



**T.C.**  
**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**SALİHA BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**  
**HISTOLOJİ-EMBRYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETLİ SIÇAN OVARYUMLARINDA**  
**GALEKT N-1 VE GALEKT N-3'ÜN İMMÜNLOKALİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**Berna ÖZDENİZ**

**2014**

**SİYER**



**T.C.**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETLİ SIÇAN OVARYUMLARINDA  
GALEKTİN-1 VE GALEKTİN-3'ÜN İMMÜNLOKALİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Berna ÖZDENİZ**

**Danışman Öğretim Üyesi**

**Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN**

**2014**

**SİVAS**

Bu alı ma Cumhuriyet Üniversitesi Fen/Sa lık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmı ve jürimiz tarafından Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmi tir.

Ba kan Prof.Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN

ye Prof.Dr. Emel KOPTAGEL

ye Doç.Dr. Ercan ÖZDEM R

### ONAY

Bu tez çalı ması, 26.06.2014 tarihinde ve 18/2 Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmi tir.

---

Prof.Dr. Ali EL KSÖZ

SA LİK B L MLER ENST TÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Fen/Sa lık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Hayatta olmasa da, her zaman benimle oldu unu bildi im;

**BABAM'A...**

## ÖZET

### D YABETL SIÇAN OVARYUMLARINDA GALECT N-1 VE GALECT N-3'ÜN İMMÜNOLOKAL ZASYONU

Berna ÖZDENO LU

Yüksek Lisans Tezi, Histoloji-Embriyoloji AD.

Danışman: Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN

2014

**Anahtar sözcükler:** Galektin-1, galektin-3, ovaryum, diyabet, sıçan

Diabetes mellitus (DM), pankreasın insülin salgılanmasının yetersizliği ve/veya dokuların insüline cevabının bozulmasıyla oluşan, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen metabolik bir hastalıktır. Bu çalışmada beta-galaktoz-bağlayıcı proteinlerinden galektin-1 ve galektin-3'ün diyabetli sıçan ovaryumlarında immunolokalizasyonları gösterilerek diyabetle olan ilişkisi incelendi.

Bu amaçla, vücut ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 8-10 haftalık *Wistar* cinsi 50 adet erkek dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlarda diyabet oluşturmak için streptozotosin (60 mg/kg) uygulandı. Streptozotosin uygulanan hayvanlara 30 gün sonrasında 200 mg/kg pentotal sodyum intraperitoneal yolla uygulanarak ötenazi sağlandı. Diyabetli ve diyabetli olmayan sıçanların ölüm sonrası alınan ovaryum dokularına immünohistokimyasal incelemeler için rutin takip protokolleri uygulandı. Kesitler Olympus marka mikroskopta değerlendirilip uygun alanlardan fotoğraflar alındı.

Galektin-1 ve galektin-3'ün diyabetli sıçanlarda yoğun olarak ovaryum germinal epitellerinde, damar endotellerinde kuvvetli ekspresyon edildiği görülmüştür. Galektin-1 yoğun olarak zona pellucidada; galektin-3'ün ise sitoplazmik alanlarda ekspresyon edildiği görülmüştür. Zona pellucida insan ve farede ZP1, ZP2 ve ZP3 olarak adlandırılan 3 protein kompleksini içermektedir ve bu proteinler karbonhidrat alanları tanıma özelliğine sahip proteinlerdir. Galektinlerin bu bölgelerde yoğun olarak ekspresyon edilmesi, galektinlerin karbonhidrat bağlayıcı proteinler olması ve gal-1'in karbonhidrat bağlama özelliğinin fazla olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca gal-3'ün büyüyen folikül hücrelerinin sitoplazmik alanlarında daha yoğun lokalize olması folikül büyümesinde etkili olabileceği konusunda fikir verebilir.

Sonuç olarak, bu çalı mada beta-galaktoz-ba layıcı proteinlerinden Gal-1 ve Gal-3'ün diyabetli sıçan ovaryumlarında kontrollerle kar ıla tırıldı ında daha yo un eksprese oldu u ve diyabetin Galektin-1 ve Galektin-3 ekspresyonunu artırdı ı söylenebilir. Semi-kantitatif de erlendirmelerde iki ekspresyon arası anlamlı fark bulundu. Bu çalı manın sonuçları, sıçan ovaryal dokusunda diyabetin de etkisi ile Gal-1 ve Gal-3 proteinlerinin farklı immünolokalizasyonları, bu dokudaki yaygın varlıklarını ve sıçan ovaryal fonksiyonunda önemli rollerinin oldu unu destekler nitelikte oldu unu göstermi tir.

**ABSTRACT****IMMUNOLOCALISATION of GALEKT N-1 and GALEKT N-3  
IN DIABETIC RAT OVARIES****Berna ÖZDENO LU****Master of Sciences Thesis, Department of Histology-Embryology****Supervisor: Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN****2014****Key words:** Galektin-1, galektin-3, ovary, diabetes, rat

Diabetes mellitus (DM), is a metabolic disease occurring via insulin secretion deficiency from the pancreas and/ or an insufficiency of tissue response to insulin. In the present study, immunolocalizations of beta-galactose-binding proteins Galektin-1 and Galektin-3 in diabetic rat ovarium were shown and their relationship with diabetes have been demonstrated.

In this study, 8-10 weeks old, 250-300 g weighing 50 mature female rats were used. In order to establish diabetes mellitus in those animals, 60 mg/kg-IV streptozotocin was injected to each animal. Animals were killed by 200 mg/kg IP sodium pentothal injection 30 days after streptozotocin injection. Routine tissue processing steps were done to rat ovarian tissues for immunohistochemical investigation. Five micrometer thick tissue sections were evaluated under an Olympus light microscope and photographs were taken from the convenient fields of views.

Strong expressions of Galektin-1 and Galektin-3 were observed in the ovarian germinal epithelium and vascular endothelial. While the strongest expression of Galektin-1 was seen in the zona pellucida, Galektin-3 expression was strongest in the cytoplasmic regions of cells. Zona pellucida has 3 protein complexes (ZP<sub>1</sub>, ZP<sub>2</sub>, ZP<sub>3</sub>) in rats and in humans and they have the capability of recognizing the carbohydrate fields in tissues. The strong expression of galektins in those regions could be the result of carbohydrate binding properties expression of Gal-3 in the cytoplasmic regions of growing follicles could suggest the idea that Gal-3 could have effects on follicle growth.



In conclusion, beta galactose-binding proteins Gal-1 and Gal-3 had stronger immunolocalization in diabetic rat ovarium when compared to the controls. Diabetes could increase the Gal-1 and Gal-3 expressions in the ovarial tissue. The difference between the diabetic group and the control group was found to be statistically significant in semiquantitative assessment. Findings of the present study indicated the increased immunolocalization of Galektins in the ovarium under the effects of diabetes and they could have crucial roles on rat ovarial function.

## TE EKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince deneyimlerini ve bilgi birikimlerini paylaşılarak, beni pek çok konuda aydınlatan, yardımcı olan danışman hocam, **Prof. Dr. Serpil ÜNVER SARAYDIN'a**,

Her zaman yakın ilgi ve yardımlarını eksik etmeyen hocam, **Prof. Dr. Emel KOPTAGEL'e**,  
ihtiyacım olan yardım ve desteği eksiksiz sunan, her zaman kapısını rahatlıkla çalabildim,  
**Ara . Gör. Zeynep Deniz AHNAN'a**,

Yardımlarını esirgemeyen hocalarım, **Prof. Dr. Hüseyin Eray BULUT, Prof. Dr. Osman KOPTAGEL, Prof. Dr. Celal KALO LU, Ara . Gör. Erkan GÜMÜŞ'e** ve **Teknisyen Seyfettin ENEL'e**,

birlikteyken her anı dolu dolu yaşadım, her biri ayrı parçam olan ve beni hiç yalnız bırakmayan **dostlarıma**,

ve her koşulda benimle olup sonsuz sabır gösteren, beni ben yapan ve yaşamama sebep olan **canım aileme..**

Teşekkür ederim.

**Berna ÖZDENOLU**

**SİVAS 2014**

## Ç İ NDEK İLER D İ Z İ N

<b>ÖZET</b>	vi
<b>ABSTRACT</b>	viii
<b>TE EK KÜR</b>	x
<b>S İMGELER ve KISALTMALAR D İ Z İ N</b>	xiii
<b>TABLolar ve EK LLER D İ Z İ N</b>	xv
<b>1. G İR</b>	1
<b>2. GENEL B İLG İLER</b>	4
2.1. Ovaryumlar	4
2.2. Ovaryum Anatomisi	4
2.3. Ovaryum Histolojisi	5
2.4. Ovaryum Geli İmi	5
2.4.1 Ovaryum Foliküllerinin Geli İmi	6
2.5. Ovariyal Döngü	8
2.6. Diyabet	8
2.6.1. Diyabetin Komplikasyonları	9
2.6.2. Deneysel Diyabet Nedir?	10
2.6.3. Streptozotosin (STZ) Aracılı ıyla Gerçekle tirilen Deneysel Diyabet Modeli	11
2.7. Galektin	12
2. 7. 1. Galektin-1	13
2. 7. 2. Galektin-3	14
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	16

<b>3. 1. Kullanılan Cihazlar</b>	16
<b>3. 2. Kimyasal Maddeler</b>	17
<b>3. 3. Doku Preparasyonu</b>	17
<b>3. 4. I ık Mikroskopi</b>	17
<b>3. 5. Semikantitatif Skorlama Yöntemi</b>	17
<b>3. 6. mmünhistokimya</b>	18
<b>4. BULGULAR</b>	20
<b>4.1 mmünhistokimya Bulguları</b>	20
<b>4. 1. 1 Kontrol Grubu 1- (Galektin-1 ) Bulguları</b>	20
<b>4. 1. 1 Kontrol Grubu 2- (Galektin-3 ) Bulguları</b>	25
<b>4. 1. 3 Deney Grubu 1- (Galektin-1) Bulguları</b>	30
<b>4. 1. 4 Deney Grubu 2- (Galektin-3) Bulguları</b>	35
<b>5. TARTI MA</b>	42
<b>6. SONUÇ ve ÖNER LER</b>	56
<b>7. KAYNAKLAR</b>	57
<b>8. EKLER- YEREL ET K KURUL KARARI</b>	71
<b>9. ÖZGEÇM</b>	72

**S MGE ve KISALTMALAR**

A	Antrum
CO	Cumulus Oophorus
CR	Corona Radiata
DM	Diabetes mellitus
E	Epitel
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
Gal-1	Galektin-1
Gal-3	Galektin-3
GH	Granüloza Hücreleri
GL	Granüloza Lutein Hücreleri
GM3	Gangliosit 3
K	Korteks
KD	Kan Damarı
LH	Lüteinizan Hormon
M	Medulla
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NO	Azot Monoksit
PFH	Primer Folikül Hücreleri

PO	Primer Oosit
SFH	Sekonder Folikül Hücreleri
SO	Sekonder Oosit
STZ	Streptozotosin
TA	Tunika Albuginea
TE	Teka Eksterna
T	Teka nterna
TL	Teka Lutein Hücreleri
ZP	Zona Pellucida
ZP1	Zona Pellucida 1
ZP2	Zona Pellucida 2
ZP3	Zona Pellucida 3

**TABLO VE EK LLER D Z N**

<b>Tablo 1</b>	Kontrol grubu semikantitatif skorlama yöntemi	40
<b>Tablo 2</b>	Deney grubu semikantitatif skorlama yöntemi	41

<b>ekil 1</b>	Ovaryumlar	4
<b>ekil 2</b>	Streptozotosin'in kimyasal yapısı	12
<b>ekil 3</b>	Kontrol grubu ovaryum genel görüntüsünde Gal-1 immünolokalizasyonu	21
<b>ekil 4</b>	Kontrol grubu ovaryum epitel tabakasında Gal-1 immünolokalizasyonu	21
<b>ekil 5</b>	Kontrol grubu primordiyal folikülde Gal-1 negatif immünolokalizasyonu.	22
<b>ekil 6</b>	Kontrol grubu primer folikülde Gal-1 immünolokalizasyonu	22
<b>ekil 7</b>	Kontrol grubu sekonder folikülde Gal-1 immünolokalizasyonu	23
<b>ekil 8</b>	Kontrol grubu tersiyer folikülde Gal-1 immünolokalizasyonu	23
<b>ekil 9</b>	Kontrol grubu corpus luteumda Gal-1 immünolokalizasyonu	24
<b>ekil 10</b>	Kontrol grubu medulla bölgesinde Gal-1 immünolokalizasyonu	24
<b>ekil 11</b>	Kontrol grubu ovaryum genel görüntüsünde Gal-3 immünolokalizasyonu	26

<b>ekil 12</b>	Kontrol grubu epitel tabakasında	Gal-3	26
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 13</b>	Kontrol grubu primordiyal folikülde	Gal-3 negatif	27
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 14</b>	Kontrol grubu primer folikülde	Gal-3	27
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 15</b>	Kontrol grubu sekonder folikülde	Gal-3	28
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 16</b>	Kontrol grubu tersiyer folikülde	Gal-3	28
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 17</b>	Kontrol grubu corpus luteumda	Gal-3	29
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 18</b>	Kontrol grubu medulla bölgesinde	Gal-3	29
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 19</b>	Deney grubu ovaryum genel görüntüsünde	Gal-1	31
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 20</b>	Deney grubunda epitel tabakasında	Gal-1 negatif	31
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 21</b>	Deney grubu primordiyal folikülde	Gal-1 negatif	32
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 22</b>	Deney grubu primer folikülde	Gal-1	32
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 23</b>	Deney grubu sekonder folikülde	Gal-1	33
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 24</b>	Deney grubu tersiyer folikülde	Gal-1	33
	immünolokalizasyonu		
<b>ekil 25</b>	Deney grubu corpus luteumda	Gal-1	34
	immünolokalizasyonu		



<b>ekil 26</b>	Deney grubu medulla bölgesinde immünolokalizasyonu	Gal-1	34
<b>ekil 27</b>	Deney grubu ovaryum genel görüntüsünde immünolokalizasyonu	Gal-3	36
<b>ekil 28</b>	Deney grubunda epitel tabakasında immünolokalizasyonu	Gal-3	36
<b>ekil 29</b>	Deney grubu primordiyal folikülde immünolokalizasyonu	Gal-3 negatif	37
<b>ekil 30</b>	Deney grubu primer folikülde immünolokalizasyonu	Gal-3	37
<b>ekil 31</b>	Deney grubu sekonder folikülde immünolokalizasyonu	Gal-3	38
<b>ekil 32</b>	Deney grubu tersiyer folikülde immünolokalizasyonu	Gal-3	38
<b>ekil 33</b>	Deney grubu corpus luteumda immünolokalizasyonu	Gal-3	39
<b>ekil 34</b>	Deney grubu medulla bölgesinde immünolokalizasyonu	Gal-3	39

## 1. G R

Di i üreme sisteminin di i e ey hücrelerini ve di i e ey hormonlarını üretmek gibi iki temel i levi vardır. Uterus ile vaginanın dönemsel faaliyetleri ile ovaryumlardan di i e ey hormonlarının üretimleri paralellik gösterir. nsanın geli imi, ovumun spermium tarafından tuba uterinanın ampulla bölgesinde döllenesi sonucu ba layıp birçok farklı süreci kapsamaktadır.

Memelilerde ovaryumlar bir çifttir. Tek katlı yassıdan kısa kübik epitele kadar de i kenlik gösteren bir epitel ve epitelin hemen altında bulunan tunika albuginea adı verilen bir ba dokusu tabakasıyla çevrilidir. Organ korteks ve medulla adı verilen ve kesin sınırlarla birbirinden ayıramayan iki tabakadan oluşur. Organın stromasında, primordial folliküller ve interstitial bezler bulunur. Organın medullasında ise hilustan ovaryuma giren, ba dokusu, interstisyel hücreler, sinirler, lenf ve kan damarları bulunur (1).

Karbonhidrat ba layan proteinlerin bir üyesi olan ve -galaktozidazlar için afinite gösteren galektinler ilk olarak 1994 yılında tanımlanmıştır. Galektinler arasında ilk bulunan protein olan galektin-1 (Gal-1), insanda 22q12 kromozomda lokalize LS2GALS1 geni tarafından kodlanır. Normal ve patolojik dokular tarafından farklı ekillerde ekspresyona edilen Gal-1'in intrasellüler ve ekstrasellüler aktiviteleri tanımlanmıştır. Galektin-1'in tümörlerde veya çevreleyen dokularda a ırı ekspresyonu tümörün immün sistemden kaçınıcı veya metastaza yatkınlı ını artırarak malign sürece katkıda bulunmaktadır. Gal-1, adezyon, motilite ve invazyonu içeren hücre göçü ile ili kili üç sürecin her birini de i tirir. Kanserle ili kili olarak stromada Gal-1'in rolü henüz tam olarak açıklı a kavu mamı olmakla birlikte tümör-stroma etkile iminde önemli rol oynadı ı dü ünülmektedir (2).

Galektin ailesi üyelerinin hücre ço almasını düzenleyerek, hücre döngüsünü kontrol ederek ve apoptozu inhibe ederek veya uyararak selüler 'homeostaz'a katkıda bulundu u bilinmektedir. Aynı zamanda galektinlerin tümör invazyon ve metastazında da rol aldı ı dü ünülmektedir. Bu proteinlerin hücre-hücre ve hücre-matriks etkile imine, hücre ço almasına ve anjiogeneze aracılık etti i bildirilmiştir. Lektin aktivitesi, ço u olguda

ekstraselüler olarak gözlenirken protein-protein etkileimleri intraselüler seviyeleri ile ilişkilidir. Galektinler, kalsiyuma gerek duyulmayan hücre aktivasyonunda, hücre büyümesinde, hücre-hücre ve hücre ekstraselüler matris etkilemesinde görev alan, karsinoembriyonik antijene ve laminine bağlanabilen, küçük moleküllü ağırlıklı bir protein ailesidir. Günümüze kadar 15 memeli galektini saptanmıştır.

Galektin-3, -galaktoside bağlanabilen hayvansal bir tür lektindir ve karbonhidrat tanıyan bölgeler içerir. Birbirleriyle ilişkili birçok seviyeleri vardır. Embriyogenez, büyüme, hücre adezyonu, çoğalması, farklılaşması, hücre-siklus progresyonu, apoptoz, mRNA bölünmesi ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi gibi biyolojik olaylarda rol alır. Aktive olmuş makrofajlar, eozinofiller, nötrofiller, mast hücreleri, gastrointestinal ve solunum sistem epitel, böbrekler ve bazı duyu nöronları gibi farklı hücre ve dokularda galektin-3 aktivitesi gözlenmektedir (3).

Diyabet dünya nüfusunun önemli bir kısmını etkileyen hiperglisemi ile karakterize kronik, metabolik bir hastalıktır. İnsülin eksikliği (tip 1) veya insüline karşı direnç gelişmesi (tip 2) temel bozukluktur. Tip 1 diyabet; çocukluk ve erişkin dönemde bağışıklık, etyolojisi kesin olarak bilinmeyen, genetik yatkınlık zemininde, enfeksiyonların da içerisinde yer aldığı çevresel faktörlerin etkisiyle pankreasın beta hücrelerinde zedelenme ile sonuçlanan otoimmün bir hastalıktır. Tüm diyabetlilerin yaklaşık olarak %10-15'ini oluşturur. Tip 2 diyabet ise; genellikle 40 yaşından sonra bağışıklık, esas nedeni tam olarak bilinmeyen, genetik yatkınlık zemininde sıklıkla obezite ile ilişkili, insüline direnç ya da insülin salgılamasında bozulma ile karakterize kronik bir hastalıktır ve tüm diyabetlilerin yaklaşık olarak %85-90'ını oluşturmaktadır (4).

Diyabet, birçok akut ve kronik komplikasyona, yüksek morbidite ve mortaliteye, hastaların yaşam süresi ve kalitesinde olumsuz etkilere sebep olan kronik bir hastalıktır. Diyabet hastalığının ve komplikasyonlarının patogenezi aydınlatmak ve yeni tedavi stratejileri keşfetmek amacıyla yapılan araştırmalarda, hayvanlarda deneysel diyabet modellerinin kullanılması araştırmacıya birçok avantaj sağlamaktadır. Kimyasal ajanların kullanımı sonucu veya diyet ile elde edilen diyabetik modeller, cerrahi uygulamalar ve bunların kombinasyonları veya genetik modifikasyonla elde edilen diyabet tabloları deneysel diyabet modelleri arasında sayılabilen metodlardan bazılarıdır. Beta hücrelerine spesifik toksik glukoz analogları olan alloxan ve streptozotosin (STZ), kimyasal yöntemle deneysel diyabet oluşturmak amacıyla sıklıkla kullanılan toksinlerdendir ve uzun zamandır hayvanlarda deneysel diyabet oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır (5).

Bu alı mada beta-galaktoz-ba layıcı proteinlerinden Gal-1 ve Gal-3'ün diyabetli sıçan ovaryumlarında immunolokalizasyonları gsterilerek diyabetle olan ili kisi incelenecektir. Galektin-1 ve Galektin-3 moleküllerinin diyabetli sıçan ovaryumlarındaki rollerinin belirlenmesi, büyüme, embriyogenez, hücre adezyonu ve ço alması süreçlerini açıklayabilir. Ayrıca, diyabetin üreme üzerine olumsuz etkileri izlenebilir ve hastalıkların daha iyi anlaşılması ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde de yardımcı olabilir. Bu alımanın amacı diyabetin sıçan ovaryumunda Galektin-1 ve Galektin-3 ekspresyonuna etkisinin olup olmadığını belirlemektir.

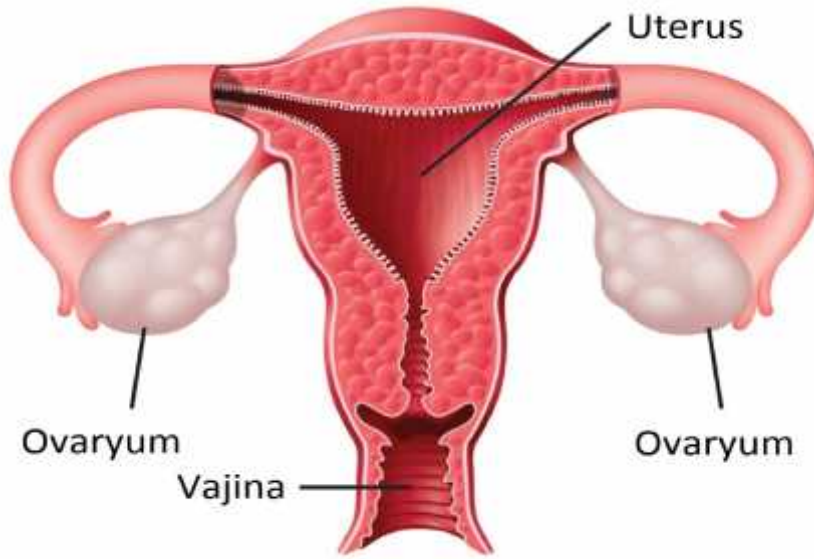
## 2. GENEL B LG LER

### 2. 1. Ovaryumlar

Ovaryumlar, pelvis bo lu unun yan duvarlarına dayalı, sa ve solda olmak üzere iki adettir. Biçim ve büyüklükleri bir bademe benzer ( ekil 1).

Ovaryumların birbiri ile ili kili iki i levi vardır. Di i cins hücrelerini üretir (oogenesis) ve steroid hormonları salgılar (steroidogenesis). Ovaryumlardan salgılanan steroidler, cins hücrelerinin geli ip olgunlaşmasını, sekonder cins organları ve meme bezlerinin geli me ve büyümesini kontrol eder.

Ovaryum, östrojen ve progesteron hormonlarını salgılayan, genital döngünün düzenlenmesinde görev alan ve kadın genital sisteminin di er organları üzerinde de etkili olan bir organdır (6).



ekil 1. Ovaryumlar (7)

### 2.2. Ovaryum Anatomisi

Eri kin kadınlarda ovaryum 3-5 cm uzunlu unda, 2-3 cm geni li inde ve 0,5-1,5 cm kalınlı ında, yanlardan basık oval biçiminde bir organdır. Kütlesi 4-6 g kadardır.

Ovaryum normal durumda pelviste *fossa ovarica* denilen çukurlarda bulunur. Fossa ovarica, pelvisin yan duvarlarında *arteria iliaca interna* ile *arteria iliaca externa* arasında bulunur. Ovaryum dıştan, bağ dokusundan yapılmış ve *tunica albuginea* denilen sert bir zarla sarılmıştır. Bu zar, yaş ilerledikçe kalınlaşır ve sertleşir. Ovaryumun temel dokusunu yapan stroma ovarii, yapı ve durum bakımından *substantia corticalis* ve *substantia medullaris* olarak ikiye ayrılır (8).

Ovaryumlar, organa damar ve sinirlerin girişi ve çıkışı yaptığı yer olan hilusta bulunan, kan damarlarını ovaryumlara ileten özel bir periton katlantısı olan ve mezovaryum olarak adlandırılan bir askı ile uterusun yan kenarlarında uzanan *ligamentum latum* asılı olarak bulunmaktadır. Yüzeyi ovulasyon başlamadan önce düzdür, ovulasyondan sonra ise bu düzgünlük giderek kaybolmaktadır (9).

### 2.3. Ovaryum Histolojisi

Ovaryumlar, içte medulla, dışta korteksten oluşur. Medulla, zengin kan ve lenf damarları ve sinirleri içeren gevrek bağ dokusu yapısındadır. Korteks, periferde medullayı sarar ve hücrelerden zengin sıkı bağ dokusuna gömülü ovaryum foliküllerini içerir. Medulla ile korteks arasında belirgin bir sınır yoktur. Hilusta korteks sona erer ve mesovarium medulla ile devam eder. Korteks stroması, iğne biçimli fibroblast benzeri hücreleri ve retiküler lif ağını içerir. Medulla stroması da fibroblastlardan, elastik liflerden ve düz kas hücrelerinden oluşur (6).

Yüzeyi germinal epitel olarak isimlendirilen basit prizmatik veya kübik epitel ile döşelidir. Germinal epitelin altında tunika albuginea adı verilen yoğun bir düzensiz sıkı bağ dokusu yer almaktadır. Bu tabakanın hemen altında da ovaryum foliküllerini içeren korteks bölgesi bulunmaktadır (10).

### 2.4. Ovaryumların Gelişimi

Embriyonun cinsiyeti, genetik açıdan daha fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7.haftasına kadar gonadlar erkeğe ve dişiye ait morfolojik özelliklere sahip değildir.

