

ANOVULATUVAR KADINLARDA MENOTROPİN İNDÜKSİYONUyla OLUŞAN ENDOMETRİYUMUN PREMENSTRUAL EVREDEKİ YAPISI

Alp Can*

Günümüzde endometriyal biyopsi ve bunun sağladığı günleme yöntemi gerek düzenli menstrüal sıklusa sahip kadınlarda kontrol amacıyla gerekse çeşitli nedenlerle meydana gelmiş menstrüal siklus bozukluklarının tanısında ve tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde en çok kullanılan ve en güvenilir yöntemlerin biri olarak kabul edilmektedir (21,26,28). Bugüne kadar düzenli sıklusa sahip kadınlardan alınan biyopsi örneklerinde endometriyumun 28 gün süresince geçirdiği değişim günlük gözlemlerle saptanarak gerek ışık (5,16) gerekse elektron mikroskopik (3,6,26) düzeylerde birçok kez ortaya konmuştur. Buna göre endometriyumun menstrüal siklusun kaçınıcı gününe uyduğu saptamak (endometriyal günleme) için bugüne kadar ortaya atılan klâsik ölçütler (16) kullanılarak histolojik tanı konup 1 ya da 2 günlük bir hata payına göz yumularak alınan doku, olması gereken gün ile «uyumludur» ya da «uyumsuzdur» şeklinde yorumlanır (4,5,12,13).

Her ne kadar bu ölçütler yeterince tanımlayıcı gibi görünmekteyse de özellikle siklusun son dönemleri olan menstrüal kanamaya yakın günlerde alınan doku örneğinde yoğun bir hücre farklanmasıyla birlikte yıkımın bulunması, göz önüne alınan ölçütlerin güvenilirliğini ve kesinliğini azaltmakta ve böylece parçanın normal sınırlar içinde olup olmadığını değerlendirmek güçleşmektedir. Bugüne kadar ortaya konmuş günleme ölçütlerinin bir çoğu büyük oranda kabul görmüşse de son yıllarda yapılan çalışmalarda bunların giderek geçerliliğini yitirmekte olduğu, yerine daha güvenilir ve kesin olanlarının kullanılması gerekliliği vurgulanmaktadır (4,7,10,12).

* A.Ü. Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalında Uzman Doktor.

Histolojik tanı kriterlerinden başka hasta seçimi (7), biyopsinin alınma zamanının saptanması (2,12,27), alındığı uterus bölgesi (16, 19), doku hazırlama (16), örnekleme (3), gözlemler ve gözlemciler arasındaki değerlendirme farklılıkları (21) ayrı ayrı sonucu etkileyebilmektedir. Yukarıda sayılan bu değişkenler ideal olarak sağlansa bile yine de doku değerlendirme sonuçlarının kesin olarak doğru olduğunu söylemek olası olmayabilir.

Bu çalışmadaki amaç çeşitli düzeylerde hipotalamohipofiziyel yetmezliğe sahip primer ve sekonder anovulatuvar infertil ile ovulatuvar defektli oligomenoreik kadınlarda ovulasyonu sağlamak amacıyla gonadotropin hormonları (follikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinleştirici hormon (LH) vererek geç luteal evre endometriyumlardaki doku ve hücre değişimlerinin ne oranda gerçekleştiğini ışık ve elektron mikroskopik olarak araştırmaktır. Bu yapılırken az tanımlayıcı klâsik ölçütlerin yerine birçoğu, araştırmacının kendi önerisi olan yeni ölçütler yarı - sayısal puanlama yöntemi kullanılarak uygulanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Olguların Seçimi, Tanı ve Tedavi Protokolü

Araştırma kapsamına ovulatuvar bozukluğu olan primer ya da sekonder amenoreik ve anovulatuvar kadınlarla fonksiyonel bir bozukluk sonucu gelişmiş anovulasyonu ve oligomenoresi olanlar alındı (Tablo 1). Kadınların ikisinde hipotalamohipofiziyel yetmezlik, birinde hiperandrojenik ovulatuvar defekt bulunmaktaydı. Olguların üçünde ek infertilite faktörü olarak önceden var olan tubal obstrüksiyon cerrahi olarak tedavi edilmişti.

Kadınlarda ve eşlerinde geniş kapsamlı bir laboratuvar çalışması yapılarak tanılar kondu. Daha sonra kişisel yanıtlara uygun olarak ayarlanabilen HMG + HCG tedavisine alındılar (54). Ampirik bir dozla 3. günde başlanan HMG uygulaması, iki günlük aralarla yapılan serum E₂ ve follikül çapı ölçümleriyle ovulasyon öncesi döneme kadar devam etti. Bu tedavi süresince verilen HMG miktarı toplam 10-36 ampul arasında değişti. Bu dönemde her bir kadına ortalama beşer kez ultrasonografi yapılarak follikül çapı ve serum E₂ ölçümleri alındı. Her ikisinin de yeterli olduğu bir dönemde tek doz 10.000 IU HCG verilerek luteal evreye girmeleri sağlandı.

Daha sonra luteal evre boyunca izlenen kadınlardan gerek ultrasonografiye dayalı ovulasyon gününden ileri sayarak gerekse bazal vücut ısısı (BBT) grafiplerine göre 25. - 26. günlerde uteruslarının fundus bölgesinden Novak küretiyle endometriyum biyopsisi alındı. Biyopsi gününü kesinleştirmek için alınan bir diğer referans noktası da biyopsiyi izleyen günlerdeki adet kanamasının ilk gününden (bu günü 28. gün kabul edip) geriye sayarak (NMP) biyopsi gününü bulmaktı (2,26).

