

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**HİSTEROSKOPIK ENDOMETRİYAL POLİP
EKSİZYONUNUN ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE
MARKERLARI OLAN HOXA 10, HOXA 11 VE LIF GEN
EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Engin YILDIRIM
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Önder ÇELİK**

MALATYA - 2012

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**HİSTEROSKOPIK ENDOMETRİYAL POLİP
EKSİZYONUNUN ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE
MARKERLARI OLAN HOXA 10, HOXA 11 VE LIF GEN
EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Engin YILDIRIM
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Önder ÇELİK**

MALATYA - 2012

Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2011/174 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında hiçbir desteğini esirgemeyen bölüm başkanımız ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Önder ÇELİK'e, bölümümüzün diğer tüm değerli öğretim üyelerine, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi çalışanlarına, tez hastalarımın toplanmasında emeği geçen tüm asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Ovulasyon ve Fertilizasyon.....	3
2.2. İmplantasyon.....	6
2.3. İmplantasyon Penceresi.....	8
2.4. Çeşitli İmplantasyon Belirteçleri.....	12
2.5. İmplantasyonda Etkili Genetik Faktörler.....	28
2.6. İmplantasyon Başarısızlığına Neden Olan Uterus Kaynalı Faktörler..	41
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	55
3.1. Hasta Seçimi.....	55
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	56
3.3. Kullanılan Kimyasallar.....	56
3.4. Dokuların Alınması.....	57
3.5. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar	57
3.6. Total RNA Saflaştırması (Qiagen Kit Protokolü).....	58
3.7. RNA'nın Agaroze Jele Yükleme İşlemleri.....	59
3.8. cDNA Sentez Protokolü.....	59
3.9. Gerçek Zamanlı PZT Protokolü.....	59
3.10. İstatistiksel Analiz.....	61
4. BULGULAR.....	61
4.1. Moleküler Genetik Bulgular.....	63
5. TARTIŞMA.....	67
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
ÖZET.....	82
SUMMARY.....	83
KAYNAKLAR.....	84

TABLÖLAR VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Tablolar :

Sayfa No

Tablo 2.1	:İmplantasyon Belirteçleri.....	13
Tablo 2.2	:Epitelde a4, b3 ve a1 integrinlerin menstrual siklus ve erken gebelik boyunca ilgili alanlarda boyanmaları görünmektedir.....	18
Tablo 2.3	: İnsan endometriyumunda menstrual siklus boyunca HOXA ekspresyonu.....	10 36
Tablo 2.4	: HOX gen ekspresyonunun seks steroidlerince düzenlenmesi.....	37
Tablo 2.5	:Primer endometriyal stroma hücrelerinde progesteron uygulamasının ardından HOXA 10 ve HOXA 11 doz cevabı.....	38
Tablo2.6	: HOXA 11 transkripsiyonunun progesterona yanıtının temporal ilişkisi.....	39
Tablo2.7	: Amerikan Fertilite Cemiyeti (AFS) müller kanal gelişim anomalileri sınıflaması.....	43
Tablo 3.1	: Araştırmada kullanılan Primer dizilimleri ve HOXA-10, HOXA-11, LIF ve internal Standard Beta Aktin için PCR’da beklenen ürün büyüklükleri.....	60

Şekiller :

Şekil 2.1.	: İmplantasyon aşamaları.....	7
Şekil 2.2.	: Menstrual döngü esnasında endometriyumda oluşan siklik Değişiklikler.....	9
Şekil 2.3.	: İmplantasyonun erken dönemlerinde Blastosist ve Zona Pellusida.....	11
Şekil 2.4.	: LH pikinden 6 gün sonra alınan endometriyal biyopsi örneğinin elektron mikroskop altında incelenmesi.....	16
Şekil 2.5.	:LH pikinden 6 gün sonra alınan endometriyal biyopsi örneğinin elektronmikroskop altında incelenmesi.....	17
Şekil 2.6.	: Trofinin sinyalizasyonu blastokist implantasyonu süresince trofoektoderm ve uterus epiteli arasında devam etmektedir.....	23
Şekil 2.7.	: LIF’ in implantasyon aşamalarındaki rolü.....	29

Şekil 2.8.	: Müllerian sistem gelişiminde HOX gen kodları.....	34
Şekil 2.9.	: Uterus içinde yerleşim yerlerine göre myomların gösterilişi.....	45
Şekil 2.10.	: Uterus içi adezyonların histeroskopik görünümü.....	48
Şekil 4.1.	: QIAGEN RNAeasy saflaştırma kiti ile insan endometrium örneklerinden saflaştırılan toplam RNA örnekleri (% 1 agaroz jel).....	63
Şekil 4.2.	: Operasyon öncesi ve sonrası bir örneğe ait SYBR Green kimyası kullanılarak Beta Aktin, HOXA-10, HOXA-11, ve LIF mRNA'larından sentezlenen cDNA'ların gerçek zamanlı PZT ile çoğaltımı sırasındaki “çoğaltım eğrileri”.....	64
Şekil 4.3.	: Beta Aktin, HOXA-10, HOXA-11, ve LIF cDNA'larının PZT'deki çoğaltımının agaroz jel elektroforezi. Kullanılan DNA Marker 100 bp DNA Marker'dir.....	65
Şekil 4.4.	: Şekilde endometriyal polip eksizyonu öncesi ve sonrası ekspresyon değerlerinin karşılaştırılması.....	66

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

AFS	: Amerikan Fertilite Cemiyeti
C4BPA	: Komplamen Komponent-4 Bağlayıcı Protein
CAMs	: Hücre Adezyon Molekülleri
CD	: Kompleman
CLDN4	: Klaudin 4
COMP	: Kıkırdak Oligomerik Matriks Proteini
COX	: Siklooksijenaz
CP	: Serüloplazmin (ferroksidaz)
CRABP2	: Hücresel Retinoik Asid Bağlayıcı Protein-2
CSF-1	: Koloni stumulan faktör-1
CSRP	: Sistein ve Glisinden Zengin Protein-2
DAF	: Kompleman bozucu faktör
DKK1	: Dickkopf Homoloğu-1 (Xenopus laevis)
DYNLT3:	: Dynein Hafif zincirli Tctex-tip 3
ECM	: Ekstraselüler matriks komponentleri
EGF	: Epidermal Growth Factor
EPF	: Erken Gebelik Faktörü,
FGF	: Fibroblast Growth Factor
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
GADD45A	: Büyüme Durması ve DNA-hasar-indükleyicisi- α
GAG	: Glikozaminoglikan
GAST	: Gastrin
GBP2	: Guanilat Bağlayıcı Protein-2 (interferonla-indüklenebilen)

GGTL2	: Gamma-glutamyltransferaz-benzeri protein-2
GLUT	: membran Glukoz Taşıyıcıları
GNLY	: Granülizin
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormon
Gp-130	: Glikoprotein 130
GZMA	: Granzim A(1) (sitotoksik T-lenfosit-ilişkili serin esteraz-3)
HB-EGF:	: Heparin Binding Epidermal Growth Factor
hCG	: human Koryonik Gonadotropin,
HER	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
HOXA 10	: Homeobox A-10
HOXA 11	: Homeobox A-11
HSG	: Histerosealfingografi
HSPG	: Heparan Sülfat Proteoglikanı
I Reseptörü:	Laminin
ICAM	: İnterselüler Adezyon Molekülleri
IL1-Rt1	: İnterlökin-1 Reseptör tip-1
IGF1	:İnsulin-Like Growth Factor
IGFBP	:IGF Taşıyıcı Protein
IL	: İnterlökin
IVF	:In Vitro Fertilizasyon
KGF	: Keratinosit Büyüme Faktörü
LH	: Luterinizan Hormon
LIF	: Lösemi İnhibitör Faktör
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSX2	: Msh Homeobox 2

MUC-1	: Musin 1
OLFM1	: Olfaktomedin-1
PAEP	: Progestajen-ilişkili Endometrial Protein
PAF	: Platelet Aktive-edici Faktör
PAI	: Plazminojen Aktivatörü İnhibitörü
PDGF	: Platelet-kaynaklı Büyüme Faktörü
pg-I2	: Prostosiklin
PLA2G2A	: Fosfolipaz A2 grup IIA
PPARG	: Peroksizom Ploriferator Aktive Reseptör-Gama
S100P: S100	: Kalsiyum Bağlayıcı Protein
SFRP4	: Salgılanmış Kıvrılma-ilişkili Protein 4
SHP-2	: Src Homologu Tirozin Fosfataz
SIS	: Salin İnfüzyon Sonografi
SPP1	: Salgılanmış Fosfoprotein 1 (osteopontin),
TCN1	: Transkobalamin-I
TGF	: Transforme-edici Büyüme Faktörü
TIMP	: Metalloproteinaz Doku İnhibitörü
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
V	: Vitronektin reseptörü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
XCL2	: Kemokin (C motif) ligand 2
α -SMA	: α -smooth muscle actin

1-GİRİŞ

Endometriyal polipler çoğunlukla benign kitlelerdir ancak premalign ve malign değişimleri gözlenebilir. Gerçek neoplazi değildirler ancak endometriyal hiperplazi alanlarında gözlenebilmektedirler. Özel bir tipi olan adenomyomatik polip stroma ve glandlara ek olarak düz kas fibrilleri içerir (1). Endometriyal poliplerin tanısında transvajinal ultrasonografi, sonohisterografi, salin infüzyon sonografi, histerosalpingografi kullanılırken altın standart tanı yöntemi histeroskopidir (2).

Endometriyal polipler sesil ya da saplı olabildikleri gibi multipl sayıda veya tek tek de bulunabilirler. Menstrual siklus düzensizlikleri yapabilirler, bazen asemptomatik olabilir bazen de infertilite kliniklerine çocuk istemi nedeniyle başvuran hastalarda saptanabilirler. Açıklanamayan infertilite nedeniyle histeroskopi yapılan hastaların %25'inde endometriyal polipler saptanmıştır.

Anormal uterin kanaması olan hastalar değerlendirilirken transvajinal ultrasonografi, salin infüzyon sonografi (SIS) ve histeroskopi yaygın olarak kullanılan araçlardır. Bu yöntemlerle anormal uterin kanama ayırıcı tanısı yapılırken, bu semptomu olan kadınların %10-40'ında endometriyal polipler saptanmaktadır (3-7).

Endometriyal polipler asemptomatik kadınlarda transvajinal ultrasonografiyi de içeren rutin değerlendirmeler esnasında %1-12 oranında saptanırlar (8,9). İn-vitro

fertilizasyon (IVF) için hazırlanan hastalarda endometriyal polip oranı rölatif olarak daha sık olup, bu hastalarda polipler %32 oranında gözlenmektedir (10-13).

İmplantasyon,ovulasyondan sonra 7-10. günlerde, yaklaşık 45 saat kadar süren zaman aralıĝında gerçekleşir. Bu dönemin sonlarında olan implantasyonlarda erken spontan d    k riski artmaktadır. Bu dönem dışındaki zaman periyodundaki endometriyum ise embriyo için reseptiviteg sterememektedir (14).

Mestrual siklus boyunca HOXA 10 ve HOXA 11 endometriyal gland ve stromada eksprese edilirler. Midluteal dönemde, implantasyon peryodunda her iki HOX geninin ekspresyonu belirgin şekilde artar ve luteal faz boyunca yüksek kalmaya devam eder. Bu artış HOXA 10'un bilinen endometriyal reseptivite gelişimiyle korelasyon gösterir (15-17).

LIF; lösemi inhibitör faktör adıyla bilinen glikoproteindir. Endometriyumda her menstrual siklusun luteal döneminde salgılanmaktadır. Maksimum ekspresyonu menstrual siklusun 19-25. günleri arasında gözlenmiştir. Endometriyumda, blastokistte ve oositlerde reseptörü bulunur.Hücre yüzeyindeki LIF Reseptör- , post-reseptör etkisini Gp-130 aktivasyonuyla saĝlar. Başarılı bir implantasyonun oluşması için gerekli moleküllerden birisidir(18).

Yapılan bir çalışmada endometriyal polip saptanan hastalarda endometriyal reseptivite belirteci olan HOXA 10 ve HOXA 11 ekspresyonu azalmış olarak saptanmıştır. Bu çalışmada amacımız endometriyal polip eksizyonu sonrasında endometriyal reseptivite markerları olan HOXA 10, HOXA 11 ve LIF gen ekspresyonlarının nasıl deĝi tiĝini polipektomi öncesi ve sonrasını kar ıla tırarak belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ovulasyon ve Fertilizasyon

Puberte ile aylık düzenli menstrual sikluslar başlar. Bu menstrual sikluslar hipotalamus tarafından kontrol edilir. Hipotalamustan salgılanan Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) ön hipofiz hücrelerini etkileyerek gonadotropinlerin salgılanmasını sağlar. Folikül Stimulan Hormon (FSH) ve Luteinizan Hormon (LH) overdeki siklik değişimleri uyarıp kontrol eder (19-20).

FSH uyarısıyla 5 ile 15 arasında değişen sayıda primordial foliküller büyümeye başlar. Normal şartlar altında bu foliküllerden sadece bir tanesi tam anlamıyla olgunlaşır ve over dışına sadece tek bir folikül bırakılır. Diğer oositler dejenere olur ve atreziye uğrar. Folikülün büyümesi ve olgunlaşması esnasında çok sayıda folikül ve teka hücreleri oluşur ve östrojen salgırlar. Bu östrojen endometriyumunu plorifetarif döneme sokarken hipofizden LH salgılanmasını uyarır (19-20).

FSH ve LH etkisiyle olgunlaşan graaf folikülü ovulasyondan hemen önce 15 mm üzerinde bir büyüklüğe ulaşır. Graff folikülü son büyüme evresine ulaştığında 1. Mayoz bölünmenin diploten evresinde kalan primer oosit birinci mayoz bölünmesini tamamlar. Over üzerinde ‘stigma’ adı verilen bir dejenerasyon alanı oluşur ve oosit etrafındaki granüloza hücreleri ile kümülüs ooforus bölgesinde serbest kalarak over yüzeyinde gezinmeye başlar. Kümülüs ooforus hücreleriyle beraber oosit tam atılırken (ovulasyon)

1. Mayoz tamamlanır, skonder oosit adını alan oosit 2. Majoz bölünmeye başlar (19,21-22).

Ovulasyondan sonra kalan folikülün duvarında vaskülarizasyon ile polihedral bir yapı oluşur. LH etkisi ile sarımsı pigmentasyon ve hücrelerin lutealizasyonu başlar. Bu oluşan yapıya korpus luteum adı verilir ve progesteron hormonu salgılar. Progesteron etkisi ile embriyonun endometriyuma tutunması için sekretuar endometriyal döneme geçilir. (19,23).

Ovulasyondan hemen önce Fallop tüpleri ritmik kasılmaya başlayıp over yüzeyinde süpürücü hareketler yapar. Bu sayede Fallop tüpleri içine çekilen oosit kümülüs hücrelerinden ayrılıp Fallop tüplerinin ritmik kontraksiyonlarıyla uterusu doğru itilirler (24).

Erkek ve dişi gametlerin birleşerek kaynaşması anlamına gelen döllenme (Fertilizasyon) fallop tüplerinin en geniş yeri olan ampulla bölgesinde olmaktadır. Spermatozoa ve oosit dişi üreme kanallarında ortalama 24 saat kadar canlı kalabilmektedir(24).

Spermatozoa uterus kavitesine girdikten sonra hızla fallop tüplerine doğru ilerlemektedir. Bu hızlı ilerleyiş tek başına sperm hareketi nedeniyle olmayıp uterin kontraksiyonlar ve fallop tüplerinin kontraksiyonlarının da etkisi bulunmaktadır. Spermatozoa uterus kavitesine girdiğinde henüz fertilizasyon kabiliyeti yoktur. Önce 'kapasitasyon' ve ardından 'akrozom reaksiyonu' denilen aşamaları geçirmesi gerekmektedir (25).

Kapasitasyon spermatozoa hücresinin oositi dölleyebilmesi için gerekli olan, 7 saat süren kondisyon kazanma dönemidir. Bu dönemde spermatozoanın akrozom zarı üzerindeki glikoprotein kılıf yıkılır ve seminal plazma proteinleri yıkılır. Akrozom reaksiyonu ise spermin zona pellucidaya bağlanmasından sonra olur ve zona proteinleri tarafından başlatılır. Akrozom reaksiyonunun sonunda spermin zona pellucidaya penetrasyonu için gereken akrozin, tripsin benzeri maddeler ve çeşitli enzimler salgılanır (26-27).

Bu aşamadan itibaren fertilizasyon üç aşamada incelenebilir (19);

A -Korona Radiata'nın delinmesi ve geçilmesi: Bu aşamaya uterus kavitesinden fertilizasyon alanına kadar ulaşabilen 300 ile 500 arasındaki sperm taşınabilir. Kapasitasyonunu tamamlayan spermeler korona radiatayı delebilir.

B -Zona Pellucida'nın delinmesi ve geçilmesi: Zona oositin etrafını çevreleyen glikoprotein yapısında bir kabuktur. Bu yapı spermden akrozom reaksiyonunu başlatırken spermin ovaryuma tutunmasını da kolaylaştırır. Akrozomal enzimler spermin zona tabakasının eritip geçmesini ve oositin plazma membranına temasını sağlarlar. Spermin oositin plazma membranına dokunmasından hemen sonra zona pellucidanın geçirgenliği değişir. Oosit plazma membranı üzerinde bulunan lizozomal granüllerden salınan enzimler yeni sperm penetrasyonunu önlemek için türe özgü reseptörleri inaktive eder ve buna zona reaksiyonu adı verilir.

C -Sperm ve Oosit hücre zarlarının kaynaşması: Spermatozoa oosit hücre membranına dokunur dokunmaz her iki hücrenin plazma membranı kaynaşır. Spermatozoa oosit sitoplazması içine hem baş hem de kuyruğu ile girer ve hücre membranı oosit membranıyla kaynaşır(19,28).

Spermatozoonun oosit sitoplazması içine girmesiyle oosit 2. Mayoz bölünmesini bitirir. Bu mayoz sonrası oluşan iki hücreden sitoplazması olmayan ikinci polar cisim, diğeri ise kalıcı oosit olarak adlandırılır. Kalıcı oositin kromozomları (22+x) dişi pronükleus adı verilen geçici bir vezikül içinde toparlanır. Spermatozoonun dişi pronükleusuna yaklaşıırken kromozomları (22+y) erkek pronükleusu oluşturur. Birbirine iyice yaklaşan iki pronükleus morfolojik olarak ayırd edilemeyecek hale gelir ve çekirdek zarları da kaybolur. Bu aşamadan sonra erkek ve dişi pronükleusları kendilerini replike ederler. DNA sentezinden hemen sonra bu kromozomlar mitoz için hazırlanır ve iğ üzerinde organize olurlar. Oositte gelen 23 çift kromozom ve spermden gelen 23 çift kromozom sentromerlerde uzunlamasına ayrılıp her iki hücre kutbuna diploid sayıda kromozom içerecek şekilde ayrılırlar. Ardından sitoplazma bölünmesi gerçekleşir (29).

Fertilizasyon sonrasında yarısı anne ve diğeri yarısı babadan gelen diploid sayı oluşturulmuş olur. Bu esnada fertilizasyonu sağlayan X kromozomu taşıyan spermse dişi, Y kromozomu taşıyan spermse erkek cinsiyet belirlenmiş olur. Döllenen oosit ise 24 saat içinde dejenere olur(19,29).

Zigot iki hücreli aşamaya ulaştıktan sonra seri mitotik bölünme süreci başlar ve hücre sayısı hızla arttırılır. Bölünme sonrasında hacmi giderek küçülen hücrelere blastomer adı verilmektedir. Bu hücre kümesi 8 hücreli aşamaya kadar birbirine zayıf bağlıyken bu aşamadan sonra bağlar sağlamlaşır ve bu duruma ‘kompaksiyon’ adı verilir. Fertilizasyonun üzerinden 3 gün sonra kompaksiyona uğramış hücre kümesi tekrar bölünür ve 16 hücreli aşamaya ulaşır. Bu yapıya Morula adı verilmektedir. Bu yapının iç hücreleri ‘iç hücre kitlesini’, dış hücreleri ‘dış hücre kitlesini’ oluştururlar. İç hücre kitlesinden embriyo yapıları, dış hücre kitlesinden plasentayı oluşturan trofoblastlar oluşurlar (29,30).

Morula uterus boşluğuna ulaştığında uterus içindeki sıvı zona pellucidayı geçip iç hücre kitlesi arasındaki hücreler arasındaki boşlukta birikir. Giderek genişleyen bu boşluklar birbiri ile birleşip tek boşluk haline gelir. Bu aşamadaki embriyoya blastokist, tek boşluğa ise Blastosel adı verilir. Blastokistin iç hücre kitlesine embriyoblast, dış hücre kitlesine ise trofoblast adı verilir (29,30).

Gelişimin 6. gününden itibaren trofoblastik hücreler endometriyum hücreleri arasından penetre olmaya başlarlar. Bu penetrasyon trofoblastik hücreler tarafından salgılanan proteolitik enzimler sayesinde olmaktadır. Bu penetrasyona endometriyum hücreleri de destek olduğundan implantasyon trofoblast ve endometriyum tarafından ortak gerçekleştirilen bir süreçtir. Gelişimin birinci haftasının ardından zigot morula ve blastokist evrelerinden geçmiş ve endometriyuma gömülmeye başlamıştır (29,30).

İmplantasyon döneminde endometriyum uterus bez ve arterlerinin kıvrımlı hal alıp dilate oldukları hücrelerin dolgunlaştığı sekretuar aşamadır. Blastokist endometriyal bezlerin ağızları arasından implante olur (29,30).

2.2. İmplantasyon

İmplantasyon embriyo ve endometriyumun beraber oluşturduğu yüksek koordinasyon gerektiren bir ortaklık sürecidir. Embriyo önce desidua içerisine yerleşir, ardından plasentayı oluşturmak için annenin dolaşım sistemine ulaşır. Blastokist hatching sonrası, LH pikinden 7-8 gün sonra, fertilizasyonun 5-7. günlerinde; morulanın uterin kaviteye girişinin 1-4. gün sonrasında gerçekleşir. İmplantasyon gerçekleşmeden önce embriyo ve endometriyum arasında endokrin, otokrin, parakrin mesajlar

implantasyon için hazırlığı sağlar. Örneğin, ejakulatta bulunan Vaskular Endothelial Growth Factor (VEGF) endometriyumu uyarak implantasyon sürecine katkıda bulunur. Fertilizasyondan bir kaç gün sonra maternal dolaşımda saptanan ‘early pregnancy factor’ (EPF) embriyodan gelen sinyale yanıt olarak üretilir, embriyoya karşı maternal immün süpresyonun sağlanması, hücre büyümesi, hücre çoğalması gibi fonksiyonları vardır (14,31).

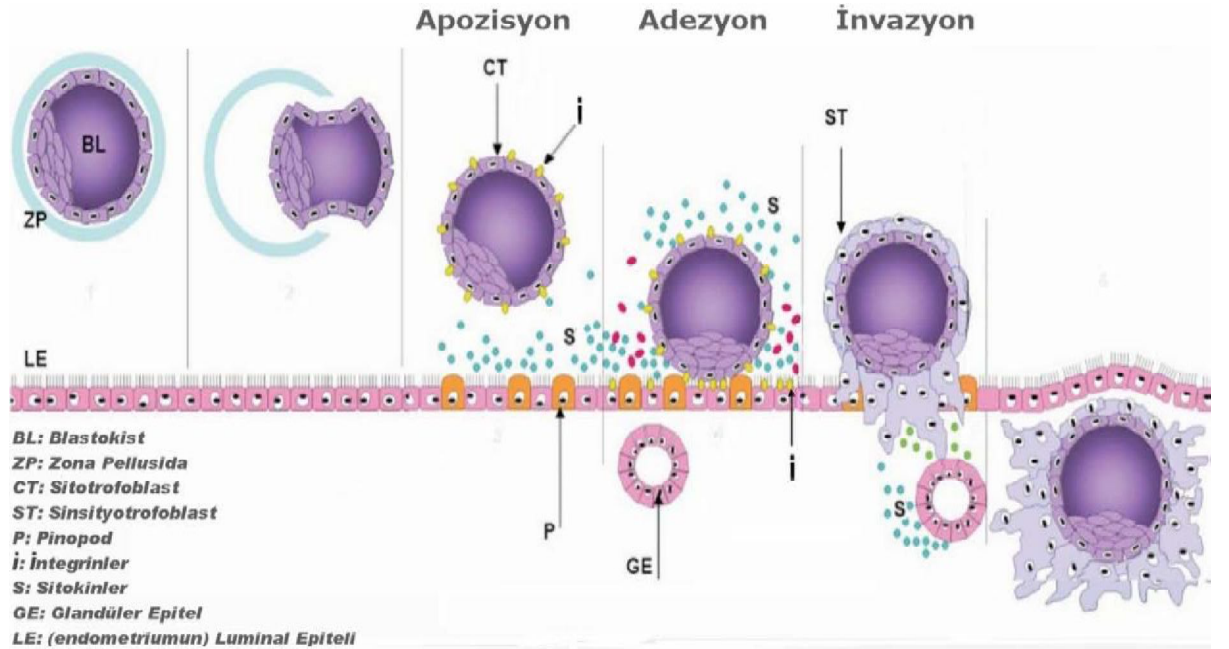
İmplantasyon sahası olan endometrial kavitenin üst-arka duvarına parakrin sinyallerle gelen blastokist; embriyonik kutbundan (embriyoblastlara yakın bölgesi) desidual (orta-geç sekretuar endometrial) epitele tutunur. Embriyonik kutup üzerindeki trofoblastlar, salgıladıkları proteolitik enzimlerle desidual epitel hücreler arasından penetre olmaya başlarlar. Sonrasında embriyo bazal membrana doğru inerek, stromaya invaze olur(31).

İmplantasyon 3 aşamadan oluşur (32);

A. Apozisyon (hazırlık): Blastokistin embriyonik kutbuyla endometriuma teması

B. Adezyon: Blastokistin endometriuma yapışması

C. İnvazyon: Gömülme süreci



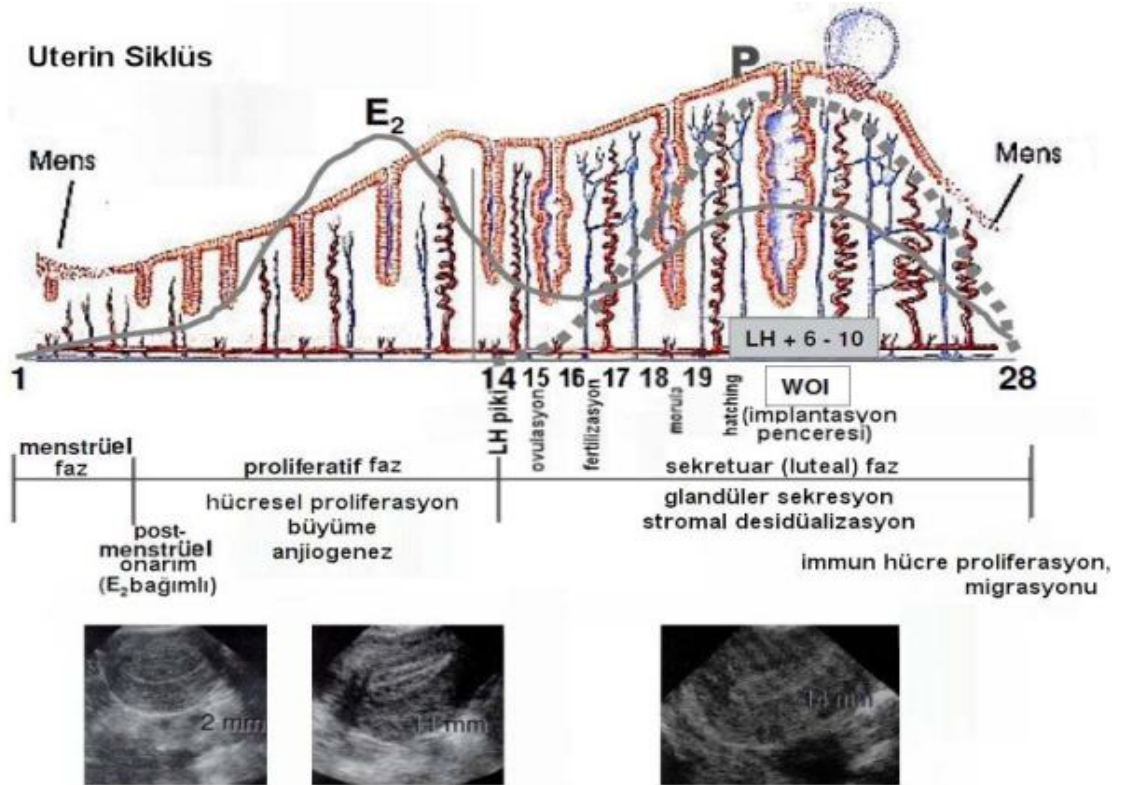
Şekil2.1: İmplantasyon aşamaları (32).

İnfertilite, korunmasız düzenli cinsel ilişkiye rağmen bir yıl boyunca gebe kalınamaması olarak tanımlanmaktadır. Bu, üreme çağı yaş grubundaki çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkilemektedir. İnfertilite nedenlerinin %30-40 kısmını erkek faktörü, %40-55 kadarını kadın faktörü, %10 kadarını hem erkek hem kadın faktörü, %10 kadarını açıklanamayan infertil hasta grubu oluşturmaktadır. İnfertilite olgularının yaklaşık %10'unda tekrarlayan düşükler gözlenirken, yaklaşık %60'ında herhangi bir neden belirlenemez(33,34).

Erken implantasyon dönemi, embriyonun adezyon dönemi ve geç implantasyon döneminde oluşan çeşitli immünolojik aksaklıklar infertilite nedeni olabilmektedir. Erken implantasyon döneminde embriyo ile endometriyum arasında iletişim problemleri oluşmaktadır. Geç implantasyon dönemindeki problem ise fetusa karşı oluşan immün yanıt engellenemez (14).

2.3. İmplantasyon Penceresi

İmplantasyon ovulasyondan sonra 7-10. günlerde, yaklaşık 45 saat kadar süren zaman aralığında gerçekleşir. Bu dönemin sonlarında olan implantasyonlarda erken spontan düşük riski artmaktadır. Bu dönem dışındaki zaman periyodundaki endometriyum ise embriyo için kabul edicilik, reseptivite, gösterememektedir (14).



Şekil2.2: Menstrual döngü esnasında endometriyumda oluşan siklik değişiklikler (35).

Endometriyum ise menstrual siklus boyunca implantasyon penceresi dönemini oluşturabilmek için birçok proteini oluşturur. Bu faktörlerin büyük kısmı bu implantasyon penceresi boyunca dizilir, kimyasal haberciler olarak tanımlanır, embriyonun tanınmasını, embriyonun büyümesini ve gelişmesini hızlandırırlar. Bu medyatörler adezyon monelekülleri, çeşitli sitokinler, endometriyal proteinler ve endometriyum epitelinde oluşan pinopodlardır.

Bu belirteçlerin bazıları endometriyum işlevini belirlemede klinik test olarak kullanılmaktadır. "Endometriyal Fonksiyon Testi" olarak tanımlanan bu test yeterince özgün bir test değildir (36-39).

İnsanlarda implantasyon hemokoryal olarak oluşmakta, embriyo plasentasyon boyunca anne sirkülasyonu ile kompleks bağlar oluşturmaktadır. Hücre gelişim sürecinde insanlarda öncelikle embriyo ve insan endometriyum epitel hücreleri arasında yaklaşma ve temasla başlar (apozisyon), embriyo hücrelerinin anne lümen epiteline invazyonu (adezyon) ve plasental hücrelerin endometriyumun derinlerine ilerlemesiyle (plasentasyon) devam eder (40-42).

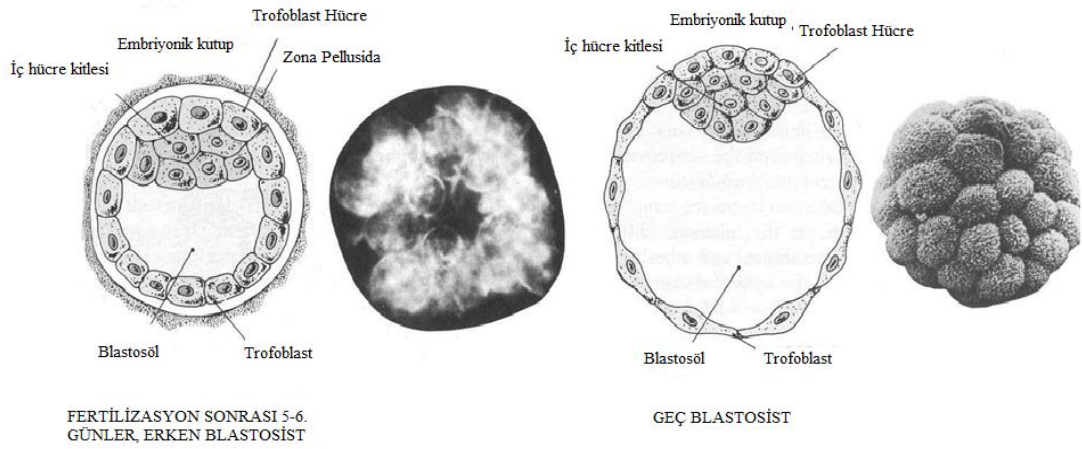
İmplantasyon sürecini anlaşılabilir kılmak için çeşitli dönemler tanımlanmıştır, toplam dokuz dönemden oluşmaktadır (43) ;

Dönem - 1: Oosit fertilizasyonun olduğu dönemdir.

Dönem – 2: Zigotun bölünmeye başladığı dönemdir.

Dönem -3: Morula oluştuğu dönemdir, morulanın endometriyal kaviteye girmesi ve sonrasında blastokist oluşumu gözlenir. Blastokistin implantasyonunun başlangıcında bu dönem FAZ-1 olarak tanımlanmıştır. Bu dönem fertilizasyondan ortalama 72-96 saat sonrasına denk gelmektedir. Blastokist henüz endometriyum epiteline temas etmemiştir, blastokistin zona pellucidası ise fertilizasyondan ortalama 120 saat sonra erimeye başlar. Ardından embriyonun endometriyuma tutunması gerçekleşir (44). Zona pellucidanın erimesi çeşitli reseptörlerin açığa çıkmasına neden olur; hücre adezyon molekülleri (CAMs), matriks metalloproteinazlar (MMPs) ve

ekstraselüler matriks komponentleri (ECM) implantasyonun bir sonraki aşamasına geçilmesini sağlarlar (40). İmplantasyon süreci dönemlere ayrıldığında, oosit fertilizasyonunun ardından zigot tuba lümeninde bölünmeye başlar. Yaklaşık ovulasyon sonrası altıncı günde blastokist aşamasına gelir. IVF sikluslarından kazanılan deneyimler insan embriyosunun yaklaşık 6-8 hücreli aşamaya geldiğinde implantasyon yeteneğini kazandığını göstermektedir (14). İmplantasyon ise embriyo ile endometriyum arasındaki ilişki ile başlamaktadır. Ovulasyondan sonra yaklaşık 5. günde blastokist olgunlaşır ve zona pellucidasını kaybeder.



Şekil2.3: İmplantasyonun erken dönemlerinde Blastosist ve Zona Pellusida (45).

Zona pellucidasını kaybeden blastokistin dışındaki trofoblastlar yüzeyel çıkıntı oluşturarak sinsityal trofoblastları oluşturur. Endometriyum kavitesinde sıvı olmadığında blastokist muhtemelen endometriyum yüzeyindeki epitel ile direkt temas halindedir (38). Başarılı bir implantasyon için uterusun overler tarafından kontrol edilen hormonal faktörlerle farklılaşması, blastokistin ise aktivasyon evresine erişmiş olması gerekmektedir (46). Blastokistin trofoektodermi aktif hale gelir, endometriyum lümen epiteli ise etkileşme kapasitesini artırır (43).

Blastokistin lümen epiteliyle sadece implantasyon penceresinde etkileşebilmesini sağlayan hormonal olay; korpus luteumdan salgılanan progesteronun endometriyum üzerine etkisi ve ardından gebeliğin dördüncü gününde olan hafif östrojen pikidir. Bu dönem yaklaşık menstrual siklusun 19-24. günleri arasına denk

gelmektedir (47,48).

Dönem - 4 :Apozisyon olarak tariflenmektedir (40). Blastokistin endometriyum yüzey epiteline yapışması ve hızla endometriyum stromasına invazyonun gerçekleştiği (adezyon) dönemdir. İnsanlarda bu dönemi direkt olarak değerlendirmek mümkün değildir. Blastokistin implantasyonunun bu dönemine FAZ-2 denilmektedir. Apozisyonun hemen ardından epiteliyal penetrasyon ve invazyon oluşmaktadır (44).Bu dönem birbirini hızla takip eden apozisyon ve adezyon dönemlerini içermektedir. Endometriyum yüzey epitelinin apikal plazma membranları ile embriyo trofoekdoderminin apikal plazma membranları arasında ilk temas gerçekleşir (43).

İmplantasyonun başlaması için blastokist endometriyum epiteline yanaşmalı, trofoekdoderm ile karşı karşıya gelmelidir (Apozisyon). Bu durumun gerçekleşmiş olması için morula zona pellucidadan kurtulmuş olmalıdır. İmplantasyon için embriyo zona pellucidasından blastokistin ekspansiyonu ve çeşitli kontraksiyonlar göstermesi gerekir. Ayrıca endometriyumdan salgılanan çeşitli litik enzimler zona pellucidanın ayrılmasına yardımcı olur (43).

İmplantasyonun apozisyon aşamasında en azından endometriyum tarafından ‘colony stimulating factor’(CSF-1), İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6(IL-6) ve Lösemi İnhibitör Faktör (LIF) sentezlenmiş olmalıdır (43).

