

Preimplantasyon Sürecindeki Keçilerin Dişi Genital Kanal Organlarında Plazma Hücreleri ve Alfa Naftil Asetat Esteraz Pozitif Lenfositlerin Dağılımı

Turan KARACA¹ Mecit YÖRÜK¹ Sema USLU¹ Barış Atalay USLU² Yunus ÇETİN³

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Van, Türkiye

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama AD, Van, Türkiye

³ Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji AD, Burdur, Türkiye

Geliş tarihi: 20.02.2009

Kabul Tarihi: 01.04.2009

ÖZET

Bu çalışmada, keçilerde preimplantasyonun 6. gününde (Deneme grubu) ve anöstrusde (Kontrol grubu) dişi genital kanal organlarında plazma hücreleri ile alfa-naftil asetate esteraz (ANAE) (+) lenfositlerin dağılımının belirlenmesi amaçlandı. Çalışmada 2-4 yaşlarında, 12 adet renkli tiftik keçisi kullanıldı ve 2 eşit gruba ayrıldı. Keçilerden alınan doku örneklerinden bir kısmından kriyostat kesitler hazırlanarak ANAE (+) lenfositleri belirlemek için ANAE enzim demonstrasyonu yapıldı. Doku örneklerinin diğer yarısı formol-alkol ile tespit edilerek plazma hücrelerinin belirlenmesi için rutin parafin kesitler hazırlandı. Kontrol grubuna göre preimplantasyon (deneme) grubunda hem ANAE (+) lenfositlerin hem de plazma hücrelerinin sayısının azaldığı belirlendi. Bununla birlikte, plazma hücrelerinin sayısının deneme grubunda korpus uteri, kornu uteri ve tuba uterinada, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı belirlendi ($p < 0.05$). ANAE (+) lenfositlerin deneme grubunda en yoğun olarak kornu uteride, en az olarak da serviks uteri ve tuba uterinada tespit edildi. Sonuç olarak, preimplantasyon sürecinde keçi genital kanal organlarında, plazma hücreleri ile ANAE (+) lenfositlerin sayısal dağılımlarının fizyolojik değişimlere bağlı olarak değiştiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler

Preimplantasyon, Plazma hücresi, Lenfosit, Keçi

Distribution of Plasma Cells and Alpha-Naphthyl Acetate Esterase (ANAE) Positive Lymphocytes in the Reproductive Tract of Female Goats in the Preimplantation Phase

SUMMARY

This study was carried out to determine distribution of plasma cells and alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE) positive lymphocytes in the female reproductive tract organs at 6th day of the preimplantation phase (Experimental group) and anoestrus (Control group) in goats. Twelve 2-4 years old Coloured Mohair goats were used, and they divided into two groups of 6 goats each. The cryostat sections were stained with the ANAE in order to observed ANAE (+) lymphocytes. One piece of tissues fixed in formol - alcohol (for plasma cells) and cross-sections were processed routinely the paraffin technique. ANAE (+) lymphocytes and plasma cells were decreases in the 6th day of preimplantation (Experimental group) compared to control group. However, in the corpus uteri, cornu uteri and tuba uterine, numbers of plasma cells were significantly decreased in the 6th day of preimplantation group compared to control group. The numbers of ANAE (+) lymphocytes in the cornu uteri were highest in the experimental group, and these cells were observed minimum in the cervix uteri and tuba uterina, respectively. It was concluded that distribution of plasma cells and ANAE (+) lymphocytes can vary depending on some physiological alterations the preimplantation phase in goat female tract organs.

Key Words

Preimplantation, Plasma cell, Lymphocyte, Goat

GİRİŞ

Dişi genital sistemin Müller kanalından gelişen boşluklu organlarının duvar yapısı farklı özellikler gösteren alt birimlerden meydana gelmiştir (Bank 1984). Dişi genital kanal, bronşial ve intestinal mukozaya gibi çevresel etkilere maruz kalan mukozal sistemin bir parçasıdır (Parr ve Parr 1994). Dişi genital kanal organlarının immünolojik tepkileri diğer lokal mukozal immünolojik sistemlerle (solunum sistemi, sindirim sistemi vb) karşılaştırıldığında spesifik ve östrüs siklusunun evrelerine göre değişmektedir (Yalçın 2001). Östrüs siklusu süresince bütün memelilerin dişi genital organlarında seks hormonlarının değişimine bağlı olarak proliferasyon

