

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakóltesi
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İMPLANTASYON SIRASINDA UTERUSUN JAK STAT PROFİLİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. CAN KÖSE

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.M.KEMAL ÖZBİLGİN

Manisa, 2007

İçindekiler

	<u>Sayfa No</u>
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 İmplantasyon Penceresi	2
2.2 İmmün sistemin Genel Özellikleri	3
2.3 Endometriyum İmmünolojisi	6
2.4 Fetal İmmünoloji	28
2.5 JAK STAT Yolağı	30
2.6 Deney Hayvanları	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
4. BULGULAR	42
4.1 Histokimyasal bulgular	42
4.2 İmmunohistokimyasal bulgular	43
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ	59
7. ÖZET	63
8. İNGİLİZCE ÖZET	65
9. RESİMLER	67
10. KAYNAKLAR	94

Resimler Dizini

	sayfa no
Resim 1: Gebeliğin 4. günü uterus kesitlerinde H-E boyaması	67
Resim 2: Gebeliğin 4. günü uterus kesitlerinde H-E boyaması	67
Resim 3: Gebeliğin 5. günü uterus kesitlerinde H-E boyaması	68
Resim 4: Gebeliğin 5. günü uterus kesitlerinde H-E boyaması	68
Resim 5: Gebeliğin 6. günü uterus kesitlerinde H-E boyaması	69
Resim 6: Gebeliğin 6. günü uterus kesitlerinde H-E boyaması	69
Resim 7: IHC ile JAK1 boyanmış 4. gün uterus kesiti	70
Resim 8: IHC ile JAK1 boyanmış 4. gün uterus kesiti	70
Resim 9: IHC ile JAK1 boyanmış 5. gün uterus kesiti	71
Resim 10: IHC ile JAK1 boyanmış 5. gün uterus kesiti	71
Resim 11: IHC ile JAK1 boyanmış 6. gün uterus kesiti	72
Resim 12: IHC ile JAK1 boyanmış 6. gün uterus kesiti	72
Resim 13: IHC ile JAK2 boyanmış 4. gün uterus kesiti	73
Resim 14: IHC ile JAK2 boyanmış 4. gün uterus kesiti	73
Resim 15: IHC ile JAK2 boyanmış 5. gün uterus kesiti	74
Resim 16: IHC ile JAK2 boyanmış 5. gün uterus kesiti	74
Resim 17: IHC ile JAK2 boyanmış 6. gün uterus kesiti	75
Resim 18: IHC ile JAK2 boyanmış 6. gün uterus kesiti	75

Resim 19: IHC ile JAK3 boyanmış 4. gün uterus kesiti	76
Resim 20: IHC ile JAK3 boyanmış 4. gün uterus kesiti	76
Resim 21: IHC ile JAK3 boyanmış 5. gün uterus kesiti	77
Resim 22: IHC ile JAK3 boyanmış 5. gün uterus kesiti	77
Resim 23: IHC ile JAK3 boyanmış 6. gün uterus kesiti	78
Resim 24: IHC ile JAK3 boyanmış 6. gün uterus kesiti	78
Resim 25: IHC ile STAT2 boyanmış 4. gün uterus kesiti	79
Resim 26: IHC ile STAT2 boyanmış 4. gün uterus kesiti	79
Resim 27: IHC ile STAT2 boyanmış 5. gün uterus kesiti	80
Resim 28: IHC ile STAT2 boyanmış 5. gün uterus kesiti	80
Resim 29: IHC ile STAT2 boyanmış 6. gün uterus kesiti	81
Resim 30: IHC ile STAT2 boyanmış 6. gün uterus kesiti	81
Resim 31: IHC ile STAT3 boyanmış 4. gün uterus kesiti	82
Resim 32: IHC ile STAT3 boyanmış 4. gün uterus kesiti	82
Resim 33: IHC ile STAT3 boyanmış 5. gün uterus kesiti	83
Resim 34: IHC ile STAT3 boyanmış 5. gün uterus kesiti	83
Resim 35: IHC ile STAT3 boyanmış 6. gün uterus kesiti	84
Resim 36: IHC ile STAT3 boyanmış 6. gün uterus kesiti	84
Resim 37: IHC ile STAT4 boyanmış 4. gün uterus kesiti	85
Resim 38: IHC ile STAT4 boyanmış 4. gün uterus kesiti	85
Resim 39: IHC ile STAT4 boyanmış 5. gün uterus kesiti	86
Resim 40: IHC ile STAT4 boyanmış 5. gün uterus kesiti	86
Resim 41: IHC ile STAT4 boyanmış 6. gün uterus kesiti	87
Resim 42: IHC ile STAT4 boyanmış 6. gün uterus kesiti	87
Resim 43: IHC ile STAT5 boyanmış 4. gün uterus kesiti	88
Resim 44: IHC ile STAT5 boyanmış 4. gün uterus kesiti	88
Resim 45: IHC ile STAT5 boyanmış 5. gün uterus kesiti	89
Resim 46: IHC ile STAT5 boyanmış 5. gün uterus kesiti	89
Resim 47: IHC ile STAT5 boyanmış 6. gün uterus kesiti	90
Resim 48: IHC ile STAT5 boyanmış 6. gün uterus kesiti	90
Resim 49: IHC ile STAT5 boyanmış 4. gün uterus kesiti	91
Resim 50: IHC ile STAT5 boyanmış 4. gün uterus kesiti	91
Resim 51: IHC ile STAT5 boyanmış 4. gün uterus kesiti	92
Resim 52: IHC ile STAT5 boyanmış 4. gün uterus kesiti	92
Resim 53: IHC ile STAT5 boyanmış 4. gün uterus kesiti	93
Resim 54: IHC ile STAT5 boyanmış 4. gün uterus kesiti	93

1. GİRİŞ

Doğum, yaşamın sürekliliği için temel bir evrimsel süreçtir. Yeni bir yaşamın oluşumu, ilk önce, döllenme ile sonuçlanan bir oosit ile spermin birleşmesine bağlıdır; bu tür bir birleşme sonucu ortaya çıkan zigot, birçok mitotik hücre bölünmelerine uğrar. Blastosist olarak adlandırılan 2 ayrı tip hücreye sahip (iç hücre kitlesi [inner cell mass: (ICM)] ve trofoektoderm) yapı uterusu ulaşır ve implantasyon olayı başlar.

İmplantasyon, endokrin, parakrin, otokrin, hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri sonucunda ortaya çıkan, çok sayıda molekülün fonksiyon gösterdiği karmaşık bir süreçtir. Ancak, bu süreçteki moleküllerin kusursuz etkileşimlerinin detayları ve sırası henüz tam olarak tanımlanamamıştır. İmplantasyon sürecinin türler arasında değişkenlik göstermesi bu türdeki olayların formülasyonunu önlemektedir. İnsanlarda implantasyon aşamasını, embriyo ile uterusun etkileşimlerini moleküler düzeyde incelemek oldukça güç bir iştir. Buna ek olarak, insan implantasyonunun incelenmesindeki etik kısıtlamalar ve deneyim zorlukları, embriyo-uterus etkileşimlerinin direk analizini önlemektedir. Bu nedenle çalışmalar özellikle fare ve sıçan implantasyonunun moleküler temeli ve fizyolojisi üzerine yoğunlaşmıştır.

İmplantasyon embriyonun blastosist aşamasında gerçekleşir. İmplantasyon aşamasında zona pellicuda blastosistten ayrılır, blastosist uterus endometriyumu ile yakın fiziksel temas kurar ve uterusla arasında fizyolojik bir bağ kurar. Enders ve Schlofke, implantasyon sürecini 3 aşamaya ayırmıştır: Appozisyon, Adhezyon ve Penetrasyon (1,2). Appozisyon, embriyonik trofoektoderm hücrelerinin uterus yüzey epiteline bağlanmasının oluşturduğu bir durumdur. Appozisyon, adhezyon aşaması ile devam eder. Adhezyon, yüzey epitelinin ve trofoektodermin temas ederek beta integrinler aracılığı ile bağlantı kurduğu aşamadır. Penetrasyon aşamasında ise, yüzey epiteli trofoektoderm tarafından invazyona uğrar ve embriyo uterus endometriyumu içerisine gömülmeye başlar. İntersitisyel tip olarak tanımlanan bu gelişim biçimi insanlar dışında domuz ve şempanze de görülür. Bu biçimin dışında iki tip daha vardır. Santral implantasyon, tavşan ve bazı marsupiallerde gözlenirken; farelerde, sıçanlarda ve hamsterlerde implantasyon eksantrik biçimde gerçekleşir (3).

Farklı türlerde implantasyon uterusun değişik bölgelerinde gerçekleşir. Fare ve sıçanları da içeren bazı kemirgenlerde implantasyon her zaman uterusun antimezometriyal tarafında gerçekleşirken; bazı yarasalarda implantasyon mezometriyal tarafta gerçekleşmektedir (4,5).

İmplantasyon farklı türlerde değişik günlerde ortaya çıkmaktadır. Fare ve sıçanlarda 4. ve 5. gün akşamında, tavşanlarda 6,5. günde meydana gelir (6,7). Primatlarda implantasyon reaksiyonu insanlarda ve babonlarda hemen hemen 8 günde, macaque 9 günde ve marmoset maymunlarda 11. günde oluşur (8,9). Domuzlarda ise 13, ineklerde 20, kuzularda 16 ve keçilerde 19 günde meydana gelmektedir (10).

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İMPLANTASYON PENCERESİ:

Memelilerde, blastosistlerin uterus ile karşılıklı etkileşimleri sonucunda uterusda ortaya çıkan implantasyonun gerçekleşmesine uygun değişim uterus reseptivitesi olarak isimlendirilir. Blastosistin yapışması ve gömülmesi ile ilgili olarak gözlenen bu farklılık implantasyon gerçekleşmediği takdirde kısa süre sonunda ortadan kalkar. Bu evrede, uterus çevresi, blastosist gelişimini bağlaması için farklılıklar göstermektedir (10,11,12). Uterus reseptivitesini belirten temel faktörler; ovarian steroidler, progesteron ve östrojenlerdir (11,13,14).

Farelerde gebeliğin ilk gününde (vaginal plak gözlenen gün) uterus epitel hücreleri, preovulatuvar östrojen salgılama etkisi altında proliferasyona uğrar. Yeni oluşmuş korpus luteumdan salgılanan progesteronun artan seviyeleri 3. günden itibaren stromal hücre proliferasyonuna neden olur. Stromal hücre proliferasyonu, gebeliğin 4. günü sabahında salgılanan az miktardaki ovarian östrojen tarafından daha çok uyarılır. Progesteron ve östrojenin bu düzenlenen etkileri, farklılık yaratarak, uterus epiteliyal hücre proliferasyonunun durmasıyla sonuçlanır (15). Normal gebelik boyunca, uterusu aktif bir blastosistin varlığı, implantasyon reaksiyonu için uyarıcıdır.

Fare uterusu progesteron hakimiyetindeki 24-48 saatten sonra küçük bir miktar östrojene maruz kalırsa blastosist implantasyonuna reseptif hale getirilir (16). Uterusun 4. günde implantasyona en çok reseptif olduğunu (12) ve implantasyon oranının zamanla azaldığı bildirilmiştir (17).

İmplantasyonun gerçekleşmesi sırasında önemli bir olayda annenin fetal semi allojenik yapıya reaksiyon verememesidir. Embriyonun yaşaması için gerekli olan immun cevap oluşturmama süreci oldukça karmaşık ve az bilinen bir olaydır. İmplantasyon immunolojisinin anlaşılması için gereken genel immunolojik özellikler aşağıda kısaca belirtilmiştir.

2.2 İMMÜN SİSTEMİN GENEL ÖZELLİKLERİ

İmmünite, organizmanın başta mikroorganizmalar olmak üzere her türlü yabancı maddeye karşı verdiği yanıtı tanımlamak üzere kullanılır. İmmüniteden sorumlu hücre ve moleküller "İMMÜN SİSTEM"i oluşturur. Yabancı madde ile karşılaşıldığında immün sistemin değişik kompartmanlarının karşılıklı ve düzenli etkileşimleriyle ortaya çıkan cevaba İMMÜN YANIT, immün yanıtı yol açan yabancı maddelere de İMMÜNOJEN denir. ANTİJEN ise lenfositler üzerinde bulunan T ve B hücre reseptörlerince tanınan moleküllere verilen isimdir. İmmünojen ve antijen sıklıkla birbirlerinin yerine kullanılmakla beraber aralarında hafif bir anlam farklılığı vardır, immünojen bir immün yanıt uyandırabilen antijenlere verilen isimdir. Antijen terimi ağırlıklı olarak bir molekülün spesifik immünitenin ürünleri ile reaksiyona girebilme yeteneğini tanımlar. Ufak, nonimmünojenik antijenlere HAPTEN denir. Haptenlerin immün yanıt uyandırabilmesi için "taşıyıcı" denilen daha büyük immünojenik moleküllere bağlanması gerekir. Bir yabancı ajan ne kadar kompleks ise o kadar immünojeniktir. Antijenler ufak kimyasal yapılar olabildikleri gibi ileri derecede karmaşık moleküller de olabilirler. İmmünojenler çoğunlukla protein (lipoprotein, glikoprotein, nükleoprotein gibi) yapıdadır. Bağlandıkları antijenleri daha immünojenik hale getiren ve antijen spesifik immüniteyi non-spesifik olarak daha da arttıran maddelere Adjuvan denir (18,19). Geleneksel olarak immün sistem farklı fonksiyonlara sahip 2 kompartmana ayrılarak incelenir:

1. Doğal İmmünite (innat yada nativ immünite olarak da isimlendirilir)
2. Spesifik İmmünite (akkiz =kazanılmış yada adaptif immünite olarak da bilinir)

Doğal İmmünite: Bireyi, potansiyel olarak tehlikeli ajanlardan koruyan ve çoğu bu ajanlarla karşılaşmadan önce de organizmada bulunan koruyucu mekanizmalar, doğal immüniteyi oluşturur. Doğal immünite elemanları mikroorganizmalara karşı ilk basamak savunmayı yaparlar ve bazı hallerde mikroorganizmanın ortadan kaldırılmasında tek başlarına yeterli olabilirler. Deri ve müköz membranların oluşturduğu fiziksel engel, epitel yüzeylerdeki antimikrobiyal maddeler (ör, defensinler, kriptosidinler), kan ve dokulardaki fagositik hücreler (makrofajlar, nötrofiller), doğal öldürücü hücreler (naturel killer, NK) ve akut faz proteinleri (Ör, C-reaktif protein, CRP) ve kompleman sistemi gibi bazı plazma proteinleri doğal immünitenin başlıca elemanlarını oluşturur. Bunlar aynı yabancı madde ile her karşılaştıklarında aynı şiddet ve hızda etki gösterirler. Benzer mikroorganizmaların iyi

korunmuş ortak bazı yapıları ile uyarılırlar. Bu yapılar normal memeli hücresinde bulunmazlar ve bazı moleküler biçimler (pathogen associated molecular patterns)'den oluşurlar. Bu moleküler biçimleri tanıyan doğal immünite elemanlarına da "Biçim tanıyan ya da algılayan reseptörler (pattern recognition receptors veya molecules)" denir. Doğal immünitenin bu reseptörlerinin neyi tanıyacağı genetik olarak önceden belirlenmiştir ("germ-line encoded receptors") ve salgılananlar, endositik olanlar ve sinyal verenler olmak üzere başlıca 3 gruba ayrılırlar.

Salgılananlara örnek olarak karaciğerde yapılan ve akut faz cevabının bir elemanı olarak plazmaya salınan mannoz-bağlayıcı lektin, endositiklere örnek olarak makrofaj mannoz reseptör ve sinyal verenlere örnek olarak Toll-like reseptörler sayılabilir. Sinyal veren reseptörlerden olan Toll-like reseptörler tanıdıkları biçimle karşılaştıklarında ASH'nin yüzeyinde CD80 ve CD86 gibi kostimulatör molekül ekspresyonunu ve başlıca interlökin (IL-1, IL-6 ve IL-12) olmak üzere bazı inflamatuvar sitokinleri kodlayan genler olmak üzere bir takım immün yanıt genlerinin ekspresyonunu uyarırlar. Virüs, gram pozitif ya da negatif bakteri gibi değişik mikroorganizmalarda hedef moleküller farklı biçimler taşımakta ve doğal immünite sadece farklı sınıf mikroorganizmaları ayırabilmektedir, çeşitliliği sınırlıdır, hafızası yoktur. Buna karşılık biçim tanıyan reseptörleri taşıyan hücrelerin efektör fonksiyonlarını göstermek için çoğalmaları gerekmediğinden etkinliklerini çok çabuk gösterirler. Doğal immün sistem, spesifik immün sistemin reseptör sayı ve çeşitliliğiyle karşılaştırıldığında ileri derecede sınırlı sayıdaki reseptörleriyle mikroorganizmalara ait belirli yapıları tanıyıp kostimulatörler, sitokinler ve kemokinlerin yapımını indükleyerek antijen spesifik lenfositlerin uyarılmasını ve spesifik immün yanıtın başlamasını sağlar. Böylece doğal immün sistem bir şekilde kendi ile kendi olmayanı tanıyarak kendi organizmasına zarar vermediği gibi daha sonra gelişecek spesifik immün yanıt tipinde de belirleyici olabilir. Doğal immünitenin reseptör veya moleküllerinde inaktivasyona yol açan mutasyonlar immün yetmezliklere, bu yapıları devamlı aktif olmaya götüren mutasyonlar ise inflamatuvar reaksiyonları uyatarak allerjik ve otoimmün hastalıklara eğilim yaratabilir. Doğal immünitenin bir diğer elemanı olan doğal öldürücü (Natural killer) hücreler, öldürücü fonksiyonlarını göstermeleri için ayrıca uyarılıp farklılaşmaları gerekmediğinden bu isimle anılırlar. Başlıca hedefleri antikorra kaplı hücreler, virüslerle ya da bazı hücre içi bakterilerle infekte hücreler ve bazı malign hücreler ile kendi sınıf I majör histokompatibilite kompleks (MHC) moleküllerini taşımayan transplant hücreleridir.

Doğal öldürücü hücrelerin hedef hücreyi öldürme kapasitesi, hedef hücrenin taşıdığı self MHC sınıf I molekül miktarı ile ters orantılıdır. Doğal öldürücü hücreler, sınıf I MHC moleküllerini tanıyan inhibitör reseptörler taşıdıklarından sınıf I MHC molekülleri bulunan hücreler tarafından inhibe edilirler. Bu inhibitör moleküllerden bir grubu "killer inhibitory receptor (KIR) ailesi" olarak bilinir. Doğal öldürücü hücrelerin başlıca efektör fonksiyonları virusla infekte hücreler ve bazı tümör hücrelerini yok etmek ve IFN γ salgılamaktır. IFN γ makrofajların fagosite ettikleri mikroorganizmaları yok etmelerini kuvvetlendirir. Şimdiye kadar anlatılan doğal immünite elemanları dışında aktif makrofajlardan salgılanan alfa ve beta interferon (sırasıyla IFN α ve IFN β), tümör nekrozis faktör alfa (TNF α), IL-12 ve IL-15 gibi sitokinler de doğal immünitenin birer elemanı olarak işlev görürler.

Doğal immünitenin erken ve lokal sonucu inflamatuvar yanıttır. Bu sayede lökositler infeksiyon ajanının bulunduğu yere ulaşip infeksiyonu ortadan kaldırmaya çalışır. Inflamasyonun bir diğer etkisi de bazı sistemik değişikliklere yol açarak doğal immün sistemin güçlenmesine katkıda bulunmaktır (20,21).

Spesifik İmmünite: Bir yabancı ajan ile karşılaşıldığında uyarılan ve sadece o antijene özgü olarak gelişen ve o antijenle bir kez daha karşılaşıldığında daha güçlü olarak yanıt verilmesini sağlayan sistemdir. Spesifik immünitede çok çeşitli hücre ve molekül hep birlikte çalışırlar. Spesifik immünitenin başlıca elemanları T ve B lenfositler, antikorlar ve bazı lenfokinlerdir. Antijen sunan hücrelerin de çok önemli rolü vardır. Spesifik immün yanıtlar doğal immün yanıtı takip eder. Spesifik immünite, doğal immünitenin koruyucu mekanizmalarını güçlendirir, bu mekanizmaları antijenin giriş yerine yönlendirerek yabancı antijenin ortadan kaldırılmasını kolaylaştırır. Spesifik immünite aktif ya da pasif olarak oluşturulabilir. Organizmanın yabancı antijene maruz kalıp aktif bir şekilde immün yanıt vererek geliştirdiği immüniteye "aktif immünite", spesifik olarak immünize olmuş bir bireyden serum ya da hücrelerin immün olmayan bireye nakliyle geliştirilen immüniteye ise "pasif immünite" denir.

Spesifik immün yanıtlar, sekonder lenfoid dokular olarak adlandırılan lenf nodları, dalak ve mukoza ile ilişkili lenfoid dokularda gelişir. Bu tür yanıtlar, cevabı oluşturan immün sistem elemanlarına göre hümmoral ve hüccresel diye iki grupta incelenirler ve farklı mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasında işlev görürler.

Hümmoral İmmünite: Burada antijeni spesifik olarak tanıyan ve çeşitli mekanizmalarla ortadan kaldırılmasını sağlayan molekül olan antikor'lar başlıca rolü oynar. Antikorlar, spesifik antijeni ile karşılaşmış B lenfositlerden farklılaşan plazma

hücreleri tarafından yapılan immünoglobülinlerdir. Antikorlar dolaşımdaki ekstra-sellüler mikroorganizmalar ve toksinlerine bağlanıp ortadan kaldırılmalarını yönlendirirler. Buna karşılık dolaşan antikorlar viruslar, mantarlar ve bazı bakteriler gibi hücre içi yerleşim gösteren mikroorganizmalara ulaşamazlar. Bunlara karşı savunmada, mikroorganizmaların aktif makrofajlarca fagosite edilerek ortadan kaldırılmasını ya da infekte hücrenin lizisini sağlayan hücresel immünite başlıca rolü oynar. Normal, sağlıklı bir yetişkinin serumunda sayılamayacak kadar değişik tipte antikor molekülü bulunur. Her birisi çok küçük miktarlarda olmasına rağmen toplamı total serum proteininin yaklaşık %20'sini oluşturur. Dolaşan bu antikorların her birisi kendi spesifik antijenine karşı düşük düzeyde bir koruma gösterir. İmmün yanıt antijenik uyarının süresi ve immün yanıt katılan plazma hücrelerinin nisbeten kısa olan yaşam süreleri ile sınırlıdır. Aynı immünojenle daha sonraki karşılaşmalardaki immün yanıt kalitatif olarak primer yanıtla benzer ancak önemli kantitatif farklılıklar gösterir. Sekonder ya da anamnestic immün yanıt dediğimiz bu olayda latent period kısalır, antikor düzeyi çok daha çabuk çok daha yüksek düzeylere ulaşır ve serumda çok daha uzun süre saptanabilir düzeyde sebat eder (19,22,23).

Hücresel İmmünite : Burada antijeni spesifik olarak tanıyan T lenfositler başlıca rolü oynarlar. T lenfositler antijeni ancak ASH'ler ya da hedef hücre üzerindeki MHC molekülü ile birlikte sunulduğunda tanırırlar. Yüzeylerinde CD4 molekülü taşıyan yardımcı T lenfositler (Th) sınıf II MHC tarafından sunulan antijenleri tanıyabildikleri için bu olaya sınıf II MHC'ye bağımlı ya da sınıf II MHC ile sınırlı denir. Yüzeylerinde CD8 molekülü taşıyan sitotoksik T lenfositler (Tc veya CTL) ise MHC sınıf I'e bağımlıdır. Somatik hücrelerin hemen hepsinde sınıf I MHC molekülü mevcutken sınıf II MHC molekülü başlıca profesyonel antijen sunan hücreler (dendritik hücreler, aktif makrofajlar ve B lenfositler) olmak üzere nispeten daha az sayıda hücrede bulunur. Dendritik hücreler deride ve mukozal yüzeyin altında bulunduklarında Langerhans hücreleri olarak adlandırılırlar. Bu gruba dahil olan diğer hücreler ise karaciğerdeki Kupffer hücreleri, santral sinir sistemindeki mikroglial hücreler ve kemikteki osteoklastlardır (19,22).

İMMÜN YANITIN BAŞLICA ÖZELLİKLERİ

Spesifite : Antijenlerin lenfositler tarafından spesifik olarak tanınan kısımlarına "antijenik determinant" ya da "epitop" denir. Klonal seleksiyon hipotezine göre daha immünize olmamış yani spesifik antijeni ile karşılaşmamış, uyarılmamış bir insanda her türlü yabancı antijeni tanıyıp reaksiyon verebilecek antijen spesifik lenfosit klonları mevcuttur. Primer lenfoid organlar sürekli lenfosit üretir ve periferik yollar. Bir lenfosit klonundaki bütün hücrelerin antijeni tanıyan reseptörleri (B lenfositlerde yüzey immünoglobülinleri, T lenfositlerde T hücre reseptörü) birbirinin aynıdır, dolayısıyla da tek bir antijene spesifiktir. Yabancı antijen organizmaya girdiğinde kendine özgü yüzey reseptörünü taşıyan klon aktive olur. O klon çoğalmaya başlar. Effektör ya da hafıza (bellek) hücrelerine farklılaşır. Bu olaya primer immün yanıt denir. O antijenle bir kez daha karşılaşıldığında immün yanıt daha çabuk ve daha güçlü şekilde gelişir. Buna sekonder immün yanıt denir. Bu güçlenme antijenle ilk karşılaşmada gerçekleşen immünizasyon sonucu antijen spesifik lenfositlerin klonal genişlemesine bağlıdır.

Çeşitlilik : Memeli immün sisteminin yaklaşık 10¹⁵ değişik antigenik determinanti tanıyabilecek kapasitede olduğu sanılmaktadır. Buna lenfosit repertuarı denir.

Hafıza : İmmün sistemin yabancı bir antijenle karşılaşması o antijenle daha sonraki temaslarda oluşacak immün yanıtı hızlandırır ve kuvvetlendirir. Bu özelliğe immünolojik hafıza veya bellek denir.

Kendini Yabancıdan Ayırt Etmek : İmmün sistem kendine ait (self) antijenlerini yabancı antijenlerden ayırt eder. Kendine ait ve potansiyel olarak antigenik yapılara immün yanıt vermez. Bu duruma self-tolerans denir. Self- toleransın gelişmesi ya da devamında bir bozukluk olduğunda otoimmün hastalıklar gelişir.

Oto-Regülasyon (Kendini Sınırlama) : Antigenik uyarımı takiben bütün normal immün yanıtlar kendi kendini sınırlar. İmmün yanıt antijeni yok etmeye yöneliktir. Bu amaca ulaşıldığında lenfosit aktivasyonundan sorumlu antijen ortadan kalkmış olacağından immün yanıtın da zamanla sönmesi ve yeni antijenlerle savaşmaya hazır durumda beklemesi gerekir.

Uzmanlaşma : Değişik mikroorganizmalara karşı savunmada en iyi yanıtları sağlayabilmektir (19,24).

Spesifik immün yanıtın başlıca 3 özelliği mevcuttur: tanıma, aktivasyon ve efektör faz. Tanıma, bütün immün yanıtlar yabancı antijenin tanınmasıyla başlar. B lenfositler solübl formdaki yabancı protein, polisakkarit ya da lipid antijenleri

yüzeylerinde bulunan o antijene spesifik membran immünoglobülin molekülü ile tanılırlar. T lenfositler ancak başka bir hücrenin yüzeyinde ve kendine ait MHC molekülleriyle birlikte sunulan kısa peptid halinde işlenmiş protein antijenleri tanılırlar. T lenfositte bağımlı olmayan antijenler hariç spesifik immün yanıtın oluşturulabilmesi için önce antijenin ASH tarafından işlenmesi gerekir. Antijen vücuda girdikten sonra ASH'ler tarafından yakalanıp işlenir ve sınıf II MHC molekülleri ile bir kompleks halinde Th'lere sunulur. B lenfositler de yüzey immünoglobülin reseptörleri aracılığıyla spesifik antijenlerini yakalayıp sınıf II MHC molekülleriyle birlikte T lenfositlere sunabilir. Lipopolisakkarit ya da polisakkarit yapıdaki "Timustan ya da T lenfositte bağımsız antijenler" denen bu antijenlere karşı antikor yapımı için Th yardımı şart değildir. Bu tür antijenler yüksek konsantrasyonlarda poliklonal B hücre uyarımı yaparlar. Düşük konsantrasyonda ise spesifik B hücre uyarımı yaparlar. Yapılan antikorlar başlıca IgM ve IgG3 yapısında olup sınıf değişikliğine uğramazlar ve affinite olgunluğu gösteremezler. Bellek B hücreleri de gelişmez (24).

Aktivasyon, bütün lenfositler antijenik uyarıya cevap olarak yeni bazı proteinler yaparlar (sitokinler, sitokin reseptörleri, gen transkripsiyonu ve hücre bölünmesinde rolü olan çeşitli proteinler), çoğalırlar (proliferasyon ve dolayısıyla klonal genişleme) ve yabancı antijeni ortadan kaldırmaya yönelik efektör fonksiyonlarını yapacak yetenekte hücrelere farklılaşırlar (diferansiyasyon). Böylece, antijenini tanıyan B lenfosit antikor oluşturan plazma hücrelerine dönüşür ve antikor üretir. Bu antikor ekstraselüler solübl antijeni bağlar ve onu ortadan kaldıracak mekanizmaları harekete geçirir. Benzer şekilde kimi T lenfositler de fagositleri aktive edecek ve onların intrasellüler mikroorganizmaları öldürmelerini kuvvetlendirecek hücrelere (Th) dönüşürken diğer bazı T lenfositler yabancı antijen taşıyan virüsle infekte hücre veya tümör hücresi gibi hücreleri öldürebilme kapasitesi taşıyan sitotoksik T lenfositlere (Tc) farklılaşır. Lenfosit aktivasyonunun genel bir özelliği sıklıkla iki sinyal gerektirmesidir. Bu sinyallerden bir tanesi antijenle temas sonucunda oluşturulurken diğeri yardımcı ya da aksesuar hücreler dediğimiz diğer hücreler tarafından sağlanır. Aksesuar hücreler olarak adlandırılan mononükleer fagositler, dendritik hücreler ve diğer bazı hücreler değişik antijenler için spesifite göstermezler ancak antijen sunumu ve antijen-spesifik lenfositlerin aktivasyonunda önemli rolleri vardır. Aksesuar hücrelerin sağladığı 2. sinyal mikroorganizma veya doğal immün yanıtlar tarafından uyarılır. Böylece immün yanıtın sadece mikroorganizmalar ve diğer zararlı maddelere karşı gerektiğinde geliştirilmesi sağlanır (17,24).

Effektör faz, antijenleriyle spesifik olarak uyarılmış lenfositlerin o antijeni yok etmeye yönelik fonksiyonunu gösterdiği evredir. İmmün yanıtın bu safhasında rol alan hücrelere efektör hücreler denir. Pek çok efektör fonksiyonda diğer nonlenfoid hücreler ve doğal immünitede rol alan savunma mekanizmaları da katkıda bulunur; örneğin antikorlar hem yabancı antijenlere bağlanarak bunların kan nötrofil ve mononükleer fagositleri tarafından fagosit edilmelerini sağlar hem de kompleman sistemini aktive ederek mikroorganizmaların lizis ve fagositozunu mümkün kılar. Yardımcı T lenfositler sitokinler salgılayarak fagosit fonksiyonlarını güçlendirir ve inflamatuvar cevabı uyarırken, Tc'ler sitotoksik fonksiyonlarını yürütürler. İmmün yanıtın başlıca düzenleyicisi Th'lerdir. Tc ve B lenfositlerin aktivasyonu için Th'ler gereklidir. Th1 tipi lenfositlerin ürettiği sitokinler makrofaj aktivasyonu ve Tc aracılı fonksiyonlara yani hücresele immüniteye yardım ederken, Th2 tipi lenfositler ürettikleri IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 ile B lenfositlerin antikor yapmalarını sağlarlar (24).

Bir antijene karşı oluşacak yanıtın lokalizasyonu, antijenin vücuda giriş yoluna bağlıdır. Kan dolaşımıyla giren antijenlere karşı immün yanıt dalakta başlar. Dokulardaki mikroorganizmalara karşı yanıtlar lokal lenf bezlerinde oluşur. Solunum yolları ya da gastrointestinal kanal mukozasından giren antijenler ise submukozal lenfoid dokularla karşılaşır ki burası hem lokal hem de antijenin girdiği lümen içine yönelen immün yanıt oluşturur. İmmün yanıt nerede başlarsa başlasın daima kan ya da lenf yoluyla başka bölgelere lenfosit trafiği olur. Bazı ASH'in kan ve lenf yoluyla göç ederek antijenleri uzak lenfoid dokulara taşıyabilme kapasitesi vardır (25).

İmmün yanıtın şiddetini etkileyen pek çok faktör vardır. Antijenin yapısı, miktarı, immünojenik gücü ve organizmaya giriş yolu immün yanıtın gücü ve süresinde etkili faktörlerdir. İmmün yanıtta kişinin genetik yapısı önemlidir. Herhangi bir antijene verilen immün yanıtta kişiler arası farklılıklar olabilir. Genetik kontrolde hem MHC bağlantılı hem de MHC bağlantısız genlerin rolü vardır. İmmün yanıt bir kez başladıktan sonra birbirleriyle sıkı ilişki içinde immün yanıtı kontrol eden ve düzgün bir şekilde sönmesini sağlayan bazı mekanizmalar sırasıyla özetlenmiştir.

Antikor yapımı negatif feedback etkiyle aynı antikordan daha fazla yapılmasını inhibe eder çünkü antikor antijeni ortadan kaldırarak immünojenik uyarıyı bitirmiş olacaktır. Antikor moleküllerinin antijen bağlayan bölgelerindeki antijenik determinantlara "idiotip" denir. Bunlar self-antijen olmakla beraber immün yanıt sırasında miktarları arttığı zaman immünojenik olurlar ve bunlara karşı anti - idiotipik antikorlar gelişir. İmmün yanıtın sonlanmasında bu idiotip-antiidiotip antikor

etkileşimlerinin rolü olduğu düşünülmektedir. Th1 hücreler tarafından salgılanan IFN γ , Th2 hücrelerini dolayısıyla da antikor oluşumunu inhibe ederken Th2 hücrelerce salgılanan IL-10, Th1 lenfositleri ve hücre sel immünitenin çeşitli fonksiyonlarını inhibe eder. Aktif T lenfositler, mononükleer fagositler ve diğer bazı hücreler tarafından yapılan transform edici büyüme faktörü- β (TGF- β) T hücrelerinin çoğalma ve farklılaşmalarını, makrofajların aktivasyonunu inhibe eder, proinflamatuvar sitokinlerin etkilerini azaltır. Ayrıca santral sinir sisteminde gelişen bazı olaylar immün fonksiyonları etkileyebilir. Stres yaratan durumlarda immün baskılanma olabileceği bilinir. Lenfoid organların çoğunda hem kan damarlarında hem de bizzat lenfositlerde sempatik innervasyon vardır. Lenfositler üzerinde de pek çok hormon, nörotransmitter ve nöropeptid için reseptörler vardır. Kortikosteroidler, endorfinler ve enkefalinler stres sırasında salınan ve in vivo immüno-supressif olan maddelerdir. Kortikosteroidler özellikle Th1 yanıtlarını ve makrofaj aktivasyonunu aşağı çekerlerken TGF- β yapımını uyararak dolaylı yoldan da immün yanıtı inhibe edebilirler (23).

İMMÜN SİSTEMİN HÜCRELERİ

Doğal immünite de savunma antijene özgü değildir (Non-immün) ve uyarı sonrası bellek oluşturmayan, kısa süreli (dakikalar içinde) bir yanıt sistemi niteliğindedir. İnflamasyon olarak adlandırılan bu yanıtın mediatörleri nötrofiller, eozinofiller, bazofiller, doğal öldürücü (NK) hücreleri, monosit ve makrofajlardır. İmmün sistemin ikinci ayağını ise hücre sel ve hü moral immünite dediğimiz spesifik immünite oluşturur. Hücre sel immün yanıtın temel efektör hücreleri timus kökenli (T) lenfositler, hü moral immünitenin ise kemik iliği ya da bursa kökenli (B) lenfositlerdir. Hem T hem de B hücreleri ortak bir kök (stem) hücre den kaynaklanırlar. İmmün sistemin diğer efektör ve düzenleyici hücreleri büyük granüllü lenfositler, monosit-makrofajlar ve dendritik/Langerhans hücrelerdir (26).

T Hücreleri : Normal periferik lenfositlerin % 70-80'ini oluşturan T hücreleri yüzey immünoglobülin reseptörü taşımamaları ve CD2, CD3 ve CD7 adlı reseptörleri ile diğer lenfositlerden ayrılırlar. Kemik iliği ve fetal karaciğer kökenli olan T hücreleri fetal ve erken postnatal dönemde timusa göç ederek orada olgunlaşırlar. Diğer immün hücrelerden önemli bir farkları efektör T hücre havuzunun timusta hayatın ilk döneminde oluşması ve naif T hücrelerinin antijen varlığında bellek T hücrelerine dönüşerek periferik lenfoid organlar ile kan arasında dolaşmalarıdır. T hücreleri

hücrel immünitenin kaynağı olarak direkt hücrel temas ve sitokinler yolu ile diğer T ve B hücreleri ile monosit fonksiyonlarını düzenlerler. Ayrıca virusla enfekte ya da malign hücreleri parçalayan öldürücü (sitotoksik) hücrelerin bir kısmı da T lenfositlerdir. T hücreleri kemik iliğinde eritrosit hücre olgunlaşmasını da düzenlerler (27). En erken T hücre öncülleri fetal karaciğer ve postnatal kemik iliğinde bulunan CD34+ pro-T hücreleridir. Bu hücrelerde T hücre reseptör (THR) genleri eksprese edilmez. Timusa göç eden T hücreleri CD7 ve bir yapışma molekülü olan CD2 eksprese ederler, sitoplazmalarında da T hücre reseptör kompleksi ile ilişkili moleküllerden CD3'ün sentezi görülür. Tüm T hücrelerinde bulunan ve HLA (İnsan Lökosit Antijeni) molekülleri ile ilişkili olarak antijenik tanımda yer alan reseptör T hücre reseptörü (THR) olarak adlandırılır. Bu reseptör heterodimer yapısında bulunan ikişer adet $\alpha\beta$ ve $\gamma\delta$ zincirinden oluşur. Bu molekül yapısal olarak immünoglobülinlere benzer. Amino uçlarında değişken ve karboksi uçlarında sabit bölgeler içerir ve bu nedenle immünoglobülin süper-ailesi içinde yer alır. THR $\alpha\beta$ olan T hücreleri periferik kan, lenf bezleri ve dalaktaki T hücrelerinin çoğunu oluştururlar ve terminal olarak CD4 ya da CD8 hücrelere olgunlaşırlar. T hücrelerinin immün uyarı sonrası çeşitli sitokinler salgılayarak diğer T ve B hücreleri ile monosit-makrofajların uyarılma ve olgunlaşmasını sağlayan alt-grubu yardımcı T hücreleri (T-yardımcı, Th) olarak adlandırılır. Bu grup yüzeyinde CD4 ve THR $\alpha\beta$ taşır, normal bireylerde periferik T lenfositlerinin % 60-65'ini oluşturur. CD4 molekülü antijenin T hücre reseptörü (THR) tarafından HLA sınıf II molekülü ile birlikte tanınmasında yer alır. Son dönemde yardımcı T hücre grubunun da, salgıladıkları sitokinlere göre, iki alt grubunun olduğu öne sürülmüştür. IL-2 ve IFN- γ salgılayan Th1 grubu; IL-4, 5, 6 ve IL-10 salgılayan Th2 grubudur. Diğer bir T hücre grubu yabancı antijenleri HLA sınıf I molekülleri yardımı ile tanıyıp bu hücreleri yıkıma uğratan sitotoksik T hücreleridir (Tc). Bu hücreler CD8 ve THR $\alpha\beta$ molekülleri taşırlar. CD8+ grup periferik lenfositlerin % 30-35'ini oluşturur. THR $\gamma\delta$ olan T hücreleri periferik kanda küçük bir alt gruptur ve özellikle epitel yüzeylerindeki immün korunma ile mikobakteriler ve diğer hücre içi mikroorganizmalara karşı savunmada ilk yanıtı veren hücre grubu olarak yer almaktadır. Bu yanıtın kısa süreli, bellek özelliği olmayan doğal immünite ile uzun süreli, bellek geliştiren immün yanıtlar arası bir geçiş özelliği taşıdığı düşünülmektedir (27).

B Hücreleri : Kan lenfosit havuzunun % 5-15'ini oluşturan B hücreleri insanda önce fetal karaciğerde, sonra kemik iliğinde gelişirler ve yüzeylerinde antijen reseptörü

olarak da görev yapan immünoglobülin molekülleri taşırlar. Antijenik uyarı sonrası, T hücrelerinden salınan sitokinlerin de katkısıyla (IL-2, IL-6) B hücreleri plazma hücrelerine dönüşerek gelişimlerini tamamlarlar ve ikincil lenfoid organlara yerleşirler (lenf bezi folikülleri ve dalak). Plazma hücreleri antikor olarak adlandırılan çözünür formdaki immünoglobülinleri yaparlar (28).

B hücreleri olgunlaşmalarının en erken dönemlerinde yüzeylerinde immünoglobülin içermezler. Antijen ile uyarılan B hücrelerinin bir kısmı immünoglobülin salgılayan plazma hücrelerine dönüşürken, bir kısmı da bellek hücrelerini oluştururlar. Antijen ile ikincil karşılaşma bu hücrelerin birinciden çok daha güçlü bir yanıt vermesine yol açar. İkincil yanıt sırasında B hücrelerin immünoglobülin yanıtlarında da (immünoglobülin izotipleri) değişiklik görülür (IgM'den IgG, IgA ya da IgE'ye değişim=sınıf değişimi). İmmünoglobülinlerin sınırsız sayıda farklı antijeni tanıyabilecek çeşitliliğini sağlar. B hücreleri yüzeylerinde Ig reseptörleri dışında komplemanın üçüncü parçası (C3) için reseptör ve yardımcı T hücreleri (Th) ile etkileşebilmelerini sağlayan HLA sınıf II moleküllerini taşırlar (27).

Antijen Sunumu T hücre reseptörleri (THR) ile oluşur. THR antijeni antijen-sunucu hücreler yüzeyinde bulunan ve 6. kromozomda yer alan majör histokompatibilite kompleksi (MHC) tarafından sentezlenen insan lökosit antijenleri (HLA) ile ilişkili olarak tanır. HLA sınıf I (A,B,C) ya da II (DR,DP,DQ) ile olan tanıma HLA ya da MHC ile kısıtlılık olarak adlandırılır. CD3 kompleks molekülleri THR zincirlerinin hücre membranına yerleşmeleri için gereklidir. $THR\alpha\beta$ ve THR $\gamma\delta$ molekülleri antijenik bağlanma bölgesini oluştururken CD3 kompleksi T hücre aktivasyonu için gerekli sinyal iletimini sağlar. Bu kompleks dışında ikincil uyarıyı sağlayan ve yüzeylerinde HLA sınıf II moleküllerini eksprese eden makrofajlar, dendritik hücreler ve aktive olmuş B hücreleri profesyonel antijen-sunucu hücreler olarak adlandırılırlar. Epitel hücreleri, keratinositler ve endotel hücreleri gibi bir grup diğer hücre ise normalde HLA sınıf II molekülleri eksprese etmezken, inflamasyon ve çeşitli sitokinler varlığında HLA sınıf II ekprese eder ve T hücrelerine ikincil uyarıyı sağlarlar. T hücrelerini zayıf uyarı ve kemik iliği kökenli olmayan bu hücreler profesyonel olmayan antijen-sunucu hücreler olarak adlandırılırlar (27,29).

