

AYSEL AKYÜZ CİVAN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2019



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TEKRARLAYAN İMPLANTASYON BAŞARISIZLIĞI OLAN
HASTALARDA ENDOMETRİUMDA OLUŞTURULAN LOKAL
HASARLANMA ETKİLERİNİN IŞIK VE ELEKTRON
MİKROSKOPİK İNCELENMESİ**

AYSEL AKYÜZ CİVAN

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. SİBEL KÖKTÜRK**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



İTHAF

Beni bugünlere getiren sevgili Annem Asiye Akyüz ve sevgili Babam Suat Akyüz'e, Kardeşim Bahadır Han Akyüz'e, yüksek lisans döneminde hayatıma dahil olan Eşim Onur Civan ve Oğlum Ozan Efe Civan'a ithaf ediyorum.





TEŞEKKÜR

Tezimin ilerleyen aşamasında değerli bilgileriyle bana yol gösteren ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sayın danışman hocam Doç. Dr. Sibel Köktürk'e, lisansüstü eğitimim boyunca ve tez dizaynımın oluşturulmasında her türlü yardım ve manevi destekleri için Prof. Dr. Bülent AHISHALI' ya, İstanbul Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Seyhun SOLAKOĞLU, Doç. Dr. Tuğba KOTİL, Dr Öğretim Üyesi Elif KERVANCIOĞLU DEMİRCİ ve emekli hocalarımız Prof. Dr. Leyla TAPUL ve Prof. Dr. Ayhan BİLİR' e,

Deneylerimin planlanması ve yürütülmesinde hiç zaman desteğini esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü Reprodüktif Endokrinoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Necip Erkut ATTAR' a ve Acıbadem Sağlık Grubu Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ercan Baştu' ya,

Tüm yüksek lisans eğitim sürecim boyunca her türlü aşamada ve konuda yanımda olan, en büyük destekçilerim Tıbbi. Bio. İlkay ÖZDEMİR ve yüksek lisans öğrencisi Bio. Sibel DOĞAN' a,

Desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve ışık mikroskop aşamasında teknik konularda bana her zaman yardımcı olan değerli anabilim dalımız çalışanları Selahattin ÜNAL, elektron mikroskopik takip aşamasındaki yardımlarından dolayı Bio. Funda ONAR, Uzm. Bio. Fadime AKTAR ve Uzm. Bio. Ebru KARABULUT AKYÖN'e,

Her zaman ve her konuda yanımda olan, desteklerini esirgemeyen Araş. Gör. Aslı ERDOĞAN, Araş. Gör. Tuğba EKİZ YILMAZ, Araş. Gör. Hasan Serdar MUTLU, Araş. Gör. Emel USTA, tıpta uzmanlık öğrencisi Fatmanur KARAKUŞ, doktora öğrencisi Feride ÖZDEMİR, PhD. Nilüfer AYTÜRK ve PhD. Türkan SARIOĞLU' na,

Eğitimim boyunca her zaman bana güç veren ve inanan Dr. Gülden ÖZSOY' a, Dr. Semra TAMER LEVENT ve Uzman Biyolog Bilge ÇELİK BERBEROĞLU' na ve tüm aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31494



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
İTHAF	İİİ
TEŞEKKÜR.....	VI
İÇİNDEKİLER	Vİİİ
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XİV
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Uterus Histolojisi.....	3
2.1.1. Perimetrium	3
2.1.2. Miyometriyum	3
2.1.3. Endometrium	4
2.2. Menstrual Siklus	4
2.2.1. Proliferatif Faz	4
2.2.2. Sekretuar Faz	5
2.2.3. Menstrual Faz	5
2.3. Blastosist Gelişmesi	6
2.4. İmplantasyon	7
2.5. Endometrium Yüzey ve Bez Epiteli	7
2.5.1. Endometrium Yüzey Epiteli	7
2.5.1.1. Mikrovillus Hücreleri (=Mikrovilli).....	7
2.5.1.2. Pinopode Hücreleri.....	8
2.5.1.3. Vakuol Hücreleri.....	8
2.5.1.4. Silli Hücreler.....	8
2.5.2. Bez Epiteli Hücreleri.....	9
2.5.2.1. Mikrovillüs Hücreleri	9
2.5.2.2. Pinopode Hücreleri.....	9

2.5.2.3. Vakuol Hücreleri.....	9
2.5.2.4. Silli Hücreler.....	10
2.6. Endometrium Epitelinde Bulunan Özel Yapılar	10
2.6.1. Multilameller cisimcikler	10
2.6.2. Nükleolar Kanal Sistemi	10
2.7. Endometrium Glikojen İçeriği.....	12
2.8. Lösemi İnhibitör Faktör	12
2.9. LIF-STAT Sinyalizasyonu	13
2.10. Lokal Hasarlanma.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Endometrium Doku Örneklerinin Toplanması.....	16
3.2. Işık Mikroskopik Yöntemler	17
3.2.1. Hematoksilen Eosin Boyaması	18
3.2.2. Masson Trikrom Boyaması	18
3.2.3. İmmünohistokimyasal Boyamalar	18
3.2.3.1. LIF ve LIF-R İmmünohistokimya Boyaması	18
3.3. Elektron Mikroskopik Yöntemler.....	20
4. BULGULAR	21
4.1. İmmünohistokimyasal Bulgular	21
4.2. Histokimyasal Bulgular	29
4.3. Elektron Mikroskopik Bulgular.....	39
4.3.1. Birinci Grup Yüzey Epiteli Elektron Mikroskop Bulguları	39
4.3.2. Birinci Grup Bez Epiteli Elektron Mikroskobi Bulguları	48
4.3.3. İkinci Grup Yüzey Epiteli Elektron Mikroskop Bulguları.....	50
4.3.4. İkinci Grup Bez Epiteli Elektron Mikroskobu Bulguları.....	60
5. TARTIŞMA	65
KAYNAKLAR	71
HAM VERİLER.....	83
FORMLAR	84
ETİK KURUL KARARI	85
PATENT HAKKI İZNİ.....	87
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	88
ÖZGEÇMİŞ	89

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: İmmünreaktivite Skor (IRS) hesaplaması.....	19
Tablo 4-2: Birinci ve ikinci gruba ait yüzey ve bez epiteli LIF ve LIF-R ortalama IRS±SEM değerlerini gösteren tablo	22



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Ovaryan ve Menstrual Siklus (25)	6
Şekil 2-2: Endometrium Yüzey Epiteli Hücre Tipleri.....	9
Şekil 2-3: Endometrium Bez Epiteli Hücre Tipleri.....	10
Şekil 2-4: İmplantasyon Dönemi LIF ve LIF-R	13
Şekil 2-5: LIF- Stat Sinyalizasyonu	14
Şekil 3-1: a) Spekülüm b) Pipelle Kateter c) Pipelle Kataterin Uterusa Uygulanması ...	17
Şekil 4-1: Birinci ve ikinci grubun yüzey ve bez epiteli LIF IRS Ortalama $\pm$ SEM değerlerini gösteren grafik.	22
Şekil 4-2: Birinci ve ikinci grubun yüzey ve bez epiteli LIF-R IRS Ortalama $\pm$ SEM değerlerini gösteren grafik.	23
Şekil 4-3: Birinci grubun endometrium biyopsi örneğinin LIF immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epitelinin gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	24
Şekil 4-4: İkinci grubun endometrium biyopsi örneğinin LIF immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epitelinin gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	25
Şekil 4-5: Birinci grubun endometriumunun biyopsi örneğinin LIF-R immünohistokimya boyamasının bez epitelinin gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	26
Şekil 4-6: Birinci grubun endometriumunun biyopsi örneğinin LIF-R immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epitelinin gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	27
Şekil 4-7: İkinci grubun endometriumunun biyopsi örneğinin LIF-R immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epitelinin gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	28
Şekil 4-8: İkinci grubun endometriumunun biyopsi örneğinin LIF-R immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epitelinin gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	29
Şekil 4-9: Birinci grubun endometrium biyopsi örneğinin ışık mikroskobu fotoğrafı. Hematoksilen ve Eozin boyası.	31
Şekil 4-10: İkinci grubun endometrium biyopsi örneğinin ışık mikroskobu fotoğrafı. ..	32
Şekil 4-11: Birinci grubun endometrium yüzey epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı. Hematoksilen ve Eozin boyası.	33
Şekil 4-12: Birinci grubun endometrium bez epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı. Hematoksilen ve Eozin boyası.	34

Şekil 4-13: İkinci grubun endometrium yüzey epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı. Hematoksilen ve Eozin boyası.....	35
Şekil 4-14: İkinci grubun endometrium bez epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı. Hematoksilen ve Eozin boyası.....	36
Şekil 4-15: Birinci grubun endometrium yüzey ve bez epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı. Masson trikrom boyası.....	37
Şekil 4-16: İkinci grubun endometrium yüzey ve bez epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı. Masson trikrom boyası.....	38
Şekil 4-17: Birinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.....	40
Şekil 4-18: Birinci grubun yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı,.....	41
Şekil 4-19: Birinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.....	42
Şekil 4-20: Birinci grubun yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.....	43
Şekil 4-21: Birinci grubun yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.....	44
Şekil 4-22: Birinci biyopsi hasta grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	45
Şekil 4-23: Birinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.....	46
Şekil 4-24: Birinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.....	47
Şekil 4-25: Birinci grup bez epiteli elektron mikroskobu fotoğrafı.	48
Şekil 4-26: Birinci grup bez epitel microvillus hücreleri (MH).	49
Şekil 4-27: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	51
Şekil 4-28: İkinci gruba ait yüzey epiteli elektron mikroskobu fotoğrafı.	52
Şekil 4-29: İkinci gruba ait yüzey epiteli elektron mikroskobu fotoğrafı.	53
Şekil 4-30: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	54
Şekil 4-31: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	55
Şekil 4-32: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	56
Şekil 4-33: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	57
Şekil 4-34: Şekil 4.3.3.8 İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	58
Şekil 4-35: Şekil 4.3.3.9. İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	59
Şekil 4-36: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	60
Şekil 4-37: İkinci grup bez epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	61
Şekil 4-38: İkinci grup bez epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	62
Şekil 4-39: İkinci grup bez epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.	63

Şekil 4-40: İkinci grup bez epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.64



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Dilatasyon ve küretaj: D&C

Glikoprotein 130: gp 130

İn Vitro Fertilizasyon: IVF

Janus Kinaz: JAK

Lösemi inhibitör faktör reseptörü: LIF-R

Lösemi inhibitör faktör: LIF

Mikrovillus Hücresi: MH

Mitojenle Aktive olan Protein Kinaz: MAPK

Mütilameller Cisim: MLC

Nükleer Kanal Sistemi: NCS

Pinopode Hücresi: PH

Silli Hücre: SH

Sinyal Transdüserlerinin Transkripsiyon: STAT

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı : TİB

Uridin Difosfat Glukoz: UDP

Vakuol Hücresi: VH

Yarı Kantitatif İmmünreaktivite Skorlaması: IRS

ÖZET

CİVAN AA. Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Olan Hastalarda Endometriumda Oluşturulan Lokal Hasarlanma Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Programı. Yüksek Lisans Tezi. 2019

Tüp bebek tedavisinde iyi kalitede embriyo transferine rağmen gebe kalmadaki başarısızlık önemli bir sorundur. Endometriumda oluşturulan lokal hasarlanma ile implantasyon başarısı ve canlı gebelik oranlarının arttığı saptanmıştır. Literatürde lokal hasarlanma üzerine birçok çalışma yapılmış olmasına karşın işlemin implantasyon oranını artırma sürecindeki mekanizmalar henüz tam olarak ortaya konamamıştır.

Bu bilgiler ışığında planladığımız tez çalışmamızda tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan 25-35 yaş arası 8 kadının endometriumuna menstrual siklusun 21. günlerinde lokal hasarlanma uygulanarak biyopsi örnekleri alındı. Bir sonraki menstrual siklusun aynı gününde alınan biyopsi örneklerinde lokal hasarın etkileri değerlendirildi. Endometrium biyopsileri ışık mikroskopik takip sonrası parafin ve elektron mikroskopik takip sonrası Epon'a gömüldü. Parafin kesitlerde hematoksilen eozin boyasıyla genel morfolojik değişiklikler ve Masson trikrom boyasıyla bağ dokusu elemanlarındaki değişiklikler incelendi. İmplantasyon belirteci olan lösemi inhibitör faktör (LIF) ve lösemi inhibitor faktör-Reseptörü (LIF-R)'nin endometrium yüzey ve bez epitelindeki lokalizasyonu ve immünoreaktivite şiddeti immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Epon bloklardan alınan ince kesitlerde endometrium yüzey ve bez epiteli elektron mikroskopik olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda hastalarda oluşturulan lokal hasarlanma sonrası endometrium yüzey ve bez epitelinde LIF ve LIF-R immünoreaktivitesinin arttığı ve ultrastrüktürel farklar olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalar için, lokal hasarlanmanın endometrium yüzey ve bez epiteli üzerindeki olumlu etkileri olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı, Lösemi inhibitör faktör, Lösemi İnhibitör Faktör Reseptörü, Endometrium, Lokal Hasarlanma

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31494



ABSTRACT

CIVAN, AA An Evaluation of the Effects of the Local Injury to the endometrium of Women with Recurrent Implantation Failure with the Light Microscope and the Electron Microscope. Istanbul University, Institute of Health Science, Histology and Embryology Program, Master Thesis. Istanbul 2019

In spite of good quality embryo transfer, the failure in successful conception in IVF treatment remains a major problem, whilst it is reported that local injury to the endometrium increases the implantation rate and viable pregnancy. Although a number of clinical studies have been carried out on the outcomes of endometrial local injury, the mechanisms that are involved in increasing implantation rate have not been elucidated.

In this study, endometrial biopsies of local injury are performed on 8 women aged 25 to 35 years old with recurrent implantation failure who have undergone 21. day of their endometrial cycle. On the same day of the next menstrual cycle, the effects of local injury in the biopsy samples are assessed. The endometrial biopsies are embedded in paraffin for light microscopy and in Epon for electron microscopy once the processing is done. In paraffin sections, alterations in endometrial morphology are evaluated by hematoxylin and eosin staining while alterations in connective tissue components are determined by Masson trichrome staining. The localization and immunoreactivity of implantation markers LIF and LIF-R on the endometrial surface and in the endometrial glands are evaluated by immunochemistry. Thin sections from Epon blocks are assessed with the electron microscope in order to reveal cellular alterations in the ultrastructure of the endometrium.

In our study, we observe an increase in LIF and LIF-R immunoreactivity of endometrial surface and gland epithelium. At the same time, ultrastructural differences are found after local injury in patients. These results indicate that local injury has positive effects on endometrial surface and gland epithelium for patients with recurrent implantation failure.

Keywords: Recurrent Implantation Failure, Leukemia Inhibitory Factor, Leukemia Inhibitory Factor Receptor, Endometrium, Local Injury

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Blastosistin ileri gelişme gösterebilmesi için endometriumu yuvalanması olarak bilinen implantasyon, genetik olarak farklı embriyonik ve maternal dokuların başarılı bir şekilde kaynaşması olarak tanımlanır (1,2).

Endometrium embriyo implantasyonunun gerçekleşebilmesi için menstrual siklusun 19-23. günlerinde uygun duruma gelir ve bu dönem "implantasyon penceresi" olarak adlandırılır (3,4). Bu dönemde blastokistteki trofoblast hücrelerinin uzantıları, endometriumun epitel hücrelerinin apikal yüzeyindeki pinopod adı verilen küçük çıkıntılarla bağlanırlar (5). Mantar şeklinde hücreler olan pinopodlar endometriyal reseptivitenin en önemli belirtecidir (6). Endometriyal reseptivite başlıca ovaryan steroidlerle düzenlenirken bu süreçte dolaylı olarak çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinlerde rol oynamaktadır (7).

İyi kalitede embriyo transfer edilmesine rağmen gebe kalmadaki başarısızlık in vitro fertilizasyon (İVF) uygulamalarında önemli bir sorundur (8). Endometriumda oluşturulan lokal hasarlanmanın TİB olan hastalarda tedavi edici etkisinin olduğu görülmüştür. Basit bir kanül yardımıyla uygulanan bu işlemde sonra tekrarlayan implantasyon başarısızlığı yaşayan hastalarda canlı gebelik oranlarının arttığı saptanmıştır (9). Lokal hasarlanma ile ilgili birçok klinik araştırma yapılmasına rağmen, işlemin hangi mekanizmalar üzerinden etki ettiği konusu henüz açıklığa kavuşturulamamıştır (10). Diğer taraftan LIF ilk kez farelerde myeloid M1 hücrelerinin makrofaja dönüşmesini uyaran bir faktör olarak tanımlanmıştır. Sitokin ailesinin bir üyesi olan LIF'in insan endometriumunda implantasyon penceresi döneminde yüzey ve bez epitelinin yanı sıra stromada da eksprese edildiği bildirilmiştir (11-13). LIF hücreler üzerinde etki gösterebilmek için heterodimerik yapıdaki LIF-R ile bağlanmaktadır. LIF-R' de insan endometriumunun yüzey epitelinde sekretuar evrede eksprese olduğu saptanmıştır (14). Yapılan bir çalışmada implantasyon penceresi döneminde endometrium yüzey epitelini oluşturan hücrelerde embriyo implantasyonunda etkin rol oynayan pinopodların gelişmesiyle birlikte eş zamanlı olarak endometrium bez epitelinde LIF ve yüzey epitelinde LIF-R'nin güçlü bir şekilde eksprese edildiğinin bulunmuş olması bu sitokinin implantasyonda önemli rol oynadığına işaret etmektedir (15). Buna ek olarak LIF geninde meydana gelen bir mutasyon sonrasında implantasyon

başarısızlığının görülmüş olması da LIF'in bu süreçteki etkinliğine dair ek bir kanıt oluşturmaktadır (16).

Yukarıdaki bilgiler ışığında, tez çalışmamızda İVF siklusu uygulanmış ve iyi kalitede embriyo verildiği halde implantasyon başarısızlığı yaşayan hastalarda menstrüal siklusun sekretuar evresinde lokal hasarlanma tedavi yöntemini uyguladıktan sonra takip eden siklusun sekretuar evresinde alınan endometriyal biyopsi örneklerinde meydana gelen değişiklikleri ışık ve elektron mikroskopik düzeyde ve ilk işlem sırasında alınan biyopsi örnekleriyle kıyaslamalı olarak değerlendirerek özgün bir çalışma ortaya koymayı amaçlamadık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus Histolojisi

Uterus içi boş bir organdır ve pelviste mesane ile rektum arasında bulunur. Doğum yapmamış kadında 30-40 gr ağırlığında, 7.5 cm uzunluğunda, üst tarafında 5 cm genişliğinde ve 2.5 cm kalınlığındadır. Anatomik olarak uterus iki bölgeye ayrılmaktadır. Üst büyük kısmına gövde, gövdenin tuba uterina bağlantısının üstünde genişleyen yuvarlak parçası fundus adını almaktadır. Serviks uterusun alttaki silindirik biçimli kısmıdır ve vajinaya açılır (17).

Uterus histolojik olarak üç tabakadan oluşmuştur.

1. Perimetrium
2. Miyometriyum
3. Endometrium

2.1.1. Perimetrium

Uterusun en dış seröz tabakası olan perimetrium pelvik ve abdominal periton ile devamlılık gösterir. Mezotelyumdan ve ince bir bağ dokusu tabakasından meydana gelmektedir. Mezotelyumun altında bir elastik doku tabakası belirgindir. Perimetrium anterior yüzeyin bir kısmını kaplarken, posterior yüzeyin tamamını kaplar. Anterior yüzeyin kalan kısmı bağ dokusu ya da adventisya ile kaplıdır (17).

2.1.2. Miyometriyum

Uterusun en kalın tabakasıdır ve birbirinden ayırt edilmeyen üç düz kas tabakasından oluşmaktadır. Stratum vaskulare adını alan orta kas tabakası, çok sayıda büyük kan damarları ve lenfatikler içermektedir. Sirküler ya da spiral şekilli, iç içe geçen düz kas demetlerine sahip en kalın tabakadır. İç ve dış tabakalarda bulunan düz kas demetleri uterusun uzun eksenine paralel yerleşim gösterirler (17).

Gebe olmayan uterusda düz kas hücreleri yaklaşık 50 µm uzunluğundadır. Gebelik sırasında miyometriyum, hiperplazi, hücre hipertrofisi ve uterus duvarına dayanıklılık vermek için kas hücrelerince kollajen üretiminin artmasını içeren aşırı derecede bir büyüme sürecine girer ve düz kas hücreleri yaklaşık 500 µm uzunluğuna ulaşırlar. Gebelik sonrasında uterus düz kas hücreleri büzülür ve birçoğu apoptoza

gider. Gereksiz kollajen ortadan kalkar ve uterus gebelik öncesi boyutuna geri döner (17,18).

2.1.3. Endometrium

Uterusun en içinde, gelişmekte olan fetusa destek olan özelleşmiş mukoza tabakasıdır. Silyalı ve salgı yapan mikrovilluslu hücreler içeren tek katlı prizmatik epitel ile örtülüdür. Epitel hücrelerinin altında endometrial stroma bulunur. Stroma bol miktarda fibroblast ve ara madde ile birlikte düzensiz tip III kollajen lifler içerir. Yüzey epiteli endometrial stromaya doğru uzayarak basit tübüler uterus bezlerini oluşturur (17).

Endometrium iki tabakadan meydana gelir. Fonksiyonel tabaka üstte 2/3'lük kısmını oluştururken, bazal tabaka menstrüasyon sırasında dökülmeyen ve yeni fonksiyonel tabakayı oluşturacak alttaki kısımdır. Fonksiyonel tabaka, ara maddeden zengin, süngerimsi bir stromaya sahiptir ve uterus bezlerinin uzun kısmı burada bulunur. Bazal tabaka ise daha hücreli bir stromaya sahiptir ve uterus bezlerinin derin bazal uçlarını içerir (17,19).

2.2. Menstrual Siklus

Menstruasyon; menarştan menopoza kadar aylık aralıklarla meydana gelen ve kadın hayatının yaklaşık 35 yılını kapsayan uterus kanamasıyla ilişkili endometriumun fizyolojik olarak dökülmesi ile meydana gelmektedir (20,21). Menstrual siklus, hipotalamus, hipofiz ve overde farklı kısımlardan kaynaklanan hormonların başlattığı ve hücre içindeki farklı sinyal yollarının uyarıcı ve inhibe edici etkilerinin koordineli bir şekilde çalışması sonucu, aylık döngüde tek bir folikülün seçilerek büyümesi ve ovulasyonu ile sonuçlanan endokrin bir aktivitedir. Menstruasyon yani adet ilk günü menstrual siklusun 1. günü olarak kabul edilir. Endometriumdaki değişimler göz önüne alındığında proliferatif faz, sekretuar faz ve menstrual faz şeklinde 3 faza ayrılır.

2.2.1. Proliferatif Faz

Büyümekte olan antral foliküllerin granuloza hücrelerinden salınan östrojen hormonunun etkisi ile 1/3'lik bazal tabaka rejenerasyon gösterir. Bu döneme proliferatif faz denir, hem glandular hemde stromal tabakada hızlı proliferasyon ile karakterizedir. Proliferatif fazda endometrial bezler düzgün doğrusal yapıda, tübüler yapılar ise düzenli uzun yalancı çok katlı silyalı epitel ile döşelidir. Mitotik figürler çok sayıdadır ancak

mukus sekresyonu veya vakuolizasyon izlenmez. Endometriumun stromal komponenti bu dönemde sıkıca birbirine bağlı iç biçimli hücrelerden oluşur. Dar sitoplazmalı bu hücrelerin mitotik aktiviteleri yüksektir.

2.2.2. Sekretuar Faz

Overde foliküler faz ilerleyip seçilen dominant folikül ovulasyona yaklaştıkça endometriumun büyümesi de yavaşlar ve ovulasyondan sonraki günlerde mitotik aktivitesi durur. Bu dönemde artık östrojene ek olarak korpus luteumdan da progesteron yapımı ve salınımı başlamıştır. Postovulatuvar endometriumda ilk belirgin değişim bez epitel nükleuslarının altında sekretuar vakuollerin oluşmaya başlamasıdır. Erken sekretuar faz hem östrojen hem de progesteron tarafından regüle edildiğini; mid-sekretuar faz ise sadece progesteron hormonu tarafından yönetilir. Geç sekretuar faz ise progesteronun hakimiyetini yitirmesi ile olan ve menstruasyonla sonuçlanan bir evredir. Dağınık nötrofil ve daha nadiren de lenfositler izlenir. Korpus luteumun ölümü ve progesteron hormonunun yokluğu ile fonksiyonel tabakada disintegrasyon izlenir ve kanın stromaya ulaşması ile menstrual dökülme başlar (22).

2.2.3. Menstrual Faz

Siklusun 1. günü menstruasyonun başlaması ile endometriumun hormonlara yanıt veren 2/3'lük fonksiyonel tabakası dökülmeye başlar. Fertilizasyon gerçekleşmez ise ovulasyon sonrasında 14. günde korpus luteumun fonksiyonu sona erer ve bunun sonucunda östrojen ve progesteron düzeyleri düşer ve menstruasyon başlar. Spiral arterlerin duvarları kasılıp gevşemeye başlar. Oksijenlenmesinin kesilmesi endometriumun fonksiyonel tabakasının bir kısmının nekrozuna neden olur. Spiral arter duvarındaki yırtılma sonucu endometrium içine kanama olur. Endometriumun fonksiyonel tabakasından ayrılan epitel ve stromal hücreler ile birlikte uterus sıvısı da kan ile birlikte atılır. Menstruasyon ile atılan kan miktarı kadınlar arasında farklılık göstermektedir. Endometriumun fonksiyonel tabakası tümüyle dökülür, geriye sadece bazal tabaka kalır. Bazal tabakadaki hücrelerin mukozayı yeniden oluşturmak için çoğalması ile de endometrium yeni bir döngüye hazırlanır (23).

Review of Female Reproductive Cycle

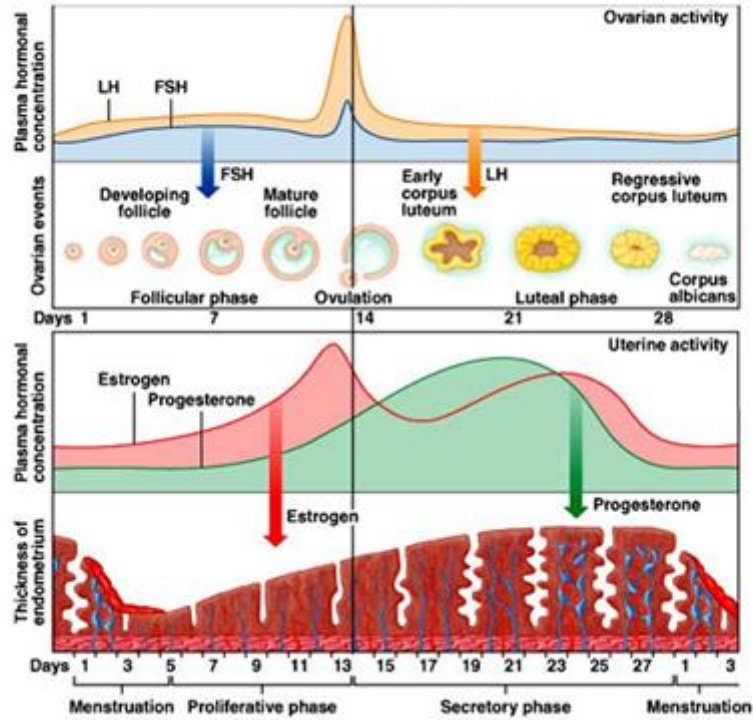


Figure from: Hole's Human A&P, 12th edition, 2010

2

Şekil 2-1: Ovaryan ve Menstrual Siklus (24)

2.3. Blastosist Gelişmesi

Oosit ve spermin birleşmesi, mayotik bölünmelerin tamamlanması ve pronükleoların oluşması ile meydana gelen zigot tek hücreli bir embriyodur. Zigot, iki hücreli evreye ulaştıktan sonra, hızlıca mitotik bölünerek hücre sayısını artırır. Her bölünme sonrası hacmi giderek küçülen bu hücrelere blastomer denir. Blastomerler sekiz hücre evresine ulaşana kadar gevşek bir hücre kümesi halindedir. Bir sonraki bölünmenin ardından blastomerler birbirine sıkıca bağlanmış bir hücre kümesi halini alırlar. Kompaksiyon olarak tanımlanan bu süreç yaklaşık fertilizasyondan 3 gün sonradır ve iç hücreler kendilerini dış hücrelerden ayırırlar. Kompakt haldeki embriyo yeniden bölünerek on altı hücreli morula haline dönüşür. Morulanın iç hücreleri iç hücre kümesini, dış hücreleri dış hücre kümesini oluşturur. Morulanın uterusu ulaşmasıyla, uterus boşluğundaki sıvı zona pellusidayı delip iç hücre kitlesine dolar ve giderek genişleyen hücrelerarası boşlukların birleşmesiyle blastosel oluşur. Bu evredeki embriyo blastosist adını alır. Blastosistin bir kutbunda yerleşen iç hücre kütesi embriyoblast, dış hücre kütesi trofoblast olarak adlandırılır. Fertilizasyondan yaklaşık 6

gün sonra blastosist adı verilen embriyo uterus mukozasına yapışır ve implantasyon gerçekleşir (25, 26).

2.4. İmplantasyon

İmplantasyon, embriyonun uterus endometrial yüzeyine yapışıp, plasentayı oluşturmak için epitel ve maternal dolaşımın organize olduğu, çeşitli otokrin, parakrin ve endokrin faktörler arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan dinamik bir süreçtir (27,28). Bu organize işlem için endometrium menstrual siklusun 19-23. günlerinde uygun duruma gelir ve bu dönem "implantasyon penceresi" olarak adlandırılır (29,30).

Başarılı bir implantasyon elde etmek için endometrium yapısal ve fonksiyonel değişikliklere uğramaktadır. Endometrium epitel hücreleri pinopod adı verilen çeşitli yüzey çıkıntıları geliştirir ve bu dönemde epitel hücrelerinde glikojen birikimi, dev mitokondriler ve nükleer kanal sisteminin varlığı şeklinde ultrastrüktürel özellik göstermektedir (32). Östrojen ve progesteron, bu değişimlere aracılık eden ana hormonlardır. Ayrıca büyüme faktörleri, enzimler, integrinler ve sitokinler dahil olmak üzere spesifik biyokimyasal faktörler aracılık eder (31,27).

İmplantasyon üç aşamadan oluşur:

- Apozisyon : Blastosist endometriumun implantasyon bölgesine temas eder.
- Adezyon: Blastosistin trofoblast hücreleri, alıcı endometrial epitel ile birleşir.
- İnvazyon: İnvazif trofoblast hücreleri, endometrial epitelyal bazal zarını geçer ve endometrial stromayı istila eder (27).

İmplantasyon penceresi başarılı bir hamileliğin meydana gelebilmesi için oldukça önemlidir. Ayrıca implantasyon penceresi endometrium da tüm hücre tiplerinin açıkça ayırt edilebildiği menstrual siklusun en önemli dönemidir. Endometrium yüzey ve bez epiteli ayrı ayrı incelendiğinde 4 farklı hücre yapısının varlığı görülmüştür (32).

2.5. Endometrium Yüzey ve Bez Epiteli

2.5.1. Endometrium Yüzey Epiteli

2.5.1.1. Mikrovillus Hücreleri (=Mikrovilli)

Endometrium implantasyon penceresi döneminde en fazla görülen hücrelerdir. Orta yoğunlukta bir sitoplazmaya sahiplerdir ve lümende çok sayıda mikrovillus ve

sterosilya bulunmaktadır. Çekirdekleri oval olup apikal yerleşim gösterirler. Nükleolusun ince bir zar ile invaginasyonu nükleer kanal sisteminin erken gelişim evresini göstermektedir. Çok sayıda uzun mitokondri içerirler ancak dev mitokondri sayısı çok değildir. Bol glikojen kümeleri içerirler, lipid damlacıkları ve glikojen depoları hücre bazalinde bulunur (32).

