

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ
(HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ)
ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Turan KARACA

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇAN
UTERUS DOKUSUNDA ÖSTROJEN RESEPTÖR
DAĞILIMININ İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
BELİRLENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Tahereh SARKARAT

Referans no: 10065779

EDİRNE – 2016

T.R.
UNIVERSITY OF TRAKYA
Institute of Health Sciences

CONFIRMATION

This title by graduate student Tahereh SARKARAT under the supervision of Professor Turan KARACA in the framework of graduate program of Department of Morphology (Histology and Embryology) of Trakya University Institute of Health Sciences ‘The Immunohistochemical Identification of Estrogen Receptors Distribution in the Uterine Tissues of Rats with Experimentally Induced Diabetes’ defense examination was held on 25/11/2016 and accepted as ‘Master Thesis’ by the following jury members.

Signature
President

Turan KARACA
Professor

Signature

Member

Yeşim HÜLYA UZ
Associate Professor

Signature

Member

Kanat GÜLLE
Assistant Professor

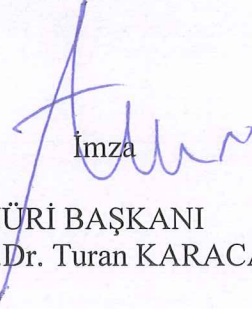
I certify that the above text belongs to the teaching staff.

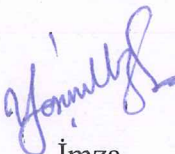
Prof. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

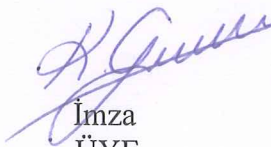
T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Morfoloji (Histoloji ve Embriyoloji) Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof.Dr.Turan KARACA' ın danışmanlığında, yüksek lisans öğrencisi Tahereh SARKARAT tarafından tez başlığı "Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçan Uterus Dokusunda Östrojen Reseptör Dağılımının İmmunohistokimyasal Olarak Belirlenmesi"olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **25/11/2016** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "**Yüksek Lisans Tezi**" olarak kabul edilmiştir.


İmza
JÜRİ BAŞKANI
Prof.Dr. Turan KARACA


İmza
ÜYE
Doç.Dr. Yeşim HÜLYA UZ


İmza
ÜYE
Yrd. Doç.Dr. Kanat GÜLLE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ
(HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ)
ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Turan KARACA

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇAN
UTERUS DOKUSUNDA ÖSTROJEN RESEPTÖR
DAĞILIMININ İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
BELİRLENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Tahareh SARKARAT

Destekleyen Kurum: TÜBAP-2016-66

Tez No:

EDİRNE – 2016

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız danışmanım Sayın Prof. Dr. Turan KARACA'ya, Sayın Anabilim Dalı hocalarım; Prof. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN'a, Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ'a, Doç. Dr. Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŞIR'a, Yrd. Doç. Dr. Melike SAPMAZ METİN'e, çalışma arkadaşlarıma, maddi destek sağlayan TÜBAP birimi'ne, tez süresince desteklerini esirgemeyen anabilim dalı araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve aileme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
DİABETES MELLİTUS	3
Tip-1 DİABETES MELLİTUS	3
Tip-2 DİABETES MELLİTUS	3
SPESİFİK NEDENLERE BAĞLI DİYABET TİPİ	4
GESTASYONEL DİABETES MELLİTUS	4
UTERUS ANATOMİSİ	4
UTERUS HİSTOLOJİSİ	5
UTERUS FİZYOLOJİ	7
MENSTRÜAL SIKLUS FAZLARI	8
SIÇANLARDA UTERUS ANATOMİSİ	9
SIÇANLARDA MENSTRUAL SIKLUS VE GEBELİK	9
PANKREAS HİSTOLOJİSİ	10
ÖSTROJEN HORMONU	10
GEREÇ VE YÖNTEMLER	12
BULGULAR	15
TARTIŞMA	29
SONUÇLAR	33
ÖZET	35

SUMMARY.....	37
KAYNAKLAR.....	39
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	48
EKLER.....	50



SİMGE VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
°C	: Santigrat
DM	: Diabetes Mellitus
ERα	: Östrojen reseptörü alfa
H+E	: Hematoksilen + Eozin
kg	: Kilogram
LH	: Lüteinizan Hormon
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
α	: Alfa
β	: Beta
μm	: Micrometre

GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabet birçok sistem ve organı etkileyen, kan glukoz seviyesindeki artış ile özelleşmiş, dünyada sanayileşme ve şehirleşmenin artması ile rastlanma oranı giderek artan en önemli metabolik hastalıkların başında gelmektedir. Diyabet nedeniyle hem dünyada hem de ülkemizde milyonlarca insan etkilenmekte ve iş veriminde düşüşler, ilaç ve hastahane masraflarında artışlar gibi çok sayıda maddi sorunlarla karşı karşıya kalınmaktadır. Bunun yanında her iki cinsiyet için de önemli infertilite sorunlarına yol açtığı bilinen bir gerçektir.

Diyabet, dişi ve erkek üreme organlarında birçok patolojik duruma neden olmaktadır. Bunlar arasında, erkeklerde libido azlığı, spermatozoon sayısında azalmalar, serum testosteron seviyelerinde düşüşlerle birlikte, testis dokusunda histolojik olarak seminifer tubüllerde dejenarasyonlar, tubül hacimlerinde ve germ hücrelerinde azalmalar, tubüllerde olgunlaşmamış germ hücrelerinde lümene dökülmeler gibi bulgular izlenmektedir. Dişilerde ise, ovaryumlarda folikül gelişiminde gelişim kusurları ve olgunlaşmamış folikül sayısında artışlar, amenore veya oligomenore, vajina kuruluğu, cinsel isteksizlik gibi etkilerle beraber infertiliteye neden olmaktadır. Son zamanda yapılan araştırmalar göstermektedir ki, diyabete bağlı olarak ortaya çıkan infertilite, infertilite vakaları arasında önemli bir tutmaktadır.

Östrojen hormonlarının, dişi genital sistem üzerinde düzenleyici etkileri yanında birçok sistem üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Ovaryumlarda folikül gelişim ve uterusda endometriyumun implantasyona hazırlanmasında etkili olan östrojenlerin salgılanması çeşitli etkenlere bağlı olarak değişime uğrayabilmektedir. Diyabet, dişi genital sistem üzerinde meydana getirdiği olumsuz etkiler nedeniyle implantasyonu olumsuz yönde etkilemektedir. Östrojen hormonlarına ait reseptörler de diyabete bağlı olarak değişim göstererek implantasyon üzerinde olumsuz yönde etki oluşturmaktadır. Östrojen reseptörlerindeki değişime bağlı olarak uterus endometriyumunda, östrojenlere cevaplar değişmekte ve endometriyumun proliferasyon ve sekresyonunda aksamalar meydana gelmektedir.

Planlanan bu araştırmada, streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, uterus endometriyumunda östrüs siklusunun östrüs ve metöstrüs fazlarında, östrojen reseptör alfa ($ER\alpha$) ekspresyonunun diyabete bağlı olarak değişimlerinin immünohistokimyasal olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

DIABETES MELLİTUS

Diabetes mellitus (DM), insülin salgısının mutlak veya göreceli eksikliği ya da insülin rezistansı ile oluşan, hiperglisemi ile kendini belli eden, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. DM'un etiyopatogenezi ile ilgili araştırmalar, hastalığın heterojen, hiperglisemi ile karakterize pek çok durumu içine alan bir sendrom olduğunu göstermektedir (1). Dünya sağlık örgütü (DSÖ) tarafından "salgın" olarak nitelendirilen DM, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaygınlığı giderek artan önemli sağlık problemlerinin başında gelmektedir. Diyabet ve diyabete bağlı komplikasyonlar, insan sağlığını ve yaşam kalitesini ciddi oranda etkilemekle beraber, ülke ekonomilerine de büyük yükler getirmektedir (2).

Diyabetin sebep olduğu komplikasyonlar arasında; retinopati, nöropati, nefropati, kardiyovasküler hastalıklara yatkınlık ve infertilite sorunları başı çekmektedir (3). Diyabetin sebepleri arasında genetik yatkınlık, beslenme alışkanlıkları (fast-food türü beslenme, yüksek enerjili diyetler), hareketsizlik ve çeşitli kimyasal ajanlara maruziyetler sayılabilir (4).

Diabetes mellitus; Tip 1, Tip 2, diğer türler ve gestasyonel diyabet olarak dört sınıfa ayrılmaktadır (5).

Tip-1 Diabetes Mellitus

Tip-I DM (Juvenil başlangıçlı) otoimmün bir hastalık olup, pankreas endokrin adacık beta (β) hücrelerinin ilerleyici harabiyetiyle oluşan insülin yetmezliği ile karakterize formdur (6). Bu hastaların yaklaşık %90'ında, 30 yaş öncesinde hastalık teşhis edilir. Tip I diyabetli

hastalar hayatlarını devam ettirmek ve ketoasidozdan korunmak için düzenli olarak insülin almak zorundadırlar (7).

Tip-2 Diabetes Mellitus

Bu tip diyabet, en çok görülen tiptir. İnsüline bağımlı olmayan diyabet olarak da tanımlanır. Nedeni insüline karşı periferik direnç veya yetersiz insülin salınımı ya da her ikisinin de birlikte olması sonucu ortaya çıkmaktadır (8). Tip-II diyabet, genelde 40 yaş üstü bireylerde görülür. Yanlış beslenme alışkanlıkları, hareketsizlik, yaşam tarzı ve obezite Tip-II diyabetin riskini artan etkenlerdendir (9). Bu tip diyabetin tedavisinde, insülin direncinin azalması ve endojen insülinin salgılanması amaçlanır (10).

Spesifik Nedenlere Bağlı Diyabet Tipi

Pankreas β -hücrelerinin fonksiyonunda genetik bozukluklar, insülininin etkisinde genetik kusurlar, ekzokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler, çeşitli ilaçlar, enfeksiyonlar (11), Down, Klinefelter sendromu gibi etkenlere bağlı olarak ortaya çıkan diyabet türüdür (12).

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)

Diyabetin bu türü, ilk defa hamilelik esnasında görülür ve glukoz toleransındaki bozulmalarla tanımlanan diyabet tipidir. Gebeliklerin yaklaşık %2-4'ünde görülen bu tür diyabet, en yaygın olarak gebeliğin üçüncü trimesterinde ortaya çıkar (13). İnsülin eksikliği sonucu, hiperglisemi oluşmaktadır. Kadınlarda hamilelik yaşı 25'den yüksek olması, ailede diyabet öyküsünün olması, hamilelikten önce aşırı kiloluluk durumu, önceki hamileliklerde GDM veya glukoz toleransı bozukluğu tanımlanması ve hamilelik döneminde kan-glukoz seviyelerinin yüksek olması, GDM riskini arttıran faktörler arasında öne çıkanlardır (11,13).

UTERUS ANATOMİSİ

Pelvis boşluğunda, rektum ile mesane arasında yer alan embriyonun implante olduğu, embriyo ve fötüsün gelişip, dış ortamda yaşayabilecek olgunluğa geldiği lümenli bir organdır. Duvar yapısının kalınlığı kassal katmanının müküler yapısından ileri gelmektedir (14). Önden arkaya basık, ters duran armut şeklinde bir morfolojik görüntüye sahiptir (15). Uterus, nullipar kadınlarda yaklaşık olarak 7.5 cm uzunluğunda, 5 cm genişliğinde, 2.5 cm kalınlığındadır ve ağırlığı 30-40 gram kadardır. Uterus anatomik olarak 3 bölüme ayrılır:

a-Fundus, b- korpus (gövde), c- serviks (14,16).

Fundus

Uterusun en üst kısmını oluşturan, tuba uterinaların uterusu açıldıkları düzeyin üzerinde yer alan dar kısımdır. Tuba uterinaların uterusu açıldıkları yerden istmusa kadar devam eder.

Korpus

Tuba uterinaların uterusu açıldıkları yerden servikse kadar devam eden, embriyonun implante olduğu, geliştiği ve uterusun esas kısmını oluşturan bölümdür. Anterior yüzeyi düz ve posterior yüzü ise konveks bir görünümde (17) .

Serviks

Uterusun en alt parçası olup, kısa bir çıkıntı ile vajinaya açılır. Servikal kanal olarak isimlendirilen serviks lümeni uterusu açılan (internal os) ve vajinaya açılan (eksternal os) daralmalar gösterir (18).

UTERUS HİSTOLOJİSİ

Uterus kalın bir duvar yapısına sahip olup, histolojik olarak 3 katmandan meydana gelmiştir (19). Bu tabakalar dıştan içe doğru:

a-Tunika seroza (perimetriyum), b- tunika muskularis (miyometriyum) ve c- tunika mukoza (endometriyum)'dır (14,17, Şekil 1 ve 2)

Perimetriyum

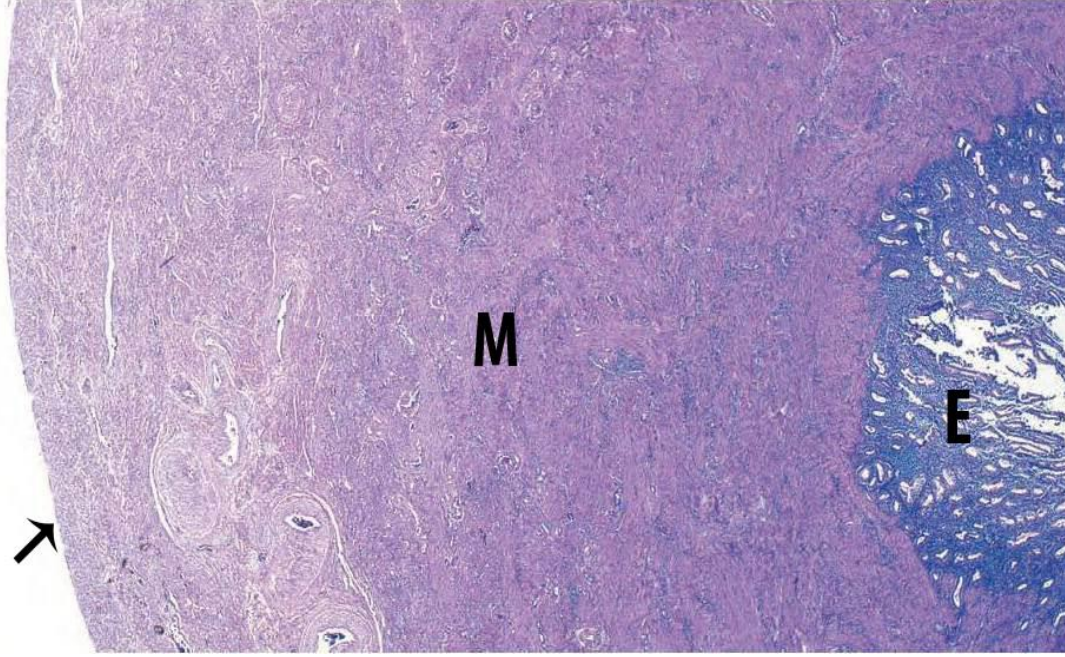
Yüzeyinin mesaneye komşu olan kısmı hariç mezotel hücrelerinin döşediği bağ dokusundan oluşan uterus dış katmanı perimetriyumdur. Serviks uteriye sadece arkadan, korpus uteriye önden ve arkadan saran peritonun visseral yaprağıdır (20).

Miyometriyum

Miyometriyum, uterusun en kalın ve orta tabakasını meydana getiren, bağ dokusu ile birbirinden ayrılmış düz kas liflerinden meydana gelen kassal katmandır. Kas katmanlarının arasındaki bağ doku içerisinde yoğun olarak kan damarları, lenf damarları ve sinir telleri yer alır (21).

Uterusun miyometriyum katmanı iç içe geçmiş şekilde, sınırları zaman zaman tam olarak ayırt edilmeyen 3 tabakadan meydana gelmiştir:

Miyometriyumun iç tabakası, subendometrial tabaka, endometriyumun stratum basale tabakasına paralel yerleşimli yoğun düz kas liflerinden; orta katman kan ve lenf damarlarından zengin, sirküler veya spiral düz kaslardan ve dış katman ise yüzeye paralel seyirli düz kaslardan oluşur (22).



Şekil 1. İnsan uterus dokusunun sagittal enine kesiti, **E:** Endometriyum, **M:** miyometriyum, **Ok:** Perimetriyum, **X8.**

Endometriyum

İnsan ve kemirgenlerde uterusunda endometriyumu, tek katlı silindirik epitelden oluşan lamina epitelyalis ve basit tubuler karakterli bezler içeren gevşek bağ dokudan meydana gelen lamina propria alt katmanlarını içerir. Uterus endometriyumu, östrüs siklüsündeki değişimlere bağlı olarak sürekli dejenere olmakta ve tekrar proliferasyon geçirmekte olup, bu değişim ovaryal hormonlarındaki değişimlere bağlı olarak meydana gelmektedir (23).

