

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYABETİK SIÇANLARDA uPAR VE
VİTRONEKTİN MOLEKÜLLERİNİN
ENDOMETRİYUMDAKİ DAĞILIMLARININ
İNCELENMESİ**

Pınar AKOKAY

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR 2013

TEZ KODU: DEU.HSI.MSc-2010970099

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYABETİK SIÇANLARDA uPAR VE
VİTRONEKTİN MOLEKÜLLERİNİN
ENDOMETRİYUMDAKİ DAĞILIMLARININ
İNCELENMESİ**

Pınar AKOKAY

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi

DOÇ. DR. BEKİR UĞUR ERGÜR

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından 2012/KB/SAG/96
sayı ile desteklenmiştir.

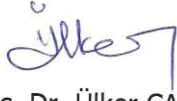
TEZ KODU: DEU.HSI.MSc-2010970099

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programı öğrencisi Pınar AKOKAY'ın '**DİYABETİK SIÇANLARDA uPAR ve VİTRONEKTİN MOLEKÜLLERİNİN ENDOMETRİYUMDAKİ DAĞILIMLARININ İNCELENMESİ**' konulu Yüksek Lisans tezini 10.01.2014 tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.



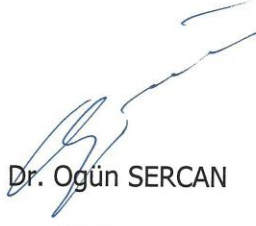
Doç. Dr. Bekir Uğur ERGÜR

BAŞKAN



Doç. Dr. Ülker CANKURT

ÜYE



Doç. Dr. Ogün SERCAN

ÜYE

Doç. Dr. Işıl TEKMEK

YEDEK ÜYE

Doç. Dr. İ.Mehmet Ali ÖKTEM

YEDEK ÜYE

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
ŞEKİL DİZİNİ.....	iv
TABLO DİZİNİ.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1.Uterus.....	8
2.1.1.Uterus Embriyolojisi.....	8
2.1.2.Uterus Anatomisi.....	9
2.1.2.1. Yeri ve Yakın Komşuluğu.....	9
2.1.2.2. Boyutları.....	9
2.1.2.3.Şekil ve Konumu.....	9
2.1.2.4. Hacmi.....	10
2.1.2.5. Uterusun Anatomik Bölümleri.....	10
2.1.2.5.1. Corpus Uteri.....	10
2.1.2.5.2. Cervix Uteri.....	10

2.1.3. Uterus Histolojisi.....	11
2.1.4. Endometriyumun Kanlanması.....	17
2.1.5. Uterus Fizyolojisi.....	18
2.2. Dişi Sıçan Genital Sistem.....	19
2.2.1.Dişi Sıçanlarda Üreme Siklusu ve Uterus Histolojisi.....	19
2.2.2. Sıçanlarda Östrus Siklusu.....	20
2.3. Diabetes Mellitus.....	20
2.3.1.Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması.....	21
2.3.2. Diyabet Sıklığını Etkileyen Faktörler.....	25
2.4. Plazminjen Aktivatör Sistem.....	26
2.5.Vitronektin.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Araştırmanın Tipi.....	31
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı.....	31
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları.....	31
3.4. Çalışma Materyali.....	32
3.5. Araştırmanın Değişkenleri.....	32
3.6. Veri Toplama Araçları.....	32
3.6.1. Araştırmada Kullanılan Demirbaş Malzemeler.....	32
3.6.2. Araştırmada Kullanılan Yöntemler.....	32
3.6.2.1. Denek Ağırlıklarının Değerlendirilmesi.....	33
3.6.2.2. Deneklerin Menstrüel Sikluslarının Belirlenmesi.....	33

3.6.2.3. Histokimyasal İncelemeler.....	34
3.6.2.3.1. Hematoksilen-Eozin Boya Protokolü.....	34
3.6.2.3.2. Masson Trikrom Boya Protokolü.....	35
3.6.2.3.3. Peryodik Asit Schiff (PAS) Boya Protokolü.....	36
3.6.2.4. Morfometrik Değerlendirmeler.....	36
3.6.2.4.1. Uterus Lümen Çapı.....	36
3.6.2.4.2. Uterus Lümen Epiteli Uzunluğu.....	37
3.6.2.5. İmmünohistokimyasal İncelemeler.....	37
3.6.2.5.1. Anti-Vitronektin Boyama Protokolü.....	37
3.6.2.5.2. Anti-uPAR Boyama Protokolü.....	37
3.6.2.5.3. Semikantitatif İmmünohistokimyasal Analiz.....	38
3.6.2.8. Ultrastrüktürel İncelemeler.....	38
3.6.2.8.1. Elektron Mikroskopik Doku Takibi.....	38
3.7. Araştırma Planı ve Takvimi.....	39
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi.....	40
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları.....	40
3.10. Etik Kurul Onayı.....	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Denek Ağırlıklarının Değerlendirilmesi.....	41
4.2. Deneklerin Kan/Glukoz Seviyelerinin Değerlendirilmesi.....	42
4.3. Histokimyasal Bulgular.....	43
4.3.1. Hematoksilen-Eosin Boyama Değerlendirilmesi.....	43

4.3.2. Masson-Trikrom Boyama Değerlendirilmesi.....	48
4.3.3. PAS Boyama Değerlendirilmesi.....	51
4.4. Morfometrik Bulgular.....	54
4.4.1. Uterus Lümen Çapı.....	54
4.4.2. Uterus Epitel Uzunluğu.....	55
4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	55
4.5.1. Anti-Vitronektin İmmünohistokimya Boyama Bulguları.....	55
4.5.2. Anti-uPAR İmmünohistokimya Boyama Bulguları.....	62
4.6. Ultrastrüktürel Bulgular.....	68
5. TARTIŞMA.....	71
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	76
7. KAYNAKLAR.....	77
8. EKLER.....	85

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Uterusun histolojik yapısı.....	11
Şekil 2. Menstrüel siklusda uterusun histolojik yapısı.....	15
Şekil 3. Sıçanlarda östrus siklusu boyunca uterusun histolojik yapısı.....	19-20
Şekil 4. uPAR molekülünün yapısı.....	27
Şekil 5. Vitronektin molekülünün yapısı.....	29
Şekil 6. Grupların deney başlangıcı ve deney sonundaki ağırlıkları.....	41
Şekil 7. Grupların deney başlangıcı ve deney sonundaki Kan/Glukoz seviyeleri.....	42
Şekil 8. Kontrol proöstrus grubuna ait uterus kesiti (H&E).....	44
Şekil 9. Kontrol proöstru grubuna ait uterus kesitleri (H&E).....	44
Şekil 10. Kontrol östrus grubuna ait uterus kesiti (H&E).....	45
Şekil 11. Kontrol östrus grubuna ait uterus kesitleri (H&E).....	45
Şekil 12. Diyabet proöstrus grubuna ait uterus kesiti (H&E).....	46
Şekil 13. Diyabet proöstrus grubuna ait uterus kesitleri (H&E).....	46
Şekil 14. Diyabet östrus grubuna ait uterus kesiti (H&E).....	47
Şekil 15. Diyabet östrus grubuna ait uterus kesitleri (H&E).....	47
Şekil 16. Kontrol proöstrus grubuna ait uterus kesiti (Masson Trikrom).....	49
Şekil 17. Kontrol östrus grubuna ait uterus kesiti (Masson Trikrom).....	49
Şekil 18. Diyabet proöstrus grubuna ait uterus kesiti (Masson Trikrom).....	50
Şekil 19. Diyabet östrus grubuna ait uterus kesiti (Masson Trikrom).....	50
Şekil 20. Kontrol proöstrus grubuna ait uterus kesiti (PAS).....	52
Şekil 21. Kontrol östrus grubuna ait uterus kesiti (PAS).....	52

Şekil 22. Diyabet proöstrus grubuna ait uterus kesiti (PAS).....	53
Şekil 23. Diyabet östrus grubuna ait uterus kesiti (PAS).....	53
Şekil 24. Grupların uterus lümen çap ortalaması.....	54
Şekil 25. Grupların uterus lümen epiteli uzunluk ortalaması.....	55
Şekil 26. Grupların uterus kesitlerinde Vitronektin molekülünün dağılımı.....	56
Şekil 27. Kontrol proöstrus grubuna ait uterus kesiti (Anti-Vitronektin Antikoru).....	58
Şekil 28. Kontrol östrus grubuna ait uterus kesiti (Anti-Vitronektin Antikoru).....	58
Şekil 29. Diyabet proöstrus grubuna ait uterus kesiti (Anti-Vitronektin Antikoru).....	59
Şekil 30. Diyabet östrus grubuna ait uterus kesiti (Anti-Vitronektin Antikoru).....	59
Şekil 31. Kontrol proöstrus grubuna ait uterus kesiti (Anti-Vitronektin Antikoru).....	60
Şekil 32. Kontrol östrus grubuna ait uterus kesiti (Anti-Vitronektin Antikoru).....	60
Şekil 33. Diyabet proöstrus grubuna ait uterus kesiti (Anti-Vitronektin Antikoru).....	61
Şekil 34. Diyabet östrus grubuna ait uterus kesiti (Anti-Vitronektin Antikoru).....	61
Şekil 35. Grupların uterus kesitlerinde uPAR molekülünün dağılımı.....	62
Şekil 36. Kontrol proöstrus grubuna ait uterus kesitleri (uPAR).....	64
Şekil 37. Kontrol östrus grubuna ait uterus kesiti (uPAR).....	64
Şekil 38. Diyabet proöstrus grubuna ait uterus kesiti (uPAR).....	65
Şekil 39. Diyabet östrus grubuna ait uterus kesiti (uPAR).....	65
Şekil 40. Kontrol proöstrus grubuna ait uterus kesiti (uPAR).....	66
Şekil 41. Kontrol östrus grubuna ait uterus kesiti (uPAR).....	66
Şekil 42. Diyabet proöstrus grubuna ait uterus kesiti (uPAR).....	67
Şekil 43. Diyabet östrus grubuna ait uterus kesiti (uPAR).....	67
Şekil 44. Kontrol proöstrus grubuna ait elektron mikroskopik mikrogram.....	69
Şekil 45. Kontrol östrus grubuna ait elektron mikroskopik mikrogram.....	69

Şekil 46. Diyabet proöstrus grubuna ait elektron mikroskopik mikrograf.....70

Şekil 48. Diyabet östrus grubuna ait elektron mikroskopik mikrograf.....70

TABLO DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Doku Takip Protokolü.....	33
Tablo 2. Hematoksilen Eozin Boyama Protokolü.....	34
Tablo 3. Masson Trikrom Boyama Protokolü.....	35
Tablo 4. Periodik Asid Schiff (PAS) Boyama protokolü.....	36
Tablo 5. Semikantitatif İmmunohistokimyasal Skoriama.....	38
Tablo 6. Grupların uteruslarında vitronektin dağılımı ortalaması.....	57
Tablo 7. Grupların uteruslarında uPAR dağılımı ortalaması.....	63

KISALTMALAR

uPAR.....	Ürokinaz Plazminojen Aktivatör Reseptör
uPA.....	Ürokinaz Plazminojen Aktivatör
tPA.....	Doku Plazminojen Aktivatör
µm.....	mikrometre
CAM.....	Cell Adhesion Molecule (Hücre Adezyon Molekülleri)
D.Proöstrus.....	Diyabet Proöstrus
DAB.....	3,3'-Diaminobenzidine
DET FAB.....	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Birimi
Db/db.....	Diyabet mutasyonu
DNA.....	Deoksiribonükleik asit
DM.....	Diabetes Mellitus
ECM.....	Ekstrasellüler Matriks
EGF.....	Epitelyal Growth Factor
E2.....	Estradiol
FSH.....	Folikülleri Uyarıcı Hormon
GPI.....	Glycosylphosphatidylinositol
GnRH.....	Gonadotropik Serbestleştirici Hormon
GIGT.....	Gebelik glikoz toleransı
HOXA.....	Homeobox A
HB-EGF.....	Heparin Bağlayıcı Epitelyal Growth Factor
H&E.....	Hematoksilen Eosin
HIV.....	Human Immunodeficiency Virus (İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü)

JAM.....Junctional Adezyon Molekülü
KD.....Ketonürik Diyabet
K.Proöstrus.....Kontrol Proöstrus
L.....Lümen
LE.....Lümen Epiteli
LH.....Luteinizan Hormon
PAI.....Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
PAs.....Plazminojen Aktivatör Sistem
PAS.....Periodic Asid Shiff
PBS.....Phosphate Buffered Saline
pH.....Power of Hydrojen (Hidrojenin Gücü)
RGD.....Arjinin-Glisin-Aspartik asit
SRY.....Sex-determining Region on Y
STZ.....Streptozotosin
TBF.....Testis Belirleyici Faktör
WHO.....Dünya Sağlık Örgütü

DİYABETİK SIÇANLARDA uPAR VE VİTRONEKTİN MOLEKÜLLERİNİN ENDOMETRİYUMDAKİ DAĞILIMLARININ İNCELENMESİ

Pınar AKOKAY

**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilimdalı,
Narlidere, İzmir.**

ÖZET

Amaç:

Bu çalışmada streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan sıçanlarda, implantasyon öncesi proöstrus ve östrus dönemlerinde uterus dokusunda uPAR ile vitronektin moleküllerinin uterus lümen epiteli, bez epiteli ve stromadaki dağılımlarını immunhistokimyasal olarak incelemeyi amaçladık. Ayrıca, diyabette implantasyon öncesi süreçte uterusda meydana gelen histomorfolojik değişiklikleri histokimyasal, ultrastrüktürel yöntemlerle araştırdık.

Yöntem:

Deneyisel modelimizde 28 adet Wistar suşu dişi sıçan kullanıldı. Denekler 4 gruba (n=7) ayrıldı. Deneklere vaginal smear yöntemi uygulanarak siklus tayini yapıldı ve uygun dönemdeki denekler seçilerek sakrifiye edildi. Grup 1 (kontrol grubu); hiç birşey uygulanmadan, siklusun proöstrus safhasında uterus doku örnekleri alınan grup. Grup 2 (kontrol grubu); hiç birşey uygulanmadan, siklusun östrus safhasında uterus doku örnekleri alınan grup. Grup 3 (diyabet grubu); deneklere intraperitoneal olarak sodyum sitrat içinde çözünmüş STZ (45 mg/dl) uygulandıktan 8 hafta sonra proöstrus safhasında uterus doku örnekleri alınan grup. Grup 4 (diyabet grubu); deneklere intraperitoneal olarak sodyum sitrat içinde çözünmüş STZ (45 mg/dl) uygulandıktan 8 hafta sonra östrus safhasında uterus doku örnekleri alınan grup. Tüm denekler 8 haftalık deney uygulanmasından sonra sakrifiye edildi. Histokimyasal incelemeler için hematoksilen ve eozin (H&E), masson trikrom ve periyodik asit schiff (PAS), immünohistokimyasal olarak da uPAR ve vitronektin antikorları ile boyamalar yapıldı, uterus ince yapısı ultrastrüktürel düzeyde incelendi.

Bulgular:

Yapılan histokimyasal ve ultrastrüktürel incelemelerde kontrol proöstrus ve östrus gruplarında normal uterus yapısında olduğu gözlemlendi. Diyabet proöstrus ve östrus gruplarında, uterus lümen çapında daralma, lümen epiteli hücrelerinin boylarında kısalma, bağ dokusunda artış ve ince yapı düzeyinde uterus lümenini döşeyen epitelde ve hücre bağlantılarında yapısal değişiklik bulundu. Yapılan immunohistokimyasal incelemeler sonucu, vitronektin molekülünün diyabet proöstrus grubunda, kontrol grubuna göre tutulumunun azaldığı, diyabet östrus grubunda, kontrol grubuna göre vitronektin molekülünün tutulumunun arttığı gözlemlenmiştir. uPAR molekülünün ise, diyabet proöstrus grubunda, kontrol grubuna göre tutulumunun arttığı, diyabet östrus grubunda, kontrol grubuna göre yine uPAR molekülünün tutulumunun arttığı gözlemlenmiştir.

Sonuç: Elde ettiğimiz verilere dayanarak diyabetin implantasyon öncesi süreçte uterus doku hasarı oluşturduğu ve implantasyon için gerekli olan vitronektin ve uPAR moleküllerinin, uterus dokusundaki dağılımlarını etkilediğini gözlemledik.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, proöstrus, östrus, uPAR, vitronektin.

INVESTIGATION OF uPAR AND VITRONECTIN MOLECULES IN ENDOMETRIUM OF DIABETIC RATS

PINAR AKOKAY

Dokuz Eylul University, Medical Faculty, Department of Histology and Embriology
Narlıdere, İZMİR

ABSTRACT

Summary:

We aimed to investigate the expressions of the uPAR and vitronektin molecules immunohistochemically in STZ diabetic rats uterine tissues lumen of the epithelium, glandular epithelia and stroma before the proestrus and estrus preimplantation periods in this study. In addition, examine the histomorphologic changes that occurred before the implantation process in diabetic uterine by histochemical and ultrastructural techniques.

Objective:

28 wistar female rats were used in this experiment. Animals were divided into 4 groups by using vaginal smear method and the rats which were in the convenient phase were sacrificed. Group 1 (control group): This group of which uterus tissue samples were taken in phase of proestrus of cycle by applying nothing. Grup 2 (control group): This the group of which uterus tissue samples wer taken at phase of estrus of cycle by doing nothing. Group 3(diabet group): This is the group of which uterus tissue samples were taken at the phase of proestrus 8 weeks after applying STZ (dissolved in sodium sitrate) given intraperitoneally which. Group 4 (diabet group): This is the group which uterus tissue samples were taken at the estrus phase 8 weeks after applying STZ (dissolved in sodium sitrate) which was given intrapritoneally. All rats were sacrificed 8 weeks after applying the experiment. For the histochemical investigation, hematoxylin eozin (H&E), Masson Tricrom, periodic asit shiff (PAS), stainings were done with vitronektin and uPAR antibodies for immunohistochemical staining. Thin sections were taken for ultrastructural examination.

Result:

As a result of investigations, immunohistochemical distribution of vitronectin molecules in diabet proeustrus group reduced when comparison to control group. In diabet proeustrus group immunopositive vitronectin molecules increased in comparison with control group. As for uPAR molecules in diabet proeustrus group, immunopositivity increased when compared to control group, in diabet eustrus group increase of uPAR immunopositivity seen in comparison with control group.

Conclusion:

Depending on the data we obtained; we observed that diabet causes uterus tissue damage in the period of preimplantation and molecules of vitronectin and uPAR were necessary for implantation in uterus tissue.

Key words: Diabetes, proeustrus, eustrus, vitronectin, uPAR

1.GİRİŞ VE AMAC

Diabetes Mellitus (DM), hiperglisemi, dislipidemi, glikozüri ve bunlara eşlik eden bir grup metabolik bozukluğu içine alan kronik bir metabolik hastalıktır. Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması yapıldığında hastalığın etyolojisi ve patogenezi göz önüne alınır. Diyabetin bütün tipleri hiperglisemi ile karakterizedir ancak hipergliseminin ortaya çıkış mekanizmaları farklılık gösterir (1). Diyabetin bazı formları mutlak insülin yetersizliği veya insülin sekresyonunda kusura yol açan genetik bir hata ile karakterize iken, bazı formlarında da insülin direnci söz konusudur. Diyabet esas olarak tip 1 ve tip 2 diyabet olarak sınıflandırılmaktadır (2,3). Bunlar dışında gebelik öncesi tanımlanan pregestasyonel diyabet ve gebelik diyabeti olarak adlandırılan gestasyonel diyabet türleri bulunmaktadır.

Gestasyonel diyabet gebelik sırasında gelişen glikoz tolerans bozukluğudur. Kalıtım yoluyla beta hücre rezervindeki azalma, pankreasın plasenta hormonları tarafından oluşturulan insülin direncini kırabilecek miktarda insülin salgılayamamasının sonucudur. Gebeliklerin %2-5'inde görülür ve tedavi edilmezse fetal makrozomi, hipoglisemi, hipokalsemi ve hiperbilirubinemiye yol açabilir (3,4). Bu da dişi üreme sisteminin yapısını ve bütünlüğünü ayrıca implantasyondan doğuma kadarki süreçte hem fetusu hem de anneyi etkilemektedir.

Diyabetin dişilerde uterusun moleküler yapısı ve endometriyal siklus düzenininde etkileri olduğu düşünülmektedir. Endometriyal siklusun bozulması sonucunda preimplantasyon ve implantasyon süreçlerinde başarısızlığa neden olabilmektedir. Literatürü incelediğimizde, genetik olarak ketonürik diyabet (KD) olan çin hamsterlarında yapılan çalışmalarda, uterus morfolojisindeki değişiklikler çalışılmış ve diyabet olmayan hamsterlarla karşılaştırıldıklarında KD'li hamsterların uterus yüzeylerinde mikrovillus bulunmadığı ve sekresyon aktivitesi olmadığı saptanmıştır. Bu epiteli döşeyen bazal laminasının kalınlığında kontrol grubuna göre 2-5 kat artış görülmüştür. KD'li hamsterların uterusunda bozulma ve hücreler arası matrikste artış saptanmıştır (5). Başka bir çalışmada 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 (6).

Ayrıca diyabetten etkilenen endometriyal yapının çok miktarda artan hücre içi ve hücreler arası lipid birikimleri ile karakterize olduğu gösterilmiştir. Bunların; interstisiyel

perivasküler sızıntı ve daha sonra da çok miktarda trigliserid emilimi ve serbest yağ asidi konsantrasyonunun artması sonucu oluştuğu düşünülmüştür (7). Tüm bu durumların üremede başarısızlığa yol açabileceği fikrini ortaya koymuştur.

Ürokinaz plazminojen aktivatör (uPA) sistem; hücre invazyonunda, adhezyonunda ve göçünde çok önemli rol oynayan bir proteindir. uPA sistemi başlıca ürokinaz plazminojen aktivatör (uPA), ürokinaz plazminojen aktivatör reseptörü (uPAR) ve iki büyük ürokinaz plazminojen aktivatör inhibitörlerinden (PAI-1 and PAI-2) oluşur (8). uPA anjiogeneizde etkili olan metalloproteinazların ve çeşitli büyüme faktörlerinin aktivasyonuna katkıda bulunan bir serin proteazdır (9). Bir hücre yüzey reseptörü olan ürokinaz plazminojen aktivatör reseptörü (uPAR) ekstraselüler proteolizisi düzenlemekle birlikte integrin aktivitesinde ve sinyalinde görev alır, böylece hücre-ECM homeostazına katılır (10). uPAR epiteliyal, endotelial ve birçok hematopoiezis hücreleri tarafından eksprese edilen glycosylphosphatidylinositol (GPI) ile bağlanan hücre yüzeyi reseptörüdür (11). Chapman ve arkadaşları uPAR'ın fibrinojen, kollajen, vitronektin ve fibronektin ile sırasıyla $\alpha M\beta 2$, $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$ ve $\alpha 5\beta 1$ aracılığı ile hücre adhezyonunu düzenlediğini göstermişlerdir (10). uPA seviyesi endometriyumda erken/orta sekresyon fazında, proliferatif faza göre daha azdır ve ayrıca uPA seviyesi geç sekresyon ve menstrüel fazda azalmıştır. uPAR ise tüm siklus boyunca epiteliyal hücrelerinden sentezlenir. Sekretuar fazda stromal hücrelerden sentezlenir ve epitel hücrelerine bağlanır (12).

Hücre adhezyon molekül ailesi (CAM); integrinler, kadherinler, selektinler ve immünglobülinlerdir (9). İntegrin ailesi kovalent olmayan bağlarla bağlanmış α ve β alt ünitelerinden oluşan transmembran glikoproteinleridir (13). Memelilerde tanımlanmış 18 α ve 8 β zinciri vardır. Bunlar birbirleri ile eşleştirildiğinde 24 tane farklı fonksiyona sahip heterodimer oluştururlar (14).

Ligand spesifitelerine göre memeli integrinleri laminin bağlayıcı integrinler ($\alpha 1\beta 1$, $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$, $\alpha 7\beta 1$ ve $\alpha 6\beta 4$), kollajen bağlayıcı integrinler ($\alpha 1\beta 1$, $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 10\beta 1$ ve $\alpha 11\beta 1$), lökosit integrinler ($\alpha L\beta 2$, $\alpha M\beta 2$, $\alpha X\beta 2$ ve $\alpha D\beta 2$) ve arjinin-glisin-aspartik asit (RDG) tanıyıcı integrinler ($\alpha 5\beta 1$, $\alpha V\beta 1$, $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$, $\alpha V\beta 6$, $\alpha V\beta 8$ ve $\alpha II\beta b3$) olarak gruplara ayrılabilir (15).

İntegrin resptörlerinin birçoğu ECM bileşenlerinde gözlenen tripeptid, arjinin-glisin-aspartik asid (RGD) dizisini tanır. ECM ve integrinler arasındaki bu etkileşim hücre

iskeletinde sinyal dönüşümü için önemli değişiklikleri indükler (16). $\alpha 5\beta 1$, $\alpha V\beta 1$, $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$, $\alpha V\beta 6$, $\alpha V\beta 8$, $\alpha IIb\beta 3$ heterodimerlerini içeren integrin ailesinin çoğu üyesi ligandlarındaki RGD dizisini tanır (17). $\alpha V\beta 3$ integrin, RGD etkileşimi ile vitronektin, fibronektin, fibrinojen, osteopontin, trombospondin ve von Willebrand faktör (faktör VIII) gibi çok farklı ligandlara bağlanabilir (18,19). $\alpha V\beta 3$ integrin endometriyumun luminal epitlinde en iyi karakterize edilen hücre adhezyon molekülüdür. Fare ve tavşan modellerinde $\alpha V\beta 3$ integrinin blokajı implantasyonu bozar (20).

Vitronektin birçok fonksiyona sahip kanda ve ekstraselüler matrikste bulunan bir glikoproteindir. Vitronektin glikozaminoglikanlara, kollajene, plazminojene ve ürokinaz reseptörüne bağlanır ayrıca inhibitör etkili plazminojen aktivatör inhibitör-1'i stabilize eder (21). Vitronektin 459 aminoasitten oluşan 75 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Proteinin yaklaşık 1/3'ü karbonhidrattan oluşmaktadır. Vitronektin üç adet glikolizasyon bölgesi içerir. Somatomedin B olan N-terminal ucu (1-39), hemopeksin ile homoloji gösteren merkez kısmı (131-342) ve yine hemopeksin ile homoloji gösteren C-terminal ucu (347-459) (22). Vitronektinin somatomedin B ucu arjinin-glisin-asparjin sekansı (RGD) içerir. Bu sekans ekstraselüler matriksteki yayılan hücrelerin bağlanmasına aracılık eder (21).

İnsan vitronektini ile tavşan ve fare vitronektini ~%80 homoloji gösterir (23). Vitronektin kollajen bağlama ve heparin bağlama kısımları ile ekstraselüler matrikse bağlanır ve integrin $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$, $\alpha V\beta 1$, $\alpha IIb\beta 3$, $\alpha V\beta 6$ ve $\alpha V\beta 8$ etkileşimi ile hücre adhezyonu, yayılması ve göçünde görev alır (24,25). Ayrıca vitronektin embriyonik gelişim, yara iyileşmesi, dokunun yeniden yapılanmasında, tümör metastazında, aterosklerozis ve immün defansta rol alır (26). Vitronektin, reseptörü spesifik bir integrin olup $\alpha v\beta 3$, menstrüel siklusun 19. günü endometrial epitelde belirlemektedir. Bu ekspresyonun başlangıcı varsayılan açık implantasyon penceresine denk gelmektedir. Bu da bu vitronektinin implantasyonda önemli rol oynadığı sonucunu göstermektedir (27).

Literatürde diyabetik uterus, vitronektin ve uPAR moleküllerine ve bunların etkileşimlerine ait çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda, endometriyal siklus değişiklikleri göz önüne alınarak, implantasyon öncesi süreçte (proöstrus ve östrus dönemlerde) uterus dokusundaki ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik değişiklikleri ve uPAR ile vitronektin moleküllerinin uterus lümen epiteli, bez epiteli ve stromadaki dağılımlarını inceledik. Bu konuda elde edilen verilerin literatüre, diyabetin moleküler etkileşimleri ile ilgili katkısı olacağı inancındayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus

2.1.1. Uterus Embriyolojisi

Kromozomal ve genetik cinsiyet, X kromozomuna sahip ovumun X veya Y kromozomu taşıyan spermle fertilizasyonuna bağlıdır. 7. Haftadan önce gonadların görünümü her iki cinste de birbirine benzer, dolayısıyla ‘farklanmamış gonadlar’ olarak adlandırılırlar (28).

Gonadlar (testisler ve overler) üç kaynaktan köken alırlar.

