T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

NEDENİ AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE TANISI KONULAN KADINLARDA SEKRETUVAR FAZDAKİ ENDOMETRİYUM EPİTELİNİN ULTRASTRÜKTÜREL ÖZELLİKLERİ VE EPİTELDE MUSİN-1 EKSPRESYONU.

Özdem KARAOĞLAN

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ADANA-2015

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

NEDENİ AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE TANISI KONULAN KADINLARDA SEKRETUVAR FAZDAKİ ENDOMETRİYUM EPİTELİNİN ULTRASTRÜKTÜREL ÖZELLİKLERİ VE EPİTELDE MUSİN-1 EKSPRESYONU.

Özdem KARAOĞLAN

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Özgül TAP

Bu tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF2012YL08 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

ADANA-2015

KABUL VE ONAY

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan

" Nedeni Açıklanamayan İnfertilite Tanısı Konulan Kadınlarda Sekretuvar Fazdaki Endometriyum Epitelinin Ultrastrüktürel Özellikleri ve Epitelde Musin-1 Ekspresyonu"

adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 04 / 11 / 2015

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof Dr. Özgül TAP
Çukurova Üniversitesi
Başkan

Prof. Dr.Sait POLAT
Çukurova Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. M.Turan ÇETİN
Çukurova Üniversitesi
Üye

Prof.Dr.Banu COŞKUN YILMAZ
Mersin Üniversitesi
Üye

Doç.Dr.İ.Ferhat ÜRÜNSÜK
Çukurova Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve sayılı kararı ile kabul edilmiştir

Prof.Dr. Behice DURGUN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim sırasında her zaman beni destekleyen, tez konumun seçilmesi, yürütülmesi ve tamamlanmasında yardımlarını, güler yüzünü ve anlayışını esirgemeyen, danışman hocam, sayın Prof. Dr. Özgül Tap'a, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sait Polat'a ve çalışma olanağımın sağlanmasında katkılarından dolayı tüm Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın yürütülmesi sırasında yardımcı olan, desteğini ve anlayışını esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim üyeleri Prof.Dr.M.Turan Çetin'e ve Doç. Dr. İbrahim Ferhat Ürünsak'a, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi, Prof. Dr. Derya Gümürdülü'ye, Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim üyesi, Prof. Dr. Gülşah Seydaoğlu'na ve çalışmalarım sırasında hem yol göstererek hem de destek vererek yanımda olan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi, Yrd. Doç. Dr. Leman Sancar'a, Uzm. Dr. Yurdun Kuyucu'ya, Arş. Gör. Gülfidan Coşkun'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Yüksek Lisans eğitimim sırasında, bana her zaman destek olan ve yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalımızın bütün öğretim elemanları ile çalışmamın her aşamasında teknik destek sağlayan Nevriz Dural, Kezban Bostaner ve Adile Sarıcalar'a, ayrıca tez sürecinde desteklerinden dolayı çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Safiye Taga, Uzm. Dr. Hülya Leventerler, Alev Güney'e ve Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı akademik ve idari personelleri ile Anabilim Dalı Sekreterimiz Gülsüm Küçük'e, çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimime başlamamda teşvik eden ve yol gösteren, her konuda yardım ve dostluklarını esirgemeyen hep yanımda hissettiğim aileme ve arkadaşlarıma, beni bu günlere getiren, varlıkları ve sevgileri ile güç veren canım babam İmam Karaoğlan ve canım annem Güllü Karaoğlan'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yük. Lis. Öğr. Özdem KARAOĞLAN

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
TABLOLAR DİZİNİ viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ix
ÖZET x
ABSTRACT xi
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Uterus Histolojisi 3
2.1.1. Endometriyum Histolojisi 4
2.1.2. Endometriyumda Kan Damarları 7
2.2. Menstrüel Siklus Sırasında Endometriyal Değişiklikler 8
2.2.1. Menstrüel Faz (1-4. Günler arası) 8
2.2.2. Proliferatif Faz (4-14. Günler arası) 9
2.2.3. Sekretuvar Faz (14-28. Gün) 11
2.3. Endometriyum Histofizyolojisi 15
2.4. Endometriyal reseptivite 16
2.5. Müsinler 22
2.5.1. Endometriyumda MUC-1 Ekspresyonu 23
3. GEREÇ VE YÖNTEM 25
3.1. Hasta Seçimi 25
3.2. Biyokimyasal Yöntemler 26
3.3. Işık Mikroskobik Doku Hazırlama Yöntemi 26
3.4. İmmünohistokimyasal Yöntem 27
3.5. Elektron mikroskobik doku hazırlama yöntemi 27
3.6 İstatistiksel Analiz 29
4.BULGULAR 30

4.1. Biyokimyasal Bulgular 30
4.2. Işık Mikroskobik Bulgular 34
4.2.1. İmmünohistokimyasal Bulgular 36
4.2.2. Elektron Mikroskobik Bulgular 38
5.TARTIŞMA 69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 78
7. KAYNAKLAR 80
ÖZGEÇMİŞ 89

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Kontrol Endometriyumu 5.(A), 6. (C), 7. (E) günlerde, infertil endometriyumu 5.(B), 6.(D),7.(F) günlerde ışık mikroskobik görünümü 35
Şekil 2: Kontrol endometriyumu 5. (A),6. (C), 7. (E) günlerde, infertil endometriyumu 5. (B), 6. (D), 7. (F) günlerde MUC-1 immünohistokimyasal görünümü 37
Şekil 3: Fertil 5.gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü 40
Şekil 4: İnfertil 5. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü 42
Şekil 5: İnfertil 5. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü 43
Şekil 6: Fertil 5.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü 45
Şekil 7: İnfertil 5. gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü 46
Şekil 8: Fertil (a) ve infertil (b) 5. gün endometriyum stroması elektron mikroskobik görünümü 48
Şekil 9: Fertil 6. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü 50
Şekil 10: İnfertil 6. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü 52
Şekil 11: İnfertil 6.gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü 53
Şekil 12: Fertil 6.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü 54
Şekil 13: İnfertil 6.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü 56
Şekil 14: İnfertil 6.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü 57
Şekil 15: Fertil (A) ve infertil (B) 6. gün endometriyum stroması elektron mikroskobik görünümü 59
Şekil 16: Fertil 7. günde endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü 60
Şekil 17: İnfertil 7. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü 62
Şekil 18 : İnfertil 7. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü 63
Şekil 19: Fertil 7.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü 64
Şekil 20: İnfertil 7.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü 66
Şekil 21: İnfertil 7.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü 67
Şekil 22: Fertil (A) ve infertil (B) 7. gün endometriyum stroması elektron mikroskobik görünümü 68

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Gruplara göre bazal FSH, LH, TSH ve E2 dağılımları 30
Tablo 2. Günlere göre gruplar arasında bazal FSH, LH, TSH ve E2 dağılımları 31
Tablo 3. Gruplara göre biyopsi esnasında FSH, LH, TSH dağılımları 32
Tablo 4. Günlere göre gruplar arasında FSH, LH, TSH dağılımları 32
Tablo 5. Gruplara göre biyopsi esnasında Progesteron, Östrojen, Prolaktin,Total testosteron hormon dağılımları 33
Tablo 6. Günlere göre gruplar arasında Progesteron, E2, Prolaktin ve Total testosteron dağılımları 33
Tablo 7. Ovulasyondan sonra 5, 6 ve 7. günlerde, infertil ve fertil gruplarının endometriyum yüzey ve bez eptelinin MUC-1 immünreaktivitesi açısından boyanma yüzdeleri 38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CSF-1 : Koloni stimüle edici faktör-1
E2 : Östradiol
FSH : Folikül stimüle edici hormon
GER : Granüler endoplazmik retikülüm
HB-EGF : Heparin bağlayan epitelyal büyüme faktörü
HCG : İnsan koriyonik gonadotropin
HOXA-10 : Homeobox gen-10
ICAM : İntraselüler adezyon molekülü
IGF-BP-1 : İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-1
IL-1 : İnterlökin-1
KGF : Keratinosit büyüme faktörü
LH : Lüteinizan hormon
LIF : Lösemi inhibitör faktör
MUC-1 : Musin-1
NKS : Nükleolar kanal sistemi
PEP : Progesteron ilişkili endometriyal protein
PGI-2 : Prostaglandin-2
PP14 : Glikodelin veya Plasental protein 14
SER : Düz endoplazmik retikülüm
TSH : Tiroid stimülan hormon
USG : Ultrasonografi
ÜYTEM : Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi
VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ÖZET

Nedeni Açıklanamayan İnfertilite Tanısı Konulan Kadınlarda Sekretuvar Fazdaki Endometriyum Epitelinin Ultrastrüktürel Özellikleri ve Epitelde Musin-1 Ekspresyonu

Nedeni açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda, implantasyondaki yetersizlik, yardımla üreme tekniklerinin başarısını sınırlayan en önemli etkenlerden birisidir. İmplantasyon başarısızlığında; endometriyal reseptivite üzerine etkili birçok moleküler ve yapısal belirteçlerin olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, fertil ve nedeni açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınların implantasyon penceresi dönemindeki endometriyum dokularının ışık ve elektron mikroskobik düzeyde yapısal özellikleri ile implantasyonda önemli rol oynayan MUC-1'in immünohistokimyasal ifadesi ve biyokimyasal değerleri karşılaştırılarak sonuçların implantasyon başarısındaki rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi'ne nedeni açıklanamayan infertilite sebebi ile başvuran 18 hastadan ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına çeşitli jinekolojik şikayetler ile başvuran 18 fertil kadından ovulasyondan sonra 5., 6 ve 7. günlerde endometriyum biyopsileri alınarak çalışma ve kontrol grupları oluşturuldu. Endometriyal doku örneklerinin bir bölümü ışık mikroskobik, bir bölümü ise elektron mikroskobik doku hazırlama yöntemlerine uygun olarak hazırlandı. Işık mikroskobik inceleme için hazırlanan dokulara Hematoksilen-Eozin boyası ve MUC-1'in belirlenmesi için immünohistokimyasal yöntemler uygulandı. Ayrıca menstrüel siklusun 2. gününde ve biyopsi esnasında kan örnekleri de alınarak, serum hormon düzeyleri belirlendi.

Serum FSH, LH, TSH, östrojen, progesteron ve total testosteron düzeylerinin tüm gruplar arasında önemli bir fark göstermediği, ancak prolaktin değerinin infertil grupta daha yüksek olduğu saptandı. İnfertil kadınlarda endometriyum yüzey epitelinin yer yer psödostratifiye ve çok katlı yassı epitel yamaları içerdiği, basit prizmatik epitelin olduğu bölgelerde, mikrovillüstan zengin hücrelerin yaygın olduğu, pinopodlu ve vesiküllü hücrelerin oldukça azaldığı, pinopod gelişiminin fertil gruptakilere oranla yetersiz olduğu, hücrelerarasında intraepitelyal lenfositlere sıklıkla rastlanıldığı görüldü. Endometriyal bezlerde ise gelişimin fertil gruptakilere göre daha zayıf olduğu, bez hücrelerinde mitoz bölünmenin devam ettiği izlendi. MUC-1 immünreaktivitesinin ise iki grup arasında fark göstermediği görüldü. Tüm bu bulgular dikkate alındığında infertil hastalarda endometriyumda yüzey ve bez epitelinde gözlenen bu yapısal farklılıkların, bu hücrelerin steroid hormonlara cevabındaki yetersizlikten kaynaklanabileceği ve bu değişikliklerin blastokistin endometriyuma implantasyonunu etkileyebileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Açıklanamayan infertilite, endometriyum, TEM, MUC-1

ABSTRACT

Ultrastructural Characteristics and Mucin-1 Expression of Secretory Endometrium of Women with Unexplained Infertility

Inefficiency in implantation is one of the most important factors limiting the success rate of assisted reproduction in the patients with unexplained infertility. It is known that there are many molecular and structural indicators that affects on endometrial receptivity, which cause implantation failure. This study aims to investigate the role of endometrium during the period of implantation window in fertile women and infertile women with unexplained infertility by comparing morphological characteristics of endometrial tissues by light and electron microscopic examinations and immunohistochemically expression of MUC-1, which has an important role on implantation and biochemical levels evaluate the role of the results in success of implantation rate.

In the present study, work and control groups were composed of 18 patients with unexplained infertility who applied to Çukurova University Faculty of Medicine Obstetrics and Gynecology Department Assisted Reproductive Techniques Unit and 18 patients with various gynecological complaints who applied to Çukurova University Faculty of Medicine Obstetrics and Gynecology Department, respectively. We performed endometrial biopsy to all patients on the 5^{th}, 6^{th} and 7^{th} days after ovulation. Some part of endometrial tissue samples were prepared according to the method of light microscope, while the other parts were prepared according to the method of electron microscope. Hematoxylin-Eosin staining and immunohistochemical methods for determination of the MUC-1 were applied to the tissues for light microscopic examination. Serum hormone levels were also identified by taking blood samples on the 2^{nd} day of menstrual cycle and on the biopsy day.

Serum FSH, LH, TSH, estrogen, progesterone and testosterone levels were not significantly different between the two groups, but higher prolactin levels were detected in the infertile group. As a result of structural evaluation, it was observed that endometrial surface epithelium includes locally pseudostratified and squamous epithelial patches and the microvilli rich cells were very common, pinopod and vesiculated cells were considerably reduced, pinopod development was inefficient, in the simple columnar epithelium and intraepithelial lymphocytes were increased frequently between the epithelial cells in infertile group compared to fertile group. It was observed that developmental retardation of endometrial glands and mitosis continued in gland epithelial cells in infertile group compared to fertile group. It was determined that MUC-1 immunoreactivity was not significantly different between the two groups. It was concluded that structural differences on the surface and gland epithelium of endometrium in infertile patients might be caused from insufficient responses to steroid hormones of these cells and these differences can affect implantation of blastocyst to endometrium.

Keywords: Unexplained infertility, endometrium, TEM, MUC-1

1. GİRİŞ

Tüm toplumlarda ortalama % 15 oranında görülen infertilitenin % 10'u nedeni açıklanamayan infertiliteden kaynaklanmaktadır (1,2). Standart infertilite araştırmalarında, erkek ve kadında infertiliteye neden olabilecek bir sorun saptanamadığı ve normal cinsel yaşama rağmen gebeliğin gerçekleşemediği durumlarda, açıklanamayan infertilite tanısı konulmaktadır. Açıklanamayan infertilite nedenleri arasında tam olarak bilemediğimiz genetik ve immünolojik sorunlar yanında, standart değerlendirme metotlarıyla tanısı konulamayan sperm veya oosite ait fonksiyonel anormallikler, fertilizasyon ve implantasyon sırasındaki bozukluklar da sayılabilir. Yapılan çalışmalarda infertil hastalarda, implantasyondaki yetersizliğin yardımla üreme tekniklerinin başarısını sınırlayan en önemli etkenlerden birisi olduğu ve gebelik kayıplarının % 60 oranında peri-implantasyon döneminde gerçekleştiği rapor edilmektedir (3). İnsan endometriyumu; başlıca östrojen ve progesteron hormonlarının etkilediği, primer fonksiyonu embriyo implantasyonu için uygun bir ortamın sağlanması olan bir dokudur. Siklik değişiklikler gösteren endometriyum, 28 günlük menstrüel siklusun 19-21. günleri arasında blastokist için maksimum reseptivite gösterir ve bu dönem implantasyon penceresi olarak adlandırılır(4). Bu evrede endometriyal epitel hücreleri belirgin moleküler ve yapısal özellikler göstermektedir (5,6). Bu dönemde epitel hücrelerinde tanımlanan ultrastrüktürel özellikler, pinopodların gelişimi, dev mitokondriyonların oluşumu, glikojen depolanması ve çekirdekte nükleolar kanal sisteminin gelişimi ile karakterize olup, bu özellikler implantasyon penceresinin belirteçleri olarak kabul edilmektedir (4). Yapılan çalışmalarda, fertil kadınların endometriyal epitelinde oldukça iyi gelişen pinopodların embriyo hücreleri ile temas kuran yapılar olduğu ve bu yapıların gelişiminde görülen bozuklukların implantasyon başarısızlığına neden olabileceği bildirilmektedir (7, 8, 9). Aynı zamanda blastokistin endometriyuma implantasyonu sırasında glikokaliks içerisinde yer alan musin-1'in de implantasyonda önemli rol oynadığı, salgılanmasındaki bozuklukların infertiliteye neden olabileceği pek çok araştırmacı tarafından rapor

edilmektedir (10,11). Bununla birlikte, açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda, implantasyon penceresi döneminde endometriyum yapısı ile ilgili az sayıda çalışma yapıldığı görülmektedir. Bu dönemde endometriyumdaki yapısal özelliklerin belirlenmesinin ve fonksiyonel etkilerinin değerlendirilmesi ile bu hasta grubuna yaklaşımda yeni bir bakış açısı oluşturulabilecektir. Bu nedenle, sunulan çalışmada, fertil ve açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda, menstrüel siklusun 19-21. günleri arasındaki endometriyal dokunun ışık ve elektron mikroskobik özellikleri ile musin-1 ekspresyonu açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus Histolojisi

Uterus dişi üreme sisteminin kalın duvarlı bölümü olup, tuba uterina ve vajina arasında yer alır. Embriyolojik ve fötal gelişimin tamamlandığı uterus, rektum ve mesane arasına yerleşen, armut şekilli, üç tabakalı bir yapıya sahip olup, dorsoventral yönde yassılaşmış bir organdır. Erişkin bir kadında 30-40 gram ağırlığında, 7,5 cm boyunda, 5 cm genişlikte ve 2,5 cm kalınlıktadır (12). Uterusta anatomik olarak iki ana kısım ayırt edilir:

- Korpus uteri; gövde olarak da adlandırılan genişlemiş üst kısımdır. Korpus uterinin yuvarlaklaşmış üst bölümü ise fundus olarak adlandırılır.
- Serviks; en alttaki silindirik kısımdır ve bunun da bir parçası porsiyo vajinalis adı altında vajinaya doğru uzanır. İsthmus ise korpus uteri ve serviksin arasındaki geçiş bölgesidir. Servikal kanal üst kısımda uterin kavite ile internal os, alt kısımda ise vajina ile eksternal os vasıtasıyla ilişki kurar (12, 13, 14).

Uterus duvarı 3 tabakadan meydana gelmiştir:

1. Endometriyum (Tunika mukoza): En içte bulunur, uterusun mukoza tabakasıdır.
2. Miyometriyum (Tunika muskularis): Orta kısımda bulunan, uterus duvarının en kalın tabakasıdır ve üç düz kas tabakasından oluşur. Ortada bulunan tabaka, sirküler düzenlenmiş düz kas demetlerini, geniş kan damarlarını ve lenfatikleri içerir, stratum vaskülare olarak adlandırılır ve tunika muskularisin en kalın tabakasıdır. Stratum subvaskülare ve stratum supravaskülare olarak adlandırılan iç ve dış tabakalar ise longitüdinal düzenlenmiş düz kas liflerini içerir. Miyometriyum tuba uterinanın ve vajinanın kas tabakası ile devamlılık gösterir. Kas lifleri bantlar şeklinde düzenlenmiş olup birbirlerinden bağ dokusu ile ayrılmışlardır.

3. Perimetriyum (Tunika seroza): Organı en dıştan saran ince bir bağ dokusu ile desteklenmiş, tek sıra halinde düzenlenmiş, mezotel hücrelerini içerir. Pelvik ve abdominal periton ile devam etmektedir. Uterus gövdesinin arka kısmı ve fundus, seroza tabakası ile örtülüdür. Uterus ön kısmının alt yarısı ise bağ dokusundan oluşan adventisya tabakası ile sarılmıştır (12).

2.1.1. Endometriyum Histolojisi

Üreme periyodu boyunca endometriyum, embriyonun implantasyonu ve sonrasında embriyolojik ve fötal gelişimin gerçekleşebilmesi için her ay periyodik olarak yapısal ve fonksiyonel değişiklikler göstermektedir. Siklus sırasında endometriyumun salgı aktivitesindeki değişiklikler, ovariyan foliküllerinin olgunlaşması ile korelasyon göstermektedir. Endometriyum, organ lümenini döşeyen yüzey epiteli ve altında endometriyal stroma olarak da adlandırılan ve endometriyal bezleri içeren, kalın bir lamina propriya tabakasından oluşmuştur. Endometriyumun yüzey epiteli tek katlı prizmatik tipte olup, silyalı ve silyasız sekretuvar hücrelerden meydana gelmiştir. Yüzey epiteli lamina propriya içerisine doğru invagine olarak çok sayıda tübüler tipte uterin bezleri oluşturur. Uterin bezler stromanın bütün kalınlığı boyunca uzanır. Stroma ise mezenşim dokusuna benzer, çok sayıda stromal hücreler, lenfositler, granüler lökositleri içeren, kollajen liflerden ve hücrelerarası maddeden zengin, özel bir bağ dokusudur (12).

Endometriyumun yüzey epiteli uzun prizmatik hücrelerden oluşmaktadır, hücreler lümene bakan apikal yüzeylerinde çok sayıda mikrovillüsler ve silyumlara sahiptirler (15,16). Mikrovillüslü hücrelerde, apikal yüzeyde pek çok mikrovillüsün lümene doğru uzandığı, lateral yüzeylerde, silyalı ve mikrovilluslu hücrelerin bağlantı kompleksleri ile birbirlerine bağlandıkları gözlenmektedir. Lateral yüzeylerde ayrıca dezmozomların varlığı gözlenmektedir. Hücreler merkezi yerleşimli oval ya da yuvarlak bir çekirdeğe sahiptir. Çekirdek içerisinde kromatin dağılımı genellikle homojen olarak izlenmekte olup, bir veya birden fazla çekirdekçik bulunmaktadır. Hücrelerin sitoplazmalarında çok sayıda ince uzun mitokondriyonlar, granüler endoplazmik retikülüm (GER) sisternaları,

dağınık halde bulunan serbest ribozomlar ve az miktarda glikojen partikülleri ile lipitler de gözlenmektedir. Silyalı hücreler, apikal yüzeylerinde çok sayıda silyumlara sahiptir. Silyalı hücrelerin sitoplazmalarında yer alan mitokondriyonların özellikle apikal sitoplazmada yoğunlaştıkları dikkat çekmektedir (17). Sekretuvar faz boyunca silyasız, mikrovillüslü hücreler değişime uğramaktadır. Hücrelerde mikrovillüs sayısı azalırken, pinopod olarak adlandırılan geniş ve düz membran uzantıları uterin boşluğa doğru uzanmaktadır (18).

Endometriyal bezlerde yüzey epiteline benzer şekilde mikrovillüslü ve silyalı olmak üzere iki tip hücre ayırt edilmektedir. Bez epitel hücreleri prizmatik tipte olup hücrelerin apikalinden lümene doğru mikrovillüsler ve silyumlar uzanmaktadır. Bez epiteli hücrelerinin, bazale yakın, oval bir çekirdeğe sahip oldukları, çekirdek içerisinde belirgin bir çekirdekçiğin varlığı gözlenmektedir. Sitoplazmada mitokondriyonlar, GER sisternaları, lipit damlacıkları ve glikojen partikülleri izlenmektedir. Epitel hücreleri ince bir bazal lamina üzerine oturmuş olup, bu bazal laminanın stromal yüzeyde retiküler lifler ile desteklendiği gözlenmektedir. Bez epiteli içerisinde yer yer mitotik figürlerin varlığı gözlenmektedir (17). İntersellüler aralıklar döngünün başlangıcında darken, döngünün sonunda genişlemiş bir hal alır. Sıkı bağlantılar ve dezmozomlar döngünün her evresinde izlenirken, geçit bağlantıları sadece geç proliferatif ve sekretuvar evrede görülür (19). Epitel hücrelerinin çekirdeğinde yer alan nükleolar kanal sistemleri ovulasyondan sonra endometriyal epitel hücrelerinde ortaya çıkan ve gelişimi progesteron hormonu kontrolünde devam eden, çekirdek ve çekirdek zarı ile ilişkili tübüler yapılardır (20). Nükleolar kanal sistemleri orta ve geç proliferatif evrede ortaya çıkmakta olup, geç sekretuvar aşamaya kadar varlığını devam ettirmektedir (21). Mikrovillüslü hücrelerin sitoplazmasında yer alan dev mitokondriyonlar ise erken sekretuvar fazda izlenirken, mitokondriyonların lamelli ve tübüler kristalı yapılar sergiledikleri görülmektedir. Bazal membran kesintisizdir, kalınlığı döngü boyunca 40’ nm den 100’nm ye kadar kademeli olarak artar. Silyalı hücreler geç proliferatif fazda bol iken, geç sekretuvar fazda belirgin olarak azalmaktadır (22).

Endometriyal stroma, menstrüel döngünün başında, iğ şekilli, çok az değişime uğramış ve sitoplazmik yapılarla birbiriyle ilişki kuran pluripotent mezenşimal hücrelerden oluşmaktadır (17). Stromal hücreler tip I, III, V, VI kollajen, fibronektin, tenascin içeren hücrelerarası temel madde üretimi yapmaktadırlar (23). Stromal hücrelerin oval ya da yuvarlak çekirdekleri ökromatik görünümde olup, çekirdek içerisinde belirgin bir çekirdekçiğin varlığı izlenmektedir. Stromal hücrelerin sitoplazmalarında az sayıda mitokondriyon, GER sisternaları, birkaç lipit damlacığı ve glikojen partikülleri ayırt edilmektedir. Proliferatif fazda, tek başına ya da gevşek bir şekilde gruplar oluşturan stromal hücreler, ince bir sitoplazma ve oval bir çekirdek içerirler. Geç proliferatif ve erken sekretuvar fazlarda iğ şekilli hücrelerin birbirleri ile daha yakından ilişkili olduğu görülmektedir. Proliferatif faz sonunda çekirdek kromatini faz başlangıcına göre daha az yoğun hale gelmektedir (17). Sekretuvar faz boyunca ise, stromal hücrelerin sitoplazmalarında vakuoller ortaya çıkmakta ve bazı hücreler de predesidual hücrelere farklanmaktadırlar. Predesidualizasyon sırasında, küçük izole stromal hücreler, geniş sitoplazmaya, oval veziküler çekirdeklere sahip olup, geniş predesidual hücrelere dönüşürler ve geç sekretuvar fazda nadiren çekirdekçik içerirler (24). Ayrıca, stromada bulunan makrofaj sitoplazmalarında lizozomlar, lipit damlacıkları ve fagozomlar içermektedirler.

Endometriyal stroma, bezlerin boyun kısımlarının yer aldığı 2/3 üst kısımda hücresel yönden daha zengindir ve çok sayıda kan damarı içermektedir. Buna karşın, bezlerin dallanmış son kısımlarının bulunduğu alt 1/3 kısımda stroma fibröz bağ dokudan oluşmuştur (25).

Üreme çağında endometriyum yapısal ve fonksiyonel olarak iki farklı tabaka içerir; Endometriyumun üst 2/3'lük kısmı fonksiyonel tabaka, alt 1/3'lük kısmı ise bazal tabaka olarak adlandırılmaktadır. Bazal tabaka, endometriyumun menstrüasyon sırasında dökülmeyen kısmıdır ve endometriyum bazalis olarak da adlandırılmaktadır. Bazal tabaka, derinde dar bir tabakadır ve menstrüasyon ve doğumda varlığını koruyarak fonksiyonel tabakanın yenilenmesini sağlamaktadır. Endometriyumun üst 2/3 tabakası olan ve endometriyum fonksiyonalis olarak adlandırılan tabakası ise üreme periyodu

boyunca 28 günde bir periyodik değişiklikler gösterir. Fonksiyonel tabaka menstrüasyonla birlikte yıkılmaktadır (12,26).

2.1.2. Endometriyumda Kan Damarları

Uterin arter, uterusun miyometriyum tabakasında sayıları 6-10 arasında değişen, arkuat arterler olarak adlandırılan dallara ayrılır. Arkuat arterler, miyometriyumun stratum vaskülare tabakasında sirkümferensiyel olarak yerleşirler ve iki grup dala ayrılırlar. Bu dallardan bir kısmı miyometriyumun üst tabakasını beslerken, bir kısmı da, endometriyuma doğru uzanmaktadır. Endometriyuma uzanan ve radyal arter olarak adlandırılan arterler, endometriyum-miyometriyum bağlantısında düz ve kıvrıntılı olmak üzere, iki dala ayrılırlar. Düz arterler, endometriyumun bazal tabakasını, spiral arterler olarak da bilinen kıvrıntılı arterler ise fonksiyonel tabakayı beslemektedirler. Spiral arterler, fonksiyonel tabakada arteriyollere dallanırlar. Daha sonra bu arteriyoller, yüzey epitelinin altında yerleşen çok sayıdaki kapiller damarları ve ince duvarlı genişlemiş vasküler üniteler olan lakünaları beslerler. Menstrüel siklus boyunca, düz arterler ve spiral arterlerin bazal kısımlarında herhangi bir yapısal değişim gözlenmez. Buna karşın, spiral arterler östrojen ve progesteron hormonlarının etkisiyle dejenerasyon ve rejenerasyona uğrarlar (12). Endometriyal venler ise, miyometriyumdaki geniş venlere drene olurlar. Endometriyumun yüzeyel tabakası hariç, uterusun tüm tabakalarında yaygın lenf damarları da bulunmaktadır. Bunların yanında, endometriyumda miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinden zengin bir sinir ağı vardır. Miyelinli sinir lifleri mukoza tabakasına kadar uzanırlar ve yüzey epitelinin altında sinir pleksusları oluştururlar. Miyelinsiz sinir lifleri, kan damarları duvarlarında ve miyometriyumda bulunan düz kas liflerini inerve etmektedir (25).

2.2. Menstrüel Siklus Sırasında Endometriyal Değişiklikler

Endometriyum, ovaryumun salgı aktivitesine bağlı olarak yapısal ve fonksiyonel değişiklikler göstermektedir. Hipofiz ön lobunda, pars distalis

bölümünden salgılanan FSH ve LH etkisiyle ovariyan siklus başlamaktadır. Siklus sırasında ovaryumda gelişen foliküllerin granüloza hücreleri tarafından üretilen östrojen ve ovulasyon sonrasında gelişen korpus luteumdan salgılanan progesteron hormonlarının etkisi ile endometriyumda siklik değişiklikler meydana gelmektedir. Endometriyumda meydana gelen bu yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin tümü, her 28 günde bir gerçekleşmekte ve bu süreç menstrüel siklus veya endometriyal siklus olarak adlandırılmaktadır (12).

Endometriyal siklus 3 evrede incelenmektedir;

- Menstrüel faz; korpus luteumun dejenerasyonu ile overlerden hormon salınımının azalması ile başlar.
- Proliferatif (foliküler) faz; foliküler gelişim ile eş zamanlı gerçekleşir ve over kaynaklı östrojenin etkisi ile gelişir.
- Sekretuvar (luteal) faz; korpus luteumdan salgılanan progesteronun etkisi ile gelişir.

2.2.1. Menstrüel Faz (1-4. Günler arası)

Menstrüasyonun ilk günü, menstrüel siklusun başlangıcı olarak kabul edilir. Ovulasyondan sonra fertilizasyon gerçekleşmez ise korpus luteumun gerilemesi sonucu östrojen ve progesteron seviyeleri azalır. Bu evrede vasküler değişiklikler oldukça karakteristiktir. Kanamadan önceki 2 gün endometriyumun fonksiyonel tabakasında, spiral arter duvarları aralıklı olarak kasılarak kan akımı engellenir. İskemi olarak adlandırılan bu durumda endometriyumun fonksiyonel tabakası dökülmeye hazır hale gelir ve 1 gün sonra da menstrüasyon gerçekleşir. Menstrüasyonda, arteriyel ve venöz kan, dejenere olmuş epitel ve stromal hücreler ile bezlerin salgıları atılmaktadır. Yaklaşık 4-5 gün kadar süren bu kanama evresinde, endometriyumun fonksiyonel tabakası dökülmekte ve yaklaşık olarak 35-40 ml kadar kan kaybı meydana gelmektedir. Menstrüasyondan sonra yüzeyel tabakanın dökülmesine bağlı olarak endometriyum incelmiştir (12).

2.2.2. Proliferatif Faz (4-14. Günler arası)

Menstrüel kanamanın 4. gününden, ovulasyona kadar olan süreyi kapsayan bu dönem, östrojen etkisi altında kalan endometriyumun yeniden yapılanma dönemi olarak bilinmektedir. Menstrüel fazdan sonra, varlığını sürdüren bazal tabaka, bezlerin bazal kısımlarını ve spiral arterlerin alt kısımlarını içeren, ince bir bağ dokusu tabakası olup, yaklaşık olarak 1 mm kalınlığa sahiptir. Ovaryumda foliküllerin olgunlaşmasıyla eş zamanlı gerçekleşen proliferatif evrede, büyümekte olan foliküllerin granüloza hücrelerinden salgılanan östrojenin etkisi altında stratum bazale tabakasında proliferatif faz başlar. Menstrüasyon sonrasında bezlerin bazal kısmındaki epitelyal hücreler, bezleri yeniden oluşturur ve endometriyal yüzeyi örtmek için yüzeye göç ederler. Östrojenin etkisiyle endometriyumun, epitel, stromal, endotel hücrelerinde yüksek mitoz aktivitesi gözlenir (27). Proliferatif faz süresince stromal hücreler çoğalarak kollajen lifleri ve temel maddeyi sentez ederler. Spiral arterler, menstrüel evrede dökülerek atılan endometriyumu yeniden yapılandırmak üzere yüzeye doğru uzanırlar. Bu arterler sadece hafif kıvrımlıdır ve endometriyumun üst 1/3 kısmına uzanmazlar. Menstrüel evreyi takiben başlayan bu evre ovulasyondan 1 gün sonraya kadar devam eder. Proliferatif evrenin sonunda, endometriyum yaklaşık 3 mm kalınlığa ulaşır. Bezler nispeten düz olup, dar bir lümene sahiptirler ve hafif dalgalı bir görünüm kazanırlar. Epitelyal hücrelerinin bazal kısımlarında glikojen birikimleri gözlenir. Rutin histolojik doku takip aşamalarında, bu bölgelerdeki glikojenin erimesi sonucu, bazal sitoplazmada boşluk görüntüsü oluşur (12).

