



T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

TEKRARLAYAN İMPLANTASYON BAŞARISIZLIĞINDA ENDOMETRİAL HASARLANMANIN ENDOMETRİUMDAKİ ETKİLERİ

Ömer Faruk GEÇKİL

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İbrahim Ferhat ÜRÜNSAK

ADANA-2021



T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

TEKRARLAYAN İMPLANTASYON BAŞARISIZLIĞINDA ENDOMETRİAL HASARLANMANIN ENDOMETRİUMDAKİ ETKİLERİ

Ömer Faruk GEÇKİL

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İbrahim Ferhat ÜRÜNSAK

Bu tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TTU-2021-13747'nolu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA-2021

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim sırasında her zaman beni destekleyen, tez konumun seçilmesi, yürütülmesi ve tamamlanmasında yardımlarını, samimiyetini ve anlayışını esirgemeyen, meslek hayatındaki değer biçilemez tecrübelerini bizlerle paylaşmaktan çekinmeyen, hep sevdiğim ilgi duyduğum üreme endokrinolojisi ve infertilite alanında öğretmekten sıkılmayan sıkılmayan saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. İbrahim Ferhat ÜRÜNSAK'a;

Sadece Anabilim Dalı Başkanımız olmasıyla değil, hekimlik mesleğinin zarafetini bizlere öğretmesinden sonsuz mutluluk duyduğum Sayın Prof. Dr. İsmail Cüneyt EVRÜKE'ye

Disiplin, saygı, sevgi çerçevesinde başarıya ulaşan yolu yorulmadan azim ile çıkan ve bu konuda bizlere örnek olan Jinekolojik Onkoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet Ali VARDAR'a

Yeri geldiğinde yetiştirdiği hekimleri birer evladından ayırmayan, ve bunu hissettirmekten hiç çekinmeyen Perinatoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Süleyman Cansun DEMİR'e

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden bu yana sevgisini ve koruyuculuğunu hep üzerimde hissettiğim, azmine ve başarısına hayran kaldığım, eğitimci kimliğini sonuna kadar hak ettiğine inandığım, her öğrencisinin sorunlarını dinlemekten sıkılmayan, çözüm bulmak için zamanını ayırmaktan çekinmeyen fakültemiz öğrencilerinin büyük şansı Dekan Yardımcımız Prof. Dr. Ümran KÜÇÜKGÖZ GÜLEÇ'e

Nezaketi, Disiplin, Çalışkanlık ve Yeteneğin vücut bulmuş hali olan saygıdeğer hocam, hekimlik mesleğinin etik ve deontolojisini biz öğrencilerine yaşayarak öğreten sayın Prof. Dr. Ahmet Barış GÜZEL'e

Jinekolojik Onkolojide öğrendiğimiz her kelimedede payı olan, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım öğrettiği cerrahi tekniklere doyamadığım, genellikle çok kızdırdığım ama saygı duymaktan hiçbir zaman vazgeçemeyeceğim, sevgisinden şüphe etmeyeceğim Doç. Dr. Ganim KHATİB'e

Hep hocam olarak sayacağım ama hocam diyemediğim, abim demeyi daha çok sevdiğim, riskli gebeliklerin yönetiminde kendime olan güvenimin mimarı sayın Doç. Dr. Mete SUCU'ya

Ve sanki fakülteye başlamamızı dört gözle bekleyen, eğitime başladığımız ilk günden bizleri kucaklayan, kollarının bizleri kimi zaman çok sıktığı kimi zaman kontrollü saldırdığı ama hep gözünün önünde tuttuğu; yapacağımız hataları önceden sezebilen, yeri geldiğinde takdir etmekten imtina etmeyen, yeri geldiğinde özür dileyebilecek alçak gönüllüğe sahip olan, hastalıklara değil hastalara yaklaşmayı öğreten, her hastanın dinlenmeyi hak ettiğini bizlerden deva beklediğini bize öğreten sayın hocam Prof. Dr. Selim BÜYÜKKURT'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın yürütülmesi sırasında yardımcı olan, desteğini ve anlayışını esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Özgül TAP'a, Dr. Öğr. Üyesi Yurdun KUYUCU'ya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sait POLAT'a, Embriyolog Özdem KARAOĞLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın biyoistatistik bölümünde yardımlarını esirgemeyen ve sayesinde halk sağlığının önemini tekrar hatırladığım Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ertan Kara'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Tıpta Uzmanlık eğitimim sırasında, bana her zaman destek olan ve yardımlarını esirgemeyen destek sağlayan Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı akademik ve idari personellerine çok teşekkür ederim.

Tıpta uzmanlık eğitime başlamamda teşvik eden ve yol gösteren, her konuda yardım ve dostluklarını esirgemeyen hep yanımda hissettiğim sevgili eşim Nida GEÇKİL'e, beni bu günlere getiren, varlıkları ve sevgileri ile güç veren canım annem Beyhan GEÇKİL ve canım babam Adnan GEÇKİL'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ve Kızım sana da teşekkür ederim, oyun zamanlarımızdan müsaade ederek tezimi yazmama izin verdiğin için...

Arş. Gör. Dr. Ömer Faruk GEÇKİL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Uterus Histolojisi	4
2.1.1. Endometrium Histolojisi	5
2.1.2. Endometriyumda Kan Damarları	7
2.2. Endometriumun Fizyolojisi	8
2.2.1. Menstrüel Siklus Sırasında Endometrial Değişiklikler	8
2.2.1.1. Menstrüel Evre (1-4. Günler arası)	8
2.2.1.2. Proliferatif Evre (4-14. Günler arası)	9
2.2.1.3. Sekretuar Evre (14-28. Gün)	10
2.2.2. Endometriyum Histofizyolojisi	14
2.3. Endometrial Reseptivite	15
2.4. Preovulatuvar Dönem ve İmplantasyona hazırlık	20
2.5. İmplantasyon	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Hasta Seçimi	26
3.2. Histeroskopi ve Pipel ile Endometrial Hasarlandırma	28
3.3. Biyokimyasal Analizlerin Yapılışı	28
3.4. Doku İnceleme Yöntemleri	29
3.4.1. Işık Mikroskopik Doku Hazırlama Yöntemi	29
3.4.2. İmmunohistokimya için Doku Hazırlama Yöntemi	30
3.4.3. Elektron Mikroskopisi için Doku Hazırlama Yöntemi	31
3.5. İstatistiksel Analiz	32

4. BULGULAR	33
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	33
4.2. HSG ve Endometrial kalınlık	35
4.3. Işık Mikroskopik Bulgular	35
4.3.1. Endometrial Reseptivite Referans Grubu.....	36
4.3.2. TİB-Hasarlandırma Öncesi	40
4.3.3. TİB-Hasarlandırma Sonrası	44
4.4. Elektron Mikroskopik Bulgular	48
4.4.1. Endometrial Reseptivite Referans Grubu.....	48
4.4.1.1. Endometrial Reseptivite Referans Grubu 19. Gün.....	48
4.4.1.2. Endometrial Reseptivite Referans Grubu 20. Gün.....	53
4.4.1.3. Endometrial Reseptivite Referans Grubu 21. Gün.....	57
4.4.2. TİB Grubu - Hasarlandırma Öncesi	60
4.4.2.1. TİB Grubu - Hasarlandırma Öncesi 19. Gün	60
4.4.2.2. TİB Grubu - Hasarlandırma Öncesi 20. Gün	63
4.4.2.3. TİB Grubu - Hasarlandırma Öncesi 21. Gün	67
4.4.3. TİB Grubu - Hasarlandırma Sonrası	70
4.4.3.1. TİB Grubu - Hasarlandırma Sonrası 19. Gün	70
4.4.3.2. TİB Grubu - Hasarlandırma Sonrası 20. Gün	74
4.4.3.3. TİB Grubu - Hasarlandırma Sonrası 21. Gün	78
4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular	82
4.5.1. Östrojen Reseptörü- α İmmünoaktivitesi	82
4.5.2. LİF İmmünoaktivitesi	84
4.5.3. $\alpha V\beta_3$ İntegrin İmmünoaktivitesi.....	86
5. TARTIŞMA	88
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	102
KAYNAKLAR	104

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Embriyo Skorlaması	22
Şekil 2.	İmplantasyon	24
Şekil 3.	Endometrial Reseptivite Referans Grubu 19. Gün. Tek katlı prizmatik epitel (Ep) ile döşeli endometriyum yüzey epiteli ve tek katlı prizmatik epitel ile döşeli hafif kıvrıntılı endometrial bezler (ok) normal olarak izlenmektedir. Endometrial stromanın (S) yer yer ödematöz alanlar içerdiği görülmektedir. Bar=100 µm.	37
Şekil 4.	Endometrial Reseptivite Referans Grubu 20. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve endometrial bezler (ok) normal olarak görülmektedir. Endometrial stromanın (S) yer yer ödematöz alanlar içerdiği görülmektedir. Bar=100 µm.	38
Şekil 5.	Endometrial Reseptivite Referans Grubu 21. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep), stroma içerisinde yer alan çok sayıda, kıvrıntılı görünümde, geniş lümene sahip endometrial bezler (siyah ok) ile kapiller (beyaz ok) izlenmektedir. Bar=200 µm.	39
Şekil 6.	TİB Hasarlandırma öncesi Grup 19. Gün. Endometriumu döşeyen yüzey epitelinin (Ep) pseudostratifiye prizmatik epitel yapısında olduğu görülmektedir. Endometrial bezlerin (ok) stroma (S) içerisinde seyrek olarak dağıldığı izlenmektedir. Bar=100 µm.	41
Şekil 7.	TİB Hasarlandırma öncesi Grup 20. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve pseudostratifiye prizmatik epitel ile döşeli endometrial bezler (ok) izlenmektedir. Bar=100 µm.	42
Şekil 8.	TİB Hasarlandırma öncesi Grup 21. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve bez epitelinin (ok) pseudostratifiye prizmatik epitel yapısında olduğu görülmektedir. Bar=100 µm.	43
Şekil 9.	TİB-Hasarlandırma Sonrası Grup 19. Gün. Endometrium yüzey epitelinin (Ep) tek katlı prizmatik tipte olduğu, stromanın (S) ödematöz alanlar içerdiği ve çok sayıda kıvrıntılı yapıda, lümeni genişlemiş, prizmatik epitel ile örtülü endometrial bez içerdiği görülmektedir. Bar=200 µm.	45
Şekil 10.	TİB-Hasarlandırma Sonrası Grup 20. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve ödematöz yapıdaki stroma (S) içerisinde geniş lümen yapısına sahip endometrial bezler görülmektedir. Stroma içerisinde enflamatuvar hücre infiltrasyonunun varlığı (beyaz ok) görülmektedir. Bar=200 µm.	46
Şekil 11.	TİB-Hasarlandırma Sonrası Grup 21. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve endometrial bezler (siyah ok) görülmektedir. Ödematöz yapıdaki stroma (S) içerisinde enflamatuvar hücre infiltrasyonunun varlığı (beyaz ok) görülmektedir. Bar=200 µm.	47
Şekil 12.	Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün endometriyum yüzey epiteli. Endometrium yüzey epitelinin ince, uzun prizmatik şekilli hücrelerden oluştuğu izlenmektedir. Epitel tabakası içerisinde yer alan pinopodlu (PH) ve mikrovillüslü	

	hücreler (MvH) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), pinopod (pn). Bar=0.2 µm.....	50
Şekil 13.	Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün endometriyum bez epiteli. Endometrium bez epitelinin içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH), pinopodlu hücreler (PN) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), mikrovillüs (mv), glikojen partikülleri (gl), lipid (L) izlendi. Bar=1 µm.	51
Şekil 14.	Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün stroma. Stroma içerisinde normal görünümde stromal hücreler (SH) ve kapillerin varlığı (Kap) görülmektedir. Bar=2 µm.....	52
Şekil 15.	Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik epitel tabakası içerisinde yer alan mikrovillüslü hücreler (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), mikrovilluslar (mv) ve pinopodlar (*) izlenmektedir. Bar=2 µm.	54
Şekil 16.	Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün bez epiteli. Tek katlı prizmatik epitel içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) normal olarak izlenmektedir. Çekirdek (Ç), mikrovilluslar (mv) ve pinopodlar (*) görülmektedir. Bar=2 µm.	55
Şekil 17.	Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün stroma. Stromal hücreler (SH) ve makrofaj (M) normal olarak izlenmektedir. Bar=2 µm.	56
Şekil 18.	Endometrial reseptivite referans grubu 21. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik epitel tabakası içerisinde yer alan mikrovillüslü hücreler (MvH), sıyalı hücreler (SH), pinopodlu hücreler (PH) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), nükleolar kanal sistemi (nks), pinopod (pn), mikrovillüs (mv), mitokondriyon (m), glikojen partikülü (gl) izlenmektedir. Bar=1 µm.	58
Şekil 19.	Endometrial reseptivite referans grubu 21. gün bez epiteli. Endometrium bez epitelinin içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) pinopodlu hücreler (PH) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), mitokondriyon (m), mikrovillüs (mv), glikojen (gl), pinopod (pn) yapıları izlenmektedir. Bar=1 µm.....	59
Şekil 20.	TİB grubu hasarlandırma öncesi 19. gün yüzey epiteli. Yüzey epitelinin tek katlı prizmatik epitel ve bazı alanlarda pseudostratifiye prizmatik tipte olduğu görülmektedir. Epitel tabakası içerisinde intraepitelial lenfosit (L), ve piknotik çekirdeğe ve elektron lüsent sitoplazmaya sahip hücrenin varlığı dikkati çekmektedir. Epitel tabakası altında stroma içerisinde stromal hücreler (SH) izlenmektedir. Bar=2 µm.....	61
Şekil 21.	TİB grubu hasarlandırma öncesi 19. gün bez epiteli. Bez epitelinin pseudostratifiye tipte olduğu ve epitel hücrelerinin aralarında mitoz bölünme aşamasında olan hücrenin varlığı (ok) izlenmektedir. Bar=1 µm.	62
Şekil 22.	TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik yüzey epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) izlenmektedir. Bar=1 µm.	64

Şekil 23.	TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün bez epiteli. Tek katlı prizmatik bez epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) izlenmektedir. Bar=1 µm.	65
Şekil 24.	TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün stroma. Stromal hücrelerin (SH) sitoplazmalarında genişlemiş endoplazmik retikülüm sisternaları (ok) izlenmektedir. Bar=1 µm.	66
Şekil 25.	TİB grubu hasarlandırma öncesi 21. gün yüzey epiteli. Epitelin tek katlı prizmatik epitel ve bazı alanlarda pseudostratifiye prizmatik tipte olduğu görülmektedir. Mikrovillüslü hücreler (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) görülmektedir. Stromada stromal hücreler (SH) görülmektedir. Bar=1 µm.	68
Şekil 26.	TİB grubu hasarlandırma öncesi 21. gün bez epiteli. Endometrial bezlerin pseudostratifiye prizmatik epitel ile örtülü olduğu görülmektedir. Bez epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) izlenmektedir. Stroma içerisinde stromal hücreler (SH) görülmektedir. Bar=2 µm.	69
Şekil 27.	TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik tipte endometrium yüzey epitelin içerisinde pinopodlu (PH), mikrovillüslü (MvH) ve silyumlu hücreler (SH) izlenmektedir. Çekirdek (Ç) içerisinde elektron dens granüler matriks içerisinde kompleks tübüler yapılar olarak karakterize iyi gelişmiş nüleolar kanal sistemleri (nks) izlenmektedir. Hücrelerin lümene yakın apikal yüzeylerinde silyum (ok), mikrovilluslar (mv) ve pinopod (pn) görülmektedir. Bar=1 µm.	71
Şekil 28.	TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün bez epiteli. Endometriumun bez epiteli içerisinde mikrovillüslü (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) izlenmektedir. Mikrovillüslü hücrelerin çekirdeği (Ç) ve sitoplazma içerisinde kümeler oluşturan glikojen partikülleri (gl) görülmektedir. Bar=1 µm.	72
Şekil 29.	TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün stroma. Endometrial stromanın ödematöz yapıda olduğu izlenmektedir. Stromal hücrelerin indentasyon gösteren, ökromatik, oval şekilli çekirdeği (Ç) ve sitoplazma içerisindeki lipid damlacıkları (L) görülmektedir. Bar=1 µm.	73
Şekil 30.	TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün yüzey epiteli. Endometriyum yüzey epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH), veziküllü hücreler (VH) ve intraepitelyal lenfosit (L) izlenmektedir. Bar=1 µm.	75
Şekil 31.	TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün bez epiteli. Endometriyum bez epitelinin tek katlı prizmatik tipte olduğu görülmektedir. Bez epiteli içerisinde yer alan veziküler hücreler (VH) izlenmektedir. Bar=2 µm.	76
Şekil 32.	TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün stroma. Stromal hücrelerin (SH) çekirdeği (Ç) ve sitoplazması içerisinde lipid damlacıkları (L) görülmektedir. Bar=1 µm.	77
Şekil 33.	TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik yüzey epiteli içerisinde normal yapıda mikrovillüslü ve pinopodlu hücreler izlenmektedir. Çekirdek (Ç), pinopod (pn) ve mikrovilluslar (mv) görülmektedir. Bar=2 µm.	79

- Şekil 34. TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün bez epiteli.** Tek katlı prizmatik bez epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), mikrovilluslar (mv) ve glikojen (gl) görülmektedir. Bar=1 µm.....80
- Şekil 35. TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün stroma.** Ödematöz stroma içerisinde stromal hücreler (SH) ve kapiller (Kap) izlenmektedir. Stromal hücrelerin sitoplazması içerisinde yer alan endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği (ok) izlenmektedir. Bar=2 µm.81
- Şekil 36. ER-α immunoreaktivitesi. A)** Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün Bar=100 µm. **B)** Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün Bar=100 µm. **C)** Endometrial reseptivite referans grubu 21. gün Bar=100 µm. **D)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 19. gün. Bar=100 µm. **E)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün. Bar=50 µm. **F)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 21. gün. Bar=100 µm. **G)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün. Bar=100 µm. **H)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün. Bar=100 µm. **I)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün. Bar=50 µm.....83
- Şekil 37. LİF immunoreaktivitesi. A)** Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün Bar=50 µm. **B)** Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün Bar=50 µm. **C)** Endometrial reseptivite referans grubu 21. gün Bar=50 µm. **D)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 19. gün. Bar=50 µm. **E)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün. Bar=50 µm. **F)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 21. gün. Bar=50 µm. **G)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün. Bar=50 µm. **H)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün. Bar=50 µm. **I)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün. Bar=50 µm.85
- Şekil 38. αVβ₃ İntegrin immünoreaktivitesi. A)** Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün Bar=100 µm. **B)** Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün Bar=100 µm. **C)** Endometrial reseptivite referans grubu 21. gün Bar=50 µm. **D)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 19. gün. Bar=50 µm. **E)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün. Bar=50 µm. **F)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 21. gün. Bar=100 µm. **G)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün. Bar=50 µm. **H)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün. Bar=50 µm. **I)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün. Bar=50 µm.....87

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. ESHRE tarafından oluşturulan embriyo skorlama sistemi ¹¹⁶	23
Tablo 2. Işık Mikroskopik doku takip işlemi	29
Tablo 3. Elektron Mikroskopik doku takbinde dehidratasyon işlemi.....	31
Tablo 4. Elektron Mikroskopik doku takibinde şeffaflandırma işlemi.....	32
Tablo 5. Gömme Materyalinin hazırlanışı	32
Tablo 6. Bazal FSH, LH, E2 düzeyleri karşılaştırılması	34
Tablo 7. Hasarlandırma günlerindeki Hormon düzeyleri.....	34
Tablo 8. Hasarlandırma öncelerinde Endometrium Çift Duvar Kalınlıkları	35



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

COX-2	: Siklooksijenaz-2
CSF-1	: Koloni Stimule Edici Faktör-1
E2	: Östradiol
ESHRE	: Avrupa İnsan Üremesi ve Embriyoloji Derneği
ET	: Embriyo transferi
FSH	: Folikül stimüle edici hormon
GER	: Granüler endoplazmik retikulum
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
HB-EGF	: Heparin Bağlayan Epitelyal Büyüme Faktörü
hCG	: Human koryonik gonodotropin
HOXA	: Homeobox genler
ICAM	: Intraselüler Adezyon Molekülü
ICSI	: İntra Sitoplazmik sperm enjeksiyonu
IGF-BP-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayan Protein-1
IL-1	: İnterlökin-1
IVF	: In-vitro fertilizasyon
KGF	: Keratinosit Büyüme Faktörü
LH	: Lüteinizan hormon
LIF	: Lökemi İnhibitör Faktör
LIFR	: Lökemi inhibitör faktör reseptörü
M-CSF	: Makrofaj-koloni uyarıcı faktörü
mm	: Milimetre
MMP	: Matriks metalloproteinaz
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
MUC-1	: Müsin-1
NCS	: Nükleolar kanal sistemi
nm	: Nanometre
PAI-1	: Plazminojen Aktivatör inhibitörü-1
PGI-2	: Prostaglandin
PR-B	: Progesteron reseptörü-B

SEM	: Scanning Elektron Mikroskopisi
SER	: Düz endoplazmik retikulum
TEM	: Transmission Elektron Mikroskopisi
TGF-β	: Dönüştürücü büyüme faktörü
TIMP	: Metalloproteinaz doku inhibitörü
TİB	: Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
ZP-3	: Zona Pellusida-3



ÖZET

Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığında Endometrial Hasarlanmanın Endometriumdaki Etkileri

Amaç: Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (TİB) olan hastalarda IVF'in başarısı endometrium ile blastokistin uyumlu gelişimine bağlıdır. TİB'in sebepleri arasında, embriyo ve endometrium ile bağlantılı problemler olduğu ileri sürülmektedir. TİB olan kadınlarda iyi kalitede embriyo transferi yapılmasına rağmen gebeliğin oluşmaması sebebiyle endometrial faktörlerin değerlendirilmesi görüşü ön plana çıkmaktadır. Endometrium 'implantasyon penceresi' olarak adlandırılan zaman dilimi içinde embriyoyu kabul eder. Endometriumdan pipel yardımı ile biyopsi alınmasıyla yaratılan endometrial hasarlanmanın endometrial reseptiviteyi arttırdığına yönelik birçok çalışma yayınlanmasına rağmen endometrial hasarlanmanın hangi mekanizma ile bunu yaptığı net olarak bilinmemektedir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda TİB tanısı konulmuş 19 hastaya, menstrüel siklusun 19-21. günleri arasında tanısıl histeroskopi ile endometriumun yapısal ve histolojik patolojisi olmadığı saptandı ve alınan materyal endometrial reseptivite belirteçlerinden LIF, integrin $\alpha\beta3$, östrojen alpha reseptörü için immunohistokimyasal değerlendirmeye, pinopod oluşumları açısından elektron mikroskopisi değerlendirmesine alındı. Aynı hasta grubunda takip eden bir sonraki siklusta yine 19-21. günler arasında tedaviye yanıt araştırması için yapılan endometrial örnekleme materyalleri de endometrial reseptivite belirteçleri için değerlendirildi. Herhangi bir endometrial patolojisi olmayan tedavisiz gebe kalabilmiş kadınlardan oluşan endometrial reseptivite referans grubunun sonuçları alınarak karşılaştırma yapıldı.

Bulgular ve Sonuç: TİB tanılı hastaların hasarlandırma öncesinde endometriumlarında fertil kadınlardan farklı saptanan ultrastrüktüel bulguların hasarlandırma sonrasında fertil kadınların endometriumuna benzeyen özelliklere dönüştüğü saptandı. İmmunohistokimyasal olarak LIF düzeylerinin hasarlandırma ile arttığı, Östrojen alpha reseptörünün ve İntegrin $\alpha\beta3$ düzeylerinin hasarlandırma ile anlamlı farklılık oluşturmadığı saptandı.

Anahtar Kelimeler: Endometrial Hasarlanma, Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı, LIF, İntegrin $\alpha\beta3$, Östrojen- α reseptörü

ABSTRACT

The Effects of Endometrial Scratch on the Endometrium in Recurrent Implantation Failure

Purpose: Success of IVF in patients with recurrent implantation failure (RIF) depends on the harmonious development of the endometrium and blastocyst. It has been suggested that among the causes of RIF (Recurrent Implantation Failure) are the problems associated with the embryo and endometrium. In women with RIF, evaluation of endometrial factors comes to the fore, since pregnancy does not occur despite good quality of embryo transferring. The endometrium accepts the embryo within the time period so-called 'implantation window'. Although many studies have been published showing that endometrial damage caused by biopsy from the endometrium with the help of a pipette increases endometrial receptivity, the mechanism by which endometrial damage does this is not clearly known.

Material and Methods: In our study, 19 patients who diagnosed with RIF were evaluated between the 19th and 21st days of the menstrual cycle. It was determined that there was no structural and histological pathology of the endometrium by diagnostic hysteroscopy between days of 01-22 and the material taken was evaluated for immunohistochemical evaluation for endometrial receptivity markers LIF, integrin $\alpha\beta 3$, estrogen alpha receptor, and electron microscopy for pinopod formations. Endometrial sampling materials for the study of response to treatment were also evaluated for markers of endometrial receptivity in the same patient group in the next cycle again between 19-21 days. Comparisons were made by taking the results of the endometrial receptivity reference group, which consisted of women who could conceive without any endometrial pathology and could become pregnant without treatment.

Findings and Conclusion: It was determined that the ultrastructural findings in the endometrium of patients with RIF, which were different from those of fertile women before injury, turned into features similar to the endometrium of fertile women after injury. Immunohistochemically, it was determined that LIF levels increased with injury, and Estrogen alpha receptor and Integrin $\alpha\beta 3$ levels did not differ significantly with injury.

Keywords: Endometrial Scratching, Recurrent Implantation Failure, LIF, Integrin $\alpha\beta 3$, Estrogen alpha receptor

1. GİRİŞ

Tekrarlayan implantasyon başarısızlıkları infertil çiftlerin tedavileri sırasında halen aşılmakta zorlanılan bir problem olarak görülmektedir. İmplantasyon başarısızlıklarında endometrial reseptiviteyi etkileyen moleküler ve yapısal belirteçler olduğu bilinmektedir. İmplantasyon başarısızlığında embriyo ve/veya endometriumda bulunan bir aykırılık sebep olarak düşünülmektedir. Oosit kalitesi, embriyo kalitesi, hasta yaşı, endometrial reseptivite, luteal faz defektleri, uterin tubal peritoneal sebepler, embriyo kültür medyumları implantasyon başarısızlığının birer sebebi olarak karşımıza çıkmaktadır. Endometrial dokudan pipel yardımı ile örnekleme alınmasıyla yaratılan endometrial hasarlanmanın endometrial reseptiviteyi arttırdığına yönelik ilk çalışma Bartosch ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır.¹ Sonrasında endometrial hasarlanmanın reseptiviteyi arttırdığına yönelik birçok çalışma yayınlanmasına rağmen endometrial hasarlanmanın reseptiviteyi arttırmasına yönelik nasıl bir mekanizmayı takip ettiği net olarak bilinmemektedir.

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (TİB) tanımının daha önceki çalışmalarda farklılıklar göstermesi yüzünden endometrial hasarlanmanın reseptiviteyi arttırmadığına yönelik sonuçlar veren çalışmalar da bulunmaktadır. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı 40 yaşının altında 3 ayrı İVF siklusunda en az 1 tane iyi kalitede taze veya dondurulmuş embriyonun transferine rağmen gebelik oluşmaması olarak tanımlanmıştır.² Literatürde birçok çalışma olmasına rağmen kesin olarak kabul gören bir tanımlı bulunmamaktadır. Klinik olarak hCG üretiminin olmaması veya ultrasonografi ile gebelik kesesi tespit edilememesi şekillerinde değerlendirilir. Gebelik kayıplarının % 60 oranında peri-implantasyon döneminde olduğu ve implantasyondaki başarısızlığın yardımcı üreme tekniklerinin başarısını kısıtlayan önemli bir engel olduğu bildirilmektedir.³

Ovulasyondan 6 gün sonra endometrium implantasyon için reseptif hale gelir ve yaklaşık 4 gün boyunca reseptif kalır bu süreç yaklaşık olarak 28 günlük normal bir siklusun 19-24. günleri arasına denk gelmektedir. Reprodüktif çağda bir kadının 28 günlük normal bir menstrüel siklusunun 19-21.günler arası implantasyon penceresi olarak adlandırılması blastokistlerin endometriumuna tutunması için gerekli maksimum reseptivite sebebiyledir.¹ Bu dönemde endometrial epitelyum hücre tabakası moleküler

ve yapısal olarak blastokistin implantasyonu için düzenlenmiştir.^{4,5} Endometriumun bu dönemde gösterdiği pinopod gelişimi, glikojen depolaması, nükleolar kanal sisteminin gelişimi, implantasyon penceresinin belirteçleridir.¹ İyi gelişen pinopodların fertil kadınlarda embriyo hücreleri ile temas kuran ve implantasyon başarısını arttıran yapılar olduğunu gösteren bildiren çalışmalar mevcuttur.^{6,7,8} Progesteron etkisi altındaki yüzey epitelinin apikal yüzeyinde yer alan mikrovillusların düzleşerek, reseptivite penceresi boyunca oluşup sonra kaybolan küçük çıkıntılar olan pinopodlar insanlarda implantasyon sürecinde tam olarak nasıl bir mekanizma ile işlev gördükleri bilinmemektedir.^{9,10} Bazı çalışmacılar bu pinopodların endometrium üzerinde implantasyon penceresi döneminde en fazla 48 saat kadar bulunduklarını ve bu sürenin en fazla reseptivite görülen dönem olduğunu ifade etmekte iken, bazı çalışmacılar endometriumun sekretuvar fazında 7 güne kadar pinopodların görünebildiğini rapor etmektedirler.^{11,12} Endometrial reseptivitenin bir başka belirteci lösemi inhibitör faktör (LIF) ilk olarak 1987 yılında tanımlanmış olup 1992 yılında farelerde implantasyonda önemli bir rolü olduğu raporlanmıştır.¹³ Lösemi inhibitör faktörün azalmış ekspresyonu tekrarlayan abortus ve implantasyon başarısızlıkları ile ilişkilendirmiştir.^{14,15,16}

Reseptivitenin bir başka belirteci olarak görülen integrin $\alpha\text{v}\beta 3$ endometrial stromada yer alan hücrelerde bulunan transmembranal bir glikoprotein olup endometrium ile blastokistin etkileşiminde büyük rol oynamaktadır.

Üreme biyolojisi ile ilgili bilgilerin artması ve gelişen teknolojilerin klinik uygulamalarda yer alması sonucunda IVF sonrası implantasyon oranları anlamlı şekilde artmıştır. Bununla birlikte, IVF sonuçlarını iyileştirmeyi amaçlayan çalışmalar; in vitro embriyo seçiminde morfolojik ve metabolik kriterlerin değerlendirilmesi ve endometrial reseptivitenin optimizasyonu gibi implantasyonun iki önemli parametresi üzerine yoğunlaşmıştır. Endometrial reseptiviteyi artırmaya yönelik olarak yapılan meta analizlerde IVF siklusu öncesinde yapılan endometrial yaralama işleminin tedavide etkin olduğu bildirilmiştir.^{17,18} Endometrial hasarlamanın, endometriumda inflamatuvar yanıtı indüklediği, endometrium ve blastokist arasındaki ilişkiye katkıda bulunduğu ve implantasyon sürecini kolaylaştırdığına inanılmaktadır.¹⁹ Endometriumdaki hasarın yara iyileşmesi sürecinde büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınmasını sağlayabileceği, bunun da implantasyona yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Endometriumda oluşturulan bölgesel hasarın, endometriumun stromasını etkileyerek desidualizasyonun

başlamasına neden olarak embriyonun implantasyonu için gerekli ortamın oluşmasını sağlar.²⁰ Hasarı takiben endometriumun iyileşmesi, sitokinlerin, interlökinlerin, büyüme faktörlerinin, makrofajların ve dendritik hücrelerin fonksiyonlarında gelişen belirgin artış implantasyon için gereklidir.²¹ Endometrial hasarlanma endometrium ile transfer edilen embriyo arasında daha iyi bir etkileşim gerçekleşmesini sağlayabilmektedir.²²

Çalışmamızda daha önce IVF/ICSI-ET denemeleri yapılmış olan 20 hastaya menstrüel siklusun 19-21. günleri arasında tanısal histeroskopi ve endometrial hasarlandırma işlemi yapılmış olup, tanısal histeroskopi işlemi ile endometrial yapısal, histolojik, enfektif, neoplazik patoloji olmadığı saptanmış ve alınan materyal endometrial reseptivite belirteçleri için değerlendirmeye alınmıştır. Aynı hasta grubunda bir sonraki takip eden siklusta yine 19-21. Günler arasında tedaviye yanıt araştırması için yapılan endometrial biyopsi materyalleri de endometrial reseptivite belirteçleri için değerlendirilmiş olup endometrial reseptivite referans grubunun sonuçları ile karşılaştırma yapılmıştır.

Literatürde tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalar üzerinde endometriumun yapısını inceleyen çalışmalar olmakla birlikte bu hasta grubunun endometrial hasarlanmaya verdiği immunohistokimyasal, yapısal, histolojik cevapları bildiren bir çalışma sınırlıdır. Çalışmamız ile birlikte endometrial hasarlanmanın yarattığı cevaplar değerlendirilerek tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastalarda tedaviye yönelik yeni yaklaşımlar belirlenmesinde, endometrial hasarlanmanın endometrial reseptiviteyi gösteren immunohistokimyasal, histolojik değişiklikler için fayda sağlayıp sağlamadığını saptamamıza olanak sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus Histolojisi

Uterus kadın genital sisteminin kalın duvarlı olan, tuba uterina ve vajina arasında yer alan organdır. Embriyolojik gelişimin tamamlandığı uterus, mesane ve rektum arasına yerleşen, armut şekilli ve üç tabakalı bir yapıya sahip olan, dorsoventral yönde yassılaştıran halini almaktadır. Uterus yetişkin bir kadında 30-40 gram ağırlığında, 7.5 cm boyunda, 5 cm genişlikte ve 2.5 cm kalınlıkta ölçülmektedir.²³ Uterusta anatomik olarak korpus ve serviks olmak üzere iki ana bölümden oluşmaktadır:

- Korpus uteri; Uterus gövdesi olarak izlenen genişlemiş üst kısımdır. Korpus uterinin yuvarlak olan üst bölümüne fundus denir.
- Serviks; en alttaki silindirik kısımdır ve portio vaginalis adında bir parçası vajinaya doğru uzanır. Korpus uteri ve serviksin arasındaki geçiş bölgesine ise İsthmus denir. Üst kısımda uterin kavite ile internal os vasıtasıyla, aşağı kısımda ise vagina ile eksternal os vasıtasıyla ilişki kuran boşluğa ise servikal kanal denir.^{23,24,25}

Uterus duvarı 3 tabakadan meydana gelmiştir:

1. Tunika mukoza (Endometrium): En içte bulunan tabakadır, uterusun mukozasıdır.
2. Tunika muskularis (Myometriyum): Orta kısımda bulunan duvarın en kalın tabakasıdır ve üç düz kas tabakasından oluşur. İç ve dış katmanlarda stratum subvaskülar ve stratum supravaskülar olarak adlandırılan düşey eksende uzanım gösteren düz kas liflerini içeren tabakalar vardır. Orta katmanda ise halkasal yerleşim gösteren düz kas demetlerini, geniş kan damarlarını ve lenfatikleri içeren stratum vaskülar olarak adlandırılan katman vardır. Tuba uterinanın ve vajinanın kas tabakası ile miyometriyum devamlılık gösterir. Bantlar şeklinde düzenlenmiş olan kas lifleri, birbirlerinden bağ dokusu ile ayrılmışlardır.

3. Tunika seroza (Perimetriyum): Uterusu en dıştan saran ince bir bağ dokusudur. Abdominal ve pelvik periton ile devam eden tek sıra halinde mezotel hücrelerinden oluşmaktadır. Uterus fundusu ve gövdenin arka tarafı seroza tabakası ile çevriliyken, uterus ön kısmının alt yarısında ise bağ dokusundan oluşan adventisya tabakası bulunmaktadır.²³

2.1.1. Endometrium Histolojisi

Bir kadının reproduktif dönemi süresince endometrium, embriyonun implantasyonu ve devamında fetal gelişimin sürebilmesi için her ay menstrüel siklus ile yapısal ve fonksiyonel farklılaşmalar göstermektedir. Siklus süresince ovaryan foliküllerin olgunlaşmalarıyla değişen hormon salınımına göre endometriumun salgı işlevindeki değişiklikler oluşmaktadır. Endometrium, lamina propriya veya endometrial stroma olarak da adlandırılan tabakasında bezleri içerir, üzerinde organ lümenini döşeyen yüzey epiteli bulunur. Endometriumun yüzey epiteli tek katlı silyalı ve silyasız silindirik tipte olup, sekretuvar hücrelerden meydana gelmiştir. Yüzey epiteli lamina propriya içerisine doğru uzanım göstererek çok sayıda tübüler uterin bezleri oluşturur. Stroma çok sayıda lenfositler, granülositler, stromal hücreler, kollajen liflerden ve hücrelerarası maddeden zengin özel bir bağ dokusudur.²³

Endometriumun yüzey epiteli hücrelerinin apikal yüzeylerinde çok sayıda silyumlar ve mikrovilluslar vardır.^{6,27} Lateral yüzeylerinde, silyalı ve mikrovillüslü hücrelerin, bağlantı yolakları ile birbirlerine bağlantılı olduğu bilinmektedir. Lateral yüzeylerde ayrıca desmozomların mevcuttur. Hücreler oval ya da yuvarlak merkezi yerleşimli bir çekirdeğe sahiptir. Çekirdek içerisinde bir veya birden fazla çekirdekçik bulunmakta olup kromatin dağılımı genellikle homojen olarak izlenmektedir. Silyalı hücrelerin sitoplazmalarında mitokondriyaların apikal bölgede yoğunlaştıkları dikkat çekmektedir.²⁸ Sekretuvar dönem süresince silyasız, mikrovillüslü hücrelerde mikrovillüs sayısı azalırken geniş ve düz membran uzantıları olan pinopodlar uterin boşluğa doğru uzanmaktadır.²⁹

Endometrial bezlerde de silyalı ve mikrovillüslü olmak üzere iki tip hücre bulunmaktadır. Bez epitel hücreleri silindirik tipte olup apikalinde mikrovilluslar ve silyumlar uzanmaktadır. Bez epiteli hücrelerinin, bazale yakın bölümlerinde oval bir çekirdekleri olup belirgin birer çekirdekçiklerinin olduğu gözlenmektedir. Sitoplazmada

mitokondriyalar, GER sisternaları, glikojen parçacıkları ve lipid damlacıkları izlenmektedir. İnce bir bazal lamina üzerinde yerleşmiş olan epitel hücreleri, bu bazal laminanın stromal yüzeyde retiküler lifler ile desteklendiği gözlenmektedir. Bez epitelinde mitotik aktivitenin varlığı gözlenmektedir.²⁸ Hücreler arası alanlar menstrüel siklusun başlarında darken, siklusun sonlarında genişlemiş görünümündedir. Menstrüel siklusun her evresinde dezmozomlar ve sıkı bağlantılar bulunmakta iken, sadece geç proliferatif ve sekretuar evrelerde geçit bağlantıları bulunur.³⁰ Epitel hücrelerinde nükleolar kanal sistemleri çekirdekte yer almakta olup ovulasyonu takiben progesteron kontrolünde gelişimine devam eden çekirdek ile çekirdek zarı arasında tübüler oluşumlardır.³¹ Orta ve geç proliferatif dönemlerde oluşmaya başlayan nükleolar kanal sistemleri, geç sekretuar döneme kadar devamlılığını sürdürmektedir.³² Sitoplazmasında dev mitokondriyonlar yer alan mikrovillüslü hücreler ise erken sekretuar dönemde izlenirken, mitokondriyonların tübüler kristali ve lamelli yapılar oluşturdukları gözlenmektedir. Bazal membran devamlılık gösterir ve kalınlığı siklus boyunca 40 nm ile 100 nm arasında kademeli olarak kalınlaşır. Geç proliferatif dönemde bol izlenen Silyalı hücreler, geç sekretuar dönemde dramatik olarak azalmaktadır.³³

Menstrüel siklusun başında, pluripotent mezenkimal hücrelerden oluşan endometrial stroma iğ şekillidir, çok az miktarda değişim göstermiştir ve sitoplazmik yapılarla birbiriyle ilişki kurar.²⁸ Hücrelerarası temel maddeler tip 1, 3, 5, 6 kollajen, fibronektin, tenascin stromal hücreler tarafından üretilmektedirler.³⁴ Stromal hücreler oval ya da yuvarlak çekirdeğe sahiptirler. Bu çekirdekler ökromatik görünümde ve çekirdek içerisinde belirgin bir çekirdekçik bulundurmaktadır. Bu hücrelerin sitoplazmalarında ise az sayıda GER sisternaları, mitokondriyonlar, glikojen partikülleri ve birkaç lipid damlacığı izlenmektedir. Stromal hücreler proliferatif fazda tek başlarına ya da gruplar oluşturan ince bir sitoplazma ve oval bir çekirdek içerirler. İğ şekilli hücrelerin birbirleri ile daha yakından ilişkili olduğu görülen geç proliferatif ve erken sekretuar fazlarda, çekirdek kromatini faz başlangıcına göre daha az yoğun hale gelmektedir.²⁸ Stromal hücrelerin sitoplazmalarında vakuollerin görünebildiği sekretuar faz boyunca ise bazı hücreler pre desidual hücrelere dönüşürler. Küçük izole stromal hücreler pre desidulizasyon esnasında, oval ya da veziküler çekirdeklere ve

geniş sitoplazmaya sahip olup, geniş pre desidual hücrelere dönüşürler ve geç sekretuar faz döneminde nadiren çekirdekçik içermeye başlarlar.³⁵

Bezlerin boyun kısımlarının yer aldığı 2/3 üst kısımda endometrial stroma çok sayıda kan damarı içermekte ve hücrel yönden daha zengindir. Endometrial stroma, alt 1/3 kısımda bezlerin dallanmış son kısımlarının bulunduğu fibröz bağ dokudan oluşmuştur.³⁶

Endometrium üreme çağında fonksiyonel ve yapısal olarak iki tabaka içerir; üst 2/3'lük tabaka fonksiyonel tabaka, alt 1/3'lük tabaka ise bazal tabaka olarak adlandırılmaktadır. Endometriumun menstrüasyon sırasında dökülmeyen kısmına bazal tabaka veya endometrium bazalis olarak da adlandırılmaktadır. Bazal tabakanın görevi doğumda ve menstrüasyonda varlığını koruyarak fonksiyonel tabakanın yenilenmesini sağlamaktadır. Üreme periyodu boyunca 28 günde bir periyodik değişiklikler gösteren fonksiyonel tabaka menstrüasyonla dökülen kalın, yüzeysel bir tabakadır.^{23,37}

2.1.2. Endometriyumda Kan Damarları

Uterin arter, miyometriyum tabakasında 6-10 adet arkuat artere ayrılır. Myometriyumun stratum vaskülare tabakasında sirküferensiyel olarak yerleşim gösteren arkuat arterler iki grup dala ayrılırlar. Bu dallardan bir kısmı endometriuma doğru uzanmakta iken geri kalanı myometriyumun üst tabakasını besler. Radyal arter olarak adlandırılan arterler endometriuma uzanır ve endometrium ile miyometriyum bileşkesinde iki dala ayrılırlar. Endometriumun bazal tabakasını düz arterler beslerken, Fonksiyonel tabakayı ise spiral arterler beslemektedirler. Kıvrıntılı arterler olarak da bilinen spiral arterler, fonksiyonel tabaka içerisinde arteriyollere dallanırlar. Yüzey epitelinin altında yerleşen lakünalar, ince duvarlı genişlemiş vasküler üniteler ve kapiller damarlar bu arteriyoller tarafından beslenirler. Spiral arterlerin bazal kısımlarında ve düz arterlerde menstrüel döngü süresince herhangi bir yapısal farklılaşma gözlenmez. Hâlbuki spiral arterler progesteron ve östrojen hormonlarının etkisinde rejenerasyon ve dejenerasyon gösterirler.²³

Endometrial toplardamarlar miyometriyumdaki geniş toplardamarlara akış gösterirler. Rahimin tüm tabakalarında bulunan lenf damarları endometriumun yüzeysel tabakası dışında yaygın olarak bulunmaktadır. Miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinden oluşan sinir ağı endometriumda bulunmaktadır. Mukoza tabakasına kadar uzanım

gösteren miyelinli sinir lifleri yüzey epiteli altında pleksuslar oluşturmaktadırlar. Miyometriyumda ve kan damarlarında bulunan düz kas liflerini miyelinsiz sinir lifleri tarafından uyarılmaktadırlar.³⁸

2.2. Endometriumun Fizyolojisi

2.2.1. Menstrüel Siklus Sırasında Endometrial Değişiklikler

Endometrium, yumurtalığın hormonal salgı döngüsüne bağlı olarak yapısal ve fonksiyonel değişiklikler oluşturmaktadır. Hipofizin ön lobundan salgılanan FSH ve LH etkisiyle yumurtalığın hormonal döngüsü düzenlenmektedir. Döngü sırasında üretilen östrojen hormonu yumurtalıkta gelişen foliküllerin granüloza hücreleri tarafından; progesteron hormonu ovulasyon sonrasında gelişen korpus luteumdan salgılanmaktadır. Bu hormonların düzenlemesiyle endometriumda döngüsel değişiklikler oluşmaktadır. Endometriumda meydana gelen bu morfolojik ve işlevsel değişikliklerin tümü, menstrüel döngü veya endometrial döngü olarak adlandırılan her 28 günde bir tekrarlayan süreçtir.²³

Endometrial döngü 3 evrede incelenir;

- ☐ Menstrüel evre; korpus luteumun bozulması ile yumurtalıklardan salınan hormonların azalması ile başlar.
- ☐ Proliferatif (foliküler) evre; yumurtalıkta gelişen foliküllerden kaynaklı östrojenin etkisi ile endometriumun geliştiği dönemdir.
- ☐ Sekretuar (luteal) evre; Ovulasyondan sonra oluşan korpus luteumun salgıladığı progesteronun etkisi ile ortaya çıkan dönemdir.

