

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİABETİN ENDOMETRİUM RESEPTİVİTESİ VE OVER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Seda ÖZKULER

Enstitü Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Özcan BUDAK

Ocak- 2022

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİABETİN ENDOMETRİUM RESEPTİVİTESİ VE OVER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Seda ÖZKULER

Enstitü Anabilim Dalı: Histoloji ve Emriyoloji

**“Bu tez .../.../2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oy birliği / Oy çokluğu
ile kabul edilmiştir.”**

JÜRİ ÜYESİ	KANAATİ	İMZA

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 57 sayılı 07/10/2020 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Seda ÖZKULER

17/01/2022

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Yüksek Lisans eğitim süresince fikir, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve bu araştırmanın planlanmasından yazım aşamasına kadar fikir ve görüşleriyle beni destekleyen değerli danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Özcan BUDAK’a, yüksek lisans eğitimim sırasında bilgi ve fikirlerini esirgmeden yanımda olan değerli hocalarım Prof. Dr. Elvan ŞAHİN ve Prof. Dr. Nureddin CENGİZ’e, çalışmanın verilerinin toplanması aşamasında laboratuvarında yardımcı olan, kolaylık sağlayan İbrahim ULUSOY beye, yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve fikir alışverişi yaptığım, tezimin sonlanması için emek sarf eden arkadaşım Öğr. Gör. Şeyma TRABZON’a, varlıklarına şükrettiğim hayatımın her anında maddi ve manevi yanımda olan babam Mesut ÖZKULER, annem Hasine ÖZKULER’e ve kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. DİŞİ ÜREME SİSTEMİ.....	5
2.1.1. Ovaryum Anatomi ve Histolojisi	5
2.1.2. Folikül Gelişim Döngüsü	6
2.1.3. Korpus Luteum.....	9
2.1.4. Uterus Anatomi ve Histolojisi.....	10
2.1.5. Menstrual Siklus.....	12
2.2. ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE	14
2.3. İNFERTİLİTE	20
2.3.1. Erkek İnfertilite	22
2.3.2. Kadın İnfertilite	23
2.4. DİYABETES MELLİTUS	24
2.4.1. Tip 1 Diyabetes Mellitus	24
2.4.2. Tip 2 Diabetes Mellitus	25
2.4.3. Diyabet Mellitus Üreme Sistemi Üzerine Etkisi	25
3. MATERYAL METOT	28
3.1. ETİK KURUL ONAYI	28
3.2. DENEY MODELİ.....	28
3.3. DENEYSEL DİYABET PROTOKOLU.....	29
3.4. DENEYSEL CERRAHİ İŞLEMLER	29
3.5. HİSTOLOJİK DOKU TAKİP İŞLEMLERİ.....	30
3.6. DOKU KESİT ALMA VE BOYAMA ÖN HAZIRLIK İŞLEMİ	31

3.7. HEMATOKSİLEN-EOZİN BOYAMA İŞLEMİ	32
3.8. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA İŞLEMİ	33
3.9. MİKROSKOBİK İNCELEME VE FOTOĞRAFLAMA	34
3.10. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	35
3.11. İSTATİSTİK ANALİZ.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. VÜCUT AĞIRLIĞI	36
4.2. AÇLIK KAN GLİKOZ DÜZEYİ	37
4.3. FOLİKÜL SAYILARI	38
4.4. OVER AĞIRLIKLARI, İMMÜNOHİSTOKİMYA VE AMH DEĞERLERİ	39
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ.....	55
KAYNAKÇA	56
EKLER.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	71

KISALTMALAR

°C	: Santigrat
AGE	: Advanced glycation end products
AMH	: Anti müller hormon
BAG	: Bozulmuş açlık glukoz
BGT	: Bozulmuş glukoz tolerans
dk	: Dakika
DM	: Diyabet mellitus
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
E	: Eozin
EGF	: Epidermal Growth Factor
E-Selektin	: Endoteliyal
FGF	: Fibroblast growth factors
FSH	: Folikül stimüle edici hormon
GDM	: Gestasyonel Diabet Mellitus
Glrx	: Glutaredoksin
GLUT-2	: Glukoz transporteri 2
GlyA	: Glikodelin A
GnRH	: Gonadotrophin releasing hormone analogs
H	: Hematoksilen
HADYEK	: Hayvan Deneyi Yerel Etik Kurulu'nun
HB-EGF	: Heparin-binding EGF-like growth factor
hCG	: Human Koryonik Gonadotropin
HOXA 10	: Homeobox A10
ICAM-1	: Intercellular Adhesion Molecule 1
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünglobulin
IGF	: İnsülin/insülin benzeri büyüme faktörü
kJ/g	: Kilo joule/ gram
LADA	: Latent Autoimmune Diabetes of Adult

LH	: Luteinize Edici Hormon
LIF	: Leukemia inhibitory factor
L-Selektin	: Lökosit- Selektin
mg/dl	: Miligram/desilitre
ml	: Mililitre
MODY	: Maturist Onset of Diabetes of the Young
MUC1	: Müsin 1
NOD	: Non-obese diabetic
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PI3K/Akt	: Phosphoinositide-3-kinase/Akt
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
PRA	: Progasteron reseptörü A
PRB	: Progesteron reseptörü B
Ras/MAPK	: Ras-mitogen-activated protein kinase
STZ	: Streptozotosin
SÜDATEM	: Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırmaları Merkezi
T1DM	: Tip 1 Diabet Mellitus
T2DM	: Tip 2 Diabet Mellitus
TGF-β	: Transforming Growth Factor Beta
VEGF	: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
ZP	: Zona pellusuda
αVβ3	: Alfa5 Beta3
μmol	: Mikromol

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** Kontrol ve Diyabet gruplarına ait vücut ağırlığı karşılaştırılması. 37
- Şekil 2.** Kontrol ve Diyabet gruplarına ait kan şekeri karşılaştırılması. 38
- Şekil 3.** Kontrol ve Diyabet gruplarına ait over ağırlık ve over-endometrium
imminohistokimya karşılaştırılması..... 41
- Şekil 4.** Diyabet grubu over genel görünümü H&E. 4X 100 scala bar. Over
folükül ve folükül dokuları arasında dejenerasyon alanları görülmekte
(siyah ok: dejenerasyon alanları.) 41
- Şekil 5.** Kontrol grubu over genel görünümü H&E. 4X 100 scala bar. Overlerde
farklı dönemlerdeki folüküler görülmekte. 42
- Şekil 6.** Diyabet grubu Ki-67 immünhistokimya boyanan over preparatları 4X 200
scala bar. Diyabet grubunda yok denecek kadar Ki-67 boyanan preparat... 42
- Şekil 7.** Kontrol grubu Ki-67 immünhistokimya boyanan over preparatları 4X 200
scala bar. Kontrol grubunda pozitif Ki-67 boyanan over preparat. 43
- Şekil 8.** Kontrol grubu VEGF immünhistokimya boyanan over preparatları 4X 200
scala bar. Kontrol grubunda pozitif VEGF boyanan over preparat. 43
- Şekil 9.** Diyabet grubu VEGF immünhistokimya boyanan over preparatları 4X 200
scala bar. Diyabet grubunda zayıf yoğunlukta boyanan VEGF over
preparat. 44
- Şekil 10.** Kontrol grubu endometriyum preparatı. 10x50 scala bar H.E. Düzgün
yapıda epitel tabakası, endometriyal bezler ve kan damarları görülmekte. . 44
- Şekil 11.** Diyabet grubu endometriyum preparatı. 10x50 scala bar H.E Bozulmuş
epitel tabakası, endometriyal bezler ve kan damarlarından yoksun
endometriyum görülmekte. 45
- Şekil 12.** Kontrol grubu endometriyum preparatı. 10x50 scala bar VEGF
immünhistokimya boyama. Endometriyal bez ve damarlar etrafında pozitif
boyanma görülmekte..... 45
- Şekil 13.** Diyabet grubu endometriyum preparatı. 10x50 scala bar VEGF
immünhistokimya boyama. Endometriyal bez ve damarlar etrafında hafif
boyanma görülmekte..... 46

Şekil 14. Kontrol grubu Ki-67 immünhistokimya boyanan endometriyum preparatları
4X 200 scala bar. Kontrol grubunda pozitif Ki-67 boyanan over preparat. 46

Şekil 15. Diyabet grubu Ki-67 immünhistokimya boyanan endometriyum
preparatları 4X 200 scala bar Diyabet grubunda hafif Ki-67 boyanan over
preparat. 47



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Doku Takip Basamakları	31
Tablo 2. Boyama ön hazırlık protokolü.....	32
Tablo 3. Hematoksilen & Eozin Boyama Protokolü	32
Tablo 4. İmmünohistokimyasal Boyama Protokolü.....	34
Tablo 5. Kontrol ve diyabet gruplarında vücut ağırlığı değerleri (g) (Ort.±S.H.).....	36
Tablo 6. Kontrol ve diyabet gruplarında açlık kan glikoz değerleri (mg/dl) (Ort.±S.H.)	38
Tablo 7. Kontrol ve diyabet gruplarında ovaryumda folikül ve korpus luteum sayıları (Ort.±S.H.)	39
Tablo 8. Kontrol ve diyabet gruplarında over ağırlığı, immünohistokimya ve AMH değerleri karşılaştırılması.	40

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Bu çalışma Streptozotosin (STZ) ve yüksek yağlı diyet (high fat diet/HFD) beslenme ile elde edilen Obez/Tip 2 Diabet Mellitus (DM) farelerin endometrium reseptivite üzerindeki ve overlerinde meydana gelen değişiklikler ile AMH gibi dişi üreme sisteminin önemli hormonların seviyelerini tespit etmektir. Over ve Uterus immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmesi, AMH hormon düzeylerinin karşılaştırılması ve bu parametrelerin DM ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: 10 haftalık deney Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırmaları Merkezi (SÜDATEM) deki BALB/C cinsi dişi farelerle oluşturuldu. POWER analizi, Literatür bilgilerine göre 7 fare (n=7) diabet grubu, 7 fare (n=7) ise kontrol grubu olarak belirlendi. Diabet çalışma grubu HFD ve STZ uygulaması ile diabet oluşturuldu, kontrol grubuna hiçbir madde uygulanmadı. Gruplara ait diseksiyon, uterus, over dokuları toplandı, kan numunesi alındı. Uterus ve endometriyumda VEGF, Ki67 immünohistokimyasal boyama yöntemi uygulandı, hematoksilin&eozen ile histolojik boyanıp, ışık mikroskopunda incelendi. Biyokimyasal analiz için toplanan kanda AMH seviyesi ölçümü yapıldı.

BULGULAR: Çalışmanın başlangıcındaki ve sonundaki verileri kıyaslandığında; Diyabet(D) gruplarında çalışmanın 4. Haftasından itibaren ağırlık değerlerinin, kontrol grubunun ağırlık değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görüldü. Açlık kan glikoz verileri incelendiğinde; açlık kan glikoz değerlerinin kontrol gruplarına göre diyabet gruplarında anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. ($P<0.05$). Folikül sayıları için yapılan değerlendirmede elde edilen verilerde; Primordial, primer, folikül sayılarında gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmazken; kontrol grubunda sekonder, antral folikül ve korpus luteum sayılarının diyabet grubuna göre anlamlı şekilde fazla olduğu tespit edildi($P<0,01$). Over ağırlıkları karşılaştırıldığında diabet grubunda ortalama over ağırlık değerlerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görüldü. Over ve endometriyumun Ki-67 ve VEGF immünohistokimyasal boyanması sonuçları gruplar arasında hem over hemde endometriyum için istatistiksel olarak anlamlı farklar görüldü. Her karşılaştırmada kontrol grubunda ortalama değerler daha yüksek

bulundu. İki grup arasında AMH mg/dl değerlerini karşılaştırdığımızda ise kontrol grubunda AMH değerlerinin kontrol grubunda diyabet grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. $P=0.001$.

SONUÇ: Diyabetin; folikül oluşumu ve gebeliğin devamında implantasyon ve doğum elde edilmesi üzerinde negatif etkileri olabileceği görüldü.

Anahtar Sözcükler: Anti Müller Hormon, Diabet Mellitus, Endometrium Receptivite, Over, Ki67, VEGF



SUMMARY

The Relationship Of The Complaints Of Applying To The Emergency Department Of Women Of Reproductive Age With Premenstrual Syndrome

INTRODUCTION AND OBJECTIVE: This study is to detect changes in the endometrial receptivity and ovaries of obese/Type 2 Diabetes Mellitus (DM) mice obtained through streptozotosin (STZ) and high fat diet (HFD) nutrition, as well as the levels of important hormones in the female reproductive system such as AMH. It is aimed to examine Ovarian and Uterine immunohistochemical methods, to compare AMH hormone levels and to associate these parameters with DM.

MATERIAL AND METHODS: The 10-week experiment was created with BALB/C female mice at Sakarya University Faculty of Medicine Experimental Medicine Applications and Research Center (SÜDATEM). Power analysis was determined as 7 mice (n=7) diabetes group and 7 mice (n=7) as control group according to literature information. Diabetes working group was created with HFD and STZ application, no substances were applied to the control group. Dissection, uterus, ovarian tissues of the groups were collected, blood samples were taken. VEGF, Ki67 immunohistochemical dyeing method was applied in uterus and endometrium, histological dyeing with hematoxylane&eosin was examined in light microscope. AMH level measurement was performed in the blood collected for biochemical analysis.

RESULTS: Compared to the data at the beginning and end of the study; 4 of the study in diabetes (D) groups. From the week, weight values decreased statistically significantly according to the weight values of the control group. When the hunger blood glucose data is examined; fasting blood glucose values increased significantly in diabetes groups according to control groups. ($P<0.05$). In the data obtained in the evaluation of follicle numbers; Primordial, primary, while there is no statistical difference between groups in their numbers; secondary, antral follicle and corpus luteum numbers were significantly higher in the control group compared to the diabetes group ($P<0.01$). When ovarian weights were compared, it was found that the average ovarian weight values in the diabetes group were lower than in the control group. Results of Ki-67 and VEGF immunohistochemical dyeing of ovary and

endometrium showed statistically significant differences between the groups for both ovarian and endometrium. In each comparison, the average values in the control group were found to be higher. When we compared AMH mg/dl values between the two groups, it was seen that AMH values were higher in the control group than in the diabetes group. $P=0.001$.

CONCLUSION: Diabetes; it was observed that it may have negative effects on follicle formation and implantation and delivery in the continuation of pregnancy.

Keywords: Anti Müller Hormone, Diabetes Mellitus, Endometrium Receptivitis, Ovary, Ki67, VEGF



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabet Mellitus (DM), yüksek plazma glukoz seviyeleri ile karakterize olan, insülin noksanlığı veya dokuların insüline duyarsızlığı neticesinde organların uzun müddet hiperglisemiye maruz kaldığı bir grup metabolik hastalıktır. Üç ana DM türü vardır. Tip 1 Diabet Mellitus (T1DM), genelde mutlak insülin eksikliğine neden olan beta hücre yıkımı ile karakterizedir. Tip 2 Diabet Mellitus (T2DM) insülin direnci temelinde ilerleyen insülin sekresyon defekti ile nitelendirilmektedir. Etnik köken, aile, obezite, sağlıksız beslenme, sınırlı fiziksel hareket T2DM 'un başlıca nedenleridir. Bozulmuş glukoz tolerans (BGT) veya bozulmuş açlık glukoz (BAG) T2DM öncüleri olarak kabul edilir. Yapılan araştırmalara göre 4 kişiden 1'i BGT/BAG'dır ve 3-5 yıllık bir süre içerisinde DM'a ilerlemektedir. Son olarak da Gestasyonel Diabet Mellitus (GDM); gebelik döneminde kan glukoz yüksekliği ile beliren ve genellikle doğum ile birlikte düzelen diyabettir. Bu durumda fetus yüksek risk altındadır.

DM önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünyada erken ölüm ve sakatlıkla ilişkili en yaygın kronik hastalıklardan biridir. Son on yılda DM prevalansı dramatik olarak artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) istatistiklerine göre dünya çapında 2014 yılında 422 milyon yetişkin DM bulunmaktadır. Uluslararası Diyabet Federasyonu bu sayının 2040 yılında 642 milyona yükseleceğini tahmin etmektedir.

DM' ye bağlı kronik hiperglisemi birçok makrovasküler (iskemi kalp hastalığı, inme ve riferal arter hastalığı) ve mikrovasküler (nöropati, nefropati, retinopati) morbilite ve mortalitenin önde gelen nedenidir. DM'nın diğer komplikasyonları arasında demans, depresyon ve cinsel işlev bozukluğudur.(Rughani, Friedman and Tryggestad, 2020)(Lovic *et al.*, 2019)(Cole and Florez, 2020)

Diyabet, hem kadın üreme sisteminde hem de erkek üreme sisteminde büyük değişikliklere neden olur. İnsülin/insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) yolları ve glukoz metabolizması, insan yumurtalık fonksiyonunun ve kadın doğurganlığının aracıları olarak işlev görür.

İnsülin, diğer faktörlerle birlikte yumurtalık büyümesini ve kist oluşumunu etkileyebilir. IGF yolu da normal yumurtalık fonksiyonunu etkiliyor gibi görünmektedir. İnsülin sinyali üreme fonksiyonunu etkilemektedir. Bu yolun düzensizliği, ergenlik, yumurtlama ve doğurganlığın değişmesine yol açar.(Nandi and Poretsky, 2013)

Memelilerde hem embriyonik gelişim için hem de endometriumun desidualizasyonu için glikoz gereklidir, glikoz mekanizması bozukluklarında peri-implantasyon döneminde gebelik kayıpları çok yaygındır.

Uterus glikoz sentezleyemediği için tüm glikojen gereksinimini doğrudan anne dolaşımından veya makro moleküler glikojen olarak geçici depolar oluşturarak karşılar. Endometriyal glikojen konsantrasyonları insanlarda doğurganlık ile ilişkilidir, erken gebelik döneminde glikojen temel bir glikoz kaynağıdır. İnsanlarda ve primatlarda, endometriyal glikojen konsantrasyonu, progesteron nedeniyle luteal faz sırasında zirveye ulaşır. Sıçanlarda östradiol ve östrus sırasında uterus glikojen birikimini tetikler. Çiftleşen sıçanlarda, endometriumun glikojen içeriği, desiduada depolanan yüksek glikojen seviyeleri nedeniyle implantasyondan sonra tekrar artar. Bu rezervler implantasyondan önce harekete geçirilir bu da embriyonik büyümeyi desteklemek için kullanıldıklarını düşündürür. Yumurtalık steroidlerinin endometriumda glikojenezi nasıl uyardığı belirsizdir, ancak mevcut kanıtlar östradiol/progesteronun insülin veya insülin benzeri büyüme faktörü sinyalleşmesi ile etkileşime girdiğini göstermektedir. Endometriyal glikojen, peri-implantasyon periyodu sırasında temel bir glikoz kaynağıdır. (Nandi and Poretsky, 2013)(Dean, 2019)(Diamond *et al.*, 1991)

İmplantasyon başarısızlığı, başarılı bir hamileliğin önündeki en büyük engeldir. Yapılan çalışmalar diyabetin erken gebelik başarısızlığına ve tekrarlayan spontan düşüklere katkısı olduğu belirtilmiştir. Diyabetik kadınların implantasyondan sonra fetal kayıp yaşama olasılığı dokuz kat daha fazladır. Diyabetik farelerde implantasyon sonrası fetal kaybın oranının yüksek olması, anormal desidual interferon (IFN) gama üretimi ile ilişkili olduğuna inanılır.

Blastosistin kalitesi implantasyon için önemli olsa da kadınlarda ve farelerde erken gebelik ilerlemesi uterusun maksimum düzeyde alıcı olduğu zamanı tanımlayan ve “implantasyon penceresi” olarak adlandırılan, yüksek düzeyde programlanmış ve geçici olarak kısıtlanmış hücresel olayların indüksiyonunu gerektirir. İmplantasyon penceresi, menstrual siklusun 20-24. günleri aralığında endometriyum ile blastokistin karşılıklı etkileşim içinde olduğu dönemdir ve pinopod oluşumu ve adeziv moleküllerin sentezi ile karakterizedir.

Yapılan çalışmada normoglisemik farelerin aksine diyabetik farelerin uterus pinopodlarının oluşumunda gecikme ve implantasyon bölgesinde Müsin 1 (MUC1) ın aşırı ekspre edildiği, Progasteron Reseptörü A (PRA) ve Progesteron Reseptörü B (PRB) nın geçici regülasyon kaybı peri-implantasyonda meydana gelen desidualasyon başarısızlığının belirgin özellikleridir. Diyabette endometrial reseptivitenin azalğı ve ebriyo kaybına neden olduğu ilişkilendirilmiştir.(Albaghdadi and Kan, 2012)

Diyabetik kadınlar geç yaşta menarş olur ve sağlıklı kadınlara göre daha sık menstrual düzensizlik yaşarlar ve daha erken yaşta menapoz yaşarlar. Diyabetin dişi üreme sistemi üzerindeki etkilerini inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Obez olmayan diyabetik farelerde uterus ağırlığının azaldığı, luminal ve glandular epitel içinde lipid biriktiği, endometriyum ve myometriyumun atrofiye uğradığı ve kas hücre tabakası sayısının azaldığı gösterilmiştir. Yine diyabetik chinese hamsterinin endometriyal bazal membranında kalınlaşma ve luminal epitel boy kısalması, sitoplazma vakuolizasyonla karakterize çeşitli düzensiz hücrelerin bulunduğu ve amiloid benzeri hücreler arası temel madde ile kollajen fibril ayrılması gözlenmiştir. Diyabetik ratlarda implantasyon bölgesinde östrojen reseptör düzeylerine bakılarak normal ovulator siklus sonrası % 20 daha düşük implantasyon hızı gözlemlenmiştir.

Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), özellikle endotel hücre için özgül etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir. Endotel hücresinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differensiasyonuna sebep olur. VEGF, hem gelişim sırasında, hemde yetişkinde vaskülogenez ve anjiogenez için önemli ve gereklidir. Bunlar emriyogenez, yara iyileşmesi, tümör büyümesi, miyokardial iskemi, oküler neovasküler hastalıklar ve romatoid artrit gibi kronik inflamatuvar

hastalıkları da içeren fizyolojik ve fizyopatolojik olaylardır.(Melincovici *et al.*, 2018)

Ki-67 proteininin ekspresyonu, hücre proliferasyonu ile sıkı bir şekilde ilişkilidir. İnterfaz sırasında, antijen yalnızca çekirdek içinde saptanabilirken, mitozda proteinin çoğu kromozomların yüzeyine yer değiştirir. Ki-67 proteininin hücre siklusunun tüm aktif evrelerinde (Gap1G(1), Sentez(S), Gap2(G2) ve Mitoz(M)) mevcut olması, ancak dinlenme hücrelerinde GapG G(0) olmaması ile proliferen olan hücreleri gösteren belirteç olarak kullanılmaktadır(Scholzen and Gerdes, 2000).

Anjiyogenezis genital döngü esnasında endometriyumun çoğalması ve yenilenmesini sağlamakla birlikte, gebeliğe destek olmak için implantasyon esnasında endometriumun gelişimi ve farklılaşması için de gerekir. Anjiyogenik moleküller içerisinde en mühim ve üstünde en fazla durulanı VEGF ve KI-67 dir.

