

Yazışma Adresi
Correspondence Address

Sema AVCI
Alanya Alaaddin
Keykubat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji ABD.
Alanya, Türkiye
sema.avci@gmail.com

Geliş Tarihi : Kasım 20, 2021
Received
Kabul Tarihi : Nisan 05, 2022
Accepted
E Yayın Tarihi : Mayıs 01, 2023
Online published

Bu makalede yapılacak atıf
Cite this article as

Avci S, Çelik Özenci Ç.
Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon
Uterusta Apelin ve Apelin Reseptör
Ekspresyonunu Arttırır
Akd Tıp D 2023; 9(2): 180-186

Sema AVCI
Alanya Alaaddin
Keykubat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji ABD.
Alanya, Türkiye
ORCID ID: 0000-0002-2860-5592

Çiler ÇELİK ÖZENCİ
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji ABD.
Antalya, Türkiye
ORCID ID: 0000-0003-0370-8680

DOI: 10.53394/akd.1026446

Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon Uterusta Apelin ve Apelin Reseptör Ekspresyonunu Arttırır

Controlled Ovarian Hyperstimulation Increases the Expression of Apelin and Apelin Receptor in Uterus

ÖZ

Amaç:

Bu çalışmada, klinikte sıklıkla kullanılan süperovülasyon uygulamasının Apelin (APLN), ve Apelin Reseptör (APJ) ekspresyonunu uterusu ne şekilde etkilediği araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler:

Bu çalışmada 6-8 haftalık on iki dişi Balb-C faresi kullanıldı. Gruplar şu şekilde oluşturuldu; herhangi bir uygulama yapılmayan çiftleşmemiş östrusdaki kontrol grubu (Knt), bir günlük gebe olan gebe kontrol grubu (GK) ve 5 IU/fare/intraperitoneal (ip)Pregnanat Mare Serum Gonadotropin (PMSG) ve 5 IU/fare/ip human Chorionic Gonadotropin (hCG) uygulanan ve gebe olan (P+H) grubu. P+H ve GK gruplarındaki farelerde, çiftleşmeye atıldıktan sonraki gün vajinal tıkaç kontrolü yapılarak vajinal tıkaç pozitif fareler gebeliğin 0.5. gününde kabul edildi. P+H grubundaki fareler, hCG enjeksiyonundan 42 saat sonra sakrifiye edildi. Tüm gruplardan immunohistokimyasal analiz için alınan uterus dokularından parafin kesitler elde edildi. Yağ dokusu pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Bulgular:

İmmunohistokimyasal boyanma yoğunluğu değerlendirildiğinde; APLN, Knt grubunda özellikle uterus bezlerinde ve bez etrafındaki stromal hücrelerde görüldü. APJ'nin uterustaki lokalizasyonu da APLN'ye benzerdi. GK grubunda APLN ve APJ ekspresyon seviyeleri kontrol grubu ile benzerdi. Ancak APJ'nin lokalizasyonu değerlendirildiğinde, Knt grubundan farklı olarak özellikle uterusun perimetriyal bezlerinde yoğun olarak ekspre edildiği izlendi. APLN ekspresyonu, Knt ve GK grupları ile karşılaştırıldığında P+H grubundaki endometrial bezlerde ve stromada belirgin olarak artmıştı ($p<0.05$).

Sonuçlar:

PMSG ve hCG uygulaması sonrasında uterusu APLN ve APJ ekspresyon düzeyi artmıştır. Artışın, özellikle östradiol (E2) ve progesteron (P4) reseptörlerini içeren uterin bezleri, uterus epiteli ile stromal hücrelerde gözlenmesi, bu artışın hiperstimülasyon sonrasında kanda artan E2 ve/veya P4 seviyeleri ile ilişkili olabileceğini ve uterin metabolizmayı embriyo implantasyonu için düzenleyebileceğini düşündürmüştür. Bulgularımız, bu konuda yeni çalışmaların planlanmasına temel bilgi sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler:

Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon, Apelin, Apelin Reseptörü

Objective:

In this study, we investigated whether superovulation, which is frequently used in the clinic as controlled ovarian hyperstimulation, affects the expression of Apelin (APLN) and Apelin Receptor (APJ) in the uterus.