1. Posterior abdominal duvarı döşeyen mezotel (mezodermal epitel)
2. Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
3. Pimordiyal germ hücreleri

Cinsiyetin farklanması, bazıları otozomal olan çok sayıda genin rol oynadığı kompleks bir süreçtir. Seksüel dimorfizmin anahtarı kısa kolunda (Yp11) SRY genini (sex-determining region on Y) taşıyan Y kromozomudur. Bu genin protein ürünü rudimenter durumdaki cinsiyet organlarının kaderini belirleyen genleri harekete geçiren bir transkripsiyon faktörüdür. SRY proteini testis belirleyici faktördür (TBF). Bu faktörün varlığıyla fetusun cinsiyeti erkek tipinde, yokluğunda da kız tipinde gelişir (29).

Gelişimin 5.-6. haftalarında, genital sistem farklanmamış safhadadır ve iki çift genital kanal bulunmaktadır. Mezonefrik kanallar (Wolffian kanalı), erkek üreme sisteminin gelişiminde önemli yer tutarken, paramezonefrik kanallar (müllerian kanalı) dişi üreme sistemi gelişiminde rol oynamaktadır (28). Dişilerde ana genital kanallar paramezonefrik kanallardan oluşur. Başlangıçta her kanalda üç kısım tanımlanabilir.

1. Karın boşluğuna açılan kranial vertikal parça
2. Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal kısım
3. Karşı taraftan gelen eşyle birleşen kaudal vertikal kısım

Overlerin aşağı inişi ile birlikte ilk iki kısımdan uterus tüpleri (fallop tüpleri) gelişir (29). Kanalların kaudal, birleşmiş kısımlarından ise, uterovaginal primordiyum farklanır. Bu yapı, adından da anlaşılacağı gibi, uterus ve vajinayı (vajina'nın suprior kısmı) oluşturur. Endometriyal stroma ve miyometriyum, komşu splanik mezenşimden gelişmektedir. Mezonefrik kanalların birleşmesi ile eş zamanlı olarak, iki peritoneal katlantı da birleşir,

böylece ligamentum latum uteri (broad lig.) ligament ile, iki peritoneal kompartman olan, rektouterin ve vesikouterin çukurlar meydana gelir. Uterus uzunluğu boyunca yanlarda, ligamentum latum uteri (broad lig.) arasında, mezenşim proliferer olur ve differensiyasyon olarak gevşek bağ dokusu ve düz kastan oluşan, hücresel bir doku olan parametriumu oluşturur (28).

2.1.2. Uterus Anatomisi

2.1.2.1. Yeri ve Yakın Komşuluğu

Pelvis minor'un, tam ortasında yerleşmiş duvarları kalın kas tabakası ile sarımsı bir organdır. Uterus rektumun önünde, vesica urinarianın arkasında ve vaginanın üstünde yer alır. Üstten ise bağırsak kıvrımları ile komşudur. Bununla birlikte uterusun durumu ve yakın komşuluğunda bulunan organların özellikle mesane ve rektumun dolu veya boş oluşuna göre değişir. Uterusun üst bölümü tuba uterina ile, pelvis içindeki bölümü vagina ile devam eder.

2.1.2.2. Boyutları

Hiç doğum yapmamış bir kadınla (nullipara) bir ya da daha fazla doğum yapmış kadınlarda (primipara ve multipara) uterusun boyutları değişiklik gösterir. Hamilelik döneminde uterusun hacmi, şekli ve pozisyonu değişir. Nullipara'da uterusun boyu 6-7 cm iken, eni corpus uteride 4 cm; cervix uteride ise 2,5 cm'dir. Ön-arka kalınlığı ise yaklaşık 2,5-3 cm, ağırlığı 40-45 gr'dır. Primipara veya multiparada ise uterusun boyu 8 cm eni corpus uteride 5cm, cervix uteride 3 cm, kalınlığı 3-3,5 cm ve ağırlığı ise 55-65 gram'dır. Ancak menapoz sırasında uterus tekrar küçülerek nulliparadaki boyutlarına geriler ve hatta daha da küçülebilir. Bu olay menapoz döneminde dişi cinsiyet hormonlarının yetersizliği ile açıklanabilir.

2.1.2.3. Şekil ve Konumu

Uterus tabanı yukarıda, tepesi aşağıda ters konumlu bir armuta benzer. Önden ve arkadan hafif basıkçadır. Organın uzun eksenini orta planda yerleşim göstermekle beraber, uterusun pelvis eksenine uyum ve öne aşağıya bakan bir konkavitesi vardır. Bununla birlikte uterusun durumu ve yakın komşuluğunda bulunan organların özellikle mesane ve rektumun dolu veya boş oluşuna göre değişir. Uterusun uzun eksenini, fundus uteri ile ostium uteri internum arasında uzanan hattır.

Normal konumlu uterusun corpus uterinin uzun eksen ve cervix uterinin uzun eksen arasında açıklığı aşağı ve öne bakan yaklaşık 100-170 derecelik bir açı vardır. Uterusun açıklığı öne doğru bir eğim göstermesine anteflexio adı verilir.

Uterusun uzun eksen ile vaginanın uzun eksen arasında da açıklığı öne bakan yaklaşık 90-110 derecelik başka bir açı vardır. Anteversio denilen bu durum uterusun vaginaya göre öne doğru eğilmesidir. Uterusun normal konumu anteflexio ve anteversio durumudur. Kadın ayakta iken uterus yatay pozisyonundadır.

2.1.2.4. Hacmi

Doğum yapmamış kadınların uterusları 5-6 cm³ sıvı olacak şekilde iken, gebelikte fetüs ve eklerini alacak kadar genişler (30).

2.1.2.5. Uterusun Anatomik Bölümleri

2.1.2.5.1. Corpus Uteri

Karın boşluğuna serbest olarak uzanan tuba uterinanın uterus giriş kısmının üstünde kalan yuvarlak bölümüne fundus denir. Korpus, fundustan isthmusa doğru daralır. Ön yüzü; mesaneye bakar, bu yüzü saran periton aşağıya doğru serviks kadar inerek mesane arka yüzüne atlar. Arka yüzü: çok konvektir, periton bu yüzde aşağı inerek serviks ve vaginanın üst bölümünü sardıktan sonra rektum ön yüzüne atlar. Bu yüz ince barsak kıvrımları ile komşudur. Fundus, bütün yönlerde konvektir. Üst uçlarında, tuba uterinalar uterus açılırlar. Bunun biraz alt kısmına ligamentum teres uteri tutunmuştur. Üst kısmına ise ligamentum ovarii proprium tutunur. Bunların hepsi ligamentum latum uteri içindedirler (31,32).

2.1.2.5.2. Cervix Uteri

İsthmusun altındaki kısımdır, 2 cm uzunluğundadır. Vaginanın içine invaginasyon gösterir. Portio supravaginalis cervicis; önde mesaneden fibröz bir dokuyla ayrılmıştır. Portio vaginalis; vaginanın içine invagine olmuş kısımdır, ağzında ostium uteri bulunur. Ostium uteri, labium anterius ve labium posterius adlı iki dudakla çevrilidir. Arka dudakla vagina arasındaki çıkmaza, fornix posterior denir. Cavum uteri ise fundus kısmında bir üçgen şeklindedir, aşağıda bir kanal haline dönüşür. Canalis Cervicis Uteri, ortada daha geniş,

uçlarda dardır. Ostium internum aracılığıyla kavum uteriye, ostium uteri aracılığıyla vaginaya açılır (31,32).

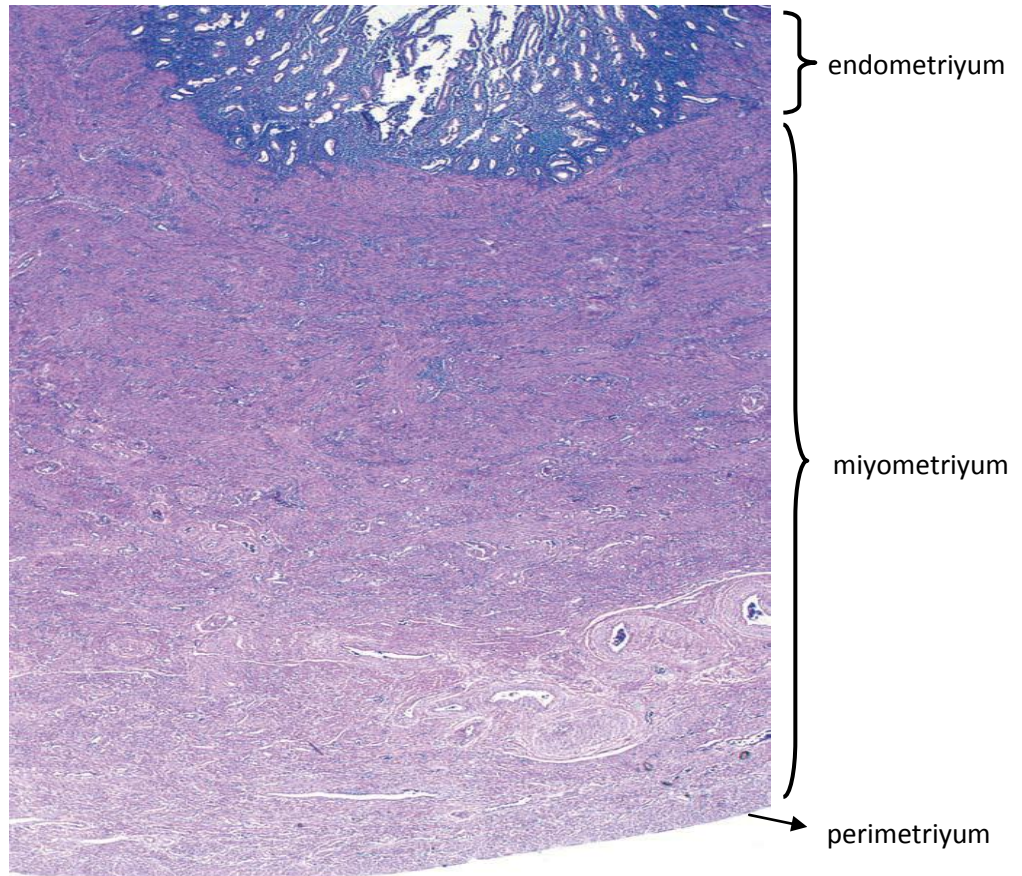
2.1.3. Uterus Histolojisi

Embriyonun doğuma kadar içinde geliştiği, kalın müsküler duvarlı, armut biçimli organdır. Kavitesi yassıdır. st yan taraflarından sağlı sollu tuba uterinalara açılır (33).

Uterus histolojik olarak  katmandan oluşur;

- Perimetrium (tunika seroza)
- Miyometriyum (tunika muskularis)
- Endometriyum (tunika mukoza).

Perimetrium, uterusu çevreleyen dış seröz tabakası ya da peritonun visseral yaprağıdır. Pelvik ve abdominal periton ile devam eder. Mezotel ve ince bir gevşek bağ dokusu içerir (34).



şekil 1: Uterusun histolojik yapısı (34)

Miyometrium en kalın tabakadır. Spiral, longitudinal ve sirküler düz kas fibrilleri, birbirinden keskin sınırlar ile ayrılmayan 4 tabaka oluşturur.

1.Stratum Submukozum: Mukozaya komşu kas tabakası, kas fibrilleri longitudinaldır.

2.Stratum Vaskulare: Birçok büyük kan damarı bulunan, kas fibrillerinin sirküler yönlü olduğu tabakadır.

3.Stratum Supra Vaskulare: Hem sirküler, hem longitudinal kas fibrillerinin bulunduğu ince bir tabakadır.

4.Starum Subserozum: Serozaya komşu, longitudinal düz kas fibrilleri tabakasıdır (33).

Miyometriyum, fundus ve korpusun orta bölümlerinde daha kalın iken tuba uterinanın (pars intramuralis tuba uterina) açılış yerinde daha ince bir yapı gösterir (35).

Gebe olmayan uterusda düz kas hücrelerinin boyu yaklaşık 50 μm 'dir. Gebelik sırasında uterus çok büyük bir genişlemeye uğrar. Büyüme ilk olarak var olan düz kas hücrelerinin hipertrofisinden dolayı olur. Düz kas hücreleri 500 μm 'den daha fazla boya ulaşır ve ikinci olarak var olan kas hücrelerinin bölünmesi ile yeni fibrillerin oluşması ve farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin farklılaşması ile büyüme olur. Bağ dokusu miktarı artmaktadır (34). Gebelik esnasında birçok düz kas hücresi protein salgısı yapan hücrelerin ultrastrüktürel özelliklerini gösterir ve aktif kollajen sentez ederler. Gebelik sonrasında, bazı düz kas hücrelerinde harabiyet, diğerlerinin boyutlarında azalma ve kollajenin enzimatik yıkımıyla uterusun boyutları gebelik öncesine yakın değerlere iner (36). Gebe olmayan kişilerde uterus kontraksiyonları, hissedilemeyecek kadar azdır. Kontraksiyonlar cinsel uyarı ya da menstruasyon sırasında artarak krampa benzer ağrı olarak ortaya çıkar (33). Doğum sırasındaki uterus kasılmaları ise hormonal olayların sonucu gerçekleşir. Kortikotropik hormon etkisiyle miyometriyum ve fetal membranlar prostaglandinleri üretirler. Hipofiz bezi oksitosin hormonunu salgılar. Prostaglandinler ve oksitosin uterus kasılmalarını düzenler (37).

Endometriyumun başlıca görevi, fertilize ovumun implantasyonu için elverişli yatak oluşturmak, implantasyona katılmak ve maternal plasentayı yapmaktır (33). Endometriyum, epitel ile basit tübüler bezler içeren lamina propriadan oluşur. Bezler miyometriyuma yakın alt bölümlerinde bazen dallanmalar gösterir (36). Lamina propria yoğun, düzensiz kollajen lifler içeren bol hücreli, fibroblastlardan zengin, gevsek bağ dokusu yapısındadır. İğ biçimli

bağ dokusu hücreleri, makrofajlar, lökositler ve çok sayıda retiküler lifler içerir. Endometriyumun lamina propriası düzensiz sıkı bağ dokusudur. Retiküler liflerden ve bağ doku hücrelerinden zengindir (37). Hücrelerarası madde çoktur. Proliferasyon ve sekresyon evresinde glikozaminoglikanlar fazladır (38).

Üreme dönemi boyunca, endometriyum yapı ve işlev bakımından farklı iki tabaka ya da zon içerir.

-Stratum fonksiyonale ya da fonksiyonel tabaka, endometriyumun kalın tabakası olup, menstruasyon ile dökülür.

-Stratum bazale ya da bazal tabaka, menstruasyon boyunca korunur ve stratum fonksiyonalenin rejenerasyonu için kaynak oluşturur (34).

Fonksiyonel tabaka bezlerinde epitel kökenli dört tip hücre bulunur. Bunlar; proliferatif hücreler, salgı oluşturan hücreler, silyalı hücreler, ve bazal hücrelerdir (39). Proliferatif ve bazal hücrelerin çekirdek kromatinleri yoğundur ve belirsiz bir çekirdekçik içerirler. Sitoplazmaları bazofiliktir. Proliferasyon evresinde hücre sayısı artar ve çekirdeklerin çokluğu nedeniyle bez epitelinde yalancı çok katlı epitel görünümü oluşur (38).

Salgı hücre sitoplazmaları, müsinöz olmayan salgı içerir. Salgı önce çekirdek altı sitoplazmada birikir. Bu hücreler vakuollü, vakuolsüz ve tuba uterina hücrelerine benzer hücreler olarak üç farklı yapıdadır. Vakuolsüz hücrelerin çekirdekleri yuvarlaktır. Kromatin içerikleri homojen dağılmıştır. Çekirdekçikleri belirgin, sitoplazmaları eozinofiliktir. Vakuollü hücrelerin çekirdekleri ise proliferatif hücrelerinkine benzer (40,38). Silyalı hücreler proliferasyon evresinde daha belirgindir. Genç silyalı hücreler bazal laminaya yakın piramit şekillidir. Sitoplazmaları şeffaf açık renktedir. Salgı evresinde ince yapı düzeyinde dev mitokondriyonlar ve çekirdeklerinde kanal sistemi tanımlanmıştır (38).

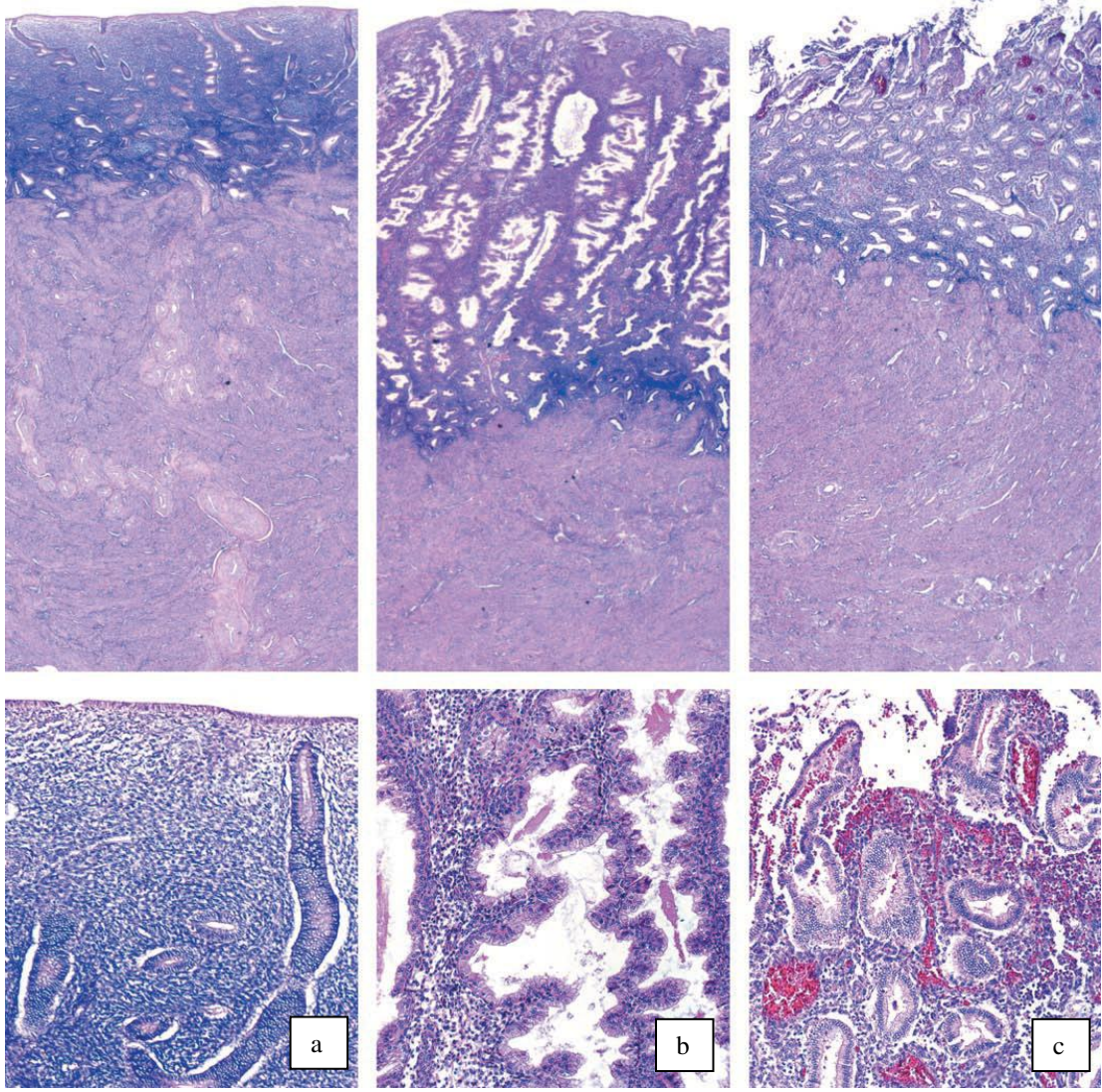
Gebelik ve sekresyon evresinde fonksiyonalis katmanı iki kattan oluşur. 2/3 üst bölümü bezlerin daralıp kapanmış boyun bölgelerini içerir ve kompakt tabaka adını alır. Alt bölüm ise süngerimsi yapıdadır ve spongiöz tabaka (str. spongiosum endometriae) denir (36).

Endometriyum yeni doğanda genellikle proliferasyon evresindeki görünümündedir. Doğumdan sonra iki hafta içinde bu, gerileme gösterir. Endometriyum, incilir ve aktif olmayan bezler içerir (38). Puberte de önce endometriyum epiteli tek katlı, alçak kübiktir ve ince bir stroma ile desteklenir. Epitel de stromaya doğru çökmüş az sayıda tübüler bezler görülür (41). Doğurganlık evresinde epitel hücreleri, stromal hücreler ve damarlar hızlı bir şekilde çoğalır. Her menstrüal döngüde endometriyumun yüzeyel üçte ikilik kısmı dökülerek,

bazalis tabakasından yenilenir. Endometriyum menarş ve menapoz arasında, tek katlı prizmatik epitel ve altda lamina propriyadan oluşmaktadır. Miyometriyum ve endometriyum menopozda, atrofiye uğrar ve endometriyum bezleri düzleşir. Bezler büyük oranda kaybolarak doku daha fibrotik bir görünüm alır (42).

Ergenlik çağındaki kadınlarda hipofiz ön lobunun uyarımı altındaki ovaryum hormonlarının etkisiyle endometriyumda döngüsel değişimler olur. Buna menstrüal ya da uterinal döngüde denir. Menstrüal döngüler, ovum üretimi ile bağlantılıdır. Bu nedenle dişi sadece menstrüasyon gördüğü yıllarda doğurgandır. Pratik olarak menstrüal döngünün başlangıcı menstrüal kanamanın görüldüğü gün olarak alınır. Menstrüal döngü 12-15 yaşlarda başlar ve menopoza değin sürer (36). Endometriyum ortalama 28 günde 3 evresel değişiklik gösterir (37).

Proliferatif evre; döngünün 5 ile 14'üncü günleri arasında gerçekleşir. Ovaryum folliküllerinin gelişmesi ve östrojen hormonun üretimi ile ilgili evredir. Tüm evre boyunca hücresel çoğalma ile bezler ve endometriyumun yüzey epiteli artar (36). Proliferatif evrenin erken döneminde endometriyum genellikle 2 mm den daha incedir. Tek katlı prizmatik epitel hücreleri içeren salgı bezleri dardır ve tübüler bezler bazal katmandan endometriyal boşluğun yüzeyine kadar genelde düz ve birbirlerine karşıt yönde uzanırlar (42). Bez hücrelerinde granüllü endoplazmik retikulum sisterna sayısında ve golgi kompleksi boyutlarında giderek bir artış görülür. Bu şekilde hücreler salgılama erki için hazırlık yapar. Yenilenmekte olan stroma içine doğru spiral arterler ilerlerler (36). Yenilenen spiral arterler fazla kıvrımlı değildirler ve fonksiyonals katmanının yüzeye doğru 2/3 üne erişirler. Östrojen hormonunun etkisiyle bezler kıvrılır ve lümenleri genişler. Bezlerde glikojen birikimi başlamıştır. Hücreler iri, yoğun kromatinli çekirdek içerir (37).



Şekil 2: Menstrüel siklusada uterusun histolojik yapısı. a. Proliferatif fazda endometriyum. b.Sekretuar fazda endometriyum. c. Stratum fonksiyonalenin yapısı (34).

Geç proliferatif evrede bez epiteli ve stromada artış sonucunda endometriyum kalınlaşır. Endometriyumun fonksiyonalis katmanındaki salgı bezleri bazaldeki dallanmış bölümleriyle karşılaştırıldığında birbirinden oldukça ayrıktırlar. Bazalde salgı son bölümleri daha çoktur ve stroma yoğundur. Ovulasyonun yaklaşmasıyla bez epitelleri uzar ve yalancı katlanmalar oluştururlar (42). Endometriyum, döngünün 14. gününde tümüyle yenilenmiş ve çoğalmıştır. Bu evre ovulasyondan bir gün sonraya değin sürer ve sonunda endometriyum kalınlığı 3 mm' ye ulaşmıştır (34). Epitel hücrelerinin bazal sitoplazmalarında glikojen birikimi belirgindir. Bu alışılmış histolojik kesitlerde hücrelerin bazal kısımlarında boşluklar şeklinde belirgindir. Sekresyon (luteal) evresi ovulasyondan hemen sonra başlar ve 28. güne değin sürer (34). Bu

evre progesteron hormonu etkisiyle gerçekleşen menstrüasyona hazırlık niteliğinde olan değişikliklerin başladığı dönemdir (42). Ayrıca ovulasyondan sonra oluşan korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisi ile endometriyumda sekretuar değişiklikler olur. Bu değişikliklerin amacı, döllenmiş ovumun implantasyonu için uygun bir ortam oluşturmaktır (43). Korpus luteumdan salgılanan progesteron hormonunun etkisinde olaylanır. Bu evrede endometriyum kalınlaşmayı sürdürür, bu kalınlaşma epitel hücrelerinin depoladıkları glikojen nedeniyle oluşan hipertrofiden, damarlanmanın artmasından ve ödemden kaynaklanır (34). İlk 24–36 saat sekresyon evresinin yapısal olarak durgun dönemidir. Bez hücrelerinin çoğunluğunda vakuoller, çekirdek altı sitoplazmadadır. İleri günlerde vakuoller çekirdek üstü bölgeye geçer (37).

Erken sekretuar evre, evrenin başlangıcından 21. güne kadarki dönemdir. Östrojen reseptörleri azalır. Progesteron reseptörleri özellikle stromada bol miktarda bulunurlar. Endometriyal bezler daha da artar ve lümen aralığı genişler. Bez hücreleri de genişler. Sitoplazmada büyük mitokondriyonlar izlenir (43). Stroma içinde kıvrımlanmış, dallanmış ve genişlemiş lumenleri salgıyla dolu bezlerle özelleşmiştir. Salgı ürünleri bez epitel hücrelerinin bazalinde birikmeye başlar ve apikale doğru birikimi sürdürür ve lümene atılırlar (37). Salgı apokrin salgılama şeklindedir. Karbonhidratlardan zengindir. 22. günde spiral arterler tüm fonksiyonalis katmanını kaplar. Bezlerin salgı erkleri düzensiz hale gelirler (44).

Ovulasyon sonrası 5–9. günler orta sekresyon evresidir. Stroma içinde kıvrımlanmış, dallanmış ve genişlemiş lumenleri salgıyla dolu bezlerle özelleşmiştir. Salgı ürünleri bez epitel hücrelerinin bazalinde birikmeye başlar ve apikale doğru birikimi sürdürür ve lümene atılırlar (37). Ovulasyondan sonra döllenme gerçekleşirse tüm endometriyum desidua halini alır. Döllenme olmazsa, sekresyon evresi sona erer. Korpus luteumun işlevi azalır. Progesteron ve östrojen hormonlarının da azalmasıyla menstrüasyon evresi başlar (36).

Ovulasyondan sonra 10–14. günler geç sekresyon evresidir. Spiral arterler belirginleşir. Ovulasyondan sonra döllenme gerçekleşmişse, depolama ve aktif salgılama gibi olaylar sürer. Endometriyum, desidua halini alır. Döllenme olmazsa sekresyon evresinin sonunda korpus luteumun işlevi azalır. Progesteron ve östrojen salgısı da azalır ve nekroz başlar. 1–4. günler menstrüasyon evresidir. Bu evrede endometriyum 0,5–3 mm kalınlığındadır. Bezler kısadır. Yüzey epiteli gözlenmez. Hücrelerarası sıvının çekilmesi nedeniyle fonksiyonalis katmanı incelmıştır (38).

Sekretuvar evrenin sonunda spiral arterlerin duvarları kasılarak kan akımı engellenir. Oluşan iskemi damar duvarının ve endometriyum fonksiyonals katmanının nekrozuna neden olur. Bu arada kasılan damarların yukarısında bulunan kan damarları yırtılır ve kanama baslar. Bu kanamanın süresi, hiperplazi derecesine göre değişir (36). Devamlı östrojen etkisi veya östrojen düzeyinin azalması sonucunda endometriyum bir taraftan yenilenirken diğer taraftan dökülür ve kanar (43). Yaklaşık 30-50 ml kan kaybı olur. Endometriyum kısmen ayrılmış bir hale gelir. Menstrüal evrenin sonunda endometriyumdan geriye, endometriyum bezlerinin bazal bölümlerini içeren bazal tabakadan baska bir sey kalmaz (36). Bu evrede fonksiyonals katmanında oksijen azalmıştır. Menstrüasyon evresi öncesi ve süresince bazals katmanı kendi düz arterlerinden beslenmeyi sürdürür. Buradaki bezlerin bazal hücreleri çoğalarak yeni oluşan hücreler yüzeye doğru ilerleyerek bezleri tamamlarlar. Bu katmanın damar endoteli ve stroma hücreleri de çoğalır. Kollagen ve ara madde salgılanır. Bu evreye yenilenme ya da rejenarasyon evresi denir. Bez hücrelerinin çoğalması ve bunların yüzeye doğru tümlenmesiyle proliferatif evre ve döngü yeniden başlar (37).

