

Sıçan Uterusunda Anöstrus Süresince Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörlerinin Dağılımı

Uğur TOPALOĞLU¹, Mehmet Erdem AKBALIK¹, Berna GÜNEY SARUHAN¹,
Muzaffer Aydın KETANI¹, Mehmet KILIÇ², Hakan SAĞSÖZ¹

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

²Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı-Diyarbakır

Özet

Epidermal büyüme faktörü reseptörleri (EGFR/ErbB/HER) uterinal hücrelerin proliferasyonu, büyümesi ve farklılaşmasının kontrolünde kritik roller oynar. Bu çalışmada anöstrus dönemindeki sıçanların uterusunda ErbB/HER reseptörlerinin ekspresyonunun ve lokalizasyonunun immunohistokimyasal olarak ortaya koyulması amaçlandı. Çalışmamda on adet sıçan kullanıldı. Sıçan uterusunun farklı katmanlarında ErbB/HER reseptörlerinin ekspresyonlarının değişiklikler gösterdiği tespit edildi. Özellikle, uterus luminal ve bez epitel hücrelerinin, bağdoku ve düz kas hücrelerine göre daha yoğun ErbB/HER ekspresyonu gösterdiği belirlendi. Ayrıca, ErbB3/HER3 immunreaksiyonunun luminal ve bez epitel hücrelerinin apikal sitoplazmasında daha yoğun olduğu saptandı. Sonuç olarak, bu bulgular EGFR sisteminin uterustaki fizyolojik değişimlerde önemli roller oynadığını ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: EGFR, endometrium, östrus siklusu

Distribution of Epidermal Growth Factor Receptors in the Rat Uterus during Anestrus

Summary

The epidermal growth factor receptors (EGFR/erbB/HER) play a crucial role in the control of uterine cell proliferation, growth and differentiation. This study was designed to investigate the expression and localization of the ErbB/HER receptors during the anestrus of rat uterine by using immunohistochemistry. In this study, ten rats were used. In the different layers of the uterus, the changes of expressions of ErbB /HER receptors were demonstrated. In particular, luminal and glandular epithelial cells of the uterus showed more intense expression of ErbB/HER than those of smooth muscle cells and connective tissue. In addition, ErbB3/HER3 was found more intense in the apical cytoplasm of luminal and glandular epithelial cells. As a result, these findings revealed that EGFR system played important roles in the physiological changes of uterus.

Key Words: EGFR, endometrium, estrus cycle.

Giriş

Dişi genital kanalında şekillenen büyüme, gelişme ve farklılaşma gibi periyodik değişimler ovaryumdan salgılanan steroid hormonlar (östrojen, progesteron gibi) ile uterus epiteli (epidermal büyüme faktörü-EGF, dönüştürücü büyüme faktörü-TGF α , gibi) ve bağdoku hücreleri (hepatosit büyüme faktörü, fibrosit büyüme faktörü-2gibi) tarafından salgılanan endojenöz büyüme faktörlerinin kontrolü altında düzenlenir (1). Uterusun epitel ve bağdoku hücrelerinde ekspresyon olan bu büyüme faktörleri reseptörler aracılığı ile

aktive olur ve uterusun siklik gelişiminin uyarılmasında kritik roller oynarlar (1, 2).

Büyüme faktörleri, affinite gösterdikleri hücre membran reseptörlerine spesifik olarak bağlanan, normal hücre proliferasyonunu uyararak, çok az miktarları dahi hücrel aktiviteyi etkileyebilen polipeptitlerdir. Epidermal büyüme faktör reseptörü, ErbB hücre reseptör ailesindedir. EGFR'ler, ErbB ya da tirozinkinaz'lar olarak da bilinirler. ErbB protein ailesi, yapısal olarak ilişkili EGFR (ErbB1, HER1), ErbB2 (HER2/neu), ErbB3 (HER3) ve ErbB4 (HER4) olmak üzere dört

transmembran reseptöründen meydana gelir (1, 3, 4). ErbB ailesi reseptörlerinin tirozin kinaz bölgesi aile içindeki reseptör bireyleri ile homo ve hetero dimerizasyonlar oluşturabilirler. Homo ve heterodimer çiftleri oluşunca reseptörler karşılıklı olarak birbirlerini fosforile ederek aktivasyonu gerçekleştirirler. Diğer ErbB ailesi üyelerinden farklı olarak ErbB2 reseptörüne bağlanabilen bir ligand olmadığından bu reseptör ErbB2/ErbB2 homodimeri oluşturamaz sadece diğer ErbB ailesi üyeleri ile heterodimerler meydana getirir (3, 4).

