

## Gebeliğin Erken Dönemlerinde Siçan Uterus Dokusunda Siklooksijenaz-2 (COX-2) Ekspresyonu Üzerine Heparin'in Etkisi

*The Effect of Heparin on Expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in the Rat Uterine Tissue During Early Pregnancy*

Fatma ERYAVUZ<sup>1</sup> , Jale ÖNER<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup> Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur, Türkiye

<sup>2</sup> Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., Burdur, Türkiye

**Öz:** İmplantasyon sürecinin penetrasyon fazında, implantasyon alanı çevresinde vasküler değişimler meydana gelir. Bu vasküler fiziolojinin düzenlenmesinde etkili olduğu bilinen COX-2, tekrarlayan gebelik kayıplarının (TGK) etiolojisinde de önemli rol oynamaktadır. TGK'nın büyük oranda penetrasyon fazında ve gebeliğin 8-12. haftalarında oluşması, blastosist implantasyon sürecindeki olumsuzluklara bağlı olarak gelişebileceğini düşündürmektedir. TGK'nın tedavisinde, klinikte sıklıkla kullanılan düşük molekül ağırlıklı heparinin (DMAH), antikoagulan etkisinin yanında antiinflamatuvar etkilerinin de fayda sağlayabileceği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu çalışmada, siçanlara gebeliğin 0, 1, 3, 5 ve 7. günlerinde 50 IU/kg enaksoparin sodyum, intraperitoneal olarak uygulanmış ve toplanan uterus dokularında COX-2 immunlokalizasyonları belirlenmiştir. DMAH'in gebeliğin erken dönemlerinde siçan uterus dokusunda TGK etyolojilerinde yer aldığı bilinen COX-2 ekspresyonu üzerinden bir etkiye sahip olup olmadığı araştırılmış ve DMAH uygulamasının, immunohistokimyasal seviyede ve semikantitatif gözlemde COX-2 immunekspresyonu üzerine bir değişiklik oluşturmadığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Erken gebelik, Siçan, Uterus, COX-2, Heparin.

**Abstract:** COX-2 known to be effective in regulating the vascular physiology, plays important role in etiology of the recurrent pregnancy loss. The formation of recurrent pregnancy loss widely in generation phase and at 8-12 weeks of gestation suggests that the blastocyst implantation process may be affected by the negativty of the blastocyst implantation process. It has been reported that, anticoagulant and anti-inflammatory effect of low molecular weight herarin can be usefull in recurrent pregnancy loss treatment. Rats were treated with 50 IU/kg enaxoparin sodium intraperitoneal in 0, 1, 3, 5 and 7 days of gestation and COX-2 immunolocalizations were determined in collected uterine tissues. It was examined whether if low molecular weight heparin effect on COX-2 expression involved in etiology of recurrent pregnancy loss and concluded that low molecular weight heparin treatment was not caused change on COX-2 immunoexpression at immunohistochemical level and semiquantitative observation.

**Keywords:** Early pregnancy, Rat, Uterine, COX-2, Heparin.

\*Corresponding author : Jale ÖNER  
Geliş tarihi / Received : 27.02.2020

e-mail : jaleoner@mehmetakif.edu.tr  
Kabul tarihi / Accepted: 19.10.2020

### Giriş

Embriyonun implantasyonu, endometriyum epiteline blastosistin bağlanmasıyla başlayan, belirgin plasentanın oluşumu ile sona eren, embriyo ve endometriyum arasında karmaşık etkileşimleri kapsar (Kenedy, 2007). İmplantasyonun ilk fark edilebilir işaretlerinden biri, desidual hücre reaksiyonunun başlangıcında ve blastosist apozisyon alanında endometriyal permeabilitede artıştır (Cong, 2006; Psychoyos, 1986). Endometriyum epitel hücrelerinde ve

stromal hücrelerde, endoplazmik retikulum ve çekirdekte yerleşmiş olan siklooksijenazlar da (COX) endometriyumdaki değişikliklere eşlik ederek, implantasyon esnasında anjiogenezisin oluşumu ve vasküler geçirgenliği artırmak suretiyle endometriyumun alıcı hale gelmesine katkı sağlamaktadır.

Şimdiye kadar belirlenmiş üç COX izoformu bulunmakla beraber, özellikle COX-1'in doğum esnasında önemli rol oynadığını ve COX-2'nin ise ovulasyon, fertilizasyon, implantasyon ve

desidualizasyon esnasında önemli rol oynadığını ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır (Chakraborty, 1996; Cong, 2006).

Yapılan çalışmalarda tekrarlanan gebelik kaybında (TGK), endometriyumda COX-2 mRNA seviyelerinin düşük olduğuna ilişkin bilgiler mevcuttur (Wang, 2010). TGK'ya neden olan etyolojik faktörlerin hepsi incelense de TGK nedeniyle başvuran hastaların yaklaşık yarısında belirgin bir neden saptanamamaktadır (Alataş, 2004). TGK nedenleri içerisinde yer alan Antifosfolipid sendromu (APS), TGK olgularının %5-15'inde görülmektedir. APS'de gebelik kaybı için altta yatan mekanizma plasental vasküler trombozdur. Antifosfolipid antikorları/ $\beta$ 2-glikoprotein kompleksleri maternal spiral arterlere trofoblast proliferasyonunu ve invazyonunu inhibe etmekte ve plasentada doku ölümü, nekroz ve trombozlara neden olmaktadır (Chambley, 1998; Güven, 2006). Başta APS olmak üzere nedeni bilinmeyen TGK'ların tedavisinde profilaktik amaçlı olarak düşük doz aspirin ve subkutan heparinin kombine tedavisi yaygın şekilde kullanılmaktadır (Duz, 2015, Kutteh, 1996). Bu çalışma ile TGK'larda gebeliğin sürdürülmesinde olumlu etkileri saptanmış olan düşük molekül ağırlıklı heparinin, klinikte kullanılmasına bağlı olarak, gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda TGK etyolojilerinde yer aldığı bilinen COX-2 ekspresyonu üzerinden de bir etkiye sahip olup olmadığı araştırılmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığından alınan Etik Kurul Raporu (25.11.2015 tarih, 154 sayılı rapor) sonrasında yapılmıştır. Çalışmada Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarından temin edilen, her grupta 6 adet olmak üzere toplam 60 adet (yaklaşık 180-200 gr ağırlığında, 10-12 haftalık) yetişkin Wistar albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Çalışma süresince sıçanlar, ayrı kabinlerde standart yem ile su verilerek, 21°C'de, %55 nem oranında ve 12 saat karanlık/aydınlık olacak şekilde tutuldu. Vajinal smear ile östrus

evresinde oldukları belirlenen dişi sıçanlar, 1 gece erkek sıçanlar ile (2 dişi/1 erkek) birlikte bırakıldı. Ertesi sabah tekrar vajinal smearde sperme rastlanan dişi sıçanlar gebeliğin 0. günü olarak kabul edildi. Gebeliğin 0. gününden itibaren her gün gebe sıçanlara 50 IU/kg enoxaparin sodyum (4000 anti-Xa) intraperitoneal olarak enjekte edilerek bu sıçanlar Heparin uygulanan gruba dahil edildi. Gebeliğin 0, 1, 3, 5 ve 7. günlerini dolduran gruplardaki sıçanlar rompun (5mg/kg) ve ketamin (60mg/kg) kombinasyonu ile genel anestezi altında servikal dislokasyon ile ötenazi uygulanarak anterior abdominal duvar açılıp uterus dokuları alındı. İmmunohistokimyasal analizler için alınan uterus dokuları trimlenerek fikzasyon için %10 formaldehit solüsyonu içine konuldu. Alınan örneklerde immunohistokimyasal prosedür uygulanarak COX-2 immunlokalizasyonları belirlendi. Elde edilen preparatlar Nikon E 600 ışık mikroskobu ile görüntülenerek gruplara ait doku örnekleri immunboyanma şiddeti açısından semikantitatif olarak skorlandı. Bu skorlanmada boyanma şiddetleri; - (boyanma yok), + (zayıf), ++ (orta) ve +++ (güçlü) olarak derecelendirildi (Tablo 2, 3).

Çalışmada kullanılan sıçanlar Tablo 1'de olduğu gibi deney gruplarına dahil edildi.

**Tablo 1.** Deney grupları.

Deney Grupları	
<b>Grup I</b>	Gebeliğin 0. günü heparin uygulanan grup
<b>Grup II</b>	Gebeliğin 0. günü kontrol grup
<b>Grup III</b>	Gebeliğin 1. günü heparin uygulanan grup
<b>Grup IV</b>	Gebeliğin 1. günü kontrol grup
<b>Grup V</b>	Gebeliğin 3. günü heparin uygulanan grup
<b>Grup VI</b>	Gebeliğin 3. günü kontrol grup
<b>Grup VII</b>	Gebeliğin 5. günü heparin uygulanan grup
<b>Grup IX</b>	Gebeliğin 5. günü kontrol grup
<b>Grup XI</b>	Gebeliğin 7. günü heparin uygulanan grup
<b>Grup X</b>	Gebeliğin 7. günü kontrol grup

## Bulgular

### COX-2 İmmunlokalizasyonu

**0.Gün:** Endometriyum ve myometriyum normal yapıda gözlemlendi. Her iki grupta endometriyumda COX-2 immunlokalizasyonu lumen ve bez epitel hücrelerinin sitoplazmalarında, az sayıda subepitelyal ve endometriyal stromal hücrede, myometriyum ve kapiller duvarında orta şiddette (++) gözlemlendi. Gebeliğin 5. gününe kadar desidual reaksiyon alanı oluşmamıştı (Şekil 1,2,11,12).