Uterusun foksiyonu ile ilişkili olarak endometriyum iki alt katmandan meydana gelir:

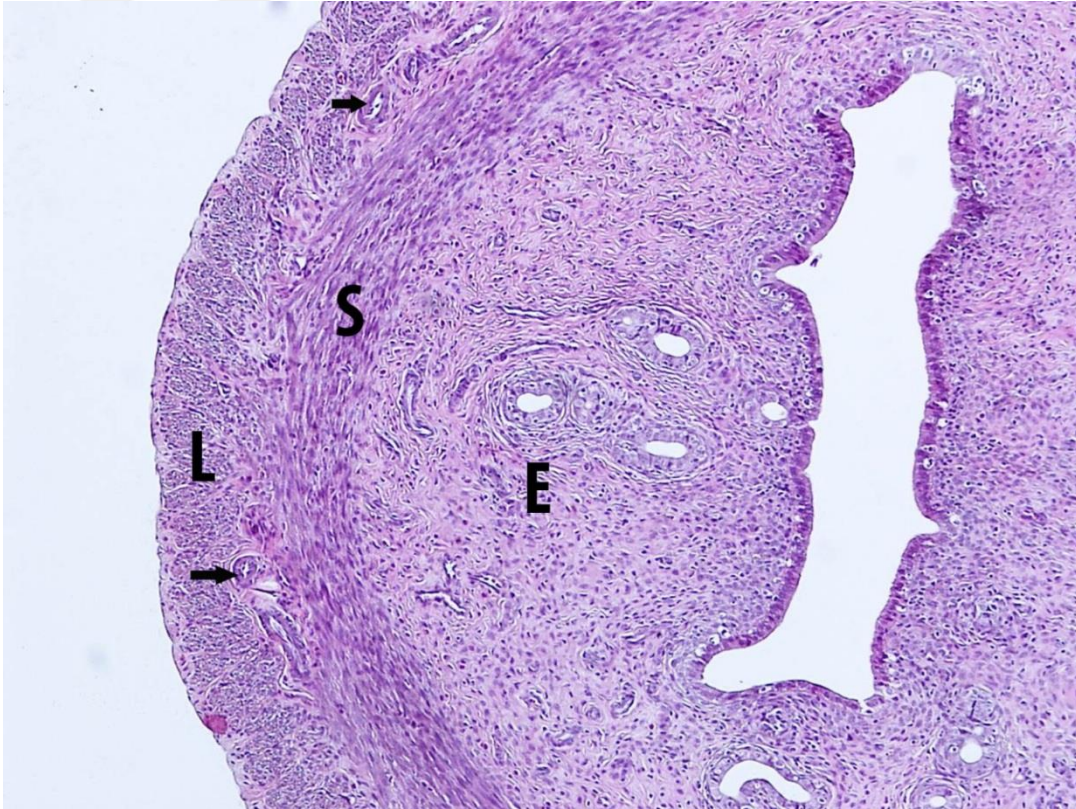
1. Yüzeysel tabaka olan stratum fonksiyonalis. Lamina epitelyalis ve onun altında yer alan lamina propriyanın büyük bir kısmını kapsayan, insanlarda menstrual kanama sırasında atılan ve implantasyonun şekillendiği endometriyum alanıdır. Bu katman, ovaryum hormonlarına

bağımlı olarak ödemli ve kanlı bir hal alır ve gebelik şekillenmediğinde nekroza uğrayarak menstrual kan içinde uterus lümenine dökülür (17,20).

2. Derin ve miyometriyuma komşu olan endometriyum katmanı stratum bazalis. Yaklaşık 1 mm veya daha az kalınlığa sahiptir. Uterus bezlerinin ve lamina propriayanın başlangıç kısmını içermektedir (24).

Arkuat arterler, miyometriyumun ara tabakasında sirküler olarak yerleşirler ve bu arterden endometriyumu besleyen iki kol çıkar:

- a- Düz arterler, endometriyumun bazal kısmını besler
- b- Kıvrımlı arterler, endometriyumun fonksiyonel kısmını besler (20).



Şekil 2. Sıçanlara ait uterus dokusunun enine kesiti, **E:** Endometriyum, **S:** Sirküler kas tabakası, **L:** longitudinal kas tabakası, **Oklar:** stratum vasculare katmanında yer alan büyük damarlar, H&E, 40X.

Uterusun fizyoloji

Ergenlik yaşına girmiş ve sağlıklı bireylerde ovaryal hormonal değişime bağlı olarak, kadınlarda 28 günde bir değişen süre ile uterus dokusunda proliferasyon, sekresyon ve involusyonu içeren ve sonunda 3-5 gün süre kanama ile sonlanan değişimlerin tümüne

uterinal siklus denir. Uterinal siklus sonunda birey gebe kalmamış ise endometriyumun stratum fonksiyonalis katmanını da içeren kan-doku artıkları vajen yolu ile dışarı atılır. Aralıklarla görülen siklik uterin kanamalara, menstrüal kanama ve siklusa da menstrual siklus denir (25).

Menstrüal siklusun fazları

a- Foliküler (proliferasyon, östrojenik) faz: Bu evre, ovaryumda foliküllerin geliştiği, östrojen hormonunun baskın olduğu ve bu hormona cevap olarak endometriumda proliferasyonun görüldüğü, uterus bez sayılarının arttığı ve ödematik bir formun geliştiği evredir (26).

Menstrüal kanamanın bitimi ile başlar, insanlarda menstrüal kanamanın 5. gününden başlayıp ve 15-16. güne kadar sürer. Bu evrede uterus mukuzası ve uterusun bezleri folikül stimulan hormon (FSH) etkisinden dolayı kalınlaşır ama salgı yapmaz (27). Epitel katmanı ve lamina propriyadaki hücrelerde mitotik aktivite üst seviyelerdedir. Tübüler bez epitel hücreleri yukarıya doğru göç etmeye başlar ve bezler geliştikçe daralıp kıvrımlı bir yapıya dönüşürler (28).

b- Sekresyon (progestasyonel) fazı: Olgun folikülün (Graafian folikülü) patlaması ve oositin atılmasını takiben gelişen, corpus luteumun aktif olduğu dönemdir. Bu dönemde baskın olan hormon corpus luteum kaynaklı progesterondur. Gelişen uterus bezlerinde progesterona yanıt olarak salgılama aktivitesi başlamış durumdadır (29).

Endometriyal bezlere paralel olarak seyreden spiral damarların da boyları artar ve stromada yer alan fibroblast hücrelerinin sitoplazmasında yağ ve glikojen depo haline gelir. Sekresyon evresi progesteron ve östrojen hormonlarının kontrolü altındadır (30). Eğer gebelik oluşur ise endometriyumun lamina propriasında yer alan stromal hücreler büyümeye ve yükselen progesteron seviyesine tepki olarak glikojen ve lipid depolamaya başlar. Bu hücreler bundan sonra “**desidual hücre**”ler olarak adlandırılmaya başlarlar (31).

c-İskemik faz: Bu dönem, menstrusyondan önceki kısa bir süredir ve progesteron seviyesinde düşüş sebebi ile meydana gelir. Eğer ki döllenme gerçekleşmezse corpus luteum 10 gün boyunca progesteron hormonu üretmeye devam eder (32). Endometriyum fonksiyonel tabakasındaki spiral arterlerin ani bozulması nedeni ile iskemi meydana gelir ve endometriyumda nekroz başlar (33).

d-Menstrual faz: Bu evrede, iki gün içinde uzun süreli arteriyel kontraksiyonların sonunda endometriyum yüzey epiteli dökülür ve arterlerin duvarları da yırtılır. Bunu takiben fonksiyonel endometriyum tabakası nekroze olarak dökülmeye başlar. Kıvrımlı olan arterler açılıp genişlerler, yırtılan damarlardan venöz ve arteriyel kan, nekrotik endometrium dokusu, stroma ve bez epitel hücreleri kanla karışık bir şekilde dışarı atılır (34).

Endometriyum dökülmesi ve kaybedilen kan miktarı kadınlarda farklıdır, hatta aynı kadında farklı zamanlarda değişimler görülür. Bu dönem sonunda endometriyum ince bir yapıya sahip olup, hücreleri mukozayı yeniden oluşturmak için bölünüp çoğalarak, endometriyumu yeni bir siklus için hazırlar (35).

SIÇANLARDA UTERUS ANATOMİSİ

Siçanlarda uterus, pelvis ve abdomen boşluğunda yerleşik olup ve çift kornuludur. Bu iki kornu kaudal kısımda birleşirler ve vajinaya iki ayrı serviksle açılırlar. Ön kısımda vezika urinaria ve arkada rektum ile komşudur ve bağırsaklarla sarılıdır (36).

SIÇANLARDA MENSTRUAL SIKLUS VE GEBELİK

Siçanlar, pubertenin başlamasından yaşlılığa kadar süren siklik aktivite gösteren ve mevsime bağlı olmayan poliöstrik, yani üreme süresi boyunca birden fazla kızgınlık evresi gösteren hayvanlardır. Puberte ile başlayan ilk menstrual siklus dört gün kadar sürer ve yaş artıkça bu dönem giderek uzayarak hayatın son dönemlerinde altı günü bulmaktadır (37).

Siçanlarda östrus siklusu ortalama 4-5 gün sürmektedir. Bu evre laboratuvar kolonilerinde mevsimden bağımsız olarak yıl boyu sürer (38). Menstrual siklus, birbirini takip eden 4 döneme yani proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olarak alt evrelere ayrılır. Bir siklus periyodunda proöstrus evresi yaklaşık 12 saat, östrus evresi 9-15 saat, metöstrus evresi 21 saat ve diöstrus evresi 57 saat sürmektedir (39).

Proöstrus döneminde; östradiol ve lüteinleştirici hormon (LH) üst düzeye ulaşır. Östradiol, dönemin başlangıç günlerinde düşük düzeydeyken, dönemin ortalarına doğru giderek yükselerek pik seviyeye ulaşır (40).

Östrus dönemine geçerken, östradiol seviyelerinde de hafif bir düşüş görülür. Folikül uyarıcı hormonunda da artış olur (41). Östrus döneminde; LH en düşük seviyesindeyken FSH yüksek seviyelerde bulunur. Östradiol seviyesinde ise düşüş devam eder ve bu evrenin ortalarına doğru en alt seviyeye iner. Progesteron seviyesinde ise artış olur ve östrus fazının sonunda ovulasyon meydana gelir (42).

PANKREAS HİSTOLOJİSİ

Pankreas, karın boşluğunda dalak ve duodenum arasında insanlarda 60-160 gr ağırlığında olan endokrin ve ekzokrin özellikleri bir arada gösteren bir bezdir. Ekzokrin bölüm seröz bez yapısındadır ve yapısal olarak parotise benzer ama endokrin bölümde Langerhans adacıkları bulunması ve çizgili kanala sahip olmamasıyla parotisten ayırım gösterir. Ekzokrin pankreasın son kısmında sentroasiner hücreler görülür (43). Bu kısım bileşik tubulo-alveolar bez yapısı özelliklerine sahiptir. Pankreasın ekzokrin kısmından lipaz, amilaz, tripsin, şimotripsin, karboksipeptidazlar, elastazlar, proteazlar salgılanır (30).

Pankreasın endokrin kısmına Langerhans adacıkları adı verilir ve bu kısım seröz asinüslerden izoledir (44). Endokrin adacıklar birbirinden ayrılan 4 farklı hücre içerir ve bu hücreler ayrım salgı ve boyanma özelliklerine göre yapılır. Langerhans adacıklarının periferinde yerleşen hücreler **alfa (α) hücreleridir** (45). Bu hücreler asidofil özelliğe sahiptirler ve kan glukoz seviyesini yüksetmek için **glukagon** hormonunu salgırlar (30). İkinci büyük hücre grubu olan **β hücreleri** daha çok merkezi yerleşimli ve bazofilik özelliklere sahiptirler ve **insülin** hormonu salgırlar, bu hormon da kan glukoz seviyesini düşürücü etkiye sahiptir (45). **Delta (D) hücreleri** α ve β hücrelerinin salgılarını yavaşlatmak için **somatostatin** salgılayan diğer tip endokrin hücre türüdür (43). Az sayıda bulunan endokrin karakterli bir diğer hücre tipi ise **F hücreleri** dir. Bu hücreler pankreatik polipeptitler salgıladığı için **pankreatik polipeptid (PP)** hücreleri olarak da adlandırılırlar (30). Endokrin adacıklarda bu dört hücre grubuna ek olarak bulunan bir diğer hücre türü de **G hücreleridir**, çok az sayıdadırlar ve sindirim kanalında yerleşik olarak bulunan gastrin hücreleri (G hücreleri) gibi gastrin salgırlar.

Östrojen Hormonu

Östrojen hormonu ovaryumlardan salgılanan steroid yapılı cinsiyet hormonlarından biridir. Bu hormon, embriyonik ve fetal gelişimde önemli bir role sahiptir ve kadınların sekonder seksüel karakterizasyonu, üreme döngüsü, fertilitte ve gebeliğin devamlılığı üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır (46).

Östrojen 18 karbonlu bir hormondur ve üç alt tipi vardır: Bunlar östradiol, östriol ve östron hormonlarıdır. Östradiol, ovaryumun en etkin östrojenidir, başlıca granüloza ve granüloza lutein hücrelerinde salgılanır. Östradioldan daha az etkin olan östriol, önemli miktarı gebelik döneminde karaciğerde östrondan üretilir. Bunların içerisinde östronun etkiliği en azdır ve periferik dokularda östradiol ya da androstenedionun dönüştürülmesi ile

oluşabilir (47). Ovaryumlara ek olarak plasenta, östrojen hormonunun en önemli kaynaklarından. Östrojenler, ovaryumlar gibi erkek bireylerde de testislerden sentezlenir ve bunlara ek olarak da periferik dokularda androjenlerin aromatisasyonu ile de sentezlenirler (48).

Östrojen reseptörü

Östrojen hormonları hedef hücrelerine ulaştıklarında etkilerini gösterebilmek için özgül reseptörlerine bağlanmaları gerekir. Hormonlar biyolojik aktivitelerini gösterebilmek için membran reseptörlerine ya da çekirdek reseptörlerine bağlanırlar (49). Östrojenler, çekirdek reseptör proteine bağlanıp organ ve dokuya özgül fizyolojik cevapları başlatırlar. Steroid reseptör süperailisine ait olan östrojen reseptörlerinin iki tipi vardır: Bunlar, östrojen reseptörü alfa (ER- α) ve östrojen reseptörü beta (ER- β)'dir. Bu iki reseptör proteininin DNA bağlanım bölgesi oldukça birbirine benzerdir ama molekülün genelinde olan aminoasit benzerliği azdır (50). Bu reseptörlerin immünohistokimyasal olarak yerleşimleri belirlenmiş ve farklı yerlerde oldukları tespit edilmiştir. ER- α granuloza hücrelerinde görülmez ama germinal epitel, interstitial hücreler ve teka hücrelerinde ekspresyonları görülmüştür. ER- β ; primer, sekonder ve olgun foliküllerin granuloza hücrelerinin nükleuslarında tespit edilmiştir (37). Yapılan çalışmalarda, prenatal ve primordiyal foliküllerde östrojen reseptörlerinin eksprese edilmedikleri tespit edilmiştir. Östrojen reseptörleri antral foliküllerin granuloza hücrelerinde görülmekle beraber bu reseptörler, baskın olmayan foliküllerin granuloza hücrelerinde de görülürler. Menstrual siklus döneminde teka interna ve onu saran doku hücrelerinin, östrojen reseptörü immün negatif oldukları belirlenmiştir (51). Östrojen reseptörlerinin yarı ömürleri 2-4 saattir ve yaklaşık 6 saatte bağlanma yetenekleri azalır. Bu nedenle, östrojen etkisinin devamlılık gösterebilmesi için östrojen varlığının devamlı olması gerekmektedir (52).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesinde Deney Hayvanları biriminde yapıldı. Aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip 20 adet üç aylık Wistar albino dişi sıçan kullanıldı. Hayvanların ortalama ağırlıkları 200-250 gr arasındaydı. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimiz, optimum laboratuvar koşulları ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$, 12 saat karanlık/aydınlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve %21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina) beslendi. Düzenli olarak kafes bakımları yapıldı.

Çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 27.06.2014 tarihinde TÜDHYEK-2014/26 karar nolu (Ek 1) onay alındı.