Birçok araştırmacı bu reseptör ailesinin menstrual siklus süresince insanlarda (5, 6, 7), rhesus maymunlarında (8), babunlarda (9), seksüel siklus süresince ise köpeklerde (3, 10, 11, 12), keçilerde (13) ve farelerde (14) luminal, bez epitel, bağdoku ve düz kas hücrelerinden ekspresyon olmadığını ya da değişen yoğunluklarda ekspresyon olduğunu göstermişlerdir.

1960 yılından beri deney hayvanları birçok hayvan modeli çalışmaları için kullanılmaya başlanmıştır. Sosyal hayvan olmaları, grup halinde yaşayabilme özellikleri ve üretimindeki kolaylıklardan dolayı kemirgenler (fare, sıçan vb.) laboratuvar çalışmalarında daha çok tercih edilmektedir. Sıçanlar, yıl boyu östrus gösteren hayvanlardır ve siklus erkeğin etkisiyle veya

hormon uygulamaları ile uyarılır (15). Bu hayvanlarda, siklus ortalama 4-5 gün sürer ve proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olmak üzere dört safhadan meydana gelir. Normalde dişi sıçanlarda anöstrus görülmez. Bu hayvanlarda, sosyal çevreye ait uyarıcıların (primer feromonlar) östrus siklusunun oluşumunu ve sıklığını etkilediği bilinmektedir. Ancak, dişi sıçanlar da kafes koşulları siklusun devamlılığını etkileyen faktörlerden birisidir ve dikkate alınması gerekmektedir. Östrus siklusunun düzeni kafesleme koşullarıyla yakından ilişkilidir ve grup halindeki dişilerde östrus supresyonunun derecesi kafes içerisindeki popülasyon yoğunluğuna bağlıdır. Özellikle, kalabalık halde bırakılan dişi sıçanların çoğunda spontan yalancı gebelik ya da anöstrus (Lee-Boot etkisi) görüldüğü bazı çalışmalarda ortaya konulmuştur (15, 16). Sunulan çalışmada da biz grup halinde kafeslerde barındırılan ve yanında erkek hayvan bulunmayan anöstrustaki sıçanları kullandık. Bu hayvanlarda anöstrus süresince uterusu EGFR/ErbB/HER reseptörlerinin lokalizasyonlarını ve fonksiyonlarını ortaya koyduk.

Materyal ve Metot

Deney Hayvanları

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Yerel Etik Kurulu (DÜHADEK) tarafından onaylandı (karar sayısı 2005-40).

Çalışmada Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DÜSAM) Müdürlüğü'nden temin edilen 10 adet erişkin, 220-250 g ağırlığında Sprague-Dawley ırkı sıçan kullanıldı. Hayvanlar, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ışık periyodunda barındırılmıştı. Pelet yem ve su ihtiyaçları ise ad libitum olarak karşılanmıştı.

Histolojik Analiz

Eter anestezisi ile uyutulan hayvanların uterusları diseksiyonla dışarı alındı. Daha sonra uterusun sağ ve sol kornularından, küçük parçalar şeklinde örnekler alınarak % 10'luk nötral formalin solüsyonunda 24 saat tespit edildi. Rutin histolojik işlemleri takiben parafin bloklandı. Hazırlanan parafin bloklarından 5 mikrometre kalınlığında seri kesitler alındı. Bu kesitlerden birincisi histolojik incelemeler için normal lama diğerleri ise 3-aminopropyl-triethoxysilane (APES) ile kaplanmış diğer lamlara alındı. Normal lamlara alınan kesitler Crossman'ın üçlü boyaması ile boyandı ve uterusda anöstrusa bağlı histolojik değişiklikler belirlendi (16).