görülmektedir. Hormonal değişime bağlı olarak, gebelik süresince lökositler endometriyum ve serviks dokusunda yoğunlaşmakta, uterus ve serviks lumenine geçmektedir (Engelhard ve ark. 2002; Milo ve ark. 2004). Genital kanaldaki luminal sıvılarda bulunan spesifik antikorlar, enfeksiyonlara karşı görev yaparlar. Bu antikorlar, mukozal yüzeylerde enfeksiyonların başlaması için ön koşullardan olan mikroorganizmaların epitele tutunmasını inhibe edebilmektedir (Hawk ve ark. 1964).

Lenfositler, antijen tanınması ve bunlara karşı hücrel ve humoral immün cevabın oluşması, hücreler arası ilişkilerin düzenlenmesi, otoimmünite, transplantasyon vb. reaksiyonlarda işlev gören immunokompetan özelliklere

sahip hücrelerdir. Lenfositler orijinleri, hücre yüzey reseptörü, lenfoid organlarda yerleşimleri ve yaşam süreleri açısından farklılıklar gösteren hücrelerdir. Lenfositler, lökositlerin agranüler alt sınıfından olup T-lenfositler (T- hücreleri) ve B-lenfositler (B-hücreler) diye ikiye ayrılırlar. Plazma hücresi B-lenfositlerin farklılaşması ile oluşan, tek bir immunoglobulin sınıfı sentezleyen ve salgılayan bağ dokusu hücresidir (Engelhard ve ark. 2002). Kemik iliğinde şekillenip, olgunlaşan B-lenfositler kana geçerek sekonder lenfoid organlara yerleşirler. Bu organlarda plazma hücresine ve bellek hücrelere dönüşürler. Bu dönüşümün olabilmesi için B-lenfositlerin, T-lenfositler ve makrofajlar tarafından salınan interlökin ve interferon gibi farklılaşma faktörleri ile etkileşmesi gerekir (Bonatz ve ark. 1992).

Alfa naftil asetat esterase (ANAE) lökositlerin farklı tiplerinde ayırıcı olarak kullanılan yaygın, aktif, lizozomal bir enzimdir (Inoue ve ark.191). ANAE demonstrasyonu ile keçi (Aştı ve ark. 1996; 1997; Karaca ve ark. 2007), sığır, köpek, koyun, at, tavuk, ratlarda, kedi (Aştı ve ark. 1997) ve ördek (Karaca ve ark. 2006) T-lenfositler pozitif olarak belirlenebilmektedir. ANAE demonstrasyonunda pozitif T lenfositler sitoplazmalarında lokalize olan 1-4 adet, kırmızimsı-kahverengi granüle sahip olarak görülürler (Aştı ve ark. 1996; 1997; Karaca ve ark. 2006; Karaca ve ark. 2007).

İmplantasyon ve gebelik, uterus ve gelişmekte olan fötüs arasındaki hücresel etkileşmelerden dolayı oldukça karmaşık bir süreçtir. Yapılan literatür taramalarında keçilerin genital kanal organlarında preimplantasyon sürecinde plazma hücreleri ve T-lenfositlerin dağılımıyla ilgili çok az çalışmaya rastlandı. Sunulan bu çalışma, keçilerin preimplantasyon fazında ve östrüs siklusünün anöstrüs evresinde uterus, tuba uterina ve servikste plazma hücreleri ile ANAE pozitif lenfositlerin dağılımlarının belirlenmesi amacıyla planlandı.