Material and Methods:

Twelve female Balb-C mice 6-8 weeks old were used in this study. The groups were established as follows; the unmated control female group in estrus (Knt), which did not receive any treatment, the pregnant control group (GK), which was on their pregnancy day 1, and the PMSG+hCG group (P+H) that received 5 IU/mouse/intraperitoneal (ip) Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) and 5 IU/mouse/ip human Chorionic Gonadotropin (hCG). Vaginal plaque control was performed on the day after mating in the P+H and GK groups, and vaginal plaque-positive mice were accepted at day 0.5 of pregnancy. Mice in the P+H group were sacrificed 42 hours after hCG injection. Uterine tissues were obtained from all groups for immunohistochemical analysis, and paraffin sections were obtained. Adipose tissue was used as a positive control.

Results:

In the Knt group, APLN protein expression was present mainly in the uterine glands and stromal cells located close to the glands. The localization of APJ protein expression was also similar to APLN. APLN and APJ expression levels in the GK group were similar to the Knt group. However, when the localization of APJ was evaluated, it was observed that APJ expression was intensely expressed, especially in the perimetrial glands of the uterus, which was not present in the Knt group. In the P+H group, APLN expression significantly increased in the endometrial glands and stromal cells compared to the Knt and GK groups ($p<0.05$).

Conclusions:

APLN and APJ protein expression levels increased in the uterus after PMSG and hCG administration. The increase was observed mainly in uterine glands, uterine epithelium, and stromal cells that are known to express estradiol (E2) and progesterone (P4) receptors. Altogether these results suggest that the increase of APLN/APJ expression in these uterine compartments may be related to the increased E2 and/or P4 levels after hyperstimulation which may also regulate the metabolism of the uterus for implantation. These results provided the first basic knowledge of the possible roles of the APLN/APJ system in the endometrium and established the need to plan new studies on this subject.

Key Words:

Controlled Ovarian Hyperstimulation, Apelin, Apelin Receptor

GİRİŞ

Apelin (APLN), pek çok metabolik fonksiyonun düzenlenmesinde görev aldığı düşünülen pleiotropik etkilere sahip bir adipokindir. Adipokinlerin, esas olarak beyaz yağ dokusu

tarafından salgılanan endokrin etkili faktörler olduğu iyi bilinmektedir. Ayrıca, enerji metabolizmasında merkezi bir role sahip oldukları da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (1, 2). Bununla birlikte, erkek ve dişi üremesinin düzenlenmesinde önemli rollerinin olabileceği de son zamanlarda yapılan çalışmalarda vurgulanmaktadır. APLN ve reseptörünün hipotalamus-hipofiz ve gonad ekseninde, gonadotropin salınımı ve steroidogenezin düzenlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir (2).

APLN, sıgır midesinden izole edilen ve G proteinine bağlı reseptör ailesinin bir üyesi olan Apelin reseptörünün ligandı olarak tanımlanan 36 amino asitli bir peptittir. Yetmiş yedi amino asitli prepropeptit olan preproapelinin insan ve fare dokularındaki varlığı tanımlanmıştır (3, 4). Apelin reseptörü (APJ) ilk olarak 1993 yılında anjiyotensin II reseptörü ile yüksek homoloji gösteren G protein-bağlı reseptör olarak tanımlanmıştır. Apelin reseptörü APJ'yi kodlayan gen insanlarda APLNR olarak bilinir (5). Endojen apelinin çoklu moleküler formları vardır ve uzun ya da kısa etkili formlar APJ ile farklı şekilde etkileşime girerler. APLN; APLN-12, APLN-13, APLN-17 ve APLN-36 olmak üzere çok sayıda izoforma sahiptir. APLN-13, tüm izoformlar arasında APJ'ye en güçlü bağlanmayı sergiler (6, 7). APLN ve APJ, fizyolojik fonksiyonları düzenlemek için birçok doku ve organda ifade edilmektedir (8). Beyin, plasenta, kalp, akciğer, böbrek, pankreas, testis, prostat ve yağ dokusu bunlardan bazılarıdır (9). Ovaryum foliküllerinde ve granüloza hücrelerinde de eksprese edildiği gösterilmiştir. APLN ve APJ, anormal yumurtalık hormon düzeyi ve fonksiyonu ile ilişkili olan polikistik over sendromunda (PCOS) artar. Bu durum APLN ve APJ'nin adet döngüsü bozuklukları ve anovuluar siklustaki yerine dikkatleri çekmektedir (8). APLN, gebelikte oksidatif stresin bir belirteci olarak görev alabilir (10). Aynı zamanda APLN'in, insülin duyarlılığının korunmasında yer aldığı bilinmektedir (11). Farelerde yapılan çalışmalar, APLN'in glikoz kullanımını artırabildiğini göstermiştir (12). Gebelik sürecinde, bozulmuş insülin duyarlılığı ile karşılaşılabilir ve bu durum fetüsün glikoz ihtiyacını karşılayabilmek için gerekli bir adaptasyondur (13, 14). Bu veriler APLN/APJ sisteminin gebelik ve gebeliğe hazırlanma süreçlerinde de aktif rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, APLN'in plasenta hücrelerinin hormonal profilini değiştirdiği düşünülmektedir (15). Çalışmalar, APLN/APJ sisteminin nörolojik ya da metabolik pek çok hastalıkta rolünün olabileceğini ve APLN'nin kanser dışında pek çok hastalığın tedavisinde terapötik bir etkiye sahip olabileceğini ileri sürmektedir (4). APLN anti-oksidan ve anti-inflamatuar etkilere sahip olduğu da düşünülmektedir (16).