Büyük Granüllü Lenfositler (NK): Periferik kandaki mononükleer hücrelerin % 5-10'u yüzeylerinde T ya da B hücresi işareti taşımazlar. Bu hücrelerin yüzeylerinde IgG Fc kısmına karşı reseptör bulunur. Bir kısmı bir T hücre göstergesi olan CD8 taşır ve IL-2 ile çoğalır. Büyük sitoplazmik granülleri olan, ancak fagositoz yapma ve

yapışma özellikleri olmayan bu hücreler büyük granüllü lenfositler olarak adlandırılırlar. Monosit-makrofaj ve nötrofil benzeri fonksiyonları olan bu hücreler antikora bağlı hücrel öldürme ya da doğal öldürücü hücre (natural killer, NK) aktivitesi gösterirler. Antikora bağlı hücrel öldürme Fc reseptörü olan lenfositin antikor ile kaplı (opsonize) hücreye Fc yolu ile bağlanıp onu öldürmesidir. Doğal öldürücü hücre aktivitesi ise daha önceden hedef ile karşılaşmamış lenfositin antikor varlığı gerektirmeyen öldürücü aktivitesidir. Özellikle malign yada virüs ile enfekte hücreler ve transplante edilmiş yabancı hücrelerin yok edilmesinde rol alır. Lenfokin ile aktive (LAK) öldürücü hücreler ise IL-2 adlı sitokin ile uyarılarak tümör öldürücü yetenekleri artırılmış olan hücrelerdir. NK hücrelerinin öldürücü yeteneği hedef hücrelerin HLA sınıf I molekül ekspresyonları ile ters orantılıdır. Virüsler ve malign dönüşüm hücrelerin HLA sınıf I ekspresyonunu azaltır, bu durum CD8+ T hücrelerinin HLA sınıf I'e bağımlı sitotoksik yanıtlarını etkiler. NK hücrelerinin immün sistemdeki bu boşluğu doldurmak üzere geliştikleri düşünülmektedir (27).

Monosit-Makrofajlar : Kemik iliğindeki öncül hücrelerden kaynaklanan monositler, periferde 1-3 günlük bir yarı ömür ile dolaşırlar. Doku makrofajları ise ya periferik kandaki monositlerin ekstrasvasküler dokuya göçü ya da dokulardaki makrofaj öncüllerinden gelişirler. Lenf bezleri, dalak, kemik iliği, perivasküler konnektif doku, periton, plevra gibi seröz boşluklar, akciğer (alveolar makrofajlar), karaciğer (Kupfer hücreleri), kemik (osteoklastlar), merkezi sinir sistemi (mikroglia) ve sinovyumda (Tip A hücreleri) doku makrofajları bulunur. Monosit-makrofaj sistemi antijen sunucu hücreler olarak antijenin T hücrelerine sunumu yanında, IL-1 ve IL-6 gibi sitokinler yoluyla T ve B hücrelerinin antijene bağlı aktivasyonunda temel rol alır. Monosit-makrofajların antikor ile kaplı bakteri, tümör hücresi ve hatta bazı normal kemik iliği hücrelerinin yıkımı (otoimmün sitopenilerde) gibi efektör görevleri de vardır. TNF- α ve IL-1 gibi sitokinler monosit makrofajların antikora bağlı olmayan litik aktivite göstermesini de sağlarlar. Monosit-makrofajlar ayrıca dokularda immün yanıtı şekillendiren çeşitli hidrolitik enzimler, oksidatif metabolizma ürünleri ve kemoatraktan çeşitli sitokin ve kemokinler yoluyla pro ve anti-inflamatuvar roller üstlenirler (27).

Dendritik/Langerhans Hücreleri : Dendritik/Langerhans (D/L) hücreleri kemik iliği kökenli, T hücreleri için antijen-sunucu bir hücre grubudur. Yüksek düzeyde HLA sınıf II ve yapışma molekülleri eksprese eder ve iyi antijen sunarlar. Ciltte ve mukozal yüzeyler altında bulunduklarında Langerhans hücresi adını alırlar. Dendritik hücreler

kanda çok az miktarda bulunurlar (% 0.1'den az) ve bu grup dokular arası geçiş yapan hücrelerdir. Foliküler dendritik hücreler B hücreleri için antijen sunucu hücrelerdir. Foliküler dendritik hücrelerce B hücrelerine sunulan bu antijenlerin B hücre belleğinin oluşumunda temel rol aldıkları düşünülmektedir. Germinal merkezlere ulaşan CD4+ yardımcı T hücrelerin de bu uyarı ve aktivasyon sürecinde B hücrelerine yardım ettiği gösterilmiştir (27).

Granülositler (Nötrofil, Eosinofil ve Bazofiller): Tüm inflamasyon tiplerinde yer alan granülositler doğal ve özgün immün yanıtların efektör hücreleridir. Kemik iliğinde 80 milyon/dk hızla yapılan ve 2-3 gün ömrü olan granülositler kan lökositlerinin % 60-70'ini oluştururlar. Granülositlerin kontrolsüz çoğalmaları ve dokularda birikimleri nötrofil ve eozinofil kökenli sistemik vaskülitlerde görüldüğü gibi ağır doku hasarına yol açabilir. Dolaşan granülositlerin % 90'ından fazlasını oluşturan, nötrofiller IgG için Fc reseptörü (CD16) yanında aktive kompleman ürünlerine ait reseptörleri de (C3b, CD35) taşırlar. Periferik kanda % 2-5 oranında bulunan eozinofiller IgG için Fc reseptörü (CD32) taşırlar ve özellikle parazitik organizmalar için sitotoksik etki gösterirler. Periferik kanda düşük oranda bulunan (% 0.1-0.2) bazofil ve doku mast hücrelerinin görevleri tam anlaşılamamıştır. Bazofillerin allerjide ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonlarında rol aldığı düşünülmektedir. Bazofiller vasküler permeabiliteyi artırarak çeşitli inflamatuvar tablolarda önem taşırlar. IgE için yüksek afiniteli yüzey reseptörü taşıyan bazofillerde bu reseptörlere IgE bağlanması sonrası histamin, eozinofilik kemotaktik faktör ve proteazların etkisiyle ani (anafilaktik) hipersensitivite reaksiyonları oluşur. Bazofiller C3a ve C5a gibi aktif kompleman ürünleri için de reseptör taşırlar (27,29).

MAJÖR HİSTOKOMPATİBİLİTE KOMPLEKSİ

İnsanda 6.kromozomun kısa kolu üzerinde yer alan majör histokompatibilite kompleksi (MHC), kompleks yapılı bir gen grubunu oluşturur ve HLA moleküllerini kodlar. Bu kompleks kendi içinde alt bölgelere (region) ayrılarak incelenmekte ve temel olarak sınıf I, sınıf II ve sınıf III bölgelerine ayrılmaktadır. MHC gen bölgesi insanda transplantasyon durumlarında diğer bireylere (alloimmun) yönelen yanıtın HLA moleküllerine karşı geliştiği bulunmuş ve bireyler arasındaki farklılıklar doku grubu olarak adlandırılmıştır. MHC üç gruba ayrılabilir sınıf Ia (HLA-A, HLA-B ve HLA-C); sınıf II (HLA-DP, HLA-DQ ve HLA-DR); ve sınıf Ib (HLA-E, HLA-F and HLA-G). MHC sınıf I bölgesinde HLA-A, HLA-B, HLA-C gibi "klasik" gen lokusları yanında

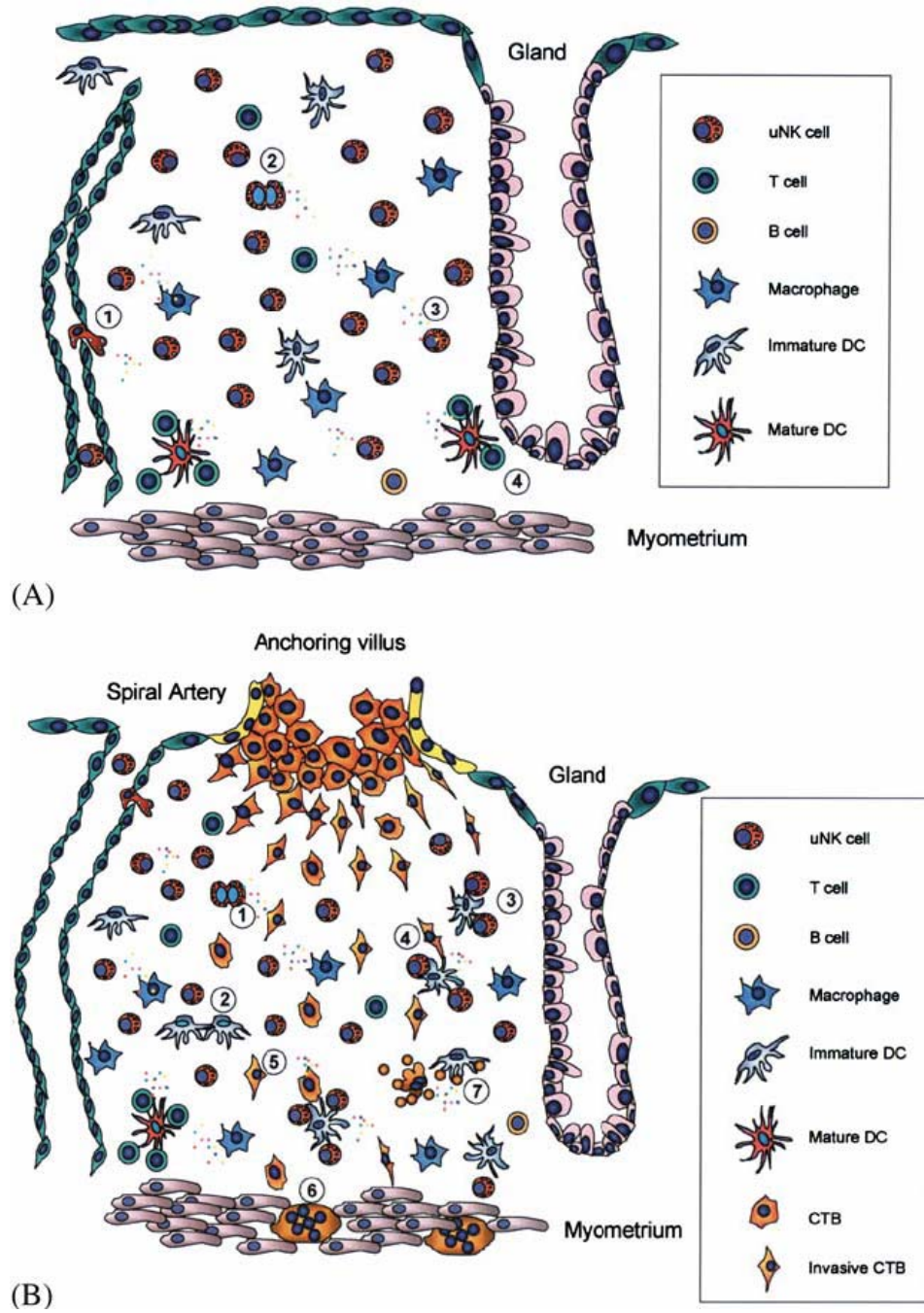
HLA-E, HLA-F, HLA-G gen lokusları da tanımlanmış, yine bu bölgede HFE (HLA-H), HLA-J, HLA-K ve HLA-L psödogen bölgelerinin varlığı bildirilmiştir. MHC sınıf II bölgesinde ise HLA-DR, HLA-DQ ve HLA-DP molekülüne ve "sınıf II benzeri" HLA-DM ve HLA-DO moleküllerinin gen lokusu bulunmaktadır. Sınıf I grubu HLA molekülleri insanda bütün çekirdekli hücreler üzerinde, hücre membranında yer alırken (eksprese edilirken), sınıf II grubu moleküllerin ekspresyonu sınırlıdır. Genel olarak fizyolojik koşullarda immün sistemin antijen sunucu hücreleri olarak bilinen B hücreleri ve monosit/makrofaj serisi ve bu serinin farklılaşmış tüm elemanlarında (dendritik hücreler ve foliküler dendritik hücreler) eksprese olurlar. Ancak sınıf II moleküllerinin dağılım özellikleri organizmanın immün yanıtı ile ilişkili olarak farklılık göstermekte, immün yanıtın aktivasyonu ile gelişen değişiklikler bu moleküllerin bazı hücrelerdeki ekspresyonunu uyarmaktadır. İmmün yanıt sırasında açığa çıkan proinflamatuvar sitokinlerden öncelikle IFN γ etkisiyle sınıf II moleküllerinin eksprese edildiği hücre tipleri artabilmekte, aktifleşmiş T hücresi gibi hücrelerde bulunmaktadır. HLA moleküllerinin işlevleri immün sistemin efektör hücrelerine antijen sunarak immün yanıtı uyarmaktır. Sınıf I ile oluşan bir HLA-antijen kompleksini yüzeyinde CD8 molekülü taşıyan T hücreleri görebilmekte, sınıf II ile oluşan bir HLA-antijen kompleksini ise yüzeyinde CD4 molekülü taşıyan T hücreleri görebilmektedir. Genellikle multipar anneler ve transplantasyon hastalarının kanında ortaya çıkan alloreaktif antikor yanıtı, yöneldiği antijenin belirlenmesi açısından, çeşitli HLA molekülüne karşı taranmakta ve kullanılmaktadır. Antijen-antikor bağlanması kompleman varlığında hücre lizisine yol açmakta, belirli anti-serumlarla lizize olan hücrelerin taşıdığı HLA molekülüne bu yolla belirlenebilmektedir. HLA moleküllerinin allograft reddinde hedef molekülüne oluşturmaya transplantasyonda alıcı ve vericinin lenfositlerinin karşılaştırıldığı karışık lenfosit kültürü yönteminin geliştirilmesini sağlamış, kültürde hedef hücre olarak HLA molekülü bilinen örnekler kullanıldığında yanıt veren hücrenin taşıdığı HLA molekülünün belirlenmesi olanaklı olmuştur (30,31). HLA ilişkisi gösterilen hastalıklarda etyolojik ajan saptanamamakta ve etyopatogenez açıklanamamaktadır. Çoğunluğunda immün sistem işlevlerinin bozukluğu ile otoimmün bir mekanizmanın rolü düşünülmektedir. HLA ile ilişkili hastalıkların tümü kronik ya da subakut seyirli olup soyun devamına ve hastalığın sürmesine izin vermektedir. Ankilozan spondilit, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, Çöliak hastalığı gibi (31).

SİTOKİNLER

Sitokinler hem spesifik immün sistemin hem de doğal immün sistemin hücrelerince salgılanan, immün sistem fonksiyonları üzerine hayati öneme sahip olan regülatör proteinlerdir. Sitokinler antijen sunumu, immün sistem hücrelerinin farklılaşması, olgunlaşması, aktivasyonu, adezyon moleküllerinin ekspresyonu ve akut faz yanıtları gibi immün yanıtın ve inflamasyonun her safhasında rol oynarlar. Sitokinler antijen spesifik olmadıkları halde yapımları ve salgılanmaları antijen uyarısına bağlıdır. Sitokinler genellikle istirahat halindeki hücrelerce değil, stimüle edilen hücrelerce yapılır ve salgılanır. Önceden yapılmış moleküller olarak depolanmazlar. Sitokinler salgılandıktan sonra etkilerini daha çok lokal olarak gösterirler. Sitokinlerin immün yanıtın regülasyonunda oynadıkları önemli rollerinin bir göstergesi, Th lenfositlerinin salgıladıkları sitokinlere göre Th1 ve Th2 olarak alt gruplara ayrılmasıdır (Th1/Th2 polarizasyonu). Th1 lenfositler IL-2, IFN γ TNF β (lenfokin) yaparken IL-4 ve IL-5 yapmaz. Th2 lenfositler ise IFN γ ve TNF β yapmaz. IL-4, IL5, IL-6, IL-10, IL-13 salgılar. TH1 ve TH2 hücreler birbirlerinin fonksiyonlarını karşılıklı olarak regüle ederler. Th2 hücrelerce yapılan IL-4 ve IL-10, Th1 hücrelerini inhibe ederken, Th1 hücrelerce yapılan IFN γ , Th2 hücrelerini inhibe eder. İnflamatuvar immün yanıtlar (gecikmiş tip hipersensitivite) Th1 hücrelerince oluşturulurken, humoral immün yanıtlar ve allerjik yanıt TH2 hücrelerince oluşturulur. Th1 ve Th2 farklılaşmasına genetik faktörler, antijenin özellikleri, antijenin işlenme ve sunulma yolları ile antijen sunan hücrenin özellikleri gibi birçok faktör etkilidir. En önemlisi antijene yanıtın verildiği ortamdaki sitokinlerdir. Ortamda bulunan IL-12 Th1 gelişimini, IL-4 ise Th2 gelişimini sağlar (32).

2.3 ENDOMETRİYUMUN İMMÜNOLOJİSİ

Gebelik 2 semiallogenik birey arasındaki (anne ve fetus) simbiyoz bir ilişki olarak gelişen fizyolojik fenomendir. Anne ile fetus arasında direk damar devamlılığı bulunmamakla birlikte böyle bir simbiyos, rejeksiyon gibi reaksiyonlardan korunmak ve yabancı fetal dokunun maternal desiduaya invazyonunu kontrol etmek için bir immünolojik düzenleme gerekmektedir (Şekil 1)(33).



Şekil 1. (A) Sekretuar fazdaki endometriyumda bulunan immün hücrelerin gebe olmayan uterustaki dağılımını gösteren şematik şekil. Predominant popülasyon, uterin NK (uNK) hücreleridir. Ayrıca immatür dendritik hücreler (DC) ve makrofajlar, bütün endometriyal stromada gözlenir. Sekretuar fazda, uNK hücreleri homing faktörlerle(1) ve in situ prolifer(2) olarak endometriyumu istila ederler. Endometriyumda pek çok sitokin ve diğer çözünebilen faktörler immün hücreler ile etkileşim halindedir(3). Birkaç T lenfosit ve oldukça az B lenfositde endometriyumda dağınık olarak bulunur. T hücreleri endometriyum bazalinde matür DC hücreleri ile ilişkilidir. Bu matür DC-T hücreleri tercihan endometriyal bezlerin(4) yanına yada damar yakınlarına(sol taraf) lokalize olma eğilimindedir.(B) erken gebelikte sadece uNK lar prolifer(1) olmaz immatür DC(2)'lerde eşlik eder. Bu iki hücre sıklıkla temas halindedir(3) Decidua basalist, iDC-uNK ile invaziv sitotrofoblastlar(CTB) birbirleriyle temas halinde olabilirler.(4). İnvaziv CTB lar tüm desidual stromada bulunabilir(5) ve miyometriyuma invaze olabilir.(6). İnvazyon sonrası CTBların bazıları apoptozise gidebilir, immatür DCler tarafından bu apoptotik cisimler yakalanabilir.(7)

Bu düzenlemede en önemli rolü trofoblast hücreleri gerçekleştirmektedir. Trofoblast hücreleri üç farklı grupta incelenebilir. Villöz trofoblastlar bölünebilen hücrelerdedir ve daima villus içerisinde kalır. Sinsityotrofoblastlar ise diğer bir gruba oluşturur, villöz sitotrofoblastları çevreler, maternal kan hücreleri ile temastadır. Nonvillöz trofoblastlar üçüncü gruba oluşturur, trofoblastların çoğalan prekürsörleridir, desidua ve myometrium içerisine göç eder. Villöz trofoblastlar maternal kan hücreleri ile temasta olduğu için kan hücrelerinden lökositler ile direkt ilişki içerisinde (34).

Gebelikte periferik lökosit sayısında belirgin artış olmaktadır (35,36,37,38). Bununla beraber gebelikte immün sistemde belirgin değişiklikler olmaktadır. Rheumatoid arthritisi ve lupus erythematosus gibi immün sistemle ilişkili hastalıkların şiddeti gebelikte azalmakta hatta remisyona girmektedir (39,40).

Embriyo semi-allojenik olmasına rağmen gebelik boyunca immün sistem tarafından tolere edilir (41). Fetus ile annenin ilişkisini sağlayan ilk yapı plasentadır. Placenta hem anneden hem de fetal oluşumlardan meydana gelir ve yoğun bir değişim sağlarken aynı zamanda bir bariyer görevi de gerçekleştirir (42). Fetusun yapısı maternal immün sistem ile uyumlu olmadığı için her an bir rejeksiyon mekanizması başlayabilir (43).

Fetal toleransı açıklayan bir çok mekanizmadan bahsedilmiş olmasına rağmen bu konuda tüm bilgiler yeterli değildir. Fetal tolerans embriyonik ve fetal gelişimin farklı dönemlerinde de farklı mekanizmalar ile ortaya çıkmaktadır.

ENDOMETRİYAL İMMUNOLOJİDE HORMONAL ETKİ

Fetal antijenler ve fetal hücreler anne kanında bulunmasına rağmen reaksiyon gösterilememesinin bir nedeni sistemik etkilidir. Placental salınan progesteron immün sistemi baskılamaktadır (44). Placental büyüme hormonu da gebelik ilerledikçe hipofizer büyüme hormonunun yerini alır ve immün sistemi module eder (45-46). Periferik tolerans olarak tanımlanan "Anerji"yi oluşturan fetus hücreleri ve antijenleri inflamatuvar sinyal oluşturmadağı için toleragen olarak sınıflandırılabilir.

Materno-fetal interfazdaki immunoregulasýona gebelikte ilişkili hormonlar etki etmektedir. En çok ilişkili olanlar progesteron ve β -HCG'dir. Lenfositlerde yüksek sayıda progesteron reseptörleri bulunmaktadır. Progesteronun bağlanması üretime ve progesteron-indüklenen bloking faktör (PIBF) salgılamasına neden olmaktadır ki bu

gebelikteki anahtar immuno regulatuar moleküllerden biri gibi görünmektedir (47). PIBF'in etkin olduğu temel olarak Th2 sitokin indüksiyonu ve NK hücre sitotoksitesini azaltmaktadır (48). Bu etki ile prostaglandin sentezinin durmasının izlediği, lenfositlerden araşidonik asit salınımının inhibisyonu ve IL-12 üretiminin azalması indirekt olarak ilişkilidir (49). β -HCG'nin immunregülatör fonksiyonu; trofoblastların invazyonunu kolaylaştıran FAS ligandın ekspresyonunu artırarak endometrial hücrelerin apoptozisini arttırmasıdır.

LENFOSİT ALTGRUPLARI

Endometriyum; stromal hücreler, bezler, damarlar ve yüzey endotelinden oluşan bir bölgede belirgin lenfosit popülasyonu ile karakterize bir organ olarak düşünülebilir. Bu lenfoid yapı menstüriyel siklus sırasındaki hormonlara göre değişim göstermektedir.(Tablo 1)

Tablo 1. İmmünokompetent hücrelerin uterus mukozasındaki rölatif sıklığı (50,51)

HÜCRE TİPİ	ENDOMETRİYUM PROLİFERATİF FAZ	ENDOMETRİYUM SEKRETUAR FAZ	DESİDUAL ERKEN GEBELİK
LENFOSİTLER			
uNK	+	+++	+++++
T HÜCRE	+	+	++
B HÜCRE	-/+	-/+	-/+
APC			
MAKROFAJ	+	++	+
İmmatür DC	+	+	++
Matür DC	-/+	+	-/+
GRANÜLOSİTLER			
NÖTROFİL	-	-/+	-/+

Özellikle, siklus fazları sırasındaki farklılığı görmek için uterin lökositlerin sayısı ve dağılımı gösterilmiştir (52). CD45 lökositleri stratum bazalede yoğun olarak bulunmaktadır ve tüm endometrial hücrelerin sayısı premenstüriyel dönemde %10-15

ten %20-25'e çıkmaktadır (53). Bu yükselme temel olarak sekretuar fazdaki endometrial lökositlerin ana subpopulasyonlarından olan CD56 CD16 CD3 uterin NK (uNK) hücre gruplarında olmaktadır (54,55). Diğer az sayıda saptanabilen immun hücreler ise CD CD3 NK hücreleri, nötrofiller ve mast hücreleridir (56). Erişkin kadın endometrial stromadaki non-NK lökositlerin çoğunluğu HLA-DR antijen sunan hücreler (PC) ve T hücreleridir (57,58).

LENFOSİTLERİN YERLEŞMESİ

Uterin lenfosit sub gruplarının belirgin doku spesifiteleri vardır ve siklusun belli fazları ile kesişen özelleşmiş mekanizmalar yerleşme özelliklerini belirler. Adhezyon molekülleri lökositlerin periferel dokuda yerleşmesinde ve işlevlerinde anahtar rol oynadıkları için (59), birçok çalışma endometriyum ve erken gebelik desiduasındaki bu moleküller üzerine odaklanmıştır. Endometrial ve/veya erken gebelik desidual stromal hücreleri ICAM-I, VCAM-I, LFA-3, α 3-6, β 1, α V β 3 ve H-CAM adhezyon moleküllerini ve infiltre eden lenfositler ICAM-I, VCAM-I, N-CAM (CD56), LFA-1a/b, LFA-2, LFA-3, Mac1, gp150,95, α 1+2, α 4-6, β 1, α V β 3 ve H-CAM üretmektedir (60).

uNK Hücreleri

uNK hücreleri uterus için spesifiktir ve NK hücreleri gibi fonksiyon göstermektedir. Ancak uNK hücrelerinin diğer NK hücrelerinden farklı fenotipi bulunmaktadır (54,61,62,63,64,65) uNK hücreleri normal olarak bulunduğu endometriyumda erken gebelik döneminde sayısı artmaktadır (65,66,67). uNK hücrelerinin desiduada bulunma mekanizması iki yolla açıklanabilir. Birincisi periferel kan uNK hücresi selektif olarak uterus mukozasına yerleşmektedir. uNK hücrelerindeki adezyon molekülleri desidual kan damarları ile bağlanır ve bu yerleşmenin gerçekleşmesini sağlar (68,69). İkinci mekanizma ise uNK insitu proliferasyonu olmasıdır. uNK hücreleri aktif olarak bölünme yeteneğine sahiptir (65,70,71) Hücrelerin çoğalmasında desidual hücreler tarafından salgılanan sitokinler veya hormonlar stimule edebilir (72-78).

uNK hücreleri desidua içerisinde çok sayıda bulunmalarına rağmen semi-allojenik non villöz sitotrofoblast hücrelerine bağlanmaz. Bu bağlanmamayı uNK hücrelerinin salgıladığı inhibitör faktörler sağlamaktadır. Bu reseptörler trofoblastlar üzerindeki MHC Ia ve b (HLA-C, HLA-E and HLA-G) ile bağlanmaktadır. İnhibitör reseptörler uNK hücrelerin litik fonksiyonlarını baskılar. uNK hücrelerinde birkaç tane

inhibitör reseptör tanımlanmıştır. Bunlar immunglobulin benzeri öldürücü hücre inhibitör reseptör [Ig-like killer cell inhibitory receptor (KIR)] (KIR2D, KIR2DL4) ve lektin benzeri [lectin-like] KIR'lar (CD94/NKG2A) dır (79,80,81,82,83).

uNK hücrelerinin fonksiyonu hakkında bilgiler oldukça kısıtlıdır. Periferel NK hücreleri ile aynı membran markerlarını taşımamaktadır. Bu nedenle aynı fonksiyona sahip olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir. uNK hücrelerinin gebelik döneminde sayısının çok artması bu dönemde infeksiyonlardan korunma ve immunitiyi kontrol etme amacına yönelik olabilir. Ayrıca uNK hücrelerinin implantasyon ve plasenta gelişimine etki ettiği düşünülmektedir (84,85). Yapılan çalışmalarda pre implantasyon döneminde uNK hücreleri sayısının artmış olmasının tekrarlayan düşüklere neden olduğu bildirilmiştir (86,87,88). Buna karşılık uNK hücreleri sayının azalması genetik olarak anormal fetus gelişimine yol açmaktadır (89,90). Tubal gebeliklerde ise uNK hücreleri bulunmamaktadır (91).

uNK hücrelerinin önemli bir fonksiyonunda sitokin üretimidir (92,93,94,95) uNK hücrelerinden salınan sitokinler plasentasyonda önemli rol oynamaktadır. Granulosit koloni-stimule edici faktör (G-CSF), granulosit-makrofaj koloni-stimüle edici faktör (GM-CSF), makrofaj koloni-stimüle edici faktör (M-CSF) ve lösemi inhibitör faktör (LIF) trofoblastların büyümesini sağlarken; koloni stimüle edici faktörler trofoblastların proliferasyonunu ve diferensiyasyonu sağlamaktadır (96,97). Ayrıca LIF implantasyonu stimule etmektedir (98,99,100,101). TGF- β , trofoblast proliferasyonunu ve diferensiyasyonunu inhibe etmektedir (102,103,104). uNK hücreleri ayrıca tip 1 sitokin (TNF- α ve IFN- γ) de üretir, bunlar implantasyon ve trofoblast invazyonuna inhibitör etki oluşturmaktadır.

T lenfositler

Gebelikte periferel kan hücrelerinden en çok araştırılan hücre T lenfositlerdir. T lenfosit popülasyonu yardımcı T lenfositler (Th) ve sitotoksik T lenfositler (Tc) olmak üzere ikiye ayrılır.

Th hücreleri diğer immün sisteme ait hücelere yardım ederken diğer taraftan sitokinleri üretmektedir. Tc hücreleri ise direk olarak enfekte veya yabancı hücreleri ortadan kaldırmaktadır. Th ve Tc hücrelerinin gebelikte sayılarının artıp atmadığı tam olarak bilinmemektedir (38,105,106,107). T lenfositler sitokin üretimlerine göre de sınıflandırılabilir. Tip 1 T lenfosit hücreleri, interferon- γ , interleukin-2 (IL-2) ve tümör nekrosis faktör- α (TNF- α), üretir ve hücrel immün cevabın oluşumuna katkıda

bulunur. Buna karşın Tip 2 T lenfosit hücreleri IL-4, IL-5, IL-9, IL10 ve IL-13 sentezler, humoral immüitenin oluşumuna katkıda bulunur (108). Yapılan çalışmalarda Th2 hücrelerinin gebelikte önemli rol oynadığı gösterilmiştir (109,110,111). Tip1 sitokinlerin azalması gebeliğe daha olumlu etki yapmaktadır. Tip 1 sitokinler (IFN γ ve TNF α) gebelik için zararlıdır. Embriyonik ve fetal gelişmeyi inhibe etmektedir (112,113). Gebe farelere bu faktörler enjekte edilirse gebelik sonlanmaktadır (112). İnsan çalışmalarında da periferik lenfositler tarafından üretilen Tip1/Tip 2 sitokin üretim oranının gebelerde gebe olmayanlardan daha düşük olduğu gösterilmiştir (38,114,115,116,117). Bununla beraber bu azalmanın nedeninin Tip 1 sitokin üretim azalmasına mı bağlı olduğu yoksa Tip 2 sitokinlerinin fazla üretimine mi bağlı olduğu konusunda tam bir fikir birliği bulunmamaktadır (38,115,117). Bununla beraber Tip 2 immün cevaba doğru kaymanın gebeliğin devamı için çok önemli olduğu bilinmektedir. Tekrarlayan düşüklerde Tip 1 sitokinlerde artış olduğu gösterilmiştir (118,119). Diğer yandan Tip 2 sitokin artışının tekrarlayan gebeliklerde artmış olduğunu rapor eden çalışmalarda bulunmaktadır.

Tip1/Tip 2 sitokin oranını gebelikte azaldığını açıklayan çeşitli görüşler bulunmaktadır. Östrojen ve progesteron gibi gebelik hormonlarının lenfositler üzerine direk etkisi ile tip 2 sitokin üretimi artırdığı ileri sürülmektedir (120,121,122). Progesteron indirekt yol ile PIBF salgılayarak veya plasentanın lenfosit sitokin üretimini baskılayarak etkisi olabilir (48,123,124).

In vitro, çalışmalarda plasental ve trofoblast hücrelerinin sitotoksik T-lenfosit aktivitesini azalatan faktörler ürettiği gösterilmiştir (125,126). Bunun yanı sıra trofoblastlar özellikle Tip 2 sitokinleri üreterek, Tip2 yanıt oluşumuna katkıda bulunurlar (127,128,129,130).

Plasentanın T lenfosit cevabını inhibe ettiğide bilinmektedir. Villöz sinsisyotrofoblastlar indol amin dioksigenaz (IDO), sentezler bu enzim triptofanı metabolize eder ve maternal T lenfositleri baskılar (131,132,133).

T lenfositler trofoblastlar ile temas halinde olmasına rağmen nonvillöz sitotrofoblastlar ile temas halinde değildir. T lenfositler MHC Ia negatif trofoblastları tanıyamaz. T lenfositlerin sayısı desidua ve plasentada gebelik sırasında azalmaktadır (86,134,135,136). Ayrıca desidua T lenfositler tarafından salınan sitokinlerin fetusu kabul edilmesinde rol oynamaktadır. Desiduada T lenfositler değişik Tip 1 ve Tip 2 sitokinleri üretmektedir (111,112,137). Tip 1 sitokinler fetus için

zararlıdır. Desiduada düşüğe neden olur ve trofoblast invazyonunu inhibe eder. TNF α trofoblast hücrelerinin apoptosisini stimüle eder. IFN- γ , TNF- α aracılığıyla trofoblast ölümüne aracılık eder (138,139). Bu sitokinler trofoblastların aşırı büyümesini inhibe eder(113,140) ve makrofaj aktivitesini stimüle eder (141,142). Ayrıca, TNF- α ve IFN- γ fetal büyümeyi protrombinaz aktivitesini arttırarak da etkilemektedir. Bunun aktivasyonu sonucunda ortaya çıkan trombin pıhtılaşmaya neden olur ve IL-8 salınımına neden olur. IL-8 granülositleri ve endotel hücrelerini stimüle ederek gelişmekte olan plasentaya kan akımını sonlandırmaktadır (143,144).

Monosit ve granülositler:

Doğal immun hücrelerden makrofajlar desidua içerisinde bulunmaktadır. İnsanlarda gebelik döneminde uterusu yaygın olarak bulunmaktadır (145). Makrofajlar desiduada, trofoblastlar ile birlikte, ekstraplasental membranlarda bulunmaktadır (146). Makrofajların sayısı premensturel dönemde artmaktadır. Desiduadaki makrofaj sayısı tüm lökositlerin % 20-30 unu oluşturmaktadır (67,147,148,149). Makrofaj sayısı östrojenden etkilenmektedir. Östrojen lökositlerin uterusu girmesini stimüle eder (150,151). Sitotrofoblastlar monosit inflamatuvar protein-1 alpha sentezleyerek desiduada makrofajlara bağlanmayı sağlar (152). Makrofaj sayısı dokularda sıkı kontrol edilmektedir. Düşüklerde makrofaj sayısının belirgin artmış olduğu bildirilmiştir (88,153).

İmmun defans sistemlerinin relatif olarak kaybolduğu plasental dokuda desidual makrofajlar nonspesifik immun cevap oluşmasında önemli rol oynamaktadır (154). Makrofajların fagositik rolü ayrıca trofoblast invazyonu sırasında ortaya çıkan hücre artıklarının ortadan kaldırılmasında da rol oynamaktadır (146). Makrofajlar ayrıca plasentasyonda ve sitokin üretiminde (TNF- α , TGF- β ve koloni stimule edici faktörler) de rol oynamaktadır (155,156). Makrofajlar immunsupresif prostoglandinler de salgılayarak Tc lenfositlerin ve uNK hücrelerin fonksiyonlarını bloke etmektedir (157).

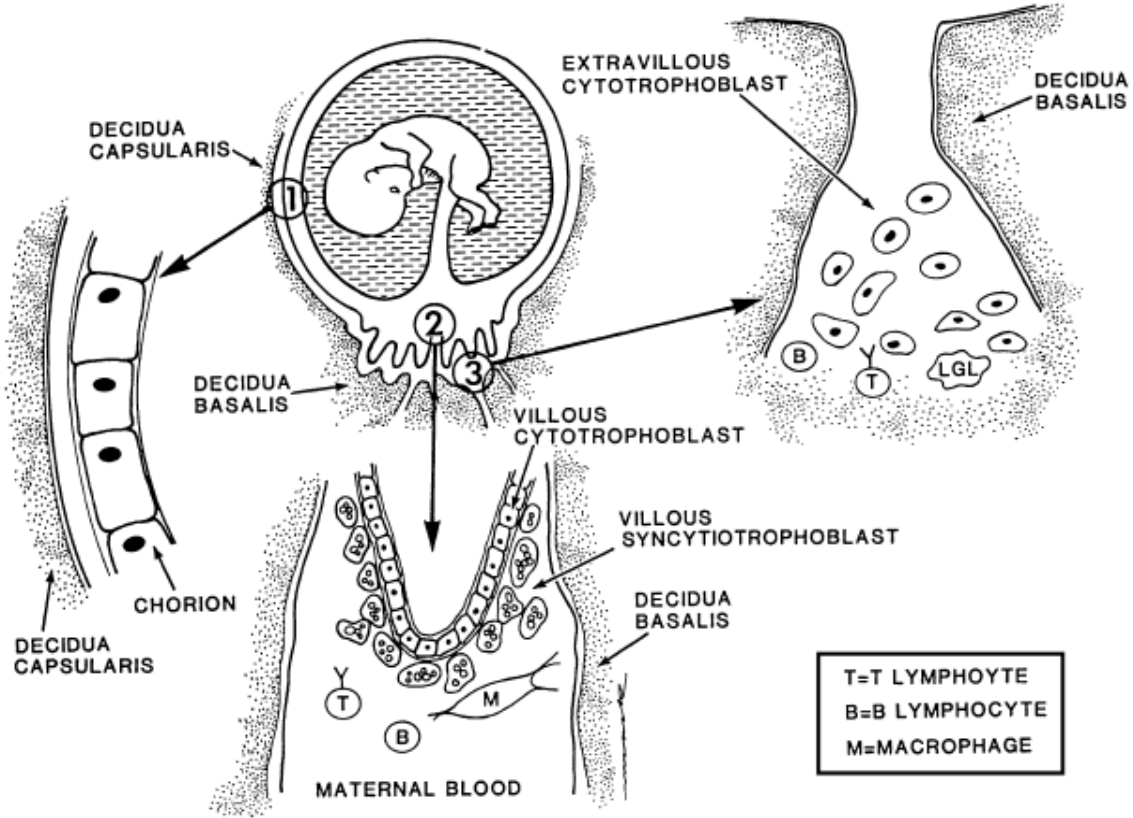
Araştırmacıların çoğu gebelikte lenfositler ile ilgilenmişlerdir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda araştırmacılar monosit ve granülositlerin fonksiyonlarını araştırmışlardır (158,159,160). Araştırmacılar gebelik sırasında granülosit ve monositlerden salınan çeşitli adhezyon molekülerinin salındığını bildirmişlerdir (81,106,161). Doğal immun hücreler gebe kadınlarda aktive olduğu ve bunun serbest oksijen radikalleri aracılığı ile ölçülebildiği gösterilmiştir (160,162). Gebelikte görülen bu belirtiler sepsisteki belirtiler ile benzerlik göstermektedir (160,163). Gebelik

döneminde doğal immunitenin gelişmiş olduğu bilinmektedir. Hormonlar ve plasenta bu immunitenin oluşmasında önemli rol oynar. Granülositlerin de plasenta aracılığı ile aktive olduğu bildirilmiştir. Plasentadan salınan çok sayıda çözünebilen faktör maternal dolaşıma granülositleri aktive etmektedir (164). Ayrıca fetal veya trofoblastik orjinli hücreler ve hücre parçaları anne kanında bulunmuştur. Bunların da monositlerin aktivasyonundan sorumlu olduğu ileri sürülmektedir (165,166). Bu yapılar monosit ve granülositler tarafından fagosit edilmektedir.

Trofoblast antijenler

Fetal dokunun maternal bağışıklık sistemi ile primer teması plasentada olur.(Şekil 2) İnsanlarda plasental villuslar çoğunlukla sinsityotrofoblast hücrelerden, onun altında villöz sitotrofoblast ve mezenkimal korddan oluşur. Villuslar dolaşımdaki maternal kanın ve onu oluşturan immun hücrelerin içinde yüzerler. Bu yüzden sinsityotrofoblastlar maternal immun sistem ile ilişkideki esas fetal dokuyu oluştururlar. Ekstravillöz sitotrofoblastlar (EVT) hücre kolonları oluşturarak maternal desiduiyi kaplarlar. Bu hücreler genellikle desidudaki ve myometriumdaki spiral arterler ile yer değiştirerek (gebeliğin ilk 18 haftasında), fetal doku ve maternal immun hücreler arasında başka bir arayüz oluştururlar (167).

Klasik MHC antijenleri oldukça polimorfiktir ve geniş aşamalara kadar, allograftın yabancılığından sorumlu tutulurlar. Sinsityotrofoblastlar klasik sınıf 1 ve sınıf 2 antijenlerden yoksundur (168). Bu nedenle maternal doku ile temas halindeki trofoblastların çoğu maternal T-hücre aktivasyonu için gerekli determinantlardan yoksundur. Ekstravillöz sitotrofoblastlar benzer şekilde sınıf II MHC antijenlerini eksprese edemezler (168). Sinsityotrofoblastların tersine ekstravillöz sitotrofoblastların bazıları sınıf 1 MHC antijenlerinin ortak çatı determinantlarını eksprese edebilir. Bu hücreler bağlanmış kolonlardaki sitotrofoblastlar, desidudaki interstisyel sitotrofoblastlar ve spiral arterlerin duvarlarıdır ve koryon yaprağının sitotrofoblastlarıdır (169). Her ne kadar sınıf I MHC antijenlerin monomorfik determinantları ile yönlendirilen bu sitotrofoblastlar antikorlar tarafından tanınsa da bu hücreler MHC sınıf 1 antijenlerin polimorfik determinantlarına yönlendirilen antikorlar ile reaksiyona girmez. HLA-G 'nin "immun ayrıcalığa" neden olabileceği ileri sürülmektedir (örn. NK hücresi inhibisyonu). HLA-G ekspresyonu plasenta, iris, retina gibi dokularla sınırlandırılmıştır. Gen hedefine bağlı sekonder fonksiyonel MHC sınıf 1 molekülleri eksik olan fareler, normal üremeye devam edebiliyor olmaları, HLA-G nin gebelik oluşumunda potansiyel bir rolü olduğunu göstermektedir (170).



Şekil 2 Maternal-fetal arayüz. Fötal dokular maternal immun sistem ile ilk defa plasentada ilişki kurar. İnsanlarda sinsiyotrofoblast hücrelerden ibaret olan plasental villus villöz sitotrofoblast tabakasının altında bulunur. Bu villuslar maternal kan ve içindeki immun hücreler ile sürekli olarak yıkanılır. Böylece sinsiyotrofoblastlar maternal immun sistem ile temas eden temel fetal dokuları oluştururlar. Ekstravillöz sitotrofoblastlar maternal desiduaıyı istila ederler. Bu hücreler genellikle desiduadaiki spiral arterlerin endoteli yerine geçerler ve miyometriyum gebelik süresinin ilk olarak 18. haftasındayken maternal immün hücreler ile fetal dokular arasında yeni bir arayüz meydana getirirler. Sinsiyotrofoblastlar sınıf I ve sınıf II antigenlerinin her ikisinden de yoksun iken ekstravillöz sitotrofoblastlar da sadece sınıf II antigenleri yoktur. HLA-G ekspresyonu immun yanıtı sınırlandırmaktadır

Trofoblastik dokudaki diğer hücre-yüzey proteinleri fetal antijenlere karşı, maternal bağışık yanıtı baskılayabilir. Fas ligand (FasL veya CD95L) TNF ailesine ait bir proteindir, membran reseptör Fas (CD95) eksprese eden T-hücrelerin apoptozisini indükler. FasL özellikle fare plasentalarından trofoblast ve dev hücrelerde eksprese olur (171). FasL'den yoksun farelerin plasentalarında aşırı lökosit infiltrasyonu ve desidual-plasental yüzde nekroz saptanmıştır (171). İlk trimestir ve term plasentalarda sitotrofoblast ve sinsiyotrofoblastlara sınırlı olarak insan plasenta yüzeyinden FasL salgılanır (172). Gebeliğin ilk trimestirinde maternal desiduada

invaziv interstisyel trofoblast hücrelerindeki CD45+ lökositlerde güçlü FasL seviyeleri bulunur. İnsan trofoblast kültürlerine FasL'ye karşı monoklonal antikorlar eklendiğinde Fas aracılı apoptozis engellenir. Bu bulgular birleştirildiğinde insan trofoblastik dokusundaki aktive lenfositlerde Fas bağımlı bir apoptozis indüksyonu olduğu düşünülmektedir (167).