2.1.4.Endometriyumun Kanlanması

Endometriyumu besleyen kan damarları bu tabakanın büyük bir bölümünün periyodik olarak dökülmesinde önemlidir. Arkuat arterler, miyometriyumun orta bölgelerinde dairesel olarak yerleşmişlerdir. Bunlarda endometriyuma doğru dik açılarla ışınsal dallar çıkar. Bu ışınsal (radial) arterler endometriyum bazalisteki kısa düz arterleri yaparlar (44). Işınsal arterlerin ve bunlardan keskin açılarla dallanan bazal arterlerin devamı olan spiral arterler endometriyal arterleri oluşturmaktadır. Ayrıca spiral arterler, endometriyumun fonksiyonals katmanının üçte birini ve orta kısmının çoğunu kanlandırırlar. Bu damarlar hormonal etkilere karşı oldukça duyarlıdır. Bu nedenle de menstrüasyonda önemli rol oynarlar. Endometriyumun bazal katmanını ya da orta tabakanın küçük bir kısmını kanlandıran arterler, düz arterlerdir. Düz arterler çap ve uzunluk olarak spiral arterlere karşın daha kısadır. Hormonal aktiviteye yanıt vermezler (42). İnce duvarlı genişlemiş bölgeler kapiller yatakda ve endometriyumun venöz sisteminde de bulunabilirler. Endometriyumda ince duvarlı venler ve kapillerden oluşan bir ağ vardır (34,44).

2.1.5. Uterus Fizyolojisi

Dişi hormonal sistemi üç hormon grubunun etkisindedir. Bunlar;

a) Hipotalamustan sentezlenen hipotalamik serbestleştirici hormon ya da gonadotropik serbestleştirici hormon (GnRH).

b) Hipofiz ön lobundan salgılanan follikülleri uyaran hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH). Bu hormonlar gonadotropik serbestleştirici hormona yanıt olarak salgılanırlar.

c) Ovaryumdan salgılanan östrojen ve progesteron'dur. Bunlar hipofiz ön lobundan da salınan FSH ve LH' ya yanıt olarak salgılanırlar (45).

Bu hormonların salgılanma miktarları genital döngü süresince değişmektedir. Döngünün farklı evrelerinde salınım hızları değişkendir (46).

Hipotalamustan GnRH salgılanması ortalama 2 saatte bir gerçekleşir ve birkaç dakika sürer. GnRH'nın pulsatil salınımı LH' nın salınımına neden olurken FSH salgısı sürekli. GnRH yükselmesi döngüyü başlatır. GnRH hipofiz ön lobundan LH ve FSH salınımını artırır.

LH, androjenleri oluşturan teka hücrelerini uyarır. Androjenler FSH'nın etkisi ile granüloza hücrelerinde östrojene dönüştürülür. Östrojenler folliküler sıvıya girer. Östrojen düzeyi yükselince ilk olarak GnRH, daha sonra da FSH ve LH salınımı baskılanır. Döngünün yaklaşık 12- 13. günü çok yükselen östrojen düzeyi pozitif geri bildirim etki yaratarak LH salınımını artırır. Ovulasyondan yaklaşık 18 saat önce ani LH ve FSH artışı önce ovulasyona, daha sonrada korpus luteumun oluşumuna yol açar. LH' nın ovulasyon öncesi ani artışı olmazsa ovulasyon gerçekleşmez. Ovulasyondan sonra korpus luteumda çok yüksek yoğunlukta progesteron salgılanır (47,45).

Progesteron ve östrojen, GnRH, LH ve FSH' yı baskılar. Östrojen ve progesteron'un geri bildirim etkisine ek olarak korpus luteum granüloza hücrelerinden salgılanan inhibin hormonu gibi hipofizden FSH salınımını baskılanmaktadır. Menstrüasyondan birkaç gün önce korpus luteum dejenere olur. Plazma da progesteron ve östrojen düzeyi düşer. GnRH, LH ve FSH baskılanmaktan kurtularak yeni döngü başlar (43).

2.2. Dişi Sıçan Genital Sistem

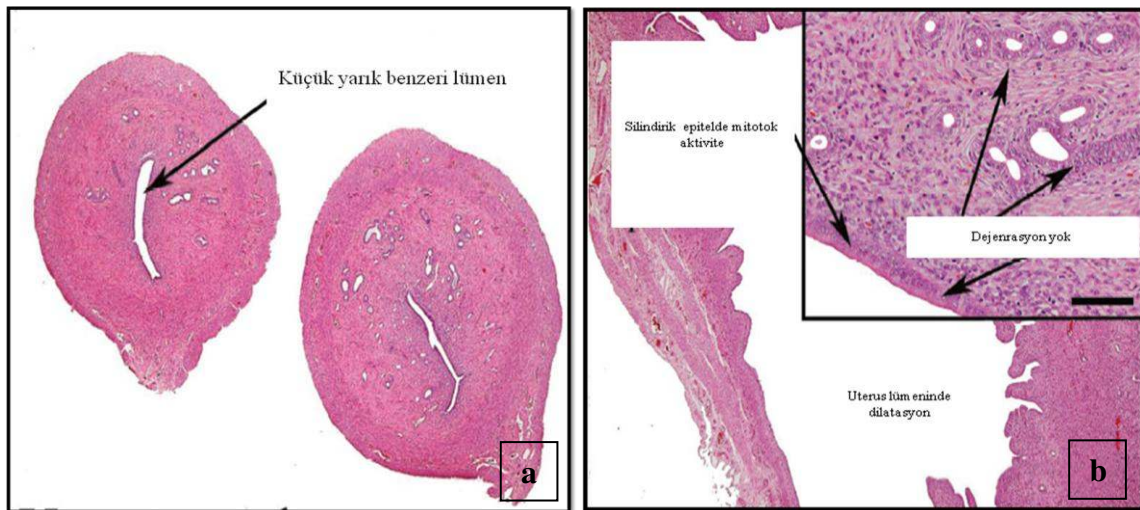
2.2.1. Dişi Sıçanlarda Üreme Siklusu ve Uterus Histolojisi

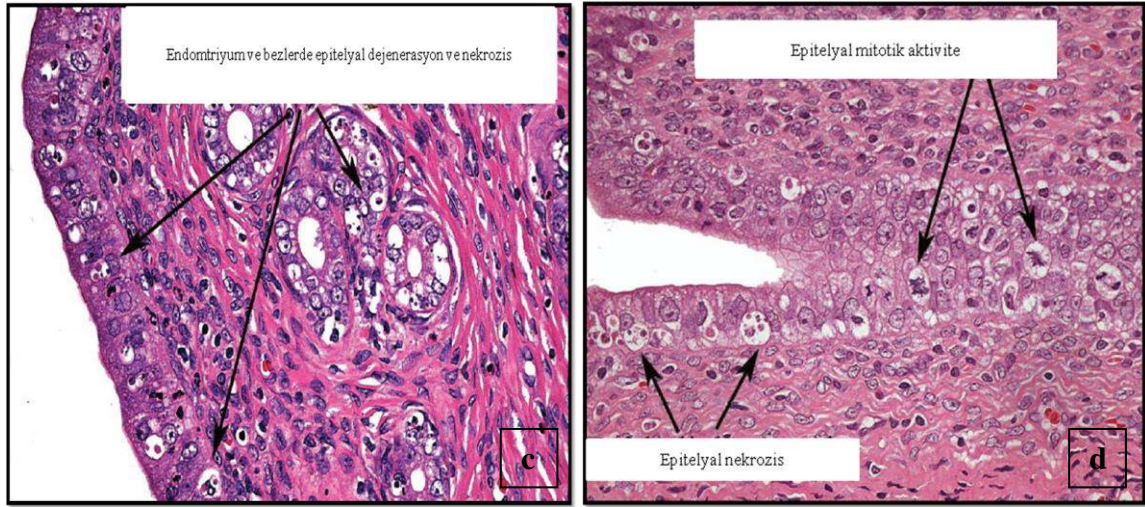
Diöstrus: Diöstrus başlangıcında uterus küçüktür ve aktif değildir. Uterus boynuzlarında belirgin bir damarlanma yoktur ve lümen bir yarık gibi görülür. Endometriyum zaman zaman dejenere hücrelerin görüldüğü, alçak kübik ya da silindirik epitele sahiptir. Diöstrusun başlanıcında mitotik aktivite vardır, ancak özellikle bezler inaktiftir. Safhanın ilerlemesiyle bezler aktiflik kazanır. Ayrıca aşamanın sonunda, endometriyumla bitişik stromada hafif ödem görülür (Şekil 3) (48).

Proöstrus: Bu aşamada endometriyumda geniş hücreler görülmeye başlar, hücreler kübikten silindirik hale geçer. Bu aşamada sınırlı bir mitotik aktivite vardır ve endometriyum epiteli ile bez epitelinde dejenerasyon görülmez, ayrıca inflamatuvar hücre infiltrasyonu da görülmektedir. Proöstrusun sonuna doğru mitotik aktivite azalır. Endometriyum damarlanması artar, stromada ödem görülür (Şekil 3) (48).

Östrus: Endometriyal epitelde ki değişimler ile birlikte, bezlerde görülen dejenerasyon ve nekrozis ile östrus başlangıcı tanımlanır. Buna mitotik aktivite ve lökosit infiltrasyonunda azalma eşlik eder. Östrusun sonuna doğru lümende dilatasyon görülür ve mitotik aktivite endometriyum epitelinin bazı yerlerinde tekrar görülmeye başlar (Şekil 3) (48).

Metöstrus: Metöstrus boyunca uterus endometriyumu hem devamlı bir damarlanma hem de mitotik aktivite gösterir. Ayrıca lökosit infiltrasyonda görülmektedir (Şekil 3) (48).





Şekil 3: Sıçanlarda östrus siklusu boyunca uterusun histolojik yapısı. a.Diöstrus b.Proöstrus c.Östrus d.Metöstrus (48).

2.2.2 Sıçanlarda Östrus Siklusu

Laboratuvar hayvanlarından olan sıçanlar puberteye 50 ile 70. günlerde ulaşırlar. Sıçanlarda ovulasyonlu östrus yaklaşık 77. günde görülmeye başlar. Sıçanlar genellikle ilk olarak 60 ile 120. günlerde çiftleşirler ve 300. güne ulaşıldığında fertilité en yüksek düzeye çıkar. Sıçanların en uygun üreme süresi 9-10 aydır. Sıçanlar yıl boyu poliöstrus gösteren hayvanlardır. Östrus siklusu dört, beş gün sürer ve siklus proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olmak üzere dört dönemden oluşmaktadır. Bu dönemde proöstrus ve östrusun yaklaşık 12 saat, diöstrusun ise 57 saat sürdüğü bilinmektedir (49,50).

Menstrüel döngüde proöstrus başlangıcında, vajinal sitolojide, en baskın hücre tipi ara hücredir, bazal, parabazal ve yüzeyel hücreler az sayıdadır. Bu evrenin sonuna doğru yüzeyel hücrelerde artış olur. Östrus evresinde kornifiye olmuş hücrelerde (yüzeyel hücreler) ve lökositlerde artış olur. Başlangıçta az sayıda görülen parabazal ve bazal hücreler evrenin ortalarına doğru kaybolur (51,52).

2.3. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), kronik hiperglisemi ile seyreden, insülin sekresyonu azlığı veya insülinin etkisinde azlık ve bazen de her ikisinin bozukluğundan kaynaklanan metabolik bir hastalıktır. Klinik olarak ortaya çıkışı, klasik olarak poliüri, polifaji, polidipsi ve zayıflama

gibi semptomlarıdır. Kronik bir metabolizma hastalığı olan diabetes mellitusta akut metabolik komplikasyonların yanı sıra, kronik mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar, hastalığa bağlı morbidite ve erken mortalitenin en önemli nedenidir (53).

Hastalığın patogenezi klinik tiplere göre farklılık göstermektedir. Tip I DM'da pankreasın β hücrelerinde genetik ve immünolojik faktörler sonucu gelişen harabiyet vardır. Tip II DM'da insüline karşı periferik direnç, insülin sekresyonunda azalma ve aşırı hepatik glikoz üretimi mevcuttur. İnsülin direncinin nedeni periferdeki insülin fonksiyonunun azalması ve hepatik glikoz üretiminin artmasıdır. Tüm bu olaylarda primer neden kesin olarak bilinmemekle birlikte hastalığın çevresel ve genetik etkiler sonucu geliştiği düşünülmektedir (4,3).

Diabetes Mellitus'un tanı kriterleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1970'lerden sonra kabul edilmiştir. Bu kriterler birçok uzun süreli çalışmayı temel almakta olup, çeşitli derecelerdeki glukoz intoleransı ve diyagnostik glisemik eşik değerlerini belirlemektedir (54).

2.3.1. Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneğine göre DM'un sınıflandırılması şu şekildedir,

1) Tip 1 Diyabetes Mellitus (Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan β -hücre yıkımı vardır)

a. İmmün aracılıklı

b. İdiyopatik

2) Tip 2 Diyabetes Mellitus (İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir)

3) Gestasyonel Diabetes Mellitus

4) Diğer spesifik diyabet tipleri

a. β -Hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)

- 20. Kromozom, HNF-4a
- 7. Kromozom, Glukokinaz
- 12. Kromozom, HNF-1a
- 13. Kromozom, IPF-1
- 17. Kromozom, HNF-1b
- 2. Kromozom, NeuroD1

- 2. Kromozom, KLF11
- 9. Kromozom, CEL
- 7. Kromozom, PAX4
- 11. Kromozom, INS
- Mitokondriyal DNA
- 11. Kromozom, Neonatal DM
- Diğerleri

b. İnsülinin etkisindeki genetik defektler

- Leprechaunism
- Lipoatrofik diyabet
- Rabson-Mendenhall sendr.
- Tip A insülin direnci
- Diğerleri

c. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları

- Fibrokalkülöz pankreatopati
- Hemokromatoz
- Kistik fibroz
- Neoplazi
- Pankreatit
- Travma/pankreatektomi
- Diğerleri

d. Endokrinopatiler

- Akromegali
- Aldosteronoma
- Cushing sendr.
- Feokromositoma,
- Glukagonoma
- Hipertiroidi
- Somatostatinoma
- Diğerleri

e. İlaç veya kimyasal ajanlar

- Atipik anti-psikotikler
- Anti-viral ilaçlar (HIV tedavisi)
- β -adrenerjik agonistler
- Diazoksid
- Fenitoin
- Glukokortikoidler
- α -İnterferon
- Nikotinik asit
- Pentamidin
- Proteaz inhibitörleri
- Tiyazid grubu diüretikler
- Tiroid hormonu
- Vacor
- Diğerleri (post transplant diyabet)

f. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları

- Anti--insülin reseptör antikorları
- Stiff-man sendr.
- Diğerleri

g. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar (Monogenik diyabet formları)

- Alström sendr.
- Down sendr.
- Friedreich tipi ataksi
- Huntington korea
- Klinefelter sendr.
- Laurence-Moon-Biedl sendr.
- Miyotonik distrofi
- Porfiriya
- Prader-Willi sendr.
- Turner sendr.
- Wolfram (DIDMOAD) sendr.
- Diğerleri (TÜRKİYE ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA DERNEĞİ)

Tip 1 Diabetes Mellitus pankreatik beta hücrelerine karşı antikor üretimi ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (55). Dünyada genel prevalans 5 yaşında 1/1430, 16 yaşında ise 1/360 civarındadır. Ülkemizdeki prevalansı yaklaşık 1/2000'dir. Etiyolojisinde genetik ve çevresel birçok etken rol oynamaktadır. Poliüri, polidipsi ve kilo kaybı ile kendini gösteren Tip 1 DM, insülin, egzersiz ve beslenmenin planlanması ile tedavi edilmektedir. Birçok farklı insülin rejiminin yanı sıra immünoterapi gibi yeni tedavi yöntemleri üzerinde de çalışılmaktadır (56).

Tip 2 DM en yaygın görülen metabolizma hastalığıdır. Gelişmiş ülkelerde toplumun %5-10'u tip 2 DM'dur. Tüm dünyada tanı konulan diyabet vakalarının %90- 95'ini tip 2 diyabet, %5-1'ünü tip 1 diyabet ve %2-3'ünü ise diğer diyabet formları oluşturmaktadır. Diyabetin topluma yükü artmaktadır. Toplumların çoğunda körlük ve son dönem böbrek yetersizliğinin en önemli nedeni diyabettir. Diyabetli olmayan yaşlılarına kıyasla, tip 2 diyabetlilerde kardiyovasküler risk 2-4 kat daha fazladır (57).

Gestasyonel diyabet glikoz intoleransı ile başlar ve ilk kez gebelik sırasında tanımlanır. Bu patoloji gebeliklerin yaklaşık %1-10'unda görülür ve en çok fetal makrozomya, fetal malformasyonlar, doğum öncesi ölüm ve uzun dönemde annede Tip 2 diyabet gelişme riski artar (58). Diyabet gebelikte oldukça sık görülen bir komplikasyondur. Diyabetle komplike olmuş gebelikler normal gebe durumuna göre birtakım maternal ve fetal riskler içermektedir. Yeterli glisemik kontrol sağlanamadığı zaman bebekte konjenital malformasyonlardan uterus içerisinde ölüme, annede hipoglisemiden diyabetik ketosidoza, retinopati ve nefropatide artışa neden olmaktadır (59). Bu konjenital malformasyonların gebeliğin 7. Haftasından önce oluşarak; anensefali, spina bifida, hidrosefalus gibi çeşitli merkezi sinir sistemi ve kardiyak anomalilerden oluşan kaudal gerileme sendromunu oluşturması söz konusudur (60). Gestasyonel DM, gebelikte başlayan glikoz toleransı bozukluğunun herhangi bir derecesi olarak tanımlanır. Diyabet, gebelik öncesinde teşhis edilmiş ise pregestasyonel DM, ilk kez gebelik sırasında tespit edilmiş bir glikoz intoleransı ise gestasyonel DM adını alır (61). İnsanlarda tip 1 diyabet veya insülin bağımlı diyabetin, düşük ve konjenital anomalilerin riskini artırmak gibi nedenlerle gebeliği negatif şekilde etkilediği bulunmuştur. Ayrıca maternal diyabetin, tip 1 diyabet oluşturulan kemiricilerde implantasyon öncesinde embriyo gelişimini olumsuz etkilediği de gösterilmiştir (55,62). Yaş ile birlikte ilerleyen hiperglisemik durumun şiddetlenmesi özellikle endometriyal epitel tabaka içerisinde sitolojik değişikliklerin

artmasıyla birlikte olmaktadır. Db/db mutasyonun ekspresyonundan sonra uterusun epitel hücresel bütünlüğünde azalma olduğu, epitel bazal membran katlantılarının arttığı, bazal membranın kalınlaştığı, sitoplazmik organellerin hacminin azaldığı ve belirgin bazal kutup lipid birikiminin olduğu gösterilmiştir (63). Genetik olarak ketonürik diyabet (KD) olan çin hamsterlarında yapılan çalışmalarda uterus morfolojisindeki değişiklikler çalışılmış ve diyabet olmayan hamsterlarla karşılaştırıldıklarında KD'li hamsterların uterus yüzeylerinde mikrovillus bulunmadığı ve sekresyon aktivitesi olmadığı saptanmıştır. Bu epiteli döşeyen bazal laminasının kalınlığında kontrol grubuna göre 2-5 kat artış görülmüştür. KD'li hamsterların uterusunda bozulma ve hücreler arası matrikste artış saptanmıştır. Çin hamsterlarında KD safhası ile ilişkili olarak uterin epitel ve stromada bozulma olduğu ve bunun üreme bozukluğu ile muhtemel bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir (5). Diyabetten etkilenen endometriyal yapı çok miktarda artan hücre içi ve hücreler arası lipid birikimleri ile karakterizedir. Bunlar; interstisiyel perivasküler sızıntı ve daha sonra da çok miktarda trigliserid emilimi ve serbest yağ asidi konsantrasyonunun artması sonucu oluşur. Obezite ve diyabete bağlı olarak üreme bölgesinin maturasyonunun tehlikeye girmesi sonucu, fetus ile plasenta gelişimi baskılanır ve üreme bölgesinde atrofi meydana gelir (64).

2.3.2. Diyabet Sıklığını Etkileyen Faktörler

1. Diabet yaygınlığında coğrafyanın rolü:

- DM universaldır, bazı bölgelerde seyri ve sıklığı değişiktir. Greonland ve Alaska'da seyrek ve hafif seyretmektedir. İnsuline bağımlı DM tipi hemen hemen yoktur.
- Pima'lı yerlilerde ve Arizona'lılarda diyabet çok siktir, Malta'da oldukça siktir.
- Uzak doğudaki sıklık batıdaki gibidir. Tip I diabet seyrek olup, erkeklerde DM daha siktir.
- Göçler DM sıklığını etkilemektedir. İsrail'e göç edenlerde ve Uzakdoğu, Japonya'dan Amerika'ya göç edenlerde DM daha sık olarak gözlenmiştir.

2. Yaş ve cins: Diyabet sıklığı yaşlanmakla artmaktadır. Kadınlarda daha sık olduğu saptanmaktadır. Uzakdoğu ve özellikle Japonya'da erkeklerde daha sık olduğu gözlenmiştir.

3. Kalıtım: Ailesinde diyabet tarif edenlerde diyabetin daha sık olduğu gözlenmiştir. Diyabetteki kalıtımın çok genli ve multifaktorel olduğu çağdaş görülmüştür.

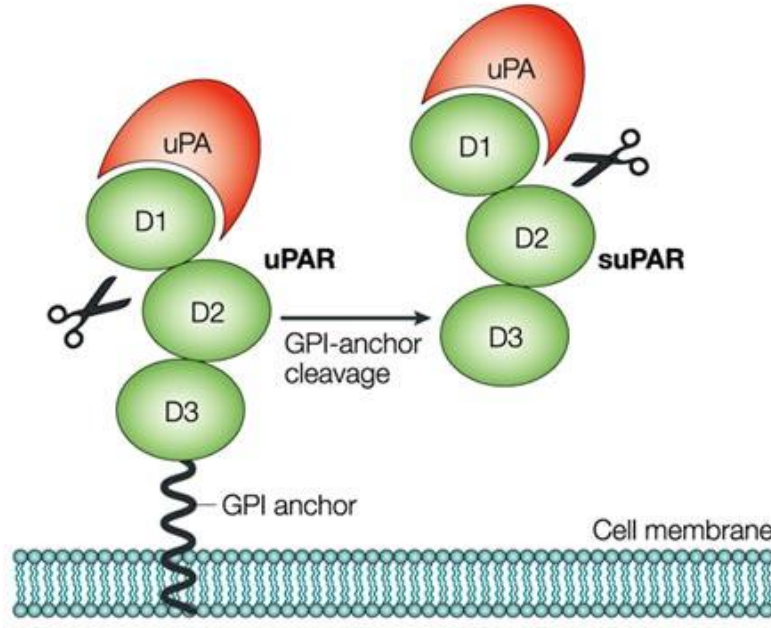
4.Şişmanlık: Diyabet şişmanlarda daha siktir. Diyabetik nüfusun hemen % 85'i şişmandır.

5. Gebelik: Gebelik, diyabetojen bir faktör olup, sık hamilelik ve doğum, diyabete yatkın kişileri diyabete götürür. Ayrıca gebelikte de diyabet oluşur. Buna gestasyonel diyabet denir. Gebelikte glikoza tolerans bozulur (GIGT). Tip II ve Tip I diyabet gebelikte oluşur.

6. Çevre faktörleri: Dengesiz beslenme, aşırı ve yetersiz beslenme diyabet sıklığını etkiler. Enfeksiyonlar, ameliyat ve anestezi stresleri, sık hamilelik, bilinçsiz ilaç kullanma da diyabet sıklığını etkileyen çevre faktörleridir (1).

2.4. Plazminjen Aktivatör Sistem

Reprodüktif siklusu iki proteolitik sistem ile ilişkilidir: fibrinolitik sistem ve plazmin bağımlı proteolitik sistem. İki sistem de hormonlar, sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından kontrol edilir (65). Fibrinolitik sistem hemostatik denge, doku onarımı, tümör invazyonu ve anjiyogenez gibi pek çok fizyolojik ve patofizyolojik süreçte rol oynayan bir sistemdir ve birçok proteolitik enzimi içerir (66). Ekstraselüler proteolizis, birçok çalışmada gösterilen doku yıkımı, dokunun yeniden modellenmesi ve hücre göçünü içeren, birçok süreçte önemlidir. Proteolitik enzimler protein ekspresyonu, proenzim aktivasyonu ve enzim inhibisyonunu da içeren farklı seviyelerde sıkıca kontrol edilir. İnsanlarda proteolitik kaskadların birçoğu serpin olarak adlandırılan bir grup inhibitör tarafından regüle edilen serin proteazlara bağlıdır (67). Plazminojen Aktivatör Sistem (PAs), oldukça dikkat çekmiş proteolitik sistemi kontrol eden önemli bir serpindir. Bu genel enzim sistemi, vasküler fibrinoliz, embriyo implantasyonu, anjiyogenez ve tümör metastazı gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçlerde lokalize proteolitik aktivite sağlar. İki fizyolojik Plazminojen Aktivatör Sistemi bilinmektedir; Doku Tipi PA (tPA) ve zimojen plazminojeni plazmine çeviren Ürokinaz Tip PA (uPA).



Şekil 4: uPAR molekülünün yapısı (11)

tPA, endotelial hücreler tarafından tek zincirli aktif enzim olarak sentezlenir ve salgılanır. Plazmin ile proteolitik parçalanma sonucunda iki zincirli moleküle dönüşür. Hem tek hem de iki zincirli formları aktivatör özelliğe sahiptir (66).

uPA sistemi başlıca ürokinaz plazminojen aktivatör (uPA), ürokinaz plazminojen aktivatör reseptörü (uPAR) ve iki büyük ürokinaz plazminojen aktivatör inhibitörlerinden (PAI-1 and PAI-2) oluşur (8). uPA anjiogenezde etkili olan metalloproteinazların ve çeşitli büyüme faktörlerinin aktivasyonuna katkıda bulunan bir serin proteazdır (9). Birçok hücre uPA'ye özel reseptörler eksprese eder. uPAR, sisteinden zengin glikoprotein yapısındadır. Üç adet homolog ekstraselüler bölgeden oluşur. C-terminal bölgesinden kovalent bağla hücre yüzeyine tutunur. uPA'nın uPAR'üne bağlanması enzimin EGF domaini ve reseptörün N-terminal domaini arasındaki etkileşim sonucunda gerçekleşir. uPA'nın reseptörüne bağlanması hücre içi sinyal iletimini ve bölgesel proteolizisi aktive eder. Bu durum muhtemelen doku gelişiminde kritik rol oynamaktadır (66).

uPAR Ly6/uPAR/ α -neurotoksin benzeri üç adet domain içeren glikolipit bağlantılı bir membran proteinidir. uPAR serin proteaz olan uPA ya da onun yüksek afinite ve özgüllüğe sahip zimojeni pro-uPA'ya bağlanır (Şekil 11) (68,11).

uPA ve uPAR birçok normal hücre tarafından ve tümör hücreleri, bunun yanı sıra trofoblast ve fetal membran hücreleri tarafından eksprese edilir (69,70). Bilindiği gibi ovulasyon, implantasyon ve plasentasyon, hücre göçü, dokunun yeniden şekillenmesi, anjiyogenez, doğum öncesi değişimler ve diğer bir dizi üreme olayları gibi uPA/uPAR aktivitesi içindeki yerel fibrinoliz/proteoliz süreçlerine katkıda bulunur (65). Ayrıca uPA sisteminin bir rolü de trofoblastların düzenlenmesinde, invazyonunda ve göçünde gösterilmiştir (71).

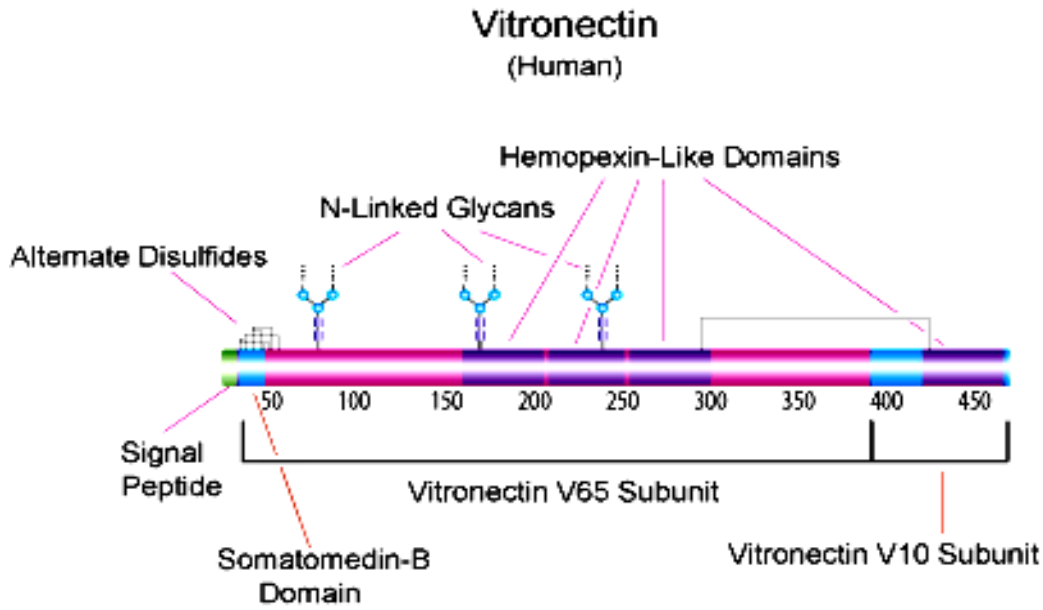
J. Nordengren ve arkadaşlarının insanlarda menstrüel siklus evrelerinde, uterus üzerinde yaptıkları çalışmada, proliferatif fazda, erken/orta sekretuvar fazda uPA'nın daha yüksek miktarda olduğunu, ancak geç sekretuvar evrede ve menstrüel sırasında uPA'nın proliferatif faza göre arttığını göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada, proliferatif fazda erken/orta sekretuvar faza göre uPAR'ın daha fazla miktarda olduğunu göstermişlerdir. Bu fark uPAR dağılımının epitelden stromaya kaymasıyla ilgili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmada PAI'nün geç proliferatif fazdan, sekretuvar faza doğru artış gösterdiğini ve mestürasyonda maksimum seviyeye geldiğini göstermişlerdir (72).