Doku Hazırlama

Novak küretiyle uterusun fundus bölgesinden alınan birkaç mm³'lük biyopsi materyali, hızla serum fizyolojikte yıkandıktan sonra 0.1 M fosfat tamponlu % 3'lük glutaraldehit solusyonuna alındı. Bu solusyonda oda ısısında 1 saat kalan parçalar daha sonra stereomikroskobu altındaki mikromanüplasyonla ışık ve elektron mikroskopik olarak izlenmek üzere küçültüldüler. Bundan sonraki basamaklarda dokular paralel olarak rutin ışık ve geçirim elektron mikroskopik takip işlemlerinden geçirildi. Işık mikroskopik olanlar H E. ile boyandılar.

Endometriyal Günleme Tekniği

Bu çalışmada günleme iki araştırmacı tarafından yapıldı. Bunlardan birinsinin alınan parça hakkında herhangi bir ön bilgisi yoktu. Luteal evredeki bütün biyopsi materyallerini değerlendirmede kullanılacak belirli yapıdaki ya da farklı yapılar arasındaki ince yapı değişimlerini yansıtabilecek günleme ölçütleri seçildi. Çok özen gösterilen bu seçimde kullanılacak kriterler, başlıca salgı bezi ve stromaya ilişkin olanlar diye ikiye ayrıldı. Bunlardan bez yapılarına ilişkin olanlar; salgı hücresi çekirdeklerinin tek sıralı dizilimi (G1), salgı hücrelerinin yalancı çok katlı dizilimi (G2), yuvarlak çekirdek (G3), ovoid çekirdek (G4), keskin luminal yüz (G6), kıvrıntılı bezler (G7), düz bezler (G8), lümendeki sekresyon miktarı (G9)'dir.

Stroma elemanlarına ilişkin seçilen kriterler ise; stroma predesidualizasyonu (S1), yüzeyaltı predesidualizasyonu (S2), arteriyol çevresi predesidualizasyonu (S3), stroma ödemi (S4), spiral arteriyol oluşumu (S5), endometriyum lökositleri (S6) ve fokal kanama odakları (S7)'dir.

Bütün bu kriterler 0 - 3 arası yarı - sayısal bir puanlama sistemi kullanılarak ölçüldü. Buna göre 0 = yok, 1 = hafif, 2 = ılımlı, 3 = şiddetli anlamındadır. Önce tüm doku örnekleri IM olarak incelenerek

bez ve stroma yapıları değerlendirildi, daha sonra bunları oluşturan hücre ve hücre dışı yapılar EM olarak tek tek ele alınarak ek bulgular ortaya kondu.

BULGULAR

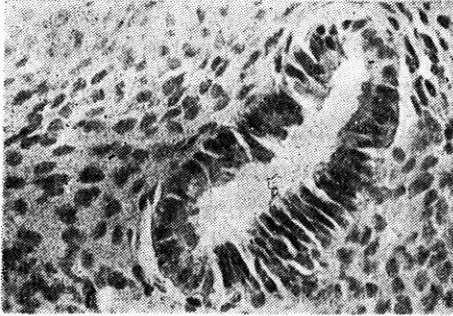
Biyopsi materyalleri üzerindeki gözlemler sonucunda, çalışma kapsamına alınan kişilerin % 50'sinde salgı bezi ve stroma yapılarında dengeli gelişme (uyumlu) saptanırken, geri kalanında endometriyumun bu iki temel bileşeninden birinde ya da her ikisinde düzensizlik gözlemlendi.

Salgı Bezleri

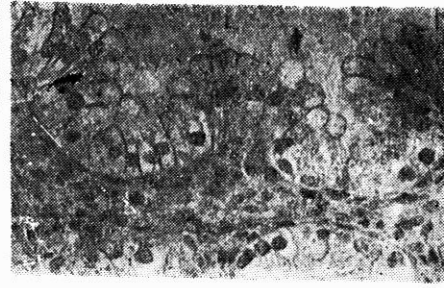
Dengeli gelişen endometriyum örneklerinde özellikle kompakt bölgelerde, bezlerin ileri derecede kıvrımlaşarak testere diş biçimlenmesi gösterdiği ve yoğun asidofil salgı materyalinin bez lümenlerinin merkezlerinde biriktiği dikkati çekti. Salgı hücreleri elektron mikroskopunda yüksek boylu, apikal yüzlerinde az sayıda kısa ve düzensiz mikrovillusların yanı sıra büyük sitoplazma çıkıntıları olan, kesintisiz bazal lamina üzerinde dizili hücreler olarak görüldüler. Sitoplazma çıkıntılarının bir bölümü lümeninde serbest olarak filâmanlı yapıyla birarada izlendiler. Hücrelerarası bağlantılar diğer epitel hücrelerdeki modelin benzeri olarak sıkı bağlantı ve desmozomlarla yan yüz zar katlantılarından oluştu. Çekirdekleri genellikle bazal duruşlu, kenarları düzensiz, oval biçimli ve ökromatiktir. Heterokromatin zarın iç yüzünde ve nükleoplazmada küçük kümeler olarak gözlemlendi. Sitoplazmada salgılamayla ilgili organellerin kalabalık ve iyi gelişmiş oldukları saptandı. Yaygın salgı vezikülleriyle birlikte olan iyi gelişmiş Golgi kompleksi sarnıçları çevresinde yer yer genişlemiş granüllü endoplazma retikulumu, oval ve yuvarlak mitokondriya daha çok apikal sitoplazmada görüldüler. Bu bölgede glikojen tanecikleri kümeleri de kalabalıktır. Bu kümelerin bir bölümü lümenine atılmak üzere hücrenin apikal yüzündeki sitoplazma çıkıntılarında da bulundu. Seyrek olarak lizozomlar ve multiveziküler cisimciklere rastlandı. Yukarıdaki ince yapı özelliklerine bakarak kolayca 23. - 26. günler arası endometriyum tanısı kondu.