CD28 ve CTLA-4 T hücre stimülasyonunun koregülatörüdür. CD28 yüklenmesi ASH ve T hücre arasındaki sinapsları stabilize etmesinde ve uzatmasından dolayı TCR komplekslerinde işaretleme (signalling) güçlendirir. ASH'nin eksprese ettiği ligand B7 ile CD28 eşleşmesi, mitojen aktiviteli protein-kinaz (MAP-kinaz) yolunu, fosfoinozid 3 kinaz bağımlı şekilde aktive eder. CTLA-4, T-hücre aktivasyonunu inhibe eden T-hücre ko-ligandır.

ENDOMETRİYUMDAKİ SİTOKİNLER

EVT'nin invazif özelliklerini invitro tetikleyen solubl faktörler, birçok sitokindir. EGF, IGF-II, TGF- β , granülosit makrofaj büyüme faktör (GM-CSF), LIF, hepatosit growTh faktör (HGF) ve IL-1,-6,-10,-11,-15, özellikle insan implantasyonunda çalışılmıştır (173,174). Endometriyumda bulunan sitokinlerde TGF- β ile gebeliğe immuntoleransda özellikle ilgilenilmiştir. TGF- β 1 makrofaj tarafından salınan ana immun supresif moleküllerinden biri olarak IL-10 ve PGE₂ ile etkileşim göstermektedir. Bu 3 madde insan endometriyumunda gösterilmiştir. Endometriyumda Th2 sitokinleri, Th1 sitokinlerine göre baskındır (175). Endometriyumda tanımlanan sitokinlerin çoğu uNK hücreleri ve monosit/makrofajlar tarafından sentezlenmektedir (176). Ve bu nedenle reproduktif immunologlar için temel oluşturmaktadır.

UTERİN NK HÜCRELERİNİN DÜZENLENMESİ

Periferik kandaki NK hücrelerin sayısı, gebe kadınlarda gebe olmayan kadınlara göre azalmaktadır (177). Ayrıca NK hücrelerinden salınan IFN- γ miktarında da azalma olmaktadır (38). Böylece gebelikteki immunité hücrelerden humorele doğru bir kaymaya neden olmaktadır. NK hücrelerinin embriyotoksik olduğu bilimektedir. Yapılan IVF çalışmasında maternal NK sayısının %18 den fazla olduğu durumlarda doğum gerçekleşmemektedir. uNK lar ise periferik kandaki NK lardan farklı özellikler gösterirler.

Desiduada EVT desidual lenfositlerle direkt ilişki içindedir. Özellikle uNK hücrelerinin gebelikte EVT invazyonunun kontrolünde sitotoksik efektör hücreler olarak veya spesifik sitokinlerin sentezini sağlayarak etkili olduğu söylenmektedir (178). Fakat bu hücrelerin biyolojik fonksiyonları tam olarak anlaşılamamıştır. uNK hücrelerinin yüzeyinde EVT yüzeyinde eksprese edilen klasik olmayan MHC molekülüleri HLA-G ve HLA-E ile etkileşen birçok reseptör bulunmaktadır. HLA-G fetusun hayatta kalmasında, öldürücü-inhibe edici reseptörler ile (ILT-2/Kir2DL4 gibi reseptörler) NK aracılık ettiği lizisi önleyebildiği için önemli olabilir. HLA-E nin desidual hücre ağındaki fonksiyonu çok az anlaşılabilmektedir. HLA-E ile NK üzerindeki CD94/NKG2 reseptörlerinin etkileşimi NK hücre dizilerinin sitotoksitesini yok etmektedir. İlk invitro deneylerde fetal trofoblastlarda HLA-G ve HLA-E ekspresyonunun uNK hücrelerinden sitokin üretimini etkilediği ve sitokin üretiminde Th1-Th2 shiftini indüklediğini gösteren kanıtlar bulunmuştur (179).

DENDRİTİK HÜCRELER

Dendritik hücreler (DH) en potent antijen sunucu hücrelerdir. Ayrıca DH'ler Tip1/Tip2 sitokin dengesinin düzenlenmesinde de önemli rol oynamaktadır. (180). Yapılan çalışmalarda DH'lerin gebelikteki immunolojik paradoksta DH'lerin önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Periferik kandan DH sayısının araştırıldığı iki çalışmada sonuçlar birbiri ile uyumlu değildir (181,182).

Bu sonuçlar ışığında gebelikte spesifik immun cevabın baskılandığı bilinmektedir. Bunu doğal immun cevaplar kompanse eder. Doğal immun cevap ekstrasellüler bakteriel enfeksiyonlara cevap oluşturur. Bu nedenle intersellüler virüslara karşı etkisi daha azdır. Gebelerin viral enfeksiyonlara karşı daha hassas olmasının sebebi budur (183).

Endometriyal ASH'ler desidual lökositlerin %20'sini oluşturmaktadır. İnsan desiduasının dendritik hücreleri barındırdığı anlaşıncı endometriyal/desidual ASH lere ilgi artmıştır. Patojenlere karşı immun savunma ve fetal allograftın toleransında farklı roller oynayabileceği için, immun dengede dendritik hücreler ilginç adaylardır. Fagositöz sonucunda MHC-2 antijen sunumunu sağlayacak veya IL-10 gibi sitokinlerin salınımı ile toleransı düzenleyerek veya inhibitör reseptörleri eksprese ederek immunitiyi etkilemektedirler. Desiduada, gebeliğin gelişimi ile immatür dendritik hücre sayısı dramatik olarak artmaktadır ve bu hücrelerin gebeliğin başarısındaki önemli rolünü etkilemektedir. Bu immatür dendritik hücreler uNK hücreleri ve EVT ile sıkı ilişki içindedir.

HÜCRE İÇİ İMMÜN DÜZENLEYİCİLER

Desidualizasyon ve implantasyonda, embriyo tarafından IL-1 üretimi anahtar düzenleyicidir. IL-1; insulin-benzeri büyüme faktör bağlayıcı protein 1 (IGFBP-1) geninin ekspresyonu ve desidualizasyonu pozitif veya negatif olarak etkileyen çeşitli sinyal yollarını aktive edebilir. ayrıca; progesterin, IGF'ler, insulin, ovarian steroidler, sitokinler ve diğer faktörlerle birlikte menstrüel siklus, ovulasyon, desidualizasyon, blastosist implantasyonu ve fetal büyümeyi düzenleyen IGFBP-1 transkripsiyonunu aktive etmektedir. Değişik tipte endometriyal hücrelerde IGFBP-1 transkripsiyonunu seçici olarak aktive eden bir başka gen grubu Home box (hox) genleridir. Hox proteinleri endometrial hüce gelişiminde steroid hormonların intracellüler moleküler mediatörleridir. Hox genleri, insan progesteron reseptörleri ile ilişkili aktiviteleri bastırmaktadır. Ayrıca, HoxB4 ekspresyonu östrojen ve progesterin ile ve HoxA10 ve 11 ise progesterin ile aktive edilmektedir. Hox proteinleri c-jun ve c-fos protoonkogenleri ile birlikte seks steroidleri ve sitokin ile indüklenen endometriyal siklusun düzenlenmesinde kesin bir rol oynamaktadır.

2.4 FETAL İMMÜNOLOJİ

İMMÜNODİSTROFİZM VE SİTOKİN ÜRETİMİ

Fetal "semi-allograft'ın" annenin immunolojik saldırısından korunması ve annenin fetal antijene yanıtının fetus için zarar verici olabilmesi araştırmaların odağını oluşturmuştur. Buna immunodistrofizim adı verilmektedir (184).

Fare modellerinde IL-1, IL-2, TNF- α ve IFN- γ 'nın sistemik uygulaması gebelik ürününün kaybına yol açmıştır. Bu sitokinlerin fizyolojik seviyeleri normal gebelikte bulunsa da, patolojik durumlarda (enfeksiyon ve hipokside) hasar verici seviyelere ulaşabilmektedir.

Indol amin 2,3-dioksigenaz (IDO), üreme immunolojisinde yeni keşfedilen potansiyel önemli bir gendir. Bu gen IFN- γ 'ya cevap olarak immunosupresif makrofajlardan üretilir ve triptofanı katabolize ederek lokal T-hücre popülasyonlarının proliferasyonuna engel olur. Fareler post-konsepsiyon 7,5 günde IDO eksprese ederler ve bu enzimin 1-metil-triptofan ile inhibisyonu syngeneic mouse eşlerinde etkisi yoktur, fakat allogenic eşleşmede tam kayba yol açar. Matur T-hücre eksik olan allogenic RAG -/- farelerde IDO'ya cevap olarak gebelik kaybı olmamaktadır, bu da

etkinin lenfositler aracılığı ile olduğunu göstermektedir. Gebelik kayıplarının komplemanın tek CD8+ , T-hücre bağımlı aktivasyonu ile olduğu gösterilmiştir.

Plasentaya özgü IDO'nun sekresyonu insanlarda gösterilmiştir. Önceki çalışmalarda bunun 14. haftanın başlangıcında sinsityotrofoblastlardan salgılandığı ve terme doğru azaldığı gözlenmiştir. Bu enzim desidua bazaliste bulunur, fakat ilk trimestr villuslarında bulunmamaktadır. Bazal tabaka yada sinsityotrofoblastlarda bu enzim bulunmamakta, fakat term plasentada villöz endotelial hücrelerde fazla miktarda bulunmaktadır. Term plasenta kültürlerinde IFN- γ belli bir doz ve sürede IDO transkripsiyonu ve enzim aktivitesini arttırmakta, bu olay IL-4 ile inhibe edilmektedir.

İMMUNOTROFİZM

İmmunodistrofizim ve immunosupresyon görüşlerinin tersine, bazı çalışmalar fetal antijenlere karşı maternal immun yanıtın gebelik ürününe faydalı olduğunu ve fetusun devamı için yararlı olduğunu göstermektedir (167). Maternal T hücrelerden salgılanan sitokinlerin, suprese olması gereken zararlı moleküllerin aslında plasental büyüme faktörü olarak çalıştıklarını, plasental fonksiyonu güçlendirdikleri ve fetusun devamlılığını sağladıkları ileri sürülmektedir.

GM-CSF preimpante fare embriyolarında trofik etkisi var. Makrofaj koloni stimule edici faktör (M-CSF) kısmen gerekir, çünkü fare gestasyonel dokularında bol miktarda bulunmaktadır, gebe olmayan endometriyumda minimal seviyede bulunur. M-CSF gebelikte fare uterusunda 1000 kat artmaktadır. İntrauterin M-CSF östrojen ve progesteronun uterus bez epitel hücrelerinde sinerjistik etkisiyle fazla üretilmektedir. Fare modellerinde M-CSF'in sistemik uygulamasının gebelik kaybını azalttığı gösterilmiştir.

E-kadherin, integrin, onkofetal fibronektin gibi hücre adezyon moleküllerinin, normal plasenta gelişimi için gerekli olduğu kabul edilmektedir.

DESİDUADAKİ İMMUN HÜCRELER

Desidua maternal plasentanın bir parçasıdır. Maternal ve fetal hücreler birbiri ile temastadır. Bu nedenle desidual hücreler fetusun kabul edilmesinde ve trofoblast invazyonunda önemli rol oynar. Bu amaçla desidua içerisinde çeşitli hücreler bulunur. Stroma hücreleri, lenfositler, uNK hücreleri, monositler ve epitel hücreleri bunların başlıcalarıdır. Bulunan hücrelerin sayıları değişiklikler göstermektedir. Proliferatif fazda lökosit sayısı desidual hücrelerin % 10'nu oluştururken sekretuar dönemde bu sayı %20'ye ulaşmaktadır. Geç sekretuar dönem ve erken gebelik döneminde ise

bu oran % 40 civarındadır. Bu artıştan esas olarak uNK hücrelerin sayısının artışı sorumludur. Granülositlerin ve monositlerin sayısı endometrimda sınırlı sayıdadır.

2.5 JAK / STAT YOLAĞI

Sitokin dönüştürücü sinyallerin en iyi bilinen şekli bir enzim olan janus kinazlar (JAK) ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) olarak adlandırılan transkripsiyon faktörleridir. Tip I ve Tip II sitokin reseptörleri tarafından kullanılan bu yol hedef hücre üzerindeki spesifik etkilerin ortaya çıkarılmasını sağlamaktadır. Bu yollarla ilgili çalışmalar, sitokine bağlanan reseptörler ve hedef genlerdeki transkripsiyon arasındaki direkt ilişkiyi göstermektedir (185).

JAK/STAT yolağının keşfi interferon sinyallerinin biyokimyasal ve genetik analizlerinin sonucudur. İnterferonlara cevap olan genlerdeki promoter alanlar (ki bunlar hücre proteinlere bağlananlardır) hücrelere uygulanan interferon sonrası fosforile olurlar. Bu proteinler STAT protein adı verilen, sitokine cevap veren gen transkripsiyonunu aktive ederler. Mutant hücre serileri sıklıkla interferona yanıtsız kalırlar. Bu mutant hücre serilerinin bazıları kısmen STAT proteini içermezler ve gen transfeksiyonu ile STAT'ların eklenmesiyle hücrelerde sitokine yanıtsızlık ortadan kalkar. Bu, sitokine yanıtta STAT'ın esansiyel rolünü kanıtlar. Diğer mutant hücre serileri bir veya birden fazla tirozin kinaz ilişkili alanda yetersizdir. Bu tirozin kinazlar sadece biri aktif olan iki kinaz uç içerdikleri için iki başlı Roma tanrısına benzetilerek Januse Kinaz adını almışlardır. Çeşitli STAT ve JAK'ları knockout edilmiş farelerin analizini içeren bazı çalışmalar JAK/STAT yolağının birçok sitokine cevap ile ilişkili olduğunu göstermiştir (185).

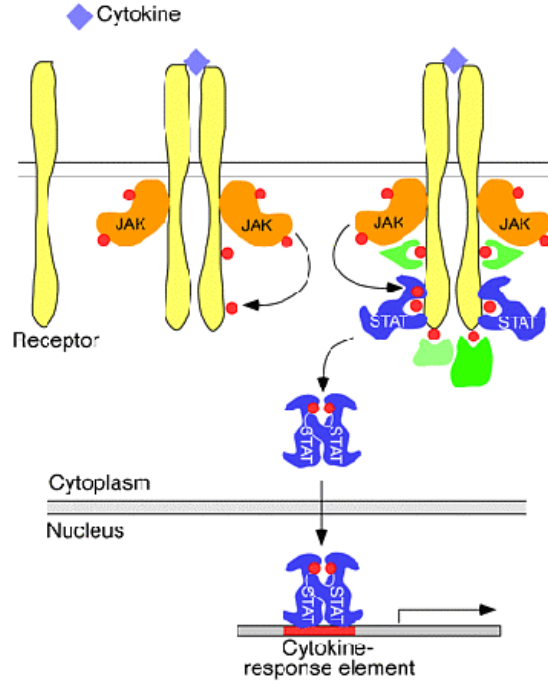
JAK/STAT sinyali yolağındaki birçok olay günümüzde aydınlatılmıştır. İnaktif JAK enzimleri Tip I ve Tip II sitokinlerinin sitoplazmik uçlarına tutunmuştur. Sitokin molekülünün bağlanması ile iki reseptör molekülü bir araya gelir, reseptör ilişkili JAK fosforilasyon yoluyla aktive olur, sonrasında reseptörlerin sitoplazmik bölgelerindeki tirozin rezidülerini fosforile ederler. Reseptörlerin bazı fosfotirozin alanları reseptörüne tutunan monomerik, sitozolik STAT proteinlerinin Src homolog 2 (SH2) uçları tarafından tanınır. Daha sonra STAT proteinleri reseptörle uyarılan JAK kinazlar tarafından fosforile edilirler. STAT proteinlerinin SH2 ucu başka bir STAT proteininin fosfotirozin rezidüsüne bağlanma yeteneğine sahiptir. Sonuç olarak iki STAT proteini birbirine bağlanır ve reseptörden ayrılırlar. STAT dimerleri nükleusa göç eder, sitokine cevap veren genin promotor alanlarındaki DNA sekanslarına

bağlanır ve gen transkripsiyonunu aktive ederler. Her bir döngüden sonra yeni STAT proteinleri sitokin reseptörlerine bağlanabilir, fosforilize olabilir, dimerize olup tekrar nükleusa göçebilir. (Şekil 3)

Çok sayıda farklı sitokine yanıt oluşturan ve değişik sitokin reseptörlerinin kullandığı JAK ve STAT'ların sınırını belirlenmesi oldukça zordur. Farklı sitokin reseptörlerindeki tek aminoasit sekansının spesifik bağlanma için temel yapıyı (alanı) oluşturması ve bu yolla JAK ve STAT'ların farklı kombinasyonlarını aktive etmesini sağlamaktadır. Değişik STAT proteinlerinin SH 2 uçları seçici olarak fosfotirozin rezidülerine bağlanır ve farklı sitokin reseptörlerinin yanında yer alır. Değişik sitokin reseptörlerinin bir kısmı STAT'ların aktivasyonu ve dolayısıyla sitokin sinyalinin özgürlüğünü de açıklayan bir yanıt olmuştur. Sitokinler sinyal üreten yolları ve STAT'lar dışındaki transkripsiyon faktörlerini aktive ederler. IL 2 reseptörünün beta zinciri, Ras ile uyarılan MAP-Kinaz yolağını aktive eder. Bu da gen transkripsiyonunu ve büyüme sitümlasyonunu etkiler. Diğer sitokin reseptörleri, sitokinlere biyolojik yanıtı ortaya çıkartmada JAK/STAT yolağının diğer sinyal üreten yollarını da benzer şekilde aktive ederler.

JAK/STAT yolağının çok sayıda negatif regülasyon mekanizmaları belirlenmiştir. Sitokin sinyali baskılayıcısı (SOCS) olarak bilinen proteinler STAT yolağı inhibitörleridir. Bunlar SH2 ucu bulundurmalarıyla ayırt edilirler ve SOCS kutusu denen 40 aa C terminali ile ilişkilidirler. Sekiz farklı SOCS proteini belirlenmiştir. Ek olarak SH2 ucu içermeyip SOCS box'ı olan proteinler de vardır. JAK/STAT sinyalinin SOCS protein inhibisyonu mekanizması tam anlaşılamamıştır. Ancak sitokin reseptörü ve JAK kinazın her ikisini de hedef almış görünmektedir. İlginç olarak inhibitör aktiviteleri için SOCS box'larından ziyade SOCS'un en terminal uçları gereklidir. Protozomal degradasyon için SOCS boxlar ilişkili proteinleri işaretleme işine de katılmış gibi görünmektedir. SOCS geni knockout edilmiş fareler bu ailenin fizyolojik rolü hakkında bilgi sağlarlar. SOCS-I knockout fareler IFN- γ aktivitesinin fazlalığı nedeniyle üç haftada ölürlür. Bunların fenotipi IFN- γ knockout fare ile bu farenin çaprazlanması sayesinde doğrulanır. Diğer knockout fare çalışmaları SOCS-2 nin büyüme hormonu ve insulin benzeri büyüme hormonu sinyalinin inhibe ettiği, SOCS-3 ün eritropoetin aktivasyonunun düzenlenmesinde rol almaktadır. SOCS protein ekspresyonu JAK/STAT yolağının aktive eden sitokin ile aynı sitokin tarafından uyarılır. Sonuç olarak bu durumlar negatif feed back inhibisyonu ile düzenlenir. Bir tirozin fosfataz olan SHP-I gibi sitokin sinyal inhibitörleri

JAK moleküllerini defosforile ve deaktive edebilirler ve aktive STAT ailesinin inhibitör protein üyeleri fosforile STAT proteinlerine bağlanır, onların DNA ile etkileşimini güçlendirir (185).



Şekil 3 JAK / STAT yolağının sitokinlerce aktivasyonu: İnaktif JAK enzimleri Tip I ve Tip II sitokinlerinin sitoplazmik uçlarına tutunmuştur. Sitokin molekülünün bağlanması ile iki reseptör molekülü bir araya gelir, reseptör ilişkili JAK fosforilasyon yoluyla aktive olur, sonrasında reseptörlerin sitoplazmik bölgelerinde tirozin rezidülerini fosforile ederler. Reseptörlerin bazı fosfotirozin alanları reseptörüne tutunan monomerik, sitozolik STAT proteinlerinin Src homolog 2 (SH2) uçları tarafından tanınır. Daha sonra STAT proteinleri reseptörle uyarılan JAK kinazlar tarafından fosforile edilirler. STAT proteinlerinin SH2 ucu başka bir STAT proteininin fosfotirozin rezidüsüne bağlanma yeteneğine sahiptir. Sonuç olarak iki STAT proteini birbirine bağlanır ve reseptörden ayrılırlar. STAT dimerleri nükleusa göç eder sitokine cevap veren genin promotor alanlarındaki DNA sekanslarına bağlanır ve gen transkripsiyonunu aktive ederler. Her bir döngüden sonra yeni STAT proteinleri sitokin reseptörlerine bağlanabilir, fosforilize olabilir, dimerize olup tekrar nükleusa göçebilir.

Memelilerde 4 tip JAK bulunmaktadır. Bunlar JAK1, JAK2, JAK3 ve Tirozin kinaz 2 (Tyk2) dir. Sitokinlerin ilişkili reseptöre bağlanması ile ilgili JAK aktive olur. Daha sonra aktivasyon uygun STAT molekülünün uygun promoter bölgeye bağlanması ile devam eder. STAT molekülleri 7 adettir. Bunlar STAT 1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6 olarak isimlendirilir. Sitokinler ve bağlandıkları ligandlar ve aktive ettikleri JAK ve STAT'lar tablo 2 de gösterilmiştir. Bu

farklı birçok grup sitokinlerce ve hematopoetin ile aktive olurlar (186). Null fare çalışmaları ile JAK ve STAT moleküllerinin temel aktiviteleri açığa çıkarılabilmektedir. JAK ve STAT yolağı immun yanıtın kontrolünde çok önemli rol oynamaktadır (187). İmmün sistemdeki fonksiyonları tablo 3 de özetlenmiştir.

Tablo 2: sitokinler ve bağlandığı ligandlar ve etkileşim içinde oldukları JAK / STAT lar

LİGAND	JAK	STAT
γc AİLESİ		
IL-2, IL-9, IL-21	JAK1, JAK3	STAT1, STAT3, STAT5
IL-7, IL-9	JAK1, JAK3	STAT3, STAT5
IL-4	JAK1, JAK3	STAT6
IL-13	JAK1, JAK2, JAK3, Tyk2	STAT6
βc AİLESİ		
IL-3, IL-5	JAK2	STAT5
Gp130 AİLESİ		
IL-6	JAK1, JAK2	STAT1, STAT3
IL-11	JAK1	STAT1, STAT3
OSM, LIF	JAK1, JAK2, Tyk2	STAT3, STAT5
IL-12	JAK2, Tyk2	STAT4
IL-23	Tanımlanamamıştır	STAT4
IFN AİLESİ		
TİP I IFN	JAK1, Tyk2	STAT1, STAT2
TİP II IFN	JAK1, JAK2	STAT1, STAT5
IL-10	JAK1, Tyk2	STAT3
IL-22	Tanımlanamamıştır	STAT1, STAT3, STAT5
IL-28A, IL-28B	Tanımlanamamıştır	STAT2, STAT3
IL-29	Tanımlanamamıştır	STAT2, STAT3

TABLO 3. JAK / STAT Immünolojik fonksiyonları,

JAK

JAK1	Perinatal leThal: lenfosit gelişimde defekt ⁽¹⁸⁸⁾
JAK2	Embriyonik leThal: eritropoesiste yetmezlik ^(189,190)
JAK3	Şiddetli kombine immün yetmezlik ^(191,192)
Tyk2	Defektif IL-12 ve IFN sinyali ^(193,194)

STAT

STAT1	Zayıflamış viral immünite, büyüme geriliği, zayıf IFN sinyali ^(195,196)
STAT2	Zayıflamış IFN sinyali ⁽¹⁹⁷⁾
STAT3	Embriyonik leThal: patojenlere karşı zayıflamış yanıt ⁽¹⁹⁸⁾
STAT4	Zayıflamış IL-12 sinyali: defektif Th1 hücre diferansiyasyonu ⁽¹⁹⁹⁾
STAT5a	Zayıflamış meme bezi gelişimi: zayıflamış prolaktin sinyali ^(200,201)
STAT5b	Zayıflamış GH sinyali: defektif NK hücre fonksiyonu ^(202,203)
STAT5a + STAT5b	Azalmış T proliferasyonu ve NK yoksunluğu ⁽²⁰⁴⁾
STAT6	Zayıflamış IL-4 ve IL-13 sinyali: defektif Th2 hücre farklılaşması ^(205,206)

JAK1

IL-2, IL-9, IL-21 IL-7, IL-4, IL-13, IL-11, OSM, LIF, TİP I IFN, TİP II IFN, IL-10 sitokinlerinin sinyal iletiminde rol oynamaktadır. Sitokinlerle aktiflenen JAK1 daha sonra çeşitli STAT'ları aktive etmektedirler, bunlar STAT1, STAT2, STAT3, STAT5 ve STAT6 dır. Farelerde JAK1 eksikliğinde perinatal ölüm görülür. Lenfoid hücre gelişimi baskılanır. Bu defekt enfeksiyon ve oto immünite riskini arttırmaktadır.

JAK2

βc ailesi üyesi olan IL-3 ve IL-5 in etkilerini göstermek üzere aktiflenirler bu aktivasyon doğrudan STAT5 in aktivasyonu ile ilişkilidir. JAK2 ayrıca gp130 ailesi üyesi IL-6, IL-11 IL-12, OSM, LIF ile IFN ailesinden de Tip I IFN ların etkilerine de aracılık etmektedir. Bahsedilen sitokinlerin sinyal iletimi sırasında STAT1, STAT3, STAT4, STAT5 ve STAT6 yı farklı etkinliklerde aktiflemektedirler. JAK2 eksikliğinde hematopoetik faktörlere yanıtsızlık, yetersiz eritropoezis nedeniyle embriyonik ölüm meydana geldiği bildirilmektedir.

JAK3

Diğer janus kinazlara göre daha seçici bir moleküldür. Ligand ailelerinden sadece γc ailesi sitokinlerin etkilerini göstermek üzere aktiflenmektedir. Bu sitokinler IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13 ve IL-21 dir. JAK3 aktiflendikten sonra STAT1, STAT3, STAT5 ve STAT6 kullanmaktadır. JAK3 eksikliğinde ciddi kombine immün yetmezlik meydana gelmektedir. JAK3'ün diğer JAK'lara göre daha selektif bir etkisinin olması klinik açıdan ilgi çekici bir konu olarak algılanmaktadır. JAK3'ün inhibe edilebilmesi için çalışmalar yapılmaktadır, bu çalışmaların sonucunda geliştirilen ilaçlar ile immün sistemin baskılanması amaçlanmaktadır. Diğer immün sistem baskılayıcı tedavilere oranla daha az yan etki beklentisi ilgi çekici noktayı oluşturmaktadır.

Tyk2

IFN ailesinde Tip I IFN'lar ve IL-10, gp130 ailesinden OSM, LIF ve IL-12, γc ailesinden IL-13 sitokinlerinin fonksiyonları için hücre içi sinyal yolunda kullanılmaktadır. Tyk2 aktivasyonundan sonra çeşitli STAT'ları kullanabilir. Bunlar IL-13 için STAT6, OSM ve LIF için STAT3 ve STAT5, IL-12 için STAT4, tip I IFN'lar için STAT1 Ve STAT2, IL-10 için STAT3'tür. Tyk2 eksikliğinde IL-12 ve IFN sinyal yolunda defekt meydana gelmektedir.

STAT1

IL-2, IL-6, IL-9, IL-11, IL-21, IL-22 ve Tip I IFN'ların fonksiyonlarında aracılık etmektedirler. Dört farklı tip janus kinazla da yanıt verebilirler. STAT1 eksikliğinde viral immün yanıtta zayıflama, büyüme geriliği, ve IFN sinyalinde zayıflama gözlenir.

STAT2

Tip I IFN ailesi üyesi IFN α , IFN β sitokinlerince aktive olmaktadır. STAT2 eksikliğinde IFN sinyalinde zayıflama olduğu bildirilmiştir.

STAT3

IL-2, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-21, IL-22, IL28A, IL-28B, IL-29 sitokinlerince ve JAK1, JAK2 JAK3 ün sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü olarak kullanılabilir. STAT3 eksikliği embriyonik ölümle sonuçlanır, patojenlere karşı yetersiz yanıt mevcuttur.

STAT4

IL-12, IL-23 ile JAK2 ile aktiflenmektedir. Eksikliğinde zayıflamış IL-12 sinyali ve defektif Th1 hücre diferansiyasyonu meydana gelmektedir.

STAT5

STAT5 iki subunitten oluşmaktadır. STATA ve STATb olarak tanımlanabilir. Genel olarak STAT5 γc ailesi sitokinlerin IL-2, IL-7, IL-9 IL-21, βc ailesinden IL-3, IL-5 Gp130 ailesinden OSM ve LIF IFN ailesinden IL-22 ve TİP II IFNlar ile aktiflenebilmektedir. γc ailesi sitokinleri ile aktivasyonuna JAK1 ve JAK3, βc ailesi sitokinleriyle aktivasyonuna JAK2 Gp130 ailesi sitokinleri ve IFN ailesi üyelerince aktivasyonuna ise JAK1 ve JAK2 aracılık etmektedirler. STAT5 eksikliğinde prolaktine yanıtı zayıflamış meme bezlerinde gelişimin zayıflaması, uNK hücre fonksiyonlarında ki defekt nedeniyle zayıflamış GH sinyali ve genel olarak bozulmuş T hücre yanıtı ile karakterizedir.

STAT6

STAT6, sadece IL-4 ve IL-13 etkisi ile aktive olmaktadır. Bu aktivasyon sırasında tüm janus kinaz moleküllerini kullanabilmektedir. STAT6 eksikliğinde, zayıflamış IL-4, IL-13 sinyali nedeniyle Th2 hücre diferansiyasyonu bozulmaktadır.

İmplantasyon aşamasında çok sayıda sitokin ve birçok büyüme faktörünün fonksiyonları bilinmektedir. Ancak bu moleküllerin JAK/STAT yolları ile ilişkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan implantasyon modelinde, gebeliğin 4., 5. ve 6. gününde uterus örnekleri, JAK1, JAK2 ve JAK3 ile STAT2, STAT3, STAT4, STAT5 ve STAT6 monoklonal antikoları kullanılarak immunohistokimyasal teknikle boyanarak uterustaki profilleri çıkarılması ve muhtemel fonksiyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.6 DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmada da kullanılan laboratuvar sıçanları kemirgenler sınıfından ve Muridae ailesindendir. 1800'lerin ortalarından beri deneysel amaçlarla kullanılmaktadırlar. Sıçanlar kısa tüylü, çıplak kuyruklu, yuvarlak erekte kulaklı, protrüze gözlü, sivri burunlu, uzun bıyıklı, ve beş parmaklıdırlar. Albino sıçanlar kısa görüş mesafesine sahip olup safra keseleri yoktur. Ortalama yaşam süreleri 2,5-3,5 yıldır, vücut ısıları 35,9-37,5 C'dir ve dişi olanları 250-300 gr ağırlığındadır. Kommün olarak yaşarlar ve

noktürnal hayvanlar olmalarına rağmen laboratuvar hayatına uyum sağlamışlardır. Sıçanların iki ayrı serviksleri ve uterusları vardır. Üretral ve vajinal açıklıkları ayrıdır. Vajeni kapatan membran pubertede yok olur. Sıçanların menstrüel siklusu östroz siklus olarak adlandırılır ve kendine özgü fazlara ayrılmıştır: Proöstroz, östroz, metöstroz ve diöstroz. Vajinal sitolojik takiplerle bu siklus takip edilebilir. Siklus süresinin kısa olması bu hayvanların reproduktif olayların incelenmesinde kullanılmasına neden olmuştur. Bakımlarının nisbeten kolay olması, dayanıklı olmaları, anatomilerinin basit, yaşam döngülerinin anlaşılmış olması bu laboratuvar hayvanlarını tam birer yardımcı haline getirmiştir. Östroz siklus ortalama dört gün sürer ve vajinal smear yapılarak Epitelial hücreler, kornifiye hücreler ve lökositlerin birbirine oranına bakılarak hangi aşamada olduğu kolaylıkla anlaşılabilir. Vajinal sekresyonlar 10µL serum fizyolojik içeren plastik pipetin rat vajenine yerleştirilerek sıvının önce içeriye enjekte edilmesi sonra geri alınması yoluyla elde edilebilir. Nemlendirilmiş pamuk uçlu swab yardımıyla da vajinal örnek alınabilir. Bir başka ve bu çalışmada kullanılan yöntem klasik smear çubukları ile vajinal materyal alınmasıdır. Alınan sürüntüler cam lama yayılarak %95'lik alkol ile fikse edildikten sonra Giemsa&Wright boyaması yapılarak ışık mikroskobu altında incelenir. Yuvarlak ve çekirdekli epitelial hücreler, düzensiz çekirdeksiz kornifiye hücreler ve küçük lökositler ayırt edilir. 3-12 saatlik Proöstroz fazı çekirdekli epitelial hücre hakimiyeti gösterirken östroz fazında çekirdeksiz kornifiye hücreler vardır ve ortalama 12 saat sürer. Metöstroz 21 saat kadar sürer ve smearda çekirdekli epitelial hücreler, kornifiye hücreler ve lökositler hemen hemen eşit orandadır. Diöstroz bol miktarda lökosit arasında epitel hücreleri görülen 57 saatlik en uzun fazdır. Ovulasyon proöstroz ile östroz fazının sonu arasında gerçekleşir. Gebelikleri 21-23 gün sürer ve embriyo implantasyonu beşinci günde gerçekleşir Sıçanlarda appozisyon, adezyon ve invajinasyonun altı saatte gerçekleştiği hızlı bir eksantrik implantasyon meydana gelir. Zona pellucida kaybindan sonra uterus lümeni blastosist üzerine kapanır ve apozisyon oluşur Blastosist endometriumun anti-mesometriyal tarafına bağlanır ve iç hücre kitlesi mesometrial tarafa bakar. Blastosist ile temasta olan epitelial tabaka blastosistin politen hücreleri tarafından fagosite edilir ve epitelial penetrasyon başlar. Trofoblastik hücreler uterin yüzey basal laminadan penetre olurlar. Oluşan desidual alan blastosist için cep oluşturacak şekilde invajine olur. Primer desidual alanın diferansiyasyon ve degradasyonu trofoblastı maternal kan akımı ile ilişkiye sokarak plasentayı oluşturur ve konsepsiyon materyalinin büyümesine olanak sağlar

3. DENEYSEL GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan histokimyasal ve immünohistokimyasal boyama için gerekli kimyasal malzemeler ve sarf malzemeleri Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından **2005-066** nolu proje ile desteklenmiştir.

Çalışmamızda Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yetiştirilen seksüel olgunluğa erişmiş, daha önce çiftleşmemiş ve deneye girmemiş, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen otuz adet Wistar albino dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 25 °C oda ısısında, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık dönemler şeklinde ayarlanmış ortamda serbest su ve gıda sağlanarak; stres ve gürültüden izole bir şekilde çalışmaya alındılar. Sıçanların menstrüel siklus dönemleri vajinal smear yöntemiyle belirlendi ve gebe olmadıkları bilinen ratlar üç siklus boyunca takip edilerek normal oldukları tespit edildi.

Sıçanlar rastgele seçildi. Sıçanlara saat 15:00 civarında vajinal smear yapıldı. Smear hematoksilen eozin boyası ile boyandı. Östroz durumları belirlendi. Östroz da olan dişi sıçanlar bir gece uygun şartlarda kafeste çiftleşmeye bırakıldılar. Ertesi gün servikal sürüntüde sperm tespit yöntemi ile gebe olarak kabul edilen hayvanlar ayrı kafeslere alındı. Ayrı kafeslere alındıkları gün embriyonik gün E:0 olarak kabul edildi. Embriyonik 4., 5., ve 6. günlerde sıçanlar sakrifiye edildiler. 4. günde sakrifiye edilen sıçanlar 4. gün sıçanlar olarak tanımlandı. 5. günde sakrifiye edilen sıçanlar 5. gün sıçanlar olarak tanımlandı. 6. günde sakrifiye edilen sıçanlar ise 6. gün sıçanlar olarak tanımlanıp sınıflandırıldı. Sakrifiye edilen sıçanların implantasyon bölgeleri makroskopik olarak belirlendikten sonra uterus piyesleri %10 formol solusyonuna konarak 24-48 saat bekletildiler.

İŞIK MİKROSKOBİK GEREÇ VE YÖNTEMİ

Parafin Takibi

1-Fiksasyon: % 10 formalin	24-48 saat
2-Akarsuda yıkama	12-16 saat
3- %60 etil alkol	30 dk
4- %70 etil alkol	30 dk
5- %80 etil alkol	30 dk
6- %95 etil alkol	30 dk
7- %100 etil alkol I'de	1 saat
8- %100 etil alkol II'de	1 saat
9- Ksilen-alkol'de	30 dk
10- Ksilen I' de	45 dk
11- Ksilen II'de	45 dk
12- Ksilen-parafinde	30 dk
13- 60°C'lik etüvde erimiş parafinde	1 saat
14- Parafin I'de	1 saat
15- Parafin II'de	1 saat bekletildiler

Etüvden çıkarılan parçalar parafine gömülerek bloklandı. Işık mikroskopunda incelemek üzere hazırlanan parafin bloklardan 5 mikronluk seri kesitler alındı. Preparatların ilk bölümüne histokimyasal yöntemlerle Hematoksilen-Eosin (Surgipath) ile boyandı. Seri kesitlerin diğerlerine ise immünohistokimya boyaması yapıldı.

Histokimyasal boyama için ayrılan preparatlar 60 °C'lik etüvde 1 gece deparafinize edildi.

Hematoksilen-Eozin Boyası

1-Ksilen I	30dk
2-Ksilen II	30dk
3-% 95 alkol	2dk
4-%80 alkol	2dk
5-%70 alkol	2dk
6-%60 alkol	2dk
7-Akar su	5dk

8-Hematoksilen	3dk
9-Akarsu	5dk
10-Asit-alkol	1sn
11-Akarsu	2dk
12-Eozin	4dk
13- %80 alkol	2dk
14-%95 alkol	2dk
15-Ksilen	30-60dk
16-Entellan ile kapama	

İNDİREKT İMMÜNOHİSTOKİMYA YÖNTEMİ

Kullanılan Malzemeler:

Ksilen

Alkol

PBS (Fosfat Tampon Solusyonu)

Sitrat Tamponu (50 ml Sitrat + 450 ml Distile su)

Pap-pen (Beckman Coulter Kat No: IM3580 Fransa)

%3 Hidrojen Peroksidaz (DBS Kat No: K033 Pleasanton-CA)

Bloking solüsyonu (Zymed Kat No:85-9043 USA)

Primer Antikor JAK1(sc-1677,Santa Cruz Biotechnolog, Ca USA)

Primer Antikor JAK2 (sc-294,Santa Cruz Biotechnolog, Ca USA)

Primer Antikor JAK3 (sc-6932,Santa Cruz Biotechnolog, Ca USA)

Primer Antikor STAT2 (sc-476,Santa Cruz Biotechnolog, Ca USA)

Primer Antikor STAT3 (sc-8019,Santa Cruz Biotechnolog, Ca USA)

Primer Antikor STAT4 (ab-7967, Abcam, UK)

Primer Antikor STAT5 (sc-836,Santa Cruz Biotechnolog, Ca USA)

Primer Antikor STAT6 (ab-15526, Abcam, UK)

Sekonder Antikor Kit (Zymed Histostain- Plus Broad Spectrum Kat No:85-9943 South San Francisco)

DAB (Kat. No: 1718096 Roche Indianapolis USA)

Mayers Hematoksilen (JTBaker Kat No:2810 Holland)

Entellan (Surgipath Kat No: 16125 USA)

Boyama Yöntemi

İmmünohistokimyasal yöntemle boyanacak preparatlar 60°C'lik etüvde 1 gece bekletilip deparafinizasyon yapıldıktan sonra boyama başlatıldı.

1-Ksilen	30dk
2-Ksilen	30dk
3-% 95 alkol	2dk
4-%80 alkol	2dk
5-%70 alkol	2dk
6-%60 alkol	2dk

7-Kesitler sitrat tampon içinde mikrodalga fırında 600V 6 dakika kaynatıldı.

8-Distile su 5dk

9-Distile sudan alınan kesitlerin doku etrafındaki su silinip, Dakopenle çevresine daire çizildi. Bu işlem dokuların kurummasını engellemek ve uygulanacak maddelerin lam üzerinde dağılmasını engellemek amacıyla yapıldı. Üzerine PBS damlatıldı.

10-PBS'le yıkama gerçekleştirildi (3×5 dk).

11-%3'lük Hidrojen Peroksidad' da 5 dakika tutuldu.

12-PBS'le yıkama gerçekleştirildi (3×5 dk).

13-Bloking solüsyonu damlatıldı, 1saat bekletildi.

14-Dokulara Primer Antikor damlatıldı 1 saat bekletildi. (Bizim çalışmamızda primer olarak JAK1, JAK2, JAK3, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5, STAT6 kullanıldı)

15-PBS'le yıkama gerçekleştirildi (3×5 dk).

16-Biyotinlenmiş sekonder antikor uygulandı. 30dk

17- PBS'le yıkama gerçekleştirildi (3×5 dk).

18-Enzimle işaretli (peroksidad) avidin-biyotin kompleksi (streptavidin) 30 dk uygulandı.

19-PBS'le yıkama gerçekleştirildi (3×5 dk).

20-DAB boyaması yapıldı 3 dk.

21-Distile su ile yıkandı.

22-Mayers hematoksilen ile zıt boyama. 1-2 dk.

23-Distile su ile yıkandı

24-%80 etil alkol 2 dk.

25-%90 etil alkol 2 dk.

26-Ksilen 30 dk.

27-Entellan ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal yöntemle boyanan preparatlar, boyanma derecelerine göre kuvvetli (+++), orta (++) ve zayıf (+), belirsiz-varyok ($\pm$) diye tanımlandı. Preparatlar ışık mikroskobu ile iki histolog tarafından değerlendirildi.



4. BULGULAR

4.1 Histokimyasal Bulgular

Gebeliğin 4. gününde uterus

En içte endometriyum ortada miyometriyum ve organı dıştan saran perimetriyum tabakaları olmak üzere 3 ayrı tabaka tespit edildi. Lümen epiteli basit prizmatik epitel hücreleri, bazı hücrelerinde silia içeren, tek katlı bir tabaka olarak gözlemlendi. Epitelin altında bağ dokusu ile birbirlerinden ayrılmış uterus bezleri ile dağınık halde bulunan stromal hücreler ve immün kompetent hücreler gözlemlendi. Miyometriyum tabakasında düz kas hücreleri ayırt edildi. En dışta da perimetriyum bulunmakta idi. Mezometriyal tarafta ilk desidual reaksiyon (sınırlı küçük bir alanda) ve GMG hücreleri gözlemlendi (Resim 1,2).

Gebeliğin 5. gününde uterus

Uterusun 3 tabakası ayırt edildi. Gebeliğe hazırlık aşaması olarak nitelenebilecek 5. gün uterusunda primer desidual alan ve sekonder desidual alanlar ayırt edildi. Primer desidual alan lümen epitelinin hemen altında gözlemlendi. Bu alanlarla birlikte uterusunda stromal hücreler ve bunların aralarında immünkompetant hücreler gözlemlendi (Resim 3,4).

