boyanma yoğunluğu 1-6. günlerde zayıfken 9. günden itibaren artmaya başlamış, 16-20. günlerde yüksek seviyeye ulaşmış ve 25. günde belirgin şekilde azalmıştır. Myometriuma yakın yerleşimli bezlerdeki hücrelerin, yüzey epiteline yakın yerleşimli olanlardan daha güçlü boyandığı görülmüştür. Menstrüel siklusun geç salgı fazı boyunca stromal hücrelerde zayıf boyanma gözlenirken myometriumdaki düz kas hücrelerinde menstrüel siklus boyunca zayıf immunoreaktivite izlenmiştir. Erken gebelik süresince hem yüzey hem de bez epitel hücrelerinde boyanma yoğunluğu 1. ve 2. günlerde zayıfken 3. günden itibaren artmaya başlamış, 9. günde yüksek seviyeye ulaşmış ve 11. günde ise tekrar azalmıştır. Stromada AREG immunoreaktivitesine rastlanmamışken erken gebelik boyunca myometriumdaki düz kas hücrelerinde zayıf immunoreaktivite gözlenmiştir.

Sıçan (47) uterusunda AREG mRNA'nın özellikle gebeliğin ilk (4. gün) ve orta döneminde (11-12. gün) yüksek düzeyde olduğu gebeliğin son döneminde ise AREG'in tespit edilemediği rapor edilmiştir. Aynı zamanda progesteronun da gebeliğin orta döneminde (8-14. gün) yüksek seviyede bulunması AREG'in sıçanlarda özellikle progesteron ile düzenlendiğini düşündürmüştür.

Farede (39) AREG mRNA düzeyi gebeliğin 4. gününde pik yapmıştır. Aynı zamanda ovariyektomili fare uterusunda AREG mRNA gösteriminin, sadece progesteron takviyesi ile indüklendiği belirlenmiştir.

Domuzda (163) AREG proteini yüzey epitel hücrelerinde güçlü immunoreaktivite gösterirken bez epitel hücrelerinde de gösterimi yapılmıştır.

Bu çalışmada insanda (172) bildirilenin aksine maymun (44) ve domuzda (163) belirtildiği gibi AREG immun boyamasında, yüzey ve bez epitel hücrelerinde tutulum gözlemlendi. Bunun yanında Yue ve ark. (44)'nın bulgularıyla paralel olarak sunulan çalışmada gebelik süresince düz kas hücrelerinde çekirdek ve sitoplazma düzeyinde tutulumun olduğu, Yue ve ark. (44)'nın bildirdiğinin aksine stromal hücrelerde de immun reaksiyonun olduğu saptandı. Kan damarlarının endotel hücrelerinde de reaktivite olduğu izlendi. Bez epitel hücrelerinde gebeliğin ilk döneminden orta dönemine doğru boyanmanın az da olsa artış yaptığı ve istatistiksel olarak farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu tespit edilirken, stromal hücrelerde ve düz kas hücrelerinde boyanmanın gebeliğin son döneminde azaldığı ve bu durumun da istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Elde edilen bulgular, AREG'in uterusda büyüme ve endometrial hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasında fonksiyonel bir rol oynadığını düşündürmektedir.

AREG proteini, epitel hücrelerinin daha çok sitoplazma ve çekirdeğinde lokalize olmasına rağmen çekirdek üzerindeki etkisi tam olarak aydınlatılamamıştır (199). Sunulan çalışmada yüzey epitel hücrelerinde özellikle gebeliğin son döneminde, diğer dönemlerde görülen çekirdek tutulumunun gözlenmediği dikkat çekti. Çekirdekte boyanmanın olmaması çekirdek-sitoplazma etkileşiminin sadece sitoplazmaya yansıdığının bir belirtisi olabileceğini, hücrenin artık bu dönemde bölünme ve büyüme faaliyetlerini durdurmuş olabileceğini düşündürmektedir.

Bazı çalışmaların (180, 199) aksine bu çalışmada plasentanın fetal kısmında bulunan koryon villuslarındaki tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde, çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde ve villusların stromal hücrelerinde immunoreaktivite izlendi. Gebeliğin son döneminde tek çekirdekli trofoblast hücrelerinde ve çift çekirdekli trofoblast dev hücrelerinde boyanmanın azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğu saptandı. Plasentanın maternal kısmındaki epitel hücrelerinde tutulumun ortadan güçlüye doğru değiştiği görüldü. Gebeliğin

özellikle son döneminde epitel hücrelerinde boyanmanın azaldığı ve istatistiksel olarak farklılığın önemli ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Elde edilen bulgular ışığında muhtemelen trofoblast kaynaklı AREG'in, gebelik süresince tek çekirdekli trofoblast hücreleri için parakrin/otokrin büyüme tetikleyici faktör olabileceği aynı zamanda fetal stromal hücrelerde metabolik aktiviteyi desteklediği ileri sürülebilir.