2.5.1.2. Pinopode Hücreleri

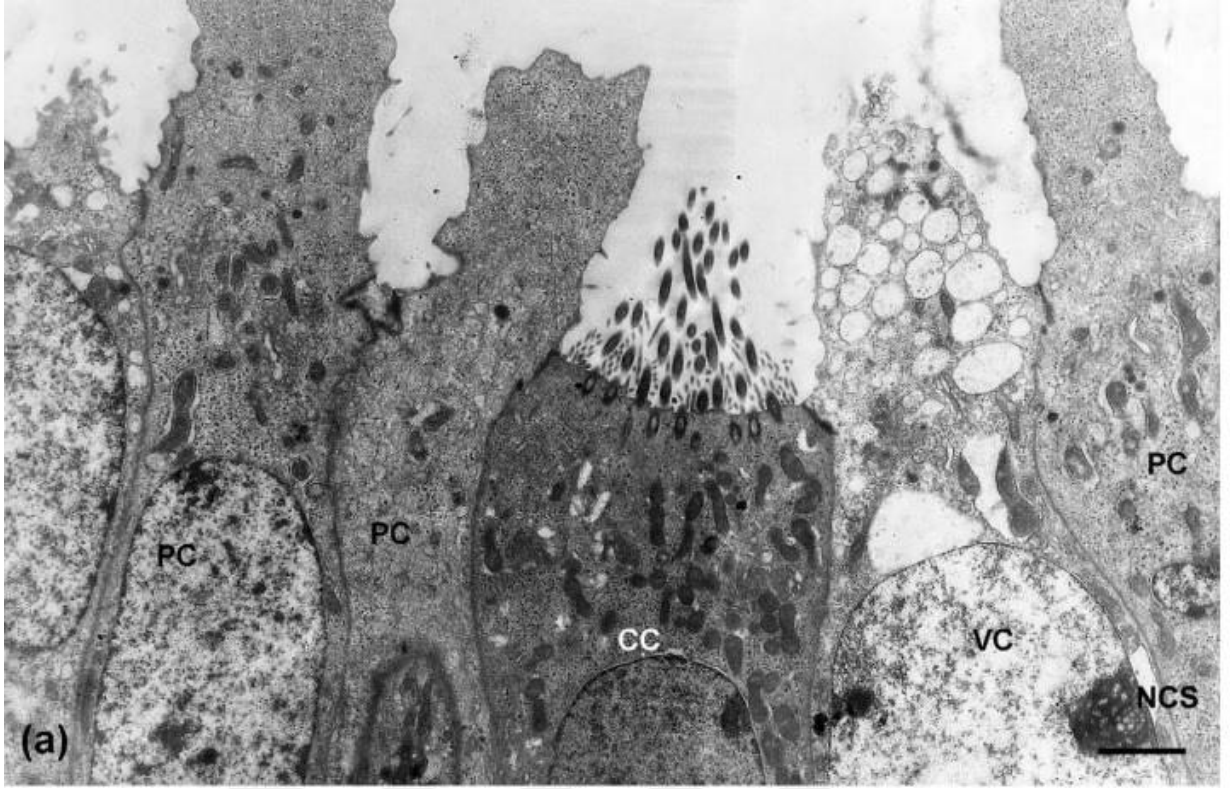
İmplantasyon penceresi döneminde tanımlanmış en karakterize endometrium epitel hücresi tipidir ve büyük sitoplazmik uzantılar içerirler. Bu çıkıntılar luminal hücre yüzeyini işgal eder ve mikrovillus içermeyen düzenli hatlara sahiptirler. Sitoplazması organellerden fakirdir, çok sayıda mikrofilament, glikojen kümeleri, küçük mitokondriler görülmüştür. Dev mitokondriye sahip değildirler. Çekirdekleri oval şeklinde olup bazale yakın yerleşim gösterir. Gelişmiş NCS'ye sahiptir. Lipid damlacıkları ve glikojen kümeleri bulunur ancak glikojen deposuna sahip değildir (32).

2.5.1.3. Vakuol Hücreleri

Endometrium epitel hücrelerinin apekslerinde büyük salgı vezikülleriyle karakterize olmuş hücre tipidir. Hücre apikalinde vesikül birikiminden dolayı dışbükey yüzey şekline sahiptirler ve nadiren mikrovillüs ve sterosilya içerirler. Çekirdekleri oval şeklinde olup apikale yakın pozisyonunda yerleşmiştir ve hafif yoğunlukta bir sitoplazmaya sahiptir. Nadiren lipid damlacıkları, az sayıda glikojen kümeleri içerirler. Küçük mitokondrileri vardır, dev mitokondrileri sahip değildir. NCS olmasına rağmen, tübül bozuklukları gösterir ve nükleer yüzeye yerleşimli gerilemiş bir yapıya sahiptir (32).

2.5.1.4. Silli Hücreler

Endometrium yüzey epitelinin az sıklıkta görülen hücre tipidir. Genellikle mikrovillus ve sterosilya ile çevrelenmiş silya dolu apikal bölgeye sahiptir. Silya düzeni genellikle normal bir yapıya sahiptir (9d+2s). Çekirdek düzensiz yapıda olup merkezi yerleşimlidir ve NCS yoktur. Çok sayıda küçük mitokondri içerir ancak dev mitokondri yoktur. Birkaç glikojen kümesinin yanı sıra az sayıda yoğun veziküller lizozomlar ve nadiren lipid damlacıkları da mevcuttur. Bazal bölgede mitokondri ile ilişkili sık görülen multilameller cisimciklere sahip bazı glikojen depoları vardır (32).



Şekil 2-2: Endometrium Yüzey Epiteli Hücre Tipleri (32)

2.5.2. Bez Epiteli Hücreleri

2.5.2.1. Mikrovillüs Hücreleri

Bez epiteli mikrovillüs hücreleri konveksten yassıya kadar değişken bir yüzey şekline sahiptir ve çok sayıda mikrovilli ve sterolsilya içerirler. İyi gelişmiş NCS'ne sahiptirler. Sitoplazmada sık sık küçük mitokondriler ve az sayıda dev mitokondriler bulunur. Mikrovillus hücreleri belirgin glikojen depoları içerirler. Yüzey benzerlerinden daha fazla multilamellar cisim ve glikojen depolarına sahiptirler (32).

2.5.2.2. Pinopode Hücreleri

Bez epiteli apikal yüzeylerinde büyük çıkıntılar haline görülürler ancak yüzey epitelindeki gibi daha ince ve düzensiz yapıdadır. Sitoplazmasında bol miktarda salgı maddesi, multilamellar cisimcik ve glikojen depoları bulunur. Düz endoplazmik retikulum belirgindir ve apikal bölgede yerleşmiştir (32).

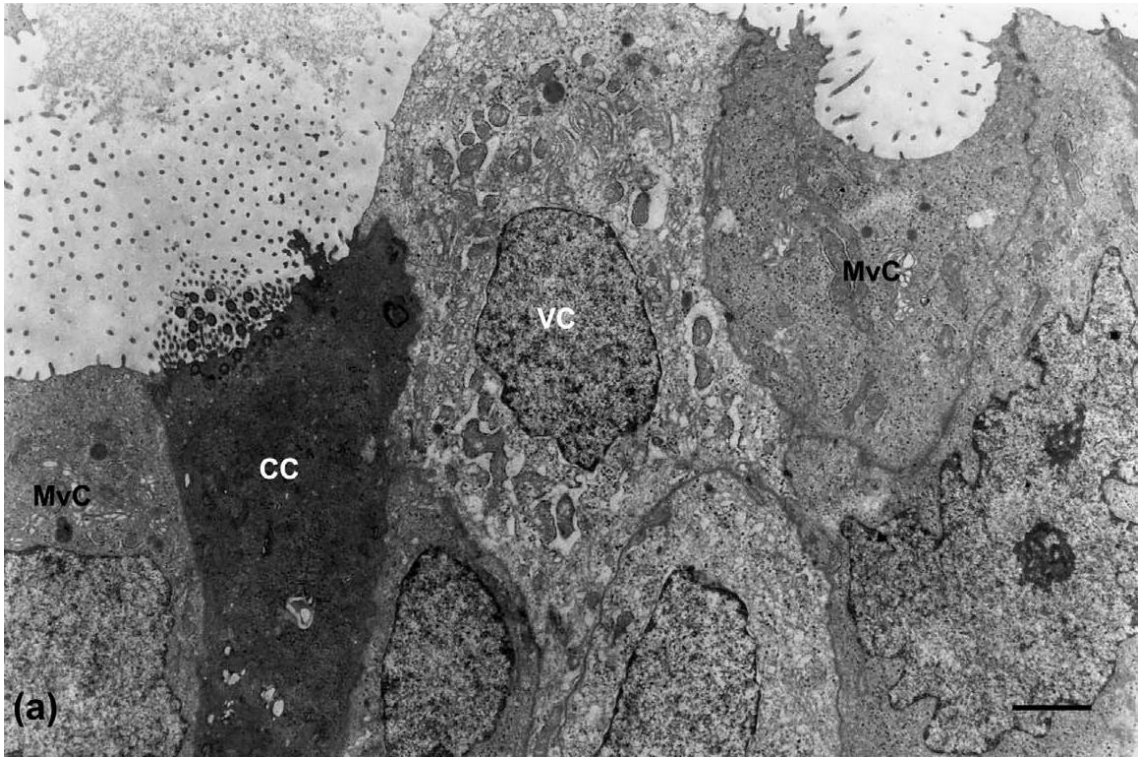
2.5.2.3. Vakuol Hücreleri

Yüzey epitelinde olduğu gibi vezikül birikimi nadiren küçük çıkıntılar oluşturan konkav lümenal yüzey şekline sahiptir. Az miktarda glikojen depoları içerir ve NCS'leri

küçüktür. Yüzey epiteli vesikül hücrelerine göre daha az holokrin salgı özelliği göstermektedirler (32).

2.5.2.4. Silli Hücreler

Bez epitelinde de çok az silli hücre gözlenmiştir. Mikrovilli ve silya içeren düz bir yüzeye sahiptir. Bol miktarda küçük mitokondirileri vardır. NCS yoktur, mitokondri ve lateral embrane invaginasyonlarına yakın yerleşimli çok sayıda multilameller cisim içermektedir. Genel olarak yüzey epiteli ile yakın özellik göstermektedir (32).



Şekil 2-3: Endometrium Bez Epiteli Hücre Tipleri (32)

2.6. Endometrium Epitelinde Bulunan Özel Yapılar

2.6.1. Multilameller cisimcikler

Multilameller cisimcikler (MLC), çoklu konsantrik membran tabakaları içeren lizozomal organellerdir. MLC'lerin boyutları 100 'den 2400 nm 'ye kadar değişir ve temel fonksiyonları lipidlerin depolanması ve salgılanması olan çeşitli hücre tiplerinde bulunurlar (33,34,35).

2.6.2. Nükleolar Kanal Sistemi

İnsan endometriumunun nükleolar kanal sistemi (NCS), nükleolar kanaliküller veya sepet yapısı olarak da tanımlanmaktadır (36,37). NCS, elektron yoğun bir matrikse

gömülü intranükleer membran yığınlarından oluşur ve çoğunlukla iç nükleer membran ve/veya nukleolusla ilişkilidir (38). NCS, menstrual siklusun 16–24. günlerinde geçici olarak görülen, sekretuvar faz endometrial epitelinin en büyük ultrastruktürel yapısal işaretlerinden biridir. Bu intranükleer membran sisternaları progesteron tarafından uyarılır (39,40). Ayrıca, NCS'nin ortaya çıkışı ile blastosistin tutunması için endometriumun hazırlığı arasında açık bir ilişki vardır (36). Doğum kontrolünde, oral kontraseptifler NCS oluşumunu engeller (41,42) ve bir intrauterin cihazın takılması, geç proliferatif fazda NCS'nin erken indüksiyonuna neden olarak döllenmiş yumurtanın implantasyonunu önler (43).

NCS 'nin 3 gelişim aşaması sınıflandırılmış. Erken gelişim aşamasında (tip 1), Olgun aşamada (tip 2 gerileme aşamasında (tip 3) NCS NCS sayısı (100 çekirdek başına) hormonal stimülasyon sonrası normal döngüden daha yüksek ve daha büyük gözlenmiş, ancak şekillerinde farklılık bulunmamış. Hormonal stimülasyon sonrası erken sekretuvar aşamada, NCS'nin daha fazla miktar ve daha büyük boyutta oluşunun, endometriumun artan aktivitesinin bir işareti olarak alınabileceğini ileri sürmüşler (44,45).

Bu nedenlerle, menstrual siklusun doğru zamanında endometriumda NCS'nin uyarılması, insan üremesi için gerekli olabilir. Aslında, sekresyon endometriumunda NCS'nin yokluğu, kısırlıkla ilişkilendirilmiş tek yapısal değişikliktir (39). NCS'nin önemi göz önüne alındığında, bu intranükleer membran sisternalarının yalnızca morfolojik olarak karakterize edilmiş olması ve 40 yıl önce keşfedilmelerine rağmen tam olarak anlaşılamaması şaşırtıcıdır (38).

NCS indüksiyonunun tepe noktası, ovulasyon sonrası dönemde blastosistin endometriuma bağlanma süresiyle paraleldir. Tüm epitel hücrelerinin sadece ~% 5'i NCS içerir ve bu hücreler endometrium boyunca dağılırlar (46,47). Bu nedenle, endometrial bağlanma için blastosist, NCS içeren bu epitelyal hücre kümelerini seçtiğini belirtmek uygundur. Bağlanmayı sağlamak için epitelyal NCS ve blastosistin trofoblastı arasında belirli bir sinyalleşme olayının gerektiği düşünülmektedir. İleriki çalışmalar blastosistin tutunması için bu sinyalleşmede hangi protein ve moleküllerin yer aldığının anlaşılması üzerine yoğunlaşmalıdır.

2.7. Endometrium Glikojen İçeriği

Endometrium bez ve yüzey epitelinde proliferatif fazın sonundan menstrual fazın başına kadar oldukça fazla miktarda glikojen birikimi olmaktadır. Başarılı bir gebeliğin meydana gelmesi için bu glikojen birikimi çok önemlidir. Endometriumda glikojen miktarının azlığı infertilite gelişmesine sebebiyet vermektedir (48,49).

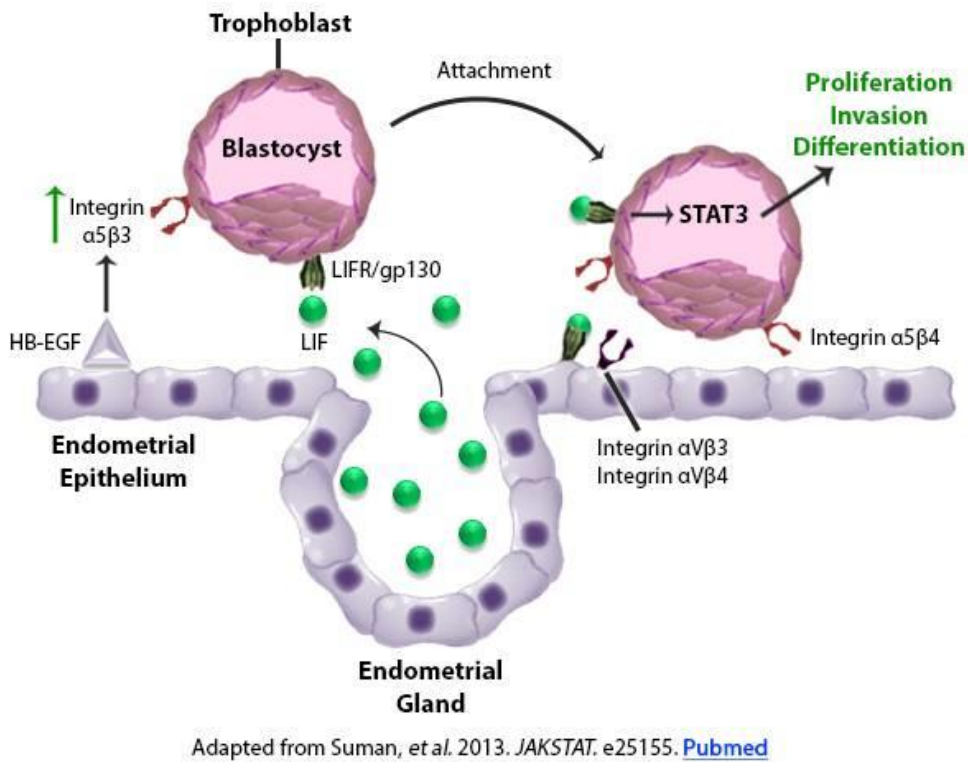
Glikojen glukozun depo formudur, glikogenez glukozun heksokinazlar (başlıca HK1 ve HK2) ile glukoz-6 fosfataza dönüştürülmesiyle başlar. Glukoz-6-fosfataz, glukoz-1-fosfata izomerleştirilir ve daha sonra uridin difosfat glukoz (UDP) 'a dönüştürülür. Glikojen sentetaz enzimi ile UDP-glukoz glikojen molekülü halini alır ve böylece döngü tamamlanmış olur. Endometriyumda glikojen sentetaz enzimi başlıca progesteron kontrolündedir (50,51).

2.8. Lösemi İnhibitör Faktör

Lösemi inhibe edici faktör (LIF), östrojen etkisinin önemli bir aracısı olan interlökin-6 sitokin ailesinin bir üyesidir (52). Başarılı bir implantasyon için gerekli olan LIF, biyolojik fonksiyonlara sahip bir dizi glikolize edilmiş glikoprotein yapıdan oluşur ve 40-50 kDa büyüklüğündedir (53). LIF, yüzey ve bez epitelinde, ayrıca stromada da eksprese edilir. En yüksek eksprese edildiği zaman geç sekretuar evredir (54). LIF, hücreler üzerindeki etkinliğini, transmembran proteini olan iki heterodimerik reseptörüne bağlanarak gerçekleştirir. Bunlar LIF-R ve Glikoprotein 130 (gp 130)'dur (55). LIF-R, LIF ile seçici olarak etkileşime girerken, gp130 diğer sitokinlerle de etkileşime girebilir (56). Sinyal iletimi, Janus kinazın (JAK) aktivasyonunu, ardından sinyal transdüserlerinin transkripsiyon (STAT) proteinlerin aktivatörlerinin, özellikle de STAT3'ün toplanmasını içerir. Alternatif olarak, LIF aynı zamanda mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) kaskadıyla hücre sinyalleşmesini başlatabilir (57,58).

LIF, insan gebeliğinin başarılı bir şekilde tamamlanması için gerekli olan sitokinlerden biri olarak kabul edilen IL-6 ailesinin pleiotropik bir sitokindir (59,60). Başlangıçta, LIF fare miyeloid lösemik hücrelerinin proliferasyonunu önleme ve makrofajlara farklılaşmalarını indüklemeye yeteneğine sahip bir sitokin olarak tanımlanmıştır (61). Bununla birlikte sonraki çalışmalarda, LIF 'in insanlarda, endometrial hücreler, fibroblastlar, hepatositler, osteoblastlar, monositler, makrofajlar, T hücreleri vb. çeşitli başka hücre tipleri tarafından da değişik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretildiği saptanmıştır (62,63). Aynı zamanda, granuloza-lutein ve

ovaryum stroma hücreleri tarafından da üretilir (64) . Foliküler sıvıda artan LIF konsantrasyonunun, embriyo kalitesi ile paralel olması, LIF'in ovulasyon fizyolojisinde ve erken embriyo gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. LIF, insanlarda, trofoblastların proliferasyon, invazyon ve farklılaşmasını teşvik ederek, blastosist implantasyonu için uterus alıcılığını kontrol etmektedir (65,66).



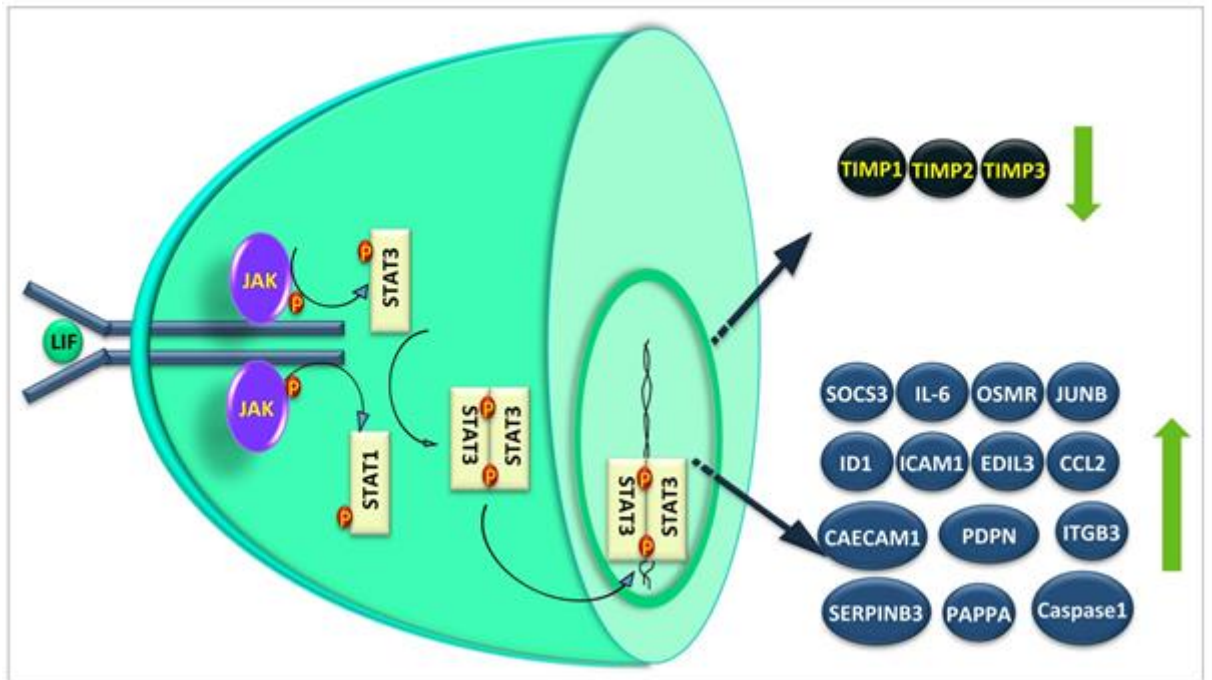
Şekil 2-4: İmplantasyon Dönemi LIF ve LIF-R (67)

2.9. LIF-STAT Sinyalizasyonu

LIF, IL-6 sitokin ailesinin diğer üyeleri gibi spesifik LIF-R ve gp130 sayesinde oluşturduğu sinyalini iletir. LIF'in reseptörüne bağlanması, trofoblastlarda hem STAT hem de RAS/MAPK sinyalleşme kaskadlarının aktivasyonuna yol açar. JAK-STAT yolu ilk defa sitokin reseptörlerinin sinyal iletim yolu olarak tanımlanmıştır. Daha sonra, bu yolun hücre büyümesi, farklılaşması, yaşam süresi ve göç gibi çeşitli biyolojik olayların kontrolünden sorumlu olduğu kanıtlanmıştır. STAT'lar, interferon - γ - aracılı sinyalizasyon ve DNA bağlanma yeteneği sayesinde, gen ekspresyonu ile ilişkili moleküller olarak keşfedildi (67).

Trofoblastik hücrelerin plazma membranında bulunan gp130 ve LIF-R kompleksine bağlanan LIF, sitoplazmada STAT3 ve/veya STAT1'i fosforile eden

JAK'ları (tyrosine kinase) aktive eder. Aktive edilmiş STAT'lar homo veya hetero dimerler oluşturarak birbirlerine bağlanırlar ve reseptörden ayrılırlar. Sinyalizasyon (iL-6, OSMr, SOCS3 ve JUNB), yapışma-adhezyon (CeCAM1, PDPN ve iTGB3), invazyon (PAPPA, Caspase1, SerPiNB3, TiMP1, TiMP2 ve TiMP3), anjiyogenez (iD1, iCAM1, eDiL3 ve CCL2), vb.) gibi farklı fonksiyonları düzenleyen çeşitli genlerin ekspresyonunu etkilemek için çekirdek içine hareket eder. Her bir döngüden sonra yeni STAT proteinleri sitokin reseptörlerine bağlanabilir, fosforilize olabilir, dimerize olup tekrar nükleusa göçebilir (67).



Şekil 2-5: LIF- Stat Sinyalizasyonu (67)

2.10. Lokal Hasarlanma

Endometrial biyopsi; anormal uterin kanama başta olmak üzere, post-menapozal kanama, anormal sitoloji, hormon tedavisinin takibi ve infertilite gibi birçok durumda sıklıkla başvurulmuş bir tanı yöntemidir (68). Endometrial biyopsi, tercihen Pipelle kateter kullanılarak yapılmaktadır, nedeni uygulaması kolay, ucuz, ağrısız ve anestezi gerektirmemesidir. Dilatasyon ve küretaj (D&C), anormal menstrüel kanama şikayetinde tanısal ve tedavi amacıyla uzun yıllardır kullanılan geleneksel bir yöntem olmasına rağmen rahim içi patolojileri tam olarak saptanamamıştır. Ayrıca D&C uygulamalarında genel anesteziye ihtiyaç duyulması hastalar için risk faktörü oluşturmakta ve maliyeti artırmaktadır. D&C işlemine bağlı olarak gelişen

komplasyonlar sebebiyle, son zamanlarda hastalara endometrial biyopsi uygulanmaktadır (69). Ayrıca biyopsi yapılırken endometriumda lokal hasar oluşturulmasının implantasyon başarısını artırdığı görülmüş ve sadece tanı yöntemi değil, tedavi edici özelliği olduğu da anlaşılmıştır. Tüp bebek tedavisi uygulanan ve TİB olan hastalarda lokal hasarlanma ile endometriumu iyileştirerek embriyo implantasyonunun arttığı, buna bağlı olarak canlı gebelik oranları ve sağlıklı doğum oranlarının da arttığı görülmüştür (70). Lokal hasarlanma uygulaması da pipelle kateter ile yapılmaktadır. Uygulama anında; steril kanül servikal ostan fundusa değinceye kadar ilerletilir. Kanülün içindeki piston kanülün proksimal ucundaki engele takılıncaya kadar geri çekilerek negatif basınç oluşturulur. Kanüle fundus ve internal servikal os arasında ileri geri ve rotasyon hareketleri yaptırılarak endometrium dokusundan örnek alınır. (71).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 27.12.2012 tarihli ve 4474 sayılı kararı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya İ.Ü. Kadın Hastalıkları Anabilim Dalı İnfertilite bölümüne başvuran, açıklanmayan infertilite teşhisi koyulan ve tüp bebek tedavisi denendiği halde gebe kalamayan hastalar dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan anamnez alınarak, hastaların yaş, tıbbi öyküleri, menstrüasyon durumu, infertilite süresi, infertilite için yapılan önceki tedaviler sorgulandı. Çalışmada yer alan tüm hastaların Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu belirtilen kurallara uygun olarak hazırlandı ve araştırmacı tarafından okutularak hastaların onayı alındı.

3.1. Endometrium Doku Örneklerinin Toplanması

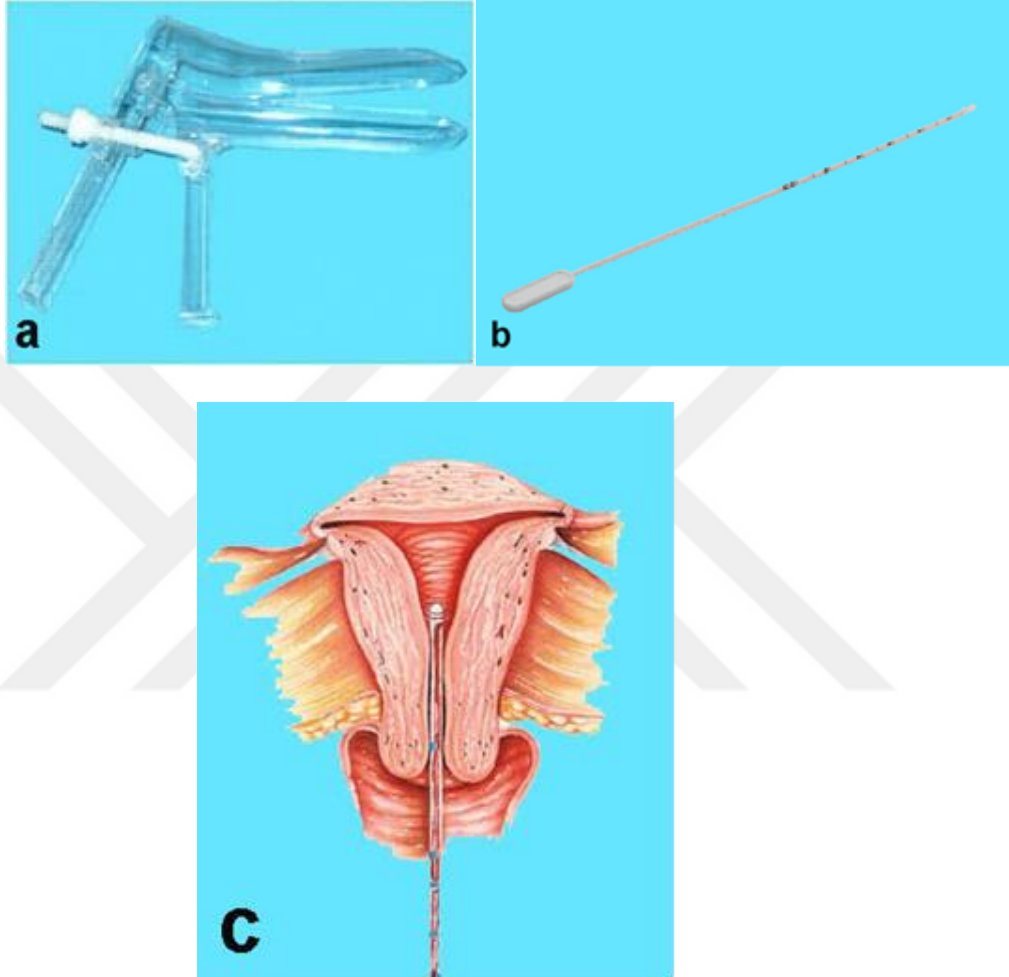
Çalışmamıza TİB yaşayan 8 infertil kadından negatif basınçlı pipelle kateter ile aspirasyon yapılarak alınan endometrium doku örnekleri elde edildi. TİB olan 8 kadından endometrium biyopsisi yapılmadan önce (Birinci Grup) ve yapıldıktan sonraki ilk sikluslarından alınan endometrium doku örneklerinden (İkinci Grup) oluşan iki grup çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması 31 olarak bulundu ve ortalama infertilite süresi ortalama 3 yıl olarak saptandı.

Birinci Grup (n:8)

Çalışmamıza dahil edilen 8 kadının adet döngülerinin 21.gününde endometriumlarına lokal hasarlanma uygulanmıştır. Bu işlem esnasında hastaya herhangi bir anestezi uygulanmadı. Hasta vaginal muayene pozisyonunda yatırılarak, vagina içinin izlenmesi için hastaya steril bir spekülüm yerleştirildi. Vagina temizlenerek spekülüm içerisinden geçirilen pipelle katater ile önce rahimin iç kısmına hasar verildi ve biyopsi alındı. Bu alınan biyopsi hem ışık hemde elektron mikroskopik incelenmek üzere uygun ortama koyuldu.

İkinci Grup (n:8)

Aynı hastalardan bir sonraki adet siklusunun yine 21.gününde Pipelle kateter ile hasarlanma oluşturmada sadece endometrium biyopsi alındı. Alınan biyopsiler ışık ve elektron mikroskopik incelenmek üzere uygun ortama koyuldu.



Şekil 3-1: a) Spekülüm b) Pipelle Kateter c) Pipelle Kataterin Uterusa Uygulanması

3.2. Işık Mikroskopik Yöntemler

Alınan tüm endometrium biyopsileri ışık mikroskop takibi için taze hazırlanan fosfat tamponlu % 10'luk formalin solüsyonuna konularak 12 saat fikse edildi ve yükselen alkol serilerinde (% 70, % 80, % 90, % 100) 24 saat tutularak dehidrate edildi. Bir günlük işlemlerin sonunda, örnekler 1 saat yeni % 100 alkolde ve 1 saat şeffaflaşması için toluolde bekletildi. Daha sonra 56 °C'lik etüvde (Heraeus) parafin içerisinde 2-3 saat bekletilerek, blok haline getirildi. Bu bloklardan mikrotom ile 2 µm kalınlığında kesitler alındı, alınan kesitler hematoksisilen eosin ve Masson trikrom

boyaması için normal lamlara, LIF ve LIF-R immünohistokimya boyaması için pozitif yüklü lamlara alındı.

3.2.1. Hematoksilen Eosin Boyaması

Kesitler parafinden arınmaları için 2 saat 56 °C'lik etüvde ve bir gece toluolde bekletildi. Azalan alkol serilerinden geçirilerek (sırasıyla % 100, % 96, % 90, % 70) distile suya indirildi. Hematoksilende 20 dakika boyanan kesitler, 30 dakika morarma için çeşme suyunda bırakıldı. Ardından eosin ile 1 dakika boyandı ve distile su ile yıkandı. Kesitler yükselen alkol serilerinden (sırasıyla % 70, % 90, % 96 ve % 100) geçirildi. 15 dakika Toluolde şeffaflaştırılan kesitler Kanada Balsamı ile kapatıldı. Kesitler genel morfolojik özelliklerinin saptanması için ışık mikroskopunda incelendi.

3.2.2. Masson Trikrom Boyaması

Kesitler parafinden arınmaları için 2 saat 56 °C'lik etüvde ve bir gece toluolde bekletildi. Azalan alkol serilerinden geçirilerek (sırasıyla % 100, % 96, % 90, % 70) distile suya indirildi. Kesitler hematoxilende 10 dakika boyandı ve çeşme suyunda 10 dakika morarmaya bırakıldı. Ardından Ponceau ksilidin solüsyonu ile 3 dakika boyandı ve % 1'lik asetik asitten geçirildi. Orange-G ile 7 dakika boyanan kesitler, yine % 1'lik asetik asitten geçirildi. Son aşama olarak kesitler Light green ile 4 dakika boyandı ve yine % 1'lik asetik asitten geçirildi. Boyama aşamaları tamamlanan kesitler yükselen alkol serilerinden geçirilerek (% 70, % 90, % 96, % 100) 15 dakika toluolde şeffaflaştırıldı ve Kanada balsamı ile kapatıldı. Kesitler bağ dokusu elemanlarının saptanması için ışık mikroskopunda incelendi.

3.2.3. İmmünohistokimyasal Boyamalar

Parafin bloklardan LIF (Santa Cruz (N:18): sc 1336) ve LIF-R (Santa Cruz C:19): (sc-659) işaretlenmesi için pozitif yüklü lamlara (Thermo Scientific) 2 µm kalınlığında kesitler alındı.