2.5. Vitronektin

Ekstraselüler matriks, hücre hareketi, hücre çoğalması ve büyümesi dahil, yaşam, hücre şekli değişiklikleri, göç ve farklılaşmayı düzenler. Ekstraselüler matriksin birincil bileşenleri, fibröz yapısal proteinler (kollajen, laminin, fibronektin, vitronektin ve elastin), özelleşmiş proteinler (büyüme faktörleri, küçük matriselüler proteinler ve küçük integrin bağlayıcı proteinler) ve preteoglikanlardır. Kanda ve ekstraselüler matrikste bolca bulunan, çok fonksiyonlu bir glikoprotein olan vitronektin ilk kez serum yayılma faktörü olarak tanımlanmıştır. Aynı zamanda 'epibolin' ve 's proteini' olarak adlandırılmış ve bu şekilde bir kompleman membran atak kompleksi olarak tanımlanmıştır (73).

Vitronektin glikozaminoglikanlara, kollajene, plazminojene ve ürokinaz reseptörüne bağlanır ayrıca inhibitör etkili plazminojen aktivatör inhibitör-1'i stabilize eder (21). Vitronektin 459 aminoasitten oluşan 75 kDa ağırlığında bir glikoproteindir. Proteinin yaklaşık 1/3'ü karbonhidrattan oluşmaktadır.

Vitronectin üç adet glikolizasyon bölgesi içerir. Somatomedin B olan N-terminal ucu (1-39), hemopeksin ile homoloji gösteren merkez kısmı (131-342) ve yine hemopeksin ile homoloji gösteren C-terminal ucu (347-459) (22). Vitronectinin somatomedin B ucu arjinin-glisin-asparjin sekansı (RGD) içerir. Bu sekans ekstraselüler matriksteki yayılan hücrelerin bağlanmasına aracılık eder (Şekil 12) (21).



Şekil 5: Vitronectin molekülünün yapısı (22)

Birçok plazma vitronektini, diğer plazma proteinleri gibi memelilerde karaciğerden kaynaklanır. Vitronectin yalnızca adhezif olayları düzenlemez aynı zamanda komplementler, koagülasyon ve fibrinolitik sistemle ilişkili proteolitik enzim kaskadlarının büyük bir kısmını da kontrol eder (73).

İnsan vitronektini ile tavşan ve fare vitronektini ~%80 homoloji gösterir (23). Vitronectin kollajen bağlama ve heparin bağlama kısımları ile ekstrasellüler matrikse bağlanır ve integrin $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$, $\alpha V\beta 1$, $\alpha IIb\beta 3$, $\alpha V\beta 6$ ve $\alpha V\beta 8$ etkileşimi ile hücre adhezyonu, yayılması ve göçünde görev alır (24,25). Ayrıca vitronectin embriyonik gelişim, yara

iyileşmesi, dokunun yeniden yapılanmasında, tümör metastazında, aterosklerozis ve immün defansta rol alır (26). Vitronektin, reseptörü spesifik bir integrin olup $\alpha\beta3$, menstürel siklusun 19. günü endometrial epitelde belirlemektedir. Bu ekspresyonun başlangıcı varsayılan açık implantasyon penceresine denk gelmektedir. Bu da bu vitronektinin implantasyonda önemli rol oynadığı sonucunu göstermektedir (27). Ayrıca $\alpha\beta3$ 'ün fibronektin, onsofetal fibronektin, vitronektin, osteopontin, tenaskin ve Von Willebrand faktörün çok yönlü bir reseptörü olduğu rapor edilmiştir (74,75).

Önceki araştırmacılar, varsayılan implantasyon penceresinde ovulasyondan sonraki 6. ve 10. günlerde endometriyumda, integrin alt tür $\alpha\beta3$ vitronektin ve onun reseptörünün ifade edildiğini öne sürmüşlerdir (27,76). Bu protein embriyo yüzeyinde de gösterilmiştir (77).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

Araştırma deneyseldir.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırmanın deneysel ayağı Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Histokimyasal ve immunohistokimyasal değerlendirmeler Dokuz Eylül Üniversitesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Araştırmada toplam üç grup oluşturulmuştur. Deney grupları aşağıdaki şekilde düzenlenmiştir:

Grup 1 (Kontrol grubu, n=7): Hiçbir şey uygulanmayan deneklerden uterus doku örnekleri, siklusun proöstrus safhasında alınmıştır.

Grup 2 (Kontrol grubu, n=7): Hiçbir şey uygulanmayan deneklerden uterus doku örnekleri, siklusun östrus safhasında alınmıştır.

Grup 3 (Diyabet grubu, n=7): Deneklere intraperitoneal olarak sodyum sitrat (pH:4.5) içinde çözünmüş olan 45 mg/kg STZ uygulandı. Uygulamayı takip eden 3. günde, deneklerin kuyruk veninden alınan kan örnekleri glukometre kullanılarak kan glikoz değerleri ölçüldü ve 250 mg/dl ve üzerinde bulunanlar diyabetik kabul edildi. 8. Haftanın sonunda vajinal smear yapılarak proöstrus safhasında olduğu belirlenen denekler sakrifiye edilerek uterus doku örnekleri alındı.

Grup 4 (Diyabet grubu n=7): Deneklere intraperitoneal olarak sodyum sitrat (pH:4.5) içinde çözünmüş olan 45 mg/kg STZ uygulandı. Uygulamayı takip eden 3. günde, deneklerin kuyruk veninden alınan kan örnekleri glukometre kullanılarak kan glikoz değerleri ölçüldü ve 250 mg/dl ve üzerinde bulunanlar diyabetik kabul edildi. 8. Haftanın sonunda vajinal smear yapılarak östrus safhasında olduğu belirlenen denekler sakrifiye edilerek uterus doku örnekleri alındı.

Yapılan literatür araştırmalarına göre kronik diyabetin 8 haftada oluştuğu saptanmış ve bu yüzden sakrifikasyon deneysel diyabet oluşturulduktan 60 gün sonra gerçekleştirildi.

3.4. Çalışma Materyali

Çalışmamızda Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Birimi'nden (DETFAB) temin edilen Wistar suşu toplam 28 dişi sıçan (200-250 g) kullanılmıştır. Dokuz Eylül Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı, Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda Wistar suşunun bulunması ve literatür ile uyumlu olması nedeniyle bu tür ve cins seçilmiştir. Tüm denekler çalışma sonlanıncaya kadar Deney Hayvanları Laboratuvarlarında 12/12 saat karanlık/aydınlık periyodunda, 20–22 °C oda sıcaklığında barındırılmıştır. Denekler dinlendirilmiş musluk suyu ve standart pellet yem ile beslenmiştir.

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Araştırmada Kontrol proöstrus ve Kontrol östrus gruplarına hiçbir uygulama yapılmamış olup, Diyabet proöstrus ve Diyabet östrus gruplarına STZ uygulanmıştır.

3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1. Araştırmada Kullanılan Demirbaş Malzemeler

Araştırmada; deneklerden elde edilen dokuların takibinde etüv, kesitlerin alınmasında mikrotom, boyamalarda kullanılan distile su gereksinimi için distile su cihazı, immünohistokimyasal incelemeler için humidity chamber ve otomatik mikropipetler kullanılmıştır.

3.6.2. Araştırmada Kullanılan Yöntemler

Deney sonunda elde edilen doku örneklerine rutin doku takip prosedürü uygulanmış, ince kesitleri alınmış, çeşitli histokimyasal ve immünohistokimyasal boya uygulamalarına tabi tutulmuştur. Araştırmada histokimyasal değişiklikler için hematoksin & eozin, PAS ve masson trikrom, immünohistokimyasal olarak uPAR ve vitronektin boyamaları yapılmıştır.

3.6.2.1. Denek Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Deney başlangıcında ve deney sonunda (sacrifikasyon öncesi) deneklerin ağırlıkları ölçüldü. Sonuçlar SPSS 15,0 paket programında değerlendirildi. Deneklerin ağırlıklarının başlangıç ve deney sonundaki verilerinin, grup içinde karşılaştırılmasında $p<0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.6.2.2. Deneklerin Menstrüel Sikluslarının Belirlenmesi

Dişi sıçanlara hergün 6-12 saat aralıklarla vagina smear uygulandı. Vaginal smearla alınan örnekler lama yayıldı. Hazırlanan preparatlar %96'lık, %80'lik, %70'lik azalan alkol serilerinden geçirilip, akarsuda 5 dakika bekletildi. Daha sonra 30 saniye eozinde bekletildi. Eozinden çıkarılan preparatlar %70'lik, %80'lik ve %96'lık artan alkol serilerinden geçirilip havada kurutulduktan sonra, preparatlar incelendi. Vaginal sitolojik veriler Schaberg (1992)'nin döngüsel değişimlerine bağlı olarak elde ettiği bulgular doğrultusunda değerlendirildi.

3.6.2.3. Histokimyasal İncelemeler

Sol uterus histokimyasal incelemeler için %10'luk formolde 24–48 saat bekletilerek fiske edildi. Daha sonra fiksatifin uzaklaştırılması amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandı. Dehidratasyon amacıyla sırasıyla %70, %80 ve %96'lık etil alkol serilerinde 20'şer dakika; ardından 4 farklı aseton serisinde 20'şer dakika tutuldu. Şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki farklı ksilene tabi tutuldu. 1'er saatlik 2 kez yumuşak parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular sert parafin bloklar içerisine gömüldü. Rotary mikrotom (RM 2255, Leica) aracılığı ile 5µ kalınlığında kesitler alındı (Tablo 1).

Tablo 1: Doku takip protokolü.

İşlem	Madde	Süre
Fiksasyon	%10'luk formol	24-48 saat
Fiksatiften Uzaklaştırma	Akarsu	1 gece
Dehidratasyon	%70-80-96'lık alkol serileri	20'şer dakika
Post Fiksasyon	Aseton 1-2-3-4	20'şer dakika
Şeffaflandırma	Xylol 1-2	30'ar dakika
	Yumuşak parafin 1-2	1'er saat
Bloklama	Sert parafin	

3.6.2.3.1. Hematoksilen-Eozin Boya Protokolü

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde tutuldu. Ardından ilki 20 dakika (etüvde) diğer ikisi 10'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra dehidratasyon işlemi için 5 değişim azalan alkol serilerinden geçirildi, kesitler distile su ile çalkalandıktan sonra 10 dakika hematoksilen (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 2 dakika eozin (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) boyası ile boyandı. Boyamadan sonra sırasıyla %70, %80, %96 ve 2 seri absolü alkolden geçirilen kesitler şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dakika üç değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı (Tablo 2).

Tablo 2: Hematoksilen-Eozin boya protokolü.

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C etüvde	30 dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 1 (etüvde)	20 dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 2 (oda ısısında)	10 dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 3 (oda ısısında)	10 dakika
Rehidratasyon	%100'lük alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%100'lük alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%96'lık alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%80'lik alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%70'lik alkol	Çalkalama
Yıkama	Distile Su	Çalkalama
Boyama	Hematoksilen	10 dakika
Yıkama	Akarsu	10 dakika
Boyama	Eozin	2 dakika
Yıkama	%70-80-96-100-100'lük alkol	Çalkalama
Şeffaflaştırma	Ksilen 1	20 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 2	20 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 3	20 dakika
Kapama	Entellan	

3.6.2.3.2. Masson Trikrom Boya Protokolü

Deparafinizasyon için 1 gece 60°C'lik etüvde bekletilen kesitler üç farklı ksilende tutuldu. Daha sonra azalan alkol serilerinden geçirdi. Distile suda çalkalandıktan sonra masson trikrom boyama seti (2049 GBL, İstanbul, Türkiye) içerisinde dokular üzerine 4 damla weigert hematoksilin boyası ile 4 damla ferrik klorür çözeltisi damlatıldı ve 10 dakika bekletildi. Distile su ile yıkandıktan sonra kesitlere uygulanan 2 damla asit-alkol çözeltisi 4 dakika sonra uzaklaştırıldı. Ardından 2 damla ponceau asit fuksin azofloksin çözeltisi dokunun üzerini tamamen kaplayacak şekilde uygulandı 4 dakika bekletilen kesitler distile su ile yıkandı. Daha sonra 2 damla fosfomolibdik asit turuncu G boyası ile 10 dakika muamele edildikten sonra uzaklaştırıldı ve 8 damla açık yeşil boya ile 5 dakika boyandı. Boyamanın ardından distile su ile yıkanan kesitler artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilen ile şeffaflaştırma yapıldıktan sonra entellan ile kapatıldı (Tablo 3).

Tablo 3: Masson Trikrom boya protokolü.

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C etüvde	1 gece
Deparafinizasyon	Ksilen 1 (etüvde)	30 dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 2 (oda Isısında)	20 dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 3 (oda Isısında)	20 dakika
Rehidratasyon	%100'lük alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%100'lük alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%96'lık alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%80'lik alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%70'lik alkol	Çalkalama
Yıkama	Distile su	Çalkalama
Boyama	No:1 + No:2 solüsyonu	10 dakika
Yıkama	Distile su	Çalkalama
Boyama	No:3	4 dakika
Boyama	No:4	4 dakika
Yıkama	Distile su	Çalkalama
Boyama	No:5	10 dakika
Boyama	No:6	5 dakika
Yıkama	Distile su	Çalkalama
Dehidratasyon	%70-80-96-100-100'lük alkoller	Çalkalama
Şeffaflaştırma	Ksilen 1	20 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 2	20 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 3	20 dakika
Kapama	Entellan	

3.6.2.3.3. Peryodik Asit Schiff (PAS) Boya Protokolü

Alınan parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bekletildi. Ardından ilki 1 saat (etüvde) diğer ikisi 30'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra dehidratasyon işlemi için azalan alkol serilerinden geçirildi, distile su ile çalkalandıktan sonra 10 dakika peryodik asit ile muamele edildi. Ardından 10 dakika akarsuda bekletilen kesitler distile suda çalkalanıp kurutulduktan sonra 20 dakika schiff reagent ile muamele edildi. Sonrasında 10 dk akarsuda yıkandı. Daha sonra dehidratasyon işlemi için artan alkol serilerinden geçirilen kesitler şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dakika üç değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı (Tablo 4).

Tablo 4: Peryodik Asit Schiff (PAS) boya protokolü.

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C etüvde	1 gece
Deparafinizasyon	Ksilen 1 (etüvde)	1 saat
Deparafinizasyon	Ksilen 2-3 (oda ısısında)	30 dakika
Rehidratasyon	%100-100-96-80-70'lik alkol	Çalkalama
Yıkama	Distile su	Çalkalama
Boyama	Peryodik asit	5 dakika
Yıkama	Akarsu	10 dakika
Boyama	Schiff	20 dakika
Yıkama	Akarsu	10 dakika
Boyama	Hematoksilen	2-3 dakika
Yıkama	Akarsu	6 dakika
Dehidratasyon	%60-70-80-96-100'lük alkol serileri	Çalkalama
Şeffaflaştırma	Ksilen 1-2-3	20'şer dakika
Kapama	Entellan	

3.6.2.4. Morfometrik Değerlendirmeler

3.6.2.4.1. Uterus Lümen Çapı

Deney gruplarındaki her bir denek için ayrı ayrı dört bölgeden lümen çap ölçümü yapıldı. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmada Kruskal Wallis Varyans Analizi testi, grupların ikili karşılaştırmasında da Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.6.2.4.2. Uterus Lümen Epiteli Uzunluğu

Deney gruplarındaki her bir denek için ayrı ayrı sekiz bölgeden lümen epiteli uzunluğu ölçümü yapıldı. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmada Kruskal Wallis Varyans Analizi testi, grupların ikili karşılaştırmasında da Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.6.2.5. İmmünohistokimyasal İncelemeler

3.6.2.5.1. Anti-Vitronektin Boyama Protokolü

Alınan kesitler öncelikle 60 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi daha sonra şeffaflaştırma amacıyla 30' ar dakika üç değişim ksilole tabi tutuldu. Azalan alkol serilerinden geçirilip distile suda çalkalandı. Suyu uzaklaştırılan dokuların etrafı pappen ile çizildi. Ardından dokular 15 dakika 37°C de Tripsin ile muamele edildi. 3 kez fosfat tamponlu saline (PBS) ile yıkanan kesitler 10 dk Hidrojen Peroksit ile oda ısısında muamele edildi. Tekrar PBS ile yıkama yapıldı ve 1 saat bloklama solüsyonu (TA125-UB, Lab Vision, Fremont, CA) ile bekletildi. Primer antikör rat spesifik anti-vitronektin antikoru (1:100; Bios, 1932R, Rb aVit) ile + 4 °C' de 1 gece bekletildi. Ertesi gün PBS ile yapılan yıkamadan sonra anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidad ikincil antikoru (85-9043 Zymed Histostain Kit, San Francisco, USA) ile 30 dakika bekletildi. Yine PBS ile yıkanan kesitler oluşturulan immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla diaminabenzidina mine (DAB) (Roche, Germany) ile muamele edildi. Distile su ile yıkanan kesitlere mayer's hematoxilen ile artalan boyaması sağlandıktan sonra akarsu ile yıkandı. Artan alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

3.6.2.5.2. Anti-uPAR Boyama Protokolü

Alınan kesitler öncelikle 60 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi daha sonra şeffaflaştırma amacıyla 30' ar dakika üç değişim ksilole tabi tutuldu. Azalan alkol serilerinden geçirilip distile suda çalkalandı. Suyu uzaklaştırılan dokuların etrafı pappen ile çizildi. Ardından dokular 15 dakika 37°C de Tripsin ile muamele edildi. 3 kez PBS ile yıkanan kesitler 10 dk Hidrojen Peroksit ile oda ısısında muamele edildi. Tekrar PBS ile yıkama yapıldı ve 1 saat bloklama solüsyonu (TA125-UB, Lab Vision, Fremont, CA) ile bekletildi. Primer antikör rat spesifik anti-uPAR antikoru (Biovision) ile + 4 °C' de 1 gece bekletildi. Ertesi gün PBS ile

yapılan yıkamadan sonra anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz ikincil antikoru (85-9043 Zymed Histostain Kit, San Francisco, USA) ile 30 dakika bekletildi. Yine PBS ile yıkanan kesitler oluşturulan immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla DAB (Roche, Germany) ile muamele edildi. Distile su ile yıkanan kesitlere mayer's hematoksilin ile artalan boyaması sağlandıktan sonra akarsu ile yıkandı. Artan alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

3.6.2.5.3. Semikantitatif İmmunohistokimyasal Analiz

Hücrelerdeki vitronektin ve uPAR moleküllerinin dağılımını belirlemek için Anti-Vitronektin Antikor ve Anti-uPAR Antikor boyaması yapıldı. Gruplar arası vitronektin ve uPAR moleküllerinin dağılımını belirlemek için, uterus dokusunun dört farklı bölgesinde (lümen epiteli, stroma, bez epiteli ve miyometriyum) semikantitatif ölçümler yapıldı. Semikantitatif skora aşağıdaki gibi tanımlandı (78).

Tablo 5: Semikantitatif İmmunohistokimyasal Skorlama

Skor	İmmunohistokimyasal Bulgular
3	Görüntünün genelinde güçlü pozitif boyanma
2	1 ve 3 arasında pozitif boyama
1	Çok az pozitif boyanma
0	Pozitif boyanma yok

3.6.2.8. Ultrastrüktürel İncelemeler

3.6.2.8.1. Elektron Mikroskopik Doku Takibi

Karnovski solüsyonuna (pH 7,4) konulan dokular + 4°C'de 48 saat bekletildi. Örnekler daha sonra 0,1M sodiumphosphate buffer ve 0,1M sucrose karışımında 3 kez 15 dk bekletildi. %2 sodiumphosphate buffered osmium tetroxide (pH 7,4) solüsyonu ile 90 dk post fiksasyon için muamele edildi. 0,1M sodiumphosphate buffer (pH 7,4) ile 3 kez 15 dk yıkandı. %50

oranında hazırlanmış aseton ile 2 kez 15 dk dehidratasyonu yapıldı. Dokular %70 aseton, %0,5 uranylasetat ve %1 phosphotungstic acid karışımında kontrastlama amacıyla + 4°C’ de 1 gece bekletildi. Daha sonra sırasıyla %80, 90 ve 96’lık aseton ile 2 kez 15 dk muamele edilen dokular %100’lük asetonunda 2 kez 20 dk tutuldu. Propilen oksitte 2 kez 15 dk bekletilen dokular sırasıyla 30 dk 2:1, 1:1 ve 1:2 oranında hazırlanan propilen oksit: epon karışımlarında bekletildi. Epon solüsyonunda + 4°C’de 1 gece bekletildi. 3. gün hazırlanan yeni epon solüsyonunda 48 saat 65°C’ lik etüvde polimerizasyon için bekletildi.

Daha sonra yarı ince kesitler alınarak alan belirlendi. Belirlenen alanlardan ince kesitler formvar kaplı gridler üzerine alındı. Uranil asetat ve kurşun sitratla kontrastlaması yapıldı ve transmisyon elektron mikroskopunda (Carl Zeiss Libra 120) değerlendirildi.

3.7. Araştırma Planı ve Takvimi

Tez Konusunun Blirlenmesi ve Literatür Araştırması
Eylül 2011-Şubat 2012
Etik Kurul ve Yönetim Kurulu Onayı
Şubat 2012-Mart 2012
Deneyel Materyalin Toplanması ve Dokuların Değerlendirilmesi
Nisan 2012-Haziran 2012
Labratuvar Çalışmaları
Haziran 2012-Kasım 2012
Tez Yazma
Kasım2012-Aralık 2013

3.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Deney sonunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS 15,0 paket programı kullanıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmada Kruskal Wallis Varyans Analizi testi, grupların ikili karşılaştırmasında da Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p<0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları

Araştırma planlanan doğrultuda ilerlemiş, herhangi bir aksaklıkla karşılaşılmamıştır. Araştırmada herhangi bir sınırlılık durumu ortaya çıkmamıştır.

3.10. Etik Kurul Onayı

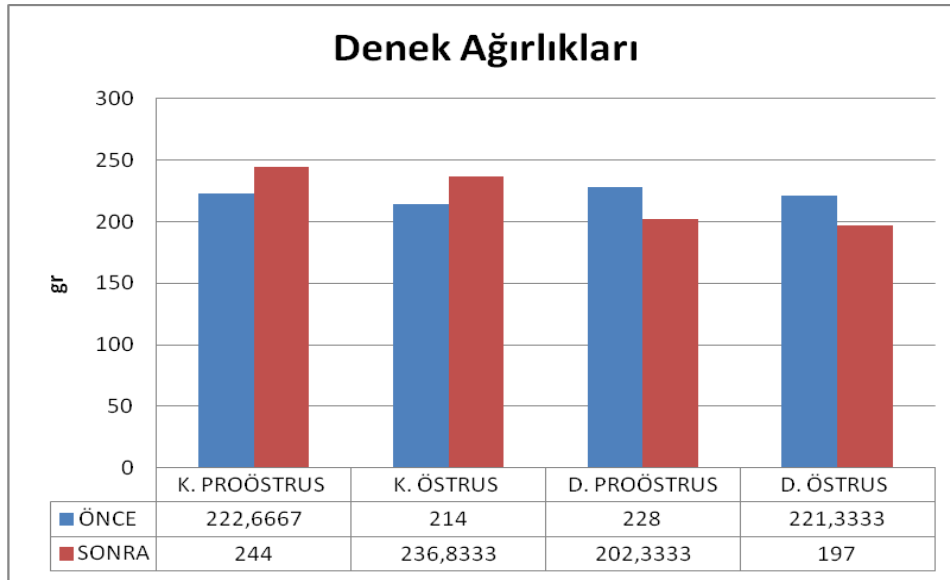
Araştırmamız Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 2 Mart 2012 tarihinde gerçekleştirilen 04.04.2012 no' lu toplantıda, 10/2012 Protokol no ile etik açıdan uygun bulunmuştur.

Etik kurul onayı Ek-1 olarak teze eklenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Denek Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

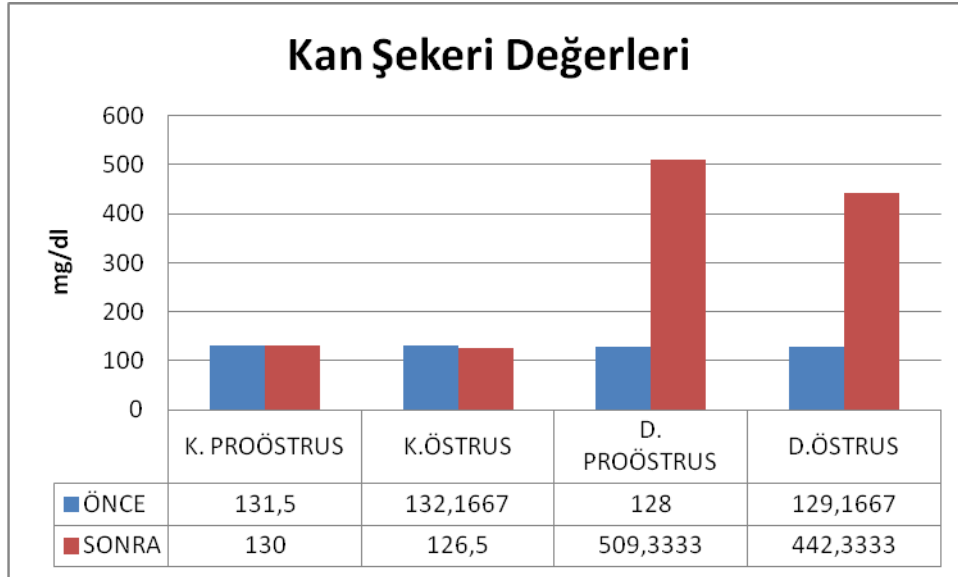
Grupların deney başlangıç ağırlık ortalamaları; kontrol proöstrus grubunda $222,6667 \pm 18,68333$ gr, kontrol östrus grubunda $214 \pm 14,14214$ gr, diyabet proöstrus grubunda $228,0000 \pm 11,09955$ gr, diyabet östrus grubunda $221,3333 \pm 6,97615$ olarak bulundu. Deney bitiş ağırlık ortalamaları ise; kontrol proöstrus grubunda $244,0000 \pm 13,02306$ gr, kontrol östrus grubunda $236,8333 \pm 10,49603$ gr, diyabet proöstrus grubunda $202,3333 \pm 17,86244$ gr, diyabet östrus grubunda $192,5000 \pm 17,01764$ olarak saptandı. Bu değerler göz önünde bulundurulduğunda, kontrol proöstrus ve kontrol östrus gruplarındaki deneklerde deney başlangıç ve bitiş ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ağırlık artışı saptanırken ($p=0,028$, $p=0,027$), diyabet proöstrus ve diyabet östrus gruplarında başlangıç ve bitiş ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış saptandı ($p=0,027$, $p=0,046$). Sonuçlar SPSS 15,0 paket programında Wilcoxon Sıralı İşaretler Testi kullanılarak değerlendirildi.



Şekil 6: Grupların deney başlangıcı ve deney sonundaki ağırlıkları.

4.2 Deneklerin Kan/Glukoz Seviyelerinin değeriendirilmesi

Grupların deney başlangıç kan/glukoz seviyeleri ortalamaları; kontrol proöstrus grubunda $222,6667 \pm 18,68333$ mg/dl, kontrol östrus grubunda $214 \pm 14,14214$ mg/dl, diyabet proöstrus grubunda $228,0000 \pm 11,09955$ mg/dl, diyabet östrus grubunda $221,3333 \pm 6,97615$ olarak bulundu. Deney bitiş kan/glukoz seviyeleri ortalamaları ise; kontrol proöstrus grubunda $244,0000 \pm 13,02306$ mg/dl, kontrol östrus grubunda $236,8333 \pm 10,49603$ mg/dl, diyabet proöstrus grubunda $202,3333 \pm 17,86244$ mg/dl, diyabet östrus grubunda $192,5000 \pm 17,01764$ mg/dl olarak saptandı. Bu değerieler göz önünde bulundurulduğunda, kontrol proöstrus ve kontrol proöstrus gruplarındaki deneklerde deney başlangıç ve bitiş kan glukoz seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmadı ($p=0,752$, $p=0,115$), diyabet proöstrus ve diyabet östrus gruplarında başlangıç ve bitiş kan glukoz seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0,027$, $p=0,028$). Sonuçlar SPSS 15,0 paket programında Wilcoxon Sıralı İşaretler Testi kullanılarak değeriendirildi (Şekil 6).