3.6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Gebelik süresince inek uterusunda ErbB reseptörleri ile EGF, AREG ve NRG1 ligandlarının farklı yoğunluklarda ancak belirgin olarak yüzey ve bez epitel hücrelerinde lokalize olduğu gözlemlendi. Sonuçlar incelendiğinde, EGF ailesi üyelerinin hem yüzey hem de bez epitel hücrelerinden salgılandığı ve bu hücrelerin faaliyetlerini de otokrin/parakrin mekanizma ile etkilediği düşünüldü. Bundan dolayı EGF ailesi üyelerinin epitel fizyolojisinde fonksiyonel bir rol oynayabileceği sonucuna varıldı. Buna ek olarak stromadaki bazı hücrelerin bu faktörler ile pozitif boyanmış olması, EGF ve reseptörlerinin otokrin ve/veya parakrin yolla uterustaki diğer hücre elemanları ile etkileşimde olabileceğini akla getirdi. ErbB1 ve ErbB2 reseptörlerinin dağılımındaki dönemsel farklılığın, endometriumdaki fonksiyonel değişikliklerinin düzenlenmesi ile yakın ilişkili olduğu, aynı zamanda NRG1 gibi ligandlar yoluyla aktive olan ErbB3 ve ErbB4 reseptörlerinin de sinerjik etkiyle bu fonksiyonel duruma katkıda bulundukları varsayıldı. EGF'nin endometriumdaki epitel hücreleri için mitojen olduğu kadar gelişen konseptus için de uygun çevrenin hazırlanmasında rolünün olabileceğini, AREG'in gebelik süresince tek çekirdekli trofoblast hücreleri için parakrin/otokrin büyüme tetikleyici faktör olabileceğini, NRG1'in de hem maternal hem de fetal kısımda gözlenmesinin plasental büyümeden sorumlu olabileceğini ve lokal büyüme faktörü olarak fonksiyonu stimüle edebileceğini düşündürdü. Ayrıca feto-maternal kısımda immunoreaktivitenin gözlenmesi, EGF reseptör-ligand bağlantısında fonksiyonel ilişkinin yorumlanabilmesini sağladı. İncelenen bu faktörlerin, uterusta gebelik süresince sadece hücrelerde çoğalma ve farklılaşmayı sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda plasenta yoluyla embriyo-uterus arasındaki hücresel iletişimde önemli bir rol oynayabileceği düşünüldü.

EGF ve diğer ligandların gebeliğin sürdürülmesinde kritik fonksiyonlara sahip olması sebebiyle gebeliğin takibinde fizyolojik çalışmalara da fayda sağlayabilir. Aynı zamanda gebelikte patolojik süreçlerin tespitinde ve plasenta ile fütusa ait problemlerin önlenmesinde yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasına katkı sunabileceği kanaatindeyiz.

4. KAYNAKLAR

1. Hassa, O, Aştı RN.: Embriyoloji, Ankara, 1997 Yorum Basın Yayın Ltd.Şti., 6-26.
2. Gray CA, Taylor KM, Ramsey WS, et al. Endometrial glands are required for preimplantation conceptus elongation and survival. *Biol Reprod* 2001; 64: 1608-1613.
3. Wooding FB. Role of binucleate cells in fetomaternal cell fusion at implantation in the sheep. *Am J Anat* 1984; 170: 233-250.
4. Wooding FB. Current Topic: The synepitheliochorial placenta of ruminants: Binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta* 1992; 13: 101-113.
5. Sporn MB, Roberts AB. Peptide growth factors are multifunctional. *Nature* 1988; 332: 217-219.
6. Massague J, Pandiella A. Membrane-anchored growth factors. *Annu Rev Biochem* 1993; 62: 515-541.
7. Mercola M, Stiles CD. Growth factor superfamilies and mammalian embryogenesis. *Development* 1988; 102: 451-460.
8. Brigstock DR, Heap RB, Brown KD. Polypeptide growth factors in uterine tissues and secretions. *J Reprod Fertil* 1989; 85: 747-758.
9. James R, Bradshaw RA. Polypeptide growth factors. *Annu Rev Biochem* 1984; 53: 259-292.
10. Ullrich A, Coussens L, Hayflick JS, et al. Human epidermal growth factor receptor cDNA sequence and aberrant expression of the amplified gene in A431 epidermoid carcinoma cells. *Nature* 1984; 309: 418-425.
11. Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, et al. Similarity of protein encoded by the human c-erb-B-2 gene to epidermal growth factor receptor. *Nature* 1986; 319: 230-234.
12. Kraus MH, Issing W, Miki T, et al. Isolation and characterization of ErbB3, a third member of the ErbB/epidermal growth factor receptor family: evidence for overexpression in a subset of human mammary tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 9193-9197.
13. Plowman GD, Culouscou JM, Whitney GS, et al. Ligand-specific activation of HER4/p180^{erbB4}, a fourth member of the epidermal growth factor receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 1746-1750.

14. Van Der GP, Hunter T, Lindberg RA. Receptor protein-tyrosine kinases and their signal transduction pathways. *Annu Rev Cell Biol* 1994; 10: 251-337.
15. Schechter AL, Stern DF, Vaidyanathan L, et al. The neu oncogene: an erb-B-related gene encoding a 185,000-Mr tumour antigen. *Nature* 1984; 312: 513-516.
16. Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985; 230: 1132-1139.
17. Plowman GD, Whitney GS, Neubauer MG, et al. Molecular cloning and expression of an additional epidermal growth factor receptor related gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4905-4909.
18. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 1962; 237: 1555-1562.
19. Savage CR, Cohen S. Epidermal growth factor and a new derivative. Rapid isolation procedures and biological and chemical characterization. *J Biol Chem* 1972; 247: 7609-7611.
20. Gray A, Dull TJ, Ullrich A. Nucleotide sequence of epidermal growth factor cDNA predicts a 128,000-molecular weight protein precursor. *Nature* 1983; 303: 722-725.
21. Derynck R, Roberts AB, Winkler ME, et al. Human transforming growth factor- α : Precursor structure and expression in *E. coli*. *Cell* 1984; 38: 287-297.
22. Shoyab M, Plowman GD, McDonald VL, et al. Structure and function of human amphiregulin: A member of the epidermal growth factor family. *Science* 1989; 243: 1074-1076.
23. Strachan L, Murison JG, Prestidge RL, et al. Cloning and biological activity of epigen, a novel member of the epidermal growth factor superfamily. *J Biol Chem* 2001; 276: 18265-18271.
24. Higashiyama S, Abraham JA, Miller J, et al. A heparin-binding growth factor secreted by macrophage-like cells that is related to EGF. *Science* 1991; 251: 936-939.