Dönem 5-9:Bu dönemler plasentasyon sürecini içermektedir ve blastokistin implantasyon sürecinde FAZ-3 olarak tanımlanmaktadır. Endometriyumun lümen epitelinin apikal yüzeyinde ve embriyonik epitelin tepesinde spesifik proteinler ortaya çıkar (49-53).

Plasenta oluşumu ve tersiyer villusların oluşumunu içeren dönemlerdir. Bu dönemlerde sitotrofoblastların sinsityotrofoblast kümelerine dönüşümü ve her iki hücre kümesinin büyümesini içerir. Ardından trofoblastların damar duvarını invazyonu gerçekleşir. Trofoblastlar spiral arterlerin duvarlarını da tahrip edip endovasküler trofoblast adı verilen hücrelerle kaplı sinüzoidal keseler oluşturlar. Zamanla laküna denilen bu boşluklara kan dolar (38).

Sekonder plasental villusların gelişimi ve vitellus kesesinin gelişiminin ardından (dönem-6), villuslar dallanır ve uterusu sıkıca tutunur (dönem7). Ardından tersiyer villuslar gelişir (dönem 8-9) (38).

Plasantasyon aşamasında trofoblastlar farklılaşırken, endometriyum plasentanın maternal kısmını oluşturmak için farklılaşır. Bu duruma desidualizasyon denmektedir. Uterus lümeni ile embriyo arasındakalan desiduaya ‘desidua kapsullaris’, embriyonun altında kalan desiduaya ‘desidua bazalis’, ve uterusun geri kalan boşluğunu kapsayan desiduaya ‘desidua pariyetalis’ denilmektedir.

2.4. Çeşitli İmplantasyon Belirteçleri

İmpantasyon sürecinde implantasyon faktörlerinin ve gen ürünlerinin sentezi özellikle dönem 3 ve dönem 4’ü kapsamaktadır. Hücre invazyonu ise trofoblastik hücrelerle başlamakta ve dönem 5-9 arasında gerçekleşmektedir. Bu kısımda özellikle dönem 3 ve dönem 4’te gerçekleşen implantasyon süreci aktarılmıştır.

Tablo 2.1; İmplantasyon Belirteçleri (54-57,59).

Citohoproteinler, Proteinler, Lipidler	Sitokinler, Hormonlar, GAG	Büyüme Faktör-leri	Adezyon molekülleri, Reseptörler	Pinopodlar, Enzimler	Genler (up regüle olanlar, down-regüle olanlar)
Glikodelin	M-CSF (CSF-1)	HB-EGF	İntegrinler $\alpha\beta_3$, $\alpha\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$	Pinopodlar	PAEP geni
MUC-1	ILF	TGF- $\alpha\beta$	I -selektin		HOXA-10,11 geni
	IL-1 $_{\alpha\beta}$ 6,11,15	IGFBP-1	E-kaderin		DKK1 geni
	TNF- α	IGF-1,2	ICAM-1 (CD54)	PAI	DAF CD55 geni
Laminin (LAM)	İnterferon- γ (inf- γ)	VEGF		Histon deasetilaz inhibitörü	Osteopontin (SPP1) geni
Fibronektin	PAF	EGF		COX-1,2	GADD45 geni
GLUT-1		PDGF	Osteopontin	Katepsin	APO-D,E genleri
Amphiregulin		FGF	HER -1,4	Glutaredoksin	MAUA geni
O-glikozile proteinler	Progesteron	KGF	Progesteron reseptörü-B	MMP-2,9	MAP3K5 geni
Galektin-1,3,9	Prolaktin	EPF	LIF reseptörü	TIMP-1	IL-15 geni
Ephrin peptidleri	CRH		CXCR-1 reseptörü		C4BPA geni
α -SMA	hUG		Fibronektin reseptörü		EFNA1 (Ephrin A1) geni
Doku Faktörü	Kalsitonin		LAM-2,4 reseptörü		CLDN4 geni
	Leptinler		IL 1R α 1		TCN1 geni
			CRHR-1 reseptörü		LAM β 3 geni
Prostaglandin E $_2$			Gp-130 reseptörü		COMP geni
Tromboksanlar	Hyaluronan				S100P geni
					GAST geni
					CP geni
					PLA2G2A geni
					GZMA geni
					GNYL geni
					GGTL2 geni
					XCL2 geni
					KIAA0357 geni
					DYNLT3 geni
					CKSP2 geni
					CRABP2 geni
					MSX2 geni
					SFRP4geni
					MMP7 geni
					OLFM1 geni

APO: Apolipoprotein, CD: Kompleman, CLDN4: Klaudin 4, (CPE reseptörü), COMP: Kıkırdak Oligomerik Matriks Proteini, CP: Serüloplazmin (ferroksidaz), CRABP2: Hücrel Retinoik Asid Bağlayıcı Protein-2, CSRP: Sistein ve Glisinden Zengin Protein-2, C4BPA: Komplamen Komponent-4 Bağlayıcı Protein, DAF: Kompleman bozucu faktör, DKK1: Dickkopf homologu-1(Xenopus laevis), DYNLT3: Dynein hafif zincirli Tctex-tip 3, EPF: Erken Gebelik Faktörü, FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü, GADD45A: Büyüme Durması ve DNA-hasar-indükleyicisi- α , GAG: Glikozaminoglikan, GAST: Gastrin, GBP2: Guanilat Bağlayıcı Protein-2 (interferonla-

indüklenebilen), GGTL2: Gamma-glutamyltransferaz-benzeri protein-2, GLUT: membran Glukoz Taşıyıcıları, GNLY: Granülizin, GZMA: Granzim A(1) (sitotoksik T-lenfosit-ilişkili serin esteraz-3), hCG: human Koryonik Gonadotropin, HER: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü, ICAM: İnterselüler Adezyon Molekülleri, IL1-Rt1: İnterlökin-1 Reseptör tip-1, KGF: Keratinosit Büyüme Faktörü, MMP: Matriks Metalloproteinaz, MMP7: Matrilysin, MSX2: Msh homeobox 2, OLFM1: Olfaktomedin-1, PAEP: Progesteron-ilişkili Endometrial Protein (PP-14, Glikodelin), PAF: Platelet Aktive-edici Faktör, PAI: Plazminojen Aktivatörü İnhibitörü, PDGF: Platelet-kaynaklı Büyüme Faktörü, PLA2G2A: Fosfolipaz A2 grup IIA, SFRP4: Salgılanmış Kıvrılma-ilişkili Protein 4, SPP1: Salgılanmış Fosfoprotein 1 (osteopontin), S100P: S100 kalsiyum bağlayıcı Protein, TCN1: Transkobalamin-I, TGF: Transforme-edici Büyüme Faktörü, TIMP: Metalloproteinaz Doku İnhibitörü, TNF: Tümör Nekroz Faktör, VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü, XCL2: Kemokin (C motif) ligand 2, α -SMA: α -smooth muscle actin.

2.4.1. HB-EGF (Heparin Binding Epidermal Growth Factor)

Blastokistin fare endometriyumuna bağlanmadan önce HB-EGF'nin endometriyumdan salgılandığı gösterilmiştir. Epidermal growth faktör benzeri bir moleküldür (40). Gebeliğin 6 ile 7. günleri arasında endometriyum yüzey epitelinde HB-EGF mRNA eksprese edilememişken, muhtemelen implantasyondan 6-7 saat önce endometriyum lümen epitelinden, blastokiste komşu alanında, eksprese edilir. HB-EGF hem östrojen kontrolündeki endometriyum yüzey epitelinden hem de progesteron kontrolündeki stromadan eksprese edilebilmektedir. Östrojenin hücre çoğalması üzerindeki etkisine aracılık eder (46,59-60).

İnsan endometriyumunda HB-EGF implantasyondan hemen önce hızlı bir ekspresyon göstermektedir (61-62). Bu büyüme faktörü, HB-EGF, hem çözülebilir formda hem de membrana bağlı formda bulunmaktadır (40). HB-EGF, çözülebilir halde, insan embriyosunun blastokist aşamasına ulaşmasını sağlamakta, implantasyon yüzdesini arttırmaktadır (46,59-60). Membrana bağlı form HB-EGF embriyonik EGF reseptör Erb-4'e bağlanır, embriyo tutunmasını yada farklılaşmasını hızlandırır (53). Asiste Reprodüktif Tekniklerin (ART) uygulandığı sikluslarda, tedaviye HB-EGF eklenmesi kaliteli insan embriyo elde etme şansını artırır; muhtemelen HB-EGF insan endometriyumundaki diğer belirteçleri uyaran bir parakrin faktör olabilir (63).

2.4.2. COX-2 (siklooksijenaz-2) Enzimi

Siklooksijenaz-2 enzimi Prostaglandin ve Prostosiklin (pg-I2) sentezinde kilit role sahiptir. İmplantasyon için gereken birçok sinyal yolağının merkezi olarak görülmekte olan COX-2 eksikliğinde, ovulasyon hataları, döllenme başarısızlıkları, implantasyon yetersizlikleri gözlenmiştir (51). COX-2 proteiniperivasküler hücrelerde ve endometriyum yüzey epitelinde sekrete edilirken, luteal fazın sonlarına doğru glandüler epitelde COX-2 düzeyi artar.

Prostosiklin veya prostoglandinlerin egzojen olarak uygulanması invitro embriyo gelişimini hızlandırmakta, implantasyon başarısını arttırmaktadır (34). Prostaglandin düzeyleri özellikle menstrual siklusun luteal safhasında yükselir (39).

2.4.3. Prostosiklin veya Prostaglandinler

Prostosiklin vasküler permeabilityi arttırdığından implantasyonda önemli rol oynamaktadır (59). Prostosiklin veya prostoglandinlerin egzojen olarak uygulanması invitro embriyo gelişimini hızlandırmakta, implantasyon başarısını arttırmaktadır. Prostaglandin düzeyleri özellikle menstrual siklusun luteal safhasında yükselir (39).

Prostaglandin aynı zamanda Peroksizom Ploriferator Aktive Reseptör-Gama (PPARG) ekspresyonunun artışı sağlar. İmplantasyon öncesinde fare embriyolarının PPARG eksprese ettiği gözlenmiştir. Prostosiklinle implantasyonu arttırılan blastokistlerin PPARG delesyonu ile başarısız oldukları gözlenmiştir. PPARG delesyonu olan embriyolarda blastokist yapısı ve embriyo implantasyonu hasar görmüştür. Bu delesyon embriyo hücre ploriferasyonunu baskılamıştır, PPARG aktivasyonu ise hücre ploriferasyonunu hızlandırmıştır (64).

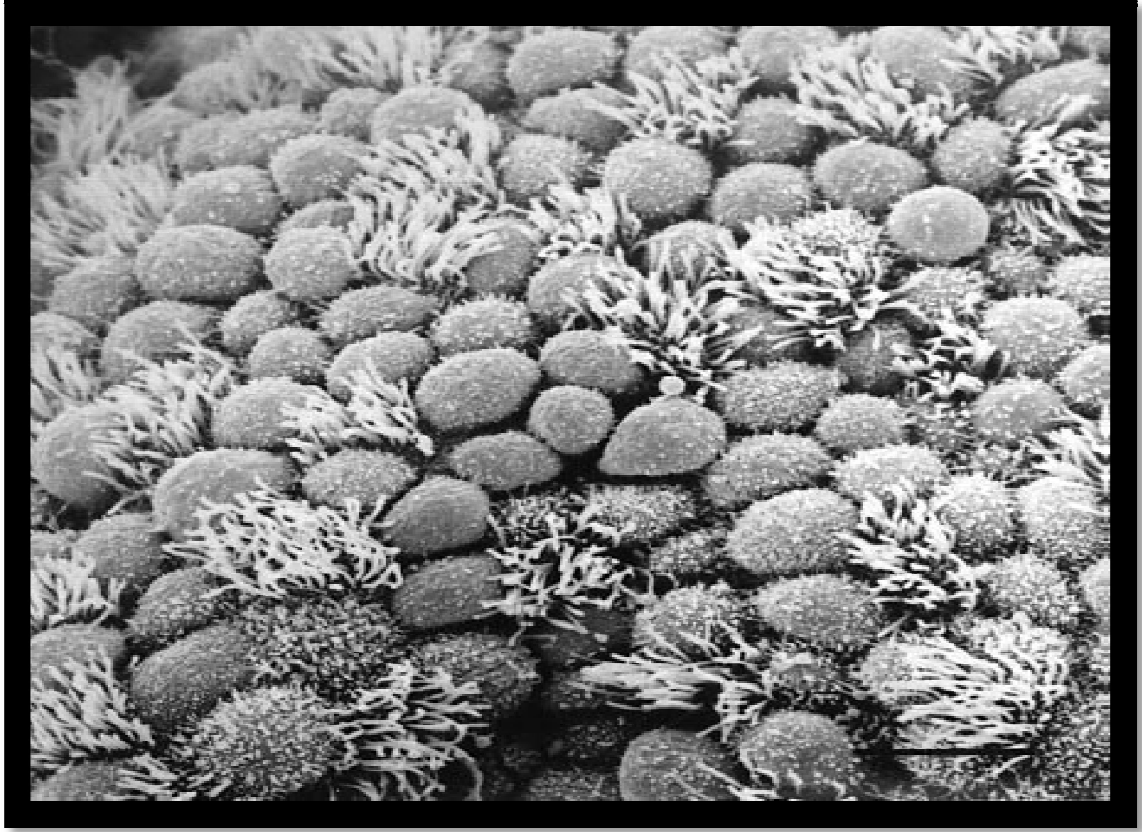
2.4.4. Pinopodlar

İmplantasyondan önce lümen epitelinde morfolojjik değişiklikler de gözlenir.İmplantasyon anında endometriyum lümen epiteli bazalindeki polariteyi kaybeder. Endometriyum yüzey epiteli daha yassı bir hale gelir, mikrovillus sayısı azalır, bazal membran kalınlığı azalır. Artık mikrovillus yerini pinopod denilen yapılar alır. Pinopodların maksimum görüldüğü dönemde, pinopodlarla beraber heparin bağlayıcı epidermal growth faktör (HB-EGF) ekspresyonunun arttığı gösterilmiş,

implantasyonda önemli rol oynadıkları düşünülmüştür (65). Pinopod yapıları her canlıda pinositoz yapmadığından 'uterustaki kubbeler' anlamında 'uterine dome' denmektedir. Pinopod ekspresyonu endometriyal reseptivite ve implantasyon penceresini saptamada belirteç olarak kullanılabilir(66,67). Işık mikroskopuyla görülebilecekleri gibi, elektron mikroskopla yapıları en iyi şekilde belirlenebilmektedir. Tekrarlayan biyopsilerde pinopod varlığının sadece 48 saat sürdüğü ve her canlıda farklı yapıda olduğu gösterilmiştir. Pinopodlar insan embriyoları için önemli tutunma alanları içermektedir (46,68). Bu dönemde lümen epitelinde yer alan integrinlerin dağılımları bazaldan, bazolateral ve apikale doğru yer değiştirir. İntegrin ve pinopodların dağılımı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, farklı hormon stimülasyon protokolleri ile değişmemektedir (69). Endometriyum lümen epitelinde desmozomların dağılımı değişir, hücreler arasında yeni gap junctionlar oluşur ve overden salgılanan steroidlerden bu bağlantılar etkilenirler (43).



Şekil2.4: LH pikinden 6 gün sonra alınan endometriyal biyopsi örneğinin elektron mikroskop altında incelenmesi. Tek siliyalı hücreler endometriyal hücreler arasında bulunmakta, pinopod formasyonu görülmemekte (68).



Şekil 2.5:LH pikinden 6 gün sonra alınan endometriyal biyopsi örneğinin elektron mikroskop altında incelenmesi. Endometriyum yüzeyi pinopod bulunduran hücrelerce kaplanmış, aralarında tek siliyalı hücreler bulunmakta (68).

2.4.5. Bazolateral Hücre Adezyon Molekülleri

İmplantasyondan önce endometriyum lümen epitelinde embriyo tutunmasının desteklenebilmesi için çeşitli bazolateral hücre adezyon moleküllerinin hücrelerin apikalinde sentezlenmesi, anti adeziv moleküllerin ise azaltılması gerekmektedir.

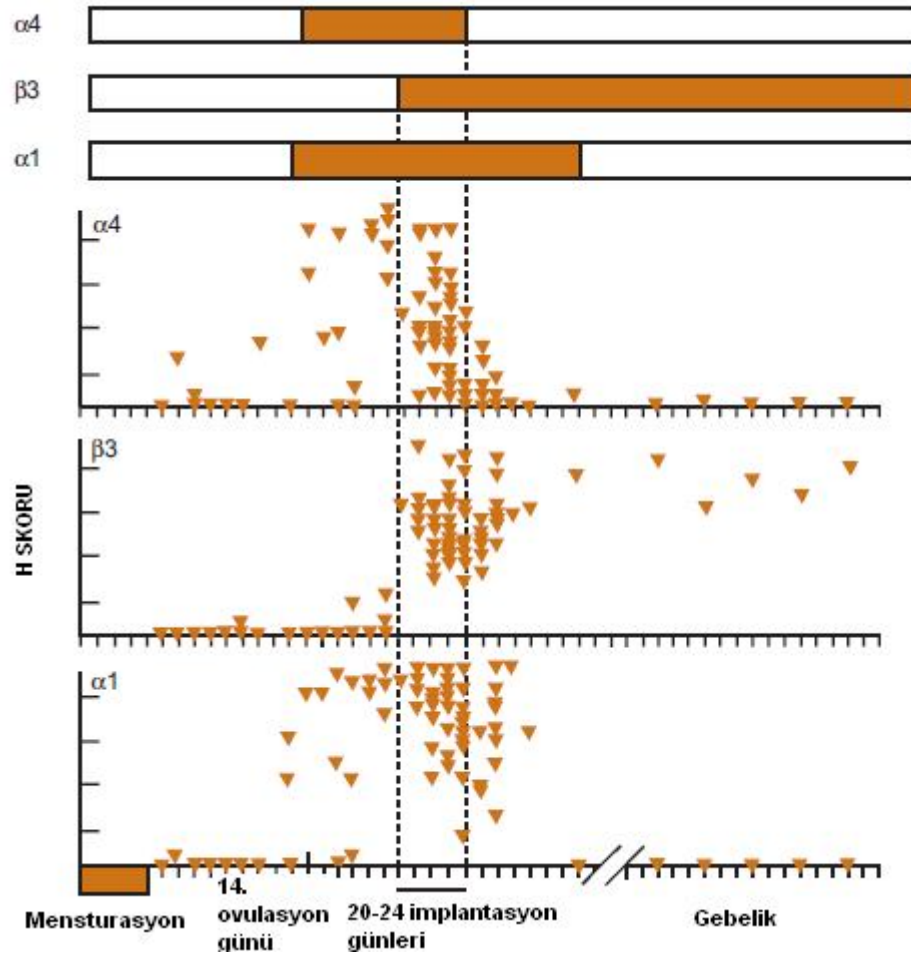
Hücre adezyon molekül ailesi integrinler, selektinler, kadherinler, ve immünglobulinlerdir. Anti adeziv moleküle ise Muc-1 örnek gösterilebilir.

2.4.6. İntegrinler

İntegrinler transmembran glikoproteinleridir. Embriyo gelişiminde hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşiminde rol alırlar (70). Endometriyum lümen epitelinde, desiduada, ekstravillöz sitotrofoblastlarda bulunurlar. İlk önce 1992’de insan endometriyumunda dinamik ve kompleks birer marker olarak tanımlanmışlardır (71,78).

Endometriyumda epitel integrinleri olan $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$, $\alpha 6\beta 4$ ve stromal fibronektin reseptörü olan $\alpha 5\beta 1$ bulunur (71). Menstrual siklus boyunca ekspresyonu değişen siklusa bağımlı integrinler bulunmaktadır (77). Menstrual siklusun 20 ile 24. günleri arasında, implantasyon penceresine denk gelen dönemde, bu dönemi düzenlemek amacıyla $\alpha 1\beta 1$ (kollajen reseptörü), $\alpha 4\beta 1$ (fibronektin reseptörü), $\alpha v\beta 3$ (vitronektin reseptörü) bir arada eksprese edilirler (77). $\alpha v\beta 3$ (vitronektin reseptörü) embriyonun normal implantasyonu esnasında glandüler ve lümen epitelinin apikal yüzünde eksprese edilirler (77).

Tablo 2.2:Epitelde $\alpha 4$, $\beta 3$ ve $\alpha 1$ integrinlerin menstrual siklus ve erken gebelik boyunca ilgili alanlarda boyanmaları görünmektedir (40).



İmmünohistokimyasal boyanma, bir kör (hangi değerin hangi hastaya ait olduğunu bilmeyen bir çalışmacı), semikantitatif H- Score (0'dan 4'e kadar sıralanır)

patolojik kriterlere göre histolojik tarihleme, son adet tarihine göre terapödik tahliye yapılan hastalarda karşılaştırılmıştır. Her üç integrin subünitesi için negatif boyananlar immünolekelenmede HSCORE 'da 40.7 'yi göstermektedir. Pozitif boyama her üç integrin için Noyes histolojik tarihleme kriterleriyle uyumlu, siklusun 20-24. gün aralığında sadece 4 gün boyunca görülmüştür. İntegrinlerin birlikte ekspresyonu implantasyon penceresi dönemiyle uyumludur. Sadece avb3 integrini gebe endometriyum epitelinde görünmektedir (40).

İntegrinlerin sub-üniteleri siklusun luteal fazında eksprese edilirler. Sub-üniteler ortalama siklusun 20. gününde ortaya çıkmakta, implantasyon penceresinde integrinler sub-üniteleriyle hazır halde beklemektedirler (43).

Hem trofoblast hem de endometriyum epitelinde v integrini bulunmaktadır (78). Trofoblastik v integrini endometriyumda osteopontin ile etkileşime girmekte, aynı zamanda endometriyumdaki fibronektin ve vitronektin de v ile bağlanmaktadır (78).

Bir takım büyüme faktörleri v integrinin ekspresyonunu değiştirir (70). TGF (dönüştürücü büyüme faktörü) v ekspresyonunun azaltır. IL-1, IL-6 (interlökin 1 ve 6), TNF (tumor nekrozis faktör) v ekspresyonunu artırır (72).

Dinamik markerların varlığı menstrual siklus boyunca değişmektedir. Bu proteinlerin ekspresyonunun Noyes ve ark. klasik menstrual tarihleme kriterlerine uyduğunu göstermiştir (40,74). Daha önce $\alpha\beta3$ (vitronektin reseptörü) ekspresyonunun geciktirilmesinin luteal faz defekti ile beraber gözlemlendiği kanıtlanmıştır (40,71,73). 1500 materyalin incelendiği başka bir çalışmada endometriyal tarihleme için integrinleri değerlendirmenin yetersiz olduğu saptandı (73). Yinede $\alpha\beta3$ yetersiz ekspresyonunun klinikte bozulmuş reproduktif sonuçlarla beraberliği görülebilmektedir (40).

Luteal faz defektiyle belirgin birlikteliğinin dışında (73,74); açıklanamayan infertilite olgularında integrin defetkleri gösterilebilmiştir (75). $\alpha\beta3$ ekspresyonunda olumsuz bir gecikme veya defekt varlığının endometriyozis, hidrosalpenks, tubal hasar ve polikistik over sendromuyla birlikteliği gösterilmiştir (73,75-76,79). Tüm bu tanılar düşük implantasyon oranları ve asiste reproduktif tedavi başarısızlıkları ile ilgilidir (80-82). Bunun gibi markerların kullanılması bir grup gebe kalamayan kadındaki defektif mekanizmayı anlamak için bakış açısı sağlar. Hayvan modellerinde $\alpha\beta3$ rolünü anlamak için çalışmalar yapılmıştır. Babunlarda bu integrinin insanlarla

karşılaştırıldığında iki hafta geç eksprese edildiği gösterilmiştir (embriyo tutunmasından sonra, plasenta invazyonundan önce). İnsanlarla karşılaştırmak için babunlarda implantasyon geciktirildiğinde, integrinlerin trofoblast invazyonunun hızlandığı veya sinyal gönderdiği gözlenmiştir (83).

2.4.7. Selektinler

Diğer hücre adezyon molekülü ailesi selektinlerdir. Selektin ailesi P-selektin (CD62P), L-selektin (CD62L) ve E-selektin (CD62E) gruplarından oluşur. Tüm selektinler α 2,3-bağlı sialik asit ve α 1,3-bağlı fucoz rezidüleri içeren Sialyl Lewis x gibi glikanlara zayıf olarak bağlanırlar (84). İlave olarak sadece P ve L selektinler sülfatlı ve fukozillenmiş glikokonjugatlara bağlanırlar (85). İmplantasyon penceresinde L-selektin karbonhidrat bağları endometriyum lümen epitelinde gözlenirler. Bunun yanında trofoektoderm tutunduktan sonra kuvvetli L-selektin bağları içerirler (86). Sitotrofoblast prekürsörleri, sitotrofoblast kolonları ve invaziv sitotrofoblastlar kuvvetli L-selektin antikorları içerirler. Trofoblast kümeleri uterus epitelindeki oligosakkarit bağlara tutunmak için L-selektinleri kullanırlar (84). L-selektinler özel anikorlarla bloke edildiğinde epitele adezyon fonksiyonu bozulur (86-87). Blastokist tutunmasının çok erken aşamalarında L selektininin uterus epitelininin apikal yüzeyinde eksprese olduğunun göstergesidir. Tutunan blastokist de L-selektin ekspresyonu yapmakta ve uterus epitelinin yüzeyindeki karbonhidrat bağlara bağlanmaktadır (84). Lai ve arkadaşları L-selektinin endometriyumda proliferatif dönemde, erken ve orta sekresyon döneminde ekspresyon farklarını göstermişlerdir. Glandüler epitelde L-selektin ekspresyonu en çok orta sekresyon döneminde gözlenmektedir (88). Normal endometriyumla yapılan immün lokalizasyon çalışmaları L-selektin karbonhidrat ligandı olan MECA-79'un ovulasyon gününden post-ovuluar 6. Güne kadar arttığını göstermiştir; anovuluar siklularda, foliküler faz boyunca azaldığı gösterilmiştir (86,88-89)

2.4.8. Kadherinler

Uterin reseptivite belirteçlerinden diğer önemli hücre adezyon molekülü kadherinlerdir. Kadherinler kalsiyum bağımlıtransmembran glikoproteinleridir. Bağlantılı olan veya olmayan hücre adezyonunda, hücre polaritesinde, hücre sinyal yollarında,morfogenezin düzenlenmesinde kritik role sahiptir (90). Fare

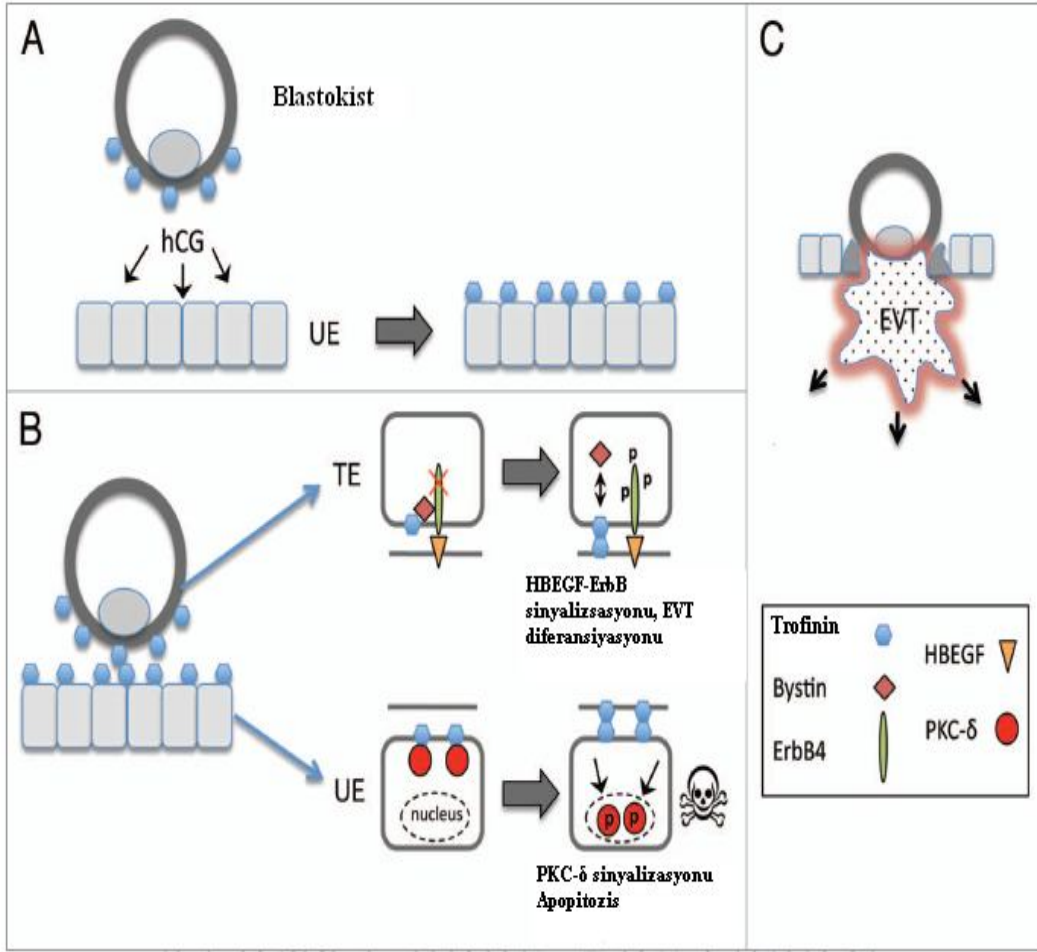
çalışmalarında E kadherinin blastokistin tutunmasında ve sonraki aşamalarda invazyonunda önemli olduğu gösterilmiştir (91-93). Kadherin adezyon protein kompleksinin bir parçası olarak β -catenin eksprese edilmiştir (93). İntraselüler olarak, β -catenin, Wnt sinyal yolağını lökosit uyarıcı faktör/t hücre faktör ailesini uyarabilip, gerekli gen ekspresyonunu yapabilmek amaçlı kullanılmaktadır (94). Wnt sinyal yolağı farelerde embriyo implantasyonu için kritik rol oynamaktadır (95). Yeni yayınlar insan endometriyumunda da embriyo implantasyonu için kritik rol oynadığını düşündürmektedir (91,94-96). Sekrete edilen Wnt proteinleri yoğun olarak glikoprotein ailesinden oluşmaktadır. Bu proteinler hücre proliferasyonunda, hücre diferansiyasyonunda, epitel ile mezenşim arasındaki iletişimde ve embriyogenezde rol oynamaktadır (94,97-98). ‘Frizzled’ adı verilen hücre yüzey reseptörlerine bağlanır ve aktive ederler (99). Bir çalışmada bu glikoprotein ailesi endometriyumun hem proliferatif hem de sekretuar fazında değerlendirilmiş ve endometriyal gelişim, farklılaşma ve implantasyonda önemli role sahip olduğu sonucuna varılmıştır (100). İmmünohistokimyasal olarak yapılan birkaç çalışmada endometriyumdaki E-kadherin ekspresyonunun siklik olarak değişmediği sonucuna varılmıştır (101-102). İnfertil, endometriyozisli kadınlarda yapılan endometriyumun mikrodiseksiyonla incelendiği bir çalışmada, E-kadherin veya β -catenin mRNA ekspresyon derğerleri arasında, menstrasyon periyotlarının değişik zamanlarında, belirgin fark bulunamamıştır. Ancak, sağlıklı fertil kontrol grubunda midsekretuar fazda çok az E-kadherin, β -catenin ve defosforile β -catenin ekspresyonu saptanabilmiştir. Endometriyozisli infertil kadınlarda E-kadherin, β -catenin ve defosforile β -catenin protein ekspresyonunun azaldığı ve bunun infertiliteye neden olabileceği sonucuna varılmıştır (91).

İnsan embriyoları ile yapılan bir çalışmada, immünohistokimyasal olarak, lazer taramalı mikroskopla, 97 adet bölünmekte olan embriyo ve 35 adet anormal ve normal fertilizasyonu gerçekleştirmiş blastokist incelenmiştir. E-kadherin proteinini gözlemleyebilmek için insan plasenta E- kadherinine karşı oluşturulmuş antikorlar kullanılmıştır. İnseminasyonu takip eden 3 ve 4. günde bölünen embriyoda, blastomerlerde, sitoplazmada E-kadherin saptanmıştır. Gelişimin dördüncü evresinde protein hücre-hücre bağlantısı olan membran alanlarına yer değiştirmiştir. Anormal yoğunlaşan veya hiç yoğunlaşmayan embriyolarda yaygın membran fragmentasyonu görülmüş, blastomerler multinükleer olarak kalmış ve E-kadherininin yer değiştirmesi

durmuş ya da bozulmuştur. Dezorganize trofoektoderm E-kadherinin anormal dağılımıyla birlikte izlenmiştir (103).

2.4.9. Trofinin ve Tustin

Diğer önemli bir hücre adezyon molekülü Trofinin ve hücre içindeki partneri Tustin' dir (52). Endometriyumun lümen epitelinin apikal yüzeyinde ve embriyonun dış epitel yüzeyinde bulunur. İnsan plasentasının da bu molekülü taşıdığı gösterilmiştir (104). Fare modellerinde bu hücre adezyon molekülünü hedef alan mutasyonlar sonucu düşükler gözlenmektedir (40). İnsan hücre serileri ve trofoektoderm ile yapılan çalışmada, hücrelerin apikal yüzlerinde adezyon moleküllerini incelemiş, hücre yüzeyinde transmembran protein Trofinin, hücre içinde homofilik bağlanmadan sorumlu olan sitoplazmik iki benzer molekül olan Bystin ve Tustin gösterilmiştir (105,106-107). Son yayınlar, preimplantasyon aşamasındaki embriyodan salgılanan koryonik gonadotropinin endometriyumda tutunma öncesi hazırlık amacıyla trofinin ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir. Ayrıca, tutunma sürecinde Trofinin aracılı homofilik bağlanma hücre içi sinyal akışını sağlayıp, her hücre tipinin fizyolojik aşamasını değiştirmektedir. Bir sonraki aşama olan ekstravillöz trofoblast invazyonu için uterusu hazırlamaktadır (108).



Şekil2.6:Trofinin sinyalizasyonu blastokist implantasyonu süresince trofoektoderm ve uterus epiteli arasında devam etmektedir. (A) Preimplantasyon aşaması: Blastokistten salgılanan human koryonik gonadotropin (HCG) uterus epitelinde (UE) trofinin ekspresyonunu uyarmaktadır. (B) Tutunma reaksiyonu: Trofininin homofilik bağlanması trofoektodermde (TE) ve uterus epitelinde (UE) farklı sonuçlara neden olmakta, downstream sinyalizasyonu uyarmaktadır. Trofoektodermde (yukarda sağda) serbest Trofinin'in Bystin'e bağlanması ErbB4 otofosforilasyonunu başlatır, oysaTrofinin bağlanmasından sonra Bystin salınması ErbB4 inhibisyonunu sonlandırır. HBEGF tarafından ErbB4 aktivasyonu ekstravillöz trofoblast (EVT) farklılaşmasını uyarır. Uterus epitelinde, serbest Trofinin plazma membranının yanında PKC-δ'ya bağlanır, Trofinin bağlanması üzerine PKC-δ serbest bırakılır. Ardından PKC-δ fosforile edilir ve apoptozisi uyarmak için nükleusa taşınır. (C) Trofoblast İnvazyonu: Apoptozis uterus epitelinin bariyerini kaldırır, endometriyuma invazyonu başlatmak için ekstravillöz trofoblastları uyarır (105,109).

2.4.10. Musinler

Organizmadaki epitelial yüzeyler patojen ve benzer streslerden mukus sayesinde korunur. Optimal korunma için mukusun miktar, bileşim ve fonksiyonunun düzenlenmesi son derece önemlidir. Hücre yüzeyindeki mukus, glikozillenmiş proteinler olan musinler tarafından oluşturulur. Musinlerin moleküler ağırlıklarının büyük bir kısmını O-bağlı oligosakkaritler oluşturur (111).

MUC-1, musinler arasında ilk bulunan ve üzerinde en çok çalışılan musin tipidir. MUC1 tek bir polipeptid zinciri olarak endoplazmik retikulum ile ilişkili ribozomlarda sentez edilir. Fakat hücre yüzeyinde heterodimer olarak bulunur (111).

MUC-1 embriyo implantasyonunda, mukoza epitelinin mikrobik veya enzimatik saldırılara karşı korunmasında, tümör progresyonu halinde endometriyumun korunmasında rol alır (110). Bazı türlerde embriyo implantasyonu ile MUC-1 proteininin uterus epitelindeki miktarı ve MUC-1 mRNA ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir. MUC-1 proteazın etkisiyle, lokal olarak embriyonun tutunacağı alandan uzaklaşır, MUC-1 proteolizisi endometriyum yüzey epitelinde oluşmaktadır (110). Bir çalışmada, insan endometriyum epitelinde, polimorfik epitelyum musin, MUC-1, immünohistokimya, Western Blotting ve Northern Blotting kullanılarak değerlendirilmiştir. Menstrual siklusun preovulatuvar fazında MUC-1 mRNA ekspresyonu ve kor proteini az miktarda saptanmıştır. mRNA seviyesi progesteronla bağlantılı olarak ovulasyondan sonra birkaç katına çıkmıştır. Translasyon ürünleri postovulatuvar endometriyumda artmış bulunmuştur. MUC-1 polipeptidinin tekrarlayan ucu endometriyumda glikozillenmiş bulunmuştur (111).

