

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

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Turan KARACA

**STREPTOZOTOSİN İLE DENEYSSEL DİYABET
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA ÖSTRUS
SİKLSUNUN DEĞİŞİK EVRELERİNDE OVARYUM
VE UTERUS DOKULARINDA MAST HÜCRELERİNİN
DAĞILIMININ HİSTOKİMYASAL VE
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Ali Eyüp HAYIROĞLU

EDİRNE – 2013

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

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Turan KARACA

**STREPTOZOTOSİN İLE DENEYSEL DİYABET
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA ÖSTRUS
SİKLSUNUN DEĞİŞİK EVRELERİNDE OVARYUM
VE UTERUS DOKULARINDA MAST HÜCRELERİNİN
DAĞILIMININ HİSTOKİMYASAL VE
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Ali Eyüp HAYIROĞLU

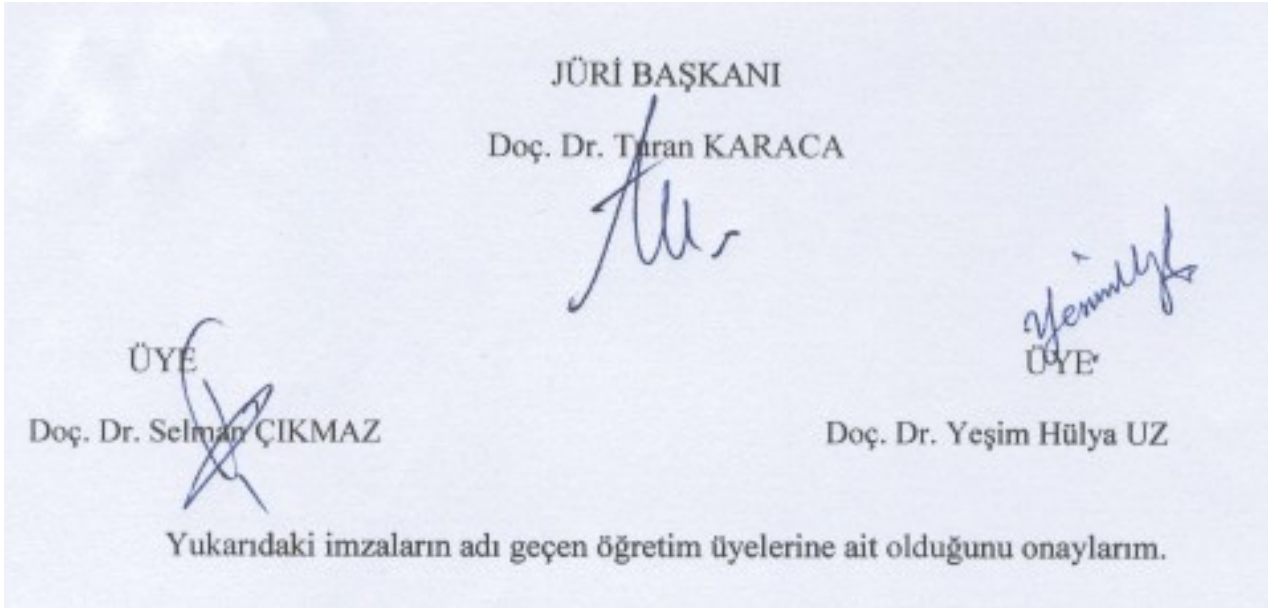
Tez No :

EDİRNE – 2013

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Doç. Dr. Turan KARACA danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Ali Eyüp HAYIROĞLU tarafından tez başlığı “**Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Östrus Siklusunun Değişik Evrelerinde Ovaryum ve Uterus Dokularında Mast Hücrelerinin Dağılımının Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi**” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 27/05/2013 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü V.

TEŐEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşarak bana yardımcı olan, tezimin hazırlanmasında büyük desteğini gördüğüm ve öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı başkanımız ve çok değerli Danışmanım Sayın Doç. Dr. Turan KARACA'ya, yetişmemde büyük katkıları olan değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN'a, Sayın Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ'a, Yrd. Doç. Dr. Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŞIR'a, tezimin değişik aşamalarında birlikte çalıştığımız ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Melike SAPMAZ METİN'e, Arş. Gör. Selim DEMİRTAŞ'a, İhsan KARABOĞA'ya, Soner UYSAL'a ve aileme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

1-GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	3
DİYABET	3
OVARYUM HİSTOLOJİSİ	5
UTERUS HİSTOLOJİSİ	8
SIÇANLARDA MENTURAL SIKLUS EVRELERİ ÖZELLİKLERİ	10
PANKREAS	12
MAST HÜCRELERİ	12
GEREÇ VE YÖNTEMLER	16
BULGULAR	21
TARTIŞMA	48
SONUÇLAR	53
ÖZET	54
SUMMARY	55
KAYNAKLAR	56
ŞEKİLLER VE TABLOLAR LİSTESİ	62
ÖZGEÇMİŞ	65
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
%₀₀	: Binde
⁰C	: Santigrat
CTMC	: Connective Tissue Mast Cell
D hücreleri	: Delta Hücreleri
dl	: Desilitre
DM	: Diabetes Mellitus
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
H+E	: Hematoksilen + Eozin
kg	: Kilogram
LH	: Lüteinleştirici Hormon
MC_C	: Kimaz İçeren Mast Hücresi
MC_T	: Triptaz İçeren Mast Hücresi
MC_{TC}	: Triptaz ve Kimaz İçeren Mast Hücresi
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm²	: Milimetre Kare
MMC	: Mukosal Mast Cell
MMCP	: Mause Mast Cell Protease
PAB	: Primary Antibody
PBS	: Phosphate Buffer Saline

PP Hücreleri : Pankreatik Polipeptid Hücreleri

RMCP I : Rat Mast Cell Protease I

RMCP II : Rat Mast Cell Protease II

STZ : Streptozotosin

TB : Toluidin Blue

ZP : Zona Pellusida

α : Alfa

β : Beta

μm : Mikrometre

GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabet, özellikle son yıllarda gelişmiş ülkelerde artmakta ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından “salgın” olarak nitelenmekte olan karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluğu ile seyreden kronik bir metabolizma hastalığıdır (1). Diyabet ve etkileri ülke ekonomilerine ciddi bir yük getirmektedir. Bu yükün Türkiye için 3 milyar doların üzerinde olduğu belirtilmektedir (2).

Diyabet, hastalarda çeşitli komplikasyonlara neden olmaktadır. Kardiyovasküler rahatsızlık riskini arttırmakta (3), retinopati ile körlük meydana getirebilmekte (4), hamileliği olumsuz etkileyebilmektedir (5). Bu etkilerinden dolayı birçok deneysel hayvan modeli oluşturularak diyabet incelenmektedir (3).

Memeli canlılarda, erişkin dönemde hayvan türüne göre değişen sürelerle sahip genital siklus (östrüs) izlenmektedir (6). Bu siklus; insan, fare ve sıçan gibi hayvanlarda proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olmak üzere birbirini takip eden dört evreden meydana gelmektedir (7). Her siklus evresindeki hormonal değişikliklerle başta vajina olmak üzere tüm genital kanal organları etkilenmektedir.

Mast hücreleri, sitoplazmalarında bulunan granüllerinde çok sayıda aktif mediatörler taşımaktadırlar. Bunlar histamin ve heparin gibi biyoaminler ve triptaz, kimaz gibi serin proteinlerdir (8). Yapılan çalışmalarda, genital siklusa bağlı olarak ovaryum ve uterus mast hücresi dağılımının değiştiği rapor edilmiştir (9).

Yapılan literatür taramalarında, ovaryum ve uterus dokularının deneysel diyabete bağlı olarak mast hücreleri dağılımını immunohistokimyasal metotlarla gösterir çalışmaya rastlanılmadı. Planan bu çalışmada, deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların ovaryum ve uterus dokularında östrus siklusuna bağlı olarak mast hücrelerinin dağılımındaki değişimlerin histokimyasal ve immünohistokimyasal metotlarla ortaya konularak literatüre katkı sağlanması amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

DİYABET

Diabetes mellitus (DM), pankreasın insülin sekresyonunun yetersizliği ve/veya dokuların insüline cevabının bozulmasıyla oluşan, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen metabolik bir hastalıktır (3). Yüksek kan glikoz düzeyine sebep olur ve kontrolsüz, uzun süreli seyri halinde kardiyovasküler hastalıklara, nefropatiye, nöropatiye, retinopatiye neden olur (4). Kardiyovasküler hastalıklardan dolayı diyabetli bireyler, diyabet görülmeyen bireylere oranla daha fazla ölüm riski taşımaktadırlar (3).

DM, Tip-1, Tip-2, diğer türler ve gestasyonel diyabet olarak dört sınıfa ayrılmaktadır. Tip-1 diyabet, pankreas beta (β) hücrelerinin yok olması sonucu ortaya çıkan insülin eksikliğine bağlı diyabet tipidir (10). Tip-2 diyabet ise insülin salgısındaki kusurdan, insüline dirençten veya her ikisinin bir arada olmasından dolayı ortaya çıkan diyabet tipidir (11). Gestasyonel diyabet, hamilelik dönemi diyabeti olarak da tanımlanabilir. Gerek hamilelik evresinde artış görülen progesteron, östrojen, kortizon, laktojen gibi hormonların artışıyla insüline karşı oluşan direnç, gerekse artan insülin ihtiyacını anne adayının karşılayamaması sonucu ortaya çıkan durumdur. Bu tip diyabette, anne adayı doğumdan önce diyabet hastası olmasa da hamilelik evresinde kan şekeri yüksek olmaktadır. Bu tablo gebelik sonunda genelde normale dönmektedir (12).

Diyabet, DSÖ tarafından “küresel salgın” olarak görülmektedir ve bir bilinci oluşturulması için “14 Kasım Dünya Diyabet Günü” olarak ilan edilmiştir (2).

Diyabet tedavisinde başlıca tedavi metodu insülin ve hipoglisemik ilaçlarla yapılan tedavidir. Kullanılan ajanların istenmeyen etkilerinden dolayı alternatif yöntem olarak bitkisel ilaçlar da denenmektedir (3). Bir başka denenmekte olan yöntem ise pankreas nakli ve adacık nakli çalışmalarıdır. İlk olarak 1966'da Tip-1 diyabet tedavisi için yapılan solid organ pankreas nakli gerçekleştirildi (13). Bu çalışmayı, 1980'lerde yapılan ilk adacık hücre nakli çalışmaları takip etmiştir (14). İkibin dört (2004) yılından itibaren popülerliğini kaybetmeye başlasa da, günümüzde birçok nakil merkezinde pankreas nakli başarı ile yapılmaktadır. Üç şekilde yapılabilen pankreas nakli özellikle böbrek nakli ile eş zamanlı yapılan hastalarda normal glukoz homeostasisi yanında graft ve hasta sağkalımını en etkili sağlayan tek tedavi yöntemidir. Beş yıldan fazla fonksiyonel pankreas graftı olan eş zamanlı böbrek pankreas nakilli hastaların takibinde diyabet ilişkili komplikasyonların düzelmesi, sağkalım sonuçlarının yüksek olması ve yaşam kalitesinin daha iyi olması avantajlarından dolayı günümüzde tercih edilen pankreas nakli yöntemidir (14).

Diyabetin üreme sağlığını etkilediği bilinmektedir. Tip-1 ve Tip-2 diyabet hastalarında yaş ilerledikçe cinsel isteksizlik görülmektedir. Erkeklerde ereksiyon problemi, bayanlarda ise vajinal kuruluk gözlenmektedir (15). Diyabet hamilelikte spontan düşüklere, neonatal hastalıklara hatta ölüme sebebiyet verebilmektedir (5).

DeneySEL hayvan çalışmaları çeşitli hastalıkların patogenezinin anlaşılması, oluşturulan hastalıktan korunma yollarının ve tedavi yollarının oluşturulması için günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. DeneySEL hayvan modellerindeki patolojik durumlar, insana benzemekle beraber tamamen o hastalığın insandaki formunu karşılaması mümkün değildir (3).

Günümüzde deneySEL diyabet modeli çalışmalarında sıçan, fare, kobay, domuz, kedi, köpek ve maymun gibi birden fazla hayvan kullanılmaktadır. Deney hayvanlarında, deneySEL diyabet kimyasal madde ile veya virüs aracılığı ile oluşturulmaktadır. Kimyasal madde ile yapılan diyabet modellerinde alloksan ve streptozotosin (STZ) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (3).

STZ N- (Methylnitrosocarbamoyl)- α -D-glucosamine yapısında olan karanlıkta saklanması gereken bir maddedir. Hızla bozulmasından dolayı nötral pH'da saklanamaz. Kullanılmadan önce sitrat tamponda çözündürülür (3). STZ'nin antibiyotik, antitümoral ve karsinojenik etkileri bilinmektedir, fakat pankreas β hücrelerine verdiği zararı nedeniyle yaygın olarak deneysel hayvan modellerinde kullanılmaktadır (3).

OVARYUM HİSTOLOJİSİ

Eşey hücreleri olan oositlerin meydana getirildiği, salgıladığı hormonlarla genital siklusu düzenleyen ve dışı genital sisteminin diğer organları üzerinde de etkili olan bir organdır. Oval biçimlidir ve hilus bölgesiyle mezovaryum aracılığı ile asılıdır. Mezovaryumu, peritonun viseral yaprağı (mezotel ve bağ dokusu) örter ve ovaryumun geri kalan kısmı **germinatif epitel** tarafında örtülüdür (16,17). Bu hücreler, ovaryum hücrelerinin kaynağı değildir, yalnızca peritoneal kaviteyi örten özelleşmiş mezotel hücreleridir. Germinatif epitelyum tek katlı prizmatik ya da kübiktir. Ancak, yaşlılıkta bu epitel yassılaştır (17). Ovaryum hücre kaynağı olmadıklarından dolayı **ovaryum yüzey epiteli** olarak da adlandırılmaktadır (16). Germinal epitel bir bazal membrana oturmakta ve altında yer alan sıkı bağ dokusu, **tunika albuginea** adını almaktadır (17). Tunika albuginea tüm ovaryumu bir kapsül gibi sarmaktadır (16,18).

Ovaryum **korteks** ve **medulla** olarak iki bölgeye ayrılmaktadır. Bu iki bölgenin sınırları tam belirgin değildir (16).

Korteks organın fonksiyon gören bölümüdür. Bu nedenle **zona parenşimatoza** olarak da adlandırılır (17). Bu bölgede matürasyonun ve dejenerasyonun farklı evrelerinde, oosit içeren, farklı boyutlardaki ovaryum follikülleri bulunur. Çocukluk çağındaki ovaryum korteksinde primordiyal folliküller çok sayıdadır; seksüel olgunluğa ulaşan kadınlardaki ovaryum korteksinde ise rüptüre folliküllerin yerini alan korpus luteum'lar çoktur.

Medulla, ovaryum iç kısmında yer almaktadır. Çok sayıda kıvrımlı kan damarları, sinirler ve lenfatikler içeren gevşek bağ dokusu yapısındadır (16). Kan damarlarıca zengin bir bölge olmasından dolayı **zona vaskuloza** olarak da adlandırılır (17).

Ovaryumda folliküllerin gelişimi oldukça karmaşık ve uzun sürelidir. İntrauterin yaşamda ovaryumlarda başlangıçta birkaç milyon adet (7 milyona kadar) olan oosit sayısı, doğuma kadara apoptozis mekanizması ile 2 milyona kadar düşmektedir. Doğumdan sonra

puberteye kadar bu hücrelerde bir gelişme ve sayısal artış görülmemekle beraber, atreziye uğrayarak puberte zamanında bu sayı 400.000'e kadar düşmektedir. Kortekste inaktif bekleyen primordiyal folliküller aktif hale geçtikten sonra primer, sekonder ve tersiyer follikül olmak üzere gelişim evrelerine göre üç farklı folliküle ayrılırlar.

Primordiyal folliküller, tünika albugineyanın altında yerleşmişlerdir. Primordiyal folliküller 25µm çapında bir oosite sahiptir (16). **Primer folliküller**, en basit ve küçük folliküllerdir. Yaşam süresince ovaryum yüzeyi yakınında konumlanırlar. Follikül epitelleri, oosit membranı dışında tek katlıdır (17). Primordiyal evrede yassı olan follikül epitel hücreleri, primer follikül evresinde kübik ve giderek prizmatik bir hal almaktadırlar. Puberte evresine kadar ovaryum bu folliküllerle doluyken, cinsel olgunlaşma ile birlikte, follikül stimulan hormon (FSH) etkisiyle sekonder ve tersiyer folliküller gelişmeye başlamaktadır (17). **Sekonder follikül** ovaryum yüzey epitelinden daha derinde bulunmaktadır, primer folliküle göre daha gelişmiştir. Gittikçe büyüyen oosit çok katlı hale gelen follikül epitelince sarılmaktadır. Oosit ile follikül epitelleri arasında, homojen görünüşte bir kalınlaşma dikkati çeker. Oositler ve follikül epitelleri tarafından salgılanan bu yapıya **zona pellusida (ZP)** denir (18). Işık mikroskopunda incelendiğinde homojen, camsı bir görünüşe sahip olan ZP elektron mikroskopunda incelendiğinde ise, oosit ile follikül epitel hücrelerine ait mikrovillus'lar dikkati çeker. Oosit ile follikül epitelleri arasında yoğun bir metabolizma görevini üstlenen ZP'da, karşılıklı olarak birbirlerine doğru uzanan mikrovilluslar, homojen ya da camsı görünüşe neden olan, hiyaluronik asit ve glikoprotein içeren bir kit substans tarafından sıkıca bir arada tutulurlar. ZP; ZP1, ZP2 ve ZP3 olmak üzere en az 3 farklı glikoprotein içermektedir (19).

Follikül epitellerini saran bazal membranın dışında bağdoku iplikleri ile bağdoku hücreleri özel bir kılıf şekillendirirler ve bu **teka follikuli** olarak adlandırılır. Bu follikül, tersiyer follikülde daha belirgin hale gelir ve teka interna (iç kılıf) ve teka eksterna (dış kılıf) olmak üzere iki katman halinde izlenir (19). Her iki katman da, stromadaki fibrositlerden köken alan mekik biçiminde hücrelerden oluşur. Endokrin yapılı organlarda olduğu gibi damarlardan zengindir ve teka interna hücreleri farklılaştıklarında steroid salgılayan hücre özelliklerine sahip yapı kazanırlar (fazla miktarda düz endoplazmik retikulum, tubüle tip mitokondriyonlar gibi). Teka eksterna esasen bağdokusu yapısındadır ve içinden geçen kan damarları iç katmanının kapiller damar ağını oluşturur (18).

Tersiyer follüküller, sekonder follükülün epitelinde yer yer erimelerin oluşması ve oluşan bu boşlukların birleşip tek büyük bir follükül boşluğu yapması ile belirir. Başlangıçta küçük ve sayıca fazla olan bu boşluklar birleşir ve follüküler antrum adındaki tek ve büyük boşluğu meydana getirir. Antrum içinde likör follükülü adında saydam ve visköz bir sıvı bulunmaktadır. Likör follükülü büyüme faktörleri, granüloza hücrelerinden oluşturulan streoid ve hiyaluronik asitten zengindir. Teka interna, bir adrojen prekürsoru olan androstenediyonu salgılar. Androstenediyon, testosteron üretimi için follükül hücrelerine transfer edilir. Testosteron, aromataz enzimi aracılığı ile östradiyole dönüştürülür (19).

Başlarda ovaryumun derinlerinde bulunan tersiyer follükül, büyümesiyle birlikte ovaryum yüzeyine yönelmekte ve en sonunda ovaryum yüzeyine dayanmaktadır (17). Ovaryum yüzeyine dayanan follükülden dolayı incelen tunika albugineya ve germinal epitel dışa doğru kubbemsi bir çıkıntı yapar. Buradaki follüküller çok gelişmiştir ve ovulasyon aşamasına yaklaşmışlardır. Tersiyer follüküllerin en gelişmişleri formları **Graaf follükülü** olarak da isimlendirilmektedir. Graaf follükülünde, oositin hemen çevresindeki follükül epitelleri, oositi radyer olarak bir taç gibi sararlar. Bu follükül epitellerin oluşturduğu katmana **korona radyata** denir. Korona radyatanın dışında birkaç sıra da gelişi güzel dağılmış follükül epitelleri bulunur. Bu oluşumların tümü, follükül duvarının bir tarafına tutunmuş olarak adeta bir yarımada biçiminde, antruma doğru uzanır. Bu uzantıya **kumulus ooforus** adı verilir. Follükül duvarını oluşturan birkaç katlı epitel hücresinin en dışındakiler bazal membranla sarılırlar. İçteki epitel hücreleri ise antrumu sınırlandırılır. Bazal membrandan antruma kadar follükül duvarını oluşturan ve antrumu çevreleyen bu follükül epitelleri katmanına **stratum granulozum** denir (17).

Dışa kubbelenmiş Graff follükülü artık **ovulasyonun** başlaması için germinal epitele baskı yapmaktadır. Follüküldeki tekanında aşırı gelişmesi ile birlikte, Graff follükülü germinatif epitele iyice yaslanarak ovaryum korteksinin dışa doğru balonlaşmasına neden olmaktadır. Nihayet germinatif epitel ince bir noktasından patlar. Bu noktaya stigma ismi de verilmektedir. Likör follükülü içinde serbest kalan kumulus ooforus, yüksek bir basınçla Graff follükülünden dışarı atılır. Çevresi korona radyata ve onun da dışında birkaç sıra follükül epiteli ile sarılı oosit II, ovaryum yüzeyine uzanan fimbriya ovarika'lar ve infundibulum yardımıyla yakalanarak yumurta yoluna gelir. Östrojen hormonu içeren likör follükülü'nin boşalması ve oosit II'nin atılmasıyla, ovulasyon sonrasında Graaf follükülünün boşluğunda bir takım yapısal değişimler görülmekte ve bunun yerine korpus luteum gelişmektedir (17).

UTERUS HİSTOLOJİSİ

Uterus pelvis boşluğunda önde mesane, arkada rektum ve altta vajina arasında yer alan kalın duvarlı, kastan yapılmış ve içi boş embriyonun implante olduğu organıdır (20). İnsanlarda basit yapıda iken (**uterus simpleks**), hayvanlarda ikiye çatallıdır. Bu yapıya iki boynuzluda (**uterus bikornis**) denir (16).

Sıçan uterus kornularının uzunluğu 4-6 cm kadardır. Bu iki kornu distalde birleşmektedirler. Ancak içte iki canalis cervicis gösterirler (21).

Uterus boşluklu duvarı histolojik olarak üç katmandan meydana gelmektedir. Bunlar; endometriyum, miyometriyum, perimetriyum tabakalarıdır (20).

Endometriyum

Tunika mukoza diye de adlandırılmaktadır. Histolojik olarak lamina epiteliyalis ve lamina propriya olmak üzere iki katmandan meydana gelmektedir (17). Lamina epiteliyalis; insan, at ve sıçan türü canlılarda tek katlı prizmatik epitelden meydana gelmektedir (17, 21, 22). Hücrelerin bir kısmı kinosilyumludur, kinosilyumsuzlarda ise salgı granülleri bulunduğundan salgı hücreleri olarak isimlendirilirler. İnsanlarda siklusun son yarımında daha belirgin gözüken silyumların hareketleri vajinaya yöneliktir. Lamina propriya; hücreden zengin bağdoku katmanıdır ve içerisinde uterus bezlerini bulundurur. Uterus bezleri, dallanmalar gösterebilen basit tübüler bezlerdir. Canlının bulunduğu genital siklus fazına göre değişik görünüm kazanır. Uterus bezlerinin bazal yani miyometriyuma bakan alt üçte birlik bölümünü içinde barındıran bağdoku (endometriyum bazalis) fibröz karakterdedir ve kan damarlarından zengindir. Bu görünüm insanlarda daha çok belirgindir (17).

Endometriyum iki katmandan oluşur. Endometriyumun 1/3 derin kısmını oluşturan ve uterus bezlerinin son kısımlarını içeren miyometriyuma komşu bölgeye **endometriyum bazalis (stratum basale endometriale)** denir. Bu katman menstruasyon sırasında atılmaz ve endometriyumun yenilenmesi buradan olur (23).

