

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**RATLARDA STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN
DİYABETİN ERKEN GEBELİK DÖNEMİNDE
ENDOMETRİYAL BEZLERİN LEKTİN HİSTOKİMYASI
ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ
Feyza BAŞAK

Danışman
Doç. Dr. Tolunay KOZLU
Prof. Dr. Ahmet KOÇ

HATAY-2015

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**RATLARDA STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN
DİYABETİN ERKEN GEBELİK DÖNEMİNDE
ENDOMETRİYAL BEZLERİN LEKTİN HİSTOKİMYASI
ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ
Feyza BAŞAK

Danışman
Doç. Dr. Tolunay KOZLU
Prof. Dr. Ahmet KOÇ

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
9761 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Bu tez, TÜBİTAK 2214-A Doktora Sırası Yurtdışı Araştırma Bursu kapsamında
desteklenmiş, laboratuvar çalışmalarının bir bölümü Stiftung Tierärztliche
Hochschule Hannover'de yapılmıştır.

HATAY-2015

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**RATLARDA STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN
DİYABETİN ERKEN GEBELİK DÖNEMİNDE
ENDOMETRİYAL BEZLERİN LEKTİN HİSTOKİMYASI
ÜZERİNE ETKİSİ**

Doktora Tezi
Feyza BAŞAK

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 23/02/2015 günü sözlü yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri Başkanı: Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL

Üye: Doç. Dr. Tolunay KOZLU

Üye: Doç. Dr. Yeşim AKAYDIN BOZKURT

Üye: Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI

Üye: Yrd. Doç. Dr. Emine KARAKURUM

Bu tez, Enstitümüz Histoloji ve Embriyoloji (VET) Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Yaşar ERGÜN
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu tezin gerçekleşmesinde emeği geçen danışman hocalarım Doç. Dr. Tolunay KOZLU ve Prof. Dr. Ahmet KOÇ'a, laboratuvar çalışmalarımı titizlikle takip ederek yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Yeşim AKAYDIN BOZKURT'a, her zaman destek veren Doç. Dr. Sevinç ATEŞ'e, patolojik bulguların değerlendirilmesine yardım eden Doç. Dr. Şule Y. ÖZSOY'a, bir kısmı Almanya'da gerçekleşen laboratuvar çalışmalarım sırasında bana rehberlik eden Prof. Dr. Christiane PFARRER ve Dr. Nina HAMBRUCH'a, yine bu çalışmalar sırasında mükemmel teknik destek veren Doris WALTER'a, tezimin her aşamasında her an manen yanımda olan ablalarım Prof. Dr. Emine Ümran BOZKURT ve Yrd. Doç. Dr. Süheyla BOZKURT ve Uzm. Ecz. Esra ÖZYALÇIN'a, beni yetiştirip bu günlere getiren annem Suzan BOZKURT ve babam Mehmet BOZKURT'a, son olarak desteğini her zaman hissettiğim biricik eşim Murat BAŞAK'a yürekten teşekkürlerimi sunmayı kendime borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	II
ÖNSÖZ.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
Şekiller Dizini.....	V
Çizelgeler Dizini.....	VIII
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	IX
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Uterus'un Embriyolojik Gelişimi	4
2.2. Uterus Anatomisi.....	5
2.3. Uterus'un Histolojisi ve Fizyolojisi.....	6
2.4. Ratlarda Seksüel Siklus ve Vaginal Smear Sitolojisi	9
2.5. Endometriyum ve Embriyo İmplantasyonu.....	10
2.6. Endometriyal Bezlerin Salgıları ve Önemi.....	11
2.7. İmplantasyon ve Diyabet.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Grupların Oluşturulması.....	16
3.2. Seksüel Siklus Takibi ve Gebeliğin Oluşturulması	16
3.3. Diyabet Oluşturulması ve Doku Alımı.....	17
3.4. Dokulara Uygulanan Histolojik Prosedür	17
3.5. Dokulara Uygulanan Histokimyasal Prosedür	18
3.5.1.Periyodik Asit Schiff (PAS) Metodu.....	18
3.5.2.Alcian Blue pH 2,5 Metodu.....	18
3.5.3.Alcian Blue pH 1,0 Metodu.....	19
3.5.4.Periyodik Asit Schiff ve Alcian Blue (pH 2,5) kombinasyon metodu	19
3.5.5.Aldehyde Fuchsin Metodu	19
3.5.6.Biyotin ile İşaretli Lektinler İçin Kullanılan Histokimyasal Metod.....	20
3.5.7. Peroksidaz ile İşaretli Lektin İçin Kullanılan Histokimyasal Metod.....	21
4. BULGULAR	23
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ	62
7. KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ	68

Şekiller Dizini

Şekil 4. 1. Grup 1 Gün 5 Crossmann's Triple	26
Şekil 4. 2. Grup 1 Gün 5 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (oklar)	26
Şekil 4. 3. Grup 1 Gün 5 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (oklar)	27
Şekil 4. 4. Grup 1 Gün 5 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (oklar)	27
Şekil 4. 5. Grup 1 Gün 5 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (kalın oklar)	28
Şekil 4. 6. Grup 1 Gün 7 Crossmann's Triple	28
Şekil 4. 7. Grup 1 Gün 7 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezdeki boyanma (kalın ok).....	29
Şekil 4. 8. Grup 1 Gün 7 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (kalın oklar)	29
Şekil 4. 9. Grup 1 Gün 7 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerdeki boyanma (kalın oklar), piknotik çekirdekler (ok başı)	30
Şekil 4. 10. Grup 1 Gün 7 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerdeki boyanma (kalın oklar)	30
Şekil 4. 11. Grup 2 Gün 5 Crossmann's Triple	31
Şekil 4. 12. Grup 2 Gün 5 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezlerdeki boyanma (kalın oklar)	31
Şekil 4. 13. Grup 2 Gün 5 Con A lektin histokimyası, uterus lümenimde boyanma (kalın ok)	32
Şekil 4. 14. Grup 2 Gün 5 PNA lektin histokimyası, uterus lümenimde boyanma (ok), endometriyal bezlerde boyanma (yıldızlar).....	32
Şekil 4. 15. Grup 2 Gün 5 SBA lektin histokimyası, uterus lümenimde boyanma (ok), endometriyal bezlerde boyanma (yıldızlar).....	33
Şekil 4. 16. Grup 2 Gün 5 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde negatiflik (kalın oklar)	33
Şekil 4. 17. Grup 2 Gün 5 WGA lektin histokimyası, uterus lümeninde boyanma (kalın ok)	34
Şekil 4. 18. Grup 2 Gün 7 Crossmann's Triple	34
Şekil 4. 19. Grup 2 Gün 7 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezlerde çok hafif tutulum (yıldızlar), uterus lümeninde boyanma (ok).....	35
Şekil 4. 20. Grup 2 Gün 7 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde tutulum (yıldız)	35
Şekil 4. 21. Grup 2 Gün 7 PNA lektin histokimyası, uterus lümeninde tutulum (kalın ok) ..	36
Şekil 4. 22. Grup 2 Gün 7 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma (kalın ok)	36
Şekil 4. 23. Grup 2 Gün 7 SBA lektin histokimyası, uterus lümeni (yıldız).....	37
Şekil 4. 24. Grup 2 Gün 7 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar)	37
Şekil 4. 25. Grup 2 Gün 7 WGA lektin histokimyası, uterus lumeni.....	38
Şekil 4. 26. Grup 3 Gün 5 Crossmann's Triple	38

Şekil 4. 27. Grup 3 Gün 5 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma (kalın ok).....	39
Şekil 4. 28. Grup 3 Gün 5 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar).....	39
Şekil 4. 29. Grup 3 Gün 5 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (kalın oklar)	40
Şekil 4. 30. Grup 3 Gün 5 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (kalın oklar)	40
Şekil 4. 31. Grup 3 Gün 7 Crossmann's Triple	41
Şekil 4. 32. Grup 3 Gün 7 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma (kalın ok).....	41
Şekil 4. 33. Grup 3 Gün 7 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (yıldızlar).....	42
Şekil 4. 34. Grup 3 Gün 7 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde hafif pozitiflik (kalın oklar)	42
Şekil 4. 35. Grup 3 Gün 7 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (ok başları).....	43
Şekil 4. 36. Grup 4 Gün 5 Crossmann's Triple	43
Şekil 4. 37. Grup 4 Gün 5 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezler negatif (ok), uterinal lümen pozitif (ok başı)	44
Şekil 4. 38. Grup 4 Gün 5 Con A lektin histokimyası, bazı deneklerden pozitif sonuç alındı (kalın oklar)	44
Şekil 4. 39. Grup 4 Gün 5 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma yok (kalın ok).....	45
Şekil 4. 40. Grup 4 Gün 5 PNA lektin histokimyası, uterus lumeni	45
Şekil 4. 41. Grup 4 Gün 5 SBA lektin histokimyası, uterinal lümeninde tutulum (ok)	46
Şekil 4. 42. Grup 4 Gün 5 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar).....	46
Şekil 4. 43. Grup 4 Gün 5 WGA lektin histokimyası, uterus lümeni.....	47
Şekil 4. 44. Grup 4 Gün 5 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar).....	47
Şekil 4. 45. Grup 4 Gün 7 Crossmann's Triple	48
Şekil 4. 46. Grup 4 Gün 7 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (ok başı), uterus lümeni pozitif (ok)	48
Şekil 4. 47. Grup 4 Gün 7 PNA lektin histokimyası, uterus lümeni	49
Şekil 4. 48. Grup 4 Gün 7 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma yok (kalın ok).....	49
Şekil 4. 49. Grup 4 Gün 7 SBA lektin histokimyası, uterus lümeni (ok), Endometriyal bezlerde boyanma (ok başı).....	50
Şekil 4. 50. Grup 4 Gün 7 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar).....	50
Şekil 4. 51. Grup 1 Gün 5 PAS boyaması, endometriyal bezler (kalın oklar)	51
Şekil 4. 52. Grup 1 Gün 7 PAS/AB boyaması endometriyal bezler (kalın ok).....	51
Şekil 4. 53. Grup 2 Gün 7 Alcian Blue pH 1.0, boyaması, endometriyal bezler (kalın ok)...	52
Şekil 4. 54. Grup 3 Gün 5 Alcian Blue pH 2,5 boyaması, endometriyal bezler (kalın oklar)	52
Şekil 4. 55. Grup 4 Gün 5 Aldehit fuksin boyaması, endometriyal bezler (kalın oklar)	53
Şekil 4. 56. Erken diestrus.....	53
Şekil 4. 57. Erken proestrus	54
Şekil 4. 58. Estrus.....	54
Şekil 4. 59. Metestrus.....	55

Şekil 4. 60. Proestrus.....	55
Şekil 4. 61. Vaginal smearde spermatozoonlar	56

Çizelgeler Dizini

Çizelge 1: Kullanılan lektinler, spesifiteleri, sulandırma oranları, kaynak	22
Çizelge 2: Gruplara göre endometriyal bezlerde lektin histokimyası sonuçları	25

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

AB: Alcian Blue

Con A: Concanavalin A

HCl: Hidroklorik Asit

HIO₄ : Periyodik Asit

K₂S₂O₅: Potasyum Metabisülfid

Lig.: Ligamentum

Inn.: Lymhonodi

Na₂HPO₄+2H₂O: Disodyum Hidrojen Fosfat Dihidrat

NaCl: Sodyum Klorür

NaH₂PO₄: Sodyum Fosfat Monobazik

NaH₂PO₄+H₂O: Sodyum Dihidrojen Fosfat Monohidrat

NaOH: Sodyum Hidroksit

PAS/AB: Periyodik Asit Schiff ve Alcian Blue (pH:2,5) Kombinasyonu

PAS: Periyodik Asit Schiff

PBS: Phosphate Buffered Saline

PNA: Pea Nut Agglutinin

SDF: Sex Determining Factor (Cinsiyet Belirleyici Faktör)

STZ: Streptozotosin

TDF: Testis Determiner Factor (Testis Belirleyici Faktör)

WGA: Wheat Germ Agglutinin

ZP: Zona Pellucida

ÖZET

Ratlarda Streptozotosin ile Oluşturulan Diyabetin Erken Gebelik Döneminde Endometriyal Bezlerin Lektin Histokimyası Üzerine Etkisi

Embriyonun implantasyon dönemine kadar uterus içinde beslenebilmesinin temelinde endometriyal bezlerin salgıları bulunmaktadır. İmplantasyondan sonra anne ile yavru arasında kan dolaşımının başladığı süreç, türlere göre değişiklik arz etmektedir. İşte bu dönemde embriyo, endometriyal bezlerin salgıları ile beslenerek yaşamaya devam edebilmektedir. Diyabet gibi birden fazla sistemi etkileyen metabolik bir hastalığın kuşkusuz genital sistem üzerinde de olumsuz etkileri bulunmaktadır. Diyabetin özellikle hücrelerin salgılarını etkilediği bilinmektedir. Bu bilgiler ışığında bu tez çalışmasında endometriyal bezlerin salgı bileşenlerinin niteliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaçla PNA (*Arachis hypogaea*), WGA (*Triticum vulgare*), Con-A (*Canavalia ensiformis*), SBA (*Glycine max*) lektin türleri ile uygulamalar yapabilmek için 250 – 300 gram ağırlığında, erişkin dişi Wistar Albino ratlardan her grupta 8 adet olacak şekilde 4 grup oluşturulmuştur. Hem gebelik hem de diyabet oluşturulmuş grupta, hem de yalnızca gebe grupta, gebeliğin 5. ve 7. günlerinde alınan doku örneklerine lektin uygulanmıştır. Yalnızca diyabetik grupta ve kontrol grubunda ratlar cam çubuk kullanılarak uyarılmış, bu uyarıyı izleyen 5. ve 7. günde sakrifiye edilmişlerdir. Ratlarda diyabet, streptozotosin (STZ) kullanılarak indüklenmiştir.

Sonuç olarak gebelik ve diyabetin ratlarda endometriyal bezlerin lektin histokimyasını etkilediği, yani salgıların karbonhidrat bileşenlerinin türü ve miktarının gruplar arasında farklılık gösterdiği ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Diyabet, endometriyal bez, lektin, rat, erken gebelik

ABSTRACT

Effect of Streptozotocin Induced Diabetes on Lectin Histochemistry of Endometrial Glands In Early Pregnancy In Rats

Secretions of endometrial glands play an important role for nutrition of the embryo until it's implantation. After implantation, though it changes among species, organization of blood circulation between mother and the infant takes a little time. In this period, embryo is fed by nutrients provided by the endometrial glands and continues to its life. Diabetes, since it's a metabolic disease that has effects on many systems, surely has many negative effects on genital system. Diabetes is known to effect cell's secretions. Enlightened by these knowledge, we intended to qualify the secret components of endometrial glands. For this purpose; 4 groups were formed with Wistar Albino rats weighing 250-300 gr 8 rats in each to perform with PNA (*Arachis hypogaea*), WGA (*Triticum vulgare*), Con-A (*Canavalia ensiformis*), SBA (*Glycine max*) lectins. Diabetic pregnant and only pregnant groups were sacrificed in 5th and 7th day of pregnancy and the only diabetic and the control group were stimulated with glass sticks and their sacrifice also made on in 5th and 7th day after stimulation. Diabetes was induced with streptozotocin (STZ) in rats.

In conclusion it has been found out that diabetes and pregnancy effect the lectin histochemistry of endometrial glands, which means carbohydrate components and quantity of the secretions changes among these groups.

Key words: Diabetes, endometrial gland, lectin, rat, early pregnancy

1. GİRİŞ

Glikobiyoloji; yeni ve modern moleküler biyoloji araştırma alanıdır ve şekerlerin yapılarını, biosentezlerini ve biyolojik görevlerini araştırır. Glikobiyoloji ile ilgili yapılan araştırmalar, tıp bilimi ve modern biyoteknolojide giderek artan bir öneme sahiptir. Bu nedenle glikobiyolojide önemli bir yer tutan glikoproteinler; üzerinde en çok durulan yapılardan biri olmuştur. Glikoproteinler, ufak ama karmaşık yapıda, birbirine kovalent bağlarla bağlanmış oligosakkaritleri bünyesinde bulunduran yapılardır (Komath ve ark. 2006). Hücre zarındaki proteinlerin çoğu hormonların bağlanabilmesi için reseptör olarak çalışırken kanda sirkülasyon halinde bulunan proteinler ve hücrelerin kendi aralarında iletişim kurmalarında aracılık yapan proteinler de glikoprotein yapısındadır. Proteinler sentezlendikten sonra glikozilasyon işlemi ile karbonhidratlara bağlanırlar. Glikoproteinlerin karbonhidrattan yapılan bölümü bazı önemli görevler üstlenmiştir. Bunlar; denatürasyona engel olmak, yapıyı proteolitik enzimlerden korumak, başka maddeler içinde çözünmesini arttırmak veya azaltmak ya da hücrelerin birbirini tanımasına yardımcı olmak olarak sıralanabilir (Theil ve ark. 2011).

Glikoproteinlerin çok farklı işlevlere sahip geniş dağılım gösteren proteinler olduğu belirtilmiştir. Glikoproteinlerin oligosakkarit zincirleri biyolojik bilgileri kodlamaları açısından önem taşır. Bu zincirler proteinlerin çözünürlük ve akışkanlıklarını değiştirebilmeleri, proteolize karşı koruma sağlamaları, biyolojik etkinlik ve normal ya da anormal hücre-hücre etkileşimlerine katılmalarını sağlama yönünden de önem taşırlar. Glikoproteinlerin sentezinde görevli enzimleri kodlayan bir çok gen klonlanarak, kompleks N- ve O glikanların biyolojik rollerinin bazılarını tanımlamak ve hastalıktaki işlevlerini ve sentezdeki mekanizmalarını tesbit etmek de mümkün olmaktadır. Bu araştırmalar insanda ve hayvanda hastalıkların tanı ve tedavisinde önem taşımaktadır (Van Damme ve ark. 1998).

Glikozilasyon mekanizmasındaki değişiklikler ile glikozilasyonda kullanılan substrat moleküller ve oluşan ürünlerdeki yapı, fonksiyon ve miktar açısından oluşan değişiklikler çeşitli hastalıkların oluşum ve gelişimlerinde etkili olabilmektedir. Yapılan çalışmalar birçok hastalıkta ve özellikle de kanser türünde glikoprotein sentezinin arttığını göstermiştir. Örneğin sialik asit değerlerinin kanserli olgularda yüksek çıkması nedeniyle,

diğer klinik ve biyokimyasal kriterlerle birlikte serum sialik asite ait ölçüm değerleri tanı koyma, hastalığı evrelendirme ve tedavide değerli bir laboratuvar kriteri olarak kabul edilmektedir. Glikobiyolojide önemli bir yeri olan glikoproteinler, veteriner hekimliğinden ziyade özellikle beşeri hekimlikte geniş bir çalışma ve uygulama alanı bulmuştur. Mevcut literatür çalışmaları glikoproteinlerle ilgili çalışmaların veteriner hekimlik alanında uygulanması ve hayvan hastalıklarının moleküler mekanizmalarının anlaşılması, teşhis ve tedavisinde kullanılması, glikoproteinlerin rolü üzerine çalışılması gerektiği gerçeğini ortaya çıkarmıştır (Yılmaz ve Gerhard 2010).

Bütün bu bilgiler ışığında spermatozoon ile oosit arasında döllenme sırasında meydana gelen birleşmenin bir sebebinin de glikoproteinler ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Örneğin; oositi saran zona pellusida (ZP) ZP-1, ZP-2 ve ZP-3 olmak üzere 3 çeşit glikoprotein içerir. Bunlardan en önemlisi spermatozoon için bir reseptör olarak görev yapan ve O-bağlı glikoprotein olan ZP3'dür. Spermatozoon yüzeyinde yer alan ve galaktozil transferaz grubundan olan bir protein ZP'nın oligosakkarit zincirleriyle etkileşir; proteazların, hiyaluronidazların ve spermatozoon akrozomunda yer alan diğer maddelerin ortama salınmasına ve bu enzimler ile spermatozoonun ZP'yi aşarak oositin plazma zarına ulaşmasına yardım ederler. Yine hamsterlerde bulunan bir glikoprotein olan PH-30'un spermatozoon ve oosit plazma membranlarının birbirine bağlanmasında ve kaynaşmasında önem taşıdığı, buna bağlı olarak glikoproteinlerin işlevlerini durduracak ilaç veya antikorlar geliştirilebilirse döllenme engelleneceğinden bunların kontraseptif ajanlar olarak kullanılabilmesinin mümkün olacağı bildirilmiştir (Yavuz 2001, Hedrick 1996, Naokazu ve ark. 2011).

Lektinler ise hücre yüzeyi ve organellerindeki şekerlere spesifik olarak bağlanabilen protein yada glikoprotein yapısındaki maddelerdir (Öztabak 2005). Farklı lektinlerin farklı karbonhidratları bağlama seçiciliğinden yararlanılarak, lektinlerle işaretleme ve enzim sindirimi ile izleme yöntemlerinin yaygın şekilde kullanıldığı bildirilmiştir (Karaçalı 2003). Bazı lektinlerin seçiciliği zayıfken, bazıları bir tek karbonhidratı seçecek kadar seçici davranmaktadır. Bu hassas seçiciliğinden yararlanılarak, lektinlerin elektron mikroskop çalışmalarında, oligosakkaritlerde monosakkarit bileşimi, sıra analizi ve bağlanma özelliği belirlemeleri için kullanılabildiği ifade edilmiştir (Karaçalı 2003). Kolloidal altın uygulamalarıyla sağlanan görüntüleme kolaylığından faydalanmak için altın partiküllerini bağlayan lektinlerin kullanımı elektron mikroskop çalışmalarında yaygın kullanım alanı

bulmuştur (Horisbarger 1992). Bugün hücrelerin bilinmezlerle dolu bir kara kutu gibi duran glikozilasyon makinesinin nasıl çalıştığını anlamak, glikozilasyonda yapısal değişmelerin, biyolojik ve fizyopatolojik sonuçlarını incelemek için lektinler çok değerli araçlardır. Hücre tanımı olaylarının incelenmesinde; hücre yüzeylerinin yoğun şeker örtüsü değişikliklerinin ve şeker reseptörlerinin gösterilmesinde (Horisbarger 1992) lektin işaretlemeleri güvenilir bilgiler sağlayabilir. Ayrıca lektinler glikozilasyon mekanizmasının gerçekleştiği Endoplazmik Retikulum-Golgi- Hücre Zarı yolundaki işlevsel bölmeleri ve sorumlu enzimleri göstermek için kullanılmaktadır (Rutishauser ve Sachs 1975).

Bu tez çalışmasında eldeki bu bilgilerin ışığında, ratlarda hem gebeliğin hem de STZ ile oluşturulmuş diyabetin endometriyal bezlere ait salgıların karbonhidrat karakterlerini ve bunların oranlarını nasıl etkilediği lektin histokimya metoduyla ortaya koyulmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus'un Embriyolojik Gelişimi

Gonadlar da dahil olmak üzere iç üreme organları ve bunların akıtıcı kanalları intermedier mezodermden köken alırlar. Embriyonun cinsiyeti genetik olarak, fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına karşın, erkek veya dişi morfolojik özellikleri, hayvan türlerine göre gebeliğin farklı dönemlerinde ortaya çıkar. Cinsiyetler arası fark , cinsiyet belirleme faktörü üzerinde (SDF; Sex determining factor) bulunan testis belirleyici faktörü (TDF; Testis determining factor) taşıyan Y kromozomu ile sağlanır. TDF'nin varlığı ya da yokluğu gonadal farklılaşma üzerine doğrudan etkilidir. Bu faktörün devreye girdiği ana kadar olan devre organogenezisin indifferent safhasıdır (www.oecd.org/env/ehs/testing/43754782.pdf).

Üriner sistem ile ilişkisi bulunan ovaryum ve testis, ratlarda, bel bölgesindeki intermedier mezodermin ürogenital plağından meydana gelirler. Bu bölgedeki sölom epitelinde sağlı-sollu (bilateral) iki kabartı meydana gelir. Crista genitalis adını alan bu kabartılar testis ve ovaryumun çatısını oluştururlar (Özer ve ark. 2007; Hassa ve Aştı 2010). Primordiyal germ hücreleri gonad taslakları içinde gelişmez, başka bir yerde oluştuktan sonra gonad kabul edilen organ taslaklarına göç ederler. Primordiyal germ hücrelerinin gonad taslaklarına göçü ile ilgili olarak memeli hayvanlarla ilgili olan görüş şöyledir; memelilerde germ hücreleri ilk olarak somitogenezisin başladığı anda, vitellüs kesesi endodermi ve komşu schplanic mezodermden görülmüştür. Primordiyal germ hücrelerinin alkalın fosfataz ve glikojen yönünden zengin olduğu belirlenmiştir. Bu hücreler ön midenin dorsal mezenteriyumuna dorsal yönde ve gonad oluşum sahasına doğru ameboid hareketle gelir. Gonadı örten sölom epitelini aktive ederek, en son cinsiyet hücrelerinin oluşmasını sağlar (Özer ve ark. 2007).