3.2.3.1. LIF ve LIF-R İmmünohistokimya Boyaması

Kesitler parafinden arınmaları için 1 gece 56 °C'lik etüvde bekletildi. Ertesi sabah etüvden alınan kesitler 45 dakika toluolde bekletildi. Kesitler azalan alkol serilerinden 2x1 şeklinde geçirilerek suya indirildi (% 100, % 90, % 80, % 70). Sitrat tampon hazırlandı (pH:6), mikrodalga fırında 3 kez kaynatılarak (aralarda 5 dakika soğutma) antijen iyileştirme yapıldı. Son mikrodalga uygulamasından sonra 20 dakika

bekletilen kesitler iyice soğutuldu ve PBS ile yıkandı (3x5dk). Kesitlerin sınırları Pappen ile belirlenerek, H₂O₂'de endojen peroksidazı bloklamak için karanlıkta 20 dakika bekletildi. Kesitler daha sonra PBS ile yıkandı (3x5dk) ve özgül olmayan antikör bağlanmalarını engellemek için 20 dakika blok serumda bekletildi. Kesitlere 1/50 ve 1/100 oranında dilüe edilmiş LIF ve LIF-R primer antikoru uygulandı ve bir gece +4 derecede buzdolabında bekletildi ve PBS'ten geçirildi(3x5dk). Kesitler 25 dakika sekonder antikorda bekletildi. Daha sonra distile su ve PBS ile yıkandı (3x5dk). Kesitler 25 dakika Streptavisin HRP'de bekletilerek distile su ve PBS ile yıkandı(3x5dk). Kesitler AEC kromojeniyle boyanarak distile su ile yıkandı. Mayer hematoksilen ile 1.5 dakika zıt boyanma yapıldı. Saf su ile yıkanan kesitler morarma için 15 sn amonyaklı sudan geçirildi. Sıvı bazlı kapatıcı ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda immunreaktivite için incelendi.

Endometrium dokusunda LIF ve LIF-R immünohistokimyasal boyanmanın şiddeti ve pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesi, daha önce tarif edildiği gibi yarı-kantitatif immünreaktivite skorlaması (IRS) kullanılarak değerlendirildi (72). IRS, boyanma şiddetinin [0= negatif (-) boyanma yok, 1= zayıf (+), 2= orta (++) ve 3= güçlü (+++) boyanma olarak derecelendirildi ve pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesi (0= negatif, boyanma yok, 1= hücrelerin <% 10, 2= hücrelerin % 10 - 50, 3= hücrelerin % 51 – 80 'i ve 4= hücrelerin > %80 'i) olarak değerlendirildi (73).

Tablo 3- 1: İmmünreaktivite Skor (IRS) hesaplaması

A-Pozitif Boyanan Hücrelerinin Yüzdesi	B- Boyanma Şiddeti	IRS Skoru
0= negatif (-) boyanma yok	0= negatif (-) boyanma yok	0-1= negatif
1= hücreler <% 10	1= zayıf (+)	2-3= zayıf
2= hücreler % 10 – 50	2= orta (++)	4-8= orta
3= hücreler % 51 – 80	3= güçlü (+++)	9-10= güçlü
4= hücrelerin > %80	IRS (Ax B): 0-12	

Kesitler, Olympus fotomikroskobu kullanılarak iki histolog tarafından incelendi. Dijital görüntüler bir dijital kamera sistemi (Olympus) ile elde edildi ve bilgisayara kaydedildi. Sonuçlar, anlamlı farklılıkların karşılaştırılması ve değerlendirilmesi için non-parametrik Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirildi (SPSS, Chicago, IL, ABD). Anlamlılık P <0.05 olarak kabul edildi.

3.3. Elektron Mikroskopik Yöntemler

Endometrium biyopsileri elektron mikroskop değerlendirmesi için 1 mm³'lük doku parçaları olacak şekilde 0,1M fosfat tamponlu %2,5'lik gluteraldehit solüsyonuna konularak tespit edildi. % 1'lik osmik asit içinde 1 saat süreyle yapılan postfiksasyon sonrası % 1'lik uranil asetat içinde en blok kontrastlama uygulandı. Dereceli aseton serilerinde (% 30, % 50, % 70, % 90, % 96, % 100) dehidrate edilen parçalar, birer saat süreyle 1:1 ve 1:3 aseton-Epon karışımlarına ve son olarak saf Epon içine gömüldü. Daha sonra dokular kapsüller içinde Epona gömülerek 18 saat 60 °C' lik etüvde polimerize edildi. Hazırlanan bloklardan ultramikrotomda cam bıçakla alınan 0,5 µm kalınlığındaki yarı ince kesitlerde hedef bölümler saptandıktan sonra 40-60 nm kalınlığında ince kesitler alındı. Bu kesitler 100 meshlik gridler üzerine aktarıldıktan sonra kontrastlama için 30 dakika uranil asetat ve 10 dakika kurşun nitrat ile boyandı. Kesitler transmisyon elektron mikroskopunda (JEOL-JEM 1011) değerlendirmeye alındı.

4. BULGULAR

4.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

Birinci gruba ait endometrium LIF antikoru boyanma şiddetine bakıldığında yüzey ve bez epitelinde boyanma yoktu veya zayıf (1, +, boyanma şiddeti) boyanma görüldü (Şekil 4-3). İkinci grubun yüzey ve bez epitelinde LIF antikoru boyanma şiddetine bakıldığında boyanma yoktu veya zayıf (1, +, boyanma şiddeti) boyanma görüldü. (Şekil 4-4).

Birinci gruba ait endometrium yüzey ve bez epiteli LIF antikoru pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesine bakıldığında negatif veya $< \% 10$ (1, pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesi) olarak bulundu. İkinci gruba ait endometrium yüzey ve bez epiteli LIF antikoru pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesine bakıldığında $< \% 10$ (1) ve $\% 10 - 50$ (2) olarak bulundu.

Birinci grubun yüzey ve bez epiteli LIF immünoreaktivite skorlamaları hesaplandığında 0 ve 1 olarak negatif bulundu. İkinci grubun yüzey ve bez epiteli LIF immünoreaktivite skorlaması hesaplandığında 1 ve 2 olarak negatif ve zayıf şeklinde bulundu. Birinci ve ikinci grup arasındaki LIF yüzey ve bez epiteli ortalama IRS değerleri istatistiksel açıdan anlamlıydı (sırasıyla $p = 0,007328$, $p = 0,01174$, $p < .05$.) (Tablo 4-1, Şekil 4-1)

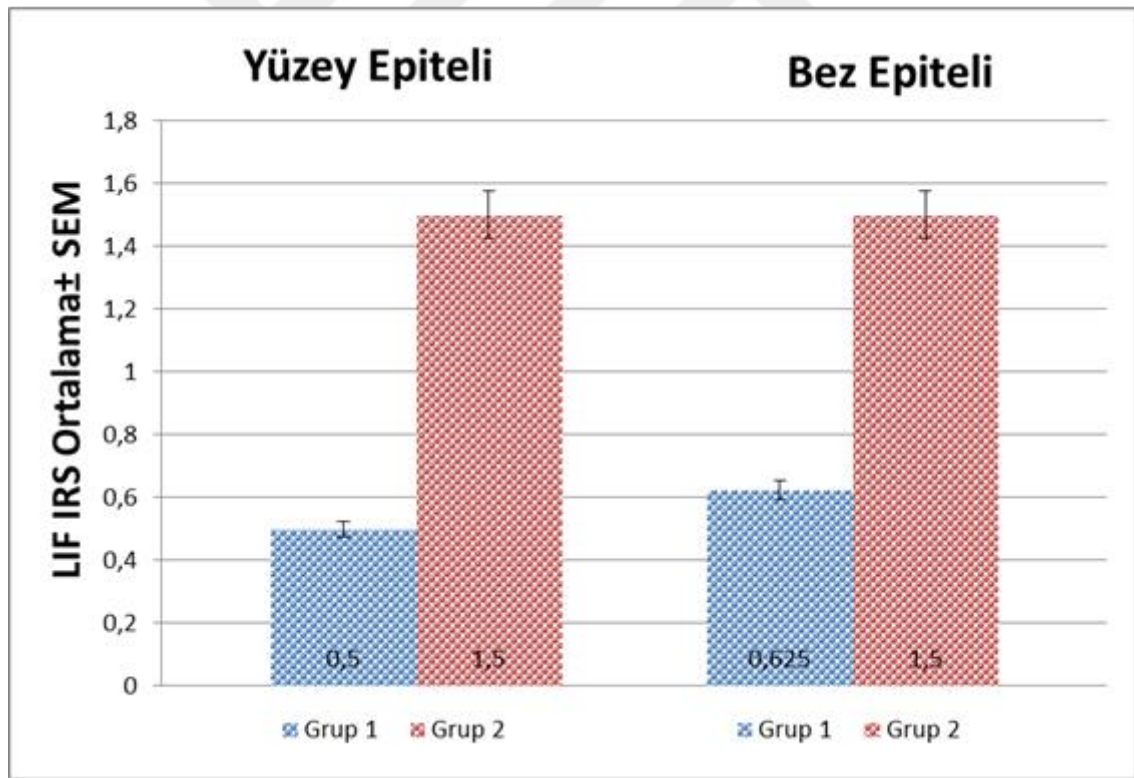
Birinci grubun yüzey epiteli ve bez epitelinde LIF-R boyanma şiddeti zayıf (1, +, boyanma şiddeti) ve orta şiddette (2, ++, boyanma şiddeti) boyanma gösterdi. (Şekil 4-5, Şekil 4-6) İkinci gruba ait endometrium yüzey epiteli ve bez epitelinde orta (2, ++, boyanma şiddeti) ve güçlü (3, +++, boyanma şiddeti) LIF-R boyanma şiddeti gösterdi. (Şekil 4-7, Şekil 4-8). Birinci gruba ait endometrium yüzey ve bez epiteli LIF-R pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesine bakıldığında $\% 10 - 50$ (2, pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesi) ve $\% 51 - 80$ (3, pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesi) olarak bulundu. İkinci gruba ait endometrium yüzey ve bez epiteli LIF-R pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesine bakıldığında $\% 10 - 50$ (2, pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesi) ve $\% 51 - 80$ (3, pozitif boyanan hücrelerinin yüzdesi) olarak bulundu.

Birinci grubun yüzey epiteli LIF-R immünoreaktivite skorlamaları hesaplandığında 2 ve 3 olarak zayıf bulundu. Birinci grubun bez epiteli LIF-R

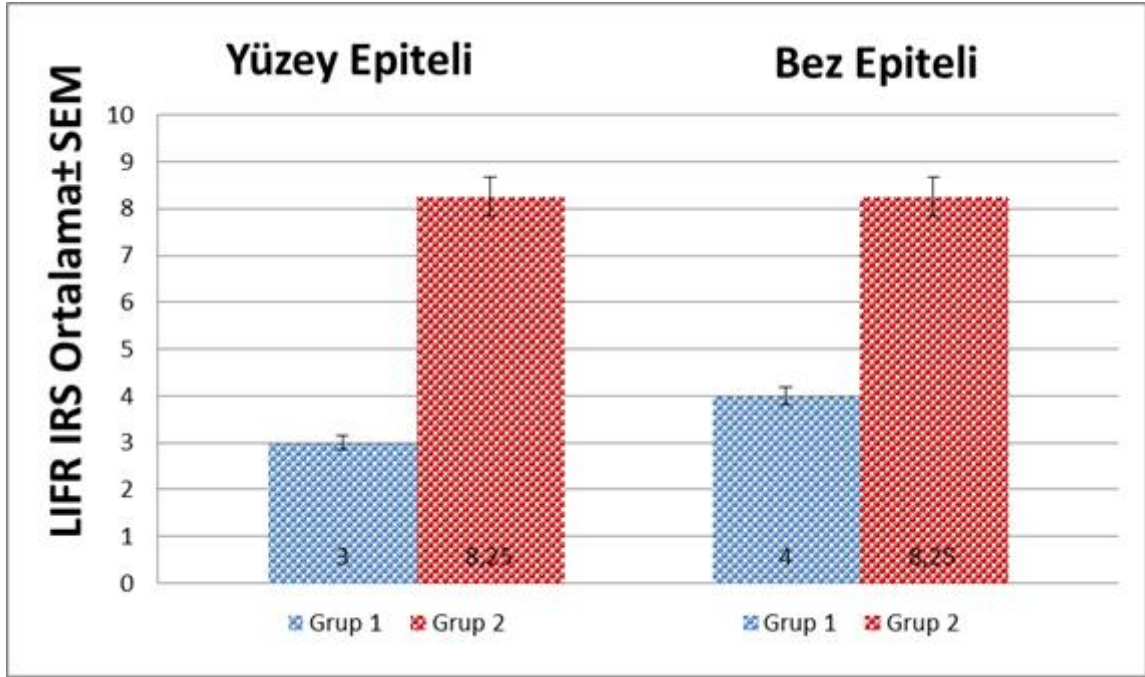
immünoreaktivite skorlamaları hesaplandığında 0 ve 1 olarak negatif bulundu. İkinci grubun yüzey epiteli LIF-R immünoreaktivite skorlaması hesaplandığında 2 ve 6 olarak zayıf ve orta şeklinde bulundu. İkinci grubun bez epiteli LIF-R immünoreaktivite skorlaması hesaplandığında 6 ve 9 olarak orta ve güçlü şeklinde bulundu. Birinci ve ikinci grup arasındaki LIF-R yüzey ve bez epiteli ortalama IRS değerleri istatistiksel açıdan anlamlıydı (sırasıyla $p=0,0006185$, $p=0,00122$, $p<0,05$) (Tablo 4-1, Şekil 4-2)

Tablo 4-2: Birinci ve ikinci gruba ait yüzey ve bez epiteli LIF ve LIF-R ortalama IRS $\pm$ SEM değerlerini gösteren tablo

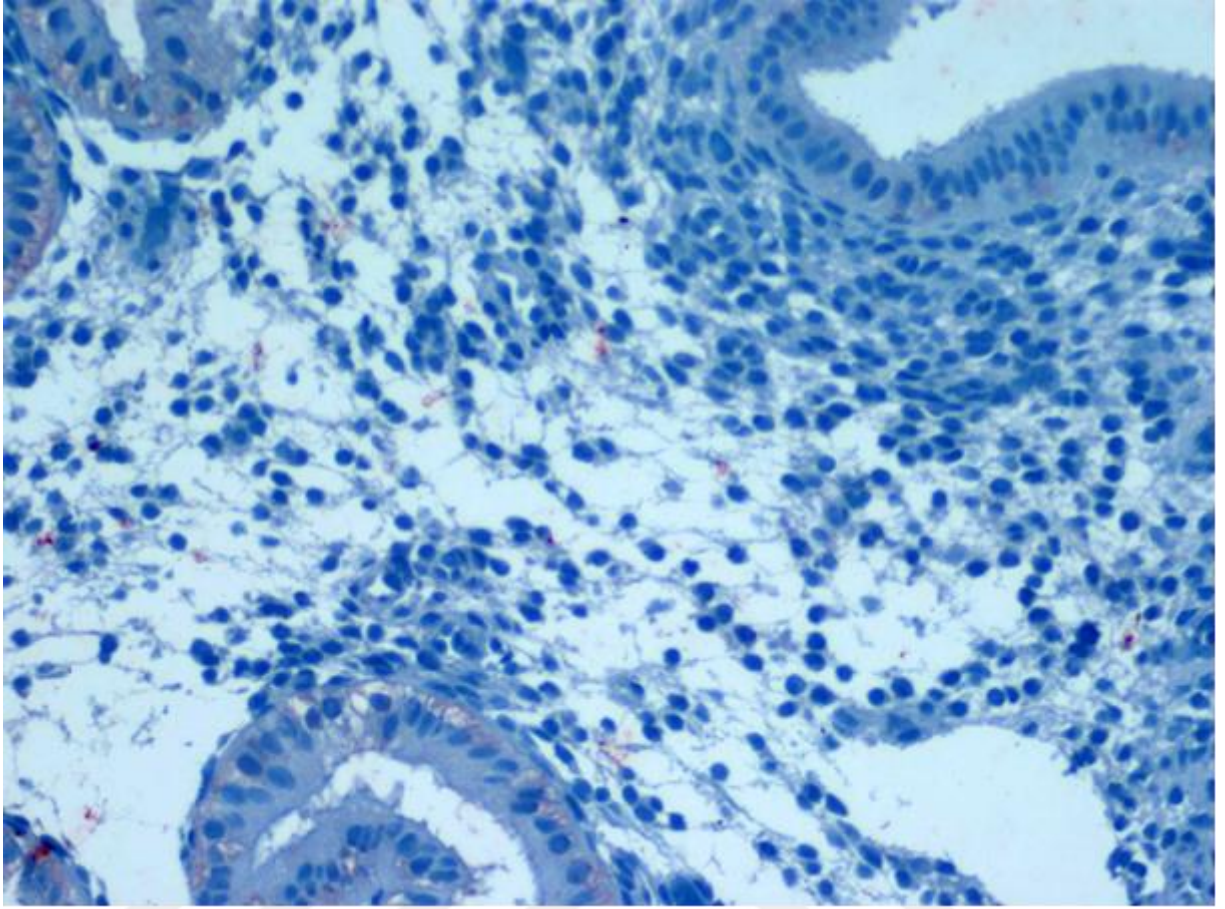
	1. Grup		2. Grup	
	Yüzey Epiteli	Bez Epiteli	Yüzey Epiteli	Bez Epiteli
LIF Ortalama IRS $\pm$ SEM	0,5 $\pm$ 0,188982	0,625 $\pm$ 0,182981	1,5 $\pm$ 0,188982	1,5 $\pm$ 0,188982
LIF-R IRS Ortalama $\pm$ SEM	3 $\pm$ 0,327327	4 $\pm$ 0,534522	8,25 $\pm$ 0,49099	8,25 $\pm$ 0,49099



Şekil 4-1: Birinci ve ikinci grubun yüzey ve bez epiteli LIF IRS Ortalama $\pm$ SEM değerlerini gösteren grafik.

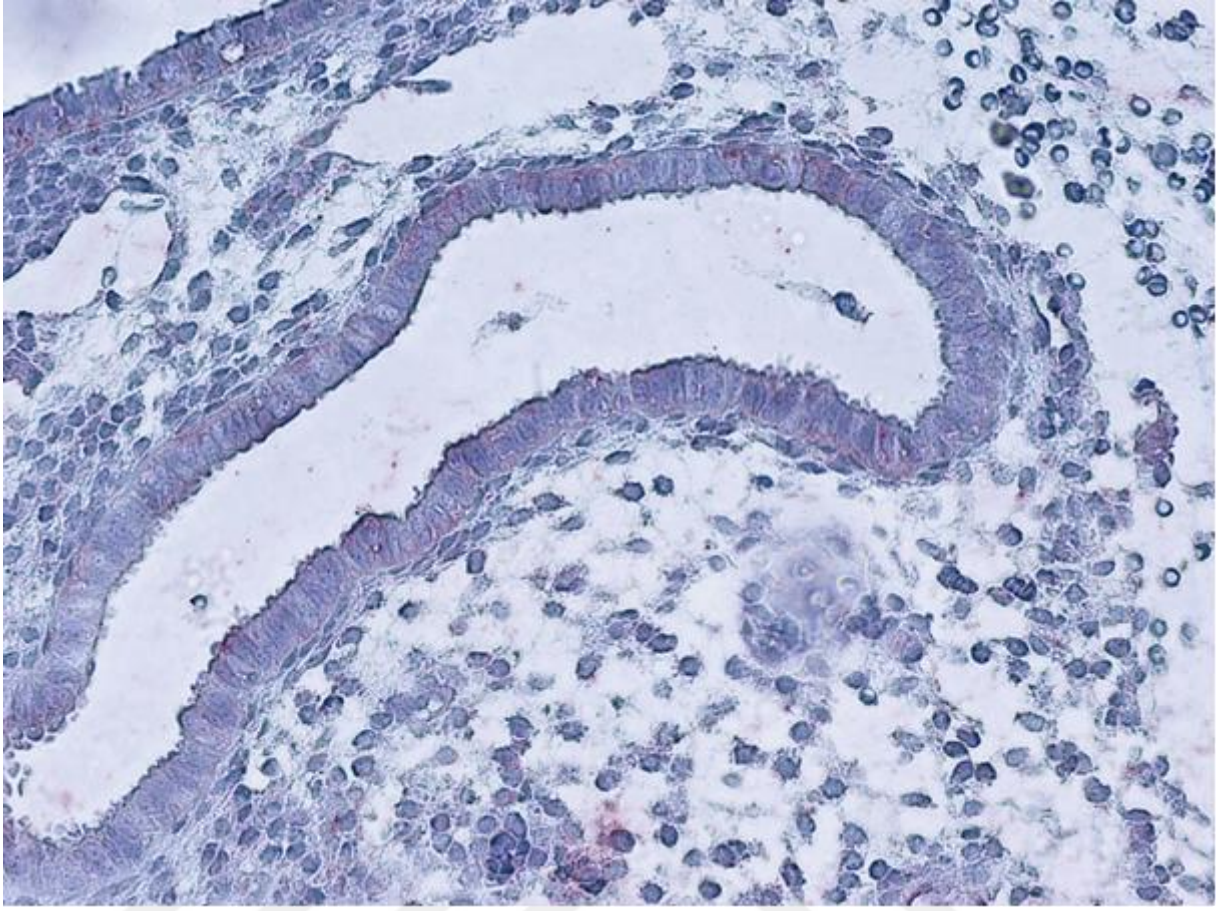


Şekil 4-2: Birinci ve ikinci grubun yüzey ve bez epiteli LIF-R IRS Ortalama $\pm$ SEM değerlerini gösteren grafik.



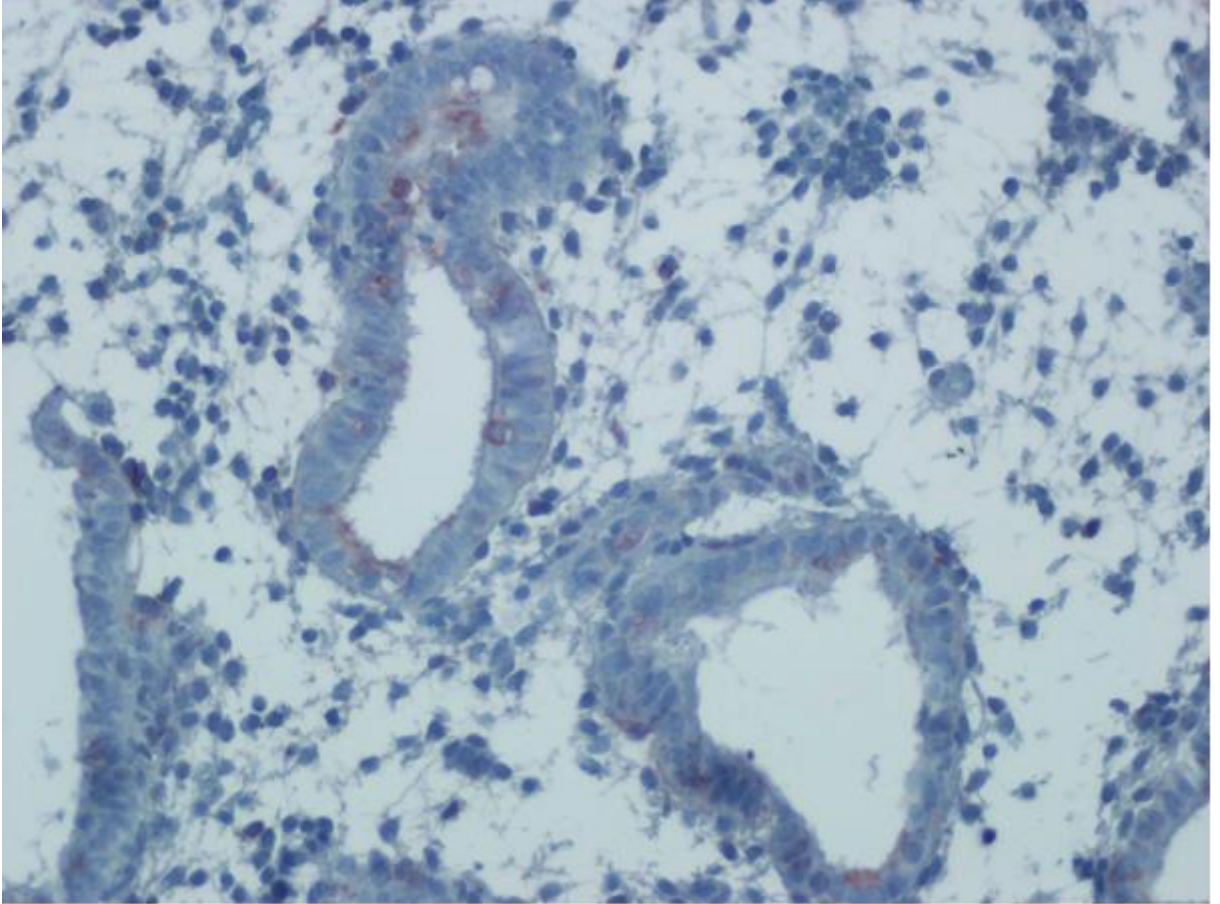
Şekil 4-3: Birinci grubun endometrium biyopsi örneğinin LIF immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epitelini gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.

Büyütme x40.



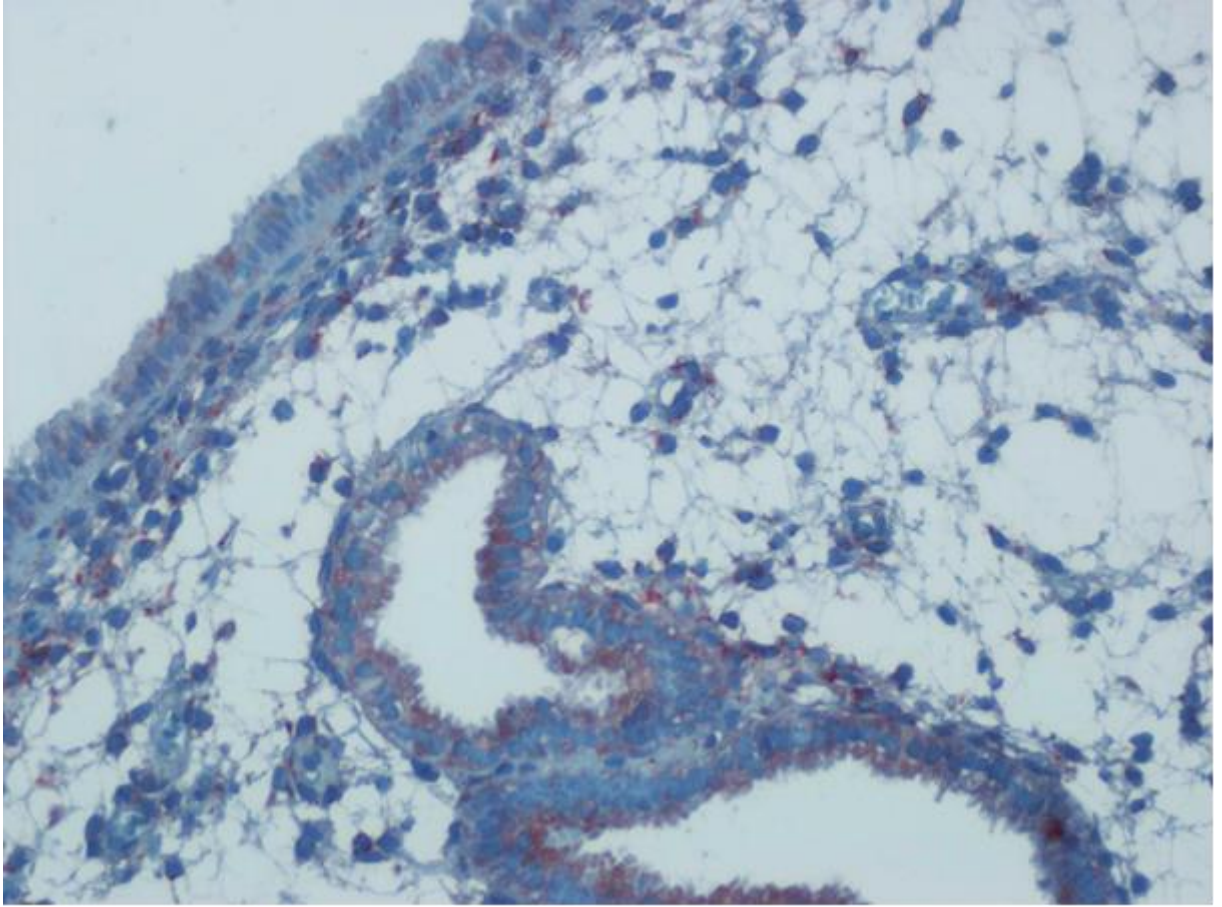
Şekil 4-4: İkinci grubun endometrium biyopsi örneğinin LIF immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epitelini gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.

Büyütme x40.



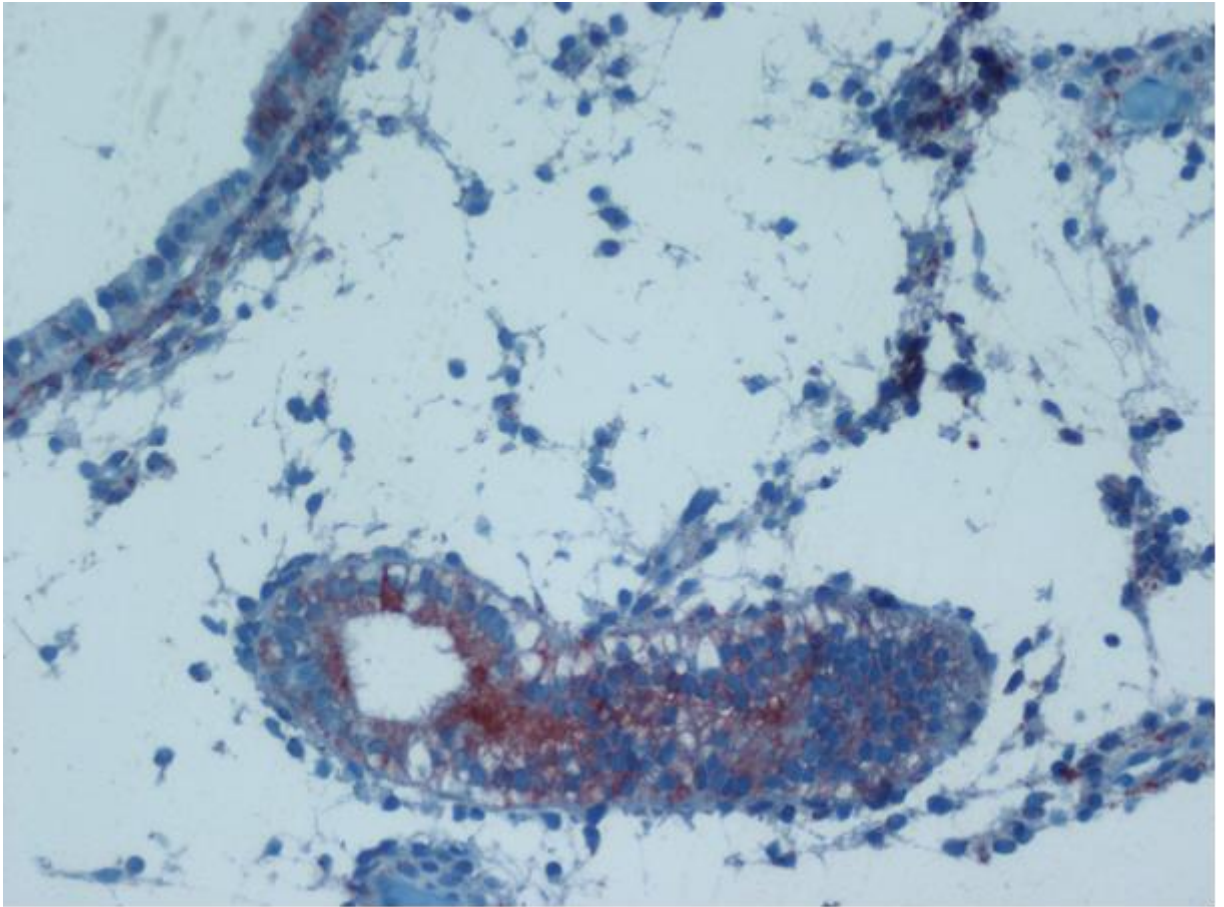
Şekil 4-5: Birinci grubun endometriumunun biyopsi örneğinin LIF-R immünohistokimya boyamasının bez epitelini gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.

Büyütme x40.