MATERYAL ve METOT

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi çiftliğinden elde edilen 12 adet yetişkin sağlıklı dişi keçi 6'şarlı 2 eşit gruba (Deneme ve Kontrol Grupları) ayrıldı. Deneme grubundaki keçilere 7 gün süre ile intravaginal sünger (CIDR-G) uygulandı. Bu sürenin sonunda süngerler çıkarılarak süper ovulasyon amacıyla intramusküler 1000 IU PMSG (eCG) uygulandı. Östrüsü belirlenen keçilerin yanına sağlıklı fertil 2 yetişkin oğlak bırakıldı. Doğal yolla aşımaları yapılan keçiler çiftleşmenin 6. günü (Deneme grubu) ve kontrol grubunu oluşturan anöstrüsteki (plazma progesteron seviyesi 2ng/ml'nin altında) keçiler kesime gönderildi. Deneme grubunu oluşturan deneklerin kesim sonrası uterusları, %10 keçi serumu ilave edilmiş fosfat tamponu ile yıkandı. Yıkama sonucu embriyo tespit edilenlerin ovaryumlarında korpus luteumlar kontrol edildi. Deneme (gebelik tespit edilen) ve anöstrüs grubundaki keçilerin tuba uterinalarının değişik bölümlerinden (ampulla, isthmus ve infundibulum), korpus ve kornu uterileri ile servikslerinden histolojik incelemeler için doku örnekleri alındı. Alınan doku örneklerinin bir kısmı formol-alkolde 24 saat süreyle tespit edildi. Tespit solüsyonundaki doku örneklerine bilinen histolojik doku takipleri uygulandı. Doku takibi sonrasında örnekler paraplast ile bloklandı. Hazırlanan bloklardan rotary mikrotomda 6 µm'lik kesitler alındı ve kesitlere plazma hücrelerini belirlemek için metil green-pironin boyama yöntemi uygulandı (Bankroft ve Cook 1984). Metil green-pironin ile boyanan plazma hücrelerinin sayısal dağılımlarını belirlemek için yapılan hücre sayımında 100 kare oküler mikrometre kullanıldı.

Belirlenen bölgelerde 40'lık objektifte 100 kare içerisine düşen birim alandaki hücre sayımları yapıldı. Elde edilen rakamların aritmetik ortalaması alındı. 100 kare oküler mikrometrenin kapsadığı alandaki ortalama plazma hücre sayısı belirlendi. Mikrometrik lam yardımıyla 40'lık objektifte 100 kare oküler mikrometrenin alanı saptandı (Böck 1989). Daha sonra tüm sayısal veriler 1mm²'lik birim alandaki plazma hücre sayısına dönüştürüldü.

Alınan dokulardan bir kısmı ise ANAE pozitif hücreleri belirlemek için formol-sukroz solüsyonuna alındı ve 22 saat süreyle +4°C tespit edildi. Bunu takiben ikinci tespit için doku örnekleri +4°C de Holt solüsyonunda 22 saat daha tutuldu (Aştı ve ark. 1997). Kriyostat ile 8-10µm kalınlığında kesitler alındı. ANAE pozitif hücreleri belirlemek için literatüre göre hazırlanan inkübasyon solüsyonunda pH 6.4 de 30 dakika süre ile inkübe edildi (Aştı ve ark. 1996; 1997). Enzim demonstrasyonundan sonra ise metil green ile 10 dakika çekirdek boyaması yapıldı. Dereceli alkollerden geçirilerek suyu giderilen preparatlar, ksilolde parlatıldı ve entellan ile kapatılarak incelendi. ANAE (+) lenfositlerin farklı dokulardaki dağılım yoğunluğunu belirlemek için 1'den 4'e skorlama; az (+), orta (++) , çok (+++) ve çok fazla (++++) şeklinde yapıldı (Wight 1970).

Çalışmanın plazma hücreleri ile ilgili istatistiksel analizleri, SPSS 12.0 paket programı (SPSS for Windows) ile yapıldı. Deneme ve kontrol grubu değerleri arasındaki farklılıkların tespitinde Student - t testi kullanıldı.

BULGULAR

Plazma hücresi ve ANAE (+) lenfositlerin genital kanal organlarındaki dağılımları Tablo 1 ve 2'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Plazma hücrelerinin dişi genital kanal organlarındaki dağılımı. (n=6)

Table 1. Plasma cell distribution in female reproductive tract organs (n=6)

Gruplar	Uterus		Serviks	Tuba uterina
	Korpus	Kornu		
Kontrol (Anöstrüs)	58.11±13.7 ^a	64.7±11.5 ^a	54.3±8.9 ^a	48.16±10.4 ^a
Deneme Grubu	41.5±13.1 ^b	55.14±12.7 ^b	50.8±9.7 ^a	39.4±8.7 ^b

a, b: Aynı sütunda yer alan farklı harfler arasında istatistiksel olarak fark önemlidir (p<0.05)