Laboratuvar koşullarında farelerde superovülasyonu indüklemek için, hamile kısrak serum gonadotropini (PMSG) ve insan koryonik gonadotropini (hCG) enjeksiyonu sıklıkla kullanılmaktadır (17). PMSG ve ardından hCG uygulaması foliküler büyüme ve ovülasyonu uyarmaktadır (18). Ovülasyon indüksiyonu; hipogonadotropik hipogonadizm veya PCOS' da, açıklanamayan veya multifaktöriyel subfertilite gibi pek çok durumda kliniğin iyileştirilmesi amacı ile farklı protokoller eşliğinde uygulanmaktadır (19). Ovülasyon indüksiyonu, in vitro fertilizasyon (IVF) sürecinin ayrılmaz bir parçasıdır. Kontrollü ovaryan stimülasyon (KOH), dölleme ve embriyo

gelişimi için çok sayıda oosit elde edilmesine izin vermektedir. Ancak, hem oosit gelişimi sırasında hem de embriyo transferinden sonra, E2, P ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) de dahil olmak üzere pek çok faktörün suprafizyolojik seviyelere ulaşmasına neden olur. Bu durum oosit, endometrium ve implante edilen embriyo üzerinde olası değişikliklere sebep olabilir ve bu değişikliklerin her birinin potansiyel etkisi hala iyi anlaşılamamıştır (20). Çalışmalar süperovülasyonun embriyoda bazı genlerde DNA metilasyonunu etkileyebileceğini de söylemektedir (21). Ayrıca, ovülasyon indüksiyonu sonrası embriyo transferi implantasyon oranları taze embriyo transferi ile kıyaslandığında daha düşük olarak tespit edilmektedir. Bu durum KOH sonrası oluşan bozulmuş peri-implantif çevre ile ilişkilendirilmiştir (22). Mevcut literatür değerlendirildiğinde, KOH uygulamalarının özellikle uterusu pek çok proteinin ekspresyonunu ve ilişkili sinyal yolağının fonksiyonunu değiştirerek, endometriyal çevreyi olumlu ya da olumsuz biçimde etkilediği hala tartışmalı bir konudur.

Bu nedenle bu çalışmada, klinikte KOH ile benzer şekilde deney hayvanlarında kullanılan süperovülasyon modelinde APLN ve APJ ekspresyonunu uterusu ne şekilde etkilediğini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışmada, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun 18.10.2021/149 nolu Etik Kurul izni doğrultusunda 6-8 haftalık on iki adet dişi Balb-C türü fare kullanılmıştır. Dişi fareler; herhangi bir işlemin yapılmadığı çiftleşmemiş kontrol (Knt), 1 günlük gebe kontrol (GK) (n:6) ve ip 5 IU/fare PMSG (MSD Animal Health, Folligon) ve PMSG enjeksiyonundan 48 saat sonra, ip 5 IU/fare hCG'nin (MSD Animal Health, Chorulon) uygulandığı PMSG+hCG (P+H) (n:6) gruplarına ayrılmıştır. P+H grubunda, hCG enjeksiyonu uygulandığı günün akşamı dişi fareler erişkin aynı cins erkek fareler ile çiftleştirilmiştir. Kopülasyondan sonraki gün vajinal tıkaç kontrol edilerek, tıkaç pozitif fareler 0,5 günlük gebe kabul edilmiştir. Gebe fareler hCG enjeksiyonundan 42 saat sonra sakrifiye edilmiş ve fallop tüpleri çıkartılarak stereomikroskop altında ampulla bölgesi patlatılarak 2 hücreli embriyoların varlığı doğrulanmıştır (Fig.3.a/*).