Dişilerde seksüel siklusun başlamasıyla bağ dokusunda kan damarları ve uterus bezlerin gelişmesini kapsayan bir takım periyodik değişimler olur. Bu değişimler uterusun epitel hücreleri ve stromasından salgılanan lokal büyüme faktörleri arasındaki kompleks etkileşim ve steroid hormonlar (östrojen, progesteron v.s.) aracılığıyla düzenlenmektedir.

Bu çalışma, beslenme ve streptozotosin (STZ) uygulanmasıyla elde edilmiş diyabetik farelerde uterus ve overlerinde meydana gelen histolojik değişiklikler ile anti müller hormon (AMH) gibi diş üreme sisteminde önemli hormonların seviyelerini tespit etmektedir. Böylelikle diyabetin diş üreme sistemi üzerine etkilerinin ne olduğu doku ve hormonal değişiklikleri tespit edilmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DIŞI ÜREME SİSTEMİ

Dişi üreme sistemi, pelviste yer alan ovaryumlar, fallop tüpleri, uterus ve vajina olmak üzere internal genital organlardan; mons pubis, labium majör ve minör, klitoris, vestibul, vajen açıklığı ve hiymen vulva denilen eksternal genital organlardan oluşmaktadır(Ross and Pawlina, 2017). Plesanta ve meme bezleri genital organ olmamakla birlikte hormonal aktivite ve fonksiyonel olarak genital sistem ile ilişkilidir(Ovalle and Nahirney, 2009).

Uterus ve ovaryumlar üreme yaşamı boyunca menstrual siklus olarak bilinen, düzenli olarak yapısal ve fonksiyonel değişikliklere uğrar(Eroschenko, 2016)(Junqueira and Carneiro, 2009). Dişilerde genellikle 9 ile 14 yaş arasında menarş ile menstrual siklus başlar ve ortalama 45 ile 55 yaşları arasında seyrekleşerek son bulur. Menstrual siklusun sona ermesine menapoz denir. Menapoz dönemi sonrasında üreme sisteminde yavaş gerileme görülür(Ovalle and Nahirney, 2009).

2.1.1. Ovaryum Anatomi ve Histolojisi

Kadın üreme hücresi ovumu yapan ovaryumlar bir çift bulunur. Nulliparlarda, pembemsi beyaz renkli, badem şeklinde, ortalama her biri 3 x 2 x 1 cm boyutlarında, 3-5 gr ağırlığındadır. Pelvis minör dış yan duvarında fossa ovaricalara oturur. Erkeklerdeki testisin homoloğudurlar(Cumhur, 2013).

Her ovaryum mezoovaryum denilen peritoneal katlantı ile broad ligamentin posterior yüzüne, süperiyor kısmı ligament suspensor ile pelvis duvarına, inferiyor kısmı ligament ovaryan ile uterusu bağlanır(Ross and Pawlina, 2017)(Yıldırım, 2018).

Ovaryum peritonun mezotelyumuna uzantısı olan tek katlı kübik ve bazı bölgelerde yassı olarak bulunan germinal epitel ile örtülüdür. Germinal epitelin altında sıkı bağ dokusu olan tunica albuginea bulunur. Tunica albuginea'nın altında ovaryum dokusu, dışta kortex ovarii, içte medulla ovarii yapıdadır. Kortex ovarii selüler bağ doku yapısındadır, gelişmekte olan ve dejenare olan foliküllerin çeşitli aşamalarını içerir.

Gelişim evrelerine göre ovaryum folikülleri; primordial, primer, sekonder ve tersiyer (graaf folikül) olarak tanımlanır. Medulla ovarii ovaryumun merkezî bölgesidir, gevşek bağ doku yapısında, lenf ve kan damarları ve sinirler içerir(Junqueira and Carneiro, 2009)(Eroschenko, 2016).

Doğumda ovaryumda 100-400 bin kadar primordial folikül I mayoz da arest uğramış halde bulunur. Ancak ergenliğe kadar bu foliküllerin çoğu dejenare olur, bu dönemde ancak 10-20 bin adet primer folikül bulunur. Reprodüktif yaşam süresince bunların tahmini 400 tanesi matür ovum üretir(Ross and Pawlina, 2017)(Kierszenbaum, 2006).

Ovaryumlar aorta abdominalis'ten dallanan arterior ovarica ile beslenir. Ven damar yapısı plexus pampiniformis olarak hilum dan çıkar ve vena ovarica'yı oluşturur. Sağ vena ovarica vena cava inferior'a ; sol vena ovarica sol vena renalis'e açılır. Lenf damarları aortici laterales ve nodi preaortici'ye drenaj olur. Sinir iletimi plexus ovaricus ile sağlanır, parasempatik lifler nervus vagus'tan, sempatik lifler medulla spinalisten gelir(Waschke, Böckers and Paulse, 2016)(Cumhur, 2013)(Ovalle and Nahirney, 2009).

2.1.2. Folikül Gelişim Döngüsü

Her bir folikül, yumurtalığın temel fonksiyonel birimini temsil eder. Primer oositin geliştiği işlevsel yapıdır. Foliküller, büyümek ve olgun oosit oluşturmak üzere bir oosit ve onu çevreleyen folikül somatik hücreler bulunur. Foliküler evre ovaryum siklusunun ovulasyona kadar olan ilk yarısıdır. Bu evrede FSH baskındır ve foliküller gelişmektedir. Her mestural silkusta overler bir grup folikülleri geliştirir, bunların çoğu gelişimini tamamlayamayıp atrezi olur, biri gelişimini tamamlayıp dominant folikül olarak seçilir. Dominant folikül ovulasyon olacak olan foliküldür ve muhtemelen FSH reseptörü daha fazla içeren, östrojen daha fazla sentezleyen foliküldür. Östrojen folikül gelişimi sırasında salgılanan en önemli proliferatif bir hormondur, ovaryumda foliküllerin gelişimini ve uterusun gebeliğe hazırlanmasında yardımcı olur. Siklus dongusu esnasında östrojen hormonu ovulasyondan hemen önce, ovulasyondan sonra luteal fazın ortasında iki piğ değeri vardır(Gershon and

Dekel, 2020)(Rimon-dahari, Yerushalmi-heinemann and Alyagor, 2016)(Köylü, 2016).

Histolojik olarak ovaryum foliküleri; primordial folikül, primer folikül, sekonder folikül, olgun folikül (graff folikül) olarak tanımlanır(Ross and Pawlina, 2017).

Primordial foliküller; ilk fetal evrenin üçüncü ayında geliştikten sonra dinlenme evresine girer ve bekler. Primordiyal foliküller, foliküllerin dinlenme havuzu olarak kabul edilir. Bunlar yaşam boyunca tükenir, menopoz evresine gelindiğinde foliküllerin tamamı yok olur. Olgun ovaryumda primordial foliküller tunika albugineanın hemen altında korteks stromada bulunmaktadır. Oositi tek katlı yassı folikül hücreleri çevreler ve folikül hücrelerin dış yüzeyi bazal lamina ile sınırlıdır. Primordial foliküller dinlenme havuzundan çıktıktan sonra ya primer foliküle dönüşürler ya da atrezi olurlar. Çoğu atrezi olur bir tanesi gelişimini tamamlayarak ovulasyona uğrar. Bir primordial folikül primer folikülle dönüşürken, yassı granuloza hücreleri kübik granuloza hücrelerine morfolojik olarak farklılaşır. Oositte, folikül hücrelerinde ve komşu stromada farklılıklar meydana gelir(Gershon and Dekel, 2020).

Primer folikül iki çeşidi vardır. Tek katlı kübik primer folikül ve onu takiben kübik folikül hücrelerin profile olması sonucu çok katlı kübik primer folikül oluşur. Çok katlı folikül hücreleri artık granuloza hücreleri olarak adlandırılır, bunların oluşturdukları katmana da stratum granuloza denir. Bu aşamada folikül büyümesi gonadotropinden bağımsızdır, karmaşık çift yönlü oosit ve somatik hücreler arasındaki iletişim mevcuttur. Bu diyalogda yer alan sinyal moleküllerinin çoğu, dönüştürücü büyüme faktörü beta (Transforming Growth Factor Beta (TGF- β)) süper ailesidir. Gelişen folikül de oosit büyüdükçe zona pellusuda denilen özel glikoprotein kılıf sentezlemeye başlar. Zona pellusuda (ZP) oosit ile folikül hücreleri arasında bulunur ve ZP-1, ZP-2, ZP-3 glikoproteinlerden oluşmaktadır. Proliferasiyona uğrayan granuloza hücre tabakası kalınlaşır, sonra ovaryum intertisyel hücrelerinden köken alan iç hücreleri granulosa hücrelerin çevresini sarar ve stromal hücreler bazal laminanın hemen dışında teka folikül olarak isimlendirilen bağ doku kılıfını oluştur. Bu yapı teka interna ve teka eksterna olarak iki katmandır. Teka interna da bulunan hücreler granulosa hücrelerine benzer ve granulosa hücreleri gibi östrojen ve

progesteron salgılar. Dış yüzeyde bulunan teka eksterna ise damarsal bir yapıda olup folikülün kapsülünü olurturu(Ovalle and Nahirney, 2009)(Ross and Pawlina, 2017)(Kierszenbaum, 2006)(Eroschenko, 2016).

Sekonder folikül; granuloza hücreleri proliferasyonu ile 6-12 hücre tabakaya ulaşır. Sekonder ve daha sonraki gelişmekte olan foliküller, hipofizin varlığına bağlıdır. gonadotropinler, folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) granuloza hücrelerin hayatta kalması, çoğalması, östradiol üretimi ve LH ve FSH reseptörleri gereklidir. Granulosa hücreleri östrojen, özellikle östradiol içeren bir folikül sıvısı salgılar bu sıvı granuloza hücrelerin arasında düzensiz, küçük, içi sıvı dolu kaviteler oluşur. Kaviteler birleşerek antrium denilen tek bir boşluk oluşturur. Antrium içindeki saydam vikoze sıvı; hyaluronan, oosit maturasyon inhibitörü, steroid hormonlar zengindir. Erken sekonder folikül çapı 0,2 mm iken büyümeye devam eder ve çapı ortalama 10 mm ye ulaşır. Oosit ile ilişkili olan granuloza hücreleri antrium'a doğru bir kabarıklık oluşturmaya kumulus ooforus denilir. Ovulasyonda oosit ile kalan kumulus ooforus hücreleri korona radiata olarak adlandırılır(Ovalle and Nahirney, 2009)(Eroschenko, 2016)(Ross and Pawlina, 2017).

Graaf folikül 15-25 mm çapındadır, preovulatuvar folikül olarak adlandırılır. Yüksek konsantrasyonda LH reseptörü eksprese eden antral foliküller, bu gonadotropine yanıt vererek preovulatuvar/Graaf foliküllerine dönüşür. Antrum boyutu fazlaştıkça stratum granuloza katmanı incilir. Oosit çevresinde korona radiata tek hücre katmanı şeklinde ve zona pellusida bulunur. Olgun graaf folikül ovaryum yüzeyinde çıkıntı yapar. Oosit, zona pellusida, korona radiata üçlü kompleksi serbest şekilde folikül sıvısı içinde yüzer ve ovulasyon esnasında birlikte atılırlar. Ovulasyon öncesi LH dalgalanması Graaf folikülleri aktive eder, oosit olgunlaşması, kümülüs hücre müsyfikasyonu dahil bir dizi olay meydana getirir, folikül yırtılması ve ardından oositin ekstrüzyonu ile ovulasyon gerçekleşir. Ovulasyondan kısa zaman önce primer oosit profaz evresinde duraksamış olan I. Mayoz bölünmesini tamamlar. I. Mayoz bölünme sonunda 23n kromozom içeren iki hücre oluşur. Bunlardan biri iri büyük sitoplazmalı olan sekonder oosit, diğeri küçük ve fonksiyonsuz olan birinci polar cisimciğdir. Sekonder oosit hızlıca II. Mayoz bölünmeye başlar ve metafaz evresinde durur. Ovulasyon esnasında atılan II. Mayozun metafaz evresindeki sekonder

oositir. II. Mayoz bölünme ancak ovulasyon sonrasında döllenme oluşusa tamamlanır ve olgun ovum ile ikinci polar cisimcik oluşur(Ovalle and Nahrney, 2009)(Ross and Pawlina, 2017) (Rimon-dahari, Yerushalmi-heinemann and Alyagor, 2016)(Gershon and Dekel, 2020).

2.1.3. Korpus Luteum

Ovulasyondan sonra folikül duvarı (granüloza ve teka hücreleri) derin katlanmalar yaparak progesteron salgılayan endokrin yapı olan korpus luteuma dönüşür. Bu dönüşüm sırasında folikülün bazal membranı yırtılır. Foliküler hücrelerin içine kan damarları girer ve atrium boşluğuna kan dolması ile korpus hemorajikum meydana gelir. Stromadan gelen bağ dokusu daha sonra folikül kavitesine invaze olur.

Teka interna ve granüloza hücreleri luteinizasyon süreci ile teka lutein ve granüloza lutein hücrelerine başkalaşır. Bu başkalaşım adenohipofizden salgılanan LH'a bağlıdır. Luteal hücreler boyutları büyür ve lipit damlacıkları ile dolarak morfolojik olarak farklılaşır ve sarımtırak bir renk alır. Teka lutein hücreler periferik yerleşimli, daha küçük ve daha koyu boyanan; Granüloza lutein hücreler merkezi yerleşimli, daha büyük ve soluk boyanan hücrelerdir.

Korpus luteum granüloza lutein hücreleri FSH ve LH uyarısına cevap olarak östrojen ve progesteron salgılar, teka lutein hücreleri LH uyarısına cevap olarak androstenoidion, testesteron ve progesteron salgırlar. Teka lutein hücrelerinden salgılanan androstenoidion ve testesteron granüloza lutein hücrelerinde östrojen ve progesterona dönüşür. Korpus luteumdan salgılanan östrojen miktarı ovulasyon öncesi foliküler evrede salgılanan miktara hemen hemen eşittir. Östrojen progesteron ile birlikte genital yolların gebeliğe ve implantasyona hazırlanması için gereklidir.

Luteizasyon döneminde progesteronun kan serum seviyesi yükselir. Ovulasyondan sonra 4-6 günlerinde en yüksek değere ulaşır ve 9-11 günlere kadar devam eder.

Korpus luteum fertilizasyon ve implantasyon oluşmaz ise menstrual korpus luteum adını alır. Korpus luteumun gerilemesi 9-11 günden sonra başlar, luteoliz işlemi ile kendi kendine yıkıma uğrar, lutein hücreleri otolize uğrar, hücre atıkları makrofajlar ile yok edilir. Korpus luteum doğal olarak ovulasyondan 14 sonra dejenere olur. 14 gün sonra progesteron seviyesi ölçülemeyecek kadar düşer. Dejanere olan luteal

hücrelerin yerini stroma bağ dokusu alır, korpus albicans oluşur. Korpus albicans ovaryum korteksın derinlerine gömülerek küçülür ama hiçbir zaman tam olarak kaybolmaz.

Fertilizasyon olursa korpus luteum gebelik korpus luteumu olarak devam eder. İmplantasyondan sonra gelişen plesantada sinsityotrofbblastlar human koryonik gonadotropin (hCG) salgılamaya başlar bu hormon azalan LH 'ın yerine geçerek korpus luteumun gerilemesine engel olur. Gebeliğin 3. Ayına kadar korpus luteum aktif olarak progesteron salgılamaya devam eder, bu aydan sonra yeterince gelişmiş olan plesantadan salgılanır. Korpus luteum gebelik boyunca progesteron salgılamaya devam eder, doğum sonrası gerileyerek korpus albicans'a dönüşür ve dejenere olur(Junqueira and Carneiro, 2009)(Kierszenbaum, 2006)(Ovalle and Nahirney, 2009)(Ross and Pawlina, 2017)(Vanselow, Christenson and Pate, 2020)(Abedel-Majed *et al.*, 2019)(Vanselow, Christenson and Pate, 2020)(Devoto *et al.*, 2017)(Billhaq and Lee, 2019).

2.1.4. Uterus Anatomi ve Histolojisi

Uterus pelviste mesane ile rektum arasında yer alan, içi boş, armut biçiminde kastan oluşan bir organdır. Lümeni yassıdır, üst yan kısımlarda tuba uterina'lar ile aşağıda vajina ile bağlantısı vardır. Nullipar kadınlarda ortalama ağırlığı 30-40g, uzunluğu 7,5cm, üst tarafta genişliğinde 5cm, kalınlığı 2,5cm dır. Anatomik olarak gövde ve servik olarak iki bölgeye ayrılır. Gövde kısmı ise fundus, corpus ve isthmus olarak ayrılır. Uterusun en üst tepe nokası fundustur, üzeri periton ile örtülüdür ve ince barsak, sigmoid kolon ile komşudur. Uterus kitlesinin 2/3 ünü kapsayan üst kısmı corpus'tur. İçerisinde uterus cavitesi yer alır. Uterus corpusu ile serviks arasında kalan 1cm kısma isthmus denir. Servisk uteri uterusun kitlesini 1/3 kısmını oluşturan silindir biçimli alt bölümüdür. Servik bölümünde kalan uterus cavitesine serviks kanalı denir. Servik kanalının her iki ucunda dar açıklıklar sahiptir, internal os ile uterus cavitesine, eksternal os ile vajina'ya bağlanır. Serviksin bir kısmı vajina içinde kalır ve portio vaginalis olarak adlandırılır(Yıldırım, 2018)(Cumhur, 2013)(Ross and Pawlina, 2017) (Junqueira and Carneiro, 2009).

Uterus gövde duvar yapısı dıştan içe doğru perimetriyum, miyometriyum, endometriyum olarak sınıflandırılır.

Perimetriyum en dışta bulunan uterusu kaplayan visseral periton tabakasıdır. Pelvik ve abdominal periton ile devamlılığı vardır. Mezotelyum ve gevşek bağ dokusundan oluşur.

Miyometriyum uterusun en kalın tabakasıdır, ortalama 1,5 cm kalınlığında, bağ dokusu ve kollejen lif ile ayrılmış düz kas demetlerinden oluşmaktadır. Düz kas demetleri sınırları birbirinden ayrılmayan dört tabakadan oluşur. Stratum submukoza, mukozaya komşu olan tabakadır ve kas lifleri longitudinal dizilimlidir. Stratum vaskülaris, çok sayıda kan damarları ve lenfatikler içerir ve longitudinal kas lifleri çoktur. Stratum subvaskülaris, hem sirküler hem longitudinal kas lifleri içerir. Stratum subserozum, serozaya komşu longitudinal kas lifleri yapısındadır. Gebelik esnasında miyometriyu hem hipertrofi hemde hiperplazi sonucu büyür ve pek çok düz kas hücresi protein salgısı yapan hücrelerin özelliklerini göstererek aktif kollojen sentezler. Uterus'un kollejen içeriği mühim ölçüde fazlalaşır. Gebelik sonrası kas lifleri küçülür, bazılarında apoptazi görülür. Böylece uterusun ölçüleri gebelik öncesi boyutlarına yakın olur.

Endometriyum; mukoza yapıda, uterusun en iç tabakasıdır. Lamina epitelya ve lamina propriya olarak iki bölümden oluşur. Lamina epitelya tek katlı prizmatik kinosilyumlu ve tek katlı prizmatik peg hücrelerinden oluşur. Yüzey epiteller uterus bezlerini oluşturmak üzere lamina propriyaya invaze olurlar. Böylece uterusun basit tübüler salgı bezlerini oluşturarak endometriyumun derin kesimlerine doğru dallanırlar. Lamina propriya; fibroblastan zengin bol intraselüler ara madde içeren gevşek bağ dokusuna sahiptir. Bağ dokusu lifleri genellikle tip III kolajenden oluşur.

Endometriyum üreme çağında yapısal ve fonksiyonel olarak iki kısımda incelenir. Stratum bazale, miyometriyuma komşu olan, Lamina propriyanın ve uterus bezlerinin başlangıç kısmıdır. Menstruasyon sırasında dökülmez ve stratum fonksiyonelenin rejenerasyonunu sağlar. Stratum fonksiyonale, lamina propriyanın ve salgı bezlerinin geri kalan kısmı ve yüzey epiteli içerir. Menstruasyon sırasında

dökülür(Ross and Pawlina, 2017)(Ovalle and Nahirney, 2009)(Junqueira and Carneiro, 2009)(Mescher, 2013)(Kierszenbaum, 2006).

Uterus damar yapısı arteria iliaca interna'nın dalı olan arteria uterina ile beslenir. Arteria uterin miyometriyumda 6-10 anastomaz yapan arteria arkuata çıkar. Arteria arkuata dallanarak endometriyumun en alt tabakasında arteria bazalisi oluşturur. Bazal arterlerin beslediği bölüm menstruasyonda dökülmez. Arteria bazalislerin ana kolları yukarıya doğru devam eder ve yüksek seviyede sarmal haline gelir ve arteria spiralis oluşturur. Arteria spiralis fonksiyonel tabakayı besler, zengin kapiller ağ oluşturur ve her menstrual siklusta dejenerasyona ve rejenerasyona uğrar(Waschke, Böckers and Paulse, 2016)(Cumhur, 2013)(Ross and Pawlina, 2017)(Junqueira and Carneiro, 2009).

2.1.5. Menstrual Siklus

Menstrüel siklusk hipotalamus, hipofiz ve ovaryum salgılanan hormonların tesiri ile üreme organlarının her ay geçirdiği farklılıklardır(Mescher, 2013). Menstrüel siklus esas olarak folliküler ve luteal fazdan oluşmaktadır. Folliküler faz menstruasyon ile başlar, LH ani pik önceki gün sonlanır. Luteal faz LH pik günü başlar, sonraki menstruasyon ile biter. Menstrual siklus ortalama süresi 28-35 gündür. Folliküler faz yaklaşık 14-21 gün, luteal faz ise yaklaşık 14 gün sürer. Çoğunlukla 25-30 yaşlar arası siklus uzunluğu pik yaparken ilerleyen yaşlarda siklus uzunluğu kısalmaktadır. Menstrüel sikluslar arasındaki interval değişikliği primer olarak folliküler fazdaki değişikliklerden kaynaklanmakta luteal faz göreceli olarak sabit kalmaktadır(Özyer, 2019). Kadın cinsel siklus sırasında endometriyumun sırtatım fonksiyonalesindeki değişikliklerdir. Siklus 28 günde bir tekrar eder ve ardaşık üç fazdan oluşur. Menstrual fazı 1-5. günleri, proliferasyon fazı 5-14. günleri, sekretuar fazı 14-28. günlerini kapsar.

Uterusta görülen siklus fazları ile ovaryumda görülen siklus fazları birbirine paraleldir. Uterusun proliferasyon fazı ovaryumun folikuler fazına, sekretuar fazı ise luteal faz evresine paraleldir.

Uterus siklusu ovaryumdan periyodik salgılanan progesteron ve östrojen ile meydana gelir. Proliferyon fazında östrojen, sekretuar fazında progesteron dominantır. Menrtual fazda ise korpus luteumun dejenerasyonu ile östrojen ve progesteron salgılanması çok azdır. Östrojen, ovaryumda granuloza folikül hücrelerinden ve korpus luteumdan salgılanır. Östrojen salgısı ovulasyondan hemen önce ve luteal fazın ortasında en yüksek seviyelere ulaşır. Progesteron, granuloza ve taka hücrelerinden az miktarda, korpus luteumdan yoğun miktarda salgılanır. Progesteron salgısı da luteal faz (sekretuar faz) da en yüksek seviyelerine ulaşır.

