

1-1-1999

Distribution of Desmin and Vimentin in the Rat Endometrium During Early Pregnancy

EMİN TÜRKAY KORGUN

MEVLÜT ASAR

NECDET DEMİR

RAMAZAN DEMİR

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology>



Part of the [Biology Commons](#)

Recommended Citation

KORGUN, EMİN TÜRKAY; ASAR, MEVLÜT; DEMİR, NECDET; and DEMİR, RAMAZAN (1999) "Distribution of Desmin and Vimentin in the Rat Endometrium During Early Pregnancy," *Turkish Journal of Biology*. Vol. 23: No. 3, Article 1. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol23/iss3/1>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Biology by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

Erken Gebelik Döneminde Sıçan Endometriyumunda Vimentin ve Desmin'in Dağılımı*

Emin Türkay KORGUN, Mevlüt ASAR, Necdet DEMİR, Ramazan DEMİR
Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 03.10.1997

Özet: Bu çalışmada immünohistokimyasal yöntemlerle, erken gebelik döneminde olan sıçan endometriyumu stromal hücrelerinde vimentin ve desmin'in gebelik yaşına bağlı olarak ilk ortaya çıkışları ve dağılımlarında gösterdikleri değişikliklerle, desidual ve implantasyon biyolojisindeki rollerinin belirlenmesi amaçlandı. Bunun için gebeliğin 1-8.günleri arasında ergin toplam 64 dişi ve 32 erkek sıçan kullanıldı. Sıçan endometriyal stromal dokusunda gebeliğin 1.gününde vimentin, 3. gününde desmin antikorunun boyandığı gözlemlendi. Vimentinin erken gebelik döneminde varlığını sürdürmesine karşın desmin'in implantasyonun başladığı gebeliğin 5.günü takiben sadece antimezometriyal bölgede görülmesi dikkat çekici idi.

Sonuçta, sıçanda erken gebelik dönemindeki endometriyal stromada vimentin ve desmin'in hücre farklılaşma sürecine bağlı olarak farklı zamanlarda ortaya çıktığı, desidualizasyon için belirleyici bir reaksiyon veren desmin'in implantasyonla birlikte antimezometriyal alanda sınırlı kaldığı, desidualizasyon ve implantasyon olaylarında bu iki filamentin önemli görevler aldığı sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Endometriyum, Desidualizasyon, Implantasyon, Desmin, Vimentin, Sıçan.

Distribution of Desmin and Vimentin in the Rat Endometrium During Early Pregnancy

Abstract: The aim of these studies is to analyze, by immunohistochemical methods, the emergence and distribution of vimentin and desmin in stromal cells of rat endometrium in early pregnancy and determine their role in decidualization and implantation biology. For this purpose totally 1-8 days pregnant 64 female and 32 male rats were used.

On first day of pregnancy vimentin and third day of pregnancy desmin were staining respectively in the endometrial stromal tissue of rat. Although vimentin was seen during the early pregnancy, following the day 5 of pregnancy when the implantation begins interestingly desmin was only located in the antimezometrial region.

The results demonstrated that early pregnancy in endometrial stroma of rat the appearance time of vimentin and desmin was different because of cell differentiation process. The different reaction for decidualization which is presented by desmin was during implantation confined to the antimezometrial region. We concluded that these two intermediate filaments have important roles during decidualization and implantation process.

Key Words: Endometrium, Decidualization, Implantation, Desmin, Vimentin, Rat.

* E.T.Korgun'un master tezinden özetlenmiştir.