Endometriyumun 2/3 yüzeysel bölgesinde ise bezlerin boyun ve gövde kısımları yerleşiktir. Bu katman menstruasyonla atılır. Buraya **endometriyum fonksiyonalis (stratum functionale endometriale)** denir (23).

Endometriyum, ovaryum siklusuna bağı olarak sırasıyla proliferasyon, sekresyon ve involüsyon adında üç evre geçirir (17).

Proliferasyon evresi: Ovaryumda folliküllerin olgunlaştığı ve follikül hormonlarının salgılandığı döneme rastlar (17). Bu yüzden follikül hormonu (östrojenik faz) evresi de denilmektedir (20). Salgılanan hormonun etkisi ile endometriyum kalınlaşır. Kalınlaşma bağ dokunun hücrelerindeki artış sonucu lamina propriyanın genişlemesi ve uterus bezlerinin büyümesiyle olur. Uterus bezleri çok fazla uzarlar ve lamina propriyaya sığmak için kıvrımlar yaparlar (17).

Sekresyon evresi: Ovaryumdan ovulasyonun olmasında sonra görülen evredir (17). Lutein hormonu evresi olarak da adlandırılmaktadır (20). Bu dönemde uterus bezleri salgı yapmaya başlar. Bez epitel hücrelerinin sitoplazması ve bezlerin lumeni salgı ile dolarak daha geniş hacimli bir görünüm kazanır; ayrıca bezler daha da kıvrımlı bir durum alırlar. Kılcal damarların geçirgenliği bu dönemde çok arttığı için lamina propriya ödemli görülür. Eğer döllenme gerçekleşmişse, çevresi trofoblast'lardan oluşan embriyo, bu şekilde değişme gösteren endometriyum'a implante olur (17).

İnvolyasyon evresi: İskemik faz olarak da isimlendirilmektedir (16). Döllenmenin gerçekleşmediği durumda sekresyon evresinin sonunda endometriyum tekrar inaktif duruma geçer; sekresyon durur, bezler küçülür ve endometriyum kalınlığı azalır (17).

İnsanlarda endometriyum'un bazal bölümündeki spiral arteriyollerin sürekli kontraksiyonu nedeniyle endometriyum'un yukarı bölümlerine kan gitmez. Bunun sonucunda da, beslenemeyen tüm oluşumlarda nekroz başlar. Daha sonra spiral arteriyollerde kontraksiyon sona erince beslenemediği için yukarı kısımları ölen damarlarda yırtılmalar olur ve kan ödemli lamina propiyya'ya yayılır. Endometriyum fonksiyonalsin tamamen yıkılmasıyla da bu kanla bulaşık nekrotik doku parçaları uterus lümenine dökülür. İnsanda bu döneme mestruasyon evresi denir. Bu dönemi, yıkılan ve bütünlüğü bozulan endometriyumun yenilenme evresi izler. Nekrotik bölümü atıldığı için incelmış olan endometriyumda, uterus bezi epitelleri çoğalarak lamina epiteliyalisi şekillendirir ve lamina propriyayı uterus lümeninden sınırlandırır (17).

Endometriyumda görülen bu periyodik değişmelerin tümü uterinal siklusu oluşturur ve bu değişmeler ovariyel siklus ile bağlantılıdır. Birlikte genital siklus olarak isimlendirilen bu iki siklusu hipofizin gonadotropik hormonları yönlendirir (17).

Miyometriyum

Tunika muskularis olarak da adlandırılmaktadır. Uterus katmanlarının en kalın olanıdır (20). Organizmanın bütün düz kasları ele alındığında en uzun düz kaslar burada bulunur. Gebelik dönemi ile diğer dönemlerde uzunlukları farklılık göstermekle birlikte en uzun dönem gebelik dönemidir. Kaslar iki yönlü katmanlar halindedir. Endometriyuma yakın kısımda sirküler kaslar bulunmaktadır ve dışta bulunan longitudinal kas katmanına göre kalındır (17). İki kas katmanı arasında stratum vaskulare adı verilen kan damarlarınca zengin, sinirleri de içeren bir bağ doku katmanı yer alır (17,20). Perimetriyuma yakın kısımdaki kas katmanı hücreleri longitudinal yönelimlidir (17).

Perimetriyum

Tunika serosa olarak da isimlendirilir. Periton'un visseral yaprağıdır. Bazal membrana oturan mezotel hücreleri ve bazal membrana bitişik gevşek bağdokusu ile miyometriyuma bağlanır (17).

SIÇANLARDA MENSTURAL SIKLUS EVRELERİ VE ÖZELLİKLERİ

Siçanlar, puberte başlangıcından yaşlılığa kadar döngüsel aktivite gösteren ve mevsime bağlı olmayan poliöstrik, yani üreme dönemi boyunca birden fazla kızgınlık evresi görülen hayvanlardır. Puberte ile başlayan ilk menstural siklus dört gün kadar sürer ve yaşlandıkça bu süre giderek uzayarak hayatın son dönemlerinde altı günü bulur (24).

Siçanlarda östrus siklusu ortalama 4-5 gün sürmektedir. Östrus siklusu laboratuvar kolonilerinde mevsimden bağımsız olarak yıl boyu sürmektedir (25). Siklus proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olmak üzere 4 dönemden oluşur. Proöstrus evresi yaklaşık 12 saat, östrus evresi 9-15 saat, metöstrus evresi 21 saat ve diöstrus evresi de ortalama 57 saat sürer (26).

Proöstrus evresinde; lüteinleştirici hormon (LH) ve estradiol en üst düzeye ulaşır. Estradiol, evrenin başlangıcında en düşük düzeydeyken, evrenin ortalarına doğru en yüksektir. Progesteron değeri metöstrus ve diöstrustan sonraki pik seviyesine proöstrus fazının sonunda ulaşır (27).

Östrus evresine geçerken, estradiol düzeylerinde hafif bir azalma olur. Follikül uyarıcı hormonda (FSH) da yavaş bir artış görülür (24). Östrus evresinde; LH en düşük düzeydedir. FSH en yüksek değerine ulaşır. Estradiol düzeyi düşmeyi sürdürür ve bu evrenin ortalarına

doğru en alt düzeydedir. Progesteron düzeyinde de artma olur ve östrusun sonuna doğru ovülasyon gerçekleşir (24).

Metöstrus evresinde; estradiol seviyesi artmaya başlar. Progesteron sekresyonu metöstrus evresi süresince yüksektir ve bu fazda korpus luteum oluşumu gerçekleşir (28).

Diöstrus evresi dinlenme fazıdır (28). LH ve FSH düzeyleri düşüktür. Progesteron sekresyonu, diöstrus fazı süresince yüksektir. Bu evrede estradiol düzeyinde de azalma sürer, proöstrus dönemine doğru en düşük düzeye ulaşır (24).

Memelilerin değişik türlerinde, östrus aşamalarını belirlemek için kabul edilen yöntem vajinal smeardir (29). Bu yöntem, vajinal duvardan sürüntü alınması ya da vajinal yıkama sonucu elde edilen preparatlar üzerinde, her bir faz ile ilintili hücre tiplerinin histolojik olarak tanınması esasına dayanır. Östrus siklusu fazlarına ait hücre dağılımları ve smear yoğunluğu **Tablo 1**'de verilmiştir. Bu yöntem canlı hayatta iken, tekrarlayan sikluslara ait gözlemler için güvenilir bir kayıt sağlar. Ayrıca hayvanlarda ovulasyon zamanı, kızgınlık dönemi (davranışsal östrus) ve gebeliğin tespiti için de kullanılan pratik bir yöntemdir (30).

Etkili bir saptama için vaginal sitolojik örneklerin gün boyunca aynı saatte alınması gerekmektedir. Ratlarda, pamuk çubuklar kullanılarak sık sık alınan smearlerde kornifiye hücrelerin ya da östrus benzeri smearlerin normalden fazla sayıda gözlemlendiği bildirilmiştir (31). Sık smear almak vajinal epitelde kornifikasyona neden olmaktadır (32).

Tablo 1. Vajinal smeardeki hücre morfolojisi ile östrus siklus safhalarının sınıflandırılması (33)

Siklus safhası	HÜCRE TİPİ ^a			
	Lökositler	Nukleuslu epitelyum	Kornifiye epitelyum	Smear yoğunluğu
Proöstrus	0/+ sık dejenere	+/ iyi gelişmiş (Predominant)	0/+	orta
Östrus	0	0	+/+ göreceli olarak küçük hücreler (predominant)	ortadan şiddetliye
Metöstrus	0/++	0	+/+ östrustakinden daha geniş, daha düz ve daha kümelenmiş (öbek)	ortadan şiddetliye
Diöstrus	+/ (Predominant)	+/ çoğunlukla düzensiz şekilli ve vakuollü	0 ya da +/+	ince ya da ortadan şiddetliye

^aHücre yoğunluğu: 0 = yok, + = az, ++ : orta yoğunlukta, +++ : şiddetli.

PANKREAS

Karın boşluğunda bulunan, endokrin ve ekzokrin olarak çalışan bir bezdir. Bezin dış kısmını zayıf bir kapsül sarmaktadır. Anatomik görünüş itibariyle tükürük bezlerine benzemesine rağmen endokrin fonksiyonu ile tükürük bezlerinden ayrılır (17). Ekzokrin kısımdaki sentro-asiner hücreler tükürük bezlerinde bulunmadığı için bu yönü ikinci bir farkı oluşturur (20). Pankreasın ekzokrin kısmı bileşik tubulo-alveolar bez yapısındadır. Lipaz, amilaz, tripsin, şimotripsin, karboksipeptidazlar, elastazlar, proteazlar, nukleazlar pankreasın ekzokrin kısmından salgılanmaktadır (17).

Pankreasın endokrin bölümüne Langerhans adacıkları adı verilmektedir ve seröz asinüslerden izole bir şekilde konumlanmışlardır (20). Endokrin adacıklar salgıları ve boyanma özellikleri ile birbirinden ayrılan 4 farklı hücreyi içermektedir. Langerhans adacıklarının genellikle periferinde konumlanmış hücrelere **alfa (α) hücreleri** denmektedir (34). Asidofil özelliğe sahip bu hücreler kan glikoz seviyesini yükselten **glukagon** hormonunu salgılamaktadır (17). Bazofilik özellik gösteren hücreler **β hücreleridir** ve salgıları ise kan glikoz seviyesini düşüren **insülin** hormonudur (16). Anilin mavisi boyamaları ile boyandığında ince granüllerinin boyanması ile ayırtedilen **delta (D) hücreleri** α ve β hücreleri salgılarını yavaşlatmakta görev alan **somatostatin**'i salgılamaktadır (17). Ayrıca D hücrelerinin gastrin salgıladıkları da bilinmektedir (17). Endokrin pankreasta az sayıda bulunan endokrin karakterli bir diğer hücre tipi de **F hücreleri** ki bunlar pankreatik polipeptitler salgıladığı için **pankreatik polipeptid (PP) hücreleri** olarak da adlandırılmaktadır (16).

MAST HÜCRELERİ

Mast hücreleri, bazofil granülositler gibi sitoplazmalarında çeşitli büyüklüklerde granüller barındıran metakromatik boyanma özelliğine sahip bağdoku hücreleridir (18). Yağ hücrelerinden sonra bağdokunun en büyük hücresi mast hücreleridir (35). Mast hücreleri insanda yaklaşık 30 μm , kemirgenlerde 3,5 –22 μm büyüklüğündedir ve sitoplazmalarında yaklaşık 50 – 500 salgı granülü içerirler (36). Hemen hemen bütün omurgalılarda bulunan mast hücreleri, bağ dokunun uzun ömürlü hücrelerindedir (35,37). Mast hücreleri vücuttaki dokularda kan damarları ve sinirler yakını alanlar, dış çevre ile ilişkide olan yüzeylerde daha fazla bulunurlar (38). Kemikiliğindeki CD34⁺ multipotent progenitör hücrelerden köken alır

ve kanda prekürsör hücreler olarak dolaşırlar, hedef bölgeye göç ederek çeşitli faktörler sayesinde farklılaşır ve olgunlaşırlar (8). Mast hücresi granülleri içerisinde heparin, histamin, eozinofilik kemotaktik faktör, N - asetil – B – glukosaminidaz, B – glukoronidaz, triptaz, kimaz, prostaglandin D2, sıçan mast hücresi proteazı I ve II (RMCP I ve RMCP II) ve serotonin (insan mast hücresinde bulunmaz) gibi mediyatörler taşımaktadırlar (39). Sitoplazmik granüllerindeki sülfatlanmış glikozaminoglikanların varlığı nedeniyle uygun koşullarda metakromazi göstermektedirler (35). İçerdikleri heparin ve triptaz metakromatik boyanmaktadır (37). Histolojik olarak toluidin mavisi (TB) gibi metakromatik boyalarla, kloroasetat esteraz aktivitesiyle, alsiyan mavisi-safranin ikili boyaması ile ve anti- triptaz ve anti-kimaz immunohistokimya teknikleri ile gösterilebilirler (36).

Katyonik (bazik) boya, boyanan objeye kendi rengini verdiğiinde, bu boyama ortokromatik olarak isimlendirilir. Bazı boya iyonları, bir substrata bağlandığında, absorbe olan ışığın dalga boyunu değiştirerek objenin rengini boyanınkinden farklı hale getirir. Bu olaya metakromazi adı verilmektedir. Katyonik boyalarla metakromatik etki, sadece bazofilik doku komponentlerinde görülür. Metakromatik olarak boyanan yapı, kromotropik olarak isimlendirilir (40).

Kan damar, sinir ve dış çevre ile ilişkili yerlerde izlenen mast hücreleri (38), ovaryum ve uterus dokularında da değişen sayı ve dağılımlarda görülmektedir. Ovaryum ve uterusu farklı canlı türlerinde mast hücresi dağılımının seksüel siklusun farklı evrelerinde değiştiği belirtilmektedir (9).

İlk 1879 yılında tanımlanan mast hücreleri, yapılan çalışmalarla formola karşı aynı duyarlılığa sahip olmadıkları görülmüş, kemirici mast hücreleri önceleri formol dirençli ve formol duyarlı mast hücreleri olarak sınıflandırılmıştır. Sonraki çalışmalarda, formol duyarlı mast hücrelerinin genelde mukozal alanlarda, formol dirençli mast hücrelerin ise deri dermisi bağ doku katmanlarında yerleşik oldukları tespit edilmiştir. Formol duyarlı mast hücrelerinin daha çok mukozada yerleşik olduğu görülünce atipik veya mukozal mast hücreleri (MMC), formol dirençli mast hücrelerinin daha çok bağ dokuda alanlarında yerleşik olması nedeniyle tipik veya bağ dokusu mast hücreleri (CTMC) olarak isimlendirilmiştir. MMC'nin sadece bağ dokuda olmadığı bağırsak kas tabakasında da bulunduğu tesbit edilince bu sınıflandırmanın tam olarak doğru olmadığını ortaya çıkardı. İlerleyen yıllardaki çalışmalarla, mast hücresi salgılarının fareler, sıçanlar ve insanlarda farklılık gösterdiği ortaya çıkarılmış ve tekrar sınıflandırmaya gidilmiştir (Tablo 2)(38).

Tablo 2. Fare, sıçan ve insanda mast hücresi tipleri ve granül içerikler (38)

Mast hücresi tipi	Biyojenik amin	Nötral proteaz	Proteoglikan
Fare: Mukozal Bağ doku	Histamin Histamin+Serotonin	MMCP-1,-2 MMCP-3,-4,-5,-6,-7 Karboksipeptidaz	Kondroitin sülfat E Heparin
Sıçan: Mukozal Bağ doku	Histamin Histamin+Serotonin	RMCP-2, MMCP-5, Karboksipeptidaz RMCP-1, Karboksipeptidaz	Kondritin sülfat di-B, A,E Heparin Kondroitin sülfat E
İnsan: MC _T Hücresi MC _{TC} Hücresi	Histamin Histamin	Triptaz Triptaz, kimaz, katepsin, G- benzeri proteaz, Karboksipeptidaz	Heparin, kondrotin sülfat Heparin. Kondrotin sülfat

MMCP: Fare mast hücresi proteazı, RMCP: Sıçan mast hücresi proteazı, MC_T: Tritaz içeren mast hücresi, MC_{TC}: Triptaz ve kimaz içeren mast hücresi

Mast hücrelerindeki tüm proteazların 1/3'ni serin proteazlar oluşturur. Yaşam için önemli fonksiyonları bulunan serin proteazların tanımlanması ve sınıflandırılması molekül ağırlıkları dikkate alınarak yapılır. En önemli serin proteazlar triptaz ve kimazdır (8). İnsanlarda mast hücreleri, serin proteaz içeriklerine göre sınıflandırılmıştır. Bunlar; triptaz içeren (MC_T), triptaz ve kimaz içeren (MC_{TC}) ve yaygın kabul görmesede tanımlanmış olan sadece kimaz içeren (MC_C)'dir (37,41). Katepsin G serin proteaz ailesine aittir, MC_{TC}'larda bulunurlar (8). MC_{TC} deri, lenf düğümleri ve gastrointestinal sistemin submukozal katmanlarında ağırlıklı olarak bulunur. MC_T bağırsak ve akciğer mukozasında baskın mast hücre tipi oldukları görülmektedir (41).

Triptaz seçici olarak mast hücreleri ve bazofillerde bulunan tripsin benzeri substrat spesifik özelliğe sahip serin proteaz ailesidir. Tritaz ailesinden β II-triptaz mast hücre granüllerinde depolanırken, α -protriptazlar sağlıklı bireylerde ve akut seyirli olmayan sistemik

mastositoz durumunda mast hücrelerinden salgılanan kandaki en önemli inaktif proenzim özelliğindeki triptaz formudur (8). Mast hücre granüllerde depolanan inaktif β II-prototriptaz heparin varlığında ve iki kademedede gerçekleşen bir süreçtir.

Triptaz proteazları organizmada çeşitli görevleri yerine getirmektedir. Triptaz kronik yangılarda, doku yenilenmesinde (8), anjiyogenezin uyarılması (37) ve çeşitli biyolojik süreçlerde önemli roller oynar. Aktif mast hücrelerinden triptazın salınımı, komşu mast hücrelerinde de salgılamayı arttırarak yangı sırasında tepkinin genişlemesine hizmet eder. *In vivo* ve *in vitro* koşullarda fare mast hücre triptazının fibrinojeni yıkımlamak yoluyla antikoagülant etki gösterdiği de bildirilmektedir. Antikoagülant etkisi ile aşırı duyarlılığın bulunduğu bölgelerde dokular içine sızan plazmanın pıhtılaşmasını önlemede, doku ve damar yenilenmesinde de rol oynadığı bilinmektedir. Ancak insandaki antikoagülant aktivitenin triptazın intrinsik aktivitesinden çok, heparin ile oluşturduğu kompleks sayesinde meydana geldiği görüşü hakimdir (8).

Kimazların ilk olarak 1959'da mast hücrelerinde lokalize oldukları tespit edilmiştir. Bunlar kimotripsin benzeri substrat spesifitesine sahiptirler (8). İnaktif prekürsörler olarak sentezlenenler kimaz, mast hücre granüllerinde negatif yüklü heparin ve kondroitin sülfata bağlanarak aktif enzim olarak depolanırlar. Kimazlar α ve β olarak iki gruba ayrılır. Memeli mast hücrelerinde α -kimazlar yaygın olarak bulunur. Son yıllardaki çalışmalar α ve β kimaz arasında angiotensin-I'in angiotensin-II'ye dönüşümünde, substrat spesifitesi bakımından farklılıklar olduğunu gösterilmiştir. α -kimazların angiotensin I'den angiyotensin II'yi oluşturdukları gösterilmiş olmasına karşın, β kimazların angiyotensin II'yi hem oluşturdukları hem de yıkımladıkları belirlenmiştir. Kimazların deri içi enjeksiyonu, eozinofil ve nötrofil granülositler gibi yangı hücrelerinin birikimiyle karakterize dermatit şekillenmesine, epidermis-dermis bağlantısının yıkımlanmasıyla deride kabarcık oluşumuna neden olur (8). Ayrıca kimazın apoptotik ajan olarak görev yaptığı da bilinmektedir (37).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneyimizde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde üretilmiş, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen Wistar albino 64 adet erişkin dişi sıçan kullanıldı. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimiz, optimum laboratuvar koşulları (22 ± 1 °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 30.05.2012 tarih ve 2012.04.04 karar nolu (Ek 1) onay alındı.

Çalışma başlangıcında, hayvanların tartımları yapılarak tamamı bir gece aç bırakıldı. Ertesi sabah bütün hayvanların açlık kan şekeri (IME-DC, Almanya) ölçüldü. Ölçüm sonunda elde edilen kan değerleri ile (en düşük 52 miligram (mg)/desilitre (dl), en yüksek 136 mg/dl) hayvanların sağlıklı oldukları tespit edildi. Çalışmamızda hayvanlar rastgele **Kontrol grupları** ve **Diyabetik gruplar** olarak ikiye ayrıldı. Otuziki (32) denek Kontrol gruplarını oluşturmak için ayrıldı ve herhangi bir uygulama yapılmadı. Diyabet gruplarını oluşturan 32 sıçana 60 mg/kilogram (kg) tek doz STZ uygulanarak 2 gün beklendi. İkinci günün gecesinde STZ uygulanan hayvanlar aç bırakılıp sabah tekrar kan değerleri ölçüldü. Ölçümde elde edilen değerler ile (en düşük 320 mg/dl, en yüksek 541 mg/dl) hayvanların diyabet oldukları anlaşıldı. Ölçüm sonunda 18 gün (ilk STZ uygulamasının ardından 21 gün) beklendi. Yirmibir (21) gün sonra vajinal smear yöntemiyle deneklerin östrus siklusu tayini yapıldı. İstenen siklusta olan sıçanlar kurban edilerek toplamda denekler sekiz gruba ayrıldı.

- Deney grupları;**
- 1- Kontrol Proöstrus
 - 2- Kontrol Östrus
 - 3- Kontrol Metöstrus
 - 4- Kontrol Diöstrus
 - 5- Diyabet Proöstrus
 - 6- Diyabet Östrus
 - 7- Diyabet Metöstrus
 - 8- Diyabet Diöstrus

VAJİNAL SMEAR YÖNTEMİ

Deney sonunda 21. günden başlanarak 24 saatte bir defa 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 lamaları oda sıcaklığında kuruması beklendi. Kuruyan yaymalar %70'lik metanol (Merk, Almanya) daldırıp bekletilmeden çıkarıldı ve oda sıcaklığında kurutularak yaymanın fiksasyonu sağlandı. %1'lik TB (Fluka, 89640) ile 5 dakika boyanan preparatlar distile su ile yıkanıp kurutuldu ve kapatma uygulamaksızın incelendi. Fazların fotoğraflanması (Olympus CX31-Japan) ile sağlandı.

IŞIK MİKROSKOBİK İNCELEME

Işık mikroskopik incelemeler için pankreas, ovaryum ve uterus dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvar'ında işlemlendirildi. Bu amaçla ovaryumlarından biri (sağ veya sol rastlantısal biçimde) ile uterus doku parçası Carnoy fiksatörü (60 ml absolut alkol, 30 ml kloroform, 10 ml glasiyal asetik asit) ile 12 saat fiksasyonu sağlandı. Oniki (12) saatin sonunda dokular 1 saat %70'lik alkolle muamele edilmek sureti ile dehidratasyon safhası geçildi. Dokuları 1'er saat olmak kaydıyla sırasıyla %80, %90, %96'lık alkollerden ve 1,5 saatlik süre ile de 2 kez mutlak alkolden geçirildi. Bu işlemlerin ardından saydamlaştırma basamağı için dokular 45 dakika toluol ile muamele edildi, sürenin sonunda dokular 50-55⁰C sıcaklıktaki yumuşak parafine alındı ve en az 45 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda dokular yumuşak parafinden sıvı sert parafine alındı ve daha sonra bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindirli

mikrotom kullanılarak 5 mikrometre (μm) kalınlığındaki kesitler alındı. Kesitler seri şekilde alınmış olup, her bloktaki birinci, sekizinci ve onbeşinci seri kesit lama alınarak 3 farklı bölgeden alanın bulunduğu preparatlar elde edildi. Ovaryum ve uterus dokularındaki mast hücrelerinin boyanarak dağılımı ve sayımı $\%_0$ 1 TB (Fluka, 89640) ile boyandı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) incelenerek bulguların fotoğrafları çekildi.