Erken proliferatif faz boyunca endometriyumun yüzey ve bez epiteli basit prizmatik tiptedir. İnsan endometriyal yüzey epiteli, mikrovillüse sahip silyasız hücreler ile silyalı hücrelerden oluşmaktadır. Genel olarak, epitel hücrelerinin apikal yüzeyleri, glikokaliks olarak adlandırılan kalın bir tabaka ile kaplı, çok sayıda mikrovillüs içerir. Hücre yüzeyinde bulunan glikokaliks tabakası, epitel hücrelerini proteolitik bozulma ve bakteriyel enfeksiyonlardan korumaktadır (19,28). Epitel hücrelerinin çekirdeklerinde bulunan östrojen reseptörleri preovulatuvar dönemde en yüksek düzeydedir (29,30).

Basit prizmatik tipteki bez epitel hücrelerinde bu dönemde mukus sekresyonu ve vakuolizasyon izlenmemektedir (27). Geç proliferatif fazda bezler psödostratifiye prizmatik epitel ile döşeli hal alabilir ve bazı hücrelerde hala mitoza da rastlanmaktadır. Epitelde silyalı ve mikrovillüslü olmak üzere iki tip hücre ayırt edilmektedir. Mikrovillüslü hücreler, apikal yüzeylerinde çok sayıda mikrovillüse sahip olup, belirgin bir glikokaliks tabakası ile örtülüdürler. Hücrelerin çekirdekleri merkezi yerleşimlidir ve ovoid ya da uzamış şekilde görülmektedir. Çekirdek içerisindeki kromatin homojen olarak dağılmıştır ve çekirdekte birkaç adet çekirdekçik de bulunabilir. Hücreler birbirlerine sıkı bağlantılar, geçit bağlantıları ve dezmozomlar ile bağlanmışlardır. Sitoplazma içerisinde, yaygın serbest ribozomlar, granüler endoplazmik retikülüm sisternaları, küçük mitokondriyonlar, zayıf gelişmiş Golgi kompleksi, dens cisimcikler ve bir kaç lipit damlacığı bulunmaktadır. Bazal sitoplazmada yerleşen küçük glikojen kümelerine rastlanmaktadır. Menstrüel siklusun 14. günü ile birlikte, çekirdeğin bazalinde yerleşen glikojen partiküllerinin miktarı belirgin olarak artmaktadır. Yüzey ve bez epiteli içerisinde daha az sayıda bulunan silyalı hücreler, lümene bakan yüzlerinde silyum ve mikrovillüsler içermektedir. Bu evrede, silyalı hücreler diğer yapısal özellikleri yönünden, mikrovillüslü hücrelere benzerlik göstermektedir (31).

Stromal hücreler menstrüel siklus boyunca proliferasyon, farklanma ve olgunlaşma süreçlerinden geçmektedir. Erken proliferatif faz boyunca stromal hücreler mezenşimal karakterleri ile farklanmamış fibroblast hücrelerine benzerken, orta ve geç proliferatif fazda belirgin bir ökromatik çekirdek ve yaygın granüler endoplazmik retikülüm sisternaları ile değişikliğe uğrarlar (31).

2.2.3. Sekretuvar Faz (14-28. Günler arası)

Sekretuvar evre; progesteronun etkisi ile endometriyumun fonksiyonel tabakasında, ovulasyondan sonra 1. veya 2. günde başlamakta ve yaklaşık olarak 14 gün devam etmektedir (12). Overlerde foliküler faz ilerleyip seçilen dominant folikül ovulasyona yaklaştıkça endometriyumun rejenerasyonu yavaşlamakta ve ovulasyondan sonraki günlerde mitoz aktivitesi durmaktadır. Bu dönemde korpus luteum büyüyüp, gelişmekte ve işlevsel hale gelmektedir. Korpus luteumdan salgılanan progesteron, bez epitelinde glikojenden zengin salgı yapılmasına neden olmaktadır (27). Korpus luteumdan salınan progesteron ve östrojenin, kısmen de bağ dokusu içindeki sıvı artışının etkisiyle endometriyum kalınlaşır, bezler genişler kıvrımları artarak kese şeklini alırlar. Böylece endometriyum, ödemli bir görünüm almakta ve kalınlığı 5-6 mm'ye kadar ulaşmaktadır. Bezler genişleyerek, kıvrıntılı bir hal alır ve salgı yapmaya başlar. Endometriyal bezlerin epitelinden, besin maddelerinden, özellikle de glikojenden zengin mukoid bir salgı salgılanır. Bu salgı implantasyonun gerçekleşmesi durumunda, embriyonunun gelişimini desteklemek için gereklidir. Bezlerin lümeni salgıyla dolar. Bu evrede epitel hücrelerinde mitoz oldukça sınırlıdır (12). Bu fazda, progesteronun etkisi ile epitel hücreleri, serbest ribozomlarla dolu, nispeten inaktif hücrelerden, dev mitokondriyonları, glikojen ve glikoprotein depoları ile intranüklear kanalikül sistemini içeren aktif polarize hücrelere dönüşür (32). Bez epitelindeki yapısal farklılıklara odaklı bir dizi çalışmada; sekretuvar faz sırasında, dev mitokondriyonlar, subnüklear glikojen varlığı ve nüklear kanal sistemiyle karakterize yapısal değişiklikler 'post-ovulatuvar üçlü' olarak tanımlanmıştır (33). Nüklear kanal sisteminin (NKS) oluşumunun, progesteron bağımlı olduğu ve menstrüel döngünün orta-geç proliferatif fazı sırasında başlayarak geç sekretuvar faza kadar devam ettiği rapor edilmiştir (34). NKS'nin geçici varlığının, fertilite ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (20). NKS fonksiyonu henüz bilinmemekle beraber mRNA'nın hızlı transportu ile ilgili olduğu düşünülmektedir (35). LH pikinden 3 gün sonra glikojen sitoplazma içinde birikmeye başlar, başlangıçta subnüklear yerleşimli

iken, LH pikinden 6 gün sonra, büyük kümeler halinde hücrenin apikal bölgelerinde görülür (19).

Endometriyumun sekretuvar fazında yüzey ve bez epitelinde dört farklı tipte hücre ayırt edilmektedir (4).

1. Mikrovillüslü hücreler
2. Pinopodlu hücreler
3. Vesiküllü hücreler
4. Silyalı hücreler

Mikrovillüslü hücreler: Yüzey epiteli içerisinde en sık gözlenen hücre tipidir. Orta derecede elektron dens bir sitoplazmaya sahip bu hücrelerde apikal yüzde çok sayıda mikrovillüs ve stereosilya bulunur. Hücre çekirdekleri ovoid, hafifçe uzamış ve düzensiz bir sınıra sahiptir ve sıklıkla apikal pozisyonda yerleşir. Bazı hücrelerde çekirdekçik, çekirdek kılıfı invajinasyonları ile ilişkili olarak gözlenir ve bazen de gelişimin erken dönemindeki nüklear kanal sistemleriyle ilişkili olarak izlenir. Sitoplazmada dağınık olarak çok sayıda, uzun mitokondriyonlar bulunur ve bunlardan bazıları GER sisternaları ile ilişkilidir. Ayrıca sitoplazmalarında az sayıda dev mitokondriyonlar, yaygın düz endoplazmik retikülüm sisternaları, supranüklear yerleşimli Golgi kompleksi ve glikojen partikülleri gözlenir. Lipit damlacıkları ve glikojen partikülleri genellikle bazal bölgededir. Elektron dens veziküller ve sekonder lizozomlar, daha çok apikal bölgede ve bazolateral membranlara yakın şekilde izlenir. Apikal yüzeyde, komşu hücreler arasında sıkı bağlantılar bulunur. Bunun yanında, lateral yüzeylerde iki veya daha fazla sayıda dezmozomlara rastlanır (4)

Pinopodlu hücreler: Bu hücreler apikal yüzeylerindeki pinopod adı verilen geniş sitoplazmik çıkıntılar ile karakterizedir (4). Endometriyum epitelinin apikal yüzeyinde bulunan uzun, ince mikrovillüsler düzensiz, yassılaşmış çıkıntılara dönüşür (18). Pinopodların sitoplazmasında az sayıda organel, çok miktarda mikrofilaman, glikojen partikülleri, örtülü veziküller ve bazen de endoplazmik retikülüm sisternalarıyla, dens veziküller ve küçük mitokondiyonlar bulunur. Çekirdek ovoid olup düzenli bir sınıra sahiptir ve orta hatta yerleşmiştir. Ayrıca, iyi gelişmiş nüklear kanal sistemleri bulunur. Mitokondiyonları fazla olan bu hücrelerde, endoplazmik retikülüm sisternaları da izlenmektedir. Dev

mitokondiyonlar bulunmaz, SER ve Golgi kompleksi az gelişmiştir. Bunun yanında, dens veziküller, sekonder lizozomlar, glikojen ve lipit damlacıkları belirgindir. Hücreler arasında az sayıda dezmozomlar bulunur (4).

Vesiküllü hücreler: Apikal sitoplazmalarında büyük çaplı sekretuvar veziküller ve elektron lusent sitoplazmaları ile karakterize hücrelerdir. Geniş sekretuvar veziküller, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve ER ile yakından ilişkilidir. Apikal sitoplazmadaki veziküller lümen içerisine konveks bir halde uzanmış görüntüsü verir. Apikal yüzeyde az sayıda mikrovillüs ve stereosilya bulunur. Sitoplazma içerisinde genellikle subnüklear pozisyonda, birkaç lipit damlacığı ve glikojen partikülüne rastlanır. Ayrıca supranüklear olarak dens veziküller, küçük mitokondriyonlar ve GER sisternaları da yer almaktadır. Bu hücrelerde, dev mitokondriyonlar bulunmamaktadır. Çekirdek oval ve düzenli bir sınıra sahip olup, genellikle hücrenin ortasında yerleşir. Nüklear kanal sistemleri bulunmakla birlikte, gerilemiş formu gözlenmektedir. Hücreler arasında dezmozomlara rastlanmaktadır. Lateral membranlar arasındaki boşluk özellikle bazal bölgede genişlemiş ve düzensizleşmiştir. Vesiküllü hücreler, epitel içerisinde az sayıda dağınık olarak yer alabildiği gibi, ikili veya üçlü gruplar halinde de bulunabilirler. Gerileme fazında, bu hücreler sıklıkla apoptotik özellikler göstermektedir. Hücrelerde sitoplazmik kayıp, organel genişlemeleri ve otofagozomlara sıklıkla rastlanmaktadır. Hücrelerin çoğunda, çekirdek ökromatik bir yapıda izlenirken, bazı hücrelerde kromatin kümeleşmesi dikkati çekmektedir. Epitelin apikal kısımlarda ise, tipik holokrin sekresyonu simgeleyen, geniş vakuoller ile karakterize dejeneratif hücreler lümene doğru atılmaktadır (4).

Silyalı hücreler: Yüzey epitel hücreleri arasında en az sıklıkta gözlenen hücre tipidir. Sitoplazmaları oldukça elektron dens, apikal yüzleri düz olan bu hücrelerde, çok sayıda silyum yer almaktadır. Silyumların yanında, hücrelerde az sayıda mikrovillüs ve stereosilyumlar da bulunmaktadır. Çekirdekleri bazale yakın olup, düzensiz sınırlara sahiptir. Hücrelerde nüklear kanal sistemleri bulunmamaktadır. Apikal sitoplazmada çok sayıda küçük mitokondriyonlar yer alır, fakat dev mitokondriyonlara sahip değildirler. Endoplazmik retikülüm ve Golgi sisternaları az gelişmiştir. Hücre sitoplazmalarında ayrıca, az sayıda glikojen partikülü, dens veziküller, lizozomlar ve lipit damlacıkları da

bulunmaktadır. Hücrelerin bazalinde, glikojen kümeleri ve mitokondriyonlarla ilişkili multilamellar cisimcikler de gözlenmektedir (4).

Sekretuvar faz sürecinde, endometriyal stromada spiral arterler oldukça uzar, kıvrıntılı bir görünüm alır ve endometriyumun yüzeyinin yakınlarına kadar ulaşırlar. Stromada ödem meydana gelir. Stromal hücreler genişler ve sitoplazmalarında glikojen ve lipit damlacıkları birikir. Östrojen ve progesteronun etkileri sonucunda, bu hücreler desidual hücrelere dönüşürler. Oldukça genişlemiş, soluk renkteki hücreler, glikojen yönünden zengindir. Bu dönüşüm için en önemli uyarının, blastokistin implantasyonu olduğu düşünülmektedir. Stromal hücrelerde periyot boyunca çekirdeğin oval olduğu ve transkripsiyonel aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir. Stromal hücre yoğunluğu LH+2' den LH+6' ya artmakta LH+8' de ise dramatik biçimde azalmaktadır. Periyot boyunca stromal hücrelerde mitotik aktivite artmakla beraber, LH+8 de stromal ödem de maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Stromal hücreler arasındaki, geçit bağlantılarını da içeren bağlantı kompleksleri sekretuvar faz boyunca artmakta ve geç sekretuvar faz sonunda ise azalmaktadır (23, 36). Stromal hücrelerin kesin fonksiyonları bilinmemekle beraber, embriyonun beslenmesi için elverişli bir çevre oluşturdukları ve gebeliğin sonunda meydana getirdikleri özelleşmiş tabaka sayesinde, plasentanın uterin duvardan ayrılmasını kolaylaştırdıkları düşünülmektedir (12). 24-28. günlerde oluşan bu predesidualizasyon stratum fonksiyonalise yayılır, stromal hücreler arasında dağınık nötrofiller ve daha nadir olarak da lenfositler görülebilir. Fakat bu aşamada nötrofil ve lenfosit varlığı enflamasyon anlamına gelmez (27). Bu evrenin sonlarında endometriyum üç tabakalı bir yapı gösterir. Yüzey epitelinin hemen altında yerleşen kompakt tabaka; bezlerin düz boyun kısımlarını içerir ve buradaki stromada az miktarda ödem görülür. Spongiyoz (süngerimsi) tabaka; bezlerin kıvrıntılı segmentlerinin bulunduğu bu tabakada, stromada ödem oldukça belirgindir. Kompakt ve Spongiyoz tabaka birlikte, fonksiyonel tabaka olarak adlandırılır. Bazal tabaka; endometriyumun menstrüasyonla dökülmeyen son 1/3'lük tabakasıdır (12).

2.3. Endometriyum Histofizyolojisi

Ovaryan siklusta, overlerden salgılanan östrojen ve progesteron hormonlarının etkisi ile endometriyumda implantasyon için uygun ortam hazırlanmaktadır. Östrojen ve progesteron; pre ve perimplantasyon dönemi boyunca, endometriyumu implantasyona hazırlar ve reseptivitesini düzenler. Endometriyumdaki çok sayıda molekülün salınımı, bu düzenlemenin sonucunda tetiklenir. Endometriyal siklusun ilk yarısında östrojen hormonu etkisi hakimdir. Endometriyumda epitel ve stroma hücrelerinde, östrojenlerin etkisi altında mitotik indeks ve vaskülarizasyon artar. Endometriyum bezleri, düz şekillerini korur ve stromanın derinlerine doğru büyüme gösterir (37). Östrojenler Müller kanalından gelişen organ ve dokuların oluşmasına ve hücresel proliferasyona neden olur (38). Önceden östrojene maruz kalmış proliferatif endometriyum, ovulasyon sonrası korpus luteumdan salgılanan progesterona yanıt olarak sekretuvar değişime uğrar. Bu süreçte karakteristik endometriyal epitel hücreleri farklılaşması ve immünolojik yönden aktif hücrelerin infiltrasyonu gerçekleşmektedir (39). Progesteron hormonu, endometriyumun farklılaşması, proliferasyonu ve salgı fonksiyonlarının kontrolünde önemli rol oynamaktadır. Progesteron, uterus bezlerini daha geniş, daha kıvrımlı ve daha fazla salgı üretebilir hale getirerek, blastokistin implantasyonu için endometriyumun hazırlanmasına neden olur (37). Progesteron hormonu etkisini, genellikle stromada yer alan, hedef hücrede bulunan progesteron reseptörü-B (PR-B) üzerinden göstermektedir (39). Korpus luteumdan salınan progesteron, luteal fazda, hipofizden LH salınımını etkileyerek, LH sekresyonunu da kontrol etmektedir. Korpus luteumun fonksiyonunun devamı sürekli tonik LH sekresyonuna bağlıdır (40).

2.4. Endometriyal reseptivite

Endometriyal reseptivite; başarılı bir implantasyona olanak tanıyan uterin mukoza kapasitesi olarak tanımlanabilir. Endometriyum hormonlar tarafından etkilenerek embriyoyu kabul edebilir hale gelir. Embriyonun implantasyonu birbirini takip eden 3 belirgin faz içerir. Bunlar; appozisyon, tutunma ve invazyon olarak adlandırılır. Endometriyum, luteal faz sırasında kısa bir süre embriyo implantasyonu için reseptivite gösterir. Endometriyum, siklusun 20-24. günlerinde maksimum reseptivite gösterir ve bu dönemde endometriyal reseptivitenin biyolojik belirteçleri olan peptit ve proteinler belirgin bir şekilde ifade edilir. Endometriyumun maksimum reseptivite gösterdiği bu döneme implantasyon penceresi adı verilir. Başarılı bir implantasyon; embriyo kalitesi ve endometriyal reseptiviteye bağlıdır. Tamamlanmamış endometriyal reseptivite yardımcı üreme tekniklerinde başarısızlığın önemli nedenlerinden birisidir (41). Ovaryan steroidler olan, östrojen ve progesteron hormonları uterusun siklik değişimini sağlayarak, endometriyumu yapısal olarak reseptiv hale getirir. Ayrıca, bu dönemde endometriyum ve embriyodan salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri de, blastokist ve endometriyum arasında etkileşimde büyük rol oynarlar. Bu faktörler, hücre proliferasyonunu, differansiasyonunu, apopitoz olaylarını; otokrin, parakrin ve endokrin mekanizmalar ile düzenlerler (41, 42).

Endometriyal reseptivite üzerine etkili biyolojik belirteçler;

- Pinopodlar,
- Sitokinler ve büyüme faktörleri,
- Hücre adhezyon molekülleri,
- Diğer endometriyal reseptivite belirteçleri olarak sınıflandırılabilir.

Pinopodlar; implantasyon penceresi döneminde endometriyumun yüzey epitelinde görülen en belirgin yapısal parametrelerden biri olarak değerlendirilmektedir. Orta luteal faz ile geç luteal faz boyunca pinopodlara rastlanabildiği ve pinopod oluşumunun progesteron bağımlı olduğu bildirilmektedir. Endometriyal dokunun yapısal ve fonksiyonel değişimleri sonucunda oluşan pinopodların, blastokistin endometriyumla ilk karşılaşma

alanı olduğu, appozisyon ve adezyon fazlarında çeşitli moleküllerin ekspresyonunu gerçekleştirdiği bilinmektedir (41).

Sitokinler ve büyüme faktörleri; endometriyal hücrelerin fonksiyonlarını düzenleyen, hücre yüzey reseptörlerine bağlanma kapasitesi olan, hücre kökenli polipeptit ve proteinlerdir. Sitokinler, uterin mukoza ve embriyo tarafından üretilerek, embriyo ile endometriyumun etkileşiminde, adezyon ve anti adezyon proteinlerin ekspresyonunu ile endometriyal reseptivitenin gerçekleşmesinde rol oynarlar. Bu moleküller; lösemi inhibitör faktör (LIF), koloni stimüle edici faktör-1 (CSF-1), interlökin-1 (IL-1), Heparin bağlayan epitelyal büyüme faktörü (HB-EGF), İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-1(IGF-BP-1), keratinosit büyüme faktörü (KGF) (41), Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) (43) ve glikodelindir (44).

- **Koloni stimüle edici faktör-1 (CSF-1):** Plasenta ve plazmada ölçülebilir düzeylerde bulunan sitokin ve büyüme faktörlerinden biridir. Endometriyum yüzey epitelininden, sekretuvar fazda salgılanan CSF-1, trofoektodermdeki reseptörler üzerinden blastokist apozisyonunu uyardığı, bunun yanında trofoblast proliferasyon ve diferansiasyonunu stimüle ettiği düşünülmektedir (45, 46). Tekrarlayan gebelik kayıplarında CSF-1 seviyesinin belirgin oranda azaldığı rapor edilmiştir (47).
- **Lösemi inhibitör faktör (LIF):** İlk olarak fare makrofajlarında miyeloid lökosit m1 hücre diferansiasyonuna neden olan bir faktör olarak tespit edilmiştir (48). LIF, hücre yüzey reseptör kompleksi ile etkileşerek etkisini göstermektedir (49). Reseptörü oositte, blastokistte, endometriyum yüzey epitelinde bulunur ve endometriyal bezlerde yüksek konsantrasyonlarda eksprese edilir. LIF tüm menstrüel siklus boyunca salınmakla birlikte özellikle orta ve geç sekretuvar dönemde salınımı artmaktadır. LIF ve LIF mRNA erken sekretuvar fazda yüksek, proliferatif fazda düşük seviyelerde eksprese edilmektedir (50). Stromada ise, siklus boyunca seviye değişikliği göstermeyerek orta-yüksek düzeyde bulunmaktadır. Endometriyal epitelde siklusun her döneminde LIF seviyesi

stromadakinden daha yüksektir (51). Luteal fazın 6. ve 9. günlerinde endometriyumda LIF ve LIFR ekspresyonu ile pinopod gelişimi arasında güçlü bir korelasyon olduğu rapor edilmektedir (52). Blastokistin büyümesini regüle eder ve implantasyonu başlatır. LIF'in sitotrofoblastlarda fibronektin sentezini arttırarak, HCG sentezini azaltarak, trofoblostın daha invaziv hale gelmesini sağladığı rapor edilmiştir (53, 54, 55). İmplantasyon başarısızlığı olan infertil kadınlarla fertil kadınlar karşılaştırıldığında menstrüel siklus sırasında endometriyal LIF üretiminde ciddi bir bozukluğun olduğu rapor edilmiştir (56).

- **Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF):** Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süperailesinin önemli bir üyesidir (57). Endotel hücresinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve diferansiasyonuna neden olmaktadır (58). Vaskülogenez ve anjiyogenez için kritik öneme sahiptir. Menstrüel siklus boyunca endometriyal VEGF seviyelerinin fazlar süresince değiştiği bilinmektedir (59). Stromal VEGF ekspresyonu proliferatif fazda sekretuvar faza göre daha fazla olmaktadır (60). Ovaryan steroidler, özellikle östrojen VEGF sekresyonunu arttırmaktadır (61). Desidua gelişimi, implantasyon ve gebelik oluşumunda önemli rollere sahiptir. Endometriyal stromal hücrelerde VEGF yapımı ile desidualizasyon arasında pozitif korelasyon mevcuttur (43).
- **Heparin bağlayan epitelyal büyüme faktörü (HB-EGF):** EGF ailesinin bir üyesi olarak, hücre proliferasyonu ve differansiyasyonunu stimüle etmektedir. EGF, östradiolün uterus üzerinde etkisinin mediatörü olan bir peptit olarak, östrojenin hücre çoğalması üzerindeki etkisine aracılık eder. Östrojen kontrolü altındaki endometriyum yüzey ve bez epitelinde yüksek oranda eksprese edilmektedir. Stromaya gönderdiği parakrin ve otokrin sinyallerle implantasyon ve trofoblast invazyonunu artırır. HB-EGF'deki azalma, oksidatif strese karşı endotelyal hücrelerdeki koruyucu etkiyi azaltır (62).

- **İnterlökin (IL):** IL-1'in endometriyumun yüzey epitelindeki reseptörlerine bağlanması ile endometriyal prostaglandin E2, LIF, integrin ß3 gibi ikincil sitokinlerin salınımını indüklediği gösterilmiştir. IL-1 implantasyonda primer desidual cevabı kuvvetlendirerek desiduanın devamını sağlar. IL8'in menstrüel siklus süresince endometriyum yüzey epitelinde ve bez epitelinde ekspresyonu gösterilmiştir. IL8 'in endometriyuma nötrofil ve lenfosit geçişinde rol aldığı düşünülmektedir (63).
- **İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-1(IGF-BP-1):** Maternal desidua tarafından sentezlenir. Embriyonik stimülasyona bağlı olmak üzere stromal fibroblastların desidual hücrelere diferansiyasyonu ve trofoblast invazyonu, IGF-BP1'in etkisine bağlıdır (64).
- **Glikodelin:** Glikodelin sekretuvar ve desidualize endometriyumda sentezlenir. Glikodelin- A aynı zamanda plasental protein 14 (PP14) veya progesteron ilişkili endometriyal protein (PEP) olarak da bilinir. Reprodüktif dokulardan eksprese olduğu bilinen glikodelin, sekretuvar yüzey ve bez epitelleri ile desiduada progesteron etkisiyle yükselmektedir (65). Gebelik esnasında ise desiduadan glikodelin-A salgısı artarak devam eder. İn vitro koşullarda naturel killer hücrelerin etkilerini suprese ettiği ve bundan dolayı immünsupresif bir mikroçevre sağlayarak embriyoyu koruduğu bilinmektedir (44). Ovulasyon sırasında, düşük endometriyal düzeyi ile fertilizasyona olanak sağlarken, ovulasyondan sonra artışı implantasyonun ve gebeliğin devamını sağlamaktadır (66)

Adezyon molekülleri: İmplantasyon penceresi döneminde endometriyum ve embriyo, blaskokistin uterin mukozaya tutunmasını sağlayan adezyon moleküllerini içerir. Bu moleküller implantasyonun gerçekleşmesinde, sinsityotrofoblastların endometriyuma invazyonunda ve invazyon olayının sınırlandırılmasında önemli bir role sahiptir. Bu moleküller arasında musinler ve integrinler de bulunur (41).

- **İntegrinler:** Hücre adezyon molekülleri ailesinin bir üyesi olup, transmembran glikoproteinleridirler. Endometriyal epitelyal hücrelerde; α2β1, α3β1 ve α6β4 tipleri bulunurken, endometriyal stromada; α1β1, α3β1 ve αvβ3 tipleri yer almaktadır. Açıklanamayan infertilite ve endometriyozis gibi olgularda integrinlerin bulunmaması bu moleküllerin implantasyonda önemli rol oynadığını göstermektedir (41). Menstrüel siklus boyunca endometriyumda, farklı zamanlarda, farklı integrin tipleri eksprese olmaktadır (67).
- **E-cadherin :** E-cadherin, ağırlıklı olarak epitel dokulardan eksprese olan Ca bağımlı hücre adezyon molekülüdür. Ca'daki artış, ara bağlantılardaki E-cadherinin dağılımına ve hücre iskeletinin yeniden organize olmasını sağlayan anahtar sinyal yolaklarının aktive olmasına yol açar. Hücreler arası Ca seviyesindeki değişim adezyon moleküllerinin yeniden yapılanmasını tetikler ve bu durumdan epitel hücrelerinin adezyonu ve polaritesi etkilenmektedir (68).
- **L-Selektin:** Hücre adezyon molekülleri grubunun bir üyesi olan selektinler en az %30 karbonhidrat içeren glikoproteinlerdir. Embriyonun endometriyuma adezyonu için trofoblastlardan salgılanan L-selektin ile endometriyumdan salgılanan oligosakkarit yapılı L-selektin ligandı köprü oluşturmaktadır. L-selektinin ligandına bağlanmasıyla hücre içi sinyal kaskadı aktifleşerek diğer adezyon moleküllerinin kendi ligandlarına bağlanarak adezyonun pekişmesi gerçekleşmektedir. Post ovulatuvar 5-7. günlerde salınımı maksimum seviyeye ulaşırken, 9-11. günlerde seviyesinde düşmeler başlamaktadır. Yüzey epitelinden salınımları bez epiteline oranla daha fazla gerçekleşmektedir (69).
- **ICAM (İntraselüler Adezyon Molekülü):** Blastokistlerin incelenmesinde, ICAM-1'in insan embriyolarında bulunduğu ve MUC-1'e bağlanabildiği kaydedilmiştir. Endometriyal MUC-1'in, karbonhidrat epitopları vasıtasıyla bir adezyon molekülüne dönüştüğü, trofektodermal hücrelerin karbonhidrat bağlı moleküller ile etkileşerek embriyoları endometriyum apikal yüzey epitelindeki

ICAM'lar ile temas ettirebildiği rapor edilmiştir. Bunun yanında, kötü kaliteli blastokistlerin ise diğer ICAM'lar ile etkileşmelerine engel olabildiği aynı çalışmada bildirilmiştir (42).

- **Musinler:** Musinler, endometriyal epitel hücrelerinin yüzeyinde yaygın bulunan glikozillenmiş moleküllerdir. Musinler hücre yüzeyini enzimatik etkilere karşı dayanıklı hale getirir ve muhtemelen hücre-hücre, hücre- ekstrasellüler matriks adezyonunu zayıflatır. MUC-1 insan endometriyumunda hem proliferatif hem de sekretuvar fazda majör epitelyal apikal yüzey glikoproteini olarak bulunur ve implantasyon için bir bariyer olarak fonksiyon görür (41).

Reseptivite üzerine etkili diğer faktörler; Homeobox genler (HOXA-10, HOXA-11), Prostaglandin (PGI-2) ve kalsitonindir (41).

- **HOXA-10 (Homeobox gen-10):** Nüklear transkripsiyon faktörleridir. Menstrüel siklus boyunca insan uterus bezlerinde ve stromasında etkisini gösterirler. Orta sekretuvar fazda belirgin olarak artarlar (70). HOXA-10 gen aktivasyonu esas olarak E2 uyarımı ile olmakta ve ilerleyen dönemlerde E2 ve progesteronun ortak etkisi ile stimülasyon devam etmektedir (71). Bu genlerin etkisi ile insan endometriyumunun büyümesi ve farklanması düzenlenir. İmplantasyonda önemli faktörlerin düzenlemesinden sorumludur. HOXA-10 eksikliği olan farelerde progesterona karşı stromal hücrelerde mRNA ekspresyonunun azaldığı ve endometriyal reseptivitenin bozulduğu rapor edilmiştir (70).
- **PGI-2 (Prostaglandin-2):** Desidual reaksiyonda vasküler geçirgenliği arttırdığı için implantasyonda rol oynar. COX-2' den yoksun dişilerde, PGI-2 eklenmesi desidual tepkinin ve implantasyonun meydana gelmesinde çok etkilidir. Bu durumda; PGI-2'nin önemi bir COX-2 ürünü olup implantasyon için gerekli uterin stromal değişikliklerin meydana gelmesinden sorumludur (72).
- **Kalsitonin:** İmplantasyon döneminde insan endometriyumunda bulunur. Kalsitonin mRNA'sı immünohistokimyasal olarak, mid-sekretuvar dönemdeki endometriyumda gösterilmekle birlikte

implantasyon penceresi döneminde, 19-21. günlerde, maksimum seviyeye çıktığı rapor edilmektedir (41).

2.5. Musinler

Musinler hücrelerin yüzeyinde bulunan büyük glikolize moleküllerdir. MUC-1; müsin ailesi içerisinde ilk tanımlanan ve üzerinde en çok çalışılan, yaygın bir müsin tipidir. Episialin, Polimorfik epitelyal musin (PEM), Epitelyal membran antijeni (EMA) olarak da bilinen MUC-1, endometriyal epitelin sekretuvar bir ürünüdür. MUC-1 endometriyumun yanı sıra; meme dokusu, tükürük bezi, özofagus, mide, pankreas, karaciğer, duodenum, akciğer, böbrek, mesane, prostat, testis gibi birçok organ ve doku epitel hücresinde de bulunur. MUC-1 endometriyal siklus süresince ifadesi değişen bir müsindir (55). Musinler ileri düzeyde glikozillenmiş, yüksek moleküler ağırlığa (250-500 kDa) sahip, glikoprotein ailesidir. Musin ailesinden olan MUC-1 integral membran glikoproteini olup, kısa bir glikozillenmemiş sitoplazmik bölgeye, hidrofobik bir transmembran bölgesi ve geniş bir ekstrasellüler bölüme sahiptir. Ekstrasellüler bölümü 20 amino asitlik tekrarlayan diziler içerir ve geniş, ileri derecede uzun immünolojik rol oynayan, yüksek derecede glikozillenmiş yapılar oluştururlar. Aynı zamanda serin, threonin ve prolin ile zenginleştirilmiş olup, glikolizasyon ile rijit ve genişlemiş bir yapı meydana getirirler. Sitoplazmik bölümü ise fosforillenmiş olup, sitoiskelet ile ilişkilidir (73). MUC-1'in hücre sitoplazmasında granüler endoplazmik retikülümde sentez edilerek, daha sonra agranüler endoplazmik retikülüm sisternalarına geçtiği, buradan da Golgi kompleksine geçerek glikozillendiği ve sonunda hücre yüzeyine taşındığı bilinmektedir (74).