Gebeliğin 6. gününde uterus

Desidual hücrelerin proliferasyon aldığı ve hacimce büyüdüğü tespit edildi. Bu hücrelerin uterus lümenini kapladığı gözlemlendi. Embriyonun antimezometriyal tarafa yönelenerek implantasyonunu gerçekleştirdiği belirlendi. İmplantasyon alanında ki stromal hücrelerin proliferasyon aldığı genişleyerek polihedral şekiller aldığı ve desidual hücrelere dönüştüğü gözlemlendi. Embriyonun gömülmüş olduğu desidual yatağın embriyoya komşu olan primer desidual zon ve miyometriyuma komşu olan sekonder zon olmak üzere iki kısma ayrıldığı gözlemlendi. Embriyonun yerleşmiş olduğu boşluğun yolk kesesi kavitesi (vitellus boşluğu) olduğu tanımlandı. Embriyoyu en dıştan primer embriyonik endoderm hücrelerinin parietal tabakasının sardığı içten ise primer embriyonik endoderm hücrelerinin visseral tabakasının kapladığı gözlemlendi. Her iki hücre grubu arasında bulunan reichert's membranı ise seçilemedi.(Resim5,6)

4.2 İmmünohistokimyasal Bulgular

İmplantasyonda rol oynadığını düşündüğümüz moleküller gebelik günlerine göre farklı şiddetlerde immünreaktivite göstermişlerdir.

JAK1

Gebeliğin 4. gününde JAK1 antikoru ile indirek immünohistokimyasal yöntemlerle boyanmış sıçan uteruslarında, uterus lümen epitelinde ve subepitelial alanda immünoreaktivite belirlenemedi. Antimezometrial tarafta subepitelial alanda stromal hücrelerde boyanma gözlenmez iken bu bölgede immünokompotent hücreleri ile miyometriyuma yakın stromal alandaki immünokompotent hücrelerde boyanma (+) gözlendi. Mezometrial tarafta subepitelial alanda ve miyometriyumda boyanma gözlenmedi.(Resim7,8)

Gebeliğin 5. gününde JAK1 antikoruyla indirek immünohistokimyasal yöntemlerle boyanmış sıçan uteruslarında, uterus lümen epitelinde ve bez epitelinde boyanma gözlenmedi. Antimezometrial alanda subepitelial stromal hücrelerde (+) immünreaktivite gözlendi. Miyometriyuma yakın bölge stromal hücrelerde sitoplazmik (+) boyanma tespit edildi. Bu bölgede stroma içine dağılmış immünokomponent hücrelerde de (+) boyanma gözlendi. Mezometrial tarafta subepitelial alanda ve miyometriyumda boyanma gözlenmedi. (Resim 9,10)

Gebeliğin 6. gününde JAK1 antikoru ile indirekt immünohistokimyasal yöntemlerle boyanmış sıçan uteruslarında, embriyonun yerleştiği alanda desidual hücrelerin arasında sitoplazmik zayıf boyanma gözlendi. Metrial tarafta epitelial ve subepitelial boyanma gözlenmedi.(Resim 11,12)

JAK2:

Gebeliğin 4. günündeki uterus kesitlerinin JAK2 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal tekniklerle boyamasında lümen epitelinde (++) immünreaktivite gözlendi. Antimezometrial alanda subepitelial bölgede stromal hücrelerde boyanma (++) gözlendi, yine bu bölgede stromal bezlerde de boyanma (++) gözlendi. Stromada bulunan immünokompetant hücrelerde kuvvetli boyanma gözlendi. Antimezometrial subepitelial alan ile miyometriyumda boyanma izlenmedi.(Resim 13,14)

Gebeliğin 5. günündeki uterus kesitlerinin JAK2 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal tekniklerle boyamasında; uterus lümen epitelinde (+++) immünreaktivite gözlendi. Antimezometrial alanda subepitelde zayıf (+) boyanan

hücreler gözlemlendi. Bu bölgedeki stromal hücrelerin sitoplazmik uzantılarından çok nükleer boyanması dikkat çekti. Stromal alanda yerleşik bezlerde (+++) boyanma gözlemlendi. Subepitelial alan ve miyometriyuma yakın stromal alanlarda (+) boyanma gösteren immünokompetent hücreler gözlemlendi. Mezometriyal alanda subepitelial boyanma gözlemlenmedi. Miyometriyumda (+) boyanma gözlemlendi.(Resim15,16)

Gebeliğin 6. günündeki uterus kesitlerinin JAK2 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal tekniklerle boyanmasında mezometriyal alan epiteli, subepitelinde boyanma gözlemlenmedi. Embriyonun implante olduğu desidualize olmuş alanda kuvvetli (+++) immunoreaktivite gözlemlendi. Miyometriyumda ise boyanma gözlemlenmedi.(Resim 17,18)

JAK3

Gebeliğin 4. günündeki uterus kesitlerinin JAK3 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal tekniklerle boyanmasında, lümen epiteli ve bezlerde boyanma gözlemlenmedi. Antimezometriyal subepitelial alan ve stromal dokuda belirsiz (±) boyanma gözlemlendi. Stromada immünokompetentler hücrelerde boyanma zayıf (+) olarak değerlendirildi. Kas tabakası ve mezometriyal alan subepitelinde de boyanma gözlemlenmedi.(Resim 19,20)

Gebeliğin 5. günündeki uterus kesitlerinin JAK3 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal tekniklerle boyanmasında uterus lümen epiteline immünreaktiviteye rastlanmadı. Antimezometriyal bölge subepitelial alanda stromal alandaki hücrelerin sitoplazmik uzantılarında ve bazı hücrelerin çekirdeklerinde zayıf (+) boyanmaya rastlandı. Stromal derin alanda (miyometriyuma yakın alan) (+) boyanma gösteren immünokompetent hücrelere rastlandı. Mezometriyal alan stroması ve uterusun miyometriyumda boyanma saptanamadı.(Resim 21,22)

Gebeliğin 6. günündeki uterus kesitlerinin JAK3 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal tekniklerle boyanmasında blastosistin yerleştiği yere uygun alanda desidual hücrelerde immunoreaktivite izlendi. Boyanma stromanın genelinde gözlemlenmedi. Boyanma dairesel bir alana sınırlı idi ve diğer stromal alanlardan ayırt edilebilmekteydi. Mezometriyal alanda ve miyometriyumda ise boyanma gözlemlenmedi.(Resim 23,24)

STAT2

Gebeliğin 4. günündeki uterus kesitlerinin STAT2 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal teknik ile incelendiğinde, yüzey epitelinde (++) boyanma gözlemlendi. Antimezometriyal alanda subepiteliyal bölgede stromal hücrelerde (+++) boyanma gözlemlendi. Stromadaki bezler ise zayıf immunreaktivite (+) gözlemlendi. Miyometriyuma yakın bölge endometriyal hücreler orta derecede immunreaktivite (++) gösterdi. Mezometriyal alanda boyanma gözlemlenmedi. Miyometriyumda ise (+) boyandı.(Resim 25,26)

Gebeliğin 5. günündeki uterus kesitlerinin STAT2 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal teknik ile incelendiğinde, yüzey epiteli (+) boyanma gözlemlendi. Antimezometriyal alan subepiteliyal alanda boyanma genel olarak ilk gruba göre azalmış bulundu. Stromal alanlar ise (++) boyanmış olarak değerlendirildi. Bezler (+) boyandı. Genel olarak stromal alanlarda immünokompetent hücreler (++) boyanma gösterdi.(Resim 27,28)

Gebeliğin 6. günündeki uterus kesitlerinin STAT2 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal teknik ile incelendiğinde desidual hücrelerde (+) boyanma gözlemlendi. Mezometriyal alanda epitelde belirsiz boyanma gözlemlenirken kas tabakasında boyanma gözlemlenemedi. (Resim 29,30)

STAT3

Gebeliğin 4. günündeki uterus kesitlerinin STAT3 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal teknik ile incelendiğinde, yüzey epiteli, endometriyal bezlerde boyanma gözlemlenemedi. Antimezometriyal alandaki subepiteliyal alanda stromal hücrelerde boyanma zayıf (+) değerlendirildi. Stromada immünokompetent hücrelere rastlandı. Miyometriyum ile mezometriyal alanda kısmi boyanma tespit edildi. (Resim 31,32)

Gebeliğin 5. günündeki uterus kesitlerinin STAT3 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal teknik ile incelendiğinde, uterus yüzey epitelinde boyanmaya rastlanmadı. Subepiteliyal tarafta stromal hücrelerde (+) boyanma tespit edildi. Stromal hücreler arasında yerleşik bulunan immünokompetent hücrelerde boyanma (++) olarak değerlendirildi. Yüzey epitelin hemen altındaki alanlarda immünreaktiviteye rastlanamadı. Miyometriyum dokusunda zayıf immünreaktiviteye rastlandı. (Resim 33,34)

Gebeliğin 6. günündeki uterus kesitlerinin STAT3 monoklonal antikoru ile indirekt immünohistokimyasal teknik ile incelendiğinde, kayda değer tek nokta embriyonun implantasyon alanı ile uyumlu bölgede desidual hücrelerde boyanma saptanması idi. (Resim 35,36)

STAT4

Gebeliğin 4. gününe ait uterus kesitlerinin STAT4 monoklonal antikoru kullanılarak, indirekt immünohistokimyasal yöntemlerle boyanan preparatlar incelendiğinde; uterus yüzey epitelinde boyanmaya rastlanmadı. Mezometriyal ve antimezometriyal tarafta bulunan subepiteliyal stromal hücrelerde belirsiz ($\pm$) boyanma gözlemlendi. Stromada bulunan bez yapılarının immünreaktivite göstermediği tespit edildi. Stromal alanda bulunan immünokompetant hücrelerde (+) immünreaktiviteye rastlandı ancak bu immünreaktiviteyi gösteren hücre sayısı oldukça azdı. Myometriumda belirsiz ($\pm$) boyanma gözlemlendi. (Resim 37,38)

Gebeliğin 5. gününe ait uterus kesitlerinin STAT4 monoklonal antikoru kullanılarak indirekt immünohistokimyasal yöntemlerle boyanan preparatlar incelendiğinde; uterus yüzey epitelinde boyanmaya rastlanmadı. Mezometriyal ve antimezometriyal tarafta bulunan subepiteliyal stromal hücrelerde belirsiz ($\pm$) boyanma gözlemlendi. Stromada bulunan bez yapılarının immünreaktivite göstermediği tespit edildi. Stromal alanda bulunan immünokompetant hücrelerde + immünreaktiviteye rastlandı ancak bu immünreaktiviteyi gösteren hücre sayısı oldukça azdı. Myometriumda boyanmaya rastlanmadı. (Resim 39,40)

Gebeliğin 6. gününe ait uterus kesitlerinin STAT4 monoklonal antikoru kullanılarak, indirekt immünohistokimyasal yöntemlerle boyanan preparatlar incelendiğinde; sadece blastosistin implante olduğu alanla uyumlu desidual hücrelerin küçük bir kısmında zayıf (+) boyanma saptandı. (Resim 41,42)

STAT5

Gebeliğin 4. gününde STAT5 antikoru ile indirekt immünohistokimyasal yöntemlerle boyanmış sıçan uteruslarında, uterus lümen epitelinde zayıf (+) immünreaktivite belirlendi. Antimezometriyal tarafta subepiteliyal alanda orta derecede (++) boyanma gözlemlendi. Endometrium bezlerinde de zayıf (+) immünreaktivite gözlemlendi. Stromada dağınık halde bulunan immünkompetent

hücreler de (++) boyanma tespit edildi. Mezometriyal tarafta (±) boyanma gözlenirken miyometriyumda boyanma gözlenmedi.(Resim 43,44)

Gebeliğin 5. gününde STAT5 antikoru ile indirekt immünohistokimyasal yöntemlerle boyanmış sıçan uteruslarında, uterus yüzey epitelinde (+) boyanma gözlendi. Antimezometriyal subepitelyal alanda orta derecede (++) boyanma gözlendi. Endometriyum bezlerinde de (++) immunreaktivite gözlendi. Stromada dağınık halde bulunan immünokompetent hücrelerde (++) boyanma tespit edildi. Mezometriyal tarafta zayıf (+) boyanma gözlenirken miyometriyumda boyanma gözlenmedi. (Resim 45,46)

Gebeliğin 6. gününde STAT5 antikoru ile indirekt immünohistokimyasal yöntemlerle boyanmış sıçan uteruslarında sadece blastosistin implante olduğu alanla uyumlu desidual hücrelerde (+) boyanma saptandı.(Resim 47,48)

STAT6

Gebeliğin 4. gününe ait uterus kesitleri STAT6 antikoru ile immünohistokimya boyanması değerlendirildiğinde, lümen epitelinde, stromal hücrelerde, bezlerde boyanmaya rastlanmadı.(Resim 49,50)

Gebeliğin 5. gününe ait uterus kesitleri STAT6 antikoru ile immünohistokimya boyanması değerlendirildiğinde, lümen epitelinde belirsiz (±) immunreaktivite gözlendi. Endometriyal stromal hücrelerde (+) boyanma tespit edildi. Bezler de ise belirsiz (±) immunreaktivite tespit edildi. Stromal alanda (+) boyanan immünokomponent hücrelerin sayısının az olduğu da tespit edildi. Mezometriyal tarafta subepitelyal alanda ve miyometriyumun genelinde zayıf immünoreaktivite görüldü.(Resim 51,52)

Gebeliğin 6. gününe ait uterus kesitleri STAT6 antikoru ile indirekt immünohistokimyasal olarak boyandığında sadece implantasyon alanı ile uyumlu bölgelerde lokal zayıf bir boyanma gözlendi.(Resim 53,54)

Tüm bulgular tabloda özetlenmiştir. (Tablo 4)

Tablo 4 JAK/STAT Yolağının İmplantasyon Günlerine Göre Dağılımı

Antikor	Günler	Yüzey Epiteli	Bez	Antimezometriyal Alan	İmmunkompetant Hücre	Miyometriyum	Mezometriyal Alan
JAK1	4.Gün	-	-	-	+	-	-
	5.Gün	-	-	+	+	-	-
	6.Gün	Desidual	alan	hücrelerinde		+	
JAK2	4.Gün	++	+	+	+++	-	-
	5.Gün	+++	+++	+	+	+	-
	6.Gün	Desidual	alan	hücrelerinde		+++	
JAK3	4.Gün	-	-	±	+	-	-
	5.Gün	-	-	+	+	-	-
	6.Gün	Desidual	alan	daireesel		+	
STAT2	4.Gün	++	+	+++	++	+	-
	5.Gün	+	+	++	++	-	-
	6.Gün	Desidual	alan	hücrelerinde		+	
STAT3	4.Gün	-	-	+	+	+	+
	5.Gün	-	-	+	++	±	-
	6.Gün	Desidual	alan	hücrelerinde		±	
STAT4	4.Gün	-	-	±	+	±	±
	5.Gün	-	-	±	+	-	±
	6.Gün	Desidual	alan	hücrelerinde		±	
STAT5	4.Gün	+	+	++	++	-	±
	5.Gün	+	++	++	++	-	+
	6.Gün	Desidual	alan	hücrelerinde		+	
STAT6	4.Gün	-	-	-	-	-	-
	5.Gün	±	±	+	+	±	±
	6.Gün	Desidual	alan	hücrelerinde		±	

5. TARTIŞMA

JAK1

Gebeliğin 4. gününde JAK1 monoklonal antikoruna ile indirek immunohistokimyasal yöntemlerle boyanmış sıçan uterusların incelenmesinde sadece immunkompetant hücrelerde immün boyanma gözlenirken, 5. gününde immunkompetent hücrelerin yanı sıra, endometriyumun stromal hücrelerinde de boyanma tespit edildi. Bu boyanmanın 6. günde desidual hücrelerde lokalize olması implantasyon döneminde ortaya çıkan sitokinlerin JAK1'i kullandıklarının bir göstergesi olarak değerlendirildi. Bu çalışmada JAK1'in boyanma özellikleri ile JAK3'ün boyanma özellikleri büyük benzerlikler göstermektedir. Her iki molekülünde gama c ailesi tarafından uyarılması nedeni ile, bu aileye ait sitokinlerin (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, IL-21) cevap oluşturmada hem JAK1'in hem de JAK3'ün beraber fonksiyon gösterdikleri ileri sürülebilir. Benzer boyanma özellikleri nedeni ile her iki JAK grubunu uyaran ortak sitokinler ile ilgili tartışma, JAK3 bölümünde yapılmıştır. Bu bölümde ise, JAK1 immunoreaktivitesinin 4. günde, JAK3 immunoreaktivitesinden daha belirgin boyanma özelliği göstermesi nedeni 4. günde ait değişikliklerin farklı nedenleri tartışılmıştır. Bu immunreaktivitedeki farklılık, JAK1'in, JAK3 ile ortak olduğu grubun dışında kalan sitokinler tarafından uyarıldığının bir belirtisi olarak değerlendirilebilir. JAK1'in JAK3 den farklı olarak gp130 ve IFN ailesine bağlı sitokinler tarafından uyarılabilmektedir. Gp 130 ailesini IL-6, IL-11, IL-12, OSM, IL-23 ve LIF; IFN ailesi ise IFN Tip I, Tip II ve IL-10 oluşturmaktadır.

Bu çalışmada da 4. günden itibaren JAK1 immunoreaktivitesinin varlığı implantasyona hazırlık dönemine ait sitokinlerin JAK1 yolağını kullanarak fonksiyon gösterdiğini düşündürdü. IL-6 ve LIF, Gp 130 ailesinin üyelerinden olup, çok sayıda farklı aktivitede rol oynamaktadır. IL-6 ve LIF'in embriyogenezis sırasında morfogenezis ve inflamasyonda rol oynadığı bildirilmiştir (207). Bu bilgi, çalışmadaki 4. günde artmış JAK1 immunoreaktivitesini destekleyen bir kanıt olarak değerlendirildi. Endometriumda implantasyona hazırlık döneminde gerekli hafif inflamasyon ve bazı hücrelerde gözlenen morfogenezisten JAK1'in sorumlu olabileceği söylenebilir. LIF ve IL-6 ayrıca karaciğer, kalp, immün sistem,

hematopoetik sistem ve sinir sisteminde eksprese edilebilir, bu dokulardaki aşırı salınımının bir takım hastalıklara (otoimmün hastalılar, septik şok ve neoplazi) neden olduğu rapor edilmiştir (208,209). İmplantasyon döneminde kontrolü ve hafif bir inflamasyon gerekmesi, bu çalışmadaki JAK1 immunoreaktivitesindeki geçici artışın nedeni olabilir. Bu sitokinlerin implantasyon döneminde rol oynadığının diğer bir kanıtı da LIF eksikliğinin, blastosistin implantasyonu (210,211) ve desidual reaksiyon bozukluğuna (212,213) neden olmasıdır. Gp130 ailesi bloke edildiğinde implantasyonda bozukluklar görülmektedir ve bu tip vakalarda ülseratif gastrointestinal hastalıklar ve eklem hastalıkları da ortaya çıkmaktadır.

JAK1'i aktive eden sitokinlerin bazılarının birbirleriyle zıt etkiler oluşturduğu bilinmektedir. Bu etkilerin birbirlerinden bu derece farklı iken aynı molekülü kullanmaları ilk bakışta bir sorun gibi durmaktadır. Ancak yapılan çalışmalar göstermiştir ki her sitokin JAK1'in farklı bir bölgesine bağlanarak etkisini göstermektedir.(214)

JAK1 immünoreaktivitesinin tüm gruplarda oldukça az olmasının diğer bir nedeni Th1 hücrelerinin sayısının azaltılmasına yönelik olabileceği düşünüldü. JAK1, IFN ailesinden ise IFN Tip I ve Tip II ile IL-10 sitokinleri tarafından kullanılmaktadır. Tip I interferonların MHC sınıf I moleküllerinin ekspresyonunu arttırdıkları ve Th1 hücrelerinin gelişimini uyardıkları bilinmektedir. JAK1 aracılığı ile reaksiyon gösteren diğer bir sitokin ise IL-10'dur. IL10 aktive makrofaj ve dentritik hücre inhibitörüdür. Ayrıca IL-10 JAK1 STAT3 kullanarak IL12 ekspresyonunu sağlamaktadır. IL-12 ise JAK2 ve STAT4 aracılığı ile TH1 dönüşümünü artırmaktadır. Bu çalışmada JAK1 ve STAT4 ün oldukça az boyanması, tanımlanan bu yolun implantasyon aşamasında fazla aktif olamadığının bir göstergesi olarak değerlendirildi. Gebelik oluşumunda TH1/TH2 oranının TH2 lehine kaydığı bilinmektedir. Bu çalışmada JAK1 ve STAT4 ün az boyanması IL-10'nun daha az fonksiyon gösterdiği ve dolayısı ile IL-12'nin fazla eksprese edilmediği söylenebilir. Sonuç olarak, gebelikteki TH1 azalmasına JAK1 azalmasının katkısının olduğunu söylemek yanlış olmayacaktır. Daha önce yapılan çalışmalarda JAK1 eksik fareler perinatal dönemde ölüme neden olduğu rapor edilmiştir. Bu eksikliğin lenfoid hücre gelişimini bozması sonucu olduğu düşünülmektedir.

JAK2

JAK2 eksikliği olan farelerde embriyonik ölüm meydana geldiğini bilinmektedir. Bu çalışmada preimplantasyon döneminde gözlenen JAK2 immünoreaktivitesinin kuvvetli boyanmaların yaygın olarak gözlenmesi, implantasyon aşamasında JAK2'nin çeşitli sitokinlerin fonksiyonlarında kullanıldığını düşündürmektedir. 5. günde ise artan boyanma özelliği JAK2'nin embriyo için de gerekli olduğunun bir belirtisi olarak değerlendirildi. JAK2 eksik olan farelerdeki ölüm nedeninin hematopoetik faktörlere (eritropoetin, trombopoietin, IL-3, IL-5) karşı yanıtsızlık olduğu gösterilmiştir(215). Hematopoetik faktörlerden eritropoetin böbrekler dışında başka organlarda da sentezlenmekte ve JAK2 - STAT5 yolu ile fonksiyon gösterdiği bildirilmiştir. Dişi  reme sisteminde eritropoetin'in serviks endometrium ve overler de eksprese edildiği immunohistokimyasal analiz ile gösterilmiştir. Eritropoetin reseptörlerinin endometriyum yüzey epitelinde, bezlerinde ve damarlarında bulunduğu bildirilmiştir. Eritropoetin mitotik aktiviteleri düzelttiği ve anjiogenezisde rol oynadığı rapor edilmiştir.(216) Bu çalışmada 4., 5. ve 6. günlerde JAK2'nin yaygın olması bu bölgedeki artmış mitotik aktivite ve anjiogenezisi indükleyen eritropoetin sekresyonuna da bağlı olabilir. JAK2 imm noreaktivitesindeki farklılık ise eritropoetin sıklık değişikliklerde fonksiyon göstermesinin bir belirtisi olarak değerlendirilebilir (217). JAK2 diğer hematopoetik sitokinler tarafından da kullanılmaktadır. IL-3 multi-CSF (koloni stimule faktör) olarak bilinir ve JAK2 yolağın kullanarak fonksiyonlarını gerçekleştirdiği bilinmektedir. IL-3' n başlıca T hücreleri, timositler, mast hücreleri, eozinofiller ve nötrofiller tarafından eksprese edilmektedir. Temel etkisi miyeloid hücrelerin ve mast hücrelerinin matürasyonu ve farklılaşmasıdır. JAK2'nin implantasyon bölgesinde gözlenmesinin bir başka nedeni ise mast hücrelerinin implantasyon bölgesinde yaygın olarak bulunması olabilir. JAK2 yolağını selektif olarak kullanan diğer bir sitokinde IL-5'dir. IL-5 TH2 hücrelerinden, mast hücrelerinden, eozinofillerden ve NK hücrelerinden eksprese edilir. IL-5'in temel fonksiyonu B hücrelerin proliferasyonudur. Ayrıca IL-5 bazofil aktivasyonu ile eozinofil çoğalması ve farklılaşmasını sağlayan bir sitokindir.

IL-1 uterustaki hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında modulator fonksiyon göstererek (218) implantasyonda rol oynayan önemli bir moleküldür. Ancak hangi IL-1'in implantasyon işlemi sırasında hangi JAK ve STAT yolağını kullandığına ait

herhangi bir bilgiye ulaşılammıştır. Bununla beraber Lee C ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları makrofaj kültür çalışmasında, IL-1'in JAK2 STAT1,3 yolağını kullandığı gösterilmiştir (219). Bu çalışmanın sonuçlarına göre implantasyon aşamasında rol oynadığı bilinen IL-1'in JAK2 STAT1,3 yolağı kullanarak fonksiyon gösterebileceği ileri sürülebilir.

JAK2 immunoreaktivitesinin 6. günde plasentanın gelişeceği antimezometriyal tarafta fazla boyanması, JAK2'nin implantasyon tamamlandıktan sonrada fonksiyonuna devam ettiğinin bir belirtisi olarak değerlendirildi. Gebeliğin kritik adım ektravillöz sitotroblastların uterus duvarına invazyonudur. Bu olayın multiple otokrin ve parakrin faktörlerce düzenlendiği bilinmektedir. Yapılan çalışmada EVCT'lerin h-PGH ve reseptörünü eksprese ettiklerini ve human plasental GH'un ECVT invazyonunda rol oynadığı rapor edilmiştir (220). Aynı çalışmada h-PGH ile muamele edilen EVCT'lerde JAK2 STAT5 sinyal yolağı aktive olduğu ve Janus kinaz inhibitörleri EVCT invazyonu inhibe edildiği gösterilmiştir.

JAK3

JAK3 immunoreaktivitesi tüm gruplarda az olarak gözlemlendi. Ancak 5.6. günde boyanma 4. güne göre daha fazla olduğu dikkat çekici bulundu. JAK 3'ün immun hücrelerin gelişimi için gerekli olduğu bilinmesi nedeni ile hemen hemen tüm gruplardaki az boyanmada immunsüpresyon lehine değerlendirildi JAK3'ün hedefe yönelik etki ettiği, JAK3 blokajının ise pileotropik etkilere yol açmadan immunsüpresyon yaptığı bilinmektedir. Bizim çalışmamızda JAK3'ün, immunkompetent hücrelerde ve stromal hücrelerde hafif olarak boyanması, bu hücreler üzerine yapılan hafif bir immunsüpresyon olarak yorumlanabilir. Üzerinde gerçekleşen mutasyonların X'e bağlı geçen ciddi kombine immün yetmezliğe (X-SCID) yol açtığı 12 ailesi IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 ve IL-21'i kapsamaktadır. Bu ailenin üyelerinden IL-15 NK gelişimi ve proliferasyonu için esansiyeldir ve bununla homolog etkili IL-21, B hücrelerinde oluşan immünoglobulinleri düzenler. IL-15 in aktive ettiği NK'lar implantasyon anında ve implantasyon bölgesinde artmaktadır. Bu hücrelerin bu alandaki pek çok fonksiyonu vardır ve bunlar immunotrofizm olarak tanımlanabilir.

JAK3 ayrıca IL-13 aracılığı ile IFN γ ve makrofajları inhibe ederek bu bölgede immunitiyi baskılayarak immünsüpresyona yol açmaktadır. Yine JAK3, IL-4 ün TH2 dönüştürücü etkisi için fonksiyon göstermektedir. JAK3 γ c ailesinin diğer üyeleri IL-2 ve IL-7 gibi sitokinlerin etkilerini gösterebilmek için kullandığı janus kinazlardır. IL-2 T hücreleri tarafından salınır ve antigen spesifik hücrelerin proliferasyonundan sorumludur, ayrıca T, B hücre proliferasyonu yapar. JAK3 hemotopoetik sitokinlerden IL-7 ve IL-9 ile aktive olabilirler IL-7 ise lenfosit gelişimi ve matür periferik lenfositlerin homeostazı için önemlidir IL-2 gibi hareket ederek matür T hücrelerinin büyümesine etki etmektedir. IL-9 ise bazı T hücrelerin ve kemik iliği kökenli mast hücre öncüllerinin büyümesinde rol oynar. Bu iki sitokinin implantasyon endometriyumunda hangi fonksiyonları üstlendiği bilinmemektedir.

Çok sayıda sitokinlerin kullandığı implantasyon gibi karmaşık süreçteki JAK3ün immunoreaktivitesinin az bulunması rolü, oldukça selektif bir immünsüpresyon olabilir. JAK 3 inhibisyonunun immünsüpresyon özelliğinden faydalanmak için yeni bir immünoşüpresif ilaç geliştirilmesi çalışmaları devam etmektedir. CP-690,550 olarak isimlendirilen bu yeni ilacın JAK3'e karşı nanomolar potansi vardır ve ilaç insan olmayan primatlarda renal transplant da dahil olmak üzere hayvan modellerinde transplant reddini önlemede etkili bulunmuştur (221). Bu ilacın primatlarda tek başına siklosporin A'dan daha etkili olduğu ileri sürülmektedir. CP-690,550 ile tedavi, muhtemelen IL-15 sinyal iletiminin inhibisyonu nedeni ile doğal öldürücü hücrelerde ılımlı bir düşüşe yol açtığı düşünülmektedir (222).

STAT2

STAT2 interferon ailesinin tip I alt grubu ile aktive olmaktadır. Bu grup içerisinde yer alan alfa, beta ve omega proinflatuar moleküller olup inflamasyon oluşumunda rol oynamaktadır. STAT2'nin IFN α ve IFN β hücre içi transkripsiyon faktörü olduğu bilinmektedir (185). Ancak STAT2'nin implantasyon ve gebelik sırasındaki rolü henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bu çalışmada STAT2'nin 4.,5. ve 6.günlerde fazla salındığının gözlenmesi, implantasyon üzerine etkili olabileceğinin bir belirtisi olarak değerlendirildi. Bununla beraber 4. günde STAT2 ekspresyonu diğer günlerden daha fazla olduğu dikkat çekici bulundu. Bu fazla boyanmanın 4. günde ortaya çıkan

inflamasyonun daha belirgin olabileceği düşünöldü. Daha önce yapılan bir çalışmada. IFN α implantasyon öncesinde, 4. gün sıçan uterusunda, geçici olarak arttığı ve bu nedenle bu sitokinin erken gebelik döneminde önemli düzenleyici olarak rol oynayabileceği bildirilmiştir (223).

5. günde STAT2 immünoreaktivitesinin diğer günlere göre azalmış olması, STAT2'nin daha çok fonksiyonunu implantasyona hazırlık döneminde gösterdiğini düşöndürmektedir. Bu çalışmada STAT2'nin 5. günde azalmış olması IFN- α ve IFN- β 'nın implantasyon bölgesinde azalmış olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. IFN α TH1 hücrelerince salınan bir sitokindir ve implantasyon anında bu bölgedeki TH1 sitokinlerinde azalmaya, hücreyel immunitenin azalmasına ve TH1/TH2 oranının düşmesine neden olduğü düşünölmektedir. Daha önce yapılan çalışmada STAT2 eksikliği olan farelerde gelişme ve büyüme normal olarak gözlenirken, T hücrelerinin interferon α ve β 'ya yanıtlarındaki azalma nedeniyle viral enfeksiyonlara yatkınlığının artığı rapor edilmiştir (224). Ayrıca geviş getiren hayvanlarda implantasyonda önemli rol oynayan IFN tau blastosisten salgılandığı bilinmektedir.(225) Ancak bu molekül insanlarda, farelerde gösterilememiştir Peery ve arkadaşları yapıkları çalışmada interferon taunun PGF₂alfa salınımını azaltarak corpus lutemu lisizden koruduğı böylece progesteron üretimini devamlılığını sağladığını rapor etmişlerdir.(226).

STAT2 Tip I interferonun hücre içi sinyal ileticisidir. İmmünolojik reaksiyonlarda interferon α ve β 'nın NK hücrelerinin aktivasyonunu sağladığı da bilinmektedir. Bu çalışmada 5. ve 6. günde gözlenen STAT2 immünoreaktivitesi, NK hücrelerinde aktivasyonunun bir belirtisi olarak değerlendirilebilir. İmplantasyon döneminde uterusda gözlenen immünokomponent hücrelerin büyük kısmının (%70) uNK olduğü bilinmektedir. uNK hücrelerinin erken gebelik döneminde sayılarının artması ve gebelik sonunda sayılarının azalması bu hücrelerin gebelikle yakın ilişkili olduğunun bir belirtisi olarak ileri sürölmektedir. uNK hücreleri desidua içerisinde bulunmasına rağmen semi allojenik non-villöz trofoblastlara reaksiyon vermemektedir. Bu uNK üzerindeki inhibitör reseptörler aracığı ile olmaktadır. Bu reseptörler trofoblastlar üzerinde bulunan MHC Ia ve b (HLA-C,G,E) ile bağlanır, böylece uNK üzerindeki litik aktivite inhibe edilir. uNK üzerinde çok sayıda inhibitör reseptörlerde bulunmaktadır (Ig-like killer cell inhibitory receptor (KIR), Lectin like KIR). uNK'nin asıl rolünün immun regölasyon olduğü bildirilmiştir. uNK'lar salgıladıkları sitokinler aracılığı ile

ortaya çıkan T ve B immun hücre cevaplarını düzenlerler. Ayrıca tümör hücrelerini ve virus enfekte hücrelerin ortadan kaldırmasında önemli rol oynamaktadır. uNK hücreleri bu fonksiyonlarının yanı sıra kan damarları yakınına lokalize olur ve VEGF eksprese ederek anjiyogenezis oluşumuna da katkıda bulunmaktadır.

STAT3

STAT3 MoAb ile boyanmış preparatların incelenmesinde, 4. 5 güne ait kesitlerde, antimezometriyal bölgede supepitelyal alanda, hafif bir boyanma izlenirken 6. günde boyanmanın daha az olması dikkat çekici bulundu. STAT3'ün implantasyon döneminde eksprese edildiği ve implantasyonda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Teng ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 1-3 günlerde yüzey ve glandüler epitelde orta derecede; 4. ve 5. gün sabahında glandüler epitelde yüksek düzeyde buna karşılık yüzey epitel ve subepitelyal alanda düşük düzeyde; 5. gün geç saatlerinde ise yüzey epitel ve implante blastosist yakınında fazla düzeyde; 6. gün sabahında yüzey epitel, blastosist çevresi ve stromal hücrelerde orta düzeyde boyandığını rapor etmiştir(227). Bizim çalışmamızdaki bulgular ile Teng'in bulguları arasında uyumsuzluk bulunmaktadır. Bu farklılık lösemi inhibe edici faktör (LIF) aracılığı ile açıklanabilir. LIF, STAT3'ün aracılık ettiği bir moleküldür ve LIF, implantasyon gününde eksprese edilmekte, blastosistin uterusu tutunmasında ve uterusun desidualizasyonunda rol oynadığı bilinmektedir . 1992'de yapılan bir çalışmada LIF geni eksik farelerde embriyo implantasyonunun gerçekleşmediği buna karşılık LIF enjeksiyonu sonrası desidual cevap oluştuğu tespit edilmiştir (228). Farelerde yapılan bir diğer çalışmada ise 4. günde LIF mRNA sının belirgin olarak atmış olduğunu ve 3. ve 5. günde ise oldukça az bulunduğunu rapor etmiştir (229). LIF üzerinden olaya bakıldığında STAT3 ekspresyonunun 4 günde artması ve sonra azalması beklenebilir.

Bu çalışmadaki STAT3 boyanması ile literatürdeki boyanma farklılığı, Hao H. ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada ile de açıklayabilir. Bu çalışmada, interferon Tip I ailesinin etkilerini daha önce bildirilen STAT 1 ve 2 dışında STAT3 ün de aracılık ettiğini rapor edilmiştir (230). IFN tip I ailesi üyelerinden IFN alfanın gebeliğin 4. gününde geçici olarak eksprese edildiği gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre STAT3'ün ekspresyonunun 4. günde fazla olması ve daha sonra azalması beklenebilir.

STAT3'ün INF ailesinin Tip I cevabını regule ettiği de bilinmektedir. STAT3 antiviral inflamasyonlarda, dokuların aşırı cevabı önleyerek çevre dokularda oluşabilecek hasardan koruduğunu insan monositik hücrelerindeki kültür çalışmasında gösterilmiştir (230). İmplantasyon döneminde blastosistin kolayca uterusu gömülmesi için de sınırlı bir inflamasyona ihtiyaç duyduğu bilinmektedir. Bu inflamasyonun sınırlandırılmasında STAT3'ün fonksiyon gösterebileceği ileri sürülebilir. STAT3'ün hem oksijenaz-1, BCL3, ve IL-1 reseptör antagonist ekspresyonunu aktifleyerek anti inflamatuvar etkiye de neden olduğu bilinmektedir.

STAT3 ayrıca TH2 tarafından eksprese edilen ve akut faz yanıt faktörü olan IL-6'nın hücre içi mediatörüdür (231). IL-6 plasentada immunotrofik; desiduada immünodistrofik etkiye sahiptir. Makrofaj, fibroblast ve TH2 hücreleri tarafından eksprese edilen IL-6'nın implantasyon üzerine de etkisi olduğu Makkar G ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada IL-6'nın endometriumda azalmasının implantasyon oranını düşürdüğu gösterilmiştir (232).

STAT3'ün sadece uterusu fonksiyon göstermekle kalmayıp aynı zamanda embriyonun erken gelişim dönemi için gerekli olduğu bilinmektedir. STAT3 defektli fare embriyoların 6. embriyonik güne kadar gelişebildiği, bu embriyoların 6.5-7.5 günlerde hızlı dejenerasyona uğradığı gösterilmiştir (233).

IL-11, STAT3 aracılığı ile fonksiyon gösteren bir sitokindir. IL-11'in gebeliğin 6-9 . günleri arasında desiduada salınımı pik yapmaktadır. IL-11 sinyali , farelerde uygun desidualizasyon ve trofoblast invazyonu için zorunludur. IL-11 sinyalindeki eksiklik trofoblast invazyonunda bozukluğa yol açarak gebeliğin sonlanmasına neden olduğu bildirilmiştir(234). IL-11 gebeliğin erken dönemlerinde fonksiyon göstermemesi nedeni ile bu çalışmada 6. güne kadar olan implantasyon aşaması incelendiğinden, gözlenen STAT3 boyanmasının IL-11 ile ilişkisinin olmadığı düşünöldü.

STAT -4

Gebeliğin 4. 5. gününe ait uterus kesitlerinin STAT4 monoklonal antikoru kullanılarak, indirekt immünohistokimyasal yöntemlerle boyanan preparatları incelendiğinde stromal alanda bulunan immünokompetant hücrelerde boyanma

gözlendi. 6. güne ait preparatlarda ise boyanan hücre sayısında belirgin azalma olurken bu hücrelerin özellikle implantasyon bölgesine yerleşmiş olması dikkat çekici bulundu. STAT4 ün implantasyona hazırlık döneminde gözlenmesi, implantasyon üzerinde etkili olabileceğini düşündürdü. Bu ekspresyonun bazal bir salgılanma olduğu 6 . günde ise salgılanmanın baskılandığı ileri sürülebilir. STAT4, IL-12 ve IL-23 ün reaksiyonlarına aracılık etmektedir. IL-12 ve 23 birlikte hareket eden ve benzer fonksiyonlara sahip moleküllerdir. IL-12 sinyalinin diğer STAT'ları da (STAT1,3,4,5) uyardığı bildirilmişse de IL-12'nin neden olduğu biyolojik yanıtların hemen hemen hepsi STAT4 aracılığı ile ortaya çıkmaktadır(235). IL-12 bir immunregülatör sitokindir (236). TH1 hücre differensiyasyonu ve T, NK ve diğer hücrelerden IFN- γ üretiminin üretiminin önemli indükleyicisidir (235). Bu çalışmada STAT4 immunoreaktivitesinin az olması TH1 oluşumunun azalmasının bir belirtisi olarak değerlendirilebilir. Daha önce yapılan çalışmalarda STAT4 defisit farelerde TH1 bağımlı fonksiyonların zayıfladığı gösterilmiştir. TH1 cevabının azalması sonucunda IFN γ salınımı azalmaktadır. IFN γ azalmasının TH2 gelişimi üzerine olumlu etkisi olduğu bilinmektedir. Ayrıca immünodistrofik etkisi olan IFN γ , aktivitesinin dokuda ne kadar az ise implantasyon o denli kolay olacağını bize düşündürmektedir.

STAT4 yolunu kullanabilen bir diğer sitokin de IFN β dir. IFN β antienflamatuar sitokin olan IL-10 un ekspresyonunu artırır. IL-10 ise TH1 hücrelerinin major supressörüdür (236). IFN β STAT1 ve 2 yi hücre içi sinyal iletiminde kullanmaktadır. Çalışmamızın bulgularını gözden geçirdiğimizde STAT4'ün implantasyon sırasında az bulunması IFN- β 'nin bu bölgede fazla eksprese edilmediğini düşündürmektedir. Bununla birlikte implantasyon anında bilinen TH1 hücrelerinin azalması fenomenin; IL-10'nun az salınması ile açıklanabilmesi de mümkün gözükmemektedir. IL-10 etkisine aracılık eden STAT3'ün de implantasyon öncesi ve implantasyon anında az boyanması bu düşüncemizi desteklemektedir.

IL-12 hücrel immünitede görevlidir. Hedef hücresi NK ve T hücreleridir. IL-12 nin görevi NK aktivasyonu ve proliferasyonu ile TH1 gelişimidir. Immuntrofizimden sorumlu olduğu da düşünülmektedir. Ana kaynağı aktive mononuklear hücreler ile dentritik hücreler olan STAT4 defisit farelerde TH1 bağımlı fonksiyonlar zayıflar. Bunlar IFN γ ve NK hücre toksisitesinin zayıflatılmasıdır. TH1 hücrelerce yapılan IFN γ , TH2 hücrelerini inhibe eder. STAT4 eksikliği embriyonun gelişimine olumsuz etki etmez. TH1 gelişimini kuvvetli ölçüde azaltır. Dolayısıyla artmış enfeksiyon riskine neden olur, bununla birlikte STAT4'ün azalması TH1 ler az olduğu için

otoimmünite riskini de azaltır. Belki de TH1 TH2 dönüşümünün gebelikte ki değişimi, bu şekilde gebelik materyalinin yaşamasına olanak vermektedir.

STAT5

Gebeliğin 4., 5., 6. gününde yaygın boyanma gözlenen preparatlar implantasyon sırasında STAT5'in önemli rol oynadığını düşündürdü. Daha önceki çalışmalarda farelerde STAT5'in preimplantasyon zamanının başından sonuna dek salındığı gösterilmiştir (237).

Mak ve arkadaşları 2002 yılında yayınladığı çalışmalarında , progesteronla indüklenen desidualizasyonda prolaktinin aktive olduğunu ve prolaktinin endometrial stromal hücrelere STAT5 üzerinden etki ettiğini göstermişlerdir.(238)

Bir başka çalışmada ise desidual prolaktinin lokal olarak JAK2 STAT5 yolağını aktifleyebileceğini ve up regüle olan pek çok önemli gen ile desidual gelişim ve plasantasyonla ilgili olduğunu göstermişlerdir(239).

STAT5a ve b sub tiplere sahiptir. STAT5a ve b, transkripsiyon faktörü T hücreleri için önemli rol oynar. STAT5 sadece TCGF'ler (Tcell Growth Faktör) ile aktive olmaz. Bu faktörlerle beraber IL-3, IL-4, IL-5, IL-2, IL-7, IL-9, çeşitli büyüme faktörleri, prolaktin, eritropoetin ile de aktive olabilirler. STAT5a defisit farelerde defektif tubuloalveolar gelişim nedeniyle prolaktine yanıtı ile süt miktarında düşüş meydana gelir. STAT5b eksik dişi farelerde ise Laron cüceliği gibi büyüme hormonu reseptör defekti ile sonuçlanır. Sadece STAT5a ya da STAT5b eksik ise T hücreleri normal yapı ve fonksiyondadır. Her iki komponentte eksik ise T hücrelerinin proliferatif yanıtı zayıflamıştır. STAT5 matür T hücrelerinin apoptozisten korunması için gereklidir. STAT5 eksikliği artmış immün defekt, lenfoid dokuda T hücre gelişiminde geriliğe, T hücrelerin apoptozise gidişinin hızlanmasına neden olur. STAT5 eksikliği enfeksiyon artışına neden olur, bununla beraber otoimmünite riski de artar.

