

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA İMPLANTASYONDA ENDOMETRİYUM DOKUSUNUN
HUMORAL VE HÜCRESEL SAVUNMA SİSTEMİ HÜCRELERİ ÜZERİNDE
HİSTOKİMYASAL VE HİSTOMETRİK ARAŞTIRMALAR

DOKTORA TEZİ

Veteriner Hekim Ahmet KOÇ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman

Doç. Dr. Mehmet KANTER

88468

Van 1999

T.C. YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

4

SIÇAN

HUMOR



* Bu araştırma ,
olarak desteklenmiştir

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA İMPLANTASYONDA ENDOMETRİYUM DOKUSUNUN
HUMORAL VE HÜCRESEL SAVUNMA SİSTEMİ HÜCRELERİ ÜZERİNDE
HİSTOKİMYASAL VE HİSTOMETRİK ARAŞTIRMALAR

DOKTORA TEZİ

Veteriner Hekim Ahmet KOÇ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman
Doç. Dr. Mehmet KANTER

88468

Van-1999

* Bu araştırma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 97.VF.002 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA İMPLANTASYONDA ENDOMETRİYUM DOKUSUNUN
HUMORAL VE HÜCRESEL SAVUNMA SİSTEMİ HÜCRELERİ ÜZERİNDE
HİSTOKİMYASAL VE HİSTOMETRİK ARAŞTIRMALAR

DOKTORA TEZİ

Veteriner Hekim Ahmet KOÇ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman

Doç. Dr. Mehmet KANTER

88468

Van 1999

T.C. YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA İMPLANTASYONDA ENDOMETRİYUM DOKUSUNUN
HUMORAL VE HÜCRESEL SAVUNMA SİSTEMİ HÜCRELERİ ÜZERİNDE
HİSTOKİMYASAL VE HİSTOMETRİK ARAŞTIRMALAR

DOKTORA TEZİ

Veteriner Hekim Ahmet KOÇ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Reşat N. AŞTI




Üye

Doç. Dr. Mehmet KANTER



Üye

Doç. Dr. Mecit YÖRÜK



Tez Kabul Tarihi : 21.07.1999

İÇİNDEKİLER

1. ÖZ	3
2. ABSTRACT	4
3. ÖNSÖZ	5
4. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	6
4.1. Giriş	6
4.2. Genel Bilgiler	8
4.2.1. Uterusun anatomisi	8
4.2.2. Uterusun histolojisi	8
4.2.3. Seksüel siklus	9
4.2.4. Fekondasyon	11
4.2.5. İmplantasyon (Nidasyon)	11
4.2.6. Desidualizasyon	14
4.2.7. İmmun sistem hücreleri	16
4.2.8. İmplantasyonda immün yanıt	21
5. MATERYAL VE METOT	28
5.1. Materyal	28
5.2. Metot	28
5.2.1. Östrüs döneminin tespiti	28
5.2.2. Gebeliğin ilk gününün tespiti	28
5.2.3. Doku örneklerinin alınması ve değerlendirilmesi	28
5.2.4. Plazma hücresi sayımı	29
5.3. İstatistik Analizler	29
6. BULGULAR	30
6. 1. Hücresel Savunma Sistemi Hücreleri	30
6.1.1. İmplantasyonun birinci günü	30
6.1.2. İmplantasyonun ikinci günü	37
6.1.3. İmplantasyonun üçüncü günü	40
6.1.4. İmplantasyonun dördüncü günü	43
6.1.5. İmplantasyonun beşinci günü	47
6.1.6. İmplantasyonun altıncı günü	50

6.2. Sıvısal Savunma Sistemi Hücresi	53
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	58
8. ÖZET	66
9. SUMMARY	67
10. KAYNAKLAR	68
11. ÖZGEÇMİŞ	75



1.ÖZ

Bu çalışma, implantasyonda sıçan endometriyum dokusunun hücrel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin dağılımları ve yoğunluklarının histokimyasal ve histometrik yöntemlerle belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Çalışmada, 42 adet dişi Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlardan alınan uteruslardan hazırlanan kesitlere, plazma hücrelerini belirlemek için metil green - pironin boyama yöntemi ve kriyostat'ta alınan kesitlere de, alfa naftil asetat esteraz pozitif hücreleri belirlemek için ANAE enzim boyaması yapıldı.

T - lenfositlerin ve uterus doğal öldürücü hücrelerinin (uNK'ların), implantasyonun ilk üç gününde desidual alan içinde gittikçe arttığı; endometriyumda ise, desidual alana göre daha az olan bu hücrelerin sayısının üçüncü günde desiduadaki hücre sayısına yakın bir oranda artış gösterdiği gözlemlendi. İmplantasyonun dördüncü gününden itibaren endometriyumda azalmaya başlayan bu hücrelerin sayılarında, altıncı günde yeniden şekillenen endometriyumla birlikte bir artışın olduğu görüldü. İmplantasyonda endometriyumda bulunmayan makrofajların miyometriyumda oldukça fazla sayıda olduğu tespit edildi. Plazma hücrelerinin, implantasyonun ilk gününde, desidual alan ile birlikte endometriyumda fazla sayıda bulunduğu, implantasyonun ikinci ve üçüncü günlerinde ise azaldığı görüldü. İmplantasyonun dördüncü gününden itibaren son gününe kadar desidual alan içinde plazma hücrelerinin bulunmadığı, endometriyum'da ise bu hücrelerinin sayısının en az seviyede olduğu gözlemlendi. İmplantasyonun beşinci gününden altıncı gününe doğru reepitelizasyonla birlikte endometriyum'un kalınlaştığı ve plazma hücrelerinin sayısında artış olduğu belirlendi.

Bu çalışmada, endometriyum dokusunun hücrel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin implantasyonun farklı günlerine göre değişik dağılımlar ve yoğunluklar gösterdiği tespit edildi. Maternal immun tepkinin baskılanarak fötüs'un canlılığını sürdürmesinde, diğer bazı faktörlerin (genetik ve hormonal) yanı sıra implantasyon sürecinde endometriyum dokusunun savunma sistemi hücrelerinin dağılımlarında meydana gelen değişimlerinde etkili olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler : Sıçan, endometriyum, implantasyon, hücrel ve sıvısal savunma hücreleri.

2. ABSTRACT

This study was performed to investigate the distribution and density of the cellular and the humoral immune system cells in the endometrium tissue of the rat with histochemical staining and histometric methods during implantation.

Forty-two female Wistar albino rats were used. The plasma cells were stained with the methyl green-pyronin method. The other sections cut using a cryostat microtome were stained with the Acid α -Naphthyl Acetate Esterase in order to observe ANAE positive cells.

The number of lymphocytes and uterine natural killer cells increased in desidual area during the first three days of the implantation. The number of these cells in endometrium was less than that in desidual area but, they became equal at the end of third day of implantation. The number of these cells appeared less on the fourth day of implantation but with the growth of endometrium it increased again by sixth day of implantation. Macrophages that were not found in endometrium at implantation were abundantly detected in myometrium. Many plasma cells were seen both in desidual area and endometrium at first day of implantation. The number of these cells decreased in these areas on the second and third days of implantation. There were no plasma cells in desidual area from the fourth day to the end of implantation. However, endometrium had few plasma cells during the same period. From the fifth through sixth days of implantation endometrium thickened and the number of plasma cells increased with reepithelization.

In this study, the distribution and density of the cellular and humoral immune system cells in the endometrium tissue during implantation were determined. It was concluded that in the suppression of the maternal immune response to allow fetus survive, the changes in the distribution of immune system cells in endometrium during implantation may be important beside other factors such as genetically and hormonal determinants.

Key Word : Rat, endometrium, implantation, cellular and humoral defence cell,

3. ÖNSÖZ

Bu araştırmada, implantasyonda sıçan endometriyum dokusunun hücrenel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin dağılımları ve yoğunluklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece histolojik teknikler kullanılarak implantasyonda endometriyum dokusunun savunma sistemi hücrelerinin dağılımının belirlenmesiyle, uterusun bakterileri elimine etmesi ve onlara karşı direnç kazanmasına, nedeni bilinmeyen infertilite olgularıyla immunolojik tepki arasındaki ilişkilerin ve bazı embriyo ölümlerinin aydınlatılmasıyla ilgili araştırmalara temel oluşturması amacıyla bu konuda araştırma yapılmasına karar verilmiştir.

Bu tez araştırmamın her aşamasında ilgi ve desteğini esirgemeyen, her konuda yol gösterici olan sayın danışman hocam Doç. Dr. Mehmet KANTER' e, çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen sayın hocalarım Doç. Dr. Mecit YÖRÜK ve Yrd. Doç. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ' e, ayrıca araştırmamda maddi destek sağlayan Y.Y. Ü. Araştırma Fonu Başkanlığı'na ve yardımları nedeniyle Anabilim Dalımızdaki arkadaşlarıma teşekkür ederim.

4. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

4.1. Giriş

İnsanlarda, merak ve araştırma eğiliminin ortaya çıkması, onu yakın çevresiyle ilgilenmeye yöneltmiştir. Böylece, insanoğlu, asırlardır kendi varlığının oluşumunu ve geçmişi hakkındaki gizemini açıklamaya çalışmıştır.

Spermatogenezis ve oogenezis sonucu gelişen ve olgunlaşan erkek üreme hücresi spermatozoon ile dişi üreme hücresi ovum'un uygun koşullarda, tuba uterina'da bir araya gelerek zigot'u oluşturmalarına *döllenme* ya da *fekondasyon* adı verilmektedir. Normal koşullarda, sağlıklı dişilerin uterusunda embriyo'nun reddedilmesi, buna karşı oluşan immun tepkinin baskılanmasıyla önlenir. Genetik şifrenin yarısını babadan alan embriyo, anne için bir allograft (akraba olmayan veya farklı ırktaki bireyler arasında nakledilen dokular) olarak tanımlanmaktadır. Bu fötal allograft'ın immun sistem hücrelerinden etkilenmeden uterusu yerleşmesi ve gelişmesini tamamlayarak doğum ile vücuttan ayrılması bilim adamları için ilgi çeken bir araştırma konusu olmuştur.

Üreme immunolojisi, özellikle dişi hayvanlarda, nedeni bilinmeyen infertilite olguları ile erken embriyo ölümlerini açıklamaya çalışan ve immun sistemin gelişmesinden sonra meydana gelen zigot'un, immun sistem hücrelerinden etkilenmeden endometriyuma yerleşerek gelişimini nasıl devam ettirdiğini araştıran bir bilim dalıdır. Son yirmi yıl içinde immunoloji alanında önemli gelişmeler olmuştur. İşaretlenmiş antijenler kullanılarak yapılan flüoresans antikor tekniği, monoklonal antikorlar kullanılması ve radioimmunoassay (RIA) gibi son teknolojilerle, immunoloji bilim dalında moleküler düzeyde önemli araştırmalar yapılmaktadır. İmmunoloji alanındaki bu gelişmelere paralel olarak üreme immunolojisinde de benzer tekniklerin kullanımı sonucu, döllenme ve implantasyon olaylarının mekanizmaları, sperm hücresi ve fötal antijenlere karşı immunolojik tepkide ne tür değişikliklerin meydana geldiği, gebelik süresince genital kanaldaki immunolojik olayların nasıl geliştiği gibi konuların anlaşılması kolaylaşmıştır.

Hayvan yetiştiriciliğinde özel önem verilen konulardan birisi de, döl veriminin artırılması ile ilgili çalışmalardır. Bundan dolayı son yıllarda suni tohumlama ve embriyo transferi gibi konularda önemli gelişmeler sağlanmıştır. Bu tip çalışmalarla, döl veriminin artırılması yanı sıra immunolojik yöntemlerle infertilite olgularının da aydınlatılması amaçlanmıştır. Ayrıca, genital kanalda oluşan immunolojik reaksiyonların aydınlatılmasının gebeliğin önlenmesinde önemli katkısının olacağı üzerinde

durulmaktadır. Veteriner hekimlikte, özellikle kedi ve köpek gibi evcil hayvanların gebeliklerinin engellenmesi için cerrahi yöntemlerin yerine bu immunolojik reaksiyonların kullanılması yönünde çalışmalar yapılmaktadır.

İmplantasyon döneminde, fötüs'a karşı oluşan maternal immun tepkinin, hücresel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin dağılımlarındaki değişikliklerden kaynaklandığı sanılmakla birlikte, bunun nasıl olduğu tam olarak bilinmemektedir. Endometriyumdaki hücresel bağışıklığın elemanlarından olan T-lenfositler, doğal öldürücü hücreler, makrofajlar ve sıvısal bağışıklıkta rol alan plazma hücrelerinin sayı ve dağılımlarındaki değişimlerin belirlenmesi ve uterustaki immunolojik bariyerin ortaya konulması ile implantasyonun bilinmeyen mekanizmalarının açıklanmasına yardımcı olacağı kanısına varıldı.

Bu çalışmada sıçanlarda, implantasyonda endometriyum dokusunun hücresel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin dağılımları ve yoğunluklarının histokimyasal ve histometrik yöntemlerle incelemesi amaçlandı.

4.2. Genel Bilgiler

4.2.1. Uterusun anatomisi

Dişi üreme sistemi ovaryum'lar, tuba uterina'lar, uterus, dış genital yapı olan vagina (1) ve meme bezlerinden oluşmaktadır (2). Bu organlardan uterus, kompleks yapısı ve kendisinin de meydana gelen biyokimyasal ve morfolojik değişimler ile araştırmacılar tarafından üreme sisteminin hedef dokusu haline gelmiştir. Bundan dolayı bir çok bilim adamının merakını uyandıran ve üzerinde geniş araştırmaların yapıldığı önemli bir organdır. İnsan uterusunu, ilk kez M.Ö. 200 yıllarında yaşamış Efes'li Soranus on beşinci yüzyılda da Leonardo de Vinci ve Vesalius kadavrular üzerinde yaptıkları araştırmalarla ayrıntılı bir şekilde tarif etmişlerdir (3).

Uterus, memelilerde embriyonun yerleştiği, korunduğu ve yeterince gelişen fötüs'un, doğum sırasında kendi kasılmaları ile dışarı çıkmasını sağlayan bir organdır (4). Hayvanlarda iki boynuzlu (uterus bicornis), insanda ise basit yapıdadır (uterus simpleks) (5). Kemiricilerde ve etçillerde karın boşluğunda, diğer hayvanlarda ise karın boşluğu ile kısmen de pelvis boşluğunda yer alır. Ligamentum latum uteri (mezometriyum) adı verilen peritondan gelen, iki büyük bağla sublumbal bölgeye asılmıştır. Müller kanallarının orta kısmının kaynaşması ile meydana gelen uterus, evcil hayvanlarda, birbirinden çok az farklılıklar gösterir (4, 6).

Tavşanda korpus uteri ve serviks uteri bir bölme ile ikiye ayrılmış olup, her iki kornu birbirinden bağımsız olarak vaginaya açılırlar (uterus dubleks) (7). Farelerde iki kornu uteri, eksternal görünümlü kısa bir korpus uteri (iki ayrı kanal), vaginaya ayrı ayrı açılan iki serviks uteri ve kısa, kassel bir vagina bulunur (8). Sıçanlarda uterus 4-6 cm uzunlukta olup, iki kornu uteriye sahiptir ve bu uzun kornu uteri distalde eksternal olarak birleşmesine karşın, iki taraflı serviks kanalıyla vaginaya açılırlar (uterus dubleks) (9, 10).

4.2.2. Uterusun histolojisi

Uterusun duvarı tunika mukoza (endometriyum), tunika mükülaris (miyometriyum) ve tunika seroza (perimetriyum) olmak üzere üç katmandan meydana gelir (1, 5). Endometriyum ise lamina epitelyalis ve lamina propriya olmak üzere iki alt katmandan oluşur (5, 6). Lamina epitelyalis insan, at, etçiller ve sıçanlarda tek katlı prizmatik, geniş getirenlerde ve domuzda yalancı çok katlı prizmatik örtü epiteli ile örtülüdür. Gerek tek katlı gerekse yalancı çok katlı diziliş gösteren prizmatik epitel hücrelerinin bir kısmı kinosilyumludur. Silyum içermeyen hücrelerin sitoplazmalarında

salgı granülleri bulunur. Hareketleri vaginaya yönelik olan silyumlar, özellikle insanda siklusun son yarımında görülür (5, 11). Lamina propriya, içinde yer yer dallanma gösteren basit tubuler uterus bezlerini de (Gll. Uterinae) bulunduran hücrelerden zengin bağ dokusudur (5). Endometriyum, puberteden menopoza kadar olan süre içinde üterinal siklus boyunca histolojik ve fonksiyonel olarak en büyük değişikliklerin meydana geldiği uterusun bir alt katmanıdır (1).

4.2.3. Seksüel siklus

Memelilerde ve insanda erişkin dönem içinde uterusda gelişen değişiklikler uterinal (menstrual) siklus olarak adlandırılmaktadır (12, 13). Organın fonksiyonel durumuna, diğer bir ifade ile ovariyal siklusun evresine göre değişebilen bir endometriyal yapı gözlenir (1). Örneğin uterinal bezlerin miyometriyuma bakan tarafları düz olmasına karşın, uterus lumenine bakan kısımları kıvrımlıdır. Ovaryum hormonlarının etkisi ile gebelik döneminde, endometriyumda yer alan uterinal bezlerin ve bağ dokusundaki hücrelerin fonksiyonel yapılarında değişiklikler meydana gelir (2). Ayrıca, bez epitelinde ileri derecede glikojen oluşmaya başlar ve salgı içeriği lumende birikir (13).

Endometriyum, ovariyal siklusa bağlı olarak aşağıdaki evreleri geçirir (3, 6).

1- *Proliferasyon evresi*: Ovaryum folliküllerinin olgunlaştığı ve follikül hormonlarının salgılandığı döneme rastlar. Bu yüzden bu evreye *follikül hormon evresi* de denir. Follikül hormonu etkisiyle endometriyum kalınlaşır. Bu kalınlaşma, bağ dokusu hücrelerindeki artış sonucu lamina propriyanın genişlemesi ve uterus bezlerinin büyümesiyle olur. Bağ dokusu katmanının genişlemesiyle birlikte çok uzayan uterus bezleri de lamina propriya'ya sığabilmek için kıvrımlar da yapar (1, 3).

2- *Sekresyon evresi*: Ovulasyonu izleyen dönemde görülür ve bu evreye *lutein hormonu evresi* de denir. Bu dönemde uterus bezleri salgı yapmaya başlar. Bez epitel hücrelerinin sitoplazması ve bezlerin lumeni salgı ile dolarak daha hacimli görünüm kazanır; ayrıca bezler daha kıvrımlı bir durum alır. Kılcal damarların geçirgenliği bu dönemde arttığı için lamina propriya ödemli görünür. Şayet tuba uterina'da dölleme olmuş ise, çevresi trofoblast'lardan oluşan embriyo, bu şekilde değişme gösteren endometriyuma implante olur. Gebeliğin sürdüğü durumlarda, endometriyum bez epitel hücrelerinde bol miktarda yoğun glikojen partikülleri ve granüllerin artması, ayrıca bezin lumeninde homojen salgı ve yoğun damlacıkların birikimi sonucu, blastosistin implantasyon öncesi beslenmesi için gerekli olan "*uterus sütü*" oluşur. Lamina

propriyadaki hücrel ve fibriller değişiklikler, tamamen blastosistin implantasyonu için uygun ortamı hazırlama amacına yöneliktir (3, 11).

3- *İnvolusyon evresi*: Bir dölleme olmadığı taktirde sekresyon evresi sonunda endometriyum tekrar inaktif duruma geçer; sekresyon durur, bezler küçülür ve endometriyum'un kalınlığı azalır (1, 5).

Bütün bu değişimlere bağlı olarak endometriyum iki temel kısımda incelenir.

1- *Fonksiyonel kısım*: Endometriyumun üçte ikisini oluşturan ve menstruasyonla birlikte dökülen kısımdır. Gebelik halinde blastosist, endometriyumun bu kısmına implante olur (3, 5).

2- *Bazal kısım*: Menstruasyondan etkilenmeyen ve fonksiyonel kısmın oluşmasına kaynaklık eden endometriyumun üçte birlik kısmını oluşturan alt bölümüdür. Bu bölüm ovaryum hormonlarının kontrolü altında ileri derecede mitotik aktivite gösterir (1, 6). İnsanda, maymunlarda ve kemiricilerde endometriyum'un bazal bölümündeki spiral arteriyollerin sürekli kontraksiyonu sonucu endometriyum'un yukarı bölümlerine kan gitmez. Bunun sonucunda da, beslenemeyen tüm oluşumlarda nekroz başlar. Daha sonra spiral arteriyollerde kontraksiyon sona erince, beslenemediği için yukarı kısımlarda ölen damarlarda yırtılmalar olur ve kan, ödemli lamina propriya'ya yayılır (3). Endometriyum fonksiyonelis'in tamamen yıkılmasıyla da bu kanla bulaşık nekrotik doku parçaları uterus lumenine dökülür. Söz konusu bu olay insandaki menstruasyon evresi'dir. Bu dönemi, yıkılan ve bütünlüğü bozulan endometriyum'un yenilenme (rejenerasyon) evresi izler. Nekrotik bölümleri atıldığı için incelmış olan endometriyum'da uterus bez epitelleri, çoğalarak lamina epitelyalis'i şekillendirir ve lamina propriya'yı uterus lumeninden sınırlandırır (2, 13).

Endometriyum, miyometriyumla ilişkilidir ve aralarında kesin bir anatomik sınır yoktur. Miyometriyum düz kas hücrelerinin oluşturduğu uterusun en kalın tabakasıdır. Düz kas hücreleri, içte (endometriyum tarafında) sirküler yönlüdür ve daha kalın bir katman oluşturur. Dışta (perimetriyum tarafında) bulunan katman ise longitudinal yönlü kas hücrelerinden şekillenir ve daha incedir. Bu iki kas katmanı arasında kan damarlarından zengin stratum vaskulare adı verilen bir bölge bulunur. Gebelik esnasında miyometriyum büyük bir büyüme sürecine girer. Büyüme, hem hipertrofi hem de hiperplazi (düz kas hücrelerinin sayısında artış) şeklinde olur. Vücudun en uzun düz kas hücreleri burada bulunur. Bu uzunluk gebelik esnasında en ileri düzeye ulaşır (800 µ). Bu dönemde birçok

düz kas hücresi, protein sentezi yapan hücrelerle benzer ultrastruktürel özelliklere sahip olur ve kollagen sentezler. Bundan dolayı uterus kollagen içeriğinde önemli derecede artış olur. Gebelik sonrası, bazı düz kas hücrelerinde bozulma, bazılarında da azalma ve nihayet kollagen yapımında enzimatik bir gerileme görülür. Böylece uterus, gebelikten önceki büyüklüğüne ulaşır (3, 5, 11).

4.2.4. Fekondasyon

Ovum'unun döllenmesi, ovidukt'un ampullasında olur. Yarıklanmaya başlayan zigot, tuba uterina'daki tüylerin ritmik hareketi sayesinde ve oluşturulan bir sıvının da yardımıyla pasif olarak uterusu doğru hareket eder. Mitoz'un devam etmesi halinde morula oluşur. Zona pellucida ile örtülü bulunan morula, döllenmiş ovumunkine yakın ölçülere sahiptir. Zigotun segmentasyonla bölünmeleri sonucu ortaya çıkan hücrelere *blastomer* denir (14). Oviduktun lumeninden gelen sıvının giderek çoğalması sonucunda morulanın merkezinde bir boşluk oluşur. Hücreler arasında biriken sıvı ile bu boşluk gittikçe küre şeklini alır. Buna *blastosist* denir. Blastomerler periferal bir tabakayı, dış hücre grubunu (trofoblast) düzenlerken, belli bir noktada daha kalın bir iç hücre kitlesini (inner cell mass) oluşturur. Bu hücre topluluğu blastosist boşluğunda şişkinlik yaparak kendini belli eder. Buna nodus embriyonalis adı da verilir. Blastosist safhasında, zona pellucida gittikçe incilir ve daha sonra kaybolur. Böylece mukozayı delme kapasitesine sahip trofoblast hücreleri ile endometriyum karşı karşıya gelir. Bundan sonra trofoblast hücreleri hızlı bir şekilde çoğalırken bir taraftan da embriyo endometriyum'daki uterinal bezlerden salgılanan uterus sütü ile beslenmesine devam eder (11, 14).

4.2.5. İmplantasyon (Nidasyon)

İmplantasyon veya nidasyon (tutunma) uterus epiteli üzerinde küçük nekroz sahaları ile yuvalanma ve nüfuz etme şeklinde olur (15). Bu durum insanlarda gebeliğin 6-7. günlerinde başlar, 11-12. günlerinde tamamlanır. Sıçanlarda ise 5-6. günlerde başlar, 10-11. günlerde biter (16).

İmplantasyon endometriyum'un sekresyon fazında meydana gelir. Uterus bezleri glikoproteinleri salgılar, damarlar genişler ve lamina propria'nın yüksekliği hafifçe artar. Genişleyen hücreler arası alanlarda uterinal sıvı birikerek ödemsî bir durum oluşur. Bu da embriyonun gelişmesi için çok iyi bir ortam sağlar (17, 18).

İmplantasyon esnasında, blastosist'in etrafını çevreleyen trofoblast hücreleri ile uterus epiteli arasında, başka bir ifadeyle embriyo taslağı ile anne arasında ileri derecede

fizyolojik ve biyokimyasal etkileşimler, yapısal farklılaşmalar gerçekleşir. Bu karşılıklı etkileşim hücresel, hormonal ve henüz tanımlanamayan diğer faktörler düzeyinde olur. İmplantasyonun başlangıç zamanı, uterusun hacmi, şekli, yapısı ve blastosist'in hacmi ile anneye ait hormonal dengelerden kaynaklanan farklılıklardan dolayı türden türe değişir (15, 18). İmplantasyon sırasında yüzey epiteli, tüm silyalı özelliğini kaybederek sadece küt sitoplazmik köprüler halinde gözlenen tümsekçikler aracılığı ile blastosist arasında bir iletişim kurar (15, 19).

Deneysel embriyolojide implantasyon süreci şu evrelerde incelenir:

A. Preimplantasyon evresi

1. İnterimplantif faz
2. Prekontakt faz

B. Aktuel implantasyon evresi

1. Appozisyon faz
2. Adezyon faz
3. Penetrasyon veya invazyon faz (17, 18, 20).

İnterimplantif fazda, uterus kabarık bir yüzey ile birlikte, ileri derecede dallanma gösteren mikrovilluslu bir epitele sahiptir. Bu faz aynı zamanda bazı memeliler için metöstrus olarak bilinir (18).