Şekil 7: Grupların deney başlangıç ve deney sonundaki kan/glukoz seviyeleri

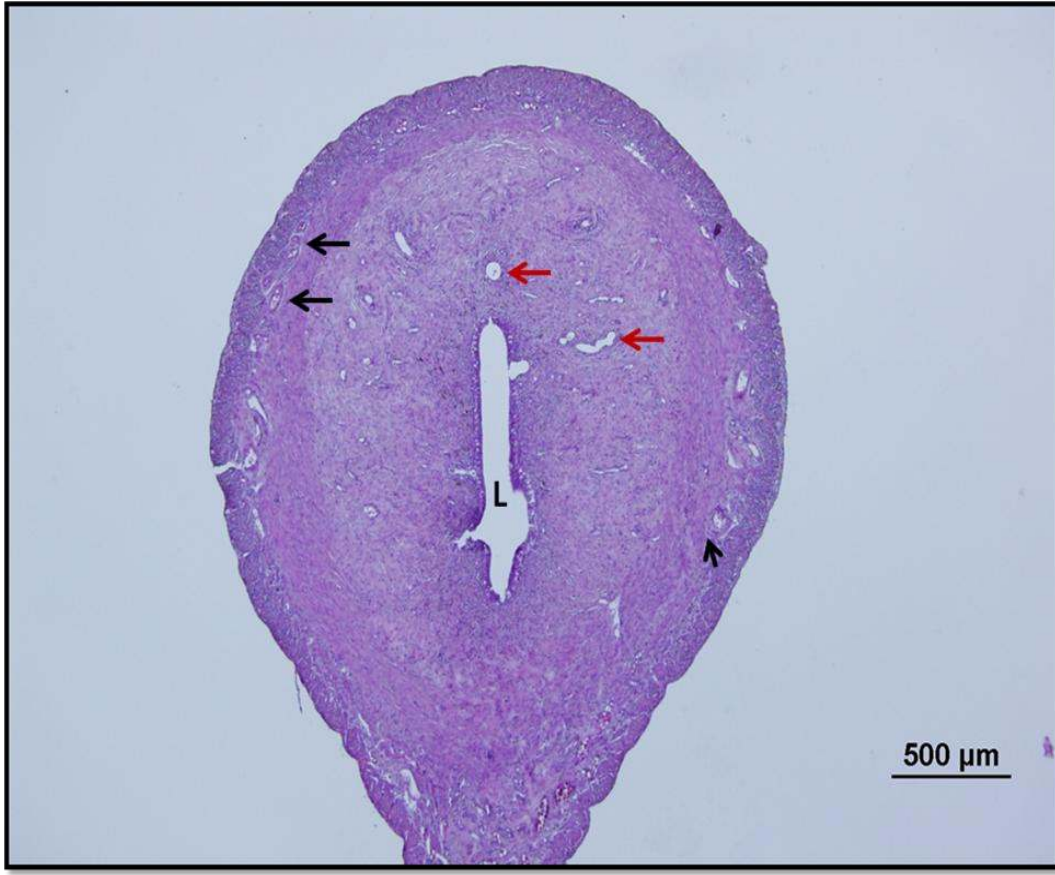
4.3. Histokimyasal Bulgular

4.3.1. Hematoksilen-Eosin Boyama Değerlendirmesi

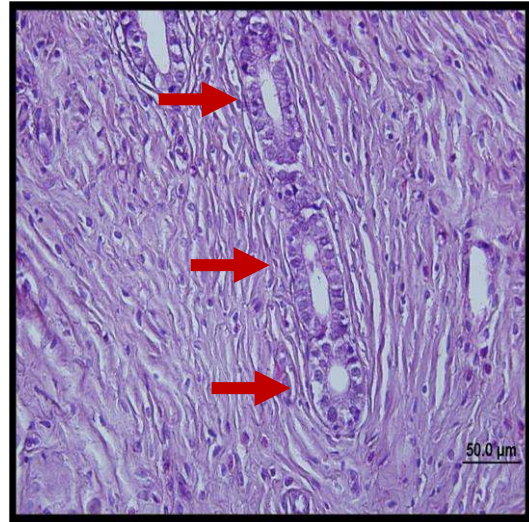
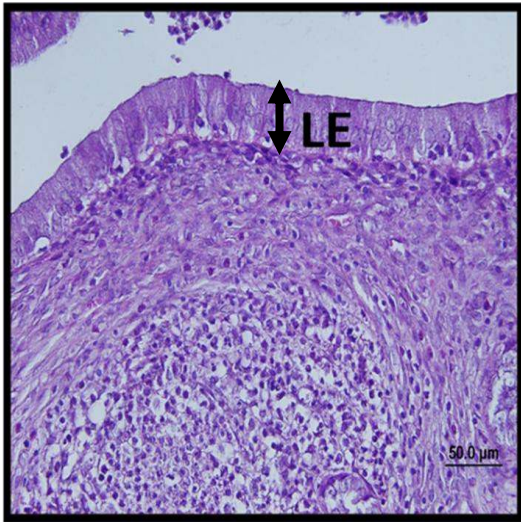
Kontrol proöstrus grubuna ait uterus kesitleri incelendiğinde, yapısal değişimlerin proliferasyon evresinin başlangıcına uyum gösterdiği gözlemlendi. Uterus lümeni az girintili çıkıntılı olması, bezlerin oluşmaya başlaması ve damarlardaki yoğunluk poliferasyon evresinin gelişimi ile uygun bulunmuştur.

Kontrol östrus evresine ait kesitler incelendiğinde ise, lümen epitelinin proöstrus grubuna ait lümen epiteline göre daha uzun prizmatik bir yapı aldığı gözlemlendi. Lümeninde belirgin katlantılar vardı ve uterus bezleri gelişkindi. Çekirdekler genellikle bazale yerleşik ve oval olduğu gözlemlendi.

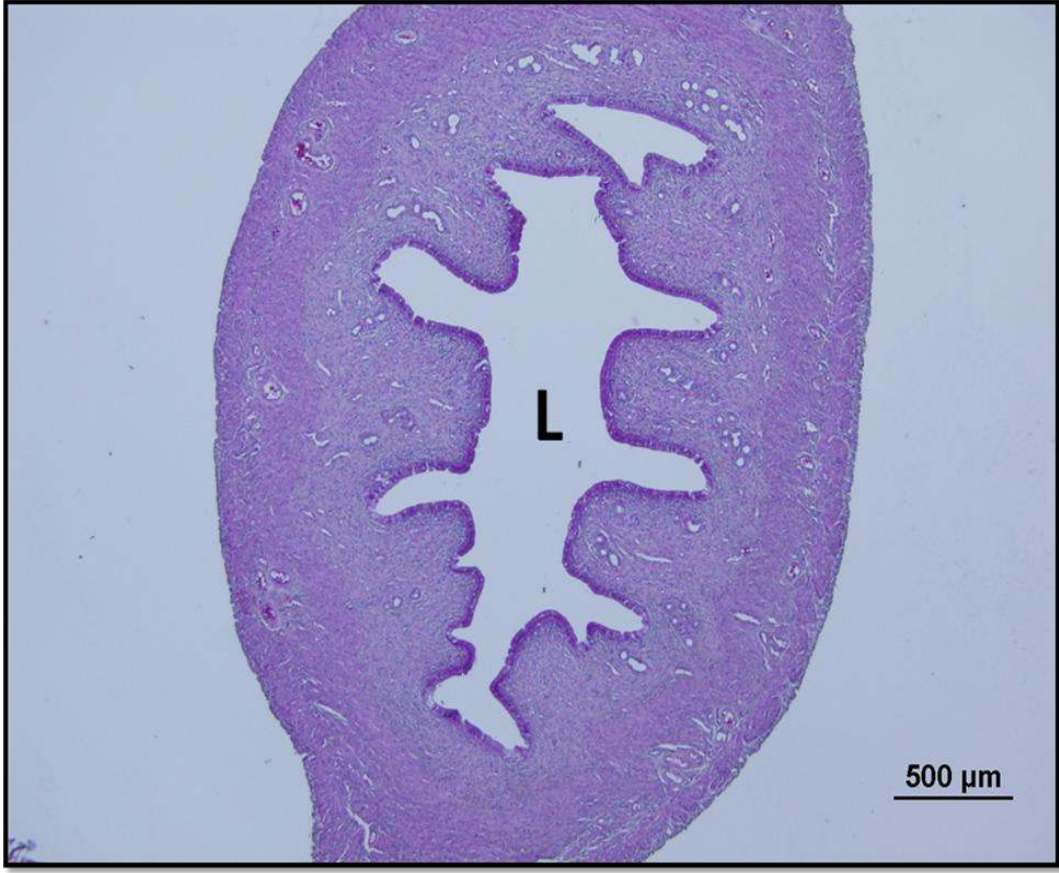
Diyabet proöstrus ve östrus gruplarına ait kesitler incelendiğinde, diyabet proöstrus grubunda lümen epiteli hücrelerinin kontrol grubuna göre daha kısa olduğu gözlemlendi. Çekirdekler yuvarlak ve genellikle bazale yerleşikti. Bezlerde dilatasyon, kan damarlarında ise artış gözlemlendi. Diyabet östrus grubuna ait kesitler incelendiğinde lümen epitelinin kontrol östrus grubunun lümen epiteline göre kısaldığı gözlemlendi. Ayrıca kan damarlarında artış gözlemlendi.



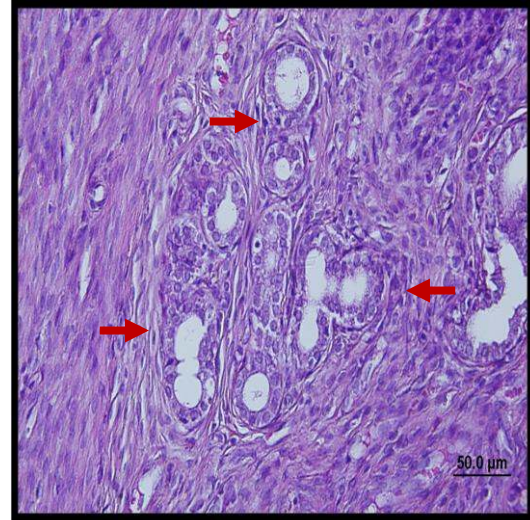
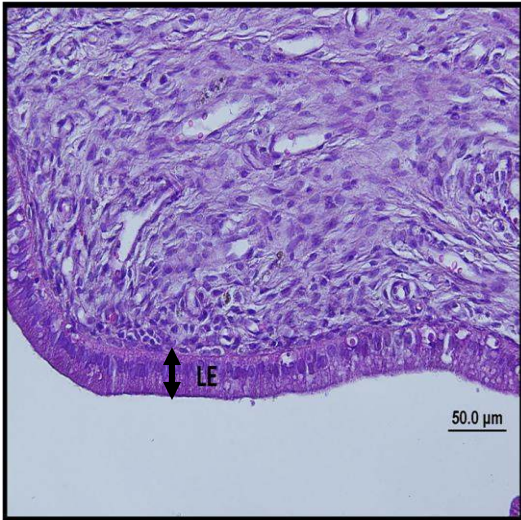
Şekil 8: Kontrol proöstrus grubuna ait kesit. Az girintili lümen (L), bezler (→) ve damarlar (→) görülmektedir. H&E x4 büyütme. Bar 500µm.



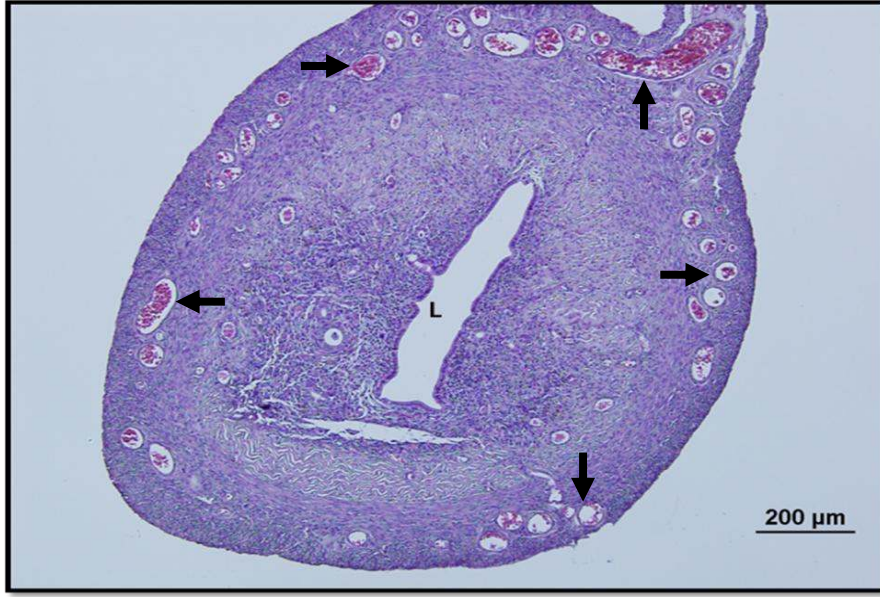
Şekil 9: Kontrol proöstrus grubuna ait kesitler. Lümen epiteli (LE)ve bezler (→) görülmektedir. H&E x40 büyütme.Bar 50µm.



Şekil 10: Kontrol östrus grubuna ait kesit. Genişlemiş lümen (L), bezler (➡) ve kan damarları (➡) görülmektedir. H&E x4 büyütme. Bar 500µm.



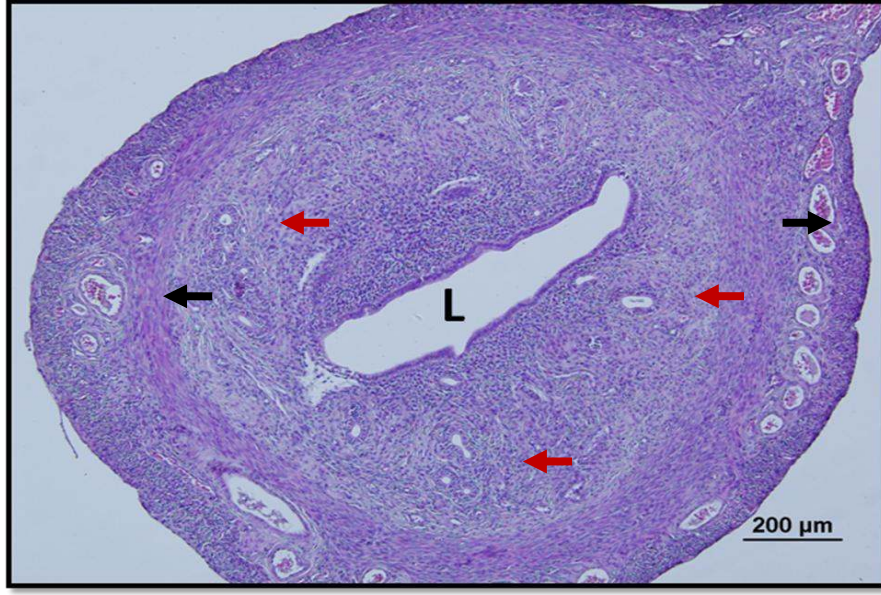
Şekil 11: Kontrol östrus grubuna ait kesitler. Lümen epiteli (LE) ve bezler (➡) görülmektedir. H&E x40 büyütme. Bar 50µm.



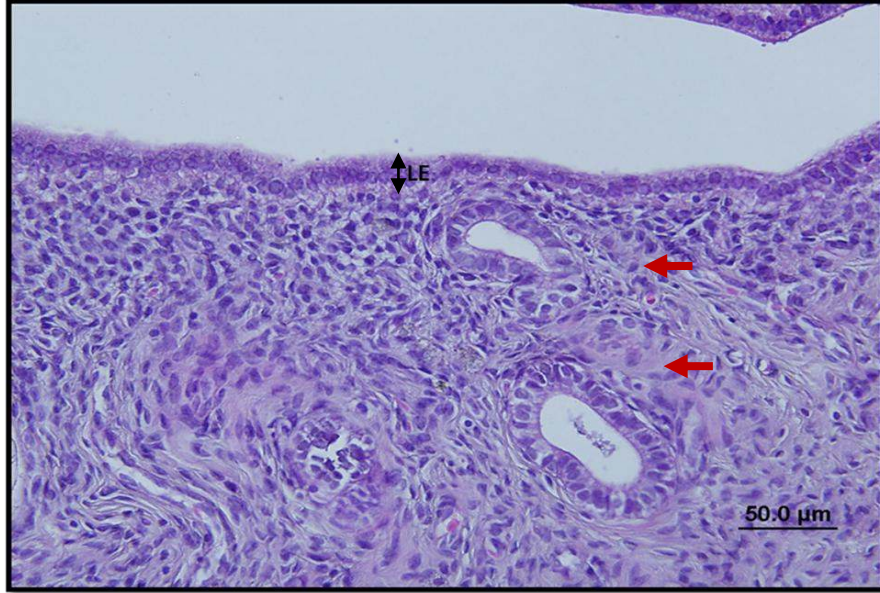
Şekil 12: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. Lümen (L) ve çoğalmış kan damarları (→) görülmektedir. H&E x10 büyütme. Bar 200µm.



Şekil 13: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. Kısalmış lümen epiteli (LE) ve bezler (→) görülmektedir. H&E x50 büyütme. Bar 50µm.



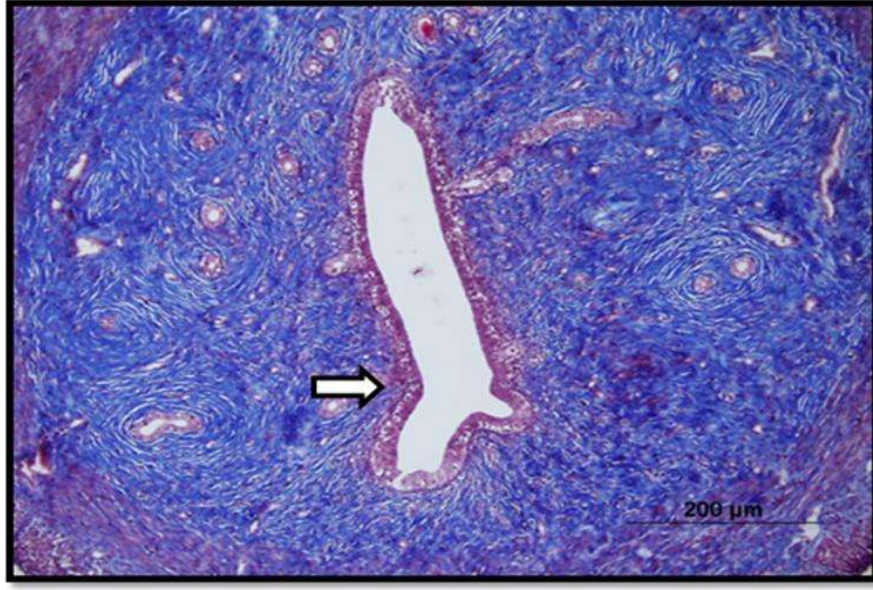
Şekil 14: Diyabet östrus grubuna ait kesit. Daralmış lümen (L), bezler (→) ve çoğalmış kan damarları (→) görülmektedir. H&E x10 büyütmede, Bar 200µm.



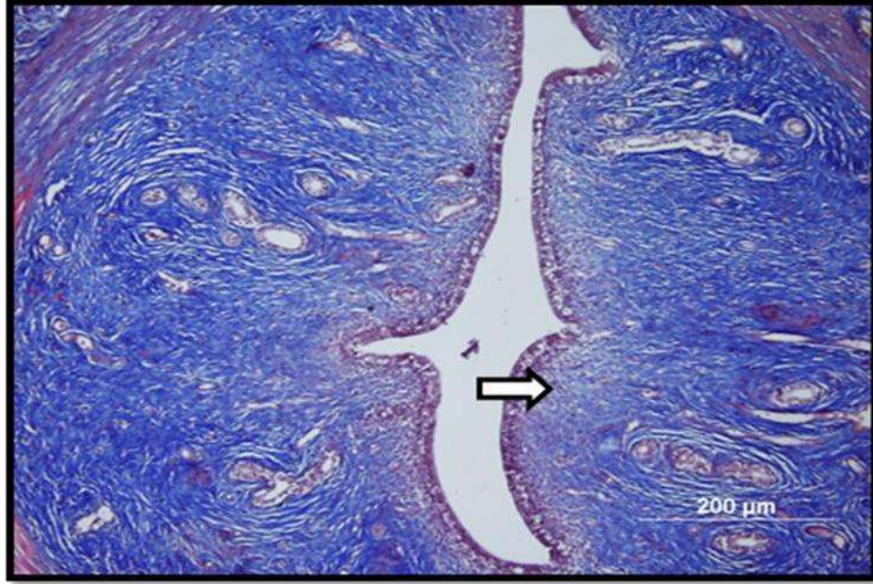
Şekil 15: Diyabet östrus grubuna ait kesit. Kısalmış lümen epiteli (LE) ve bezler (→) görülmektedir. H&E x40 büyütmede. Bar 50µm.

4.3.2. Masson-Trikrom Boyama Değerlendirmesi

Bağ dokusu artışını gözlemlemek için Masson Trikrom üç'lü boyaması yapıldı. Bu boyama sonucunda nükleuslar siyah, sitoplazma kırmızı, kollajen ve mukus mavi görülmektedir. Buna göre kontrol gruplarında normal uterus yapısı gözlenirken, diyabetik gruplarda kollajen miktarının arttığı gözlemlendi.



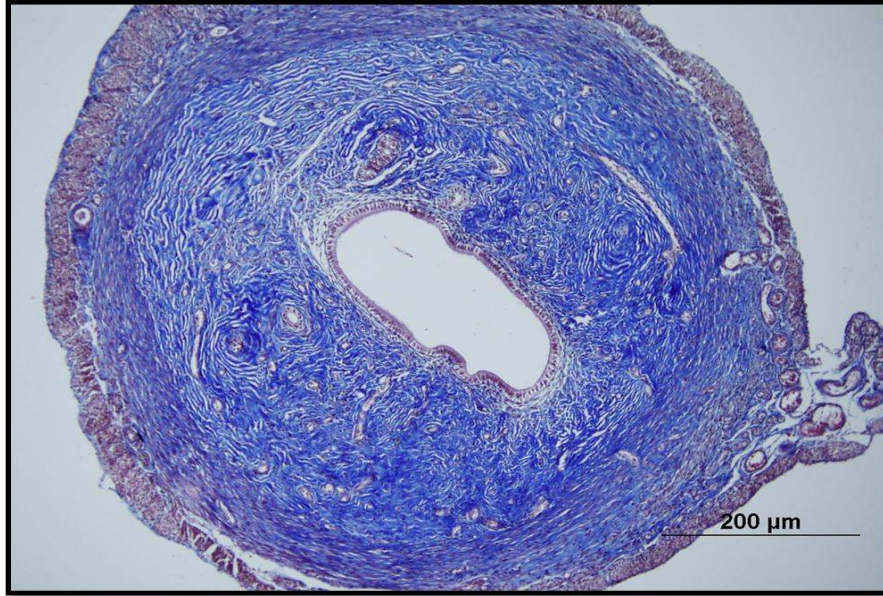
Şekil 16: Kontrol proöstrus grubuna ait kesit. Uterus lümen yapısı normal yapısında gözlenmektedir. Masson Trikrom x10 büyütme. Bar 200µm.



Şekil 17: Kontrol östrus grubuna ait kesit. Uterus lümen yapısı normal şeklinde görülmektedir. x10'luk büyütmede. Bar 200µm.



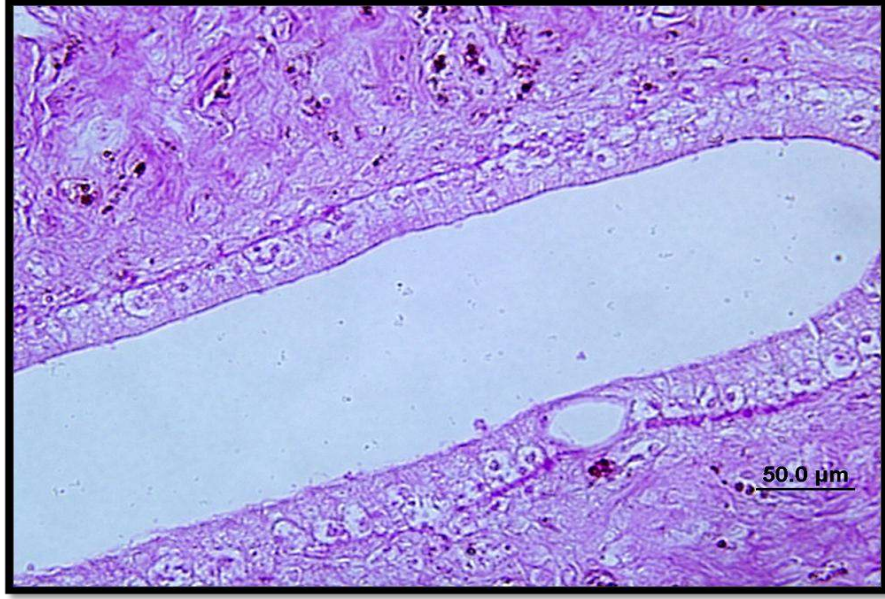
Şekil 18: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. Kollajen miktarında artış görülmektedir.x10 büyütme. Bar 200µm.



Şekil 19: Diyabet östrus grubuna ait kesit. Kollajen miktarında artış görülmektedir. x10 büyütme. Bar 200µm.

4.3.3. PAS Boyama Değerlendirmesi

Çalışmamızda bazal membran kalınlığını değerlendirmek için PAS ile boyama yapıldı. Kontrol proöstrus ve östrus gruplarına ait kesitler incelendiğinde uterus lümen epitelinde ve bez epitelinde bazal membranın normal kalınlıkta olduğu gözlemlendi. Diyabet proöstrus ve östrus gruplarına ait kesitler incelendiğinde kontrol gruplarında farklı olarak bazal membranda PAS boyasında bazal membranlarda düzensizlikler olduğu gözlemlendi.



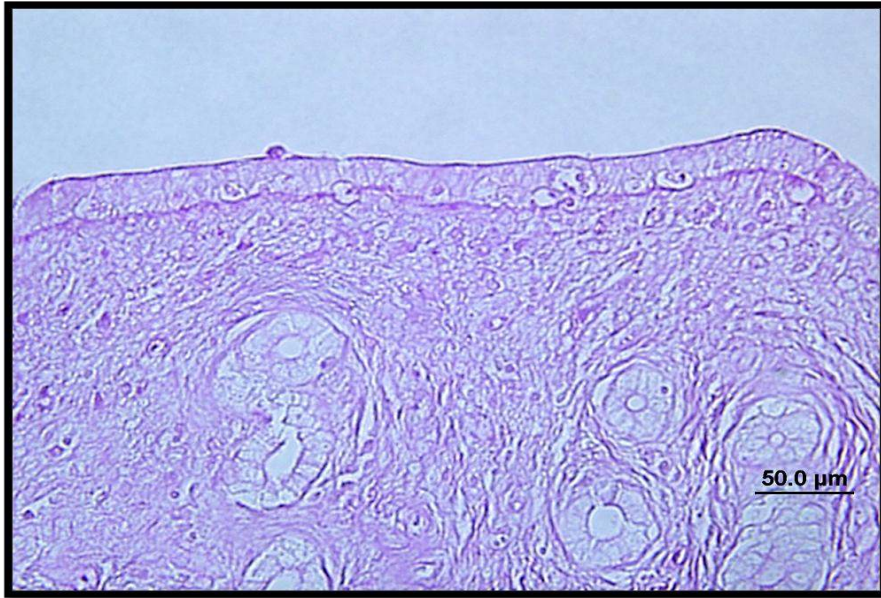
Şekil 20: Kontrol proöstrus grubuna ait kesit. x40 büyütme, Bar 50µm.



Şekil 21: Kontrol östrus grubuna ait kesit. x40'lık büyütme. Bar 50µm.



Şekil 22: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. (→) ok bazal membran düzensizliği. x40 büyütme, Bar 50µm.