2.2.1.1. Menstrüel Evre (1-4. Günler arası)

Menstrüel döngünün başlangıcı olarak menstrüasyonun ilk günü kabul edilir. Korpus luteum ovulasyondan sonra dölleme gerçekleşmez ise gerileme gösterir, bunun sonucunda östrojen ve progesteron hormonlarının salgılanmaları azalır. Bu dönemde damarsal değişiklikler oldukça özeldir. Endometriumun fonksiyonel tabakasında, spiral arter duvarları kanamadan 2 gün önce aralıklı olarak kasılarak kan akımı engellenir. Bu durumda endometriumun fonksiyonel tabakası iskemiye uğrayarak dökülmeye hazır

hale gelir ve 1 gün sonra da menstrüasyon gerçekleşir. Menstrüasyonda, yıkılmış epitel ve stromal hücreleri ile bezlerin salgıları ve arteriyel ve venöz kan atılmaktadır. Endometriumun fonksiyonel tabakasının döküldüğü bu kanama evresi yaklaşık 4-5 gün kadar sürmekte ve yaklaşık olarak 35-40 ml kadar kan kaybı meydana gelmektedir. Yüzeysel tabaka menstrüasyonda döküldüğü için rahim incelmıştır.²³

2.2.1.2. Proliferatif Evre (4-14. Günler arası)

Menstrüel döngünün 4.günü ile ovulasyon arasındaki süreyi kapsayan bu dönem, endometriumun östrojen etkisi altında yeniden yapılanma dönemidir. Bazal tabaka menstrüel dönemden sonra, yaklaşık olarak 1mm kalınlıkta ince bir bağ dokusu tabakası olup bezlerin bazal kısımlarını ve spiral arterlerin alt kısımlarını içerir. Yumurtalıkta foliküllerin gelişmesi ile eş zamanlı olarak gerçekleşen proliferatif evrede, stratum bazale tabakasında proliferatif faz başlar. Gelişmekte olan antral foliküllerin granüloza hücrelerinden salgılanan östrojen bu proliferasyonu düzenleyen hormondur. Menstrüasyon evresinde yıkılarak atılan endometrial bezlerin bazal kısımlarında bulunan epitelyal hücreler, bezlerin yeniden oluşmasında sorumludur ve endometrial yüzeyi örtmek için bu evrede yüzeye göç etmektedirler. Endometriumun stromal, endotel ve epitel hücrelerinde yüksek mitotik aktivite östrojen etkisi ile gözlenir.³² Proliferatif evrede stromal hücreler çoğalarak salgı kapasitelerini artırır ve kollajen, temel madde sentezi yaparlar. Menstrüel evrede dökülerek atılan endometriumu yeniden yapılandırmak üzere proliferatif evrede spiral arterler yüzeye doğru uzanırlar. Hafif kıvrımlı bu arterler endometriumun üst 1/3 kısmında bulunmazlar. Menstrüel evreden hemen sonra başlayan bu evre ovulasyonu takip eden 1 güne kadar devam etmektedir. Menstrüasyonda 1 mm kalınlığında olan endometriyum proliferatif evrenin sonunda yaklaşık 3 mm kalınlığa ulaşır. Bezler nispeten düz olup, hafif dalgalı bir görünüm kazanırlar ve dar bir lümene sahiptirler. Bazal kısımlarında glikojen birikimleri gözlenmeye başlayan epitelyal hücrelerin histolojik doku takiplerinde, bu bölgelerdeki glikojenin erimesi sonucunda bazal sitoplazmalarında boşluk görüntüsü oluşur.²³ Endometriumun bez ve yüzey epiteli erken proliferatif faz boyunca basit prizmatik tiptedir. Mikrovillüs taşıyan silyasız hücreler ve silyalı hücrelerden oluşan insan endometrial yüzey epiteli hücrelerinin apikal yüzeylerinde, glikokaliks olarak adlandırılan kalın bir karbonhidrat tabakası ile kaplı çok sayıda mikrovillüs içerir.

Hücre yüzeyi karbonhidratlarının epitel hücrelerini bakteriyel enfeksiyondan ve proteolitik bozulmadan koruma görevi bulunmaktadır.^{30,39} Epitel hücrelerinin çekirdeklerinde bulunan östrojen reseptörleri preovulatuvar dönemde en yüksek düzeye ulaşmaktadır.^{40,41} Basit prizmatik tipteki bez epitel hücrelerinde vakuolizasyon ve mukus salgısı bu dönemde izlenmemektedir.³⁸ Geç proliferatif evrede bezler pseudostrafiye prizmatik epitel hücreleri ile döşeli hale geçer ve hala mitotik aktivite devam etmektedir. Hücrelerin çekirdekleri santral yerleşimli olup eliptik şekilde izlenmektedir. Çekirdek içerisinde birkaç adet çekirdekçik izlenmekte olup kromatin dağılımı homojendir. Hücreler arasında geçit bağlantıları, desmozomlar ve sıkı bağlantılar bulunmaktadır. Sitoplazma içerisinde küçük glikojen kümelerine bazal kesimlerde rastlanmaktadır. Menstrüel döngünün 14. günü ile birlikte, glikojen parçacıklarının çekirdek bazalinde yerleşim miktarı artmaktadır. Silyalı hücreler yüzey ve bez epiteli içerisinde daha az sayıda bulunmakla birlikte, lümene bakan yüzlerde silyum ve mikrovillüsler içermektedir. Bu evrede, silyalı hücrelerin yapısal özellikleri, mikrovillüslü hücrelere benzerlik göstermektedir.⁴² Menstrüel döngü boyunca stromal hücreler çoğalma, farklılaşma ve olgunlaşma süreçlerinden geçmektedir. Stromal hücreler mezenkimal karakterleri ile farklılaşmamış fibroblast hücrelerine benzediği erken proliferatif evrenin aksine, orta ve geç proliferatif evrelerde dikkat çeken bir ökromatik çekirdek ve yoğun granüler endoplazmik retikulum sisternaları ile farklılaşmıştır.⁴²

2.2.1.3. Sekretuar Evre (14-28. Gün)

Ovulasyondan sonra 1. veya 2. günde başlayan progesteron hormonunun endometriumun fonksiyonel tabakasında yaklaşık olarak 14 gün devam eden etkilerinin izlendiği evredir.²³ Yumurtalıklarda foliküler faz süresinde seçilmiş olan dominant folikül ovulasyona yaklaştıkça endometriumun yeniden yapılanması yavaşlar ve ovulasyondan sonraki günlerde endometriyum mitotik aktivitesini kaybetmektedir. Korpus luteum bu dönemde büyür, gelişir ve fonksiyonel hale gelmektedir. Progesteron bu gelişen korpus luteumdan sentezlenir, görevi endometriumun bez epitelinde glikojenden zengin sekresyonun yapılmasını sağlamaktadır.³⁸ Östrojenin ve bağ dokusu içindeki sıvı artışının etkileri endometriyum kalınlaşır, korpus luteumdan salınan progesteron etkisi ile bezler genişler kıvrımları artarak kese şeklini alırlar. Bu süreç ile

endometriyum kalınlığı 5-6 mm'ye kadar ulaşır, ödemli bir görünüme kavuşur. Genişleyen ve kıvrıntılı bir hal alan bezler salgı yapmaya başlar. Endometrial bez epitelinde mukoid bir salgı salgılanır. Bu mukoid salgı besin maddelerinden, özellikle de glikojenden zengindir. Embriyonun implantasyonu gerçekleşirse bu salgı embriyonun gelişimini desteklemek için gereklidir. Bez lümenleri salgı ile dolar. Epitel hücrelerinde mitozun oldukça sınırlı olduğu sekretuar evrede progesteron etkisinde epitel hücreleri nispeten inaktif hücrelerden aktif polarize hücrelere dönüşürler. Serbest ribozomlarla dolu hücreler dev mitokondriyonları, glikojen ve glikoprotein depoları ile intranükleer kanalikül sistemleri içeren hücrelere dönüşmüştür.⁴³ Sekretuar evrede bez epitelindeki morfolojiye odaklı çalışmalarda 'post-ovuluar üçlü' olarak tanımlanan yapısal değişiklikler: dev mitokondriyonlar, subnükleer glikojen varlığı ve nükleer kanal sistemidir.⁴⁴ Menstrüel siklusun orta-geç proliferatif fazı sırasında başlayan nükleer kanal sisteminin (NCS) oluşumu geç sekretuar faza kadar devam ettiği bilinmektedir ve bu oluşum progesteron bağımlıdır.⁴⁵ NCS'nin gelişiminin implantasyon ile ilişkili olduğu hakkında görüşler bulunmaktadır.³¹ NCS'nin işlevi tam olarak bilinmemekle birlikte mRNA'nın hızlı transportu ile ilişkili olabileceği savı üzerinde durulmaktadır.⁴⁶ LH pikinden 3 gün sonra glikojen sitoplazma içinde birikmeye başlar, başlangıçta subnükleer yerleşimli iken, ancak LH pikinden 6 gün sonra büyük kümeler halinde hücrenin apikal bölgelerinde görülür.³⁰

Endometriumun sekretuar fazında yüzey ve bez epitelinde dört farklı tipte hücre ayırt edilmektedir.⁴

1. Mikrovillustan zengin hücreler
2. Silyalı hücreler
3. Pinopodlu hücreler
4. Vesiküllü hücreler

Mikrovillüslü hücreler: Yüzey epiteli içerisinde en sık gözlenen hücre tipidir. Orta derecede elektron dens bir sitoplazmaya sahip bu hücrelerde apikal yüzde çok sayıda mikrovillüs ve stereosilya bulunur. Hücre çekirdekleri ovoid, hafifçe uzamış ve düzensiz bir sınıra sahiptir ve sıklıkla apikal pozisyonda yerleşir. Bazı hücrelerde

çekirdekçik, çekirdek kılıfı invajinasyonları ile ilişkili olarak gözlenir ve bazen de gelişimin erken dönemindeki nükleer kanal sistemleriyle ilişkili olarak izlenir. Sitoplazmada dağınık olarak çok sayıda, uzun mitokondriyonlar bulunur ve bunlardan bazıları GER sisternaları ile ilişkilidir. Ayrıca sitoplazmalarında az sayıda dev mitokondriyonlar, yaygın düz endoplazmik retikülüm sisternaları, supranükleer yerleşimli Golgi kompleksi ve glikojen partikülleri gözlenir. Lipit damlacıkları ve glikojen partikülleri genellikle bazal bölgededir. Elektron dens veziküller ve sekonder lizozomlar, daha çok apikal bölgede ve bazolateral membranlara yakın şekilde izlenir. Apikal yüzeyde, komşu hücreler arasında sıkı bağlantılar bulunur. Bunun yanında, lateral yüzeylerde iki veya daha fazla sayıda desmozomlara rastlanır.⁴

Pinopodlu hücreler: Bu hücreler apikal yüzeylerindeki pinopod adı verilen geniş sitoplazmik çıkıntılar ile karakterizedir.⁴ Endometriyum epitelinin apikal yüzeyinde bulunan uzun, ince mikrovillüsler düzensiz, yassılaştırmış çıkıntılara dönüşür.²⁴ Pinopodların sitoplazmasında az sayıda organel, çok miktarda mikro filaman, glikojen partikülleri, örtülü veziküller ve bazen de endoplazmik retikülüm sisternalarıyla, dens veziküller ve küçük mitokondriyonlar bulunur. Çekirdek ovoid olup düzenli bir sınıra sahiptir ve orta hatta yerleşmiştir. Ayrıca, iyi gelişmiş nükleer kanal sistemleri bulunur. Mitokondriyonların fazla olan bu hücrelerde, endoplazmik retikülüm sisternaları da izlenmektedir. Dev mitokondriyonlar bulunmaz, SER ve golgi kompleksi az gelişmiştir. Bunun yanında, dens veziküller, sekonder lizozomlar, glikojen ve lipit damlacıkları belirgindir. Hücreler arasında az sayıda desmozomlar bulunur.⁴

Vesiküllü hücreler: Apikal sitoplazmalarında büyük çaplı sekretuar veziküller ve elektronluzent sitoplazmaları ile karakterize hücrelerdir. Geniş sekretuar veziküller, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve ER ile yakından ilişkilidir. Apikal sitoplazmadaki veziküller lümen içerisine konveks bir halde uzanmış görüntüsü verir. Apikal yüzeyde az sayıda mikrovillüs ve stereosilya bulunur. Sitoplazma içerisinde genellikle subnükleer pozisyonda, birkaç lipit damlacığı ve glikojen partikülüne rastlanır. Ayrıca supranükleer olarak dens veziküller, küçük mitokondriyonlar ve GER sisternaları da yer almaktadır. Bu hücrelerde, dev mitokondriyonlar bulunmamaktadır. Çekirdek oval ve düzenli bir sınıra sahip olup, genellikle hücrenin ortasında yerleşir. Nükleer kanal sistemleri bulunmakla birlikte, gerilemiş formu gözlemlenir. Hücreler arasında desmozomlara rastlanmaktadır. Lateral membranlar arasındaki boşluk özellikle bazal

bölgede genişlemiş ve düzensizleşmiştir. Vesiküllü hücreler, epitel içerisinde az sayıda dağınık olarak yer alabildiği gibi, ikili veya üçlü gruplar halinde de bulunabilirler. Gerileme fazında, bu hücreler sıklıkla apoptotik özellikler göstermektedir. Hücrelerde sitoplazmik kayıp, organel genişlemeleri ve otofagozomlara sıklıkla rastlanmaktadır. Hücrelerin çoğunda, çekirdek ökromatik bir yapıda izlenirken, bazı hücrelerde kromatin kümeleşmesi dikkati çekmektedir. Apikal kısımlarda ise, tipik holokrin sekresyonu simgeleyen, geniş vakuoller ile karakterize dejeneratif hücreler lümene doğru atılmaktadır.⁴

Silyalı hücreler: Yüzey epitel hücreleri arasında en az sıklıkta gözlenen hücre tipidir. Sitoplazmaları oldukça elektron dens, apikal yüzleri düz olan bu hücrelerde, çok sayıda silyum yer almaktadır. Silyumların yanında, hücrelerde az sayıda mikrovillüs ve stereosilyumlar da bulunmaktadır. Çekirdekleri bazale yakın olup, düzensiz sınırlara sahiptir. Hücrelerde nükleer kanal sistemleri bulunmamaktadır. Apikal sitoplazmada çok sayıda küçük mitokondriyonlar yer alır, fakat dev mitokondriyonlara sahip değildirler. Endoplazmik retikülüm ve Golgi sisternaları az gelişmiştir. Hücre sitoplazmalarında ayrıca, az sayıda glikojen partikülü, dens veziküller, lizozomlar ve lipid damlacıkları da bulunmaktadır. Hücrelerin bazalinde, glikojen kümeleri ve mitokondriyonlarla ilişkili multilamellar cisimcikler de gözlenmektedir.⁴ Sekretuar faz sürecinde, endometrial stromada spiral arterler oldukça uzar, kıvrıntılı bir görünüm alır ve endometriumun yüzeyinin yakınlarına kadar ulaşırlar. Stromada ödem meydana gelir. Stromal hücreler genişler ve sitoplazmalarında glikojen ve lipid damlacıkları birikir. Östrojen ve progesteronun etkileri sonucunda, bu hücreler desidual hücrelere dönüşürler. Oldukça genişlemiş, soluk renkteki hücreler, glikojen yönünden zengindir. Bu dönüşüm için en önemli uyarının, blastokistin implantasyonu olduğu düşünülmektedir. Stromal hücrelerde periyot boyunca nükleusun oval olduğu ve transkripsiyonel aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir. Stromal hücre yoğunluğu LH+2 den LH+6 ya artmakta LH+8 de ise dramatik biçimde azalmaktadır. Periyot boyunca stromal hücrelerde mitotik aktivite artmakla beraber, LH+8 de stromal ödem de maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Stromal hücreler arasındaki, geçit bağlantılarını da içeren bağlantı kompleksleri sekretuar faz boyunca artmakta ve geç sekretuar faz sonunda ise azalmaktadır.^{29,42} Stromal hücrelerin kesin fonksiyonları bilinmemesine rağmen, embriyonun beslenmesi için elverişli bir çevre oluşturdukları ve gebeliğin

sonunda oluşturdıkları özelleşmiş tabaka sayesinde, plasentanın uterin duvardan ayrılmasını kolaylaştırdıkları düşünülür.¹² 24-28. günlerde oluşan bu predesidualizasyon stratum fonksiyonalse yayılır, stromal hücreler arasında dağınık nötrofiller ve daha nadir olarak da lenfositler görülebilir. Fakat bu aşamada nötrofil ve lenfosit varlığı inflamasyon anlamına gelmez.³³ Bu evrenin sonlarında endometriyum üç tabakalı bir yapı gösterir. Yüzey epitelinin hemen altında yerleşen kompakt tabaka; bezlerin düz boyun kısımlarını içerir ve buradaki stromada az miktarda ödem görülür. Spongiyoz (süngerimsi) tabaka; bezlerin kıvrıntılı segmentlerinin bulunduğu bu tabakada, stromada ödem oldukça belirgindir. Kompakt ve süngerimsi tabaka birlikte fonksiyonel tabaka olarak adlandırılır. Bazal tabaka; endometriumun menstrüasyonla dökülmeyen son 1/3'lük tabakasıdır.¹²

2.2.2. Endometriyum Histofizyolojisi

Yumurtalıklardan salgılanan östrojen ve progesteron hormonlarının etkileri ile endometriyum kendini gebeliğin implantasyonuna hazırlamaktadır. Bu hazırlanma sürecine birçok molekülün salınımı ile reseptivitenin hazırlanması sebebi ile pre-implantasyon ve peri-implantasyon dönemleri de denilmektedir. Menstrüel siklusun ilk evresinde endometriyum üzerinde östrojen etkisi hâkimdir. Stromal hücreler ve epitel hücrelerinde östrojen etkisi ile damarlanma artışı ve mitotik aktivite de artış oluşmaktadır. Stromanın derinliklerine doğru büyümeye başlayan endometrial bezler düz şekillerini korumaktadırlar.⁴⁷ Östrojenin etkisi ile kalınlaşan, gelişen endometriyum ovulasyon sonrasında oluşan korpus luteumdan salgılanan progesteron ile sekretuar değişiklikler göstermeye başlamıştır. İmmünolojik yönden aktif hücrelerin infiltrasyonu olması ve endometrial epitel hücrelerinin karakteristik hücrelere farklılaşması bu süreçte gerçekleşmektedir.⁴⁸ Progesteron etkisinde rahimde bulunan bezler daha kıvrımlı hale gelerek ve genişleyerek salgı kapasitelerini arttırmaktadırlar. Bu sayede blastokistin endometriumuna tutunması ve implante olması için gereken ortam hazırlanmış olmaktadır.⁴⁷ Progesteron hormonunun endometriumdaki bu etkileri genellikle progesteron reseptörü-B (PR-B) üzerinden gerçekleşmektedir.⁴⁸ LH pikiyle oluşan ovulasyon sonrası ortaya çıkan korpus luteumdan sentezlenen progesteron hormonu geri bildirim mekanizması ile hipofizde LH salınımını da düzenlemektedir. Korpus luteumun devamlılığı da sürekli ve tonik olarak salınan LH'ya bağlıdır.⁴⁹

2.3. Endometrial Reseptivite

Rahim mukoza tabakasının implantasyonun başarılı olarak gerçekleşebilmesine olanak sağlayabilme kapasitesini endometrial reseptivite olarak tanımlayabiliriz. Apozisyon, tutunma ve invazyon olarak adlandırılan birbirini takip eden 3 ayrı belirgin fazdan oluşan embriyo implantasyonu için endometriyum siklusu 20-24. Günler arasında maksimum reseptivite göstermektedir. İmplantasyon penceresi adı verilen bu dönemde endometrial reseptivitede önemli olan peptit ve proteinler belirgin şekilde eksprese olurlar. Apozisyon, blastokistin embriyonik tarafının endometriumla temasıdır. Adezyon, blastokistin endometriumla yapışmasıdır. İnvazyon, gömülme sürecidir. İmplantasyonun başarılı olabilmesi için embriyonun sağlıklı olması ve endometrial reseptivitenin yeterli olması gerekmektedir. Endometrial reseptivitede problem olması yardımcı üreme tekniklerinin başarısızlığında önemli bir yer tutmaktadır.⁵⁰ Bu dönemde endometriyum ve embriyodan salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri de iki doku arasındaki iletişimde önem arz etmektedir. Sitokinler ve büyüme faktörleri otokrin, endokrin ve parakrin mekanizmalar ile hücrelerin farklılaşmasını, çoğalmasını ve programlanmış ölümlerini düzenlerler.^{50,51}

Pinopodlar; Progesteron etkisi ile oluşan pinopodlar endometriumun yüzey epiteli üzerinde implantasyon penceresinde ortaya çıkan en belirgin morfolojik parametrelerden biri olarak bilinmektedir. Orta luteal faz ve geç luteal fazlarda karşılaşılabilmektedir. Blastokist endometriumda ilk olarak pinopodlar ile karşılaşmaktadır. Apozisyon ve tutunma fazlarında pinopodlardan çeşitli moleküller salgılanmaktadır.⁵⁰ Oluşumu HOXA10 gen ekspresyonu ve progesteron hormonuna bağlı olan pinopodlar, implantasyonda hayati önem arz eden LIF sekresyonunu sağlamaktadır.² İmplantasyon sahasında bulunan pinopodlar endometriumun lümeninde bulunan sıvının bir miktarını emerek, sıvının konsantrasyonunu artırır ve bu sayede adezyon ve invazyon süreçleri kolaylaşır.⁵² Progesteron hormonu endometriumun stromasında bulunan progesteron-B (PR-B)reseptörü üzerinden etki ederek pinopod oluşumunu etkilemektedir.⁴⁸

Sitokinler ve Büyüme Faktörleri; hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak endometrium hücrelerinin işlevlerini düzenleyen protein ve peptitlerdir. Sitokinler sadece rahim mukozasından değil aynı zamanda embriyodan da salınarak iki taraf arasında iletişimde, endometrial reseptivitenin gerçekleşmesinde pay sahibidirler.

Lösemi baskılayıcı faktör (LIF), koloni uyarıcı faktör-1 (CSF-1), interlökin-1 (IL-1), heparin bağlayan epitelyal büyüme faktörü (HB-EGF), insülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-1 (IGF BP-1), keratinosit büyüme faktörü (KGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve glikodelin bu moleküllerin endometrial reseptivitede etkili olduğu düşünülenleridir.^{50,53,54}

Koloni uyarıcı faktör-1 (CSF-1): Plazma ve plasentada saptanabilir düzeyde bulunan nadir büyüme faktörlerinden biridir. Sekretuvar evrede salınan CSF-1, trofoblastların çoğalması ve farklılaşmasını uyardığı düşünülmektedir ve buna ek olarak trofoektoderimde bulunan reseptörlere bağlanarak blastokistin apozisyonunu uyarmaktadır.^{55,56} Tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda ölçülen CSF-1 düzeyleri belirgin olarak azaldığı saptanmıştır.⁵⁷

Lösemi baskılayıcı faktör (LIF): Fare makrofajlarında myeloid lökosit m1 hücre farklılaşmasına sebebiyet veren faktör olarak tespit edilmiştir.⁵⁸ Blastokistte, oositte, endometriumun yüzey epitelinde reseptörleri bulunmaktadır. LIF'ın salınımı rahimde östrojen hormonunun etkisi iledir.^{59,60} Endometrial bezlerden yüksek oranda salınımı gerçekleşmektedir. Menstrüel siklusun her evresinde LIF salınımı gerçekleşmesine rağmen orta ve geç sekretuvar evrelerde bu salınım en üst düzeyde gerçekleşmektedir. LIF mRNA ekspresyonu erken sekretuvar fazda yüksek, proliferatif fazda düşük seviyelerde gerçekleşmektedir.⁶¹ Bu nedenle endometrial reseptivite ile yüksek derecede ilişkili olduğu kabul görmektedir. Endometriumun epitel tabakasında siklusun her evresinde stromadan daha yüksek düzeyde LIF seviyesi bulunmaktadır.⁶² Luteal fazın 6. ve 9. günlerinde yani implantasyon penceresi döneminde endometriumda LIF ve LIFR ekspresyonu ile pinopod gelişimi arasında kayda değer bir ilgileşim olduğu rapor edilmektedir.⁶³ LIF sadece implantasyonun başlamasında değil aynı zamanda blastokistin büyümesinde, sağ kalımında, kabuğundan çıkmasında da rol oynar.⁵⁹ LIF sitotrofoblastlar üzerine etki ederek fibronektin sentezini artırır, hCG sentezini azaltır ve bu sayede trofoblastın daha invaziv hale gelmesini sağladığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır.^{64,65,66} İnfertil ve fertil kadınların karşılaştırılmasında endometrial LIF üretiminde anlamlı farklılıklar saptanmıştır.⁶⁷ LIF veya M-CSF gen mutasyonu bulunan fareler üzerinde yapılan çalışmada implantasyon başarısızlığı ile gen mutasyonu ilişkilendirilmiştir.⁶⁸

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF): trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin en önemlilerinden biridir.⁶⁹ Endotel hücrelerinin çoğalması, farklılaşması ve göç etmesinde rol oynamaktadır.⁷⁰ Damar oluşumu ve damarlanma açısından ciddi önem arz etmektedir. Endometrial VEGF düzeyleri menstrüel siklusun evrelerinde farklılıklar göstermektedir.⁷¹ Stromal VEGF düzeyi proliferatif fazda, sekretuar faza göre daha yüksek olmaktadır.⁷² VEGF ekspresyonu östrojen etkisi ile artmaktadır.⁷³ Endometrial stromal hücrelerden salınan VEGF ile desidualizasyon sağlanmaktadır ve desidua gelişimi implantasyonda, gebelik oluşmasında kritik role sahiptir.⁵³

Heparin bağlayan epitelyal büyüme faktörü (HB-EGF): hücre çoğalması ve hücre farklılaşmasını sağlayan bir faktördür. Östradiolün endometrium üzerindeki etkilerini düzenler, hücre çoğalmasına aracılık eder. Endometriumun yüzey ve bez epiteline yüksek oranda bulunmaktadır, parakrin sinyaller ile stroma üzerine etki ederek trofoblast invazyonunu artırır. HB-EGF endotelial hücrelerde oksidatif strese karşı önemli rol oynamaktadır.⁷⁴

Interlökin (IL): IL-1'in endometriumun yüzey epiteline bulunan reseptörüne bağlanmasıyla LIF, prostoglandin E2, integrin $\beta 3$ gibi sitokinlerin salınımı sağlanmış olur. İmplantasyon sırasında primer desidual cevapta IL-1 cevabı kuvvetlendirerek desiduanın devamlılığını sağlamaktadır. IL8'in de menstrüel siklus boyunca endometriumun bez ve yüzey epiteline bulunduğu gösterilmiş olup endometriuma nötrofil ve lenfosit geçişini sağladığı varsayılmaktadır.⁷⁵

İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-1 (IGF-BP-1): Desiduadan salınarak stromal fibroblastların desidual hücrelere farklılaşması ve trofoblastların invazyon kapasitesini artırmayı sağlar.⁷⁶

Glikodelin: Sekretuar ve desidualize endometriyum tarafından sentezlendiği bilinmektedir. Plesental protein-14(PP14) veya progesteron ilişkili endometrial protein (PEP) olarak da bilinen glikodelin-A in-vitro koşullarda doğal öldürücü hücrelerin etkilerini baskılamaktadır. Bundan dolayı embriyonun implantasyonunda immunosupresif bir ortam oluşturarak embriyoyu korumaktadır.⁵⁴ Ovulasyon sırasında düzeyi çok düşük olarak fertilizasyonu sağlar, ovulasyondan sonra düzeyi düşer ve implantasyon ile gebeliğin devamında görevi vardır.⁷⁷

Adezyon molekülleri: Hem endometriyum hem de embriyo implantasyon penceresi döneminde blastokistin rahimin mukoza tabakasına tutunmasını sağlayan

adezyon moleküllerine sahiptirler. Sinsityotrofoblastların implantasyon sürecinde endometriumu invazyonunda bu moleküller önem arz etmektedir. Musinler ve integrinler bu adezyon moleküllerini oluşturmaktadır.⁵⁰

İntegrinler: hücrelerin yüzeyinde bulunan blastokist klivaj gelişiminden ve adezyonun başlamasında görev alan transmembranal glikoproteinlerdir.⁷⁸ $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$ ve $\alpha 6\beta 4$ tipleri endometrial epitel hücrelerinde bulunur iken, $\alpha 1\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$ ve $\alpha v\beta 3$ tipleri endometrial stromada yer almaktadır. Açıklanamayan infertilite, endometriozis, hidrosalpinks, polikistik over sendromu dâhil olmak üzere implantasyon başarısızlığı ile ilişkili inflamatuvar durumların çoğunda integrinlerde azalma olduğu saptanmıştır.^{50,79,80} Menstrüel siklusun her farklı evresinde farklı tipte integrinler eksprese olmaktadır.⁸¹ Kendiliğinden gebe kalabilmiş kadınlarda $\beta 3$ alt ünitesinin 19.günden sonra artış göstermemesi nedeni ile blastokistin endometriumla iletişim kuran reseptörü olduğu düşünülmektedir.⁸² Çalışmalar azalmış $\alpha V\beta 3$ integrin ekspresyonunun açıklanamayan IVF başarısızlığı ile ilişkili olduğunu,^{83,84} artmış integrin ekspresyonunun ise gelecekteki IVF başarısını öngördüğünü bildirmektedir.⁸⁵

E-Kaderin: kalsiyum bağımlı adezyon molekülü olup epitel dokulardan ekspresyonu belirgindir. Kalsiyum konsantrasyonunda oluşan artış hücre ara bağlantılarında bulunan E-Kaderinin işlev görmesine ve anahtar sinyal yollarının aktifleşerek hücre iskeletlerinin yeniden organize olmasını sağlar. Bu durum epitel hücrelerin polaritelerini değiştirir ve adezyonu etkilemektedir.⁸⁶

L-Selektin: Yüzey epitelinde bez epiteline göre daha fazla bulunan glikoproteindir. Trofoblastlardan salınan L-selektin ve endometriumdan eksprese olan L-selektin ligandı arasında oluşan bağ sayesinde embriyonun endometriumu adezyonu sağlanmış olmaktadır. Selektin ve ligand arası bağlantı oluştuğunda hücre içi sinyal kaskadı çalışarak diğer adezyon moleküllerinin de kendi ligandlarına bağlanması tetiklenmiş olur ve adezyon pekişir. Ovulasyon sonrasında 5.-7. Günlerde L-Selektin salınımı en üst düzeylerde iken 9.-11. Günlerde salınım seviyesi düşmeye başlamıştır.⁸⁷

Hücrelerarası Adezyon Molekülü (ICAM): İnsan embriyolarında bulunan ICAM-1 ve endometrial yüzeyde bulunan MUC-1 arasında adezyon oluşmaktadır. Üzerlerinde bulunan epitoplari aracılığıyla bir adezyon molekölüne dönüşen MUC-1, trofoektodermal hücrelerle etkileşerek endometriyum yüzey epitelindeki ICAM'lar ile

embriyoları temas ettirmektedir. MUC-1 aynı zamanda kötü kaliteli embriyoların diğer ICAM'lar ile temas olmasına engel olmaktadır.⁵¹

Musinler: hücre yüzeylerini enzimatik aktivitelere karşı korunaklı hale getiren ve hücre-hücre, hücre-hücre dışı ortam arasındaki adezyonu muhtemelen zayıflatan endometriumun epitelyal hücrelerinde sıklıkla izlenen glikozillenmiş moleküllerdir. İnsan endometriumunda hem proliferatif hem de sekretuar fazda bulunan MUC-1 epitel hücrelerinin apikal yüzlerinde implantasyon için bariyer görevi görmektedir.⁵⁰ MUC-1 blastokistlerin ürettiği selektinler için endometriumda ligand işlevi görmektedir. Apozisyon evresinde östrojen ve progesteron hormonlarının etkisi altında MUC-1 endometriumda artış göstermişken, adezyon evresinde adezyonu zayıflatması sebebi ile implantasyon alanından uzaklaştırılması gerekmektedir.⁸⁸

Reseptivite üzerine etkili diğer faktörler; Homeobox genler (HOXA-10, HOXA-11), Prostoglandin (PGI-2) ve kalsitonindir.⁵⁰

Homeobox genler: menstrüel döngü süresince rahim bezlerinde ve stromasında etki gösteren nükleer transkripsiyon faktörleridir. Orta sekretuar evrede ekspresyonları belirginleşir.⁸⁹ Esas olarak östradiol etkisi ile aktive olan HOXA-10 geni ilerleyen dönemlerde östradiol ve progesteronun ortak etkileri ile uyarılmaya devam etmektedir.⁹⁰ Endometriumun proliferasyonu ve diferansiyasyonu bu genler ile düzenlenmiştir. Fareler üzerinde yapılan çalışmada, HOXA-10 gen eksikliğinde progesterona cevapta stromal hücrelerde mRNA transkripsiyonu belirgin miktarda azaldığı, desidualizasyonun bozulduğu ve endometrial reseptivitenin bozulduğu rapor edilmiştir.⁸⁹

Prostoglandin (PGI-2): Desidualizasyon esnasında artmış damarsal geçirgenliği sağlamaktadır. PGI-2 bir COX-2 ürünü olup gerekli uterin stromal değişiklikleri sağlayarak endometrial reseptiviteye katkı sağlar. COX-2'den yoksun kadınlara PGI-2 verilmesi ile desidualizasyon sağlanmaktadır.⁹¹

Kalsitonin: Orta sekretuar dönemde immunohistokimyasal olarak endometriumda saptanmasına rağmen, 19.-21. Günlerde implantasyon penceresinde en üst düzeye ulaştığı bilinmektedir.⁵⁰

2.4. Preovulatuvar Dönem ve İmplantasyona hazırlık

Kadın üreme sisteminin endokrin kontrol organları hipotalamus, hipofiz, overler, tuba uterinalar, endometriumdur. Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) hipotalamusun arkuat çekirdeğinde üretilerek hipofizin ön bölümünden foliküler uyarıcı hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH) adlarında iki önemli hormonun üretim ve salgısını uyarmaktadır.⁹² Yumurtalıklardaki foliküllerin gelişimi ve gelişen foliküllerden östrojen salgılanmasını FSH uyarmaktadır. Yeterince gelişmiş olan folikülden oositin atılmasını tetikleyen ve oluşan korpus luteumdan progesteron salgılanmasını sağlayan LH'tır. Östrojen ve progesteronun bu hipofizer hormonlar ile kontrollü salınması ile endometriyum blastokist implantasyonuna hazırlanmaktadır.⁹³

Mayoz profazının diploten evresinde kalmış olan primer oosit ve etrafındaki tek katlı yassı yassı granüloza hücrelerince oluşturulan primordial folikül, folikülogenez süreci ile aktifleşir. Aktifleştiğinde yassı granüloza hücreleri kübik granüloza hücrelerine dönüşür ve içerisinde bulundurduğu primer oosit ile dominant foliküle dönüşmektedir. Primordial folikül gelişmeye başladıktan sonra FSH reseptörleri sentezlenir.⁹⁴ Çoğalan kübik granüloza hücrelerinin çevresindeki stromal hücreler iki farklı tabakaya ayrılır: Teka interna, Teka eksterna. Çok katlı hale gelen granüloza hücrelerinden sentezlenen zona pellusida adı verilen glikoprotein yapıdaki membran oositin birden fazla sperm tarafından döllemesini engellemektedir.

Her menstrüel döngüde yaklaşık 15 pre-antral folikül (primer folikül) FSH etkisine girer. Gelişen foliküllerden biri dışında diğerlerinin granüloza hücrelerinde FSH reseptör sayısında oluşan azalma ile dejenerasyon oluşur. Baskın olarak seçilen folikülün ürettiği östrojen FSH'nın hipofizden salınımını azaltır. Baskın olarak seçilen folikülde FSH etkisi ile granüloza hücreleri çoğalır, östrojen üretimi başlar.^{95,96} Granüloza hücreleri östrojen etkisinde folikül sıvısı biriktirirler ve folikülde antrum (kavite) oluşur. Büyüyen antral foliküllerde FSH etkisiyle granüloza hücrelerinde LH reseptörleri oluşur. LH reseptörlerine sahip olan granüloza hücreleri ovulatuvar yanıt verebilir ve korpus luteuma dönüşebilir.⁹⁷ LH tarafından üretimi artan androjenler ve FSH etkisinde uyarılan aromatisasyon sayesinde geç foliküler fazda östrojen miktarı üst seviyelere ulaşır.^{98,99} Östrojenler ovulasyondan 24-36 saat önce en üst düzeye ulaşmışlardır.¹⁰⁰ Östrojen seviyesinin uzun süre yüksek kalması LH'nın ani salınım artışı tetikler.¹⁰¹ LH etkisi ile granüloza hücreleri luteinizasyona uğrar ve progesteron

ile prostoglandinlerin sentezi başlar.^{102,103} LH'nın pik yapmasını takip eden 10.-12.saatte ovulasyon gerçekleşir. Oosit ve çevresindeki kumulus yaklaşık 20 dakika sonra fallopian tüpün ampulla kısmına ulaşmıştır. Oosit salınımını takip eden 8-24 saat aralığında döllenebilme yeteneğine sahiptir.¹⁰⁴

Oosit ve sperm tuba uterinanın ampulla bölümünde bir araya gelirler. Sperm oositi çevreleyen korona radiatayı aşar ve zona pellusidaya ulaşır. Zona Pellusida-3 (ZP-3) glikoproteini spermatozoa reseptörünü bağlayarak akrozom reaksiyonunu başlatır.¹⁰⁵ Birden fazla spermatozoa zona pellusidayı geçebilir ancak sadece bir spermatozoa kuyruğunu kaybederek oolemma ile kendi zarını birleştirebilir. Bu birleşme esnasında oolemmada oluşan kalsiyum akışı ile oolemma geçirgen özelliğini kaybeder, böylece birden fazla sperm ile döllenme engellenmiş olur.¹⁰⁶ Spermatozoanın oositin zarını geçmesi ile birlikte II. mayoz tamamlanır. Oosit sitoplazması içerisinde birleşmenin 16 saat sonrasında dişi ve erkek pronükleuslar karşı karşıya gelmiştir. 18-24 saat sonrasında singami gerçekleşir, crossing over ile zigot oluşmuştur.¹⁰⁷

Oluşan zigot fertilizasyon sonrasındaki 30.saatte mitoz bölünmeyi gerçekleştirir. Bölünme sonrasında oluşan hücrelerin her birine blastomer adı verilmektedir. 26.-42.saat arasında 2 hücreli, 45.saatte 4 hücreli, 66.-72.saatte 8 hücreli forma ulaşır. Fertilizasyondan yaklaşık 3 gün sonra 12-16 hücreli evreye ulaşılmış olur.¹⁰⁸ 4.günde 8-30 blastomerden oluşan morula rahime giriş yapar.¹⁰⁹ Blastomerler arasında oluşan gap junctionlar aracılığı ile elektriksel iletilerin transferi mümkün hale gelecektir. Morulada çok sayıda blastomer birbirine sınırları silikleşmiş sıkı bir halde tutunmuş haldedir.