IL-5, T hücre aktivasyonu ve eozinofilik inflamasyon arasında bağlantı sağlar. CD4+ TH2 tip hücrelerden ve aktive makrofajlardan salınır. IL-3 ise CD4+ T hücrelerden salınır. İmmatür kemik iliği progenitor hücrelerine etki ederek bilinen tüm matür hücrelere gelişimi sağlar. IL-3 ve IL-5 JAK2 ve sonrasında STAT5 i kullanarak etki etmektedirler Çalışmamızda JAK2'nin ve STAT5'in kuvvetli boyanması implantasyon döneminde bu sistemin oldukça aktif bir şekilde kullanıldığını bize düşündürmüştür. Kemik iliği progenitor hücrelerinin hangi STAT yolağını kullandıkları

henüz tam olarak bilinmemektedir. Bununla beraber Schmerer ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada hem embriyonik hem de erişkin eritopoezisinde STAT5 yolağını kullandığını rapor etmişlerdir (240). Bu dönemde hematopoezisin gerçekleşecek olması aktif olmasını beklemek zaten normaldir.

STAT 6

STAT6 ile immunohistokimyasal teknikle boyanmış preparatların incelenmesinde implantasyon zamanıyla uyumlu olarak 5. günde hafif boyanma izlendi. STAT6'nın implantasyon döneminde fonksiyon gösterdiğinin bir belirtisi olarak değerlendirildi. STAT6 IL-4 tarafından kullanılan bir sinyal ileti ve transkripsiyon faktörüdür ve bu dönemde STAT6 varlığı bize bu IL-4 aktivasyonundaki artışı düşündürdü. IL-4 farklılaşmış TH2 hücreleri için otokrin büyüme faktörü ve naif CD4+ yardımcı T hücrelerinden TH2 hücrelerinin gelişimi için önemli uyarıcıdır. IL-4 implantasyon anında TH2 dönüşümünü hızlandığı, dolaylı etkisi ile de (IFN gamma'nın engellenmesi) TH1 farklılaşmasının sınırlandırıldığını düşündürdü. Bu bulgular erken gebelik döneminde TH1/TH2 dengesindeki değişikliklerle korele olarak değerlendirildi.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan implantasyon modelinde, gebeliğin 4.,5. ve 6. gününde alınan uterus örnekleri, JAK1, JAK2 ve JAK3 ile STAT2, STAT3, STAT4, STAT5 ve STAT6 monoklonal antikorları ile immunohistokimyasal teknikle boyanarak incelendi.

JAK1 immunoreaktivitesinin gebeliğin 4. gününde immunkompetant hücrelerde 5. gününde immunkompetent hücrelerin yanı sıra, endometriyumun stromal hücrelerinde, 6. gününde desidual hücrelerde lokalize olması implantasyon döneminde ortaya çıkan sitokinlerin JAK1'i kullandıklarının bir göstergesi olarak değerlendirildi.

4. günden itibaren JAK1 immunoreaktivitesinin varlığı implantasyona hazırlık döneminde IL-6 ve LIF'in oluşturduğu hafif inflamasyon ve bazı hücrelerde gözlenen morfogeneze JAK1'in aracılık ettiği düşünüldü.

JAK1 immunreaktivitesinin tüm gruplarda oldukça sınırlı olmasının IL-10'un azalmasına bağlı olarak TH1 hücrelerinin sayısının azaltılmasına neden olabileceğini düşündürdü.

JAK2 immunoreaktivitesinin tüm gruplarda oldukça güçlü ve yaygın olarak olması bu bölgedeki artmış mitotik aktivite ve anjiogenesi indükleyen eritropoetin sekresyonuna aracılık etmesine bağlı olabileceğini düşündürdü.

JAK2, IL-3'e aracılık ederek, miyeloid hücrelerin ve mast hücrelerinin matürasyonu ve farklılaşmasında rol oynayabileceğini düşündürdü.

JAK2, IL-5'e aracılık ederek B hücrelerin proliferasyonunda rol oynayabileceğini düşündürdü.

JAK2, IL-1'e aracılık ederek uterustaki hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında modulator etkisinde rol oynayabileceğini düşünüldü.

JAK2, hPGH'in etkisi ile ekstrasvillöz sitotrofoblastların uterus duvarına invazyonunda rol oynayabileceği düşündürdü.

JAK3 immunoreaktivitesinin tüm gruplarda az olarak gözlenmesi immunsüpresyon lehine değerlendirildi.

JAK3, IL-13 aracılığı ile IFN γ ve makrofajları inhibe ederek bu bölgede immunitiyi baskılanması fonksiyonunda rol oynayabileceği düşündürdü.

JAK3, IL-4 ün TH2 dönüştürücü etkisine aracılık ettiği düşündürdü.

JAK3, IL-2 antigen spesifik hücrelerin proliferasyonuna aracılık ederek T ve B hücre proliferasyonlarında rol oynayabileceğini düşündürdü.

JAK3 hemotopoetik sitokinlerden IL-7'e lenfosit gelişimi ve matür periferik lenfositlerin homeostazı için; IL-9'a ise bazı T hücrelerin ve kemik iliği kökenli mast hücre öncüllerinin büyümesinde aracılık edebileceği düşündürdü.

STAT2 nin 4.,5. ve 6.günlerde yolağın diğer moleküllerine göre fazla salındığının gözlenmesi, implantasyon üzerine etkili olabileceğinin bir belirtisi olarak değerlendirildi.

STAT2 immunoreaktivitesinin 5. günde diğer günlere göre azalmış olması, IFN α nın azalarak hücrel immunitenin azalmasına ve Th1/Th2 oranının düşmesine neden olabileceği düşündürdü.

STAT2 immünreaktivitesinin, 5. ve 6. günde gözlenmesi NK hücrelerinde aktivasyonunun bir belirtisi olarak değerlendirildi.

STAT3 4. 5. günlerde, LIF'in blastosistin uterusu tutunması ve uterusun desidualizasyonu fonksiyonuna aracılık edebileceği düşünöldü.

STAT 3 ün INF ailesinin Tip I cevabını regule etme fonksiyonuna aracılık ederek dokulardaki aşırı immun cevabı önleyerek çevre dokularda oluşabilecek hasardan korunmasında rol oynayabileceği düşündürdü.

STAT3 IL-6'nın plasentada immunotrofik; desiduada immunodistrofik etki oluşturmada aracılık edebileceği düşündürdü.

STAT3, IL-11'in desidualizasyon ve trofoblast invazyonu fonksiyonunda rol oynamadığı düşündürdü.

STAT4, 4. 5. günlerde implantasyon bölgesine yerleşmiş immunokompetant hücrelerde boyanma gözlenirken, 6. güne boyanan hücre sayısında belirgin azalma olması implantasyon üzerinde etkili olabileceğini düşündürdü.

STAT4 ekspresyonunda azalma gözlenmesi IL-12 ve IL-23 ün de dokularda düşük düzeyde olduğunun dolayısı ile Th1 oluşumunun azalmasının bir belirtisi olarak değerlendirildi.

STAT4'ün az boyanmasının bir diğer nedeni IFN β nın az eksprese edilmesi olabilir. IFN β nın az salınımı, IL-10 daha az eksprese edilmesiyle sonuçlanacaktır. IL-10 un TH1 sitokinlerinin major süpresörü olduğu düşünülse bu bölgede Th1 süpresyonunun IL-10 dan bağımsız olduğunu söylenebilir.

STAT4'ün azalması IL-12 aracılık ettiği NK aktivasyonunun ve proliferasyonunun gerçekleşmemesi nedeni ile, Th1 bağımlı fonksiyonların zayıflamasına neden olabileceği düşünüldü.

STAT5'in 4., 5. ve 6. günlerde yaygın olarak gözlenmesi implantasyon aşamasında önemli rol oynadığının bir belirtisi olarak değerlendirildi.

STAT5 prolaktinin endometrial stromal hücrelere desidualizasyon oluşturmada aracılık ettiği düşündürdü.

STAT5, IL-5'in immatür kemik iliği progenitor hücrelerine etki ederek bilinen tüm matür hücrelere gelişimi sağlanmasına aracılık ettiği düşünüldü.

STAT6, 5. günde hafif boyanma izlendi implantasyon döneminde çok belirgin bir rol üstlenmediği düşünüldü.

STAT6 IL-4 nin Th2 dönüşümünü hızlandırmasına, dolaylı etkisi ile de (IFN gamma'nın engellenmesi) aracılık ettiği düşünüldü.

JAK ve STAT'ların implantasyon dönemindeki profillerinin incelendiği bu çalışmada, JAK ve STAT'ların uterustaki miktarlarında ve dağılımlarında farklılıklar gözlenmesi, implantasyon döneminde aktif fonksiyon gösterdiklerinin bir belirtisi olarak değerlendirildi. Gebeliğin başlangıç döneminde JAK ve STAT'ların uterusun immunolojik cevabının düzenlenmesine önemli rol oynayabileceği sonucuna varıldı.

7 ÖZET

Hücre dışından gelen çok sayıda sinyal bir transmembran reseptörü olan JAK'lar tarafından alınarak, hücre içindeki STAT'lar (signal transducers and activators of transcription) aracılığı ile DNA'ya iletilir ve hedef gen üzerinde transkripsiyonu başlatır. Çok sayıda farklı molekül tarafından kullanılan bir yolak farklı fonksiyonların gerçekleşmesinde önemli rol oynamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda implantasyon döneminde bazı JAK ve STATların eksprese edildiği tespit edilerek fonksiyonları tanımlanmıştır. Ancak bu konuda yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan implantasyon modelinde , JAK1, JAK2, JAK3, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5 ve STAT6 ekspresyonu incelenerek uterus implantasyon dönemindeki JAK/STAT profilinin çıkarılması ve muhtemel fonksiyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL METOD

Dişi sıçanlar 3 gruba ayrıldı. Sıçanlara saat 15:00 civarında vajinal smear yapıldı. Smear hematoksilen eozin boyası ile boyandı. Östroz durumları belirlendi. Östroz da olan dişi sıçanlar bir gece uygun şartlarda kafeste çiftleşmeye bırakıldılar. Ertesi gün servikal sürüntüde sperm tespit yöntemi ile gebe olarak kabul edilen hayvanlar ayrı kafeslere alındı. Ayrı kafeslere alındıkları gün embriyonik gün E:0. gün olarak kabul edildi. Embriyonik 4., 5., 6. günlerde sıçanlar kurban edildi.4. gün kurban edilen sıçanlar 4. gün olarak, 5.gün kurban edilen sıçanlar 5. gün olarak ve 6. gün kurban edilen sıçanlar 6. gün olarak tanımlandı. Ve implantasyon bölgeleri makroskopik olarak belirlendikten sonra uterus parçaları %10 formol solusyonuna konarak 24-48 saat bekletildiler. Dokular rutin doku takip protokolüne uygun olarak parafin blok haline getirildi. Bloklardan 5 mikronluk seri kesitler alındı. Bu kesitler hematoksilen-eozin ve immunohistokimya tekniklerine göre JAK ve STAT monoklonal antikorları ile boyandı. Boyanan preparatlar ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

BULGULAR

H-E ile boyanan preparatlar, gebelik günleriyle uyumlu doku değişiklikleri gösterdikleri gözlemlendi. İmmünohistokimyasal boyamalar da JAK1'in 4. günde immunkompetant hücrelerde, 5. günde stromal ve immunkompetant hücrelerde 6. günde ise desidua alanda boyandığı gözlemlendi. JAK2'nin tüm gruplarda kuvvetli

boyandığı, 5. günün bir önceki güne göre daha fazla boyandığı tespit edildi. JAK3'ün ise JAK1 ile benzer boyanma özelliğinde olduğu, 5. ve 6. gün boyanmalarının 4. güne kıyasla artmış olduğu bulundu. STAT2 tüm gruplarda kuvvetli boyanmıştı, boyanma özellikle 4. gün boyaması 5 ve 6. günlere oranla daha çoktu. STAT3'le boyanan kesitler değerlendirildiğinde 4. 5 güne ait kesitlerde, antimezometriyal bölgede supepitelyal alanda, hafif bir boyanma izlenirken 6. günde boyanmanın daha az olması dikkat çekici bulundu. STAT4 antikoru ile boyanan dokuların zayıf bir immunreaktivite gösterdiği bulundu. STAT5 ile boyanan kesitlerde 4. ve 5. günlerde yüzey epitel, stromal hücreler ve bezlerle birlikte immunkompetent hücrelerde güçlü immunreaktivite gözlemlendi, 6. günde ise desidual hücrelerde güçlü immunreaktivite tespit edildi. STAT6 ile boyanan kesitler incelendiğinde 5. günde zayıf bir boyanma gözlemlendi.

SONUÇ

JAK ve STAT'ların implantasyon dönemindeki profillerinin incelendiği bu çalışmada, JAK ve STAT'ların uterustaki miktarları ve dağılımları günlere göre farklılıklar göstermektedir. Özellikle JAK2, STAT2, ve STAT5'in fazla salgılanması bu faktörlerin implantasyon döneminde aktif fonksiyon gösterdiklerinin bir belirtisi olarak değerlendirildi. Buna karşılık diğer faktörlerin az boyanması da bir takım supresif fonksiyonların belirtisi olarak değerlendirildi. Sonuç olarak gebeliğin başlangıç döneminde JAK ve STAT'ların bazıları indukleyici bazıları ise baskılayıcı fonksiyon göstererek uterusun implantasyonu kolaylaştırma reaksiyonlarında önemli rol oynamaktadır.

ABSTRACT

Janus tyrosine kinases (JAKs) and signal transducers and activators of transcription (Stats) regulate many different processes following cytokines binding to specific cell surface receptors. Some of the JAK and STAT expression were determined during implantation period in previous studies. However, which JAK and STAT is important for receptivity in human endometrium are not known completely. In this study we aimed to establish The JAK/STAT profile and to investigate potential functions of these.

MATERIAL METHOD

Thirty adult Female rats were separated into three groups. Vaginal smear was carried out at 03.00 p.m and the estrus's period was determined. Female rats in estrus period were left in their cage with male rats to copulate. The next day, rats which had sperm in cervical smear was accepted as pregnant was taken into separate cages. This day was accepted as embryonic day (ED):0.5. The rats were sacrificed in ED: 4.5 (Group 1, 4Th day), 5.5 (Group 2, 5Th day) and 6.5 (Group 3, 6Th day). The implantation sites were observed by macroscopically and fixed in 10% formalin solution for 24-48 h. Tissues were placed into paraffin blocks according to routine paraffin procedure. Five µm serial sections were taken from the blocks. The sections were stained with H.E. and immunohistochemical techniques using JAK1, JAK2 and JAK3; STAT2, STAT3, STAT4, STAT5 and STAT6 monoclonal antibodies. Stained sections were evaluated under a light microscope.

RESULTS

In immunohistochemical staining; JAK1 was positive in immune competent cells on the 4Th day, in stromal and immune competent cells on the 5Th day and in decidual area on the 6Th day. It was observed That, JAK2 was stained strong in all groups, on the 5Th day it was stained more severe according to previous day. JAK3's staining profile was similar to JAK1's, and it was found that their staining were increased on The 5Th and 6Th days compare to 4Th day. STAT2 was stained as strong in all groups. Staining was increased especially on the 4Th day compare to 5Th and 6Th days. In the examining of sections stained with STAT3, it was observed mild staining on the antimezometrial region in the subepithelial area on The 4Th and 5Th days and minimal staining was observed

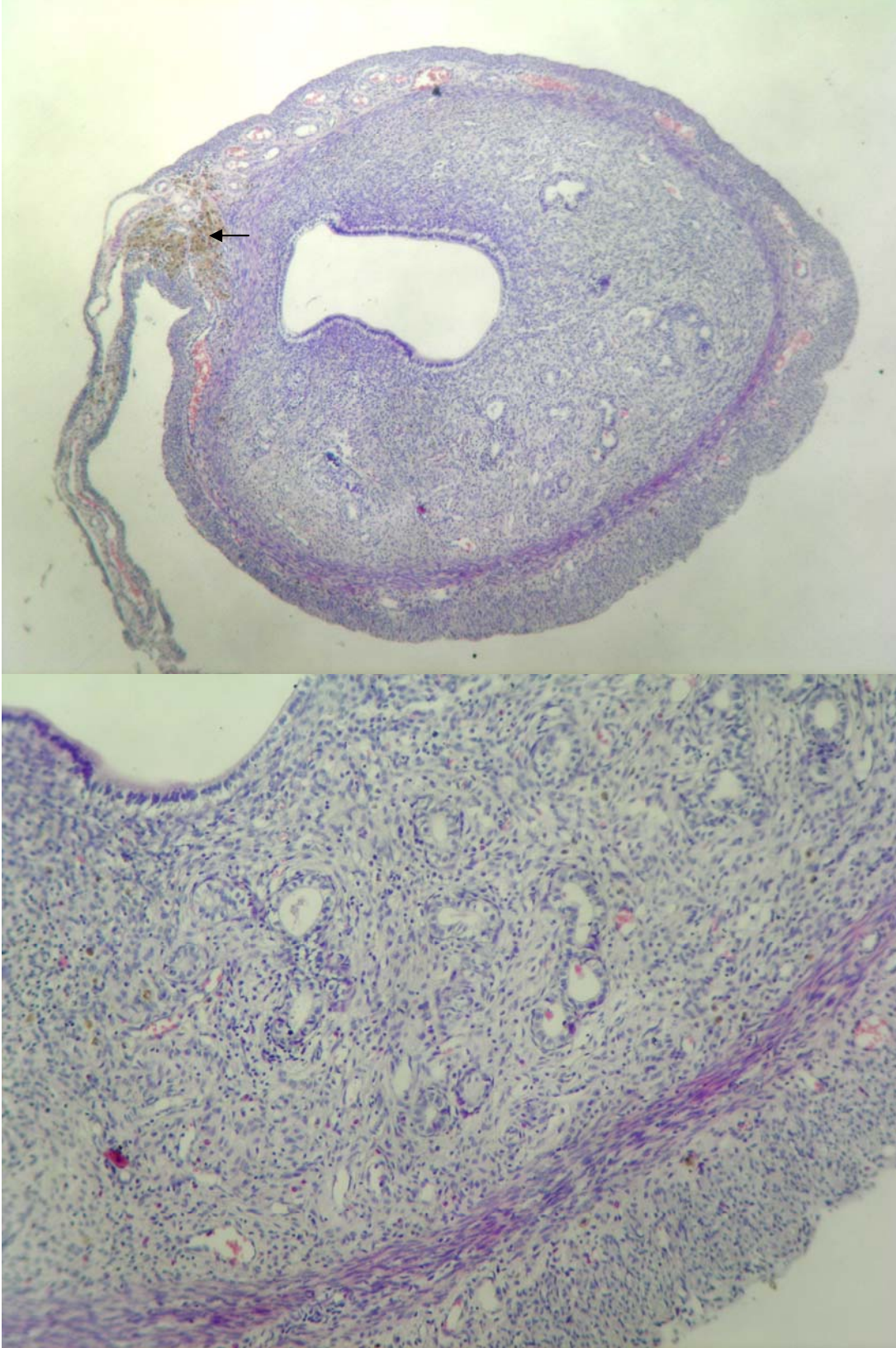
on The 6th day. STAT4 immunoreactivity was observed as minimal. STAT5 immunoreactivity was strong on yüzey epiThelium, stromal cells and glands and immune competent cells on The 4th and 5th days. On The 6th day decidual cells were observed strong immunoreactivity. STAT6 immunoreactivity was minimal on The 6th day.

CONCLUSION

In This study, profiles of JAK and STAT were research in the implantation period and it was observed that amounts and distributions of JAK and STAT had differences according to days in implantation. Especially, increased secretion of JAK2, STAT2, and STAT5 had active function in implantation period. But decreased staining of the other factors may have a suppressive function. Finally, JAK and STAT's may play an important immunoregulatory function during implantation.

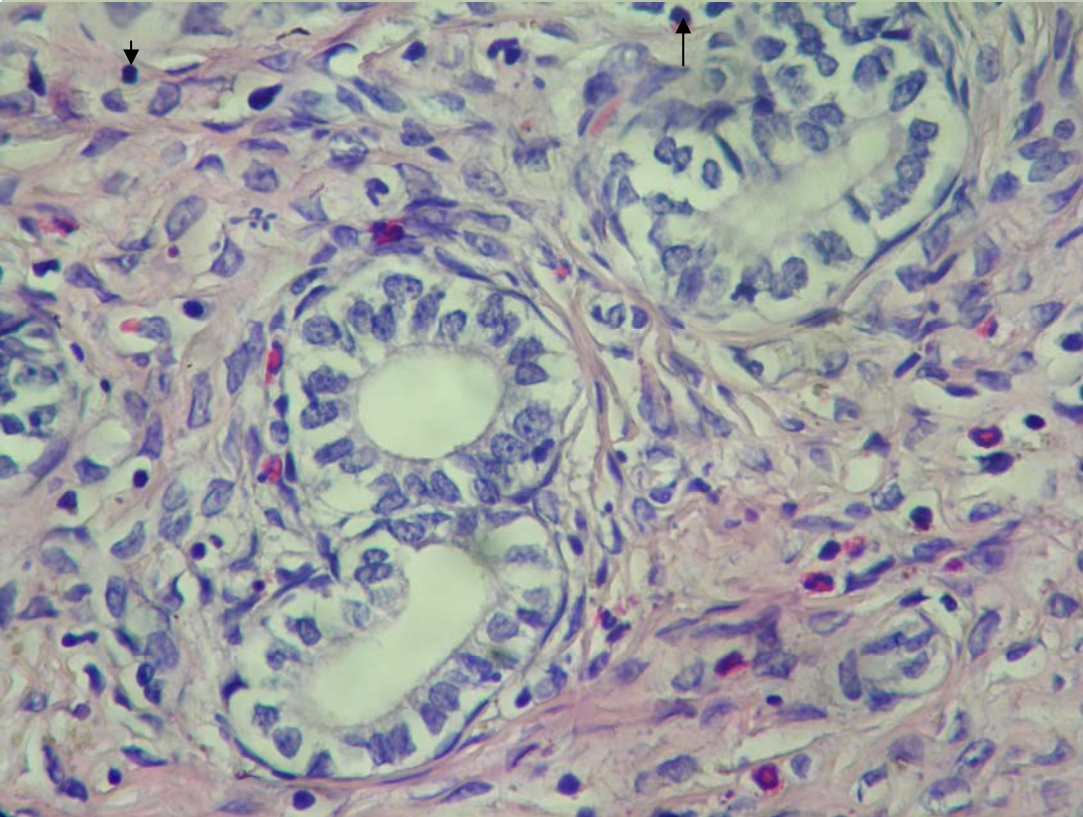
9. RESİMLER

Resim H-E 4. gün



Resim 1,2: Gebeliğin 4. günü uterus kesitlerinin H-E ile boyanmış preparatlarında her üç tabakada ayırt edilebilmektedir. Mezometriyumda GMG(←) hücreleri ve lokalize desidual hücreler bulunmaktadır. Lümen epitelinin altında endometrial stromal alanda stromal hücreler, uterus bez yapıları ve immunkompetant hücreler ayırt edilebilmektedir. x40, x400

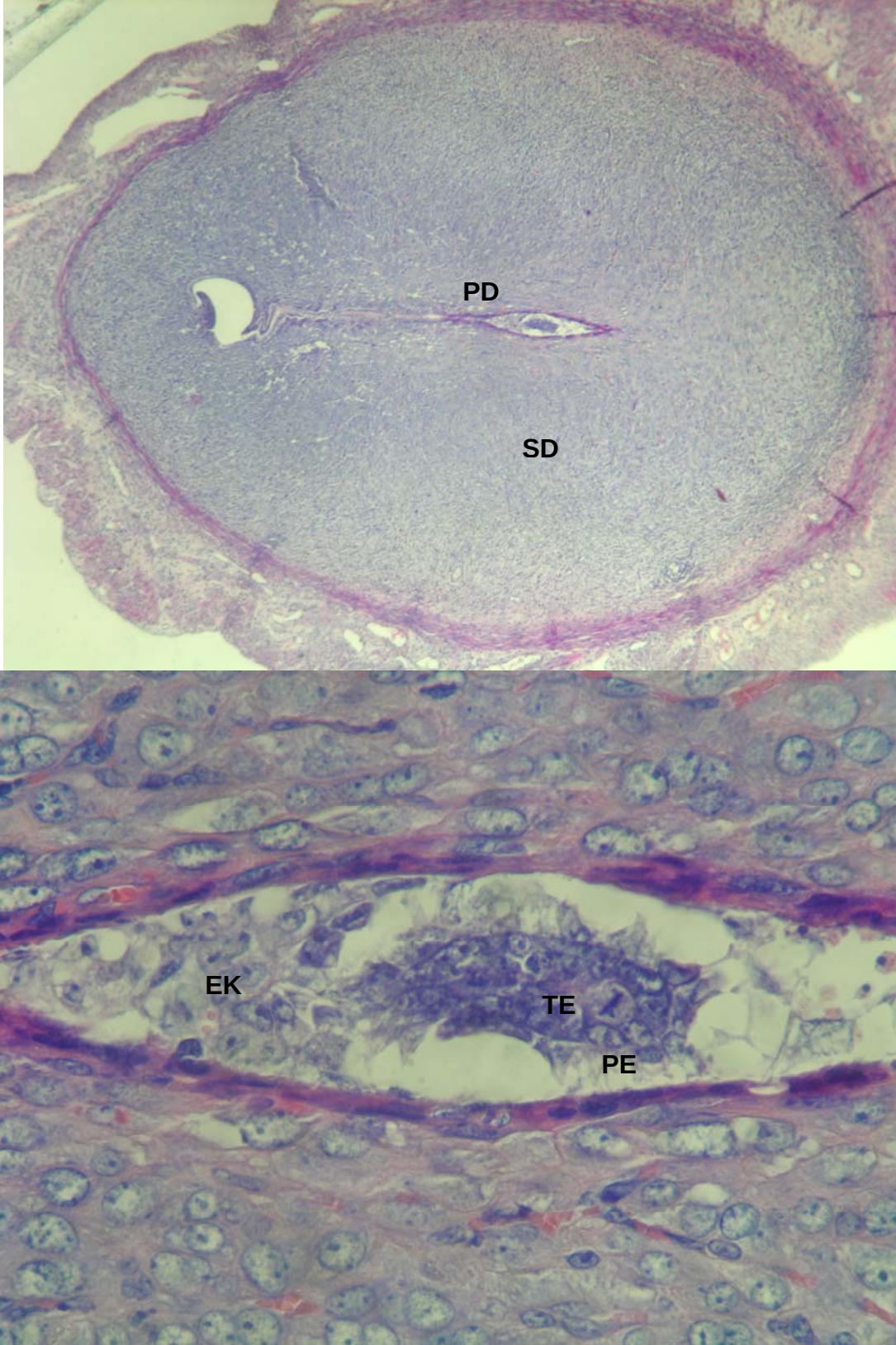
Resim 5. gün H-E



Resim 3: Gebeliğin 5. günü ile uyumlu preparatlarda lümen epiteli altında primer desidual alan görülmektedir(ok).x40

Resim 4: Gebeliğin 5. günü ile uyumlu preparatlarda stromal alanda desidualize olmaya başlayan hücreler ve immunkompetant hücrelerinin(ok) sayıca arttığı görülmektedir.x400

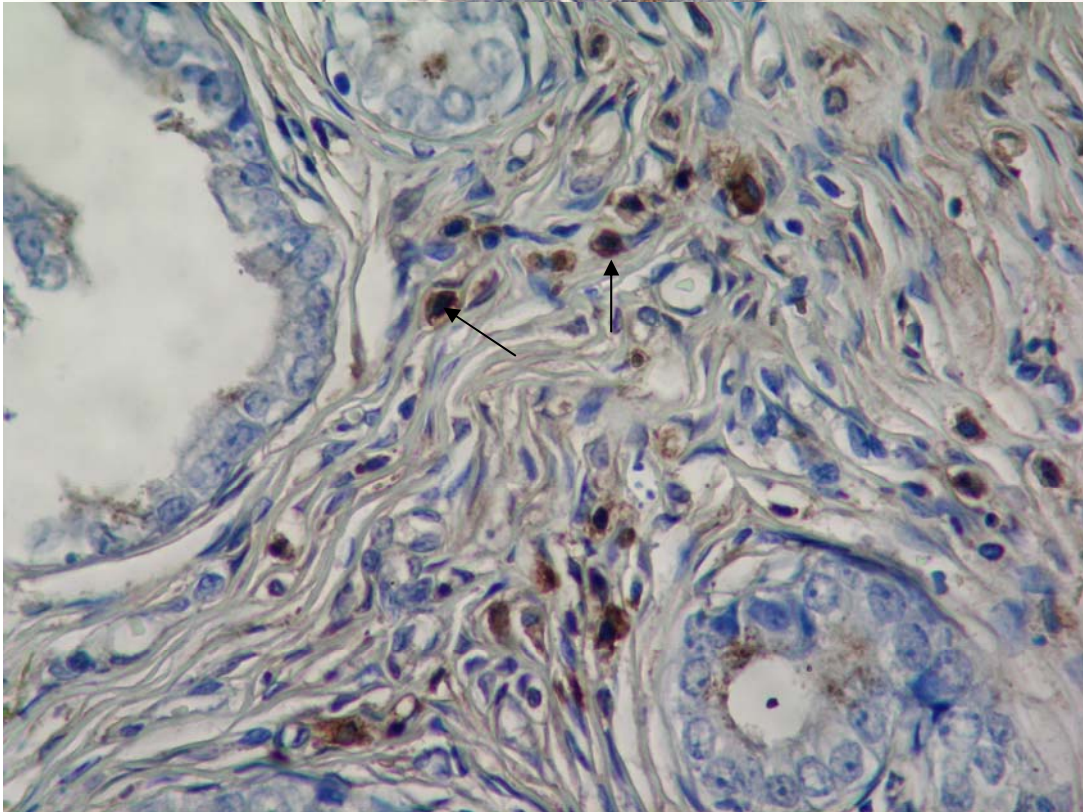
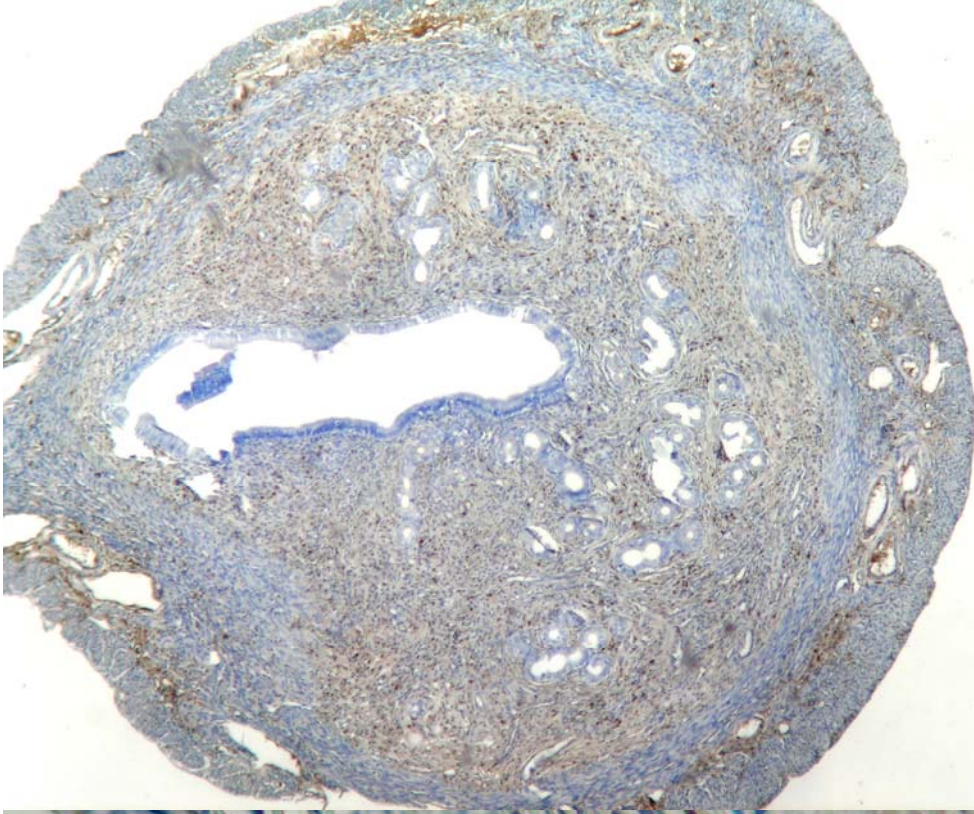
Resim 6. gün H-E



Resim 5: Uterusda primer desidual(PD) alan, sekonder desidual(SD) alan ve implante olan embriyo görünmektedir.x40

Resim 6: Embriyonun yolk kesesi kavitesine yerleştiği, embriyoyu en dıştan saran primer embriyonik endoderm(PE) hücrelerinin pariyetal tabakası, trofoblastı oluşturan trofoektoderm tabakası(TE) ve ekto plasental koni (EK) gözlenmektedir. x400

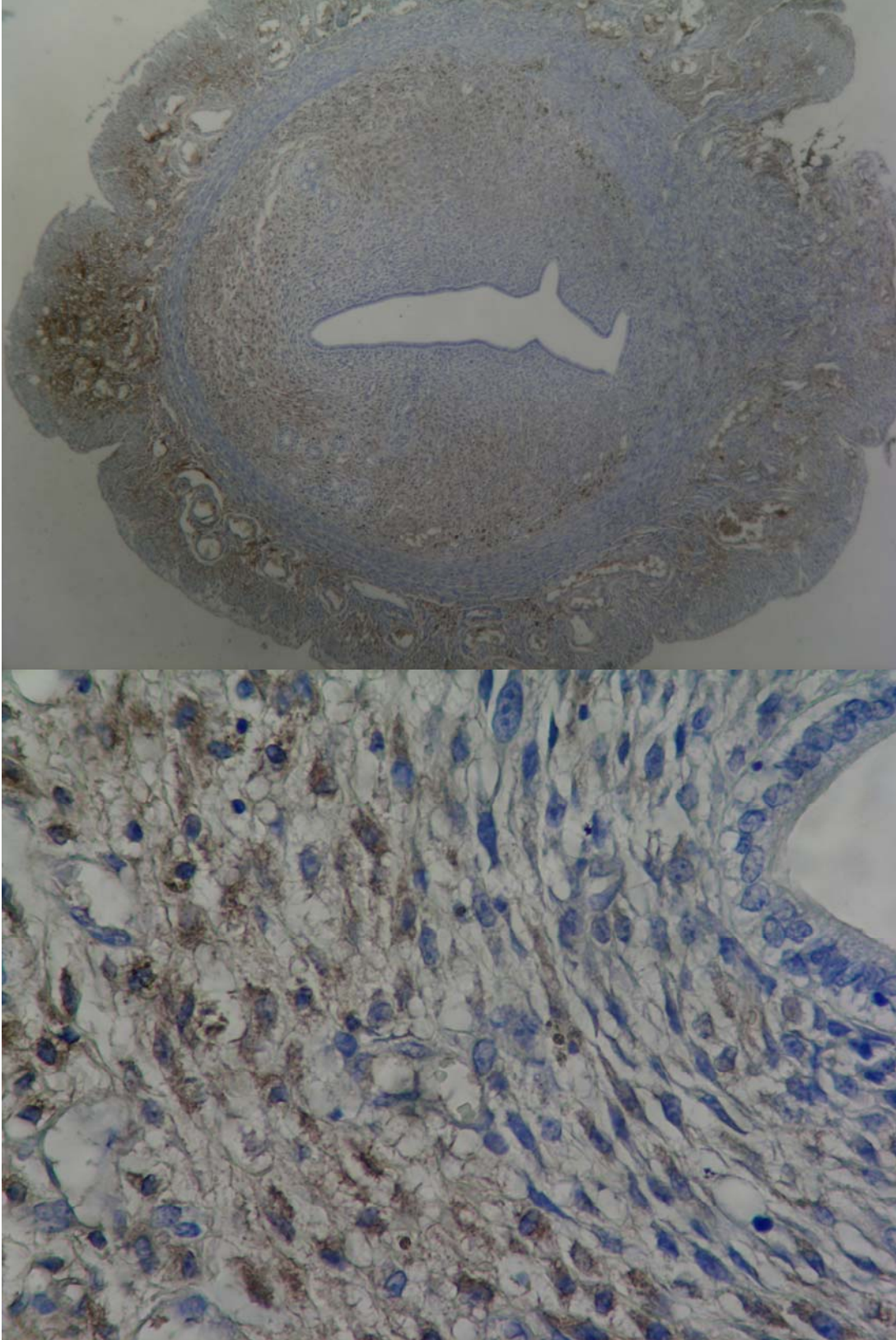
RESİM IHC JAK1 4. GÜN



Resim 7: 4. gün uterus kesitlerinde lümen epiteli, stroma ve miyometriumda boyanma gözlenmedi. X40

Resim 8: 4.gün boyamasında (+) immunreaktivite gösteren immunkompetant hücreler görülmektedir.(ok) x400

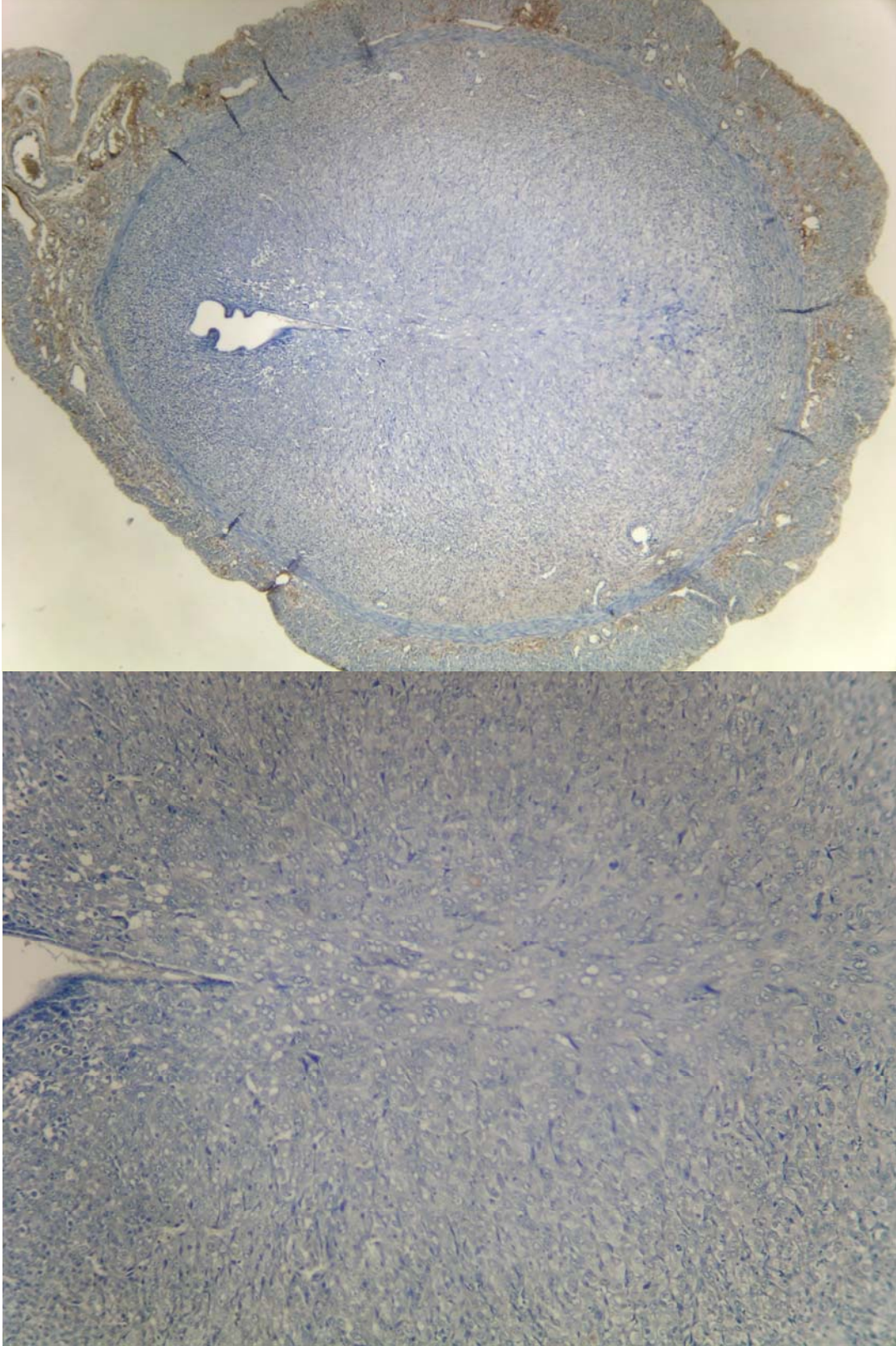
RESİM IHC JAK1 5. gün



Resim 9: 5. gün uterus kesitlerinde epitel ve subepitelyal alanda (+) immunreaktivite saptanmadı. X40

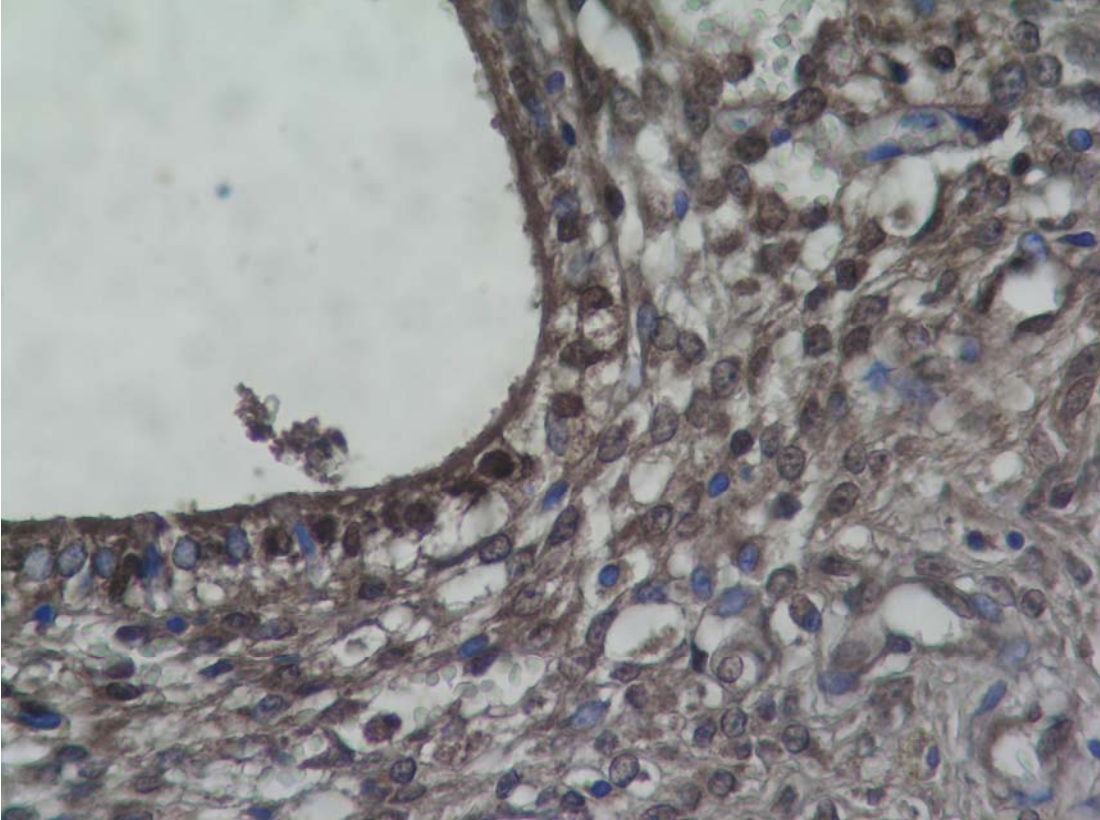
Resim 10: Stromal hücrelerde (+) boyanma gözlemlendi.x400

RESİM IHC JAK1 6. GÜN



Resim11,12: 6. gün desidial alanda oldukça zayıf bir boyanma gözlemlendi x40 ve x200