Yüksek düzeydeki MUC-1 hücreler arasında adezyonu inhibe etme yeteneğine sahiptir. Bu özelliği, uzun ve geniş ekstrasellüler bölümünden kaynaklanır. Adezyon sağlayan moleküllerin aksine, anti-adeziv etkili olan MUC-1'in implantasyon sürecinde, apozisyon fazında rol oynadığı düşünülmektedir. MUC-1, implantasyon için doğru yer ve zaman buluncaya kadar embriyonun implantasyonuna izin vermemektedir. MUC-1 ekspresyonu yapan hücrelerdeki

adezyon ve anti-adezyon güçleri arasındaki hassas dengenin, integrinin güçlendirilmesi ile adezyon yönünde, MUC-1 seviyesindeki artışı da anti-adezyon yönünde değişebileceği rapor edilmiştir (46).

2.5.1. Endometriyumda MUC-1 Ekspresyonu

Endometriyal yüzeyin implantasyona hazırlandığı dönemde, blastokist ilk olarak yüzey epitelinin apikali ile ilişkili olan glikokaliks ile karşılaşır. Bu sebeple, implantasyonun düzenlenmesinde glikokaliks önemli bir rol üstlenmektedir. Embriyo-endometriyum etkileşimlerini anlayabilmek için, glikokaliksi meydana getiren karakteristik yapıların kesin olarak bilinmesi ve döngü süresince meydana gelen değişikliklerin anlaşılması önemlidir (75). Musinler hücre yüzeyinde glikokaliks içerisinde bulunarak; hücre membranı ile dış çevre arasında mikroorganizmalara, toksinlere ve proteolitik saldırılara karşı koruyucu bir bariyer gibi davranırlar (76). Yüksek O-glikozillenmiş ve hidratlı bölümler disülfid bağları arasına uzanır ve genişlemiş yapılar oluşturur (76, 77). Bu sebeple musinler kayganlaştırıcı madde olarak hizmet ederler ve alt kısımda yerleşen epitel hücrelerini korurlar (78).

MUC-1 menstrüel siklus boyunca endometriyal epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde bulunur, ancak peri-implantasyon periyodunda ekspresyonu en yüksek seviyeye çıkar. (79). MUC-1 hem proliferatif hem de sekretuvar fazlarda yüzey ve bezleri döşeyen epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde eksprese olmaktadır. Sekretuvar fazda bez epitelinde, hem hücre yüzeyinde hem de salgılarda artmış seviyelerde bulunmaktadır. Normal fertil kadınlarda uterus yıkamalarında, 7.günden sonra LH'ın en üst seviyeye çıktığı dönemde, MUC-1 konsantrasyonunun dikkat çekici bir şekilde arttığı rapor edilmiştir (75). Yüksek konsantrasyonlar LH+13. güne kadar devam etmektedir. Endometriyal bezlerden salgılanan MUC-1 ya diffüze olmakta ya da silyum hareketiyle bezlerden uterus lümenine taşınmaktadır. Peri-implantasyon dönemindeki doku çalışmalarında, reseptivite fazının hem başında hem de sonunda, tüm endometriyumda epitel hücrelerinde güçlü apikal MUC-1 reaktivitesi olduğu

görülmektedir. (73). MUC-1 embriyonun endometriyuma tutunmadan önce karşılaştığı ilk moleküldür. MUC-1 implante olacak embriyo ile maternal endometriyal adezyon molekülleri arasında etkileşimi engelleyerek, implantasyon için bir bariyer oluşturur. Yapılan çalışmalarda, MUC-1'in, başarılı bir implantasyonun olduğu bölgede bulunmadığı ve implantasyon sırasında embriyodan salınan parakrin sinyaller yolu ile ortamdan uzaklaştırıldığı ileri sürülmektedir (79). İmplantasyon dışındaki alanlarda ise varlığını sürdürmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı ÜYTEM ‘e başvuran ve açıklanamayan infertilite nedeni ile çocuk sahibi olamayan 18 hasta çalışma grubu olarak değerlendirilirken, infertilite problemi olmayan, miyom veya başka bir jinekolojik problem ile Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına başvuran 18 fertil kadından alınan endometriyum biyopsileri ise kontrol grubu olarak değerlendirildi. Endometriyal biyopsiler alınmadan önce bireyler çalışmanın amacı ile ilgili bilgilendirildi ve yazılı onayları alındı. Çalışma Ç.Ü.T.F. Balcalı Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul onayı (Karar No: 13/6) doğrultusunda yürütüldü. Kontrol grubuna; 25-40 yaşları arasında (yaş ortalaması 35,17±4,2), menstrüel siklusu 27-32 gün süren, hormonal değerleri normal, over ve endometriyuma ait USG bulguları normal, son 6 aydır oral kontraseptif ve rahim içi araç kullanmayan, en az bir spontan gebelik geçirmiş, miyom veya çeşitli jinekolojik şikayetler nedeni ile hastaneye başvuran kadınlar dahil edildi. Çalışma grubundaki kadınlar ise düzenli menstrüel siklusa ve ovulasyon kriterlerine, normal tiroid fonksiyonlarına, normal LH, FSH, Östradiol, Progesteron ve Prolaktin düzeylerine sahip olup, normal, düzenli cinsel yaşama rağmen hiç çocuk sahibi olamayan ve açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlardan seçildi. Bu kadınların yaş ortalaması ise 32,2±4,1 olarak saptandı. İnfertil kadınların eşlerinde de ejekülatuvar problemin olmaması, semen analizinin normal, sperm motilitesinin en az % 40, total motil sperm sayısının 15 milyonun üzerinde olması, spermatozoonların % 4’ünün normal morfolojiye sahip olması ve seminal enfeksiyonun olmaması dikkate alındı. Her iki gruptaki kadınlarda, siklusun 11-14. günlerinde USG ile folikül takibi yapılarak ovulasyon zamanı belirlendi ve ovulasyondan 5, 6 ve 7 gün sonra endometriyum biyopsileri alındı. Çalışma ve kontrol gruplarında ovulasyondan sonra 5. Gün (n=6), 6. Gün (n=6), 7.gün (n=6) olmak üzere toplam 36 kadın değerlendirme kapsamına alındı. Tüm endometriyal doku biyopsileri pipel yardımıyla alınarak ışık ve elektron

mikroskobik inceleme için hazırlandı. Ayrıca tüm kadınlardan menstrüel siklusun 2. veya 3. günü ile endometriyum biyopsilerinin alındığı sırada biyokimyasal analizler için periferik kan örnekleri de alındı.

3.2. Biyokimyasal Yöntemler

Menstrüel siklusun 2-3. günlerde ve ovulasyondan sonra 5,6 ve 7. günlerde fertil ve infertil kadınlardan alınan, 5 ml kan örnekleri EDTA'lı ve jelli tüplere alındı. Alınan tüm kan örnekleri Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı Biyokimya bölümünde, 3000 devirde santrifüj edilerek, serumları elde edildi. Chemiluminesens yöntemi kullanılarak, Beckman Coulter DXI800 (USA, California) otomatik cihaz ile kan örneklerinde FSH, LH, TSH, Östrojen, Progesteron, Prolaktin ve total testosteron (Beckman Coulter kit, USA) seviyeleri ölçüldü.

3.3. Işık Mikroskobik Doku Hazırlama Yöntemi

Elde edilen endometriyum biyopsilerinin bir bölümü ışık mikroskobik inceleme için, %10'luk nötral formalin içerisine alınarak oda ısısında 48-72 saat süreyle tespit edildi. Daha sona formalinin uzaklaştırılması amacıyla dokular su ile yıkanarak, Leica TP1020 (Almanya) otomatik doku takip cihazı ile rutin doku takipleri yapıldı. Doku takip cihazından alınan dokular, sıvı parafine gömülerek parafin blokları elde edildi. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler, Hematoksilen-Eozin (80) ve MUC-1 için immünohistokimyasal yöntemler ile boyandı ve Olimpus BX51 (Japonya) ışık mikroskobunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

3.4. İmmünohistokimyasal Yöntem

MUC-1 aktivitesinin belirlenmesi amacı ile 5 µm kalınlığında alınan kesitler, polilizin kaplı lamlar üzerine alındı. Fönle kurutularak lam üzerine yapışması sağlanan doku kesitleri 60°C'de etüvde, ksilol içerisinde 15 dakika bekletilerek deparafinize edildi. Daha sonra kesitler oda ısısında ksilol içerisine alındı ve derecesi giderek azalan alkol serisinden geçirilerek hidrate edildi ve distile su içerisine alındı. Tüm dokuların immünohistokimyasal işlemleri, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında bulunan immünohistokimya boyama cihazı (Ventana, Benchmark XT, USA) ile gerçekleştirildi. MUC-1 antijenin açığa çıkarılmasını sağlayan ön işlemden sonra, kesitler cihaz içerisine alınarak, ilk basamakta nonspesifik boyanmaları önlemek ve zemin boyamasını kolaylaştırmak için, hidrojen peroksit ile muamele edildi. MUC-1 için fareden elde edilen primer antikor (Cell Marque MRQ-17, USA), 1/100 dilüsyonda uygulandı. Bundan sonra ise primer antikorları tespit eden indirekt biyotin, streptavidin ve AEC kromojeni, sisteminden oluşan, basic AEC deteksiyon kiti (Basic AEC detection, USA) ile antikor görünür hale getirilerek boyanması sağlandı. Daha sonra boyama cihazından çıkartılan dokular, su bazlı kapama maddesi damlatılarak (Scytek, AML030) lamel ile kapatıldı. Pozitif kontrol olarak normal endometriyum dokusu kullanıldı ve endometriyum epitelinde apikal yüzey, apikal ve bazal sitoplazma boyanması 1+ düşük, 2+ orta ve 3+ yüksek boyanma olarak kabul edildi. Doku kesitleri Olimpus BX51 (Japonya) ışık mikroskobu ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

3.5. Elektron mikroskobik doku hazırlama yöntemi

Alınan endometriyal biyopsilerin bir bölümü elektron mikroskobik inceleme için fosfat tamponu (pH: 7,4) ile hazırlanmış %5'lik gluteraldehit içerisine alındı. 1 saat glutaraldehit içerisinde 4°C de bekletilen dokular dişçi mumu ile kaplı petri kabı içerisinde, jilet yardımı ile $1mm^3$ büyüklükte parçalara ayrılıp, 3 saat daha %5'lik glutaraldehit içerisinde tespit edildi. Toplam 4 saat

süreyle tespit edildikten sonra buffer solüsyonunda 10 dakika bekletildi ve sonra tekrar fosfat tamponuna alınarak 1 gece bekletildi. Ertesi gün %1'lik osmium tetraoksit solüsyonu ile 2 saat daha tespit edilen dokular, fosfat tamponunda iki kez 10'ar dakika yıkandı. Daha sonra, konsantrasyonu giderek artan etil alkol serilerinden geçirilerek aşağıdaki gibi dehidrate edildi.

	Süre (dakika)	sıcaklık (°C)
· %50'lik Etil Alkol	15	+4
· %70'lik Etil Alkol	15	+4
· %86'lık Etil Alkol	15	+4
· %96'lık Etil Alkol	15	+4
· %100'lük Etil Alkol	15	+4
· %100'lük Etil Alkol	15	+4
· %100'lük Etil Alkol	15	Oda ısısı
· Propilen Oksit	15	Oda ısısı
· Propilen Oksit	15	Oda ısısı

Dehidratasyon işlemi tamamlanan doku parçaları 1 hacim propilen oksit ve 1 hacim rezin'den (gömme materyali) oluşan karışım içerisinde 2 defa 30'ar dakika bekletilerek, immerse edildi. Dokular taze hazırlanmış rezin içerisine alınarak 1 gece boyunca döndürücüde bırakıldı. Ertesi gün taze gömme materyali hazırlandı.

Gömme materyalinin hazırlanışı

· Araldehit (CY212)	20 ml
· Sertleştirici (DDSA)	20 ml
· Hızlandırıcı (HDMA)	0.6 ml
· Plastikleştirici (Dibutil fitalat)	1 ml

Dokular 00 polietilen kapsüllere yerleştirilerek üzerlerine taze hazırlanmış rezin döküldü ve 60^0C'lık etüvde 48 saat süreyle polimerize edildi. Bloklar etüvden çıkarılıp soğumaya bırakıldı. Bloklardan Riechert Ultracut S ultramikrotomuyla 1µm kalınlığında yarı ince kesitler alınarak, toluidin mavisi ile boyandı ve ince kesit alınacak alanlar belirlendi. Daha sonra belirlenen alanlardan, 50 nm kalınlığında ince kesitler elde edildi. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere alınarak %70'lik etil alkolde doymuş uranil asetat ve

Reynolds'un kurşun sitrat solüsyonları ile boyandı. Jeol JEM 1400 (Japon) transmisyon elektron mikroskobu ile incelenen dokuların mikrografları elde edildi.

3.6 İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 20.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümler ise ortalama ve standart sapma olarak özetlendi. Ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare/Pearson test istatistiği kullanıldı. Sayısal ölçümlerin gruplar arasında normal dağılım sağlayıp sağlamadığı Kruskal Wallis testi ile test edildi. Gruplar arasında sayısal ölçümlerin karşılaştırılmasında varsayımların sağlanmaması durumunda Mann Whitney U testi kullanıldı. Tüm testlerde istatiksel anlamlılık düzeyi $p< 0.05$ olarak alındı.

4.BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Fertil ve infertil gruplardaki kadınlardan; menstrüel siklusun ikinci gününde alınan kan örneklerinde bazal FSH, LH, TSH ve E2 serum düzeyleri ölçülerek grupların verileri karşılaştırıldı. Ayrıca ovulasyondan sonra 5, 6, 7. günlerde alınan kan örneklerinde ise FSH, LH, TSH, E2 ile birlikte Progesteron, Testosteron ve Prolaktin kan serum düzeyleri de ölçülerek gruplar arasında farklılık olup olmadığı araştırıldı.

Bazal FSH, fertil kontrol grubunda 8,7±2, infertil grupta 7,2±2,6, bazal LH, fertil grupta 7,7±1,8, infertil grupta 5,8±2,4, bazal TSH fertil grupta 3,5±0,9, infertil grupta 1,9±1,3, bazal E2 seviyesi ise fertil kontrol grubunda 70,2±15,5, infertil grupta 53±22,1 olduğu görüldü. Bazal FSH, LH, TSH ve E2 seviyeleri iki grup arasında istatiksel yöntemlerle karşılaştırıldığında, infertil grupta kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptandı (sırası ile p= 0,002, p=0,010, p=0,0001 ve p=0,008) (Tablo 1).

Tablo 1. Gruplara göre bazal FSH, LH, TSH ve E2 dağılımları

	BAZAL FSH (mIU/ml)	**BAZAL LH (mIU/ml)**	**TSH (mIU/ml)**	**BAZAL E2 (pg/ml)**
	Mean±SD Median (Min- max)			
FERTİL KONTROL (n=18)	8,7±2 8,4(5,9-12,8)	7,7±1,8 7(4,9-12,2)	3,5±0,9 3,4(2-5)	70,2±15,5 71(40-94)
İNFERTİL HASTA (n=18)	7,2±2,6 6,7(3,3-12,8)	5,8±2,4 6(1,4-11)	1,9±1,3 1,5(0,04-5,2)	53±22,1 47(23-97)
P*	0,022 *	0,010*	0,0001*	0,008*

**Mann-Whitney U Test*

Bazal FSH, LH, TSH ve E2 seviyeleri fertil ve infertil gruplarda ovulasyondan sonra 5, 6 ve 7. günlerdeki gruplarda değerlendirildiğinde; bazal FSH ve LH' ın gruplar arasında 5. ve 6. günlerde farklılık göstermediği, 7. günde ise infertil grupta düşük olduğu, bazal TSH düzeyinin 5. günde her iki grupta farklılık göstermediği ancak infertil grupta 6 ve 7 günlerde azaldığı, bazal E2 düzeyinin ise infertil grupta 7. günde belirgin bir şekilde azaldığı dikkati çekti (Tablo 2).

Tablo 2. Günlere göre gruplar arasında bazal FSH, LH, TSH ve E2 dağılımları

		BAZAL FSH (mlU/ml)	**BAZAL LH (mlU/ml)**	**TSH (mlU/ml)**	**BAZAL E2 (pg/ml)**
		Mean± SD Median (Min- Max)			
FERTİL KONTROL (n=18)	**5.GÜN (n=6)**	7,8±1,1 7,6(7-9,3)	6,9±1 6,9(5,8-8,5)	3,9±1 3,9(2,5-5)	62,5±14,8 57(48-90)
	6.GÜN (n=6)	8,2±2,4 7,7(6-13)	7,9±2,6 8(4,9-12,2)	3,2±1 3,1(2-4,7)	69,2±18,5 72,5(40-94)
	7.GÜN (n=6)	10,1±1,9 9,6(7,8-12,8)	8,2±1,5 8,3(5,8-9,9)	3,3±0,6 3,1(2,7-4,3)	79±9,3 80(65-92)
P*		,058	,414	,412	,127
İNFERTİL HASTA (n=18)	**5.GÜN (n=6)**	7,7±1,4 7,2(6,6-10,2)	6,8±1,7 7,1(4,4-9)	2,1±1,9 1,6(0,4-5,3)	58,5±25 57(28-94)
	6.GÜN (n=6)	7±3,1 6,1(4-12,8)	4,9±2,3 5,1(1,4-8)	1,9±0,9 1,5(1,3-3,4)#	56,2±23,4 50,5(34-97)
	7.GÜN (n=6)	7±3,1 6,3(3,3-13) #	5,7±3 5(2-11)#	1,7±1,1 1,5(0,4-3,6)#	43,2±18,2 39,5(23-71)#
P*		,476	,414	,994	,495

**p Kruskal Wallis test, günler içinde gruplar arasındaki fark,* # p <0,05

İnfertil ve fertil gruplarda, ovulasyondan sonra 5, 6 ve 7. günlerinde alınan kan örneklerinde, serum FSH, LH ve TSH seviyeleri hem total olarak, hem de ovulasyondan sonra 5, 6 ve 7. günlerde, karşılaştırıldığında; infertil grup ile kontrol grubu verileri arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı (Tablo 3 ve 4).

Tablo 3. Gruplara göre biyopsi esnasında FSH, LH, TSH dağılımları

	FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	TSH (mIU/ml)
	Mean±SD Median (Min- max)		
FERTİL KONTROL (n=18)	5,2±1,7 5(3-9)	8,7±5,3 7(2,2-18)	1,9±0,8 1,8(0,6-3,9)
İNFERTİL HASTA (n=18)	4,7±1,9 4(2-10)	6,2±0,9 4,4(0,9-14)	1,8±0,9 1,8(0,4-4,3)
p*	0,209	0,121	0,669

**Mann-Whitney U Test*

Tablo 4. Günlere göre gruplar arasında FSH, LH, TSH dağılımları

		FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	TSH (mIU/ml)
		Mean± SD Median (Min- Max)		
FERTİL KONTROL (n=18)	**5.GÜN (n=6)**	5,7±2,3 5,0(3-9)	10,9±5,8 11,6(2,6-18)	2,2±0,7 2,3(1-3)
	6.GÜN (n=6)	5,3±1,2 5,5(4-7)	7,4±4,1 5,4(4,2-13)	1,7±1,2 1,4(0,6-4)
	7.GÜN (n=6)	5,0±2,0 5,0(3-7)	8,0±6,0 6,1(2,2-18)	1,8±0,6 2,0(1-2,4)
P*		,825	,423	,317
İNFERTİL HASTA (n=18)	**5.GÜN (n=6)**	4,0±0,6 4,0(3-5)	6,2±4 4,3(3-13,1)	1,6±0,8 1,8(0,4-2,3)
	6.GÜN (n=6)	6,3±2,3 6,5(3-10)	8,2±5,7 9,8(0,9-14)	2,2±1,3 1,9(0,7-4,3)
	7.GÜN (n=6)	3,7±1,4 3,5(2-6)	4,1±0,7 4,3(2,7-4,6)	1,7±0,6 1,8(1,1-2,6)
P		,053	,688	,700

Progesteron, östrojen, total testosteron kan serum seviyeleri de, infertil grup ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark göstermezken, prolaktin düzeyinin infertil grupta fertil gruba oranla oldukça yüksek seviyede olduğu (p=0,001) ve bu artışın 7. günde çok daha belirgin olduğu görüldü (p=0,030). Östrojenin ise fertil ve infertil gruplar arasında farklılık göstermediği, ancak 7. günde infertil grupta daha düşük seviyede olduğu saptandı.(p=0.027) (Tablo 5 ve 6).

Tablo 5. Gruplara göre biyopsi esnasında Progesteron, Östrojen, Prolaktin, Total testosteron hormon dağılımları

	PROGESTERON (ng/ml)	**E2 (pg/ml)**	**PROLAKTIN (ng/ml)**	**TOTAL TESTOSTERON (ng/ml)**
	Mean±SD Median (Min-max)			
FERTİL KONTROL (n=18)	8,5±6,0 8,7(1,4-23,9)	106.6±46.8 91(62-230.0)	10,6±5 9,6(6,3-26,1)	0,5±0,2 0,5(0,2-0,9)
İNFERTİL HASTA (n=18)	8,1±4,3 8,2(0,7-16,9)	96,3±35,1 94.5(44-158)	18,1±7,4 19(4,5-29)	0,5±0,3 0,5(0,2-1,2)
p	0,938	0,767	0,001*	0,767

**Mann-Whitney U Test*

Tablo 6. Günlere göre gruplar arasında Progesteron, E2, Prolaktin ve Total testosteron dağılımları

		Gün Ortalama±SD Medyan (Min-Max)			
		5.GÜN (n=6)	**6.GÜN (n=6)**	**7.GÜN (n=6)**	P**
PROGESTERON (ng/ml)	**FERTİL KONTROL**	8.9±6.3 8.3(1,4-23.9)	9,0±4,7 8,9(2,5-16,6)	5,2±3,8 3,5(2-11,1)	0,630
	İNFERTİL HASTA	7,5±3 7,6(3-12,1)	8.3±4,9 4.9(1.3-16,9)	7,6±4,6 8,5(2,0-15,3)	0,854
	P**	0,423	0,631	0,262	
E2 (pg/ml)	**FERTİL KONTROL**	129.8±73,0 129.0(71-230)	78,0±8,7 75,0(68-89)	103,0±53,0 83,0(62-202)	**0,027***
	İNFERTİL HASTA	121,0±37 33,0(71-158)	86,1±26,1 84,5(50-125)	81,9±32 85,5(44-115)	0,126
	P*	0,936	0,470	0,522	
PROLAKTIN (ng/ml)	**FERTİL KONTROL**	10,3±5,1 9,4(6,3-20,1)	9,0±1,6 9,0(7-11)	12,6±7,0 10,0(7,2-26,1)	0,532
	İNFERTİL HASTA	18,2±6,7 7,4(10-29)	12,3±5,7 10,8(4,5-19,2)	23,7±6,0 24,0(13,5-29)	**0,030***
	P*	**0,055***	0,150	**0,037***	
TOTAL TESTOSTERON (ng/ml)	**FERTİL KONTROL**	0,6±0,2 0,7(0,2-0,8)	0,5±0,2 0,5(0,3-0,9)	0,4±0,1 0,4(0,2-0,5)	0,113
	İNFERTİL HASTA	0,6±0,4 0,5(0,2-1,2)	0,6±0,2 0,6(0,3-(0,8)	0,5±0,2 0,4(0,2-0,8)	0,653
	P*	0,423	0,748	0,631	

Kruskal Wallis test, günler içinde gruplar arasındaki fark, # p <0,05
P* Her bir gün için çalışma gruplarının birbirleri ile karşılaştırılması
P** Her bir grubun kendi içinde günler bazında karşılaştırılması

4.2. Işık Mikroskobik Bulgular

Kontrol ve infertil gruplara ait kadınlardan ovulasyon sonrası 5., 6. ve 7. günlerde elde edilen endometriyal biyopsi örneklerinin ışık mikroskobik incelenmesinde, endometriyumun yüzey epiteli, endometriyal bezler ve stroma inceleme kapsamına alındı.

Ovulasyondan sonra 5. gün

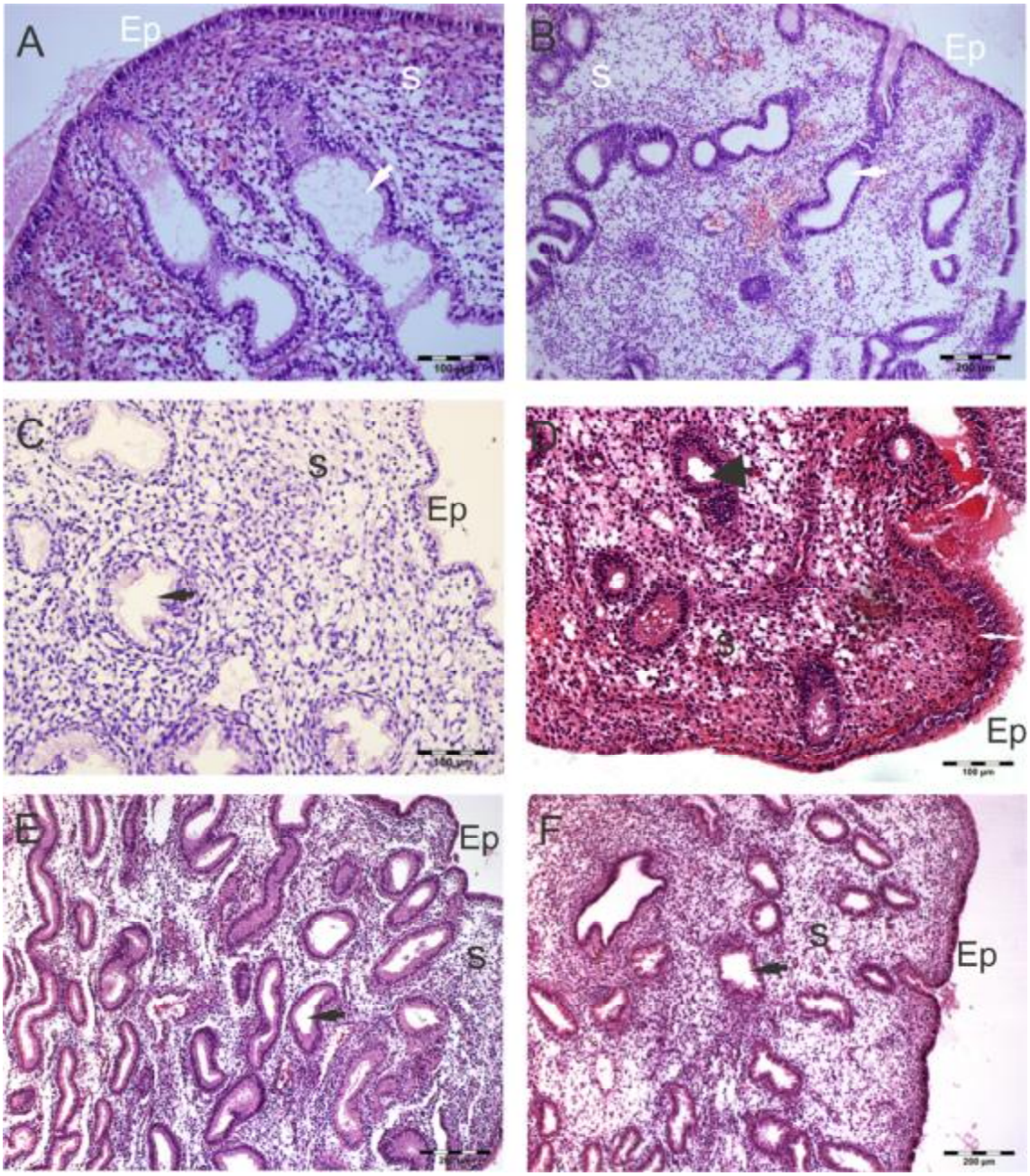
Kontrol ve infertil gruplarında endometriyumu döşeyen yüzey epitelinin; ince, uzun bazofilik boyanmış çekirdeklere sahip, basit prizmatik hücrelerden oluştuğu görüldü. Endometriyal stromada yer alan bezlerin ise hafif kıvrıntılı olduğu ve basit prizmatik epitel ile döşeli olduğu görüldü. Bezlerin arasında yer alan endometriyal stromanın ise yer yer ödematöz alanlar içerdiği görüldü (Şekil 1A,1B).

Ovulasyondan sonra 6. gün

Kontrol grubunda endometriyal yüzey epiteli basit prizmatik tipte görülürken, infertil grupta yüzey epitelinin yer yer psödostratifiye ve çok katlı epitel alanları içerdiği gözlendi. Endometriyal bezlerin ise fertil grupta daha sık ve kıvrıntılı olduğu görülürken, infertil grupta daha seyrek ve düzgün tübüler yapıda olduğu görüldü. Endometriyal stromanın da infertil kadınlarda hücresel açıdan daha yoğun ve kompakt halde olduğu dikkati çekti (Şekil 1C,1D).

Ovulasyondan sonra 7. gün

Fertil gruptaki basit prizmatik tipteki endometriyum epitelinin infertil grupta yer yer psödostratifiye ve çok katlı epitel yamaları içerdiği izlendi. Endometriyal bezlerin de bu grupta da fertil gruptakilere oranla daha seyrek ve daha az kıvrıntılı olduğu, epitel hücrelerinin bazal sitoplazmalarında yaygın vakuollerin olduğu izlendi. Endometriyal stromada stromal hücreler ile makrofaj ve lenfositlerin de her iki grupta da normal olarak izlendi (Şekil 1E,1F).



Şekil 1: Kontrol Endometriyumu 5.(A), 6. (C), 7. (E) günlerde, infertil endometriyumu 5.(B), 6.(D),7.(F) günlerde ışık mikroskobik görünümü. Kontrol grubuna ait 5. (A), 6. (C), 7. (E) günlerde endometriyumun basit prizmatik yüzey epiteli (Ep), kıvrıntılı endometriyal bezler (ok) ve stroma (S) normal olarak gözlenirken, infertil grupta 5.(B), 6.(D),7.(F) günlerde endometriyumu döşeyen basit prizmatik epitelin bazı alanlarda çok katlı hal aldığı (çift yönlü ok), bezlerin hafif kıvrıntılı veya düz tübüler yapıda olduğu (ok), stromanın (S) normal olarak izlendiği görülmektedir. (H.E). (Bar: A,C,D=100µm; B,E,F= 200µm).

4.2.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

Ovulasyondan sonra 5. gün

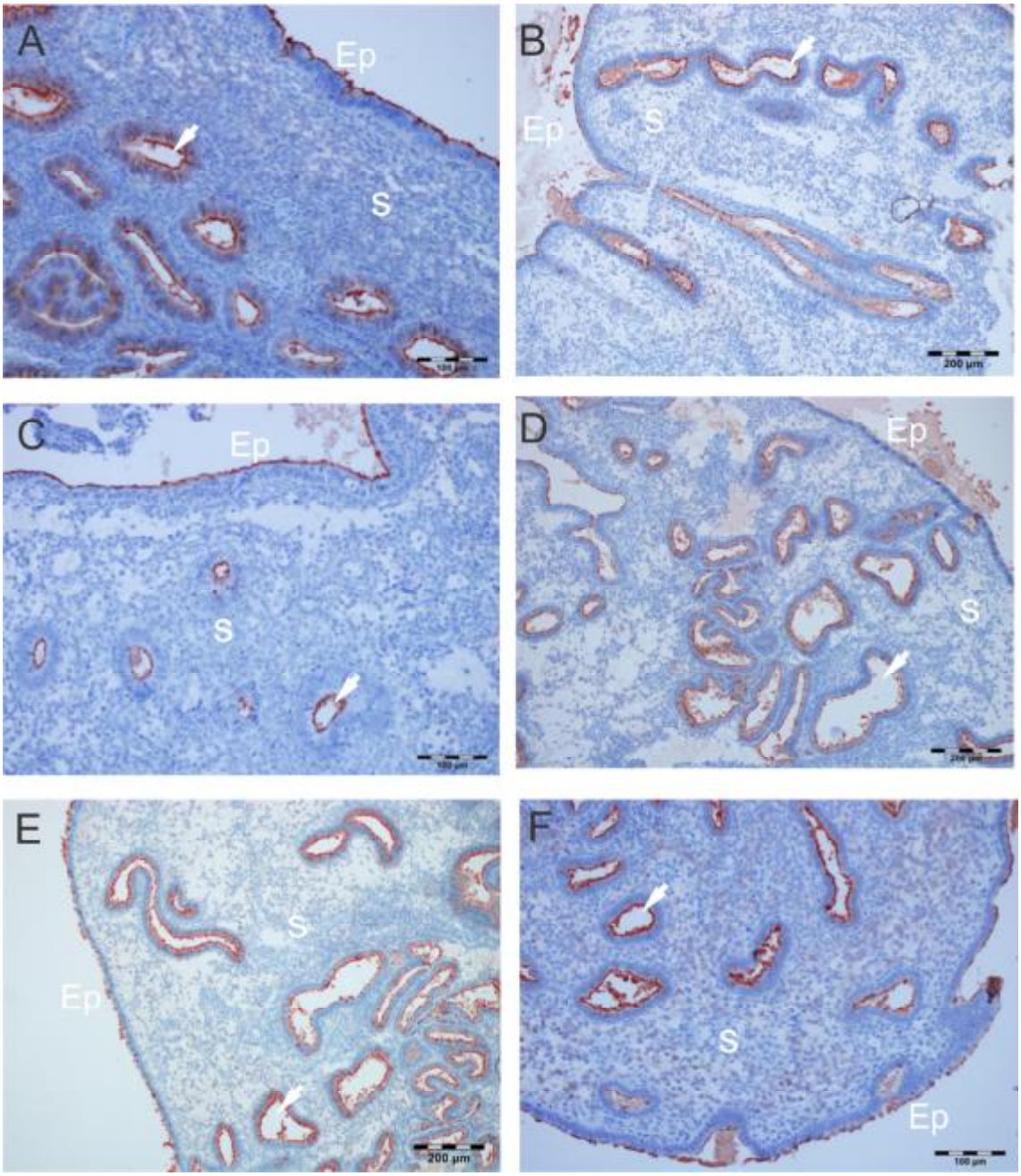
Kontrol grubundaki endometriyum doku örneklerinde, MUC-1'in endometriyal yüzeyi döşeyen epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde kuvvetli seviyede ifade edildiği görülürken, bazı örneklerde ise zayıf boyandığı görüldü. Endometriyal bezlerin epitel hücrelerinde ise MUC-1 ifadesinin yüzey epitel hücrelerindekine oranla daha kuvvetli olduğu, hücre apikal yüzeylerindeki güçlü boyanmanın yanında apikal sitoplazmada ve daha zayıf olarak da bazal sitoplazmada MUC-1 ifadesinin varlığı dikkati çekti (Şekil 2A). İnfertil grupta, ovulasyondan sonra 5. günde elde edilen endometriyal doku örneklerinde endometriyal yüzeyi döşeyen epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde bazı örneklerde zayıf, bazılarında orta, bazılarında ise kuvvetli MUC-1 immünreaktivitesi gözlenirken, endometriyal bezleri döşeyen epitel hücrelerinin bazal ve apikal sitoplazmasında zayıf, apikal yüzeylerinde ise daha güçlü MUC-1 boyanması saptandı (Şekil 2B).