Çalışma başlangıcında, hayvanlar numaralandırıldılar ve ağırlık tartımları yapılarak kayıt altına alındı. Denekler başlangıç döneminde rastgele kontrol ve diyabet gruplarını oluşturmak üzere iki gruba ayrıldılar. Deney başlangıcında tüm denekler bir gece aç bırakıldı. Ertesi sabah bütün hayvanların açlık kan şekerleri kuyruk venlerinden (IME-DC, Almanya) ölçüldü. Ölçüm sonunda elde edilen kan değerleri ile (en düşük 84 miligram/desilitre (mg/dL; en yüksek 132 mg/dL) hayvanların sağlıklı oldukları tespit edildi. Kontrol grubuna sadece serum fizyolojik tek doz olarak intraperitoneal (i.p.) enjekte edildi. Diyabet grubuna, diyabet oluşumu için tek doz (60 mg/kg) streptozotosin (STZ) i.p. enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyonu takiben 48.saatın sonunda kuyruk venlerinden alınan kan örneklerinden kan glikoz seviyesi 280 mg/dl ve üstü olanlar diyabet kabul edilip deneye dâhil edildiler. Diyabet oluşumu takiben 21.günden itibaren her sabah deneklerin vulva bölgesi %70'lik etil alkolle (Merck, Almanya) silindikten sonra, steril tahta çubukların pamukla kaplanmış uç kısımları nemlendirildi ve vajina içerisinden, nazikçe sürüntü alınıp, lam üzerine yayıldı. Yayma lamaların oda sıcaklığında kuruması beklendi. Kurumayı takiben smear örnekleri toluidin

mavisi ile boyandı ve ışık mikroskobunda (Olympus BX51, Japan) incelendi; östrus ve metöstrus fazında olan hayvanlar derin anestezi altında uyutularak uterus ve pankreas doku örnekleri alındı. Alınan örnekler %10'luk tamponlu nötral formaldehitde 48 saat süre ile fikse edildi ve rutin histolojik takiplerden sonra parafinde bloklandılar.

BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Anestezi sağlandıktan sonra, uterus doku örneklerinin alımından önce kardiyak kan alınarak biyokimyasal değerlendirme için Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hormon Laboratuvarı'na gönderildi. Biyokimyasal analiz için Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hormon Laboratuvarı'na gönderilen deney ve kontrol grubundaki kanları santrifüj edildi. IMMULITE 2000 XPi Overview Siemens cihazında Immunoassay yöntemiyle total östradiol değerleri pg/ml olarak tayin edildi.

DOKU TEMİNİ VE HAZIRLANMASI

Streptozotosin uygulamasını takip eden 21. günden itibaren deney ve kontrol gruplarında, vajinal smear örnekleri alınarak ilgili siklus fazında (östrus veya metröstrüs) olan sıçanların kan şekerleri ölçüldü, intramuskular yoldan 50 mg/kg ketamin (Ketalar-Eczacıbaşı/Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine (Rompun-Bayer/Türkiye) ile anestezi sağlanıp diseksiyon yapıldıktan sonra uterus ve pankreas örnekleri alındı. Alınan uterus ve pankreas örnekleri %10 luk tamponlu nötral formaldehit fiksatifinde tespit edildi. Dokuların ışık mikroskopik incelemeleri için işlemlendirilmeleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı rutin Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Işık Mikroskopik İnceleme

Işık mikroskopik incelemeler için uterus ve pankreas dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvarı'nda işleme tabi tutuldu. Bu amaçla uterus ve pankreas doku parçası %10'luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonu (Sigma-Aldrich, HT501128-4L) içerisine alınarak 48 saat fikse edildi. Fiksasyon sonrasında dokular bir gece akarsuda yıkandı. Ardından sırasıyla %70, %80, %90, %96'luk alkollerden, 1'er saat 2 tekrar ve 1,5 saat mutlak alkolden olmak kaydı ile geçirilerek dehidretasyon işlemi tamamlandı. Daha sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 45 dakika toluol ile muamele edildi, sürenin sonunda doku örnekleri 42-44 °C sıcaklıktaki

yumuşak parafine alındı ve en az 45 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda dokular yumuşak parafinden, sıvı sert parafine alınarak parafin bloklar elde edildi. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindri mikrotom kullanılarak 5 µm kalınlığındaki kesitler alındı. Genel histolojik durumun incelenmesi amacıyla hematoksilin ve eozin (H&E) boyası uygulandı.

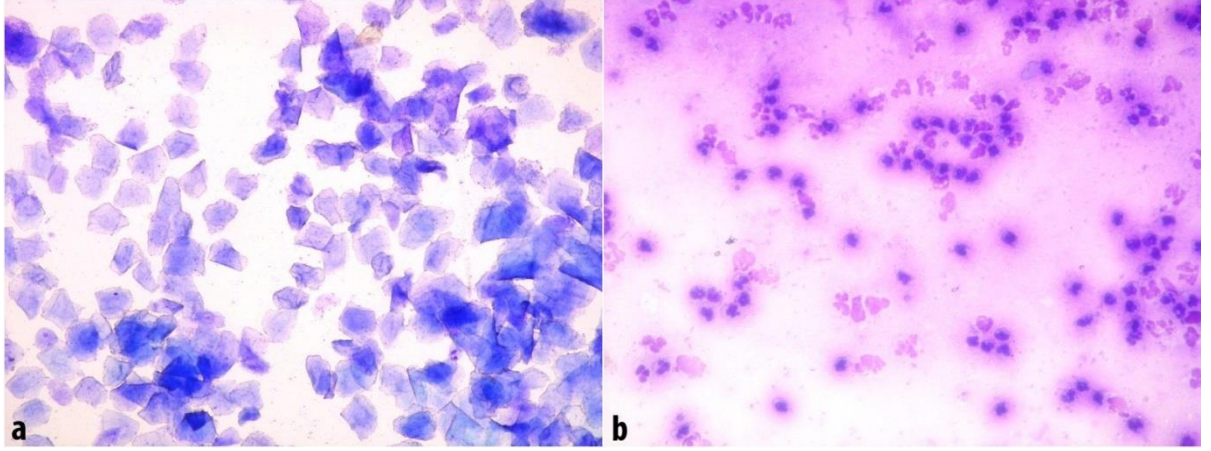
Östrojen Reseptörü İmmünohistokimyasal Boyama

İmmünohistokimyasal incelemeler için uterus dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvar'ında işlemlendirildi.

İnceleme için her gruba ait uterus dokularından 5 µm kalınlığında parafin kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemini takiben, kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dakika kaynatıldı. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldıktan sonra, kesitler fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidad aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel- de Haen, 24229) hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20 dk muamele edildi. Kesitler PBS ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile 1 saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan primer antikor, anti- ERα antikor (ABCAM, ab32063, USA) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dakika sekonder antikor solüsyonunda (biotinylated second antibody, Invitrogen, UK) tutuldu. Tekrar 3 kez PBS'de yıkanan kesitlere 20 dk streptavidin peroksidad solüsyonu (streptavidin peroxidase, enzyme conjugate, Invitrogen, UK) uygulandı. Daha sonra kesitlere 3 kez PBS ile yıkamanın ardından 10 dakika diamin benzidin (DAB) kromojen solüsyonu (Invitrogen, UK) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dakika Mayer hematoksilin uygulanarak zıt boyama yapıldı. Alkol serilerinden (%70, %80 ve %96'lık alkolde 2 dakikadan 2 defa, %100'lük alkolde 2 dakikadan 3 defa) geçirildi. Saydamlaştırma için 3 dakikadan 3 defa ksilolde bekletilerek kapatma solüsyonu ile lamel kapatıldı ve ışık mikroskobunda değerlendirmeye alındı ve gerekli alanların fotoğrafları çekildi (Olympus CX31, Japan).

BULGULAR

Grupların oluşturulmasında vajinal smear metodu kullanıldı. Vajinal smear örneklerine ait kontrol ve diyabetik gruplara ait bir fotoğraf Şekil 3’de sunulmuştur.



Şekil 3. Vajinal smear örnekleri. **a:** Kontrol östrüs, **b:** Diyabetik metöstrüs grubuna ait görüntüler. Toluidin mavisi, 400X.

Vücut Ağırlık Bulguları

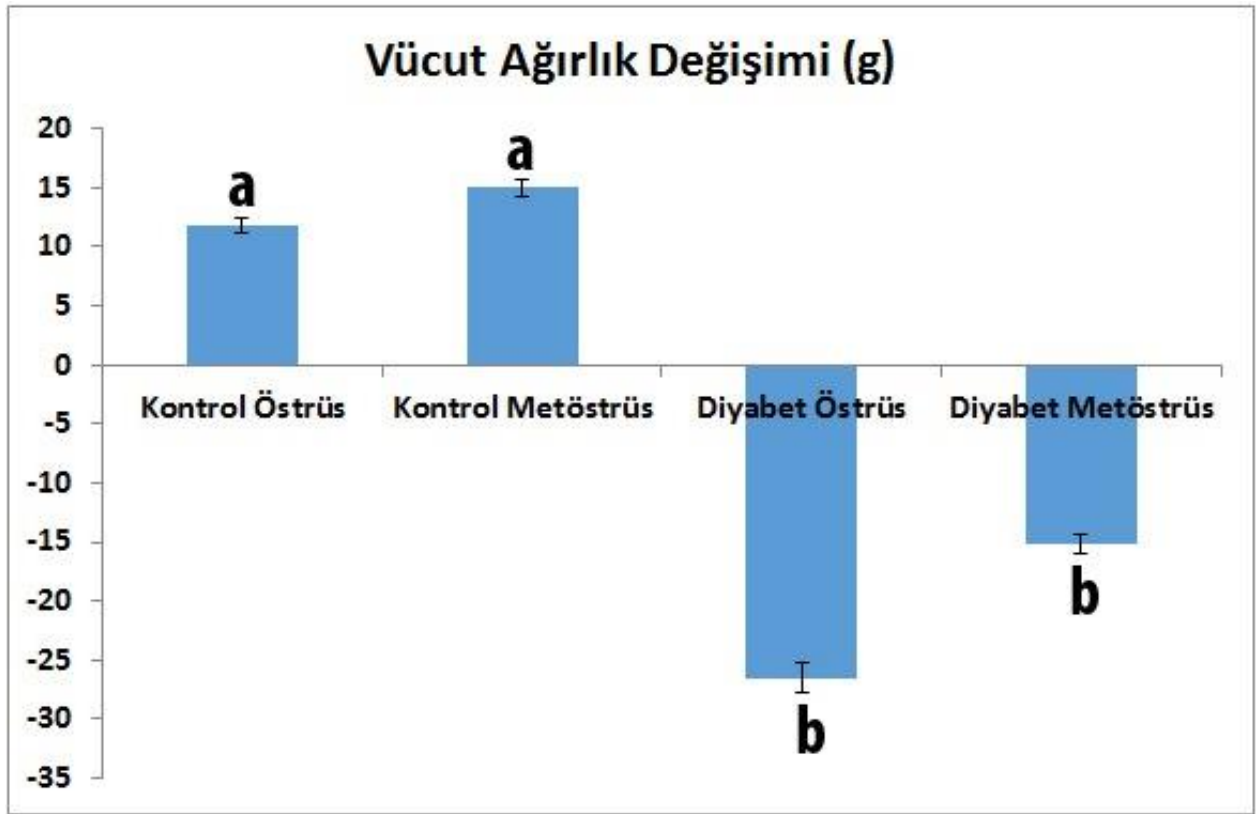
Deney başlangıcı kontrol ve diyabetik grupların vücut ağırlıkları ölçümleri kayıt altına alınmış olup, deney sonunda elde edilen değerler ile karşılaştırılmıştır. Kontrol gruplarında başlangıç değerine göre deney sonunda anlamlı bir artış tespit edilirken; diyabetik gruplarda deney sonunda deney başlangıcına göre anlamlı derecede ağırlık kayıpları görülmüştür ($P<0.05$; Tablo 1 ve Şekil 4).

Tablo 1. Gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu vücut ağırlık değerleri (g)

	Kontrol Östrüs	Kontrol Metöstrüs	Diyabet Östrüs	Diyabet Metöstrüs
Deney Başlangıcı	182.8±6.4	186.6±2.3	198.9±9.5	198.8±8.4
Deney Sonu	194.6±8.1 ^a	201.6±10.3 ^a	172.4±12.5 ^b	183.6±9.6 ^b

a: P<0.05; Deney başlangıç değerine göre anlamlı olarak artmış;

b: P<0.05; Deney başlangıç değerlerine göre istatistiksel azalmıştır.



Şekil 4. Deney sonunda deney başlangıcına göre vücut ağırlık değişimleri **a:** P<0.05; Deney başlangıç değerine göre anlamlı olarak artmış; **b:** P<0.05; Deney başlangıç değerlerine göre istatistiksel anlamlı olarak azalmıştır.

Kan Şekeri Bulguları

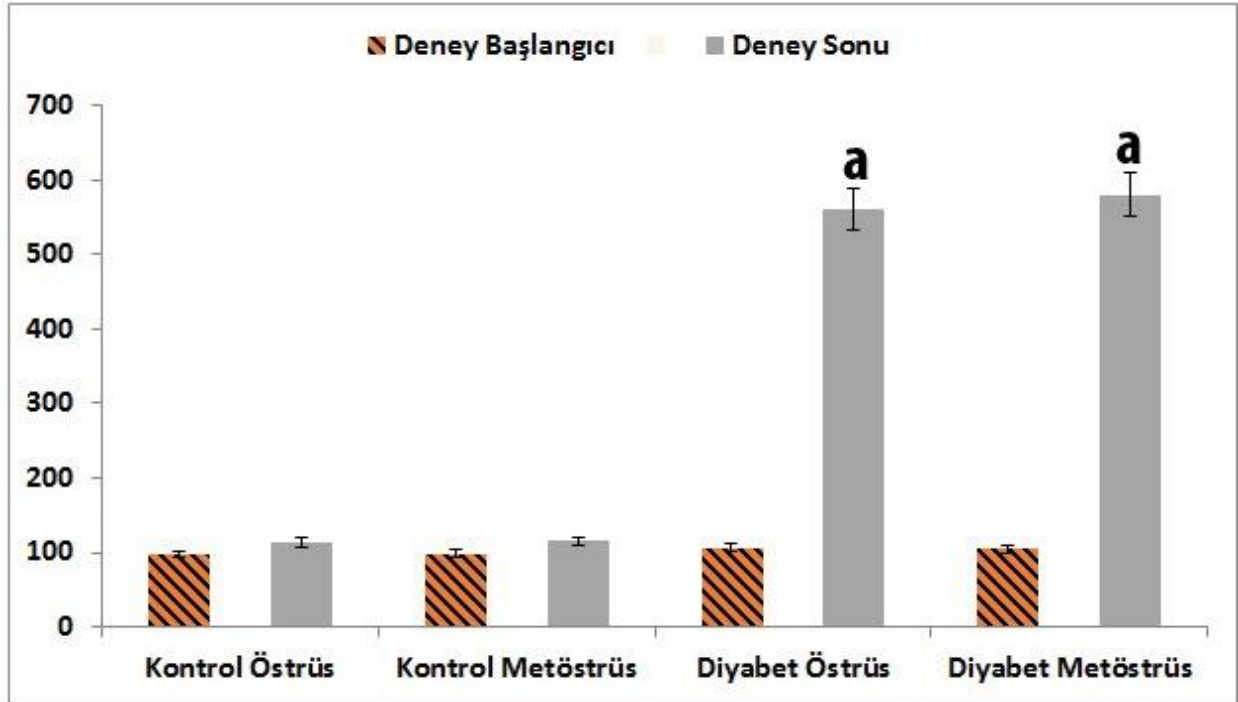
Deney başlangıcında kan glukoz değer gruplar arasında birbirine yakın ve sağlıklı bir görünüme sahip oldukları tespit edildi. Deney sonunda kontrol gruplarından elde edilen kan glukoz değerleri, başlangıç değerlerine göre anlamlı bir değişim göstermezken, her iki diyabet grubunda da deney sonunda başlangıç değerine göre anlamlı artışın olduğu tespit edilmiştir (P<0.05; Tablo 2 ve Şekil 5). Diyabetik grupların karşılaştırılmasında ise her ne kadar diyabet

metöstrüs grubunda kan glukoz değeri yüksek çıkmış olsa da istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmemiştir ($P>0.05$, Tablo 2).

Tablo 2. Gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu kan glukoz değerleri (mg/dl)

	Kontrol Östrüs	Kontrol Metöstrüs	Diyabet Östrüs	Diyabet Metöstrüs
Deney Başlangıcı	97.4±8.1	99.2±9.8	107.2±10.2	105.2±8.5
Deney Sonu	113.5±10.5	115.0±7.8	562±27.9 ^a	580±41.5 ^a

a: $P<0.05$; Kontrol gruplarına ait başlangıç ve deney sonu değerler ve Diyabetik gruplara ait başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı.