Gonadlar ortaya bir çift uzunlamasına, genital veya gonadal sırt halinde çıkarlar. Epitel çoğalması ve altındaki mezene dönüşümüyle oluşurlar. Gelişimin 6.haftasına kadar genital sırtlar içinde germ hücreleri yoktur.

İlk e y hücreleri, gelişimin 4.haftasında vitellus kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında görülmeye başlarlar. Son başırsa ın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketlerle ilerleyerek, 5.haftanın başında ilkel gonadlara ulaşır ve 6.haftada da genital kabartıları i gal ederler. Bu hücreler genital kabartılara ulaşamadıklarında gonadlar gelişmez. Gonadların ovaryum ya da testise farklılaşmasında da ilkel germ hücrelerinin uyarıcı etkileri vardır.

İlkel cins hücrelerinin ilkel gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital kabartıların epitelı ço alır ve epitel hücreleri altlarındaki mezenim içine gömülürler. Bunlar burada ilkel cinsiyet kordonları denilen düzensiz ekilli kordonlar oluştururlar. Erkek ve di i embriyolarda ilkel cins kordonları yüzey epiteline bağlıdır ve bu evrede, erkek ya da di i gonadların birbirinden ayırt edilmesi olanaksızdır. Bu nedenle bu evre farklılaşmamı dönem olarak adlandırılır. Bu gonada da farklılaşmamı gonad denir (6,10).

#### **2.4.1 Ovaryum Foliküllerinin Gelişimi**

Bir ovaryum folikülü belli tip hücrelerden meydana gelen oldukça karmaşık bir yapıdan oluşur. Her biri bir oosit içeren foliküller de i ik çaplardadır ve ovaryum korteksi içerisine dağılmı durumdadırlar. Oositin gelişim durumunu gösteren folikülün çapıdır. Üç tip folikül yapısı vardır;

- Primordiyal foliküller
- Gelişmekte olan foliküller
- Olgun foliküller (Graaf folikülleri)

Gelişmekte olan foliküller; primer (birincil) ve sekonder (ikincil ya da antral) foliküller olmak üzere ikiye ayrılırken primer foliküller de unilaminar (tek tabakalı ya da erken) ve multilaminar (çok tabakalı ya da geç) primer foliküller olmak üzere ikiye ayrılır. Bir ovaryum içerisinde tüm folikül tiplerini aynı anda görebilir fakat en çok görülen folikül tipi primordiyal foliküllerdir (11).

- **Primordiyal Foliküller**

Doğumdan önce ovaryumda bulunan foliküller primordiyal foliküllerdir. Korteks içerisinde germinal epitelin hemen altında yer alırlar. İçerdikleri primer oositler tek katlı yassı

veya tek katlı kübik olabilen foliküler hücrelerle ku atılmı durumdadır. Primordiyal foliküllerdeki oositlerin belirgin çekirde i ve çekirdekçi i bulunmaktadır. Organeller ise sitoplazmada da nık halde bulunurlar.

- **Primer Foliküller (Olgunla makta olan Foliküller)**

Tek sıralı ya da birkaç tabakalı follüküller hücrelerle çevrilmı foliküller primer foliküllerdir.

- **Sekonder Foliküller (Veziküler Foliküller)**

Büyüyen foliküllerde meydana gelen de i iklikler hem folikül hücrelerinde hem de oositin merkezinde gözlenir. İlk dönemde folikül hücrelerinin tamamı kübik halde iken giderek mitotik aktiviteleri artar ve çok katlı bir halde granüloza hücrelerini meydana getirirler. Oosit de giderek büyür ve çevresinde homojen, asidofilik boyanan zona pellusida geli ir. Folikül çevresinde ba dokusu yapısı içerisinde meydana gelen de i iklikten sonra teka folikülü adını alır. Bu yapı daha sonra teka interna ve teka eksterna olarak ikiye ayrılır. Teka interna hücrelerinin farklanması tamamlandı nda steroid sentezleyen hücrelerin yapısal özelliklerini kazanırlar. Bu hücrelerin testesteron salgıladı ı ve bu salgının daha sonrasında granüloza hücreleri tarafından östrojene dönü türüldü ü kabul edilmektedir.

Oositin büyümesi ile e zamanlı olarak granüloza hücreleri ço alır ve daha sonra da bu hücreler arasında hiyaluronik asitten zengin bir sıvı birikmeye ba lar. Bo luklar birle erek tek bir bo luk (cavum folikül, antrum) meydana gelir. Bu bo luk içerisinde yer alan sıvıya ise *liquor follicülü* adı verilir. Bu dönemde bu foliküle *antral folikül* ismi de verilir. Granüloza hücrelerinin çok az bir kısmı ise oositi antrumun çevresinde ince bir tabaka halinde sararak granüloza hücrelerine ba lar ve kumulus ooforus adını alırlar.

- **Graaf Folikülü (Olgun Folikül)**

Yakla ık olarak çapı 2-2.5 cm'dir ve ovaryum yüzeyinde çıkıntı olu tururlar. Antrum içerisinde sıvı birikiminden dolayı giderek büyür ve granüloza hücreleri ince bir tabaka halinde bu bo lu un iç kısmını dö erler. Bu evrede kumulus ooforus hücreleri zona pellusidanın üzerinde prizmatik bir ekil alarak düzenlenirler ve korona radyata hücreleri olarak isimlendirilirler (12).



## 2.5. Ovariyal Döngü

Pubertenin başlaması ile hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (gonadotropin releasing hormone, GnRH) adenohipofiz hücrelerinden gonadotropinlerin salgılanmasını uyarır. Follikül uyarıcı hormon (follicle stimulating-hormone, FSH) ve luteinizan hormon (luteinizing hormone, LH) olarak bilinen bu hormonlar, ovaryumdaki döngüsel değişiklikleri uyarır ve kontrol ederler.

Bu gonadotropinler her 28 günde bir tekrarlanan folliküllerin gelişip olgunlaşması, ovulasyon ve korpus luteum oluşmasını içine alan ovaryum siklusunu ve ovaryal siklus ile eş zamanlı olarak uterus, uterus tüpleri, vajina ve meme bezlerinde bir dizi değişikliklere neden olan menstruel siklusu hazırlarlar. Diğer bir deyişle, ovaryal ve menstruel döngüleri içine alan ve 28 günde bir tekrarlanan üreme döngüsünü düzenlerler (11).

## 2.6. Diyabet

Diyabet dünya nüfusunun büyük bir kısmını etkileyen hiperglisemi ile karakterize pankreasın insülin sekresyonunun yetersizliği veya dokuların insüline cevabının bozulmasıyla meydana gelen, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen kronik ve metabolik bir hastalıktır. İnsülin eksikliği (tip 1) veya insüline karşı direnç gelişmesi (tip 2) temel bir bozukluktur. Tüm dünyada en sık görülen bir endokrin hastalıktır (4).

Otoimmünitinin varlığına göre Tip 1a ve Tip 1b şeklinde ikiye ayrılmaktadır. Otoimmün kökenli Tip 1a diyabetli olguların yaklaşık %90'unını oluştururken yine çocukluk yaş grubunda görülen otoimmün belirleyicileri negatif olan Tip 1b ise yaklaşık %10'luk bir kısmı oluşturur.

Tip 1 diyabet; çocukluk ve erişkin dönemde başlayan, etyolojisi kesin olarak bilinmeyen, genetik yatkınlık zemininde, enfeksiyonların da içerisinde bulunduğu çevresel faktörlerin etkisiyle pankreasın beta hücrelerinde zedelenme ile oluşan otoimmün bir hastalıktır. Tip 2 diyabet ise; genellikle 40 yaşından sonra başlayan, esas nedeni kesin olarak bilinmeyen, genetik yatkınlık zemininde sıklıkla obezite ile ilişkili, insüline direnç veya insülin salınımında bozulma ile karakterize kronik bir hastalıktır (13,14).

Diyabet duyarlı bireylerde T ve B hücrelerinin aracılık ettiği immün sistemin anormal aktivasyonu sonucu oluşan bir insulitis tablosudur (15). Tipi ister tip 1 ister tip 2 olsun diabetteki hücresel ve hücre dışı bozukluklar hastanın savunma mekanizmalarını bozmaktadır. Bu yönüyle diyabet sekonder bir immün yetersizlik hastalığı olarak adlandırılabilir (16).

Günümüzde diyabet tedavisi için kullanılan insülin tedavisi yetersiz kalmaktadır. Glukoz, insülin salınımında ba lıca düzenleyicidir (4). Üzerinde çalı ılan yeni yöntemlerden bir tanesi de endojen insülin eksikli ini kalıcı olarak gidermek amacıyla uygulanan beta hücresi replasman tedavisidir. Bu sebeple beta hücrelerinin genetik ve fonksiyonel özelliklerini bilmek bu yakla ıma büyük yararlar sa layacaktır ve izole edilen pankreatik ada hücrelerinin transplantasyonu diyabet hastalı ının tedavisine oldukça önemli bir katkı sa layacaktır (15).

Diyabetli insan sayısı; nüfus artı ma, ya lanmaya, kentle meye, fiziksel aktiviteye ve obesite prevalansının yükselmesine ba lı olarak artı göstermektedir. Diyabetli hasta sayısı ve diabet prevalans hesaplamaları, hem günümüzde hem de gelecekte, rasyonel planlamalar ve soruna çare bulabilmek açısından son derece önem ta ımaktadır (17).

Diyabet sıklı ındaki artı ile beraber diyabetin tüm komplikasyonlarının sıklı ı da artı gösterecektir. Birle mi Milletler Nüfus Bölümü tarafından, 2000 ve 2030 yılları arası tek tek ülkeler için diyabetli nüfus tahminleri yapılmı tır (18). Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Grubunun verilerine göre ülkemizde DM nüfusu 2000 yılında 2 920 000 iken, 2030 yılında 6 422 000'a ula acaktır (19).

### **2.6.1. Diyabetin Komplikasyonları**

Diyabetin komplikasyonlarının akut ve kronik olarak sınıflandırılması a a ıda gösterilmi tir.

#### **A) Akut (metabolik) komplikasyonlar**

- Diyabetik ketoasidoz
- Hiperosmolar non-ketotik koma
- Laktik asidoz koması
- Hipoglisemi koması

#### **B) Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar**

##### **1. Makrovasküler komplikasyonlar:**

- Kardiyovasküler hastalıklar
- Serebrovasküler hastalıklar
- Periferik damar hastalı ı

##### **2. Mikrovasküler komplikasyonlar:**

- Diyabetik nefropati
- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nöropat

Diyabetli hastalarda doku ve organlarda biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel olarak bir takım değişiklikler meydana gelir. Akut dönemde oluşan metabolik komplikasyonlar ya da tehdit edecek düzeyde olabilir, fakat bugün için asıl sorun uzun sürede oluşan, küçük ve büyük damarların hastalığıdır, buna “kronik vasküler sendrom” da denir. Diyabetik mikroanjiopatik değişiklikler, diyabetik metabolik bozukluklarla hızlanmış ateroskleroz tablosudur diye de söyleyebiliriz. Buna karşılık diyabetik mikroanjiopatik değişiklikler genelde diyabete özgü ve tespit edildiğinde diyabet varlığını akla getiren patolojik damar bozukluklarıdır (20). Diyabetik mikroanjiopatinin gelişimi hakkında “Metabolik Hipotez” ve “Genetik Hipotez” isimli iki tane önemli hipotez vardır (21).

### 2.6.2. Deneysel Diyabet Nedir?

Diyabet hastalığının ve komplikasyonlarının patogenezi aydınlatmak ve yeni tedavi stratejileri bulmak amacıyla yapılan çalışmalarda, hayvanlarda deneysel diyabet modellerinin kullanılması araştırmacıya birçok avantaj sağlamaktadır. Kimyasal ajanların kullanılması sonucu ya da diyet ile elde edilen diyabetik modeller, cerrahi uygulamalar ve bunların kombinasyonları veya genetik modifikasyonla elde edilen diyabet tabloları deneysel diyabet modelleri arasında sayılabilen yöntemlerden sadece bazılarıdır. Beta hücrelerine spesifik toksik glukoz analogları olan alloxan ve streptozotosin (STZ), kimyasal yöntemle deneysel diyabet oluşturmak amacıyla sıklıkla tercih edilen toksinlerdendir ve uzun zamandan beri hayvanlarda deneysel diyabet oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır (22).

İlk deneysel diyabet modeli yaklaşık 100 yıl önce pankreası çıkarılan bir köpekte diyabet benzeri tablonun gözlenmesi ile bulunmuştur. Günümüzde deneysel diyabet oluşturmak için daha yeni yöntemler de elde edilmiştir. Bu yöntemler insanlarda meydana gelen diyabeti tam olarak yansıtmamakla beraber diyabet hastalığı ile ilgili tüm konularda aydınlatıcı olabilecek deneysel modellerdir. Bu modellerden özellikle genetik olarak spontan diyabetli hayvanlarda diyabet araştırmalarının tatmin edici bir şekilde yapıldığı belirtilmektedir (23).

Çok çeşitli diyabet modelleri bulunmaktadır. Bunlardan hayvan diyabet modelleri ile insan diyabet modellerinin birbirlerine benzer yönleri bulunsa da, kesinlikle tıpatıp aynı olmadığını unutulmamalıdır. Bunlar;

- Kimyasal diyabet
- Cerrahi diyabet

- Spontan diyabet
- Viral diyabet
- Transgenik diyabet'tir.

En çok kullanılan yöntem ise kimyasal diyabettir. Deneysel çalı malarda kullanılan çe itli ilaçlar ve kimyasallar diyabet benzeri tabloya neden olmaktadır. Bunlardan streptozotosin ile alloksan en kullanı lı olanlarıdır. Beta hücre yıkımı ile insanlardaki Tip I diyabete benzer ekilde diyabet olu turmaktadır (24).

### **2.6.3. Streptozotosin (STZ) aracılı ıyla gerçekte tirilen deneysel diyabet modeli**

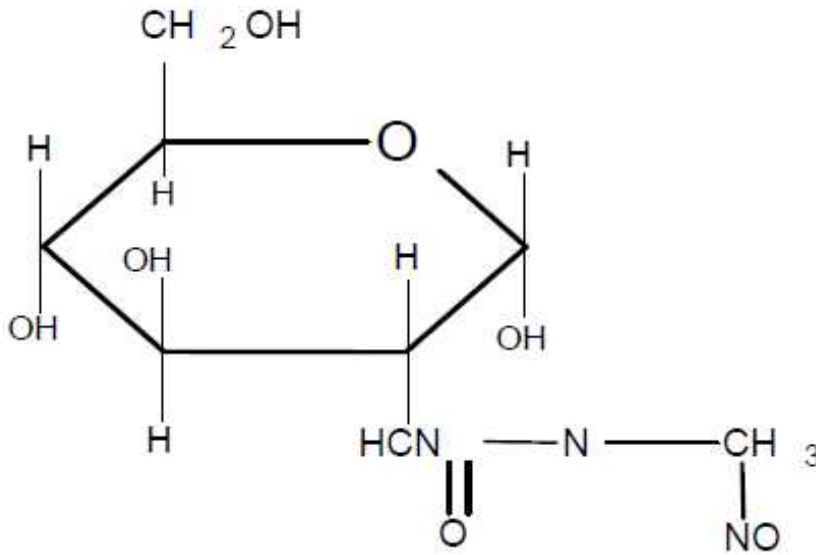
STZ, alloksan benzeri mekanizma ile birlikte deney hayvanlarında diyabete neden olmaktadır. Kimyasal bir toksin olan STZ, Streptomyces griseus isimli bir mantar küfünden elde edilmektedir. Kimyasal yapısı ise  $C_8H_{15}N_3O_7$  (2-deoksi-2-(3-metil-3-nitrozöüreido)-D-glukopiranoz) eklindedir. Streptomyces griseus'un metaboliti olan STZ'in antibiyotik, antitümoral ve karsinojenik etkileri bulunmaktadır (25). STZ antioksidan enzim sisteminin yer almadı ı pankreas hücrelerini oksidan etkisi ile tahrip ederek insülin salınımını azaltmaktadır (26). Glukozamin-nitrozüre içeren STZ, Langerhans adacıkları hücrelerinde insülin üretiminin üst seviyelerinde meydana gelen GLUT-2 glukoz ta ıyıcı reseptörleri aracılı ıyla hücre içirisine alınmaktadır. STZ'in sitotoksik etkisi, Nikotinamid Adenin Dinükleotit (NAD) seviyelerinin dü ürülmesi ve intrasellüler serbest radikallerin olu turulması aracılı ıyla meydana gelmektedir. Pankreas hücrelerinin NAD seviyeleri dü üktür ve STZ'nin etkisiyle kolayca hasarlanabilirler.

GLUT-2 glukoz ta ıyıcı reseptörlerinin kan-beyin bariyerinde yer almaması sebebiyle, sistemik uygulamayı takiben beyinde STZ'nin direkt etkileri olu maz. Ayrıca bunların dı nda, STZ'nin uygun olmayan NO cevapları meydana getirerek diyabete sebep oldu u da söylenmektedir.

STZ-diyabetik ratlar hipoinsülinemiktirler ancak hayatta kalım için insülin tedavisine gerek duymazlar. Kan glukoz seviyeleri yaklaşık 20-25 mmol/L (normali 5 mmol/L)'dir. DM'lu insanlarda oldu u gibi, STZ-diyabetik ratlarda da gözlerde, böbreklerde, kan damarları ve sinir sisteminde de hasarlar meydana gelir. STZ-diyabetik sıçan modelinin faydası, her ya ta verilebilmesi sebebi ile DM ile ya lanmanın etkile im çalı malarına uygun olmasıdır. Böylece STZ-diyabetik rat modeli, kronik hiperglisemi etki çalı malarında da

kullanılabilmektedir. Bu modelin endokrinolojik özellikleri ne sadece tip 1'i ne de tip 2'yi yansıtmaktadır fakat tip 1'e daha benzer bir diyabet benzeri tablo gelişmektedir (27).

Tekrarlayan ufak dozlarda veya 30-100 mg/kg tek doz olarak kullanıldığında diyabet gerçekte tirilebilir. İntravenöz, subdermal, intramusküler ve intraperitoneal olarak uygulama yapılabilir. Tekrarlayan ufak dozlarda verildiğinde diyabet hızlı gelişebilir ve toksik mekanizmalardan daha çok otoimmün bir mekanizma ile olur. Tek doz enjeksiyondan sonra kandaki insülin deeri normalin %10-30 düzeyine kadar iner ve 20-30 mmol/L (200-300 mg/dL) düzeylerinde bir hiperglisemiye sebep olur. Bu kan şekeri düzeyinde hayvanda poliüri, polidipsi, kilo kaybı meydana gelir, ama bu dozda ciddi ketozis gelişmez ve hayvan yaşamını insülin gereksinimi olmaksızın haftalarca devam ettirebilir (28).



**ekil 2.** Streptozotosin'in kimyasal yapısı (29).

STZ yöntemi sıçan, fare ve köpek gibi hayvanlarda çalışılmıdır. STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modeli en çok kullanılan yöntemdir. İkinci sırada alloxan kullanılır. Alloxan STZ'ye oranla daha ucuz olmasına rağmen, daha fazla hayvanın ölümüne neden olabilmektedir (29).

## 2. 7. Galektin

Karbonhidrat bağlayan proteinlerin bir üyesi olan ve  $\beta$ -galaktozidazlar için afinite gösteren galektinler ilk kez 1994 yılında tanımlanmıştır.

Günümüze kadar 15 memeli galektini saptanmıştır. Galektin ailesi üyelerinin hücre çoğalmasını düzenleyerek, hücre döngüsünü kontrol ederek ve apoptozu inhibe ederek veya uyarak selüler homeostaza katkıda bulunduğuları bilinmektedir. Galektinlerin tümör invazyon ve metastazında da rolü olduğu düşünülmektedir. Bu proteinlerin hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerine, hücre çoğalmasına ve anjiogeneze aracılık ettiği bildirilmiştir. Lokalizasyon çalışmaları sonucunda, bu proteinlerin çok sayıda intrasellüler kompartmanlara ayrılabilirliği saptanmıştır (30).

### 2.7.1. Galektin-1

Galektin-1 (Gal-1), karbonhidrat bağlayan galektin protein ailesinden olan beta-galaktozidaz spesifitesine sahip homodimerik yapıda bir lektindir. Daha önceleri L 14-I, galaptin ve IML-1 olarak da bilinen galektin-1 antikoru 134 amino asitten oluşan 14 Kd moleküler ağırlığında ve aralarında kovalent olmayan bağlanımı bir homodimerdir (31).

Galektinlerden ilk keşfedilen protein olan Gal-1, insanda 22q12 kromozomda lokalize LSGALS1 geni tarafından kodlanmaktadır. Çeşitli normal ve patolojik dokular tarafından deşifre edilen Gal-1'in intrasellüler ve ekstrasellüler (stromal) aktiviteleri tanımlanmıştır. Lektin aktivitesi, birçok organda ekstrasellüler olarak gözlenirken, protein-protein etkileşimleri ise intrasellüler fonksiyonları ile ilişkilendirilmiştir (32).

Gal-1 proteini sialik asidini kaybeden glikoönjugatların yani glikoproteinler, glikolipitler, proteoglikanlar ve lipopolisakkaritlerin uç kısmında bulunan -1,4 bağları içeren galaktoz kalıntılarına ve N-asetilaktozamine bağlanabilir ve bu nedenle diğer bazı lektinlerin (C-tip) aksine Ca<sup>2+</sup> iyonlarına ihtiyaç duymamaktadır.

Gal-1 proteini hücre yüzeyinde, sitoplazmada ve nükleus membranında da lokalize olabilir gibi, hücre-hücre, hücresubstrat ve hücre-ekstrasellüler matriks etkileşimlerinde, adezyonda, apoptozda, hücre siklusu regülasyonunda, büyümesinde ve göçünde, neoplastik dönüşümde, yangıda ve tümör metastazında görev aldığı bildirilmiştir (33).

Gal-1'in periferik sinir yaralanmasından sonra zarar gören sinirlerin proksimal ve distal kısımlarından Schwann hücrelerinin göçüne ve aksonal rejenerasyona yardımcı olduğu bildirilmiştir (34). Bunların yanı sıra bu protein, adezyon, motilite ve invazyonu içeren hücre göçü ile bağlantılı üç olayın her biri üzerinde etkilidir. Laminin ve fibronektin gibi ekstrasellüler matriks komponentlerine bağlanması ile çeşitli normal hücreler ile kanser

hücrelerinin adezyonunu artırdığı gösterilmiştir. Aynı tipte hücrelerin birbiriyle etkileşiminde ve (homotipik) farklı tipte hücrelerin birbiriyle etkileşiminde (heterotipik) görev alır (35).

İnsan embriyogenezinin ilk trimesterinde Gal-1, bağırsak dokusunda, düz ve çizgili kaslarda, deri, gonadlar, tiroid ve böbrekler gibi bazı epitelyal dokularda eksprese edilmektedir (32). Gal-1, aynı zamanda kasların gelişiminde ve rejenerasyonunda da rol oynamaktadır (36).

Hücre içinde karbohidrat bağışsız etkileşimler ile hücre sinyal yollarında görev alır ve karbohidrat motiflerini tanıma özelliği ile de ekstrasellüler fonksiyonlara da sahip olma özelliği taşıır. Yapılan araştırmalar sonucunda, Gal-1'in hücre adezyonu ile gelişiminde, apoptozda, immünmodülasyonda, metastazda, inflamasyonda ve aynı zamanda mRNA kırılmasında da (*mRNA splicing*) görev aldığı bilinmektedir (37).

Uterusta Gal-1 ekspresyonu endometriuma sınırlıdır; endometriumun geç sekretuar fazında ve desidual dokuda düzenli olarak artar ve trofoblastik dokuda ise spesifik bir ekspresyon paterni gösterir (38). Kolon, böbrek, meme, akciğer, over, pankreas gibi solid tümörlerinde ve B hücreli ve Burkitt lenfoma ile multipl miyelomda da Gal-1'in normal dokuya oranla artmış ekspresyon gösterdiği ve bu durumun metastaz ve kötü prognoz ile ilişkili değerlendirildiği literatürde yer alan çalışmalarla gösterilmiştir (37).

Tümör hücreleri tarafından ekspresyonu gerçekleştirilen Gal-1'in hücre iskelet elemanlarının organizasyonunu gerçekleştirerek hücre motilitesini arttırmakla beraber, integrinler ve ekstrasellüler matriks hücre bileşenlerinden laminin ile fibronektinin çapraz bağlanmasını da etkileyerek tümör hücrelerinin adezyonunu artırdığı bilinmektedir (39). Aynı zamanda normal epitel hücrelerde az eksprese edilen Gal-1'in meme ve kolon kanserinde anjiyogenez sürecindeki etkinliği ile ilişkili olarak epitel hücreler tarafından artırılmış ekspresyonu tespit edilmesinden dolayı antiangiyojenik terapiler için hedef teşkil edebileceği düşünülmektedir (39).

### 2. 7. 2. Galektin-3

Galektin-3,  $\beta$ -galaktozid bağlayan proteinlerden bir tanesidir. Galektin-3'ün moleküler ağırlığı yaklaşık 26200-30300 kDa'dur. Daha önceden bu Gal-3 antikoruna IgE bağlayıcı protein, karbohidrat bağlayıcı protein 35, Mac-2, CBP 30, L29, L34 gibi isimler de verilmiştir. Bu antikorun iki biyokimyasal özelliği bulunmaktadır. Bunlardan ilki, karbohidrat bağlama alanında birbirini takip eden aminoasit zinciri içermesi, diğeri ise  $\beta$ -galaktozidlere afinitesinin olmasıdır. Galektin-3 intraselüler glikoproteinler, ekstrasellüler matriks proteinleri ve hücre

yüzey moleküllerinin birbiri ile etkileşim içerisine girdikleri, intrasellüler ve ekstrasellüler lektinlerdir. intrasellüler gal-3 nükleer pre-mRNA bağlanması düzenlenmesinde ve apoptozdan korunmada görev alırken, sitoplazma membranındaki ve ekstrasellüler ortamdaki galektin-3 ise hücreler arası ve hücre-matriks ilişkilerinde görev almaktadır (40).