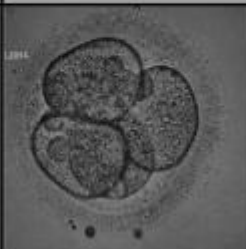
Embriyo 32 hücreli hale geldiğinde kavitasyon gözlemlenmeye başlar, suyun pasif transportu ve hücreler arası boşlukların birleşmesi sonucunda blastosel oluşmuştur. 4.-5.günde 30-200 blastomerli ve ortasında blastoseli olan preimplantasyon embriyosu olarak da anılan blastokist oluşmuştur. Blastokistin dış kısmında trofoektoderm, iç kısmında embriyoblastlar mevcuttur.^{109,110}

Fertilizasyondan sonraki 5.günün sonunda blastokistten salgılanan stytripsin ve endometrial bezlerden salınan triptaz ile blastokistin zona pellusidası yırtılarak 'blastokist hatching' gerçekleşir. Bu olay yaklaşık olarak ovulasyondan 5-7 gün sonraya tekâmül eder.¹¹⁰ Embriyonun kabuğundan çıkmasından sonra implantasyona hazır hale gelmiştir.

Östrojen etkisinde proliferatif evrede bulunan endometriyum ovulasyon sonrasında oluşan korpus luteumdan salınan progesteron ile sekretuar dönüşüme girer. Sekretuar dönüşüm alınan endometrial biyopsinin histolojik değerlendirilmesi ile ortaya konulabilir, ancak histolojik değerlendirmede normal izlenen endometrial örneklem bizlere implantasyon için reseptivitenin normal olup olmadığını göstermemektedir. Ovulasyon öncesinde proliferatif evrede östrojen maruziyetindeki endometriyum 5-6mm kalınlıktadır, ovulasyondan 3 gün sonra progesteron etkisi ile epitelin proliferasyonu durmaktadır. Sekretuar evrede progesteron etkisi ile endometrial hücreler farklılaşır ve immün hücrelerin infiltrasyonu gerçekleşir.¹¹¹ Endometriyumun stroması büyümeye devam eder, damarsal yapılanmalarda kıvrılmalar oluşur, doku ödemlenir, bezlerde sıkı-sarmal oluşumlar izlenmeye başlar.¹¹² Bez epitelinden uterin kaviteye glikoprotein ve peptidlerin sekresyonu başlamıştır. Menstrüel döngünün 17-18. günlerinde hücre içlerinde oluşan glikojen ve yağ vakuolleri bez lümenlerine ilerler. Ovulasyondan sonraki 7. Günde stromada ödem en üst düzeye gelmiştir, sekresyon miktarı en yüksek miktardadır ve endometrial kalınlık 10-14mm ye ulaşmıştır.^{113,114}

2.5. İmplantasyon

İmplantasyonun gerçekleşmesinde embriyonik faktörler önemlidir¹¹⁵. Embriyo transferi öncesinde embriyoların kalite değerlendirmesi yapılır. Embriyoların gelişme aşamasında ışık mikroskopisi görüntülerine göre ESHRE tarafından 2011 yılında oluşturulan skrolama sistemine göre embriyo kalite değerlendirmeleri yapılmaktadır(Şekil 1).¹¹⁶

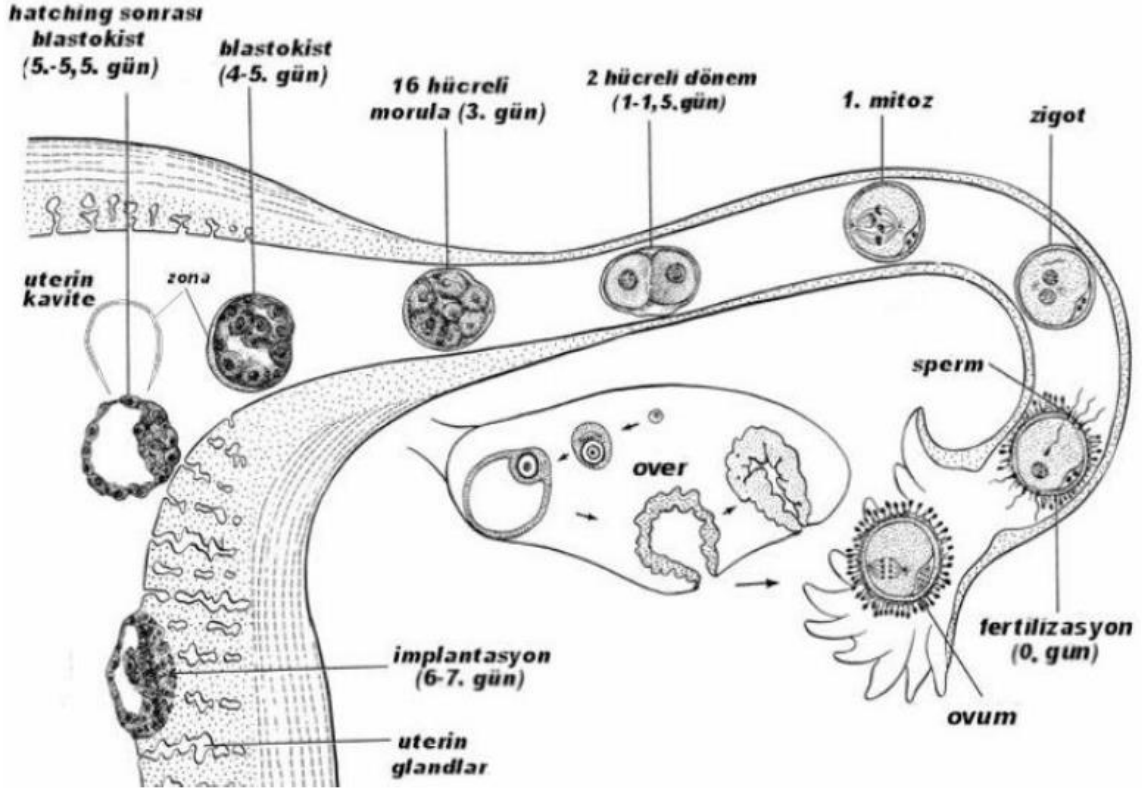
0	1	2	3
0%	Up to 10%	10 - 25%	> 25%
			

Şekil 1. Embriyo Skrolaması

Tablo 1. ESHRE tarafından oluşturulan embriyo skorlama sistemi¹¹⁶

Embriyo Grade	Blastomer Sayısı	Fragmantasyon Oranı	Multinükleasyon
1	2.günde 4; 3.günde 8; boyutları eşit	<%10	İzlenmez
2	2.günde 4; 3.günde 8; boyutları eşit	%10-%25	İzlenmez
3	Daha az sayıda blastomer	>%25	İzlenir

Blastokistin rahim içerisine ulaşması sonrasında endometriumun yüzey epiteli ile karşılaşarak adezyon sonrasında desidualize endometriumun stromasına invaze olması sürecine implantasyon denir (Şekil 2).⁹² İnfertil olmayan sağlıklı bireylerde menstrüel döngü başına en fazla implantasyon olasılığı yaklaşık %40'tır.¹¹⁷ Blastokistin embriyonik tarafının endometriumda desidualize olmuş epitele tutunması için parakrin sinyaller ile blastokist genellikle endometrial kavitenin üst-arka duvarına gitmektedir. Blastokist, üzerindeki trofoblastların ürettiği proteolitik enzimler sayesinde desidual epitel hücrelerinin arasına yerleşmeye başlarlar. Desidual epitel hücrelerinin arasına gömülen embriyo bazal membrana ulaşarak stromaya invazyon gösterir.¹¹⁴



Şekil 2. İmplantasyon

Trofoblastlar sinsityotrofoblast ve sitotrofoblastlara ayrılırken, embriyoblastlar epiblast ve hipoblastlara ayrılırlar. Trofoblastlar yer yer bazal membranın arasından altına girerek invaze olmaya başlar. Fertilizasyon sonrası 14.günde rahimdeki spiral arter duvarlarının trofoblastlar tarafından yıkılarak sinüzoidal kesecikler oluşmasıyla plasenta oluşmaya başlar.¹¹⁸ Desidualize endometriumdan üretilen laminin sayesinde trofoblastların invazyonunda trofoblast-desidua iletişimi sağlanır. Bu etkileşimde trofoblastlarda bulunan integrin endometriumun hücre dışı alanında bulunan kollajen, laminin ve fibronektinlere bağlanır.¹¹⁹ İntegrin etkileşimi sonrasında aktive olarak desidual alanın invazyonunda görev alan proteazlar serin proteaz, katepsin ve matriks metalloproteinazlardan (MMP) kollejenaz, stromelizin ve jelatinizlardır.¹²⁰ Metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP) metalloproteinazların aktivitelerini sınırlar.¹²¹ MMP ve TIMP arasında bulunan hassas denge sayesinde trofoblastların invazyonu kontrol altında tutulmaktadır. Plasentanın oluşması ile üretimi artan hCG ve progesteron MMP-9'u baskılar ve invazyonunu sınırlandırmasında rol alır.¹²² Plazminojen Aktivatör İnhibitörü-1(PAI-1) ve dönüştürücü büyüme faktörü (TGF- β) de invazyonu sınırlayan

diğer endometrial düzenleyicilerdir. Bu sınırlamalar sayesinde myometriumun üçte birinden fazlası invaze edilemez.

Fertilizasyon ve İmplantasyonun hazırlık ve gerçekleşme kademeleri göz önüne alındığında açıklığa kavuşturulamamış birçok karmaşık yolak bulunmaktadır. Ancak tanımlanmış endometrial ve embriyonel moleküller sayesinde bu yolaklar uyum içinde çalışmaktadır.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya hasta seçimi için Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezine başvuran hastalardan tekrarlayan implantasyon başarısızlığı tanısı olan 19 hasta ve endometrial reseptivite referans grubu olarak infertilite problemi olmayan 18 fertil kadın katıldı. Çalışma Çukurova Üniversitesi klinik uygulamalar etik kurulu tarafından 109/31 sayılı karar ile onaylandı. En az 3 ayrı IVF/ICSI-ET denemesinde en az bir tane kaliteli embriyo transferine rağmen gebelik elde edilememiş, tekrarlayan implantasyon başarısızlığı tanısı almış olan hastalardan 2020 ve 2021 yıllarında hastanemize başvuranlara araştırma hakkında bilgi verilerek çalışmaya katılma istekleri konusunda onam alındı. İmplantasyon penceresi döneminde yapılacak olan tanısal histeroskopi işlemi ile rahim boşluğu içerisinde enfektif ve/veya yapısal aykırılık olmadığı saptanmasını takiben yapılacak olan endometrial uyarı ve alınacak olan endometrial biyopsi ile aynı hastalarda bir ay sonra implantasyon penceresi döneminde alınan endometrial biyopsiyle karşılaştırmalı değerlendirilmesi yapılarak endometrial reseptivite belirteçlerinde anlamlı bir fark oluşturulup oluşturulmadığı endometrial reseptivite referans grubu ile kıyaslanarak değerlendirildi.

Seçilen hastalar 24-35 yaşları arasında yaş ortalaması 29 ± 3 olup, vücut kitle indekslerine bakıldığında 19 hastanın 11 tanesi 19-24 aralığındaydı, 8 tanesi 25-29 aralığındaydı. Seçilen hastalar içerisinde sigara kullanan yoktu. Seçilen hasta grubundaki kadınlarda hidrosalpinks görünümü ve/veya endometrial kavitede dolma defekti bulunmamaktaydı. TİB grubundaki kadınların hasarlandırma ve histeroskopi işlemleri yapılmadan önce gerçekleştirilen histerosalpingografileri değerlendirildiğinde 19 kadının 16 sında (%84,2) endometrial kavitenin doğal bilateral tubal radyoopak madde geçişlerin doğal olduğu izlendi. 2 kadının endometrial kavitesi doğal unilateral tubal radyoopak madde geçişi izlenirken 1 kadında endometrial kavite doğal tubal radyoopak madde geçişi olmadığı izlendi.

Endometrial reseptivite referans grubuna 25-40 yaşları arasında (yaş ortalaması 35 ± 4) menstrüel siklusu 27-32 gün süren bazal hormonal değerleri normal, over ve endometriuma ait ultrasonografi bulguları normal, son 6 ay içerisinde hormon yerine

koyma tedavisi, doğum kontrol hapları veya rahim içi araç kullanmamış, en az bir kendiliğinden gebelik geçirmiş, çeşitli jinekolojik şikâyetleri nedeni ile hastaneye başvuran kadınlar dâhil edildi. Endometrial reseptivite referans grubunda bulunan hastaların vücut kitle endekslerine bakıldığında 1 tanesi 19'un altında; 8 tanesi 19-24 aralığında; 6 tanesi 25-29 aralığında; 2 tanesi 30-34 aralığında idi. Endometrial reseptivite referans grubundaki hastalardan 4 tanesi sigara içmekte iken diğerleri, sigara kullanmamakta Endometrial reseptivite referans grubundaki hastalara siklusun 11.-15. günlerinde ultrasonografi ile folikül takibi yapılarak ovulasyon zamanları belirlendi ve ovulasyon sonrasında 5, 6 ve 7gün sonra pipel yardımı ile endometrium biyopsileri alındı. 18 hastanın 6 tanesine(n=6) ovulasyon sonrası 5.günde, 6 tanesine ovulasyon sonrası 6.günde(n=6), 6 tanesine(n=6) ovulasyon sonrası 7.günde pipel ile endometrial biyopsi yapıldı.

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan infertil kadınların, adet döngülerinin 2. veya 3. günlerinde alınan periferik venöz kan örneklerinden yapılan hormon (LH, FSH, E2, PRL) test düzeyleri normal sınırlarda, tiroit fonksiyon testleri normal sınırlarda ölçüldü. Ultrasonografi ile ovaryan ve uterin bir aykırı bulgu saptanmadı. Menstrüel döngü süreleri 25-34 gün aralığında süren hastalar, histerosalpingografide hidrosalpenks görünümü olmayan ve endometrial dolma defekti veya endometrial yapısal aykırılık saptanamayan düzenli korunmasız cinsel yaşantıya rağmen hiç çocuk sahibi olamayan kadınlardan seçildi. Hastaların bir sonraki adet döngünün yine 2. veya 3. günlerinde tekrarlanan ultrasonografi ve periferik venöz kan örneklemelerinden hormon (LH, FSH, E2, PRL) testleri ile aykırı bir durum olmadığı saptandı. Çalışma grubundaki hastaların yapılan tanısal histeroskopi işlemleri esnasında infertiliteyi açıklayacak herhangi bir endometrial patolojik bulguya rastlanılmadı. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hasta grubu 24-35 yaş aralığında (yaş ortalaması 29,2) olup adet döngülerinin 11.-15. günleri arasında seri ultrasonografi muayenesine çağırılarak muayene edildiler, folikül takibi yapıldı. Ovulasyon sonrasındaki 5,6 ve 7.günler siklusun 19, 20 ve 21.günleri olarak kabul edildi. Siklusun 19.gününe 6 hasta (n=6), 20.gününe 6 hasta (n=6), 21.gününe 7 hasta (n=7) belirlendi. Bu tarihlerde histeroskopi ve takip eden sikluslarının aynı günlerinde pipel ile endometrial örnekler alındı.

3.2. Histeroskopi ve Pipel ile Endometrial Hasarlandırma

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı tanısı almış olan hasta grubunda histerosalpingografi bulgularında endometrial boşlukta dolma kusuru ve/veya hidrosalpenks görünümü olmamasına rağmen endometrial boşluğun değerlendirilmesinde duyarlılık ve özgüllük değeri daha yüksek olan ofis histeroskopi işlemi gerçekleştirilmiştir. Hastaların genel anestezi onamları ve operasyon için yazılı onamlarının alınmasını takiben yatışları gerçekleştirilmiştir. İşlem öncesinde trans vajinal ultrasonografi probu (GE LOGIQ C5; 10 Mhz) ile endometrial kalınlık ölçüldü. Genel anesteziyi takiben litotomi pozisyonu verilmiştir. Vulva, vajina ve serviks povidon iyot ile boyanmasını takiben servikal kanal bujiler ile dilate edildikten sonra ofis histeroskopi ile endometrial kavite değerlendirmesi yapılmış endometrial kavitede inflamatuvar, iltihabi değişiklikler ve polip, adezyonlar varlığı açısından incelenmiştir. Sonrasında Uterin fundus seviyesinde endometrial uyarı verilmiştir, immunohistokimyasal ve elektron mikroskopisi için örnek alınmıştır.

Histeroskopi ve endometrial örnek alınan hastalar takip eden menstrüel döngülerinin bir önceki ile aynı günlerinde hastaneye tekrar çağırıldılar. Trans vajinal ultrasonografi probu (GE LOGIQ C5; 10 Mhz) ile endometrial kalınlık ölçümü yapıldı. Litotomi pozisyonunda spekulum takılarak asepsi ve antisepsi koşullarına dikkat edilerek serviks üzerinden tenekulum ile tutuldu, pipel ile endometrial boşluğa girilerek endometrial hasarlandırma yapıldı, alınan endometrial doku örnekleri immunohistokimyasal ve elektron mikroskopik incelenmeler için doku hazırlama yöntemlerine uygun olarak hazırlandı.

3.3. Biyokimyasal Analizlerin Yapılışı

Menstrüel siklusun 2-3.günlerinde çalışma ve endometrial reseptivite referans gruplarında bulunan kadınlardan alınan kan örnekleri jelli biyokimya tüplerine alındı. Numune alımını takiben oda sıcaklığında 30 dakika bekletilen kan örneklerinde pıhtılaşma sağlandıktan sonra 2 saat süre geçmeden Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı Tıbbi Biyokimya bölümünde 3000-3400devir/dakika hızda santrifüj edilerek serumları elde edildi. Electrochemiluminescence immunoassay tekniği ile Beckman Coulter DXI800 (USA California) otomatik cihazı kullanılarak FSH, LH, E2, PRL, TSH, sT4 seviyeleri

ölçüldü. Çalışmaya katılan tüm hastalardan menstrüel siklusun gününden bağımsız olarak alınan olan 2mililitre kan örneği kırmızı kapaklı düz biyokimya tüpünde yarım saat bekletildikten sonra 3000-3400 devir/dakika aralığında 5-10 dakika santrifüj edildikten sonra Düzen Laboratuvarında Electrochemiluminescence immunoassay tekniği kullanılarak Anti-Müllerian Hormon değerlerine bakıldı.

3.4. Doku İnceleme Yöntemleri

3.4.1. Işık Mikroskopik Doku Hazırlama Yöntemi

Pipel biyopsi yöntemiyle alınan endometrium dokusunun bir parçası ışık mikroskopisi incelemesi için doku hazırlama tekniklerine uygun olarak hazırlandı. Işık mikroskopik inceleme için endometrium doku parçaları %10'luk nötral formalin solüsyonu içerisinde 72 saat süre ile tespit edildi. Dokular daha sonra su ile yıkanarak formalinin uzaklaşması sağlandı. Daha sonra dokulara dehidratasyon işlemi uygulandı. Dehidratasyon işlemi için, dokulara Leica TP 1020 Ototeknikon Cihazı ile Tablo 2’de belirtilen doku takip yöntemi uygulandı.

Tablo 2. Işık Mikroskopik doku takip işlemi

Oda sıcaklığında	% 70’lik etil alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	% 80’lik etil alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	% 90’lik etil alkol	1 saat 30 dakika
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat 30 dakika
Oda sıcaklığında	Saf alkol+ Ksilol	1 saat
Oda sıcaklığında	Ksilol	1 saat
Oda sıcaklığında	Ksilol	1 saat 30 dakika
60 °C’de	Parafin	1 saat
60 °C’de	Parafin	1 saat 30 dakika

Sonrasında sıvı parafine gömülen dokular ile parafin bloklar hazırlandı. Daha sonra parafin blokları elde edilen dokulardan hazırlanan 5µm kalınlığındaki kesitlerle Hemotoksilen-Eozin boyama usulüne uygun olarak gerçekleştirildi.¹²³ Hazırlanan lamalar Olympus BX53 (Japan) ışık mikroskobu ile incelendi ve fotoğrafları alındı.

3.4.2. İmmunohistokimya için Doku Hazırlama Yöntemi

LIF, İntegrin $\alpha\beta3$, Östrojen alpha reseptörünün immunohistokimyasal olarak incelenmesi için parafin bloklardan elde edilen dokular değerlendirmeye alındı.

Işık mikroskopik doku hazırlama yöntemine uygun olarak hazırlanan endometrium dokularından 5 mikron kalınlığında kesilerek polilizin kaplı lamalar üzerine alındı. Buzdolabında bekletilen kesitler kurutularak, tekrar buzdolabına alındı ve 15 dakika kadar bekletildi. Buzdolabından çıkartıldıktan sonra tekrar kurutulan kesitler, 60 °C etüvde ksilol içerisinde 15 dakika deparafinize edildi. Daha sonra doku kesitleri, derecesi giderek azalan alkol serileri içerisinde hidrate edildi ve distile su içerisine alındı. Kesitler daha sonra, sitrat solüsyonu içerisine alınıp 95 °C'lik su banyosunda, 30 dakika süreyle tutularak antijenlerin açığa çıkartılması işlemi gerçekleştirildi. Oda ısısında 45 dakika soğutulan kesitler, distile suda çalkalandı ve % 3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) içerisine alındı. H₂O₂'te 15 dakika bekletildikten sonra, kesitler, saf su ve fosfat tamponundan (PBS, pH: 7,2-7,4) geçirildi. Her bir kesitin etrafı dikkatlice silindikten sonra, üzerine protein blocking damlatıldı ve oda ısısında, nemli ortamda 20 dakika bekletildi. Ardından, kesitler üzerindeki solüsyon dökülerek, saf su ve fosfat tamponundan geçirildi. Dokuların etrafı kurulandı LIF antijenini boyamak için farelerden elde edilen Anti-LIF monoklonal antikoru (ABCAM, ab-138002) primer antikoru, İntegrin $\alpha\beta3$ antijenini boyama için tavşanlardan elde edilen Anti-İntegrin Alpha V Beta 3 poliklonal antikoru (BIOSS, BS-1310R) primer antikoru, Östrojen alpha reseptörünü boyamak için tavşanlardan elde edilen Anti-Östrojen alpha poliklonal antikoru (ABCAM, ab75635) primer antikoru damlatıldı. Primer antikor damlatılan tüm kesitler + 4 °C'de, nemli ortamda bir gece bekletildi. Negatif kontrol için alınan kesitlere primer antikorlar yerine, tampon solüsyonu damlatıldı. Primer antikorla muamele edilip 1 gece + 4 °C'de bekletilen kesitler, daha sonra distile su ve PBS'den geçirildi ve üzerilerine Biotin (D01-125, Lifespan, USA.) damlatılarak 15 dakika süreyle oda ısısında tutuldu. 15 dakika sonra distile su ve PBS'de yıkanan kesitlerin

etrafı kurulanıp Avidin (D01-125, Lifespan, USA.) damlatılarak, 20 dakika süreyle oda ısısında bekletildi. Distile su ve PBS'den geçirilen kesitler üzerine, aminoetilkarbozol (AEC) solüsyonu damlatıldı ve 10 dakika bekletildi, çeşme suyu ile yıkandı ve doku kesitleri, zıt boyama için hematoksilen ile boyandı. Boyama işleminden sonra kesitler, çeşme suyunda yıkanarak kurumaya bırakıldı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak dokular lamel ile kapatıldı, Olympus BX53 ışık mikroskobu (Japan) ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

3.4.3. Elektron Mikroskopisi için Doku Hazırlama Yöntemi

Elektron mikroskopik değerlendirme için alınan endometrial biyopsi doku parçaları Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 5'lik gluteraldehit solüsyonunda 1 saat bekletildikten sonra üzerinde birkaç damla gluteraldehit olan dişçi mumuyla kaplı petri kapları üzerinde jilet yardımıyla 1 mm³'lük büyüklükte parçalara ayrıldı. Doku parçaları tekrar gluteraldehit solüsyonuna alınarak 3 saat kadar tespit edildi. Böylece dokular gluteraldehit ile toplam 4 saat boyunca + 4 °C'de tespit edilmiş oldu. Daha sonra dokular Millonig fosfat tamponunda iki defa 10'ar dakika yıkandı ve ardından Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 1'lik Osmium Tetraoksit (OsO₄) solüsyonu ile ikinci defa tespit edildi. İki saatlik osmium tetraoksit tespitinden sonra dokular fosfat tamponu ile iki kez 10'ar dakika yıkandı. Dokular daha sonra Tablo 3'de belirtilen sıraya göre derecesi giderek artan etil alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi.

Tablo 3. Elektron Mikroskopik doku takibinde dehidratasyon işlemi

% 50'lik etil alkol	+4 °C'de	15 dakika
% 70'lik etil alkol	+4 °C'de	15 dakika
% 86'lik etil alkol	+4 °C'de	15 dakika
% 96'lik etil alkol	+4 °C'de	15 dakika
% 100'lük etil alkol	+4 °C'de	15 dakika
% 100'lük etil alkol	+4 °C'de	15 dakika

Buraya kadar olan işlemler + 4 °C'de gerçekleştirildi. Daha sonra Tablo 4'te belirtilen işlemler oda ısısında gerçekleştirildi.

Tablo 4. Elektron Mikroskopik doku takibinde şeffaflandırma işlemi.

% 100'lük Etil alkolde	Oda sıcaklığında	15 dakika
Propilen Oksit	Oda sıcaklığında	15 dakika
Propilen Oksit	Oda sıcaklığında	15 dakika

Dehidratasyon ve şeffaflandırma işlemleri tamamlandıktan sonra, doku parçaları 1 hacim propilen oksit ve 1 hacim rezin'den (gömme materyali) oluşturulan karışım içerisinde 2'şer defa 30'ar dakika süreyle bekletildi. Bu işlemlerden sonra doku parçaları taze hazırlanmış rezin içerisinde alınarak 1 gece boyunca rotatorda döndürülerek karıştırıldı ve rezinin doku parçaları içerisinde daha iyi nüfuz etmesi sağlandı. Taze rezin hazırlanışı Tablo 5'te belirtildiği şekilde yapıldı.

Tablo 5. Gömme Materyalinin hazırlanışı

Araldite CY 212	20 ml
Sertleştirici HY 964	20 ml
Hızlandırıcı DY 064	0,6 ml
Plastikleştirici-Dibütil Fitalat	1 ml

Ertesi gün rotatordan alınan doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak Beem kapsüllere gömüldü ve 60 °C etüvde 48 saat polimerize edildi. Daha sonra bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Reichert Ultracut S ultramikrotomu ile yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı ve doku bloklarında uygun alanların seçimi yapıldı. Belirlenen alanlardan ultramikrotom ile 50 nm kalınlığında ince kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere alınarak % 70'lik alkolde hazırlanan doymuş uranil asetat ile Reynolds'un kurşun sitrat solüsyonları ile kontrastları artırıldı. Boyanan kesitler JEOL-JEM 1400 Transmisyon Elektron Mikroskobu (Japan) ile incelendi ve mikrograflar elde edildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi için "SPSS for Windows Release 22.0" (Illinois, Chicago, USA) programı kullanıldı. Ki Kare ve Mann-Whitney U testi uygulandı. % 95 güven aralığında $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

TİB grubundaki hastaların endometrial hasarlanma yapılacak döngünün 2. gününde ve endometrial reseptivite referans grubundaki hastaların adet döngüsünün 2. gününde alınan bazal FSH, LH, E2 değerleri karşılaştırıldı. TİB grubundaki hastaların endometrial hasarlandırma yapılmasını takip eden adet döngülerinin 2. gününde tekrar bazal FSH, E2, LH hormonları ölçülerek endometrial reseptivite referans grubunun sonuçları ile tekrar karşılaştırıldı. Ayrıca menstrüel döngünün 19,20,21. günlerinde endometrial hasarlandırma yapılmadan önce alınan FSH, LH ve E2 değerleri takip eden menstrüel siklusun aynı gününde tekrar ölçüldüğünde karşılaştırılması yapıldı, anlamlı farklılık oluşup oluşmadığı değerlendirildi.

Endometrial reseptivite referans grubundaki 18 fertil kadının bazal FSH değerleri $8,69 \pm 2,02$; LH değerleri $7,68 \pm 1,79$; E2 değerleri $70,22 \pm 15,47$ olarak saptandı. TİB grubundaki 19 kadının endometrial hasarlandırma öncesindeki adet döngülerinde bazal FSH değerleri $7,76 \pm 1,73$; LH değerleri $6,32 \pm 2,37$; E2 değerleri $37,82 \pm 9,57$ olarak saptandı. TİB grubundaki kadınların hasarlandırmayı takip eden adet döngülerinde bazal FSH değerleri $7,18 \pm 1,95$; LH değerleri $6,81 \pm 2,66$; E2 değerleri $51,85 \pm 30,43$ olarak saptandı. TİB grubunun ilk hasarlandırma öncesinde bazal FSH, LH değerleri endometrial reseptivite referans grubuna göre daha düşük olmakla birlikte istatistiki olarak anlamlı fark saptanamazken bazal E2 değerinde istatistiki olarak anlamlı düşüklük bulundu (sırası ile p değerleri $p=0,14$; $p=0,058$; $p=0,0$) (Tablo 6). TİB grubundaki kadınların ilk hasarlandırmayı takip eden adet döngülerinde endometrial reseptivite referans grubuna göre bazal LH değeri düşük olmakla birlikte istatistiki olarak anlamlı fark saptanamazken bazal FSH, E2 değerleri istatistiki olarak anlamlı düşüklük bulundu.(sırası ile p değerleri $p=0,027$; $p=0,253$; $0,028$) (Tablo 6).

Tablo 6. Bazal FSH, LH, E2 düzeyleri karşılaştırılması

Bazal Hormon Düzeyi		FSH	LH	E2
Endometrial Reseptivite Referans Grubu	Ortalama± Standard Sapma	8,6906±2,02752	7,6800±1,79482	70,2222±15,47125
	Median Değer (Minimum/Maksimum)	8,4050 (5,92/12,76)	7,6400 (4,86/12,20)	71,0000 (40,00/94,00)
Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Grubu-İlk Hasarlama Öncesi	Ortalama± Standard Sapma	7,7563±1,73146	6,3179±2,36812	37,8237±9,57111
	Median Değer (Minimum/Maksimum)	7,8600 (4,46/11,82)	5,7100 (2,64/12,34)	34,2700 (24,98/61,30)
Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlığı Grubu-İlk Hasarlama sonrası	Ortalama± Standard Sapma	7,1821±1,94977	6,8095±2,65528	51,8532±30,42891
	Median Değer (Minimum/Maksimum)	7,3400 (2,76/10,00)	6,3900 (2,99/11,96)	45,1400 (23,96/136,00)

TİB grubundaki hastaların ilk hasarlandırmalarının yapıldığı adet döngülerinin 19,20,21.günlerinde hasarlama işlemi öncesinde alınan FSH, LH, E2 değerleri ile takip eden menstrüel döngünün yine aynı günlerinde alınan FSH, LH, E2 değerleri ile her hasta bağımlı grup olarak karşılaştırıldı. İlk menstrüel döngüde hasarlama işlemi yapılmadan önce FSH değerleri $4,96 \pm 1,58$; LH değerleri $5,59 \pm 2,87$; E2 değerleri $95,32 \pm 34,31$ olarak saptandı. Hasarlandırma işlemi takip eden menstrüel döngünün aynı günlerinde ikinci hasarlandırma yapılmadan önce bakılan FSH değerleri $5,34 \pm 1,31$; LH değerleri $5,91 \pm 2,67$; E2 değerleri $88,74 \pm 17,67$ olarak saptandı. Hasarlandırma işlemi öncesinde ve takip eden siklusta midsiklusta alınan FSH, LH, E2 değerlerinde istatistiki anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p değerleri: $p=0,39$; $p=0,59$; $p=0,49$) (Tablo 7).

Tablo 7. Hasarlandırma günlerindeki Hormon düzeyleri

TİB GRUBU	Ortalama± Standart sapma		p Değeri
	Birinci Siklus	İkinci Siklus	
FSH	$4,9647 \pm 1,57621$	$5,3353 \pm 1,30708$	,391
LH	$5,5916 \pm 2,86749$	$5,9063 \pm 2,67256$	,587
E2	$95,3158 \pm 34,30914$	$88,7368 \pm 17,66617$	,489

TİB grubundaki kadınlardan alınan kan örneklerinden çalışılan Anti-müllerian hormon düzeylerinin ortanca değeri 3,48 ng/ml (min:1,28-maks:20,72) olarak saptanmış olup, çalışmaya katılan hastalarda düşük ovaryan rezervi olan hasta bulunmamaktaydı.

4.2. HSG ve Endometrial kalınlık

TİB grubundaki hastaların ilk hasarlandırmalarının yapıldığı adet döngülerinin 19,20,21.günlerinde hasarlama işlemi öncesinde endometrium çift duvar kalınlığı ölçüldü takip eden menstrüel döngünün yine aynı günlerinde ölçülen endometrium çift duvar kalınlığı ile her hasta bağımlı grup olarak karşılaştırıldı. İlk döngüde hasarlandırma öncesinde kalınlık $8,08 \pm 1,98$ mm olarak ölçülürken; ilk hasarlandırmayı takip eden siklusta kalınlık $8,03 \pm 1,83$ mm olarak ölçüldü. İki ölçüm arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı($p=0,852$)(Tablo 8).

Tablo 8. Hasarlandırma öncelerinde Endometrium Çift Duvar Kalınlıkları

TİB GRUBU	Ortalama± Standart sapma		p Değeri
	Birinci Siklus	İkinci Siklus	
Endometrium_Kalınlık(mm)	$8,0842 \pm 1,97801$	$8,0263 \pm 1,82630$	,852

TİB grubunda bulunan 19 kadının gerçekleştirilen Histeroskopi işlemi esnasında normal olmayan bir bulguya rastlanmadı. Tüm hastaların endometrial kaviteleri yeterli, bilateral tubal ostiumları açık izlendi. Rahim içi yapışıklık, enfeksiyon bulgusu, polip benzeri oluşumlar izlenmedi.

4.3. Işık Mikroskopik Bulgular

Endometrial reseptivite referans grubu, ilk hasarlandırmanın yapılacağı siklusta ve ilk hasarlandırmayı takip eden siklusta tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlardan menstrüel siklusun 19, 20, 21. günlerinde elde edilen endometrial biyopsi örneklerinin H&E ile boyanmış kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde, endometriyum yüzey epiteli, endometrial bezler ve stroma incelendi.

4.3.1. Endometrial Reseptivite Referans Grubu

Endometrial reseptivite referans grubundan menstrüel siklusun 19. günü alınan endometrium kesitlerinde;

Yüzey epitelinin ince, uzun bazofilik boyanmış çekirdeklere sahip, tek katlı prizmatik şekilli hücrelerden oluştuğu görüldü.

Endometrial bezler hafif kıvrıntılı ve tek katlı prizmatik epitel ile döşeli olarak izlendi. Endometrial stromanın yer yer ödematöz alanlar içerdiği görüldü (Şekil 3).

Menstrüel siklusun 20. günü alınan endometrium kesitlerinde; Yüzey epitelinin tek katlı prizmatik şekilli hücreler ile örtülü olduğu izlendi.

Endometrial bezlerin tek katlı prizmatik şekilli hücreler ile örtülü olduğu ve 19. gün ile kıyaslandığında daha sık ve kıvrıntılı olduğu görüldü.

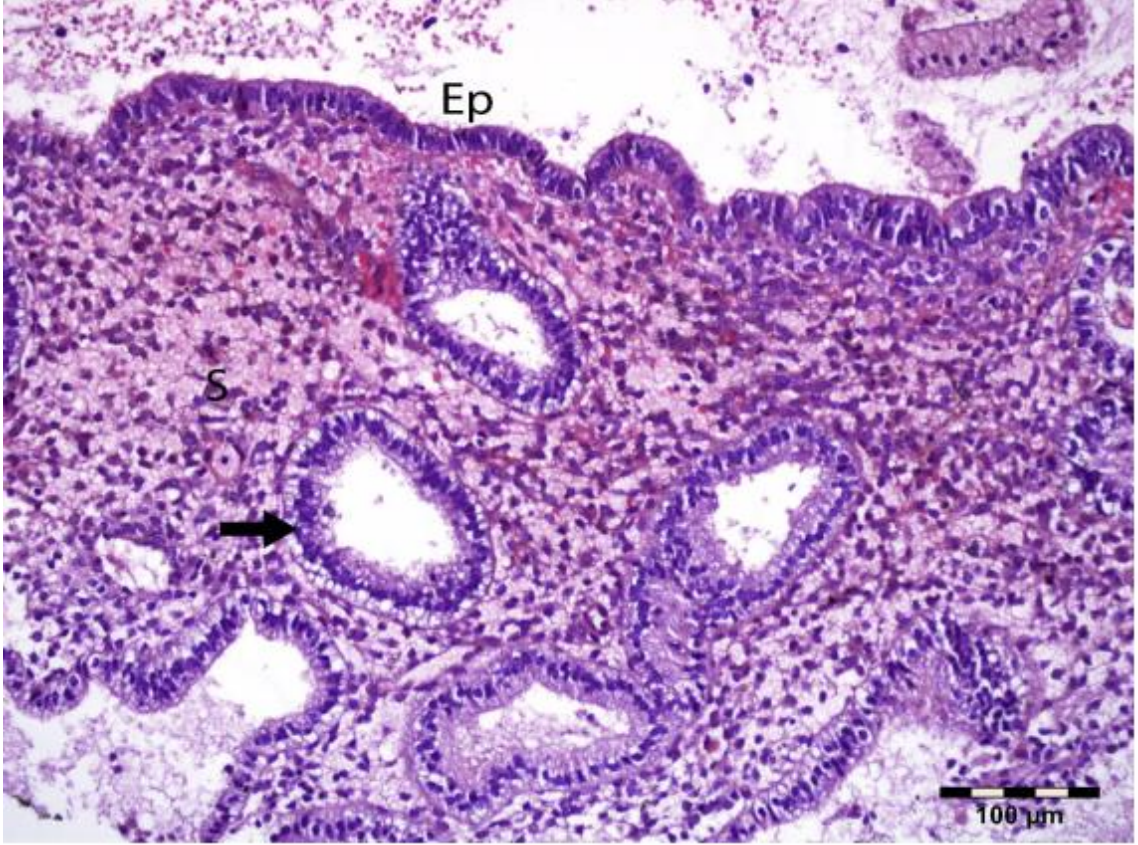
Endometrial stromanın hücresel açıdan zengin yapıda olduğu izlendi (Şekil 4).

Menstrüel siklusun 21. günü alınan endometrium kesitlerinde;

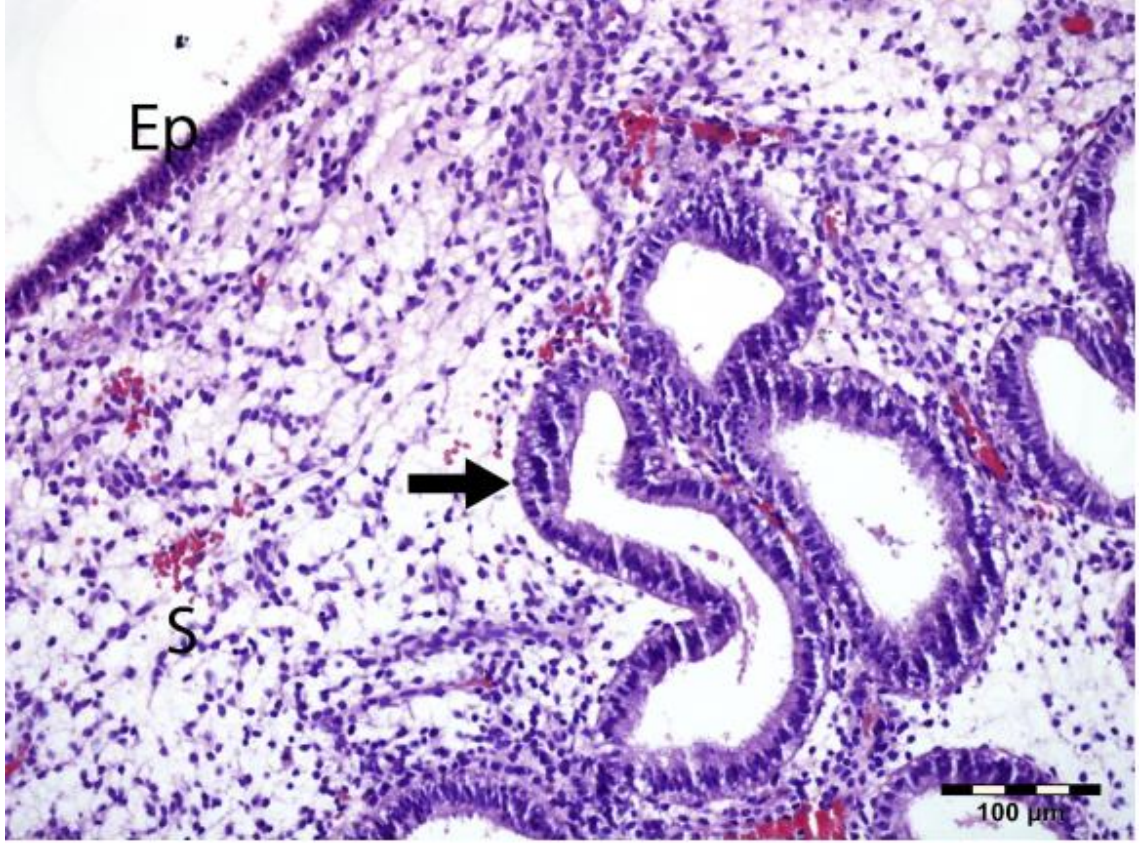
Yüzey epitelinin tek katlı prizmatik şekilli hücreler ile döşeli olduğu izlendi.