Prekontakt faz, türler arasında farklılıklar gösterir. İmplantasyonun gecikmesi ve uzaması bu dönemde gerçekleşir. Blastosist örtülerinden zona pellusida ilk olarak bu dönemde erimeye başlar, bunun yerine neozona'nın geçmesiyle birlikte blastosist'in uterinal epitel ile ilk fiziksel temasının başlamasıyla bu dönem son bulur. Ancak, içinde sekresyon ürünlerinin bulunduğu her iki doku arasında oluşan ve oldukça dar olan bu aralıkta gerçek bir kontak oluşmaz (15, 21).

Aktuel implantasyonun appozisyon fazında, blastosist hareketsizdir. Bu dönemde iki implantif doku kontak sürecine girer. Trofoblast ve uterinal epitel hücre membranları arasında ileri bir yaklaşma olur ve kontak alanlarında, her iki dokuya ait hücrelerin apikal sitoplazmalarında bazı modifikasyonlar gözlenir. İki epitel yüzeyi arasında yalancı ayak benzeri sitoplazmik çıkıntılar aracılığıyla intersellüler bağlantılar oluşur. Kemiricilerde bu tip yapılar yaygın olarak belirlenmiştir. Trofoblast'ta fagositik aktivite, endometriyal epitelde de mikrovillus düzleşmesi ve glikokaliks kaybı gibi morfolojik değişiklikler gözlenir (18, 22).

Adezyon fazda, blastosist örtülerinin erimesinden hemen sonra başlayan bu dönemde embriyo ile anne arasında ilk temas gerçekleşir. Trofoblast ile uterus epiteli arasında gerçek düğüm şeklinde sitoplazmik köprüler kurulur. Hücreler arası mesafe 200 A° 'dan daha azdır. İmplant olan dokular arasında interdigitasyonlar oluşmaya başlar. Trofoblast ve uterinal yüzey epitellerinde dejeneratif düzeyde ileri bir morfolojik değişim olmadan blastosist uterus yüzeyine tutunur (17, 23).

Penetrasyon veya invazyon faz, memeli türlerine göre değişebilir. Hormonal ve mekanik etkenler, genetik faktörler ve desidual bariyer hazırlıkları (trofoblast'ın invazif özelliğine karşı oluşturulan bariyer) trofoblast'a karşı direncin yok olmasını sağlar (15, 18).

Hayvan türlerine göre penetrasyon fazı üç tipte olur.

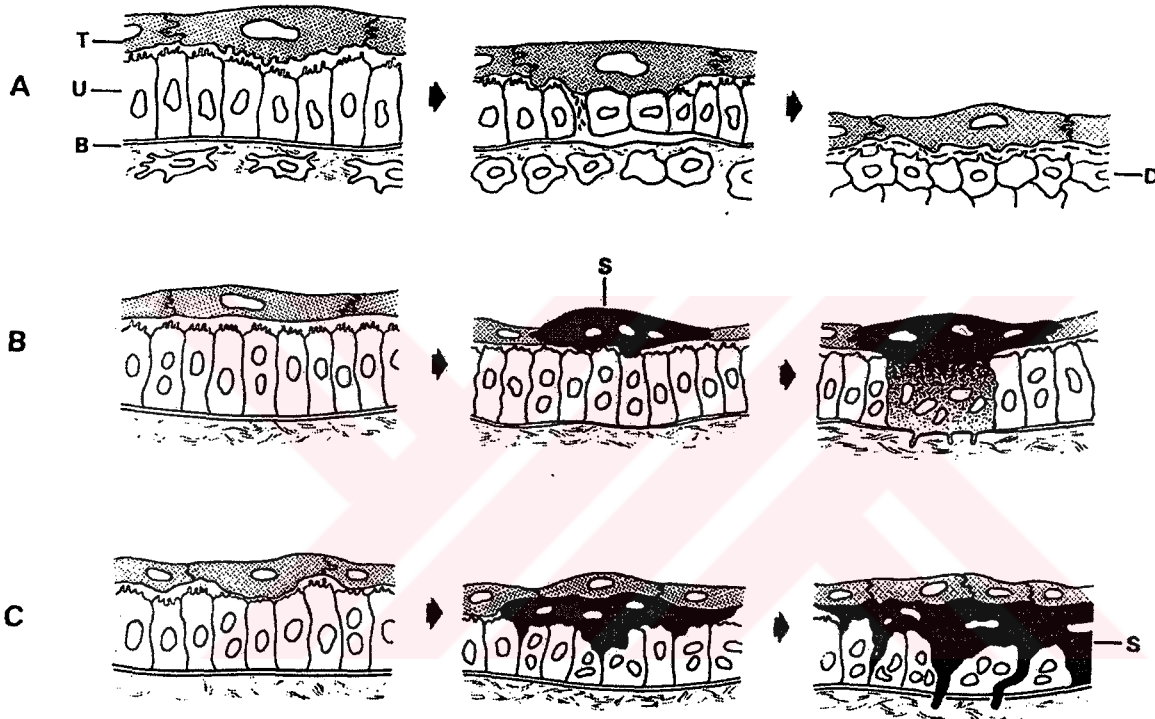
1- *Yer değiştirerek penetrasyon*, trofoblast'ın uterus epitelini ortadan kaldırarak onun yerine geçtiği penetrasyon tipidir. Tipik olarak kemiricilerde gözlenir. Blastosist uterus epitelinin apikal hücre membranına tutunur. Bundan sonra bu hücreler dejenere olur ve bazal laminadan ayrılır. Sonuçta bazal laminanın penetrasyon'u, trofoblast'ın kendi penetrasyon aktivitesinden ziyade, alttaki desidual hücreler tarafından başlatılır (21).

2- *Kaynaşarak penetrasyon*, invazif dokunun sinsityum aracılığı ile uterus duvarına kaynaşmasıdır. Tutunmuş olan trofoblast'ın apikal hücre membranı, uterus epitel hücrelerinin apikal membranları ile kaynaşarak hem maternal hemde trofoblast hücrelerden köken alan karışık bir sinsityum oluştururlar. Daha sonra sinsityum, bazal lamina ve endometriyal bağ dokusuna aktif olarak penetre olur ve sonuçta maternal kan damarlarını yavaş yavaş eritir. Bu tip implantasyon tavşanda tanımlanmıştır. Bu penetrasyonda ilginç olan durum ise, iki farklı hücre arasında oluşan sinsityumdaki farklı iki genom arasındaki transkripsiyon aktivitesinin nasıl olduğudur. Bu konu hakkında şimdiye kadar hiçbir bilgi elde edilememiştir (17).

3- *Zorla penetrasyon*, uterus epitel hücreleri ile trofoblastik sinsityum uzantıları bağlantılar yaparak hücrelerarası aralıklara girer ve epitel hücrelerinin aralarında oluşan bu yarıkları doldurur. Aynı zamanda trofoblast ve uterus epiteli arasında da yeni bağlantı kompleksleri oluşur. Bazı türlerde maternal ve trofoblastik orijinli karışık sinsityal oluşumlar gözlenir. Sinsityal trofoblast bazal laminaya ulaşır, onu ayırır ve trofoblast tarafından fagosite edilir. Trofoblast, bazal laminanın ortadan kalkmasıyla endometriyum lamina propriyasına nüfuz eder. Bu tip implantasyon, endotelyokoriyal tip plasentalarda çok derinleşmez (karnivorlarda olduğu gibi), fakat primatlarda ve insanda gözlenen

hemokoriyal plasentalarda derinleşir ve bu implantasyon şekli insana özgü bir özellik kazanır (17, 19).

Bu üç penetrasyon modeli (Şekil 1), uterus epitel hücreleri ile trofoblast hücrelerinin apikal hücre membranlarının kaynaşması ile başlayan ilginç bir olaydır. Çünkü normalde epitel hücrelerinin apikal hücre membranları non-adezivdir. Bundan dolayı iki hücrenin apikal hücre membranlarının kaynaşması söz konusu olmadığından bu olay biyoloji'nin ilgi çekici bir noktasını oluşturmaktadır (15, 19).



Şekil 1. İmplantasyonun başlangıcında trofoblast-uterus epiteli etkileşimini gösteren çizim. A: Yer değiştirerek penetrasyon tipi (sıçan, fare) B: Kaynaşarak penetrasyon tipi (tavşan) C: Zorla penetrasyon tipi (karnivor, insan) T: Trofoblast, U: Uterus epiteli, B: bazal lamina, D: Desidua, S: Sinsityotrofoblast (19).

4.2.6. Desidualizasyon

Uterinal siklus esnasında endometriyum'da bir seri değişimler olur ve epitel altındaki lamina propriya'da bulunan bağ dokusu hücreleri desidua hücrelerine dönüşür. Ancak, bu süreçte uterus epiteli tüm özelliklerini korur. Desidualizasyon dediğimiz yapısal değişim ise, progesteronun etkisinde olan endometriyal siklusun sekresyon fazında ilk kez görülür. Desidualizasyon, endometriyal stroma hücrelerinin farklılaşarak sitoplazmik bazı organellerin sayısındaki artış ile birlikte sentez yapma ve salgılarını boşaltma gibi

özellikler kazanan bu hücrelerin epiteloid karakterde hücelere dönüşmesi olayıdır. Hücrelerde bol miktarda glikojen birikir, bazen de lipid damlacıkları bulunabilir. Tipik olgun bir desidua hücrelerinin çevresinde arjirofilik ipliksel materyalden oluşmuş bir periferel lamina bulunur, bu da yapısal özelliği ile epitel bazal laminasını andırır (17). Desidua hücreleri, sıkı bir şekilde yanyana gelen poligonal, ökromatik yapıda iri nukleuslu ve belirgin bir çekirdeğe sahip hücrelerdir. Bu hücrelerin, uterus epiteli altında oluşturdukları bu tertiplenme, desiduya sıkı bir özellik kazandırır ve bu nedenle de endometriyum'un bu yüzlek kısmına zona kompakta denilir (3, 24). Kompakt bölgenin altında bulunan pars fonksiyonals'in derin katında, bezler arasındaki bağ dokusu elemanları en az düzeydedir. Bu nedenle mikroskopik gözlemlerde bu bölge tıpkı bir sünger gibi gözenekli görüldüğünden zona spongiyoza olarak adlandırılır. Bu yapının zona spongiyoza olarak ifade edilmesinde bezlerin de rolü vardır (1).

Abrahamsohn ve Zorn (25) desiduanın görevlerini aşağıdaki şekilde sıralamışlardır.

- 1- Embrioyu beslemesi
- 2- Çok yavru doğuran hayvanlarda embriyoları birbirinden ayırması
- 3- Plasental gelişme esnasında embriyonun damar sisteminin oluşumuna katkıda bulunması
- 4- Trofoblastik invazyonu sınırlaması
- 5- İmmuno-supresif maddeler salgılaması
- 6- İmplantasyon döneminde doğal öldürücü hücrelerin aktivitesini artırması

Son yıllarda, desiduanın yukarıdaki görevleri arasında sekresyon, trofoblastik invazyonun kontrolü ve implantasyonda oluşan maternal immün tepkiye eşlik etmesi gibi fonksiyonları daha da öne çıkmaktadır. Ayrıca implantasyon sürecinde desiduanın, blastosist'i çevreleyen geçici bir bariyer olarak ta görev yaptığı şeklinde görüşler de ortaya atılmıştır. Elektron mikroskopik çalışmalarla belirlenen desidual hücreler arasında bulunan tight junction'ların, bu bariyerin oluşumunda önemli bir rolünün olduğu gösterilmiştir (21, 26).

Desidua, desidua bazalis, desidua kapsüllaris ve desidua pariyetalis olmak üzere üç katmandan oluşur.

1. *Desidua Bazalis*

Koryon frondozumdan farklılaşarak gelişen plasentanın karşı yönündeki maternal doku kompleksini oluşturur. Desidua bazalis, kendi yapı ve fonksiyonu nedeniyle

gebelikte, çok önemli fonksiyonları olan maternal plasentaya aittir. Plasentasyon esnasında trofoblastik invazyonu durduran, immunolojik bariyeri kuran, gebelikten sonra da endometriyumunu yenileyebilme yeteneğine sahip olan bir yapıdır. Trofoblastik hücre kolonlarıyla ortaklaşa plasental septaları oluşturur. Uterus'un spiral arterlerine ve drenaj venlerine yataklık eder (17).

2. *Desidua Kapsüllaris*

Embriyo taslağının uterus lumenine bakan tarafındaki koryon leveye karşı sınırlayıcı, endometriyum'un zona kompakta bölgesinin farklılaşmasından ibaret olan ve maternal dokuyu oluşturan yapıdır. Desidua pariyetalis'in bir devamı gibidir. Yapısındaki hücresel ve fibriller elemanlar gebeliğe bağlı olarak yapısal bir gerileme gösterir; dejenere olur ve kalıntıları desidua pariyetalis'le kaynaşır ve ortadan kalkar. Bu tabakanın hücresel yapı ve organizasyonunda belirgin bir düzen yoktur (24, 27).

3. *Desidua Pariyetalis*

Gebelikle birlikte uterus lumenini kaplayan epitel ve onun altındaki lamina propriyanın değişmesiyle oluşan desidua tipidir ve uterus lumeninin plasentasyon dışındaki kısımlarını kapsar. Başlangıçta tipik gebelik mukozası görünümündedir. Fötüs'un büyümesine bağlı olarak uterus boşluğunun kapanmasıyla desidua kapsüllaris desidua pariyetalis'le kaynaşır. Gebeliğin son döneminde desidua kapsüllaris tamamen ortadan kalkar, amniyon ve koryon leve ile desidua pariyetalis kaynaşır. Derin bölgelerinde, yani uterinal duvarın kalan yüzlek kısımlarında, uterus damarları tarafından beslenen zengin kapilar ve küçük arteriyollerle venüller bulunur. Gebeliğin ortasında tamamen geriler ve bu dönemden sonra gerçek desidua özelliğini sadece desidua bazalis sürdürür (19).

4.2.7. İmmun sistem hücreleri

İnsan ve hayvanlarda, vücudun hücresel ve sıvısal yönden savunmasında, çeşitli spesifik ve nonspesifik uyarıcılara karşı oluşan immunolojik reaksiyonlarda etkin fonksiyonları olan bazı immun yetenekli (immuno-kompetan) hücreler bulunmaktadır. Bunlar genel olarak iki grup altında incelenir.

1. *Lenfoid Seriyeye Ait Hücreler*

a. Lenfositler (B-lenfositler ve T-lenfositler)

b. Öldürücü hücreler (Doğal öldürücü hücreler, NKC ve lenfokinle aktive olan öldürücü hücreler, LAKC)

2. *Myeloid Seriyeye Ait Hücreler*

- a. Mononükleer hücreler (Monosit ve makrofajlar)
- b. Polimorfnükleer hücreler (Nötrofil, eozinofil ve bazofil granulositler)
- c. Trombositler (28)

Lökosit (akyuvarlar) olarak ta adlandırılan bu iki gruba ait hücrelerden lenfositler ile monosit ve makrofajlara içlerinde granül bulunmaması nedeniyle agranulosit'ler adı verilir. Ancak, lenfositlerin diğer bir alt sınıfı olarak kabul edilen öldürücü hücreler (NKC, LAKC) granüllüdürler. Polimorfnükleer hücreler ise, sitoplazmalarında çeşitli özellikte granüller bulunması nedeniyle granulosit'ler olarak tanımlanır (28, 29).

Lenfositler, antijenlerin tanınmasında, hücrel ve sıvısal yanıtlarda, hücreler arası ilişkilerin düzenlenmesinde ve diğer immun tepkilerde (aşırı duyarlılık, otoimmünite, transplantasyon ve tümör immunolojisi) etkin rollere sahip farklılaşabilen mononükleer karakterde immuno-kompetan hücrelerdir. Bunlar agranulositler grubu içinde yer alırlar (B-lenfosit ve T-lenfosit). Lenfositler, kan yapan organlar, lenfoid sisteme ait primer, sekonder organlar ile kan ve diğer dokularda oldukça fazla bulunurlar. Morfolojik olarak birbirlerine çok benzeyen bu hücrelerin mikroskop altında ayrımları oldukça zordur. Ancak lenfositler, yüzey antijenik moleküllerine bağlı olarak oluşan fonksiyonlar yönünden bazı farklılıklar gösterirler. Bu moleküller, kendilerine karşı hazırlanmış monoklonal antikorlar kullanılarak belirlenir. Lenfositlerden, özellikle T-lenfositlerin yüzeyinde bulunan diferensiyasyon antijenleri (CD, cluster of differentiation) olarak adlandırılan yüzey antijenik moleküllere bakılarak T-lenfositlerin, B-lenfositler ile öldürücü hücrelerden ayrımı yapılır (30).

Lenfositler başlıca 3 gruba ayrılır.

1. *B-lenfositler*
2. *T-lenfositler*
3. *Öldürücü hücreler (NKC ve LAKC) (31)*

1. B-Lenfositler

B-Lenfositler, insan ve memeli hayvanlarda kırmızı kemik iliğinde bulunan progenitor hücrelerden meydana gelen lenfoblast'lardan farklılaşırlar. Bütün bu hücrelerin aktifleşmeleri sekonder lenfoid organlarda olur. Bu hücreler bu organlarda yeni yüzey molekülleri kazanarak antijenik uyarımlara karşı immunolojik yanıt oluştururlar (31, 32).

Kanathılarda ise, kemik iliğinden ayrılan progenitor hücreler Bursa Fabricius'a gelir. Bu organda poietinlerle uyarılır. Bu uyarımlar sonucu bölünüp çoğalan progenitor hücreler,

lenfoblast'lara farklılaşır. Lenfoblast'larda bölünüp çoğalarak prolenfositleri, onlarda bölünmeksizin farklılaşarak lenfositleri meydana getirirler. Burada farklılaşarak yeni yüzey molekülleri kazanır ve olgunlaşırlar. Buradan ayrılan olgun B-lenfositleri, tavuk ve hindilerde dalak ve lenfoid dokulara (sekal tonsiller, peyer plakları, Harderian bezi) giderek yerleşir. Antijenler, B-lenfositlerin yüzeylerindeki reseptörlere bağlanınca bu hücreler lenfoblast haline dönüşür. Bu hücrelere *plazmablast* ya da *immunoblast* ta denir (29, 33). Lenfoblastlar bölünerek sayılarını artırır ve farklılaşmalarına devam ederek önce proplazmasitlere, peşinden de plazma hücrelerine dönüşürler. Lenfoblast'ların diğer bir bölümü ise, ilk antijenik uyarımdan sonra hemen plazma hücreleri olamazlar; tam tersine, aktivitelerini azaltıp küçülerek tekrar B-lenfosit olurlar. Uzun ömürlü olan ve dolaşıma da geçip devamlı sirküle eden bu tip B-lenfositlere bellek hücreleri denir. Bunlar da, T-lenfositlerden meydana gelen bellek hücreleri gibi aynı antijenle ikinci defa karşılaşınca, bu antijenleri hemen tanırlar ve hızla plazma hücrelerine farklılaşırlar (30, 33).

Plazma hücreleri (plazmasit): Uyarıldıktan ve bazı önemli evreleri geçirdikten sonra büyüklükleri normallerinin 2-3 katına ulaşabilen plazma hücrelerinin esas görevi, sıvısal savunmada önemli rolleri olan çeşitli sınıf (İgG, İgA, İgM, İgD, İgE) ve alt sınıflarda (İgG1, İgG2, İgG3, İgG4, İgA1, İgA2) antikor sentezlemek ve bunun yanı sıra, antijenleri hücre yüzeyinde konsantre ederek içeri almak ve işlemek, sonra işlenmiş bu protein antijenlerini de MHC-II (major histocompatibility complex) moleküllerine bağlayarak hücre yüzeyinde yardımcı T-lenfositlere sunmaktır (34).

Plazma hücreleri vücudun her yerinde, bağ dokularında, barsakların lamina propriya'sı, kornea'nın bağ dokusu, lenforetiküler sistemin doku ve organlarında bulunur. Ökromatinden zengin olan çekirdekleri, oval veya yuvarlak biçimde olup, hücrenin bir kenarına (ekzantrik) lokalize olmuştur. Çok sayıda poliribozoma sahip olan bu hücrelerin sitoplazmaları bazofilik bir özellik taşır. Plazma hücrelerinin antikor sentezi, indirektflüoresans antikor (İFA) tekniği ve ferritin ile işaretlenmiş antiimmunglobulin teknikleri kullanılarak kolayca gösterilebilir (28).

2. T-Lenfositler

T-lenfositler, vücutta hücresel yanıtın oluşmasında, birçok immunolojik reaksiyonlarda (otoimmun hastalıklar, hipersensitivite reaksiyonları, tümör ve transplantasyon immunolojisi) ve hücreler arası ilişkilerin düzenlenmesinde önemli fonksiyonlara sahip immuno-kompetan hücrelerdir (28).

T-lenfositler, B-lenfositlerde olduğu gibi, orijinlerini kemik iliğinden alırlar ve timus'a gelerek yerleşirler. Burada hızla üreyen lenfositler, özellikle timik hormonların (timosin, timostimulin, timopoietin) ve bazı sitokinlerin etkisiyle antijenleri tanıma özelliği kazanan yüzey reseptörleri, ayrıca MHC reseptörleri ve CD molekülleri ile donanırlar. Bu hücreler artık immun yetenekli hücreler olup, antijenleri tanıyabilecek duruma gelmişlerdir. Dolaşım yoluyla sekonder lenfoid organlara (dalak, lenf düğümleri, lenf follikülleri, tonsiller) giden T-lenfositler, buralarda kendilerine ait özel bölgelerde (dalakta beyaz pulpanın, arterlerin etrafını saran bölgeleri-bu bölgelere periarteriyel lenfatik kılıf (PALS) denir-, lenf düğümlerinde parakortikal bölge- yani korteksin medullaya bakan yarımı- ve interfolliküler bölgeler) yerleşerek aylarca hatta yıllarca yaşamlarını sürdürürler. Buralarda antijenlerle karşılaşan bu inaktif immuno-kompetan T-lenfositler gelişip irileşerek tekrar lenfoblast'lara dönüşürler. Lenfoblast'lar da bölünüp çoğalarak aktif T-lenfositleri meydana getirirler (33, 35).

Aktifleşerek bölünüp çoğalan T-lenfositlerden bir bölümü, hemen antijenlerle savaşacak duruma gelirler; diğer bölümü ise, bellek hücreleri olarak aylarca, hatta yıllarca yaşarlar. Birinci uyarım sonu, bellek hücrelerinin yüzeyinde bu antijene karşı spesifik reseptörler oluşur. Dolaşıma da geçen bellek hücreleri, aynı antijenle tekrar karşılaştıklarında, bu antijeni hemen tanır ve onunla derhal savaşmaya başlarlar (28).

T-lenfosit Alt Populasyonları

T-lenfositler fonksiyonlarına göre üç alt grupta incelenir.

1-*Yardımcı T-lenfositler*: Yüzeylerinde CD 4 yüzey moleküllerini taşıyan fakat CD 8 yüzey moleküllerini bulundurmayan yardımcı T-lenfositler, yüzey reseptörleri ile makrofajlar tarafından sunulan antijen-MHC komplekslerini tanırlar. Yardımcı T-lenfositlerinden salgılanan lenfokinler, B-lenfositleri uyararak, plazma hücrelerine dönüşmelerini sağlar. Ayrıca, bu lenfokinler aracılığıyla sitotoksik ve baskılayıcı T-lenfositler ile makrofajları stimüle ederler (30).

2- *Sitotoksik T-lenfositler*: Bu hücrelerin yüzeyinde, yardımcı T-lenfositlerin aksine, CD 8 molekülleri bulunurken CD 4 yüzey molekülü bulunmaz. Bu hücrelerin vücuttaki fonksiyonları, özellikle virusla enfekte olmuş hücreleri, tümör hücrelerini, organizmaya giren yabancı hücreler ile değişik MHC antijenleri taşıyan doku yamalarını tanımak ve perforinler aracılığıyla direkt, lenfokinler aracılığıyla da indirekt temasa geçerek etkinlerini ortadan kaldırmaktır (28, 30).

3- *Baskılayıcı (Supresör) T-lenfositler*: Bu hücreler de CD 8 yüzey molekülüne sahip olmalarıyla sitotoksik T-lenfositlere benzerler. Sentezledikleri lenfokinler aracılığıyla, B-lenfositlerin gelişmelerini bloke ederek fazla antikor yapımını önlerler. Hücreler bu görevlerini, ya antijenlere bağlanıp onların etkilerini azaltarak ya da yardımcı T-lenfositlerin veya makrofajların aktivitelerini baskı altına alarak sürdürürler (33).

3. Öldürücü hücreler

1. Doğal Öldürücü Hücreler:

Kemik iliğindeki mültipotent köken hücrelerden orijin alan öldürücü hücreler, non-fagositik ve mononükleer karakterdedirler. Memeli ve kanatlıların periferel kanları, lenfoid dokuları ve organları yanı sıra diğer dokularında da bulunurlar. Sitoplazmalarında azurofil özellikte iri granüller (sitolitik granüller) bulunur. Bu nedenle kendilerine iri granüllü lenfositler (Large granuler lymphocyte, LGL) adı da verilmiştir. Hücre yüzeylerinde sitotoksik T-lenfositlerin aksine, T hücre reseptörlerinden CD 4 ve CD 8 gibi yüzey molekülleri bulunmadığı gibi öldürme mekanizmaları da MHC'lere bağımlı değildir. Doğal öldürücü hücreler, herhangi bir uyarıya ve komplement aktivitesine gereksinim olmadan öldürme işlevlerini yürütebilirler. Bu fonksiyonları timus'a bağımlı değildir. Doğal öldürücü hücrelerin sahip oldukları granüllerdeki perforinler, hedef hücrenin yüzeyindeki lipid tabakasında silindirik biçiminde delikler açarak bu hücrelerin parçalanmalarına neden olurlar (28, 36).

2. Lenfokinle Aktive Olan Öldürücü Hücreler (LAKC)

Bunlar da morfolojik ve fonksiyonel olarak NKC' lere çok benzerler. LAKC hücreleri içinde de çeşitli litik enzimler bulunan iri granüller vardır. LAKC hücreleri, NK hücrelerine oranla daha çok sayıda tümör türüne etkilidir (29).