Galektin-3, çoğunlukla epitelial ve immün hücrelerde bulunur. Sitoplazma, hücre membranı ve ekstrasellüler ortamda lokalizedirler (41). Galektin-3, galaktoza spesifik bir protein olup kendine özgün glikokonjugatlar üzerinden birden fazla biyolojik süreçte etkin görev alır (42). Glisin, tirozin ve prolinden zengin amino terminal uç ile karbonhidrat bağlayan ve daha çok globuler bir yapı sergileyen karboksi terminal uç olmak üzere iki farklı bölümden meydana gelir (43). Yapılan çalışmalar sonucu, galektin-3'ün NH -terminal ucunun spesifik yapısı sayesinde dimer ve oligomerlerini oluşturabildiği ve buna bağlı olarak çok farklı biyolojik roller üstlenebildiği gösterilmiştir.

Galektin-3 hücre yüzeyi, sitoplazma ile nükleusta yerleşim gösterebilir. Ayrıca tümör hücrelerinin ekstrasellüler matrikse bakan yüzeyine lokalize olan galektin-3, metastatik hücrelerin adezyonunda da rol oynayabilir (44). Galektin-3 proteini farklı tümör tiplerinde farklı ekollerde ekspresyon edilir. Örneğin, bazı lenfomalarda ve tiroit kanserinde artarken; kolon, meme, ovaryum ve uterus kanserlerinde ise azaldığı bildirilmiştir (45). Galektin-3, hücre büyümesi, neoplastik transformasyon, metastaz, hücre döngüsünün düzenlenmesi, adezyon, diferansiyasyon, anjiogenez ve apoptoz gibi çeşitli olguları düzenler (41). Embriyogenezde, hücreler arası ve hücre-stroma ilişkilerinde görev olarak, organogenezde rol oynar (46). Gal-3'ün ayrıca pre-mRNA birleşmesi, hücre – hücre, hücre – matriks adezyonu, hücre büyümesinin düzenlenmesi, belirli doku ve hücre tiplerinde neoplastik transformasyon ve progresyon, metastaz, apoptozis inhibisyonu ve immün cevap gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda da görev aldığı düşünülmektedir (47). Bu antikorun malign lezyonlarda, invazyon ile metastaz süreçlerinde rol oynadığı bildirilmiştir, tiroit karsinomlarında galektin-3 ekspresyonu tespit edilmiştir, benign tümörlerde ve normal tiroit dokusunda ise saptanamamıştır (48).



### 3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalı mamızda Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yeti tirilen yakla ık 250–300 gram a ırlı nda ve 8-10 haftalık *Wistar* albino cinsi 50 adet eri kin di i sıçan kullanıldı. Hayvanlar deney süresince standart pellet yem ve çe me suyu ile beslendiler. Çalı ma için Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 07.03.2013 tarih ve B.30.2. CUM.0.01.00.00–50/29 sayılı onay belgesi (EK–1) alınmı tır.

Çalı mada kullanılan hayvanlar oda ısısında, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık periyotlar olu turularak yeti tirilmi tir. Sıçanlar kontrol (n=25) ve diyabetik (n=25) olmak üzere iki gruba ayrılma tır. Hayvanlara diyabet olu turmak için streptozotosin (STZ; Sigma Chemical Co., St. Louis Missouri, ABD), intramüsküler yoldan (60 mg/kg v.a) uygulandıktan 30 gün sonrasında diyabetli ve diyabetli olmayan sıçanlara 200 mg/kg sodyum penta-barbital intraperitoneal yolla uygulanarak ötenazi uygulandı. Ölüm sonrası alınan ovaryum dokularına ık mikroskopi ve immünohistokimyasal incelemeler için rutin takip protokolleri uygulandı. I ık mikroskopik incelemeler için parafine gömülen örnekler genel morfolojiyi göstermek amacıyla hematoksilin-eozin, galektin-1 ve galektin-3 moleküllerini göstermek için ise immünohistokimyasal teknikler uygulandı.

I ık ve histokimyasal mikroskopik de erlendirme için alınan kesitler Olympus (Olympus BX51, Japon) marka mikroskopta de erlendirilip, uygun alanlardan foto raflar çekildi.

#### 3. 1. Kullanılan Cihazlar

- Doku Takip Cihazı (Leica, Germany)
- Gömme fırını (MKN Taab, UK)
- Ben Mari (Leica, Germany)
- Mikrotom (Leica, Germany)
- pH Metre (Metle Toledo MP 2200, UK)
- Manyetik Karı tırıcı (BIBBY Stuart, UK)
- Floresan mikroskop (Olympus BX51, Japan)
- Hassas Tartı (Denver Instrument Company, USA)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik MD 554 ntellwave, Türkiye)
- Mikropipetler -10µl, 20µl, 200µl ve 1000µl- (Gilson, USA)

### 3. 2. Kimyasal Maddeler

#### Antikorlar

- Galektin-1  
(C-8): sc- 166618, Lot # G2910 mouse monoclonal IgG2a  
S. Cruz Bio.,
- Galektin-3  
(H-160): sc-20157, Lot # D1712 rabbit polyclonal IgG  
S. Cruz Bio.,
- Crystal Mount Aqueous Mounting
- AEC (Invitrogen)
- Eozin (Biooptica, Milano, Italy)
- Hematoksilen (Biooptica, Milano, Italy)
- Phosphate Buffer Saline (PBS) (Sigma, USA)
- Antibody Diluent Reagent Solution (Invitrogen, USA)
- EDTA (Biooptica, Milano, Italy pH:8 )

### 3. 3. Doku Preparasyonu

Ötenazi sonrasında alınan ovarium dokuları %10'luk tamponlanmış nötral formalin ile 30–36 saat süre ile fikse edildikten sonra dehidrasyon ve effaflandırma basamaklarını takiben parafinde bloklandı.

### 3. 4. I ık Mikroskopi

I ık mikroskopik incelemeler için parafine gömülen örneklerden Leica mikrotom ile alınan 5 µm kalınlığında seri kesitlere genel morfolojiyi göstermek amacıyla hematoksilen-eozin boyama uygulaması yapıldı. Olympus BX51 (Tokyo, Japan) mikroskobu ile uygun görüntüler alındı.

### 3. 5. Semikantitatif Skorlama Yöntemi

Deney ve kontrol gruplarında ovarium dokularında görüntülenen galektin-1 ve galektin-3 ekspresyonlarının iddeti semikantitatif skorlama yöntemiyle belirlendi ve sonuçlar tablolar halinde bulgular bölümünde gösterildi. Bütün kesitler birbirinden ba ımsız iki gözlemci

tarafından incelenerek, ovaryum dokusunda Gal-1 ve Gal-3 antikörlerinin boyanma derecelerine göre; boyanma olmaması ise negatif (-), hafif derecede boyanma olması ise (+), orta derecede boyanma olması ise (++) ve yoğun derecede boyanma olması ise (+++) boyanma olarak ovaryum dokuları değerlendirildi (49).

### 3. 6. İmmünohistokimya

Ovaryum dokusunda Galektin-1 ve Galektin-3 belirlenmesi için immünohistokimyasal boyama yapıldı. Parafin bloklardan alınan kesitler poly-L-lysine kaplı adezivli lamalar (Patolab marka) üzerine alındı. Bir gece 56 °C'lik etüvde tutularak parafini giderildi. Kesitler a) a) daki serilerden geçirilerek saf suya indirildi.

- %100 Alkol... 5 dk
- %96 Alkol... 5 dk
- %96 Alkol... 5 dk
- %70 Alkol... 5 dk
- %70 Alkol... 5 dk
- Distile su... 5 dk
- Endojen peroksidazı maskeleyerek için kesitler oda sıcaklığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de (hidrojen peroksit) 10 dakika bekletildi.
- 2 defa PBS ile yıkandı.
- Antijenin geri dönüşümünü sağlamak için kesitler, içinde EDTA tamponu (pH=8) olan aleye konarak mikrodalga fırında maksimum ayarında 5 dakikalık, orta ayarında 15 dakika periyotlarla kaynatıldı.
- Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler oda sıcaklığında 20 dakika soğumaya bırakıldı.
- 2 defa PBS ile yıkandı.
- İmmünohistokimya kabına konulan kesitlere 30 dakika Ultra V Block (Thermo marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) uygulandı.
- 90 dakika kullanıma hazır olmayan primer antikor (Galektin-1 ve Galektin-3) %25 oranında sulandırılarak uygulandı.
- 2 kere PBS ile yıkandı.
- 20 dakika Streptavidin Peroxidase (Thermo marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) uygulandı.

- 2 kere PBS ile yıkandı.
- 20 dakika kromojen (Invitrogen marka AEC Substrat System) dokulara uygulandı (20 ml AEC kromojen + 1 ml AEC substrat iyice karı tırıldı).
- Saf su ile çalkalandı.
- 10 dakika Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı.
- Çe me suyunda yıkandı.
- Preperatlar kurulanıp kapatıcı (Thermo marka Large Volume Vision Mount) ile kapatıldı.
- Gal-1 ve Gal-3 ve immünolokalizasyonları skorlama yöntemi ile her grup için ayrı ayrı saptandı.

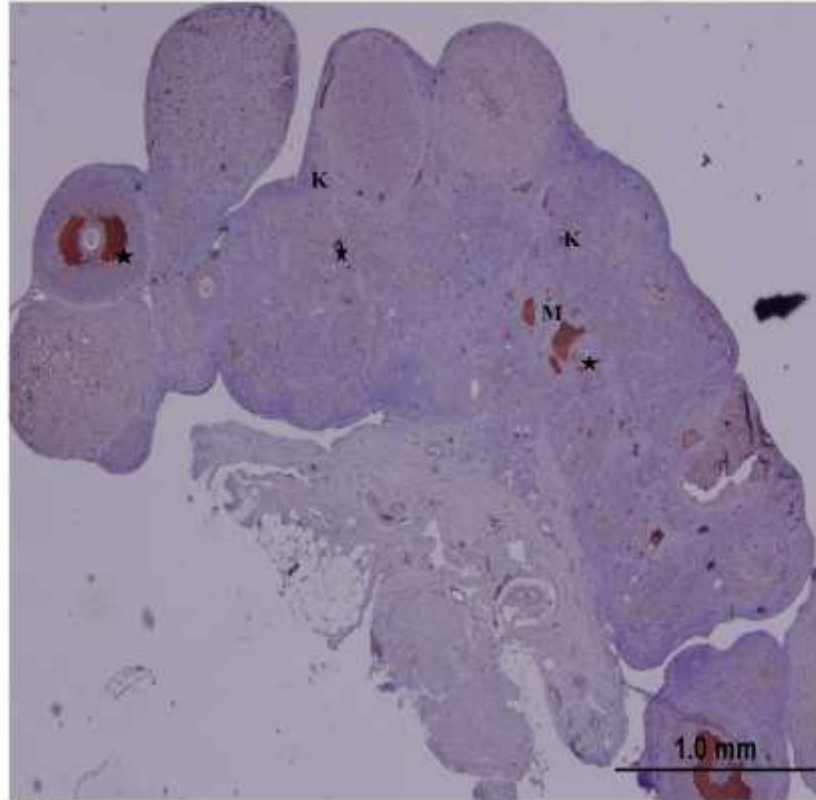
## 4. BULGULAR

### 4.1 İmmünohistokimya Bulguları

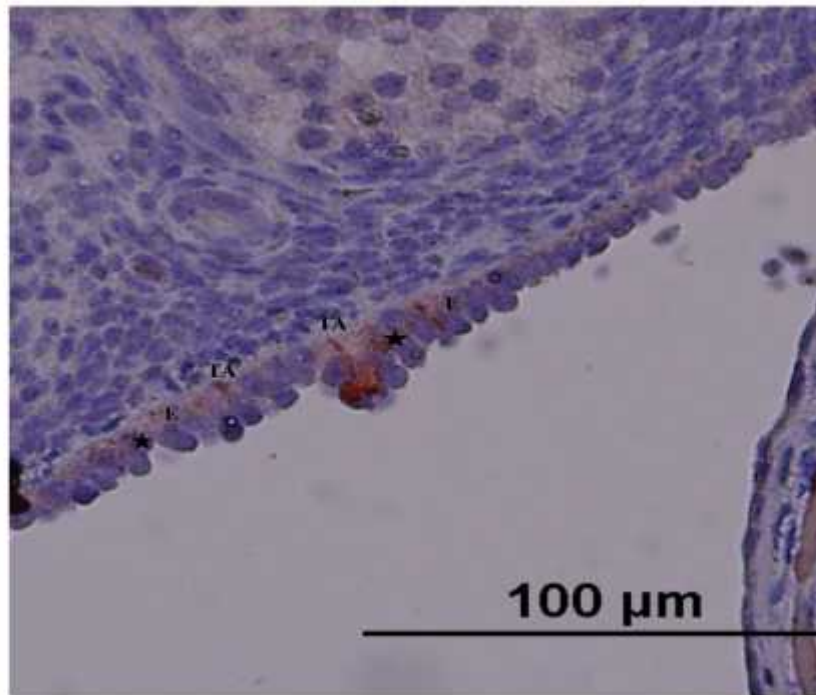
Galektin-1 ve Galektin-3'ün sıçan ovaryumlarındaki immüno-lokalizasyonları semi-kantitatif skorlama yöntemiyle belirlenerek sonuçlar Tablo 1 ve Tablo 2'de verilmiştir.

#### 4.1.1 Kontrol Grubu Galektin-1 Bulguları

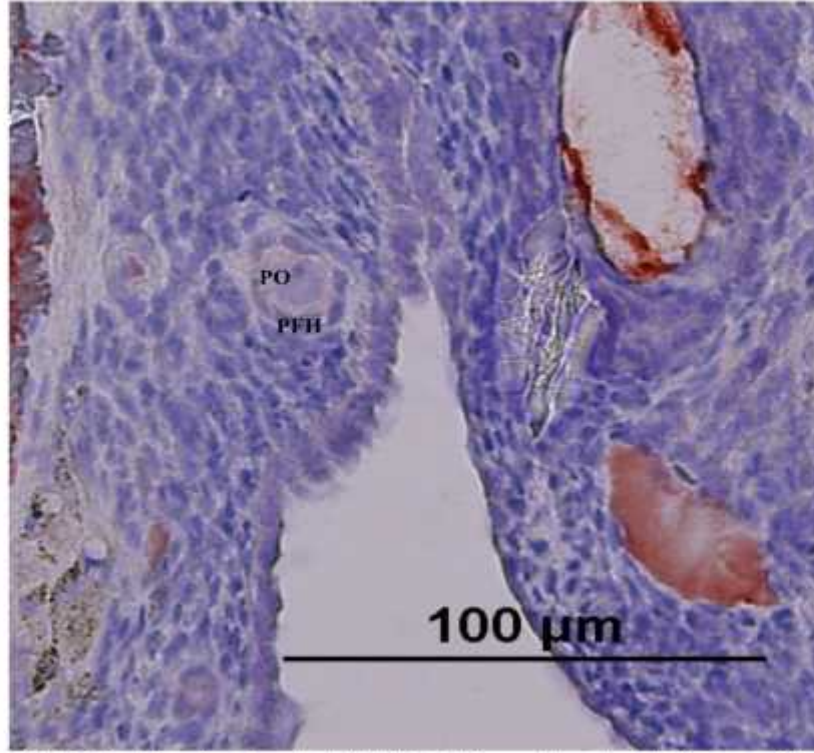
Ovaryum dokusuna genel olarak bakıldığında korteks tabakası, medulla, kan damarları ve ba dokusunda Gal-1 ekspresyonu izlendi ( ekil 3- 10). Kübik-prizmatik germinal epitelde zayıf, bazal membran ve tunika albuginea tabakasında orta şiddette Gal-1 ekspresyonu izlendi ( ekil 4). Ovaryumun foliküllerine bakıldığında, primordiyal folikülde; primer oosit ve primordiyal folikül hücrelerinde Gal-1 lokalizasyonu izlenmedi ( ekil 5). Primer folikülde; primer oosit, teka interna ve teka eksterna tabakalarında Gal-1 lokalizasyonu görülmedi. Primer folikül hücrelerinin sitoplazmalarında Gal-1 lokalizasyonu zayıf izlendi. Zona pellucida da Gal-1 lokalizasyonu yoğun izlendi ( ekil 6). Sekonder folikülde; primer oosit ve teka tabakasında Gal-1 immüno-lokalizasyonu görülmedi. Granüloza hücrelerinde Gal-1 lokalizasyonu zayıf gözlemlendi. Zona pellucida ve antrumda Gal-1 lokalizasyonu çok yoğun izlendi ( ekil 7). Tersiyer folikülde; sekonder oosit, teka interna ve teka eksterna tabakalarında Gal-1 ekspresyonu görülmedi. Zona pellucida, corona radiata, cumulus oophorus ve granüloza hücrelerinde Gal-1 ekspresyonu zayıf izlendi. Antrumda Gal-1 ekspresyonu oldukça yoğun izlendi ( ekil 8). Corpus luteumda; Gal-1 ekspresyonu teka lutein hücreleri ve granüloza lutein hücrelerinin sitoplazmalarında zayıf, kan damarlarında ise yoğun izlendi ( ekil 9). Medullada kan damarlarında Gal-1 ekspresyonu yoğun izlenirken fibroblast benzeri ba doku hücrelerinde zayıf izlendi ( ekil 10).



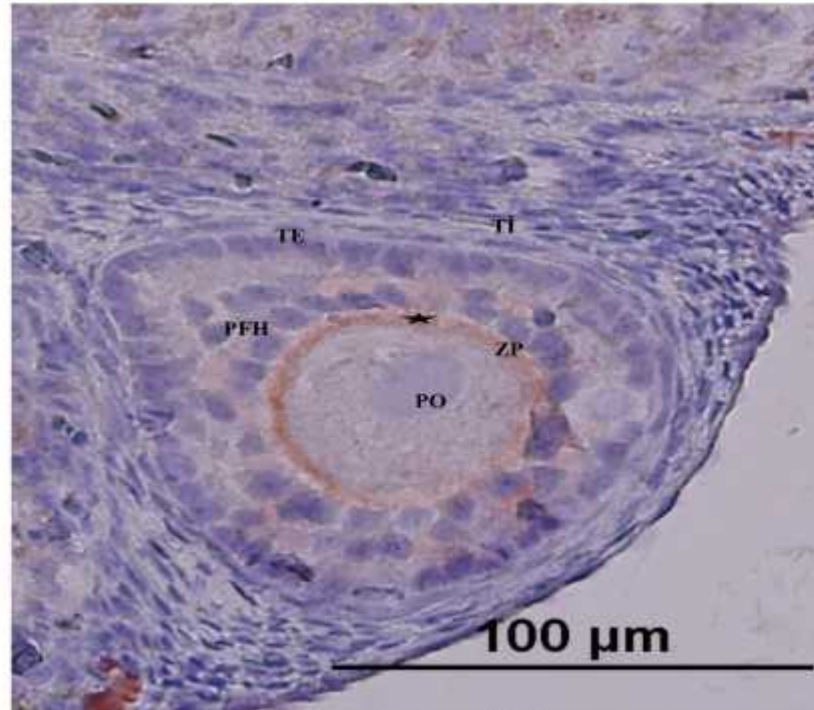
Şekil 3 . Kontrol grubu ovarium genel görüntüsünde Gal-1 immüno lokalizasyonu (\*). Medulla; ( M ), korteks; ( K ).



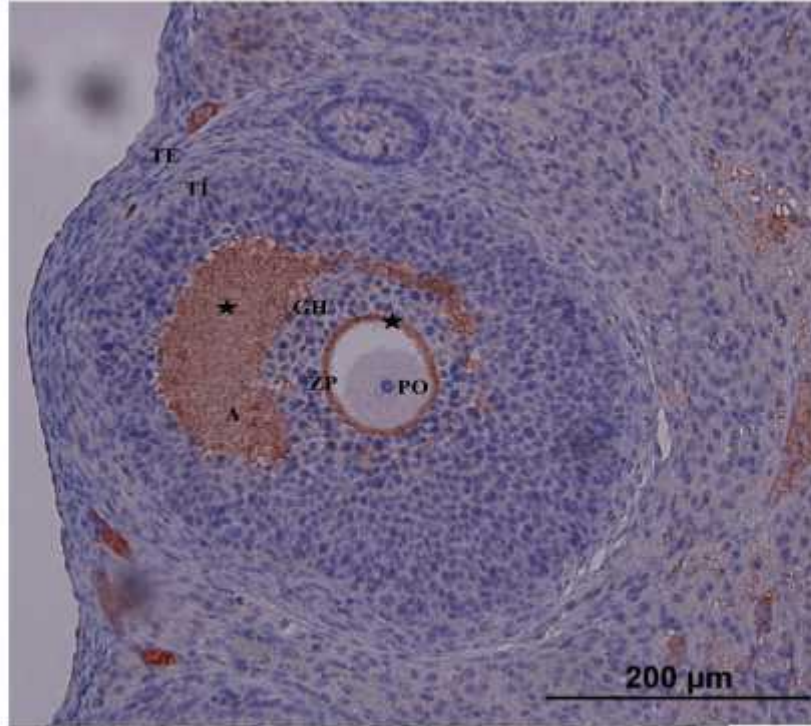
Şekil 4. Kontrol grubu epitel tabakasında Gal-1 immüno lokalizasyonu (\*). Epitel hücreleri; ( E ), tunika albuginea; ( TA ).



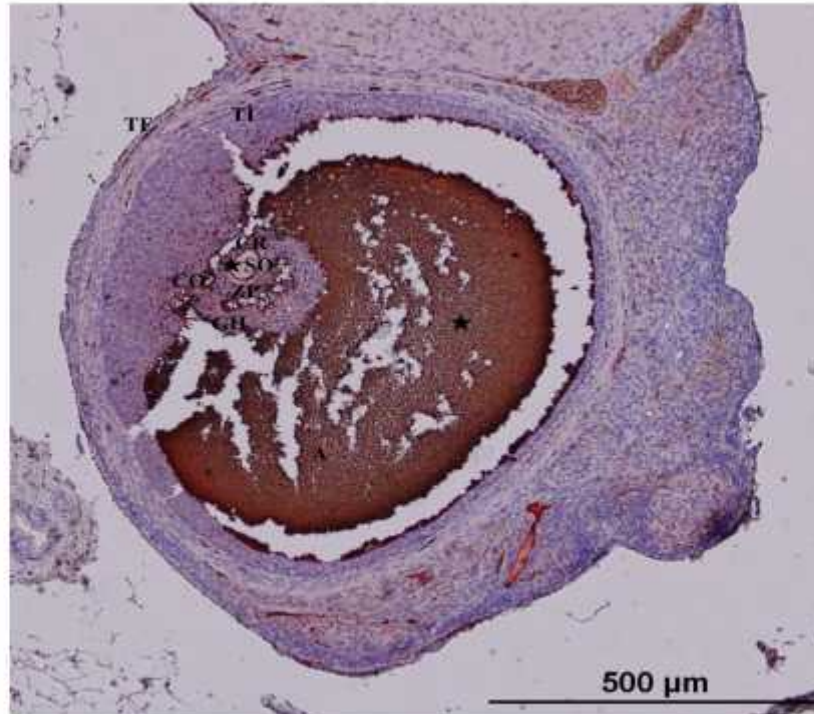
Şekil 5. Kontrol grubu primordiyal folikülde Gal-1 negatif immüno lokalizasyonu. Primer oosit; ( PO ), primordiyal folikül hücreleri; ( PFH ).



Şekil 6. Kontrol grubu primer folikülde Gal-1 immüno lokalizasyonu (\*). Primer oosit; ( PO ), zona pellucida; ( ZP ), primer folikül hücreleri; ( PFH ), teka interna; ( TI ), teka eksterna; ( TE ).

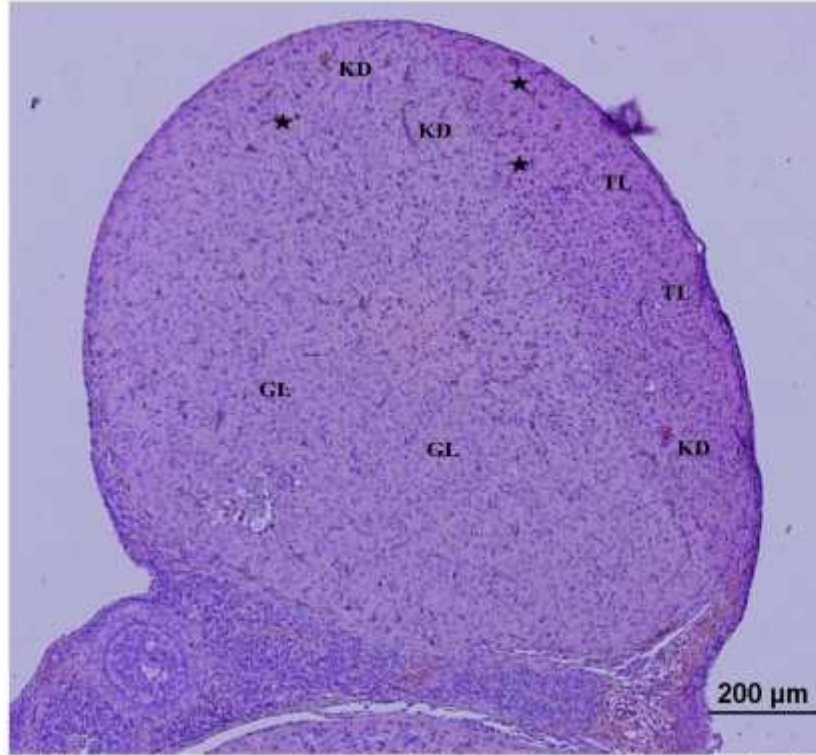


Şekil 7. Kontrol grubu sekonder folikülde Gal-1 immünolokalizasyonu (\*). Primer oosit; (PO), zona pellucida; (ZP), granüloza hücreleri; (GH), antrum; (A), teka interna; (TI), teka eksterna; (TE).