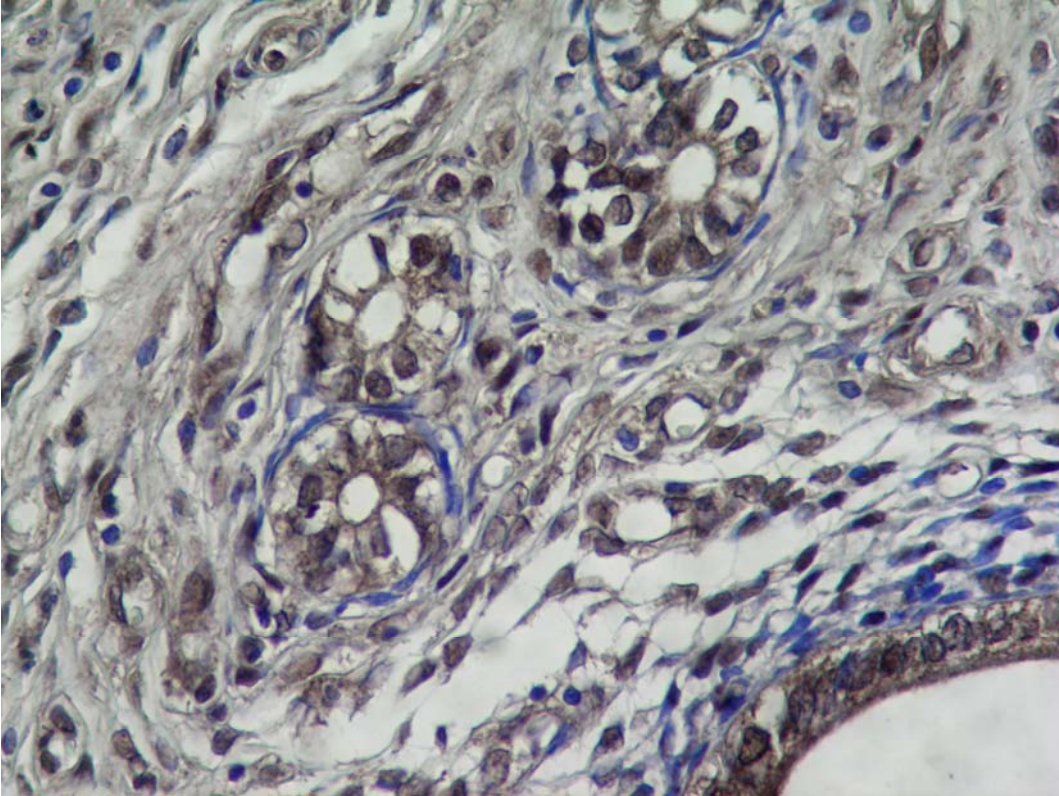
RESİM IHC JAK2 4. GÜN



Resim 13: 4. gün uterus kesitinde lümen epitelı orta , endometriyal stromal hücreler ve bezlerde zayıf, immunkompetant hücrelerde ise kuvvetli (+++) JAK2 boyanması gözlemlendi. x40

Resim 14: 4. gün uterus kesitinde JAK2 ile (++) boyanan lümen epitelı ve zayıf immunreaktivite gösteren stromal hücreler görölmektedir. x400

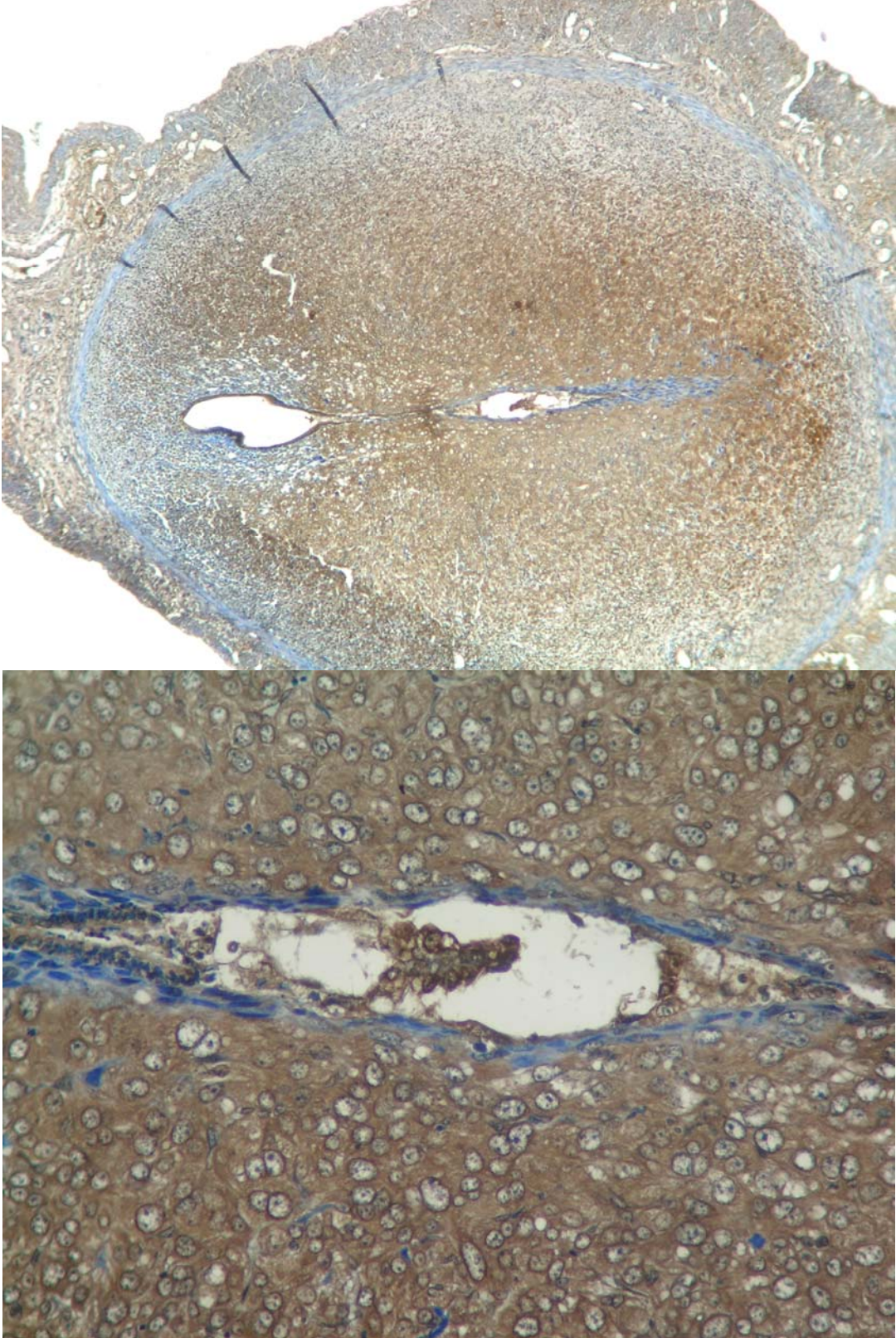
RESİM IHC JAK2 5.GÜN



Resim 15: Gebeliğin 5. gününde JAK2 boyanmasında lümen epiteli (+++) boyanmış, primer desidual alan boyanmamış, sekonder desidual alan ise (++) boyanmış gözlemlendi. X40

Resim 16: 5. gün uterus kesitlerinin boyanmasında lümen epiteli ve sekonder desidual alanda bez ve stromal hücrelerde kuvvetli immunreaktivite gözlenmektedir.x400

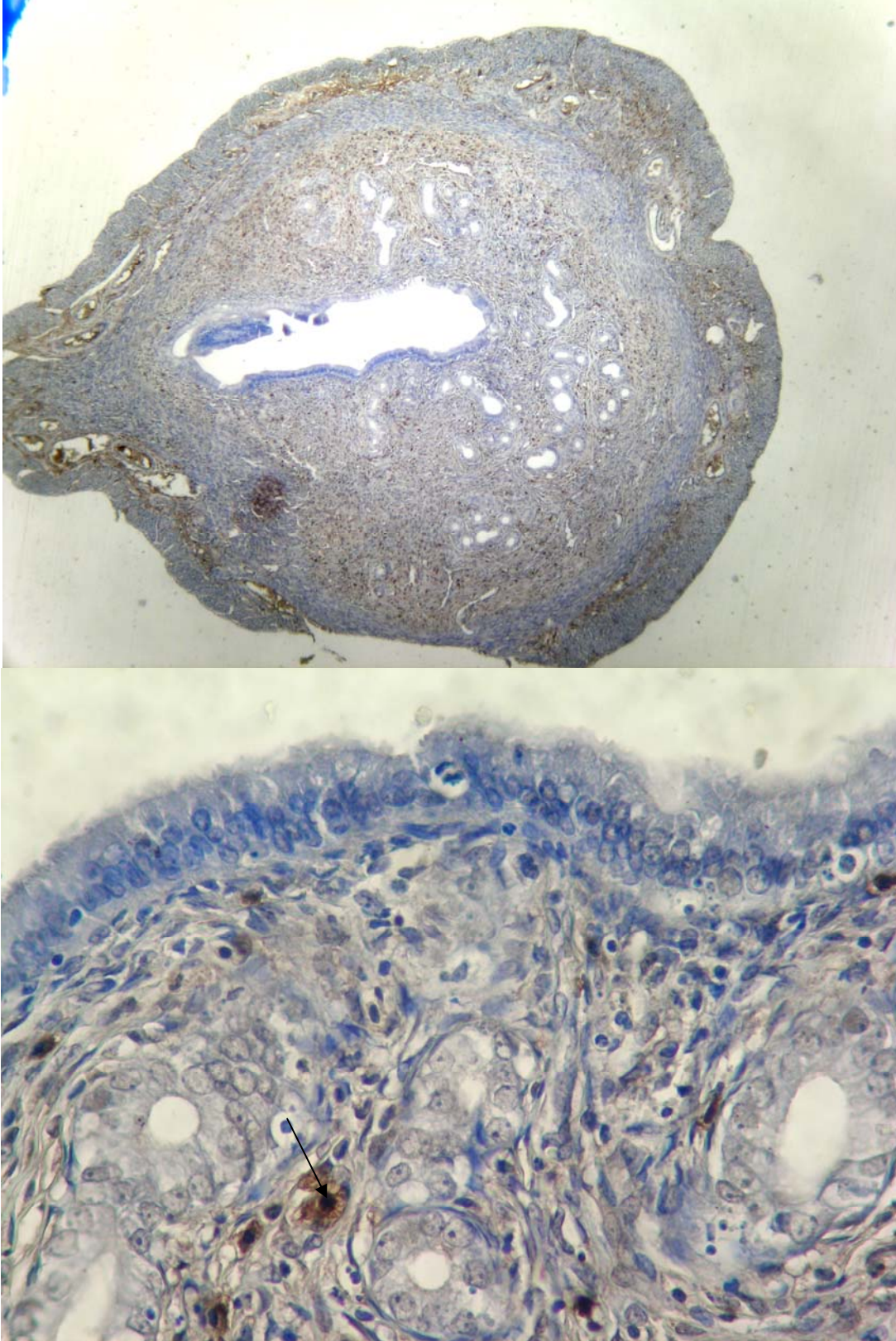
RESİM IHC JAK2 6. GÜN



Resim 17: 6. gün uterus kesitlerinin JAK2 ile boyanmasında, implante olmuş blastosist gözlemlendi. Desidual alanda kuvvetli boyanma izlendi.x40

Resim 18: 6 gün uterus boyanmasında embriyoda ve desidual alanda +++ boyanma dikkat çekici olarak değerlendirildi.x400

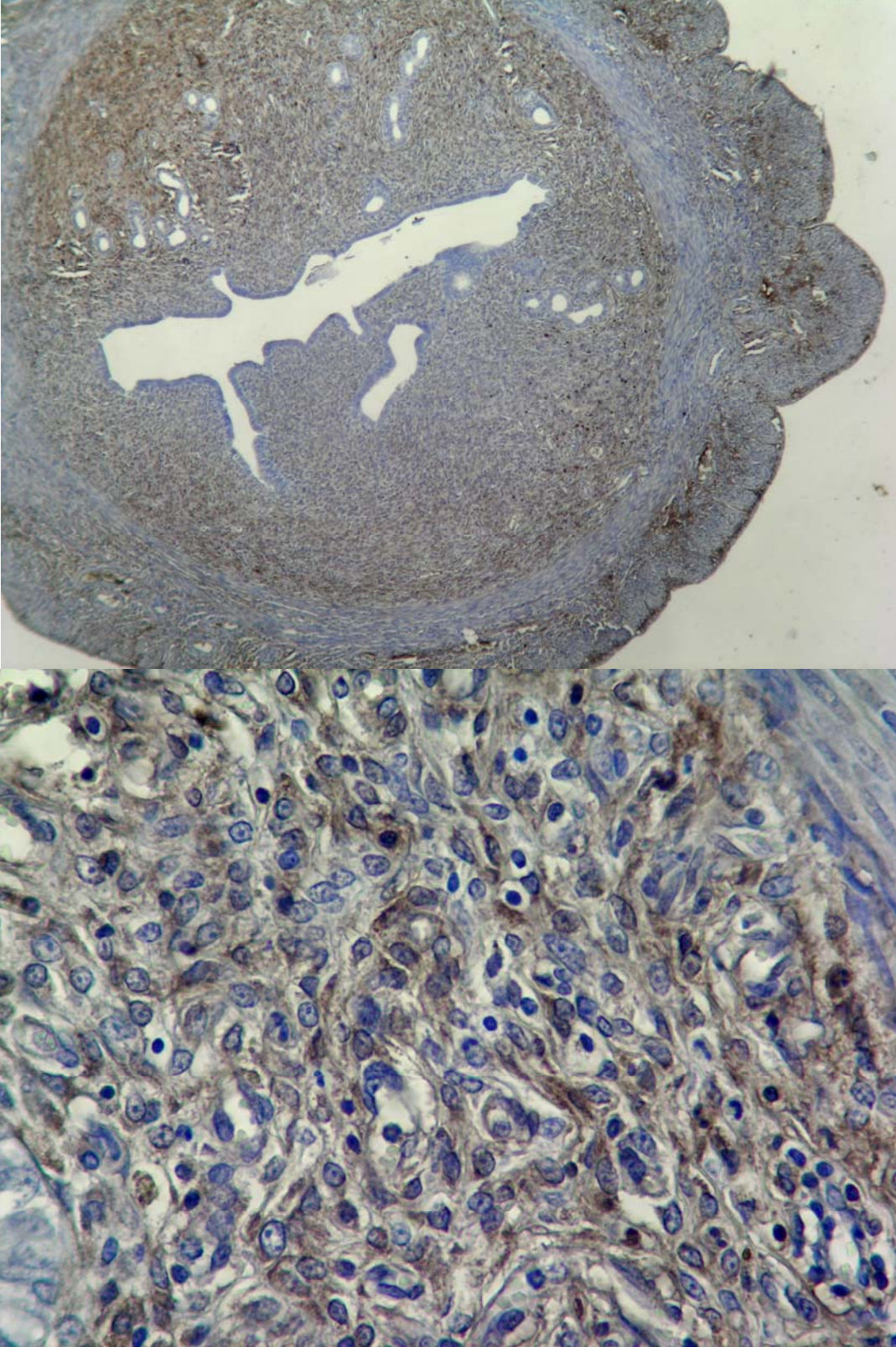
RESİM IHC JAK3 4. gün



Resim 19: 4. gün lümen epiteli stromal hücreler ve bezlerde boyanma gözlenmedi. Sadece immunkompetant hücrelerde (+) boyanma saptandı(ok).x40

Resim 20: 4. gün immunkompetent hücrelerin (+) boyandığı gözlenmekte x400

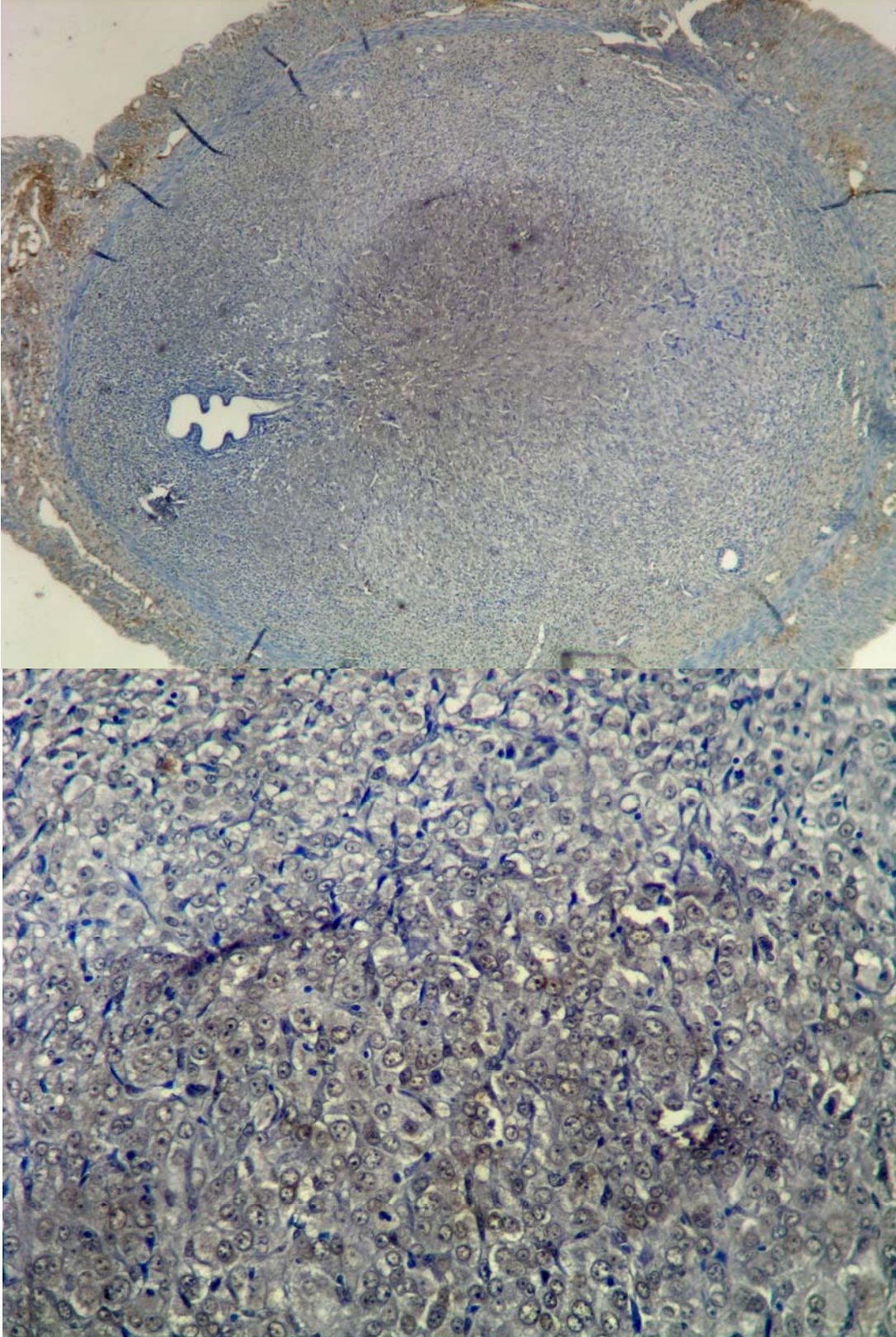
RESİM IHC JAK3 5. gün



Resim 21: 5. gün lümen epitelinde boyanma gözlenemedi. Endometriyal stromal hücreler ve İmmunkompetent hücrelerde (+) boyanma gözlendi x40

Resim 22: 5. gün lumen epiteli boyanmamış iken immunkompetant ve endometriyal stromal hücrelerde (+) boyanma gözlenmektedir. x400

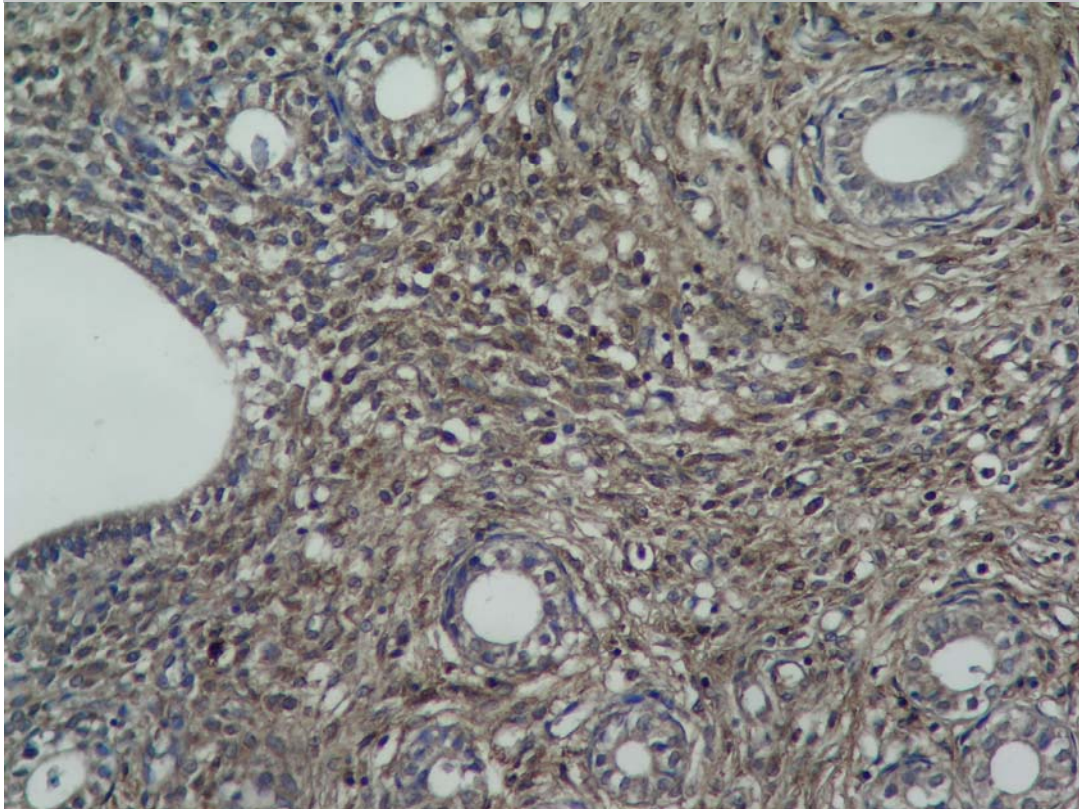
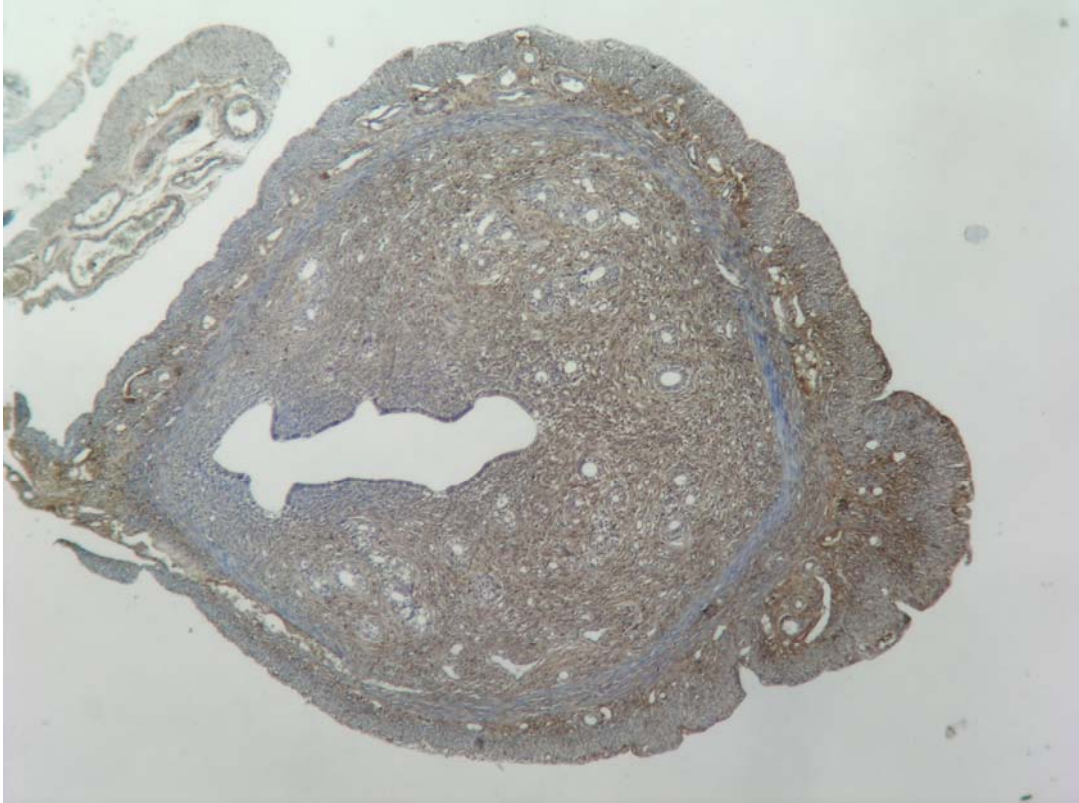
RESİM IHC JAK3 6. gün



Resim 23: 6. gün uterus kesitlerinde desidual alanda sınırlı bir immunreaktivite gözlemlendi. İmplantasyon bölgesine yakın desidual hücreler ilgi çekici olarak gözlemlendi.x40

Resim 24: gebeliğin 6. günü uterus kesitinin JAK3 ile boyanmasında, immunreaktivite gösteren ve göstermeyen desidual hücreler görülmektedir. görülmektedir.x400

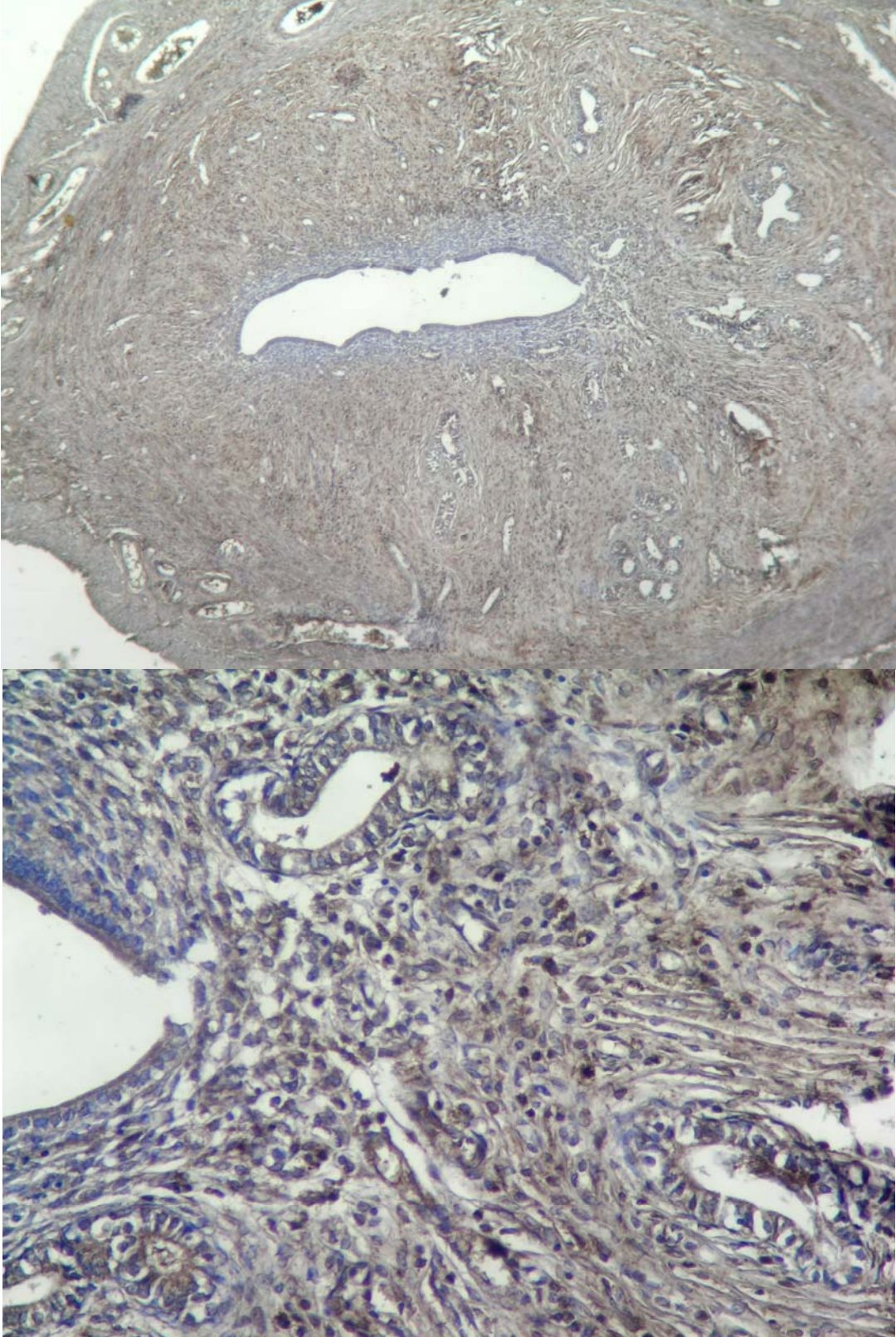
RESİM IHC STAT2 4. gün



Resim 25: 4. gün uterus kesitlerinde yüzey epitelde ++ boyanma saptandı. Stromal hücreler +++ immunokompetent hücrelerde ++, stromal bezlerde ise + değerlendirildi.x40

Resim 26: 4. gün uterus kesitlerinde yüzey epitel ve endometriyum gözlenmektedir.x200

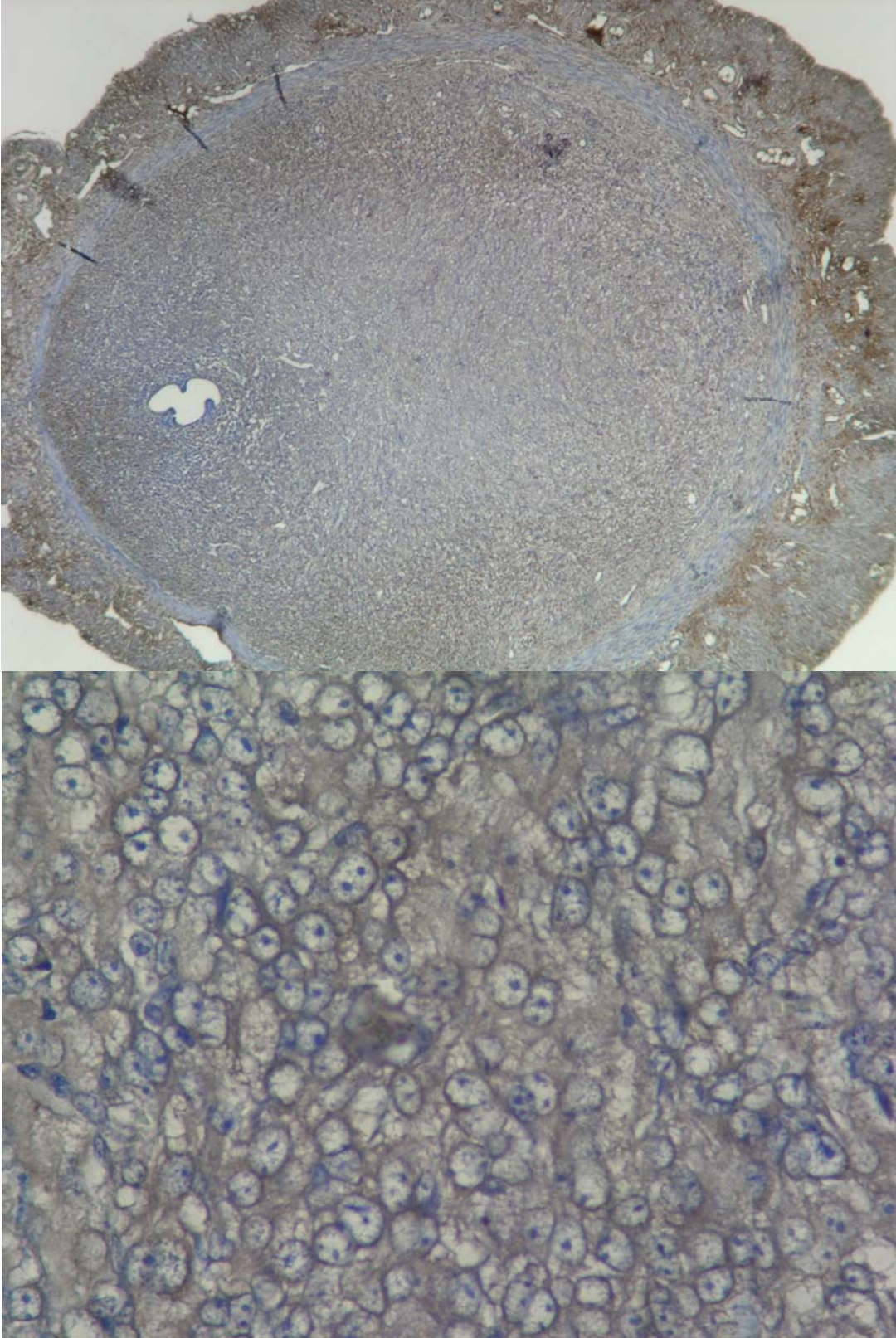
RESİM IHC STAT2 5. gün



Resim 27: 5. gün incelenen preparatlarda epitel ve bezlerde zayıf boyanma, antimezometriyal alanda ve immunkompetant hücrelerde ise orta şiddette immunreaktivite gözlenmektedir.x 40

Resim 28: 5.gün incelen preparatlarda yüzey epitelde ve endometriyal alanda immünoreaktivite gösteren yapılar izlenmektedir.x200

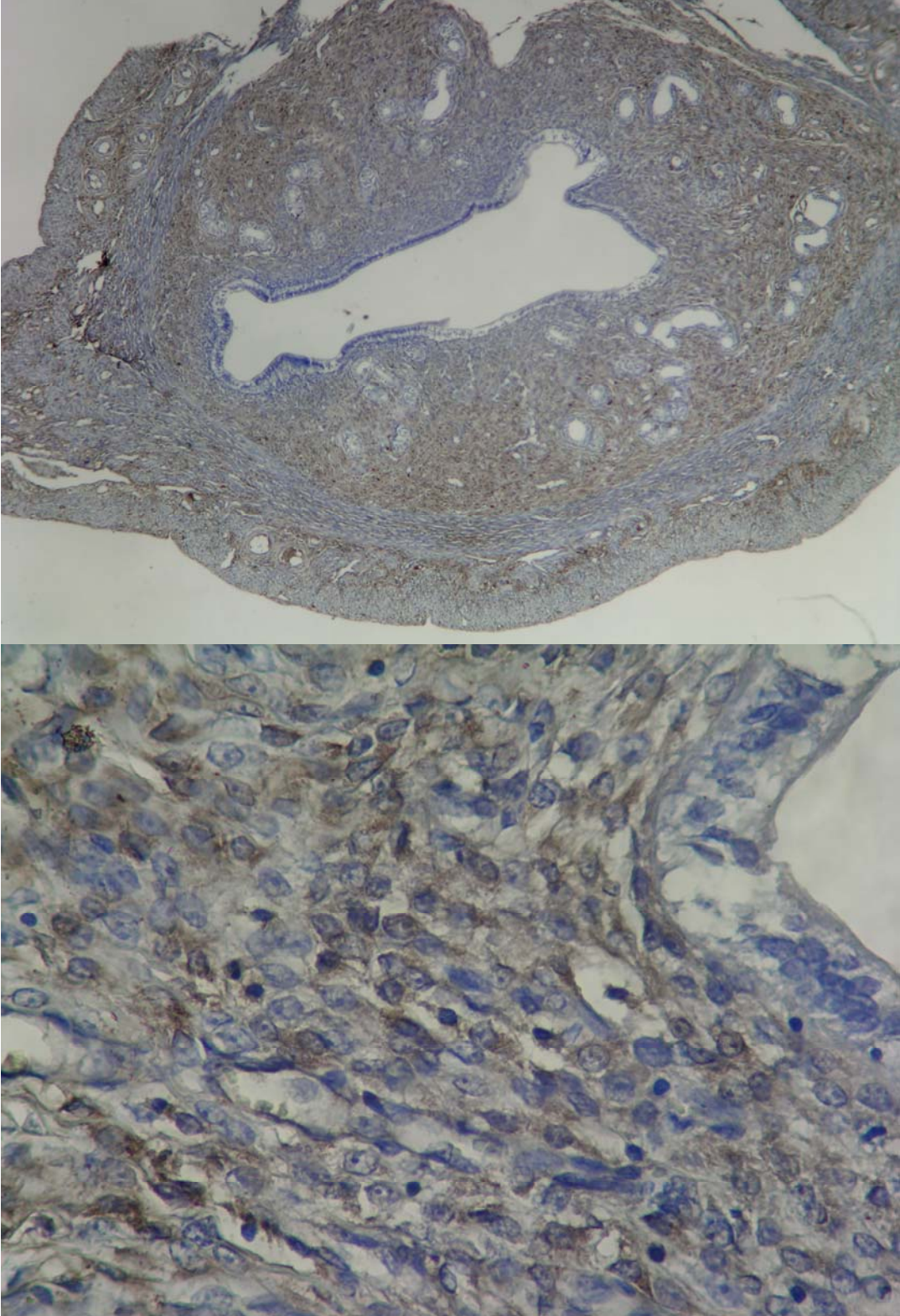
RESİM IHC STAT2 6. gün



Resim 29: 6. gün Gebelik günü ile uyumlu desidual alanlar gözlendi.x40

Resim 30: 6. gün desidual alanlar + immunreaktivite göstermektedir.x400

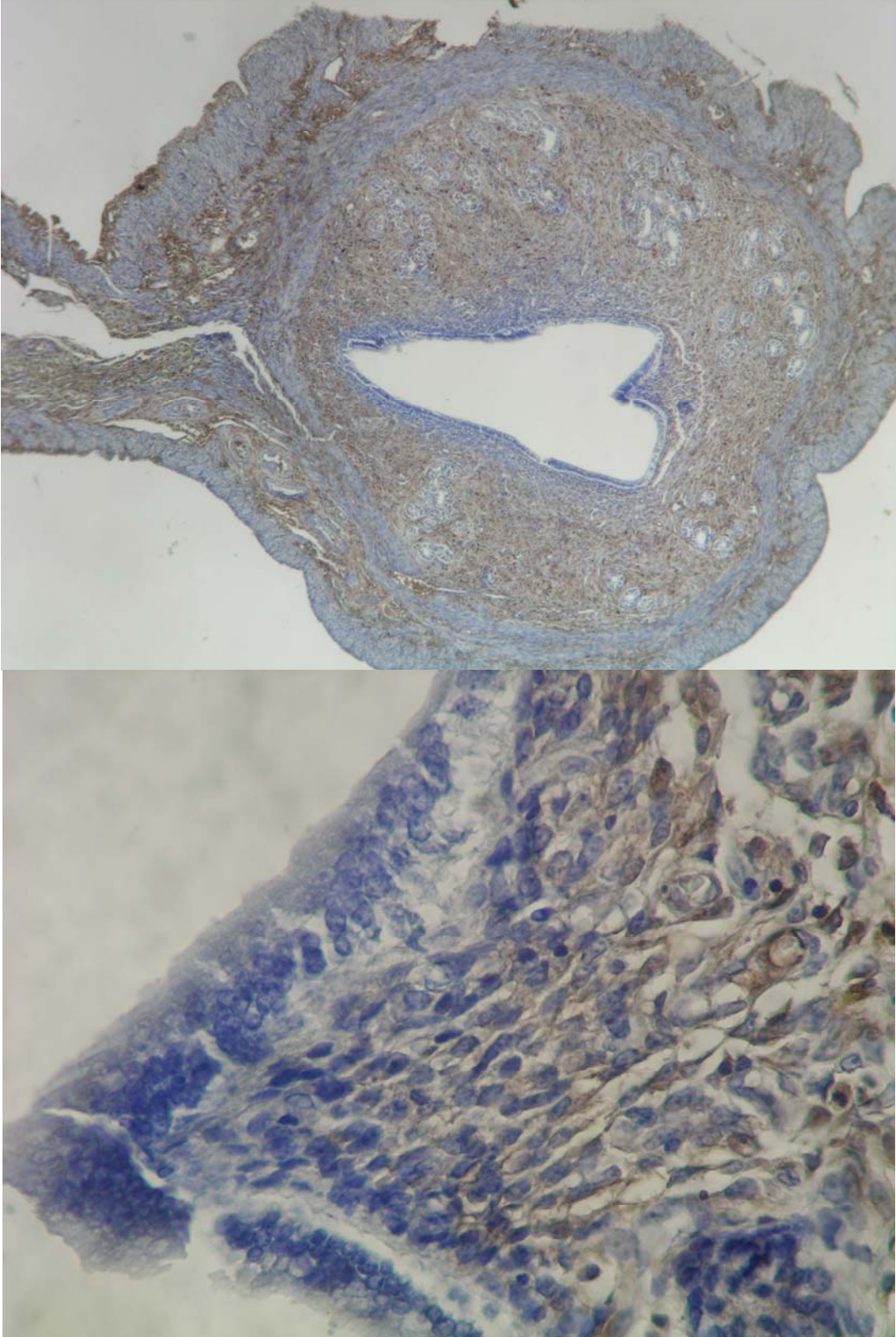
RESİM IHC STAT3 4. gün



Resim 31: 4. gün uterus kesitleri incelendiğinde epitelde boyanmaya rastlanmadı. Endometriyal stromada (+) boyanma görüldü.x40

Resim 32: 4. gün uterus kesitleri incelendiğinde mezometriyal alanda lümen epitelinde immunoreaktiviteye rastlanmaz iken stromal hücrelerde + immunoreaktivite görüldü.x400

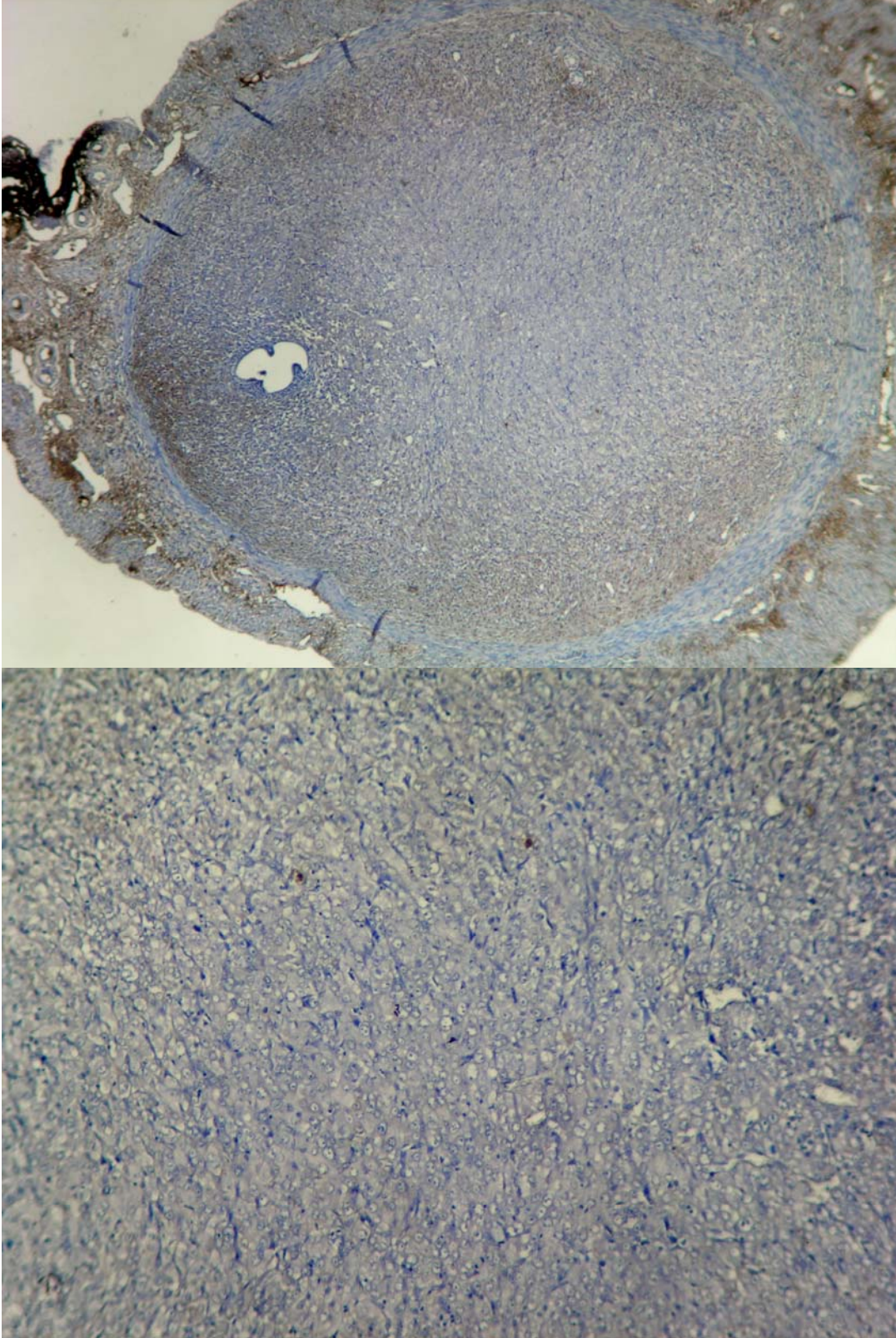
RESİM IHC STAT3 5. gün



Resim 33: 5. gün uterus kesitlerinde primer desidualizasyon alanında boyanma gözlenmez iken daha derin stromal alanlarda (+) immunreaktiviteye rastlandı.x40