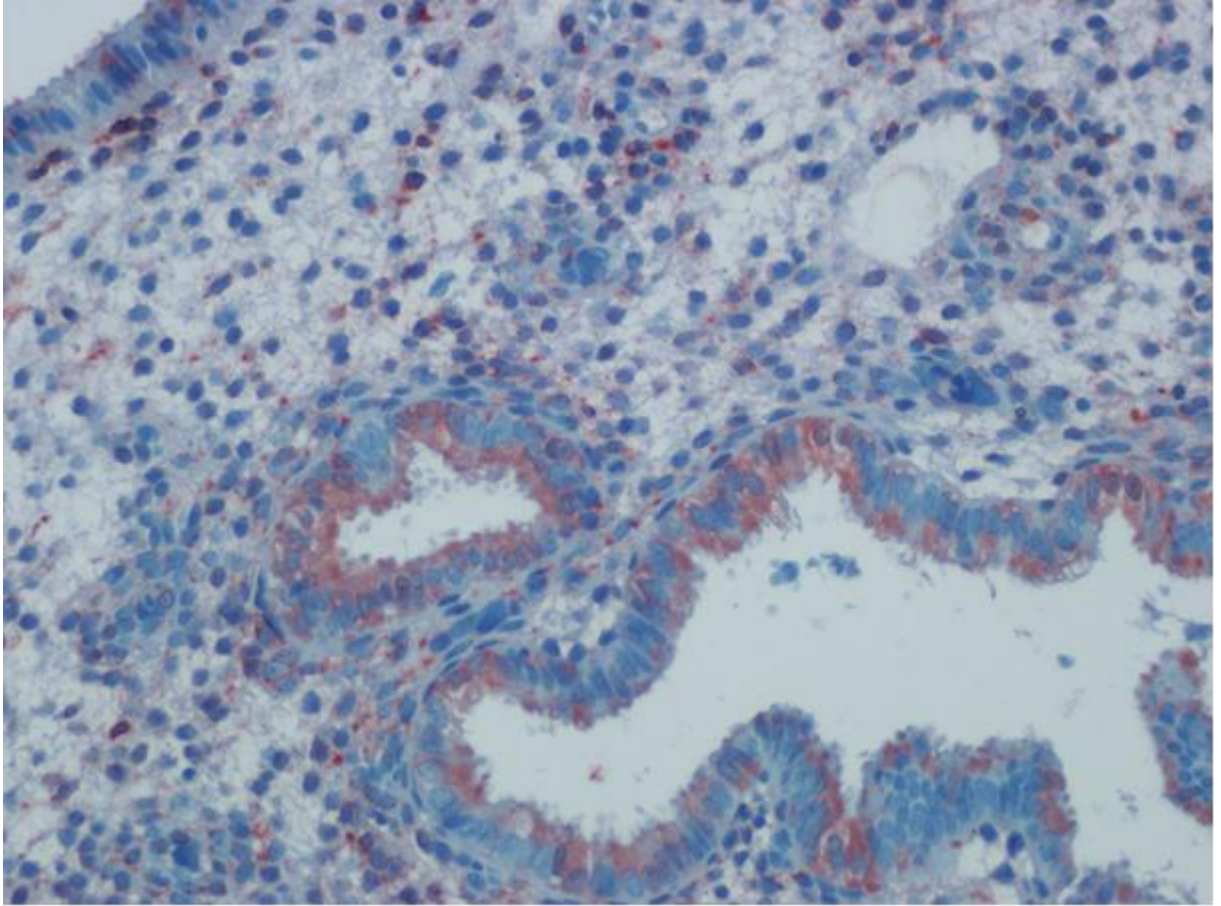
Şekil 4-6: Birinci grubun endometriumunun biyopsi örneğinin LIF-R immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epiteli gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.

Büyütme x40.



Şekil 4-7: İkinci grubun endometriumunun biyopsi örneğinin LIF-R immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epitelinin gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.

Büyütme x40.



Şekil 4-8: İkinci grubun endometriumunun biyopsi örneğinin LIF-R immünohistokimya boyamasının yüzey ve bez epiteli gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.

4.2. Histokimyasal Bulgular

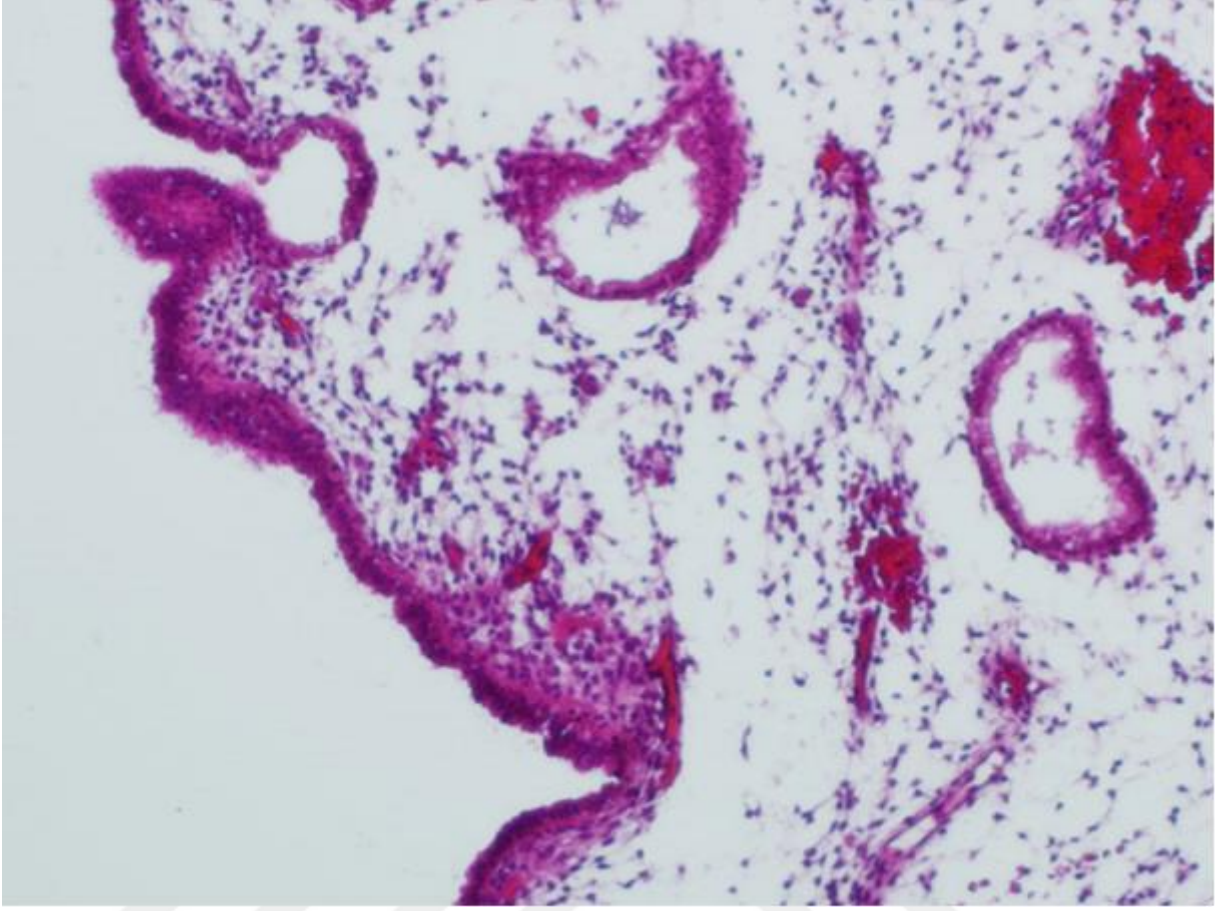
TİB olan kadınların birinci ve ikinci biyopsisindeki yüzey ve bez epiteline ait histolojik değerlendirme için hematoxilen ve eosin ve Masson trikrom histolojik boyamaları kullanıldı.

Birinci ve ikinci grupta lümene bakan yüzeyde sağlam ve süreklilik gösteren epitel hücrelerinden oluşan yüzey epiteli uzanmaktaydı (Şekil 4-9, Şekil 4-10). Birinci

grubun yüzey ve bez epiteli, tek katlı ve yalancı çok katlı silindirik kinosilyalı epitel arasında değişiyordu (Şekil 4-11, Şekil 4-12). İkinci grupta basit silindirik epitel gözlenirken bez epiteli basit silindirik ve yalancı çok katlı silindirik epitel arasında değişiyordu (Şekil 4-13, Şekil 4-14).

Birinci ve ikinci grupta lamina propiria gevşek bağ dokusu, kan damarları ve tübüler bezler içeriyordu. Yüzey ve bez epitelleri incelendiğinde hücrelerin sitoplazmalarında yoğun şekilde salgı vakuolleri görüldü (Şekil 4-15, Şekil4-16). İkinci grupta yüzey ve bez epitel hücrelerinde birinci gruba göre vakuolizasyon daha fazlaydı (Şekil 4-16).

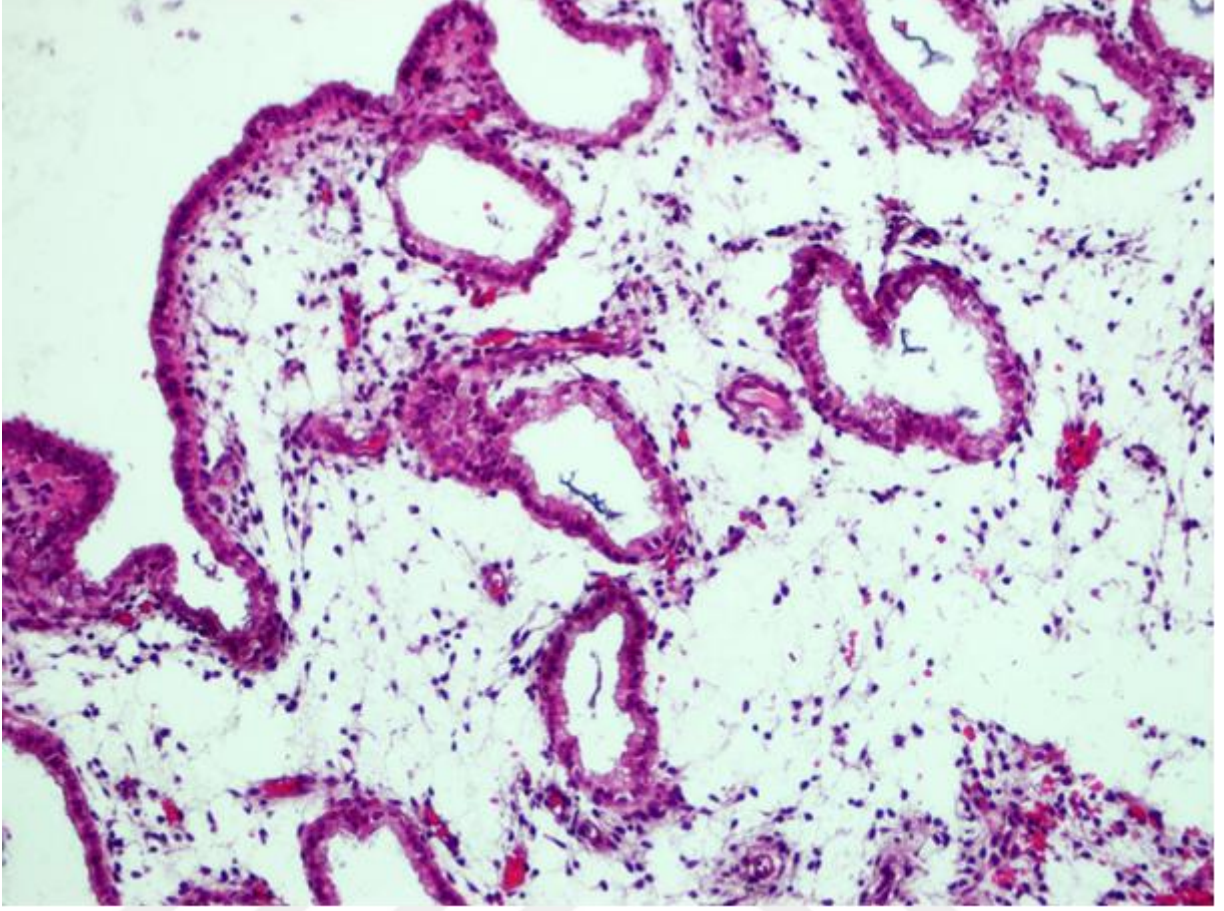
Yüzey epitelinin çoğunlukla boyu 1. grupta 2. gruba benzer biçimde yüksek olarak görüldüyse de yer yer alçak prizmatik veya kübik epitel olarak gözlendi. İkinci grupta yüzey epitel hücreleri apikal yüzeylerinde birinci gruba göre daha fazla uzantılar içeriyordu.



Şekil 4-9: Birinci grubun endometrium biyopsi örneğinin ışık mikroskobu fotoğrafı.

Hematoksilen ve Eozin boyası.

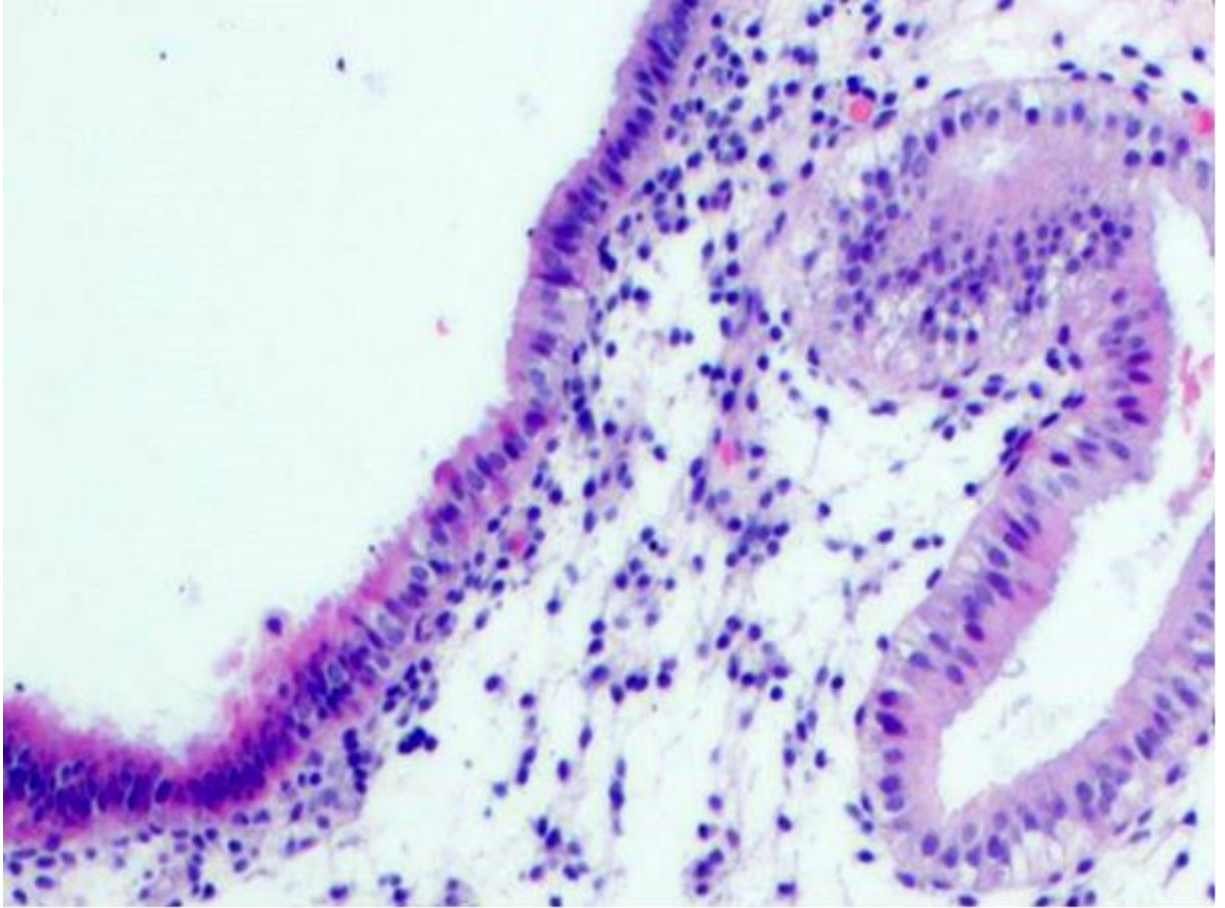
Bütütme x10.



Şekil 4-10: İkinci grubun endometrium biyopsi örneğinin ışık mikroskobu fotoğrafı.

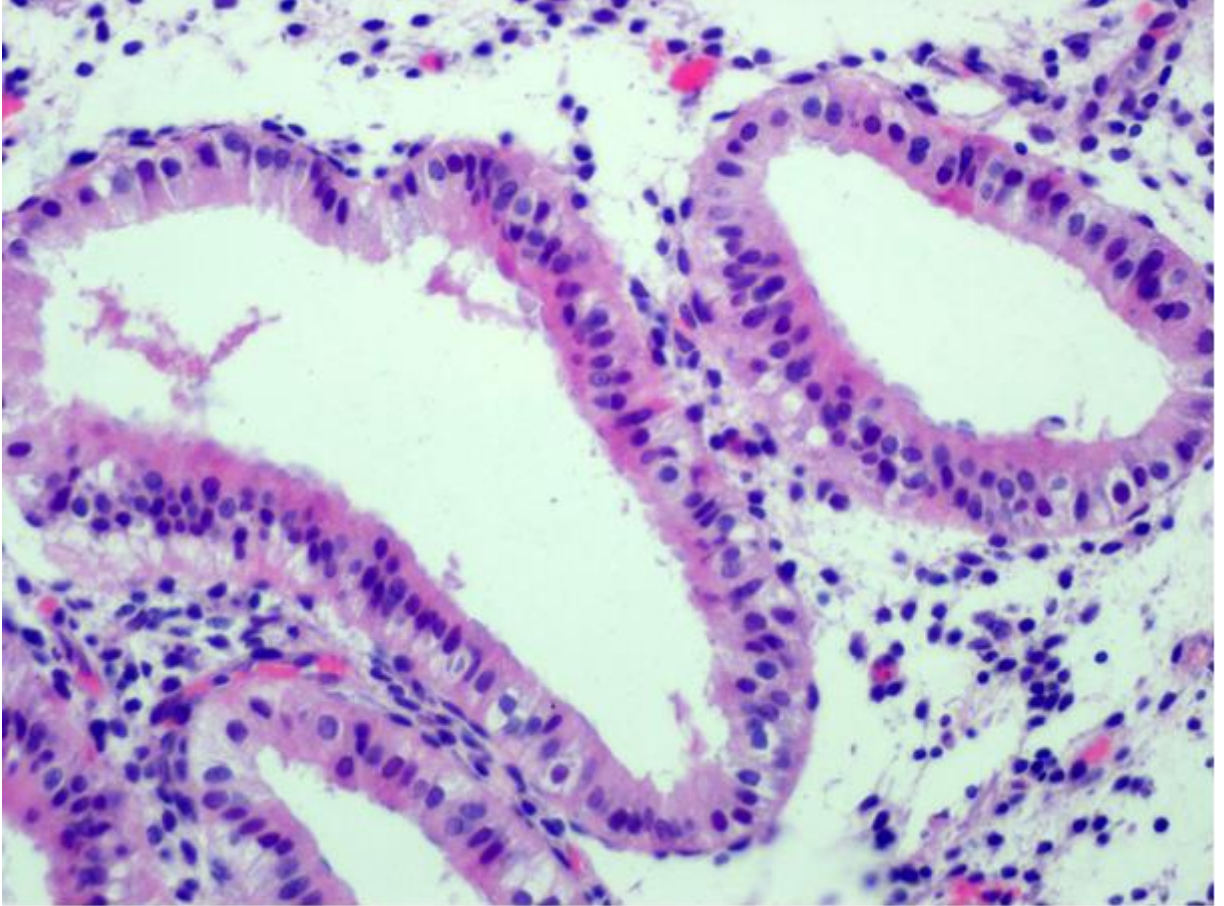
Hematoksilen ve Eozin boyası.

Büyütme x10.



**Şekil 4-11: Birinci grubun endometrium yüzey epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı.
Hematoksilen ve Eozin boyası.**

Büyütme x40.



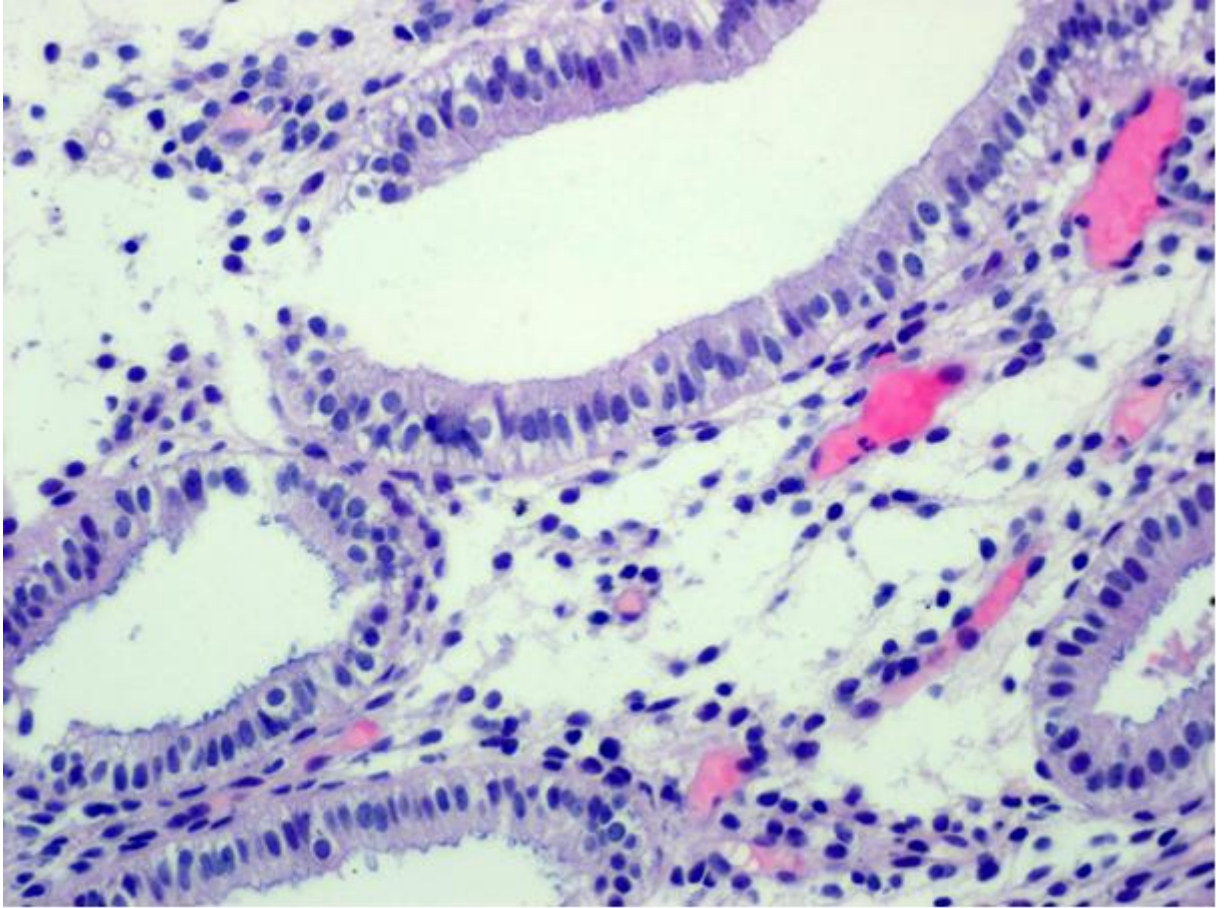
**Şekil 4-12: Birinci grubun endometrium bez epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı.
Hematoksilen ve Eozin boyası.**

Büyütme x40.



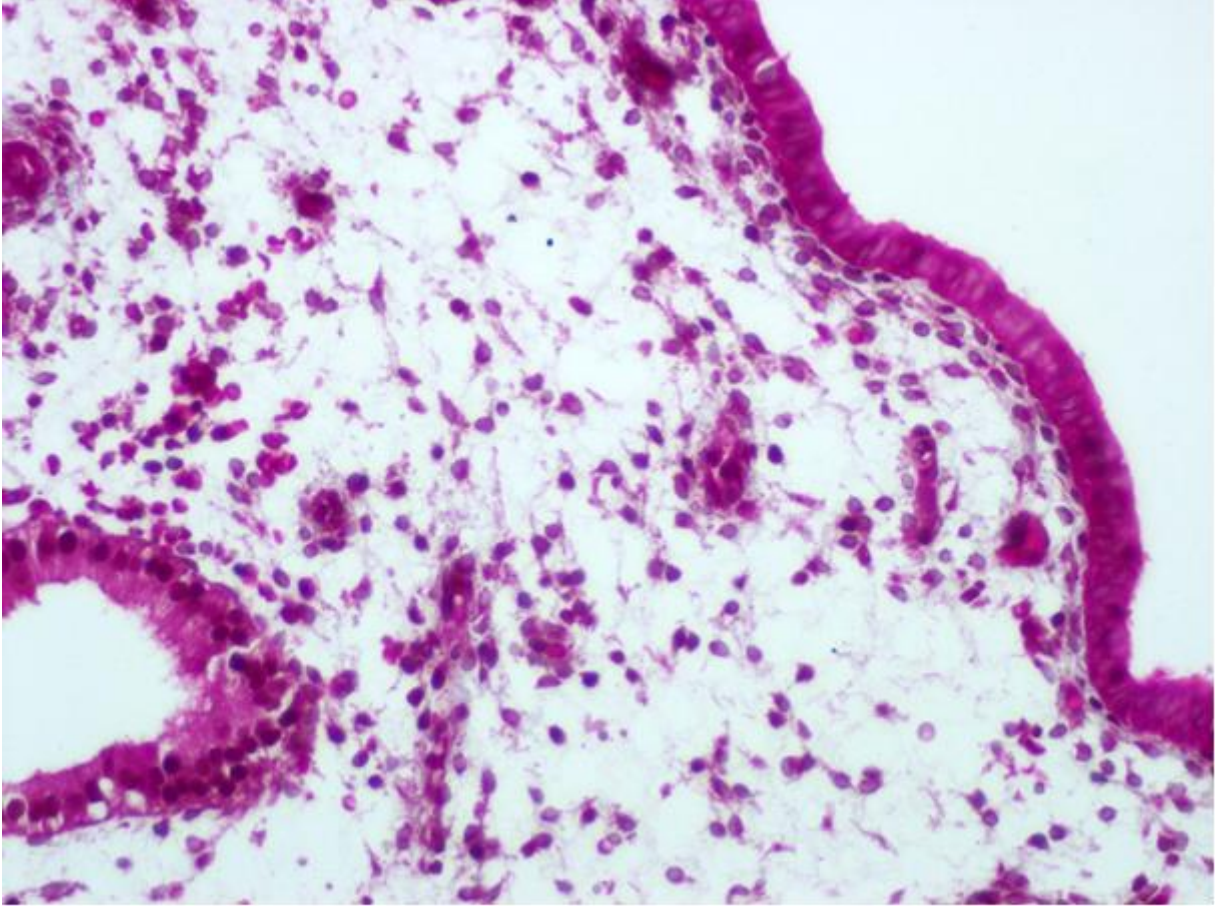
**Şekil 4-13: İkinci grubun endometrium yüzey epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı.
Hematoksilen ve Eozin boyası.**

Büyütme x40.



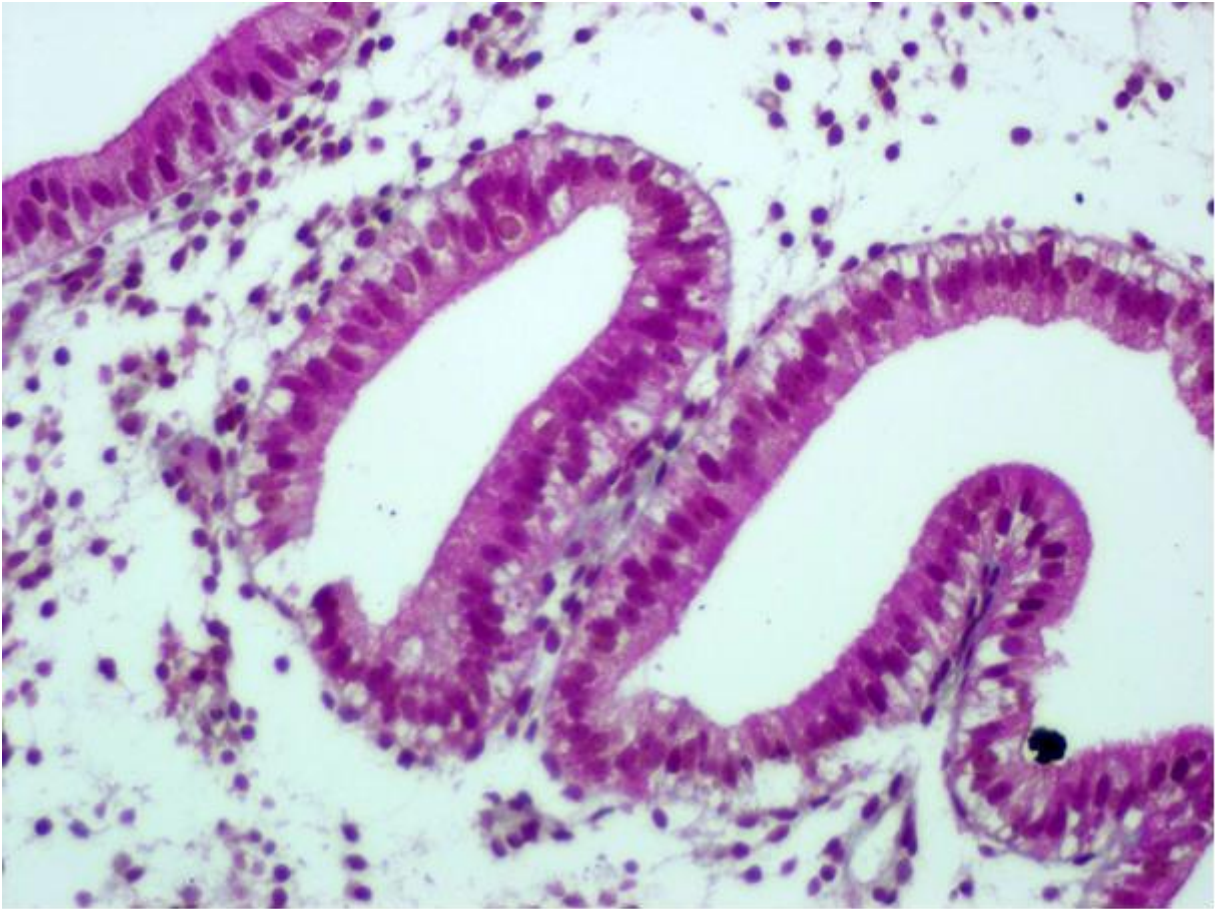
**Şekil 4-14: İkinci grubun endometrium bez epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı.
Hematoksilen ve Eozin boyası.**

Büyütme x40.



Şekil 4-15: Birinci grubun endometrium yüzey ve bez epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı. Masson trikrom boyası.

Büyütme x40.



**Şekil 4-16: İkinci grubun endometrium yüzey ve bez epitelinin ışık mikroskobu fotoğrafı.
Masson trikrom boyası.**

Büyütme x40.

4.3. Elektron Mikroskopik Bulgular

4.3.1. Birinci Grup Yüzey Epiteli Elektron Mikroskop Bulguları

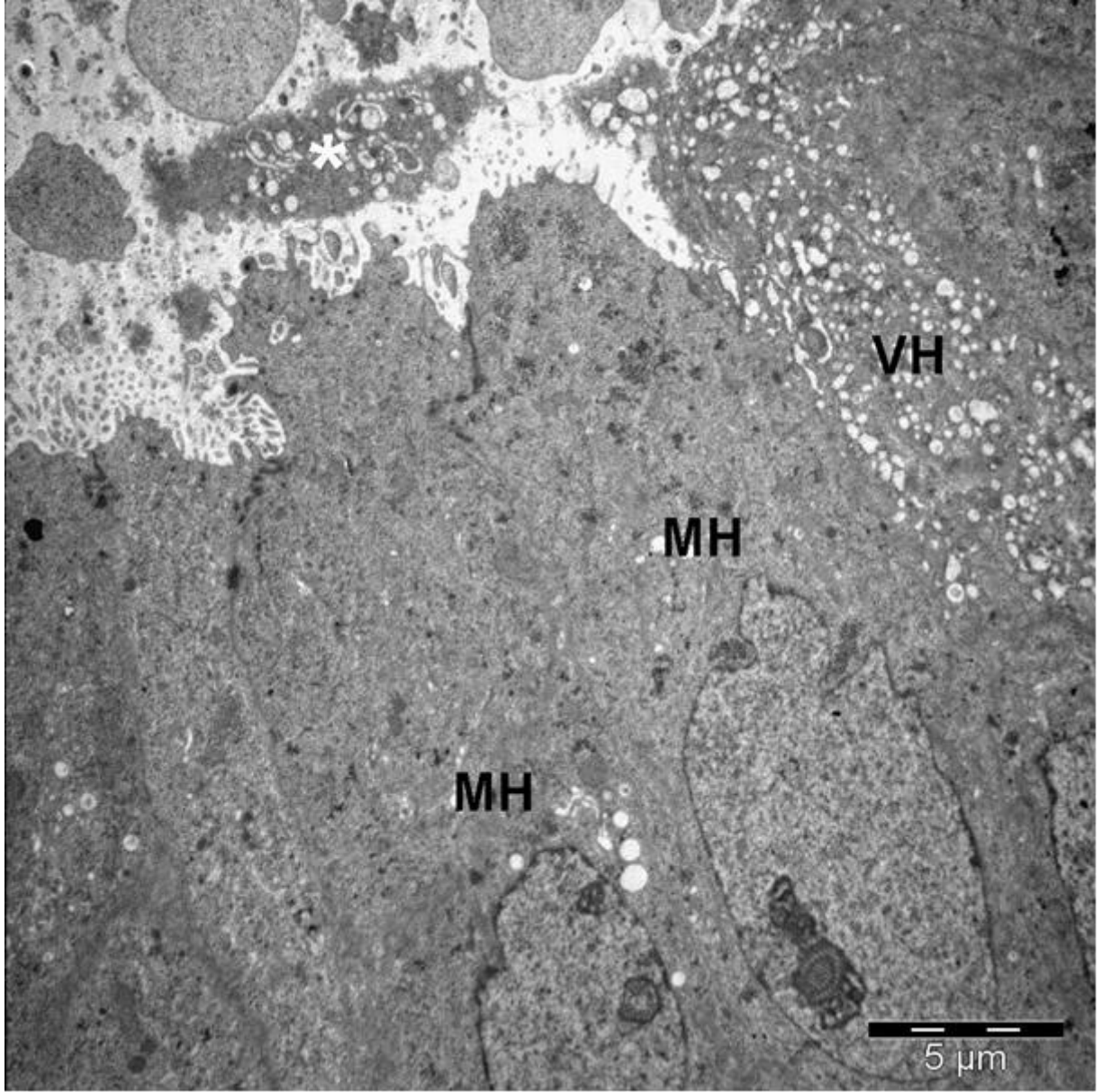
TİB olan hastaların birinci grubun yüzey epiteli incelemesinde mikrovilluslu hücrelerin daha fazla sayıda olduğu gözlemlendi (Şekil 4-17). Mikrovilluslu hücrelerin (MH) mikrovilli ve stereosilya yönünden zengin düz veya hafif konveks bir apekse sahip olduğu gözlemlendi. (Şekil 4-18). Nukleusları oval ve dış hatları düzensizdi. (Şekil 4-19)

Mikrovilluslu hücrelerin nukleusunda az sayıda erken aşamada nükleer kanal sistemi (NCS) gözlemlendi (şekil 4-20). Lateral membran apikal bölgede 2 veya daha fazla dezmosoma ve luminal hücre sınırlarında sıkı bağlantılara, sahipti [Şekil 4-21]. Mikrovilluslu hücrelerin sitoplazmasında az miktarda mitokondri, glikojen granülleri ve kümeleri gözlemlendi (şekil4-22). Mikrovilluslu hücrelerde glikojen depoları saptanmadı ve az sayıda multilamellar cisimcikler gözlemlendi (şekil 4-23).