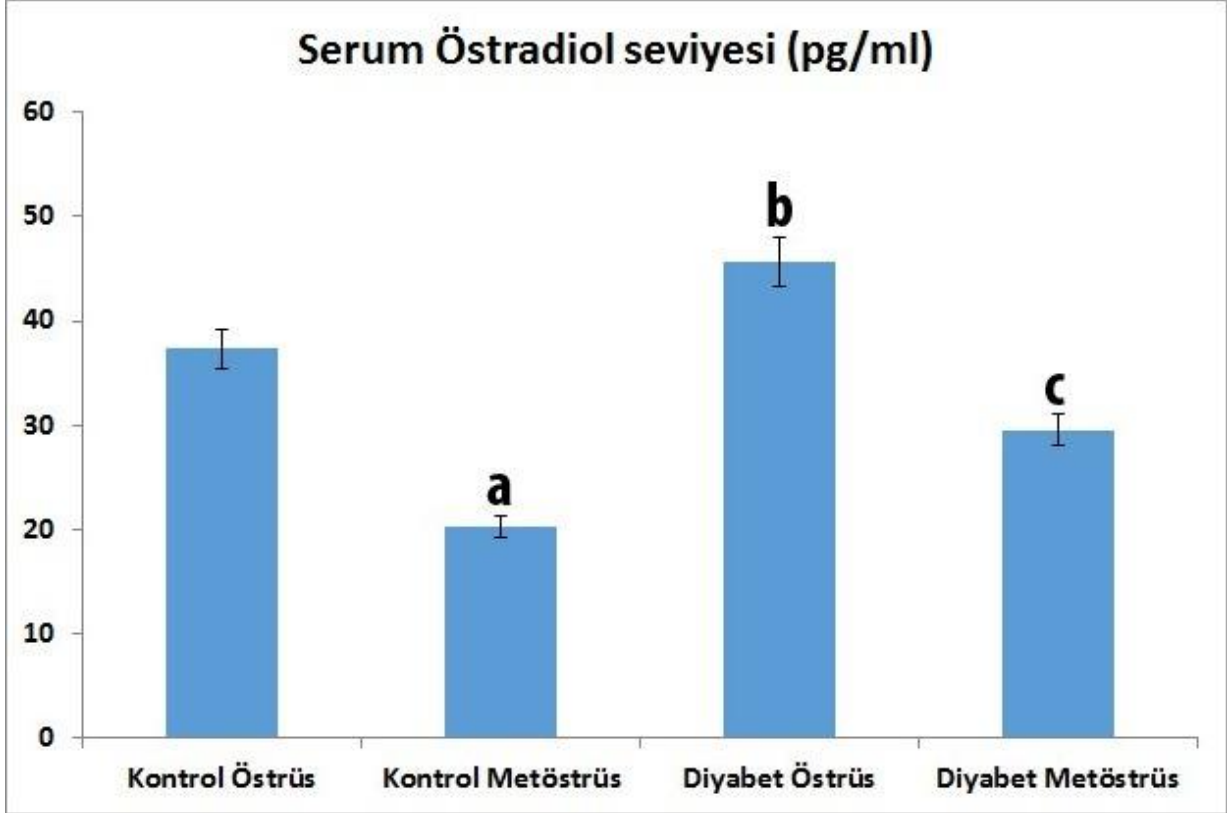


Şekil 5. Gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu kan glukoz değerleri (mg/dl) **a:** $P<0.05$; Kontrol gruplarına ait başlangıç ve deney sonu değerler ve Diyabetik gruplara ait başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı.

Kan Östradiol Bulguları

Deney sonunda intrakardiyak olarak alınan kan örneklerinden Trakya Üniversitesi Hastanesi Merkez Labrotuvarında yapılan östradiol analizlerinde, kontrol metöstrüs östradiol seviyesi kontrol östrüs değerine göre anlamlı olarak düşük tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Diyabetik östrüs grubunda, kontrol gruplarına ve diyabetik metöstrüs grubuna göre anlamlı olarak yüksek östradiol seviyesi tespit edilmiştir. Diyabetik metöstrüs grubunda ise kontrol östrüs ve diyabetik östrüs gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük ve kontrol metöstrüs grubuna göre ise anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$, Şekil 6).

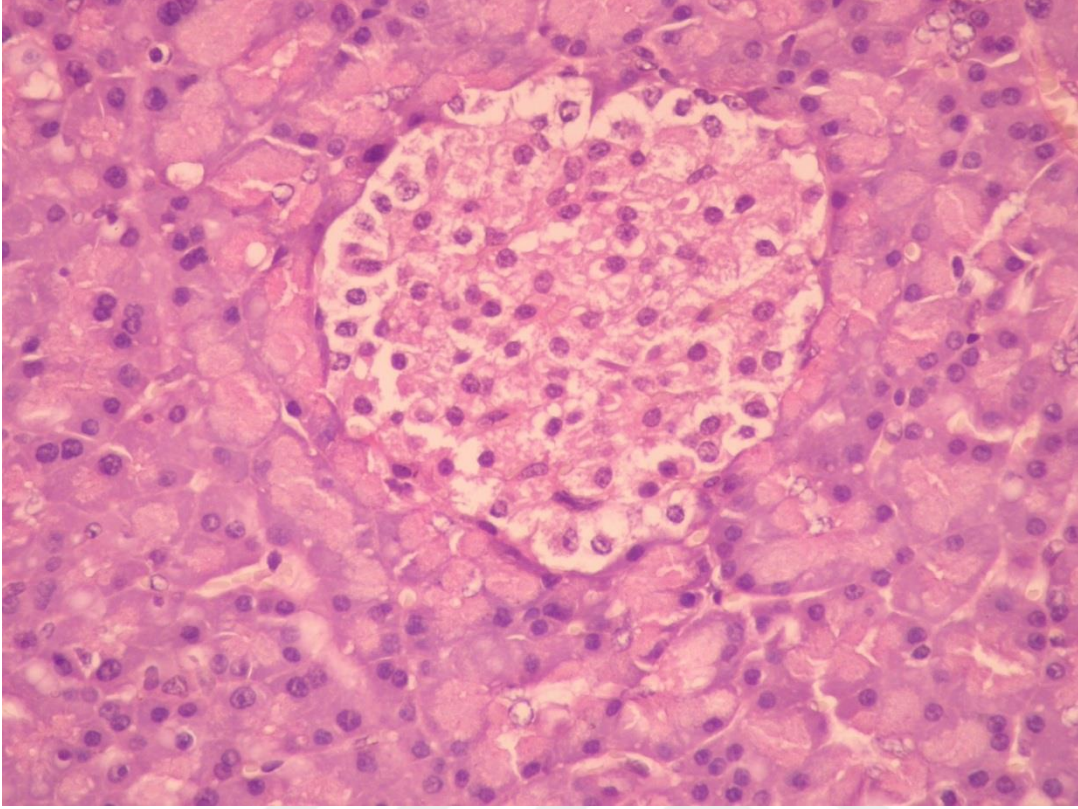


Şekil 6. Serum östradiol seviyeleri. **a:** $P<0.05$; Kontrol östrüse göre; **b:** $P<0.05$; Kontrol östrüs ve kontrol metöstrüse göre; **c:** $P<0.05$; Kontrol östrüs, kontrol metöstrüs ve Diyabet östrüs gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı.

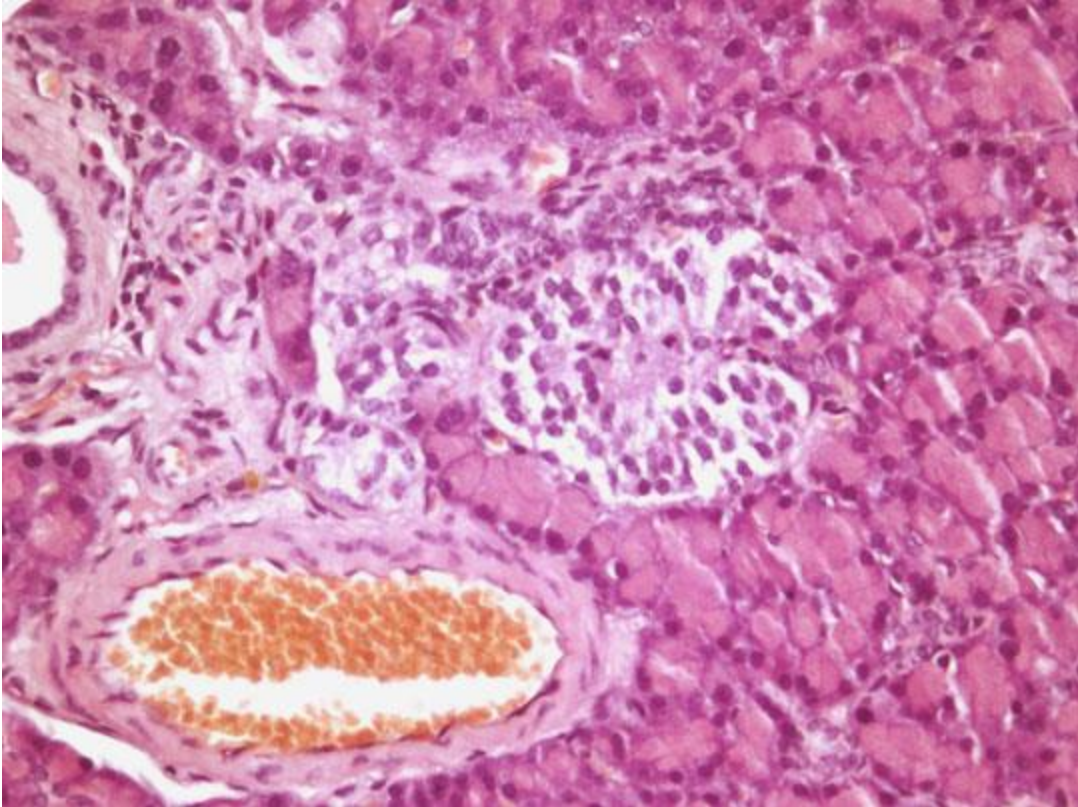
Histopatolojik Bulgular

Pankreas bulguları

Kontrol gruplarında, pankreas dokusu gerek ekzokrin gerekse endokrin bölümlerinin görünümü ile sağlıklı bir yapıda idi (Şekil 7). Diyabetik gruplarda ise endokrin bölümde piknotik çekirdekleri ile nekrotik hücreler, yapısı bozulmuş kontrol gruplarına göre göreceli olarak küçülmüş Langerhans adacıklarının varlığı tespit edilmiştir (Şekil 8).



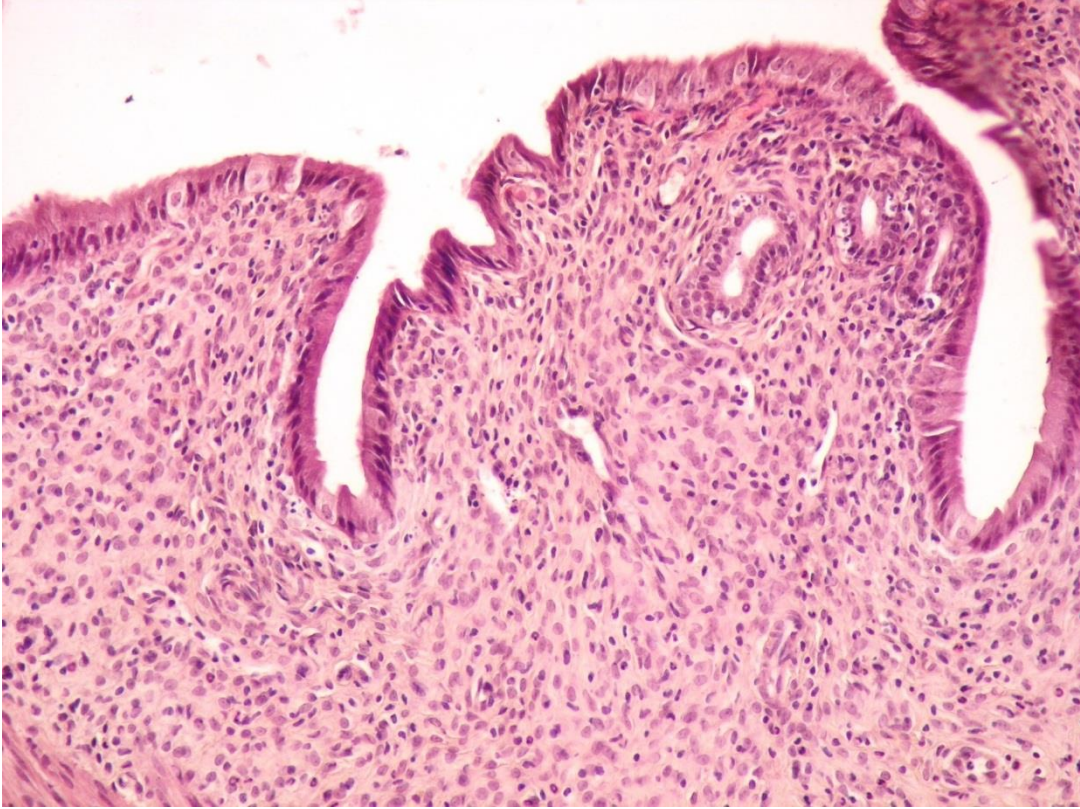
Şekil 7. Kontrol metöstrüs grubuna ait pankreas görüntüsü, H&E 400X



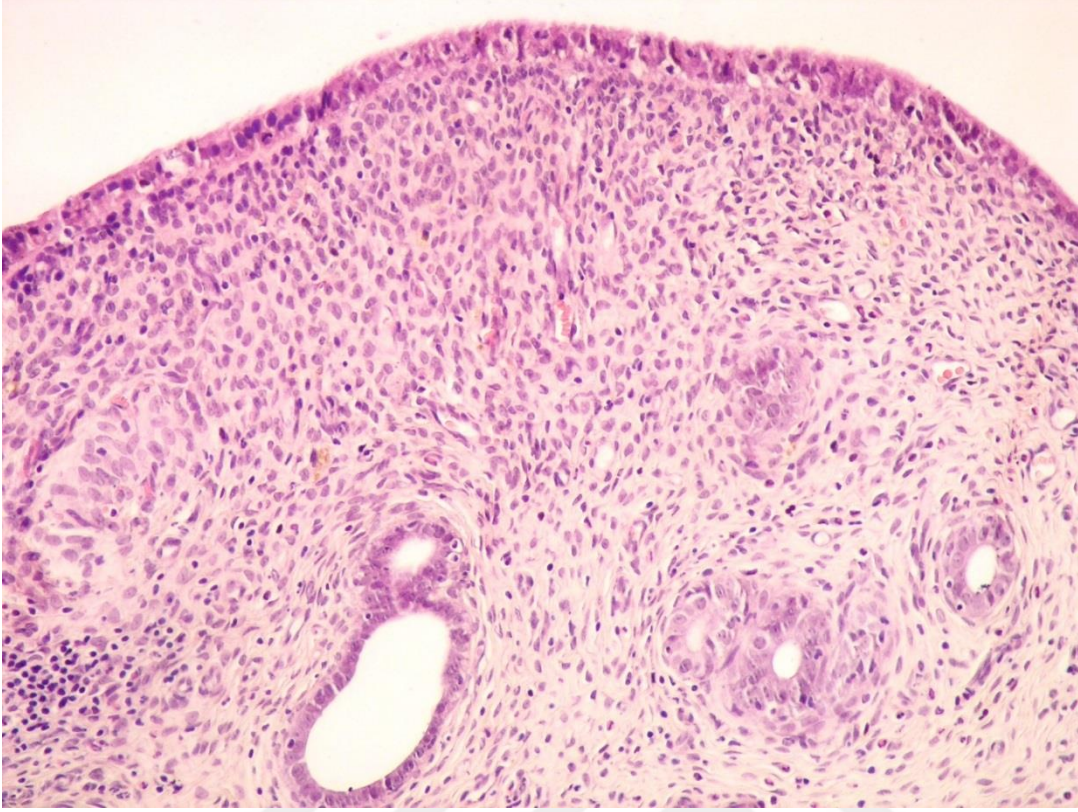
Şekil 8. Diyabetik östrüs grubuna ait pankreas görüntüsü, H&E, 400X

Uterus bulguları

Kontrol östrüs ve metötrüs gruplarında normal sağlıklı uterus histolojik yapısı izlendi (Şekil 9 ve 10). Diyabetik gruplara ait H&E uterus kesitleri incelendiğinde, endometriyum ve uterus bez epitellerinin çok sayıda nekrotik hücre içerdiği, epitelde yer yer bütünlük kaybı, uterus bezlerinde hücresel dökülmeler ve bez yapısında bozulmalar tespit edildi (Şekil 11 ve 12).