Menstruasyon fazının en belirgin özelliği endometriyumun stratum fonksiyonel tabakasının dökülmesi ile görülen menstrual kanamadır. Metruale kanama genellikle 5 gün sürer, ortalama 30-60 ml kan kaybedilir.

Mestruasyon progesteronun azalması ile başlar. Hormon seviyesinin ani azalması stratum fonksiyonalenin kan desteğinde değişimlere neden olur. Spiral arterler kasılır ve stratum fonksiyonale iskemik hale gelir. Yüzey epitelinin ve kan damarların da rüptürü meydana gelir. Dökülen kan, seröz sıvı, fibrinolizin, srtomal ve epitelyal hücreler vajinal kanamayı oluşturur. Endometriyum dokusu döküldükçe bezlerin, arterlerin ve venlerin kopmuş uçları ortaya çıkar ve bu dekuamasyon stratum bazaleye kadar devam eder. Fibrinolizin kanın pıhtılaşma mekanizmasını azaltır, menstruasyon kanaması pıhtılaşmaz. Menstrual kanın %25'ı ven, %75'ı arterlerden gelir. Menstruasyon fazın sonunda endometriyum 1mm kalınlığına iner.

Proliferyasyon fazı ovaryum siklusunun folikuler fazına paraleldir. Folikuler fazda ovaryumda oluşan folikül hücreleri ile östrojen salgılanır. Östrojenin etkisi ile proliferasyon fazı başlar. Bu sürede stratum bazaledaki endotelyal, stroma ve epitel hücreleri proliferer olur. Endometriyum kalınlaşır, bezler ve spiral arterler yeniden gelişir. Stroma hücreleri proliferer olur, ara madde ve kollajen salgılar. Endometriyum yüzeyi epitelle döşenir. Endometriyum kalınlığı ovulasyon esnasında 3-4 mm ulaşır. Endometriyum bezleri mukus salgılar, ovulasyon döneminde bu mukus 10 kat artar. Mukus ötrojenin etkisi ile nonvisköz ve ipliksi yapıdadır ve spermin uterusu hareketini kolaylaştırır. Proliferyasyon fazı ovulasyondan sonraki bir gün daha devam eder.

Sekratuar fazı ovaryum siklusunun luteal fazına paraleldir, siklusun 14-28. günlerini kapsar. Endometriyum kalınlığı 5-6 mm dir. Sekretuar fazı korpus luteumdan salgılanan progesteron ve östrojen etkisiyle stratum fonksiyonalede önemli değişiklikler olur. Progesteron endometriyumda salgıyı artırır, östrojen ise endometriyumun kalınlaşmasını sağlar. Endometriyum ödemli duruma gelir. Bez yapıları büyür ve spiral hale gelir, içleri salgı ile dolu olduğundan kesecik haldedirler. Bezlerden salgılanan mukoz yapısı glikojen bakımından zengindir, implantasyon esnasında gelişimi destekler. Bu faz'a progestasyonel evre de denir. Siklusta fertilizasyon gerçekleşmez ise korpus luteum yaklaşık 10 gün daha hormon üretir, hormon seviyesi düşmesiyle stratum fonksiyonale iskemi haline gelir ve tekrardan mestruasyon gerçekleşir.

Fertilizasyonla birlikte implantasyon gerçekleşirse endometriyum yapısal değişiklikler gelişir. Stroma hücreleri desudua hücrelerine transformasyon olur. Hücre sitoplazmalarında lipit ve glikojen birikir, salgı maddeleri ve kan akımı artar. Bu değişikliğe desidual reaksiyon denir.

Gebelik endometriyumuna da desidua denir. İmplantasyon bölgesiyle ilişkisine göre desidua bazalis, desidua kapsüllaris ve desidua pariyetalis olarak üç kısımdan oluşur. İmplantasyon bölgesinin altındaki endometriyum bölümü desidua bazalis, endometriyumun uterus lümeni ile implantasyon bölgesi arasında kalan bölüme desidual kapsüllaris, endometriyumun geri kalan kısmına ise desidua pariyetalis denir. Gebeliğin üçüncü ayı sonunda fetüs üzerinde yer alan desidua kapsüllaris ile desidua pariyetalis kaynaşır ve uterus kavitesini oblitere eder. Desidua bazalis bölgesinde plasenta gelişir(Rhoades and Bell, 2017)(Hall, 2014)(Köylü, 2016)(Ross and Pawlina, 2017)(Ovalle and Nahirney, 2009).

2.2. ENDOMETRİYAL RESEPTİVİTE

Endometriyum, tekrarlayan menstrual döngülerinin bir parçası olarak proliferasyon ve apoptoz üzerinde karmaşık kontrolleri ile implantasyon ve gebelik penceresi (endometriyal receptivite) için olanak hazırlar.

Endometriyum steroidler, sitokinler ve kemokinleri içeren karmaşık otokrin, parakrin ve endokrin sinyallerini ve hücre içi sinyallemeyi sürdürerek embriyo implantasyonuna receptivite durumu oluşur.(Lessey *et al.*, 2017)

İmplantasyon prosesi, menstrual siklusun 20-24. günleri aralığında endometriyumun ile blastokistin karşılıklı etkileşimi içindedir. Luminal epitelyumun ile blastokist arasında kendiliğinden oluşan uyuma dayanan olaylara serisine endometrial reseptivite denir. Endometriyum implantasyonu için reseptif (alıcı) olduğu zamanı dilimidir. İmplantasyon prosesi esnasında endometriyum yüzeyine yaklaşan blastokist, sıkıca angaje olup, endometriyuma invaze olur.

İmplantasyon başarısı için üç ana komponentin sağlanması gereklidir.

1. Embriyonun moleküler programlı olan hücre differansiyasyonu ve büyümesiyle kaliteli embriyonun oluşması
2. Cross-talk diye isimlendirilen endometriyum ile embriyonun bilgi iletişimi
3. İmplantasyon için özelleşen endometriyumun reseptivitesi

Bu etkileşimelere, Östrojen ve progesteronun endometriyumun programlanması üzerine etkisi ile birlikte implantasyonda rol alan moleküller, sitokinler, büyüme faktörleri, matriks metalloproteinazlar, adezyon kuvvet molekülleri, ekstrasellüler matriks komponentleri, homeoboks element içeren genlerdir.(Craciunas *et al.*, 2019)

Hücre adezyon molekülleri, integrinler, kaderinler, selektinler, immünglobulin (Ig)'ler, prostaglandinler olmak üzere birçok faktör aracılık eder.

Bu faktörlerin eksikliğinde implantasyonun gerçekleşmesinde aksaklıklar oluşturur ve infertiliteye neden olur. İmplantasyon süresi içindeki moleküler yolları iyi bilmek, yardımcı üreme tedavilerine müracaat eden hastalar için tedavi konusunda olumlu destek olur.

Endometriyumun implantasyon sürecine hazırlanması ovaryan steroidler aracılığıyla gerçekleşir. Östrojen, proliferatif fazın dominant hormonu iken, progesteron hormonu sekretuar fazın dominantıdır.

Östrojen; endometriyumda mitotik aktiviteyi artırır, fonksiyonel tabakayı implantasyona hazırlanması için kalınlaştırır. Östrojenin önemli sinyal yolları vardır; bunlar Ras-mitogen-activated protein kinase (Ras/MAPK), Wnt/beta katenin ve phosphoinositide-3-kinase/Akt (PI3K/Akt) yollarıdır.

Progesteron, östrojen kaynaklı proliferasyonu durdurur ve endometrial arterlerin, bezlerin boyutlarının uzamasıyla sarmal hale gelmesini, stromanın ödemli ve yoğun vasküler olmasını, desidualizasyon için endometrial stromal hücrelerin desidual hücrelere farklılaşmasını sağlar. Progesteronun, Progesteron Reseptör B (PRB) ve Progesteron Reseptör A (PRA) olarak iki reseptörü bulunur. PRB' i epitel hücreler ekspre eder. PRB de Ras / Raf1/ MAPK yollarını etki ederek desidualizasyonu tetikler. PRA stromal hücrelerde ekspre edilir. Bu reseptör fibroblas büyüme faktörünü (Fibroblast growth factors (FGF)) üreterek epitelyal hücrelerin proliferasyonunu sağlar(Tu *et al.*, 2016)(Davidson and Coward, 2016)(Lessey *et al.*, 1988)(Chi *et al.*, 2019).

Desidual hücrelerin işlevi; embriyo gelişimini ve invazyonunu sağlamak, büyüme faktörleri ve sitokin kaynağı sağlayarak anjiyogenezi desteklemek ve immün yanıtı modüleetmektir.

Endometrial reseptivite post-ovulatuvar 6. İle 10. gün arasında endometriumda östrojen reseptörlerinin down-regülasyonu ile aynı döneme denk gelmektedir

Luteal fazda östrojen reseptörlerinin persiste kalması ve yeteri kadar progesteron reseptör aktivitesinin bulunmaması hiperöstrojenik oluşumlarında sorumludur.

Post-ovülasyonda da uygulanan aşırı ötrojen uygulanması implantasyonu etkileyebileceği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada Subfertil hastalarda 527 siklus incelemesinde, 7.36 ila 12.22 aralığında bir östrojen / progesteron oranına sahip olgularda önemli ölçüde daha yüksek gebelik elde edildiği tespit edilmiştir(Elnashar, 2004)(Davidson and Coward, 2016)(Chi *et al.*, 2019).

Endometriyum reseptivitesi, endometriyum salgı bezlerine, stromanın vaskülaritesinin armasına ve lümen epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde oluşan mikro uzantılara yani pinopodlara bağlıdır(Yilmaz and Tekmen, 2019).

Pinopodlar genellikle uterin epitel hücrelerinin apikal plazma membranının 5-10 µm hücresel çıkıntıları olarak kabul edilir. Endometriyal reseptivitenin morfolojik belirteçidir. Epitel hücreler mikrovilluslarını kaybeder ve düz, geniş membran uzantıları oluşur, üstünde blastokist adezyonunda görevli reseptörler bulunur, İmplantaston penceresini sınırlandırır.

Pinopod oluşumlarında östrojen ve progesteron hormonlarının etkisi vardır. Progesteronun artışı pinopod gelişiminin uyarılmasından sorumludur, östrojendeki artış pinopod regresyonuna paralel olduğunu belirtilir. Bu bulgular hormon etkisi ile pinopod oluştuğunu gösterir(Martel *et al.*, 1991)(Quinn *et al.*, 2020).

Pinopod formationu maksimum seviyede olduğunda heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü endometriyum lümen epitel hücrelerinde çok bulunduğu ve pinopod ile birlikte implantasyonda mühim katkısı olduğu tasarlanır. Pinopodlarla ilişkili olarak integrinler, L-selektin, Leukemia inhibitory factor (LIF), Homeobox A10 (HOXA 10), glikodelin A (GlyA), glutaredoksin (Glx), heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü (Heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF)) ve MUC 1 gibi pek çok biyomarker bulunmaktadır.

Pinopodlar endometrial reseptivite için güvenilir bir belirteçtir. Pinopod oluşumu geniş alanlara sahip kadınların, seyrek veya hiç pinopod oluşmayanlara kıyasla gebelik başarı olasılığı daha yüksektir(Quinn *et al.*, 2020).

İmplantasyon; endometriyum ve embriyonun etkin olarak eş zamanlı biçimde dinamik bir hazırlık ve karşılaşma prosesi sonunda embriyonun uterus yüzeyine tutunup gömülme işlemi olayıdır. Karmaşık bir süreç olan implantasyon endometrial sitokinlerin sinyalizasyonu sonucundan gelişir. Bu sırada ligandlar tutunmayı sağlar inhibitör bileşenler kaybolur.

Embriyo implante esnasında çok sayıda molekül aracı olarak vazife yapar. Bunlar adezyon kuvvet molekülleri (integrinler), anti-adezyon molekülleri (müsin), büyüme faktörleri, sitokinler, lipidler ve diğerleridir(Yılmaz and Tekmen, 2019)(Achache and Revel, 2006).

İntegrinler, bir transmembran glikoprotein ailesidir. Transmembran protein olan integrinlerin alfa ve beta alt birimleri içeren bir çok türü bulunmaktadır. İntegrinler hücreye katılır, fizyolojik olarak önemli birçok durumda matris ve hücre-hücre yapışması embriyolojik gelişim, hemostaz dahil süreçler, tromboz, yara iyileşmesi, bağışıklık ve bağışıklık olmayan savunma mekanizmalar katılır. İntegrinler, büyüme faktörü olan VEGF ve Epidermal Growth Factor (EGF) in reseptörüdür(Ensoy and Öznurlu, 2009). Glandular ve luminal endometrial epitelde çok türlü integrinler tanımlanmıştır. İnsan endometriyumunda menstrual siklusun 20.-24. günlerinde eksprese olan 3 çeşit integrin; alfa1 beta1, alfa4 beta1 ve alfa5 beta3 ($\alpha V\beta 3$) integrin gösterilmiştir. Özellikle $\alpha V\beta 3$ integrin'in embriyo adezyonu için reseptör olduğu kanıtlanmıştır(Achache and Revel, 2006)(Kang *et al.*, 2014). $\alpha V\beta 3$ integrin, hücre differansiasyonu ve proliferasyonu arasındaki stabiliteğin düzenlenmesinde rol almaktadır.

İmplantasyon penceresi esnasında $\alpha V\beta 3$ integrin uterusun glandular epitelinde ve luminal epitelinde eksprese edilir. Bu ekspresyon uterin reseptivite maksimum dönemi ile aynı zamana denk gelir. İntegrinlerin ekspresyonu, embriyo endometriyum iletişimi ve blastokistin başarılı şekilde implantasyonu için gereklidir(Kang *et al.*, 2014).

Selektinler, lökositler ve endotel hücrelerin yüzeyinde bulunan transmembran yapıya sahip glikoproteinlerdir. Lökosit (L-Selektin), Trombosit (P-Selektin) ve Endoteliyal (E-Selektin) olarak bulundukları hücreye göre isimlendirilirler. İmplantasyon sürecinde L-Selektin önemi büyüktür. Embriyonun trofoblastlardan salgılanan L-selektin ile endometriumdan salgılanan oligosakkarid yapılı L-selektin ligandı köprü meydana getirerek endometriuma bağlanmasını sağlar. Bir çalışmada inflamasyon sahasına göç eden lökositin endotelde izlediği sisteme benzetilmiştir. Benzer şekilde blastokistte başarılı implantasyon için uterusda en uygun sahayı selektinler vasıtasıyla seçmektedir. Bu sebeple endometrial reseptiviteyi belirlemekte L-selektinler biyokimyasal belirteçde önemli olabilir(Liu *et al.*, 2011)(Achache and Revel, 2006)(Ensoy and Öznurlu, 2009)(H Terekeci, B Şahan, 2008).

Kadherinler, hücre-hücre adezyon mekanizmalarından sorumlu kalsiyum bağımlı bir glikoprotein grubudur. P-, N-, E- kadherin olarak ayrılırlar. Embriyo içerisinde hücre

göçü, özgün adezyon moleküllerinin ekspresyonu ve doku diferansiyasyonu için kadherinler gereklidir. Ayrıca morfogenez ve farklılaşmanın üzerinde de etki gösterebilmektedirler. İmplantasyonda ise en çok E-kadherin rol oynayandır (Hamutoğlu, 2018)(Dehli *et al.*, 2019).

İmünglobulin (Ig) süper ailesi üyeleri, etkileşimleri homofilik ve heterofiliktir, hücre-hücre yapışmasına aracılık eder. İmmünoglobulinler; endometrium tabakasının stromasından ve epitelyal hücrelerinden salındıkları için patofizyoloji bakımından önemlidir. Ig üyelerinden olan Hücreler arası adezyon kuvvet molekülü-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1)), integrinler için bir ligand vazifesi görmektedir, lökositlerin ve diğer immünolojik ajanların transendotelyal göçüne aracılık eder. ICAM-1, implantasyon sürecinde endometriumun apikal yüze epitelinde bulunur(Yılmaz and Tekmen, 2019)(Hamutoğlu, 2018).

Musinler, rahim de dahil olmak üzere farklı organlarda salgı epitel hücreleri ve glandüler epitel tarafından apikal olarak eksprese edilen bir membran glikoproteinidir. Hücre yüzeylerini enzimatik tesirlere karşı savunurlar. Musinlerin ekspresyonu progesteron tarafından kontrol edilir. Endometriyum epitelinde adeziv ligandları maskeleyen görevi görürler, hücre-hücre ve hücre-ekstraselüler matriks adezyonlarını kısıtlar, hücreleri immün sistemden korurlar. Endometriyumunda en çok aktif olan musin MUC1'dir. Uterus epitelin yüzeyinde ortaya çıkan MUC1 blastokistin implantasyon için uygun yer ve doğru zaman bulana kadar endometriyuma blastokistin bağlanmasını bloke eder. MUC-1 aynı zamanda ektopik adezyonun ve prematür adezyonun engellemesini sağlar(Inyawilert *et al.*, 2014)(Achache and Revel, 2006).

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) embriyogenez, iskelet büyümesi ve üreme fonksiyonları sırasında fizyolojik anjiyogenezin düzenleyen multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir. Endotel hücrelerin migrasyonuna, differensiasyonuna ve proliferasyonuna neden olur. Endometriyumda reseptivite döneminde VEGF seviyelerinde artış olduğu gösterilmiştir. VEGF'in, endometrial bezlerde yer aldığı, blastokistlerde de VEGF1 ve VEGF2 reseptörlerinin eksprese olduğu kanıtlanmıştır. Desidualizasyon ile endometrial stromal hücrelerde VEGF üretimi arasında pozitif

bağıntı bulunur(Napoleone Ferrara and Vascular, 2003)(Binder *et al.*, 2014)(Halder *et al.*, 2000).

2.3. İNFERTİLİTE

İnfertilite, “12 ay veya daha uzun süreli düzenli korunmasız cinsel ilişkiden sonra klinik bir gebelik elde edememe ile tanımlanan bir üreme sistemi hastalığıdır.” (DSÖ) <http://www.who.int> (Erişim tarihi: 25 Mart 2021)

İnfertilite; primer ve sekonder olarak incelenir. Primer infertilite; daha evvel canlı doğum ya da gebelik hikayesi olmaksızın yaşanan infertilitedir. Sekonder infertilite; canlı doğum ya da spontan/indüklenen abortus ve ektopik gebelik ile neticelenmiş bir veya birden çok gebelikten sonra yaşanan infertilitedir(Zegers-Hochschild *et al.*, 2017).

Yaşam tarzı değişiklikleri ve çeşitli çevresel stresin varlığı nedeniyle, infertilite insidansı önemli ölçüde artmış ve kanser ve kardiyovasküler hastalıklardan sonra üçüncü en ciddi hastalık haline gelmiştir. İnfertilite, diğer hastalıklardan farklı özel bir üreme sağlığı bozukluğudur. Hayatı tehdit edici değildir, ancak infertilitenin hastalara, ailelerine ve tüm topluma zararlı etkisi küçümsenmemelidir(Cong *et al.*, 2016).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tanı protokollerine göre, infertil çiftlerde kadın faktörü %40-45, erkek faktörü %30-40, tanısız yöntemlerle nedeni bulunamayan ve ‘açıklanamayan infertilite’ olarak tanımlanan çiftler %10-15 oranında olarak bildirilmiştir.(DSÖ) www.who.int (25 Mart 2021).

Fertil çiftlerin 1. ay nihayetinde gebelik elde etme olasılığı %25, 6. ayın nihayetinde %70 ve 12. ay nihayetinde ise %80’dir (Gnoth *et al.*, 2005).

Üreme çağındaki kadınlarda infertil prevalansının batı dünyasında, yedi çiftten biri ve gelişmekte olan ülkelerde, dört çiftten biri olduğu tahmin edilmektedir. Güney Asya dahil dünyanın birtakım bölgelerinde, bazı Sahra altı Afrika ülkeleri, kuzey ve Ortadoğu Afrika, Orta ve Doğu Avrupa ve Orta Asya infertil oranları % 30’a

ulaşabilir. Erkeklerin infertilite vakalarının % 20-30'undan tek başına sorumlu olduğu ancak vakaların % 50'sine katkıda bulunduğu belirtilir(Vander Borcht and Wyns, 2018).

Bir kadının veya erkeğin yaşı doğurganlığı etkileyebilecek bir faktördür.(Stewart and Kim, 2011). Son yıllarda kadınların eğitilmiş olma, kariyer çalışmaları artması, doğum kontrol yöntemlerin aktif ve etkin kullanımının yaygınlaşması nedeniyle gebelik yaşı ilerlemiştir.



2.3.1. Erkek İnfertilite

Erkek infertilitesi genellikle partnerinin gebelik elde edememesi ile belirlenir. İnfertiliteye erkek faktörünün %20 tek nedeni olup, %30-40 olguda da infertiliteye katkıda bulunur. Bu nedenle infertil çiftlerde erkeğin değerlendirilmesi önemlidir. Epidemiyolojik çalışmalar, coğrafi varyasyonun semen kalitesinde ve erkek doğurganlığında akut düşüşü göstermiştir. Erkek infertilite vakalarının yaklaşık %60-75'i idiyopatiktir(Famurewa and Ugwuja, 2017). Etiyolojik erkek infertil nedenleri hipotalamik-hipofiz bozuklukları %1-2, primal gonadal bozukluklar %30-40, sperm transport bozuklukları %10-20 ve idiyopatik %40 olarak belirtilir(Dun and Nezhat, 2012).

Erkeklerin üreme çağında %6' sında fertil problemi karşımıza çıkmaktadır. Bu vakaların %90' nın da bozulmuş bir spermatogenez gözlenmektedir. Erkek infertilitesinde, temel ve ilk tetkik spermiyogramdır. Klinik araştırma esnasında erkek sistemli biçimde sorgulanmalıdır . Değerlendirme; fizik muayene, anemnez ve ejakülat tetkikini kapsar. Cinsel yaşam öyküsü, enfeksiyonlar, çocukluk çağı gelişimi ve hastalıkları öyküsü, gonadal toksinlere maruziyet, geçirilmiş operasyonlar, kullanılan ilaçlar, sistemik hastalıklar ve aile anemnezi alınmalıdır. Erkek infertilitesi açısından değerlendirilirken bir ürolog veya konusunda uzman kişi aracılığı ile yapılmış en azından iki semen analizi ve fizik muayene gerekir. Sonuca göre ek tetkikler istenebilir. Bu tetkikler; endokrin değerlendirme, ek semen analizi, ultrasonografi, postejakulatuar idrar analizi, genetik tarama, semen ve spermle ilgili özel tetkikler olarak sıralayabiliriz(Ertaş, Eroğlu and Yüksel, 2018)(Satar and Gençdal, no date).

İnfertilite değerlendirmesinde semen kalitesi önemli parametredir, klasik olarak spermatozoonların semen içerisindeki, motilitesi, morfolojisine ve sayısına bakılarak değerlendirilir. Semen analizinin mikroskopik inceleme sonucunda spermiyogram DSÖ parametrelerine göre değerlendirilir. Bu normal spermiyogram parametreleri: Semen volümü (ml): 1,5; Total sperm sayısı: 39 milyon; Sperm konsantrasyonu:15 (milyon/mL); Total motilite: 40 (%) ; Progressive motilite: 32 (%); Vitalite: 58 (canlı sperm, %); Sperm morfolojisi: 4 (normal formlar, %); pH: >7.2; Peroksidaz-pozitif lökosit: < 1.0(milyon/ml); MAR testi: < 50(%); Immunobead testi < 50(%);Seminal

çinko: >2.4 (μmol/ejakulat); Seminal früktoz: >13 (μmol/ejakulat); Seminal nötral glukozidaz: >20 (mU/ejakulat) dır. Spermatozoonların morfolojisi, erkeğin çocuk sahibi olabilme kapasitesini en iyi şekilde belirten ölçütlerden biridir. Fertilizasyon potansiyeli ile Spermatozoon morfolojisi arasındaki ilişki birçok araştırmacı aracılığıyla ortaya konmuştur(Satar and Gençdal, no date).