Endometrial bezlerin tek katlı prizmatik şekilli epiteli normal yapıda olup, 19 ve 20. günler ile kıyaslandığında daha kıvrıntılı olduğu görüldü.

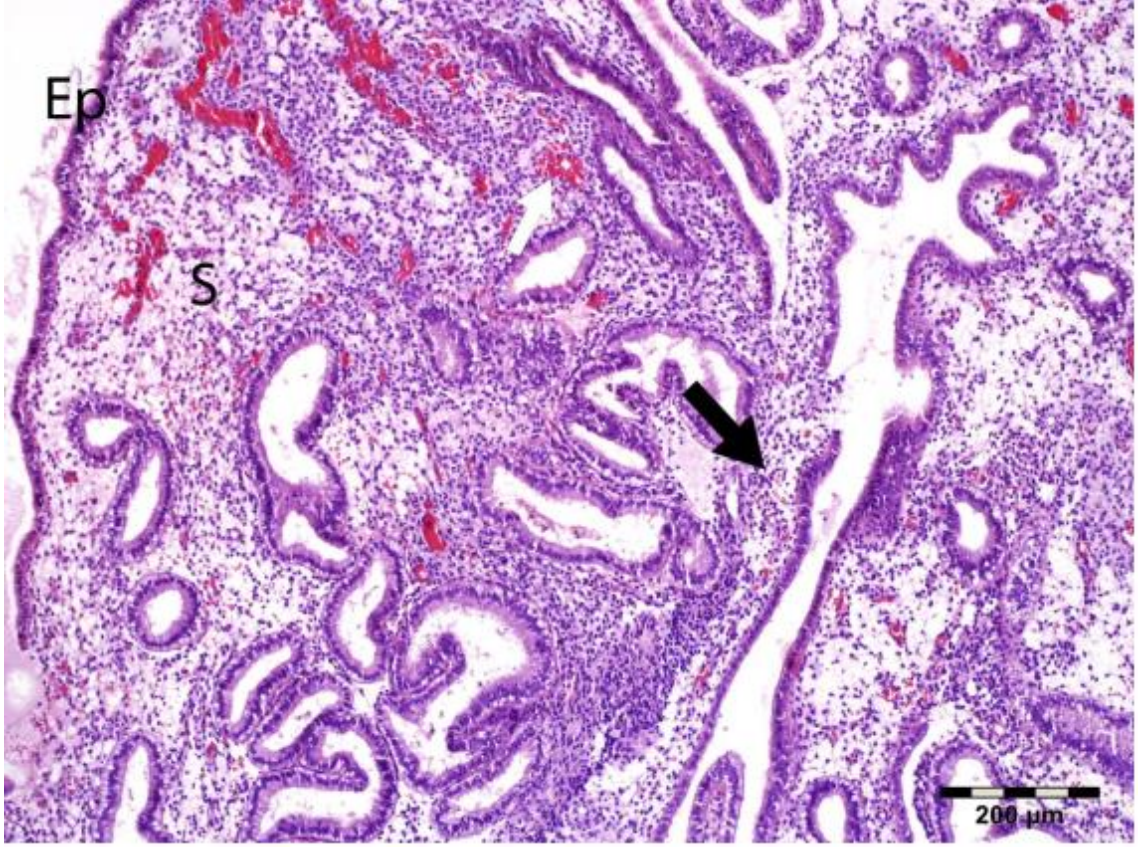
Endometrial stromanın hücresel açıdan zengin yapıda olduğu ve çok miktarda kapiller içerdiği dikkati çekti (Şekil 5).



Şekil 3. Endometrial Reseptivite Referans Grubu 19. Gün. Tek katlı prizmatik epitel (Ep) ile döşeli endometriyum yüzey epiteli ve tek katlı prizmatik epitel ile döşeli hafif kıvrıntılı endometrial bezler (ok) normal olarak izlenmektedir. Endometrial stromanın (S) yer yer ödematöz alanlar içerdiği görülmektedir. Bar=100 µm.



Şekil 4. Endometrial Reseptivite Referans Grubu 20. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve endometrial bezler (ok) normal olarak görülmektedir. Endometrial stromanın (S) yer yer ödematöz alanlar içerdiği görülmektedir. Bar=100 µm.



Şekil 5. Endometrial Reseptivite Referans Grubu 21. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep), stroma içerisinde yer alan çok sayıda, kıvrıntılı görünümde, geniş lümene sahip endometrial bezler (siyah ok) ile kapiller (beyaz ok) izlenmektedir. Bar=200 µm.

4.3.2. TİB-Hasarlandırma Öncesi

TİB olan grupta ilk hasarlandırma yapılması sırasında, hasarlandırmaya yanıt oluşmadan önce, menstrüel siklusun 19. günü alınan endometrial doku örneklerinde;

Yüzey epiteli tek katlı prizmatik şekilli yapısında olması ile birlikte bazı alanlarda pseudostratifiye prizmatik epitel yapısında olduğu görüldü.

Endometrial bezlerin, düzgün tübüler yapıda olduğu ve endometrial stroma içerisinde seyrek olarak dağıldığı dikkati çekti (Şekil 6).

Menstrüel siklusun 20. günü alınan endometrium örneklerinde;

Yüzey epitelinin tek katlı prizmatik ve pseudostratifiye prizmatik tipte olduğu izlendi.

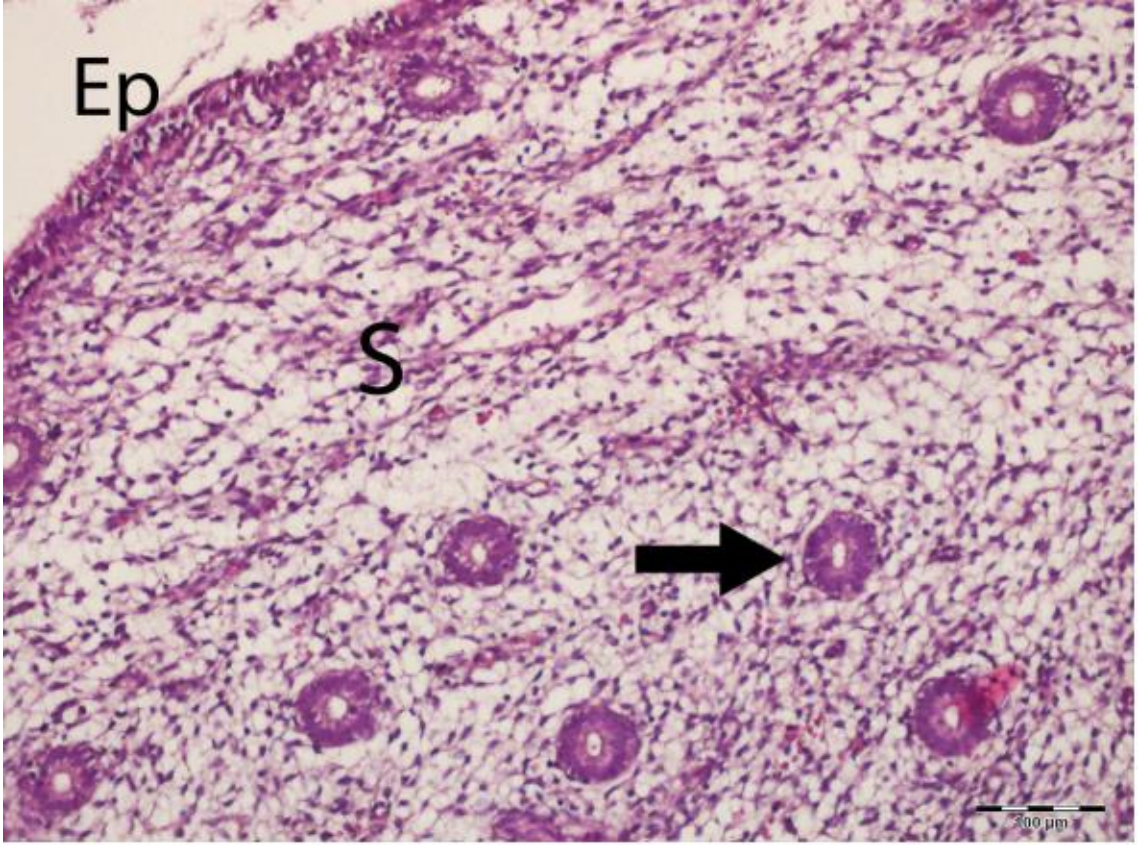
Endometrial bez epitelinin ise pseudostratifiye prizmatik tipte olduğu ve bezlerin bazılarının tübüler yapıda olduğu, bazılarının ise kıvrıntılı olduğu dikkat çekti.

Endometrial stroma yer yer kompakt yer yer ödematöz alanlar içermektedir (Şekil 7).

Menstrüel siklusun 21. günü alınan endometrium örneklerinde;

Yüzey epitelinin pseudostratifiye prizmatik epitel yapısında olduğu görüldü.

Endometrium bez epitelinin pseudostratifiye prizmatik epitel yapısında olduğu ve bezlerin stroma içerisinde tübüler yapıda, hafif kıvrıntılı ve seyrek olarak dağılım gösterdiği izlendi (Şekil 8).



Şekil 6. TİB Hasarlandırma öncesi Grup 19. Gün. Endometriumu döşeyen yüzey epitelinin (Ep) pseudostratifiye prizmatik epitel yapısında olduğu görülmektedir. Endometrial bezlerin (ok) stroma (S) içerisinde seyrek olarak dağıldığı izlenmektedir. Bar=100 µm.



Şekil 7. TİB Hasarlandırma öncesi Grup 20. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve pseudostratifye prizmatik epitel ile döşeli endometrial bezler (ok) izlenmektedir. Bar=100 µm.



Şekil 8. TİB Hasarlandırma öncesi Grup 21. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve bez epitelinin (ok) pseudostratifiye prizmatik epitel yapısında olduğu görülmektedir. Bar=100 µm.

4.3.3. TİB-Hasarlandırma Sonrası

TİB olan ve ilk hasarlandırma yapılmasını takip eden ilk menstrüel siklusun 19. günü alınan endometrial doku örneklerinde;

Yüzey epitelinin tek katlı prizmatik tipte olduğu izlendi.

Endometrial stroma ödematöz görünümde olup çok sayıda kıvrıntılı yapıda, lümeni genişlemiş, prizmatik epitel ile örtülü endometrial bez içerdiği dikkati çekti (Şekil 9).

Hasarlandırma yapılmasını takip eden ilk menstrüel siklusun 20. günü alınan endometrial doku örneklerinde;

Yüzey epiteli ve Endometrial bez epitelinin reseptivite referans grubu ile benzer özellikte, tek katlı prizmatik epitel ile örtülü oldukları izlendi. Endometrial bezlerin lümeninin geniş olduğu izlendi.

Stromanın ödematöz yapıda olduğu, içerisinde endometrium yüzey epiteline ve bez epiteline yakın alanlarda enflamatuvar hücre infiltrasyonunun varlığı görüldü (Şekil 10).

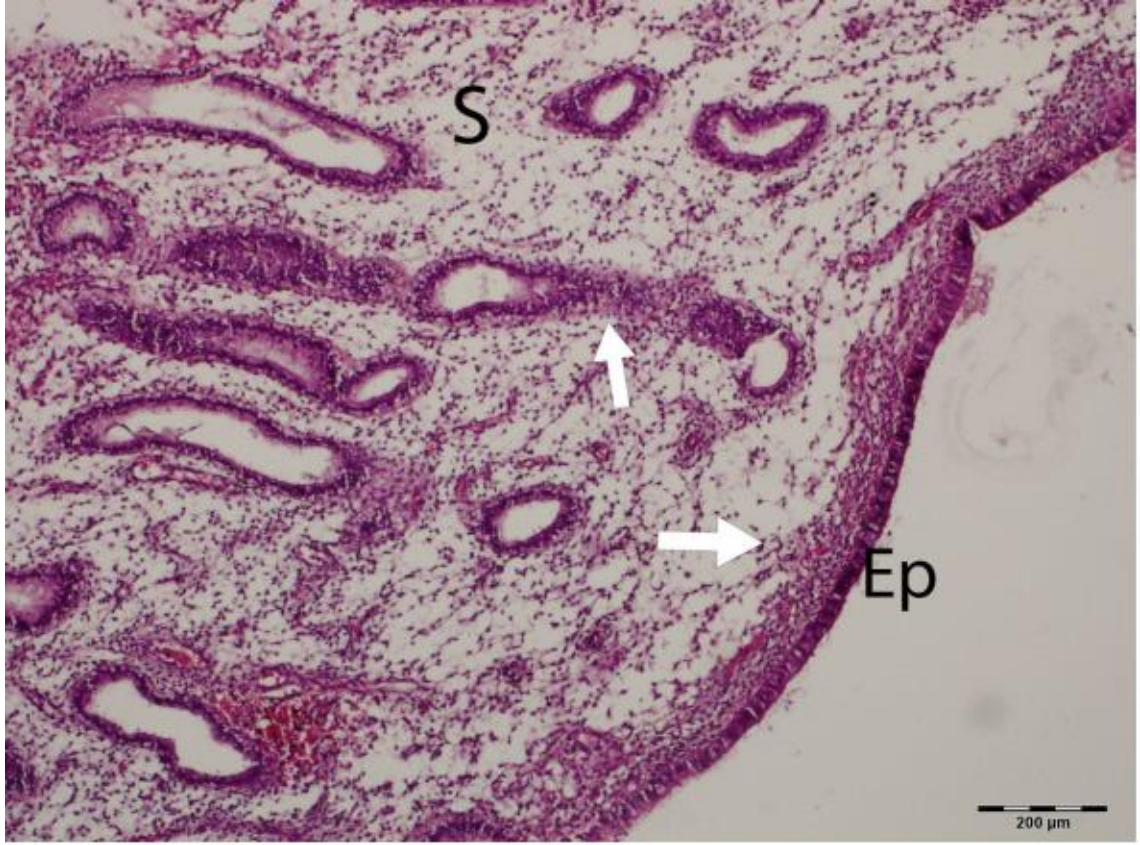
Hasarlandırma yapılmasını takip eden ilk menstrüel siklusun 21. günü alınan endometrial doku örneklerinde;

Yüzey epitelinin ve endometrial bez epitelinin tek katlı prizmatik epitel ile örtülü ve reseptivite referans grubu ile benzer özellikte oldukları izlendi.

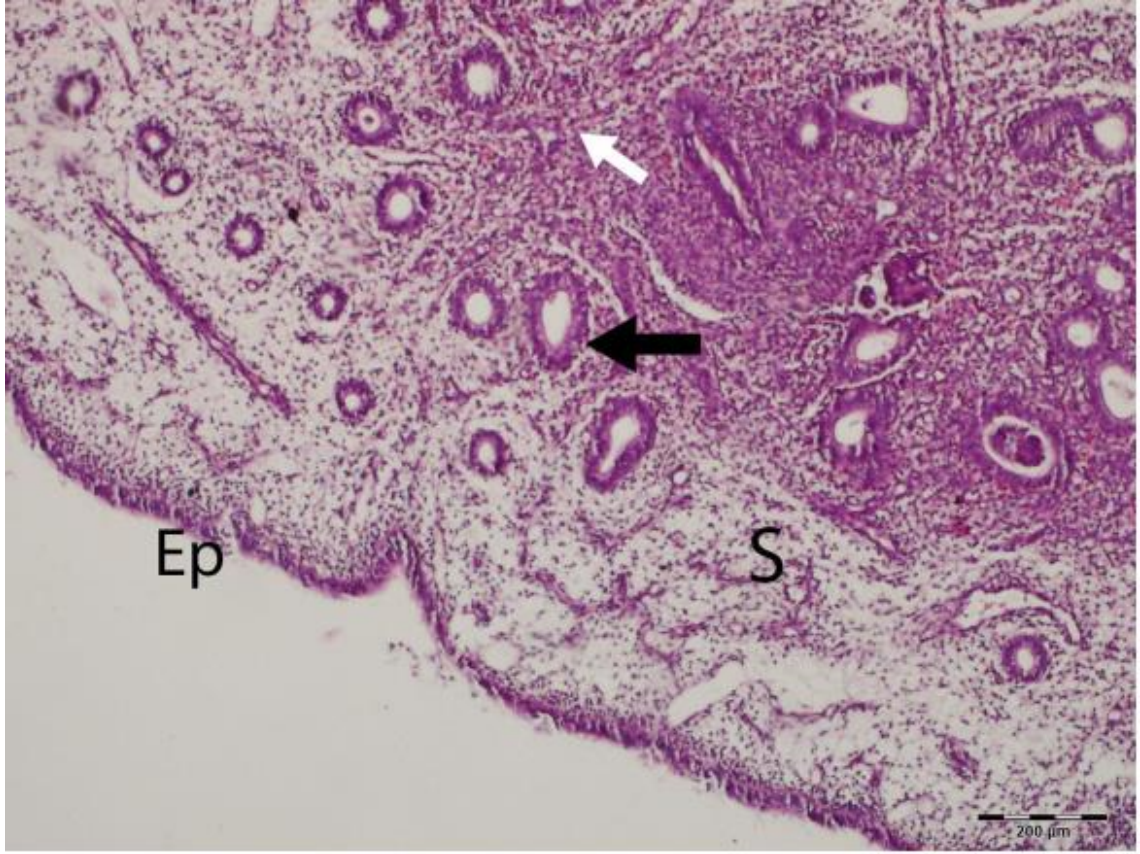
Stroma ödematöz yapıda olup enflamatuvar hücre infiltrasyonunun varlığı dikkati çekti (Şekil 11).



Şekil 9. TİB-Hasarlandırma Sonrası Grup 19. Gün. Endometrium yüzey epitelinin (Ep) tek katlı prizmatik tipte olduğu, stromanın (S) ödematöz alanlar içerdiği ve çok sayıda kıvrıntılı yapıda, lümeni genişlemiş, prizmatik epitel ile örtülü endometrial bez içerdiği görülmektedir. Bar=200 µm.



Şekil 10. TİB-Hasarlandırma Sonrası Grup 20. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve ödematöz yapıdaki stroma (S) içerisinde geniş lümen yapısına sahip endometrial bezler görülmektedir. Stroma içerisinde enflamatuvar hücre infiltrasyonunun varlığı (beyaz ok) görülmektedir. Bar=200 µm.



Şekil 11. TİB-Hasarlandırma Sonrası Grup 21. Gün. Endometrium yüzey epiteli (Ep) ve endometrial bezler (siyah ok) görülmektedir. Ödematöz yapıdaki stroma (S) içerisinde enflamatuvar hücre infiltrasyonunun varlığı (beyaz ok) görülmektedir. Bar=200 µm.

4.4. Elektron Mikroskopik Bulgular

Endometrial reseptivite referans grubu, tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlardan hasarlandırma öncesi ve sonrası, menstrüel sikluslarının 19, 20 ve 21. günlerinde elde edilen endometrium örneklerinde, yüzey epiteli, bez epiteli ve stroma içerisinde yer alan hücre ve hücrelerarası maddenin ultrastrüktürel özellikleri değerlendirildi.

4.4.1. Endometrial Reseptivite Referans Grubu

4.4.1.1. Endometrial Reseptivite Referans Grubu 19. Gün

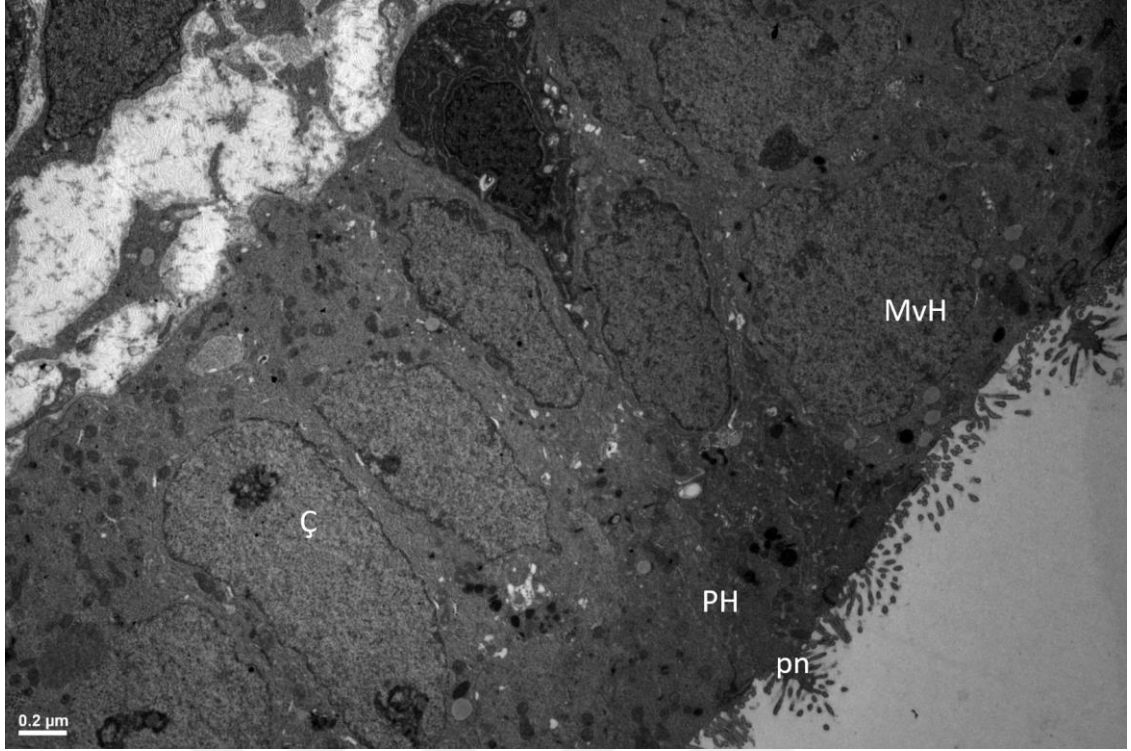
Endometrial reseptivite referans grubundan menstrüel siklusun 19. günü alınan endometrium kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde;

Endometrium yüzey epitelinin ince, uzun prizmatik şekilli hücrelerden oluştuğu ve epiteli döşeyen hücrelerin silyalı, pinopodlu, veziküllü ve mikrovilluslu hücreler içerdiği görüldü. Epiteli döşeyen hücrelerden bazılarının apikal sitoplazmalarının lümene doğru uzanarak pinopod yapılarını oluşturduğu görüldü. Seyrek olarak apikal yüzeyi düzgün mikrovilluslu hücrelerin ve daha nadir olarak da apikal yüzeylerinde silyum içeren hücrelerin varlığı izlendi. Mikrovilluslu hücrelerin, ökromatik görünümlü çekirdeklerinde iyi gelişmiş nükleolar kanal sistemine sahip oldukları, sitoplazmalarında yaygın, genişlemiş endoplazmik retikülüm sisternaları, membranla çevrili veziküller, mitokondriyonlar ve iyi gelişmiş Golgi kompleksi bulunduğu gözlemlendi. Mikrovilluslu hücrelerde granüler endoplazmik retikülüm sisternaları ile yakın ilişkili, elektron dens matrikse sahip dev mitokondriyonlara rastlandı. Pinopodlu hücrelerin apikal yüzeyinde mikrovillusların daha seyrek olduğu ve pinopod olarak adlandırılan, geniş kubbe şeklinde sitoplazmik uzantıların oluştuğu izlendi (Şekil 12).

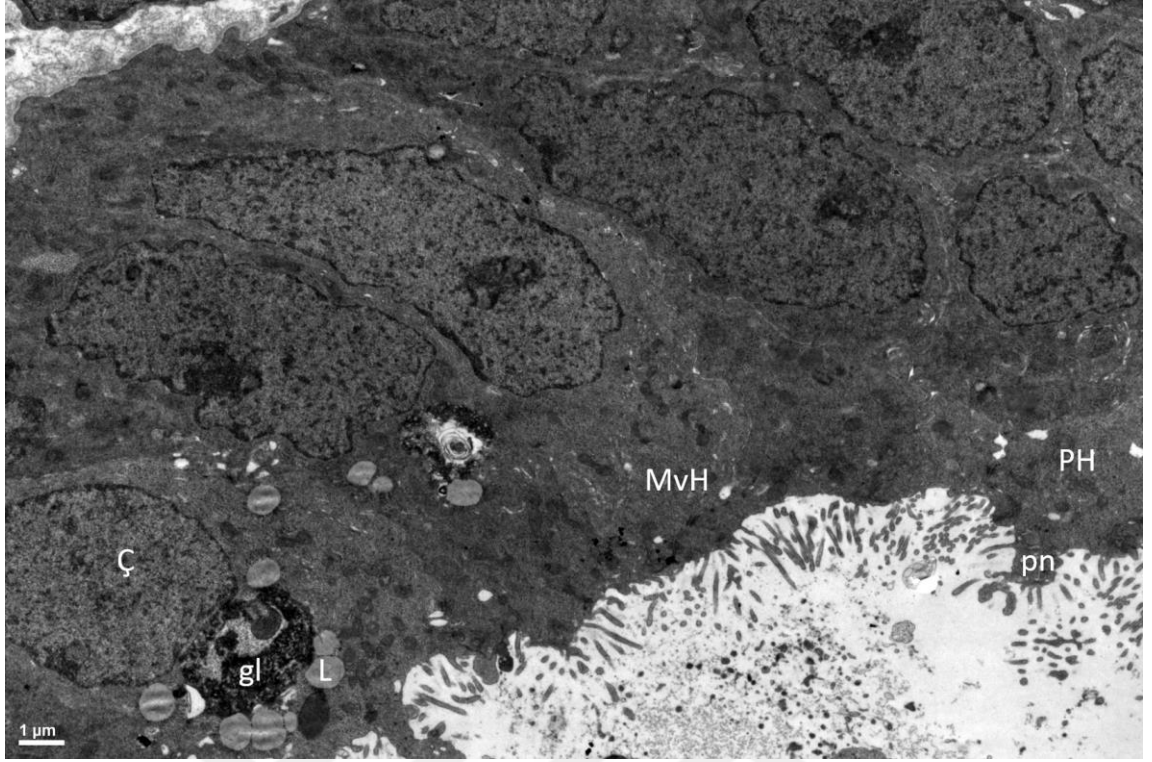
Endometrial bezleri döşeyen epitelin çoğunlukla tek katlı prizmatik epitel ile döşeli olduğu ve bezleri döşeyen epitel hücrelerinin çoğunlukla mikrovilluslu hücrelerden, daha seyrek olarak pinopodlu, silyalı ve veziküllü hücrelerden oluştuğu görüldü. Pinopodlu hücrelerin apikal sitoplazmalarının lümene doğru çıkıntı yaptığı, bu sitoplazmik çıkıntıların üzerinde ince mikrovillusların bulunduğu görüldü. Mikrovilluslu ve pinopodlu hücrelerin çekirdekleri oval şekilli, ökromatik görünümde olup, birden fazla çekirdekçik içerdiği ayırt edildi. Mikrovilluslu hücrelerin

çekirdeklerinde çekirdek kılıfı ile ilişkili nükleolar kanal sisteminin bazı hücrelerde henüz yeni oluşmaya başladığı gözlenirken, bazı hücrelerde ise oldukça iyi gelişmiş olduğu izlendi. Mikrovillüslü hücrelerin aralarında izlenen veziküllü hücrelerin dejenere hücre görünümünde olduğu, ökromatik bir çekirdek ve elektron lüsent sitoplazması içerisinde çok sayıda farklı büyüklükte vakuol içerdiği dikkati çekti (Şekil 13).

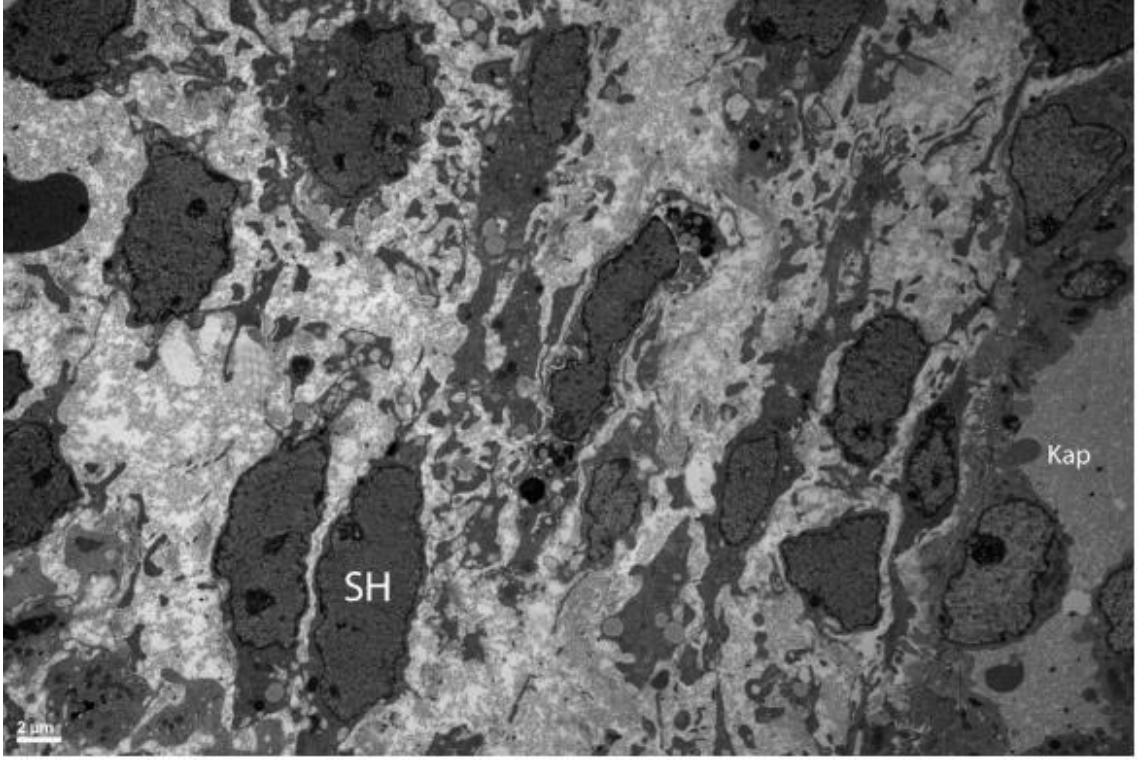
Endometrial stromada stromal hücreler, kan damarları, mononükleer fagositer sisteme ait hücrelerin varlığı gözlemlendi. Stromal hücre çekirdeklerinin periferik yerleşimli heterokromatin içeren, ökromatik bir çekirdeğe sahip olduğu görüldü. Stromal hücrelerin sitoplazmalarında ise endoplazmik retikülüm sisternaları, mitokondriyonlar, serbest ribozomlara rastlandı. Stromal hücrelerin arasında, heterokromatik çekirdekleri ile karakterize lenfositlerin varlığı da gözlemlendi. Endometrial stromada kollajen liflerin yaygın olduğu ve yer yer hafif ödemin varlığı izlendi (Şekil 14).



Şekil 12. Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün endometriyum yüzey epiteli. Endometrium yüzey epitelinin ince, uzun prizmatik şekilli hücrelerden oluştuğu izlenmektedir. Epitel tabakası içerisinde yer alan pinopodlu (PH) ve mikrovillüslü hücreler (MvH) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), pinopod (pn). Bar=0.2 µm.



Şekil 13. Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün endometriyum bez epiteli. Endometrium bez epitelinin içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH), pinopodlu hücreler (PN) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), mikrovillüs (mv), glikojen partikülleri (gl), lipid (L) izlendi. Bar=1 µm.



Şekil 14. Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün stroma. Stroma içerisinde normal görünümde stromal hücreler (SH) ve kapillerin varlığı (Kap) görülmektedir. Bar=2 µm.

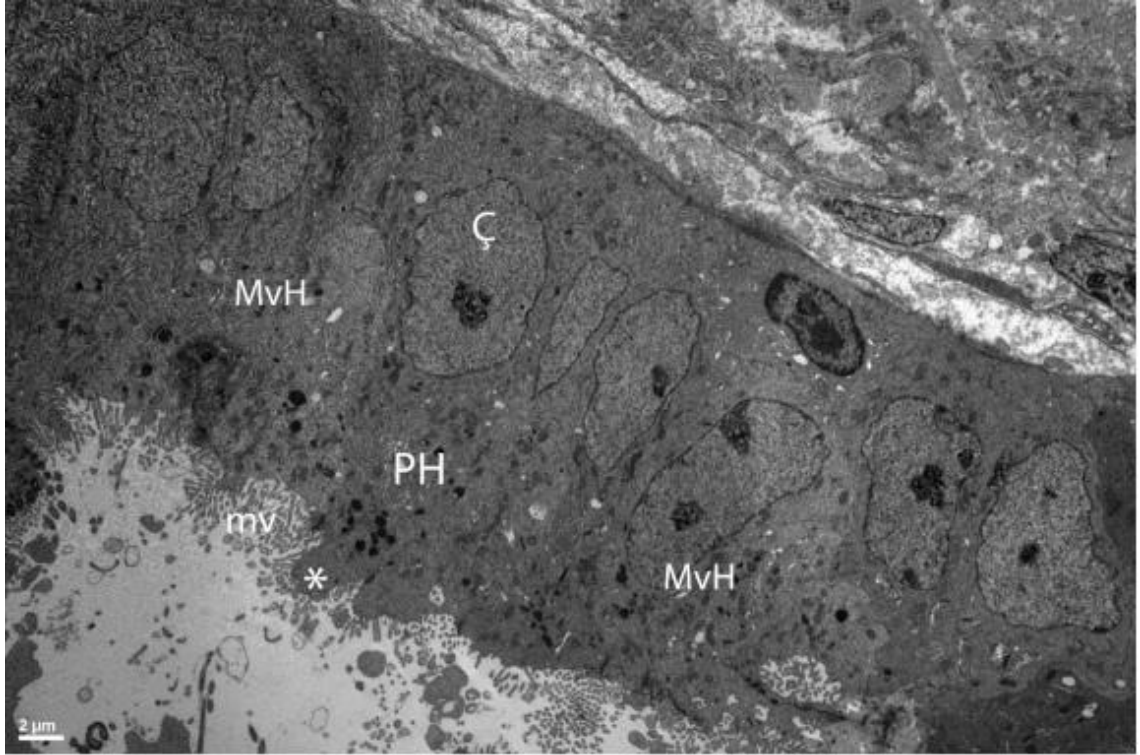
4.4.1.2. Endometrial Reseptivite Referans Grubu 20. Gün

Endometrial reseptivite referans grubundan menstrüel siklusun 20. günü alınan endometriyum dokularında;

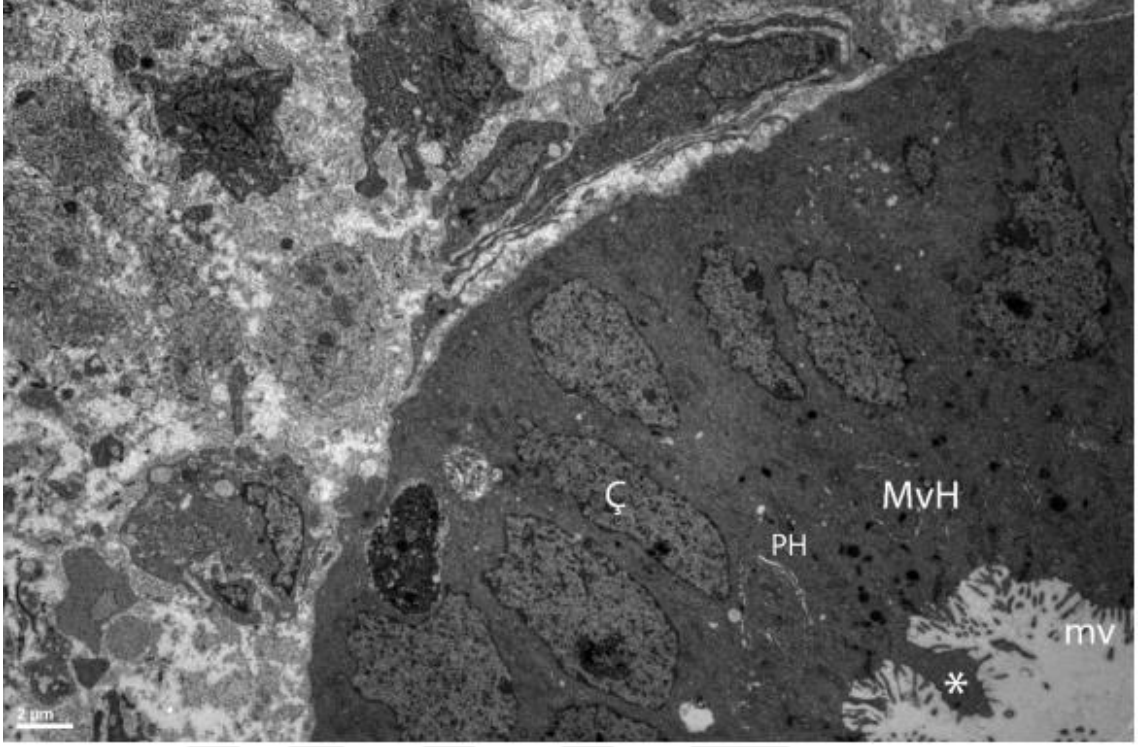
Endometrial yüzeyi döşeyen epitelinin silyalı, mikrovillüslü, pinopodlu ve veziküllü hücreleri içerdiği görüldü. Hücrelerin ovoid şekilli, ökromatik görünümlü çekirdeklerinin bazale yakın yerleşimli olduğu, çekirdek içerisinde bir veya birden fazla çekirdekçik içerdiği ayırt edildi. Epitel hücrelerinin apikolateral bölgesinde sıkı bağlantıların olduğu ve bunun hemen altında desmozom tipi bağlantının yer aldığı gözlemlendi. Mikrovillüslü hücrelerin sitoplazmalarında, ince, uzun, oval şekilli mitokondriyonlar, sitoplazma boyunca dağılmış kısa granüler endoplazmik retikülüm sisternaları ve dağınık halde bulunan serbest ribozomlar ile birlikte bazal ve apikal sitoplazmada yoğun kümeler oluşturmuş glikojen partikülleri gözlemlendi. Silyalı hücrelerin sitoplazmalarında, mitokondriyonlar, GER sisternaları, serbest ribozomlar ve glikojen partiküllerinin varlığı ayırt edildi (Şekil 15).

Endometrial bezleri döşeyen epitel hücreleri prizmatik tipte olup, apikolateral yüzeylerinde bağlantı kompleksi aracılığıyla birbirlerine tutundukları görüldü. Endometrial bezleri döşeyen hücrelerden bazılarının apikal yüzeylerinde yaygın mikrovillüs içerdiği bazılarının ise apikal yüzeyi düzgün olan hücrelerden oluştuğu, bu hücrelerin arasında bulunan pinopodlu hücrelerin sayılarının arttığı ve silyalı hücrelerin oldukça nadir bulunduğu gözlemlendi. Mikrovillüslü hücrelerin sitoplazmalarında ökromatik görünümlü, oval şekilli bazale yakın yerleşimli çekirdek, yaygın serbest ribozomlar, genişlemiş endoplazmik retikülüm sisternaları, lizozom ve glikojen partikülleri izlendi (Şekil 16).

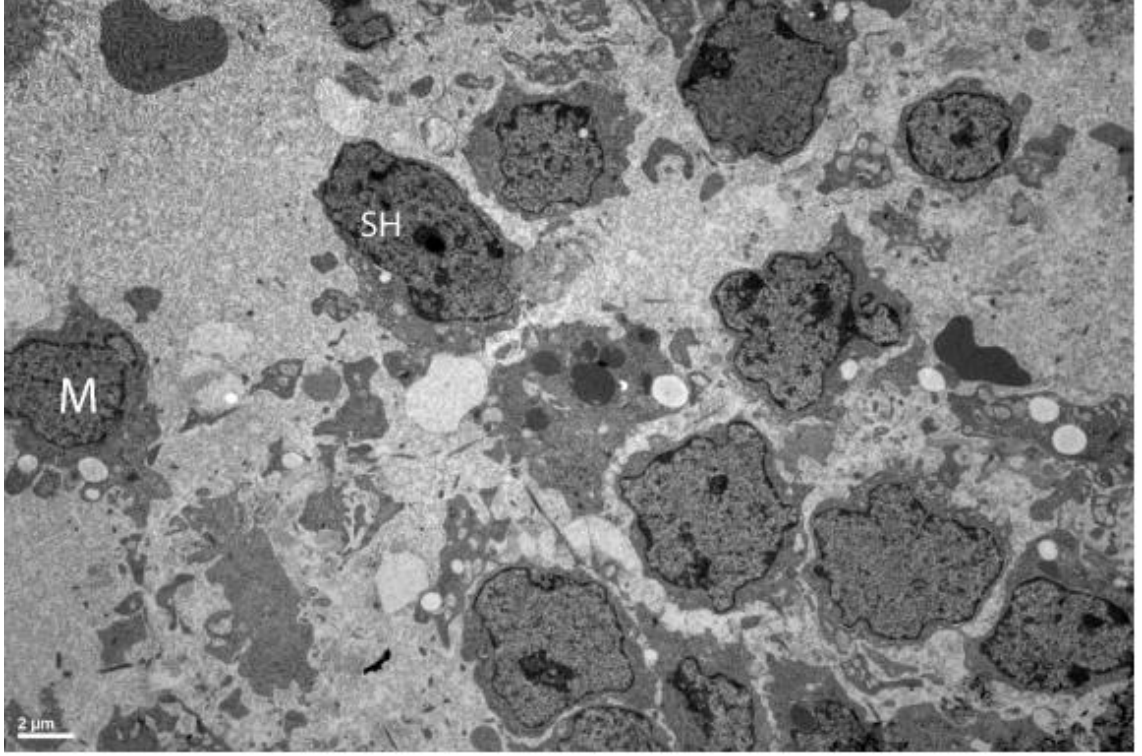
Ödematöz yapıdaki stroma içerisinde kan damarlarının ve kollajen liflerin varlığı izlendi. Makrofajlar periferik yerleşimli heterokromatin içeren, düzensiz sınırlara sahip çekirdekleri ve sitoplazmik uzantıları ile karakterizedydi. Makrofajların sitoplazmalarında mitokondriyon, granüler endoplazmik retikülüm, lipid damlacığı ve lizozom gözlemlendi (Şekil 17).



