

Sıçanlarda implantasyonda endometriyum dokusunun hücresel ve sıvısal savunma sistemi hücreleri üzerinde histokimyasal ve histometrik araştırmalar I. Hücresel savunma sistemi hücreleri

Ahmet Koç Mehmet Kanter

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

Özet: Bu çalışma, implantasyonda sıçan endometriyum dokusunun hücresel savunma sistemi hücrelerinin dağılımları ve yoğunluklarının histokimyasal ve histometrik yöntemlerle belirlenmesi amacıyla yapıldı. Çalışmada, 42 adet dişi Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlardan alınan uteruslardan hazırlanan kriyostat kesitlere, alfa naftil asetat esteraz pozitif hücreleri belirlemek için ANAE enzim boyaması yapıldı. T-lenfositlerin ve uterus doğal öldürücü hücrelerinin (uNK'ların), implantasyonun ilk üç gününde desidual alan içinde gittikçe arttığı; endometriyumda ise, desidual alana göre daha az olan bu hücrelerin sayısının üçüncü günde desiduadaki hücre sayısına yakın bir oranda artış gösterdiği gözlemlendi. İmplantasyonun dördüncü gününden itibaren endometriyumda azalmaya başlayan bu hücrelerin sayılarında, altıncı günde yeniden şekillenen endometriyumla birlikte bir artışın olduğu görüldü. İmplantasyonda endometriyumda bulunmayan makrofajların miyometriyumda oldukça fazla sayıda olduğu tespit edildi. Bu çalışmada, endometriyum dokusunun hücresel savunma sistemi hücrelerinin implantasyonun farklı günlerine göre değişik dağılımlar ve yoğunluklar gösterdiği tespit edildi. Maternal immun tepkinin baskılanarak fötüs'un canlılığını sürdürmesinde, diğer bazı faktörlerin (genetik ve hormonal) yanı sıra implantasyon sürecinde endometriyum dokusunun savunma sistemi hücrelerinin dağılımlarında meydana gelen değişimlerinde etkili olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Sıçan, Endometriyum, İmplantasyon, Hücresel savunma hücreleri.

Investigation of the cellular and humoral immune system cells in the endometrium tissue of the rat with histochemical staining and histometric methods during implantation I. Cellular immune system cells

Abstract: This study was performed to investigate the distribution and density of the cellular immune system cells in the endometrium tissue of the rat with histochemical staining and histometric methods during implantation. Forty-two female Wistar albino rats were used. The sections cut using a cryostat microtome were stained with the Acid α -Naphthyl Acetate Esterase in order to observe ANAE positive cells. The number of lymphocytes and uterine natural killer cells increased in desidual area during the first three days of the implantation. The number of these cells in endometrium was less than that in desidual area but, they became equal at the end of third day of implantation. The number of these cells appeared less on the fourth day of implantation but with the growth of endometrium it increased again by sixth day of implantation. Macrophages that were not found in endometrium at implantation were abundantly detected in myometrium. In this study, the distribution and density of the cellular immune system cells in the endometrium tissue during implantation, were determined. It was concluded that in the suppression of the maternal immune response to allow fetus survive, the changes in the distribution of immune system cells in endometrium during implantation may be important besides other factors such as genetically and hormonal determinants.

Key Words: Rat, Endometrium, Implantation, Cellular defence cell.

GİRİŞ

İmplantasyon reaksiyonunun başlamasından sorumlu olaylar oldukça karışıktır. Bu reaksiyonun pek

çok yönünün, yangı olayları veya yabancı bir cisme karşı dokuların gösterdiği yanıtla benzer olduğu savunulmaktadır. Blastosist'e karşı oluşan ilk reaksiyonlar arasında, vasküler permeabilitenin artması,

stromadaki ödem ve karakteristik yangı reaksiyonları sayılabilir. Diğer bir yangı benzeri reaksiyon ise, kandan dokuya monosit ve lökositlerin göçmesi ile immün yanıtta bir artışın olmasıdır. İmplantasyon sürecinde blastosist'in yıkılmamasında diğer bazı faktörlerin yanı sıra immün sistem hücrelerinin de önemli görevleri olduğu söylenmektedir (1).

Memelilerde yapılan çalışmalarla, immün sistemi gelişmiş annelerde meydana gelen gebelik olayının başarıyla sürdürülmesini açıklayan pek çok hipotez ortaya atılmıştır (2). Bunlardan en popülerleri, uterustaki immün tepkinin baskılanarak fötüs'ün canlı kalabilmesini sağlayan mekanizmaları açıklayan teoridir. Embriyolar, gebelik boyunca kemik iliği kökenli hücrelerden olan maternal doğal öldürücü hücrelerin (NK) ve gebeliğin ortalarına kadar da sitotoksik T-lenfositlerin öldürücü etkilerine karşı dirençlidirler (3, 4).

Embriyonik dokular, fetal hücreler ve desidua hücrelerden salgılanan farklı kimyasal maddeler de, lenfositlerin fötüs'a karşı afinitesini azaltarak anneye ait immün tepkinin baskılanmasına yardımcı olur. Ayrıca, desidua hücrelerinin fötüs'a karşı sitotoksik T-lenfositlerin gelişimini inhibe ederek bir tampon görevi görmesi de yukarıdaki hipotezi desteklemektedir. Bunlardan başka, makrofajların salgılanan prostaglandinler (özellikle PGE₂) aracılığı ile yardımcı T-lenfositlerinden salgılanan interleukin-2 (IL-2) üretiminin inhibe edilmesi ya da supresör T-lenfositlerin aktive edilmesi gibi olaylar, immün tepkinin baskılanmasında rol alan mekanizmalar arasında kabul edilmiştir (5, 6). Ayrıca, sıçan desidua hücrelerinin mikrozoamlarının çoğunlukla PGE₂ ürettiği ortaya konulmuştur (5).