**1.Gün:** Gebeliğin 1. gününde uterusun mikroskopik yapısı ve COX-2 immunreaksiyon alanları 0. gün ile benzerlik taşımakta idi. Subepitelyal ve endometriyal stromada COX-2 pozitif reaksiyon gösteren hücre sayısında artış mevcuttu (Şekil 3,4,13,14).

**3.Gün:** Gebeliğin 3. gününden itibaren kontrol ve heparin enjekte edilen gruplarda lumen ve bez epitel hücrelerinde ve myometriyumda COX-2 immunreaksiyonunun şiddetlendiği (+++) gözlemlendi. Subepitelyal ve endometriyal stromada ve kapiller duvardaki COX-2 immunreaksiyonu 1. gün ile benzerlik göstermekte idi (Şekil 5,6,15,16).

**5.Gün:** En belirgin yapısal değişiklik bezlerin sayılarının oldukça azalmış, kapillerlerin miktarının ise artmış olduğu idi. İmplantasyonun ilk belirleyici işaretlerinden biri olan desidual reaksiyon alanı, primer desidual reaksiyon alanı (PDR) şeklinde doğru lumen epitelinin altında yayılmış, ancak lumen epitelinden stromaya doğru dar bir alanda gözlenmeye başlamıştı. COX-2 immunreaktivitesi her iki grupta da lumen ve bez epiteli, kapillerler, PDR ve bu alanın dışındaki endometriyal stromal alanlardaki hücrelerde ve myometriyumda güçlü (+++) şekilde gözlemlendi (Şekil 7,8,17,18).

**7.Gün:** Uterus lumeni iyice küçülmüş, endometriyal stromadaki hücreler tamamen desidua hücrelerine dönüşmüş, kapillerlerin yoğun olduğu PDR alanının dışında mezometriyal alana doğru sekonder desidual reaksiyon alanı (SDR) belirginleşmişti. Bezler oldukça küçük ve myometriyuma yakın yerleşimde idi. COX-2 immunreaktivitesi PDR alanına göre SDR alanında daha yoğundu. Her iki grupta immunreaktivite alanlarında boyanma şiddeti güçlü (+++) idi (Şekil 9,1,19,20).

**Tablo 2.** Kontrol gruplarında gebe sıçanların uterus dokusunda COX-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semikantitatif analizi.

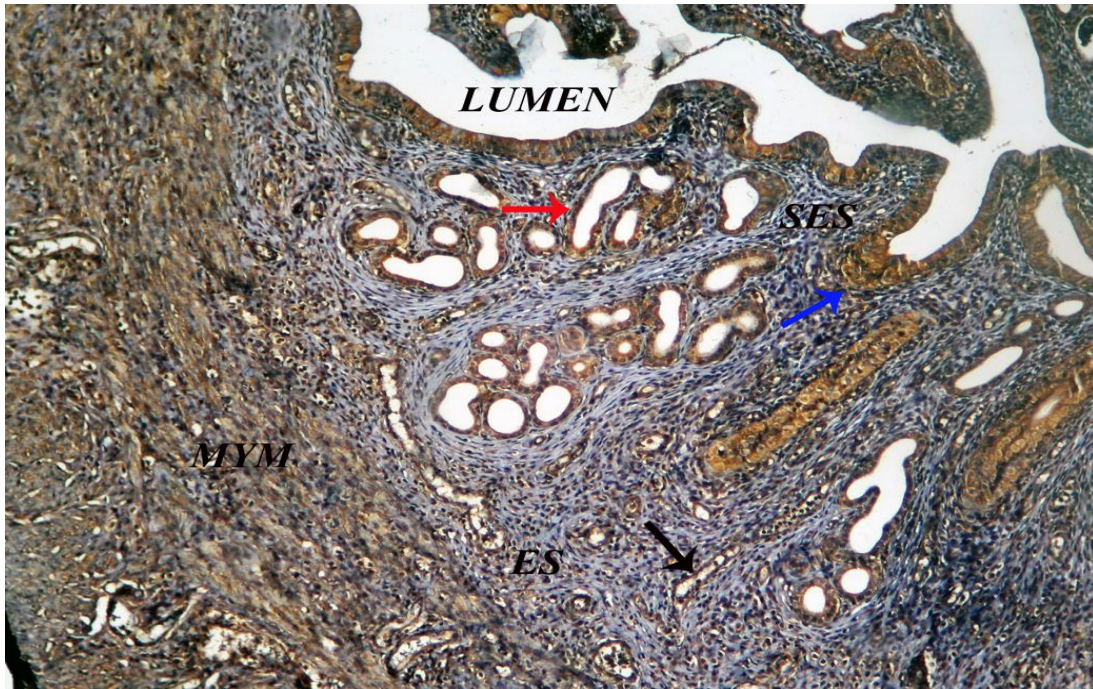
Gruplar	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	SES	ES	MYM	PDR	SDR	Kapiller
0. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
1. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
3. Gün	+++	+++	++	++	+++	Yok	Yok	++
5. Gün	+++	+++	PDR	+++	+++	+++	Yok	+++
7. Gün	+++	+++	PDR	SDR	+++	++	+++	+++

**SES:** Supitelyal stroma; **ES:** Endometrial stroma; **MYM:** Myometriyum;  
**PDR:** Primer desidual reaksiyon alanı; **SDR:** Sekonder desidual reaksiyon alanı

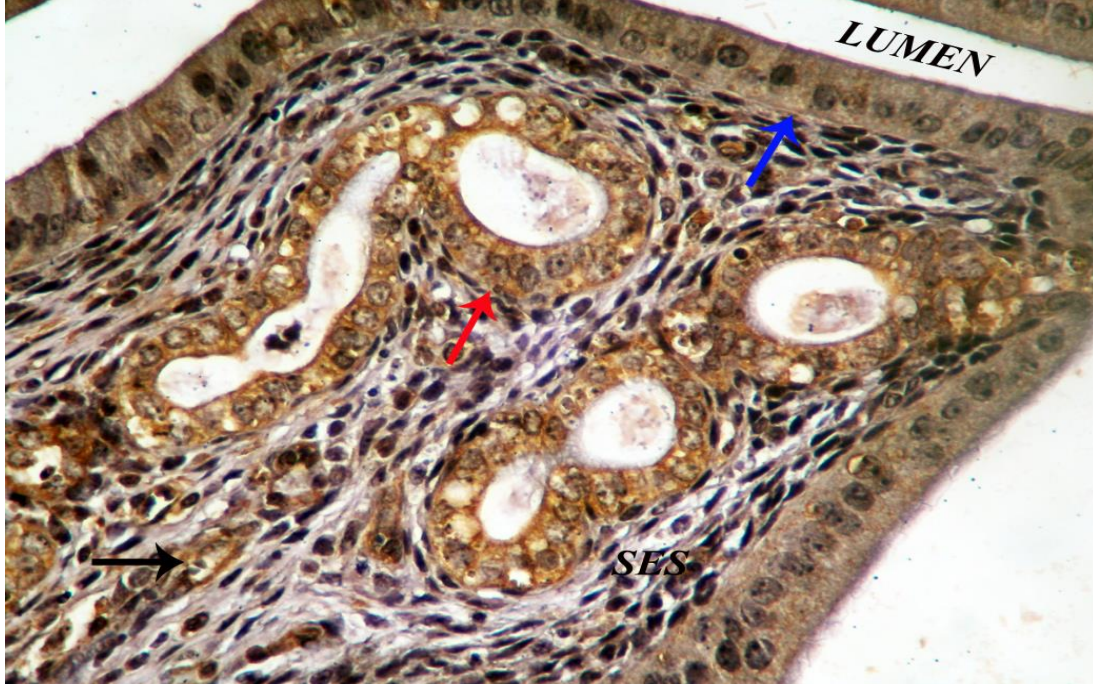
**Tablo 3.** Heparin uygulanan gruplarda gebe sıçanların uterus dokusunda COX-2 immunreaktivitesinin gebelik günlerine göre semikantitatif analizi.

Gruplar	Lumen Epiteli	Bez Epiteli	SES	ES	MYM	PDR	SDR	Kapiller
0. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
1. Gün	++	++	++	++	++	Yok	Yok	++
3. Gün	+++	+++	++	++	+++	Yok	Yok	++
5. Gün	+++	+++	PDR	+++	+++	+++	Yok	+++
7. Gün	+++	+++	PDR	SDR	+++	++	+++	+++