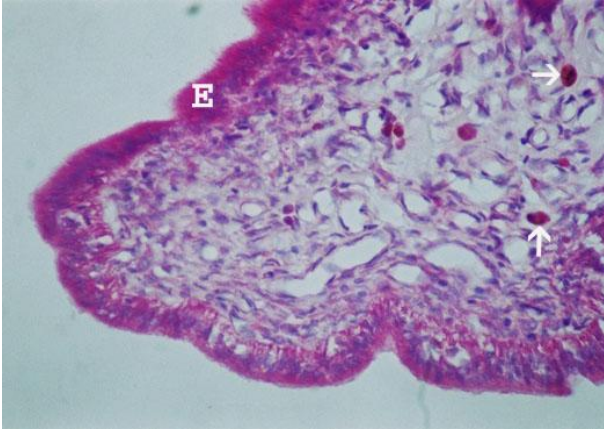
Tablo 2. ANAE (+)T-lenfositlerin keçi dişi genital kanal organlarındaki dağılımları.

Table 2. Distribution of ANAE-positive T-lymphocytes in female reproductive tract organs

Gruplar	Uterus		Serviks	Tuba uterina
	Korpus	Kornu		
Kontrol (Anöstrüs)	+++	++++	+++	++
Deneme Grubu	++	+++	+	+

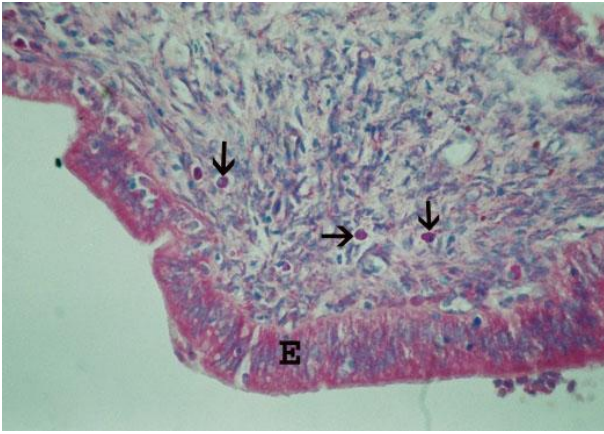
Az: (+), orta: (++) , çok: (+++) , oldukça fazla sayıda: (++++)
ANAE (+) lenfosit n= 6.

Plazma hücre sayısı, hem preimplantasyon hem de anöstrüs grubu keçilerin endometriyumda miyometriyuma göre daha fazla olduğu belirlendi. Benzer şekilde plazma hücresi sayısı preimplantasyonun 6. gününde (deneme grubu) kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha azdı (p<0.05; Şekil 1, 2, 3).



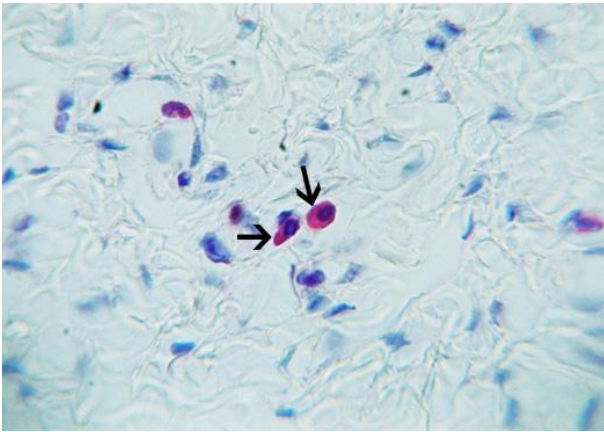
Şekil 1. Korpus uteride plazma hücrelerinin görünümü. **E:** Lamina epitelyalis, **Okklar:** Plazma hücreleri, (Deneme gr.). Metil green-pironin, 360X.

Figure 1. Plasma cells in the corpus uteri. **E:** Lamina epithelialis mucosae, **Arrows:** Plasma cells, (Experimental group). Methyl green-pyronine, 360X.