İmmunohistokimyasal boyama

5 mikrometre kalınlığındaki parafin kesitler, deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra distile suda çalkalandı. Endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için kesitler distile suda hazırlanmış %3'lük H₂O₂ ile 20 dakika muamele edildikten sonra 0.01 M Fosfat Buffer Saline (PBS)'de iki kez 5'er dakika yıkandı. Antijen retrieval işlemi uygulanmaksızın, immunoglobulinlerin özgül olmayan bağlanmalarını engellemek için bloking serumda 15 dakika muamele edilen kesitler tavşan poliklonal Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör (ErbB1/EGFR) (SantaCruz, sc-03), fare monoklonal ErbB2 Reseptör (Neu) (SantaCruz, sc-7301), tavşan poliklonal ErbB3 Reseptör (SantaCruz, sc-285) ve tavşan poliklonal ErbB4 Reseptör (SantaCruz, sc-283) primer antikor ile +4°C'de 1 gece süresince inkübe edildi. İnkübasyonu takiben 0.01 M PBS'te 4 kez yıkanan kesitler, biotinlenmiş sekonder antikor (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) ile 20 dakika nem odasında, oda ısısında inkübe edilip, tekrar 4 kez PBS ile yıkandıktan sonra da enzim konjugatlı streptavidinde (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) 20 dakika muamele edildi. Kesitler, tekrar 4 kez PBS ile yıkandıktan sonra DAB kromojen solüsyonlarında 5-15 dakika bekletildi. Gill'in hematoksisleninde 1 dakika süreyle zıt boyama yapılan kesitler çeşme suyunda mavileşinceye kadar yıkandı. Kesitler alkoller ve ksilolden geçirilip

entellan ile kapatıldı. Pozitif kontrol olarak kullanılan meme tümörleri temin edilemediği için boyanmaların doğruluğunu kanıtlamada negatif kontroller kullanıldı. Negatif kontrol olarak alınan doku örnekleri ise primer antikor yerine PBS ile muamele edildi. Boyamalar sonrası preparatlar Nikon-Eclipse 400 dijital fotoğraf makinesi ataçmanlı araştırma mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı.

İmmunohistokimyasal Boyanma Sonuçlarının Değerlenmesi

İmmunohistokimyasal boyanma, yoğunluk (intensity score) skoru kullanılarak semikantitatif olarak değerlendirildi (2, 4). Yoğunluk skorunda (I), hücrelerdeki pozitif boyanmalar; (-) negatif, (+)

zayıf, (++) orta ve (+++) güçlü şeklinde uygulandı. Seri kesitlerde, 40x objektif büyütmeye geliş güzel seçilen üç farklı bölgede 100 adet luminal ve bez epitel hücresi, bağdoku ile düz kas hücresi değerlendirildi.