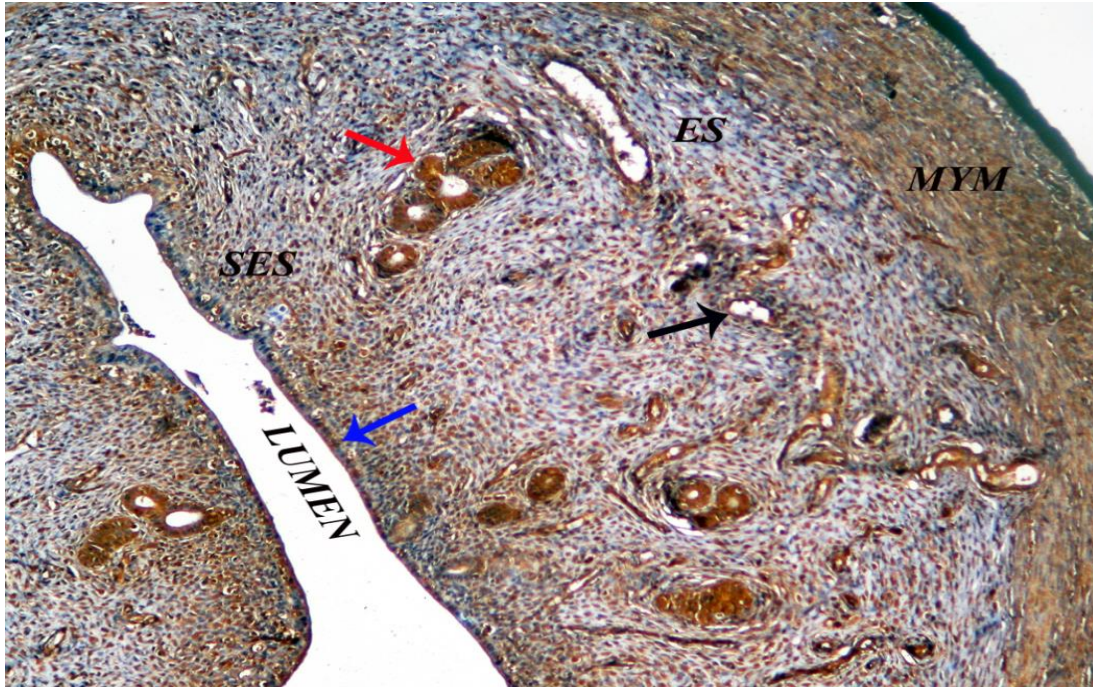
SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum;  
PDR: Primer desidual reaksiyon alanı; SDR: Sekonder desidual reaksiyon alanı



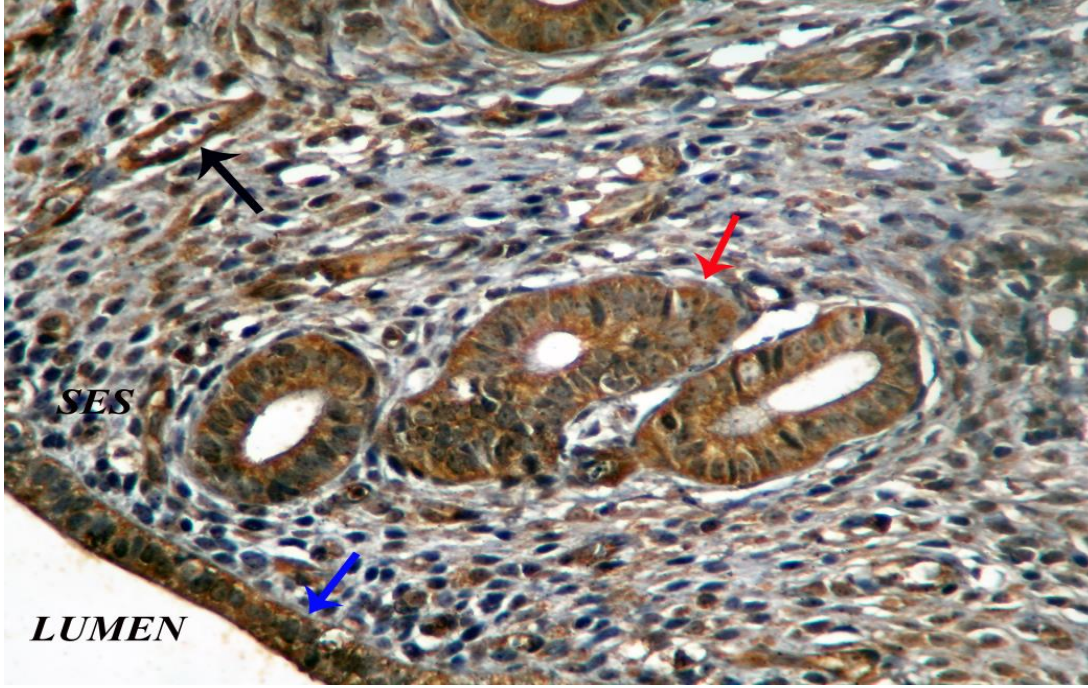
**Şekil 1.** Kontrol grubunda gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



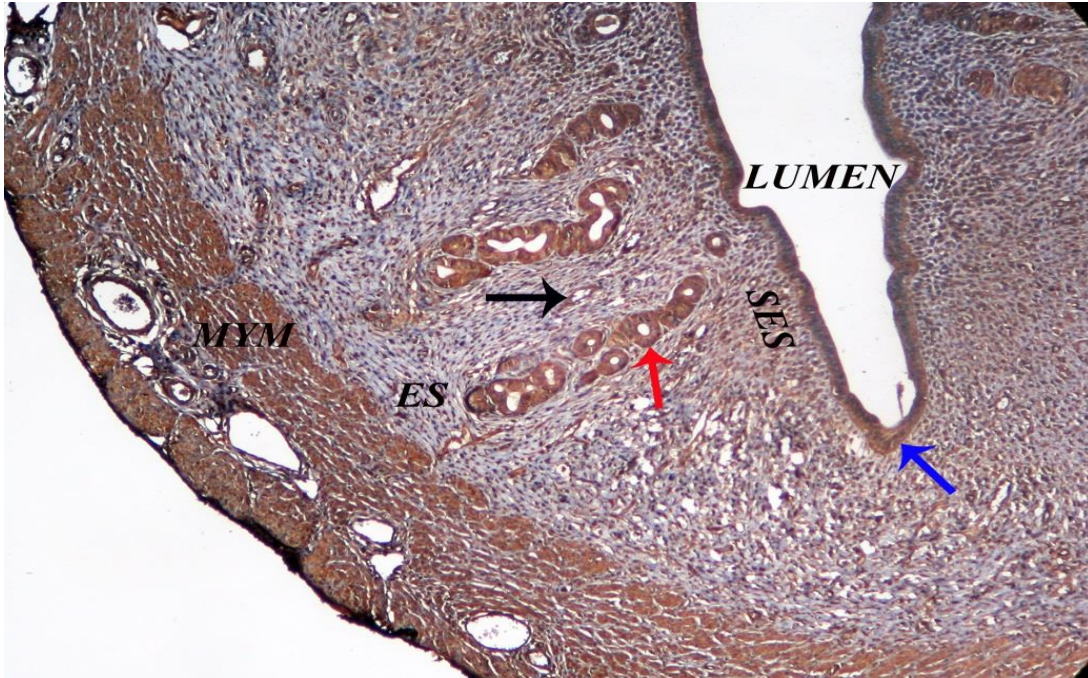
**Şekil 2.** Kontrol grubunda gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



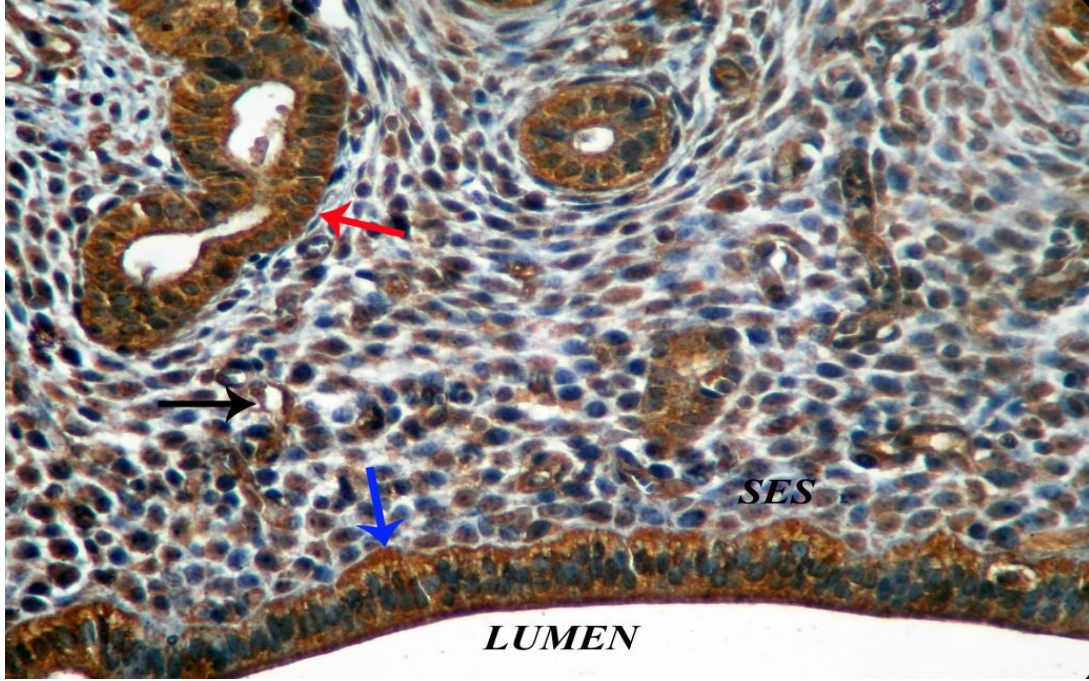
**Şekil 3.** Kontrol grubunda gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