Makrofajlar

Bu hücreler, monositlerin farklılaşmaları ile meydana gelirler. En belirgin özellikleri, kuvvetli fagositoz yapmalarıdır. Kırmızı kemik iliğinde üretilip kana verilen monositler, kanda üç gün kadar dolaştıktan sonra, bunlardan bir kısmı genişlemiş kapilar damarların duvarlarını oluşturan endotel hücrelerinin aralarına yerleşir, diğerleri de bağdokularına ve lenfoid organlara göçerler ve oralarda uzun süre yaşayabilirler. Bu hücreler, buralarda ekzojen (bakteriler, mantarlar, viruslar, protozoonlar, parazitler ve çeşitli tozlar) ve endojen (zedeli, ölmüş ya da yaşlanmış hücreler veya hücre organelleri,

canlı tümör hücreleri ve denatüre olmuş proteinler) karakterde olan zararlı maddelerle karşılaşınca bölünmeksizin aktifleşerek makrofajlara dönüşürler (28, 33).

Makrofajlar, iri hücrelerdir, çapları bazı durumlarda 30 mikrona kadar ulaşabilir. Aktifleşme sırasında irileşmekle kalmayıp değişik şekillere de girer; yüzeylerinde büyük değişiklikler olur; mikrovilluslar, yalancı ayaklar şekillendirir (28, 32).

Makrofajların çekirdekleri, monositler kadar olmasa bile yine de çentiklidir ve sitoplazmada ekzantrik bir yerleşim gösterir. Çekirdek içinde bir ve bazen de iki tane çekirdekçik bulunur. Sitoplazma duruma göre primer ya da sekonder lizozomlardan veya her ikisinden de zengindir. Ayrıca, sitoplazmada, vakuoller, fagosite olmuş materyaller, mitokondriyumlar, çekirdeğin çukur bölümü hizasında Golgi aygıtı, granüllü endoplazma retikulumu, ribozomlar ve poliribozomlar da bulunur (29).

Makrofajların görevi sadece fagositoz yapmaktan ibaret değildir. Bunların organizmada hücrel ve sıvısal bağışksal yanıtın meydana gelmesinde de önemli rolleri vardır. Bu hücreler antijen niteliğindeki yabancı maddeleri fagosite ederek parçalar ve bunları bazı işlemlerden geçirdikten sonra, sitoplazmik uzantıları aracılığı ile T- ve B-lenfositlerine ulaştırır. İşte bu tür antijenler, bu lenfositleri aktive eder ve bu hücreler bundan sonra bağışksal yanıt verecek güce kavuşur. Aslında makrofajlarla lenfositler karşılıklı olarak birbirlerini etkilerler. Antijen işleyen makrofajları lenfositler kolayca tanır ve onların etrafında toplanıp aktifleşirler. Bu direkt ilişki yanında, antijen alarak aktifleşen makrofajlar monokin denen bir kısım maddeler salarak kendilerinden uzakta olan lenfositleri indirekt olarak ta etkileyebilirler. Bu böyle olduğu gibi, tam tersine, aktive olmuş T-lenfositlerin salgıladığı ve lenfokin denen maddeler de, kemotaksis yoluyla makrofajları hareketlendirerek yangısal bölgeye doğru göçmelerini de sağlarlar (28, 33).

4.2.8. İmplantasyonda immün yanıt

İmplantasyon reaksiyonunun başlamasından sorumlu olaylar oldukça karışıktır. Bu reaksiyonun pek çok yönünün, yangı olayları veya yabancı bir cisme karşı dokuların gösterdiği yanıtla benzer olduğu savunulmaktadır. Blastosist'e karşı oluşan ilk reaksiyonlar arasında, vasküler permeabilitenin artması, stromadaki ödem ve karakteristik yangı reaksiyonları sayılabilir. Diğer bir yangı benzeri reaksiyon ise, kandan dokuya monosit ve lökositlerin göçmesi ile immün yanıtta bir artışın olmasıdır. İmplantasyon sürecinde blastosist'in yıkılmamasında diğer bazı faktörlerin yanı sıra immün sistem hücrelerinin de önemli görevleri olduğu söylenmektedir (37).

Memelilerde yapılan çalışmalarla, immün sistemi gelişmiş annelerde meydana gelen gebelik olayının başarıyla sürdürülmesini açıklayan pek çok hipotez ortaya atılmıştır (38). Bunlardan en popülerleri, uterustaki immün tepkinin baskılanarak fötüs'ün canlı kalabilmesini sağlayan mekanizmaları açıklayan teoridir. Embriyolar, gebelik boyunca kemik iliği kökenli hücrelerden olan maternal doğal öldürücü hücrelerin (NK) ve gebeliğin ortalarına kadar da sitotoksik T-lenfositlerin öldürücü etkilerine karşı dirençlidirler (39, 40). Embriyonik dokular, fetal hücreler ve desidua hücrelerden salgılanan farklı kimyasal maddeler de, lenfositlerin fötüs'a karşı afinitesini azaltarak anneye ait immün tepkinin baskılanmasına yardımcı olur. Ayrıca, desidua hücrelerinin fötüs'a karşı sitotoksik T-lenfositlerin gelişimini inhibe ederek bir tampon görevi görmesi de yukarıdaki hipotezi desteklemektedir. Bunlardan başka, makrofajların salgılanan prostaglandinler (özellikle PGE₂) aracılığı ile yardımcı T-lenfositlerinden salgılanan interleukin-2 (IL-2) üretiminin inhibe edilmesi ya da supresör T-lenfositlerin aktive edilmesi gibi olaylar, immün tepkinin baskılanmasında rol alan mekanizmalar arasında kabul edilmiştir (41, 42). Ayrıca, sıçan desidua hücrelerinin mikrozomlarının çoğunlukla PGE₂ ürettiği ortaya konulmuştur (41).

T-lenfositler

İnsan ve kemiricilerde yapılan immunohistokimyasal çalışmalarla, implantasyon sürecinde endometriyumunda lökositlerin yaklaşık % 20'si T-lenfositlerden (43), bu lenfositlerin de % 70'i sitotoksik T-lenfositlerden oluşur (39, 44). Bulmer ve Sunderland (45) ise, insanlarda erken gebelikte monoklonal antikolar kullanarak yaptıkları bir çalışmada, endometriyumda belirlenen lökositlerin % 10-30'unu T-lenfositlerin oluşturduğunu bulmuşlardır. T-lenfositler, implantasyonda genellikle desiduya yayılmış olarak bulunurken, küçük topluluklar halinde endometriyal bezlerin çevresinde yerleştikleri de tespit edilmiştir (44). Kabawat ve ark. (46) ise, insanlarda yaptıkları çalışmada, implantasyon sürecinde T-lenfositlerin, desidua alanda oldukça az bulunduğunu, endometriyumda ise eşit bir dağılım gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarla, immunolojik reaksiyonlarda görevli aktif lenfositler ile makrofaj ve granulositlerin, embriyo'yu ürettikleri toksinleri (44) aracılığı ile ya da direkt sitotoksik olarak etkiledikleri bildirilmiştir. Aktif T-lenfosit ve makrofajlardan salınan bu maddelerin, farelerde embriyonik gelişmeyi, trofoblast proliferasyonunu ve fetal büyümeyi olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir. Ancak, implantasyonda rol alan immün sistem hücrelerinden salgılanan ürünlerin, konsantrasyonu, salgılanma zamanı ve

ortamdaki miktarlarına bağılı olarak, bu hücrelerin birbirlerini etkilediğı ve böylece immun baskılama oluşturarak embriyonun gelişmesini sürdürmesine yardımcı olduğı bildirilmiştir (47).

Farelerde yapılan immunohistokimyasal bir çalışmayla makrofaj ve lenfositlerin sayısında, implantasyonun ikinci gününde birinci güne göre desidual alan içinde ve endometriyumda artış olduğı bildirilmiştir. İmplantasyonun üçüncü gününde ise, antimezometriyal bölgedeki desidual alanın büyümesiyle birlikte endometriyum'un geri kalan derin bölgelerinde ve miyometriyumda bu hücrelerin sayılarının azaldığı, desidual alan içinde ise çok ender görüldükleri, üçüncü günde gözlenen bu azalmanın dördüncü günde daha da belirginleştiğı bildirilmiştir. İmplantasyonun beşinci gününde makrofaj ve lenfositlerin oldukça azalmış olmasına karşın, gebeliğın ilerleyen günlerinde antimezometriyal bölgede endometriyumun yeniden şekillenmesiyle, endometriyum ve miyometriyumda bu hücrelerin sayılarının tekrar arttığı tespit edilmiştir (48).

Sıçan uterusunda, implantasyondan önce ve implantasyon sırasında görülen lökositozisin implantasyonu engellediğı saptanmıştır. Bununla beraber, implantasyondan sonra görülen lökositozisin gebeliğın sürdürülmesine olumsuz bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (49).

Tanımlanamayan infertil kadınlarda total lökosit, makrofaj ve T hücrelerinin sayılarında artış gözlenmesi, aktif lenfosit ve makrofajlardan salgılanan bazı maddelerin, bu tip infertilite olaylarından sorumlu olduğunu akla getirmektedir (49).

Sıçanlarda uterusunda, preimplantasyonda T-lenfosit ve makrofajlar daha çok endometriyum ve miyometriyumda yerleşirken (50), implantasyondan bir gün önce her iki hücre türü de endometriyumun yüzeysel bölgelerinden derin bölgelerine geçer ve implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfosit ve makrofajların hiç birisi embriyonun çevresinde bulunmazlar. Sıçanlarda, T-lenfosit sayısında implantasyonun üçüncü ve beşinci günlerinde sadece implantasyon bölgesinde azalış olurken, interimplantasyon bölgesinde bu hücrelerin sayısı sabit kalır. Hücre sayısındaki bu lokal değışikliğın, maternal faktörlerden çok embriyonik faktörlere bağılı olduğı bildirilmiştir (49).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada T-lenfositler, gebeliğın dördüncü gününde endometriyumda seyrek olarak bulunurken, beşinci ve altıncı günlerde desidual alanla birlikte endometriyumda yoğunlaşmış olduğı ve yedinci günde ise implantasyon sürecinin ilerlemesine bağılı olarak bu hücrelerin desidual alan içinde kaybolduğı, endometriyumdan

miyometriyuma doğru geçtikleri ve bu bölgedeki sayılarında azalma olduğu bildirilmiştir (50).

Doğal öldürücü hücreler

Memeli hayvanların uterusunda, embriyonun implantasyonu sürecinde bazı hücrelerin yapılarında ve sayılarında önemli değişikliklerin olduğu bildirilmiştir. Endometriyum ve miyometriyumda meydana gelen bu histofizyolojik değişiklikler, gebelik boyunca da devam eder (51, 52). İmplantasyonda desidual hücrelerin artışı yanında granüllü mononükleer hücrelerin sayısında da bir artışın olduğu saptanmıştır (53, 54, 55, 56). Önceki çalışmalarda, granüllü hücreler, sıçan, fare ve hamsterlerde granüllü metrial bez hücreleri (52, 53, 57), insan ve maymunlarda da endometrial stromal granulositler (ESG) (51, 54, 55, 56), Körnchenzellen (K hücreleri) (45, 54) veya iri granüllü lenfositler (57) olarak isimlendirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla, kemik iliği kökenli doğal öldürücü hücreler soyundan kabul edilen sıçanlardaki metrial bez hücreleri ile bunların insanlardaki analogu olan endometriyal granulositlere, uterus doğal öldürücü hücreleri (uNK) adı verilmiştir (58). Ayrıca, bu hücrelerin lökosit common antijeni (LCA) olan CD 45 ve doğal öldürücü hücrelerin belirleyicisi olan CD 56'yı taşıdığı da gösterilmiştir (43).

Kemiricilerde endometriyumla ilgili yapılan histolojik çalışmalarda, implantasyon dönemindeki metrial bez hücrelerinin sayısının implantasyon öncesi dönemine göre daha fazla olduğu bildirilmiştir(52). Fare ve sıçanlarda yapılan bir çalışmada, gebeliğin 4_{1/2} . gününde, metrial bez hücrelerinin desidual alanla birlikte bütün endometriyum boyunca görüldüğü, bu günden sonra bu hücrelerin antimezometriyal bölgedeki desidual alanda kaybolduğu fakat desidua bazaliste sayılarının arttığı gösterilmiştir (51).

İnsan ve maymunlarda, uNK'ların sayısında, gebeliğin üçüncü ayına (birinci trimester) kadar desidua bazaliste bir artış görülürken, gebeliğin ilerleyen dönemlerinde ise belirgin bir azalışın olduğu bildirilmiştir (54, 56).

Tarachand (51) kemiricilerde yaptığı çalışmada, uNK'ları ışık mikroskobu ile incelediğinde çekirdeklerinin yuvarlağa yakın şekilli ve çok az hücrenin de çift çekirdeğe sahip olduğunu ve bu hücrelerin sitoplazmalarında gruplar yapmış eozinofilik granüllerin bulunduğunu göstermiştir.

İnsan ve maymunlardaki uNK'ların, yaklaşık 10 µ çapında, yuvarlak, oval ya da böbrek şekilli ve genellikle ekzantrik konumlu bir çekirdekle birlikte değişen sayıda

asidofilik ve filoksinofilik karakterde ve çoğunlukla çekirdeğin bir kenarına lokalize olmuş sitoplazmik granüller içerdiği bildirilmiştir (54, 56).

Peel ve ark. (53) insan endometriyumundaki uNK'ların fare ve sıçanlarda bulunan bu hücrelerden daha küçük olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar bu hücrelerin, önceleri relaksin salgıladıklarını ve menstruasyondan önce litik enzimler yoluyla ya da implantasyonda endometriyumdaki retikulum ağlarının yıkımlanmasından sorumlu olduklarını savunmuşlardır. Bugün ise yaygın bir hipotez olarak, bununla beraber bu hücrelerin, blastosist implantasyonunda sitotoksik T- lenfositleri baskılayarak immun koruyucu etkilerinin olduğu belirtilmiştir. İmplantasyonda, doğal öldürücü hücrelerin sayısının dikkate değer bir şekilde artışının, bu hücrelerin, fötüs'un immunolojik olarak yıkımlanmaya müsait bir ortamda canlılığını sürdürmesinde önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (39).

Makrofajlar

Makrofajlar, normal olarak hem gebe hem de gebe olmayan dişilerin uterusunda bulunur (59). Bu hücrelerin uterustaki yoğunlukları, dağılımları ve görevleri henüz tam olarak bilinmemektedir. Fakat makrofajların, trofoblastların aşırı invazyonu sonucu endometriyumun daha fazla yıkımlanmasını engellediği görüşü ileri sürülmüştür (47). Makrofajların, fötüs ile anne arasındaki madde alış veriş (60) ve antijen sunma gibi görevleri yanında, bu hücrelerin PGE₂ salgısından dolayı, fötüs'a karşı oluşan maternal immun tepkiyi baskılayabileceği ve trofoblast hücrelerinin invazyonu sonucu oluşan hücre artıklarını fagosite edebileceği görüşü bildirilmiştir (39, 43) .

Hunt (42) farelerde, Kachkache ve ark. (61) ise sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda, erken gebelikte makrofajların endometriyumda daha çok lamina epitelyalis'in altında dağılmış olduğunu, implantasyondan itibaren ise, endometriyumun daha derin kısımları ile miyometriyumun sirküler ve longitudinal kasları arasında bulunduğunu göstermişlerdir. Fareler üzerinde yapılan immunohistokimyasal bir çalışmada, makrofajlara, gebeliğin beşinci gününde endometriyumda oldukça az rastlanırken, bu hücrelerin desidual alan içinde bulunmadığı bildirilmiştir (62). Farelerde yapılan başka bir çalışmada da, makrofajların, gebeliğin birinci gününde endometriyumda çok az görülmesine karşın, sekizinci gününde oldukça fazla sayıda bulunduğu gösterilmiştir (60). Ayrıca, makrofajların implantasyonun ilk günlerinde antimezometriyal bölgede lamina epitelyalis çevresinde şekillenmeye başlayan desiduanın etrafında sıralandıkları, ancak

desidual alan içinde bulunmadıkları bildirilmiştir. Bu durumda desiduanın, implantasyonun başlangıç dönemlerinde embriyo'ya doğru makrofajların göçünü engellemede etkili olduğu belirtilmiştir (63). Smárasón ve ark. (41) insanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, makrofaj benzeri hücrelerin desiduya infiltre oldukları ve aynı hücrelerin gebe fare uterusunda da bulunduğunu göstermişlerdir.

Uterusta monoklonal ve poliklonal antikörlerle yapılan çalışmalarla, makrofajların, gebelik dönemindeki sayılarının gebe olmayan dönemdekinden daha fazla olduğu ortaya konulmuştur (41). Fare uterusundaki makrofajların oranının gebeliğin başlangıcında arttığı gösterilmiştir (64). Redline ve Lu (65), implantasyon sürecinde fare ve sıçanlarda makrofajların, desidual alan içinde bulunmadığını, ancak bu alanın dışında kalan endometriyum ile özellikle bezler çevresinde ve miyometriyumda bol miktarda bulunduğunu belirtmişlerdir.

İnsan uterusundaki makrofajların dağılımı, kemiricilerle karşılaştırıldığında benzerliklerin yanı sıra bazı farklılıkların olduğu, bu hücrelerin, fare ve sıçanların aksine desidual alan içinde de bulunduğu bildirilmiştir (42).

Brandon (66), monoklonal antikörler kullanarak fare ve sıçanlarda yaptığı çalışmada, implantasyonun ikinci gününde makrofajların antimezometriyal bölgedeki desidual alan içinde seyrek bulunduğunu belirtmiştir.

Fare uterusunda yapılan bir çalışmada, implantasyonda, makrofajların lenfositlere oranla daha fazla sayıda (yaklaşık 1/3) oldukları belirtilmiştir. Hücre süspansiyonları üzerinde yapılan aynı çalışmada, makrofajların, T hücrelerini inhibe etme kapasitelerinin olduğu gösterilmiştir (40).

İmplantasyon sürecinde, östrojen ve progesteron hormonlarının uterus epitelini uyarak bu hücrelerden makrofaj koloni stimulan faktör-1 (CSF-1)'i salgılatığı ve bu maddenin de monositlerin kandan endometriyuma geçmelerini sağlayarak makrofajların artmasına neden olduğu bildirilmiştir (48).

Farelerde immunohistokimyasal bir çalışmada makrofajların, uterusun antimezometriyal bölgesinde implantasyonun üçüncü ile gebeliğin onuncu günlerinde miyometriyumda daha fazla olmasına karşın, endometriyumda daha az sayıda bulunduğu gösterilmiştir (67).

Plazma hücreleri

Gebeliğin ikinci gününden implantasyonun üçüncü gününe kadar farelerde endometriyumda plazma hücrelerinin sayısında bir artış olduğu bildirilmiştir (68). Farelerde endometriyum'da, plazma hücrelerinin sayısında implantasyonun birinci ve ikinci günlerinde artış olduğu ve bunların genellikle bezler etrafında yerleştikleri gösterilmiştir (69).

İmmunoglobulin'lerle işaretlenmiş plazma hücrelerinin, farelerde implantasyonun ikinci gününde özellikle bezler çevresinde olmak üzere endometriyum'da az, miyometriyum'daki damarlar çevresinde ise fazla sayıda bulunduğu, benzer tablonun implantasyonun üçüncü ve dördüncü günlerinde de gözlemlendiği ve desidual alanda ise bu hücrelere az sayıda rastlandığı tespit edilmiştir (63).

Farelerde yapılan bir araştırmada, plazma hücrelerinin implantasyonun ikinci gününde endometriyumda özellikle bezler çevresinde yerleşmiş oldukları saptanmıştır (70).

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmada, gebe olmayan endometriyum'da az olarak bulunan plazma hücrelerinin ilk trimesterde arteriyoller ve bezler çevresinde oldukça fazla sayıda bulunduğu belirtilmiştir (71). Fare (72) ve sıçanlarda (73), endometriyuma B-lenfositlerin göçünden östrojenin sorumlu olduğu, progesteronun ise bu göçü önlediği bildirilmiştir .

Bu çalışmada, implantasyonda endometriyum dokusunda görülen hücre sel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin dağılımı ve yoğunluklarının histokimyasal ve histometrik yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

5. MATERYAL VE METOT

5.1. Materyal

Bu çalışmada, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 3 aylık 42 adet Wistar Albino dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, her grupta 7 adet olmak üzere 6 farklı gruba ayrıldı. Aynı kafeslerde gruplar halinde bulunan hayvanlar, standart pelet sıçan yemi ve su ile ad libitum olarak beslendi. Biyolojik ritimlerinin düzenli olabilmesi için 12 saat yapay ışık ve 12 saat karanlık uygulandı.

5.2. Metot

5.2.1. Östrüs döneminin tespiti

Dişiler erkek sıçanlarla çiftleştirilmeden önce östrüs döneminde olup olmadıklarını belirlemek için Mallenby ve ark. (74) 'nın kullandıkları vaginal smear yöntemi uygulandı. Vaginal smear alınmadan önce sıçanların vulva etrafı % 70'lik alkolle sinilip temizlendikten sonra steril ve tek kullanımlık tahta çubuklarla vagina duvarına zarar vermeden nazik bir şekilde sürüntü alındı. Alınan sürüntü temiz bir lama yayıldı, üzerine %70'lik etil alkol dökülerek 5 dakika süreyle tespit edildi. Havada kurutulan sürme preparatlar %1'lik olarak hazırlanan metilen mavisi ile 5 dakika boyandı.

5.2.2. Gebeliğin ilk gününün tespiti

Vaginal smear'de kornifiye (süperfişiyal) hücrelerin görüldüğü dişi sıçanların östrüs döneminde oldukları kabul edildi. Bu hayvanlar tek tek olmak üzere erkek sıçanlarla aynı kafese bırakıldı. Ertesi gün erkek sıçanların yanından alınan dişilerden tekrar vaginal smear örnekleri alındı. Smear'de yaygın şekilde spermatozoon görülen hayvanlar gebeliğin birinci gününde kabul edildi (75, 76, 77).

5.2.3. Doku örneklerinin alınması ve değerlendirilmesi

Gebe kalan hayvanlar, implantasyonun 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. günlerinde yüksek doz eter ile uyutularak dekapite edildi. Bu hayvanların uterusları, abdominal diseksiyon ile alınarak formol-alkol de 24 saat süreyle tespit edildi. Tespit sıvısındaki doku örneklerine bilinen histolojik doku takibi işlemleri uygulandı. Genel doku takibinden sonra dokular paraplast'ta bloklandı. Hazırlanan bloklardan rotary mikrotom (Leica RM 2135, Germany) ile alınan 6 µ kalınlığındaki kesitlere, plazma hücrelerini belirlemek için metil-green-pironin boyama yöntemi uygulandı (78).

Alınan dokulardan bir kısmı da, alfa naftil asetat esteraz (ANAE) pozitif hücreleri belirlemek için önceden soğutulmuş tamponlu formol-sukroz solüsyonunda +4 °C derecede 22 saat süreyle tespit edildikten sonra +4 °C derecede Holt solüsyonunda 22 saat tutuldu

(79) ve kriyostat'ta alınan (Shandon AS 620, London) 10 µ kalınlığındaki kesitler, önceden formol-jelatin ile kaplanmış olan lamlara alındı. Preparatlar oda sıcaklığında bir saat kurumaya bırakıldı. ANAE pozitif hücrelerin belirlenmesi için kesitler, Mueller ve ark. (79)'na göre hazırlanan inkubasyon solüsyonunda pH 7.2' de 5 dakika süreyle kontrollü olarak boyandı. Bu boyamada ANAE pozitif sonuç veren hücrelerden bir veya birden fazla granüle sahip olan hücreler T - lenfositler (79), irili ufaklı sabun köpüğü tarzında granüllere sahip olan hücreler doğal öldürücü hücreler ve diffuz olarak boyanan hücreler de makrofajlar (80) olarak kabul edildi. Aynı inkubasyon solüsyonuna 1.5 mg/ml oranında sodyum florür (NaF) ilave edilerek, makrofajlarda görülen diffuz boyama inhibe edildi (81, 82, 83). Böylece makrofajlar, T - lenfositlerden ve doğal öldürücü hücrelerden kesin olarak ayırt edildi. ANAE enzim boyaması yapıldıktan sonra yıkanan kesitlere, pH'sı 4.2 olan asetat tamponunda çözdürülen %1'lik metil green ile 5 dakika çekirdek boyaması uygulandı. Preparatlar, dereceli alkollerden geçilerek suyu giderildi ve ksilollerle parlatıldıktan sonra entellan'la kapatıldı. Hazırlanan preparatlar, Optiphot 2 model araştırma mikroskopunda incelendi ve gerekli görülen bölgelerin fotoğrafları çekildi.

5.2.4. Plazma hücresi sayımı

Metil green-pironin boyama yöntemi ile hazırlanan uterus doku kesitlerinde, plazma hücrelerinin sayısal dağılımını saptamak için yapılan hücre sayımlarında 100 kare oküler mikrometre (eyepiece graticule) kullanıldı. Endometriyumdan rastgele seçilen 8 bölgede 40'lık objektif büyütmesinde 100 kare içerisine düşen birim alandaki hücrelerin sayımları yapıldı. Bu şekilde seri kesitlerin sayılması ile elde edilen rakamların aritmetik ortalaması alındı. Böylece 100 kare oküler mikrometrenin kapsadığı alandaki ortalama plazma hücresi sayısı saptandı. Mikrometrik lam yardımıyla 40'lık objektif büyütmesi için 100 kare oküler mikrometrenin alanı saptandı (84). Daha sonra tüm sayısal veriler, 1mm²'lik birim alandaki plazma hücresi sayısına dönüştürüldü.

5.3. İstatistiksel Analizler

İmplantasyonun farklı günlerinde endometriyumda bulunan ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin semikantitatif yöntemle belirlenen dağılımları Tablo 1'de verildi.

İmplantasyonun 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. günlerinde, plazma hücresi sayılarının genel istatistiksel değerlendirilmesi ve bu günler arası varyans analizleri (ANOVA) SPSS (IBM-PC) paket programında gerçekleştirildi (85, 86).

6. BULGULAR

Hazırlanan histolojik kesitlerde, uterusun endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum olmak üzere üç ana katmandan oluştuğu; ayrıca, uterusu kan damarlarının girdiği mezometriyal bölge ile bunun karşısında yer alan antimezometriyal bölgenin bulunduğu tespit edildi. Kesitlerde, Alfa Naftil Asetat Esteraz (ANAE) pozitif hücreleri belirlemek için kullanılan inkübasyon solüsyonu ile T-lenfositler, doğal öldürücü hücreler ve makrofajların pozitif reaksiyon verdiği, fakat inkübasyon solüsyonuna sodyum florür (NaF) ilave edildiğinde ise, T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin pozitif reaksiyon vermesine karşın, makrofajların pozitif reaksiyon vermediği gözlemlendi (Resim 1, 2, 3, 4). Preparatlarda, uterusun lamina epitelyalisi oluşturan hücreleri ile bez epitel hücrelerinin apikal kısımlarında ANAE pozitif granüllerin bulunduğu; ayrıca NaF ilave edilmeden hazırlanan inkübasyon solüsyonu ile yapılan boyamalarda ise bu granüllerin daha koyu boyandıkları tespit edildi.