2.4.11. İnterlökin Ailesi

IL-1 monosit ve makrofajlardan salgılanan, immün ve inflamatuvar yanıtta anahtar rol oynayan önemli bir medyatördür (112). Türleri olan IL-1 α ve IL-1 β farklı genler tarafından kodlanır ve farklı işlevleri vardır (113). Hücre fonksiyonlarını değiştiren, fonksiyonel sinyal reseptörü tip 1 dir. Tip 2 reseptörü ise tuzak bir IL-1 hedefidir. Reseptör 2 hücre yüzeyinde çözülebilir bir moleküldür, IL-1' i reseptör 1' e yapışmadan yakalamaktadır. Kontrol grupla karşılaştırıldığında endometriyozisli hastalarda IL-1 alfa ve IL-1 alfa reseptörünün artmış olduğu sonucuna varılmıştır (112,114-115).

Ayrıca, IL-1, IL-6 (interlökin 1 ve 6), Tumor Nekrozis Faktör (TNF) v integrin ekspresyonunu arttırmaktadır. IL-1, T lenfositleri uyararak, İnterferon Gama (IFN- γ) sentezini artırır. Ardından IL-2 ve IL-6 sentezi artmaktadır(70).

IL-6, IL-6 reseptörü ve bunun sinyal ileticisi olan gp130 menstrual siklus boyunca immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Menstrual siklusun tamamı boyunca IL-6 reseptörü ve gp130 öncelikle endometriyal glandüler hücrelerde, daha az oranda stromal hücrelerde saptanmıştır. Bu proteinlerin immünreaktiviteleri, gp130 proteinin menstrasyon boyunca azalması haricinde, menstrual siklus boyunca endometriyal hücrelerde değişmemiştir. IL-6'nın immün boyaması ise proliferatif fazda daha zayıf bulunmuştur. IL-6'nın güçlü immünreaktivitesi ise 'implantasyon penceresinde' gözlenmiştir. IL-6 immünreaktivasyonunun epitel hücrelerinde sekretuar faz boyunca kademeli olarak arttığı sonucuna varılmıştır. Geç sekresyon fazında sadece stromal hücrelerin IL-6 için artmış immünreaktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır. Western blotting analizleri de immünokimyasal verileri doğrulamaktadır. Endometriyal IL-6 ekspresyonu, menstrual siklusa bağımlı olarak, endometriyum dokusunu implantasyon veya menstrual dökülmeye hazırladığı sonucuna varılmıştır (116).

2.4.12. Koloni Stimüle Edici Faktör 1 (CSF-1)

İmplantasyona özel gen yollarından ilk keşfedilen molekül koloni stumule edici faktör-1' dir (CSF-1). Bir büyüme faktörü olan CSF-1 fibroblastlarda, monositlerde, makrofajlarda, endotel hücrelerinde eksprese edilerek gösterilmiştir (110). CSF-1 endometriyum epitelinde, stromasında ve trofoblast hücrelerinde bol miktarda eksprese edilmektedir. CSF-1 reseptörü ise, proto-onkogen olan c-fms, embriyo ve plasentada eksprese edilmektedir (117-118) . İnfertil, osteopetrotik mutant farelerde CSF-1 ekspresyonunda artış keşfedilmiştir (119). Kauma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, CSF-1 menstrual siklus boyunca değerlendirilmiş, 22. gün civarında miktarının azaldığını, geç sekresyon fazı ve erken gebelik döneminde ise CSF-1 ve c-fms miktarının belirgin azaldığı gösterilmiştir (120). Başka çalışmalarda da CSF-1 değerlendirilmiş, implantasyon için hayati öneme sahip olduğu sonucuna varılmıştır (121).

2.4.13. Hücre Yüzeyi Karbonhidrat Zincirleri

İnsanları da içeren memeli çalışmalarında, hücre yüzeyindeki şekerlerin önemi fark edilmiştir. İlk önce fertilizasyon süreci değerlendirilirken belirtilmiştir (122-125). Embriyonun bölünüp fallop tüpleri boyunca hareketi esnasında blastomerler arasında 'sıkıştırma-compaction' adı verilen polarizasyon ve hücre-hücre bağlantıları oluşur. Bu esnada embriyo kaviteleşir ve blastokist halini alır. Tamamiyle kaviteleşmiş blastokist formu oluşup, trofoektoderm maturasyonu gerçekleşirken, hücre yüzeyinde düzenli modifikasyonlar oluşmaktadır (126-127). Bu düzenlemeler hücre yüzeyindeki karbonhidrat ekspresyonunu içerir (126, 128).

Blastokist ile lümen epiteli arasında apozisyon gerçekleşirken, yüzeyindeki glikokalikslerindeki oligosakkarit zincirlerle temasa geçer (129). Endometriyum lümen epitelindeki H tip-1 antijeni embriyo trofoektodermi ile temasa geçip tutunmayı artırır (128). Fare blastokistinin endometriyum lümen epitelinde tutunması H tip-1 antijeni ile olmaktadır (43,128,130). Bu karbonhidrat antijenin endometriyum lümen epitelindeki ekspresyonu overyan steroidlerle kontrol edilmektedir. H tip-1 antijeninin ekspresyonunun kontrolü $\alpha 1-2$ fucosyltransferase enzimi ile yapılmaktadır. Bu enzimin, ooferektomize farelerle yapılan çalışmada, östrojenle aktive olup progesteron ile inaktive edildiği gösterilmiştir (131). H tip-1 antijeninin embriyo üzerinde eksprese olmadığı gösterilmiştir, ancak uterustan izole edilen veya iki hücre aşamasında kültüre edilip oluşturan yoğunlaşmış blastokistlerin yüzeyinde, floresan ile işaretlenmiş neoglikoproteinlerle H tip-1 antijeninin tutunma alanları gösterilebilmiştir. H tip-1 antijeninin ekspresyonu luteal dönemde progesteronun etkisiyle, proliferatif döneme göre daha yüksektir (43,46,128,130).

2.4.14. Proteoglikanlar

Adezyon, özellikle integrin, selektin gibi adezyon moleküllerinin sayesinde olmakta; laminin ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks proteinlerine de ihtiyaç duyulmaktadır. Proteoglikanlar da blastokistin endometriyum lümen epiteline tutunmasında görevli yapılardır. Heparan sülfat proteoglikanı (HSPG), blastokistin tutunmasında önemli rol oynamaktadır. Fare embriyoları ile yapılan bir çalışmada;HSPG bazal membrana yerleşmiş olan formu, Perlecan, blastokistin

endometriyum lümen epiteline bağlanabilmesi için eksprese edilmektedir. HSPG' ların in vitro embriyo tutunma potansiyelini arttırdığı gösterilmiştir (132).

Perlacan gibi 'Syndecan' da HSPG ailesindendir. HSPG' lar, ekstraselüler matriks, büyüme faktörleri, kemokinler, proteaz inhibitörleri bağlayabilirler. İntraselüler sinyal iletiminde rol alabilirler. Farelerle yapılan immünohistokimyasal bir çalışmayla perlecan ve syndecan-4' ün fare endometriyumunda embriyo implantasyon öncesi ve sonrası dağılımı değerlendirilmiştir (133). İmplantasyon öncesi dönemde perlecan bazal membranlarda ve endometriyum stromasının ekstraselüler yüzeylerinde gösterilmiştir. Buna karşılık bu dönemde syndecan-4 ekspresyonu daha zayıf gözlenmiştir. Peri-implantasyon döneminde perlecan bazal membranlarda varlığını sürdürmüş, stromada ise uzun süre gözlenememiştir. Embriyonik hücrelerde de varlığı gözlenmiştir. Gebeliğin 4. Gününde subepitelial stroma hücrelerinin fibroblastlarında syndecan-4'ün varlığı görülmüştür. İmplantasyonun ardından syndecan-4 predesidual ve desidual hücrelerde görülmüştür. Bu iki molekülün koordineli dengesinin embriyoyu kabul edip invazyonunun sağlayabilmek için gerekli olduğu sonucuna varılmıştır (133).

2.4.15. Trofoblastik Hücreler

Adezyonun ardından implantasyon bölgesindeki trofoblastik hücreler, sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast isimli hücre kümeleri oluşturarak, ekstraselüler matriks ve ardından maternal kan damarlarını invaze etmeye başlarlar. Trofoblastar spiral arterlerin duvarlarını da tahrip edip endovasküler trofoblast adı verilen hücrelerle kaplı sinüzoidal keseler oluştururlar. Trofoblastlar birçok hücreyi fagosite ederken, diğer yandan embriyo tarafından salgılanan enzimler maternal hücrelerin destrüksiyonunda büyük rol alırlar. Matriks metalloproteinazlar trofoblastik invazyon esnasında matriks yıkımı için önemli rol alırlar. Trofoblastik hücrelerin ilerleyişi sırasında, ekstraselüler matriks hücrelerinin trofoblastik hücrelerin önünden uzaklaştığı görülmüştür (kontakt inhibisyon). Bu esnada HLA-G antijeni de ortaya çıkar.

Trofoblastın erken dönemde invazyonu integrinlerin ekspresyonunu gerektirmektedir. Hücreler arasında villöz aralık dışındaki sitotrofoblast hücre dışı matriks ile temasa geçtiğinde, V integrini dışındaki integrinleri kaybolup, I ve V reseptörleri ekspresyonu başlatılmaktadır (I reseptörü:laminin, tip 1-2 kollajenler için reseptörler; V: vitronektin reseptörü). Bu aslında sitotrofoblast integrininin $\alpha 6 \beta 4$

durumundan, $\alpha 5\beta 1$ ve $\alpha 1\beta 1$ durumuna dönmesidir (integrin switching) (70, 134). Bu değişim maternal desiduaya daha sıkı tutunmalarını sağlar. Endometriyum stromasından salgılanan laminin ve fibronektin de trofoblast invazyonunu artırır. Laminin özellikle geç luteal dönemde dokuda belirgin hale gelmektedir. (134)

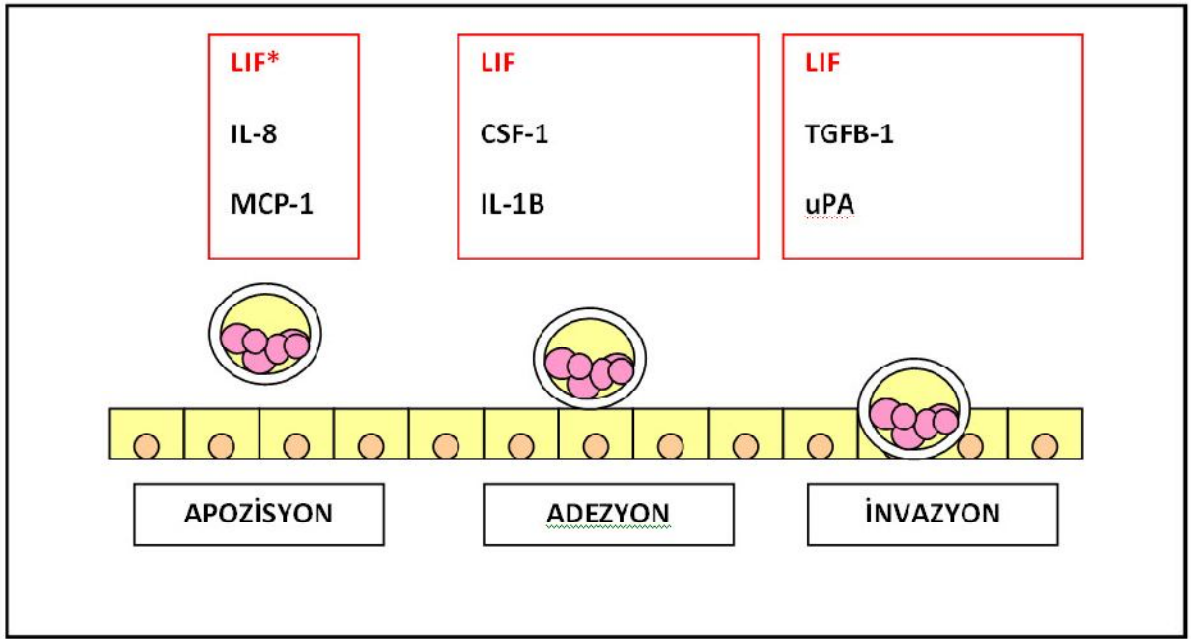
Trofoblast invazyonunda insülin benzeri büyüme hormonu 1-2 mitojenik, anti-apoptotik, metabolik rol üstlenirler. IGF1-2, IGF taşıyıcı protein-1 (IGFBP-1) ile taşınırlar. İnsan çalışmaları IGF-2'nin trofoblast invazyonunu arttırdığını göstermiştir. IGFBP-1 ise Arg-Gly-Asp tripeptidini taşır ve bu nedenle fibronektine benzerlik gösterir, sitotrofoblastta integrin switching ile oluşan $\alpha 5\beta 1$ ile bağlanır, trofoblast invazyonunda rol alır. (134).

TGF- β (transforming growth faktör beta) trofoblast invazyonunu kısıtlayıcı yönde hareket eder. Luteal dönemde Matriks metalloproteinaz-2 sentezini azaltıp, plazminojen aktivatör inhibitör ve TIMMP sentezini artırarak bu etkisini göstermektedir (134).

2.5. İmlantasyonda Etkili Genetik Faktörler

2.5.1. A LIF (Lösemi İnhibitör Faktör)

Lösemi inhibitör faktör adıyla bilinen glikoproteindir. Endometriyumda her menstrual siklusun luteal döneminde salgılanmaktadır. Maksimum ekspresyonu menstrual siklusun 19-25. günü arasında gözlenmiştir. Endometriyum, blastokist ve oositlerde reseptörü bulunur. Hücre yüzeyindeki LIF reseptör- β , post-reseptör etkisini gp130 aktivasyonu ile sağlar. Başarılı bir implantasyonun oluşması için gereklidir (18,135-136).



Şekil2.7:LIF’in implantasyon aşamalarındaki rolü (14).

LIF, IL-6 ailesinin bir üyesidir. Biyolojik fonksiyonları için yüksek ölçüde glukozillenmiş, 40-50 kDa ağırlığında bir moleküldür (137, 138). Gp130 IL-6 ailesinin ortak post-reseptör etkilerinden sorumludur (139). Sinyal iletimi ise JAK-STAT yoluyla oluşmaktadır. Ardından dokulardaki etkilerinin oluşabilmesi için Src homologue tirozin fosfatase (SHP-2) veya fosfatidilinozitol -3- kinaz yolları aktive olur. Sitokin sinyal supresyonu ‘aktive STAT inhibe edici proteinler’ tarafından yapılabilmektedir (140-142).

Farelerle yapılan bir çalışmada, C57B1 LIF gen defekti olan dişi farelerde, blastokist aşamasına ulaşıldığı ancak, implantasyonunu gerçekleştirmediği gösterilmiştir ve uterus desidualizasyonu daha zayıf gözlenmiştir (138,143,144). LIF defekti olan farelerde, implantasyonun 4. gününde mikro osmolar pompayla yada enjeksiyonla LIF verildiğinde implantasyon kapasitesini yeniden düzenlediği ve doğumlarının gerçekleşebildiği gösterilmiştir (138,143,145-146). Gp-130 (glikoprotein 130) defekti olan fare embriyolarının, gebeliklerinin ikinci yarısında, kalp ve hematopoetik sistem prekürsörlerini de içeren birçok anomalilerle öldükleri gösterilmiştir (147). LIF-Rβ defektli farelerde implantasyon gözlenirken, plasantasyon defektleri, motor nöron dejenerasyonları ve doğum esnasında ölümler gözlenmektedir (148). Sinyal iletimi ve aktivasyonu transkripsiyon-3 (Stat-3) defekti de implantasyondan sonra ölümcüldür (149). LIF defektli farelerde implantasyonun durması uterusda bu implantasyon

sürecinin erken aşamalarında LIF'in gerekli olduğu sonucuna varırmıştır. Diğer türlerde LIF'in moleküler seviyesinin ne kadar önemli olduğu halen net değildir (138).

İnsanlarda LIF mRNA ve proteini, implantasyon gerçekleşirken, siklusun luteal fazında, endometriyal glandlarda eksprese edilmiştir (150-152). LIF-R β vegp-130 fertilitesi kanıtlanmış kadınlarda tüm siklus boyunca eksprese edilebilmiştir (153). Ancak LIF mRNA ve proteini sadece desidual stromada gösterilebilmiştir (154-156). Gp-130'un proteolitik bir yıkım ürünü olan çözünebilir formu endometriyum epitelinden özellikle yüksek oranda, orta ve geç luteal dönemlerde salınmaktadır (157-158). Endometriyum epitelinden oluşan kültür ortamında bunun hem östrojen hem de progesteron tarafından stimule edildiği gösterilmiştir. Bu durum potansiyel bir antagonistle membrana bağlı IL-6 ailesinin sentezinin kontrol edilebileceğini göstermiştir. Gp-130'un çözülebilir formunun düzenlenememesinin açıklanamayan infertiliteyle beraber olduğu ve IL-6 ailesinin sitokinlerinin endometriyum fonksiyonunda normal gebelik için gerekli olduğu sonucuna varılmıştır (157). Açıklanamayan infertil olgularda LIF seviyesinin uterin yıkama sıvısında daha az olduğu gösterilmiştir (159). Açıklanamayan infertil 50 kadında LIF geni taranmış, sadece bir kadın heterozigot bulunmuş, ve bu hasta ovulasyon indüksiyonu ile gebelik elde edebilmiştir (160). Başka bir grup araştırmacı ise tekrarayan gebelik kaybı olan kadınlarla multipar kadınları karşılaştırmış, LIF seviyeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulamamıştır (161).

İnsan endometriyum hücre kültürlerinde LIF'in IL-1'den TNF- α ' ya kadar inflamasyon süreciyle ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. In vitro olarak, IL-1 β 'nın endometriyum epitel hücrelerinden LIF sekresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (162). Bu hücrelerde, LIF, LIF-R, IL-1 β , bunun reseptörü ve reseptör antagonistlerinin hepsi leptin yolu ile leptin reseptör OB-R ile kontrol edilmektedir (163,164). IL-1 β ve leptin LIF-R up-regüle ederken, her ikisinin etkisi IL-1R tip 1 blokajıyla önlenmektedir. Sonuçta endometriyum epitel hücrelerinde leptin LIF seviyesini kontrol ederken, LIF'in ve IL-1'in feedback etkisinden de etkilenmektedir. TNF- α , IL-6 ile beraber LIF sekresyonunu fonksiyonel proteozom içeren ortamda 'nerve faktör κ B' aracılığıyla arttırmaktadır (165). IL-1 β , TNF- α , TGF- β ilk trimester insan desidual hücre içeren kültürlerde LIF üretimini arttırmaktadır (155).

Embriyonun da LIF sekresyonu üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. İn vivo ve in vitro olarak HCG uygulandığında LIF sekresyonunun endometriyal epitel hücrelerinde arttığı gösterilmiştir. İnsülin benzeri growth fakör 1-2 (IGF-1,2) ve TGF- β doza bağlı olarak endometrium epitel hücrelerinde LIF sekresyonunu arttırırken, IGF asilesi IL-6 sentezini azaltmaktadır (162,166).

Çalışmalar büyük ölçüde LIF'in implantasyon dönemindeki etkileri üzerinde yoğunlaşmıştır. LIF muhtemelen pre-implantasyon döneminden gebeliğin birinci gününe kadar endometrium lümen epitelini etkilemektedir. Seminal sıvının insan uterusunda LIF seviyesini arttırdığı gösterilmiştir. Bunun yanısıra, epitelial hücreler, fibroblastlar, diğer hücre popülasyonları ve lökositler LIF üzerine negatif etki yapmaktadırlar (162,167).

Menstrual peryod boyunca preovulatuvar östrojen sentezi hem glandüler hem stromal büyümeyi uyarmakta, gebeliğin 2-3. günü bu etkisi progesteron ile durdurulmaktadır. Gebeliğin 4. gününe kadar östrojenin küçük bir yükselişi stromal ploriferasyonu arttırmaktadır. C57Bl6 farelerde LIF yokluğuunda, erken gebelikte ne stroma ne de diğer lümen epitelinde ploriferasyon görölmemiştir (145).

Memeli blastokistleri trofoblastlar tarafından salgılanan LIF'e karşılık olacak şekilde LIF-R (LIF reseptörü) taşırlar. Fare blastokistlerinde bu reseptörler iç hücre kitlesinde bulunurlar (150,168-169). LIF in vitro ortamda blastokist gelişim ve farklılaşmasını arttırmaktadır (170-171). İki hücre aşamasında LIF blokajı mikroenjeksiyonla yapıldığında, morula veya blastokist oranı azalmaktadır (172).

Trofoblastlar ve plasenta insan ve fare türlerinin her ikisinde de LIF için önemli birer hedeftirler. Fare blastokist trofblastları LIF'e yanıt olarak matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9) ve 'ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü' salgılamaktadırlar. MMP-9 trofoblastın uterus içine invazyonunda önemli rol oynar (173-174). LIF trofoblastlarda HCG ve 'Onkofetal Fibronektin' sentezini arttırır, Onkofetal Fibronektin HCG bağımlı farklılaşmada etkilidir (18,175). LIF'in in vitro ortamda farklı hücre tiplerine de etkileri vardır. Embriyonik kök hücre farklılaşmasını inhibe ederken, nöronların çoğalmasını arttırır, primer hematopoetik hücreler ve germ hücrelerin ploriferasyonunu arttırır (176). LIF eksikliği olan hayvanlarda plasental defektinin yanı sıra, dalak ve kemik dokusunda da kök hücre sayısının azaldığı gösterilmiş, heterozigot formdaki hayvanların ise ara

form fenotipte olduğu görülmüştür. Bu durum LIF'in doza bağı etkisini de göstermektedir. Egzojen LIF uygulamasıyla kök hücre eksikliğinin önüne geçilebilmiştir (177).

2.5.2. HOXA 10 -11 (Homeobox A10-A11)

Her menstrual siklusta endometriyum belirgin şekilde proliferatif fazdan sekretuar faza değışim gösterir. Postmenstrual dönemde 0,5 mm olan endometriyum 10 mm'ye kadar kalınlaşmaktadır. Sekretuar dönemde östrojen ve progesteronun kombine etkisi implantasyon için hazırlığı üstlenmektedir. İmplantasyon insan gebeliğinin oluşması için en önemli basamaktır. Birçok yönden yetişkindeki siklusa bağı endometriyal gelişim embriyodaki doku ve organ gelişimiyle benzerlikler göstermektedir. Küçük hücre sayılarıyla başlayıp hızlı bir hücre bölünme aşaması, ardından büyüme, farklılaşma, anjiogenezis, doku modellenmesi ve endorgan fonksiyonunun belirlenmesi süreçleri tamamen benzerdir. Gelişim düzenleyici genlerin hem endometriyal hemde embriyonik gelişimde rol oynaması şaşırtıcı değildir (15).

Tüm multinükleer hayvan organizmaları son vücut şekillerini oluşturabilmek için benzer genleri paylaşırlar. HOX genleri (insanlarda) yüksek metazonlar boyunca hücrelerin kimlik kazanabilmelerinde rol alan transkripsiyon faktörleridir. HOX genleri gelişim sürecinde yüksek oranda korunmuştur, embriyonik morfogenez ve farklılaşmada rol almaktadır (178-180).

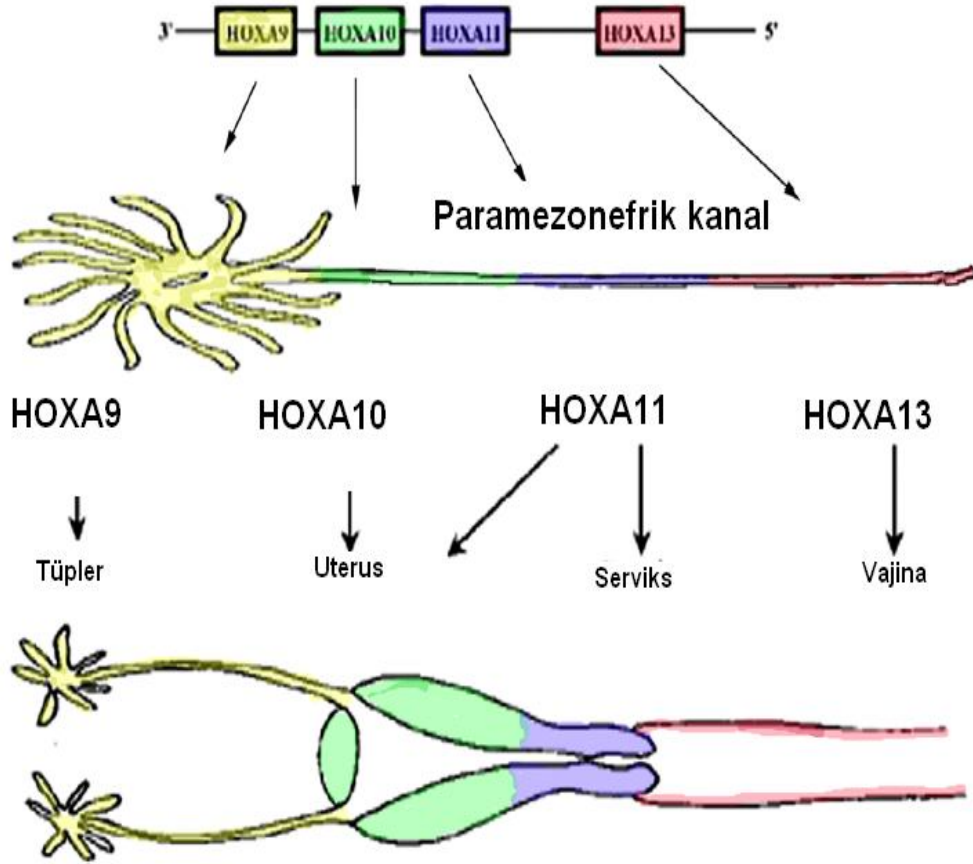
Drosophila melanogaster, meyvelerin üzerinde bulunan bir tür sinek, HOX genlerinin ilk tanımlandığı organizmadır. Çeşitli HOX genleri vücut segmentlerinin gelişiminde rol almaktadır. *Drosophila* peşpeşe 8 homeobox gen kümesinin bir homeotik kompleksi oluşturan bir HOM-C kompleksini taşır. Omurgalı genomları da homeobox gen kümelerini taşırlar. İnsanlar ve fareler 4 paralel kümeden oluşan, A-B-C-D, total 39 Hox geni taşırlar. Farelerde 6,11,15 ve 2; insanlarda 17,7,12,2. kromozomlarda yerleşmişlerdir (181-182). Tüm HOX genleri benzer 189 baz çiftini taşımaktadır. Bu kodun, prokaryot transkripsiyon düzenleyicilerinin sayesinde 61 aminoasit dizisini DNA'nın helix-turn-helix şeklinin oluşumu için bağlantı noktalarında görevli olduğu gösterilmiştir. Bu durum HOX genlerinin yüksek oranda korunarak taşındığını göstermektedir (15).

HOX genleri transkripsiyon faktörleridirler. Down-stream hedef gende düzenleyici bölgeye yerleşir, transkripsiyonu aktive veya deprese ederler. Bu koordine gen ekspresyonu bölgeye özel uygun vücut yapılarının yapılmasını sağlarlar (15)

Reprodüktif traktus öncelikle farklılaşmamış doku ekseninden oluşmaktadır. Farklılaşmamış paramezonefrik kanalda fallop tüpleri, uterus, serviks ve üst vajina oluşmaktadır. Bu farklılaşmada HOX genleri rol almaktadır. Bu genlerden HOXA kümesinin ekspresyonu değerlendirildiğinde *Drosophila*'nın abdominal-B geniyle benzeşimi gösterilmiştir. *Drosophila*'nın posteriorunun abdominal-B genlerince eksprese edildiği, vertebra genlerine uyan kısım gövdenin distal kısımlarınca eksprese edilmektedir (15). Paramezonefrik kanalın gelişimi boyunca HOX genlerinin farklı ekspresyonları gösterilmiştir. HOXA 9 fallop tüplerinin geliştiği alanda, HOXA 10 uterusun geliştiği alanda, HOXA 11 alt uterin segment ve serviksin eksprese edildiği alanda gösterilmiştir. HOXA 13 üst vajenin eksprese edildiği alanda gösterilmişken, HOXA 12 henüz tanımlanamamıştır (183).

Paramezonefrik kanal boyunca kendi alanlarında HOX genlerinin izole edilmesi, yetişkin yapısının oluşumu hakkında yol gösterici olmuştur. Hem fare hemde insan reprodüktif dokusunda benzer patern gösterilmiştir (183). HOXD gen kümesi de gelişim sürecinde dokuların özelleşmesine katkıda bulunmaktadır (184-186). HOXA 13 mutasyonu saptanan kadınlarda reprodüktif kanal farklılıklarının gösterilmesiyle HOX gen ekspresyonunun önemi doğrulanmıştır (187). Bu kadınların bir kısmı didelfis veya bikornus uterus gibi müller kanal füzyonuyla 'el-ayak-genitalsendromuna' sahiptir.

Müllerian Sistem Gelişiminde HOX Gen Kodları



Şekil 2.8:Müllerian sistem gelişiminde HOX gen kodları. Her HOX geninin anterior sınırı peramezonefrik kanal boyunca lineer şekilde düzenlenmektedir. Her HOX geninin karşılığı olan alan özel bir reproduktif kanal yapısına dönüşmektedir (15).

HOX gen ekspresyonunun seks steroidleri tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (16-17). Steroidler ilk önce HOX gen ekspresyonu ile morfogenezi belirlemektedirler. Non-steroid östrojen Dietilstilbestrol (DES) kadın genital traktus gelişim sürecinde HOX gen ekspresyon yerlerini değiştirmektedir (188). İntrauterin DES maruziyeti yumurta kanalından HOXA 9 ekspresyonunu uterusu doğru kaydırmakta, uterusu HOXA 10 ve HOXA 11 ekspresyonu azalmaktadır. Böylece daha keskin sınırlı ve dallı bir yapı olan, fallop tüpüne şeklen benzeyen, klasik ‘T-şekilli’ uterus görülmektedir. İnsan hücre kültürlerinde de DES insana benzer şekilde HOX gen ekspresyonunu

değiştirmektedir. Daha sonra farelerde de steroidlerin HOX gen ekspresyonunu etkilediği gösterilmiştir (189).

Farelerde ve insanlarda persiste eden HOX gen ekspresyonu reproduktif traktusta gösterilmiştir. Yetişkinde HOX gen ekspresyonunun devam etmesi, genital traktusta gelişimin menstruasyon ve gebelik oluşumunun sağlanması için gereklidir. Genital traktusta gelişim olayı, birçok embriyonik dokunun büyüme ve gelişimiyle benzer şekildedir. Endometriyumun bu şekilde yönetilmesi implantasyona izin vermektedir (190).

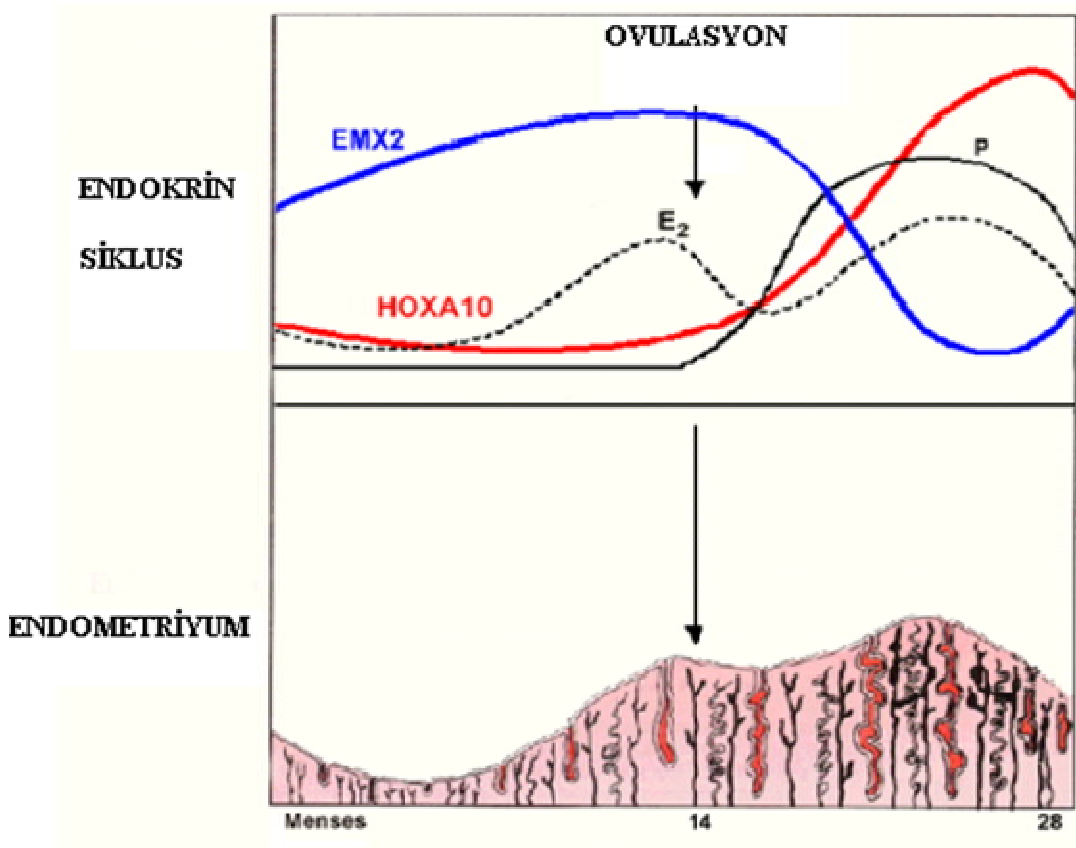
Menstrüal siklus boyunca HOXA 10 ve HOXA 11 endometriyum glandları ve stromada eksprese edilmektedir (16-17,183). Bu iki genin fare ve insanda implantasyon için gerekli olduğu düşünülmektedir. HOXA 10 ve HOXA 11 defekti olan farelerde uterin kaynaklı inferilite gözlenmiştir (191-192). Normal sayıda embriyo oluşturulduktan sonra HOX gen defekti olmayan farelerde bu embriyolar yaşayabilmişken, HOXA 10 ve HOXA 11 defektli farelerde bu embriyolar tutunamamıştır. HOXA 10'u etkileyen mutasyonlar üst uterin segmentte yumurta kanalı benzeri histolojik yapıya neden olabilir; ancak uterusun büyük bir bölümü normal görünümündedir. Normal görünümde alt segmenti olan uteruslara embriyo transferi sonrasında başarılı implantasyon sonuçları görülmemiştir. HOXA 11'i hedefleyen mutasyonlar sonrasında endometriyal glandular gelişiminde ve LIF sekresyonunda azalma saptanmıştır. Bu sonuçlar HOXA 10 ve HOXA 11'i hedefleyen mutasyonlar sonrasında implantasyona elverişsiz bir uterus oluşmakta, ya da, uterus normal olarak gelişmesine rağmen HOX gen defekti nedeniyle her menstruasyonda uygun gelişmeyen endometriyum oluşmaktadır (190,193).

Hidrosalpenkste azalmış implantasyon oranları bilinmekte olup hangi HOX geninin değiştiği değerlendirilmiştir. Hidrosalpenksli kadınların in vitro fertilizasyon sikluslarında da implantasyon oranlarının azaldığı gösterilmiştir. Fare embriyolarının hidrosalpenks sıvısı içeren ortamda kültüre edilmesiyle normal kültür ortamı karşılaştırıldığında maturasyonun azaldığı veya durduğu saptanmış ve artmış dejenerasyon gözlenmiştir (194-195). Hidrosalpenks sıvısının HOXA 10 ekspresyonu üzerine etkisi de çalışılmıştır. Hücre kültür medyumuna %10 hidrosalpenks sıvısı eklendiğinde endometriyal hücrelerde HOXA 10 ekspresyonunun azaldığı gözlemlenmiştir (196).

Ektopik tubal implantasyon alanındaki HOXA 10 ekspresyonu, ötopik endometriyum ve normal fallop tüpü karşılaştırılmıştır. Fallop tüpündeki ektopik implantasyon alanında HOXA 10 gen ekspresyonunun yaklaşan normal bir gebelikteki kadar artmış olduğu gösterilmiştir. Fallop tüpündeki artmış HOXA 10 ekspresyonunun ya da blastokist tarafından anormal HOXA 10 ekspresyonunun ektopik implantasyonda rol aldığını düşündürmüştür. Hem implantasyon hem de ektopik implantasyonun altında benzer moleküler mekanizmaların yattığını düşündürmektedir (197).

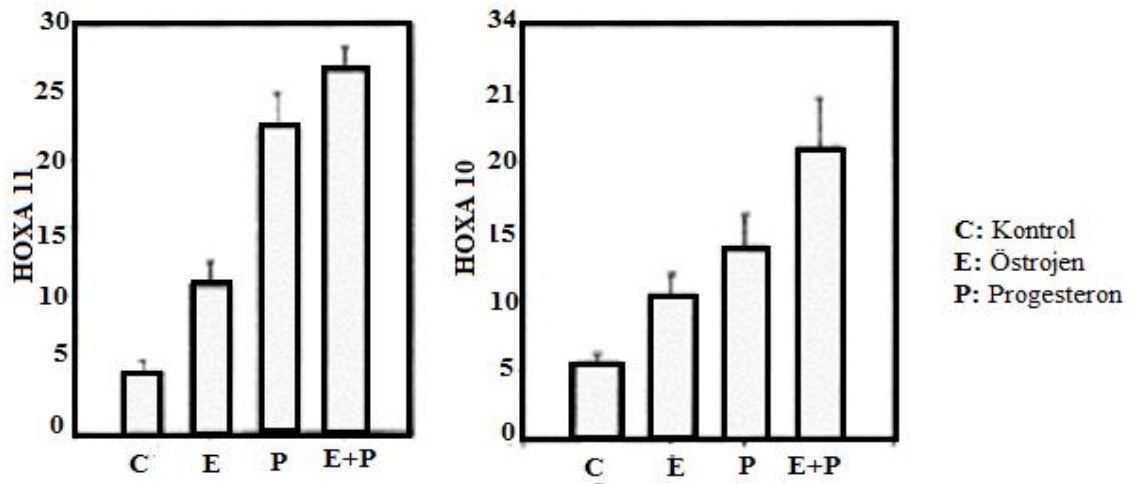
Menstrual siklus boyunca HOXA 10 ve HOXA 11 endometrial gland ve stromada eksprese edilirler. Midluteal dönemde, implantasyon peryodunda her iki HOX geninin ekspresyonu belirgin şekilde artar ve luteal faz boyunca yüksek kalmaya devam eder. Bu artış HOXA 10'un bilinen endometrial reseptivite gelişimiyle korelidir (15-17, 183).