Organogenezisin indifferent safhasında diğer tüm memelilerde crista genitalisler (gonadlar) ve buraya gelen primitif cinsiyet hücreleri henüz farklılaşmamışlardır ve her iki cins için de aynıdırlar. Yani erkeklik ve dişilik yönündeki farklılaşma bu aşamadan sonra başlar. Kendilerini saran sölom epiteli ile birlikte boğumlanarak karın boşluğuna sarkan crista genitalisler (gonadlar) ovaryumları meydana getirirler. Bunların gerisindeki sölom epiteli ise bel altı bölgesinden cloaca'ya doğru uzayan bir dürüm yapar. Bu dürümün serbest

kenarı, sonraki gelişmelerde önce oluklaşır, sonra da kanal halini alır. Bu yapıya “Müller Kanalı” denir. İki tarafta da gelişen Müller kanalları pelvis boşluğunda birbirine yaklaşıp kaynaşır ve tek kanal meydana getirirler. Bu gelişmede crista genitales ovariumları, iki Müller kanalı yumurta yollarını, bu kanalların kaynaşması ile oluşan tek kanal da uterus, cervix uteri ve vagina’yı şekillendirir. Memeli hayvanlarda iki parametonefrik kanal arasındaki farklı birleşme, farklı uterus morfolojileri ortaya çıkarabilir. Örneğin çoğu keselilerde bu kanallar birleşmez, ürogenital sinusa ayrı açılır. Çoğu kemirgen ve tavşanlarda iki uterus ve tek vaginaya açılan iki cervix vardır (Özer ve ark. 2007, Hassa ve Aştı 2010).

2.2. Uterus Anatomisi

Uterus, dişi üreme sisteminde, fetusu doğuma kadar beslemek ve barındırmakla görevli bir organdır. Tuba uterina ve vagina arasında yerleşmiş, içi boş, kasların çoğunlukta olduğu bir yapıdır. Hem dış hem de içyapısı yönünden evcil türler arasında farklılıklar gösterir. Büyük kısmı karın boşluğunda, küçük bir kısmı da pelvik boşlukta yer alır. Doğuma kadar sürekli gelişen embrioyu besler korur ve onun fetus haline gelmesini sağlar (Dursun 2008).

Uterus evcil hayvanlarda önden arkaya doğru cornu uteri, corpus uteri ve cervix uteri olmak üzere üç bölüme ayrılır (Dursun 2008).

Cornu uteri, karın boşluğunda corpus uteri'nin cranial'inden çıkarak sağlı sollu öne doğru ve birbirinden uzaklaşarak giden borsal oluşumlardır. Carnivorlarda ve kısıraklarda oldukça düz olmalarına karşın, ruminantlarda kendi üzerlerine kıvrılmışlardır. Aynı zamanda ruminantlarda iki cornu uteri, corpus uteri'ye yakın bir yerde birbirine yapışmıştır. Bu yapışmanın ön tarafında iki cornu uteri lig. intercornuale adındaki bir bağ ile birbirine birleşmiştir. Kısırak ve carnivorlarda cornu'ların ön ucu böbreklerin arka uçlarına kadar uzanır. Cornu uteri'ler lig. latum uteri denilen peritoneal bir bağ ile sublumbal bölgeye asılmışlardır (Bahadır ve Yıldız 2008, Dursun 2008). Uterus, ratlarda 4-6 cm uzunluğunda iki kornuya sahiptir ve iki ayrı canalis cervicis bulunur. Cornu uteri'ler external olarak distalde birleştikleri halde içte iki canalis cervicis gösterirler (Çalışlar 1987).

Corpus uteri, türlere göre değişen uzunluklarda, basit, kastan yapılmış bir borudur. Uterus'un orta parçasıdır. Kısmen karın boşluğunda ve kısmen de pelvis boşluğu içinde yer alır. Üst yüz *facies dorsalis*, alt yüz *facies ventralis*, iç boşluk *cavum uteri* adını alır. *Cavum uteri* ön uçta *cornu uteri*'ler ile, arka uçta ise daralarak *cervix uteri* ile ilişki halindedir (Bahadır ve Yıldız 2008, Dursun 2008).

Cervix uteri, uterus'un vagina ile birleşen kısmıdır. Oldukça kalın duvarlı bir silindirik görünümündedir. Dar olan iç boşluğu, *canalis cervicis uteri* adını alır. *Cavum uteri*'ye önde *ostium uteri internum* ile açılır. Arkada vagina'ya açılan *ostium uteri externum* ile son bulur. *Cervix uteri*'nin kaudal bölümü sus dışındaki türlerde vagina'nın içine doğru hafifçe uzayarak *portio vaginalis* isimli bir çıkıntı yapmıştır.

Lig. latum uteri uterusun bağlarından biridir. Geniş ve kalın bir banttir. *Cornu uteri*'ler ile *corpus uteri*'yi karın ve pelvis boşluğunun yan duvarlarına bağlar. Üst kenarı böbreğin arka ucu yakınından pelvis boşluğu yan duvarlarına kadar uzanır. Dış yüzü boyunca üreterler uzanır. *Mesometrium*, *mesosalpinx* ve *mesovarium* olmak üzere üç bölüme ayrılır. *Mesometrium*, uterusu yakın olan kısmıdır. *Tuba uterina*'ya yakın kısmı *mesosalpinx*, ovaryuma yapışan kısmı *mesovarium*'dur. *Lig. teres uteri*, *cornu uteri*'nin ucundan başlar, inguinal bölge yakınına kadar aşağıya ve arkaya doğru seyrederek. *Lig. latum uteri*'nin dış yüzünde yer alır.

Uterus'un atardamarı *arteria uterina*'dır. *Arteris ovarica*'nın ve *arteria vaginalis*'in dalları ise anastomoz yapar. Toplardamarı *vena uterina*'dır. Lenf damarları *Inn.iliaci mediales* ve *Inn.sacrales*'e dökülür. Sinirleri *plexus ovaricus* ve *plexus pelvinus*'tan gelir (Bahadır ve Yıldız 2008).

2.3. Uterus'un Histolojisi ve Fizyolojisi

Dişi üreme sisteminin görevi, oosit üretimi ile olgun oosit ve spermatozoonun birleşiminden sonra gelişmekte olan embriyonun ve daha sonra fetusun büyüme ve besin ihtiyacını karşılamaktır. Bir sonraki aşamada uygun zamanda doğumun gerçekleşmesi ve doğan yavruya besin sağlanması amaçlanır. Dişi bir canlıda türün devamının sağlanabilmesi hormonlar ile dokulardaki değişiklikler arasında koordinasyon oluşturmasına bağlıdır (Reece 2012).

Dişü üreme sistemi; 2 adet ovaryum, 2 adet tuba uterina, uterus, serviks ve vaginayı içeren iç genital organlar ile vestibulum, labiyumlar, klitoris ve vestibulumu açılan bezlerden oluşan dış genital organlardan ve meme bezlerinden oluşmaktadır (Özer ve ark. 2010).

Uterus'un duvarı tunika mukoza (endometriyum), tunika muskularis (miyometriyum) ve tunika seroza (perimetriyum) olmak üzere üç tabaka halindedir. Endometriyum, uterus'un en iç katmanıdır, lamina epiteliyalis ve lamina propria katlarından oluşur. Lamina epiteliyalis, köpek, kedi ve kısrakta tek katlı kübik ya da prizmatik, ruminantlarda ve domuzda ise çok katlı ya da yalancı çok katlı prizmatiktir (Özer ve ark. 2010).

Ratlarda endometriyum'un yüzeyinde kalın bir lamina propria üzerinde yerleşmiş prizmatik epitel hücrelerden oluşmuş lamina epiteliyalis bulunmaktadır. Lamina propria içinde oldukça fazla sayıda kan damarı ve bez bulunur. Bu bezler endometriyal bez adını alırlar. Bu bezler ruminantlar dışındaki tüm türlerde endometriyumun her tarafına dağılmış halde bulunurlar (www.oecd.org/env/ehs/testing/43754782.pdf).

Östrus siklusu sırasında ovaryumdaki hormonal değişiklikler ve gebelik sırasında değişen hormon düzeylerine göre endometriyumun kalınlığında ve damarlaşmasında farklılıklar gözlenir. Endometriyum bezlerinin salgıları plasentasyondan önce embryo için besin kaynağıdır. Plasentasyondan sonra ise besinler anne kanı tarafından sağlanır (Reece 2012, Maeda ve arkadaşları 2000).

Uterus epitelini oluşturan ve ratlarda prizmatik özellik gösteren lamina epiteliyalis'in hücreleri silya bulduran ve buldurmeyen hücreler olarak iki farklı gruba ayrılırlar. Ovaryum hormonlarının etkisiyle lamina epiteliyaliste bulunan hücrelerin salgı yapma aktiviteleri etkilenir. Örneğin östrojen silyaların hareketlerini indükleyici etki yaparken, progesteron salgınının yapımını artırır. Prizmatik özellik gösteren epitel hücrelerin yükseklikleri de seksüel siklusun evrelerine göre değişiklikler gösterir (Reece 2012).

Silyasız hücreler, yaptıkları salgıyla, sekonder oosite ulaşan spermatozoonlara çevresel koruma ve beslenme sağlarlar. Bu salgı aynı zamanda spermatozoa kapasitesini de kolaylaştırır. Diğer taraftan ovumun beslenebilmesi ve korunması da bu

salgının niteliği ile yakından ilişkilidir; eğer ovum fertilize olursa embriyonun ilk gelişim fazlarında beslenmesini de bu sekresyon sağlar. Uterus'un silyasız hücrelerinin salgıları uterusu doğru sıvı hareketi ile birleşir ve intraperitoneal kavite içine ve tuba uterinaya taşınan uterustaki mikroorganizmaları inhibe eder (Tekelioğlu 2002, Eşrefoğlu 2009).

Endometriyum, histolojik olarak iki kısımda incelenebilir. Lumene yakın olan (2/3 yüzeysel kısmı) ve bezlerin boyun ve gövde bölümlerinin bulunduğu katman *endometriyum fonksiyonalis* ve iç tarafta bulunan katman *endometriyum bazalis* adını alır. Endometriyum fonksiyonalis, gebelikte ve döngünün sekresyon evresinde iki katmandan oluşur. Bezlerin daralıp kapanmış boyun bölgelerini içeren 2/3'lük yüzeysel bölümü yoğun yapıdadır ve kompakt tabaka ismini alır. Alt bölüm ise genişlemiş, salgıyla dolu bezler nedeniyle süngerimsi yapıdadır ve spongiyöz tabaka olarak bilinir. Miyometriyuma komşu olan, endometriyum'un 1/3 derin kısmını oluşturan ve uterus bezlerinin son kısımlarını içeren bölgeye endometriyum bazalis denir. Bu katman menstruasyon sırasında yapısal değişime uğramaz, fonksiyonel katmanın yenilenmesi için kaynak oluşturur (Ross ve Pawlina 2006, Eşrefoğlu 2009).

Endometriyumda 2 tip kan damarı bulunmaktadır. Bazal tabakada kısa düz arterioller, fonksiyonel tabakada ise kıvrımlı arterioller (spiral arterler) yer alır. Menstruasyondan sonra oluşan yeni arterioller, stratum bazalisteki eski damar köklerinden oluşurlar. Menstrüel siklus esnasında düz arterlerle spiral arterlerin proksimal kısmı değişikliğe uğramaz. Ancak spiral arterlerin distal kısmı östrojen ve progesteron etkisi altındadır. Böylece dejenerasyona uğradığı gibi yeniden rejenere olabilir.

Endometriyumun tümünde ince duvarlı venlerden ve sinuzoidlerden oluşan bir ağ bulunur. Uterusun venöz sistemi arterlerine eşlik eder. Uterus'ta lenf damarları da bulunur.

Miyometriyum, içte longitudinal, ortada sirküler ve dışta longitudinal düz kas tabakasından oluşur. Miyometriyum, uterus duvarının en kalın tabakasıdır. Longitudinal kas iç ve dış tabakaları yapar. Zengin damarlı orta tabaka çoğunlukla sirküler tarzda düzenlenmiş düz kas demetlerinin olduğu bölümdür. Zengin damarlı bölge arkuat arterleri bulundurur ve stratum vaskulare adı verilir. Miyometriyal kas hücrelerinin sayısı ve boyutları östrojen düzeyleri ile ilişkilidir. Kas hücrelerinin çapı östrojen seviyelerinin en yüksek olduğu gebelik sırasında en büyük düzeye ulaşır. Ayrıca hiperplazi de gerçekleşerek sayıca artış da

olur. Menstruasyon sırasında östrojenin düşmesiyle kas lifi çap ve sayısındaki artış geriler. Perimetrium (tunica serosa) mezotel ve altındaki ince gevşek bağ dokusundan oluşur. Periton'un visseral yaprağıdır. Bu dış kat peritonsuz bölgede 'tunika adventisya' olarak tanımlanır (Tanyolaç 1999, Tekelioğlu 2002, Ross ve Pawlina 2006, Deveci 2007, Gartner ve Hiatt 2007, Mescher 2009, Özer ve ark. 2010).

2.4. Ratlarda Seksüel Siklus ve Vajinal Smear Sitolojisi

Ratlar, *Rattus Norwegicus*' tan köken almışlardır. *Rattus Norwegicus*, bilimsel amaçla sistematik olarak evcilleştirilmiş ilk memeli türüdür (Poyraz 1997). Ratlarda doğum ağırlığı 5-6 gram, ergin vücut ağırlığı 250-300 gramdır. Yaşama süreleri 2,5-3,5 yıl olup, erkek ve dişiler 65-110 günlük olduklarında üremede kullanılabilir. Üremede 9 ay/1 yıl kadar kullanılabilirler (Harkness ve Wagner 1989, Fox ve Laird 1970). Ratlarda ovaryumlar, ovarian bursalar içinde yer alır. Periovarial aralık peritoneal boşluğa açılır (Hafez 1970, Yockim ve Shirer 1981). Ratların seksüel siklusunun kısa sürmesi, inaktif bir luteal faza sahip olması ve siklustaki olayların fotoperiyodik kontrol altında olmasıyla, spontane ovulasyon gösteren diğer memelilerden ayrılır (Freeman 1988). Pubertaya erişmemiş ratlarda devamlı ışığın kısa periyotlarla kullanılması FSH seviyesini arttırırken, LH seviyesini baskılar. Uzun periyot ışık kullanımı ise her iki hormonu da baskılar (Campbell ve Schwartz 1980).

Ratlar mevsime bağlı olmayan poliöstrik hayvanlardır. Postpartum dönem de dahil olmak üzere yaşlanana kadar yıl boyu östrus gösterirler. Seksüel siklus 4-5 gün sürer. Siklus boyunca proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus evreleri görülür. Proöstrus 12 saat sürer. Bu evrenin sonunda dişi erkeği kabul etmeye başlar. Vajinal sitolojide çekirdekli epitel hücreleri görülür. Östrus evresi de 12 (9-15) saat sürer. Dişi erkeği kabul etmeye devam eder ve lordozis (sırtın içbükey yapılıp genital bölgenin açığa çıkarılması) gözlenir. Sitolojiye hakim olan hücre tipi çekirdekli hücrelerdir (%75). Sitolojide, hücrelerin geri kalanını (%25) kornifiye hücreler oluşturur. Metöstrus 21 saat sürer ve artık dişi erkeği kabul etmez. Sitolojide çekirdekli ve kornifiye hücrelerle beraber çok sayıda akyuvar görülür. Diöstrus 57 saat sürer ve vajinal sitolojide akyuvarlar görülür. Östrus, davranıştaki değişimin gözlenmesi, vajinal sitoloji veya elektriksel empedansın ölçülmesiyle belirlenir. Östrusta gözlenen davranışlar hayvanın başına veya bel bölgesine dokunulduğunda koşuşturması, kulaklarını kıpırdatması ve lordoz pozisyonu almasıdır. Östrus süresince vajina kuru ve

şıktır (Lohmiller ve Swing 2006, Westwood 2008, Oba ve ark. 2001). Barınaklarda hayvanların maruz kaldıkları aydınlık evrenin uzaması östrus siklusunu etkiler. Sürekli ışık uygulaması persistent östrus ve polikistik ovaryum oluşumuna neden olur (Singh 2005). Vazektomi uygulanmış erkek tarafından veya cam bir çubukla serviksleri uyarılan dişilerde 12-14 gün süren bir yalancı gebelik gözlenebilir (Staples 1965). Yavru sayısı ve doğum ağırlığı birbiriyle ters orantılıdır. Sütten kesilme 21. günde şekillenir. Dişi ratlarda fertilité 7-9 aylık yaşa ulaştıklarında azalmaya başlar. Erkek ratların üreme yetenekleri dişilere göre daha uzun sürer fakat iki yaşına yaklaşmış erkek bir ratta üreme yeteneği azalmaya başlamıştır (Mattheij ve Swarts 1991).

Çiftleşme genellikle fotoperiyodun karanlık evresinde gerçekleşir. Çiftleşmeden sonra vajinanın içerisinde erkek eklenti bezlerine ait salgıların pıhtılaşmasıyla bir vajina tıkaçı oluşur (Matthews ve Adler 1978). Vajinal tıkaç spermatozoonların uterusu ulaşmalarında rol oynar (Carpallada ve Esponda 1992). Oluşan vajinal tıkaçın büyüklüğü ile yavru sayısı arasında bir ilişki yoktur (Carpallada ve Esponda 1993).

2.5. Endometriyum ve Embriyo İmplantasyonu

Embriyonun nasıl implante olduğu hala tam olarak aydınlatılmadığı için merak uyandırmaktadır. İmplantasyon mekanizması, embriyo gelişimi ve endometriyum farklılaşması arasında dikkate değer derecede senkronizasyon gerektiren bir işittir. Bu olaylar açıklanmadığı sürece, in vitro fertilizasyon ve implantasyon güçlüğü gibi durumların çözümü de zor olmaktadır. Pek çok hayvanda, endometriyum, uterus'un yavruyu kabul etmesine neden olacak bir seri değişiklikler geçirir ve buna da "implantasyon penceresi" denir. Bu dönem haricindeki zamanlarda uterus, embriyonun implantasyonuna direnç gösterir (Koç ve Kanter 2000).

Hertig ve arkadaşlarının 1956 yılında yaptıkları bir çalışmada, benign jinekolojik hastalığı olan kadın hastalardan bu nedenle histerektomi yapılmadan önce, menstrual düzenlerini ve korunmadan ilişkiye girdikleri tarihleri kaydetmeleri istenmiştir. İzinleri alınarak, operasyon sonrası uterusları dikkatle incelenmiştir. İncelenen uteruslarda menstrual siklusun yirminci gününden önce uterus içinde bulunan embriyolar uterus'a implante olmamış, serbest şekilde, yirmi birinci günden itibaren ise implante olmuş şekilde görülmüşlerdir. Günümüzde bu türlü bir çalışma etik bulunmamakla birlikte, in vitro

fertilizasyon için bu bilgilerin ışığından faydalanılmaktadır (Navot ve ark. 1991). İn vitro fertilizasyonda yirmi dördüncü günden sonra bırakılan embriyolar implante olamamaktadır (Navot ve ark. 1991).

Endometriyum'un menstrual siklus boyunca gösterdiği değişiklikler 1950'lerde ışık mikroskop kullanılarak da incelenmiştir (Noyes ve ark. 1950). Endometriyumda meydana gelen değişiklikler, artan sekretorik aktivite gösteren, subnüklear vakuolleri bulunan ve mitotik aktivitesinde düşüş görülen endometriyal bezleri etkilemektedir. Stroma, yirmi birinci günde aniden ödematöz hale gelir. 1980'lerde elektron mikroskobu kullanılarak yapılan çalışmalar uterus boşluğunda 19 ve 21'inci günler arasında epitelyal çıkıntılar görüldüğünü belirlemiş ve bunlara pinopod denilmiştir (Martel ve ark. 1981) Hem hayvanlarda hem de insanda bunların varlığı, endometriyumun implantasyona açık olduğunun belirtisidir. İmplantasyona açık olunan ve olunmayan dönemde hücre yüzey moleküllerinin ekspresyonundaki değişiklikler de incelenmiştir. Antiadeziv bir molekül grubu olan müsinlerin en etkili grup olduğu düşünülmektedir. Müsinler, uterus'un luminal epitelyal yüzeyinde glikokaliks isimli yapının kalın bir katmanını oluştururlar. Farelerde, glikokaliks varlığı embriyonun endometriyum ile direk temasına engel olur, ancak ovulasyondan sonra kanda östrojen ve progesteron seviyelerinin değişimi bu katmanda incelemeye neden olur. Müsinlerin varlığındaki bu azalma, endometriyumun embriyonun hücreleri ile ilişki kurmasına olanak verir (Surveyor ve ark. 1995).

2.6. Endometriyal Bezlerin Salgıları ve Önemi

Erken gebelik döneminde histiotropik beslenmenin önemli bir özellik olarak görülmesi nispeten yeni bir durumdur. Aslında, erken dönemdeki bir embriyonun, özellikle invaziv tip implantasyonda uterinal sekresyonlarla karşı karşıya gelmesinin önlendiği düşünülmekteydi. Ancak sonraları bu dönemde uterus boşluğunun plazma filtratı ve endometriyal bezlerin salgılarıyla dolu olduğu anlaşılmıştır (Burton ve ark. 2002).

Bezlerin salgıları hem gebe (Bychkov ve Toto 1986, Kupryjanczyk 1989, Lee ve Damjanov 1985, Bychkov ve ark. 1987) hem de gebe olmayan (Bychkov ve Toto 1986; Jones ve ark. 1998) endometriyumda oldukça glikozillenmiş durumdadır. Bu salgılar, gelişmekte olan embriyo için önemli bir besin kaynağıdır ve aynı zamanda çeşitli büyüme faktörlerini de içermektedir (Hempstock ve ark. 2004, Burton ve ark. 2007).

Memeli türleri üremeyi sağlamak amacıyla sıradışı biyokimyasal ve endokrinolojik çeşitliliklerle donatılmıştır. Yine de tüm türlerde maternal ve embriyolojik gelişmenin senkronizasyonu zorunludur. Preimplantasyon döneminde uterustaki mikroçevrenin kompozisyonu üreme için gerekli tüm bileşenleri sağlamak zorundadır. Uterustaki mikroçevrenin yani maternal toprağın toplam kalitesi üreme konusunda belirleyicidir. Mikroçevre, dışının üretimdeki performansını etkiler ancak genetik olarak özerk olan konseptus (tohum kalitesi) üzerinde indükleyici bir etkisi bulunmamaktadır (Kalter 1996).

Embriyonik gelişime benzer şekilde, erken gebelik döneminde uterus sekresyonları kalitatif ve kantitatif olarak değişiklik gösterir (Kalter 1996). Uterinal sekresyonlar içinde en fazla araştırma pek çok türde proteinler üzerinde yapılmıştır (Kalter 1996). Bu proteinlerin çoğu kan serumu kaynaklıdır. Ancak preimplantasyon döneminde luminal sıvıda çok miktarda uterus kaynaklı bileşen de bulunmaktadır. Preimplantasyon döneminde uterustaki mikroçevrede meydana gelen değişiklikler morfolojik, biyokimyasal, enzimolojik, endokrinolojik ve biyolojik değişiklikler olarak sınıflandırılabilir (Kalter 1996).

Uterustaki mikroçevre memelilerde çeşitli fonksiyonlara hizmet eder :

- Spermatozoanın ovidukta ulaşmasını sağlar ve fertilizasyona izin verir,
- Tubal transportun ardından uterusu ulaşan embriyonun implantasyona kadar gelişimi için değişik safhalarda gerekli besini sağlar,
- Embriyonik yapının fizikokimyasal entegrasyonu için uygun ortamı devam ettirir (örneğin ozmolarite)
- İmmunolojik (immunsupresif ve antibakteriyel) gereksinimleri karşılar (Fischer ve Beier 1986).

İşte bu sebeplerle uterusun mikroçevresi üreme konusunda baskın bir role sahiptir. Bu mikroçevre optimal gelişim koşullarının sağlandığını garanti etmelidir. Yine de cinsiyetin belirlenmesi gibi bazı konularda herhangi bir etkisi söz konusu değildir. Bu konularda söz sahibi olan yalnızca embriyonun genetik materyalidir. Ancak bunun açığa çıkarılmasını sağlayacak olan kuşkusuz uterusun mikroçevresidir. Bu mikroçevre, dışının reproduktif performansının bir yansımasıdır (Fischer ve Beier 1986).

Uterus sekresyonları, gelişen embriyonun farklı ihtiyaçlarına cevap verecek şekilde döngüsel olarak değişir. Bu değişiklikler hem kantitatif hem de kalitatif sekretorik aktiviteleri içerir ve türler arasında farklılıklar gösterir. Bunların kontrolü maternal hormonlarla sağlanır. Maternal ve embriyonik gelişim arasındaki senkronizasyonu sağlayanın da hormonlara bağlı döngüsel değişiklikler olduğuna inanılmaktadır. Memelilerin erken dönem gelişiminde senkronizasyon temel prensiptir ve embryo transfer deneyleri ile kesin bir şekilde gerekli olduğu ortaya konabilir. Uterinal sekresyonların senkronizasyonun temelini oluşturduğuna ilişkin biyolojik kanıt ilk kez Fischer ve Beier tarafından ortaya konulmuştur (Fischer ve Beier 1986).