25. Sasada R, Ono Y, Taniyama Y, et al. Cloning and expression of cDNA encoding human betacellulin, a new member of the EGF family. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 190: 1173-1179.
26. Toyoda H, Komurasaki T, Ikeda Y, et al. Molecular cloning of mouse epiregulin, a novel epidermal growth factor-related protein, expressed in the early stage of development. *FEBS Lett* 1995; 377: 403-407.
27. Holmes WE, Sliwkowski MX, Akita RW, et al. Identification of heregulin, a specific activator of p185^{erbB2}. *Science* 1992; 256: 1205-1210.
28. Peles E, Bacus SS, Koski RA, et al. Isolation of the neu/HER-2 stimulatory ligand: a 44 kd glycoprotein that induces differentiation of mammary tumor cells. *Cell* 1992; 69: 205-216.
29. Falls DL, Rosen KM, Corfas G, et al. ARIA, a protein that stimulates acetylcholine receptor synthesis, is a member of the neu ligand family. *Cell* 1993; 72: 801-815.
30. Marchionni MA, Goodearl AD, Chen MS, et al. Glial growth factors are alternatively spliced erbB2 ligands expressed in the nervous system. *Nature* 1993; 362: 312-318.
31. Carraway KL, Weber JL, Unger MJ, et al. Neuregulin-2, a new ligand of ErbB3/ErbB4-receptor tyrosine kinases. *Nature* 1997; 387: 512-516.
32. Zhang D, Sliwkowski MX, Mark M, et al. Neuregulin-3 (NRG3): a novel neural tissue-enriched protein that binds and activates ErbB4. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 9562-9567.
33. Harari D, Tzahar E, Romano J, et al. Neuregulin-4: a novel growth factor that acts through the ErbB-4 receptor tyrosine kinase. *Oncogene* 1999; 18: 2681-2689.
34. Park JY, Su YQ, Ariga M, et al. EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. *Science*, 2004; 303: 682-684.
35. Ashkenazi H, Cao X, Motola S, et al. Epidermal growth factor family members: endogenous mediators of the ovulatory response. *Endocrinology* 2005; 146: 77-84.
36. Shimada M, Hernandez-Gonzalez I, Gonzalez-Robayna I, et al. Paracrine and autocrine regulation of epidermal growth factor-like factors in cumulus oocyte complexes and granulosa cells: Key roles for prostaglandin synthase 2 and progesterone receptor. *Mol Endocrinol* 2006; 20: 1352-1365.

37. Yoshin O, McMahon HE, Sharma S, et al. A unique preovulatory expression pattern plays a key role in the physiological functions of BMP-15 in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 10678-10683.
38. Hardy K, Spanos S. Growth factor expression and function in the human and mouse preimplantation embryo. *J Endocrinol* 2002; 172: 221-236.
39. Das SK, Chakraborty I, Paria BC, et al. Amphiregulin is an implantation-specific and progesterone-regulated gene in the mouse uterus. *Mol Endocrinol* 1995; 9: 691-705.
40. Das SK, Das N, Wang J, et al. Expression of betacellulin and epiregulin genes in the mouse uterus temporally by the blastocyst solely at the site of its apposition is coincident with the "window" of implantation. *Dev Biol* 1997; 190: 178-190.
41. Paria BC, Elenius K, Klagsbrun M, et al. Heparin-binding EGF-like growth factor interacts with mouse blastocysts independently of ErbB1: A possible role for heparan sulfate proteoglycans and ErbB4 in blastocyst implantation. *Development* 1999; 126: 1997-2005.
42. Maruo T, Matsuo H, Murata K, et al. Gestational age-dependent dual action of epidermal growth factor on human placenta early in gestation. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1362-1367.
43. Slowey MJ, Verhage HG, Fazleabas AT. Epidermal growth factor, transforming growth factor- α , and epidermal growth factor receptor localization in the baboon (*Papio anubis*) uterus during the menstrual cycle and early pregnancy. *J Soc Gynecol Investig* 1994; 1: 277-284.
44. Yue ZP, Yang ZM, Li SJ, et al. Epidermal growth factor family in Rhesus monkey uterus during the menstrual cycle and early pregnancy. *Mol Reprod Dev* 2000; 55: 164-174.
45. Boomsma RA, Mavrogianis PA, Verhage HG. Immunocytochemical localization of transforming growth factor α , epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in the cat endometrium and placenta. *Histochem J* 1997; 29: 495-504.
46. Hofmann GE, Anderson TL. Immunohistochemical localization of epidermal growth factor receptor during implantation in the rabbit. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 837-841.