Tablo 2.3: İnsan endometriyumunda menstrual siklus boyunca HOXA 10 ekspresyonu (15).



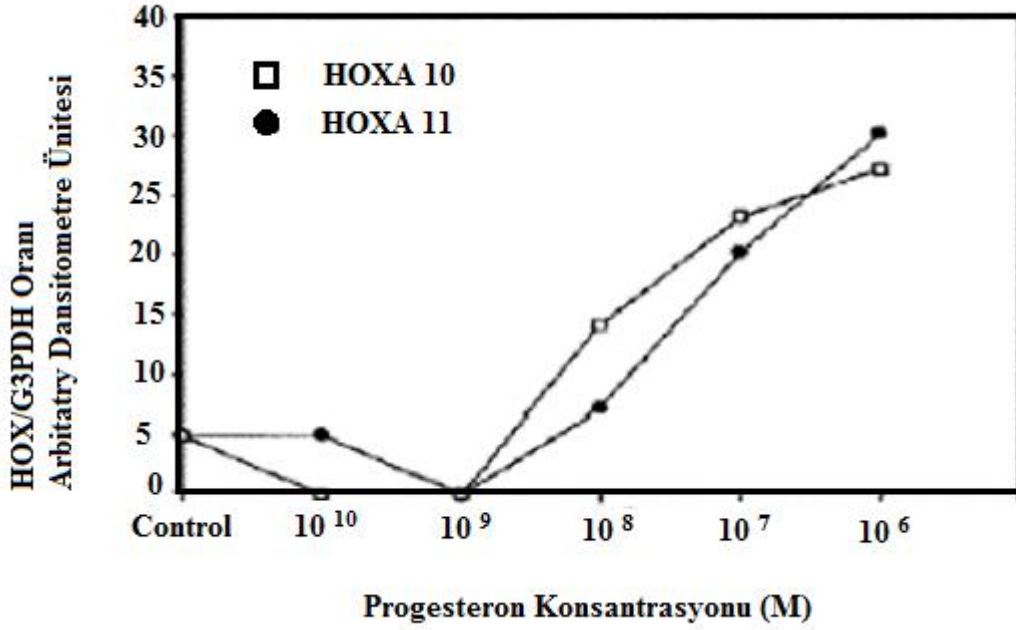
Yetişkin insan mestüal siklusu östrojen ve progesteron tarafından yönetilmektedir. HOXA 10 ekspresyonu muhtemelen kendi reseptörlerinin HOXA 10 ve HOXA 11 düzenleyici elemanlara bağlanmasıyla, hem östrojen hem de progesteron tarafından arttırılmaktadır. Maksimum HOXA 10 ekspresyonu östrojen ve progesteronun beraber etki etmesiyle gözlenmektedir. Progesteron için fizyolojik sınırın üstünde, doz bağımlı HOXA 10 ve HOXA 11 ekspresyonu gözlenmektedir. Bu durum luteal faz boyunca implantasyon anında belirgin up-regülasyonun nedenini göstermektedir. Ayrıca HOXA 11'in de HOXA 10 ile benzer düzenlendiği de gösterilmektedir. Direkt etkiyi değerlendirmek amacıyla önceden sikloheksimit uygulandığında; HOX ekspresyonu hala östrojen ve progesteron tarafından uyarılabilmektedir. Bu direkt regülasyonu göstermektedir (15-17)

Tablo 2.4:HOX gen ekspresyonunun seks steroidlerince düzenlenmesi (15).



HOXA 10 ve HOXA 11'in her ikisi de östrojen ve progesteron tarafından upregüle edilmektedir. Maksimum ekspresyon hem östrojen hem de progesteronun birlikte stümulasyonu ile elde edilmektedir (15)

Tablo 2.5:Primer endometriyal stroma hücrelerinde progesteron uygulamasının ardından HOXA 10 ve HOXA 11 doz cevabı (15).



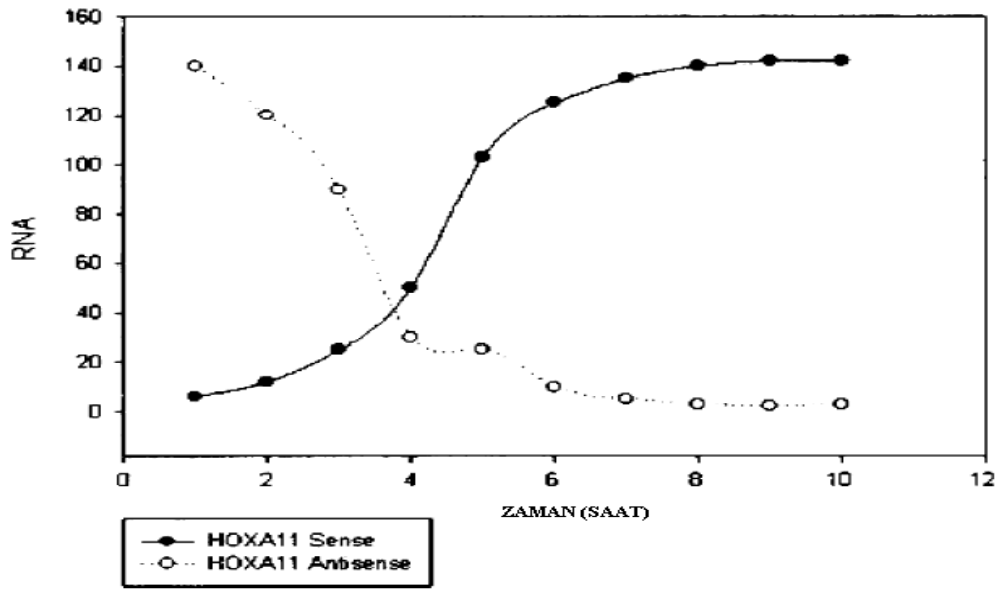
HOX gen cevabı progesteron uygulamasıyla fizyolojik aralığın üstünde de artarak devam etmektedir. Progesteron muhtemelen peri-implantasyon döneminde HOX gen ekspresyonunu arttırmaktadır (15).

Aynı uyarıya farklı dokuların farklı cevapları olmaktadır. Myometriumda HOXA 10 ekspresyonu çalışılmıştır (198). İn situ hibridizasyon çok miktarda HOXA 10 ekspresyonu göstermişken, Northern analizi menstrüasyon boyunca myometriumda farklı HOXA 10 gen ekspresyonları göstermiştir. HOXA 10 ekspresyonu midsekretuar fazda azalmakta; progesteron seviyesiyle çatışmaktadır. Gebe olmayan insan myometriumunda HOXA 10 ekspresyonu progesteron tarafından inhibe edilmektedir. Primer myometriyal hücre kültüründe progesteron uygulaması in vivo deneyimlere paralel olarak HOXA 10 ekspresyonunu azaltmaktadır. Stromada ise HOXA 10 ekspresyonu progesteron tarafından uyarılmaktadır (199).

Proliferatif fazda HOXA 11 ekspresyonunun nasıl baskılandığı da araştırılmıştır. İnsan uterusunda HOXA11 ekspresyonunu önleyen ‘antisense RNA’ gösterilmiştir. Antisense RNA transkripsiyonu gen regülasyonunda rol almaktadır HOXA 11 antisense transkripsiyon seviyeleri menstrual siklus boyunca değişmektedir. En yüksek antisense RNA seviyeleri midproliferatif fazda gözlenmekte, mRNA ekspresyonuyla ters orantılı

seyretmektedir. HOXA 11 protein seviyeleri mRNA seviyesiyle koreledir. Primer stromal hücre kültüründe progesteron HOXA 11 antisense transkripsiyonunu azaltırken, 17 β -östradiyol sadece substrat konsantrasyonu düzeyinde HOXA 11 antisense düzeyini azaltmaktadır. Progesteronun HOXA 11 antisense düzeyini azaltmasının hemen ardından HOXA 11 mRNA seviyelerinde artış başlamaktadır. Endometriyal reseptivite ve in vivo HOXA 11 ekspresyonunun düzenlenmesinde HOXA 11 antisense RNA ekspresyon paterni önemli rol oynar (200-201).

Tablo 2.6: HOXA 11 transkripsiyonunun progesterona yanıtının temporal ilişkisi (15).



Sıfır anında insan endometriyal stroma hücreleri 10⁻⁶ M progesteron ile muamele edilmiştir. HOXA 11 antisense transkripsiyonu hızlıca azalmıştır. Bunu HOXA 11 sense transkripsiyonunda hızlı artış takip etmiştir. Antisense inhibisyonu kalktıktan sonra HOXA 11 mRNA transkripsiyonu başlamıştır. Değerler üç bağımsız denemenin ortalamasıdır. Sense ekspresyonu 4.saat hariç tutulduğunda antisense ekspresyonundan farklıdır (p<0,05) (15).

İnsan endometriyal adenokanser hücre kültürlerinde insan blastokistleri tanımlanamayan bir çözülebilir faktör salgılayarak HOXA 10 ekspresyonunu arttırmaktadır. Bu durum deneysel anlamda implantasyondan önce embriyo tarafından, embriyo kalitesine bağlı olarak, uterusu sinyal faktörlerinin salgılandığını

göstermektedir. Embriyo muhtemelen komşu endometriyumun reseptivitesinin arttırarak başarılı implantasyon şansını arttırmaktadır (202).

İmplantasyonun doğru şekilde gerçekleşmesi için HOXA 10 ve HOXA 11 transkripsiyon faktörleri endometriyum ve implantasyon reseptivitesinde moleküler gelişimi sağlayan diğer gen yollarını da düzenlemektedir. Ancak HOXA 10'un transkripsiyonel hedefleri henüz tam anlamıyla gösterilmemiştir. Diğer homeobox genlerini de içeren olası hedefler mevcuttur (203-204).

EMX2 HOX kümesinin dışında bulunan ürogenital gelişimde rol alan farklı bir homeobox genidir. EMX2 reproduktif siklus boyunca uterusda eksprese edilmektedir. EMX2 mRNA ekspresyonu proliferatif faz boyunca belirgin artmakta, erken sekresyon fazında tepe değerine ulaşmaktadır. Ardından midsekretuar fazda hızlıca %50 oranında azalmaktadır (205, 206).

EMX2'nin HOXA 10 tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir. Ürogenital sistemde EMX2'nin HOXA 10'a zıt paternde, ters regülasyon ilişkisine benzer şekilde eksprese edildiği gösterilmiştir. HOXA 10 ekspresyonu EMX2 mRNA ekspresyonunu azaltırken, antisense kullanarak HOXA 10 ekspresyon blokajı EMX2 mRNA ekspresyonunu arttırmaktadır (15).

Endometriyal reseptivite belirteci olarak $\beta 3$ integrin molekülü daha önce gösterilmiştir. Endometriyumda $\beta 3$ integrin subünite geni HOXA 10 transkripsiyonuyla uyarılmaktadır. HOXA 10 direk olarak $\beta 3$ integrin subünite geninin 5' düzenleyici ucuna bağlanır ve direk habercilerin sentezini uyarır (207-208)

HOXA 10'un pinopod fonksiyonu üzerine etkileri de değerlendirilmiştir. HOXA 10 antisense ile transfeksiyon yoluyla fare endometriyumunda implantasyon öncesinde HOXA 10 ekspresyonunun durdurulmuş, pinopod sayısında belirgin azalma olduğu gözlenmiştir. Normal pinopod yapısındaki endometriyumda aşırı HOXA 10 ekspresyonu da pinopod sayısında artış gözlenmiştir. İmplantasyon markerı olan pinopod ve $\beta 3$ integrinin her ikisinin de HOXA 10 tarafından direkt regüle edildiği gösterilmiştir (209).

HOX gen ekspresyonunun değiştirilme potansiyeli umut vaat edicidir. Fare modellerinde implantasyon ve yavru sayısının değiştirilebileceği Hox gen

tedavisiyle gösterilmiştir. İnsan uterusunun transfeksiyonunun da mümkün ve başarılı olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular gen tedavisiyle insan uterusunda HOX gen ekspresyonunun değiştirilebileceği ve implantasyonun arttırılabileceğini düşündürmektedir (210-211)

2.6. İmlantasyon Başarısızlığına Neden Olan Uterus Kaynaklı Faktörler

Müllerian anomaliler, submüköz myomlar, intrauterin adezyonlar ve endometriyal polipler subfertilite, implantasyon defektleri ve düşüklere neden olabilirler. Semptomatik hastaların %24'ünden fazlasında, subfertil hastaların %11'inde ortak yapısal uterin patoloji endometriyal polip olarak raporlanmıştır (212-213).

2.6.1. Müllerian Kanal Anomalileri

Dişi ve erkek embriyoları başlangıçta iki çift genital kanala sahiptirler. Mezonefrik ve paramezonefrik kanal olarak isimlendirilen bu kanallar embriyolojik gelişim esnasında kromozomal farklılığa göre erkek veya dişi genital yollar yönünde gelişirler(19).

Paramezonefrik kanal ürogenital çıkıntının anterolateral yüzeyindeki çöломik epitelin longitudinal invajinasyonu sonucunda oluşur. Kranial olarak bu kanal konik bir yapı ile çöломik kaviteye açılır. Kaudal olarak mezonefrik kanala lateral seyreder. Ventrale doğru mezonefrik kanalı çarpazlayarak orta attı diğer paramezonefrik kanalla birleşir. Başlangıçta iki kanal septum ile ayrıdır, daha sonra birleşerek uterin kanalı oluşturur. Bu kanal sistemleri ürogenital sinus posterior duvarında küçük bir çıkıntı oluşturarak paramezonefrik veya müllerian tüberkülü yaparlar (19).

Dişide paramezonefrik kanallar uterin tüp ve uterusu farklılaşırlar. Androjen yokluğunda farklılaşmamış olan ekseternal genitaler estrojen ile labia major, labia minör, klitoris ve alt vajene farklılaşırlar(19).

Paramezonefrik kanalın farklı lokalizasyonlarında veya tamamında füzyon olmazsa uterusun değişik tipte duplikasyonları oluşur. En şiddetli formda uterus didelfis, en hafif formda uterus arkuatus oluşur. Sık görülen anomalilerden birisi de bikornuat uterusudur. Bir paramezonefrik kanalın komplet veya parsiyel agenezisi sonrasında rudimenter kısım gelişen diğer kısmın yanında artık olarak kalır(134).

. Müller kanal anomalisi olan hastalarda spontan abortus, prematur doğum, erken membran rüptürü, anormal fetal prezentasyon gibi kötü gebelik sonuçları daha sık gözlenmektedir (214).

Müller kanal anomalileri kanalların orta hat füzyonunun olmamasından, ürogenital sinus ile bağlantısının olamamasından, birleşen müller kanalları arasındaki septumun rezorbe olamamasından kaynaklanır. Müller kanallarının füzyonu orta hatta başlar, kranial ve kaudal her iki yönde ilerler. Bu nedenle anomaliler her iki yönde olabilir. Uterus kavitesinin oluşumu ise alt kutuptan başlar fundusa doğru ilerler. Yetersiz rezorpsiyon orta hatta değişik seviyelerde uterin septuma neden olur(213).

Unikornuat uterus müller kanallarından birisinin gelişmemesi sonrasında gözlenir. Çoğunlukla asemptomatik ve non kominikan tipte karşımıza çıkar. Bazen erken spontan düşükler, ektopik gebelikler, malprezentasyonlar, dismenore, disparoni ve ektopik gebeliklere neden olabilirler. %40 oranında üriner sistem anomalileri eşlik eder(134).

Uterus didelphus iki müller kanalının birleşmemesi sonucu oluşur. İki uterus ve iki tüp gelişebilir. Bazen birisi obstruksiyon ile semptomatik olabilir (134).

Bikornuat uterus iki müller kanalının birleşmesinde parsiyel defekt sonrasında gelişir. Gebelik sonuçları normale daha yakındır (134).

Septat uterus iki müller kanalının orta hattaki septumunun rezorpsiyon defekti sonrasında oluşur. Küçük bir septumdan tüm endometriyal kaviteyi bölen septuma kadar değışen boyutta olabilir. Erken gebelik kayıpları, preterm doğumlar, malprezentasyonlar sık gözlenir (134).

Gebeliğinde DES (diethylstilbestrol) kullanan anne bebeklerinde uterus kavitesini küçülten T şeklinde uterus, kavite düzensizlikleri, adezyonlar gözlenebilmektedir. Term gebelikler azalırken, ektopik gebelik, spontan düşükler ve preterm doğumlar sık gözlenirler (134).

Konjenital uterus anomalileri tekrarlayan gebelik kayıpları olan reproduktif dönem kadınlarda daha sık gözlenmektedir (215-218).

Amerikan Fertilité Cemiyeti (AFS) müller kanal gelişim anomalilerini sınıflamıştır. Buna göre;

Tablo 2.7:Amerikan Fertilité Cemiyeti (AFS) müller kanal gelişim anomalileri sınıflaması (219)

Sınıf	Anomali	
1. Sınıf	Hipoplazi ve agenezi	A-vajinal B-servikal C-fundal D-tubal
2. Sınıf	Unikornuat uterus	A-kominikan B-kominikan olmayan C-kavitesi olmayan D-horn olmayan
3. Sınıf	Didelfis	
4. Sınıf	Bikornuat	A-parsiyel B-komplet
5. Sınıf	Septum	A-parsiyel B-komplet
6. Sınıf	Arkuat	
7. Sınıf	Dietil-stilbesterol kullanımıyla oluşan	

Konjenital uterin anomalilerin genel popülasyondaki gerçek prevelansı tam olarak bilinmemekle birlikte, en sık görülen uterin anomali, uterin septus (%90) olup, bunu bikornuat uterus (%5) ve uterus didelfis (%5) izler (220).

Septat uterus kötü gebelik sonuçları ile en fazla ilişkili bulunan malformasyondur. Yapılan çalışmalarda uterus septus ile ilişkili gebelik kaybı oranı yaklaşık %65 olarak bulunmuştur.Tedaviye en iyi yanıt veren müller kanal gelişim anomalisidir(221,222).

Tekrarlayan gebelik kaybı olan 26 septum uteri hastasına histeroskopik septum rezeksiyonu yapılmıştır. Bu hastaların 19 tanesi ise primer infertil olarak belirlenmiştir. Postoperatif gebelik oranları %86, canlı doğum oranları %67 olarak bildirilmiştir. Primer infertil hastalarda da canlı doğum oranı %67 olarak bildirilmiştir (223).

Uterin anomalisi olan 24 hastayı retrospektif olarak değerlendiren bir çalışmada, 6 unikornuat, 9 bikornuat, 5 septat ve 4 didelfus uterus saptanmıştır. IVF merkezinde yapılan 51 embriyo transfer siklusunun 19'unda klinik olarak gebelik elde edilebilmiştir (%37,3). Unikornuat uterus ve didelfus septat ve bikornuat uterus ile karşılaştırıldığında en fazla term gebelik oranına sahip olduğu sonucuna varılmış ve en az ilk trimester düşük oranına sahip olduğu gösterilmiştir. %46 oranında preterm eylem ve %76 oranında sezeryan ile doğum ile gebeliklerinin sonlandığı bulguları gözlenmiştir (224).

Uniform, diferansiye olmamış paramezonefrik kanalın fallop tüpü, uterus, serviks ve üst vajinaya dönüşümünde HOX genleri rol almaktadır.

Gebeliğinde Dietilstilbestrol (DES) kullanan kadınların bebeklerinde vajinal adenokarsinom ve genital traktuslarında uterus kavitesini azaltıp sonraki hayatlarında fertilitelerinin etkileyecek uterus anomalilerine neden olmuştur (188,225).

DES uygulamasından sonra doğum yapan farelerin yavrularının uteruslarında HOXA 9 ve HOXA 10 gen ekspresyonlarının normal lokalizasyonlarından daha kaudal ve bazale kaydığı gözlenmiştir. Normal lokalizasyonunda beklenen HOXA 10 ekspresyonunun ise azladığı görülmüştür. HOXA 11 ekspresyonunun da olması gerektiği yerde belirgin olarak azaldığı gözlenmiştir. HOXA 13 ekspresyonunda ise bir değişim gözlenmemiştir. İnsan hücre kültürlerinde ise DES uygulamasının HOXA 9 ve 10 ekspresyonunun belirgin şekilde arttırdığı gözlenmiştir. Bu veriler HOX genlerinde posteriyor yer değiştirmeyi işaret etmektedir (112).

HOX genlerinin embriyonun anterior-posterior yönde gelişiminde rol aldığı bilindiğinden uterus gelişim anomalileri nedeniyle oluşan gebelik kayıplarının genetik zemini olabileceği akla gelmektedir (226).

2.6.2. Myoma Uteri

Uterus myomları myometriyum düz kas hücreleri ve fibröz doku hücrelerinden oluşan uterusun en sık gözlenen benign tümörleridir. Beyaz ırkla karşılaştırıldığında siyah ırkta daha sık gözlenmektedir. Ortalama %20 sıklıkta gözlenmektedir. Bu sıklık

premenapozal dönemde %40 değerlerine ulaşmaktadır. Sıklıkla asemptomatik olarak saptanırlar (134).

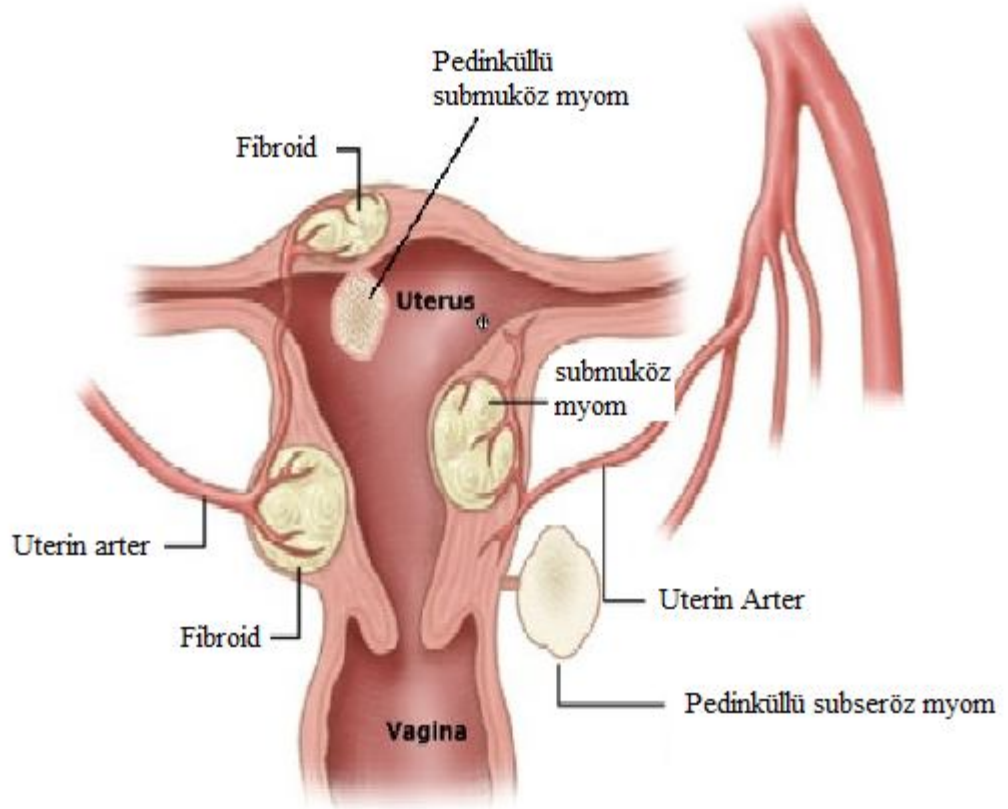
Myomların oluşma mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Mevcut myomun büyümesi östrojene bağlı bir süreçtir. Reprodüktif dönemde, oral kontraseptif kullananlarda, gebeliğin ilk trimersterinde büyür, postmenapozal süreçte küçülürler (134).

Myomların lokalizasyonlarına göre 4 tipi bulunmaktadır:

2.6.2.1. Subseröz Myomlar

Serozanın hemen altında bulunurlar. Uterusun asimetrik olarak büyümesine neden olurlar. Asemptomatik olarak çok büyük boyutlara ulaşabilirler. Periton kavitesinde başka organların damarları veya mezenter damarlarıyla beslenir hale gelip 'parazitik myom' adını alabilirler.

Broad ligamentin yaprakları arasında büyüyüp 'intraligamenter myom' adını alabilirler. Bu myomlar pelvik damarlara ve üretere bası oluşturabilirler. Torsiyone olup akut batına neden olabilirler (227).



Şekil 2.9:Uterus içinde yerleşim yerlerine göre myomların gösterilişi (227).

2.6.2.2. İntramural Myomlar

En sık görülen myom tipidir. Genellikle uterus myometriumu için asemptomatik olarak bulunabilir, uterusu global olarak büyütebilirler. Uterusun simetrik olarak büyümesine neden olan myomlara ‘kugel myom’ denmektedir. Bazen endometriyal kaviteye dıştan bası yaparak menoraji ve infertiliteye neden olabilirler (227).

2.6.2.3. Submuköz myomlar

Endometriyumun hemen altında yerleşirler. Bu tümörler uterin kaviteye doğru veya saplı şeklide büyüyerek servikal ostan vajene çıkıp, vajene doğmuş myom şeklinde gözlenebilirler. Endometriyumun düzensiz ploriferasyonuna neden olarak anormal uterin kanamaların oluşmasına neden olabilirler. Saplı submuköz myomların kanlanmasının bozulup nekroza uğramaları enfeksiyona neden olup endometrit tablosu oluşturabilir (227).

2.6.2.4.Servikal Myomlar:

Serviksin muskuler yapısından kaynaklanan nadir görülen myom tipidir. Vajen yönünde gelişim gösterebileceği gibi uterus kavitesine doğru gelişim gösterebilirler. Mesane boynuna bası yapıp dizüri, sık idrara çıkma, inkontinansa neden olabilirler. Parametriyuma doğru büyümeleri halinde üreter basısı yapıp hidronefroza neden olabilirler. Gebelik durumunda distosi nedeni olabilirler (227).

Myomlar tek başlarına hastaların %2-10’unda infertilite nedenidir. Servikal myomlar endoservikal kanal oklüzyonu, kornual yerleşimli olanlar tubal ostium oklüzyonu yapabilir. Endometriyumun ploriferasyonunun bozulup fertilizasyonu gerçekleşmiş ovumun uterus kavitesine tutunmasına engel olabilirler. Submuköz myomlar kanamalarla implantasyon yerinde kötü temas yüzeyi oluşturarak abortuslara ya da gebeliklerin terme ulaşmadan prematur sonlanmalarına neden olabilirler (227-228).

Gebelik esnasında myomlar da gebelikle beraber büyürler. Özellikle 2 ve 3. Trimesterde gözlenen bu büyüme ödem, hemoraji ve dejeneratif değişikliklere bağlı oluşmaktadır. En çok kırmızı dejenerasyon oluşmaktadır. Buna bağlı ağrı, abdominal gerginlik, bulantı, kusma gözlenebilmektedir. Gebelik esnasında preterm eylem, ablasyo plasenta ve postpartum hemorajilere de neden olabilmektedirler(227-228).

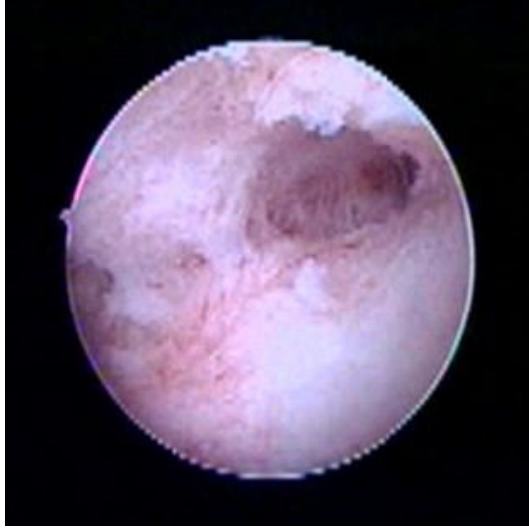
Myomektominin reproduktif sonuçları değişkenlik göstermektedir. Submuköz myomların eksizyonunun fertilité üzerinde olumlu etkisi olduğuna dair bir veri yoktur (228). Inramural myomların çıkarılmasının fertilité üzerine etkisi net değildir. Sistematik derleme sonucunca intramural myom nedeniyle yapılam myomektominin kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında gebelik sonuçlarının olumlu yönde etkilemediği sonucuna varılmıştır (229). Prospektif kontrollü bir çalışmada açıklanamayan infertilité ve submukoz myom tanısı olan 215 hasta toplanmış, submukoz myomu olan 101 hastaya histeroskopik myomektomi yapılmış geri kalan 103 hastaya biyopsi yapılmıştır. Bir yıllık takip sonrasında myomektomi grubunda gebelik oranı %63, 4 olarak belirtilirken myomektomi yapılmayan grupta bu oran %28,2 olarak bildirilmiştir. Histeroskopik myomektominin gebelik sonuçlarını olumlu etkilediği çıkarımında bulunulmuştur.

Başka bir çalışmada endometriyal reseptivite intramural myomu olan 9 hasta, submuköz myomu olan 14 hasta, 7 katılımcısı olan kontrol grubu incelenerek karşılaştırılmıştır. Proliferatif fazda endometriyum dokuları histeroskopi ve histerektomiyle alınmıştır. Hastalar reproduktif dönemde olup HOXA10, HOXA11, LIF ve BTEB1 reseptivite markerları endometriyum dokularında bakılmıştır. HOXA 10 ve HOXA 11 genlerinin submuköz myomu olan hastalarla myomu olmayan ve intramural myomu olan hastalarda karşılaştırıldığında submuköz myomu olan hastalarda HOXA 10 ve HOXA 11 gen ekspresyonunun daha az olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde LIF ve BTEB1 gen ekspresyonlarının da submuköz myomları olan hastalarda azaldığı gözlenmiştir. HOXA 10 gen ekspresyon ürünü olan proteinler submuköz myomu olan hastalarda imminohistokimyasal olarak bakıldığında ekspresyonlarında azalma gözlenmiştir. Submuköz myomların kötü gebelik sonuçlarının endometriyal reseptivite üzerine olan olumsuz etkilerinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır (230).

2.6.3.İntrauterin Adezyonlar

İlk kez 1948 de Joseph Asherman intrauterin adezyonları tanımlamıştır. Bu intrauterin yapışıklıklar ‘Uterin Sineşi’ adıyla da anılır. Klinik semptom menstrual düzensizlik, amenore, veya normal menstrual düzen şeklinde olabilir. İntraterin adezyonlar sıklıkla infertil hasta grubunda da gözlenirler.İntrauterin adezyonların gerçek insidansı ise bilinmemektedir. Vakaların büyük çoğunluğunda primer küretaj gibi endometriyumu direkt travmatize eden cerrahi müdahale hikayesi bulunmaktadır. İntrauterin adezyonların insidansı abdominal ve histeroskopik myomektomi, uterin

septum rezeksiyonu ve diğer intrauterin cerrahi prosedürler nedeniyle giderek artmaktadır. Fibröz ya da dens uterin adezyonların patolojik incelenmesinde glandüler doku içermeyen fibröz konnektif doku bantları gözlenmektedir (231).



Şekil 2.10:Uterus içi adezyonların histeroskopik görünümü (232).

Tanısı hastanın verdiği hikâye ve endometriyal cerrahi müdahaleler nedeniyle oluşan şüpheyle konulmaktadır. Tanı konulabilmesi için salin infüzyon sonografi (SIS), histerosalfingografi (HSG), manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılabilmektedir. Hastalığın kesin tanısı ve tedavisi ise Histeroskopi ile mümkün olmaktadır. Histeroskopik adezyolizis intrauterin adezyonların ana tedavisidir. Bazen serviksten uterus kavitesine dens yapışılıklar nedeniyle girilememekte, bu durumda ultrasound veya laparoskopi klavuzluğu gerekmektedir. Histeroskopik adezyolizisin ardından bazı otörler intra uterin implantlar ve siklik olarak kullanılan östrojen ve progesteron preparatları önermektedir (231).

Asherman sendromu olan hastalarda fertilizasyonun düştüğü gösterilmiştir. İntrauterin adezyonu olan 2151 hastanın 802'sinin (%43) infertil olduğu gözlenmiştir (232). Sineşinin infertiliteye sperm migrasyonunu engelleyerek ya da embriyo implantasyonunu engelleyerek neden olduğu düşünülmektedir. İntrauterin adezyonların tedavisinin yönetilmesi için 1988 yılında Amerikan Fertilité Topluluğu (AFS) 1988 yılında menstrual hikaye (normal, hipomenore, amenore), histeroskopik ve histerosalfingografik bulguları içeren (adezyonun filmi ya da dens olması, kavitenin üçtebirinden az veya üçte ikisinden çok alanı kapsaması) bir sınıflama yayınlamıştır (233). Adezyolizisin amacı yeterli uterin kavite sağlayabilmek ve tekrar reproduktif

fonksiyonunun dönebilmesi için düzenli bir endometriyal yüzey sağlayabilmektir. Histeroskopi kullanılmadan önce tedavi edilmeyen grupta gebelik oranları %46 (292 hastanın 133'ü gebe kalabilmiş), tedavi edilen grupta %51 (1052 hastanın 540'ı gebe kalabilmiş) olarak bildirilmiş ve iki grup arasında belirgin fark saptanmamıştır (232). Asherman sendromu olan kadınların adezyonlarının histeroskopik olarak yıkılması sonucu gebelik oranları belirgin artmıştır (%74, 632 hastanın 468'i gebe kalabilmiştir) (232). Postoperatif intra uterin araçlar ve balonların kullanımının adezyon rekürrensini önlediği bildirilmiştir (235). Asherman sendromu tedavisi sonrasında canlı doğum sayısı gebelik başına %79,4 (666 gebenin 529'u gebeliğini canlı doğumla sonuçlandırmıştır) olarak bildirilmiştir. Asherman sendromu tedavisi sonrasında oluşan gebeliklerin spontan abortus, prematur doğum, anormal plasentasyon ve intrauterin gelişme geriliği ve uterus rüptürü riskleri mevcuttur (233,234).

Bazı deneysel çalışmalar endometriyal rejenerasyonun Asherman sendromu tedavisi için cerrahiye alternatif olabileceğini göstermiştir. Kemik iliği kökenli kök hücrelerin endometriyal rejenerasyona neden olduğu gösterilmiştir (236).

Asherman sendromu olan hastalarda adezyolizis sonrasında endometriyal reseptivitenin değiştiği gösterilmiştir. Asherman sendromu tanısı olan 40 infertil hastaya histeroskopik adezyolizis yapılmış, hastaların histeroskopik adezyolizisi öncesinde ve sonrasında endometriyal kalınlık ve spiral arter dopleri yapılmıştır. Adezyolizisten sonra endometriyal kalınlaşmada belirgin olarak artış gözlenmiştir. Ancak vasküleritede belirgin artış gözlenemediğinden çalışma endometriyal reseptivite üzerinde olumlu etkisi olamayabileceği şeklinde yorumlanmıştır (237).

2.6.4. Hidrosalpenks

Gebeliğin oluşabilmesi için sperm ve ovumun karşılaştığı bölge olan tubalarla ilgili patolojiler de fertilitiyi kötü yönde etkilemektedir. Proksimal tubal obstrüksiyonlarda spermin ovuma ampulla bölgesinde ulaşabilmesi engellenirken, distal obstrüksiyonlarda ovumun fimbriya tarafından tutulmasında ve ampullaya taşınmasında sıkıntı mevcuttur. Distal obstrüksiyon hafif (fimbrial aglutinasyon), orta (fimbrial fimozis) veya ağır (tam tıkanıklık) olabilmektedir. Distal tubal obstrüksiyonlar sonucunda sekresyonların tuba lümeninde birikmesi tubal distansiyon ve hidrosalpenksi oluşturur. Hidrosalpenks ile biriken sıvının tubal siliyer aktiviteyi bozduğu, mekanik etkiyle implantasyonu olumsuz etkilediği, embriyo ve endometriyuma toksik etkilerinin olduğu düşünülmektedir (238).

Retrospektif olarak yapılan bir çalışmada, hidrosalpenksi olan hastaların gebelik oranlarının %50 oranında azaldığı ve spontan abortus oranlarının 2 kat arttığı gösterilmiştir (238- 239).

Bir çalışmada hidrosalpenks inflame sıvısının endometriyal yüzeyi yıkama etkisiyle İVF sikluslarında olumsuz etkisi olduğunu göstermiştir (240).

Hidrosalpenks sıvısının embriyotoksitesi hakkında çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan 8 fare çalışmasının 5 tanesi hidrosalpenks sıvısının embriyotoksik olduğunu belirtirken, 3 tanesi dilue edilmediğinde toksik olabileceği yönünde kesin olmayan sonuca varmıştır (241). Hidrosalpenks sıvısının embriyotoksitesini inceleyen sadece 2 insan çalışması bulunmaktadır. Bu çalışmalarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hidrosalpenks sıvısının embriyo gelişimini %50 oranında yavaşlattığı belirtilmiştir (242). Başka bir çalışma ise hidrosalpenks sıvısının embriyo gelişimi üzerinde olumsuz etkisinin olmadığını belirtmiştir (243).