Vokuollu hücreler (VH), çok sayıda vakuol ve salgı vezikülleriyle dolu bir sitoplazma ile karakterizydi (Şekil 4-17 ve Şekil 4-19). Uterus lümenine boşalmış, salgı vezikülleriyle dolu sitoplazma kaybı gözlemlendi (Şekil 4-17). Sitoplazmasında az miktarda mitokondri ve glikojen granülleri gözlemlendi.

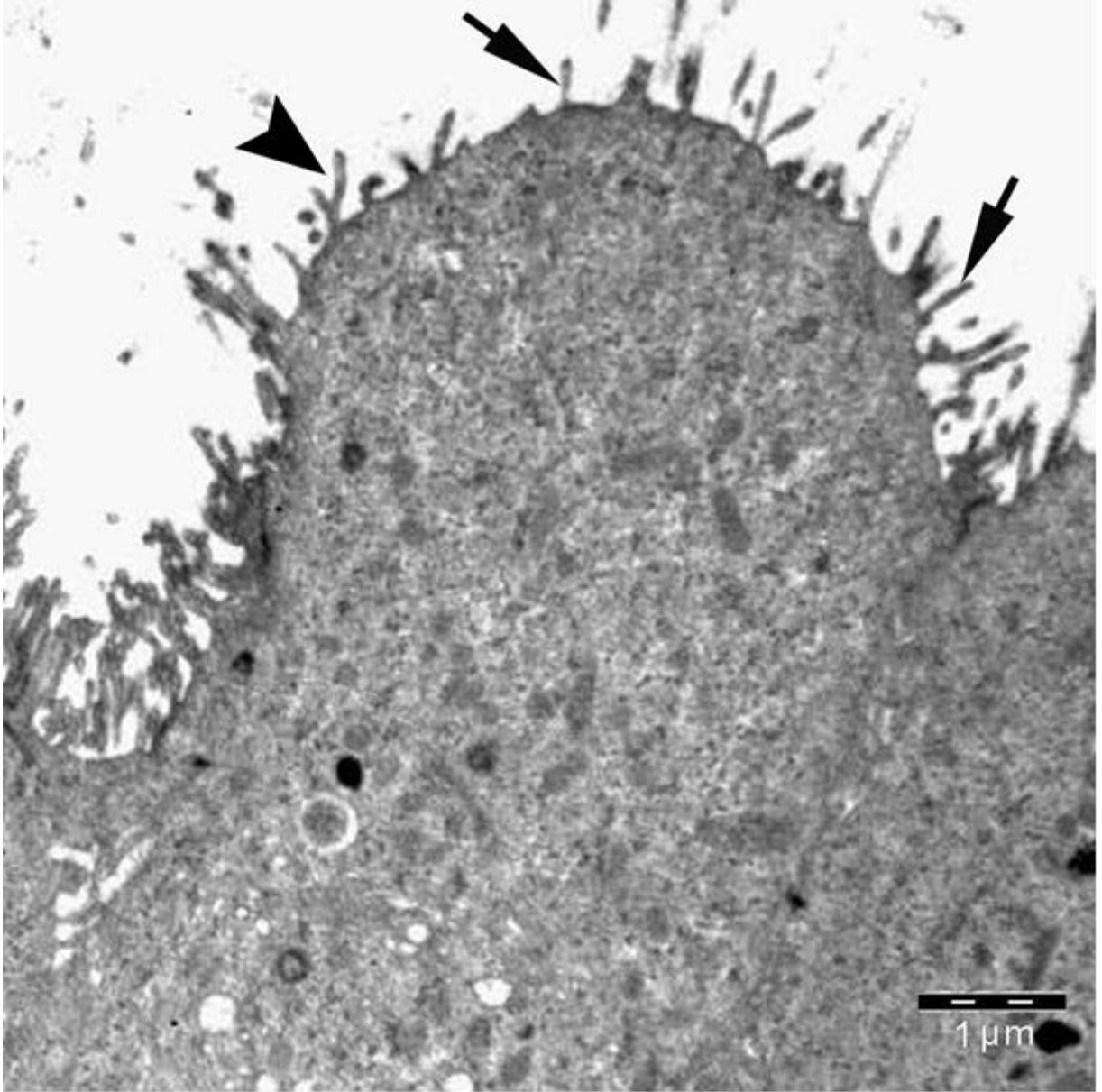
Birinci grubun yüzey epitelinde silli hücreler (SH) diğer hücrelere oranla az sayıda gözlemlendi (Şekil 4-24). Silli hücreler apikal yüzeylerinde sillere ek olarak az sayıda mikrovilli ve stereosilyaya sahipti. Sitoplazmasında az miktarda mitokondri ve glikojen granülleri gözlemlendi.

İnfertil kadınların birinci biyopsisindeki yüzey epitel incelemesinde ikinci biyopsilerinde bulunan pinopod hücreleri (PH) gözlemlenmedi.

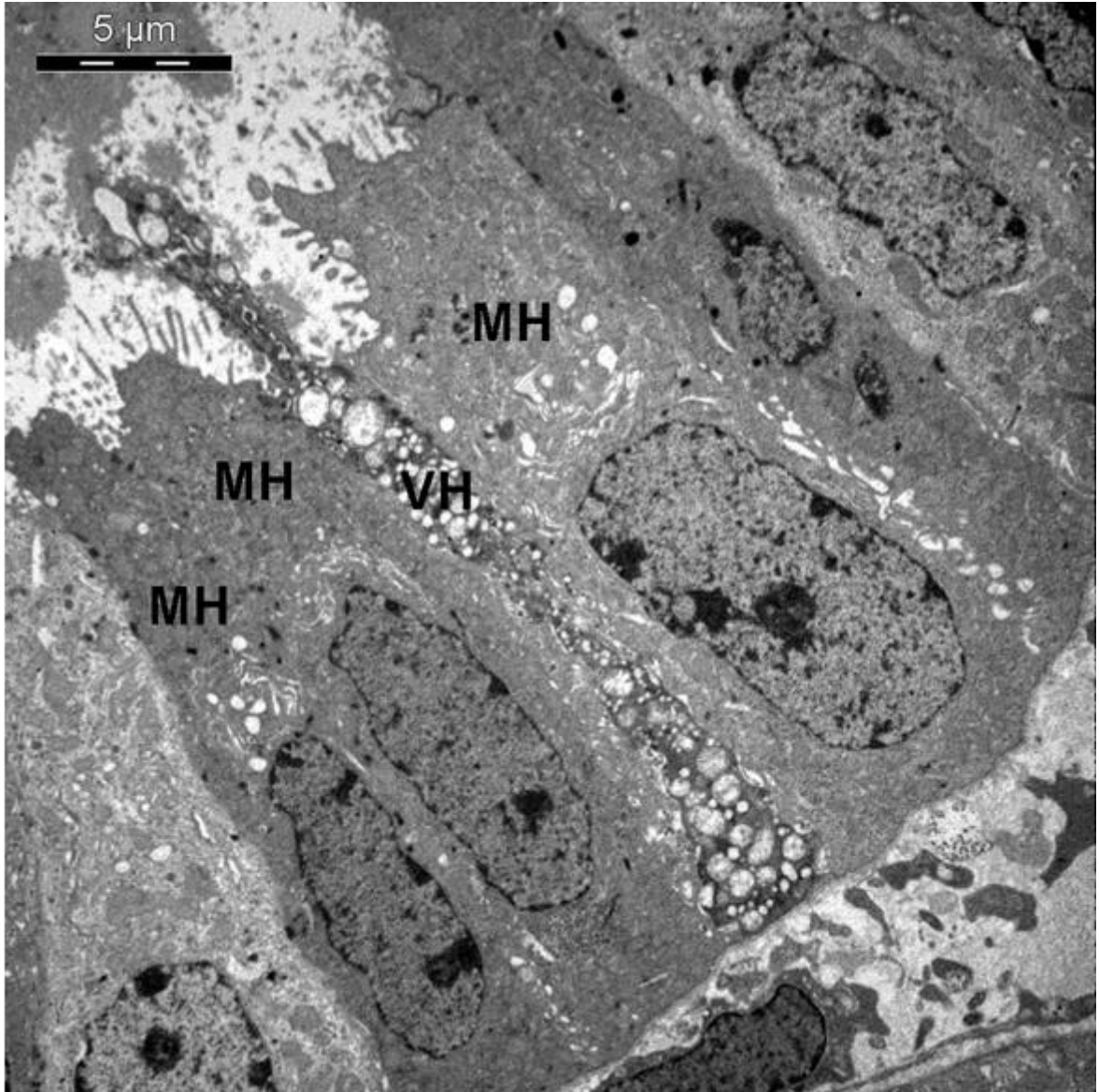


Şekil 4-17: Birinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücreler (MH) ve vakuollü hücre (VH) görülmekte. Lümeninde vakuollü hücrenin apeksinden ayrılmış olan sitoplazmik parça (asterisk) gözlenmektedir.

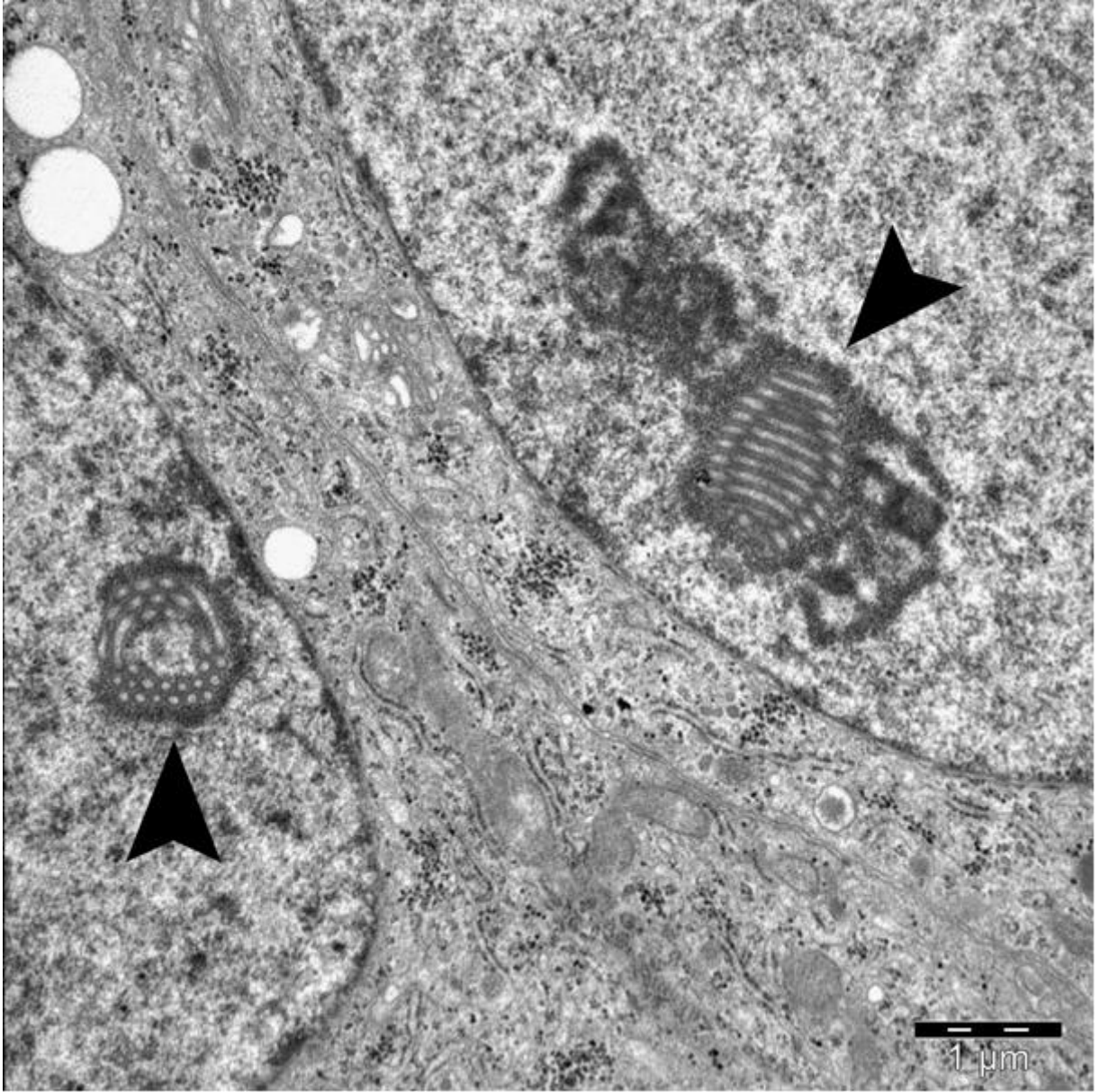


Şekil 4-18: Birinci grubun yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı, Mikrovilluslu hücrenin (MH) apikal yüzeyinde stereosilya (siyah okbaşı) ve mikrovilliler (siyah oklar) görülmektedir.



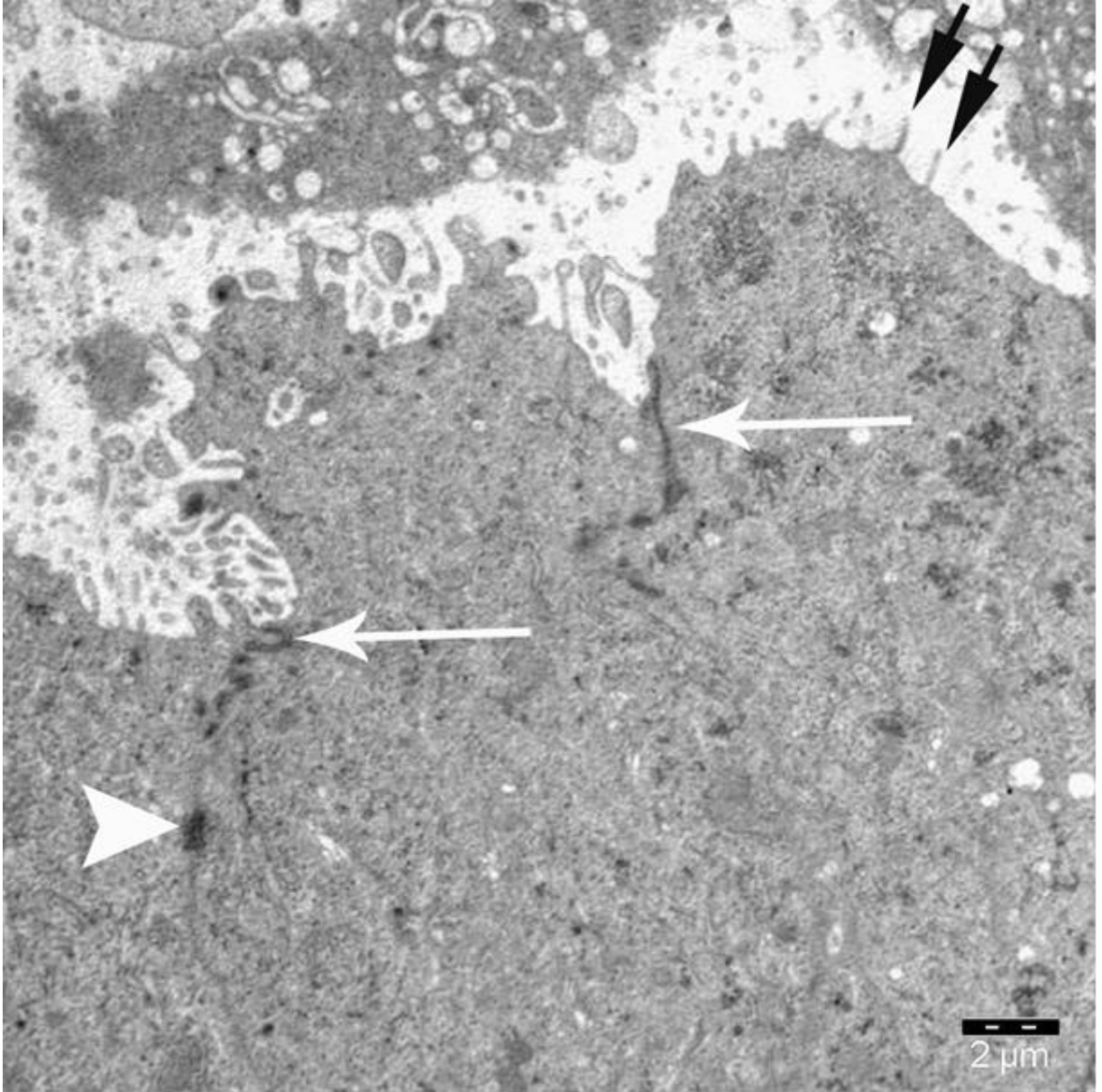
Şekil 4-19: Birinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücreler (MH) ve vakuollü hücre (VS) görülmektedir.



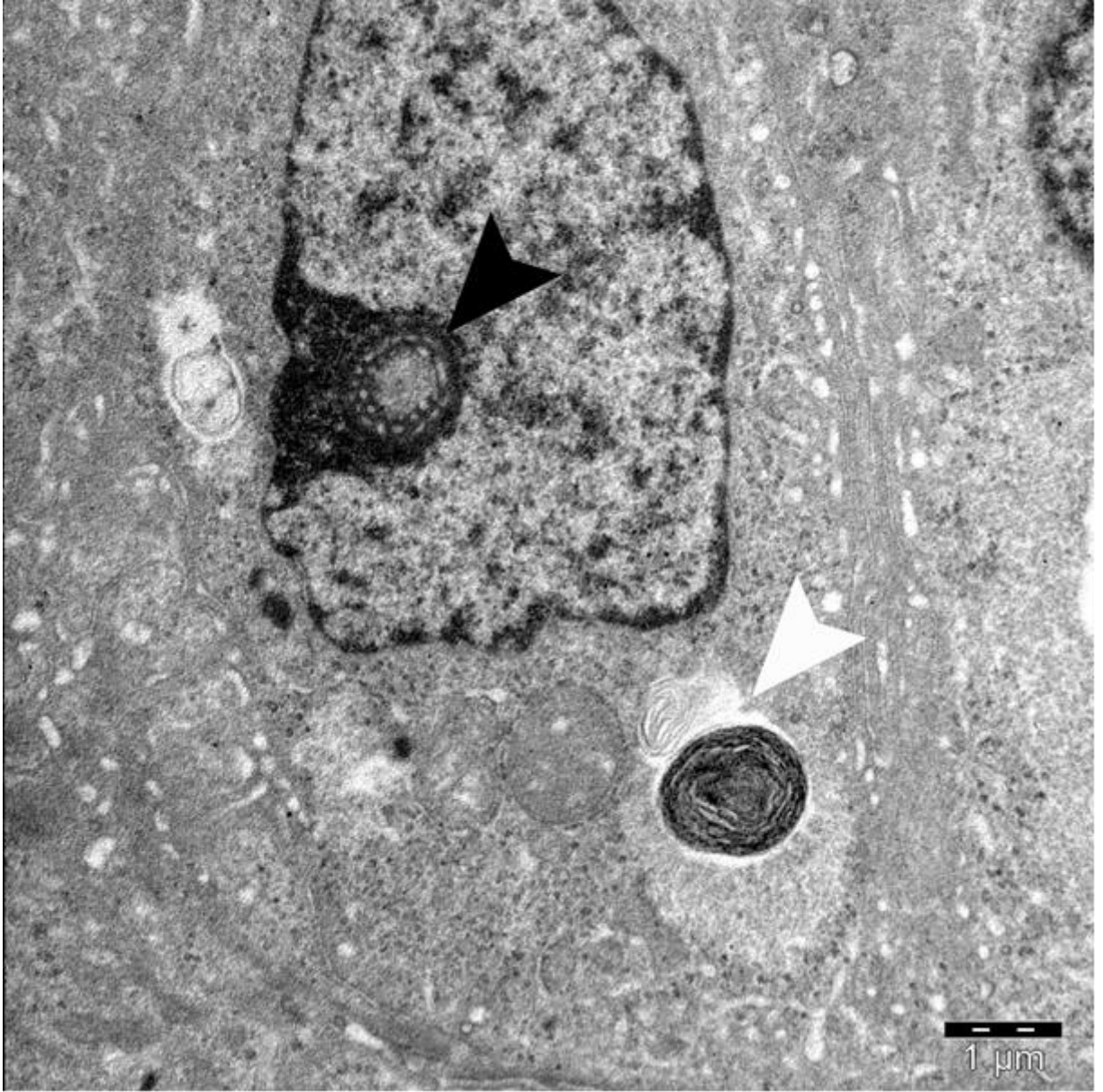
Şekil 4-20: Birinci grubun yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücrelerin nukleuslarında erken gelişim aşamasındaki nükleer kanal sistemi (NCS, okbaşları) görülmektedir.



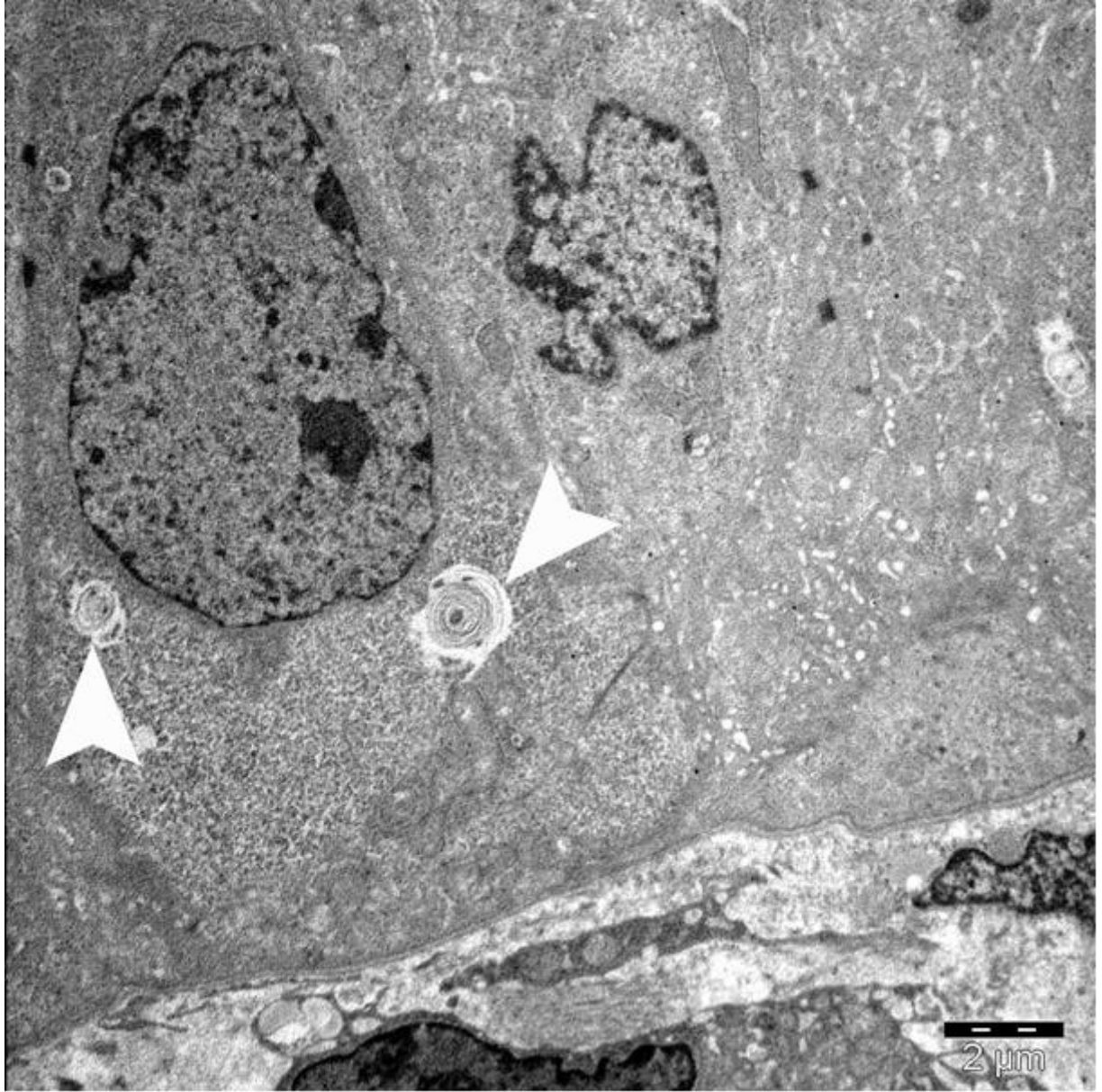
Şekil 4-21: Birinci grubun yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücre apikal yüzeyinde stereosilya ve mikrovillilere (siyah oklar) ve hücre membranları arasında desmosom (beyaz ok başı) ve sıkı bağlantılara (beyaz oklar) sahipti.



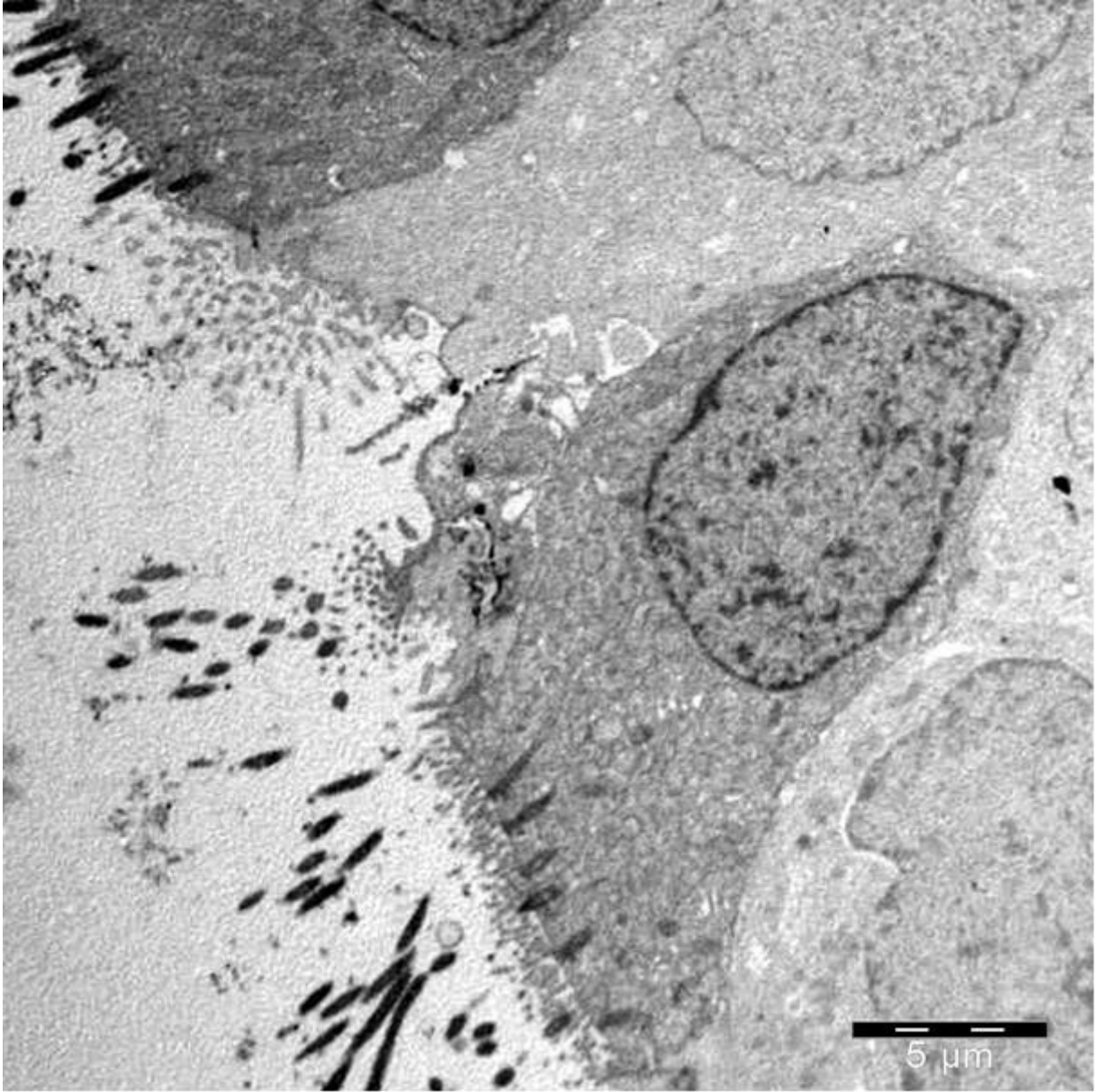
Şekil 4-22: Birinci biyopsi hasta grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluolu hücrede (MH) erken gelişim aşamasında NCS (siyah okbaşı) ve multilamellar cisimcikler (beyaz ok) görülmektedir.



Şekil 4-23: Birinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücrede multilamellar cisimcikler (beyaz oklar) görülmektedir.

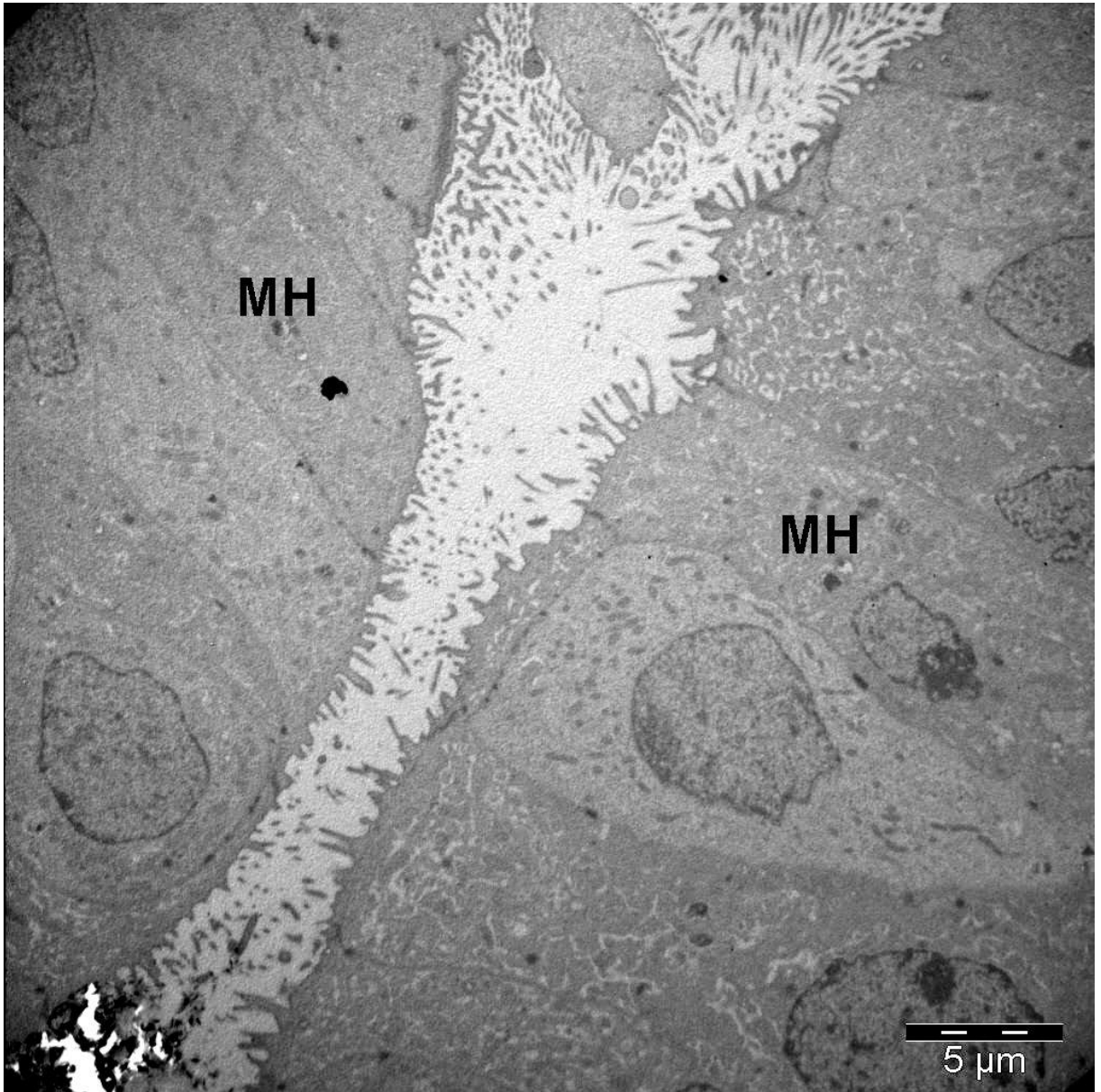


Şekil 4-24: Birinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

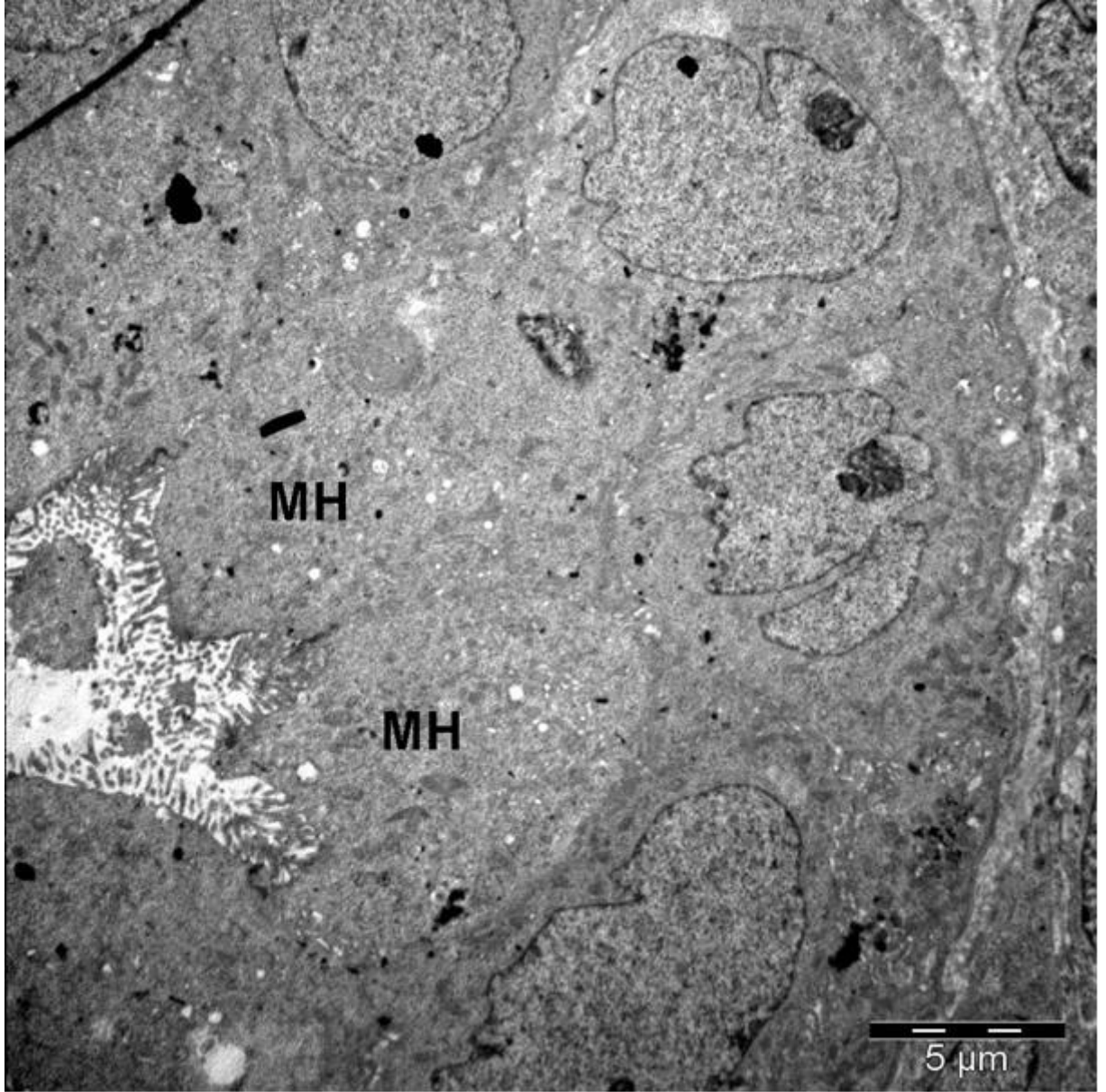
Silli hücreler (SH) ve mikrovilluslu hücre (MH) görülmektedir.