Tüm gruplardan elde edilen uterus dokuları immünohistokimyasal değerlendirmeler için %4' lük formaldehit (818708; Merck) içerisinde fikse edildikten sonra alkol serilerinden (sırasıyla; %70, %80, %90) geçirilerek dehidrate edilmiş ve %100 etanol (459844; Sigma-Aldrich) uygulamasını takiben ksilen ile şeffaflaştırılmış ve parafine gömülmüştür. Beş µm kalınlığında alınan kesitler 1X PBS (P4417-100; Sigma-Aldrich) ile yıkandıktan sonra sitrat buffer (100244; Merck) ile antijen epitoplari açılmış, %3 hidrojen peroksit (106009; Merck, 18312; Sigma) ile endojen peroxidaz aktivitesi bloke edilmiştir. Spesifik olmayan bağlanmayı önlemek için Ultra V Block (TA-125-UB Thermo Scientific) uygulaması sonrasında, anti-APLN (bs-2425R; 1/150), anti-APJ (ab84296;1/150) primer antikorları ve sekonder (Vector, BA-1000; 1/400) antikor uygulanmıştır. İzotip kontrol için normal tavşan serumu (Vector, I-1000) primer antikorlar ile aynı protein miktarında uygulanmıştır. Diaminobenzidin (DAB) (D4168; Sigma)

kromojeni ile reaksiyonunun geliştirilme sonrasında kesitlere Mayer's hemalum (109249, Merck) ile zıt boyama yapılmıştır. Kesitler Olympus CX43 Mikroskop (Japan) ile incelenmiş ve fotoğraf çekilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Her bir grup için her denekten rastgele seçilen üç farklı fotoğraf, üç kez Image J (1.52 R, National Institute of Health, USA) yazılımı ile analiz edilerek, elde edilen değerler gruplar arası karşılaştırmaların yapılması için One way ANOVA ve post hoc Sidak testi ile GraphPad Prism 8 kullanılarak karşılaştırılmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Süperovülasyon uygulaması APLN/APJ ekspresyonunu artırır
Pozitif kontrol olarak kullanılan adipoz dokuda, APLN ve APJ'nün immünohistokimyasal boyanma durumu doğrulandı (Fig.1/a,b).

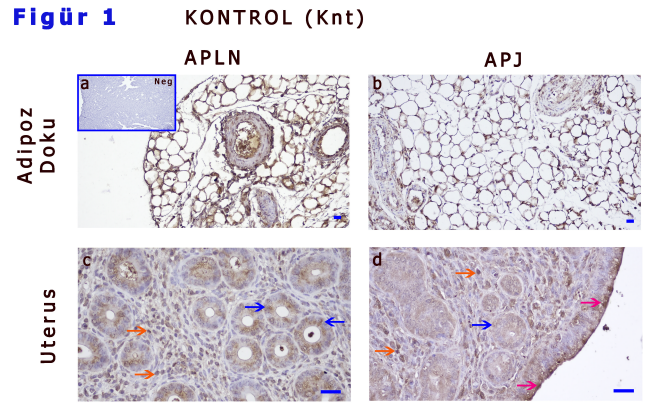


Fig.1: (a,d); Kontrol grubunda APLN ve APJ ekspresyonu; mavi oklar: uterin bez yapıları, turuncu oklar: pozitif boyanan stromal hücreler, pembe oklar: pozitif boyanan epitel hücreleri, Neg (a): Negatif, Skala bar: 50 µm

Kontrol grubu uterus dokusunda APLN ifadesi; uterus bezlerinde (Fig.1/c; mavi oklar) ve bez etrafındaki stromal hücrelerde (Fig.1/c; turuncu oklar) görüldü. APJ'nün ifadesi ve lokalizasyonu da APLN'e benzerdi (Fig.1/d). Kontrol grubunda uterus bezlerinde (Fig.1/d; mavi oklar), stromasında (Fig.1/d; turuncu oklar) ve epitelinde (Fig.1/d; pembe oklar) hafif bir APJ ifadesi vardı.

Gebe kontrol grubunda APLN ifadesi Knt grubuna benzer şekilde uterus bezlerindeydi (Fig.2/a-c; mavi oklar). Stroma (Fig.2/a-c; turuncu oklar) ve lümen epitelinde (Fig.2/a-c; pembe oklar) ekspresyon zayıftı. APJ ifadesi, Knt grubundan farklı olarak, özellikle perimetrium bezlerindeydi (Fig.2/d,f; mavi oklar). Stromada ise ekspresyon Knt grubuna kıyasla daha azdı (Fig.2/d-f). İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, APLN ve APJ ifadeleri açısından Knt ve GK grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$) (Fig.4).