Dengeli bir gelişim içinde olmayan doku örneklerinde bezlerin biçimlenmeleriyle son bölüm salgı hücrelerinde çoklu değişkenlikler saptandı. Bu dokulardaki salgı bezleri anlamlı ölçüde birbirinden

farklıydılar; bazıları düz ve sağı materyali içermeyen (Şekil 1) komşularındaki bezlerde kıvrıntılı biçimlenmeyle yeterli salgılama işlevleri belirgindi. Benzer heterojenite salgı hücreleri arasında da görüldü. Salgı bezi hücreleri arasındaki farklılıkların yanı sıra aynı salgı bezindeki hücrelerde de biçim ve işlevler farklıydılar. Bazı hücrelerde salgı materyali lümeneye atılmak üzere apikal bölgede birikmişken ötekilerde glikojen kümeleri henüz bazal sitoplazmada yer alıyordu. Bir olguda yukarıdakinin tersine, ileri salgılama aktivitesi gösteren dev salgı hücrelerinin buldukları ilgiyi çekti. Bunlar şeffaf sitoplazmaları, apikal çıkıntıları ve yuvarlak çekirdekleriyle az sayıdaki salgı bezinde saptandılar (Şekil 2). Çevrelerinde 26. - 27. gün örneği gösteren salgı işlevini tamamlamış hücrelerden oluşan bezler yaygındı.



Şekil 1 - Polimorf salgı hücreleri salgı materyali içermeyen düz bir bezi çevreliyor. H.E. (x 160)



Şekil 2 - İleri salgılama örneği gösteren hücrelerin sitoplazmaları şeffaf olup apikal çıkıntıları belirgindir. Çekirdekler (ok) yuvarlak ve orta duruşlu. L : Lümen H.E. (x 160)

Salgı bezleri üzerindeki histolojik gözlemlerle ilgili yarı-sayısal değerlendirme sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Biyopsi materyallerinin morfolojik görünümü

| Hasta No | Biopsinin alındığı gün ^a | Histolojik bulgular ^b | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|-------------------------------------|----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----------------|----|----|----|----|----|----|
| | | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 | G8 | G9 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 |
| 1 | 25 | 3 | 1 | 1 | 3 | 1 | 3 | 3 | 1 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 1 | 2 | |
| 2 | -- | 3 | 0 | 1 | 3 | 1 | 3 | 3 | 0 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 1 |
| 3 | 26 | 3 | 0 | 1 | 2 | 0 | 3 | 3 | 0 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| 4 | 26 | 3 | 0 | 1 | 3 | 1 | 2 | 3 | 0 | 2 | v ^c | 3 | v | v | 2 | 1 | v |
| 5 | 24 | v | v | v | v | 1 | 3 | 0 | 3 | 1 | v | 1 | 1 | v | 1 | 1 | 1 |
| 6 | 20 | 3 | 0 | 3 | 1 | 2 | 2 | v | v | v | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 |
| 7 | 25 | 2 | 1 | 0 | 3 | 0 | 3 | 3 | 1 | 1 | 2 | 1 | 3 | 2 | 3 | 1 | 0 |
| 8 | 28 | v | v | 2 | 1 | v | v | 3 | 0 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 |

^a Bir sonraki adet başlangıç gününden (NHP) geri sayarak bulunmuştur

^b Kullanılan kriter ve skorlar için gereç ve yöntemler bölümüne bakınız

^c Tek bir mikroskopik alandaki çeşitliliği ifade ediyor

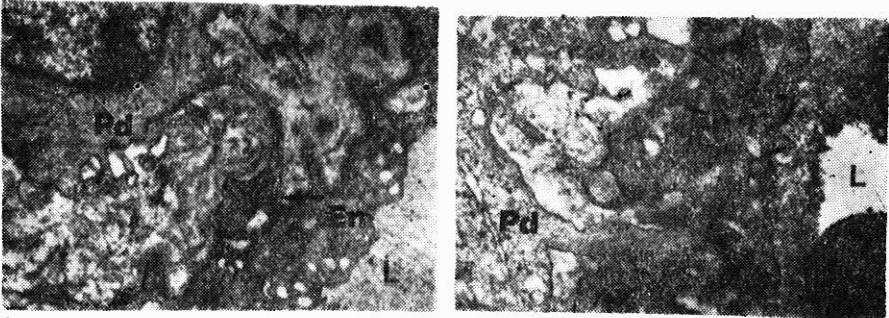
Stroma

Luteal evrenin ikinci haftasında meydana gelen belirgin değişimler daha çok stromada olduğu için, bu çalışmada stroma, salgı bezlerine kıyasla daha uzun ve yakından gözlemlendi.

Çalışmaya giren kadınların dörtte üçünün stromasında gelişme dengeliydi; temel olan desidua hücreleri, hücrelerarası matriks ve damarlardaki gelişmeler birbirlerine paraleldi. Buna karşın olguların ikisinde stroma gelişmesinde dengesizlik gözlemlendi.