6. 1. Hücresel Savunma Sistemi Hücreleri

6.1.1. İmplantasyonun birinci günü

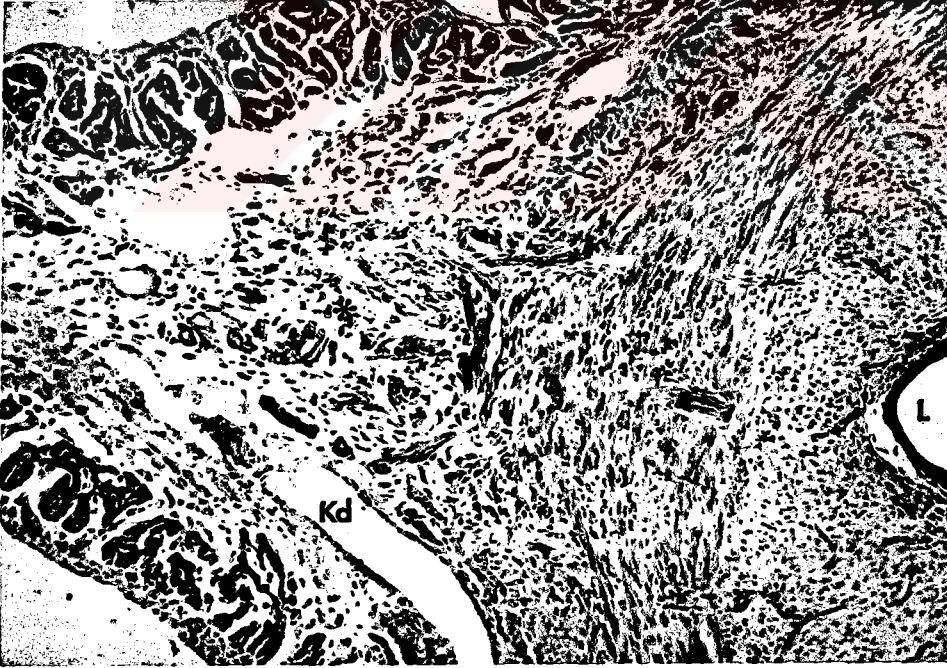
Gebeliğin beşinci gününe rastlayan implantasyonun ilk gününde, uterus lumenini döşeyen lamina epitelyalisin etrafında ve daha çok antimezometriyal bölgede olmak üzere bağ dokusu hücrelerinden olan fibroblastların farklılaşmasıyla oluşan desidua hücrelerinin bir kaç sıra halinde desiduaı oluşturmaya başladığı gözlemlendi. Uterus bezlerinin ise daha çok antimezometriyal bölgede bulunduğu tespit edildi. ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin daha çok implantasyonun birinci gününde oluşan desiduaal alan içinde dağınık bir şekilde görüldüğü ve bu alanın dışında kalan endometriyum ile miyometriyumda ise bu hücrelerin daha az sayıda bulunduğu saptandı (Resim 5, 6).

ANAE pozitif hücrelerden T-lenfositlerin, sitoplazmanın büyük kısmını dolduran ve metil green boyası ile homojen olarak yeşile boyanan iri bir çekirdeğe sahip olduğu gözlemlendi. Bu hücrelerin sitoplazmalarında bir veya birden fazla kahverenginin değişen tonlarında boyanan ANAE pozitif granüllerin, çekirdek ile hücre zarı arasındaki sitoplazmada genellikle bir yay şeklinde dizildikleri, bazen de bu granüllerin sitoplazmanın değişik bölgelerinde düzensiz olarak yerleştikleri görüldü (Resim 7, 8).

Diğer bir pozitif hücre türü olan doğal öldürücü hücrelerin, sitoplazmalarının bir kısmını dolduran ve homojen olarak yeşile boyanan bir çekirdeğe sahip olduğu gözlemlendi. Bu hücrelerin granüllerinin, T-lenfositlere göre daha açık ve heterojen boyandığı ve birden

çok irili ufaklı sabun köpüğü tarzında granüllere sahip olduğu saptandı. Bazı örneklerde, doğal öldürücü hücrelerin çekirdeklerinin bir kısmının veya tamamının bu granüller tarafından örtüldüğü belirlendi. Ayrıca, bu hücrelerin mezometriyal üçgende fazla sayıda kümeler oluşturduğu, miyometriyumda ise az sayıda olmak üzere damarlar çevresinde bulunduğu gözlemlendi (Resim 9, 10).

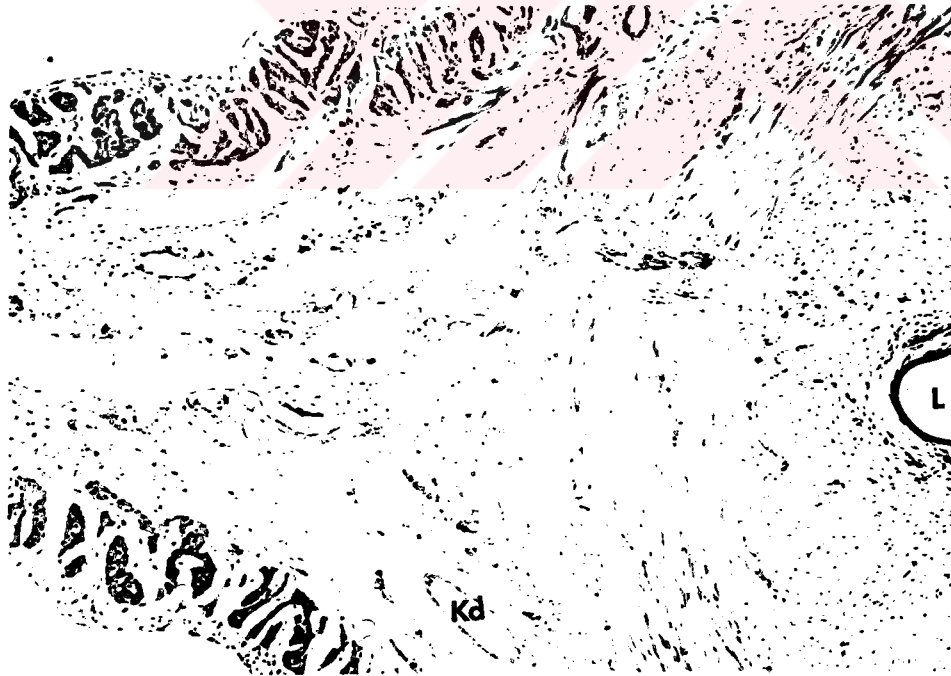
Sodyum florür içermeyen inkübasyon solüsyonu ile yapılan boyamalarda pozitif reaksiyon veren makrofajların, implantasyonun birinci günü de dahil diğer günlerinde de endometriyumda bulunmadığı tespit edildi. Bu hücrelerin doğal öldürücü hücrelerde olduğu gibi özellikle mezometriyal üçgende çok sayıda kümeler oluşturduğu, miyometriyumda ise bu hücrelerin damarlar çevresinde bulunduğu görüldü. Sitoplazmik uzantılara sahip olan makrofajların açık yeşile boyanan çekirdeklerinin, yuvarlaktan mekiğe kadar değişen şekillerde görüldüğü saptandı. Bu hücrelerin sitoplazmalarının diğer pozitif hücrelerde olduğu gibi tanecikli yapı yerine diffuz olarak pozitif reaksiyon verdiği gözlemlendi (Resim 11).



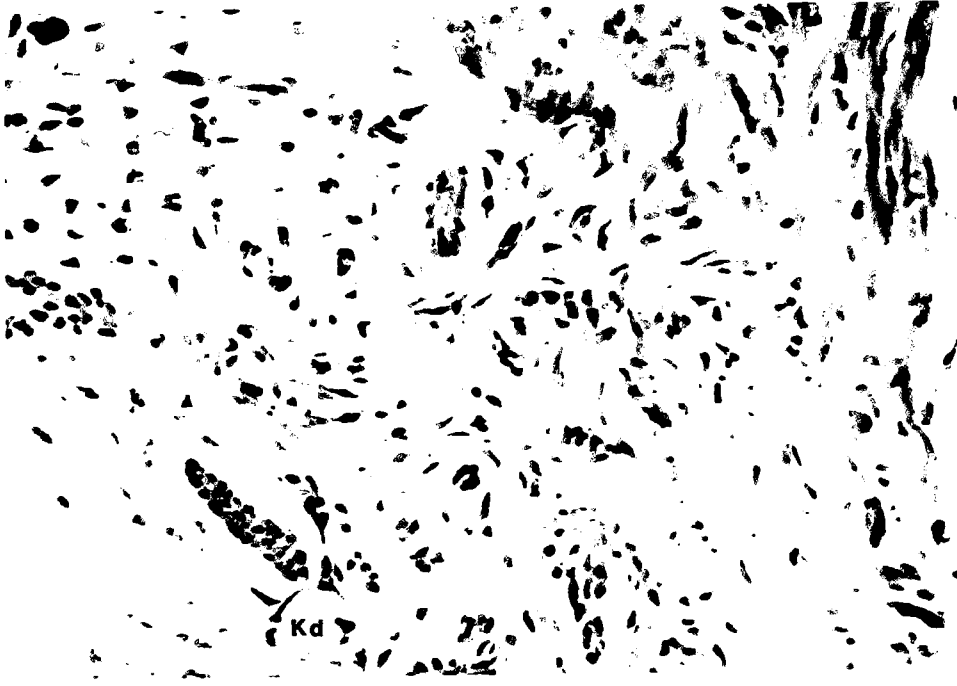
Resim 1. Mezometriyal üçgende sodyum flörür (NaF) içermeyen inkübasyon solüsyonu ile yapılan boyamada makrofajların (*) görünümü. L: Lumen Kd: Kan damarı. ANAE, X 90.



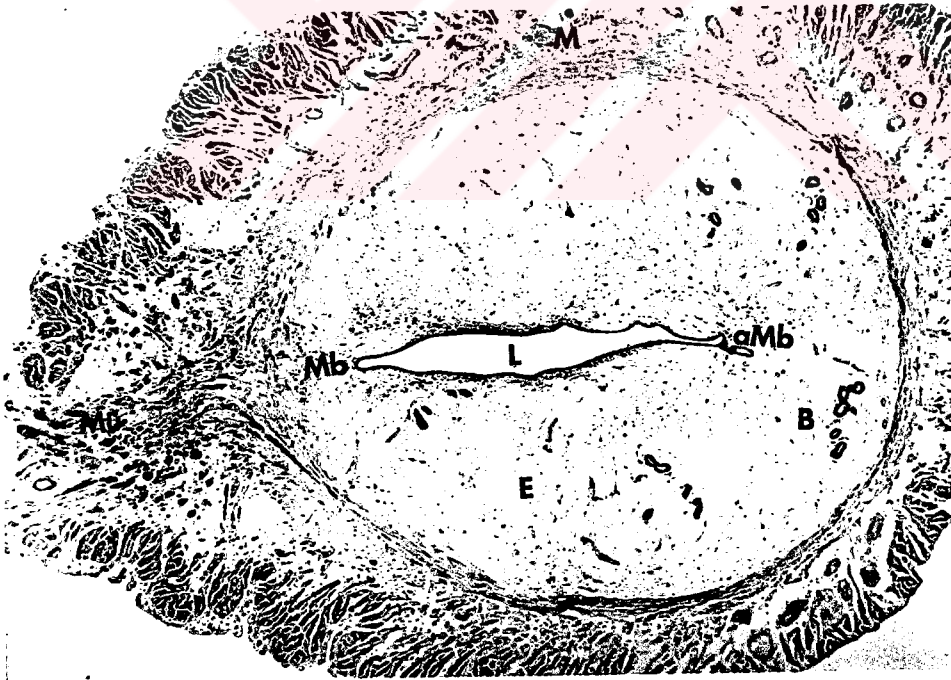
Resim 2. Resim 1'in daha büyük büyütmedeki görünümü. Makrofaj (*). ANAE, X 360.



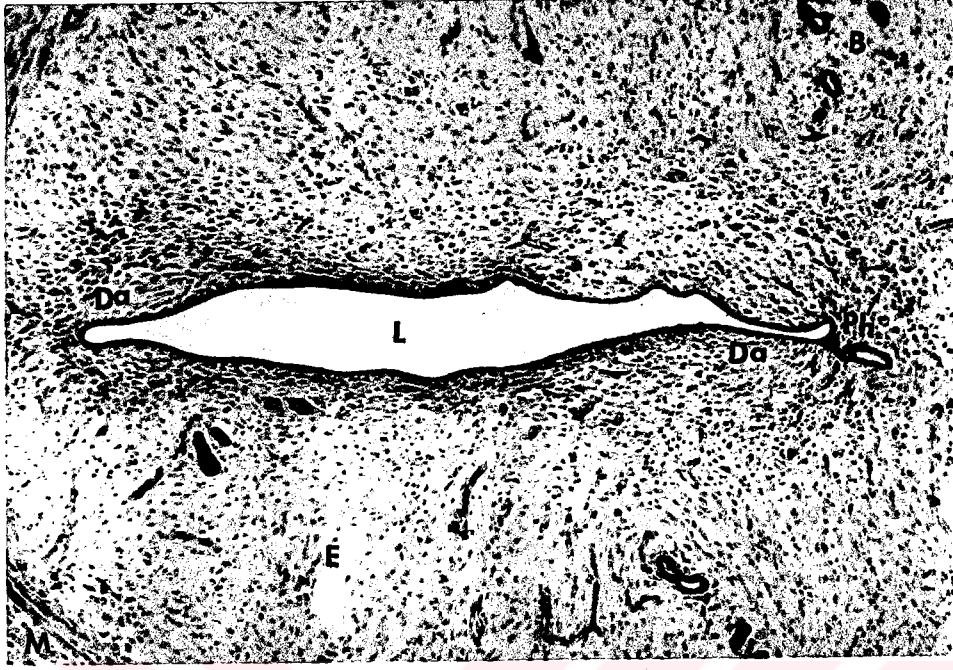
Resim 3. NaF ilave edilerek hazırlanan inkübasyon solüsyonu ile yapılan boyamada makrofajların reaksiyon vermediği mezometriyal üçgenin görünümü. L: Lumen Kd: Kan damarı. ANAE, X 90.



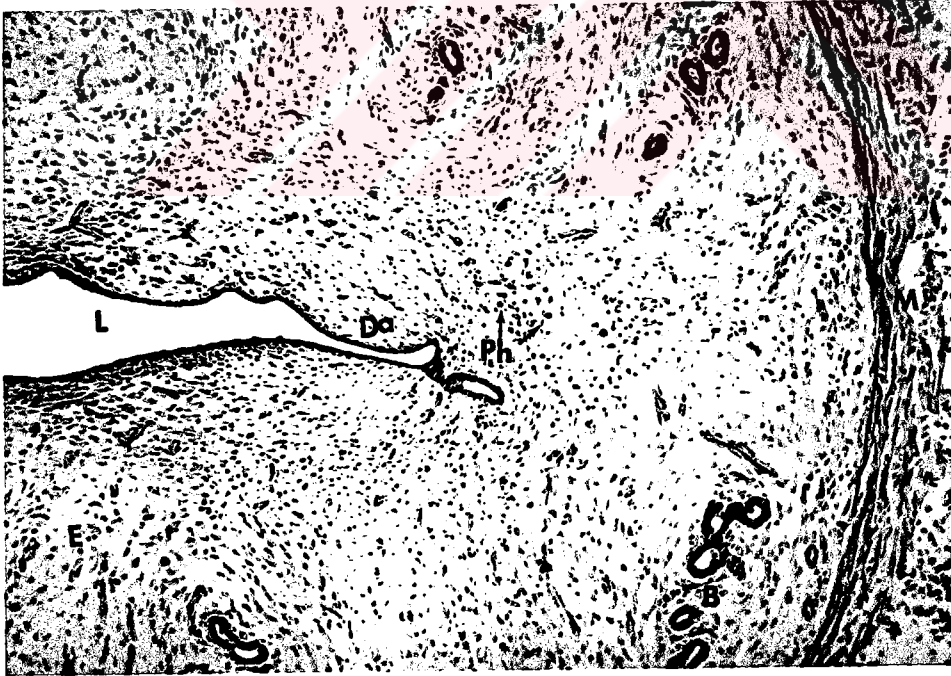
Resim 4. Resim 3'ün daha büyük büyütmedeki görünümü Kd: Kan damarı. ANAE, X 360.



Resim 5. İmplantasyonun birinci günündeki uterusun görünümü. L: Lumen, Mü: Mezometriyal tüçgen, Mb: Mezometrial bölge, E: Endometriyum, aMb: Antimezometrial bölge, M: Miyometriyum, B: Bez. ANAE, X 36.



Resim 6. Desidual alana (Da) lokalize olan esteraz pozitif hücrelerin (Ph) görünümü. L: Lumen, B: Bez, M: Miyometriyum, E: Endometriyum. ANAE, X 72.



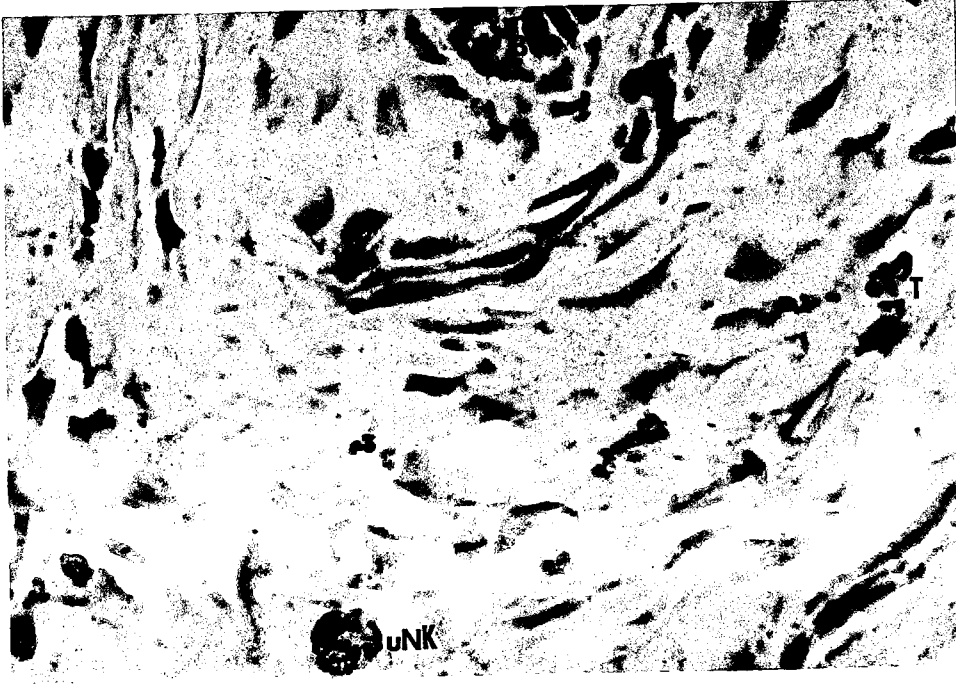
Resim 7. İmplantasyonun birinci gününde antimezometriyal bölgede desidual alanda (Da) lokalize olan pozitif hücrelerin (Ph) görünümü. L: Lumen, E: Endometriyum, M: Miyometriyum, B: Bez. ANAE, X 90.



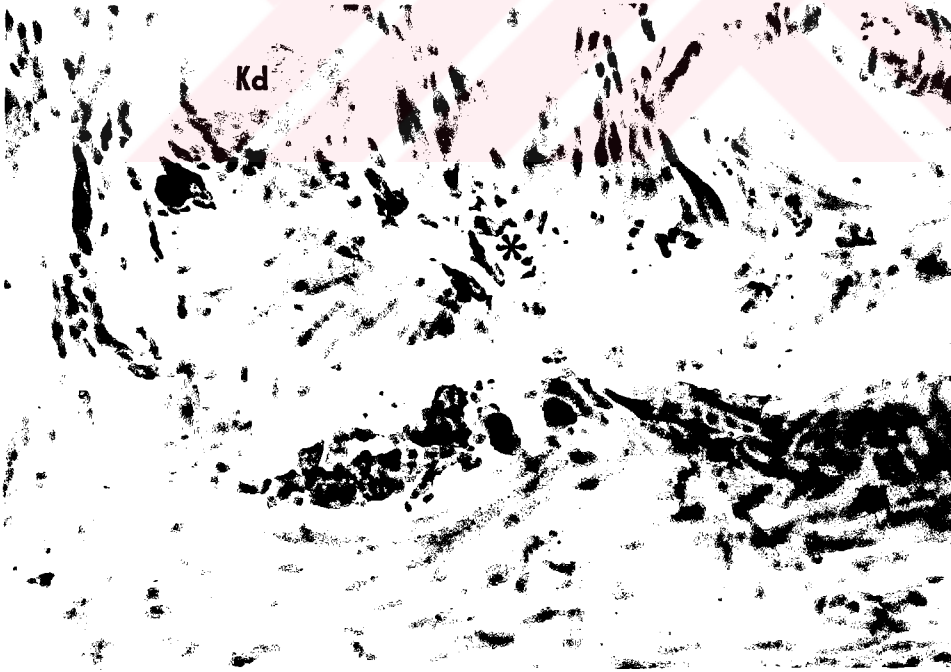
Resim 8. Mezometriyal üçgende lokalize olan uNK'ların görünümü. Da: Desidual alan, L. Lumen. ANAE, X 90.



Resim 9. T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların endometriyumdaki görünümü. B. Bez, ANAE, X 360.



Resim 10. T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların endometriyumdaki görünümü. B. Bez, ANAE, X 720.

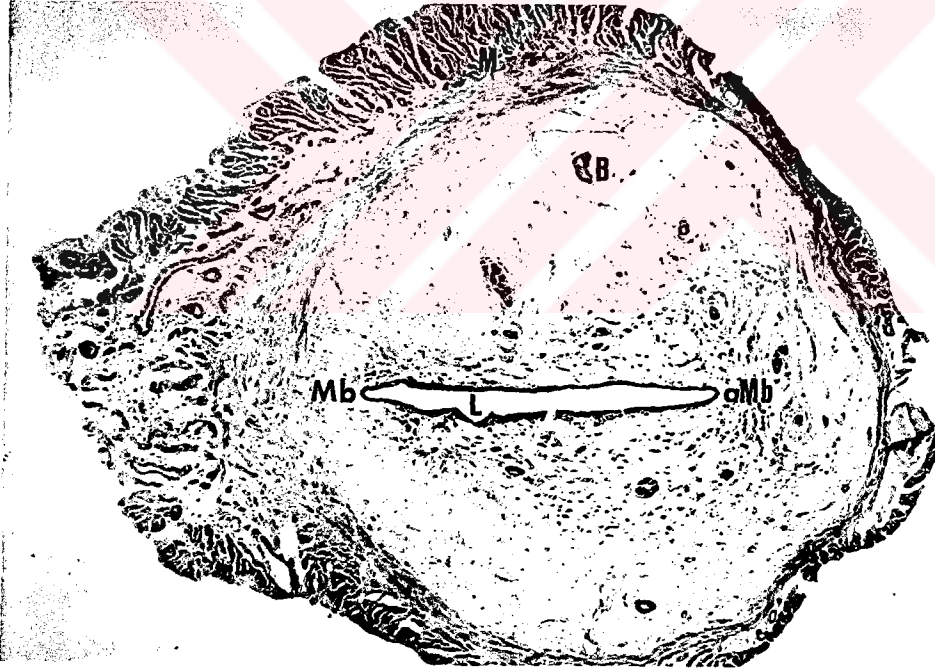


Resim 11. Miyometriyumda damarlar çevresindeki makrofajların (*) görüntümü. Kd: Kan damarı. ANAE, X 360.

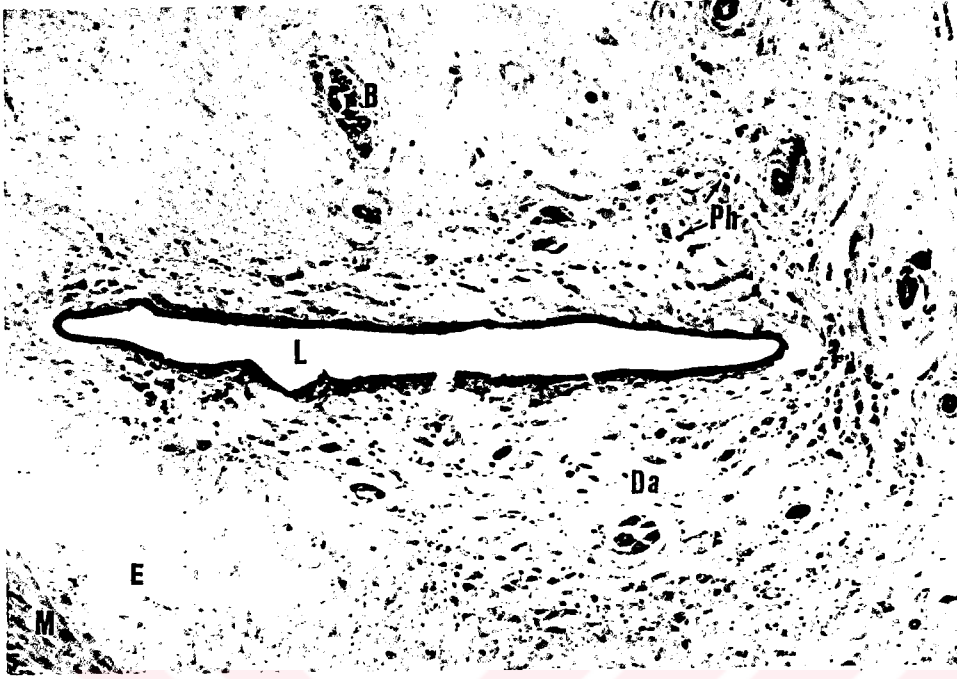
6.1.2. İmplantasyonun ikinci günü

Uterus lumenini döşeyen lamina epitelyalis etrafında ve daha çok antimezometriyal bölgede olmak üzere desiduadaaki artışın birinci güne göre daha belirgin olduğu gözlemlendi. Antimezometriyal bölgede bulunan uterus bezlerinin sayılarında bir artışın olmadığı tespit edildi. Desiduanın genişlediği ve bu alan içinde ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin sayılarında artış olduğu gözlemlendi. Ancak bu alanın dışında kalan endometriyum ve miyometriyumda ise bu hücrelerin daha az sayıda bulunduğu saptandı (Resim 12, 13, 14).