P+H grubunda, APLN ve APJ ekspresyonları uterus bezlerinde (Fig.3/a-d/mavi oklar) ve stromada (Fig.3/a-d/turuncu oklar) Knt ve GK grupları ile kıyaslandığında ekspresyon belirgin olarak artmıştı ($p < 0.05$) (Fig.4).

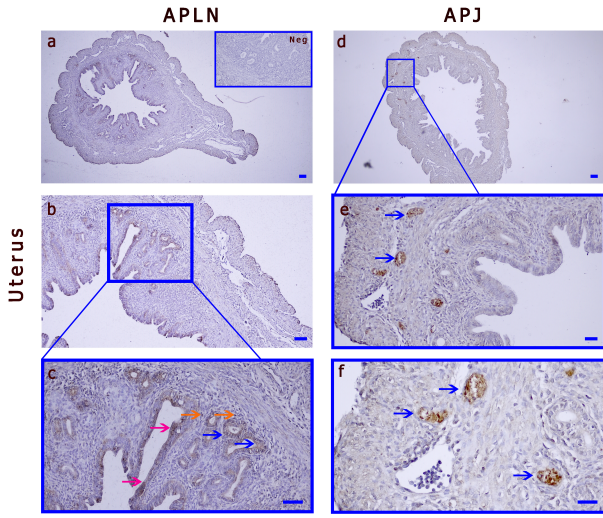
Figür 2 GEBE KONTROL (GK)

Fig.2: (a,f); Gebelik kontrol grubunda APLN ve APJ ekspresyonu; mavi oklar: uterin bez yapıları, turuncu oklar: pozitif boyanan stromal hücreler, pembe oklar: pozitif boyanan epitel hücreleri, Neg (a): Negatif, Skala bar: 50 µm

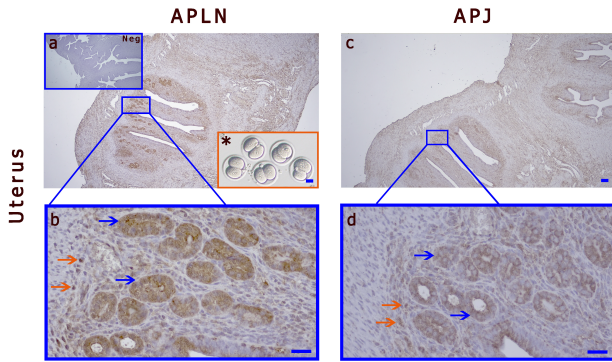
Figür 3 PMSG (P)+hCG (H)

Fig.3: (a,d); P+H grubunda APLN ve APJ ekspresyonu; mavi oklar: uterin bez yapıları, turuncu oklar: pozitif boyanan stromal hücreler, Neg (a): Negatif, *: İki hücreli embriyo, Skala bar: 50 µm

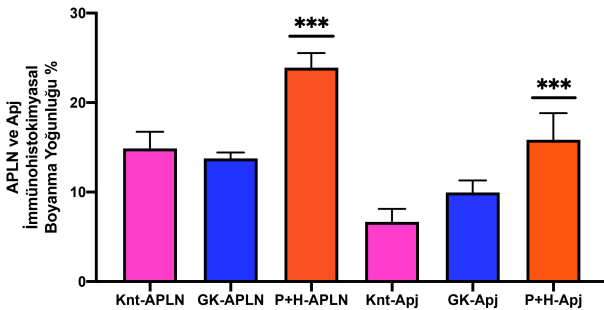
Figür 4

Fig.4: APLN ve APJ proteinlerinin immunohistokimyasal boyanma yoğunluğunun sayısal analizi.

TARTIŞMA

APLN/APJ işlevleri literatürde henüz netlik kazanmamıştır. Ancak biriken kanıtlar, APLN-APJ'nin işlevlerinin hedef organlarına ve fizyolojik ya da patofizyolojik durumlara bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Tek başına APJ'nün APLN'den bağımsız olarak inhibitör fonksiyona sahip olabileceği görülürken, farklı bir çalışmada APLN'nin uterus kontraksiyonunu inhibe edebileceği gösterilmiştir. Bu bulgular, APLN/APJ'nün dual özellik gösterebileceğini düşündürmektedir (23, 24). APLN kan damarı olgunlaşmasının düzenlemesi bakımından benzersiz bir işleve sahipken, anjiyogenez induksiyonu açısından sınırlı işlevlere sahiptir (25). Koyunlarda yapılan bir çalışmada, APLN/APJ ifadesi uterus epitel ve bezlerinde gösterilmiş ve üreme fonksiyonu ile ilişkili rolü olabileceğini düşündürmüştür (2). Çalışmamızda da APLN/APJ protein ifadesinin özellikle uterus bezleri ve stromasında gerçekleştiği görülmüştür.