Pankreas dokuları ışık mikroskopik incelemeleri amacıyla $\%10$ 'luk tamponlu formaldehit solüsyonu (100 ml $\% 37$ 'lik formalin solüsyonu, 900 ml distile su, 6,5 gram Na_2HPO_4 , 4 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$) ile 48 saat fiksasyonu sağlandı. Kırksekiz (48) saatin sonunda dokuları bir gece akar suda yıkanması sağlandı. Yıkama işleminin ardından sırasıyla $\%70$, $\%80$, $\%90$, $\%96$ 'lık alkollerden, 2 tekrar ve 1,5 saat olmak kaydı ile mutlak alkolden geçirilerek dehidretasyon işlemi tamamlandı. Dehidretasyon işlemlerin ardından saydamlaştırma basamağı için dokular 45 dakika toluol ile muamele edildi, sürenin sonunda doku örnekleri $50-55^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki yumuşak parafine alındı ve en az 45 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda dokular yumuşak parafinden sıvı sert parafine alındı ve daha sonra bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindirli mikrotom kullanılarak $5 \mu\text{m}$ kalınlığındaki kesitler alındı. Pankreas dokuları Langerhans adacıklarındaki değişimlerin gözlemlenmesi için hematoksilin ve eozin (H+E) boyası ile boyandı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) incelenerek bulguların fotoğrafları çekildi.

Işık Mikroskopik İncelemelerde Hücre Sayımları ve İstatistiksel Analizler

TB ile boyanan preparatlarda mast hücrelerinin dağılımını belirlemek için yapılan hücre sayımlarında 100 kare oküler mikrometre (eyepiece graticule) kullanıldı. $40\times$ objektif büyütmesinde oküler mikrometrenin 100 kare birim alanındaki mast hücreleri sayıldı ve milimetre kare (mm^2)'deki hücre sayısı hesaplandı (35).

Her uterus kesitinin endometriyum ve miyometriyum katmalarından rastgele seçilen her bir bölgeden 6'şar (toplam 12) büyütülmüş alanda hücre sayımı yapıldı. Ovaryum kesitlerinde rastgele seçilen her bir bölgeden 12 büyütülmüş alanda mast hücre sayımı yapıldı. Seri kesitlerin sayılması sonucu bu rakamların aritmetik ortalaması alındı.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

İmmünohistokimyasal incelemeler için ovaryum ve uterus dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi

Laboratuvar'ında işlemlendirildi. Bu amaçla ovaryumlarından biri (sağ veya sol rastlantısal biçimde) ile uterus doku parçası %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonu (100 ml % 37'lik formaldehit solüsyonu, 900 ml distile su, 6,5 gram Na₂HPO₄, 4 gram NaH₂PO₄H₂O) ile 48 saat fiksasyonu sağlandı. Kırksekiz (48) saatin sonunda dokular bir gece akar suda yıkanmaya bırakıldı. Yıkama işleminden sonra dokular 1'er saat süreyle sırasıyla %70, %80, %90, %96'lık alkollerden, bir buçuk (1,5) saat 2 kez mutlak alkolden geçirildi. Bu işlemlerin ardından saydamlaştırma basamağı için dokular 45 dakika toluol ile muamele edildi, sürenin sonunda dokular 50-55⁰ C sıcaklıktaki yumuşak parafine alındı ve en az 45 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda dokular yumuşak parafinden sıvı sert parafine alındı ve daha sonra bloklandı. Elde edilen bloklardan Leica RM-2245 silindirli mikrotom kullanılarak 5 µm kalınlığındaki kesitler alındı.

Triptaz İmmünohistokimyasal Boyaması

Poli-L-lisin kaplı lamlara alınan kesitler deparafinize edilerek suya indirildi. Kesitler mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde pH 6.0 sitrat buffer solüsyonu içerisinde sıralanarak Vestel marka 1550 model mikrodalga fırında maksimum konumunda 2 kez 5'er dakika antijen retrieval işlemi yapıldı. Daha sonra oda ısısında 20–25 dakika soğumaya bırakıldı. Soğuyan kesitler pH 7,2-7,4 0,01M phosphate buffer saline (PBS)'de 3 kez 5'er dakika yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için %3'lük H₂O₂ (hidrojen peroksid)'in metanol solüsyonunda 20 dakika inkübe edildi ve PBS ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) 5 dakika süreyle uygulandı. Dokular PBS ile 5 dakika yıkandıktan sonra çevresi silinerek pap-pen ile çizildi. Dokular nemli bir ortamda yatay konularak üzerine primary antibody (PAB) damlatıldı (Abcam, ab2378) ve 2 saat süreyle inkübe edildi (Triptaz 1/250 oranında dilüent solüsyonu ile sulandırıldı.) PBS'de 3x5 dakika yıkandı. Yıkama sonrası sekonder antibody (biotinli) damlatılarak 10 dakika oda ısısında inkübe edildi. PBS'de 3x5 yıkandı. Kesit çevresi silindikten sonra HRP-streptavidin (Thermo, İngiltere) damlatılarak 10 dakika oda ısısında inkübe edildi. PBS'de 3x5 dakika yıkandı. AEC kromojeni (Abcam, ab64257) kesitlere damlatıldı ve 10 dk. sonra mikroskop altında boyanma olup olmadığı kontrol edilerek dokular distile suya alındı. Weigert'ın demirli hematoksilen'de 5 dakika zemin boyaması yapıldı ve musluk suyunda 3–5 dakika yıkandı ve distile suya alındı hemen ardından su bazlı kapatma medyumunu (Dako Faramount Aqueous Mounting Medium) ile kapatıldı.

Kimaz İmmünohistokimyasal Boyaması

Poli-L-lisin kaplı lamlara alınan kesitler deparafinize edilerek suya indirildi. Kesitler mikrodalgaya dayanıklı özel şalelerde pH 6.0 sitrat buffer solüsyonu içerisinde sıralanarak Vestel marka 1550 model mikrodalga fırında maksimum konumunda 2 kez 5'er dakika antijen retriavel işlemi yapıldı. Daha sonra oda ısısında 20–25 dakika soğumaya bırakıldı. Soğuyan kesitler pH 7,2-7,4 PBS'de 3x5 dakika yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için %3'lük H₂O₂ (hidrojen peroksit)'in metanol solüsyonunda 20 dakika inkübe edildi ve PBS ile yıkandı. Doku çevresi silinerek pap-pen çizildi. Dokular nemli bir ortamda yatay konularak üzerine PAB damlatıldı (Biorbyt, İngiltere) ve oda ısısında iki saat muamele edildi (Kimaz 1/250 oranında dilüent solüsyonu ile sulandırıldı). PBS'de 3x5 dakika yıkandı. Kesitlere sekonder antibody (biotinli) damlatılarak 10 dakika oda ısısında inkübe edildi. PBS'de 3x5 yıkandı. Takiben HRP-streptavidin damlatılarak 10 dakika oda ısısında inkübe edildi. PBS'de 3x5 dakika yıkandı ve 3,3'-diaminobenzidine (DAB) kromojen hazırlanarak damlatıldı. On dakika (10dk.) sonra mikroskop altında boyanma olup olmadığı kontrol edilerek dokular distile suya alındı. Weigert'in demirli hematoksilin'de 5 dakika zemin boyaması yapıldı ve musluk suyunda 3x5 dakika yıkandı ve distile suya alındı. Kesitler sırasıyla %96 ve mutlak alkolde 1'er dakika tutuldu. Parlatma toluenine alınan preparatlar 20 dk toluende bekletildi, ardından toluen bazlı kapatma maddesi ile kapatıldı.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME HÜCRE SAYIMLARI VE İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

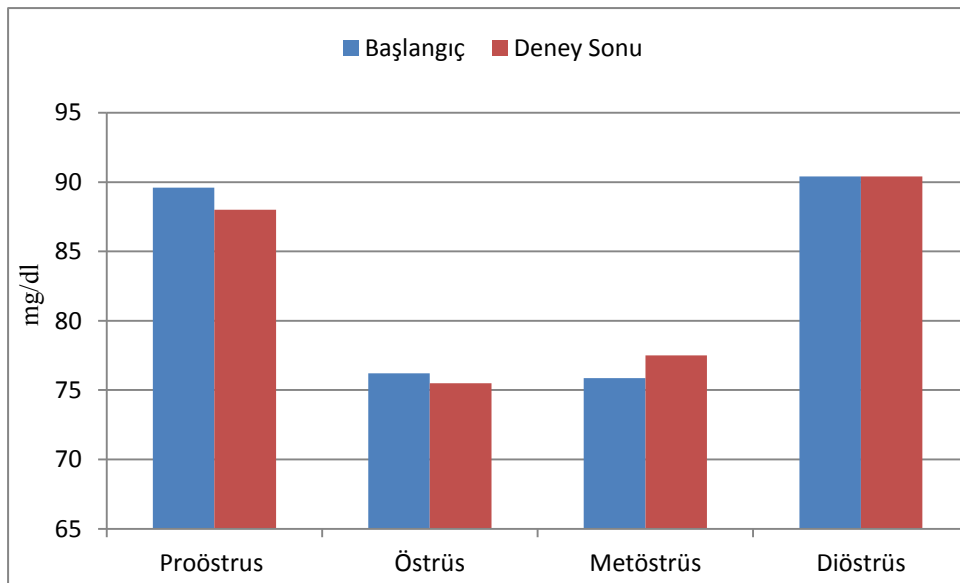
İmmünohistokimyasal boyama yapılan preparatlarda kimaz (+) ve triptaz (+) mast hücre dağılımı semikantitatif olarak değerlendirildi. Semikantitatif değerlendirme şu şekilde yapıldı; yok (-), 1-2 hücre (±), 3-4 hücre (+), 5-6 hücre (++) , 7 ve daha fazla sayıda hücrede (+++).

BULGULAR

MORFOMETRİK BULGULAR

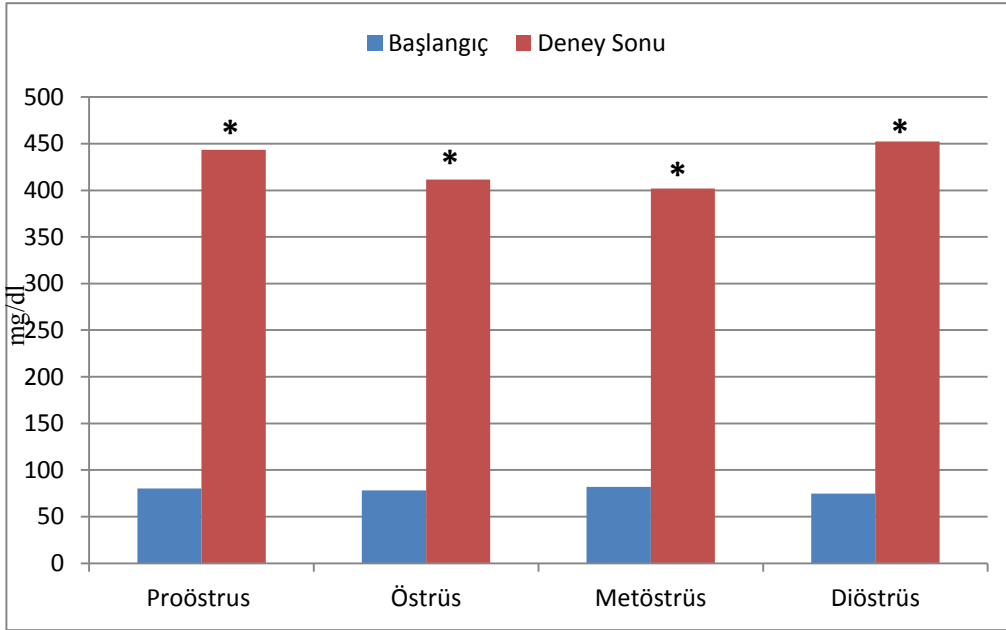
Kan Glukoz Düzeyleri

Tüm deneklerin kan glukoz değerleri deney öncesinde STZ uygulamasından 3 gün sonra glukometre (IME-DC, Almanya) kullanılarak ölçüldü. Bu ölçümler sonunda tüm hayvanların kan glikoz düzeylerinin ilk ölçüm sonunda 52-136 mg/dl arasında olduğu saptandı. Kontrol Grupları hayvanlarının kan glikoz düzeylerinde deneyin başından sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 1).



Şekil 1. Kontrol gruplarına ait deney başı ve deney sonu kan şeker düzeyleri (mg/dl)

Diyabetik gruplarında STZ uygulamasından 3 gün sonraki ölçümde kan glikoz düzeylerinin diyabet oluşumunda gözlemlenecek seviyede arttığı görülmüştür (Şekil 2). Bu ölçümdeki değerlerimiz 320-541 mg/dl arasında olduğu tespit edilmiştir.

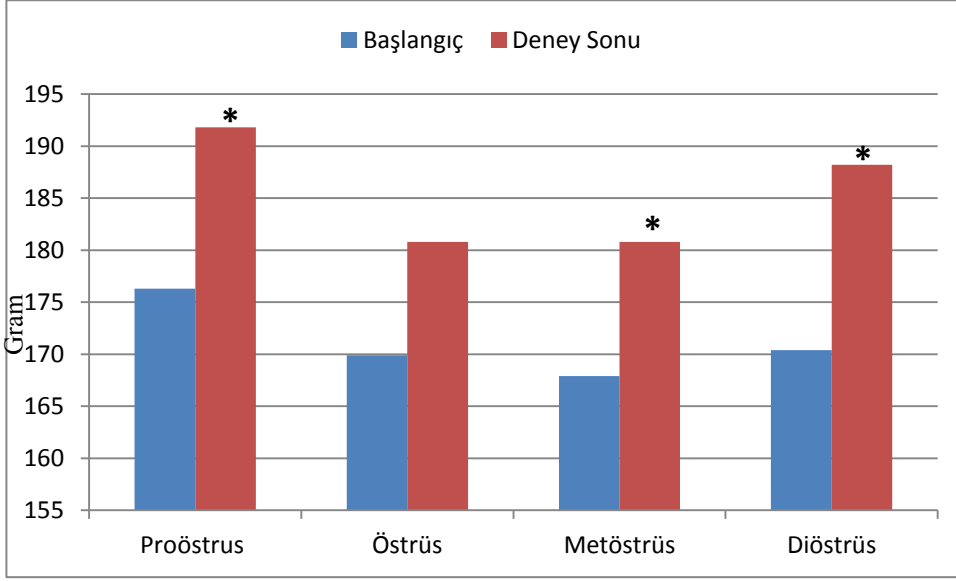


* P<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı

Şekil 2. Diyabetik gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu kan şeker düzeyleri (mg/dl)

Ağırlık Bulguları

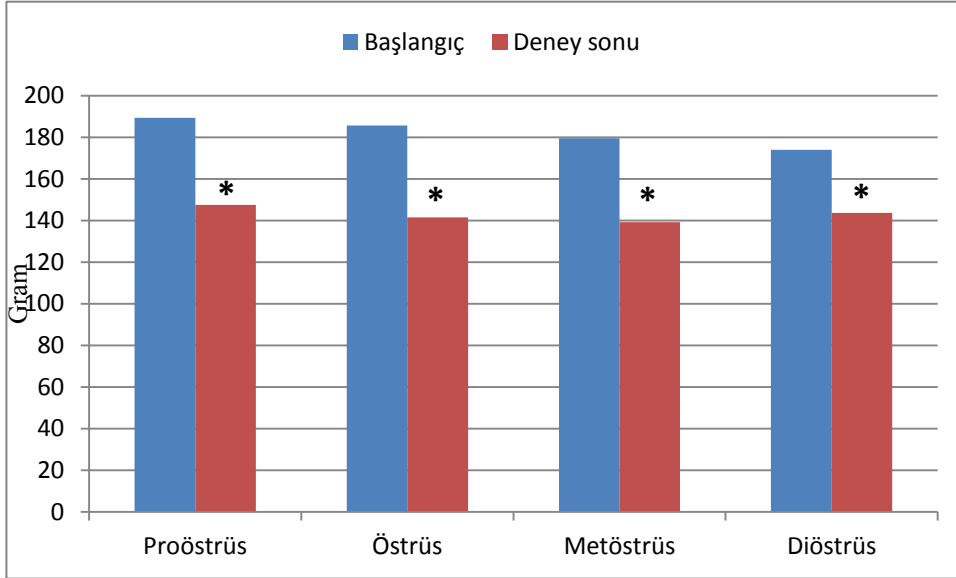
Tüm gruplardaki deneklerin ağırlıkları deneyin başında ve sonunda yapılmıştır. Deneylerin sonunda proöstrus, metöstrus ve diöstrus kontrol grubu hayvanların ağırlıklarında ilk tartımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (P<0.05;Şekil 3). Kontrol östrus grubu son tartım ağırlığında ise ilk tartıma göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış gözlemlendi.



* P<0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı.

Şekil 3. Kontrol gruplarına ait deney başlangıcı ve deney sonu canlı ağırlık değerleri (gr)

Diyabetik gruplardaki hayvanların son tartımlarındaki ağırlıkları ilk tartımlarındaki ağırlıklarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmanın yaşandığı gözlemlenmiştir (P < 0.05; Şekil 4).



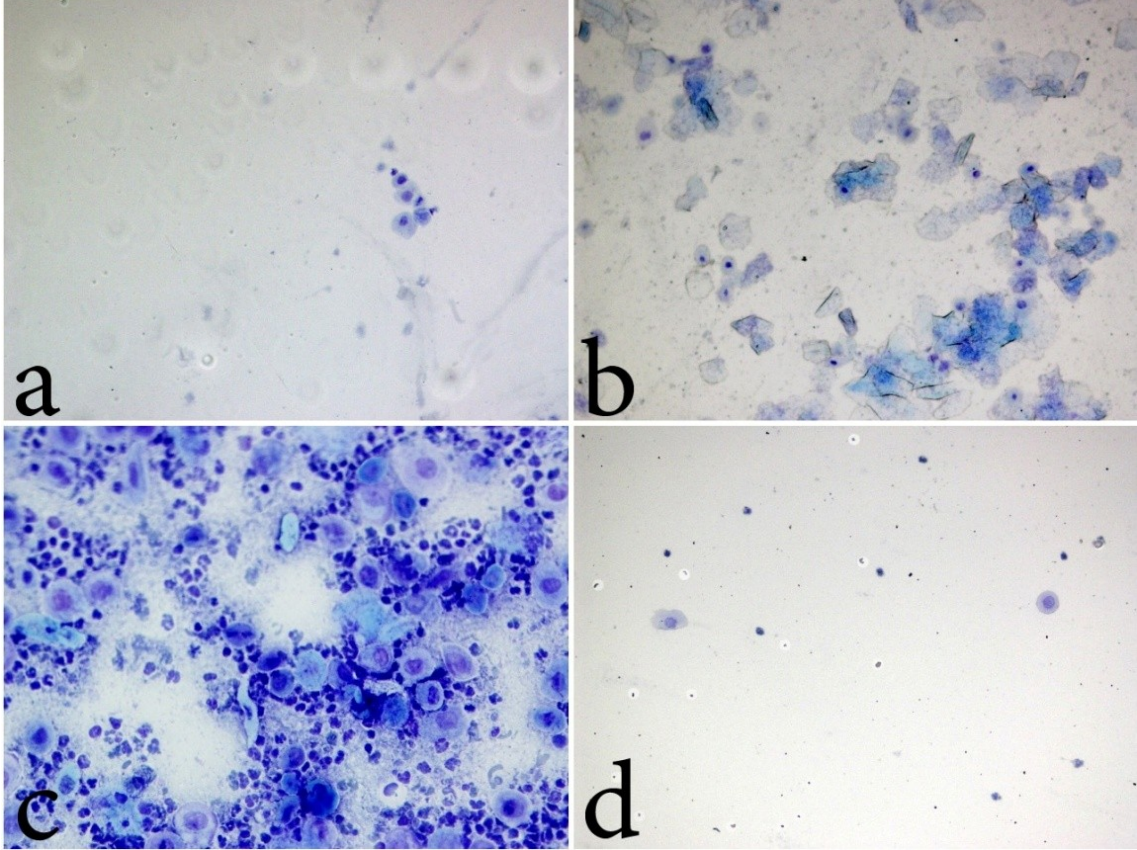
*P < 0.05 kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı.

Şekil 4. Diyabetik gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu canlı ağırlık değerleri (gr)

MORFOLOJİK BULGULAR

Vajinal Smear Bulguları

Deneklerden alınan vajinal smear yaymaları Tablo 1'deki gibi değerlendirildi ve denekler gruplarına ayrıldı (Şekil 5).



Şekil 5. **a:** Diyabet proöstrus grubu hayvandan alınmış smear görüntüsü; **b:** Kontrol östrus grubu hayvandan alınmış smear görüntüsü; **c:** Diyabet metöstrüs grubu hayvandan alınmış smear görüntüsü; **d:** Kontrol diöstrus grubu hayvandan alınmış smear görüntüsü, TB, X200.

Histolojik Bulgular

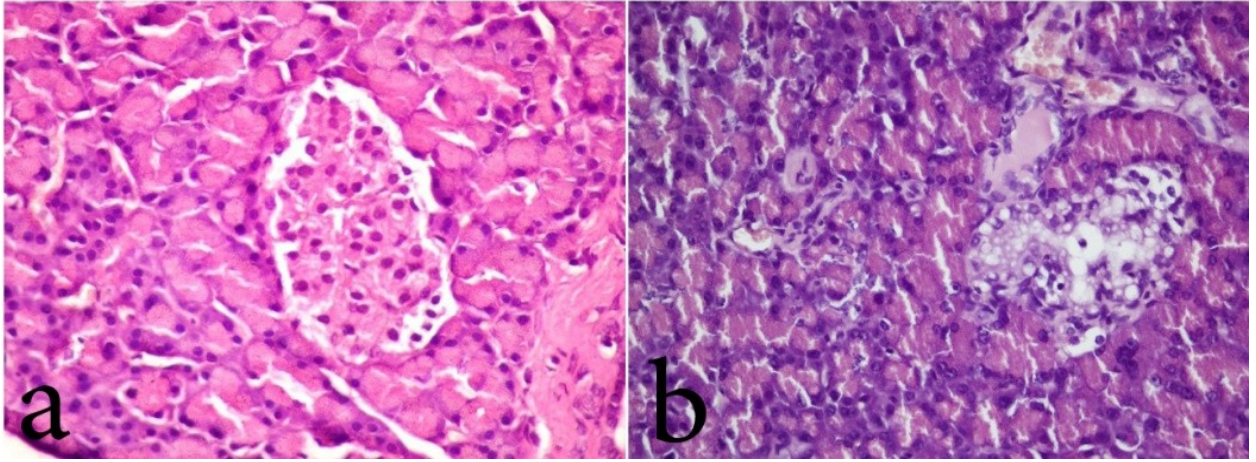
Işık Mikroskopik Bulgular

Işık mikroskopik incelemelerde deney ve kontrol grubu hayvanlarından alınan pankreas, ovaryum ve uterus dokuları incelenmiştir. Pankreas dokusunun incenmesinde H+E boyası yapıldı.

Ovaryum ve uterus dokuları ise Toluidin mavisi boyaması ile östrus siklusunun farklı evrelerindeki mast hücresi dağılımı ortaya çıkarıldı.

Pankreas Histopatolojik Bulgular

H+E boyaması ile boyanan pankreas dokuları incelendiğinde, kontrol grubu hayvanların Langerhans adacıklarında normal yapıda oldukları izlenirken, diyabetik grup hayvanların endokrin adacıklarında β hücrelerinde nekroz, vakuolleşmenin ve dejenerasyonların varlığı dikkat çekiciydi (Şekil 6).