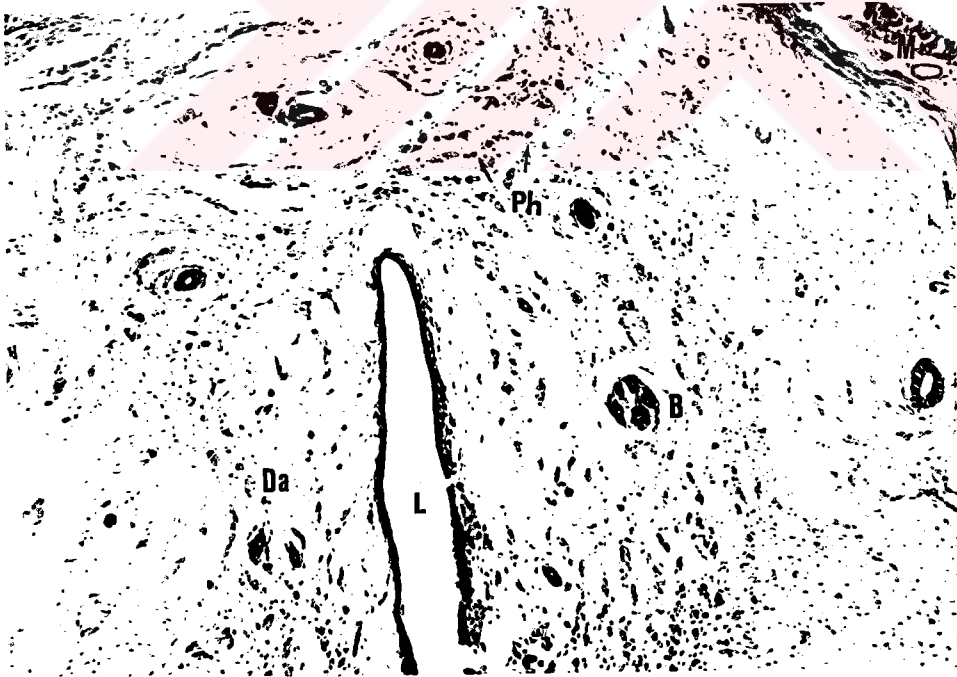
İmplantasyonun birinci gününe göre doğal öldürücü hücreler ve makrofajların, mezometriyal üçgende oldukça az bulunduğu; miyometriyumda ise damarlar çevresinde bulunan bu hücrelerin sayısında bir değişikliğin olmadığı gözlemlendi (Resim 15, 16, 17).



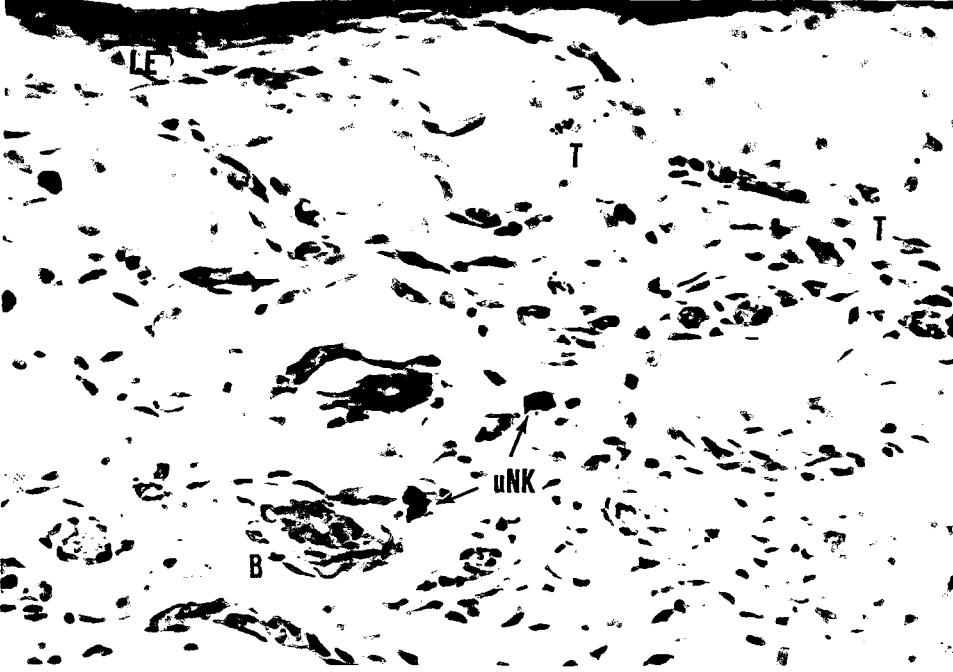
Resim 12. İmplantasyonun ikinci günündeki uterusun görünümü. L: Lumen, Mb: Mezometriyal bölge, E:Endometriyum, aMb:Antimezometriyal bölge, M: Miyometriyum, B: Bez. ANAE, X 36.



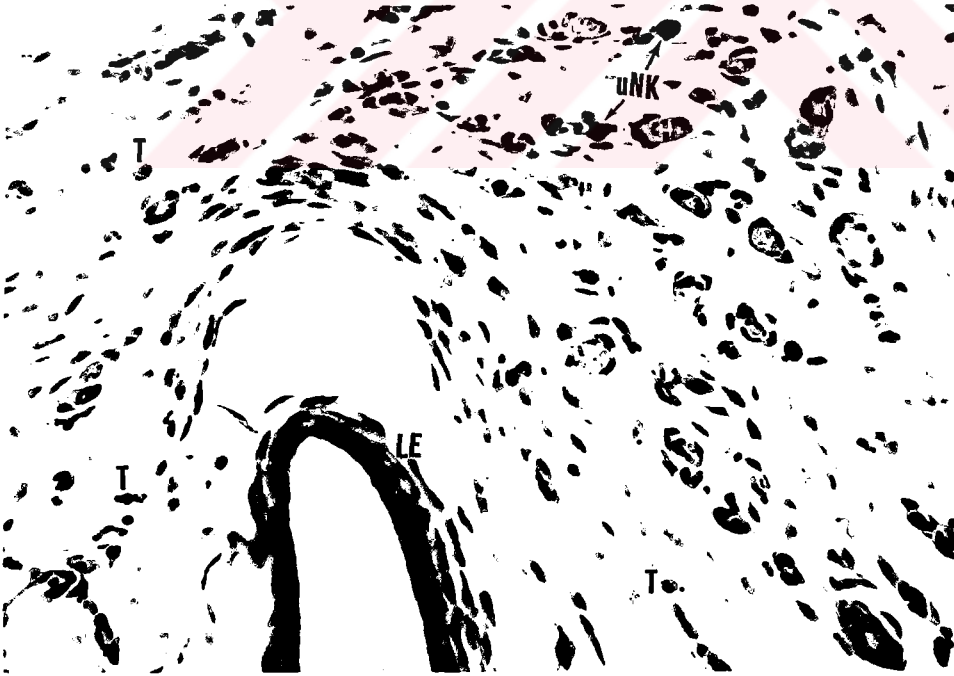
Resim 13. Desidual alana (Da) lokalize olan esteraz pozitif hücrelerin (Ph) görünümü. L: Lumen, B: Bez, M: Miyometriyum, E: Endometriyum. ANAE, X 72.



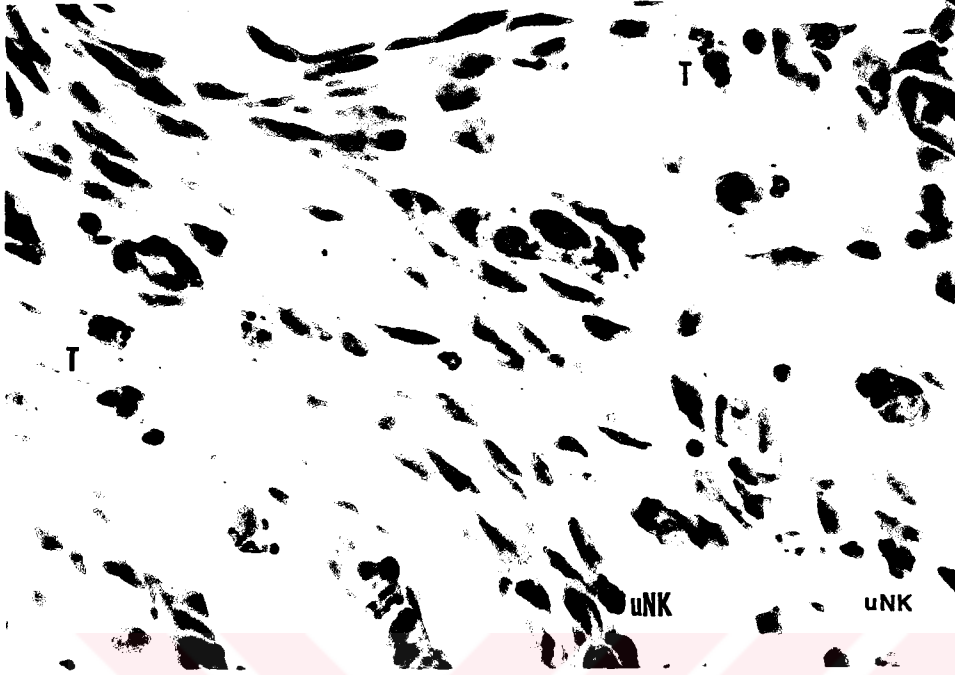
Resim 14. Antimezometriyal bölgedeki desidual alanın (Da) görünümü. Ph: Pozitif hücre, L: Lumen, M: Miyometriyum, B. Bez. ANAE, X 90.



Resim 15. Desidual alanda lokalize olan T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. LE: Lamina epitelyalis, B: Bez. ANAE, X 180.



Resim 16. Antimezometriyal bölgedeki desidual alanda lokalize olan T-lenfositler (T) ve uNK'ların görünümü. LE: Lamina epitelyalis. ANAE, X 180.

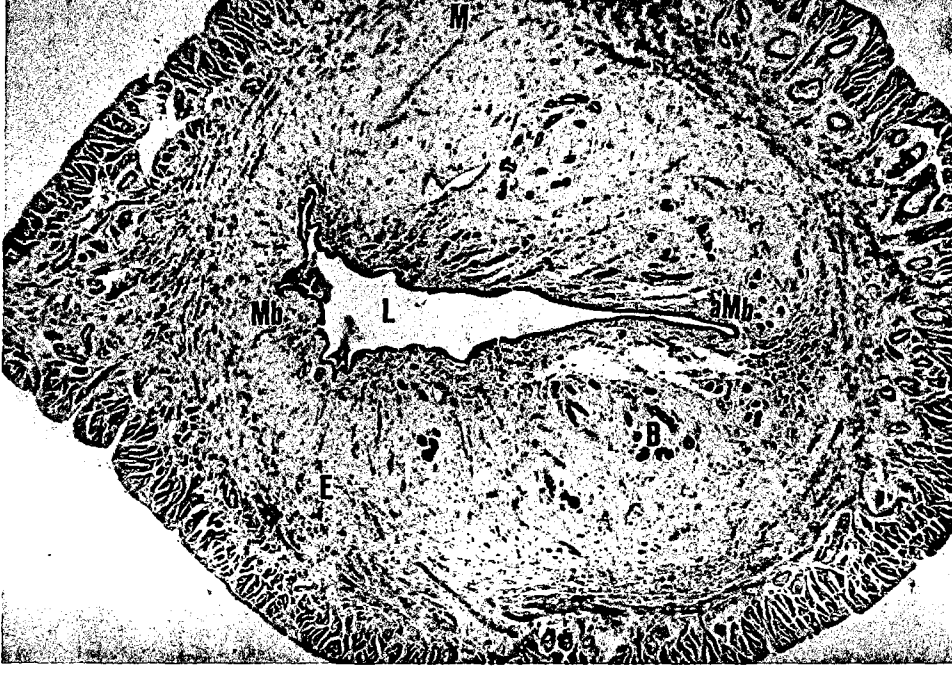


Resim 17. Desidual alanda lokalize olan T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 720.

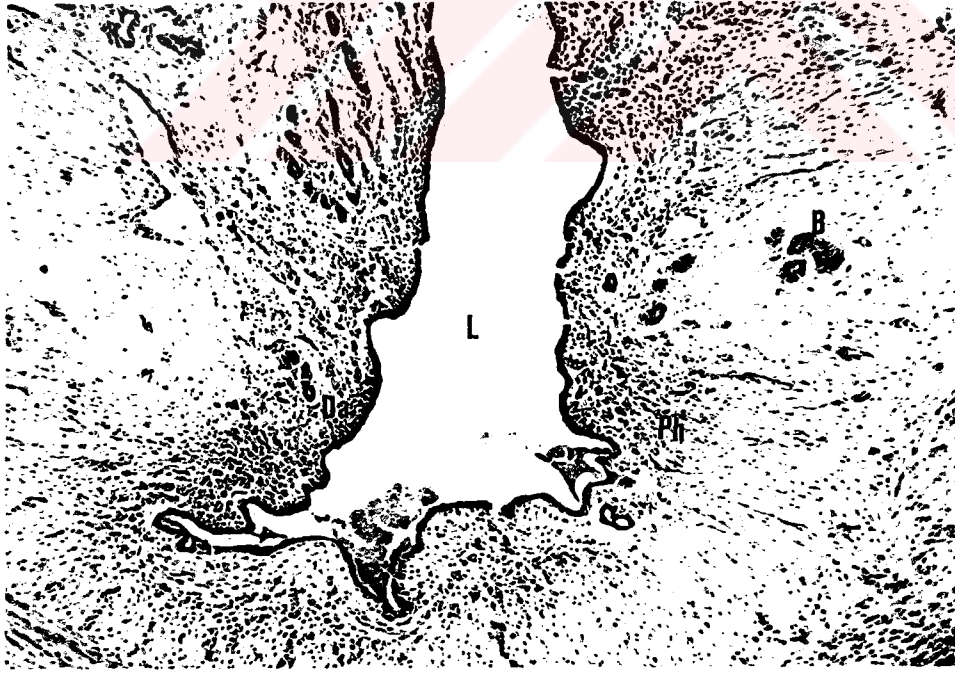
6.1.3. İmplantasyonun üçüncü günü

İmplantasyonun ikinci gününe göre desidualizasyonun endometriyumun orta kısımlarına doğru ışınal bir şekilde ilerlediği görüldü. Ayrıca, antimezometriyal bölgede bulunan desiduanın ise miyometriyuma doğru iyice ilerlemiş olduğu gözlemlendi. Antimezometriyal bölgede yerleşmiş olan uterus bezlerindeki artışın fazla sayıda olduğu belirlendi (Resim 18, 19, 20).

Desiduanın genişlemesine paralel olarak ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin sayılarının artmaya devam ettiği gözlemlendi. Bu hücrelerin, desidual alanla birlikte endometriyumun her tarafında yaygın olarak bulunduğu görüldü. İmplantasyonun ikinci gününe göre T-lenfositler, doğal öldürücü hücreler ve makrofajların miyometriyumdaki sayılarında önemli bir değişikliğin olmadığı saptandı (Resim 21, 22).



Resim 18. İmplantasyonun üçüncü günündeki uterusun görünümü. L: Lumen, Mb: Mezometrial bölge, E: Endometriyum, aMb: Antimezometrial bölge, M: Miyometriyum, B: Bez. ANAE, X 36.



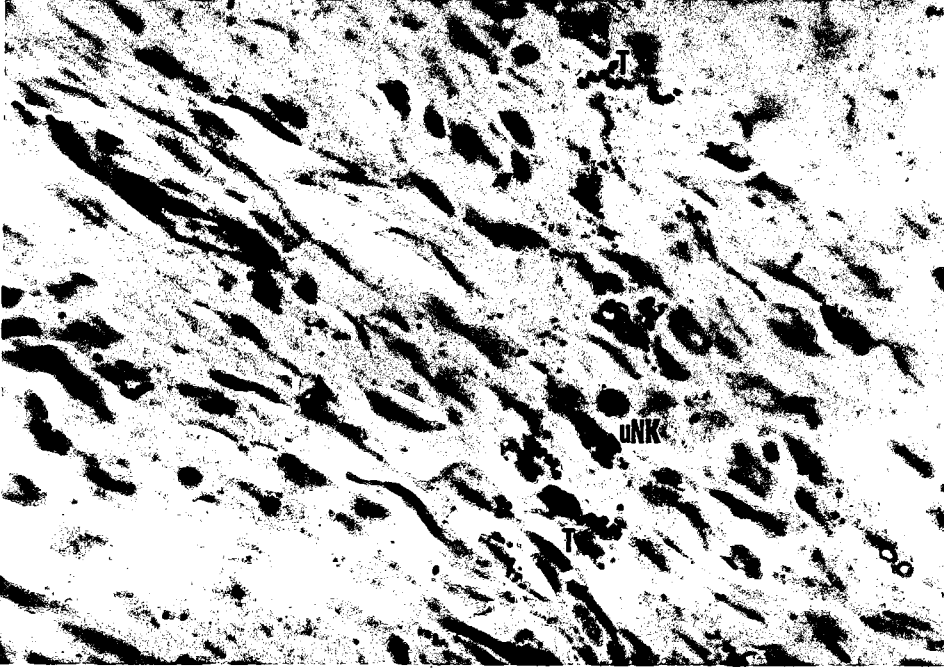
Resim 19. Mezometriyal bölgedeki desidual alanda (Da) lokalize olan pozitif hücreler (Ph), L. Lumen, B: Bez. ANAE, X 90.



Resim 20. Antimezometriyal bölgedeki desidual alanda (Da) lokalize olan pozitif hücreler (Ph). M: Miyometriyum, L. Lumen, B: Bez. ANAE, X 90.



Resim 21. Desidual alanda lokalize olan T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. LE: Lamina epitelyalis. ANAE, X 180.



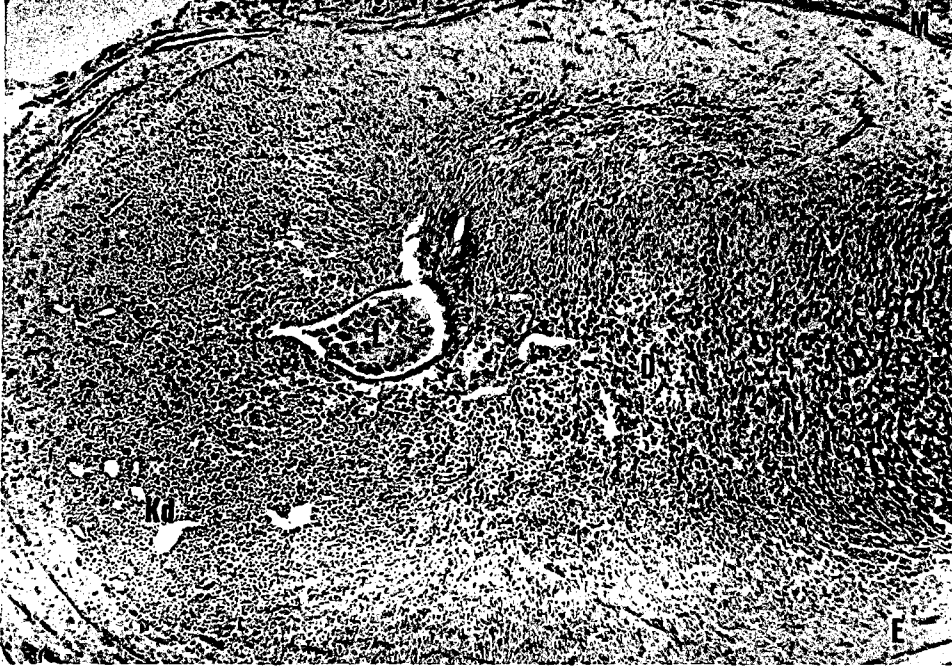
Resim 22. Desidual alan içindeki T-lenfositlerin ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 720

6.1.4. İmplantasyonun dördüncü günü

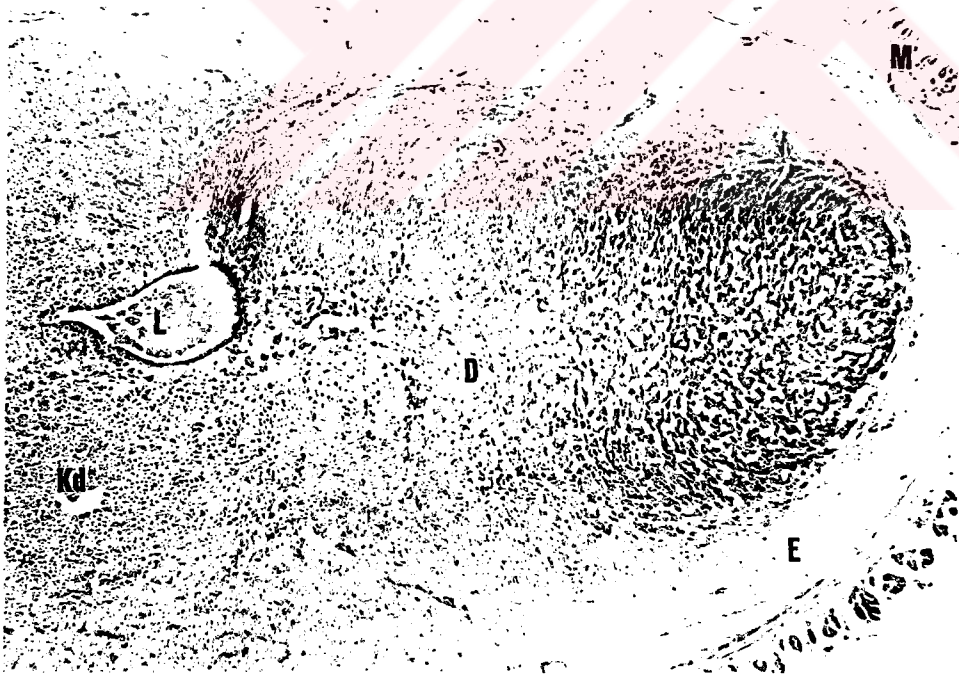
Antimezometriyal bölgede genişlemesi devam eden desiduanın endometriyumun geri kalan kısmıyla belirgin bir şekilde ayrıldığı saptandı. Mezometriyal bölgede ise desiduanın, miyometriyuma doğru iyice yaklaştığı gözlemlendi. İmplantasyonun üçüncü gününe kadar normal yapısında görünen uterus lumeninin, implantasyonun dördüncü gününde içinde tek tük kan damarlarının şekillenmeye başladığı desidual alan içinde küçülmeye başladığı görüldü. Antimezometriyal bölgede desiduanın dışında kalan ve oldukça dar bir alan oluşturan endometriyumdaki bezlerin sayılarının belirgin bir şekilde azaldığı tespit edildi (Resim 23, 24, 25).

İmplantasyonun dördüncü gününde, ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelere desidual alan içinde nadiren rastlandı. Desiduanın genişlemesine bağlı olarak endometriyumun daraldığı ve bu bölgedeki pozitif hücrelerin sayısının implantasyonun üçüncü gününe göre azaldığı tespit edildi. Ancak bu hücrelerin, daralan endometriyum'un birim alanındaki sayılarında bir artışın olduğu belirlendi (Resim 26, 27, 28).

İmplantasyonun üçüncü gününe göre ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin miyometriyumdaki sayılarında önemli bir artışa rağmen, bu alandaki makrofajların sayılarında herhangi bir değişikliğin olmadığı gözlemlendi.



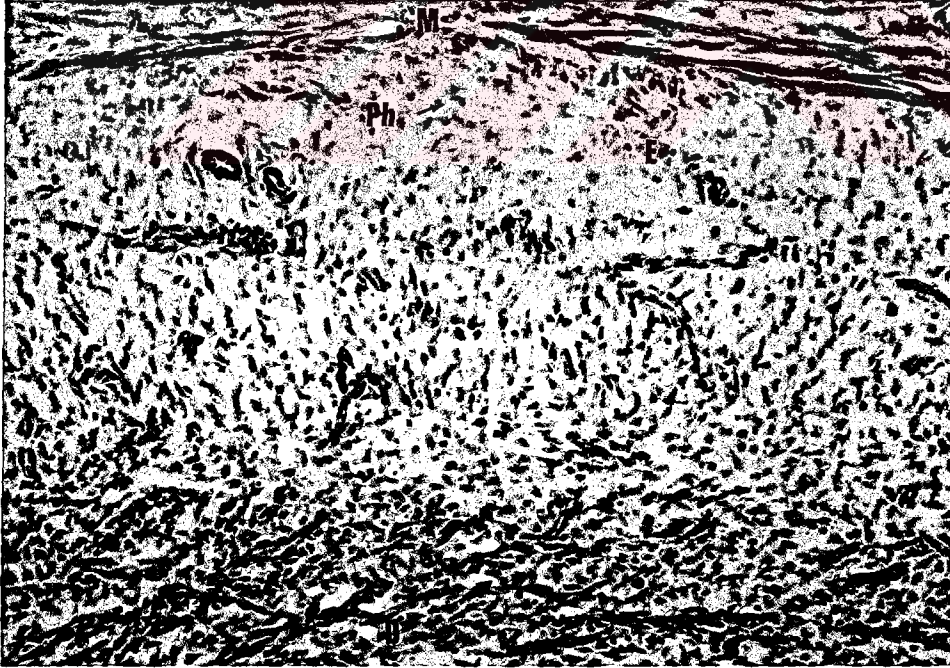
Resim 23. İmplantasyonun dördüncü günündeki mezometriyal bölgede uterusun görünümü. L: Lumen, E: Endometriyum, D: Desidua, M: Miyometriyum, Kd: Kan damarı. ANAE, X 36.



Resim 24. İmplantasyonun dördüncü günündeki antimezometriyal bölgede uterusun görünümü. L: Lumen, E: Endometriyum, D: Desidua, M: Miyometriyum, Kd: Kan damarı. ANAE, X 36.



Resim 25. Desidua'nın (D) genişlemesine bağlı olarak daralan endometriyumun (E) görünümü. Ph: Pozitif hücre, M: Miyometriyum, Kd: Kan damarı. ANAE, X 90.



Resim 26. Endometriyumdaki (E) pozitif hücrelerin (Ph) görünümü. D: Desidua, M: Miyometriyum. ANAE, X 180.



Resim 27. Endometriyum (E) ve Miyometriyum'daki (M) T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 360.