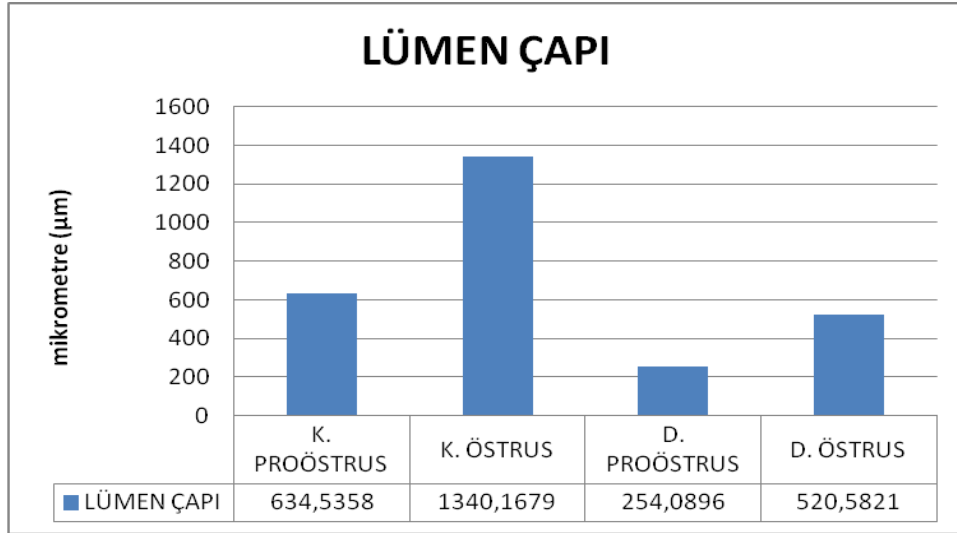


Şekil 23: Diyabet östrus grubuna ait kesit. x40'lik büyütme. Bar 50µm.

4.4. Morfometrik Bulgular

4.4.1. Uterus Lümen Çapı

Tüm gruplarda her denekten elde edilen uterus kesitlerinde uterus lümen çapı hesaplandı. Elde edilen sonuçlara göre lümen çapları, kontrol proöstrus grubunda $634,5358 \mu\text{m} \pm 209,50212 \mu\text{m}$ kontrol östrus grubunda $1340,1679 \mu\text{m} \pm 564,87570 \mu\text{m}$, diyabet proöstrus grubunda $254,0896 \mu\text{m} \pm 241,44276 \mu\text{m}$ ve diyabet östrus grubunda $520,5821 \mu\text{m} \pm 252,75912 \mu\text{m}$ olarak hesaplandı.

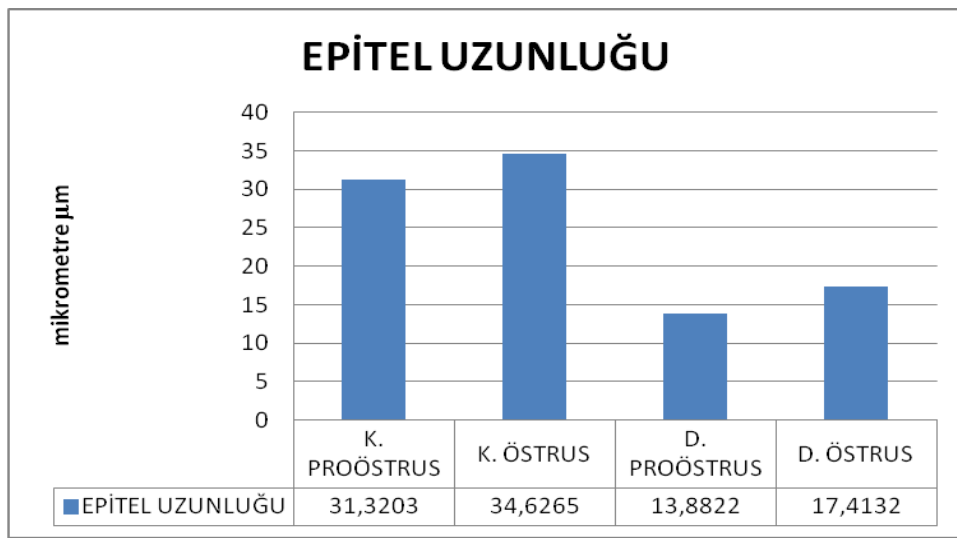


Şekil 24: Grupların uterus lümen çap ortalaması

Bu değerler göz önünde bulundurulduğunda, kontrol proöstrus ve östrus grupları karşılaştırıldığında, kontrol proöstrus grubunun lümen çapının, kontrol östrus grubunun lümen çapına göre daraldığı gözlemlendi ancak sonuç anlamlı değildi ($p < 0,00$). Kontrol proöstrus ve diyabet proöstrus grupları karşılaştırıldığında, diyabet grubun lümen çapı, kontrol grubuna göre daralmıştı, ancak sonuç anlamlı değildi ($p < 0,00$). Kontrol östrus ve diyabet östrus grupları karşılaştırıldığında, diyabet grubunun lümen çapının kontrol grubuna göre daralma vardı ancak sonuç anlamlı değildi ($p < 0,00$).

4.4.2.Uterus Epitel Uzunluğu

Tüm gruplarda her denekten elde edilen uterus kesitlerinde uterus epitel hesaplandı. Elde edilen sonuçlara göre epitelyum kalınlıkları, kontrol proöstrus grubunda $31,3203 \pm 3,71296$, kontrol östrus grubunda $34,6265 \mu\text{m} \pm 7,47104$ μm , diyabet proöstrus grubunda $13,8822 \mu\text{m} \pm 2,35847$ μm ve diyabet östrus grubunda $17,4132 \mu\text{m} \pm 3,65733$ μm olarak hesaplandı.



Şekil 25: Grupların uterus lümen epiteli uzunluk ortalaması

Bu değerler göz önüne bulundurulduğunda, kontrol proöstrus ve kontrol östrus grupları karşılaştırıldığında proöstrus grubunun epitel uzunluğunun, östrus grubuna göre azaldığı gözlemlendi, ancak sonuç anlamlı değildi ($p < 0,112$). Kontrol proöstrus ve diyabet proöstrus grupları karşılaştırıldığında, diyabet grubun epitel uzunluğu, kontrol grubuna göre azaldığı gözlemlendi, ancak sonuç anlamlı değildi ($p < 0,00$). kontrol östrus grubu ile diyabet östrus grubu karşılaştırıldığında, diyabet östrus grubunun epitel boyu uzunluğu kontrol grubuna göre azaldığı gözlemlendi, ancak sonuç anlamlı değildi ($p < 0,00$).

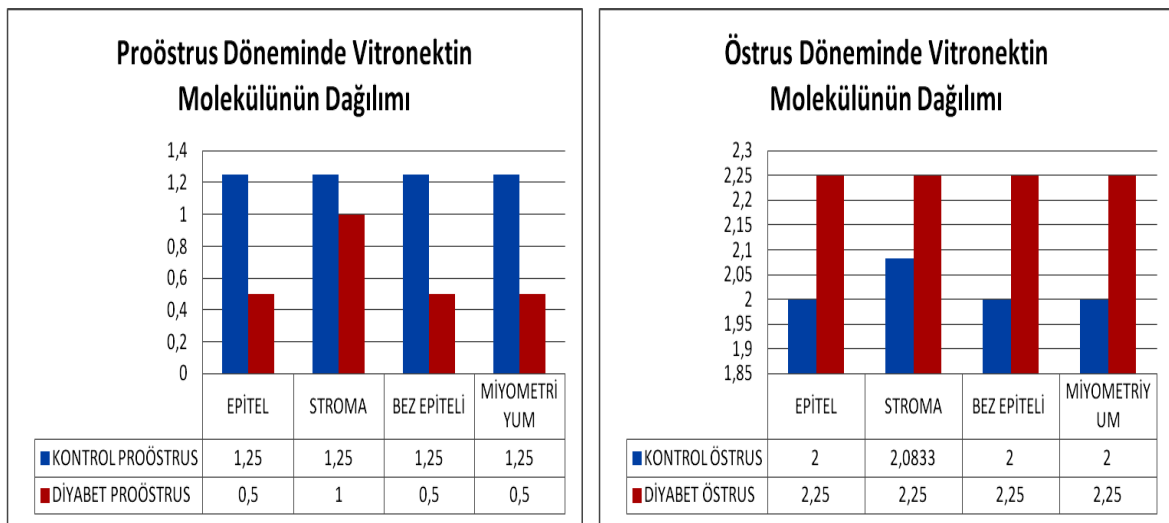
4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.5.1. Anti-Vitronektin İmmünohistokimya Boyama Bulguları

Hücrelerdeki vitronektin dağılımını belirlemek için anti-Vitronektin antikor boyaması yapıldı. Gruplar arası vitronektin molekül dağılımını belirlemek için, uterus dokusunun dört farklı bölgesinde (lümen epiteli, stroma, bez epiteli ve miyometriyum) semikantitatif ölçümler yapıldı.

Kontrol proöstrus grubuna ait kesitler incelendiğinde, elde edilen sonuçlara göre; lümen epitelinde $1,250 \pm 0,41833$, stromada $1,6667 \pm 0,60553$, bez epitelinde $1,250 \pm 0,41833$, miyometriyumda $1,250 \pm 0,41833$ olarak saptandı. Kontrol östrus grubuna ait kesitler incelendiğinde, elde edilen sonuçlara göre vitronektin dağılımı; lümen epitelinde $2,00 \pm 0$, stromada $2,0833 \pm 0,20412$, bez epitelinde $2,00 \pm 0$, miyometriyumda $2,00 \pm 0$ olarak saptandı.

Diyabet proöstrus grubuna ait kesitler incelendiğinde, elde edilen sonuçlara göre vitronektin dağılımı; lümen epitelinde $0,500 \pm 0,44721$, stromada $1,00 \pm 0,89443$, bez epitelinde $0,500 \pm 0,44721$, miyometriyumda $0,500 \pm 0,44721$ olarak belirlendi. Diyabet östrus grubuna ait kesitler incelendiğinde, elde edilen sonuçlara göre vitronektin dağılımı; lümen epitelinde $2,2250 \pm 0,41833$, stromada $2,2250 \pm 0,41833$, bez epitelinde $2,2250 \pm 0,41833$, miyometriyumda $2,2250 \pm 0,41833$ olarak belirlendi.



Şekil 26: Grupların uterus kesitlerinde Vitronektin molekülünün dağılımı

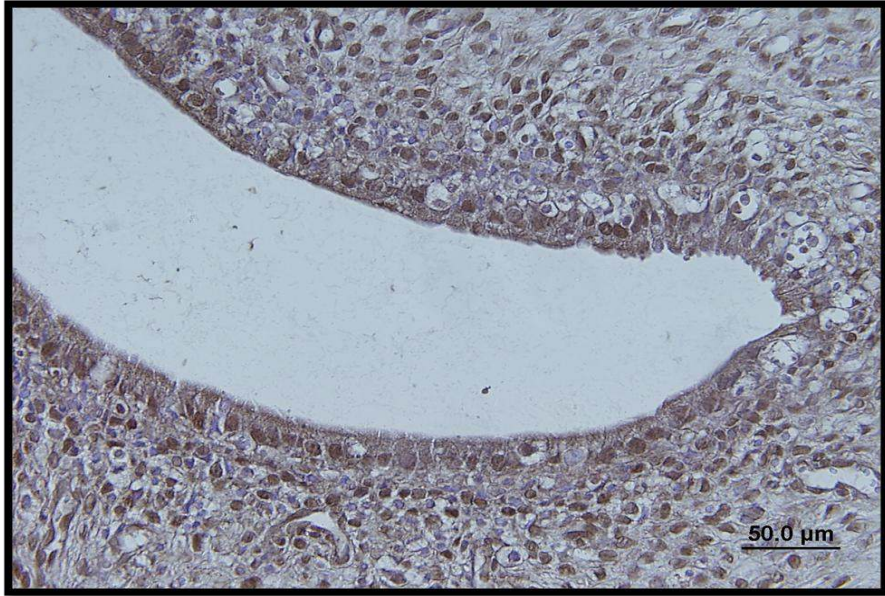
Tablo 6: Grupların uteruslarında vitronektin dağılımı ortalaması

	Lümen Epiteli	Stroma	Bez Epiteli	Miyometriyum
Kontrol Proöstrus				
Diyabet Proöstrus	p<0,016	p<0,144	p<0,016	p<0,016
Kontrol Östrus				
Diyabet Östrus	p<0,140	p<0,461	p<0,140	p<0,140

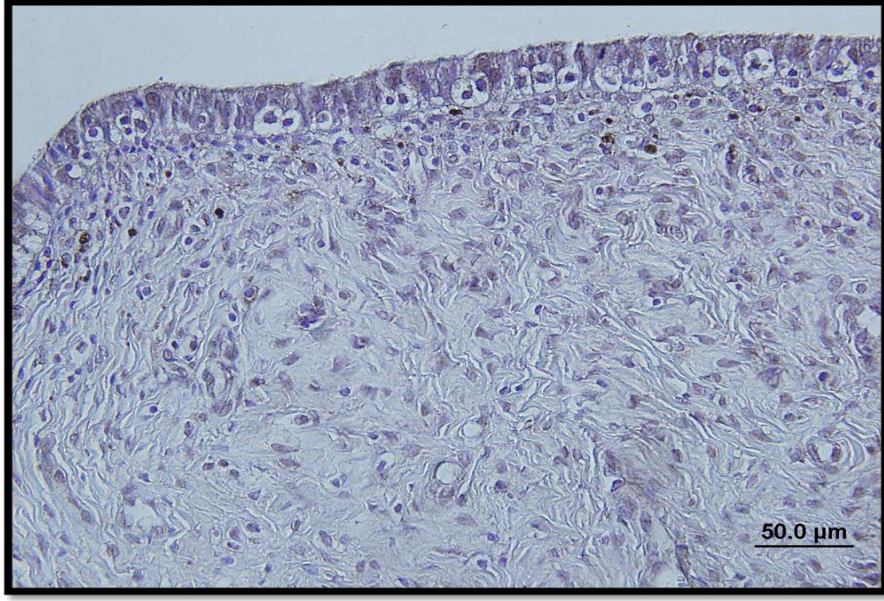
Bu değerler göz önünde bulundurulduğunda, kontrol proöstrus ve diyabet proöstrus grupları karşılaştırıldığında, lümen epitelinde vitronektin molekülünün dağılımında kontrol grubuna göre, diyabetik grupta anlamlı azalma vardı (p<0,016). Kontrol proöstrus ve diyabet proöstrus grupları karşılaştırıldığında, stromada vitronektin molekülünün dağılımında kontrol grubuna göre, diyabetik grupta azalma vardı, ancak sonuç anlamlı değildi (p<0,144). Yine kontrol proöstrus ve diyabet proöstrus grupları karşılaştırıldığında bez epiteli ve miyometriyumda diyabetik grupta anlamlı bir azalma gözlemlendi (p<0,016). Kontrol östrus grubu ile diyabet östrus grupları karşılaştırıldığında, lümen epitelinde, stromada, bez epitelinde ve miyometriyumda vitronektin molekülünün dağılımının diyabetik grupta artmasına rağmen sonuçlar anlamlı değildi (p<0,140).



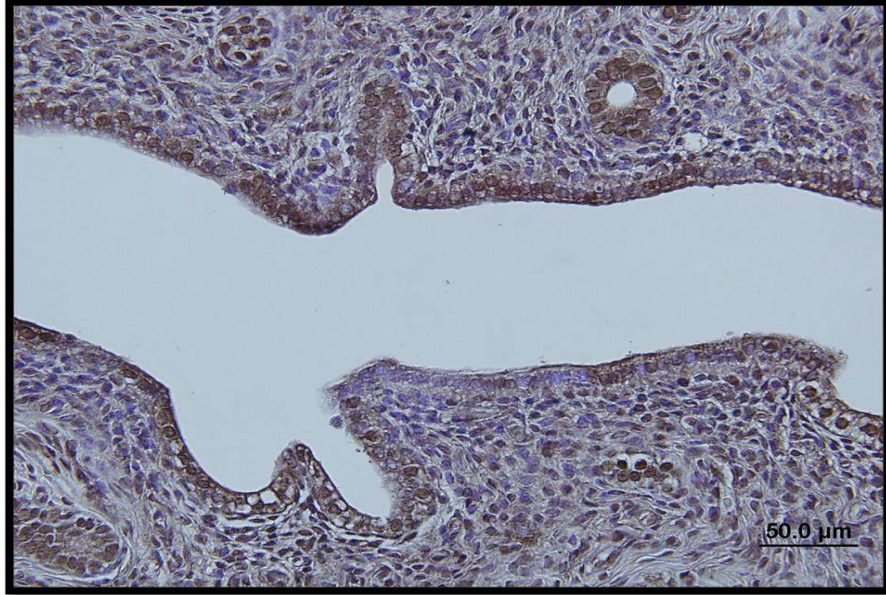
Şekil 27: Kontrol proöstrus grubuna ait kesit. x40 büyütmede. Bar 50µm.



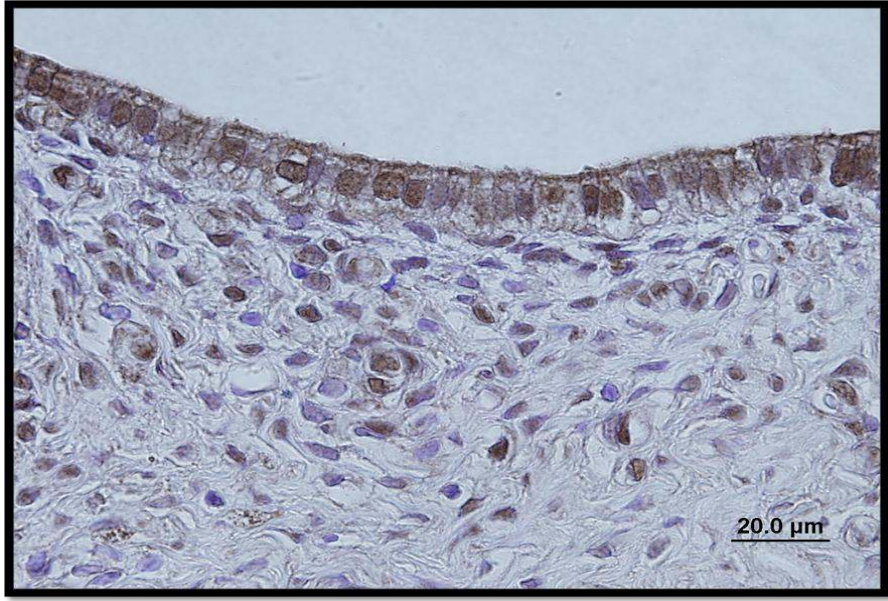
Şekil 28: Kontrol östrus grubuna ait kesit. x40 büyütmede. Bar 50µm.



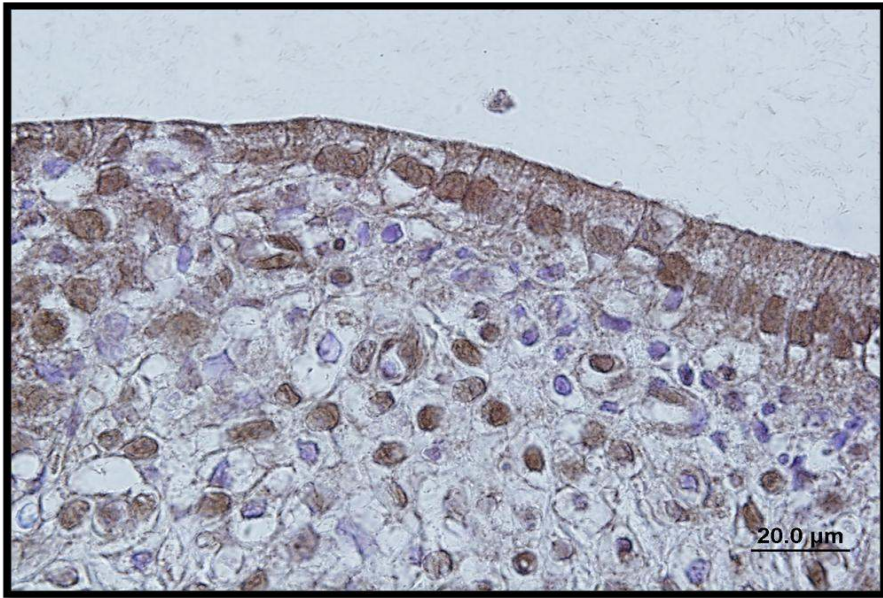
Şekil 29: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. Vitronektin x40 büyütme. Bar 50μm.



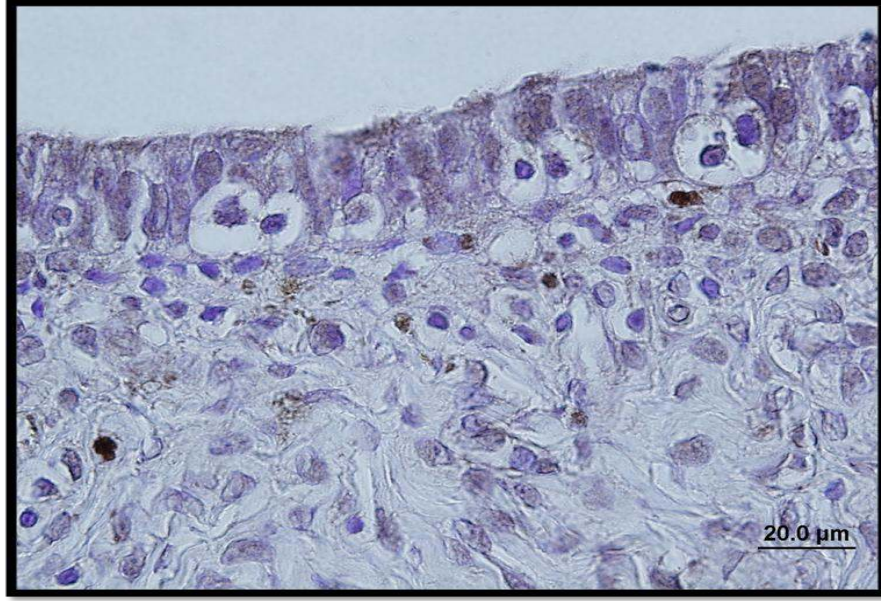
Şekil 30: Diyabet östrus grubuna ait kesit. Vitronektin x40 ve büyütme. Bar 50μm.



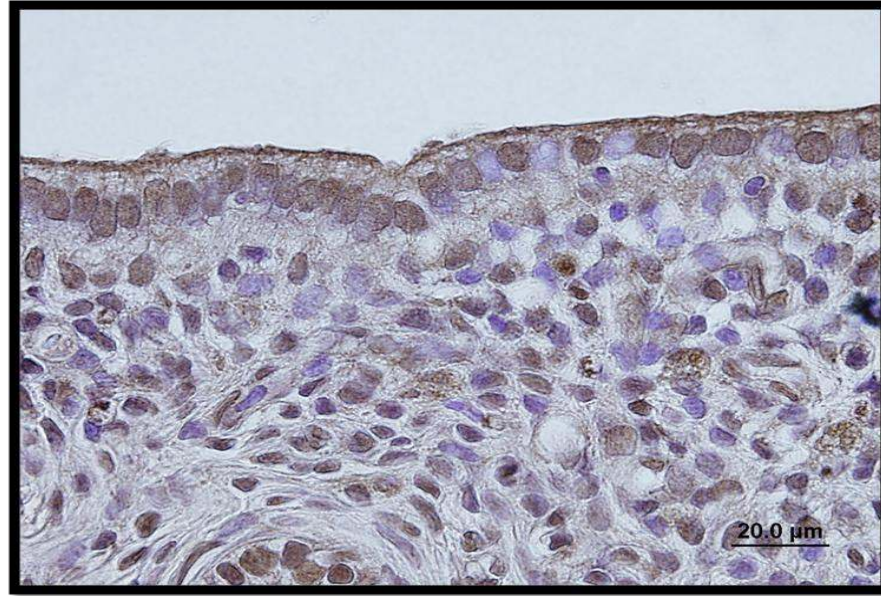
Şekil 31: Kontrol proöstrus grubuna ait kesitler. Vitronektin x100 büyütmede. Bar 20µm.



Şekil 32: Kontrol östrus grubuna ait kesitler. Vitronektin x100 büyütmede. Bar 20µm.



Şekil 33: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. Vitronektin x100 büyütmede. Bar 20µm.



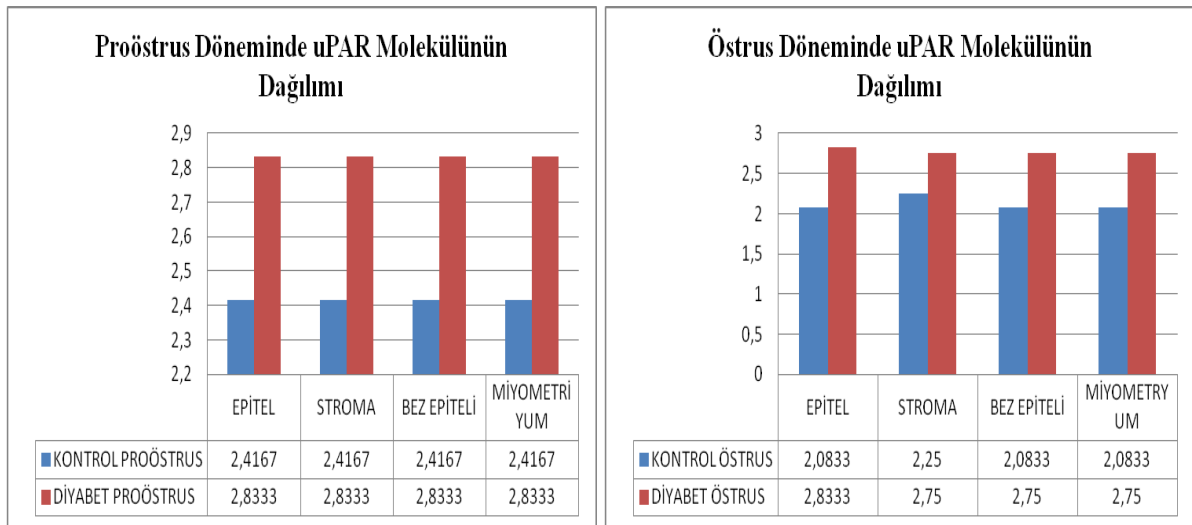
Şekil 34: Diyabet östrus grubuna ait kesitler. Vitronektin x100 büyütmede. Bar 20µm.

4.5.2. Anti-uPAR İmmunohistokimya Boyama Bulguları

Hücrelerdeki uPAR dağılımını belirlemek için anti-uPAR antikor boyaması yapıldı. Gruplar arası uPAR molekül dağılımını belirlemek için, uterus dokusunun dört farklı bölgesinde (lümen epiteli, stroma, bez epiteli ve miyometriyum) semikantitatif ölçümler yapıldı.

Kontrol proöstrus grubuna ait kesitler incelendiğinde, elde edilen sonuçlara göre uPAR dağılımı; lümen epitelinde $2,4167 \pm 0,20412$, stromada $2,4167 \pm 0,20412$, bez epitelinde $2,4167 \pm 0,20412$, miyometriyumda $2,0833 \pm 0,20412$ olarak saptandı. Kontrol östrus grubuna ait kesitler incelendiğinde, elde edilen sonuçlara göre; lümen epitelinde $2,0833 \pm 0,66458$, stromada $2,250 \pm 0,41833$, bez epitelinde $2,0833 \pm 0,66458$, miyometriyumda $2,0833 \pm 0,66458$ olarak saptandı.

Diyabet prosöstrus grubuna ait kesitler incelendiğinde, elde edilen sonuçlara göre uPAR dağılımı; lümen epitelinde $2,8333 \pm 0,25820$, stromada $2,8333 \pm 0,25820$, bez epitelinde $2,8333 \pm 0,25820$, miyometriyumda $2,8333 \pm 0,25820$ olarak belirlendi. Diyabet östrus grubuna ait kesitler incelendiğinde, elde edilen sonuçlara göre vitronektin dağılımı; lümen epitelinde $2,8333 \pm 0,25820$, stromada $2,7500 \pm 0,41833$, bez epitelinde $2,7500 \pm 0,41833$, miyometriyumda $2,7500 \pm 0,41833$ olarak belirlendi.

