



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MENOPOZ ÖNCESİ VE SONRASI DÖNEMLERDE SIÇAN OVARYUMUNDA
TELOSİT MORFOLOJİSİ VE ORGANİZASYONUNUN IŞIK MİKROSKOBİ,
İMMÜNOHİSTOKİMYA VE ELEKTRON MİKROSKOBİ YÖNTEMLERİYLE
İNCELENMESİ**

Esma İŞÇEL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER

Gaziantep
2019



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MENOPOZ ÖNCESİ VE SONRASI DÖNEMLERDE SIÇAN OVARYUMUNDA
TELOSİT MORFOLOJİSİ VE ORGANİZASYONUNUN IŞIK MİKROSKOBİ,
İMMÜNOHİSTOKİMYA VE ELEKTRON MİKROSKOBİ YÖNTEMLERİYLE
İNCELENMESİ**

Esma İŞÇEL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER

Gaziantep
2019

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MENOPOZ ÖNCESİ VE SONRASI DÖNEMLERDE SIÇAN OVARYUMUNDA
TELOSİT MORFOLOJİSİ VE ORGANİZASYONUNUN IŞIK MİKROSKOBİ,
İMMÜNOHİSTOKİMYA VE ELEKTRON MİKROSKOBİ YÖNTEMLERİYLE
İNCELENMESİ

Esma İŞÇEL

Tez Savunma Tarihi: 23.07.2019

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışmanın bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

İmzası

Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ

.....

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER

.....

Dr. Öğr. Üyesi Duygu GÖK YURTSEVEN

.....

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazılması sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

23.07.2019

Esma İŞÇEL

TEŞEKKÜR

Gaziantep Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmalarımın yürütülmesi, değerlendirilmesi ve yorumlanması aşamasında bana bilgi ve tecrübeleriyle desteklerini eksik etmeyen tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana emek ve değer veren kıymetli hocalarım Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ'ye, Sayın Prof. Dr. S. Serap İNALÖZ DEMİR'e, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nuray BOSTANCIERİ'ne sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca yanımda olan bölüm arkadaşlarıma, özellikle Sayın Araş. Gör. Hülya BİRİNCİ, Sayın Araş. Gör. Büşra ŞEN'e ve Araş. Gör. Selin URSAVAŞ'a yardım ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Elektron mikroskopik çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Çukurova Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sait POLAT'a ve Dr. Öğr. Üyesi Yurdun KUYUCU'ya teşekkür ederim.

Tezimi maddi olarak destekleyen Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Sadece yüksek lisans eğitimim değil tüm hayatım boyunca bana maddi ve manevi yardımları olan, bana inanan ve güvenen babam Mansur İŞÇEL'e, annem Ayşe İŞÇEL'e, abilerim Ali İŞÇEL ve Ertuğrul Gazi İŞÇEL'e, ablam Seçil İŞÇEL ERGİN'e teşekkürü borç bilirim.

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans yapmam konusunda bana ilham olan, izlerini takip ettiğim lisans danışmanım merhum Doç. Dr. Alper KARAKAŞ'a şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGE VE KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
RESİMLER DİZİNİ.....	ix
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Dişi Üreme Sistemi.....	4
2.2. Ovaryum Anatomisi ve Histolojisi.....	4
2.3. Folikülogenez ve Folikül Yapısı.....	6
2.3.1. Primordiyal Foliküller.....	8
2.3.2. Primer Foliküller.....	9
2.3.3. Sekonder (Antral) Foliküller.....	10
2.3.4. Graaf (Olgun) Foliküller.....	11
2.4. Ovulasyon Mekanizması (Hormon Etkileşimleri).....	13
2.5. Menopoz.....	15
2.6. Sıçanlarda Östrus Siklusu.....	16
2.7. Telosit.....	18
2.7.1. Telosit Tarihçesi	18
2.7.2. Telosit Tanımı ve Morfolojisi.....	19
2.7.3. Telositlerin Dağılımı.....	23
2.7.4. Telositlerin İmmünohistokiyasal Karakterleri.....	27
2.7.5. Telositlerin Çevresel Etkileşimleri.....	28
2.7.6. Telositlerin Fizyolojik Rollerini.....	35
2.7.7. Dişi Üreme Sisteminde Telositler.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	39

	Sayfa No
3.2. Östrus Siklusunun Değerlendirilmesi.....	40
3.3. Doku Örneklerinin Toplanması.....	41
3.4. Işık Mikroskopisi İçin Doku Takibi.....	43
3.5. Işık Mikroskopik Boyamalar.....	44
3.5.1. Masson Trikrom Boyaması.....	44
3.5.2. Bielschowsky Gümüşleme Boyaması.....	45
3.5.3. İmmünohistokimyasal İnceleme.....	46
3.6. Elektron Mikroskopik İnceleme.....	47
3.7. Kesitlerin Değerlendirilmesi.....	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. Genel Morfolojik Bulgular.....	50
4.2. Işık Mikroskopik Bulgular.....	50
4.2.1. Masson Trikrom Boyaması Bulguları.....	50
4.2.2. Bielschowsky Gümüşleme Boyaması Bulguları.....	53
4.2.3. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	56
4.3. Elektron Mikroskopik Bulgular.....	60
4.3.1. Genç Yetişkin Metöstrus Grubu.....	60
4.3.2. Genç Yetişkin Östrus Grubu.....	61
4.3.3. Menopoz Grubu.....	65
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	67
KAYNAKLAR.....	72
EKLER.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	84

SİMGE VE KISALTMALAR

AF: Atretik Folikül

AMH: Anti-Müllerian Hormon

Bl: Bazal Lamina

cm: Santimetre

Ç: Çekirdek

DDSA: 2-Dodecenylsuccinide Anhyride

DPM-30: 2,4,6-Tris (Dimethylaminomethyl) phenol

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

ER: Östrojen Reseptörü

ER- α : Östrojen Reseptörü Alfa

FSH: Folikül Stimulan Hormon

FSHR: Folikül Stimulan Hormon Reseptörü

GH: Granüloza Hücresi

GİST: Gastrointestinal Stromal Tümörleri

GLH: Granüloza Lutein Hücreleri

gr: Gram

GRO-KC: Büyüme İlişkili Onkogen/Keratinosit Türevi Kemokin

hCG: İnsan Koryonik Gonadotropin

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

ICC: İntersitisyel Cajal Hücreleri

ICLC: İntersitisyel Cajal Benzeri Hücreler

İH: İntersitisyel Hücreler

İNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

KL: Korpus Luteum

KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

KOL: Kollajen Lifler

L: Lipit Damlacıkları

LH: Luteinizan Hormon

M: Mitokondri

MCP-1: Monosit Kemoatraktan Protein-1

MIP-1 ve MIP-2: Makrofaj İnflamatuvar Protein-1 ve Makrofaj İnflamatuvar Protein-

ml: Mililitre
MNA: Methylnadic Anhydride
O: Oosit
PBS: Fosfat Tamponlu Solüsyon
PDGFR- α : Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptörü Alfa
PDGFR- β : Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptörü Beta
PECAM-1: Platelet Endoteliyal Hücre Adezyon Molekülü- 1
PEComas: Perivasküler Epiteloid Hücre Tümörleri
PF: Primer Folikül
POF: Prematür Ovaryan Yetmezlik
PR: Progesteron Reseptörü
PR-A: Progesteron Reseptörü A
S: Stroma
SER: Agranüler Endoplazmik Rekikulum Sisternaları
SF: Sekonder Folikül
SH: Stromal Hücre
TC: Telosit
TEM: Geçirimli Elektron Mikroskopisi
TH: Teka Tabakası
TP: Telopod
VEGF: Vasküler Endoteliyal Büyüme Faktörü
ZP: Zona Pellusida
 α -SMA: α - Düz Kas Aktin
 μ m: Mikron

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1: Dişi iç üreme organlarının anatomik gösterimi.....	4
Şekil 2: Ovaryumun yapısı.....	6
Şekil 3: Primordiyal germ hücrelerinin gelişimi.....	8
Şekil 4: Ovaryan foliküllerin evreleri.....	12
Şekil 5: Ovulasyon mekanizması hormon etkileşimleri.....	15
Şekil 6: Rodentlerde östrus siklusu hormon seviyeleri.....	16
Şekil 7: Rodentlerde vajinal smear görüntüleri.....	17



TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1: Telositler için platinyum standartlar.....	22
Tablo 2: Telositlerin bulunduğu yerler.....	23
Tablo 3: Deney hayvanlarının gruplandırılması.....	39



RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

Resim 1: Telosit, telopod, podom ve podomer yapılarının TEM görüntüsü.....	20
Resim 2: Telositlerin 3 boyutlu temasının taramalı elektron mikroskopik görüntüsü...	20
Resim 3: Telositteki sil yapısı.....	21
Resim 4: İki farklı telosit arasındaki interselüler membran aralığı.....	29
Resim 5: Telopodlar arasındaki gap junction.....	29
Resim 6: Telositlerin kardiyomiyositlerle heteroselüler bağlantısı.....	30
Resim 7: Telositin kök hücreyle heteroselüler teması.....	31
Resim 8: Telopodların Schwann hücreleriyle heteroselüler teması ve nano teması.....	31
Resim 9: Telositlerin kardiyomiyosit, arteriyol, fibroblast ve Schwann hücreleriyle heteroselüler teması.....	32
Resim 10: Telositlerin düz kas hücreleriyle heteroselüler teması.....	32
Resim 11: Telositlerin eozinofil ile heteroselüler teması.....	33
Resim 12: Nokta temaslar.....	33
Resim 13: Telositlerden salınan eksozom, ektozom ve multiveziküler cisimcik.....	34
Resim 14: Multiveziküler cisimciklerin oluşması ve salınması.....	35
Resim 15: Genç yetişkin grubu sıçanlardan vajinal smear alma.....	40
Resim 16: Östrus dönemi vajinal smear görüntüsü.....	41
Resim 17: Metöstrus dönemi vajinal smear görüntüsü.....	41
Resim 18: Genç yetişkin grubu ovaryumları.....	42
Resim 19: Menopoz grubu ovaryumları.....	43
Resim 20: Masson Trikrom ile boyanmış genç yetişkin grubu ovaryumu.....	51
Resim 21: Masson Trikrom ile boyanmış menopoz grubu ovaryumunda korpus luteum.....	52
Resim 22: Bielschowsky gümüşleme tekniği ile boyanmış genç yetişkin metöstrus grubu ovaryumu sekonder folikül duvarı.....	53
Resim 23: Bielschowsky gümüşleme tekniği ile boyanmış genç yetişkin metöstrus grubu ovaryumunda telosit benzeri bir hücre.....	54
Resim 24: Bielschowsky gümüşleme tekniği ile boyanmış menopoz grubu ovaryum stroması ve korpus luteum.....	55
Resim 25: Genç yetişkin metöstrus grubu ovaryumu primer ve sekonder foliküller çevresinde ve stromada CD34 boyanması.....	56

Resim 26: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumunda olgun folikül çevresinde CD34 boyaması.....	57
Resim 27: Menopoz grubu ovaryumu korpus luteum etrafında CD34 boyanması.....	58
Resim 28: Menopoz grubu ovaryumu korpus luteum içerisinde CD34 boyaması.....	59
Resim 29: Genç yetişkin metöstrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü.....	60
Resim 30: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü.....	61
Resim 31: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü.....	62
Resim 32: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü.....	63
Resim 33: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü.....	64
Resim 34: Menopoz grubu ovaryumu TEM görüntüsü.....	65
Resim 35: Menopoz grubu ovaryumu TEM görüntüsü.....	66

ÖZET

MENOPOZ ÖNCESİ VE SONRASI DÖNEMLERDE SIÇAN OVARYUMUNDA TELOSİT MORFOLOJİSİ VE ORGANİZASYONUNUN IŞIK MİKROSKOBİ, İMMÜNOHİSTOKİMYA VE ELEKTRON MİKROSKOBİ YÖNTEMLERİYLE İNCELENMESİ

Esma İŞÇEL

Yüksek Lisans Tezi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER

Temmuz 2019, 97 Sayfa

Amaç: Telositler, az miktarda sitoplazma ve bir çekirdek içeren hücre gövdesi ve telopod adı verilen ince uzun uzantılarla karakterize olan interstisyel/stromal hücreler olarak tanımlanır. Sunulan tezde menopoza öncesi ve menopoza sonrası sıçan ovaryum foliküllerinin etrafında telositlerin varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Yöntem: Parafin takibinden sonra elde edilen sıçan ovaryum kesitleri, Masson trikrom ve Bielschowsky gümüşleme teknikleriyle, ayrıca immünohistokimyasal olarak da CD34 belirteciyle boyanarak ışık mikroskobu için hazırlandı. Bunlar yanında rezin takibinden sonra elde edilen kesitler elektron mikroskobu için kontrastlandı. Hazırlanan kesitler ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile incelendi ve değerlendirildi. Bulgular: Masson trikrom ve Bielschowsky gümüşleme teknikleri ile boyanan kesitlerde telosit benzeri hücreler gösterilemedi. İmmünohistokimyasal olarak CD34 belirteci ile boyanan kesitlerde telosit benzeri hücreler gösterilemedi. Elektron mikroskobik kesitlerde telosit benzeri hücreler, gerek menopoza öncesi gerek menopoza sonrası ovaryumlarında üçgen çekirdekleri, ince uzun sitoplazmik uzantıları ile görüntülendi. Sonuç: Ovaryum dokusunda telositlerin gösteriminde ışık mikroskobik yöntemlerin çok etkili olmadığı sonucuna varıldı. CD34 immünohistokimya işaretlemesinin, ovaryumda telositleri göstermede tek başına yeterli olmadığı gözlemlendi. Ovaryumlarda telositlerle ilgili net sonuçlar elde edilebilmesi için, elektron mikroskobik yöntemlerin ağırlıklı olarak kullanıldığı çalışmalar yapılması gerektiği, elektron mikroskobik bulguların ise, özellikle ikili üçlü belirteçlerin kullanıldığı immünohistokimyasal boyamalarla desteklenmesi gerektiği düşünüldü. Bununla birlikte telositlerin bulundukları mikroçevre içinde nispeten sayıları az hücreler olmaları nedeniyle, yapılacak çalışmalarda mevcut telositlerin gerçek profilinin ortaya çıkarılabilmesi için, tüm organ parçalarının tamamının preparatlara dönüştürülerek, bütün preparatların da tüm alanlarının incelenmesiyle elde edilecek datanın ancak, doğru ve güvenilir sonuçlar verebileceği düşünüldü.

Anahtar Sözcükler: ICLC, Menopoz, Ovaryum, Sıçan, Telosit

ABSTRACT

EXAMINATION OF TELOCYTE MORPHOLOGY AND ORGANIZATION IN RAT OVARIES BEFORE AND AFTER MENOPAUSE, BY LIGHT MICROSCOPY, IMMUNOHISTOCHEMISTRY AND ELECTRON MICROSCOPY

Esma İŞÇEL

Master of Science Thesis, Department of Histology and Embryology

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Mehmet TÜRKER

July 2019, 97 Pages

Objective: Telocytes are identified as interstitial/stromal cells characterized with a cell body which has little amount of cytoplasm and a nucleus, and several tiny long cell processes named telopodes. The aim of this study was to investigate presence of telocytes around the follicles of rat ovaries both before and after the menopause. **Method:** After paraffin processing, rat ovarian tissue sections stained with Masson's trichrome and Bielschowsky's silver stain techniques, also immunologically marked with CD34 antigen for light microscopy. Additionally, tissue sections after resin processing contrasted for electron microscopy. Prepared sections are observed and evaluated by light and electron microscopes. **Results:** Telocyte like cells could not be demonstrated by Masson's trichrome and Bielschowsky's silver stain techniques. Telocyte like cells, also, could not be demonstrated by CD34 immunological marker. Telocyte like cells, with their triangular nuclei and long slender cellular processes are demonstrated in electron microscopic sections of both premenopausal and postmenopausal ovaries. **Conclusion:** It is shown that, light microscopical techniques are not appropriate for demonstration of telocytes in the ovarian tissues. CD34 immunohistochemical marking alone is not sufficient for demonstration of telocyte like cells. In order to get clear results about telocytes in the ovaries, studies should be set on electron microscopical techniques, and electron microscopic findings must be supported by immunohistochemical staining, especially double or triple markers. Furthermore, it is concluded that, as telocytes are relatively scarce in number in the microenvironments they reside, for studies on telocytes, it is a must to cut the whole tissue sample into sections and to evaluate all the sections for clear and realistic results in order to fully reveal the telocyte profile in a tissue or an organ.

Key Words: ICLC, Menopause, Ovary, Rat, Telocyte

1. GİRİŞ VE AMAÇ

2010 yılında, o zamana kadar İntersitisyel Cajal-Benzeri Hücreler (Interstitial Cajal-Like Cell (ICLC)) olarak bilinen hücreler, Profesör Laurențiu M. Popescu'nun grubu tarafından “Telosit” olarak adlandırılmıştır (1). Telositler, interstisyel/stromal hücreler olarak tanımlanmaktadır. Telositler kendisini çevreleyen hücrelerle çeşitli bağlantılar kurarlar. Telopod adı verilen ince uzun uzantıları ile 3 boyutlu ağlar oluşturarak doku mimarisine katkıda bulunur (2).

Telositlerin organizmada mekanik destek, hücreler arası sinyalizasyon, immün gözetim, kök hücre rehberliği ve doku rejenerasyonu gibi fonksiyonları vardır (3). Telositler kaviteli ve kavitesiz pek çok organın stromasında bulunmaktadır (1, 4). Daha önceki çalışmalarda dişi üreme sisteminde de vajina, uterus, tuba uterina, plasenta ve meme bezlerinde telositlerin varlığı tespit edilmiştir (4); ovaryumlarda telosit varlığını inceleyen ancak 2 adet yayına rastlanmıştır.

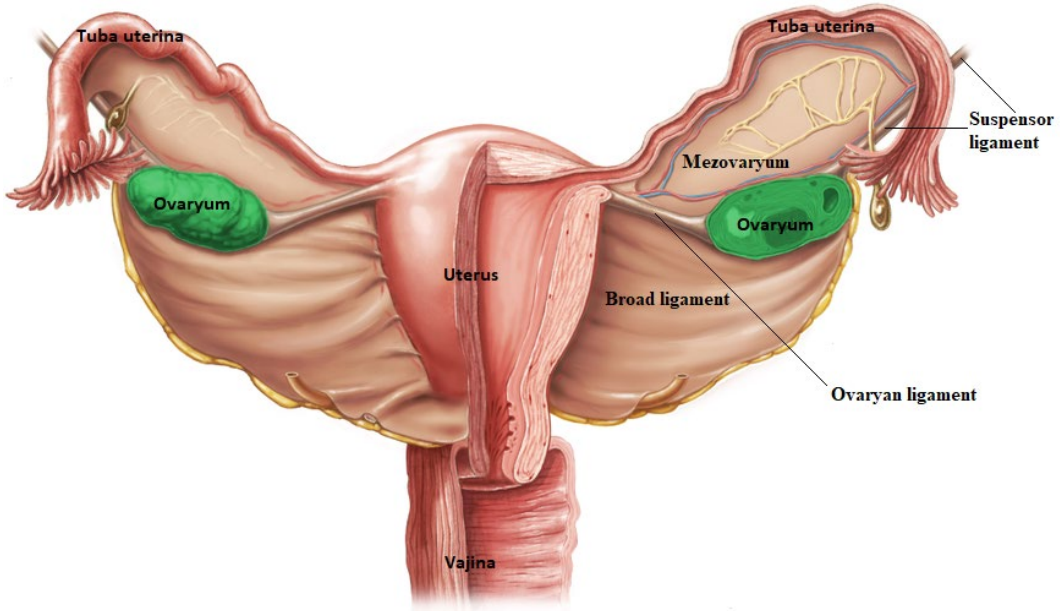
Sunulan çalışmada sıçan ovaryumlarında telositlerin mevcudiyetinin, morfolojisinin, dağılımının ve organizasyonunun ışık mikroskopik, immünohistokimyasal ve geçirimli elektron mikroskopik (TEM) yöntemlerle incelenmesi ve bu hücrelerin menopoz öncesi ve menopoz sonrası dönem farklılıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. İnfertil olgulardaki özellikle folikülogenezle ilgili muhtemel telosit fonksiyon eksikliklerine ışık tutulabileceği düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dişi Üreme Sistemi

Dişi üreme sistemi; dişi gametleri oluşturan ve fertilizasyondan sonra fetüsün gelişimi için uygun ortam sağlayan çok yönlü bir sistemdir (5).

Dişi üreme sistemi internal genital organlardan ve eksternal genital yapılardan oluşmaktadır. Dişi iç üreme organları; ovaryumlar, tuba uterinalar, uterus ve vajinadır (Şekil 1) (6).



Şekil 1: Dişi iç üreme organlarının anatomik gösterimi (7).

2.2. Ovaryum Anatomisi ve Histolojisi

Ovaryumlar, dişi üreme sisteminin en fonksiyonel birimidir. Gametogenez ve steroidogenez olmak üzere birbirleriyle ilişkili iki önemli fonksiyonu vardır. Gamet üretimi göreviyle ekzokrin bez, steroid hormonların sentezi ve salgılanması göreviyle de endokrin bez özelliğindedir (5-6, 8).

Ovaryumlar sağda ve solda olmak üzere bir çift olarak bulunur. Hiç doğum yapmamış kadınlarda badem şekilli ve pembemsi donuk beyaz renklidir. 2,5-5,0 cm boyunda, 1,5-

3 cm eninde ve 0,6-1,5 cm kalınlığındadır. Puberteden önce, ovaryumlar düzgün bir yüzeye sahiptirler. Ancak puberteden itibaren tekrarlayan ovulasyonla birlikte yüzeyleri dejenerasyonlarla birlikte skarlı ve düzensiz hale gelir (6, 9-10).

Ovaryum stroması, içte medulla ve dışta korteks olmak üzere histolojik özellikleri birbirinden farklı iki ayrı bölümden oluşmaktadır. Medulla ve korteks arasında belirgin bir sınır yoktur (Şekil 2) (5-6, 8, 11).

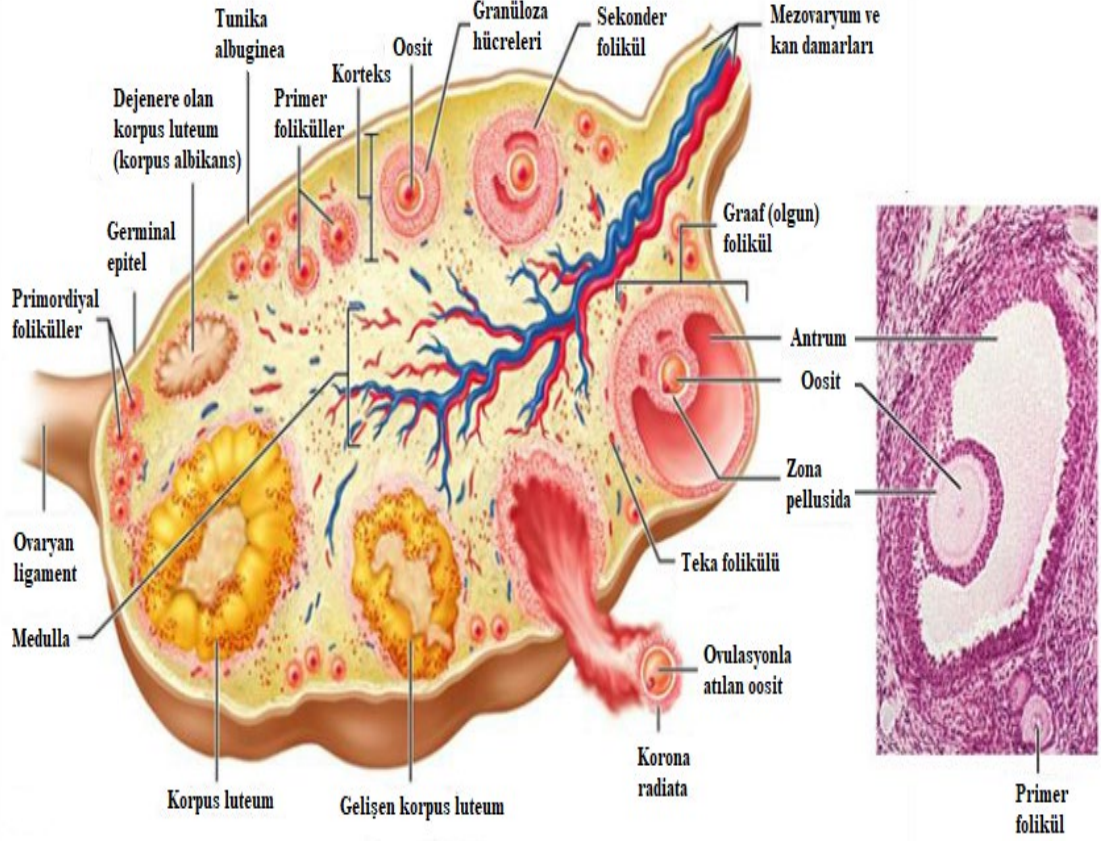
Medulla, ovaryumun merkezinde yer alır. Gevşek bağ dokusu yapısındadır, çok miktarda elastik lif ve düz kas hücresi içerir. Çok sayıda geniş ve kıvrımlı kan damarları, lenfatikler ve sinir de medullada bulunur. Korteks ovaryumun periferinde yer alır ve medullayı çevreler. Korteksin stroması sıkı kollajen lifler ve çok sayıda fibroblast içerir; buradaki bağ dokusu medulladakinden daha sıkidır. Elastik liflere ise kortekste damar duvarları dışında fazla rastlanmaz (6, 8).

Kortekste zengin hücreli gevşek bağ dokusu içerisine gömülü ovaryum folikülleri ve foliküllerin etrafını saran dağınık düz kas lifleri de bulunur. Ovaryan foliküller gelişim sırasına göre primordiyal, primer, sekonder ve Graaf folikülüdür. Puberteden önce kortekste yalnızca primordiyal foliküller görülürken, puberteden sonra tüm folikül çeşitleri izlenir. Cinsel olgunluk döneminde foliküllerden gelişen atretik folikül, korpus luteum ve korpus albicans gibi yapılar da kortekste yer alır (5-6, 9-10).

Ovaryumlar için arterial destek iki temel kaynaktan gelir. Abdominal aortadan çıkan ovaryan arter ile uterin arterin bir dalı mezovaryum ve broad ligament içerisinde anastomozlaşarak, hilumdan ovaryuma girer. Venöz drenaj ise arteriyal sistemin seyrini takip eder, medulladaki venler geniş ve kıvrımlıdır. Lenfatikler perifoliküler stromada ortaya çıkar ve medulladaki venlerin etrafına yayılan daha büyük lenfatik damarlara akar. Ovaryumun innervasyonu ise otonomik plexuslardan sağlanır. Over plexusunun üst kısmı renal ve aort plexuslarının dallarından oluşur, alt kısım ise süperior ve inferior hipogastrik plexuslarla desteklenir. (10, 12).

Ovaryum yüzeyi dıştan visseral peritonun bir devamı olarak germinal epitle çevrelenmiştir. Germinal epitele ovaryan yüzey epiteli de denir. Germinal epitel çoğunlukla tek katlı kübik, yer yer de tek katlı yassı epitelidir ve mezovaryumu

çevreleyen mezotel ile devam eder. Germinal epitelin hemen altında bol miktarda kollajen lifler içeren düzensiz sıkı bağ dokusu yapısında olan tunika albüinea bulunmaktadır (5, 11, 13).