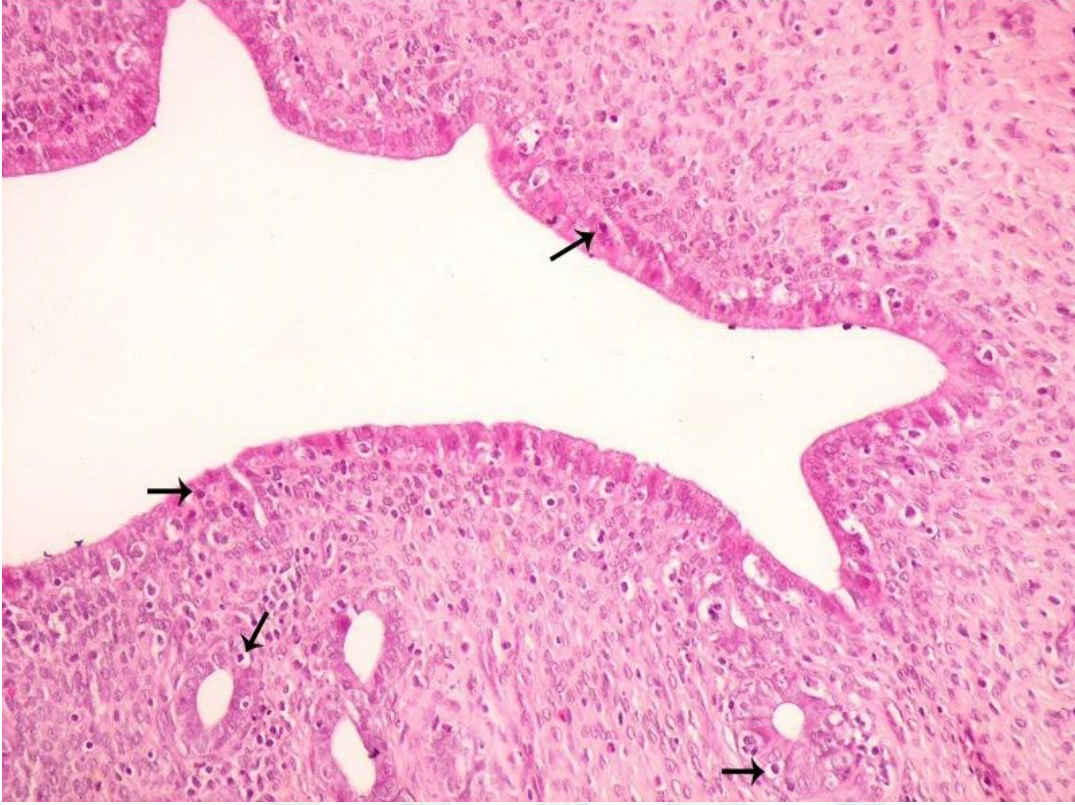
Şekil 9. Kontrol östrüs grubuna ait sağlıklı uterus görüntüsü, H&E, 400X.



Şekil 10. Kontrol metöstrüs grubuna ait sağlıklı uterus görüntüsü, H&E, 200X.



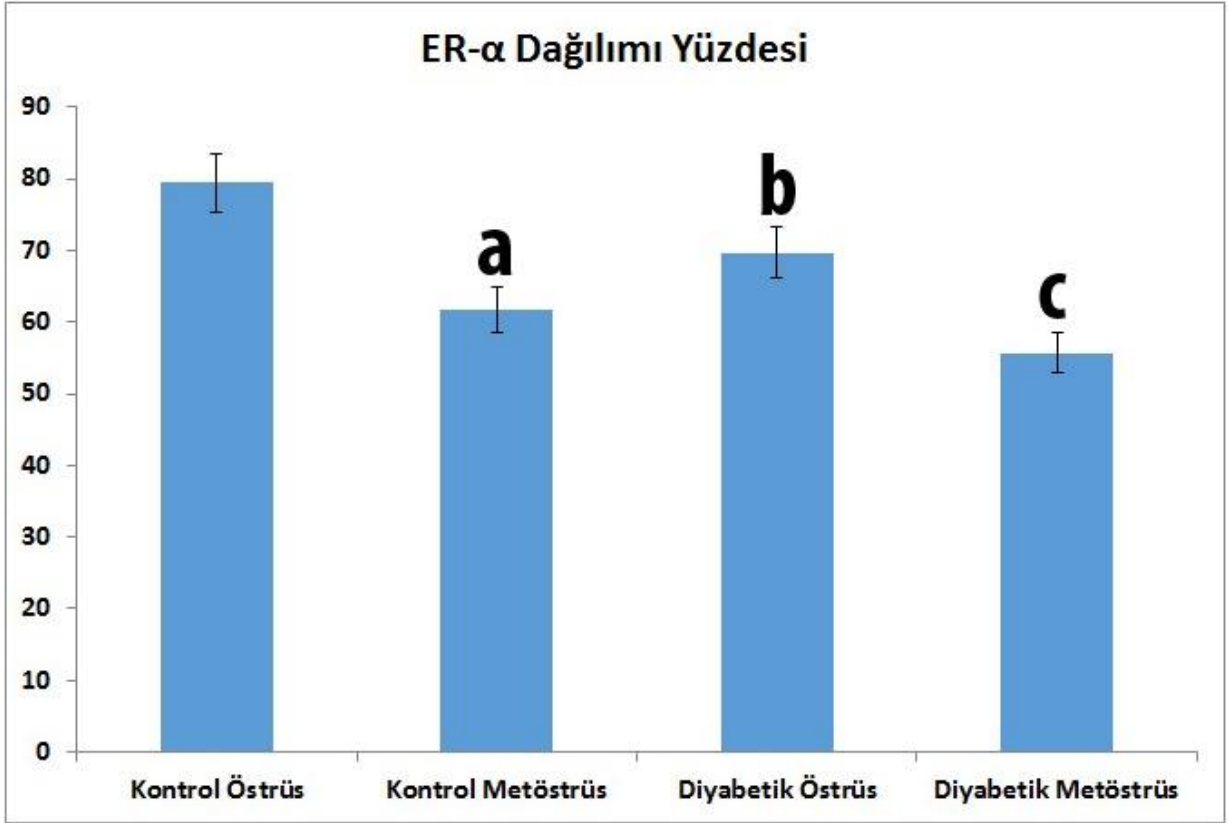
Şekil 11. Diyabetik östrüs grubuna ait uterus görüntüsü. *: Yapısı bozulmuş uterus bezi, oklar: Nekrotik hücreler, (İç resim: endometriyum epitel hücrelerinde çok sayıda görülen piknotik çekirdek yapısı), H&E, 400X.



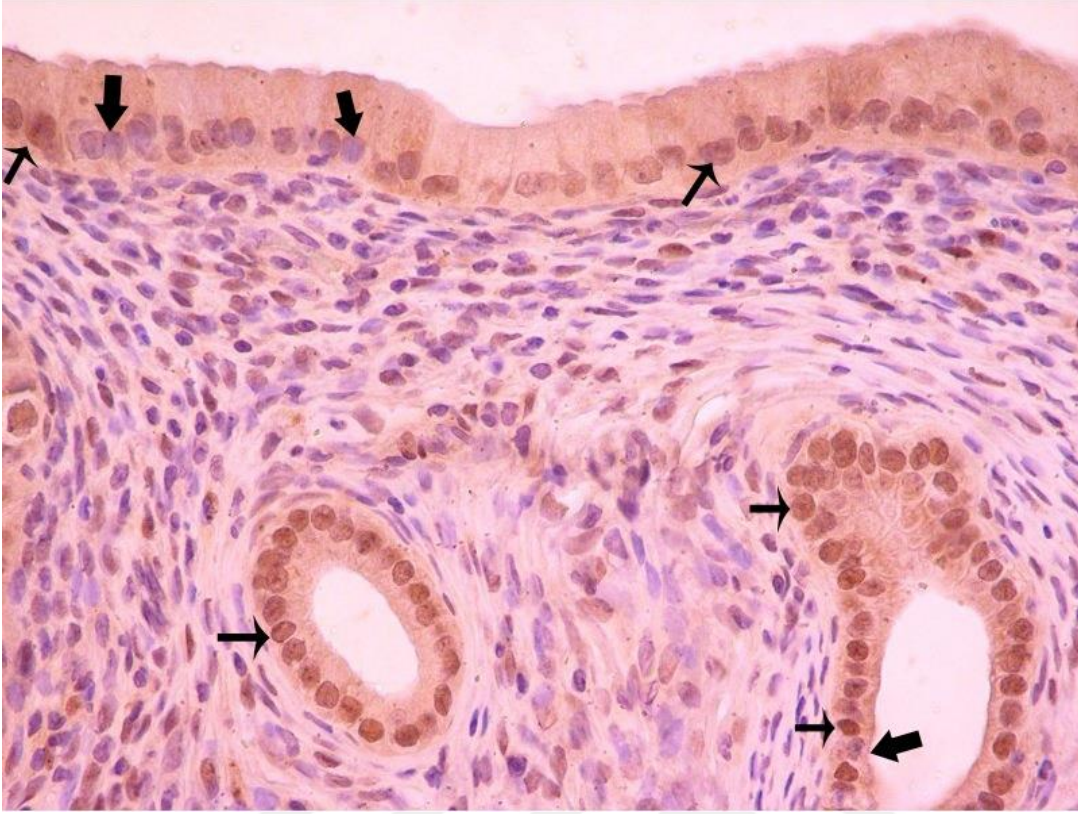
Şekil 12. Diyabetik metöstrüs grubuna ait uterus görüntüsü, oklar: Nekrotik çekirdeğe sahip hücreler, H&E, 200X.

İmmünohistokimyasal Bulgular

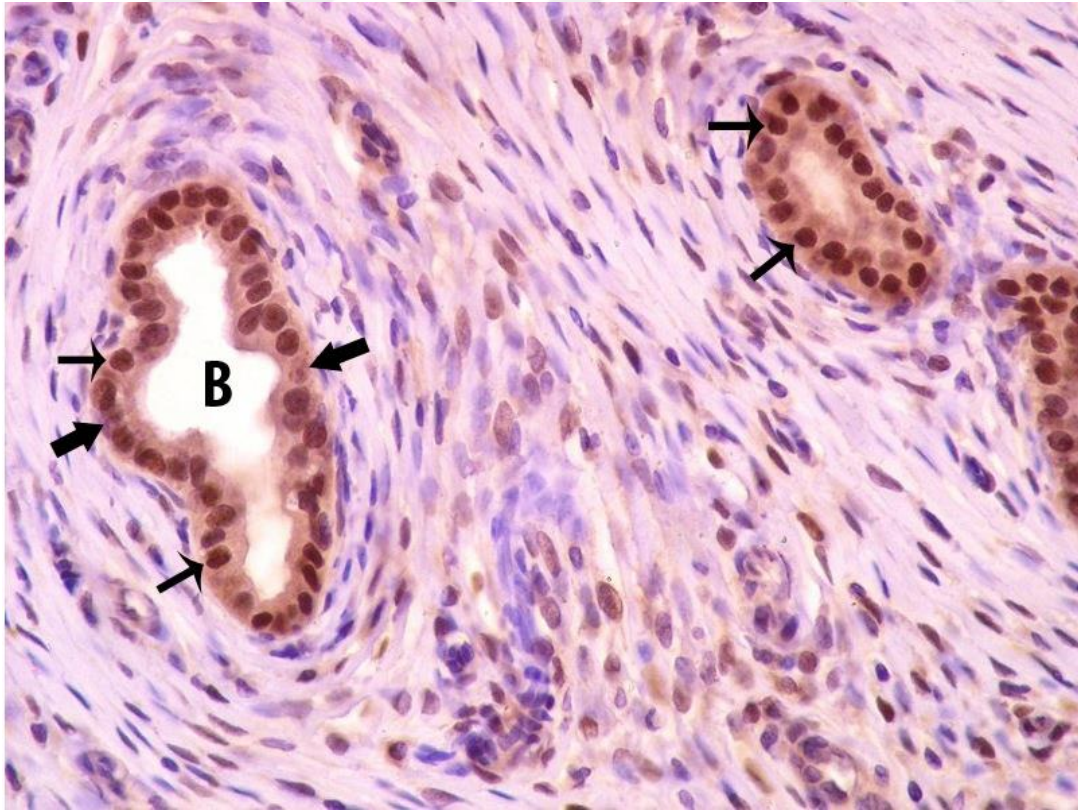
Uterus endometriyum epitel ve bez epitelindeki ER α 'nın immünohistokimyasal dağılımına bakıldığında deney grubu sıçanlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede tespit edildi. Kontrol metöstrüs kontrol östrüse göre anlamlı bir azalma gösterdi. Diyabet östrüs grubu kontrol metöstrüs grubuna göre anlamlı olarak artmış ama kontrol östrüsa göre anlamlı bir düşüş göstermişti. Diyabet metöstrüs grubunda kontrol östrüs, kontrol metöstrüs ve diyabetik metöstrüs grupları ile karşılaştırdığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlelenmiştir (Şekil 13-21).



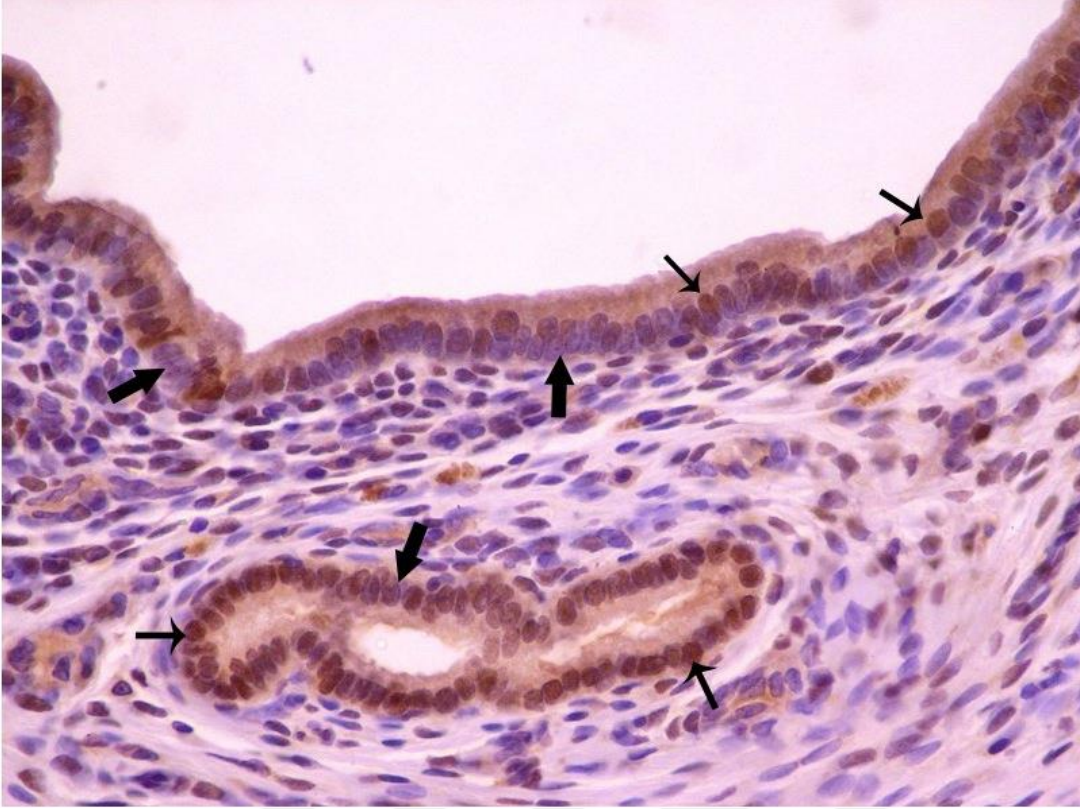
Şekil 13. Uterus endometriyum epitel ve bez epitelindeki ER α 'nın immünohistokimyasal dağılımı. a: $P < 0.05$; Kontrol östrüs grubuna göre; b: Kontrol östrüs ve kontrol metöstrüs gruplarına göre; c: Kontrol östrüs, kontrol metöstrüs ve diyabetik östrüs gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı.