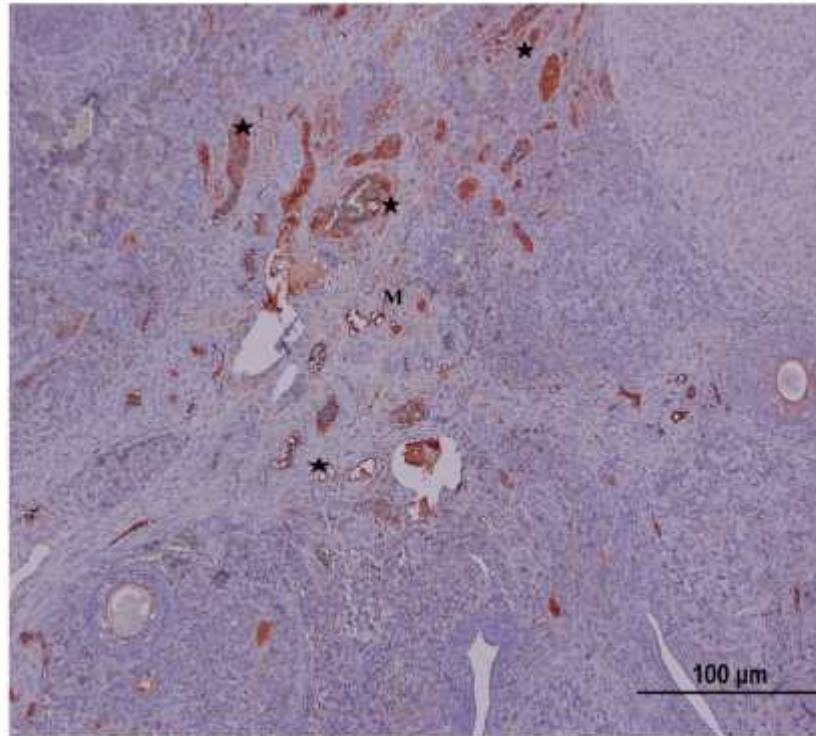


Şekil 8. Kontrol grubu tersiyer folikülde Gal-1 immünolokalizasyonu (\*). Sekonder oosit; (SO), zona pellucida; (ZP), corona radiata; (CR), cumulus oophorus; (CO), granüloza hücreleri; (GH), antrum; (A), teka interna; (TI), teka eksterna; (TE).





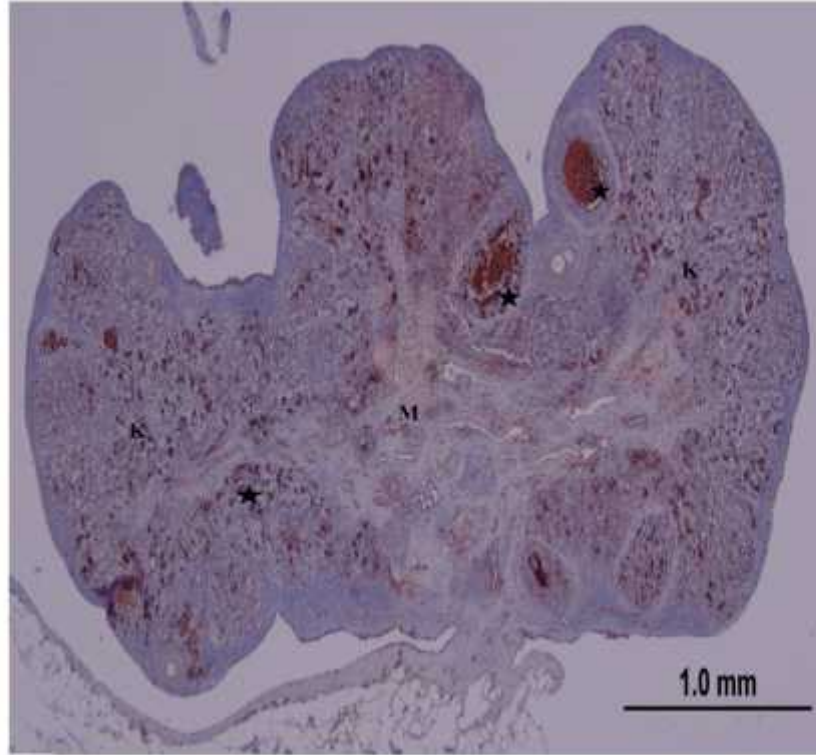
Şekil 9. Kontrol grubu corpus luteumda Gal-1 immünolokalizasyonu (\*). Kan damarları; (KD), granuloza lutein hücreleri; (GL), teka lutein hücreleri; (TL).



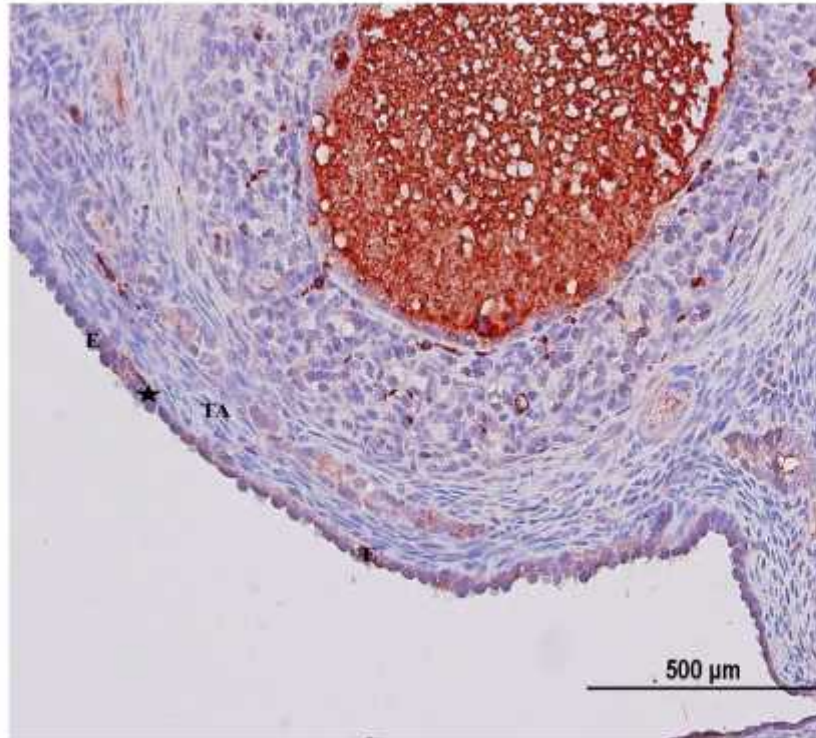
Şekil 10. Kontrol grubu medulla bölgesinde Gal-1 immünolokalizasyonu (\*). Medulla; (M).

#### **4.1.2 Kontrol Grubu Galektin-3 Bulguları**

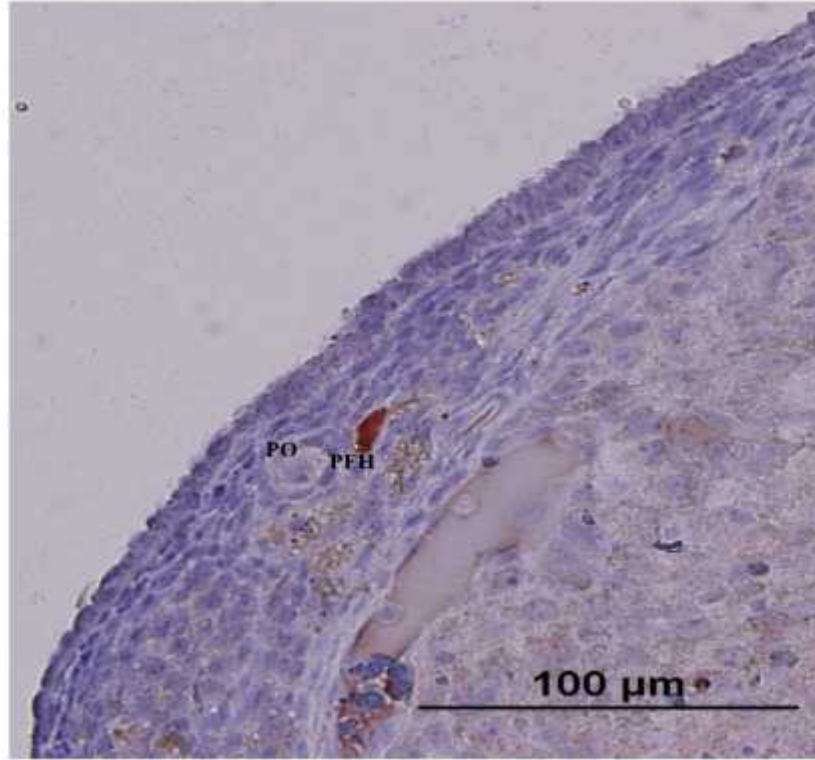
Genel ovaryum dokusuna bakıldı ında korteks tabakası, medulla, kan damarları çevresinde ve ba dokusunda Gal-3 immünolokalizasyonu çok yo un izlendi ( ekil 11-18). Kübik-prizmatik germinal epitel, bazal membran ve tunika albugineada Gal-3 ekspresyonu yo un izlendi ( ekil 12). Ovaryumun foliküllerine bakıldı ında, primordiyal folikülde; primordiyal folikül hücreleri ve primer oositte Gal-3 immünolokalizasyonu izlenmedi ( ekil 13). Primer folikülde; primer oosit ve zona pellucida da Gal-3 ekspresyonu izlenmedi. Primer folikül hücreleri ve teka tabakası hücrelerinin sitoplazmalarında Gal-3 ekspresyonu az yo un izlendi ( ekil 14). Sekonder folikülde; zona pellucida, antrum, granüloza hücreleri ve teka tabakası hücrelerinin sitoplazmalarında Gal-3 lokalizasyonu izlendi. Primer oositte Gal-3 lokalizasyonu görülmedi ( ekil 15). Tersiyer folikülde; sekonder oosit, corona radiata, cumulus oophorus, ve teka eksterna da Gal-3 ekspresyonu görülmedi. Granüloza hücrelerinde zayıf, zona pellucida ve teka internada yo un, antrumda ise Gal-3 ekspresyonu daha yo un izlendi ( ekil 16). Corpus luteumda; teka lutein hücreleri ve granüloza lutein hücreleride zayıf kan damarlarında ise Gal-3 ekspresyonu çok yo un izlendi. ( ekil 17). Medullada kan damarları çevresinde iddetli Gal-3 lokalizasyonu izlenirken fibroblast benzeri ba doku hücrelerinde Gal-3 lokalizasyonu zayıf izlendi ( ekil 18).



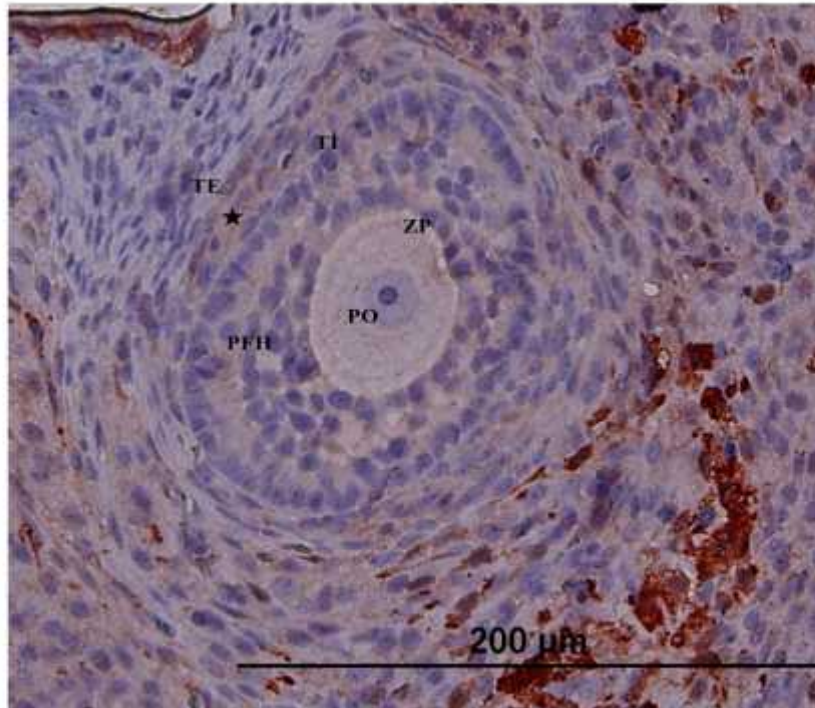
Şekil 11. Kontrol grubu ovarium genel görüntüsünde Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Medulla; ( M ), korteks;( K ).



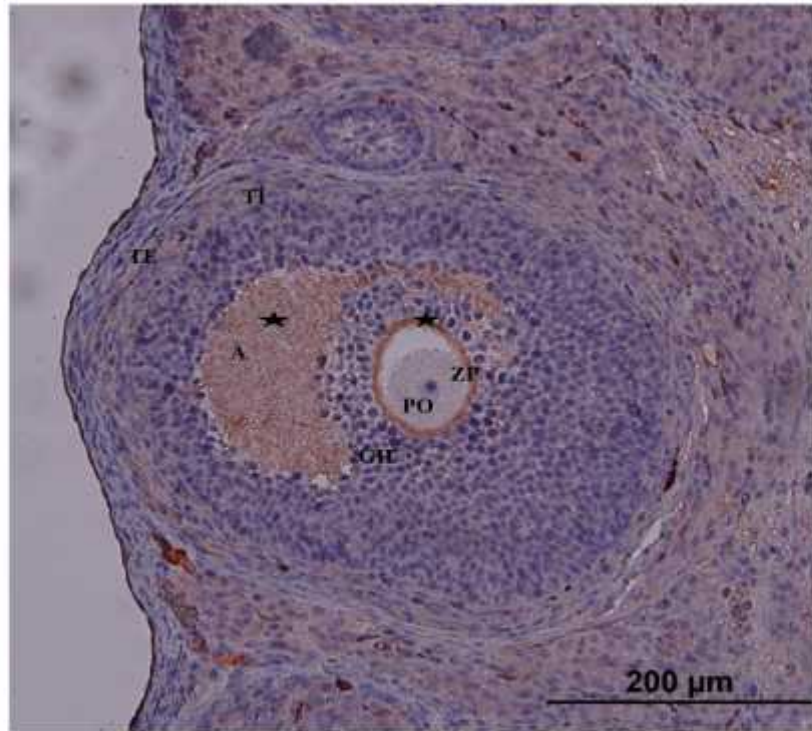
Şekil 12. Kontrol grubunda epitel tabakasında Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Epitel hücreleri; ( E ), tunika albuginea; ( TA ).



Şekil 13. Kontrol grubu primordiyal folikülde Gal-3 negatif immüno lokalizasyonu. Primer oosit ( PO ), primordiyal folikül hücreleri; ( PFH ).



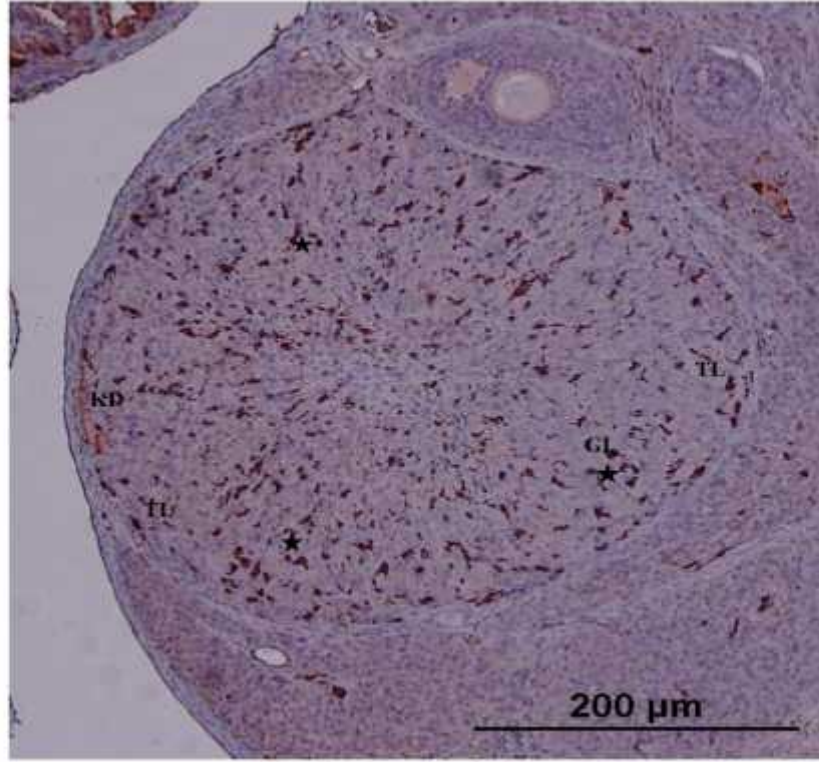
Şekil 14. Kontrol grubu primer folikülde Gal-3 immüno lokalizasyonu (\*). Primer oosit; ( PO ), zona pellucida; ( ZP ), primer folikül hücreleri; ( PFH ), teka interna; ( TI ), teka eksterna; ( TE ).



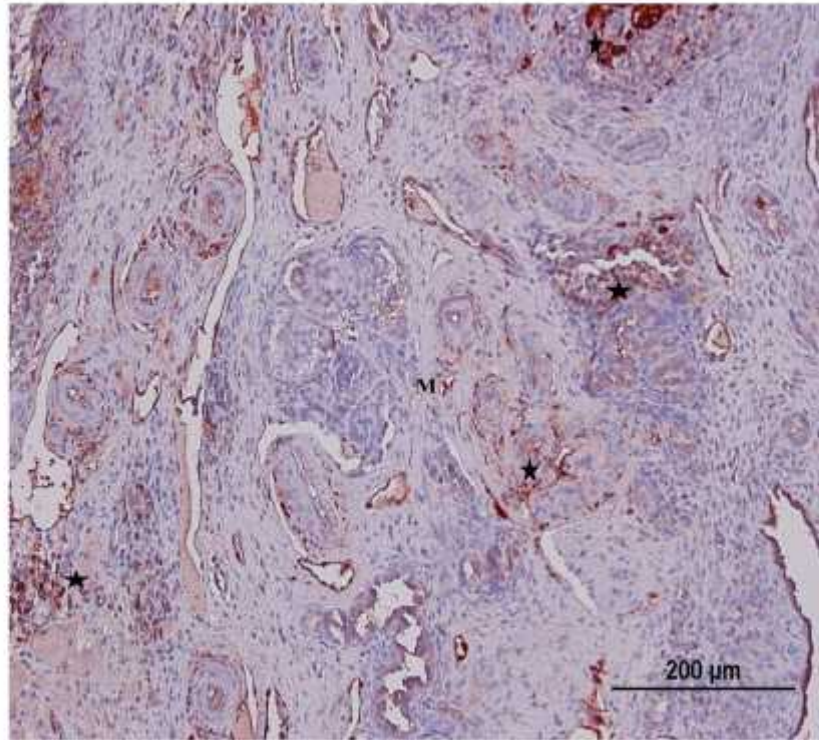
Şekil 15. Kontrol grubu sekonder folikülde Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Primer oosit; (PO), zona pellucida; (ZP), granuloza hücreleri; (GH), antrum; (A), teka interna; (Tİ), teka eksterna; (TE).



Şekil 16. Kontrol grubu tersiyer folikülde Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Sekonder oosit; (SO), zona pellucida; (ZP), corona radiata; (CR), cumulus oophorus; (CO), granuloza hücreleri; (GH), antrum; (A), teka interna; (Tİ), teka eksterna; (TE).



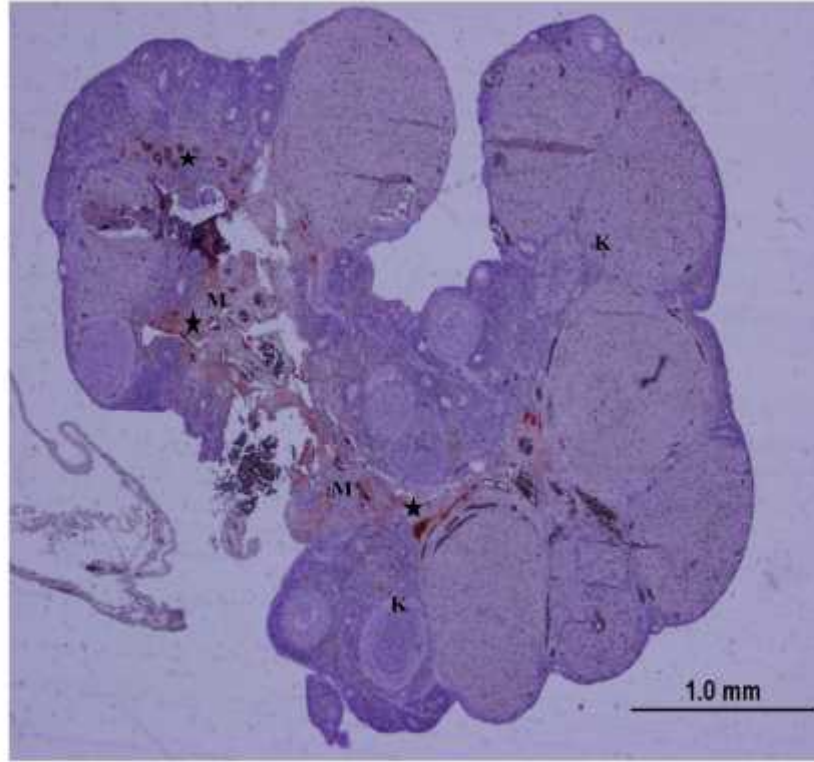
Şekil 17. Kontrol grubu corpus luteumda Gal-3 immüno lokalizasyonu (\*). Kan damarları; (KD), granuloza lutein hücreleri; (GL), teka lutein hücreleri; (TL).



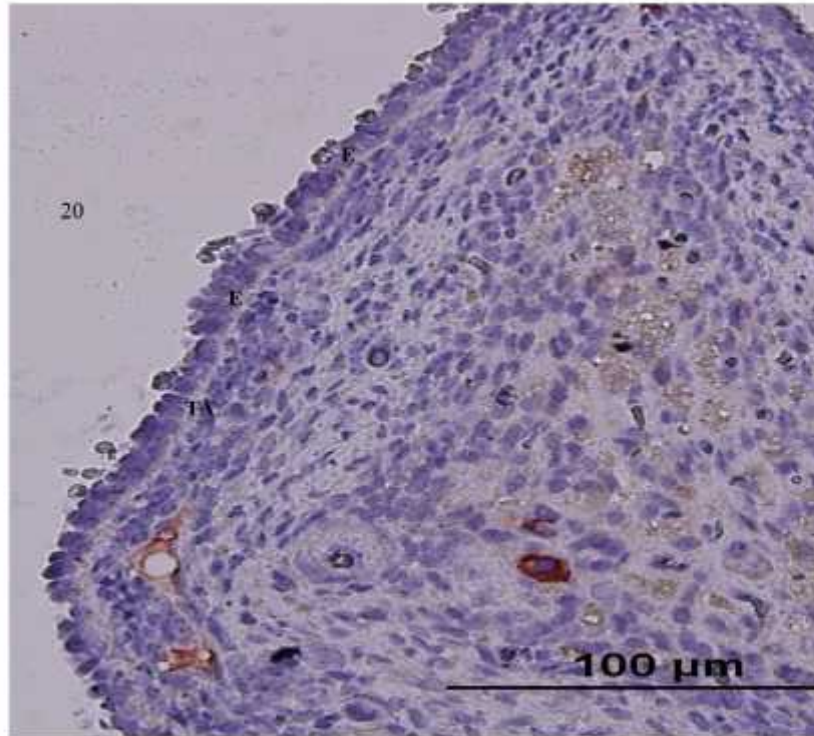
Şekil 18. Kontrol grubu medulla bölgesinde Gal-3 immüno lokalizasyonu (\*). Medulla; (M).

### 4.1.3 Deney Grubu Galektin-1 Bulguları

Genel olarak ovaryum dokusuna bakıldı ında Gal-1 immünolokalizasyonu medulla, kan damarları çevresi ve fibroblast benzeri ba doku hücrelerinde yo un izlendi ( ekil 19-26). Korteks, kübik-prizmatik germinal epitel, tunika albuginea ve bazal membranda Gal-1 ekspresyonu izlenmedi ( ekil 20). Ovaryum dokusunun foliküllerine bakıldı ında primordiyal folikülde; primordiyal folikül hücreleri ve primer oositte Gal-1 immünolokalizasyonu görülmedi ( ekil 21). Primer folikülde; primer oosit, teka interna ve teka eksterna tabakalarında Gal-1 ekspresyonu izlenmedi. Primer folikül hücrelerinde Gal-1 lokalizasyonu zayıf, zona pellucida da ise Gal-1 ekspresyonu yo un izlendi ( ekil 22). Sekonder folikülde; primer oosit ve teka tabakalarında Gal-1 ekspresyonu görülmedi. Granüloza hücrelerinin sitoplazmalarında Gal-1 ekspresyonu zayıf izlendi. Zona pellucida ve antrumdaki Gal-1 immünolokalizasyonu çok yo un izlendi ( ekil 23). Tersiyer folikülde; sekonder oosit, zona pellucida, corona radiata, cumulus oophorus, teka interna, teka eksterna ve granüloza hücrelerinde Gal-1 ekspresyonu izlenmedi. Antrumda Gal-1 yo un ekspresyonu izlendi ( ekil 24). Corpus luteumda; teka lutein hücreleri ve granüloza lutein hücrelerinin sitoplazmalarında Gal-1 immünolokalizasyonu zayıf görüldü. Kan damarlarında Gal-1 lokalizasyonu bu kısımlara oranla daha yo un görüldü ( ekil 25). Medullada Gal-1'in kan damarları çevresinde iddetli eksprese oldu u görülürken fibroblast benzeri ba doku hücrelerinde zayıf eksprese oldu u görüldü ( ekil 26).

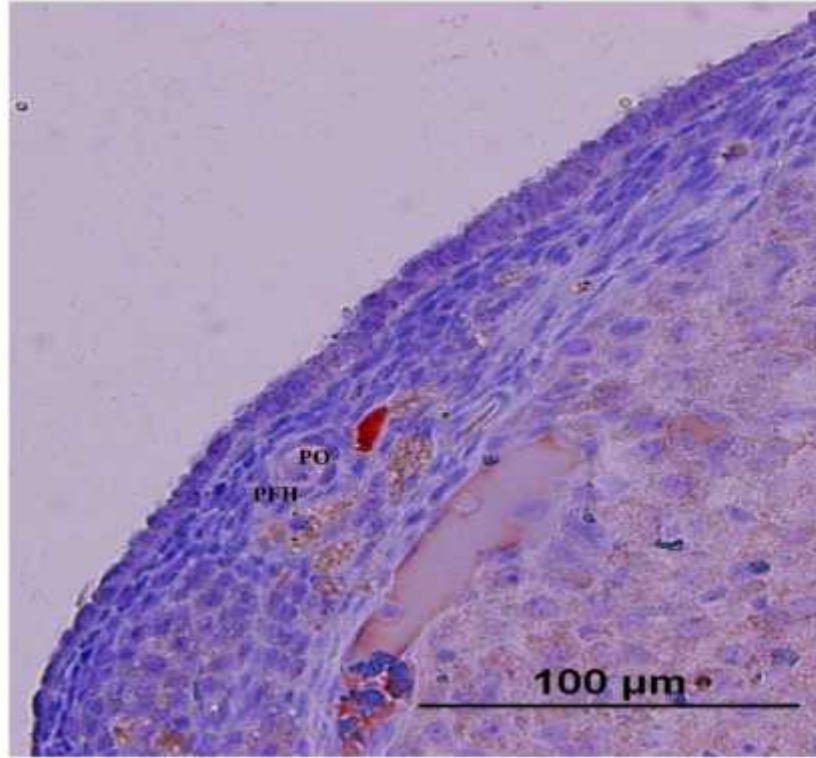


Şekil 19. Deney grubu ovarium genel görüntüsünde Gal-1 immünolokalizasyonu (\*). Medulla; (M), korteks; (K).