Pro-inflamatuar faktörler APLN ekspresyonunu etkileyebilir. Örneğin, TNF-alfa'nın insan ve fare adipositlerinde APLN mRNA ekspresyonunu artırdığı ve TNF-alfa'nın ip enjeksiyonunun plazmada APLN ifadesini artırdığı bildirilmiştir (26). Farklı bir çalışmada şiddetli yanık oluşmasının solesus kasında APLN/APJ mRNA ekspresyonunu ve plazma APLN seviyesini azalttığı gösterilmiştir. APLN, kısmen endotelial nitrik oksit sentaz'a bağlı bir yol ile sistemik inflamatuvar yanıtı hafifletir, insülin direncini iyileştirir ve şiddetli yanıktan sonra hayatta kalmayı destekleyebilir (27). Bu bulgular APLN/APJ aksının inflamasyon ve vaskülogenez ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bizim çalışmamızda da, süperovülasyon sonrasında artan APLN ve APJ ifadesinin, embriyonun implantasyona hazırlanması sırasında artan vaskülogenez ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bunu açığa kavuşturmak için, peri-implantasyon sürecinde APLN/APJ ifadelerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Endometrioziste artan lokal APLN konsantrasyonu, endometriyumun parakrin fonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir (28). Diğer yandan gebelik sürecinde de etkin rolü olabileceğine dair kanıtlar vardır. Şöyle ki; anne serumunda insan koryonik gonadotropin (hCG) hormonunun varlığı, döllenmeden 8 gün sonra tespit edilebilir ve bu zamandan gebeliğin 10. haftasına kadar seviye artar, daha sonra hCG salgısı azalır (29). Çalışmalar bozulmuş APLN konsantrasyonlarının gebelik komplikasyonları ile ilişkili olabileceğini söylemektedir (30). 20 ng/ml APLN uygulanmasından 24 saat sonra plasental hormon olan hCG önemli ölçüde azalmıştır. Aynı çalışmada APLN, P4 ve E2 seviyelerinde ve farklı bir çalışmada intraserebroventriküler uygulama sonrasında LH ve FSH seviyelerinde de önemli bir azalmaya neden olmuştur (15,31). Çalışmamızda Knt ve GK grubunda APLN seviyesi P+H grubuna kıyasla düşüktü. P+H grubundaki artış GK grubundan anlamlı olarak farklı idi. Bu durum, APLN'nin gebelikten bağımsız olarak süperovülasyon uygulamasına bağlı olarak arttığını düşündürmüştür.

Uterus fonksiyonu, özellikle ovaryum E2 ve P4 tarafından düzenlenir. Rahim bezleri olmayan fare modelleri blastosist implantasyonu için endometriyal bez salgılarının ne kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır. Genellikle sekretuar faz defekti olarak tanımlanan yetersiz glandüler aktivitenin, kadın-

larda erken gebelik başarısızlığının altında yatan önemli bir neden olduğu varsayılmaktadır. Bezler, gebelik oluşumu, uterin reseptivite ve blastosist implantasyonu için gereklidir (32). Östrojen etkinliği östrojen reseptörleri (ER) aracılığıyla gerçekleşir. ER alfa ve beta (α ve β), vücudun çeşitli dokularında bulunabilir ve ER α 'nın yoğun eksprese edildiği bölgelerden biri de uterus (33). Uterus E2 için önemli bir hedef dokudur ve ER alfa, tüm uterus lümeni, glandüler epitel, stroma ve miyometriyumda eksprese edilir. ER alfa proliferasyon için gereklidir ve yetişkin farelerde E2 sadece luminal ve glandüler epitelin proliferasyonunu uyarır (34-36). Rahim bezleri, embriyo gelişimi için gerekli olan salgıları üretir ve taşır (37). Kontrollü ovaryen hiperstimulasyon sırasında E2 suprafizyolojik seviyelere ulaşabilir. E2 başarılı bir implantasyon için gerekli olsa da uzun süre yüksek E2'ye maruz kalmak oositte ve endometriumda hücrel ve dokusal değişimlere sebep olabilir ve E2/P oranındaki değişime bağlı olarak endometrial cevap bozulabilir. Bu durum başarısız bir implantasyonla sonuçlanabilir (38). Çalışmamızda PMSG+hCG uygulaması sonrası APLN ve APJ seviyesi artmıştır. Literatürde APLN'nin E2 üzerinde baskılayıcı rolünün olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Bu bağlamda, APLN/APJ protein ekspresyonunda görülen artışın, özellikle E2 ve P4 reseptörlerini içeren uterin bezler, uterus epiteli ile stromal hücrelerde gözlenmesi, bu artışın ovülasyon indüksiyonu sonrasında kanda artan E2 ve/veya P4 düzeyleri ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. APLN/APJ ekspresyonunda görülen değişim, E2/P4 dengesini normo/fizyolojik seviyelere getirebilme çabası ile ilişkili olarak E2/P4 metabolizmasının düzenlenmesinde etkili olabilir.