Ovulasyondan sonra 6. gün

Ovulasyondan sonra 6. günde kontrol grubunda yüzey epiteli ve bez epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde orta derecede MUC-1 immünoreaktivitesi gözlenirken (Şekil 2C), infertil grupta ise yüzey epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde zayıf derecede MUC-1 immünreaktivitesi, bez epitel hücrelerinin bazal ve apikal sitoplazmasında zayıf, apikal yüzeyinde ise orta düzeyde MUC-1 immünreaktivitesi saptandı (Şekil 2D).

Ovulasyondan sonra 7. gün

Ovulasyondan sonra 7. günde kontrol grubundaki endometriyum örneklerinde, yüzey epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde MUC-1 boyanmasının orta düzeyde, bez epitelinde ise hücrelerin apikal sitoplazmasında ve apikal yüzeyinde ortadan kuvvetliye değişen derecelerde MUC-1 immünreaktivitesi olduğu görülürken, bazal sitoplazmada diğer gruplardaki gibi zayıf boyanma görüldü (Şekil 2E).



Şekil 2: Kontrol endometriyumu 5. (A),6. (C), 7. (E) günlerde, infertil endometriyumu 5. (B), 6. (D), 7. (F) günlerde MUC-1 immünohistokimyasal görünümü. Kontrol grubunda 5. (A),6. (C), 7. (E) günlerde ve infertil kadınlarda 5. (B), 6. (D), 7. (F) günlerde endometriyumun yüzey ve bez epitelinde MUC-1 ifadesi görülmekte. Yüzey epiteli (Ep), bez epiteli (ok), endometriyal stroma (S). (Bar: A,C,F=100 µm; B,D,E=200 µm).

İnfertil gruba ait endometriyum örneklerinde ise yüzey epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde orta derecede MUC-1 immünreaktivitesi görülürken, bez epitel hücrelerinde ise bazal ve apikal sitoplazmada zayıf apikal yüzeyde ise ortadan güçlüye değişen düzeylerde immünreaktivite izlendi (Şekil 2F). Tüm gruplarda stromal hücrelerde MUC-1 boyanması gözlenmedi.

Kontrol ve infertil gruplar arasında yüzey epiteli ve bez epitelindeki MUC-1 immünreaktivitesi istatiksel olarak değerlendirildiğinde, gruplar arasında boyanma yüzdeleri açısından anlamlı bir fark görülmedi (Tablo 7).

Tablo 7. Ovulasyondan sonra 5, 6 ve 7. günlerde, infertil ve fertil gruplarının endometriyum yüzey ve bez eptelinin MUC-1 immünreaktivitesi açısından boyanma yüzdeleri

		Gruplar n (%)		
		FERTİL KONTROL (n=18)	**İNFERTİL HASTA (n=18)**	P
YÜZEY EPİTELİ	Düşük (1)	6 (33.3)	7 (38.9)	0.778
	Orta (2)	5 (27.8)	6 (33.3)	
	Yüksek (3)	7 (38.9)	5 (27.8)	
BEZ EPİTELİ	Düşük (1)	4(22,2)	3(16,7)	0.605
	Orta (2)	7(38,9)	5(27,8)	
	Yüksek (3)	7(38,9)	10(55,6)	

4.2.2. Elektron Mikroskobik Bulgular

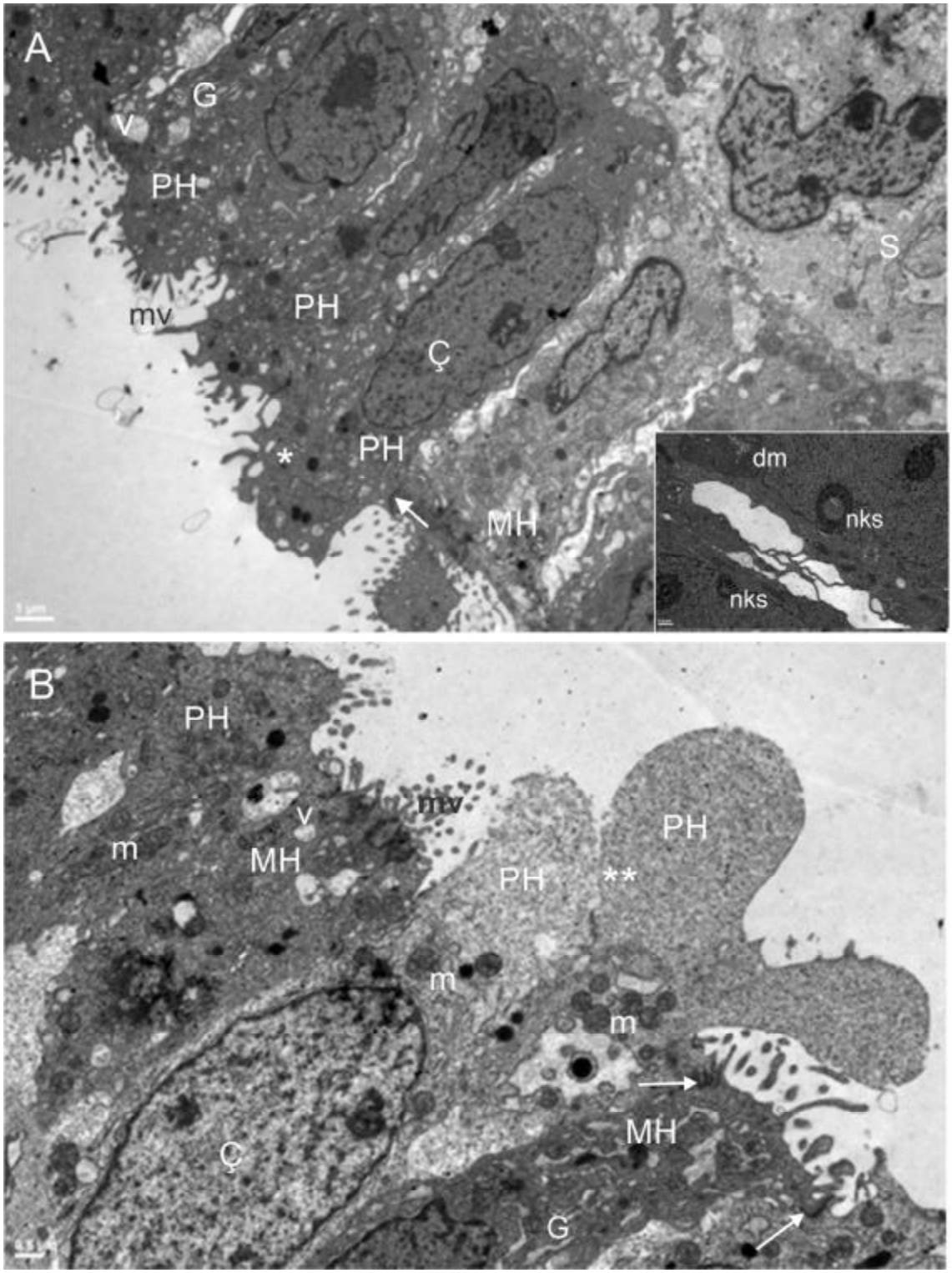
Ovulasyondan sonra 5. , 6. ve 7. günlerdeki fertil ve infertil kadınlardan elde edilen endometriyum örneklerinde, yüzey epitel hücreleri, bezleri döşeyen epitel hücreleri ve stroma kapsamındaki hücre ve hücrelerarası maddenin ultrastrüktürel özellikleri her iki grupta karşılaştırılarak değerlendirildi.

Ovulasyondan sonra 5. gün

Ovulasyondan sonra 5. günde fertil kadınların endometriyumunu döşeyen yüzey epitelinin ince, uzun silyalı, pinopodlu, vakuollü ve mikrovillüslü prizmatik şekilli hücrelerden oluştuğu görüldü (Şekil 3A). Endometriyal epitelin çoğunlukla, apikal sitoplazmaları lümene doğru uzanarak pinopod yapılarını

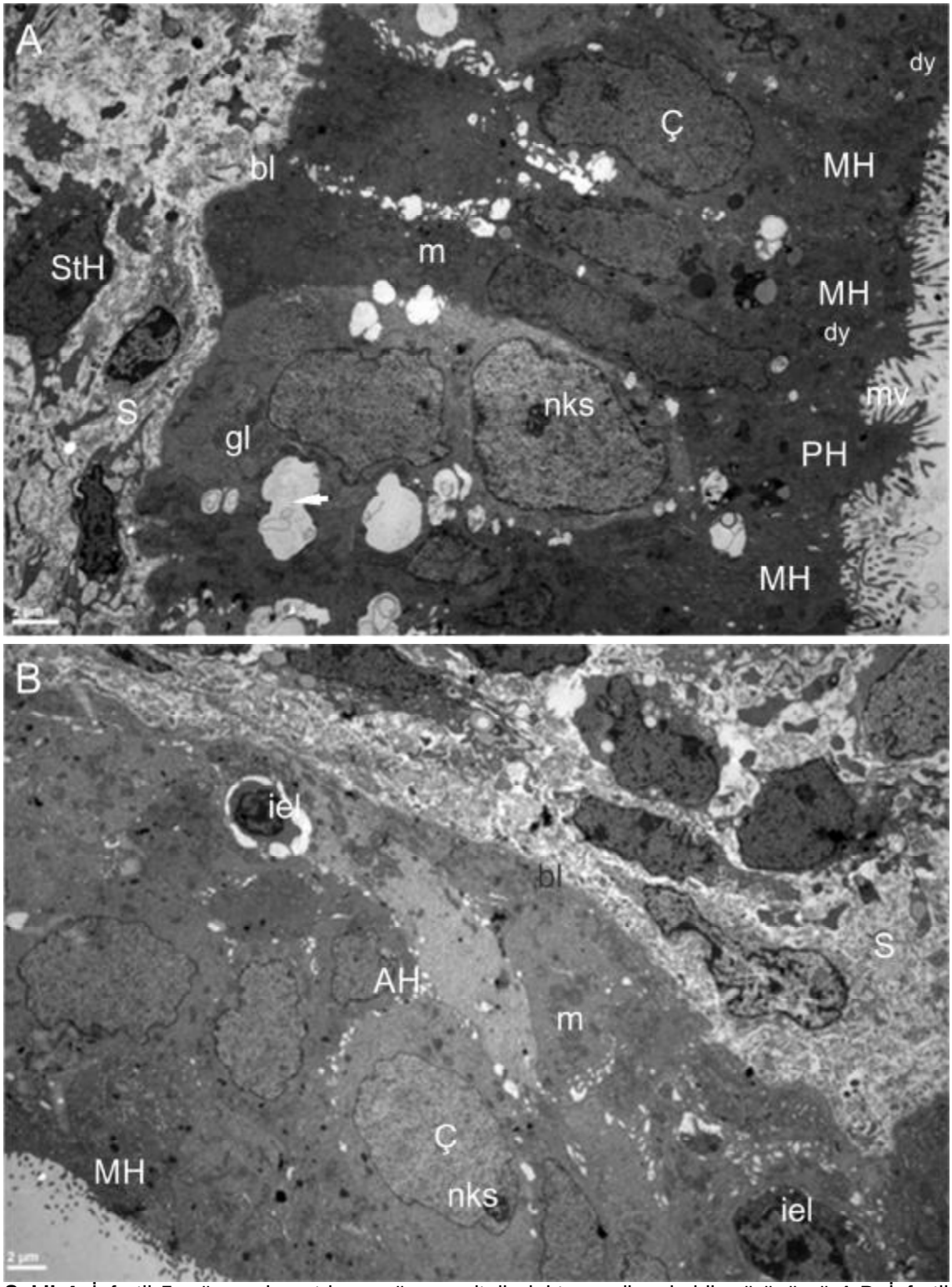
oluşturan hücrelerden oluştuğu, bu hücrelerin arasında seyrek olarak apikal yüzeyi düzgün mikrovillüslü hücrelerin ve daha ender olarak da apikal yüzeylerinde hem mikrovillüs hem de silyum içeren hücrelerin olduğu görülmekteydi (Şekil 3A,B). Düzgün yüzeyli mikrovillüslü hücrelerin sitoplazmalarında, bazal yerleşimli ökromatik görünümlü çekirdeklerinde iyi gelişmiş nükleolar kanal sistemine sahip oldukları görüldü (Şekil 3A inset). Ayrıca sitoplazmalarında yaygın, genişlemiş endoplazmik retikülüm sisternaları, membranla çevrili veziküller, mitokondriyonlar, granüler endoplazmik retikülüm sisternaları ve iyi gelişmiş Golgi kompleksi izlenmekteydi (Şekil 3B). Düzgün yüzeyli mikrovillüslü hücrelerde ender olarak, bazı alanlarda granüler endoplazmik retikülüm sisternaları ile yakın ilişkili, dansitesi artmış matrikse sahip, dev mitokondriyonların varlığı dikkat çekiciydi (Şekil 3A inset). Bazı hücrelerin lümene bakan yüzeylerinde mikrovillüslerin daha seyrek olduğu ve apikal yüzeylerinde, pinopod olarak adlandırılan, geniş kubbe şeklinde sitoplazmik uzantıların oluştuğu görüldü (Şekil 3A), bazı hücrelerde ise bu sitoplazmik uzantıların hiç mikrovillüs içermediği (Şekil 3B) dikkati çekti. Mikrovillüs içermeyen bu sitoplazmik uzantıların, bezlerin lümeninde serbest halde bulunan sitoplazmik oluşumlar ile benzerlik gösterdiği ve organel içermediği gözlendi (Şekil 3B). Bazı alanlarda mikrovillüslü hücrelerin sitoplazmasının oldukça elektron dens görünümde olup, apikal sitoplazmalarında lizozom miktarında artış gözlenirken bazı hücrelerde ise sitoplazmik dansitenin normal olarak izlendiği dikkati çekti (Şekil 3B).

İnfertil kadınlardan 5. günde alınan endometriyum örneklerinde yüzey epiteli, fertil kadınlardaki 5. gün örnekleri ile karşılaştırıldığında; silyalı ve pinopodlu hücrelerin oldukça seyrek olarak görülmelerine karşın, apikal yüzeyi düzgün mikrovillüsden zengin hücrelerin oldukça yaygın olduğu dikkati çekti (Şekil 4A, 4B). Ayrıca yüzey epitel hücreleri arasında lenfositlerin varlığı da dikkat çekiciydi (Şekil 4B).

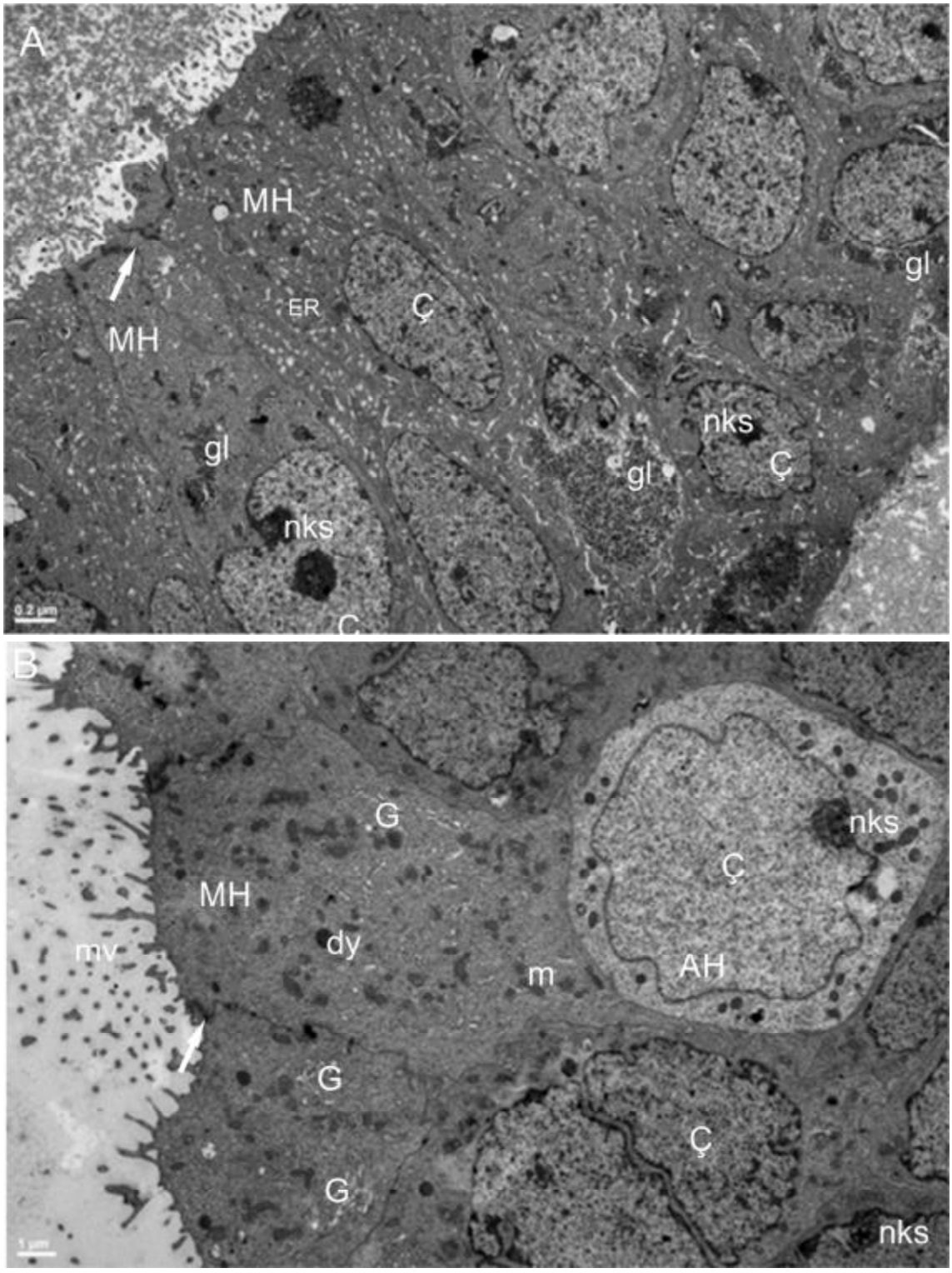


Şekil 3: Fertil 5.gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: yüzey epitelinde pinopodlu(PH) ve mikrovillüslü(MH) hücreler ile endometriyal stroma(S) izlenmekte. Yüzey epitelinde pinopodlu hücrelerin çoğunlukta olduğu, bazı pinopodlu hücrelerde pinopodların yüzeyindeki mikrovillüslerin azaldığı (*) veya tamamen kaybolduğu görülmekte (**). inset: mikrovillüslü hücrelerde nükleolar kanal sistemi (nks) ve dev mitokondriyonlar (dm) izlenmekte. Çekirdek(Ç), mitokondriyonlar (m),iyi gelişmiş Golgi kompleksi (G), membranla çevrili veziküller (v), bağlantı kompleksleri (ok), mikrovillüsler (mv). (Bar:A=1 µm ,B=0,5 µm).

Mikrovillüslü hücrelerde çekirdeklerin merkezi yerleşimli, ovoid şekilli olduğu sitoplazmalarında yaygın düz endoplazmik retikülüm sisternalarının bulunduğu, bazı alanlarda bu sisternaların genişlediği saptandı (Şekil 4A, 5A, 5B). Golgi kompleksi bazı alanlarda supranüklear yerleşim bazı alanlarda ise perinüklear yerleşim göstermekte olup, iyi geliştiği gözlendi (Şekil 5A, 5B). Apikal ve bazal sitoplazmalarında kümeler halinde bulunan glikojen partikülleri lipit damlacıkları ile yakın yerleşimliydi (Şekil 4A). Ayrıca, sitoplazmada yaygın olarak, endoplazmik retikülüm sisternaları ile çevrelenmiş mitokondriyonlara da rastlanmaktaydı (Şekil 5B). Bazı alanlarda, hücrelerarası mesafenin genişlemiş olduğu da dikkati çekmekteydi (Şekil 4A). Ayrıca yüzey epitelinin bazı alanlarda psödostratifiye, bazı alanlarda ise çok katlı hal aldığı saptandı (Şekil 4B, 5A, 5B). Fertil grupta endometriyal bezleri döşeyen epitel çoğunlukla basit prizmatik şekilli olmakla birlikte yer yer psödostratifiye epitel ile döşeli oldukları da izlendi (Şekil 6A, 6B). Endometriyal bezleri döşeyen epitel hücrelerinin çoğunlukla mikrovillüslü hücrelerden oluştuğu, daha seyrek olarak pinopodlu ve silyalı hücrelerin varlığı görüldü. Pinopodlu hücrelerin apikal sitoplazmalarının lümene doğru yaptığı sitoplazmik çıkıntıların yüzey epitelindekilere oranla daha ince ve mikrovillüslerin daha yoğun olduğu dikkati çekti (Şekil 6A). Mikrovillüslü ve pinopodlu hücrelerin çekirdekleri oval şekilli, ökromatik görünümde olup, birden fazla çekirdekçik içermekteydi. Mikrovillüslü hücrelerin çekirdeklerinde çekirdek kılıfı ile ilişkili nükleolar kanal sisteminin bazı hücrelerde henüz yeni oluşmaya başladığı gözlenirken, bazı hücrelerde ise oldukça iyi gelişmiş olduğu gözlenmekteydi (Şekil 6A, 6B).

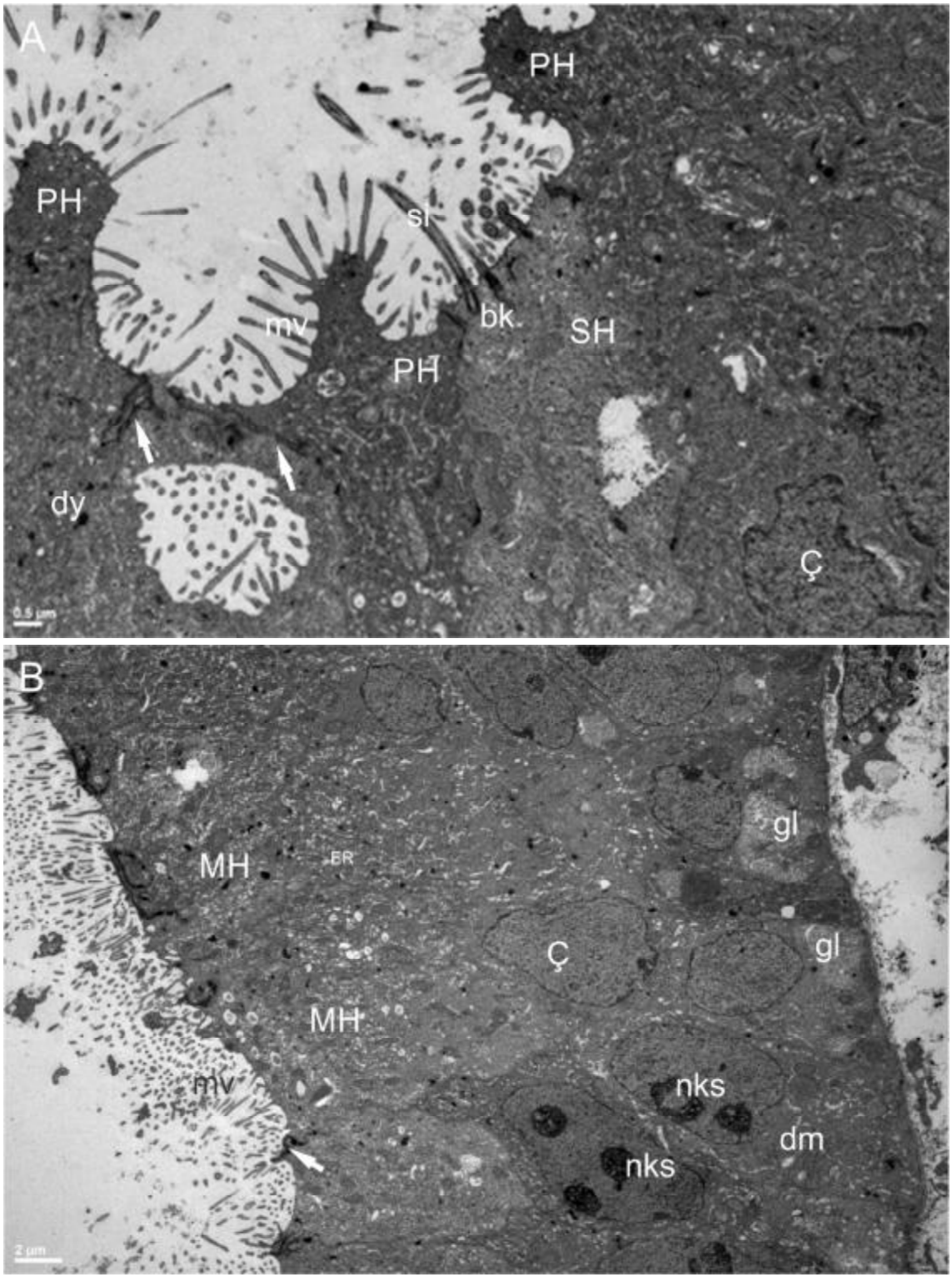


Şekil 4: İnfertil 5. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü A,B: İnfertil gruba ait 5. gün endometriyum yüzey epiteli: A) Basit prizmatik epitelde yaygın mikrovillüslü (MH) ve seyrek pinopodlu (PH) hücreler izlenmekte. B) çok katlı epitelde yüzeyde mikrovillüslü hücreler (MH), yüzeye kadar ulaşmayan ara hücreler (AH) ile epitel hücreleri arasında intraepitelyal lenfositler (iel), epiteli sınırlayan bazal lamina (bl) ve epitelin altında endometriyal stroma (S),stromal hücreler (StH) izlenmekte. Çekirdek (Ç), nükleolar kanal sistemi (nks), glikojen partikülleri (gl), mitokondriyonlar (m), elektron dens yapılar (dy), genişlemiş hücrelerarası mesafe (ok), mikrovillüsler (mv). (Bar: A,B=2 µm)

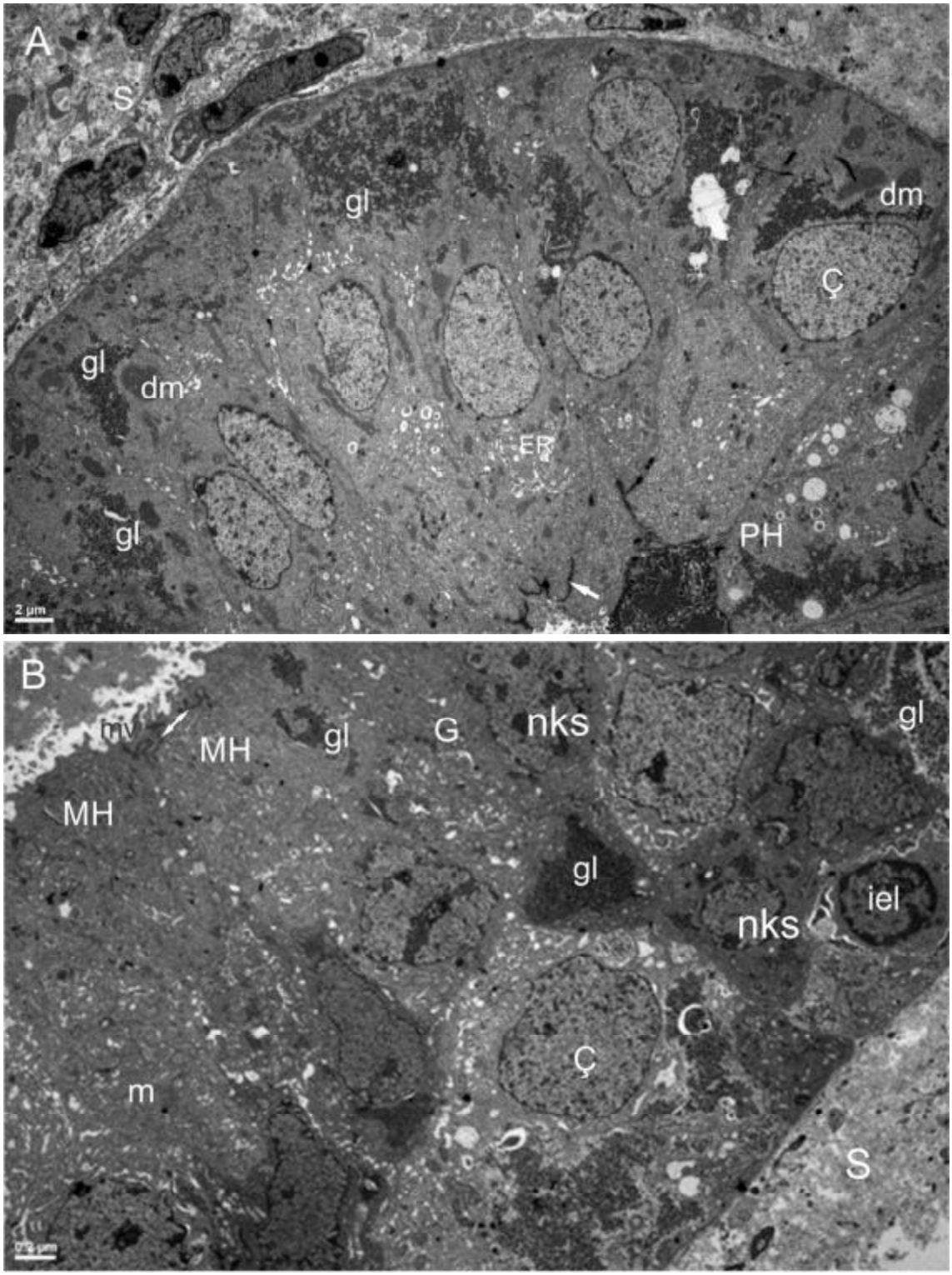


Şekil 5: İnfertil 5. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü. A) Epitelde yaygın mikrovillüslü hücrelerde (MH) subnüklear ve supranüklear yerleşimli glikojen partikülleri (gl), ökromatik çekirdekleri (Ç), nükleolar kanal sistemleri (nks), bağlantı kompleksleri (ok) görülmekte. B) çok katlı hal almış epitel içerisinde mikrovillüslü hücreler ve epitel içerisinde açık sitoplazması ve ökromatik çekirdeğiyle karakterize ara hücreler(AH) gözlenmekte. Golgi kompleksi (G), endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), mitokondriyonlar (m), elektron dens yapılar (dy), mikrovillüs (mv).(Bar: A=0,2 µm, B=1 µm).

İnfertil grupta ise endometriyal bezlerde bulunan epitel, çoğunlukla mikrovillüsden zengin, apikal yüzeyi düzgün hücreleri içermekteydi (Şekil 7A, 7B). Epitel hücreleri arasında intraepitelyal lenfositlerin de varlığı gözlendi. İntraepitelyal lenfositler kompakt sferikal şekilli çekirdekleri ve girintili, çıkıntılı, dar sitoplazmaları ile epitel hücreleri arasındaki boşluklarda yer almaktaydılar (Şekil 7B). Mikrovillüslü hücrelerin apikal sitoplazmalarında yaygın mitokondriyonlar, granüllü endoplazmik retikülüm sisternaları, düz endoplazmik retikülüm sisternaları ve membranla çevrili veziküller bulunmaktaydı (Şekil 7A, 7B). Bazı hücrelerde ise bazal sitoplazmada yerleşen, elektron dens matriks ile karakterize, dev mitokondriyonların endoplazmik retikülüm sisternaları ile yakın yerleşimli olduğu ve membranla çevrili sitoplazmik alanlar içeren otofagozomların oluştuğu gözlendi (Şekil 7A, 7B). Mikrovillüslü hücrelerin çekirdeklerinin ökromatik görümlü olduğu ve fertil kadınlardaki gibi iyi gelişmiş nükleolar kanal sistemi içerdiği görülmekteydi (Şekil 7B). Mikrovillüslü hücrelerin pinopodlu ve salgı hücreleri ile bağlantı kompleksleri aracılığı ile birbirlerine tutunduğu gözlenmekteydi. Bağlantı komplekslerinde apikolateral kısımda sıkı bağlantılar izlenirken daha bazal kısımlarda zonula adherens veya dezmozom tipi bağlantılar yer almaktaydı (Şekil 7A). Bez epitelinde seyrek olarak görülen pinopodlu hücrelerde, pinopodların zayıf, düzensiz olduğu, pinopodların yüzeyinde mikrovillüslerin seyrek olarak bulunduğu ve pinopodların içerisinde değişik şekil ve hacimde vezikül ve vakuollerin varlığı görüldü Mikrovillüslü ve pinopodlu hücrelerin sitoplazmasında yaygın olarak bulunan glikojen partikülleri, çoğunlukla bazal sitoplazmada gözlenirken, bazı hücrelerde ise apikal sitoplazmada büyük kümeler oluşturmuşlardı (Şekil 7A, 7B). Bez epitelinde silyalı hücrelere ender olarak rastlanıldı. Vesiküllü hücrelerin ise lümene doğru uzanmış, apikal sitoplazmalarında glikojen partikülleri, lipit damlacıkları, membranla çevrili salgı vezikülleri içerdiği görülmekteydi (Şekil 7A).