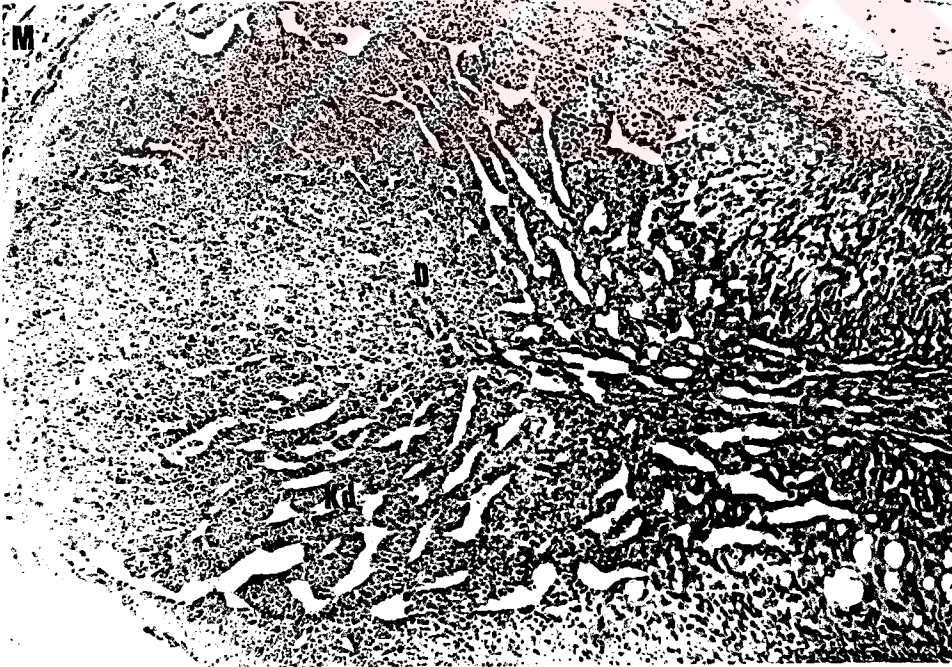
Resim 28. Endometriyumdaki T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 720.

6.1.5. İmplantasyonun beşinci günü

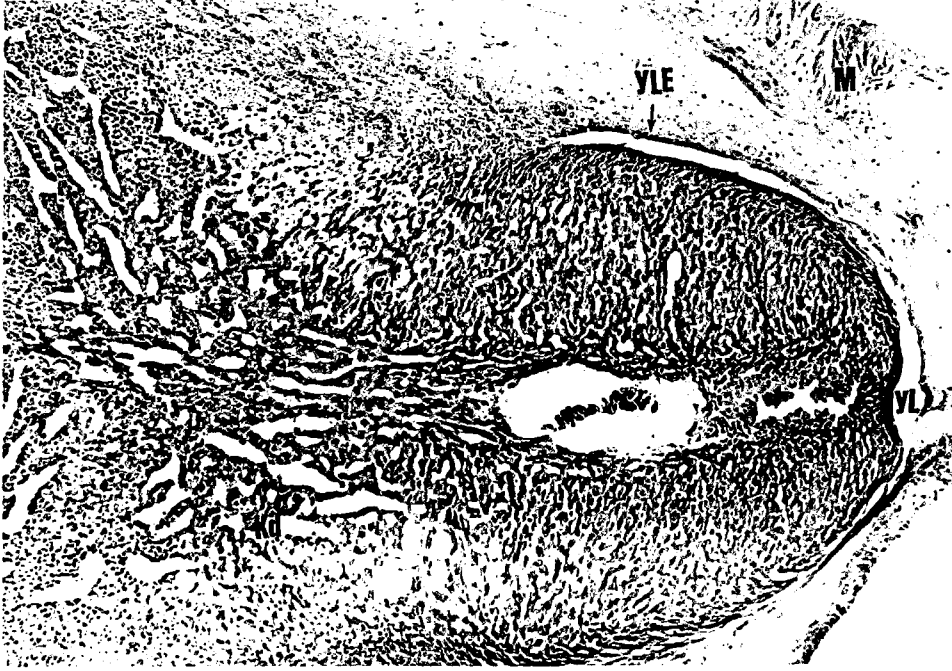
Sayıları oldukça artan kan damarları ile birlikte desidual yapının iyice ortaya çıktığı implantasyonun beşinci gününde desiduanın, endometriyumun geri kalan kısmından yeniden şekillenen bir lumen ile belirgin bir şekilde ayrıldığı tespit edildi. Endometriyumda seyrek olarak bulunan bezlerden köken alarak şekillenen epitel hücrelerinin oluşan bu yeni uterus lumeni etrafında lamina epitelyalisi tekrar oluşturmaya başladığı saptandı (Resim 29, 30, 31).

ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin, implantasyonun dördüncü gününde olduğu gibi desidual alan içinde çok nadir görüldüğü gözlemlendi. Ancak, endometriyumun implantasyonun bir önceki gününe göre çok daraldığı ve bu bölgedeki pozitif hücrelerin sayılarında azalmanın devam ettiği tespit edildi.

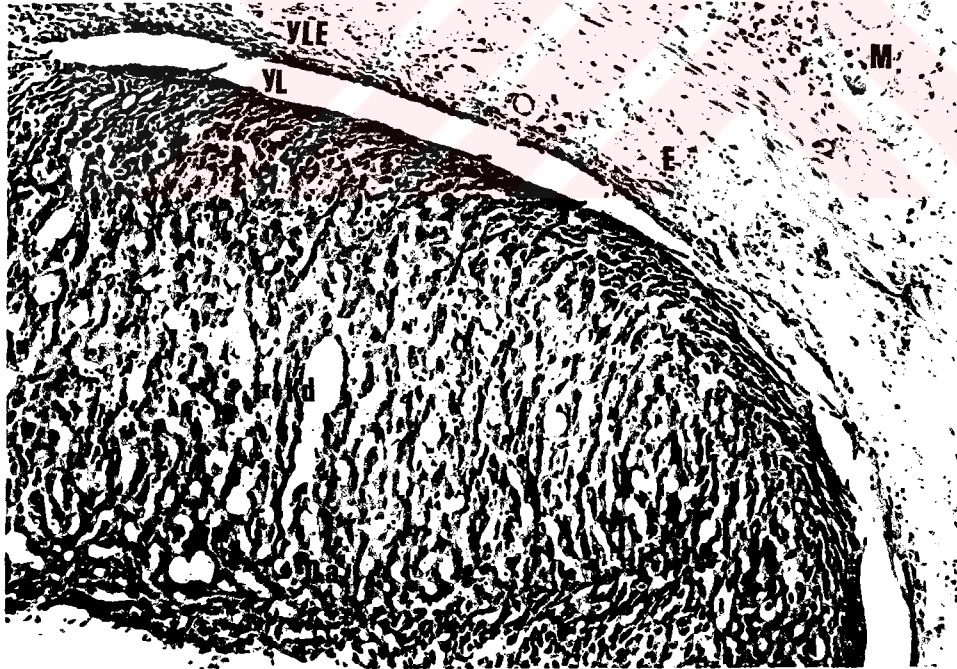
T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin miyometriyumdaki sayılarında artışın devam etmesine karşın, bu alandaki makrofajların sayılarında bir azalmanın olduğu belirlendi (Resim 32, 33).



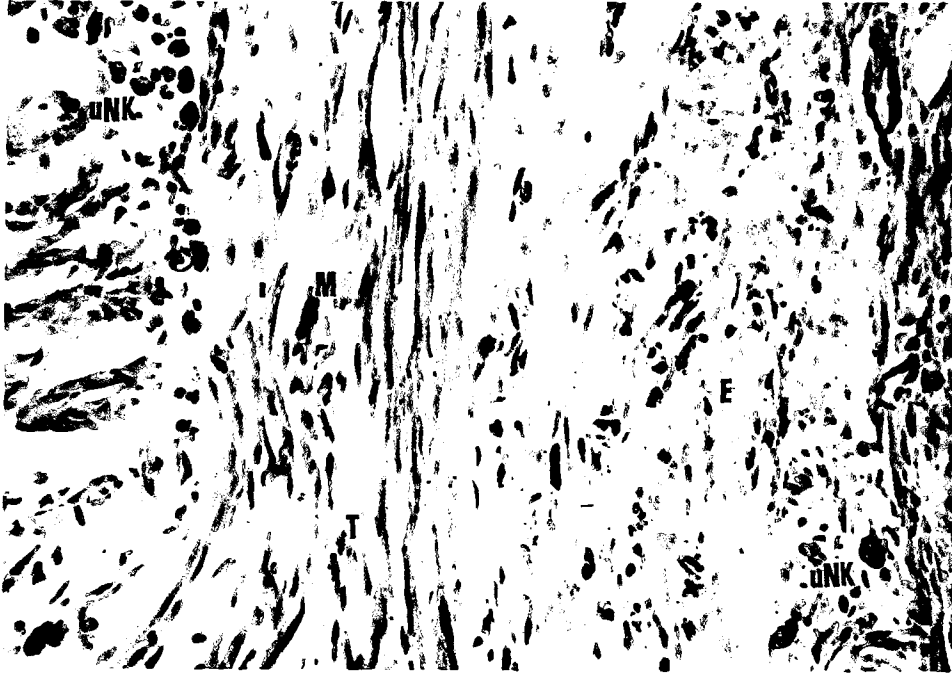
Resim 29. İmplantasyonun beşinci gününde mezometriyal bölgedeki desidua'nın (D) görünümü. Kd: Kan damarları, M: Miyometriyum. ANAE, X 36.



Resim 30. İmplantasyonun beşinci gününde antimezometriyal bölgedeki desidual alanla birlikte yeniden oluşan lumenin (yL) ve lamina epitelyalis'in (yLE) görünümü. E: Endometriyum, Kd: Kan damarları, M: Miyometriyum. ANAE, X 36.



Resim 31. Desidual alanla birlikte (Da) yeniden oluşan lumenin (yL) ve lamina epitelyalis'in (yLE) görünümü. E: Endometriyum, M: Miyometriyum, Kd: Kan damarı, ANAE, X 90.



Resim 32. Endometriyum (E) ve Miyometriyumdaki (M) T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 360.



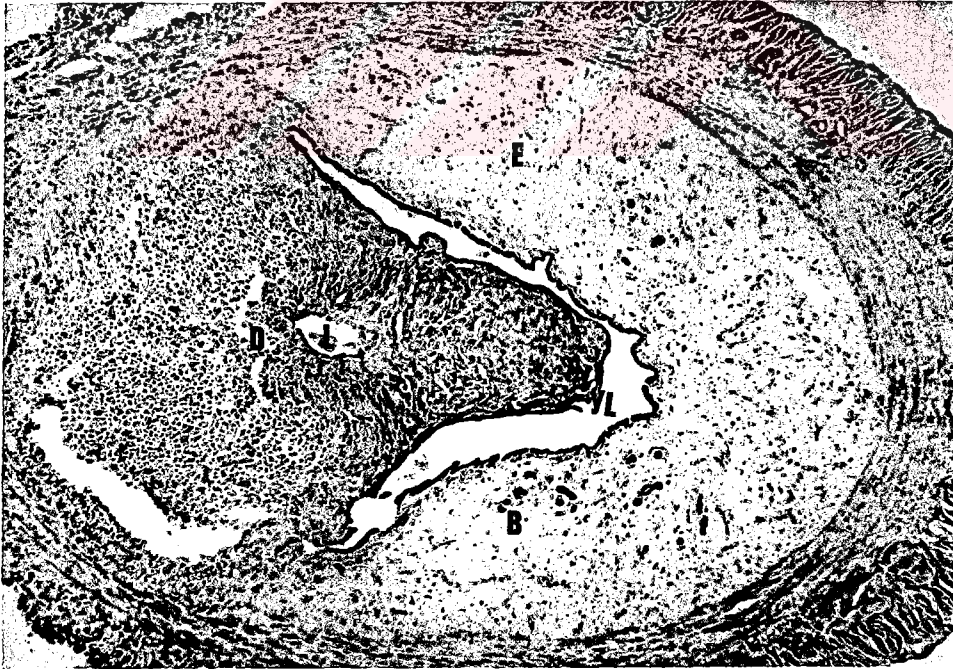
Resim 33. Endometriyum'daki T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 180

6.1.6. İmplantasyonun altıncı günü

Gebeliğin onuncu gününe rastlayan implantasyonun son gününde, desidua içinde bulunan lumenin iyice küçüldüğü görüldü. Antimezometriyal bölgede endometriyumun yeniden oldukça genişlediği, desidua ile endometriyum arasında bulunan lumenin gittikçe büyüdüğü ve lamina epitelyalisi oluşturan epitel hücrelerinin daha da belirginleştiği gözlemlendi (Resim 34, 35). Bu alandaki uterus bezlerinin, yaklaşık implantasyonun ilk günündeki sayısına ulaştığı saptandı (Resim 34, 36).

ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin, implantasyonun önceki iki gününde olduğu gibi desidua alan içinde çok az sayıda bulunduğu gözlemlendi. Fakat bu hücrelerin, endometriyumun iyice genişlemesine bağlı olarak sayılarının oldukça arttığı tespit edildi (Resim 37, 38).

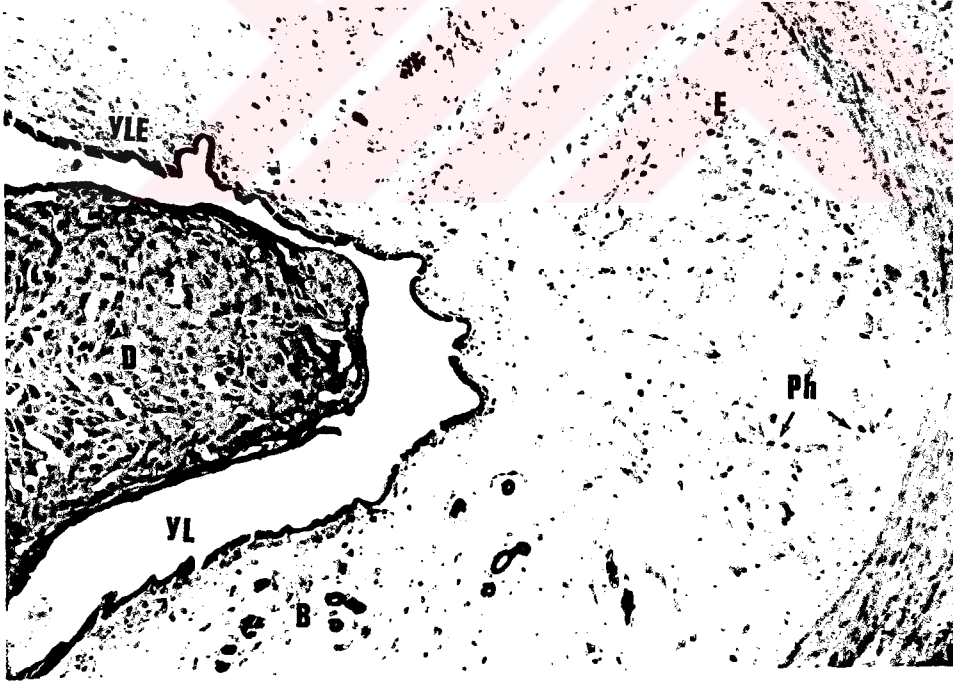
T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin miyometriyumdaki sayılarında artışın devam etmesine karşın, bu alandaki makrofajların sayılarında önemli bir değişikliğin olmadığı belirlendi.



Resim 34. İmplantasyonun altıncı gününde uterusun görünümü. L: Lumen, yL: Yeniden oluşan lumen, D: Desidua, E: Endometriyum, B: Bez. ANAE, X 36.



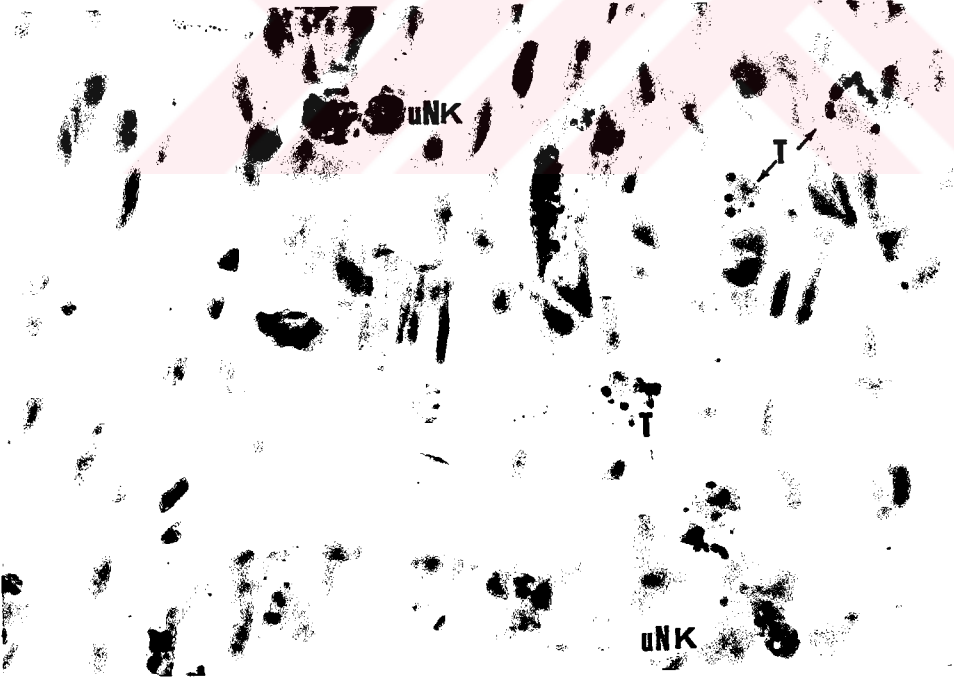
Resim 35. Mezometriyal bölgedeki desidua'nın (D) görünümü. L: Lumen, yL: Yeniden oluşan lumen, E: Endometriyum, ANAE, X 90.



Resim 36. Antimezometriyal bölgedeki desidua'nın (D) görünümü. yLE: Yeniden oluşan lamina epitelyalis, yL: Yeniden oluşan lumen, E: Endometriyum, Ph: Pozitif hücre, B:Bez, ANAE, X 90.



Resim 37. Endometriyum'daki pozitif T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü.
B: Bez. ANAE, X 360.



Resim 38. Endometriyumdaki pozitif T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü.
ANAE, X 720.

Tablo 1. İmplantasyonun farklı günlerinde endometriyumdaki ANAE pozitif hücrelerin dağılımı

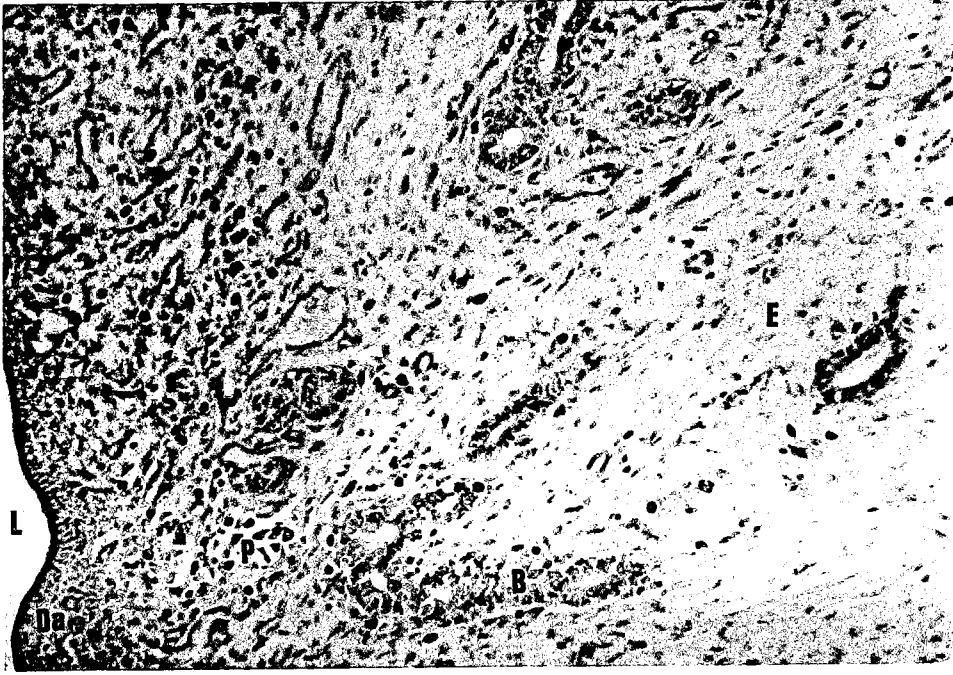
<i>Hücreler</i>	<i>İmplantasyon Günleri</i>					
	1	2	3	4	5	6
T-lenfosit	+	++	+++	++	+	+++
Doğal Öldürücü Hücre	++	+++	++++	+++	++	++++

+ : az
++ : orta
+++ : fazla
++++ : çok fazla

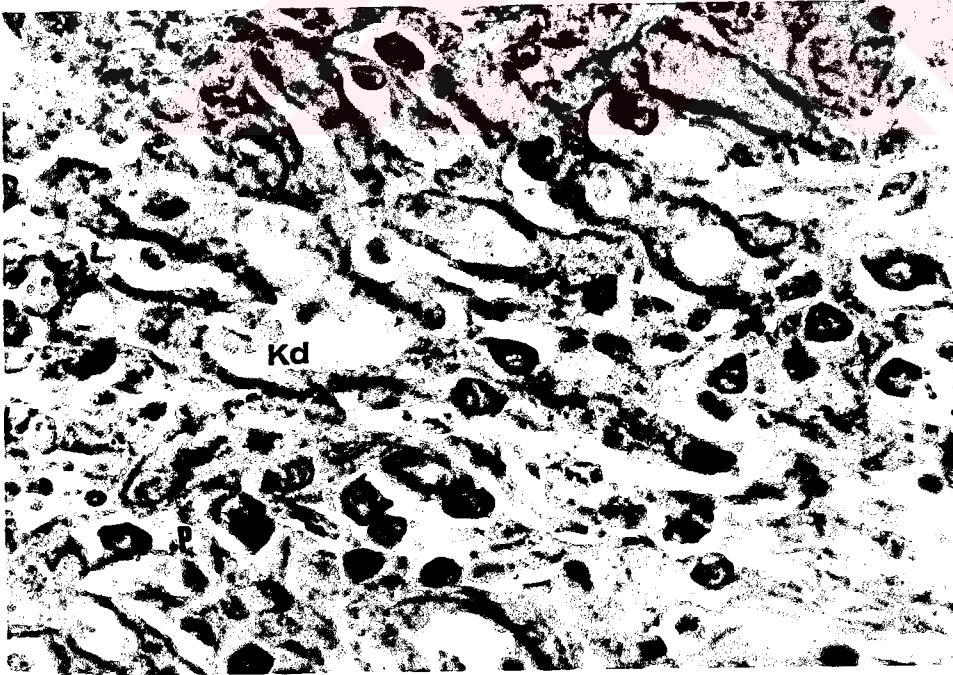
6.2. Sıvısal Savunma Sistemi Hücresi:

Sıvısal savunmada görevli plazma hücrelerinin implantasyonun farklı günlerinde endometriyumdaki dağılımlarını saptamak amacıyla yapılan hücre sayımları sonucu elde edilen ortalama değerler ve istatistiksel sonuçlar Tablo 2 ve Grafik 1'de gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu plazma hücrelerinin implantasyonun farklı günlerindeki sayısal dağılımları arasında bulunan ilişkinin anlamlı olduğu bulundu ($p<0.05$).

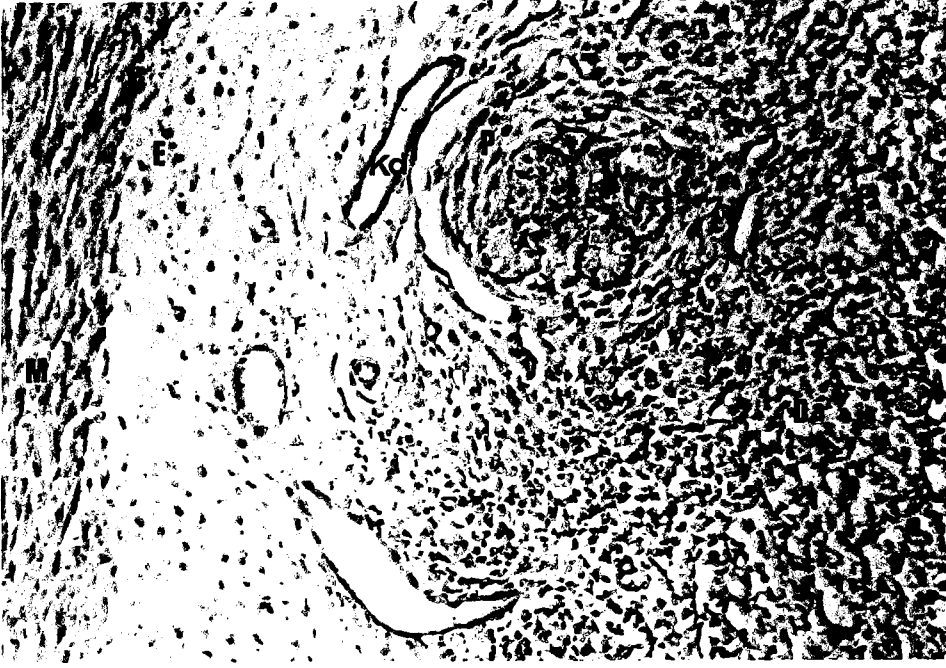
İmplantasyonun ilk gününde, plazma hücrelerinin desidual alan ile birlikte endometriyumun geri kalan kısımlarında özellikle bezler ve damarlar çevresinde oldukça fazla sayıda bulunduğu gözlemlendi (Resim 39, 40). Bu hücrelerin sayısının implantasyonun ikinci ve üçüncü günlerinde yukarıda adı geçen alanlarda giderek azaldığı görüldü. İmplantasyonun dördüncü gününde ise, antimezometriyal bölgede desiduanın miyometriyum'a doğru genişleyerek endometriyum'dan belirgin bir şekilde ayrıldığı saptandı. İmplantasyonun bu dördüncü gününden itibaren son gününe kadar desidual alan içinde plazma hücrelerinin bulunmadığı, ancak bu alan dışında kalan endometriyumun oldukça daraldığı ve buradaki plazma hücrelerinin sayısının en az seviyeye düştüğü gözlemlendi (Resim 41, 42). İmplantasyonun beşinci gününden başlayarak altıncı gününe doğru reepitelizasyonla birlikte endometriyumun kalınlaştığı ve plazma hücrelerinin sayısında artış olduğu belirlendi (Resim 43, 44).