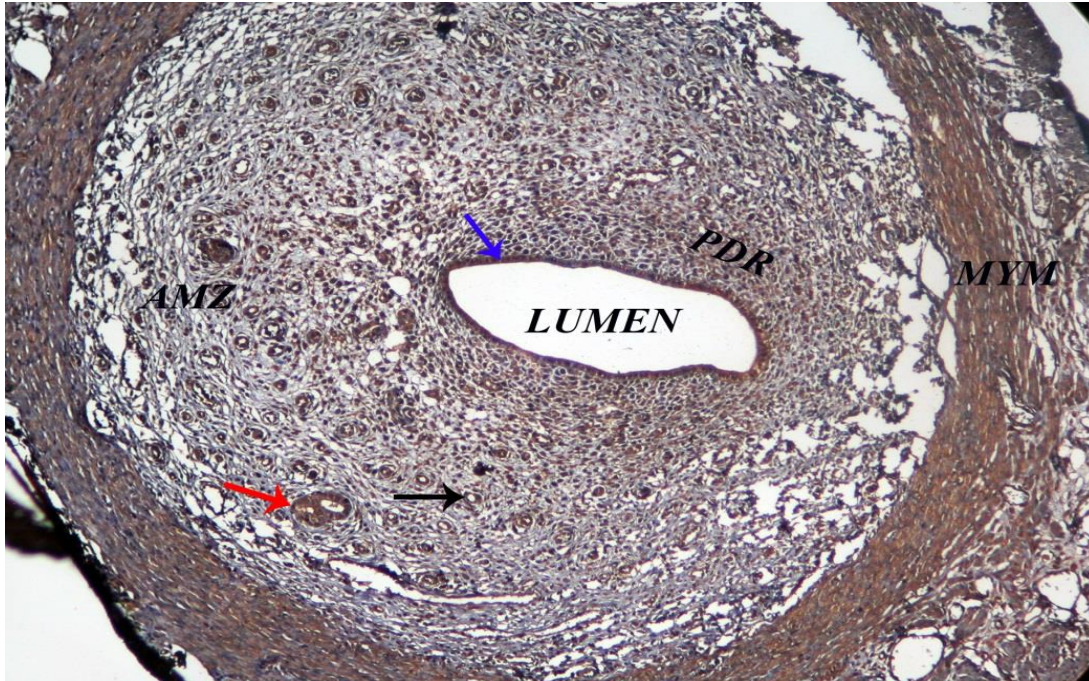
Şekil 4. Kontrol grubunda gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



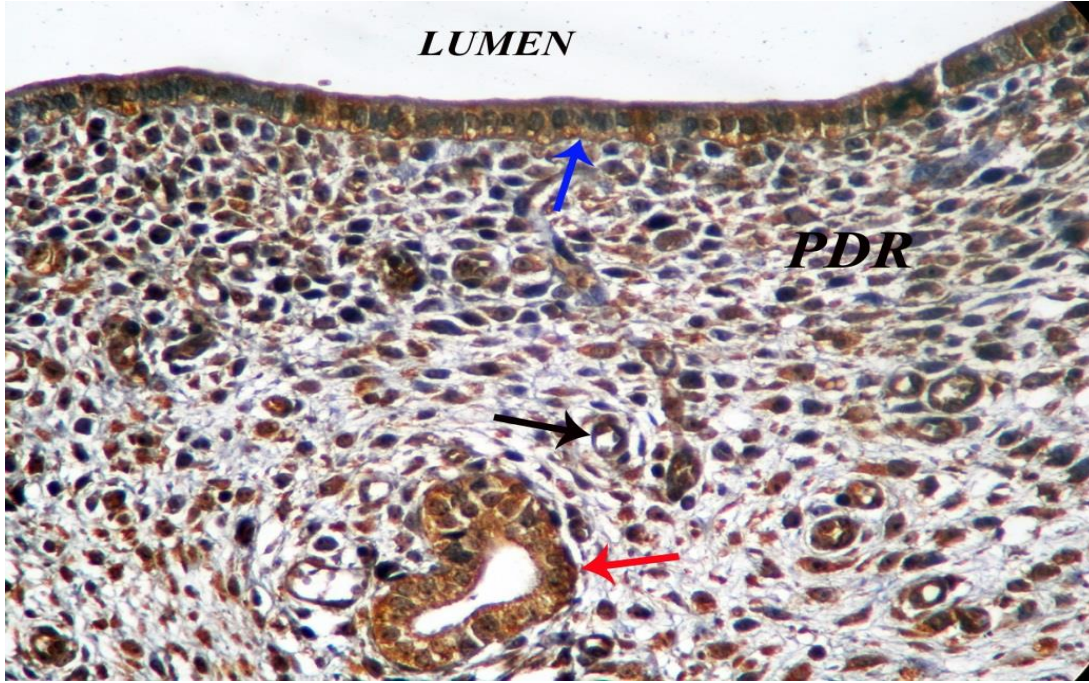
Şekil 5. Kontrol grubunda gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



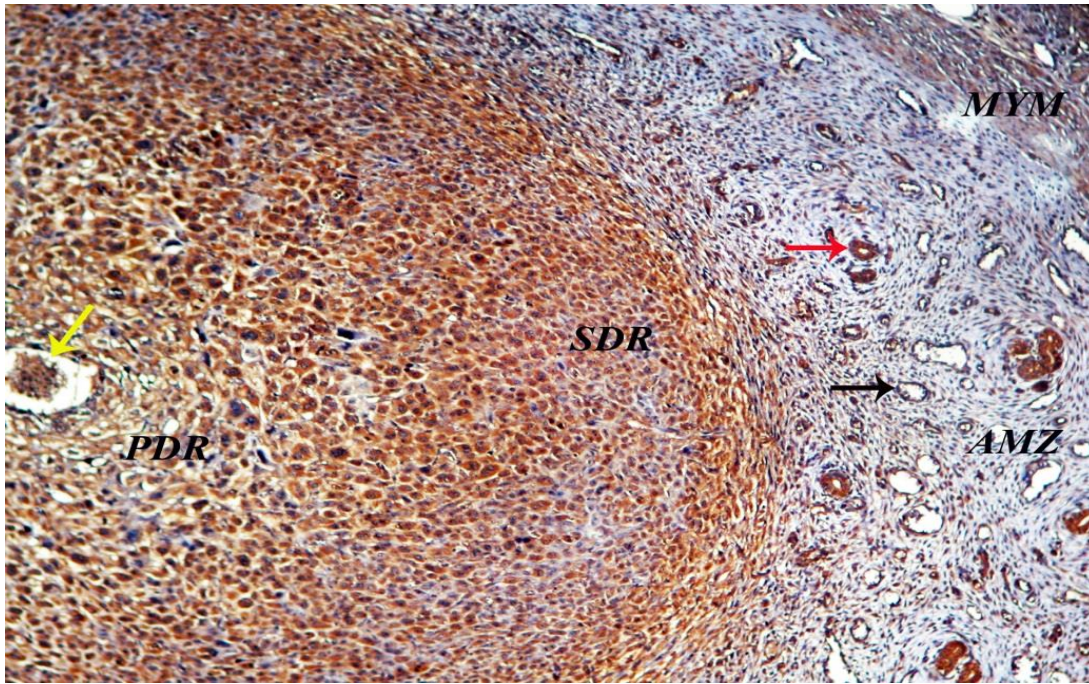
Şekil 6. Kontrol grubunda gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



Şekil 7. Kontrol grubunda gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; AMZ: Antimezometriyal Alan; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.

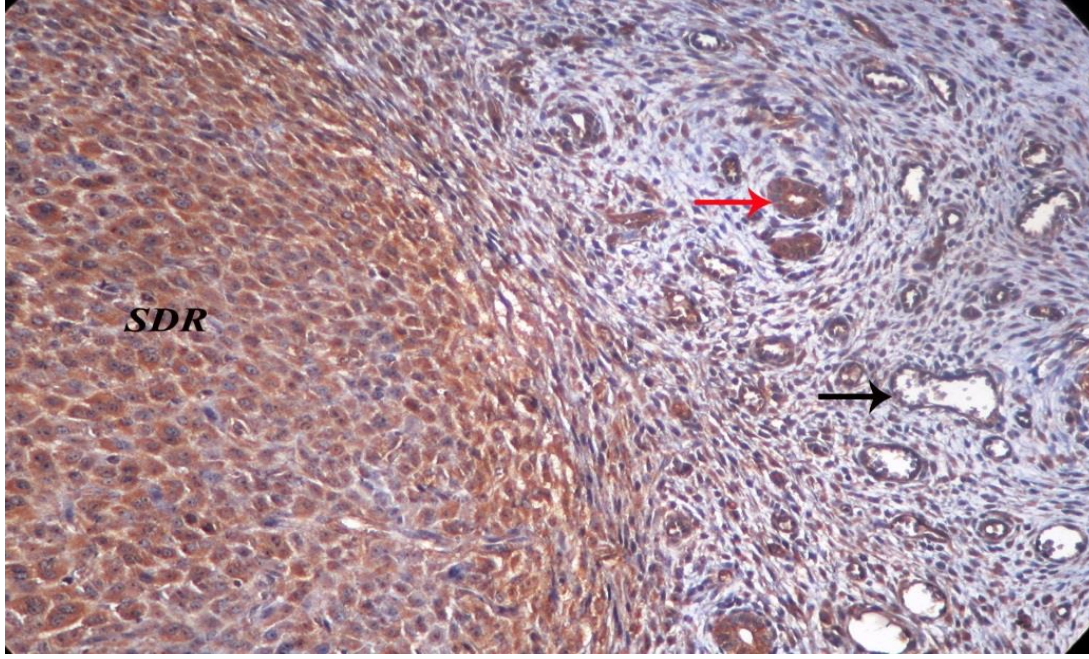


Şekil 8. Kontrol grubunda gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.