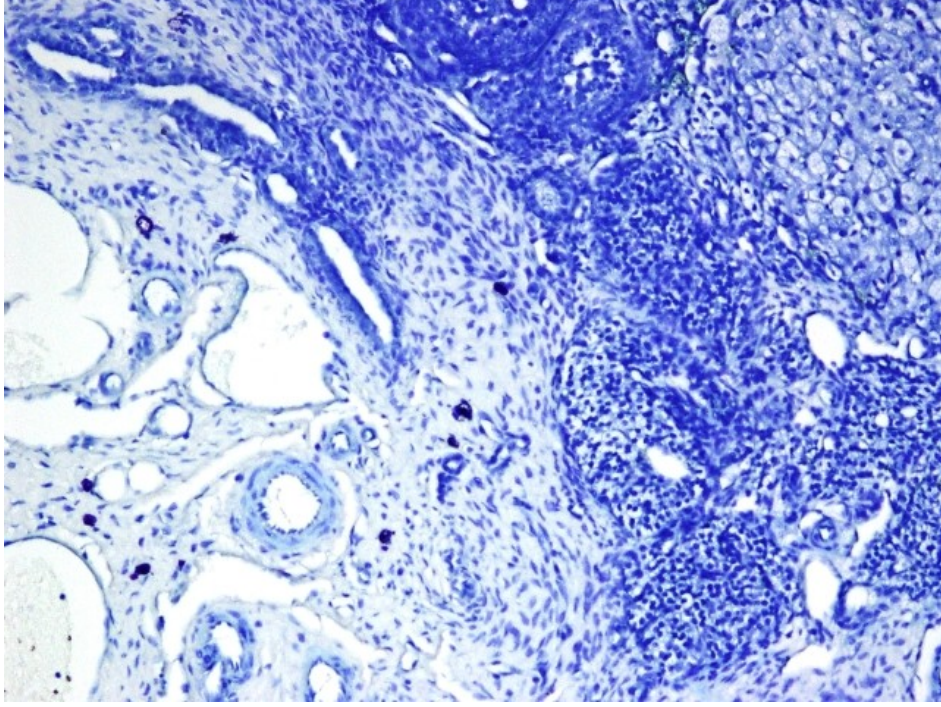


Şekil 6. a: Kontrol grubu sıçandan alınmış pankreas dokusu; **b:** Diyabet grubu sıçandan alınmış pankreas dokusunda endokrin adacıkların görünümü H+E, X400.

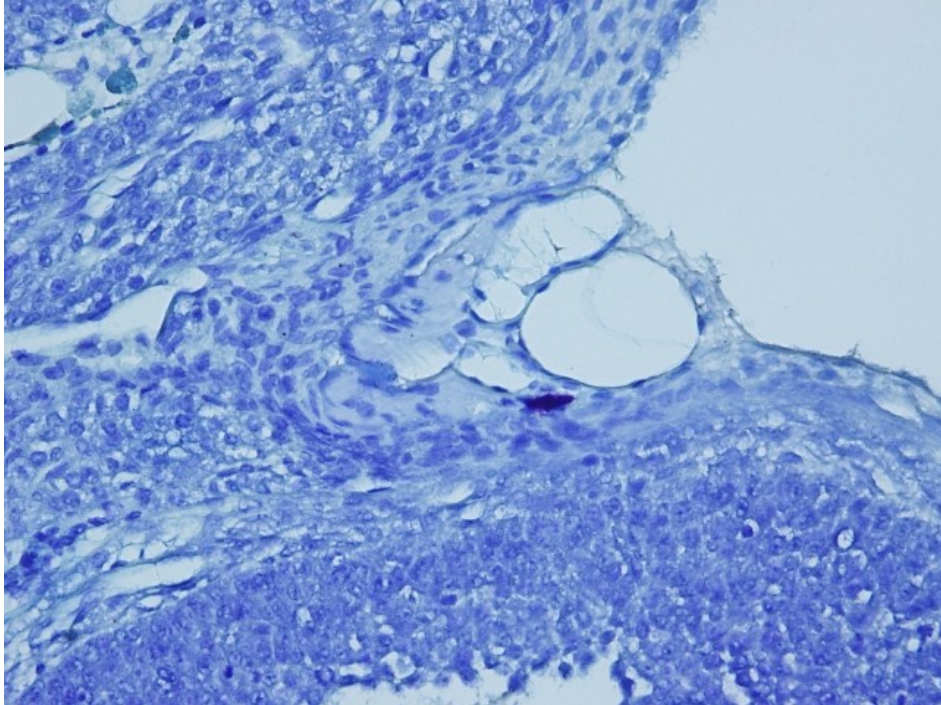
Ovaryum Histokimyasal Mast Hücresi Gösterimi

Ovaryum dokusunda TB ile boyamada, metakromatik boyanan mast hücrelerinin genellikle ovaryumun medulla kısmında ve bu alanda da genellikle kan damarı yakınlarında yerleşik oldukları saptandı (Şekil 7). Kortikal alanlarda TB (+) mast hücreleri daha azınlıktaydı ve germinal epitel katmanında bu hücrelere rastlanmadı (Şekil 8).

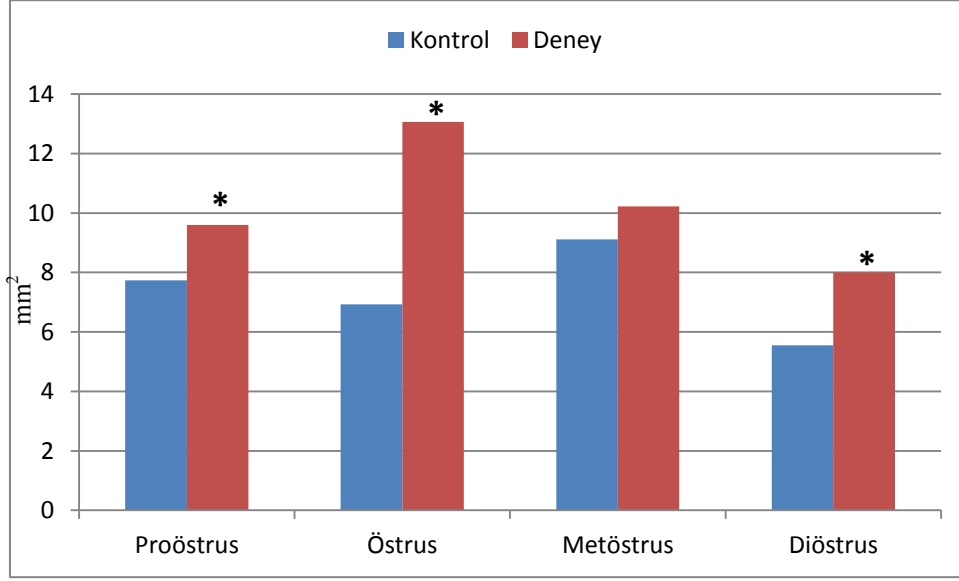
Ovaryum dokularında yapılan TB boyaması sonucu elde edilen mast hücre kontrol ve diyabet gruplarında östrus evreleri karşılaştırıldı. Proöstrus, östrus, diöstrus sikluslarının kontrol ve diyabet grupları karşılaştırıldığında, diyabet gruplarında mast hücresi sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken, metöstrus grubunda kontrol ve diyabet sıçanların ovaryumlarındaki mast hücresi sayısı arasındaki artış anlamsızdır ($P<0.05$; Şekil 9-12).



Şekil 7. Diyabetik grup östrus evresi sıçan ovaryum medullasında mast hücreleri, TB, X200.

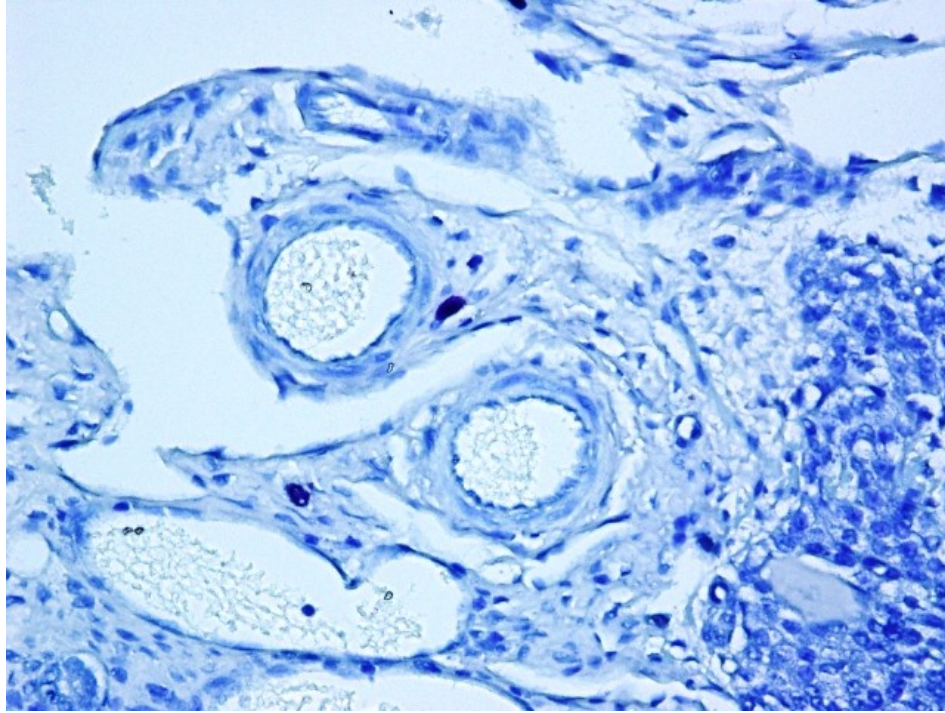


Şekil 8. Kontrol grubu östrus evresi sıçan ovaryum korteksinde mast hücresi, TB, X400

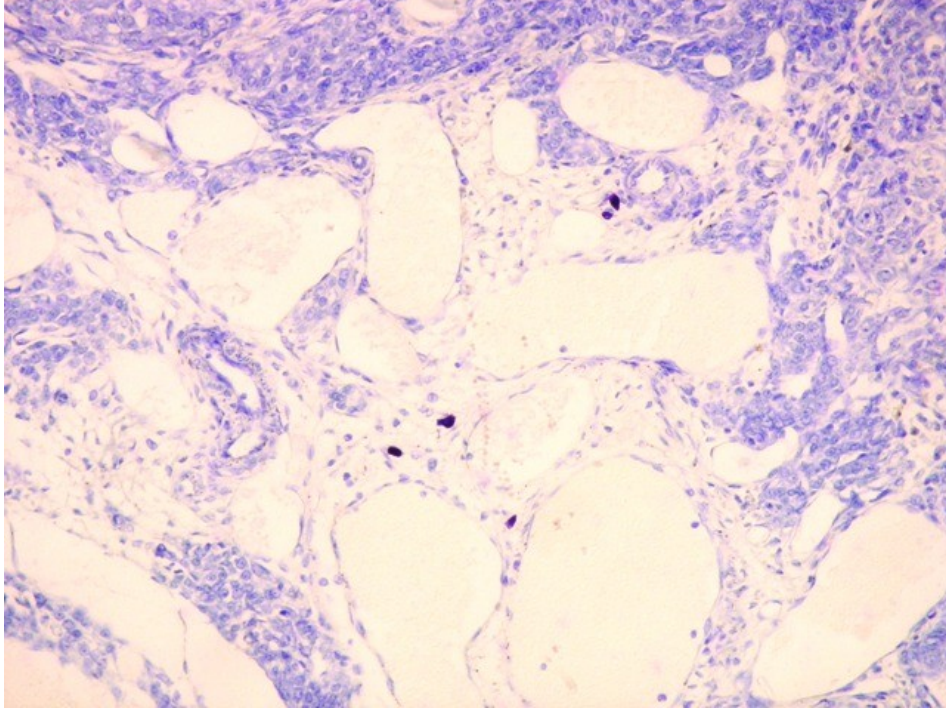


*: $P < 0.05$ kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı.

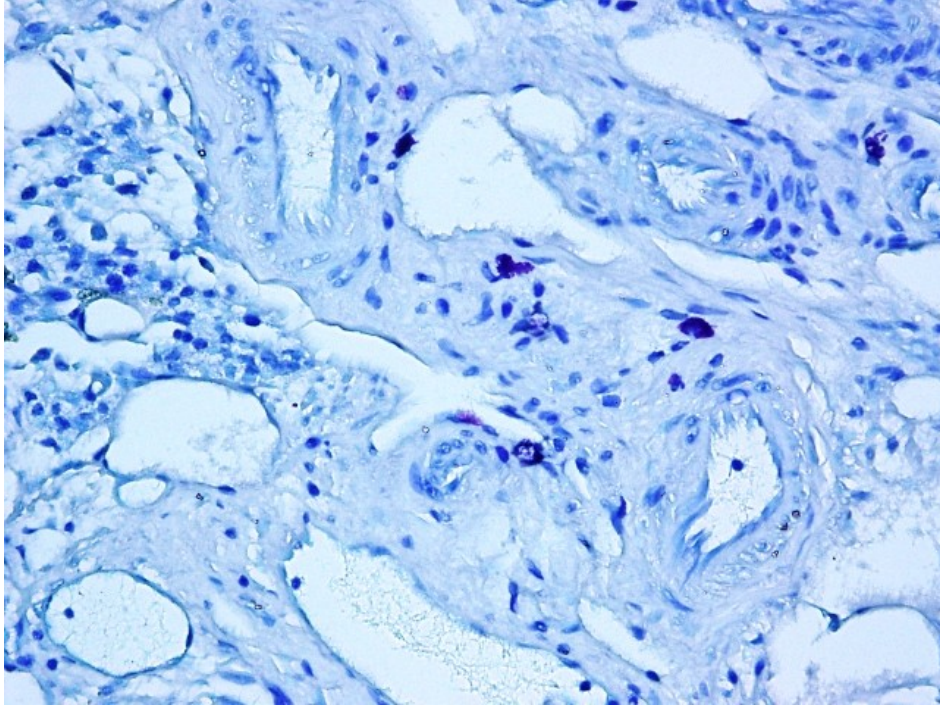
Şekil 9. TB boyamasında ovaryum dokusunda mast hücresi dağılımı.



Şekil 10. Kontrol grubu metöstrus evresi sıçan ovaryum medullası mast hücreleri, TB, X400



Şekil 11. Kontrol proöstrus sıçan ovaryum medullasında kan damarlarına yakın yerleşimli mast hücreleri, TB, X200

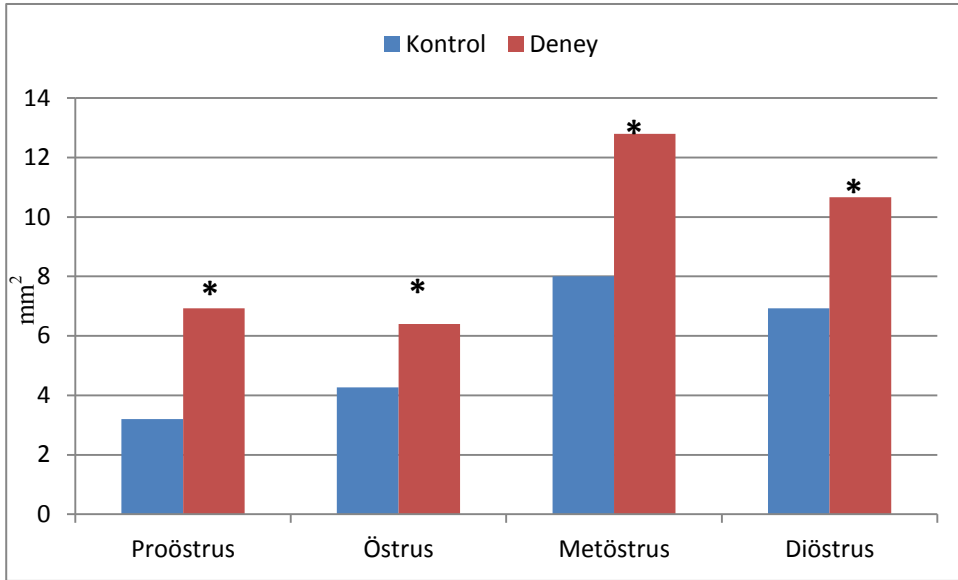


Şekil 12. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan ovaryum medullasında mast hücreleri, TB, X400

Uterus Histokimyasal Mast Hücreleri Gösterimi

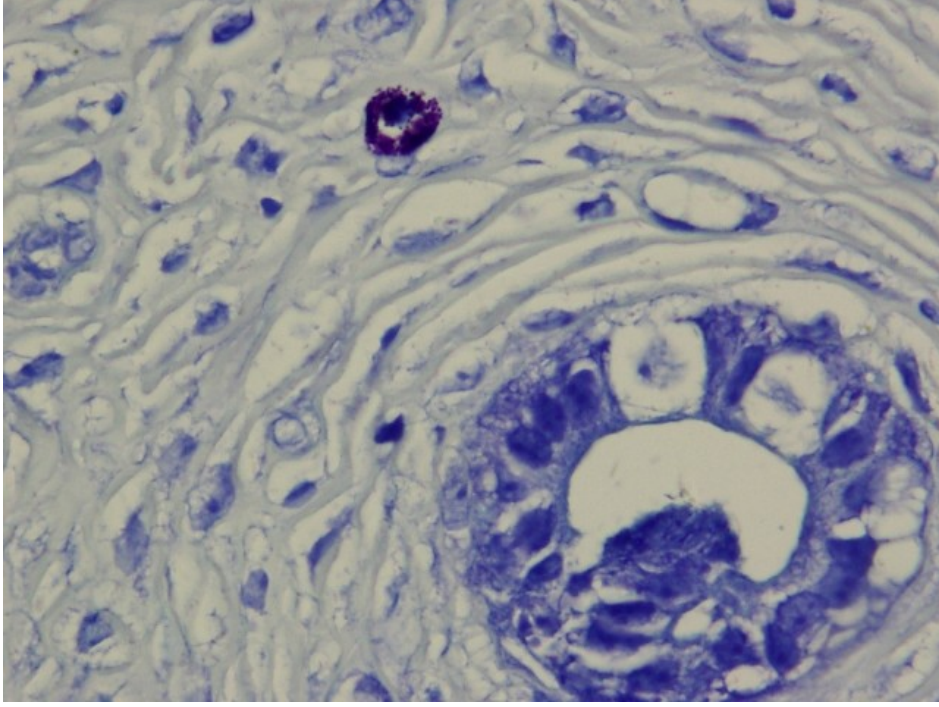
Uterus dokuları TB ile boyanan kesitlerde mast hücreleri endometriyum ve miyometriyum katmanlarında sayımları yapılarak kontrol ve diyabet gruplarının karşılaştırılması yapıldı.

Uterus endometriyum katmanı incelendiğinde, mast hücrelerinin lamina propriya tabakasında bulunduğu gözlemlendi (Şekil 14). Uterusun endometriyum katmanında diyabet ve kontrol gruplarından elde edilen mast hücreleri sayıları diyabetik sıçanlarda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu gözlemlendi ($P<0.05$; Şekil 13 ve 15).

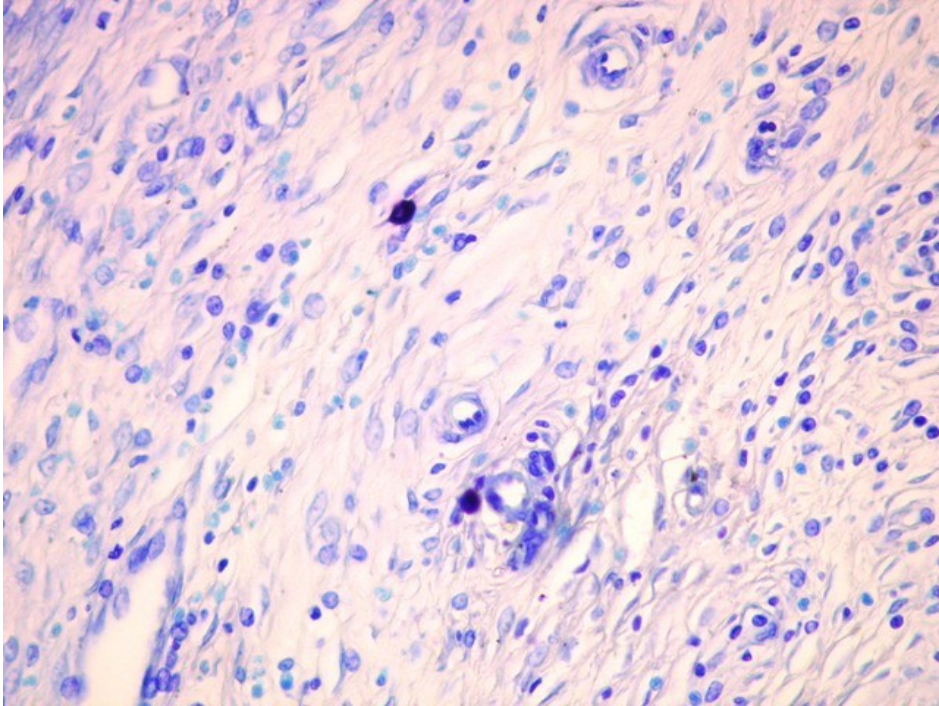


*: $P<0.05$ kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı.

Şekil 13. TB boyamasında uterus endometriyumunda mast hücreleri dağılımı.

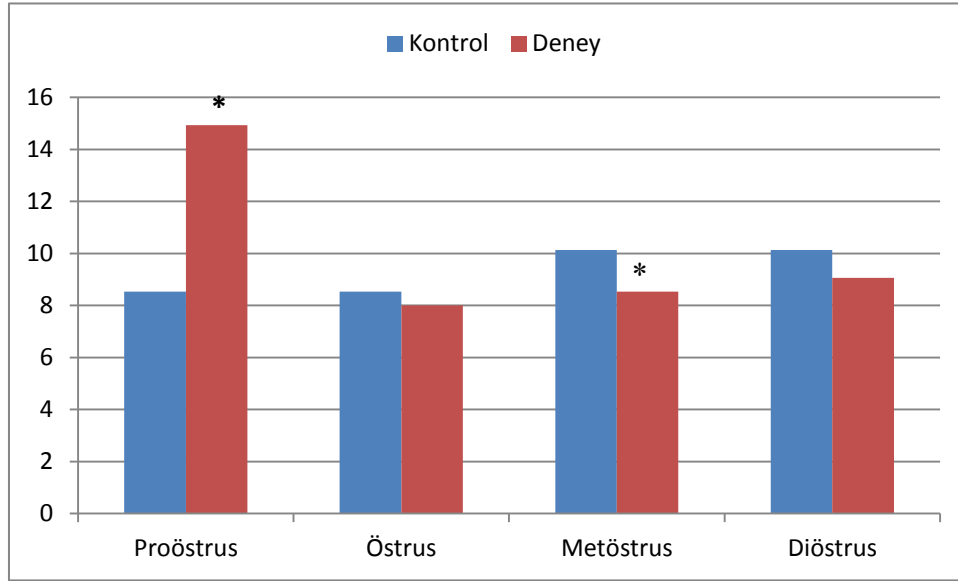


Şekil 14. Kontrol grubu östrus evresi sıçan uterus endometriyumunda mast hücresi, TB, X1000



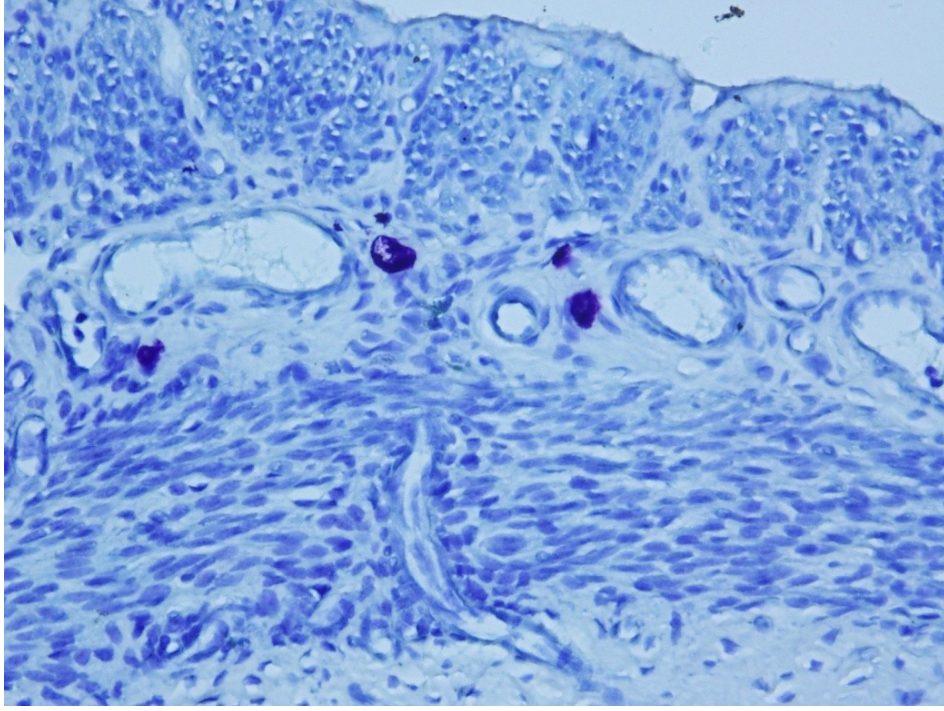
Şekil 15. Kontrol grubu proöstrus evresi sıçan uterus endometriyumunda mast hücreleri, TB, X400

Uterus miyometriyum katmanı incelendiğinde mast hücrelerinin stratum vaskulare bölgesinde damarlara yakın konumda yerleştikleri gözlemlendi. Yine bu katman değerlendirildiğinde kontrol ve diyabet gruplarını karşılaştırıldığında östrus ve diöstrus evrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmezken ($P>0.05$; Şekil 16 ve 17), proöstrus ve metöstrus evrelerinde diyabet grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemlendi ($P<0.05$; Şekil 16 ve 18).