2.3.2. Kadın İnfertilite

Kadınlarda infertilite, korunmasız düzenli etkin cinsel ilişkiye rağmen 35 yaş altı için 12 ay süre ile 35 yaş üzeri için 6 ay süre ile gebelik durumunun oluşmaması olarak tanımlanır ve çiftlerin %15 ini etkiler(Workup and Specialist, 2019).

Kadınların infertilite açısından değerlendirilmesi tanımı gereği 35 yaş ve üzeri kadınlarda klinik endike ise ve 6 aylık başarısız gebe kalma girişiminden sonra veya daha erken dönemde, 40 yaş ve üzeri kadınlarda daha acil değerlendirme ve tedavi edilmelidir. Yine yapılan araştırmalara göre kadınlarda infertilite nedenleri oligomenore veya amenore, bilinen veya şüphe edilen uterin, tubal veya peritonal hastalık, 3.derece veya 4.derece endometriozis gibi bilinen bir hastalık durumunda kadın doğum uzmanı tarafından infertilite açısından acil olarak değerlendirilmeli(Barbieri, 2019)(Workup and Specialist, 2019)(Dun and Nezhat, 2012).

Dünya Sağlık Örgütünün (DSÖ) yapmış olduğu çalışmaya göre en yaygın kadın infertil sebepleri %25 ovulator bozukluklar, %25 endometriozis, %12 pelvik adezyonları, %11 tubal tıkanıklık, %11 tubal anomaliler, %7 hiperprolaktinemi, %20 açıklanamayan infertilite olarak sıralanmıştır. Ayrıca ilerlemiş kadın yaşı infertilite sıklığını artırmaktadır. Genellikle doğurganlık oranları 40-45 yaş kadınlarda %95, 35-39 yaş kadınlarda %26-46, 30-34 yaş kadınlarda %15-19, 25-29 yaş kadınlarda %4-8 daha düşüktür(Barbieri, 2019)(Stewart and Kim, 2011) (Hull M.G.R, 2011).

2.4. DİYABETES MELLİTUS

Diyabet mellitus (DM), insülin etkisinin defeklerinden, insülin eksikliğinden veya her ikisinden kaynaklanan organizmanın karbonhidrat, protein ve yağlardan yeterince yararlanamadığı hiperglisemi ile seyreden endokrinolojik ve bir grup metabolik bozukluktur. Diyabet uzun vadede kronik hiperglisemi sonucu çeşitli organlarda özellikle göz, böbrek, kalp ve damar sisteminde, sinirlerde komplikasyonlara yol açan hastalıktır(Hasan Yazıcı, Vedat Hamuryudan, 2007)(BALCI, 2019).

Diyabet mellitus'nın Etyolojik Sınıflaması,

- Tip 1 diabetes mellitus
- Tip 2 diabetes mellitus
- Gestosyonel diabetes mellitus
- Diyabetin diğer Spesifik Tipleri olarak yapılmaktadır.(Harreiter and Roden, 2019)

2.4.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Mutlak insülin eksikliğine neden pankreasın beta hücrelerinin harabiyetidir. Hücrelerin yıkımından genetik eğilim, otoimmünite ve çevresel faktör mesüldür. Pankreasın beta hücrelerinin otoimmün sebeplerle hasara maruz kalması sonucu, salgılanan endojen insülinin eksikliği ve yokluğu ile gelişir. İnsüline bağımlı diyabet olarak da adlandırılır.

Tip 1 diyabetin otoimmün olayın hızı ve şiddetine göre değişiklik gösterebilmektedir. Kimi insanlarda ve özelliklede çocuklarda beta hücrelerin olumu çok seri olabilir ketoasidoz tablosu ya da koma gibi komplikasyonlar gelişebilir.

Beta hücre harabiyeti yavaş olduğu hastalarda ise uzun süreli açlık glukozun yüksekliğiyle ilerler. Enfeksiyon ve stres gibi durumlarda aşırı hiperglisemi ve ketoasidoz tablosu ile aniden bir şekilde kliniğin seyri değişebilir.

Bazı erişkin hastalarda beta hücre harabiyeti çok yavaş ilerleyebilir ve bu hastalarda ağır hiperglisemi ve ketoasidoz tablosu yıllarca görülmeyebilir. Genellikle T2DM karıştırılırlar. Bu hastalar başlangıçta insülin gereksinimleri olmasa da sonunda mutlaka insülin tedavisine bağımlı hale gelmektedirler. Bu klinik LADA (Latent Autoimmune Diabetes of Adult/ Erişkinin gizli otoimmün diyabeti) olarak adlandırılır(Müller-Wieland, 2019)(Lee *et al.*, 2019)(Roden, 2016).

2.4.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 DM dünya genelinde diyabetin en yaygın şeklidir. Polijenik kalıtmı, sıklıkla obezite ile ilişkin ve obez olmadığı halde insülin direnci bulunan, beta hücrelerin bu direnci kompanse etmek için relatif fazla insülin salgıladığı ve hastalık ilerledikçe beta hücrelerin insülin salgılaması daha da azalır hipergliseminin artması durumudur. İnsüline bağımlı olmayan diyabetir ve diyabetik hastaların %90-95'ini oluşturur.

Tip 2 DM'nin nadiren görülen tipi olan MODY (Maturist Onset of Diabetes of the Young) genç kişilerde erişkin tipi diyabet, subtipleri olan otozomal dominant geçen genç yaşlarda insülin sekresyon defekti ile devam eden fakat tedavide hiçbir zaman insülin ihtiyacı gerekmeyen, sorumlu gen lokuslarının kesin olarak gösterildiği bir diyabet tipidir.

Tip 2 diyabet genellikle 30 yaş üstünde kişilerde görülür. Ancak son yıllarda obezitenin artışı sonucunda çocuklarda ve adolesan çağlarında ortaya çıkan vakalar artmaya başlamıştır(DeFronzo *et al.*, 2015)(Roden, 2016)(Ngassa Piotie *et al.*, 2020)(Hasan Yazıcı, Vedat Hamuryudan, 2007).

2.4.3. Diyabet Mellitus Üreme Sistemi Üzerine Etkisi

Diyabet, kadın üreme işlevinde hem de erkek üreme sisteminde büyük değişikliklere neden olur. Erkeklerde anjiyopatik, nöropatik ve miyopatik hasara ikincil erektil disfonksiyon diyabetin önde gelen bir komplikasyonudur. Diğer üreme komplikasyonları arasında ejakülatuar disfonksiyon, hipogonadizm, değiştirilmiş

semen parametreleri ve gecikmiş ergenlik yer alır(Ballester *et al.*, 2007)(Thong *et al.*, 2020)(Zhang *et al.*, 2019).

Tip 1 ve tip 2 diyabet, doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık görülen kronik hastalıklar arasındadır ve diyabetli kadınlar çeşitli üreme sorunları yaşayabilir(Larsen *et al.*, 2020).

Diyabet Mellitus tanısı yaklaşık olarak %90'ı 30 yaşından önce vakalardır, bu yaş yaklaşık olarak orta aralıkta kadınların doğurganlık yaşıdır(Bakhteyari *et al.*, 2019).

Diyabetik kadınlar geç yaşta menarş olur ve sağlıklı kadınlara göre daha sık menstrual düzensizlik yaşarlar ve daha erken yaşta menapoz yaşarlar. Diyabetik kadınlarda üreme bozukluğunun özellikleri, kadınlarda cinsel işlevin standartlaştırılmış değerlendirmesinin olmaması ve ayrıca psikolojik morbiditenin artan rolü nedeniyle erkeklere göre daha az belirgindir. Buna rağmen hipogonadizm, hipoaktif cinsel istek bozukluğu, disparoni, menstrüel disfonksiyon ve polikistik over sendromu olarak ortaya çıktığı bilinmektedir. Diyabetik kadınların yaklaşık %33 u üreme yaşamları boyunca polimenore, oligomenore ve amenore gibi sorunlar yaşarlar.

Diyabette hipofizer / gonadal hormonal sistemin değişmesi ile diyabetin metabolik bozukluğuna ek olarak yumurtalık fonksiyonlarında etkilendiği gözlenir. Hiperglisemi, oksitativ stresi artırarak ve total antioksidan durumunu azaltarak uterus, overial stroma ve folikülerin dejenerasyonuna neden olur. Foliküllerin sayısı ve çapları azalarak over kütlesi azalır. Atretik foliküllerin oranı artar. Antioksidanların tükenmesi over hücrelerinde apoptozun başlamasında büyük rol oynadığı açıklanmıştır.

İnsülin, hipotalamik-hipofiz-gonadal hormonları kontrol eden en önemli hormon olarak tanımlanmıştır. Gonadotropin salgılatıcı hormon noronları üzerinde doğrudan etkisi bulunur. Hipogonadotropik-hipogonadizm hastalıkları DM ile ilişkilidir. Ayrıca hipergliseminin Gonadotrophin releasing hormone analogs (GnRH) nöronları toksik etkisi ile FSH ve LH serum seviyelerinde azalma gösterilmiştir. Diyabet, oositlerin azalmasına hatta yokluğuna neden olan yumurtalık fonksiyonundaki modifikasyonlarla bağlantılı olarak östrus döngüsün de değişikliklere neden olur.

Gebelik esnasında spontane düşük gibi üreme bozukluklarına neden olurken; preeklamsi, neonetal hipoglisemi, makrozomik fetus gibi maternal ve fetal bozuklara da sebep olur. Makrozomi fetüs olgusu ile sectio endikasyon oranı yükselmektedir(Ballester *et al.*, 2007)(Thong *et al.*, 2020)(Zhang *et al.*, 2019)(Ali, Abdallah and El-Sayed, 2020)(Crețu *et al.*, 2020).

Yaş ile birlikte hiperglisemik durumun şiddetlenmesi özellikle endometriyal epitel tabaka içerisinde sitolojik değişikliklerin artmasıyla birlikte olmaktadır. Uterusun epitel hücresel bütünlüğünde azalma olduğu, apikal membran silyumlarında gerileme, bazal membranın kalınlaştığı ve katlantılarının arttığı, sitoplazmik organellerin hacminin azalması, bazal kutup lipid birikiminin olduğu gösterilmiştir(Garris and Garris, 2003).

Diyabet, rahim pinopodlarının gecikmiş olgunlaşması ve implantasyon bölgelerinde aşırı preslenmiş MUC1 müsin gibi faktörler endometrial reseptiviteyi etkileyerek erken gebelik başarısızlığı ve tekrarlayan spontan abortus sebep olur. Diyabetik kadınların implantasyon sonrası fetal kayıp olasılığı dokuz kat daha fazladır.(Albaghdadi and Kan, 2012)

3. MATERYAL METOT

3.1. ETİK KURUL ONAYI

‘Diyabetin, Endometrium Reseptivitesi ve Over üzerindeki etkileri’ adlı çalışmanı etik kurulu Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyi Yerel Etik Kurulu’nun (HADYEK) 07/10/2020 tarihli ve 57 sayılı kararı ile, etik kurallarına uygun olduğuna karar verilmiştir. Deney protokolleri onay alındıktan sonra Sakarya Üniversitesi Hayvan Laboratuvarı’nda uluslararası yönergelere mutabık şekilde gerçekleştirildi.

3.2. DENEY MODELİ

Çalışmamızda 11-12 haftalık, ortalama 20 – 25 gr ağırlığında 14 adet BALB/ C cinsi dişi fareler kullanıldı. Denekler Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırmaları Merkezi (SÜDATEM) laboratuvarından temin edildi. Tüm denekler deney başlamadan önce bir hafta süresinde tel kafeslerde, 22°C sıcaklıkta, %50-60 nem, 12/12 saat aydınlık-karanlık ışık döngüsünde laboratuvar ortamına uyumlulukları sağlandı. Çalışma süresince deney hayvanlar SÜDATEM’ de sıcaklığı 22-25°C, nem oranı %40-55, ışık düzeni 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık (07.00 - 19.00 saatleri arasında aydınlık) olacak şekilde, düzenli bir şekilde havalandırılan odalarda barındırıldı. Deney hayvanları ad libitum su ve yem ile beslenildi. Hayvanlar deney başlangıcından önce her grupta 7 hayvan olacak şekilde rasgele 2 gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol Grubu) : Kontrol grubu olarak belirlenen hayvanlar 10 hafta boyunca (14,3% protein, 4% yağ, 65,4% nişasta ve 16,3% şeker, lifler, vitamin ve minerallerden oluşan) standart fare yemi ve musluk suyu ile beslenildi. Ayrıca herhangi bir uygulama yapılmadı.

Grup 2 (Obez + Tip 2 Diyabet Grubu) : Bu gruptaki hayvanlar hiperglisemiye indüklemek için 4 hafta boyunca toplam enerjinin (25,07 kJ/g) % 60’ı yağlardan, % 20’si protein ve % 20’si karbonhidratlardan karşılayacak şekilde (% 52,2 nişasta, % 14,3 protein, % 17,2 yağ ve % 16,3 lifler, şeker, temel vitaminler ve mineraller)

hazırlanan yüksek yağlı diyetle (high fat diet (HFD)) beslenmeleri sağlandı. 4 hafta sonunda streptozotosin enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan üç gün sonra kan şekeri bakıldı, 200mg/dl olanlar tip2 diyabet olarak kabul edildi. Fareler diyabet olduktan sonra 6 hafta daha HFD'yle beslenmelerine devam edilerek; her hafta ağırlıkları ölçüleri alındı, Lee indeksine göre obez olduktan sonra hayvanlar sakrifiye edildi(Furnes, Zhao and Chen, 2009)(Reed *et al.*, 2000)(Zhang *et al.*, 2008)

3.3. DENEYSEL DİYABET PROTOKOLU

Yüksek yağlı diyet ile STZ uygulamasının kombine edildiği Tip-2 diyabet modeli oluşturuldu. 4 hafta yüksek kalorili diyet ile beslenmeleri sağlandı. Fareler 4 haftanın sonunda 16 saat aç bırakıldı. 16 saat açlıktan sonra streptozotosin (STZ; (Cayman Chemical item no, 13104, USA) 0.05M sitrat tamponunda (pH 4.5) çözündürüldü ve 30 mg/kg tek doz intraperitoneal uygulandı. Enjeksiyon uygulamasını takiben gavaj yolu ile %10 glukoz solüsyonu verildi. STZ enjeksiyonu uygulamasından 72 saat sonra bir gece öncesinden 16 saat aç bırakılan farelerin kuyruk venlerinden kan örnekleri alındı ve glikometre (OPTIMA Blood Glucose Metre Model Name: OK-10H) ile açlık glikoz değerleri ölçüldü. Açlık kan glikoz değeri 200 mg/dl ve üzeri çıkan fareler diyabetik kabul edilip deneye dahil edildi. Çalışmanın başlangıcından sonuna kadar olan sürede her iki gruptaki hayvanların deney süresi boyunca ki değişikliklerini belirlemek için haftalık düzenli açlık kan düzeyleri ve vücut ağırlıkları ölçüldü(Furnes, Zhao and Chen, 2009)(Zhang *et al.*, 2008)(Reed *et al.*, 2000).

3.4. DENEYSEL CERRAHİ İŞLEMLER

Deney sonunda sakrifiye edilmek için hazırlanan hayvanlar, ketamin 100mg/kg ve Xylazine 10 mg/kg karışımı ile intraperitoneal uygulanarak genel anestezi altına alındı. Deneklerin kas-gerim refleks kontrolü edilip anestezik bilinçsiz olduğu test edildi ve diyafram trakeal hat hizasından transvers, abdominal bölgenin medial hattından sagittal 3 cm'lik iki adet kesi oluşturup thoraks ve batin açıldı. Dokular

alınmadan önce kan örneği için enjektör ile kalbin sol ventrikülden kan alındı. Kan örneği vakumlu sarı kapaklı jelli kan numune tüplerine alındı ve santrafütj edildi. Santrafütj işleminden sonra plazma ayrılarak derin dondurucuda (-20°C) biyokimyasal inceleme amacı ile saklandı.

Dokular çıkartma işleminde önce barsaklar dışarıya doğru alındı, uterusun çift boynuzsu yapısı ve overlerin yapısı gözlemlendi ve dikkatli bir şekilde çıkartıldı. Çıkartılan uterus ve overler hassas tartıda ağırlıkları ölçüldü. Alınan tüm doku örnekleri etiketlenerek ışık mikroskopik incelemeler için % 10'luk tamponlanmış nötral formaldehit solüsyonuna (Formaldehit 100 cc; Çeşme suyu 900 cc; NaH₂PO₄ H₂O 4 g; Na₂HPO₄ 6.5 g) konuldu ve 24 saat tespit için bekletilerek post fiksasyona tabi tutuldu. Fikse edilen dokular daha sonra histopatolojik inceleme ve analizler için parafin bloklar hazırlandı.

3.5. HİSTOLOJİK DOKU TAKİP İŞLEMLERİ

Post fiksasyon prosedüründen sonra uterus ve over dokuları alınıp etiketlenerek takip kasetlerine konuldu. Tespit solüsyonun fazlasını uzaklaştırmak için 8 saat akan suda bekletilerek yıkandı. Çeşme suyunda yıkandıktan sonra MTP yarı kapalı sistem otomatik doku takip cihazına alınarak cihazın protokolü ile sırasıyla; %70'lik alkol (1 saat), %80'lik alkol (1 saat), %96'lık alkol (1 saat), %96'lık alkol (1 saat), %96'lık alkol (1 saat), absolü alkol (1 saat), absolü alkol (1 saat), absolü alkol (1 saat) serisinden geçirilerek dehidratasyon işlemi yapıldı. Ardından 1'er saat iki seri ksilenden geçirilerek şeffaflaştırma prosedürü gerçekleştirildi. Son işlem olarak dokular iki seri 2' şer saat parafin serilerinden geçirilerek infiltrasyon işlemi yapılarak doku takip işlemi tamamlandı.

Tablo 1. Doku Takip Basamakları

Protokol	Kimyasal	Seri	Süre
Dehidratasyon	%70 Alkol	-	1 saat
	%80 Alkol	-	1 saat
	%96 Alkol	3 seri	1 saat
	Absolü Alkol	3 seri	1 saat
Şeffaflaştırma	Ksilen	2 seri	1 saat
İnfiltrasyon	Parafin	2 seri	1saat

Doku takibi sonunda doku örnekleri kesit düzlemine uygun olarak metal bloklama kalıp içine alınıp sabitlendi. Kalıplar 56- 58°C’lik erimiş olan parafin ile doldurulup oda sıcaklığında donmaya bırakılıp bloklama işlemi tamamlandı.

3.6. DOKU KESİT ALMA VE BOYAMA ÖN HAZIRLIK İŞLEMİ

Parafine gömülen bloklar ışık mikroskopik inceleme yapmak için yarı otomatik mikrotom cihazı ile kesitler alındı. Her bir bloktan 4’er mikrometre kalınlığında ardışık-seri kesitler alınıp sıcak su havuzuna bırakıldı. Kesit örnekleri histopatolojik inceleme için rodajlı lamlara, immünohistokimyasal inceleme için polilizinli lamlara alındı. Boyama işlemine kadar kurumak üzere oda sıcaklığında bekletildi.

Boyama ön hazırlığında; polilizin lam üzerine alınan uterus ve over doku numunelerinden parafini uzaklaştırmak ve dokunun lam üzerine sabitlenmesi amacıyla deparafinizasyon işlemlerinden geçirildi. Bunun için kesit örnekleri bir gece 59 °C’deki etüvde tutuldu. Sonraki gün etüvden çıkarılıp oda ısısında soğutuldu. Ardından üç seri 5’er dakika ksilen serisinden geçirip parafinden tamamen uzaklaştırıldı. Ksileni dokudan uzaklaştırmak için lamlar alkol serilerinde %100’lük etanol da 5 dk; %96, %80, %70’lık etanol da 3’er dakika tutuldu. Alkolü uzaklaştırmak için 5 dakika akan suda yıkama işlemi yapıldı.

Tablo 2. Boyama ön hazırlık protokolü

İşlem içeriği	Seri	Süre
Deparafinizasyon	-	30 dakika
Ksilen	3 seri	5 dakika
%100 alkol	-	5 dakika
%96 alkol	-	3 dakika
%80 alkol	-	3 dakika
%70 alkol	-	3 dakika
Akan su	-	5 dakika

3.7. HEMATOKSİLEN-EOZİN BOYAMA İŞLEMİ

Boyama ön işlemi takiben üç dakika hematoksilen(H) boyası ile nükleus boyama işlemi yapıldı. Boyama işlemi sonunda fazla boyanın giderilmesi için 3 dakika akan suda yıkama yapıldı. Sırasıyla asit-alkol 2 kez 2 sn bekletilip akan su da 3 dk yıkama yapıp, %80 alkol 1,5 dk bekletildi. Örnekler, zıt boyama amacıyla Eozin(E) solüsyonunda 20 sn bekletildi. Fazla boyanın giderilmesi için lamlar %96'lık alkol'e 2'şer kez 2dk sonrasında %100 lük alkol'e 2'şer kez 2dk ve iki seri ksilolde iki dakika bekletildi. H&E boyama basamakları tamamlandıktan sonra, lamlar entellan ile kapatılarak mikroskopta incelenecek duruma hazır hale getirildi.

Tablo 3. Hematoksilen & Eozin Boyama Protokolü

Protokol	Seri	Süre
Deparafinizasyon	-	30 dakika
Ksilen	2 seri	2 dakika
%100 alkol	2 seri	1 dakika
%96 alkol	2 seri	1 dakika
Akan su	-	3 dakika
Hematoksilen	-	3 dakika
Akan su	-	3 dakika
Asit alkol	2 seri	2 saniye
Akan su	-	3 dakika
%80 alkol	-	1,5 dakika
Eosin	-	20 saniye
%96 alkol	2 seri	2 dakika
%100 alkol	2 seri	2 dakika
Ksilen	2 seri	2 dakika

3.8. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA İŞLEMİ

İmmünohistokimyasal inceleme için parafine gömülen dokular mikrotom ile 4 µm'lik kesitler pozitif şarjlı cam lam üzerine alındıktan sonra aşağıda sıralanan işlem serisine uyarak immünohistokimyasal boyama işlemi gerçekleştirildi.