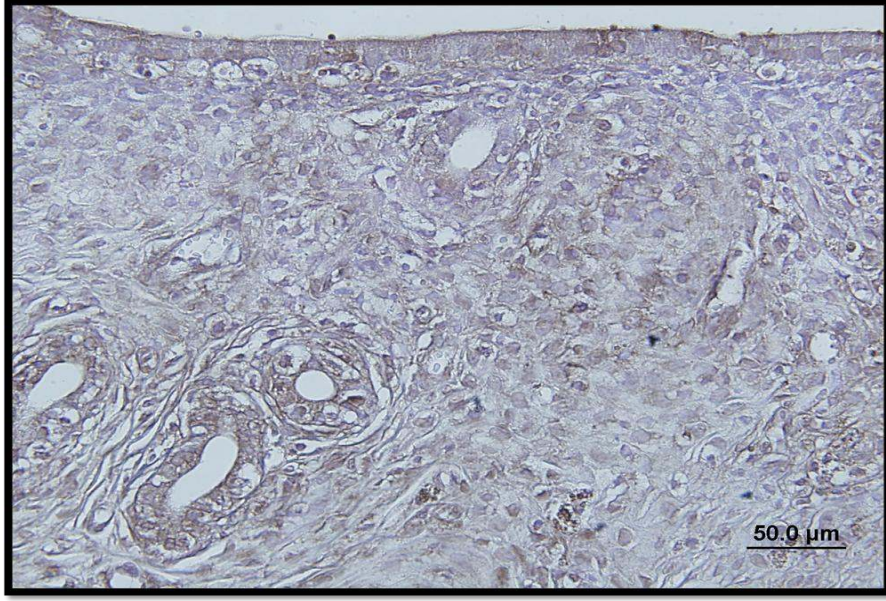


Şekil 35: Grupların uterus kesitlerinde uPAR molekülünün dağılımı

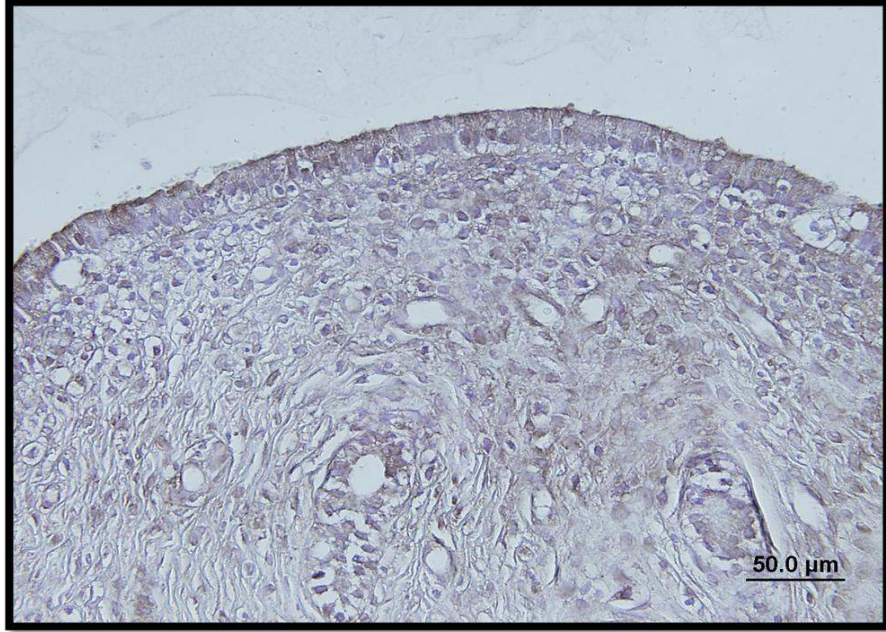
Tablo 7: Grupların uteruslarında uPAR dağılımı ortalaması

	Lümen Epiteli	Stroma	Bez Epiteli	Miyometriyum
Kontrol Proöstrus				
Diyabet Proöstrus	p<0,018	p<0,018	p<0,018	p<0,018
Kontrol Östrus				
Diyabet Östrus	p<0,028	p<0,069	p<0,062	p<0,062

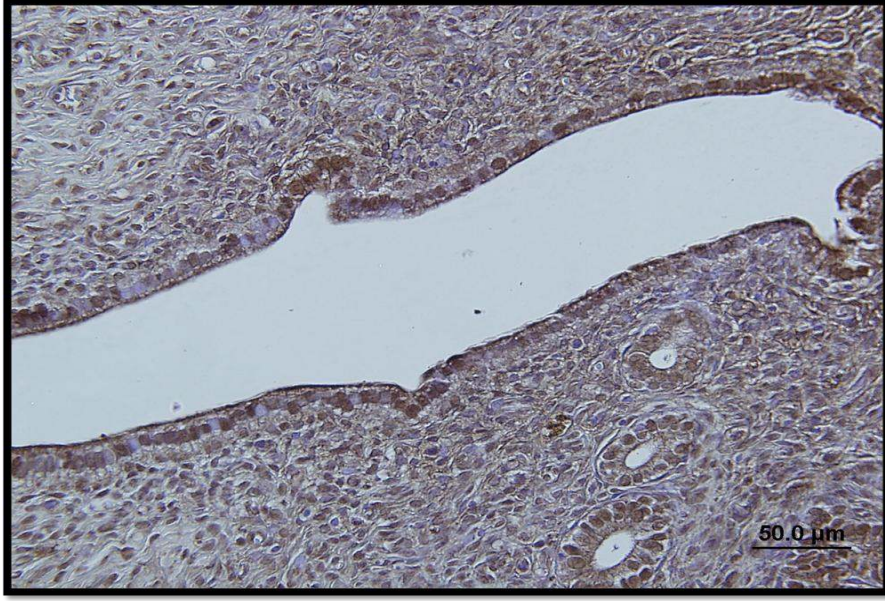
Bu değerler göz önünde bulundurulduğunda, kontrol proöstrus grubu ile diyabet proöstrus grupları karşılaştırıldığında, lümen epitelinde, stromada, bez epitelinde ve miyometriyumda uPAR molekülünün dağılımı diyabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı artmıştır (p<0,018). Kontrol östrus ve diyabet östrus grupları karşılaştırıldığında, lümen epitelinde anlamlı artış vardı (p<0,028), stromada ve miyometriyumda uPAR molekülünün dağılımında kontrol grubuna göre, diyabetik grupta artış vardı ancak sonuçlar anlamlı değildi (p<0,069, p<0,062, p<0,062).



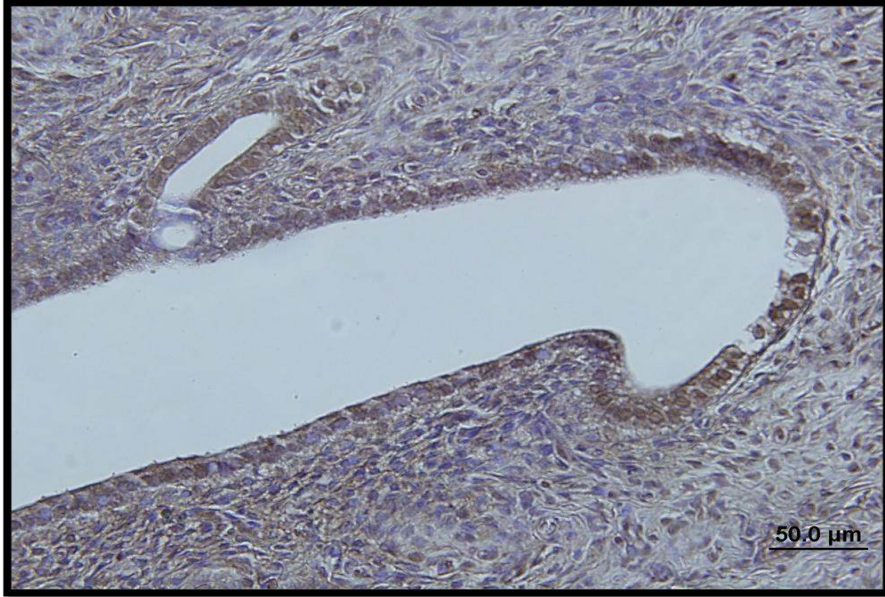
Şekil 36: Kontrol proöstrus grubuna ait kesit. uPAR x40 büyütmede. Bar 50µm.



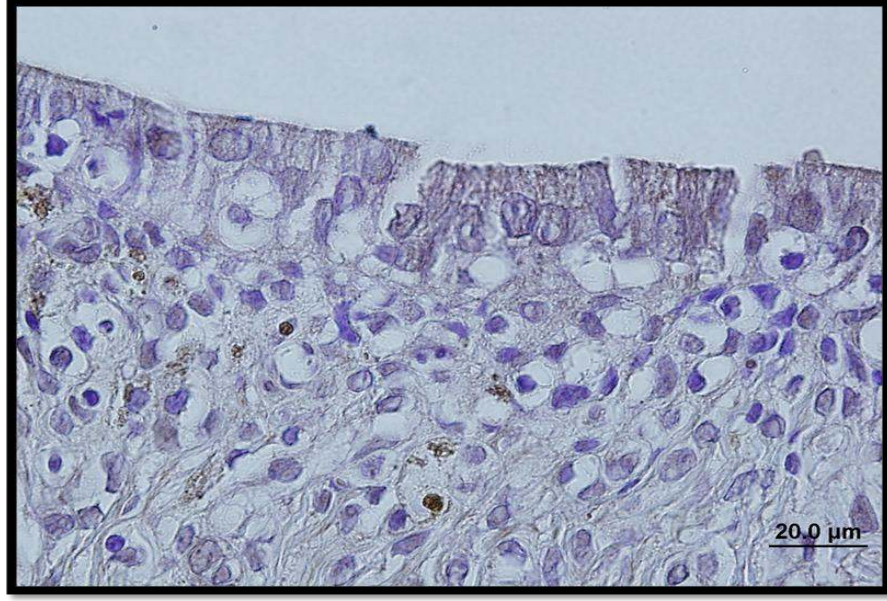
Şekil 37: Kontrol östrus grubuna ait kesit. uPAR x40 büyütmede. Bar 50µm.



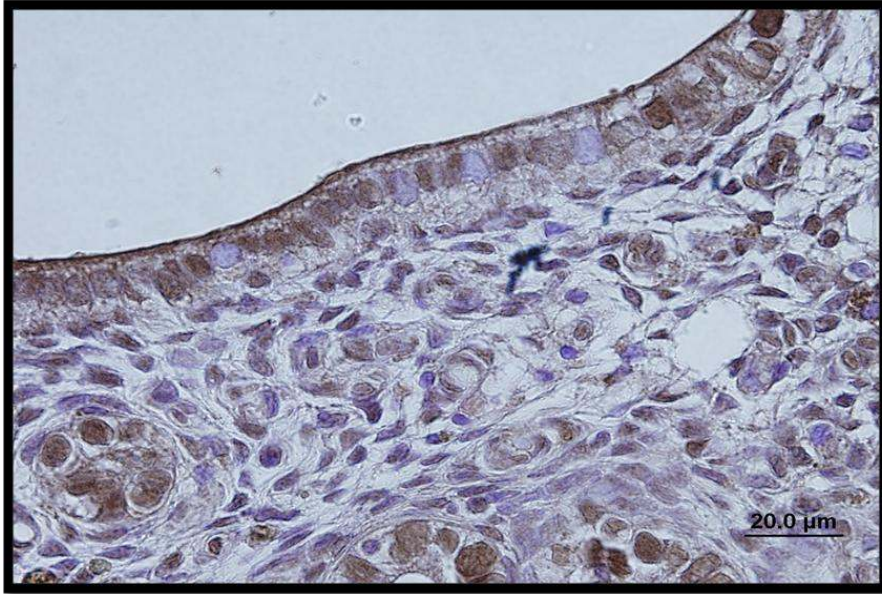
Şekil 38: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. uPAR x40 büyütmede. Bar 50µm.



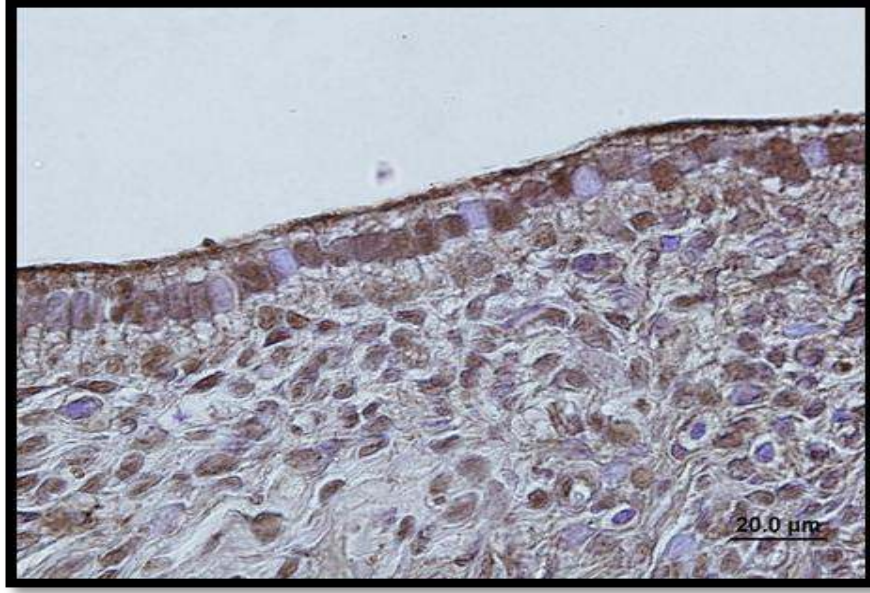
Şekil 39: Diyabet östrus grubuna ait kesit. uPAR x40 büyütmede. Bar 50µm.



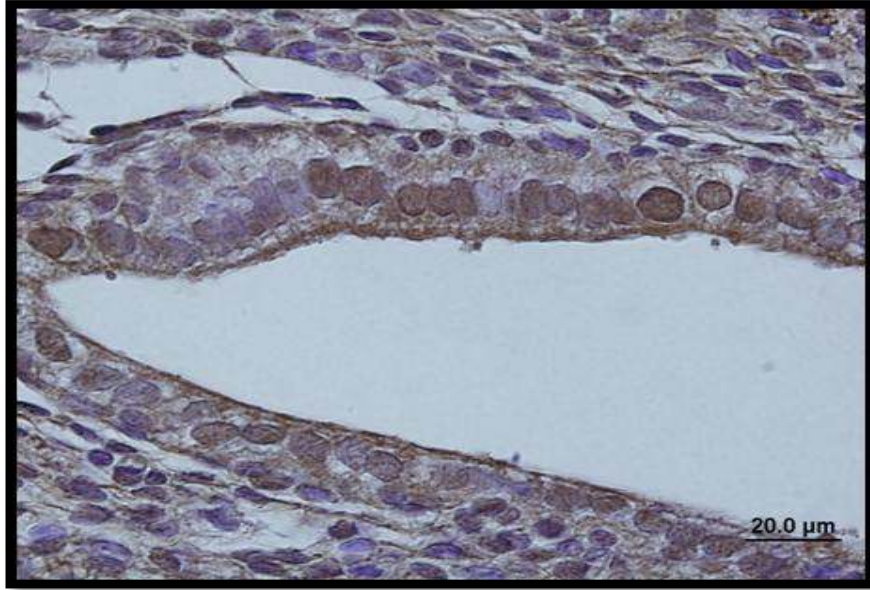
Şekil 40: Kontrol proöstrus grubuna ait kesit. uPAR x100 büyütmede. Bar 50µm.



Şekil 41: Kontrol östrus grubuna ait kesit. uPAR x100 büyütmede. Bar 50µm.



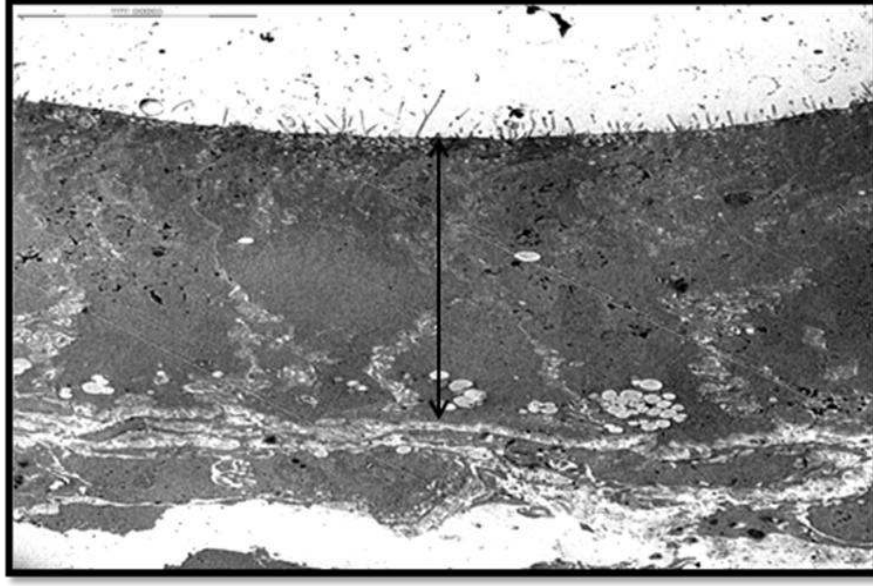
Şekil 42: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. x100 büyütmede. Bar 50µm.



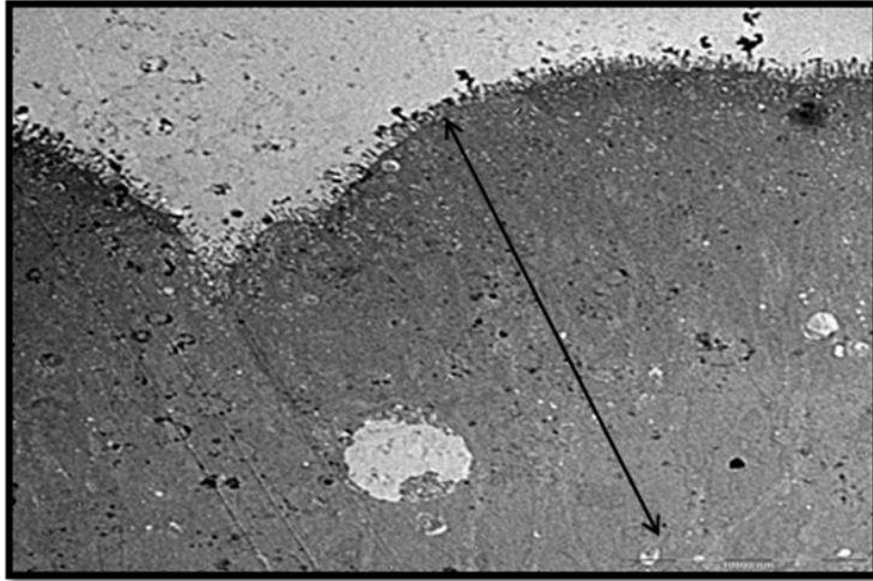
Şekil 43: Diyabet östrus grubuna ait kesit. x100 büyütmede. Bar 50µm.

4.6. Ultrastrüktürel Bulgular

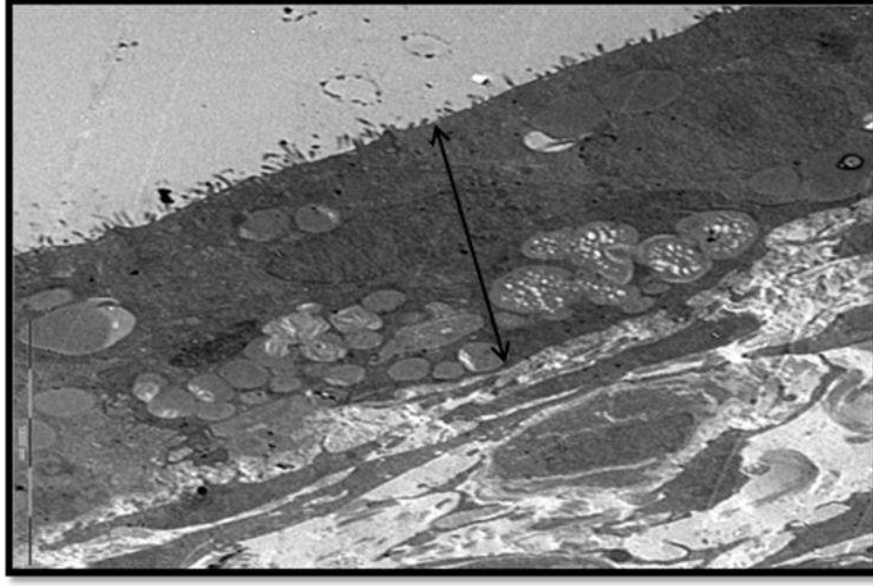
İnce yapı düzeyinde, uterus lümenini döşeyen epitelde ve hücre bağlantılarında morfolojik değişiklikler bulundu.



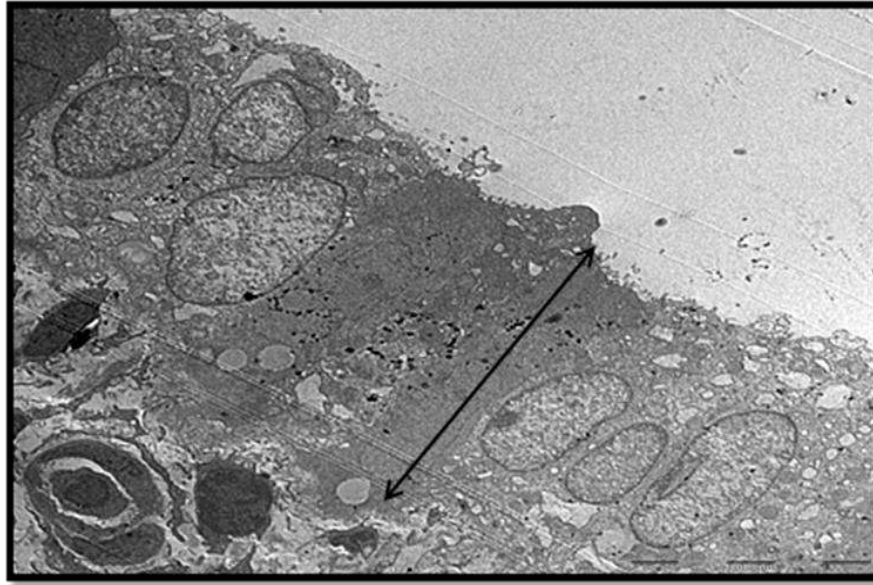
Şekil 44: Kontrol proöstrus grubuna ait kesit. Uranil Asetat-Kurşun Sitrata, X1000 büyütme.



Şekil 45: Kontrol östrus grubuna ait kesit. Uranil Asetat-Kurşun Sitrata, X1000 büyütme.



Şekil 46: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. Uranil Asetat-Kurşun Sitrat, X1000 büyütme.



Şekil 47: Diyabet proöstrus grubuna ait kesit. Uranil Asetat-Kurşun Sitrat, X1000 büyütme.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda diyabetin kadın üreme sistemi hormonları aracılığı ile uterus üzerine etkisi olduğunu düşünerek, menstrüel siklusun proöstrus ve östrus evrelerinde diyabetik sıçanlarda uterusda oluşan yapısal değişiklikleri histokimyasal, immunohistokimyasal ve ultrastrüktürel düzeyde inceledik.

Yapılan çalışmalarda diyabetli sıçan, fare, tavşan gibi çeşitli hayvan türlerinde kan/glukoz seviyelerinde artış gösterilmiştir. Garris'in diyabette endometriyum epitelindeki lipo-apoptozisi göstermek için fareler üzerinde yaptığı çalışmada diyabetli deneklerin, kontrol gruplarına göre kan/glukoz seviyelerinde artış olduğunu göstermiştir (64). Savion ve ark.larının fareler üzerinde, diyabetin uterus ve lenfoid organlardaki makrofaj ve T hücrelerinin etkisine bakmayı amaçladıkları çalışmada diyabetik farelerin kontrol gruplarına göre kan/glukoz seviyelerinde artış olduğunu göstermişlerdir (79). Biz de çalışmamızda, yapılan çalışmalarla uyumlu olarak diyabet proöstrus ve östrus gruplarını, kontrol proöstrus ve östrus grupları ile karşılaştırdığımız da kan/glukoz seviyelerinde anlamlı bir artış olduğunu gözlemledik.

Literatürde diyabetli hayvanlarda kilo kaybı olduğu gözlemlenmiştir. Favaro ve ark.larının diyabetin gebeliğin erken dönemlerinde miyometriyum yapısı ve hücre proliferasyonu üzerine yaptıkları çalışmada diyabetik grupta kontrol grubuna göre vücut ağırlığında azalma olduğunu gözlemişlerdir (80). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak diyabetik proöstrus ve östrus grupları, kontrol proöstrus ve östrus grupları ile karşılaştırıldığında diyabetik gruplarda vücut ağırlığında azalma olduğu gözlemlendi.

Literatürde üreme hormonlarının uterus üzerine etkileri incelendiğinde, Rodriguez ve ark.larının yaptığı çalışmada menstrüel döngü sırasında, endometriyumun fonksiyonel katmanını oluşturan yapıların ve hücrelerin çoğalması, farklılaşması ve ölümünün ovaryumdan salınan östrojen ve progesteron hormonlarının denetimi altında olduğunu gözlemlemişlerdir (81). Oba ile Tomomi ve ark.larının sıçanlar üzerine yaptığı çalışmalarda 4-5 gün süren östrus döngüsünde yer alan proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus evrelerinde uterusun çeşitli yapısal ve biyokimyasal değişikliklere uğradığını saptanmışlardır (82,83). Rodriguez ve ark.ları sıçanlarda proöstrus evresinde endometriyum yüzey epitelinde maksimum proliferasyon olduğunu ancak evrenin sonuna doğru proliferasyon hızının azalmaya

başladığını göstermişlerdir. Bu evrede tek katlı prizmatik epitel hücrelerinin boyutlarının artarak yüksek prizmatik hücrelere dönüştüğü bildirilmiştir (81,84). Bez epitelinde ise bu evrede proliferasyon görülmemektedir. Uterus boşluğu genişlemeğe başlamış ve boşluk sıvı ile dolmuştur (85). Bu aşamada sınırlı bir mitotik aktivite vardır ve endometriyum epiteli ile bez epitelinde dejenerasyon görülmez, ayrıca inflamatuvar hücre infiltrasyonu da görülmektedir. Proöstrusun sonuna doğru mitotik aktivite azalır. Endometriyum damarlanması artar, stromada ödem görülür (48). Endometriyal epitelde ki değişimler ile birlikte, bezlerde görülen dejenerasyon ve nekrozis ile östrus başlangıcı tanımlanır. Buna mitotik aktivite ve lökosit infiltrasyonunda azalma eşlik eder. Östrusun sonuna doğru lümende dilatasyon görülür ve mitotik aktivite endometriyum epitelinin bazı yerlerinde tekrar görülmeye başlar. Chieri ve ark.ları ile Garris'in yaptıkları çalışmalarda, diyabetin kadın üreme sistemi üzerinde utero-ovaryan hücrel glukoz metabolizmasında hasara yol açtığını göstermişlerdir. Bu etkiyi hücrelerde gözlenen hipersitolipidemya ve hücrel hiperlipidemi ile açıklamışlardır (64,86,87,88). Anderson ark.ları ile Berg ve ark.larının insan çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir (89,90,91).

Çalışmamızda diyabetik ve kontrol grubu sıçanlarda proöstrus ve östrus evrelerinde uterusun histolojik yapısını değerlendirmek için hematoksilin eozin boyaması yapıldı. Benzer şekilde Chuffa ve ark.larının nondralone deconoatenin sıçan uterusu üzerine etkisini değerlendirdikleri çalışmada uterus lümen epitelinin hasarlı gruplarda, kontrol grubuna oranla kısaldığını gözlemlemişlerdir (92). Biz de çalışmamızda yapılan çalışmayla uyumlu olarak kontrol proöstrus grubunda uterus lümenin dar olduğunu, lümene ait epitelin prizmatığe yakın tek katlı olduğunu gözledik. Endometriyumda damarlanma ve stromada ödem gözlemlendi. Kontrol östrus grubunda ise uterus lümeninde sekretuvar fazla uyumlu olarak belirgin katlantılar vardı. Uterus lümen epiteli tek katlı prizmatikti. Uterus bezlerinde ise dejenerasyon gözlemlendi. Diyabet proöstrus grubunda uterus lümençapı kontrol grubuna göre daralmış ve lümen epiteli hücrelerinin boyları kısalmıştı. Diyabet östrus grubunu, kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda benzer şekilde uterus lümen çapında daralma ve lümen epiteli hücrelerinin boylarında kısalma gözlemlendi.

Bağ dokusu artışını gözlemek için Masson Trikrom üç'lü boyaması yapıldı. Bu boyama sonucunda nükleuslar siyah, sitoplazma kırmızı, kollajen ve mukus mavi olarak gözlemlendi. Jianli ark.larının diyabetli insanlarda kalp dokusu üzerinde yaptıkları çalışmada, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, diyabetli grupta miyokardiyumda ve benzer olarak

perivasküler alanda kollajen miktarının arttığını gözlemlemişlerdir. Biz de çalışmamızda kontrol proöstrus ve östrus gruplarında normal bir bağ dokusu gözlerken, diyabet proöstrus ve östrus gruplarında kollajen miktarında artış olduğunu gözledik (93).

Çalışmamızda vitronektin ve uPAR moleküllerinin menstrüel siklusun proöstrus ve östrus evrelerinde, diyabetik sıçanların uteruslarındaki dağılımını gözlemlemek için anti-vitronektin ve anti-uPAR antikoları ile immunohistokimyasal boyama yapıldı. Lessey ark.larının yaptığı çalışmada, vitronektin reseptörü olan spesifik integrin $\alpha\beta3$ 'ün menstrüel siklusun 19. gününde endometrial epitelde belirlediğini göstermişlerdir. $\alpha\beta3$ 'ün bu salınımının implantasyon penceresi döneminin başlangıcına denk gelmesi $\alpha\beta3$ 'ün ve dolayısıyla vitronektinin implantasyonda önemli rol oynadığını düşündürmüştür (27). Salmani ve ark.larının yaptığı çalışmada proliferatif fazda, yüksek östrojen seviyelerinin integrin ekspresyonunu östrojenin alfa reseptörü üzerinden inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca luteal fazda progesteron artışının, östrojen alfa reseptörlerinin sayısını azalttığı ve bu durumun belirgin integrin artışı ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Progesteron da, epitelyal $\beta3$ integrin ekspresyonunu indüklemek için parakrin faktörlerin (örnek; EGF ve HB-EGF) artırılmasında olumlu rol oynamaktadır. İnsan endometriyumunda $\alpha V\beta3$ integrin ekspresyonunun da epidermal büyüme faktörü (EGF), HB-EGF gibi pozitif, 17β -estradiol (E2) gibi negatif faktörlerle düzenlendiği gösterilmiştir. Diğer bir gen olan HOXA 10, $\beta3$ alt ünitesinin ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynar. HOXA 10 ile muamele edilen kültüre endometrial epitel hücrelerde $\beta3$ integrin ekspresyonunun artış gösterdiği bildirilmiştir (94).