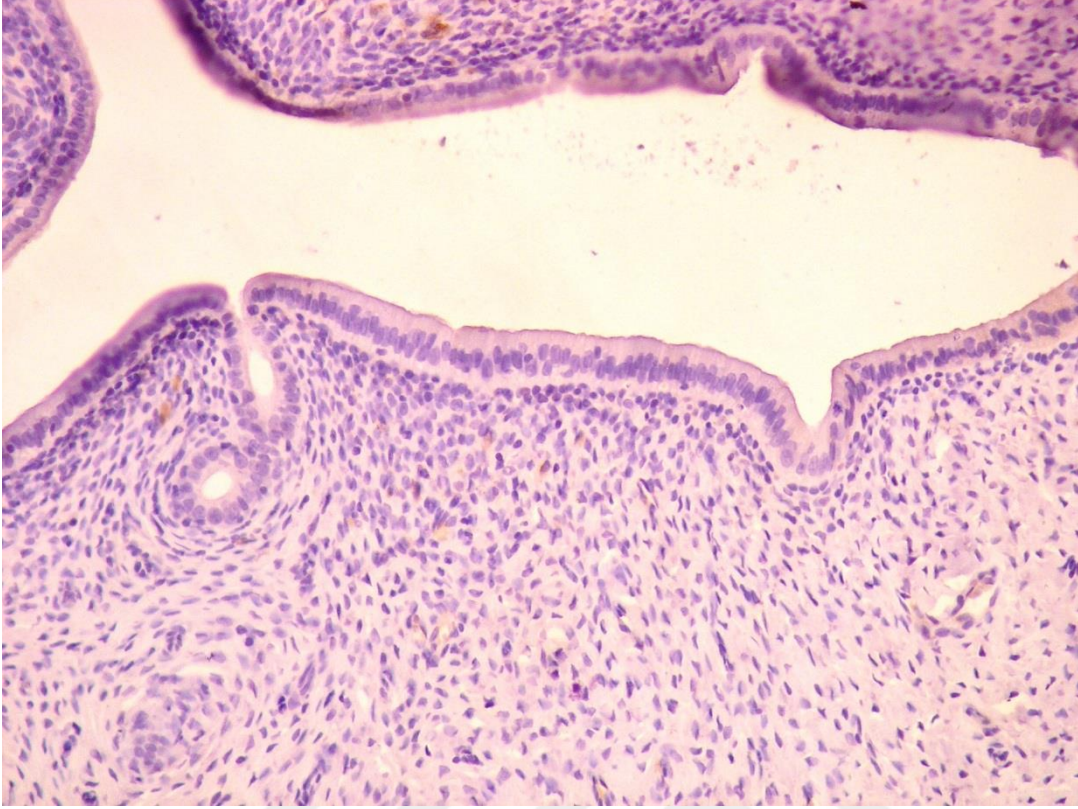
Şekil 14. Kontrol östrüs grubuna ait uterus görüntüsü. İnce oklar: ER α pozitif hücreler; Kalın oklar: ER α negatif hücreler, İmmünoperoksidaz boyaması, 400X.



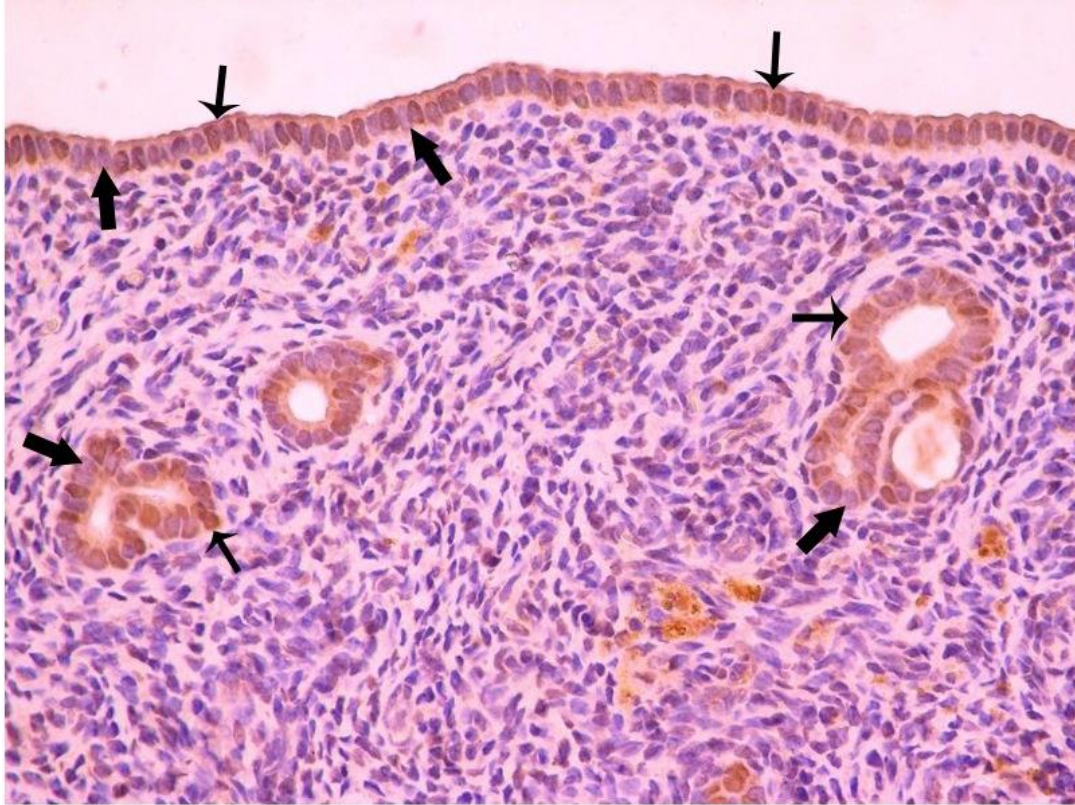
Şekil 15. Kontrol östrüs grubuna ait endometriyal bezlerin görüntüsü. İnce oklar: ER α pozitif hücreler; Kalın oklar: ER α negatif hücreler, İmmünoperoksidaz boyaması, 400X.



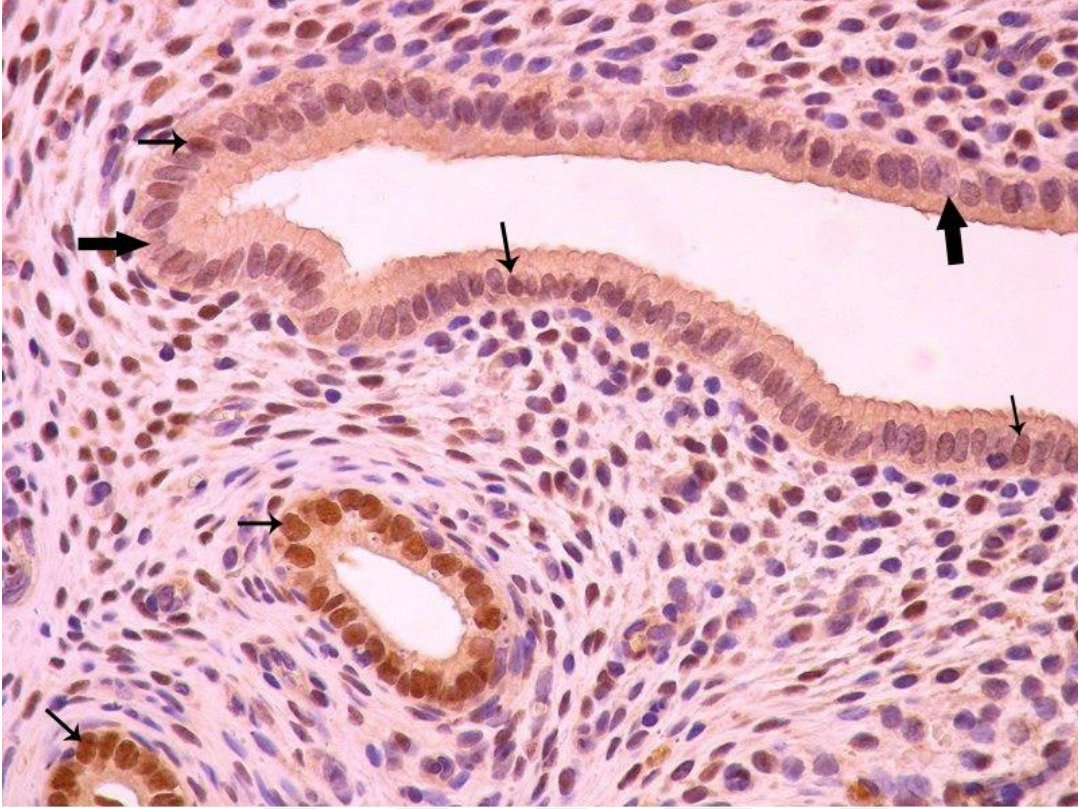
Şekil 16. Kontrol grubu metöstrüs grubuna ait uterus görüntüsü. İmmünopozitif hücrelerin endometriyum bez epitellerinde, lümen epiteline göre daha yoğun ve fazla sayıda olduğu dikkat çekmektedir. İnce oklar: ER α pozitif hücreler; Kalın oklar: ER α negatif hücreler, İmmünoperoksidaz boyaması, 400X.



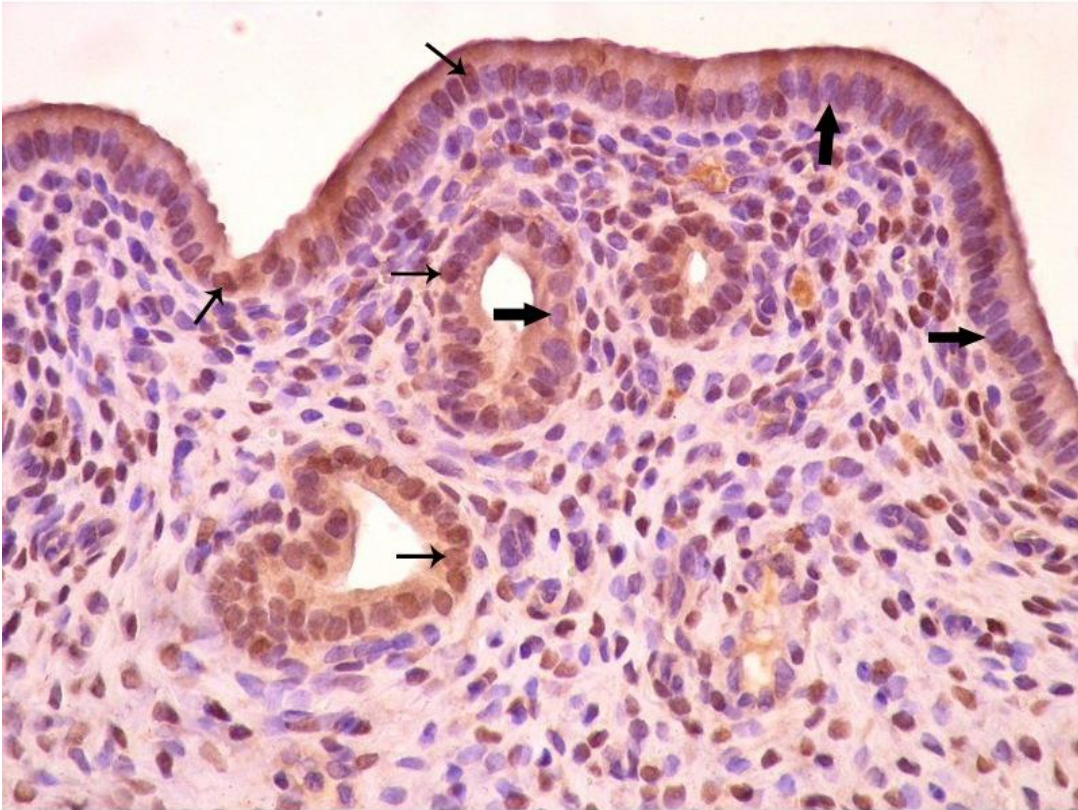
Şekil 17. Kontrol metöstrüs grubuna ait negatif kontrol kesiti, İmmünoperoksidaz boyaması, 200X.



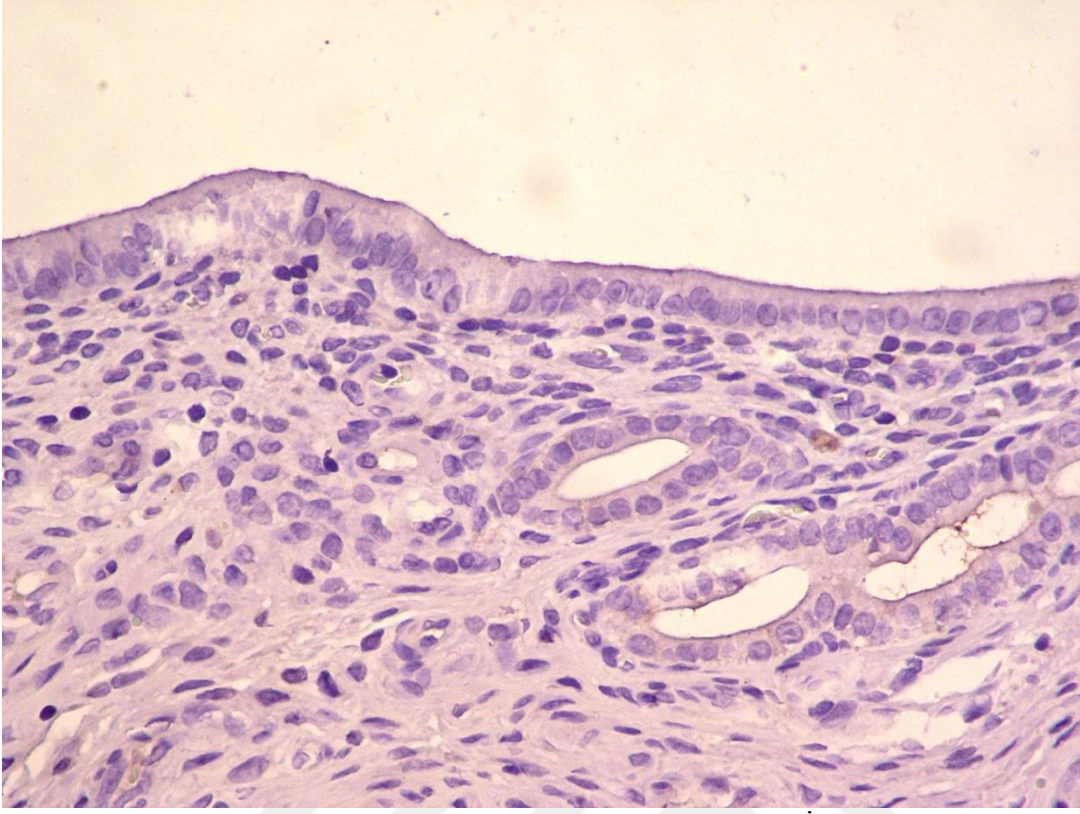
Şekil 18. Diyabet östrüs grubuna ait uterus görüntüsü. İnce oklar: ER α pozitif hücreler; Kalın oklar: ER α negatif hücreler, İmmünoperoksidaz boyaması, 400X.



Şekil 19. Diyabetik metöstrüs grubuna ait uterus görüntüsü. İnce oklar: ER α pozitif hücreler; Kalın oklar: ER α negatif hücreler, İmmünoperoksidaz boyaması, 400X.



Şekil 20. Diyabetik metöstrüs grubuna ait uterus kesiti. İnce oklar: ER α pozitif hücreler; Kalın oklar: ER α negatif hücreler, İmmünoperoksidaz boyaması, 400X.



Şekil 21. Diyabet metöstrüs grubuna ait negatif kontrol kesiti. İmmünoperoksidaz boyaması, 400X.

TARTIŞMA

Günümüzde dünya sağlık örgütü tarafında salgın hastalık olarak değerlendirilen DM, metabolik hastalıklar içerisinde en kompleks sendromlardan biri olup, batı ülkelerinde ve gelişmekte olan ülkelerde, kalp hastalığı ve kanserden sonra, ölüm nedenlerinin en önemlilerinden biridir. DM hiperglisemi ile karakterize, insülin üreten pankreas β - hücrelerinin yıkımı ile oluşun ve buna bağlı olarak, vücutta insülin eksikliği ile kendini gösteren bir hastalıktır (tip I diyabet). Tip II diyabetes mellitus da heterojen bir hastalık olup, insülin direnci ve/veya insülin salgılanma kusurları ile karakterizedir. DM, hastalarda kan glukoz seviyesinde artışa ve kilo kayıplarına sebep olmakta, ayrıca protein, karbonhidrat ve lipid metabolizmasını da etkilemektedir (1,2,47).

Streptozotosin (STZ) ile diyabet olan hayvanlarda, kan-glukoz seviyesinde artış, kilo kayıpları, endokrin pankreasta hasar ve buna bağlı olarak insülin hormon düzeyinde azalma yapılan pek çok çalışma ile gösterilmiştir (48). Çalışmamızda, STZ ile deneysel diyabet yapılan dişi sıçanlarda kilo kayıpları ve kan-glukoz değerlerindeki artış daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Yine daha önce yapılan bir araştırmada, STZ ile diyabet modeli oluşturulan erkek sıçanlarda östradiol seviyesinin artış gösterdiği, serum testosteron seviyesinin ise önemli derecede azalma gösterdiği bildirilmiş ve bu hormonal değerişimler böbrek hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir (49).