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

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 3 aylık 42 adet Wistar Albino dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, her grupta 7 adet olmak üzere 6 farklı gruba ayrıldı. Mallenby ve ark. (7) 'nın kullandıkları metoda göre vaginal smear'le östrus döneminde oldukları belirlenen dişi sıçanlar, erkek sıçanlarla aynı kafese bırakıldı. Ertesi gün erkek sıçanların yanından alınan dişilerden tekrar vaginal smear örnekleri alındı. Smear'de yaygın şekilde spermatozoon görülen hayvanlar gebeliğin birinci gününde kabul edildi (8, 9).

Gebe kalan hayvanlar, implantasyonun 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. günlerinde yüksek doz eter ile uyutularak dekapite edildi. Bu hayvanların uteruslarından alınan dokular, alfa naftil asetat esteraz (ANAE) enzim boyama yöntemi (10) ile pH 7.2' de boyandı. Aynı inkübasyon solüsyonuna 1.5 mg/ml oranında sodyum florür (NaF) ilave edilerek, makrofajlarda görülen diffuz boyama inhibe edildi. Böylece makrofajlar, T-lenfositlerden ve doğal katil hücrelerden kesin olarak ayırt edildi (11).

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

BULGULAR

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

İmplantasyonun birinci günü

Gebeliğin beşinci gününe rastlayan implantasyonun ilk gününde, uterus lumenini döşeyen lamina epitelyalisin etrafında ve daha çok antimezometriyal bölgede olmak üzere bağ dokusu hücrelerinden olan fibroblastların farklılaşmasıyla oluşan desidua hücrelerinin bir kaç sıra halinde desiduaı oluşturmaya başladığı gözlemlendi. Uterus bezlerinin ise daha çok antimezometriyal bölgede bulunduğu tespit edildi. ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin daha çok implantasyonun birinci gününde oluşan desidua alan içinde dağınık bir şekilde görüldüğü ve bu alanın dışında kalan endometriyum ile miyometriyumda ise bu hücrelerin daha az sayıda bulunduğu saptandı. ANAE pozitif hücrelerden T-lenfositlerin, sitoplazmanın büyük kısmını dolduran ve metil green boyası ile homojen olarak yeşile boyanan iri bir çekirdeğe sahip olduğu

gözlemlendi. Bu hücrelerin sitoplazmalarında bir veya birden fazla kahverenginin değişen tonlarında boyanan ANAE pozitif granüllerin, çekirdek ile hücre zarı arasındaki sitoplazmada genellikle bir yay şeklinde dizildikleri, bazen de bu granüllerin sitoplazmanın değişik bölgelerinde düzensiz olarak yerleştikleri görüldü (Resim 3).

Diğer bir pozitif hücre türü olan doğal öldürücü hücrelerin, sitoplazmalarının bir kısmını dolduran ve homojen olarak yeşile boyanan bir çekirdeğe sahip olduğu gözlemlendi. Bu hücrelerin granüllerinin, T-lenfositlere göre daha açık ve heterojen boyandığı ve birden çok irili sabun köpüğü tarzında granüllere sahip olduğu saptandı. Bazı örneklerde, doğal öldürücü hücrelerin çekirdeklerinin bir kısmının veya tamamının bu granüller tarafından örtüldüğü belirlendi. Ayrıca, bu hücrelerin mezometriyal üçgende fazla sayıda kümeler oluşturduğu, miyometriyumda ise az sayıda olmak üzere damarlar çevresinde bulunduğu gözlemlendi. Sodyum florür içermeyen inkübasyon solüsyonu ile yapılan boyamalarda pozitif reaksiyon veren makrofajların, implantasyonun birinci günü de dahil diğer günlerinde de endometriyumda bulunmadığı tespit edildi. Bu hücrelerin doğal öldürücü hücrelerde olduğu gibi özellikle mezometriyal üçgende çok sayıda kümeler oluşturduğu, miyometriyumda ise bu hücrelerin damarlar çevresinde bulunduğu görüldü. Sitoplazmik uzantılara sahip olan makrofajların açık yeşile boyanan çekirdeklerinin, yuvarlakten mekiğe kadar değişen şekillerde görüldüğü saptandı. Bu hücrelerin sitoplazmalarının diğer pozitif hücrelerde olduğu gibi taneekli yapı yerine diffuz olarak pozitif reaksiyon verdiği gözlemlendi (Resim 4).

İmplantasyonun ikinci günü

Uterus lumenini döşeyen lamina epitelyalis etrafında ve daha çok antimezometriyal bölgede olmak üzere desidüadaki artışın birinci güne göre daha belirgin olduğu gözlemlendi. Antimezometriyal bölgede bulunan uterus bezlerinin sayılarında bir artışın olmadığı tespit edildi. Desidüanın genişlediği ve bu alan içinde ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin sayılarında artış olduğu gözlemlendi. Ancak bu alanın dışında kalan endometriyum ve miyometriyumda ise bu hücrelerin daha az sayıda bulunduğu saptandı (Resim 5). İmplantasyonun birinci gününe göre doğal öldürücü hücreler ve makrofajların, mezometriyal üçgende oldukça az bulunduğu; miyometriyumda ise damarlar çevresinde bulunan bu hücrelerin sayısında bir değişikliğin olmadığı gözlemlendi (Resim 6).