Hidrosalpenksin endometriyal reseptivite üzerine etkilerini araştıran çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Diğer infertilite nedenlerinin dışlandığı 10 hidrosalpenks tanısı almış infertil hastanın salpenjektomi öncesi ve sonrasında bir implantasyon belirteci olan $\alpha\beta3$ integrin immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Salpenjektomi sonrasında endometriyal $\alpha\beta3$ integrin ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak belirgin attığı gösterilmiştir (244).

Hidrosalpenksli hastalarla normal tubaya sahip kontrol hastaları başka bir implantasyon markeri olan LIF (lökemi inhibitör faktör) ekspresyonu açısından karşılaştırılmıştır. Her iki grupta 10'ar hasta belirlenmiş ve Western Blott ve immünohistokimyasal yöntemlerle endometriyal LIF ekspresyonu değerlendirilmiştir. Fertil grupla karşılaştırıldığında hidrosalpenksi olan hastalarda LIF ekspresyonu belirgin derecede az bulunmuştur. Salpenjektomi sonrasında ise LIF seviyelerinde artış gözlenmiştir (245).

Hidrosalpenksi olan 614 kadının dahil edildiği, prospektif randomize çalışmaları içeren bir derleme IVF siklusu öncesinde tubal faktörlerin cerrahi yönetimini değerlendirmiştir. Hidrosalpenksi olan haslarda IVF siklusu öncesinde yapılan salpenjektominin gebelik oranlarını belirgin arttırdığı gösterilmiştir (245).

Tüm bu çalışmalar hidrosalpenksin fertilite üzerinde olumsuz etkilerini, endometriyal resptivite ve embriyo tutunması üzerine olumsuz etkilerini göstermektedir.

2.6.5. Endometriyal Polipler

Anormal uterin kanaması olan hastalar değerlendirilirken transvajinal ultrasonografi, salin infizyon sonografi (SIS), histeroskopi yaygın olarak kullanılan araçlardır. Bu yöntemlerle anormal uterin kanama ayırıcı tanısı yapılırken bu semptomu olan kadınların %10-40'ında endometriyal polipler saptanmaktadır (3-7)

Endometriyal polipler asemptomatik kadınlarda transvajinal ultrasonu da içeren rutin değerlendirmeler esnasında %1-12 oranında saptanırlar(8,9). IVF için hazırlanan hastalarda endometriyal polip oranı rölatif olarak daha sık olup, bu hastalarda polipler %32 oranında gözlenmektedir (10-13).

Endometriyal poliplerin etrafı epitelle kaplıdır ve endometriyum dokusundan gelişirler. Kendilerine ait gland, stroma ve kan damarları bulunmaktadır. Polipler bazalis tabakasından fokal glandüler ploriferasyon nedeniyle oluşmakta ve poliplerin tabanında zayıf akım gösteren kendi kan damarları bulunmaktadır. Klinik prezentasyonları genç kadınlarda intermenstrual kanama ve menometroraji, yaşlı hastalarda postmenapozal kanama şeklinde olmaktadır (246).

Polipler geniş tabanlı ve sesil olabilecekleri gibi, pedinküllü ve endometriyal lümene sarkan ince tabalı yapıda da olabilirler. Poliplerin boyutları 1mm'den tüm endometriyal kaviteyi kapatacak kadar farklı olabilir. Saplı polipler aşırı büyüdüğünde servikal os'tan vajene protrüde olup fizik muayene ile görülebilir hale gelebilirler. Poliplerin yüzeyleri koyu ve parlak olup hasarlandığında hemorajiye neden olmaktadırlar. Polip içeren uterusların %20 si multiple sayıda polip taşımakta ve bu polipler kavitenin her hangi bir yerinden gelişebilmektedirler (246).

Endometriyal poliplerin glanduler kısmı siklik değişimlere uğrayabilmektedir. Bazen diğer endometriyal glandlara göre sekretuar değişimler daha zayıf olmakta ve bazen de hiç sekreuar değişimler gözlenemeyebilmektedir. Poliplerin mezenkimal kısmı endometriyal stroma, fibröz doku veya düz kas dokusundan kaynaklanabilmektedir. Polipler hiperplastik, atrofik veya fonksiyonel olarak sınıflandırılabilirler (246)

Hiperplastik polipler yaygın ve düzensiz sıralanmış glandlardan oluşmakta ve diffüz endometriyal hiperplaziye benzemektedirler. Benzer şekilde etyolojisinde hormon imbalansı bulunmaktadır. Atrofik polipler kistik dilate glandların üzerinde

sıralanmış az miktarda kolumnlar ve küboidal hücrelerden oluşmaktadır. Atrofik polipler postmenapozal kadınlarda görülüp, muhtemelen hiperplastik ve fonksiyonel poliplerin regresyonlarıyla oluşmaktadırlar. Fonksiyonel polipler ise normal endometriyum dokusuna benzer şekil ve fonksiyonda glandlar içermektedirler (246).

Endometriyal polip gelişiminin etyolojisinde östrojen stimülasyonunun rol aldığı düşünülmektedir (247). Yatkın bireylerde östrojen stimülasyonu veya karşılanmamış östrojen maruziyetinde hiperplazi, adenomatöz hiperplazi, atipi ve malignite gelişimi gözlenebilir. Nitekim Tamoxifen kullanımıyla, tamoksifenin endometriyal dokudaki östrojenik etkisinden dolayı, endometriyal polipler arasında ilişki gösterilmiştir (248). Endometriyal polipi olan kadınlar polipsiz olan kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında endometriyal doku yıkama sıvısında ve kan plazmasında endometriyum kaynaklı glikodelin seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Glikodelin neovaskülarizasyonu arttıran anjiogenetik bir faktördür ve polip gelişiminde rol alan etyolojik bir ajan olabilir (249-250).

Endometriyal polipler çoğunlukla benign süreçlerdir ancak premalign ve malign değişimleri gözlenebilir. Gerçek neoplazi değildirler ancak endometriyal hiperplazi alanlarında gözlenmektedirler. Özel bir tipi olan adenomyomatik polip stroma ve glanda ek olarak düz kas fibrilleri içerirler (1). Endometriyal poliplerin tanısında transvajinal ultrasonografi, sonohisterografi, histero salfingo kontrast sonografi, histerosalfingografi kullanılırken altın standart tanı yöntemi histeroskopidir (2).

Poliplerin premalign ve malign değişim oranları prospektif iki farklı çalışmada değerlendirilmiştir; bu malign değişim oranları iki çalışmada sırasıyla %0,2-%23,8 ve %0,1-%12,9 olarak bildirilmiştir. Prospektif olmayan çalışmalar eklendiğinde 9,266 kadının 291'inde (%3,1) malign doku değişimi saptanmaktadır. Tüm yaş gruplarındaki kadınlar incelendiğinde (8,112 kadın) poliplerde atipi ve malignite oranı %0,8 olarak saptanmaktadır. Sadece postmenapozal yaş grubunu içeren 2 çalışmada ise postmenapozal kanaması olan kadınların poliplerinde premalign ve malign doku oranı daha yüksek bulunmuş ve sırasıyla %1,8 ve %2,3 olarak bildirilmiştir (251).

Retrospektif olarak yapılan bir çalışmada 2000 Şubat'tan 2005 Eylül'e kadar 83 kadın anormal uterin kanama, primer veya sekonder infertilite ve endometriyal polipler

açısından değerlendirilmiştir. Endometriyal polipler transvajinal ultrasonunardından yapılan histeroskopik değerlendirmeye tanımlanmış, tanıyı doğrulamak için histeroskopik polipektomi yapılmıştır. Bu çalışmada diğer nedenler dışlandıktan sonra endometriyal polipler infertilitelerinin tek nedeni olarak görülmüştür. İnfertil grupta 1 cm ve altında polibi olanlar ve 1 cm ve üzeri, multiple polibi olanlar karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında yaş, infertilite süresi açısından fark bulunmamıştır. 31 kadın 1cm ve altında endometriyal polibe sahipken 52 kadın daha büyük ve multiple polibe sahiptir. Polipektominin ardından %91,6 kadında menstrual patern normalize olmuştur. Polipektominin ardından spontan gebelik oranları % 61.4'e term doğum oranı %54,2'ye yükselmiştir. Polip boyutları 1 cm üstünde ve altında olan hastalarda fertilitate sonuçları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Gebeliklerin %6'sında ilk trimester düşüklüğü gözlenmekte, küçük ya da büyük/multiple polipli hastalar arasında spontan abortus açısından istatistiksel fark saptanmamıştır. Polip büyüklüğüne bakmaksızın, histeroskopik polipektominin başka bir infertilite nedeni olmayan kadınlarda fertilitateyi iyileştirdiği ve gebelik oranlarını arttırdığı sonucuna varılmıştır (252).

Prospektif olarak yapılan bir çalışmada endometriyal polipi olan hastalara inseminasyon öncesi histeroskopik polipektomi yapılmış bir grup hastaya ise müdahale edilmemiştir. Histeroskopik polipektomi yapılan hasta grubunun müdahale edilmeyen gruba kıyasla gebelik sonuçlarının daha iyi olduğu gözlenmiştir. Histeroskopik polipektomi sonrasında spontan gebelik oranlarında artış ve intrauterin inseminasyon sonrasında daha yüksek gebelik oranları saptanmıştır (253).

Endometriyal poliplerin reproduktif sonuçları kötü etlikemesi çeşitli hipotezlerle açıklanmaya çalışılmıştır. Düzensiz endometriyal kanama, endometriyumda inflamatuvar yanıt, sperm transportu için obstrüktif defekt oluşturması, embriyonun endometriyum yüzey alanıyla temasını önlenmesi, polip nedeniyle artan endometriyal yüzey alanında spermin zona pellucidaya bağlanmasına engel olan glikodelin sekresyonunda artış bu teorilerden bazılarıdır (249,254).

Glikodelin 28 kDa büyüklüğünde 180 aminoasit içeren bir glikoprotein olup 9. Kromozomun uzun kolundan ekspresyonu yapılmaktadır. Endometriyumun glandüler ve yüzey epitelinden sekresyonu yapılmaktadır. Menstrual siklusun sekretuar fazında endometriyal hücrelerden sentezi daha çok olmaktadır. Ovulasyondan sonraki 4 ve 5.

Günlerde progesteron sekresyon artışı ile glikodelin sekresyonundaki artış korelasyon göstermektedir. En yüksek düzeye postovulatuvar 12. günde ulaşmaktadır. Prospektif olarak 44 infertil hastanın dahil edildiği bir çalışmada proliferatif faz boyunca endometriyal yıkama sıvılarında glikodelin düzeyi değerlendirilmiştir. Bu 44 hastanın 20 tanesi kontrol grubu, 12 tanesi endometriyal polip ve 12 tanesi leiomyomlu hasta grubunu oluşturmaktaydı. Glikodelin sekresyonu enzim bağımlı immünoabsorbent yöntemiyle değerlendirilmiş ve endometriyal polipli hastalarda glikodelin sekresyonunun belirgin derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (255-256).

Başka bir çalışmada; 30 endometriyal polipli kadının incelenmiştir. Bu kadınların 21'i polipli, 9'u normal uterin kaviteye sahiptir ve endometriyal poliplerin HOXA 10 ve HOXA 11 ekspresyonu üzerine etkisi değerlendirilmiştir. İnfertilite tedavisi öncesinde endometriyal kaviteler histeroskopi ile değerlendirilmiştir. Başka bir endometriyal defekti olan, son 3 ay içinde hormonal tedavi alanlar, hidrosalpenksi olanlar ve endometriyozis ve polikistik over sendromu olanlar çalışma dışında tutulmuştur. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HOXA 10 mRNA ve HOXA 11 mRNA ekspresyonu uterin kavitesinden endometriyal polipli olanlarda istatistiksel olarak azalmış bulunmuştur. Polip boyutları arasında HOXA 10 ve HOXA 11 ekspresyonu açısından önemli olmadığı sonucuna varılmıştır (257).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya endometriyal polip tanısı olan 25 kadın dâhil edildi. Hastalar Turgut Özal Tıp Merkezi Jinekoloji polikliniğine başvuran hastalar arasından seçildi.

Hasta grubuna dâhil edilme kriterleri:

a-Endometriyal değerlendirme ile polip tanısının konulmuş olması.

b-Endometriyal örnekleme ile patolojik olarak endometriyal polip tanısının konulması.

c-Hastaların FSH ve LH değerlerinin postmenapozal dönemle uyumlu olmaması.

d-Son 3 ay içinde oral kontraseptif, hormon preparatı kullanılmamış olması ve endometriyal cerrahi hikayesinin olmaması.

e-Metabolik ve otoimmün hastalık hikayesinin olmaması.

f-Hastaların iki biyopsi aralığının en az 3 siklus içerecek şekilde belirlenmesi.

g-Amenore tariflemeyen hastalar.

Hastaların ayrıntılı olarak jinekolojik hastalık ve aile öyküsü alınmış, muayeneleri ve jinekolojik ultrasonografileri rutin olarak yapılmıştır. Hastaların yaş, menarş yaşı, menapoz yaşı, amenore süreleri, medeni durumu, ailede erken menapoz öyküsü (anne ve kız kardeş), gebelik öyküsü bilgileri kayıt altına alınmıştır. Hastaların endometriyal polip tanıları histeroskopi ile konulmuştur. Hastaların polipektomileri operatif histeroskopi ile ameliyathanede yapılmıştır.

Bu çalışma için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'na başvurularak gerekli onay alınmış ve çalışmada kullanılan kitlerin maliyeti İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından karşılanmıştır (Proje No:2011/174).

Çalışmaya katılan tüm hastalara çalışma hakkında bilgi verilmiş ve hem sözlü hem de yazılı olarak aydınlatılmış onamları alınmıştır.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Operatif Histeroskopi Seti (Storz)
- Histeroskopik makas (Storz)
- Transvajinal Ultrasound (Toshiba)
- Gerçek zamanlı PZT cihazı (Roche, LC480 modeli)
- PZT cihazı (Biorad-MyCycler)
- Terazî (Denver Instrument)
- Elektroforez güç kaynağı (Biorad)
- pH-metre (Jenco, 6173 model)
- Masaüstü santrifüj cihazı (14000 rpm) (Hettich-zetrifugen, micro 200 model)
- Homojenizasyon cihazı (Ultra turrax, T 25 model)
- Hassas otomatik pipetler ve uçları (Biohit)
- Vorteks (Labart)
- Manyetik karıştırıcı (Yellow line)

3.3. Kullanılan Kimyasallar

Araştırmada Sigma marka; EDTA, Tris Baz, Borik asit, Etidyum Bromir, Agaroz, Sodyum Sitrat tribasic dihidrat, Guanidin Tiyosiyanat, Sodyum Hidroksit, Hidroklorik asit, Dietilpirokarbonat (DEPC), Beta-merkaptotanol, Sodyum Klorit, Amonyum Sülfat, Taq polimeraz, İnvitrogen marka; dNTP, Ters transkriptaz, QIAGEN marka; RNA Mini Saflaştırma Kiti, SYBR Green I Master Mix-Roche kullanıldı.

3.4. Dokuların Alınması

Hastaların menstrual döngüleri sorgulandı. Pre-operatif endometriyal örnekler menstrual siklusun 21. gününde alındı. Ardından hastalar operatif histeroskopiye hazırlandı. Ameliyathane koşullarında serviks 10 numaralı Hegar Buji'ye kadar dilate edildikten sonra operatif histeroskop ile endometriyal kaviteye girildi. Endometriyal kaviteye rezektosol infüzyonu yapıldı. Hastalardaki polipler net olarak görülüp sayı ve boyutları kaydedildi. Endometriyal polipler tam olarak çıkarıldı ve patolojik değerlendirmeye gönderildi. Histeroskopik polipektominin üzerinden en az 90 gün geçtikten sonra hastalar menstrual döngülerinin 21. gününde postoperatif biyopsi için çağırıldı. Hasta gruplardan alınan operasyon öncesi ve operasyon sonrası insan endometrium dokuları, steril şartlarda ve buz üzerinde küçük parçalar halinde kesildi ve RNA saklama çözeltisi içinde -35 °C derin dondurucuda analiz gününe kadar saklandı. Bu dokulardan Qiagen firmasının ürettiği RNeasy mini kit kullanılarak toplam RNA saflaştırılması yapıldı.

3.5. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar

3.5.1. RNA Saklama Solüsyonu

70 gr Amonyum sülfat, 10 mM EDTA ve 25 mM Sodyum sitrat (pH:5,2), 100 ml DEPC ile işlenmiş bidistile su içerisinde karıştırılarak hazırlandı ve son pH 5,2'ye ayarlandı.

3.5.2.RNA Denatüre Solüsyonu (RLT Çözeltisi)

4M Guanidin tiyosiyanat, 25 mM Sodyum sitrat (pH:7), % 0,5 sarkosil içeren çözelti hazırlandı ve kullanımdan hemen önce son konsantrasyon % 1 olacak şekilde beta-merkaptoetanol eklendi.

3.5.3. X TBE Çözeltisinin Hazırlanması

0,4M Tris baz, 0,4M Borik asit, 20 mM EDTA bu tamponun hazırlanmasında kullanıldı. 1000 ml 5X TBE çözeltisi hazırlamak için 54 gr Tris baz, 27,5 gr Borik asit, 20 ml 0,5 M EDTA çözeltisi hazırlanarak 900 mL bidistile su içerisinde manyetik

karıştırıcıda karıştırıldı. Çözeltinin pH'sı 8,0 oluncaya kadar HCl eklendi. Çözeltinin toplam hacmi 1000 ml'ye tamamlandı.

3.6. Total RNA Saflaştırması (Qiagen Kit Protokolü)

Toplam RNA operasyon öncesi ve operasyon sonrası insan endometrium dokularından Total RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) kullanılarak izole edildi. Bu işlem için Qiagen RNA mini saflaştırma kiti, aşağıda verilen şekliyle kullanıldı.

-Yaklaşık 100 mg doku parçası alındı ve % 5 (w/v) doku olacak şekilde içerisindeki RLT çözeltisi içine kondu.

-Homojenizatörde 13.500 rpm hızda, 5 mm'lik homojenizatörün ucuyla buz üzerinde 1 dakika homojenize edildi.

-Homojenattan 600 µl alındı (30 mg dokuya karşılık geliyor).

-10 dakika 18.000 rpm'de (4 °C) de santrifüj edildi.

-Süpernatant kısmı yeni Eppendorf tüpüne alındı ve üzerine aynı hacimde %70 etanol (DEPC'li bidistile su ile hazırlandı) eklendi.

-Çözeltinin 600 µl'si filtreye kondu ve altındaki tüple beraber 10.000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi.

-Alt tüpteki sıvı atıldı ve tüp tekrar filtreye takılarak geriye kalan çözelti de filtreye eklendi ve yukarıdaki gibi santrifüj edildi.

-Alttaki tüpteki sıvı atıldı ve filtreye RWI solüsyonundan 700 µl eklendi ve 10.000 rpm'de 15 saniye santrifüj edildi.

-Alttaki tüp atıldı ve filtrenin altına yeni bir tüp takıldı (2 ml) ve filtreye 500 µl RPE solüsyonu ilave edildi (kullanmadan önce RPE için 4 kat etanol eklendi) ve 15 saniye 10.000 rpm'de santrifüj edildi.

-Alttaki sıvı atıldı ve filtreye 500 µl RPE eklendi ve 2 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edildi.

-Alttaki tüp atıldı ve filtre yeni bir eppendorf içerisine takıldı ve filtreye 50 µl RNAaz içermeyen bidistile su eklendi ve 1 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edildi.

-Filtreye tekrar 50 µl RNAaz içermeyen bidistile su konularak tekrar 1 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edildi, alt tüpteki saf toplam RNA hemen -35 °C'de saklandı.

3.7. RNA'nın Agaroz Jele Yükleme İşlemleri

QIAGEN RNaseasy saflaştırma kiti ile endometrium örneklerinden saflaştırılan toplam RNA'lar, % 1'lik agaroz jel üzerinde, 1X TBE tamponunda, elektroforezde 100 mV'de koşturuldu. RNA bantları jel görüntüleme sisteminde (ultraviole ışık altında) görüntülenerek 28S ve 18S keskin ribozomal RNA bantlarının elde edildiği ve herhangi bir yıkımın olmadığı gözlemlendikten sonra RNA'lardan cDNA sentezi yapıldı.

Örneklerden saflaştırılan RNA miktarları Nano-Drop spektrofotometre ile ölçüldü.

3.8. cDNA Sentez Protokolü

Ters transkripsiyon işlemi için (RT), Invitrogen (**Invitrogen, Carlsbad, CA**) firmasının ürettiği Superscript III ters transkriptaz enzim kiti kullanıldı ve cDNA sentezi firmanın önerdiği şekilde bazı ufak değişikliklerle yapıldı.

Kısaca 100 µl'lik PZT tüpüne 1,0 µg toplam RNA, 1 µl primer (4 pmol gen spesifik primer veya 100 pmol PoliT-18 primeri), 1 µl dNTP (10 mM) ve toplam hacim 13 µl olacak şekilde bidistile su eklendi, karıştırıldı ve 65 °C'de 15 dakika PZT makinesinde ısıtıldı. Bu karışım üzerine 4 µl 5x First strand tamponu, 2 µl DTT, 1 µl bidistile su, 1 µl Superscript III ters transkriptaz enzimi eklendi ve karıştırıldı ve PZT makinesinde 50 °C'de 60 dakika ve 70 °C'de 15 dakika ısıtıldı, daha sonra da -20 °C de analize kadar saklandı.

3.9. Gerçek Zamanlı PZT Protokolü

Gerçek zamanlı PZT cihazı Roche LC480 modeli olduğu için Roche gerçek zamanlı "Syber Green" boyası içeren SYBR Green I Master Mix kullanıldı. Reaksiyonlar 20 µl toplam hacimde yapıldı. Bu karışım 1 µl cDNA, 1 µl ileri primer (10 pmol/ul), 1 µl geri primer (10 pmol/ul) ve 10 µl 2x SYBR Green I Master Mix (LC480 SYBR Green I Master Mix, Roche 04707516001)' den oluşmaktaydı (Tablo). Primerlerin optimizasyonu sonrası PZT şartları; İlk denaturasyon; 95 °C'de 10 dakika, denaturasyon 95 °C'de 20 saniye, bağlanma 60 °C'de 20 saniye ve polimerizasyon 70 °C'de 30 saniye olarak oluşturuldu ve döngü sayısı 45 olarak kullanıldı. Denemeler üç kez tekrarlandı ve veriler $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metoduna göre analiz edildi.

Tablo 3.1: Araştırmada kullanılan Primer dizilimleri ve HOXA-10, HOXA-11, LIF ve internal Standard Beta Aktin için PCR’da beklenen ürün büyüklükleri.

Genler	Primer dizilimleri ^b	PCR ürün büyüklüğü (bp)
B-Actin-F	5'-CGAGCACAGAGCCTCGCCTT-3'	112
B-Actin-R	5'-TGCACATGCCGGAGCCGTTG-3'	
HOXA-10-F	5'-GTGCTCTTTCGCGCAGAACATCAAA-3'	110
HOXA-10-R	5'-GCGGGAAGGGAGCCAGTTCG-3'	
HOXA-11-F	5'-ATGCGGGACAGTTGCAGGCG-3'	
HOXA-11-R	5'-CTCAACGCCACCGCCGACAT-3'	113
LIF-F	5'-CCCGAGGTGTCAGGGCCGTA-3'	
LIF-R		

^a B-Actin: Beta Aktin, HOXA10: homeobox A10, HOXA11: homeobox A11, LIF: leukaemia inhibitory factor.

^b F: ileri primer, R: geri primer

Primer dizileri kalıp olarak insanın kullanıldığı blast primer dizayn programıyla oluşturuldu (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>).

3.10. İstatistiksel Analizler

Tüm veriler Statistical Package for Social Science Software (SPSS, Inc, IL, USA) 20.0 paket programına girilerek kodlandı. HOXA 10, HOXA 11 ve LIF genlerinin operasyon öncesi ve sonrası ekspresyon değerleri arasındaki farkın karşılaştırılmasında parametrik veriler için Paired t-test, non-parametrik veriler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.B.D Polikliniği'ne başvuran endometriyal polip tanısı almış, reproduktif dönemde olan, hormonal tedavi almamış, endometriyal müdahale geçirmemiş 25 hasta dahil edildi. Hastalarımızın yapılan ultrasoundlarında uterus, adneks ve serviksleri değerlendirildi. Hastalarımızın hiç birinde andeksiyal patoloji saptanmadı. Hastalarımızdan 6 tanesi infertildi. Bunlardan 5 tanesi 1 yıllık cinsel ilişkiye rağmen hiç gebe kalamamış, 1 tanesinin sadece 1 adet abortusu olmuş geri kalan 19 hasta ise çocuk sahibiydi.

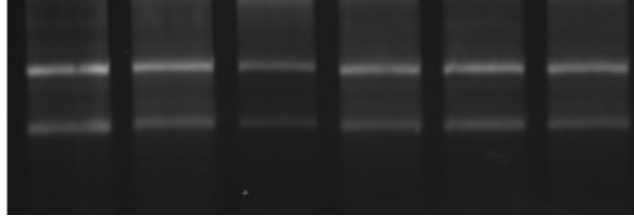
Çalışmaya dâhil edilen 25 hastanın ortalama yaşı $36,6 \pm 7,7$ olarak tespit edildi. Hastaların ortalama FSH değeri $7,2 \pm 3,8$ ortalama LH değeri $4,9 \pm 2,3$ olarak tespit edildi. Hastalarda saptanan polip sayısı en az 1 en fazla 5 tane olarak gözlemlendi. Ortalama polip sayısı 1,2, ortalama polip boyutu 18,28 mm olarak belirlendi. En küçük polip boyutu 10 mm en büyük polip boyutu 50 mm olarak ölçüldü. Polipektomi sonrası gönderilen materyallerin hepsi patolojik değerlendirme sonrası 'endometriyal polip' şeklinde saptandı. İki endometriyal örnek alımı arasındaki ortalama süre $114,2 \pm 25,4$ gün olarak saptandı.

4.1. Moleküler Genetik Bulgular

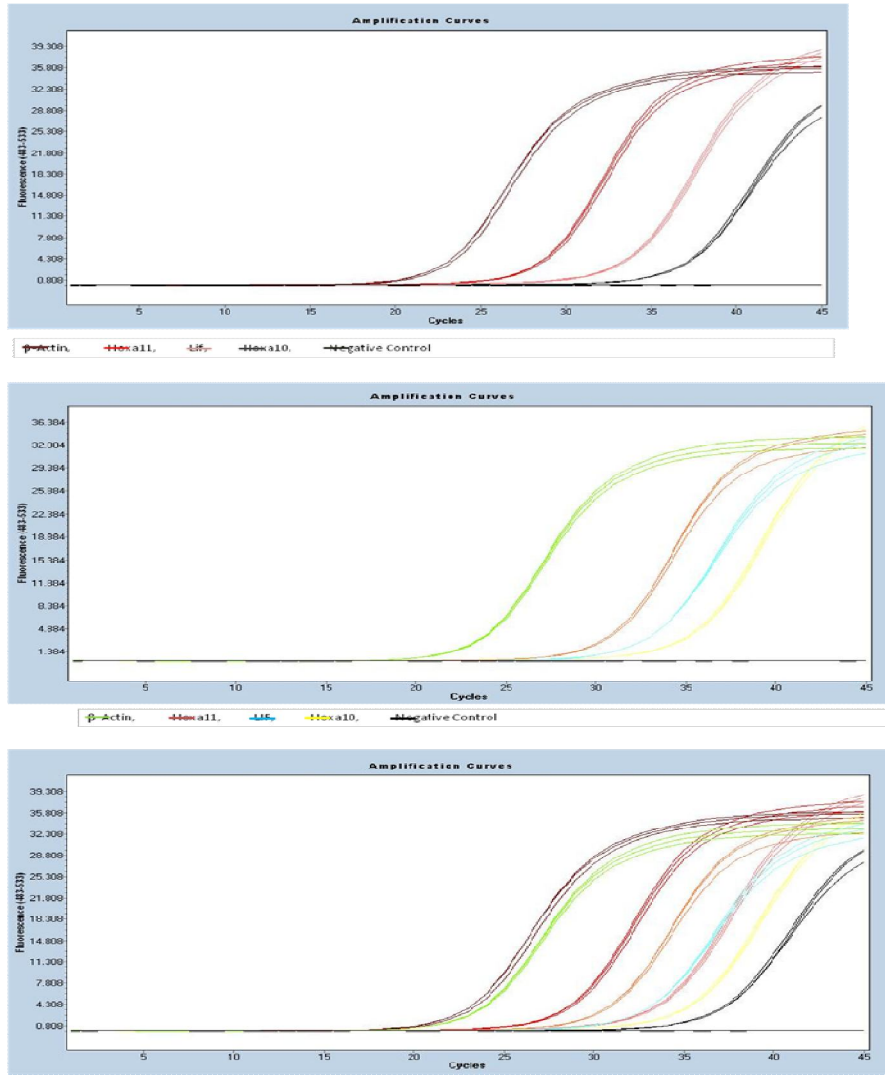
RNA'lar saflaştırıldıktan sonra % 1'lik agaroz jele yüklenerek incelendi. Şekil4.1' de gruplardan rastgele seçilen saflaştırılmış RNA'ların % 1 agaroz jelde

koşturulmuş resmi görülmektedir. Örneklerden saflaştırılan RNA'ların jel analizinde 28S ve 18S ribozomal RNA bantları netlikle gözlendi ve herhangi bir yıkılım olmadığı tespit edildi.

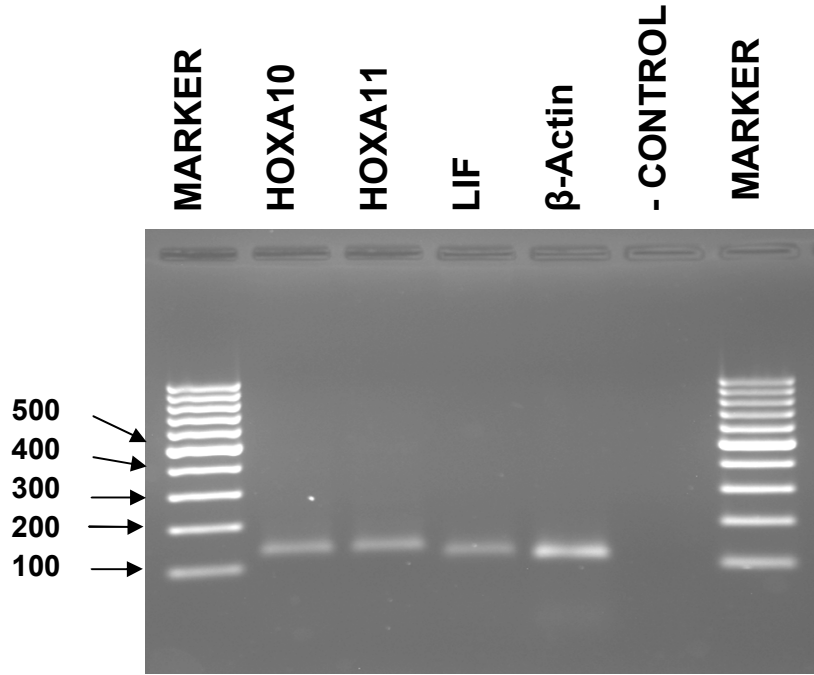
31a 31b33a 33b 34a 34b



şekil 4.1. QIAGEN RNAsasy saflaştırma kiti ile insan endometrium örneklerinden saflaştırılan toplam RNA  rnekleri (% 1 agoroz jel).



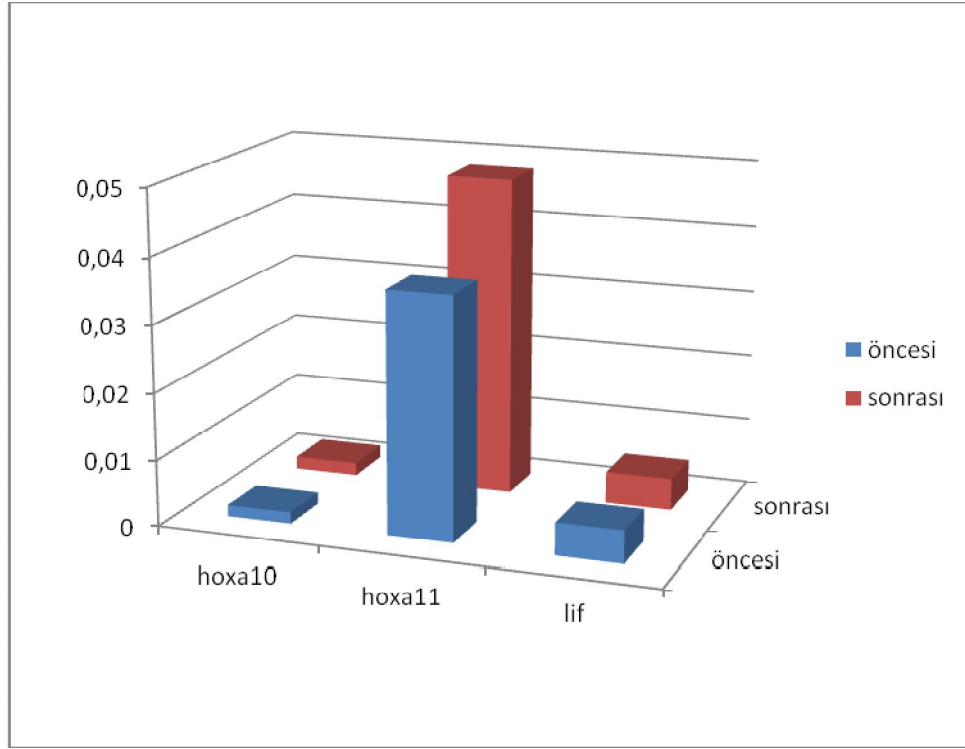
Şekil 4.2. Operasyon öncesi ve sonrası bir örneğe ait SYBR Green kimyası kullanılarak Beta Aktin, HOXA-10, HOXA-11, ve LIF mRNA'larından sentezlenen cDNA'ların gerçek zamanlı PZT ile çoğaltımı sırasındaki "çoğalım eğrileri"



Şekil 4.3..Beta Aktin, HOXA-10, HOXA-11, ve LIF cDNA'larının PZT'deki çoğaltımının agaroz jel elektroforezi.Kullanılan DNA Markeri 100 bp DNA Marker'dir (Fermentas).

Operasyon öncesi ve sonrası örneklerin HOXA-10, HOXA-11, ve LIF mRNA seviyelerinin istatistiki karşılaştırılmalarında anlamlı bir fark tespit edilmedi ($P > 0,05$).

HOXA 10, HOXA 11 ve LIF genlerinin preop ve postop ekspresyon değerleri SPSS 20.0 veri analiz programına girildi. Test sonuçları paired T test ve bağıli istatistiksel testlerle değerlendirildi. Sonuçlarda $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi. Ancak bağıli testler ve paired T test değerlendirilmesi sonrasında ekspresyon değerlerinde $p > 0,05$ üzerinde sonuç elde edildi. İstatistiksel olarak anlamlı sonuç gözlenmedi. Polip boyutu ve polip sayılarının HOXA 10, HOXA 11 ve LIF gen ekspresyonlarıyla korelasyon değerlendirmesi yapıldı. Korelasyon değerlerinde anlamlı sonuç elde edilemedi. Ardından çocuk sahibi olamayan 6 hastanın HOXA 10, HOXA 11 ve LIF operasyon öncesi ve sonrası gen ekspresyonları değerlendirildi. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.



Şekil 4.4.Şekilde endometriyal polip eksizyonu öncesi ve sonrası ekspresyon değerlerinin karşılaştırılması. HOXA 10, HOXA 11 ve LIF gen ekspresyonu değerlerinde polip eksizyonu öncesinde ve sonrasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

5.TARTIşMA

Fertilizasyon sürecinde sağlıklı bir gebeliğin elde edilebilmesi ve doğumla sonuçlanabilmesi için sağlıklı bir endometriyum, uygun implantasyon süreci gerektiği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (15,257). Endometriyal polip taşıyan hastaların normal endometriyuma sahip kontrol grubuyla karşılaştırıldığında endometriyal reseptivite belirteci olarak kabul edilen HOXA 10 ve HOXA 11 gen ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Çalışmamızda implantasyon defektine neden olduğu düşünülen endometriyal poliplerin eksizyonu sonrasında endometriyal reseptivite belirteci olan HOXA 10, HOXA 11 ve LIF gen ekspresyonunda artış olup olmayacağını belirlemektir. Endometriyal poliplerin infertilite nedeni olabileceği ve implantasyon sürecinde olumsuz etkililerinin olabileceği belirtilmesine rağmen polip eksizyonu sonrası endometriyumun reseptivitesini değerlendiren literatürdeki tek yayındır (257).

Endometriyal polipler asemptomatik olduklarında tesadüfi saptanan yapılarıdır. Polipler immatur endometriyumun tek başına östrojen maruziyetiyle veya matur endometriyumun genelinin overyan hormonların etkileriyle oluşabilmektedir. İVF sikluslarında kullanılan yüksek doz östrojenin transvajinal ultrasonla izlendiğinde kalınlaşmış endometriyumda polip veya polipler oluşturduğu yanlış kanısına varılabilir (258). Çalışmamızda polip tanısı koyduğumuz 25 hastanın sadece 5 tanesi asemptomatik, geri kalan 20 endometriyal polip hastasında menometroraji ya da metroraji şikayeti mevcuttu (259).

Endometriyal poliplerin oranı semptomatik reproduktif dönem kadınlarda %24 olarak bildirilmiştir (7). Taylor ve ark. İnfertil hastalarda ve sterilizasyonunu geri çevirmek isteyen hastalarda endometriyal polip sıklığını benzer oranda bulmuştur(260).