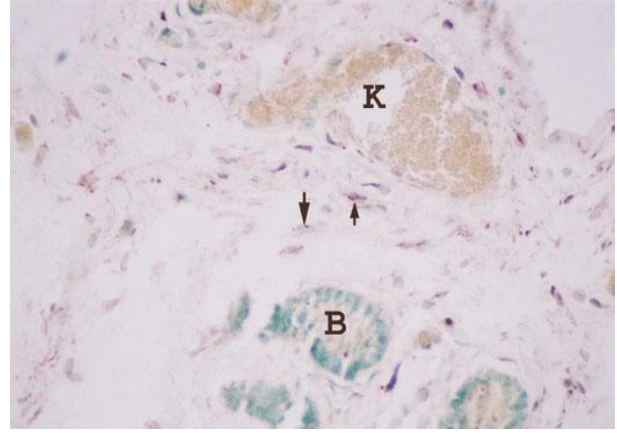
Şekil 2. Kornu uteride plazma hücreleri. **E:** Lamina epitelyalis, **Okklar:** Plazma hücresi, (Kontrol gr.). Metil green-pironin, 360X.

Figure 2. Plasma cells in the cornu uterine. **E:** Lamina epithelialis mucosae, **Arrows:** Plasma cells, (Control group). Methyl green-pyronine, 360X.



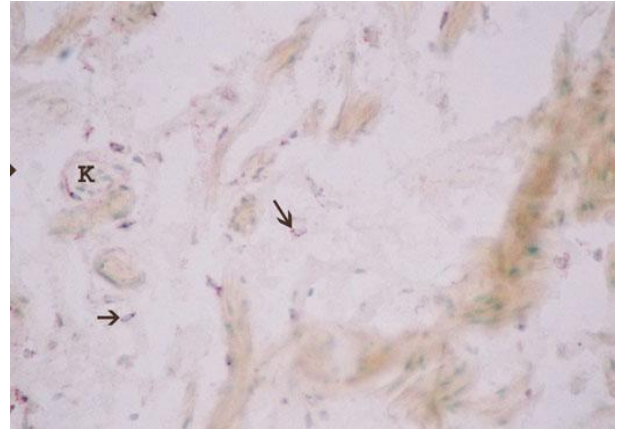
Şekil 3. Korpus uteride plazma hücrelerinin dağılımı. **Okklar:** Plazma hücresi, (Deneme gr.), Metil green-pironin, 720X.

Figure 3. Plasma cells in the corpus uteri. **Arrows:** Plasma cells, (Experimental group). Methyl green-pyronine, 720X.



Şekil 4. Endometriyumda ANAE (+) lenfositlerin görünümü. **K:** Kan damarı, **B:** Uterus bezi, **Okklar:** ANAE (+) lenfositler. Alfa naftil asetat esteraz, (Deneme gr.), 360X.

Figure 4. ANAE (+) lymphocyte staining in the endometrium. **K:** Blood vessel, **B:** Uterine gland, **Arrows:** ANAE-positive T lymphocytes, ANAE, (Experimental group), 360X.



Şekil 5. Miyometriyumda ANAE (+) lenfositlerin görünümü. **K:** Kan damarı, **Okklar:** ANAE (+) lenfositler. Alfa naftil asetat esteraz, (Deneme gr.), 360X.

Figure 5. ANAE (+) lymphocyte staining in the myometrium. **K:** Blood vessel, **Arrows:** ANAE-positive T lymphocytes, ANAE, (Experimental group), 360X.

Plazma hücreleri tuba uterina ve serviks bölgelerinde daha çok lamina propriyanın lamina epitelyalise yakın üst bölgelerinde yerleştikleri gözlemlendi. ANAE (+) lenfositlerin sitoplazmasında, 1-3 arasında değişen sayıda kırmızımsı-kahverengi tonlarında boyanan granüller izlendi. ANAE (+) lenfositlerin sayısal dağılımı uterusun endometriyum ve miyometriyumunda, preimplantasyonun 6. gününde (Deneme grubu) kontrol grubuna göre daha az olduğu saptandı. ANAE (+) lenfositlerin, endometriyumda daha yoğun olarak uterinal bezler çevresinde ve subepitel olarak yerleştikleri belirlendi (Şekil 4, 5). Tuba uterininin bölümlerinde ve servikste gözlenen ANAE (+) lenfositlerin, kontrol grubuna göre deneme grubunda daha az olduğu saptandı.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan bu çalışmada, preimplantasyonda ve anöstrüsdeki keçilerin dişi genital kanal organlarında plazma hücreleri ve ANAE (+) lenfositlerin dağılımları incelenmiştir. Araştırma bulgularında, plazma hücresi ve ANAE (+) lenfositlerin sayısal dağılımlarının preimplantasyon evresinde dişi genital organlarında anöstrüs grubuna göre