İmplantasyonun üçüncü günü

İmplantasyonun ikinci gününe göre desidüalizasyonun endometriyumun orta kısımlarına doğru ışnsal bir şekilde ilerlediği görüldü. Ayrıca, antimezometriyal bölgede bulunan desidüanın ise

miyometriyuma doğru iyice ilerlemiş olduğu gözlemlendi. Antimezometriyal bölgede yerleşmiş olan uterus bezlerindeki artışın fazla sayıda olduğu belirlendi (Resim 7). Desidüanın genişlemesine paralel olarak ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin sayılarının artmaya devam ettiği gözlemlendi. Bu hücrelerin, desidüal alanla birlikte endometriyumun her tarafında yaygın olarak bulunduğu görüldü. İmplantasyonun ikinci gününe göre T-lenfositler, doğal öldürücü hücreler ve makrofajların miyometriyumdaki sayılarında önemli bir değişikliğin olmadığı saptandı (Resim 8).

İmplantasyonun dördüncü günü

Antimezometriyal bölgede genişlemesi devam eden desidüanın endometriyumun geri kalan kısmıyla belirgin bir şekilde ayrıldığı saptandı. Mezometriyal bölgede ise desidüanın, miyometriyuma doğru iyice yaklaştığı gözlemlendi. İmplantasyonun üçüncü gününe kadar normal yapısında görünen uterus lumeninin, implantasyonun dördüncü gününde içinde tek tük kan damarlarının şekillenmeye başladığı desidüal alan içinde küçülmeye başladığı görüldü. Antimezometriyal bölgede desidüanın dışında kalan ve oldukça dar bir alan oluşturan endometriyumdaki bezlerin sayılarının belirgin bir şekilde azaldığı tespit edildi (Resim 9). İmplantasyonun dördüncü gününde, ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelere desidüal alan içinde nadiren rastlandı. Desidüanın genişlemesine bağlı olarak endometriyumun daraldığı ve bu bölgedeki pozitif hücrelerin sayısının implantasyonun üçüncü gününe göre azaldığı tespit edildi. Ancak bu hücrelerin, daralan endometriyum'un birim alanındaki sayılarında bir artışın olduğu belirlendi. İmplantasyonun üçüncü gününe göre ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin miyometriyumdaki sayılarında önemli bir artışa rağmen, bu alandaki makrofajların sayılarında herhangi bir değişikliğin olmadığı gözlemlendi (Resim 10).

İmplantasyonun beşinci günü

Sayıları oldukça artan kan damarları ile birlikte desidüal yapının iyice ortaya çıktığı implantasyonun beşinci gününde desidüanın, endometriyumun geri kalan kısmından yeniden şekillenen bir lumen ile belirgin bir şekilde ayrıldığı tespit edildi. Endometriyumda seyrek olarak bulunan bezlerden köken alarak şekillenen epitel hücrelerinin oluşan bu yeni uterus lumeni etrafında lamina epitelyalisi tekrar oluşturmaya başladığı saptandı (Resim 11). ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin, implantasyonun dördüncü gününde olduğu gibi desidüal alan içinde çok nadir görüldüğü gözlemlendi. Ancak, endometriyumun implantasyonun bir önceki gününe göre çok daraldığı ve bu bölgedeki pozitif hücrelerin sayılarında azalmanın devam ettiği tespit edildi. T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin miyometriyumdaki sayılarında artışın devam etmesine

karşın, bu alandaki makrofajların sayılarında bir azalmanın olduğu belirlendi (Resim 12).

İmplantasyonun altıncı günü

Gebeliğin onuncu gününe rastlayan implantasyonun son gününde, desidua içinde bulunan lumenin iyice küçüldüğü görüldü. Antimezometriyal bölgede endometriyumun yeniden oldukça genişlediği, desidua ile endometriyum arasında bulunan lumenin gittikçe büyüdüğü ve lamina epitelyalisi oluşturan epitel hücrelerinin daha da belirginleştiği gözlemlendi. Bu alandaki uterus bezlerinin, yaklaşık implantasyonun ilk günündeki sayısına ulaştığı saptandı (Resim 13). ANAE pozitif T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin, implantasyonun önceki iki gününde olduğu gibi desidual alan içinde çok az sayıda bulunduğu gözlemlendi. Fakat bu hücrelerin, endometriyumun iyice genişlemesine bağlı olarak sayılarının oldukça arttığı tespit edildi. T-lenfositler ile doğal öldürücü hücrelerin miyometriyumdaki sayılarında artışın devam etmesine karşın, bu alandaki makrofajların sayılarında önemli bir değişikliğin olmadığı belirlendi (Resim 14).

Tablo 1. İmplantasyonun farklı günlerinde endometriyumdaki ANAE pozitif hücrelerin dağılımı.

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

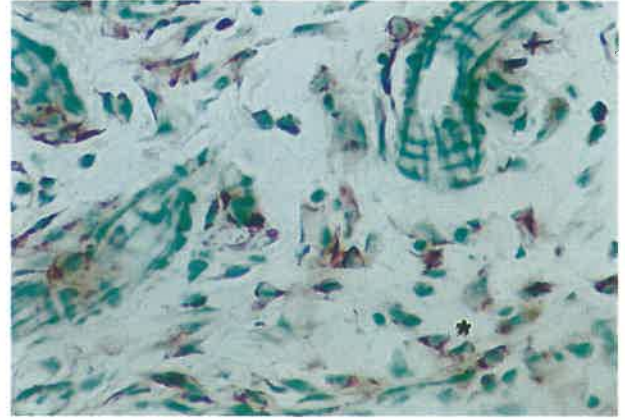
+: az ++ : orta +++ : fazla ++++ : çok fazla