Şekil 15. Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik epitel tabakası içerisinde yer alan mikrovillüslü hücreler (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), mikrovilluslar (mv) ve pinopodlar (*) izlenmektedir. Bar=2 µm.



Şekil 16. Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün bez epiteli. Tek katlı prizmatik epitel içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) normal olarak izlenmektedir. Çekirdek (Ç), mikrovilluslar (mv) ve pinopodlar (*) görülmektedir. Bar=2 µm.



Şekil 17. Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün stroma. Stromal hücreler (SH) ve makrofaj (M) normal olarak izlenmektedir. Bar=2 µm.

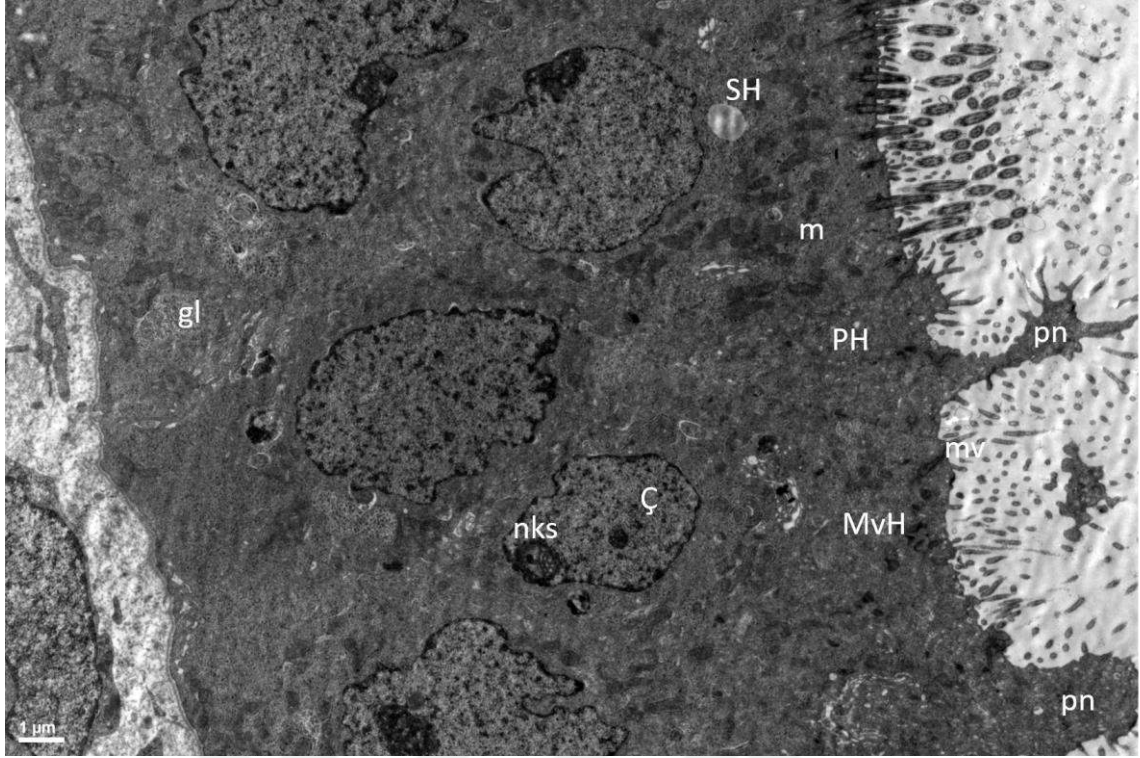
4.4.1.3. Endometrial Reseptivite Referans Grubu 21. Gün

Endometrial reseptivite referans grubundan menstrüel siklusun 21. günü alınan endometriyum dokularında;

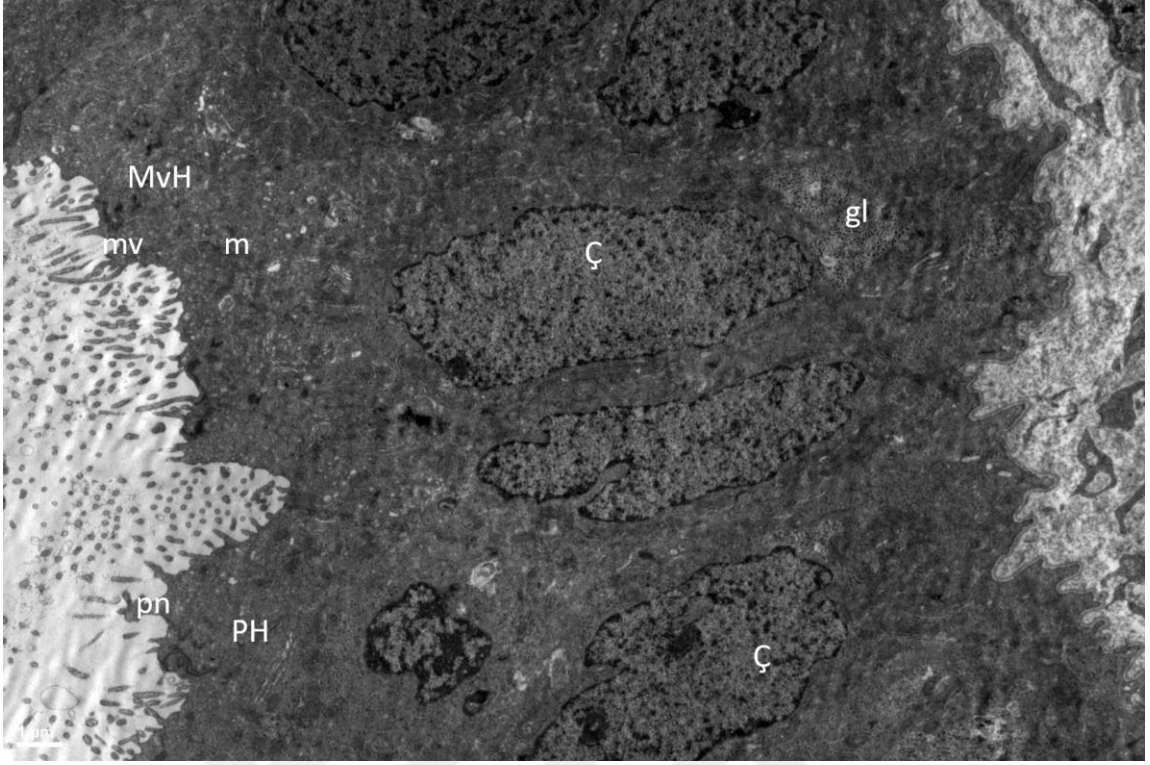
Endometriyum yüzey epitelinin, prizmatik şekilli hücrelerden oluştuğu, epitelin mikrovillüslü pinopodlu, silyalı ve veziküllü hücreleri içerdiği gözlemlendi. Mikrovillüslü hücreler ökromatik görünümlü, oval şekilli çekirdekleri, sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi kompleksleri, kısa GER sisternaları, küçük, sferikal veya oval şekilli mitokondriyonları ve glikojen kümeleri ile normal olarak izlendi. Mikrovillüslü hücrelerin bazılarında, endoplazmik retikülüm sisternaları ile ilişkili, glikojen kümelerine yakın yerleşimli dev mitokondriyonların varlığı gözlemlendi. Oldukça yaygın olarak gözlenen pinopodlu hücrelerde indentasyon gösteren ökromatik bir çekirdek, sitoplazma boyunca yaygın mitokondriyonlar, granüler endoplazmik retikülüm sisternaları, lipid damlacıkları ve glikojen partikülleri izlendi (Şekil 18).

Endometrial bezleri döşeyen epitelin çoğunlukla mikrovillüslü, pinopodlu ve veziküllü hücrelerden oluştuğu gözlemlendi. Mikrovillüslü hücreler indentasyon gösteren çekirdekleri, sitoplazmalarında yaygın mitokondriyon, GER sisternaları, Golgi kompleksi, serbest ribozomları ile normal histolojik yapıda izlendi. Mikrovillüslü hücrelerin sitoplazmalarında glikojen partiküllerinin arttığı ve bazal, apikal sitoplazma ile perinükleer alanlarda yoğun kümeler oluşturduğu dikkati çekti. Mikrovillüslü hücrelerin aralarında sitoplazmaları içerisindeki veziküller ile ayırt edilen veziküler hücreler normal olarak izlendi (Şekil 19).

Endometrial stroma, hücresel açıdan yoğun ve ödematöz bir yapıdaydı. Endometrial stroma içerisinde stromal hücrelerin ökromatik görünümde oval çekirdeğe sahip olduğu, çekirdek kılıfının çekirdek içerisine doğru indentasyonlar gösterdiği, çekirdek içerisinde belirgin çekirdekçiğinin varlığı izlendi. Stromal hücrelerin sitoplazmalarında az sayıda mitokondriyonlar, GER sisternaları, birkaç lipid damlacığı ve glikojen partikülleri ayırt edildi. Stromada ayrıca çok sayıda kan damarı, kollajen lif, fibroblast, makrofaj ve lenfosit varlığı gözlemlendi (Şekil 19).



Şekil 18. Endometrial reseptivite referans grubu 21. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik epitel tabakası içerisinde yer alan mikrovillüslü hücreler (MvH), silyalı hücreler (SH), pinopodlu hücreler (PH) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), nükleolar kanal sistemi (nks), pinopod (pn), mikrovillüs (mv), mitokondriyon (m), glikojen partikülü (gl) izlenmektedir. Bar=1 µm.



Şekil 19. Endometrial reseptivite referans grubu 21. gün bez epiteli. Endometrium bez epitelinin içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) pinopodlu hücreler (PH) normal olarak görülmektedir. Çekirdek (Ç), mitokondriyon (m), mikrovillüs (mv), glikojen (gl), pinopod (pn) yapıları izlenmektedir. Bar=1 µm.

4.4.2. TİB Grubu - Hasarlandırma Öncesi

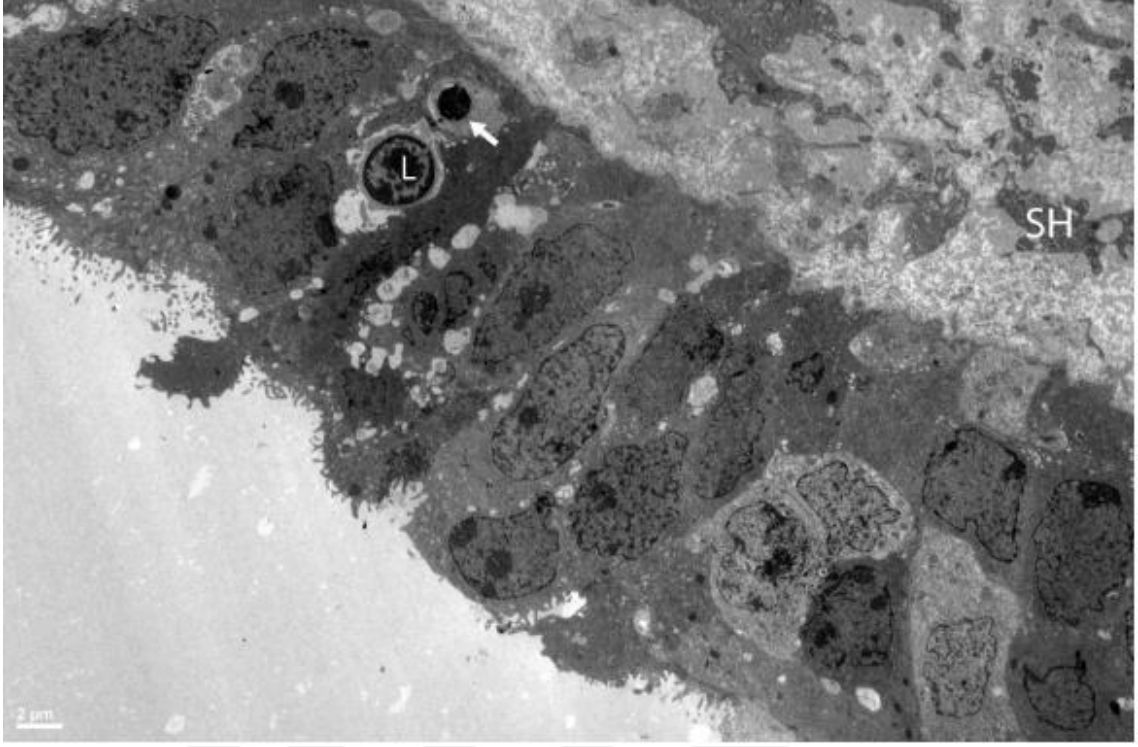
4.4.2.1. TİB Grubu - Hasarlandırma Öncesi 19. Gün

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı grubunda ilk hasarlama yapılırken menstrüel siklusun 19. günü alınan endometriyum doku örneklerinde;

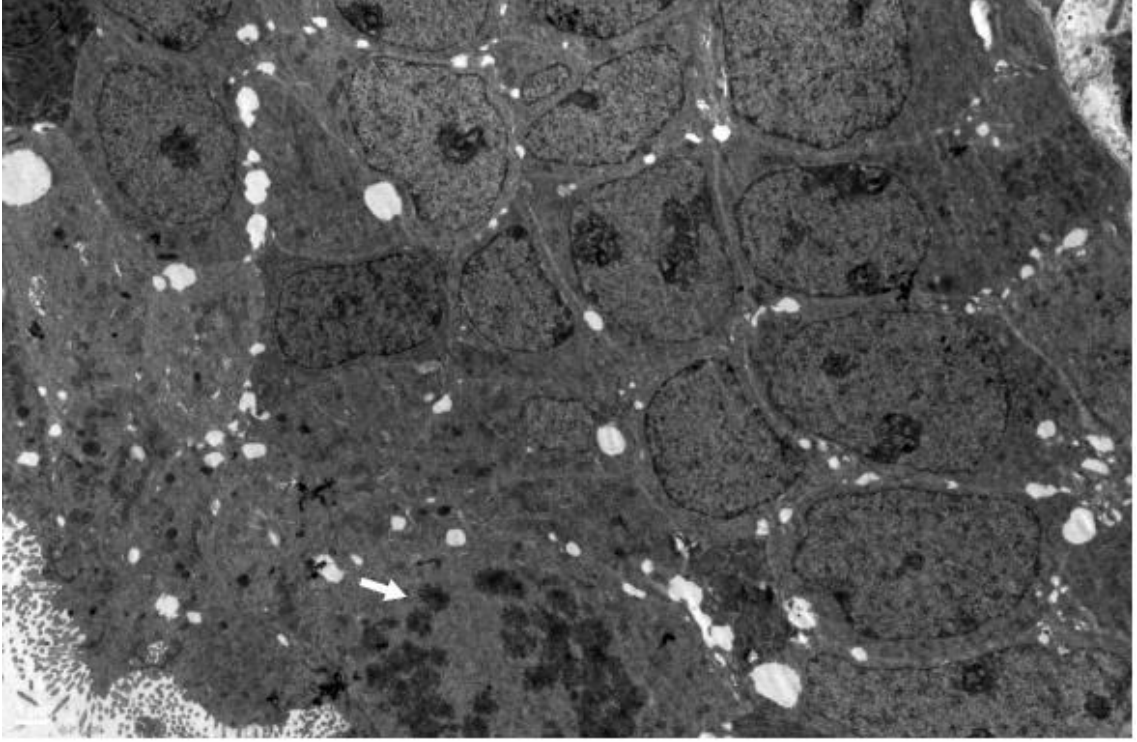
Endometrium yüzey epitelinin tek katlı prizmatik ve bazı alanlarda pseudostratifiye prizmatik tipte olduğu görüldü. Epitel tabakası içerisinde mikrovillüslü hücrelerin, silyumlu hücrelerin, az sayıda pinopodlu ve veziküllü hücrenin varlığı izlendi. Prizmatik şekilli hücrelerin apikal yüzeyinde çok sayıda düzensiz mikrovillüs bulunduğu bazı hücrelerde ise mikrovillüs sayısının azaldığı gözlemlendi. Yüzey epiteli hücrelerinin sitoplazmasında, lümene yakın apikal sitoplazmada, salgı vakuolleri bulunmasına rağmen pinopod yapısının yeterince gelişmemiş olması dikkati çekti. Mikrovillüslü hücrelerde çekirdeklerin merkezi yerleşimli, ovoid şekilli olduğu sitoplazmalarında yaygın düz endoplazmik retikülüm sisternalarının bulunduğu, yer yer bu sisternaların genişlediği gözlemlendi. Golgi kompleksi supranükleer veya perinükleer yerleşim göstermekteydi. Apikal sitoplazmalarında kümeler halinde glikojen partikülleri ve bunlara yakın yerleşimli mitokondriyonlar gözlemlendi. Bazı alanlarda, hücrelerarası mesafenin oldukça genişlemiş olduğu dikkati çekti. Epitel tabakası içerisinde intraepitelial lenfositlerin varlığı gözlemlendi. Bazı alanlarda, bazal laminaya yakın yerleşimli, hücre sınırları düzenli olan piknotik çekirdek ve elektron lüsent sitoplazmaya sahip hücrelerin varlığı dikkati çekti (Şekil 20).

Endometrial bezlerin tek katlı prizmatik ve bazı alanlarda psödostratifiye prizmatik tipte epitel ile döşeli oldukları gözlemlendi. Bez epiteli çoğunlukla mikrovillüstan zengin hücrelerden oluşmaktaydı. Pinopodlu hücrelerde, pinopodların zayıf, düzensiz olduğu, pinopodların yüzeyinde mikrovillüslerin yoğun olarak bulunduğu ve pinopodların içerisinde veziküllerin varlığı görüldü. Bez epiteli içerisinde mitoz bölünme aşamasında olan hücrenin varlığı dikkati çekti (Şekil 21).

Endometrial stromada, stromal hücreler, mononükleer fagositer sisteme ait hücreler yaygın olarak gözlemlendi. Stromal hücre çekirdeklerinin periferik yerleşimli heterokromatin alanlar içeren, önkromatik bir çekirdeğe sahip olduğu ayırt edildi. Ayrıca stromada fibroblastların yanı sıra yaygın kollajen liflerin de bulunduğu gözlemlendi (Şekil 20).



Şekil 20. T1B grubu hasarlandırma öncesi 19. gün yüzey epiteli. Yüzey epitelinin tek katlı prizmatik epitel ve bazı alanlarda pseudostratifiye prizmatik tipte olduğu görülmektedir. Epitel tabakası içerisinde intraepitelial lenfosit (L), ve piknotik çekirdeğe ve elektron lüsent sitoplazmaya sahip hücrenin varlığı dikkati çekmektedir. Epitel tabakası altında stroma içerisinde stromal hücreler (SH) izlenmektedir. Bar=2 µm.



Şekil 21. TİB grubu hasarlandırma öncesi 19. gün bez epiteli. Bez epitelinin pseudostratifiye tipte olduğu ve epitel hücrelerinin aralarında mitoz bölünme aşamasında olan hücrenin varlığı (ok) izlenmektedir. Bar=1 μ m.

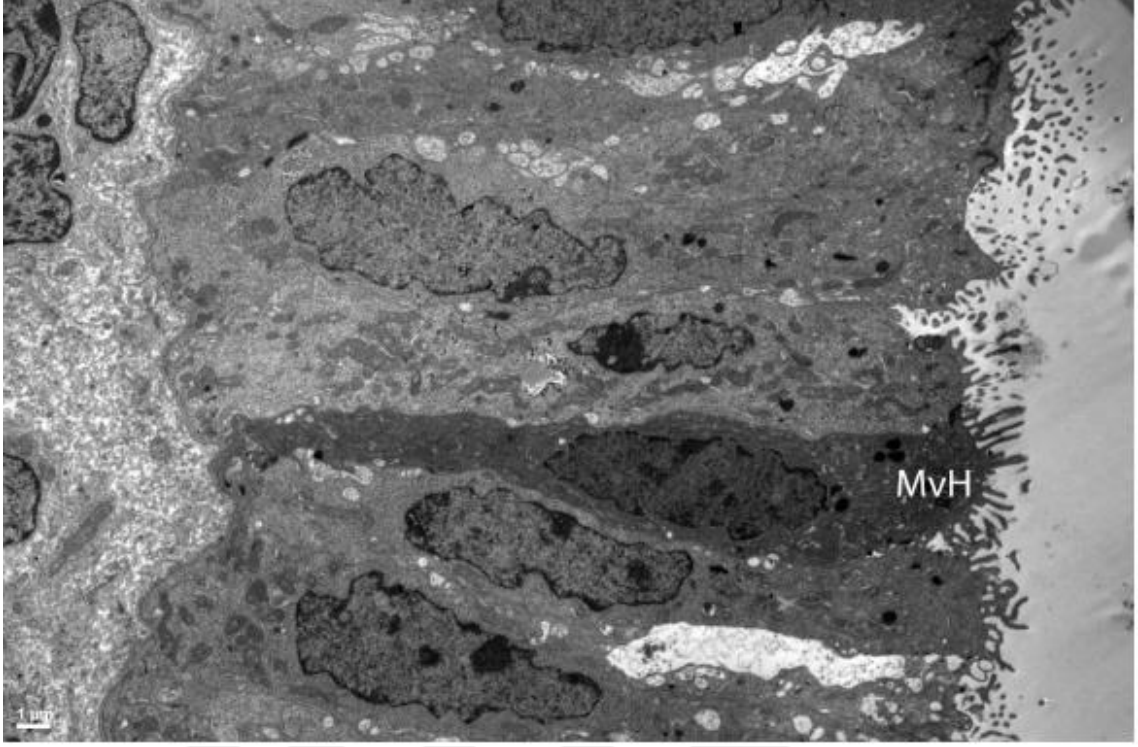
4.4.2.2. TİB Grubu - Hasarlandırma Öncesi 20. Gün

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı grubunda ilk hasarlama yapılırken menstrüel siklusun 20. günü alınan endometriyum doku örneklerinde;

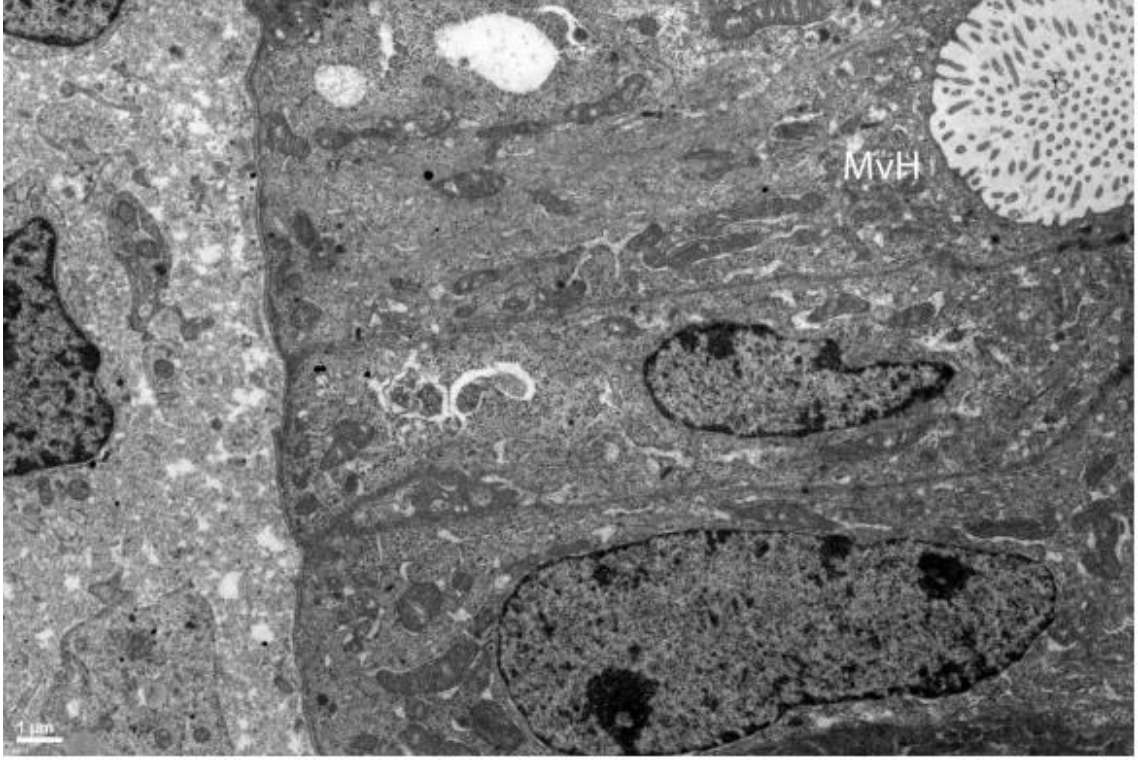
Tek katlı prizmatik yüzey epitelinin, çoğunlukla apikal yüzeyi düzgün, mikrovillüslü hücrelerden oluştuğu, pinopodlu ve silyalı hücrelerin ise daha seyrek bulunduğu görüldü. Epitel hücrelerin birbirlerine bağlantı kompleksleri aracılığıyla tutunduğu görüldü. Mikrovillüslü hücrelerin apikal sitoplazmasında yaygın mitokondriyonlar bulunduğu, bu mitokondriyonların bazı alanlarda, incelişip uzadığı ve etraflarında elektron lüsent alanların oluştuğu görüldü. Mikrovillüslü hücrelerin apikal sitoplazmalarında yaygın Golgi komplekslerinin, genişlemiş endoplazmik retikülüm sisternalarının olduğu gözlemlendi. Pinopodlu hücrelerinin ovoid şekilli, 1-2 çekirdekçik içeren, ökromatik çekirdeğe sahip oldukları izlendi. Sitoplazmalarında yaygın olarak bulunan mitokondriyonların ince uzun şekilli olduğu ve bazı alanlarda endoplazmik retikülüm sisternaları ile çevrelendiği gözlemlendi (Şekil 22).

Endometrial bez epitelinde ise mikrovillüslü hücrelerin çoğunlukta olduğu dikkati çekti. Prizmatik şekilli bez epiteli hücrelerinin bağlantı kompleksleri aracılığı ile birbirlerine tutunduğu, bağlantı komplekslerinde apikolateral kısımda sıkı bağlantılar, daha bazal kısımlarda zonula adherens veya dezmozom tipi bağlantıların yer aldığı gözlemlendi (Şekil 23).

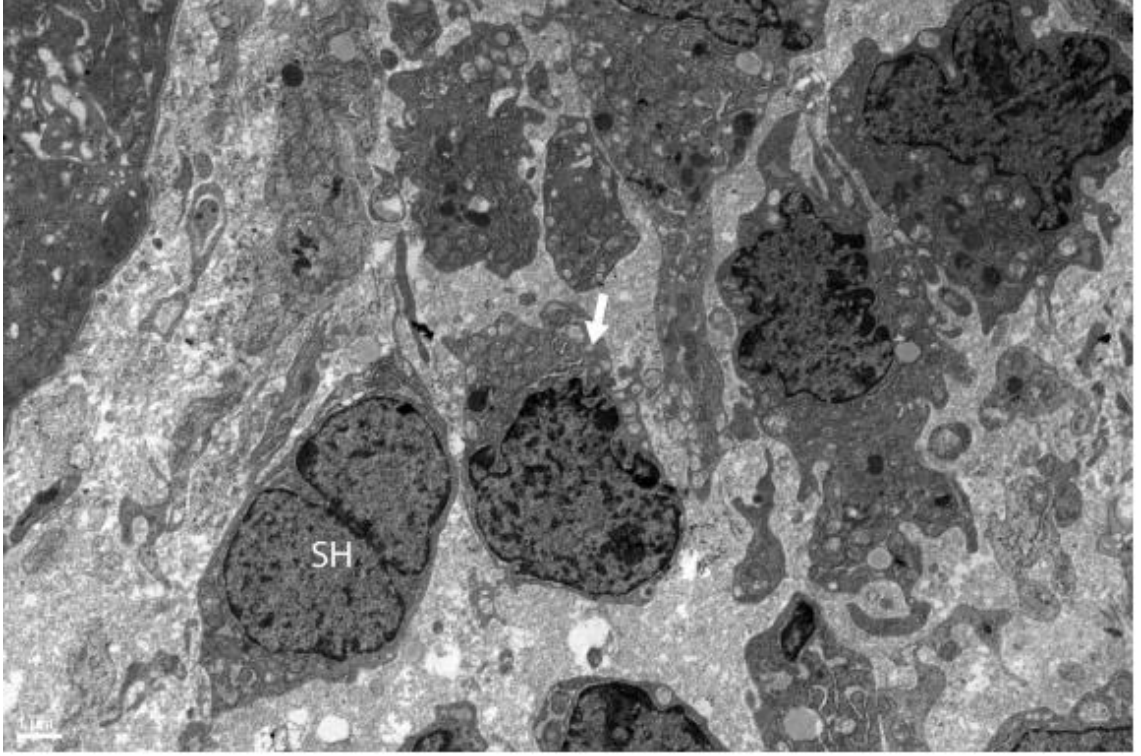
Endometrial stromada, stromal hücreler, mononükleer fagositer sisteme ait hücreler gözlemlendi. Stromal hücre çekirdeklerinin periferik yerleşimli heterokromatin alanlar içeren ökromatik, oval şekilli ve girintili bir yapıya sahip olduğu gözlemlendi. Stromal hücrelerin sitoplazmalarında genişlemiş endoplazmik retikülüm sisternaları, mitokondriyonlar, sitoplazma boyunca dağınık halde serbest ribozomlar izlendi (Şekil 24).



Şekil 22. TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik yüzey epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) izlenmektedir. Bar=1 µm.



Şekil 23. TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün bez epiteli. Tek katlı prizmatik bez epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) izlenmektedir. Bar=1 µm.



Şekil 24. TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün stroma. Stromal hücrelerin (SH) sitoplazmalarında genişlemiş endoplazmik retikülüm sisternaları (ok) izlenmektedir. Bar=1 µm.

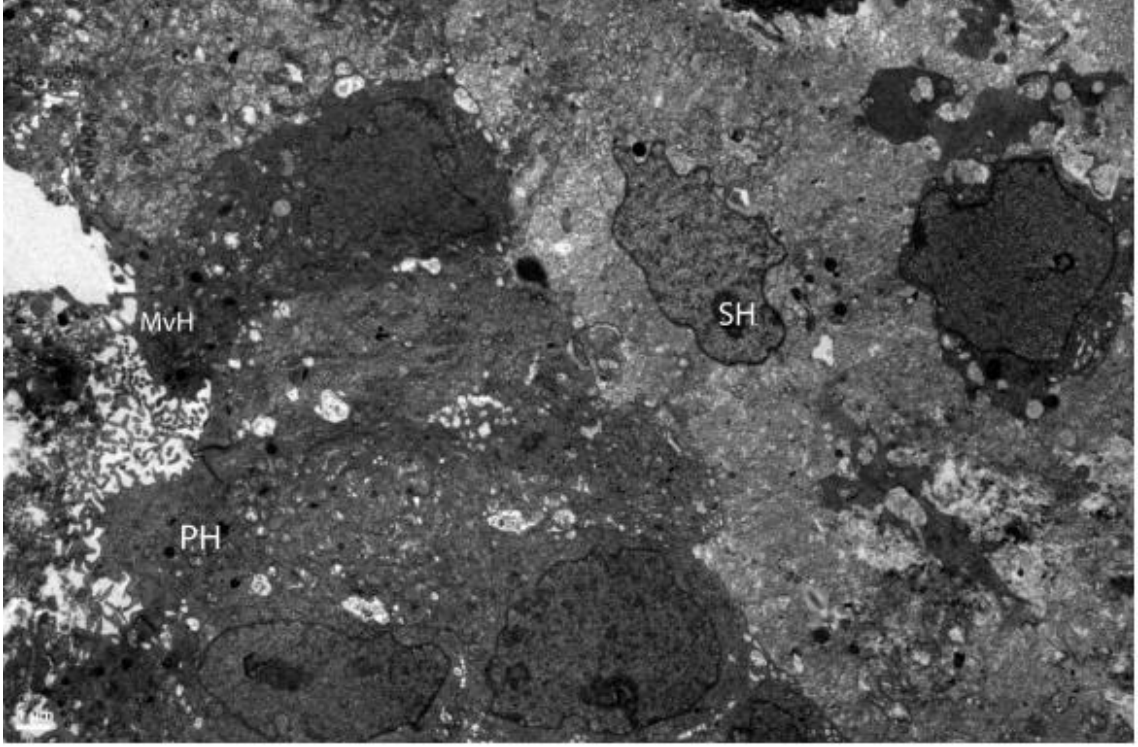
4.4.2.3. TİB Grubu - Hasarlandırma Öncesi 21. Gün

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı grubunda ilk hasarlama yapılırken menstrüel siklusun 20. günü alınan endometriyum doku örneklerinde;

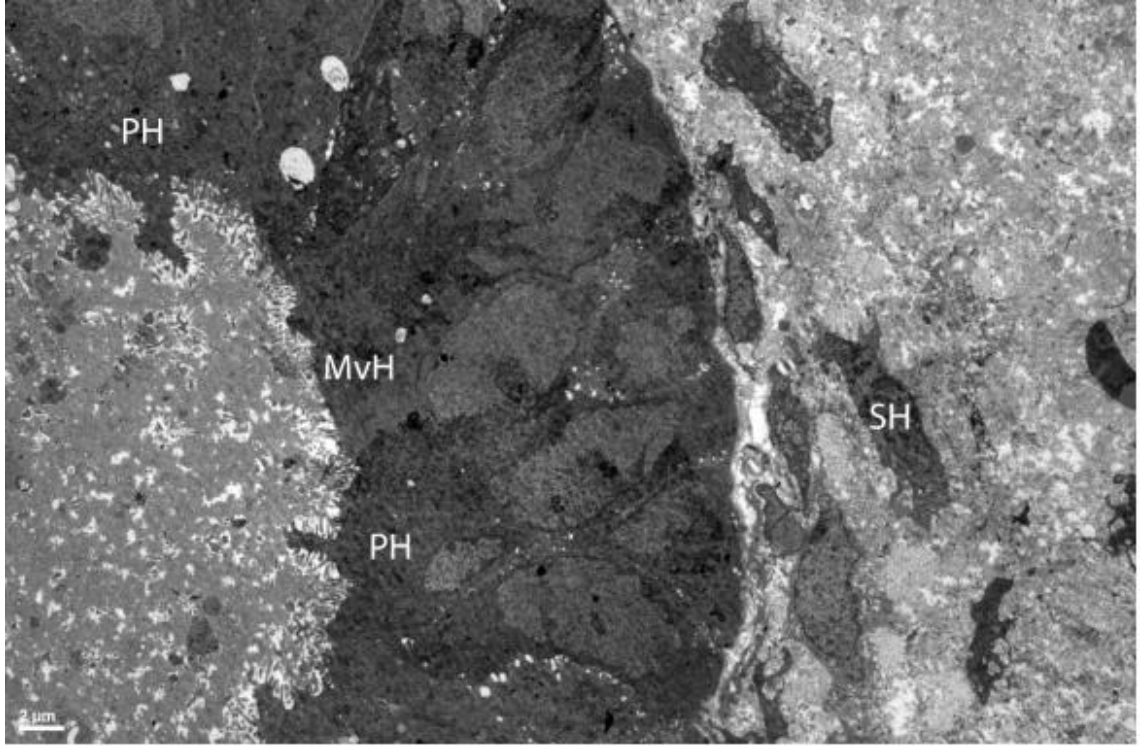
Endometrial yüzey epitelinin tek katlı prizmatik tipte ve bazı alanlarda pseudostratifiye prizmatik tipte olduğu dikkati çekti. Yüzey epitelinin çoğunlukla mikrovillüslü hücrelerden oluştuğu, bunların aralarında pinopodlu hücrelerin bulunduğu görüldü. Pinopodlu hücrelerin pinopod yapıları üzerinde mikrovillusların varlığı izlendi (Şekil 25).

Endometrial bezlerin pseudostratifiye prizmatik epitel ile örtülü olduğu, epitel hücrelerinin prizmatik şekilli, apikal yüzeyi düzgün mikrovillüslü hücrelerden oluştuğu, seyrek olarak görülen pinopodlu hücrelerin apikal yüzeylerinde mikrovilluslar içerdiği görüldü. Bazı bez epitel hücrelerinde sitoplazma içerisinde apikal, bazal ve perinükleer alanlarda glikojen kümelerinin bulunduğu görüldü. Bazı bez epitel hücrelerinde hücrelerarası mesafenin genişlemiş olduğu, genişleyen alanlarda vakuollerin varlığı dikkati çekti (Şekil 26).

Endometrial stromada, stromal hücrelerin yuvarlak şekilli, periferik yerleşimli heterokromatin içeren, önkromatik çekirdeğe sahip olduğu ve sitoplazmalarında endoplazmik retikülüm sistemlerinin genişlediği görüldü (Şekil 25 ve 26).



Şekil 25. T1B grubu hasarlandırma öncesi 21. gün yüzey epiteli. Epitelin tek katlı prizmatik epitel ve bazı alanlarda pseudostratifiye prizmatik tipte olduğu görülmektedir. Mikrovillüslü hücreler (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) görülmektedir. Stromada stromal hücreler (SH) görülmektedir. Bar=1 µm.



Şekil 26. T1B grubu hasarlandırma öncesi 21. gün bez epiteli. Endometrial bezlerin pseudostratifiye prizmatik epitel ile örtülü olduğu görülmektedir. Bez epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) izlenmektedir. Stroma içerisinde stromal hücreler (SH) görülmektedir. Bar=2 µm.

4.4.3. TİB Grubu - Hasarlandırma Sonrası

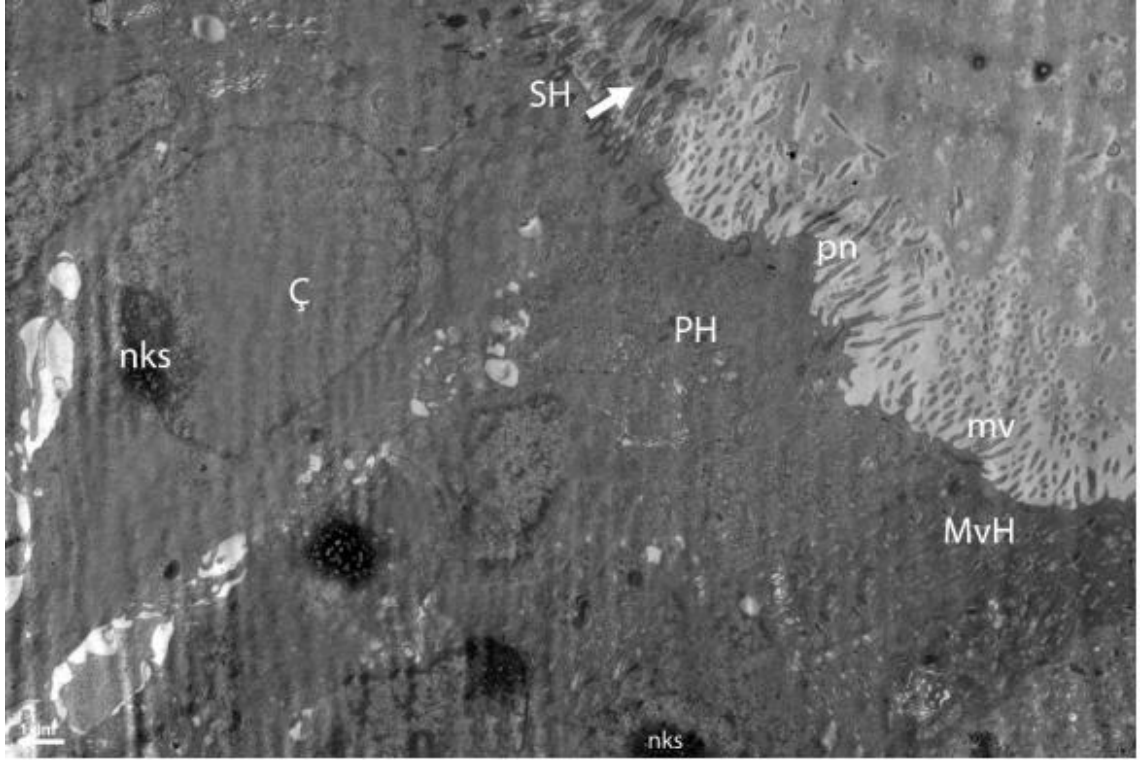
4.4.3.1. TİB Grubu - Hasarlandırma Sonrası 19. Gün

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı grubunda hasarlandırmanın yapıldığı siklusu takip eden ilk menstrüel siklusun 19. günü alınan endometrial biyopside;

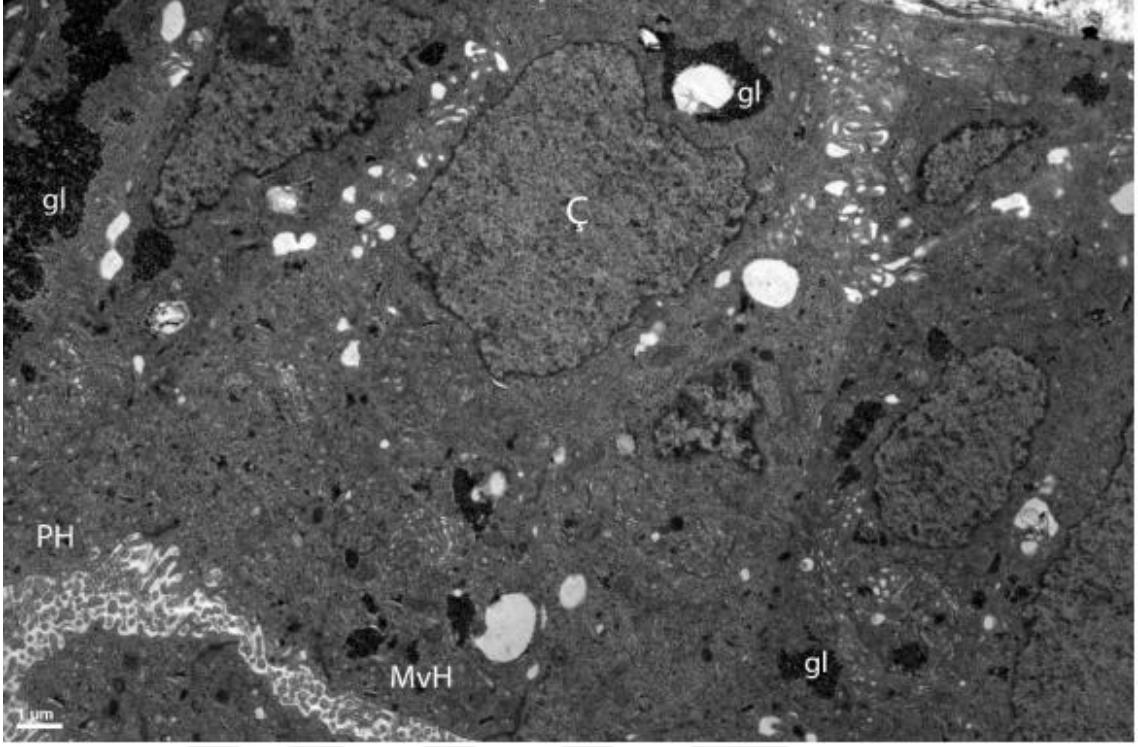
Yüzey epitelinin tek katlı prizmatik tipte epitel ile örtülü olduğu, pinopodlu, mikrovillüslü, silyumlu ve veziküllü hücreleri içerdiği izlendi. Epiteli döşeyen hücrelerin bağlantı kompleksi aracılığıyla birbirlerine tutunduğu gözlemlendi. Bağlantı komplekslerinde apikolateral kısımda sıkı bağlantılar, bazal kısımlarda zonula adherens ve dezmozom tipi bağlantıların bulunduğu ayırt edildi. Pinopodlu, mikrovillüslü ve silyumlu hücrelerin çekirdeklerinde çekirdek kılıfı ile ilişkili nükleolar kanal sisteminin oldukça iyi gelişmiş olduğu dikkati çekti. Silyumlu hücrelerin apikal sitoplazmasında supranükleer yerleşimli glikojen kümelerinin oldukça yoğun olarak bulunduğu görüldü. Apikal sitoplazmada glikojen kümeleri ile yakın yerleşimli olarak dev mitokondriyonlar, granüler endoplazmik retikülüm sisternaları, lizozomal yapılar, membranla çevrili veziküller, serbest ribozomlar ve bazal kökçükler gözlemlendi (Şekil 27).