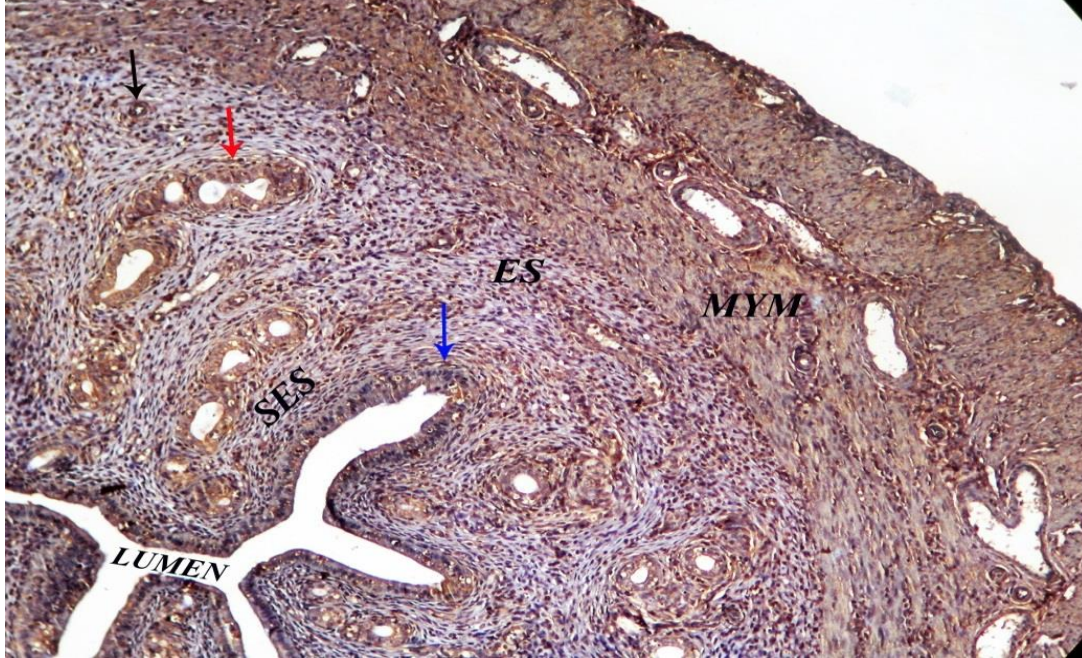


Şekil 9. Kontrol grubunda gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. AMZ: Antimezometrial Alan, PDR: Primer Desidual Reaksiyon, SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; MYM: Myometriyum; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller; sarı ok: Embriyo. X100.

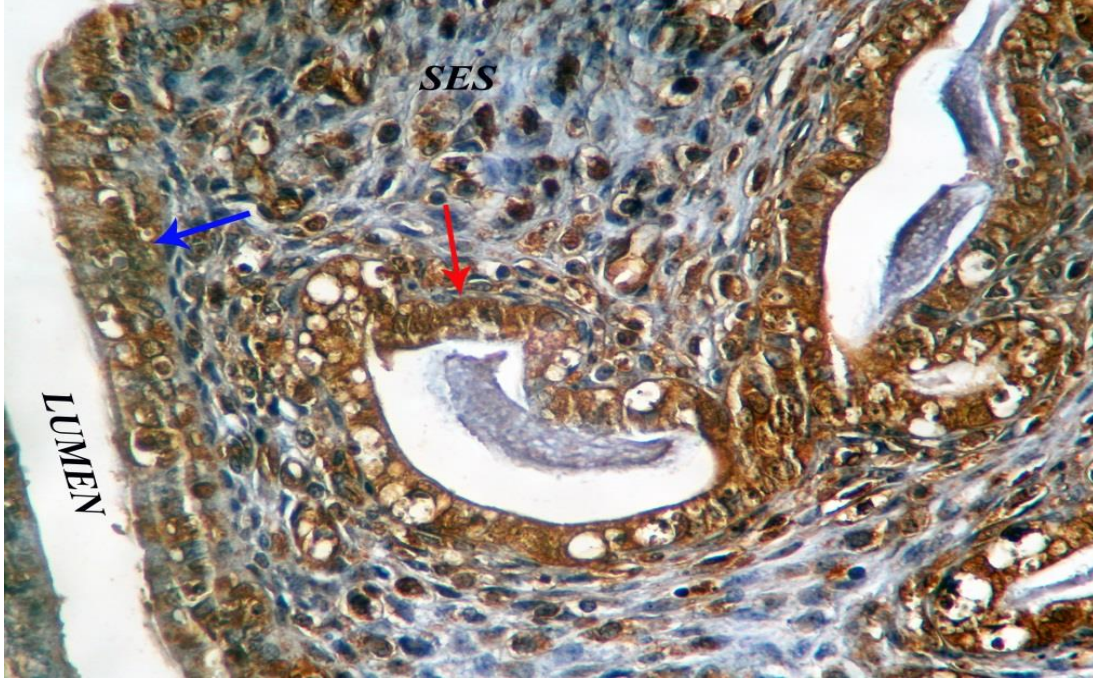




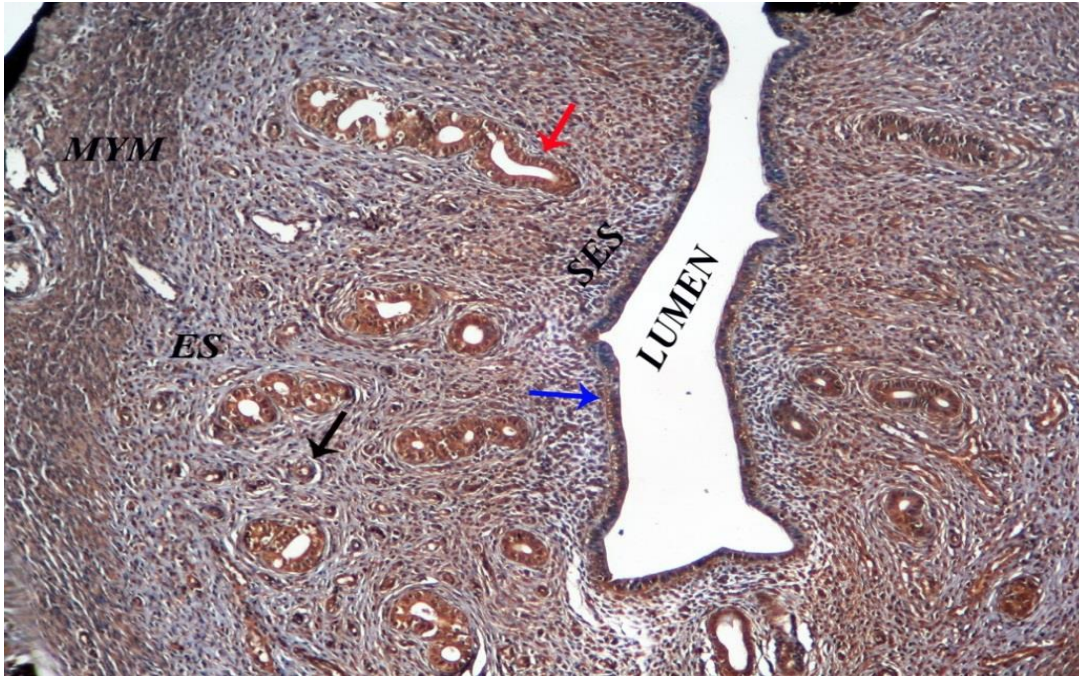
Şekil 10. Kontrol grubunda gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SDR: Sekonder Desidual Reaksiyon; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X200



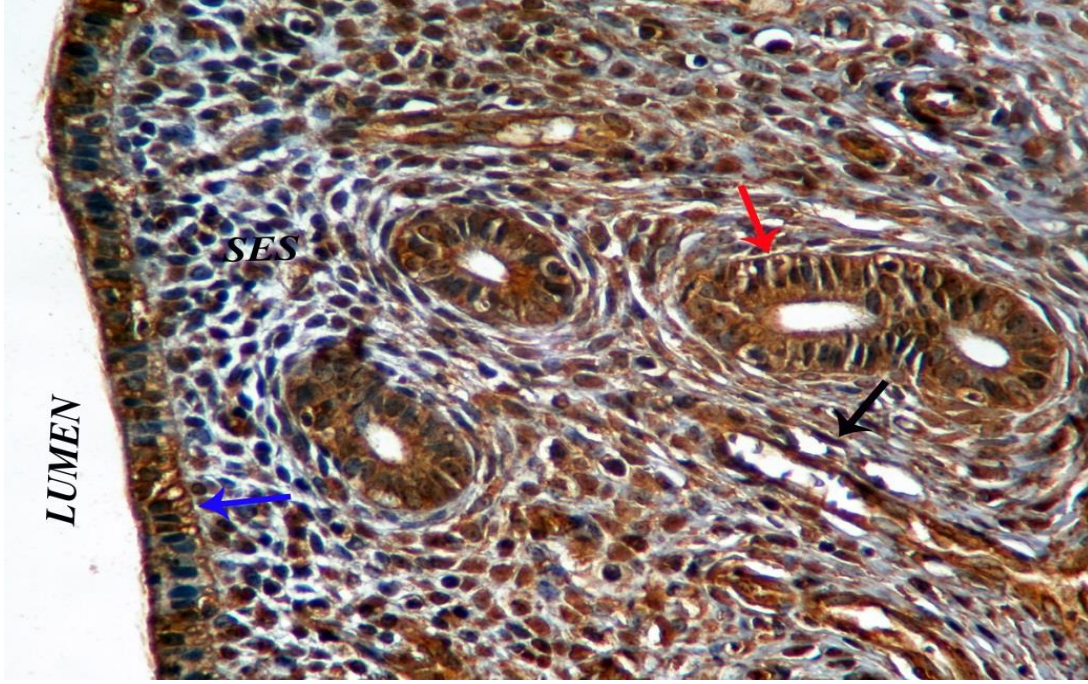
Şekil 11. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