Şekil 2: Ovaryumun yapısı (14)

2.3. Folikülogenez ve Folikül Yapısı

Folikülogenez ovarian foliküllerin gelişimsel sürecidir. Foliküler yaşam süreci, fetal dönemde gelişen aktif olmayan primordiyal folikül rezervi olarak başlar, ovulasyon ya da foliküler atrezi sonucu biter. Folikülogenez ovarium korteksinde gerçekleşir (15).

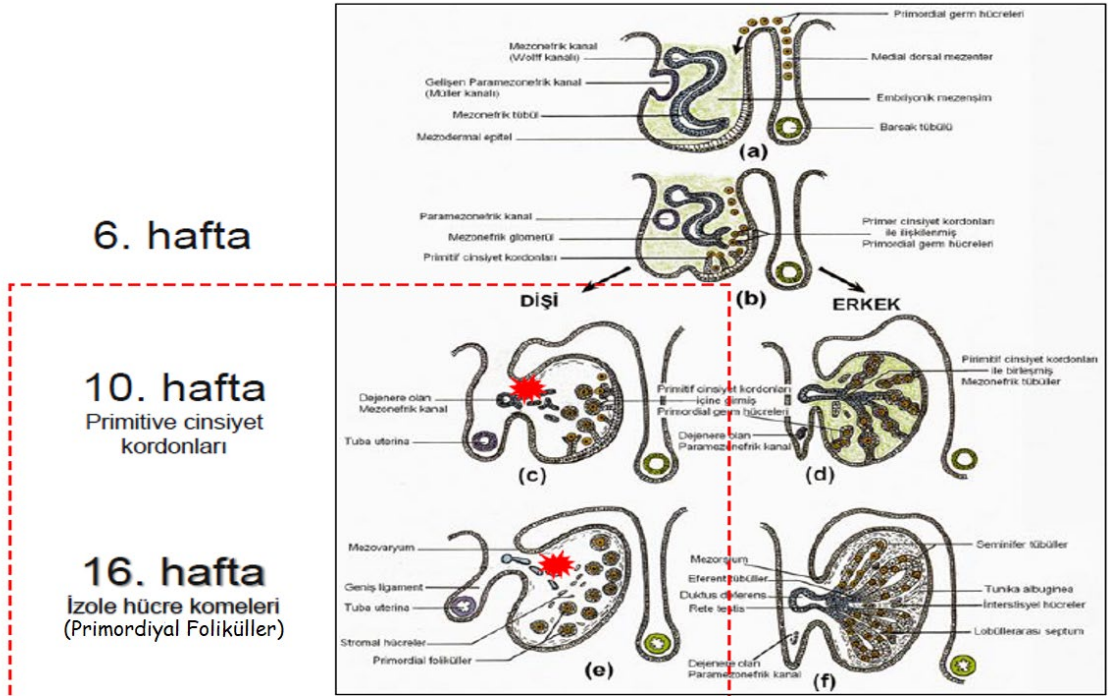
Oositlerin öncülleri olan hücreler primordiyal germ hücreleridir. Primordiyal germ hücreleri embriyonal gelişim sürecinde ilk olarak 3-4 haftalarda yolk kesesi duvarında ortaya çıkarlar. Bu hücreler embriyonal 5. haftadan itibaren gelecekte gonadların oluşacağı gonadal kabartıya göç ederler. Buraya geldiklerinde, gonadal kabartılar

üzerini döşeyen mezotelyal hücrelerin proliferasyonu sonucu oluşan ve alttaki mezenşim içerisine doğru parmaklı hücre kordonları şeklinde uzanan primitif cinsiyet kordonlarının içine girerler ve bu mezotelyal kökenli hücreler tarafından çevrelenirler (6, 16).

Erkeklerde primitif cinsiyet kordonları Testis Belirleyici Faktör etkisiyle gelişerek seminifer kordonları oluştururken, dişilerde bu kordonlar primordiyal germ hücreleri içlerine gömüldükten sonra 16. hafta civarında izole hücre kümeleri şeklinde gelişen ovaryumların korteksi içerisinde dağılırlar. Bu kümelerde merkezde bir adet primordiyal germ hücresi ve etrafında yüzey mezotelyumundan farklılaşmış yassı hücreler bulunur. Bu haliyle bu hücre kümelerine primordiyal folikül adı verilir. Primordiyal germ hücreleri bu aşamadan sonra oogonyum olarak adlandırılırlar (Şekil 3) (6, 16).

Oogonyumlar fetal hayat boyunca aktif mitoz gösterirler ve 2. ayda 600.000; 5. ayda 7 milyon oogonyum oluşur. Doğumdan sonra bir daha oogonyumlar oluşmaz. Embriyonal 3. aydan itibaren oogonyumlar birinci mayoz bölünmenin profaz evresine girmeye başlarlar; bu hücreler bu aşamadan sonra primer oosit olarak adlandırılırlar. Ovulasyon gerçekleşene kadar primer oositler birinci mayozun profaz evresinde beklerler, sinapsis ve crossing over'den sonra mayozun daha sonraki basamaklarına devam etmezler. Embriyonal 7. aydan itibaren pek çok oosit atrezi adı verilen yavaş fakat sürekli bir dejenerasyon sonucu yok olurlar. Pubertede ovaryumlarda yaklaşık olarak 300.000 primer oosit bulunur. Her menstrual siklusa genellikle yalnızca bir oosit ovulasyonla mayozu geri döndüğü ve bir kadının reproduktif yaşı 30-40 yıl sürdüğü için, sadece 450 oosit ovaryumlardan salınabilir. Bütün geri kalanları atrezi yoluyla dejenere olurlar (6, 16).

PRİMORDİYAL GERM HÜCRELERİ



Şekil 3: Primordiyal germ hücrelerinin gelişimi (17).

2.3.1. Primordiyal Foliküller

Primordiyal foliküller, foliküler gelişimin en erken aşamasındaki foliküllerdir. İlk olarak fetal gelişimin 3. haftasında ovaryumlarda görülür ve erken gelişimleri gonadotropin stimülasyonundan bağımsızdır. Memeli ovaryumlarında primordiyal foliküller rezerv halinde bulunur (5-6, 18).

Primordiyal foliküller yüzeyel ovaryum korteksinde, tunika albüginanın hemen altında bulunur. Folikül hücreleri birbirlerine desmozomla bağlıdır, çevreleyen stromadan ise bazal lamina ile ayrılmıştır (5-6, 13, 19).

Primordiyal foliküllerde yer alan primer oositler yaklaşık 25 µm çapındadır. Primer oositler ince dağılmış granüler kromatin ve bir ya da daha fazla nükleolus içeren eksantrik, geniş bir çekirdeğe sahiptir. Birinci mayozun profaz evresinde beklemektedir. Organeller çekirdek yakınında yoğunlaşma eğilimindedir. Çok sayıda mitokondri, birkaç Golgi kompleksi ve yaygın granüllü endoplazmik retikulum içerir (Şekil 4) (5-6, 10, 12, 19).

2.3.2. Primer Foliküller

Primer foliküller gelişmekte olan foliküllerin ilk aşamasıdır ve primordiyal foliküllerden gelişir. Bir primordiyal folikül geliştikçe, folikül hücrelerinde, bitişik stromada ve oositte değişiklikler meydana gelir (6, 10).

Primordiyal foliküllerin yassı hücreleri gelişerek tek katlı kübik hücreler haline gelir ve bu durumdan itibaren artık primer folikül olarak isimlendirilir. İmmatür oosit büyürken çevresine glikoproteinleri ve glikozaminoglikanları salgılar böylelikle oositin bazal membranı olan ve zona pellusida adı verilen ekstraselüler bir tabakayı oluşturur. Zona pellusida, oosit yaklaşık 50-80 µm çapına ulaştığında oosit ile foliküler hücreler arasında görülür (Şekil 4) (5-6, 10).

Oositi çevreleyen tek tabakalı folikül hücreleri mitotik proliferasyon ile çok katlı epitel hücrelerine dönüşür ve böylelikle kalın bir bazal lamina ile çevrelenmiş stratum granulozum oluşur. Folikül hücreleri de artık granuloza hücreleri olarak tanımlanır. Granuloza hücreleri, oositin gelişiminden sorumlu hücrelerdir. Oositin gelişimi için gerekli östradiol, progesteron, inhibin-B ve Anti Müllerian Hormon (AMH) gibi birçok hormon ve faktörü salgılar. Granuloza hücreleri hücre yüzeylerinde FSH (Folikül Stimulan Hormon) reseptörleri gösterirler. Granuloza hücrelerinin birbirleri arasında gap junction tipi haberleşme bağlantıları görülür. Zona pellusida ile temas halindeki granuloza hücreleri, radyal olarak oosite doğru sitoplazmik uzantılar gönderir, bu sayede oosit mikrovillusları ile iletişim kurar. Tek katlı kübik bir epitelle çevrili foliküle unilaminar (erken) primer folikül, stratum granulozum olarak da adlandırılan çok katlı bir epitelle çevrili foliküle ise multilaminar (geç) primer folikül denir (6, 10, 13, 20-22).

Granuloza hücreleri proliferasyona uğrarken, bazal laminanın hemen dışında teka folikülü denilen bağ dokusu hücre kılıfı oluşur. Teka folikül hücreleri ovaryum stromasının fibroblast benzeri hücrelerinden oluşmaktadır. Teka folikülü, teka interna ve teka eksterna olmak üzere iki bölüme ayrılır (5-6, 12).

Teka interna iyi vaskülarize olmuş, polihedral salgı hücrelerinden oluşan iç tabakadır. Buradaki hücreler tipik steroid salgılayan hücre özelliklerine sahiptir. Ayrıca bu tabakada fibroblastlar, kollajen lifler ve küçük kan damarları bulunur. Bu tabakanın

hücreleri luteinizan hormon (LH) reseptörleri içerir. LH stimülasyonuna yanıt olarak östrojen öncüsü olan androjenleri (androstenedione) ve preovulator evrede progesteron sentezler ve salgılar (5-6, 12, 19, 23).

Teka eksterna çoğunlukla yassı stromal hücrelerden oluşur. Temel olarak stromal hücreler, kollajen lif demetleri ve düz kas hücreleri içerir. Endokrin fonksiyonu yoktur (6, 12, 24).

Bazal lamina granuloza hücreleri ve teka interna arasında belirgin bir sınır oluştururken, teka eksterna ve onu çevreleyen stroma arasında bir sınır yoktur (6).

Oosit olgunlaştıkça organellerin dağılımı da değişmektedir. Golgi kompleksi sitoplazmaya yayılır. Serbest ribozom, mitokondri, küçük veziküller, multiveziküler cisimcikler ve granüllü endoplazmik retikulum miktarları artmıştır (6).

2.3.3. Sekonder (Antral) Foliküller

Folikül çapı 200 µm büyüklüğe ulaşınca kadar multilaminar (geç) primer folikül, gelişmeye devam eder. Stratum granulozum 6-12 hücre tabakasına ulaştığında granuloza hücreleri arasında sıvı dolu kaviteler oluşmaya başlar. Teka kapillerlerindeki kandan sağlanan bu sıvıya foliküler sıvı ya da likör foliküli denilmektedir. Hyaluronan bakımından zengin foliküler sıvı biriktikçe kaviteler birleşir ve antrum denilen hilal biçimli tek bir kavite oluşur. Bu aşamada folikül sekonder folikül ya da antral folikül olarak isimlendirilir (Şekil 4) (6, 24-25).

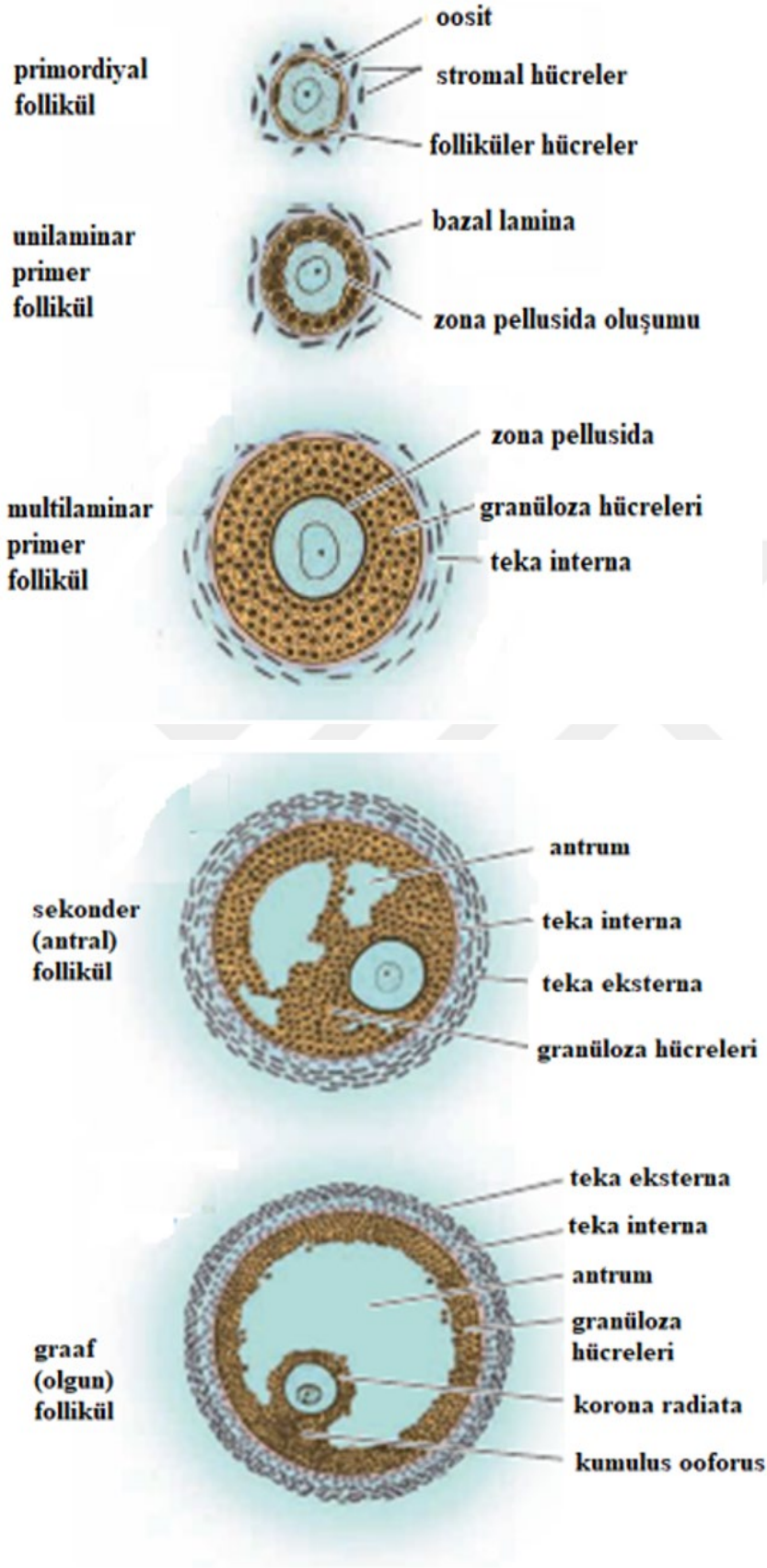
Sekonder folikülde oosit folikül duvarının bir kenarında granuloza hücreleriyle çevlenmiş olarak yer alır. Granuloza hücreleri ile oosit antruma doğru çıkıntı yapan bir kabartı yaparlar, bu bölgeye kumulus ooforus denir. Oositin hemen etrafını çevreleyen granuloza hücrelerine ise korona radiata denilmektedir. Korona radiata hücreleri zona pellusidaya bitişik, gevşekçe düzenlenmiş, alçak kübik hücreler olup, filopodlarını zona pellusida içerisine göndererek, primer oosit ile temas halinde kalır. Antrum duvarını çevreleyen granuloza hücrelerine ise membrana granuloza denilir (6, 8, 22, 24).

2.3.4. Graaf (Olgun) Foliküller

Sekonder folikül geliştikçe Graaf folikülüne dönüşür. Ovulasyon sırasında Graaf folikül çapı 2,5 cm'ye kadar ulaşır. Granüloza hücrelerinin mitotik aktivitesi yavaşlar. Antrum genişledikçe stratum granülozum tabakası incelir ve antral boşluk genişlemeye başlar. Teka tabakaları daha belirgin olmaya başlar. Zona pellusida 5-10 µm kalınlığındadır (Şekil 4) (6, 11, 13, 24).

Graaf folikülü büyük boyutundan dolayı ovaryum korteksinin kalınlığı boyunca uzanır ve ovaryum yüzeyine doğru çıkıntı oluşur. Bu dönemde folikül duvarının küçük bir alanında kan akımı durur; iskemi oluşan bu bölge ovulasyonun gerçekleşeceği alandır ve stigma olarak adlandırılır (6, 19).

Ovulasyona yaklaşırken oosit büyümesini durdurur. Fetal yaşamdan beri mayoz bölünmenin ilk profaz evresinde bekleyen oosit mayoz bölünme sürecine tekrar başlar. Ovulasyon esnasında mayoz bölünmenin ilk aşaması tamamlanarak, ikinci aşama başlatılır ve oosit metafaz evresinde beklemeye başlar. Bu aşamada oosit sekonder oosit adını alır. Sekonder oositin çapı yaklaşık 150 µm'dir. Küçük bir sitoplazma içeren 1. polar cisimcik, zona pellusida içinde belirgin olmadan kalır. Fertilizasyon gerçekleşene kadar mayoz bölünme tamamlanmaz (6, 10-12, 19).



Şekil 4: Ovaryan foliküllerin evreleri (19)

2.4. Ovulasyon Mekanizması (Hormon Etkileşimleri)

Ovulasyon, 28 günlük menstrual siklusun 14. gününde sekonder oositin graaf folikülünden salınması sürecidir. Ovulasyon sırasında tuba uterina fimbriyasının yakalayabilmesi için sekonder oositle birlikte korona radiata hücreleri de periton boşluğuna salınır. Ovulasyon mekanizması, endokrin sisteminin, bağışıklık sinyallerinin ve intraovaryal parakrin faktörlerinin kolektif eylemlerini gerektirir (6, 10, 19, 24, 26).

Her menstrual siklus, ovaryumda FSH ve LH etkisi altında 8-10 primer folikülün stimülasyonu ile başlar. FSH etkisinde foliküller antral foliküle kadar büyür. FSH'ın granüloza ve teka hücrelerini stimüle etmesine yanıt olarak başlıca östrojenler olmak üzere steroid hormonlar folikül lümenine salgılanmaya başlar ve östrojen folikül lümeninde birikmeye devam eder. Dominant folikülde östrojen üretimi arttıkça, hipofiz bezi, hipotalamus ve inhibin B'yi içeren negatif bir geri-beslenme döngüsü tarafından FSH salınımı inhibe edilir. Artık dominant folikül FSH'tan bağımsız olarak büyür ve gelişir. FSH yokluğunda diğer komşu antral foliküller bu aşamada atreziye uğramaya başlar. Sürekli yüksek östrojen seviyesi, nihayetinde hipofiz bezinden LH'nin aniden salınmasına neden olur. FSH artışının eşlik ettiği ani LH yükselişi ovulasyonu indükler. Geç foliküler fazda, ovulasyondan önce progesteron düzeyleri LH'nin etkisiyle yükselmeye başlar. Ovulasyon, ani LH yükselmesinin başlangıcından yaklaşık 34-36 saat sonra ya da LH'nin en yüksek seviyeye ulaşmasından yaklaşık 10-12 saat sonra gerçekleşir (Şekil 5) (6, 27-30).

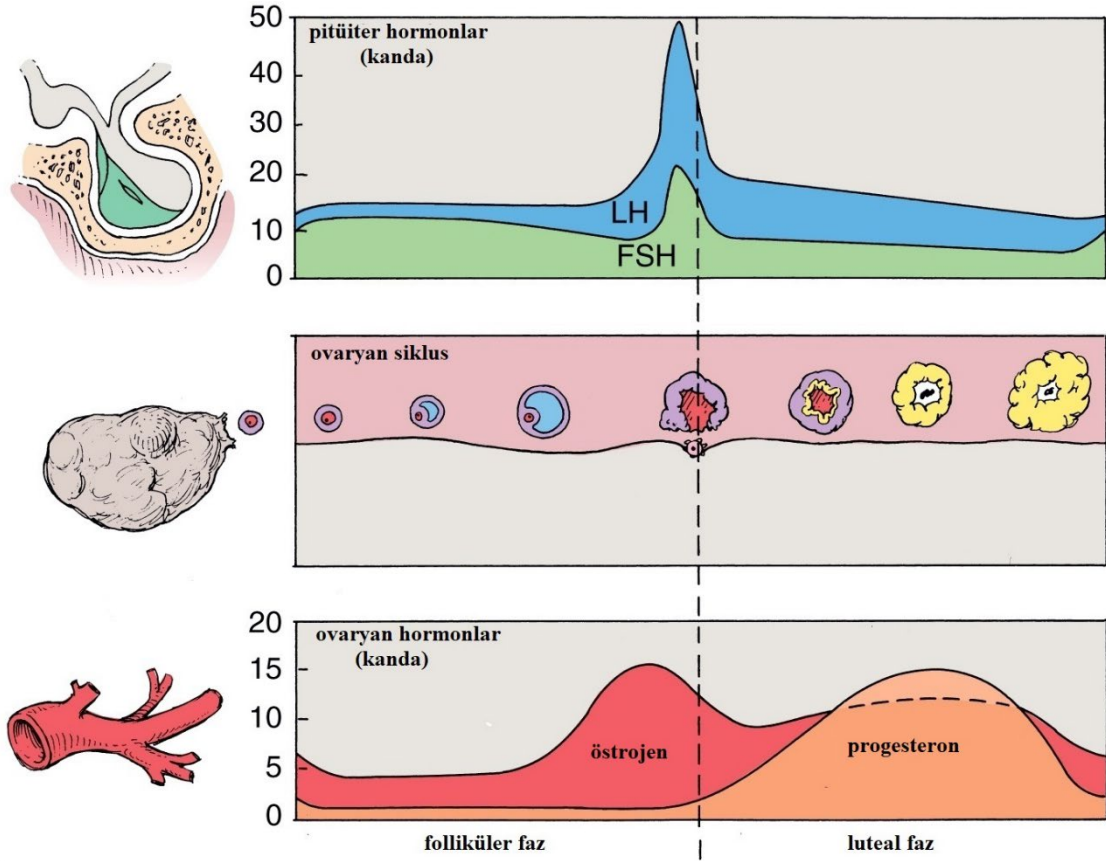
Ovulasyondan hemen sonra rüptüre olan folikül büzüşür, duvarı antruma doğru çöker ve antrum teka internada bulunan kapillerlerin yırtılması sonucu sızıp pıhtılaşmış kanla dolar. Bu kanlı yapıya korpus hemorajikum denir. Rüptüre folikülden kalan granüloza ve teka interna hücreleri hızla morfolojik dönüşüm geçirmeye başlar. Küçük luteal hücreler tekal hücre kaynaklı olup teka lutein hücreleri olarak adlandırılırken, granüloza hücre kaynaklı olan büyük hücreler ise granüloza lutein hücreleri olarak isimlendirilir. Bu luteinizasyon sürecinde lutein denilen sarı bir pigment granüloza lutein ve teka lutein hücrelerinde birikmeye başlar. Böylece lipid bakımından zengin luteal hücrelerle hızlıca dolan korpus hemorajikum, korpus luteumu (sarı cisim) oluşturur. Granüloza lutein hücreleri, korpus luteum hücre popülasyonunun yaklaşık % 80'ini oluşturur. 30-50 µm çapında soluk boyanan hücrelerdir. Daha yüksek bazal steroid üretimi

göstermelerine rağmen LH yükselmesine daha az yanıt verirler. Korpus luteum hücre popülasyonunun yaklaşık % 20'sini oluşturan teka lutein hücreleri, koyu boyanan, 15 µm çapındaki hücrelerdir. LH yanıtına karşı belirgin tepki verirler. Korpus luteumun birincil görevi, gebeliğin devamlılığı için gerekli progesteronun salgılanmasıdır. Özellikle progesteron olmak üzere temel steroid salgılayan geçici endokrin bez görevindedir (6, 24, 31-37).

Menstruasyonun başlangıcında, östrojen ve progesteron seviyeleri düşüktür ve preovulasyon döneminde kademeli olarak artar. Östrojen, ani LH yükselmesinden hemen önce maksimum seviyelere ulaşır. Progesteron ve östrojen seviyeleri yüksek olduğunda FSH ve LH üretimi azalır (Şekil 5) (22).

Korpus luteumun yaşam süresi, devam eden LH desteğine bağlıdır. En yüksek seviyeye ulaştıktan sonra yaklaşık 12 gün süreyle hipofizden LH salgılanmaya devam eder. Bu süre zarfında fertilizasyon ve implantasyon gerçekleşmezse korpus luteum gerilemeye başlar. Gerilemeden arta kalan yapılar makrofajlar tarafından fagosite edilirken diğer yandan fibroblastlar bölgeyi istila eder. Sonunda korpus albicans denilen beyaz, yoğun bir bağ dokusu yapısında skar doku oluşur (6).

Fertilizasyon gerçekleşirse korpus luteum korunur ve steroid hormonları salgılamaya devam eder. Başlangıçta embriyo sinsisyotrofoblastları daha sonra da plasenta tarafından salgılanan hCG (İnsan Koryonik Gonadotropin) azalan LH yerine, korpus luteumu uyarır ve gebelik süresince devamlılığından sorumludur. (6, 19, 35, 38).



Şekil 5: Ovulasyon mekanizması hormon etkileşimleri (6)

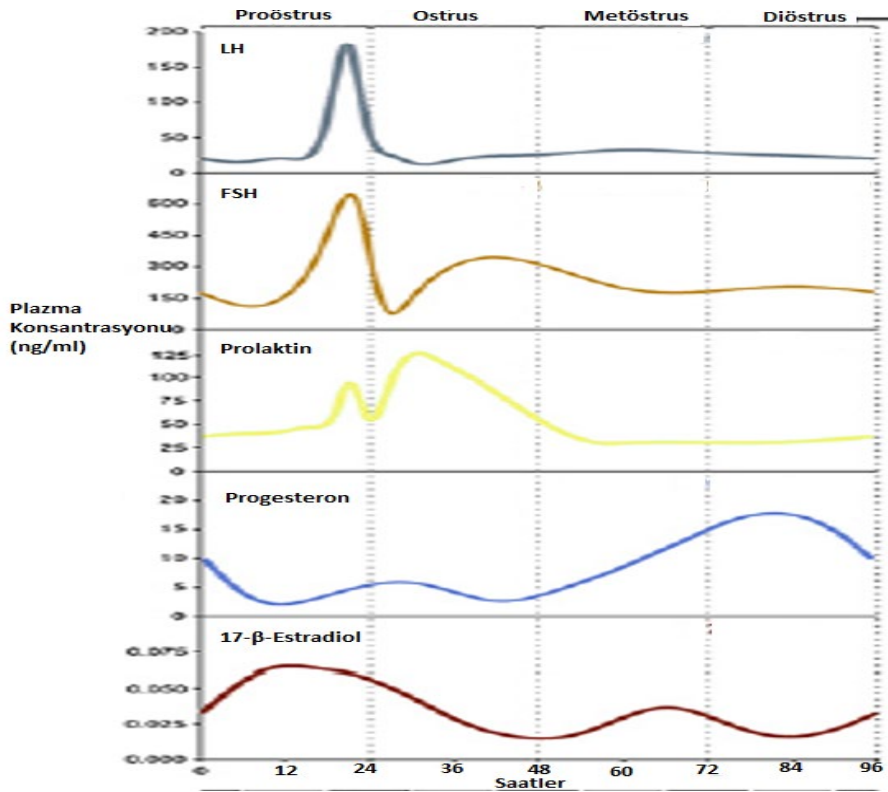
2.5. Menopoz

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) göre menopoz, ovaryum aktivitesinin yitilmesi sonucunda menstrüasyonun kalıcı olarak sonlandığı evre olarak tanımlanmaktadır. Reprodüktif yaşam süresinin sonlandığını işaret eder. İnsanda bir kadında retrospektif olarak 12 ay boyunca menstrual siklusun durması menopoz olarak kabul edilir. İnsanlarda menopoz genellikle 49 ile 52 yaş arasında ortaya çıkar. Menopoz yaşı genetik olarak belirlenir. Dişi sıçanlar ise menopoza 15-18 aylar itibarıyla girer (39-45). Menopoz süresince gametogenez sona erer, aktif foliküller tükenir ve ovaryum seks hormonlarını salgılamayı durdurur. Ovulasyon ve ovaryan steroid üretiminin bozulması ile birlikte FSH sekresyonunu baskılayan inhibin kaybı da söz konusudur. Böylelikle menopozun başlamasından hemen sonra, serum LH ve FSH seviyeleri keskin bir şekilde artar. Menopoz döneminde ovaryumda 1000'den az sayıda folikül kalır. Büyüklüğü azalmış ve çoğunlukla atretik foliküller ile birlikte ovaryum bazı interstisyel hücreler ve fibröz dokudan oluşur (46-50).