değiştirdiği saptanmıştır. Farklı türlerde yapılan araştırmalarda, plazma hücrelerinin östrüs süresince domuzda arttığı, kısıraklarda ise değişmediği bildirilmiştir (Hussein ve ark. 1983; Watson ve Thomson 1996). Yapılan başka bir çalışmada (Koç 1999), implantasyonun 1. gününde endometriyumda plazma hücrelerine çok miktarda rastlanmıştır ama takip eden 2. ve 3. günlerde sayısal olarak azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada (Koç 1999), implantasyonun 5 ve 6. günlerinde plazma hücrelerinin sayısının yükseldiği belirlenmiştir. Farelerde yapılan bir çalışmada, implantasyonun 1. ve 2. günlerinde plazma hücrelerinin sayısal olarak arttığı belirlenmiştir (Parr ve Parr 1985). Sunulan bu çalışmada, preimplantasyonda plazma hücrelerinin kontrol grubuna göre azaldığı yine de, bu hücrelerin endometriyumdaki varlığı kanal organlarına immunoglobulinlerin salgılandığını göstermektedir.

Sunulan bu araştırmada, plazma hücreleri kontrol grubu kornu uteri, korpus uteri ve tuba uterinalarında sırasıyla 58.11 ± 13.7 ; 64.7 ± 11.5 ve 48.16 ± 10.4 olarak belirlenirken, deneme grubunda ise, sırasıyla 41 ± 5 ; 55.14 ± 12.7 ve 39.4 ± 8.7 oldukları belirlendi ve bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$). Serviks uteride ise kontrol grubunda 54.3 ± 8.9 , deneme grubunda ise plazma hücrelerinin sayısı 50.8 ± 9.7 olduğu belirlendi ve değerler arasındaki anlamlılık istatistiksel olarak önemli değildi ($P > 0.05$).

Martinez ve ark. (Martinez ve ark. 2005) gebe olmayan keçilerde yaptıkları bir araştırmada, intraepitelyal lenfositlerin (IEL) karüncüller arası epitel içinde ve özellikle de bu epitelin bazal kısımlarında yoğunlaştıklarını bildirmişlerdir. Ratlarda yapılan bir çalışmada, IEL hem yüzey epitelinde hem de salgı epitelinde diöstrüs evresinde proöstrüs evresine göre oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. İmplantasyon öncesi (gebeliğin 5. gününde) IEL'lerin luminal epitelde azaldığı, bununla birlikte gebeliğin 7 ve 9. günlerinde implantasyon alanlarında daha da düştüğü bildirilmiştir (Sawick ve ark. 1988).

Koç (1999) ratlarda yaptığı araştırmada, implantasyonun 1. gününde ANAE (+) T-lenfositlere şekillenmekte olan desidual alanda seyrek olarak rastlandığı ama 2. ve 3. günlerinde desidual alanlarda bu hücrelerin sayısında bir artış olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte aynı çalışmada, implantasyonun 4, 5 ve 6. günlerinde ANAE (+) T-lenfositlerin sayısında desidual alanda bir azalma olmakla beraber, miyometriyal alanda artışın sürdüğü saptanmıştır. Ankara keçilerinde yapılan bir araştırmada (Karaca ve ark. 2007), uterusda ANAE (+) T-lenfositlerin östrüsün 10 ve 16. günlerinde 5. güne göre daha yüksek sayıda oldukları bildirilmiştir. Sunulan bu çalışma, ANAE (+) lenfositlerin preimplantasyon grubunda kontrol gruba göre daha az olması ve uterinal bezlerin yakınlarında yerleşmesi bakımından Koç'un (1999) çalışması ile benzerlik göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, implantasyon sürecinde endometriyum lökositlerinin % 20'si T-lenfositlerden oluştuğu belirlenmiştir (Bulmer ve ark. 1991). De ve ark. (1991) yaptıkları çalışmada, lenfositlerin implantasyonun 2. gününde 1. güne göre desidual alanda ve endometriyumda artış gösterdiğini saptamışlardır. Bu araştırmada ise, preimplantasyondaki keçilerin uterus, serviks ve tuba uterinalarında kontrol gruplarına göre ANAE (+) lenfositlerin sayısında bir azalmanın olduğu gözlenmiştir (Tablo 1).