İnsanda gebeliğin ilk trimesterinde uterinal bezlerin histiotropik beslenme sağladığına ilişkin bilgiler 2002 yılında Burton ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Yapılan çalışmada gebeliğin en az 10 haftalık dönemine kadar endometriyal bezlerin varlığının belirgin derecede devam ettiği ve yaptıkları salgıların plasental intervillöz aralığa bırakıldığı ifade edilmiştir. Bu salgıların, blastosistin trofoektodermi tarafından fagosite edildiği ve sonraları da plasentanın trofoblastı tarafından alındığının altı önemle çizilmiştir. İmplantasyon öncesinde histiotropik beslenmenin olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından belirtildiği halde kaynaklar, implantasyon sonrasında da belirli bir dönem embriyonun beslenmesinde endometriyal bezlerin salgılarının önemine vurgu yapmaları dikkat çekicidir (Burton ve ark 2002). Jones ve arkadaşları sağlıklı bir doğum için endometriyal bez salgılarının glikozilasyonunun düzenlenmesinin histiotropik beslenmeyi optimize edeceği gerekçesiyle gerekli olduğunu bildirmişlerdir (Jones ve ark. 2010)

İlkel primatların çoğunda, embriyonik gelişmenin, erken gelişim döneminde blastosist daha oviduktta iken başarısız olduğu bildirilmiştir (Murray ve ark 1971). Bu durumun da uterus kaynaklı bazı faktör ya da faktörlerin stimülasyonlarının yokluğundan ya da varlığından kaynaklanıyor olabileceği ifade edilmiştir. (Bazer ve ark. 2009).

2.7. İmplantasyon ve Diyabet

Tip 1 diyabet (diabetes mellitus), pankreasta bulunan beta hücrelerinin görevlerini yerine getirememesiyle oluşan, genetik faktörlerin çevresel koşullarla birleşmesiyle ilerleyen kronik bir hastalıktır (Garner 1995).

Diyabete gebelik döneminde sık rastlanır. Gebelik döneminde diyabetin deneyimlenmesi, hem anne hem de fetus için önemli riskler teşkil eder. Kanda glisemik indeksin yüksek, düşük ya da başka bir deyişle kontrolsüz olduğu durumlarda; yavruda doğumsal malformasyonlar, uterus içi ölümler, annede retinopati, nefropati, ketozis görölme oranları artmaktadır (Kuhl 1975). Annenin ilerleyen yaşlarda gebe kaldığı durumlarda, kanda glikoz düzeyinin sürekli yüksek olmasıyla özellikle uterus epiteli önemli hücresel farklılıklar gösterir. Deneysel olarak diyabetin oluşturulduğu vakalarda, endometriyal yapının hasar gördüğü, epitel hücrelerin oturduğu bazal membranın kalınlığının arttığı, organel hacminin azaldığı ve intrasitoplazmik lipid birikiminin arttığı tespit edilmiştir (Garris ve Garris 2003).

İntrasellüler ve ekstrasellüler lipid birikiminde artış, özellikle endometriyumun diyabet olgusundan etkilendiğinin kanıtıdır. Bu artış; trigliseritlerin fazla miktarda emilimi, dolayısıyla serbest yağ asitlerinin yoğunluğunun artması sonucu şekillenir. Bu sürecin doğal sonucu olarak oluşan şişmanlık, üreme sisteminde atrofiye, fetusun ve plasentanın gelişiminde geriliğe neden olur (Garner 1995).

Deneysel olarak diabetes mellitus oluşturulan kemirgenlerde, diyabetin embriyonik gelişim üzerine olumsuz etkileri gösterilmiştir (Garris ve ark. 1984). Doğumsal ketonürik diyabetli hamsterlarda uterus histolojisinde meydana gelen farklılıklar tespit edilmiştir (Garris ve ark. 1984). Bu hayvanların uterusları ile normal hamsterlerin uterusları karşılaştırıldığında ilk grupta diğerinden farklı olarak epitel hücrelerinin mikrovilluslarını kaybettikleri ve sekretorik faaliyetlerin sekteye uğradığı gösterilmiştir. Epitelin bazal laminasının kalınlığının, normal hamsterların bulunduğu ikinci gruba göre misliyle daha kalın olduğu belirtilmiştir. Birinci grupta bulunan hayvanların genel uterus morfolojileri bozulmuş, intersellüler matrikste artış/kalınlaşma tespit edilmiştir. Meydana gelen bumorfolojik değişimlerin üreme bozukluğuna yol açıyor olabileceği ifade edilmiştir (Garris ve ark. 1984).

Annenin diyabetik olması, implantasyondan önceki safhalar da dahil olmak üzere embriyonun gelişimini olumsuz etkiler (Pampfer ve ark. 1990). Diyabetli ratların blastosistlerinde oransal olarak daha fazla ölü hücre görülmesi apoptozu düşündürmüştür (Pampfer ve ark. 1990; Pampfer ve ark. 1997). Adı geçen araştırmalara göre, diyabet kaynaklı olarak hem yavru da hem de annede meydana gelen tüm bu normalden sapmalara sebep olacak bazı faktörler olabileceği ileri sürülmüştür. Bunlardan glikoz düzeyi (De Hertogh ve ark. 1991), TNF-alfa (Pampfer ve ark. 1994, Pampfer ve ark. 1997), apoptozis (Pampfer ve ark. 1997), oksidatif stres (Leunda-Casi ve ark. 2002), glikoz metabolizması (Augustin ve ark. 2003) başı çekmektedir.

Diabetes mellitus için birbirinden farklı deneysel modellemeler yapılmıştır. Bunlar arasında en çok rağbet görenler, kimyasal maddelerin kullanılması ile oluşturulan modellerdir. Kimyasal maddelerin kullanılması ile oluşturulan modeller arasında da Streptozotosin (STZ) ve Alloksan en popüler kullanım alanı bulanlardır. Bu iki madde, hücre yıkımına neden olarak insanlarda görülen Tip I Diyabet'e benzer şekilde diyabet oluştururlar (Kalter 1996).

Streptozotosin, diyabet oluşumuna yol açan bir antibiyotiktir. Streptomyces achromogenes kültürlerinden Herr ve Eble tarafından 1959 yılında elde edilmiştir (Herr ve ark. 1959).

Streptozotosin, pankreasta bulunan beta hücrelerini yıkmalar, insülin bağımlı ve insülin bağımsız diyabet oluşturma sebebinin altında da bu hücre yıkımı vardır. İnsanlar üzerinde orta derece karsinojenik etkisi bulunmaktadır. Streptozotosin'in ratlarda diyabete sebep olduğu tespit edilmiştir. (Akbarzadeh ve ark. 2007).

Streptozotosin kullanılarak diyabet oluşumu günümüzde diyabet ile çalışan araştırmacılar arasında en yaygın olanıdır. Deneysel diyabette STZ verildikten sonra ilk evrede görülen hiperglisemi, dokuların glikozu kullanamaması, karaciğerde aşırı glikoz serbestleşmesi veya böbrek üstü bezinden salgılanan adrenaline bağlıdır. İkinci devredeki hipogliseminin nedeninin ise glikozun dokular tarafından kullanılmasının artması, glikozun dokulardan kana geçmesinin baskılanması, glikozun böbreklerden atılımının artması ve beta hücrelerinden serbestleşen insülin kaynaklanabileceği şeklindedir (Kalter 1996).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Grupların Oluşturulması

Ağırlıkları 250 – 300 gram olan, erişkin dişi Wistar Albino sıçanlardan her grupta 8 adet olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Gruplar şu şekilde düzenlendi:

Grup 1, diyabetik gebe;

Grup 2, diyabetik;

Grup 3, yalnız gebe;

Grup 4, diyabet ve gebeliğin bulunmadığı kontrol grubu.

Gruplandırmanın bu şekilde yapılmasıyla, normal, yalnızca diyabet olan, yalnızca gebe olan ve hem diyabet hem de gebeliğin bulunduğu gruplarda sağlıklı bir karşılaştırma yapmak amaçlandı.

3.2. Seksüel Siklus Takibi ve Gebeliğin Oluşturulması

Ratlar, her kafeste 4 adet olacak şekilde kafeslere yerleştirildiler. Standart yem ve musluk suyu ile beslenen ratlar, 21-23 santigrat derecelik oda ısısında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık bir ortamda tutuldular. Seksüel sikluslar, 24 saat aralıklarla alınan vaginal smearlerin bir dakika süreyle metanol ile tespiti ve ardından 30 dakika süreyle Giemsa ile boyanmasının ardından ışık mikroskopik değerlendirilmesinin yapılması ile tespit edildi (Şekil 4.56, 4.57, 4.58, 4.59, 4.60 ve 4.61).

Östrusta olduğu tespit edilen ratların tümü, her kafeste 3 ya da 4 dişi ve bir erkek rat olacak şekilde farklı kafeslere yerleştirildi. Ratlar, 12 saat karanlık periyodu bir arada geçirdikten sonra ertesi gün vaginal smear'leri tekrar alındı. Ratların gebe kabul edilebilmeleri için vaginal smear'lerinde spermatozoon görülmesi kriter olarak kabul edildi. Vaginal smearlerinde spermatozoon görülen ratlar gebeliğin birinci gününde kabul edildiler (Lohmiller ve Swing, 2006).

3.3. Diyabet Oluşturulması ve Doku Alımı

Diyabet oluşumunun gerekli olduğu birinci ve ikinci gruplara 45 mg/kg Streptozotosin (STZ) serum fizyolojik içinde özdürölerek taze Şekilde hazırlandı ve intraperitoneal olarak uygulandı. Bu uygulamadan 48 saat sonra ratların kuyruk uçlarından alınan kan ile Şeker düzeyi 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. Ratların embriyolojik gelişim dönemleri göz önünde bulundurularak, gebeliğinin beşinci ve yedinci gününde olan ratlar, 80-12 mg/kg dozunda ketamin-ksilazin karışımı uygulanarak anestezi altına alındılar. Anestezi devam ederken, orta hattan insize edilen ratların uterusları alındıktan sonra ratlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildiler. Bütün bu işlemler sırasında Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun yönergeleri titizlikle uygulandı. Alınan uterus dokuları izole edildikten sonra, 900 mL distile suya 4gr sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{H}_2\text{O}$), 6,5 gr disodyum hidrojen fosfat dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$) ve 100 mL % 37'lik formaldehit eklenerek hazırlanan tamponlanmış formol solüsyonuna atılarak tespit edildi. Gebe olmayan ratlar, diğer gruplarla uyumlu olması amacıyla cam çubukla uyarıldılar ve gebe olan ratlarla aynı günde sakrifiye edilerek uterus örnekleri alındı ve tamponlanmış formol solüsyonuna atılarak tespit edildi.

3.4. Dokulara Uygulanan Histolojik Prosedür

Işık mikroskobik incelemeler için alınan doku örnekleri, %4'lük tamponlanmış formalin solüsyonu ile tespit edildikten sonra, 24 saatlik yıkama işlemini takiben dereceli alkollerden geçirildi. Ksilolde bekletildikten sonra parafin içine gömölerek bloklama işlemi yapıldı. Hazırlanan parafin bloklardan 5 mikronluk seri kesitler alındı. Uterusun genel yapısını ortaya koymak amacıyla Crossman'ın modifiye üçlü boyama tekniği (Denk ve ark. 1989) kullanılarak elde edilen preparatlar CX21 Olympus binoküler mikroskoba bağlı Olympus sc100 kamera sistemi ve cellSens Entry bilgisayar görüntüleme sistemi kullanılarak incelendi ve fotoğraflandı. Uterus katmanlarının genel yapısı ve hücreler bu yolla izlendi. Grupların karşılaştırılması kendi aralarında ve mevcut literatüre dayanılarak yapıldı.

3.5. Dokulara Uygulanan Histokimyasal Prosedür

Dokulara uygulanan histokimyasal prosedürde altı farklı metod kullanıldı.

3.5.1.Periyodik Asit Schiff (PAS) Metodu

Alınan uterus dokularında bulunan nötral münlerin tespit edilebilmesi amacıyla bu dokulardan alınan beş mikron kalınlığındaki kesitler, iki kez 10'ar dakikalık ksilol ile deparafinizasyonun ardından sırasıyla iki kez %100, sonra birer defa %96, %80 ve %70'lik etil alkolde ikişer dakika beklenerek rehidre edildi. Rehidrasyondan sonra iki kez distile suda çalkalandıktan sonra, % 1'lik periyodik asit (HIO_4) solüsyonunda 10 dakika süre ile bekletildi. Ardından 10 dakika akarsuda yıkanan kesitler; Schiff's Reagent ile 15 dakika süreyle karanlıkta boyandı. Schiff's Reagent, Sigma Aldrich Co.'dan sağlandı. Karanlıkta 15 dakika süreyle bu solüsyon ile muamele gören kesitler için, potasyum metabisülfid ile ($K_2S_2O_5$) %10'luk bir çözelti hazırlandı. Bu çözeltiden alınan 5 cc, 5 cc 1N hidroklorik asite (HCl) eklenerek 100 cc distile su içinde çözdürüldü. Kesitler iki kez beşer dakika süreyle bu solüsyon içinde bekletildi. Ardından kesitler tekrar 10 dakika süreyle akarsuda yıkandı, distile su içinde çalkalandıktan sonra Mayer'in haematoxyleni ile 5 dakika boyandı, devamlı akarsuda 10 dakika daha yıkandıktan sonra distile su ile çalkalandı. Tekrar dereceli alkollerden geçirilerek dehidrasyonu yapılarak, ksilol ile parlatıldıktan sonra Entellan® (Merck 1.07961.0100) ile kapatıldı (Denk ve arkadaşları 1989). Elde edilen preparatlar CX21 Olympus binoküler mikroskoba bağlı Olympus sc100 kamera sistemi ve cellSens Entry bilgisayar görüntüleme sistemi kullanılarak incelendi ve fotoğraflandı.

3.5.2.Alcian Blue pH 2,5 Metodu

Alınan uterus dokularında bulunan asit mukopolisakkaritlerin gösterilmesi için kullanılan bu metotta öncelikle 100 mL distile suya 3 mL asetik asit eklenerek %3'lük asetik asit solüsyonu hazırlandı. Daha sonra bu solüsyondan her 100 mL için 1 gr Alcian Blue 8GX eklenerek ve pH'sı 2,5'e ayarlanarak boya solüsyonu oluşturuldu. Kesitler ksilollerden ve dereceli alkollerden geçirilerek distile suya getirildi. 3 dakika süreyle %3'lük asetik asit solüsyonunda tutulduktan sonra hazırlanan boya solüsyonunda 30 dakika tutuldu. Tekrar %3'lük asetik asit solüsyonunda yıkanmalarının ardından distile suda da yıkanan kesitler,

dehidrasyonları yapıldıktan ve ksilol ile parlatıldıktan sonra Entellan® kullanılarak kapatıldılar (Culling ve arkadaşları, 1985).

3.5.3.Alcian Blue pH 1,0 Metodu

Alınan uterus dokularında bulunan sülfatlı mukopolisakkaritlerin gösterilmesi için kullanılan bu metotta öncelikle 0,1 N hidroklorik asit solüsyonu hazırlandı. Daha sonra bu solüsyondan her 100 mL için 1 gr Alcian Blue 8GX eklenerek ve pH'sı 1,0'a ayarlanarak boya solüsyonu oluşturuldu.

Kesitler deparafinize edilerek distile suya getirildiler. Ardından 3 dakika süreyle 0,1 N hidroklorik asit solüsyonu içinde tutuldular. 30 dakika süreyle boya solüsyonu içinde tutulan kesitler, ardından hızlıca 0,1 N hidroklorik asit içinde çalkalandıktan sonra kurutma kağıdı ile fazla suyu alındı ve ksilol ile muamele edildikten sonra Entellan® kullanılarak kapatıldı (Culling ve arkadaşları 1985).

3.5.4.Periyodik Asit Schiff ve Alcian Blue (pH 2,5) kombinasyon metodu

Alınan uterus dokularında bulunan nötral ve asidik mukosubstansların birlikte tespit edilebilmesi amacıyla bu dokulardan alınan kesitler ksilol ile deparafinize edilip distile suya getirildikten sonra %3'lük Asetik asit solüsyonu kullanılarak %1'lik Alcian Blue 8GX boya solüsyonu hazırlandı. Boya her kullanımdan önce filtre kâğıdıyla süzüldü. Hazırlanan boya solüsyonu ile kesitler 60 dakika süreyle boyandı. Distile su ile çalkalanan kesitler daha sonra 10 dakika % 1'lik periyodik asit çözeltisinde tutuldu. Ardından 3 kez 3'er dakika süreyle distile suda bekletilen kesitler 30 dakika süreyle Schiff ayracında karanlıkta bekletildi. Tekrar 3 kez 3'er dakika süreyle distile suda bekletilen kesitler dehidre edilip parlatıldıktan sonra Entellan® kullanılarak kapatıldı (Denk ve ark. 1989).

3.5.5.Aldehyde Fuchsin Metodu

Öncelikle 1 gr Bazik fuksin 60 mL etanol ve 40 mL distile su içinde çözdürülerek 1mL konsantre hidroklorik asit eklendi. Solüsyonun olgunlaşması için bir hafta süreyle beklendi ve ardından filtre kağıdından süzülerek aldehit fuksin solüsyonu hazırlandı. Alınan

uterus dokularında bulunan sülfomüsin ya da sülfatlı proteoglikanların tespit edilebilmesi amacıyla bu dokulardan alınan kesitler deparafinize edilip alkol serilerinden geçirildikten sonra hazırlanan aldehit fuksin solüsyonunda 5 dakika süreyle boyandı. Akarsu yıkamasıyla fazla boyası alınan kesitler, hacimce % 0,5 HCl asit içeren % 95'lik ethanolde 20 saniye süreyle bekletildi. Yıkamanın ardından dereceli alkollerden ve xylolden geçirilen kesitler Entellan® kullanılarak kapatıldı (Bancroft ve Gamble 2002).

3.5.6. Biotin ile İşaretli Lektinler İçin Kullanılan Histokimyasal Metod

Histokimyasal metodun yıkama aşamalarında kullanılacak olan PBS (Phosphate Buffered Saline, pH:7,2), 7,8 gr NaH₂PO₄ ve 40 gr NaCl 5 litre distile suyun içinde karıştırılarak ve pH'sı 7,2 olacak şekilde 1N NaOH kullanılarak hazırlandı.

Adhezivli lam üzerine beş mikron kalınlığında alınan kesitler, iki kez 10'ar dakika ksilol içinde tutulup deparafinize edildikten sonra iki dakika % 100 etil alkolde, iki dakika da %96 etil alkolde tutuldular. Endojen peroksidaz aktivitesinin önlenmesi için de otuz dakika süreyle %80 etil alkole eklenen hidrojen peroksit ile muamele edildi. Tekrar iki dakika daha %70 etil alkolde tutulan kesitler, üç kez beşer dakikalık PBS solüsyonunda yıkanarak rehidrasyonları tamamlandı. Her bir kesit üzerine dokunun üstünü kapatacak kadar serum blok solüsyonu konularak on dakika süreyle inkubasyona bırakıldı. Biotin ile işaretlenmiş lektinler olan Sigma Aldrich® L6135 kodlu Arachis hypogaea'dan elde edilmiş Peanut Agglutinin (PNA), Sigma Aldrich® L5142 kodlu Triticum vulgare'ın ten elde edilmiş Wheat germ agglutinin (WGA), Sigma Aldrich® C2272 kodlu Canavalia ensiformis'ten elde edilmiş Concanavalin A (Con-A); öncelikle PBS içinde %1 Sığır Serum Albumini kullanılarak toz formundan sıvı forma getirildi. Ardından PNA 1:50 oranında, WGA 1:50 oranında ve Con-A 1:50 oranında dilue edilerek kesitler üzerine uygulandı ve burada 60 dakika süreyle tutuldu. Kesitler bunun sonrasında 3 kez ikişer dakikalık PBS yıkamasına tabi tutuldu. Preparatlardaki fazla su alındıktan sonra biyotinle işaretli sekonder antikor, dokuların üzerini kapatacak şekilde damlatıldı ve 20 dakika süreyle bekletildi. Tekrar üç kez ikişer dakika PBS ile yıkanan kesitler yine fazla su alındıktan sonra üzerlerine enzim konjugatı eklendi ve 10 dakika süreyle inkubasyona bırakıldı. Bir önceki adımla aynı şekilde PBS yıkamasına alınan kesitlere Sigma Aldrich® AEC101 kodlu AEC Chromogen Kit, kullanma talimatlarına uyularak uygulandı ve mikroskopta kontrolleri yapılarak 10 dakika süreyle boyandı. Distile suda beş dakika yıkanan kesitler kısa süre akarsu yıkamasında

tutuldu ve karşıt boyama için Mayer'in Hematoksileninde 15 saniye süreyle boyandı, tekrar kısa süreli akarsu yıkamasından sonra kesitler su bazlı kapama medyumu ile kapatıldı (Rhodes ve Milton 1998).

3.5.7. Peroksidaz ile İşaretli Lektin İçin Kullanılan Histokimyasal Metod

Adhezivli lam üzerine beş mikron kalınlığında alınan kesitler, iki kez onar dakika ksilol içinde tutulup deparafinize edildikten sonra iki dakika % 100 etil alkolde, iki dakika da %96 etil alkolde tutuldular. Endojen peroksidaz aktivitesinin önlenmesi için de otuz dakika süreyle % 80 etil alkole eklenen hidrojen peroksit ile muamele edildi. Tekrar iki dakika daha % 70 etil alkolde tutulan kesitler, üç kez beşer dakikalık PBS solüsyonunda yıkanarak rehidrasyonları tamamlandı. Her bir kesit üzerine dokunun üstünü kapatacak kadar serum blok solüsyonu konularak on dakika süreyle inkubasyona bırakıldı. Peroksidaz ile işaretli Glycine max'ten elde edilmiş Soy Bean Agglutinin (SBA) PBS içinde %1 Sığır Serum Albumini kullanılarak toz formundan sıvı forma getirildi. Ardından SBA 1:50 oranında dilue edilerek kesitler üzerine uygulandı ve burada 60 dakika süreyle tutuldu. Kesitler bunun sonrasında 3 kez ikişer dakikalık PBS yıkamasına tabi tutuldu. Preparatlardaki fazla su alındıktan sonra Sigma Aldrich® AEC101 kodlu AEC Chromogen Kit, kullanma talimatlarına uyularak uygulandı ve mikroskopta kontrolleri yapılarak 10 dakika süreyle boyandı. Distile suda beş dakika yıkanan kesitler kısa süre akarsu yıkamasında tutuldu ve karşıt boyama için Mayer'in Hematoksileninde 15 saniye süreyle boyandı. Tekrar kısa süreli akarsu yıkamasından sonra kesitler su bazlı kapama medyumu ile kapatıldı (Rhodes ve Milton 1998).

Çizelge 1: Kullanılan lektinler, spesifiteleri, sulandırma oranları, kaynak

Lektin Adı	Spesifitesi	Sulandırma Oranı	Kaynak
PNA(<i>Arachis hypogaea</i>)	β -zincirli galaktoz	1:50	Sigma Aldrich®
WGA(<i>Triticum vulgaris</i>)	β -zincirli N- asetilglukozamin, siyalik asit	1:50	Sigma Aldrich®
Con-A(<i>Canavalia ensiformis</i>)	α - zincirli mannoz, α - zincirli glüköz, α - zincirli N- asetilglukozamin	1:50	Sigma Aldrich®
SBA(<i>Glycine max</i>)	α - β zincirli N- asetilglukozamin	1:50	Sigma Aldrich®

Uygulanan tüm lektin histokimyası boyama sonuçları, boyanma olmadığı durumlarda (-), hafif pozitif boyanmaların olduğu durumlarda (+/-), pozitif boyanmanın olduğu durumlarda (+), kuvvetli reaksiyon görüldüğünde ise (+ +) simgeleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Grup 1'den 5. günde alınan uterus örneklerinde Crossman'ın modifiye triple boyamasında endometriyal bezlerin yapısında bozulma görülmedi (Şekil 4.1). PNA ile yapılan lektin histokimyasında endometriyal bezleri oluşturan hücrelerin apikal sitoplazmasında pozitiflik görüldü, ancak bez hücrelerinin sitoplazmaları boya almamıştı (Şekil 4.2). SBA kullanılarak yapılan lektin histokimyasında ise endometriyal bezlerde pozitiflik görüldü (Şekil 4.3). WGA ile yapılan lektin histokimya boyası sonuçlarında çok hafif pozitiflik tespit edildi (Şekil 4.4). Yine bu grupta Con A ile yapılan lektin histokimya boyası sonuçlarında, endometriyal bezlerde pozitifliğe rastlandı (Şekil 4.5).

Grup 1'den 7. günde alınan uterus örneklerinde Crossman'ın modifiye triple boyamasında uterus'un panoramik görüntüsünde bozulmalar olduğu tespit edildi. Bu bozulmanın diyabet kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Şekil 4.6). Con A ile yapılan lektin histokimyasında intrasitoplazmik pozitiflik görüldü (Şekil 4.7). Yine aynı grubun aynı gününde alınan uterus örneklerinin PNA ile boyanmasında endometriyal bezlerin lümeninde pozitifliğe rastlandı. Bazı bezlerde hücre içi boyanmalar da tespit edildi (Şekil 4.8) SBA ile yapılan boyamadan endometriyal bezleri oluşturan hücrelerin apikal sitoplazmasında boyanmalar tespit edildi (Şekil 4.9). WGA ile yapılan lektin histokimya boyamasından endometriyal bezleri oluşturan hücrelerdeki boyanma hafif pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 4.10).

Grup 2 (yalnız diyabetli grup)'nin 5. günü için alınan örneklerden yapılan Crossman'ın modifiye triple boyamasında, uterus'un genel görüntüsü iyi olmakla birlikte endometriyal bezlerin genel yapısında bozulmalar göze çarptı (Şekil 4.11). Con A ile yapılan boyamada ise uterus lümeninde pozitiflik, bezlerde ise hafif pozitiflik gözlemlendi (Şekil 4.12 ve 4.13). Aynı grubun aynı günü için yapılan PNA boyamasında uterus lümeninde ve endometriyal bezlerde belirgin pozitiflik görüldü (Şekil 4.14). SBA ile yapılan lektin histokimyasında endometriyal bezlerde kuvvetli pozitiflik görüldü (Şekil 4.15). WGA yönünden endometriyal bezlerde pozitifliğe rastlanmadı (Şekil 4.16). Ancak yine WGA ile yapılan boyamada uterus lümeni pozitif görüldü (Şekil 4.17).