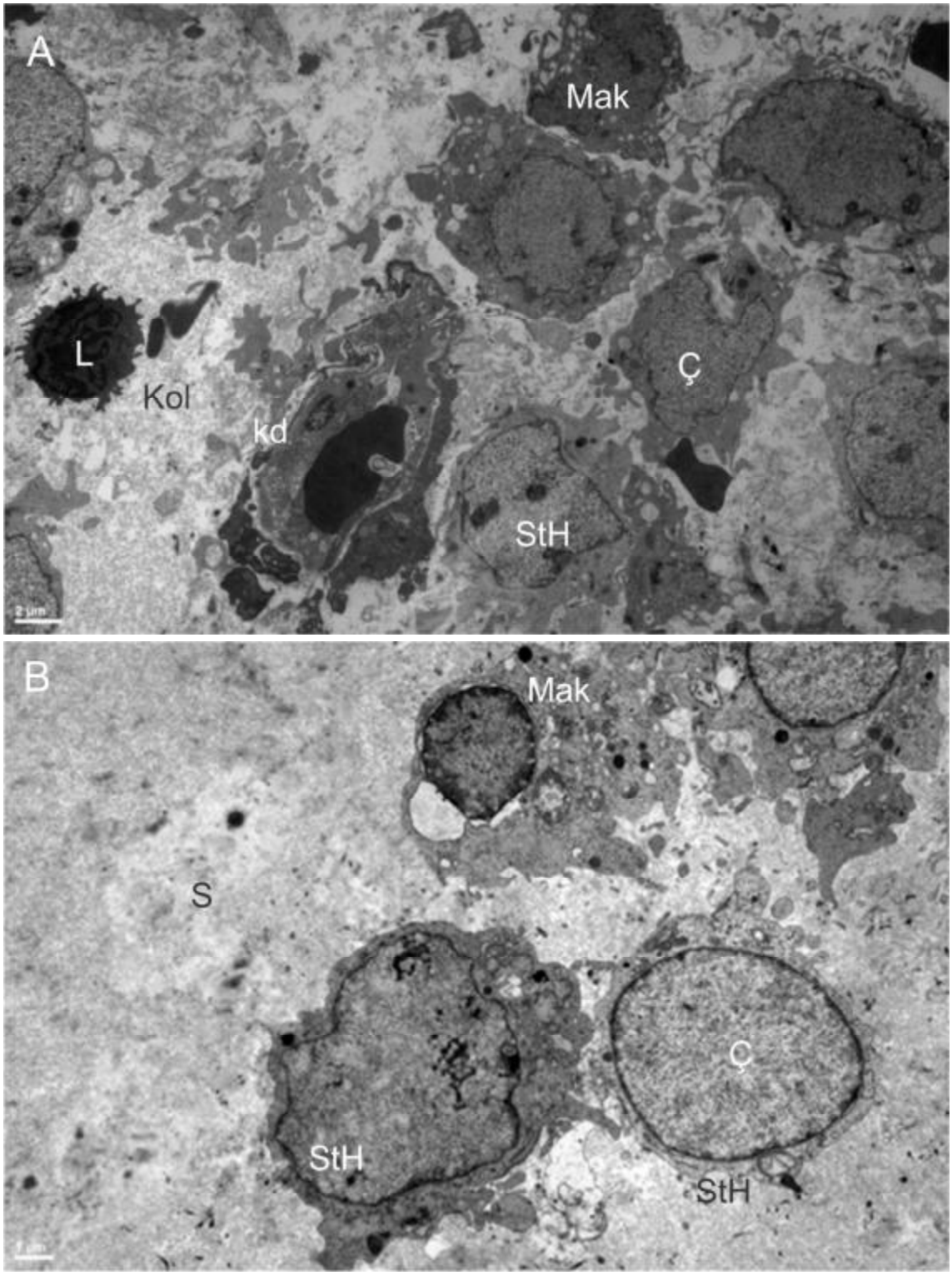


Şekil 6: Fertil 5.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü A,B: Fertil gruba ait 5.gün endometriyumlarda bez epitelinde mikrovillüslü (MH), pinopodlu (PH) ve silyalı hücreler (SH) izlenmekte. Çekirdek (Ç), nükleolar kanal sistemi (nks), elektron dens yapılar (dy), endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), Silya (si), bazal kökçük (bk), glikojen partikülleri (gl), bağlantı kompleksleri (ok), mikrovillüs (mv),dev mitokondriyon (dm). (Bar: A=0,5 µm, B=2 µm)



Şekil 7: İnfertil 5. gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü A,B: İnfertil gruba ait 5. gün endometriyumlarda bez epiteli ve endometriyal stroma (S) izlenmekte. Mikrovillüslü hücrelerde (MH) ve pinopodlu hücrelerde (PH); ökromatik çekirdek (Ç), nükleolar kanal sistemleri (nks), sitoplazmada dev mitokondriyonlar (dm), yaygın kümeler oluşturmuş glikojen partikülleri (gl), endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), Golgi kompleksi (G), bağlantı kompleksleri (ok) ve mikrovillüsler (mv) görülmekte. Epitel hücreleri arasında intraepitelyal lenfositler (iel) de izlendi. (Bar: A=2 µm, B=0,2 µm).

Fertil grupta stromada kan damarları, stromal hücreler, mononüklear fagositer sisteme ait hücrelerin yaygın olduğu gözlenmekteydi. Stromal hücre çekirdeklerinin periferal yerleşimli heterokromatin içeren, ökromatik bir çekirdeğe sahip olduğu, sitoplazmalarında endoplazmik retikülüm sisternaları, mitokondriyonlar, dağılmış serbest ribozomlar, ender lipit damlacıkları ayırt edilmekteydi. Bu hücrelerin arasında yer yer heterokromatik tipte çekirdekleri ile karakterize lenfositlerin varlığı da gözlendi. Endometriyal stromada kollajen liflerin yaygın olduğu ve hafif ödemin varlığı dikkati çekmekteydi (Şekil 8A). İnfertil grupta ise stromada kan damarları, stromal hücreler, mononüklear fagositer sisteme ait hücreleri fertil kadınlardakine benzer şekilde yaygın olarak gözlenmekteydi. Stromal hücre çekirdeklerinin periferal yerleşimli heterokromatin içeren, ökromatik bir çekirdeğe sahip olduğu, sitoplazmalarında endoplazmik retikülüm sisternaları, mitokondriyonlar, sitoplazma boyunca yaygın ribozomlar ayırt edilmekteydi. Bu hücrelerin arasında mononüklear fagositer sisteme ait yer yer heterokromatik tipte çekirdekleri ile karakterize lenfositlerin varlığı da gözlendi. Bunun yanında sitoplazmalarında mitokondriyonlar, granüllü endoplazmik retikülüm sisternaları, lipit damlacığı ve lizozomlar içeren makrofajlar da yaygın olarak gözlenmekteydi. Ayrıca stromada fibroblastların yanı sıra yaygın kollajen lifler de bulunmaktaydı (Şekil 8B).

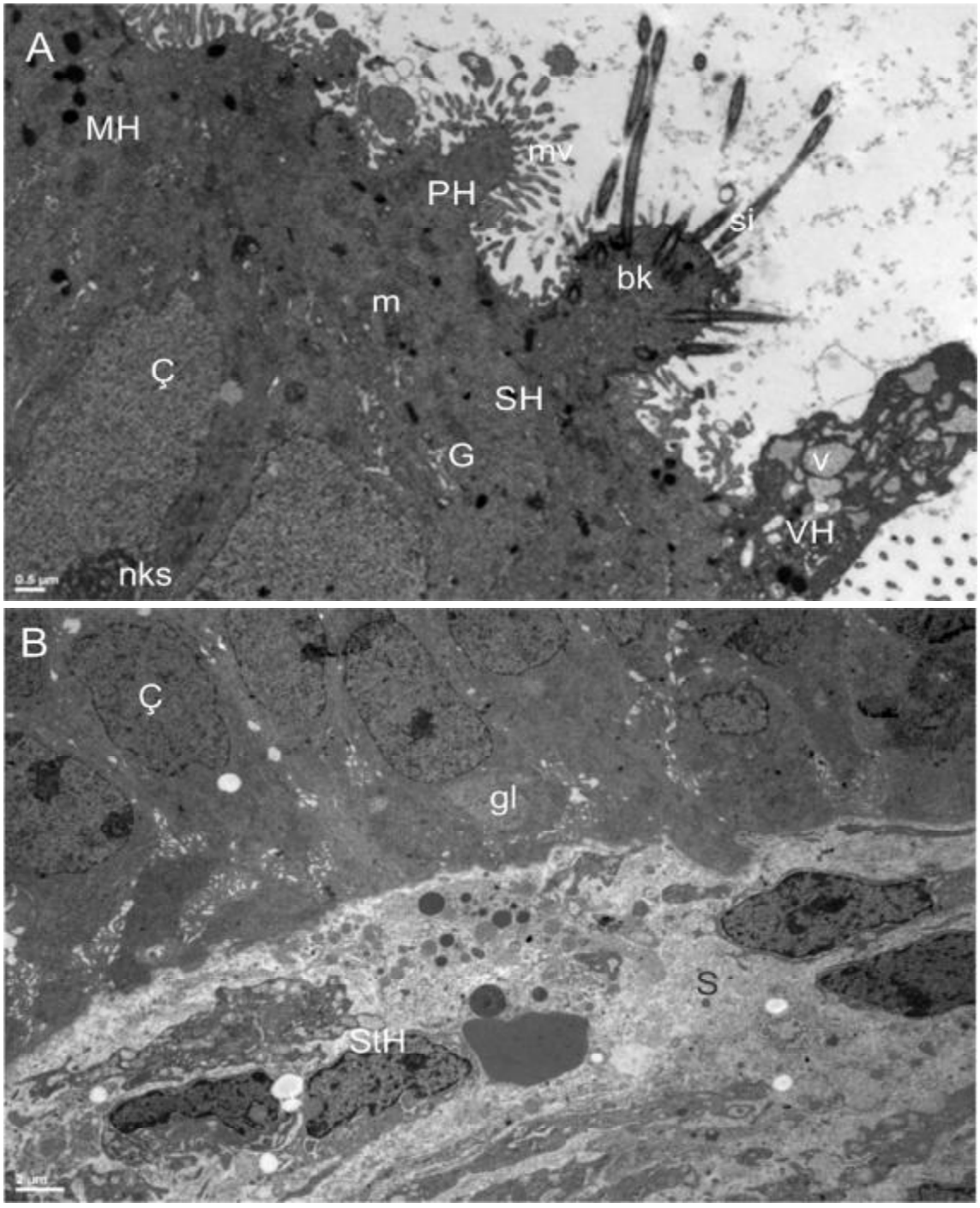


Şekil 8: Fertil (A) ve infertil (B) 5. gün endometriyum stroması elektron mikroskobik görünümü. Ovulasyondan sonra 5. günde fertil (A) ve infertil (B) kadınlarda endometriyal stromada stromal hücreler (StH), kan damarları (kd), makrofaj (Mak), lökosit (L) ve kollajen lifler (Kol), çekirdek(Ç) izlenmekte. (Bar: A=2 µm, B=1 µm)

Ovulasyondan sonra 6.gün

Fertil grupta endometriyal yüzeyi döşeyen epitel kapsamında silyalı, mikrovillüslü, pinopodlu ve vakuollü hücrelerin varlığını sürdürdüğü görüldü. Hücrelerin ökromatik görünümlü çekirdeklerinin bazale yakın yerleşimli ve ovoid şekilli olduğu, bir veya birden fazla çekirdekçik içerdiği görülmekteydi. Epitel hücreleri arasında apikolateral bölgede sıkı bağlantıların olduğu ve bunun hemen altında dezmozom tipi bağlantının olduğu gözlendi. Mikrovillüslü hücrelerin sitoplazmalarında yaygın, ince, uzun, oval şekilli mitokondriyonlar, sitoplazma boyunca dağılmış kısa granüler endoplazmik retikülüm (GER) sisternaları ve dağınık halde bulunan serbest ribozomlar ile birlikte bazal ve apikal sitoplazmada yoğun kümeler oluşturmuş glikojen partikülleri gözlenmekteydi. Silyalı hücrelerin sitoplazmalarında, küçük, oval şekilli mitokondriyonlar, GER sisternaları, serbest ribozomlar ve glikojen partikülleri ile birlikte membranla çevrili küçük veziküllerin varlığı ayırt edilmekteydi (Şekil 9A, 9B).

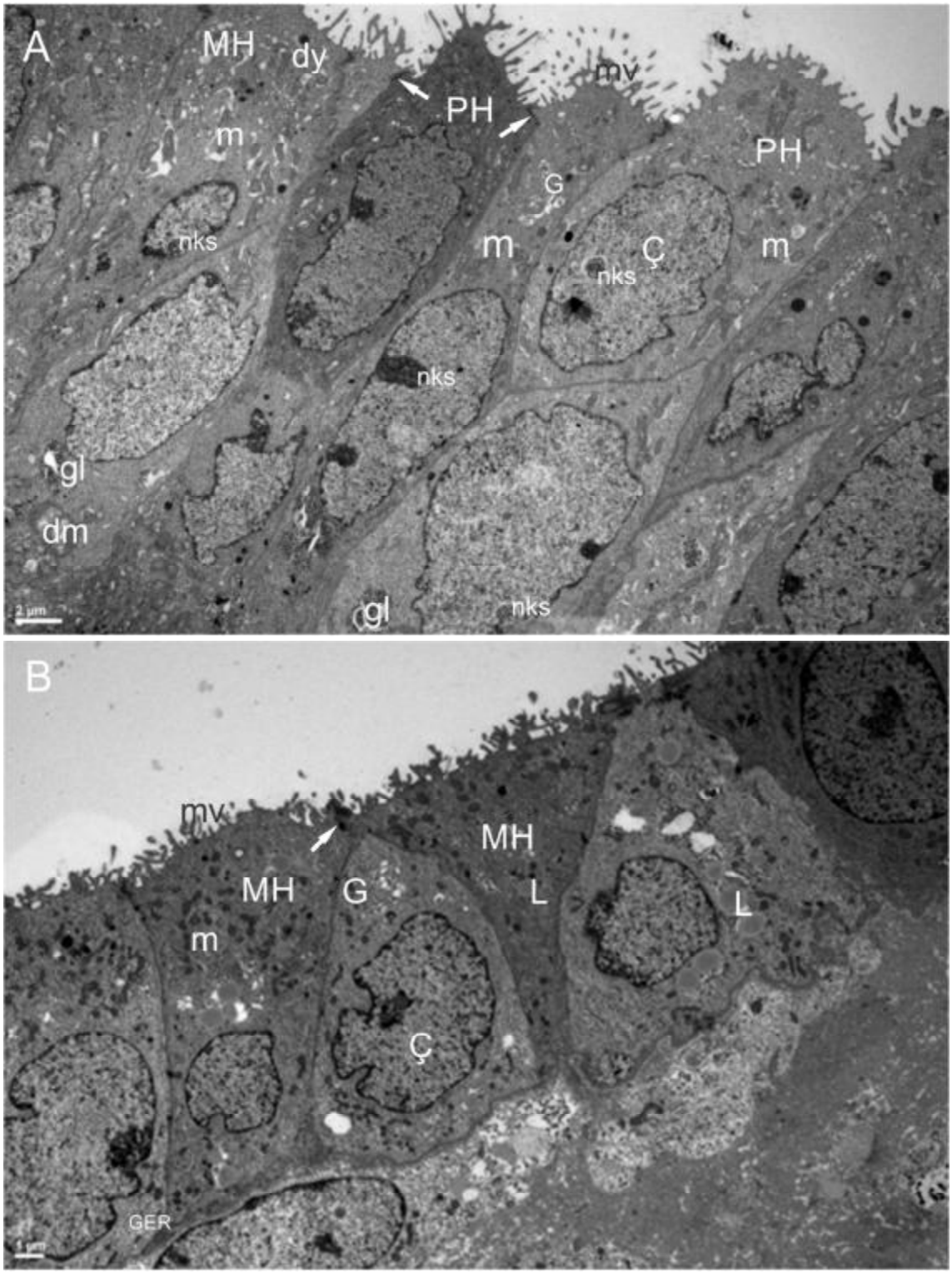
İnfertil gruba ait yüzey epitelinin bazı mikrograflarda basit prizmatik, bazılarında alçak prizmatik, bazılarında psödostratifiye, bazılarında ise çok katlı olduğu izlendi (Şekil 10A, 10B, 11A). Yüzey epiteli kapsamında bu grupta da apikal yüzeyi düzgün mikrovillüslü hücrelerin çoğunlukta olduğu, pinopodlu ve silyalı hücrelerin ise ender olduğu dikkati çekti (Şekil 10A, 10B). Mikrovillüslü hücrelerin apikal sitoplazmasında, endoplazmik retikülüm sisternaları ile yakın ilişkili, yaygın mitokondriyonlar bulunmaktaydı. Bu mitokondriyonların bazı alanlarda, ileri derecede incelip uzadığı ve etraflarında elektron lusent alanların oluştuğu görüldü. Ayrıca bu hücrelerin apikal sitoplazmalarında yaygın Golgi komplekslerinin, genişlemiş endoplazmik retikülüm sisternalarının ve lizozomal yapıların olduğu gözlendi. Hücrelerin çekirdeklerinde nükleolar kanal sistemlerinin oldukça iyi geliştiği de dikkati çekti (Şekil 10A, 10B, 11B). Pinopodlu hücrelerinin ovoid şekilli, 1-2 çekirdekçik içeren, ökromatik çekirdeğe sahip oldukları izlendi. Bu hücrelerin çekirdeklerinde de çekirdek kılıfıyla ilişkili nükleolar kanal sisteminin gelişmiş olduğu görülmekteydi.



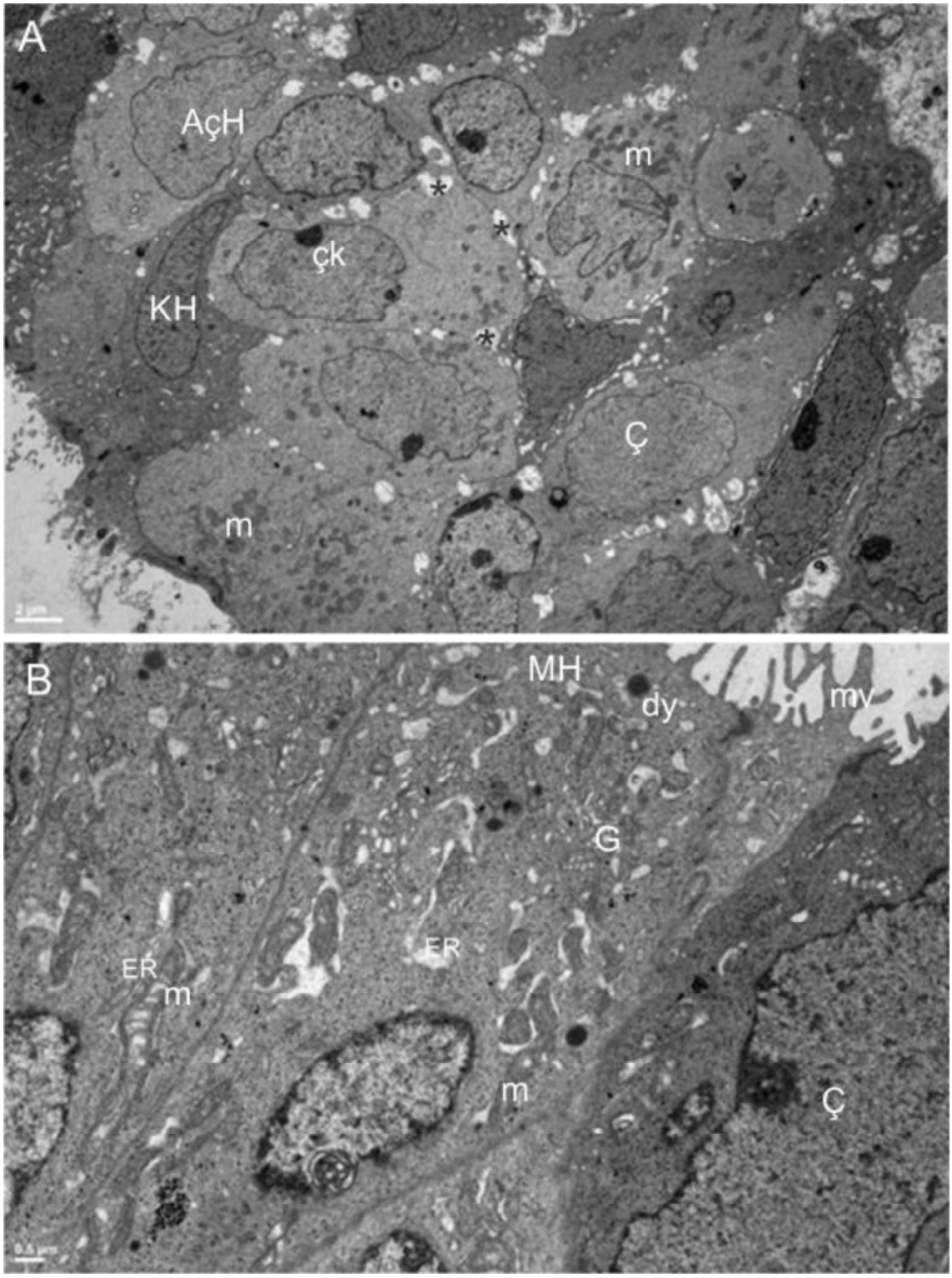
Şekil 9: Fertil 6. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: Fertil kadınlarda ovulasyondan sonra 6. gündeki endometriyumda yüzey epitelinde silyalı (SH), mikrovillüslü (MH), pinopodlu (PH), ve vesiküllü (VH) hücreler ile epitelin altında sitoplazmik uzantılara sahip stromal hücreleri (StH) içeren endometriyal stroma (S) görülmekte. Vesiküllü hücrelerin apikal sitoplazmalarının lümene doğru uzandığı ve içerisinde çok sayıda membran ile çevrili vezikülleri (v) içerdiği görülmekte. Çekirdek(Ç), Golgi kompleksi (G), mitokondriyon (m), glikojen partikülleri (gl), silyum(si), bazal kökçük(bk), mikrovillüs (mv). (Bar: A=0,5 µm, B=2 µm).

Sitoplazmalarında yaygın olarak bulunan mitokondriyonların ince uzun şekilli olduğu ve bazı alanlarda endoplazmik retikülüm sisternaları ile çevrelendiği gözlendi (Şekil 10A). Epitel hücrelerin birbirlerine bağlantı kompleksleri aracılığıyla tutunduğu görülmekteydi (Şekil 10A, 10B, 11B). Serbest ribozom ve endoplazmik retikülüm sisternalarının sitoplazma boyunca dağıldığı ve sisternaların hafifçe genişlemiş olduğu dikkati çekmekteydi. (Şekil 11B). Bazı mikrograflarda yüzey epitelinin çok katlı epitel haline geldiği bu grupta da gözlenmekteydi. Bu alanlarda epitel hücrelerinin çekirdeklerinin yuvarlak hal aldığı ve ökromatik görünümlü olduğu, sitoplazmalarının daha düşük dansitede ve sitoplazmik organellerinin seyrek olduğu izlenirken, bunlara komşu hücrelerin ise çekirdek ve sitoplazmik dansitelerinin arttığı, mitokondriyal matrikslerinde elektron lusent alanların geliştiği, endoplazmik retikülüm sisternalarının hafifçe genişlediği dikkati çekti (Şekil 11A).

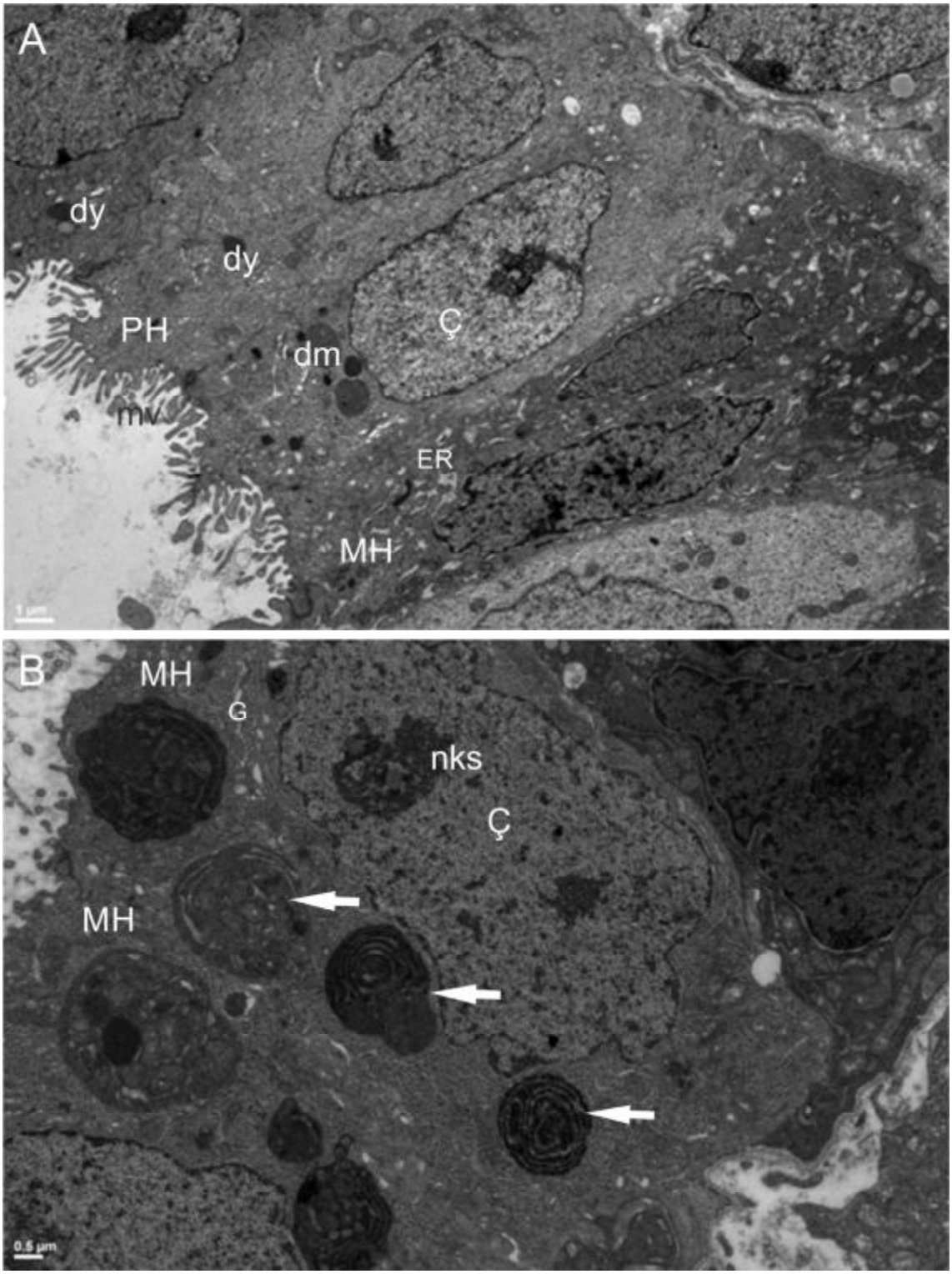
Fertil grupta endometriyal bezleri döşeyen hücreler prizmatik tipte olup, lümene yakın lateral yüzeylerinde bulunan bağlantı kompleksi aracılığıyla birbirlerine tutunmuşlardı. Endometriyal bezleri döşeyen hücrelerin bir bölümü apikal yüzeylerinde yaygın mikrovillüs içeren ve apikal yüzeyi düzgün olan hücrelerden oluşurken, bu hücrelerin arasında bulunan pinopodlu hücrelerin sayılarının arttığı ve silyalı hücrelerin oldukça ender bulunduğu görülmekteydi (Şekil 12A). Mikrovillüsden zengin hücrelerin sitoplazmalarında ökromatik görünümlü, oval şekilli bazala yakın yerleşimli çekirdek, yaygın serbest ribozomlar, yer yer genişlemiş endoplazmik retikülüm sisternaları, lizozomal yapılar, glikojen partikülleri yaygın olarak izlenmekteydi (Şekil 12A). Bazı alanlarda mikrovillüslü ve pinopodlu hücrelerin sitoplazmalarında yaygın otofajik vakuollerin olduğu gözlendi. Bu otofajik vakuoller membran ile çevrili olup içerisinde sitoplazma, endoplazmik retikülüm sisternaları, mitokondriyonlar, elektron dens granüler yapılar ve membranla çevrili vesiküller içermekteydiler (Şekil 12B). Bazı mikrovillüslü hücrelerde ise endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği ve sitoplazmik dansitenin arttığı dikkati çekerken, pinopodlu hücrelerin sitoplazmalarında ise dev mitokondriyonların varlığı görüldü (Şekil 12A).



Şekil 10: İnfertil 6. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: İnfertil kadınlarda ovulasyondan sonra 6. günde endometriyal yüzey epiteli içerisinde mikrovillüslü (MH) ve pinopodlu (PH) hücreler görülmekte. Çekirdek(Ç), nükleolar kanal sistemi (nks), Golgi kompleksi (G), mitokondriyon (m), dev mitokondriyon (dm), lipit damlacığı (L), glikojen partikülleri (gl), dens yapılar (dy), mikrovillüs (mv). (Bar: A=2 µm, B=1 µm)



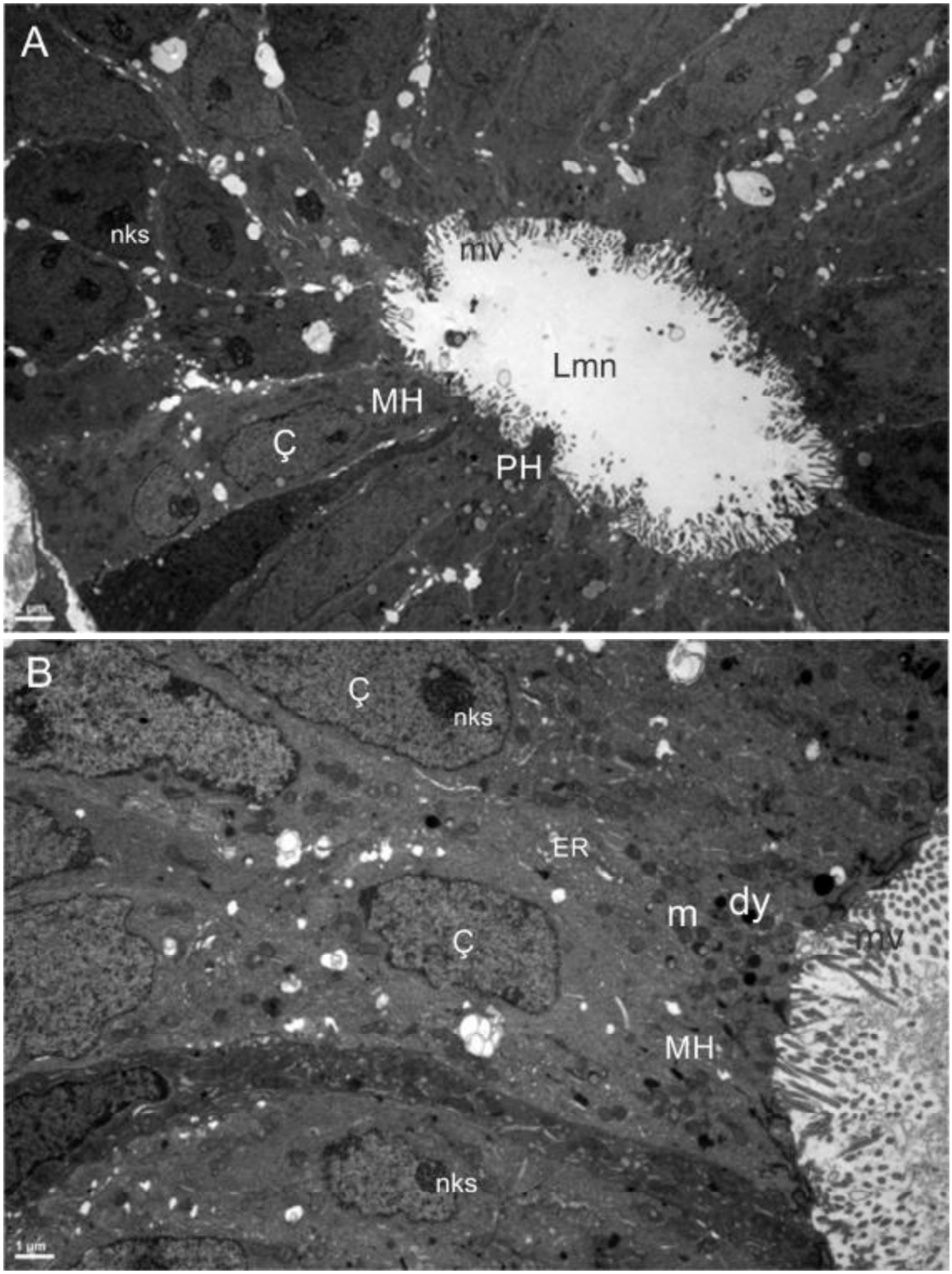
Şekil 11: İnfertil 6.gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: infertil gruba ait ovulasyondan sonra 6.gündeki endometriyumları döşeyen basit prizmatik epitelin (B) yer yer çok katlı (A) hal aldığı görüldü. Basit prizmatik epitelde mikrovillüslü hücrelerin (MH) apikal sitoplazmasında endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), mitokondriyonlar (m), dens yapılar (dy) ve Golgi kompleksi (G) içerdiği görülmektedir. Çok katlı epitelde ise açık (AçH) ve koyu (KH) renkli hücrelerin olduğu, hücrelerarası mesafenin genişlediği (*) görülmekte. Çekirdek (Ç), çekirdekçik (çk),mikrovillüs (mv). (Bar: A=2 µm, B=0,5 µm).