Küçük boyutta poliplerin saptanması çoğunlukla mümkün olamamakta ve çoğu zaman asemptomatik olmaktadır. Anormal uterin kanamaya neden olduklarında polipektomi endikasyonu doğmaktadır. Bu lezyonların malignite potansiyelleri düşük olduğundan asemptomatik olan premenapozal hastalarda ekspektan yaklaşım önerilebilmektedir. Hastalarımızda yaptığımız polipektomi materyallerinin patolojik incelemesinde endometriyal malignite saptanmamıştır (252, 261).

Kupfer ve ark. transvajinal ultrasonun histeroskopik ve histolojik tanıyla korelasyon gösteren endometriyal polipler için uygun bir tanı aracı olduğunu belirtmişlerdir (262). Bu lezyonların büyük bir çoğunluğu 2 cm altında ve bazıları da daha küçük olup 1 cm altında saptanmış ve tanıları kolayca konulmuştur. Histeroskopi endometriyal polipler için en iyi tanı aracıdır. Geç proliferatif ve sekretuar endometriyum histeroskopi ve transvajinal ultrasonografide endometriyal polipe benzer görüntü verebilir (263). Bu nedenle bu prosedür postmenstrual fazdan sonra uygulanmalıdır. Endometriyal polipler kör küretaj ile de çıkarılabilir ancak büyük kısmı gözden kaçırılabilir. En güvenilir yöntem histeroskopik polipektomi yada küretaj sonrası yapılacak histeroskopik değerlendirmedir. (259, 264, 265). Küretaj sonrasında histeroskopik konfirmasyon yapılan endometriyal polipli hastalarda histolojik olarak endometriyal polip oranı sadece %58 olarak bildirilmiştir. Bu durum muhtemel küçük poliplerin yanlış tanısından kaynaklanmaktadır. Hastalarımızın polip tanıları transvajinal ultrasonografinin ardından yapılan histeroskopi ile konulmuştur. Alınan materyaller patolojik değerlendirmeye gönderilmiş ve histolojik olarak polip tanıları doğrulanmıştır.

Uterin anomaliler, sineşiler, fibroidler ve endometriyal polipler çoğunlukla spontan abortus ve tekrarlayan düşüklerle beraber seyretmektedirler. Ancak bu lezyonların insidansları, klasifikasyonları, reproduktif kayıplar üzerindeki etkileri, IVF tedavisindeki yönetimleri hususunda ihtilaflar bulunmaktadır (266). IVF uygulamasından önce yapılan histeroskopik değerlendirme ile endometriyal patoloji saptama oranı %50 olarak bildirilmiş, benzer oranlar başarısız bir ya da iki IVF denemesi olan hastalarda da gösterilmiştir (12,267-271). Dicker ve ark daha önce normal histeroskopik bulgulara sahip olup üç ya da daha fazla embriyo transveri

sonrasında başarısız olan IVF siklusu uygulanmış hastalara tekrar histeroskopi yaptıklarında %18,2 oranında anormallikler saptamışlardır (272).

Asemptomatik endometriyal poliplerin infertilite üzerine etkileri net değildir. Ancak endometriyal polipler mekanik etkiyle sperm ve embriyo transportunu bozarak, embriyo tutunmasını engelleyerek ya da endometriyal reseptiviteyi azaltarak infertiliteye neden olabilmektedir. Ayrıca polipin sayısı, büyüklüğü ve lokalizasyonu reproduktif sonuçları etkileyebilmektedir(257).

Bizim çalışmamız histeroskopik polipektomi yapılan hastalarla karşılaştırılabilir normal endometriyuma sahip histeroskopi yapılan hastaları içermemektedir. Histeroskopik polipektominin menstrasyon bozukluklarını düzeltmesi, histolojik tanı imkanı sunması ve fertilite üzerine olumlu etki yapması nedeniyle tartışılmaz faydaları bulunan cerrahi müdahaledir. Bizim çalışmamızda menstrual siklus düzensizliği saptanan 20 hastanın tamamında semptomatik iyileşme saptanmıştır. Ancak poliplerin infertil hastalarda tesadüfi bulunması infertilite üzerine etkilerini tartışılabilir hale getirmektedir(252).

Endometriyal poliplerin infertilite ile olan ilişkilerini inceleyen pek az çalışma bulunmakta ve hiç birisi kesin yargılara varmamaktadır. Sillo-Seidl 1000 steril kadın ile yaptıkları serilerinde endometriyal polip oranını %10,8 olarak bildirmişlerdir (213). Yapılan bu çalışmada hastaların 8 tanesinde endometriyal polip eksizyonundan sonra gebelik elde edilmiştir. Bu çalışmaya karşıt olarak 33 endometriyal polipli hasta 28 endometriyal polipi olmayan kontrol grubu ile karşılaştırılmış, IVF sikluslarında implantasyon ve abortus oranları arasında anlamlı fark saptanmamıştır (252, 273).

Başka bir çalışmada endometriyal polipi olan 23 steril hastanın polipektomi sonrasında gebelik oranları %65,2 olarak bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada myom ve polipi olan hastalar karışık değerlendirilmiş ve randomizasyon yapılmamıştır (274). Birkaç yıl sonra yapılan bir çalışmada 25 hastanın 19 unda histeroskopik polipektomi sonrasında 12 ay içinde gebelik elde edilmiştir (275). Diğer bir çalışmada histeroskopik polipektomi sonrası gebelik oranı % 61,4 olarak belirlenmiştir(252).

Çeşitli çalışmalar endometriyal poliplerin spontan takip edilen, IUI ve IVF planlanan infertil hastalardaki gebelik oranlarını incelemiş ve birbirinden farklı sonuçlar elde etmişlerdir. 215 hastanın katıldığı randomize kontrollü bir çalışmada histeroskopik polipektominin ardından gebelik oranlarında 4 siklus beklenen kontrollü overyan stimulasyon yapılan grupta ve gonadotropinli IUI grubunda (%68, %28, $p<0,01$)

belirgin artış göstermiştir. (253) Bu çalışmada tüm poliplere histeroskopiyle tanı konulmuş, çalışma grubunda endometriyal polipler histeroskopik olarak eksize edilmiş, kontrol grubunda sadece histeroskopik olarak biyopsi alınmıştır. Ayrıca açıklanamayan infertilitesi olan ve polip saptanan bazı randomize olmayan kontrollü çalışmalarda histeroskopik polipektominin ardından spontan gebelik oranlarında belirgin artış saptanmıştır (274-276). Işıkoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada IVF tedavisi alan kadınlarda 2cm'den küçük endometriyal poliplerin gebelik oranları üzerinde olumsuz etkisinin olmadığı belirtilmiş, bir çalışmada ise endometriyal polipler nedeniyle düşüklerin arttığı belirtilerek endometriyal polip saptandığında embriyo transverinin polipektomi sonrasına ertelenerek embriyo dondurma işlemini önermektedir (259,277). Bu çalışmalarda ayrı ayrı 15 ve 49 kadın IVF sikluslarına dahil edilmiştir, gebelik oranları arasındaki farkları istatistiksel olarak ayırabilecek yeterli güce sahip çalışmalardır (257).

Endometriyal poliplere bağlı bu düşük gebelik oranlarının nedeni henüz bilinmemektedir. Endometriyal polipi olan hastaların periovulatur dönemlerinde glikodelin seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Glikodelin proteini national killler hücre aktivitesini durdurarak implantasyonu kolaylaştırmaktadır. Fonksiyonel siklusun normal periovulaturar peryudunda glikodelin azalır. Çünkü glikodelin sperm oosit bağlantısına engel olmaktadır. Bu durumda endometriyal polipler glikodelin seviyesini artırarak implantasyona engel olmaktadır (249).

Servikal dilatasyonun histeroskopi için olumlu etkileri olabilir, bu sayede endometriyal kaviteye giriş kolaylaşıp, uterin rüptür ihtimali azalmaktadır. Ayrıca histeroskopi esnasında endometriyal kavitenin salin ile irrigasyonu embriyo implantasyonu için olumlu etki yapıyor olabilir (253, 278-279)

Endometriyum kavitesinde yer kaypayıcı diğer bir oluşum da myomlardır. Tekrarlayan gebelik kayıpları olan hastalarda myomların yeri ve büyüklüğü önem arz etmektedir(280). Cerrahi uygulanan 667 hastanın sadece %2 sinde infertilite nedeni myomlar olarak belirlenmiştir (281). Submuköz myomların ise tekrarlayan gebelik kayıplarıyla sıkı ilişkisi bilinmektedir. Ancak bu hususta da tartışmalar devam etmektedir. Retrospektif bir yayında histeroskopik myomektomi sonrasında gebelik oranları %42 olarak belirlenirken, başka bir yayın 59 hastanın histeroskopik myomektomi sonrasında gördüğü faydanın sınırlı olduğu belirtilmektedir (274,282). Çalışmacıların ortak bulgusu ise myom büyüklüğü ile belirgin ilişkidir. Rezeke edilen myomun büyüklüğüyle gebelik oranlarındaki artış paralellik göstermektedir. Bu durum

myomun yer kaplayıcı özelliğiyle infertilitenin ilişkili olabileceği sonucunu doğrulamaktadır. Bu bulgu endometriyal polipler için geçerli değildir. Yapılan çalışmada endometriyal polipin büyüklüğü ile gebelik şansı arasında bağlantı kuramadık. Bu sorunun çözülmesi için daha uzun çalışmalara gerek vardır(253).

Sonuçta başka bir nedenle infertilitesi açıklanamayan kadınlarda endometriyal polipin sayısı ve büyüklüğü ne olursa olsun histeroskopi yapılmalıdır. İnferitilitenin tipine göre (primer veya sekonder) histeroskopik polipektomi fertilitate oranlarını etkilemektedir. Histeroskopik polipektomi sonrasında gebelik oranlarını değerlendiren bir çalışmada; polipektomi sonrası gebelik oranı %61,4 canlı doğum oranı %54,2 'ye yükselmiştir. Hastaların %91'inde menstrual patern normale dönmüştür. Sonuçta histeroskopik polipektomi düşük komplikasyon ve rekürrens oranına sahip güvenilir bir prosedürdür.(252).

Çalışmamızda daha önceki çalışmalarda çıkarılması önerilen endometriyal poliplerin çıkarıldıktan sonra endometriyal reseptivite üzerinde ne gibi değişimlere neden olduğu anlaşılmaya çalışılmıştır. Taylor ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada endometriyal polipli infertil hastaların implantasyon markerları olan HOXA 10, HOXA 11 genlerinin ekspresyonu değerlendirilmiş ve bu genlerin ekspresyonunda azalma saptanmıştır. Biz ise çalışmamızda hasta sayısını arttırıp hem fertil hem de infertil hastaları çalışmaya dahil ettik. Ayrıca implantasyon peryodunda ekspresyonu değişen bir diğer gen olan LIF de çalışmaya dahil edildi.

Homebox genleri gelişimsel olarak korunmuş ve embriyogenez esnasında vücut aksının korunması için gerekli olan genlerdir. Embriyogenez esnasında homebox genlerinin önden arkaya doğru ekspresyonu 3'ucundan 5'ucuna kromozomal uzanımlarıyla uyumludur. Homebox genlerinin kısmi olarak ekspresyonları vücutta ilgili segmentin gelişimini uyarmaktadır. Erişkin dokularda organ sistemlerinin şekillendirilmesi ve gelişim sürecinde ploriferasyonlarında, farklılaşmalarında ve dejenerasyonlarında rol alırlar. Bu farklılaşma ve dejenerasyon süreçleri organ sistemlerinin fonksiyonlarını da yakından etkilemektedir (178).

Erişkin dokularından kadın reproduktif traktusu ve hematopoetik sistem gelişimsel döngüye sahiptir. Fonksiyonların devamı için kök hücreler tarafından rejenerasyon devam etmektedir. Endometriyal siklik rejenerasyonu epitel, stroma ve endoteli de içeren birçok hücre tipini kapsayarak devam etmektedir. Bu rejenerasyon süreci implantasyon penceresinde embriyo implantasyonuna olanak sağlamaktadır. İmplantasyon başarısızlığı durumunda ise apoptozis ve dejenerasyon oluşmakta ve bir

sonraki siklusun programlı gelişimi başlamaktadır. Endometriyum gibi dokuların embriyonik gelişimleri ile terminal olgunlaşma süreçlerindeki sıklık değişimleri birbirlerine benzemektedir. Hücrelerin fonksiyonel ve yapısal rejenerasyon kapasiteleri diferansiye olmamış hücreler tarafından sağlanmaktadır. HOX genleri de hücrelerin kaderlerinin belirlenmesinde önemli role sahiptirler. Gelişimin erken evrelerinde aldıkları rolü endometriyum gibi dokuların gelişimlerinin terminal dönemlerinde de almaktadırlar. HOX genleri reseptör seviyesinde çeşitli hormonların etkisinde düzenlenmektedirler (16-17, 283-284)

HOXA 10 homebox (HOX) gen ailesinin bir üyesidir. Hox proteinleri gelişimini tamamlamış yetişkin dokularında da genleri regüle edebilmektedirler (287-288). HOXA 5 ve HOXA 10 meme kanseri hücrelerinde P53 öncüllerinin sentezini ve progesteron reseptörlerinin ekspresyonunu arttırmaktadırlar(289). HOXA 10 'un diğer hedefi ise beta 3 integrin ve boş spiracles homologu 2 (EMX2)'dir (208,285). Reprodüktif traktusun gelişiminde ise dört HOX geni önemli rol oynamaktadır (HOXA 9, HOXA 10, HOXA11, HOXA13) (183). Özellikle HOXA 10 uterusun, endometriyum ve endometriyal stromanın gelişiminde rol oynamaktadır. Ayrıca HOXA 10 ekspresyonu menstrual siklus boyunca devam etmekte ve implantasyon periyodunda ekspresyonu artmaktadır (16,183). HOXA 10 defekti olan farelerde implantasyon defekti ve buna bağlı infertilite saptanmıştır. Endometriyumun desidualizasyonu blastokistin implantasyon sürecinde tutunması için olanak sağlar. HOX genlerinin IGFB-1 regülasyonu üzerine etkileri farelerde transgenik olarak HOXA 5 aşırı ekspresyonuyla gösterilmiştir (190). Bu farelerde IGFB-1 ekspresyonunun 12 kat fazla olduğu, doğum sonrası 2 ila 3. Haftalarda gelişimlerinin durduğu ve orantılı cücelikleri gösterilmiştir (193). HOXA 10, IGFB-1 üzerinde ılımlı bir uyarıcı etkiye sahiptir, FOXO 1 devreye girdiğinde uyarıcı etki kuvvetlenmektedir (286). Çalışmalar Hox ailesi üyelerinin PBX gibi kofaktörlerden etkilendiğini göstermiştir. PBX kofaktörleriyle etkileşimler Hox proteinlerinin kontrolü ve fonksiyonlarında artışa neden olmaktadır. IGFB-1 öncüllerinde çok sayıda HOXA 10 bağlanma alanları bulunmaktadır. Muhtemelen bu bağlanma alanları IGFBP-1 öncüllerinin fonksiyonunu hızlandırmak için FOXO 1 etkisine ihtiyaç duymaktadır. FOXO 1 ve HOXA 10 birbirlerinin DNA bağlantılarında stabilizasyon sağlamaktadır. FOXO 1 ve HOXA gen ekspresyonları sayısız hücre ve dokuda gözlenirken aynı zamanda genlerin regülasyonunda da kritik rol oynarlar. FOXO 1 ve HOX genlerinin birlikte etkileri gen regülasyonunda daha kuvvetli ve özel roller almalarını sağlamaktadır. Tüm bu Hox genlerinin diğer moleküllerle

etkileşiminin anlaşılabilmesi tekrarlayan gebelik kayıpları olan hastaların ve açıklanamayan infertil hastaların tedavi ve tanı sürecinde yeni yöntemlerin geliştirilmesini sağlayacaktır (286).

İmplantasyonun en önemli markerlarından olan HOXA 10 endometriyozis hastalarında da değerlendirilmiştir. Midsekretuar fazda endometriyozisli hastaların değerlendirildiği çalışmada endometriyal HOXA 10 ekspresyonu ve proteini sağlıklı fertil kontrollerle karşılaştırıldığında, infertil endometriozis hastalarında, myoma uterisi olan hastalarda ve açıklanamayan infertil hastalarda daha düşük bulunmuştur. Süperfisiyal yüzeysel endometriyozisi olan hastaların endometriyal HOXA 10 ekspresyonu, diğer tip endometriyozisi olanlara, uterin fibroidi olanlara ve açıklanamayan infertilitesi olanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Şiddetli endometriyozisi olanlarda tubal adezyon infertiliteye neden olabilmektedir. Ancak hafif endometriyozisi olan hastaların infertilitesi tubal patens ve fonksiyonla açıklanamamaktadır. Lessey ve ark yayınlarında yüzeysel endometriyozisin neden olduğu infertilitede implantasyon kusuru olabileceği belirtilmiştir (76). Ancak HOXA 10 başarılı implantasyon için tek gerekli molekül değildir. Birçokmolekül ve bu moleküllerin defekteri endometriyozise bağlı infertiliteye neden olabilir(290). İleride yapılacak çalışmalar implantasyon penceresindeki farklı moleküler defektleri göstererek endometriyozise bağlı infertilitenin açıklanmasına yardımcı olacaktır.

Endometriyozis hastalarında HOXA 10 gen ekspresyonundaki azalmanın nedeni metilasyondur. Endometriyozisli hastaların 3 ve 4. Derecelerinde normal kontrollerle karşılaştırıldığında endometriyumda HOXA 10'un anormal metilasyonu gösterilmiştir(291). Babun ve fare çalışmalarında peritonda endometriyotik odak oluşturulduğunda ötopik endometriyumda HOXA 10'da anormal metilasyonun gerçekleştiği gösterilmiştir (292-293). Bu çalışmalar yüzeysel endometriyotik odakların ötopik endometriyumda anormal HOXA 10 metilasyonuna ve endometriyal stromal HOXA 10 ekspresyonunda azalmaya neden olabilmektedir. Her derecedeki endometriyozisin ötopik endometriyotik odakta ne derece metilasyon defektine neden olduğunu anlamak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Endometriyal polipli hastalarda HOXA 10 ekspresyonunun azaldığını gösteren Taylor ve ark. çalışmalarında HOXA 10 ekspresyonunun azalmasındaki mekanizmadan bahsetmemiştir (34). Bizim yaptığımız çalışmada polipektominin üzerinden geçen en az 3 aylık süre sonrasında ekspresyonda düzelme olmaması altta yatan mekanizmanın anlaşılmasının önemini daha da arttırmaktadır.

HOXA 10 ekspresyonu hidrosalpenksi olan hastalarda ve polikistik over sendromu olan hastalarda implantasyon periyodu boyunca değişmektedir (294-295). Bu çalışmalar farklı etyolojik faktörler nedeniyle infertil olan hastalarda ortak mekanizmanın etkili olabileceğini göstermektedir. Bu durumda infertil hastalarda HOXA 10 geninin anormal metilasyonunun ortak olay olabileceği akla gelmektedir. Bizim çalışmamızda fertil hasta grubu da bulunduğundan metilasyon hakkında yargıya varmak mümkün değildir. İleriki çalışmalar farklı infertilite nedenlerinin implantasyon defektine HOXA 10 ‘u nasıl etkileyerek etkili olduklarını da gösterecektir.

HOXA 10 ekspresyonunu endometriyozis, myoma uteri ve açıklanamayan infertil hasta gruplarında değerlendiren çalışmada açıklanamayan infertil hasta grubuyla fertil kontrol grubu arasında belirgin HOXA 10 mRNA ekspresyon farkı ve protein sentez farkı saptanmıştır (296). Ayrıca bazı açıklanamayan infertil hasta grubunda HOXA 10 ekspresyon düzeyi normal olarak saptanmıştır. Açıklanamayan infertil hasta grubunun çoğunluğunda HOXA 10 gen ekspresyonu yüzeysel endometriyozisli hastalarla karşılaştırıldığında daha az saptanmıştır. Çalışmalar açıklanamayan infertil hasta grubuna kontrollü overyan stimülasyon ve intrauterin inseminasyon uygulandığında yüzeysel endometriyozisli hasta gruplarına ve tubal infertil hasta gruplarına göre daha fazla gebelik elde etme şansına sahip olduklarını göstermiştir (297-298). Açıklanamayan infertil hasta gruplarında endometrial moleküler defekterin gösterilebilmesi için daha ileri çalışmalar gerekmektedir. Şimdiki çalışmalar tüm açıklanamayan infertil hasta gruplarında endometrial moleküler defekt olmadığını, minimal endometriyozisli hastalara göre açıklanamayan infertil hasta grubunda implantasyonun daha iyi olduğunu göstermektedir. Werbrouck ve ark. açıklanamayan infertil hasta grubu ile cerrahi tedavi almış minimal ve orta endometriyozis hasta grupları arasında kontrollü overyan hiperstimülasyon+IUI siklusları sonrası canlı doğum oranları arasında fark olmadığını göstermiştir(299). Bu yayın sonrası endometriyozis cerrahisi sonrasında reseptivitede düzelme olduğu yönünde kuşku doğmuştur. Günümüzde endometriyozis cerrahisinin reproduktif sonuçları olumlu yönde etkilediği bilinmektedir. Daftary ve ark endometrial HOXA 10 ekspresyonunun hidrosalpenks nedeniyle infertil hasta grubunda normal kontrollerle karşılaştırıldığında daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Aynı grup salpenjektomiden 4 ay sonrasında HOXA 10 ekspresyonunun arttığını göstermiştir (295). İleriki çalışmalar endometriyotik odakların çıkarılmasının endometrium HOXA 10 ekspresyonunu ve diğer

implantasyon moleküllerini tekrar modelize edebileceğini gösterecektir. Biz aynı remodalizasyonun endometriyal polipler için mümkün olup olmadığını değerlendirdik.

HOXA 10 ekspresyonunu endometriyozis, myoma uteri ve açıklanamayan infertil hasta gruplarında değerlendiren çalışmada uterus leiomyomu olan hastalarda endometriyal HOXA 10 ekspresyonunun belirgin azaldığı gösterilmiştir. Raclo ve Taylor endometriyal HOXA 10 ekspresyonunun sağlıklı gönüllüler ve intramural myomlu hastalarla submuköz myomlu hastaları karşılaştırdıklarında submuköz myomlu hastalarda HOXA 10 ekspresyonunun belirgin azaldığını göstermişlerdir. Ancak HOXA 10 ekspresyon düzeylerini proliferatif faz boyunca değerlendirmişlerdir (230). Hâlbuki, HOXA 10 ekspresyonun daha önceki çalışmalarda proliferatif fazla karşılaştırıldığında midsekretuar fazda daha yüksek olduğu gösterilmiştir (16). Bu nedenle intramural myomu olan hastalarda HOXA 10 endometriyal ekspresyonunun midsekretuar fazda değişimi net değildir. Yeni mikroarray çalışmaları ise intramural myomların endometriyal implantasyonu ve reseptiviteyi etkilemediği göstermiştir (300). HOXA 10 ekspresyonunu endometriyozis, myoma uteri ve açıklanamayan infertil hasta gruplarında değerlendiren çalışmada uterin fibroide sahip olan hastaların %68,8 'inde HOXA 10 ekspresyonunun olumsuz etkilendiğini gösterilmiştir. Horcajadas ve arkadaşlarının çalışmalarına paralel olarak tüm uterin fibroid hastalarının olumsuz etkilenmediği sonucu çıkarılabilir. Sonuçta normal grupla karşılaştırıldığında endometriyozisli infertil hasta grubu, uterin fibroid grubu ve açıklanamayan infertil hasta grubunda HOXA 10 ekspresyonu daha az saptanmıştır. Her infertil hasta grubunda farklı reseptivite ve implantasyon molekülleri, aynı zamanda daha büyük hasta grupları gerekmektedir.

Endometriyal reseptivite belirteçlerinden LIF hidrosalpenksli hasta gruplarında değerlendirilmiştir. IVF tedavisi alan hastalarda yapılan embriyo transferi sonrası gebelik oranları hidrosalpenksi olan kadınlarda daha azdır. Salpenjektomi bu sonuçları olumlu etkilemektedir. Hidrosalpenksin fertilitiyi nasıl etkilediği hala tam olarak anlaşılamamıştır, endometriyal reseptivite üzerine etkisi aydınlatılamamıştır. Seli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 10 infertil hidrosalpenksli hasta grubu ve 10 fertil kontrol grubu çalışmaya dâhil edilmiştir. Salpenjektomi öncesi ve sonrasında Western blotting yöntemiyle LIF ekspresyonu değerlendirilmiştir. LIF ekspresyonunun hidrosalpenksli infertil hasta grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak az olduğu gözlenmiştir. Salpenjektominin ise 10 hidrosalpenksli hastanın 8 tanesinde endometriyal LIF ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir.

İmmünohistokimyasal değerlendirme ile LIF ekspresyonundaki değişim konfirme edilmiştir. Artan LIF ekspresyonu luminal ve glandular epitelde gösterilmiştir. Bu bulgular hidrosalpenksli infertil hastalarda salpenjektominin olumlu etkilerini endometriyal LIF ekspresyonunu arttırarak oluşturduğunu göstermiştir (301). Biz ise çalışmamızda histeroskopik polipektomi sonrasında endometriyal HOXA 10 ve HOXA 11 ekspresyonunun yanı sıra LIF ekspresyonunu değerlendirdik. Sonuçlarda polipektominin LIF ekspresyonu üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisini saptamadık.

Meta-analizler IVF tedavisi sırasında embriyo transferi yapılan hastalarda, tubal kaynaklı infertilite ile diğer infertilite nedenleri karşılaştırıldığında, hidrosalpenksli hastalarla gebelik ve doğum oranlarının yarı yarıya az olduğunu göstermiştir (238-239). Çalışmalardan biri hidrosalpenks sıvısının endometriyal mikro çevreyi bozarak implantasyon oranının düşürdüğünü öne sürmüştür (240). Bu teoriye göre biriken hidrosalpenks sıvısının ortadan kaldırması implantasyon oranlarını arttırmalıdır. Çalışmada infertil hidrosalpenksi olan hasta grubuna laparoskopik salpenjektomi yapılmıştır. Aynı zamanda proksimal tubal ligasyon, neosalpingostomi, ultrasonografi eşliğinde transvajina sıvı aspirasyonu gibi yöntemlerinde gebelik ve implantasyon oranlarına olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (302). Bu bulgular endometriyal mikro çevre üzerinde mekanik faktörlerin etkisi hakkında bilgi vermektedir. Endometriyal poliplerin düşük gebelik oranlarına neden olmasının bu mekanik mekanizmanın etkisiyle olduğu düşünülebilmektedir.

Endometriyal biyopsiler keyfi olarak salpenjektomiden sonraki 4. siklusta alınmıştır. Endometriyal biyopsi klasik şekilde alınmış, örneklerdeki epitel ve stroma oranı önceden belirlenememiştir. LIF proteininin epitel hücrelerinde daha fazla ekspresyonu elde edildiğinden beri, western blotting tekniğinde epitel/stroma oranındaki değişimlerin LIF ekspresyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu durumda lazer mikro kesim tekniği ile epitel hücreleri ayrıştırıldıktan sonra Western Blotting yöntemi kullanılabilir. Bu çalışmada Western Blotting yönteminin yanı sıra immünohistokimyasal LIF ekspresyon analizi de yapılmıştır. Bu sayede Western Blotting yönteminin kontrolü yapılabilmış ve LIF ekspresyonunun endometriyumun hangi katmanında arttığı belirlenebilmiştir (301).

Endometriyal reseptivite endometriyumun siklik döngüsü esnasında yeniden belirlenmekte ve başarılı embriyo implantasyonunu sağlamaktadır. Endometriyal reseptivite özellikle endometriyum epiteline bağlı olsa da endometriyum stroması da endometriyal reseptivite üzerinde rol oynamaktadır (303). Bu çalışmada stroma hücrelerine kıyasla LIF ekspresyonunun endometriyum epiteline daha fazla olduğu gösterilmiştir (302). Bu bulgu daha önceki çalışmalarla da uyumluluk göstermektedir (153,304). Salpenjektominin ardından özellikle luminal ve glanduler epitelde LIF ekspresyonunun belirgin arttığı gözlenmiştir. Daha önceden endometriyal LIF ekspresyon paterni gösterilebilmesine rağmen özellikle LIF ekspresyonunun implantasyon üzerine etkisi net olarak belirlenememiştir. Ayrıca LIF reseptörü de endometriyal luminal epitelde belirgin olarak izlenmiştir. LIF reseptörleri olası hedef olarak pre implantasyon aşamasındaki embriyolarda da saptanmıştır (153). LIF muhtemelen direk trofoblastik farklılaşmayı sitotrofoblast aşamasından ekstravillöz fenotipe kadar etkileyerek embriyonik implantasyonu etkilemektedir(18). Daha önce Bildirici ve arkadaşları da hidrosalpenksli hastalarda salpenjektominin ardından endometriyal $\alpha 5\beta 3$ integrin düzeyinde bir artış bildirmişlerdir. Bu durumda HOXA 10 ve HOXA 11 gibi implantasyon üzerine etkileri kanıtlanmış genlerin $\alpha 5\beta 3$ integrin ve LIF ekspresyonu üzerinde esas kontrol faktörü olabileceği düşünülebilir.

LIF ekspresyonu implantasyonu etkilediğinden asiste reproduktif yöntemlerin de sonuçlarını etkilemektedir. İmplantasyon penceresinde endometriyumda LIF ekspresyon seviyelerindeki azalma embriyo transferi sonrasında implantasyon başarısızlığı riski taşımaktadır (159,305). Tekrarlayan düşük hikayesi olan hastalarda kullanılan rekombinant LIF uygulaması ve embriyo transferi sonrasında gebelik oranlarının arttığı izlenmiştir (306). Hidrosalpenksin fertilité üzerine olumsuz etkisinin LIF ekspresyonundaki azalmaya bağlı olduğu düşünülebilir. Hidrosalpenksli hastalarda salpenjektomi sonrasında gebelik sonuçlarındaki iyileşme LIF ekspresyonundaki düzelmeye bağlanabilir. İleriki çalışmalarda LIF ekspresyonunun asiste reproduktif sonuçları nasıl etkilediği açıklanabilir ve IVF-embriyo transferi yapılacak hastalarda önceden LIF kullanılması etkin hale gelebilir. LIF terapödik olarak kullanılmaya başladığında LIF eksikliği olan hastalar önceden belirlenmeli ve bu eksikliği saptayabilecek labarotuar tekniği geliştirilmelidir.

LIF ekspresyonunun embriyo implantasyonu için kritik öneme sahip olduğu insan ve fare çalışmalarında gösterilmiştir. Ancak fare embriyolarında implantasyon

sonrasında gelişim için LIF ekspresyonunun gerekli olmadığı bildirilmiştir. İmplantasyondan sonra embriyo gelişimi için LIF ekspresyonunun gerekip gerekmediği araştırılmıştır. Dokular 25 anembriyonik gebe ve 25 embriyonik normal gebeden sağlanmıştır. LIF reseptörü olan LIF-R β ve LIF desidua ve koryonik villuslarda semi kantitatif reverse transkripsiyon ve polimeraz zincir reaksiyonu, real time PCR, ve immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir. LIF mRNA seviyesinin anembriyonik gebelik ve normal gebelik grupları arasında desidua ve koryon villuslarında farklı olmadıkları gözlenmiştir. LIF-R β ekspresyonu ise koryon villuslarında desiduya göre fazla olduğu ancak anembriyonik gebelik ile normal gebelik grupları arasında fark olmadığı gözlenmiştir. İmmünohistokimya LIF- R β ekspresyonunun trofoblastik hücrelerde daha yüksek olduğunu göstermiş ve PCR sonuçlarını desteklemiştir. Bu çalışma implantasyondan sonraki erken embriyo gelişim aşamalarında LIF ve LIF-R β ekspresyonunun hem desidua hem de koryonda gerçekleştiğini göstermiş, anembriyonik gebelikte ise LIF ve LIF-R β ekspresyonunda defekt saptanmamıştır (156).

LIF ekspresyonu fare endometriyumunda, gebeliğin 4 gününde glandüler epitelde implantasyon döneminde gösterilmiştir (307). LIF defekli farelerin fertil oldukları ancak eksik olan LIF suplenmentasyonu yapılmadan embriyo implantasyonunun gerçekleşemediği gösterilmiştir (143). LIF ekspresyonunun insanda implantasyon periyodunda arttığı gösterilmiş ve bu durumda insan embriyo tutunması için gerekli olduğu çıkarımı yapılmıştır (150,153). Yapılan bu çalışma ile erken gebelikte koryon villus ve desidua LIF ve LIF-R β ekspresyonu belirlenmiştir. LIF mRNA ekspresyonunun dokuda (koryon villus ve desidua) ve anembriyonik gebelik normal gebelik arasında farklı olmadığı gösterilmiştir. LIF-R β ekspresyonunun ise dokuda desidua koryon villusa göre daha az olduğu gözlenmiştir. Daha önce IVF hastalarında transfer öncesi ve sonrasında bakılan serum LIF seviyesinin değişmediği ve abortus ile sonuçlanan transferler ile de ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir(308). Tüm bu sonuçlar LIF sisteminin implantasyon sonrası dönemde embriyo gelişimindeki rolünü açıklamamaktadır. Bu çalışmada anembriyonik gebelik normal gebelik ile karşılaştırıldığında LIF ve LIF-R β düzeyinde defekt saptanmamıştır(156).

İmplantasyon sonrası için bazı fare modellerinde çelişkili sonuçlar yayınlanmıştır. Bir çalışmada LIF'in implantasyondan sonra gebeliğin gelişimi ve doğuma kadar korunması için gerekli olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışma basitçe

LIF'in gebelik boyunca aktif rol almadığından bahsetmekteydi (145). Başka çalışmalarda da LIF ile ilişkili reseptörlerin belirgin ekspresyonu ve olası fonksiyonları gebelik boyunca desidua ve plasentada bakılarak yayınlanmıştır (309-310). Tüm bu çalışmalara rağmen implantasyondan sonraki LIF fonksiyonu hakkında kesin kanıya varmak imkansızdır. Örneğin implantasyon sonrası plasentada LIF mRNA seviyesine bakıldığında en belirgin ve sabit ekspresyon düzeyi domuz plasentasında saptanmış ve LIF'in implantasyondan sonra önemli fonksiyonları olabileceği kanısına varılmıştır (311). İnsanlarda LIF-R villöz ve ekstrasvillöz trofoblastlarda gebelik boyunca saptanmıştır. Özellikle implantasyon alanlarında desidual lökositlerde LIF ekspresyonu belirgin saptanmıştır. Bu durum LIF'in maternal ve desidual lökositler arasında iletişimi sağladığını ve trofoblastik saldırıyı başlattığını düşündürmektedir (312). Benzer tüm çalışmalarda LIF ve LIF-Rβ sabit ekspresyonunun insan gebeliğinin devamı için önem arzettiği sonucuna varılmıştır (151,154-155,309,313). İleriki çalışmalar gebeliğin devamındaki LIF etkisinin özel nedenini insan ve fare çalışmalarında belirleyecektir (156).

LIF iki izoformdan oluşmaktadır. Bunlar çözünebilir ve dokuda lokalize olan formlardır. Bu farklı izoformların muhtemel farklı fonksiyonları vardır. Cullinan ve ark. yaptığı çalışmada özellikle bu iki izoform ayrı ayrı çalışılmamıştır. Bu nedenle de reseptör düzeyindeki izoformların ekspresyonu ve fonksiyonları da değerlendirilmemiştir. İzoformların ürünlerinin farklı olma olasılığı olduğundan ilerde yapılacak çalışmalar dokudaki bu izoformların farklarını aydınlatacaktır. Ayrıca LIF reseptör sisteminin önemli bir parçası olan GP130 da sonraki çalışmalarda araştırılmalıdır (153).

Sonuçta bu çalışma insan gebeliğinin devam ettilmesinde LIF reseptörlerinin önemli rolü olduğunu ve en azından ilk trimesterde önemli olduğunu ortaya koymuştur. Bu aşamada LIF fonksiyonlarının LIF-R aracılığıyla trofoblastlar üzerinde etkin olduğunu göstermiştir. Erken aşamadaki insan gebeliğinin düşükle sonuçlanmasında LIF ve LIF-R defektlerinin büyük rolü olmadığını öne sürmüştür.

Fertil ya da infertil, menstruasyon düzensizliği olan, çocuk istemi olan tüm hastaların endometriyal kaviteleri dikkatlice değerlendirilmelidir. Endometriyal polip saptandığında hastanın şikayeti ve beklentileri dikkate alınarak en kıymetli tanı ve tedavi yöntemi olan histeroskopik endometriyal polip eksizyonu yapılmalıdır. Patolojik değerlendirme yapılmalı, prekanseröz endometriyal değişiklikler gözden kaçırılmamalıdır. İnfertilite tedavisi öncesinde yapılacak histeroskopik polipektomi

hala günümüzde en akılcı yöntem olarak görülmektedir. İlerde yapılacak çalışmalarla fertiliteye engel olan endometriyal polip ve benzeri uterin yer kaplayıcı oluşumların etki mekanizmaları moleküler düzeyde daha ayrıntılı belirlenecek, tedavileri minimal invaziv yöntemlerle mümkün olacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- HOXA 10, HOXA 11 ve LIF genlerinin endometriyal ekspresyonlarının histeroskopik polipektomi öncesi ve sonrasında istatistiksel anlamlı değişimleri saptanmamıştır.
- Histeroskopik polipektomi sonrasında hastaların bozulan menstrual siklus düzenlerinde iyileşme saptanmıştır.
- Endometriyal poliplerin boyut ve sayısının polipektomi öncesi ve sonrasında gen ekspresyonundaki değişimde etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.
- Bu çalışma endometriyal polipektomi öncesi ve sonrasında endometriyal reseptivitenin değişimine HOXA 10, HOXA 11 ve LIF düzeyinde baktığından ileriki çalışmalarda bu moleküllerin aralarındaki etkileşimler de incelenmelidir.
- LIF proteinin çözünebilir ve dokuya bağlı tiplerinin LIF'in reseptivite üzerinde etkisinin araştırılabilmesi için ileriki çalışmalarda ayrı ayrı değerlendirilmesi gerekmektedir.
- HOX genlerinin embriyonik hayatta etkileri başladığı bilindiğinden endometriyum polipleri olan hastaların embriyogenez esnasında gen ekspresyonu ileriki çalışmalarda değerlendirilmeli, endometriyal poliplerin genetik yatkınlığı incelenmelidir.