Endometriumun bez epitelini esas olarak mikrovillüslü ve pinopodlu hücrelerin oluşturduğu izlendi. Mikrovillüslü hücrelerin apikal yüzeyinin düzgün yüzeyli olduğu, yüzeydeki mikrovillüslerin kısa ve düzensiz yapıda olduğu dikkati çekti. Pinopodlu hücrelerin apikal yüzeylerinin lümene yaptığı çıkıntılarının zayıf geliştiği ve yaygın mikrovillus içerdiği gözlemlendi. Mikrovillüslü ve pinopodlu hücrelerin sitoplazmasında yaygın olarak bulunan glikojen partikülleri sitoplazmada büyük kümeler oluşturmuşlardı. Mikrovillüslü ve pinopodlu hücrelerin sitoplazmasında yaygın olarak bulunan glikojen partikülleri, bazı hücrelerde bazal sitoplazmada gözlenirken, bazı hücrelerde apikal sitoplazmada bazı hücrelerde ise perinükleer alanda kümeler oluşturmuşlardı (Şekil 28).

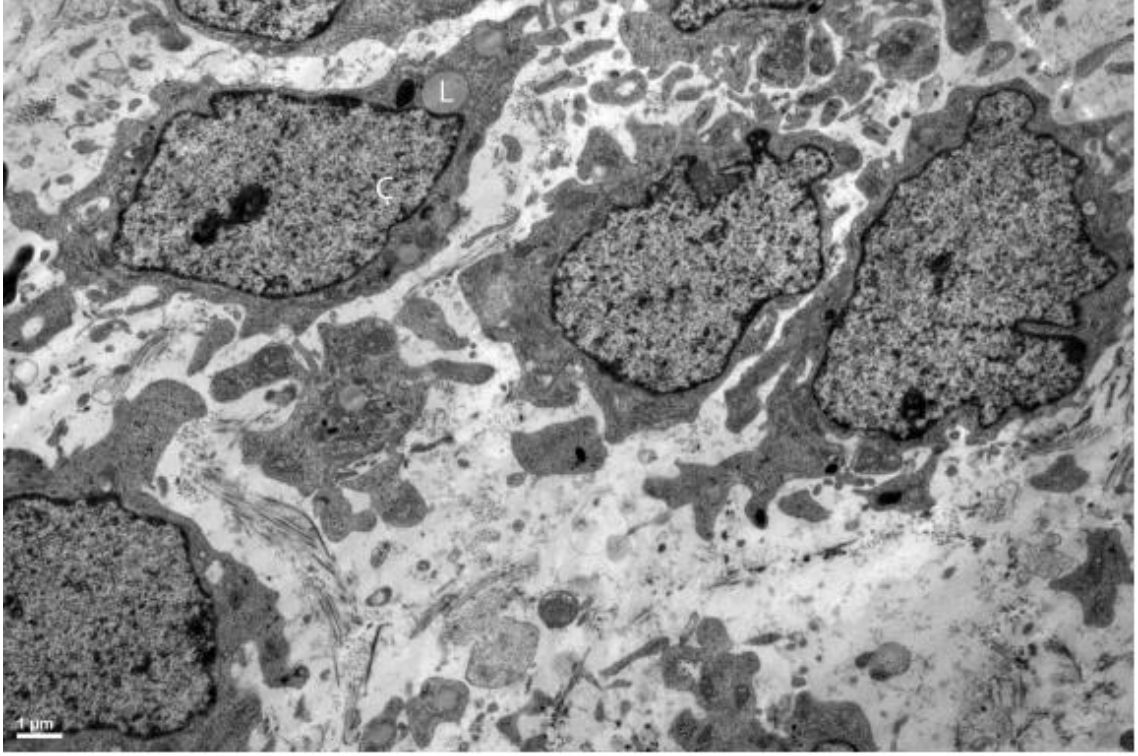
Endometrial stromanın ödematöz yapıda olduğu izlendi. Stromal hücrelerin indentasyon gösteren, ökromatik, oval şekilli çekirdeğe sahip olduğu gözlemlendi. Bazı stromal hücrelerin sitoplazmasında çeşitli büyüklükte lipid damlacığının ve glikojen partiküllerinin varlığı dikkati çekti (Şekil 29).



Şekil 27. TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik tipte endometrium yüzey epitelin içerisinde pinopodlu (PH), mikrovilluslu (MvH) ve silyumlu hücreler (SH) izlenmektedir. Çekirdek (Ç) içerisinde elektron dens granüler matriks içerisinde kompleks tübüler yapılar olarak karakterize iyi gelişmiş nüleolar kanal sistemleri (nks) izlenmektedir. Hücrelerin lümene yakın apikal yüzeylerinde silyum (ok), mikrovilluslar (mv) ve pinopod (pn) görülmektedir. Bar=1 µm.



Şekil 28. TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün bez epiteli. Endometriumun bez epiteli içerisinde mikrovillüslü (MvH) ve pinopodlu hücreler (PH) izlenmektedir. Mikrovillüslü hücrelerin çekirdeği (Ç) ve sitoplazma içerisinde kümeler oluşturan glikojen partikülleri (gl) görülmektedir. Bar=1 µm.



Şekil 29. TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün stroma. Endometrial stromanın ödematöz yapıda olduğu izlenmektedir. Stromal hücrelerin indentasyon gösteren, ökromatik, oval şekilli çekirdeği (Ç) ve sitoplazma içerisindeki lipid damlacıkları (L) görülmektedir. Bar=1 µm.

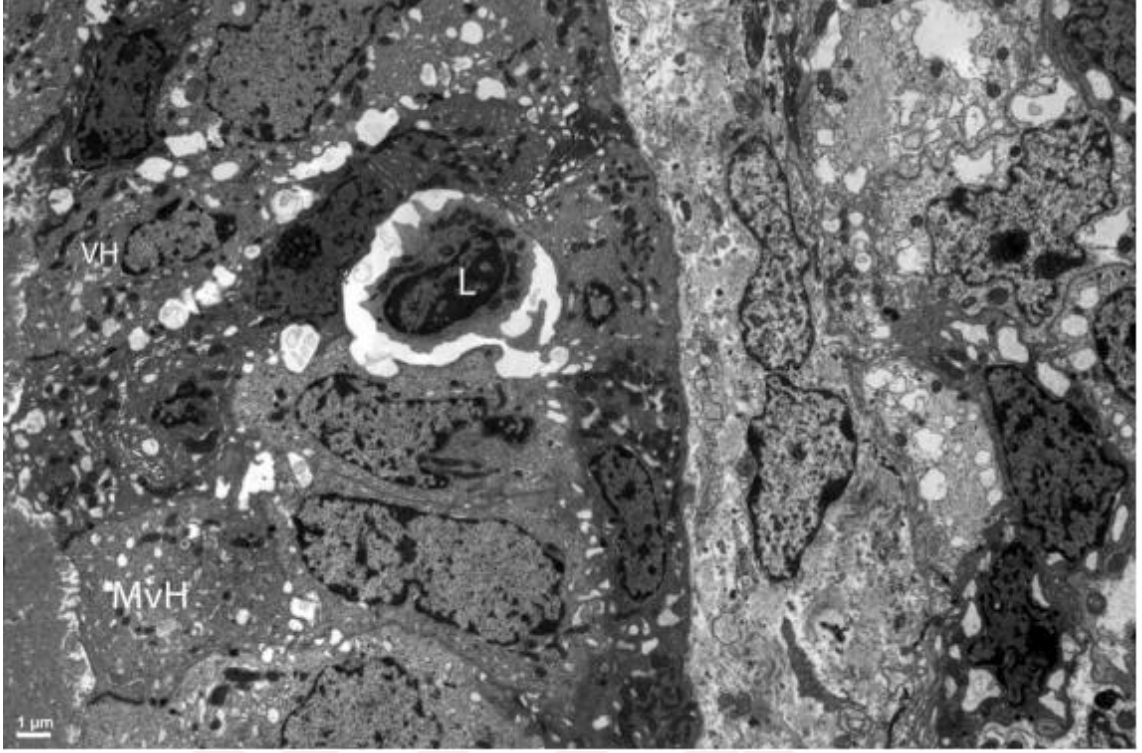
4.4.3.2. TİB Grubu - Hasarlandırma Sonrası 20. Gün

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı grubunda hasarlandırmanın yapıldığı siklusu takip eden ilk menstrüel siklusun 20. günü alınan endometrial biyopside;

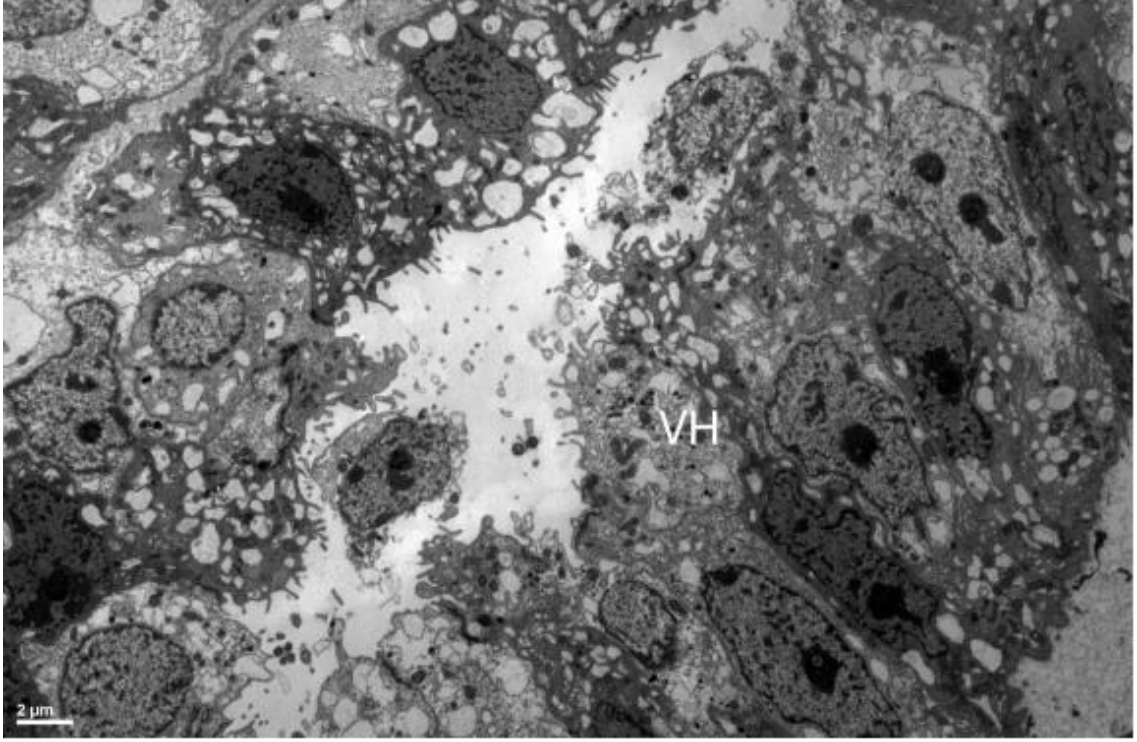
Yüzey epitelinin tek katlı prizmatik tipte olduğu izlendi. Yüzey epitelini mikrovillüslü, pinopodlu ve veziküllü hücreler oluşturmaktaydı. Epitel hücrelerinin bazılarının elektron dens bazılarının ise elektron lüsent bir sitoplazmaya sahip olduğu ayırt edildi. Epitelin bazal kısımlarında hafifçe geniş, düzensiz sınırları olan intraepitelyal lenfositler izlendi. Bu lenfositlerin çekirdeklerinin kompakt heterokromatik sferikal şekilli olduğu ve sitoplazmalarında küçük mitokondriyonlar ve serbest ribozomlar içerdiği ayırt edildi (Şekil 30).

Endometrial bezleri döşeyen epitelin tek katlı prizmatik epitel ile döşeli olduğu görüldü. Bez epitelini oluşturan esas hücrelerin veziküllü hücreler ve pinopodlu hücreler olduğu, bu hücrelerin aralarında mikrovillüslü hücrelerin de yer aldığı dikkati çekti. Veziküllü hücrelerin elektron lüsent sitoplazmalarında apikal yerleşimli değişik büyüklükte sekretuar veziküller, birbirleri ile yakından ilişkili iyi gelişmiş Golgi kompleksi, granüler endoplazmik retikülüm, subnüklear yerleşimli küçük mitokondriyonlar, lipid damlacığı ve glikojen partikülü izlendi (Şekil 31).

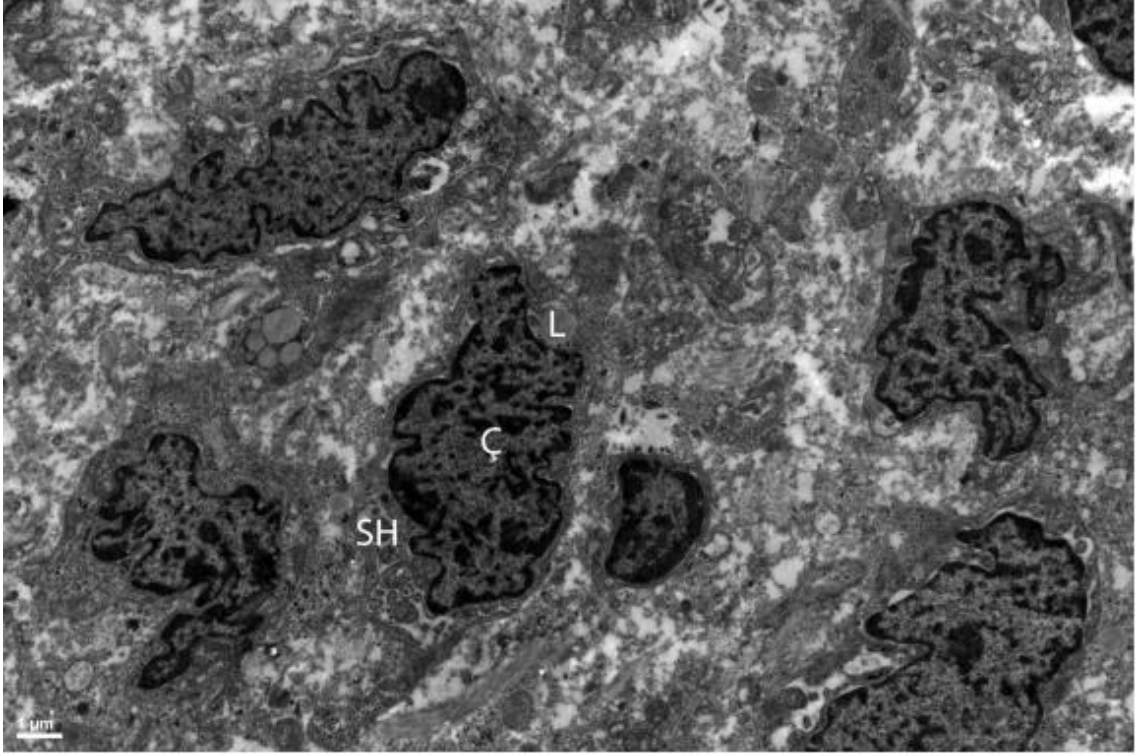
Endometrial stromanın ödematöz yapıda olduğu izlendi. Stromal hücrelerin oval ya da yuvarlak çekirdeğe sahip olduğu, çekirdeklerin ökromatik görünümde olup, çekirdek içerisinde çekirdekçiğin varlığı, çekirdek kılıfının yer yer çekirdek içerisinde doğru indentasyonlar gösterdiği izlendi. Stromal hücrelerin sitoplazmasında lipid damlacığının varlığı görüldü (Şekil 32).



Şekil 30. TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün yüzey epiteli. Endometriyum yüzey epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH), veziküllü hücreler (VH) ve intraepitelyal lenfosit (L) izlenmektedir. Bar=1 µm.



Şekil 31. TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün bez epiteli. Endometriyum bez epitelinin tek katlı prizmatik tipte olduğu görülmektedir. Bez epiteli içerisinde yer alan veziküler hücreler (VH) izlenmektedir. Bar=2 μm.



Şekil 32. TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün stroma. Stromal hücrelerin (SH) çekirdeği (Ç) ve sitoplazması içerisinde lipid damlacıkları (L) görülmektedir. Bar=1 µm.

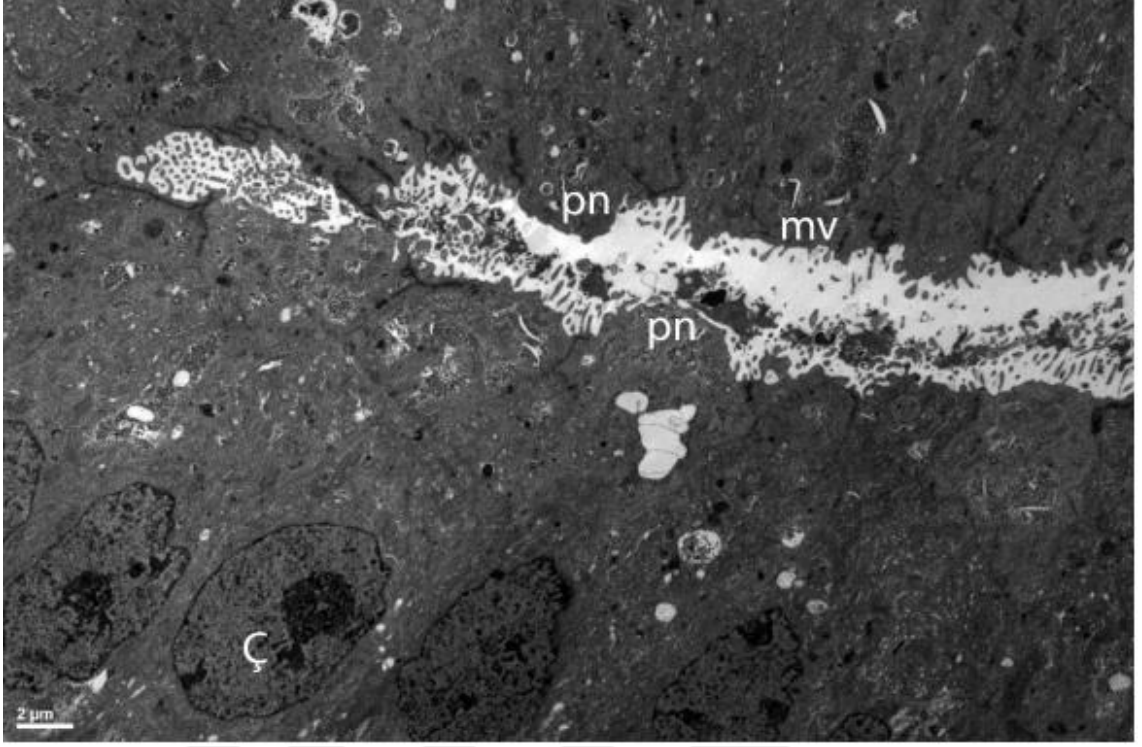
4.4.3.3. TİB Grubu - Hasarlandırma Sonrası 21. Gün

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı grubunda hasarlandırmanın yapıldığı siklusu takip eden ilk menstrüel siklusun 20. günü alınan endometrial biyopside;

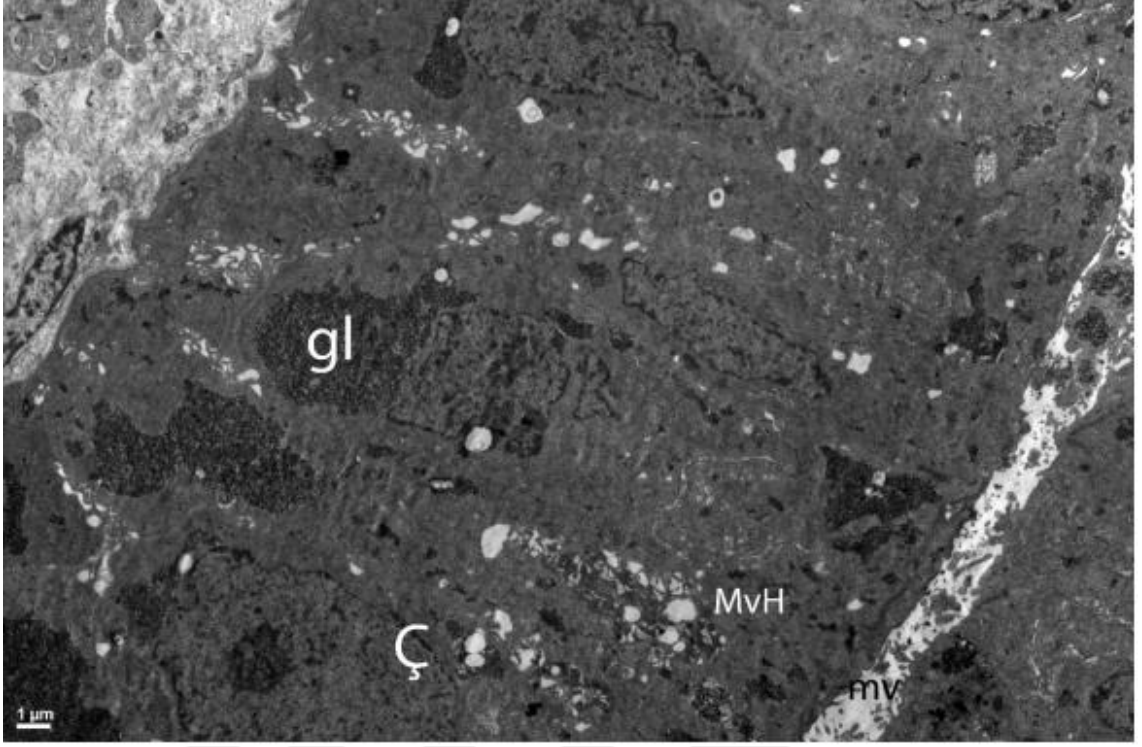
Yüzey epitelinin tek katlı prizmatik tipte olduğu görüldü. Yüzey epiteli içerisinde normal yapıda mikrovillüslu ve pinopodlu hücreler izlendi (Şekil 33).

Endometrial bezlerin tek katlı prizmatik epitel ile örtülü olduğu, epitelinin mikrovillüslu ve pinopodlu hücrelerden oluştuğu gözlemlendi. Mikrovillüslu hücrelerin merkezi yerleşimli, oval şekilli, 1 veya 2 çekirdekçik içeren, ökromatik çekirdeğe sahip oldukları, bazı hücrelerde ise çekirdek içerisinde çekirdek kılıfıyla ilişkili nükleolar kanal sisteminin varlığı gözlemlendi. Mikrovillüslu ve pinopodlu hücrelerin sitoplazmasında yaygın olarak bulunan glikojen partikülleri sitoplazmada büyük kümeler oluşturmuşlardı. Glikojen kümeleri bazı hücrelerde bazal sitoplazmada gözlenirken, bazı hücrelerde apikal sitoplazmada yerleşik olarak gözlemlendi. Glikojen kümelerinin bulunduğu alanlara yakın yerleşimli mitokondriyonların varlığı izlendi (Şekil 34).

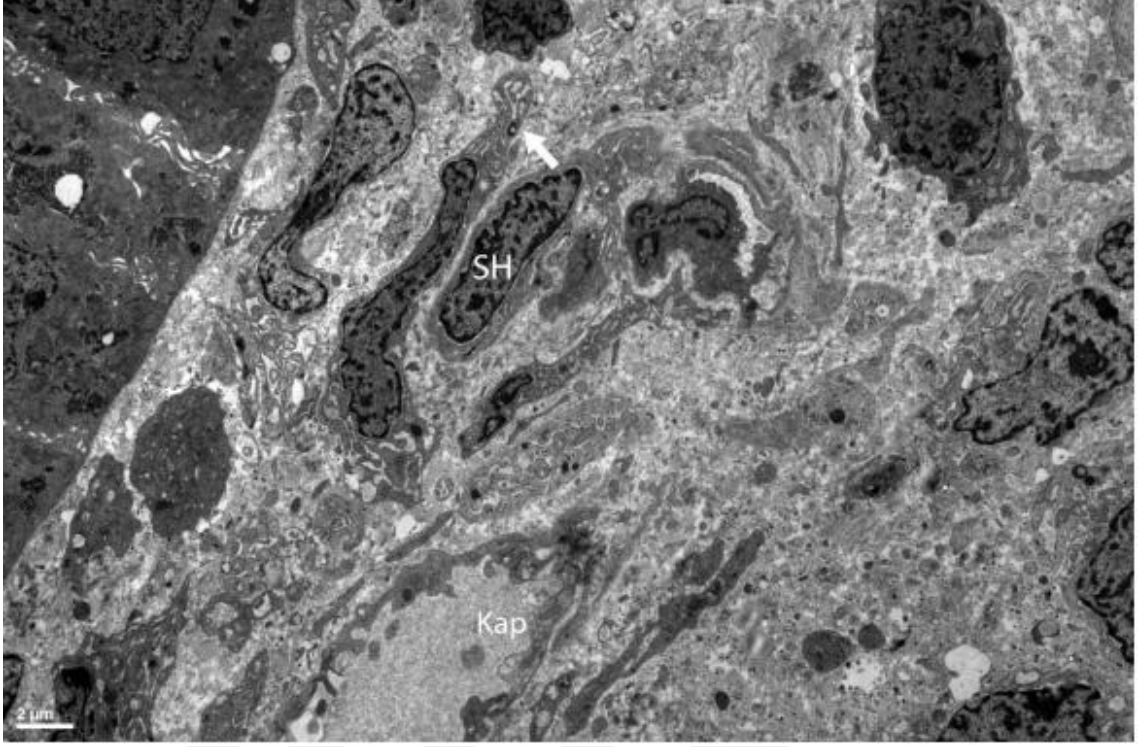
Endometrial stromanın çoğunlukla hücresel açıdan zengin, kompakt bir yapıda olduğu fakat yer yer ödematöz alanlar içerdiği dikkati çekti. Stromal hücre çekirdeklerinin periferik yerleşimli heterokromatin içerdiği ve perinükleolar sisternalarının genişlediği gözlemlendi. Stromal hücrelerin sitoplazmalarında endoplazmik retikülüm sisternalarının da genişlediği dikkati çekti (Şekil 35).



Şekil 33. T1B grubu hasarlandırma sonrası 21. gün yüzey epiteli. Tek katlı prizmatik yüzey epiteli içerisinde normal yapıda mikrovillüslü ve pinopodlu hücreler izlenmektedir. Çekirdek (Ç), pinopod (pn) ve mikrovilluslar (mv) görülmektedir. Bar=2 µm.



Şekil 34. TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün bez epiteli. Tek katlı prizmatik bez epiteli içerisinde mikrovillüslü hücreler (MvH) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), mikrovilluslar (mv) ve glikojen (gl) görülmektedir. Bar=1 µm.



Şekil 35. TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün stroma. Ödematöz stroma içerisinde stromal hücreler (SH) ve kapiller (Kap) izlenmektedir. Stromal hücrelerin sitoplazması içerisinde yer alan endoplazmik retikülüm sisternalarının genişlediği (ok) izlenmektedir. Bar=2 μ m.

4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular

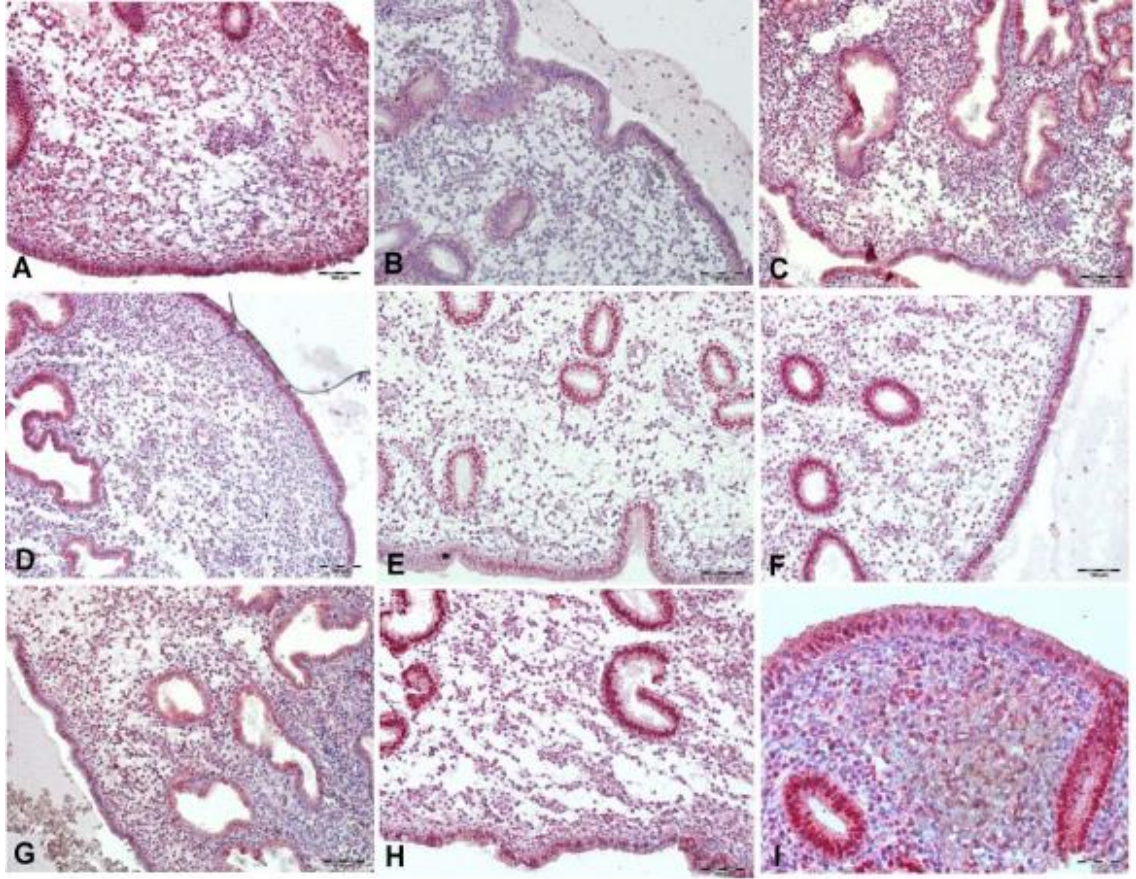
4.5.1. Östrojen Reseptörü- α İmmunoreaktivitesi

ER- α 'nın endometrial reseptivite referans grubu, tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlardan hasarlandırma öncesi ve sonrası gruplarda endometriyum yüzey epitelinde, bez epitelinde ve stromal hücrelerde eksprese olduğu görüldü.

Endometrial reseptivite referans grubundan menstrüel siklusun 20. ve 21. günlerinde alınan endometrial doku örnekleri, 19. günde alınan doku örnekleri ile karşılaştırıldığında ER- α ekspresyonunun azaldığı görüldü.

TİB olan grupta hasar yapılmadan alınan endometriyum doku örneklerinde, referans grubu ile karşılaştırıldığında 19, 20 ve 21. günlerde ER- α ekspresyonunun daha belirgin olduğu izlendi.

TİB hasarlama sonrası grubunda ise 19, 20 ve 21. günlerde ER- α ekspresyonunun TİB hasarlandırma öncesi grupla benzer özelliklerde olduğu görüldü (Şekil 36).



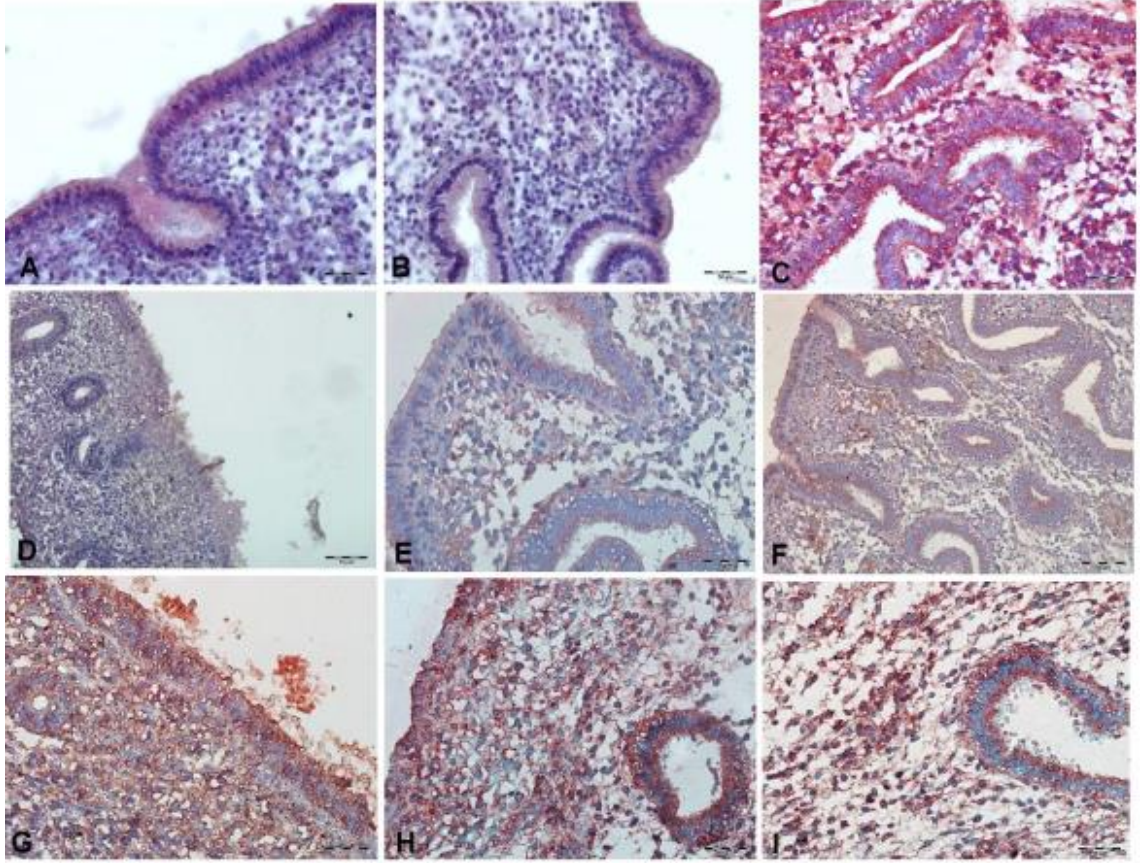
Şekil 36. ER- α immunoreaktivitesi. **A)** Endometrial reseptive referans grubu 19. gün Bar=100 μ m. **B)** Endometrial reseptive referans grubu 20. gün Bar=100 μ m. **C)** Endometrial reseptive referans grubu 21. gün Bar=100 μ m. **D)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 19. gün. Bar=100 μ m. **E)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün. Bar=50 μ m. **F)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 21. gün. Bar=100 μ m. **G)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün. Bar=100 μ m. **H)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün. Bar=100 μ m. **I)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün. Bar=50 μ m.

4.5.2. LİF İmmünoreaktivitesi

Endometrial reseptivite referans grubundan alınan endometriyum doku örneklerinde LİF ekspresyonunun yüzey epiteli, bez epiteli ve stromal hücrelerinde varlığı görüldü.

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan grupta hasarlandırma yapılmadan önce alınan doku örneklerinde, endometrial reseptivite referans grubunun aynı günleriyle karşılaştırıldığında LİF ekspresyonunun daha az olduğu izlendi.

Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan grupta hasarlandırma oluşturulduktan sonra menstrüel siklusun 19, 20 ve 21. günlerinde alınan endometrial doku örneklerinde ise LİF ekspresyonunun TİB hasar öncesi grubun aynı günleri ile kıyaslandığında ekspresyonun arttığı ve kontrol grubu ile benzer özelliklerde olduğu görüldü (Şekil 37).



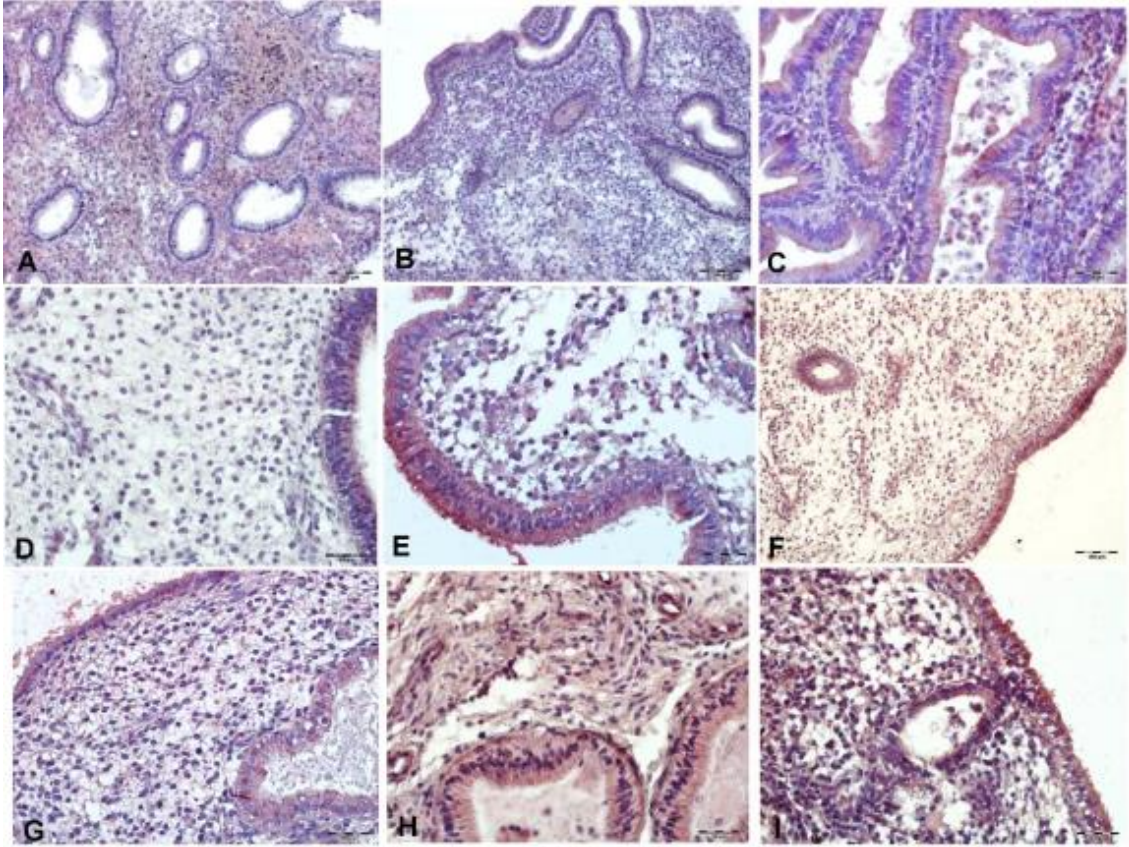
Şekil 37. LİF immunoreaktivitesi. A) Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün Bar=50 µm. B) Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün Bar=50 µm. C) Endometrial reseptivite referans grubu 21. gün Bar=50 µm. D) TİB grubu hasarlandırma öncesi 19. gün. Bar=50 µm. E) TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün. Bar=50 µm. F) TİB grubu hasarlandırma öncesi 21. gün. Bar=50 µm. G) TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün. Bar=50 µm. H) TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün. Bar=50 µm. I) TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün. Bar=50 µm.