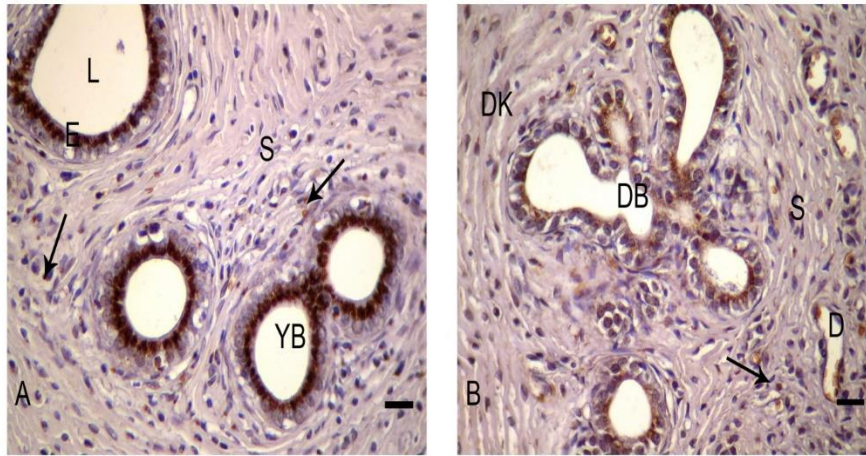
Bulgular

Anöstrus süresince sıçan uterusunda luminal ve bez epitel hücreleri, bağdoku ve düz kas hücreleri ile kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinde ErbB/HER reseptörleri için pozitif membran ve sitoplazmik boyanmalar elde edildi. Ancak, sıçan uterusunda luminal ve bez epitel hücreleri ile bağdoku ve düz kas hücrelerinde EGFR/ErbB/HER reseptörlerinin immunreaksiyon yoğunluklarının farklılıklar gösterdiği ortaya konuldu (Tablo 1).

Tablo 1. Anöstrustaki sıçan uterusunda epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin semikantitatif skoru.

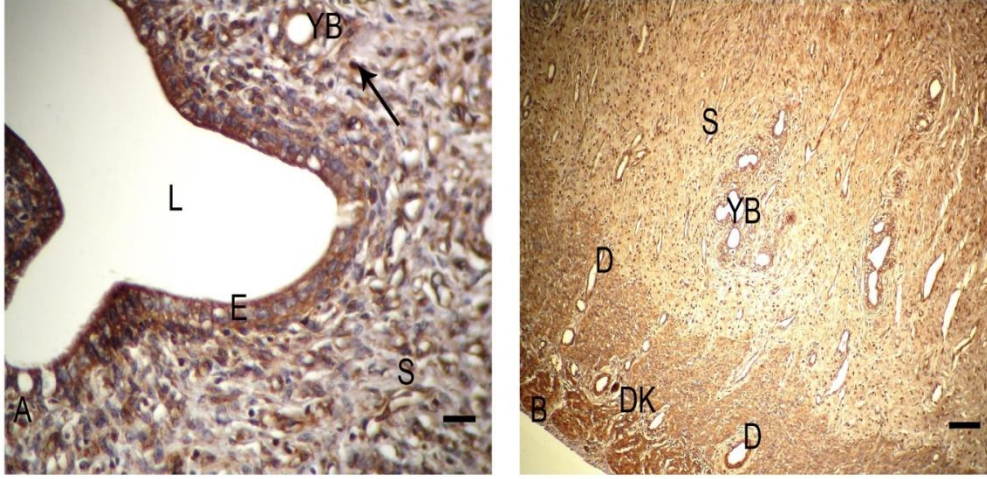
Uterusun Katmanları	EGFR/erbB1/HER1	erbB2/HER2	erbB3/HER3	erbB4/HER4
Luminal epitel	+++	+++	++	+++
Bez Epiteli	+++	+++	++	+++
Bağdoku	++	++	+	++
Kas doku	+	+++	+	+++

Anöstrustaki sıçanlarda EGFR/ErbB1/HER1 reseptörlerinin bağdoku ve düz kas hücrelerinden ziyade luminal ve bez epitel hücrelerinden daha yoğun ekspresyona olduğu belirlendi (Şekil 1).