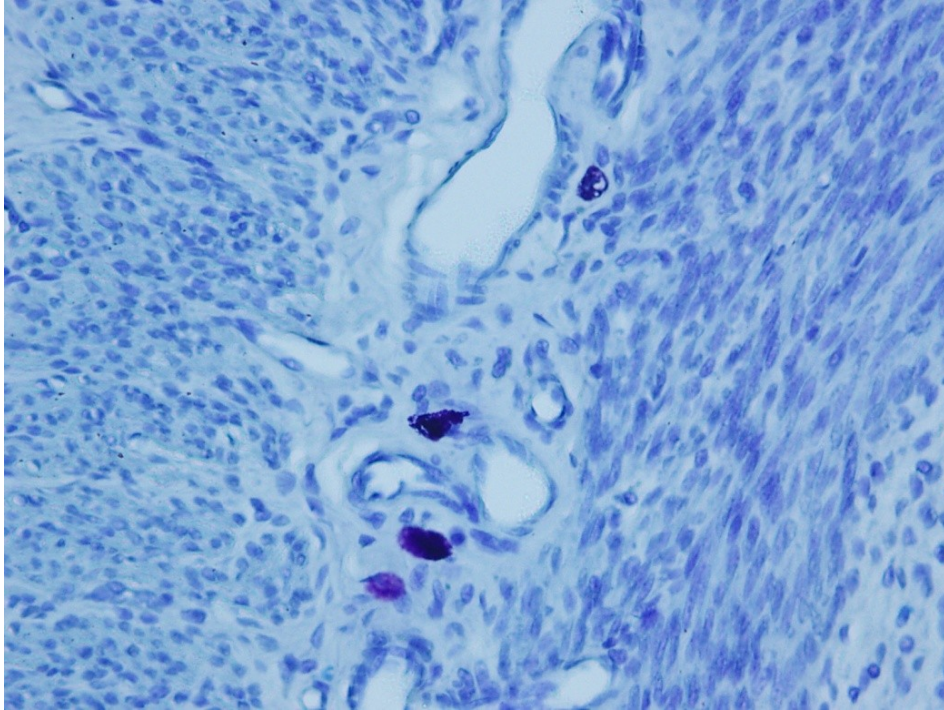


*: $P<0.05$ kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı;

Şekil 16. TB boyamasında uterus miyometriyum dokusunda mast hücresi dağılımı



Şekil 17. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan uterus miyometriyum katmanında mast hücreleri, TB, X400



Şekil 18. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan uterus miyometriyum katmanında mast hücreleri, TB, X400

İmmünohistokimyasal Bulguları

İmmünohistokimyasal olarak triptaz ve kimaz pozitif mast hücrelerinin dağılımı ovaryum ve uterus dokularında östrusun farklı fazlarında karşılaştırılarak değerlendirilmesi yapıldı.

Triptaz Boyaması

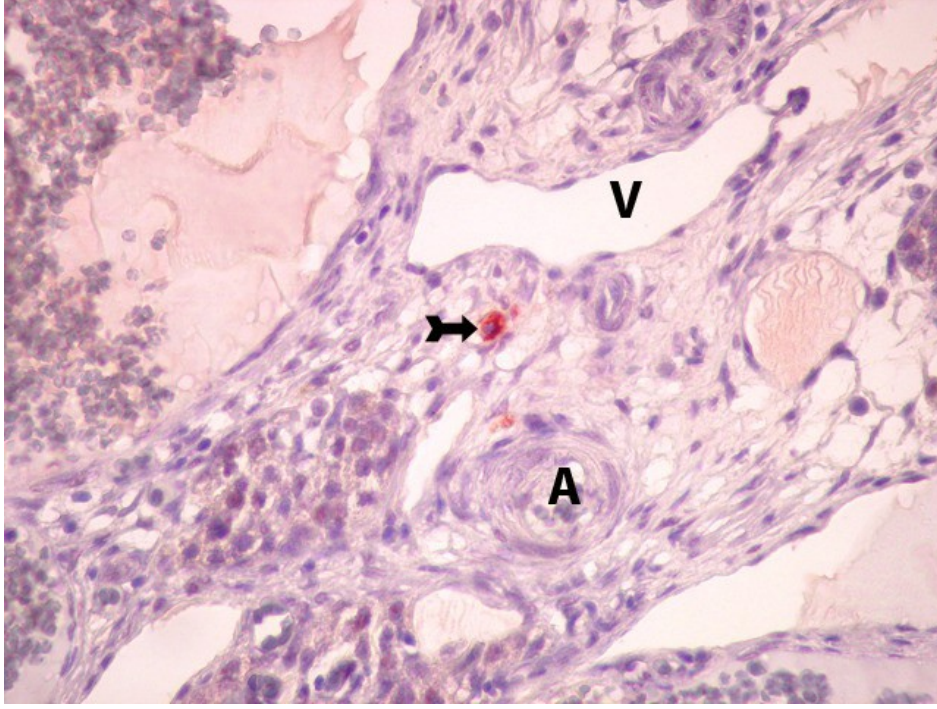
Ovaryum ve uterusun dokularında yapılan immünohistokimyasal triptaz boyamasından elde edilen triptaz pozitif mast hücre dağılımı **Tablo 3**'de verilmiştir.

Tablo 3. Ovaryum ve uterus dokularında farklı siklus evrelerinde triptaz pozitif mast hücre semikantitatif dağılımı

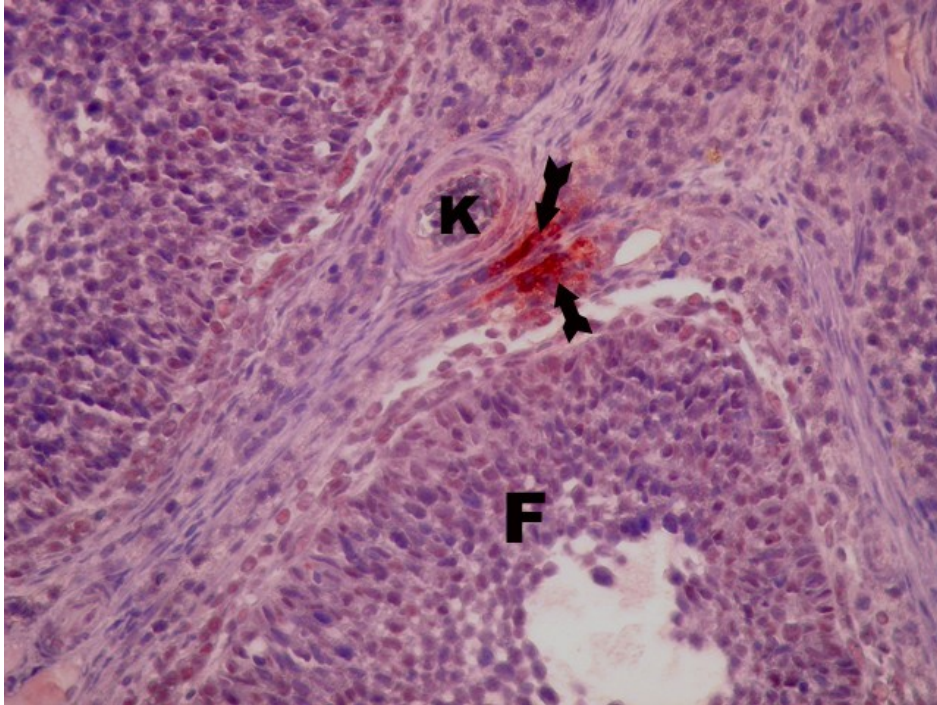
Siklus Evresi	Kontrol		Diyabetik	
	Ovaryum	Uterus	Ovaryum	Uterus
Proöstrus	±	-	±	-
Östrus	±	±	+	+
Metöstrus	++	++	++	+
Diöstrus	+	+	±	±

Yok (-), 1-2 hücre (±), 3-4 hücre (+), 5-6 hücre (++), 7 ve daha fazla sayıda hücrede (+++)

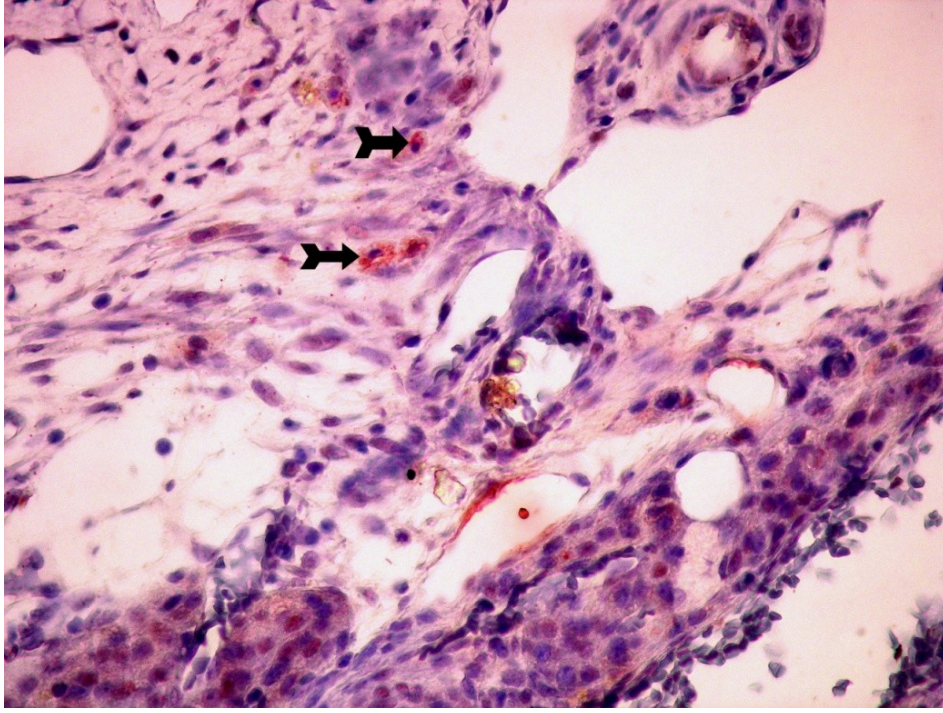
Triptaz boyaması sonucunda siklus fazlarına göre ovaryum dokusu incelendiğinde proöstrus (Şekil 19 ve 20) ve metöstrus (Şekil 21 ve 22) fazlarında deney grubu ile kontrol grupları arasında triptaz pozitif hücre sayısında bir değişim gözlenmemiştir. Östrus siklusu incelendiğinde deney grubu sıçanlarının ovaryumlarında, kontrol grubu sıçanların ovaryumlarına göre bir artış olduğu gözlemlendi (Şekil 23-25). Diöstrus evresinde ise diyabet grubu sıçanların ovaryumlarında, kontrol grubu sıçanlarının ovaryumlarına göre bir azalmanın olduğu tespit edildi (Şekil 26).



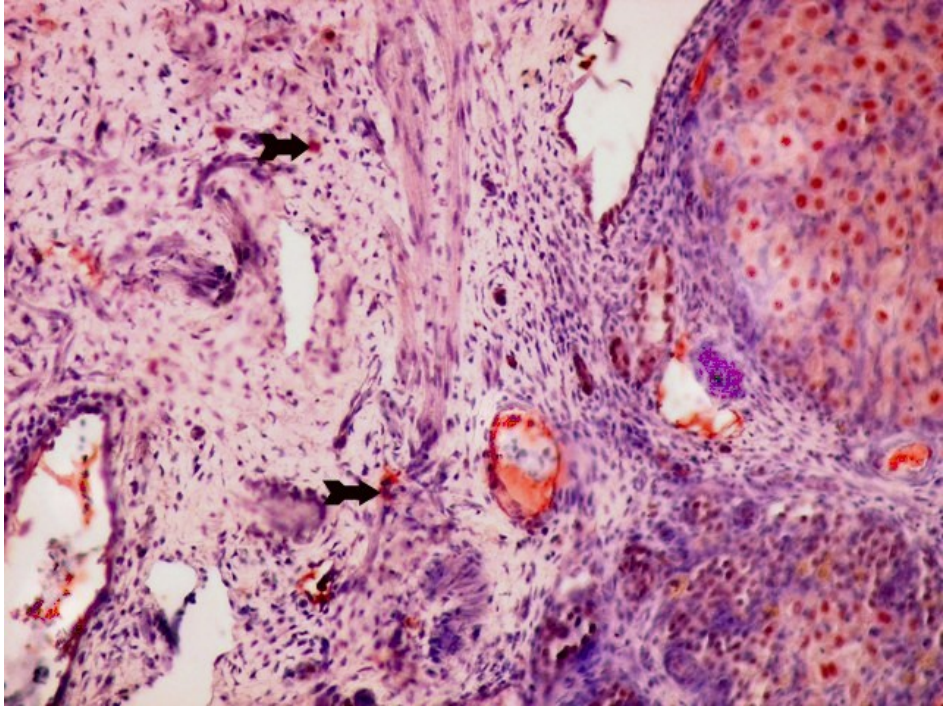
Şekil 19. Kontrol grubu proöstrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması, X400. Ok: Triptaz pozitif boyanan mast hücresi; V: Ven ve A: Arter



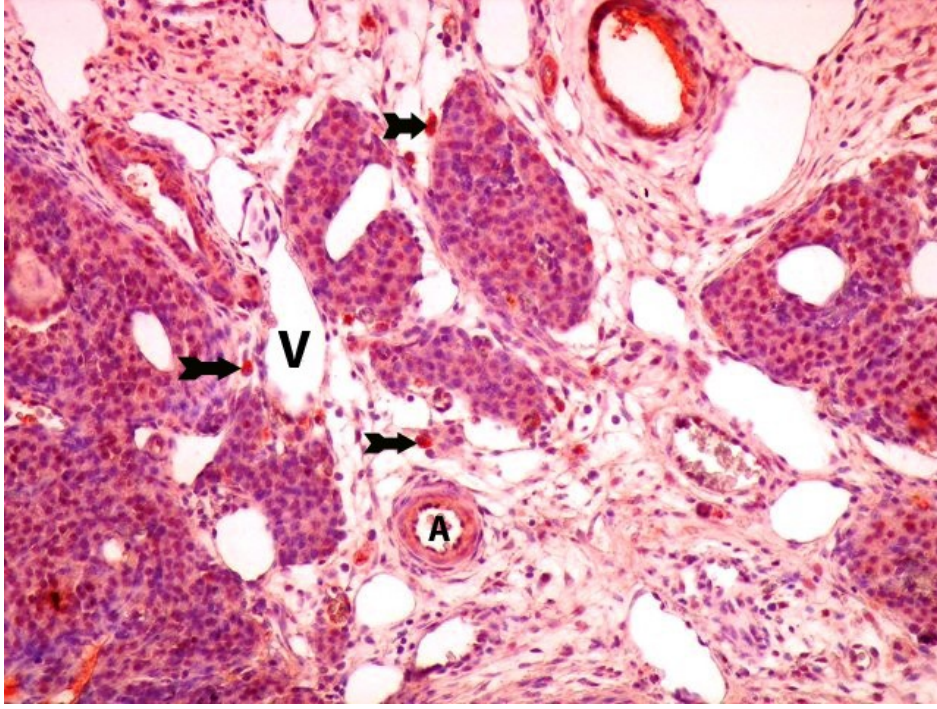
Şekil 20. Diyabetik grup proöstrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması, X400. Oklar: Triptaz pozitif boyanan mast hücreleri; K: Kan damarı ve F: Folikül.



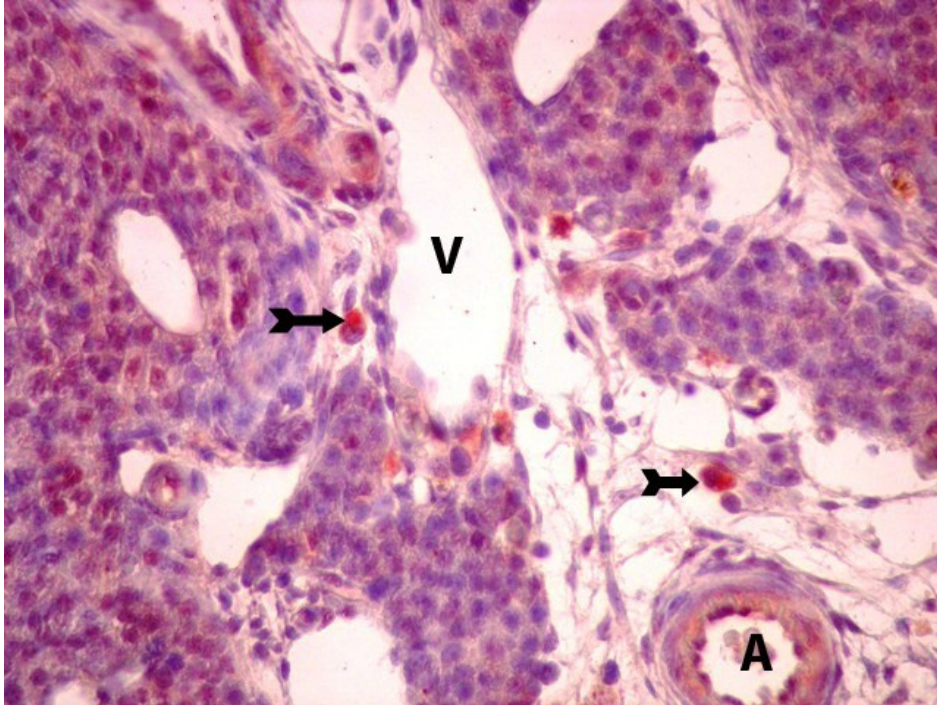
Şekil 21. Kontrol grubu metöstrus evresi sıçan ovaryumunda immün boyaması, X400.
Oklar: Triptaz pozitif boyanan mast hücreleri.



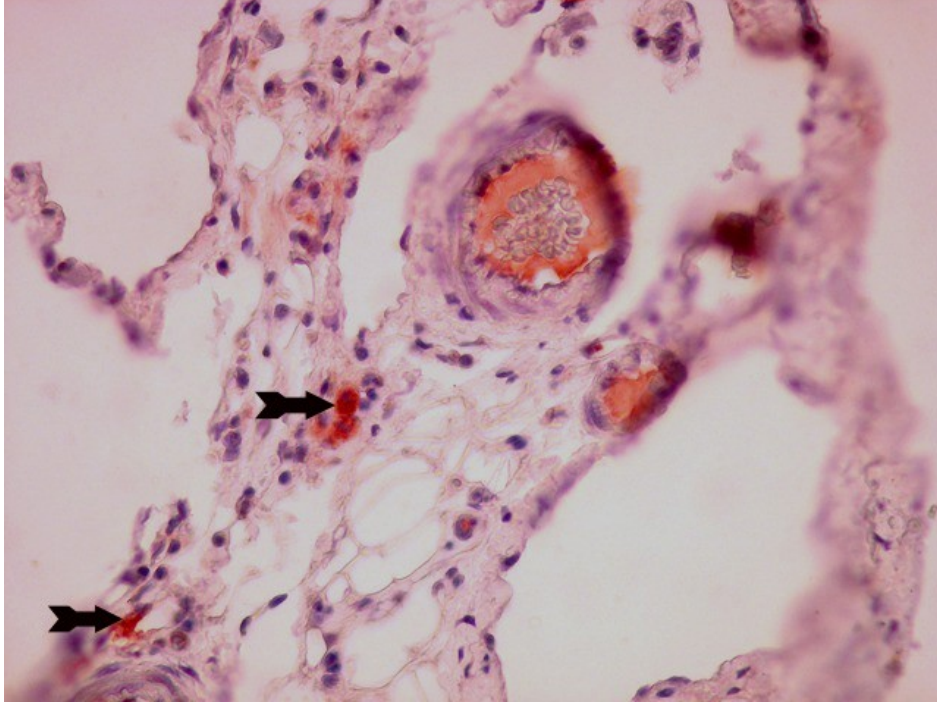
Şekil 22. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması, X200. Oklar: Triptaz pozitif mast hücreleri



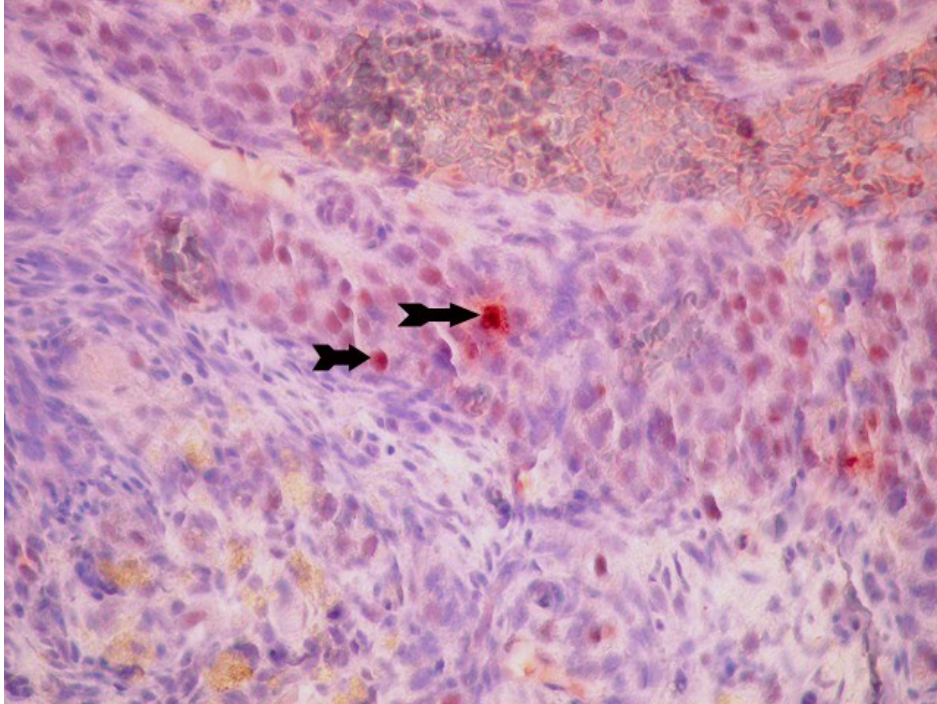
Şekil 23. Kontrol grubu östrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması, X200. Oklar: Triptaz pozitif mast hücreleri; V: Vena A: Arter.



Şekil 24. Kontrol grubu östrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması, X400. Oklar: Triptaz pozitif mast hücreleri; V: ven ve A: arteriyol.