TARTIŞMA VE SONUÇ

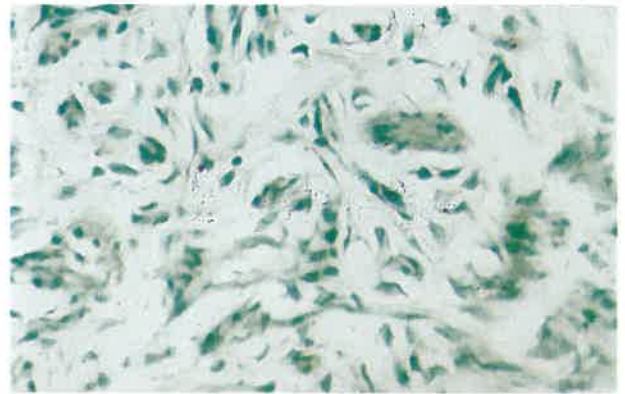
Yeh ve ark. (3) ile Vassiliadou ve Bulmer (12), insanlarda monoklonal antikorlar kullanarak yaptıkları çalışmalarda, implantasyon sürecinde, endometriyumda belirlenen lenfositlerin % 70'ini sitotoksik T-lenfositlerin oluşturduğunu, bu hücrelerin de genellikle desidual alan içinde yayıldığını ve küçük topluluklar halinde endometriyal bezlerin çevresinde yerleştiklerini tespit etmişlerdir. Kabawat ve ark. (13) ise, insanlarda yaptıkları çalışmada, implantasyon sürecinde T-lenfositlerin, desidual alanda oldukça az bulunduğunu, endometriyumda ise eşit bir dağılım gösterdiklerini bildirmişlerdir. De ve ark. (14), farelerde yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada makrofaj ve lenfositlerin sayısında, implantasyonun ikinci gününde birinci güne göre desidual alan içinde ve endometriyumda artış olduğunu bildirmektedirler. İmplantasyonun üçüncü gününde ise, antimezometriyal bölgedeki desidual alanın büyümesiyle birlikte endometriyum'un geri kalan derin bölgelerinde ve miyometriyumda bu hücrelerin sayılarının azaldığı, desidual alan içinde ise çok ender görüldükleri

belirtilmektedir. Üçüncü günde gözlenen bu azalmanın dördüncü günde daha da belirginleştiği bildirilmektedir. İmplantasyonun beşinci gününde makrofaj ve lenfositlerin oldukça azalmış olmasına karşın, gebeliğin ilerleyen günlerinde antimezometriyal bölgede endometriyumun yeniden şekillenmesiyle, endometriyum ve miyometriyumda bu hücrelerin sayılarının tekrar arttığı belirtilmektedir (14).

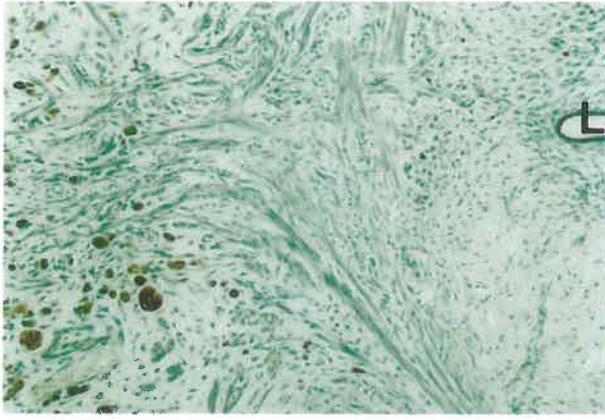
Lea ve Clark (15), sıçanlarda yaptıkları araştırmada, preimplantasyonda T-lenfosit ve makrofajların daha çok endometriyum ve miyometriyumda yerleştiği, implantasyondan bir gün önce her iki hücre türünün de endometriyumun yüzeysel bölgelerinden derin bölgelerine göçtüğü ve implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfosit ve makrofajların hiç birisinin desidual alan içinde bulunmadığını bildirmektedirler.



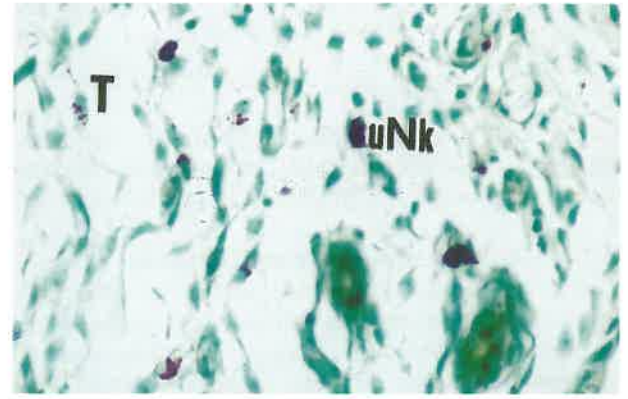
Resim 1. Mezometriyal üçgende sodyum florür (NaF) içermeyen inkübasyon solüsyonu ile yapılan boyamada makrofajların (*) görünümü. ANAE, X 360.



Resim 2. NaF ilave edilerek hazırlanan inkübasyon solüsyonu ile yapılan boyamada makrofajların reaksiyon vermediği mezometriyal üçgenin görünümü. Kd: Kan damarı. ANAE, X 360.



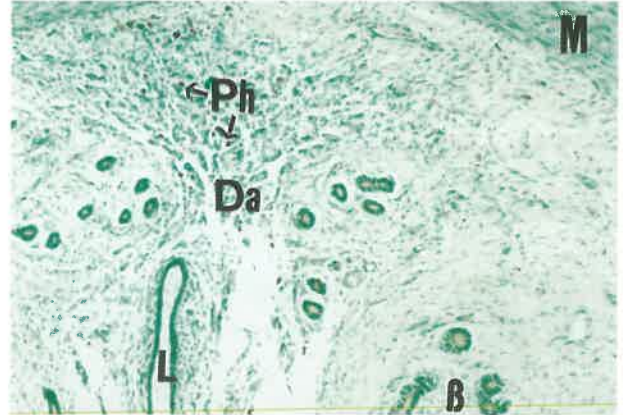
Resim 3. Mezometriyal üçgende lokalize olan uNK'ların görünümü. Da: Desidual alan, L. Lumen. ANAE, X 90.