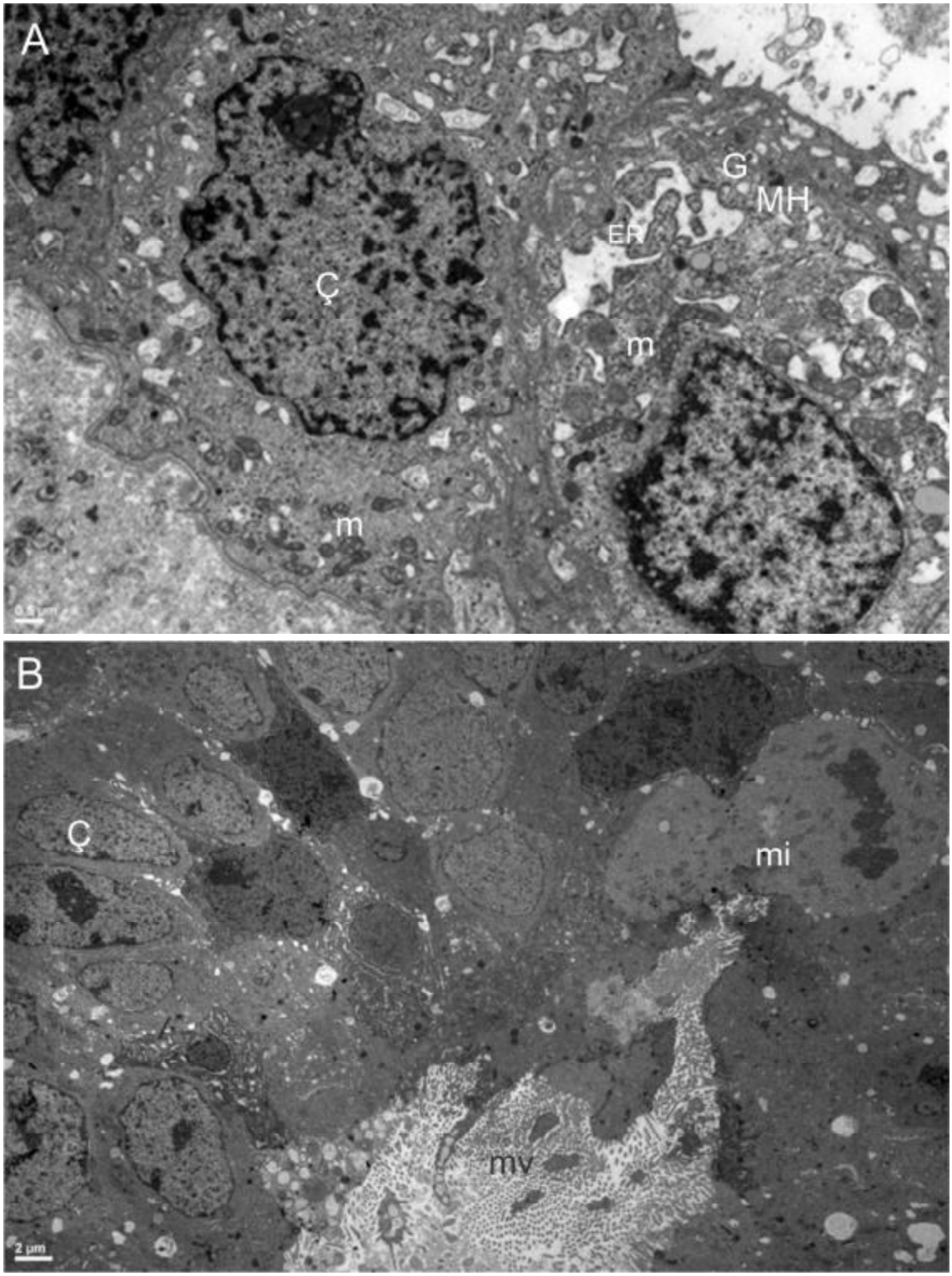
Şekil 12: Fertil 6.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: Fertil kadınlarda 6.gündeki endometriyumda bez epiteli içerisinde mikrovillüslü (MH) ve pinopodlu (PH) hücreler görülmekte. Çekirdek (Ç), Golgi kompleksi (G), endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), mitokondriyon (m), dev mitokondriyon (dm), nükleolar kanal sistemi (nks), elektron dens granüller(dy),otofagozom(ok). (Bar: A=1 µm, B=0,5 µm)

İnfertil grupta endometriyal bezlerde epitelin; yaygın mikrovillüslü, daha seyrek pinopodlu ve vesiküllü hücreleri, ender olarak da silyalı hücreleri içerdiği görüldü (Şekil 13A). Mikrovillüslü hücrelerin lümene bakan apikal yüzlerinde mikrovillüs sayısının oldukça fazla olduğu görülmekteydi (Şekil 13A, 13B). Mikrovillüslü hücrelerin çekirdekleri merkezi yerleşimli, oval şekilli, ökromatik görünümlü olup birden fazla çekirdekçik içerdiği, sitoplazmalarında endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği görülmekteydi. Çekirdek içerisinde çekirdek kılıfı ile ilişkili nükleolar kanal sistemlerinin iyi gelişmiş olduğu gözlenmekteydi (Şekil 13A, 13B, 14A). Mikrovillüslü hücrelerin arasında pinopodlu hücrelerin yer aldığı ve bu hücrelerin apikal yüzeylerinin lümene çıkıntı yapacak şekilde düzenlendiği görüldü. Pinopodlu hücrelerin çekirdeklerinin merkezi yerleşimli, ovoid şekilli, ökromatik görünümde olduğu, birden fazla çekirdekçik içerdiği gözlendi. Çekirdek içerisinde çekirdek kılıfı ile ilişkili nükleolar kanal sistemlerinin gelişmiş olduğu göze çarpmaktaydı. Bazı hücrelerin apikal sitoplazmasında lizozomların yaygın olduğu dikkati çekti (Şekil 13A). Ayrıca bez epitelinin bazı alanlarda psödostratifiye veya çok katlı hal aldığı ve bu alanlarda hücreler arasında sıklıkla mitotik figürlerin olduğu dikkati çekti (Şekil 14B).

Fertil grupta endometriyal stromada stromal hücreler, makrofajlar ve lenfositler le birlikte kollajen lifler ve yaygın kan damarları bu grupta da normal olarak bulunmaktaydı. Stromal hücrelerin sitoplazmalarında az sayıda mitokondriyonlar, GER sisternaları, birkaç lipit damlacığı ve glikojen partikülleri ayırt edilmekteydi. Stromada ayrıca çok sayıda makrofaj ve lenfosit varlığı göze çarpmaktaydı. Makrofajlar sitoplazmalarında lizozomal yapılar, lipit damlacıkları ve elektron lusent görünümlü vakuoller ve sitoplazmik uzantıları ile normal ultrastrüktürel yapıda izlendi (Şekil 15A). İnfertil grupta stromada yer alan stromal hücreler ovoid ve ökromatik çekirdekleri ile karakterize olup, sitoplazmalarında değişik şekillerde mitokondriyonlar, yaygın granüler endoplazmik retikülüm sisternaları, agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları ve serbest ribozomlar içermekteydiler. Bazı alanlarda ise hücrelerin sitoplazmalarında glikojen kümelerinin ve az miktarda lipit damlacıklarının varlığı ayırt edilmekteydi. Bunun yanında mononüklear fagositer sisteme ait hücrelere rastlanmaktaydı.



Şekil 13: İnfertil 6.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: İnfertil gruba ait 6.gün endometriyumlarda bez epiteli içerisinde yaygın mikrovillüslü (MH) ve pinopodlu (PH) hücreler görülmekte. Çekirdek (Ç), nükleolar kanal sistemi (nks), mitokondriyonlar (m), endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), elektron dens yapılar (dy), lümen(Lmn). (Bar: A=2 µm, B=1 µm)



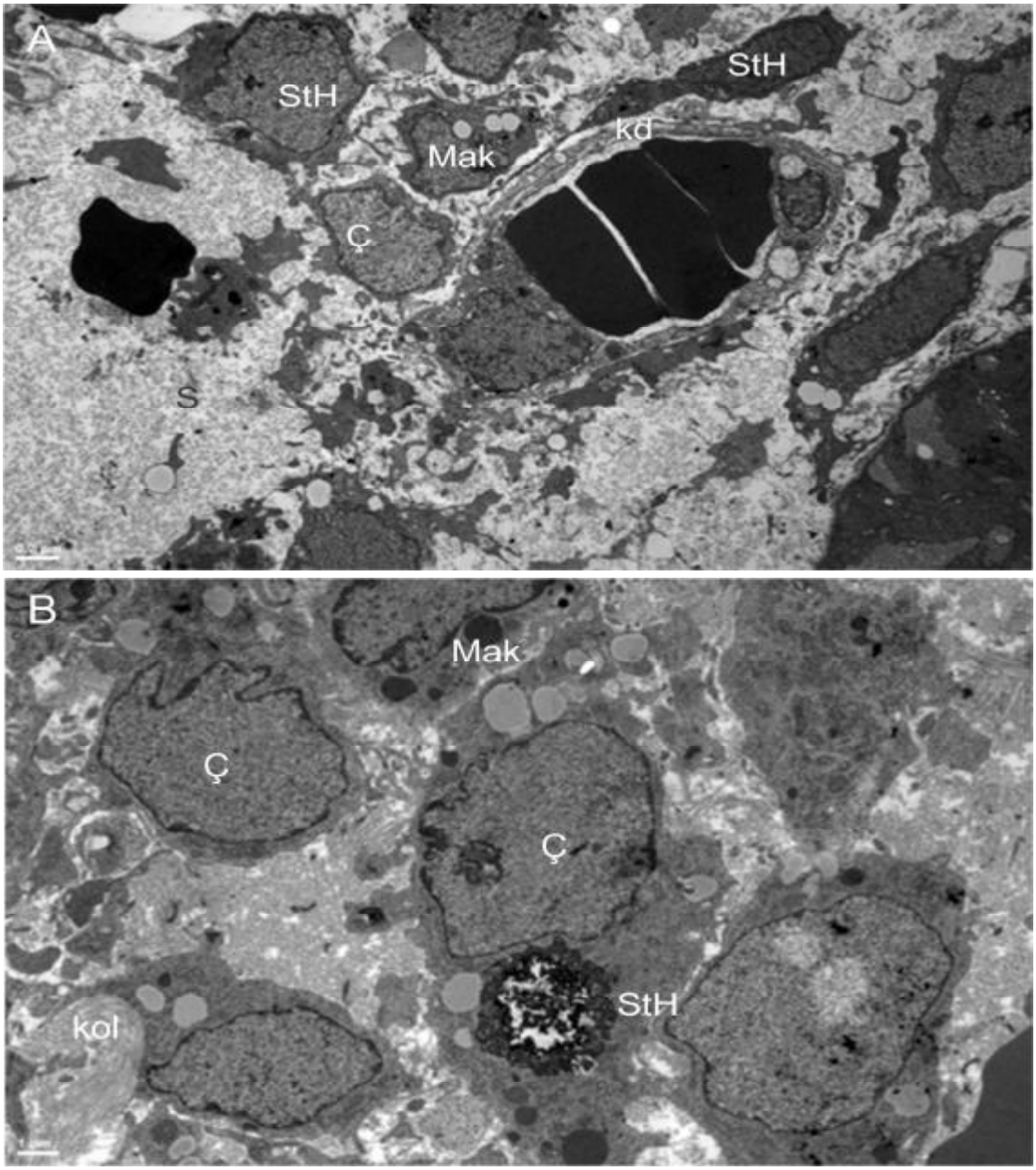
Şekil 14: İnfertil 6.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: İnfertil gruba ait 6. gün endometriyumda bez epitelinin bazı alanlarda alçak prizmatik hücrelerden oluştuğu (A) bazı alanlarda ise çok katlı hal aldığı (B) ve mitotik figürler (mi) içerdiği görülmekte. Mikrovillüslü hücreler (MH), çekirdek (Ç), mitokondriyon (m), endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), Golgi kompleksi (G). (Bar: A=0,5 µm, B=2 µm)

Makrofajlar periferal yerleşimli heterokromatin içeren, düzensiz sınırlara sahip çekirdekleri ve sitoplazmik uzantıları ile karakterizeydi. Makrofajlar sitoplazmalarında mitokondriyon, granüllü endoplazmik retikülüm, lipit damlacığı ve lizozom içermekteydiler. Stromada ödemin hafifçe arttığı, ayrıca stromada kan damarları ve kollajen liflerin varlığı da ayırt edilmekteydi (Şekil 15B).

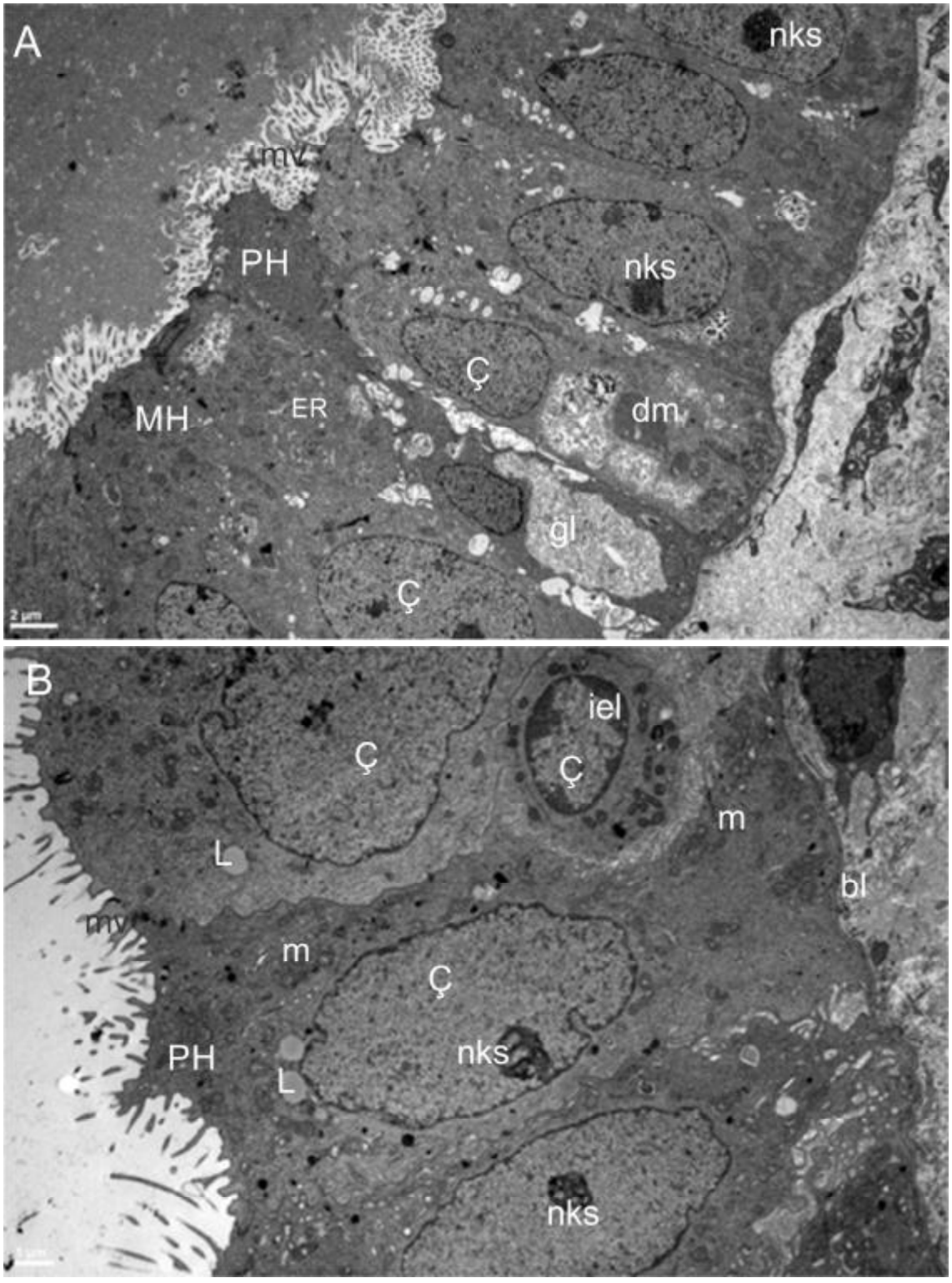
Ovulasyondan sonra 7. gün

Fertil grupta endometriyal yüzeyi döşeyen prizmatik şekilli epitel içerisinde mikrovillüsden zengin, pinopodlu, silyalı ve vakuollü hücreler normal olarak izlenmekteydi. Ancak bazı alanlarda hücreler arası mesafenin genişlediği ve sitoplazmik uzantıların hücrelerarası mesafede yaygın olduğu dikkati çekti (Şekil 16A). Epitel hücreleri arasında yer yer intraepitelyal lenfositlere de rastlanıldı (Şekil 16B). Mikrovillüslü hücreler ökromatik görünümlü, oval şekilli çekirdekleri, sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi kompleksleri, kısa GER sisternaları, küçük, sferikal veya oval şekilli mitokondriyonlar, glikojen kümeleri ve membranla çevrili vesiküller ile normal olarak izlenmekteydi. Mikrovillüslü hücrelerin bazılarında, bazal sitoplazmada yerleşik, endoplazmik retikülüm sisternaları ile ilişki, glikojen kümelelerine yakın yerleşimli dev mitokondriyon varlığı dikkati çekti (Şekil 16A). Epitel içerisinde oldukça yaygın olarak gözlenen pinopodlu hücreler indentasyonlar gösteren ökromatik bir çekirdek, sitoplazma boyunca yaygın mitokondriyonlar, GER sisternaları ender lipit damlacıkları ve bazal ve apikal sitoplazma ile perinüklear alanda kümeler oluşturmuş glikojen partikülleri içermekteydiler (Şekil 16B).

İnfertil grupta 7. günde de yüzey epiteli genellikle basit prizmatik tipte epitel ile döşeli iken yer yer çok katlı epitel yamalarına da rastlanıldı (Şekil 17A, 17B, 18A, 18B). Çok katlı epitelin 5-6 hücre tabakası kalınlığında olduğu, yüzeydeki hücrelerin kübik ya da yassı şekilli olduğu ve bazıları düzgün apikal yüzeylerinde kısa küt mikrovillüsler içerirken, bazılarının mikrovillüslerle birlikte silyumlar da içerdiği görüldü. Bu hücreler lateral yüzeylerinde bağlantı kompleksleri aracılığı ile komşu hücrelere tutunurken, bazal yüzeylerinde yaygın dezmozom tipi bağlantılar aracılığı ile alttaki hücrelere tutunduğu görüldü.



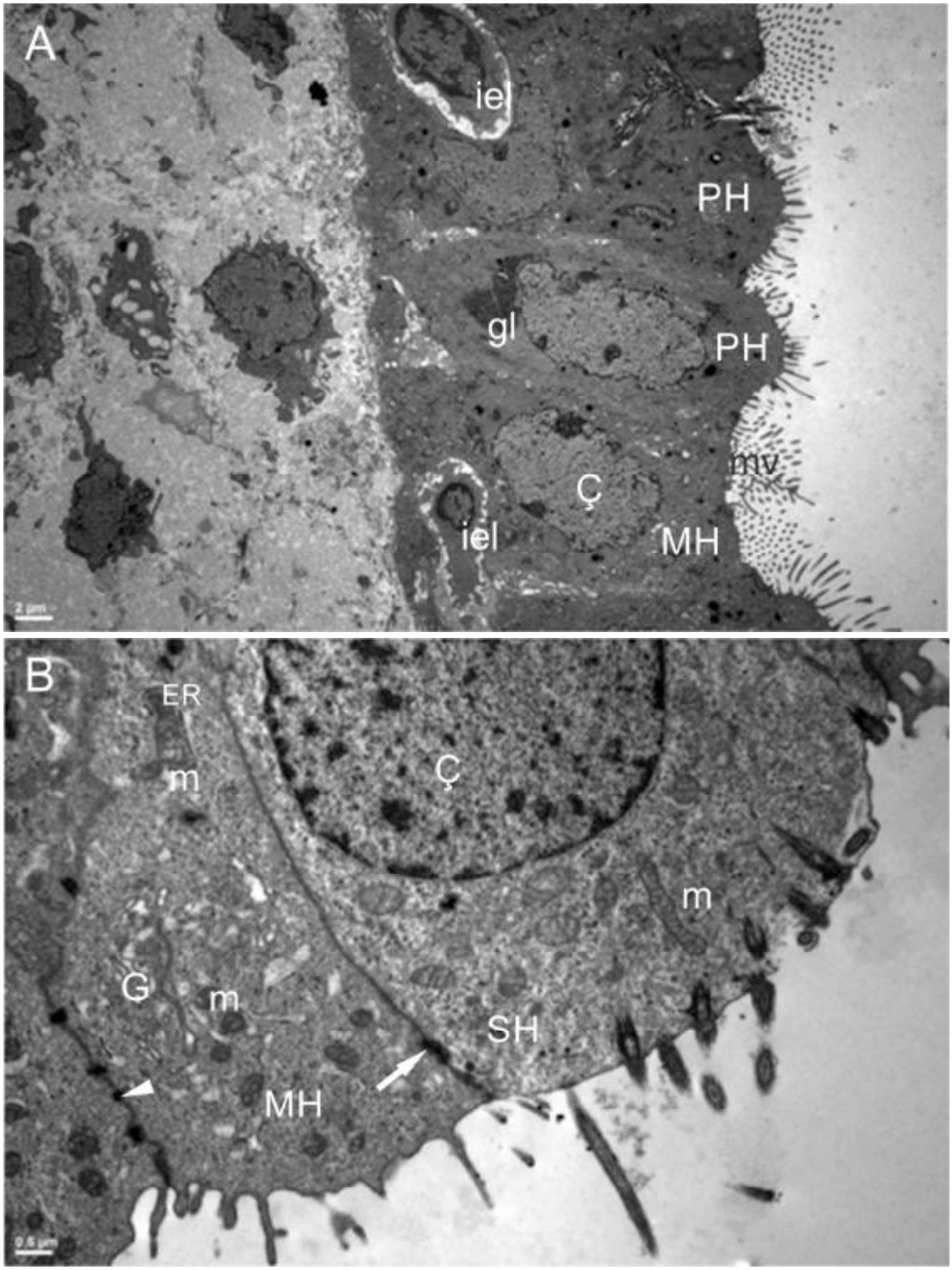
Şekil 15: Fertil (A) ve infertil (B) 6. gün endometriyum stroması elektron mikroskobik görünümü. Ovulasyondan sonra 6.günde fertil (A) ve infertil (B) kadınlarda endometriyal stromada stromal hücreler (StH), kan damarları (kd), makrofaj (Mak), kollajen lifler (kol), çekirdek(Ç). (Bar: A=0,2 µm, B=1 µm).



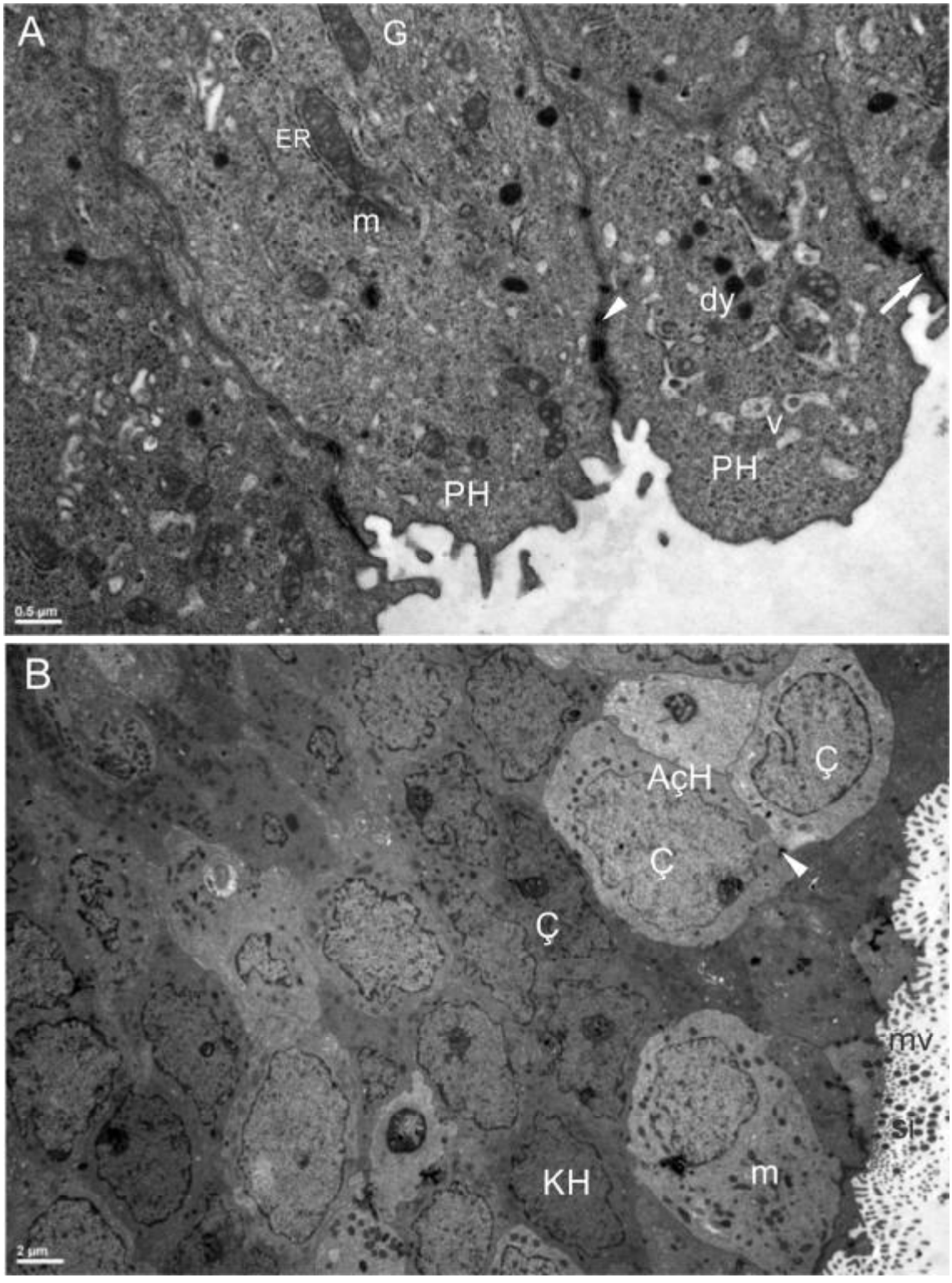
Şekil 16: Fertil 7. günde endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: Fertil kadınlarda ovulasyondan sonra 7. günde endometriyumu döşeyen luminal epitelde mikrovillüslü (MH) ve pinopodlu (PH) hücreler görülmekte. Çekirdek (Ç), nükleolar kanal sistemi (nks), mitokondriyon (m), dev mitokondriyon (dm), endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), lipit damlacığı(L), glikojen partikülleri(gl), intraepitelyal lenfosit (iel), bazal lamina (bl), mikrovillüs(mv). (Bar: A=2 µm, B=1 µm)

Alt tabakadaki epitel hücrelerinin çoğunluğu, sferikal şekilli, ökromatik görünümlü çekirdekleri, sitoplazmalarında yaygın serbest ribozomlar, az miktarda mitokondriyonları ile genç hücre görünümündeydiler. Bu hücrelerin arasındaki diğer hücrelerin ise nüklear ve sitoplazmik dansitelerinin arttığı gözlenmekteydi (Şekil 18B). Basit prizmatik epitelin ise çoğunlukla mikrovillüslü ve pinopodlu az sayıda ise silyalı hücrelerden oluşmaktaydı (Şekil 17A, 17B). Ayrıca yüzey epitelinin bazal kısımlarında sıklıkla intraepitelyal lenfositlere de rastlanıldı. Bu hücreler hafifçe geniş, girintili, çıkıntılı bir sınıra sahip, sitoplazmalarında küçük sferikal şekilli mitokondriyonlar ve serbest ribozomlar ile kompakt heterokromatik sferikal şekilli bir çekirdek içermekteydiler (Şekil 17A). Bu evrede pinopodlu hücrelerin mikrovillüslü hücrelerle beraber yüzey epitelini oluşturan esas hücreler olduğu dikkati çekerken, bazı mikrograflarda, pinopodlu hücrelerin pinopod yapıları üzerinde mikrovillüslerin oldukça azaldığı görüldü (Şekil 17A, 18A). Mikrovillüslü hücrelerin apikal yüzeyinin düz olduğu, çekirdeklerinin ise merkezi yerleşimli, oval şekilli, indentasyonlu, birden fazla çekirdekçik içeren ökromatik yapıda olduğu görülmekteydi (Şekil 17A, 17B). Silyalı hücrelerin çekirdeklerinin apikale yakın yerleşimli olduğu ve periferal heterokromatin alanları içerdiği görülmekteydi. Silyalı hücreler apikal sitoplazmasında ise yaygın mitokondriyonlar, lizozomal yapılar, serbest ribozomlar ve bazal kökçükler içerdiği görülmekteydi (Şekil 17B). Mikrovillüslü, pinopodlu ve silyalı hücrelerin bağlantı kompleksleri aracılığı ile birbirlerine tutunduğu gözlenmekteydi. Bağlantı komplekslerinde apikolateral kısımda sıkı bağlantılar izlenirken daha bazal kısımlarda dezmozom tipi bağlantıların varlığı dikkati çekti (Şekil 17B, 18A).

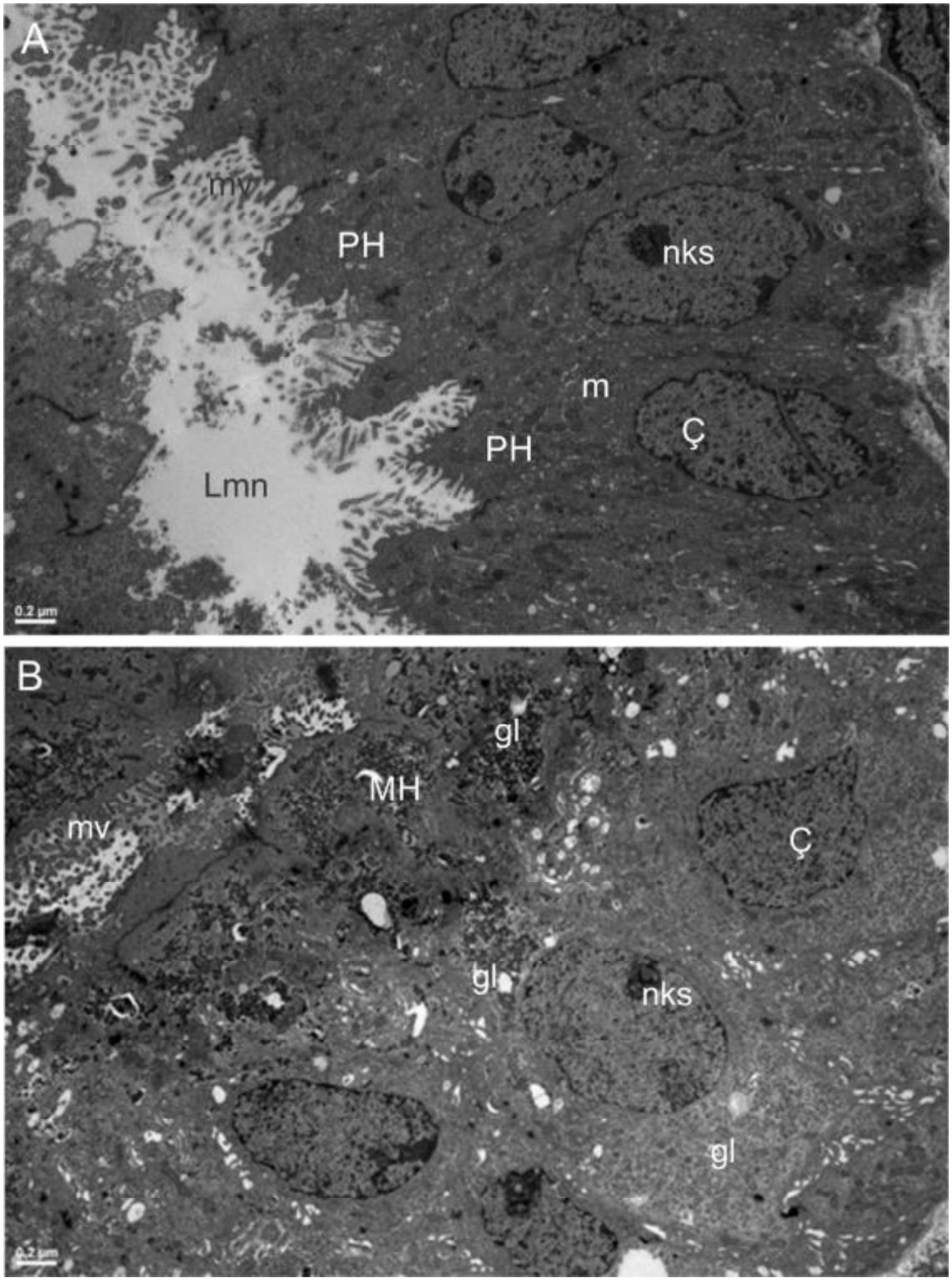
Fertil grupta ovulasyondan sonra 7. günde endometriyal bezleri döşeyen epitelin çoğunlukla mikrovillüslü ve pinopodlu hücrelerden oluştuğu gözlenmekteydi. Bu hücreler hafif indentasyon gösteren çekirdekleri, sitoplazmalarında yaygın mitokondriyon, GER sisternaları, Golgi kompleksi, serbest ribozomları ile normal histolojik yapıda izlendiler (Şekil 19A, 19B).