47. Byun HS, Lee GS, Lee BM, et al. Implantation-related expression of epidermal growth factor family molecules and their regulation by progesterone in the pregnant rat. *Reprod Sci* 2008; 15(7): 678-689.
48. Kim JG, Vallet JL, Christenson RK. Characterization of uterine epidermal growth factor during early pregnancy in pigs. *Domest Anim Endocrin* 2001; 20: 253-265.
49. Hassa, O, Aştı RN.: *Embriyoloji*, Ankara, 1997 Yorum Basın Yayın Ltd.Şti., 135.
50. Dursun, N.: *Veteriner Anatomi II*, 4. Baskı, Ankara, 1998 Medisan Yayınevi, 169-174.
51. Klaus-Dieter, B, Wünsche A. *Veteriner Anatomi Atlası- Sığır*, Beşoluk E, 1. Baskı, Ankara Medipres Yayıncılık, 2009, 92.
52. Geisert RD, Burdett L. “Overview of Functional Reproductive Anatomy: The Major Components.” <http://animalscience.tamu.edu/main/academics/630/Brain-and-Female-Anatomy-ANSC-630-Bazer-1.pdf> . 08.05.2011.
53. Constantinescu, GM.: *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals-Textbook and Colour Atlas*, Stuttgart-Germany, 2004 Schautter GmbH, 404-407.
54. Tanyolaç, A.: *Özel Histoloji*, Ankara, 1999 Yorum Basın Yayın Ltd. Şti., 153-156.
55. Demir, R.: *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*, Ankara, 2006 Palme Yayıncılık, 577-578.
56. Aytekin, Y, Solakoğlu S.: *Temel Histoloji*, İstanbul, 1993 Barış Kitapevi, 529.
57. Tekelioğlu, M.: *Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme*, Ankara, 2002 Antıp Yayınları, 224-225.
58. Özer, A.: *Veteriner Özel Histoloji*, Ankara, 2008 Nobel Yayın Dağıtım, 234-238.
59. Ownby CL. “Veterinary Histology.” http://www.cvm.okstate.edu/instruction/mm_curr/histology/HistologyReference/index.htm . 09.03.2011.
60. Guillomot, M., Flechon, JE., Leroy, F.: Blastocyst development and implantation. In *Reproduction in Mammals and Man*, Paris, 1993 Eds C Thibault, MC Levasseur & RHF Hunter.: Ellipses, 387-411.
61. Guillomot M. Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. *J Reprod Fertil* 1995; 49: 39-51.

62. Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW, et al. Implantation mechanisms: Insights from the sheep. *Reproduction* 2004; 128: 657-668.
63. Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW, et al. Fetal–maternal interactions during the establishment of pregnancy in ruminants. *Soc Reprod Fertil* 2007; 64: 379-396.
64. Betteridge KJ, Flechon JE. The anatomy and physiology of pre-attachment bovine embryos. *Theriogenology* 1988; 29: 155-187.
65. Bazer FW. Uterine protein secretions: Relationship to development of the conceptus. *J Anim Sci* 1975; 41: 1376-1382.
66. Flechon JE, Guillomot M, Charlier M, et al. Experimental studies on the elongation of the ewe blastocyst. *Reprod Nutr Dev* 1986; 26: 1017-1024.
67. Gray CA, Burghardt RC, Johnson GA, et al. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. *Reproduction* 2002; 124: 289-300.
68. Fuchs, AR, Fuchs F.: *Physiology and Endocrinology of Parturition. Obstetrics Normal and Problem Pregnancies* 3rd edition, New York, 1996 Churchill Livingstone Inc., 111-136.
69. Buyru F. Uterusta gebelik için oluşan değişimler, hormonal uyarılara yanıt. *Perinatol Derg* 2001; 9(4): 1-6.
70. Cross J. Formation of the placenta and extraembryonic membranes. *Ann Ny Acad Sci* 1998; 857: 23-32.
71. Bell AW, Hay WW. Placental transport of nutrients and its implications for fetal growth. *J Reprod Fertil Suppl* 1999; 54: 401-410.
72. Kılıçoğlu, Ç, Alaçam E. *Veteriner Doğum Bilgisi ve Üreme Organlarının Hastalıkları (Theriogenoloji)*, Ankara, 1985 Ankara Üni. Vet. Fak. Yayınları, 403
73. Hassa O, Aştı RN.: *Embriyoloji*, Ankara, 1997 Yorum Basın Yayın Ltd. Şti., 85-86.
74. 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.
75. Igwebuike UM. A review of uterine structural modifications that influence conceptus implantation and development in sheep and goats. *Anim Reprod Sci* 2009; 112: 1-7.

76. Wooding, FB., Morgan, G.: Structural and endocrinological differentiation of ruminant trophoblast. Trophoblast cells: Pathways for maternal-embryonic communication. M. J. Soares, Handwerger, S., Talamantes, F., 1993 New York, Springer-Verlag., 31-67.
77. Klisch K, Hecht W, Pfarrer C, et al. DNA content and ploidy level of bovine placentomal trophoblast giant cells. *Placenta* 1999; 20: 451-458.
78. Wimsatt WA. Observations on the morphogenesis, cytochemistry and significance of the bin cleate giant cells of the placenta of ruminants. *Am J Anat* 1951; 89: 233-281.
79. Klisch K, Pfarrer C, Schuler G, et al. Tripolar acytokinetic mitosis and formation of fetomaternal syncytia in the bovine placentome: Different modes of the generation of multinuclear cells. *Anat Embryol* 1999; 200: 229-237.
80. Wooding, FB., Flint, APF.: Placentation. In Marshall's Physiology of Reproduction, London, 1994 Ed. GE Lamming., 233-460.
81. Baselga J, Averbuch SD. ZD1839 (Iressa) as an anticancer agent. *Drugs* 2000; 60(1): 33-40.
82. Van Zoelen, EJJ.: Polypeptide growth factors and their role in regulating the cell cycle, *Molecular Biology in Reproductive Medicine* (Fauser B.C.J.M), 1st ed., London-Newyork, 1999 Parthenon published 67-77.
83. Ullrich A, Schlessinger J. Signal transduction by reseptors with tyrosine kinase activity. *Cell* 1990; 61: 203-212.
84. Massague J, Weis-Garcia F. Serine/threonine kinase reseptors: mediators of transforming growth factor beta family signals. *Cancer Surv* 1996; 27: 41-64.
85. Kırıçoğlu CE, Öztürk C, Köktürk N. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde epidermal büyüme faktör reseptörü ve inhibitörlerinin yeri. *Solunum* 2003; 5: 146-152.
86. Ciğer S. "Yara İyileşmesi ve Büyüme Faktörleri". <http://www.dermaneturk.com>. 01.06.2011.
87. Canbay, E. Meme kanseri hücrelerinde HER2 reseptör antikoru pertuzumab (2C4 omnitarg)'ın fokal adezyon kinaz üzerine etkisi, Uzmanlık tezi, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2006.