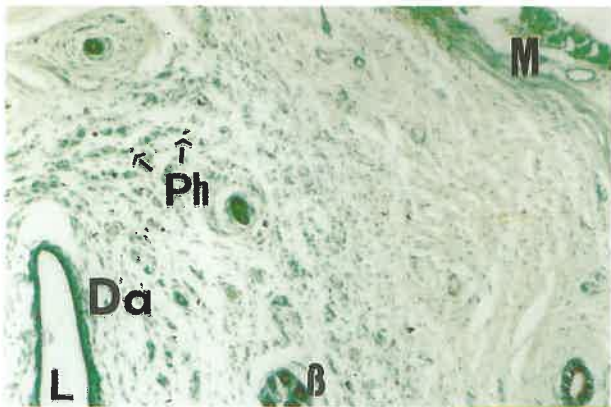
Resim 6. Desidual alanda lokalize olan T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. LE: Lamina epitelyalis, B: Bez. ANAE, X 180.



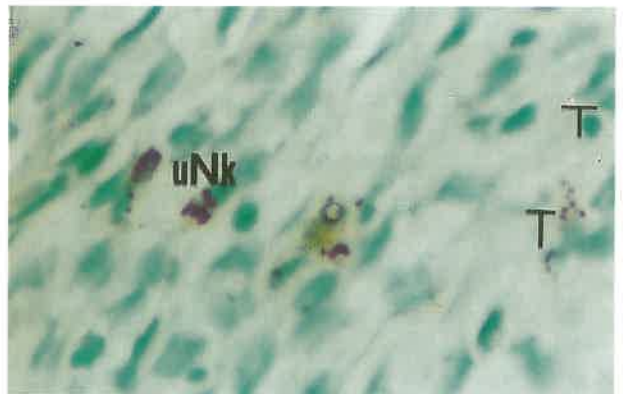
Resim 4. T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların endometriyumdaki görünümü. B. Bez, ANAE, X 360.



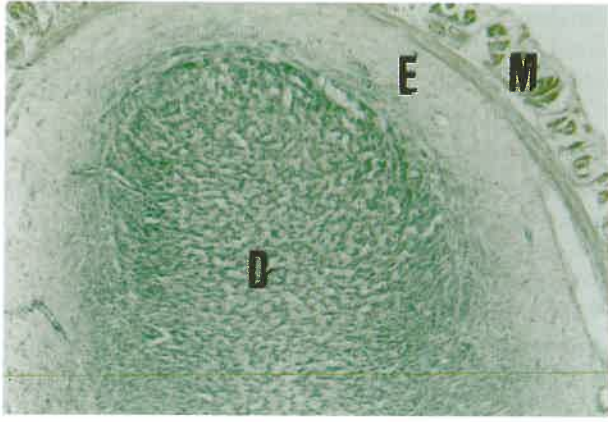
Resim 7. Antimezometriyal bölgedeki desidual alanda (Da) lokalize olan pozitif hücreler (Ph). M: Miyometriyum, L. Lumen, B: Bez. ANAE, X 90.



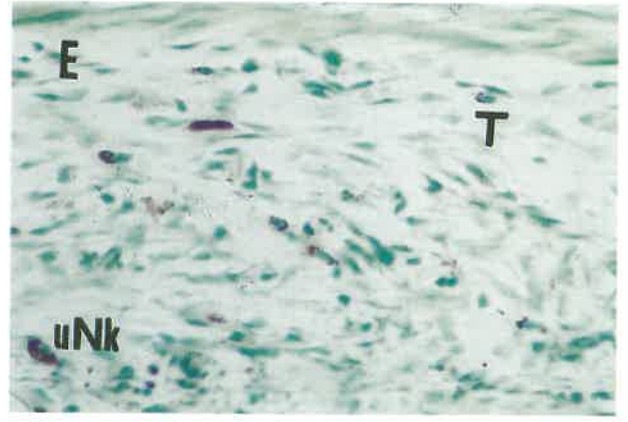
Resim 5. Antimezometriyal bölgedeki desidual alanın (Da) görünümü. Ph: Pozitif hücre, L: Lumen, M: Miyometriyum, B: Bez. ANAE, X 90.



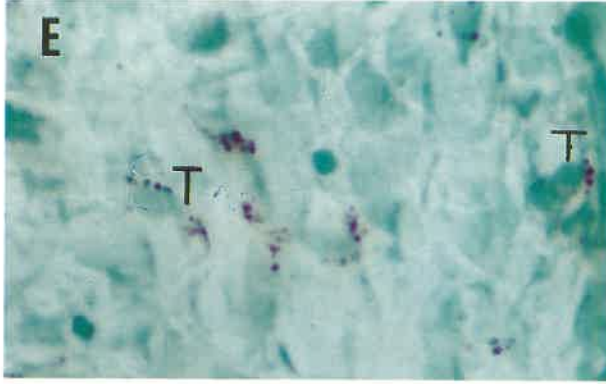
Resim 8. Desidual alan içindeki T-lenfositlerin ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 720.



Resim 9. İmplantasyonun dördüncü günündeki antimezometriyal bölgede uterusun görünümü. L: Lumen, E: Endometriyum, D: Desidua, M: Miyometriyum, Kd: Kan damarı. ANAE, X 36.