Giriş

Kemirgenlerde desidual endometriyum 5 farklı bölge gösterir: bazal zon, kapsül, antimezometriyal desiduama, mezometriyal desiduama ve glikojenik bölge (1). Sıçanda gebeliğin erken devrelerinde görülen desidualizasyon ve implantasyon olayları, uterusun antimezometriyal bölgesinde özellikle primer desidual alanda gerçekleşmektedir. Antimezometriyal desiduanın iç tabakası embriyoyu saran ileri derecede yassı, ara tabakası poligonal, miyometriyuma komşu dış tabakası predesidual hücrelerden yapılıdır (1). Gebeliğe yanıt, blastosist implantasyonundan hemen önce endometriyal stromal hücrelerin desidualizasyonu ile başlamaktadır. Embriyonun implante olmasından ve büyümesinden farklılaşmış stromal desidual hücreler sorumludur (1, 2). Desidualizasyonda endometriyal stromal hücrelerin büyüklüklerinde, biçimlerinde, organel dağılımlarında önemli değişiklikler olmaktadır, sekresyon ve sentez aktivitelerinde artışlar gözlenmektedir. Son yıllarda elde edilen bulgularla, desidualizasyonda DNA, RNA ve protein sentezi gibi hücresel olayların otokrin, parakrin gibi hücrelerarası etkileşme olaylarıyla eş zamanlı görüldüğüne işaret edilmesi oldukça ilginçtir (3, 4). Mikrotübül, mikrofilament ve ara filament gibi sitoplazmik yapılar hücresel morfolojinin ve fonksiyonunun belirlenmesinde olduğu kadar desidualizasyon süreci için de önemlidir. Molekül ağırlıkları sıra ile 55000 ve 57000 dalton olan ve tek bir subunitten oluşan ara filamentlerden vimentin ve desmin hücre iskeletini oluşturan en stabil komponentlerdir (5-7). Hücre içinde spesifik lokalizasyon gösteren bu iki filamentin hücre farklılaşması olaylarına da katıldıkları bilinmektedir. Vimentin bağ dokusu ve embriyonal hücrelerde geniş dağılım gösterirken desmin kas hücreleri ile sınırlıdır (5-7). Sıçan desidual stromal hücrelerinde vimentin ve desmin ara filamentlerinin varlığı, dağılımları ve muhtemel görevlerine yönelik araştırmalar konuya farklı boyutlar kazandırmıştır (8-10). Ara filament proteinlerini aşamalı olarak sentezleyip yeni model oluşturan insan dokusu çalışmaları bu konuya bir model oluşturabilir (11). Erken gebelik sürecinde Desmin ve Vimentin ara filament proteinlerin hücre farklılaşmasına yönelik davranış gösterdikleri son çalışmalarda belirlenmiştir. Ancak periyodik gebelik sürecinde bu proteinleri sentezleyen hücre türlerinin implantasyon odaklarına göre belirlenmesi gerekliliği dikkatten kaçmamaktadır.

Literatür bilgisinden de anlaşıldığı gibi desidualizasyon ve implantasyon olaylarının ara filament yapılarıyla ilişkileri hakkındaki bilgilerimiz eksiktir. Bu çalışmanın amacı erken gebelik döneminde olan sıçan endometriyal stromal hücrelerinde hücre içi ara filamentlerden vimentin ve desminin ilk ortaya çıkışlarına, dağılımlarına ve zamana bağlı olarak gösterdikleri değişikliklere bakılarak desidualizasyon ve implantasyon olaylarındaki muhtemel rollerini belirlemektir.

Materyal ve Metod

Bu araştırmada daha önce hiç çiftleşmemiş 64 dişi ve 32 ergin erkek albino sıçan (*Rattus norvegicus*) kullanıldı. Sıçanlar iki dişiye bir erkek olacak şekilde bir gece kafeste bırakıldılar. Ertesi sabah dişi sıçanların vajinalarına serum fizyolojik verildi. Ve bir pipetle vajinal sıvı çekilerek mikroskop altında incelendi. Vajinal sıvısında spermatozoit görülen dişi sıçanlar gebeliğin sıfırinci gününde kabul edildiler. Her gebelik günü için bir grup (her grupta 8 gebe sıçan) olmak üzere gebeliğin 1-8. günlerini kapsayan 8 ayrı çalışma grubu oluşturuldu. Gebeliğin 1-8. günlerinde uterusun implantasyon alanlarını belirlemek için eter anestezisi altında arka sağ femoral venden

%0.9 NaCl deki %1 lik Evans mavisinden 1 ml verildi. 10 dakika sonra hayvanların karın ön duvarı açıldı ve boyanma görülen uterus bölgelerinden doku örnekleri alındı. Bu örnekler küçük parçalar halinde 12 saat Holland fiksatifinde tespit edildi ve daha sonra sıra ile alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek parafine gömüldü.