88. Moulton, JE.: Tumors in domestic animals, London, 1978 University of California Press, Second Edition, 339.
89. Burçak GC. "Hormonların Genel Özellikleri". Onat T, Emerk K, Sözmen EY, editörler. İnsan Biyokimyası, Ankara, 2002 Palme Yayıncılık, 437.
90. Kumar, V., Cotran, RS., Robbins, SL.: Robbins Basic Pathology (7.edition). Chapter 6, Philadelphia, 2003 W.B. Saunders Co., 165-210.
91. Casalini P, Iorio MV, Galmozzi E, et al. Role of HER receptors family in development and differentiation. J Cell Physiol 2004; 200: 343-350.
92. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. Nat Rev Mol Cell Biol 2001; 2: 127-137.
93. Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, et al. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. EMBO J 2000; 19: 3159-3167.
94. Downward J, Yarden Y, Mayes E, et al. Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. Nature 1984; 307: 521-527.
95. Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: The complexity of targeted inhibitors. Nat Rev Cancer 2005; 5: 341-354.
96. Falls DL. Neuregulins: Functions, forms and signaling strategies. Exp Cell Res 2003; 284: 14-30.
97. Chang H, Riese DJ, Gilbert W, et al. Ligands for ErbB-family receptors encoded by a neuregulin-like gene. Nature 1997; 387: 509-512.
98. Citri A, Yarden Y. EGF-ERBB signalling: Towards the systems level. Nat Rev Mol Cell Biol 2006; 7: 505-516.
99. Carpenter G. Receptors for epidermal growth factor and other polypeptide mitogens. Ann Rev Biochem 1987; 56: 881-914.
100. Cohen S . Epidermal growth factor. Bioscience Rep 1986; 6(12): 1017-1028.
101. Cohen S . Epidermal growth factor. In Vitro Cell Dev 1987; 23(4): 239-246.
102. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell, 2000; 103(2): 211-225.
103. Breyer JA, Cohen S. The EGF precursor isolated from murine kidney membrane. J Biol Chem 1990; 265: 16564-16570.
104. Cartilage SA, Elder JB. TGF- α and EGF levels in normal human gastrointestinal mucosa. Br J Cancer 1989; 60: 657-660.

105. Merlino GT. Epidermal growth factor receptor regulation and function. *Semin Cancer Biol* 1990; 4: 277-284.
106. Das M. Epidermal Growth Factor: Mechanism of Action. *Int Rev Cytol* 1982; 78: 233-246.
107. O'keefe EJ, Pledger WJ. A model of cell cycle control sequential events regulated by growth. *Mol Cell Endocrinol* 1983; 167-186.
108. Sherrill JM, Kyte J. Activation of epidermal growth factor receptor by epidermal growth factor. *Biochemistry* 1996; 35: 5705-5718.
109. Hunter T. The protein of oncogene. *Sci Am* 1984; 251: 70-79.
110. David W, Seth R, Shum L. Epigenetic role of epidermal growth factor expression and signalling in embryonic mouse lung morphogenesis. *Dev Biol* 1992; 149: 123-133.
111. Carpenter G. Epidermal growth factor. *Ann Rev Biochem* 1979; 48: 193-196.
112. Fazleabas AT, Hild-Petito S, Verhage HG. Secretory proteins and growth factors of the baboon (*Papio anubis*) uterus: potential roles in pregnancy. *Cell Biol Int* 1994; 18: 1145-1153.
113. Giudice LC. Growth factors and growth modulators in human uterine endometrium: their potential relevance to reproductive medicine. *Fertil Steril* 1994; 61: 1-17.
114. Bass KE, Morrish D, Roth I, et al. Human cytotrophoblast invasion is up-regulated by epidermal growth factor: evidence that paracrine factors modify this process. *Dev Biol* 1994; 164: 550-561.
115. Alroy I, Yarden Y. The ErbB signaling network in embryogenesis and oncogenesis: signal diversification through combinatorial ligand-receptor interactions. *FEBS Lett* 1997; 410: 83-86.
116. Riese DJ, Stern DF. Specificity within the EGF family/ErbB receptor family signaling network. *Bioessays* 1998; 20: 41-48.
117. Wolff AC, Hammon, MEH, Schwartz JN, et al. American society of clinical oncology/college of American pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 118-145.