Yapılan bir araştırmada (Hawk ve ark. 1964), koyun ve sığırların uterusunda immun fonksiyonunun sekretorik

evrede zayıfladığı bildirilmiştir. İnsanlarda yapılan çalışmalarda (Bonatz ve 1992; King ve ark. 1989), seksüel siklusun ovulasyonun olduğu 14. ve 15. günlerinden 28. gününe kadarki dönemi kapsayan sekretorik evresinde, T-lenfositler, makrofajlar ve doğal öldürücü hücrelerin sayısal olarak arttıkları belirlenmiştir. De ve ark. (De ve ark. 1993), uterusda çiftleşme, implantasyon ve plasental gelişim ile ilişkili olarak makrofajların sayısının artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Martinez ve ark.'nın (2002) gebe keçilerde yaptıkları çalışmada, IEL'ler plasentomlar arasındaki epitel içinde yerleştikleri saptanmıştır. Sunulan bu çalışmada, ANAE (+) lenfositlerin kontrol grubu keçilerde endometriyum epitelinde, endometriyum stromasında ve uterus bezleri yakınlarında yerleştikleri saptandı. Deney grubun da ise bu hücrelerin daha çok epitel altı bağdokuda ve bezler çevresinde yoğunlaştıkları belirlendi.

Sonuç olarak, keçilerin dişi genital kanal organlarında, endometriyum gibi bağdoku alanları ile kas katmanlarında preimplantasyonun 6. gününde hücre sel ve sıvısal immun sistem hücrelerinde sayısal ve yoğunluk değişimlerinin olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, uterus ve diğer dişi genital kanal organlarının duvar yapısında, preimplantasyon ve implantasyon süreçlerinde immun sistem hücrelerinin yoğunluk değişimlerinin belirlenmesi için daha ileri çalışmalara gereksinimin olduğu sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- Aştı RN, Alabay B, Kurtdede N, Altunay H, Ergün L (1996).** Farklı hayvan türlerinin perifer kan lökositlerinde alfa naftil asetat estera z aktivitesinin belirlenmesi. *AÜ Vet Fak Derg*, 43, 129-133.
- Aştı RN, Tanyolaç A, Kurtdede N, Özen A (1997).** T ve B Lenfositlerin Ankara Keçilerinin Lenfoid Dokularındaki Dağılımı. *Tr J Vet Anim Sci*, 21, 99-105.
- Banks WJ (1993).** Applied Veterinary Histology, Third Edition, Mosby Year Book, Missouri.
- Bankroft JD, Cook HC (1984).** Manuel of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York.
- Başaran A (2005).** Tıbbi Biyoloji, Genişletilmiş 7. Baskı, Güneş ve Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Bonatz G, Hansman L, Buchholz F, Mettler L, Radzun JH, Semm K (1992).** Macrophage and lymphocyte subtypes in the endometrium during different phases of the ovarian cycle. *Int Gynecol Obstet*, 37, 29-36.
- Böck P (1989).** Romeis Mikroskopische Technik, 17. Aufl., Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore.
- Bulmer JN, Longfellow M, Ritson A (1991).** Leukocytes and Resident Blood Cells in Endometrium. *Ann NY Acad Sci*, 622, 57-68.
- De M, Choudhuri R, Wood GW (1991).** Determination of the number and distribution of macrophages, lymphocytes, and granulocytes in the mouse uterus from mating through implantation. *J Leukoc Biol*, 50(3): 252-262.
- De M, Sanford T, Wood GW (1993).** Relationship between macrophage colony-stimulating factor production by uterine epithelial cells and accumulation and distribution of macrophages in the uterus of pregnant mice. *J Leukoc Biol*, 53, 240-248.
- Demir R (2006).** Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Engelhard H, Croy BA, King GJ (2002).** Conceptuses influence the distribution of uterine leukocytes during early porcine pregnancy. *Biol Reprod*, 66, 1875-1880.
- Fubara ES, Freter R (1973).** Protection against enteric bacterial infection by secretory IgA antibodies. *J Immunol*, 111, 395-403.
- Hawk HW, Brinsfield TH, Turner GD, Whitmore GW, Norcross, MA (1964).** Effect of ovarian status on induced acute inflammatory responses in cattle uteri. *Am J Vet Res*, 25, 362-366.
- Hussein AM, Newby TJ, Bourne FJ (1983).** Immunohistochemical studies of the local immune system in the reproductive tract of the sow. *J Reprod Immunol*, 5(1): 1-15.