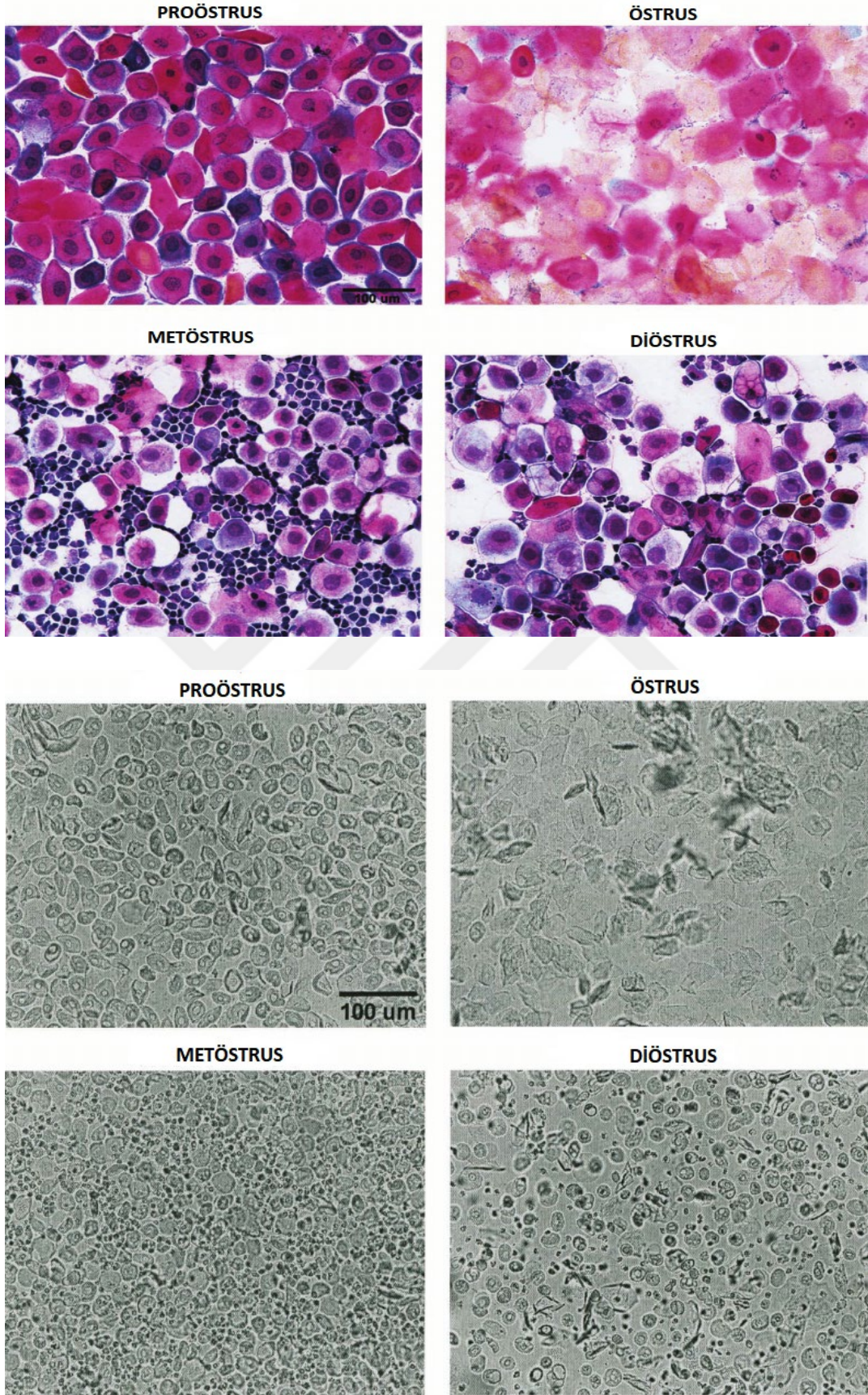
2.6. Sıçanlarda Östrus Siklusu

Sıçanlardaki östrus siklusu insanlardaki menstrual sıklusa denk gelmektedir. Yetişkin sıçanlarda östrus siklusu ortalama 4-5 gün sürer. Mevsimden bağımsız yıl boyu tekrarlayan dinamik bir süreçtir. Siklusta proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olmak üzere 4 dönem vardır (Şekil 6). Vajinal smear siklustaki dönemleri belirlemede en etkili yöntemdir (51-54).

Proöstrus dönemi 12-14 saat sürer. Proestrus menstrual siklusun foliküler fazına denk gelmektedir. Mikroskop altında genellikle keratohiyalin granülleri içeren yuvarlak, çekirdekli epitel hücre kümeleriyle tanımlanır. Östrus dönemi 25-27 saat sürer. Östrus ovulasyonla başlar, menstrual siklusun luteal fazı içerisinde yer alır. Vajinal smear sonrasında mikroskopik görüntüde kornifiye epitel hücrelerin hâkimiyetiyle tanımlanır. Metöstrus dönemi 6-8 saat sürer. Östrus evresinden sonra gelir ve luteal faza dahildir. Vajinal smear görüntüsünde neredeyse eşit miktarda epitel hücreleri ve lökosit bulunur. Diöstrus dönemi, metöstrusun ardından gelir ve 52-57 saat sürer. En uzun dönemdir. Vajinal smear görüntüsünde lökositler yoğunluktadır, epitel hücreleri az sayıdadır (Şekil 7) (51, 53, 55-56).



Şekil 6: Rodentlerde östrus siklusu hormon seviyeleri (57).



Şekil 7: Rodentlerde vajinal smear görüntüleri (57).

2.7. Telosit

2.7.1. Telosit Tarihçesi

Telositler ilk kez 1889'da, Ramo'n Cajal tarafından bağırsak duvarı kasları arasında, hücre gövdeleri iç veya üçgen şekilli olan, bu gövdeden çıkan ince hücresel uzantılar ile karakterize hücreler olarak keşfedildi; Cajal bunlara "interstisyel nöronlar" adını verdi. 1960'larda Taxi ve ark. tarafından yapılan geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) çalışmalarında bu hücrelerin nöronlardan, Schwann hücrelerinden, düz kas hücrelerinden, fibroblastlardan ve makrofajlardan farklı olduğu ultrastrüktürel kanıtlarla ortaya konuldu. Böylelikle bu hücrelerin adı "İnterstisyel Cajal hücreleri" (Interstitial Cajal Cell - ICC) olarak değiştirildi. Thuneberg, Faussone-Pellegrini ve Rumessen tarafından yapılan çalışmalarda ICC'nin nöron olmadığı ancak gastrointestinal motilitenin düzenlenmesiyle ilişkili olduğu, üstelik yalnızca bir pacemaker olarak fonksiyon görmediği aynı zamanda nörotransmisyonunda ve gastrointestinal sistem duvarındaki gerim algısında da rol aldığı gösterildi (58).

2000 yılından sonra birçok grup tarafından ICC'nin gastrointestinal sistem dışında bulunup bulunmadığı araştırıldı. Üriner yollar, kan damarları, pankreas, erkek ve dişi üreme sistemi, meme bezi, plasenta ve kalpte de özel interstisyel hücreler tespit edildi. Benzer morfoloji ve immünohistokimyasal özelliklerinden dolayı, günümüzde çoğunlukla "İnterstisyel Cajal-benzeri hücreler" (Interstitial Cajal-like Cells, ICLC) olarak bilinen bu tür hücrelere, farklı ve kafa karıştırıcı isimler verildi. Faussone-Pellegrini ve ark. tarafından yapılan çalışmada, insan gastrointestinal kasları bir kez daha incelenerek ICC ve ICLC'in kas tabakalarında iki farklı hücre tipi olarak var olduğu gösterildi. Aynı zamanda insan gastrointestinal sisteminin ICC, ICLC, fibrosit ve fibroblastlarının farklı ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal özellikleri sıralandı. Popescu ve ark. tarafından miyokard üzerinde ve Ciontea ve ark. tarafından da uterusu yapılan çalışmalarda ICLC'nin klasik ICC'den ayrı bir hücre tipi olduğu doğrulandı. ICC'den gelen isim karışıklığını önlemek amacıyla ICLC'nin yeniden adlandırılması düşünüldü. 2010 yılında ilk kez Popescu ve ark. tarafından ICLC için "telosit" (Telocyte- TC), telosit uzantıları için de "telopod" (Telepode, TP) terimleri önerildi. Telopod ismi 'uç' anlamına gelen Yunanca 'telos' kelimesinden türetilmiştir (1, 58).

2.7.2. Telosit Tanımı ve Morfolojisi

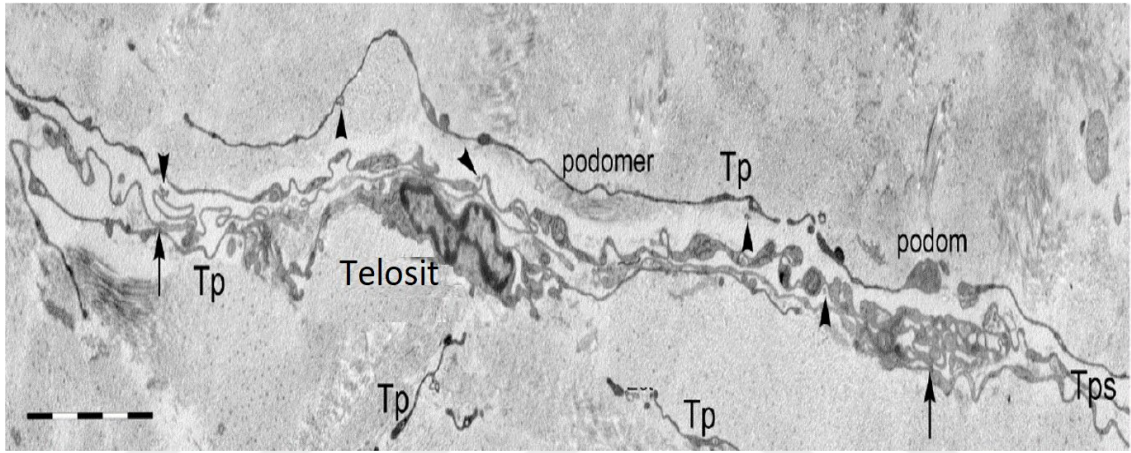
Telositler, mezenkimal kökenli bir tür interstisyel/stromal hücre olup, insanlar ve diğer memelilerin, kaviteli ve kavitesiz organlarında tespit edilmiştir. Telositin genel görünümü, az miktarda sitoplazma ve bir çekirdek içeren küçük hücre gövdesi ve telopod adı verilen ince uzun hücresel uzantılarla karakterizedir. Telositlerde telopod sayısı değişkendir. Bir telositin 1-5 arası telopodu bulunabilir. Bir telopodla piriform şekilli, iki telopodla iğ şekilli, üç telopodla üçgen şekilli ve üçten fazla telopodla poligonal ya da yıldız şekilli olmak üzere hücre gövdesinin şekli telopod sayısına bağlı olarak değişmektedir (1, 59-60).

TEM görüntülerinde ölçülen hücre gövdesi ortalama boyutları: $9.39 \mu\text{m} \pm 3.26 \mu\text{m}$ (min = $6.31 \mu\text{m}$; max = $16.42 \mu\text{m}$)'dir. Nükleus hücre hacminin % 25'ini oluşturur. Nükleusun çevresi, ince bir sitoplazma ile çevrilidir. Perinüklear sitoplazma, birkaç mitokondri, küçük bir Golgi kompleksi, az miktarda granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum ve hücre iskeleti elemanları içerir. Mitokondriyum zengindir ve hücre gövdesinin hacminin % 5'ini oluşturur. Küçük Golgi kompleksi ve granülsüz endoplazmik retikulum ise hücre hacminin % 1-2'sinden daha azdır; endoplazmik retikulum sisternaları esas olarak hücre uzantılarının dilatasyonlarında tespit edilir. Telositler hücre iskeleti elemanlarını içerir. Hücre zarında birkaç kaveola bulunur, ancak bazal lamina genellikle yoktur veya ince ve süreksizdir. Kaveolalar sitoplazmik hacmin % 2-4'ünü ve hücre zarı uzunluğunun ~ 0.5 kaveola/ μm 'sini oluşturur. Hücre dıştan unit membran yapısındaki hücre zarı ile çevrilidir (1, 60-62).

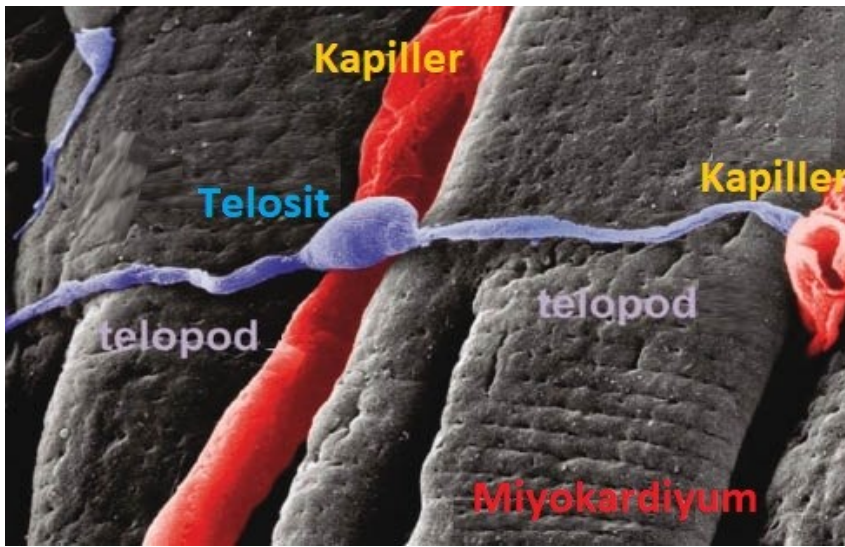
Telosit uzantıları telopodlar çok uzun hücresel uzantılardır ve insan vücudundaki en uzun hücresel uzantı olmaları muhtemeldir. Çoğunlukla tek bir kesitte, kesitin açısına bağlı olarak 2 veya 3 telopod kısmen gözlenebilir. Telopodların 3 boyutlu kıvrımları, 2 boyutlu kesitlerde gerçek uzunluklarının gözlemlenmesini önler. TEM çalışmalarında telopod boylarının yüzlerce μm olabildiği gösterilmiştir. Telopod üzerinde bulunan ince segmentlerin ve dilatasyonların birbirini izlemesiyle oluşan moniliform görünüm nedeniyle telopodların ortalama kalınlığını ifade etmek zordur (1, 61).

Telopodlar üzerinde bulunan ince iplik benzeri segmentlere podomer denir ve podomerler sadece $0.10 \pm 0.05 \mu\text{m}$ kalınlığındadır. Podom olarak isimlendirilen

genişlemiş boncuk benzeri segmentler ise “ Ca^{2+} alımı/salınımı birimleri” olarak tespit edilmiştir. Ultrastrüktürel görüntüde podomlarda mitokondri, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum ve kaveolalar vardır. Telositi diğer hücrelerden ayıran tipik özelliği, birbirini izleyen podom ve podomer yapılarıdır. Bu yönüyle nöronal dendritler, ICC'ler, fibroblastlar, mezenşimal kök hücreler ve diğer interstisyel hücrelerden ayrılır. Özel bazı nöronların aksonları bir kenara konulursa dokuda en uzun hücresel uzantı olarak kabul edilir. Telopodlar doku ve organların doğru şekilde organize olmalarına yardımcı olacak şekilde üç boyutlu ağlar oluştururlar (Resim 1-2) (1-2, 58, 61, 63-64).



Resim 1: Telosit, telopod, podom ve podomer yapılarının TEM görüntüsü (skala: 5 μ) (65).



Resim 2: Telositin 3 boyutlu görüntüsünün taramalı elektron mikroskopik görüntüsü (66).

Telositlerde tanımlanan bir diğer yapı da hareketli olmayan silyum yapısından oluşan tek bir primer silyumdur. Primer silyumlar 9 çift dış mikrotübül içerir ancak bir çift merkezi mikrotübülden yoksundur. Böylelikle motil mikrotübüllerden ayrılarak 9+0 aksonem düzenlenmesine sahiptir (Resim 3) (67-68).



Resim 3: Telositteki sil yapısı. Beyaz ok telositteki primer sil (68).

Huizinga ve ark. 1997 yılında telositlerin doku içinde tespit edilebilmesi ve ayımsanabilmesi için sekiz temel ultrastrüktürel ölçüt olan ‘altın standart’ları önerdi. Popescu ve arkadaşları altın standartlara iki kriter daha ekleyerek telositler için ‘platinyum standart’ tanımını oluşturdu (Tablo 1) (60).

Tablo 1: Telositler için platinyum standartlar (60).

Ultrastrüktüel Özellikler	Karakteristik Özellikler
Lokasyonu	Epiteliyal olmayan alanlarda ve tübüloalveolar yapılar arasında
Yakın temas kurulan hedefler	Sinir demetleri, epitelyum, düz kas hücreleri, kapillerler ve 'stromal sinaps' yoluyla immünoreaktif hücreler
Karakteristik sitoplazmik uzantıları	a. Sayı: 1-5 arası (çoğunlukla: 2–3)
	b. Uzunluk: 100'lerce μm 'ye kadar
	c. Kalınlık: düzensiz çapta, 0.5 μm 'den küçük genişlemeler, ancak ortaya çıktığı noktadan çok daha incedir
	ç. Görünüm: Moniliform; genellikle dilatasyonlardaki mitokondrilerle birlikte
	d. Ca^{2+} salınım birimleri: var
	e. Dallanma: Dikotomik (ikiye bölünmüş) şekilli
	f. Ağ organizasyonu: üst üste binmiş sitoplazmik uzantıların labirent sistemi şeklinde
Gap junction	Birbirleriyle ya da düz kas hücreleriyle
Bazal lamina	Bazen bulunur
Kaveola	Sitoplazmik hacminin % 2-4'ü, hücre membranı uzunluğunun ~0.5 kaveola/ μm 'si
Mitokondri	Sitoplazmik hacmin % 5-10'u
Endoplazmik retikulum	Sitoplazmik hacmin yaklaşık % 1-2'si, granüllü ve granülsüz olarak
Hücre iskeleti	Mikrotübüllerle birlikte, ara ve ince filamentler
Miyozin kalın filamentleri	Tespit edilemez

2.7.3. Telositlerin Dağılımı

Telositler, bağ dokusunda yaygın olarak dağılmış ve farklı canlı türlerinin çeşitli organlarında tanımlanmıştır (Tablo 2). Yapılan araştırmalara dahil olan türler, insan, sıçan, fare, gerbiller, degus, domuz, tavuk, tavşan, koyun, inek, kedi, köpek veya Çin yumuşak kabuklu kaplumbağasıdır (58).

Tablo 2: Telositlerin bulunduğu yerler

SİSTEM	LOKASYONU	BULUNDUĞU YERLER
Kardiyovasküler sistem	Epikardiyum	İnsan subepikardiyal alanında, bir kardiyomiyositin bulunduğu bölgede, kolajen fasiküller arasında (60)
	Miyokardiyum	İnsan kalp interstisyel hücrelerinin küçük bir kısmını teşkil eder, miyokardiyal hücreler arasında ve özellikle miyokardiyal kılıf ve pulmoner ven duvarı arasındaki sınırdaki (58, 60, 69-70)
	Endokardiyum	Subendoteliyal tabakada, endokardiyal endotel ve kardiyomiyosit demetleri arasında (60)
	Kalp kapakçıkları	İnsanda tüm üç kapakçık tiplerinde (mitral, triküspit ve aortik) interstisyel tabakada, kalp kapakçıklarının hem apeksinde hem de bazalinde (60)
Solunum Sistemi	Akciğer	İntralobüler bronşiyolün interstisyel alanında, terminal ve respiratuar bronşiyollerde, alveoler kanallarda (60)
	Trakea	Düz kas fibrilleri ve endotelyum arasında (60)

Solunum Sistemi	Plevra	İnsanda parietal plevrada ve submezotelyal alanda (60)
	Torasik lenfatik damar	Tunika medyanın düz kas tabakaları ile ilişkili olarak (60)
Sindirim Sistemi	Özefagus	Özefageal mukozada lamina propria, submukoza, musküler tabaka ve adventisyada (60)
	Mide	Bağ dokusunda yer alan kas demetlerine yakın süreksiz bir tabakada ve kas demetleri içinde (71)
	Duodenum	Lamina propriada, mukozal kriptlerin hemen altında (60)
	Jejunum	Mukozal kriptlerin epitel tabakasının hemen altında lamina propriada ve muskularis mukozada düz kas hücrelerinin arasında (60)
	İleum	Muskulariste ve lamina propriada (60)
	Kolon	Submukozada (68)
	Karaciğer	Disse aralığında (71)
	Pankreas	Ekzokrin pankreasta; sekretuar asinüs ve ekzokrin epiteliyal kanal yakınında ve düzenleyici sinirler ve kan damarları ile ilişkili yapıların yakınlarında (60)
	Safra kesesi	Muskularis propriada ve safra kanallarında (60)
Üreme Sistemi	Prostat	Prostatik stromada, özellikle komşu epiteliyal bölgede (60)
	Penis	Düz kas çevresinde (72)
	Testis	Peritübüler hücrelerin etrafında dış tabakada, intertübüler stromada (60)

Üreme Sistemi	Uterus	İnsan endometriyumunda stratum fonksiyonalis stromasında ve menstrüasyon sonrası bazal endometriumda (60, 73-76) Miyometrial interstisyumda (60, 77-79)
	Tuba uterina (oviduct)	Mukozada ve musküler tabakada düz kas lifleri arasında (60, 80-83)
	Plasenta	Koryonik villuslarda kan damarları çevresinde (60, 84-88)
	Ovaryum	Ovaryum stromasında (87-88)
	Vajina	Musküler tabakada (89)
	Meme Bezi	Normal stromada ve meme bezinin tümörleri içinde (60, 90-92)
Üriner Sistem	Böbrek	Renal tübüller çevresinde ve böbrek korteksinin interstisyumundaki (subkapsüler boşlukta) damarlar etrafında (60)
	Üreter	Lamina propriyada, temel olarak düz kas demetleri arasında (60)
	Üretra	Lamina propriyada (60)
	Mesane	Lamina propriyada (60)
	Renal pelvis	Lamina propriyada (60)
Damarlar	Mezenter arter	Bazal lamina altında ve tunika medyanın derinlerinde (93)
	Aorta	Elastik membran civarında (94)
	Koroner arter	Endotelial yüzeyleriyle temas halinde (60)
	İnternal torasik arterler	Endotelial yüzeyleriyle temas halinde (60)
	Karotid arter	Endotelial yüzeyleriyle temas halinde (60)

Damarlar	Portal ven	Subendotel ve intramusküler yapının derinlerinde (95)
	Pulmoner ven	Miyokardiyal kılıf ve pulmoner ven duvarı arasındaki sınırdan yer alır (70)
	Lenfatikler	Endotelin hemen altında, damar eksenine boyunca (96)
Bezler	Tükürük bezleri	Küçük tükürük bezlerinde, hem boşaltım kanallarını hem de salgı ünitelerini çevreleyen neredeyse sürekli bir tabaka oluşturur (60)
	Parotid bezi	Farklı çaplardaki kanalların etrafında (60)
Diğer yerler	Dalak	Kırmızı pulpada (60)
	Göz	Limbus, sklera ve uveada (60)
	İskelet kasları	İnterstisyumda (60)
	Meninksler ve koroid pleksus	Varsayılan (putativ) kök hücrelerin yakınında (60)
	Nöromusküler iğ	İçteki kapsülle birlikte nöromusküler iğ kapsülün en içteki kapsülünü ve kısmen de dış kapsülünü oluşturur (60)
	Trigeminal ganglion	Nöronal-glial birimlerin çevresindeki sinir lifleri ve mikrodamarların yakın çevresinde (60)
	Kemik iliği	Küçük kan damarları ve/veya kılcal damarlar ile yakın mekansal ilişkilerde (60)
	Fasya lata	Kollajen lifleri arasında (60)
	Temporomandibular eklemin diski	Kollajen lif demetlerinin yakınında (60)
	Mezenter	Kapillerlerin anastomozlaşan yerlerinde ve yakınında, adipositler,

Diğer yerler	Mezenter	sinir demetleri ve başta makrofajlar ve fibroblastlar olmak üzere interstisyel hücrelerin çevresinde (60)
	Pulmoner venler	Pulmoner venlerin uzun eksenlerine paralel (60)
	Deri	Dermiste (60)
	Kanın dura mater	Kapilerlere yakın ve yoğun kolajen liflerle çevrili olarak (2, 60)

Farklı hastalıklardaki patolojik durumlarda telositlerin potansiyel bir rolleri vardır. Telositlerle ilgili olarak atriyal amiloidoz, miyokard enfarktüsü, kalp yetmezliği deri karsinomları, meme kanseri, perivasküler epitelioid hücre tümörleri (PEComas), gastrointestinal stromal tümörleri (GIST), sistemik sklerozis, safra taşı, Crohn hastalığı, preeklamsi, ülseratif kolit, karaciğer fibrozisi, Sjögren sendromu, akut salpenjit, psoriyazis, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve renal tübüllerde iskemi-reperfüzyon hasarı çalışılmıştır. Telositlerin morfolojisi ve dokularda bulunuşu, hücresel özellikleri yaşlanma ve patolojik koşullarda değişmektedir (58, 60, 97).

2.7.4. Telositlerin İmmünohistokimyasal Karakterleri

Telositleri tanımlamak için TEM çalışmalarıyla birlikte immünohistokimyasal çalışmalar da yapılmaktadır (60).