4.3.2. Birinci Grup Bez Epiteli Elektron Mikroskopi Bulguları

Birinci grubun bez epiteli hücrelerin genel ultrastrüktürel özellikleri birkaç farklılık haricinde yüzey epiteli ile benzerdi. Bez epiteli hücrelerinde en fazla mikrovilluslu hücreler gözlendi (Şekil 4-25) Mikrovilluslu hücrelerin sitoplazmasında .az miktarda glikojen granülleri ve kümeleri gözlendi. Glikojen depoları saptanmadı. (Şekil 4-26) Birinci grubun bez epitel incelemesinde ikinci biyopsilerinde bulunan pinopod hücreleri gözlenmedi.



Şekil 4-25: Birinci grup bez epiteli elektron mikroskobu fotoğrafı.



Şekil 4-26: Birinci grup bez epitel microvillus hücreleri (MH).

4.3.3. İkinci Grup Yüzey Epiteli Elektron Mikroskop Bulguları

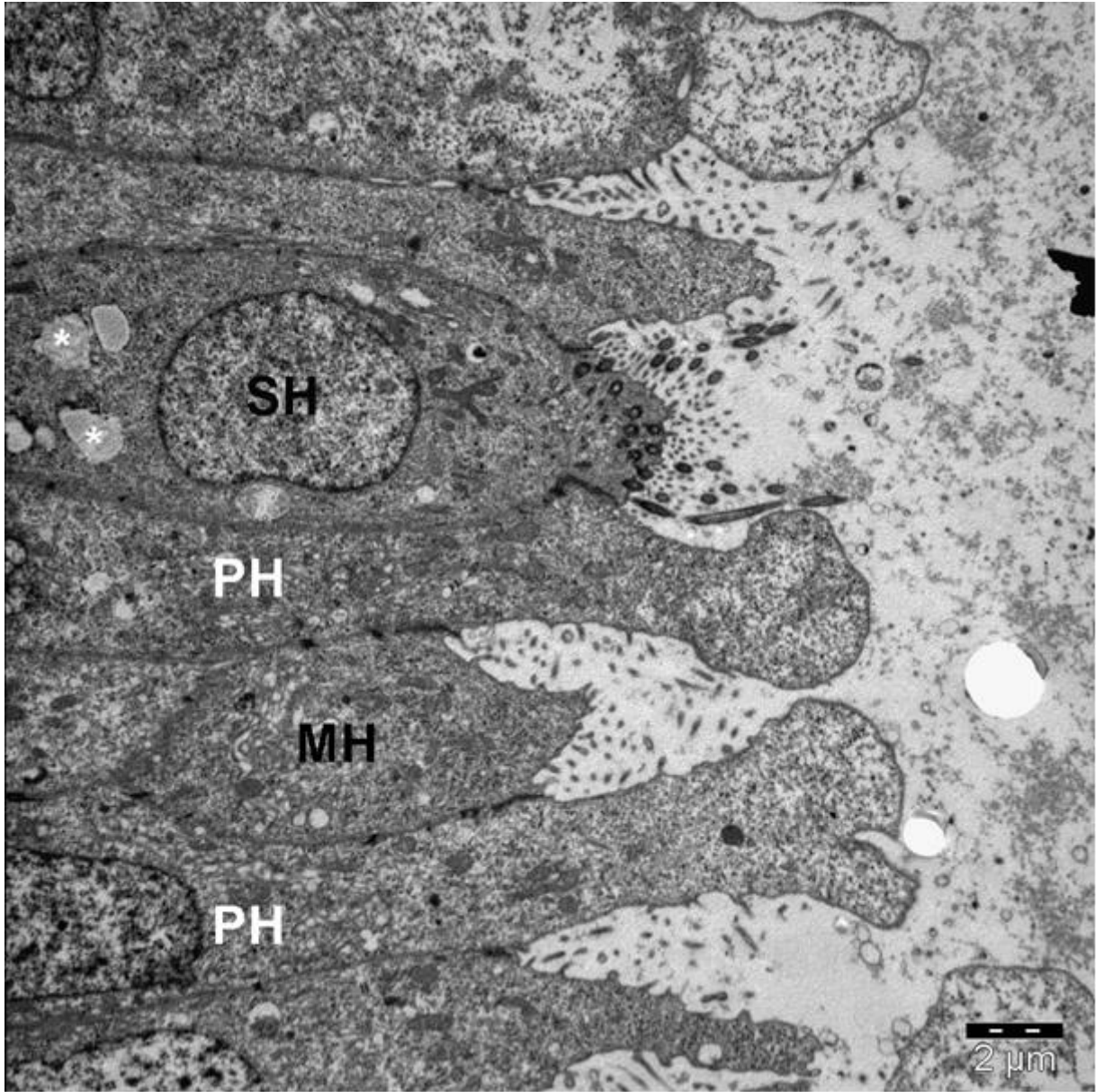
İkinci grubun yüzey epitel incelemesinde mikrovilluslu, silli ve vakuollü hücrelere ek olarak pinopod hücreleri gözlemlendi (Şekil 4-27, Şekil 4-28, Şekil 4-29).

Mikrovilluslu hücreler luminal yüzeye doğru sitoplazmik çıkıntılar gösteriyordu. Apikal yüzeyi fazla sayıda mikrovilli ve stereocilia içeriyordu. Nukleus düzensiz dışhatlarıyla oval bir yapı gösteriyordu.(Şekil 4-29). Nukleusda çok sayıda bir merkez etrafında birkaç tübül sırasından oluşan iyi gelişmiş bir nükleer kanal sistemine sahipti (Şekil4-30 ve Şekil 4-31). Sitoplazmasında uzun ve çok sayıda mitokondri ve iyigelişmiş bir golgi aygıtı içeriyordu (şekil 4-32). Mikrovilluslu hücrelerin sitoplazmalarında multilamellar cisimcikler, bol glikojen granülleri ve lipid damlacıklarından oluşan kümeler ve boyanmamış büyük glikojen depoları mevcuttu (Şekil 4-33 ve Şekil 4-34).

Pinopod hücreleri, luminal yüzeye doğru uzanan uzun ve büyük apikal sitoplazmik çıkıntılara sahiplerdi (Şekil 4-27, Şekil 4-28, Şekil 4-29). Mikrovilluslu hücrelere göre daha kısa ve az sayıda mikrovilli gösteriyordu (Şekil 4-27). Nukleusları bazale yakın yerleşimli, düzenli konturlara sahip ve uzun oval şekilli idi (Şekil 4-28). Sitoplazmasında az sayıda küçük mitokondri, lipid ve glikojen granülleri içeriyordu.

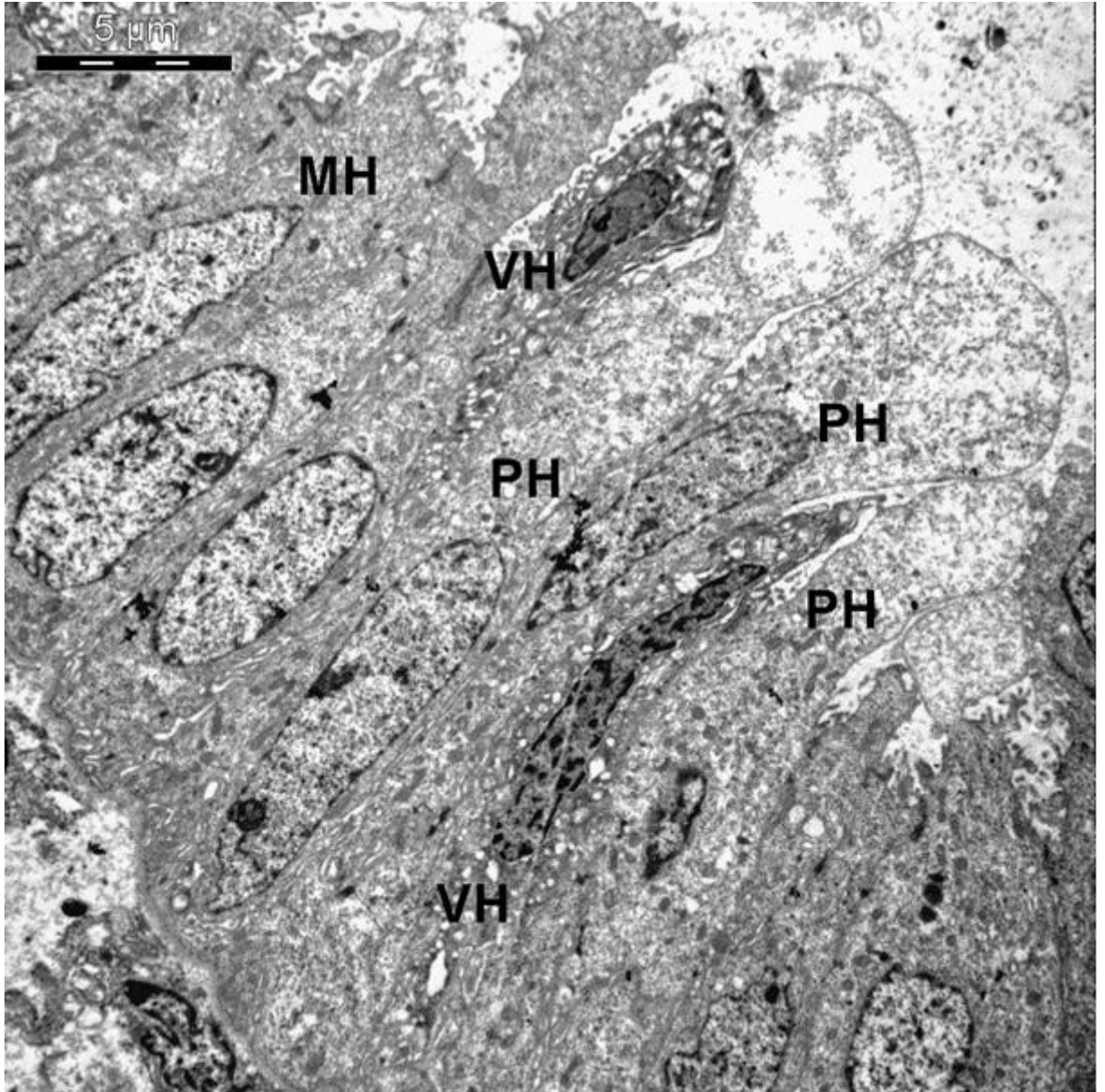
Silli hücreler yüzey epitelinin diğer hücrelerine oranla daha az sayıda gözlemlendi. Apikal yüzeyinde siller ek olarak az sayıda mikrovilli ve stereosilyaya sahipti. Hücrenin merkezinde yerleşmiş yuvarlak bir nukleusa sahipti. Sitoplazmasında çok sayıda mitokondri, multilamellar cisimcikler, lipid ve glikojen kümeleri gözlemlendi (Şekil 4-35 ve Şekil 4-36)

Vakuollü hücrelerin sitoplazması çok sayıda ve büyük salgı vezikülleriyle doluydu (Şekil 4-28). Hücrenin apikal kısmı vezikül birikimi nedeniyle luminal yüzeye doğru çıkıntı gösteriyordu. Apikal yüzeyde çok az sayıda mikrovilli ve stereosilya da vardı. Sitoplazmalarında küçük mitokondriler, lipid ve glikojen granülleri gözlemlendi.

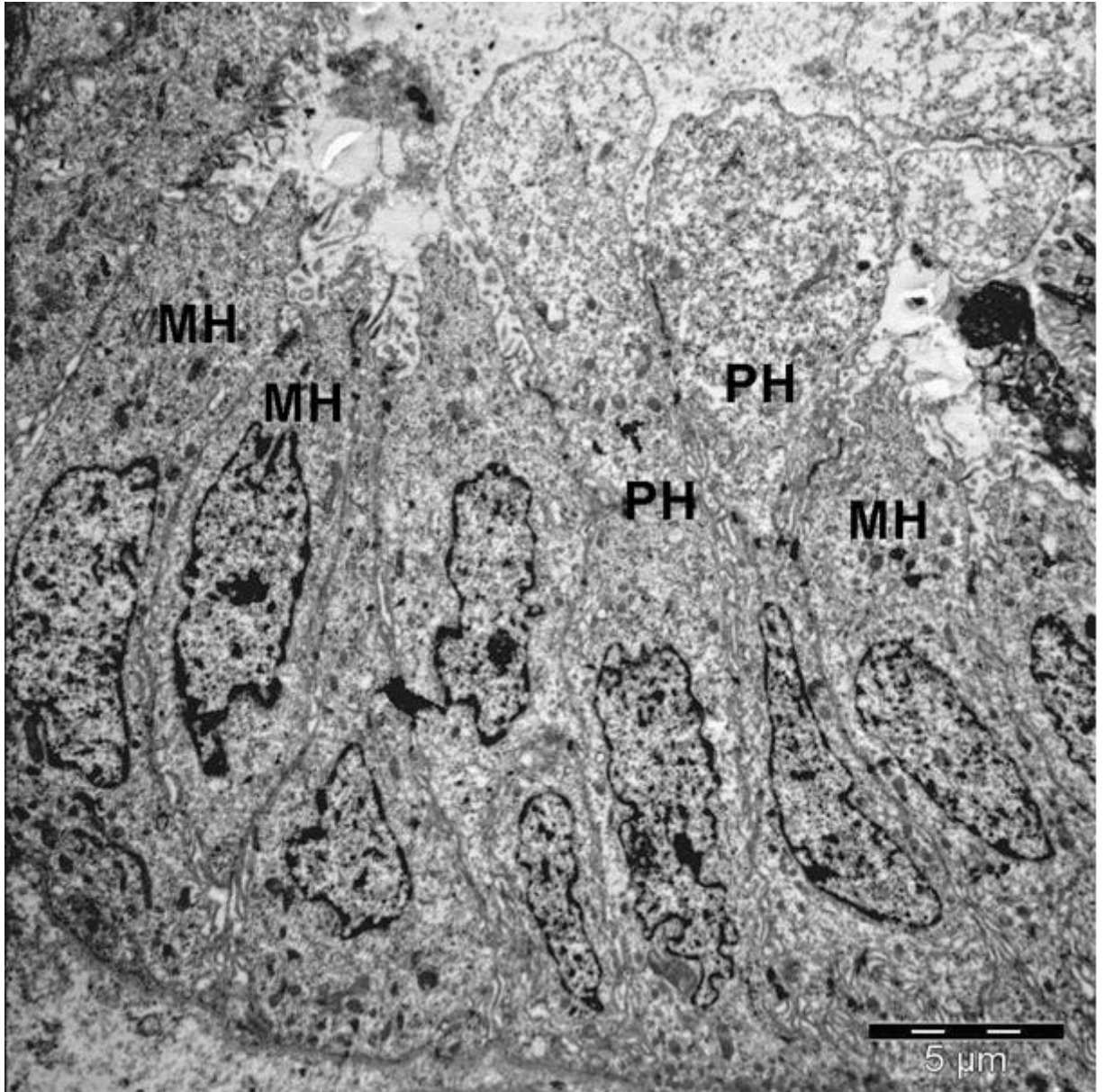


Şekil 4-27: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

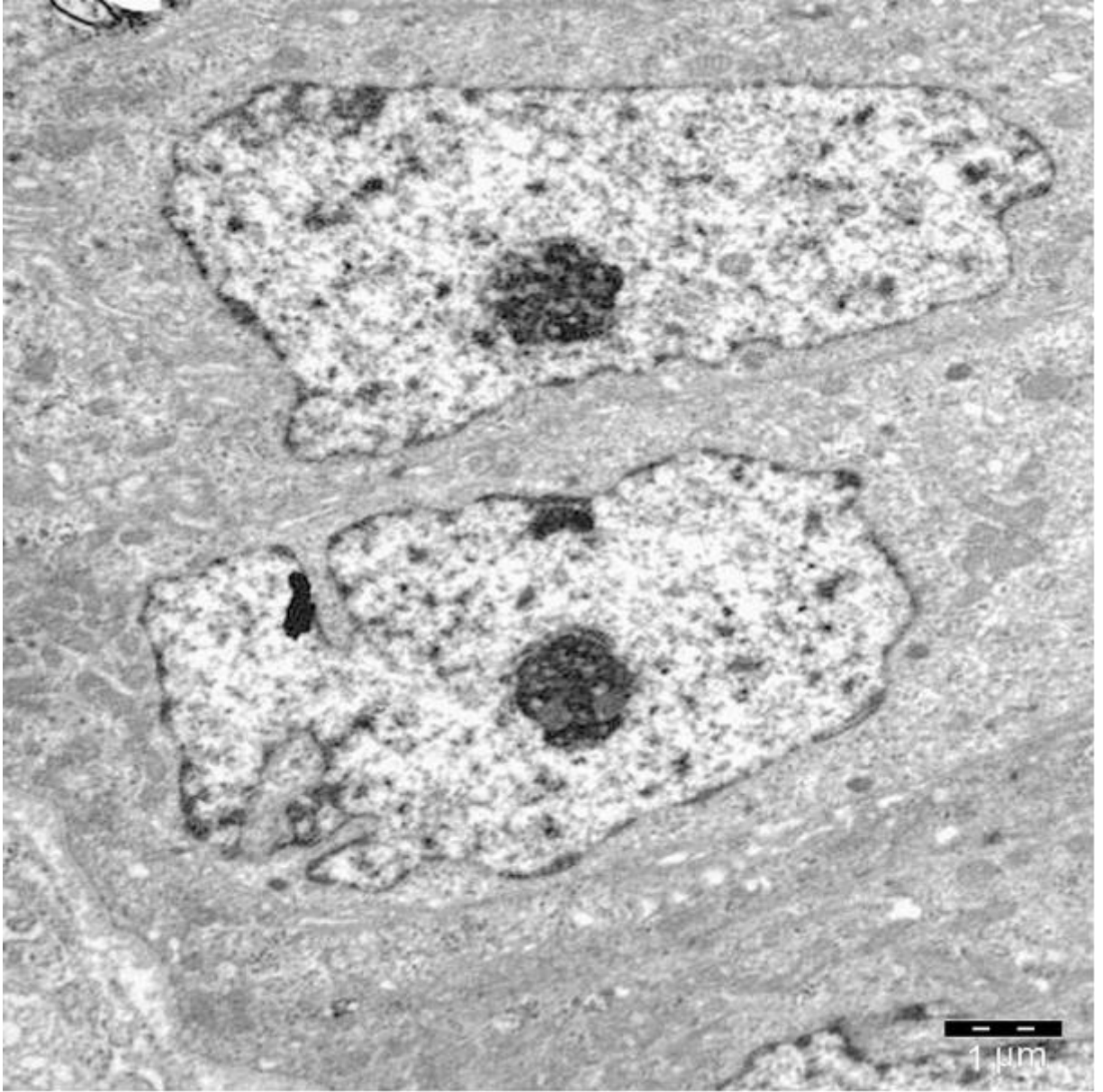
Mikrovilluslu hücre (MH), silli hücre (SH) ve pinopod hücreleri (PH) görülmektedir.



Şekil 4-28: İkinci gruba ait yüzey epiteli elektron mikroskobu fotoğrafı.

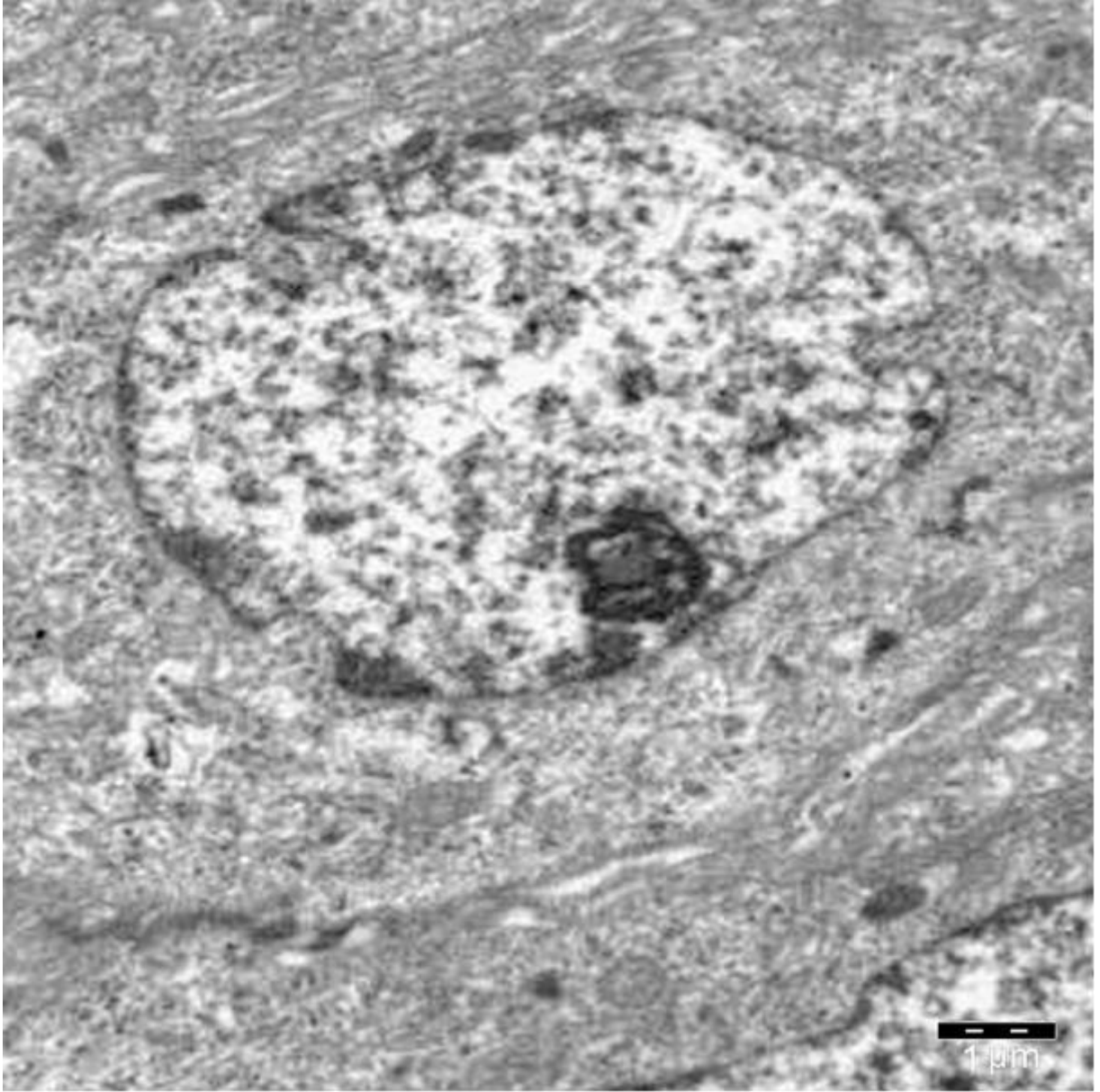


Şekil 4-29: İkinci gruba ait yüzey epiteli elektron mikroskobu fotoğrafı.



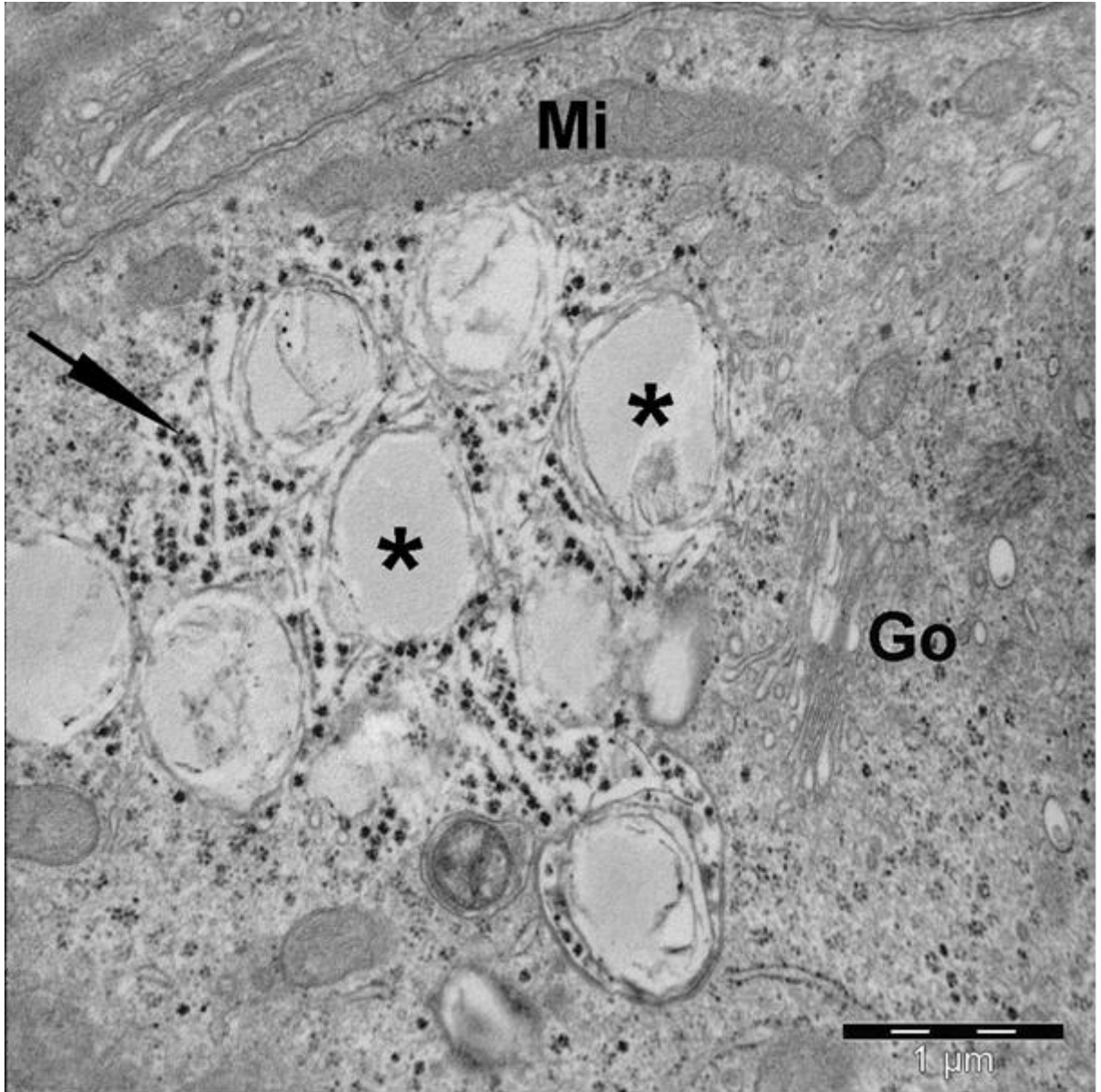
Şekil 4-30: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücrelerin genelinde nukleuslarında fazla sayıda ve iyi gelişmiş NCS 'ler gözlemlendi.



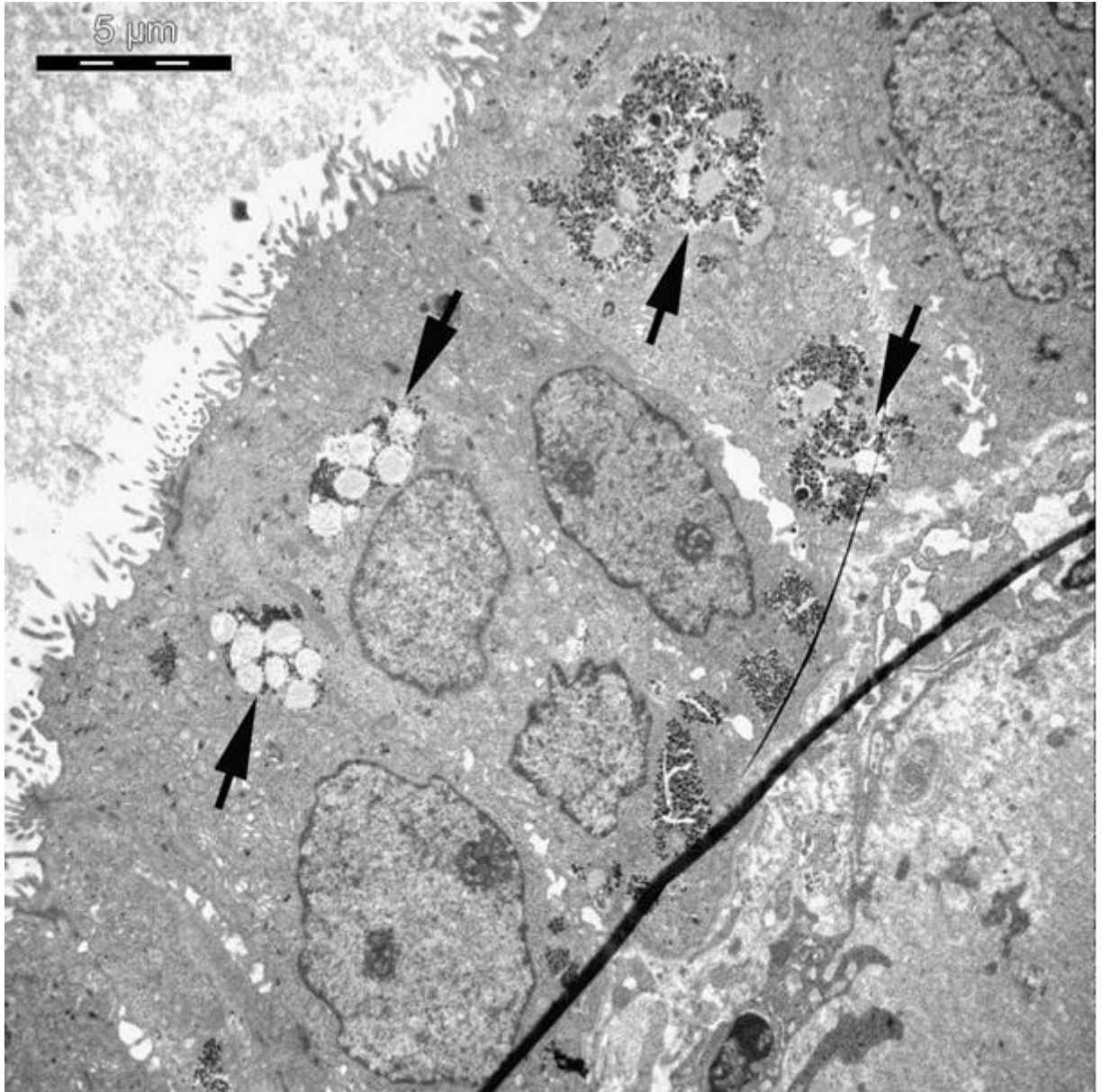
Şekil 4-31: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücrelerin geneline nukleuslarında fazla sayıda ve iyi gelişmiş NCS 'ler gözlemlendi.