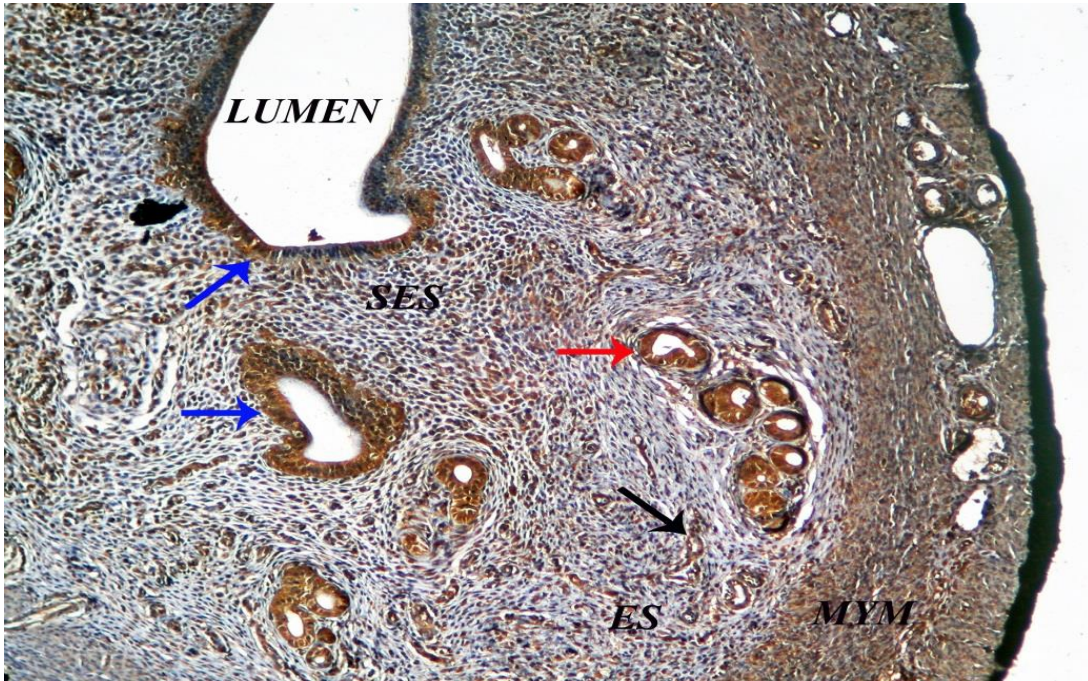
Şekil 12. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 0. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli. X400.



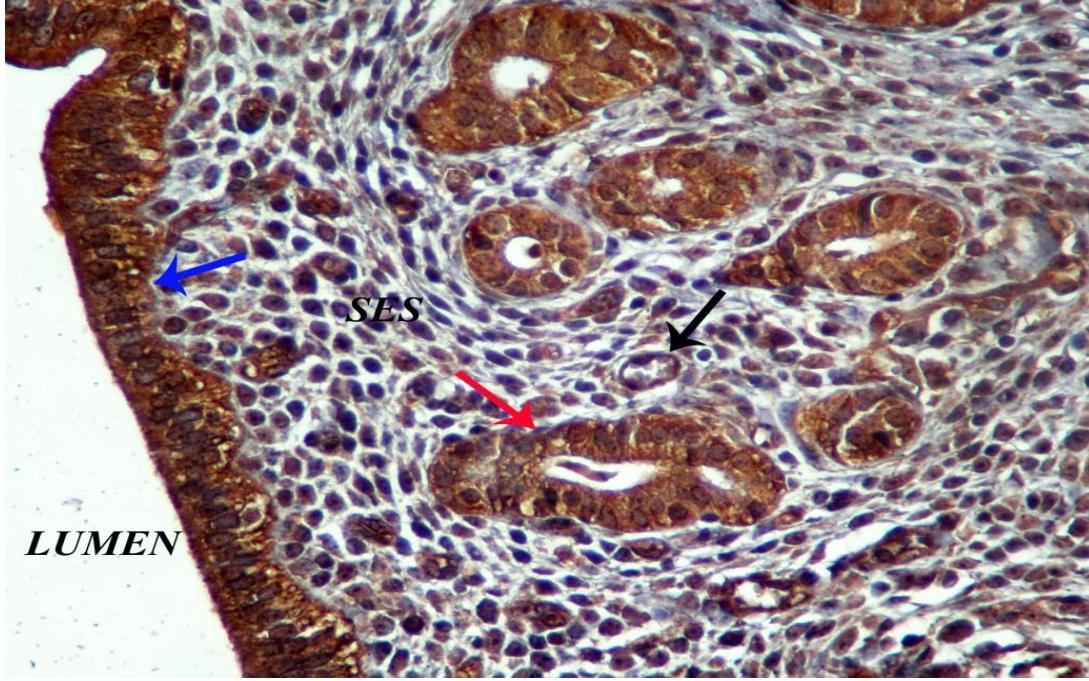
Şekil 13. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



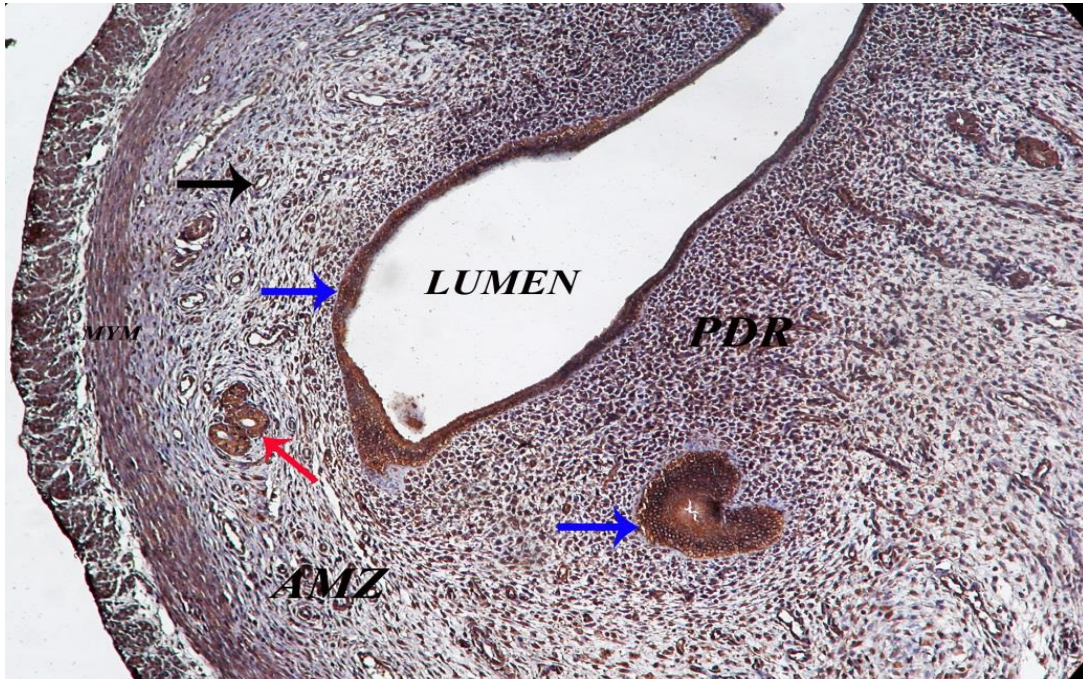
Şekil 14. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 1. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



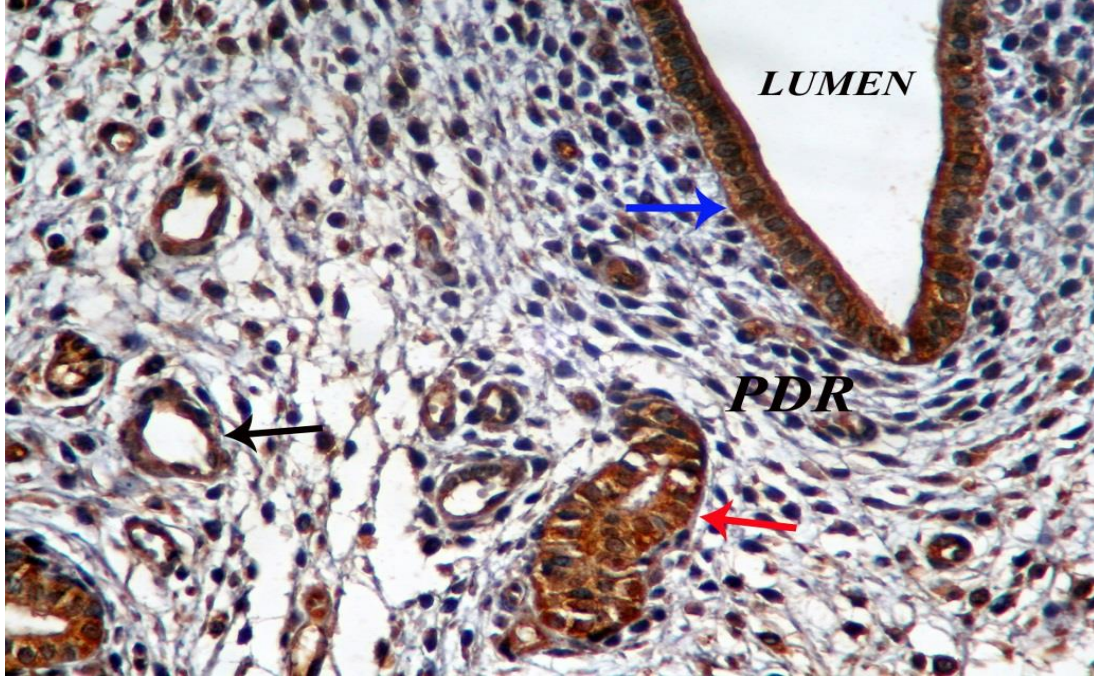
Şekil 15. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; ES: Endometriyal stroma; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