Dengeli gelişme gösteren doku örneklerinde, 24. - 25. günlere uyan hücrelerarası matriks yapısı bulundu. Buna göre stromada ödemin yüksek düzeylerde olduğu, gevşek matriks materyali içinde yer yer kollajen tellerinin yayıldıkları saptandı.

Desidualizasyonun ilk başladığı bölgeler arteriyoller çevresiydi. Gelişmekte olan desidua hücreleri (predesidua hücreleri) stromaya yaygın olarak dağılmış spiral arteriyollerle bunların terminal uzantıları olan kılcal damarların çevresinde kılıf oluşturuyorlardı. Işık mikroskobundaki predesidua hücreleri büyük ve ökromatinli çekirdekleriyle ayırt edildiler. Elektron mikroskobunda bunların damarı çevreleyen saran fuziform hücreler oldukları görüldü. Endotel hücreleriyle aralarındaki geniş hücrelerarası aralıklara yaydıkları sitoplazma uzantılarının endotel hücrelerine çeşitli biçimlerde değdikleri ve fakat aralarında bağlantı yapılarının oluşmadığı izlendi (Şekil 3,4).



Şekil 3 ve 4 - Kılcal damarlar çevresinde yer alan bir predesidua hücresinin (PD) endotel hücresine (En) doğru uzanan sitoplazma çıkıntıları. Şekil 3'te geniş hücrelerarası matriksi geçerek endotel hücresinin bazal yüzündeki çıkıntılardan birisiyle yalın dokunması noktası oluşturmuş (ok), (x 15000). Şekil 4'te daha kalın bir sitoplazma uzantısı endotel hücresi sitoplazması çöktüntüsü içine yuvalanmış (x 12000). PD : Predesidual hücre, En : Endotel hücresi, L : Lümen

24. - 25. gün endometriyumlarında stroma hücrelerinin desidua hücrelerine dönüşümünün büyük oranda tamamlandığı görüldü. Farklanan desidua hücreleriyle olgun olanların elektron mikroskobu altındaki karşılaştırılmaları, ışık mikroskobunda ayırt edilemeyen yapı özelliklerini ortaya çıkardı; genellikle yuvarlak biçimli, küçük yüzey çıkıntıları olan genç hücrelerde büyük, orta duruşlu, ökromatinli çekirdekler vardı. Sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi kompleksi sarnıçları, sık granüllü endoplazma retikulumu sarnıçları, büyük ve yaygın lizozomlarla çok sayıda, yuvarlak mitokondriyonlar seçildi.

26. - 27. günlere uyan endometriyum stromalarındaki olgun desidua hücreleri daha büyüktü; çekirdekleri iri ve ökromatinli (az olan heterokromatin kümeleri sadece iç çekirdek zarı yerleşimli), granüllü endoplazma retikulumu sarnıçları çok genişlemiş, mitokondriyonlar bir önceki dönemde gözlenenlere kıyasla daha ince, uzun olarak izlendi.

24. - 25. gün endometriyumlarında stroma hücrelerinin desidua hücrelerine dönüşümünün büyük oranda tamamlandığı görüldü. Farklanan desidua hücreleriyle olgun olanların elektron mikroskobu altındaki karşılaştırılmaları, ışık mikroskobunda ayırt edilemeyen yapı özelliklerini ortaya çıkardı; genellikle yuvarlak biçimli, küçük yüzey çıkıntıları olan genç hücrelerde büyük, orta duruşlu, ökromatinli çekirdekler vardı. Sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi kompleksi sarnıçları, sık granüllü endoplazma retikulumu sarnıçları, büyük ve yaygın lizozomlarla çok sayıda, yuvarlak mitokondriyonlar seçildi.

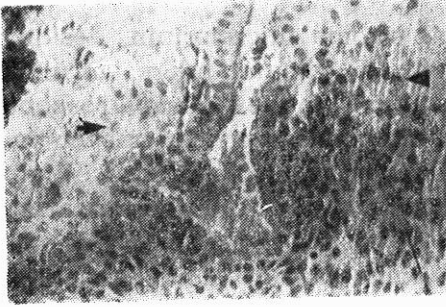
26. - 27. günlere uyan endometriyum stromalarındaki olgun desidua hücreleri daha büyüktü; çekirdekleri iri ve ökromatinli (az olan heterokromatin kümeleri sadece iç çekirdek zarı yerleşimli), granüllü endoplazma retikulumu sarnıçları çok genişlemiş, mitokondriyonlar bir önceki dönemde gözlenenlere kıyasla daha ince, uzun olarak izlendi.

Olgun desidua hücrelerinin plazmalemmalarında yerel kalınlaşmalar vardı. Bu hücrelerin dışında yerel kesintiler gösteren, lamina lusida ve densadan oluşan eksternal lamina benzeri yapı izlendi.

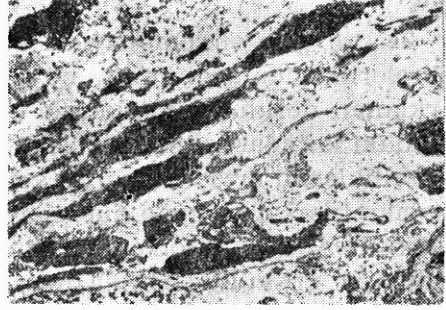
Stromada özellikle 25. günden sonra lökositlere ve makrofajlara rastlandı. Yanı sıra plazma hücreleri de görüldüler. Bu hücrelerle desidua hücreleri arasında sitoplazma uzantılarıyla sağlanan yakın dokunmaların olduğu belirlendi; aralarında sıkı ya da oluklu bağlantı birimleri seçilemedi.