ÖZET

HİSTEROSKOPİK ENDOMETRİYAL POLİP EKSİZYONUNUN ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE MARKERLARI OLAN HOXA 10, HOXA 11 VE LIF GEN EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Endometrial polipler hem gland hem de stroma içeren endometriyumun hiperplastik aşırı büyümeleridir. Bu lezyonların büyük çoğunluğu benignidir. Polipler tek ya da çoklu lezyonlar halinde bulunabilirler, büyüklükleri milimetre boyutundan santimetrelerce büyüklüklere ulaşabilir, pedinküllü ya da sessil olabilirler.

İmplantasyon endometriyum kavitesi içerisinde serbest halde hareket eden blastokistin endometriyum ile temasını içeren bir süreçtir. İmplantasyon sürecinde endometriyum ile konseptus arasında çözünebilir büyüme faktörleri, hormonlar, adezyon molekülleri, ekstraselüler matriks ve prostoglandinlerin katıldığı kompleks diyaloglar gerçekleşir. Açıklanamayan infertil kadınların %25'inden fazlasında histeroskopik olarak endometrial polip saptanmaktadır. Ancak endometrial poliplerin bu hastaların fertiliteleri ve endometrial reseptivite üzerindeki etkileri belli değildir.

HOXA 10, HOXA 11 ve LIF insan endometriyumunda, proliferatif fazda, stroma ve glandlarda eksprese edilmektedirler. Bu genlerin ekspresyonu mid-sekretuar, implantasyon döneminde glandlarda artmaktadır.

Endometriyum üzerine endometrial poliplerin etkilerini endometrial reseptivite markerları olan HOXA 10, HOXA 11 ve LIF ekspresyonuyla araştırdık. Çalışmaya endometrial polip tanısı olan 25 kadını dâhil ettik. Tüm hastalar proliferatif fazda histeroskopi ile değerlendirildi. Endometrial polip saptandığında histeroskopik olarak çıkarıldı. Endometrial örnekler histeroskopi öncesi ve sonrasında siklusun 21. gününde, implantasyon döneminde alındı. Her endometrial doku 1ml RNAlater solüsyonuna koyuldu. Histeroskopik polipekomi öncesi ve sonrası dönemde reseptivite markerları olan HOXA 10, HOXA 11 ve LIF mRNA'larına bakıldı. mRNA seviyeleri kantitatif real time reverse-transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlendi (RT-PCR). Histeroskopi öncesi ve sonrası iki grupta istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Anahtar Kelimeler:Endometrial polipler, endometrial reseptivite, HOX genleri, LIF

SUMMARY

HYSTEROSCOPIC RESECTION OF ENDOMETRIAL POLYPS EFFECTS ENDOMETRIAL RECEPTIVITY MARKERS, HOXA10, HOXA11 AND LIF EFFECT OF GENE EXPRESSION

Endometrial polyps are localized hyperplastic overgrowths of endometrium that contain both endometrial glands and stroma. The large majority of these lesions are benign. Polyps have a variable presentation; they can occur as individual or multiple lesions, range in size from millimeters to centimeters, and can be sessile or pedunculated.

Implantation is the process by which the free-floating blastocyst attaches to the endometrium, invades the stroma and establishes the trophoblast. The process involves a complex dialogue between the endometrium and the conceptus that is mediated by soluble growth factors, hormones, adhesion molecules, the extracellular matrix and prostaglandins. Up to 25% of women with unexplained infertility have endometrial polyps on hysteroscopy. However, their effect on endometrial receptivity and fertility is unclear.

In humans, HOXA 10, HOXA11 and LIF are expressed in proliferative phase endometrial glands and stroma, and expression of these genes is markedly up-regulated in the midsecretory glands at the time of implantation.

Markers of endometrial receptivity, HOXA10, HOXA11 and LIF were used to investigate the effect of endometrial polyps on endometrium. Study included 25 women. All patients underwent hysteroscopy in the proliferative phase of the menstrual cycle. When an endometrial polyp was present, it was excised under hysteroscopic guidance. Endometrial tissue sample was taken before and after hysteroscopic polypectomy on day 21 (implantation period). Each endometrial tissue sample was stored in 1 mL of RNAlater solution. We investigated receptivity markers mRNA, HOXA10, HOXA11 and LIF, expression before and after hysteroscopic resection. Messenger RNA (mRNA) levels were analyzed by quantitative real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). We could not find any statistically significant difference between pre-operative and post-operative two groups ($p > 0.05$).

Key Words: Endometrial polyps, endometrial receptivity, HOX genes, LIF

KAYNAKLAR

1. Mittal k, Schwartz l, Goswami s, Demopoulos r. Estrogen and progesterone receptor expression in endometrial polyps. *int j gynecol pathol* 1996;15(345– 347):5.
2. Fernandez-Parra J, Rodriquez OA, Lopez CS, Parrilla FF, Montoya VF. hysteroscopic evaluation of endometrial polyps. *Int J Gynaecol Obstet* 2006;95:144–8
3. Anastasiadis PG, Koutlaki NG, Skaphida PG, Galazios GC, Tsikouras PN, Liberis VA. Endometrial polyps: prevalence, detection, and malignant potential in women with abnormal uterine bleeding. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2000;21: 180–3.
4. Clevenger-Hoeft M, Syrop CH, Stovall DW, Van Voorhis BJ. Sonohysterography in premenopausal women with and without abnormal bleeding. *Obstet Gynecol.* 1999;94:516–20
5. Goldstein SR, Zeltser I, Horan CK, Snyder JR, Schwartz LB. Ultrasonography-based triage for perimenopausal patients with abnormal uterine bleeding. *Am J Obstet Gynecol.*1997;177:102–8.
6. Nagele F, O'Connor H, Davies A, Badawy A, Mohamed H, Magos A. 2500 outpatient diagnostic hysteroscopies. *Obstet Gynecol.* 1996;88:87–92
7. Van Bogaert LJ. Clinicopathologic findings in endometrial polyps. *Obstet Gynecol.* 1988;71:771–3.
8. Dreisler E, Stampe SS, Ibsen PH, Lose G. Prevalence of endometrial polyps and abnormaluterine bleeding in Danish
9. Lieng M, Istre O, Sandvik L, Qvigstad E. Prevalence, 1-year regression rate, and clinical significance of asymptomatic endometrial polyps: cross-sectional study. *J Minim Invasive Gynecol.* 2009;16:465–71.
10. Frydman R, Eibschitz I, Fernandez H, Hamou J. Uterine evaluation by microhysteroscopy in IVF candidates. *Hum Reprod.* 1987;2:481–5
11. Hinckley MD, Milki AA. 1000 office-based hysteroscopies prior to in vitro fertilization: feasibility and findings. *JSLs.* 2004;8:103–7.
12. Seiner P, Maccario S, Visentin L, DiGregorio A. Hysteroscopy in an IVF-ER program. Clinical experience with 360 infertile patients. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1988;67:135–7.
13. Syrop CH, Sahakian V. Transvaginal sonographic detection of endometrial polyps with fluid contrast augmentation. *Obstet Gynecol.* 1992;79:1041–3.
14. Çelik, Ö. (2011). Yardımcı üreme teknikleri temel klinik ve embriyolojik uygulamalar. Adana: Nobel Kitabevi.
15. Eun Kwon H, Taylor HS. The role of HOX genes in human implantation. *Ann N Y Acad Sci.* 2004 Dec;1034:1-18. Review. PubMed PMID: 15731295.

16. Taylor HS, Arici A, Olive D, Igarashi P. HOXA10 is expressed in response to sex steroids at the time of implantation in the human endometrium. *J Clin Invest.* 1998 Apr 1;101(7):1379-84. PubMed PMID: 9525980; PubMed Central PMCID: PMC508715
17. Taylor HS, Igarashi P, Olive DL, Arici A. Sex steroids mediate HOXA11 expression in the human peri-implantation endometrium. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Mar;84(3):1129-35. PubMed PMID: 10084606
18. Nachtigall MJ, Kliman HJ, Feinberg RF, Olive DL, Engin O, Arici A. The effect of leukemia inhibitory factor (LIF) on trophoblast differentiation: a potential role in human implantation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996 Feb;81(2):801-6. PubMed PMID: 8636307.
19. Sadler T.W. (1996). *Langman's medikal embriyoloji*, Ankara: Palme Kitabevi
20. Wasserman PM: Fertilization in mammals. *Sci Am* 259:78, 1988.
21. Edwards RG: A decade of in vitro fertilization. *Res Reprod* 22:1, 1990.
22. Edwards RG, Bavister BD, Steptoe PC: Early stages of fertilization in vitro of human oocytes matured in vitro. *Nature (Lond)* 221:632, 1969
23. Propping D, Tauber PF, Zaneveld LJD, Fertilization and implantation, In Hudwig H, Tauber PF (eds): *Human Fertilization*. Stuttgart, Georg Thieme, 1978.
24. Egarter C: The complex mature of egg transport through the oviducth. *Am J Obstet Gynecol* 163:687, 1990.
25. Chen CM, Sathananthan AH: Early penetration of human speerm through the vestments of human egg in vitro. *Arch Androl* 16:183, 1986.
26. Gilbert SF: *Developmental Biology*. Suderland, MA, Sinauer Associates, 1991.
27. Settlage DSF, Motoshima M, Tredway DR: Sperm transport from the external cervical os to the fallopian tubes in women. *Fertil Steril* 24:655, 1973.
28. Talbot P: Sperm Penetration through oocyte investments in mammals, *Am J Anat* 174:331, 1985.
29. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RML: Pregnancies from biopsied human preimplantation embriyos sexed byY-spesific DNA ampLIFication *Nature* 344:768, 1990.
30. Wolf DP, Quigley MM (eds): *Human in Vitro Fertilization and Transfer*. Net York, Plenum Press, 1984.
31. Tabibzadeh S, Babaknia A: The signals and molecular pathways involved in implantation, a symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. *Hum Reprod* 10:1579-1602, 1995

32. Vinatier D, Monnier JC: [The fetal-maternal interface. Description of its elements from an immunologic perspective]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 19:691-700, 1990
33. Speroff L, Fritz MA: *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2005
34. Bahar L, Baykal T: The role of endometrial receptivity in implantation. *Mersin Üniv. Sağlık Bil. Derg.* 1(2),2008
35. Giudice LC. Application of functional genomics to primate endometrium: insights into biological processes. *Reprod Biol Endocrinol.* 2006;4 Suppl 1:S4. Review. PubMed PMID: 17118168; PubMed Central PMCID: PMC1775064
36. Paria BC, Huet-Hudson Ym, Dey SK. Blastocyst's state of activity determines the 'window' of implantation in the receptive mouse uterus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10159-10162
37. Sarani SA, Ghaffari-Novin M, Warren MA, Dockery P, Cooke ID. Morphological evidence for the 'implantation window' in human luminal endometrium. *Hum Reprod*1999; 14: 3101-3106
38. Parr EL, Parr MB. Epithelial cell death during rodent embryo implantation. In:Yoshinago K, ed. *Blastocyst Implantation*. Boston: Serono Symposia USA AdamsPublishing Group; 1989: 105-115.
39. Duc-Goiran P, Mignot TM, Bourgeois C, Ferre F. Embryo-Maternal Interactions at the Implantation Site: A Delicate Equilibrium. *Gynecology and Reproductive Biology* 1999; 83 (1): 85-100.
40. Lessey BA. Endometrial receptivity and the window of implantation. *BaillieresBest Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2000 Oct;14(5):775-88. Review. PubMed PMID:11023799.
41. Enders AC & Welsh AO. Structural interactions of trophoblast and uterus during hemochorial placenta formation. *Journal of Experimental Zoology* 1993; 266: 578±587
42. Weitlauf HM. Biology of Implantation. In Knobil E & Neill JD (eds) *The Physiology of Reproduction*, pp 391±440. New York: Raven Press, 1994.
43. Gökçimen A , Temel S, İmplantasyon ve moleküler etkileşimler, Isparta, S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. 2004;11(4):25-33
44. Buster J, Bustillo M, Rodi I et al. Biologic and morphologic development of donated human ova recovered by nonsurgical uterine lavage. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1985; 153: 211±217.
45. Moore KL, Persaud TVN. İnsan Embriyolojisi. In: Yıldırım M, Okar I, Dalçık H, ed. *Blastosist Oluşumu*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002: 40-42, 130-135.

46. Susan JK, Ph. D. Molecular Interactions at the Maternal- Embryonic Interface During the Early Phase of Implantation. *Sem Reproductive Med* 2000; 18 (3): 237-253.
47. Paria BC, Lim H, Wang X-N, Liehr J, Das SK, Dey SK. Coordination of different effects of primary estrogen and catecholesterogen on two distinct targets mediates embryo Implantation
48. Sunder S, Lenton E. Endocrinology of the Peri-Implantation Period. *Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2000; 14 (5): 789-800
49. Lessey BA, Ilesanmi AO, Sun J et al. Luminal and glandular endometrial epithelium express integrins differentially throughout the menstrual cycle: implications for implantation, contraception, and infertility. *American Journal of Reproductive Immunology* 1996; 35: 195±204.
50. Campbell S, Swann HR, Seif MW et al. Cell adhesion molecules on the oocyte and preimplantation human embryo. *Human Reproduction* 1995; 10: 1571±1578
51. Aplin JD, Spanswick C, Behzad F et al. Integrins b5 , b3 , av are apically distributed in endometrial epithelium. *Molecular Human Reproduction* 1996; 2: 527±534.
52. Fukuda MN, Sato T, Nakayama J et al. Trophinin and tastin, a novel cell adhesion molecule complex with potential involvement in embryo implantation. *Genes and Development* 1995; 9: 1199±1210.
53. Raab G, Kover K, Paria BC et al. Mouse preimplantation blastocysts adhere to cells expressing the transmembrane form of heparin-binding EGF-like growth factor. *Development* 1996; 122: 637±645.
54. Kaya S, Yardımcı üreme teknikleri uygulamalarında serviko-vajinal lavaj ve serumdan implantasyon belirteci olarak Glikodelin ve Makrofaj-Koloni Stimulan faktör bakılmasının klinik ve prognostik önemi, Baskent Üniversitesi Tıp Fakültesi,2009
55. Aghajanova L, Hamilton AE, Giudice LC: Uterine receptivity to human embryonic implantation: histology, biomarkers, and transcriptomics. *Semin Cell Dev Biol* 19:204-211, 2008
56. Okamoto N, Uchida A, Takakura K, Kariya Y, Kanzaki H, Riittinen L, Koistinen R, Seppala M, Mori T: Suppression by human placental protein 14 of natural killer cell activity. *Am J Reprod Immunol* 26:137-142, 1991
57. Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, von Wolff M: The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update* 12:617-630, 2006
58. Lee J, Oh J, Choi E, Park I, Han C, Kim do H, Choi BC, Kim JW, Cho C: Differentially expressed genes implicated in unexplained recurrent spontaneous abortion. *Int J Biochem Cell Biol* 39:2265-2277, 2007
59. Paria BC, Lim H, Das SK, Reese J, Dey SK. Molecular signalling in uterine receptivity for implantation. *Semin Cell Dev Biol* 2000; 11: 67-76

60. Raab G, Klagsbrun M. Heparin-binding EGF-like growth factor. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1333: 179-199
61. Yoo HJ, Barlow DH & Mardon HJ. Temporal and spatial regulation of expression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in the human endometrium: a possible role in blastocyst implantation. *Developmental Genetics* 1997; 21: 102±108.
62. Leach RE, Khalifa R, Ramirez ND et al. Multiple roles for heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor are suggested by its cell-specific expression during the human endometrial cycle and early placentation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84: 3355±3363.
63. Martin KL, Barlow DH & Sargent IL. Heparin-binding epidermal growth factor significantly improves human blastocyst development and hatching in serum-free medium. *Human Reproduction* 1998; 13: 1645±1652.
64. Huang JC, Wun WS, Goldsby JS, Wun IC, Noorhasan D, Wu KK. Stimulation of embryo hatching and implantation by prostacyclin and peroxisome proliferator-activated receptor delta activation: implication in IVF. *Hum Reprod.* 2007 Mar;22(3):807-14. Epub 2006 Nov 17. PubMed PMID: 17114194
65. Leach RE, Khalifa R, Armant DR, Brudney A, Das SK, Dey SK, Fazleabas AT. Heparin-binding EGF-like growth factor modulation by antiprogesterone and CG in the baboon (*Papio anubis*). *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Sep;86(9):4520-8. PubMed PMID: 11549702.
66. Nikas G. Pinopodes as markers of endometrial receptivity in clinical practice. *Hum Reprod.* 1999 Dec;14 Suppl 2:99-106. Review. PubMed PMID: 10690805.
67. Nikas G, Aghajanova L. Endometrial pinopodes: some more understanding on human implantation? *Reprod Biomed Online.* 2002;4 Suppl 3:18-23. Review. PubMed PMID: 12470560
68. Bentin-Ley U, Sjögren A, Nilsson L, Hamberger L, Larsen JF, Horn T. Presence of uterine pinopodes at the embryo-endometrial interface during human implantation in vitro. *Hum Reprod* 1999; 14: 515-520.
69. Creus M, Ordi J, Fábregues F, Casamitjana R, Carmona F, Cardesa A, Vanrell JA, Balasch J. The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in the human endometrium: a controlled study. *Hum Reprod.* 2003 Apr;18(4):683-93. PubMed PMID: 12660257.
70. Merviel P, Challier JC, Carbillon L, Foidart JM, Uzan S. The Role of Integrins in Human Embryo Implantation. *Fetal Diagn Ther* 2001; 16: 364-371.
71. Lessey BA, Damjanovich L, Coutifaris C et al. Integrin adhesion molecules in the human endometrium. Correlation with the normal and abnormal menstrual cycle. *Journal of Clinical Investigation* 1992; 90: 188±195.

72. Aplin JD, Charlton AK & Ayad S. An immunohistochemical study of human endometrial extracellular matrix during the menstrual cycle and first trimester of pregnancy. *Cell Tissue Research* 1988; 253: 231±240.
73. Lessey BA, Castelbaum AJ, Harris J et al. The use of integrins to date the endometrium. *Fertility and Sterility* 2000 (in press).
74. Hii LPP & Rogers PAW. Endometrial vascular and glandular expression of integrin $\alpha v \beta 3$ in women with and without endometriosis. *Human Reproduction* 1998; 13: 1030±1035.
75. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SJ & Sun J. Integrins as markers of uterine receptivity in women with primary unexplained infertility. *Fertility and Sterility* 1995; 63: 535±542.
76. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SJ et al. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1994; 79: 643±649.
77. Lessey BA, Castelbaum AJ, Buck CA et al. Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertility and Sterility* 1994; 62: 497±506.
78. Tabibzadeh S. Patterns of expression of integrin molecules in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Human Reproduction* 1992; 7: 876±882.
79. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S et al. Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. *Human Reproduction* 1997; 12: 1393±1398.
80. Arici A, Oral E, Bukulmez O et al. The effect of endometriosis on implantation: results from the Yale University in vitro fertilization and embryo transfer program. *Fertility and Sterility* 1996; 65: 603±607.
81. Strandell A, Lindhard A, Waldenström U et al. Hydrosalpinx and IVF outcome: a prospective, randomized multicentre trial in Scandinavia on salpingectomy prior to IVF. *Human Reproduction* 1999; 14: 2762±2769.
82. Kodama H, Fukuda J, Karube H et al. High incidence of embryo transfer cancellations in patients with polycystic ovarian syndrome. *Human Reproduction* 1995; 10: 1962±1967.
83. Fazleabas AT, Bell SC, Fleming S et al. Distribution of integrins and the extracellular matrix proteins in the baboon endometrium during the menstrual cycle and early pregnancy. *Biology of Reproduction* 1997; 56: 348±356.
84. Margarit L, Gonzalez D, Lewis PD, Hopkins L, Davies C, Conlan RS, Joels L, White JO. L-selectin ligands in human endometrium: comparison of fertile and infertile subjects. *Hum Reprod.* 2009 Nov;24(11):2767-77. Epub 2009 Jul 22. PubMed PMID: 19625313; PubMed Central PMCID: PMC2763128.

85. Tangemann K, Bistrup A, Hemmerich S, Rosen SD. Sulfation of a high endothelial venule-expressed ligand for L-selectin: effects on tethering and rolling of lymphocytes. *J Exp Med* 1999;190:935–942
86. Genbacev OD, Prakobphol A, Foulk RA, Krtolica AR, Ilic D, Singer MS, Yang Z-Q, Kiessling LL, Rosen SD, Fisher SJ. Trophoblast L-Selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal interface. *Science* 2003;299:405–408.
87. Minas V, Loutradis D, Makrigiannakis A. Factors controlling blastocyst implantation. *Reprod Biomed Online* 2005;10:205–216.
88. Lai T-H, Shih I-M, Vlahos N, Ho C-L, Wallach E, Zhao Y. Differential expression of L-selectin ligand in the endometrium during the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2005;83:1297–1302.
89. Shamonki MI, Kligman I, Shamonki JM, Schattman GL, Hyjek E, Spandorfer SD, Zaninovic N, Rosenwaks Z. Immunohistochemical expression of endometrial L-selectin ligand is higher in donor oocyte recipients with embryonic implantation. *Fertil Steril* 2006;86:1365–1375
90. Fleming TP, Sheth B, Fesenko I. Cell adhesion in the preimplantation mammalian embryo and its role in trophectoderm differentiation and blastocyst morphogenesis. *Front Biosci.* 2001 Aug 1;6:D1000-7. Review. PubMed PMID: 11487467.
91. Matsuzaki S, Darcha C, Maleysson E, Canis M, Mage G. Impaired down-regulation of E-cadherin and beta-catenin protein expression in endometrial epithelial cells in the mid-secretory endometrium of infertile patients with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Jul;95(7):3437-45. Epub 2010 Apr 21. PubMed PMID: 20410224
92. Paria BC, Zhao X, Das SK, Dey SK, Yoshinaga K. Zonula occludens-1 and E-cadherin are coordinately expressed in the mouse uterus with the initiation of implantation and decidualization. *Dev Biol.* 1999 Apr 15;208(2):488-501. PubMed PMID: 10191061
93. Wang X, Matsumoto H, Zhao X, Das SK, Paria BC. Embryonic signals direct the formation of tight junctional permeability barrier in the decidualizing stroma during embryo implantation. *J Cell Sci.* 2004 Jan 1;117(Pt 1):53-62. Epub 2003 Nov 19. PubMed PMID: 14627626.
94. Cadigan KM, Nusse R. Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes Dev.* 1997 Dec 15;11(24):3286-305. Review. PubMed PMID: 9407023.
95. Mohamed OA, Jonnaert M, Labelle-Dumais C, Kuroda K, Clarke HJ, Dufort D. Uterine Wnt/beta-catenin signaling is required for implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Jun 14;102(24):8579-84. Epub 2005 Jun 1. PubMed PMID: 15930138; PubMed Central PMCID: PMC1150820
96. Jeong JW, Lee HS, Franco HL, Broaddus RR, Taketo MM, Tsai SY, Lydon JP, DeMayo FJ. beta-catenin mediates glandular formation and dysregulation of beta-catenin induces hyperplasia formation in the murine uterus. *Oncogene.* 2009

- Jan8;28(1):31-40. Epub 2008 Sep 22. PubMed PMID: 18806829; PubMed Central PMCID:PMC2646831.
97. Nusse R, Varmus HE. Wnt genes. *Cell*. 1992 Jun 26;69(7):1073-87. Review. PubMed PMID: 1617723.
 98. Wodarz A, Nusse R. Mechanisms of Wnt signaling in development. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1998;14:59-88. Review. PubMed PMID: 9891778.
 99. Bhanot P, Brink M, Samos CH, Hsieh JC, Wang Y, Macke JP, Andrew D, Nathans J, Nusse R. A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature*. 1996 Jul 18;382(6588):225-30. PubMed PMID: 8717036.
 100. Tulac S, Nayak NR, Kao LC, Van Waes M, Huang J, Lobo S, Germeyer A, Lessey BA, Taylor RN, Suchanek E, Giudice LC. Identification, characterization, and regulation of the canonical Wnt signaling pathway in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Aug;88(8):3860-6. PubMed PMID: 12915680.
 101. Van der Linden PJ, de Goeij AF, Dunselman GA, Erkens HW, Evers JL. Expression of cadherins and integrins in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Fertil Steril*. 1995 Jun;63(6):1210-6. PubMed PMID: 7538474.
 102. Béliard A, Donnez J, Nisolle M, Foidart JM. Localization of laminin, fibronectin, E-cadherin, and integrins in endometrium and endometriosis. *Fertil Steril*. 1997 Feb;67(2):266-72. PubMed PMID: 9022601
 103. Alikani M. Epithelial cadherin distribution in abnormal human pre-implantation embryos. *Hum Reprod*. 2005 Dec;20(12):3369-75. Epub 2005 Aug 25. PubMed PMID:16123095.
 104. MacCalman CD, Furth EE, Omigbodun A et al. Regulated expression of cadherin-11 in human epithelial cells: a role for cadherin-11 in trophoblast-endometrium interactions *Developmental Dynamics* 1996; 206: 201±211.
 105. Armant DR. Life and death responses to trophinin-mediated adhesion during blastocyst implantation. *Cell Cycle*. 2011 Feb 15;10(4):574-5. Epub 2011 Feb 15. PubMed PMID: 21311237
 106. Fukuda MN, Sato T, Nakayama J, Klier G, Mikami M, Aoki D, Nozawa S. Trophinin and tasin, a novel cell adhesion molecule complex with potential involvement in embryo implantation. *Genes Dev*. 1995 May 15;9(10):1199-210. PubMed PMID: 7758945
 107. Sugihara K, Kabir-Salmani M, Byrne J, Wolf DP, Lessey B, Iwashita M, Aoki D, Nakayama J, Fukuda MN. Induction of trophinin in human endometrial surface epithelia by CGβ and IL-1β. *FEBS Lett*. 2008 Jan 23;582(2):197-202. Epub 2007 Dec 17. PubMed PMID: 18078818.
 108. Sugihara K, Sugiyama D, Byrne J, Wolf DP, Lowitz KP, Kobayashi Y, Kabir-Salmani M, Nadano D, Aoki D, Nozawa S, Nakayama J, Mustelin T, Ruoslahti E, Yamaguchi N, Fukuda MN. Trophoblast cell activation by trophinin ligation is

- implicated in human embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Mar 6;104(10):3799-804. Epub 2007 Feb 26. PubMed PMID: 17360433; PubMed Central PMCID: PMC1805454.
109. Navot D, Laufer N, Kopolovic J, Rabinowitz R, Birkenfeld A, Lewin A, Granat M, Margalioth EJ, Schenker JG. Artificially induced endometrial cycles and establishment of pregnancies in the absence of ovaries. *N Engl J Med*. 1986 Mar 27;314(13):806-11. PubMed PMID: 3951513
 110. Zolti M, Ben-Rafael Z, Meirom R et al. Cytokine involvement in oocyte and early embryos. *Fertility and Sterility* 1991; 56: 265±272.
 111. Hey NA, Graham RA, Seif MW, Aplin JD. The polymorphic epithelial mucin MUC1 in human endometrium is regulated with maximal expression in the implantation phase. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994 Feb;78(2):337-42. PubMed PMID: 8106621.
 112. Kondera-Anasz Z, Sikora J, Mielczarek-Palacz A, Jońca M. Concentrations of interleukin (IL)-1 α , IL-1 soluble receptor type II (IL-1 sRII) and IL-1 receptor antagonist (IL-1 Ra) in the peritoneal fluid and serum of infertile women with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005 Dec 1;123(2):198-203. Epub 2005 Jul 19. PubMed PMID: 16046047
 113.)C.A. Dinarello Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996 Mar15;87(6):2095-147. Review. PubMed PMID: 8630372.
 114. Colotta F, Dower SK, Sims JE, Mantovani A. The type II ‘decoy’ receptor: a novel regulatory pathway for interleukin 1. *Immunol Today* 1994;15:562–6
 115. Symons JA, Young PR, Duff GW. Soluble type II interleukin 1 (IL-1) receptor binds and blocks processing of IL-1 beta precursor and loses affinity for IL-1 receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:1714–8.
 116. Tabibzadeh S, Kong QF, Babaknia A, May LT. Progressive rise in the expression of interleukin-6 in human endometrium during menstrual cycle is initiated during the implantation window. *Hum Reprod*. 1995 Oct;10(10):2793-9. PubMed PMID: 8567815.
 117. Pampfer S, Daiter E, Barad D & Pollard JW. Expression of the colony-stimulating factor-1 receptor (c- fms proto-oncogene product) in the human uterus and placenta. *Biology of Reproduction* 1992; 46: 48±57.
 118. Daiter E, Pampfer S, Yeung YG et al. Expression of colony-stimulating factor-1 in the human uterus and placenta. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1992; 74: 850±858.
 119. Werb Z. ECM and cell surface proteolysis: regulating cellular ecology. *Cell* 1997; 91: 439±442.
 120. Kauma SW, Aukerman SL, Eierman D & Turner T. Colony-stimulating factor-1 and c-fms expression in human endometrial tissues and placenta during the

- menstrual cycle and early pregnancy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1991; 73: 746±751.
121. Haimovici F & Anderson DJ. Effects of growth factors and growth factor±extracellular matrix interactions on mouse trophoblast outgrowth in vitro. *Biology of Reproduction* 1993; 49: 124±130
 122. Wassarman PM. Zona pellucida glycoproteins. *Annu Rev Biochem.* 1988;57:415-42. Review. PubMed PMID: 3052278.
 123. Wassarman PM. Mammalian fertilization: egg and sperm (glyco)proteins that support gamete adhesion. *Am J Reprod Immunol.* 1995 Mar;33(3):253-8. Review. PubMed PMID: 7546242.
 124. WassarmanPM, Liu C, Litscher ES. Constructing the mammalian egg zona pellucida: some new pieces of an old puzzle. *J Cell Sci.* 1996 Aug;109 (Pt 8):2001-4. Review. PubMed PMID: 8856495
 125. Snell WJ, White JM. The molecules of mammalian fertilization. *Cell.* 1996 May 1;85(5):629-37. Review. PubMed PMID: 8646772.
 126. Kimber SJ. Glycoconjugates and cell surface interactions in pre- and peri-implantation mammalian embryonic development. *Int Rev Cytol.* 1990;120:53-167. Review. PubMed PMID: 2406215
 127. Fleming TP, Butler L, Lei X, Collins J, Javed Q, Sheth B, Stoddart N, Wild A, Hay M. Molecular maturation of cell adhesion systems during mouse early development. *Histochemistry.* 1994 Jan;101(1):1-7. Review. PubMed PMID: 8026978.
 128. Poirier F, Kimber S. Cell surface carbohydrates and lectins in early development. *Mol Hum Reprod.* 1997 Oct;3(10):907-18. Review. PubMed PMID: 9395265.
 129. Shiotani M, Noda Y, Mori T. Embryo-dependent induction of uterine receptivity assessed by an in vitro model of implantation in mice. *Biol Reprod.* 1993 Oct;49(4):794-801. PubMed PMID: 8218644.
 130. Kimber SJ, Brown DG, Pahlsson P, Nilsson B. Carbohydrate antigen expression in murine embryonic stem cells and embryos. *Histochem J* 1993; 25: 628-641
 131. White S, Kimber SJ. Changes in alpha (1-2)-fucosyltransferase activity in the murine endometrial epithelium during the estrous cycle, early pregnancy, and after ovariectomy and hormone replacement. *Biol Reprod.* 1994 Jan;50(1):73-81. PubMed PMID: 8312453.
 132. Carson DD, Tang JP, Julian J. Heparan sulfate proteoglycan (perlecan) expression by mouse embryos during acquisition of attachment competence. *Dev Biol* 1993; 155: 97-106
 133. San Martin S, Soto-Suazo M, Zorn TM. Perlecan and syndecan-4 in uterine tissues during the early pregnancy in mice. *Am J Reprod Immunol.* 2004 Jul;52(1):53-9. PubMed PMID: 15214943

134. Ayhan A. (2008) Temel kadın hastalıkları ve doğum bilgisi. Ankara: Güneş Kitapevleri
135. Hilton & Gough 1991Hilton DJ, Gough NM. Leukemia inhibitory factor: a biological perspective. *J Cell Biochem.* 1991 May;46(1):21-6. Review. PubMed PMID: 1908473.
136. Schafer-Somi 2003Schäfer-Somi S. Cytokines during early pregnancy of mammals: a review. *Anim Reprod Sci.* 2003 Jan 15;75(1-2):73-94. Review. PubMed PMID: 12535585.
137. Haines BP, Voyle RB, Rathjen PD. Intracellular and extracellular leukemia inhibitory factor proteins have different cellular activities that are mediated by distinct protein motifs. *Mol Biol Cell.* 2000 Apr;11(4):1369-83. PubMed PMID: 10749936; PubMed Central PMCID: PMC14853
138. Kimber SJ. Leukaemia inhibitory factor in implantation and uterine biology. *Reproduction.* 2005 Aug;130(2):131-45. Review. PubMed PMID: 16049151.
139. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J.* 2003 Aug 15;374(Pt 1):1-20. Review. PubMed PMID: 12773095; PubMed Central PMCID: PMC1223585.
140. Chung CD, Liao J, Liu B, Rao X, Jay P, Berta P, Shuai K. Specific inhibition of Stat3 signal transduction by PIAS3. *Science.* 1997 Dec 5;278(5344):1803-5. PubMed PMID: 9388184
141. Bousquet C, Susini C, Melmed S. Inhibitory roles for SHP-1 and SOCS-3 following pituitary proopiomelanocortin induction by leukemia inhibitory factor. *J Clin Invest.* 1999 Nov;104(9):1277-85. PubMed PMID: 10545526; PubMed Central PMCID: PMC409825.
142. Duval D, Reinhardt B, Kedinger C, Boeuf H. Role of suppressors of cytokine signaling (Socs) in leukemia inhibitory factor (LIF) -dependent embryonic stem cell survival. *FASEB J.* 2000 Aug;14(11):1577-84. PubMed PMID: 10928992.
143. Stewart CL, Kaspar P, Brunet LJ, Bhatt H, Gadi I, Köntgen F, Abbondanzo SJ. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature.* 1992 Sep 3;359(6390):76-9. PubMed PMID: 1522892.
144. Cheng JG, Rodriguez CI, Stewart CL. Control of uterine receptivity and embryo implantation by steroid hormone regulation of LIF production and LIF receptor activity: towards a molecular understanding of "the window of implantation". *Rev Endocr Metab Disord.* 2002 May;3(2):119-26. Review. PubMed PMID: 12007288.
145. Cheng JG, Rodriguez CI, Stewart CL. Control of uterine receptivity and embryo implantation by steroid hormone regulation of LIF production and LIF receptor activity: towards a molecular understanding of "the window of implantation". *Rev Endocr Metab Disord.* 2002 May;3(2):119-26. Review. PubMed PMID: 12007288.

146. Sherwin JR, Freeman TC, Stephens RJ, Kimber S, Smith AG, Chambers I, Smith SK, Sharkey AM. Identification of genes regulated by leukemia-inhibitory factor in the mouse uterus at the time of implantation. *Mol Endocrinol*. 2004 Sep;18(9):2185-95. Epub 2004 Jun 3. PubMed PMID: 15178747.
147. Yoshida K, Taga T, Saito M, Suematsu S, Kumanogoh A, Tanaka T, Fujiwara H, Hirata M, Yamagami T, Nakahata T, Hirabayashi T, Yoneda Y, Tanaka K, Wang WZ, Mori C, Shiota K, Yoshida N, Kishimoto T. Targeted disruption of gp130, a common signal transducer for the interleukin 6 family of cytokines, leads to myocardial and hematological disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Jan 9;93(1):407-11. PubMed PMID: 8552649; PubMed Central PMCID: PMC40247.
148. Ware CB, Horowitz MC, Renshaw BR, Hunt JS, Liggitt D, Koblar SA, Gliniak BC, McKenna HJ, Papayannopoulou T, Thoma B, et al. Targeted disruption of the low-affinity leukemia inhibitory factor receptor gene causes placental, skeletal, neural and metabolic defects and results in perinatal death. *Development*. 1995 May;121(5):1283-99. PubMed PMID: 7789261.
149. Takeda K, Noguchi K, Shi W, Tanaka T, Matsumoto M, Yoshida N, Kishimoto T, Akira S. Targeted disruption of the mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Apr 15;94(8):3801-4. PubMed PMID: 9108058; PubMed Central PMCID: PMC20521.
150. Charnock-Jones DS, Sharkey AM, Fenwick P, Smith SK. Leukaemia inhibitory factor mRNA concentration peaks in human endometrium at the time of implantation and the blastocyst contains mRNA for the receptor at this time. *J Reprod Fertil*. 1994 Jul;101(2):421-6. PubMed PMID: 7932378.
151. Arici A, Engin O, Attar E, Olive DL. Modulation of leukemia inhibitory factor gene Expression and protein biosynthesis in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995 Jun;80(6):1908-15. PubMed PMID: 7775640.
152. Chen DB, Hilsenrath R, Yang ZM, Le SP, Kim SR, Chuong CJ, Poindexter AN 3rd, Harper MJ. Leukaemia inhibitory factor in human endometrium during the menstrual cycle: cellular origin and action on production of glandular epithelial cell prostaglandin in vitro. *Hum Reprod*. 1995 Apr;10(4):911-8. PubMed PMID: 7650142.
153. Cullinan EB, Abbondanzo SJ, Anderson PS, Pollard JW, Lessey BA, Stewart CL. Leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor expression in human endometrium suggests a potential autocrine/paracrine function in regulating embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Apr 2;93(7):3115-20. PubMed PMID: 8610178; PubMed Central PMCID: PMC39771.
154. Kojima K, Kanzaki H, Iwai M, Hatayama H, Fujimoto M, Inoue T, Horie K, Nakayama H, Fujita J, Mori T. Expression of leukemia inhibitory factor in human endometrium and placenta. *Biol Reprod*. 1994 Apr;50(4):882-7. PubMed PMID: 7515287.