SONUÇ

Sonuç olarak, APLN/APJ proteinlerinin erken gebelik boyunca değişimini ve E2 seviyeleri ile ilişkisini araştıran yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamız, bu konuda yeni çalışmaların planlanmasına temel bilgiler sağlamıştır.

Etik Komite Onayı:

Bu araştırma, ilgili tüm ulusal düzenlemelere, kurumsal politikalara ve Helsinki Bildirgesinin ilkelerine uygundur ve Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (onay numarası: 18.10.2021/149).

Yazar Katkıları:

SA: Çalışmayı tasarlama, veri toplama ve istatistiksel olarak analiz etme, makaleyi yazma ve makaleyi gözden geçirme. ÇÇÖ: İstatistiksel analizin değerlendirilmesi ve makalenin gözden geçirilmesi.

Çıkar çatışması:

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Finansal Destek:

Bulunmamaktadır.

1. Zhou H, Yang R, Wang W, Xu F, Xi Y, Brown RA, et al. Fc-apelin fusion protein attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury in mice. *Sci Rep* 2018;8(1):11428.
2. Mercati F, Scocco P, Maranesi M, Acuti G, Petrucci L, Cocci P, et al. Apelin system detection in the reproductive apparatus of ewes grazing on semi-natural pasture. *Theriogenology* 2019;139:156-66.
3. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;251(2):471-6.
4. Antushevich H, Wojcik M. Review: Apelin in disease. *Clin Chim Acta* 2018;483:241-8.
5. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, et al. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene* 1993;136(1-2):355-60.
6. Kawamata Y, Habata Y, Fukusumi S, Hosoya M, Fujii R, Hinuma S, et al. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochim Biophys Acta* 2001;1538(2-3):162-71.
7. Xiong Q, He W, Wang H, Zhou J, Zhang Y, He J, et al. Effect of the spinal apelin/APJ system on the pathogenesis of chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats. *Mol Med Rep* 2017;16(2):1223-31.
8. Liu Q, Jiang J, Shi Y, Mo Z, Li M. Apelin/Apelin receptor: A new therapeutic target in Polycystic Ovary Syndrome. *Life Sci* 2020;260:118310.
9. Masoumi J, Jafarzadeh A, Khorramdelazad H, Abbasloui M, Abdolalizadeh J, Jamali N. Role of Apelin/APJ axis in cancer development and progression. *Adv Med Sci* 2020;65(1):202-13.
10. Kourtis A, Gkiomisi A, Mouzaki M, Makedou K, Anastasilakis AD, Toulis KA, et al. Apelin levels in normal pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;75(3):367-71.
11. Yue P, Jin H, Aillaud M, Deng AC, Azuma J, Asagami T, et al. Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010;298(1):E59-67.
12. Dray C, Knauf C, Daviaud D, Waget A, Boucher J, Buleon M, et al. Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell Metab* 2008;8(5):437-45.
13. Paradisi G, Biaggi A, Ferrazzani S, De Carolis S, Caruso A. Abnormal carbohydrate metabolism during pregnancy : association with endothelial dysfunction. *Diabetes Care* 2002;25(3):560-4.
14. Ramos MP, Crespo-Solans MD, del Campo S, Cacho J, Herrera E. Fat accumulation in the rat during early pregnancy is modulated by enhanced insulin responsiveness. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285(2):E318-28.
15. Dawid M, Mlyczynska E, Kurowska P, Sierpowski M, Rak A. Apelin decreased placental hormone secretion by human trophoblast BeWo cells via apelin receptor, protein kinase A and extracellular signal-regulated kinases 1/2 activation. *J Physiol Pharmacol* 2019;70(6).
16. Ishimaru Y, Sumino A, Kajioaka D, Shibagaki F, Yamamuro A, Yoshioka Y, et al. Apelin protects against NMDA-induced retinal neuronal death via an APJ receptor by activating Akt and ERK1/2, and suppressing TNF-alpha expression in mice. *J Pharmacol Sci* 2017;133(1):34-41.
17. Kon H, Hokao R, Shinoda M. Fertilizability of Superovulated Eggs by Estrous Stage-independent PMSG/hCG Treatment in Adult Wistar-Imamichi Rats. *Exp Anim* 2014;63(2):175-82.
18. Ainsworth L, Tsang BK, Downey BR, Marcus GJ, Armstrong DT. Interrelationships between follicular fluid steroid levels, gonadotropic stimuli, and oocyte maturation during preovulatory development of porcine follicles. *Biol Reprod* 1980;23(3):621-7.
19. Homburg R, Insler V. Ovulation induction in perspective. *Hum Reprod Update*. 2002;8(5):449-62.
20. Santos MA, Kuijk EW, Macklon NS. The impact of ovarian stimulation for IVF on the developing embryo. *Reproduction* 2010;139(1):23-34.
21. Yu B, Smith TH, Battle SL, Ferrell S, Hawkins RD. Superovulation alters global DNA methylation in early mouse embryo development. *Epigenetics* 2019;14(8):780-90.
22. Weinerman R, Mainigi M. Why we should transfer frozen instead of fresh embryos: the translational rationale. *Fertil Steril* 2014;102(1):10-8.
23. Sun X, Iida S, Yoshikawa A, Senbonmatsu R, Imanaka K, Maruyama K, et al. Non-activated APJ suppresses the angiotensin II type 1 receptor, whereas apelin-activated APJ acts conversely. *Hypertens Res* 2011;34(6):701-6.