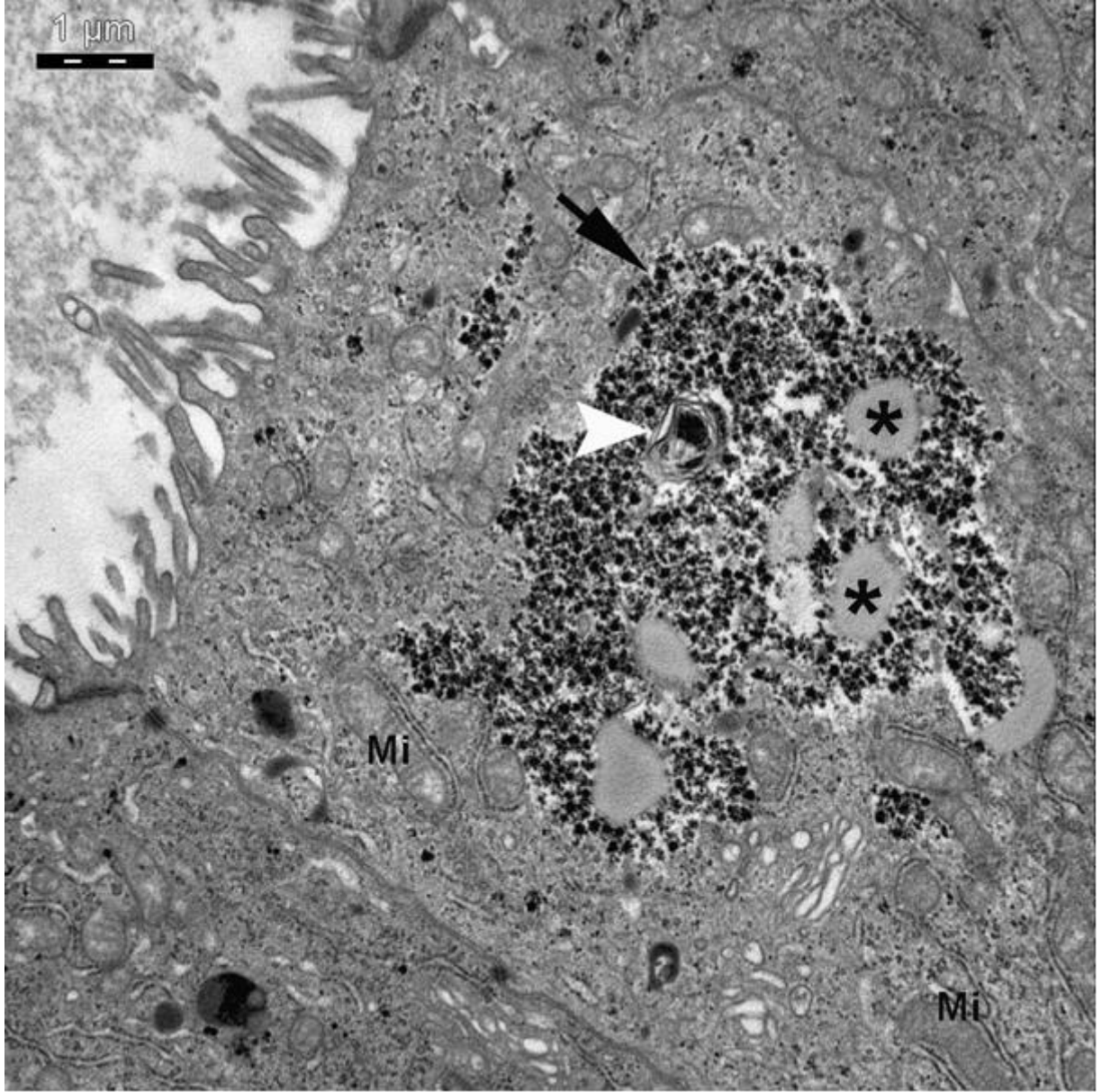
Şekil 4-32: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücrede, uzun mitokondri (Mi), Golgi aygıtı (Go), lipid (asterisk) ve glikojen granülleri (siyah ok) görülmektedir.



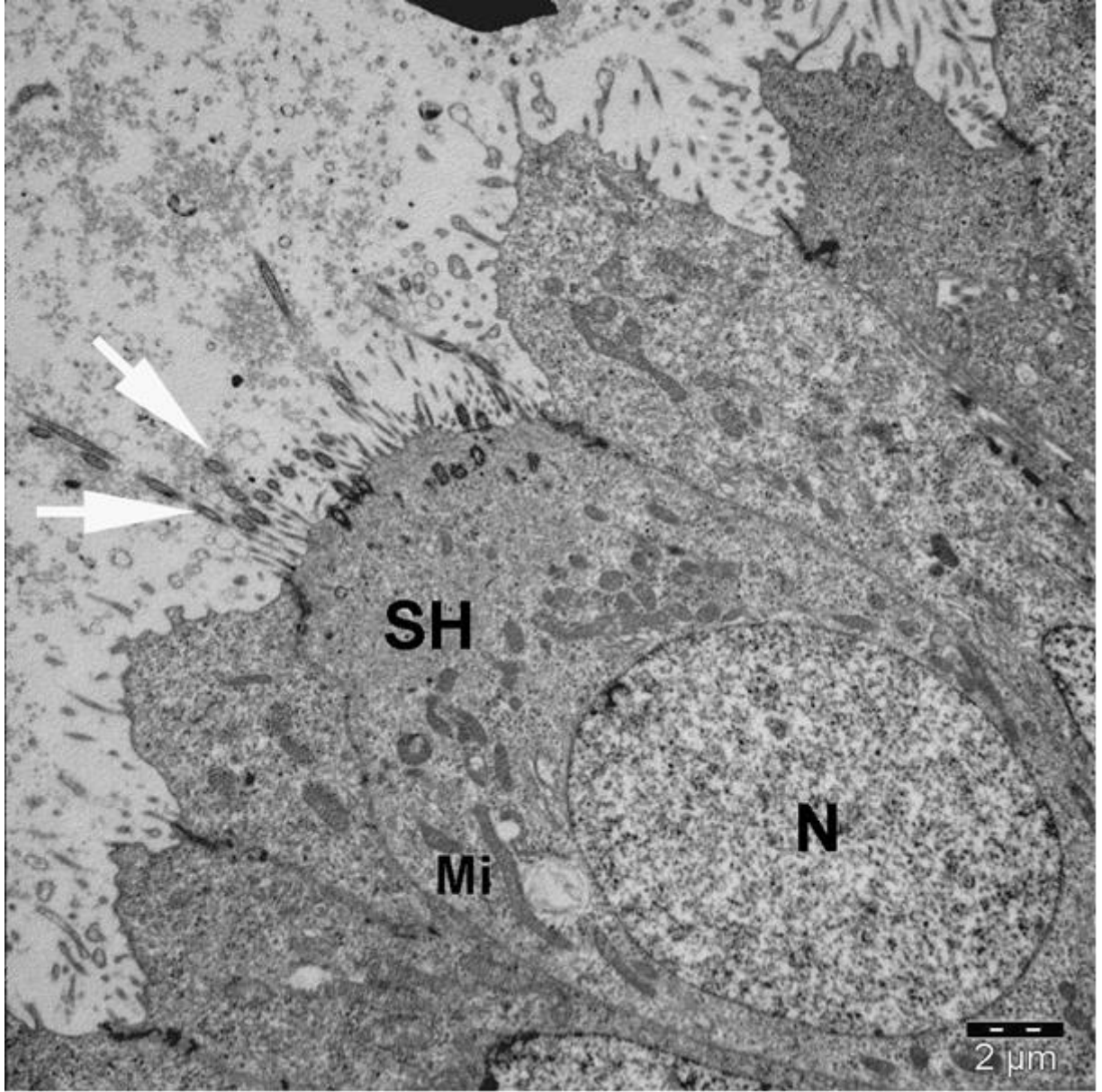
Şekil 4-33: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluolu hücrelerde, lipid ve glikojen kümeleri (siyah ok) görülmektedir.



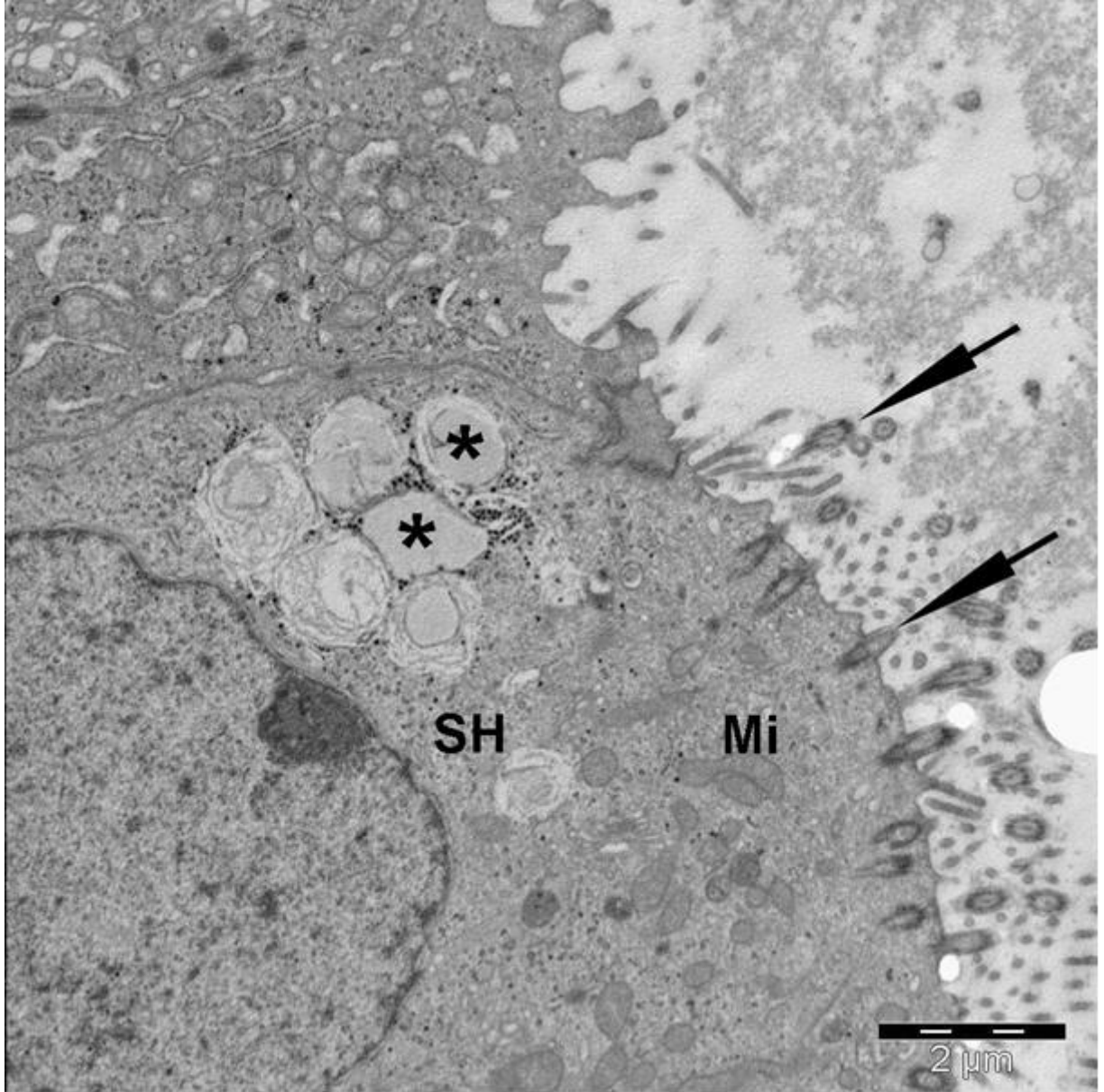
Şekil 4-34: Şekil 4.3.3.8 İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücrede, mitokondriler (Mi), multilamellar cisimcik (beyaz ok), lipid (asterisk) ve glikojen granülleri (siyah ok) görülmektedir.



Şekil 4-35: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Silli hücrede (SH) yuvarlak nukleus (N), sitoplazmasında uzun mitokondri (Mi), apikalinde siller (beyaz ok), mikrovillus ve stereosilyalar görüldü.



Şekil 4-36: İkinci grup yüzey epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

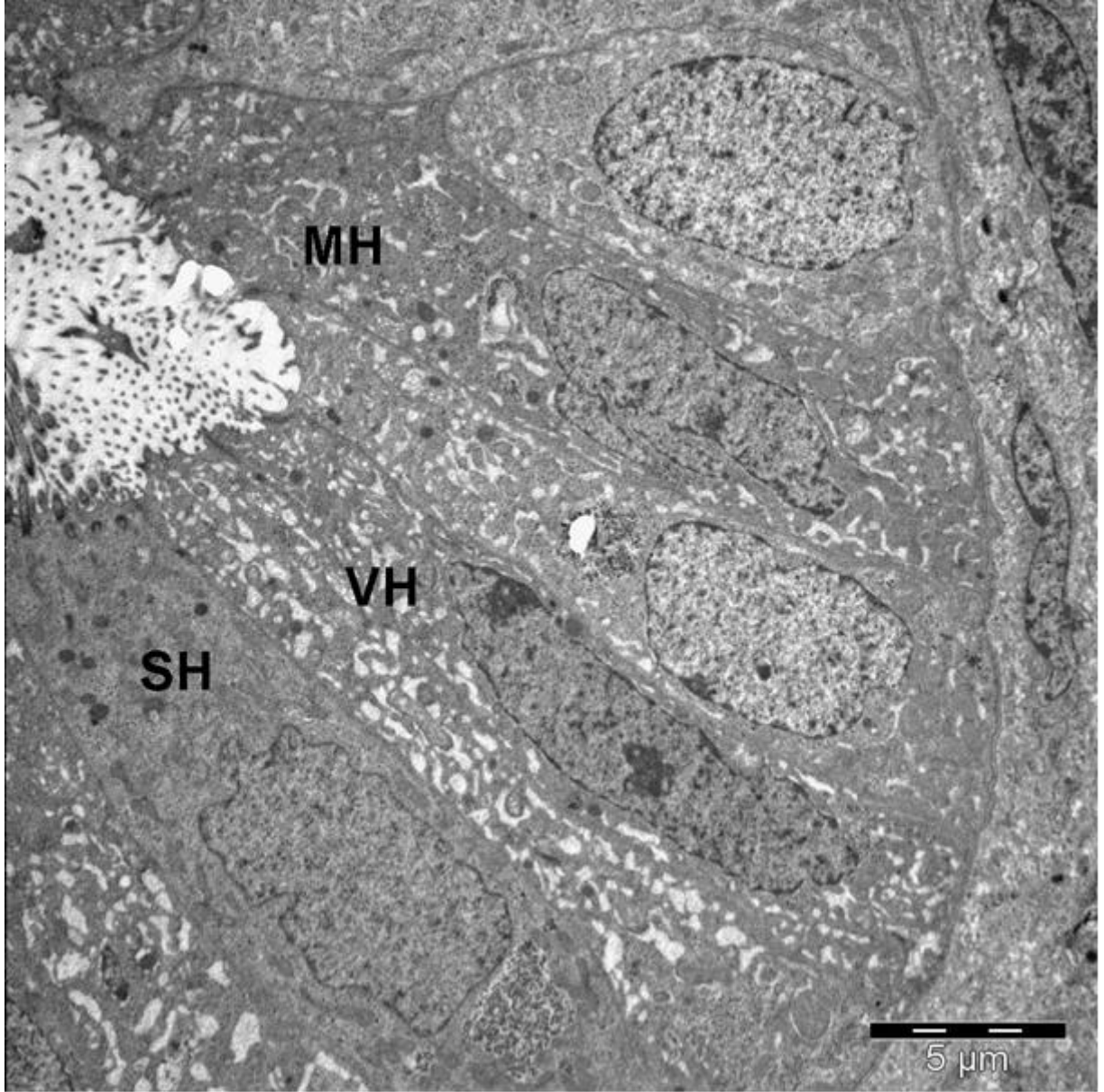
Silli hücrede (SH), siller (siyah ok) mitokondriler (Mi), multilamellar cisimcikler, lipid (asterisk) ve glikojen granülleri görülmektedir.

4.3.4. İkinci Grup Bez Epiteli Elektron Mikroskobu Bulguları

Yüzey epitelinde olduğu gibi, mikroviluslu, silli, vakuollü ve pinopod hücreler olmak üzere 4 farklı hücre tipi vardı (Şekil 4-37). Hücrelerin genel ultrastrüktürel özellikleri birkaç farklılık haricinde yüzey epiteli ile benzerdi.

Bez epitelinin mikrovilluslu hücreleri yüzey epitelindeki benzerlerinden farklı olarak sitoplazmalarının büyük bir kısmını kaplayan boyanmamış glikojen depolarına sahipti (Şekil 4-38).

Pinopod hücreleri ve vakuollu hücreler yüzey epitelindekine oranla daha az sayıda gözlemlendi (Şekil 4-39 ve Şekil 4-40).



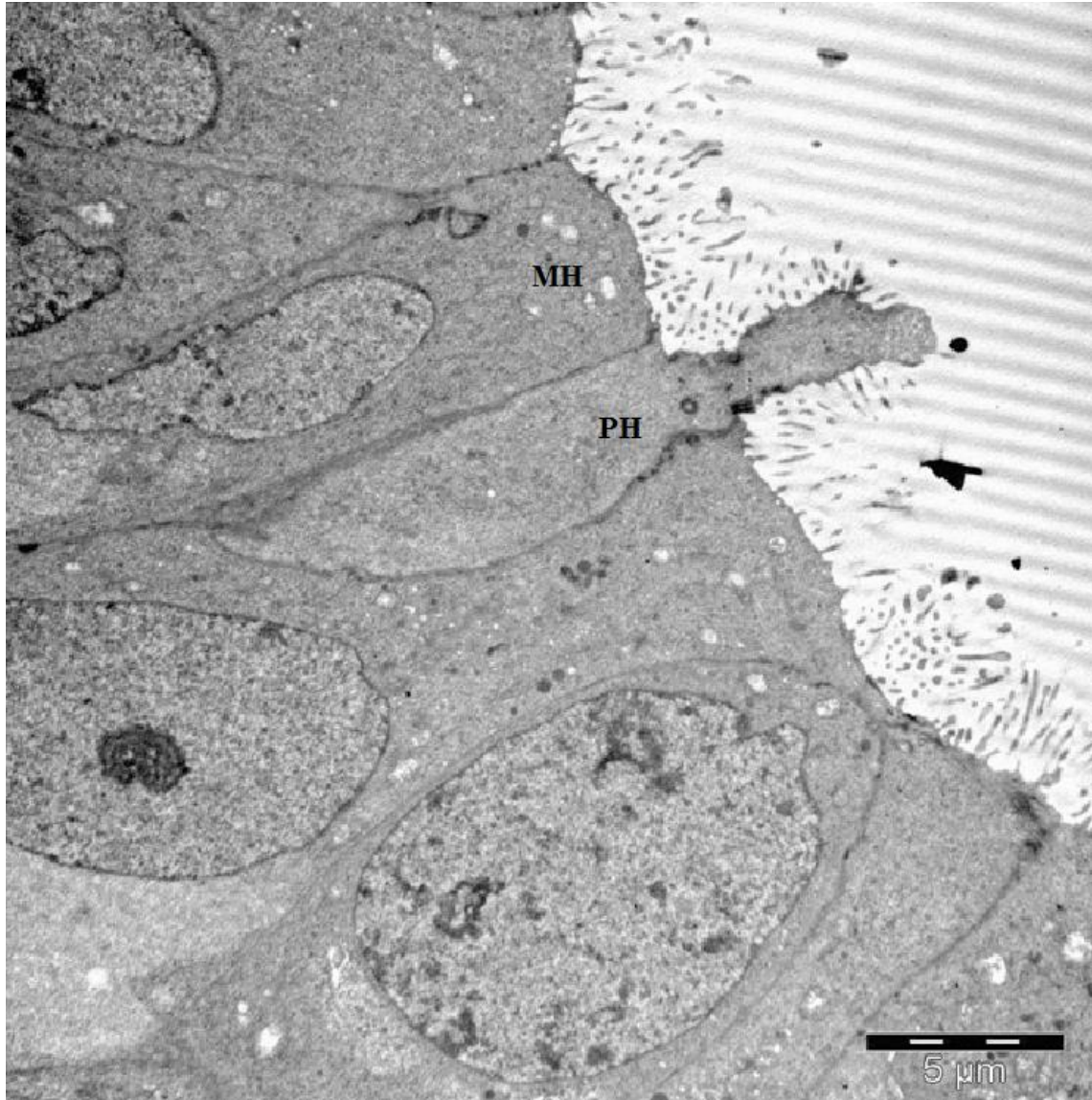
Şekil 4-37: İkinci grup bez epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücre (MH), silli hücre (SH) ve vakuollu hücreler (VH) görülmektedir.

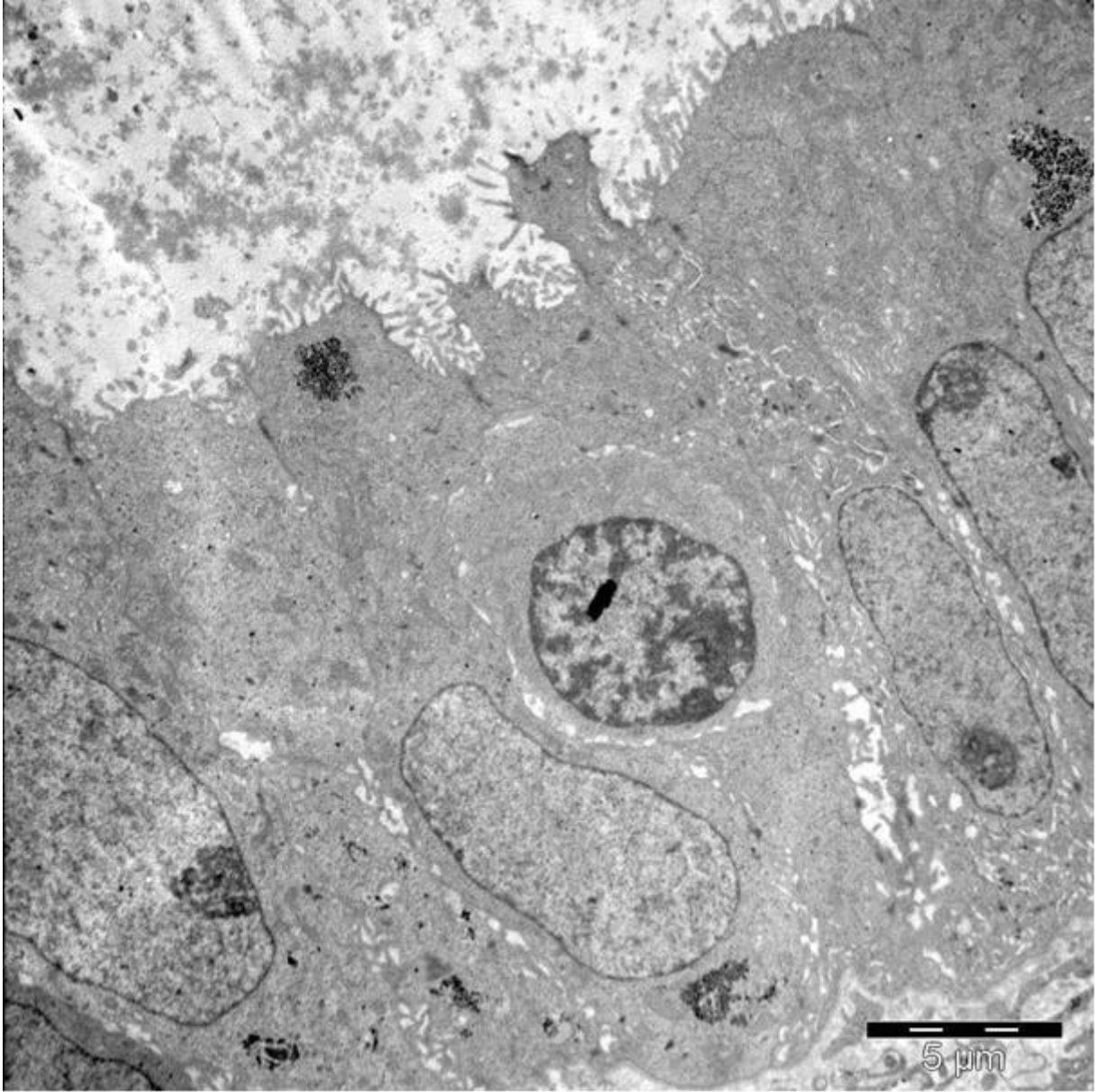


Şekil 4-38: İkinci grup bez epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluolu hücrelerin, sitoplazmalarının büyük bir kısmını kaplayan boyanmamış glikojen depoları [asteriks] görülmektedir.



**Şekil 4-39: İkinci grup bez epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.
Mikrovilluslu hücreleri (MH) ve pinopod hücresi (PH) görülmektedir.**



Şekil 4-40: İkinci grup bez epiteline ait elektron mikroskobu fotoğrafı.

Mikrovilluslu hücreler (MH) ve pinopod hücresi (PH) görülmektedir.

5. TARTIŞMA

LIF 'in blastokistin implantasyonuna kritik katılımı ile ilgili ilk bulgular, LIF knockout farelerde yapılan deneyler sonucunda ortaya çıkmıştır. LIF eksikliği olan dişi farelerde, implantasyon sürecinde blastosistin bağlanamadığını göstermişlerdir. LIF 'in blastosistin uterusu infüzyonunu, full term boyunca tutunmasını ve büyümesini sağladığı belirlenmiştir (74). Bununla beraber, LIF reseptörü olan LIF-R için nakavt farelerin normal bir implantasyona sahip oldukları gözlenmiştir (75). LIF antikollarının hamile farelerin uterusuna verilmesi, gebeliğin 8. gününde implante olan embriyo sayısının azalmasına neden olmuştur (76). Rhesus maymunlarında, anti-LIF monoklonal antikolların verilmesi, kontrol grubuna kıyasla deney grubundaki implantasyon oranını ve hamileliği de azaltmıştır (77). Klinik bir çalışmada, birkaç kısırlık vakasından elde edilen endometriyal hücrelerin düşük bir LIF üretimine sahip olduğu ve tekrarlanan düşükler veya açıklanamayan infertilite ile kendini gösterdiği gözlenmiştir (78,79).

Rosario ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, yüzey epitelinde LIF 'in üretilmediği farelerde implantasyon başarısızlığı ile örneklediği gibi, LIF implantasyon sürecinde önemli bir kontrol odağıdır. LIF 'in, uterus bezlerinden de salındığı ve STAT3 'ün aracılık ettiği sinyalizasyona yol açan yüzey epitel hücrelerindeki reseptörleri aktive etmek için yayıldığı ve gen ekspresyonunda değişime neden olduğu belirtilmiştir (80,81). Prakash ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada embriyo implantasyonu sırasında LIF'e bağımlı STAT aktivasyonu ve trofoblast hücreleri üzerindeki etkilerine odaklanılmıştır (82). Araştırmacılar, LIF 'in implantasyon sırasında maternal endometriyum tarafından üretilirken, reseptörleri LIF-R 'nin ise hem endometriyumda hem de trofoblastlarda bulunduğunu saptamışlardır. LIF, STAT3 aktivasyonu ve integrinlerin ekspresyonu sayesinde blastosist bağlanmasını sağlar. Blastosistin tutunmasından sonra, trofoblastlar proliferasyona ve farklılaşmaya giderler (67). İn vitro koşullar altında, LIF tüm bu olayları, STAT ve MAPK-bağımlı sinyal yollarının aktivasyonu sayesinde düzenler (83, 84, 85). LIF ve STAT3 knockout farelerin kısır olması, blastosist implantasyonu sırasında LIF-aracılı sinyalleşmenin kritik olduğu hakkındaki görüşü daha da güçlendirmektedir (86,74). Fare endometriyumunda STAT3 aktivasyonunun inhibisyonu, embriyo implantasyonunu da önler. Bu, LIF-STAT sinyalinin implantasyon sürecinde kritik bir rolünün olması,

muhtemelen trofoblast invazyonunun önemli bir düzenleyicisi olarak hareket etmesi hipotezine neden olur (73).

Farede, endometrium hücrelerinde STAT3 sinyal yolunun LIF'e bağlı aktivasyonu, blastosistin endometriyuma tutunmasını sağlamak için gereklidir. Fare yüzey epitel hücrelerinde üretilen LIF, LIFR ve gp130 heterodimerine bağlanarak STAT3 'ün aktivasyonunu artırır (59). Araştırmalar LIF 'in endometriumun hem bez hem de yüzey epitel hücrelerinde üretildiğini, menstrüel siklusun sekresyon/postoovulasyon fazında pik yaptığını ve bez epiteli tarafından daha yüksek oranda üretildiğini belirlemişlerdir. LIF 'ın aksine, endometrium yüzey epitel hücrelerinde LIF-R 'nin üretilmesi, bez hücrelerine kıyasla daha yüksek bulunmuştur (15,65). Endometriuma blastosist tutunmasından sonra, trofoblastlar da otokrin bir şekilde fizyolojik fonksiyonlarını etkileyebilen LIF 'i sentez etmeye başlarlar (87, 88, 65). Hem villöz hem de ekstrasvilloz trofoblastlar gebelik boyunca LIF ve reseptörünü eksprese etmektedirler (89).

Yukarıda açıklanan şimdiye kadar edilen bulgular ışığında LIF, LIF-R ve implantasyon arasındaki ilişkiye dayanarak çalışmamızda, ilk kez tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalarda implantasyon penceresinde endometriumda oluşturulan lokal hasarlanma etkilerinin yüzey ve bez epiteli hücrelerinde LIF ve LIF-R immünohistokimyasal boyanması üzerine etkilerini değerlendirdik. İmplantasyon başarısızlığı olan hastaların birinci grubu oluşturan ilk biyopsileri ve lokal hasarlanma sonrası ikinci grubu oluşturan ikinci biyopsilerine ait endometrium LIF antikoru boyanma şiddetine bakıldığında yüzey ve bez epitelinde boyanma yoktu veya zayıf boyanma şiddeti görüldü. Halbuki, yüzey ve bez epiteli LIF antikoru pozitif boyanan hücrelerin yüzdesine bakıldığında, birinci grupta 0 ve zayıf (1) olan değerlerin, ikinci grupta zayıf (1) ve orta (2) değerler aralığında olduğunu saptadık. Böylece yüzey ve bez epiteli LIF immünoreaktivite skorlamaları hesaplandığında, birinci ve ikinci grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptadık. Bu sonuç bize insan endometriumunda lokal hasarlanmanın yüzey ve bez epiteli hücre yüzdesi artışına bağlı olarak LIF üretimini arttırdığını gösterdi. LIF-R antikoru boyanmasını değerlendirdiğimizde, birinci grubun yüzey epiteli ve bez epitelinde LIF-R boyanma şiddeti zayıf (1) ve orta (2) şiddette boyanma gösterirken, ikinci grupta orta (2) ve güçlü (3) boyanma şiddeti şeklinde artış gözlemlendi. LIF-R pozitif boyanan hücrelerin yüzdesine

bakıldığında hem birinci hem de ikinci grupta değerleri 2 ve 3 olarak saptadık. Böylece yüzey ve bez epiteli LIF-R immünoreaktivite skorlamaları hesaplandığında, birinci ve ikinci grup arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir fark saptadık. Bu sonuç bize insan endometriumunda lokal hasarlanmanın yüzey ve bez epiteli hücrelerinde LIF-R sentezinin artışına bağlı olarak LIF-R üretimini arttırdığını gösterdi.

İmmünohistokimyasal çalışmalarda, bazı belirteçler, hem yüzey hem de bez epitelinde sentezlenir, ancak yoğunlukları veya hücresel lokalizasyonlarında önemli farklara sahiptirler (LIF ve LIF reseptörü; östrojen ve progesteron reseptörleri). Özellikle implantasyon penceresinde farklı hücre fenotipleri olasılıkla farklı fonksiyonlarının olduğunu göstermektedir, bazı immünohistokimyasal belirteçler sadece bir epitel tipinde sentezlenir ve yüzey ve bez epitelinin birleşme yerinde sentezlerinin ani bir şekilde sonlandırılması gerekir (örneğin, sitokeratin). Ayrıca, çeşitli çalışmalar, yüzey epitelinde hücre-hücre bağlanmasında görev alan proteinlerin (örneğin, e-kadherin, α -6-integrin, β -katenin ve desmoplakin) implantasyon boyunca yeniden bir düzenlemeye maruz kaldıklarını göstermektedir (90,91). Çalışmamızda yukarıda da bahsedildiği üzere, endometrium yüzey ve bez epiteli LIF-R IRS skorlama değerleri arasında farklılıklar gözlemlendi. Birinci grubun yüzey LIF-R IRS skoru zayıfken, bez epitelinde negatif bulundu. İkinci grubun yüzey LIF-R IRS skoru zayıf-orta iken, bez epitelinde orta-güçlü şeklinde bulundu.