İnsanlarda yapılan çalışmalarda, diyabetin seks hormonları üzerine olumsuz etkiler yaptığı bildirilmiştir. Yapılan araştırmalarda, diyabetik erkeklerde testosteron seviyesinin düşük, aksine estradiol seviyesinin çok yüksek olduğu bildirilmiştir. Buna karşın, diyabetik kadınlarda serum estradiol seviyesi çok düşük iken, serum testosteron düzeyleri oldukça

yüksek belirlenmiştir (50,51,52). Östrojenler yapısal olarak streoid grubu hormonlardan olup, bunlar 17- β estradiol, östriol ve östron olmak üzere üç temel hormonu oluştururlar ve kadın ve erkek üreme sistemlerini düzenleyici hormon olarak işlev görürler (53). Östrojenlerin düzenleyici etkilerini sadece üreme organlarında değil, farklı sistemlere ait doku ve organlarda da etki göstermektedirler. Kemik dokusu, kardiyovasküler sistem, bağışıklık sistemi ve merkezi sinir sistemi bu dokulardan en belirgin olanlarıdır (53,54). Yapılan bu araştırmada, diyabetik sıçanlarda kontrol sıçanlara göre östrüs ve metöstrüs fazlarında östradiol seviyesinin anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, hem kontrol hem de diyabetik gruplarda, serum östradiol seviyesinin östrüs fazında metöstrüs fazından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir araştırmada, menstrual siklusun proliferatif fazında endometrial ve miyometrial dokularda östradiol seviyelerinin diğer fazlarla karşılaştırılmasında arttığı tespit edilmiştir (55). Bozoğlu (2013) ve Bozoğlu ve Karaca (2014) yaptıkları çalışmada, deneysel hipertiroidi modeli oluşturulmuş dişi sıçanlarda, tüm östrüs fazlarında serum östrojen seviyelerinin kontrol gruplarına göre yüksek olduğunu bildirmiştir (56,57).

Östrojenler hormonları hedef dokularda, iki farklı reseptör alt grubuna bağlanarak etki ederler. Östrojen reseptör alt grupları “östrojen reseptör alfa-ER α ve ER β ”dır ve sırasıyla ESR1 ve ESR2 genleri tarafından kodlanırlar. Her iki reseptör de değişik hücre tiplerinde eksprese edilirler. Bununla birlikte, α - izoformu insülin duyarlı dokularda β -izoformundan daha yoğun eksprese edilir. Bu reseptörler çoğunlukla nüklear olarak bulunmakta olup, yapılan araştırmalarda kısmi olarak da plazma membranında lokalize oldukları gösterilmiştir. Plazma membranında yerleşik olan reseptörler, östrojenlerin intraselüler sinyallerinin daha hızlı etki göstermesine aracılık ettiği bildirilmiştir (58,59,60). Le May ve ark. yaptıkları çalışmalarında, östrojenlerin erkek ve dişi sıçanlarda insülin üretiminin sürdürülmesine aracılık ettiği bildirilmiştir. Bu etki mekanizmasını da, pankreatik β hücreleri üzerine olan STZ kaynaklı oksidatif stresin ortadan kaldırılması ile antiapoptotik etki göstermesine dayandırılmıştır ve bu yolak kısmi olarak da ER α 'ya bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (61).

Saruhan ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, uterusun yüzey epitelinde, endometriyal bez hücrelerinde, myometriyum ve stromada ER'nin dağılımının luteal ve foliküler fazlarda değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (62). Yapılan araştırmalarda, diyabete bağlı olarak uterus stromal ve epitelyal hücrelerinde östrojen hormonunun, östrojen ve progesteron reseptör ekspresyonlarını değiştirdiği gösterilmiştir (63). Başka bir araştırmada, ekzojen olarak verilen östrojenin, progesteron reseptörleri ve kendi reseptörlerini artırdığı ve

yine ekzojen verilen progesteronun ise ER ve progesteron reseptör düzeylerini azaltıcı etki yaptığı gösterilmiştir (64).

Ribas ve ark. yaptıkları çalışmalarında, östrojenin anti-diyabetik etkisinin olduğunu göstermişlerdir (65). İnsan ve kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar östrojenin glukoz homeostazı üzerine pozitif etkisi olduğunu bildirmiştir. Östrojen, pankreas β hücrelerinden insülin salgısını arttırmakta, adipoz ve kas dokularında glukoz alımını stimüle etmekte ve karaciğerde glukoneogenezin baskılanmasını sağlayarak kan glukoz düzeyinin ayarlanmasına yardımcı olmaktadır (66). Sunulan bu çalışma, diyabetik östrüs ve metöstrüs fazındaki sıçanlarda, kontrol grubu östrüs ve metöstrüs grubu sıçanlara göre östradiol seviyesinin anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç önceki çalışma sonuçlarına benzere olarak, kan glukoz seviyesinin düzenlemesinde önemli bir faktör olabileceğini düşündürmekle beraber, diyabetik gruplarda deney sonunda kan glukoz seviyeleri kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($P<0.05$).

Yapılan hayvan modellerinde, aromataz enziminin glukoz homeostazında önemli işlevler gösterdiği bildirilmiştir. Aromataz knock out ve östradiol (E2) sentez edemeyen farelerde yapılan bir araştırmada; hem erkek hem de dişi farelerde glukoz oksidasyonunun azalmış olduğu ve serum insülin seviyelerinin ise yükseldiği gösterilmiştir (67,68). Yapılan başka bir çalışmada ise aromataz knock out erkek farelerde, glukoz intoleransının ve insülin direncin geliştiği ve bunun E2 tedavisi ile geriye dönüştürülebildiği tespit edilmiştir (69). İnsanlarda yapılan bir araştırmada da, aromataz eksikliği olan erkeklerde, yüksek insülin seviyeleri bildirilmiştir (70).

ER α knock out farelerde, hepatik insülin direnci iskelet kaslarında glukoz kullanımı azlığı ile ilişkilendirilmiştir. Deneysel modellerde anti-obesitik özelliği bilinen E2'nin eksikliği ve direncinin hiperfajiye sebep olmadığı bildirilmiştir (68). Benzer şekilde, ER α yoksunluğunun dişi ve erkek farelerde, hiperfaji gelişmeksizin obesiteye neden olduğu ve enerji harcamalarının azaldığı bildirilmiştir (71). Sunulan bu araştırmada, diyabetik sıçanlarda kontrollere göre anlamlı düzeyde vücut ağırlık kayıpları tespit edilmiştir. Bu ağırlık kayıpları STZ ile oluşturulan diyabetik duruma bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stresinin ve yem tüketiminde meydana gelen azalmayla açıklanabilir. Bunun yanında sunulan bu araştırmada, diyabetik östrüs ve metöstrüs gruplarında kontrol gruplarına göre ER α pozitif hücre yüzdesi, uterus endometriyum epiteli ve uterus bez epitelinde anlamlı olarak azalma göstermiştir. ER α pozitif hücre yüzdesindeki azalmaya rağmen, sıçanlarda kilo kayıplarının diyabet kaynaklı oksidatif strese bağlı olarak gelişmekte olduğu düşünülmektedir.

Daha önce yapılan bir araştırmada, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda uterus dokusunda endometriyal kalınlaşma ve proliferasyonun çok yüzeysel olduğunu, bunu da östrojenin yetersiz salgılanması ve azalmış duyarlılığı ile açıklanmıştır (72). Diyabetik sıçanlarda kontrol sıçanlara göre uterus ağırlığı anlamlı derecelerde azaldığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (73). Yapılan farklı bir araştırmada ise, diyabetik sıçanlarda endometrial epitel, stroma ve miyometrium kontrollere göre daha az gelişim gösterdiği bildirilmiştir. Sunulan bu araştırma sonucunda, endometriyum stromasının daha ince, uterus bez epitel gelişiminin ise daha zayıf olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçları daha önce yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (74).

Endometriyum epiteli ve stroma hücrelerinin büyümesini çeşitli büyüme faktörleri düzenler (70). Yapılan araştırmalarda, geç proliferasyon fazında ER ekspresyonunun tüm uterus hücrelerinde en yüksek değerine ulaştığı gösterilmiştir. Stromal ve düz kas hücreleri, glandular epitel hücrelerine göre daha az pozitiflik verdiği bildirilmiştir. Erken sekresyon fazında, ER boyanması stromal ve düz kas hücrelerinde proliferasyon fazına göre azaldığı; buna karşı glandular epiteldeki ER ekspresyonu azalışının daha az olduğu bildirilmiştir (61).

Östradiol, DNA sentezini ve proliferasyonu uyarır; östrojen ile progesteron reseptörünün ekspresyonunu artırır. Endometriyumun proliferasyon fazında, tüm uterus hücrelerinde östrojen ve progesteron reseptöründe gözlenen artış, muhtemelen lokal östradiol konsantrasyonundaki artışın sonuç olarak yorumlanmıştır. Çeşitli hücre tiplerindeki ER ekspresyonundaki anlamlı azalma, endometriyal ve miyometrial dokulardaki östradiol konsantrasyonunda keskin bir düşüş ile paralel bulgular göstermektedir (75).

SONUÇLAR

Sunulan bu araştırmada; deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların uterus dokusunda östrojen reseptör alfa (ER α) dağılımının immunohistokimyasal olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, 20 adet üç aylık Wistar albino dişi sıçan kullanıldı. Denekler, rastgele kontrol ve diyabet gruplarına ayrıldılar. Diyabet grubuna, diyabet oluşumu için tek doz (60 mg/kg) streptozotosin (STZ) periton içi enjeksiyonu yapıldı. Diyabet oluşumunu takiben 21.günden itibaren her sabah deneklerden (kontrol ve diyabetik) vajinal smear örnekleri alındı; metöstrus ve östrus fazında olan hayvanlar derin anestezi altında uyutularak uterus ve pankreas doku örnekleri çıkarıldı. Buna göre;

- Vücut ağırlıklarında kontrol gruplarında başlangıç değerine göre deney sonunda istatistiksel olarak anlamlı derecede artış tespit edilirken; diyabetik gruplarda deney sonunda, deney başlangıcına göre anlamlı derecede ağırlık kayıpları saptanmıştır (P<0.05).
- Deney başlangıcında kan glukoz değerlerinin gruplar arasında birbirine yakın ve hayvanların sağlıklı bir görünüme sahip oldukları tespit edildi. Deney sonunda, kontrol gruplarından elde edilen kan glukoz değerleri başlangıç değerleri ile anlamlı bir değişim göstermezken, her iki diyabet grubunda da başlangıç değerine göre anlamlı artış tespit edilmiştir (P<0.05). Diyabetik grupların karşılaştırılmasında ise her ne kadar diyabetik metöstrüs grubunda kan glukoz değeri yüksek çıkmış olsa bile istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmemiştir (P>0.05).
- Deney sonu östradiol analizlerinde, kontrol metöstrüs grubunda östradiol seviyesinde, kontrol östrüs grubu değerine göre anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir (P<0.05).

Diyabetik östrüs grubunda, kontrol gruplarına ve diyabetik metöstrüs grubuna göre anlamlı olarak yüksek östradiol seviyesi tespit edilmiştir ($P<0.05$). Diyabetik metöstrüs grubunda ise kontrol östrüs ve diyabetik östrüs gruplarına göre anlamlı düzeyde düşük ve kontrol metöstrüs grubuna göre ise anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

- Kontrol gruplarında, pankreas dokusunun gerek ekzokrin gerekse endokrin bölümlerinin görünümü sağlıklı bir yapıda idi. Diyabetik gruplarda ise endokrin bölümde piknotik çekirdekleri ile nekrotik hücreler, yapısı bozulmuş ve kontrol gruplarına göre göreceli olarak küçülmüş Langerhans adacıklarının varlığı tespit edilmiştir.
- Kontrol östrüs ve metöstrüs gruplarında normal sağlıklı uterus histolojik yapısı izlendi. Diyabetik gruplarda, endometriyum ve uterus bez epitellerin çok sayıda nekrotik hücre, epitelde yer yer bütünlük kaybı, uterus bezlerinde hücresel dökülmeler ve bez yapısında bozulmalar tespit edildi.
- Uterus endometriyum epiteli ve bez epitelindeki ER α 'nın immünohistokimyasal dağılımına bakıldığında; diyabetik gruplarında, kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tespit edildi ($P<0.05$).
- ER α pozitif hücre dağılımı kontrol metöstrüs grubunda, kontrol östrüse grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edildi ($P<0.05$).
- Diyabetik östrüs grubunda, ER α pozitif hücre yüzdesinde kontrol metöstrüs grubuna göre anlamlı olarak artış tespit edilirken; kontrol östrüs grubuna göre ise anlamlı bir düşüş belirlendi ($P<0.05$).
- Diyabetik metöstrüs grubunda ER α pozitif hücre yüzdesi kontrol östrüs, kontrol metöstrüs ve diyabetik metöstrüs grupları ile karşılaştırdığında istatistiksel olarak anlamlı derecelerde azalma gösterdiği tespit edilmiştir ($P<0.05$).

ÖZET

Diyabet kan glukoz seviyesindeki yükselme ve bunun kronik olarak devam etmesi ile karakterize, kronik bir metabolizma hastalığıdır. Genital sistemi de içine alan birçok doku ve organda farklı komplikasyonlara sebep olmaktadır. Dişi genital sistemde implantasyon yoksunluğu, abortus gibi olumsuz etkileri bilinmektedir. Sunulan bu araştırmada, diyabetik sıçanların, östrüs ve metöstrüs siklus fazlarında uterus dokusundaki östrojen reseptör alfa (ER α) dağılımının, immünohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, 20 adet üç aylık Wistar albino dişi sıçan kullanıldı ve 4 eşit gruba ayrıldılar (Kontrol östrüs, Kontrol metöstrüs, Diyabetik östrüs ve Diyabetik metöstrüs). Diyabet gruplarına 60 mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) verildi. Kontrol gruplarına ise eşit hacimde serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. STZ uygulamasını takiben 21. günden itibaren vajinal smear örnekleri alınarak östrüs günleri belirlendi ve anestezi altında kan ve uterus doku örnekleri alındı.

Yapılan biyokimyasal analizlerde, diyabetik östrüs ve metöstrüs gruplarında, kontrol gruplarına göre deney sonu serum glukoz ve östradiol seviyelerinde anlamlı artışlar tespit edildi (P<0.05). Elde edilen parafin kesitlere uygulanan ER α immünohistokimyasal boyaması sonunda, kontrol metöstrüs grubunda kontrol östrüs grubuna göre ER α pozitif hücre yoğunluğunun daha az olduğu belirlendi. Diyabetik östrüs ve metöstrüs gruplarında kontrol östrüs ve metöstrüs gruplarına göre daha az yoğunlukta ER α pozitif hücre tespit edildi. ER α pozitifliğinin uterus bez epitel hücrelerinde, endometriyum epitellerine göre daha yoğun olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, diyabetin östrüs siklusunun farklı fazlarında, uterus endometriyum ve bez epitel hücrelerinde ER α pozitif hücre sayısında azalmaların olduğu belirlenmiş olup, bu

değişimin daha ayrıntılı olarak ortaya konması için ileri alışmalara gereksinim olduğu dűşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: diyabet, östrüs siklusu, östrojen reseptörü alfa, uterus, sıan



THE IMMUNOHISTOCHEMICAL IDENTIFICATION OF ESTROGEN RECEPTORS DISTRIBUTION IN THE UTERINE TISSUES OF RATS WITH EXPERIMENTALLY INDUCED DIABETES

SUMMARY

Diabetes is a chronic metabolic disease which is characterized with increase in blood glucose level and chronic continuation of this state. The disease causes different complications in various tissues and organs including reproductive system. The negative effects such as, the deficiency of implantation and abortus are known in the female genital system. In this presented study, it is aimed to examine immunohistochemically the distribution of estrogen receptor alpha ($ER\alpha$) in uterus of diabetic rats in their estrous and metestrous cycles.

In the study, 3 months-old Wistar Albino female rats were used. They were divided into 4 groups (Control estrous, control metestrous, diabetic estrous and diabetic metestrous; n=5). Into diabetic groups, 60 mg/kg single dose Streptozotocin (STZ) was applied. Into control group, equal volume saline was injected. After STZ injection, starting from 21st day, vaginal smear samples were collected and estrous days were determined. Under anesthesia, blood samples and uterine tissue samples were collected.

With biochemical analysis of samples, in diabetic estrous and metestrous groups, significant increase in serum glucose and estradiol levels were detected comparing to control group ($P<0.05$). $ER\alpha$ immunohistochemical staining of the paraffine sections revealed that the number of $ER\alpha$ positive cells were lower in the control metestrous group than control estrous

group. In diabetic estrous and metestrous groups, the number of ER α positive cells were lower than control estrous and metestrous groups. The intensity of ER α positivity was higher in uterus gland epithelium than endometrium epithelium.