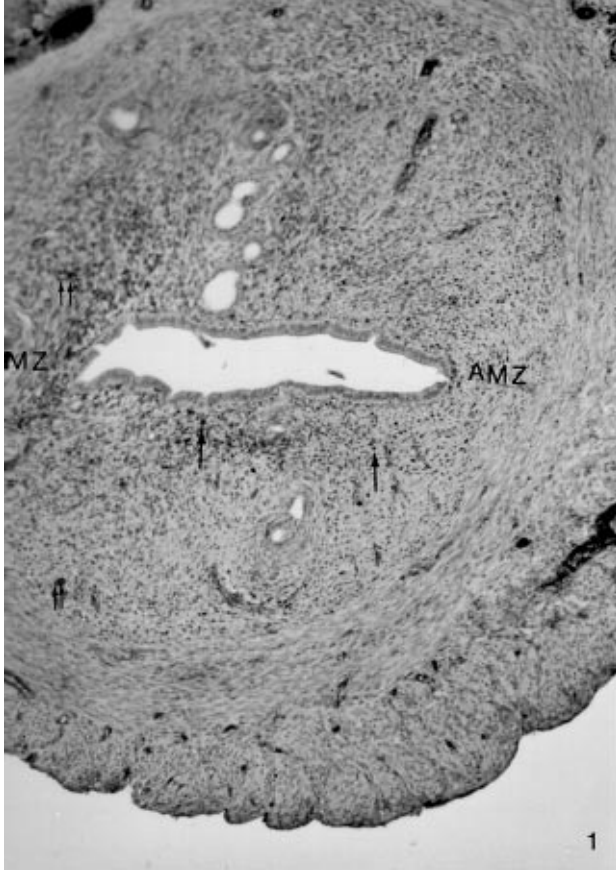
Poli-L-lisinle kaplı lamlara alınan 6-8 mikron kalınlığındaki parafin kesitler bir gece 60 derecelik etüvde bekletildi. Sıra ile ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek distile suya alındı. Fosfat tamponlu solusyonda (PBS; pH 7.2) 3x5 dakika yıkandı. Kesitler dokulardaki antijenik maskelenmenin ortamdaki kaldırılması için sitrat tamponuna (pH 6; 1000 ml distile su; 2.1 g sitrik asit, 15 ml NaOH) konuldu ve mikrodalga fırında 2x5 dakika, dışarda 20 dakika bekletildi. Lamlar PBS de yıkandı ve hidrofobik kalemle üzerindeki doku sınırları çizildi. Endogen peroksidaz aktivitesinin ortamdaki kaldırılması için sınırlanan dokular üzerine %3 lük hidrojen peroksit damlatıldı ve 20 dakika bekletildi. PBS ile yıkanan kesitler oda sıcaklığında ve nemli ortamda vimentin (mouse anti-vimentin, kodu N 1521, Dako) ve desmin (mouse anti-desmin, kodu N 1538, Dako) primer antikolarıyla 90 dakika boyandı. PBS ile yıkandı. Biyotinlenmiş sekonder antikorda ve streptavidin-peroksidaz kompleksinde 40 dakika boyandı. PBS ile yıkandı ve kromojen olarak diaminobenzidin de (DAB) 1-3 dakika boyandı. Distile suda yıkandı ve Mayer hemotoksileni ile 40 saniye zıt boyama yapıldı. Musluk suyunda yıkandı ve kapatma solusyonuyla kapatıldı. Bu boyama yönteminde kontrol kesitlerine primer antikor yerine PBS damlatıldı (12).

İmmünohistokimyasal boyaması yapılan doku kesitleri, Zeiss binoküler ışık mikroskopunda değerlendirildi ve fotograflandırıldı. Fotoğraflarda koyu siyah alanlar pozitifliği, açık renkte görülen alanlar negatifliği göstermektedir. Fotoğraf büyütmelerinde; fotoğrafların büyütmesi ile objektif büyütmesinin çarpımından çıkan sayısal sonuç orijinal büyütme (O.B.) olarak verildi.

Bulgular

Gebeliğin erken devresinde sıçan endometriyal stromal dokusunda vimentin ve desminin ortaya çıkış zamanları ile zaman içindeki dağılımlarında önemli farklar vardı.

Vimentin immünoreaktivitesi, gebeliğin 1. gününde mezometriyal-antimezometriyal bölgelerdeki stromal hücrelerde ve damar duvarı hücrelerinde gözlemlendi. Genelde immünoreaktivite, lümen komşu alanda kuvvetli, periferde zayıftı (Şekil 1). 1-8. günlerde antimezometriyal bölgede özellikle primer desidual alanda kuvvetli olmak üzere her iki alanda da varlığını sürdürdü. 4. günde antimezometriyal bölgede mezometriyal bölgeye göre kuvvetli boyanma vardı. Bu devrede endometriyal dokuda ileri damarlanma gözlemlendi (Şekil 3). 5. günde her iki bölgede de özellikle primer desidual alanda boyanma kuvvetliydi. Gebeliğin ilk 4 gününde glandular epitelde ve uterus epitelinde herhangi bir reaktivite gözlenmemesine karşın bez epiteli bazalinde dar odaklar halinde pozitif reaktivite gösterdi (Şekil 5). 6. günde blastosistin antimezometriyal bölgede lümen epiteline tutunduğu ve böylece implantasyonun ilk belirtisi fiziksel temasın sürdüğü belirlendi. Epitelin bu bölgelerinde invaziv bozulmalar vardı. Bu devrede blastosiste komşu desidual doku çok yoğun boyandı (Şekil 7). 8. günde embriyonun enine kesitlerinde blastosist uterus kriptasında bir halka şeklinde gözlemlendi. Gebeliğin bu döneminde primer desidual alana kıyasla sekonder desidual alanda boyanma kuvvetliydi (Şekil 9).