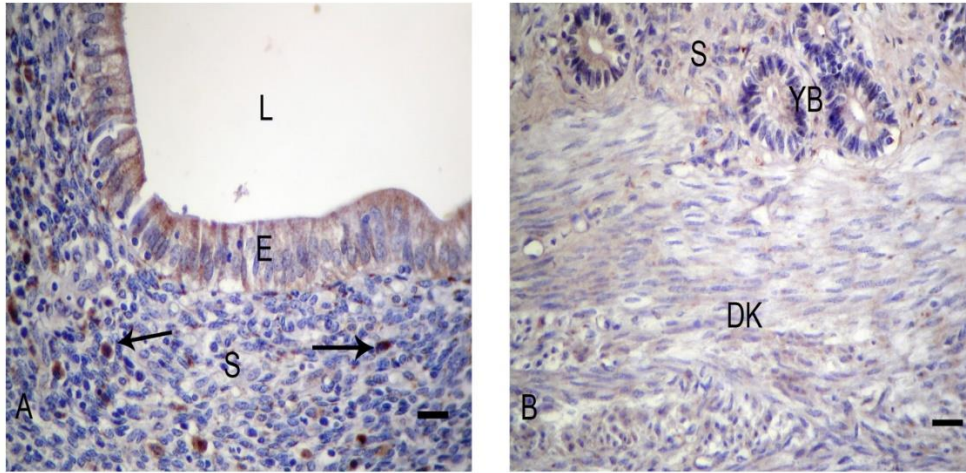


Şekil 1. Anöstrustaki sıçan uterusunda erbB1/HER1 reseptörlerinin lokalizasyonu. L; uterus lümeni, E; luminal epitel, YB; yüzeyel bezler, S; bağdoku; DB; derin bezler, DK; düz kaslar, D; kan damarları, ok; pozitif bağdoku hücreleri, Barlar: 25 µm.

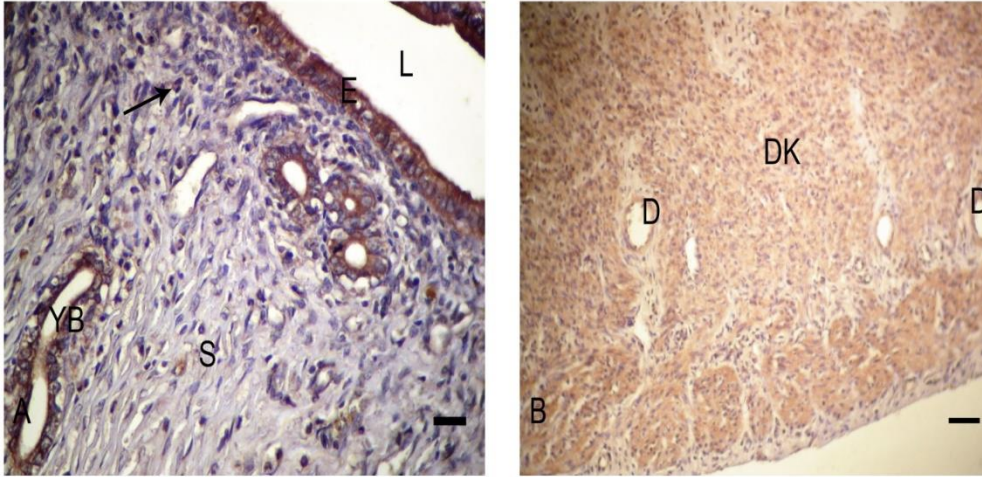
ErbB2/HER2 immun reaksiyonunun luminal ve bez epitel hücreleri ile düz kas hücrelerinde, bağdoku hücrelerinden daha baskın olduğu saptandı. Sıçanlarda ErbB2/HER2 immunreaksiyonunun luminal ve bez epitel hücrelerinin özellikle bazal sitoplazmasında yoğunlaştığı belirlendi (Şekil 2).



Şekil 2. Anöstrustaki sıçan uterusunda erbB2/HER2 reseptörlerinin lokalizasyonu. L; uterus lümeni, E; luminal epitel, YB; yüzeyel bezler, S; bağdoku; DB; derin bezler, DK; düz kaslar, D; kan damarları, ok; pozitif bağdoku hücreleri, Bar: (A) 25 µm, (B) 50 µm.



Şekil 3. Anöstrustaki sıçan uterusunda erbB3/HER3 reseptörlerinin lokalizasyonu. L; uterus lümeni, E; luminal epitel, YB; yüzeyel bezler, S; bağdoku; DK; düz kaslar, ok; pozitif bağdoku hücreleri, Bar: 25 µm.



Şekil 4. Anöstrustaki sıçan uterusunda erbB4/HER4 reseptörlerinin lokalizasyonu. L; uterus lümeni, E; luminal epitel, YB; yüzeyel bezler, S; bağdoku; DK; düz kaslar, D; kan damarları, ok; pozitif bağdoku hücreleri, Bar: (A) 25 µm, (B) 50 µm.