24. Hehir MP, Morrison JJ. The adipokine apelin and human uterine contractility. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206(4):359 e1-5.
25. Kidoya H, Kunii N, Naito H, Muramatsu F, Okamoto Y, Nakayama T, et al. The apelin/APJ system induces maturation of the tumor vasculature and improves the efficiency of immune therapy. *Oncogene* 2012;31(27):3254-64.
26. Daviaud D, Boucher J, Gesta S, Dray C, Guigne C, Quilliot D, et al. TNFalpha up-regulates apelin expression in human and mouse adipose tissue. *FASEB J* 2006;20(9):1528-30.
27. Chi Y, Chai J, Xu C, Luo H, Zhang Q. Apelin inhibits the activation of the nucleotide-binding domain and the leucine-rich, repeat-containing family, pyrin-containing 3 (NLRP3) inflammasome and ameliorates insulin resistance in severely burned rats. *Surgery* 2015;157(6):1142-52.
28. Ozkan ZS, Cilgin H, Simsek M, Cobanoglu B, Ilhan N. Investigation of apelin expression in endometriosis. *J Reprod Infertil* 2013;14(2):50-5.
29. Handwerker S, Freemark M. The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000;13(4):343-56.
30. Bortoff KD, Qiu C, Runyon S, Williams MA, Maitra R. Decreased maternal plasma apelin concentrations in preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2012;31(4):398-404.
31. Taheri S, Murphy K, Cohen M, Sujkovic E, Kennedy A, Dhillo W, et al. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;291(5):1208-12.
32. Kelleher AM, Burns GW, Behura S, Wu G, Spencer TE. Uterine glands impact uterine receptivity, luminal fluid homeostasis and blastocyst implantation. *Sci Rep* 2016;6:38078.
33. Couse JF, Korach KS. Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr Rev* 1999;20(3):358-417.
34. Wang H, Eriksson H, Sahlin L. Estrogen receptors alpha and beta in the female reproductive tract of the rat during the estrous cycle. *Biol Reprod* 2000;63(5):1331-40.
35. Winuthayanon W, Hewitt SC, Orvis GD, Behringer RR, Korach KS. Uterine epithelial estrogen receptor alpha is dispensable for proliferation but essential for complete biological and biochemical responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(45):19272-7.
36. Quarmby VE, Korach KS. The influence of 17 beta-estradiol on patterns of cell division in the uterus. *Endocrinology* 1984;114(3):694-702.
37. Stewart CA, Fisher SJ, Wang Y, Stewart MD, Hewitt SC, Rodriguez KF, et al. Uterine gland formation in mice is a continuous process, requiring the ovary after puberty, but not after parturition. *Biol Reprod* 2011;85(5):954-64.
38. Joo BS, Park SH, An BM, Kim KS, Moon SE, Moon HS. Serum estradiol levels during controlled ovarian hyperstimulation influence the pregnancy outcome of in vitro fertilization in a concentration-dependent manner. *Fertil Steril* 2010;93(2):442-6.