Şekil 1. Siçan uterus duvarından enine bir kesitin genel görünümü. Gebeliğin 1. gününde, mezometriyal (MZ)- antimezometriyal (AMZ) bölgelerde vimentin immünoreaktivitesi vermiş desidual hücreler (tek okla) ve damar duvarı hücreleri (çift okla). O.B. X 25.

Desmin immünoreaktivitesi ilk olarak gebeliğin 1. gününde myometriyal düz kas hücrelerinde görüldü (Şekil 2) ve 8. güne kadar da pozitif. Endometriyal dokuda ilk olarak gebeliğin 3. gününde desidual reaksiyonun habercisi niteliğindeki alanlarda desmin pozitif sonuçlar alındı. Lümen çevresinde stromal ve damar duvarı hücrelerindeki bu pozitif immünoreaktivite 5. güne kadar kuvvetli artış gösterdi. Boyanma genelde lümen çevresinde kuvvetli periferde zayıftı (Şekil 4, 6). 6. günde antimezometriyal bölgede blastosist trofoblastı invazyonuna bağlı olarak epitelde yer yer bozulmalar görüldü. 6-7. günlerde boyanma antimezometriyal bölgede sınırlı kaldı (Şekil 8). 8. günde desmin boyanması dramatik bir şekilde azaldı. Sekonder desidual alanda hücre grupları pozitif reaksiyon vermesine karşın primer desidual alanda boyanma çok azdı (Şekil 10). Erken gebelik döneminde blastosist trofoblast hücreleri vimentin ve desmin antikolarıyla boyanmadı. İmplantasyonu takip eden günlerde endometriyal bezlerin periferde lokalize oldukları görüldü.



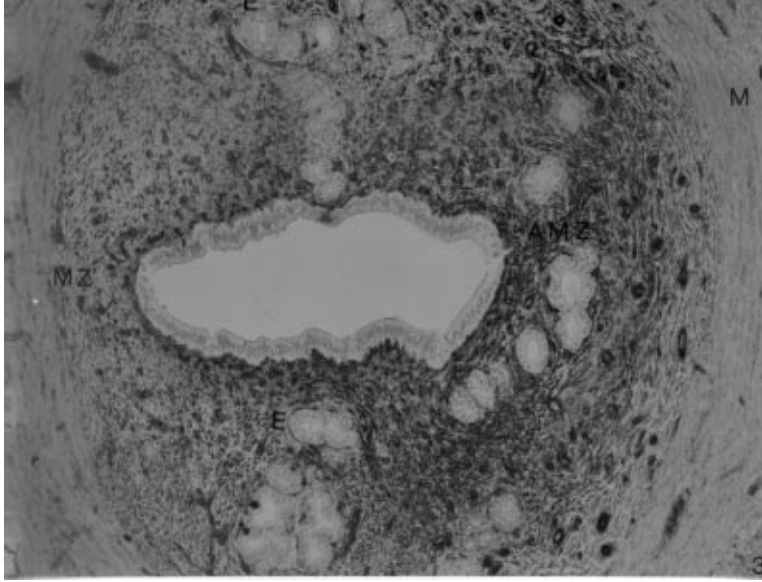
Şekil 2. Gebeliğin 1. gününde desminle koyu boyanmış miyometriyum (M) katı görülüyor. O.B. X 25.

Tartışma ve Sonuç

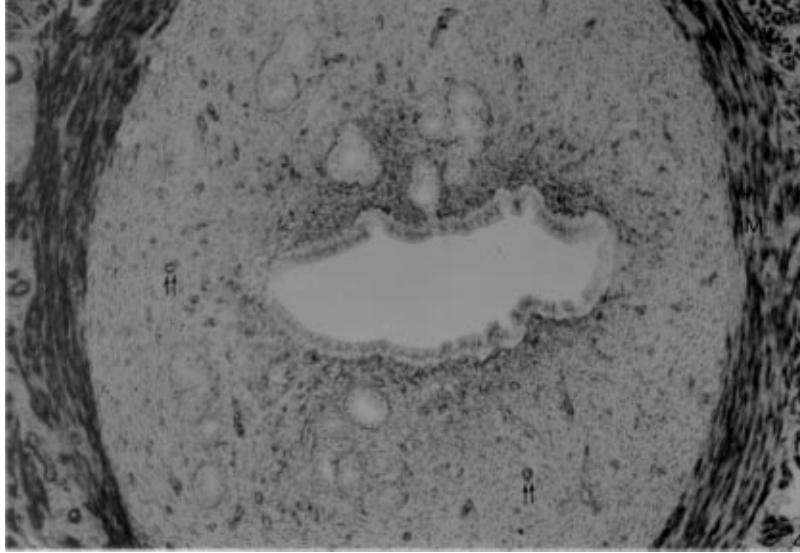
Desidual stromal dokulardan kaynaklandığı bilinen bir çok sekretuar ve yapısal proteinin hücrel orijini hakkındaki bilgiler henüz tartışmalıdır. Bu peptid ve proteinlerin örneğin desidual hücreler, epitel hücreleri ya da lenfoid hücrelerden orijin alıp almadığı tartışmaya açıktır ve desidual stromal hücrelerde sentezlenen yapısal proteinlerin belirlenip tanınmasında önemli bazı gelişmeler olduğu, yapılan çeşitli araştırmalardan anlaşılmaktadır (8-10).