ErbB3/HER3 luminal ve bez epitel hücrelerinin apikal sitoplazmasında daha yoğun olduğu, bağdoku ve düz kas hücrelerinde ise ekspresyon yoğunluğunun azaldığı görüldü (Şekil 3). ErbB4/HER4 immunreaksiyonunun ise luminal ve bez epitel hücreleri ile düz kas hücrelerinde, bağdoku hücrelerinden daha yoğun olduğu belirlendi (Şekil 4). Ayrıca, kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinden ErbB1/HER1 zayıf, ErbB3/HER3, ErbB4/HER4 orta, ErbB2/HER2'nin ise güçlü bir şekilde ekspresse olduğu ortaya konuldu (Şekil 1-4).

Tartışma

Uterus fonksiyonları steroid hormonlar, büyüme ve anjiyogenik faktörler ile sitokinleri içeren ekstraselüler uyarım yollarının kompleks etkileşimi ile düzenlenmektedir. Sitoplazmik ya da transmembran olarak ekspresse olan bu faktörlerin ligandları reseptörlerine bağlanarak aktive olurlar. Böylece, uterusdaki hücrelerin büyüme, farklılaşma ve proliferasyonunu uyararak, endometrium'un siklik rejenerasyonu sağlar, embriyo gelişimi ile implantasyon için uterusun vaskularizasyonunu arttırarak gebeliğin başarılı bir şekilde devam etmesine yardımcı olurlar (1, 17).

Birçok araştırmacı, insanda dahil olmak üzere birçok türde siklus süresince ErbB/HER reseptörlerinin uterustaki hücrelerin lokalizasyonundan ya da dağılımı ile siklusa göre meydana gelen yoğunluk değişimlerinden bahsetmişlerdir. Köpekler dışındaki diğer türlerde anöstrus fazından bahsedilmemiştir. Bundan dolayı da, sadece köpekler ile ilgili çalışmalar dikkate alınarak tartışma şekillendirilmiştir. Araştırmacılar, köpeklerde anöstrus süresince uterusun bütün katmanlarında EGFR/erbB1 ekspresyonunun azaldığını bildirmişlerdir (3, 11-13). Bizim çalışmamızda köpeklerde anöstrus süresince, ErbB2/HER2 ekspresyonunun bağdoku hücrelerinden ziyade luminal, bez epitel ve düz kas hücrelerinde daha baskın olduğu belirlenmiştir. Ekspresyonun özellikle luminal ve bez epitel

hücrelerinin bazal laminasında yoğunlaştığı ortaya konulmuştur. ErbB3/HER3 ekspresyonunun uterusun bütün katmanlarında, ErbB4/HER4 ekspresyonunun ise sadece bez epitel hücrelerinde yoğun olduğu saptanmıştır. Sunulan çalışmada, anöstrustaki sıçanların uterusundan elde edilen ErbB/HER reseptörlerinin lokalizasyonu ve dağılımı ile ilgili sonuçların nisbeten köpeklerden elde edilen sonuçlarla benzer olduğu görülmüştür. Sıçanlarda da luminal ve bez epitel hücrelerinde EGFR/erbB1, ErbB2/HER2, ErbB3/HER3, ErbB4/HER4 reseptörlerinin ekspresyonunun daha baskın olduğu ortaya konulmuştur. Ancak, köpeklerde bildirilen aksine (3), sıçanlarda ErbB3/HER3 ve ErbB4/HER4 ekspresyonlarının luminal ve bez epitel hücrelerinde daha baskın olduğu, ayrıca ErbB3/HER3 lokalizasyonunun epitel hücrelerinin apikal sitoplazmasında yoğunlaştığı saptanmıştır.

Otokrin ya da parakrin mekanizmalar yolu ile etki gösteren büyüme faktörleri ve reseptörleri dişi genital kanalındaki farklılaşmaların kontrolünde ve büyümenin devamlılığında önemli roller oynar (1, 18). ErbB1/HER1'in ligandları aracılığıyla hücre proliferasyonunu uyarıcı bir ajan olduğu bildirilmiştir (1, 19). Özellikle, ErbB1/HER1'in insanlarda uterusta proliferatif faz süresince hücre migrasyonunu uyardığı gösterilmiştir (19). Dah önceki çalışmalarda,

ErbB1/HER1 ile ErbB2/HER2'nin dimerler şekillendirerek hücre proliferasyonunu uyardığı ifade edilmiştir (19, 20). Genel olarak, ErbB3/HER3 ve erbB4/HER4'ün de hücre farklılaşmasında önemli olduğu, ancak bu reseptörlerin hücrelerde proliferasyon, apoptosis, migrasyon ve adhezyonu baskıladığı tespit edilmiştir (5, 19, 20). Yukarıda bahsedilen literatür bilgileri dikkate alındığında, sıçan uterusunda da ErbB/HER reseptörlerinin benzer fizyolojik fonksiyonları yerine getirebileceği kanısına varılmıştır.