Grup 2'nin 7. günü için yapılan Crossman'ın modifiye triple boyamasında, uterus'ta özellikle bağdokuda dejenerasyonun olduğu gözlemlendi (Şekil 4.18). Con A ile yapılan

boyamada hafif boyanma tespit edildi (Şekil 4.19). PNA için yapılan boyama sonucunda uterus lümeninde ve bez lümenlerinde pozitiflik görüldü (Şekil 4.20 ve 4.21). SBA kullanılarak yapılan boyamada ise bezlerin bu lektin yönünden pozitif olduğu değerlendirildi (Şekil 4.22), ancak uterus lümeninde aynı pozitiflik görülmedi (Şekil 4.23). WGA lektin kullanılarak yapılan boya sonuçlarına göre ise endometriyal bezlerin bu lektine spesifik salgı niteliğinin oldukça zayıf olduğu gözlemlenirken (Şekil 4.24), uterus lümeninde hafif bir pozitiflik görüldü (Şekil 4.25).

Grup 3 (yalnız gebe grup)'ün 5. gününde alınan örneklerin, Crossman'ın modifiye triple boyaması sonucu olarak genel görüntü histolojik normlara uygun olarak görüldü (Şekil 4.26). Con A ile yapılan lektin histokimyası sonucunda bezlerin salgısının bu lektin yönünden pozitif olduğu gözlemlendi (Şekil 4.27). PNA kullanılarak yapılan boya sonucunda ise bezlerin salgısının bu lektin yönünden negatif olduğu değerlendirildi (Şekil 4.28). WGA ve SBA ile yapılan boyamalarda ise salgıların adı geçen lektinler yönünden pozitif olduğu görüldü (Şekil 4.29 ve 4.30).

Grup 3'ün 7. günü Crossman'ın modifiye triple boyaması sonucunda histolojik yönden normal uterus yapısı izlendi (Şekil 4.31). Con A kullanılarak yapılan lektin histokimyası sonucunda endometriyal bezler pozitif gözlemlendi (Şekil 4.32). PNA kullanılarak yapılan boya sonucunda ise endometriyal bezlerin boya almadığı tespit edildi (Şekil 4.33). SBA kullanılarak yapılan lektin histokimyası sonucu bezlerde hafif pozitiflik tespit edildi (Şekil 4.34). WGA kullanılarak yapılan lektin histokimyası sonucu bezlerde pozitiflik görülmedi (Şekil 4.35).

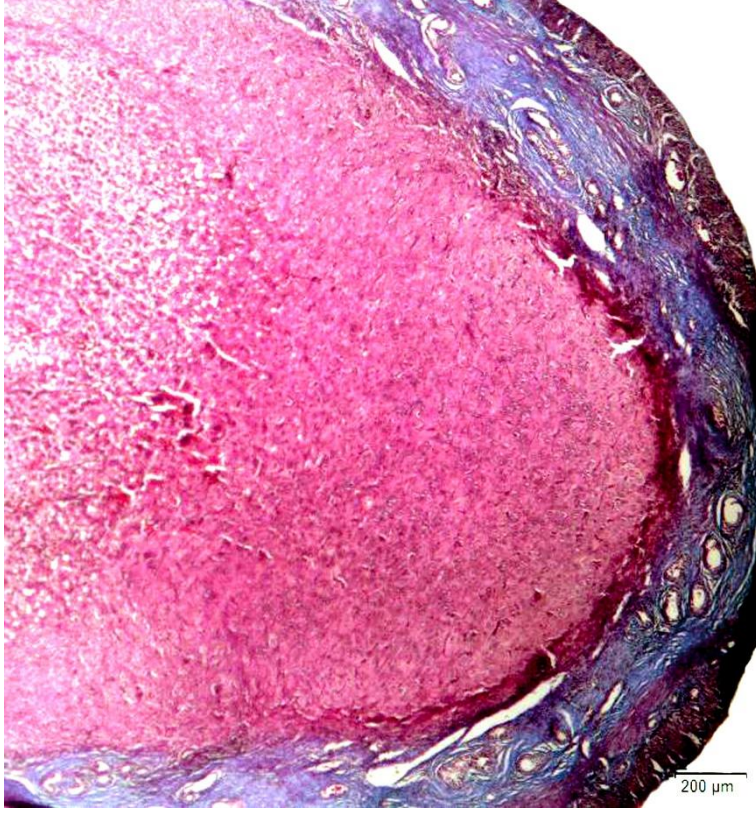
Grup 4'ün 5. günü için yapılan Crossman'ın modifiye triple boyamasında, uterus histolojik yapısının normal olduğu gözlemlendi (Şekil 4.36). Aynı grupta yapılan Con A boyamalarında ise yine hem uterus'un hem de endometriyal bezlerin lümenleri hafif pozitif, ancak endometriyal bezlerin bazılarında boyanma tespit edilemedi (Şekil 4.37 ve 4.38). Ancak PNA ile yapılan boyamada, endometriyal bezlerin lümenlerinde boyanma olmazken, uterus lümeninde boyanma görüldü (Şekil 4.39 ve 4.40). SBA kullanılarak yapılan lektin histokimyası sonucu bezlerde hafif pozitiflik, aynı zamanda uterus lümeninde ise pozitiflik tespit edildi (Şekil 4.41 ve 4.42). WGA kullanılarak yapılan lektin histokimyası sonucu bezlerde negatiflik, aynı zamanda uterus lümeninde ise hafif pozitiflik tespit edildi (Şekil 4.43 ve 4.44).

Grup 4'ün 7. günü için yapılan Crossmann's triple boyaması sonucunda uterusun histolojisi normal gözlemlendi (Şekil 4.45). Con A boyamasında endometriyal bezler pozitif boyanmış, uterus lümeni ise kuvvetli pozitif boyanmış olarak görüldü (Şekil 4.46). Yapılan PNA boyamasında ise hem uterus lümeni hem de endometriyal bezlerin lümenlerinde boyanma negatifti (Şekil 4.47 ve 4.48). SBA boyanmasında ise bezler ve uterus lümeni bu lektin yönünden pozitif görüldü (Şekil 4.49). WGA boyanmasında ise, uterus lümeninde de bezlerde de pozitifliğe rastlanmadı (Şekil 4.50).

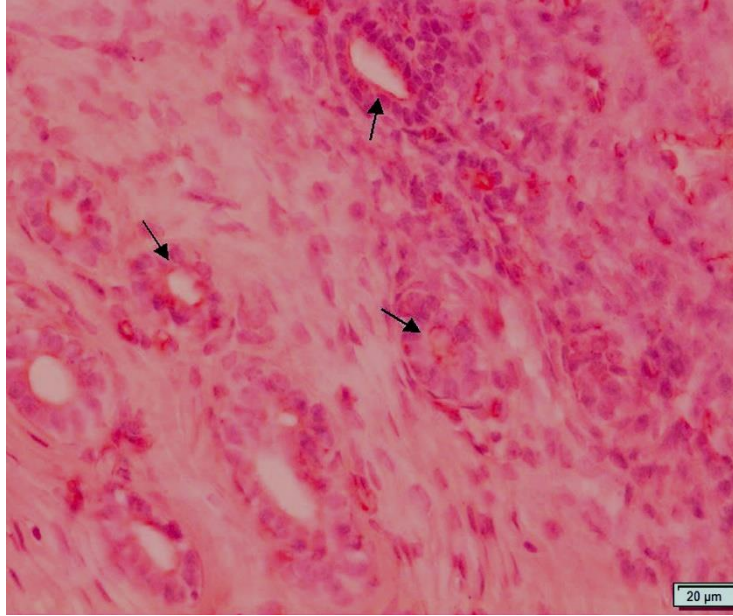
Alınan dokularda bulunan nötral mukopolisakkaritlerin gösterilmesi amacıyla yapılan PAS boyasından (Şekil 4.51), epitelyal mukosubstansların gösterilmesi amacıyla yapılan PAS/AB kombine boyasından (Şekil 4.52), sülfatlı mukopolisakkaritlerin gösterilmesi amacıyla yapılan Alcian Blue pH 1.0 boyasından (Şekil 4.53), asit mukopolisakkaritlerin gösterilmesi amacıyla yapılan Alcian Blue pH 2.5 boyasından (Şekil 4.54), ve sülfomüsin ya da sülfatlı proteoglikanların gösterilmesi amacıyla yapılan aldehit fuksin (Şekil 4.55) boyamalarının hiçbirinden hiçbir grupta pozitif sonuç alınmadı.

Çizelge 2: Gruplara göre endometriyal bezlerde lektin histokimyası sonuçları [(++ kuvvetli pozitifliği, (+/-) hafif pozitifliği, (+) pozitifliği, (-) negatifiği göstermektedir.]

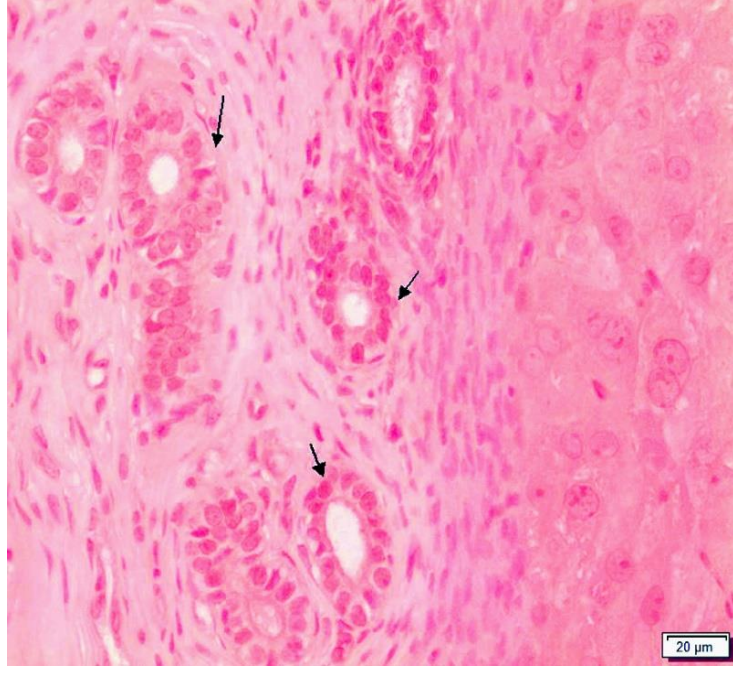
Lektin	Con A		PNA		WGA		SBA	
	5. gün	7. gün	5. gün	7. gün	5. gün	7. gün	5. gün	7. gün
Diyabetli gebe	+	+	+	+	+ / -	+ / -	+	+
Yalnız Diyabet	+	-/+	++	+	-	-	++	+
Yalnız Gebe	+	+	-	-	+	-	+	-/+
Kontrol	+ / -	+	-	-	-	-/+	-	+



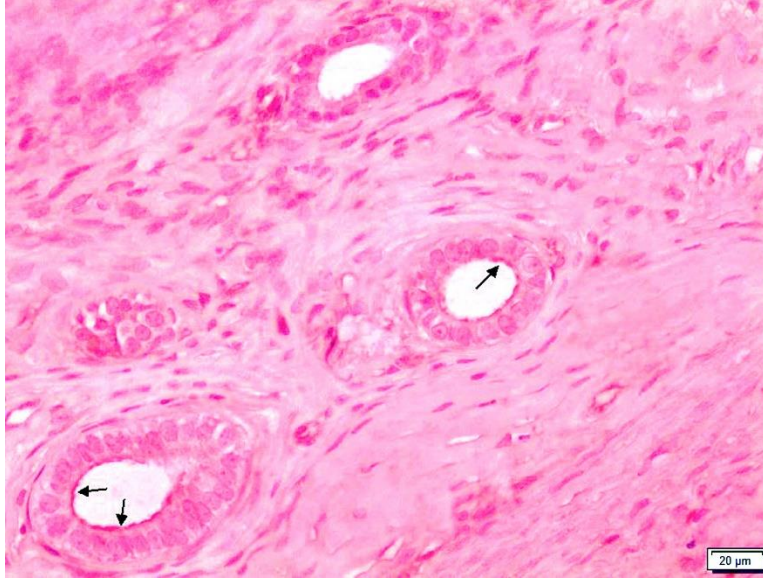
Şekil 4. 1. Grup 1 Gün 5 Crossmann's Triple



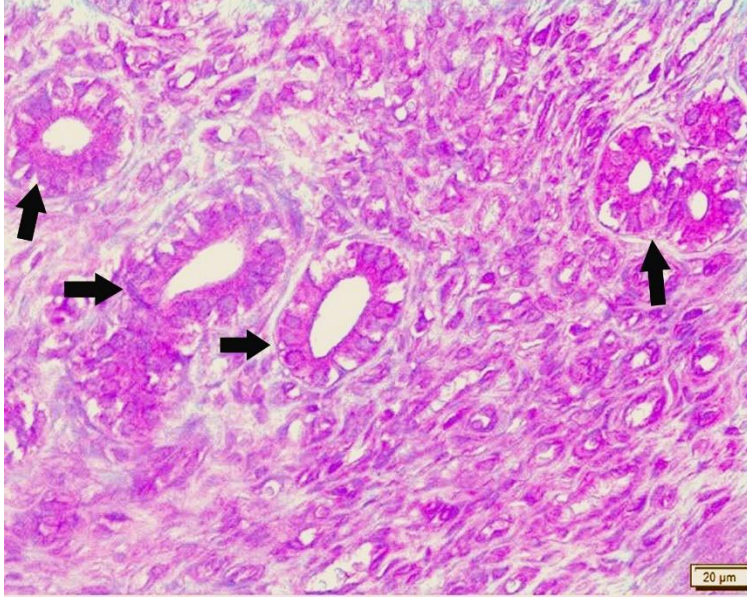
Şekil 4. 2. Grup 1 Gün 5 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (oklar)



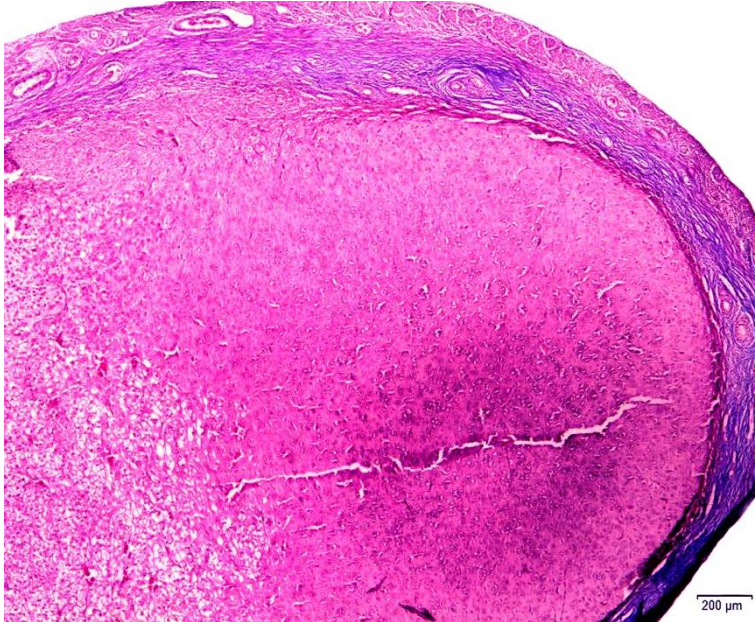
Şekil 4. 3. Grup 1 Gün 5 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (oklar)



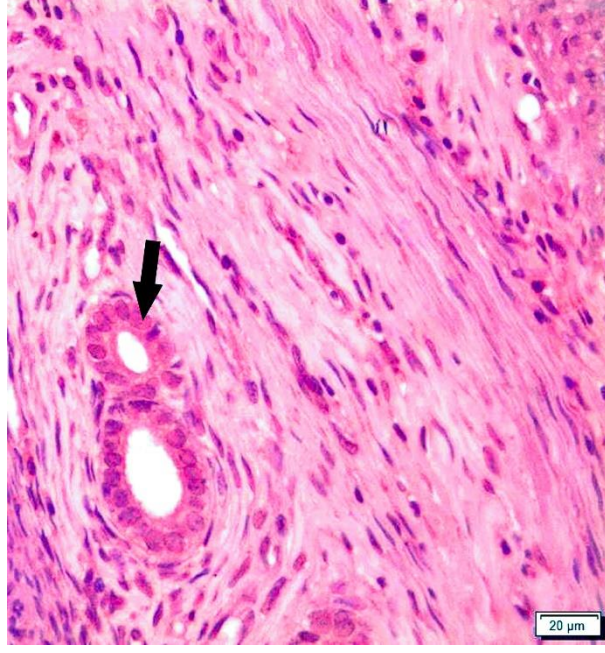
Şekil 4. 4. Grup 1 Gün 5 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (oklar)



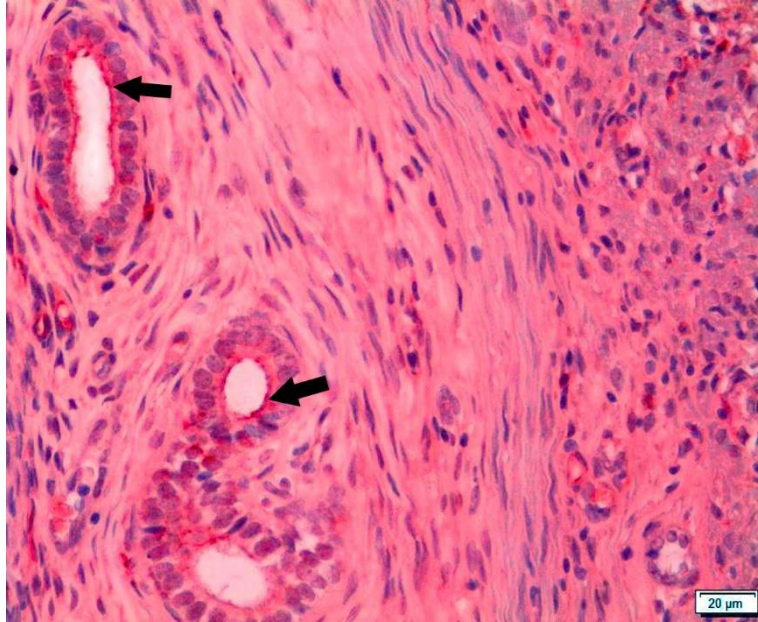
Şekil 4. 5. Grup 1 Gün 5 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (kalın oklar)



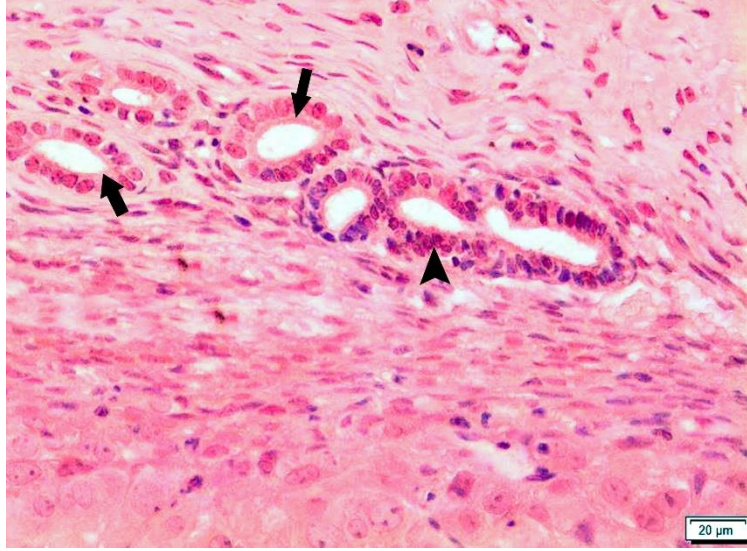
Şekil 4. 6. Grup 1 Gün 7 Crossmann's Triple



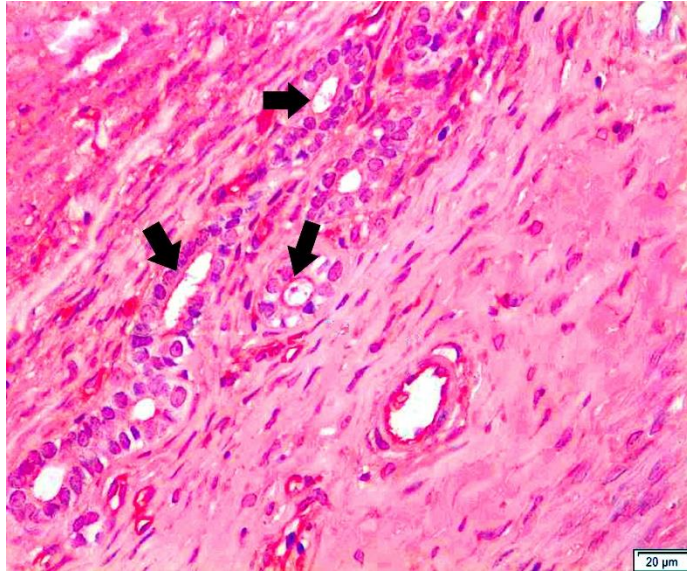
Şekil 4. 7. Grup 1 Gün 7 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezdeki boyanma (kalın ok)



Şekil 4. 8. Grup 1 Gün 7 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (kalın oklar)



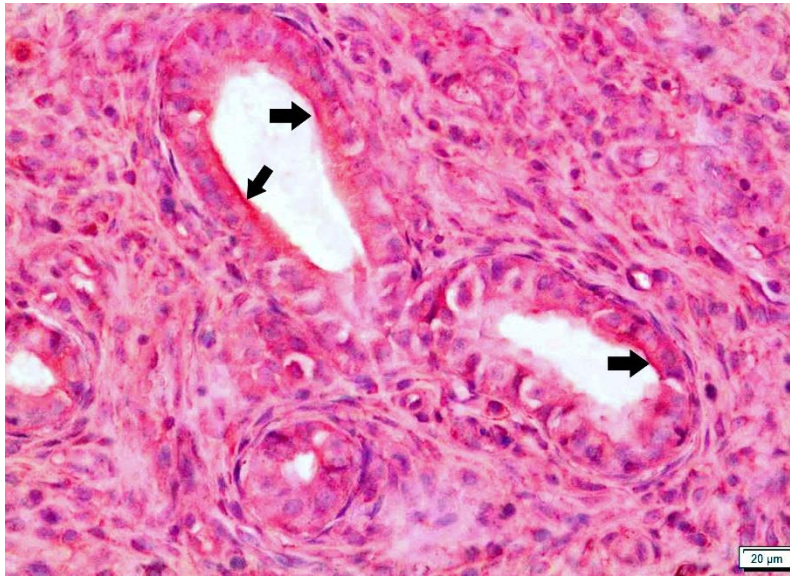
Şekil 4. 9. Grup 1 Gün 7 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerdeki boyanma (kalın oklar), piknotik çekirdekler (ok başı)



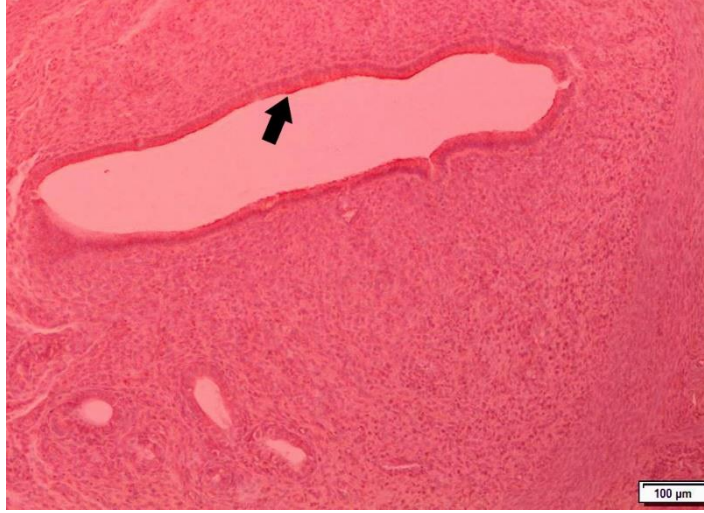
Şekil 4. 10. Grup 1 Gün 7 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerdeki boyanma (kalın oklar)



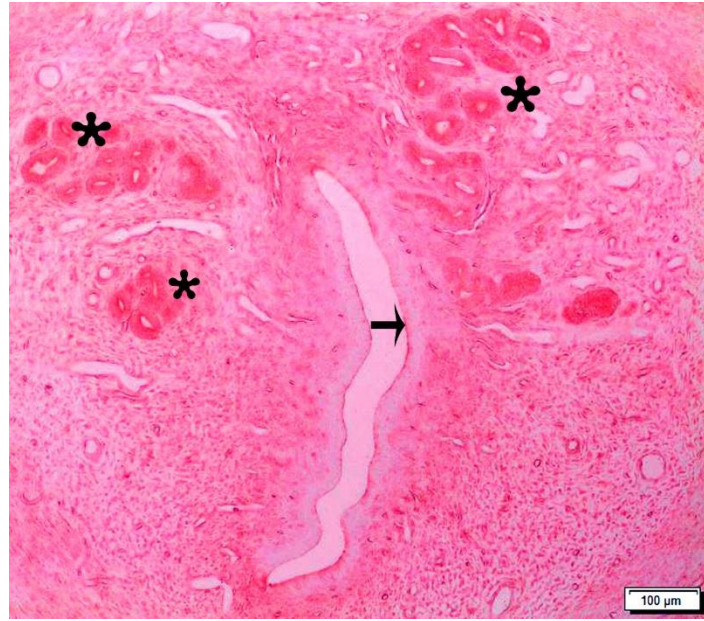
Şekil 4. 11. Grup 2 Gün 5 Crossmann's Triple