Glasser ve arkadaşları (10) sıçanda desidualizasyonun başlangıcında vimentin ve desmin sentez oranının 3.76 kat arttığını ve desminin vimentinden daha hızlı sentezlendiğini göstermişlerdir.

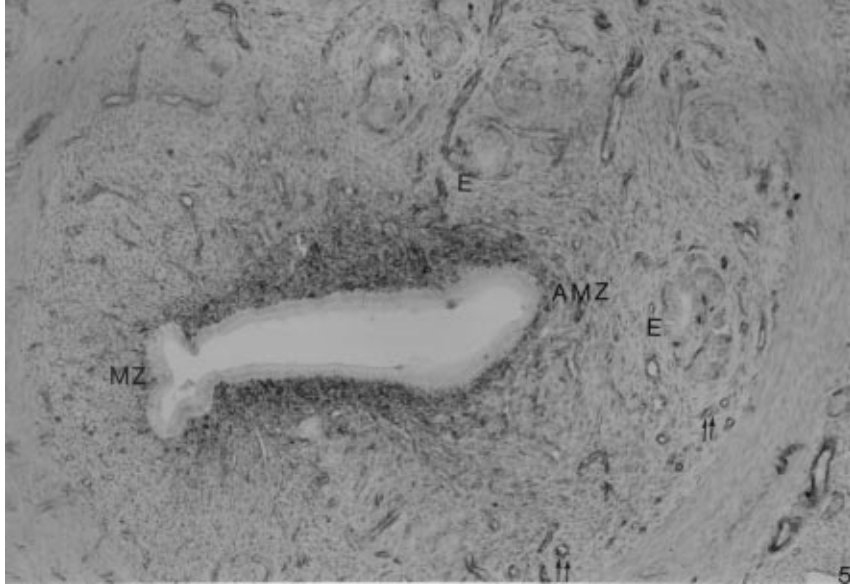
Bu çalışmanın sonuçları, vimentinin gebeliğin 1-8. günlerinde süreklilik göstermesi, desminin desidualizasyonla birlikte ortaya çıkarak 8.günde dramatik olarak azalması desminin desidualizasyon ve implantasyon olaylarında önemli görevleri olduğunu göstermektedir. Bu bulgular aynı zamanda bu iki filamentin sentez ve dağılımlarının dinamik olarak düzenlendiğini



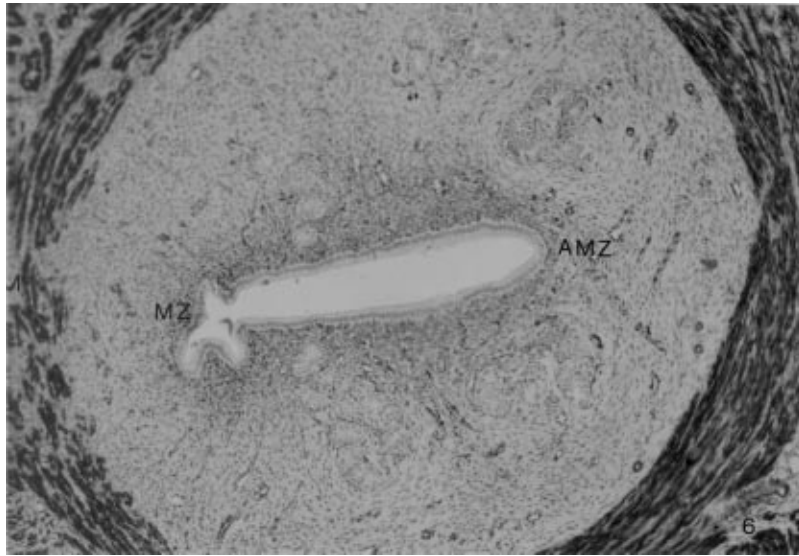
Şekil 3. Gebeliğin 3. gününde vimentinle kuvvetli boyanmış antimezometriyal bölge (AMZ) lümen ve endometriyal bez epiteli (E) ile kas katları (M) negatif reaksiyonlu. O.B. X 25.