Antijen retrieval işlemi için Ph:6,0 olan 10 Mm sitrat tamponu içine 20 dakika 250 derecede mikrodalgaya kaynatıldı. Lamlar daha sonra oda ısısında soğuması beklendi. Soğuma işleminden sonra doku örneklerinin etrafı hidrofobik kalem ile işaretlenerek boyama alanları belirlendi. Bu işlemleri takiben doku örnekleri 3x5 dk Phosphate Buffered Saline (PBS) ile yıkandı. Yıkama işlemi bittikten sonra endojen peroksit aktivesi için blokaj işlemi yapıldı. Doku örnekleri üzerine otomatik mikropipetle %3 lük Hydrogen Peroxide Blocking Reagent(ab64218) dan aktarıp 10 dk bekletildi. Sonrasında örnekler 3x5 dk PBS ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra dokuların üzerindeki sıvı dikkatli bir şekilde kurutma kağıdı ile kurutuldu. Sıvısı alınan dokularda zemin boyasını engellemek için Ultra V Block solüsyonu (LabVision marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) ile 15 dakika muamele edildi. Bu işlem sonrasında doku üzerindeki sıvı kurutma kağıdı ile dikkatlice alındı. Sonrasında primer antikor (Kİ-67 ve VEGF), 1/400 dilüsyonu dikkatlice hazırlanıp, doku üzerine mikropipet ile aktarılıp yaklaşık 60 dakika oda ısında ve nemli ortamda inkübe edildi. Primer antikor uygulamasından sonra lamlar 3x5 dakika PBS ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra 13 dakika Biotinlated Goat anti-Rabbit (LabVision marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) sekonder antikorunu uygulandı. Devamında lamlar 3x5 dakika PBS ile yıkama işlemi yapıldı. İşlem devamında 15 dakika Streptavidin Peroxidase (LabVision marka UltraVision Large Volume Detection System Anti-rabbit, HRP) uygulandı. Bu işlemin devamında 3x5 dakika PBS ile yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işleminden sonra 10 dakika DAB/kromojen (LabVision marka AEC Substrat System) ile karanlık ortamda dokulara uygulandı. (20ml AEC kromojen + 1,5 ml AEC substrat iyice karıştırılacak). Ardından doku örnekleri 3x5 dakika distile su ile yıkandı. Doku örnekleri Hematoksilen&Eosin de 40 saniye bekletilip ardından akan musluk suyunda 3 dakika yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işleminden sonra doku örnekleri, sırası ile %70 alkolde 30 saniye, % 80 alkolde 30 saniye, %96 lık alkolde

30 saniye, %100 lük alkolde 1 dakika ve son olarak 2x1 dakika ksilen de bekletildi. Ksilenden sonra preparatlar kurutulup kapatıcı (ScyTek marka Aqueous Mounting Medium) ile kapatıldı.

Tablo 4. İmmunohistokimyasal Boyama Protokolü

Protokol	Seri	Süre
Sitrar Tampon	-	20 dk
PBS	3 seri	5 dk
Hydrogen Peroxide Block	-	10 dk
PBS	3 seri	5 dk
Ultra V Block	-	15 dk
Primer Antikor (VEGF,Kİ67)	-	60 dk
PBS	3 seri	5 dk
Sekonder Antikor	-	13 dk
PBS	3 seri	5 dk
Streptavidin Peroxidase	-	15 dk
PBS	3 seri	5 dk
DAB/kromojen	-	10 dk
Distile su yıkama	3 seri	5 dk
Hematoksilen-Eozin	-	40 sn
Akan suda yıkama	-	3 dk
%70 alkol	-	30 sn
%80 alkol	-	30 sn
%96 alkol	-	30 sn
%100 alkol	-	1 dk
Ksilen	2 seri	1 dk

3.9. MİKROSKOBİK İNCELEME VE FOTOĞRAFLAMA

Hematoksilen-eozin ve immünohistokimyasal boyama işlemi sonunda hazırlanan preparatlar, bilgisayar destekli ve kamera eklentili Nikon Eclipse E600 marka mikroskop ile incelenerek NIS Elementes İmaging Software görüntüleme sistemi ile

fotoğraflandı. Çekilen mikrograflar karşılaştırmalı incelemenin kolay olması amacıyla, Adobe Photoshop CS6 programı ile bir araya getirildi.

3.10. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Tüm biyokimyasal işlemler Sakarya üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya laboratuvarında gerçekleştirildi. Deneyin sonunda sakrifiye işlemi esnasında enjektör ile doğrudan kalbin sol ventrikülünden alınan tam kan örnekleri sarı kapaklı vakumlu plastik jelli tüpe aktarıldı. 4000 rpm’de santrafütünde 10 dakika çökeltme işlemi yapıldı. Santrafüt işlemi sonunda tüp içinde jel üstünde kalan serum sıvısı 2 ml’lik saklama tüplerine alınarak kademeli şekilde derin dondurucuda alındı ve ölçüm anına kadar saklandı. Elde edilen serum numunelerinden AMH değerlerine bakıldı.

3.11. İSTATİSTİK ANALİZ

İstatistiksel analizler SPSS 24,0 paket programı (SPSS Inc. ve Lead Tech. Inc. Chicago. ABD) kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımı için Kolmogorow-Smirnow testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren ikili değişken karşılaştırılmasında Bağımsız T testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen ikili değişkenin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar Ortalama±SD değerleri verilerek sunuldu. $P<0,05$ olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

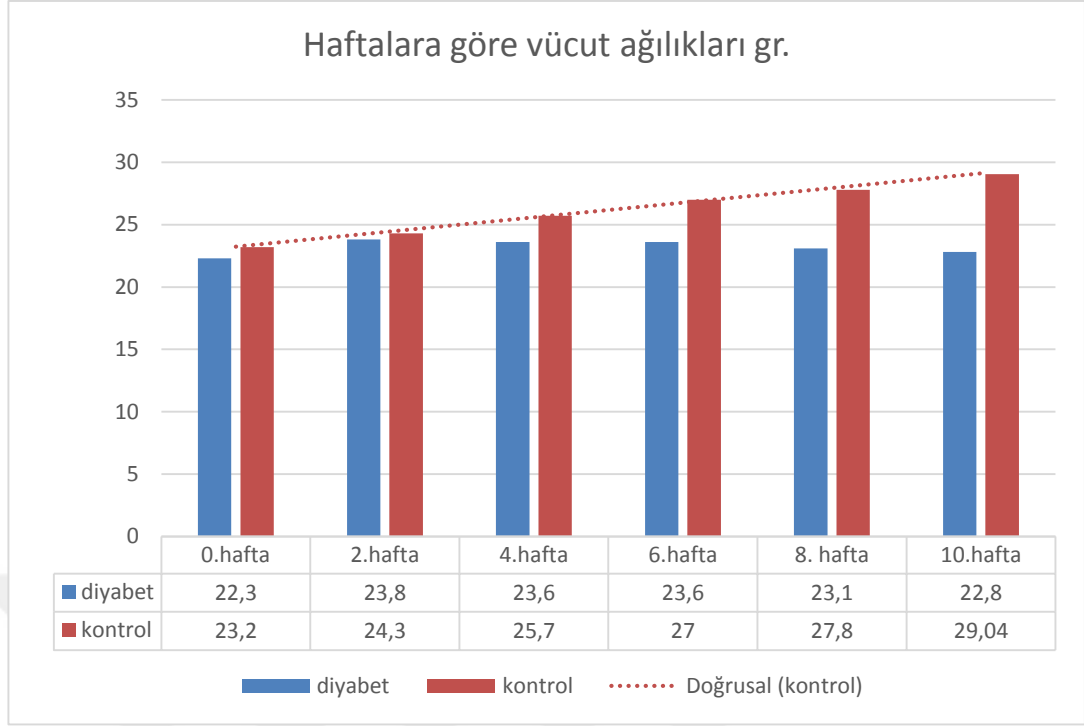
4.1. VÜCUT AĞIRLIĞI

Çalışmanın başlangıcında (0. Hafta), 2.hafta, 4.hafta, 6.hafta, 8.hafta ve 10. hafta tüm gruptaki hayvanların vücut ağırlıkları ölçüldü. Kontrol ve diyabet gruplarına ait hayvanların vücut ağırlık değerleri Tablo 4.1 'de verildi. Çalışmanın sonundaki ağırlık değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar görüldü. Grupların çalışmanın başlangıcındaki ve sonundaki verileri kıyaslandığında ise; Diyabet(D) gruplarında çalışmanın 4. Haftasından itibaren ağırlık değerlerinin, kontrol grubunun ağırlık değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görüldü.

Tablo 5. Kontrol ve diyabet gruplarında vücut ağırlığı değerleri (g) (Ort.±S.H.)

Hafta	Kontrol	Diyabet	P
	n=7	n=7	Value
0	23.2±1.3	22.3±1.9	P=0.337
2	24.3±1.2	23.8±1.05	P=0.389
4	25.7±0.7	21.6±0.5	P=0.000*
6	27.0±1.4	20.6±0.9	P=0.000*
8	27.8±1.3	19.1±0.9	P=0.000*
10	29.04±1.6	18.8±1.4	P=0.000*

* P<0.05 Ort: Ortalama SH: Standart Hata



Şekil 1. Kontrol ve Diyabet gruplarına ait vücut ağırlığı karşılaştırılması.

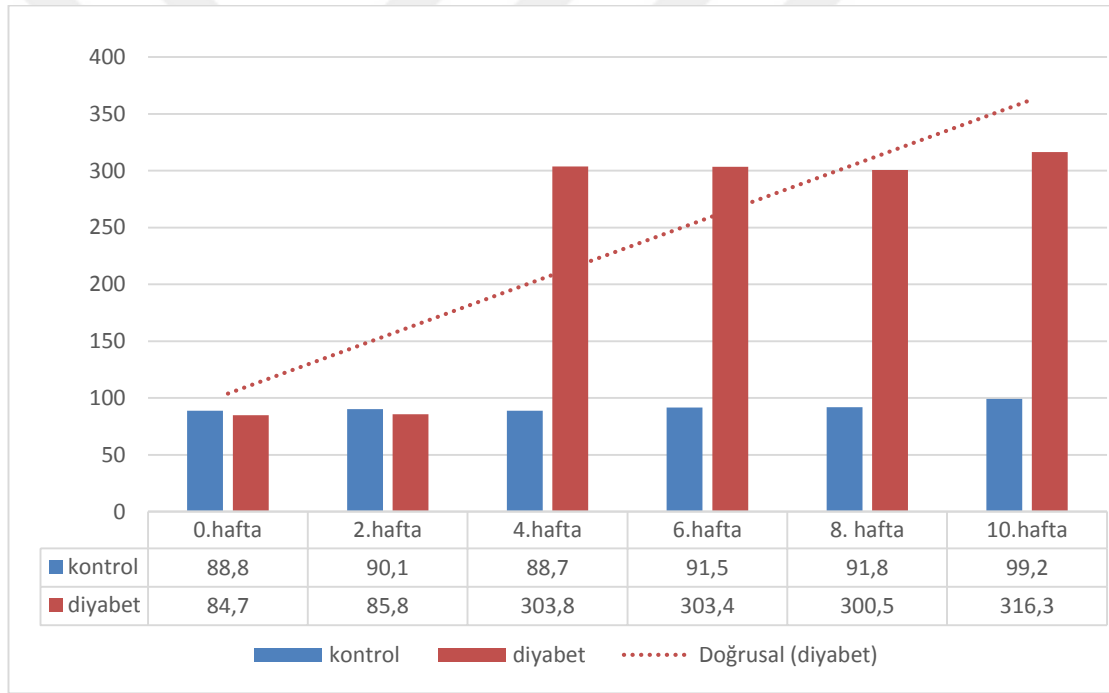
4.2. AÇLIK KAN GLİKOZ DÜZEYİ

Çalışmanın başlangıcında (0. hafta), 2.hafta, 4.hafta, 6.hafta, 8.hafta ve 10. hafta tüm gruplardaki farelerin açlık kan glikoz değerleri ölçüldü. Kontrol ve diyabet gruplarına ait hayvanların açlık kan glikoz değerleri Tablo 4.2’ de verildi. Veriler incelendiğinde; açlık kan glikoz değerlerinin kontrol gruplarına göre diyabet gruplarında anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. ($P < 0.05$). Grup içi veriler kıyaslandığında ise; diyabet grubunda, diyabetik beslenmenin yanında STZ uygulamasından sonra diyabet grubunda açlık kan glikoz değerlerinin kontrol grubuna göre 4. haftadan itibaren anlamlı şekilde arttığı görüldü.

Tablo 6. Kontrol ve diyabet gruplarında açlık kan glikoz değerleri (mg/dl)
(Ort.±S.H.)

Hafta	Kontrol n=7	Diyabet n=7	P Value
0	88.8±1.7	84.7±4.8	P=0.158
2	90.1±1.3	85.8±1.5	P=0.59
4	88.7±0.5	303.8±0.7	P=0.002*
6	91.5±0.9	303.4±1.4	P=0.002*
8	91.8±0.9	300.5±1.3	P=0.002*
10	99.2±1.4	316.3±1.6	P=0.002*

* P<0.05 Ort: Ortalama SH: Standart Hata



Şekil 2. Kontrol ve Diyabet gruplarına ait kan şekeri karşılaştırılması.

4.3. FOLİKÜL SAYILARI

Tüm gruplardaki hayvanların ovaryumlarından elde edilen kesitler H&E ile boyandı ve kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Ovaryumun genel histolojik yapısı incelendiğinde korteks katmanında çok sayıda gelişmekte olan foliküllerin bulunduğu saptandı. Primordial foliküller oositi çevreleyen tek katlı epitel hücrelerinden

oluşmuştu (Resim1). Primer foliküllerin merkezde bir oosit ve onu saran tek katlı kübik epitel hücreleri ile çevrili olduğu görüldü. Sekonder foliküllerde birkaç katlı granüloza hücre katmanının bulunduğu ve zona pellusida ile teka internanın belirgin olduğu izlendi. Antral foliküllerin granüloza katmanı içinde folikülün büyüklüğüne göre farklı boyutlarda antrumu oluşturan boşluk ya da boşluklar şekillenmişti.(Resim2) Folikül sayıları için yapılan değerlendirmede elde edilen veriler ise Tablo 4.3 'te verildi. Primordial, primer sayılarında gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmazken; kontrol grubunda sekonder, antral folikül ve korpus luteum sayılarının diyabet grubuna göre anlamlı şekilde fazla olduğu tespit edildi ($P<0,01$).

Tablo 7. Kontrol ve diyabet gruplarında ovaryumda folikül ve korpus luteum sayıları (Ort.±S.H.)

Parametre	Kontrol n=7	Diyabet n=7	P
Primordial Folikül	8.16±1,75	7.15±0,55	P=0.145
Primer Folikül	5.45±1.1	5.12±0.45	P=0.232
Sekonder Folikül	2.75±0,32	1.21±0.23	P=0.001*
Antral Folikül	3.16±0.50	1.18±0.53	P=0.000*
Korpus Luteum	4.5±0.54	2.26±1.12	P=0.001*

*P< 0.05

4.4. OVER AĞIRLIKLARI, İMMÜNOHİSTOKİMYA VE AMH DEĞERLERİ

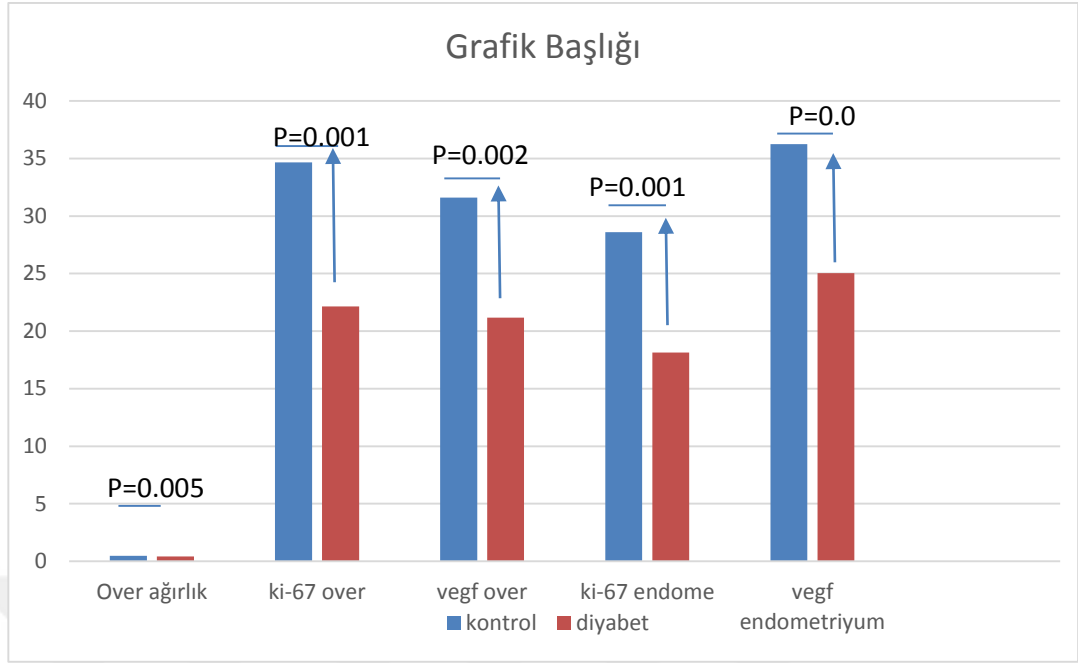
Çalışma sonundaki over ağırlıkları karşılaştırıldığında diyabet etkisi ile diabet grubunda ortalama ağırlık değerlerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görüldü. İki grup arasında over ağırlıklarının istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görüldü ($P= 0.005$). Over ve endometriyumun Ki-67 immnühistokimyasal

boyanması sonuçları gruplar arasında hem over hemde endometriyum için istatistiksel olarak anlamlı farklar görüldü (Resim3)(Resim4). Her karşılaştırmada kontrol grubunda ortalama değerler daha yüksek bulundu. P değerleri over ve endometriyum için aynı değerde ve $P=0.001$ olarak bulundu. Over ve endometriyumun VEGF immünhistokimyasal boyanması sonuçları gruplar arasında hem over hemde endometriyum için istatistiksel olarak anlamlı farklar görüldü. Her karşılaştırmada kontrol grubunda ortalama değerler daha yüksek bulundu. P değerleri over ve endometriyum için aynı değerde ve $P=0.002$ olarak bulundu. (Resim 5)(Resim6)(Resim7)(Resim8)(Resim9)(Resim11)(Resim12) İki grup arasında AMH mg/dl değerlerini karşılaştırdığımızda ise kontrol grubunda AMH değerlerinin kontrol grubunda diyabet grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. $P=0.001$.

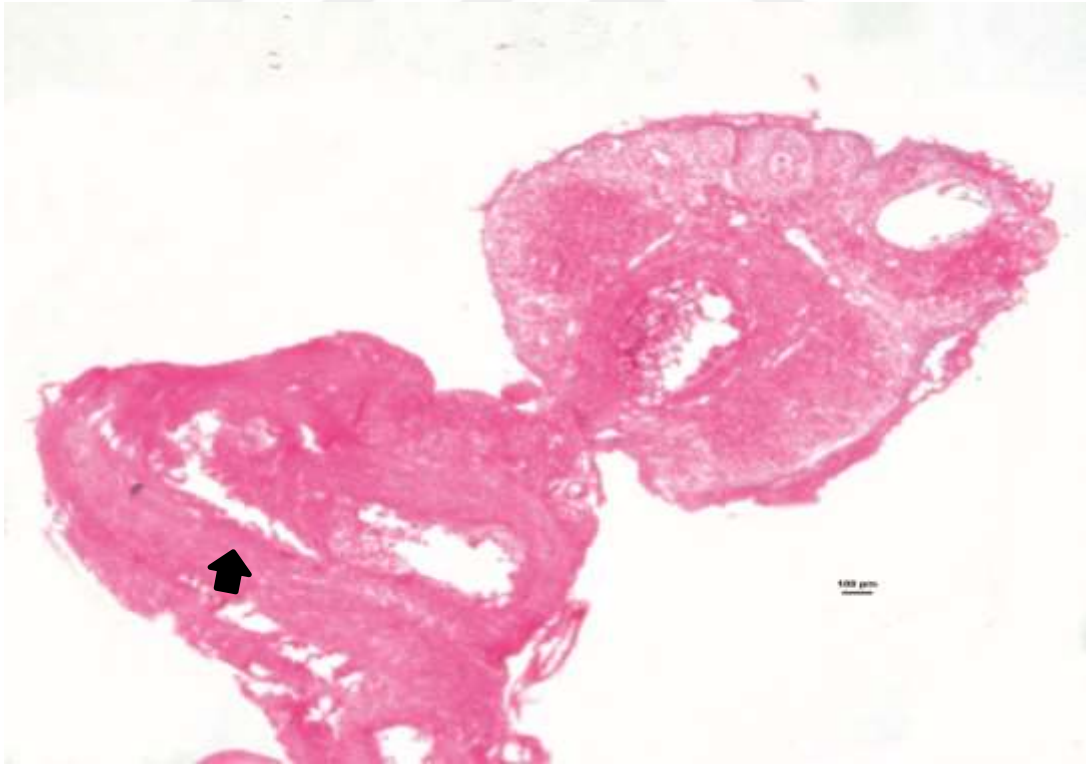
Tablo 8. Kontrol ve diyabet gruplarında over ağırlığı, immünhistokimya ve AMH değerleri karşılaştırılması.