Şekil 17: İnfertil 7. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: İnfertil gruba ait 7.gündeki endometriyumların yüzeyini döşeyen epitelde mikrovillüslü (MH), pinopodlu (PH) ve silyalı (SH) hücreler izlenmekte. Epitelin bazal bölümlerinde intraepitelyal lenfositlerin (iel) olduğu görülmekte. Çekirdek(Ç), mitokondriyon(m), Golgi kompleksi (G), bağlantı kompleksi (ok), dezmozom (ok başı), endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), mikrovillüs(mv). (Bar: A=2 µm, B=1 µm)



Şekil 18: İnfertil 7. gün endometriyum yüzey epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: İnfertil grupta, 7.günde endometriyal yüzeyi döşeyen basit prizmatik epitelde (A) mikrovillüslerin oldukça azaldığı pinopodlu hücreler (PH) ve çok katlı epitel (B) içerisinde açık (AçH) ve koyu (KH) hücreler görülmekte. Çekirdek (Ç), mitokondriyon (m), Golgi kompleksi (G), bağlantı kompleksi (ok), dezmozom (okbaşı),endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), membranla çevrili vesiküller (v), elektron dens yapılar (dy), mikrovillüsler (mv), silya (si).(Bar: A=0,5µm, B=2 µm).

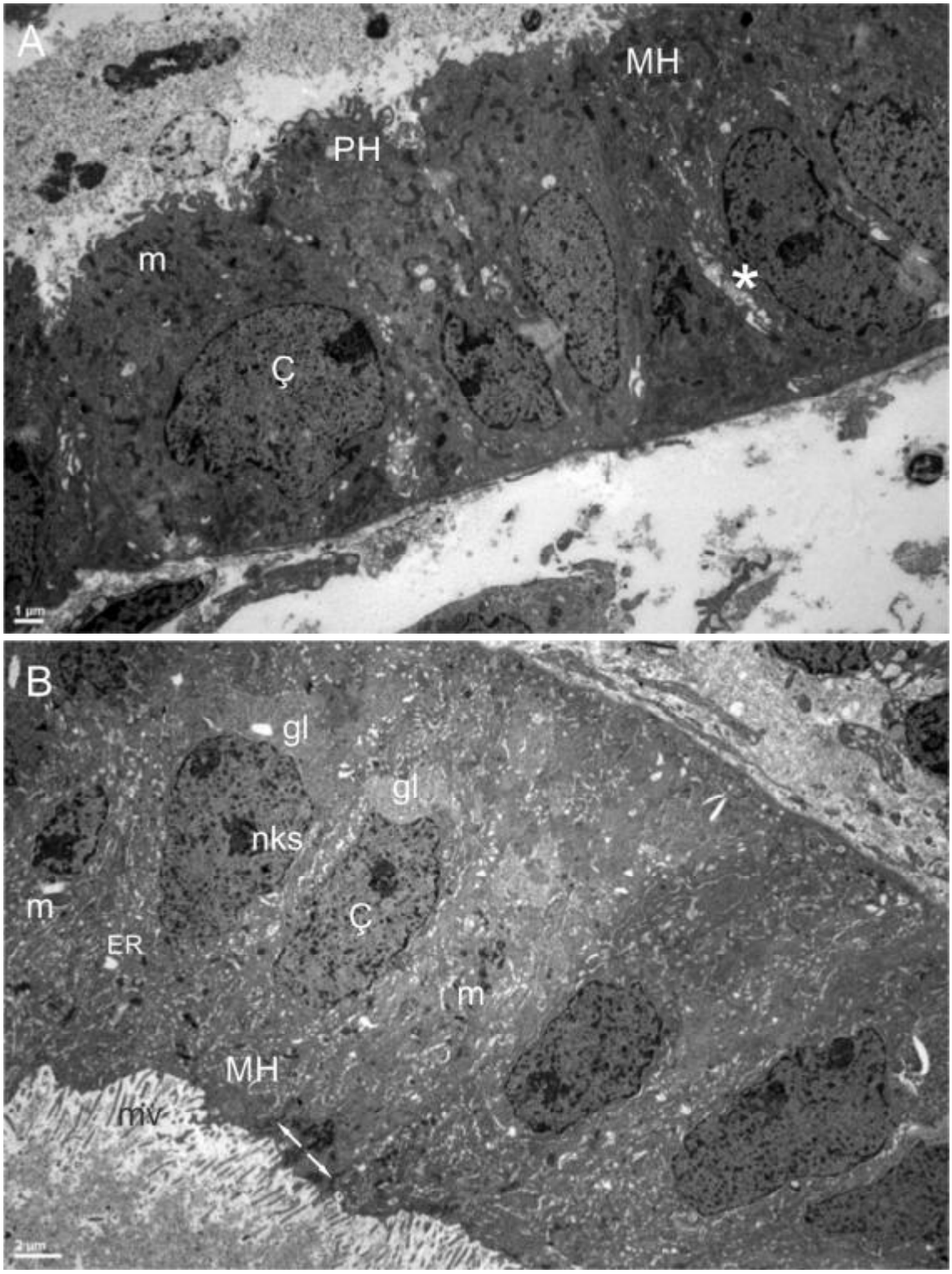


Şekil 19: Fertil 7.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü. A, B: Fertil gruba ait 7.gün endometriyumda yaygın pinopodlu (PH) ve mikrovillüslü (MH) hücreleri içeren bez epiteli normal olarak görülmekte. Çekirdek (Ç), nükleolar kanal sistemi (nks), mitokondriyonlar (m), mikrovillüsler (mv), glikojen kümeleri (gl), lümen (Lmn). (Bar: A, B= 0,2µm).

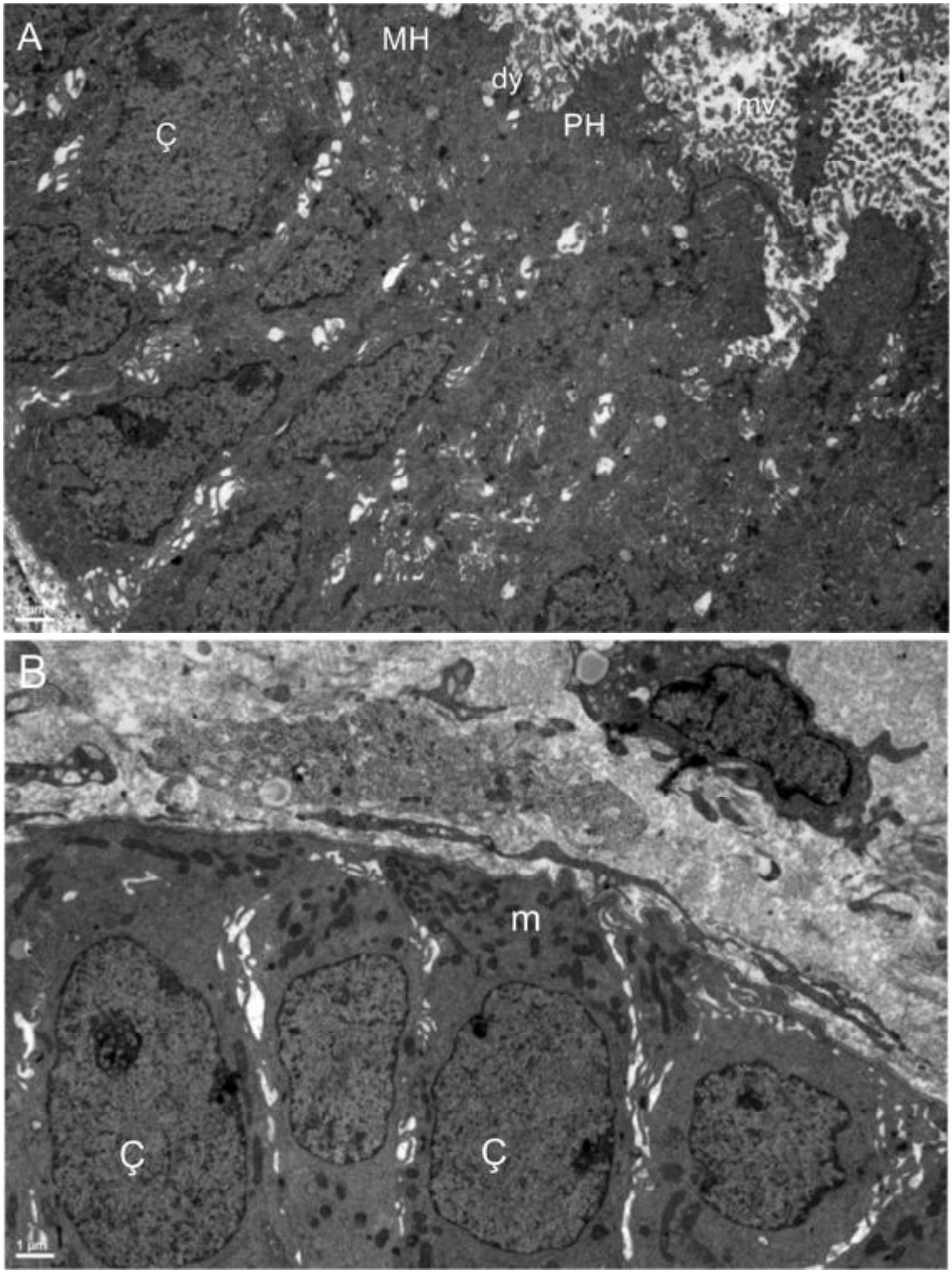
Sitoplazmalarında glikojen partiküllerinin oldukça arttığı, bazal ve apikal sitoplazma ile perinüklear alanlarda yoğun kümeler teşkil ettiği izlendi (Şekil 19B).

İnfertil grupta bezleri döşeyen epitel hücrelerinin boylarının kısaldığı ve çoğunlukla apikal yüzeyi düzgün mikrovillüslü hücrelerden oluştuğu görülmekteydi (Şekil 20A, 20B). Seyrek olarak görülen pinopodlu hücrelerin ise yaygın mikrovillüsler içerdiği görülmekteydi (Şekil 21A). Bazı bez epitel hücrelerinde ise apikal çıkıntıların iyi gelişmediği, bununla birlikte bazal sitoplazmada yoğun şekilde glikojen kümelerini içerdiği ayırt edilmekteydi (Şekil 20B). Pinopodların gelişmiş olduğu bez epitel hücrelerinde hücrelerarası mesafenin oldukça genişlemiş olduğu dikkati çekti (Şekil 21A).

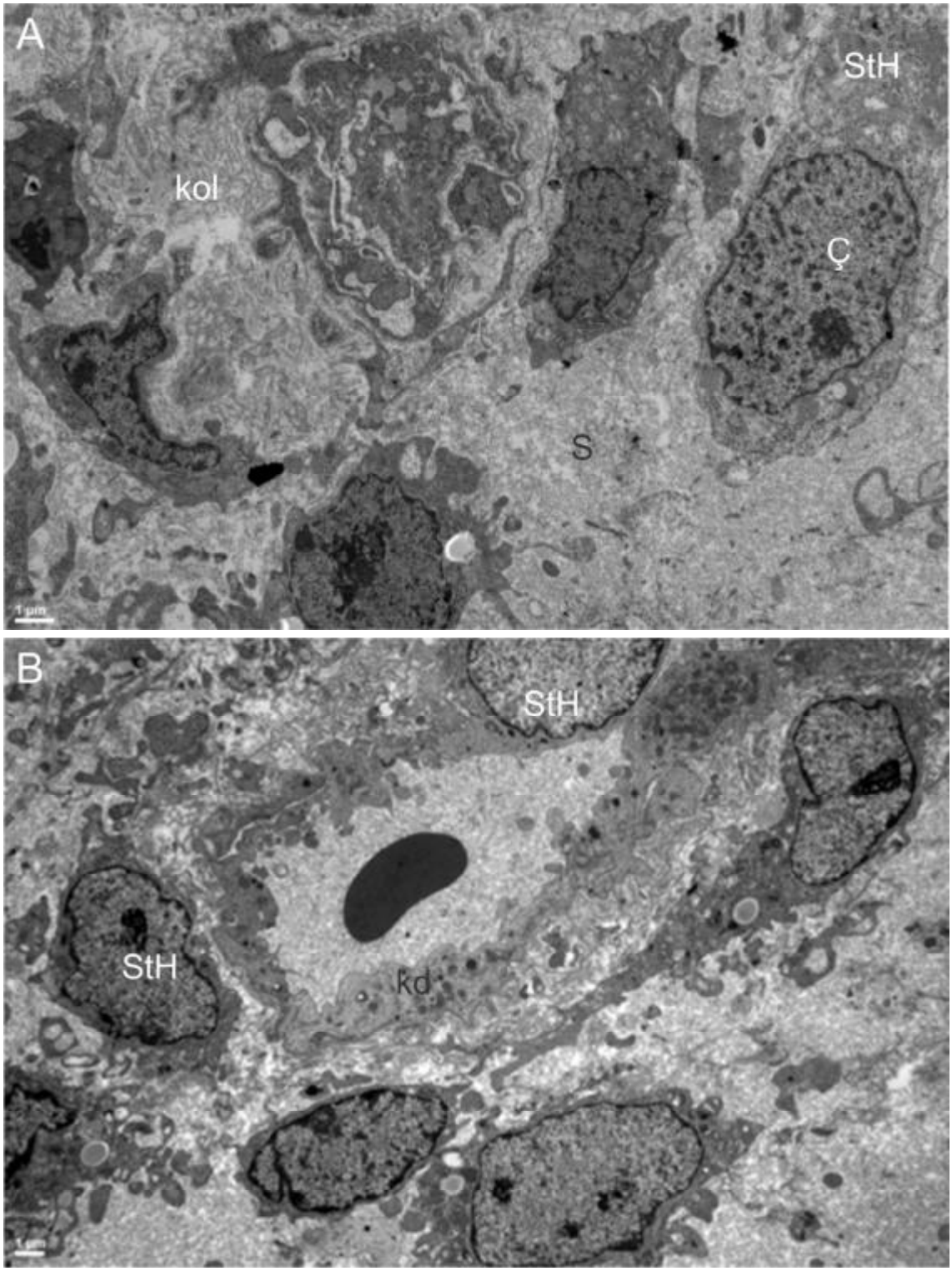
Fertil grupta endometriyal stroma, hücresel açıdan yoğun ve ödematöz bir yapıdaydı. Endometriyal stroma içerisinde stromal hücrelerin oval ya da yuvarlak çekirdeğe sahip olduğu gözlenmekteydi. Stromal hücrelerin çekirdekleri ökromatik görünümde olup, çekirdek içerisinde belirgin çekirdekçiğin varlığı izlenmekteydi. Çekirdek kılıfı yer yer çekirdek içerisine doğru indentasyonlar göstermekteydi. Bazı stromal hücrelerin sitoplazmasında çeşitli büyüklükte vakuollerin varlığı göze çarpmaktaydı. Stromal hücrelerin sitoplazmalarında az sayıda mitokondriyonlar, GER sisternaları, birkaç lipit damlacığı ve glikojen partikülleri ayırt edilmekteydi. Hiperkromatik çekirdeğe sahip mononüklear fagositer sisteme ait hücrelerin epitele yakın yerleşimli bulunduğu gözlenmekteydi. Stromada ayrıca çok sayıda kan damarı, fibroblast, makrofaj ve lenfosit varlığı da göze çarpmaktaydı. Kollajen lif açısından zengin bir stroma görülmekteydi (Şekil 22A). İnfertil grupta stromal hücrelerin oldukça genişlemiş, ökromatik çekirdeğe sahip olduğu ve sitoplazmalarında glikojenden zengin bir görünümde olduğu gözlenmekteydi. Stroma içinde ayrıca makrofaj ve lenfosit yoğunluğu da dikkati çekmekteydi. Bu dönemde stromal ödemin de oldukça artmış olduğu izlendi (Şekil 22B).



Şekil 20: İnfertil 7.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B İnfertil gruba ait 7.gün endometriyumunda yaygın mikrovillüslü (MH) ve ender pinopodlu hücreleri (PH) içeren bez epiteli genişlemiş hücrelerarası mesafeler (*) ile izlenmekte. Çekirdek (Ç), nükleolar kanal sistemleri (nks), endoplazmik retikülüm sisternaları (ER), mitokondriyonlar (m), glikojen partikülleri (gl), apikolateral bağlantı kompleksleri (ok). (Bar: A=1 µm,B=2 µm).



Şekil 21: İnfertil 7.gün endometriyum bez epiteli elektron mikroskobik görünümü. A,B: İnfertil gruba ait 7.gündeki endometriyumda mikrovillüslü (MH) ve pinopodlu (PH) hücreleri içeren bez epiteli gözlenmekte. Mitokondriyonlar (m), çekirdek (Ç), elektron dens yapılar (dy), mikrovillüs (mv). (Bar: A,B=1 µm).



Şekil 22: Fertil (A) ve infertil (B) 7. gün endometriyum stroması elektron mikroskobik görünümü. Ovulasyondan sonra 7.gündeki fertil (A) ve infertil (B) kadınlardaki endometriyum stromasında (S) stromal hücreler (StH), kollajen lifler (kol) ve kan damarları (kd), çekirdek (Ç) normal olarak görülmekte. (Bar: A,B=1 µm).

5.TARTIŞMA

İmplantasyon, endometriyum ile embriyo arasında gerçekleşen bir dizi karmaşık diyalog ile embriyonun endometriyum epiteline tutunması ve bazal membranı aşındırarak stromaya gömülmesi süreçlerini içermektedir (81, 82, 83). Kadında siklik değişiklikler gösteren endometriyum büyük oranda hormonların etkisi ile yapısal ve fonksiyonel değişikliler göstererek implantasyona hazır hale gelir. Endometriyumun blastokisti kabul ettiği bu periyoda implantasyon penceresi adı verilir (41). Bu dönemde, özellikle endometriyal yüzey epitelinin ileri gelişimi; blastokistin appozisyonu, tutunması ve invazyonunda büyük önem taşımaktadır. Kaya ve arkadaşları bu çok yönlü kompleks süreçte meydana gelebilecek herhangi bir aksaklığın implantasyonun gerçekleşmesini engelleyerek, yardımla üreme teknikleri uygulamalarında başarısızlığa sebep olabileceğini bildirmişlerdir (84). Araştırmamızda fertil ve açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınların kan örneklerinden elde edilen hormon profilleri ile ovulasyondan sonra 5, 6 ve 7. günlerde elde edilen endometriyum biyopsileri ışık ve elektron mikroskobik düzeyde karşılaştırıldığında iki grup arasında belirgin farklılıkların olduğu görüldü.

Çalışmamızda menstrüel siklusun ikinci ve üçüncü gününde alınan kan örneklerinde ölçülen bazal FSH, LH, TSH ve E2 değerleri, over rezervinin belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Klinik olarak, bazal FSH değeri <10-15 mIU/mL normal değer olarak belirlenmiştir (85). İlerleyen yaş ile birlikte, overin gonadotropik hormonlara cevap yeteneğinin azalmasına bağlı olarak FSH seviyesi yükselmektedir. Menstrüel siklusun 3. gününde FSH düzeyinin artmış olması, over rezervinin azaldığının bir göstergesidir. Aynı zamanda, klinik olarak bazal LH seviyesi ≤10 mIU/mL olarak tanımlanmaktadır (86). Ashkenazi ve arkadaşları, hem doğal hem de tedavi sikluslarında yüksek endojen LH düzeylerinin, infertilite ve düşük oranlarını artırdığını bildirmektedirler (87). Aynı zamanda siklusun 3. gününde yapılan testlerle belirlenen FSH/LH oranının over rezervinin değerlendirilmesinde kullanılabileceği, yüksek FSH/LH oranın azalan over rezervinin bir göstergesi olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (88). Östradiol

kan serum seviyesi <80 pg/mL ise klinik olarak normal değer kabul edilmektedir (85). Ayrıca, siklusun 3. gününde ölçülen bazal E2 seviyesinin de yardımcı üreme tekniklerinde, fonksiyonel over rezervinin indirekt bir belirteci olabileceği varsayılmaktadır (88). Yapılan çalışmalarda TSH değeri >2.5 mIU/ mL olan olguların sıklıkla kendiliğinden gebe kalamayan ya da gebe kalmada geciken olgular olduğunu göstermiştir (88). Fertil ve infertil gruplar arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmasına rağmen, normal referans aralığında yer alan bazal FSH, LH, TSH, E2 hormon değerleri over rezervinin normal sınırlarda olduğunu ve açıklanamayan infertilite tanısını destekler niteliktedir. Ovulasyondan sonra 5.,6. ve 7. günlerdeki FSH, LH ve TSH değerleri ise her iki grup arasında fark göstermezken, prolaktin değerleri infertil grupta belirgin bir şekilde yüksek olarak bulunmuştur. Hipofizin dışında, desidual hücrelerin de menstrüel siklusun 23. gününden itibaren prolaktin salgılama kapasitesine sahip oldukları ve bu salgılamanın progesteron hormonuna bağımlı olduğu bildirilmektedir (89). Tüm infertil gruplarda prolaktin hormonunun fertil gruptakilere göre daha yüksek olması, bu hormonun stromal hücrelerden zamanından önce salgılandığını düşündürdü. Yüksek oranda prolaktin salgılanması; stromal hücrelerin progesteron hormonuna cevabındaki bozukluktan kaynaklanabileceği gibi infertil hastaların tedavi öncesi ve tedavi sürecinde yaşadığı yoğun stresten de kaynaklanabileceğini düşündürdü. Nitekim Csemiczky ve arkadaşları da stres durumlarında kadınlarda prolaktin değerinin arttığını rapor etmişlerdir (90).

Çalışmamızda, fertil ve infertil kadınların endometriyum dokularının ışık ve elektron mikroskobik değerlendirilmesinde endometriyal yüzey ve bez epitel hücrelerinin belirgin yapısal farklılıklar gösterdiği saptandı. Bu farklılıklar infertil kadınlarda luminal epitelde şekil değişiklikleri, intraepitelyal lenfositlerde artış, pinopodlu hücrelerin oran ve yapısal görünümündeki farklılıklar ile karakterizeydi. Fertil kadınların endometriyumlarının, tüm gruplarda basit prizmatik epitel ile döşeli olduğu, açıklanamayan infertilite tanısı konulan grupta ise yüzey epitelinin bazı alanlarda basit prizmatik şekilli, bazı alanlarda alçak prizmatik şekilli, bazı alanlarda ise psödostratifiye veya çok katlı epitel odakları içerdiği gözlendi. Bartosch C. ve arkadaşları (2010), ovulasyondan sonra 5 ve

6. Günlerde endometriyum yüzeyinin dört tip hücre içeren basit prizmatik epitelden oluştuğunu rapor etmişlerdir (4). Basit prizmatik epitelde hücrelerin boylarının kısalarak alçak prizmatik hal alması geç sekretuvar fazda gözlenebilen bir yapısal değişiklik olarak tanımlanırken (17), psödostratifiye hal alması ise proliferatif evreye has bir yapısal özellik olarak tanımlanmaktadır (91, 92). Erken ve orta sekretuvar fazda olan endometriyal epiteldeki bu değişiklikler, hücrelerin steroid hormonlara olan cevabında bozukluk olabileceğini düşündürdü. Diğer taraftan infertil kadınlarda endometriyal yüzey epitelinin yer yer çok katlı epitel halini alması ise bu alanlarda metaplazinin geliştiğini düşündürdü. Stringfellow, metaplazinin; hücrelerin bir organda bulunmayan hücre tipine dönüşmesi olarak tanımlamış ve endometriyumdaki prizmatik şekilli epitel hücrelerinin bazı durumlarda rezerv veya bazal hücrelere dönüşerek metaplaziye neden olabileceğini rapor etmiştir. Ayrıca metaplazinin kronik endometrit, rahim içi araç, endometriyal polip, hormonal düzensizlik veya sebebi bilinmeyen patolojilerle ilişkili olarak gelişebileceği bildirilmiştir (93). Ancak sunulan çalışmaya dahil edilen kadın hastaların hiçbirinde endometrit, rahim içi araç kullanımı, polip ve belirgin bir hormonal düzensizlik olmadığı, hasta seçimi sırasında kesin olarak tespit edilmiş ve bu durumda olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Bu odakların elektron mikroskobik incelemelerinde, epitel hücrelerinin kübik şekilli olup, 5-6 hücre tabakasından oluştuğu ve yüzeyel tabakadaki hücrelerin apikal yüzeylerinde mikrovillüs ve silya içerdiği dikkati çekti. Yüzeyel tabakada epitelyal hücre yüzeyi özelleşmelerinin varlığı ise daha önce tarif edilen skuamöz metaplaziden farklılık göstermekteydi (93). Bu alanlar belki de skuamöz metaplazinin erken evresi olarak tanımlanabilir. Ayrıca bu hücrelerin çok sayıda dezmozom ile birbirlerine tutunduğu gözlendi. Sarani ve arkadaşları çalışmalarında LH+6 günde dezmozomların sayısının oldukça azaldığını ve bu azalmanın blastokistin luminal epitele invazyonuna yardımcı olduğunu ileri sürmüştür (94). Endometriyal epitelin yer yer çok katlı hal alması ve siklusun bu döneminde azalması beklenen dezmozomların tüm epitel tiplerinde artmış olması, embriyonun endometriyuma tutunması ve gömülmesi süreçlerini olumsuz etkileyebileceğini düşündürdü.

İnfertil kadınların luminal epitelinde intraepitelyal lenfositlerin fertil kadınlardakilere oranla daha yaygın görüldüğü dikkati çekti. Pace ve arkadaşları granüllü ve granülsüz intraepitelyal lenfositlerin epitel hücreleri arasında bulunduğunu, granüllü intraepitelyal lenfositlerin proliferatif ve erken sekretuvar fazdaki endometriyumda az sayıda bulunduğunu, bunların sayılarının geç sekretuvar ve erken gebelik döneminde arttığını, granülsüz intraepitelyal lenfositlerin ise erken ve geç sekretuvar dönemde sayılarının arttığını rapor etmişlerdir (95). Morris ve arkadaşları ise araştırmalarında intraepitelyal lenfositlerin T lenfositler olduğunu ve B lenfositlerin luminal ve bez epitelinde yer almadığını rapor etmişlerdir (96). Peters, insan tuba uterina ve serviks dokularında yaptığı çalışmasında bu iki dokunun luminal epitelinde bazal hücrelerin bulunduğunu ve bu bazal hücrelerin serviksin, basit prizmatik epitelden çok katlı epitele geçiş bölgesinde oldukça yaygın olduğunu ve bunların T lenfositler olduğunu ileri sürmüştür (97). Gamma/delta T lenfositlerin intraepitelyal lenfositler olarak da adlandırıldığı ve epitelyal dokularda mikroorganizmalara karşı savunma hattı oluşturdukları dikkate alındığında infertil kadınlarda tüm gruplarda gözlenen intraepitelyal lenfositlerin koruma amaçlı artmış olabileceğini düşündürdü.

Fertil ve infertil gruplardaki yüzey epiteli içerisinde bulunan hücre tiplerinin birbirine olan oranları ve ultrastrüktürel özellikleri karşılaştırıldığında tüm infertil gruplarda pinopodlu hücrelerin fertil gruplardakine oranla daha seyrek olarak görüldüğü ve pinopodların yapısal olarak daha düzensiz, dar ve kısa olduğu dikkati çekti. Bartocsh ve arkadaşları mikrovillüslü hücreler, pinopodlu, vesiküllü ve silyalı hücrelerin oranlarının, hormonal etki ile menstrüel siklusta değişiklik gösterdiğini belirterek, silyalı hücrelerin proliferatif fazda yaygın olduğunu, sekretuvar fazda azaldığını, mikrovillüslü hücrelerin erken sekretuvar fazdan itibaren pinopodlu ve vesiküllü hücrelere farklandığından sayılarının azaldığını rapor etmiştir (4). İnfertil kadınların endometriyumunda yaptığımız ultrastrüktürel değerlendirmeler sonucunda, mikrovillüstan zengin hücrelerin daha yaygın olduğu dikkate alındığında mikrovillüslü hücrelerin zamanında pinopodlu ve vesiküllü hücrelere farklanamadığı kanaatine varıldı. İmplantasyon penceresinin ince yapı belirteçleri olarak kabul edilen pinopodlar,

epitelyal hücrelerin apikal sitoplazmalarının uterin lümene doğru yaptığı çıkıntılar olarak tanımlanmıştır (98). Ayrıca pinopodların; implantasyon sırasında blastokist ile luminal epitel arasındaki ilişkiyi sağlayan yapılar olduğu ve endometriyal reseptivitenin biyolojik belirteçleri olduğu kabul edilmektedir (99). Ayrıca pinopodların oluşumu ve fonksiyonu ile ilgili birbiri ile çelişen araştırmalar da bulunmaktadır. Bu araştırmaların bazılarında, insanda pinopodların menstrüel siklusun 20-21. Günlerinde geliştiğini ve sadece 24-48 saat süre ile varlıklarını sürdürdükleri rapor edilirken (41), bazılarında ise ovulasyondan kısa süre sonra gelişerek luteal faz boyunca varlıklarını sürdürdükleri bildirilmiştir (100). Novotny ve arkadaşları ise, yaptıkları çalışmalarda erken ve orta sekretuvar fazda kadınların luminal epitelinde pinopodları gözlediklerini rapor etmişlerdir (101). Bununla birlikte pinopodların ultrastrüktürel özellikleri ile ilgili raporlar da birbiri ile çelişmektedir. Bazı araştırmacılar pinopodların mikrovillüs ve organel içermeyen apikal sitoplazmik çıkıntılar olarak tanımlarken (4), bazıları mikrovillüs ve membranöz organeller içerdiğini rapor etmekte (102), bazıları ise pinopodların ilk geliştiğinde yüzeyinde mikrovillüsler içerdiğini, olgunlaştığında mikrovillüslerini yitirdiğini, gerileme döneminde ise yeniden mikrovillüsler içerdiğini vurgulayarak luteal faz boyunca değişiklik gösterdiğini bildirmiştir (100). Sunulan çalışmada organel ve mikrovillüs içermeyen pinopodları yalnızca ovulasyondan sonra 5. gündeki infertil kadınların luminal epitelinde gözledik. Diğer tüm gruplarda gözlediğimiz pinopodlu hücreler apikal yüzeylerinde mikrovillüslere sahip olup sitoplazmada mitokondriyon ve lizozomal yapılar gibi organelleri içermekteydi. Ancak fertil ve infertil kadınlardaki eş günlerdeki pinopodlu hücreler yapısal olarak karşılaştırıldığında infertil kadınlarda daha kısa ve dar hacimli oldukları ve hücrenin tüm apikal kısmını kaplamadıkları dikkati çekti. Xu ve arkadaşları, tekrarlayan gebelik kayıpları olan kadınlar ile fertil kadınların LH+7 ve LH+8 günlerdeki pinopod morfolojilerini SEM yöntemi ile karşılaştırdıklarında pinopodların morfolojisi ve kapladığı alan açısından iki grup arasında önemli fark olmadığını rapor etmektedirler (99). Novotný ve arkadaşları ise, pinopodların sıklığının ve kapladığı alanın farklı protokollerle indüklenen kadınlar ve normal menstrüel siklustaki kadınlar arasında farklılık gösterdiğini ve

bu farklılığın bireysel plazma steroid düzeyleri arasındaki farklılıktan kaynaklanabileceğini rapor etmişlerdir (101). Pinopod gelişiminin, progesteron hormonuna bağımlı olduğu (100) ve yüksek doz östrojenin pinopod formasyonunu olumsuz etkilediği (103) dikkate alındığında, infertil kadınlarda gözlediğimiz pinopodlu hücrelerin daha seyrek bulunması ve pinopodlar ile ilişkili yapısal değişiklikler; muhtemelen bireysel steroid hormonların düzensizliği veya bu hücrelerin steroid hormonlara yetersiz cevabı sonucunda gelişmiş olabilir ve implantasyon başarısızlığının sebeplerinden birisini teşkil edebilir.