155. Sawai K, Matsuzaki N, Okada T, Shimoya K, Koyama M, Azuma C, Saji F, Murata Y. Human decidual cell biosynthesis of leukemia inhibitory factor: regulation by decidual cytokines and steroid hormones. *Biol Reprod.* 1997 May;56(5):1274-80. PubMed PMID: 9160728.
156. Chen HF, Chao KH, Shew JY, Yang YS, Ho HN. Expression of leukemia inhibitory factor and its receptor is not altered in the decidua and chorionic villi of human anembryonic pregnancy. *Hum Reprod.* 2004 Jul;19(7):1647-54. Epub 2004 Jun 4. PubMed PMID: 15180980
157. Sherwin JR, Smith SK, Wilson A, Sharkey AM. Soluble gp130 is up-regulated in the implantation window and shows altered secretion in patients with primary unexplained infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Aug;87(8):3953-60. PubMed PMID: 12161539
158. Classen-Linke I, Müller-Newen G, Heinrich PC, Beier HM, von Rango U. The cytokine receptor gp130 and its soluble form are under hormonal control in human endometrium and decidua. *Mol Hum Reprod.* 2004 Jul;10(7):495-504. Epub 2004 May 7. PubMed PMID: 15133123.
159. Laird SM, Tuckerman EM, Dalton CF, Dunphy BC, Li TC, Zhang X. The production of leukaemia inhibitory factor by human endometrium: presence in uterine flushings and production by cells in culture. *Hum Reprod.* 1997 Mar;12(3):569-74. PubMed PMID: 9130761.
160. Steck T, Giess R, Suetterlin MW, Bolland M, Wiest S, Poehls UG, Dietl J. Leukaemia inhibitory factor (LIF) gene mutations in women with unexplained infertility and recurrent failure of implantation after IVF and embryo transfer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004 Jan 15;112(1):69-73. PubMed PMID:14687743
161. Inagaki N, Stern C, McBain J, Lopata A, Kornman L, Wilkinson D. Analysis of intra-uterine cytokine concentration and matrix-metalloproteinase activity in women with recurrent failed embryo transfer. *Hum Reprod.* 2003 Mar;18(3):608-15. PubMed PMID: 12615834
162. Perrier d'Hauterive S, Charlet-Renard C, Berndt S, Dubois M, Munaut C, Goffin F, Hagelstein MT, Noël A, Hazout A, Foidart JM, Geenen V. Human chorionic gonadotropin and growth factors at the embryonic-endometrial interface control leukemia inhibitory factor (LIF) and interleukin 6 (IL-6) secretion by human endometrial epithelium. *Hum Reprod.* 2004 Nov;19(11):2633-43. Epub 2004 Sep 23. PubMed PMID: 15388676.
163. Gonzalez RR, Leary K, Petrozza JC, Leavis PC. Leptin regulation of the interleukin-1 system in human endometrial cells. *Mol Hum Reprod.* 2003 Mar;9(3):151-8. PubMed PMID: 12606591.
164. Gonzalez RR, Rueda BR, Ramos MP, Littell RD, Glasser S, Leavis PC. Leptin-induced increase in leukemia inhibitory factor and its receptor by human endometrium is partially mediated by interleukin 1 receptor signaling.

- Endocrinology. 2004 Aug;145(8):3850-7. Epub 2004 May 13. PubMed PMID: 15142989
165. Laird SM, Tuckerman EM, Cork BA, Li TC. Expression of nuclear factor kappa B in human endometrium; role in the control of interleukin 6 and leukaemia inhibitory factor production. *Mol Hum Reprod*. 2000 Jan;6(1):34-40. PubMed PMID: 10611258
 166. Licht P, Russu V, Lehmeier S, Wildt L. Molecular aspects of direct LH/hCG effects on human endometrium--lessons from intrauterine microdialysis in the human female in vivo. *Reprod Biol*. 2001 Jul;1(1):10-9. PubMed PMID: 14666171.
 167. Gutsche S, von Wolff M, Strowitzki T, Thaler CJ. Seminal plasma induces mRNA expression of IL-1beta, IL-6 and LIF in endometrial epithelial cells in vitro. *Mol Hum Reprod*. 2003 Dec;9(12):785-91. PubMed PMID: 14614040
 168. Nichols J, Davidson D, Taga T, Yoshida K, Chambers I, Smith A. Complementary tissue-specific expression of LIF and LIF-receptor mRNAs in early Mouse embryogenesis. *Mech Dev*. 1996 Jul;57(2):123-31. PubMed PMID: 8843390
 169. Chen HF, Shew JY, Ho HN, Hsu WL, Yang YS. Expression of leukemia inhibitory factor and its receptor in preimplantation embryos. *Fertil Steril*. 1999 Oct;72(4):713-9. PubMed PMID: 10521116.
 170. Lavranos TC, Rathjen PD, Seamark RF. Trophic effects of myeloid leukaemia inhibitory factor (LIF) on mouse embryos. *J Reprod Fertil*. 1995 Nov;105(2):331-8. PubMed PMID: 8568779.
 171. Dunglison GF, Barlow DH, Sargent IL. Leukaemia inhibitory factor significantly enhances the blastocyst formation rates of human embryos cultured in serum-free medium. *Hum Reprod*. 1996 Jan;11(1):191-6. PubMed PMID: 8671184.
 172. Cheng TC, Huang CC, Chen CI, Liu CH, Hsieh YS, Huang CY, Lee MS, Liu JY. Leukemia inhibitory factor antisense oligonucleotide inhibits the development of murine embryos at preimplantation stages. *Biol Reprod*. 2004 May;70(5):1270-6. Epub 2003 Dec 26. PubMed PMID: 14695905.
 173. Harvey MB, Leco KJ, Arcellana-Panlilio MY, Zhang X, Edwards DR, Schultz GA. Proteinase expression in early mouse embryos is regulated by leukaemia inhibitory factor and epidermal growth factor. *Development*. 1995 Apr;121(4):1005-14. PubMed PMID: 7743917.
 174. Salamonsen LA. Role of proteases in implantation. *Rev Reprod*. 1999 Jan;4(1):11-22. Review. PubMed PMID: 10051098.
 175. Yang M, Lei ZM, Rao ChV. The central role of human chorionic gonadotropin in the formation of human placental syncytium. *Endocrinology*. 2003 Mar;144(3):1108-20. PubMed PMID: 12586787
 176. Hilton DJ. LIF: lots of interesting functions. *Trends Biochem Sci*. 1992 Feb;17(2):72-6. Review. PubMed PMID: 1566332.

177. Escary JL, Perreau J, Duménil D, Ezine S, Brûlet P. Leukaemia inhibitory factor is necessary for maintenance of haematopoietic stem cells and thymocyte stimulation. *Nature*. 1993 May 27;363(6427):361-4. PubMed PMID: 8497320.
178. McGinnis W, Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell*. 1992 Jan 24;68(2):283-302. Review. PubMed PMID: 1346368.
179. Carroll SB. Homeotic genes and the evolution of arthropods and chordates. *Nature*. 1995 Aug 10;376(6540):479-85. PubMed PMID: 7637779
180. Krumlauf R. Hox genes in vertebrate development. *Cell*. 1994 Jul 29;78(2):191-201. Review. PubMed PMID: 7913880.
181. Boncinelli E, Acampora D, Pannese M, D'Esposito M, Somma R, Gaudino G, Stornaiuolo A, Cafiero M, Faiella A, Simeone A. Organization of human class I homeobox genes. *Genome*. 1989;31(2):745-56. PubMed PMID: 2576652.
182. Schughart K, Kappen C, Ruddle FH. Mammalian homeobox-containing genes: genome organization, structure, expression and evolution. *Br J Cancer Suppl*. 1988Dec;9:9-13. Review. PubMed PMID: 2908191; PubMed Central PMCID: PMC2149124.
183. Taylor HS, Vanden Heuvel GB, Igarashi P. A conserved Hox axis in the mouse and human female reproductive system: late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes. *Biol Reprod*. 1997 Dec;57(6):1338-45. PubMed PMID: 9408238.
184. Dollé P, Izpisua-Belmonte JC, Brown JM, Tickle C, Duboule D. HOX-4 genes and the morphogenesis of mammalian genitalia. *Genes Dev*. 1991 Oct;5(10):1767-7. PubMed PMID: 1680771
185. Favier B, Dollé P. Developmental functions of mammalian Hox genes. *Mol Hum Reprod*. 1997 Feb;3(2):115-31. Review. PubMed PMID: 9239717.
186. Warot X, Fromental-Ramain C, Fraulob V, Chambon P, Dollé P. Gene dosage-dependent effects of the Hoxa-13 and Hoxd-13 mutations on morphogenesis of the terminal parts of the digestive and urogenital tracts. *Development*. 1997 Dec;124(23):4781-91. PubMed PMID: 9428414.
187. Mortlock DP, Innis JW. Mutation of HOXA13 in hand-foot-genital syndrome. *Nat Genet*. 1997 Feb;15(2):179-80. PubMed PMID: 9020844
188. Block K, Kardana A, Igarashi P, Taylor HS. In utero diethylstilbestrol (DES) exposure alters Hox gene expression in the developing müllerian system. *FASEB J*. 2000 Jun;14(9):1101-8. PubMed PMID: 10834931.
189. Ma L, Benson GV, Lim H, Dey SK, Maas RL. Abdominal B (AbdB) Hoxa genes: regulation in adult uterus by estrogen and progesterone and repression in müllerian duct by the synthetic estrogen diethylstilbestrol (DES). *Dev Biol*. 1998 May 15;197(2):141-54. PubMed PMID: 9630742.

190. Benson GV, Lim H, Paria BC, Satokata I, Dey SK, Maas RL. Mechanisms of reduced fertility in Hoxa-10 mutant mice: uterine homeosis and loss of maternal Hoxa-10 expression. *Development*. 1996 Sep;122(9):2687-96. PubMed PMID: 8787743.
191. Satokata I, Benson G, Maas R. Sexually dimorphic sterility phenotypes in Hoxa10-deficient mice. *Nature*. 1995 Mar 30;374(6521):460-3. PubMed PMID: 7700356.
192. Hsieh-Li HM, Witte DP, Weinstein M, Branford W, Li H, Small K, Potter SS. Hoxa11 structure, extensive antisense transcription, and function in male and female fertility. *Development*. 1995 May;121(5):1373-85. PubMed PMID: 7789268.
193. Akam M. Hox and HOM: homologous gene clusters in insects and vertebrates. *Cell*. 1989 May 5;57(3):347-9. Review. PubMed PMID: 2566382.
194. Beyler SA, James KP, Fritz MA, Meyer WR. Hydrosalpingeal fluid inhibits in-vitro embryonic development in a murine model. *Hum Reprod*. 1997 Dec;12(12):2724-8. PubMed PMID: 9455843.
195. Mukherjee T, Copperman AB, McCaffrey C, Cook CA, Bustillo M, Obasaju MF. Hydrosalpinx fluid has embryotoxic effects on murine embryogenesis: a case for prophylactic salpingectomy. *Fertil Steril*. 1996 Nov;66(5):851-3. PubMed PMID: 8893701.
196. Daftary GS, Taylor HS. Hydrosalpinx fluid diminishes endometrial cell HOXA10 expression. *Fertil Steril*. 2002 Sep;78(3):577-80. PubMed PMID: 12215336.
197. Salih SM, Taylor HS. HOXA10 gene expression in human fallopian tube and ectopic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 May;190(5):1404-6. PubMed PMID: 15167850.
198. Cermik D, Karaca M, Taylor HS. HOXA10 expression is repressed by progesterone in the myometrium: differential tissue-specific regulation of HOX gene expression in the reproductive tract. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Jul;86(7):3387-92. PubMed PMID: 11443215
199. Mesiano S, Chan EC, Fitter JT, Kwek K, Yeo G, Smith R. Progesterone withdrawal and estrogen activation in human parturition are coordinated by progesterone receptor A expression in the myometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Jun;87(6):2924-30. PubMed PMID: 12050275
200. Chau YM, Pando S, Taylor HS. HOXA11 silencing and endogenous HOXA11 antisense ribonucleic acid in the uterine endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Jun;87(6):2674-80. PubMed PMID: 12050232.
201. Lyle R, Watanabe D, te Vrugte D, Lerchner W, Smrzka OW, Wutz A, Schageman J, Hahner L, Davies C, Barlow DP. The imprinted antisense RNA at the Igf2r locus overlaps but does not imprint Mas1. *Nat Genet*. 2000 May;25(1):19-21. PubMed PMID: 10802648.

202. Sakkas D, Lu C, Zulfikaroglu E, Neuber E, Taylor HS. A soluble molecule secreted by human blastocysts modulates regulation of HOXA10 expression in an epithelial endometrial cell line. *Fertil Steril*. 2003 Nov;80(5):1169-74. PubMed PMID: 14607569.
203. Troy PJ, Daftary GS, Bagot CN, Taylor HS. Transcriptional repression of peri-implantation EMX2 expression in mammalian reproduction by HOXA10. *Mol Cell Biol*. 2003 Jan;23(1):1-13. PubMed PMID: 12482956; PubMed Central PMCID:PMC140663.
204. Quinn LM, Kilpatrick LM, Latham SE, Kalionis B. Homeobox genes DLX4 and HB24 are expressed in regions of epithelial-mesenchymal cell interaction in the adult human endometrium. *Mol Hum Reprod*. 1998 May;4(5):497-501. PubMed PMID: 9665637.
205. Dalton D, Chadwick R, McGinnis W. Expression and embryonic function of empty spiracles: a Drosophila homeo box gene with two patterning functions on the anterior-posterior axis of the embryo. *Genes Dev*. 1989 Dec;3(12A):1940-56. PubMed PMID: 2576012.
206. Grossniklaus U, Cadigan KM, Gehring WJ. Three maternal coordinate systems cooperate in the patterning of the Drosophila head. *Development*. 1994 Nov;120(11):3155-71. PubMed PMID: 7720559
207. Lessey BA, Castelbaum AJ. Integrins and implantation in the human. *Rev Endocr Metab Disord*. 2002 May;3(2):107-17. Review. PubMed PMID: 12007287.
208. Daftary GS, Troy PJ, Bagot CN, Young SL, Taylor HS. Direct regulation of beta3-integrin subunit gene expression by HOXA10 in endometrial cells. *Mol Endocrinol*. 2002 Mar;16(3):571-9. PubMed PMID: 11875117.
209. Bagot CN, Kliman HJ, Taylor HS. Maternal Hoxa10 is required for pinopod formation in the development of mouse uterine receptivity to embryo implantation. *Dev Dyn*. 2001 Nov;222(3):538-44. PubMed PMID: 11747087
210. Bagot CN, Troy PJ, Taylor HS. Alteration of maternal Hoxa10 expression by in vivo gene transfection affects implantation. *Gene Ther*. 2000 Aug;7(16):1378-84. PubMed PMID: 10981664
211. Daftary GS, Taylor HS. Efficient liposome-mediated gene transfection and expression in the intact human uterus. *Hum Gene Ther*. 2001 Nov 20;12(17):2121-7. PubMed PMID: 11747601.
212. VanBogaert LJ. Clinic pathologic findings in endometrial polyp. *Obstet Gynaecol* 1988;71:771-3.
213. Sillo-Seidl G. The analysis of the endometrium of 1000 sterile women. *Hormones* 1971;2:70-5.

214. Simón C, Martínez L, Pardo F, Tortajada M, Pellicer A. Müllerian defects in women with normal reproductive outcome. *Fertil Steril*. 1991 Dec;56(6):1192-3. PubMed PMID: 1743344.
215. Acien P. Reproductive performance of women with uterine malformations. *Hum Reprod*. 1993 Jan;8(1):122-6. PubMed PMID: 8458914.
216. Raga F, Bauset C, Remohi J, Bonilla-Musoles F, Simon C, Pellicer A. Reproductive impact of congenital Müllerian anomalies. *Hum Reprod* 1997;12:2277–2281.
217. Grimbizis GF, Camus M, Tarlatzis BC, Bontis JN, Devroey P. Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update* 2001;7:161–174
218. Kupesic S. Clinical implications of sonographic detection of uterine anomalies for reproductive outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;18:387–400
219. Grimbizis GF, Campo R. Congenital malformations of the female genital tract: the need for a new classification system. *Fertil Steril*. 2010 Jul;94(2):401-7. Epub 2010 Mar 31. PubMed PMID: 20356581
220. Wai CY, Zekam N, Sanz LE: Septate uterus with double cervix and longitudinal vaginal septum. A case report. *J Reprod Med*. 46:613- 17, 2001.
221. Harger JH, Archer DF, Marchese SG, Muracca-Clemens M, Garver KL. Etiology of recurrent pregnancy losses and outcome of subsequent pregnancies. *Obstet Gynecol*. 1983 Nov;62(5):574-81.
222. Raga F, Bauset C, Remohi J, Bonilla-Musoles F, Simon C, Pellicer A. Reproductive impact of congenital mullerian anomalies, *Hum Reprod* 12:2277, 1997.
223. Selvaraj P, Selvaraj K. Reproductive outcome of septate uterus following hysteroscopic septum resection. *J Hum Reprod Sci*. 2010 Sep;3(3):143-5. PubMed PMID: 21234176; PubMed Central PMCID: PMC3017331
224. Marcus S, al-Shawaf T, Brinsden P. The obstetric outcome of in vitro fertilization and embryo transfer in women with congenital uterine malformation. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 Jul;175(1):85-9. PubMed PMID: 8694080.
225. Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC, Longo LD. Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. 1971. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Dec;181(6):1574-5. PubMed PMID: 10601946.
226. Duboule D. Patterning in the vertebrate limb. *Curr Opin Genet Dev*. 1991 Aug;1(2):211-6. Review. PubMed PMID: 1688004.

227. Stewart EA. Uterine fibroids. *Lancet*. 2001 Jan 27;357(9252):293-8. Review. PubMed PMID: 11214143.
228. Olive DL, Pritts EA. Fibroids and reproduction. *Semin Reprod Med*. 2010 May;28(3):218-27. Epub 2010 Apr 22. PubMed PMID: 20414844
229. Pritts EA, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil Steril*. 2009 Apr;91(4):1215-23. Epub 2008 Mar 12. Review. PubMed PMID: 18339376
230. Rackow BW, Taylor HS. Submucosal uterine leiomyomas have a global effect on molecular determinants of endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2010 Apr;93(6):2027-34. Epub 2008 Jun 13. PubMed PMID: 18555231; PubMed Central PMCID: PMC3107853.
231. Berman JM. Intrauterine adhesions. *Semin Reprod Med*. 2008 Jul;26(4):349-55. Review. PubMed PMID: 18756412.
232. Sharma JB, Roy KK, Pushparaj M, Kumar S. Hysteroscopic findings in women with primary and secondary infertility due to genital tuberculosis. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009 Jan;104(1):49-52. Epub 2008 Nov 20. PubMed PMID: 19022439.
- 233 Yu D, Wong YM, Cheong Y, Xia E, Li TC. Asherman syndrome—one century later. *Fertil Steril* 2008;89:759–79.
234. Barash A, Dekel N, Fieldust S, Segal I, Schechtman E, Granot I. Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003;79:1317–22.
235. Myers EM, Hurst BS. Comprehensive management of severe Asherman syndrome and amenorrhea. *Fertil Steril* 2012;97:160–4.
236. Taylor HS. Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. *JAMA*. 2004 Jul 7;292(1):81-5. PubMed PMID: 15238594.
237. Malhotra N, Bahadur A, Kalaivani M, Mittal S. Changes in endometrial receptivity in women with Asherman's syndrome undergoing hysteroscopic adhesiolysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2012 Aug;286(2):525-30. Epub 2012 Apr 26. PubMed PMID: 22535194.
238. Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 1998 Sep;70(3):492-9. PubMed PMID: 9757878.
239. Camus E, Poncelet C, Gofinet F, Wainer B, Merlet F, Nisand I, et al. Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: a meta-analysis of published comparative studies. *Hum Reprod* 1999;14:1243–9

240. Kodaman PH, Arici A, Seli E. Evidence-based diagnosis and management of tubal factor infertility. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2004 Jun;16(3):221-9. Review. PubMed PMID: 15129051.
241. The influence of hydrosalpinx on IVF and embryo transfer: a review. *Hum Reprod Update*. 2000 Jul-Aug;6(4):387-95. Review. PubMed PMID: 10972525.
242. Strandell A, Sjögren A, Bentin-Ley U, Thorburn J, Hamberger L, Brännström M. Hydrosalpinx fluid does not adversely affect the normal development of human embryos and implantation in vitro. *Hum Reprod*. 1998 Oct;13(10):2921-5. PubMed PMID: 9804256.
243. Granot I, Dekel N, Segal I, Fieldust S, Shoham Z, Barash A. Is hydrosalpinx fluid cytotoxic? *Hum Reprod*. 1998 Jun;13(6):1620-4. PubMed PMID: 9688402.
244. Bildirici I, Bukulmez O, Ensari A, Yarali H, Gurgan T. A prospective evaluation of the effect of salpingectomy on endometrial receptivity in cases of women with communicating hydrosalpinges. *Hum Reprod*. 2001 Nov;16(11):2422-6. PubMed PMID: 11679532.
245. Johnson N, van Voorst S, Sowter MC, Strandell A, Mol BW. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Jan 20;(1):CD002125. Review. PubMed PMID: 20091531.
246. Kurman R (2011), Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract 6th edition, New York, Springer-Verlag
247. McGurgan P, Taylor LJ, Duffy SR, O'Donovan PJ. Are endometrial polyps from pre-menopausal women similar to post-menopausal women? An immunohistochemical comparison of endometrial polyps from pre- and post-menopausal women. *Maturitas* 2006; inpress
248. Goldstein SR. Unusual ultrasonographic appearance of the uterus in patients receiving tamoxifen. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:447– 51.
249. Richlin SS, Ramachandran S, Shanti A, Murphy AA, Parthasarathy S. Glycodelin levels in uterine flushings and in plasma of patients with leiomyomas and polyps: implications for implantation. *Hum Reprod*. 2002 Oct;17(10):2742-7. PubMed PMID: 12351556.
250. Stenchever MA, Droegemueller W, Herbst AL, Mishell DR. Benign gynecologic lesions. In *Comprehensive Gynecology*. St. Louis: Mosby Inc., 2001:495–7.
251. Lieng M, Istre O, Qvigstad E. Treatment of endometrial polyps: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2010 Aug;89(8):992-1002. Review. PubMed PMID: 20528202.
252. Stamatellos I, Apostolides A, Stamatopoulos P, Bontis J. Pregnancy rates after hysteroscopic polypectomy depending on the size or number of the polyps. *Arch Gynecol Obstet*. 2008 May;277(5):395-9. Epub 2007 Sep 13. PubMed PMID: 17851673.

253. Pérez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, Redondo T, Sanfrutos L, Alvarez P, Engels V. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod.* 2005 Jun;20(6):1632-5. Epub 2005 Mar 10. PubMed PMID: 15760959.
254. Oehninger S, Coddington CC, Hodgen GD, Seppala M. Factors affecting fertilization: endometrial placental protein 14 reduces the capacity of human spermatozoa to bind to the human zona pellucida. *Fertil Steril.* 1995 Feb;63(2):377-83. PubMed PMID: 7531163.
255. Julkunen M, Koistinen R, Sjöberg J, Rutanen EM, Wahlström T, Seppälä M. Secretory endometrium synthesizes placental protein 14. *Endocrinology.* 1986 May;118(5):1782-6. PubMed PMID: 3516653
256. Julkunen M, Seppälä M, Jänne OA. Complete amino acid sequence of human placental protein 14: a progesterone-regulated uterine protein homologous to beta-lactoglobulins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988 Dec;85(23):8845-9. PubMed PMID: 3194393; PubMed Central PMCID: PMC282603.
257. Rackow BW, Jorgensen E, Taylor HS. Endometrial polyps affect uterine receptivity. *Fertil Steril.* 2011 Jun 30;95(8):2690-2. Epub 2011 Jan 26. PubMed PMID: 21269620; PubMed Central PMCID: PMC3096716
258. Ayida G, Chamberlain P, Barlow D, Kennedy S. Uterine cavity assessment prior to in vitro fertilization: comparison of transvaginal scanning, saline contrast hysterosonography and hysteroscopy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1997 Jul;10(1):59-62. PubMed PMID: 9263425.
259. Lass A, Williams G, Abusheikha N, Brinsden P. The effect of endometrial polyps on outcomes of in vitro fertilization (IVF) cycles. *J Assist Reprod Genet.* 1999 Sep;16(8):410-5. PubMed PMID: 10478319.
260. Taylor PJ, Lewinthal D, Leader A, Pattinson HA. A comparison of Dextran 70 with carbon dioxide as the distention medium for hysteroscopy in patients with infertility or requesting reversal of a prior tubal sterilization. *Fertil Steril.* 1987 May;47(5):861-3. PubMed PMID: 2436954
261. Bakour SH, Khan KS, Gupta JK. The risk of premalignant and malignant pathology in endometrial polyps. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2000 Apr;79(4):317-20. PubMed PMID: 10746849.
262. Kupfer MC, Schiller VL, Hansen GC, Tessler FN. Transvaginal sonographic evaluation of endometrial polyps. *J Ultrasound Med.* 1994 Jul;13(7):535-9. PubMed PMID: 7933016.
263. Fedele L, Bianchi S, Dorta M, *et al.*: Transvaginal ultrasonography versus hysteroscopy in the diagnosis of uterine submucous myomas. *Obstet Gynecol* 1991;38:743-751 . Campana A, de Agostini A, Bischof P, *et al.*: Evaluation of infertility. *Hum Reprod Update* 1995; 1:586-606

264. Gimpelson R, and Rappold H: A comparative study between panoramic hysteroscopy with directed biopsies and curettage. A review of 276 cases. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158:489-492
265. Taylor PJ, Kredentser JV: Diagnostic and therapeutic laparoscopy and hysteroscopy and their relationship to in vitro fertilization
266. Bulletti C, Flamigni C, Giacomucci E: Reproductive failure due to spontaneous abortion and recurrent miscarriage. *Hum Reprod Update* 1996;2:118-136
267. Bordt J, Belkien L, Vancaillie T, *et al.*: Results of diagnostic hysteroscopies in an in vitro fertilization/embryo transfer program. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 1984;44:813-815
268. Golan A, Ron-El R, Herman A, *et al.*: Diagnostic hysteroscopy: Its value in an in vitro fertilization/embryo transfer unit. *Hum Reprod* 1992;7:1433-1434
269. Dicker D, Goldman JA, Ashkenazi J, *et al.*: The value of hysteroscopy in elderly women prior to in vitro fertilization/embryo transfer (IVF-ET): A comparative study. *J. Vitro Fert Embryo Transfer* 1990;7:267-270
270. Shamma PN, Lee G, Gutmann JN, Lavy G: The role of hysteroscopy in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1992;58:1237-1239
271. Hamou J, Frydman R, Fernandez H: Evaluation prior to IVF by microhysteroscopy. Abstracts of the VIth World Congress in IVF and Alternate Assisted Reproduction, Jerusalem, Israel, 1984, p 40
272. Dicker D, Ashkenazi J, Feldberg D, *et al.*: The value of repeat hysteroscopic evaluation in patients with failed in vitro fertilization transfer cycles. *Fertil Steril* 1992;58:833-835
273. Hereter L, Carreras O and Pascual MA (epercusio'n de la presencia de po'lipos endometriales en un ciclo de FIV. *Prog Obstet Ginecol*, 1998, 41,5-7.
274. Varasteh NN, Neuwirth RS, Levin B, Keltz MD. Pregnancy rates after hysteroscopic polypectomy and myomectomy in infertile women. *Obstet Gynecol*. 1999 Aug;94(2):168-71. PubMed PMID: 10432121
275. Spiewankiewicz B, Stelmachów J, Sawicki W, Cendrowski K, Wypych P, Swiderska K. The effectiveness of hysteroscopic polypectomy in cases of female infertility. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2003;30(1):23-5. PubMed PMID: 12731738.
276. Shokeir TA, Shalan HM, El-Shafei MM. Significance of endometrial polyps detected hysteroscopically in eumenorrheic infertile women. *J Obstet Gynaecol Res* 2004;30:84-9.
277. Isikoglu M, Berkkanoglu M, Senturk Z, Coetzee K, Ozgur K. Endometrial polyps smaller than 1.5 cm do not affect ICSI outcome. *Reprod Biomed Online* 2006;12:199-204. 31

278. McManus J, McClure N, Traub AI The effect of cervical dilatation in patients with previous difficult embryo transfer. *Fertil Steril* 2000 74,159
279. Takahashi K, Mukaida T, Tomiyama T High pregnancy rate after hysteroscopy with irrigation of the uterine cavity prior to blastocyst transfer in patients who have failed to conceive after blastocyst transfer. 2000 *Fertil Steril* 74,206.
280. Farrer-Brown G, Beilby JO, Tarbit MH. Venous changes in the endometrium of myomatous uteri. *Obstet Gynecol.* 1971 Nov;38(5):743-51. PubMed PMID: 5114225.
281. Buttram VC Jr. Uterine leiomyomata--aetiology, symptomatology and management. *Prog Clin Biol Res.* 1986;225:275-96. Review. PubMed PMID: 3538059
282. Fernandez H, Sefrioui O, Virelizier C, Gervaise A, Gomel V, Frydman R. Hysteroscopic resection of submucosal myomas in patients with infertility. *Hum Reprod.* 2001 Jul;16(7):1489-92. PubMed PMID: 11425835.
283. Magli MC, Largman C, Lawrence HJ. Effects of HOX homeobox genes in blood cell differentiation. *J Cell Physiol.* 1997 Nov;173(2):168-77. Review. PubMed PMID: 9365517.
284. Magli MC, Barba P, Celetti A, De Vita G, Cillo C, Boncinelli E. Coordinate regulation of HOX genes in human hematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 Jul 15;88(14):6348-52. PubMed PMID: 1712489; PubMed Central PMCID: PMC52080.
285. Greger IH, Demarchi F, Giacca M, Proudfoot NJ. Transcriptional interference perturbs the binding of Sp1 to the HIV-1 promoter. *Nucleic Acids Res.* 1998 Mar 1;26(5):1294-301. PubMed PMID: 9469840; PubMed Central PMCID: PMC147389.
286. Kim JJ, Fazleabas AT. Uterine receptivity and implantation: the regulation and action of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), HOXA10 and forkhead transcription factor-1 (FOXO-1) in the baboon endometrium. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004 Jun 16;2:34. Review. PubMed PMID: 15200677; PubMed Central PMCID: PMC446211
287. Raman V, Martensen SA, Reisman D, Evron E, Odenwald WF, Jaffee E, Marks J, Sukumar S: Compromised HOXA5 function can limit p53 expression in human breast tumours. *Nature* 2000, 405:974-978
288. Chu MC, Taylor HS: HOXA10 is expressed in human breast cancer cell lines and regulates p53 expression. *J SGI* 2001, Supp 8:131A. Abstract #285
289. Raman V, Tamori A, Vali M, Zeller K, Korz D, Sukumar S: Hoxa5 regulates expression of the progesterone receptor. *J Biol Chem* 2000, 275:26551-26555

290. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet*. 2004 Nov 13-19;364(9447):1789-99. Review. PubMed PMID: 15541453.
291. Wu Y, Halverson G, Basir Z, Strawn E, Yan P, Guo SW. Aberrant methylation at HOXA10 may be responsible for its aberrant expression in the endometrium of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:371–380
292. Kim JJ, Taylor HS, Lu Z, Ladhani O, Hastings JM, Jackson KS, Wu Y, Guo SW, Fazleabas AT. Altered expression of HOXA10 in endometriosis: potential role in decidualization. *Mol Hum Reprod* 2007;13:323–332
293. Lee B, Du H, Taylor HS. Experimental murine endometriosis induces DNA methylation and altered gene expression in eutopic endometrium. *Biol Reprod* 2009;80:79–85
294. Cermik D, Selam B, Taylor HS. Regulation of HOXA-10 expression by testosterone in vitro and in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:238–243
295. Daftary GS, Kayisli U, Seli E, Bukulmez O, Arici A, Taylor HS. Salpingectomy increases peri-implantation endometrial HOXA10 expression in women with hydrosalpinx. *Fertil Steril* 2007;87:367–372
296. Matsuzaki S, Canis M, Darcha C, Pouly JL, Mage G. HOXA-10 expression in the mid-secretory endometrium of infertile patients with either endometriosis, uterine fibromas or unexplained infertility. *Hum Reprod*. 2009 Dec;24(12):3180-7. Epub 2009 Sep 7. PubMed PMID: 19736237.
297. Nuojua-Huttunen S, Tomas C, Bloigu R, Tuomivaara L, Martikainen H. Intrauterine insemination treatment in subfertility: an analysis of factors affecting outcome. *Hum Reprod* 1999;14:698–703
298. Omland AK, Tanbo T, Dale PO, Abyholm T. Artificial insemination by husband in unexplained infertility compared with infertility associated with peritoneal endometriosis. *Hum Reprod* 1998;13:2602–2605
299. Werbrouck E, Spiessens C, Meuleman C, D'Hooghe T. No difference in cycle pregnancy rate and in cumulative live-birth rate between women with surgically treated minimal to mild endometriosis and women with unexplained infertility after controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination. *Fertil Steril* 2006;86:566–571
300. Horcujadas JA, Goyri E, Higo'n MA, Mart'inez-Conejero JA, Gambadauro P, Garc'a G, Meseguer M, Simo'n C, Pellicer A. Endometrial receptivity and implantation are not affected by the presence of uterine intramural leiomyomas: a clinical and functional genomics analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3490–3498
301. Seli E, Kayisli UA, Cakmak H, Bukulmez O, Bildirici I, Guzeloglu-Kayisli O, Arici A. Removal of hydrosalpinges increases endometrial leukemia-inhibitory

- factor (LIF) expression at the time of the implantation window. *Hum Reprod.* 2005 Nov;20(11):3012-7. Epub 2005 Jul 15. PubMed PMID: 16024536.
302. Hammadieh N, Afnan M, Evans J, Sharif K, Amso N, Olufowobi O. A postal survey of hydrosalpinx management prior to IVF in the United Kingdom. *Hum Reprod.* 2004Apr;19(4):1009-12. Epub 2004 Mar 11. PubMed PMID: 15016787.
 303. Giudice LC. Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum Reprod.* 1999 Dec;14 Suppl 2:3-16. Review. PubMed PMID: 10690796.
 304. Vogiagis D, Marsh MM, Fry RC, Salamonsen LA. Leukaemia inhibitory factor in human endometrium throughout the menstrual cycle. *J Endocrinol.* 1996 Jan;148(1):95-102. PubMed PMID: 8568476.
 305. Hambartsoumian E. Endometrial leukemia inhibitory factor (LIF) as a possible cause of unexplained infertility and multiple failures of implantation. *Am J Reprod Immunol.* 1998 Feb;39(2):137-43. PubMed PMID: 9506211.
 306. Brinsden PR, Alam V, de Moustier B, Engrand P. Recombinant human leukemia inhibitory factor does not improve implantation and pregnancy outcomes after assisted reproductive techniques in women with recurrent unexplained implantation failure. *Fertil Steril.* 2009 Apr;91(4 Suppl):1445-7. Epub 2008 Aug 16. PubMed PMID: 18710712.
 307. Bhatt H, Brunet LJ, Stewart CL. Uterine expression of leukemia inhibitory factor coincides with the onset of blastocyst implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 Dec 15;88(24):11408-12. PubMed PMID: 1722331; PubMed Central PMCID: PMC53144
 308. Wu MY, Chen HF, Chen SU, Chao KH, Yang YS, Ho HN. Increase in the production of interleukin-10 early after implantation is related to the success of pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2001 Dec;46(6):386-92. PubMed PMID: 11775007.
 309. Jokhi PP, King A, Sharkey AM, Smith SK, Loke YW. Screening for cytokine messenger ribonucleic acids in purified human decidual lymphocyte populations by the reverse-transcriptase polymerase chain reaction. *J Immunol.* 1994 Nov 15;153(10):4427-35. PubMed PMID: 7525703.
 310. King A, Jokhi PP, Smith SK, Sharkey AM, Loke YW. Screening for cytokine mRNA in human villous and extravillous trophoblasts using the reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *Cytokine.* 1995 May;7(4):364-71. PubMed PMID: 8589267.
 311. Modric T, Kowalski AA, Green ML, Simmen RC, Simmen FA. Pregnancy-dependent expression of leukaemia inhibitory factor (LIF), LIF receptor-beta and interleukin-6 (IL-6) messenger ribonucleic acids in the porcine female reproductive tract. *Placenta.* 2000 May;21(4):345-53. PubMed PMID: 10833369

312. Sharkey AM, King A, Clark DE, Burrows TD, Jokhi PP, Charnock-Jones DS, Loke YW, Smith SK. Localization of leukemia inhibitory factor and its receptor in human placenta throughout pregnancy. *Biol Reprod.* 1999 Feb;60(2):355-64. PubMed PMID: 9916002.
313. Piccinni MP, Beloni L, Livi C, Maggi E, Scarselli G, Romagnani S. Defective production of both leukemia inhibitory factor and type 2 T-helper cytokines by decidual T cells in unexplained recurrent abortions. *Nat Med.* 1998 Sep;4(9):1020-4. PubMed PMID: 9734394.