Parametreler	Kontrol	Diyabet	P Value
Over ağırlığı	0.472	0.428	$P=0.005^*$
Ki-67 over%	34.65 ± 1.65	22.15 ± 1.54	$P=0.001^*$
Ki-67 endometriyum%	28.60 ± 0.45	18.15 ± 0.96	$P=0.001^*$
Vegf-over%	31.60 ± 1.20	21.16 ± 0.65	$P=0.002^*$
Vegf endometriyum%	36.24 ± 0.96	25.04 ± 1.22	$P=0.002^*$
Amh ng-ml	3.25 ± 1.26	0.96 ± 1.03	$P=0.001^*$

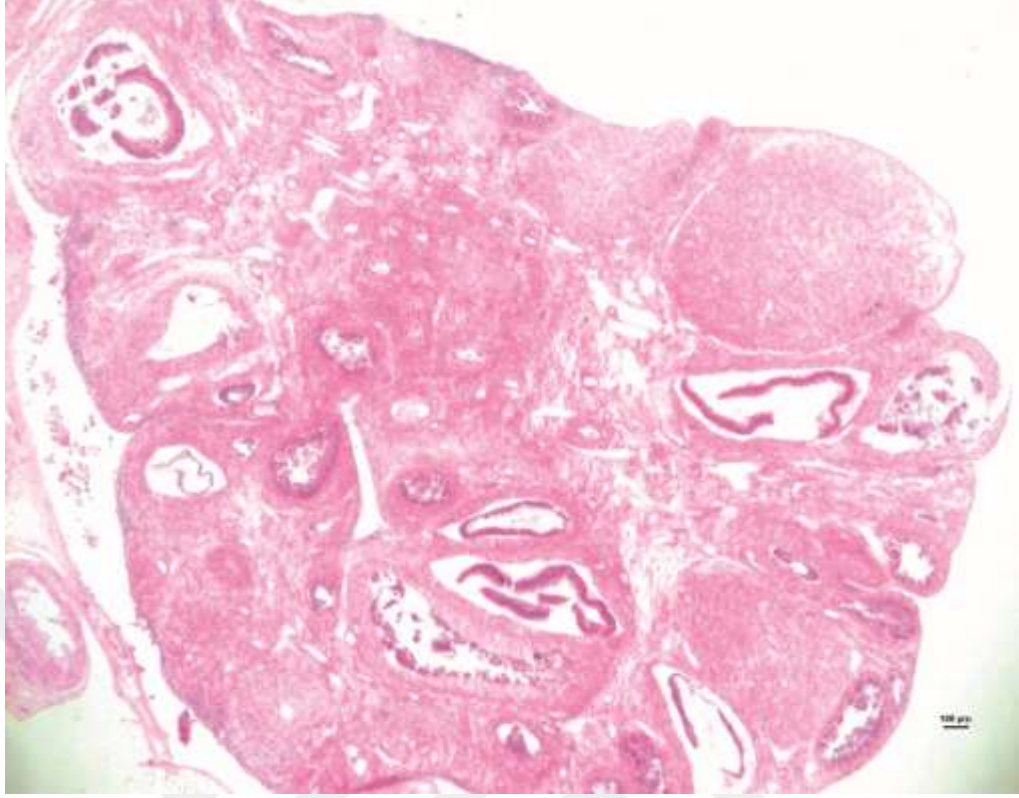
* $P < 0.05$



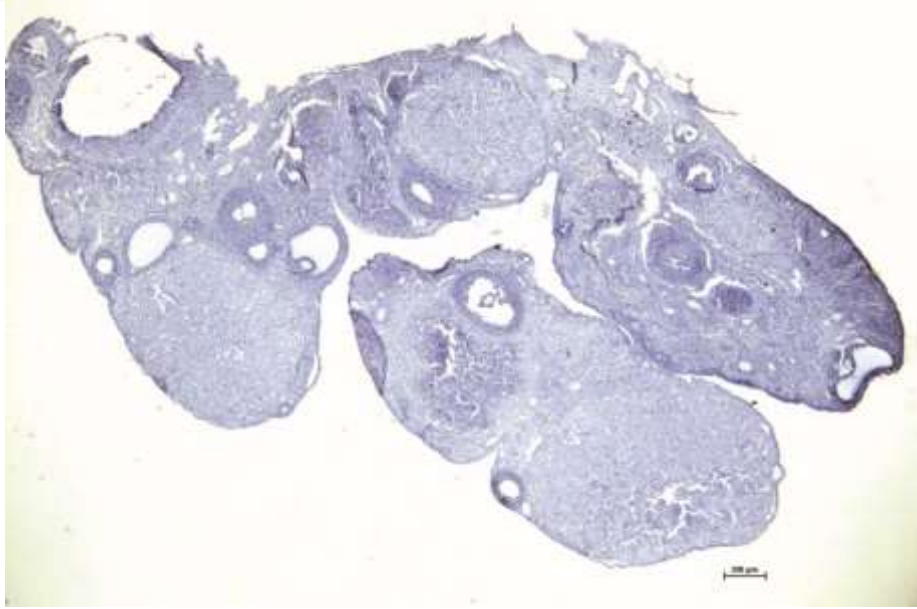
Şekil 3. Kontrol ve Diyabet gruplarına ait over ağırlık ve over-endometrium imminohistokimya karşılaştırılması



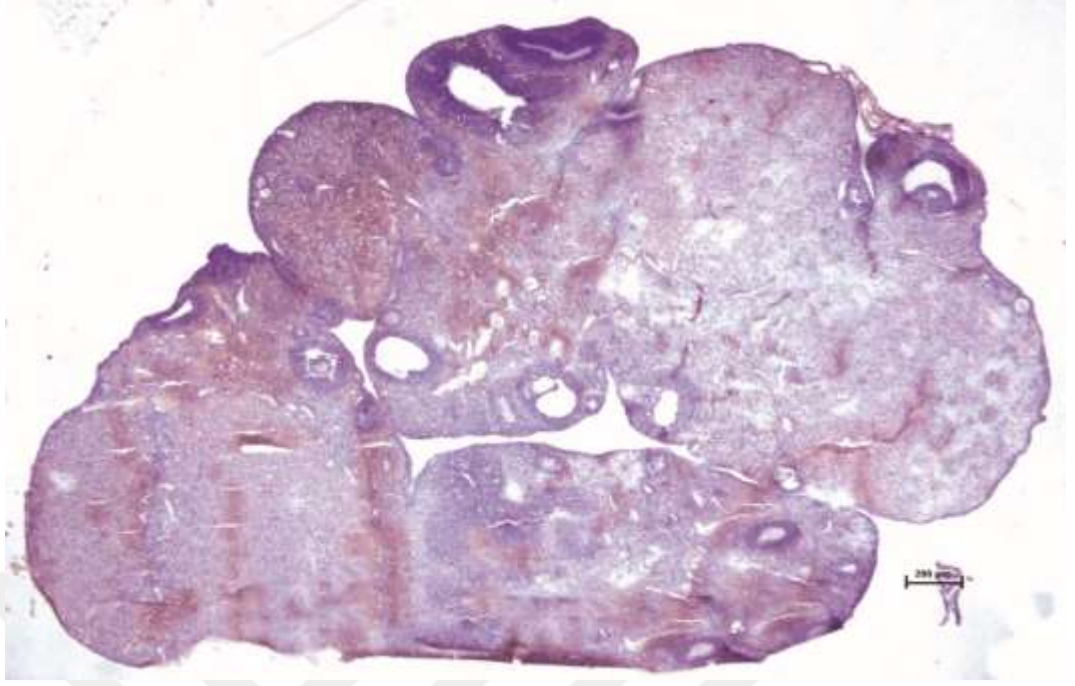
Şekil 4. Diyabet grubu over genel görünümü H&E. 4X 100 scala bar. Over folükül ve folükül dokuları arasında dejenerasyon alanları görülmekte. (siyah ok: dejenerasyon alanları.)



Şekil 5. Kontrol grubu over genel görünümü H&E. 4X 100 scala bar. Overlerde farklı dönemlerdeki folüküler görölmekte.



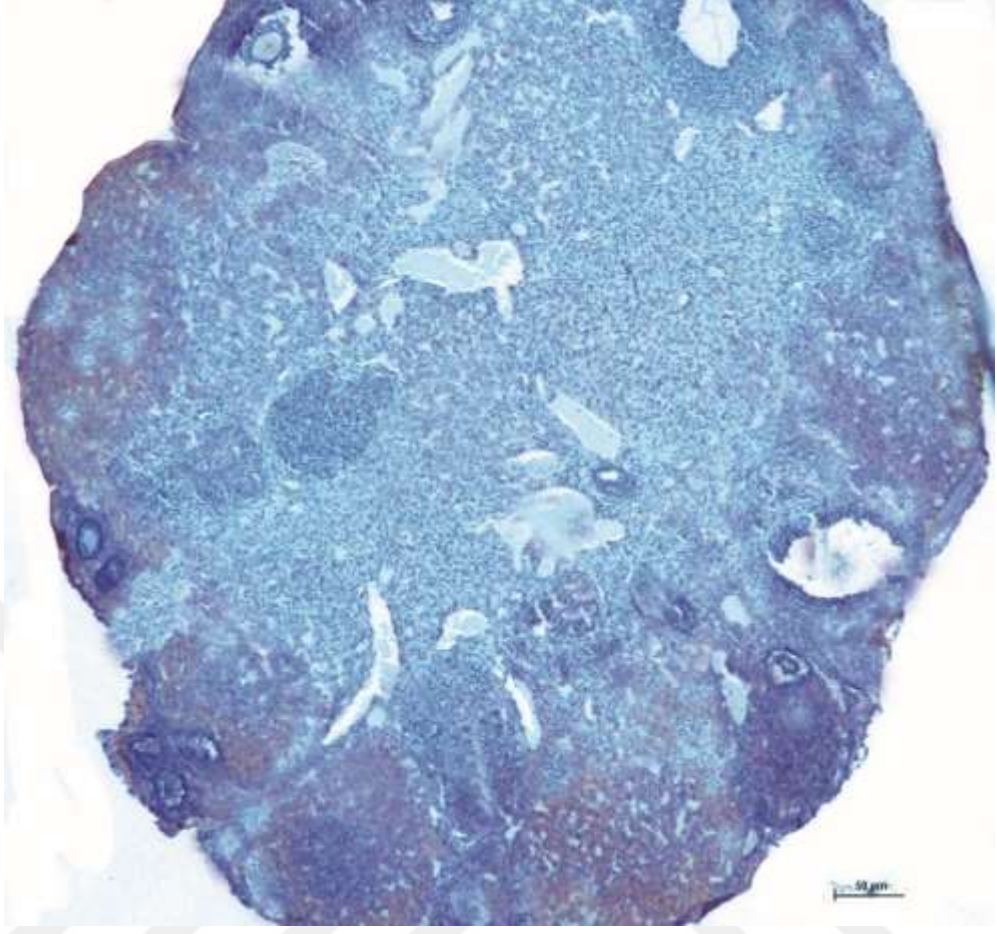
Şekil 6. Diyabet grubu Ki-67 immünhistokimya boyanan over preparatları 4X 200 scala bar. Diyabet grubunda yok denecek kadar Ki-67 boyanan preparat.



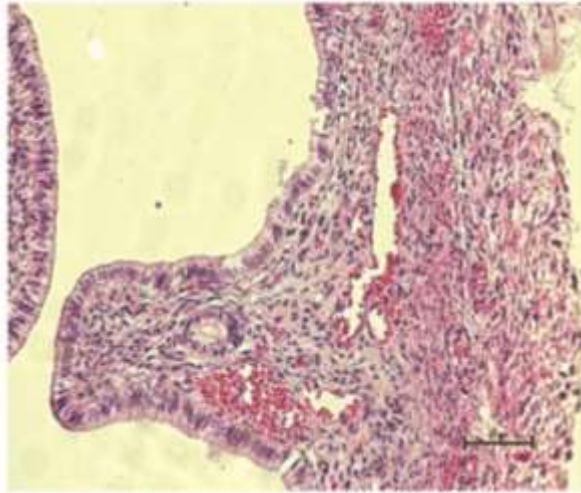
Şekil 7. Kontrol grubu Ki-67 immünhistokimya boyanan over preparatları 4X 200 scala bar. Kontrol grubunda pozitif Ki-67 boyanan over preparat.



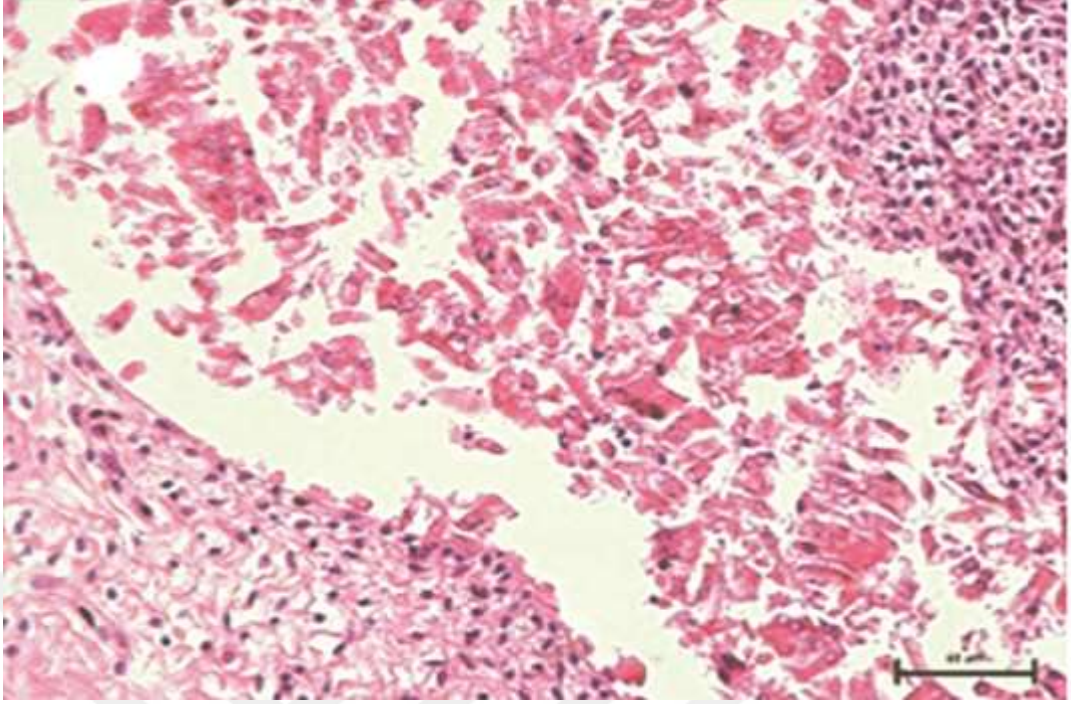
Şekil 8. Kontrol grubu VEGF immünhistokimya boyanan over preparatları 4X 200 scala bar. Kontrol grubunda pozitif VEGF boyanan over preparat.



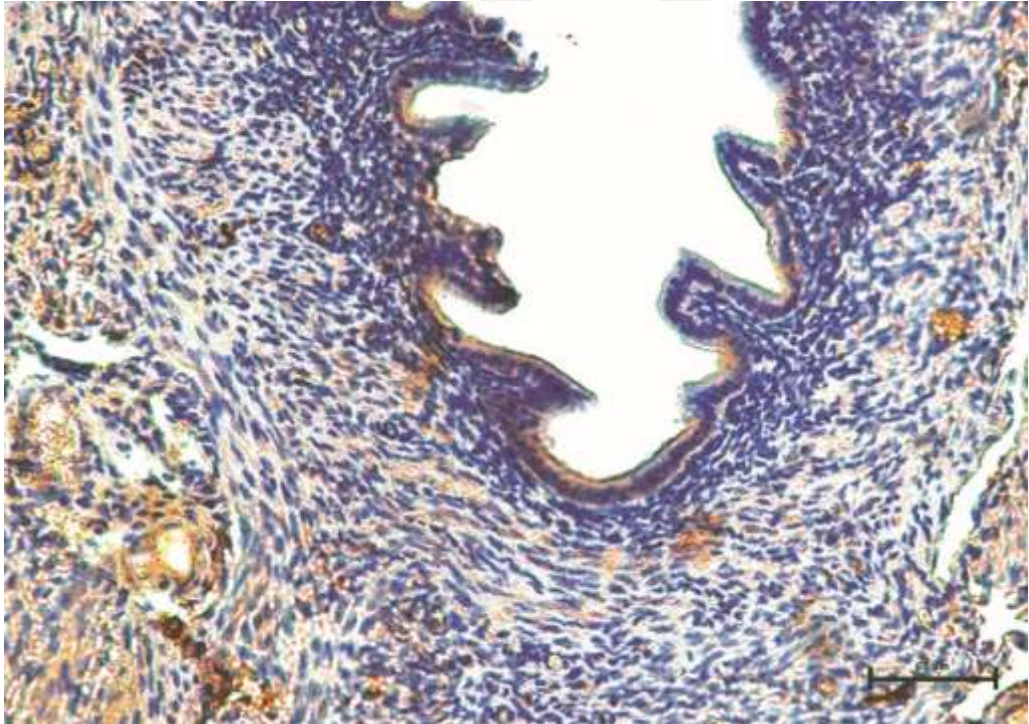
Şekil 9. Diyabet grubu VEGF immünohistokimya boyanan over preparatları 4X 200 scala bar. Diyabet grubunda zayıf yoğunlukta boyanan VEGF over preparat.



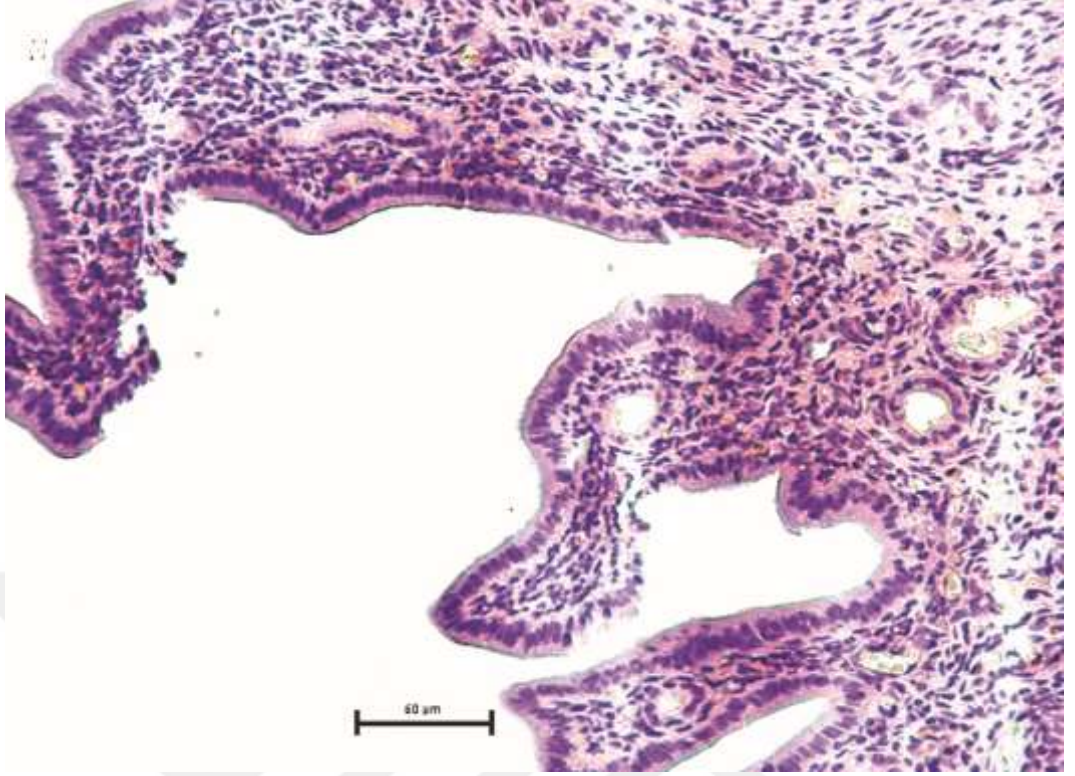
Şekil 10. Kontrol grubu endometriyum preparatı. 10x50 scala bar H.E. Düzgün yapıda epitel tabakası, endometriyal bezler ve kan damarları görülmekte.



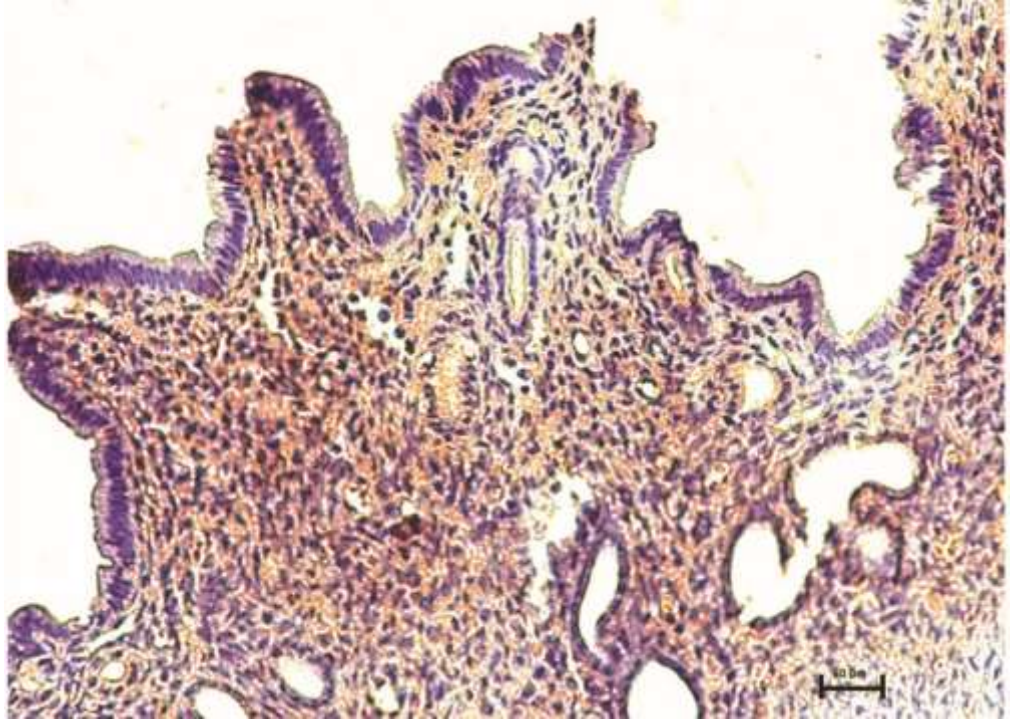
Şekil 11. Diyabet grubu endometriyum preparatı. 10x50 scala bar H.E Bozulmuş epitel tabakası, endometriyal bezler ve kan damarlarından yoksun endometriyum görülmekte.



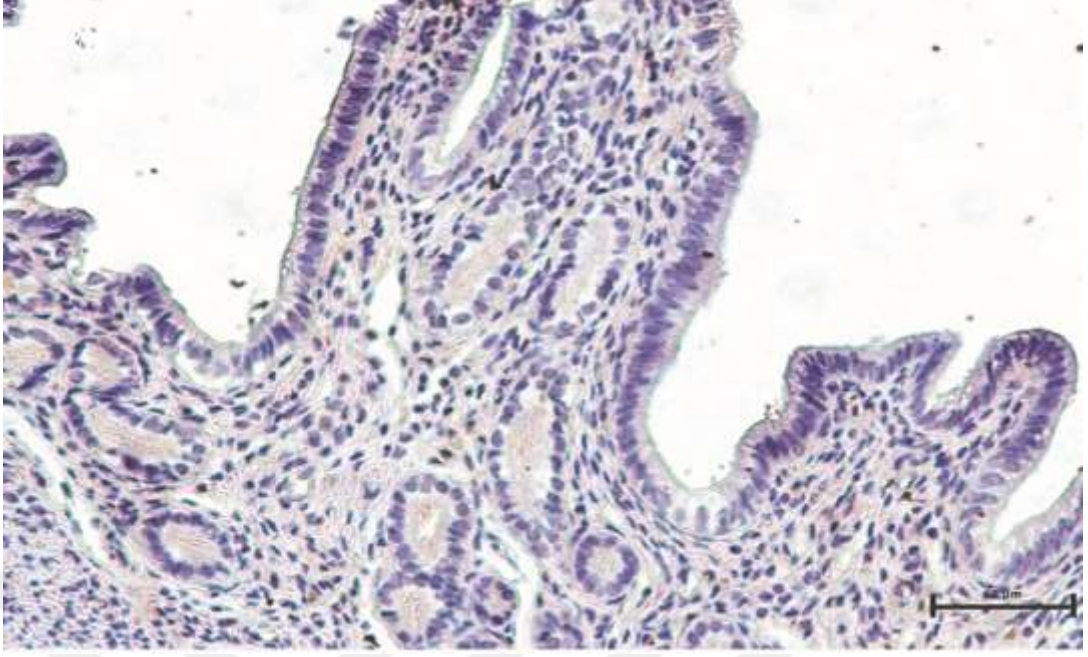
Şekil 12. Kontrol grubu endometriyum preparatı. 10x50 scala bar VEGF immünohistokimya boyama. Endometriyal bez ve damarlar etrafında pozitif boyanma görülmekte.



Şekil 13. Diyabet grubu endometriyum preparatı. 10x50 scala bar VEGF immünhistokimya boyama. Endometriyal bez ve damarlar etrafında hafif boyanma görülmekte.



Şekil 14. Kontrol grubu Ki-67 immünhistokimya boyanan endometriyum preparatları 4X 200 scala bar. Kontrol grubunda pozitif Ki-67 boyanan over preparat.



Şekil 15. Diyabet grubu Ki-67 immünohistokimya boyanan endometriyum preparatları 4X 200 scala bar Diyabet grubunda hafif Ki-67 boyanan over preparat.