Daha önceki çalışmalarda bildirildiği gibi, sunulan çalışmada da damar endotel ve düz kas hücrelerinden değişen yoğunluklarda epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin ekspresse olduğu ortaya konulmuş ve bu durum, reseptörlerin sıçanlarda da uterustaki angiogeneziste ve damar permeabilitesinde rolü olabileceğini düşündürmüştür (21, 22). EGFR'nin (ErbB1/HER1) aktivasyonunun endotel hücrelerindeki etkileri tam olarak bilinmemesine karşın (21), ineklerde vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu uyardığı rapor edilmiştir (22). Aslında EGFR'nin (ErbB1/HER1) vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunda anahtar bir rol oynadığı iyi bilinmektedir (21, 22). Sıçanlarda da yukarıda bahsedildiği gibi epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin endotel hücrelerinden ziyade vasküler düz kas hücrelerinde benzer fonksiyonları yerine getirdiğini söyleyebiliriz.

Sonuç olarak, anöstrus süresince ErbB/HER reseptörlerinin sıçan uterusundan hücre tiplerine göre değişen yoğunluklarda ekspresse olduğu ortaya konuldu. ErbB/HER reseptörlerinin anöstrus süresince luminal ve bez epitel hücrelerinden daha yoğun ekspresse olması, bu reseptörlerin sıçan uterusunda epitel hücrelerinin proliferasyonu, farklılaşması ve migrasyonunda önemli roller oynayabileceğini akla getirmiştir.

Kaynaklar

1. Sağsöz H, Ketani MA, Saruhan BG. (2012) . Expression of the ErbB/HER Receptor Family in the Bovine Uterus during the Sexual Cycle and the Relation of This Family to Serum Sex Steroids. *Biotechnic and Histochemistry* 87, 105–116.
2. Boomsma RA, Mavrogian PA, Verhage HG. (1997). Immunohistochemical Localization of TGF- α , EGF and EGFR in the Cat Endometrium and Placenta. *Histochemical Journal* 29, 495–504.
3. Sağsöz H, Liman N, Güney Saruhan B, Küçükaslan I. (2014). The Expression of Epidermal Growth Factor Receptors and Their Ligands (Epidermal Growth Factor, Neuregulin, Amphiregulin) in the Bitch Uterus during the Estrus Cycles. *Animal Reproduction Science* 147, 161–179.
4. Sağsöz H, Ketani MA. (2010). The Role of Estrogen Receptors, ErbB Receptors, Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptors, and

Vascular Endothelial Growth Inhibitor in the Development of the rat Mammary Gland. *Growth Factors* 28, 379–393.