Telositlerin gösterilmesi için kullanılan immünohistokimyasal belirteçler incelendiğinde; CD34, CD117/c-Kit, vimentin, platelet kaynaklı büyüme faktörü reseptörü alfa ve beta (PDGFR- α ve - β), vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF), indüklenabilir nitrik oksit sentaz (İNOS), kalveolin-1, konneksin 43, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), CD44, desmin, nestin, kaderin-11, CD29 ve CD10'un pozitif reaksiyon gösterdiği belirtilmiştir. Diğer yandan telositlerin, prokollojen 1, CD31/PECAM-1 (platelet endoteliyal hücre adezyon molekülü- 1), α - düz kas aktin (α -SMA), CD11c, CD90/Thy-1, CD68, CD1a, CD62-P, CD45 belirteçleri yönünden negatif olduğu vurgulanmıştır (60).

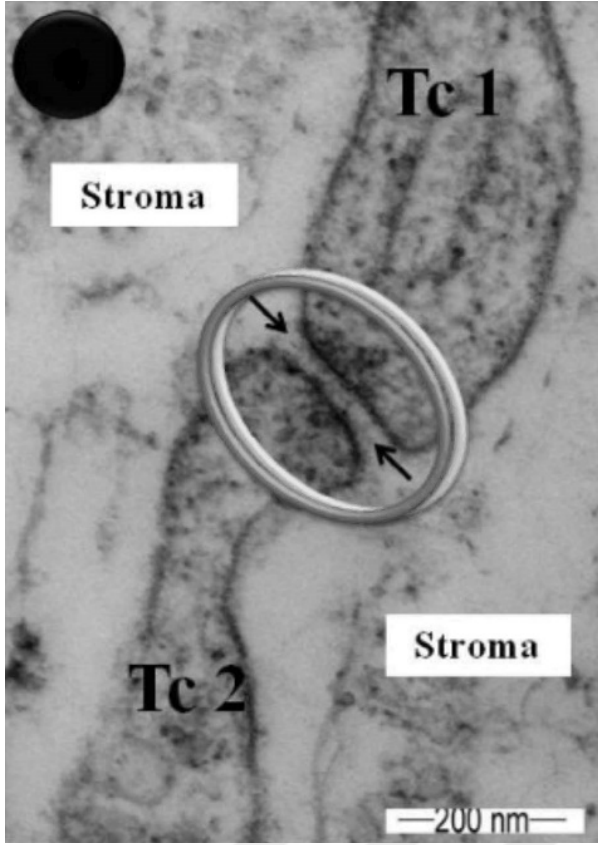
İmmünohistokimya çalışmalarında yalnızca telositlere özgü olan spesifik bir belirteç henüz bulunmamasına rağmen, en yaygın şekilde ilk olarak CD34 kullanılmaktadır. CD34'ün yanısıra telositler CD117 ve vimentin ile de boyanırlar. Telositler farklı organlarda ve hatta aynı organın farklı dokularında dahi farklı immünohistokimyasal belirteçlerle boyanabilirler. Telositleri göstermek için en iyi seçim CD34, c-kit, vimentin ve PDGFR- α antikorlarından herhangi ikisini birlikte kullanarak çiftli boyama (double labeling) yapmaktır (58, 60, 98-99).

2.7.5. Telositlerin Çevresel Etkileşimleri

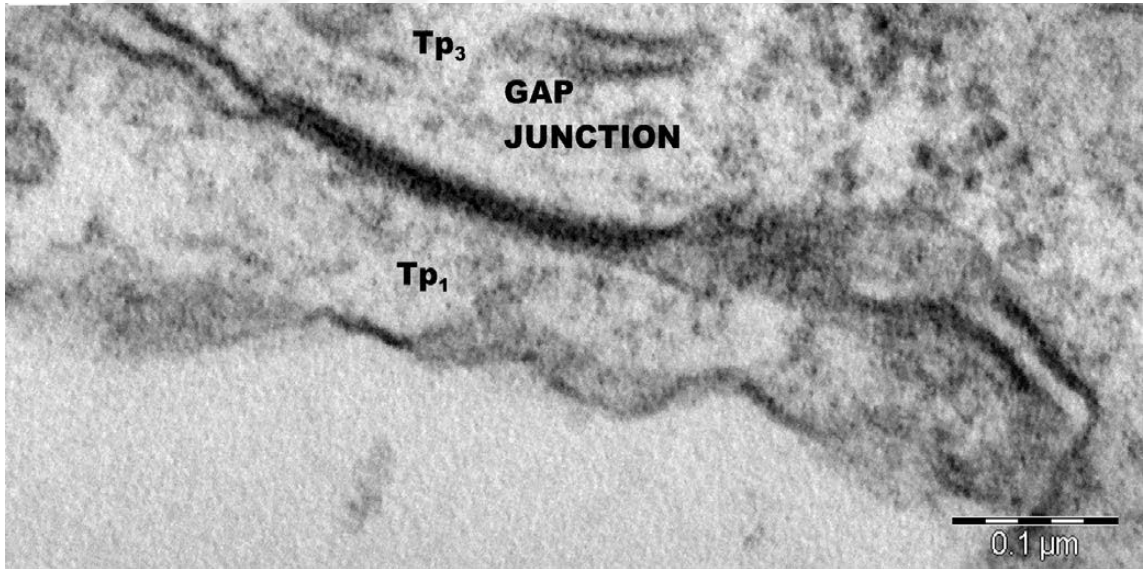
Telositler kendisini çevreleyen mikroçevre ile direkt ve dolaylı olarak etkileşime girerler. Telositlerin direkt etkileşimleri, hücre bağlantıları yoluyla gerçekleşir; bu bağlantılar ise gerek homoselüler ve gerekse heteroselüler olabilir. Dolaylı etkileşimleri ise, parakrin-jukstakrin sinyaller, mikro veziküller, eksozomlar, ektozomlar, mikroRNA'lar ve seks hormonları aracılığıyla gerçekleşir (60).

Homoselüler Bağlantılar

Homoselüler bağlantılar genellikle farklı telositlere ait telopodlar arasında veya telopod ile diğer telositin gövdesi arasında oluşturulur. Telositler arasındaki mesafe bağlantı bölgelerinde 10-30 nm'ye kadar düşer. Homoselüler bağlantılara, aktin filamentleri, mikrotübüller ve vimentin ara filamentleri gibi hücre iskeleti unsurları eşlik ederek telositlerin üç boyutlu ağlar oluşturmak suretiyle dokuya baştan başa mekanik destek sağlamalarına ve doku mimarisini muhafaza etmelerine olanak sağlar. Komşu telositler arasında küçük moleküllerin ve iyonların geçişine izin veren gap junctionlar çok sayıda bulunur. Gap junctionlar telositler arasında bulunan en yaygın bağlantı türüdür. Gap junction bölgesinde membranlar arası mesafe 2 nm'ye kadar iner (Resim 4-5) (58, 60, 77, 99-100).



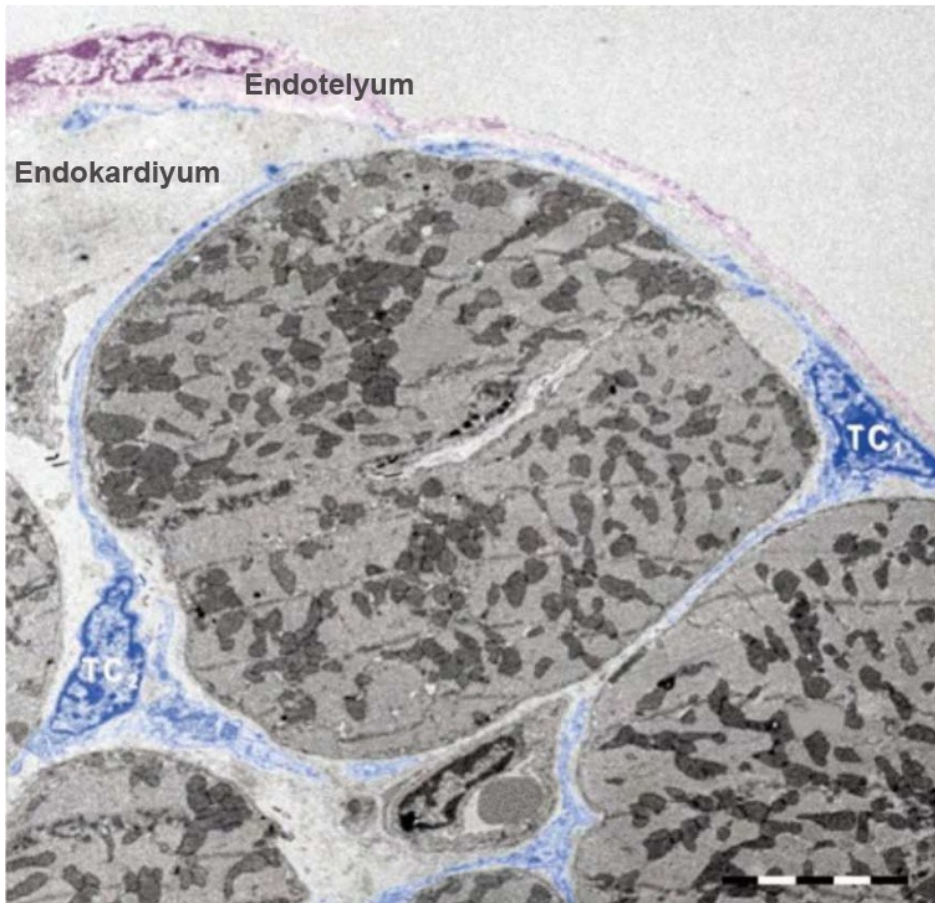
Resim 4: İki farklı telosit arasındaki interselüler membran aralığı (101)



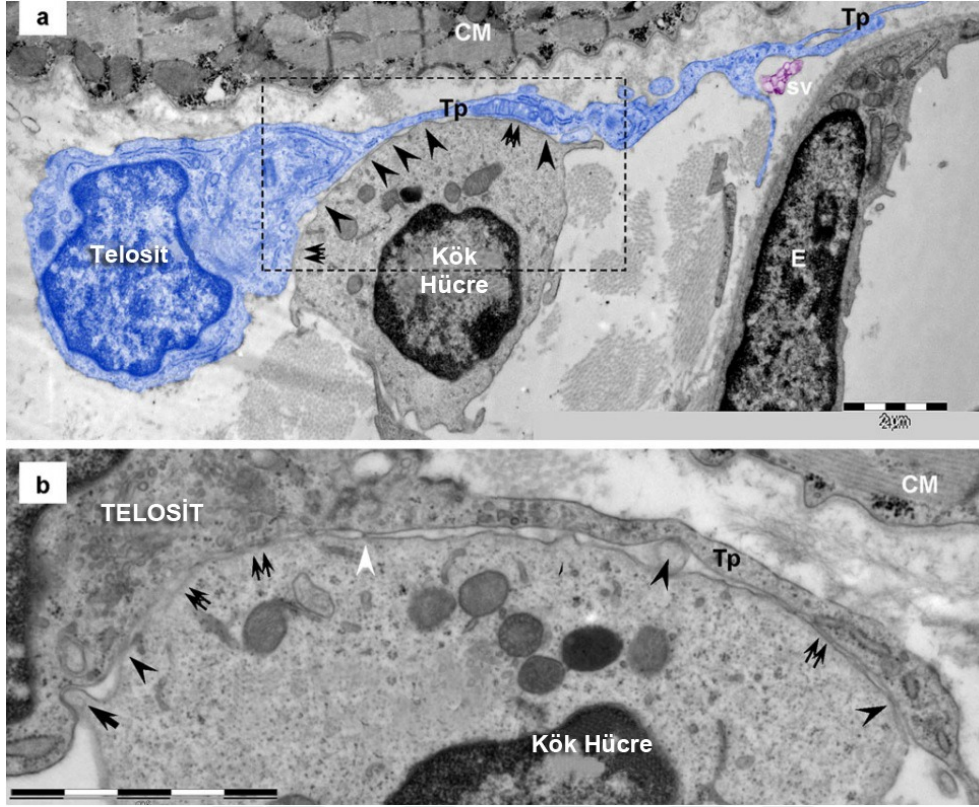
Resim 5: Telopodlar arasındaki gap junction (102)

Heteroselüler Bağlantılar

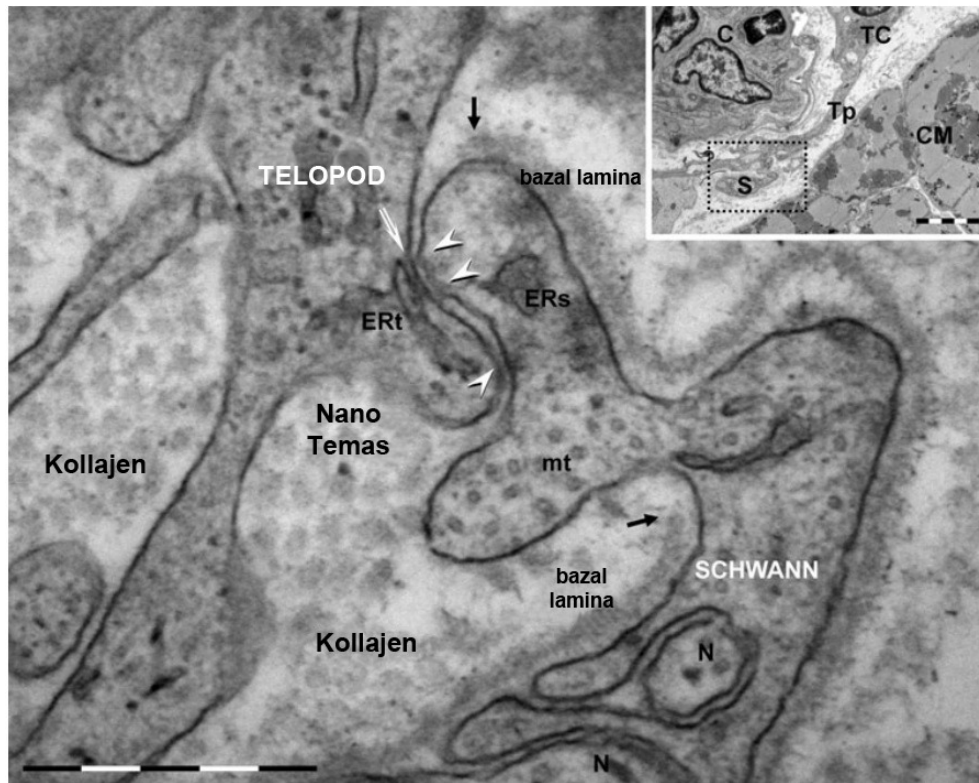
Heteroselüler bağlantılar telositlerle telosit olmayan hücreler arasındaki bağlantılardır. Telositler vücuttaki diğer hücre tiplerine kıyasla daha çok çeşitlilikte heteroselüler bağlantılar kurarlar. Yapılan araştırmalarda telositlerin fibroblastlarla, perisitlerle, endotel hücreleriyle, nöronlarla, kök hücrelerle, makrofajlarla, mast hücreleriyle, lenfositlerle, plazma hücreleriyle, Schwann hücreleriyle, kardiyomiyositlerle, düz kas hücreleriyle, melanositlerle ve eritrositlerle heteroselüler bağlantı kurduğu gösterilmiştir (Resim 6-11). Telositlere özgü heteroselüler bağlantılar araştırmacılar tarafından, nokta temaslar (10-30 nm), nano temaslar (10 nm) ve planar temaslar (10-25 nm) olarak adlandırılır ve bu bağlantılarda ortalama membranlar arası mesafe, makromoleküler etkileşim için elverişli bir genişlik olan 10-30 nm arasındadır (Resim 7-8, 12) (58, 60, 99-100).



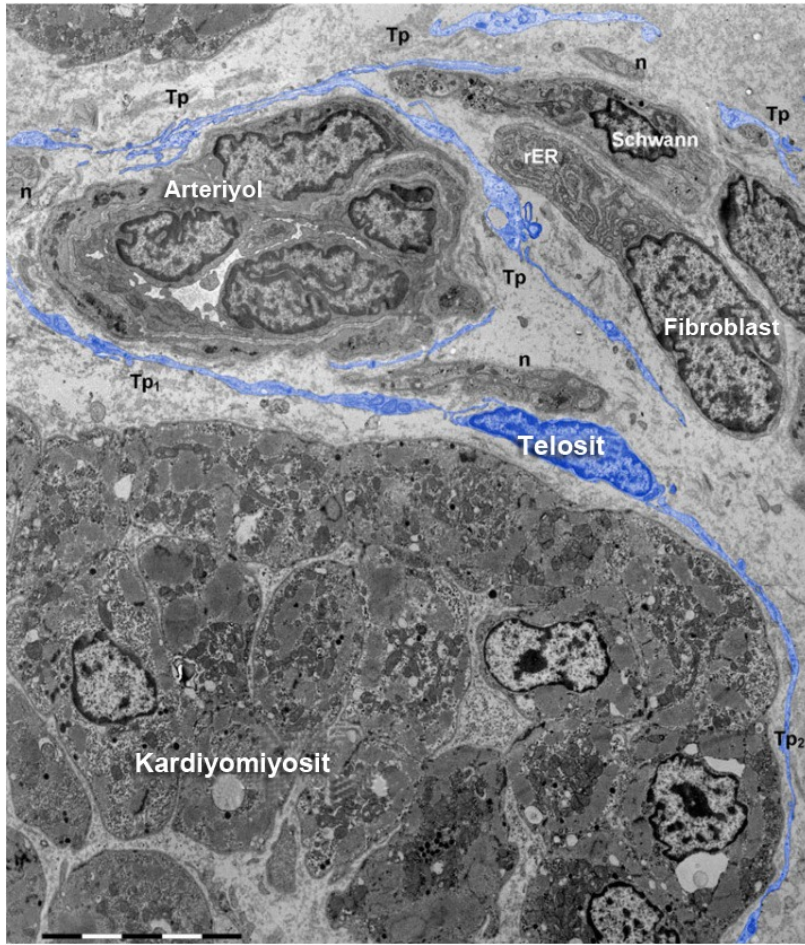
Resim 6: Telositlerin kardiyomiyositlerle heteroselüler bağlantısı (83)



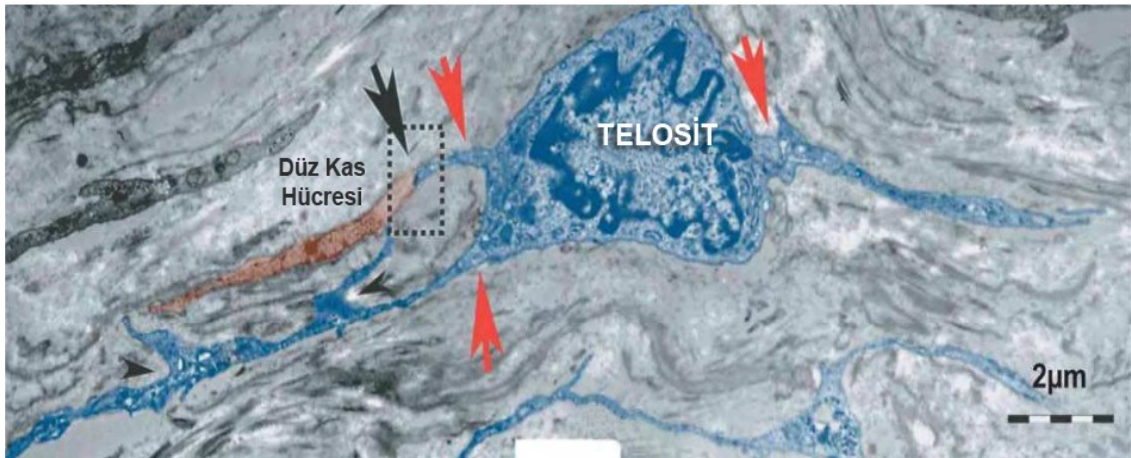
Resim 7: Telositin kök hücreyle heteroselüler teması (100). Nokta temas (ok başları), planar temas (çift ok)



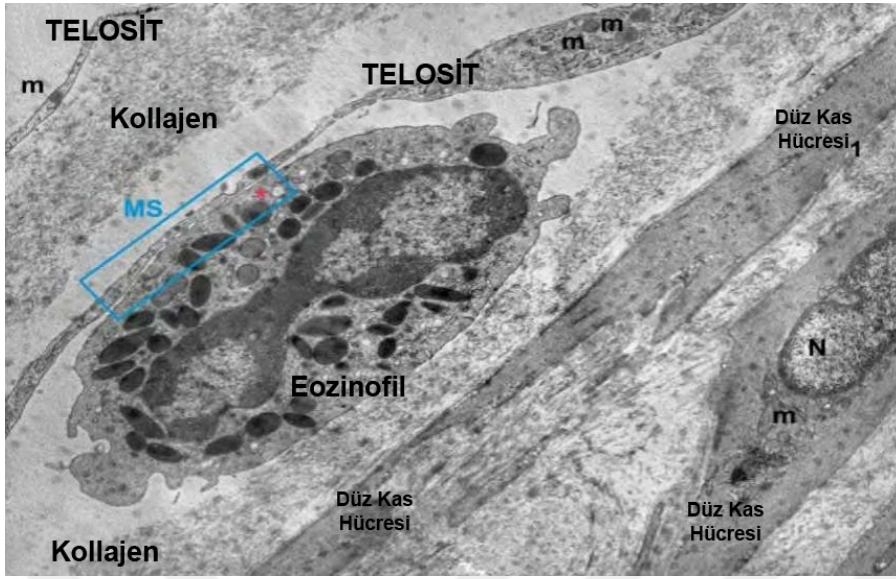
Resim 8: Telopodların Schwann hücreleriyle heteroselüler teması ve nano temas (100)



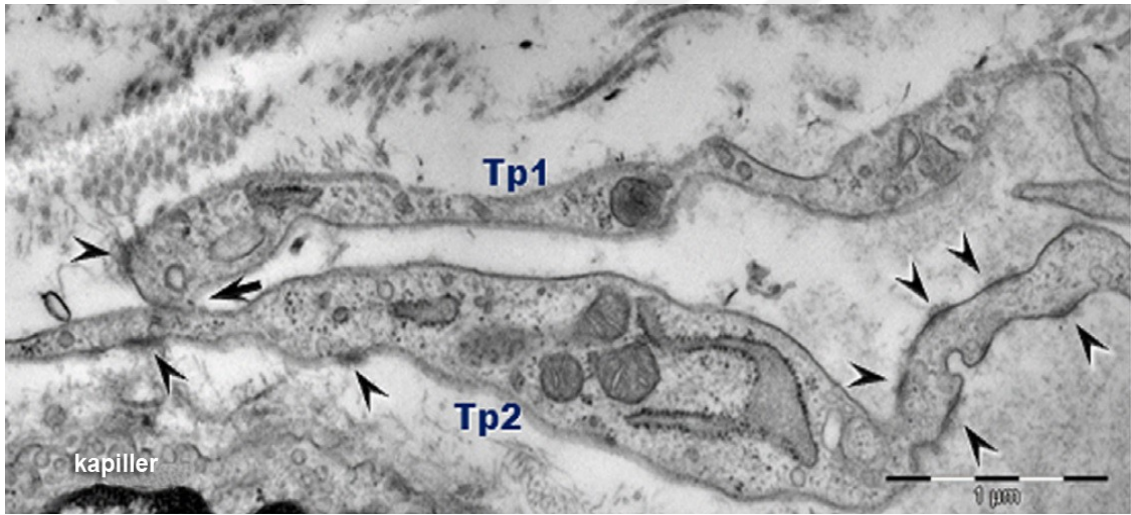
Resim 9:
Telositlerin kardiyomiyosit, arteriyol, fibroblast ve Schwann hücreleriyle heteroselüler teması (100)



Resim 10: Telositlerin düz kas hücreleriyle heteroselüler teması (83)



Resim 11:
Telositlerin
eozinofil ile
heteroselüler
teması (83)



Resim 12: Nokta temaslar (oklar) (98).

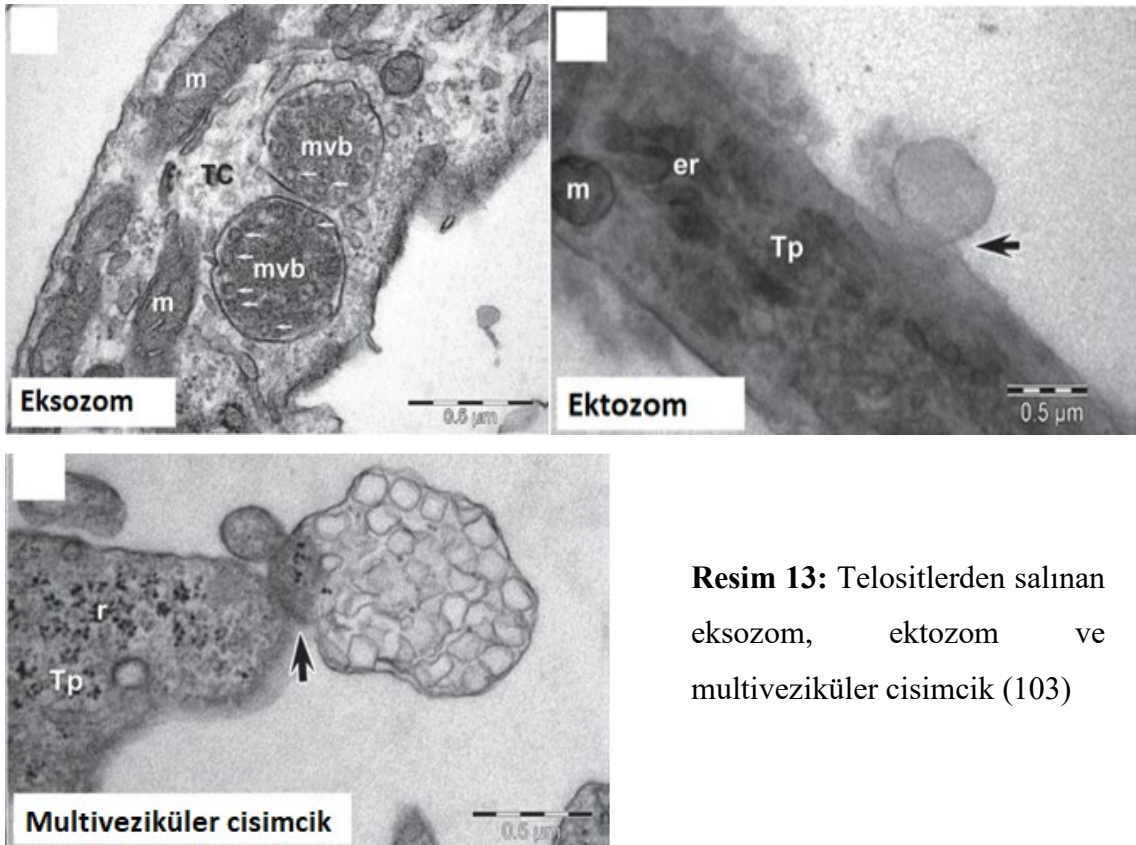
Telositlerin Salgısal Özellikleri

Telositler, telopodlarından bazen de hücre gövdesinden en az üç tip ekstraselüler vezikül salıverir. Bunlar eksozomlar (45 ± 8 nm), ektozomlar (128 ± 28 nm) ve multiveziküler cisimcikler'dir (MVC) ($1 \pm 0,4$ μ m) (Resim 13) (60, 103).