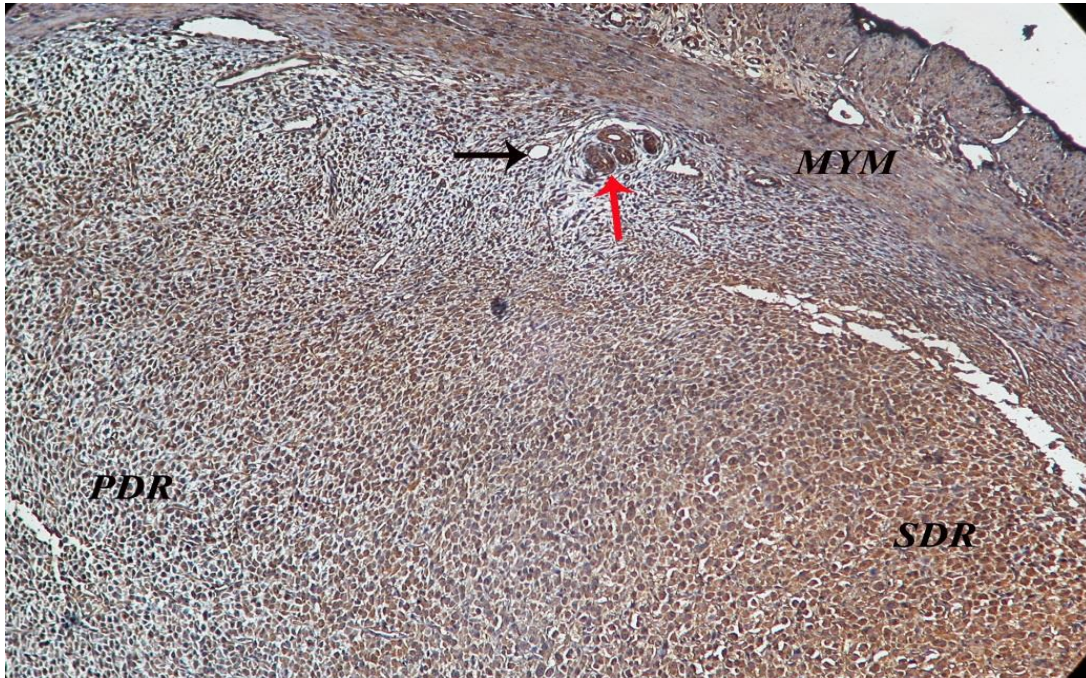
**Şekil 16.** Heparin uygulanan grupta gebeliğin 3. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. SES: Subepitelyal stroma; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



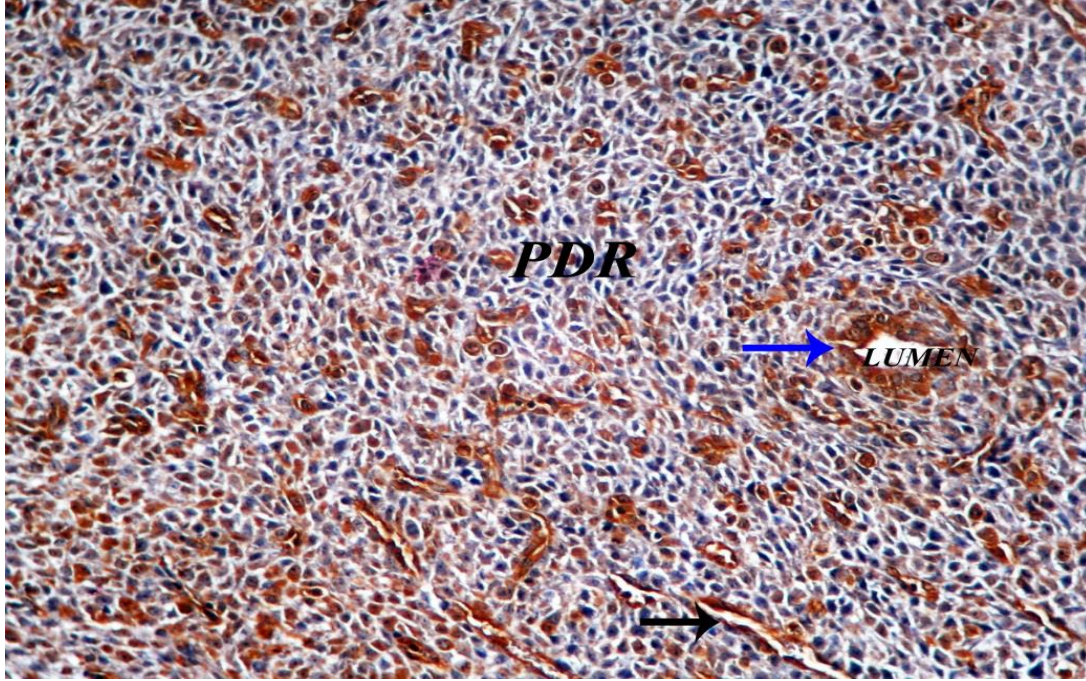
**Şekil 17.** Heparin uygulanan grupta gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; AMZ: Antimezometriyal Alan; MYM: Myometriyum; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



Şekil 18. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 5. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X400.



Şekil 19. Heparin uygulanan grupta gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; SDR: Sekonder Deasidual Reaksiyon; MYM: Myometriyum; kırmızı ok: Bez epiteli; siyah ok: Kapiller. X100.



**Şekil 20.** Heparin uygulanan grupta gebeliğin 7. gününde sıçan uterus dokusunda COX-2 immunreaksiyonu. PDR: Primer Desidual Reaksiyon; mavi ok: Lumen epiteli; siyah ok: Kapiller. X200.

### Tartışma

İmplantasyonda etkili moleküllerden önemli bir tanesi olan Prostaglandinler (PG) hücre çoğalması, farklılaşması ve bağışıklık fonksiyonlarına ilaveten anjiogenezis ve damar tonusu gibi damar fizyolojik fonksiyonları da düzenlemektedir. Ayrıca PG'lerin üreme sürecinin düzenlenmesine ve gebeliğin başarılı bir biçimde şekillenmesine büyük katkı sağladığı bilinmektedir (Mondal, 2009; Mor, 2015). Araşidonik asitten prostaglandin sentezinde hız sınırlayıcı olarak işlev gören siklooksijenazların izoformlarından birisi olan COX-2'nin embriyonun gelişim sürecinde etkili olduğu bildirilmiştir (Wang, 2010). Bu nedenle biz çalışmamızın bir bölümünde sıçanlarda erken gebelik esnasında implantasyona kadar olan dönemde uterus dokusunda COX-2 immunlokalizasyonunu belirledik ve daha önce bu alanda yapılan çalışmalarla karşılaştırdık.

Gebeliğin çeşitli dönemlerinde fare (Chakraborty, 1996), koyun (Charpigny, 1997), inek (Arosh, 2002), at (Boerboom, 2004), babun (Kim, 1999) ve domuz (Blitek, 2006) endometriyum dokularında yapılmış olan çalışmalarda COX-2 ekspresyonunun farklı türlerde farklı profiller sergilediği ortaya

konulmuştur. Gebe sıçanlarda immunohistokimya tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada, gebeliğin 1 ve 2. günlerinde sıçan uterusunda COX-2 immun boyamanın olmadığı, 3 ve 4. günlerde COX-2 immun boyamasının subluminal stroma hücrelerinde düşük seviyede, dağınık popülasyonda, 5. günün sabahında lumen epitelinin altında stromal hücrelerde ağırlıklı olarak, 6. günde implantasyon alanında stromal hücrelerde lokalize olduğu fakat antimezometriyal alanda primer desidual bölgede belirlenmediği, yine 6. günde inter-implantasyon alan üzerinde antimezometriyal alanlarda, lumene yakın tüm stromal hücrelerde fazlasıyla belirlendiği bildirilmiştir. 7. günde ise hem sekonder desidual bölgede hemde desidual hücre katmanında lumen epitelinin altında COX-2 immun pozitivitenin mevcut olduğu ancak primer desidual reaksiyon alanının geri kalan kısmında gözlenmediği kaydedilmiştir. Sıçan uterusunda COX-1'in implante olmuş blastosisti çevreleyen lumen epitelinde, COX-2'nin ise subluminal stromal hücrelerde belirlenmesi sonucunda yazarlar, COX-1 ve COX-2 kaynaklı PG'lerin sıçan implantasyonunda önemli rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (Cong, 2006). Gebe sıçanlar üzerinde yaptığımız mevcut çalışmada ise, gebeliğin 0 ve 1. günlerinde uterus lumen ve bez epitel hücreleri,

stromal hücreler, myometriyum ve kapiller duvarında orta şiddette (++) COX-2 immun ekspresyonunu gözlemledik. 3. günde ise COX-2 immun ekspresyonunun güçlü seviyeye (+++) ulaştığını tespit ettik. İlk 3 gün boyunca normal yapıda gözlemlediğimiz gebe uterus yapısının gebeliğin 5. günü ile beraber değişmeye başladığını, implantasyonun ilk belirleyici işaretlerinden biri olan PDR alanının belirlediğini ve COX-2 immun reaktivitesinin şiddetinin 3. günde bildirdiğimiz alanlara ilaveten PDR alanında da güçlü (+++) olduğunu kaydettik. Gebeliğin 7. gününde ise, PDR alanı dışında SDR alanı da belirginleşmişti ve SDR alanındaki COX-2 immun reaksiyonu PDR alanına göre daha güçlü idi. Bu bulgular daha önce yapılan çalışmalarda da bildirildiği üzere COX-2 ekspresyonunun PG üretiminde artışa yol açmak suretiyle konseptusun implantasyonunda ve desidualizasyonunda da rol oynayabileceği hipotezini desteklemektedir.

Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıpları (ATGK)'nın çoğunluğunun penetrasyon fazı ve ötesinde, gebeliğin 8-12. haftalarında meydana geldiği, bu nedenle TGK'nın blastosist implantasyonunun penetrasyon oluşumundaki anormalliklerine bağlı olabileceği düşünülmüştür (Wang, 2010). Bu konuya açıklık getirmek üzere özellikle insanlarda TGK'da COX-2 ekspresyonuna ilişkin değişik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan birisi de Hua (2013) ve arkadaşlarının farelerde otoimmunité kaynaklı gebelik kaybı oluşturdukları deney modeli ile normal gebe fare uteruslarında COX-2 ekspresyonunu karşılaştırdıkları çalışmalarıdır. Bu çalışmanın sonunda, immunohistokimya, ELISA ve PCR teknikleri ile COX-2 proteininin gebe fare desiduasında çekirdek ve sitoplazmada var olduğu ve immun ekspresyonları, serum seviyeleri ve mRNA ekspresyonlarının deney gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, otoimmunité kaynaklı TGK'larda maternal-fötal temas yüzeylerinde azalan COX-2 ekspresyonunun PG ekspresyonunda azalmaya yol açarak embriyo kaybına neden olabileceği ve bu şekilde COX-2'nin otoimmun TGK'nın patogenezisinde önemli bir rol oynayabileceği sonucuna varmışlardır. Zhang (2016) ve arkadaşlarının preeklampsi ve

normal gebe insan desidua dokusunda COX-2 immun ekspresyonu ile ilgili yaptıkları bir diğer çalışmada, hem normal gebelik grubunda hem de şiddetli preklampsi grubunda, desidua dokularında, COX-2'nin eksprese olduğu ve normal gebelik grubuna nazaran şiddetli preklampsi grubunda COX-2 protein ekspresyonunun belirgin şekilde azalmış olduğu ortaya konulmuştur. TGK'daki temel patolojinin plasental trombozlar olması sebebi ile antikoagulan tedavinin gebelikte başarı şansını artırabileceği düşünülmektedir (Çimen, 2011). Bununla beraber son günlerde, DMAH'nin koagülasyon üzerine direkt etkiye sahip olmasının yanı sıra inflamasyonu azaltması, implantasyonu desteklemesi ve komplement aktivasyonunu engellemesi ile gebeliği koruyabileceğine dair hipotezler ileri sürülmüştür (D'ippolito, 2011). Di Simone (1997) ve arkadaşları heparinin in vitro olarak trofoblast farklılaşması ve invazyonunda önemli bir artış sağladığını bildirmişlerdir. Bazı yazarlar heparinin doğrudan ya da dolaylı olarak blastosistin endometriyum epiteline tutunması ve invazyonunda etkili olduğunu, bunun yanısıra antikomplement etkiye sahip olması nedeni ile gebelik kayıplarını önlediğini öne sürmüşlerdir (Whalport, 2001).

Yukarıda açıklandığı üzere heparinin TGK'ları önlenmesindeki etki mekanizmalarını açıklamaya dair, çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İmplantasyondaki rolleri araştırılmasına rağmen, normal gebe uterus dokusunda, TGK'nın etyolojisinde de rol oynayan COX-2 üzerinden bir etkiye sahip olup olmadığı konusunda bir araştırmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışma ile DMAH'nin normal gebe sıçan uterus dokusunda, COX-2 üzerindeki etki mekanizması araştırılarak gebelik kayıplarının önlenmesindeki rolü hakkında yeni bilgiler elde edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışma sonucunda elde ettiğimiz bulgular;

Gebeliğin erken dönemlerinde sıçan uterus dokusunda COX-2 ekspresyonunun gebeliğin başından 7. gününe doğru tedricen arttığını bu nedenle bu enzimin implantasyonda ve desidualizasyonda rol oynayabileceğini, DMAH uygulamasının, immunohistokimyasal seviyede ve semikuantitatif gözlemlerde COX-2 immun

ekspresyonu üzerine bir değişiklik oluşturmadığını göstermektedir.

### Teşekkür

Bu araştırma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: 0279-YL-16.

### Kaynaklar

**Alataş, E., 2004.** Tekrarlayan gebelik kayıplarında tanı ve tedavinin yönlendirilmesi. TJD Uzmanlık Sonrası Eğitim Dergisi 6, 19-25.

**Arosh, J.A., Parent, J., Chapdelaine, P., Sirois, J., Fortier, M.A., 2002.** Expression of cyclooxygenases-1 and -2 and prostaglandin E synthase in bovine endometrial tissue during the estrous cycle. Biology of Reproduction 67,161-169.

**Blitek, A., Waclawik, A., Kaczmarek, M.M., Stadejek, T., Pejsak, Z., Ziecik, A.J. 2006.** Expression of cyclooxygenase-1 ve 2 in the porcine endometrium during the oestrous cycle and early pregnancy. Reproduction in Domestic Animals 41, 251-257.

**Boerboom, D., Brown, K.A, Vaillancourt, D., Poitras, P., Goff, A.K., Watanabe, K., Dore, M., Sirois, J. 2004.** Expression of key prostaglandin synthase in equine endometrium during late diestrus and early pregnancy. Biology of Reproduction 70, 391-399.

**Chakraborty, I., Das, S.K., Wang, J., Dey, S.K. 1996.** Developmental expression of the cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 genes in the peri-implantation mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids. Journal of Molecular Endocrinology 16, 107-122.

**Charpigny, G., Reinaud, P., Tamby, J.P., Creminon, C., Martal, J., Maclouf, J., Guillomot, M. 1997.** Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in ovine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. Endocrinology 138, 2163-2171.

**Cong, J., Diao, H.L., Zhao, Y.C., Ni, H., Yan, Y.Q., Yang, Z.M. 2006.** Differential expression and regulation of cyclooxygenases, prostaglandin E synthases and prostacyclin synthase in rat uterus during the peri-implantation period. Reproduction 131,139-151.

**Çimen, T. 2011.** Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan hastalarda düşük moleküler ağırlıklı heparin kullanımının gebeliğin seyri ve sonuçları üzerine etkisi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, 30.

**D'ippolito, S., Ortiz, A.S., Veglia, M., Tersign, İ.C., Di Simone, N. 2011.** Low molecular weight heparin obstetric care: a review of the literature, Reproductive Sciences 18, 602-613.

**Di Simone, N., Ferrazzani, S., Castellani, R., De Carolis, S., Mancuso, S., Caruso, A. 1997.** Heparin and low-dose aspirin restore placental human chorionic gonadotrophin secretion abolished by antiphospholipid antibody-containing sera. Human Reproduction 12, 2061-2065.

**Duz, S.A. 2015.** Tekrarlayan gebelik kayıpları. Medicine Science., 5, 606-22. DOI: 10.5455/medscience.2015.04.8347.

**Güven, E.S., Güven, S., İslamoğlu, G.A., Demir, B., Günalp, S. 2006.** Tekrarlayan gebelik kayıplarında güncel algoritma. Hacettepe Tıp Dergisi 37, 117-123.

**Hua, F., Li, C.H., Wang, H., Xu, H.G. 2013.** Relationship between expression of COX-2, TNF- $\alpha$ , IL-6 and autoimmune-type recurrent miscarriage. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 990-994.

**Kennedy T.G., Gillio-Meina, C., Phang, S.H. 2007.** Prostaglandins and the initiation of blastocyst implantation and desidualization. Reproduction 134, 635-643.

**Kim, J.J., Wang, J., Bambra, C., Das, S.K., Dey, S.K., Fazleabas, A.T. 1999.** Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in the baboon endometrium during the menstrual cycle and pregnancy. Endocrinology 140, 2672-2678.

**Kutteh, W.H. 1996.** Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. American Journal of Obstetrics Gynecology, 174, 1584-9.

**Mondal, S. 2009.** Early embryonic loss: Genomic insight. Indian Journal of Physiology Allied Sciences, 63, 44-51.

**Mor, A., Mondal, S., Reddy, I.J., Soumya, N.P. 2015.** Genes regulation maternal recognition of pregnancy in domestic animals: an update. *Brazilian Archives. Biology and Technology* 6, 854-863.

**Psychoyos, A. 1986.** Uterine receptivity for nidation. Annals of the New York Academy of Sciences 476, 36-42.

**Wang, Y., Zhao, A., Lin, Q. 2010.** Role of cyclooxygenase-2 signaling pathway dysfunction in unexplained recurrent spontaneous abortion. Chinese Medical Journal, 12, 1543-1547.

**Zhang, D., Chang, X., Bai, J., Chen, Z.J., Li, W.P., Zhang, C. 2016.** The study of cyclooxygenase 2 in



human decidua of preeclampsia, *Biology of Reproduction* 95, 1-8.