26. - 27. güne uyan endometriyumlarda daha fazla olmak üzere, bütün doku materyallerinde kanama odakları saptandı; birkaç eritrositin doku arasına sızmasından başlayarak büyük eritrosit kümelerinin oluşmalarına kadar giden yayılmalar gösterdiler.

Stromaya ilişkin bütün gözlemlerin sonuçları Tablo I'de verildi. Görülebileceği gibi 4. ve 5. olgulardan alınan doku örneklerinde stroma asenkronizmi aynı mikroskop alanındaki desidualizasyon, ödem ve fokal kanama odaklarındaki farklılıklar olarak sergilendiler. Desidualizasyonu mozayik olan 4. olguda sıkıca biraraya gelmiş farklılaşmamış stroma hücrelerinin yanında çok gevşek bir bağ dokusu içinde yer alan olgun desidua hücrelerine rastlandı (Şekil 5). Stroma dengesizliği bazı doku örneklerinde ise, epitel altı desidualizasyon eksikliği olarak gözlemlendi (Şekil 6). Beşinci olguda salgı bezi yapısındaki dengesizliklerle stromadakiler birarada gözlemlendiler.



Şekil 5 - Bir salgı beziyle çevresindeki iki farklı gelişme evresindeki stroma. Bezin sol tarafında ileri ödemli bağ dokusu içindeki olgun desidua hücrelerinin (ok) yanı sıra sağ tarafta farklılaşmamış stroma hücreleri kümesi gözleniyor (ok başı). H.E. (x 160)



Şekil 6 - Stroma gelişmesi dengesizliği olan bir olguda salgı hücreleri 26-27. gün örneği gösterirlerken hemen altındaki stromada bağ dokusu hücrelerinin desidua hücrelerine farklılaşmaları henüz başlamamıştır. (x 1700)

Yukarıdaki bulgular üzerine, beklenen menstrüal siklus günüyle uyumsuz olanlarda ortaya çıkan doku çeşitliliği glandular, stromal ve glandular + stromal asenkronizm olmak üzere üç sınıfa ayrıldı. Glandular asenkronizm, bir kesit alanında salgı bezi yapılarındaki gelişme basamaklarında var olan belirgin heterojeniteyi; stromal asenkronizm, aynı türden gelişme dengesizliğinin stroma elemanları için olanlarını; glandular + stromal asenkronizm ise bez ve stroma dokularındaki gelişme dengesizliğinin birarada bulunuşu tanımlamak için kullanılmıştır. Değerlendirme sonuçları Tablo II'de verilmiştir.

Tablo 3.2.1. - Dokuların günleme sonuçları

| Hasta No | Değerlendirme | Gebelik |
|----------|---|---------|
| 1 | uyumlu (25. gün) | — |
| 2 | uyumlu (24. gün) | + |
| 3 | uyumlu (25. gün) | — |
| 4 | uyumsuz (stromal asenkronizm) | — |
| 5 | uyumsuz (glandular + stromal asenkronizm) | — |
| 6 | uyumsuz (glandular asenkronizm) | — |
| 7 | uyumlu (24. gün) | — |
| 8 | uyumsuz (glandular asenkronizm) | — |

TARTIŞMA

Çalışma kapsamına giren kadınlardaki luteal evre değişimi sonuçları ele alındığında uygulanan tedavi protokolünün % 50 başarıya ulaştığı söylenebilir. Bu başarı menstrüal siklusun başlangıcından son günlerine dek süren ,salgı bezleri ve stromayı içine alan bütün değişimleri kapsar. Tedavide başarının sağlanamadığı olgularda ise siklusun her hangi bir gününden başlayarak gerekli doku değişimlerinin sağlanamadığı gözlemlendi. Martel ve ark. (14) CC + HMG + HCG kullandıkları hastaların yarısında, luteal evrenin ilk günlerinde elde ettikleri normal endometriyum değişimlerinin bir iki olgu dışında evre sonuna değin sürdürülmediğini saptadılar.

Bu çalışma, bir infertilite tedavisinin sonuçlarını ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde gösteren uygun bir tanı metodunu saptamayı da amaçladı. Böylesi bir tanı yöntemi zaman alıcı olsa da, uzun süren ve pahalı bir infertilite tedavisinin ardından gelecek başarısızlığın nedenini yeterince açıklayabilecektir. Tanı için harcanacak süre, uzmanın konuya giderek alışmasıyla ön tanıya yönelik gerekli kriterlerin iyi kullanılması ve yorumlanması yollarını da açacaktır. Cornillie ve ark. (3) infertilite sonuçlarının değerlendirilmesinde bez ve stromaya ilişkin bozuklukları özellikle hücre düzeyinde gösterebilmek için histoloji ve ince yapı çalışmaları yapmanın gerekliliğini vurguladılar. Bunun yanı sıra, öznellikten kurtulabilmek için belirli ölçütlerin sayısal değerlendirilmesi gerekliliği ve böylelikle farklı gözlemcilerin ya da bir gözlemcinin farklı zamanlardaki yorumlamalarından kaynaklanacak tutarsızlıkların giderilebileceği de bildirildi (6,13,21).