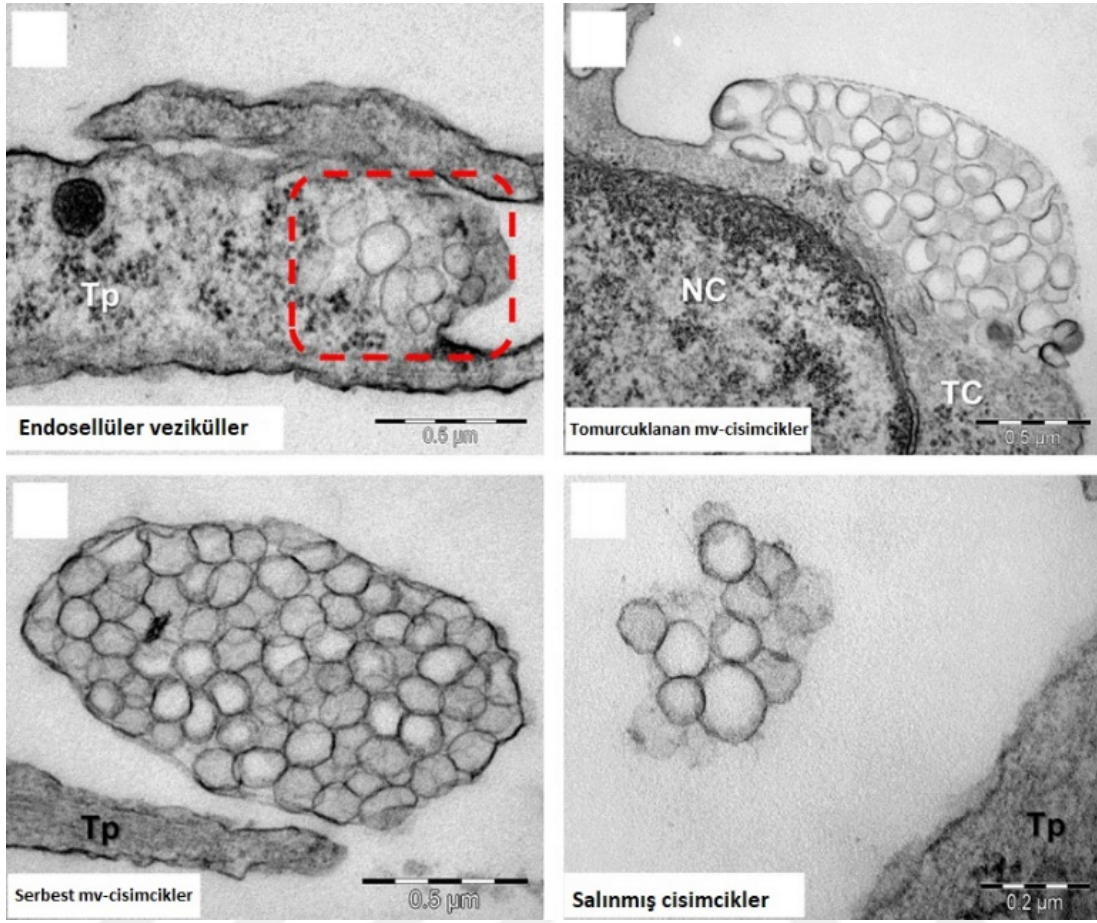
Eksozomlar multiveziküler endozomda oluşturulur ve plazma membranı ile füzyonundan sonra salınırken, ektozomlar plazma zarından doğrudan tomurcuklanarak salınırlar. Multiveziküler cisimcik; plazma membranı ile çevrelenmiş çok sayıda ve

sıkıca paketlenmiş endomembran vezikül kümeleri olarak tanımlanır. Multiveziküler cisimcikler oluşurken; kortikal sitoplazmanın farklı yerlerinde veziküller toplanır gruplanarak plazma membranının bir segmentinde şişkinlik oluştururlar. Toplanmış endomembran veziküller plazma membranı tarafından sarılarak ekstraselüler alana salınır. Hücre dışında multiveziküler cisimciklerin eksternal membranı çözülür, veziküller grup halinde veya tek tek ekstraselüler alana dağılır (Resim 14) (103).

Her nerede bulunursa bulunsun, çok sayıda vezikül salınması, telositlerin karakteristik bir özelliğidir. Eksozom/ektozomların salındığı bölge ya da alan, bunların hedef ve işlevini belirleyebilir. Vasküler telositler diğer yapılarda bulunan telositlere göre daha çok vezikül salgılar. Ayrıca telositlerden, hücreler arası sinyal molekülleri olan intelökinler (IL-2, IL-6, IL-10 ve IL-13), vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF), nitrik oksit, makrofaj inflamatuvar protein 1 ve 2 (MIP-1 ve MIP-2), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1), büyüme ilişkili onkogen/keratinosit türevi kemokin (GRO-KC) salınır. Testosteron, rostenedion ve dehidroepiandrosteron salgılanmasına da dolaylı olarak dahil olduğu düşünülmektedir (60, 103-104).



Resim 13: Telositlerden salınan eksozom, ektozom ve multiveziküler cisimcik (103)



Resim 14: Multiveziküler cisimciklerin oluşması ve salınması (103).

2.7.6. Telositlerin Fizyolojik Roller

Telositler organizmada oldukça gizemli fonksiyonlarda rol alan hücreler olarak kabul edilmektedir (4).

Telositlerin rolleri düşünüldüğünde ilk akla gelen hücrelerarası sinyalizasyon ve koordinasyondur. Telopodlarının oluşturduğu üç boyutlu (3B) ağlar ve kurduğu homoselüler ve heteroselüler bağlantılar sayesinde yakın hücresel çevresiyle gerçekleştirdiği sinyal alış-verişi yanında, vezikül/eksozom salınımıyla, telositlerin uzun mesafeli hücreler arası sinyalleşmede de rolleri olduğu gösterilmiştir. Sinir sistemi, vasküler sistem, immün sistem gibi çeşitli sistemlerden gelen sinyallerin entegrasyonunu, immün homeostaz dahil doku homeostazisinin ve çeşitli hücreler arası sinyallerin düzenlenmesini kapsayan bir dizi iletişimden sorumludur. Telositlerde

sitoplazmada bulunan proteinlerin de, hücre sinyalleşmesi yanında enerji ve metabolik yollarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Sinyalizasyon ve metabolik fonksiyonların yanında, gen ontolojisi analizlerinden yola çıkarak telositlerde artmış genlerin fonksiyonel olarak bulundukları organ ve dokularda organogeneze, anjiyogeneze, doku remodellemesi ve onarımına, tümör oluşumu ve anti-enflamatuvar tepkileri önleyen oksidatif mikroortamın korunmasına, hücrelerin proliferasyonuna, morfogenezine ve göç, yapışma, bölünme gibi fiziki aktivitelere katkıda bulunduğu gösterilmiştir (4, 58, 60, 105).

Telositler kök hücrelerin yakınlarında yerleşmiştir. Telositlerin diğer bağ dokusu hücreleriyle birlikte kök hücre nişini oluşturduğu ve kan damarları, sinir sonlanmaları ve diğer interstisyel hücrelerle birlikte interstisyel ağlar oluşturduğu düşünülmektedir. Telositlerin doku mühendisliği ve rejeneratif tıp ile ilişkili kök hücre çalışmalarında doku onarımı ve rejeneratif süreçte aktif rol oynadığı vurgulanmıştır. Telositler nöroenezin farklı aşamalarında nörolojik kök hücrelerin farklılaşmasına ve göç etmesine yardımcı olmaktadır. Ayrıca telopodların üç boyutlu ağlar kurması doku ve organ mimarisinin oluşumuna destek sağlar (2, 4, 106).

Patolojik durumlarda telositlerin ultrastrüktürel değişim sergilediği, organ ve dokuda önemli ölçüde azaldığı ve kademeli olarak kaybolduğu belirtilmiştir. Çeşitli patolojik süreçlerde ve adaptif cevaplarda anahtar rol oynarlar (2, 60).

Düz kas hücrelerinin kasılmasına neden olan yavaş dalgalar üretmede telositlerin potansiyel rolleri olduğu da ifade edilmiştir. Bu hücreler pacemaker aktiviteleriyle elektriksel puls üreterek düz kas hücrelerinin kontraksiyonunu destekler (4, 107).

2.7.7. Dişi Üreme Sisteminde Telositler

Telositler, dişi üreme sistemine ait organların stromalarında da yer alırlar (4).

Telositler vajinada musküler tabakada tespit edilmiştir ve düz kas hücrelerinin kasılmasına neden olan yavaş dalgalar üretmede rolleri olabileceği düşünülmektedir (4, 89).

Uterus miyometriyumunda fonksiyonel olarak önemli interstisyel bağ dokusu hücrelerinden biri de telositlerdir. Telopodların düz kas tabakaları arasında yoğun ağlar oluşturması telositlerin miyojenik kontraksiyon mekanizmasına dahil olabileceklerini düşündürmüştür. Miyometriyumda gerginliği ve basıncı hisseden mekanoreseptör işlevi gördükleri ifade edilmiştir. Telositler doğum sırasında, fertilizasyonda sperm taşınması sırasında, embriyo implantasyonu sırasında ve menstrüel kanın atılması ve mukozanın fonksiyonel bölümünün nekrozite olması sırasında miyometriyumun kasılma faaliyetlerinin koordinasyonunu sağlar. Diğer yandan miyometriyumda telopodları aracılığıyla immün sistem hücreleriyle stromal temaslar kurmaları, embriyo implantasyonu sırasında ve hamilelik boyunca uterusu immün gözetimde rol aldığını gösterir. En yüksek sayıda telositlerin doğum sonrasında görülmesi de miyometriyumun doğum sonrası involüsyonuyla ilgili olabilir (4, 81,108, 109-110).

Östrojen reseptörü alfa (ER α) ve progesteron reseptörü A (PR-A) ekspresyonu uterin telositlerin yüzeyinde doğrulanmıştır, bu da telositlerin cinsiyet hormonu sensörleri olabileceğini düşündürmüştür (111-112).

Endometriyum ve miyometriyumdaki telosit miktarı üreme evresi ile bağlantılıdır. İmmatür uterusu telosit sayısı az iken yetişkin hamile olmayan uterusu telosit miktarı daha fazladır. Hamile uterusunda endometriyal telositlerde daha fazla artış gözlemlenirken, miyometriyal telositlerde belirgin bir azalma vardır. En yüksek sayıda miyometriyal telositler doğum sonrası involüsyonda tespit edilmiştir. Hamile miyometriyumdaki telosit miktarındaki değişiklikler, erken doğumun önlenmesi ile ilişkilendirilmiştir. Elektron mikrokobisi çalışmalarına göre miyometriyumdaki telosit morfolojisi de gebelik olup olmamasına göre değişmektedir (81, 104).

Telositler hamilelikte uterusun genişlemesi sırasında mekanik gerilmeyi koordine eden sensörler olarak işlev görür. İnsan uterin telositlerin hücre zarlarında doğrulanan T tipi kalsiyum kanalları ve kalsiyum ile aktive olan küçük kondüktanslı potasyum kanalları ekspresyonundaki farklılıklar, hamile uterusun mekanik gerilmesinin tespitinde rol oynayabileceğini göstermektedir (64, 113-114).

Uterusta farklı telosit belirteçlerinin tespit edilmesi, farklı işlevler gerçekleştirebilecek çeşitli telosit alt popülasyonlarının varlığını göstermektedir. Telositlerin gap junction

proteini olan konneksin-43'ü ekprese etmesi, desidua matürasyonunda rol oynayacağını düşündürmüştür. Telositlerdeki konneksin-43 ekspresyonu embriyo implantasyonunda ve plasenta oluşumunda rol oynar. Bu proteinin ifadesindeki bir azalma VEGF ekspresyonundaki azalmaya sebep olur. Konneksin-43 ve VEGF ifadelerindeki azalma da tekrarlayan gebelik kaybı ile bağlantılıdır. (104, 115-117).

Tuba uterinadaki telositler incelendiğinde, telopodların düz kas hücreleri, sinir sonlanmaları ve kan damarları ile 3 boyutlu ağlar oluşturduğu gözlemlenmiştir. Düz kas hücreleriyle yakın ilişkiler, telositlerin tuba uterina kontraktilitesine katıldığını ve bunun da sperm ve oosit taşınmasında etkili olabileceği yönünde ifade edilmiştir (118).

Tuba uterinadaki telositler tipik bir hücre fenotipi sunar. Tıpkı uterustaki gibi telosit yüzeylerinde östrojen ve progesteron reseptörleri ekprese edilir. Bu da östrojen ve progesteron seviyelerindeki değişikliğe yol açarak peristaltik hareketin kontrolünü sağlar. Tuba uterinadaki telositler gap junctionlar sayesinde bitişik kas hücrelerine impuls iletir (108-109).

Ovaryumdaki telositlerin yerel mikro çevreyi korumaktan sorumlu olabilecekleri düşünülmüştür. Tavşan ovaryumunda yapılan çalışmada telositlerin teka interna ve teka lutein hücrelerinin oluşumu ve rejenerasyonunda rol alabileceği ifade edilmiştir (87-88).

Telositler meme bezinde normal stromada ve meme bezinin tümörleri içinde bulunurlar. Stromanın doğru düzenlenmesi, yerel mikroçevrenin korunmasında önemli olduğu için telosit ağlarının işlevinde herhangi bir değişiklik olması, dokuda yeni tümör oluşumu riskinde bir artışa neden olabilir. Telositlerin tümör hücrelerini doğrudan etkilediği, çoğalmalarını uyardığı ve apoptozu baskıladığı düşünülmektedir (4, 90).

Plasentada koryonik villuslarda telositler saptanmıştır. Temas halinde olduğu çeşitli plasental hücrelerin fonksiyonlarının düzenlenmesinde, immün denetimde ve steroid hormon sensörleri olarak rol aldığı kabul edilmektedir. Ayrıca kendi sinir desteği olmayan plasenta için telositler sinyal aktarımı görevi görürler. Fetal damarlardan kan akışının düzenlenmesinde, koryonik villusların gelişmesinde rol oynarlar ve iskemi/hipoksi için sensör vazifesi görürler (84-85, 109, 119).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığının 04.10.2017 tarihli 2017/24 sayılı kararı ile gerçekleştirildi. Ayrıca Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklendi (Proje Numarası: TF.YLT.18.16).

3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi HADYЕК'ten alınan 30 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Yapılan güç analizine göre her bir grupta minimum gerekli hayvan sayısı 5 olarak belirlendi. Bununla birlikte örneklemin daha büyük olmasını sağlamak amacıyla her bir grupta 15'er hayvan kullanılması uygun bulunmuştur. Deneklere herhangi bir cerrahi veya kimyasal uygulama yapılmamıştır. Sıçanlar çalışma öncesinde ve çalışma boyunca 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışık siklusunda, $21\pm1^{\circ}\text{C}$ 'ye sabit ısıda tel kafeslerde barındırıldı.

Çalışmada 2 grup hayvan kullanılmıştır. Birinci grup insan türünde 20-25 yaşlarındaki dişi bireyleri temsil edecek şekilde, 8-10 aylık 250-350 gram yetişkin dişi Wistar Albino sıçanlardan oluşturuldu. İkinci grup ise insan türünde 80-85 yaşlarındaki menopoza girmiş dişi bireyleri temsil edecek şekilde, 32-34 aylık 250-400 gram yetişkin dişi Wistar Albino sıçanlardan oluşturuldu (Tablo 3) (45).

Tablo 3: Deney hayvanlarının gruplandırılması

GRUP ÖZELLİKLERİ		AYLAR	DENEK SAYISI	
GENÇ YETİŞKİN DÖNEM	ÖSTRUS	8-10	8	15
	METÖSTRUS	AYLIK	7	
MENOPOZ DÖNEMİ		32-34 AYLIK	15	15

3.2. Östrus Siklusunun Değerlendirilmesi

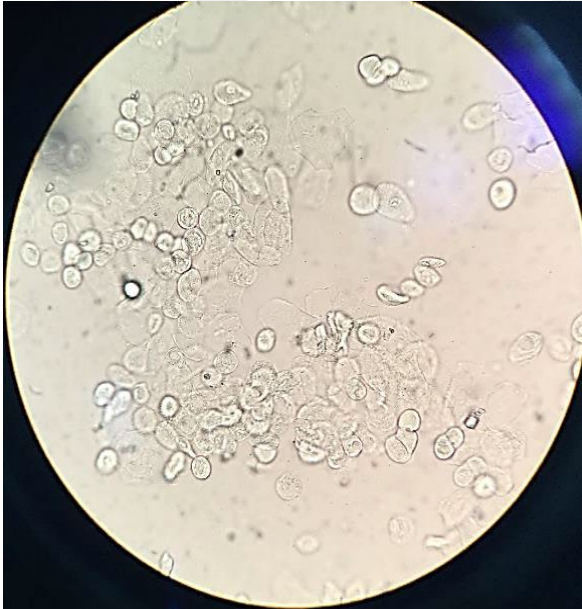
8-10 aylık sıçanların östrus sikluslarını belirlemek için vajinal smear alındı (Resim 15). Vajinal smear yönteminde; pastor pipeti ile sıçan vajinası içerisine çok derine girmeden 10µL serum fizyolojik (NaCl %0,9) bırakılıp negatif basınçla geri çekildi. Toplanan vajinal sıvı lam üzerine bırakılıp boyama yapılmadan ışık mikroskopunda 10X büyütmede incelendi (120-121). Her sıçan için ayrı lam ve pipet kullanıldı. Böylelikle vajinal epitelin özelliklerine göre sıçanların hangi östrus siklusunda olduğuna karar verildi. 8-10 aylık sıçanların 8 tanesi menstrual siklusun östrus fazında (Resim 16) ve 7 tanesi ise metöstrus fazında (Resim 17) iken ovaryumları çıkarıldı.



Resim 15:
Genç
yetişkin
grubu
sıçanlardan
vajinal
smear alma



Resim 16: Östrus dönemi vajinal smear görüntüsü. Kornifiye hücrelerin smearda hakimliği (10X)

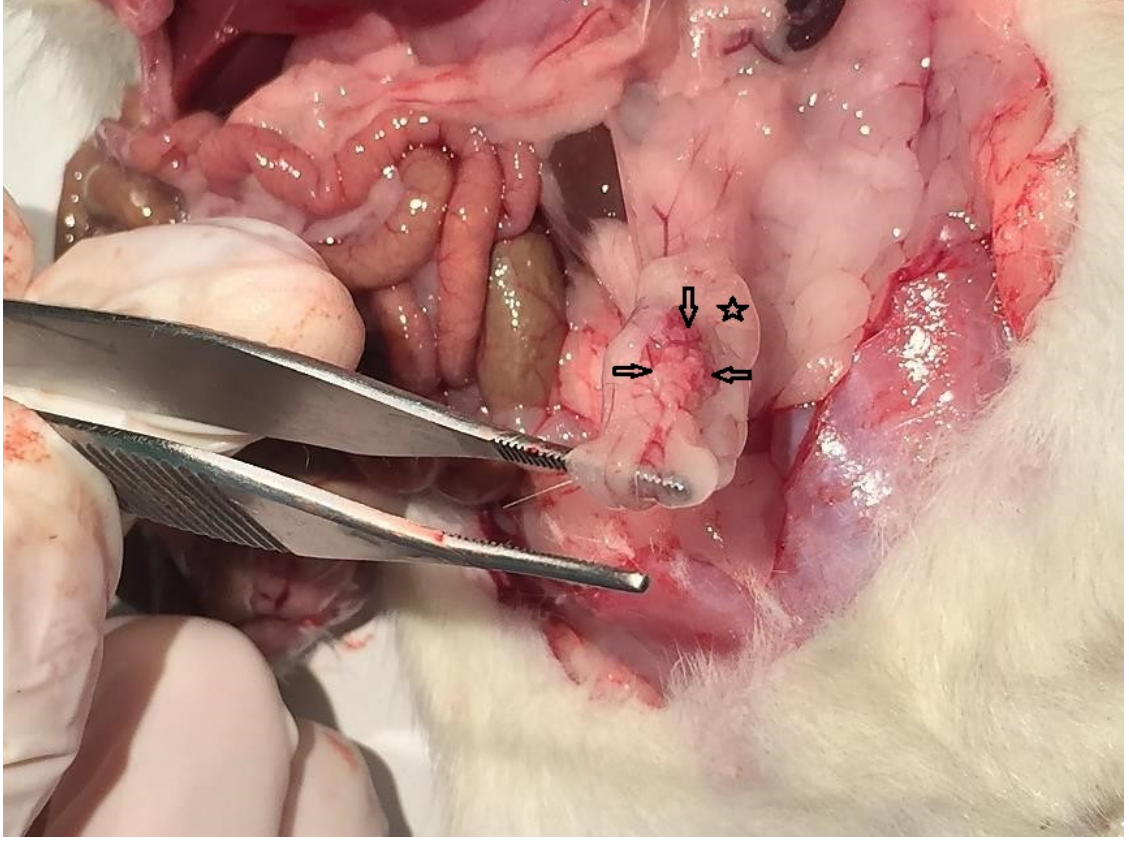


Resim 17: Metöstrus dönemi vajinal smear görüntüsü. Eşit oranda nükleuslu epitel, nükleussuz kornifiye epitel ve lökositler (10X)

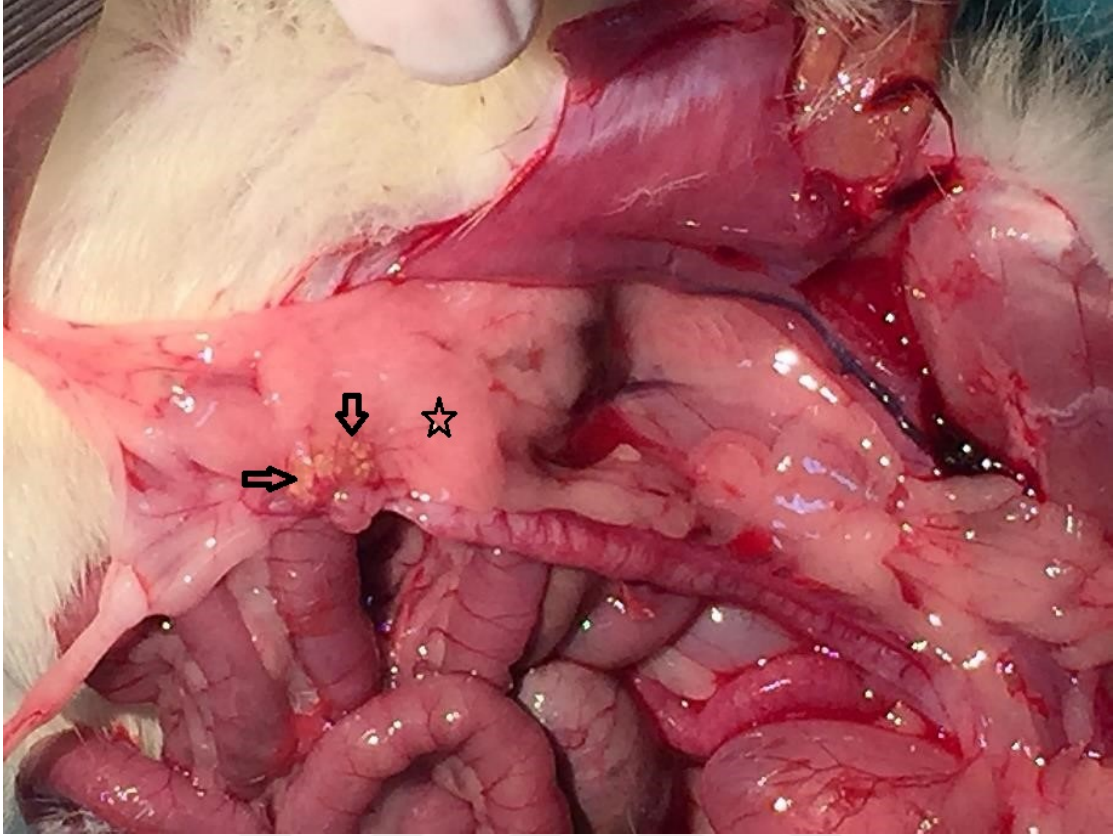
3.3. Doku Örneklerinin Toplanması

Sıçanlar öncelikle, intraperitoneal olarak uygulanan ketamin/ksilazin (80/12 mg/kg) karışımı ile anestezi altına alındı (122). Hayvanların anestezi etkisi altında olup olmadıkları arka ayaklarının pensetle sıkıştırılmasına verdikleri tepki ile test edilmiştir. Deney hayvanları anestezi altında tartıldı ve ağırlıkları kontrol edildi. Diseksiyon masasında sırtüstü yatırılan sıçanların karın duvarı kesilerek açıldı. Daha sonra yağ dokusu içine gömülü ovaryumlarına ulaşıldı ve ovaryumları tuba uterinalarla birlikte

ıkarıldı (Resim 18-19). Sıçanların sağ ovaryumları ışık mikroskopisi için Bouin fiksatifine, sol ovaryumları ise elektron mikroskopisi için glutaraldehit fiksatifine alındı. Ovariectomi sonrası servikal dislokasyonla sıçanlar sakrifiye edildi.



Resim 18: Genç yetişkin grubu ovaryumları (oklar arasında). (☆): yağ dokusu



Resim 19: Menopoz grubu ovaryumları (oklar arasında). (☆): yağ dokusu

3.4. Işık Mikroskopisi İçin Doku Takibi

Alınan dokular Bouin fiksatifinde 2 saat bekletildi. Bouin fiksatifi, 750 ml doymuş pikrik asit çözeltisine 750 ml %40'lık formaldehit ve 50 ml glasiyal asetik asit eklenerek hazırlandı (123). Masson trikrom boyaması için özellikle Bouin fiksatifinin kullanılması önerildiği için tercih sebebidir. Daha sonra dokular tamponlanmış %10'luk nötral formalin fiksatifi içine alındı ve 48 saat bekletildi. %10'luk nötral formalin ise her bir litresi için %4'lük formaldehit içeren formalin çözeltisi içerisine 4 gr sodyum fosfat monobazik ve 6,5 gr sodyum fosfat dibazik eklenip 7 µm'lik filtre kâğıdında süzülerek hazırlandı.

Ovaryum dokuları fikse edildikten sonra doku takibine başlandı. Dokular öncelikle akar musluk suyu altında 1 gece yıkandı. Daha sonra dehidrasyona başlandı. Bouin fiksatifinde bulunan pikrik asitin sarı renginin gitmesi için %70'lik alkolde 2 değişim 2'şer saat bekletildi. Dehidrasyonun tamamlanması için sırasıyla %80'lik, %90'lık, 2

değişim %96'lık ve %100'lük etik alkol serilerinde 1'er saat bekletildi. Hemen ardından 3 değişim toluende ilk ikisinde 10'ar dakika, son toluende ise 5 dakika bekletilerek şeffaflaştırıldı. Dokuların parafine alışması için 60°C'lik etüvde yarı yarıya toluen sıvı parafin karışımında 10 dakika bekletildi. Sonra dokulara 60°C'lik etüvde sıvı parafin infüze edildi ve ardından bloklanarak gömme işlemi tamamlandı.

3.5. Işık Mikroskopik Boyamalar

Parafin bloklarına gömülen ovaryum dokularından Leica RM2245 (Almanya) mikrotomuyla kesitler alınıp lamalar üzerine toplandı. Bielschowsky Gümüşleme boyaması için 10 µm kalınlığında kesitler kullanılırken, Masson Trikrom boyaması ve immünohistokimya için 5 µm kalınlığında kesitler kullanıldı. Masson Trikrom ve Bielschowsky Gümüşleme boyaması için normal lam kullanılırken, immünohistokimya için pozitif şarjlı lam kullanıldı.