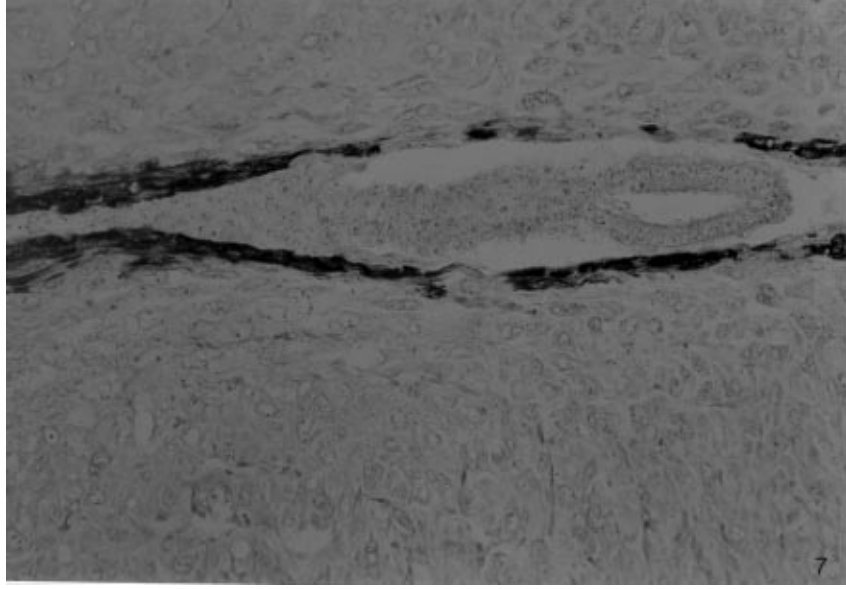
Şekil 4. Gebeliğin 3. gününde desminle boyanmış primer desidual alanlardaki (lümen çevresindeki ilk hücresel halka) desidual hücreler ve damar duvarı hücreleri (çift okla). Miyometriyum (M) kuvvetli desmin pozitif reaksiyonlu olarak gözleniyor. O.B. X 25.



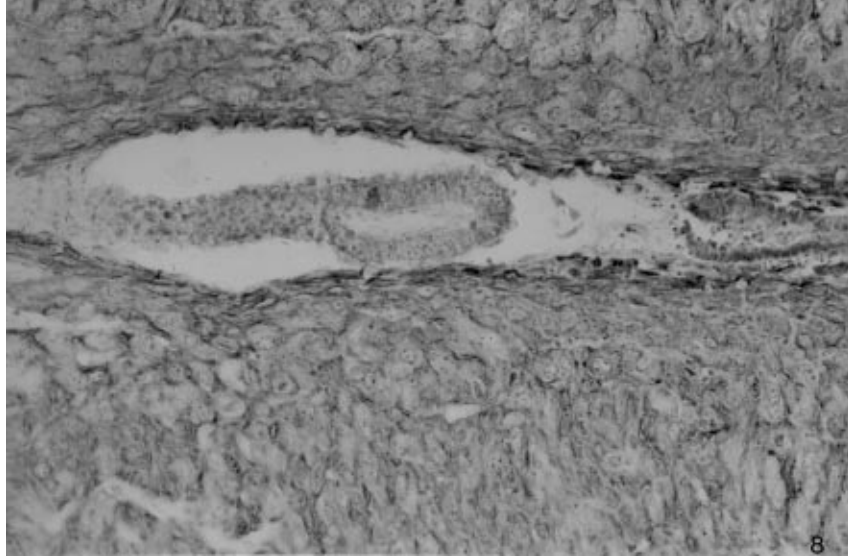
Şekil 5. Gebeliğin 5. gününde vimentinle boyanmış mezometriyal (MZ) - antimezometriyal (AMZ) bölgeler. Primer desidual alanda kuvvetli reaksiyon dikkat çekici. Bez epiteli (E) bazalinde lokal alanlarda zayıf, damar duvarlarında kuvvetli (çift okla) boyanma mevcut. O.B. X 25.



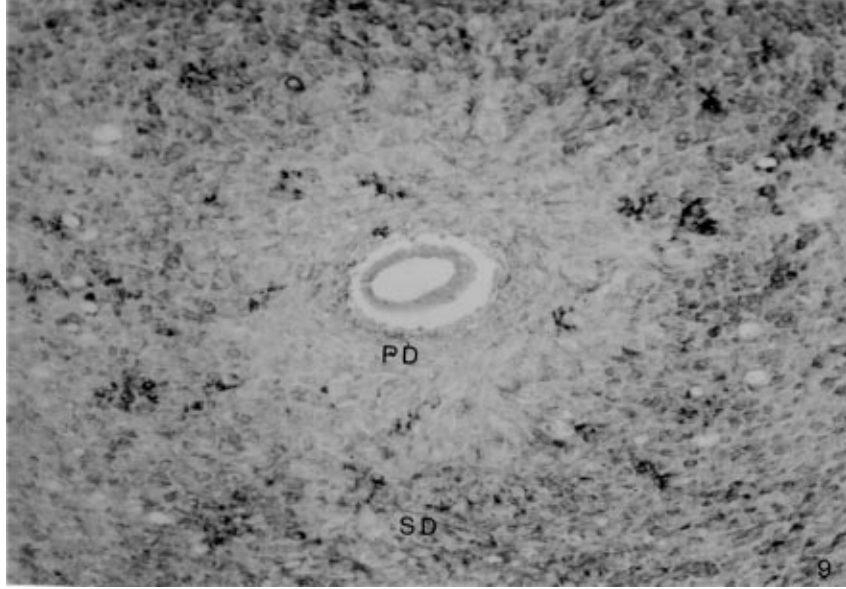
Şekil 6. Gebeliğin 5. gününde mezometriyal (MZ) ve antimezometriyal (AMZ) bölgelerde desminle hafif boyanmış primer desidual alanlar ile kuvvetli boyanmış miyometriyum katları (M) gözleniyor. O.B. X 25.