Resim 39. İmplantasyonun birinci gününde endometriyum (E) ve desidual alanda (Da) bulunan plazma hücrelerinin (P) görünümü. L: Lumen, B: Bez. Metil green-pironin, X 180.



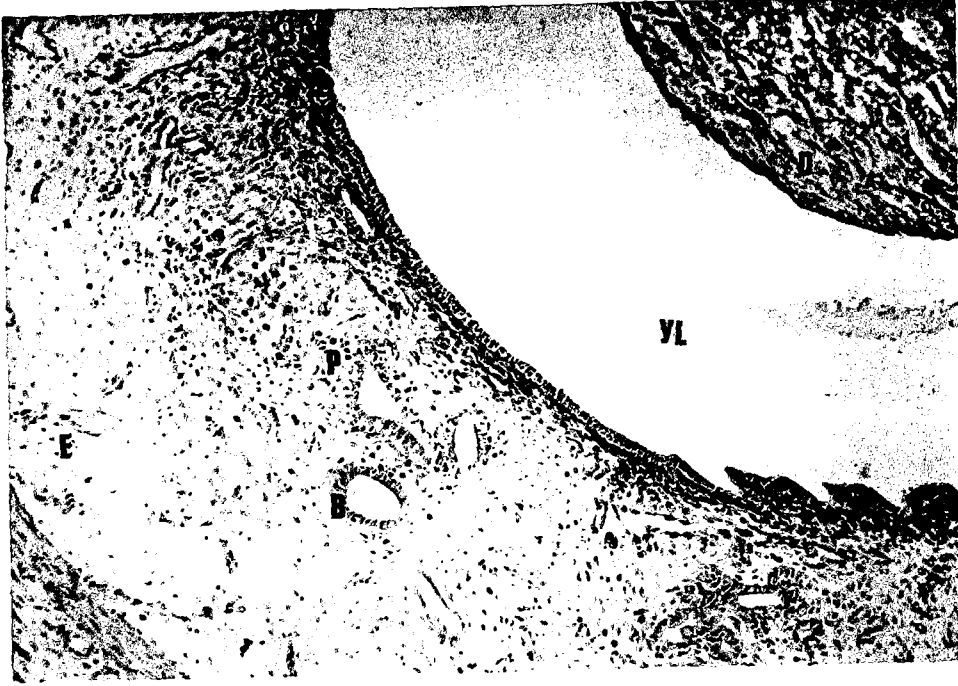
Resim 40. Resim 39'un daha büyük büyütmedeki görünümü. P: Plazma hücreleri, Kd: Kan damarı. Metil green-pironin, X720 .



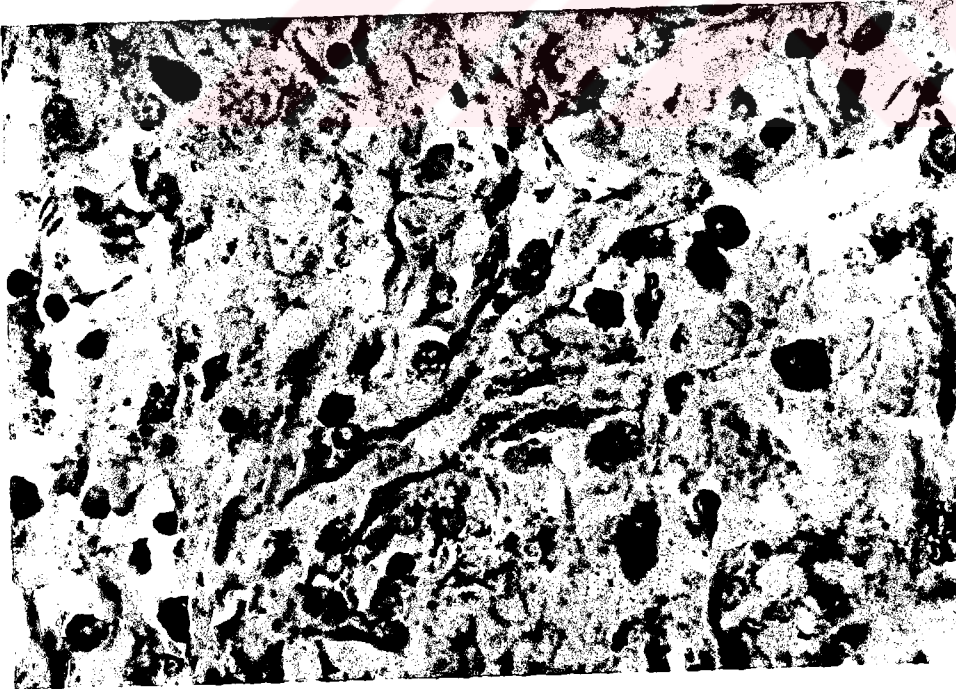
Resim 41. İmplantasyonun dördüncü gününde desidual alanın (Da) dışında kalan endometriyumda (E) bulunan plazma hücrelerinin (P) görünümü. Kd: Kan damarı, M: Miyometriyum. Metil green-pironin, X 180.



Resim 42. Resim 41'in daha büyük büyütmedeki görünümü. P: Plazma hücreleri, E: Endometriyum, Kd: Kan damarı. Metil green-pironin, X 720 .



Resim 43. İmplantasyonun altıncı gününde genişleyen endometriyumda (E) bulunan plazma hücrelerinin (P) görünümü. yL: Yeniden oluşan lumen, D: Desidua, B: Bez. Metil green-pironin, X 90.



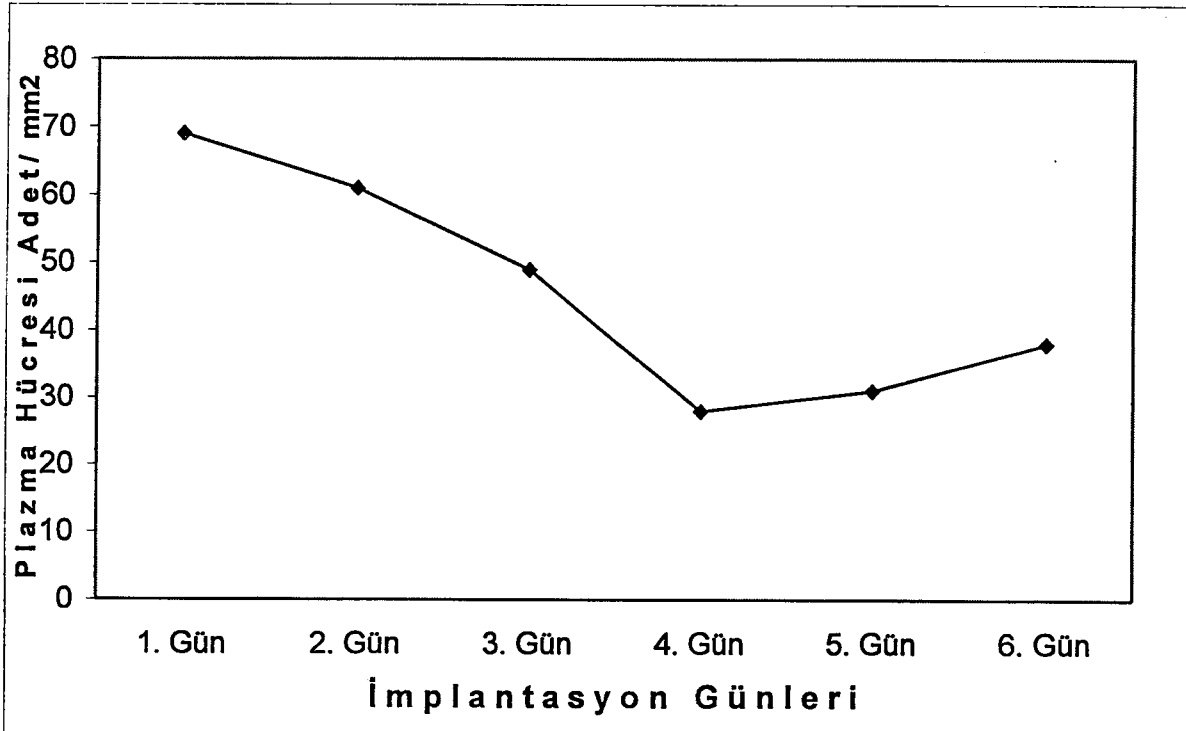
Resim 44. Resim 43'ün daha büyük büyütmedeki görünümü. P: Plazma hücreleri. Metil green-pironin, X 720.

Tablo 2. İmplantasyonun değişik günlerinde endometriyumdaki plazma hücrelerinin dağılımı

<i>İmplantasyon Günleri</i>	<i>n</i>	<i>Plazma Hücresi Adet/mm²</i> <i>Aritmetik Ortalama (X ± SH)</i>
Birinci Gün	7	69.00 ± 3.39 ^a
İkinci Gün	7	61.14 ± 2.04 ^b
Üçüncü Gün	7	49.42 ± 2.13 ^c
Dördüncü Gün	7	28.21 ± 2.26 ^d
Beşinci Gün	7	31.27 ± 1.93 ^e
Altıncı Gün	7	38.16 ± 1.41 ^f

Plazma sayıları sütunundaki farklı implantasyon günlerinde farklı harf taşıyan grup ortalamaları istatistiksel olarak önemli farklılığa sahiptir (p<0.05).

Grafik 1. Plazma hücrelerinin implantasyonun günlerine göre dağılımı.



7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma, implantasyonda sıçan endometriyum dokusunun hücrel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin dağılımlarının ve yoğunluklarının enzim histokimyasal ve histometrik yöntemlerle belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Literatür araştırmalarında, endometriyumda bulunan hücrel savunma sistemi hücreleri üzerine ANAE boyama yöntemi ile yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. Bu nedenle T-lenfositler, doğal öldürücü hücreler, makrofajlar ve plazma hücrelerine ait bulgular, histokimyasal ve immunohistokimyasal çalışmalarla ilgili literatür verileriyle tartışıldı.

İmplantasyon sürecinde, blastosist'in yıkılmamasında, anneye ait immun sistem hücrelerinin önemli bir rol oynadığı pek çok araştırmacı tarafından belirtilmektedir (38, 48). Bazı araştırmacılar (39, 40) immun sistemi gelişmiş annelerde meydana gelen gebelik olayının başarıyla sürdürülmesinde, embriyonun, gebelik boyunca maternal doğal öldürücü hücrelerin ve gebeliğin ortalarına kadar da sitotoksik T-lenfositlerin öldürücü etkilerine karşı dirençli olduğunu bildirmektedirler. Smárasón ve ark. (41) ise, embriyonik dokular, fetal hücreler ve desidual hücrelerden salgılanan farklı kimyasal maddelerin, lenfositlerin fetus'a karşı affinitesini azaltarak anneye ait immun tepkinin baskılanmasına ve desidual hücrelerinde embriyo ile immun sistem hücreleri arasında bir bariyer oluşturarak blastosist'in reddedilmesini önlediğini belirtmektedirler. İmmun tepkinin baskılanması ile ilgili mekanizmalar arasında, makrofajlardan salgılanan prostaglandinler (özellikle PGE₂) aracılığı ile yardımcı T- lenfositlerinden salgılanan interleukin-2 (IL-2) üretiminin inhibe edilmesi ya da supresör T-lenfositlerin aktive edilmesi gösterilmiştir (42).

Bulmer ve ark. (43), insanlarda yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada, implantasyon sürecinde endometriyumda lökositlerin yaklaşık % 20'sinin T-lenfositlerden oluştuğunu belirtmektedirler. Yeh ve ark. (39) ile Vassiliadou ve Bulmer (44), insanlarda monoklonal antikorlar kullanarak yaptıkları çalışmalarda, implantasyon sürecinde, endometriyumda belirlenen lenfositlerin % 70'ini sitotoksik T-lenfositlerin oluşturduğunu, bu hücrelerin de genellikle desidual alan içinde yayıldığını ve küçük topluluklar halinde endometriyal bezlerin çevresinde yerleştiklerini tespit etmişlerdir. Kabawat ve ark. (46) ise, insanlarda yaptıkları çalışmada, implantasyon sürecinde T-lenfositlerin, desidual alanda oldukça az bulunduğunu, endometriyumda ise eşit bir dağılım gösterdiklerini bildirmişlerdir.

De ve ark. (48), farelerde yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada makrofaj ve lenfositlerin sayısında, implantasyonun ikinci gününde birinci güne göre desidual alan içinde ve endometriyumda artış olduğunu bildirmektedirler. İmplantasyonun üçüncü gününde ise, antimezometriyal bölgedeki desidual alanın büyümesiyle birlikte endometriyum'un geri kalan derin bölgelerinde ve miyometriyumda bu hücrelerin sayılarının azaldığı, desidual alan içinde ise çok ender görüldükleri belirtilmektedir. Üçüncü günde gözlenen bu azalmanın dördüncü günde daha da belirginleştiği bildirilmektedir. İmplantasyonun beşinci gününde makrofaj ve lenfositlerin oldukça azalmış olmasına karşın, gebeliğin ilerleyen günlerinde antimezometriyal bölgede endometriyumun yeniden şekillenmesiyle, endometriyum ve miyometriyumda bu hücrelerin sayılarının tekrar arttığı belirtilmektedir (48).

Lea ve Clark (49), sıçanlarda yaptıkları araştırmada, preimplantasyonda T-lenfosit ve makrofajların daha çok endometriyum ve miyometriyumda yerleştiği, implantasyondan bir gün önce her iki hücre türünün de endometriyumun yüzeysel bölgelerinden derin bölgelerine göçtüğü ve implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfosit ve makrofajların hiç birisinin desidual alan içinde bulunmadığını bildirmektedirler.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada T-lenfositleri, gebeliğin dördüncü gününde endometriyumda seyrek olarak bulunurken, beşinci ve altıncı günlerde desidual alanla birlikte endometriyumda yoğunlaşmış olduğu ve yedinci günde ise implantasyon sürecinin ilerlemesine bağlı olarak bu hücrelerin desidual alan içinde kaybolduğu, endometriyumdan miyometriyuma doğru geçtikleri ve bu bölgedeki sayılarında azalma olduğu bildirilmektedir (50).

İnsan, sıçan, fare ve hamsterlerin endometriyumunda yapılan araştırmalarda, implantasyon sürecinde, uterus doğal öldürücü hücrelerin (uNK) sayısında bir artışın olduğu gösterilmiştir (53, 54, 55, 56).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, uNK'ların sayısının gebeliğin altıncı gününde desidual alan içinde az bulunduğu bildirilmiştir (52). Tarachand (51) ise, fare ve sıçanlarda yaptığı araştırmada, gebeliğin 4^{1/2} . gününde, uNK'ların desidual alanla birlikte bütün endometriyum boyunca görüldüğünü, bu günden sonra bu hücrelerin antimezometriyal bölgedeki desidual alanda kaybolduğunu fakat desidua bazaliste sayılarının arttığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada, uNK'lar ışık mikroskobu ile incelendiğinde çekirdeklerinin yuvarlağa yakın şekilli ve çok az hücrenin de çift çekirdeğe sahip olduğu

ve bu hücrelerin sitoplazmalarında gruplar yapmış eozinofilik granüllerin bulunduğu gösterilmiştir.

Bulmer ve ark. (54) ile Enders (56), insan ve maymunlarda uNK'ların sayılarında, gebeliğin üçüncü ayına (birinci trimester) kadar desidua bazaliste bir artışın, gebeliğin ilerleyen dönemlerinde ise belirgin bir azalışın görüldüğünü bildirmektedirler. King ve Loke (57) ise, sıçanlarda implantasyonun ikinci gününde uNK'ların sayısının desidual alanla birlikte endometriyumda arttığını bildirmektedirler.

Yapılan bu çalışmada, gebeliğin beşinci günü olan implantasyonun ilk gününde antimezometriyal bölgede ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin daha çok implantasyonun birinci gününde oluşan desidual alan içinde dağınık bir şekilde görüldüğü ve bu alanın dışında kalan endometriyum ile miyometriyumda ise bu hücrelerin daha az sayıda bulunduğu saptandı. İmplantasyonun ikinci gününde, desiduanın genişlediği ve bu alan içinde ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin sayılarında artış olduğu gözlemlendi. Ancak bu alanın dışında kalan endometriyum ve miyometriyumda ise bu hücrelerin daha az sayıda bulunduğu tespit edildi. Desiduanın miyometriyum'a doğru iyice genişlediği implantasyonun üçüncü gününde, ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin sayılarının artmaya devam ettiği gözlemlendi. Bu hücrelerin, desidual alanla birlikte endometriyumun her tarafında yaygın olarak bulunduğu görüldü. İmplantasyonun dördüncü gününde, ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelere desidual alan içinde çok nadir rastlandığı saptandı. Desiduanın genişlemesine bağlı olarak endometriyumun daraldığı ve bu bölgedeki pozitif hücrelerin sayısının implantasyonun üçüncü gününe göre azaldığı tespit edildi. Ancak, daralan endometriyumun birim alanında bulunan bu hücrelerin sayılarında bir artışın olduğu belirlendi. Desiduanın, endometriyum'un geri kalan kısmından yeniden şekillenen lamina epitelyalis'in döşediği lumenle belirgin bir şekilde ayrıldığı implantasyonun beşinci gününde, ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin implantasyonun dördüncü gününde olduğu gibi desidual alan içinde çok nadir görüldüğü gözlemlendi. Ancak, endometriyumun implantasyonun bir önceki gününe göre daha çok daraldığı ve bu bölgedeki pozitif hücrelerin sayılarında azalmanın devam ettiği tespit edildi. Antimezometriyal bölgede endometriyumun oldukça genişlediği, desidua ile endometriyum arasında bulunan lumenin gittikçe büyüdüğü ve lamina epitelyalis'i oluşturan epitel hücrelerinin daha da belirginleştiği implantasyonu altıncı gününde, ANAE

pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin, implantasyonun önceki iki gününde olduğu gibi desidual alan içinde çok az sayıda bulunduğu gözlemlendi. Fakat bu hücrelerin, endometriyumun iyice genişlemesine bağlı olarak sayılarının oldukça arttığı tespit edildi.

Uterus doğal öldürücü hücrelerinin, sitoplazmalarının bir kısmını dolduran ve homojen olarak yeşile boyanan bir çekirdeğe sahip olduğu gözlemlendi. Bu hücrelerin granüllerinin, T-lenfositlere göre daha açık ve heterojen boyandığı ve birden çok irili ufaklı sabun köpüğü tarzında granüllere sahip olduğu saptandı. Bazı örneklerde, doğal öldürücü hücrelerin çekirdeklerinin bir kısmının veya tamamının bu granüller tarafından örtüldüğü belirlendi.

T-lenfositleri belirlemek amacıyla insanlarda monoklonal antikolar kullanarak yapılan çalışmalarda, implantasyon sürecinde bu hücrelerin desidual alan içinde yayıldığı ve endometriyal bezler çevresinde kümelendikleri belirtilmektedir (39, 44). İnsanlarda yapılan başka bir çalışmada, implantasyon sürecinde T-lenfositlerin desidual alan içinde oldukça az, endometriyumda ise eşit dağılım gösterdikleri bildirilmektedir (46). Sıçanlarda yapılan çalışmada, implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfositlerin endometriyumun derin bölgelerine geçtiği ve desidual alanda bulunmadığı bildirilmektedir (49). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, İmplantasyonun birinci ve ikinci günlerinde T-lenfositlerin, desidual alanla birlikte endometriyumda yoğun olarak bulunduğu, üçüncü günden itibaren bu hücrelerin desidual alan içinde kaybolduğu ve endometriyum'daki sayılarının azaldığı bildirilmektedir (50). De ve ark. (48), farelerde yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada, T-lenfositlerin sayısında implantasyonun birinci ve ikinci günlerinde desidual alan içinde ve endometriyumda artışın olduğu; bu hücrelerin, üçüncü, dördüncü, beşinci günlerde yukarıdaki bölgelerde azaldığı, ancak endometriyumun yeniden şekillenmesiyle sayılarının tekrar arttığı belirtilmektedirler.

Yapılan bu çalışmada T lenfositlerin ve uNK'ların, implantasyonun ilk üç gününde desidual alan içinde gittikçe arttığı, endometriyumda ise, ilk iki günde desidual alana göre daha az olan bu hücrelerin sayısının üçüncü günde tekrar desidualdaki hücre sayısına yakın bir oranda arttığı gözlemlendi. İmplantasyonun dördüncü gününden son gününe kadar desidual alan içinde T-lenfositlerin ve uNK'ların çok nadir bulunduğu ve daralan endometriyum'daki bu hücrelerin sayısında dördüncü ve beşinci günlerde bir azalmaya karşın, altıncı günde yeniden şekillenen endometriyumda bir artışın olduğu görüldü.

Bu çalışmada, implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfositlerdeki artışın daha çok desidual alanda olduğu ve daha az sayıda bulunan bu hücrelerin endometriyumda eşit dağılım göstermesi Lea ve Clark (49)' ın bulgularıyla zıtlık göstermektedir. Aynı bulgular, Kabawat ve ark. (46)'nın çalışmalarında belirttikleri implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfositlerin endometriyum'da eşit dağılım göstermesi bulgusuyla benzerlik, bu hücrelerin desidual alanda az bulunması bulgusuyla da zıtlık oluşturmaktadır. Yapılan bu araştırma, Noun ve ark. (50) 'nın sıçanlarda, De ve ark (48)'nin farelerde yaptıkları çalışmalarda implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfositlerin desidual alanla birlikte endometriyumda arttığı, ilerleyen günlerde ise bu hücrelerin sayısının azaldığı bulgularıyla paralellik göstermektedir. Ancak bu çalışmada, T-lenfositlerin azalışının implantasyonun dördüncü gününden itibaren başlamasına karşın, yukarıdaki çalışmalarda bu hücrelerdeki azalmanın üçüncü günden itibaren başladığı bildirilmiştir. Bu çalışma, Yeh ve ark. (39) ile Vassiliadou ve Bulmer (44) insanlarda yaptıkları çalışmalarda T-lenfositlerin, endometriyumda bezler çevresinde kümeler oluşturması bulgusuyla da farklılık göstermektedir.

Peel ve ark. (53), Bulmer ve ark. (54), King ve Loke (55) ve Enders (56), uterus doğal öldürücü hücrelerle (uNK) ilgili olarak insan, sıçan, fare ve hamsterlerde endometriyumda yaptıkları çalışmalarda, implantasyon sürecinde bu hücrelerin sayısında artma olduğunu bildirmektedirler.

Head ve ark. (52), sıçanlarda yapılan bir çalışmada, uNK'ların sayısının implantasyon'un ikinci gününde desidual alan içinde az bulunduğunu bildirmişlerdir.

Tarachand (51) ise, fare ve sıçanlarda yaptığı araştırmada, implantasyon'un birinci gününde, uNK'ların desidual alanla birlikte bütün endometriyum boyunca görüldüğünü, bugünden sonra bu hücrelerin desidual alanda kaybolduğunu göstermişlerdir.

King ve Loke (57) ise, sıçanlarda implantasyonun ikinci gününde uNK'ların sayısının desidual alanla birlikte endometriyumda arttığını bildirmektedirler.

Bu çalışmada, implantasyonun dördüncü ve beşinci günlerinde uNK'ların azalması Peel ve ark. (53), Bulmer ve ark. (54), King ve Loke (55) ve Enders (56)' in bulgularıyla zıtlık, implantasyonun diğer günlerinde artması bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Bu araştırmada implantasyonun ilk iki gününde uNK'ların, desidual alan ve endometriyumda artması King ve Loke (57)' nin bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Aynı bulgular, Tarachand (51)'in çalışmalarında belirttiği implantasyonun ilk gününde uNK'ların artışı verisiyle benzerlik, bu hücrelerin desidual alanda birinci günden sonra kaybolması ve Head ve ark. (52)'nin implantasyonun ikinci gününde uNK'ların desidual alanda az bulunması bulgularıyla da uyumsuzluk içindedir.

Hunt (42) farelerde, Kachkache ve ark. (61) ise sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda, erken gebelikte makrofajların endometriyumda daha çok lamina epitelyalis'in altında dağılmış olduğunu, implantasyondan itibaren ise, endometriyumun daha derin kısımları ile miyometriyumun sirküler ve longitudinal kasları arasında bulunduğunu göstermişlerdir. Fareler üzerinde yapılan immunohistokimyasal bir çalışmada, makrofajlara gebeliğin beşinci gününde endometriyumda oldukça az rastlanırken, bu hücrelerin desidual alan içinde bulunmadığı bildirilmiştir (62). Knisley ve Weitlauf (60), farelerde yaptıkları çalışmada, makrofajların, gebeliğin birinci gününde endometriyumda çok az görülmesine karşın, sekizinci gününde oldukça fazla sayıda bulunduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, Tachi ve Tachi (63), makrofajların implantasyonun ilk günlerinde antimezometriyal bölgede lamina epitelyalis çevresinde şekillenmeye başlayan desidual alanın etrafında sıralandıklarını, ancak bu desidual alan içinde bulunmadıklarını bildirmişlerdir. Brandon (66), monoklonal antikorlar kullanarak fare ve sıçanlarda yaptığı çalışmada, implantasyonun ikinci gününde makrofajların antimezometriyal bölgedeki desidual alan içinde seyrek bulunduğunu belirtmektedir. Bu çalışmada, Yalçın (80)'in sıçanlarda östrus siklusunda endometriyum'da yaptığı ANAE enzim boyamasında olduğu gibi implantasyon boyunca endometriyumda makrofajlar tespit edilemediğinden bulgularımız yukarıdaki literatür bulgularıyla uyumsuzluk içindedir.

Redline ve Lu (65), implantasyon sürecinde fare ve sıçanlarda makrofajların, desidual alan içinde bulunmadığını, ancak bu alanın dışında kalan endometriyum ile özellikle burada bulunan bezler çevresinde ve miyometriyumda bol miktarda bulunduğunu belirtmektedirler. De ve Wood (67), farelerde immunohistokimyasal bir çalışmada makrofajların, uterusun antimezometriyal bölgesinde implantasyonun üçüncü ile gebeliğin onuncu günlerinde miyometriyumda daha fazla olmasına karşın, endometriyumda daha az sayıda bulunduğunu göstermişlerdir.