3.5.1. Masson Trikrom Boyaması

Boyamaya hazır hale gelen kesitler Masson Trikrom tekniğiyle boyandı. Masson Trikrom tekniği ile ekstraselüler alandaki kolajen lifler yeşil renkte boyanırken, hücreler kırmızı- kahverengi boyanmaktadır. Bu sayede kesitlerin Masson Trikrom tekniği kullanılarak boyanmasıyla kolajenin oluşturduğu yeşil zemin üzerinde telosit benzeri hücrelerin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Öncelikle kesitlerden parafinini uzaklaştırmak için kesitler bir gece 60 derece etüvde bekletildi. Ardından iki değişim toluende toplam bir saat bekletilerek kesitlerden parafin giderildi. Parafinden kurtarılan kesitler azalan sırasıyla %100'lük, %90'lık, %70'lik, %50'lik alkollerde 3'er dakika bekletilerek rehidrate edildi. Daha sonra distile su ile yıkandı.

Nükleusların boyanması için demirli hematoksilin boyası kullanıldı. Bunun için 2 farklı solüsyon hazırlandı. İlk solüsyonu hazırlamak için 0,6 gr demir klorid 100 ml distile su içerisinde çözündürüldü ve 0,75 ml hidroklorik asit eklenerek solüsyon hazırlandı. İkinci solüsyon 100 ml %95'lik etanol içinde 1 gr hematoksilinin çözündürülmesiyle

hazırlandı. Boyama solüsyonu için ise boyamadan hemen önce her iki solüsyondan eşit miktarda karıştırılarak demirli hematoksilen solüsyonu hazırlandı.

Kesitler demirli hematoksilen solüsyonunda 1,5 saat tutularak nükleusların boyanması sağlandı. Ardından nükleuslar mavi renk alana kadar akar musluk suyunda 20 dakika yıkandı. Diferansiyasyon için 1 ml %1 hidroklorik asit ve 100 ml'lik %70 etanol ile hazırlanmış asit alkole batırıp çıkartıldı ve tekrar mavi renk alana kadar 20 dakika akar suda bekletildi, distile suda durulandı.

Demirli hematoksilen boyaması bittikten sonra Masson Trikrom boya solüsyonlarına geçildi. Bunun için, plazma boyaması için A solüsyonu, diferansiyasyon için B solüsyonu, fiber boyaması için C solüsyonu ve D solüsyonu hazırlandı. Kesitler A solüsyonunda 10 dakika bekletilerek, distile suda durulandı. A solüsyonu, 0,5 gr asit fuksin, 0,5 gr ksilidin ponceau, 99 ml distile su ve 1 ml glasiyal asetik asit içinde çözündürülerek hazırlandı. Sonra kesitler 1 gr fosfomolibdik asit ve 100 ml distile su kullanılarak hazırlanan B solüsyonu içerisinde 10 dakika bekletildi. Daha sonra 99 ml distile su içerisinde 1 ml asetik asit eklenerek hazırlanan D solüsyonu içerisinde birkaç kez çalkalandı. Hemen ardından C solüsyonunda 20 dakika bekletilip distile su ile çalkalandı. C solüsyonu 400 mg Light green boyası, 0,2 ml glasiyal asetik asit ve 100 ml distile su içinde çözündürülerek hazırlandı. Bu işlemlerden sonra sırasıyla %50'lik ve %70'lik etil alkollerinde 2'şer dakika, %96'lık ve %100'lük etil alkollerde ise 1'er dakika bekletildi. Toluende 1 saat tutularak, entellan ile kapatıldı. Böylelikle mikroskopta incelenmeye hazır hale getirildi.

3.5.2. Bielschowsky Gümüşleme Boyaması

Telositlerin gümüş tuzları ile etkileşime girdiğini bildiren yayınlar vardır (83). Sunulan çalışmada da bu özellikten faydalanılarak telositlerin gösterimi hedeflendi.

Bielschowsky gümüşleme metodu için %10'luk gümüş nitrat stok solüsyonu, %1'lik amonyum hidroksit solüsyonu, developer stok solüsyonu, developer çalışan solüsyonu ve %5'lik sodyum tiyosülfat solüsyonu hazırlandı. Tüm solüsyonlar taze hazırlanmakla birlikte developer çalışan solüsyonu kullanmazdan hemen önce hazırlandı.

Deparafinizasyon işleminden sonra kesitler sırasıyla %100'lük, %90'lık, %70'lik, %50'lik alkollerde 3'er dakika bekletildi ve 3 değişim distile suda çalkalandı böylece kesitler rehidrate edildi. Daha sonra kesitler önceden 40°C'ye ısıtılmış %10'luk gümüş nitrat solüsyonu içerisine konularak 15 dakika kesitlerde açık kahverengi renk oluşana kadar inkübe edildi. % 10'luk gümüş nitrat solüsyonu 5 gr gümüş nitratin 50 ml distile suda çözündürülmesiyle hazırlandı. Ardından 3 değişim distile suda çalkalandı. Kesitler distile suda beklerken aynı gümüş nitrat solüsyonu içerisine 1 ml konsantre amonyum hidroksit ve 100 ml distile su ile hazırlanan %1'lik amonyum hidroksit solüsyonu damla damla eklendi. %1'lik amonyum hidroksit solüsyonu gümüş nitrat solüsyonu içine, ilk damlalarda oluşan bulanıklık azalıp solüsyon açık kahverengi renk alana dek damlatıldı. Kesitler bu yeni oluşturulan amonyum gümüş solüsyonu içerisine yerleştirilerek 40°C'lik etüvde 30 dakika koyu kahverengiye alana kadar bekletildi. Daha sonra suda yıkanmadan direkt developer çalışan solüsyonuna konularak 60 saniye bekletildi. Developer çalışan solüsyonunu hazırlamak için öncelikle developer stok solüsyonu hazırlandı. Developer stok solüsyonu, 20 ml %40'lık formaldehit, 0,5 gr sitrik asit ve 2 damla konsantre nitrik asit, 100 ml distile su içinde karıştırılarak hazırlandı. Developer çalışan solüsyonu ise 8 damla developer stok solüsyonu ve 8 damla konsantre amonyum hidroksit, 50 ml distile su içinde karıştırılarak hazırlandı. Kesitler mikroskop altında takip edilerek boyamanın oluşup oluşmadığı tespit edildi. Boyanmanın gerçekleştiği görüldüğü anda kesitler hemen %1'lik amonyum hidroksit çözeltisi içinde 1 dakika daldırılarak gümüşleme reaksiyonunun durdurulması sağlandı. Ardından 3 değişim distile suda yıkandı. Son olarak 5 gr sodyum tiyosülfatın 100 ml distile su içinde çözündürülmesiyle oluşan %5'lik sodyum tiyosülfat solüsyonda 5 dakika bekletildi ve tekrar 3 değişim distile suda yıkandı. Sırasıyla %95'lik ve %100'lük etil alkolde 1'er dakika bekletilerek suyu giderildi. Toluende 1 saat bekletildi ve son olarak da entellan ile kapatılarak mikroskopta incelenmeye hazır hale geldi (124).

3.5.3. İmmünohistokimyasal İnceleme

İmmünohistokimya boyanması ile telositleri ve telositlerin uzantısı olan telopodların varlığının gösterilmesi amaçlanmıştır. İmmünohistokimya boyanması Universal İmmünohistokimya Kiti (abcam: ab236466) kullanılarak gerçekleştirildi. Primer antikor olarak CD34 (rabbit, monoclonal IgG, abcam: ab81289) antikorunu kullanıldı.

Kesitlerin parafini giderildikten sonra rehidrasyon için sırasıyla %100'lük, %90'lık, %70'lik etil alkolde 3'er dakika tutuldu, distile suda 5 dakika bekletildi. Rehidrasyondan sonra 3 değişim PBS (Fosfat Tamponlu Solüsyon) içerisinde 5'er dakika bekletildi. Daha sonra %10'luk sitratlı tampon çözeltisi ile 700 wattta 7 dk ve 400 wattta 7 dk olmak üzere 2 defa kaynatıldı ve aynı solüsyon içerisinde 15 dakika soğutuldu. 3 değişim PBS'de 5'er dakika yıkandı ve ardından kesitler Pap pen ile çerçevelendi. Kesitler üzerine %3'lük H₂O₂ (hidrojen peroksit) solüsyonu damlatılarak 10 dakika bekletildi ve 3 değişim PBS ile 5'er dakika yıkandı. Doku antikorlarının bloklanması için kesit üzerine protein blok solüsyonu damlatıldı ve 1 saat bekletildi. Kesitler 1/2500 oranında seyreltilmiş primer antikorla +4 °C'de 12 saat inkübe edildi. Primer antikorla inkübasyondan sonra 3 değişim PBS'de 5'er dakika yıkandı. Hemen ardından sekonder antikorla 15 dakika inkübe edilerek yine 3 değişim PBS'de 5'er dakika yıkandı. Daha sonra kahverengi renk görülene kadar DAB kromojen ile 90 saniye boyandı ve distile suda çalkalandı. Mayer's hematoksilen solüsyonu 75 saniye bekletilerek çekirdek boyaması yapıldı. DAB kromojen ve Mayer's hematoksileni boyamaları için mikroskop kullanılarak boyanmalar gözle takip edilmiştir. Çekirdek boyamasının ardından kesitler distile suda 5 dakika yıkandı. Sırasıyla %70'lik, %96'lık ve %100'lük etil alkollerde çalkalandı, toluende 1 saat bekletildi ve entellan ile kapatıldı.

Antikor için negatif ve pozitif kontrol boyaması da yapıldı. CD34 için pozitif kontrol olarak insan böbrek dokusu kullanılırken, negatif kontrol olarak primer antikor yerine PBS damlatılmış ovaryum kesitleri kullanıldı.

3.6. Elektron Mikroskopik İnceleme

Elektron mikroskobu için alınan sol ovaryumlar, dişçi mumu ile kaplı petri kaplarında glutaraldehit içinde jilet yardımıyla çevre dokulardan temizlenerek 1 mm³'ten küçük parçalara ayrıldı. Parçalanan ovaryumun sadece korteksinin alınmasına özen gösterildi. Daha sonra primer fiksatif olarak %5'lik glutaraldehit içine alınıp 4 saat fikse edildi. %5'lik glutaraldehit solüsyonu tampon solüsyonu ile hazırlandı. Tampon solüsyonu hazırlanırken 22,6 gr sodyum fosfat monobazik 1 lt distile su içerisinde tamamen çözündürüldü. Başka bir erlen içerisinde de 5,04 gr sodyum hidroksit 200 ml distile su içinde çözündürüldü. Sodyum fosfat monobazik solüsyonu ile sodyum hidroksit solüsyonu 5/1 oranında karıştırıldı. Daha sonra PH'ı 7.4'e ayarlanarak tampon

solüsyonunun hazırlanması tamamlandı. %5'lik gluteraldehit solüsyonu hazırlanırken ise 80 ml tampon solüsyonu üzerine ticari olarak satılan %25'lik gluteraldehitten 20 ml eklendi. Primer fiksasyonun ardından dokular 2 değişim tampon solüsyonu ile 10 dakika yıkandı. Hemen ardından sekonder fiksatif olarak %1'lik osmium tetroksit solüsyonunda 2 saat bekletilerek postfiksasyona tabi tutuldu. %1'lik osmium tetroksit solüsyonu hazırlamak için önce bir erlen içerisinde 0,54 gr glikoz 10 ml distile su içerisinde çözündürüldü. Dışı kahverengi cam bir şişe içerisine 90 ml tampon solüsyonu konuldu ve osmium tetroksit ampülü atılıp cam bir çubuk yardımıyla kırıldı. Ampül kırıldıktan sonra şişe içerisine 10 ml'de çözündürülmüş glikoz eklenerek postfiksasyon solüsyonu hazırlandı. Postfiksasyon sonrası dokular 2 değişim tampon solüsyonu ile 10 dakika yıkandı. Dokular dehidrasyon için artan sırada etil alkol serilerinde bekletildi. Bunun için %50'lik, %70'lik, %86'lık, %96'lık ve 2 değişim %100'lük etil alkolde 15'er dakika bekletildi. Bu aşamaya kadar yapılan işlemlerin tümü +4 °C'de yapılmıştır. Daha sonra dokular %100'lük etil alkolde oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Ardından 2 değişim propilen oksitte 15 dakika bekletilerek şeffaflaştırıldı. Şeffaflaştırma sonrasında dokularda rezin infüzyonuna geçildi. Doku takibinde kullanılan rezinin hazır hale getirilmesi için öncelikle rezin kiti (Sigma Epoxy Embedding Medium Kit: 45359-1EA-F) içinde bulunan kimyasallardan A ve B karışımları hazırlandı. A karışımı için 5 ml gömme medyum ve 8 ml sertleştirici DDSA (2-Dodecenylsuccinic anhydride) birbirlerine karıştırıldı; B karışımı için de 8 ml gömme medyum ve 7 ml sertleştirici MNA (Methylnadic anhydride) birbirine karıştırıldı. Daha sonra bu A ve B karışımı bir beher içinde birbirine karıştırılarak üzerine 2 damla hızlandırıcı DPM-30 [2,4,6-Tris (dimethylaminomethyl) phenol] damlatıldı ve 1 saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldı, bu haliyle rezin kullanıma hazır hale geldi. Dokular önce 2/3 propilen oksit + 1/3 rezin karışımında 30 dakika bırakıldı; sonrasında 1/2 propilen oksit + 1/2 rezin karışımında 30 dakika daha bekletildi. Bu aşamalardan sonra doku parçaları saf rezin içinde 1 gece rotatorda döndürüldü. Ertesi gün dokular plastik polietilen kapsüllere konuldu ve kapsüller taze hazırlanan rezin ile dolduruldu. Kapsüller 60°C'lik etüvde 48 saat bekletilerek rezinin polimerize olması sağlandı. Resin polimerizasyondan sonra soğumaya bırakıldı. Hazırlanan bloklardan Reichert Ultracut S (Leica, Almanya) ultramikrotomu yardımıyla yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı ve belirlenen alanlardan 50 nm'lik kesitler alındı. Kesitler bakır gridlere toplanarak, %70'lik alkolde doymuş uranil asetat ve kurşun sitrat solüsyonları ile kontrastları artırıldı.

3.7. Kesitlerin Değerlendirilmesi

Işık mikroskopi kesitleri boyandıktan sonra Leica DM 750 mikroskopla incelendi. Görüntüler 11 mm diyagonal CCD sensör büyüklüğü olan ve 0,55 büyütme C-mount kamera adaptörü ile mikroskoba monte edilmiş Olympus DP26 kamera ile kaydedildi.

Mikroskoplarda büyütme hesaplanırken teorik olarak büyütme, “objektif büyütmesi x oküler büyütmesi” şeklinde hesaplanır. Ancak, CCD sensörler taşıyan dijital kameraların ve bunlara eşlik eden bilgisayar sistemlerinin kullanımı ile birlikte çekilen resimlerin büyütme değerlerinin hesaplanmasında farklı kriterler ortaya çıkmıştır. Sunulan tezde basılan resimlerin büyütme hesaplanmasında Olympus dijital kameralar için kullanılan C-mount kamera adaptörünün kullanma kılavuzunda, monitör görüntüsü için verilen formül kullanılmıştır; buna göre monitördeki resmin büyüklüğü,

$$\text{Monitör Büyütmesi} = \text{Objektif büyütmesi} \times \text{C-mount adaptör büyütmesi} \times \frac{\text{Monitör diyagonal uzunluğu}}{\text{CCD diagonal uzunluğu}}$$

şeklinde hesaplanmaktadır.

Bulgularda sunulan ışık mikroskobu resimlerin tamamı 12x15 cm boyuta ayarlanmış olup büyütme yukarıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Buna göre, örneğin, 40x objektifle çekilmiş, 12x15 cm ebadındaki bir fotoğrafın diagonal uzunluğu 19 cm yani 190 mm’dir. Bu değerler yukarıdaki formüle uyarlandığında,

$$\text{Basılı Resmin Büyütmesi} = 40 \times 0,55 \times \frac{190}{11} = 380$$

olarak bulunmuştur.

Elektron mikroskopi kesitleri JEOL-JEM 1400 (Japonya) geçirimli elektron mikroskobu ile incelendi ve görüntülendi.

4. BULGULAR

4.1. Genel Morfolojik Bulgular

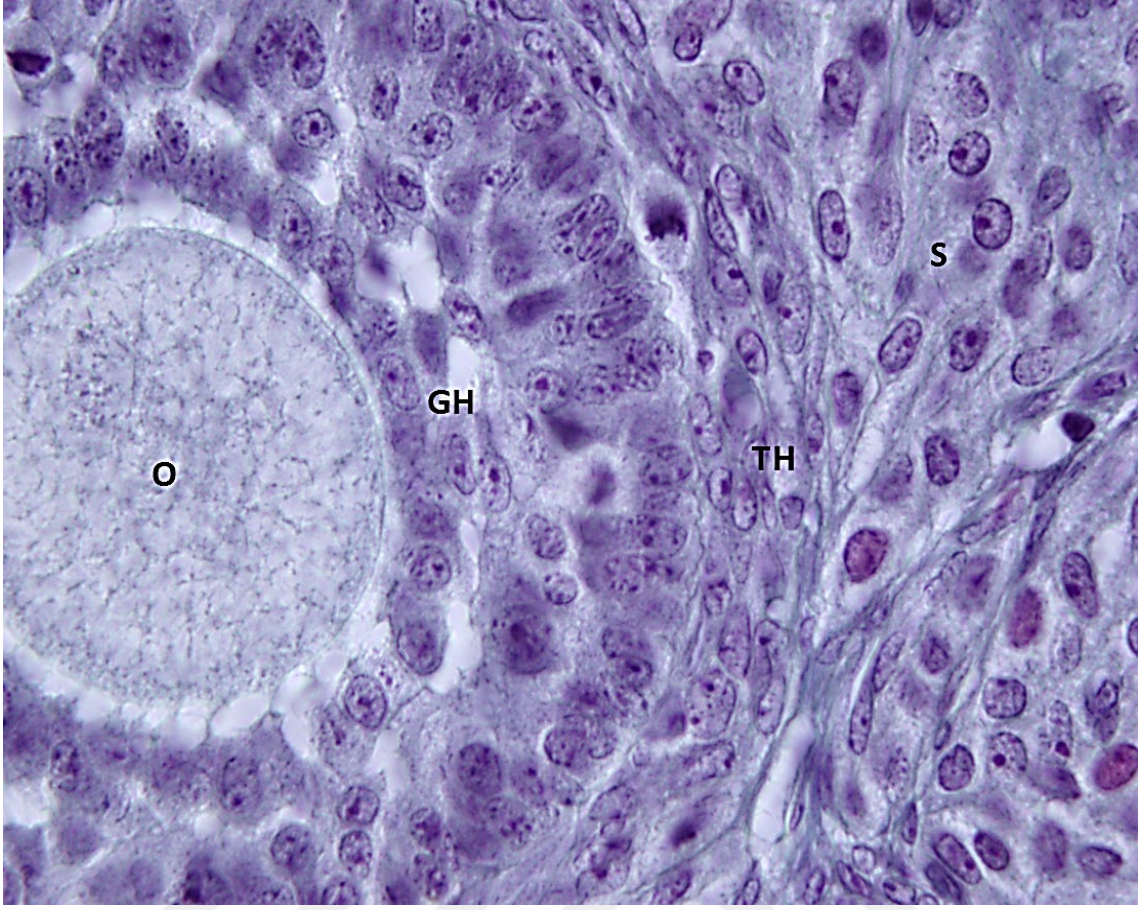
Genç yetişkin grubunda östrus evresinde primordiyal, primer, sekonder folikül ve olgun foliküllere rastlandı. Metöstrus grubunda ise primordiyal, primer ve sekonder foliküller daha çok görülürken, olgun foliküle rastlanmadı (Resim 25).

Menopoz grubunda primordiyal, primer, sekonder ve olgun foliküllere rastlanmadı. Menopoz grubunda genç yetişkin gruba kıyasla daha fazla sayıda korpus luteum olduğu gözlemlendi (Resim 27). Ovaryum dokularında bol damarlanma görüldü (Resim 28).

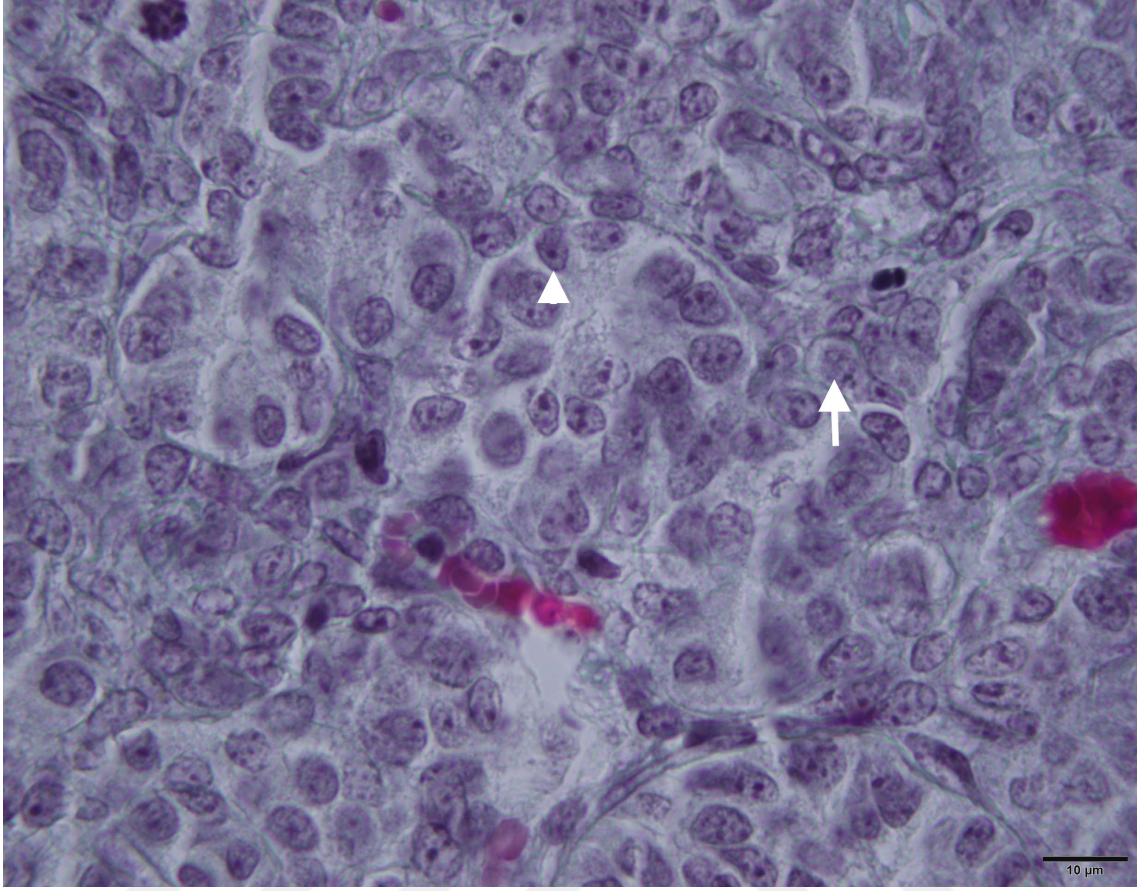
4.2. Işık Mikroskopik Bulgular

4.2.1. Masson Trikrom Boyaması Bulguları

Genç yetişkin grubu ve menopoz grubu ovaryumları Masson Trikrom tekniğiyle boyanmıştır. Masson Trikrom boyamasında telositler tespit edilememiştir. Folikül çevresinde teka hücreleri çevresinde kollajen lifler boyanmış olup folikül etrafını çevrelediği görülmüştür (Resim 20). Masson Trikrom boyasıyla korpus luteum da boyanmıştır (Resim 21)



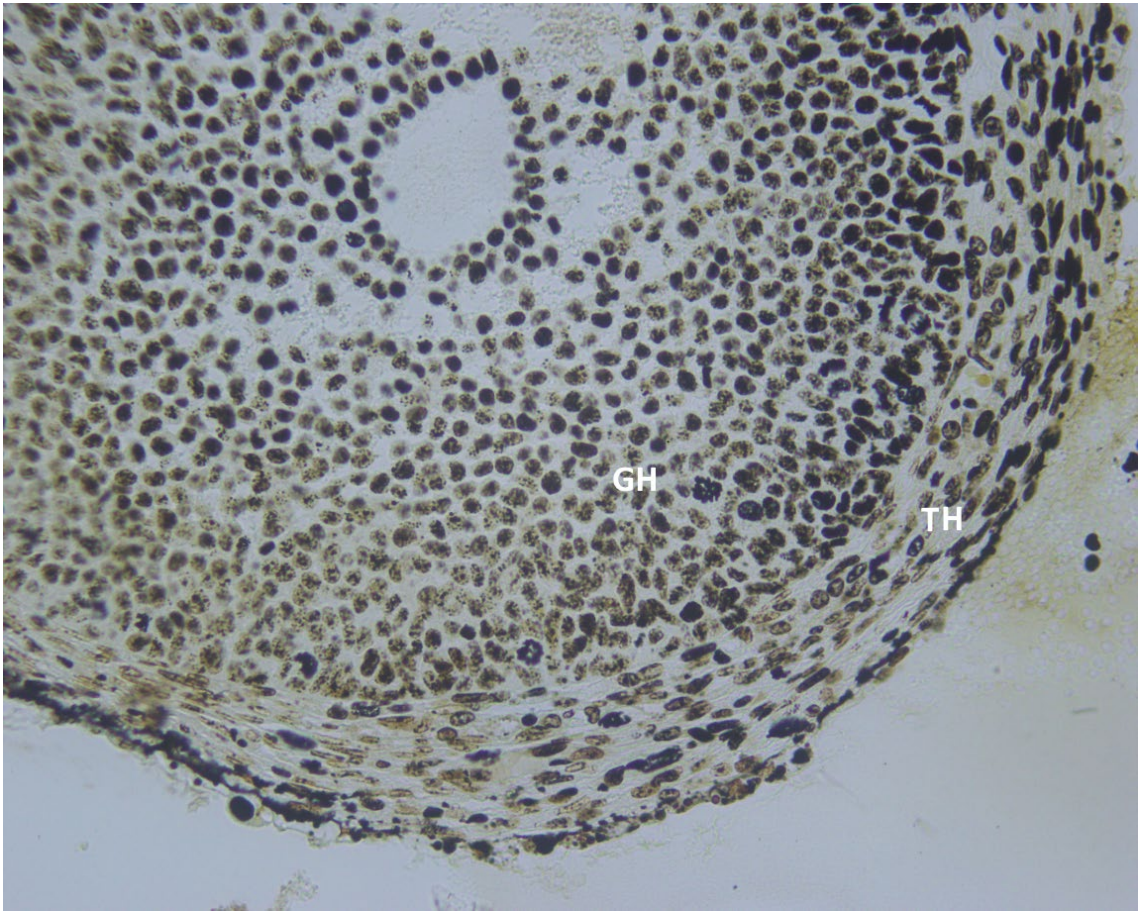
Resim 20: Masson Trikrom ile boyanmış genç yetişkin grubu ovaryumdan alınmış fotoğraf (950 büyütme). Primer folikül içinde primer oosit (O) ve primer oosit çevresini saran granüloza hücreleri (GH) ile teka hücre tabakası (TH) görülmektedir. Kollajen lifler düzgün bir şekilde stromada (S) yayılmıştır



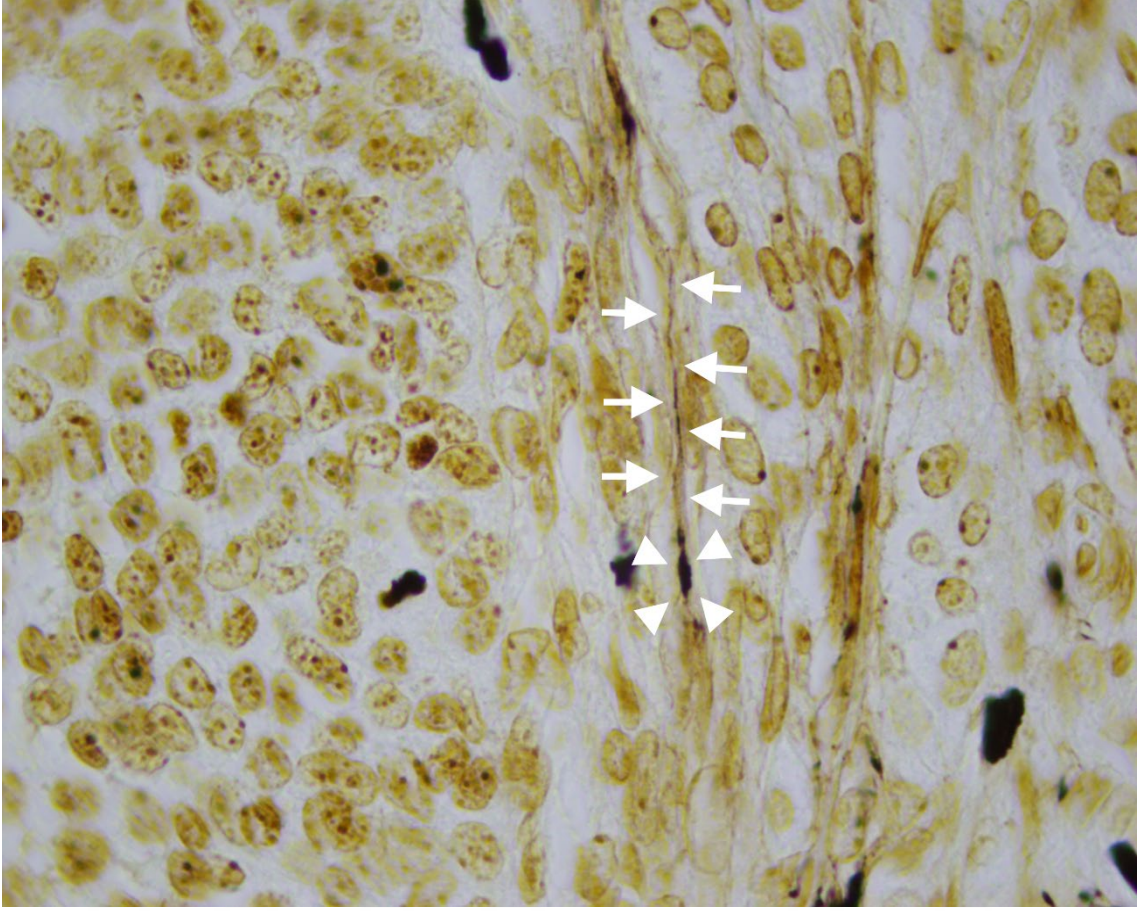
Resim 21: Masson Trikrom ile boyanmış menopoz grubu ovaryumunda korpus luteum fotoğrafı (950 büyütme). Korpus luteumdan alınmış fotoğrafta, endokrin salgı yapan granüloza lutein (ok) ve teka lutein hücrelerinin oluşturdukları (ok başı) hücre kümeleri görülmektedir.