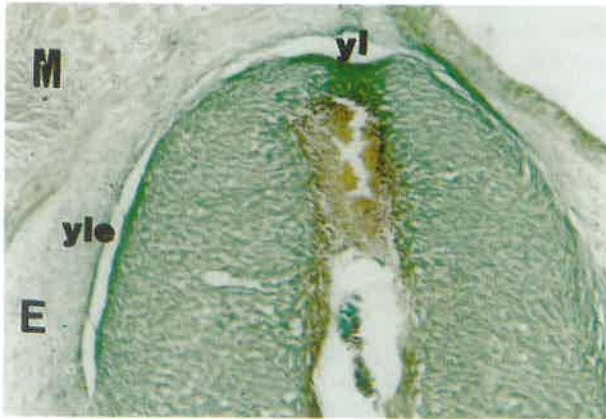
Resim 12. Endometriyum (E) ve Miyometriyumdaki (M) T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 360.



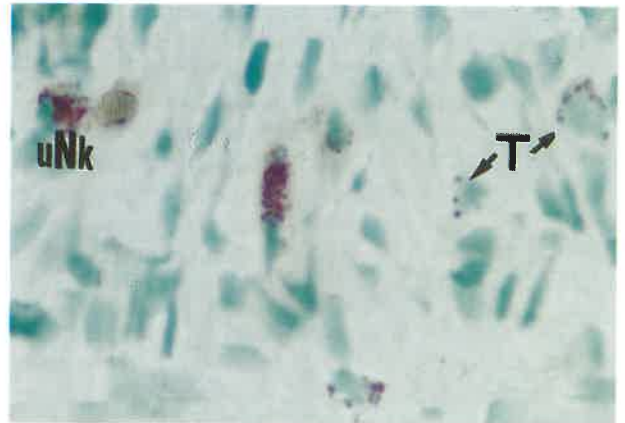
Resim 10. Endometriyum (E) ve Miyometriyum'daki (M) T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 360.



Resim 13. İmplantasyonun altıncı gününde uterusun görünümü. L: Lumen, yL: Yeniden oluşan lumen, D: Desidua, E: Endometriyum, B: Bez. ANAE, X 36.



Resim 11. İmplantasyonun beşinci gününde antimezometriyal bölgedeki desidual alanla birlikte yeniden oluşan lumenin (yL) ve lamina epitelyalis'in (yLE) görünümü. E: Endometriyum, Kd: Kan damarları, M: Miyometriyum. ANAE, X 36.



Resim 14. Endometriyumdaki pozitif T-lenfositlerin (T) ve uNK'ların görünümü. ANAE, X 720.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada T-lenfositleri, gebeliğin dördüncü gününde endometriyumda seyrek olarak bulunurken, beşinci ve altıncı günlerde desidual alanla birlikte endometriyumda yoğunlaşmış olduğu ve yedinci günde ise implantasyon sürecinin ilerlemesine bağlı olarak bu hücrelerin desidual alan içinde kaybolduğu, endometriyumdan miyometriyuma doğru geçtikleri ve bu bölgedeki sayılarında azalma olduğu bildirilmektedir (16).

Bu çalışmada, implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfositlerdeki artışın daha çok desidual alanda olduğu ve daha az sayıda bulunan bu hücrelerin endometriyumda eşit dağılım göstermesi Lea ve Clark (15)' in bulgularıyla zıtlık göstermektedir. Aynı bulgular, Kabawat ve ark. (13)'nin çalışmalarında belirttikleri implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfositlerin endometriyum'da eşit dağılım göstermesi bulgusuyla benzerlik, bu hücrelerin desidual alanda az bulunması bulgusuyla da zıtlık oluşturmaktadır. Yapılan bu araştırma, Noun ve ark. (16)'nın sıçanlarda, De ve ark (14)'nin farelerde yaptıkları çalışmalarda implantasyonun erken dönemlerinde T-lenfositlerin desidual alanla birlikte endometriyumda arttığı, ilerleyen günlerde ise bu hücrelerin sayısının azaldığı bulgularıyla paralellik göstermektedir. Ancak bu çalışmada, T-lenfositlerin azalışının implantasyonun dördüncü gününden itibaren başlamasına karşın, yukarıdaki çalışmalarda bu hücrelerdeki azalmanın üçüncü günden itibaren başladığı bildirilmiştir.

Bu çalışma, Yeh ve ark. (3) ile Vassiliadou ve Bulmer (12) insanlarda yaptıkları çalışmalarda T-lenfositlerin, endometriyumda bezler çevresinde kümeler oluşturması bulgusuyla da farklılık göstermektedir. Peel ve ark (17), uterus doğal öldürücü hücrelerle (uNK) ilgili olarak farelerin endometriyumunda yaptıkları çalışmada, implantasyon sürecinde bu hücrelerin sayısında artma olduğunu bildirmektedirler. Head ve ark. (18), sıçanlarda yapılan bir çalışmada, uNK'ların sayısının implantasyon'un ikinci gününde desidual alan içinde az bulunduğunu bildirmişlerdir. Tarachand (19) ise, fare ve sıçanlarda yaptığı çalışmada, implantasyon'un birinci gününde, uNK'ların desidual alanla birlikte bütün endometriyum boyunca görüldüğünü, bugünden sonra bu hücrelerin desidual alanda kaybolduğunu göstermişlerdir. King ve Loke (20) ise, sıçanlarda implantasyonun ikinci gününde uNK'ların sayısının desidual alanla birlikte endometriyumda arttığını bildirmektedirler.