Bu araştırmada, sodyum florür içermeyen inkübasyon solüsyonu ile yapılan boyamalarda pozitif reaksiyon veren makrofajların, implantasyonun bütün günlerinde endometriyumda bulunmadığı, implantasyonun ilk gününde ise miyometriyumda damarlar

çevresinde yer aldığı tespit edildi. Bu hücrelerin miyometriyumdaki sayılarında, implantasyonun ikinci, üçüncü ve dördüncü günlerinde birinci güne göre bir değişikliğin olmadığı gözlemlendi. İmplantasyonun beşinci gününde miyometriyum'daki bu hücrelerin sayısında azalmanın ve altıncı gününde ise makrofajlarda önemli bir değişikliğin olmadığı saptandı. Bu çalışmada, miyometriyumda özellikle kaslar arasındaki damarlar çevresinde bol miktarda bulunan ve implantasyonun beşinci ve altıncı günlerinde azalmaya başlayan makrofajlarla ilgili bulgularımız Redline ve Lu (65) ile De ve Wood (67)' un bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Rachman ve ark. (68), gebeliğin ikinci gününden implantasyonun üçüncü gününe kadar farelerde endometriyumda plazma hücrelerinin sayısında bir artışın olduğunu bildirmişlerdir. Parr ve Parr (69), farelerde plazma hücrelerinin implantasyonun birinci ve ikinci günlerinde endometriyumdaki sayılarında artış olduğunu ve bunların genellikle bezler etrafında yerleştiklerini göstermişlerdir.

Tachi ve Tachi (63), yaptıkları araştırmada, immunoglobulin'lerle işaretlenmiş plazma hücrelerinin, farelerde implantasyonun ikinci gününde özellikle bezler çevresinde olmak üzere endometriyum'da az, miyometriyum'daki damarlar çevresinde ise fazla sayıda bulunduğunu, benzer tablonun implantasyonun üçüncü ve dördüncü günlerinde de gözlemlendiğini ve desidual alanda ise bu hücrelere az sayıda rastlandığını bildirmektedirler.

Bernard ve ark. (70), farelerde yaptıkları bir çalışmada, plazma hücrelerinin implantasyonun ikinci gününde endometriyumda özellikle bezler çevresinde yerleşmiş olduklarını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, implantasyonun ilk gününde, plazma hücrelerinin desidual alan ile birlikte endometriyumun geri kalan kısımlarında özellikle bezler ve damarlar çevresinde oldukça fazla sayıda bulunduğu gözlemlendi. Bu hücrelerin sayısının implantasyonun ikinci ve üçüncü günlerinde yukarıda adı geçen alanlarda giderek azaldığı görüldü. İmplantasyonun dördüncü gününde ise, antimezometriyal bölgede desidual alanın miyometriyuma doğru genişlediği son gününe kadar desidual alan içinde plazma hücrelerinin bulunmadığı, ancak bu alan dışında kalan endometriyumun oldukça daraldığı ve buradaki plazma hücrelerinin sayısının en az seviyeye düştüğü gözlemlendi. İmplantasyonun beşinci gününden başlayarak altıncı gününe doğru reepitelizasyonla

birlikte endometriyumun kalınlaştığı ve plazma hücrelerinin sayısında artış olduğu belirlendi.

Bu çalışmada, implantasyonun birinci gününden dördüncü gününe kadar endometriyumdaki plazma hücrelerinin azalması bulguları Tachi ve Tachi (63)'nin bulgularıyla paralellik, Parr ve Parr (69) ile Rachman ve ark. (68)'nin çalışmalarında belirttikleri plazma hücrelerindeki artışın sırasıyla implantasyonun ikinci ve üçüncü gününe kadar devam etmesi bulgularıyla da değişiklik göstermektedir.

Ayrıca bu çalışmada, implantasyonun ilk üç gününde endometriyum'da olduğu gibi desidual alanda da plazma hücrelerinin azalması ve dördüncü günden itibaren ise kaybolması bulguları Tachi ve Tachi (63)'nin desidual alanda bu hücrelerin az sayıda bulunması bulgularıyla farklılık göstermektedir.

Sonuç olarak yapılan çalışmada, endometriyum dokusunun hücresel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin implantasyonun farklı günlerine göre değişik dağılımlar ve yoğunluklar gösterdiği tespit edildi.

Bu çalışmada, implantasyonda endometriyum dokusunun immunolojik reaksiyonlarının ortaya konması ile hayvan yetiştiriciliğinde önemli konulardan birisi olan döl veriminin artırılmasında, infertilite olgularının aydınlatılmasında, gebeliğin erken dönemlerinde görülen embriyo kayıplarının önlenmesinde, Veteriner Hekimlikte özellikle kedi ve köpek gibi evcil hayvanların gebeliklerinin engellenmesi için cerrahi yöntemlerin yerine bu immunolojik reaksiyonların kullanılmasında ve implantasyonun bilinmeyen mekanizmalarının açıklanması gibi konularda katkı sağlayacağı kanaatine varıldı. Ayrıca maternal immun tepkinin baskılanarak fötüs'un canlılığını sürdürmesinde, diğer bazı faktörlerin (genetik ve hormonal) yanı sıra implantasyon sürecinde endometriyum dokusunun savunma sistemi hücrelerinin dağılımlarında meydana gelen değişimlerinde etkili olabileceği sonucuna varıldı. Böylece, endometriyum'daki hücresel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin sayı ve dağılımlarındaki değişimler ile yukarıda bahsedilen konular arasındaki ilişkinin aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

8. ÖZET

Bu çalışma, implantasyonda sıçan endometriyum dokusunun hücresel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin dağılımları ve yoğunluklarının histokimyasal ve histometrik yöntemlerle belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Çalışmada, 42 adet dişi Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlardan alınan uteruslardan hazırlanan kesitlere, plazma hücrelerini belirlemek için metil green - pironin boyama yöntemi ve kriyostat'ta alınan kesitlere de, alfa naftil asetat esteraz pozitif hücreleri belirlemek için ANAE enzim boyaması yapıldı.

T - lenfositlerin ve uterus doğal öldürücü hücrelerinin (uNK'ların), implantasyonun ilk üç gününde desidual alan içinde gittikçe arttığı; endometriyumda ise, desidual alana göre daha az olan bu hücrelerin sayısının üçüncü günde desidualdaki hücre sayısına yakın bir oranda artış gösterdiği gözlemlendi. İmplantasyonun dördüncü gününden itibaren endometriyumda azalmaya başlayan bu hücrelerin sayılarında, altıncı günde yeniden şekillenen endometriyumla birlikte bir artışın olduğu görüldü. İmplantasyonda endometriyumda bulunmayan makrofajların miyometriyumda oldukça fazla sayıda olduğu tespit edildi. Plazma hücrelerinin, implantasyonun ilk gününde, desidual alan ile birlikte endometriyumda fazla sayıda bulunduğu, implantasyonun ikinci ve üçüncü günlerinde ise azaldığı görüldü. İmplantasyonun dördüncü gününden itibaren son gününe kadar desidual alan içinde plazma hücrelerinin bulunmadığı, endometriyum'da ise bu hücrelerinin sayısının en az seviyede olduğu gözlemlendi. İmplantasyonun beşinci gününden altıncı gününe doğru reepitelizasyonla birlikte endometriyum'un kalınlaştığı ve plazma hücrelerinin sayısında artış olduğu belirlendi.

Bu çalışmada, endometriyum dokusunun hücresel ve sıvısal savunma sistemi hücrelerinin implantasyonun farklı günlerine göre değişik dağılımlar ve yoğunluklar gösterdiği tespit edildi. Maternal immun tepkinin baskılanarak fötüs'un canlılığını sürdürmesinde, diğer bazı faktörlerin (genetik ve hormonal) yanı sıra implantasyon sürecinde endometriyum dokusunun savunma sistemi hücrelerinin dağılımlarında meydana gelen değişimlerinde etkili olabileceği sonucuna varıldı.

9. SUMMARY

This study was performed to investigate the distribution and density of the cellular and the humoral immune system cells in the endometrium tissue of the rat with histochemical staining and histometric methods during implantation.

Forty-two female Wistar albino rats were used. The plasma cells were stained with the methyl green-pyronin method. The other sections cut using a cryostat microtome were stained with the Acid α -Naphthyl Acetate Esterase in order to observe ANAE positive cells.

The number of lymphocytes and uterine natural killer cells increased in desidual area during the first three days of the implantation. The number of these cells in endometrium was less than that in desidual area but, they became equal at the end of third day of implantation. The number of these cells appeared less on the fourth day of implantation but with the growth of endometrium it increased again by sixth day of implantation. Macrophages that were not found in endometrium at implantation were abundantly detected in myometrium. Many plasma cells were seen both in desidual area and endometrium at first day of implantation. The number of these cells decreased in these areas on the second and third days of implantation. There were no plasma cells in desidual area from the fourth day to the end of implantation. However, endometrium had few plasma cells during the same period. From the fifth through sixth days of implantation endometrium thickened and the number of plasma cells increased with reepithelization.

In this study, the distribution and density of the cellular and humoral immune system cells in the endometrium tissue during implantation were determined. It was concluded that in the suppression of the maternal immune response to allow fetus survive, the changes in the distribution of immune system cells in endometrium during implantation may be important beside other factors such as genetically and hormonal determinants.

10. KAYNAKLAR

1. Brenner, R.M. and Slayden, O.D. (1994) Cyclic Changes in the Primate Oviduct and Endometrium, In " The Physiology of Reproduction" , Ed. Ernst Knobil and Jimmy D. Neill, 2. ed., Vol. 1, 541-569, Raven Press, New York.
2. Gürsoy, E. ve Koptagel, E. (1997) Embriyoloji Atlası, 1.baskı, Esnaf Ofset Mat., Sivas.
3. Ferenzy, A. and Bergeron, C. (1991) Histology of the Human Endometrium from Birth to Senescence, Ann. N. Y. Acad. Sci., 622, 6-27.
4. Deveci, H. (1997) Dişi Genital Organların Anatomisi, "Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite", Ed. E. Alaçam, 1. Baskı, 7-11, Medisan Yayınları, Ankara.
5. Tanyolaç, A (1993) Özel Histoloji, 2. baskı, Yorum Matbaacılık Sanayi, Ankara.
6. Junquera, L.C., Carnerio, J. and Kelley, R.O. (1992) Basic Histology, 7. ed., Prentice-Hall International Inc., Connecticut.
7. Colby, E.D. (1986) The Rabbit, In "Current Therapy in Theriogenology", Ed. D.A. Morrow, 2. ed., 1005- 1008, W.B. Saunders Co., Philadelphia.
8. Cunliffe - Beamer, T. L. (1986) The Laboratory Mouse, In "Current Therapy in Theriogenology", Ed. D.A. Morrow, 2. ed., 1026-1032, W.B. Saunders Co., Philadelphia.
9. Olds, R. J. (1991) A Colour Atlas of the Rat, 2.ed., Wolfe Medical Publications Ltd., England.
10. Eunice, C. G. (1963) Anatomy of the Rat, Vol. XXVII, Hafner Publishing Co., New York.
11. Sadler, T. W. (1995) Langman's Medical Embryology 7. ed. Williams and Wilkins Pub. Baltimore, Maryland, USA.
12. Hassa, O. ve Aştı, R.N. (1997) Embriyoloji, 3. baskı, Yorum Basın Yay. San. Ltd. Şti, Ankara.
13. Demir, R. (1995) İnsanın Gelişimi ve İmplantasyon Biyolojisi, Palme Yayınları, Ankara.
14. Pedersen, R.A. and Burdsal, C.A. (1994) Mammalian Embryogenesis, In " The Physiology of Reproduction" , Ed. Ernst Knobil and Jimmy D. Neill, 2. ed., Vol. 1, 319-390, Raven Press, New York.
15. Aplin, J.D. (1991) İmplantasyon, Trofoblast Differentiation and Haemochorial Placentation: Mechanistic Evidence in vivo and in vitro, J. Cell Science, 99, 681-692.

16. Denker, H.W. (1993) Implantation: A Cell Biological Paradox, *J. Exp. Zool.*, 266, 541-558.
17. Weitlauf, M. (1994) Biology of Implantation, In " The Physiology of Reproduction" , Ed. Ernst Knobil and Jimmy D. Neill, 2. ed., Vol. 1, 391-440, Raven Press, New York.
18. Murphy, C.R., Swift, J.G., Mukherjee, T.M. and Rogers, A.W. (1982) Changes in the Fine Structure of the Apical Plasma Membrane of Endometrial Epithelial Cells During Implantation in the Rat, *J. Cell Sci.*, 55, 1-12.
19. Denker, H.W. (1995) Cell Biological Views of Embryo Implantation (A review), *Tr. J. Of Medical Science (Supp.)*, 1-12.
20. Tachi, S., Tachi, C. and Lindler, H.R. (1970) Ultrastructural Features of Blastocyst Attachment and Trophoblastic Invasion in the Rat, *J. Reprod. Fert.*, 21, 37-56.
21. Schlafke, S., Welsh, A.O. and Enders, A.C. (1985) Penetration of the Basal Lamina of the Uterine Luminal Epithelium During Implantation in the Rat, *Anat. Record*, 212, 47-56.
22. Enders, A.C. and Schlafke, S. (1969) Cytological Aspects of Trofoblast – Uterine Interaction in Early Implantation, *Am. J. Anat.*, 125, 1-30.
23. Lindenberg, S. (1991) Experimental Studies on the Initial Trophoblast Endometrial Interaction, *Danish Medical Bull*, 38, 5, 371-380.
24. Tarar, R., Enders, A.C., Hendrickx, A.G., Gulamhusein, N., Hodges, J.K., Hearn, J.P., Eley, R.B. and Else, J.G. (1987) Early Implantation and Embryonic Development of the Baboon: Stages 5, 6 and 7, *Anat. Embryol.*, 176, 267-275.
25. Abrahamsohn, P.A. and Zorn, T.M.T. (1993) Implantation and Decidualization in Rodents, *J. Experimental Zoology*, 266, 603-628.
26. Tung, H.N., Parr, M.B. and Parr, E.L. (1986) The Permeability of the Primary Desidual Zone in the Rat Uterus: An Ultrastructural Tracer and Freeze-Fracture Study, *Biol. Reprod.*, 35, 1045-1058.
27. Mori, T., Takakura, K., Narimoto, K., Kariya, M., Imai, K., Fujiwara, H., Okamoto, N., Kariya, Y., Shiotani, M., Umaoka, Y., Kanzaki, H., Noda, Y. and Uchida, A. (1991) Endocrine and Immune Implications of Human Endometrial Desidualization in Implantation, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 626, 321-330.
28. Roitt, I., Brostoff, J. and Male, D. (1989) Immunology, Second Edit. Churcill Livingstone., Gower Medical Publishing, London, New York.

29. Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M., Diker., K.S. (1994) İmmunoloji, 1. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.
30. Virella, G., Goust, J.M. and Fudenberg, H.H. (1990) Introduction to Medical Immunology, 2. ed., Marcel Dekker Inc., USA.
31. Kreier, J.P. and Mortensen, R.J. (1990) Infection, Resistance and Immunity, Harer and Row Publishers, New York.
32. Schultz, R.D. (1982) Assays of Cellular Immunity, J. Amer. Vet. Med. Assoc., 181, 10, 1169 - 1176.
33. Sağlam, M., Aştı, R.N., Özer, A. (1997) Genel Histoloji, Düzeltilmiş 5.baskı, Yorum Mat. San., Ankara.
34. Brandtzaeg, P. (1997) Mucosal Immunity in the Female Genital Tract, J. Reprod. Immunol., 36, 1-2, 23-50.
35. Kılıçturgay, K. (1991) İmmunolojiye Giriş, 2. baskı, Güneş Kitabevi, Bursa.
36. Maier, T., Holda, J.H. and Claman, H.N. (1986) Natural Suppressor (NS) Cells (Reviews), Immunol. Today, 7, 10, 312-315.
37. Finn, C.A. and Pope, M.D. (1991) Infiltration of Neutrophil Polymorphonuclear Leukocytes into the Endometrial Stroma at the Time of Implantation of Ova and the Initiation of the Oil Desidual Cell Reaction in Mice, J. Reprod. Fert., 91, 365-369.
38. Croy, B.A., Wood, W. and King, G.J. (1987) Evaluation of Intrauterine Immune Suppression During Pregnancy in a Species with Epitheliochorial Placentation, J. Immunol, 139, 4, 1088-1095.
39. Yeh., C-J.G., Bulmer, J.N., Hs1, B-L., Tian, W-T., Bittershaus, C. and İp, S.H. (1990) Monoclonal Antibodies to T Cell Receptor γ / δ Complex React with Human Endometrial Glandular Epithelium, Placenta, 11, 253-261.
40. Hunt, J.S., Manning, L.S. and Wood, G.W. (1984) Macrophages in Murine Uterus are Immunosuppressive, Cellular Immunology, 85, 499-510.
41. Smáráson, A.K., Gunnarsson, A., Alfredson, J.H. and Valdimarsson, H. (1986) Monocytosis and Monocytic Infiltration of Desidua in Early Pregnancy, J. Clin. Immunol., 21, 1-5.
42. Hunt, J.S. (1990) Current Topic, the Role of Macrophages in the Uterine Response to Pregnancy (Review), Placenta, 11, 467-475.

43. Bulmer, J.N., Longfellow, M. and Ritson, A. (1991) Leukocytes and Resident Blood Cells in Endometrium, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 622, 57-68.
44. Vassiliadou, N. and Bulmer, J.N. (1998) Characterisation of Endometrial T Lymphocyte Subpopulations in Spontaneous Early Pregnancy Loss, *Human Reproduction*, 13, 1, 44-47.
45. Bulmer, J.N. and Sunderland, C.A. (1984) Immunohistological Characterisation on of Lymphoid Cell in the Early Human Placental Bed, *Immunology*, 54, 349-397.
46. Kabawat, S.E., Mostoufi-Zadeh, M., Driscoll, S.G. and Bhan, A. (1985) Implantation Site in Normal Pregnancy, *Am. J. Pathol.*, 118, 76-84.
47. Haimovici, F., Hill, J.A. and Anderson, D.J. (1991) The Effects of Soluble Products of Activated Lymphocytes and Macrophages on Blastocyst Implantation Event in Vitro, *Biol. Reprod.*, 44, 69-75.
48. De, M., Choudhuri, R. and Wood, G.W. (1991) Determination of the Number and Distribution of Macrophages, Lymphocytes, and Granulocytes in the Mouse Uterus from Mating Through Implantation, *J. Leukocytes Biol.*, 50, 252-262.
49. Lea, R.G. and Clark, D.A. (1991) Macrophages and Migratory Cells in Endometrium Relevant to Implantation, *Bailliere's Clin. Obstet. Gynae.*, 5, 1, 25-59.
50. Noun, A., Acker, G.M., Chaouat, G., Antoine, J.C. and Garabedian, M. (1989) Cells Bearing Granulocyte Macrophage and T Lymphocyte Antigens in the Rat Uterus Before and During ovum Implantation, *Clin. Exp. Immunol.* 78, 494-498.
51. Tarachand, U. (1986) Metrial Gland Structure, Origin Differentiation and Role in Pregnancy, 7, 1, 34-36
52. Head, J.R., Kresge, C.K., Young J.D. and Hiserodt, J.C. (1994) NKR-P1+ Cells in the Rat Uterus: Granulated Metrial Gland Cells are of the Natural Killer Cell Lineage, *Biol. Reprod.*, 51, 509-523.
53. Peel, S., Stewart I.J. and Bulmer D. (1983) Experimental Evidence for the Bone Marrow Origin of Granulated Metrial Gland Cells of the Mouse Uterus, *Cell Tissue Res.*, 233, 647-656.
54. Bulmer, J.N., Hollings, D. and Ritson A. (1987) Immunocytochemical Evidence that Endometrial Stromal Granulocytes are Granulated Lymphocytes, *J. Pathol.*, 153, 281-288.

55. King, A. and Loke Y.W. (1991) On The Nature and Function of Human Uterine Granular Lymphocytes, *Immunology Today*, 12, 12, 432-435.
56. Enders, C. A. (1991) Current Topic Structural Responses of the Primate Endometrium to Implantation, *Placenta*, 12, 309-325.
57. King, A. and Loke, Y.W. (1990) Uterine Large Granular Lymphocytes: A Possible Role in Embryonic Implantation?, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 162, 308-310.
58. Head, J.R. (1996) Uterine Natural Killer Cells During Pregnancy in Rodents, *Nat. Immunol.*, 15, 1, 7-21.
59. Stewart, I.J. and Mitchell, B.S. (1991) The Distribution of Uterine Macrophages in Virgin and Early Pregnant Mice, *J. Anat.*, 179, 183-196.
60. Knisley, K.A. and Weitlauf, M. (1993) Compartmentalised Reactivity of M3/38 (anti Mac-2) and M3/84 (anti Mac-3) in the Uterus of Pregnant Mice, *J. Reprod. Fertil.*, 97, 521-527.
61. Kachkache, M., Acker, G.M., Chaouat, G., Noun, A. and Garabedian, M. (1991) Hormonal and Local Factors Control the Immunohistochemical Distribution of Immunocytes in the Rat Uterus Conceptus Implantation Effect of Ovariectomy Fallopian Tuba Section, and Injection, *Biol. Reprod.*, 45, 860-868.
62. Brandon, J.M. (1993) Leukocyte Distribution in the Uterus During the Preimplantation Period of Pregnancy and Phagocyte Recruitment to Sites of Blastocyst Attachment in Mice, *J. Reprod. Fert.*, 98, 567-576.
63. Tachi, C. and Tachi S. (1986) Macrophages and Implantation, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 476, 152-182.
64. Hunt, J.S., Manning, L.S., Mitchell, D., Selanders, J.R. and Wood, G.W. (1985) Localization and Characterization of Macrophages in Murine Uterus, *Leuco. Biol.*, 38, 255-265.
65. Redline, R.W. and Lu, C.Y. (1998) Specific Defects in the Anti-listeral Immune Response in Discrete Regions of the Murine uterus and Placenta Account for Susceptibility to infection, *J. Immunol.*, 140, 3947-3955.
66. Brandon, J.M. (1995) Macrophage Distribution in Desidual Tissue from Early Implantation to the Periparturent Period in Mice as Defined by the Macrophage Differentiation Antigens F4/80, Macrosialin and the Type 3 Complement Receptor, *J. Reprod. Fertil.*, 103, 6-9.

67. De, M. and Wood, G.W. (1991) Analysis of the Number and Distribution of Macrophages, Lymphocytes, and Granulocytes in the Mouse Uterus From Implantation Through Parturition, *J. Leukocytes Biol.*, 50, 381-392.
68. Rachman, F., Casimiri, V., Psychyos, A. and Bernand, O. (1986) Influence of the Embryo on the Distribution of Maternal Immunoglobulins in the Mouse Uterus, *J. Reprod. Fert.*, 77, 257-264.
69. Parr, M.B. and Parr, E.L. (1985) Immunohistochemical Localization of Immunoglobulins A, G and M in the Mouse Female Genital Tract, *J. Reprod. Fert.*, 74, 361-370.
70. Bernard, O., Ripoche, M.A. and Bennett, D. (1977) Distribution of Maternal Immunoglobulins in the Mouse Uterus and Embryo in the Days After Implantation, *J. Exper. Medicine*, 145, 58-75.
71. Bulmer, J.N., Hagin, S.V., Browne, C.M. and Bilington, W.D. (1986) Localization of Immunoglobulin-Containing Cells in Human Endometrium in the First Trimester of Pregnancy and Throughout the Menstrual Cycle, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 23, 31-44.
72. Canning, M.B. and Billington, W.D. (1983) Hormonal Regulation of Immunoglobulins and Plasma Cells in the Mouse Uterus, *J. Endocr.*, 97, 419-424.
73. Wira, R.C. and Sullivan, D.A. (1982) Effect of Estradiol and Progesterone on the secretory Immun System in the Female Genital, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 138, 99-111.
74. Mellanby, J., Dwyer, J., Hawkins, C. and Hitchen, C. (1991) Effect of Experimental limbic on the Estrus Cycle and Reproductive Succes in Rats, *Epilepsia*, 34, 2, 220 - 227.
75. Welsh, O.A. and Enders, A.C. (1983) Occlusion and Reformation of the Rat Uterine Lumen During Pregnancy, *Ame. J. Anat.*, 167, 463-477.
76. Kanter, M. Öztaş, E. ve Dalçık C. (1996) Sıçan, Fare ve Kobaylarda Gebeliğin İlk Gününü Tayin Etmede Vajinal Smear Yönteminin Kullanılması, *Van Tıp Derg.*, 3, 2, 112 – 116.
77. Enders, A. C. and Schlafke, S. (1969) Cytological Aspects of Trophoblast-Uterine Interaction in Early Implantation, *Amer. J. Anat.*, 125,1, 1-30.
78. Bancroft, J.D., Cook, H.C. (1984) *Manual of Histological Techniques*, Churchill Livingstone, New York.

79. Mueller, J., Re, G.B., Buerki, H., Keller, H.U., Hess, MW. and Cottier, H. (1975) Nonspecific Acid Esterase Activity : A Criterion for Differentiation of the T and B Lymphocytes in Mouse Lymph Nodes, *Eur. J. Immun.*, 5, 270 – 274.
80. Yalçın, A. (1999) Sıçanlarda Östrus Siklusunda Endometriyum Dokusunun Hücresel ve Humoral Savunma Sistemi Hücreleri Üzerinde Histokimyasal ve Histometrik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Van.
81. Zicca, A., Leprini, A., Cadoni, A., Franzi, A. T., Ferrarini, M. and Grossi, C.E. (1981) Ultrastructural Localization of Alpha - Naphthyl Acid Esterase in Human Tm Lymphocytes, *Am. J. Pathol.*, 105, 40-46.
82. Silverstein, S. C., Steinman, R. M. and Cohn, Z. A. (1977) Endocytosis, *Ann. Rev. Biochem.*, 46, 669-722.
83. Ranki, A., Reitamo, S., Konittinen, Y. T. and Hayry, P. (1980) Histochemical Identification of Human T Lymphocytes from Paraffin Sections. *J. Histochemistry and Cytochemistry*, 28, 704-707.
84. Böck, P. (1989) *Romeis Mikroskopische Technik*, 17. Aufl., Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 325 – 332.
85. SPSS for Windows, Release 6.1 Standart Version, 1994,USA.
86. Akgül, A. (1997) *Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri*, SPSS Uygulamaları, YÖK Matbaası, Ankara.

11. ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Konya'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Konya'da tamamladı. 1986 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandı. 1991 yılı Haziran döneminde Veteriner Hekim ünvanını alarak mezun oldu. 1992-1993 yılları arasında askerlik görevini tamamladı. 1993 yılı Kasım ayında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atandı. Eylül 1994 tarihinde aynı Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalı'nda görevini sürdürmektedir. Evli ve iki çocuk babasıdır.