118. Citri A, Skaria KB, Yarden Y. The deaf and the dumb: the biology of ErbB-2 and ErbB-3. *Exp. Cell Res* 2003; 284(1): 54-65.
119. Holbro T, Civenni G, Hynes NE. The ErbB receptors and their role in cancer progression. *Exp Cell Res* 2003; 284: 99-110.
120. Rowinsky EK. Signal Events: Cell signal transduction and its inhibition in cancer. *The Oncologist* 2003; 8: 5-17.
121. Cho HS, Mason K, Ramyar KX, et al. Structure of the extracellular region of HER2 alone and in complex with the herceptin fab. *Nature* 2003; 421: 756-760.
122. Garrett TP, McKern NM, Lou M, et al. The crystal structure of a truncated ErbB2 ectodomain reveals an active conformation, poised to interact with other ErbB receptors. *Mol Cell* 2003; 11: 495-505.
123. Reese DM, Slamon DJ. HER-2/neu signal transduction in human breast and ovarian cancer. *Stem Cells* 1997; 15: 1-8.
124. Crovello CS, Carraway KL. Specificity in growth factor signaling through localization and modulation of ErbB receptor tyrosine kinases. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13: 125-130.
125. Kokai Y, Cohen JA, Drebin JA, et al. Stage- and tissue specific expression of the neu oncogene in rat development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 8498-8501.
126. Carraway KL, Price-Schiavi SA, Komatsu M, et al. Multiple facets of sialomucin complex/Muc4, a membrane mucin and ErbB2 ligand, in tumors and tissues. *Front Biosci* 2000; 5: 95-107.
127. Li P, Arango ME, Perez RE, et al. Expression and localization of immunoreactive-sialomucin complex (Muc4) in salivary glands. *Tiss Cell* 2000; 33: 111-118.
128. Idris N, Carraway CAC, Carraway KL. Differential localization of ErbB2 in different tissues of the rat female reproductive tract: Implications for the use of specific antibodies for ErbB2 analysis. *J Cell Physiol* 2001; 189: 162-170.
129. Prigent SA, Lemoine NR, Hughes CM, et al. Expression of the c-erbB-3 protein in normal human adult and fetal tissues. *Oncogene* 1992; 7: 1273-1278.
130. Prigent SA, Gullick WJ. Identification of c-erbB-3 binding sites for phosphatidyl 39 kinase and SHC using an EGF receptor/c-erbB-3 chimera. *EMBO J* 1994; 13: 2831-2841.

131. Guy PM, Platko JV, Cantley LC, et al. Insect cell-expressed p180^{erbB3} possesses an impaired tyrosine kinase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8132-8136.
132. Gullick, WJ. The c-erbB-3/HER3 receptor in human cancer. *Cancer Surv* 1996; 27: 339-349.
133. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer: Signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *European J Cancer* 2000; 37: 3-8.
134. Olayioye MA. Intracellular signalling pathways of ErbB2/HER2 and family members. *Breast Can Res* 2001; 3: 385-389.
135. Jackson-Fisher AJ, Bellinger G, Breindel JL, et al. ErbB3 is required for ductal morphogenesis in the mouse mammary gland. *Breast Cancer Res* 2008; 10(6): 1-12.
136. Faksvag HDR, Akslen LA, Varhaug JE, et al. Expression of c-erbB-3 and c-erbB-4 proteins in papillary thyroid carcinomas. *Cancer Res* 1996; 56: 1184–1188.
137. Lyne JC, Melhem MF, Finley GG, et al. Tissue expression of neu differentiation factor/herregulin and its receptor complex in prostate cancer and its biologic effects on prostate cancer cells in vitro. *Cancer J Sci Am* 1997; 3: 21-30.
138. Gilbertson, RJ, Perry RH, Kelly PJ, et al. Prognostic significance of HER2 and HER4 co-expression in childhood medulloblastoma. *Cancer Res* 1997; 57: 3272-3280.
139. Srinivasan R, Poulson R, Hurst HC, et al. Expression of the HER4/c-erbB-4 protein and mRNA in normal human fetal and adult tissues and in a survey of nine solid tumour types. *J Pathol* 1998, 185: 236-245.
140. Carpenter G. ErbB-4: mechanism of action and biology. *Exp Cell Res* 2003; 284(1): 66-77.
141. Penington DJ, Bryant I, Reise DJ. Constitutively active ErbB4 and ErbB2 mutants exhibit distinct biological activities. *Cell Growth Differ* 2002; 13: 247-256.
142. Long W, Wagner KU, Kent LKC, et al. Impaired differentiation and lactational failure of ErbB4-deficient mammary glands identify ErbB4 as an obligate mediator of STAT5. *Development* 2003; 130: 5257-5268.
143. Johnson GR, Saeki T, Auersperg N, et al. Response to and expression of amphiregulin by ovarian carcinoma and normal ovarian surface epithelial cells: Nuclear localization of endogenous amphiregulin. *Biochem Biophys Res Comm* 1991; 180(2): 481-488.

144. Johnson GR, Saeki T, Gordon AW, et al. Autocrine action of amphiregulin in a colon carcinoma cell line and immunocytochemical localization of amphiregulin in human colon. *J Cell Biol* 1992; 118(3): 741-751.
145. Ebert M, Yokoyama M, Kobrin MS, et al. Induction and expression of amphiregulin in human pancreatic cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 3959-3962.
146. Normanno N, Selvam MP, Qi CF, et al. Amphiregulin as an autocrine growth factor for c-Ha-ras and c-erbB-2-transformed human mammary epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 2790-2794.
147. Akagi M, Yokozaki H, Kitadai Y, et al. Expression of amphiregulin in human gastric cancer cell lines. *Cancer Suppl* 1995; 75(6): 1460-1466.
148. Johnson GR, Kannan B, Shoyab M, et al. Amphiregulin induces tyrosine phosphorylation of the epidermal growth factor receptor and p185^{erbB2}. *J Biol Chem* 1993; 268(4): 2924-2931.
149. Plowman GD, Green JM, McDonald VL, et al. The amphiregulin gene encodes a novel epidermal growth factor-related protein with tumor-inhibitory activity. *Mol Cell Biol* 1990; 10(5): 1969-1981.
150. Tsark EC, Adamson ED, Withers GE, et al. Expression and function of amphiregulin during murine preimplantation development. *Mol Reprod Dev* 1997; 47: 271-283.
151. Shoyab M, McDonald VL, Bradley JG, et al. Amphiregulin: A bifunctional growth-modulating glycoprotein produced by the phorbol 12-myristate 13-acetate-treated human breast adenocarcinoma cell line MCF-7. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6528-6532.
152. Li S, Plowman GD, Buckley SD, et al. Heparin inhibition of autonomous growth implicates amphiregulin as an autocrine growth factor for normal human mammary epithelial cells. *J Cell Physiol* 1992; 153: 103-111.
153. Piepkorn M, Lo C, Plowman G. Amphiregulin-dependent proliferation of cultured human keratinocytes: Autocrine growth, the effects of exogenous recombinant cytokine, and apparent requirement for heparin-like glycosaminoglycans. *J Cell Physiol* 1994; 159: 114-120.