4.2.2. Bielschowsky Gümüşleme Boyaması Bulguları

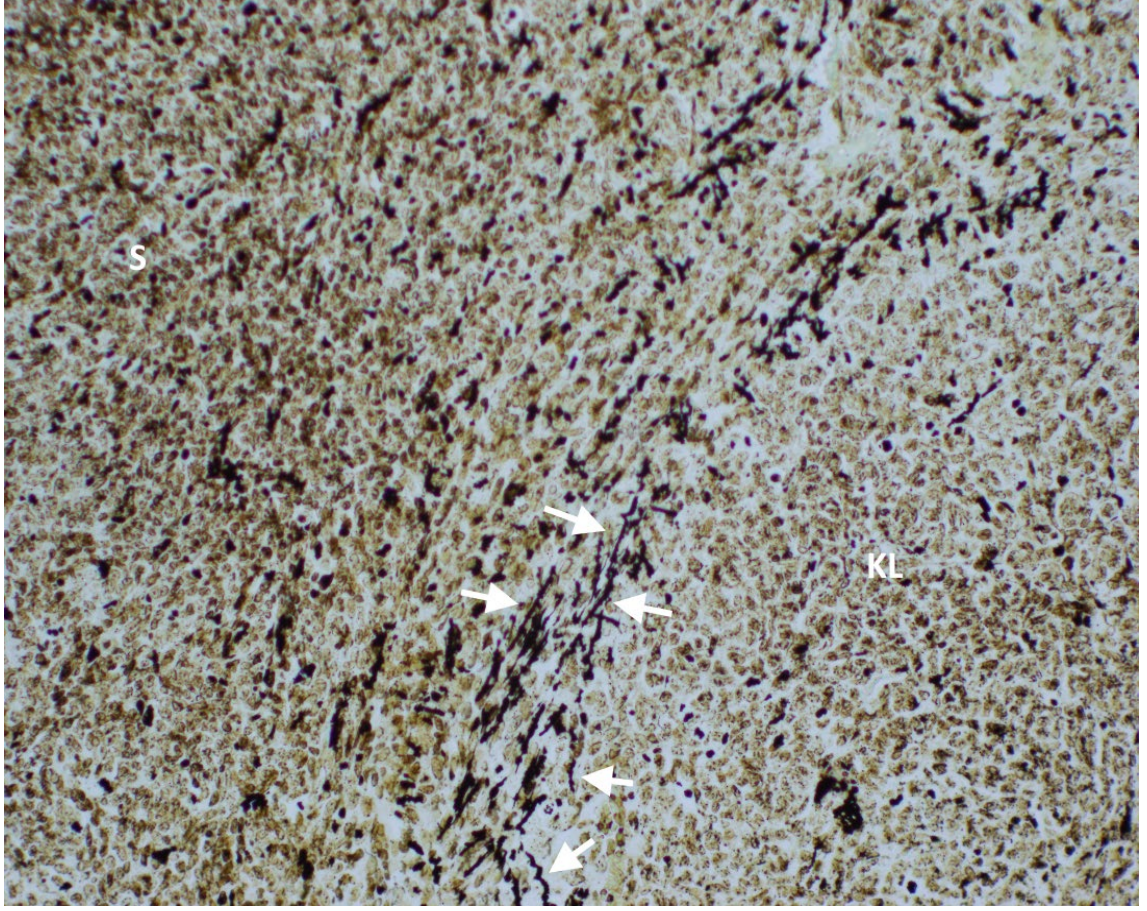
Genç yetişkin ve menopoz gruplarında ovaryum dokularında gümüşleme boyaması ile stromada retiküler liflerin boyandığı gözlenirken, gerek granüloza hücreleri arasında gerekse teka hücreleri arasında telosit benzeri hücelere rastlanmadı. (Resim 22-24). Ancak genç yetişkin grubunda tek bir alanda telosit olduğunu düşündüğümüz tek bir adet hücreye rastlandı (Resim 23).



Resim 22: Bielschowsky gümüşleme tekniği ile boyanmış genç yetişkin metöstrus grubu ovaryumunda sekonder folikül duvarından çekilmiş fotoğraf (380 büyütme). Granüloza hücreleri (GH) ve teka hücreleri (TH) arasında telosit benzeri hücelere rastlanmamıştır.



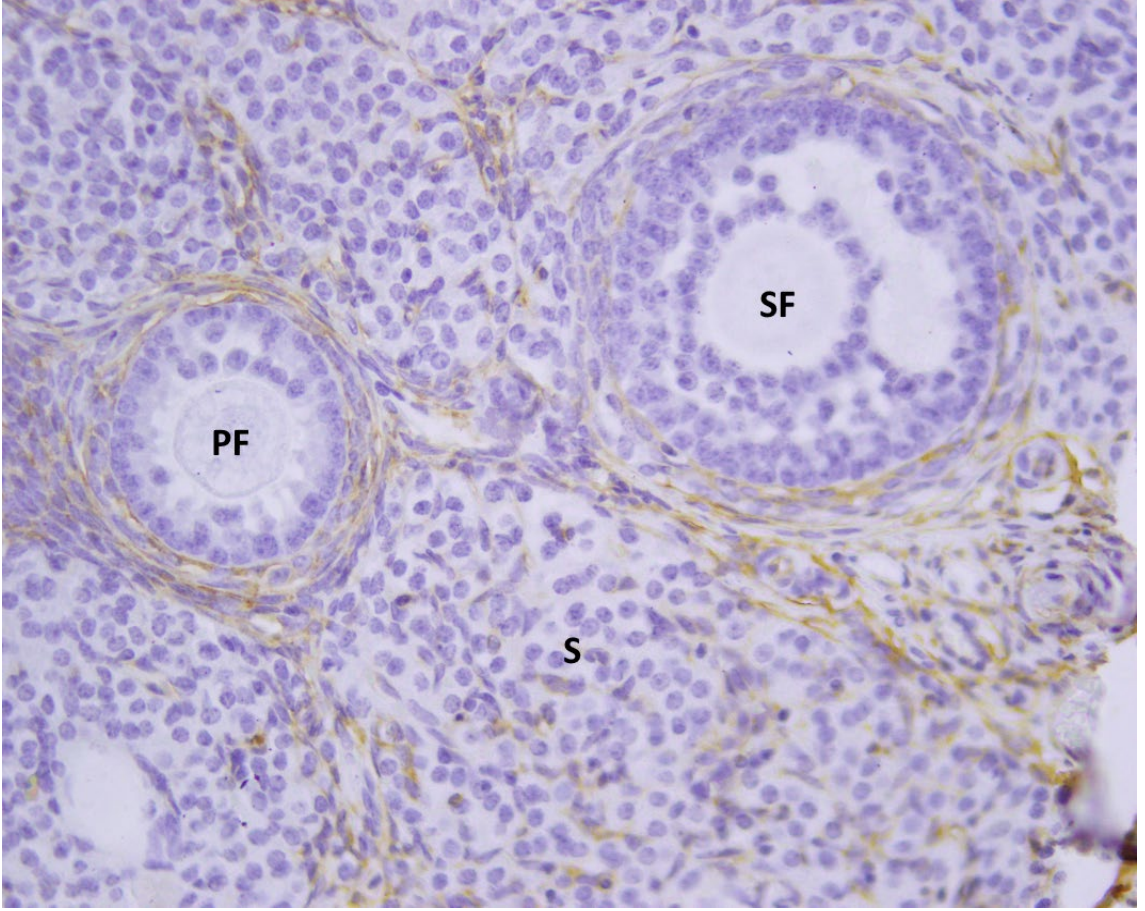
Resim 23: Bielschowsky gümüşleme tekniği ile boyanmış genç yetişkin metöstrus grubu ovaryumunda telosit benzeri bir hücre (oklar), ve muhtemel hücre çekirdeği (okbaşı) (950 büyütme). Yüzlerce alan taramasına rağmen yalnızca bu tek hücreye rastlanabilmektedir.



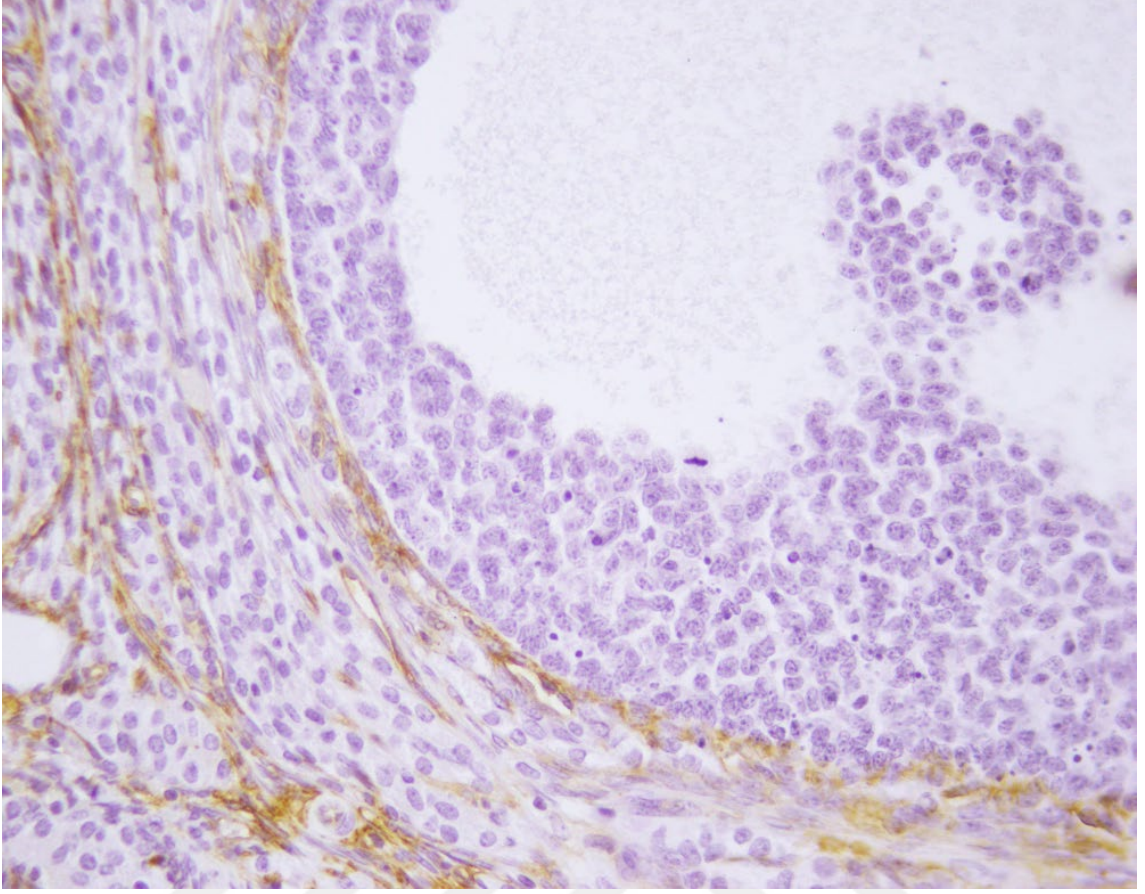
Resim 24: Bielschowsky gümüşleme tekniği ile boyanmış menopoz grubu ovaryum stroması (S) ve korpus luteum (KL) görülmektedir (190 büyütme). Korpus luteumun periferinde retiküler lifler (oklar) siyah renkte ayırt edilmektedir. Gerek stromada gerek korpus luteum içerisinde telosit benzeri hücrelere rastlanmamıştır.

4.2.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

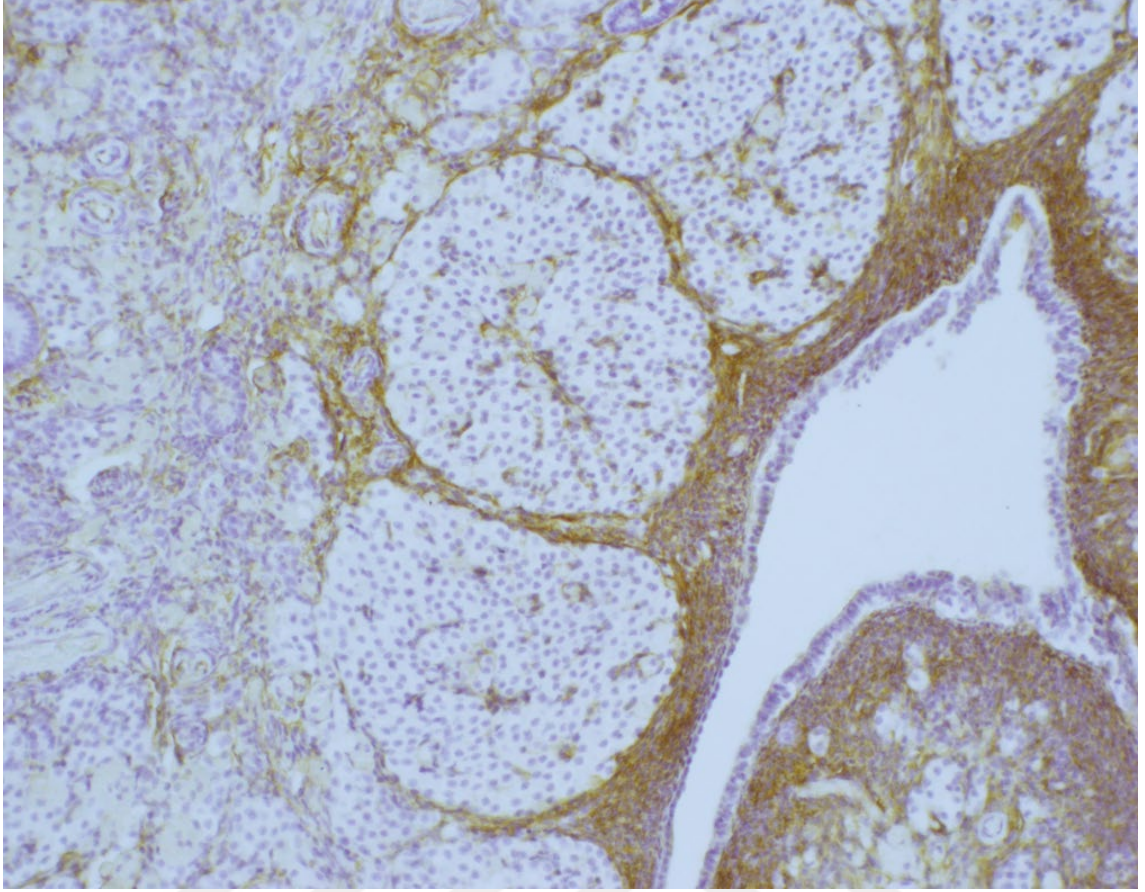
Ovaryum dokusunda CD34 antikorunun boyandığı görüldü. Ovaryumda primer, sekonder ve olgun folikül çevresinde teka interna ve teka eksterna yapılarında (Resim 25-26), korpus luteum (Resim 27) ve damar etrafında (Resim 28) boyanmanın gerçekleştiği tespit edildi. Menopoz grubu ovaryum stromasının da CD34 ile boyandığı görüldü (Resim 28).



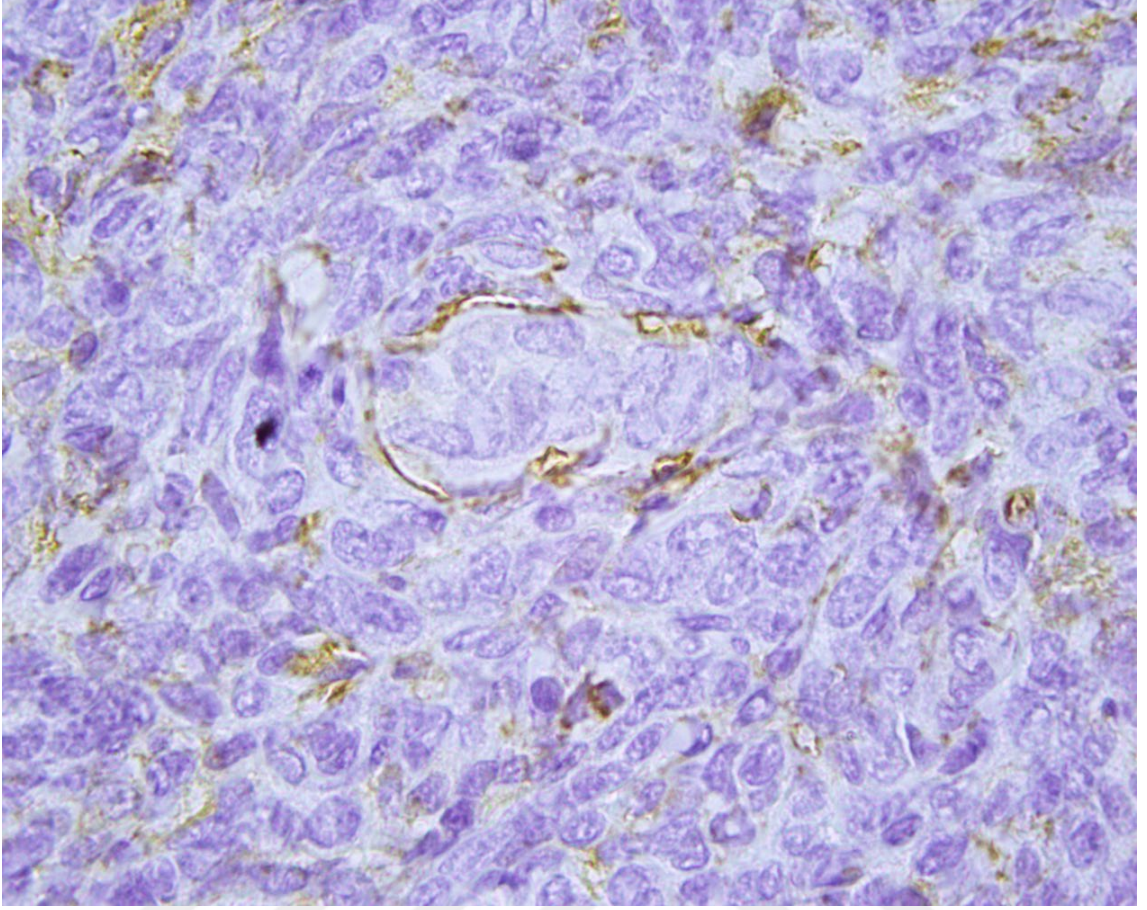
Resim 25: Genç yetişkin metöstrus grubu ovaryumunda primer (PF) ve sekonder (SF) foliküller çevresinde ve stromada CD34 boyanması görüldü (380 büyütme). Ancak bu boyanmalar içerisinde, telositlerin sitoplazmik uzantılarının karakteristik kıvrıntılı seyirlerine benzeyen formlar gözlenmedi.



Resim 26: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumunda olgun folikül çevresinde CD34 boyaması (380 büyütme). Buradaki boyanmalar içerisinde de, telositlerin sitoplazmik uzantılarının karakteristik kıvrıntılı seyirlerine benzeyen formlar gözlenmemiştir.



Resim 27: Menopoz grubu ovaryumu korpus luteum etrafında CD34 boyanması (190 büyütme).

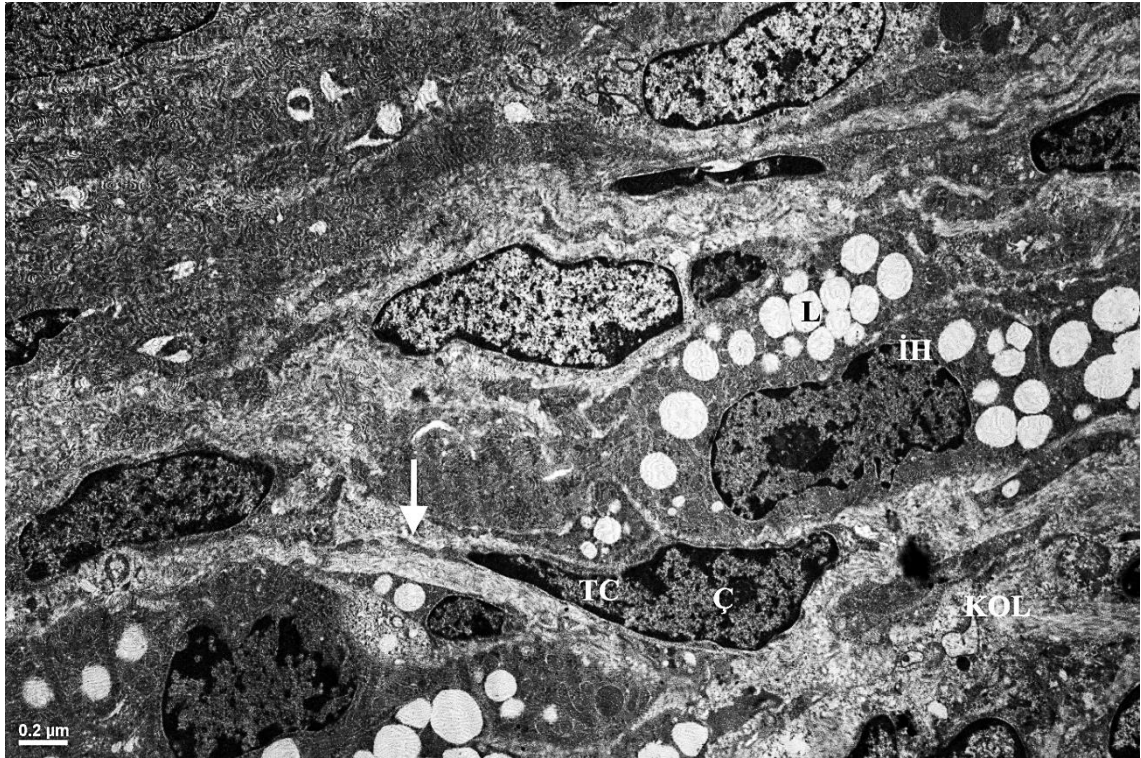


Resim 28: Menopoz grubu ovaryumu korpus luteum içerisinde CD34 boyaması (950 büyütme). Korpus luteum içinde de boyanan alanların yine damarlar çevresi olduğu gözlenmektedir. Bu boyanan alanlarda da yine telositlerin karakteristik kıvrıntılı seyreden sitoplazmik uzantıları gözlenmemektedir.