In conclusion, diabetes causes decrease in ER α positivity in uterus endometrium and gland epithelium cells in different estrous phases. To examine the details of this change, the further reasearch is required.

Keywords: diabetes, estrous cycle, estrogen receptor alpha, uterus, rat



KAYNAKLAR

1. Rother IK. Diabetes treatment-bridging the divide. N Engl J Med 2007;356(15):1498-1501.
2. Arslan M. Diabetes mellitusta tanı ve sınıflandırma. İliçin G, Ünal S (Editörler). İç hastalıkları. 2.Baskı. Ankara: Güneş Kitapevi 2003;2279-91.
3. Quinn L. Mechanism in the development of type 2 diabetes mellitus. J Cardiovasc Nurs 2002;16(2):1–16.
4. American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes. Diabetes Care 2003;26(1):5-20.
5. Bağrıaçık N. Diabetes mellitus: Tanımı, tarihçesi, sınıflaması ve sıklığı. Diabetes Mellitus Sempozyumu s.9-18, İstanbul, 2007.
6. World Health Organization. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO Consultation 1999;1-49.
7. International Diabetes Federation. Diabetes atlas, 6th edition, 2013. <http://www.idf.org/diabetesatlas> (16.09.2014 tarihinde erişildi).
8. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus.Clin Chem 2011;57(6):e1-e47. doi: 10.1373/clinchem.2010.161596.
9. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. Diabetes Care 2010;33:11-61.
10. Türkiye diyabeti önleme ve kontrol programı eylem planı, <http://www.saglik.gov.tr/HM/dosya/1-71375/h/turkiye-diyabet-onleme-ve-kontrol->

programi.pdf. (2011). Erişim Tarihi: 25 Ekim 2016.

11. Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes mellitus. *J Clin Invest* 2005; 115(3):48591.
12. Karakurt F, arlhoğlu A, Kasapoğlu B, Gümüő İN. Gestasyonel diabetes mellitus tanı tedavisi. *Yeni Tıp Dergisi* 2009; 26:134-8.
13. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel histoloji. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi; 2007:175-85.
14. Kierszenbaum AL. Histoloji ve hücre biyolojisi patolojiye giriş. Demir R. (Çeviri Editörü) Ankara: Palme Yayıncılık; 2006:570-80.
15. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter temel histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çeviri Editörleri) Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2009: 399-415.
16. Hecht LJ, Mutter GL. Molecular and pathologic aspects of endometrial carcinogenesis. *J Clin Oncol* 2006; 24:4783-91.
17. Eroschenko VP. Histoloji Atlası. Ramazan Demir (Çeviri Editörü) Ankara: PalmeYayıncılık, 2008:s. 391-7.
18. Gürsoy E, Ergin K. Diő üreme sistemi atlası. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2007:4-15.
19. Hiatt JL, Gartner LP. Renkli histoloji atlası. Dağdeviren A, Müftüoğlu S, Karabay G. (Çeviri Editörleri) Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2009: 344-5.
20. Jungueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel histoloji text&atlas. Solakoğlu S, Aytekin Y (Çeviri Editörü). Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: s.448-50.
21. Schwalm H, Dubrauszky V. The structure of musculatuare of human uterus: Muscles and connective tissue. *Am J Obstet Gynecol* 1996;94:391- 404.
22. Leslie P, Hiaat JL. Hücre Biyolojisi ve Histoloji. Prof.Dr. Canan Hürdağ (Çeviri editörü). İstanbul: Medikal;Yedinci Baskı 2016: 339.
23. Sağol S. Normal menstrual ve nöroendokrin hormonal kontrol. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum Ders Notları. İzmir, İzmir Güven Kitabevi, 2005.
24. Akande EO, Hockaday TR. Plasma concentration of gonadotrophins, oestrrogens and progesterone in thyrotoxic women. *Br J Obstet Gynaecol* 1975; 82: 541–51.
25. Unur E, Ülger H, Ekinci N. Anatomi (2. bs.). Kayseri: Medical Kitabevi: 2005.
26. Fujisawa M. Cell-to-cell cross talk in the testis. *Urol Res* 2001;29:144-51.
27. Atasü T, Sahmay S. Jinekoloji. 1. Baskı Üniuersal Bilimsel Yayınları 6 İstanbul 1996:

s:159-164.

28. Sancak B, Cumhuri M. Fonksiyonel Anatomi Bas Boyun ve İç Organlar. 1. Baskı ODTÜ Geliştirme Vakfı Yay ve İletişim A.S. Yayınları, Ankara, 1999: s:333-338.
29. Stenberg SS. Histology for Pathology. 12 th Edition Lippincott- Raven Philadelphia New York 1997; p:879-929.
30. Braw R, Byskov AG, Peters H, Faber M. Follicular atresia in the infant human ovary. J Reprod Fertil 1976; 46(1): 55-9.
31. Pekmez H. Melatonin Hormonunun Miyometriyum Kasılması Üzerindeki Etkileri (tez). Fırat Üniversitesi, Elazığ. Tıp fakültesi; 2005.
32. Rose MP, Gaines Das RE, Balen AH. Definition and measurement of follicle stimulating hormone. Endocrinol Rev 2000;21:5–22.
33. Mülazımoğlu SB, İde T, Aslan S. Ratlarda Üreme. J Clin Anal Med 2005; 39-44.
34. Campbell CS, Ryan KD, Schwartz NB. Estrous cycles in the Mouse: relative influence of continuous light and the presence of male. Biol Reprod 1976;14:292-9.
35. Rao RP, Kaliwal BB. Monocrotophos induced dysfunction on estrous cycle and follicular development in mice. Ind Health 2002; 40: 237-44.39.
36. Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JR. A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. Biotech Histochem 2005; 80 (2):79-87.
37. Mandl MM. Cyclical changes in the vaginal smear of adult ovariectomized rats. J Exper Biol 1951; 28: 585-92.
38. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology 2nd Edition. Pennsylvania WB Saunders Company 2001:310-314.
39. Nacar E. Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda İmplantasyon Döneminde Endometriyumdaki İmmün Sistem Hücrelerinin İmmünohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi (tez). Hatay: Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2012.
40. Maruyama T, Sachi Y, Furuke K, Kitaoka Y, Kanzaki H, Yoshimura Y, et al. Induction of thioredoxin, a redox-active protein, by ovarian steroid hormones during growth and differentiation of endometrial stromal cells in vitro. Endocrinology 1999;140(1):365-72.
41. Ross MH, Pawlina W, Kaye GI. Histology A Text and Atlas. Baltimore. Lippincott Williams & Wilkins, 2003;655-9.
42. Sundarajan C, Liao W, Roy AC, Ng SC. Association of oestrogen receptor gene polymorphisms with outcome of ovarian stimulation in patients undergoing IVF. Mol Hum Reprod 1999; 5:797–802.

43. Enmark E, Gustafsson JA. Oestrogen receptors - an overview. *J Intern Med* 1999; 246(2):133-8.
44. Gruber CJ, Wieser F, Gruber IM, Ferlitsch K, Gruber DM, Huber JC. Current concepts in aesthetic endocrinology. *Gynecol Endocrinol* 2002;16(6):431-41. Review.
45. Iwai T, Nanbu Y, Iwai M, Taii S, Fujii S, Mori T. Immunohistochemical localization of oestrogen receptors and progesterone receptors in the human ovary throughout the menstrual cycle. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1990; 417(5): 369–75.
46. Noriko Y, Ki Sung K, Bao T. Beneficial effect of 17 β -estradiol on hyperglycemia and islet β -cell functions in a streptozotocin-induced diabetic rat model. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010; 249:76–85.
47. Karaca T, Yörük M, Yörük İH, Uslu S. Effects of extract of green tea and ginseng on pancreatic beta cells and levels of serum glucose, insulin, cholesterol and triglycerides in rats with experimentally streptozotocin-induced diabetes: A histochemical and immunohistochemical study. *J Anim Vet Advan* 2010; 9(1):102–7.
48. Xu Q, Wells CC, Garman GH, Asico L, Escano SC, Marik C. Combined inhibition of aromatase activity and dihydrotestosterone supplementation attenuates renal injury in male streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. *Hypertension* 2008;51:1218-24.
49. Maric C, Fosblom C, Thorn L, Waden J, Groop PH. Association between testosterone, estradiol and sex hormone binding globulin levels in men with type 1 diabetes with nephropathy. *Steroids* 2010;75:772-8.
50. Matsushita M, Tamura k, Osada S, Kogo H. Effect of troglitazone on the excess testosterone and LH secretion in thyroidectomized, insulin-resistant, type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Endocrine* 2005;27:301-305.
51. Mankhey RW, Bhatti F, Maric C. 17 beta Estradiol replacement improves renal function and pathology associated with diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;288:405-2005.
52. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and action of estrogens. *N Engl J Med* 2002;346:340-52.
53. Kiss A, Delattre AM, Pereira SL, Carolino RG, Szawka RE, Anselmo JA. 17 Beta-estradiol replacement in young, adult and middle aged female ovariectomized rats promotes improvement of spatial reference memory and an antidepressant effect and alters monoamines and BDNF levels in memory and related brain areas. *Behav Brain Res* 2012;227:100-108.
54. Maekawa T, Takeuchi S, Kanayama M, Takahashi S. Estradiol, progesterone and transforming growth factor α regulate insulin-like growth factor binding protein-3 expression in mouse endometrial cells. *Zool Sci* 2009; 26:131-8.

55. Bozoğlu H. Deneysel Hipertiroidi Oluşturulmuş Sıçanlarda Östrus Siklusunun Değişik Evrelerinde Dişi Genital Organlarda (Ovaryum ve Uterus) Östrojen ve Progesteron Reseptör Dağılımının İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi), Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2013.
56. Bozoglu H, Karaca T. Oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in uterus and ovaries on different days of the oestrus cycle in hyperthyroid rats. *Asian Journal of Medical Sciences* 2014; 6(4): 14-20.
57. Hammes SR, Levin ER. Extranuclear steroid reseptor: nature and action. *Endocr Rev* 2007;28:726-41.
58. Walter P, Green S, Greene G, Krust A, Bornert JM, Jeltsch JM, et al. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82; 7889–93.
59. Heldring N, Pike A, Andersson S, Matthews J, Cheng G, Hartman J, et al. Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiol Rev* 2007;87:905–31.
60. Le May C, Chu K, Hu M, Ortega CS, Sipson ER, Korach KS, et al. Estrogens protect pancreatic beta-cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:9232.
61. Saruhan BG, Sağsöz H, Ketami MA. Immunohistochemical detection of estrogen and progesteron receptors in the bovine uterus and their relation to serum sex steroid hormone levels during the follicular and luteal phase. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2009;15 (3): 447-54.
62. Kurita T, Lee K, Cooke PS, Taylor JA, Lubahn DB, Cunha GR. Paracrine regulation epithelial progesterone receptor by estradiol in the mouse female reproductive tract. *Biol Reprod* 2000; 62: 821-30.
63. Snijders MP, de Goeij AF, Debets Te, Baerts MJ, Rousch MJ, Koudstaal J, et al. Immunohistochemical analysis of oestrojen receptors and progesterone receptors in the human uterus throughout the menstrual cycle and after the menopause. *J Reprod Fertil* 1992; 94: 363-71.
64. Ribas V, Nguyen MT, Henstridge DC, Nguyen AK, Beaven SW, Watt MJ, et al. Impaired oxidative metabolism and inflammation are associated with insulin resistance in ER alfa deficient mice. *Endocrinol Metab* 2010;298:304-19.
65. Barros RP, Machado UF, Gustafsson JA. Estrogen receptors: new players in diabetes mellitus. *Trends Mol Med* 2006;12:425-31.
66. Fisher CR, Kathy H, Graves, Albert F, Evan RS. Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the cyp19 gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95: 6965–70.
67. Jones ME, Thorburn AW, Britt KL, Hewitt KN, Wreford NG, Proietto J, et al. Aromatase-deficient (ArKO) mice have a phenotype of increased adiposity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:12735–40.

68. Takeda K, Todal K, Saibara T, Nakagawa M, Saika K, Onishi T, et al. Progressive development of insulin resistance phenotype in male mice with complete aromatase (CYP19) deficiency. *J Endocrinol* 2003; 176:237–46.
69. Faustini-Fustini M, Rochira V, Carani C. Oestrogen deficiency in men: where are we today? *Eur J Endocrinol* 1999; 140:111–129.
70. Lubahn DB, Moyer JS, Golding TS, Couse JF, Korach KS, Smithieset O, et al. Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:11162– 11166.
71. Ghahary A, Chakrabarti S, Murphy LJ. Localization of the sites of synthesis and action of insulin-like growth factor-1 in the rat uterus. *Mol Endocrinol* 1990;1:191-195.
72. Tatewaki R, Otani H, Tanaka O, Kitada J. A morphological study on the Reproductive organs as a possible cause of developmental abnormalities in diabetic NOD mice. *Histol Histopathol* 1998; 4:343–58.
73. Manabe Y, Tochigi M, Morivaki A, Takeuchi S, Takahashi S. Insulin-like growth factor 1 mRNA expression in the uterus of streptozotocin-treated diabetik mice. *J Reprod Dev* 2013; 59(4):398–404.
74. Alsbach GPJ, Franck ER, Poortman J, Thijssen JHH. Subcellular distribution of estradiol and estrone in human endometrium and myometrium during the menstrual cycle. *Contraception* 1983;27:409-21.
75. Ferenczy A, Bertrand G, Gelfand MM. Proliferation kinetics of human endometrium during the normal menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1979;133:859-67.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	SAYFA No
Şekil 1. İnsan uterus dokusunun sagital enine kesiti.....	6
Şekil 2. Sıçanlara ait uterus dokusunun enine kesiti.....	7
Şekil 3. Vajinal smear örnekleri.....	15
Şekil 4. Deney sonunda deney başlangıcına göre vücut ağırlıkları.....	16
Şekil 5. Gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu kan glukoz değerleri.....	17
Şekil 6. Serum östradiol seviyeleri.....	18
Şekil 7. Kontrol metöstrüs grubuna ait pankreas görüntüsü.....	19
Şekil 8. Diyabetik östrüs grubuna ait pankreas görüntüsü.....	19
Şekil 9. Kontrol östrüs grubuna ait sağlıklı uterus görüntüsü.....	20
Şekil 10. Kontrol metöstrüs grubuna ait sağlıklı uterus görüntüsü.....	21
Şekil 11. Diyabetik östrüs grubuna ait uterus görüntüsü.....	21
Şekil 12. Diyabetik metöstrüs grubuna ait uterus görüntüsü.....	22
Şekil 13. Endometriyum epitel ve bez epitelinde ER α 'nın immünohistokimyasal dağılımı.....	23
Şekil 14. Kontrol östrüs grubuna ait uterus görüntüsü.....	24
Şekil 15. Kontrol östrüs grubuna ait endometriyal bezlerin görüntüsü.....	25

Şekil 16. Kontrol grubu metöstrüs grubuna ait uterus görüntüsü.....	25
Şekil 17. Kontrol metöstrüs grubuna ait negatif kontrol kesiti,İmmunoperoksidaz boyaması.....	26
Şekil 18. Diyabet östrüs grubuna ait uterus görüntüsü	27
Şekil 19. Diyabetik metöstrüs grubuna ait uterus görüntüsü.....	27
Şekil 20. Diyabetik metöstrüs grubuna ait uterus kesiti.....	28
Şekil 21. Diyabet metöstrüs grubuna ait negatif kontrol kesiti.....	28

Tablolar

Tablo 1. Gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu vücut ağırlık değerleri.....	16
Tablo 2. Gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu kan glukoz değerleri.....	17

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında İran'ın Tebriz kentinde doğdu. Ortaöğrenimini Tabriz Fatemiye lisesinde 1997 yılında tamamladıktan sonra, 1999 yılında Tebriz'de Azade Eslami Üniversitesi Tıp Fakültesi Hemşirelik Bölümünü kazandı. 2004 yılında mezun oldu, iki sene zorunlu hizmetten sonra 2007 yılında lisans eğitimini aldı. 2010 yılında devlet memurluk sınavını kazanıp Şuheda hastanesinde işe başladı. 2013 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.



EKLER



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 2014/07

Karar Tarihi: 27.06.2014

KARAR NO: 2014.07.05

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof.Dr. Turan KARACA'nın yaptığı, Yüksek Lisans Öğrencisi Tahereh SARKARAT'ın Yüksek Lisans Tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2014/26 protokol nolu "Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçan uterus dokusunda östrojen reseptör dağılımının immunohistokimyasal olarak belirlenmesi" başlıklı çalışma görüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet. Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Tevfik AKTOZ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	