Şekil 4. 12. Grup 2 Gün 5 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezlerdeki boyanma (kalın oklar)



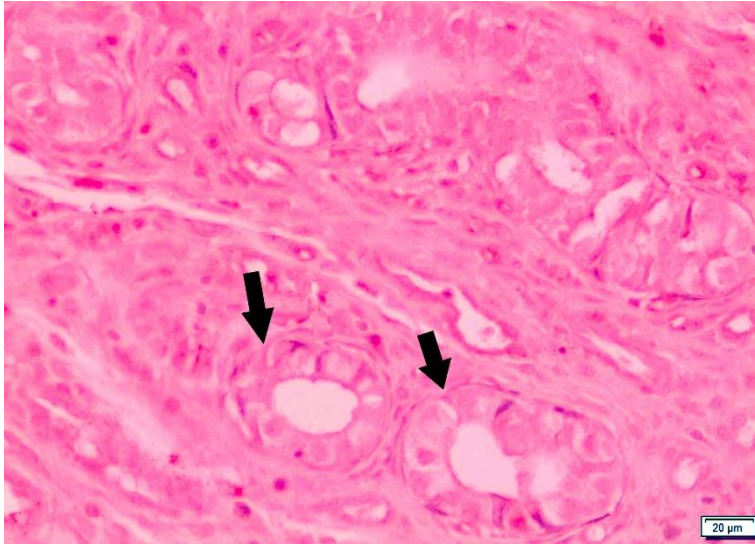
Şekil 4. 13. Grup 2 Gün 5 Con A lektin histokimyası, uterus lümenimde boyanma (kalın ok)



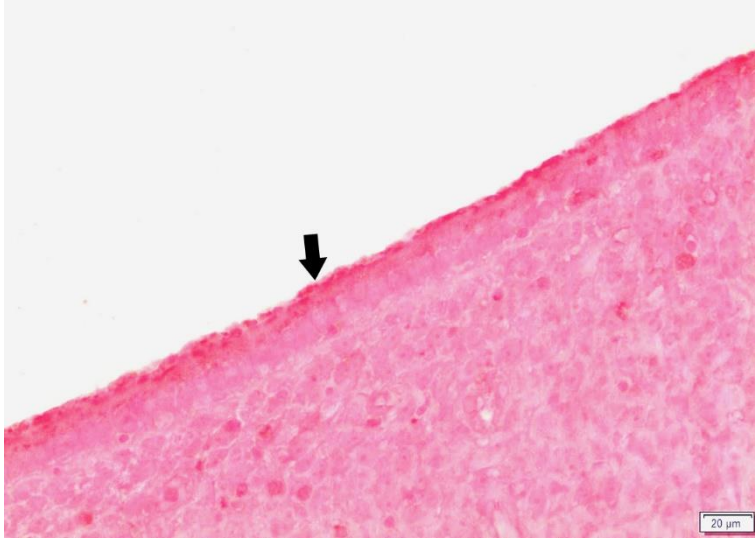
Şekil 4. 14. Grup 2 Gün 5 PNA lektin histokimyası, uterus lümenimde boyanma (ok), endometriyal bezlerde boyanma (yıldızlar)



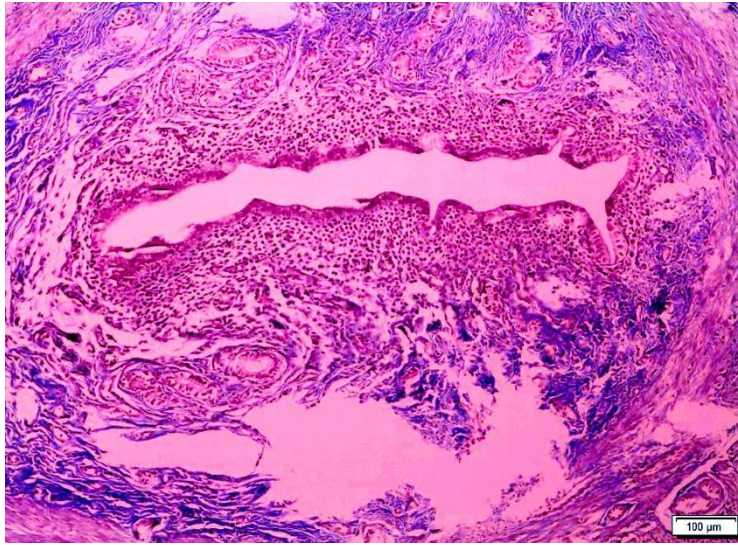
Şekil 4. 15. Grup 2 Gün 5 SBA lektin histokimyası, uterus lümenimde boyanma (ok), endometriyal bezlerde boyanma (yıldızlar)



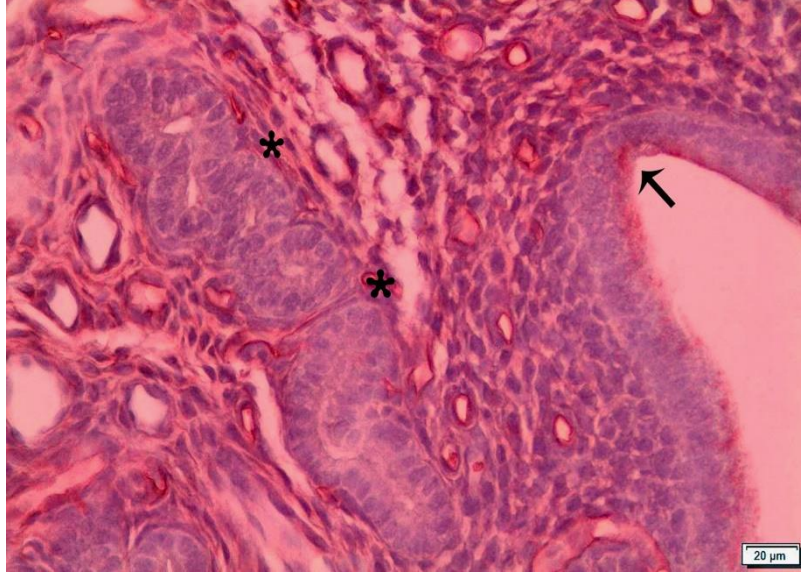
Şekil 4. 16. Grup 2 Gün 5 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde negatiflik (kalın oklar)



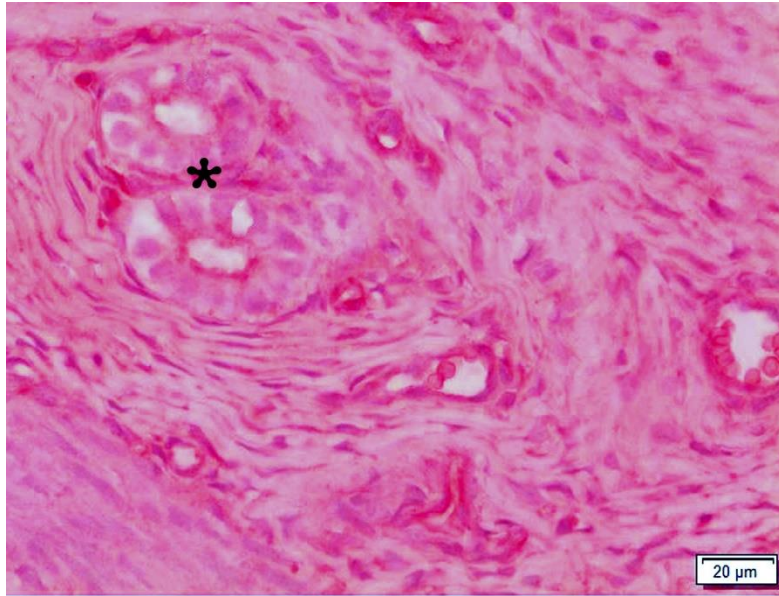
Şekil 4. 17. Grup 2 Gün 5 WGA lektin histokimyası, uterus lümeninde boyanma (kalın ok)



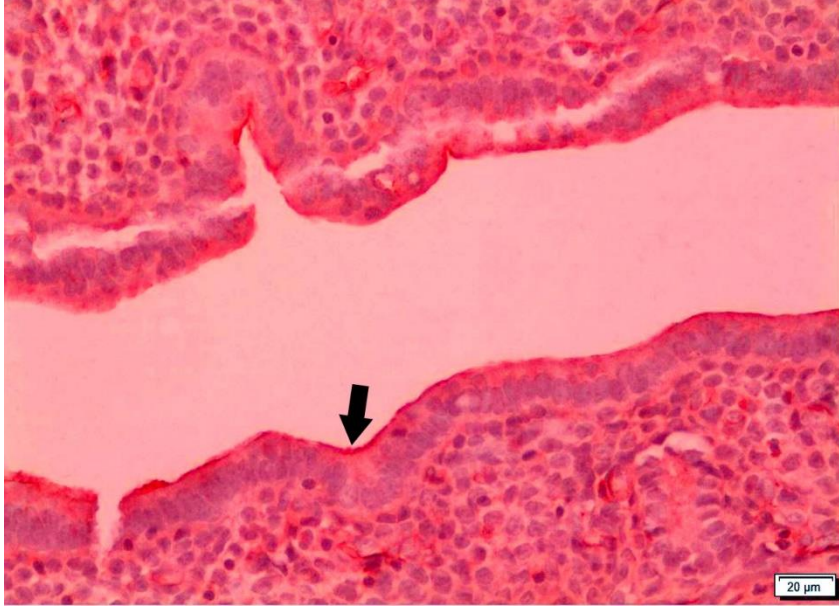
Şekil 4. 18. Grup 2 Gün 7 Crossmann's Triple



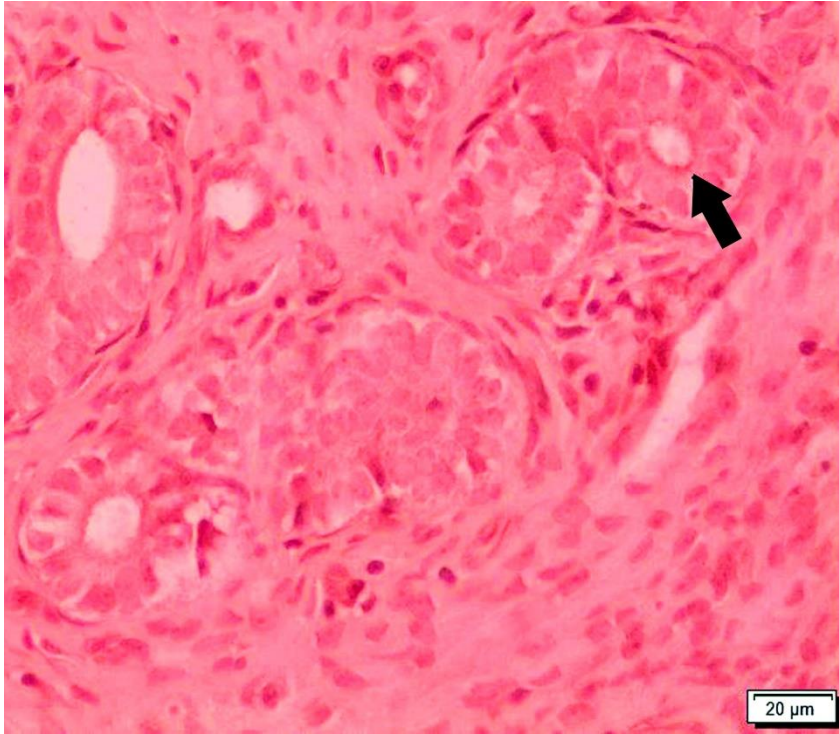
Şekil 4. 19. Grup 2 Gün 7 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezlerde çok hafif tutulum (yıldızlar), uterus lümeninde boyanma (ok)



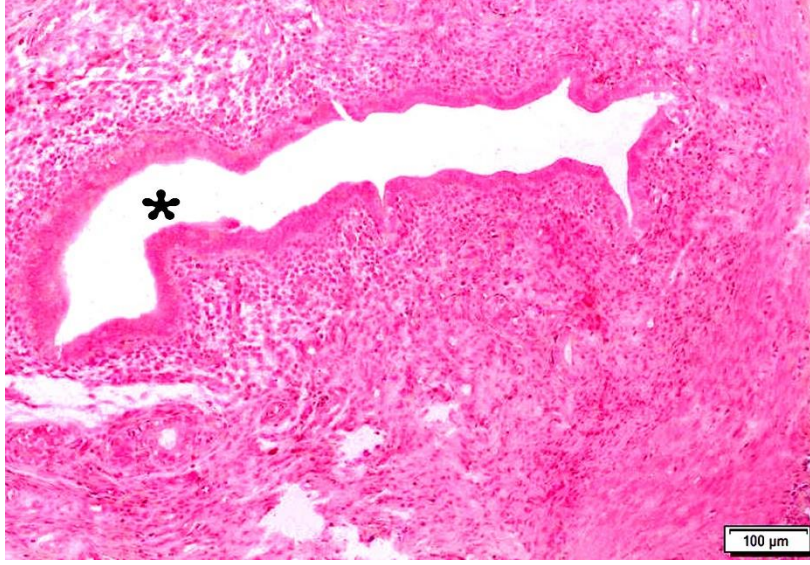
Şekil 4. 20. Grup 2 Gün 7 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde tutulum (yıldız)



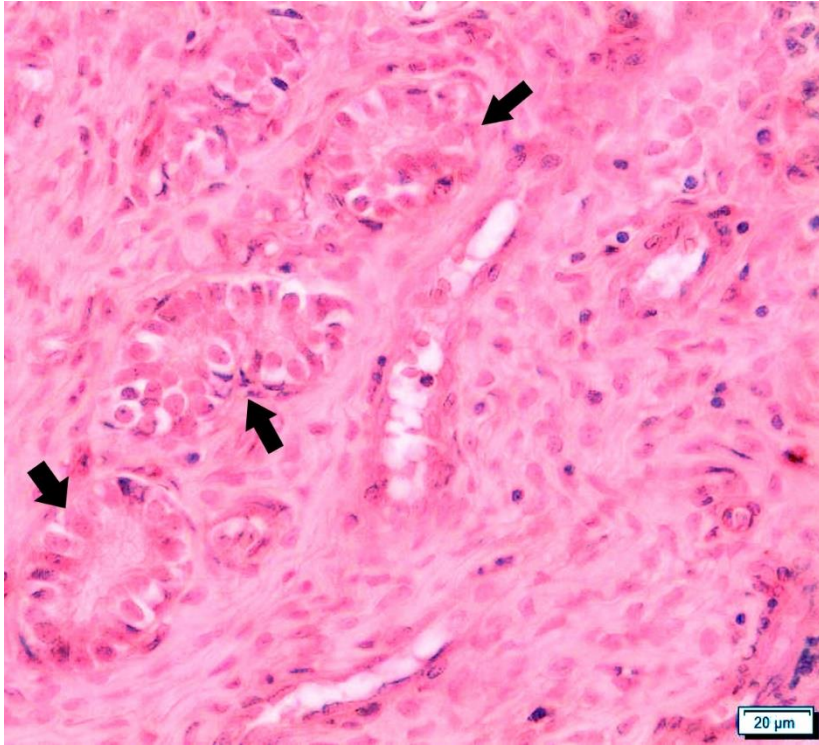
Şekil 4. 21. Grup 2 Gün 7 PNA lektin histokimyası, uterus lümeninde tutulum (kalın ok)



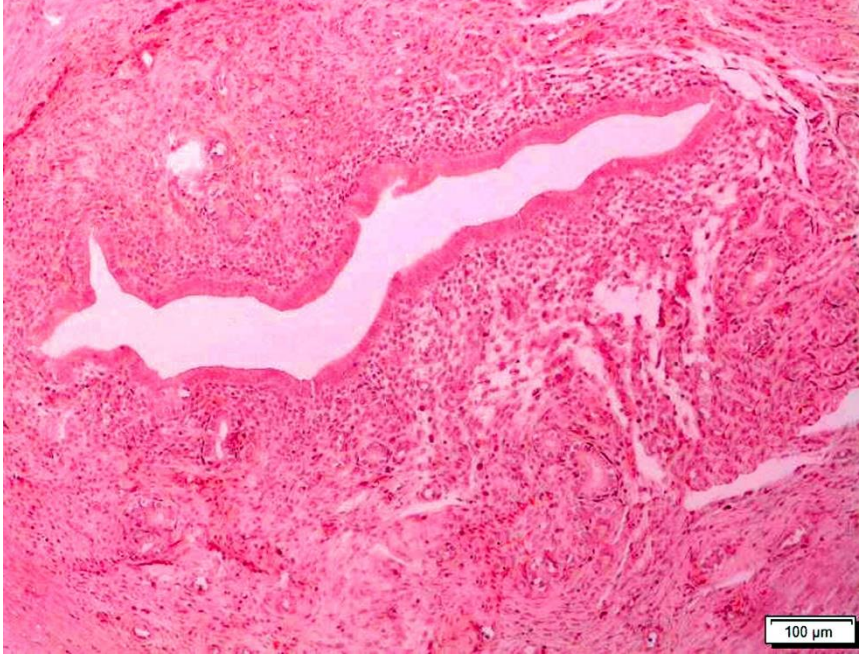
Şekil 4. 22. Grup 2 Gün 7 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma (kalın ok)



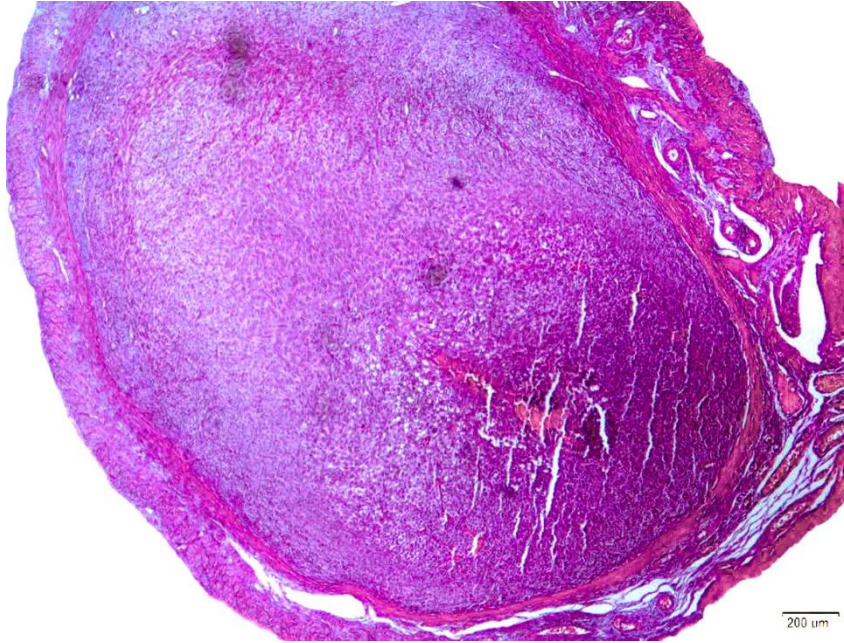
Şekil 4. 23. Grup 2 Gün 7 SBA lektin histokimyası, uterus lümeni (yıldız)



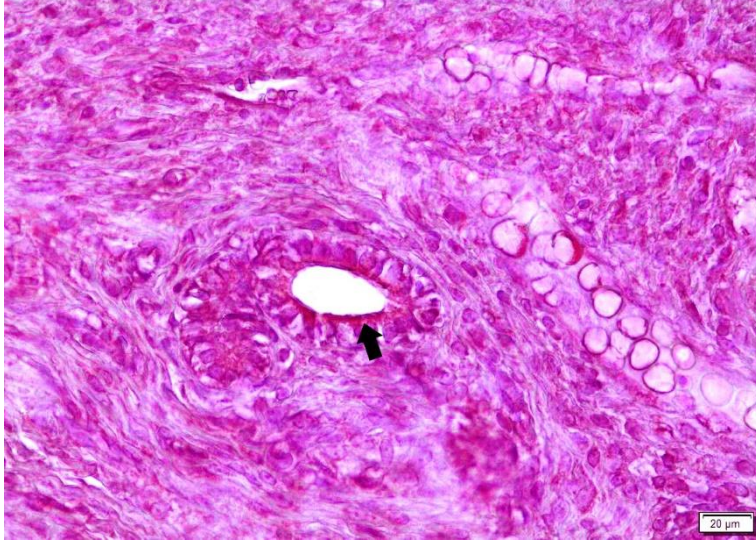
Şekil 4. 24. Grup 2 Gün 7 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar)



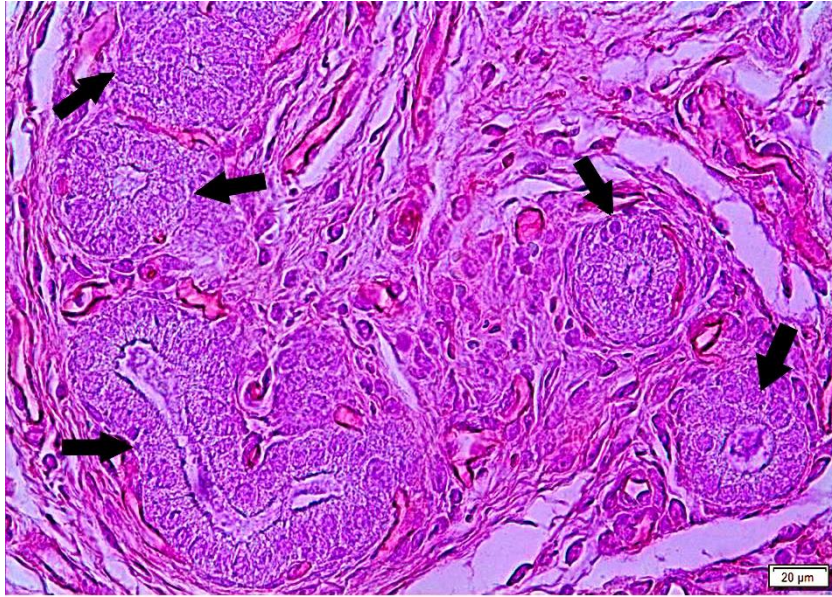
Şekil 4. 25. Grup 2 Gün 7 WGA lektin histokimyası, uterus lumeni



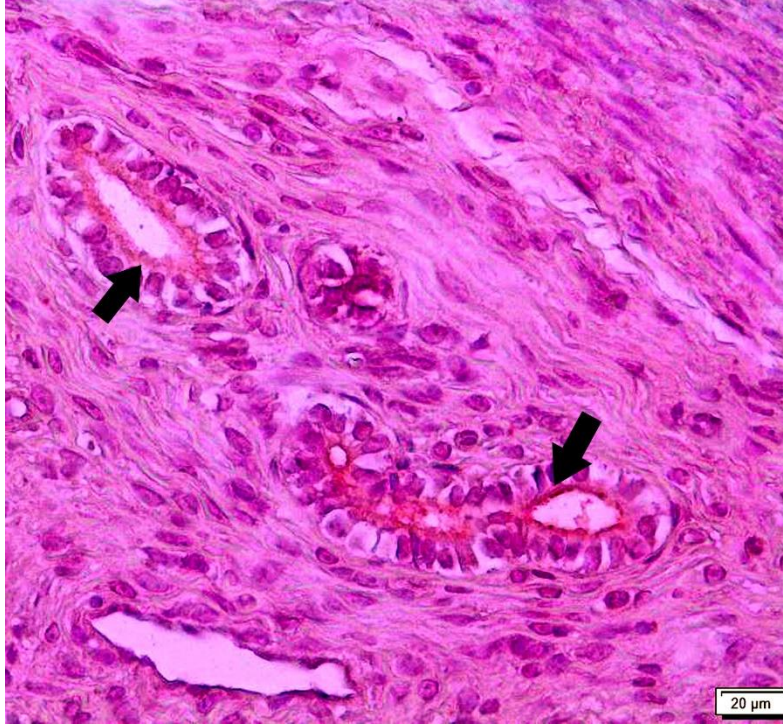
Şekil 4. 26. Grup 3 Gün 5 Crossmann's Triple



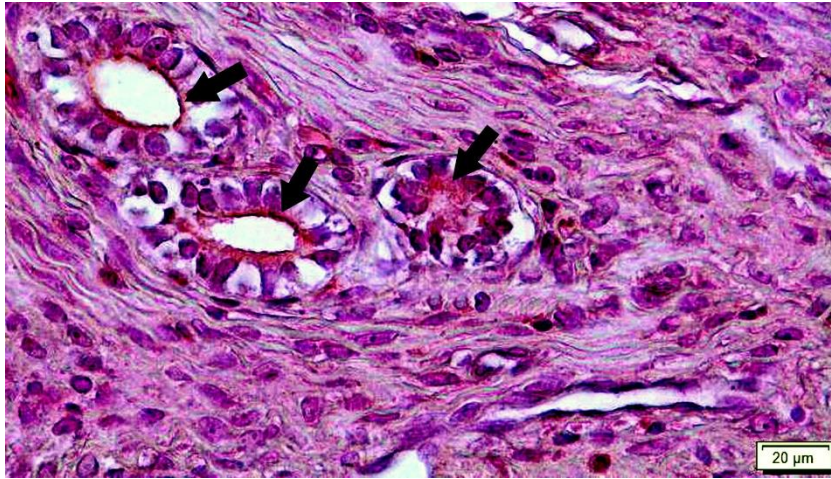
Şekil 4. 27. Grup 3 Gün 5 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma (kalın ok)