Resim 34: 5. gün antimezometriyal tarafta epitelde ve epitelin hemen altında boyanma yoktur. Stromal hücrelerde boyanma gözlenmektedir.x 400

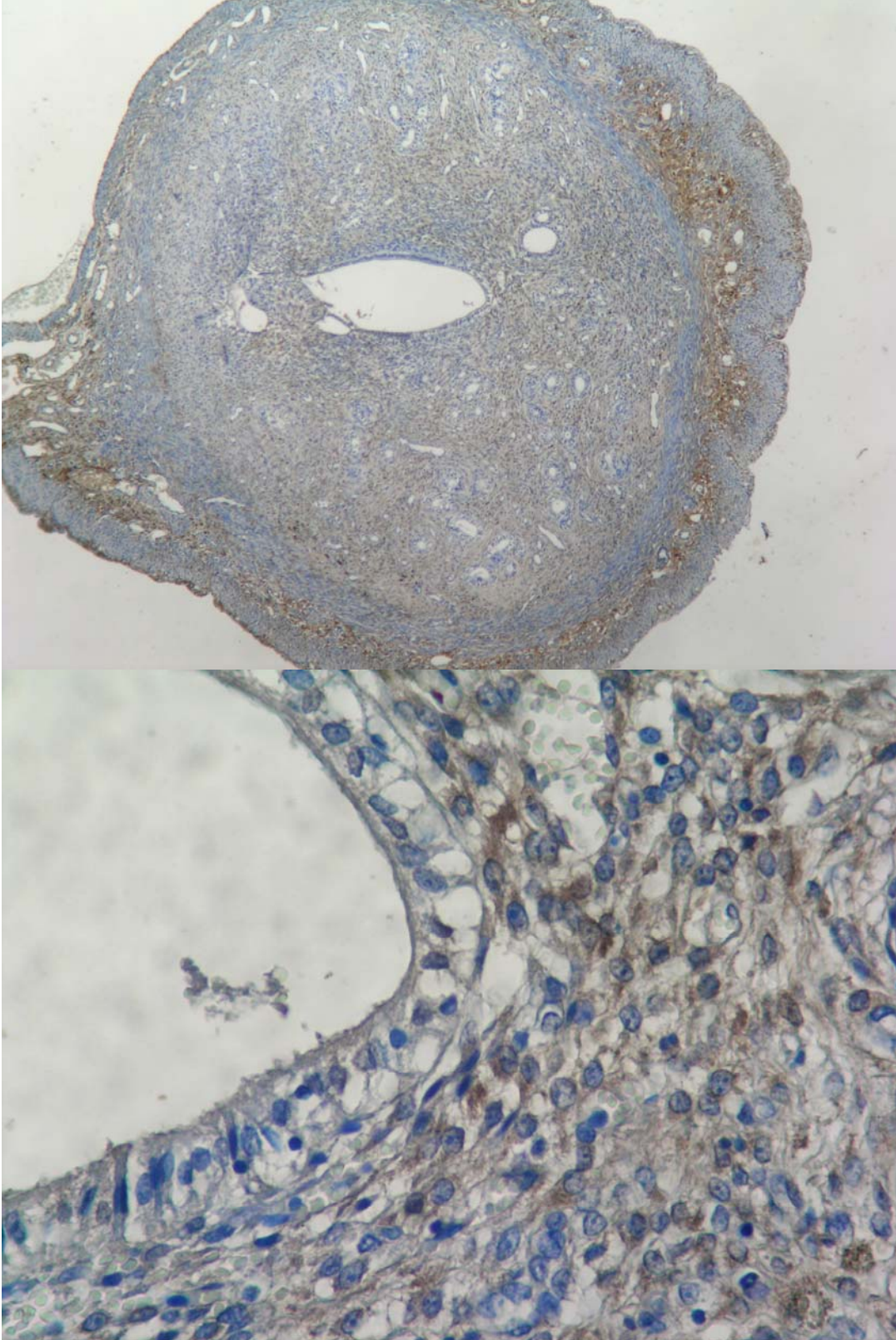
RESİM IHC STAT3 6. gün



Resim 35: 6. gün uterus kesitlerinde desidual hücrelerin miyometriyuma yakın bölgede + boyandığı gözlenmektedir.x40

Resim 36: 6. gün uterus kesitlerinde blastosistin implante olduğu bölgede desidual hücrelerde boyanma yok iken dış tarafa doğru boyanma olduğu gözlenmektedir.x200

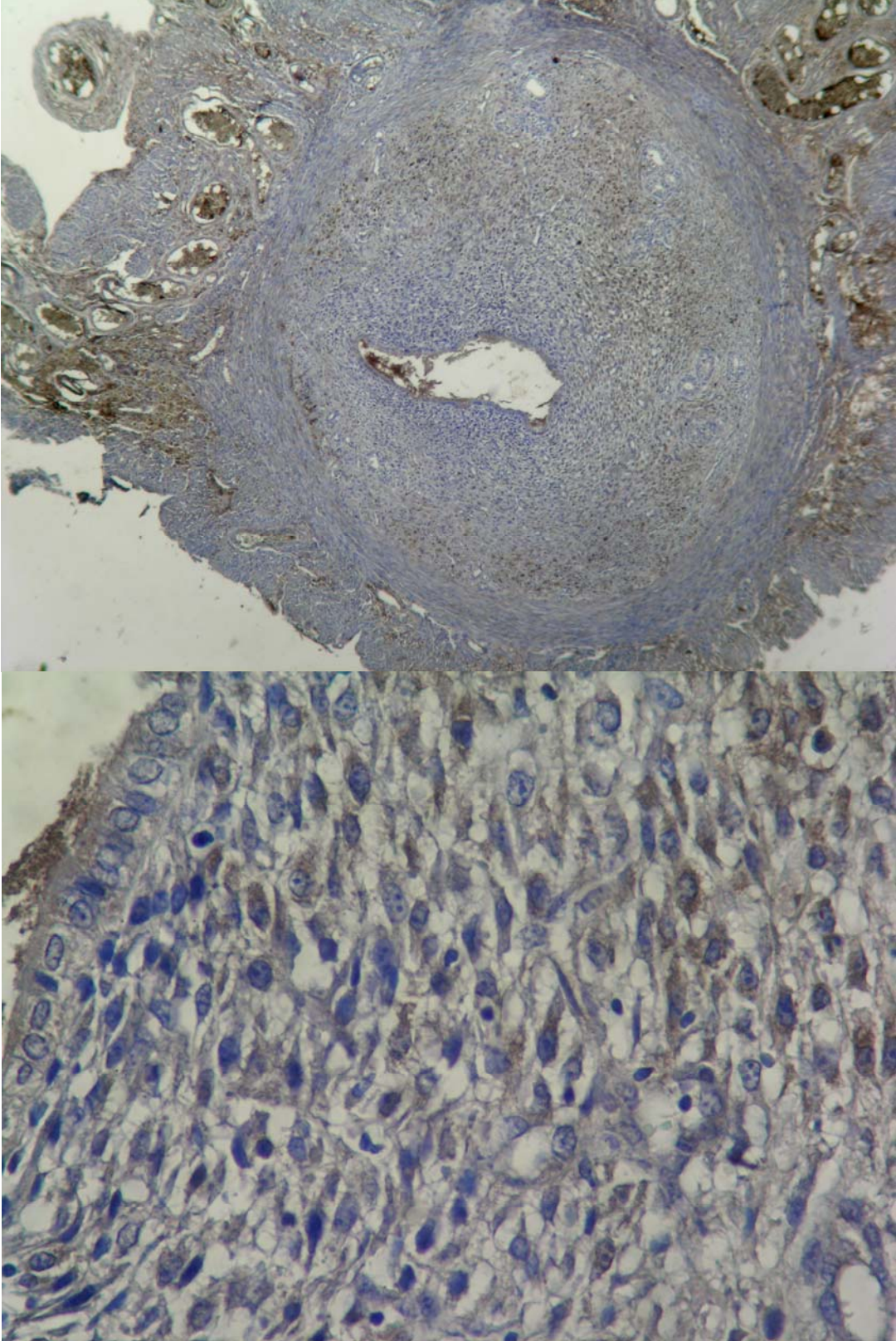
RESİM IHC STAT4 4. gün



Resim 37: 4. gün uterus kesitlerinde lümen epiteli, ve bez epiteline boyanmaya rastlanamadı. Stromal hücreler ve immunkompetant hücrelerde + boyanma tespit edildi.x40

Resim 38: 4. gün epitelde boyanma gözlenmez iken epitel altı stromada belirsiz(±) boyanan hücreler gözlenmektedir.x400

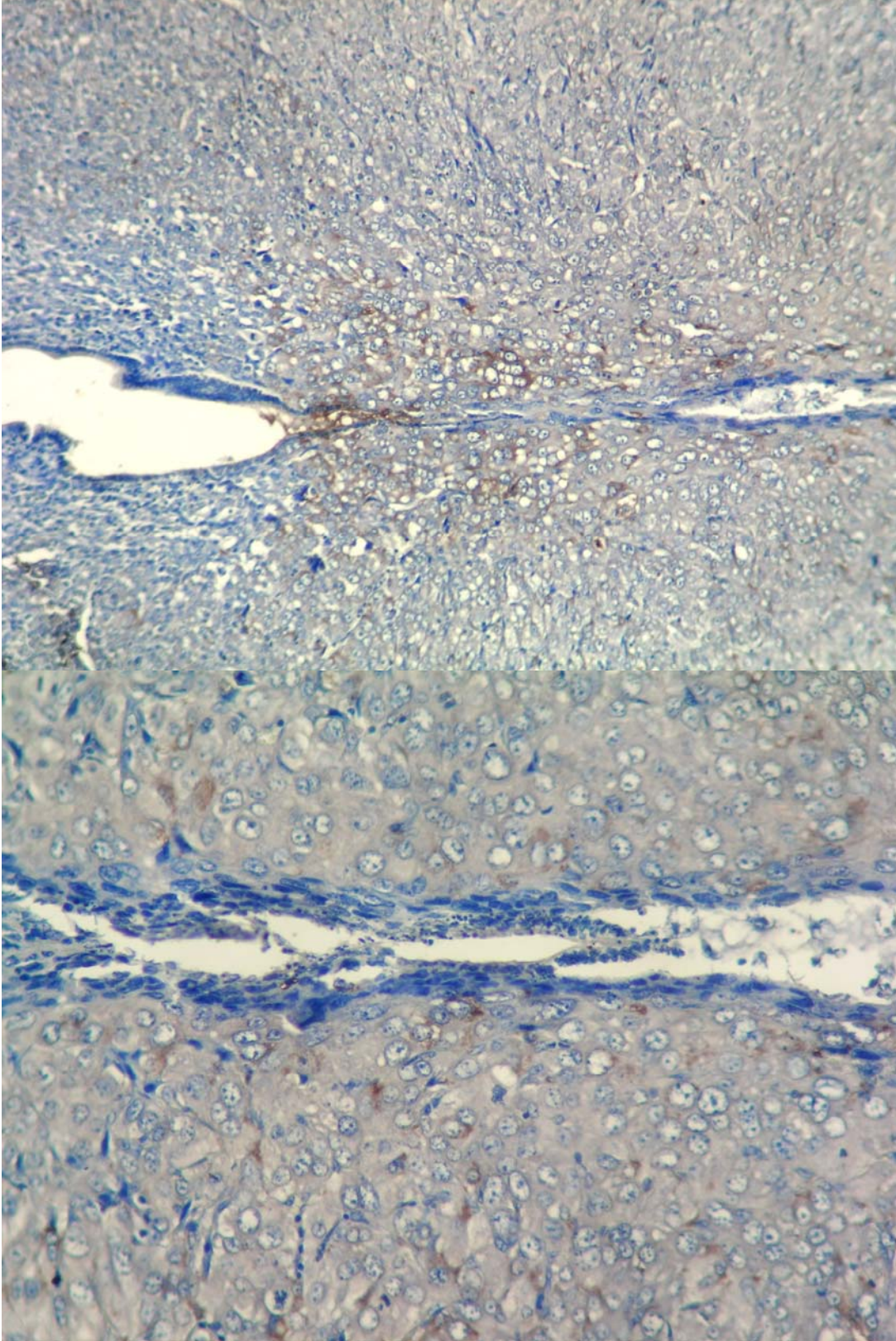
RESİM IHC STAT4 5. GÜN



Resim 39: 5. gün lümen epiteli ve primer desidual alanla uyumlu alanda boyanma saptanamamıştır.x40

Resim 40: 5. antimezometriyal alanda epitel ve hemen altında boyanma gözlenmez iken stromada az sayıda hücre + olarak boyanmıştır.x400

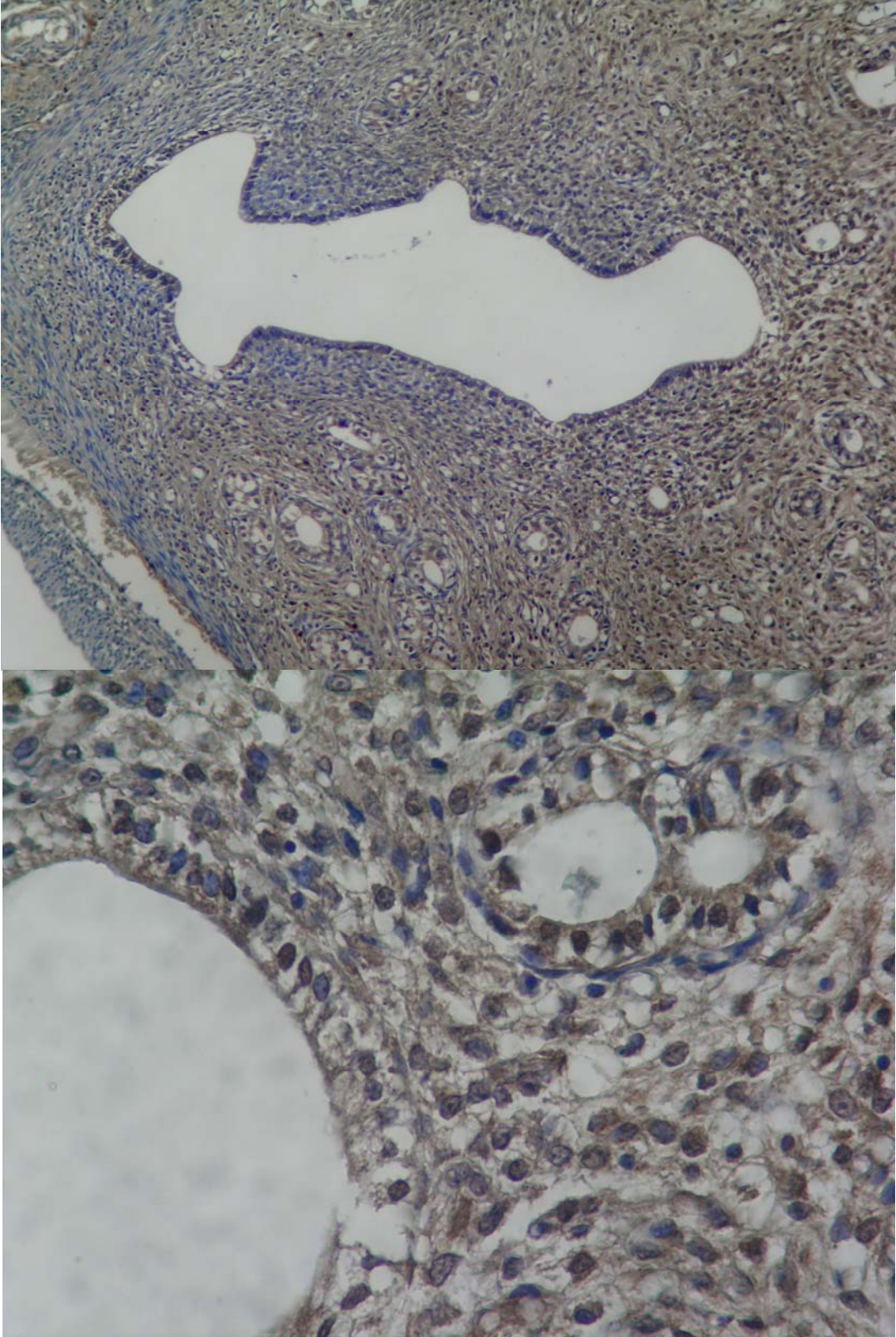
RESİM IHC STAT4 6 gün



Resim 41: 6. gün ile uyumlu kesitlerde desidual hücrelerin çok az bir bölümünde + immunreaktiviteye rastlanmaktadır.x100

Resim 42: 6. gün blastosistin implante olduğu alanda desidual hücrelerin çok az bir kısmında + immunoreaktiviteye rastlanırken blastosiste immunoreaktivite gözlenmemektedir.x400

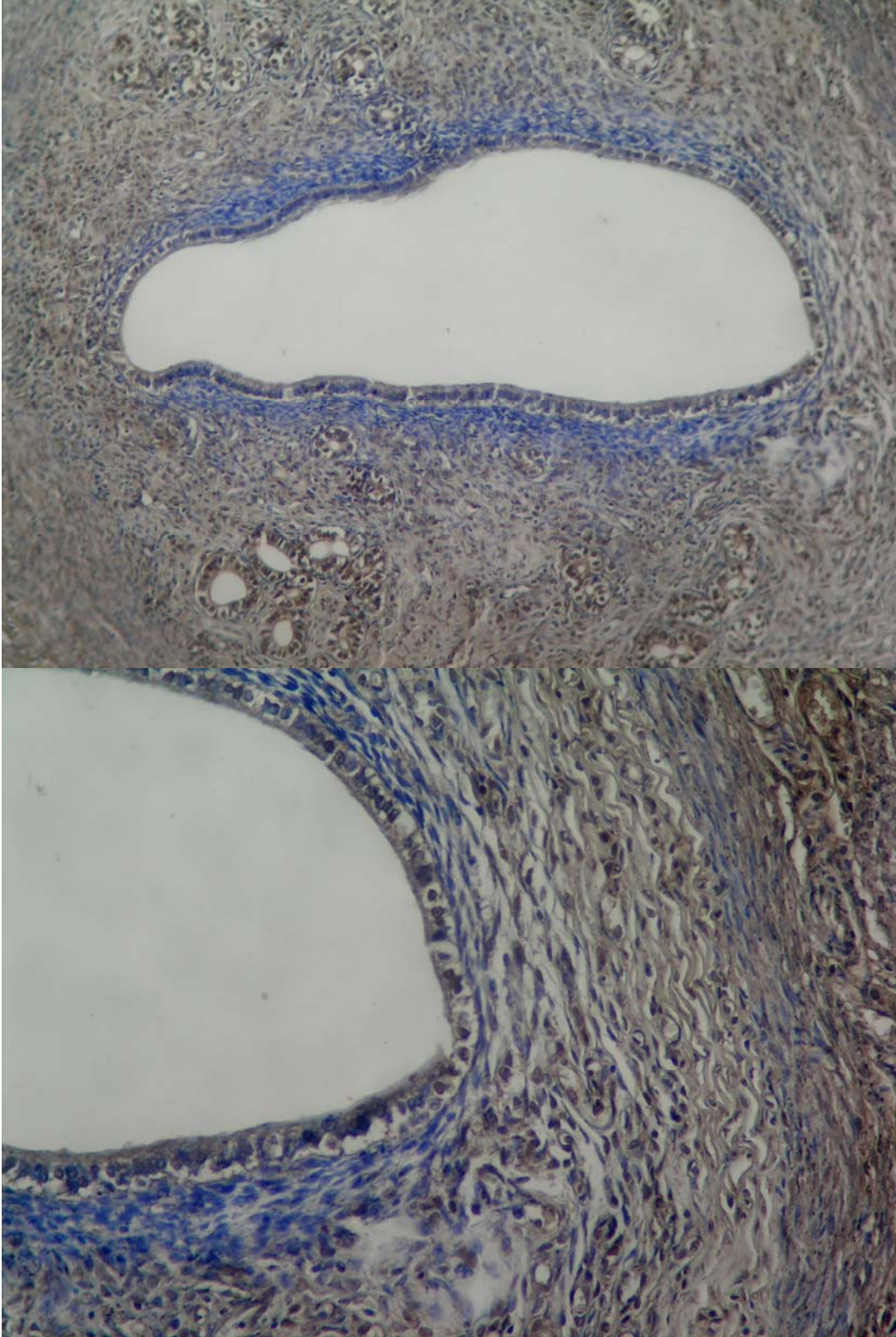
RESİM IHC STAT5 4. gün



Resim 43: 4. gün uterus kesitlerinde epitelde ve bezde zayıf, mezometriyal alan stromal hücreler ve immunkompetent hücrelerde orta şiddette immun reaktivite gözlenmektedir.x100

Resim 44. 4. gün antimezometriyal lümen epitelinde ve endometriyum bez epitelinde ve stromal hücrelerde güçlü immunoreaktivite gözlenmektedir.x400

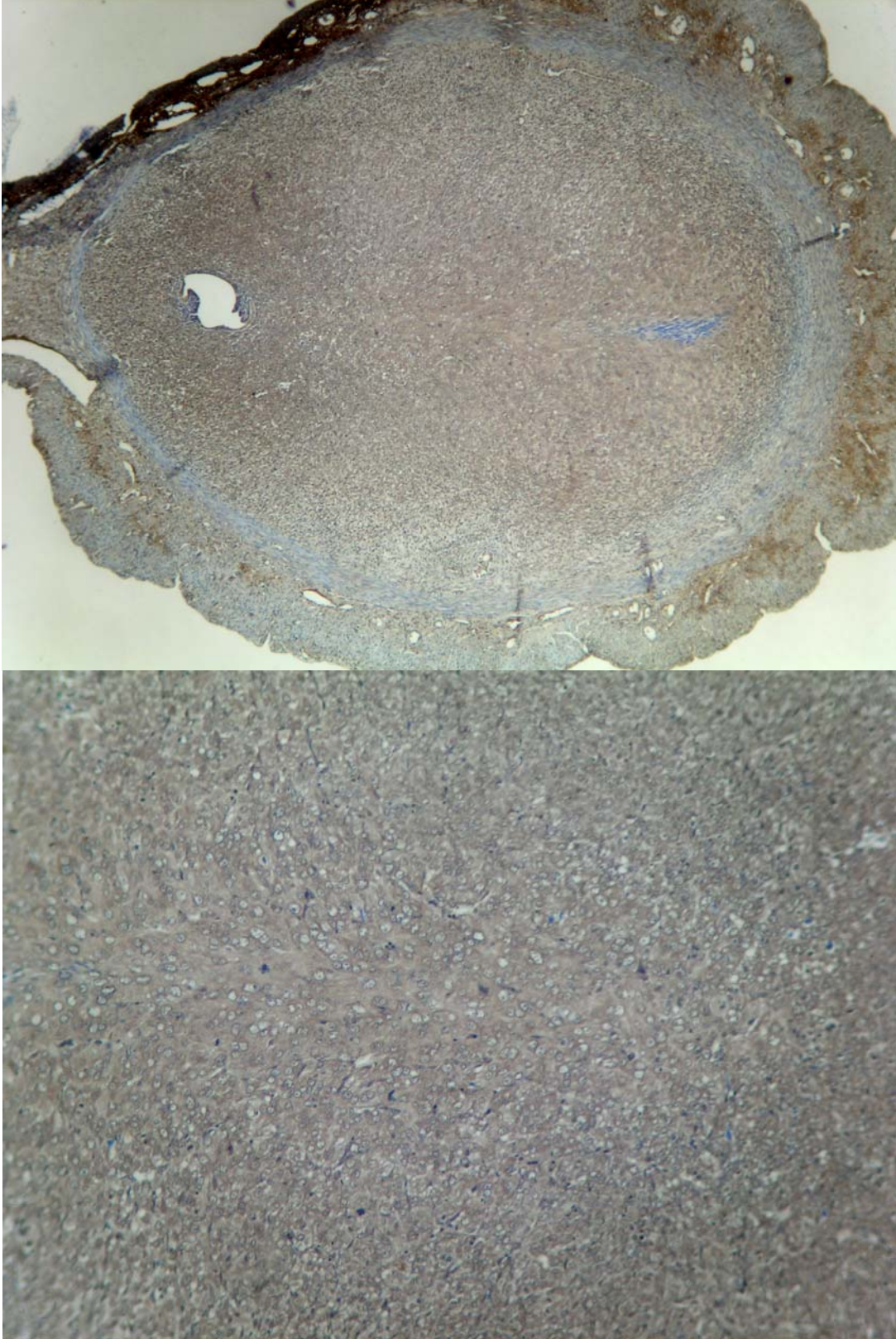
RESİM IHC STAT5 5. gün



Resim 45: 5. gün uterus kesitlerinde lumen epitelinde (+), endometriyum bezlerinde ise (++) immunreaktivite görülmektedir. Primer desidual alanda boyanma gözlenmez iken stromal alanda ++ boyanma gözlenmektedir. Miyometriyumda + immunreaktivite görülmektedir.x100

Resim 46: 5. gün uterus lümen epiteli ve sekonder desidual alanda immunoreaktivite gözlenmektedir.x200

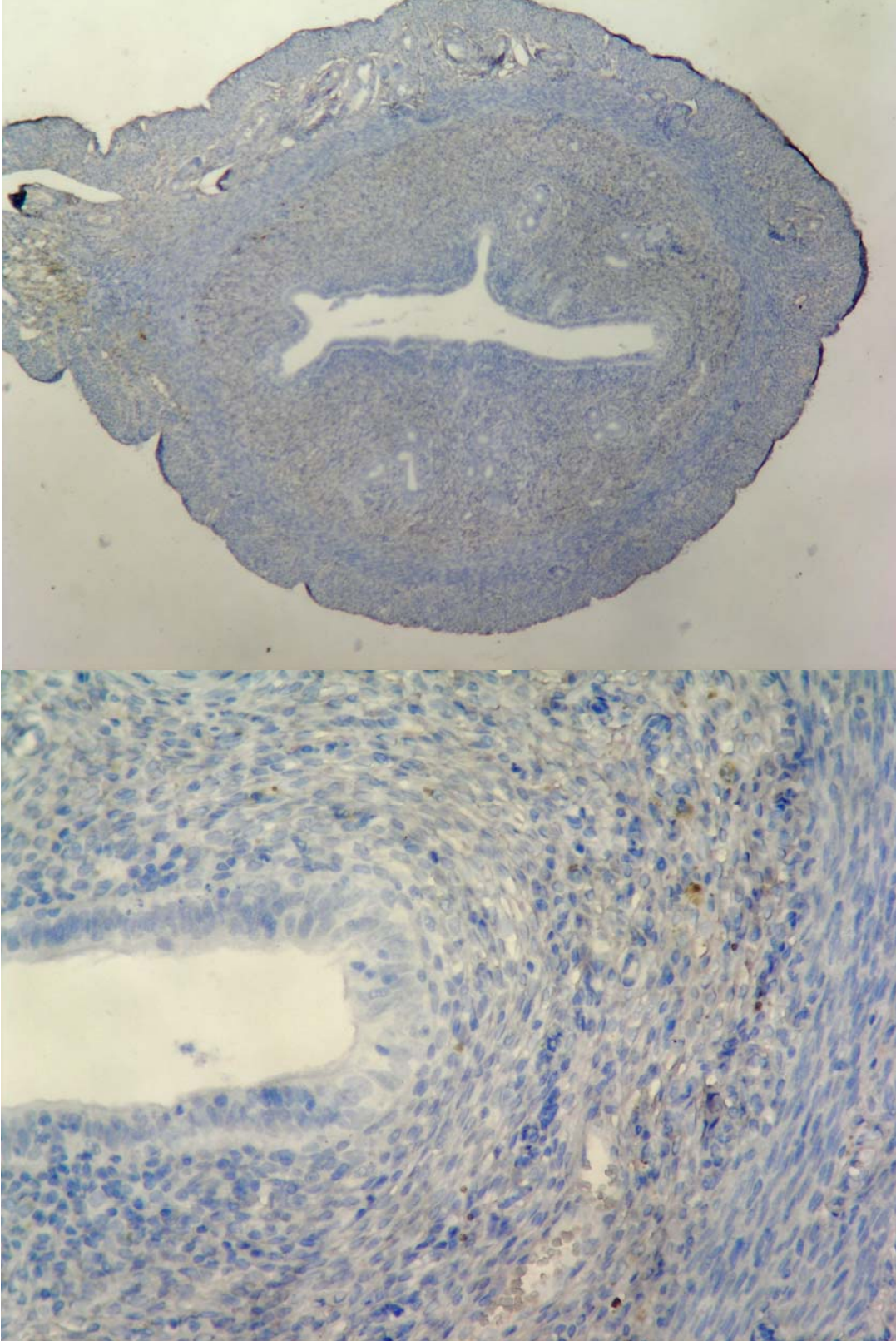
RESİM IHC STAT5 6. gün



Resim 47: 6. gün uterus kesitlerinde implantasyonun tamamlandığı alanda (+)immunoreaktivite izlenmektedir.x40

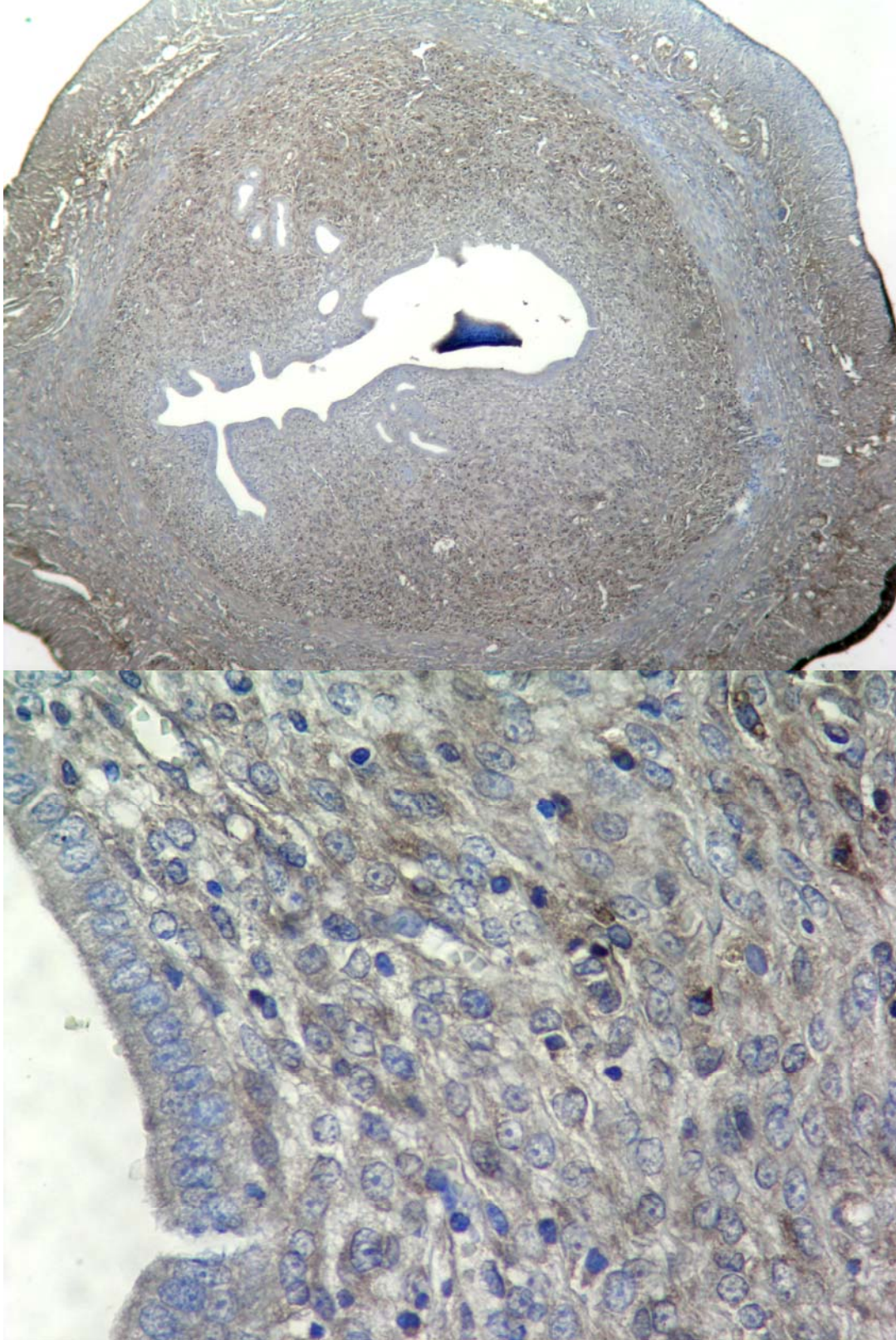
Resim 48: 6. gün uterus kesitlerinde desidual hücrelerde (+) immunoreaktivite gözlenmektedir.x400

RESİM IHC STAT6 4. gün



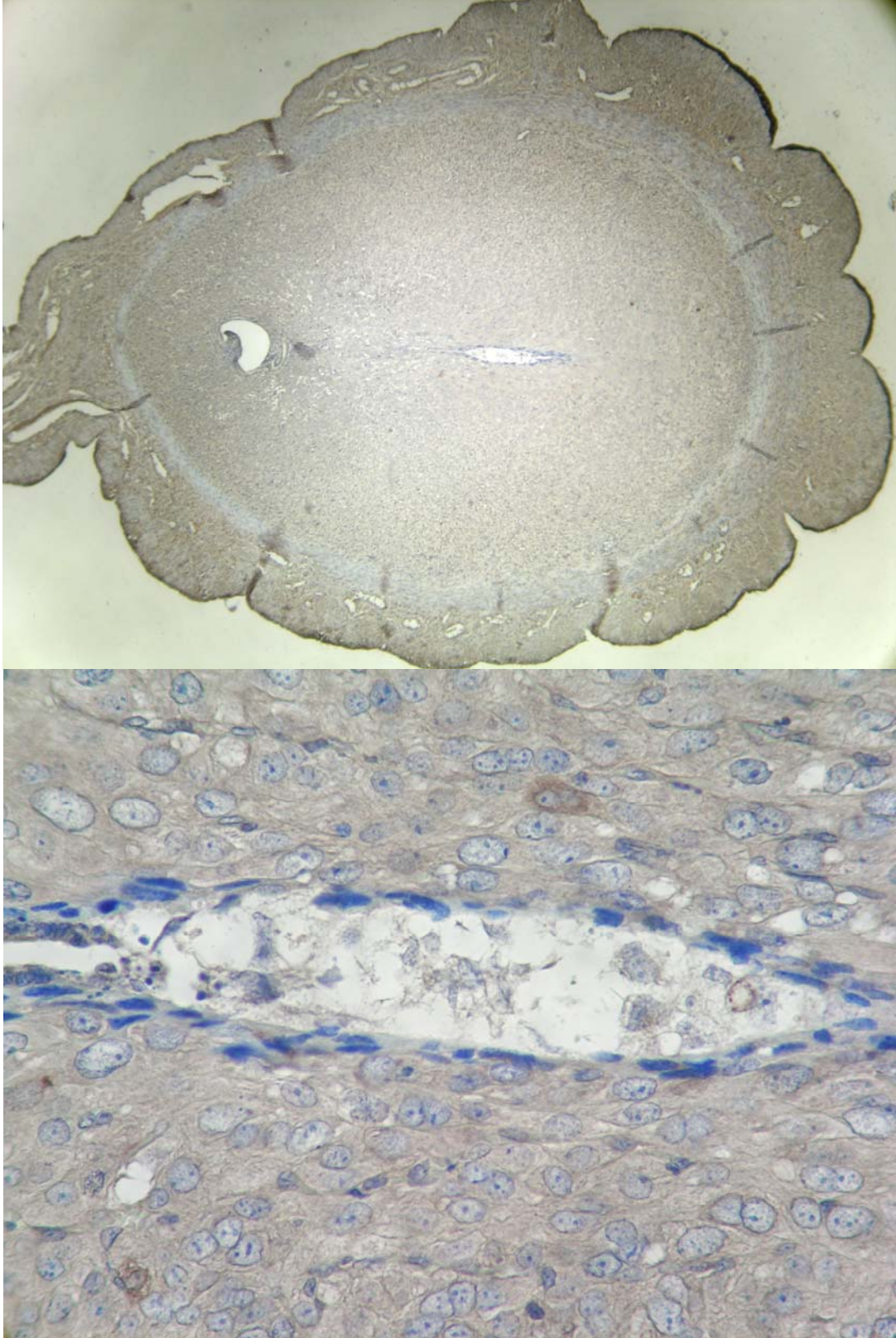
Resim 49,50: STAT6 4. gün yapılan immünohistokimyasal boyamalarda uterusu immunoreaktiviteye rastlanmamıştır.x 40, x 200

RESİM IHC STAT6 5. gün



Resim 51,52: 5. gün preparatlarında lümen epitelinde belirsiz immunreaktiviteye rastlanmıştır. Subepitelyal alanda + boyanan endometriyal stromal hücreler görünmektedir.x40 ve x400

RESİM IHC STAT6 6. gün



Resim 53,54: 6.gün boyamalarında embriyonun implante olduğu bölgede desidua alanda birkaç hücrede zayıf boyanma gözlemlendi.

10. KAYNAKLAR

- 1 Enders AC, Schlafke S 1967 A morphological analysis of The early implantation stages in The rat. *Am J Anat* 120:185–226
- 2 Enders AC, Schlafke S 1969 Cytological aspects of trophoblastuterine interaction in early implantation. *Am J Anat* 125:1–29
- 3 Bonnet R 1884 Beitrage zur embryologie der wiederkauer, gewonnen am schafei. *Arch Anat Physiol* 8:170–230
- 4 Renfree MB 1982 Implantation and placentation. In: Austin CR, Short RV, eds. *Reproduction in mammals*. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 26–69
- 5 Carson DD, Bagchi I, Dey SK, Enders AC, Fazleabas AT, Lessey BA, Yoshinaga K 2000 Embryo implantation. *Dev Biol* 223:217–237
- 6 Psychoyos A 1973 Endocrine control of egg implantation. In: Greep RO, Astwood EG, Geiger SR, eds. *Handbook of physiology*. Washington, DC: American Physiology Society; 187–215
- 7 Hoos PC, Hoffman LH 1980 Temporal aspects of rabbit uterine vascular and decidual responses to blastocyst stimulation. *Biol Reprod* 23:453–459
- 8 Enders AC, Schlafke S 1986 Implantation in nonhuman primates and in The human. *Comp Primate Biol* 3:453–459
- 9 Enders AC, Lopata A 1999 Implantation in The marmoset monkey: expansion of The early implantation site. *Anat Rec* 256:279–299
- 10 Dey SK 1996 Implantation. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, eds. *Reproductive endocrinology, surgery and technology*. New York: Lippincott-Raven; 421–434

- 11 Psychoyos A 1973 Hormonal control of ovoimplantation. *Vitam Horm* 31:201–256
- 12 Paria BC, Huet H, Dey SK 1993 Blastocyst's state of activity determines The "window" of implantation in The receptive Mouse uterus. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:10159–10162
- 13 Heap RB, Deanesly R 1967 The increase in plasma progesterone levels in The pregnant guinea-pig and its possible significance. *J Reprod Fertil* 14:339–341
- 14 Heap RB, Flint AP, Hartmann PE, Gadsby JE, Staples LD, Ackland N, HamonM1981 Oestrogen production in early pregnancy. *J Endocrinol* 89 (Suppl):77P–94P
- 15 Huet H, Andrews GK, Dey SK 1989 Cell type-specific localization of c-myc protein in The mouse uterus: modulation by steroid hormones and analysis of The periimplantation period. *Endocrinology* 125:1683–1690
- 16 Huet H, Dey SK 1990 Requirement for progesterone priming and its long-term effects on implantation in The mouse. *Proc Soc Exp Biol Med* 193:259–263
- 17 Song H, Lim H, Paria BC, Matsumoto H, Swift LL, Morrow J, Bonventre JV, Dey SK 2002 Cytosolic phospholipase A2 α is crucial [correction of A2 α deficiency is crucial] for 'on-time' embryo implantation That directs subsequent development. *Development Erratum* (2002) 129:3761 129:2879–2889
- 18 Berzofsky JA. Inimunogenecity and antigenecity. Austen KF.Frank MM. Atkinson JP. Cantor H (eds): *Samter's Immunogic Diseases*. Lippincott, Wüliams and Wilkins,USA,2001, s.65-82
- 19 Delves PJ. Roitt İM.The immune system (First part). *N EnglJ Med* 2000; 343(l):37-49
- 20 Delves PJ. Roitt İM. The immune system. (Second part). *N Engl J Med* 2000;343(21:108-117).

- 21 Medzhitov R, Janeway C. 2000 Innate immunity. N Engl J Med; 343(5):338-344.
- 22 Abbas AK, Lichtman Ali, Pober JS (eds): Cellular and Molecular Immunology. W.B.Saunders, Philadelphia, 2000, s.4-12.
- 23 Roitt I, Brostoff J, Male D (eds): Immunology. Mosby, Spain, 2001, s.173-189.
- 24 Goodman JW: The immune response. Stites DP, Terr AI, Parslow TG (eds): Basic and Clinical Immunology. Lange, Lebanon, 1994, s. 40-49.
- 25 Von Andrian UH, Mackay CR. T cell function and migration, N Engl J Med 2000; 43(14):1020-1034.
- 26 Roitt I. The Basis of Immunology. Roitt (eds): 1997 Essential Immunology. Blackwell Science, London, , s. 3-103.
- 27 Haynes FB, Fauci AS. Phenotype and Function of Immune cells. 1998, Fauci, Braunwald, Isselbacher (eds): Harrison's Principles of Internal Medicine. McGraw-Hill, New York, S.1760-1768.
- 28 Holladay SD. Prenatal immunotoxicant exposure and postnatal autoimmune disease. Environ Health Perspect 1999;107:687-691.
- 29 Abbas AK, Lichtman AH, Pober JD (eds) 1998. Cellular and Molecular Immunology. WB Saunders, Philadelphia,
- 30 Germain RN. 1994 MHC-dependent antigen processing and peptide presentation: Providing ligands for T lymphocyte activation. Cell. Jan 28;76(2):287-99
- 31 Middleton D, Bodmer J, Heyes J, Marsh S. 1993 Histocompatibility Testing, ed: Dyer P, Middleton D, IRL Press, Oxford, s.13.
- 32 Mosmann T. Cytokines and immune regulation. 1996 Rich RR (ed.): Clinical Immunology, Principles and Practice. Mosby, Missouri, 217-230.