5. TARTIŞMA

Biz çalışmamızda diyabet etkisinin dişi üreme sistemi üzerinde etkilerini gözlemlemek istedik. Bu neden ile STZ ajanı ve diyabetik beslenme diyeti ile diyabet oluşturmaya çalıştık. Diyabet oluşturduktan sonra, diyabetin dişi üreme sistemi üzerindeki etkilerinin daha iyi gözlemleyebilmek için çalışmamızın süresini uzun tuttuk. Çalışma sonlandırıldığında over, uterus ve kan örnekleri ile kontrol ve diyabet grubumuzu karşılaştırdık. Over ağırlıkları, over folükül sayıları, immünohistokimyasal olarak KI-67 ve VEGF antikorlarını kullandık. AMH hormon seviyesi ile histolojik bulgularımızı hormon düzeyi ile karşılaştırdık.

Diabetes mellitus kadın üreme sistemi üzerinde ciddi komplikasyonlara yol açmaktadır. Bu komplikasyonlar temelde kadınların üreme periyotlarında önem kazanırken, etiyopatogenezi hakkında ancak sınırlı seviyede klinik ve deneysel çalışmalar yapılmıştır.

Gebelikte diyabet hem anne hem de fetus için ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir. Doğan bebeklerde karşılaşılan komplikasyonlar oldukça ciddidir. Diyabetik annelerden doğan bebeklerde en sık rastlanan medikal komplikasyonlar; makrozomi, hipoglisemi, intrauterin gelişmede gecikme, geç dönem fetus ölümü, kardiyopati, pulmoner hipertansiyon, idiyopatik solunum güçlüğü sendromu, hiperbilirubinemi, hipokalsemi ve hipomagnezemi, tromboz ve anormal pıhtılaşmadır(Mihranlı, 2015).

Eğer diyabetik gebelerde HbA1c tip 1 artarsa fetal malformasyon riski de artmaktadır. Ayrıca diyabetli kadınların gebelik öncesi üreme sistemi problemleri de ilerdeki gebelik döneminde ehemmiyet kazanmaktadır(Suhonen, Hiilesmaa and Teramo, 2000).

STZ *Streptomyces achromogenes*'den izole edilmiş diyabetojenik bir ajandır, spesifik olarak B hücrelerinin toksinidir. Glukoz transporter 2 (GLUT-2) sayesinde B hücrelerini etkilemektedir. Doğrudan Deoksiribo nükleik asit (DNA) hasarı ve indirekt olarak da NO in üretiminin hasarlanması diyabetojenik olarak etkilemektedir(Yaman and Doğan, 2016).

Yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olan, yaşam kalitesini olumsuz etkileyen diyabet hastalığını ve komplikasyonların patogenezi incelemek nedeniyle yapılan çalışmalarda deneysel hayvan modelleri çok sık şekilde kullanılmaktadır. Deneysel hayvan modelleri; istenilen sayıda örneklerle çalışılabilmesine, patolojiye genetik olarak elverişli türlerin seçilebilmesine ve değişkenlerin kontrol altında tutulmasına; koruyucu veya tedavi edici, tanısal yaklaşımların incelenmesine, çok sayıda patolojen ve riskin aynı anda çalışılabilmesine olanak vermektedir. Bunlara ilaveten hayvanlarda oluşturulan diyabet modelleri insan diyabetineyle bütüncül olarak eşdeğer tutulamayacağını belirtmek gerekir. Yapılmış olan çalışmalarda deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabet hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonun ciddi derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve hastalığın seyrinin ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir (Maritim, Sanders and Watkins, 2003)

Çalışmalarımızda STZ enjekte edilmiş sıçanların kan-glukoz düzeyleri ölçülmüş, 200 mg/dl ve üstünde olanlar diyabetli olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamız bitene kadar periyodik ölçümler ile kan glukoz seviyeleri kontrol edildi. Bu kontrolün nedeni diyabet penceresinden çıkan farelere gerektiği durumda ikinci STZ enjeksiyonu yapmak ve diyabeti kontrol altında tutmak idi. Sunulan çalışmamızda; diyabet ve kontrol grubu çalışmanın başlangıcından (0. hafta), 2. hafta, 4. hafta, 6. hafta, 8. hafta ve 10. hafta tüm gruplardaki farelerin açlık kan glukoz değerleri kontrol gruplarına göre diyabet gruplarında anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Çalışmanın sonunda grup içi veriler kıyaslandığında ise; diyabet grubunda, diyabetik beslenmenin yanında STZ uygulamasından sonra diyabet grubunda açlık kan glukoz değerlerinin kontrol grubuna göre 4. haftadan itibaren anlamlı şekilde arttığı görüldü.

Diyabetin vücut ağırlıkları üzerine etkileri hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Kuhad ve arkadaşlarının çalışmalarında; tek doz 200 mg/kg streptozotosin (STZ) enjeksiyonu ile deneysel diyabet oluşturmuşlar. Çalışmaları sonucunda; diyabetik farelerin vücut ağırlıklarında kontrol farelere göre belirgin bir azalmanın olduğunu bildirmişlerdir (Kuhad, Sharma and Chopra, 2008). Başka bir çalışmada intraperitoneal tek doz 45 mg/kg STZ enjeksiyonu ile ratlarda deneysel diyabet oluşturulmuş ve deney sürecinde hayvanların 0, 7, 14 ve 21. günlerde vücut

ağırlıkları ölçölüp kaydedilmiş. Çalışmaları sonucunda; diyabet grubunda vücut ağırlığının 7, 14 ve 21. günlerdeki ağırlıklarının çalışma bitene kadar devamlı bir azalma gösterdiği tespit edilmiştir(Duzguner *et al.*, 2008). Diğer bir çalışmada ratlarda intravenöz 50 mg/kg tek doz STZ enjeksiyonu ile deneysel diyabet oluşturmuşlar. 8 hafta boyunca ratları vücut ağırlıkları ölçölüp karşılaştırıldığında; kontrol grubu ratlara kıyasla diyabetik ratların vücut ağırlıklarında azalma tespit etmişlerdir.(Gao *et al.*, 2012) Deneysel diyabet oluşturulan ratlara tek doz intraperitoneal 45 mg/kg STZ enjeksiyonu uygulanmış ve hayvanlara 8 hafta boyunca haftalık olarak vücut ağırlıkları ölçölmüştür. Veriler incelendiğinde; beşinci haftadan itibaren diyabet grubundaki hayvanların vücut ağırlıklarında ciddi bir azalma gözleendiği tespit edilmiş(Aydin and Çelik, 2012).

Çalışmamızda, grupların çalışmanın başlangıcındaki ve sonundaki verileri kıyaslandığında ise; Diyabet gruplarında çalışmanın 4. Haftasından itibaren ağırlık değerlerinin, kontrol grubunun ağırlık değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı göröldü. Döndürücü haftadaki bu ayrışmanın, çalışmanın başlangıcından itibaren yüksek glisemik indeksli diyet ile bozulan glukoz intöleransı takiben. STZ enjeksiyonu döneminden kaynaklandığı açıkça görölmektedir.

Diyabetin ovaryum üzerindeki histolojik etkileri türlü çalışmalar ile bildirilmiştir. Garris ve arkadaşları, kontrol fareler ile diyabetik farelerin over dokuları karşılaştırıldığında, diyabetik farelerin ovaryumlarında, önemli derecede foliküler ve stromal dejenerasyon ile bariz bir küçölmenin olduğunu bildirmişlerdir(Garris, Williams and West, 1985). Bunlara ek olarak; Liebhart ve Szamborski ise; alloxan ile diyabet oluşturulan dişi diyabetik tavşanlarda üreme sisteminde kapiller damarların bazal membranlarının aşırı derecede kalınlaştığını gözlemişlerdir(M. Liebhart, 1974). Tatewaki ve arkadaşları ise, diyabetik Non-obese diabetic (NOD) farelerinin ovaryumlarındaki incelemede granüloza hücrelerinde lipid damlacıklarının derişiminde artış saptanmıştır(Tatewaki *et al.*, 1989). Benzer şekilde; Garris ve arkadaşları'nın çalışmasında, kontrol gruplarına göre diyabetik grup farelerde ovaryumun teka, stromal ve granüloza hücrelerinde hücre içi lipid konsantresinin arttığı bildirilmiştir(Garris, West and Pekala, 1986). Bu çalışmaların aksine; Garris ve arkadaşlarının diğer bir çalışmasında; diyabetik hamsterlarda

yaptıkları deney modelinde serumda progesteron düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdi. Ayrıca bu bulguyla ilişkili olarak; kontrol gruplarına göre diyabetik hayvanlarda korpus luteumdaki luteal hücrelerde lipid miktarının azaldığı saptanmıştır(D.R.Garris, C.Smith, D.Davis, A.R.Diarni, 1982).

Garris bir çalışmasında; kontrol grubu hamsterlar ile karşılaştırılan diyabetik grup hamsterlarda total primer ve sekonder folikül sayısında azalma tespit edilmiştir. Ayrıca kontrollere göre yüksek düzey diyabetik deneklerde canlı folikül oranının sekonder foliküllerde önemli ölçüde azaldığını, canlı tersiyer folikül sayısında büyük bir değişiklik olmadığını ve atretik ile sekonder folikül yüzdesinin ise büyük ölçüde arttığını tespit edilmiştir(Garris, 1984). Chang ve arkadaşları da; kronik diyabetik farelerde kontrol grubu farelere göre ovaryumlarda görülen sekonder, antral, primer foliküller ile korpus luteum sayılarının daha az olduğunu saptamışlardır(Chang, Dale and Moley, 2005). Barmak ve arkadaşları da; STZ ile oluşturulan diyabetik gebe ratlarda gebeliğin 18. gününde fetuslardan elde edilen ovaryumlarda total primordial cinsiyet hücre sayısının azalmış olduğu saptamışlardır(M. J. Barmak, Z. Khaksar, A. Sharifi, 2013)

Diyabetin ovaryumdaki histometrik ölçümleri üzerine etkileri çeşitli çalışmalarda ifade edilmiştir. Chang ve ark (2005), kronik diyabetli farelerde kontrol farelere kıyasen daha küçük ve orta boyutta foliküllerin tespit edildiği bildirmiştir(Chang, Dale and Moley, 2005). Başka bir çalışmada, STZ ile oluşturulan diyabetik ratlarda sekonder ve tersiyer folikül çaplarının azaldığı tespit etmişlerdir(Shima *et al.*, 2011). STZ ile diyabet oluşturulan domuzlarda kontrol grubuna kıyas ile foliküler çapın daha küçük olduğunu saptamışlardır(N.M. Cox, K.A Meurer, C.A. Carlton, R.C. Tubbs, 1993).Diyabetik hayvanlarda yapılan incelemelerde özellikle küçük foliküllerin tespit edildiği bulgular, diyabetin folikül gelişimi üzerine olumsuz etkisi olabileceğini düşündürmektedir. STZ ile diyabet oluşturulan ratların ovaryumlarında primordial, primer, sekonder ve tersiyer folikül sayılarının azaldığını, atretik folikül sayısının ise arttığını saptamışlardır(Shima *et al.*, 2011).

Çalışmada ovaryumdaki folikül ve korpus luteum sayıları tetkik edildiğinde; primordial, primer sayılarında gruplar arasında anlamlı bir değişiklik görülmezken; sekonder, antral folikül sayısı ve corpus luteum sayısının kontrol grubunda diyabet

grubuna göre önemli düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda ovaryum örnekleri diöstrus döneminde alınırken, literatürdeki çoğu çalışmada ovaryum örneklerinin östrus siklusunun hangi evresinde alındığı bildirilmemiştir. Bu durum östrus siklusu farklılıklarının göz ardı edilmiş olabileceğini akla getirmektedir ve bu sebeple farklı sonuçlar elde edilmiş olabilir.

Literatürden farklı olarak biz çalışmamızda, over ağırlıklarını, Kİ-67 ve VEGF antikoru sonuçları ile karşılaştırdık. Ki-67 antikoru, proliferasyona uğrayan hücrelerin çekirdeklerin gösterilmesini sağlar. VEGF ise dokulardaki damarsal oluşumu göstermektedir. Over dokusunun kan akış durumu ne kadar iyi durumda olursa over dokusundaki hücrelerin bölünme fizyolojik gelişimlerini daha iyi durumda olacağı açıktır. Liebhart ve Szamborski (1974) ise; alloksan ile diyabet oluşturulan dişi diyabetik tavşanlarda üreme sisteminde kapiller damarların bazal membranlarının aşırı derecede kalınlaştığını ve over içindeki kan akışının bozulduğu bu durumda over ağırlığı ve folükül sayılarına negatif yönde etki ettiğini bildirmişlerdir (M. Liebhart, 1974). Çalışmamızda kontrol grubu over ağırlıklarını, diyabet gruplarına göre daha ağır olduğunu, Ki-67 ve VEGF immün boyamada daha yüksek skorlar aldığını gözlemledik. Bu durum ayrıca diyabet grubunda bozulmuş kapiller damar yapısının düşük VEGF ve Kİ-67 immün boyanma ile düşük over ağırlıklarını açıklamış oldu. Çalışmamız literatürdeki çalışmalara benzer sonuçlar göstermekteydi.

Proteinler yüksek düzey glikoz konsantrasyonlarıyla karşılaştıklarında, bir enzim vasıtasına gerekmeksizin proteine bağlanan glikoz kontrolsüz şekilde glikasyon reaksiyonlarına sebep olmaktadır. Glikasyona uğrayan bu proteinler, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur(Lewandowski *et al.*, 2021). Glikasyon reaksiyonları yoluyla önce Shiff bazlarını, sonrasında daha stabil olan Amadori ürünlerini oluştur. Amadori ürünlerinin oluşumundan sonra ise advanced glycation end products (AGE) meydana gelir. AGE'ler, vazokonstrüksiyon nedeniyle endotel hasarına yol açabildiği gibi, daha kompleks biyokimyasal sistemlerle serbest radikal üretebilme kapasitesine de sahiptirler(Heidland, Sebekova and Schinzel, 2001). Yapılan çalışmalarda AGE'nin, protein kinaz-C'yi aktive ettiği belirtilmiştir. Aktive olan protein kinaz-C'nin, damar

permeabilitesini, vasküler kan akımını, hücre büyümesini ve hücre dışı matriks bileşenlerini tesir ederek vasküler komplikasyonların patogeneğinde rol aldığı öne sürölmekte. Bu durumun diyabet etkisi ile bozulan kapiller damarların özellikle endometriyal tabakasını kalınlaşması gibi oluşan menstrual siklusun bozulmasına neden olduğu bildirilmiştir(Way, Katai and King, 2001).

Garris ve Smith, diyabet oluşturulan hamsterlarda uterus epitelinin mikrovillustan ve salgısal aktiviteden yoksun olduğunu. Epitel hücrelerin altındaki bazal laminanın 2-5 defa daha kalınlaştığı bildirmiştir(Garris and Garris, 2003). Ayrıca diğer çalışmalarda, endometriyumun yapısal bozukluğu ile kalınlaşmış bir interselüler matriks tarafından sarılmış, yuvarlak hücrelerden oluştuğunu saptamışlardır. Diyabetik ratların uterus gravitesinin ve uterus kan akımının azaldığı belirtilmiştir. Diyabetik hamsterların uterusunda fazla miktarda stromal hücrenin sitoplazmik vakuolizasyon sergilediğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında; kontrol gruplarına kıyasen diyabetik deneklerinin uterusun luminal ve glandular epitelinde lipid birikiminin fazlalaştığı belirtilmiştir.(Garris and Garris, 2003)(Garris, 2004)(Garris, 1984)(Garris, West and Pekala, 1986)

Çalışmamızda, kontrol gruplarına göre diyabet gruplarında endometriyumda bez sayılarının mühim ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Endometriyum yüzey epitelinin yapısının bir bütünlük sağlamadığınıda gözlemledik. Diyabet grubunda kapiller ağın zayıflığını buna bağılı olarak VEGF immünboyamasında kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu gözlemledik. Bozulan kapiller akımın hücre proliferasyonuna negatif etkide olduğunu diyabet grubunda Ki-67 immün boyamasının düşük olması ile gösterdik. Çalışmamızdaki bulgular literatürdeki bulgulara benzerlik göstermekteydi.

AMH ın yüksek düzeyleri follikuler yıkımla yakından bağılantılıdır. Dominant folikül seçimi AMH ve FSH arasındaki negatif etkileşimile, AMH aromataz üretimini granuloza hücrelerindeki aktive olmuş FSH ile inhibe etmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda geç üreme döneminde bulunan obez kadınlarda AMH düzeyinin benzer yaş ve normal beden kitlesinde olan kadınlara göre %65 oranda daha az olmasının infertilitede AMH seviyelerinin mühim olduğunu düşündürmektedir(Freeman *et al.*, 2007).

Gestasyonel diyabet melitus (GDM) ve sağlıklı gebeler arasında yapılan çalışmada üçüncü trimesterde ölçüm yapılan serum AMH seviyeleri arasında fark olduğu tespit edilmektedir. AMH, fetal hayattan menapoz dönemine kadar preantral ve antral foliküllerin granülosa hücrelerinden salgılanır(Visser *et al.*, 2006)(Fanchin *et al.*, 2003). Serum AMH seviyelerinin over rezervi dışında metabolizma ile ilişkili obezite ve Polikistik Over Sendromu (PKOS) gibi durumlar ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir(Buyukinan *et al.*, 2018)(Wiweko *et al.*, 2018). Bizde alışmamızda benzer sonuçlar bulduk. Kontrol grubundaki AMH değerlerinin diyabet grubuna göre daha yüksek olduğunu gözlemledik. Bu durumun, diyabet etkisi ile kan akışı bozulmuş overdeki proliferasyonu azalmış folüküler hücrelerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Fakat literatürde farklı sonuçları işaret eden çalışmalarda bulunmaktadır.

Villarroel ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada sağlıklı gebeler ile Tip 2 DM ve GDM tanısı olan gebeler karşılaştırıldığında üçüncü trimesterde iki diyabet grubunda da AMH düzeylerinin azaldığı tespit edilmiş fakat iki grup arasında anlamlı fark olmadığının saptamışlardır(Nelson *et al.*, 2010). Gerli ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada, AMH düzeyleri gebelikte de maternal yaş ile korele olduğunu, fakat GDM, vücut kitle indeksi, fetal doğum ağırlığı ve plasental ağırlıktan etkilenmediğini göstermişlerdir. Bir başka çalışma ise androjen ve insülin düzeylerindeki artışın serum AMH değerlerini etkileyebileceğini ne sürmüşlerdir, lakin çalışmalarda AMH ve insülin arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir(Gerli *et al.*, 2015)(Villarroel *et al.*, 2018)(Nelson *et al.*, 2010). Lambert-Messerlian ve ark çalışmasında gebelerde AMH seviyesinin beslenme şeklinden ve glukoz artışından etkilenmediği tespit edilmiş(Lambert-Messerlian *et al.*, 2017).

6. SONUÇ

Çalışmamızda, diyabetin dişi üreme sisteminde kapiller akımı bozduğunu immün histokimyasal olarak gözlemledik. Bu durumun dişi üreme sisteminde hücreleri proliferasyonu üzerine olumsuz etkilerini görmüş olduk. Bu durumun hem doku hemde hormonal anlamda bazı olumsuz koşullar oluşturabileceğini gözlemledik.

Overlerde antral folükül sayılarında azalma durumunu istatistiksel olarak gözlemledik. Bunun yanısıra gelişim aşamasındaki diğer folüküller sayıları üzerinde istatistiksel olmasada bir azalma olduğu gözlemledik. Bu durum endişe verici sonuçlara neden olabilir. Azalan folükül sayıları ve buna bağlı olarak folükül hücre nedeni ile serum AMH düzeylerindeki diyabet grubunda daha düşük sonuçlar elde ettik. Diyabet grubunda uterusu bozulmuş epitel tabakası ve azalmış bez sayılarını gözlemledik. Bu durumun ratları östrus döngüsünün fizyolojik olarak bozulduğu. Diyabet gruplarındaki farelerde, östrus siklusu evrelerinin düzensizlikler olduğu ve farelerin önemli ölçüde diöstrus döneminde bulundukları tespit edildi.

Deney hayvanları ve insan fizyolojisi farklılıklar gösterebilir, Diyabetin; sağlıklı folükül oluşumu ve gebeliğin devamında implantasyonun tamamlanıp doğum elde edilmesi üzerinde negatif etkileri olabileceği görülmektedir. Sonuçta bu çalışmalardan kesin veriler alabilmek için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKÇA

- Abedel-Majed MA, Romereim SM , Davis JS, Cupp AS. (2019). ‘Perturbations in Lineage Specification of Granulosa and Theca Cells May Alter Corpus Luteum Formation and Function’, *Frontiers in Endocrinology*, 10(November). doi: 10.3389/fendo.2019.00832.
- Achache H, Revel A. (2006). ‘Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation’, *Human Reproduction Update*, 12(6), pp. 731–746. doi: 10.1093/humupd/dml004.
- Albaghdadi AJH, Kan FWK. (2012). ‘Endometrial Receptivity Defects and Impaired Implantation in Diabetic NOD Mice 1’, 87(April), pp. 1–16. doi: 10.1095/biolreprod.112.100016.
- Ali EMT, Abdallah HI, El-Sayed SM. (2020). ‘Histomorphological, VEGF and TGF- β immunoexpression changes in the diabetic rats’ ovary and the potential amelioration following treatment with metformin and insulin’, *Journal of Molecular Histology*, 51(3), pp. 287–305. doi: 10.1007/s10735-020-09880-x.
- Aydin M, Çelik S. (2012). ‘Effects of lycopene on plasma glucose, insulin levels, oxidative stress, and body weights of streptozotocin-induced diabetic rats’, *Turkish Journal of Medical Sciences*, 42(SUPPL.2), pp. 1406–1413. doi: 10.3906/sag-1202-44.
- Bakhteyari A, Zarrin Y, Nikpour P, Hosseiny ZS, Mostafavi FS, Eskandari N, Matinfar M, Aboutorabi R. (2019). ‘Diabetes mellitus increased integrins gene expression in rat endometrium at the time of embryo implantation’, *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 17(6), pp. 395–404. doi: 10.18502/ijrm.v17i6.4810.
- Balıkçı MK. (2019) .*TURK DİAB Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi 2019*. 9th edn. İstanbul: Türkiye Diyabet Vakfı.

- Ballester J, Muñoz MC, Domínguez J, Palomo MJ, Rivera M, Rigau T, Guinovart JJ, Rodríguez-Gil JE. (2007). 'Tungstate administration improves the sexual and reproductive function in female rats with streptozotocin-induced diabetes', *Human Reproduction*, 22(8), pp. 2128–2135. doi: 10.1093/humrep/dem168.
- Barbieri RL. (2019). *Female Infertility*. Eighth Edi, *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management: Eighth Edition*. Eighth Edi. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-323-47912-7.00022-6.
- Billhaq DH, Lee S. (2019). 'A potential function of RLIP76 in the ovarian corpus luteum', *Journal of Ovarian Research*, 12(1), pp. 4–11. doi: 10.1186/s13048-019-0510-8.
- Binder NK, Evans J, Gardner DK, Salamonsen LA, Hannan NJ. (2014). 'Endometrial signals improve embryo outcome: Functional role of vascular endothelial growth factor isoforms on embryo development and implantation in mice', *Human Reproduction*, 29(10), pp. 2278–2286. doi: 10.1093/humrep/deu211.
- Borghot MV, Wyns C. (2018). 'Fertility and infertility: Definition and epidemiology', *Clinical Biochemistry*, 62(March), pp. 2–10. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012.
- Buyukinan M, Atar M, Pirgon O, Kurku H, Erdem SS, Deniz I. (2018). 'Anti-Mullerian Hormone and Inhibin B Levels in Obese Boys; Relations with Cardiovascular Risk Factors', *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 126(8), pp. 528–533. doi: 10.1055/s-0044-101141.
- Chang AS, Dale AN, Moley KH. (2005). 'Maternal diabetes adversely affects preovulatory oocyte maturation, development, and granulosa cell apoptosis', *Endocrinology*, 146(5), pp. 2445–2453. doi: 10.1210/en.2004-1472.