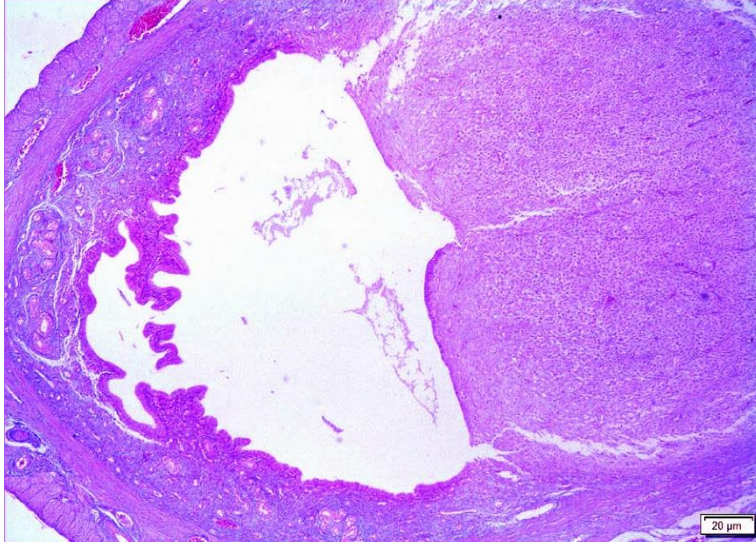
Şekil 4. 28. Grup 3 Gün 5 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar)



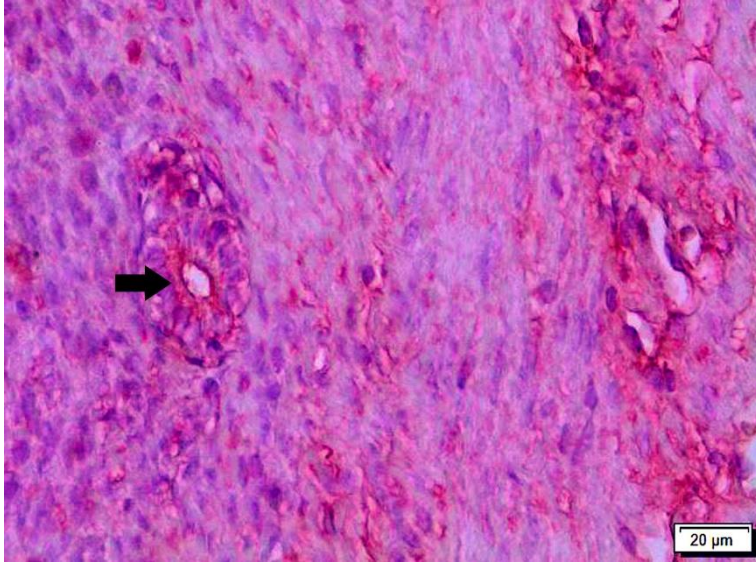
Şekil 4. 29. Grup 3 Gün 5 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (kalın oklar)



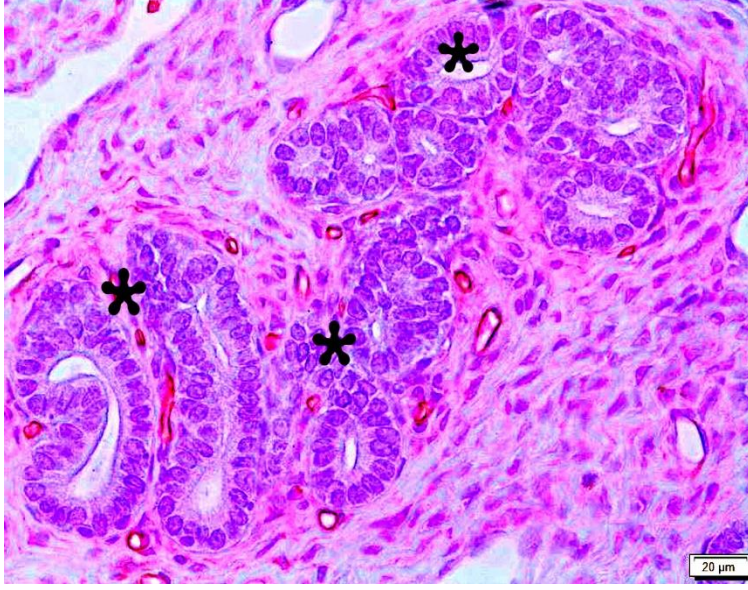
Şekil 4. 30. Grup 3 Gün 5 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (kalın oklar)



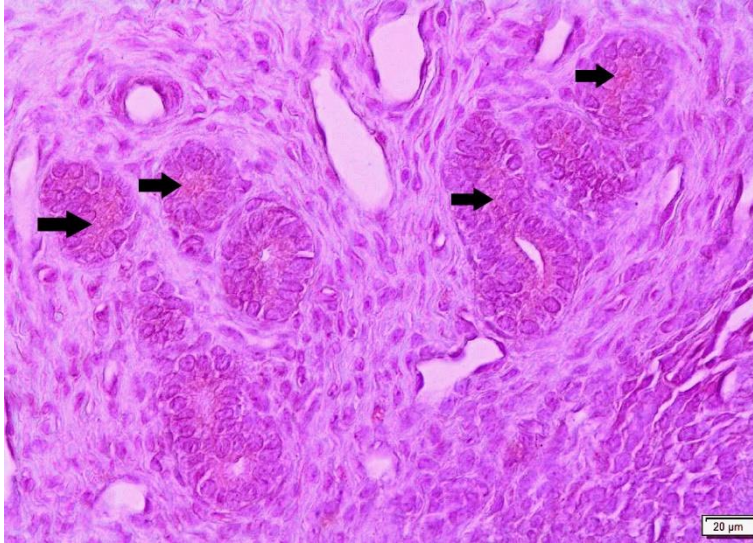
Şekil 4. 31. Grup 3 Gün 7 Crossmann's Triple



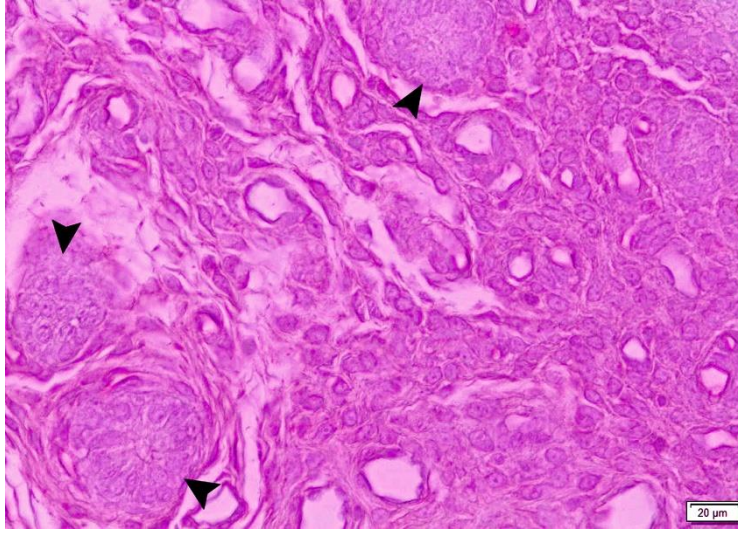
Şekil 4. 32. Grup 3 Gün 7 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma (kalın ok)



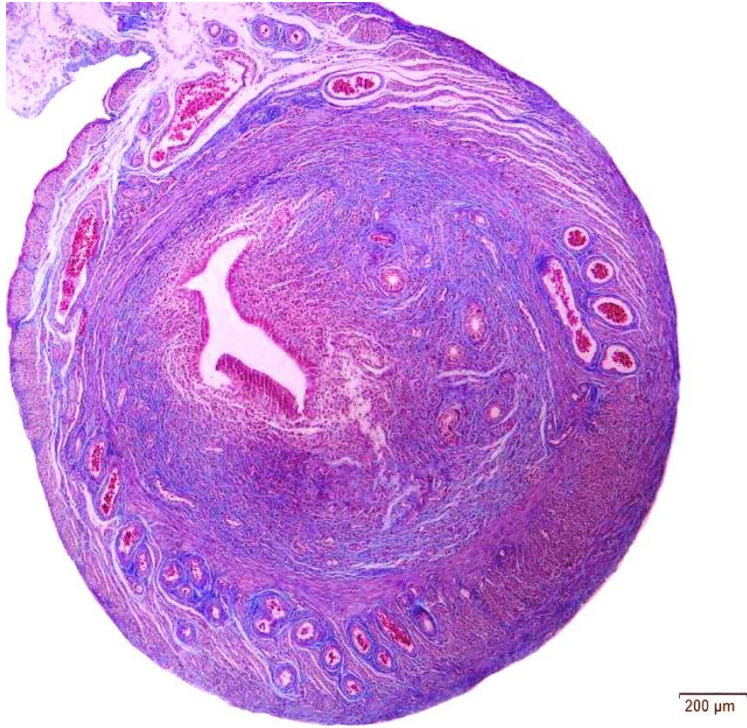
Şekil 4. 33. Grup 3 Gün 7 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (yıldızlar)



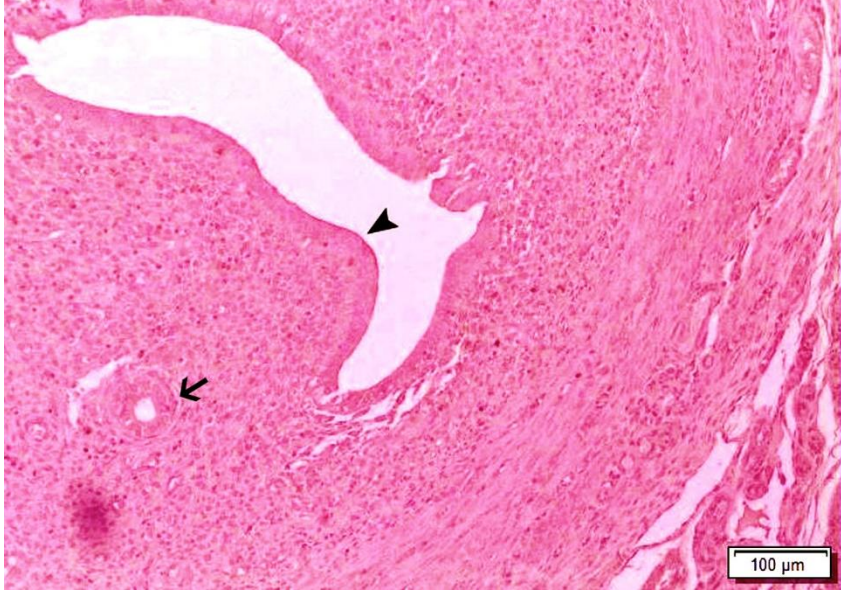
Şekil 4. 34. Grup 3 Gün 7 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde hafif pozitiflik (kalın oklar)



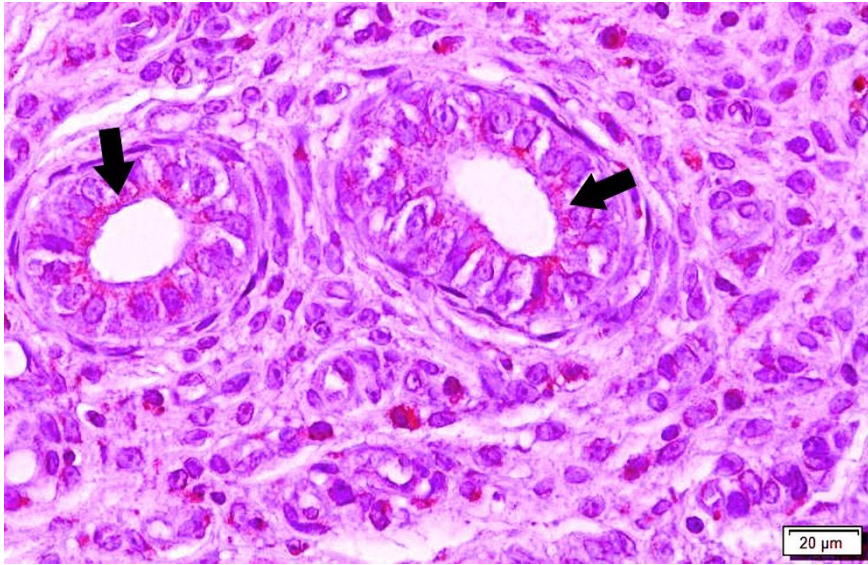
Şekil 4. 35. Grup 3 Gün 7 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (ok başları)



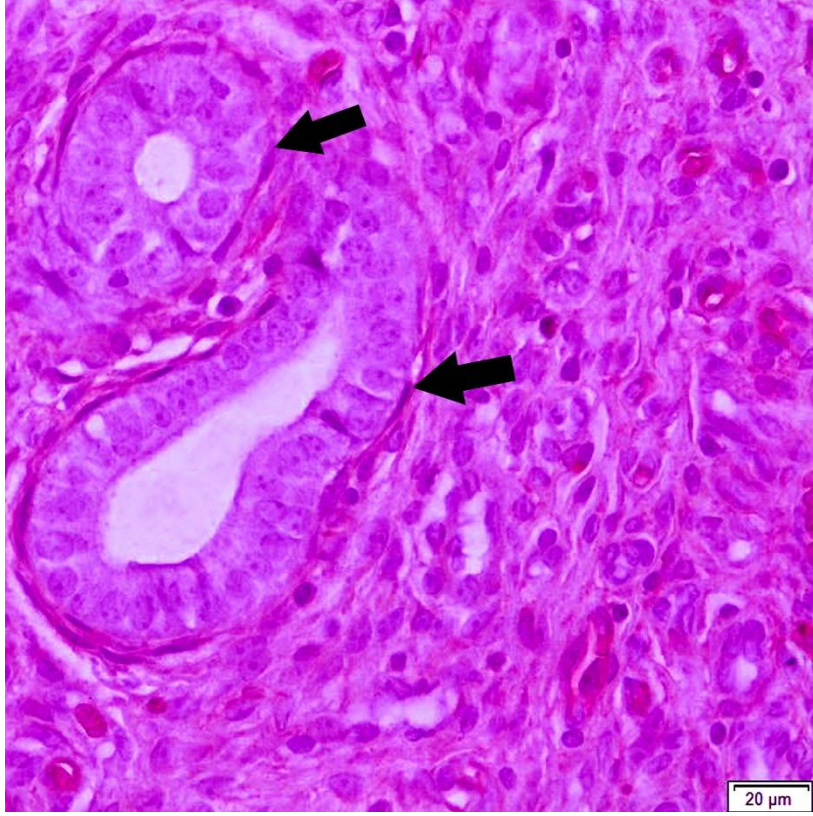
Şekil 4. 36. Grup 4 Gün 5 Crossmann's Triple



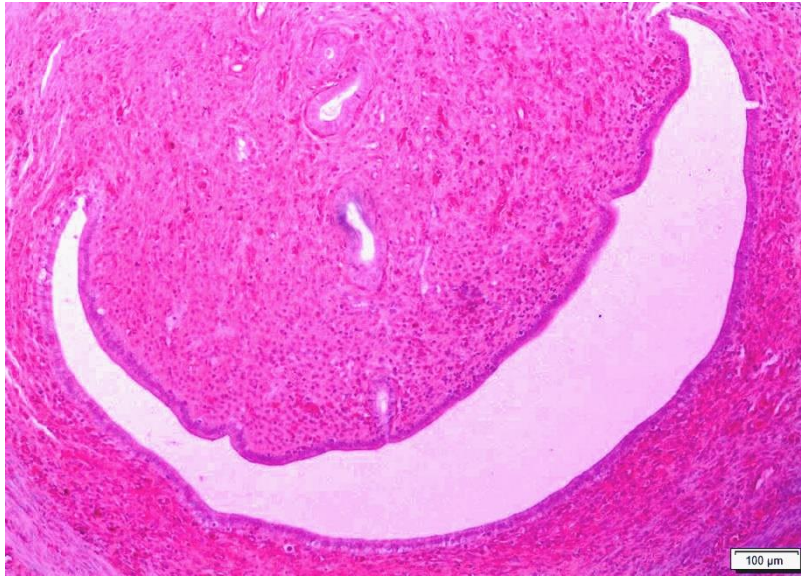
Şekil 4. 37. Grup 4 Gün 5 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezler negatif (ok), uterinal lümen pozitif (ok başı)



Şekil 4. 38. Grup 4 Gün 5 Con A lektin histokimyası, bazı deneklerden pozitif sonuç alındı (kalın oklar)



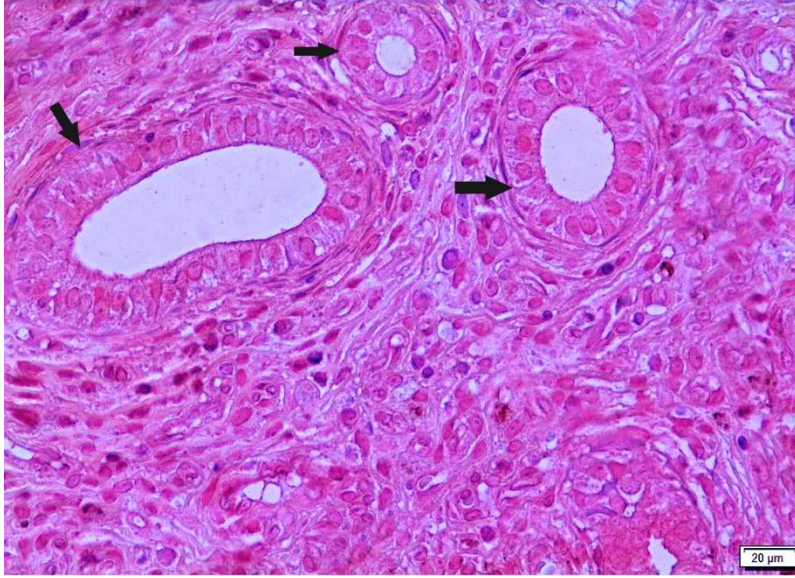
Şekil 4. 39. Grup 4 Gün 5 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma yok (kalın ok)



Şekil 4. 40. Grup 4 Gün 5 PNA lektin histokimyası, uterus lumeni



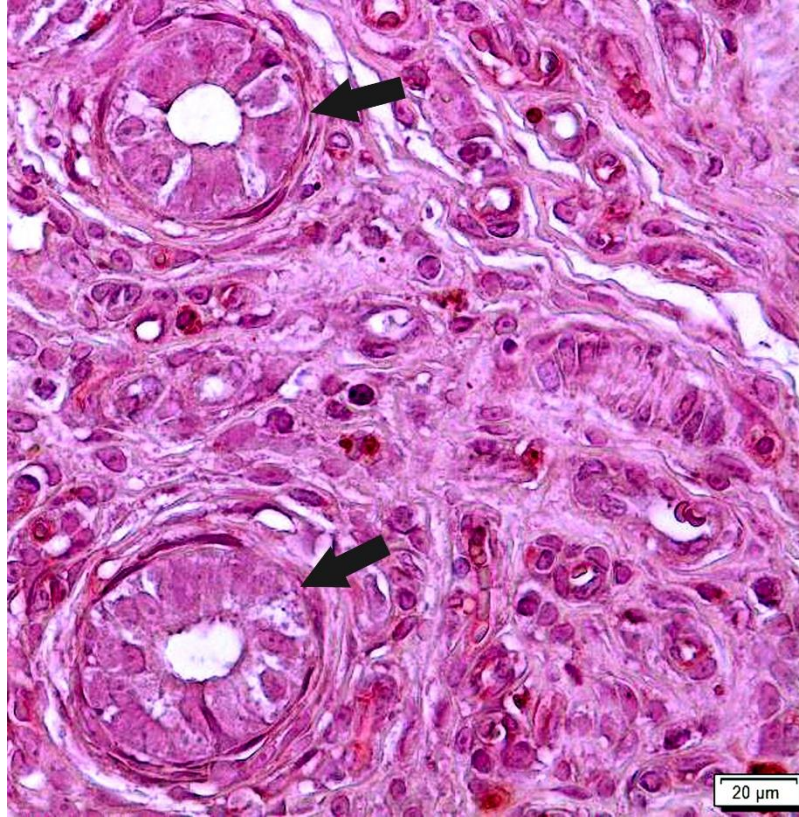
Şekil 4. 41. Grup 4 Gün 5 SBA lektin histokimyası, uterinal lümende tutulum (ok)



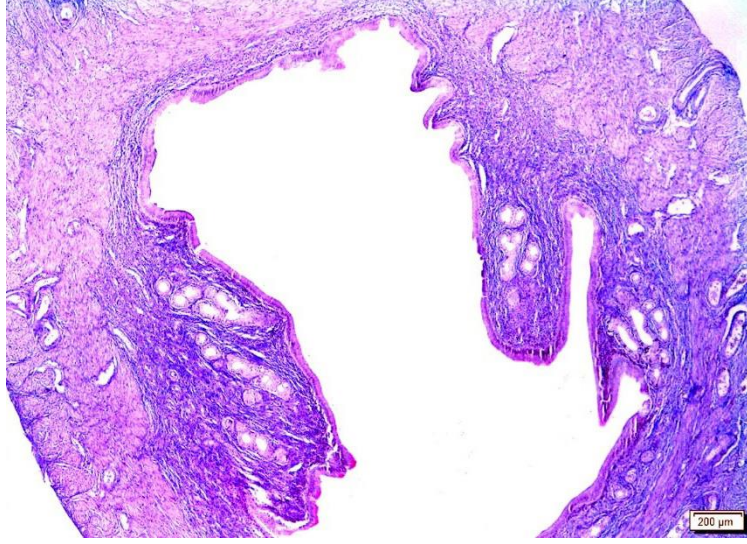
Şekil 4. 42. Grup 4 Gün 5 SBA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar)



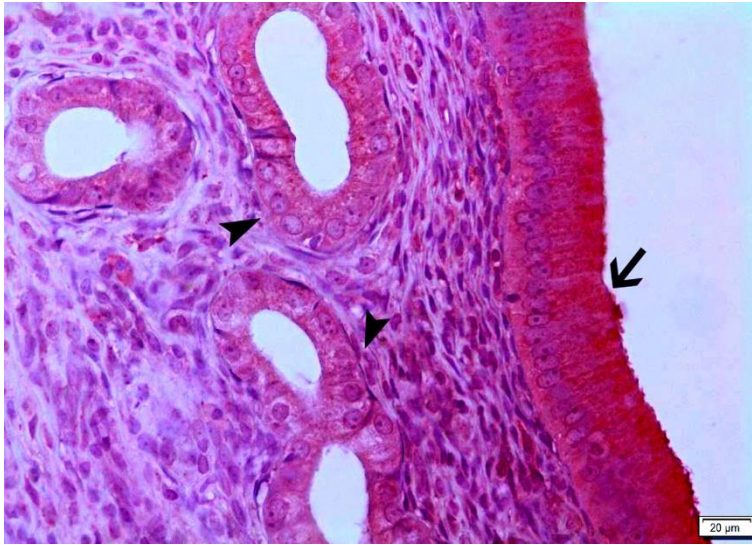
Şekil 4. 43. Grup 4 Gün 5 WGA lektin histokimyası, uterus lümeni



Şekil 4. 44. Grup 4 Gün 5 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar)



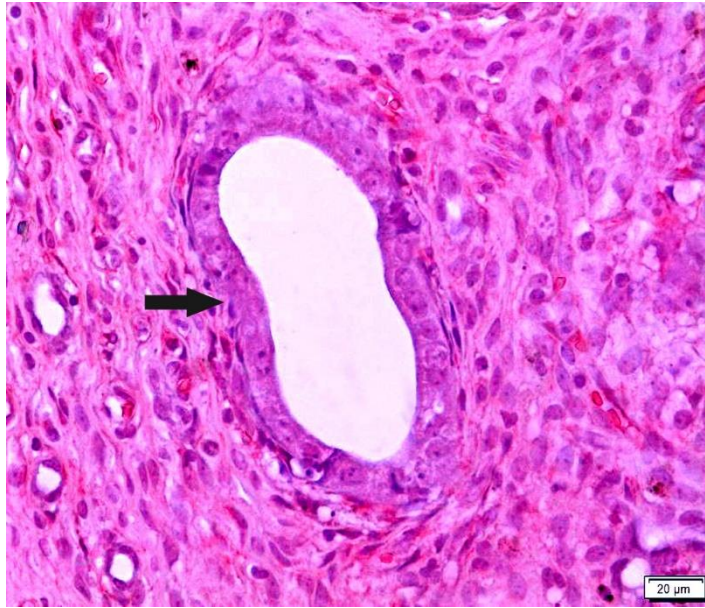
Şekil 4. 45. Grup 4 Gün 7 Crossmann's Triple



Şekil 4. 46. Grup 4 Gün 7 Con A lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma (ok başı), uterus lümeni pozitif (ok)