Lessey ve ark.ları insan endometriyumunda menstrüel siklus boyunca 3 özel integrin alt ünitesinin, $\alpha1$, $\alpha4$ ve $\beta3$, glandular ve lüminal epitelde eksprese olduğunu göstermişlerdir (95). Hertig ve ark.ları açık implantasyon penceresi gününe denk gelen menstrüel siklusun 20. gününde $\alpha\beta3$ ün aniden arttığını göstermişlerdir (96). αV 'in ortadan kaybolması ise siklusun 24. gününe denk gelmektedir (97). Lessey ve ark.ları yaptıkları çalışmada proöstrusa denk gelen proliferatif fazda αv 'in epitelde ve mezenkimde zayıf şekilde eksprese olduğunu ve sekretuvar faz boyunca artış olduğunu, menstrüel siklusun 19. gününde $\beta3$ 'ün endometrial epitelde ve ayrıca glandular epitelde, perisellüler alanda dağılımının bulunmadığını göstermişlerdir. Bunun tersine bazal membranda αv ve $\beta3$ 'ün çok zayıf boyanma gösterdiğini bildirmişlerdir (98). Biz de çalışmamızda östrusa denk gelen 20. günde $\alpha\beta3$ reseptörü olan vitronektinin uterustaki dağılımını immunohistokimyasal olarak inceledik.

Kontrol proöstrus ve kontrol östrus gruplarını karşılaştırdığımızda, uterus lümen epiteli, stroma, bez epiteli ve miyometriyumda vitronektin molekülünün tutulumunda östrus grubuna göre proöstrus grubunda azalma gözlemledik. Ayrıca ilk kez bizim çalışmamızda diyabetik sıçanlarda, proöstrus ve östrus evrelerinde uterus lümen epiteli, stroma, bez epiteli ve miyometriyumda ki vitronektin molekülünün dağılımı incelendi. Buna göre, proöstrus evresinde, diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre lümen epitelinde, bez epitelinde ve miyometriyumda anlamlı azalma gözlemledik. Östrus evresinde, diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre lümen epiteli, stroma, bez epiteli ve miyometriyumda artış gözledik ancak sonuç anlamlı değildi.

Ürokinaz plazminojen aktivatör (uPA) sistem; hücre invazyonunda, adhezyonunda ve göçünde çok önemli rol oynayan bir proteindir. uPA ve reseptörü uPAR birçok normal hücre, tümör hücreleri, bunun yanı sıra trofoblast ve fetal membran hücreleri tarafından eksprese edilir (69,70). Üreme dönemindeki kadınlarda endometriyum her ay geniş siklik değişimlere maruz kalır. Endometriyum proliferatif fazda, östradiol etkisi ile proliferere olur ve sekretuvar fazda progesterona etkisi ile farklılaşır. Hormonların geri çekilmesi ile birlikte dokuda parçalanma ve menstürasyon görülür. Uterin sıvısındaki uPA aktivitesinin endometrial salınımı siklusun ortasında, proliferatif fazda maksimum seviye yükselir, sekretuvar fazda düşüktür ve menstürasyon öncesinde de tekrar yükselir (99,100). Tor ve ark.larının yaptığı çalışmada ovulasyon, implantasyon, plasentasyon, hücre göçü, dokunun yeniden şekillenmesi, anjiyogenez, doğum öncesi değişimler ve diğer bir dizi üreme olaylarında fibrinoliz/proteoliz süreçlerinde uPA/uPAR aktivitesinin yer aldığını göstermişlerdir (65). Ayrıca Lala ve ark.larının yaptıkları çalışmada, trofoblastların düzenlenmesinde, invazyonunda ve göçünde uPA sisteminin bir rolü olduğunu düşünmüşlerdir (71).

Nordengren ve ark.ları insanlarda menstrül siklus evrelerinde, uterus üzerinde yaptıkları çalışmada, proliferatif evrede ve erken/orta sekretuvar evrede uPA'nın daha yüksek miktarda olduğunu, ancak geç sekretuvar evrede ve menstürasyon sırasında uPA'nın proliferatif faza göre arttığını göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada, proliferatif fazda erken/orta sekretuvar faza göre uPAR'ın daha fazla miktarda olduğunu göstermişlerdir. Bu farkın uPAR dağılımının epitelden stromaya kaymasıyla ilgili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmada PAI'nün geç proliferatif fazdan, sekretuvar faza doğru artış gösterdiğini ve menstürasyonda maksimum seviyeye geldiğini göstermişlerdir (72).

Biz de çalışmamızda, önceki çalışmalarla uyumlu olarak kontrol proöstrus ve kontrol östrus gruplarını karşılaştırdığımızda, uterus lümen epiteli, stroma, bez epiteli ve miyometriyumda uPAR molekülünün tutulumunda östrus grubuna göre proöstrus grubunda artış olduğunu gözlemledik. Ayrıca ilk kez bizim çalışmamızda diyabetik sıçanlarda, proöstrus ve östrus evrelerinde uterus lümen epiteli, stroma, bez epiteli ve miyometriyumda ki uPAR molekülünün dağılımı incelendi. Buna göre proöstrus evresinde, diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre lümen epitelinde, bez epitelinde ve miyometriyumda anlamlı artma gözlemledik. Östrus evresinde, diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre lümen epiteli, stroma, bez epiteli ve miyometriyumda anlamlı artış gözlemledik.

Çalışmamızda diyabetin uterus dokusunun ultrastrüktürel yapısına etkisini gözlemlemek için elektron mikroskopik inceleme yöntemi kullanıldı. Literatür incelendiğinde, uterusun da içinde olduğu epitel doku ile döşeli birçok organda en yaygın çalışılan bağlantı birimlerinin sıkı bağlantılar olduğu (tight junction, zonula occludens) gözlenmiştir. Bu birimin yapısına katılan 40 proteinden en bilinenleri; integral sıkı bağlantı birimi proteini olan junctional adezyon molekülü (JAM), occludin ve claudindir. Bu moleküllerin iki hücre zarının arasında köprü görevi yaptığı saptanmıştır. Mendoza ve arkadaşlarının 2005 yılında sıçanlarda yaptıkları çalışmada menstrüel döngüde okludin'in sadece proöstrus evresinde uterus epitel hücrelerinin yan yüzlerinin en üst bölgesinde yerleşim gösterdiği bildirilmiştir. Döngünün diğer günlerinde ise okludin'in odakal ya da farklı sıkı bağ birimlerinde gözlemlendiğini saptamışlardır. Klaudin 1 proöstrus döneminde uterus epitelinin yan yüzünün en üst kısmında aralıklı olarak, östrus evresinde ise epitel hücrenin bazolateralinde izlenmektedir. Klaudin 3 proöstrus evresinde bazolateral olarak, östrus evresinde ise sinyaller kaybolarak sadece noktasal şekilde yan zarın en üst kısmında saptanmıştır (101).

Bizde çalışmamızda ince yapı düzeyinde, uterus lümenini döşeyen epitelde ve hücre bağlantılarında morfolojik değişiklikler bulundu.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmadan elde edilen verilere göre diyabetin uterusda doku hasarı oluşturduğu, implantasyon öncesi süreçte (proöstrus ve östrus dönemlerinde) histokimyasal, immunohistokimyasal ve ultrasktürel parametrelerde de değişikliklere neden olduğu sonucuna varılmıştır.

Literatürde diyabetin implantasyon öncesi süreçte uterus dokusu üzerine etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan çalışmamız literatürdeki boşluğu dolduracaktır. Diyabetin uterus dokusu üzerine etkisi ilk kez bizim çalışmamızda histokimyasal olarak hematoxilen & eozin, masson trikrom ve PAS, immünohistokimyasal olarak uPAR ve vitronektin boyamaları yapılarak, uterus ince yapısı ultrastrüktürel düzeyde incelenerek ve değerlendirildi.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızın diyabetin implantasyon öncesi süreçteki etkisinin anlaşılması konusunda yol gösterici olacağı kanısındayız.

7. KAYNAKLAR

1. Bağıraçık N, İ.U. Cerrahpaşa Tıp Fakultesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Diabetes Mellitus Sempozyumu, 1997;9-18
2. Araz M, Diabetes Mellitus. In: Sağlıker Y,Ed. İç Hastalıkları Prensipleri, 4. Baskı. Nobel Tıp Kitabevi, 2004;2109-2123
3. American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus; Diabetes Care, 2005; 28:37-42
4. Karayalçın C. Unilateral diyabetik ayak ülseri gelişiminde polinöropatinin etkisi. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilimdalı, Adana, 2007
5. Garris R, Smith C. Diabetes-associated endometrial disruption in the ketonuric, diabetic Chinese hamster. Gynecologic and Obstetric Investigation, 1983;16:86-96
6. Tatewaki R, Otani H, Tanaka O, Kitada J. A morphological study on the reproductive organs as a possible cause of developmental abnormalities in diabetic NOD mice. Histo Histopathol, 1989; 4:343-358.
7. Preissner KT, Kanse Sn, May AE. Urokinase receptor: a molecular organizer in cellular communication. Curr Opin Cell Biol 2000;12: 621-628.
8. Vassalli D, Sappino P, Belin D. The plasminogen activator/plasmin system. J Clin Invest 1991;88: 1067-72
9. Güler C, Tüzel E, Şamlı M, Demirbaş M. Yüzeyel Mesane Tümörlerinde Tanısal ve Prognostik Yeni Belirleyiciler. The Medical Journal of Kocatepe, 2006;6:1-9
10. Madsen D, Sidenius N. The interaction between urokinase receptor and vitronectin in cell adhesion and signalling. European Journal of Cell Biology, 2008;87:617-629
11. Blasi F, Carmeliet P. uPAR: a versatile signalling orchestrator. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012;3: 932-43
12. Nordngren J, Pilka R, Noskova V, Ehinger A, ve ark. Differential localization and expression of urokinase plasminogen activator (uPA), its receptor (uPAR), and its inhibitor (PAI-1) mRNA and protein endometrial tissue during the menstrual cycle. Molecular Human Reproduction, 2004;10:655-663
13. Achache H, and Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. Human Reproduction Update, 2006;12:731-746

14. Hynes O, Lively C, McCarty H, Taverna D, ve ark. The diverse roles of integrins and their ligands in angiogenesis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2002;67:143-53
15. Barczyk M, Carracedo S, Gullberg D. Integrins. *Cell Tissue Res*, 2010;339:269-280
16. ReddyR, Mangale SS. Integrin receptors: the dynamic modulators of endometrial function. *Tissue &Cell*, 2003;35: 260-273
17. Horton A, The α V β 3 Integrin “Vitronectin Receptor”. *Int. J. Biochem. Cell Biol*, 1997;29:721-725
18. Mourik M, Macklon S, Heijnen J. Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules and immun cells in establishing an implantation environment. *J. Leukoc. Biol*, 2009;85:4-9
19. Aplin D, Adhesion molecules in implantation. *Journals of reproduction and fertility*, 1997;2:84-93
20. Allera J, Cullinan E, Gui Y, Yuan L ve ark. Blockade of α V β 3 the integrin adversely implantation in the mouse. *Biology of Reproduction*, 2000; 62:1285-1290
21. Schwartz I, Seger D, Shmuel S. Molecules in focus vitronectin. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 1999;31: 539-544
22. <http://en.wikipedia.org/wiki/Vitronectin>, 2012
23. Preissner T, May E, Whon D, Germer M, ve ark. Molecular crosstalk between adhesion receptor and proteolytic cascades in vascular remodeling. *Thromb. Haemost*, 1997;78:88-95
24. Hess S, Kanse M, Kost C ve ark. The versatility of adhesion receptor ligands in haemostasis: morpho-regulatory function of vitronectin, *Thromb. Haemost*. 1995;74:258-265
25. Huang X, Wu J, Spong S, Sheppard D. The integrin α v β 6 is critical for keratinocyte migration on both its know ligand, fibronctin and on vitronectin. *J Cell Sci*. 1998;111: 2189-2195
26. X Zheng, Saunders L, Camper A, Samuelson C, ve ark. Vitronectin is not essential for normal mammalian development and fertility. *Medical Sci*. 1995;92: 12426-12430

27. Lessey A, Damjanovich L, Coutifaris C, Castelbaum A, ve ark. Integrin adhesion molecules in the human endometrium: correlation with the normal and abnormal menstrual cycle. J Clin Invest 1992;90:188-95
28. Moore Persaud. Klinik Yönleri İle İnsan Embriyolojisi, 8. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2002, 269-271.
29. Sadler TW. Longman' s Medical Embryology (Türkçe Çeviri), 9. Baskı, Ankara Palme Yayıncılık, 2005, 338-343.
30. Gövsa F, Sistemik Anatomi, Nobel Tıp Kitapevi, 2008
31. Dere F. Kadın Ürogenital Sistemi Anatomi Atlası ve Ders Kitabı, Cilt 1, 5. Baskı, Adana, 2006, 35-72.
32. Netter F. Genital Sistem Anatomisi. İnsan Anatomisi Atlası, 4. Baskı, İstanbul Nobel Tıp Kitabevi, 2008.
33. Paker Ş. Histoloji. Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1990, 236-250.
34. Ross M, Pawlina W. Histology A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology, 5. Baskı, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2003, 790-794.
35. Sancak B, Cumhur M, Fonksiyonel Anatomi, Bas Boyun ve İç Organlar, 1. Baskı, Ankara, ÖDTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş. Yayınları, 1999, 333-338.
36. Junqueira, L, Carneiro J, Kelley R. Temel Histoloji, 8. Baskı, İstanbul, Barış Kitapevi, 1998
37. Gartner LP, Hiatt JL. Color Text Book of Histology, 3. Baskı, W. B. Saunders Company, 1997, 390-398.
38. Stenberg SS, Histology for Pathology, 12. Baskı, Philadelphia, New York, Lippincott-Raven, 1997, 879-929.
39. Akbay C, Sabuncuoğlu T. Özel histoloji ince yapı ve gelişme, Antıp A.Ş. Tıp Kitapları Bilimsel Yayınları, Ankara, 2002.
40. Erkoçak A, Özel Histoloji. 4. Baskı, Ankara, AÜTF yayınları, 1982.
41. Stevens A, Lowe J. Human Histology. 2. Baskı, Barcelona, 1997.
42. Cunningham G F, Gant FN, Leveno JK, Gilstrap CL ve ark. Williams Obstetrics 21. Baskı, Medical Publishing Division, McGraw- Hill Companies, North America, 2001.

43. Atasü T, Sahmay S. Jinekoloji, 1. Baskı, İstanbul, Üniversal Bilimsel Yayınları 6, 1996, 159-164
44. Fawcett DW, A Textbook of Histology, 12. Baskı, New York, Chapman and Hall, 1994.
45. Snell SR, Clinic Anatomy, (Türkçe Çeviri), 5. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1998, 323-326
46. Guyton AC, Tıbbi fizyoloji, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 1989.
47. Long A, Evans M. The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena. Mem. Univ. California, 1922; 6:1-148.
48. Westwood F, The Female Rat Reproductive Cycle: A Practical Histological Guide to Staging. Toxicologic Pathology, 2008; 36:375-384.
49. Kantre M, Öztaş E, ve Dalçık C. Sıçan, fare ve kobaylarda gebeliğin ilk gününü teyin etmede vajinal smere yönteminin kullanılması, Van Tıp derg, 2010;3:112-116.
50. Mellanby J, Dunyer J, Hawkins C, Hitchen C. Effect of experimental limbic on the estrus cycle and reproductive succed in rat, Epilepsia, 1991;34:220-227.
51. Oba G, Ratlarda siklus dönemlerinin ve gebeliğin vajinal smear yöntemi ile iki boyama tekniği kullanılarak saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara 1998.
52. Montes S, Luqoe H. Effects of ovarian steroids on vaginal smears in the rat, Acta Anat, 1998;133:192-199.
53. Watkins J, Drury L, Howell L. Diabetes and its management 5. Baskı. Blackwell Co, 1996.
54. National Diabetes Data Group. Calsification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes, 1979;26:1039-57.
55. The Institute for Vaccine Safety Diabetes Workshop Panel. Childhood immunizations and type 1 diabetes: summary of an Institute for Vaccine Safety Workshop. Pediatr Infect Dis J, 1999;18:217-22.
56. Satman İ, Diabetes mellitus tanı ve izleminde yeni kriterler ve belirlenme gerekçeleri. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci, 2007;3:1-15.
57. Fajans S, Bell I, Polonsky S. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. The New England Journal of Medicine, 2001; 345:971- 977.

58. King H, Epidemiology of glucose intolerance and gestational diabetes in women of childbearing age. *Diabetes Care*, 1998;21:9–13.
59. Kuhl C, Glucose metabolism during and after pregnancy in normal and gestational diabetic woman. *Acta Endocrinol*, 1995; 79,709.
60. Sakamaki H, Akazawa S, Ishibashi M, Izumino K, ve ark. Significance of glutathione-dependent antioxidant system in diabetes-induced embryonic malformations. *Diabetes*, 1999;48:1138-44.
61. Crowther E, Hiller E, Moss R, McPhee J, ve ark. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes. *The New England Journal of Medicine*, 2005; 352:2477-2486.
62. Alvin C, Braunwald E, Fauci A, Kasper D, ve ark. D. Diabetes mellitus. 15. Baskı. McGraw-Hill Company, 2000;114-2125.
63. David R, Garriss R, Garriss L. Diabetes-Induced, Progressive Endometrial Involution Characterization of Periluminal Epithelial Lipoatrophy. *Diabetes*, 2003; 52:51–58.
64. Garriss R, Diabetes (db/db) mutation-induced endometrial epithelial lipoapoptosis: Ultrastructural and cytochemical analysis of reproductive tract atrophy. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2005;3.15.
65. Ny T, Peng R, Ohlsson M. Hormonal regulation of the fibrinolytic components in the ovary. *Thromb Res*, 1993;71:1–45.
66. Zorio E, Gilabert-Estelles J, Espana F, Ramon A, ve ark. Fibrinolysis: The Key to New Pathogenetic Mechanisms. *Current Medicinal Chemistry*, 2008;15: 923-929.
67. Carrell R, Travis J. α 1-Antitrypsin and the serpins: Variation and countervariation. *Trends Biochem. Sci*, 1985;10: 20–24.
68. Ploug M, Structure-function relationships in the interaction between the urokinase-type plasminogen activator and its receptor. *Curr. Pharm. Des.* 2003; 9: 1499–1528.
69. Zini M, Murray C, Graham H, Lala K, ve ark. Characterization of urokinase receptor expression by human placental trophoblasts. *Blood*, 1992;79:2917–29.
70. Kolben M, Lopens A, Blaiser J, Ulm K, ve ark. Proteases and their inhibitors are indicative in gestational disease. *Eur J Obstet Gynecol Rep Biol*, 1996;68:59–65.
71. Lala K, Chakraborty C. Factors regulating trophoblast migration and invasiveness: possible derangements contributing to pre-eclampsia and fetal injury. *Placenta*, 2003;24:575–87.

72. Norgengren J, Pilka R, Nokova V, Ehinger A, ve ark. Differential localization and expression of urokinase plasminogen activator (uPA), its receptor (uPAR), and its inhibitor (PAI-1) mRNA and protein in endometrial tissue during the menstrual cycle. *Molecular Human Reproduction*, 2004;9:655–663.
73. Preissner T. Structure and biological role of vitronectin. *Annu. Rev. Cell Biol*, 1991;7:275–310.
74. Damsky C, Sutherland A, Fisher S. Common themes of dedifferentiation in somatic cell reprogramming and cancer. *Faseb J*, 1993;7:1320-9.
75. Bowen A, Burghardt C. Cellular mechanisms of implantation in domestic farm animals. *Semin Cell Dev Biol*, 2000;11:93-104.
76. Lessey B, Castelbaum A, Buck C, Lei Y, ve ark. Further characterization of endometrial integrins during menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril* 1994;67:497–506.
77. Campbell S, Swann H, Seif M, Kimber S, ve ark. Cell adhesion molecules on the oocyte and preimplantation human embryo. *Hum Reprod*, 1995;10:1571–8
78. Tüzün F, Gençpınar P, Özbal S, Dilek M. Neuroprotective effect of neotrofin in a neonatal rat model of periventricular leukomalacia. *Neuroscience Letters*, 2012; 520: 6-10.
79. Savion S, Gidon-Dabush S, Fein A, Torchinsky A, ve ark. Diabetes teratogenicity is accompanied by alterations in macrophages and T cell subpopulations in the uterus and lymphoid organs. *Int Immunopharmacol*, 2004;4:1319-27.
80. Favaro RR, Salgado RM, Raspantini PR, Fortes ZB, ve ark. Effects of long-term diabetes on the structure and cell proliferation of the myometrium in the early pregnancy of mice. *Int J Exp Pathol*, 2010;91:426-35.
81. Rodríguez M, Merchant C.A, Valdez H, Mendoza M, ve ark. c-fos and estrogen receptor gene expression pattern in the rat uterine epithelium during the estrous cycle, *Mol. Reprod. Dev*, 2013;64:379-388.
82. Oba, G. Ratlarda Siklus Dönemlerinin Ve Gebeliğin Vajinal Smear Yöntemi İle İki Boyama Tekniği Kullanılarak Saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara 1998.

83. Tomomi S, Yugo F, Hiromi K, Masato E, ve ark. Apoptotic Cell Death During the Estrous Cycle in the Rat Uterus and Vagina, *The Anatomical Record*, 1997;248:76-83.
84. Rodríguez M, Merchant CA, Valdez H, Mendoza M, ve ark. Expression of p53 in luminal and glandular epithelium during the growth and regression of rat uterus during the estrous cycle, *Mol. Reprod. Dev*, 2002;61:445-452.
85. Wang F, Yu K, Lkam Y, Leung M, ve ark. Expression immunolocalization and functional activity of NA ⁺/H⁺ exchanger isoforms in Mouse endometrial epithelium, *Biol Reprod*, 2003;68:302-308.
86. Chieri RA, Pivetta OH, Foglia VG. Altered ovulation pattern in experimental diabetes. *Fertil Steril*. 1969;20:661-668.
87. Garriss DR, Ultrastructural analysis of progressive endometrial hypercytolipidemia induced bu obese (ob/ob) and diabetes (db/db) genotype mutations: structural basis of femal rproductive tract involution I. *Tissue &Cell* 2004;36:19-28.
88. Garriss R, Ovarian hypercytolipidemia induced by obese (ob/ob) and diabetes (db/db) mutations: basis of female reproductive tract involution II. *Tissue &Cell* 2004;36:157-169.
89. Anderson B, Mattsson L, Hahn L, Marin P, ve ark. Estrogen replacement therapy decreases hyperandrogenicity and improves glucose homeostasis and plasma lipids in postmenopausal women with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocr Metabol*, 1997;82:638-64.
90. Berg G, Mesch V, Boero L, Sayegh F, ve ark. Lipid and lipoprotein profile in menopausal transition. effects of hormones, age and fat distribution. *Horm Metab Res*, 2004;36:215-220.
91. Garriss R. Variable onset determinant and consequences of diabetes (db/db) obesity mutation expression: adrenerjic promotion of utero-ovarian dysfunction. *Horm Metab Res*, 2004;36:312-318.
92. Chuffa L, De Souza RB, Frei F, Mesquita S, ve ark. Nandrolone Decanoate and Physical Effort: Histological and Morphometrical Assessment in Adult Rat Uterus *The Anatomical Record*, 2011;294:335–341.

93. Niu j, Gilliland MGF, Jin Z, Kolattukudy PE, ve ark. MCP-1 and IL-1 β expression in the myocardia of two young patients with Type 1 diabetes mellitus and fatal diabetic ketoacidosis, *Exp Mol Pathol*, 2013.
94. Salmani M, Hosseini A, Valojerdi R. Endometrial Receptivity to Implantation in Humans Biochemical and Molecular Aspects. *Yakhteh Medical Journal*, 2008; 10:1-24.
95. Lessey A, Ilesanmi AO, Lessey MA, Riben M, ve ark. Luminal and glandular endometrial epithelium express integrins differentially throughout the menstrual cycle: implications for implantation, contraception, and infertility. *Am J Reprod Immunol*, 1996;35:195–204.
96. Hertig T, Rock J, Adams EC. A description of 34 human ova within the first 17 days of development. *Am J Anat* 1956;98:435–93.
97. Lessey A, Damjanovich L, Coutifaris C, Castelbaum A, ve ark. Integrin Adhesion Molecule in the Human Endometrium. *J. Clin. Invest*, 1992;90:188-195.
98. Casslen B, Stedt B. Occurrence of both urokinase and tissue plasminogen activator in the human endometrium. *Contraception* 1983;28:553–564.
99. Casslen B, Ohlsson K. Cyclic variation of plasminogen activation in human uterine fluid, and the influence of an intrauterine device. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1981;60:97–101.
100. Francis A, Kelly M, McCormack J, Rogers RA, ve ark. Rapid reduction of MDCK cell cholesterol by methyl-beta-cyclodextrin alters steady state transepithelial electrical resistance. *Eur. J. Cell Biol*, 1999;78:473-484.
101. Rodriguez M, Mariscal CA, Cerbon M. Changes in the distribution of ZO-1, occludin, and claudins in the rat uterine epithelium during the estrous cycle, *Cell Tissue Res*, 2005;319:315- 329.

8.EKLER

Ek-1, Etik Kurul Raporu

Toplantı No : 04/04/2012
Toplantı Tarihi : 02 Mart 2012

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'na

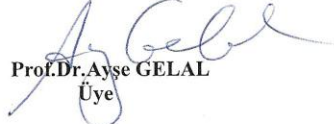
10/2012 Protokol No'lu; Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Pınar AKOKAY'ın yürüttüğü "Diyabetik sıçanlarda uPAR ve vitronektin moleküllerinin endometriumdaki dağılımlarının incelenmesi" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.


Prof. Dr. Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Başkanı


Prof. Dr. A. Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı


Prof. Dr. Alper SOYLU
Üye


Prof. Dr. Ayşe GELAL
Üye

Prof. Dr. O. Nejat SARIOSMANOĞLU
Üye
(topl. katılmadı)

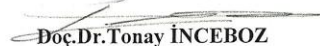

Prof. Dr. Hüseyin BASKIN
Üye

Prof. Dr. Abdullah KUMRAL
Üye

Prof. Dr. Gülgün OKTAY
Üye (Topl. katılmadı)

Doç. Dr. Turna İLKNUR
Üye
(topl. katılmadı)

Doç. Dr. H. Alper BAĞRIYANIK
Üye


Doç. Dr. Tonay İNCEBOZ
Üye

Doç. Dr. Şermin GENÇ
Üye (Topl. katılmadı)

Ayşe Nur BALİN
Üye
(topl. katılmadı)


Vtr. Hekim Adnan SERPEN
Üye

ÖZGEÇMİŞ PINAR AKOKAY

TC Kimlik No / Pasaport No:	31264897044
Doğum Yılı:	1983
Yazışma Adresi:	95 sok. No:29 D:11 Göztepe/İZMİR
Telefon:	0533 352 19 22
Faks:	
e-posta:	pinarakokay@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
TR	Afyon Kocatepe Üvi.	Fen-Edebiyat Fak.	Biyoloji		2010

AKADEMİK/MESLEKTE DENEYİM

Kurum/Kuruluş	Ülke	Şehir	Bölüm/Birim	Görev Türü	Görev Dönemi
---------------	------	-------	-------------	------------	--------------

UZMANLIK ALANLARI

Uzmanlık Alanları
Uterus, Endometriyum, Diabetes Mellitus

DİĞER AKADEMİK FAALİYETLER

Diğer Faaliyetler (Eser/görev/faaliyet/sorumluluk/olay/üyelik vb.)	
--	--

ÖDÜLLER

Ödülün Adı	Alındığı Kuruluş	Yılı

YAYINLARI

SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler

Micili S, Goker A , Sayin O, Akokay P , Ergur B. The effect of lipoic acid on wound healing in a full thickness uterine injury model in rats. J Mol Hist.

Micili S, Goker A , Sayin O, Akokay P , Ergur B. Lipoic acid decreases peritoneal adhesion formation in a rat uterine scar model. J Turkish-German Gynecol Assoc, 2013; 14: 76-80.

Diğer dergilerde yayınlanan makaleler

--

Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar

--

Düzenlenme Tarihi: 09.12.2013