- 33 Kammerer U, von Wolff M, Markert UR 2004 Immunology of human endometrium Immunobiology.;209(7):569-74
- 34 Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM 2003 The immunology of successful pregnancy Hum Reprod Update. Jul-Aug;9(4):347-57
- 35 Siegel, I. and Gleicher, N. Changes in peripheral mononuclear cells in pregnancy. 1981 Am. J. Reprod. Immunol., 1: 154-155.
- 36 Kuhnert, M., Strohmeier, R., Stegmüller, Changes in lymphocyte subsets during normal pregnancy. 1998 Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 76: 147-151
- 37 Minagawa, M., Narita, J., Tada, T., 1999 Mechanisms underlying immunologic states during pregnancy: possible association of The sympathetic nervous system. Cell. Immunol., 196, 1-13.
- 38 VeenstravanNieuwenhoven, A.L., Bouman, A., Moes, H. et al 2002 Cytokine production in natural killer cells and lymphocytes in pregnant women compared with women in The follicular phase of The ovarian cycle. Fertil. Steril., 77, 1032-1037.
- 39 Ostensen, M., Aune, B. Husby, G.) Effect of pregnancy and hormonal changes on The activity of rheumatoid arthritis. 1983 Scand. J. Rheumatol., 12, 69-72.
- 40 Varner, M.W. Autoimmune disorders and pregnancy. 1991 Semin. Perinatol., 15, 238-250.
- 41 Thellin, O., Coumans, B., Zorzi, W., et al., 2000. Tolerance to The foeto-placental 'graft': ten ways to support a child for nine months. Curr. Opin. Immunol. 12, 731-737.
- 42 Thellin O, Heinen E 2003 Pregnancy and The immune system: between tolerance and rejection. Toxicology.1;185(3):179-84

- 43 Erlebacher, A., 2001. Why isn't The fetus rejected? *Curr. Opin. Immunol.* 13, 590-593.
- 44 Siiteri, P.K., Stites, D.P., 1982 Immunologic and endocrine interrelationships in pregnancy. *Biol. Reprod.* 26, 1-14.
- 45 Hennen, G., Frankenne, F., Closset, J. et al., 1985 A human placental GH: increasing levels during second half of pregnancy with pituitary GH suppression as revealed by monoclonal antibody radioimmunoassays. *Int. J. Fertil.* 30, 27-33.
- 46 Thellin, O., Coumans, B., Zorzi, W., et al., 2000 Tolerance to The feto-placental 'graft': ten ways to support a child for nine months. *Curr. Opin. Immunol.* 12, 731-737.
- 47 Szekeres-Bartho, J., Autran, B., Debre, P., Andreu, et al 1989 Immunoregulatory effects of a suppressor factor from healthy pregnant women's lymphocytes after progesterone induction. *Cell. Immunol.* 122, 281–294.
- 48 Szekeres-Bartho, J., Wegmann, T.G., 1996 A progesterone dependent immunomodulatory protein alters The Th1/Th2 balance. *J. Reprod. Immunol.* 31, 81–95.
- 49 Par, G., Geli, J., Kozma, N., et al., 2003 Progesterone regulates IL12 expression in pregnancy lymphocytes by inhibiting phospholipase A2.. *Am. J. Reprod. Immunol.* 49, 1–5.
- 50 Loke, Y.W. and King, A.,. Human implantation. 1995 *Cell Biology and Immunology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- 51 Rieger, L., Honig, A., Sutterlin, M., et al., 2004 Antigen presenting cells in human endometrium during The menstrual cycle compared to early pregnancy. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 11, 488–493.

- 52 Starkey,P.M.,Clover,L.M.,Rees,M.C., 1991 Variation during The menstrual cycle of immune cell populations in human endometrium. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 39,203–207.
- 53 Kamat,B.R.,Isaacson,P.G., 1987 The immunocytochemical distribution of leukocytic subpopulations in human endometrium. *Am. J. PaThol.* 127,66–73.
- 54 Bulmer,J.N.,Morrison,L.,Longfellow, et al, D., 1991 Granulated lymphocytes in human endometrium: histochemical and immunohistochemical studies.. *Hum. Reprod.* 6,791–798.
- 55 Kodama,T.,Hara, T.,Okamoto,E., et al , 1998 Characteristic changes of large granular lymphocytes That strongly express CD56 in endometrium during The menstrual cycle and early pregnancy. *Hum. Reprod.* 13, 1036–1043.
- 56 Mori,A.,Zhai, Y.L.,Toki,T.,Nikaido, T.,Fujii,S., 1997 Distribution and heterogeneity of mast cells in The human uterus.. *Hum. Reprod.* 12,368–372.
- 57 Bulmer,J.N., Lunny,D.P.,Hagin,S.V.,. 1988 Immunohistochemical characterization of stromal leucocytes in nonpregnant human endometrium. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* 17,83–90.
- 58 Loke,Y.W.,King,A., Human implantation. 1995 .Cell Biology and Immunology. Cambridge University Press,Cambridge.
- 59 Mackay,C.R.,Marston,W.L.,Dudler,L.,. 1990 Nai" ve and memory T cells show distinct paThways of lymphocyte recirculation. *J. Exp. Med.* 171,801–817
- 60 Brackin,M.N.,Cruse,J.M.,Lewis,R.E., et al 2002 Quantitative analysis of adhesion molecules on cellular constituents of The human uterine miroenvironment under The influence of estrogen and progesterone. *Exp. Mol. PaThol.* 72,91–114.
- 61 Ritson, A. Bulmer, J.N. 1987 Endometrial granulocytes in human decidua react wiTh a natural-killer (NK) cell marker, NKH1. *Immunology*, 62, 329-331.

- 62 Starkey, P.M., Sargent, I.L. and Redman, C.W. 1988 Cell populations in human early pregnancy decidua: characterization and isolation of large granular lymphocytes by Flow cytometry. *Immunology*, 65, 129-134.
- 63 King, A., Wellings, V., Gardner, L. and Loke, Y.W. Immunocytochemical characterization of The unusual large granular lymphocytes in human endometrium Throughout The menstrual cycle. 1989 *Hum. Immunol.*, 24, 195-205.
- 64 Nagler, A., Lanier, L.L., Cwirla, S. Phillips, J.H. Comparative studies of human FcRIII-positive and negative natural killer cells. 1989 *J. Immunol.*, 143, 3183-3191.
- 65 Pace, D., Morrison, L. and Bulmer, J.N. Proliferative activity in endometrial stromal granulocytes Throughout menstrual cycle and early pregnancy. 1989 *J. Clin. PaThol.*, 42, 35-39.
- 66 Ho, H.N., Chao, K.H., Chen, C.K., et al Activation status of T and NK cells in The endometrium Throughout menstrual cycle and normal and abnormal early pregnancy. 1996 *Hum. Immunol.*, 49, 130-136.
- 67 Ozenci, C.C., Korgun, E.T. Demir, R. Immunohistochemical detection of CD45+, CD56+, and CD14+ cells in human decidua during early pregnancy. 2001 *Early Pregnancy*, 5, 164-175.
- 68 Marzusch, K., Ruck, P., Geiselhart, A., et al. Distribution of cell adhesion molecules on CD56++, CD3±. 1993 *Hum. Reprod.*, 8, 1203-1208.
- 69 Ruck, P., Marzusch, K., Kaiserling, et al Distribution of cell adhesion molecules in decidua of early human pregnancy. An immunohistochemical study. 1994 *Lab. Invest.*, 71, 94-101.
- 70 King, A., Balendran, N., Wooding, P., et al. CD3-leukocytes present in The human uterus during early placentation: phenotypic and morphologic characterization of The CD56++ population. 1991 *Dev. Immunol.*, 1, 169-190.

71 Kammerer, U., Marzusch, K., Krober, S., et al subset of CD56+ large granular lymphocytes in first-trimester human decidua are proliferating cells. 1999 Fertil. Steril., 71, 74±79.

72 Ferry, B.L., Starkey, P.M., Sargent, I.L., et al Cell populations in The human early pregnancy decidua: natural killer activity and response to interleukin-2 of CD56-positive large granular lymphocytes. 1990 Immunology, 70, 446-452.

73 Stewart, J.A., Bulmer, J.N. and Murdoch, A.P. Endometrial leucocytes: expression of steroid hormone receptors. 1998 J. Clin. PaThol., 51, 121-126.

74 King, A., Gardner, L. and Loke, Y.W. Co-stimulation of human decidual natural killer cells by interleukin-2 and stromal cells. 1999 Hum. Reprod., 14, 656-663.

75 Muller, H., Liu, B., Croy, B.A. et al Uterine natural killer cells are targets for a trophoblast cell-specific cytokine, prolactin-like protein A. 1999 Endocrinology, 140, 2711-2720.

76 Verma, S., Hiby, S.E., Loke, Y.W. King, A. Human decidual natural killer cells express The receptor for and respond to The cytokine interleukin 15. 2000 Biol. Reprod., 62, 959-968.

77 Jones, C.J., Aplin, J.D. Fazleabas, A.T. Decidual stromal cell-lymphocyte interactions in pregnancy. 2001 Placenta, 22, 380-382.

78 Henderson, T.A., Saunders, P.T., Moffet-King, A., et al. Steroid receptor expression in uterine natural killer cells. 2003 J. Clin. Endocrinol. Metab., 88, 440-449.

79 Hiby, S.E., King, A., Sharkey, A.M. Loke, Y.W. Human uterine NK cells have a similar repertoire of killer inhibitory and activatory receptors to Those found in blood, as demonstrated by RT- PCR and sequencing. 1997 Mol. Immunol., 34, 419-430.

- 80 Soderstrom, K., Corliss, B., Lanier, L.L. Phillips, J.H. CD94/NKG2 is The predominant inhibitory receptor involved in recognition of HLA-G by decidual and peripheral blood NK cells. 1997 J. Immunol., 159, 1072-1075.
- 81 Davis, D., Kaufmann, R. Moticka, E.J. Nonspecific immunity in pregnancy: monocyte surface Fcgamma receptor expression and function. 1998 J. Reprod. Immunol., 40, 119-128.
- 82 Rajagopalan, S. and Long, E.O. A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G-specific receptor expressed on all natural killer cells. J. 1999 Exp. Med., 189, 1093-1100.
- 83 King, A., Allan, D.S., Bowen, M., et al HLA-E is expressed on trophoblast and interacts wiTh CD94/NKG2 receptors on decidual NK cells. 2000 Eur. J. Immunol., 30, 1623-1631.
- 84 Guimond, M., Wang, B. and Croy, B.A. Immune competence involving The natural killer cell lineage promotes placental growTh. 1999 Placenta, 20, 441-450.
- 85 King, A. Uterine leukocytes and decidualization. 2000 Hum. Reprod. Update, 6, 28-36.
- 86 Lachapelle, M.H., Miron, P., Hemmings, R., et al. Flow-cytometric characterization of hematopoietic cells in non-pregnant human endometrium. 1996 Am. J. Reprod. Immunol., 35, 5-13.
- 87 Clifford, K., Flanagan, A.M. Regan, L. Endometrial CD56+ natural killer cells in women wiTh recurrent miscarriage: a histomorphometric study. 1999 Hum. Reprod., 14, 2727-2730.
- 88 Quenby, S., Bates, M., Doig, T., et al Pre-implantation endometrial leukocytes in women wiTh recurrent miscarriage. 1999 Hum. Reprod., 14, 2386-2391.

- 89 Yamamoto, T., Takahashi, Y., Kase, N. Mori, H. Role of decidual natural killer (NK) cells in patients with missed abortion: differences between cases with normal and abnormal chromosome. 1999 Clin. Exp. Immunol., 116, 449-452.
- 90 Quack, K.C., Vassiliadou, N., Pudney, J., et al. Leukocyte activation in The decidua of chromosomally normal and abnormal fetuses from women with recurrent abortion. 2001 Hum. Reprod., 16, 949-955.
- 91 Vassiliadou, N. Bulmer, J.N. Characterization of tubal and decidual leukocyte populations in ectopic pregnancy: evidence That endometrial granulated lymphocytes are absent from The tubal implantation site. 1998 Fertil. Steril., 69, 760-767.
- 92 Saito, S., Nishikawa, K., Morii, T., et al Cytokine production by CD16-CD56bright natural killer cells in The human early pregnancy decidua. 1993 Int. Immunol., 5, 559-563.
- 93 Jokhi, P.P., King, A. Loke, Y.W. Production of granulocyte macrophage colony-stimulating factor by human trophoblast cells and by decidual large granular lymphocytes. 1994 Hum. Reprod., 9, 1660-1669.
- 94 Jokhi, P.P., King, A., Boocock, C. Loke, Y.W. Secretion of colony stimulating factor-1 by human first trimester placental and decidual cell populations and The effect of This cytokine on trophoblast Thymidine uptake in vitro. 1995 Hum. Reprod., 10, 2800-2807.
- 95 Vince, G.S. and Johnson, P.M. Growth factors and cytokines at The maternal/fetal interface. 2000 Biochem. Soc. Trans, 28, 191-195.
- 96 Loke, Y.W., King, A., Gardner, L. Carter, N.P. Evidence for The expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptors by human first trimester extravillous trophoblast and its response to This cytokine. 1992 J. Reprod. Immunol., 22, 33-45.

- 97 Garcia-Lloret, M.I., Morrish, D.W., Wegmann, T.G., et al Demonstration of functional cytokine-placental interactions: CSF-1 and GM-CSF stimulate human cytotrophoblast differentiation and peptide hormone secretion. 1994 Exp. Cell Res., 214, 46-54.
- 98 Stewart, C.L., Kaspar, P., Brunet, L.J., et al. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. 1992 Nature, 359, 76-79.
- 99 Kojima, K., Kanzaki, H., Iwai, M., et al Expression of leukemia inhibitory factor (LIF) receptor in human placenta: a possible role for LIF in growth and differentiation of trophoblast. 1995 Hum. Reprod., 10, 1907-1911.
- 100 Sawai, K., Matsuzaki, N., Kameda, T., et al Leukemia inhibitory factor produced at The fetomaternal interface stimulates chorionic gonadotrophin production: its possible implication during pregnancy, including implantation period. 1995 J. Clin. Endocrinol. Metab., 80, 1449-1456.
- 101 Nachtigall, M.J., Kliman, H.J., Feinberg, R.F., et al The effect of leukemia inhibitory factor (LIF) on trophoblast differentiation: a potential role in human implantation J. Clin. Endocrinol. 1996 Metab., 81, 801-806.
- 102 Morrish, D.W., Bhardwaj, D. Paras, M.T. Transforming growth factor b1 inhibits placental differentiation and human chorionic gonadotropin and human placental lactogen secretion. 1991 Endocrinology, 129, 22-26.
- 103 Graham, C.H., Lysiak, J.J. McCrae, K.R. Localization of transforming growth factor-b at The fetal±maternal interface: role in trophoblast growth and differentiation. 1992 Biol. Reprod., 46, 561-572.
- 104 Karmakar, S. and Das, C. Regulation of trophoblast invasion by IL-1beta and TGF-beta1. 2002 Am. J. Reprod. Immunol., 48, 210-219.

- 105 MatThiesen, L., Berg, G., Ernerudh, J. Hakansson, L. Lymphocyte subsets and mitogen stimulation of blood lymphocytes in normal pregnancy. 1996 Am. J. Reprod. Immunol., 35, 70-79.
- 106 Luppi, P., Haluszczak, C., Trucco, M. Deloia, J.A. Normal pregnancy is associated with peripheral leukocyte activation. 2002 Am. J. Reprod. Immunol., 47, 72-81.
- 107 Coulam, C.B., Silverfield, J.C., Kazmar, R.E. FaThman, C.G. Tlymphocyte subsets during pregnancy and The menstrual cycle. 1983 Am. J. Reprod. Immunol., 4, 88-90.
- 108 Mosmann, T.R., Cherwinski, H., Bond, M.W., et al Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. 1986 J.Immunol., 136, 2348±2357.
- 109 AThanassakis, I., Bleackley. R.C., Paetkau, V., et al The immunostimulatory effect of T cells and T cell lymphokines on murine fetally derived placental cells. 1987 J. Immunol., 138, 37-44.
- 110 Armstrong, D.T. and Chaouat, G. Effects of lymphokines and immune complexes on murine placental cell growTh in vitro. 1989 Biol. Reprod., 40, 466-474.
- 111 Wegmann, T.G., Lin, H., Guilbert, L. Mosmann, T.R. Bidirectional cytokine interactions in The maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? 1993 Immunol. Today, 14, 353-356.
- 112 Chaouat, G., Menu, E., Clark, D.A., et al Control of fetal survival in CBA x DBA/2 mice by lymphokine Therapy. 1990 J. Reprod. Fertil., 89, 447-458.
- 113 Haimovici, F., Hill, J.A. Anderson, D.J. The effects of soluble products of activated lymphocytes and macrophages on blastocyst implantation events in vitro. 1991 Biol. Reprod., 44, 69-75.

- 114 Sabahi, F., Rola-Pleszczynski, M., O'Connell, S. Frenkel, L.D. Qualitative and quantitative analysis of T lymphocytes during normal human pregnancy. 1995 Am. J. Reprod. Immunol., 33, 381-393.
- 115 Ekerfelt, C., MatThiesen, L., Berg, G. Ernerudh, J. Paternal leukocytes selectively increase secretion of IL-4 in peripheral blood during normal pregnancies: demonstrated by a novel one-way MLC measuring cytokine secretion. 1997 Am. J. Reprod. Immunol., 38, 320-326.
- 116 Reinhard, G., Noll, A., Schlebusch, H., et al Shifts in The TH1/TH2 balance during human pregnancy correlate wiTh apoptotic changes. 1998 Biochem. Biophys. Res. Commun., 245, 933-938.
- 117 Saito, S., Tsukaguchi, N., Hasegawa, T., et al Distribution of Th1, Th2, and Th0 and The Th1/Th2 cell ratios in human peripheral and endometrial T cells. 1999 Am. J. Reprod. Immunol., 42, 240-245.
- 118 Makhseed, M., RaghupaThy, R., Azizieh, F., Al et al. Mitogen-induced cytokine responses of maternal peripheral blood lymphocytes indicate a differential Th-type bias in normal pregnancy and pregnancy failure. 1999 Am. J. Reprod. Immunol., 42, 273-281.
- 119 RaghupaThy, R., Makhseed, M., Azizieh, F., et al Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion. 2000 Hum. Reprod., 15, 713-718.
- 120 Piccinni, M.P., Giudizi, M.G., Biagiotti, R., et al Progesterone favors The development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes boTh IL-4 production and growTh factor-beta on human placental cells in vitro. 1995 Am. J. Reprod. Immunol., 40, 319-325.
- 121 Faas, M.M., Bouman, A., Moes, H., et al. The immune response during The luteal phase of The ovarian cycle: a Th2- type response? 2000 Fertil. Steril., 74, 1008-1013.

122 Bouman, A., Moes, H., Heineman, M.J., et al The immune response during The luteal phase of The ovarian cycle: increasing sensitivity of human monocytes to endotoxin. 2001 Fertil. Steril., 76, 555-559.

123 Check, J.H., Arwitz, M., Gross, J., et al Evidence That The expression of progesterone-induced blocking factor by maternal T-lymphocytes is positively correlated with conception. 1997 Am. J. Reprod. Immunol., 38, 6-8.

124 Szereday, L., Varga, P. Szekeres-Bartho, J. (Cytokine production by lymphocytes in pregnancy. 1997 Am. J. Reprod. Immunol., 38, 418-422.

125 Djian, V., Menu, E., Thibault, G., et al Immunoactive products of placenta. V. Immunoregulatory properties of a low molecular weight compound obtained from human placental cultures. 1996 Am. J. Reprod. Immunol., 36, 11-24.

126 Aarli, A., Kristoffersen, E.K., Jensen, T.S., et al Suppressive effect on lymphoproliferation in vitro by soluble annexin II released from isolated placental membranes. 1997 Am. J. Reprod. Immunol., 38, 313-319.

127 Roth, I., Corry, D.B., Locksley, R.M., et al Human placental cytotrophoblast produce The immunosuppressive cytokine interleukin 10. 1996 J. Exp. Med., 184, 539-548.

128 Chaouat, G., Cayol, V., Mairovitz, V. Dubanchet, S. Localization of The Th2 cytokines IL-3, IL-4, IL-10 at The fetomaternal interface during human and murine pregnancy and lack of requirement for Fas/Fas ligand interaction for a successful allogeneic pregnancy. 1999 Am. J. Reprod. Immunol., 42, 1-13.

129 Griesinger, G., Saleh, L., Bauer, S., et al. Production of pro- and anti-inflammatory cytokines of human placental trophoblasts in response to pathogenic bacteria. 2001 J. Soc. Gynecol. Invest., 8, 334-340.

- 130 Sacks, G.P., Clover, L.M., Bainbridge, D.R., et al Flow cytometric measurement of intracellular Th1 and Th2 cytokine production by human villous and extravillous cytotrophoblast. 2001 *Placenta*, 22, 550-559.
- 131 Schrocksnadel, H., Baier-Bitterlich, G., Dapunt, O., et al Decreased plasma tryptophan in pregnancy. 1996 *Obstet. Gynecol.*, 88, 47-50.
- 132 Munn, D.H., Zhou, M., Attwood, J.T., et al Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. 1998 *Science*, 281, 1191-1193.
- 133 Kudo, Y., Boyd, C.A., Sargent, I.L. et al Tryptophan degradation by human placental indoleamine 2,3-dioxygenase regulates lymphocyte proliferation. 2001 *J. Physiol.*, 535 (Pt 1), 207-215.
- 134 Maruyama, T., Makino, T., Sugi, T., et al Flow-cytometric analysis of immune cell populations in human decidua from various types of first-trimester pregnancy. 1992 *Hum. Immunol.*, 34, 212-218.
- 135 Haller, H., Radillo, O., Rukavina, D., et al An immunohistochemical study of leucocytes in human endometrium, first and Third trimester basal decidua. 1993 *J. Reprod. Immunol.*, 23, 41-49.
- 136 Ho, H.N., Chao, K.H., Chen, C.K., et al Activation status of T and NK cells in The endometrium Throughout menstrual cycle and normal and abnormal early pregnancy. 1996 *Hum. Immunol.*, 49, 130-136.
- 137 Lin, H., Mosmann, T.R., Guilbert, L., et al. SynThesis of T helper 2-type cytokines at The maternal-fetal interface. 1993 *J. Immunol.*, 151, 4562-4573.
- 138 Yui, J., Garcia-Lloret, M., Wegmann, T.G. Guilbert, L.J. Cytotoxicity of tumour necrosis factor-alpha and gamma-interferon against primary human placental trophoblasts. 1994 *Placenta*, 15, 819-835.

- 139 Hill, J.A., Polgar, K. Anderson, D.J. T-helper 1-type immunity to trophoblast in women with recurrent spontaneous abortion. 1995 JAMA, 273, 1933-1936.
- 140 Berkowitz, R.S., Hill, J.A., Kurtz, C.B. and Anderson, D.J. (1988) Effects of products of activated leukocytes (lymphokines and monokines) on the growth of malignant trophoblast cells in vitro. Am. J. Obstet. Gynecol., 158, 199-203.
- 141 Baines, M.G., Duclos, A.J., Anteck, E. Haddad, E.K. Decidual infiltration and activation of macrophages leads to early embryo loss. 1997 Am. J. Reprod. Immunol., 37, 471-477.
- 142 Haddad, E.K., Duclos, A.J., Anteck, E., et al. Role of interferon-gamma in the priming of decidual macrophages for nitric oxide production and early pregnancy loss. 1997 Cell. Immunol., 181, 68-75.
- 143 Clark, D.A., Chaouat, G., Arck, P.C., et al Cytokine-dependent abortion in CBA x DBA/2 mice is mediated by the procoagulant fgl2 prothrombinase. 1998 J. Immunol., 160, 545-549
- 144 Clark, D.A., Yu, G., Levy, G.A. Gorczynski, R.M. Procoagulants in fetus rejection: The role of the OX-2 (CD200) tolerance signal. 2001 Semin. Immunol., 13, 255-263.
- 145 Bulmer, J.N., Smith, J., Morrison, L. Wells, M. Maternal and fetal cellular relationships in the human placental basal plate. 1988 Placenta, 9, 237-246.
- 146 Bulmer, J.N. Johnson, P.M. Macrophage populations in the human placenta and amniochorion. 1984 Clin. Exp. Immunol., 57, 393-403.
- 147 Bulmer, J.N., Morrison, L. and Smith, J.C. Expression of class II MHC gene products by macrophages in human uteroplacental tissue. 1988 Immunology, 63, 707-714.

- 148 Vince, G.S., Starkey, P.M., Jackson, M.C., Sargent, I.L. and Redman, C.W. Flow cytometric characterisation of cell populations in human pregnancy decidua and isolation of decidual macrophages. 1990 J. Immunol. Methods, 132, 181-189.
- 149 Faas, M.M. Schuiling, G.A. Pre-eclampsia and The inflammatory response. 2001 Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 95, 213-217.
- 150 Zheng, Y., Zhou, Z.Z., Lytle, C.R. Teuscher, C. Immunohistochemical characterization of The estrogen-stimulated leukocyte influx in The immature rat uterus. 1988 J. Leukoc. Biol., 44, 27-32.
- 151 Kachkache, M., Acker, G.M., Chaouat, G., et al Hormonal and local factors control The immunohistochemical distribution of immunocytes in The rat uterus before conceptus implantation: effects of ovariectomy, fallopian tube section, and injection. 1991 Biol. Reprod., 45, 860-868.
- 152 Drake, P.M., Gunn, M.D., Charo, I.F., et al Human placental cytotrophoblasts attract monocytes and CD56(bright) natural killer cells via The actions of monocyte inflammatory protein 1alpha. 2001 J. Exp. Med., 193, 1199-1212.
- 153 Reister, F., Frank, H.G., Kingdom, J.C., et al Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in The uterine wall of preeclamptic women. 2001 Lab. Invest., 81, 1143-1152.
- 154 Klein, J.O. Remington, J.S. Current concepts of infections of The fetus and newborn infant. In: Infectious Diseases of The Fetus and Newborn Infant. 1990 W.B.Saunders Co., Philadelphia, pp. 3-5.
- 155 Hunt, J.S. Robertson, S.A. Uterine macrophages and environmental programming for pregnancy success. 1996 J. Reprod. Immunol., 32, 1-25.
- 156 Redline, R.W., McKay, D.B., Vazquez, M.A., et al Macrophage functions are regulated by The substratum of murine decidual stromal cells. 1990 J. Clin. Invest., 85, 1951-1958

157 Parhar, R.S., Yagel, S. Lala, P.K. PGE₂-mediated immunosuppression by first trimester human decidual cells blocks activation of maternal leukocytes in The decidua with potential antitrophoblast activity. 1989 Cell. Immunol., 120, 61-74.

158 Persellin, R.H. Thoi, L.L. Human polymorphonuclear leukocyte phagocytosis in pregnancy. Development of inhibition during gestation and recovery in The postpartum period. 1979 Am. J. Obstet. Gynecol., 134, 250-254.

159 Krause, P.J., Ingardia, C.J., Pontius, L.T., et al Host defence during pregnancy: neutrophil chemotaxis and adherence. Am. 1987 J. Obstet. Gynecol., 157, 274-280.

160 Sacks, G.P., Studena, K., Sargent, I.L. Redman, C.W. Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to Those of sepsis. 1998 Am. J. Obstet. Gynecol., 179, 80-86.

161 Naccasha, N., Gervasi, M.T., Chaiworapongsa, T., et al Phenotypic and metabolic characteristics of monocytes and granulocytes in normal pregnancy and maternal infection. 2001 Am. J. Obstet. Gynecol., 185, 1118-1123.

162 Sakai, M., Tsuda, H., Tanebe, K., Sasaki, Y. and Saito, S. Interleukin- 12 secretion by peripheral blood mononuclear cells is decreased in normal pregnant subjects and increased in preeclamptic patients. 2002 Am. J. Reprod. Immunol., 47, 91-97.

163 VeenstravanNieuwenhoven, A.L., Bouman, A., Moes, H., Heineman, M.J., de Leij, L.F.M.H., Santema, J. and Faas, M.M. Endotoxin-induced cytokine production of monocytes of Third trimester pregnant women compared to women in The follicular phase of The menstrual cycle. 2003 Am. J.Obstet. Gynecol.,188, 1073-1077.

164 Sacks, G., Sargent, I. Redman, C. An innate view of human pregnancy. 1999 Immunol. Today, 20, 114-118.

- 165 Knight, M., Redman, C.W., Linton, E.A. Sargent, I.L. Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into The maternal circulation in preeclamptic pregnancies. 1998 Br. J. Obstet. Gynecol., 105, 632-40.
- 166 Sacks, G., Sargent, I. and Redman, C. Innate immunity in pregnancy. 2000 Immunol. Today, 21, 200-01.
- 167 Aagaard-Tillery KM, Silver R, Dalton J Immunology of normal pregnancy. 2006 Semin Fetal Neonatal Med. Oct;11(5):279-95.
- 168 Bulmer JN, Johnson PM. Antigen expression by trophoblast populations in The human placenta and Their possible immunobiological relevance.1985 Placenta 1985;6:127-40
- 169 Redman CW, McMichael AL, Stirrat GM, et al. Class I major histocompatibility complex antigens on extravillous trophoblast.1984 Immunology 1984;52:457-68.
- 170 Grusby MJ, Auchincloss Jr H, Lee R, et al. Mice lacking major histocompatibility complex class I and class II molecules. 1993 Proc Natl Acad Sci USA 1993;90:3913-7.
- 171 Hunt JS, Vassmer D, Ferguson TA, Miller L. Fas ligand is positioned in mouse uterus and placenta to prevent trafficking of activated leukocytes between The mother and The conceptus.1997Immunol 1997;158:4122-8
- 172 Bamberger AM, Schulte HM, Thunke I, et al. Expression of The apoptosis-inducing Fas ligand (FasL) in human first and Third trimester placenta and choriocarcinoma cells. 1997 J Clin Endocrinol Metab 1997; 82:3173-5.
- 173 Keelan, J.A., Blumenstein, M., Helliwell, R.J.A. et al Cytokines, prostaglandins and parturition—a review. 2003 Placenta 24,33–46.
- 174 Kelly, R.W., King, A.E., Critchley, H.O.D., Cytokine control in human endometrium 2001 Reproduction 121,3–19.

- 175 Wegmann,T.G.,. The cytokine basis for cross-talk between The maternal immune and reproductive systems. 1990 Curr. Op. Immunol. 2,765–769.
- 176 Saito,S., Cytokine network at The feto-maternal interface. 2000 J. Reprod. Immunol. 47,87–103.
- 177 Watanabe, M., Iwatani, Y., Kaneda, T., et al. Changes in T, B, and NK lymphocyte subsets during and after normal pregnancy. 1997 Am. J. Reprod. Immunol., 37, 368-377.
- 178 Loke,Y.W.,King, A., Decidual natural-killer-cell interaction wiTh trophoblast: cytolysis or cytokine production? 2000 Biochem. Soc. Trans. 28,196–198
- 179 Rieger,L.,Hofmeister,V.,Probe,C.,et al.,. Th1 and Th2-like cytokine production by first trimester decidual large granular lymphocytes is influenced by HLA-G and HLA-E. Mol. 2002 Hum. Reprod. 8,255–261.
- 180 Bradley, L.M., Harbertson, J., Biederman, E., et al Availability of antigen-presenting cells can determine The extent of CD4 effector expansion and priming for secretion of Th2 cytokines in vivo. 2002 Eur. J. Immunol., 32, 2338-2346.
- 181 Germain, S., Redman, C. and Sargent, I. Peripheral blood dendritic cells are decreased in pre-eclampsia. 2002 Hypertension in Pregnancy, 21, 96.
- 182 Williams, D.B., Bachy, V. Ibrahim, M. Preeclampsia and activation of maternal innate immunity. 2002 Hypertension in Pregnancy, 21, 104.
- 183 Brabin, B.J. Epidemiology of infection in pregnancy. 1985 Rev. Infect. Dis., 7, 579-603.
- 184 Anderson DJ, Hill JA, Haimovici F, Berkowitz RS. Adverse effects of immune cell products in pregnancy. In: Wegmann TF, Gill TJ, Nisbet-Brown E, editors. Molecular

and cellular immunobiology of The maternalefetal interface. New York: Oxford University Press; 1991. p. 207-36.

185 Abbas A.K, Lichtman A:H, Cellular and Molecular Immunology FifTh edition 2003: p. 257-259

186 Chen W, Daines MO, Khurana Hershey GK Turning off signal transducer and activator of transcription (STAT): The negative regulation of STAT signaling. 2004 J Allergy Clin Immunol. Sep;114(3):476-89; quiz 490

187 Ke Shuai & Bin Liu Regulation of JAK–STAT Signalling in The immune system 2003 Nature Reviews Immunology 3, p. 900-911

188 Rodig SJ, Meraz MA, White JM, Lampe PA, Riley JK, ArThur CD, et al. Disruption of The Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of The Jaks in cytokine-induced biologic responses. Cell 1998;93:373-83.

189 Neubauer H, Cumano A, Muller M, Wu H, Huffstadt U, Pfeffer K. Jak2 deficiency defines an essential developmental checkpoint in definitive hematopoiesis. Cell 1998;93:397-409

190 Parganas E, Wang D, Stravopodis D, et al. Jak2 is essential for signaling Through a variety of cytokine receptors. Cell 1998;93:385-95.

191 Nosaka T, van Deursen JM, Tripp RA, Thierfelder WE, WitThuhn BA, McMickle AP, et al. Defective lymphoid development in mice lacking Jak3. Science 1995;270:800-2.

192 Thomis DC, Gurniak CB, Tivol E, Sharpe AH, Berg LJ. Defects in B lymphocyte maturation and T lymphocyte activation in mice lacking Jak3. Science 1995;270:794-7.

- 193 Karaghiosoff M, Neubauer H, Lassnig C, Kovarik P, Schindler H, Pircher H, et al. Partial impairment of cytokine responses in Tyk2- deficient mice. *Immunity* 2000;13:549-60.
- 194 Shimoda K, Kato K, Aoki K, Matsuda T, Miyamoto A, Shibamori M et al. Tyk2 plays a restricted role in IFN alpha signaling, alThough it is required for IL-12-mediated T cell function. *Immunity* 2000;13:561-71.
- 195 Meraz MA, White JM, Sheehan KC, Bach EA, Rodig SJ, Dighe AS, et al. Targeted disruption of The Stat1 gene in mice reveals unexpected physiologic specificity in The JAK-STAT signaling paThway. *Cell* 1996; 84:431-42.
- 196 Durbin JE, Hackenmiller R, Simon MC, Levy DE. Targeted disruption of The mouse Stat1 gene results in compromised innate immunity to viral disease. *Cell* 1996;84:443-50.
- 197 Park C, Li S, Cha E, Schindler C. Immune response in Stat2 knockout mice. *Immunity* 2000;13:795-804.
- 198 Takeda K, Noguchi K, Shi W, Tanaka T, Matsumoto M, Yoshida N, et al. Targeted disruption of The mouse Stat3 gene leads to early embryonic leThality. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:3801-4.
- 199 Kaplan MH, Sun YL, Hoey T, Grusby MJ. Impaired IL-12 responses and enhanced development of Th2 cells in Stat4-deficient mice. *Nature* 1996;382:174-7.
- 200 Feldman GM, RosenThal LA, Liu X, Hayes MP, Wynshaw-Boris A, Leonard WJ, et al. STAT5A-deficient mice demonstrate a defect in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-induced proliferation and gene expression. *Blood* 1997;90:1768-76.
- 201 Park SH, Liu X, Hennighausen L, Davey HW, Waxman DJ. Distinctive roles of STAT5a and STAT5b in sexual dimorphism of hepatic P450 gene expression. Impact of STAT5a gene disruption. *J Biol Chem* 1999; 274:7421-30.

202 Udy GB, Towers RP, Snell RG, Wilkins RJ, Park SH, Ram PA, et al. Requirement of STAT5b for sexual dimorphism of body growth rates and liver gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:7239-44.

203 Imada K, Bloom ET, Nakajima H, Horvath-Arcidiacono JA, Udy GB, Davey HW, et al. Stat5b is essential for natural killer cell-mediated proliferation and cytolytic activity. *J Exp Med* 1998;188:2067-74.

204 Teglund S, McKay C, Schuetz E, van Deursen JM, Stravopodis D, Wang D, et al. Stat5a and Stat5b proteins have essential and nonessential, or redundant, roles in cytokine responses. *Cell* 1998;93:841-50.

205. Shimoda K, van Deursen J, Sangster MY, Sarawar SR, Carson RT, Tripp RA, et al. Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted Stat6 gene. *Nature* 1996;380:630-3.

206. Takeda K, Tanaka T, Shi W, Matsumoto M, Minami M, Kashiwamura S, et al. Essential role of Stat6 in IL-4 signalling. *Nature* 1996;380: 627-30.

207 Ernst M, Inglese M, Waring P, Defective gp130-mediated Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT) Signaling Results in Degenerative Joint Disease, Gastrointestinal Ulceration, and Failure of Uterine Implantation 2001 *J Exp Med*. 2001 Jul 16;194(2):189-203

208 Taga, T., and T. Kishimoto.. Gp130 and The interleukin- 6 family of cytokines. 1997 *Annu. Rev. Immunol.* 15:797–819.

209 Waring, P. Leukemia inhibitory factor. *In* Colony Stimulating Factors 1997, Molecular and Cellular Biology. Second ed. J.M. Garland, editor. Marcel Dekker Publishers, New York. 467–513.

- 210 Stewart, C.L., P. Kaspar, L.J. Brunet, H. Bhatt, I. Gadi, F. Kontgen, and S.J. Abbondanzo. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. 1992 *Nature*. 359:76–79.
- 211 Escary, J.L., J. Perreau, D. Dumenil, S. Ezine, and P. Brulet.. Leukaemia inhibitory factor is necessary for maintenance of haematopoietic stem cells and Thymocyte stimulation. 1993 *Nature*. 363:361–364.
- 212 Robb, L., R. Li, L. Hartley, H.H. et al. Infertility in female mice lacking The receptor for interleukin 11 is due to a defective uterine response to implantation. 1998 *Nat. Med*. 4:303–308.
213. Bilinski, P., D. Roopenian, and A. Gossler Maternal IL-11R- function is required for normal decidua and fetoplacental development in mice. 1998 *Genes Dev*. 12:2234–2243.
- 214 Bilinski, P., D. Roopenian, and A. Gossler Maternal IL-11R- function is required for normal decidua and fetoplacental development in mice. 1998 *Genes Dev*. 12:2234–2243.
- 215 Parganas E, Wang D, Stravopodis D, et al. JAK2 is essential for signaling Through a variety of cytokine receptors. 1998 , *Cell* 93: 385
- 216 Yasuda Y, Fujita Y, Masuda S et al Erythropoietin is involved in growTh and angiogenesis in malignant tumours of female reproductive organs *Carcinogenesis*. 2002 Nov;23(11):1797-805
- 217 Yasuda Y, Fujita Y, Musha T, Expression of erythropoietin in human female reproductive organs *Ital J Anat Embryol*. 2001;106(2 Suppl 2):215-22
- 218 Simon C, Martin JC, Pellicer A.Paracrine regulators of implantation. 2000 *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2000 Oct;14(5):815-26

219 Lee C, Lim HK, Sakong J, et al Janus kinase-signal transducer and activator of transcription mediates phosphatidic acid-induced interleukin (IL)-1 β and IL-6 production. *Mol Pharmacol*. 2006 Mar;69(3):1041-7

220 Lacroix MC, Guibourdenche J, Fournier T et al Stimulation of human trophoblast invasion by placental growth hormone *Endocrinology*. 2005 May;146(5):2434-44

221 Changelian PS, Flanagan ME, Ball DJ, et al. Prevention of organ allograft rejection by a specific Janus kinase 3 inhibitor. *Science* 2003; 302:875—878.

222 John J. O'Shea, Heiyoung Park, Marko Pesua, New strategies for immunosuppression: interfering with cytokines by targeting the Jak/Stat pathway *Curr Opin Rheumatol* 17:305—311.

223 Li Q, Zhang M, Kumar S, Zhu LJ Identification and implantation stage-specific expression of an interferon- α -regulated gene in human and rat endometrium. *Endocrinology*. 2001 Jun;142(6):2390-400 *Endocrinology* Vol. 142, No. 6 2390-2400

224 Park C, Li S, Cha E et al Immune response in STAT2 knockout mice 2000 *Immunity* 2000; 13:795

225 Roberts RM, Malathy PV, Hansen TR, et al Bovine conceptus secretory products involved in pregnancy recognition 1990 *J Anim Sci* 68 :28-38

226 Perry DJ, Austin KJ, Hansen TR Cloning of interferon-stimulated gene 17: The promoter and nuclear proteins that regulate transcription. *Mol Endocrinol*. 1999 Jul;13(7):1197-206

227 Teng CB, Diao HL, Ma H et al Signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) expression and activation in rat uterus during early pregnancy 2004 *Aug*;128(2):197-205

228 Stewart CL, Kaspar P., Brunet LJ. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukemia inhibitory factor, *Nature* 1992; 359: 76-79.

229 HARSHIDA BHATT, LISA J. BRUNET, et al Uterine expression of leukemia inhibitory factor coincides with The onset of blastocyst implantation 1991 Proc Natl Acad Sci U S A. 1991 Dec 15;88(24):11408-12

230 Hao H. Ho, Lionel B. Ivashkiv 2006 Role of STAT3 in Type I Interferon Responses 2006 The Journal Of Biological Chemistry Vol. 281, NO. 20, p. 14111–14118, May 19,

231 Akira S, Kishimoto T. Role of interleukin-6 in macrophage function. 1996 Curr Opin Hematol. 1996 Jan;3(1):87-93

232 Makkar G, Ng EH, Yeung WS, et al Reduced expression of interleukin-11 and interleukin-6 in The periimplantation endometrium of excessive ovarian responders during in vitro fertilization treatment. J Clin Endocrinol Metab. 2006 Aug;91(8):3181-8.

233 Takeda K, Noguchi K, Shi W, Tanaka T, Matsumoto M, Yoshida N, Kishimoto T & Akira S 1997 Targeted disruption of The Mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality. PNAS 94 3801–3804.

234 Lei Bao, Sangeeta Devi, Jennifer Bowen-Shauver, et al The Role Of Interleukin-11 In Pregnancy Involves Up-Regulation Of A2-Macroglobulin Gene Through Jak2-Stat3 Pathway In The Decidua 2004 Molecular Human Reproduction Vol.10, No.11 pp. 783–792

235 Giorgio Trinchieri, Stefan Pflanz, and Robert A. Kastelein The IL-12 Family of Heterodimeric Cytokines: New Players in The Regulation of T Cell Responses 2003 Immunity, Vol. 19, 641–644, November, 2003,

236 Fahey AJ, Robins RA, Constantinescu CS Reciprocal effects of IFN- β and IL-12 on STAT4 activation and cytokine induction in T cells. J Leukoc Biol. 2007 Mar 9

237 Nakasato M, Shirakura Y, Ooga M, Iwatsuki M et al Involvement of The STAT5 signaling paThway in The regulation of Mouse preimplantation development Biol Reprod. 2006 Oct;75(4):508-17

238 Mak IY, Brosens JJ, Christian M, Hills FA, Chamley L, Regan L, White JO. Regulated expression of signal transducer and activator of transcription, STAT5, and its enhancement of PRL expression in human endometrial stromal cells in vitro. J Clin Endocrinol Metab. 2002 Jun;87(6):2581-8.

239 Prigent-Tessier A, Barkai U, Tessier C, Characterization of a rat uterine cell line, U(III) cells: prolactin (PRL) expression and endogenous regulation of PRL-dependent genes; estrogen receptor beta, alpha(2)-macroglobulin, and decidual PRL involving The JAK2 and STAT5 paThway Endocrinology. 2001 Mar;142(3):1242-50.

240 Schmerer M, Torregroza I, Pascal A, STAT5 acts as a repressor to regulate early embryonic eryThropoiesis 2006 Blood. 2006; 108:2989-2997