Bu çalışmada, implantasyonun dördüncü ve beşinci günlerinde uNK'ların azalması Peel ve ark. (17)'nin bulgularıyla zıtlık, implantasyonun diğer günlerinde artması bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada implantasyonun ilk iki gününde uNK'ların, desidual alan ve endometriyumda artması King ve Loke (20)' nin bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Aynı bulgular, Tarachand (19)'in çalışmalarında belirttiği implantasyonun ilk gününde uNK'ların artışı verisiyle benzerlik, bu hücrelerin

desidual alanda birinci günden sonra kaybolması ve Head ve ark. (18)'nin implantasyonun ikinci gününde uNK'ların desidual alanda az bulunması bulgularıyla da uyumsuzluk içindedir.

Hunt (6) farelerde, Kachkache ve ark. (21) ise sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda, erken gebelikte makrofajların endometriyumda daha çok lamina epitelyalis'in altında dağılmış olduğunu, implantasyondan itibaren ise, endometriyumun daha derin kısımları ile miyometriyumun sirküler ve longitudinal kasları arasında bulunduğunu göstermişlerdir. Fareler üzerinde yapılan immunohistokimyasal bir çalışmada, makrofajlara gebeliğin beşinci gününde endometriyumda oldukça az rastlanırken, bu hücrelerin desidual alan içinde bulunmadığı bildirilmiştir (22).

Knisley ve Weitlauf (23), farelerde yaptıkları çalışmada, makrofajların, gebeliğin birinci gününde endometriyumda çok az görülmesine karşın, sekizinci gününde oldukça fazla sayıda bulunduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, Tachi ve Tachi (24), makrofajların implantasyonun ilk günlerinde antimezometriyal bölgede lamina epitelyalis çevresinde şekillenmeye başlayan desidual alanın etrafında sıralandıklarını, ancak bu desidual alan içinde bulunmadıklarını bildirmişlerdir. Brandon (25), monoklonal antikorlar kullanarak fare ve sıçanlarda yaptığı çalışmada, implantasyonun ikinci gününde makrofajların antimezometriyal bölgedeki desidual alan içinde seyrek bulunduğunu belirtmektedir.

Bu çalışmada, Yalçın (26)'ın sıçanlarda östrus siklusunda endometriyum'da yaptığı ANAE enzim boyamasında olduğu gibi implantasyon boyunca endometriyumda makrofajlar tespit edilemediğinden bulgularımız yukarıdaki literatür bulgularıyla uyumsuzluk içindedir. Redline ve Lu (27), implantasyon sürecinde fare ve sıçanlarda makrofajların, desidual alan içinde bulunmadığını, ancak bu alanın dışında kalan endometriyum ile özellikle burada bulunan bezler çevresinde ve miyometriyumda bol miktarda bulunduğunu belirtmektedirler. De ve Wood (28), farelerde immunohistokimyasal bir çalışmada makrofajların, uterusun antimezometriyal bölgesinde implantasyonun üçüncü ile gebeliğin onuncu günlerinde miyometriyumda daha fazla olmasına karşın, endometriyumda daha az sayıda bulunduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmada, sodyum florür içermeyen inkübasyon solüsyonu ile yapılan boyamalarda pozitif reaksiyon veren makrofajların, implantasyonun bütün günlerinde endometriyumda bulunmadığı, implantasyonun ilk gününde ise miyometriyumda damarlar çevresinde yer aldığı tespit edildi. Bu hücrelerin miyometriyumdaki sayılarında, implantasyonun ikinci, üçüncü ve dördüncü günlerinde birinci güne göre bir değişikliğin olmadığı gözlemlendi.