İmplantasyon penceresi boyunca uterus yüzey epiteli, pinopodlar (uterodomlar) adı verilen çıkıntılı hücreler gösterirler (92, 93). Martel ve arkadaşları östradiol ve progesteronun pinopodların oluşumu ve regresyonu üzerindeki etkilerini elektron mikroskopu kullanarak incelemişler ve pinopodların oluşmasının progesterona bağımlı olduğunu bulmuşlardır. Pinopod oluşumu ve blastosist implantasyonu için uterus reseptivitesinin, hormonal koşullarının aynı olduğunu saptamışlardır. Bu gözlemler, pinopodların, uterus reseptivitesini tahmin etmek için oldukça yararlı bir aracı olabileceği hipotezini desteklemektedir. (94).

Yapılan çalışmalarda insan endometriumunda pinopodların ortaya çıkması, uterusun alıcılığında morfolojik bir belirteç olarak kabul edilmiştir (95). Pinopodlar çok kısa bir süre için mevcuttur ve bu süreç implantasyon penceresi ile çakışmaktadır. Blastosist tutunma ve implantasyonunun ilk evresinde LIF 'nin rolü, uterus epitelinin LIF ve LIF-R üretiminin pik yapmasının, pinopodların ortaya çıkışıyla çakıştığı gerçeği

ile daha da ilginç bir hale gelmektedir (15). Yapılan çalışmalarda, endometriumda yüzey epitel pinopodlarının blastosist adhezyon bölgesini oluşturduğu düşünülmektedir (96,97). Bazı pinopodların birkaç günlük ömre sahip olduğu, diğerlerinin sekretuar fazın tamamı boyunca kalıcı olduğu iddia edilmektedir (98). Yüzey pinopod hücreleri implantasyon penceresinde embriyo tutunması ve implantasyonunda önemli olmakla birlikte, bez pinopodları muhtemelen siklus boyunca mevcuttur ve hatta hamileliğin erken döneminde sekresyona katılırlar (99,100,101,93). İnsan endometrium yüzey epiteli pinopod hücre alanlarının, trofoblast ve pinopod hücreleri arasında bağlantı komplekslerinin oluşması sayesinde, blastosistlerin bağlandığı yer olduğu gösterilmiştir (102). Yapılan çalışmalar, hücre yüzeyinin temel özelliklerinin (mikrovilli, kinosilya veya uzantıların) döngü boyunca değiştiğini göstermektedir (103,104). Silli hücreler özellikle proliferatif faz sırasında bol miktarda bulunurken sekresyon fazında sayıları azalır. Sekresyon fazında pinopod hücreleri görülürken, mikrovillluslu hücrelerin sayısı azalmaktadır (105, 106). Çalışmamızda sekresyon fazının implantasyon penceresi sürecinde alınan biyopsilerde birinci grubun elektron mikroskopik incelemesinde yüzey ve bez epitelinde pinopod hücrelerine rastlanmadı. Halbuki lokal hasarlanma sonrası alınan ikinci grubun biyopsilerinde hem yüzey hem de bez epitelinde pinopod hücreleri gözlemlendi.

Bazı hücre tiplerinde, NCS varlığı ve rezerv madde birikimi gibi özellikler de gösterilmiştir. NCS 'nin Novotny'nin gelişim evrelerine göre sınıflandırılması, mikrovilli zengin hücrelerin çoğunlukla 1. evrede (gelişen) NCS, pinopod hücrelerin 2. evrede (olgunlaşmış) NCS ve veziküllü hücrelerin 3. evrede (gerileyen) NCS içerdiği görülmüştür (45). NCS, sekretuar faz endometrium epitelinin en büyük ultrastruktürel yapısal işaretlerinden biridir (106,40). NCS'nin ortaya çıkışı ile blastosistin tutunması için endometriumun hazırlığı arasında açık bir ilişki vardır (107). Hormonal stimülasyon sonrası erken sekretuar aşamada, NCS'nin daha fazla miktar ve daha büyük boyutta oluşunun, endometriumun artan aktivitesinin bir işareti olarak alınabileceğini ileri sürmüşler (45). Bu nedenlerle, menstrual siklusun doğru zamanında endometriyumda NCS 'nin uyarılması, insan üremesi için gerekli olabilir. Aslında, sekresyon endometriyumunda NCS'nin yokluğu, kısırlıkla ilişkilendirilmiş tek yapısal değişikliktir (39). NCS indüksiyonunun tepe noktası, altı günlük postovulasyonda, tam olarak blastosist 'in endometriyuma bağlanma süresiyle koreledir. Dahası, tüm epitel hücrelerinin sadece ~% 5'i NCS içerir ve bu hücreler endometriyum boyunca dağılırlar

(108, 47). Bu nedenle, endometrial bağlanma için blastosistin, NCS içeren bu epitelyal hücre kümelerini seçtiğini belirtmek uygundur. Bağlanmayı sağlamak için epitelyal NCS ve blastosistin trofoblastı arasında belirli bir sinyalleşme olayı gerekebilir. Hormonal stimülasyondan sonra erken sekretuar aşamada endometriumun artan aktivitesinin bir işareti olarak, NCS 'nin daha fazla miktar ve daha büyük boyutta oluşunun alınabileceğini önermişlerdir (47). Çalışmamızda ikinci grubun elektron mikroskopik incelemesinde yüzey ve bez epiteli mikrovilluslu hücrelerinde olgunlaşmış NCS sayısı, birinci gruba göre daha fazla gözlemlendi.

Temel fonksiyonları lipidlerin depolanması ve salgılanması olan multilamellar cisimcikler, çeşitli hücre tiplerinde bulunmuşlardır (33,34,35) Dejenere olan hücreler ve lümendeki hücre kalıntıların varlığı, holokrin salgı ile uyumlu bulunmuştur. Vezikül hücrelerindeki bu sonuçlar, hücre ölümü işaretleyicilerinde artış ile uyumludur (109). Apoptozisin aksine, ölen hücrelerin hücre içeriğini hücre dışı alana bırakarak nekroz benzeri hücre ölümü göstermeleri, implantasyon için önemli olan inflamatuvar cevabın kurulmasına da katılabilir (110). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, açıklanamayan infertil kadınların endometriumunda spontan hücre ölümünün azaldığı ve implantasyon penceresinde hücre ölümünün fonksiyonel bir rol üstlendiği belirtilmiştir (111).

Endometrium vezikül hücrelerinin çok sayıda vezikül geliştirdiği, içeriğini ekzositoz yoluyla saldıkları ve daha sonra daha büyük vakuoller geliştirerek dejenerasyona ve hücre ölümüne gittikleri belirtilmiştir. Vezikül hücrelerinin apikal sitoplazmik membranlarının bozularak, dejenere çekirdeği de dahil olmak üzere içeriklerini lümene boşalttıkları saptanmıştır (32). Silli hücrelerin, sekresyon için değil, enerji üretimine uyarlanmış ultrastrüktürel özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir (112). Vesiküllü hücreler ise bahsedildiği gibi sonunda hücre ölümüne giderler. Bu bulgulara dayanarak, mikrovillus hücrelerin pinopod hücrelere doğru geliştiği ve muhtemelen vezikül hücrelerine doğru sonlanan bir hücre farklılaşma dizisi gösterdikleri önerilmiştir. Muhtemelen hormon düzenlemesinin hücre farklılaşma dizisinde, siklus boyunca hücre değişikliklerini sağladığı belirtilmiştir. Döngünün farklı dönemlerinde, farklı hücre tiplerinin seçici bir proliferasyonunun ve/veya ölümünün olması muhtemeldir. Çeşitli çalışmalar, pinopod hücrelerinin gelişmesi ve gap junction bağlantı değişiklikleriyle ilgili olarak progesteron hormonu düzenlemesi hipotezini önermişlerdir (15,106,113,114).

Çalışmamızda implantasyon penceresinde, önceki çalışmalarla uyumlu olarak hem birinci hem de ikinci grubun yüzey ve bez epitelinde farklı hücre tipleri belirledik. İkinci grupta mikrovillus, vakuol, silli ve pinopod hücreleri olmak üzere dört tip gözlenirken, pinopod hücreleri gözlenmeyen birinci grupta üç tipti. Çalışmamızda ikinci grubun endometrium epitel ve bez hücrelerinde, daha fazla miktarda glikojen granülleri ve depoları ile lipid damlacıkları ve muhtemelen bir lipid depolama şekli olan multilamellar cisimcikler gözlemlendi. Birinci grubun endometrium yüzey ve bez epitelinde glikojen depoları gözlenmezken, ikinci grupta mikrovillus hücrelerinin sitoplazmasında oldukça fazla alanı kaplamışlardı.

Tekrarlayan implantasyon başarısızlıkları çiftlerin çocuk sahibi olmalarındaki engellerden biridir. Pek çok sitokin ve molekülün endometriumda implantasyonu etkilediği bilinmesine karşın implantasyon sürecine etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir. İmplantasyon sürecinde endometrium belirteçlerinin tanımlanması ve yapılan araştırmalar sayesinde TİB olgularının azalmasına katkıda bulunulabilir.

Çalışmamızda implantasyon başarısızlığı olan kadınlarda lokal hasarlanma sonrası endometrium yüzey ve bez epitelinde bulduğumuz immunohistokimyasal sonuçlara göre hem LIF hem de LIF-R sentezinde artış gözlenirken elektron mikroskopik sonuçlara göre NCS, multilamellar cisimcikler, glikojen granülleri ve depoları, lipid damlacıklarında artış gözlemlendi. Ayrıca ikinci grubun endometrium yüzey ve bez epitelinde pinopod hücreleri ve mikrovillus hücrelerinde glikojen depoları gözlemlendi. Tüm bu bulgular, daha önce yapılan çalışmalarla da uyumlu olarak implantasyon penceresinde gözlenen ve blastosistin implantasyon oranını artıran önemli kriterlerdir. Bu nedenle lokal hasarlanma, başarılı bir gebeliğin sağlanması ve sürdürülmesi açısından gerekli görülen endometrium kriterlerini etkilediği için, alternatif bir tedavi seçeneği olarak görülebilir. Ayrıca lokal hasarlanma öncesi ve sonrası değişen kriterlerin olması ileride yapılacak yeni tedavi yöntemleri ve ilaçlarının bulunmasında yol gösterici olabilir. Fakat klinikte infertilite tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için ileriye dönük olarak yeni ve daha fazla çalışmalarla araştırılması ve desteklenmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Nikas G, Psychoyos A. Uterine pinopodes in peri-implantation human endometrium. *Ann N Y Acad Science*, 816:129-142, 1997
2. Li TC, Tuckerman EM, Laird SM. Endometrial factors in recurrent miscarriage. *Hum Reprod Update*, 8:43-52, 2002.
3. Stavréus-Evers A, Masironi B, Landgren BM, Holmgren A, Eriksson H, Sahlin L. Immunohistochemical localization of glutaredoxin and thioredoxin in human endometrium: a possible association with pinopodes. *Mol Hum Reprod*, 8:546-551, 2002.
4. Gnainsky Y, Granot I, Aldo PB, Barash A, Or Y, Schechtman E, Mor G, Dekel N. Local injury of the endometrium induces an inflammatory response that promotes successful implantation. *Fertil Steril*, 94:2030-2036, 2010.
5. Demir R, editör. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Ankara:Palme Yayın Evi; pp. 589, 2006.
6. Quinn CE, Casper RF. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity. *Hum Reprod Update*, 15:229-236, 2009.
7. Kalma Y, Granot I, Gnainsky Y, Or Y, Czernobilsky B, Dekel N, Barash A. Endometrial biopsy-induced gene modulation: first evidence for the expression of bladder-transmembranal uroplakin Ib in human endometrium. *Fertil Steril*, 91:1042-1049, 2009.
8. Quenby S, Nik H, Innes B, Lash G, Turner M, Drury J, Bulmer J. Uterine natural killer cells and angiogenesis in recurrent reproductive failure. *Hum Reprod*, 24:45-54, 2009.
9. Orvieto R, Meltcer S, Liberty G, Rabinson J, Anteby E.Y, Nahum R. A combined approach to patients with repeated IVF failures. *Fertil Steril*, 94:2462-2464, 2010.
10. Almog B, Shalom-Paz E, Dufort D, Tulandi T. Promoting implantation by local injury to the endometrium. *Fertil Steril*, 94:2026-2029, 2010.

11. Arici A, Engin O, Attar E, Olive DL. Modulation of leukemia inhibitory factor gene expression and protein biosynthesis in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*, 80:1908-1915, 1995.
12. Charnock-Jones DS, Sharkey AM, Fenwick P, Smith SK. Leukemia inhibitory factor mRNA concentration peaks in human endometrium at the time of implantation and the blastocyst contains mRNA for the receptor at this time. *J Reprod Fertil*, 101:421-426, 1994.
13. Kojima K, Kanzaki H, Iwai M, Hatayama H, Fujimoto M, Inoue T, Horie K, Nakayama H, Fujita J, Mori T. Expression of leukemia inhibitory factor in human endometrium and placenta. *Biol Reprod*, 50:882-887, 1994.
14. Sánchez-Cuenca J, Martín JC, Pellicer A, Simón C. Cytokine pleiotropy and redundancy-gp130 cytokines in human implantation.. *Immunol. Today* 20: 57-59, 1999.
15. Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Nikas Y, Hovatta O, Landgren BM. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium. *Fertil Steril*, 79: 808-814, 2003.
16. Giess R, Tanasescu I, Steck T, Sendtner M. Leukaemia inhibitory factor gene mutations in infertile women. *Mol Hum Reprod*. 5:581-586, 1999.
17. Baykal B, editör. *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Ankara Palme Yayın Evi; pp. 848, 2014.
18. Solakoğlu S, editör. *Junqueira's Temel Histoloji: Atlas Kitap*. Nobel Tıp Kitabevleri; pp. 462, 2015.
19. Gargett CE, Chan RW, Schwab KE. Hormone and growth factor signaling in endometrial renewal: role of stem/progenitor cells. *Mol Cell Endocrinol*. 288(1-2):22-29, 2008.
20. Arıöz A, Ege E. Premenstrüel sendrom sorunu olan üniversite öğrencilerinde, semptomların kontrolü ve yaşam kalitesinin artırılmasında eğitimin etkinliği. *Genel tıp Dergisi*. 23: 63-69, 2013
21. Günalp S.G. *Klinik Jinekolojik Endokronoloji ve İnfertilite*. Güneş Tıp Kitabevleri. Pp:199, 2007.

22. Öktem Ö, Urman B. Reprodüktif Yaşam Siklusu: Folikülogenez ve Menstruasyon. Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi. 1:1-24, 2012.
23. Gartner LP, Hiatt JL. Female Reproductive System. Color Textbook of Histology. Pp:461, 2001.
24. Shier D, Butler J, Lewis R. Hole's Human Anatomy&Physiology. 2010.
25. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. İnsan Embriyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri. Cilt 6, 2002.
26. Başaklar CA. Medikal Embriyoloji. Ankara Palme Yayınevi. Cilt 11, 2011.
27. Kim SM, Kim JS. A Review of Mechanisms of Implantation. Dev. Reprod. 4:351,359, 2017.
28. Karizbodagh MP, Rashidi B, Sahebkar A, Masoudifar A, Mirzaei H. Implantation Window and Angiogenesis. J Cell Biochem. 12:4141-4151, 2017.
29. Stavréus-Evers A, Masironi B, Landgren BM, Holmgren A, Eriksson H, Sahlin L. Immunohistochemical localization of glutaredoxin and thioredoxin in human endometrium: a possible association with pinopodes. Mol Hum Reprod, 8:546-551, 2002.
30. Gnainsky Y, Granot I, Aldo PB, Barash A, Or Y, Schechtman E, Mor G, Dekel N. Local injury of the endometrium induces an inflammatory response that promotes successful implantation. Fertil Steril, 94:2030-2036, 2010.
31. Margiouda-Siarkou C, Prapas Y, Petousis S, Milias S, Ravanos K, Kalogiannidis I, Mavromatidis G, Haitoglou C, Prapas N, Rousso D. LIF and LIF R expression in the endometrium of fertile and infertile women:A prospectiveobservational case control study. Mol Med Rep. 6:4721-4728, 2016.
32. Bartosch C1, Lopes JM, Beires J, Sousa M. Human endometrium ultrastructure during the implantation window: a new perspective of the epithelium cell types. Reprod Sci. 6:525-539, 2011.

33. Schmitz G, Muller G. Structure and function of lamellar bodies, lipid-protein complexes involved in storage and secretion of cellular lipids. *J Lipid Res*, 10:1539-1570, 1991.
34. Hariri M, Millane G, Guimond MP, Guay G, Dennis JW, Nabi IR. Biogenesis of multilamellar bodies via autophagy. *Mol Biol Cell*. 1:255-268, 2000.
35. Lajoie P, Guay G, Dennis JW, Nabi IR. The lipid composition of autophagic vacuoles regulates expression of multilamellar bodies. *J Cell Sci*. 1;118, 2005.
36. Clyman MJ. A new structure observed in the nucleolus of the human endometrial epithelial cell. *Am J Obstet Gynecol*. 86:430-432. 1963
37. Terzakis JA. The nucleolar channel system of human endometrium. *J Cell Biol*. 2:293-304, 1965.
38. Isaac C, Pollard JW, Meier UT. Intranuclear endoplasmic reticulum induced by Nopp140 mimics the nucleolar channel system of human endometrium. *J Cell Sci*. 23:4253-4264, 2001.
39. Kohorn EI, Rice SI, Hemperly S, Gordon M. The relation of the structure of progestational steroids to nucleolar differentiation in human endometrium. *J Clin Endocrinol*. 34:257-264, 1972.
40. Pryse-Davies J, Ryder TA, MacKenzie ML. In vivo production of the nucleolar channel system in post menopausal endometrium. *Cell Tissue Res*. 3:493-498, 1979.
41. Azadian-Boulanger G, Secchi J, Laraque F, Raynaud JP, Sakiz E. Action of midcycle contraceptive (R 2323) on the human endometrium. *Am J Obstet Gynecol*. 8:1049-1056, 1976.
42. Feria-Velasco A, Aznar-Ramos R, González-Angulo A. Ultrastructural changes found in the endometrium of women using megestrol acetate for contraception. *Contraception*. 3:187-201, 1972.
43. Wynn RM. Intrauterine devices: effects on ultrastructure of human endometrium. *Science*. 3781:1508-1510, 1967.

44. Spornitz UM. The functional morphology of the human endometrium and decidua. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 124:1-99, 1992.
45. Novotny R, Malinsky J, Oborna I, Dostal J. Nuclear channel system (NCS) in normal endometrium and after hormonal stimulation. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med.* 142:41-46, 1999.
46. More IA, McSeveney D. The three dimensional structure of the nucleolar channel system in the endometrial glandular cell: serial sectioning and high voltage electron microscopic studies. *J Anat.* Jun. 4:673-82, 1980.
47. Ryder TA, Mobberley MA, Whitehead MI. The endometrial nucleolar channel system as an indicator of progestin potency in HRT. *Maturitas.* 1:31-36, 1995.
48. Girish CJ, Naveen S, Kotur AH, Nagarajappa, Manjunath ML. A Correlative Study of Endometrial Glycogen Content and Other Contributory Factors on Female Infertility. *International Journal of Biomedical and Advance Research.* 1:30-35, 2012.
49. Harris GS, Schuler LA, Shapiro SS. Characterization of human endometrial glycogen synthase. *Fertil Steril.* 3:514-20, 1994.
50. Dean M, Hunt J, McDougall L, Rose J. Uterine glycogen metabolism in mink during estrus, embryonic diapause and pregnancy. *J Reprod Dev.* 6:438-446, 2014
51. Bramer SA, Macedo A, Klein C. Hexokinase 2 drives glycogen accumulation in equine endometrium at day 12 of diestrus and pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol.* 1:4. 2017.
52. Karizbodagh MP, Rashidi B, Sahebkar A, Masoudifar A, Mirzaei H. Implantation Window and Angiogenesis. *J Cell Biochem.* 12:4141-4151, 2017.
53. Kimber SJ. Leukaemia inhibitory factor in implantation and uterine biology. *Reproduction.* 2:131-145, 2005.
54. Chung TW, Park MJ, Kim HS, Choi HJ, Ha KT. Integrin $\alpha V\beta 3$ and $\alpha V\beta 5$ are required for leukemia inhibitory factor-mediated the adhesion of

- trophoblast cells to the endometrial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 4:936-940, 2016.
55. Aghajanova L, Altmae S, Bjuresten K, Hovatta O, Landgren BM, Stavreus-Evers A. Disturbances in the LIF pathway in the endometrium among women with unexplained infertility. *Fertil Steril.* 6:2602-2610, 2009.
 56. Margioulas-Siarkou C, Prapas Y, Petousis S, Miliadis S, Ravanos K, Dagklis T, Kalogiannidis I, Mavromatidis G, Haitoglou C, Prapas N, Rousso D. LIF endometrial expression is impaired in women with unexplained infertility while LIF-R expression in all infertility sub-groups. *Cytokine.* 96:166-172, 2017.
 57. Nogueira-Silva C, Piai P, Carvalho-Dias E, Peixoto FO, Moura RS, Correia-Pinto J. Leukemia inhibitory factor in rat fetal lung development: expression and functional studies. *PLoS One.* 1:e30517, 2012.
 58. Yen CF, Liao SK, Huang SJ, Tabak S, Arcuri F, Lee CL, Arici A, Petraglia F, Wang HS, Kayisli UA. Decreased Endometrial Expression of Leukemia Inhibitory Factor Receptor Disrupts the STAT3 Signaling in Adenomyosis During the Implantation Window. *Reprod Sci.* 8:1176-1186, 2017.
 59. Cheng JG1, Chen JR, Hernandez L, Alvord WG, Stewart CL. Dual control of LIF expression and LIF receptor function regulate Stat3 activation at the onset of uterine receptivity and embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 15:8680-8685, 2001.
 60. Güney M, Oral B, Karahan N, Mungan T. Expression of leukaemia inhibitory factor (LIF) during the window of implantation in copper T380A intrauterine device users. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 3:212-219, 2007.
 61. Gearing DP, Gough NM, King JA, Hilton DJ, Nicola NA, Simpson RJ, Nice EC, Kelso A, Metcalf D. Molecular cloning and expression of cDNA encoding a murine myeloid leukaemia inhibitory factor (LIF). *EMBO J.* 13:3995-4002, 1987.

62. Mathieu ME, Saucourt C, Mournetas V, Gauthereau X, Theze N, Praloran V, Thiebaud P, Boeuf H. LIF-dependent signaling: new pieces in the Lego. *Stem Cell Rev.* 1:1-15, 2012.
63. Pitard V1, Lorgeot V, Taupin JL, Aubard Y, Praloran V, Moreau JF. The presence in human serum of a circulating soluble leukemia inhibitory factor receptor (sgp190) and its evolution during pregnancy. *Eur Cytokine Netw.* 4:599-605, 1998.
64. Arici A, Oral E, Bahtiyar O, Engin O, Seli E, Jones EE. Leukaemia inhibitory factor expression in human follicular fluid and ovarian cells. *Hum Reprod.* 6:1233-9, 1997.
65. Cullinan EB, Abbondanzo SJ, Anderson PS, Pollard JW, Lessey BA, Stewart CL. Leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor expression in human endometrium suggests a potential autocrine/paracrine function in regulating embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 7:3115-20, 1996.
66. Fitzgerald JS, Poehlmann TG, Schleussner E, Markert UR. Trophoblast invasion: the role of intracellular cytokine signalling via signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3). *Hum Reprod Update.* 4:335-44. 2008.
67. Suman P, Malhotra SS, Gupta SK. LIF-STAT signaling and trophoblast biology. *JAKSTAT.* 4:e25155, 2013.
68. Farzaneh F, Mohammadi M, Niazi A, Eamaeilzadeh A, Rezaei S. Comparison of Efficacy of Pipelle Biopsy with Dilatation and Curettage. *Zahedan J Res Med Sci.* 2017.
69. Bettocchi S, Ceci O, Vicino M, Marelllo F, Impedovo L, Selvaggi L. Diagnostic inadequacy of dilatation and curettage. 4:803-805, 2001.
70. Barash A1, Dekel N, Fieldust S, Segal I, Schechtman E, Granot I. Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 6:1317-22, 2003.

71. Cengiz H1, Dağdeviren H, Kaya C, Yeşil A, Çaypınar SS. Comparing the efficacy of intrauterine lidocaine and paracervical block in decreasing the pain associated with endometrial biopsy: a randomised trial. *Arch Gynecol Obstet.* 3:609-614, 2014.
72. Remmele W, Stegner HE. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue. *Pathologe.* 3:138-40, 1987.
73. Fedchenko N, Reifenrath J. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue - a review. *Diagn Pathol.* 9:221. 2014.
74. Stewart CL1, Kaspar P, Brunet LJ, Bhatt H, Gadi I, Köntgen F, Abbondanzo SJ. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature.* 6390:76-79, 1992.
75. Ware CB, Horowitz MC, Renshaw BR, Hunt JS, Liggitt D, Koblar SA, Gliniak BC, McKenna HJ, Papayannopoulou T, Thoma B, et al. Targeted disruption of the low-affinity leukemia inhibitory factor receptor gene causes placental, skeletal, neural and metabolic defects and results in perinatal death. *Development.* 5:1283-99, 1995.
76. Cai LQ, Cao YJ, Duan EK. Effects of leukaemia inhibitory factor on embryo implantation in the mouse. *Cytokine.* 11:1676-1682, 2000.
77. Sengupta J, Lalitkumar PG, Najwa AR, Ghosh D. Monoclonal anti-leukemia inhibitory factor antibody inhibits blastocyst implantation in the rhesus monkey. *Contraception.* 5:419-25, 2006.
78. Delage G, Moreau JF, Taupin JL, Freitas S, Hambartsoumian E, Olivennes F, Fanchin R, Letur-Könirsch H, Frydman R, Chaouat G. In-vitro endometrial secretion of human interleukin for DA cells/leukaemia inhibitory factor by explant cultures from fertile and infertile women. *Hum Reprod.* 9:2483-2488, 1995.
79. Hambartsoumian E. Endometrial leukemia inhibitory factor (LIF) as a possible cause of unexplained infertility and multiple failures of implantation. *Am J Reprod Immunol.* 2:137-43, 1998.

80. Rosario GX, Hondo E, Jeong JW, Mutalif R, Ye X, Yee LX, Stewart CL. The LIF-mediated molecular signature regulating murine embryo implantation. *Biol Reprod.* 3:66, 2014.
81. Aplin JD, Ruane PT. Embryo-epithelium interactions during implantation at a glance. *J Cell Sci.* 1:15-22, 2017.
82. Prakash GJ, Suman P, Morales Prieto DM, Markert UR, Gupta SK. Leukaemia inhibitory factor mediated proliferation of HTR-8/SVneo trophoblast cells is dependent on activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2. *Reprod Fertil Dev.* 5:714-24, 2011.
83. Knöfler M. Critical growth factors and signalling pathways controlling human trophoblast invasion. *Int J Dev Biol.* 2-3:269-280, 2010.
84. Modi DN, Godbole G, Suman P, Gupta SK. Endometrial biology during trophoblast invasion. *Front Biosci (Schol Ed).* 4:1151-1171, 2012.
85. Zhao WX1, Lin JH. Notch signaling pathway and human placenta. *Int J Med Sci.* 6:447-52, 2012.
86. Akira S. Functional roles of STAT family proteins: lessons from knockout mice. *Stem Cells.* 3:138-146, 1999.
87. Charnock-Jones DS, Sharkey AM, Fenwick P, Smith SK. Leukaemia inhibitory factor mRNA concentration peaks in human endometrium at the time of implantation and the blastocyst contains mRNA for the receptor at this time. *J Reprod Fertil.* 2:421-426, 1994.
88. Conquet F, Brulet P. Developmental expression of myeloid leukemia inhibitory factor gene in preimplantation blastocysts and in extraembryonic tissue of mouse embryos. *Mol Cell Biol.* 7:3801-5, 1990.
89. Sharkey AM, King A, Clark DE, Burrows TD, Jokhi PP, Charnock-Jones DS, Loke YW, Smith SK. Localization of leukemia inhibitory factor and its receptor in human placenta throughout pregnancy. *Biol Reprod.* 2:355-364, 1999.
90. Illingworth IM, Kiszka I, Bagley S, Ireland GW, Garrod DR, Kimber SJ. Desmosomes are reduced in the mouse uterine luminal epithelium during

the preimplantation period of pregnancy: a mechanism for facilitation of implantation. *Biol Reprod.* (6):1764-1773, 2000.

91. Thie M, Fuchs P, Butz S, Sieckmann F, Hoschützky H, Kemler R, Denker HW. Adhesiveness of the apical surface of uterine epithelial cells: the role of junctional complex integrity. *Eur J Cell Biol.* 3:221-232, 1996.
92. Lessey BA. The role of the endometrium during embryo implantation. *Hum Reprod.* 6:39-50, 2000.
93. Sarani SA, Ghaffari-Novin M, Warren MA, Dockery P, Cooke ID. Morphological evidence for the 'implantation window' in human luminal endometrium. *Hum Reprod.* 12:3101-3106, 1999.
94. Martel D, Monier MN, Roche D, Psychoyos A. Hormonal dependence of pinopode formation at the uterine luminal surface. *Hum Reprod.* 4:597-603, 1991.
95. Nardo LG1, Sabatini L, Rai R, Nardo F. Pinopode expression during human implantation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2:104-108, 2002.
96. Bentin-Ley U. Relevance of endometrial pinopodes for human blastocyst implantation. *Hum Reprod.* 6:67-73, 2000.
97. Bentin-Ley U, Horn T, Sjögren A, Sorensen S, Falck Larsen J, Hamberger L. Ultrastructure of human blastocyst-endometrial interactions in vitro. *J Reprod Fertil.* 2:337-350, 2000.
98. Acosta AA, Elberger L, Borghi M, Calamera JC, Chemes H, Doncel GF, Kliman H, Lema B, Lustig L, Papier S. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. *Fertil Steril.* 4:788-798, 2000.
99. Adams SM, Gayer N, Hosie MJ, Murphy CR. Human uterodomes (pinopods) do not display pinocytotic function. *Hum Reprod.* 8:1980-1986, 2002.
100. Murphy CR. Uterine receptivity and the plasma membrane transformation. *Cell Res.* 4:259-267, 2004.

101. Preston AM, Lindsay LA, Murphy CR. Desmosomes in uterine epithelial cells decrease at the time of implantation: an ultrastructural and morphometric study. *J Morphol.* 1:103-1088, 2006.
102. Bentin-Ley U, Sjögren A, Nilsson L, Hamberger L, Larsen JF, Horn T. Presence of uterine pinopodes at the embryo-endometrial interface during human implantation in vitro. *Hum Reprod.* 2:515-520, 1999.
103. Johannisson E, Nilsson L. Scanning electron microscopic study of the human endometrium. *Fertil Steril.* 9:613-625, 1972.
104. Nikas G, Makrigiannakis A, Hovatta O, Jones HW Jr. Surface morphology of the human endometrium. Basic and clinical aspects. *Ann N Y Acad Sci.* 900:316-324; 2000.
105. Ferenczy A, Richart RM, Agate FJ Jr, Purkerson ML, Dempsey EW. Scanning electron microscopy of the human endometrial surface epithelium *Fertil Steril.* 8:515-521, 1972.
106. Masterton R, Armstrong EM, More IA. The cyclical variation in the percentage of ciliated cells in the normal human endometrium. *J Reprod Fertil.* 3:537-540;1975.
107. Clyman MJ. A new structure observed in the nucleolus of the human endometrial epithelial cell. *Am J Obstet Gynecol.* 86:430-432, 1963.
108. More IA, McSeveney D. The three dimensional structure of the nucleolar channel system in the endometrial glandular cell: serial sectioning and high voltage electron microscopic studies. *J Anat.* 4:673-82, 1980.
109. Narkar M, Kholkute S, Chitlange S, Nandedkar T. Expression of steroid hormone receptors, proliferation and apoptotic markers in primate endometrium. *Mol Cell Endocrinol.* 1-2:107-113, 2006.
110. Vaskivuo TE, Stenback F, Karhumaa P, Risteli J, Dunkel L, Tapanainen JS. Apoptosis and apoptosis-related proteins in human endometrium. *Mol Cell Endocrinol.* 1-2:75-83, 2000.

111. Vatansever HS, Lacin S, Ozbilgin MK. Changed Bcl:Bax ratio in endometrium of patients with unexplained infertility. *Acta Histochem.* 5:345-355, 2005.
112. Horne AW, White JO, Lalani el-N, Mobberley MA, Margara RA, Trew GH, Ryder TA. Analysis of epitopes on endometrial epithelium by scanning immunoelectron microscopy. *Biochem Biophys Res Commun.* 1:102-108, 2002.
113. Risek B, Klier FG, Phillips A, Hahn DW, Gilula NB. Gap junction regulation in the uterus and ovaries of immature rats by estrogen and progesterone. *J Cell Sci.* (3):1017-1032, 1995.
114. Salehnia M. Different pattern of pinopodes expression in stimulated mouse endometrium. *Exp Anim.* 4:349-352, 2005.

HAM VERİLER

FORMLAR

PATENT HAKKI İZİNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

TEKRARLAYAN İMPLANTASYON BAŞARISIZLIĞI OLAN
HASTALARDA ENDOMETRİUMDA OLUŞTURULAN LOKAL
HASARLANMA ETKİLERİNİN IŞIK VE ELEKTRON
MİKROSKOPİK İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 8	% 4	% 3	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.journalagent.com İnternet Kaynağı	% 1
2	Submitted to Celal Bayar Ā niversitesi Öğrenci Ödevi	% 1
3	Submitted to Middle East Technical University Öğrenci Ödevi	% 1
4	cerrahisanatlardergisi.com İnternet Kaynağı	% 1
5	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	ÖKTEM, Özgür and URMAN, Bülent. "Reprodüktİf yaşam siklusu: Folikülogenez ve menstruasyon", Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği, 2012. Yayın	<% 1