4.5.3. $\alpha V\beta_3$ İntegrin İmmünoreaktivitesi

$\alpha V\beta_3$ integrinin endometrial reseptivite referans grubu, tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlardan hasarlandırma öncesi ve sonrası gruplarda endometriyum yüzey epitelinde, bez epitelinde ve stromal hücrelerde eksprese olduğu görüldü.

Endometrial reseptivite referans grubundan menstrüel siklusun 20 ve 21. günlerinde alınan doku örneklerinde $\alpha V\beta_3$ integrin ekspresyonunun 19. gün alınan doku örnekleriyle kıyaslandığında daha belirgin olduğu izlendi.

TİB olan grupta hasarlandırma öncesi ve sonrasında alınan endometriyum doku örneklerinde, 20 ve 21. günlerde 19. günde alınan doku örnekleri ile karşılaştırıldığında $\alpha V\beta_3$ integrin ekspresyonunun daha fazla olduğu, bununla birlikte reseptivite referans grubu, TİB hasarlandırma sonrası ve TİB hasarlandırma öncesi grupları arasında belirgin bir fark olmadığı izlendi (Şekil 38).



Şekil 38. $\alpha V\beta_3$ İntegrin immünoreaktivitesi. **A)** Endometrial reseptivite referans grubu 19. gün Bar=100 μm . **B)** Endometrial reseptivite referans grubu 20. gün Bar=100 μm . **C)** Endometrial reseptivite referans grubu 21. gün Bar=50 μm . **D)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 19. gün. Bar=50 μm . **E)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 20. gün. Bar=50 μm . **F)** TİB grubu hasarlandırma öncesi 21. gün. Bar=100 μm . **G)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 19. gün. Bar=50 μm . **H)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 20. gün. Bar=50 μm . **I)** TİB grubu hasarlandırma sonrası 21. gün. Bar=50 μm .

5. TARTIŞMA

İmplantasyon, endometrium ve embriyo arasındaki karşılıklı etkileşimin endokrin, otokrin ve parakrin faktörlerle düzenlenmesi sonucu gerçekleşmektedir. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı 40 yaşın altında en az 3 farklı IVF/ICSI-ET siklusunda en az 1 tane iyi kalitede embriyo transferine rağmen gebeliğin oluşmaması olarak tanımlanmıştır.² Ancak bu hastalığın birçok farklı tanımı bulunmaktadır. Transfer edilen embriyo sayısı, transfer edilen embriyonun dondurulmuş/taze olup olmaması, embriyo kalitesi, embriyoların hangi bölünme aşamasında olduğu gibi birçok farklı kriterin tanımlarda açıklık bulundurması sebebi tanımda karışıklık bulunmaktadır. Tanımlanan hasta grubunun farklı olmasından dolayı yapılmış olan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmektedir. Tanımlarda genellikle embriyonun “iyi kalite” olarak belirtilmesi sebebi ile TİB tanıli hastalarda uterus üzerinde araştırmalar yapılmaktadır. Tanımı üzerinde tartışmalar olmasının yanında etiyolojisinde suçlanan birçok faktör bulunmaktadır. Doğumsal rahim yapısal anomalileri, miyomlar, hidrosalpinks, endometrial polip, rahim içi yapışıklıklar gibi rahim kaynaklı etiyolojiler bilinmekle birlikte etiyolojinin net olarak belirlenemediği hasta grubunda klinisyenlerin tanı ve tedavi için ciddi bir emek vermeleri ve çoğu zaman bu emeklerine karşılık bulamadıkları bilinmektedir. Bu durum sağlık sistemi açısından harcamalara yük oluşturmaktadır. Hasta açısından çok sayıda IVF-ICSI/ET ovulasyon indüksiyonu sikluslarına katılması sadece maddi anlamda tedavi yükünü arttırmak ile kalmayıp, aynı zamanda ekzojen hormon kullanımını ve buna bağlı uzun dönem istenmeyen durumlarını da arttırmaktadır. Tekrarlayan döngüler sebebi ile çiftlerin psikolojik durumları ve birliktelikleri de çoğu zaman kötüye gitmektedir. Ciddi anksiyete bozuklukları ve depresyonu beraberinde getiren bu durum üretken çağındaki genç nüfusun toplum içerisindeki iş gücü kaybını dahi yanında getirmektedir.

Araştırmamızda menstrüel döngünün ikinci veya üçüncü günlerinde elde edilen kan numunelerinde tespit edilen bazal FSH, LH ve E2 değerleri, over rezervinin saptanması amacı ile değerlendirilmiştir. Bazal FSH değeri <10-15 mIU/mL olması klinik olarak normal değer olarak bilinmektedir.⁷⁵ Yaşın ilerlemesiyle birlikte, yumurtalıkların gonadotropik hormonlara yanıtının düşmesine bağlı olarak FSH'nın bazal değerleri yükselmektedir. Menstrüel döngünün 2. veya 3. gününde FSH düzeyinin

yüksek saptanmış olması, yumurtalık rezervinin azaldığına işarettir. Bazal LH seviyesi ≤ 10 mIU/mL olması klinik olarak normal kabul edilmektedir.⁸⁶ Ashkenazi ve arkadaşları, hem tedavi hem de doğal döngülerde yüksek endojen LH düzeylerinin, infertilite ve düşük oranlarını yükselttiğini rapor etmektedirler.¹²⁴ Aynı zamanda döngünün 3. gününde yapılan değerlendirmelerle belirlenen FSH/LH oranının over rezervinin belirlemede kullanılabileceği, azalan over rezervlerinde yükselmiş FSH/LH oranları saptanabileceği bildirilmiştir.¹²⁵ E2 seviyesinin <80 pg/mL olması klinik olarak normal değer kabul edilmektedir.⁷⁵ Ek olarak, bazal E2 değerinin de, over rezervinin işlevselliği açısından indirekt bir belirteci olabileceği varsayılmaktadır.¹²⁵ Araştırmamıza katılmayı kabul eden fertil kadınlardan oluşan endometrial reseptivite referans grubu ile karşılaştırıldığında TİB hastalarının hasarlandırma öncesinde bakılan bazal FSH, LH, E2 değerlerinde referans gruba göre düşük değerleri çalışmamızda saptamamıza rağmen anlamlı istatistiki düşüklük E2 hormonunda saptandı ($70,22 \pm 15,47$; $37,82 \pm 9,57$; $p=0$). TİB hastalarına endometrial hasarlandırma işlemi yapılmasını takip eden ilk sikluslarında bakılan bazal FSH, LH, E2 düzeylerinde ise E2 bir önceki siklusa göre artmış olmakla birlikte halen referans grubundaki kadınlara göre istatistiki olarak anlamlı düşük ve buna ek olarak FSH değeri de referans gruba göre daha düşük saptandı. Bazal FSH değeri referans grubunda $8,69 \pm 2,02$ iken hasarlandırma işlemini takip eden siklusta TİB grubunda $7,18 \pm 1,95$ olarak saptandı ve istatistiki olarak bazal FSH düzeyinin düştüğü saptandı ($p=0,027$). TİB grubundaki kadınlarda hasarlandırma işlemi sonrasında bazal E2 düzeyleri hala referans gruptaki fertil kadınlara göre anlamlı olarak düşük saptandı ($70,22 \pm 15,47$; $51,85 \pm 30,43$; $p=0,028$). Bazal E2 düzeyinin over rezervi ve işlevselliği açısından önemli olduğu bilinmesi ile birlikte çalışmamızda da fertil kadınlara göre infertil kadınların beklenildiği gibi bazal E2 düzeyleri hasarlandırma işlemi öncesinde de sonrasında da düşük saptanmıştır.

TİB tanılı hastalarda rahim içi hastalıkların tanı ve tedavisinde histeroskopi altın standarttır. Daha önce yapılan tetkiklerinde rahimsel hastalık düşündürmeyen TİB hastalarının %10 ile %50 kadarında rahim içi hastalığa rastlanılmıştır.¹²⁶ Histeroskopinin daha önce rahimsel hastalık düşünülmeyen TİB tanılı hastalarda dahi implantasyon olasılığını arttırdığına dair çalışmalar bulunmaktadır.^{126,127,128} TİB etiyolojisinde yer alan submuköz miyomlar, endometrial polipler, rahim içi yapışıklıkların histeroskopi ile tedavi edilmesinde gebelik elde etme oranlarının

yükseldiğini gösteren çalışmaların da bulunması TİB tanılı hastalarda mutlaka histeroskopi ile değerlendirme yapılmasını gerekli kılmaktadır.^{129,130,131,132,133}

Tanımlarda “iyi kalitede embriyo” olarak belirtilen ışık mikroskopisi ile yapısal özellikleri incelenerek tutunma olasılığı en yüksek olduğu düşünülen embriyonun seçilmesi, o embriyonun canlı doğuma ulaşma ihtimali en yüksek embriyo olduğu anlamına gelmeyebilir. Pehlivan ve arkadaşları(2003), genetik anormali riskini, TİB olan grupta kontrol IVF döngülerine göre, iki kat daha yüksek bulmuşlardır (%67 ve %36).¹³⁴ Buna karşılık Baart ve arkadaşlarının çalışmasında (2006), TİB tanısı dışındaki IVF/ICSI-ET olgularında da anöploidi olasılıklarını %64 olarak benzer oranda yüksek saptamışlardır.¹³⁵ TİB olgularında implantasyon öncesinde genetik incelemenin yeri tartışmalıdır. Çalışmamızda değerlendirdiğimiz TİB tanılı hastaların transfer edilmiş olan embriyolarının iyi kalite olması ve implantasyon basamağının embriyo ve endometrium aşamaları göz önüne alındığında, endometrium üzerinde fertil kadınlara göre ne gibi farklılıkların olduğunu araştırılması gerekmektedir.

Endometriumda bölgesel hasar oluşturulmasında endometrial biyopsi yönteminin kullanılmasının implantasyon başarısını artırabileceği ilk olarak Bartosch ve arkadaşlarının prospektif randomize araştırmalarıyla(2011) rapor edilmiştir.¹ Endometrial biyopsinin implantasyon başarısını hangi sebeple sağlayabildiği net olarak açıklanabilmiş değildir lakin bölgesel hasarın büyüme faktörleri ve sitokinler gibi implantasyonda rolü olan düzenleyicilerin endometriumda salgılanmasını arttırdığı düşünülmektedir. Bartosch ve arkadaşlarının çalışmasının sonrasında yapılan Potdar ve arkadaşlarının randomize çalışması (2012) ve El-Toukhy ve arkadaşlarının randomize çalışmasında (2012) ve meta-analizlerde de bölgesel hasarlanma sonrasında implantasyon oranlarında artış rapor edilmiştir.^{17,136} Dikkat çekilmesi gereken önemli bir ayrıntı olarak bu çalışmalarda endometrial hasarlanmanın IVF öncesi döngünün luteal döneminde yapılması ile implantasyon oranlarında bu artışı sağlayabilmektedir. Luteal dönemde endometriumda hasar oluşturmak için asıl amacı endometrial biyopsi olan pipel kullanılabilir. Çalışmamızda da luteal fazda pipel ile endometrial hasarlandırma yapılmıştır. Demirel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2004) sekretuar fazda gerçekleştirilen histeroskopi ile de endometrial hasarlanma yapılabileceği ve implantasyonun bu yöntemle de artabileceği öne sürülmüştür.¹²⁸ Çalışmamızda da sekretuar fazda histeroskopi işlemi gerçekleştirilmiştir. Baum ve arkadaşlarının

gerçekleştirdiği randomize kontrollü çalışmada (2012) TİB olan hastalarında endometrial hasar yapılması ile gebelik oranlarında anlamlı artış saptanamamıştır.¹³⁷ Seval ve arkadaşlarının yayınladıkları retrospektif kohort çalışmasında TİB'li hastalara sadece histeroskopi ve histeroskopi işlemine endometrial hasarlanmanın eklenmesini karşılaştırmışlar ve hasarlandırma yapılan grupta istatistiki anlamlı olarak gebelik oranlarının daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.¹³⁸ Lensen ve arkadaşlarının yakın zamanda yayınlanan randomize çalışmasında (2019) endometrium üzerinde yaratılan hasarlanmanın sağlıklı doğum ile sonuçlanan gebelik oranlarını endometrial hasarlama yapılmayan gruba göre arttırmadığı rapor edilmekle birlikte, çalışmaya alınan hastaların sadece %14 kadarı TİB tanı kriterlerini karşılamaktaydı.¹³⁹ TİB olan hastalar üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmalarda farklı sonuçlar olması sebebi ile endometrial hasarlanmanın ne gibi inflamatuvar bir cevap oluşturduğu, implantasyonda rolü olan büyüme faktörleri ve/veya sitokinlerin nasıl değişim gösterdiğini araştırmayı gerekli kılmaktadır.

Endometrial hasarlanmanın ne gibi bir histolojik, immünolojik cevap oluşturduğunu araştırabilmek amacı ile hasarlandırmayı takip eden menstrüel siklusa tekrar endometrial örnek alınması gereklidir. Tumanyan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (2019) IVF/ICSI-ET öncesindeki birbirini takip eden iki menstrüel döngünün luteal fazında endometrium pipel ile hasarlanmış, SEM (scanning elektron mikroskopisi) ile pinopod yerleşimleri, immunohistokimya ile östrojen ve progesteron reseptörleri karşılaştırmaları yapılmıştır. Sadece 11 hasta üzerinde yapılan bu çalışma literatürde ilk defa art arda iki döngüde endometrial hasarlanma yapılarak endometriumun verdiği yanıtı değerlendirmesi anlamında önemli bir çalışma olmakla birlikte hasta sayının az olması sebebi ile pinopod oluşumları ve yerleşimleri üzerinden istatistiki olarak anlamlı fark saptanamadığını rapor etmişlerdir.¹⁴⁰ Çalışmamızda da birbirini takip eden iki menstrüel döngünün endometrial reseptivite penceresi döneminde endometrial hasarlanma gerçekleştirilmiş olup alınan materyallere TEM (transmission elektron mikroskopisi) ile pinopodların yerleşiminin incelemesine ek olarak organellerin yerleşimi, epitel hücrelerinin daha detaylı değerlendirilme imkânı elde edilmiştir.

Çalışmamızda elektron mikroskopi değerlendirmelerinde TİB hastalarından ilk menstrüel döngüde alınan materyaller ile endometrial reseptivite referans grubundan

alınan endometrial örnekler TEM ile karşılaştırıldığında önemli farklılıklar göze çarpmaktadır. Yüzey ve bez epitelinde yapısal değişiklikler, epitel içerisinde lenfosit artışı, pinopodlu hücrelerin gelişim düzeyleri ve pinopod şekilleri fertil gruba göre dikkat çeken değişikliklerdi. Endometrial reseptivite referans grubundaki katılımcılardan alınan materyallerin yüzey epitelinin sadece tek katlı prizmatik epitel ile döşeli olmasına rağmen TİB grubunda tek katlı prizmatik epitele ek olarak bazı alanlarda sekretuvar evrede bulunmaması gereken geç proliferatif evrenin epiteli olan psödostrafiye tipte epitel ve çok katlı epitel alanları bulunmaktaydı. Endometrial epitelde bu farklılıkların izlenmesi, endometriumun hormonlara yanıtının yetersiz olabileceğini düşündürdü, çünkü psödostrafiye epitel sekretuvar evrede değil proliferatif evrede karşılaşılan karakteristik morfolojiye uygundur.^{141,142} TİB grubunda endometrial epitel hücreleri aralarındaki desmozom sayıları endometrial reseptivite grubuna benzer şekilde görüldü. Sarani ve arkadaşlarının yayınladıkları çalışmada endometriuma blastokistin invazyonunda da etkisi olduğunu düşündükleri desmozom sayılarının LH pikinden 6 gün sonra azalması rapor edilmiştir.¹⁴³ TİB hastalarında endometrial epitelin bazı alanlarda psödostrafiye epitel halinde olması blastokistlerin endometriuma gömülmelemlerini zorlaştırdığını düşündürmektedir. Pinopodlu hücrelerin referans gruba göre TİB grubunda daha az olduğu dikkat çekmekte idi. Her iki grupta da lümene yakın apikal sitoplazmada salgı vakuolleri bulunmasına rağmen TİB grubunda pinopod yapılarının yeterince gelişip belirginleşmediği dikkat çekmekte idi. Referans grupta iyi gelişmiş nükleolar kanal sistemleri, genişlemiş endoplazmik retikulum sisternaları, iyi gelişmiş golgi kompleksleri izlenmesi ile birlikte TİB grubunda bu bulguların yeterince gelişmediği izlendi. Epitel hücrelerinin çekirdeklerinde orta sekretuvar evrede görülen nükleolar kanal sistemi çekirdekçik ile çekirdek kılıfı içkili, tübüler membran tabakaları olarak tanımlanmaktadır.⁴⁴ Bergeron (2000), progesteron etkisi ile nüklear membranın çekirdek içerisine doğru invaginasyonu ile oluşan nükleolar kanal sisteminin sitoplazmaya çekirdek RNA'sının yolculuğunu daha hızlı gerçekleştirebileceğini bildirmiştir.¹⁴⁴ Ek olarak Salmani ve arkadaşları (2008) da nükleolar kanal sisteminin mRNA'nın daha hızlı nakledilmesi ve aktif sekretuvar faaliyet için gerekli olduğunu rapor etmiştir.³⁰ Clyman(1963), sekretuvar evre endometriumunda menstrüel döngünün 16-26 günleri arasında gelişen nükleolar kanal sisteminin gelişiminin progesteron ile kontrol edildiğini rapor etmektedir.¹⁴⁵ Zapantis ve arkadaşlarının yaptığı

çalışmada(2013) kontrollü over stimulasyonunda nükleolar kanal sisteminin zamanından önce oluştuğunu bildirirken,¹⁴⁶ Dockery ve arkadaşları ise(1996), açıklanamayan infertilite tanılı kadınlarda nükleolar kanal sisteminin oluşumunun geciktiğini bildirilmiştir.¹⁴⁷ Referans grupta elektron dens matriksleri bulunan dev mitokondriyonlar görülmesine rağmen TİB grubunda mitokondriyonların bazı alanlarda, incelik uzadığı ve etraflarında elektron lüsent alanların oluştuğu görüldü. TİB grubunda hücreler arası mesafelerin genişlediği ve intraepitelyal lenfositlerin varlığı dikkat çekmekte olan bir bulguydu. Yüzey epitellerinin incelenmesinde saptanan bu farklılıklar hasarlandırmayı takip eden siklusun aynı günlerinde alınan biyopsilerin TEM incelemesinde ise değişiklikler göstermiştir. Hasarlandırma öncesinde referans gruptan farklı olarak izlenmiş olan psödostrafiye prizmatik epitel hasarlandırma sonrasında izlenmemiştir, hasarlandırmayı takip eden siklusta alınan örneklerde TİB grubunun endometrium yüzey epiteli tek katlı prizmatik epitel şeklinde izlenmiştir. TİB grubunda hasarlandırma öncesinde epitel hücreleri arasında mesafelerin genişlemiş olması dikkat çekmekte iken hasarlandırma sonrasında apikolateral kısımda sıkı bağlantılar, bazal kısımlarda zonula adherens ve dezmozom tipi bağlantıların bulunduğu ayırt edildi. Nükleolar kanal sistemleri de hasarlandırma sonrasında TİB grubunda gelişme göstererek referans grubuna benzer görünüm kazanmakta idi. Apikal sitoplazmalarda hasarlandırma öncesinde de izlenen glikojen kümelerinin hasarlandırma sonrasında daha yoğun olarak izlenmesi ve bu partiküllere yakın mitokondriyonların devleşmesi de TİB hastalarının endometriumlarının referans grup olarak kullanılan fertil kadınlarınkine benzeten dikkat çeken bir başka bulguydu.

TİB grubunun endometrium yüzey epiteli içerisinde endometrial reseptivite grubuna göre daha fazla lenfosit infiltrasyonu dikkat çekmekte idi. Hasarlandırmayı takip eden menstrüel siklusta alınan endometrial örneklerde de intraepitelyal lenfositlerin varlığı izlendi. Bu lenfositlerin çekirdeklerinin kompakt heterokromatik sferikal şekilli olduğu ve sitoplazmalarında küçük mitokondriyonlar ve serbest ribozomlar içerdiği ayırt edildi. Morris ve arkadaşlarının yayınlarında (1985) lümen epiteli içerisinde bulunan lenfositlerin T lenfositlerden oluştuğunu buna karşın B lenfositlere lümen ve bez epitelinde rastlanmadığını rapor belirtmişlerdir.¹⁴⁸ Pace ve arkadaşlarının çalışmasında (1991) granüler ve agranüler lenfositlerin lümen epiteli içerisinde farklı zamanlarda izlendiğini, granüler olanlara proliferatif ve erken

sekretuvar evrede endometriumda az sayıda rastlandığı ancak geç sekretuvar ve erken gebelik evrelerinde sayılarının arttığını, agranüler olanların ise erken ve geç sekretuvar evrelerde çok sayıda izlendiğini bildirmişlerdir.¹⁴⁹ Peters, tuba ve serviksten aldığı dokularda yaptığı çalışmasında (1986) apikal yüzeyde basit prizmatik epitelden çok katlı epitele geçiş bölgelerinde yaygın biçimde T lenfosit infiltrasyonu olduğunu ileri sürmüştür.¹⁵⁰ Gebeliğin oluşması için gerekli implantasyon basamağında bağışıklık sisteminin yarı-allojenik olan embriyonun kabul edilmesi ve aynı zamanda endometriumun enfeksiyonlardan korunması amacı ile T hücrelerinin yardımları ile immün sistemin düzenlenmesi gerekmektedir. Lee ve arkadaşlarının çalışmalarında (2012) Th17 lenfositleri ve regülatör T lenfositlerinin karşılıklı bir çalışma ile endometriumda immün sistemde rol aldıklarını ve bu iki lenfosit grubunun arasında bozulmuş olabilecek dengenin implantasyon başarısızlıkları ile ilgili olabileceğini savunmuşlardır.¹⁵¹ Regülatör T lenfositlerin gebelik oluşumunda görev alması farelerde yapılmış olan Aluvihare ve arkadaşlarının çalışmasıyla (2004) ilk defa gösterilmiştir.¹⁵² Daha sonrasında Zhao ve arkadaşları (2007) regülatör T lenfositlerin infiltrasyonunda progesteron ve östrojen hormonlarının etkisi olmadığını rapor etmişlerdir.¹⁵³ Guerin ve arkadaşları (2009) ise regülatör T lenfositlerinin gebelik süresince artış trendinde olduğunu ifade etmişlerdir.¹⁵⁴ Ancak çalışmamızda elde edilen endometrial örneklerde izlenen intraepitelyal lenfositlerin alt tiplendirmeleri çalışılamadığı için saptanan bu bulgunun implantasyona başarısızlığı ile ilişkisini değerlendirmek mümkün olmamakla birlikte bu konuda ileri değerlendirme ve çalışma yapılması konu hakkında katkı sağlayacaktır.

TİB hastalarında ilk menstrüel döngüde pinopodlu hücreler endometrial reseptivite kontrol grubu hastalarına göre daha az miktarda izlendi ve pinopodların yapısal olarak da düzensiz, kısa ve dar halde olduğu izlendi. Bartosch ve arkadaşları (2011) endometrium epitelinde bulunan dört farklı hücre tipinin birbirlerine oranlarının, menstrüel döngü süresince hormonal düzenleme ile değiştiğini ifade ederek, proliferatif fazda yaygın olan silyalı hücrelerin sekretuvar fazda azaldığını, erken sekretuvar fazdan itibaren pinopodlu ve veziküllü hücrelere dönüşen mikrovillüslü hücrelerin sayılarının azaldığını rapor etmiştir.¹ TİB hastalarında ilk menstrüel döngüde endometriumdan alınan materyalin değerlendirmesinde mikrovillüslü hücrelerin daha fazla olduğu izlendi. Bu durum pinopodlu ve veziküllü hücrelere dönüşmesi gereken mikrovillüslü

hücrelerin dönüşemediğini düşündürdü. Çalışmamızda saptadığımız bu bulguya benzer şekilde Karaoğlu ve arkadaşlarının açıklanamayan infertilite tanılı hastaların ve fertil kadınların sekretuar evrelerinde endometrium dokularını karşılaştırdıkları çalışmasında(2021) infertil kadınların endometriumlarının yüzey ve bez epitellerinin mikrovilluslu hücrelerden zengin, pinopodlu ve veziküllü hücrelerden fakir görünümde olduğunu rapor etmişlerdir.¹⁵⁵ İmplantasyon esnasında blastokist ile lümen epiteli arasında iletişimi sağlayan pinopodlar endometrial reseptivitenin biyolojik bir belirteçidir.¹⁵⁶ Pinopodların işlevleri ile ilgili farklı açıklamalar belirten araştırmalar bulunmaktadır. İnsan endometriumunda pinopodların menstrüel döngünün 20-21. günlerinde oluşarak 24-48 saatliğine varlıklarını devam ettirdiğini belirten çalışmadan,⁵⁰ farklı olarak LH pikinden sonra yakın zamanda oluşarak luteal evre süresince oluşumunu devam ettirdiklerini bildiren çalışma da yayınlanmıştır.¹⁵⁷ Novotny ve arkadaşlarının yayınladıkları çalışmada (1999) erken ve orta sekretuar evrelerde endometriumun lümen epitelinde pinopodların izlendiklerini bildirmişlerdir.¹⁵⁸ Quinn ve arkadaşları ise adet döngüsünün luteal fazı boyunca ve hatta hamileliğin 11. haftasına kadar pinopodların mevcut olduğunu göstermişlerdir.¹⁵⁹ Elektron mikroskopisi ile izlenen pinopodların özellikleri ile ilgili yapılmış çalışmalarda da birbiri ile çelişen ifadeler bulunmaktadır. Pinopodların organel bulundurmayan, mikrovillusu olmayan lümene uzanan sitoplazmik çıkıntılar olarak tanımlayan çalışmadan¹ farklı olarak bazıları membranöz organeller bulunduran ve mikrovillusu olan hücreler olarak tanımlayan çalışma da bulunmaktadır.¹⁶⁰ Yayınlanan bu iki çalışmadan farklı olarak pinopodun ilk oluşumunda mikrovillüsler bulundurduğunu, gelişimi sonrasında mikrovillüsleri kaybettiğini, yok olma döneminde ise tekrardan mikrovillüsler oluşturduğunu belirterek luteal dönem süresince farklılık gösterdiğini rapor eden çalışmada bulunmaktadır.¹⁵⁷ Çalışmamızda pinopodlu hücreler apikal yüzeylerinde mikrovillüs bulundurup apikal sitoplazmalarında mitokondriyon ve lizozomal oluşumlar gibi organellere sahiptirler. Nikas ve Markrigiannakis yayınladıkları (2003) çalışmada, fertil kadınların implantasyon penceresi sırasında endometrial epitel üzerindeki pinopodların kapsama alanının %50'den fazla olduğunu; endometrial yüzeyde daha düşük pinopod kaplaması olan özellikle kaplaması <%10 olan kadınların genellikle tekrarlayan implantasyon başarısızlıkları yaşadıklarını rapor etmişlerdir.²⁹ Çalışmamızda da benzer şekilde TİB ve endometrial reseptivite referans grubundaki

kadınlardan alınan eş günlerdeki endometriumların pinopodlu hücreleri yapısal açıdan karşılaştırmalı değerlendirildiğinde TİB grubunda daha dar hacimli ve kısa bulundukları ve hücrenin lümene bakan tüm bölümünü örtemedikleri dikkat çekmekteydi. Xu ve arkadaşları, LH piki sonrasında 7. ve 8. günlerde fertil kadınlar ile tekrarlayan gebelik kayıpları olan kadınlarda pinopod morfolojilerini karşılaştırdıklarında (2012) pinopodların yapıları ve kapladıkları alan açısından önemli fark bulamadıklarını bildirmektedirler.¹⁵⁶ Novotný ve arkadaşları ise, pinopodların miktarının ve bulundukları alanın farklı ovaryan uyarım protokolleri uygulanan kadınlarda ve tedavi görmeyen fertil kadınlar arasında farklılık bulundurduğunu ve bu farklılığın plazma steroid seviyeleri arasında bulunan farklılıktan oluşabileceğini bildirmişlerdir.¹⁵⁸ Progesteron hormonu bağımlı olan pinopod gelişiminin¹⁵⁶ yüksek doz östrojen varlığında biçimlenmesi olumsuz etkilenir.¹⁶¹ Bu durum dikkate alınırsa, TİB grubunda izlediğimiz pinopodlu hücrelerin daha az bulunması ve pinopodun yapısal değişiklikleri büyük bir ihtimal dâhilinde hormonların düzensizliği veya bu hücrelerin hormonlara yanıtsızlığı ile oluşmuş olabilir bu durum da TİB sebeplerinden birisini teşkil edebilir. Hasarlandırmayı takip eden menstrüel siklusta alınan endometrial örneklerde hasarlandırma öncesine göre pinopodların gelişiminin daha belirgin olduğu ve endometrial reseptivite referans grubuna benzer izlendiği dikkat çekti.

Çalışmamızda endometrial reseptivite referans grubundan elde edilen endometrial örnekler ile TİB grubundaki hastaların ilk hasarlandırmanın yapılması sırasında alınan endometrial örneklerin TEM ile karşılaştırmasında bez epitelleri arasında da farklılıklar saptanmıştır. TİB grubunda bez epitelinde referans grupta izlenen tek katlı prizmatik epitele ek olarak bazı alanlarda psödostrafiyel prizmatik epitel izlendi. Referans grupta da TİB grubunda da bezi döşeyen epitelin çoğunluğu mikrovillustan yaygın hücrelerden oluşmasına rağmen Pinopodlu hücreleri değerlendirildiğinde pinopodlu hücrelerin TİB grubunda referans gruba göre zayıf ve düzensiz olması dikkat çekmekteydi. TİB grubunda bez epitelinde hücrelerarası mesafenin bazı yerlerde genişlemiş olduğu, bu bulgunun referans grubundaki kadınlarda saptanmaması dikkat çekmekte olan bir bulguydu. Mikrovillüslü hücrelerin aralarında sitoplazmaları içerisindeki veziküller ile ayırt edilen veziküler hücreler referans grupta TİB grubuna göre daha belirgin izlenmekteydi. TİB grubunda hasarlandırmayı takip eden siklusta alınan endometrial örneklerde bez epitelinde mikrovillüslü ve Pinopodlu

hücrelerin sitoplazmalarında glikojen partiküllerinin daha büyük ve belirgin olarak izlenmesi hasarlandırmanın oluşturduğu yanıtı gösteren bir bulguydu. TİB grubunda hasarlandırma sonrasında psödostrafiye prizmatik epitelin izlenmemesi de bir başka yanıt gösteren bulgu olarak karşımıza çıkmaktaydı. Yine hasarlandırma sonrasında veziküllü hücrelerin daha belirgin göze çarptığı ve apikal yüzlerinde değişik büyüklüklerde sekretuvar veziküllerin bulunması hasarlanma öncesine göre fonksiyonelliğin arttığını gösteren başka bir bulgu olarak değerlendirildi.

TİB hastalarının ilk menstrüel döngülerinde alınan materyallerinde incelenen endometrial bezlerin ışık mikroskopik incelemesinde endometrial reseptivite referans grubunun eş zamanlı örneklerine göre daha seyrek ve daha az kıvrıntılı olduğu izlendi. Sekretuvar evrenin karakteristik özelliklerinden biri olan kıvrıntılı endometrial bezler, ovulasyondan sonrası oluşan korpus luteumdan üretilen progesteron sayesinde bu şekile dönüşmektedir. Bezlerin ileri derecede kıvrıntılı olarak izlendiği ve glikoprotein ve glikojenden zengin mukoid vasıfta salgı yaptığı bilinmektedir.²³ Li ve arkadaşlarının çalışmasında(2001) açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda, serumdaki normal progesteron seviyelerine rağmen, endometrial bezlerin sekretuvar aktivitelerinin düştüğünü bildirmişlerdir.¹⁶² Çalışmamızda bunlara ek olarak TİB hastalarından ilk döngülerinde ovulasyondan beş gün sonrasında endometrial bezlere ait elektron mikroskopi incelemelerinde yer yer bez epitel hücreleri arasında mitotik belirteçler izlenmekteydi. Bergeron, ovulasyondan sonra başlayan sekretuvar evrenin, menstrüel döngülerde olağan durumlarda 14- 28. günler arasında olduğunu, dokudaki ilk farklılaşmanın bezlerin progesteron hormonu etkisi ile gelişmesi olduğunu, mitozun ve dolayısı ile nükleik asit sentezlerinin azalarak daha sonra durduğunu bildirmiştir.¹⁴⁴ Dolayısı ile TİB hastalarında bez epitel hücreleri arasında mitotik belirteçlerin izlenmiş olması ve bu durumun proliferatif evre ile uyumlu bir bulgu olması sebepleriyle hücrelerin progesteron hormonuna yanıtında bir sorun olduğu fikri oluşmaktadır. Endometrial hasarlandırmayı takip eden siklusun aynı günlerinde alınan endometrial örneklerin ışık mikroskobisi ile incelenmelerinde ise TİB grubunun endometrial bezlerinin çok sayıda kıvrıntılı yapıda lümenleri genişlemiş prizmatik epitel ile döşeli halde izlenmeleri ile hasarlandırmaya bir yanıt olabileceğini düşündürmektedir.

Endometrial reseptivite referans grubu ve TİB tanılı kadınların ilk döngülerinde endometrial stroma farklılıkları TEM ile değerlendirildiğinde, ikisi arasında önemli

yapısal farklılık saptanamadığı, stromada predesidual hücrelerin belirginleştiği, kollajen liflerinin azaldığı, hücre dışı sıvının ödematöz hal aldığı, makrofajların ve lökositlerin aynı şekilde bulunmaya devam ettiği izlendi. Nitekim Li ve arkadaşları, yayınladıkları araştırmalarında(2001) açıklanamayan infertilite tanılı hastaların endometrial stromasında fertil kadınlara göre farklılık saptanmadığını belirtmişlerdir.¹⁶² TİB grubunda hasarlandırmayı takip eden menstrüel döngüde alınan endometrial örneklerde de hasarlandırma öncesinde saptanan bulgulara benzer bulgular saptanmış olup çalışmamızda farklılık bulgumuz olmamıştır. Ancak ışık mikroskopik incelemelerde TİB grubunda hasarlandırma öncesi ve sonrası kıyaslandığında stromanın yüzey ve bez epiteline yakın alanlarında inflamatuvar hücre infiltrasyonu gösterdiği saptandı.

Ayrıca çalışmamızda immunohistokimyasal yöntemlerle endometrial reseptivite belirteçleri olarak kabul gören LIF, İntegrin $\alpha\beta3$, Östrojen alpha reseptörleride değerlendirildi.

Östrojen proliferatif fazda endometriumun gelişimi için önemli bir hormon olmasına rağmen normal gelişmiş bir sekretuvar evre endometriumunda işlevselliği azalmıştır.¹⁶³ Lessey ve arkadaşları tarafından yayınlanan çalışmada (2006) östrojen alpha reseptörünün proliferatif evrede sekretuvar evreye göre daha fazla izlendiği, orta sekretuvar evrede azalmış olarak izlendiği; integrin $\alpha\beta3$ ekspresyonları düşük olan kadınlarda fertil kadınlara göre östrojen alpha reseptörlerinin daha fazla izlendiği rapor edilmiştir.¹⁶⁴ Tumanyan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (2019) TİB hastalarında endometriumun bez epiteli hücrelerinde östrojen reseptörünün kontrol grubuna göre daha fazla eksprese olduğunu ancak endometrial hasarlanma sonrasında öncesine göre azalma göstermesine rağmen halen kontrol grubuna göre fazla izlendiğini rapor etmişlerdir.¹⁴⁰ Çalışmamızda da önceki çalışmaların sonucuna benzer şekilde TİB hastalarında implantasyon penceresi döneminde fertil kadınlara göre östrojen alpha reseptör düzeyleri daha belirgin izlenmiştir. Bununla birlikte Tumanyan ve ark. çalışmasından farklı olarak hasarlandırmaya verilen yanıtın değerlendirilmesinde östrojen reseptörlerinin belirgin bir azalma göstermediği sonucuna varılmıştır. Lessey ve arkadaşlarının yayınladıkları bir başka çalışmada (1994) infertil kadınlarda östrojen reseptörü-alfanın ekspresyonunda azalma olmasında herhangi bir başarısızlık, endometrial reseptivite ile ilişkili temel proteinlerin ekspresyonunda başarısızlık da dâhil olmak üzere, değişmiş gen ifadelerine yatkınlık oluşturabileceği ifade

edilmiştir.¹⁶⁵ Çalışmamızda referans grup olarak kullandığımız fertil kadınların 21. ve 20. Günlerinde alınan endometrial biyopsilerinin 19. günlerine göre daha az miktarda östrojen alpha reseptörü saptanması ve infertil kadınlarda sekretuvar evreye geçilmesine rağmen östrojen alpha reseptör düzeylerin yüksek saptanması, implantasyon başarısızlığına muhtemel sebep olabilecek steroid hormon yanıtına bağlı ‘temel proteinlerin ekspresyonlarında’ farklılığı desteklemektedir.