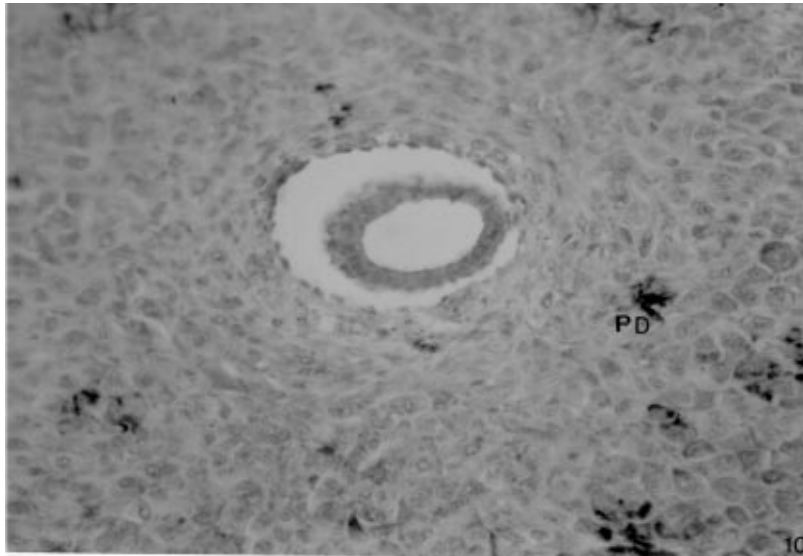
Şekil 7. Gebeliğin 6. gününde endometriyum ile fiziksel kontağı devam eden embriyo taslağı (blastosist) implante olmaya başlamış. Invazyona bağlı olarak farklılaşan hücre popülasyonu vimentinle koyu boyanmış olarak gözleniyor. O.B. X 50.



Şekil 8. Gebeliğin 6. gününde süren implantasyon alanında, desminle zayıf boyanmış endometriyal elemanları gösteren mikrograf. O.B. X 50.



Şekil 9. Gebeliğin 8. gününde embriyon taslağını enine kesidin genel görünümü. Vimentinle zayıf boyanmış primer (PD) ve kuvvetli boyanmış sekonder desidual alanlar (SD) ile perifere doğru kayan desidualizasyona bağlı olarak vimentinin gösterdiği dereceli reaksiyon dikkat çekici. O.B. X 25.



Şekil 10. Şekil -9'un paralel kesidi. Gebeliğin 8. gününde enine kesitte negatif reaksiyonlu embriyo taslağı ve desminle zayıf boyanmış primer desidual alan (PD) gözleniyor. O.B. X 50.

ifade etmektedir. Erken gebelik döneminde desminin zamana bağlı gösterdiği değişiklikler stromal hücre elemanlarının değişime yönelik dinamik özellik göstermesi bağlamından da ilginçtir (9, 11).

Sıçan ve insan endometriyumunda desmin ekspresyonu sadece desidualizasyon esnasında olmaktadır (13). Desmin'in belli zamanlarda neden azaldığının yanıtı henüz tam olarak açıklanmış değildir. Bu filamentin desidual hücrelerin dejenerasyonu ile azaldığı ileri sürülmektedir (8). Desidualizasyonun başlaması ile birlikte desmin'de görülen bu farklı durumu, sentez aktivitesi artışına bağlı olarak hücre biçimi ve organel dağılımındaki hızlı transformasyonu ile ilişkilendirilebilir (1, 2, 9, 10). Ara filament molekül elemanlarındaki değişimin gebelik dinamiğinin bir ifadesi olarak yorumlanmalıdır. Desmin'in vimentin'den sonra ortaya çıkması bu proteinin vimentin sentezi ile ilişkisini göstermesi bakımından da ilginçtir. Desmin'i desidual hücre farklılaşmasının bir markeri olarak kabul eden görüşleri bu çalışmanın sonuçları da desteklemektedir (10).