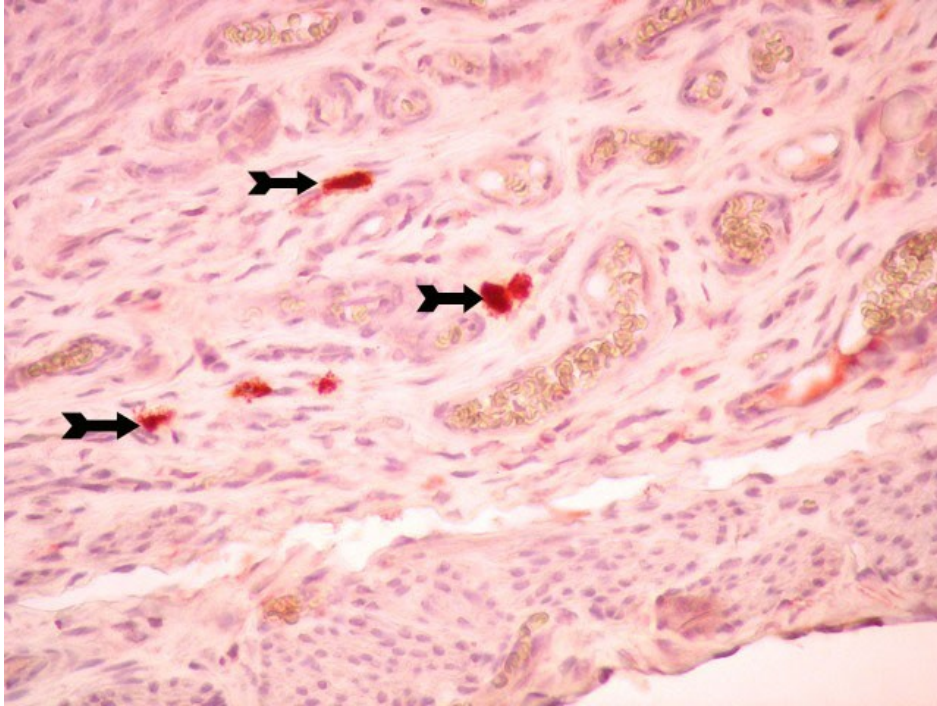


Şekil 25. Diyabet grubu östrus evresi sıçan ovaryumda triptaz immün boyaması, X400. Oklar: Triptaz pozitif mast hücreleri.

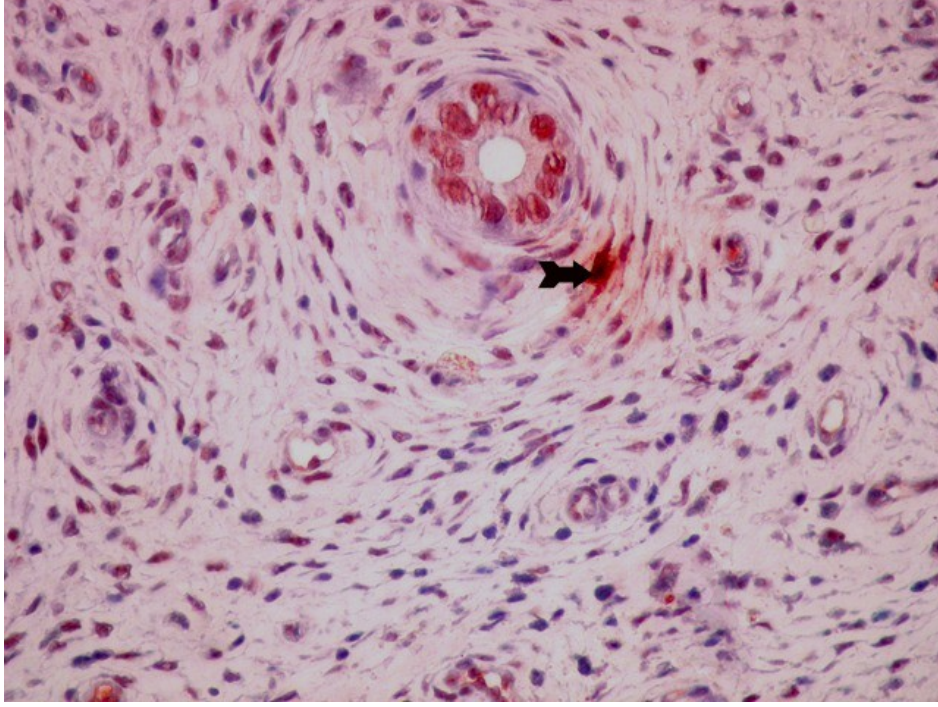


Şekil 26. Kontrol grubu diöstrus evresi sıçan ovaryumda triptaz immün boyaması, X400. Oklar: Triptaz pozitif mast hücreleri.

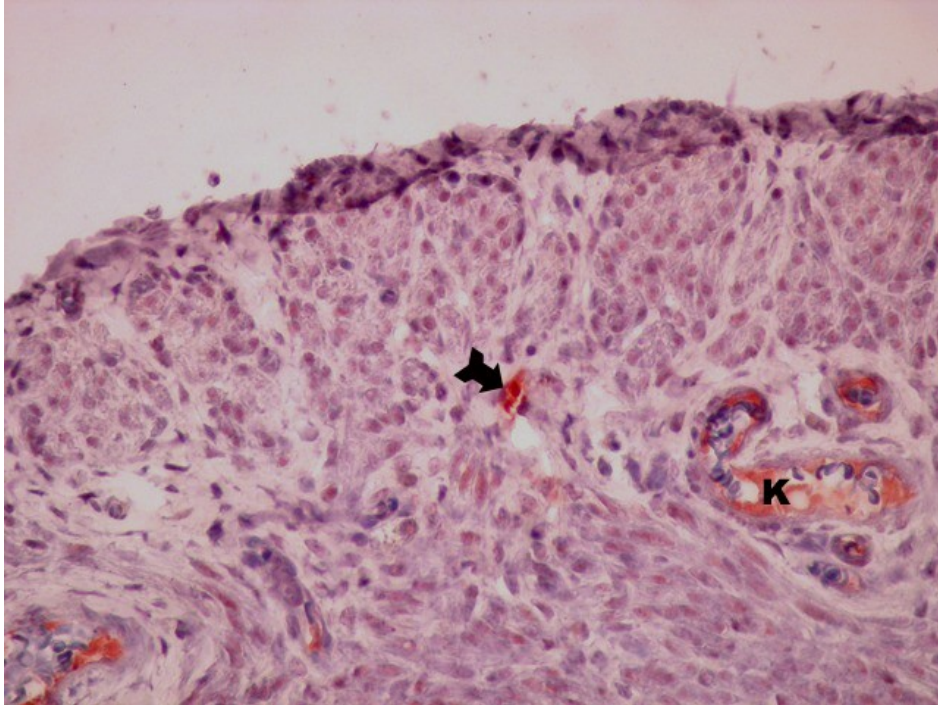
Yapılan triptaz boyamasında diyabet ve kontrol gruplarının proöstrus evresi uterus dokusunda triptaz pozitif mast hücrelerine rastlanmadı. Östrus evresinde triptaz pozitif mast hücre sayısı diyabet grubu sıçanların uteruslarında, kontrol grubu sıçanların uteruslarına göre bir artış gösterdiği tesbit edildi (Şekil 27). Metöstrus ve diöstrus evrelerinin kontrol ve diyabet grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında diyabet grubu sıçanların uteruslarında, kontrol grubu sıçanların uteruslarına göre bir azalma gösterdiği saptandı (Şekil 28-30).



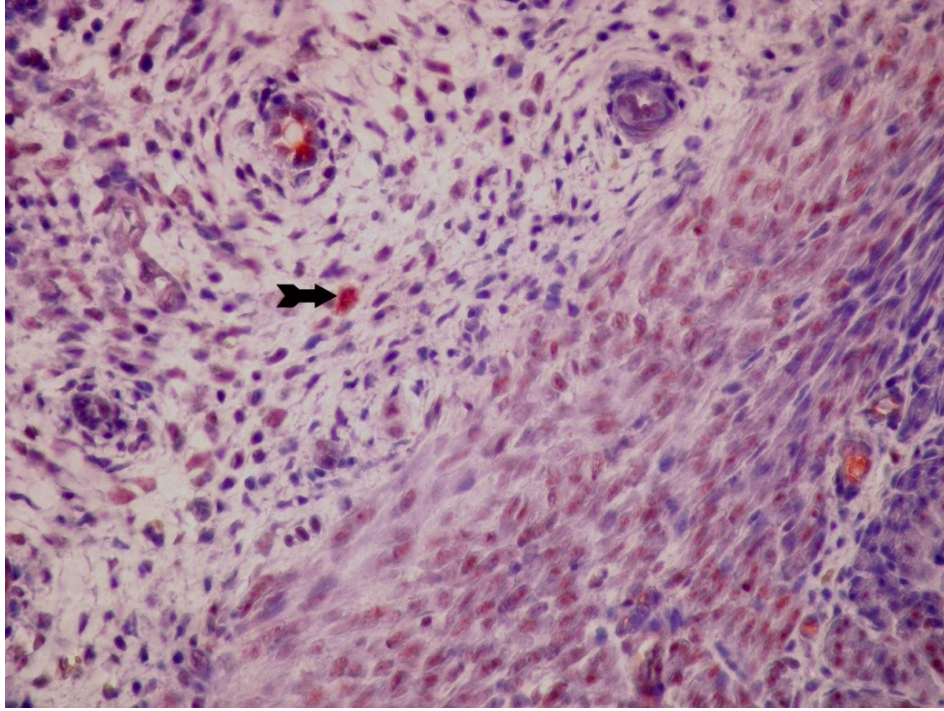
Şekil 27. Diyabetik grup östrus evresi sıçan uterusunda triptaz immün boyaması, X400. Oklar: Triptaz pozitif mast hücreleri.



Şekil 28. Kontrol grubu diöstrus evresi sıçan uterusda triptaz immün boyaması, X400.
Ok: Triptaz pozitif mast hücresi.



Şekil 29. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan uterusunda triptaz immün boyaması, X400. Ok: Triptaz pozitif mast hücresi ve K: kan kapileri.



Şekil 30. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan uterus endometriyumda triptaz immün boyaması, X400. Ok: Triptaz pozitif mast hücresi.

Kimaz Boyaması

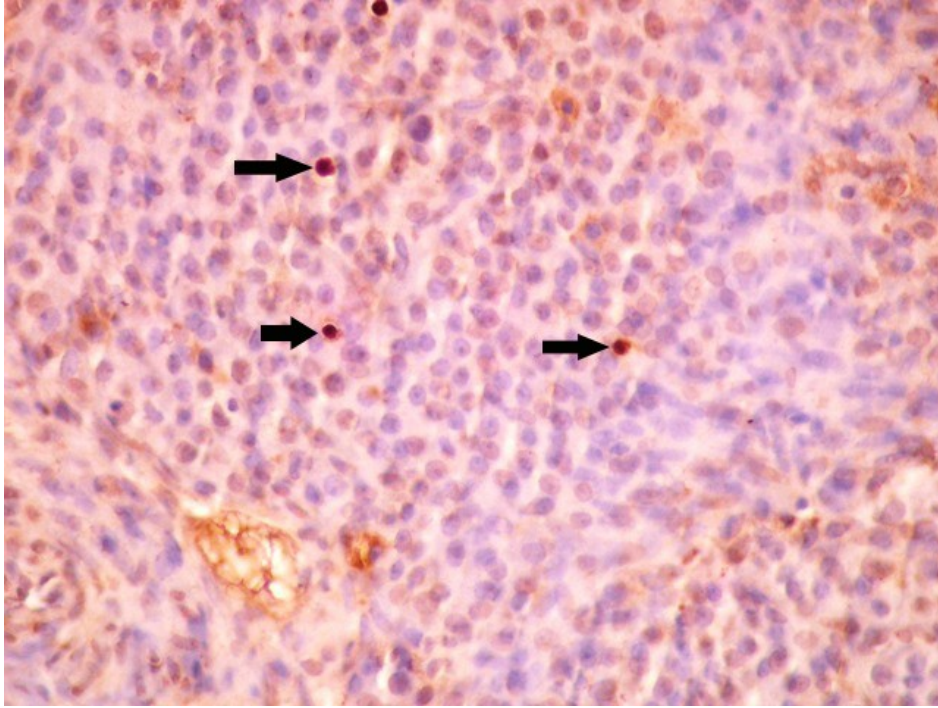
Ovaryum ve uterus dokularında kimaz pozitif boyanan mast hücre dağılımı Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Ovaryum ve uterus dokularında farklı siklus evrelerinde kimaz pozitif mast hücre semikantitatif dağılımı

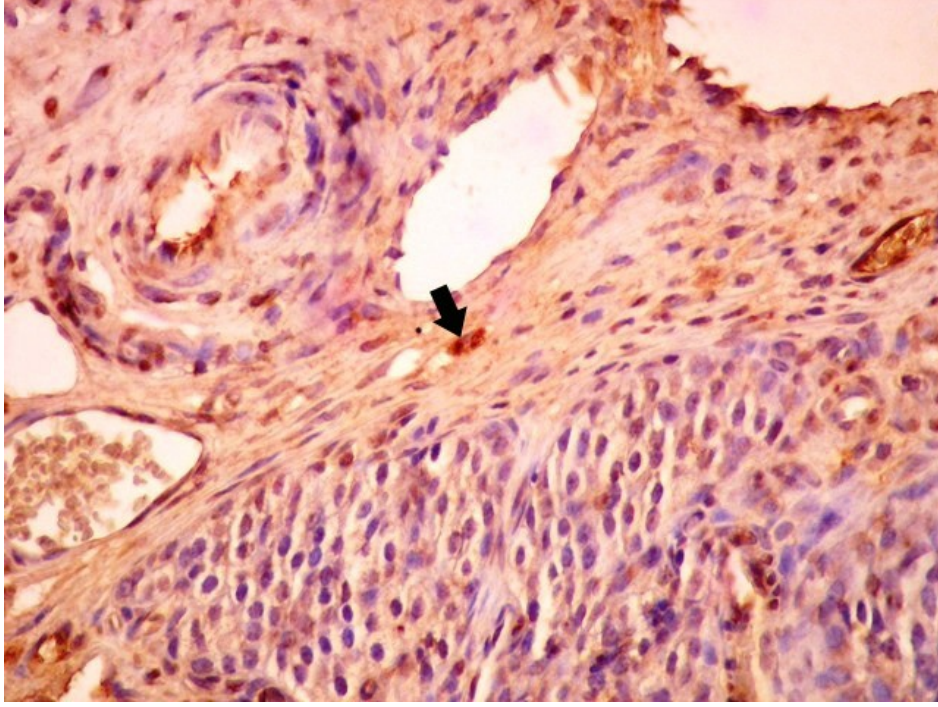
Siklus Evresi	Kontrol		Diyabetik	
	Ovaryum	Uterus	Ovaryum	Uterus
Proöstrus	±	±	+	±
Östrus	+	++	+	±
Metöstrus	++	++	++	+++
Diöstrus	±	+	±	±

Yok (-), 1-2 hücre (±), 3-4 hücre (+), 5-6 hücre (++) , 7 ve daha fazla sayıda hücrede (+++)

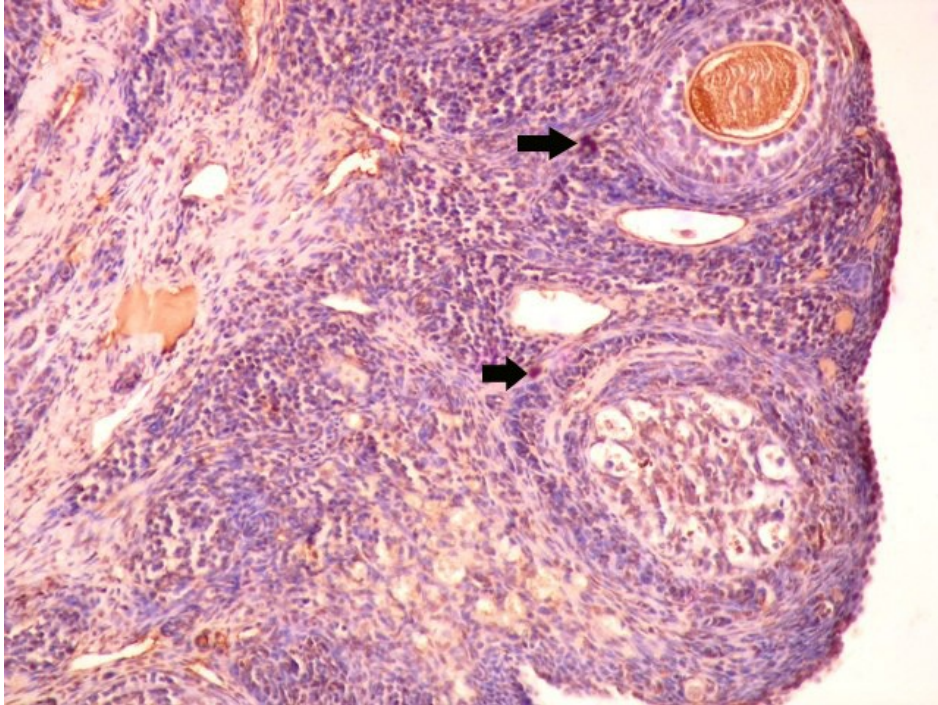
Kimaz boyamasında, genel olarak kimaz pozitif mast hücreleri ovaryum medullasında yoğun olarak lokalize oldukları gözlemlenirken, çok seyrek olarak da korteks alanında görüldü (Şekil 34). Kimaz pozitif mast hücre dağılımı incelendiğinde ovaryum dokusunda östrus, metöstrus ve diöstrus fazlarında kontrol ve deney grupları arasında bir farklılığın olmadığı tespit edildi (Şekil 31-34). Proöstrus grubunda ise, diyabet grubu ovaryumlarında kontrol grubuna göre bir artış gösterdiği gözlemlendi (Şekil 35 ve 36).



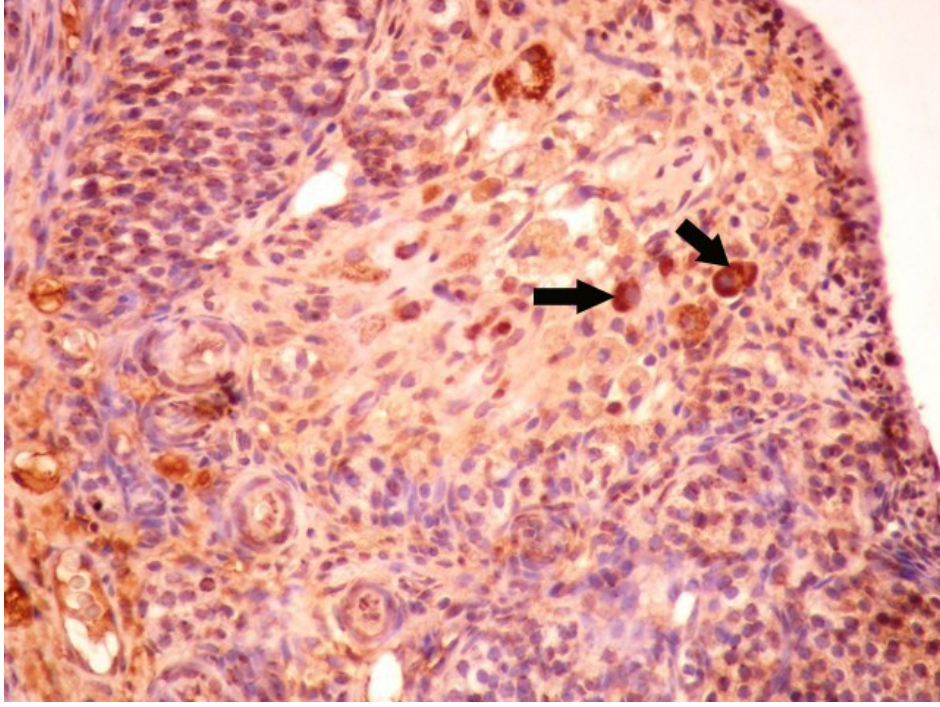
Şekil 31. Kontrol grubu östrus evresi sıçan ovaryumda kimaz immün boyaması, X400, Oklar: Kimaz pozitif mast hücreleri.



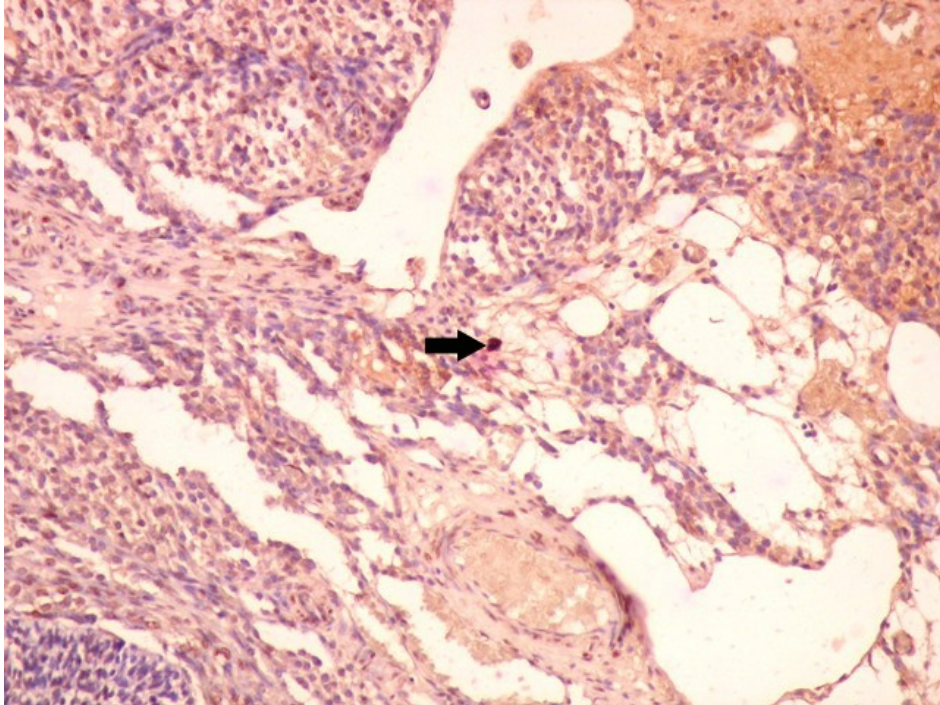
Şekil 32. Kontrol grubu metöstrus evresi sıçan ovaryumda kimaz immün boyaması, X400, Ok: Kimaz pozitif mast hücresi.



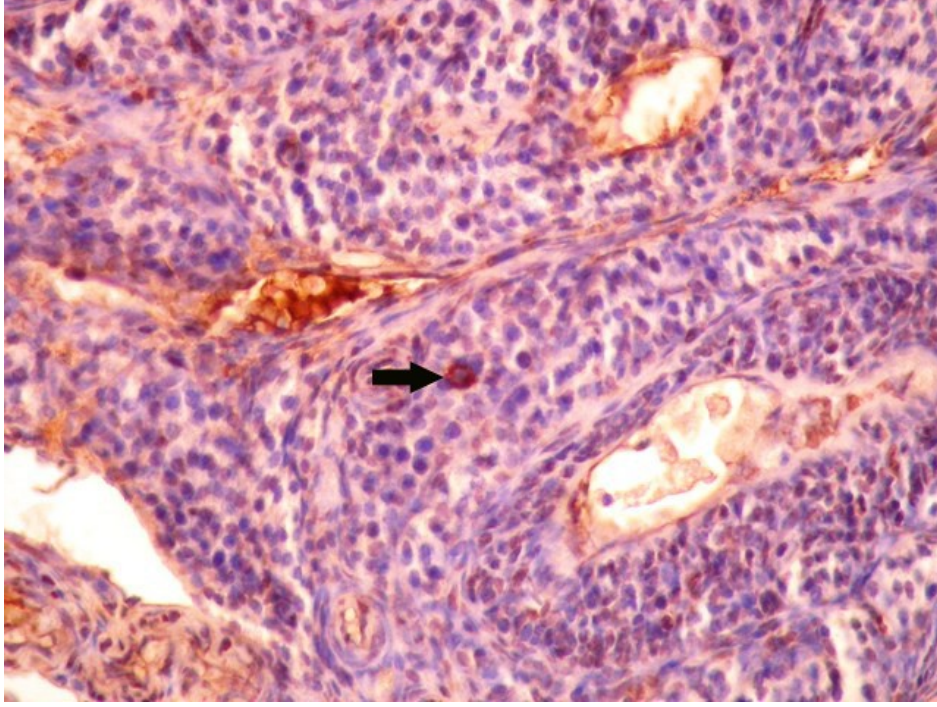
Şekil 33. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan ovaryum korteksinde kimaz immün boyaması, X200, Oklar: Kimaz pozitif mast hücreleri.