Plasentada trofoblast fonksiyonunu ve damar oluşumunu düzenleyen LIF ve reseptörünün (LIFR) endometriumdaki ekspresyonu, implantasyon penceresi sırasında en yüksek seviyelere ulaşır.⁶⁸ Chen ve arkadaşlarının çalışmasında (1995) insan endometriumun doğal döngüsünde orta-sekretuvar dönemin bez epitel hücrelerinde döngünün diğer evrelere göre önemli miktarda daha fazla LIF salgılanmakta olduğu belirtilmiştir.¹⁶⁶ Xu ve arkadaşlarının yayınladıkları çalışmada (2012) tekrarlayan gebelik kayıplı kadınların endometriumunu ve fertil grubu karşılaştırırken LIF ve integrin-b3 ekspresyon seviyelerinde bir fark gözlemlemediklerini rapor etmişlerdir.¹⁵⁶ Hambartsoumian, TİB’li kadınların adet döngüsünün sekretuvar fazında, proliferatif faza göre LIF’in azaldığını saptamıştır; buna karşılık, fertil grupta adet döngüsünün iki fazı arasında LIF seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını rapor etmiştir.⁶⁷ Çalışmamızda Hambartsoumian’ın çalışmasına benzer şekilde Referans gruba göre TİB’li hastaların hasarlandırma öncesi alınan endometrium örneklerinde LIF immunohistokimya reaktivitesinin daha az olduğu saptanmıştır. Xu ve ark. çalışmasında ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir fark saptanamamış olması muhtemel hasta grubunun farklı olması kaynaklı olabilir; çalışmalarında implantasyonun gerçekleştiği ancak gebelik kaybı yaşayan hastaları seçmelerine karşılık çalışmamızda tekrarlayan implantasyon başarısızlığı hastaları değerlendirilmiştir. İnsan IVF siklusunu taklit eden fare modeli ile yapılan Ruan ve arkadaşlarının çalışmasında implantasyon pencereleri döneminde LIF ekspresyonu tedavi görmeyen fareler göre önemli ölçüde farklı izlendi.¹⁶⁷ Çalışmamızda da fertil kadınlara göre TİB grubunda hasarlandırma öncesinde az saptanmış olan LIF, hasarlandırma sonrasında referans grup olarak kullanılan fertil kadınlarınkine benzer düzeyde artış göstermiştir. Literatürde daha önce TİB’li kadınların endometrial hasarlandırma sonrasında LIF ekspresyonlarda değişiklik olup olmadığına dair bir çalışma bulunmamakla birlikte çalışmamızda değerlendirilen kadınların endometriumunda LIF düzeylerinin fertil kadınlarınkine benzer düzeylere

yakınlaşması önemli bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Chen ve arkadaşlarının kontrollü ovaryan stimülasyon yapılan hastaların ve kontrol gruplarının implantasyon penceresi döneminde endometriumlarında LIF ve İntegrin $\beta 3$ ekspresyonlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında (2008) östradiol serum seviyeleri yüksek olan kontrollü ovaryan stimülasyon yapılan gruptaki kadınların endometriumlarında LIF ve İntegrin $\beta 3$ ekspresyonlarının dramatik şekilde daha düşük olduğu rapor edilmiştir.¹⁶⁸ Çalışmamızda TİB grubunda LIF seviyesinin az olarak saptanmış olması yine TİB grubunda östrojen reseptörü alpha'nın yüksek olduğunun bulunması ve muhtemel östradiol hormonunun artmış yanıtına bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Yüksek seviyelerde integrin- $\beta 3$ ekspresyonu, erken implantasyon-pencere fazı¹⁶⁵ sırasında endometrial reseptivite için karakteristik bir biyobelirteç sağlayan yumurtlama sonrası 7 ila 8. günlerde pinopodların görünümü ile ilişkilidir.¹⁶⁹ Lessey ve ark. (1995) integrin- $\beta 3$ eksikliğinin açıklanamayan infertilite ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir.¹⁷⁰ Cullinan ve arkadaşları çalışmalarında (1996) İntegrin- $\beta 3$, implantasyon penceresi döneminde endometrial reseptivitenin karakteristik bir biyobelirteci olduğunu belirtmişlerdir.⁶⁸ Bourgain ve Devroey'nin (2003) raporlarına göre integrin $\alpha v\beta 3$ ün ekspresyonu, endometrial maturasyon ile iyi koreledir.¹⁷¹ Çalışmamızda da tüm gruplarda 21. ve 20.günlerde 19.güne göre integrin $\alpha v\beta 3$ 'ün ekspresyonlarında artış saptanmıştır, bu bulgu endometriumun maturasyonun artmasının integrin ekspresyonu ile korelasyonunu desteklemektedir. Meyer ve arkadaşlarının yayınladıkları (1999) çalışmada ve Thomas ve arkadaşlarının yayınladıkları (2002) çalışmada endometrial bezlerin daha iyi gelişmiş olduğu endometrium dokularında integrin ekspresyonunun daha yüksek saptadıklarını rapor etmişlerdir.^{172,173} Çalışmamızda tüm gruplarda 21. ve 20.günlerde 19.güne göre bezlerin kıvrımlarının artmış olması ile integrin düzeylerinin daha yüksek saptanmış olması korelasyon göstermektedir. Lessey ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka çalışmada (1998) menstrüel siklus süresince değişen integrin ekspresyonuna bağlı olarak endometrium yüzey ve bez epitelinin etkilendiğini ifade etmişler; embriyo implantasyonunun gerçekleştiği zaman aralığında integrin $\alpha v\beta 3$ hem yüzey hem bez epitelinde görüldüğü ve bu integrinin ekspresyonunda anormallığın infertilite ile ilişkili olacağını rapor etmişlerdir.¹⁷⁴ Buna karşılık çalışmamızda fertil kadınlardan oluşan referans grubu ve TİB'li kadınların endometriumların karşılaştırılmasında integrin $\alpha v\beta 3$ 'ün ekspresyonlarında anlamlı bir farklılık

izlenmemiştir. Cheresch ve arkadaşlarının yayınladıkları (1994) makalede, integrin $\alpha\text{v}\beta 3$ 'ün anjiyogenez için kritik önemi olduğu ifade edilmekle birlikte implantasyon sırasında bu integrinin azalmış olması implantasyon bölgesinde yeni damar oluşumunu sekteye uğratabileceğinden embriyo sağkalımını azaltabileceğini rapor etmişlerdir.¹⁷⁵ Çalışmamızda da integrin $\alpha\text{v}\beta 3$ 'ün 21.günde 19.güne göre daha fazla eksprese olması ile birlikte endometrial stromalarda da kapiller damarlanmada artış dikkat çekmektedir. Daha önce literatürde endometrial hasarlandırma sonrasında integrin $\alpha\text{v}\beta 3$ 'ün ekspresyonunda bir değişiklik olup olmadığı üzerine bir çalışma olmamakla birlikte, Çalışmamızda endometrial hasarlandırma sonrasında aynı kadınlardan siklusun aynı günlerinde alınan biyopsilerin incelenmesinde anlamlı bir ekspresyon farkı saptanmamıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan hastaların bazal hormon değerleri referans grubundaki kadınlara kıyaslandığında hasarlandırma öncesinde de sonrasında da E2 düzeyleri düşük saptanmıştır; FSH düzeyi ise hasarlandırma öncesinde referans gruba göre anlamlı farklılık saptanmamışken hasarlandırma sonrasında düşük saptanmıştır.
2. TİB grubunda tek katlı prizmatik epitele ek olarak bazı alanlarda sekretuvar evrede bulunmaması gereken, geç proliferatif evrenin epiteli olan psödostrafiye tipte epitel izlendi; Fertil referans grubunda görülmeyen bu durum endometriumun steroid hormonlara olan yanıtında bir azalmaya bağlı olabileceğini ve ovaryan siklusun endometriyum üzerinde eşzamanlı olarak ilerleyemediğini düşündürmektedir. Ancak hasarlandırma yapılmasını takip eden menstrüel döngüde psödostrafiye epitel izlenmemiş ve referans grupta izlendiği gibi tek katlı prizmatik epitel görülmüştür.
3. TİB tanılı hastaların endometriumlarının yüzey epitelinde mikrovillustan zengin hücrelerin yaygın olduğu; pinopodlu ve veziküllü hücrelerin daha seyrek görüldüğü, hasarlandırma sonrası elde edilen endometrial doku örneklerinde ise pinopodlu hücrelerin ve veziküllü hücrelerin sayısının arttığı izlendi.
4. Hasarlandırma öncesinde pinopodlu hücrelerin referans grubuna göre TİB grubunda daha az olduğu dikkat çekmekte ve TİB grubunda pinopod yapılarının yeterince gelişip belirginleşmemiştir. Ayrıca TİB'li hastaların endometriumlarında mRNA'nın daha hızlı nakledilmesi ve aktif sekretuvar faaliyet için gerekli olan orta sekretuvar evrede gerekli olan nükleolar kanal sistemleri yeterince gelişmemiştir. Hasarlandırmayı takip eden siklusta ise Pinopodların iyi gelişmiş olması ve post ovulatuvar üçlü olarak adlandırılan Nükleolar kanal sistemleri, dev mitokondriyonlar ve glikojen partiküllerinin referans grubuna benzer şekilde geliştiği izlendi.
5. TİB grubunda hasarlandırma öncesi ve sonrası endometriyum örneklerinde sıklıkla izlenen intraepitelyal lenfositlerin alt tiplendirilmeleri çalışmamızda yapılamamıştır. Bu sebepten implantasyona katkısı ya da engeli hakkında yorum

yapmanın mümkün olmadığı ancak bu konuda ileri inceleme ve ek çalışmaların yapılmasının bu konuya ışık tutacağı düşünülmektedir.

6. Endometrial bez epitelinde TİB grubunda hasarlandırma sonrasında vezikülü hücre ve pinopodlu hücreler epiteli oluşturan esas hücreler olarak karşımıza çıkması hasarlandırma öncesindeki bez epiteline göre önemli bir farklılık olarak saptanmıştır. Aynı zamanda hasarlandırma sonrasında siklusun aynı günlerinde endometrial bezlerin daha kıvrıntılı ve daha sık miktarda karşımıza çıkması önemli bir bulgudur.
7. TİB grubundan hasarlandırma öncesinde alınan endometrial örneklerde LIF immunohistokimyasal reaktivitesinin daha az olduğu, hasarlandırma sonrasında ise referans grup olarak kullanılan fertil kadınlardan alınan endometrial örneklerdekine benzer düzeyde artış olduğu görülmüştür.
8. Çalışmamızda tüm gruplarda integrin $\alpha\beta 3$ 'ün 20 ve 21.günlerde 19.güne kıyasla ekspresyonunda artış gösterdiği saptanmıştır. Fakat referans grupta, TİB hasarlandırma öncesi ve sonrası grupları arasında belirgin bir farklılık izlenmemiştir. Hasarlandırma sonrası grubunda endotel hücreleri çevresinde ekspresyonda belirgin bir artış dikkat çekmektedir.
9. Çalışmamızda TİB hastalarında implantasyon penceresi döneminde fertil kadınlara göre östrojen alpha reseptör düzeyleri daha belirgin izlenmiştir. Bununla birlikte hasarlandırmaya verilen yanıtın değerlendirilmesinde östrojen reseptörlerinin hasarlandırma öncesine göre belirgin bir azalma göstermediği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. **Bartosch C, Lopes J.M., Beires J. and Sousa M.** Human endometrium ultrastructure during the implantation window: A new perspective of the epithelium cell types. *Reproductive Sciences*, **2011**; 18(6):525-539.
2. **Coughlan, C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demirel A, Gurgan T, Cutting R, Ong K, Sallam H, Li TC.** Recurrent implantation failure: definition and management. *Reprod Biomed Online*, **2014**. 28(1): p. 14-38.
3. **Lindhard A, Bentin-Ley U, Ravn V, Islin H, Hviid T, Rex S, Bangsboll S, Sorensen S.** Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. *Fertil Steril* **2002**;78(2):221-33.
4. **Aghbajanova L, Hamilton AE, Giudice LC.** Uterine receptivity to human embryonic implantation: histology, biomarkers and transcriptomics. *Semincell Dev. Biol.*,**2008**;19:204-211.
5. **Noyes RW, Hertig AT, Rock J.** Dating the endometrial biopsy. *Am J Obsstet Gynecol* **1975**;122(2):262-3.
6. **Makrigiannakis A, Minas V.** Mechanisms of implantation. *Reprod Biomed Online* **2007**;14:102-9.
7. **Rashid NA, Lalitkumar S,Lalitkumar PG, Gemzell-Danielson K.** Endometrial Receptivity and Human Embryo İmplantation. *Am J Reprod İmmology*, **2011**; 66(1):23-30.
8. **Guidice LC.** Potencial biochemical markers of uterine receptivty. *Human Reprod.* **1999**; 14 (2):3-16.,
9. **Martel D, Malet C, Gautray JP, Psychoyos A.** Surface changes of the luminal uterine epithelium during the human menstuel cycle: a scanşng electron microscopy study. In:de Brux J, Mortel R, Gautray JP (eds). The endometrium: hormonal impacts. *NY USA:Plenum Pres.* **1981**:15-22
10. **Develioglu OH, Hsiu JG, Nikas G, Toner JP, Oehringer S, Jones Jr HW.** Endometrial estrogen and progesterone receptor and pinopode expression in stimulated cycles of oocyte donors. *Fertil Steril.* **1999**;71:1040-1047
11. **Anneli SE, Nikas G, Sahlin L, Eriksson H, Landgren BM.** Formation of pinopodes in human endometirum is associated with rhe concentrations of progesterone and progesterone receptors. *Fertil Steril* **2001**;76:782-791.
12. **Nikas G, Develioglu OH, Toner JP, Jones Jr HW.** Endometrial Pinopodes andicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Hum Reprod.* **1999**;14:787-792.
13. **Mikolajczyk M, Wirstlein P, Skrzypczak J.** The impact of leukemia inhibitory factor in uterine flushing on the reproductive potential of infertile women — a prospective study. *Am J Reprod Immunol.* **2007**;58:65-74
14. **Laird SM, Tuckerman EM, Li TC.** Cytokine expression in the endometrium of women with implantation failure and recurrent miscarriage. *Reprod Biomed Online.* **2006**;13:13-23.
15. **Steck T, Giess R, Suetterlin MW, Bolland M, Wiest S, Poehls UG, Dietl J.** Leukaemia inhibitory factor (LIF) gene mutations in women with unexplained infertility and recurrent failure of implantation after IVF and embryo transfer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **2004**;112:69-73.

16. **Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Nikas Y, Hovatta O, Landgren BM.** Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium. *Fertil Steril.* **2003**;79(Suppl 1):808–814.
17. **Potdar N, Gelbaya T, Nardo LG.** Endometrial injury to overcome recurrent embryo implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* **2012** Dec;25(6):561-71.
18. **Nastri CO, Gibreel A, Raine-Fenning N, Maheshwari A, Ferriani RA, Bhattacharya S, Martins WP:** Endometrial injury in women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Database Syst Rev* **2012**; 7:CD009517.
19. **Siristatidis C, Vrachnis N, Vogiatzi P, Chrelias C, Retamar AQ, Bettocchi S, et al.** Potential pathophysiological mechanisms of the beneficial role of endometrial injury in in vitro fertilization outcome. *Reprod Sci.* **2014**;21(8):955–65.
20. **Gnainsky Y, Granot I, Aldo PB, Barash A, Or Y, Mor G, et al.** Biopsy-induced inflammatory conditions improve endometrial receptivity: the mechanism of action. *Reproduction.* **2014**;149(1):75–85.
21. **Gnainsky Y, Granot I, Aldo PB, Barash A, Or Y, Schechtman E, et al.** Local injury of the endometrium induces an inflammatory response that promotes successful implantation. *Fertil Steril.* **2010**; 94:2030 6.
22. **Günther, V., von Otte, S., Maass, N., & Alkatout, I.** Endometrial “Scratching” An update and overview of current research. *J Turk Ger Gynecol Assoc* **2020**; 21: 124-9 (2020).
23. **Roos MH, Kaye GI, Pawlina W.** *Female Reproductive System. Histology A Text And Atlas With Cell And Molecular Biology*, 40.Ed.,Baltimore: Williams&Wilkins, **2003**;743-63.
24. **Netter FH.** Atlas of Human Anatomy, Icon Learning Systems. **2002**; ISBN : 1929007116
25. **Dere F.** *Anatomi atlası ve ders kitabı*, Adana. Nobel kitabevi, **2010**; ISBN: 9786053970767
26. **Murphy CR.** The plasma membrane of uterine epithelial cells: structure and histochemistry, *Prog Histochem Cytochem.* **1993**;27(3):1-66.
27. **Murphy CR, Shaw TJ.** Plasma membrane transformation: a common response of uterine epithelial cells during the peri-implantation period. *Cell Biol Int.* **1994**; 18:1115-1128.
28. **Jimenez-Ayala M. Jimenez-Ayala B.** *EndometrialAdenocarcinoma. Prevention and Early Diagnosis.* Spain: Karger, **2008**: Cytology of normal endometrium- cycling and postmenopausal.
29. **Nikas G, Makrigiannakis A.** Endometrial pinopodes and uterine receptivity, *Ann N Y Acad Sci.* **2003** ;997:120-3.
30. **Kabir-Salmani M, Hosseini A, Rezazadeh-Valojerdi M.** Endometrial receptivity to Implantation in Humans: Biochemical and molecular aspects. *Yahkhteh Med J.* **2008**; 10: 1-24.
31. **Kittur N, Zapantis G, Aubuchon M, Santoro N, Bazett-Jones DP, Meier UT.** The nucleolar channel system of human endometrium is related to endoplasmic reticulum and R-rings, *Mol. Biol. Cell.* **2007**; 18(6):2296-304
32. **Buchwalow IB, Belyaeva LA, Zavalishina LE.** Localization of nucleoside phosphatases (ATPase and 5'-nucleotidase) and nuclear ribonucleoproteins in the human endometrial glandular cells during the secretory phase. *Acta Histochem.* **1985**; 77: 205-208.
33. **Zmeng W, Shaoxia C.** Ultrastructure of glandular epithelium of normal human endometrium. *Journal of Jinan University.* **1991**;2

34. **Aplin J.D.** The cell biological basis of human implantation. Bailliere's Best Practice Research. *Clinical obstetrics and gynaecology* **2000**;14, 757-764.
35. **Li T.C., Warren A., Hill C.J and Saravelos H.** Morphology of the human endometrium in the periimplantation period. *Annals New York Academy of Science*, **1994**; 734:169–184.
36. **Kierszenbaum AL.** *Histoloji ve hücre biyolojisi Patolojiye Giriş*. Palme Yayıncılık. **2007**.82
37. **Gartner LP.** *Gartner Color Textbook of Histology*. Second Edition. WB Saunders Company, **2001**
38. **Öktem Ö. Urman B.** Reprodüktif yaşam siklusu: Folikülogenez ve Menstruasyon. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi*, **2012**; 1 (9): 1-24.
39. **Murphy CR.** The plasma membrane transformation of uterine epithelial cells during pregnancy. *J Reprod Fertil.* **2000**; 55: 23-28.
40. **Finn CA, Martin L.,** The control of implantation, *JReprod.Fertil.* **1974**; 39(1):195-206.
41. **Paria BC, Reese J, Das SK, Dey SK.** Deciphering the cross-talk of implantation: advances and challenges. *Science.* **2002**; 296: 2185-2188.
42. **Aplin JD.** Embryo implantation: the molecular mechanism remains elusive. *Reprod Biomed Online.* **2006**; 13: 833-839.
43. **Dockery P, Li TC, Rogers AW, Cooke ID, Lenton EA.** The ultrastructure of the glandular epithelium in the timed endometrial biopsy. *Hum Reprod.* **1988**; 3: 826-834
44. **Spornitz UM.** The functional morphology of the human endometrium and decidua. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* **1992**;124:1-99.
45. **Dockery P, Pritchard K, Taylor A, Li TC, Warren MA, Cooke ID.** The fine structure of the human endometrial glandular epithelium in cases of unexplained infertility: a morphometric study. *Hum Reprod.* **1993**; 8: 667-673.
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.* **1980**;130:673-682
47. **Moore KL, Persaud TVN.** *İnsan gelişiminin başlangıcı, Gametogenesis, Fertilizasyon.* 6. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2002**: Klinik yönleri ile insan embriyolojisi
48. **Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, Wolff M.** The human endometrium as a fertility determining factor. *Hum. Reprod. Update,* **2006**;12: 617-630
49. **Matsui N, Kawano Y, Nakamura S, Miyakawa I.** Changes in vascular endothelial growth factor production associated with desidualization by human endometrial stromal cells in vitro. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* **2004**; 83:138-143.
50. **Cavagna M, Mantese JC.** Biomarkers of endometrial receptivity--a review. *Placenta* **2003**. 24(B):39-47
51. **Kimber SJ.** Molecular Interactions at the Maternal- Embryonic Interface During the Early Phase of Implantation. *Sem Reproductive Med,* **2000**; 18 (3):237-253.
52. **Stavreus-Evers, A, Nikas G, Sahlin L, Eriksson H, Lanfgren BM.** Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors. *Fertil Steril,* **2001**. 76(4): p. 782-91.

53. **Matsui N, Kawano Y, Nakamura S, Miyakawa I.** Changes in vaskular endothelial growth factor production associated with desidualization by human endometrial stromal cells in vitro. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* **2004**; 83:138-143.
54. **Okamoto N, Uchida A, Takakura K, Kariya Y, Kaznzaki H, Rittinen L, Koistinen R,, Seppala M, and Mori T.** Suppression by Human Placental Protein 14 of Natural Killer Cell Activity. *Am. J. Reprod. Immunol.* **1991**; 26 (4): 137-142.
55. **Saito S, Saito M, Enomoto M, Ito A, Motoyoshi K, Nakagawa.** Human macrophage colony-stimulating factor induces the differentiation of trophoblast. *Growth Factors* **1993**; 9:b11-19.
56. **Giudice LC.** Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Human Reproduction*, **1999**; 14(2): 3-16
57. **Shinetugs B, Runesson E, Bonello NP, Brannstrom M, Norman RJ.** Colony stimulating factor-1 concentrations in blood and follicular fluid during the human menstrual cycle and ovarian stimulation: possible role in the ovulatory process. *Hum. Reprod.* **1999**; 14(5): 1302-6
58. **Gearing DP, Gough NM, King JA.** Molecular cloning and expression of Cdna encoding a murine myeloid leukaemia inhibitory factor (LIF). *Embo. J.* **1987**; 6: 3995-4002.
59. **Dunglison GF, Barlow DH, Sargent LL.** Leukaemia inhibitory factor significantly enhances the blastocyst formation rates of human embryos cultured in serum-free medium. *Hum Reprod*, **1996**. 11(1): p. 191-6.
60. **Sharkey AM, King A, Clark DE, Burrows TD, Jokhi PP, Charnock-Jones DS et al.,** Localization of leukemia inhibitory factor and its receptor in human placenta throughout pregnancy. *Biol Reprod*, **1999**. 60(2): p. 355-64.
61. **Arıcı AMD.** *Molecular markers of implantation.* **1997.** Thirtieth Annual Postgraduate Program, Course IV, 21 Century Art. Embracing Change, Cincinnati, Ohio.
62. **Vogiagis D, Marsh MM, Fry RC.** Leukaemia inhibitory factor in human endometrium trough the menstrual cycle. *J. Endocrinol.* **1996**; 148: 95-102.
63. **Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Nikas Y, Hovatta O, Landgren BM.** Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium. *Fertil Steril.* **2003**;79 (1): 808-814
64. **Nachtigall MJ, Kliman HJ, Feinberg RF, Olive DL, Engin O, Arıcı A.** The effect of leukemia inhibitory factor(LIF) on trophoblast differentiaion. A potential role in human implantaion. *J Clin Endocrinol Metab* **1996**:81:801-6.
65. **Bischof P, Haenggeli L, Campana A.** Effect of leukemia inhibitory factor on human cytotrophoblast differentiation along the invasive pathway. *Am. J. Reprod. Immunol.* **1995**; 34: 225-30.
66. **Elter K, Oral E.** İmplantasyon Fizyolojisi ve İmplantasyonu Etkileyen Faktörler. *Obsetetrik ve Jinekoloji Sürekli Eğitim Dergisi*, **2000**;1 (4): 48-63.
67. **Hambartsoumain E.** Endometrial leukemia inhibitory factor (LIF) as a possible cause of unexplained infertility and multiple failures of implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.* **1998**; 39: 137-43.
68. **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 USA* **1996**;93: 3115–20.

69. Ferrara N, Gerber HP, Le Couter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.* **2003**; 9: 669-676.
70. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the the VEGF/VEGFR system. *Bio. Pharma.* **2004**; 68: 1017-1021.
71. Sugino N, Kashida S, Karube-Harada A. Expression of vascular endothelial growth Factor (VEGF) and its receptors in human endometrium throughout the menstrual cycle and early pregnancy. *Reproduction.* **2002**; 123: 379-387.
72. Li XF, Gregory J, Ahmed A. Immunolocalisation of vascular endothelial growth factor in human endometrium. *Growth Factors.* **1994**; 11: 277-282.
73. Abbas MM, Evans JJ, Sykes PH, Benny PS. Modulation of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase in normal human endometrial stromal cells. *Fertil Steril.* **2004**; 82: 1048-1053.
74. Stavreus-Evers A, Aghajanova L, Brismar H, Eriksson H, Landgren BM, Hovatta O. Co-existence of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and pinopodes in human endometrium at the time of implantation. *Mol. Hum Reprod.* **2002**; 8: 765-769.
75. Gardner DK, Weissman A, Howies MC, Shoham Z. *Yardımla Üreme Teknikleri Temel Kitabı, Laboratuvar ve Klinik Görüşler*, İkinci baskı, Nobel Kitabevi, **2010**
76. Licht P, Russu V, Lehmeyer S, Möll J, Siebzehnrübl E, Wildt L. Intrauterine microdialysis reveals cycle-dependent regulation of endometrial insulin-like growth factor binding protein-1 secretion by human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril.* **2002**; 78 (2) :252-258.
77. Seppala M, Koistinen H, Koistinen R, Dell A, Morris Hr, Oehming S, Clark GF. Glycodelins as regulators of early events of reproduction. *Clin. Endo.* **1997**; 46 (4): 381-386.
78. Aplin JD. Adhesion molecules in implantation. *Rev Reprod.* **1997**. 2(2): p. 84-93.
79. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, Sagoskin AW, Doyle M, Harris JE, et al. Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. *Hum Reprod* **1997**; 12:1393-8.
80. Apparao KBC, Lovely LP, Gui YT, Lining RA, Lessey BA. Elevated endometrial androgen receptor expression in women with polycystic ovarian syndrome. *Biol Reprod* **2002**; 66:297-304. VOL. 105 NO. 4 / APRIL 2016 881 *Fertility and Sterility*
81. Lessey BA. The use of integrins for the assessment of uterine receptivity. *Fertil Steril.* **1994**; 61 (5): 812-814.
82. Merviel P, Challier J, Carbillon L, Foidart J, Uzan S. The role of integrins in human embryo implantation. *Fetal Diagn Ther.* **2001**. 16(6): p. 364-71.
83. Tei C, Maruyama T, Kuji N, Miyazaki T, Mikami M, Yoshimura Y. Reduced expression of alpha v beta 3 integrin in the endometrium of unexplained infertility patients with recurrent IVF-ET failures: improvement by danazol treatment. *J Assist Reprod Genet* **2003**; 20.
84. Miller PB, Parnell BA, Bushnell G, Tallman N, Forstein DA, Higdon HL 3rd, et al. Endometrial receptivity defects during IVF cycles with and without letrozole. *Hum Reprod* **2012**; 27:881-8
85. Thomas K, Thomson AJ, Wood SJ, Kingsland CR, Vince G, Lewis-Jones DI. Endometrial integrin expression in women undergoing IVF and ICSI: a comparison of the two groups and fertile controls. *Hum Reprod* **2003**; 18:364-9

86. **Bahar L, Kahraman S, Akkuş M., Baykal T.** Fertil kadınlar ve implantasyon başarısızlığı olan infertil kadınlarda endometriyumun ince yapı ve immuno histokimyasal değerlendirilmesi. *Dicle Tıp Dergisi*, **2012**; 39 (2),269-275.
87. **Lai TH, Shih IEM, Vlahos N, Ho CL.** Differential expression of L-selectin ligand in the endometrium during the menstrual cycle. *Fertil Steril*. **2005**; 83: 1297-1302.
88. **Meseguer M, Aplin JD, Cabapellero-Campo P, O'Connor JE, Martin JC, Remohi J, Pellicer A, Simon C.** Human endometrial mucin MUC1 is up-regulated by progesterone and down-regulated in vitro by the human blastocyst. *Biol Reprod*, **2001**. 64(2): p. 590-601.
89. **Gürgen T, Urman B.** Yardımcı üreme teknikleri. *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*,**1996**. Güneş Kitabevi: 1301-1311.
90. **Taylor HS, Bagot C, Kardana A, Olive D and Arici A.** HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Human Reproduction*, **1999**; 14 (5): 1328–1331.
91. **Paria BC, Malik AB, Kwiatek AM, Rahman A, May MJ, Ghosh S, Tiruppathi C.** Tumor necrosis factor- α induces nuclear factor- κ B-dependent TRPC1 expression in endothelial cells. *J. Biol. Chem.* **2003**; 278 (39): 37195-203.
92. Langman's Medical Embriology, in First week of development: Ovulation to implantation. **2010**, Lippincott Williams and Wilkins. p. 31-50.
93. **Dalcık H., Ö.E.,** İnsan gelişiminin başlangıcı: Birinci hafta, in Klinik Yöneleri ile insan embriyolojisi. **2002**, Nobel Tıp Kitabevleri. p. 17-46.
94. **Oktay, K., D. Briggs, and R.G. Gosden,** Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab*, **1997**. 82(11): p. 3748-51.
95. **Christin-Maitre, S, Taylor AE, Khoury RH, Hall JE, Martin KA, Smith PC, Albanese C, Jameson JL, Crowley WF, Sluss PM.** Homologous in vitro bioassay for follicle-stimulating hormone (FSH) reveals increased FSH biological signal during the mid- to late luteal phase of the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, **1996**. 81(6): p. 2080-8.
96. **McNatty, K.P, Makris A, DeGrazia C, Osathanondh R, Ryan KJ.** The production of progesterone, androgens, and estrogens by granulosa cells, thecal tissue, and stromal tissue from human ovaries in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*, **1979**. 49(5): p. 687-99.
97. **Richards JS, Jahnsen T, Hedin L, Lıfka J, Ratoosh S, Durica JM, Goldring NB.** Ovarian follicular development: from physiology to molecular biology. *Recent Prog Horm Res*, **1987**. 43: p. 231-76.
98. **Parmegiani L, Cognigni GE, Ciampaglia W, Pocognoli P, Marchi F, Filicori M.** Efficiency of hyaluronic acid (HA) sperm selection. *J Assist Reprod Genet*, **2010**. 27(1): p. 13-6.
99. **Young KA, Chaffin CL, Molskness TA, Stouffer RL.** Controlled ovulation of the dominant follicle: a critical role for LH in the late follicular phase of the menstrual cycle. *Hum Reprod*, **2003**. 18(11): p. 2257-63.
100. **Pauerstein CJ, Eddy CA, Croxatto HD, Hess R, Siler-Khodr TM, Croxatto HB.** Temporal relationships of estrogen, progesterone, and luteinizing hormone levels to ovulation in women and infrahuman primates. *Am J Obstet Gynecol*, **1978**. 130(8): p. 876-86.
101. **Fritz MA, McLahlan RI, Cohen NL, Dahl KD, Bremner WJ, Soules MR.** Onset and characteristics of the midcycle surge in bioactive and immunoactive luteinizing hormone secretion in normal women: influence of physiological variations in periovulatory ovarian steroid hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab*, **1992**. 75(2): p. 489-93.

102. **Chandrasekher YA, Brenner RM, Molskness TA, Yu Q, Stouffer RL.** Titrating luteinizing hormone surge requirements for ovulatory changes in primate follicles. II. Progesterone receptor expression in luteinizing granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab*, **1991**. 73(3): p. 584-9.
103. **Chaffkin LM, Luciano AA, Peluso JJ,** Progesterone as an autocrine/paracrine regulator of human granulosa cell proliferation. *J Clin Endocrinol Metab*, **1992**. 75(6): p. 1404-8.
104. **Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD.** Post-ovulatory ageing of the human oocyte and embryo failure. *Hum Reprod*, **1998**. 13(2): p. 394-7.
105. **Bedford JM.** Mammalian fertilization misread? Sperm penetration of the eutherian zona pellucida is unlikely to be a lytic event. *Biol Reprod*, **1998**. 59(6): p. 1275-87.
106. **Elder K DB.** First Stages of Development in In vitro Fertilization:. **2011**, Cambridge University Press. p. 64-77.
107. **Larsen W.J.** et al., Human embryology. 3rd ed. **2001**, New York: Churchill Livingstone. xix, 548 p.
108. **Cooke S, Quinn P, Kime L, Ayres C, Tyler JPP.** Improvement in early human embryo development using new formulation sequential stage-specific culture media. *Fertil Steril*, **2002**. 78(6): p. 1254-60.
109. **Sadler TW, Langman J,** Langman's essential medical embryology. **2005**, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1 v. (various pagings).
110. **Gonzales DS, Jones JM, Pinyopummin T, Carnevale EM, Ginther OJ, Shapiro SS, Bavister BD.** Trophoctoderm projections: a potential means for locomotion, attachment and implantation of bovine, equine and human blastocysts. *Hum Reprod*, **1996**. 11(12): p. 2739-45.
111. **Strowitzki, T, Germeyer A, Popovici R, Wolff MV.** The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update*, **2006**. 12(5): p. 617-30.
112. **Gambino LS, Wreford NG, Bertram JF, Dockery P, Lederman F, Rogers PAW.** Angiogenesis occurs by vessel elongation in proliferative phase human endometrium. *Hum Reprod*, **2002**. 17(5): p. 1199-206.
113. **Navot, D, Scott RT, Driesch K, Veeck LL, Liu HC, Rosenwaks Z.** The window of embryo transfer and the efficiency of human conception in vitro. *Fertil Steril*, **1991**. 55(1): p. 114-8.
114. **Tabibzadeh S, Babaknia A.** The signals and molecular pathways involved in implantation, a symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. *Hum Reprod*, **1995**. 10(6): p. 1579-602.
115. **Hardarson T, Hanson C, Sjögren A, Lundin K.** Human embryos with unevenly sized blastomeres have lower pregnancy and implantation rates: indications for aneuploidy and multinucleation. *Hum Reprod*, **2001**. 16(2): p. 313-8.
116. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*, **2011**. 26(6): p. 1270-83.
117. **Berek, J.S. and E. Novak,** Berek & Novak's gynecology. **2007**, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
118. **Burrows TD, King A, Loke YW,** Trophoblast migration during human placental implantation. *Hum Reprod Update*, **1996**. 2(4): p. 307-21.
119. **Loke YW, Gardner L, Burland K, King A.** Laminin in human trophoblast--decidua interaction. *Hum Reprod*, **1989**. 4(4): p. 457-63.

120. **Nagase H**, Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem*, **1997**. 378(3-4): p. 151-60.
121. **VanSaun MN, Matrisian LM**, Matrix metalloproteinases and cellular motility in development and disease. *Birth Defects Res C Embryo Today*, **2006**. 78(1): p. 69-79.
122. **Shimonovitz S, Hurwitz A, Hochner-Celnikier D, Dushnik M, Anteby E, Yagel S**. Expression of gelatinase B by trophoblast cells: down-regulation by progesterone. *Am J Obstet Gynecol*, **1998**. 178(3): p. 457-61.
123. **Lee GL**. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third edition. Blakiston Division, McGraw-Hill, **1968**;12-38
124. **Ashkenazi J, Dicker D, Feldberg D, Goldman GA, Yeshaya A, Goldman JA**. Adverse neurological symptoms after gonadotropin-releasing hormone analog therapy for in vitro fertilization cycles. *Hum Reprod*. **1989**; 4(6):667-9.
125. **Çelik O**. Yardımcı Üreme Teknikleri, Temel klinik ve embriyolojik uygulamalar. Nobel Yayınevi. **2011**. 159-165
126. **Makrakis E, Pantos K**. The outcomes of hysteroscopy in women with implantation failures after in-vitro fertilization: findings and effect on subsequent pregnancy rates. *Curr Opin Obstet Gynecol*, **2010**. 22(4): p. 339-43.
127. **Fatemi HM, Popovic-Todorovic B**. Implantation in assisted reproduction: a look at endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online*, **2013**. 27(5): p. 530-8.
128. **Demirel, A. and T. Gurgan**, Effect of treatment of intrauterine pathologies with office hysteroscopy in patients with recurrent IVF failure. *Reprod Biomed Online*, **2004**. 8(5): p. 590-4.
129. **Donnez J, Jadoul P**. What are the implications of myomas on fertility? A need for a debate? *Hum Reprod*, **2002**. 17(6): p. 1424-30.
130. **Pritts EA, Parker WH, Olive DL**, Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil Steril*, **2009**. 91(4): p. 1215-23.
131. **Shokeir T, El-Shafei M, Yousef H, Allam AF, Sadek E**. Submucous myomas and their implications in the pregnancy rates of patients with otherwise unexplained primary infertility undergoing hysteroscopic myomectomy: a randomized matched control study. *Fertil Steril*, **2010**. 94(2): p. 724-9.
132. **Metwally M, Farquhar CM, Li TC**. Is another meta-analysis on the effects of intramural fibroids on reproductive outcomes needed? *Reprod Biomed Online*, **2011**. 23(1): p. 2-14.
133. **Bosteels J, Weyers S, Puttemans P**. The effectiveness of hysteroscopy in improving pregnancy rates in subfertile women without other gynaecological symptoms: a systematic review. *Hum Reprod Update*, **2010**. 16(1): p. 1-11.
134. **Pehlivan T, Rubio C, Rodrigo L, Romero J**. Impact of preimplantation genetic diagnosis on IVF outcome in implantation failure patients. *Reprod Biomed Online*, **2003**. 6(2): p. 232-7.
135. **Baart EB, Martini E, Berg I**. Preimplantation genetic screening reveals a high incidence of aneuploidy and mosaicism in embryos from young women undergoing IVF. *Hum Reprod*, **2006**. 21(1): p. 223-33.
136. **El-Toukhy T, Sunkara S, Khalaf Y**. Local endometrial injury and IVF outcome: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*, **2012**. 25(4): p. 345-54.

137. **Baum M, Yerushalmi GM, Maman E, Kedem A, Machtinger R, Hourvitz A, Dor J.** Does local injury to the endometrium before IVF cycle really affect treatment outcome? Results of a randomized placebo controlled trial. *Gynecol Endocrinol*, **2012**. 28(12): p. 933-6.
138. **Seval MM, Şükür YE, Özmen B, Kan Ö, Sönmezer M, Berker B, Atabekoğlu C.** Does adding endometrial scratching to diagnostic hysteroscopy improve pregnancy rates in women with recurrent in-vitro fertilization failure?, *Gynecological Endocrinology*, **2016**; 32:12; 957-960
139. **Lensen S, Osavlyuk D, Armstrong S, Stadelmann C, Hennes A, Napier E, et al.** Randomized trial of endometrial scratching before in vitro fertilization. *N Engl J Med*. **2019**;380:325–334.
140. **Tumanyan A., Gemilyan M., Hambartsoumian E.,** Single and double endometrial scratching in infertile women with strict criteria of recurrent implantation failure. *Gynecol Endocrinol*, **2019**, 35(S1):p.11–14
141. **Maksem JA, Robboy SJ, Bishop JW, Meiers I.** *Endometrial Cytology with Tissue Correlations*. ISBN:978-0-387-89909-1.
142. **Dockery P, Bucke JM.** The Endometrium. Second Edition, **2008**, ISBN:9780203091500. The fine structure of the mature endometrium.
143. **Sarani SA, Ghaffari-Novin M, Warren MA, Dockery P, Cooke ID.** Morphological evidence for the 'implantation window' in human luminal endometrium. *Hum Reprod*. **1999**;14(12):3101-3106
144. **Bergeron C.** Morphological changes and protein secretion induced by progesterone in the endometrium during the luteal phase in preparation for nidation, **2000**; 15(1); 119-128
145. **Clyman MJ.** A new structure observed in the nucleolus of the human endometrial epithelial cell, *Am J Obstet and Gynec*, **1963**;86,430.
146. **Zapantis G1, Szmyga MJ, Rybak EA, Meier UT.** Premature formation of nucleolar channel systems indicates advanced endometrial maturation following controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod*. **2013**;28(12):3292-3300
147. **Dockery P, Pritchard K, Warren MA, Li TC, Cooke ID.** Changes in nuclear morphology in the human endometrial glandular epithelium in women with unexplained infertility. *Hum Reprod*. **1996**;11(10):2251-2256.
148. **Morris H, Edwards J, Tiltman A, Emms M.** Endometrial lymphoid tissue: an immunohistological study. *J Clin Pathol*. **1985**;38(6):644-652.
149. **Pace D, Longfellow M, Bulmer JN.** Characterization of intraepithelial lymphocytes in human endometrium. *J Reprod Fertil*. **1991** ;91(1):165-174.
150. **Peters WM.** Nature of "basal" and "reserve" cells in oviductal and cervical epithelium in man. *J Clin Pathol*. **1986** ;39(3):306-312
151. **Lee SK, Kim JY, Lee M, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J.** Th17 and Regulatory T cells in Women with Recurrent Pregnancy Loss. *American Journal of Reproductive Immunology*. **2012**;67: 311-318.
152. **Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG.** Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immun*. **2004**;5:266-271.
153. **Zhao JX, Zeng YY, Liu .** Fetal alloantigen is responsible for the expansion of the CD4(+)CD25(+) regulatory T cell pool during pregnancy. *J Reprod Immunol*. **2007**; 75:71–81.

154. **Guerin LR, Prins JR, Robertson SA.** Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? *Hum Reprod Update*. **2009**; 15:517–535.
155. **Karaoglan Ö, Kuyucu Y, Ürünsak İF, Gümürdülü D, & Tap Ö.** Morphological features of the secretory phase endometrium in women with unexplained infertility. *Ultrastructural pathology*, **2021**; 45(3), 243–256.
156. **Xu B, Sun X, Li L, Wu L, Zhang A, Feng Y.** Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin-β3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. **2012** ;98(2):389-395
157. **Quinn CE, Casper RF.** Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity. *Hum Reprod Update*. **2009**;15(2):229-236.
158. **Novotný R, Malínský J, Oborná I, Dostál J.** Ultrastructure of endometrial surface relief in normal menstrual cycle and after hormonal stimulation. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med*. **1999**;142:47-55.
159. **Quinn C, Ryan E, Claessens EA, Greenblatt E, Hawrylyshyn P, Cruickshank B, et al.** The presence of pinopodes in the human endometrium does not delineate the implantation window. *Fertil Steril* **2007**;87:1015–21.
160. **Murphey CR.** Understanding the apical surface markers of uterine receptivity: pinopods-or uterodomes? *Hum Reprod*. **2000**;15(12):2451-4.
161. **Martel D, Monier MN, Roche D, Psychoyos A.** Hormonal dependence of pinopode formation at the uterine luminal surface. *Hum Reprod*. **1991**;6(4):597-603.
162. **Li TC, Dockery P, Cooke ID.** Endometrial development in the luteal phase of women with various types of infertility: comparison with women of normal fertility. *Hum Reprod*. **1991**;6(3):325-30.
163. **Ziegler D, Bergeron C, Cornel C, Medalie DA, Massai MR, Milgrom E, Frydman R, Bouchard P.** Effects of luteal estradiol on the secretory transformation of human endometrium and plasma gonadotropins. *J Clin Endocrinol Metab* **1992**; 74:322-331.
164. **Lessey B, Palomino WA, Apparao KBC, Young SL, Lininger RA.** Estrogen receptor-alpha and defects in uterine receptivity in women. *Reprod Biol and Endocrin*. **2006**;4(Suppl 1):S9
165. **Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SJ, Buck CA, Schinner R, Wilkins B, Strom BL.** Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* **1994**; 79:643-649
166. **Chen DB, Hilsenrath R, Yang ZM, Le SP, Kim SR, Chuong CJ, et al.** Leukaemia inhibitory factor in human endometrium during the menstrual cycle: cellular origin and action on production of glandular epithelial cell prostaglandin in vitro. *Hum Reprod* **1995**;10:911–8.
167. **Ruan HC, Zhu XM, Luo Q, Liu AX, Qian YL, et al.** Ovarian stimulation with GnRH agonist, but not GnRH antagonist, partially restores the expression of endometrial integrin b3 and leukaemia-inhibitory factor and improves uterine receptivity in mice. *Hum Reprod* **2006**;21:2521–9.
168. **Chen QJ, Sun XX, Li L, Gao XH, Gemzell-Danielsson K, Cheng LN.** Effects of ovarian stimulation on endometrial integrin b3 and leukemia inhibitory factor expression in the peri-implantation phase. *Fertil Steril* **2008**;89:1357-63
169. **Creus M, Ordi J, Fabregues F, Casamitjana R, Ferrer B, Coll E, et al.** Alpha v beta 3 integrin expression and pinopod formation in normal and out-of-phase endometria of fertile and infertile women. *Hum Reprod* **2002**;17:2279–86.

170. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Sun J. Integrins as markers of uterine receptivity in women with primary unexplained infertility. *Fertil Steril* **1995**;63:535–42.
171. Bourgain C, Devroey P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Hum Reprod Update* **2003**;9:515–22
172. Meyer WR, Novotny DB, Fritz MA, Beyler SA, Wolf LJ, Lessey BA. Effect of exogenous gonadotropins on endometrial maturation in oocyte donors. *Fertil Steril* **1999**;71:109–14.
173. Thomas K, Thomson AJ, Sephton V, Cowan C, Wood S, Vince G, et al. The effect of gonadotrophin stimulation on integrin expression in the endometrium. *Hum Reprod* **2002**;17:63–8.
174. Lessey BA, Ilesami AO, Lessey MA, Riben M, Harris JE, Chwalisz K. Luminal and glandular endometrial epithelium express integrins differentially throughout the menstrual cycle: Implications for implantation, contraception, and infertility. *Am J Reprod Immunol* **1998**; 35:195-204.
175. Brooks PC, Clark RAF, Chersesh DA. Requirement of vascular integrin $\alpha v/\beta 3$ for angiogenesis. *Science* **1994**; 264:569–571.