Wynn (Şekil 3) ile Cornillie ve ark. (3), 24. günden başlayarak salgı hücrelerindeki glikojenin tamamen kaybolduğunu, çok sayıda küçük mitokondriyonların daha önceki dev olanlarının yerini aldıklarını, Golgi kompleksiyle NCS'nin belirgin olduğunu ince yapı düzeyinde gösterdiler. Bu değişimlerin azalan salgı aktivitesi nedeniyle oluştuğunu ve hücre involüsyonunda rol alacak yeni proteinlerin yapımıyla ilintili olduklarını ileri sürdüler. Bu çalışmada, dengeli gelişme gösteren kadınların endometriyumlarındaki Golgi kompleksi sarnıçlarıyla beraber görülen lizozom sayısındaki artışın, azalan salgı aktivitesini izleyen hücre yıkımını yansıttığı saptandı. Siklusun son günlerinde asit hidrolaz aktivitesinde saptanan artış (9), yukarıdaki bulguyu destekledi. Salgı bezi açısından senkronizasyon göstermeyen olgularda böylesi değişimlerin bulunmadığı saptandı.

Yalnızca bir kadında görülen ileri salgı bezi aktivitesi ilginç olarak değerlendirildi. Bu tür bir değişimin aynı kesitte birkaç bezde bulunup diğerlerinde görülmemesi bile uyumsuz bir doku örneği tanısı koymada yeterli oldu. Matel ve ark. (14) in vitro fertilizasyon programına aldıkları CC+HMG+HCG'yle tedavi edilmiş kadınların ovulasyon sonrası 2. ve 6. günlerindeki yüzey epitel hücrelerinde azdan çoğa kadar değişen oranlarda ileri salgı aktivitesi saptadılar. Benzer sonuçlar farklı grup kadınlarda çalışan Sundström ve ark. (22), Garcia ve ark. (8), Birkenfeld ve ark. (1) tarafından da belirtildi. Anovulatuvar kadınların proliferatif endometriyumlarında çok aktif salgı hücreleri gösteren Birkenfeld ve Martel böylesi doku değişimlerinin implantasyon üzerine olumsuz etkisi olabileceğini ileri sürdüler. Sundström ve Garcia ise, bu görüşe karşı çıkarak aktif salgılaşma işlevi sürekliliğinin implantasyonda olumlu yönde etkili olabileceğini öne sürdüler. Konuya bu yönden bakıldığında, bu çalışmada salgı bezi son bölümlerinde saptanan artmış salgı aktivitesinin bir yolla implantasyonun gerçekleşmesine etkili olacağı sonucuna varıldı. Bunun yanı sıra apikal çıkıntılardan yoksun, salgı işlevi bulunmayan hücrelerin de implantasyona katkıları yeterli olmayacaktır. Apikal çıkıntılarının implantasyona uyan dönemde ortaya çıkmalarının yanı sıra (25) sitoplazma içindeki glikojen partikülleri (3,30) ve lipid damlacığı birikimleri (3) de implantasyon ve embriyonun yaşamını sürdürebilmesi üzerinde önemli etkileri olan hücre işlevleri olarak kabul edilmelidir. Murphy ve Rogers (15) sıçanlarda, Psychosyos ve Martel (18) insanlarda bu yapıların blastosistin uterus tarafından kabul edilebilirliği üzerine etkili olduklarını vurguladılar.

Bu çalışmada desidua hücrelerindeki ince yapı değişimleri, Tekelioğlu-Uysal ve ark (23) ile Umapathysivam ve ark (24) tarafından bu hücrelerin protein sentezinde rol aldıklarına ilişkin bildirdikleri bulgularını destekledi. Desidua hücrelerindeki granüllü endoplazma retikulumu sarnıçlarının yoğun materyalle doluluğu ve yaygın polizomların bulunması protein yapımını doğrular özellikteydi. Çok sayıdaki genişlemiş endoplazma retikulumu sarnıçlarının plazmalemma altında yer alması, hücre içinde biriktirilen protein bileşimindeki salgının hücrelerarası boşluğa atılmasının endoplazma retikulumu sarnıçlarının dış ortama doğrudan açıldığı yerlerden gerçekleştirildiğini gösterdi. Öte yandan desidua hücrelerinde steroid sentezinin yapıldığına ilişkin kanı, granülsüz endoplazma retikulumu ve tübüler mitokondriya bulunmayışı nedeniyle kabul görmedi.

Desidua hücrelerindeki yüzey çıkıntılarıyla sitoplazma uzantıları özgün hücre özellikleri olarak değerlendirilirken Wynn (30) tarafından bunlar, olağan dışı olarak tanımlandı. Cornillie ve ark (3) glikojen granülleri barındıran ince uzun sitoplazma çıkıntılarının erken ve orta luteal evrede parçalanarak içeriklerini hücrelerarası aralığa verdiklerini savundular. Tekelioğlu ve ark. (23) da erken gebelikte desidua hücreleri arasında küçük sitoplazma çıkıntıları tanımladılar. Aynı araştırmacılar özellikle kılcal damar çevresindeki bölgelerde gelişmekte olan küçük desidua hücreleriyle lenfositler arasında yakın ilişkilerin desidua gelişimi sırasında ortaya çıktıklarına dikkati çekerlerken lenfositlerin implantasyon bölgesine göçleri sırasındaki normal hareketleriyle ortaya çıkma olasılıklarına da değindiler. Farklı türden hücrelerarası ilişkiler O'Shea ve ark (17) tarafından yalnızca gebelikteki sıçanlarda zar katlantıları ve aralarında oluşan desmozom ve oluklu bağlantılar (gap junction) olarak tanımladılar. Böylesi kenetlenmelerin hücrelerarası aralığı en aza indirerek gebelikte trofoblastların invazyonuna karşı maternal dokuyu koruduğunu ileri sürdüler. Lawn ve ark. (11) geç luteal evredeki desidua hücrelerinin aralarında az sayıda bağlantı birimlerini gözlemlerlerken, Wynn ve Woolley (30) 22. - 23. günlerde desiduya farklanmamış stroma hücreleri arasında sıkı ve oluklu bağlantıları bildirdiler; gerçek desmozomların ancak gebeliğin erken dönemlerinde oluşmaya başladığını öne sürdüler.