Ayrıca fertil ve infertil kadınların endometriyumlarında, yüzey ve bez epitelinde mikrovillüsden zengin hücrelerin bazal veya apikal sitoplazmalarında dev mitokondriyonların varlığı gözlendi. Armstrong ve arkadaşları (1973) menstrüel siklusun 13-22. günlerinde endometriyumda glandular epitelde dev mitokondriyonları tanımlamışlar ve bu mitokondriyonların steroid hormonlara cevap olarak, normal mitokondriyonların füzyonu sonucu oluşabileceğini bildirmiştir (104). Her iki grupta da gözlenen dev mitokondriyonlar normal yapısal bulgular olarak değerlendirildi. Bazı alanlarda ise normal ve dev mitokondriyonların endoplazmik retikülüm sisternaları ile yakın ilişkili olduğu, adeta endoplazmik retikülüm sisternaları tarafından kuşatıldığı görüldü. Otafagozom oluşumu sırasında organeller ve yakın sitoplazmik alanın endoplazmik retikülüm sisternaları ile çevrelendiği ve sonrasında lizozomal enzimlerle sindirilerek ortamdan uzaklaştırıldığı bilindiğinden (12) işlevini yitirmiş mitokondriyonların ve yakın sitoplazmik alanın otofagozom oluşumu ile ortamdan uzaklaştırıldığını düşündürmektedir. Nitekim insan endometriyumunda otofajinin rolünü araştıran Choi ve arkadaşları, endometriyal bezlerde otofaji ile ilişkili proteinin sekretuvar faz boyunca artan seviyelerde ifade edildiğini rapor etmişlerdir (105). Tüm bu değerlendirmeler dikkate alındığında, bazı alanlarda epitel hücrelerinin sitoplazmalarında gözlenen otofagozomların bu dönemde epitel hücrelerinin yüksek fonksiyonel aktivitesi sonucunda, normal olarak gelişebileceği sonucuna varıldı.

Araştırmamızda infertil ve fertil kadınlarda bez ve yüzey epitelinde mikrovillüslü, pinopodlu ve vesiküllü hücrelerin çekirdeklerinde iyi gelişmiş nükleolar kanallar sistemi izlendi. Nükleolar kanal sistemi; orta sekretuvar fazda,

endometriyal epitel hücrelerinin çekirdeklerinde, çekirdekçik ve çekirdek kılıfı ile ilişkili, tübüler membran sisternaları tabakaları olarak tanımlanmıştır (33). Bergeron, nükleolar kanal sisteminin progesteron etkisi ile nüklear membranın çekirdek içerisine doğru invaginasyonu ile oluştuğunu ve sitoplazmaya nüklear RNA transportunu hızlandırdığını rapor etmiştir (106). Ayrıca, Salmani ve arkadaşları endometriyal epitel hücrelerine özgü olan ve implantasyon penceresinin belirteçlerinden biri olarak kabul edilen nükleolar kanal sisteminin mRNA'nın hızlı transportu ile ilgili olduğu ve dinamik sekretuvar faaliyet için gerekli olduğunu bildirmiştir (19). Clyman, nükleolar kanal sisteminin sekretuvar faz endometriyumunda menstrüel siklusun 16-26 günleri arasında geliştiğini ve gelişiminin progesteron bağımlı olduğunu bildirmektedir (107). Zapantis ve arkadaşları ise, kontrollü ovariyan hipersitümülasyon uygulanan kadınlarda nükleolar kanal sisteminin vaktinden önce geliştiğini rapor ederken (108), Dockery ve arkadaşları ise, nedeni belirlenemeyen infertilite tanısı konulan kadınlarda epitel hücrelerinde nükleolar kanal sisteminin gelişiminin geciktiğini rapor etmiştir (109). Ancak sunulan çalışmada hem infertil hem de fertil grupta 5, 6 ve 7. günlerde nükleolar kanal sisteminin iyi geliştiğini gözlemledik.

Fertil ve infertil kadınlarda tüm gruplarda yüzey ve bez epitel hücrelerinin apikal ve bazal sitoplazmalarında yaygın glikojen kümelerinin varlığı izlendi. Yapılan araştırmalarda epitel hücrelerinde glikojen birikiminin sekretuvar aktivitenin önemli bir belirleyicisi olduğu vurgulanmış, LH pikinden 3 gün sonra glikojenin, epitel hücreleri sitoplazmasında subnüklear konumda birikmeye başladığı, LH+6 günde ise büyük kümeler halinde hücrenin apikal bölgelerinde görüldüğü rapor edilmiştir (110). Ayrıca, menstrüel döngünün 17. gününde endometriyal bez hücrelerinde glikojen kümeleri sadece subnüklear alanda yerleşim gösterirken, 18. günde subnüklear ve supranüklear alanlarda görülebildiği, 19. günde ise yalnızca supranüklear bölgede yerleştiği rapor edilmektedir (38). Oysa biz ovulasyondan sonraki 5., 6. ve 7. günlerde apikal, perinüklear veya bazal sitoplazmada glikojen partiküllerinin oluşturduğu kümelerin varlığını gözledik.

Endometriyumun yüzey ve bez epitelindeki MUC-1 immünoreaktivitesi yarı kantitatif olarak değerlendirildi ve infertil gruplarda yüzey epitelinde daha

zayıf, bez epitelinde ise daha güçlü MUC-1 immünoreaktivitesi gözlenmesine rağmen, istatiksel analizler sonucunda fertil ve infertil gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı (Tablo 7). MUC-1'in endometriyal epiteldeki hücrelerin sitoplazmasında, mikrovillüslü ve silyalı hücrelerin apikalinde bulunan glikokalikste ve bezlerin lümenine atılan salgıda bulunduğu immünoelektron mikroskobik çalışmalarla gösterilmiştir (111). MUC-1 luminal epiteldeki glikokaliks içerisinde, hücre membranı ile dış çevre arasında, mikroorganizmalara, toksinlere ve proteolitik saldırılara karşı koruyucu bir bariyer olarak fonksiyon görmektedir (10, 111). Aplin, MUC-1 in menstrüel siklusun proliferatif evresinde düşük seviyelerde olduğunu, ovulasyondan sonra ise progesteronun etkisi ile artarak LH yükselmesinden 6-8 gün sonra, implantasyon penceresi döneminde en yüksek seviyeye çıktığını rapor etmiştir (111). MUC-1'in implantasyon sırasında maternal hücreler ve sağlıklı embriyo hücreleri arasındaki parakrin sinyaller ile ortamdan uzaklaştırıldığı ve bu alanda implantasyonun gerçekleştiği, kötü kalitedeki embriyo hücrelerinin MUC-1'i ortamdan uzaklaştıramadığı için implantasyonun gerçekleşemediği ileri sürülmektedir (10, 111). Zayıf veya bozuk gelişmiş MUC-1 ise anormal embriyoların implantasyonuna izin vereceğinden, tekrarlayan gebelik kayıplarına neden olabileceği bildirilmektedir (10). Ayrıca, Xu ve arkadaşları da, tekrarlayan gebelik kayıpları olan kadınlarda MUC-1in immünohistokimyasal olarak oldukça zayıf ifade edildiğini bildirmişlerdir (99). Sunulan çalışmada ise MUC-1 immünreaktivitesi iki grup arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark göstermemekteydi.

İnfertil kadınlardaki endometriyal bezlerin ışık mikroskobik değerlendirilmesinde fertil kadınlardaki eş zamanlı örneklere göre daha seyrek ve daha az kıvrıntılı olduğu saptandı. Kıvrıntılı endometriyal bezler; sekretuvar fazın belirgin özelliklerinden biri olarak kabul edilmekte olup, ovulasyondan sonra korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisi ile bezlerin genişleyip, ileri derecede kıvrıntılı hal aldığı ve glikojen ve glikoproteinden zengin mukoid karakterde salgı yaptığı bilinmektedir (12). Yapılan çalışmada tanımlanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda, dolaşımdaki normal progesteron düzeylerine rağmen, endometriyal bezlerin salgı aktivitelerinin azalarak bozulduğu rapor

edilmekdedir (113). Ayrıca infertil grupta ovulasyondan sonra beşinci günde endometriyal bezlere ait elektronmikrograflarda bazı alanlarda bez epitel hücreleri arasında yer yer mitotik figürlerin varlığı da dikkat çekiciydi. Bergeron, sekretuvar fazın ovulasyondan sonra başladığını, normal menstrüel siklusta 14-28. günler arasında olduğunu, ilk değişikliklerin progesteron hormonu etkisi ile bezlerde gelişerek, DNA sentezi ve mitozun önce azaldığı ve sonra tamamen durduğunu rapor etmiştir (106). Dolayısı ile bez epitel hücrelerinde mitoz bölünmenin devam etmesi, hücrelerin progesteron cevabında bozukluk olduğunu düşündürmektedir.

Fertil ve infertil kadınlardaki endometriyal stroma karşılaştırıldığında, iki grup arasında önemli yapısal farklılık olmadığı, her iki grupta da stromal hücrelerin predesidual hücre karakterini kazandığı, kollajen liflerin nispeten azaldığı, hücreler arası matriksin ödematöz hal aldığı, lökositler ve makrofajların normal olarak varlığını sürdürdüğü görüldü. Nitekim Li ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada tanımlanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda endometriyal stromanın normal kadınlardakinden farklı olmadığını rapor etmiştir (113).

Sonuç olarak tanımlanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda ovulasyondan sonra 5, 6 ve 7. günlerde biyokimyasal ve yapısal bulgular değerlendirildiğinde; infertil kadınlarda prolaktin hormonunun yükseldiği, yüzey ve bez epitelinde yer yer epitel tipi değişiklikleri ile birlikte epitel hücrelerinde ultrastrüktürel farklılıklar geliştiği gözlendi. Bu değişikliklerin muhtemelen epitel hücrelerinin steroid hormonlara cevabındaki bozukluktan kaynaklanabileceği kanaatine varıldı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlar ile fertil kadınların biyokimyasal verileri ve implantasyon penceresi dönemindeki endometriyum dokuları ışık ve elektron mikroskobik düzeyde incelenerek, karşılaştırıldığında;

1. İnfertil kadınlarda prolaktin hormon seviyesinin daha yüksek olduğu,
2. İnfertil kadınlarda östrojen hormon seviyesinin ovulasyondan sonra 7. günde fertil kadınlardakine göre azaldığı,
3. Fertil ve infertil kadınlarda yüzey ve bez epitel hücrelerindeki MUC-1 immünreaktivitesi açısından fark olmadığı,
4. Fertil ve infertil kadınların endometriyumlarındaki yüzey ve bez epitelinin genellikle basit prizmatik epitelden oluştuğu ve epitel içerisinde; mikrovillüslü, pinopodlu, vesiküllü ve silyalı hücrelerin bulunduğu,
5. Tüm infertil gruplarda yüzey epitelinin yer yer psödostratifiye ve çok katlı epitel yamaları içerdiği,
6. İnfertil kadınların endometriyal yüzey epitelinde dezmozom tipi bağlantıların arttığı,
7. İnfertil hastaların basit prizmatik tipteki yüzey epitelinde; mikrovillüsden zengin hücrelerin yaygın, pinopodlu ve vesiküllü hücrelerin daha seyrek olarak görüldüğü,
8. İnfertil kadınlarda pinopodlu hücrelerdeki pinopodların düzensiz, dar ve kısa olduğu,
9. İnfertil kadınların yüzey ve bez epitelinde intraepitelyal lenfositlerin fertil kadınlara oranla daha yaygın görüldüğü saptandı.

Bütün bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde; açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda implantasyon penceresi döneminde görülen tüm bu yapısal farklılıklar bu dönemde gerçekleşen implantasyonu engellediğinden, kadınlarda infertiliteye neden olmaktadır. Endometriyal epitelin steroid hormonlar ile ilişkili olarak siklus boyunca değişime uğradığı dikkate alındığında

bu kadınlarda epitel hücrelerinin steroid hormonlara duyarlılığı önem kazanmaktadır. Özellikle bu kadınlarda epitel hücrelerinini steroid hormon reseptörleri açısından, yeni çalışmalar ile değerlendirilmesi, bu yapısal farklılıkların gelişim nedenlerini açıklamada katkı sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. **Speroff L, Fritz MA.** Clinical gynecologic endocrinology and infertility. *Philadelphia, Lippincott Williams& Wilkins.* **2005.**

2. **Berek JS, Novak E.** Berek&Novak's gynecology. Philadephia. *Lippincott Williams&Wilikins*. **2007.**

3. **Lindhard A, Bentin-Ley U, Ravn V, Islin H, Hviid T, Rex S, Bangsboll S, Sorensen S**. Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. *Fertil Steril.* **2002; 78**(2):221-33.

4. **Bartosch C. Lopes J.M., Beires J. and Sousa M.** Human endometrium ultrastructure during the implantation window: A new perspective of the epithelium cell types. *Reproductive Sciences*, **2011**; 18(6):525-539.

5. **Aghbajanova L, Hamilton AE, Giudice LC.** Uterine receptivity to human embriyonic implantation: histology, biomarkers and transcriptomics. *Semincell Dev. Biol.,***2008**; 19:204-211.

6. **Noyes RW, Hertig AT, Rock J**. Dating the endometrial biopsy. *Am J Obsstet Gynecol* **1975**;122(2):262-3.

7. **Makrigiannakis A, Minas V.** Mechanisms of implantation. *Reprod Biomed Online* **2007**;14:102-9.

8. **Rashid NA, Lalitkumar S,Lalitkumar PG, Gemzell-Danielson K**. Endometrial Reseptivity and Human Embryo İmplantation. *Am J Reprod İmmology*, **2011**; 66(1):23-30.

9. **Guidice LC.** Potencial biochemical markers of uterine receptivty. *Human Reprod*. **1999**; 14 (2):3-16.

10. **Meseguer, A Pellicer and C Simón.** MUC1 and endometrial receptivity. *Mol. Hum*. *Reprod*. **1998**; 4(12):1089-1098.

11. **Aplin JD**, **Meseguer M, Simon C, Ortiz ME,Croxatto H, Jones CJ**. MUC-1, glycans and the cell- surface barrier to embryo implantation. *Biochem Soc. Trans.* **2001;**29(2):153-156

12. **Roos MH, Kaye GI, Pawlina W.** *Famale Reproductive System. Histology A Text And Atlas With Cell And Molecular Biology*, 40.Ed.,Baltimore: Williams&Wilkins, **2003**;743-63.

13. **Netter FH**. Atlas of Human Anatomy, Icon Learning Systems. **2002**; ISBN : 1929007116

14. Dere F. *Anatomi atlası ve ders kitabı,* Adana. Nobel kitabevi, **2010**; ISBN: 9786053970767

15. Murphy CR. The plasma membrane of uterine epithelial cells: structure and histochemistry, *Prog Histochem Cytochem.* **1993**;27(3):1-66.

16. Murphy CR, Shaw TJ. Plasma membrane transformation: a comman response of uterine epithelial cells during the peri-implantation period. *Cell Biol Int.* **1994**; 18:1115-1128.

17. Jimenez-Ayala M. Jimenez-Ayala B. *EndometrialAdenocarcinoma. Preventation and Early Diagnosis*. Spain: Karger, **2008**: Cytlogy of normal endometrium- cycling and postmenopausal.

18. Nikas G, Makrigiannakis A. Endometrial pinopodes and uterine receptivity, *Ann N Y Acad Sci*. **2003** ;997:120-3.

19. Kabir-Salmani M, Hosseini A, Rezazadeh-Valojerdi M. Endometrial receptivity to Implantation in Humans: Biochemical and molecular aspects. *Yahkhteh Med J.* **2008**; 10: 1-24.

20. Kittur N, Zapantis G, Aubuchon M, Santoro N, Bazett-Jones DP, Meier UT. The nucleolar channel system of human endometrium is related to endoplasmic reticulum and R-rings, *Mol. Biol. Cell.* **2007**; 18(6):2296-304

21. Buchwalow IB, Belyaeva LA, Zavalishina LE. Localization of nucleoside phosphatases (ATPase and 5'-nucleotidase) and nuclear ribonucleoproteins in the human endometric glandular cells during the secretory phase. *Acta Histochem.* **1985**; 77: 205-208.

22. Zmeng W, Shaoxia C. Ultrastructure of glandular epithelium of normal human endometrium. *Journal of Jinan University.* **1991**;2

23. Aplin J.D. *The cell biological basis of human implantation*. Bailliere's Best Practice Research, **2000**:Clinical obstetrics and gynaecology 14, 757-764.

24. Li T.C., Warren A., Hill C.J and Saravelos H. Morphology of the human endometrium in the peri implantation period. Annals New York Academy of Science, **1994**; 734 : 169–184.

25. Kierszenbaum AL. *Histoloji ve hücre biyolojisi Patolojiye Giriş.*Palme Yayıncılık. **2007.**

26. Gartner LP. *Gartner Color Textbook of Histology*. Second Edition. WB Saunders Company, **2001**

27. Öktem Ö. Urman B. Reprodüktif yaşam siklusu: Folikülogenes ve Menstruasyon. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi*, **2012**; 1 (9): 1-24.

28. Murphy CR. The plasma membrane transformation of uterine epithelial cells during pregnancy. *J Reprod Fertil.* **2000**; 55: 23-28.

29. Finn CA, Martin L., The control of implantation, *JReprod.Fertil.* **1974**; 39(1):195-206.

30. Paria BC, Reese J, Das SK, Dey SK. Deciphering the cross-talk of implantation: advances and challenges. *Science.* **2002**; 296: 2185-2188.

31. Aplin JD. Embryo implantation: the molecular mechanism remains elusive. *Reprod Biomed Online*. **2006**; 13: 833-839.

32. Dockery P, Li TC, Rogers AW, Cooke ID, Lenton EA. The ultrastructure of the glandular epithelium in the timed endometrial biopsy. *Hum Reprod.* **1988**; 3: 826-834

33. Spornitz UM. The functional morphology of the human endometrium and decidua. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* **1992**;124:1-99.

34. Dockery P, Pritchard K, Taylor A, Li TC, Warren MA, Cooke ID. The fine structure of the human endometrial glandular epithelium in cases of unexplained infertility: a morphometric study. *Hum Reprod.* **1993**; 8: 667-673.

35. More IA, McSeveney D. The three dimensional structure of the nucleolar chnnel system in the endometrial glandular cell: serial sectioning and high voltage electron microccopic studies. *J Anat.* **1980**:130:673-682

36. Li TC, Rogers AW, Dockery P, Lenton EA, Cooke ID. A new method of histologic dating of human endometrium in the luteal phase. *Fertil Steril.* **1988**; 50: 52-60

37. Moore KL,Persaund TVN. *İnsan gelişiminin başlangıcı, Gametogenesis, Fertilizasyon.* 6. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2002**: Klinik yönleri ile insan embriyolojisi

38. Ferenczy A, Bergeron C. Histology of the human endometrium: from birth to senescence. *Ann. New York Acad. Sci.* **1991**; 622: 6-27.

39. Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, Wolff M. The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum. Reprod. Update,* **2006**;12: 617-630

40. Selam B, Topçuoğlu A. Luteal faz fizyolojisi ve overi stimule eden ajanlarla değişimi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, **2004;** 30 (3): 217-220.

41. Cavagna M, Mantese JC. Biomarkers of endometrial receptivity--a review. *Placenta* **2003.** 24(B):39-47

42. Kimber SJ. Molecular İnteractions at the Maternal- Embriyonic İnterface During the Early Phase of İmplantation. *Sem Reproductive Med*, **2000**; 18 (3):237-253.

43. Matsui N, Kawano Y, Nakamura S, Miyakawa I. Changes in vaskular endothelial growth factor production associated with desidualization by human endometrial stromal cells in vitro. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand*. **2004**; 83:138-143.

44. Okamoto N, Uchida A, Takakura K,Kariya Y, Kaznzaki H, Rittinen L, Koisttinen R,, Seppala M, and Mori T. Suppression by Human Placental Protein 14 of Natural Killer Cell Activity. *Am. J. Reprod. İmmunol,* **1991**; 26 (4): 137-142.

45. Saito S, Saito M, Enomoto M, Ito A, Motoyoshi K, Nakagawa. Human macrophage colony- stimulating factor induces the differentiation of trophoblast. *Growth Factors* **1993**; 9:b11-19.

46. Giudice LC. Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Human Reproduction*, **1999**; 14(2): 3-16

47. Shinetugs B, Runesson E, Bonello NP, Brannstrom M, Norman RJ. Colony stimulating factor-1 concentrations in blood and follicular fluid during the human menstrual cycle and ovarian stimulation: possible role in the ovulatory process. *Hum. Reprod.* **1999**; 14(5): 1302-6

48. Gearing DP, Gough NM, King JA. Molecular cloning and expression of Cdna encoding a murine myeloid leukaemia inhibitory factor (LIF). *Embo. J.* **1987**; 6: 3995-4002.

49. Zhang JG, Zhang Y, Owezarek C. Identification and characterization of two distinct truncated forms of gp 130 and a soluble form of leukaemia inhibitory factor receptor alpha-chain in normal human urine and plasma. *J. Biol. Chem*. **1998**; 273: 10798-10805.

50. Arıcı AMD. *Molecular markers of implantation.* **1997.** Thirtieth Annual Postgrduate Program, Course IV, 21 Century Art. Embracing Change, Cincinnati, Ohio.

51. Vogiagis D, Marsh MM, Fry RC. Leukaemia inhibitory factor in human endometrium trough the menstrual cycle. *J. Endocrinol.* **1996**; 148: 95-102.

52. Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Nikas Y, Hovatta O, Landgren BM. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium. *Fertil Steril.* **2003**;79 (1): 808-814

53. Nachtigall MJ, Kliman HJ, Feinberg RF, Olive DL, Engin O, Arıcı A. The effect of leukemia inhibitory factor(LIF) on trophoblast differentiaion. A potential role in human implantaion. *J Clin Endocrinol Metab* **1996**:81:801-6.

54. Bischof P, Haenggeli L, Campana A. Effect of leukemia inhibitory factor on human cytotrophoblast differentation along the invasive pathway. *Am. J. Reprod. Immunol*. **1995**; 34: 225-30.

55. Elter K, Oral E. İmplantasyon Fizyolojisi ve İmplantasyonu Etkileyen Faktörler. *Obsetetrik ve Jinekoloji Sürekli Eğitim Dergisi*, **2000**;1 (4): 48-63.

56. Hambartsoumain E. Endometrial leukemia inhibitory factor (LIF) as a possible cause of unexplained infertility and multiple failures of impantation. *Am. J. Reprod. Immunol.* **1998**; 39: 137-43.

57. Ferrara N,Gerber HP, Le Couter J. The biology of VEGF and its receptors*. Nat. Med.* **2003**; 9: 669-676.

58. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the the VEGF/VEGFR system. *Bio. Pharma*. **2004**; 68: 1017-1021.

59. Sugino N, Kashida S, Karube-Harada A. Expression of vascular endothelial growth Factor (VEGF) and its receptors in human endometrium thoughout the menstruel cycle and early pregnancy. *Reproduction*. **2002**; 123: 379-387.

60. Li XF, Gregory J, Ahmed A. Immunolocalisation of vascular endothelial growth factor in human endometrium. *Growth Factors.* **1994**; 11: 277-282.

61. Abbas MM, Evans JJ, Sykes PH, Benny PS. Modulation of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase in normal human endometrial stromal cells. *Fertil Steril.* **2004**; 82: 1048-1053.

62. Stavreus-Evers A, Aghajanova L, Brismar H, Eriksson H, Landgren BM, Hovatta O. Co-existence of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and pinopodes in human endometrium at the time of implantation. *Mol. Hum Reprod,* **2002**; 8: 765-769.

63. Gardner DK, Weissman A, Howies MC, Shoham Z. *Yardımla Üreme Teknikleri Temel Kitabı,Labaratuar ve Klinik Görüşler*, İkinci baskı, Nobel Kitabevi, **2010**

64. Licht P, Russu V, Lehmeyer S, Möll J, Siebzehnrübl E, Wildt L. Intrauterine microdialysis reveals cycle-dependent regulation of endometrial insulin-like growth factor binding protein-1 secretion by human chorionic gonadotropin. Fertil Steril, **2002**;78 (2) :252-258.

65. Meola J, Rosa e Silva JC, Dentillo DB, Silva WA Jr, Veiga-Castelli LC, Bernardes LA, Ferriani RA, de Paz CC, Giuliatti S, Martelli L. Differentially expressed genes in eutopic and ectopic endometrrium of women with endometriosis. *Fertil Steril*, **2010**; 93 (6):1750-73.

66. Seppala M, Koistinen H, Koistinen R, Dell A, Morris Hr, Oehminger S, Clark GF. Glycodelins as regulators of early events of reproduction. *Clin. Endo.* **1997**; 46 (4): 381-386.

67. Lessey BA. The use of integrins fort he assesment of uterine receptivitey. *Fertil Steril.* **1994**; 61 (5): 812-814.

68. Bahar L, Kahraman S, Akkuş M., Baykal T. Fertil kadınlar ve implantasyon başarısızlığı olan infertil kadınlarda endometriyumun ince yapı ve immuno histokimyasal değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi*, **2012**; 39 (2),269-275.

69. Lai TH, Shih IEM, Vlahos N, Ho CL. Differential expression of L-selectin ligand in the endometrium during the menstrual cycle. *Fertil Steril*. **2005**; 83: 1297-1302.

70. Gürgan T, Urman B. *Yardımcı üreme teknikleri. Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*,**1996**. Güneş Kitabevi: 1301-1311.

71. Taylor HS, Bagot C, Kardana A, Olive D and Arici A. HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Human Reproduction,* **1999**; 14 (5): 1328–1331.

72. Paria BC, Malik AB, Kwiatek AM, Rahman A, May MJ, Ghosh S, Tiruppathi C. Tumor necrosis factor-alpha induces nuclear factor-kappaB-dependent TRPC1 expression in endothelial cells. *J. Biol. Chem*. **2003**; 278 (39): 37195-203.

73. Brayman M, Thathiah A, Carson DD. MUC1: a multifunctional cell surface component of reproductive tissue epithelia. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **2004**; 7: 2-4.

74. Pimental RA, Julian J, Gendler SJ, Carson DD. Synthesis and intracellular trafficking of Muc-1 and mucins by polarized mouse uterine epithelial cells. *J Biol Chem.* **1996**; 8:271 (45): 28128-28137.

75. Hey NA, Li TC, Devine PL, Graham RA, Saravelos H, Aplin JD. MUC1 in secretory phase endometrium: expression in precisely dated biopsies and flushings from normal and recurrent miscarriage patients. *Hum Reprod,* **1995**; 10(10): 2655-2662.

76. Devine PL, Birrell GW, Whitehead RH, Harada H, Xing PX, McKenzie IF. Expression of MUC1 and MUC2 mucins by human tumor cell lines. *Tumour Biol*., **1992**; 13 (5-6): 268-277.

77. Sheehan JK1, Boot-Handford RP, Chantler E, Carlstedt I, Thornton DJ. Evidence for shared epitopes within the 'naked' protein domains of human mucus glycoproteins. A study performed by using polyclonal antibodies and electron microscopy. *Biochem J.* **1991**; 274 (1): 293-296.

78. Hilkens J, Ligtenberg MJ, Vos HL, Litvinov SV. Cell membrane-associated mucins and their adhesion-modulating property. *Trends Biochem Sci*, **1992**; 17 (9): 359-363

79. Redzovic A, Laskarin G, Dominovic M, Haller H, Rukavina D. Mucins help to avoid alloreactivity at the maternal fetal interface. *Clin Dev Immunol.* **2013**. Vol:2013. 542122, 9.

80. Lee GL. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*.Third edition. Blakiston Division, McGraw-Hill, **1968**;12-38

81. Tabibzadeh S, Babaknia A. The signals and molecular pathways involved in implantation, a symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. *Hum Reprod* .**1995**, 10:1579-1602

82. Paria BC, Reese J, Das SK,Dey SK. Deciphering the cross-talk of implantation: advances and challenges. *Science.* **2002**; 296:2185-2188

83. Carson DD, Bagchi I, Dey SK, Enders AC, Fazleabas AT, Lessey BA,Yoshinaga K . Embryo Implantation. *Developmental Biology*.**2000**; 223: 217–237

84. Kaya S. Yardımlı Üreme Teknikleri Uygulamalarında Serviko-vajinal lavaj ve serumdan implantasyon belirteci olarak glikodelin ve makrofaj-koloni stimülan faktör bakılmasının klinik ve prognostik önemi, Uzmanlık Tezi,T.C. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi,**2009**

85. Gardner DK, Weissman A, Howies MC, Shoham Z. *Yardımla Üreme Teknikleri Temel Kitabı,Labaratuar ve Klinik Görüşler*, İkinci baskı, Nobel Kitabevi, **2010**

86. Kahraman S, Karlıkaya G. *Ovulasyon İndüksiyonu,* Memorial Hastanesi YÜT Merkezi. İkinci baskı,**2009**; 37-53

87. Ashkenazi J, Dicker D, Feldberg D, Goldman GA, Yeshaya A, Goldman JA. Adverse neurological symptoms after gonadotropin-releasing hormone analog therapy for in vitro fertilization cycles. Hum Reprod. **1989;** 4(6):667-9.

88. Çelik O. *Yardımcı Üreme Teknikleri, Temel klinik ve embriyolojik uygulamalar*. Nobel Yayınevi. **2011.** 159-165

89. Handwerger S,Richards RG,Markoff E. The physiology of decidual prolactin and other decidual protein hormones. *Trends End.Met*.**1992**; 3(3):91-95

90. **Csemiczky G, Landgren BM.** The influence of stress and state anxiety on the outcome of IVF-treatment: psychological and endocrinological assessment of Swedish women entering IVF-treatment. *Acta Obstet Gynecol Scand.***2000** ;79(2):113-118.

91. Maksem J.A., Robboy S.J., Bishop J.W., Meiers I. *Endometrial Cytology with Tissue Correlations*. ISBN:978-0-387-89909-1.

92. Dockery P, Bucke JM. The Endometrium. Second Edition,**2008**, ISBN:9780203091500. The fine structure of the mature endometrium.

93. Stringfellow H.F. *Endometrial metaplasia. Diagnostic Histopathology*, **2009**, 15:12

94. Sarani SA, Ghaffari-Novin M, Warren MA, Dockery P, Cooke ID. Morphological evidence for the 'implantation window' in human luminal endometrium. Hum Reprod. **1999** ;14(12):3101-3106.

95. Pace D, Longfellow M, Bulmer JN. Characterization of intraepithelial lymphocytes in human endometrium. *J Reprod Fertil.* **1991** ;91(1):165-174.

96. Morris H, Edwards J, Tiltman A, Emms M. Endometrial lymphoid tissue: an immunohistological study.*J Clin Pathol.* **1985**;38(6):644-652.

97. Peters WM. Nature of "basal" and "reserve" cells in oviductal and cervical epithelium in man. *J Clin Pathol.* **1986** ;39(3):306-312

98. Enders AC, Nelson DM. Pinocytotic activity of the uterus of the rat. *Am J Anat*. **1973**; 138: 277-299

99. Xu B, Sun X, Li L, Wu L, Zhang A, Feng Y. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin-β3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* **2012** ;98(2):389-395

100. Quinn CE, Casper RF. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity. *Hum Reprod Update*. **2009**;15(2):229-236.

101. Novotný R, Malínský J, Oborná I, Dostál J. Ultrastructure of endometrial surface relief in normal menstrual cycle and after hormonal stimulation. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med.* **1999**;142:47-55.

102. Murphey CR. Understanding the apical surface markers of uterine receptivity: pinopods-or uterodomes? *Hum Reprod.* **2000**;15(12):2451-4.

103. Martel D, Monier MN, Roche D, Psychoyos A. Hormonal dependence of pinopode formation at the uterine luminal surface. *Hum Reprod*. **1991**;6(4):597-603.

104. Armstrong EM, I A More, D McSeveney, and M Carty. The giant mitochondrion-endoplasmic reticulum unit of the human endometrial glandular cell. *J Anat.* **1973**; 116(3): 375–383.

105. Choi JY, Jo MW, Lee EY, Oh YK,Choi DS. The role of autophagy in human endometrium. *Biology of Rep,* **2012**; 86(3): 1-10

106. Bergeron C. Morphological changes and protein secretion induced by progesterone in the endometrium during the luteal phase in preparetion for nidation, **2000**; 15(1); 119-128

107. Clyman MJ. A new structure observed in the nucleolus of the human endometrial epithelial cell, *Am J Obstet and Gynec*, **1963;**86,430.

108. Zapantis G1, Szmyga MJ, Rybak EA, Meier UT. Premature formation of nucleolar channel systems indicates advanced endometrial maturation following controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod.* **2013**;28(12):3292-3300

109. Dockery P, Pritchard K, Warren MA, Li TC, Cooke ID. Changes in nuclear morphology in the human endometrial glandular epithelium in women with unexplained infertility. *Hum Reprod.* **1996**;11(10):2251-2256.

110. Burton GJ. Uterine glands provide histiotrophic nutrition fort he human fetus during the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.***2002**;87(6); 2954-2959

111. Aplin JD, Seif MW, Graham RA, Hey NA, Behzad F, Campbell S. The endometrial cell surface and implantation. Expression of the polymorphic mucin MUC-1 and adhesion molecules during the endometrial cycle. *Ann. New York Acad Sci.* **1994**; 734: 103-121.

112. Horne AW, Lalani EN, Margara RA, Ryder TA, Mobberley MA, White JO. The expression pattern of MUC1 glycoforms and other biomarkers of endometrial receptivity in fertile and infertile women. *Mol Reprod Dev.* **2005** ;72(2):216-29.

113. Li TC, Dockery P, Cooke ID. Endometrial development in the luteal phase of women with various types of infertility: comparison with women of normal fertility. *Hum Reprod.* **1991** ;6(3):325-30.

ÖZGEÇMİŞ

Adana'da 17.01.1980 yılında doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Adana'da tamamladı. Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünü 2004 yılında bitirdikten sonra, aynı yıl Çukurova Üniversitesi Eğitim Fakültesi Ortaöğretim Alan Öğretmenliği Tezsiz Yüksek Lisans Programını tamamladı. Ankara Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalında 2005-2006 yılları arasında 6 ay süreyle Sağlık Bakanlığı onayıyla Embriyoloji eğitimi alarak Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi Embriyolog sertifikası aldı. Aynı bölümde 2006-2007 yılları arasında 2 ay süreyle ICSI (Intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu) eğitimi sonucunda sertifikalandırıldı. Çukurova Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezinde 2006 yılından bu yana biyolog olarak görev yapmaktadır. 2011 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans eğitimine başlamıştır.