İmplantasyonun beşinci gününde miyometriyum'daki bu hücrelerin sayısında azalmanın ve altıncı gününde ise makrofajlarda önemli bir değişikliğin olmadığı saptandı. Bu çalışmada, miyometriyumda özellikle kaslar arasındaki damarlar çevresinde bol miktarda bulunan ve implantasyonun beşinci ve altıncı günlerinde azalmaya başlayan makrofajlarla ilgili bulgularımız Redline ve Lu (27) ile De ve Wood (28)' un bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak yapılan çalışmada, endometriyum dokusunun hücrel savunma sistemi hücrelerinin implantasyonun farklı günlerine göre değişik dağılımlar ve yoğunluklar gösterdiği tespit edildi. Maternal immün tepkinin baskılanarak fötüs'un canlılığını sürdürmesinde, diğer bazı faktörlerin (genetik ve hormonal) yanı sıra implantasyon sürecinde endometriyum dokusunun savunma sistemi hücrelerinin dağılımlarında meydana gelen değişimlerinde etkili olabileceği sonucuna varıldı. Böylece, endometriyum'daki hücrel savunma sistemi hücrelerinin sayı ve dağılımlarındaki değişimler ile yukarıda bahsedilen konular arasındaki ilişkinin aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Finn CA, Pope MD: Infiltration of Neutrophil Polymorphonuclear Leukocytes into the Endometrial Stroma at the Time of Implantation of Ova and the Initiation of the Oil Desidual Cell Reaction in Mice, *J. Reprod. Fert.* 91: 365-369, (1991).
2. Croy BA, Wood W, King GJ: Evaluation of Intrauterine Immune Suppression During Pregnancy in a Species with Epitheliochorial Placentation, *J. Immunol* 139(4): 1088-1095, (1987).
3. Yeh CJG, Bulmer JN, Hs1 BL, Tian WT, Bittershaus C, İp SH: Monoclonal Antibodies to T Cell Receptor γ / δ Complex React with Human Endometrial Glandular Epithelium, *Placenta* 11: 253-261, (1990).
4. Hunt JS, Manning LS, Wood GW: Macrophages in Murine Uterus are Immunosuppressive, *Cellular Immunology*, 85: 499-510, (1984).
5. Smáráson AK, Gunnarsson A, Alfredson JH, Valdimarsson H: Monocytosis and Monocytic Infiltration of Desidua in Early Pregnancy, *J. Clin. Immunol.* 21: 1-5, (1986).
6. Hunt JS: Current Topic, the Role of Macrophages in the Uterine Response to Pregnancy (Review), *Placenta* 11: 467-475, (1990).
7. Mellanby J, Dwyer J, Hawkins C, Hitchen C: Effect of Experimental limbic on the Estrus Cycle and Reproductive Succes in Rats, *Epilepsia* 34(2): 220 – 227, (1991).
8. Kanter M, Öztaş E, Dalçık C: Sıçan, Fare ve Kobaylarda Gebeliğin İlk Gününü Tayin Etmede Vajinal Smear Yönteminin Kullanılması, *Van Tıp Derg.* 3(2): 112 – 116, (1996).
9. Welsh OA, Enders AC: Occlusion and Reformation of the Rat Uterine Lumen During Pregnancy, *Ame. J. Anat.*,167: 463-477, (1983).
10. Mueller J, Re GB, Buerki H, Keller HU, Hess MW, Cottier H: Nonspecific Acid Esterase Activity : A Criterion for Differentiation of the T and B Lymphocytes in Mouse Lymph Nodes, *Eur. J. Immun.* 5: 270 – 274, (1975).
11. Zicca A, Leprini A, Cadoni A, Franzi AT, Ferrarini M Grossi CE: Ultrastructural Localization of Alpha - Naphthyl Acid Esterase in Human Tm Lymphocytes, *Am. J. Pathol.* 105: 40-46, (1981).
12. Vassiliadou N, Bulmer JN: Characterisation of Endometrial T Lymphocyte Subpopulations in Spontaneous Early Pregnancy Loss, *Human Reproduction* 13(1): 44-47, (1998).
13. Kabawat SE, Mostoufi-Zadeh M, Driscoll SG, Bhan A: Implantation Site in Normal Pregnancy, *Am. J. Pathol.* 118: 76-84, (1985).
14. De M, Choudhuri R, Wood GW: Determination of the Number and Distribution of Macrophages, Lymphocytes, and Granulocytes in the Mouse Uterus from Mating Through Implantation, *J. Leukocytes Biol.* 50: 252-262, (1991).
15. Lea RG, Clark DA: Macrophages and Migratory Cells in Endometrium Relevant to Implantation, *Bailliere's Clin. Obstet. Gynae.* 5(1): 25-59, (1991).
16. Noun A, Acker GM, Chaouat G, Antoine JC, Garabedian M: Cells Bearing Granulocyte Macrophage and T Lymphocyte Antigens in the Rat Uterus Before and During ovum Implantation, *Clin. Exp. Immunol.* 78: 494-498, (1989).
17. Peel S, Stewart IJ, Bulmer D: Experimental Evidence for the Bone Marrow Origin of Granulated Metrial Gland Cells of the Mouse Uterus, *Cell Tissue Res.* 233: 647-656, (1983).
18. Head JR, Kresge CK, Young JD, Hiserodt JC: NKR-P1+ Cells in the Rat Uterus: Granulated Metrial Gland Cells are of the Natural Killer Cell Lineage, *Biol. Reprod.* 51: 509-523, (1994).
19. Tarachand U: Metrial Gland Structure, Origin Differentiation and Role in Pregnancy, *Biol. Res. Pregnancy Perinatol.* 7(1): 34-36, (1986).
20. King A, Loke YW: Uterine Large Granular Lymphocytes: A Possible Role in Embryonic Implantation?, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 162: 308-310, (1990).
21. Kachkache M, Acker GM, Chaouat G, Noun A, Garabedian M: Hormonal and Local Factors Control the Immunohistochemical Distribution of Immunocytes in the Rat Uterus Conceptus Implantation Effect of Ovariectomy Fallopian Tube Section, and Injection, *Biol. Reprod.* 45: 860-868, (1991).
22. Brandon JM: Leukocyte Distribution in the Uterus During the Preimplantation Period of Pregnancy and Phagocyte Recruitment to Sites of Blastocyst Attachment in Mice, *J. Reprod. Fert.* 98: 567-576, (1993).
23. Knisley KA, Weitlauf M: Compartmentalised Reactivity of M3/38 (anti Mac-2) and M3/84 (anti Mac-3) in the Uterus of Pregnant Mice, *J. Reprod. Fertil.* 97: 521-527, (1993).
24. Tachi C, Tachi S: Macrophages and Implantation, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 476: 152-182, (1986).
25. Brandon JM: Macrophage Distribution in Desidual Tissue from Early Implantation to the Periparturent Period in Mice as Defined by the Macrophage Differentiation Antigens F4/80, Macrosialin and the Type 3 Complement Receptor, *J. Reprod. Fertil.* 103: 6-9, (1995).
26. Yalçın A: Sıçanlarda Östrus Siklusunda Endometriyum Dokusunun Hücrel ve Humoral Savunma Sistemi Hücreleri Üzerinde Histokimyasal ve Histometrik Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Van, (1999).
27. Redline RW, Lu CY: Specific Defects in the Anti-listeral Immune Response in Discrete Regions of the Murine uterus and Placenta Account for Susceptibility to infection, *J. Immunol.* 140: 3947-3955, (1998).
28. De M, Wood GW: Analysis of the Number and Distribution of Macrophages, Lymphocytes, and Granulocytes in the Mouse Uterus From Implantation Through Parturition, *J. Leukocytes Biol.* 50: 381-392, (1991).

Yazışma Adresi:

Mehmet Kanter
Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
VAN-TÜRKİYE

Not: Bu araştırma Y.Y.Ü Araştırma Fonu tarafından 97-VF-002 numaralı proje olarak desteklenmiş ve aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.