Vimentinin desidual ve non-desidual alanlarda görülmesi bu filamentin desidualizasyondan ziyade genelde hücre bütünlüğünün korunmasından sorumlu bir protein olabileceği ve hücre farklılaşmasının mezenşim kök hücreleriyle başlayabileceği dikkate alınmalıdır (9).

Bazı araştırmacılar, gebeliğin ilk trimesterinde insan endometriyumu doku kültüründeki erken devre hücrelerinde vimentinin perinükleer bölgede lokalize olduğunu, bu tür lokalizasyonun kuvvetli boyanmış ileri devre hücrelerinde görülmediğini bildirmişlerdir (14). Vimentinin hücre nükleusu pozisyonuyla ilgili olduğu bilindiğinden, araştırmacılar bu proteinin perinükleer lokalizasyonunun erken devre hücrelerinde hızlı büyüme ve farklılaşma işareti olarak yorumlamışlardır (6, 7). Farklılaşma sürecindeki hücrelerde vimentinin görülmesi, bu ara filamentin hücre differansiyasyonu ve transformasyonu ile ilgili olduğunu gösterir.

Sonuç olarak, erken gebelik döneminde desidualizasyon ve plasentasyona katılan sıçan endometriyal stromal hücrelerinde vimentin'in gebeliğin 1. gününde, desmin'in 3. gününde ortaya çıktığı, bu dönemde vimentin'in mezometriyal-antimezometriyal bölgelerde, desmin'in implantasyon başlangıcından itibaren sadece antimezometriyal bölgede süreklilik gösterdiği; desidualizasyon ve implantasyon olaylarının vimentin ve desmin gibi filamentlerin varlığı durumunda hücresel indüktörler olarak görev aldığı ve bunların aracılığıyla gerçekleşebileceği söylenebilir. Desidual dokuda normal büyüme ve farklılaşma olaylarının açıklanabilmesi için desidual hücre iskeleti komponentlerinin yapısına ve aralarındaki ilişkilerin belirlenmesine yönelik yeni çalışmaların yapılması gerekir.

Kaynaklar

1. Oshea, J.D, Kleinfeld R.G, Morrow A.H: Ultrastructure of Decidualization in the Pseudopregnant Rat. Am. J. Anat. 166: 271-298, 1983.
2. Abrahamson PA, Zorn TM: Implantation and decidualization in Rodents J. Exp. Zool. 266: 603-628, 1993.
3. Leake R, Carr L, Rinaldi F: Autocrine and paracrine effects in the endometrium. Ann. of Sciences. 22: 145-148, 1991.

4. Seppela M, Angervo M, Riittinen L, Yajima M, Julkunen M, Koistinen R: Peptides and proteins in the human endometrium. *Reprod. Med.* 1: 37-55, 1992.
5. Albers K, Fuchs E. The molecular biology of intermediate filament proteins. *Int. Rev. of Cyto.* 134: 243-279, 1992.
6. Osborn M. Vimentin. In *Guidebook to the Cytoskeletal and Motor Proteins* (Ed) Kreis T, Vale R. Oxford: Oxford University Press 1993. 169-171.
7. Franke W.W: The Intermediate filaments. In *Guidebook to the Cytoskeletal and Motor Proteins* (Ed) Kreis T, Vale R. Oxford 1993: Oxford University Press 137-143.
8. Mulholland J, Aplin J.D, Ayad S, Hong L, Glasser S.R. Loss of collagen type VI from rat endometrial stroma during decidualization. *Biol. Reprod.* 1992 46(6): 1136-43.
9. Glasser RS, Julian J: Intermediate Filament Protein as a Marker of Uterine Stromal Cell Decidualization. *Bio. Reprod.* 35: 463-474, 1986.
10. Glasser R.S, Lampelo S, Munir I.M, Julian J.A. Expression of desmin, laminin and fibronectin during in situ differentiation (decidualization) of rat uterine stromal cells. *Differentiation* 35: 132-142, 1987.
11. Kohnen G, Kertschanska S, Demir R, Kaufmann P. Placental villous stroma as a model system for myofibroblast differentiation. *Histochem Cell Biol Jun*; 105(6): 415-429, 1996.
12. Hsu S. M, Raine L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in unlabelled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem.* 29: 577-580, 1981.
13. Duran R.G, Hicks J.J: Participation of the cytoskeleton in the physiology of the endometrium. *Ginecol Obstet Mex.* Nov 63: 467-473, 1995.
14. Ferrari S, Battini R, Kaczmarek L, Rittling S, Calabretta B, de Riel J.K, Philiponis V, Wei J.F, Baserga R. Coding sequence and growth of the human vimentin gene. *Molecular and Cellular Biology*, 6: 3614-3620, 1986.