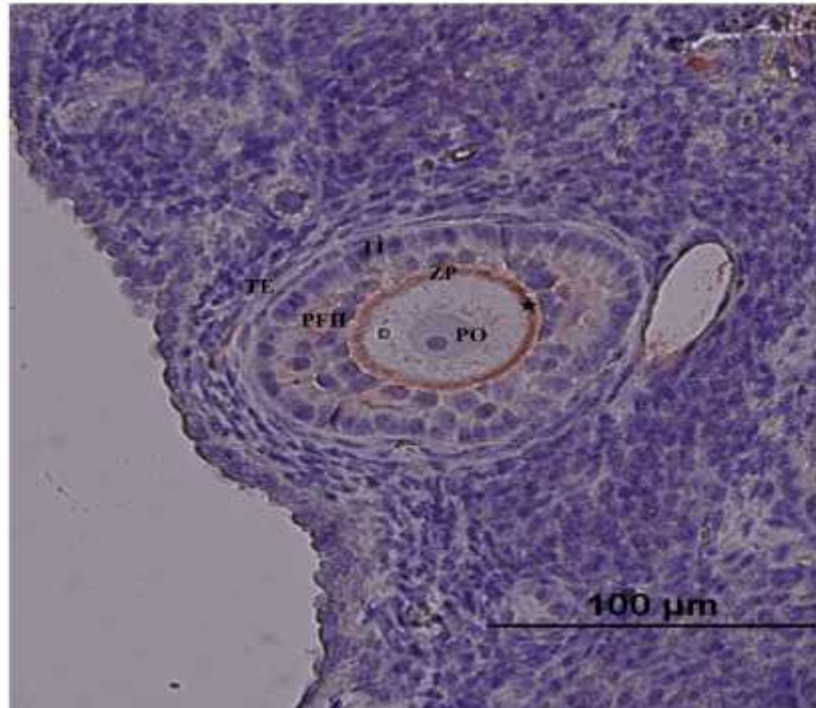


Şekil 20. Deney grubunda epitel tabakasında Gal-1 negatif immünolokalizasyonu. Epitel hücreleri; ( E ), tunika albuginea; ( TA ).

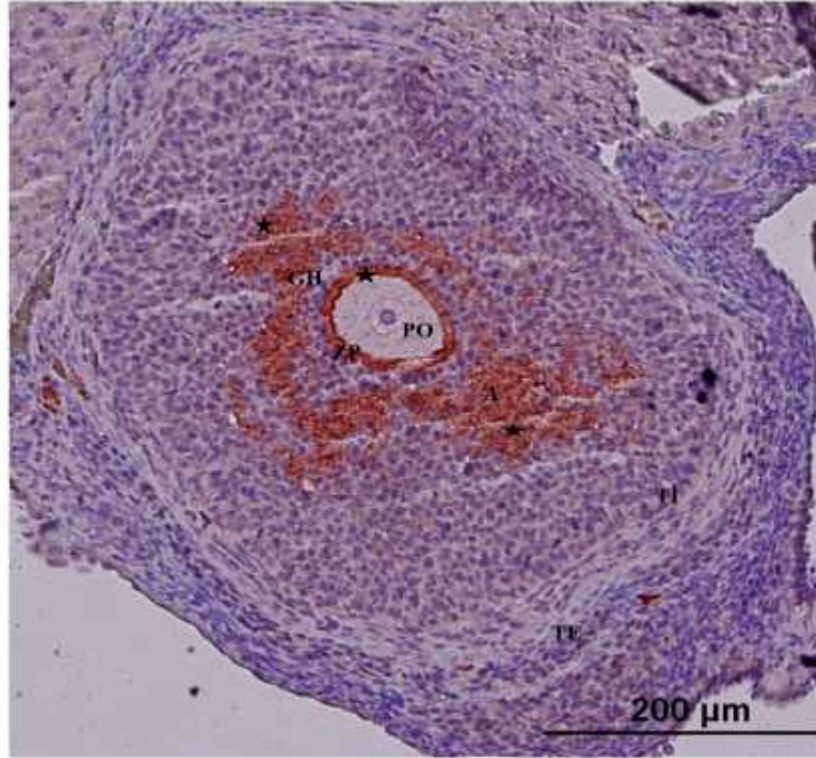




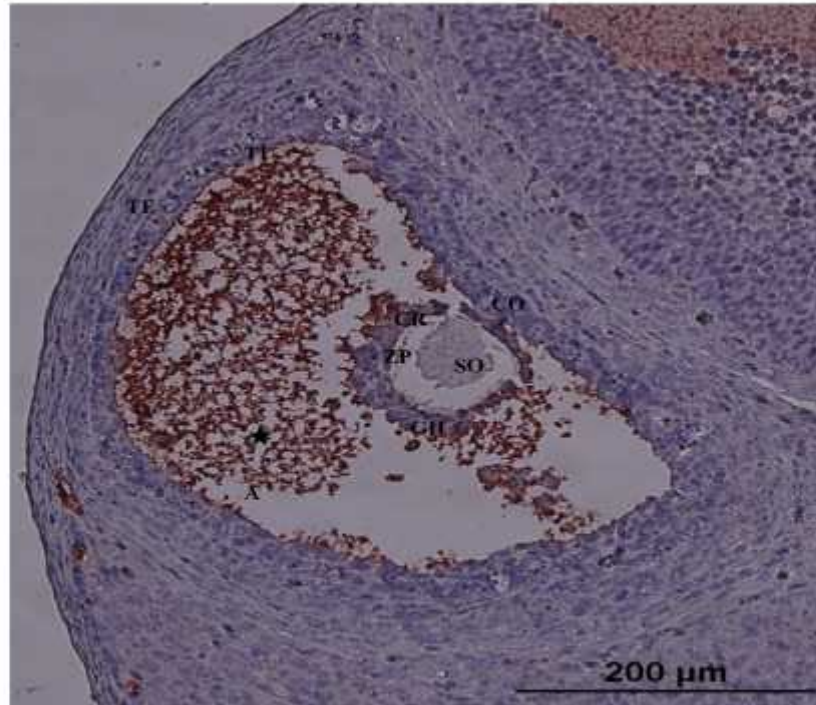
Şekil 21. Deney grubu primordiyal folikülde Gal-1 negatif immünolokalizasyonu. Primer oosit; ( PO ), primordiyal folikül hücreleri; ( PFH ).



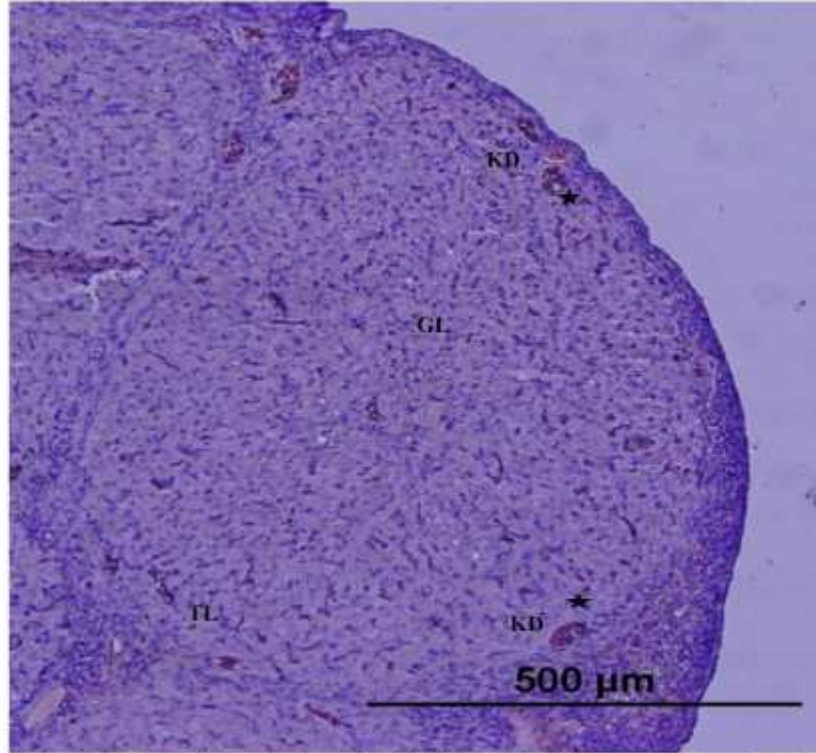
Şekil 22. Deney grubu primer folikülde Gal-1 immünolokalizasyonu (\*). Primer oosit; (PO), zona pellucida; ( ZP ), primer folikül hücreleri; ( PFH ), teka interna; ( TI ), teka eksterna; (TE ).



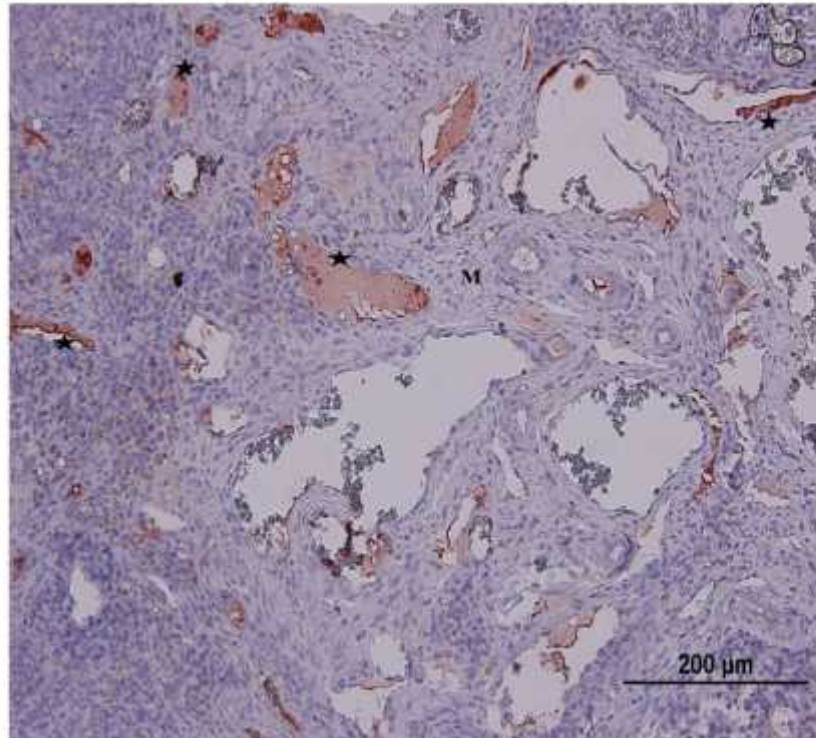
Şekil 23. Dency grubu sekonder folikülde Gal-1 immünolokalizasyonu (\*). Primer oosit; (PO), zona pellucida; (ZP), granuloza hücreleri; (GH), antrum; (A), teka interna; (TI), teka eksterna; (TE).



Şekil 24. Dency grubu tersiyer folikülde Gal-1 immünolokalizasyonu (\*). Sekonder oosit; (SO), zona pellucida; (ZP), corona radiata; (CR), cumulus oophorus; (CO), granuloza hücreleri; (GH), antrum; (A), teka interna; (TI), teka eksterna; (TE).



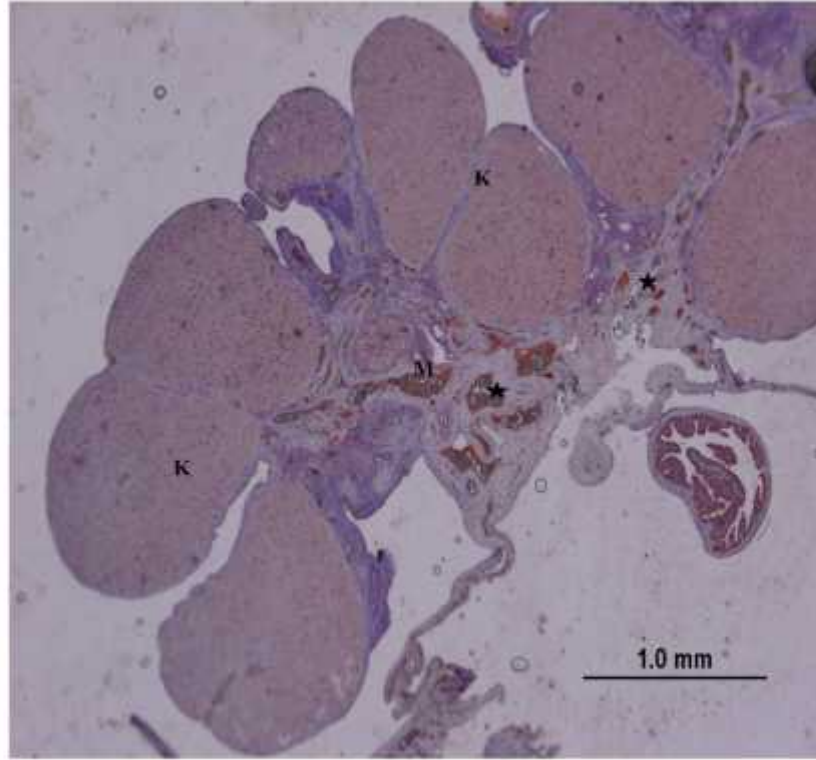
Şekil 25. Deney grubu corpus luteumda Gal-1 immüno lokalizasyonu (\*). Kan damarları; (KD), granuloza lutein hücreleri; (GL), teka lutein hücreleri; (TL).



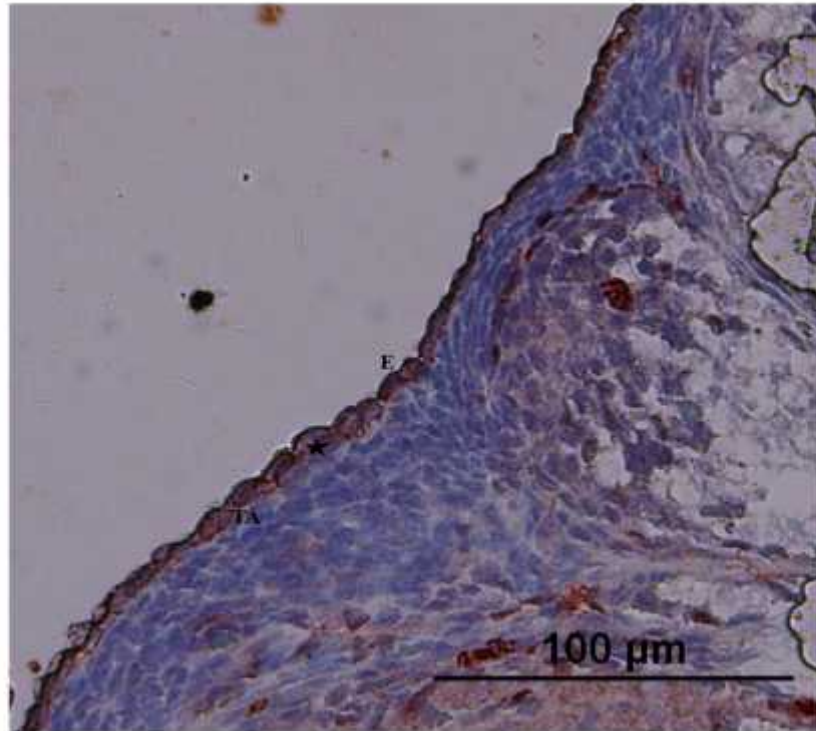
Şekil 26. Deney grubu medulla bölgesinde Gal-1 immüno lokalizasyonu (\*). Medulla; (M).

#### 4.1.4 Deney Grubu Galektin-3 Bulguları

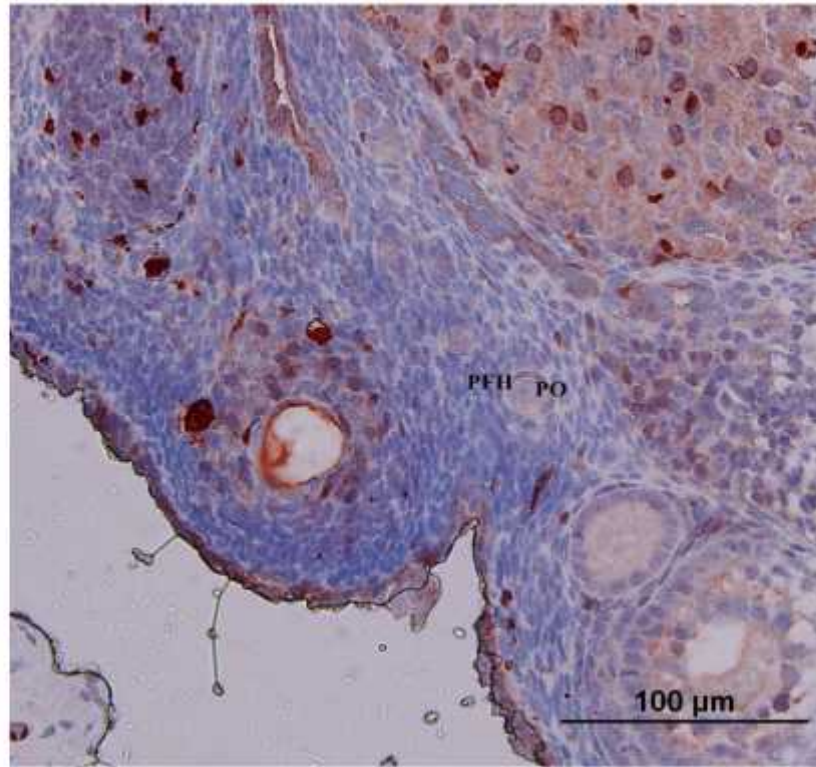
Ovaryum dokusuna genel olarak bakıldı ında; korteks, medulla, kan damarları çevresi ve ba dokusunda iddetli Gal-3 ekspresyonu görüldü ( ekil 27-34). Kübik-prizmatik germinal epitel, bazal membran ve tunika albugineada Gal-3 ekspresyonu oldukça yo un görüldü ( ekil 28). Ovaryum dokusunun foliküllerine bakıldı ında, primordiyal folikülde; primer oosit ve primordiyal folikül hücrelerinde Gal-3 ekspresyonu izlenmedi ( ekil 29). Primer folikülde; primer oosit, primer folikül hücreleri ve teka tabakasında Gal-3 ekspresyonu görülmedi. Zona pellucida da Gal-3'ün lokalizasyonu yo un görüldü ( ekil 30). Sekonder folikülde; primer oositte Gal-3 lokalizasyonu görülmedi. Zona pellucida ve antrumda yo un, granüloza hücrelerinin ve teka tabakası hücrelerinin sitoplazmalarında Gal-3 ekspresyonu zayıf görüldü ( ekil 31). Tersiyer folikülde; sekonder oosit ve teka eksternada Gal-3 immünolokalizasyonu izlenmedi. Cumulus oophorus, corona radiata granüloza hücrelerinin sitoplazmaları ve teka interna Gal-3 lokalizasyonu zayıf izlendi. Zona pellucida ve antrumda Gal-3 ekspresyonu yo un izlendi ( ekil 32). Corpus luteumda; teka lutein hücreleri ve granüloza lutein hücrelerinde Gal-3 immünolokalizasyonu yo un ve kan damarlarında ise daha yo un izlendi ( ekil 33). Medullada Gal-3 immünolokalizasyonu çok yo un izlenirken fibroblast benzeri ba doku hücrelerinde yo un izlendi ( ekil 34).



Şekil 27. Deney grubu ovaryum genel görüntüsünde Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Medulla; ( M ), korteks; ( K ).



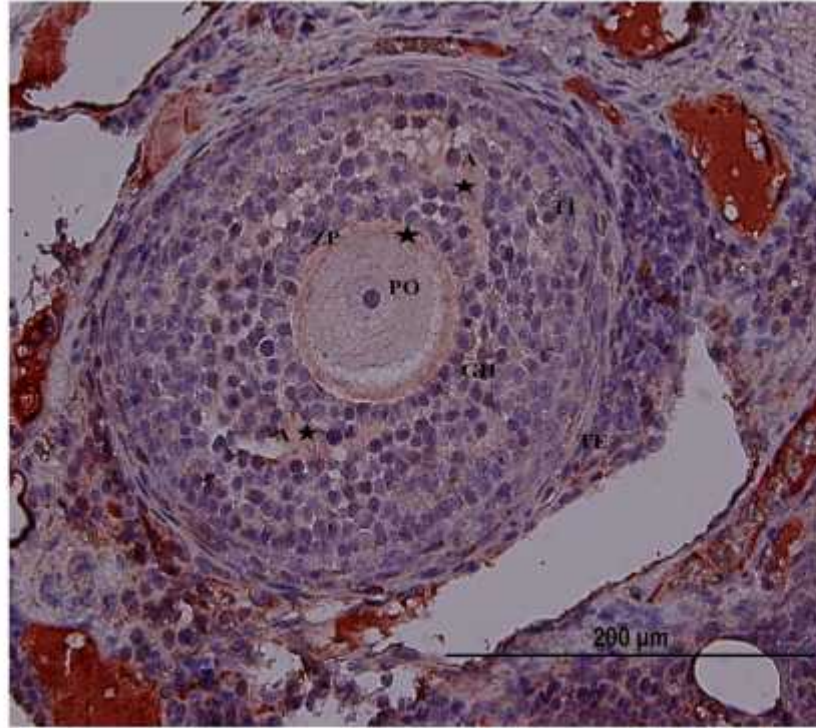
Şekil 28. Deney grubunda epitel tabakasında Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Epitel hücreleri; ( E ), tunika albuginea; ( TA ).



Şekil 29. Deney grubu primordiyal folikülde Gal-3 negatif immünolokalizasyonu. Primer oosit; ( PO ), primordiyal folikül hücreleri; ( PFH ).



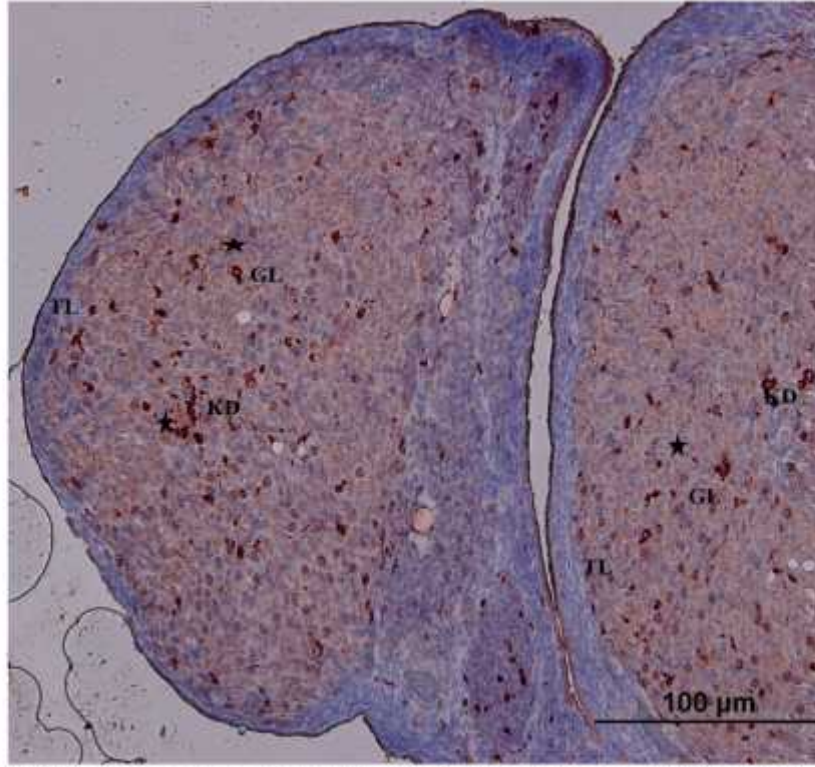
Şekil 30. Deney grubu primer folikülde Gal-3 immünolokalizasyonu (\*).Primer oosit;(PO),zona pellucida; ( ZP ), primer folikül hücreleri; ( PFH ), teka interna; ( TI ), teka eksterna; ( TE ).



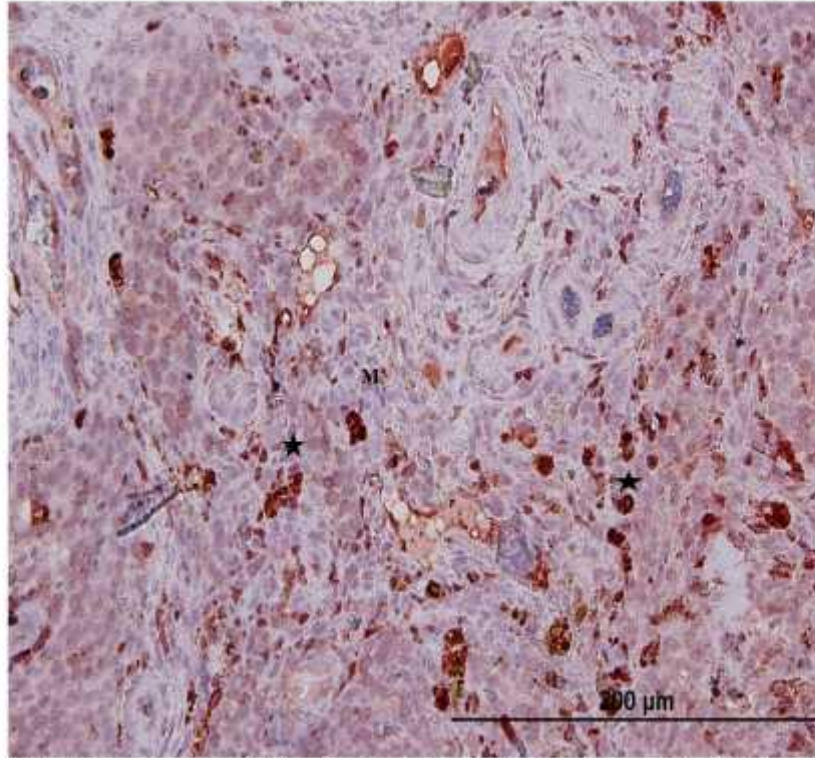
Şekil 31. Deney grubu sekonder folikülde Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Primer oosit; (PO), zona pellucida; (ZP), granuloza hücreleri; (GH), antrum; (A), teka interna; (TI), teka eksterna; (TE).