Şekil 34. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan ovaryum korteksinde kimaz immün boyaması, X400, Oklar: Kimaz pozitif mast hücreleri.

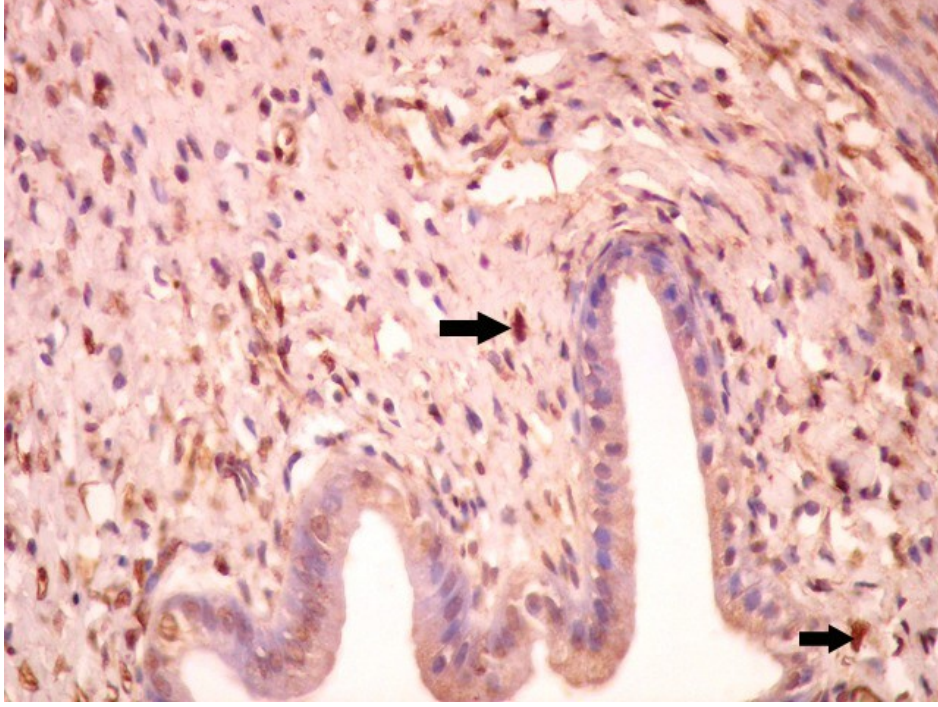


Şekil 35. Kontrol grubu proöstrus evresi sıçan ovaryumda kimaz immün boyaması, X200, Ok: Kimaz pozitif mast hücresi.

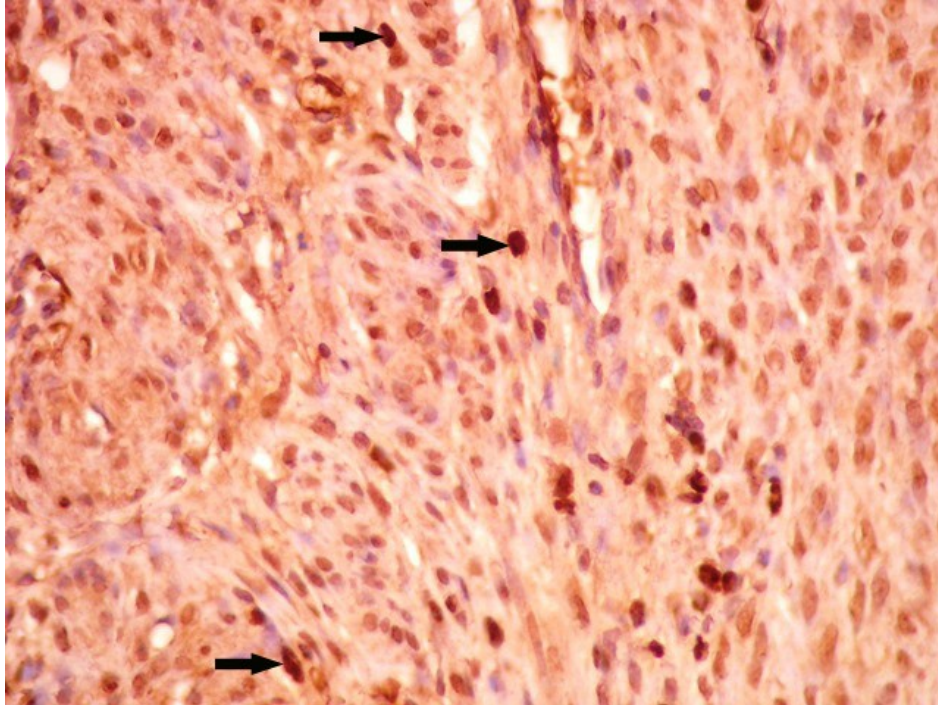


Şekil 36. Diyabetik grup proöstrus evresi sıçan ovaryumunda kimaz immün boyaması, X400, Ok: Kimaz pozitif mast hücresi.

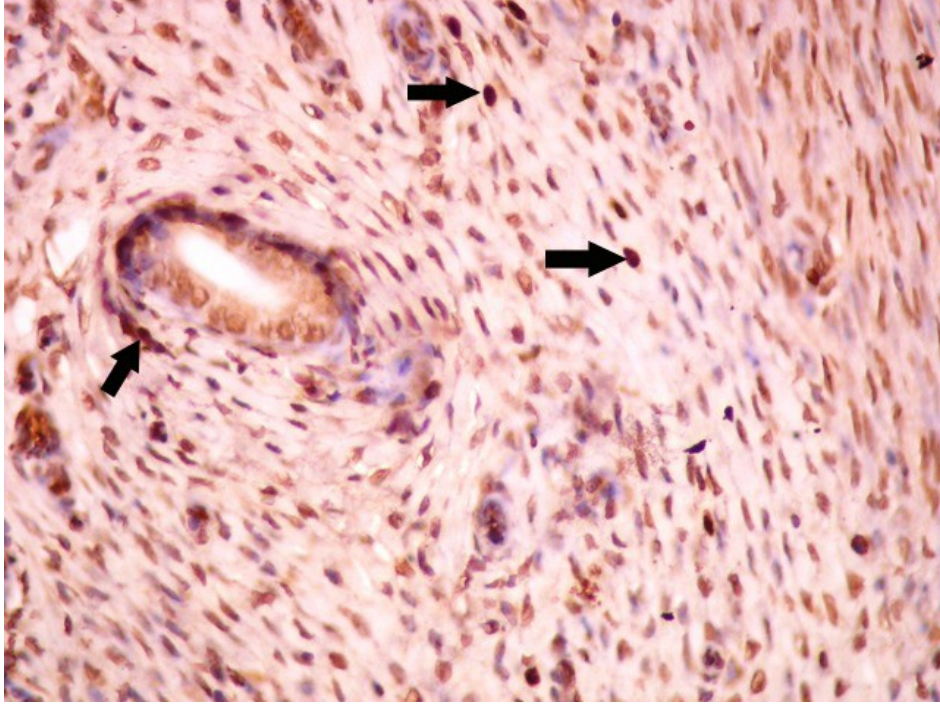
Uterus dokularında siklus fazları ele alındığında Proöstrus grubu hayvanlarda kimaz pozitif hücreler diyabetik ve kontrol grubunda kıyaslandığında semikantitatif dağılımda bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 38). Metöstrus grubu sıçanlarda uterus dokularında kimaz pozitif hücrelere bakıldığında diyabet grubu hayvanlarda kontrol grubuna göre bir artış gözlemlenmiştir (Şekil 39 ve 40). Östrus ve diostrus fazları uteruslarda diyabet ve kontrol grubu karşılaştırıldıklarında, diyabet grubunda kimaz pozitif hücrelerin kontrole göre dağılımlarının azaldığı gözlenmiştir (Şekil 41-43) .



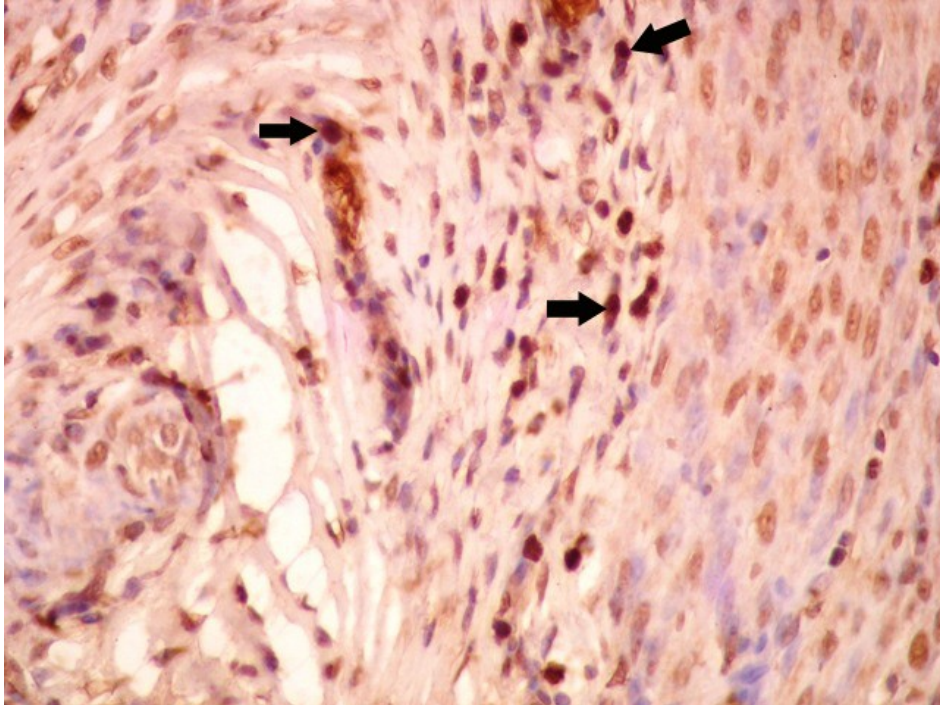
Şekil 37. Kontrol grubu proöstrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması, X400, Oklar: Kimaz pozitif mast hücreleri



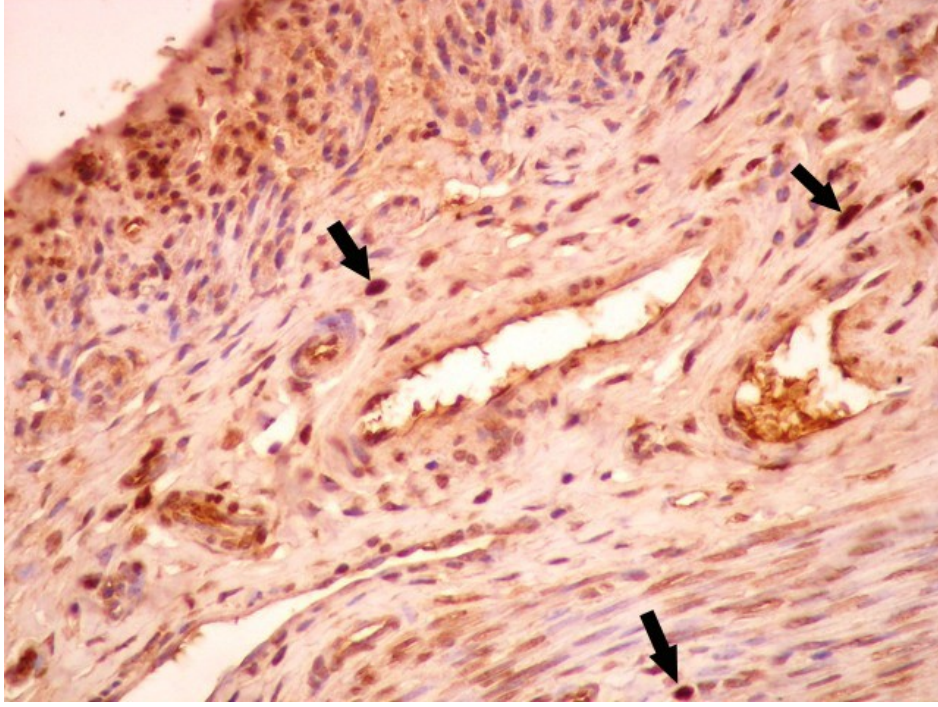
Şekil 38. Kontrol grubu metöstrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması, X400, Ok: Kimaz pozitif mast hücreleri.



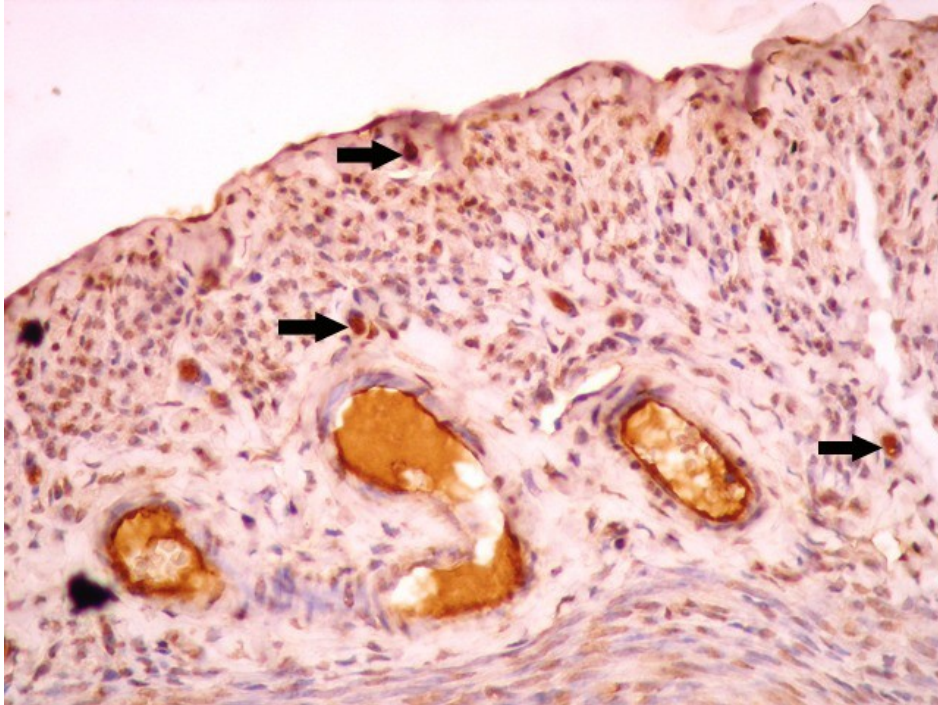
Şekil 39. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması, X400, Oklar: Kimaz pozitif mast hücreleri.



Şekil 40. Kontrol grubu östrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması, X400, Oklar: Kimaz pozitif mast hücreleri.



Şekil 41. Kontrol grubu diöstrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması, X400, Oklar: Kimaz pozitif mast hücreleri.



Şekil 42. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması, X400, Oklar: Kimaz pozitif mast hücreleri.

TARTIŞMA

DM, kan glikoz düzeyinde artışa, bireylerin kilo kayıplarına sebebiyet veren, karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasını etkileyen oldukça kompleks bir metabolik hastalıktır. STZ ile yapılan deneysel diyabet modeli çalışmalarında, deneklerde kilo kayıpları, kan glikoz düzeyi artış, endokrin pankreasta hasar ve buna bağlı olarak insülin hormon seviyesinde azalma meydana gelmektedir (42, 43). Sunulan bu çalışmada, deneysel diyabet oluşumunu takiben sıçanların endokrin pankreaslarındaki hasarlar, kan şekeri değerlerindeki yükselmeler ve kilo kayıplar önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Östrus siklusu sırasında dişi genital organlarda birçok fizyolojik ve histofizyolojik değişimlerin meydana geldiği bildirilmiştir. Bu değişimlerden en çok etkilenen organ vajinadır (7). Bu değişimler göz önünde bulundurularak, vajinal smear metodu ile tüm memeli canlılarda östrus siklusu belirlenebilmektedir (7). Sunulan çalışmada da, bu bilgilere paralel smear görüntüleri elde edilmiş ve sıçanların östrus fazları belirlenmiştir.

Mast hücreleri sitoplazmik granüllerinde histamin, heparin, triptaz, kimaz, eozinofil kemotaktik faktör-A (ECF-A), vb. biyoamin ve enzimler bulunduran bağ dokusunun immünolojik hücrelerindedir. Mast hücreleri organizmada özellikle dış ortam ile bağlantılı doku ve organ kompartmanlarında ve özellikle kan damarları yakınlarında lokalize olma eğilimi gösteren hücrelerdir (9). Mast hücreleri, granüllerinde bulunan sülfatlanmış glikozaminoglikanların (heparin) varlığı nedeniyle bazik (TB, metilen mavisi, tiyonin vb.) boyalar ile boyandığında metakromazi gösterirler (40).

Mast hücrelerinin fare, sıçan, inek, hamster gibi türlerin ovaryum ve uteruslarında östrüs siklüsüne bağlı değişim gösterdiği bildirilmiştir (9). Yapılan araştırmalarda, sıçan ovaryum ve uterus dokularında mast hücreleri dağılımının östrus siklusunun farklı evrelerinde

sayısal dağılımlarda farklılıklar olduğu görülmektedir (9,44). Aynı çalışmalarda ovaryum medulla ve korteksinde mast hücrelerin var olduğu, ama medullanın kortekse göre daha fazla mast hücresi içerdiği rapor edilmektedir (9). Yapılan bu çalışmada da, buna paralel olarak mast hücreleri ovaryumda tespit edilmiş ve medullada kortekse göre daha fazla mast hücresinin yerleştiği gözlenmiştir.

Mast hücrelerinin, östrus siklusunun farklı evrelerinde uterustaki dağılımının değiştiği farklı hayvan türlerinde çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Eren ve ark. fare uterusunda yaptıkları çalışmada, östrus ve diöstrus dönemi uteruslar kıyaslanmış, hem endometriyum hem de miyometriyumda östrus dönemindeki dağılımın diöstrus dönemindeki farelere göre fazla olduğu tespit edilmiştir (45). Aynı çalışmada, miyometriyumda endometriyuma göre daha fazla mast hücresi yerleştiği tesbit edilmiştir. Sıçan uterusu üzerinde yapılan çalışmada (9), endometriyumda en yüksek dağılımın gözlemlendiği evrenin östrus, miyometriyumda en fazla mast hücresinin bulunduğu evrenin metöstrus olduğu gösterilmiştir. Sunulan bu çalışmada, endometriyum ve miyometriyumda TB ile boyanmış en yüksek sayıda mast hücresinin bulunduğu evrenin metöstrus olduğu tespit edilmiştir.

Deneysel diyabet çalışmalarında, diyabete bağlı olarak farklı doku ve organlarda yerleşik olan mast hücre dağılımının değiştiği ve degranülasyonun olduğu bildirilmiştir. Kalp, karaciğer ve mesane gibi farklı organ ve organ katmanlarında diyabete bağlı olarak mast hücresi dağılımı değiştiği gösterilmiştir. STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlar üzerinde Çetin ve ark. tarafından yapılan çalışmada, diyabetik sıçanların kalp dokularında kontrol grubuna göre mast hücrelerinde bir artışın olduğu tespit edilmiştir (46). Vardı ve ark. sıçanlar üzerine yaptığı çalışmada, deneysel diyabetin karaciğer dokularında mast hücresi sayısını azalttığı rapor edilmiştir (47). Deneysel diyabet oluşturulan sıçanların mesanelerinde yapılan incelemede, kontrol grubu hayvanların mesanelerinde intraepitelyal mast hücrelerine rastlanmaz iken, diyabet oluşturulan gruplarda diyabete bağlı intraepitelyal mast hücrelerine rastlanmıştır (48).

Sunulan bu araştırmada, ovaryum dokusunda proöstrüs, östrüs ve diöstrüs grubu diyabetik sıçanlarda, kontrole göre mast hücre sayılarının anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). Metöstrüs evresinde mast hücreleri diyabetik grupta artmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı gösterilmiştir. Karaca ve ark. yaptıkları çalışmada, ovaryumda östrüs fazında medulla en yüksek iken, ovaryum korteksinde ise metöstrüs evresi mast hücre dağılımının en yüksek evreler olduğu bildirilmiştir (9).

Aydın ve ark. (44) yaptıkları çalışmada, ovaryum dokusunda proöstrüs grubu sıçanlarda kortekste mast hücrelerine rastlanmadığı bildirilmişken, kortekste en yüksek mast hücre sayısının metöstrüs evresinde olduğu ileri sürülmüştür. Bununla birlikte, ovaryum medullasında en yüksek mast hücre sayısı östrüs fazında, en düşük değerin ise proöstrüs evresinde olduğu bildirilmiştir.

Sunulan bu çalışmada, kontrol grubu sıçanlarda, ovaryum dokusunda mast hücre sayısı mm²'de en yüksek metöstrüs, en düşük ise diöstrüs evresinde tespit edilmiştir. Bu bulgular metöstrüs fazındaki mast hücre sayısı açısından Karaca ve ark. (9) ve Aydın ve ark. (44)'in çalışmaları ile benzerken, en düşük sayıdaki mast hücre sayısı açısından ise adı geçen çalışmalarla farklılıklar göstermektedir. Jones ve ark. (49) ovaryum medullasında en yüksek sayıda mast hücre sayısının östrüs, en az ise proöstrüs evresinde olduğunu bildirmişlerdir. Krishna ve ark. (50) yaptıkları çalışmada, hamster ovaryum medullasında en az mast hücrelerinin benzer olarak proöstrüs evresinde olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte Jones ve ark. ovaryum korteksinde mast hücrelerine rastlamadıklarını iddia etmişlerdir (49). Bu sonuçlarla, yapılan bu çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığında korteks mast hücrelerin az da olsa varlığının tespit bakımında farklılıklar olduğu görülmektedir (Şekil 8,20,22,32-34,36).

Shinohara ve ark. yaptıkları çalışmada, ovarian bursada östrüs siklusunun 4. gününde mast hücre sayısı 1, 2, ve 3. östrüs günlerine göre önemli derecede azalmaların olduğu tespit edilmiştir (51). Gaytan ve ark. yaptıkları çalışmada, sıklüsa bağlı olarak ovaryum medulla ve korteksinde önemli değişimler olmasına rağmen, ovarian bursa da ise önemli bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir (52).

Uterusta mast hücrelerinin östrüs fazına bağlı dağılım üzerine yapılan çalışmalarda, endometriyum ve miyometriyum katmanlarında bu hücrelerin faz değişimine bağlı olarak değişim gösterdiği gösterilmiştir (9,44,53). Sunulan bu çalışmada, kontrol grubu sıçanlarda endometriyumda en fazla sayıda mast hücreleri metöstrüsde; en az ise proöstrüs evresinde olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, diyabetik sıçanların endometriyumunda mast hücreleri tüm östrüs siklüs evrelerinde kontrole göre anlamlı olarak yükseldiği tespit edilirken (P<0.05); diyabetik sıçanların endometriyum dokusunda en yüksek sayıda mast hücrelerine metöstrüsde, en az ise östrüs evresinde olduğu tespit edilmiştir. Endometriyum katmanında, hem kontrol hem de diyabetik sıçanlarda bez epitelinde ve lumen epitelde mast hücrelerine rastlanılmadı.

Sunulan bu çalışmada, uterus miyometriyumunda mast hücre dağılımı incelendiğinde en yüksek sayıda hücre kontrol grubunda metöstrüs, en az proöstrüs; diyabetik sıçanlarda ise aksine en yüksek proöstrüs en azda östrüs evresinde tespit edilmiştir. Miyometriyumda mast hücrelerinin yoğun olarak kas katmanları arasında yer alan stratum vaskulare katmanında damarlan önceki araştırmalarla karşılaştırıldıklarında metöstrüs evresinde en fazla olması yönü yakınlarına yerleşik oldukları gözlemlenirken, az sayıda da kas lifleri arası bağdokusu içine lokalize oldukları tespit edilmiştir. Miyometriyum mast hücreleri yapıda Karaca ve ark.'nın çalışması ile paralellik göstermesine rağmen, Aydın ve ark. çalışması ile farklılık göstermektedir (9, 44).