Şekil 4. 47. Grup 4 Gün 7 PNA lektin histokimyası, uterus lümeni

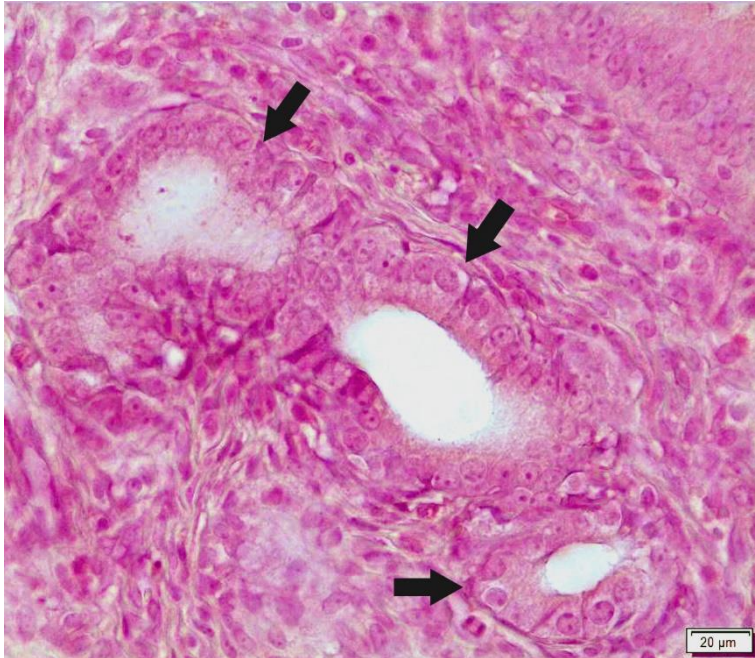


Şekil 4. 48. Grup 4 Gün 7 PNA lektin histokimyası, endometriyal bezde boyanma yok

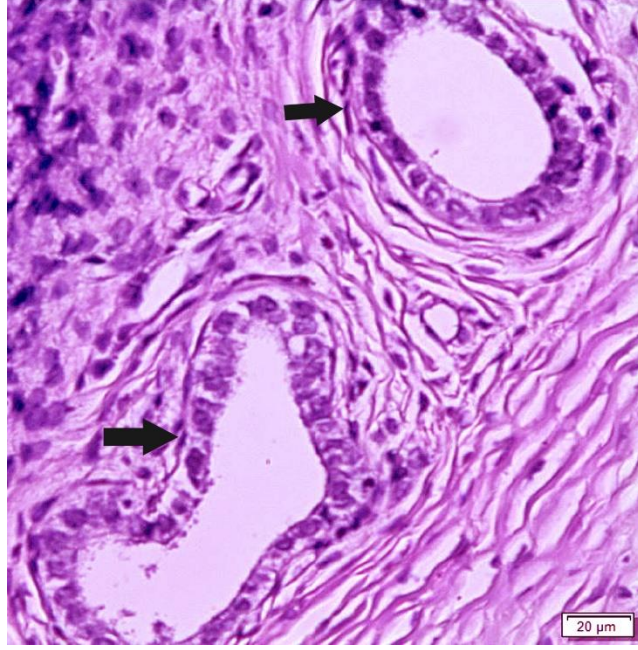
(kalın ok)



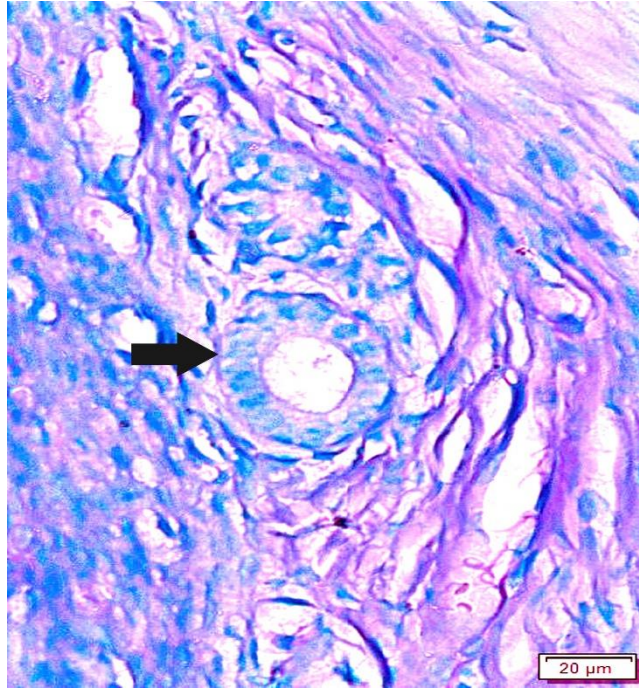
Şekil 4. 49. Grup 4 Gün 7 SBA lektin histokimyası, uterus lümeni (ok), Endometriyal bezlerde boyanma (ok başı)



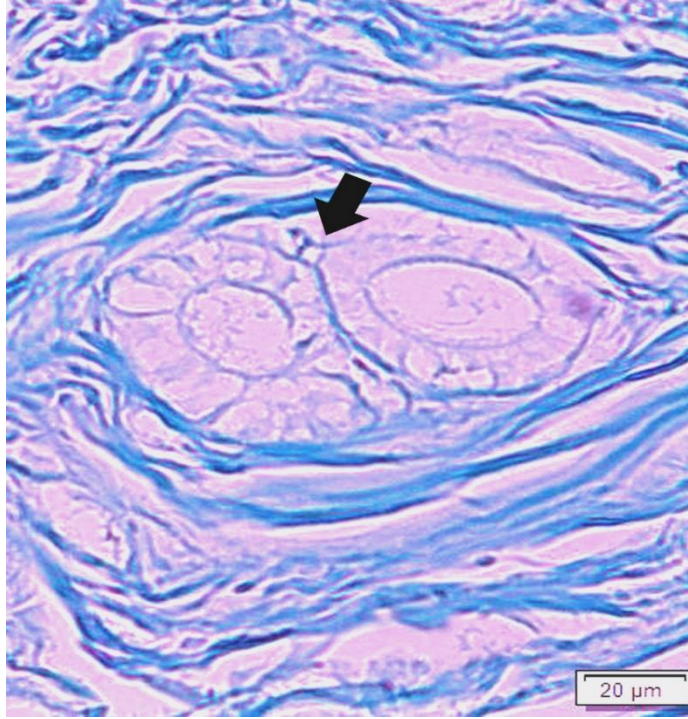
Şekil 4. 50. Grup 4 Gün 7 WGA lektin histokimyası, endometriyal bezlerde boyanma yok (kalın oklar)



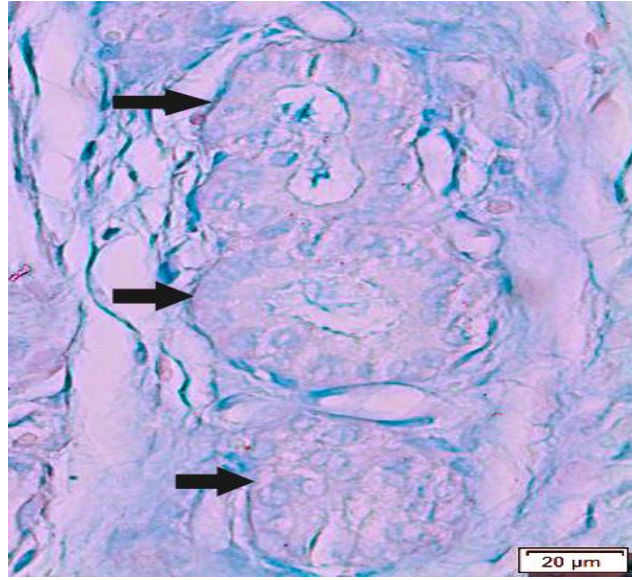
Şekil 4. 51. Grup 1 Gün 5 PAS boyaması, endometriyal bezler (kalın oklar)



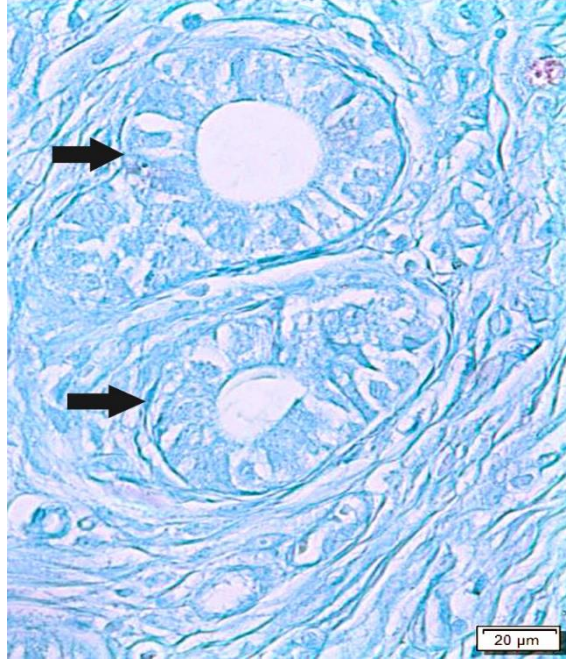
Şekil 4. 52. Grup 1 Gün 7 PAS/AB boyaması endometriyal bezler (kalın ok)



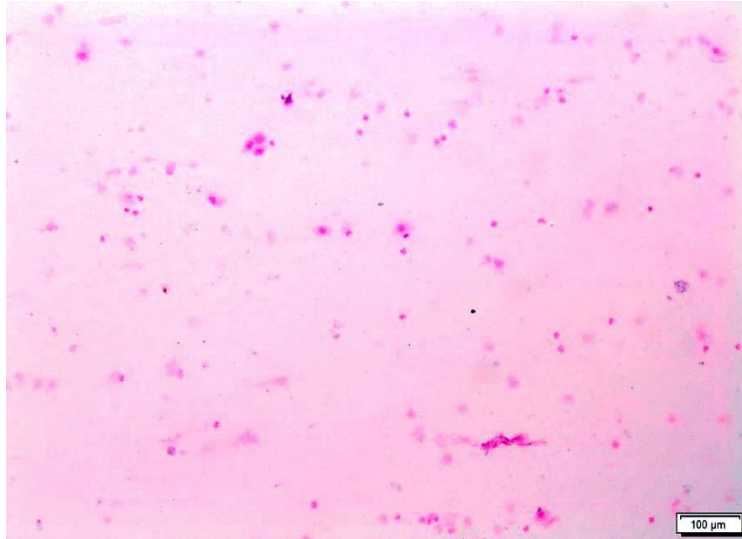
Şekil 4. 53. Grup 2 Gün 7 Alcian Blue pH 1,0, boyaması, endometriyal bezler (kalın ok)



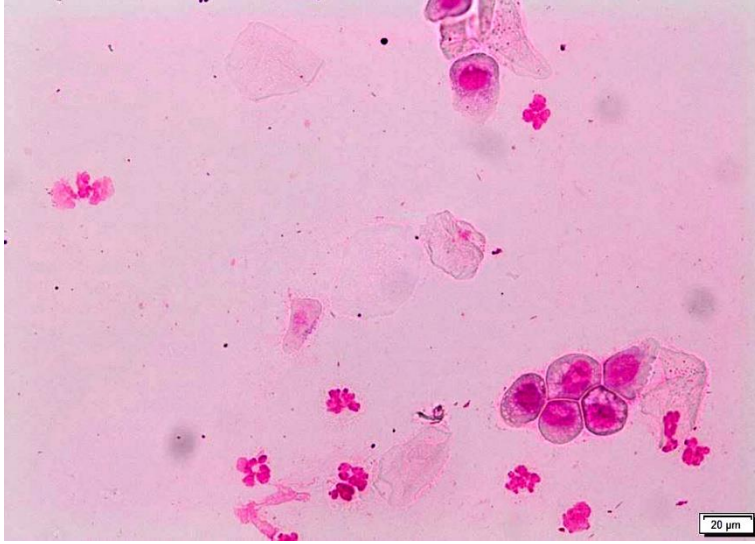
Şekil 4. 54. Grup 3 Gün 5 Alcian Blue pH 2,5 boyaması, endometriyal bezler (kalın oklar)



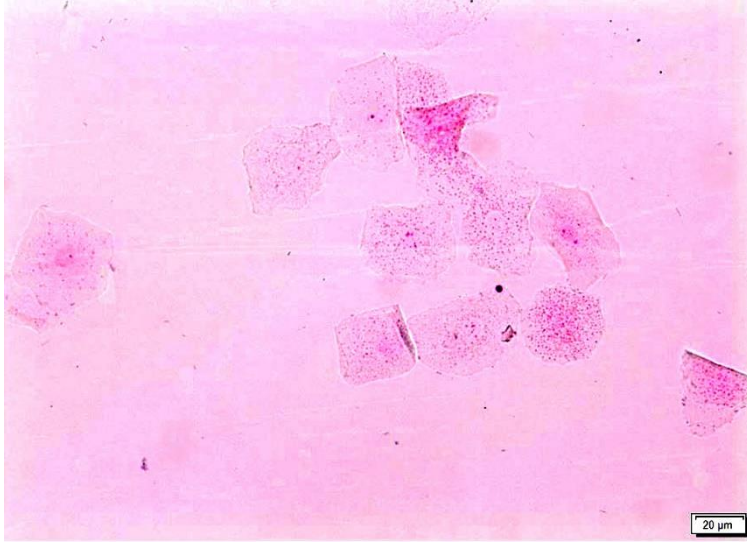
Şekil 4. 55. Grup 4 Gün 5 Aldehit fuksin boyaması, endometriyal bezler (kalın oklar)



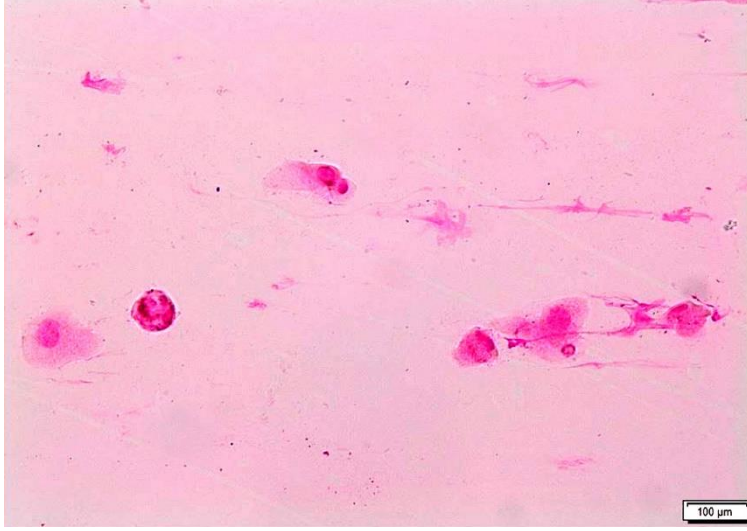
Şekil 4. 56. Erken diestrus



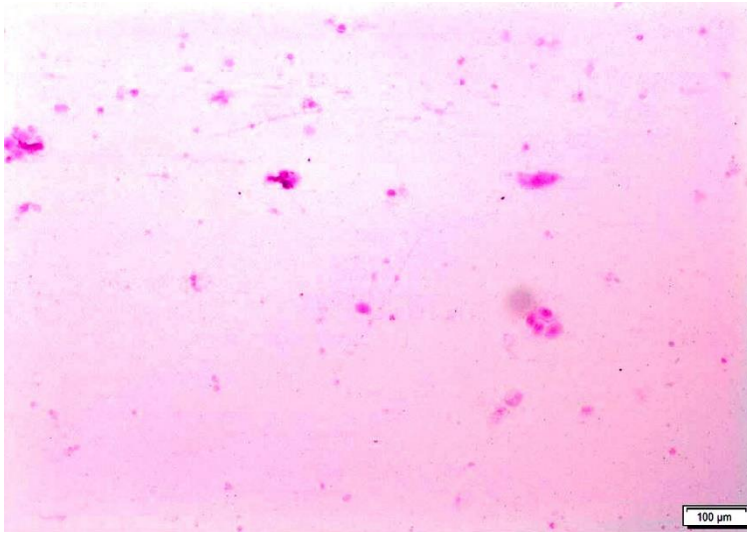
Şekil 4. 57. Erken proestrus



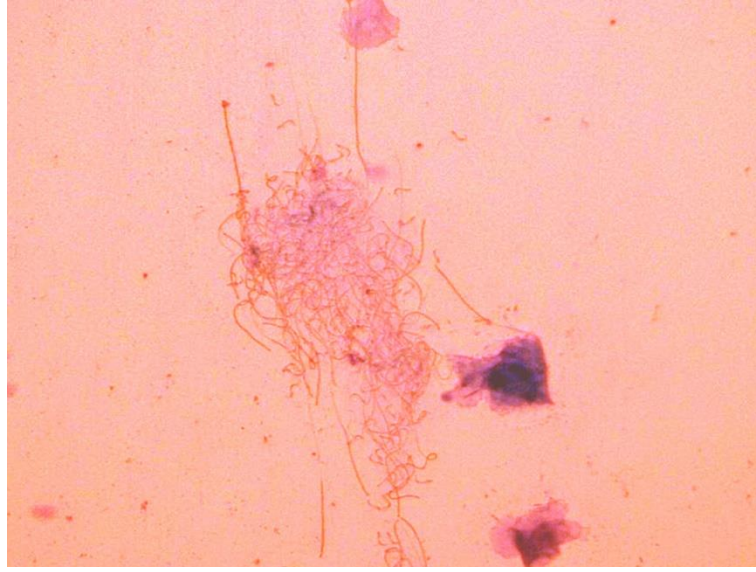
Şekil 4. 58. Estrus



Şekil 4. 59. Metestrus



Şekil 4. 60. Proestrus



Şekil 4. 61. Vaginal smearde spermatozoonlar

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada kimyasal bir madde olan streptozotosin kullanılarak deneysel diyabet geliştirilmiş ratlarda gebelik ile birlikte karşılaştırmalı olarak endometriyal bezlerin lektin histokimyasında meydana gelen değişiklikler izlendi. Alınan uterus örneklerinin genel histolojik yapılarının ortaya konulabilmesi amacıyla Crossman'ın modifiye üçlü boyama tekniği (Denk ve ark.,1989) ve çeşitli glikozaminoglikan ve müsinlerin tespit edilebilmesi amacıyla da PAS, PAS-AB (pH 2,5) kombinasyon metodu, AB (pH 2,5), AB (pH 1,0) ve Aldehyde Fuchsin boyaları yapıldı.

Diyabet kaynaklı olarak gelişen ve histopatolojik olarak değerlendirilebilen bulgularımız literatür ile uyumluluk gösterdi. Bulgularımız, stromal hücrelerde ayrışma görülmesi, bazal membranların kalınlığının artması, özellikle bezlerde piknotik çekirdekli hücre görülmesi, yine stromal hücrelerde vakuolizasyon olması, intrasitoplazmik lipid birikimi, yaygın dejenerasyonlar yönünden Garris ve Garris'in (2003) Çin hamsterleri üzerinde yaptıkları çalışmayla benzerdir.

Alınan uterus dokularında bulunan nötral müsinlerin tespit edilebilmesi amacıyla uygulanan Periyodik Asit Schiff boyası sonucunda grupların hiçbirinden PAS (+) reaksiyon tespit edilemedi. Burton ve arkadaşları (2007), endometriyal bezlerin erken plasenta oluşumu döneminde potansiyel rollerini anlamak amacıyla insan üzerinde yaptıkları çalışmada, endometriyal bezlerin PAS ile kuvvetli pozitif reaksiyon verdikleri sonucuna ulaşmışlardır. Iannaccone ve arkadaşları (1983), fare endometriyal hücre hattında, Hoffmann ve arkadaşları (2009) endometriyozis hastalığı olan kısıraklarda benzer şekilde PAS pozitif reaksiyon bildirmişlerdir. Ancak yapılan literatür taramasında ratlarda gebe, diyabetli ya da diyabetli gebe herhangi bir grupta endometriyal bezlerin PAS boyaması sonucuna ulaşamadı.

Alınan uterus dokularında bulunan asit ve sülfatlı mukopolisakkaritlerin demonstrasyonu amacıyla sırasıyla Alcian Blue pH 2,5 ve Alcian Blue pH 1,0 boyamaları yapılmıştır ancak bu boyamalardan grupların hiçbirisinden pozitif sonuç alınamamıştır. Hoffmann ve arkadaşları (2009) endometriyozis hastalığı olan kısıraklarda endometriyuma Alcian Blue pH 2,5 boyamasını uygulamışlar ve pozitif sonuç aldıklarını ifade etmişlerdir.

Wick ve Kress (2002) keseli sıçanda farklı östrus dönemlerinde Alcian Blue boyamasını yapmışlar ve sonuçları çok hafif pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Iannaccone ve arkadaşları (1983) fare endometriyal hücre hattında yaptıkları çalışmada Alcian Blue boyama sonuçlarını negatif olarak bildirmiştir. Yapılan literatür taramasında ratlarda gebe, diyabetli ya da diyabetli gebe herhangi bir grupta endometriyal bezlerin Alcian Blue boyaması sonucuna ulaşamadı.

Alınan uterus dokularında bulunan nötral müsinlerin tespit edilebilmesi amacıyla uygulanan aldehyde fuchsin boyamasından grupların herhangi birinde pozitif sonuç elde edilemedi. İnsanda Müller kanalı metaplazisinde Ferguson ve arkadaşları (1969) tarafından değerlendirilen endometriyal bezlerin aldehyde fuchsin boyamasından pozitif sonuç alındığı bildirilmiştir. Ancak yapılan literatür taramasında bu literatür haricinde ratlarda gebe, diyabetli ya da diyabetli gebe herhangi bir grupta endometriyal bezlerin aldehyde fuchsin boyaması sonucuna ulaşamadı.

Yalnızca gebe ratlarda gebeliğin 10, 12 ve 15. günlerinde yapılan bir çalışmada; Con A ve WGA'nın, endometriyal bezlerde pozitif reaksiyon verdiği belirtilmektedir (Peel ve Bulmer, 1996). Yapılan çalışmada 5. gün için Con A ve WGA ile yapılan boyamalar sonucunda, endometriyal bezlerin bu iki lektin ile Peel & Bulmer'ın yaptıkları çalışmayla tutarlı şekilde pozitif reaksiyon verdikleri görülmüştür. Ancak 7. gün için yapılan lektin histokimya boyamaları sonucunda Con A 5. gün ile benzer şekilde pozitif reaksiyon göstermiş, WGA ise göstermemiştir. Gebe ratlarda endometriyal bezlerin salgılarındaki α -zincirli mannoz, α -zincirli glikoz, α -zincirli N-asetilglikozamin içerikleri yönünden gebeliğin başlangıç ve ilerleyen dönemlerinde (Con A pozitif) açısından farklılık göstermedikleri görülmüştür. WGA lektin histokimya boyaması sonucuna göre, 5. günde görülen pozitifliğin, 7. günde görülmediği ancak Peel ve Bulmer'ın 10, 12 ve 15. günlerde yaptıkları boya sonucunda yine pozitif sonuç almaları, endometriyal bezlerin salgılarının β -zincirli N-asetilglikozamin ve siyalik asit (WGA pozitif) dönemsel olarak farklılaştığı ortaya konmuştur.

Peel ve Bulmer'ın 1996 yılında yaptıkları çalışmada SBA ve PNA endometriyal bezlerde negatif reaksiyon vermiştir. Bu çalışmada uteruslar, seçilen lektinlerin pozitifliği yönünden gebeliğin 10, 12 ve 15. günlerinde değerlendirilmiştir. Yapılan tez çalışmada gebe ratlardan gebeliklerinin 5. ve 7. günlerinde alınan doku örneklerine uygulanan PNA lektin

histokimyası sonucu, bu çalışmaya benzer şekilde negatif sonuç alınmış yani endometriyal bezlerde boyanma görülmemiştir. SBA ile lektin histokimya boyaması sonucu ise, 5. gün için boyanmanın görüldüğü, 7. günde ise boyanma kuvvetinin azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre, gebeliğin ilerleyen dönemlerinde, endometriyal bezlerin sekresyonlarının α - β zincirli N-asetilglukozamin yönünden fakirleştiği, ancak erken gebelik ya da ilerleyen dönemlerde β -zincirli galaktoz içerikli herhangi bir salgılama olmadığı sonucunu doğrulamaktadır. β -zincirli galaktoz içerikli endometriyum salgıları (PNA pozitif), yalnızca diyabetli hayvanlarda görülmüştür (Bkz.Tablo 2).

Lutsky ve Sogomonian'ın (2012) rat ovaryum ve endometriyumlarında yaptıkları bir başka çalışmada, denekler diestrus aşamasında sakrifiye edilmişlerdir ve endometriyal bezlere yapılan Con A lektin histokimyası sonucunun pozitif, WGA lektin histokimyası sonucunun negatif, PNA lektin histokimyası sonucunun pozitif, SBA lektin histokimyası sonucunun pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Bu söz konusu çalışmanın kontrol ratlarından alınan sonuçlar ile tez çalışmamızda aldığımız sonuçlar benzerlik göstermekle birlikte bazı farklılıklar da vardır. Yapılan çalışmanın kontrol grubunda cam çubuk ile uyarılan ratlardan bu gün sıfır kabul edilerek beş gün sonra alınan örneklerde (Grup 4, 5. gün) Con A hafif pozitif, PNA negatif, WGA negatif ve SBA negatif sonuç vermiştir. Yine cam çubukla uyarılıp 7 gün sonra sakrifiye edilen deneklerde (Grup 4, 7. gün) bu kez Con A pozitif, PNA negatif, WGA hafif pozitif ve SBA pozitif sonuçlar vermiştir. Ancak çalışmamızda yalnızca gebelik oluşturulacak gruplar olan birinci ve üçüncü gruplardan vaginal smear örnekleri alınmıştır. Dolayısıyla mevcut farklılığın, ratların sakrifiye edildiği dönemdeki siklus dönemine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Monsefi ve arkadaşlarının (2013) rat reproduktif sistem dokularında eter fraksiyonları uygulayarak yaptıkları çalışmada, Con A kullanarak yaptıkları boyama sonucunda boyamayı çok hafif olarak değerlendirmişlerdir. Aynı çalışmada PNA ile de lektin histokimya boyaması yapılmıştır ve yine boyanmanın oldukça hafif olduğunu bildirmişlerdir. Bu bulgular, yaptığımız tez çalışmasının kontrol grubu sonuçları ile uyumluluk göstermiştir.