Şekil 32. Deney grubu tersiyer folikülde Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Sekonder oosit; (SO), zona pellucida; (ZP), corona radiata; (CR), cumulus oophorus; (CO), granuloza hücreleri; (GH), antrum; (A), teka interna; (TI), teka eksterna; (TE).



Şekil 33. Deneş grubu corpus luteumda Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Kan damarları; (KD), granuloza lutein hücreleri; (GL), teka lutein hücreleri; (TL).



Şekil 34. Deneş grubu medulla bölgesinde Gal-3 immünolokalizasyonu (\*). Medulla; (M).



**Tablo 1: Kontrol grubunda galektin-1 ve galektin-3 ekspresyonları**

<b>Kontrol Grubu</b>	<b>Galektin-1</b>	<b>Galektin-3</b>
<b>Epitel</b>	+	++
Tunika Albuginea	++	++
<b>Korteks</b>	+	++
Korteks Kan Damarı	+++	+++
<b>Medulla</b>	++	+++
Fibroblast Benzeri Hücre	+	+
Medulla Kan Damarı	+++	+++
<b>Primordiyal Folikül</b>		
Primordiyal Folikül Hücreleri	-	-
Primer Oosit	-	-
<b>Primer Folikül</b>		
Primer Folikül Hücreleri	+	+
Primer Oosit	-	-
Zona Pellucida	++	-
Teka nterna	-	+
Teka Eksterna	-	+
<b>Sekonder Folikül</b>		
Primer Oosit	-	-
Zona Pellucida	+++	+
Granüloza Hücresi	+	+
Antrum	+++	+
Teka nterna	-	+
Teka Eksterna	-	+
<b>Tersiyer Folikül</b>		
Sekonder Oosit	-	-
Zona Pellucida	+	++
Granüloza Hücreleri	+	+
Antrum	+++	+++
Corona Radiata	+	-
Cumulus Oophorus	+	-
Teka nterna	-	++
Teka Eksterna	-	-
<b>Corpus Luteum</b>		
Corpus Luteum Kan Damarı	++	+++
Teka Lutein Hücresi	+	+
Granüloza Lutein Hücresi	+	+

**Tablo 2. Diyabetli deney grubunda galektin-1 ve galektin-3 ekspresyonları**

<b>Deney Grubu</b>	<b>Galektin-1</b>	<b>Galektin-3</b>
<b>Epitel</b>	-	+++
Tunika Albuginea	-	+++
<b>Korteks</b>	-	+++
Korteks Kan Damarı	-	+++
<b>Medulla</b>	++	+++
Fibroblast Benzeri Hücre	+	++
Medulla Kan Damarı	+++	+++
<b>Primordiyal Folikül</b>		
Primordiyal Folikül Hücreleri	-	-
Primer Oosit	-	-
<b>Primer Folikül</b>		
Primer Folikül Hücreleri	+	-
Primer Oosit	-	-
Zona Pellucida	++	++
Teka nterna	-	-
Teka Eksterna	-	-
<b>Sekonder Folikül</b>		
Primer Oosit	-	-
Zona Pellucida	+++	++
Granüloza Hücresi	+	+
Antrum	+++	++
Teka nterna	-	+
Teka Eksterna	-	+
<b>Tersiyer Folikül</b>		
Sekonder Oosit	-	-
Zona Pellucida	-	+++
Granüloza Hücresi	-	+
Antrum	+++	+++
Corona Radiata	-	+
Cumulus Oophorus	-	+
Teka nterna	-	+
Teka Eksterna	-	-
<b>Corpus Luteum</b>		
Corpus Luteum Kan Damarı	++	+++
Teka Lutein Hücresi	+	++
Granüloza Lutein Hücresi	+	++

## 5. TARTI MA

Ovaryumlar, di ide gametlerin üretilmesi (gametogenesis) ile steroid yapıdaki hormonların sentezlenip salgılanması görevini üstlenirler (6). Memelilerde üreme fonksiyonunun meydana gelmesinde vazgeçilmez de ere sahip olan ovaryumlardaki foliküllerin geli mesi, bir taraftan dölllenme yetene i olan ovumu üretirken di er taraftan da üreme sisteminin belli bölgelerinde e zamanlı de i im ve geli imlerini sa lar (48).

Diabetes mellitus (DM), pankreasın insülin sekresyonunun yetersizli i ve/veya dokuların insüline yanıtının bozulmasıyla meydana gelen, protein, ya ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen metabolik bir hastalıktır (50). Ba ka bir deyi le, diabetes mellitus, insülin sekresyonunda veya insülinin etkisinde ya da her ikisindeki defektler sonucunda karbonhidrat, ya ve protein metabolizmasında meydana gelen hasarlar ile karakterize olan heterojen bir grup metabolizma bozuklu unu kapsayan bir hastalıktır. Hastalı ın ortak sonucu olan kan ekeri yüksekli i (hiperglisemi) kontrol altında tutulamazsa zaman içinde diyabetin kronik komplikasyonları olarak kabul edilen retinopati, nefropati, periferik ve otonom nöropati gibi mikrovasküler düzeydeki problemlerden kaynaklanan sorunlara neden olabilir. Eski çalı malarda diyabetik hastalarda nefropati insidansının oldukça fazla oldu u bilinmektedir. Bu sebepten DM, hastaların ya am kalitesini dü ürdü ü gibi ya am süresini de azaltabilir (51).

Deneysel hayvan çalı malarında insandakine benzer diyabet olu turmak için kullanılan N-nitroso türevi D-glukozamin yapısındaki STZ, oksidan maddeler olu turarak Langerhans adacıklarında seçici olarak tahrip olu turmakta ve uygun olmayan nitrik oksit cevapları vererek diyabeti meydana getirdi i dü ünülmektedir (52). DM'lu insanlarda oldu u gibi, STZ-diyabetik sıçanlarda da gözler, böbrekler, ovaryum, kan damarları ve sinir sisteminde hasarlar meydana gelmektedir (53). Çe itli hastalıkların patogenezinin anla ılması, hastalıktan korunma ve tedavi olanaklarının ara tırılabilmesi için deneysel hayvan modelleri yaygın olarak kullanılmaktadır (54). Deney hayvanlarında deneysel diyabet olu turmak için kimyasal ajanlar, spontan olarak veya virüs aracılı ı ile yapılabilmektedir. Streptozotosin (STZ) ile alloksan bu amaçla kullanılan kimyasal ajanlardır (55). Kimyasallarla, beta hücre yıkımı ile insanlardaki tip I diyabet'e benzer ekilde diyabet olu tururlar. Streptozotosin (STZ), Langerhans adacıklarının  $\beta$  hücrelerine özgü toksik etki gösteren bir maddedir (50). Fare, sıçan, tav an, kobay, hamster, maymun, domuz, köpek ve kedi gibi birçok deney hayvanı

deneysel diyabet olu turmak amacıyla kullanılabilmektedir (56). Bizim çalı mamızda, hayvanlarda deneysel diyabet olu turulduktan sonra incelenmek üzere ovaryum dokuları çıkarıldı. Sonrasında ovaryum dokularında Gal-1 ve Gal-3 lokalizasyonu çalı ıldı.

Galektinler; glikonjugatların -galaktozitlerini tanıyan, hücre büyümesi, farklılaşması, apoptoz ve sinyal iletimi gibi birçok biyolojik faktörü içeren bir hayvan lektinidir. Gal-1 interstisyel bezler ve teka interna tabakası da dahil olmak üzere ovaryum stromasında ve yovun bir ekilde corpus luteumda eksprese olmaktadır. Gal-3'te Gal-1 gibi corpus luteumda lokalizedir. Fare ovaryumunda Gal-1 ve Gal-3 eksprese olmaktadır ve ayrıca Gal-1 ve Gal-3 luteal hücrelerde farklı mekanizmalar aracılığıyla progesteron üretimi ve metabolizmasına aracılık etmektedirler (57). Lektinler olarak adlandırılan karbonhidrat bağlayıcı proteinlerin büyük bir bölümünü hayvanlar ve bitkiler içerir. Lektinler; spesifik olarak bağlanabilir veya çapraz karbonhidrat bağlayıcı proteinlerdir. Tüm üyeleri çözülebilir, laktoz bağlayabilir ve sakkaritlerle ilişkilidirler (58). Çeşitli tümörlerin karsinogenez ve progresyonunda önemli rolü olan galektinler, ekstrasellüler matriks molekülleri ile etkileşim göstererek apoptoz, hücre transformasyonu, hücre göçü ve hücre büyümesinde görev alırlar. Lektinler, spesifik oligosakkaritleri tanıyıp onlara bağlanabilen glikoproteinlerdir. C ve P tipi olmak üzere iki çeşit lektin grubu vardır. Galektinler P tipidir ve C tipi lektinlerin aksine, karbonhidratlara bağlanmak için kalsiyuma ihtiyaç duymazlar (59). Galektinler, küçük moleküllü olan, fonksiyonları için kalsiyuma gerek duymayan, hücre büyümesi, aktivasyonu, hücre-hücre ve hücre ekstrasellüler matriks (ECM) etkileşimlerinde görev alan, karsinoembriyjenik antijene ve laminine bağlanabilen bir protein ailesidir (60). Galektinler, hücre yüzeyinde ve ekstrasellüler matrikste olduğu gibi, sitoplazma ve nukleusta da yer alabilir (59). Galektin ailesi üyelerinin hücre çoğalmasını kontrol etmekle birlikte, hücre döngüsünü düzenlemede ve apoptozu inhibe ederek ya da uyararak selüler "homeostaz"a katkı sağladığı bilinmektedir (61).

Oositlerin rejenerasyonunun olmadığı kabul edilir ancak, ilk defa 2004 yılında, Johnson ve ark. (62) tarafından yürütülen çalımlar ile ovaryumda kök hücrelerin varlığından söz edilmiştir. Çalımlarında, kök hücre kaynağı olarak germinal epitel düğünümlü tüp ve mitotik aktivasyon sonrasında primordiyal folikül sayısında artış gözlenmiştir. Buna karşın Tan ve Fleming (63), yüzey epitelinden ovulasyon alanına kadar olan alanda proliferasyonu hücreye ait nükleer antijenin zayıf immün reaktivite gösterdiğini bildirmiştir. Ovaryumda genellikle primordiyal folikül sayısını artıran kök hücrelerin hematopoetik kaynaklı olduğu

hatta, kemik ili i transplantasyonu sonrasında spontan gebeliklerin gözlenmesinin, kemik ili inden ovaryuma ta iman kök hücreler ile meydana gelebilece i kabul edilmektedir (64). Deney hayvanlarında ve kültür ortamlarında elde edilen bu sonuçlar henüz tam bir netlik ta imamaktadır. Bu yüzden hem ovaryumu de erlendirme kriterleri hem de oosit sto unu koruyucu yöntemlerin geli tirilebilmesi için daha pek çok deneysel çalı malara ihtiyaç duyulmaktadır. Oosit ile granüloza hücreleri arasındaki ba lantılar bu iki tip hücrenin geli ip farklıla ması, oositin olgunla ması ve folikül büyümesinin ilerlemesi açısından hayati öneme sahiptir. Sıkı ba lantı yapısındaki kompleksler, temel olarak konneksin proteini içermektedir ve konneksin 43 eksikli i bulunan farelerde folikül geli imi erken preantral a amadan daha ileriye gitmezken (65), oosit ile kumulus hücreleri arasında yer alan konneksin 37 eksikli i ovulasyonun meydana gelmemesine sebep olmaktadır (66).

Dong Hoon ve arkadaş larının ilk immünohistokimyasal raporunda; östrus siklusu boyunca diyabetli fare ovaryumlarında hücre yüzey reseptörü olan gangliositlerin de i en ekspresyonu, erken embriyonik geli im döneminde GM3 gangliosit ekspresyonu ve oosit fertilizasyonunda yüksek glikoz konsantrasyonlarının etkilerini açıklamı lardır. GM3'ün, basit karbonhidrat yapısına sahip, hücre farklıla ması indüksiyonu, hücre ço alması modülasyonu, sinyal transdüksiyon ve fibroblast morfolojisi onarımına katıldı ı bilinmektedir. Elde edilen sonuçlarda diyabetli sıçanlarda foliküler geli im boyunca, ovaryum olgunla ması sırasında GM3 ekspresyonunun azaldı ı gösterilmi tir. Diyabetli sıçan ovaryumlarında GM3'ün, diyabetli olmayan sıçanların aksine, primer ve sekonder foliküllerin dokular arası ve teka hücrelerinde az yo unlukta eksprese oldu u belirlenmi tir. Diyabetli olmayan ovaryumların primer ve sekonder foliküllerinde, granüloza hücrelerinde GM3 eksprese olmamı tır fakat diyabetli ovaryumda sekonder foliküllerin granüloza hücrelerinde eksprese oldu u görülmü tür. Bizim çalı mamızda, kontrol ve deney grubunda sekonder foliküllerin granüloza hücrelerinde gal-1 ve gal-3 zayıf eksprese olmu tur. Kontrol grubunda tersiyer foliküllerin granüloza hücrelerinde Gal-1 ve Gal-3 zayıf eksprese olmu tur. Deney grubunda gal-1 ve gal-3 sekonder foliküllerin granüloza hücrelerinde zayıf eksprese olmu tur. Deney grubunda tersiyer foliküllerin granüloza hücrelerinde Gal-1 lokalize olmazken Gal-3 zayıf lokalize olmu tur. GM3 diyabetli ovaryumda Graff foliküllerin ve ayrıca oositlerin sitoplazmalarında eksprese olmu tur. Ayrıca diyabetli sıçan ovaryumların granüloza hücreleri ve cumulus oophorus hücrelerinde, diyabetli olmayan sıçan ovaryumları ile kar ıla tırıldı ında ekspresyonun zayıf oldu u söylenmi tir. Primer foliküllerin granüloza hücrelerinde GM3'ün mevcut olabilece i

olasıdır, fakat immünohistokimyasal olarak saptanamaz. Bu durumda ise; foliküler gelişim esnasında GM3 ekspresyonunda immünohistokimyasal olarak belirgin bir değişiklik oldu undan u hipotezi desteklemi lerdir: bu gangliosit (GM3) ovulasyon ve foliküler büyümede önemli rol oynar (67). Çünkü ovulasyon birçok hormon tarafından düzenlenir, örne in FSH, LH, prolaktin ve östrojen gibi (68), hormonal stimülasyonu GM3 ekspresyonu etkileyebilir. Ba ka çalı malarda göstermi tir ki, FSH ve insülin beraber olgunla mamı granüloza hücreleri aracılı ıyla GM3 ekspresyonunu artırır lar (69) fakat FSH tek ba ma fazla etkili de ildir. Bu fikirlere dayanarak, foliküler gelişim esnasında GM3 ekspresyonunu içeren mekanizmanın karı ık oldu u söylenebilir (67). Diyabetli farelerde elde edilen sonuçlar, gelişmesi sırasında ortamın yüksek glikoz düzeyinin GM3 ekspresyonunu etkileyebilece ini desteklemektedir. Çalı mamızda diyabetli sıçan ovaryum dokusuna bakıldı nda, epitel, tunika albuginea ve kortekste Gal-1'in eksprese olmadı ı görülmü tür. Gal-1 lokalizasyonu, primordiyal, primer ve sekonder foliküllerin primer oositlerinde, primer ve sekonder foliküllerin teka tabakalarında izlenmemi tir. Primer folikülün zona pellucidasında yo un eksprese olan Gal-1 sekonder folikülün zona pelucidasında daha yo un eksprese olmu tur. Sekonder folikülün antrumunda da Gal-1 iddetli ekspresyon göstermi tir. Gal-1 ekspresyonu tersiyer foliküllerde ise sekonder oosit, zona pellucida, granüloza hücresi, corona radiata, cumulus oophorus ve teka tabakalarında negatif, antrumda ise yo un izlenmi tir. Korpus luteumda Gal-1 lokalizasyonu teka lutein ve granüloza lutein hücrelerinde zayıfken kan damarlarında kuvvetli olarak izlenmi tir. Medullada da Gal-1 ekspresyonu kuvvetli olarak izlenmi tir. Deney grubunda Gal-3 ekspresyonunun epitel, tunika albuginea ve korteks bölgelerinde yo un oldu u görülmü tür. Primordiyal, primer, sekonder foliküllerin primer oositlerinde Gal-3 lokalizasyonu negatifken primer ve sekonder folikülün zona pellucidasında lokalizasyon kuvvetli izlenmi tir. Primer folikülün teka tabakasında eksprese olmayan Gal-3 sekonder folikülün teka tabakasında eksprese olmu tur. Tersiyer folikülde ise teka internada eksprese olan Gal-3 teka eksterna da eksprese olmamı tır. Tersiyer folikülün sekonder oositinde Gal-3 eksprese olmamı tır. Corpus luteumda Gal-3 lokalizasyonu teka lutein ve granüloza lutein hücrelerinde yo un izlenirken kan damarlarında daha yo un olarak izlenmi tir. Medullada Gal-3, fibroblast benzeri ba doku hücrelerinde yo un eksprese olurken kan damarlarında daha yo un ekspresyon göstermi tir. Bu bulgulardan yola çıkarak diyabetin Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonlarını etkiledi i, Gal 1 ve 3'ün ovulasyon ve foliküler büyümede rol oynayabilece i ve Gal-1 ile Gal-3 ekspresyonu içeren mekanizmanın da karı ık

oldu u sonucuna varılabilir. Eriksson ve arkadaşlarının yaptığı oldu u yüksek glikoza maruz bırakılmış rat embriyolarında sorbitol seviyelerinin yüksek oldu unu, bu embriyolarda büyük oranda konjenital malformasyon oldu unu ve büyümenin bozulmuş oldu unu rapor etmişlerdir (70). Buradan, erken embriyonik gelişme döneminde glikoz metabolizması tarafından üretilmiş metabolitlerin zararlı olabilece i anlamı çıkmaktadır. Bizim çalışmamızda da, diyabet oluşurmuş sıçan ovariumu ile sağlıklı ovarium karşılaştırıldığında Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonlarını farklı oldu u ve bu durumun diyabet sonucu meydana gelmiş olabilece i söylenebilir. Garris ve arkadaşları tip-I diyabetin ovarium fonksiyon bozukluklarına sebep oldu unu bildirmişlerdir (71). Bitar ve arkadaşlarının 1997 yılında yaptığı bir çalışmada, STZ ile oluşturulmuş deneysel diyabetin düzensiz östrus siklusunun yanı sıra anovulasyon ve hayvanlarda seksüel matürasyon gecikmesi bulgularının; proöstrus evresinde hipotalamik norepinefrin aktivitesinde azalma yolu ile oluştu u belirtilmiştir (72). Chieri ve arkadaşları ile Colton ve arkadaşları, diyabetin ovulasyon oranını düşürdü ünü gösteren çalışmaları aynı zamanda embriyonik gelişimi geriletilmiş sebep oldu unu bildirmişlerdir (73). Bizim çalışmamızda, folikül gelişim döneminde STZ'li sıçan ovariumunda yüksek glikoz konsantrasyonunun Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonunu etkileyebilece i sonucuna varılmıştır. STZ'li ve STZ'li olmayan ovarium dokusunda özellikle medulla bölgesinde bağ dokusu ile bağ dokusu içerisinde yaygın halde bulunan kan damarları ve oositlerin zona pellucidasında Gal-1 ve Gal-3'ü yoğun olarak içermektedir. Ayrıca tersiyer folikül antrumunda çok yüksek oranda ve kuvvetli ekspresyon oldu u görülmüştür. Yaptığımız çalışmada, özellikle de tersiyer foliküllerin Gal-1 ve Gal-3'ü bol miktarda sentezlemeleri bize Gal-1 ve Gal-3'ün oosit gelişiminde önemli rolünün olabilece i fikrini vermektedir.

Maternal diyabet oosit gelişimi yeteneğini olumsuz etkiler. Özellikle, diyabetli fare oositlerinde mitokondrinin işlevsiz olduğu gösterilmiştir. Embriyoya iletilen oosit mitokondrileri maternal olabilir ve sonra fetal gelişim ve embriyogenez sırasında çoğalıp, diyabetli dişilerle üreme bozukluklarına katkıda bulunurlar. Maternal diyabet oosit kalitesini bozmaktadır. Bu süreç boyunca potansiyel aracılı tanımlamak ve keşfetmek için daha fazla çalışmaya gereklidir (74). Çalışmamızda diyabetli ovarium dokularında Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonlarının farklı ekillerde olduğu saptadık. Ovarium dokusuna genel olarak bakıldığında ise Gal-3 boyanma yoğunluğunun Gal-1 boyanma yoğunluğuna oranla daha fazla olduğu tespit ettik.

Maria ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, MMP-14 ve MMP-2'nin insan ovaryumdaki ekspresyonuna bakılmıştır. Matriks metalloproteinaz ailesi proteinleri (MMP), embriyonik gelişme, üreme, doku yenilenmesi, yara iyileşmesi, eklem iltihabı ve kanser gibi hastalıklarda normal fizyolojik süreçte hücre dışı matriks parçalanmasına katılmaktadırlar. MMP proteinlerinin diyabetle olan ilişkisi incelendiğinde, diyabetik hastalardan alınan dokularda MMP'nin ekspresyonunda önemli bir artış olduğu gösterilmiştir (75). Başka bir çalışmada ise galektin aktivasyonunda MMP'nin rolü olabileceği söylenmiştir. MMP-2 ve MMP-14 bu ailenin alt üyeleridir. Bu proteinler, ovaryum folikül oluşumu ve folikül bozukluklarında rol oynar. MMP-14 ve MMP-2 foliküllerin büyük bir kısmında ve yüzey epitelinde pozitif olarak bulunmuştur (76). Yapılan çalışmada STZ'li ovaryum dokusunda germinal epitelde lokalize olmayan Gal-1, STZ verilmeyen ovaryum dokusunda germinal epitelde düşük maddette lokalize olmuştur. Gal-3 ise hem STZ'li hemde STZ verilmeyen ovaryum dokusunun germinal epitelinde lokalize olmuştur. MMP-2 tersiyer folikülde stromal hücrelerde ve primordiyal foliküllerde ekspresyon olmuştur. Ama bu çalışmanın aksine bizim çalışmamızda deney ve kontrol grubunda primordiyal foliküllerde ne Gal-1 ne de Gal-3 lokalize olmuştur. Bu foliküllerde lokalizasyon görülmemesinin nedeni gelişimin erken dönemlerinde Gal-1 ve Gal-3'ün etkinliğinin az olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bunu da primordiyal foliküllerde zona pellucida varlığının olmaması ve gelişen foliküllerde zona pellucida da hem Gal-1 hem de Gal-3 lokalizasyon maddetinin yoğun olması desteklemektedir. İmmünohistokimyasal olarak MMP-14'de de bakıldığında çoğunlukla sitoplazmik alanlarda ve MMP-2'ye oranla daha çok hücre boyadığı görülmüştür. Çeşitli çalışmalarda da MMP-14'ün hücre büyümesinde çok önemli rolü olduğu ve foliküler gelişiminde de rol aldığı gösterilmiştir. Çarpıcı bir şekilde, MMP-2 ve MMP-14 ovaryum stroması ile foliküllerin arayüzünden daha çok foliküllerin iç yüzünde ekspresyon olmaktadır. Sonuç olarak, MMP-2 ve MMP-14 gelişen ovaryum foliküllerinde ekspresyon olduğu görülmüştür (77). Bizim çalışmamızda Gal-1 ve Gal-3 sıçan ovaryum foliküllerinde ekspresyon olmuştur.

Ovaryum folikülleri, preantral aşamadan itibaren gonadotropin bağımlı duruma gelmektedirler. Preantral folikülde granüloza hücreleri spesifik FSH reseptörleri bulundurmaktadır ve FSH sayesinde, folikül kendi mikro çevresini oluşturmak üzere az miktarda androjenleri aromatize edebilmektedir. Böylece östrojen yapımı FSH reseptör içeriği tarafından sınırlandırılmaktadır. FSH reseptörleri folikülün bağımlı büyümesi üzerine, granüloza hücreleri plazma membranında hemen meydana gelmekte ve kısa zamanda 1500



reseptör/ granuloza hücreleri konsantrasyonuna ulaşmaktadır. FSH, östrojen ile birlikte hareket ederek, granuloza hücrelerinde sinerjistik mitotik etki gösterir ve proliferasyonunu uyarmada görev alır. Bu sebepten, preaantral ve antral foliküler hücrelerinde mitotik figürlere sıklıkla rastlanmaktadır (78).

1994 yılında yapılan çalışmada (79), ovaryum dokusunda TGF- $\beta$ 'nin sitolojik yerleşimi ile hücresel düzeyleri araştırılmıştır. TGF- $\beta$  ve epidermal gelişim faktörü (EGF) benzeri polipeptidlerdir ve transforme olmamış hücrelerin tutunma-bağımsız gelişimini uyarırlar (80). TGF- $\beta$  ve ovaryum fonksiyonunun en iyi yerel modülatörleri olarak bilinen transforme edici büyüme faktörleridir. TGF- $\beta$  epidermal büyüme faktörü EGF ile yapısal benzerlik taşır. Her ikisi de geniş hücre aralığında poliferasyon ve büyümede aynı reseptöre bağlanırlar. Bunların reseptörleri ovaryum hücrelerinde tespit edilmiştir. Çalışmada TGF- $\beta$  ekspresyonunun, foliküllerin gelişmesiyle arttığı gösterildiği ve orta luteal faz sırasında lutein hücrelerinde maksimum düzeye ulaştığı bildirilmiştir. Vasir ve ark. yaptığı çalışmada ise TGF- $\beta$  ekspresyonunun diyabetli grupta azaldığı gösterilmiştir (81). Başka bir çalışmada ise (80), bu bulgulara ek olarak TGF- $\beta$  immünoboyanmasına bakıldığında gelişimi ve antruma sahip olan foliküllerde daha yoğun olduğu, foliküler kaynaklı TGF- $\beta$ 'nin foliküler gelişimin ayarlanmasında bir otokrin/parakrin durumu oluşturabileceği belirtilmiştir. Embriyonal büyüme faktörü olarak bilinen TGF- $\beta$ 'nin erişkin organizmada bulunan eklinin epidermal gelişim faktörü (EGF) olabileceği, ovaryumda EGF'nin granuloza hücrelerinin proliferasyonu ve differensiyasyonunda görev alabileceği ileri sürülmüştür. Ovaryumda teka interna hücreleri tarafından üretilip salınan TGF- $\beta$ 'nin, fenotipik değişimin oluşmasını sağladığı, ayrıca bu etkinin geri dönüşümlü olduğu vurgulanmış ve TGF- $\beta$ 'nin hem granuloza hem de teka interna hücrelerinde bulunduğu, olgun foliküler aktiviteyi yönlendirdiği belirtilmiştir (82). Bizim çalışmamızda da foliküllerin gelişmesiyle Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonlarının arttığı gösterildiği, antruma sahip olan tersiyer foliküllerin antrum kısımlarında ekspresyonun oldukça yoğun olduğu izlenmiştir. Dolayısıyla bizde Gal-1 ve Gal-3'ün foliküler gelişimin ayarlanmasında bir rolü olabileceğini düşündük.