Yapılan literatür taramalarında sıçanların dişi genital organlarında mast hücrelerinin immünohistokimyasal olarak incelendiği (triptaz ve kimaz) bir çalışmaya rastlanılmadı. Bu nedenle, triptaz ve kimaz pozitif mast hücrelerindeki dağılım az sayıda rastlanılan farklı doku ve organ sonuçları ile tartışılmıştır.

Kedilerde yapılan bir çalışmada, triptaz ve kimaz pozitif mast hücreleri deri, dil, kalp, karaciğer, dalak, böbrek ve gastrointestinal kanal organlarında değişik oranlarda bulunduğu rapor edilmiştir (54). İnsanlarda, mast hücrelerinin immünohistokimyasal metotlarla içerdikleri proteazların varlığına göre yalnızca triptaz içeren mast hücreleri (MC_T), yalnızca kimaz içeren mast hücreleri (MC_C) ve hem triptaz hem de kimaz içeren mast hücreler (MC_{TC}) olarak sınıflandırılmıştır (55,56).

Sunulan çalışmada yapılan immünohistokimyasal boyamada, triptaz pozitif mast hücrelerinin yapılan semikantitatif değerlendirilmesinde, kontrol ve diyabetik sıçan ovaryumlarında en yoğun mast hücrelerine metöstrüs evresinde rastlanılmıştır (Tablo 3). Uterus incelendiğinde ise, kontrol ve diyabetik sıçanlarda, immün boyama sonucunda proöstrüs fazında triptaz pozitif mast hücrelerine rastlanılmazken, kontrol gruplarına benzer olarak en yoğun metöstrüs fazında olduğu tespit edilmiştir.

Triptaz proteazı, gastrointestinal ve bronşial mukoza gibi alanlarda yerleşik olan atipik mast hücrelerinde (mukozal mast hücreleri-MMC) lokalize oldukları tespit edilmiştir (57). Bunun yanında triptazın, insan akciğer mast hücrelerinde de varlığı yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur (58,59). Sunulan bu araştırmada, triptaz pozitif mast hücrelerin sıçan ovaryum ve uteruslarında varlığı tespit edilerek, östrüs siklusuna göre de değişim gösterdiği ilk kez ortaya konmuştur.

Yapılan araştırmalarda kimaz, sıçan deri (60), kas (61), akciğer parenşim (61) ve serozal kavite (61,62), karaciğer (63) mast hücrelerinde varlığı tespit edilmiştir (64).

Mitani ve ark., kimaz pozitif mast hücrelerine normal gebelik miyometriyumunda ve plasenta dokularında değişik oranlarda rastladıklarını bildirmişlerdir (65). Bu hücrelerin preeklampsi durumunda miyometriyumunda artarken, plasentada ise anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir.

Sıçanlarda yapılan bir araştırmada, endometriyumda RMCP-II'nin bulmadığı, oysa miyometriyumda az da olsa bu enzimi içeren mast hücrelerine rastlandığı bildirilmiştir. Buna karşın uterus dokusunda RMCP-I içeren mast hücrelerinin bulunduğu bildirilmiştir (66).

SONUÇLAR

Diyabetik sıçanlarda dişi genital sistem organlarında uterus ve ovaryum dokularında, östrüs siklüsüne bağlı olarak mast hücrelerinin histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak dağılımları belirlendi. Buna göre;

1. Diyabetik sıçanlarda, tüm östrüs siklüs fazı gruplarda deney başlangıcına göre canlı vücut ağırlıkları, deney sonunda anlamlı olarak azalmanın olduğu belirlendi.
2. TB boyamasında, diyabetik sıçanların ovaryumlarında proöstrüs, östrüs ve diöstrüs gruplarında kontrole göre mast hücrelerinde sayısında anlamlı bir artışın olduğu tespit edildi.
3. TB boyamasında, diyabetik sıçanların endometriyumunda mast hücre sayısı tüm östrüs siklüsünde kontrole göre artışın olduğu tespit edildi.
4. TB boyamasına, diyabetik sıçanlarda miyometriyumda proöstrüs evresinde kontrole göre artış; metöstrüs evresinde ise kontrole göre anlamlı bir azalmanın olduğu tespit edildi.
5. Triptaz immun boyamasında, ovaryum ve uterusda triptaz pozitif mast hücresi en yoğun olarak hem kontrol, hem de diyabetik sıçanlarda metöstrüs evresinde tespit edildi.
6. Kimaz immun boyamasında, kontrol ve diyabetik gruplarda en yoğun kimaz pozitif mast hücre uterusda metöstrüs evresinde tespit edildi.

ÖZET

Bu çalışmada, diyabetik sıçanların ovaryum ve uteruslarında mast hücrelerinin dağılımının histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlandı. Çalışmada, 64 dişi Wistar Albino sıçan kullanıldı. Denekler, rastgele 4'ü kontrol, 4'ü ise deney grubu olmak üzere toplam 8 gruba ayrıldı. Deney grubunda diyabet oluşturmak için deneklere 60 mg/kg oranında streptozotosin uygulanı. Deney sonunda vajinal smear bulgularına göre menstural siklus evreleri saptanarak her evre için deney ve kontrol gruplarında 8 sıçan işleme alındı. Toluidine mavisi ile yapılan boyamada, deney grubu ovaryumlarında mast hücrelerin en yoğun östrüs, en az ise diöstrüs evresinde tespit edildi. Bununla birlikte diyabetik endometriyumda ise mast hücresi en fazla metöstrüs, en az ise proöstrüs evresinde gözlemlendi. Triptaz ve kimaz immun boyamasında, kontrol ve diyabetik sıçanlarda, triptaz ve kimaz pozitif mast hücresi en yoğun metöstrüs evresinde tespit edildi.

Sonuç olarak, östrüs siklusüne bağlı olarak ovaryum ve uterusda mast hücre dağılımını değiştirdi ve bu değişimde diyabetin önemli etkisi olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: östrüs, mast hücreleri, diabetes mellitus, over, uterus

STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC THAT HISTOCHEMICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL EXAMINATION OF MAST CELLS DISTRIBUTION IN OVARY AND UTERUS DURING DIFFERENT STAGES OF ESTROUS CYCLE IN RATS

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate in the ovary and uterus distribution of mast cells at histochemical and immunohistochemical in the diabetic rats. In the present study 64 adult female wistar albino rats were used. Subjects have randomly been separated into 8 different groups, four of which constituted the control group while the remaining four were the actual experimental group. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of 60 mg/kg streptozotocin; the control group received physiological saline (5 mL kg⁻¹). At the end of this period, both groups were processed for every cycle after detecting their menstrual cycles according to the vaginal smear findings. Higher MC numbers were observed by toluidine blue staining in ovary of experimental groups, and the least dioestrous phase of the oestrous cycle compared with other diabetic groups. However, the highest mast cells were observed in metoestrous phase, and the least cells pre-oestrous phase of the oestrous cycle. Tryptase and chymase immune staining, control and diabetic rats, tryptase and chymase-positive mast cells were the most intense phase of met-oestrous.

As a result, depending on the estrous cycle, it has changed and that the change in the distribution of mast cells in the ovary and the uterus was found to be a significant impact of diabetes.

Keywords: eustrus, mast cells, diabetes mellitus, ovary, uterus

KAYNAKLAR

1. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/> (01.05.13 tarihinde erişildi.)
2. <http://www.diyabetidurduralim.org/sayfa.aspx?m=1> (20.04.13 tarihinde erişildi)
3. Öntürk H, Özbek H. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şekeri seviyesinin ölçülmesi. Gen Tıp Derg 2007;17(4):231-6.
4. <http://www.idf.org/complications-diabetes> (01.05.13 tarihinde erişildi)
5. Küçük F, Gürer F, Bayçu C, Hassa H. Streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetin blastosist, embriyonik kök hücreleri gelişimi ve in vitro spontan histogenezise etkileri. AÜBTD 2009;10(1):169-78.
6. Yalçın A. Sıçanlarda Östrus Siklusunda Endometriyum Dokusunun Hücresel ve Humoral Savunma Sistemi Hücreleri Üzerinde Histokimyasal ve Histometrik Araştırmalar (tez). Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü;1999.
7. Sapmaz Metin M. Normal ve Süperovule Farelerde İyonizan Radyasyonun Ovaryum Morfolojisi, Östrus Siklusu ve Ovulasyon Oranı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.
8. Koçak Harem M. Mast hücre proteazları ve biyolojik önemi. Sag Bil Derg (J Health Sci) 2005;14(1):61-7.
9. Karaca T, Yörük M, Uslu S. Distribution and quantitative patterns of mast cell in ovary an uterus of rat. Arc Med Vet 2007;39(2):135-9.
10. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of diabetes Mellitus. Diabetes Care 2010;33(Suppl 1):S62-9.
11. Özbey N, Orhan Y. Diabetus mellitus. İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evi, 2003:4.

12. <http://www.diyabetidurduralim.org/page.aspx?s=1> (01.05.13 tarihinde erişildi).
13. Kelly WD, Lillehei RC, Merkel FK, Idezuki Y, Goetz FC. Allotransplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic nephropathy. *Surgery*, 1967;61: pp. 827-37 In: Shyr Y M. Pancreas transplantation. *J Chin Med Assoc* 2009;72(1):4-9.
14. Dinçkan A, Koçak H, H Altunbaş. Pankreas ve adacık hücre transplantasyonu. (Özet) *Türkiye Klinikleri J Gen Surg-Special Topics* 2013;6(1):112-7.
15. <http://www.diyabet.gov.tr/index.php?lang=tr&page=45> (20.05.13 tarihinde erişildi.)
16. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter temel histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çeviri Editörleri) Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2009. s. 399-415.
17. Tanyolaç A. Özel histoloji. Ankara: Ankara Üniversitesi, 1993: 96-151.
18. Jungueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel histoloji. Aytekin Y (Çeviri Editörü). İstanbul: Barış Kitap Evi;1998. s.423-38.
19. Kierszenbaum AL. Histoloji ve hücre biyolojisi. Demir R (Çeviri Editörü). Ankara: Palme Yayıncılık;2006. s. 565-83.
20. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel histoloji. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi, 2007:102-85.
21. 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.
22. Alan E, Liman N. Postpartum dönemde sıçan uterusundaki yapısal değişiklikler. *Sag Bil Derg (J Health Sci)* 2011;20(2):83-91.
23. Bozoğlu H. Deneysel Hipertiroidi Oluşturulmuş Sıçanlarda Östrus Siklusunun Değişik Evrelerinde Dişi Genital Organlarda (Ovaryum ve Uterus) Östrojen ve Progesteron Reseptör Dağılımının İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2013.
24. Rose MP, Gaines Das RE, Balen AH. Definition and measurement of follicle stimulating hormone. *Endocr Rev* 2000; 21: 5 – 22.
25. Kohn DF, Clifford CB. Biology and diseases of rats. In: Anderson LC, Leow FM, Quimby FW, editors. *Laboratory Animal Medicine*, San Diego: Academic Press; 2002; p. 121–165.

26. Mülazımoğlu SB, İde T, Aslan S. Ratlarda Üreme. Yücel O (Editör). Küçük deney hayvanlarından rat. Ankara: J Clin Anal Med:2012; 39-44
27. Rao RP, Kaliwal BB. Monocrotophos induced dysfunction on estrous cycle and follicular development in mice. Ind Health 2002; 40:237-44.
28. Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JR. A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. Biotech Histochem 2005; 80 (2):79-87.
29. Champlin AK, Dorr DL. Determining the stage of the estrous cycle in the mouse by then appearance of the vagina. Biol Reprod 1973; 8:491-4.
30. Spornitz UM, Socin CD, Dravid AA. Estrous stage determination in rats by means of scanning electron microscopic images of uterine surface epithelium. Anat Rec 1999; 254:116-26.
31. Drickamer LC. Determination of oestrous condition in female mice is dependent upon time of day. J Reprod Fertil 1987; 79:659-62.
32. Petroianu A, Vasconcellos LS, Alberti LR, Nunes MB. The influence of venous drainage on autologous ovarian transplantation. J Surg Res 2005; 124:175-9
33. Nelson JF, Felicio LS, Randall PK, Sims C, Finch CH. A longitudinal study of estrous cyclicity in aging C57BL/6J mice: I. Cycle frequency, length and vaginal cytology. Biol Reprod 1982; 27:327-39.
34. Eroschenko VP. DiFiore Histoloji Atlası. Demir R. (Çeviri Editörü) Ankara: Palme Yayıncılık; 2011. s. 284
35. Karaca T. Tavuk ve Bıldırcın Sindirim Kanalında Mast Hücrelerinin Dağılımı ve Heterojenitesi Üzerine Morfolojik ve Histometrik Araştırmalar (tez). Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2003.
36. Ercan F. Ratlarla yapılan deneysel çalışmalarda mast hücrelerinin enflamasyondaki rolü. Yücel O (Editör). Küçük deney hayvanlarından rat. Ankara: J Clin Anal Med:2012;74-19.
37. Özdemir Ö, Savaşan S. Gözardı edilmiş bir hücrenin dönüşü: mast hücresi ve hematoloji-onkoloji/immunoloji alanlarında tanımlanan yeni rolleri. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2005;48:85-92.
38. Gökalp Özkorkmaz E. Mast hücresi. AKÜ Fen Bil 2008:02;77-85.
39. Karaca T, Yörük M. Mast hücre heterojenitesi. YYÜ Vet Fak Derg 2005: 16(2);57-60.
40. Özcan O, Irmak MK, Dalcık H. Metakromazi. T Klin J Med Sci 1995:15;316-8.

41. Horny HP, Greschniok A, Jordan JH, Menke DM, Valent P. Chymase expressing bone marrow mast cells in mastocytosis and myelodysplastic syndromes: An immunohistochemical and morphometric study. *J Clin Pathol* 2003;56:103-6.
42. Vardı N, Uçar M, Iraz M, Öztürk. Deneysel diyabetin sıçan endokrin pankreasında oluşturduğu morfolojik değişiklikler. *T Klin J Med Sci* 2003; 23:27-32.
43. 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.
44. Aydın Y, Tunçel N, Gürer F, Tunçel M, Koşar M, Oflaz G. Ovarian, uterine and brain mast cells in female rats: Cyclic changes and contribution to tissue histamine. *Comp Biochem Physiol Part A* 1998;120:255-62.
45. Eren Ü, Sandıkçı M, Sur E, Boydak M. Seksüel siklusun farklı dönemlerinde fare uterusunda bulunan mast hücreleri üzerinde histolojik ve histokimyasal çalışmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1997;44:117-26.
46. Çetin A, Vardı N, Orman D. Deneysel diyabetin sıçan kalp dokusunda meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine aminoguanidinin iyileştirici etkileri. *Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi* 2013;4(1):1-11.
47. Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Gül M, Uçar M, Çetin A ve ark. Deneysel diyabetin sıçan karaciğerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007; 27: 641-8.
48. Gökalp Özkormaz E. Streptozotosin Diyabetik ve Benfluoreks - C Vitamini Tedavili Sıçanların Mesane Dokusunda Histolojik İncelemeler (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2008.
49. Jones RE, Duvall D,Guillette LJ. Rat ovarian mast cells; distribution and cyclic changes. *Anat Rec* 1980;197:489-93.
50. Krishna A, Beesley K, Terranova PF. Histamine, mast cell and ovarian function. *J Endocrinol* 1989;120:363-71.
51. Shinohara H, Nakatani T, Morisawa S, Matsuda T, Naruse Y. Mast cells in the ovarian bursa of the golden hamster. *Biol Reprod* 1987;36:445-50.
52. Gaytan F, Aceitero J, Bellido C, Sanchez-Criado E, Aguilar E. Estrous cycle- related changes in mast cell numbers in several ovarian compartments in the rat. *Biol Reprod* 1991;45:27-33.

53. Brandon JM, Evans JE. Observations on uterine mast cells during early pregnancy in the vole *Microtus agrestis*. *Anat Rec* 1984;208:515-20.
54. Noviana D, Kono F, Nagakui Y, Shimizu H, Mamba K, Makimura S et al. Distribution and enzyme histochemical characterisation of mast cells in cats. *Histochem J* 2001;33:597-603.
55. Irani AA, Schechter NM, Craig SS, De Blois G, Schwartz LB. Two types of human mast cells have distinct neural protease compositions. *Proc Natl Acad Sci* 1986;83:4464-8.
56. Weidner N, Austen KF. Heterogeneity of mast cells at multiple body sites. Fluorescent determination of avidin binding and immunofluorescent determination of chymase, tryptase, and carboxypeptidase content. *Pathol Res Pract* 1993;189:156-62.
57. Woodbury RG, Gruzinski GM, Lagunoff D. Immunofluorescent localization of a serine protease in rat small intestine. *Proc Natl Acad Sci* 1978;75:2785-9.
58. Schwartz LB, Lewis RA, Austen KF. Tryptase from human pulmonary mast cells: Purification and characterization. *J Biol Chem* 1981;256:11939-43.
59. Schwartz LB, Lewis RA, Seldin D, Austen KF. Acid hydrolases and tryptase from secretory granules of dispersed human lung mast cells. *J Immunol* 1981;126:1290-4.
60. Seppa HEJ, Jarvinen M. Rat skin main neutral protease: purification and properties. *J Invest Derm* 1978;70:84-9.
61. Woodbury RG, Gruzinski GM, Lagunoff D. Immunofluorescent localization of a serine protease in rat small intestine. *Proc Natl Acad Sci* 1978;75:2785-9.
62. Yurt RW, Austen KF. Preparative purification of rat mast cell chymase. Characterization and interaction with granule components. *J Exp Med* 1977; 146: 1405-19.
63. Katunuma N, Kominami E, Kobayashi K, Banno Y, Suzuki K, Chichibu K et al. Studies on new intracellular proteases in various organs of rat. 1. Purification and comparison of their properties. *Eur J Biochem* 1975;52:37-50.
64. Schwartz LB, Austen KF. Structure and function of the chemical mediators of mast cells. *Prog Allergy* 1984; 34: 271-321.
65. Mitani R, Maeda K, Fukui R, Endo S, Saijo Y, Shinohara K et al. Production of human mast cell chymase in human myometrium and placenta in cases of normal pregnancy and preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;101:155-60.

66. Salamonsen LA, Jeziorska M, Newlands GFJ, Dey SK, Woolley DE. Evidence against a significant role for stem cells in blastocyst implantation in the rat and mouse. *Reprod Fertil Dev* 1996;8:1157-64.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Kontrol gruplarına ait deney başı ve deney sonu kan şeker düzeyleri.....	21
Şekil 2. Diyabetik gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu kan şeker düzeyleri.....	22
Şekil 3. Kontrol gruplarına ait deney başlangıcı ve deney sonu canlı ağırlık değerleri	23
Şekil 4. Diyabetik gruplara ait deney başlangıcı ve deney sonu canlı ağırlık değerleri	23
Şekil 5. Kontrol ve diyabet grubu sıçanlara ait smear görüntüleri.....	24
Şekil 6. Kontrol ve diyabet grubu sıçanlara ait pankreasın histopatolojik görünümü	25
Şekil 7. Diyabetik grup östrus evresi sıçan, ovaryum medullasında mast hücreleri.....	26
Şekil 8. Kontrol grubu östrus evresi sıçan, ovaryum korteksinde mast hücresi	26
Şekil 9. TB boyamasında ovaryum dokusunda mast hücresi dağılımı	27
Şekil 10. Kontrol grubu metöstrus evresi sıçan, ovaryum medullası mast hücreleri.....	27
Şekil 11. Kontrol proöstrus sıçanlar ovaryum medullasında kan damarlarına yakın yerleşimli mast hücreleri	28
Şekil 12. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan ovaryum medullası mast hücreleri	28
Şekil 13. TB boyamasında uterus endometriyumunda mast hücresi dağılımı	29
Şekil 14. Kontrol grubu östrus evresi sıçan uterus endometriyumunda mast hücresi	30
Şekil 15. Kontrol grubu proöstrus evresi sıçan uterus endometriyumunda mast hücreleri	30
Şekil 16. TB boyamasında uterus miyometriyum dokusunda mast hücresi dağılımı	31
Şekil 17. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan uterus miyometriyum katmanında mast hücreleri.....	32

Şekil 18. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan uterus miyometriyum katmanında mast hücreleri.....	32
Şekil 19. Kontrol grubu proöstrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması	34
Şekil 20. Diyabetik grup proöstrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması	34
Şekil 21. Kontrol grubu metöstrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması	35
Şekil 22. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması	35
Şekil 23. Kontrol grubu östrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması	36
Şekil 24. Kontrol grubu östrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması	36
Şekil 25. Diyabet grubu östrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması	37
Şekil 26. Kontrol grubu diöstrus evresi sıçan ovaryumunda triptaz immün boyaması	37
Şekil 27. Diyabetik grup östrus evresi sıçan uterusunda triptaz immün boyaması.....	38
Şekil 28. Kontrol grubu diöstrus evresi sıçan uterusunda triptaz immün boyaması.....	39
Şekil 29. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan uterusunda triptaz pozitif mast hücresi.....	39
Şekil 30. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan uterusunda triptaz immün boyaması.....	40
Şekil 31. Kontrol grubu östrus evresi sıçan ovaryumunda kimaz immün boyaması	41
Şekil 32. Kontrol grubu metöstrus evresi sıçan ovaryumunda kimaz immün boyaması.....	42
Şekil 33. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan ovaryumunun korteksinde kimaz immün boyaması.....	42
Şekil 34. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan ovaryumunun korteksinde kimaz immün boyaması.....	43
Şekil 35. Kontrol grubu proöstrus evresi sıçan ovaryumunda kimaz immün boyaması.....	43
Şekil 36. Diyabetik grup proöstrus evresi sıçan ovaryumunda kimaz immün boyaması	44
Şekil 37. Kontrol grubu proöstrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması	45
Şekil 38. Kontrol grubu metöstrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması	45
Şekil 39. Diyabetik grup metöstrus evresi sıçan, uterusunda kimaz immün boyaması	46
Şekil 40. Kontrol grubu östrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması	46
Şekil 41. Kontrol grubu diöstrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması	47
Şekil 42. Diyabetik grup diöstrus evresi sıçan uterusunda kimaz immün boyaması	47

Tablolar

Tablo 1. Vajinal smeardeki hücre morfolojisi ile östrus siklus safhalarının sınıflandırılması 11

Tablo 2. Fare, sıçan ve insanda mast hücresi tipleri ve granül içerikler.....14

Tablo 3. Ovaryum ve uterus dokularında farklı siklus evrelerinde triptaz pozitif mast hücre semikantitatif dağılımı.....	33
Tablo 4. Ovaryum ve uterus dokularında farklı siklus evrelerinde kimaz pozitif mast hücre semikantitatif dağılımı.....	40

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında İstanbul'da doğdu. Ortaöğretimini İstanbul İhsan Mermerci Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2006 İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimime başladı. 2009 yılında aynı fakültede Pedagojik Formasyon eğitiminde Biyoloji lisans eğitiminin yanında almaya başladı. 2011 yılında Biyolog ve Biyoloji Öğretmeni ünvanlarını alarak mezun oldu ve aynı yıl Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladı. 2012 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi lisans eğitimine başladı. Şuan eğitimine Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrencisi ve İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi lisans öğrencisi olarak devam etmekte.

EKLER

T.C.


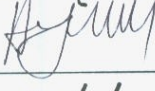



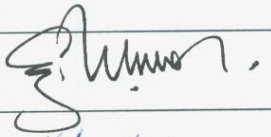
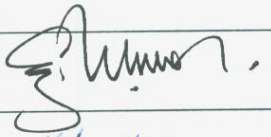
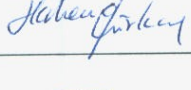
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 04
KARAR NO: 2012.04.04

Karar Tarihi: 30.05.2012

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Turan KARACA'nun yaptığı Yüksek Lisans Öğr. Bio. Ali Eyüp HAYIROĞLU'nun tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2012/45 "Streptozotosin ile Deneysel Diabet Oluşturulan Sıçanlarda Östrus Siklusunun Değişik Evrelerinde Ovaryum ve Uterus Dokularında Mast Hücrelerinin Dağılımının Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Yrd.Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input 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 Sivi 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 checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
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.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 checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	