İlk olarak bu çalışmada ortaya çıkarılan endotel ve desidua hücreleri arasındaki ilişkiler değişkendi; uzun hücrelerarası matriksi aşarak endotel hücrelerinin bazal çıkıntılarına dokunmalar oluşturabildikleri gibi endotel hücresi plazmalemmalarındaki derin invajinasyon-

lara yuvalanmış olarak da bulundular. Bunların yanı sıra desidua hücreleri, desidua hücreleri ve lenfositler, desidua hücreleri ve endotel hücreleri arasındaki yakın ilişki yüzeylerinin hiçbirinde bağlantı kompleksi birimleri saptanmadı.

Luteal evrenin sonlarındaki stromada birçok hücre, gevşek hücrelerarası matriks içinde sıkı ve karmaşık ağ oluşturdu. Hormonların ve aracı kimyasal bileşiklerin kan dolaşımından kılcal damar endotelini yoluyla çevre stroma dokusuna yayılmaları desiduya farklılaşmasını başlatarak sürdürür. Desiduya dönük yapılanmayla trofoblast invazyonuna karşı dokuda immün hoşgörü çevresi oluşur. Gelişen desidua ortamında çeşitli türden hücreler arasında metabolizma ürünleriyle elektrik uyarıtlarının hareketlilikleri artar. Desiduanın çeşitli hücre türleri arasında kalıcı bağlantı kompleksi birimlerinin oluşmaları hızla bölünüp farklılaşan hücrelerin trofoblast ilerlemesi karşısındaki hareketli ilişkilerini sağlar.

Sonuç olarak desidualizasyonda gözlenen her türlü hücre dinamiği sağlıklı implantasyonun sürdürülebilmesini sağlar. Tedavinin başarısı endometriyum bezlerindeki değişimin ve stroma desidualizasyonunun gereken düzeylerde elde edilmesiyle ölçülür. Bu çalışmada uygulanan tedavi yöntemleriyle beklenen endometriyum değişiklikleri % 50 oranında gerçekleşebildi. Endometriyumunun çeşitli hücreleri arasındaki duyarlı gelişme dengelerini kuracak yeni yöntemlerinin öncekilerin yanısıra geliştirilmeleri herhalde gerekecektir.

5. ÖZET

Bu çalışmada, insan menapoz gonadotropini (HMG) ve insan koruyon gonadotropini (HCG) vererek ovülasyon indüksiyonu sağlanan sekiz kadının endometriyumlarındaki temel yapılar olan salgı bezi ve stroma, menstrüal siklusun geç luteal evresinde ışık ve elektron mikroskopik olarak incelendi. Bu inceleme, bir takım histolojik kriterlerin (bazısı bu çalışmayı yapan yazar tarafından öne sürülmüştür) yarı-sayısal değerlendirilmesi ve daha sonra da üç temel doku elemanının (salgı bezleri, stroma, arteriyol ve kapiller) histolojik ve ince yapı değişimlerinin ortaya konmasıyla gerçekleştirildi. Elde edilen bulgular sonunda yapılan sınıflandırmaya göre, çalışmaya alınan kadınların % 50'sinde başarılı doku cevabı elde edilirken, % 25'nin

salgı bezleri, % 12.5'nin stroma, geri kalan % 12.5'nin de hem salgı bezi hem de stroma açısından hatalı gelişim içinde olduğu saptandı. Salgı bezleri yönünden dengesiz gelişme gösteren dokularda salgı bezi biçim ve aktivitesinde heterojenite, stroma dengesizliği gösteren dokularda da, kesitte birbirine komşu bölgelerde bile izlenebilen desidua transformasyonu yetersizlikleri izlendi. Bunların yanında, gelişmekte olan desidua hücreleriyle endotel hücreleri arasında bağlantı kompleksi birimlerinin bulunmadığı ilginç hücre temasları, desidua hücrelerinde yoğun protein sentezi basamakları, bunun yanında steroid sentezine ilişkin yapıların bulunmayışı gibi ince yapı düzeyinde de bir takım bulgular saptandı.

Sonuç olarak, desiduya dönüşüm basamaklarında oluşacak dengesizliğin implantasyon işlevi üzerinde negatif yönde etkili olduğu belirlendi. Ayrıca, infertilite tedavisinde verilecek uygun tedavi ajanlarının yanı sıra bir hedef organ olma özelliğinden ötürü endometriyum doku yanıtlarının da araştırılması gerekliliği ortaya çıkarıldı.

SUMMARY

Structure Of Premenstrual Endometrium In Menotropin Induced Anovulatory Women

«In» and «out of phase» criteria in the transformations of the glandular and stromal tissue elements of late luteal phase endometria of the women already treated with human menopausal gonadotropin (HMG) and human chorionic gonadotropin (HCG) were endeavoured to determine after light and electron microscopic observations on a diagnostic base. 50 % of them was found responded successfully while 25 % was defective in glands and related cells, % 12.5 was defective in stroma and 12.5 % was inappropriate both in glands and stromal components.

Due to the above data, tissue elements were classified on a base of the synchronicity of transformation among different cells took place in endometrium. Ultrastructurally, some important cellular properties were considered such as the configuration of close cellular contracts in between the plasmalemmal interfaces of developing decidual and capillary endothelial cells, having none of the units of junctional complexes namely tight or gap junctions. Decidual cells did manifest as protein producers with highly elabora-

ted cisternae of granular endoplasmic reticulum and free ribosomes in their cytoplasms. None of the fine structural manifestation of steroid production could be detected in cytoplasms of decidual cells.