Lektinler, glikolipidler ve glikoproteinler üzerinde belirli oligosakkaritleri tanıyan bağlayıcı proteinlerdir (82). Memeli lektinlerinin immünojenik lökosit adezyonu ve opsonizasyonuna katıldığı bilinmektedir. Bazı lektinlerin özellikle Gal-1, T hücre bağımlılık ve inflamasyonda düzenleyici olduğu son zamanlarda belirlenmiştir. Bu bilgiler Gal-1'in timositlerin ve T hücrelerinin apoptozisini tetiklediğini desteklemektedir ki bu da, bu

endojen lektinin timik tolerans ve periferik T-hücresi homeostasında bir rol oynayabileceği ve Gal-1'in otoimmün hastalıklar ve organ reddi için terapide potansiyel bir kullanıma sahip olabileceğini desteklemektedir (83). Daha da önemlisi Perona ve arkadaşlarının son zamanlarda yaptığı çalışmada baskılanmış otoimmün diyabette Gal-1'in kullanımıyla çözümlenebilir olduğunu bildirmişlerdir (74). Bu da bunu göstermiştir, tip-1 diyabetli fareler tarafından indüklenen Gal-1 artışı tip-1 diyabetin tedavisi için faydalıdır. Ayrıca bu bulgularda bunu destekler; yüksek Gal-1 ekspresyonu, anti-diyabetik etki yollarından bir tanesidir (83).

Gal-1 özellikle solid tümörlerde anjiyogenezi düzenlemede görev alarak tümör hücreleri için metastaz yayılım ve potansiyel bir kaçış yolu meydana getirmektedir. Literatürde meme, kolon, ovaryum, prostat, pankreas, kolanjiyo karsinomlar, mesane karsinomları, skuamöz hücreli karsinomlar ile Hodgkin lenfoma gibi bir çok malign neoplazmalarda Gal-1 ekspresyonunun saptandığı çalışmaları yer almaktadır. Bunun yanı sıra kolon karsinomu, prostat kanseri, gliomlar, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomlarda Gal-1'in prognostik belirleyici bir değere sahip olduğunu ileri sürülmüştür (84). Gal-1, meme karsinomlarındaki önemi de çok fazla incelenmemiş olan galektinler ailesinin bir üyesidir. Gal-1, tümör hücreleri için potansiyel bir kaçış yolu meydana getirerek metastatik yayılımı kolaylaştırarak tümör anjiyogenezi de düzenler (85). Ayrıca yapılan bazı çalışmada lenf nodundaki metastatik tümör hücrelerinde ve stromal hücrelerde Gal-1 ekspresyonu araştırılmış; aksiller lenf nodu metastazı bulunan olguların %29'unda metastatik tümör hücrelerinde, %74.2'sinde ise lenf nodundaki stromal hücrelerde daha yüksek düzeyde Gal-1 ekspresyonu belirlenmiştir. Verilerinde, küçük duktal karsinomlarda primer ve metastatik odaklarda Gal-1 ekspresyonunun daha çok stromal hücrelerde belirgin olduğunu görmektedir (86). Galektinler içerisinde stromal tip galektin olarak adlandırılan Gal-1'in (56) bizim çalışmamızda da ekspresyon yoğunluğu olarak daha çok zona pellucida, bağ dokusu ve kan damarları çevresinde ekspresyon olduğunu görmüştür.

Galektin-3 böbrek, akciğer, timus, meme, prostat, dalak ve kolonda dahil olmak üzere birtakım organlarda ekspresyon edilmektedir (87). Bu da Gal-3'ün memelilerde çeşitli hücre tipinde ekspresyon edildiğini göstermektedir. İmmünohistokimya ve Western Blot analizleri kullanılarak Gal-3'ün doku ekspresyon seviyeleri karşılaştırılmıştır. Bulgular elde edilen bulgular ile Gal-3'ün yüksek ekspresyon seviyesi ile akciğer, dalak, mide, kolon, uterus, ovaryum ve dalak olmak üzere çeşitli organlarda önemli bir rol oynayabileceği bulunmuştur.

(88). Gal-3 sı ır fetal solunum ve sindirim yolları epitel örtüsünün yanı sıra tükürük bezlerinin duktal siteminde, pankreas, böbrek, göz ve intrahepatik safra kanallarında bulunmu tur (87). Tüm bu sonuçlar dikkate alınarak Gal-3'ün incelenen tüm organlarda eksprese edildi i, her birinde kendine özgü bir rol oynadı ı gösterilmi tir. Gal-3'ün organlarda ve hücre tiplerinde i levini aydınlatmak için daha fazla çalı ma gerekmektedir (88). Galektin-3 anti-apoptotik ve proinflamatuvar bir lektindir. E.P.K Mensah ve arkadaş ları ilk defa çoklu dü ük doz streptozotosin ile diyabet olu turulmu bir fare su unun dirençli indüklenmesine sebep olan Gal-3 eksikli i oldu unu göstermi lerdir. Gal-3'lü diyabetli fareler kıyaslandı ında bu direnç insülin içeri inin yüksek tutulması ve pankreatik adacıklarda infiltrasyon eksikli i ile ili kilendirilmi tir (89). Karlson ve arkadaş larının son çalı masında (90) Gal-3'ün a ırı ekspresyonunun; interlökin 1 aracılı apoptozisten hücrelerini korudu u gösterilmi tir. Fakat IL-1 (87) ve TNF- 'nın uygun üretimi için Gal-3 gereklidir. Bu nedenle immün ve yardımcı efektör hücrelerde diabetogenesinin zayıflatılmasında Gal-3 eksikli inin etkisi sorumludur. Ayrıca Gal-3 'makrofaj aktivasyon faktörü' olarak kabul edilir. Bu bilgiler, bu diyabet modelinde (dü ük doz STZ'li diyabet modeli) kabul edilen hücre içinde Gal-3'ün hücrelerini korumada yetersiz oldu unu, Gal-3'ün, pankreatik adacıklar içerisinde otoimmün inflamatuvar yanıtta koruyucu bir faktörden ziyade pro-diyabetojenik olabilece ini ileri sürmü tür. Kanser geli imindeki rolü tam olarak bilinmemesine kar ın, neoplastik olu umlar ve metastaz ile ili kili oldu u bildirilmi tir (89). Yapılan birçok çalı mada Galektin-3'ün çok farklı fizyolojik ve patolojik olayda rol aldı nı göstermi tir (90). Örne in, metastaz yapan bazı tümör hücrelerinin özellikle akci erlere lokalize olma e iliminde yer aldıkları, lokalizasyon bölgelerindeki akci er hücrelerinin ise Galektin-3 yönünden zengin oldu u görülmü tür (91). Yine, metastatik potansiyeli arttı hücrelerin sa lıklı olanlarına göre daha fazla gal-3 sentezledikleri bildirilmi tir (92). Dahası, bu Gal-3 proteinin meme kanserleri, endometrium ve ovaryum kanserlerinde normal dokularla kar ıla tırıldı ında daha az miktarlarda yer aldı ı rapor edilmi tir (93). Kamil ve arkadaş larının yapmı oldu u çalı mada Galektin-3'ün özellikle ba doku ile bu ba dokusu içine infiltre olmu tümöral hücrelerde ve bazı duktus epitel hücrelerinde lokalize oldu u görülmü tür (89). Kanserli meme dokularındaki hücrelerin galektin-3'ü yo un olarak içerdiklerinde ekstrasellüler matriks proteinlerinden olan laminin, kollajen IV ve fibronektine ba lanma yeteneklerini kaybettikleri gözlenmi tir (94). Galektin-3 hem ekstrasellüler hem de intrasellüler olarak kar ı-reseptörlere ba lanabilir. ntrasellüler olarak nukleusta RNA'ya ve sitoplamada apoptozis düzenleyicisi

olan bcl-2'ye ba lanabilir. RNA'ya N-terminal RNA ba layıcı bölgesiyle, bcl-2'ye ise C-terminal karbonhidrat tanıyıcı bölgesiyle ba lanabilmektedir (95). Gal-3 seviyesinin birçok neoplastik hücrede yükseldi i gösterilmi tir. Kolon, tiroid ve meme kanseri gibi birçok epitelyal kökenli tümör, Gal-3 sentezlemektedir. Gal-3 seviyesinin, meme ve tiroid kanserlerinde metastatik potansiyelle ters orantılı oldu u belirtilmi tir. Meme kanserinde ise artan gradelerle birlikte gal-3 ekspresyonunun azaldı ı bildirilmi tir (96). Matarrese P. ve ark. Gal-3'ün artan ekspresyonunun mitokondrial homeostazı sa layarak hücreyi hasardan ve ölümden korudu unu bildirmi lerdir (97). Matarrese P. ve ark. çalı malarında Gal-3'ün artmı ekspresyonunun kanser hücrelerinin laminin, fibronektin, ve vitronektine yapı masını arttırdı nı ve apopitozise rezistans sa layarak ya am süresini uzattı nı bulmu lar ayrıca ekstrasellüler matrikse adezyonun artmasının tümör hücre invazyonu ve metastazla ili kili olabilece ini bildirmi lerdir (98). Yaptı ımız çalı mada Gal-3 lokalizasyonun daha çok epitelde, sitoplazmik alanlarda ve ba dokusu bölgelerinde yo un oldu unu görmekteyiz. Çalı mamızda, sıçan ovaryumundaki immün boyama yöntemlerimiz, Galektin 1 ve 3'ün kendine özgü ifadesinin oldu unu göstermi tir. Nitekim çalı malarımızın sonucunda sıçan ovaryumda ister diyabetli olsun ister diyabetli olmasın Galektin 1 ve 3 ifadesinin de i ti ini, farklı ekspresyonlara sahip olduklarını, birçok bölgesinde pozitif ve ço unlukla sitoplazmik oldu unu görmekteyiz.

Junko ve arkada ları çalı malarında baskın Galektin alttipleri olan Galektin-1 ve Galektin-3'ün gebe, gebe olmayan ve do um sonrası sıçanlarki durumlarını açı a çıkarmı lardır (56,99). Daha önce yapılan çalı malar ovaryumda Galektin-1 ve Galektin-7'nin varlı nı bildirmi tir (100). Galektin-7, galektin ailesinin bir üyesidir. Hücre göçü ile ili kili ve apopitoz düzenleyicisidir. Tümör geli iminde önemli pozitif ve negatif düzenleyici faktör olarak hareket edebilmektedir (101). Sato ve arkada ları Galektin-7'nin varlı nı immünohistokimyasal olarak fare ovaryum stromal hücrelerinde göstermesine (100) kar ın Junko ve arkada ları sadece ovaryum yüzey epitelinde Gal-7'nin sinyallerini belirlemi lerdir (99). Galektin-1 yaygın olarak ba doku, kas ve lenfoid dokularda eksprese olmaktadır (32). Çalı mamızda Galektin-1 medullada ba dokusu içerisinde eksprese olmu tur. Choe ve arkada larının geçmi te yaptı ı Northern ve Western Blot analizlerinde Gal-1'in fare ovaryum ve uterusunda eksprese oldu u rapor edilmi tir (102). Walzel ve arkada ları domuz granüloza hücrelerinin Gal-1 içerdi ini göstermesine (103) kar ın Junko ve arkada larının yapmı oldu u çalı mada kemirgen granüloza hücreleri, Gal-1 için herhangi bir sinyali algılamada

ba arısız olmu tur. Fakat bu çalı ma Gal-1 ekspresyonun ovaryum stromasında, interstisyel bezlerde, teka interna ve yüzey epitelinde tutarlı ve yaygın oldu unu aç ı a çıkarmı tır. Bizim çalı mamız Gal-1 lokalizasyonunun kontrol ve deney grubunun her ikisinde de teka tabakalarında eksprese olmadı nı, Gal-3'ün ise sekonder foliküllerin teka interna ve teka eksterna tabakalarında, tersiyer folikülünde teka interna tabakasında zayıf eksprese oldu unu ayrıca Gal-3'ün primer folikülün teka interna ve teka eksterna, tersiyer folikülün de teka eksterna tabakasında eksprese olmadı nı göstermi tir.

Gal-1'in eksprese oldu u ba ka bir yer korpus luteumdur, burada ekspresyon seviyeleri östrus döngüsü ve gebeli e ba lı olarak de i mekteydi. Di er bir taraftan derinin Galektin- 3 epitel hücrelerinde, gastrointestinal sistem ve üriner sistemde mevcut oldu u bilinmektedir (104). Bunun yanısıra immün hücrelerini de içeren makrofajlar ve mast hücrelerinde (105) mevcut oldu u bilinmektedir. Diyabetli ovaryumda Gal-3 ekspresyonu hakkında mevcut bir çalı ma yoktur. Jonko ve arkadaş larının yapmı oldu u çalı mada gebe olmayan ve postpartum ovaryumda corpus luteumda Gal-3 ekspresyonun yo un ve seçici oldu unu aç ı a çıkarmı tır. Gal-3 beraberinde eksprese olan progesteron dü ürücü enzim 20 -HSD ile karakterize olmaktadır. 20 -HSD ovaryumun metabolik enzimlerinden biridir. Çalı malarında, aktif progesteron üretimi ile korpus luteumda örne in gebelik dönemi korpus luteumda Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonu tamamen kaybolmu tur. Dahası her iki galektin alt tipi gebe olmayan ovaryumda eskiden daha yo un olmakla birlikte yeni korpus luteumlara oranla önceki östrus siklusunda gerileyen corpus luteumlarda da daha yo undu. Bu bilgiler güçlü bir ekilde desteklemektedir ki, galektinler lüteolizisle ilgilidir (2). Ayrıca Gal-1 ve Gal-3 metaöstrus evresinde diöstrus evresine kıyaslandı nda daha yo un eksprese olmu tur ve artan 20 -HSD ekspresyonu ile de yeni korpus luteum formunda yüksek seviyede eksprese olmu lardır. Korpus luteumda galektin ekspresyonları incelendi inde luteolizisin ba nda her zaman eksprese olmu tur (56). Bu bulgular Gal-1 korpus luteumda fonksiyonel gerilemenin ba latılmasında rol oynayabilir. Gal-3 çe itli hücrelerin anti-apoptotik aktivasyonunda uygulanmı tır (106) oysa Gal-1'in lenfoid dokularda T hücre aktivasyonunda ve timositlerin apoptozuna yol aç tı ı bilinmektedir (107). Korpus luteum'un yapısal gerilemesinde Gal-1 ve Gal-3'ün katılım ili kisini incelemek ve apoptotik evreleri kıyaslamak (Tunel metodu ile) için ovaryumda diöstrus evresinden seri kesitler alınarak galektin ekspresyonları incelenmi tir. Gal-1 ve Gal-3 için immünaktivite Tunel-pozitifli korpus luteumda az yo un olarak izlenmi ve yapısal gerileme evresine girmi lerdir. Bu da, korpus luteumun yapısal olarak

gerilemesinde galektinlerin do rudan bir rolü olmadı nı desteklemi lerdir (56). Ama bizim çalı mamızda, diyabetli korpus luteum ile sa lıklı korpus luteum kar ıla tırıldı nda Gal-1 ekspresyonun her ikisinde de aynı oldu u görülmü tür. Dolayısıyla diyabetin, corpus luteumda Gal-1 ekspresyonu üzerine herhangi bir etkisinin olmadı ı söylenebilir. Progesteron sentezi ve galektin ili kisine bakıldı nda; Gal-3 ve 20a-HSD senkronize ekspresyonu Gal-3'ün progesteron aktivitesinde negatif düzenleyici görev yapabildi ini kuvvetli bir ekilde destekler. Fakat progesteron aktivitesi ve Gal-3 ili kisi hakkında herhangi bir bilgiye ula ılamamı tır. Gal-1 için stereoid hormon sentezinin düzenlenmesi ile ilgili bazı çalı malar ele alınmı tır (2). Martinez ve arkada ları kültüre edilmi rat leydig hücrelerini kullanarak Gal-1 yoluyla testosteron sentezi inhibisyonunu açı a çıkarmı lardır yani steroidogeneзде leydig hücrelerinin apoptozundan Gal-1'in sorumlu oldu unu söylemi lerdir. Sonuç olarak Junku ve arkada larının yapmı oldu u çalı mada gebe, gebe olmayan ve postpartum fare ovaryumlarında Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonlarına bakılmı korpus luteumda özellikle regresyon a amasında yo un oldu u görülmü tür. Galektinlerin, luteal hücrelerde farklı mekanizmalar aracılı ı ile progesteron üretimi ve metabolizmasına aracılık edebilece ini ve korpus luteum galektinler tarafından steroid üretimin düzenlenmesinde uygun materyal olarak kullanılabilece ini belirtmi lerdir (56). Bizim çalı mamızda, kontrol grubunda germinal epitelde Gal-1 ekspresyonu zayıfken tunika albuginea da orta iddette, kortekste zayıf ama bu bölgedeki kan damarlarında yo un olarak izlenmi tir. Foliküllere bakıldı nda kontrol grubunda primordiyal foliküllerde Gal-1 lokalize olmamı tır. Primer folikülde; primer oosit ve teka tabakalarında eksprese olmayan Gal-1 primer folikül hücrelerinde zayıf, zona pellucida da ise iddetli ekspresyon göstermi tir. Sekonder folikülde ise Gal-1 ekspresyonu primer oosit ve teka tabakalarında negatif, granüloza hücrelerinde zayıf ama zona pellucida ve antrumda iddetli olarak izlenmi tir. Tersiyer folikülde sekonder oosit ve teka tabakalarında Gal-1 lokalizasyonu izlenmezken corona radiata, zona pellucida, granüloza hücreleri ve cumulus oophorusta zayıf ama antrumda bu bölgelere oranla daha yo un olarak izlenmi tir. Korpus luteumda Gal-1 ekspresyonu teka lutein ve granüloza lutein hücrelerinde zayıf ama kan damarlarında yo un olarak görülmü tür.

Deney grubunda ise Gal-1 germinal epitel, tunika albuginea, korteks ve içerisindeki kan damarlarında lokalize olmamı tır. Primordiyal folikülde de Gal-1 eksprese olmamı tır. Primer folikülde Gal-1, primer oosit ve teka tabakalarında lokalize olmazken primer folikül hücrelerinde zayıf ama zona pellucida da yo un eksprese olmu tur. Sekonder folikülde ise

primer oosit ve teka tabakalarında lokalize olmayan Gal-1 granüloza hücrelerinin sitoplazmalarında zayıf, zona pellucida ve antrumda iddetli eksprese olmu tur. Tersiyer folikülde sekonder oosit, zona pellucida, granüloza hücreleri, corona radiata, cumulus oophorus ve teka tabakalarında lokalize olmayan Gal-1 antrumda iddetli lokalizasyon göstermi tir. Korpus luetumda teka lutein ve granüloza lutein hücrelerinde zayıf eksprese olan Gal-1 kan damarlarında yo un eksprese olmu tur. Teka tabakalarına bakıldı ında; Gal-1'in hem kontrol hem de deney grubunda primer, sekonder ve tersiyer foliküllerin hiçbir teka tabakasında eksprese olmadı ı görülmü tür. Gal-3'ün ise kontrol grubunda primer ve sekonder folikülün teka tabakası ve tersiyer folikülün teka interna tabakasında eksprese oldu u, deney grubunda ise sekonder folikülün teka interna ve teka eksterna tabakasında tersiyer folikülün ise teka interna tabakasında zayıf eksprese oldu u görülmü tür. Teka hücre tabakası olu umu LH etkisi olmaksızın gerçekleşmektedir çünkü teka hücrelerine farkanacak stromal hücrelerde LH reseptörü bulunmamaktadır. Etrafını saraca ı follikülün granüloza hücreleri iki ya da daha fazla tabakalı bir hal aldıktan sonra, bu hücrelerden salınan teka differensiyasyon faktörleri (TDF), teka prekürsör hücrelerinin LH reseptörlerinin ve androjen biyosentezi için gereken steroidojenik enzimlerin (CYP11A, 3 $\beta$ -HSD ve CYP17) mRNA'larının ekspresyonunu uyarmaktadırlar. Sekonder follikülde teka hücre tabakasının olu umu, folliküler geli im için oldukça önemli bir fizyolojik olaydır (108). Gal-1'in teka tabakasında eksprese olmamasının nedeni, Gal-1'in ba lanaca ı LH reseptörleri ve TDF'yi tanımaması olabilir. Gal-3'ün teka tabakasında lokalize olmasının nedeni ise, Gal-3'ün LH reseptörleri ve TDF'yi tanınmasından kaynaklanıyor olabilece ini dü ünmekteyiz.

Çalı mamızdaki Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonlarına kar ıla tırmalı olarak baktı ımızda; Gal-1'in zona pellucidadaki ekspresyon iddetinin Gal-3'ün ekspresyon iddetine oranla daha yo un oldu unu görmekteyiz. Zona pellucida insan ve farede ZP1, ZP2 ve ZP3 olarak adlandırılan 3 protein kompleksinden olu maktadır ve bu proteinler karbonhidrat alanları tanıma özelli ine sahip proteinlerdir (109). Farklı bir deyi le oosit etrafını çevreleyen zona pellucida ZPA, ZPB, ve ZPC olmak üzere 3 proteinden meydana gelmektedir. Sperm-yumurta etkile iminde bu glikoproteinler karbonhidrat kısımları aracılı ı ile etkile im içerisine girmektedirler. Naoto ve ark. yapmı oldu u bir çalı mada domuz ve sı ır spermlerinin tanınmasında, zona glikoproteinlerinin polipeptit kısımlarının bir fonksiyonu olmadı ı ancak karbonhidrat kısımlarının önemli bir rol oynadı ı belirtilmi tir (110). Yaptı ımız çalı mada, Gal-1'in sekonder folikülde zona pellucidada boyanma iddetinin Gal-3'e oranla fazla oldu u

ama tersiyer folikülde Gal-3'ün boyanma iddeti Gal-1'e oranla daha fazla oldu u görülmektedir. Bunun nedeni, galektinlerin karbonhidrat ba layıcı proteinler olması ve Gal-1'in karbonhidrat ba lama özelli inin Gal-3'ün karbonhidrat ba lama özelli inden fazla olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ama tersiyer folikülde bu durumun ya anmaması folikül büyüdükçe Gal-1'in karbonhidrat ba lama özelli inin azalıyor olması olabilir. Yine çalı mamızda Gal-3'ün sitoplazmik alanlardaki lokalizasyon iddetinin Gal-1 lokalizasyon iddetine oranla daha fazla oldu unu izlemekteyiz. Yuichiro ve ark. yapımı oldu u bir çalı mada dil örneklerinde Gal-3 ekspresyonlarının sitoplazmik alanlarda daha yo un oldu u belirtilmi tir (111). Min Kyu ve ark. yaptıkları bir çalı mada ise tümörlü ovaryum dokularında Gal-3 lokalizasyonlarının ço unlukla sitoplazmik oldu u gösterilmi tir. Tümör ilerlemesi durmu hastalıklı grupta, Gal'ün sitoplazmik alanlardaki yo un ekspresyonu ile ili kilendirildi inde bu sitoplazmik alanlarda Galektin-3 ekspresyonunun tümörün ilerlemesi ve ilaç direnci için önemli oldu u söylenmi tir (112). Bizim çalı mamızda da Gal-3 büyüyen foliküllerde sitoplazmik alanlarda daha yo un lokalize oldu undan Gal-3 için folikül büyümesinde bir rol oynayabilece i söylenebilir.

Sonuç olarak bu çalı mada; Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonları ile diyabetli sıçan ovaryumu arasındaki ili ki ilk defa sergilenmi tir. Ancak literatürde Gal-1 ve Gal-3'ün diyabetli sıçan ovaryumunda ekspresyonunu inceleyen çalı ma bulunamadı ndan elde etti imiz sonuçları bu açıdan kar ıla tırmak mümkün olmamı tır. Bizim çalı mamızda ovaryum dokularından alınan doku örneklerinden immünohistokimyasal boyamalarla Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonu kar ıla tırılarak de erlendirilmi tir. ki ekspresyon arası anlamlı fark bulunmu tur. Bu çalı manın sonuçları sıçan ovaryal dokusunda diyabetin de etkisi ile Gal-1 ve Gal-3 proteinlerinin farklı immüno yerle imini, bu dokudaki yaygın varlıklarını ve sıçan ovaryal fonksiyonunda önemli rollerinin oldu unu destekler niteliktedir. Diyabetli sıçan ve diyabetli olmayan sıçan ovaryumunda Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonlarının rolünü açıklamak için daha fazla çalı maya ihtiyaç vardır. Her ne kadar bizim bu çalı mamızda Galektin-1 ve Galektin-3 antikollarının ba lantı yerleri gösterildi ise de fakat daha önce yapılan ık mikroskop düzeyindeki çalı malarda bazı ba lantı yerlerinin tespit solüsyonundan veya parafinleme i lemlerinden olumsuz yönde etkilenebildi i dolayısıyla gösterilememi bazı Galektin-1 ve Galektin-3'lerin de kalmı olabilece i göz ardı edilmemelidir. Bundan dolayı, elektron mikroskop düzeyinde yapılacak çalı maların Galektin-1 ile Galektin-3'ün ovaryum dokusundaki rollerinin açıklanmasına ayrı bir anlam kataca ı muhakkaktır.