154. Wen D, Peles E, Cupples R, et al. Neu differentiation factor: A transmembrane glycoprotein containing an EGF domain and an immunoglobulin homology unit. *Cell* 1992; 69: 559-572.
155. Goodearl AD, Davis JB, Mistry K, et al. Purification of multiple forms of glial growth factor. *J Biol Chem* 1993; 268: 18095-18102.
156. Falls DL, Harris DA, Johnson FA, et al. Mr 42,000 ARIA: A protein that may regulate the accumulation of acetylcholine receptors at developing chick neuromuscular junctions. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1990; 55: 397-406.
157. Crone SA, Lee KF. Gene targeting reveals multiple essential functions of the neuregulin signaling system during development of the neuroendocrine and nervous systems. *Ann NY Acad Sci* 2002; 971: 547-553.
158. Britsch S. The Neuregulin-I/ErbB signaling system in development and disease. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 2007; 190: 1-65.
159. Brown N, Deb K, Bibhash C, et al. Embryo-Uterine interactions via the neuregulin family of growth factors during implantation in the mouse. *Biol Reprod* 2004; 71: 2003-2011.
160. Harris RM, Fly DE, Snyder BG, et al. The relationship of bovine crown rump measurement to fetal age. *Agri-Practice* 1983; 4: 16-22.
161. Crossmon G. A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of principles involved. *Anat Rec* 1937; 69: 33-38.
162. Flores JM, Sanchez MA, Garcia P, et al. Immunohistochemical localization of epidermal growth factor, transforming growth factor- α and growth factor- β in the caprine peri-implantation period. *Theriogenology* 1998; 50: 931-944.
163. Kim YJ, Lee GS, Hyun SH, et al. Uterine expression of epidermal growth factor family during the course of pregnancy in pigs. *Reprod Dom Anim* 2009; 44: 797-804.
164. Detre S, Sacconi JG, Dowsett M. A "quickscore" method for immunohistochemical semiquantitation: Validation for oestrogen receptor in breast carcinomas. *J Clin Pathol* 1995; 48: 876-878.
165. Muduwa LKB. Quick score of hormone receptor status of breast carcinoma: Correlation with the other clinicopathological prognostic parameters. *Indian J Pathol Microbiol* 2009; 52: 159-163.

166. Sağsöz H, Akbalik ME, Saruhan BG, et al. 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.
167. Brigstock DR. Growth factors in the uterus: Steroidal regulation and biological actions. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1991; 5: 791-808.
168. Paria BC, Song H, Dey SK. Implantation: Molecular basis of embryo-uterine dialogue. *Int J Dev Biol* 2001; 45: 597-605.
169. Paria BC, Das SK, Mead RA, et al. Expression of epidermal growth factor receptor in the preimplantation uterus and blastocyst of the Western spotted skunk. *Biol Reprod* 1994; 51: 205-213.
170. Brown NM, Lamartiniere CA. Genistein regulation of transforming growth factor- α , epidermal growth factor (egf), and egf receptor expression in the rat uterus and vagina. *Cell Growth Differ* 2000; 11: 255-260.
171. Das SK, Tsukamura H, Paria BC, et al. Differential expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R) gene and regulation of EGF-R bioactivity by progesterone and estrogen in the adult mouse uterus. *Endocrinology* 1994; 134: 971-981.
172. Ejksjaer K, Sorensen BS, Poulsen SS, et al. Expression of the epidermal growth factor system in human endometrium during the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod* 2005; 11: 543-551.
173. Möller B, Rasmussen C, Lindblom B, et al. Expression of the angiogenic growth factors VEGF, FGF-2, EGF and their receptors in normal human endometrium during the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod* 2001; 7(1): 65-72.
174. Tamada H, Tsubutani D, Kawate N, et al. Detection of transforming growth factor- α and epidermal growth factor receptor mRNA and immunohistochemical localization of their proteins in the ovine uterus during the early implantation period. *Histochem J* 2002; 34: 383-390.
175. Wollenhaupt K, Tiemann U, Einspanier R, et al. Characterization of the epidermal growth factor receptor in pig oviduct and endometrium. *J Reprod Fertil* 1997; 111: 173-181.
176. Wollenhaupt K, Welter H, Einspanier R, et al. Expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R), vascular endothelial growth factor receptor (VEGF-R) and

fibroblast growth factor receptor (FGF-R) systems in porcine oviduct and endometrium during the time of implantation. *J Reprod Develop* 2004; 50: 269-278.

177. Klonisch T, Wolf P, Hombach-Klonisch S, et al. Epidermal growth factor-like ligands and ErbB genes in the peri-implantation rabbit uterus and blastocyst. *Biol Reprod* 2001; 64: 1835-1844.