In conclusion, transformational behaviors of glandular and stromal endometrial cells were decided to have a crucial role in the endometrial receptivity of an implanting embryo. Besides, requirement of an appropriate hormonal therapy regimen in an infertility treatment, a precise tissue evaluation of the endometrium was also required as being an end-organ.

NOT

Bu çalışma yazarın uzmanlık tezinin kısaltılmış şekli olup Ankara Üniversitesi Araştırma Fonunun 90090012 numaralı desteğiyle gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Birkenfeld A ve ark : Advanced secretory changes in the proliferative human endometrial epithelium following clomiphene treatment, Fertil Steril 45 : 462, 1986.
2. Cooke ID Morgan CA Parry TE : Correlation of endometrial biopsy and plasma progesteron levels in infertile women, J Obster Br Comm 79 : 647, 1972.
3. Cornillie FJ Lauweryns JM Brosen IA : Normal human endometrium. An ultrastructural survey, Gynecol Obstet Invest 20 : 113, 1985.
4. Dallenbach-Hellweg G : The endometrium in natural and artificial luteal phases, Hum Reprod 3 : 165, 1988.
5. Dallenbach-Hellweg G : Histopathology of the Endometrium, 4. bası, 1987, Springer Verlag, sayfa : 64-81, 136-143,
6. Dockery P ve ark : The ultrastructure of the glandular epithelium in the timed endometrial biopsy, Hum Reprod 3 : 826, 1988.
7. Dockery P ve ark : An examination of the variatoin in timed endometrial biopsies, Hum Reprod 3 : 715, 1988.
8. Garcia JE ve ark : Advanced endometrial maturation after ovulation induction with human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization, Fertil Steril 41 : 31, 1987.

9. Henzl MR ve ark : Lysosomal concept of menstrual bleeding in human, *J Clin Endocrinol* 34 : 860, 1972.
10. Johannisson E ve ark : Endometrial morphology and peripheral hormone levels in women with regular menstrual cycles, *Fertil Steril* 48 : 401, 1987.
11. Law AM Wilson EW Finn CA : The ultrastructure of human decidual and pre-decidual cells, *J Reprod Fertil* 26 : 85, 1971.
12. Li TC ve ark : A comparison between two methods of chronological dating of human endometrial biopsies during the luteal phase and their correlation with histologic dating, *Fertil Steril* 48 : 928, 1987.
13. Li TC ve ark : A new method of histologic dating of human endometrium in the luteal phase, *Fertil Steril* 50 : 52, 1988.
14. Martel D ve ark : Scanning electron microscopy of postovulatory human endometrium in spontaneous cycles stimulated by hormone treatment, *J Endocrinol* 114 : 319, 1987.
15. Murphy CR Rogers AW : Effects of ovarian hormones on cell membranes in the rat uterus. III. Surface carbohydrates at the apex of the luminal epithelium, *Cell Biophys* 3 : 305, 1981.
16. Noyes RW Hertig MD Rock J : Dating the endometrial biopsy, *Fertil Steril* 1 : 3, 1950.
17. O'Shea JD Kleinfeld RG Morrow HA : Ultrastructure of decidualization on the pseudopregnant rat, *Am J Anat* 166 : 271, 1983.
18. Psychoyos A Martel D : Problems related to the implantation of the human egg after in vitro fertilisation, *Acta Eur Fertil* 16 : 107, 1985.
19. Robertson WB : A reappraisal of the endometrium in infertility, *Clin Obstet Gynaecol* 11 : 209, 1984.
20. Scott RT ve ark : The interobserver variation in dating endometrial histology on the diagnosis of luteal phase defects, *Fertil Steril* 50 : 888, 1988.
21. Seif MW Aplin JD Buckley CH : Luteal phase defect : the possibility of an immunohistochemical diagnosis, *Fertil Steril* 51 : 273, 1989.
22. Sundstrom P Nilsson O Liedholm P : Scanning electron microscopy of human preimplantation endometrium in normal/human chorionic gonadotropin-stimulated cycle, *Fertil Steril* 40 : 442, 1983.

23. Tekelioğlu-Uysal M Edwards RG Kışnişçi HA : Ultrastructural relationships between decidua, trophoblast and lymphocytes at the beginning of human pregnancy, *J Reprod Fert* 42 : 431, 1975.
24. Umapathysivam K ve ark : Morphological characteristics and protein profile of isolated human decidual cells, *Europ J Obstet Gynec Reprod Biol* 15 : 141, 1983.
25. Verma V : Ultrastructural changes in human endometrium at different phases of the menstrual cycle and their functional significance, *Gynecol Obstet Invest.* 15 : 193, 1983.
26. Wentz AC : Endometrial biopsy in the evaluation of infertility, *Fertil Steril* 33 : 121, 1980.
27. Wentz AC ve ark : Outcome of progesterone treatment of luteal phase inadequacy, *Fertil Steril* 41 : 856, 1984.
28. Witten BI Martin SA : The endometrial biopsy as a guide to the management of luteal phase defect, *Fertil Steril* 44 : 460, 1988.
29. Wynn RM : Ultrastructural development of the human decidua, *Am J Obstet Gynecol* 118 : 652, 1974.
30. Wynn RM Woolley RS : Ultrastructural cyclic changes in the human endometrium, *Fertil Steril* 18 : 721, 1967.