Akif ve arkadaşlarının (1995) fare endometriyumunda siklusa bağlı farklılıkları ortaya koymak amacıyla lektin histokimyası kullanılarak yaptıkları çalışmada seksüel siklusun her dönemi için aldıkları sonuçlar, bizim çalışmamızın kontrol grubuyla benzer

şekilde PNA lektin histokimyası yönünden negatiftir. SBA lektin histokimyası yönünden ise proestrus, estrus, diestrus dönemleri için negatif, yalnızca metestrus dönemi için bizim çalışmamıza benzer şekilde hafif pozitif şekilde sonuçlanmıştır.

İnsanda gebeliğin birinci üç aylık dönemde histiotropik beslenmenin olduğunu göstermek amacıyla endometriyumdaki glikokonjugatların belirlenmesine yönelik olarak Jones ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları çalışmada başka lektin türlerine ek olarak SBA ve WGA kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızın üçüncü denek grubunu oluşturan yalnız gebe ratlar ile karşılaştırılmıştır. Jones ve arkadaşları (1998), SBA ve WGA lektin histokimyası uygulayarak aldıkları sonuçları sırasıyla hafif pozitif ve kuvvetli pozitif olarak değerlendirdiklerini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise sonuçlar 5. gün için SBA ve WGA yönünden pozitif, 7. gün için ise SBA yönünden hafif pozitif ve WGA yönünden negatif olarak değerlendirilmiştir.

Leitner ve arkadaşları (2003) ise normal ve kistik endometriyal hiperplazi gösteren dişi köpeklerde endometriyal bezlerin lektin histokimyasını değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının kontrol gruplarından metestrus ve anöstrusta aldıkları örneklerle SBA, PNA ve WGA lektin histokimyası uygulamışlar ve dönemsel olarak boyanma karakterlerinin değiştiğini bildirmişlerdir. Bunlardan metestrus döneminde alınan örneklerle uygulanan PNA, bizim çalışmamıza benzer şekilde negatif sonuç vermişken, anöstrus dönemi için pozitif sonuç vermiştir. SBA ise metestrus döneminde hafif pozitif, anöstrus döneminde kuvvetli pozitif sonuç vermiştir. Bizim çalışmamızda ise 5. gün için negatif, 7. gün için pozitif sonuç vermiştir.

Walter ve Bavdek östrus siklusunun folliküler ve luteal safhalarında dişi domuzlarda endometriyumda lektin histokimyasını, başka tür lektinlere ek olarak WGA ve Con A ile çalışmışlardır (1997). Hem folliküler, hem de luteal fazda WGA ve Con A yönünden pozitif reaksiyon gördüklerini ifade etmişlerdir. Çalışmamızın bulguları Con A yönünden bu sonuca uyum sağlamakla birlikte, kontrol grubumuzun WGA lektin histokimyası yönünden 5. gün için negatif, 7. gün için hafif pozitif sonuç elde ettiğimizden bu lektin bakımından farklıdır.

İneklerde, gebe olmadıkları ve erken gebelik (<40 gün) dönemlerinde endometriyal bezlerin ve koryonun lektin histokimyası, Munson ve arkadaşları tarafından 1989 yılında değerlendirilmiştir. Sonuçlarına göre gebe olmayan grupta SBA kuvvetli pozitif, PNA, Con

A, WGA pozitif reaksiyon vermişlerdir. Bizim çalışmamızdaki sonuçlara göre ise, kontrol grubunda sırasıyla 5. ve 7. günler için Con A hafif pozitif, pozitif, PNA negatif, negatif, WGA negatif, hafif pozitif ve SBA negatif, pozitif sonuçlar vermişlerdir. Munson ve arkadaşlarının erken gebelik döneminde ise SBA ve Con A'nın bağlanma sonuçları gebe olmayan gruptan farklılık göstermemiş, PNA ve WGA ise kuvvetli pozitif reaksiyon vermişlerdir. Bizim yalnız gebe grubumuzda ise sırasıyla 5. ve 7. günler için aldığımız sonuçlar Con A için pozitif / negatif, PNA için negatif / negatif, WGA için pozitif / negatif, SBA için pozitif / hafif pozitif şeklindedir. Munson ve arkadaşlarının ineklerde aldıkları sonuçlar ile bizim çalışmamızın sonuçları uyum göstermemektedir.

Yapılan literatür taramasında diyabetik ratlarda endometriyal bezlerin lektin histokimyası üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle diyabetli gruplar olan 1. Grup (diyabetik gebe) ve 2. Grup (diyabetik) başka kaynaklarla karşılaştırılamamıştır. Bu grupların karşılaştırılması, yapılan tez çalışması içindeki diğer gruplarla ve birbirleri ile karşılaştırılarak yapılmıştır.

Con A yönünden 5. gün için alınan sonuçlara göre gebeliğin ve diyabetin bağlanma kriterlerini etkilediği sonucuna ulaşılmıştır. Aynı lektin için 7. günde alınan sonuçlardan da diyabetin tek başına lektin bağlanma kriterini etkilediği sonucuna ulaşılabilir.

PNA yönünden alınan sonuçlar hem 5., hem de 7. gün için diyabetli gruplar ve diyabetli olmayan gruplar arasında belirgin bir farklılık olduğunu ortaya koymuştur. Diyabetin varlığının PNA lektin histokimyasını etkilediği düşünülmektedir.

WGA ile uygulanan lektin histokimyası sonuçlarına göre; endometriyal bezlerinin salgılarının WGA'nın spesifik karbonhidratları olan β -zincirli N-asetilglikozamin ve siyalik asit bakımından; güne, diyabete ve gebeliğe bağlı olarak etkilendiği görülmektedir.

Yine SBA ile uygulanan lektin histokimyası sonuçlarına göre endometriyal bezlerinin salgılarının α - β zincirli N-asetilglikozamin yönünden hem gebelik hem de diyabete bağlı olarak etkilendiği düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Literatür taramamıza göre ratlarda hem diyabet hem de erken gebelik döneminde endometriyal bezlerin lektin histokimyası üzerine yapılan ilk araştırma olan bu çalışmamızda, çalışılan lektinler bakımından hem gebeliğin hem de diyabetin ratlarda endometriyal bezlerin yaptığı salgıların karbonhidrat karakterlerini ve salgıların karbonhidrat oranlarını etkilediği sonucuna ulaşılabilir. Con A yönünden 5. gün için alınan sonuçlara göre gebeliğin ve diyabetin bağlanma kriterlerini etkilediği sonucuna ulaşılabilir. Aynı lektin için 7. günde alınan sonuçlardan da diyabetin tek başına lektin bağlanma kriterini etkilediği sonucuna ulaşılabilir. PNA yönünden alınan sonuçlar hem 5., hem de 7. gün için diyabetli gruplar ve diyabetli olmayan gruplar arasında belirgin bir farklılık olduğunu akla getirmektedir. Bu sonuçlara dayanarak, diyabetin varlığının PNA lektin histokimyasını etkilediği düşünülebilir. WGA ile uygulanan lektin histokimyası sonuçlarına göre endometriyal bezlerinin salgılarının WGA'nın spesifik karbonhidratları olan β -zincirli N-asetilglikozamin ve siyalik asit bakımından; güne, diyabete ve gebeliğe bağlı olarak etkilendiği düşünülmektedir. Yine SBA ile uygulanan lektin histokimyası sonuçlarına göre endometriyal bezlerinin salgılarının α - β zincirli N-asetilglikozamin yönünden hem gebelik hem de diyabete bağlı olarak etkilendiği sonucuna ulaşılabilir.

Benzer nitelikte çalışma olmadığı için karşılaştırmalar literatürde bulunan yalnız gebe ve kontrol grupları ile ve farklı hayvan türleri ile yapıldı. Çalışmanın bulguları genel anlamda da literatür ile uyum göstermekteydi.

Diyabet gibi metabolik bir hastalığın erken gebelik döneminde, endometriyal bezlerin salgılarını, bu salgıların da embriyonun beslenme yolu olan histiotropik beslenme üzerine etkisinin anlaşılmaya çalışıldığı bu çalışmada alınan sonuçlar diyabetik bireylerde erken gebelik döneminde oluşma ihtimali yüksek olan düşüklerin patogenezinin aydınlatılmasında faydalı olabilir.

Endometriyal bezlerin salgılarının özellikle gebeliğin total süresinin üçte birinde etkili ve önemli olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Ancak yapılan çalışmalar salgıların protein niteliklerine daha fazla ağırlık vermiştir. Protein niteliğindeki salgı ürünlerinin hücre dışına gönderilirken glikozillendiği gerçeği göz önünde bulundurulursa embriyonun tam olarak hangi şartlarda implantasyona hazır olduğu ve implante olduğu daha

net görülebilir. İnfertilite durumlarında dışardan kullanılacak ve implantasyonu kolaylaştıracak yeni ilaçların ve destek maddelerinin geliştirilmesinde çalışmamızın sonuçlarının faydalı olabileceği görüşünderiz. Ayrıca endometrial bezlerinin salgılarının embriyo üzerindeki etkilerinin aydınlatılması amacıyla yapılacak çalışmalara da katkı sağlayacağını da düşünmekteyiz.

İmplantasyonla ilgili süreçlerin ve erken gebelik döneminin aydınlatılması bakımından faydalı olduğunu düşündüğümüz çalışmamız, aynı alanda yapılması muhtemel yeni çalışmalara ışık tutabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR, Jamshidi S, Farhangi A, ve ark. Induction of diabetes by Streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem*, 2007, 22(2): 60-4
2. Akif F, Gabius HJ, Danguy A. Estrus cycle-related alterations in the expression of glycoconjugates and lectins in the Mouse endometrium shown histochemically. *Tissue & Cell*, 1995, 27 (2), 197-206.
3. Augustin R, Pocar P, Wrenzycki C, Niemann H and Fischer B. Mitogenic and anti-apoptotic activity of insulin on bovine embryos produced in vitro. *Reproduction*, 2003, 126(1): 91-9.
4. Bahadır A and Yıldız H. *Veteriner Anatomi*. İstanbul, Ezgi Kitapevi, 2008
5. Bancroft JD, Gamble M, *Theory and Practice of Histological Techniques*, Churchill Livingstone, London 2002
6. Bazer FW, Thomas ES, Greg AJ, Robert CB, Wu G, Comparative aspects of implantation, *Society for Reproduction and Fertility*, 2009, 09(158) 1470–1626
7. Burton GJ, Jauniaux E, Charnock-Jones DS. Human early placental development: potential roles of the endometrial glands. *Placenta* 2007;28 (Suppl. A, Troph Res 2007;21):S64e9.
8. Burton GJ, Watson AL, Hempstock J, Skepper JN, Jauniaux E. Uterine glands provide histiotrophic nutrition for the human fetus during the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2954e9.
9. Bychkov V, Toto PD. Histochemical study of lectin binding to gestationalepithelium. *Int J Gynecol Pathol* 1987;6:66e72.
10. Bychkov V, Toto PD. Lectin binding to normal human endometrium. *Gynecol Obstet Invest* 1986;22:29e33.,
11. Campbell CS, Schwartz NB The impact of constant light on the estrous cycle of the rat. *Endocrinology*. 1980, 106 (4): 1230-8
12. Carpallada R, Esponda P. Role of fluid from seminal vesicles and coagulating glands in sperm transport into the uterus and fertility in rats. *J Reprod Fert* 1992;95: 639-648.
13. Carpallada R, Esponda P. Structure of the vaginal plugs generated by normal rats and by rats with partially removed seminal vesicles. *J Exp Zool* 1993;265(1), 61–68.
14. Culling CFA, Allison RT, Barr WD, *Cellular Pathology Technique*, 4th edition, Butterworth, London, 214-255, 1985
15. Çalışlar T. *Laboratuvar Hayvanları Anatomisi*. İstanbul, Gençlik Basımevi, 1987.
16. De Hertogh R, Vanderheyden I, Glorieux B and Ekka E. Oestrogen and progestogen receptors in endometrium and myometrium at the time of blastocyst implantation in pregnant diabetic rats. *Diabetologia*, 1989, 32(8): 568-72.
17. De Hertogh R, Vanderheyden I, Pampfer S, Robin D, Dufrasne E , ve ark. Stimulatory and inhibitory effects of glucose and insulin on rat blastocyst development in vitro. *Diabetes*, 1991, 40(5): 641-7
18. Denk H, Künzele H, Plenk H, Rüschoff J, Sellner W, *Romeis Mikroskopische Technik*. 17. neuarbeite Auflage. Urban und Schwarzenberg München, Wien, Baltimore.1989, 439-450
19. Deveci H. *Veteriner Histoloji*. Ankara, Medisan Yayınları, 2007
20. Dursun N. *Veteriner Anatomi II*. Ankara, Medisan, 2008.
21. Eşrefoğlu M. *Genel ve Özel histoloji: renkli resimli*, Pelikan Yayıncılık, 2009
22. Ferguson BR, Bennington J, Haber SL, Histochemistry of mucosubstances and histology of mixed Mullerian Pelvic Lymph node glandular Inclusions: evidence for histogenesis by Mullerian metaplasia of coelomic epithelium. *Obstetrics and Gynecology*, 1969, 33(5), 617-625.
23. Fischer B and HM Beier, *Embryonic Mortality in Farm Animals*, 1986, Springer Netherlands
24. Fox RR, Laird JW, *Sexual Cycles*. In: *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 5,1970.
25. Freeman ME *The Ovarian Cycle of the Rat*. In: *Physiology of Reproduction*. Ed: E. Knobil and J. Neill. Raven Press. New York. Chapter 45,1988
26. Garner P. Type I diabetes mellitus and pregnancy. *Lancet*, 1995, 346(8968): 157-61.
27. Garris DR and Garris BL. Diabetes-induced, progressive endometrial involution characterization of periluminal epithelial lipoatrophy. *Diabetes*, 2003, 52(1): 51-8.
28. Garris DR, Williams S, Smith-West C and West L. Diabetes-associated endometrial disruption in the Chinese hamster: structural changes in relation to progressive hyperglycemia. *Gynecol Obstet Invest*, 1984, 17(6): 293-300.
29. Gartner LP and Hiatt JL. *Color textbook of histology*, Saunders/Elsevier, 2007.
30. Hafez ESE *Female Reproductive Organs*. In: *Reproduction and Breeding Tecniques for Laboratory Animals*. Ed: E.S.E. Hafez. Lea & Febiger, Philadelphia. Chapter 4, 1970a

31. **Harkness JE, Wagner JE**, *The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents* 3rd ed. Philadelphia, London. Chapter 2-4. **1989**
32. **Hassa O, Aşti RN**. *Embriyoloji*, Yorum Basın Yayın, **2010**
33. **Hedrick JL**. Comparative structural and antigenic properties of zona pellucida glycoproteins. *J Reprod Fertill Suppl* **1996**; 50: 9-17.
34. **Hempstock J, Cindrova-Davies T, Jauniaux E, Burton GJ**. Endometrial glands as a source of nutrients, growth factors and cytokines during the first trimester of human pregnancy: a morphological and immunohistochemical study. *Reprod Biol Endocrinol* **2004**;2:58.
35. **Herr RR, Eble TE, Bergy ME and Jahnke HK**. Isolation and characterization of streptozotocin. *Antibiot Annu*, **1959**, 7: 236-40.
36. **Hertig AT, Rock J, Adams EC**. A description of 34 human ova within the first 17 days of development. *Am J Anat* **1956**;98:425-91.
37. **Hoffmann C, Bazer FW, Klug J, Aupperle H, Ellenberger C, Schoon HA**, Immunohistochemical & histochemical identification of proteins and carbohydrates in the equine endometrium: Expression patterns for mares suffering from endometriosis. *Theriogenology*, **2009**, 71(2), 264-274
38. **Horisbarger, M**, Colloidal and its application in cell biology. *Int. Rev. Cytol.*, **1992**, 136: 227-287.
39. **Iannaccone PM, Stols L, Hollenberg PF, Gurka DP**, An estradiol-responsive Mouse endometrial cell strain with inducible aryl hydrocarbon hydroxylase activity. *J. Cell Physiol.* **1983**, 116(2):227-235.
40. **Jones CJP, Aplin JD, Burton GJ** First Trimester Histiotrophe Shows Altered Sialylation compared with Secretory Phase Glycoconjugates in Human Endometrium, *Placenta*, **2010**, 315 (76e): 580
41. **Jones CJP, Fazleabas AT, Mcginlay PB, Aplin JD**. Cyclic modulation of epithelial glycosylation in human and baboon (*Papio anubis*) endometrium demonstrated by the binding of the agglutinin from *Dolichos biflorus* (DBA). *Biol Reprod*, **1998**;58:20e7
42. **Kalter H**. Reproductive toxicology in animals with induced and spontaneous diabetes. *Reprod Toxicol*, **1996**, 10(6): 417-38.
43. **Karaçalı, S**, Glikobioloji Güncel Moleküler Biyoloji, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **2003**, 27: 489-495.
44. **Koç A and Kanter M**. Sıçanlarda implantasyonda endometriyum dokusunun hücresel ve sıvısal savunma sistemi hücreleri üzerinde histokimyasal ve histometrik araştırmalar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **2000**, 6(1-2): 122-30.
45. **Komath S.S, Kavitha M, Swamy MJ**, Beyond carbohydrate binding: new directions in plant lectin research. *Org. Biomol. Chem.* **2006** 4 (6): 973–88.
46. **Kuhl C**. Glucose metabolism during and after pregnancy in normal and gestational diabetic women. 1. Influence of normal pregnancy on serum glucose and insulin concentration during basal fasting conditions and after a challenge with glucose. *Acta Endocrinol (Copenh)*, **1975**, 79(4): 709-19
47. **Kupryjanczyk J**. Cycle- and function-related changes in lectin binding to human endometrium: a histochemical study with pronase treatment. *Arch Gynecol Obstet* **1989**;246:211e22
48. **Lee M-C, Damjanov I**. Pregnancy-related changes in the human endometrium revealed by lectin histochemistry. *Histochemistry* **1985**;82:275e80.
49. **Leitner M, Aurich JE, Galabova G, Aurich C and Walter I**, Lectin binding patterns in normal canine endometrium and in bitches with pyometra and cystic endometrial hyperplasia. *Histol Histopathol.* **2003**, 18:787-795
50. **Leunda-Casi A, Genicot G, Donnay I, Pampfer S and De Hertogh R**. Increased cell death in mouse blastocysts exposed to high D-glucose in vitro: implications of an oxidative stress and alterations in glucose metabolism. *Diabetologia*, **2002**, 45(4): 571-9.
51. **Lohmiller JL, Swing SP**. *Reproduction and breeding in the laboratory rat*, Academic Press; p.148-153. **2006**.
52. **Lutsky A and Sogomonian E**, Structural, functional, and lectin histochemical characteristics of rat ovaries and endometrium in experimental hyper and hypothyroidism. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, **2012**, Vol:10, No:3
53. **Maeda K, Ohkura S, Tsukamura H**. Physiology of the reproduction. In *The laboratory rat* (Handbook of experimental animals) London:Academic Press; p.148-149. **2000**.
54. **Martel D, Malet C, Gautray JP, Psychoyos A**. Surface changes of the luminal uterine epithelium during the human menstrual cycle: a scanning electron microscopic study. In: de Brux J, Mortel R, Gautray JP, eds. *The endometrium: hormonal impacts*. New York: Plenum Press, **1981**.
55. **Mattheij JAM, Swarts JJM**. Quantification and classification of pregnancy was-tage in 5-day cyclic young and middle-aged rats. *Lab Anim* **1991**;25:30-34.
56. **Matthews MK, Adler NT**. Systematic interrelationship of mating, vaginal plug position, and sperm transport in the rat. *Physi & Behavior* **1978**;20(3):303-309.

57. Mescher A. *Junqueira's Basic Histology, 12th Edition*, McGraw-Hill Companies, Incorporated, 2009.
58. Monsefi M, Hosseini E, Alaei S. Lectin histochemical study of rat reproductive tissues treated with ether fraction of *Anethum graveolens* L. Extracts. *Anatomical Sciences*, 2013, Vol:10 No:4
59. Munson L, Kao JJ, Schlafer DH, Characterization of glycoconjugates in the bovine endometrium and chorion by lectin histochemistry. *J. Reprod. Fert.* 1989, 87, 509-517
60. Murray FA, Fuller W, Bazer FW, Rundell JW & Vincent CK. Development failure of swine embryos restricted to the oviductal environment. *Journal of Reproduction and Fertility* 1971 24 445–448.
61. Naokazu I, Masahito I and Masaru O, The mechanism of sperm–egg interaction, *Asian Journal of Andrology*, 2011; 13, 81–87
62. Navot D, Scott K, Drosch L, Veeck HC, Liu HC, Rosenwaks Z. The window of embryo transfer and the efficiency of human conception in vitro. *Fertil Steril* 1991;55:114-8.
63. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1950;1:3-25.
64. Oba G, Aslan S, Kaymaz M. Gebelik ve siklus dönemlerinin belirlenmesi amacıyla ratlarda vajinal sitolojinin kullanılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2001;48, 51-57.
65. Özer A, Özfiliz N, Erdost H and Zık B. *Veteriner Embriyoloji*, Nobel Yayınevi, 2007.
66. Öztapak K.Ö, Lektinler ve Viscum Album Agglutinin, *Erciyes Üniv. Vet. Fak Derg.* 2005, 2(1) 55-59
67. Pampfer S, de Hertogh R, Vanderheyden I, Michiels B and Vercheval M. Decreased inner cell mass proportion in blastocysts from diabetic rats. *Diabetes*, 1990, 39(4): 471-6
68. Pampfer S, Moulart B, Vanderheyden I, Wu YD and De Hertogh R. Effect of tumour necrosis factor alpha on rat blastocyst growth and glucose metabolism. *J Reprod Fertil*, 1994, 101(1): 199-206.
69. Pampfer S, Vanderheyden I, McCracken JE, Vesela J and De Hertogh R. Increased cell death in rat blastocysts exposed to maternal diabetes in utero and to high glucose or tumor necrosis factor-alpha in vitro. *Development*, 1997, 124(23): 4827-36.
70. Peel S and Bulmer JN, Lectin histochemistry of pregnant rat uterine tissues, *J.Anat*, 1996,188, 197-205
71. Poyraz Ö *Laboratuvar Hayvanları Yetiştiriciliği*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları. 1997
72. Reece WO, *Evcil Hayvanların Fonksiyonel Anatomisi ve Fizyolojisi*, Nobel Yayınevi, 2012.
73. Rhodes JM and Milton JD, *Lectin Methods and Protocols*, Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, 1998.
74. Ross MH and Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology*, Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
75. Rutishauser URS and Leo Sachs, Cell-to-Cell Binding Induced by Different Lectins. *Journal of Cell Biology*, Rockefeller University Press, 1975, 65 (2): 247–257.
76. Singh KB. Persistent estrus models of polycystic ovary disease: an update. *Fertil Steril* 2005;84(2);1228-34.
77. Staples RE. Induction of pseudopregnancy in the rat by vaginal stimulation at various stages of the estrus cycle. *Anat Rec* 1965;152(4);499-502.
78. Surveyor GA, Gendler SJ, Pemberton L, Das SK, Chakraborty I, Julian J, et al. Expression and steroid hormonal control of Muc-1 in the Mouse uterus. *Endocrinology* 1995;136:3639-47.
79. Tanyolaç A. *Özel Histoloji*. Ankara, Yorum Basın Yayın: 153-156. 1999
80. Tekelioğlu M. *Özel Histoloji: İnce Yapı ve Gelişme*. Ankara, Antip A.Ş., 2002.
81. Theil C, Briese V, Gerber B, Richter DU. The effects of different lignans and isoflavones, tested as aglycones and glycosides, on hormone receptor-positive and -negative breast carcinoma cells in vitro. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;284(2):459-65.
82. Van Damme EJM, Peumans WJ, Pusztai A, Bardocz S, Handbook of Plant Lectins: Properties and Biomedical Applications. 1998. John Wiley & Sons. pp. 7–8.
83. Walter I and Bavdek S. Lectin binding patterns of porcine oviduct mucosa and endometrium during the oestrus cycle. *J.Anat.* 1997, 190, 299-307.
84. Westwood FR. The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicol Pathol* 2008;38(3);375-384.
85. Wick R and Kress A, Ultrastructural changes in the uterine luminal and glandular epithelium during the estrus cycle of the marsupial *Monodelphis domestica* (grey short tailed opossum) *Cells, Tissues, Organs*, 2002, 170 (2-3):111-131
86. www.oecd.org/env/ehs/testing/43754782.pdf Erişim tarihi: 12.11.2013
87. Yavuz. Ö. Glikoproteinler ve biyomedikal önemi. *T Klin Tıp Bilimleri Dergisi* 2001; 21: 517-522.

88. **Yilmaz M and Christopher G**, Mechanisms of Motility in Metastasizing, *Mol Cancer Res* 2010;8:629-642
89. **Yockim JM, Shirer HW**. Evidence for a photoperiod-sensitive pacemaker for estrous cycle of the rat. *American Journal of Physiology*, 1981,241(3)

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Ankara'da doğdu. İlköğretim ve lise eğitimlerini Ankara'da tamamlamasının ardından 2002 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandı. 2007 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden mezun oldu. 2010 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. 2011 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atandı. Halen aynı kurumda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır. Evlidir.