- Inoue M, Yamamoto H, Hirara H (1991).** Ultrastructural cytochemical characterization of alpha-naphthyl acetate esterase in chicken monocytic cell lines. *J Vet Med Sci*, 53, 415-418.
- Karaca T, Arıkan Ş, Kalender H, Yörük M (2007).** Distribution and quantitative patterns of T lymphocytes in the female reproductive tract and ovary throughout the oestrus cycle of Angora Goats. *Medycna Wet*, 63(11): 1320-1323.
- Karaca T, Cemek M, Kanter M (2006).** Lipid peroxidation and antioxidant levels and alpha naphthyl acetate esterase activity of peripheral blood lymphocytes in mallard, Muscovy and Pekin ducks. *Acta Vet Brno*, 75, 33-38.
- King A, Wellings V, Gardner L, Loke WY (1989).** Immunocytochemical characterization of the unusual large granular lymphocytes in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Hum Immunol*, 24, 195-205.
- Koç A (1999).** Sçanlarda implantasyonda endometriyum dokusunun humoral ve hücrel savunma sistemi hücreleri üzerine histokimyasal ve histometrik arařtırmalar. Doktora Tezi, *YYÜ Sađ Bil Enst*, Van.
- Martinez MP, Luna J, Mena R, Romano, MC (2002).** Lymphocytes and T lymphocyte subsets are regionally distributed in the female goat reproductive tract: Influence of the stage of the oestrus cycle. *Res Vet Sci*, 72, 115-121.
- Martinez CM, Buendia AJ, Sanchez J, Navarro JA (2005).** Immunophenotypical characterization of lymphocyte subpopulations of the uterus of non-pregnant and pregnant goats. *Anat Histol Embryol*, 34(4): 240-246.
- Milo LA, Correa-Matos NJ, Donovan SM, Tappenden KA (2004).** Neutrophil and small intestinal lymphocyte migration after salmonella typhimurium infection: Impact of fermentable fiber. *J Pediatr Gastr Nutr*, 39, 73-79.
- Parr MB, Parr EL (1985).** Immunohistochemical localization of immunoglobulins A, G and M in the mouse female genital tract. *J Reprod Fertil*, 74, 361-370.
- Parr MB, Parr EL (1994).** Mucosal immunity in the female and male reproductive tracts. In: Handbook of Mucosal Immunology Eds; PI Ogra, J Mestecky, M E Lamm, W Strober, JR Mc Ghee, J Biennestock, New York: Academic Press.
- Sawicki W, Choroszewska A, Bem W, Strojny P (1988).** Lymphocyte number and distribution in the rat uterine epithelium during estrous cycle and early pregnancy. *Cell Tissue Res*, 253, 241-244.
- SPPS for Windows, (2003).** Release 12.0 Standart License, USA.
- Watson ED, Thomson RM (1996).** Lymphocyte subsets in the endometrium of genitally normal mares and mares susceptible to endometritis. *Equine Vet J*, 28, 106-110.
- Wight PAL (1970).** The mast cells of Gallus domesticus. I. Distribution and ultrastructure. *Acta Anat*, 75, 100-113.
- Yalçın A (2001).** Östrüs siklusunda dişi genital kanalındaki immun yanıt. *YYÜ Sađ Bil Enst*, Doktora Semineri, Van.