178. Kliem A, Tetens F, Klonisch T, et al. Epidermal growth factor receptor and ligands in elongating bovine blastocysts. *Mol Reprod Dev* 1998; 51: 402-412.

179. Tanimura K, Nakago S, Murakoshi H, et al. Changes in the expression and cytological localization of betacellulin and its receptors (ErbB1 and ErbB4) in the trophoblasts in human placenta over the course of pregnancy. *Eur J Endocrinol* 2004; 150: 93-101.

180. Fukami T, Yoshizato T, Miyamoto S, et al. Amphiregulin regulates the production of human chorionic gonadotropin in trophoblasts. *Life Sci* 2009; 84: 796-804.

181. Tarrade A, Kuen RL, Malassine A, et al. Characterization of human villous and extravillous trophoblasts isolated from first trimester placenta. *Lab Invest* 2001; 81: 1199-1211.

182. Lim H, Dey SK, Das SK. Differential expression of the ErbB2 gene in the periimplantation mouse uterus: Potential mediator of signaling by epidermal growth factor-like growth factors. *Endocrinology* 1997; 138: 1328-1337.

183. Lim H, Das SK, Dey SK. ErbB genes in the mouse uterus: Cell-specific signaling by epidermal growth factor (EGF) family of growth factors during implantation. *Dev Biol* 1998; 204: 97-110.

184. Miturski R, Semczuk A, Jakowicki JA. c-erbB-2 expression in human proliferative and hyperplastic endometrium. *Int J Gynecol Obstet* 1998; 61: 73-74.

185. Misirlioglu D, Nak D, Sevimli A, et al. Steroid receptor expression and HER-2/neu (c-erbB-2) oncoprotein in the uterus of cats with cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex. *J Vet Med A* 2006; 53: 225-229.

186. Srinivasan R, Benton E, McCormick F, et al. Expression of the c-erbB-3/HER-3 and c-erbB-4/HER-4 growth factor receptors and their ligands, Neuregulin-1 α , Neuregulin-1 β , and Betacellulin, in normal endometrium and endometrial cancer. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 2877-2883.

187. Chobotova K, Karpovich N, Carver J, et al. Heparin-binding epidermal growth factor and its receptors mediate decidualization and potentiate survival of human endometrial stromal cells. *J Clin Endocr Metab* 2005; 90: 913-919.
188. Higashiyama S, Iwabuki H, Morimoto C, et al. Membrane-anchored growth factors, the epidermal growth factor family: Beyond receptor ligands. *Cancer Sci* 2008; 99: 214-220.
189. Tomooka Y, Di Augustine RP, McLachlan JA. Proliferation of mouse epithelial cells in vitro. *Endocrinology* 1986; 118: 1011-1018.
190. Nelson KG, Takahashi T, Bossett NL, et al. Epidermal growth factor replaces estrogen in the stimulation of female genital tract and differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 21-25.
191. Hofmann GE, Richard T, Scott RT, et al. Immunohistochemical localization of epidermal growth factor in human endometrium, decidua and placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 882-887.
192. Johnson DC, Chatterjee S. Epidermal growth factor (EGF) replaces estradiol for the initiation of embryo implantation in the hypophysectomized rat. *Placenta* 1993; 14: 429-438.
193. Shiraga M, Komatsu N, Teshigawara K, et al. Epidermal growth factor stimulates proliferation of mouse uterine epithelial cells in primary culture. *Zool Sci* 2000; 17: 661-666.
194. Kennedy TG, Brown KD, Vaughan TJ. Expression of the genes for the epidermal growth factor receptor and its ligands in porcine oviduct and endometrium. *Biol Reprod* 1994; 50: 751-756.
195. Gharib-Hamrouche N, Chene N, Martal J. Comparative expression of TGF- α and EGF genes in the ovine conceptus and uterine endometrium in the peri-implantation period. *Reprod Nutr Dev* 1995; 35: 291-303.
196. Gardner RM, Lingham RB, Stancel GM. Contractions of the isolated uterus stimulated by epidermal growth factor. *Faseb J* 1987; 1: 224-228.
197. Gardner RM, Stancel GM. Blockade of epidermal growth factor induced uterine contractions by indomethacin or nordihydroguaritic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 250: 882-886.

198. Ozaki M, Kishigami S, Yano R. Expression of receptors for neuregulins, ErbB2, ErbB3 and ErbB4, in developing mouse cerebellum. *Neurosci Res* 1998; 30: 351-354.
199. Lysiaka JJ, Johnsonb GR, Lala PK. Localization of amphiregulin in the human placenta and decidua throughout gestation: Role in trophoblast growth. *Placenta* 1995; 16: 359-366.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Mehmet Erdem AKBALIK

Doğum tarihi: 04.03.1976

Doğum yeri: Diyarbakır

Yüksek Lisans: Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Diyarbakır, 2000

Sürekli Adres: Kurtismailpaşa 2.sok. Kaçmaz 6 apt. No:20 Diyarbakır

Telefon: 0 412 248 80 20-8639

e-posta: eakbalik@dicle.edu.tr, erdem_akbalik@hotmail.com

Katıldığı kurslar:

- 1) I. Mikrocerrahi Kursu, Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi, 2005.
- 2) İleri Işık Mikroskopi Teknikleri, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, 2006.
- 3) Deney Hayvanlarının Biyolojik Araştırmalarda Kullanım Kursu, Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi, 2006.

Görev Aldığı Akademik Birim:

Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi Sorumlu Veteriner Hekimi, 2005-2009.