- Chi RA, Wang T, Adams N, Wu S, Young S, Spencer TE, DeMayo F. (2019). *Human Endometrial Transcriptome and Progesterone Receptor Cistrome Reveal Important Pathways and Epithelial Regulators*. doi: US. jc.2019-01465.
- Cole JB, Florez JC. (2020). ‘Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications’, *Nature Reviews Nephrology*, 16(7), pp. 377–390. doi: 10.1038/s41581-020-0278-5.
- Cong J, Li P, Zheng L, Tan J. (2016). ‘Prevalence and risk factors of infertility at a rural site of Northern China’, *PLoS ONE*, 11(5), pp. 1–11. doi: 10.1371/journal.pone.0155563.
- Craciunas L, Gallos I, Chu J, Bourne T, Quenby S, Brosens JJ, Coomarasamy A. (2019) ‘Conventional and modern markers of endometrial receptivity: a systematic review and meta-analysis’, 25(2), pp. 202–223. doi: 10.1093/humupd/dmy044.
- Crețu D, Cernea S, Onea CR, Pop RM. (2020). ‘Reproductive health in women with type 2 diabetes mellitus’, *Hormones*, 19(3), pp. 291–300. doi: 10.1007/s42000-020-00225-7.
- Cumhur, Messerret (2013) *Temel Anatomi*. Edited by Meserret Cumhur. Ankara: Odtü Yayıncılık.
- Garris DR, Smith C, Davis D, Diami AR, Gerritsen GC. (1982). ‘Morphometric Evaluation of the Hypothalamic-Ovarian Axis of the Ketonuric, Diabetic Chinese Hamster: Relationship to the Reproductive Cycle’, *Diabetologia*, 23, pp. 275–279.
- Davidson LM, Coward K. (2016). ‘Review Molecular Mechanisms of Membrane Interaction at Implantation’. doi: 10.1002/bdrc.21122.
- Dean M. (2019) ‘Glycogen in the Uterus and Fallopian Tubes is an Important Source of Glucose during Early Pregnancy’, *Biol Reprod.*, 101(2), pp. 297–305. doi: 10.1093/biolre/ioz102.

- DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, Hu FB, Kahn CR, Raz I, Shulman GI, Simonson DC, Testa MA, Weiss R. (2015). 'Type 2 diabetes mellitus', *Nature Reviews Disease Primers*, 1(July), pp. 1–23. doi: 10.1038/nrdp.2015.19.
- Dehlia J, Karlssona C, Bizelli-Silveirac C, Jiangd X, Kraftc D, Fossa M. (2019). 'E-cadherin mediated cell-biomaterial interaction reduces migration of keratinocytes in-vitro', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 180(March), pp. 326–333. doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.04.010.
- Devoto L, Henríquez S, Kohen P, Strauss III JF. (2017). 'The significance of estradiol metabolites in human corpus luteum physiology', *Steroids*, 123, pp. 50–54. doi: 10.1016/j.steroids.2017.05.002.
- Diamond MP, Pethway ZY, Logan J, Moley K, Vaughn W, DeCherney AH. (1991). 'Dose-Response Effects of Glucose, Insulin, and Glucagon on Mouse Pre-Embryo Development', 40(6), pp. 566–570.
- Dun EC, Nezhat CH. (2012). 'Tubal Factor Infertility. Diagnosis and Management in the Era of Assisted Reproductive Technology', *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 39(4), pp. 551–566. doi: 10.1016/j.ogc.2012.09.006.
- Duzguner V, Kucukgul A, Erdogan S, Celik S, Sahin K. (2008). 'Effect of Lycopene Administration on Plasma Glucose, Oxidative Stress and Body Weight in Streptozotocin Diabetic Rats', *Journal of Applied Animal Research*, 33(1), pp. 17–20. doi: 10.1080/09712119.2008.9706888.
- Elnashar AM. (2004) 'Endometrial receptivity', *Middle East Fertility Society Journal*, 9(1), pp. 10–24.
- Ensoy EŞ, Öznurlu Y. (2009). 'Hücre Adezyon Molekülleri', *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 4(1), pp. 57–68. doi: 10.17094/avbd.31444.

- Eroschenko VP. (2016) *diFiore'nın Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle*. Oniki. Edited by R. Demir. Ankara: Palme Yayıncılık.
- Ertas K, Eroğlu Ö, Yüksel S. (2018). 'Classification of azospermic and oligospermic patients by spermiogram parameters', *Journal of Health Sciences and Medicine*, pp. 85–93. doi: 10.32322/jhsm.471058.
- Famurewa AC, Ugwuja EI. (2017) 'Association of Blood and Seminal Plasma Cadmium and Lead Levels With Semen Quality in Non-Occupationally Exposed Infertile Men in Abakaliki, South East Nigeria.', *Journal of family & reproductive health*, 11(2), pp. 97–103. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29282417> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5742670>.
- Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. (2003). 'Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3', *Human Reproduction*, 18(2), pp. 323–327. doi: 10.1093/humrep/deg042.
- Freeman EW, Gracia CR, Sammel MD, Lin H, Lim LCL, Strauss JF .(2007). 'Association of anti-mullerian hormone levels with obesity in late reproductive-age women', *Fertility and Sterility*, 87(1), pp. 101–106. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.05.074.
- Furnes MW, Zhao CM, Chen D. (2009). 'Development of obesity is associated with increased calories per meal rather than per day. A study of high-fat diet-induced obesity in young rats', *Obesity Surgery*, 19(10), pp. 1430–1438. doi: 10.1007/s11695-009-9863-1.
- Gao JX, Li Y, Zhang HY, He XL, Bai AS. (2012). 'Lycopene ameliorates erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats', *Pharmazie*, 67(3), pp.256259. doi:10.1691/ph.2012.1640.

- Garris DR. (1984). 'Effects of progressive hyperglycemia on ovarian structure and function in the spontaneously diabetic Chinese hamster', *The Anatomical Record*, 210(3), pp. 485–489. doi: 10.1002/ar.1092100309.
- Garris DR. (2004). 'Ultrastructural analysis of progressive endometrial hypercytolipidemia induced by obese (ob/ob) and diabetes (db/db) genotype mutations: Structural basis of female reproductive tract involution', *Tissue and Cell*, 36(1), pp. 19–28. doi: 10.1016/j.tice.2003.08.002.
- Garris DR, Garris BL. (2003) . 'Diabetes-Induced, Progressive Endometrial Involution', *Clinik Diabetes*, 52, pp. 51–58.
- Garris DR, West RL, Pekala PH. (1986). 'Ultrastructural and metabolic changes associated with reproductive tract atrophy and adiposity in diabetic female mice', *The Anatomical Record*, 216(3), pp. 359–366. doi: 10.1002/ar.1092160304.
- Garris DR, Williams SK, West L. (1985). 'Morphometric evaluation of diabetes-associated ovarian atrophy in the C57BL/KsJ mouse: Relationship to age and ovarian function', *The Anatomical Record*, 211(4), pp. 434–443. doi: 10.1002/ar.1092110410.
- Gerli S, Favilli A, Brozzetti A, Torlone E, Pugliese B, Pericoli S, Bini V, Falorni A. (2015). 'Anti-mullerian hormone concentration during the third trimester of pregnancy and puerperium: a longitudinal case–control study in normal and diabetic pregnancy', *Endocrine*, 50(1), pp. 250–255. doi: 10.1007/s12020-014-0515-4.
- Gershon E, Dekel N. (2020). 'Newly Identified Regulators of Ovarian Folliculogenesis and Ovulation'.
- Gnoth C, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Friol K, Tigges J, Freundl G. (2005). 'Definition and prevalence of subfertility and infertility', *Human Reproduction*, 20(5), pp. 1144–1147. doi: 10.1093/humrep/deh870.

- Terekeci MH, Şahan B, Top C. (2008). ‘Hücre Adezyon Molekülleri’, *Nobel Medicus*, 4(1), pp. 4–10.
- Halder JB, Zhao X, Soker S, Paria BC, Klagsbrun M, Das SK, Dey SK. (2000). ‘Differential expression of VEGF isoforms and VEGF164-specific receptor neuropilin-1 in the mouse uterus suggests a role for VEGF164 in vascular permeability and angiogenesis during implantation’, *Genesis*, 26(3), pp. 213–224. doi: 10.1002/(SICI)1526-968X(200003)26:3<213::AID-GENE7>3.0.CO;2-M.
- Hall JE. (2014). *Guyton & Hall Tıbbi Fizyoloji Cep Kitabı*. Edited by Z. Solakoğlu. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Hamutoğlu R. (2018). ‘The role of cell adhesion molecules in recurrent implantation failure’, *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Journal of Medicine*, 4(1), pp. 27–36. doi: 10.5606/fng.btd.2018.003.
- Harreiter J, Roden M. (2019). ‘Diabetes mellitus—Definition, classification, diagnosis, screening and prevention (Update 2019)’, *Wiener Klinische Wochenschrift*, 131(Update), pp. 6–15. doi: 10.1007/s00508-019-1450-4.
- Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A . (2007) *CERRAHPAŞA İÇ HASTALIKLARI*. 1st edn. Edited by H. Yazıcı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık.
- Heidland A, Sebekova K, Schinzel R. (2001) ‘Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease’, *American Journal of Kidney Diseases*, 38(4 SUPPL. 1), pp. 100–106. doi: 10.1053/ajkd.2001.27414.
- Hull MGR, Cahill DJ . (2011). ‘FEMALE INFERTILITY’, *Infertility*, 27(4), pp. 71–82. doi: 10.1002/9781444393958.ch8.
- Inyawilert W, Fu TY, Lin CT, Tang BC. (2014). ‘MicroRNA-199a mediates mucin 1 expression in mouse uterus during implantation’, *Reproduction, Fertility and Development*, 26(5), pp. 653–664. doi: 10.1071/RD12097.

- Junqueira LC, Carneiro J. (2009). *Temel Histoloji Teks & Atlas*. Edited by S. Solakoğlu and Y. Aytekin. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Kang YJ, Forbes K, Carver J, Aplin JD. (2014). ‘The role of the osteopontin-integrin $\alpha\beta 3$ interaction at implantation: Functional analysis using three different in vitro models’, *Human Reproduction*, 29(4), pp. 739–749. doi: 10.1093/humrep/det433.
- Kierszenbaum AL. (2006) *Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş*. Edited by R. Demir. Ankara.
- Köylü H. (2016). *Tıbbi Fizyoloji Klinik Anlatımı*. Edited by H. Köylü. İstanbul: İstanbul Tıp Kitapevleri.
- Kuhad A, Sharma S, Chopra K. (2008). ‘Lycopene attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain’, *European Journal of Pain*, 12(5), pp. 624–632. doi: 10.1016/j.ejpain.2007.10.008.
- Lambert-Messerlian GM, Straseski JA, Eklund EE, Palomaki GE, Haddow JE. (2017). ‘Antimüllerian Hormone Levels Are Not Altered by Glucose Challenge or a Meal’, *The Journal of Applied Laboratory Medicine: An AACC Publication*, 2(2), pp. 238–243. doi: 10.1373/jalm.2017.023622.
- Larsen MD, Jensen DM, Fedder J, Jølvig LR, Nørgård BM (2020) ‘Live-born children after assisted reproduction in women with type 1 diabetes and type 2 diabetes: a nationwide cohort study’, *Diabetologia*, 63(9), pp. 1736–1744. doi: 10.1007/s00125-020-05193-6.
- Lee J, Lee HC, Kim SY, Cho GJ, Woodruff TK. (2019) .‘Poorly-controlled type 1 diabetes mellitus impairs LH-LHCGR signaling in the ovaries and decreases female fertility in mice’, *Yonsei Medical Journal*, 60(7), pp. 667–678. doi: 10.3349/ymj.2019.60.7.667.
- Lessey B A, Killam AP, Metzger DA, Haney AF, Greene GL, McCarty KS. (1988). ‘Immunohistochemical Analysis of Human Uterine Estrogen and Progesterone Receptors Throughout the Menstrual Cycle *’, 67(2), pp. 334–340.

- Lessey BA, Kim J. (2017). 'Endometrial receptivity in the eutopic endometrium of women with endometriosis : it is affected , and let me show you why', *Fertility and Sterility*, 108(1), pp. 19–27. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.05.031.
- Lewandowski Ł, Urbanowicz I, Kepinska M, Milnerowicz H .(2021). 'Concentration/activity of superoxide dismutase isozymes and the pro-/antioxidative status, in context of type 2 diabetes and selected single nucleotide polymorphisms (genes: INS, SOD1, SOD2, SOD3) – Preliminary findings', *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 137(December 2020). doi: 10.1016/j.biopha.2021.111396.
- Liu S, Yang X, Liu Y, Wang X, Yan Q. (2011). 'SLeX/L-selectin mediates adhesion in vitro implantation model', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 350(1–2), pp. 185–192. doi: 10.1007/s11010-010-0697-x.
- Lovic D, Piperidou A, Zografou I, Grassos H, Pittaras A, Manolis A.(2019). 'The Growing Epidemic of Diabetes Mellitus', *Current Vascular Pharmacology*, 18(2), pp. 104–109. doi: 10.2174/1570161117666190405165911.
- Barmak MJ, Khaksar Z, Sharifi A, Mahmoudi R . (2013). 'Effect of Aloe vera extract on ovaries development in during gestational age of 18 day embryo of diabetic rats', *Life Science*, 18, pp. 323–327.
- Liebhart M, Szamborski J. (1974). 'Ultrastructure of the capillaries of the reproductive system in female rabbits with alloxan diabetes.', *Polish Medical Sciences and History Bulletin*, 15(2), pp. 133–137.
- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. (2003). 'Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review', *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 17(1), pp. 24–38. doi: 10.1002/jbt.10058.
- Martel D, Monier MN, Roche D, Psychoyos A.(1991). 'Hormonal dependence of pinopode formation at the uterine luminal surface', *Human Reproduction*, 6(4), pp. 597–603. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137386.

- Melincovici CS, Boşca AB, Suşman S, Marginean M, Mişu C, Istrate M, Moldovan IM, Roman AL, Mişu CM. (2018). 'Vascular endothelial growth factor (VEGF) – key factor in normal and pathological angiogenesis', *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 59(2), pp. 455–467.
- Mescher AL. (2013). *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas*, 14. Baskı.
- Mihranlı VMM. (2015). 'Diabetes Mellitus ve Gebelik', *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 31(2), pp. 17–22. doi: 10.5222/otd.2015.017.
- Müller-Wieland D. (2019). 'Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus', *Diabetologie*, 15(2), pp. 128–134. doi: 10.1007/s11428-019-0460-1.
- Cox NM, Meurer KA, Carlton CA, Tubbs RC, Mannis DP. (1993). 'Effect of diabetes mellitus during the luteal phase of the oestrous cycle on preovulatory follicular function, ovulation and gonadotrophins in gilts', *Reproduction and Fertility*, 101, pp. 77–86.
- Nandi A, Poretsky L. (2013). 'Diabetes and the Female Reproductive System', *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 42(4), pp. 915–946. doi: 10.1016/j.ecl.2013.07.007.
- Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. (2003). 'The biology of VEGF and its receptors', *NATURE MEDICINE VOLUME*, 9(6). doi: 10.1016/S0268-005X(09)80253-1.
- Nelson SM, Stewart F, Fleming R, Freeman DJ. (2010). 'Longitudinal assessment of antimüllerian hormone during pregnancy-relationship with maternal adiposity, insulin, and adiponectin', *Fertility and Sterility*, 93(4), pp. 1356–1358. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.07.1676.
- Ngassa Piotie P, Wood P, Webb EM, Marcus TS, Rheeder P. (2020). 'Willingness of people with Type 2 diabetes to start insulin therapy: Evidence from the South African Tshwane Insulin Project (TIP)', *Diabetes Research and Clinical Practice*, 168, p. 108366. doi: 10.1016/j.diabres.2020.108366.

- Ovalle WK, Nahirney PC. (2009). *Netter Temel Histoloji*. Edited by S. Müftüoğlu, F. Kaymaz, and P. Atilla. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi.
- Özyer Ş. (2019) ‘Reprodüktif Fizyoloji’, in Üstün, Y. and Kahraman, İ. (eds) *Her Yönüyle İn Vitro Fertilizasyon*. 1.Basım. Ankara: Deren Yayıncılık, pp. 11–25.
- Quinn KE, Matson BC, Wetendorf M, Caron KM.(2020). ‘Pinopodes: Recent advancements, current perspectives, and future directions’, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 501, p. 110644. doi: 10.1016/j.mce.2019.110644.
- Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, Claypool MD, Pinkett JG, Gadbois TM , Reaven GM.(2000). ‘A new rat model of type 2 diabetes: The fat-fed, streptozotocin-treated rat’, *Metabolism: Clinical and Experimental*, 49(11), pp. 1390–1394. doi: 10.1053/meta.2000.17721.
- Rhoades R A, Bell DR. (2017). *Tıbbi Fizyoloji Klinik Tıbbın Temelleri*. Dördüncü. Edited by E. Ağar. İstanbul: İstanbul Tıp Kitapevleri.
- Rimon-dahari N, Yerushalmi-heinemann L, Alyagor L. (2016). ‘Ovarian Folliculogenesis’, in Piprek, R. P. (ed.) *Molecular Mechanisms of Cell Differentiation in Gonad Development*, pp. 167–190. doi: 10.1007/978-3-319-31973-5.
- Roden M. (2016). ‘Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation und Diagnose’, *Wiener Klinische Wochenschrift*, 128, pp. 37–40. doi: 10.1007/s00508-015-0931-3.
- Ross MH, Pawlina W. (2017). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Altıncı. Edited by B. Baykal. Ankara: Palme Yayıncılık.
- Rughani A, Friedman JE, Tryggestad, JB. (2020). ‘Type 2 Diabetes in Youth: the Role of Early Life Exposures’, *Current Diabetes Reports*, 20(9). doi: 10.1007/s11892-020-01328-6.

- Satar DA, Gençdal S. (2013) ‘Archives Medical Review Journal Sperm Analysis’, 22(4), pp. 532–542.
- Scholzen T, Gerdes J. (2000). ‘The Ki-67 protein: From the known and the unknown’, *Journal of Cellular Physiology*, 182(3), pp. 311–322. doi: 10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9.
- Shima H, Naeem E, Hassan M, Hossein N. (2011). ‘Aloe Vera Gel Protects Ovarian Structure in Diabetic Rat’, *American-Eurasian Journal of Toxicological Science*, 3(3), pp. 197–203.
- Stewart AF, Kim ED. (2011). ‘Fertility concerns for the aging male’, *Urology*, 78(3), pp. 496–499. doi: 10.1016/j.urology.2011.06.010.
- Suhonen L, Hiilesmaa V, Teramo K. (2000) .‘Glycaemic control during early pregnancy and fetal malformations in women with type I diabetes mellitus’, *Diabetologia*, 43(1), pp. 79–82. doi: 10.1007/s001250050010.
- Tatewaki R, Otani H, Tanaka O, Kitada J. A (1989). ‘A morphological study on the reproductive organs as a possible cause of developmental abnormalities in diabetic NOD mice’, *Histology and Histopathology*, 4(3), pp. 343–358.
- Thong EP, Codner E, Laven JSE, Teede H. (2020) .‘Diabetes: a metabolic and reproductive disorder in women’, *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 8(2), pp. 134–149. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30345-6.
- Tu Z, Wang Q, Cui T, Wang J, Ran H, Bao H, Lu J, Wang B, Lydon JP, DeMayo F, Zhang S, Kong S, Wu X, Wang H. (2016) .‘Uterine RAC1 via Pak1-ERM signaling directs normal luminal epithelial integrity conducive to on-time embryo implantation in mice’, (688), pp. 169–181. doi: 10.1038/cdd.2015.98.
- Vanselow J, Christenson LK, Pate JL. (2020). ‘Editorial: Regulation of Dynamic Changes and Remodeling Events During the Formation, Rescue and Regression of the Corpus Luteum’, *Frontiers in Endocrinology*, 11(April), pp. 10–11. doi: 10.3389/fendo.2020.00244.

- Villarroel C, Salinas A, López P, Kohen P, Rencoret G, Devoto L, Codner E. (2018). 'Anti-Müllerian hormone in type 2 and gestational diabetes during the second half of pregnancy: relationship with sexual steroid levels and metabolic parameters', *Gynecological Endocrinology*, 34(2), pp. 120–124. doi: 10.1080/09513590.2017.1359824.
- Visser JA, de Jong FH, Laven JSE, Themmen APN. (2006) . 'Anti-Müllerian hormone: A new marker for ovarian function', *Reproduction*, 131(1), pp. 1–9. doi: 10.1530/rep.1.00529.
- Waschke J, Böckers T M, Paulse F. (2016) .*Sobotta Anatomi Konu Kitabı*. Edited by M. F. Sargon. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
- Way KJ, Katai N, King GL. (2001) 'Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications', *Diabetic Medicine*, 18(12), pp. 945–959. doi: 10.1046/j.0742-3071.2001.00638.x.
- Wiweko B, Indra I, Susanto C, Natadisastra M, Hestiantoro A (2018) 'The correlation between serum AMH and HOMA-IR among PCOS phenotypes', *BMC Research Notes*, 11(1), pp. 1–6. doi: 10.1186/s13104-018-3207-y.
- Workup I, Specialist H. (2019). 'Infertility Workup for the Women's Health Specialist', *Obstetrics & Gynecology*, 133(6), pp. 1294–1295. doi: 10.1097/aog.0000000000003272.
- Yaman T, Doğan A .(2016). 'Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Meşe Palamudu (*Quercus branti Lindl.*) Ekstraktların Karaciğer ve Pankreası Koruyucu Etkileri', 1(2), pp. 7–15. Available at: <http://www.dicle.edu.tr/fakulte/veteriner/dergi.htm>ARAŞTIRMA.
- Yilmaz, F, Tekmen I. (2019). 'Embryo, endometrium differentiation and molecular pathways during implantation', *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 39(2), pp. 212–220. doi: 10.5336/medsci.2018-63651.
- Yıldırım M. (2018) . *İnsan Anatomisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, Mouzon J, Sokol R, Rienzi L, Sunde A, Schmidt L, Cooke ID, Simpson JL, Poel S. (2017). 'The international glossary on infertility and fertility care, 2017', *Human Reproduction*, 32(9), pp. 1786–1801. doi: 10.1093/humrep/dex234.

Zhang J, Bao Y, Zhou X, Zheng L. (2019). 'Polycystic ovary syndrome and mitochondrial dysfunction', *Reproductive Biology and Endocrinology*, 17(1), pp. 1–15. doi: 10.1186/s12958-019-0509-4.

Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. (2008) 'The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model.', *Experimental diabetes research*, 2008, p. 704045. doi: 10.1155/2008/704045.