5. Srinivasan R, Benton E, McCormick F, Thomas H, Gullick W.J. (1999). Expression of The C-ErbB-3/HER-3 and C-ErbB-4/HER-4 Growth Factor Receptors and Their Ligands, Neuregulin-1, Neuregulin-1, and Beta-Cellulin, In Normal Endometrium and Endometrial Cancer. *Clinical Cancer Research* 5, 2877–2883.
6. Möller B, Rasmussen C, Lindblom B, Olovsson M. (2001). Expression of the Angiogenic Growth Factors VEGF, FGF-2, EGF and Their Receptors in Normal Human Endometrium during the Menstrual Cycle. *Molecular Human Reproduction* 7, 65–72.
7. Gui Y, Zhang J, Liang W, Cai Z. (2008). Expression of Amphiregulin in Human Endometrium during the Menstrual Cycle. *Beijing Da Xue Xue Bao* 40, 241–244.
8. Yue Z.P, Yang Z.M, Li S.J, Wang H.B, Harper M.J. (2000). Epidermal Growth Factor Family in Rhesus Monkey Uterus during the Menstrual Cycle and Early Pregnancy. *Molecular Reproduction and Development* 55, 164–174.
9. Slowey M.J, Verhage H.G, Fazleabas A.T. (1994). Epidermal Growth Factor, Transforming Growth Factor-Alpha, and Epidermal Growth Factor Receptor Localization in the Baboon (Papio anubis) Uterus during the Menstrual Cycle and Early Pregnancy. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 1, 277–284.
10. Tamada H, Tominaga M, Kida K, Kawate N, Inaba T, Matsuyama S, Sawada T. (2005). Detection of Transforming Growth Factor-A and Epidermal Growth Factor Receptor mRNA and Immunohistochemical Localization of the Corresponding Proteins in the Canine Uterus During the Estrous Cycle. *Histology and Histopathology* 20, 817–824.
11. Ozyurtlu N, Sağsöz H, Saruhan BG, Zonturlu AK, Ketani MA, Akbalık ME. (2010). Immunohistochemical Localisation of Oestrogen and Epidermal Growth Factor Receptors of the Bitch Uterus in The Sexual Cycle. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 54: 193–200.
12. Kida K, Maezono Y, Kawate N, Inaba T, Hatoya S, Tamada H. (2010). Epidermal Growth Factor, Transforming Growth Factor- α , and Epidermal Growth Factor Receptor Expression and Localization in the Canine Endometrium during the Estrous Cycle and in Bitches with Pyometra. *Theriogenology* 73, 36–47.
13. Tamada H, Yoh C, Inaba T, Takano H, Kawate N, Sawada T. (2000). Epidermal Growth Factor (EGF) in the Goat Uterus: Immunohistochemical Localization of EGF and EGF Receptor and Effect of EGF on Uterine Activity In vivo. *Theriogenology* 54, 159–169.

14. Lee DC, Fenton SE, Berkowitz EA, Hissong MA. (1995). Transforming Growth Factor α : Expression, Regulation, and Biological Activities. *Pharmacological Reviews* 47: 51 – 85.
15. Mülazımoğlu SB, İde T, Aslan S. (2008). Ratlarda Üreme. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 39-44.
16. Westwood F.R. (2008). The Female Rat Reproductive Cycle: A Practical Histological Guide to Staging. *Toxicologic Pathology*, 36: 375-384,.
17. Chobotova K, Muchmore M.-E, Carver J, Yoo H.-J, Manek S, Gul-lick W.J, Barlow D.H, Mardon H.J. (2002). The Mitogenic Potential of Heparin-Binding Epidermal Growth Factor in the Human Endometrium is Mediated by the Epidermal Growth Factor Receptor and is Modulated by Tumor Necrosis Factor- . *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87, 5769–5777.
18. Nelson K, Takahashi IT, Bossert NL, Walmert DK, Mclachlan JA. (1991). Epidermal Growth Factor Replaces Estrogen in the Stimulation of Female Genital-Tract Growth and Differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 88: 21–25
19. Ejlskjær K, Sørensen BS, Poulsen SS. (2005). Expression of the Epidermal Growth Factor System in Human Endometrium during the Menstrual Cycle. *Molecular Human Reproduction* 11: 543 – 551.
20. Falls DL. (2003). Neuregulins: Functions, Forms, and signaling Strategies. *Experimental Cell Research* 284: 14 – 30.
21. Schreier B, Gekle M., Grossmann C. (2014). Role of Epidermal Growth Factor Receptor in Vascular Structure and Function. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 23: 113–121.
22. Makki N, Thiel K.W & Miller F.J. (2013). The Epidermal Growth Factor Receptor and its Ligands in Cardio Vascular Disease. *International Journal of Molecular Sciences* 14: 20597–20613.

Yazışma Adresi: Arş. Gör. Uğur TOPALOĞLU

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

21280/Sur-Diyarbakır

e-posta:ugur.topaloglu@dicle.edu.tr