## 6. SONUÇ ve ÖNER LER

- ✓ Diyabetin galectin-1 ve galectin-3 ekspresyonlarını etkiledi i
- ✓ Diyabetin gal-1 ve gal-3 lokalizasyonlarını artırdı ı
- ✓ Gal-1 ve gal-3 ekspresyonlarının birbirlerinden farklı oldu u
- ✓ Gal-1 ve gal-3'ün ovulasyon ve foliküler büyümede rol oynayabilece i
- ✓ Tersiyer foliküllerin gal-1 ve gal-3'ü bol miktarda sentezlemeleri oosit geli iminde önemli rollerinin olabilece i
- ✓ Genel olarak gal-3 boyanma iddetinin gal-1'e oranla daha yo un oldu u
- ✓ Hiçbir grupta primordiyal foliküllerde lokalize olmamasından yola çıkarak gal-1 ve gal-3'ün geli imin erken dönemlerinde etkinli inin az oldu u
- ✓ Foliküllere bakıldı ında primordiyal folikül hariç di er foliküllerin çe itli kısımlarında galectinlerin eksprese olmaları foliküler geli imin ayarlanmasında etkili olabilece i
- ✓ Gal-1'in daha çok zona pellucida, gal-3'ün ise daha çok sitoplazmik alanlarda eksprese oldu u
- ✓ Gal-1 ayrıca kan damarları, ba dokusu ve gal-3 ise epitel, ba dokusu ve yine kan damarlarında lokalize oldu u
- ✓ Gal-1 ve gal-3 ovaryumun birçok bölgesinde pozitif oldu u ve ço unlukla sitoplazmik oldu u
- ✓ Deney ve kontrol grupları kar ıla tırıldı ında korpus luteumda gal-1 lokalizasyonun e it oldu u dolayısıyla diyabetin CL üzerinde gal-1 ekspresyonunu etkilemedi i
- ✓ Teka tabakasında Gal-1'in hem kontrol hem deney grubunda lokalize olmadı ı, gal-3'ün ise lokalize oldu u
- ✓ Gal-1 ve gal-3 içeren mekanizmanın karı ık oldu u sonucuna varılmı tır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Çolgar U. (2006). Reprodüktif Endokrinoloji ve infertilite. İstanbul Medikal Yayıncılık 1.baskı ISBN: 975-6395-65-6, Sayfa: 9-29.
2. Moonjae C, Richard DC. (1995). Galektin-1, a -galactoside-binding lektin in Chinese hamster ovary cells, Journal of Biological Chemistry, 270, 5207-5212.
3. Patnaik SK, Potvin B, Carlsson S, Sturm D, Leffler H, and Stanley P. (2005). Complex N-glycans are the major ligands for galektin-1, -3, and -8 on Chinese hamster ovary cells, Glycobiology, vol, 305-317.
4. Sa lam H. (2004). Diyabet ve Enfeksiyonlar. Güncel Pediatri, 2:44-52.
5. Ba rıaçık N. (1997). Diabetes Mellitus: Tanımı, Tarihçesi, Sınıflaması ve Sıklı ı, İstanbul, 9-18.
6. eftalio lu A. (1998). İnsan Embriyolojisi. Tıp&Teknik Yayıncılık, 41-42, Ankara.
7. <http://www.ncis.com.sg/wbn/slot/u3376/Types%20of%20Cancer%20Collateral/Ovarian%20Anatomy.jpg>.
8. Odar V. (1984). Anatomi Ders Kitabı. Salmanlar Ofset; 329-331.
9. Arıncı K, Elhan A. (1995). Anatomi. 1. Baskı, Güne Kitabevi Ltd. ti., Ankara.

10. Tanyolaç A. (1999). Özel Histoloji. Ankara: Yorum Yayıncılık.
11. Kayalı H, Atıro lu G, Ta yürekli G. (1992). İnsan Embriyolojisi. 7.Baskı, Alfa Basım Yayım Da ıtım, İstanbul.
12. Karagöz E. (2002). Özel Histoloji. SDÜ Basımevi Isparta.
13. Kölo lu S. Endokrinoloji, Temel ve Klinik. (1996). Medical Network, 1.baskı, Kölo lu S. Diabetes mellitus, p: 367-386. Ankara.
14. Saka H.N. (2003). Diabetes Mellitus. In: Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurto lu S (eds). Pediatrik Endokrinoloji. 1.Baskı. Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Derne i Yayınları, Ankara: Kalkan Matbaacılık, p.415-55.
15. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. (2005). Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management, *Pediatr Clin North Am*, 52:1553-78.
16. Edwards JE, Tillman DB, Miller ME, et all. (1979). Infection and diabetes mellitus, *West J Med*, 130:515–521.
17. Ba aran NA. (2008). Diabetik ve nondiabetik böbrek yetmezli i olan hastalarda sistein C düzeyleri, Uzmanlık Tezi, TC Sa lık Bakanlı ı Göztepe E itim ve Ara tırma Hastanesi, İstanbul.
18. American Diabetes Association (2005). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, 28:37–42.
19. King H, Rewers M. (1993). Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults, The WHO Adhoc Diabetes Reporting Group, *Diabetes Care*, 16:157–177.

20. Hatemi H. (1988). Diabetes Mellitusun Komplikasyonları ve Risk Faktörleri (ed. H.Hatemi), Alemdar Ofset Cerrahpa a Tıp Fakültesi Yayınları 313-343.
21. Yenigün M. (2001). Diabetik makroanjipati (diabetik makrovasküler hastalık) Her yönüyle Diabetes Mellitus adlı kitabından Editör: Yenigün M. Nobel Tıp Kitabevi, stanbul, s: 315
22. Kurçer Z, Karao lu D. (2012). The use of Alloxan and Streptozotocin in Experimental Diabetes Models. *Türk Jem*, 16: 34-40.
23. Bone AJ, Gwillam DJ. (1998). Animal models of insulin-dependent diabetes mellitus *Textbook of Diabetes*, chapter 16- 8.
24. Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas, *Physiol Res*, 50:536–46.
25. Bell RH, Hye RJ. (1983). Animal Models of Diabetes Mellitus: Physiology and Pathology, *Journal of Surgical Research*, 35: 433-460.
26. Szkudelski T. (2001). The mechanism of alloxan ans streptozotocin action in B cells of the rat pancreas, *Physiol Res*, 50: 536-546.
27. Gispen WH, Biessel GJ. (2000). Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus, *Trend Neurosci*, 23(11):542-549.
28. Kaputlu I, Özdem S, Sadan G, Gökalp O. (1999). Effects of diabetes on non-adrenergic, noncholinergic relaxation induced by GABA and electrical stimulation in the rat isolated duodenum, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 26:724-728.

29. Bozlan AD, Bianchi, M.S. (2002). Genotoxicity of Streptozotocin, *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 512:121–134.
30. Barondes SH, Castronovo V, Cooper DN, Cummings RD, Drickamer K, Feizi T, Gitt MA, Hirabayashi J, Hughes C, Kasai K.(1994). Galektins: a family of animal beta-galactoside-binding lektins. *Cell*, 76:597-598.
31. Kaltner H, Lips KS, Reuter G, Lippert S, Sinowatz F, Gabius HJ, (1997). Quantitation and histochemical localization of galektin-1 and galektin-1-reactive glycoconjugates in fetal development of bovine organs. *Histol. Histopathol*,
32. He J and Baum LG. (2004). Presentation of galektin-1 by extracellular matrix triggers T cell death, *J. Biol. Chem*, 279, 4705–4712.
33. Seyrek K, Özcan, A, Erbaß H. (2001). Histochemical study of expression of galektin D1 and its reactive carbohydrate epitopes in normal bovine embryonal and adult pancreas. *Israel J. Vet. Med.*; 56, (1): 25-28.
34. Fukaya K, Hasegawa M, Mashitani T, Kadoya T, Horie H, Hayashi Y, Fujisawa H, Tachibana O, Kida S, Yamashita J. (2003). Oxidized galektin-1 stimulates the migration of Schwann cells from both proximal and distal stumps of transected nerves and promotes axonal regeneration after peripheral nerve injury. *J Neuropathol Exp Neurol*, 62, 162–172.
35. Danguy A, Camby I, and Kiss, R. (2002). Galektins and cancer, *Biochim. Biophys, Acta*, 1572.
36. Cooper DN, Barondes SH. (1990). Evidence for export of a muscle lektin from cytosol to extracellular matrix and for a novel secretory mechanism, *J. Cell. Biol*, 110:1681–1691.

37. Fischer I, Jeschke U, Friese K, Daher S, Betz AG. (2011). The role of galectin-1 in trophoblast differentiation and signal transduction, *J Reprod Immunol*, 10-1016, 35-40.
38. Maquoi E, van den Brule FA, Castronovo V, Foidart JM. (1997). Changes in the distribution pattern of galectin-1 and galectin-3 in human placenta correlates with the differentiation pathways of trophoblasts, *Placenta*, 18, 433–439.
39. Saussez S, Decaestecker C, Cludts S, et al. (2009). Adhesion/growth regulatory tissue lectin galectin-1 in relation to angiogenesis/lymphocyte infiltration and prognostic relevance of stromal up-regulation in laryngeal carcinomas. *Anticancer Res*; 29:59- 65.
40. Krzeslak A, Lipinska A. (2004). Galectin-3 as a multifunctional protein. *Cell Mol Biol Lett* ; 9(2): 305-328.
41. Volante M, Bozzalla-Cassione F, Orlandi F, Papotti M. (2004). Diagnostic role of galectin-3 in follicular thyroid tumors. *Virchows Arch*, 444:309-12.
42. Wang SY, Voss PG, Patterson RJ, Wang JL. (1995). Studies on the cell surface versus nuclear localisation of galectin-3, *Antibody Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals*, 8: 311-324.
43. Cherayil BJ, Chaitovitz S, Wong C, Pillai S. (1990). Molecular cloning of a human macrophage lectin specific for galactose, *Proc Natl Acad Sci*, 87: 7324-7328.
44. Gong HC, Honjo Y, Nangia-Makker P. (1999). The NH Terminus of galectin-3 governs cellular compartmentalisation and functions in cancer cells. *Cancer Res*, 59: 6239-6245.

45. Sano H, Hsu DK, Yu L. (2000). Human galektin-3 is a novel chemoattractant for monocytes and macrophages, *J Immunol*, 165: 2156-2164.
46. Liu FT, Patterson RJ, Wang JL. (2002). Intracellular functions of galektins. *Biochim Biophys Acta*, 1572: 263-273.
47. Coli A, Bigotti G, Zucchetti F, et al. (2002). Galektin-3, a marker of well differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules. *Histopathology*, 40: 80-87.
48. Greenwald GS, Terranova PF. (1988). *The Physiology of Reproduction* (Knobil E. et al. Eds). Raven Press, Ltd, NewYork, Follicular Selection and Its Control, 387–445.
49. Vaskivuo TE, Ottander U, Oduwole O, Isomaa V, Vihko P, Olofsson JI, Tapanainen JS (2002): Role of apoptosis, apoptosis-related factors and 17 $\beta$ hydroxysteroid dehydrogenases in human corpus luteum regression. *Mol Cell Endocrinol*, 194,191-200.
50. Öztürk Y, Altan VM, Yıldızo luArı N. (1996). Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev*, 48: 69-112.
51. World Health Organization. (1985). *Diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group. Technical Report Series 727*, Geneva.
52. Altan N, Bu daycı G, Tutkun-Kosova F, Sancak-Çaycı B, Nazaro lu NK. (1998). The influence of the sulfonylurea glyburide on nitric oxide in streptozotocin induced diabetic rat, *General Pharmacology* 31(2), 319-321.

53. Gispen WH, Biessel GJ. (2000). Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trend Neurosci* 23(11):542-549.
54. Kayaalp O. (2001). *Klinik Farmakolojinin Esasları ve Temel Düzenlemeler*. 2. baskı. Ankara: Hacettepe TA .
55. Kohnert KD, Axcrona UM, Hehmke B, Kloting I, Sundler F, Ahren B. (1999). Islet neuronal abnormalities associated with impaired insulin secretion in type 2 diabetes in the Chinese hamster. *Regul Pept*, 82:71-9.
56. Öntürk H, Özbek H. (2007). Deneysel diabet olu turulması ve kan eker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Dergi*,17(4):231-236.
57. Junko NK and Iwanaga T. (2010). Differential Cellular Localization of Galektin- 1 and Galektin-3 in the Regressing Corpus Luteum of Mice and Their Possible Contribution to Luteal Cell Elimination, *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 58(8): 741–749.
58. Thijssen VL, Postel R, Brandwijk RJ, Dings RP, Nesselova I, Satijn S, Verhofstad N, Nakabeppu Y, Baum LG, Bakkers J, Mayo KH, Poirier F, Griffioen AW. (2006). Galektin-1 is essential in tumor angiogenesis and is a target for antiangiogenesis therapy, *Proc Natl Acad Sci USA*, 103, 15975-80.
59. Perillo NL, Marcus ME, Baum LG. (1998). Galektins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation and cell death, *J Mol Med*, 76: 402-412.
60. Seyrek K, Çulhacı N, Kırıl F, Bildik A, Saraço lu H . (2004). Meme karsinomlarında Galektin-3'ün ekspresyonu ve lokalizasyonu, *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 5(1) : 11 – 15.
61. Liu FT, Rabinovich GA. (2005). Galektins as modulators of tumour progression, *Nat Rev Cancer*, 5, 29–41.



62. Nelson JF, Felicio LS, Randall PK, Sims C, Finch CH. (1982). A longitudinal study of estrous cyclicity in aging C57BL/6J Mice: I. Cycle frequency, Length and vaginal cytology. *Biol Reprod*, 27: 327-39.
63. Tan OL and Fleming JS. (2004). Proliferating cell nuclear antigen immunoreactivity in the ovarian surface epithelium of micw of varying ages and total lifetime ovulation number following ovulation, *Biol Reprod*, 71: 1501-7.
64. Oktay K, Öktem Ö. (2007). Regeneration of oocytes after chemotherapy: connecting the evidence from Mouse to human, *J Clin Oncol*, 25(22): 3185-7.
65. Mazaud-Guittot S, Guigon C.J, Coudouel N, Magre S. (2006). Consequences of fetal irradiation on follicle histogenesis and early follicle development in rat ovaries, *Biol Reprod*, 75:749-59.
66. Wong J, Luckers L, Okawara Y, Pelletier R.-M, and Taketo T. (2000). Follicular development and atresia in the B6.YTIR sex-reversed mouse ovary, *Biol Reprod.*, 63: 756–762
67. Kwak DH, Jung KY, Lee YG, Choo YK. (2003). Expressional changes of ganglioside GM3 during ovarian maturation and early embryonic development in db/db mice. *Develop. Growth Differ*, 45, 95–102
68. Erickson GF. (1978). Normal ovarian function, *Clin. Obstet. Gynecol.* 21, 31–52.
69. Hattori M. & Horiuchi R. (1992). Biphasic effects of exogenous ganglioside GM3 follicle stimulating hormone-dependent expression of luteinizing hormone receptor in cultured granulosa cells, *Mol. Cell Endocrinol.* 88, 47–54.

70. Eriksson UJ, Brolin SE, Naeser P. (1989). Influence of sorbitol accumulation on growth and development of embryos cultured in elevated levels of glucose and fructose, *Diabetes Res*, 11, 27–32.
71. Hinck L, Thissen JP, DE Hertogh R. (2003). Identification of Caspase-6 in Rat Blastocysts and Its Implication in the Induction of Apoptosis by High Glucose, *Biology of Reproduction*; 68: 1808–1812.
72. Bitar MS. (1997). The Role of Catecholamines in the Etiology of Infertility in Diabetes Mellitus, *Life Sciences*, 61 (1), 65-73.
73. Colton SA, Humpherson PG, Leese HJ, Downs SM. (2003). Physiological Changes in Oocyte-Cumulus Cell Complexes from Diabetic Mice that Potentially Influence Meiotic Regulation, *Biol Reprod*; 69:761–770.
74. Wang Q, Moley K. (2010). Maternal diabetes and oocyte quality, *Mitochondrion*, 10:403- 410.
75. Boden G, Song W, Pashko L, Kresge K. (2008.) In vivo effects of insulin and free fatty acids on matrix metalloproteinases in rat aorta, *Diabetes* 57:476–483.
76. Bartoloni M, Fragai M, Dominguez BE, Luchinat C, Andre S, Dragoni E, Gabius HJ, Barbero JJ, Richichi B, Arda A and Cristina Nativi. (2012). Targeting Matrix Metalloproteinases: Design of a Bifunctional Inhibitor for Presentation by Tumour Associated Galektins, 10.1002.
77. Vos MC, Wurff AA, Last TJ J, Boed E AM, Smeenk J MJ, Kuppevelt T H, Massuger L FAG. (2014). Immunohistochemical expression of MMP-14 and MMP-2, and MMP-2 activity during human ovarian follicular development, Vos et al. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12:12.

78. Li S, Maruo T, Ladines–Llave CA, Samoto T, Kondo H, Mochizuki M. (1994). Expression of transforming growth factor– in the human ovary during follicular growth, regression and atresia, *Endocr J*, 4 (6): 693–701.
79. Singh B, Armstrong DT. (1995). Transforming growth factor gene expression and peptide localization in porcine ovarian follicles, *Biol Reprod*, 53 (6): 1429–35.
80. Tekpetey FR, Singh B, Barbe G & Armstrong DT. (1995). Localization of epidermal growth factor (EGF) receptor in the rat corpus luteum, and EGF and transforming growth factor-alpha stimulation of luteal cell steroidogenesis in vitro, *Molecular and Cellular Endocrinology* 110 95–102.
81. Demir R. (1995). *nsanın Geli imi ve mplantasyon Biyolojisi*, Palme Yayıncılık, Ankara.
82. Perillo NL, Uittenbogaart CH, Nguyen JT, Baum LG. (1997). Galektin1, an endogenous lektin produced by thymic epithelial cells, induces apoptosis of human thymocytes, *J Exp Med* 185:1851–1858.
83. Zhou X, Yang G, Xu Y, Li F. (2011). Increased galektin-1 expression in muscle of Astragalus polysaccharide-treated Type 1 diabetic mice, *J Nat Med*, 65:500–507 DOI 10.1007/s11418-011-0527-9.
84. Demydenko D, Berest I. (2009). Expression of Galektin-1 in malignant tumors, *Exp Oncol*, 31:74-79.
85. Camby I, Le Mercier M, Lefranc F, Kiss R. (2006). Galektin-1: a small protein with major functions, *Glycobiology*, 16, 137-157.

86. Çolak S. (2008). Meme infiltratif duktal karsinomlarında CD24, CD44, Galektin-1 ekspresyonlarının tümör diferansiyasyonu ve lenf nodu metastaz potansiyeli ile ili kisi, Uzmanlık Alan Tezi.
87. Domic J, Dabelic S, Flogel M. (2006). Galektin-3: an open-ended story, *Biochim Biophys Acta*,1760:616-35.
88. Kim H, Lee J, Hyun J, Park J, Joo H, Shin T. (2007). Expression and immunohistochemical localization of galektin-3 in various mouse tissues, *Cell Biology International* 31, 655-662.
89. EPK Mensah-Brown, N Arsenijevic, Z Al Rabesi, DK Hsu, FT Liu, A Shahin ML. Lukic M. Al Shamsi. (2009). Targeted disruption of the galektin-3 gene results in decreased susceptibility to multiple low dose streptozotocin-induced diabetes in mice, *Clinical Immunology*, 130,83–88.
90. Anderson RL, Wang JL. (1992). Carbohydrate-binding protein 35, *Trends Glycosci. Glycotechnol*, 4: 4352.
91. Iurisci I, Tinari N, Natoli C, Angelucci D, Cianchetti, E, Iacobelli S. (2000). Concentrations of galektin-3 in the sera of normal controls and cancer patients, *Clin Cancer Res*, 6: 1389- 1393.
92. Raz A, Zhu D, Hogan V. (1990). Evidence for the role of 34 kD galactoside-binding lektin in transformation and metastasis, *Int J Cancer*, 46: 871-877.
93. Castronovo V, Van den Brule FA, Jackers P. (1996). Decreased expression of galektin-3 is associated with progression of breast cancer, *J Pathol*, 179: 43-48.
94. Furtak V, Hatcher F, Ochieng J. (2001). Galektin-3 mediates the endocytosis of -1 integrins by breast carcinoma cells, *Biochem Biohys Res Commun*, 289: 845-850.

95. Yang Ry, Hsu KK, Liu FT. (1996). Expression of galektin-3 modulates T-cell growth and apoptosis, *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 6737-6742.
96. Ohanessian DW, Lotan D, Thomas P, Jessup M, Fukuda M, Gabius HJ, Lotan R. (1995). Carcinoembryonic antigen and other glycoconjugates act as ligands for galektin-3 in human colon carcinoma cells, *Cancer Res*, 55: 2191-2199.
97. Materessa P, Tinari N, Semeraro MR, Natoli C, Lacobelli S, Malorni W. (2000). Galektin-3 overexpression protects from cell damage and death by influencing mitochondrial homeostasis, *FEBS Letters*, 473:311-315.
98. Materessa P, Fusco O, Tinari N, Natoli C, Liu FT, Semeraro ML, Malorni W, Lacobelli S. (2000). Galektin-3 overexpression protects from apoptosis by improving cell adhesion properties, *Int J Cancer*, 85:545-554.
99. Nio J, Iwanaga T. (2007). Galektins in the Mouse Ovary: Concomitant Expression of Galektin-3 and Progesterone Degradation Enzyme (20a-HSD) in the Corpus Luteum, *J Histochem Cytochem* 55:423–432.
100. Sato M, Nishi N, Shoji H, Kumagai M, Imaizumi T, Hata Y, Hirashima M, Suzuki S, Nakamura T. (2002). Quantification of galektin-7 and its localization in adult mouse tissues, *J Biochem (Tokyo)* 131:255–260.
101. S. Saussez, R. Kiss. (2006). Galektin-7 Cellular and Molecular Life Sciences, *CMLS*, 63, 6, 686-697.
102. Choe YS, Shim C, Choi D, Lee CS, Lee KK, Kim K. (1997) Expression of galektin-1 mRNA in the mouse uterus is under the control of ovarian steroids during blastocyst implantation, *Mol Reprod Dev* 48:261–266.

103. Walzel H, Brock J, Pohland R, Vanselow J, Tomek W, Schneider F, Tiemann U. (2004). Effects of galektin-1 on regulation of progesterone production in granulosa cells from pig ovaries in vitro, *Glycobiology* 14:871–881.
104. Nio J, Takahashi-Iwanaga H, Morimatsu M, Kon Y, Iwanaga T. (2006). Immunohistochemical and in situ hybridization analysis of galektin-3, a -galactoside binding lektin, in the urinary system of adult mice, *Histochem Cell Biol* 126:45–56.
105. Craig SS, Krishnaswamy P, Irani AM, Kepley CL, Liu FT, Schwartz LB. (1995). Immunoelectron microscopic localization of galektin-3, an IgE binding protein, in human mast cells and basophils, *Anat Rec* 242:211–219.
106. Liu FT, Patterson RJ, Wang JL. (2002). Intracellular functions of galektins, *Biochim Biophys Acta* 1572:263–273.
107. Perillo NL, Uittenbogaart CH, Nguyen JT, Baum LG. (1997). Galektin1, an endogenous lektin produced by thymic epithelial cells, induces apoptosis of human thymocytes, *J Exp Med* 185:1851–1858.
108. Matur , Solmaz Suna. (2010). Ovarian Follikül Geli iminin Moleküler Temelleri, 19:193.
109. David PL, Green. (1997). Three-dimensional structure of the zona pellucida, *Reviews of Reproduction*; 2, 147–156.
110. Yonezawa N, Kudo K, Terauchi H, Kanai S, Yoda N, Tanokura M, Ito K, Miura K, Katsumata T, and Nakano M. (2005). Recombinant Porcine Zona Pellucida Glycoproteins Expressed in Sf9 Cells Bind to Bovine Sperm but Not to Porcine Sperm, *Vol. 280, No. 21, Issue of May 27, pp. 20189–20196.*

111. Honjo Y, Inohara H, Akahani S, Yoshii T, Takenaka Y, Yoshida J, Hattori K, Tomiyama Y, Raz A, and Kubo T. (2000). Expression of Cytoplasmic Galektin-3 as a Prognostic Marker in Tongue Carcinoma, Vol. 6, 4635–4640.
112. Kim M K, Sung C O, Do I, Jeon H, Song T J, Park H S, Lee Y, Kim B, Lee J. (2011). Bae D Overexpression of Galektin-3 and its clinical significance in ovarian carcinoma. *Int J Clin Oncol.* 16:352–358 DOI 10.1007/s10147-011-0190-x.

## 8. EKLER

**T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

Sayı : B.30.2.CUM.0.01.00.00-50/29  
Konu : Etik Kurul Kararı hk.

07.03.2013

Sayın

Prof.Dr. Serpil Ünver SARAYDIN  
Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Histoloji-Embryoloji Anabilim Dalı

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 07.03.2013 tarihinde Prof.Dr.Ömer POYRAZ başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararı almıştır.

Prof.Dr.Serpil Ünver SARAYDIN'ın yürütücülüğünü yapmış olduğu 06.03.2013 tarih ve 367 sayılı "Diyabetli sıçan ovaryumlarında Galectin-1 ve Galectin-3'ün immüno lokalizasyonu" isimli Yüksek Lisans Tezi Projesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

 Prof.Dr.Eray BULUT Üye	 Doç.Dr.İhsan HUBBEZOĞLU Üye	 Doç.Dr.Zübeyda AKIN POLAT Üye
 Doç.Dr.Yaşar AKAR Üye	 Doç.Dr.Bülent SARAÇ Üye	 Yrd.Doç.Dr.Gülay YILDIRIM Üye
 Yrd.Doç.Dr.Mehmet TUŞCU Üye	 Yrd.Doç.Dr.Çağrı Çağlar SİNMEZ Üye	 Uz.Vet.Hek.Yücel YALMAN Üye – Başkanvekili
Semiha EKİNCİ Sivil Üye	 Prof.Dr.Ömer POYRAZ Başkan	Turhan DUYMUŞ Sivil Üye



## 9. ÖZGEÇM

### Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Berna ÖZDENÖLÜ
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas/Yıldızeli 28/09/1986
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, 58140-Sivas
E-posta Adresi	bernaozenoglu@gmail.com

### Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Cumhuriyet Anadolu Lisesi 2005
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2011
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 2014

### Tecrübesi

Cumhuriyet Üniversitesi Yüksek Lisans Öğrencisi, 2011

### Ödüller, Teşvikler ve Üyelikler

Bu çalışmaya (T-557), CÜBAP tarafından desteklenmiştir.