4.3. Elektron Mikroskopik Bulgular

4.3.1. Genç Yetişkin Metöstrus Grubu

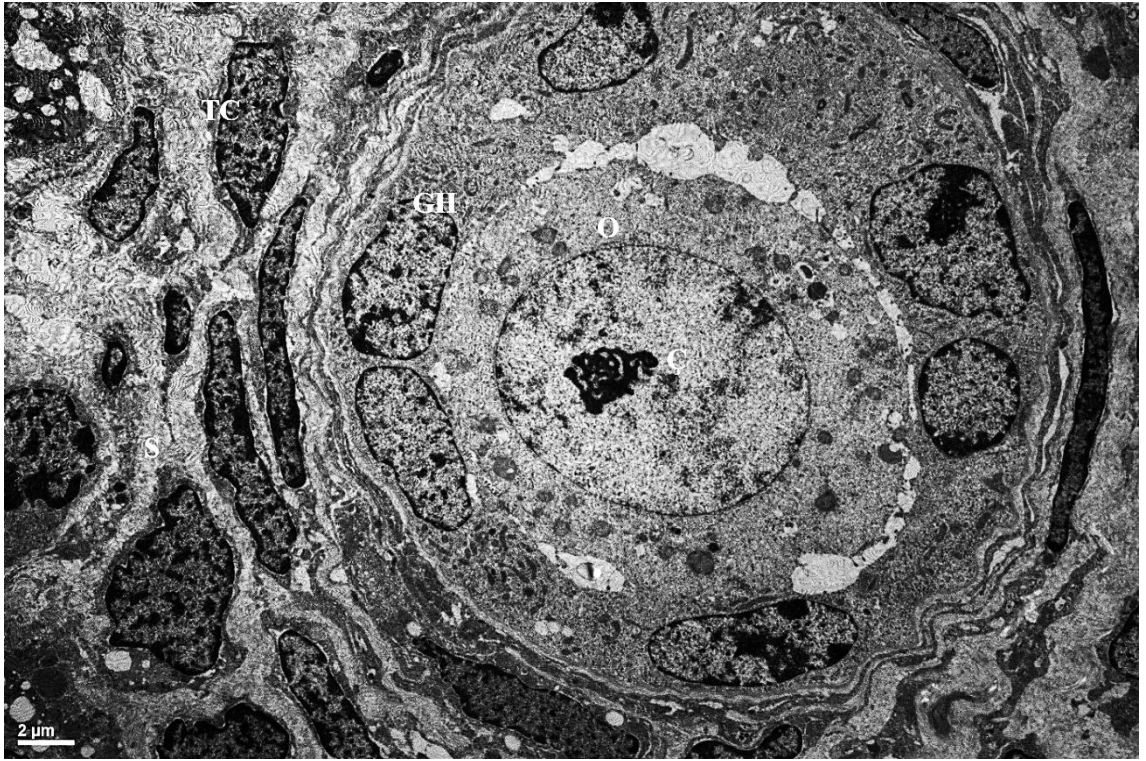
Stroma içerisinde farklı yönlere seyreden kollajen liflerin, interstisyel hücrelerin ve bu hücrelerin aralarında telosit benzeri hücrelerin varlığı da görüldü. İnterstisyel hücreler sitoplazmaları içerisinde yer alan lipit damlacıkları, düz endoplazmik retikulum sisternaları ve tubuler yapıda krista içeren mitokondriyonları ile ayırt edilmekteydi. İnterstisyel hücelere yakın yerleşimde izlenen telosit benzeri hücrelerin oval veya üçgen şeklinde çekirdeğe, ince bir sitoplazmaya sahip olduğu dikkati çekti. Çekirdek içerisinde periferal yerleşmiş heterokromatin, çekirdek boyunca yaygın ökromatin ve belirgin çekirdekçik yapıları bulunmaktaydı. Telosit benzeri hücrelerin ince sitoplazmik uzantılarına sahip olduğu ve bu uzantıların diğer telosit benzeri hücrelerin sitoplazmik uzantıları ile yakın yerleşimde olduğu görüldü (Resim 29).



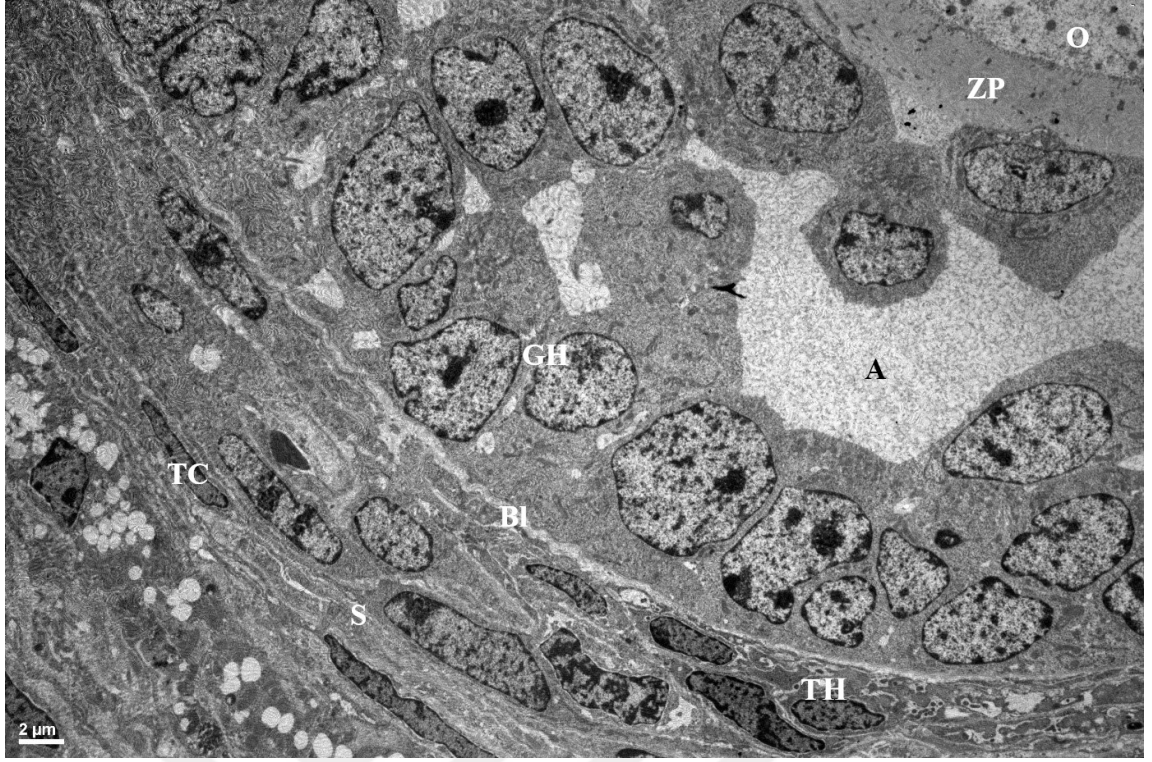
Resim 29: Genç yetişkin metöstrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü. Stroma içerisinde farklı yönlere seyreden kollajen lifler (KOL), interstisyel hücreler (İH) ve bu hücrelerin aralarında telosit benzeri hücreler (TC) görülmekte. İnterstisyel hücelere yakın yerleşimde izlenen telosit benzeri hücrelerin üçgen şeklindeki çekirdeği (Ç) ve ince sitoplazmik uzantıları (ok) izlenmekte. Lipit damlacıkları (L). Bar=0,2 µm.

4.3.2. Genç Yetişkin Östrus Grubu

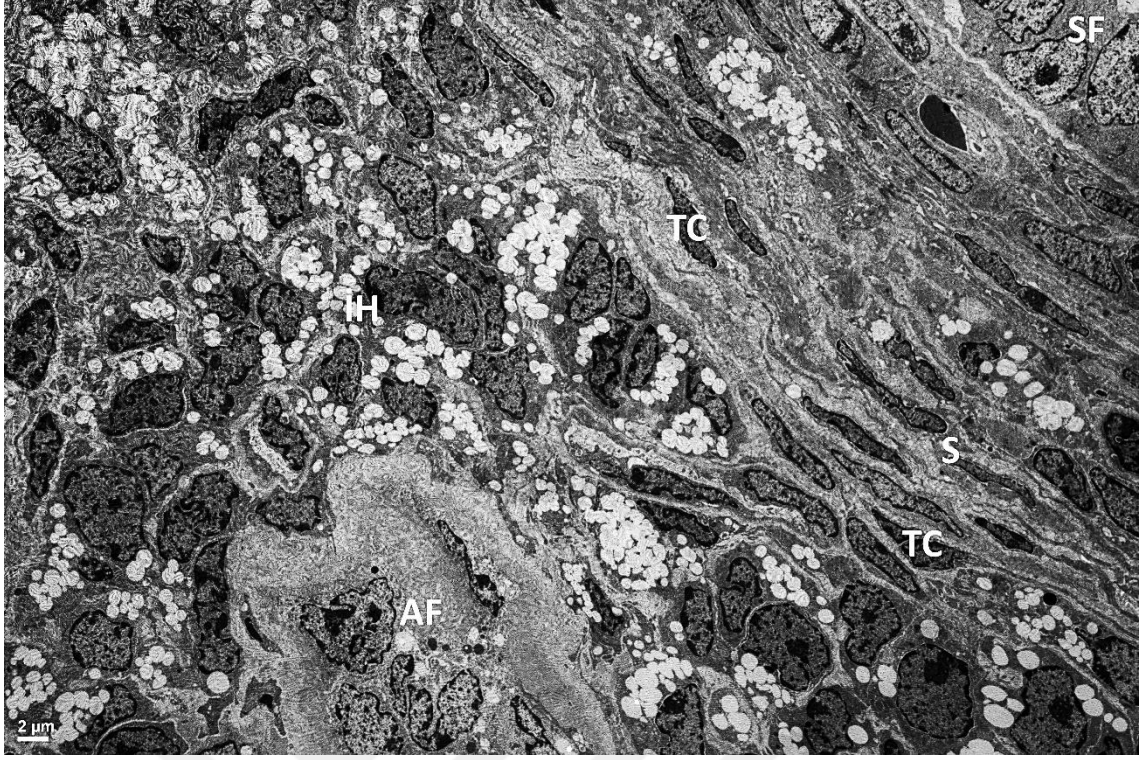
Over korteksinde stroma içerisinde farklı gelişim aşamalarında over folikülleri bulunmaktaydı. Gerek foliküler gelişimin erken aşamasındaki primer folikülleri, gerekse gelişimin ileri aşamasındaki sekonder folikülleri saran stroma içerisinde oval çekirdekleri ve ince uzun kıvrıntılı sitoplazmik uzantıları ile karakterize edilen telosit benzeri hücrelerin varlığı da görüldü (Resim 30-32). Gelişimin ileri aşamasındayken atrezi gelişen foliküllerin yakınında yer alan stroma içerisinde de telosit benzeri hücrelerin varlığı dikkati çekti (Resim 33).



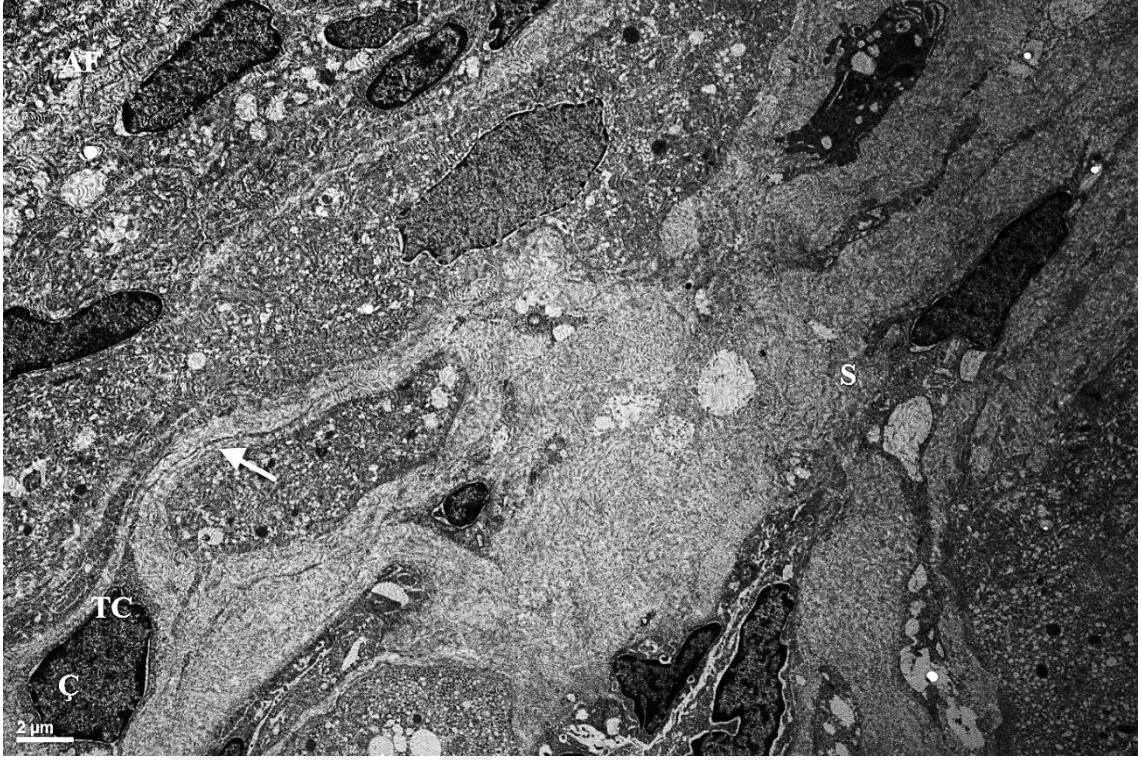
Resim 30: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü. Primer folikülün merkezinde oosit (O), oositin çekirdeği (Ç), oositi çevreleyen kübik şekilli granüloza hücreleri ve folikülün dışında yer alan stroma (S) izlenmekte. Stroma içerisinde telosit benzeri hücrenin (TC) varlığı görülmekte. Bar=2 µm.



Resim 31: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü. Sekonder folikülün oositi (O) ile granüloza hücreleri (GH) arasında zona pellusida (ZP) izlenmekte. Zona pellusidanın dışında tek katlı kübik şekilli granüloza hücreleri (GH) ve granüloza hücreleri arasında antral boşlukların (A) varlığı görülmekte. Granüloza hücre tabakası bazal lamina (Bl) ile teka tabakasından (TH) ayrılmakta. Teka tabakasına yakın stroma (S) içerisinde fuziform yapıda çekirdeği ve ince uzun sitoplazmik uzantıları ile ayırt edilen telosit benzeri hücrelerin (TC) varlığı görülmekte. Bar=2 μ m.



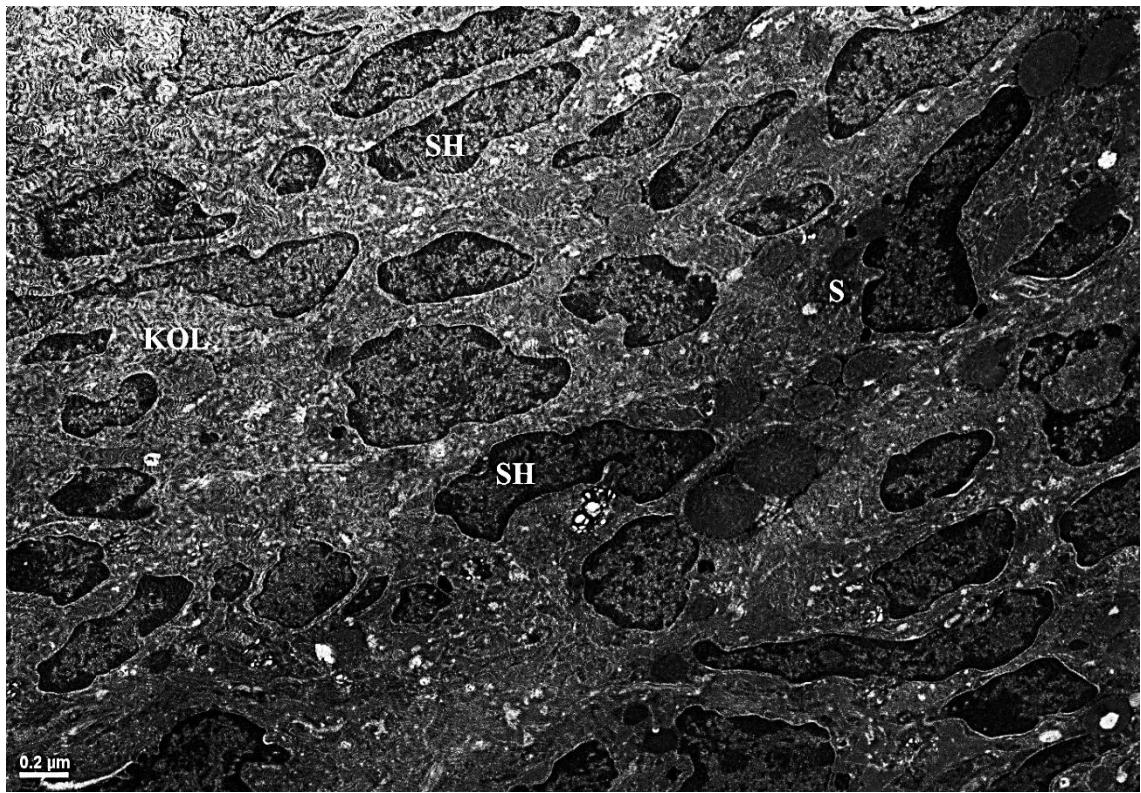
Resim 32: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü. Atretik bir folikül (AF), sekonder folikül (SF), stroma (S), interstisyel hücreler (İH), stroma içerisinde telosit benzeri hücreler (TC) izlenmekte. Bar=2 µm.



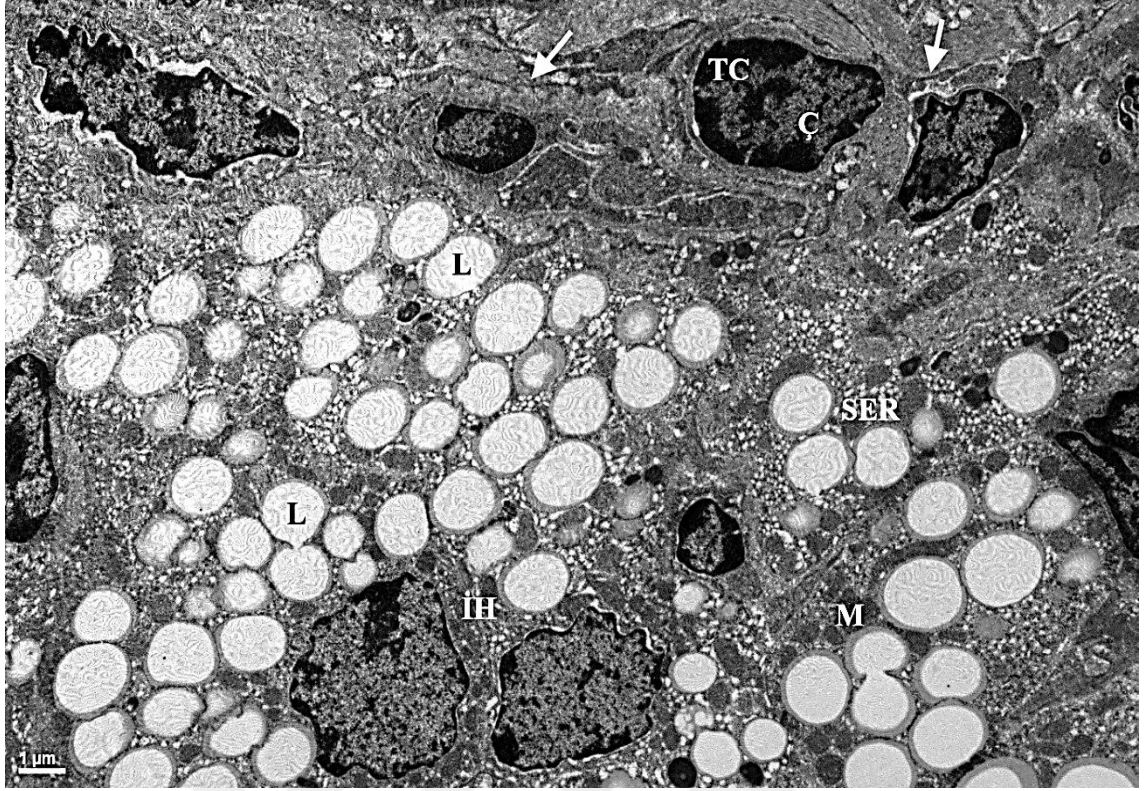
Resim 33: Genç yetişkin östrus grubu ovaryumu TEM görüntüsü. Gelişimin ileri aşamasındayken atrezi gelişen folikülün (AF) yakınında yer alan stroma (S) içerisinde üçgen şekilli çekirdeği (Ç), ince sitoplazması ve ince uzun sitoplazmik uzantıları (ok) ile karakterize telosit benzeri hücreler (TC) görülmekte. Bar=2 µm.

4.3.3. Menopoz Grubu

Korteks içerisinde folikül yapılarının bulunmadığı ve korteksin stromal hücreler, interstisyel hücreler, kollajen lifler ve kan damarları içerdiği görüldü (Resim 34). Over stroması içerisindeki interstisyel hücreler sitoplazmaları içerisinde lipit damlacıkları, agranüler endoplazmik retikulum sisternaları ve tübüler tipte kristallara sahip mitokondriyonları içermektedir. İnterstisyel hücrelerin arasında fusiform veya üçgen şekilli bir çekirdek, az miktarda sitoplazma ve ince uzun sitoplazmik uzantılarına sahip telosit benzeri hücrelerin varlığı da dikkati çekti (Resim 35).



Resim 34: Menopoz grubu ovaryumu TEM görüntüsü. Korteks içerisinde folikül yapılarının bulunmadığı görülmekte. Stroma (S) içerisinde stromal hücreler (SH) ve kollajen lifler (KOL) görülmekte. Bar=0,2 μm.



Resim 35: Menopoz grubu ovaryumu TEM görüntüsü. Over stroması içerisindeki interstisyel hücrelerin (İH) sitoplazmaları içerisinde lipit damlacıkları (L), agranüler endoplazmik retikulum sisternaları (SER) ve tübüler tipte kristalara sahip mitokondriyonları (M) izlenmekte. İnterstisyel hücrelerin arasında fusiform veya üçgen şekilli bir çekirdek (Ç), az miktarda sitoplazma ve ince uzun sitoplazmik uzantılarına (ok) sahip telosit benzeri hücreler (TC) görülmekte. Bar=1 µm.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnterstisyel/stromal hücre olarak tanımlanan telosit hücresi az miktarda sitoplazma ve bir çekirdek içeren hücre gövdesi ile telopod adı verilen ince uzun uzantılara sahiptir (1,59). Telositlerin organizmada pek çok fonksiyonda rol aldığı düşünülmektedir.

Popescu ve arkadaşlarının kalbin subepikardiyum tabakasında yaptığı çalışmada kardiyak kök hücre nişinde bulunan en az 10 hücre arasında telositlerin de bulunduğu ve diğer bağ dokusu hücreleriyle birlikte interstisyel ağlar oluşturduğu ifade edilmiştir (106). Sanda M. Cretoiu ve arkadaşlarının miyometriyum üzerine yaptığı bir çalışmada (77) ve Jian Yang ve arkadaşlarının tuba uterinada yaptığı bir çalışmada (125) telopodların yaptığı homoselüler ve heteroselüler bağlantılarla interstisyel alanda 3 boyutlu ağlar oluşturdukları ve bu sayede telositlerin doku mimarisine katkıda bulundukları, dokuya meknik destek sağladıkları, doku homeostazisine yardımcı oldukları, hücrelerarası sinyalleşmede rol aldıkları söylenmiştir. Yongchao Mou ve arkadaşları tarafından meme bezinde yapılan bir çalışmada da, stromanın doğru düzenlenmesinde, yerel mikroçevrenin korunmasında ve tümör oluşumunun tetiklenmesinde telositlerin rolleri olduğu ifade edilmiştir (90).

Telositler, bağ dokusunda yaygın olarak dağılmış ve farklı canlı türlerinin kaviteli ve kavitesiz çeşitli organlarında tanımlanmıştır (1, 4, 58). Dişi üreme sistemi üzerine yapılan çalışmalarda, vajina, uterus, tuba uterina, plasenta ve meme bezlerinde telositlerin varlığı tespit edilmiştir (4). Pubmed'de ovaryum dokusunda telositlerin varlığı çalışılmış sadece iki yayın mevcuttur (87-88).

Liu Te ve arkadaşlarının fare ovaryumu üzerine yaptığı bir çalışmada deney grubuna yüksek dozda siklofosfamid enjekte edilerek prematür ovaryan yetmezlik (Premature Ovarian Failure-POF) modeli oluşturulmuştur. Bu çalışmada kontrol grubunda telositler gözlemlenirken, siklofosfamidle indüklenmiş POF grubunda telositlere rastlanmamıştır. Bu sonuç ışığında ovaryan telositlerin siklofosfamidden etkilendiği ifade edilmiştir. Telositlerin, siklofosfamidle indüklenen POF için potansiyel bir belirteç olarak kullanılabileceği ve telositlerin ovaryum mikroçevresinin korunmasında önemli bir fonksiyona sahip olabileceği belirtilmiştir (87).

Mahmoud Abd-Elkareem ve arkadaşları, tavşan ovaryumunda progesteron reseptör A (PRA) protein ekspresyonunun dağılımını incelemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Ovaryumda, yüzey epitel hücrelerinde, stromal hücrelerde, granüloza hücrelerinde, teka internada, teka eksternada, korpus hemorajikum ve korpus luteumda PRA eksprese edildiği gözlemlenmiştir. Bunlarla birlikte, PRA'nın telositlerin bir belirteci olmasının da yardımıyla, tavşan ovaryumunda telositleri de gördüklerini ifade etmişlerdir (88).

Sunulan çalışmada Masson trikrom tekniğiyle menopoza öncesi ve sonrası ovaryum dokuları boyanmıştır. Ancak ilgili resimler incelendiğinde, telositler ve telosit benzeri hücreleri göstermek için Masson trikrom boyama tekniğinin uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Yayınlanan makalelerde de esasen ışık mikroskopisi için kullanılan klasik boyamalar telositlerin gösterilmesi için tercih edilmemiştir.

Sanda Maria Cretoiu ve arkadaşlarının uterus ve tuba uterinada telositle ilgili olarak yaptığı bir çalışmada, telositlerin gümüş tuzları ile etkileşime girdiği ve gümüşleme yöntemi ile gösterilebileceği ifade edilmiştir (83). Sunulan çalışmada hazırlanan gümüşleme preparatlarında telositlere benzediği düşünülen oluşumlar genç yetişkin dönemi ovaryumlarında gözlemlendi, ancak bu telosit benzeri oluşumların net ve objektif olarak telosit oldukları kanaati uyanmadı; zira dokunun tamamı göz önüne alındığında her alanda aynı tarz boyanan yapılar veya hücreler mevcut değildi.

Dragos Cretoiu ve arkadaşlarının uterus üzerine yaptığı çalışmada (112) ve Sanda Maria Cretoiu ve arkadaşlarının tuba uterinada yaptığı çalışmada (111) telositlerin östrojen ve progesteron reseptörlerini eksprese ettiği bildirilmiştir. Laura Suciu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada c-kit ve CD34 antikorları çalışılmış ve c-kit ile boyanmış telosit morfolojisine sahip, plasentadaki hücrelerin sadece % 70'inin CD34 protein ekspresyonu gösterdiği bildirilmiştir (85). Liu Te ve arkadaşlarının fare ovaryumu üzerine yaptığı çalışmada telositlerin CD34, PDGFR- α/β ve vimentin eksprese ettiği gösterilmiştir (87). Yapılan immünohistolojik çalışmalarda telositlerin farklı organlarda farklı belirteçleri hatta aynı organın farklı dokularında bile farklı belirteçleri eksprese ettiği söylenmektedir (58). Tüm organizma düşünüldüğünde telositlere özgü net bir belirteç henüz tespit edilememiştir; ancak en çok kullanılan belirteç CD34'tür (98). Yapılan çalışmalarda telositler için en uygun belirteçlerin CD34, c-kit, vimentin ve PDGFR- α antikorlarının olduğu, bu antikorların da herhangi ikisinin çift etiketlemeyle

boyanmasının telositleri daha iyi göstereceği belirtilmiştir (60). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda folikül stimulan hormon reseptörü (FSHR) telositlerde çalışılmamıştır.

Sunulan çalışmada, kısıtlı bütçeden dolayı telosit çalışmalarında en çok kullanılan antikör olan CD34'ün tek başına kullanılması tercih edildi. İmmünohistokimya boyamaları neticesinde, ovaryum dokusunda foliküllerin periferleri dâhil pek çok alanda boyanma tesbit edildi. Ancak üçgen veya fusiform çekirdek, çekirdek etrafında zayıf bir sitoplazma ve uzun aşırı kıvrıntılı sitoplazmik uzantılarla karakterize olan telosit hücrelerine benzer net bir yapıya rastlanmadı. Nitekim immünohistokimya bulgularına ait resimler incelendiğinde CD34 boyama dağılımının belli bir hücreyi işaret etmekten uzak olduğu görülmektedir. CD34 antikorunun telositler yanında, fibrositler, endotel hücreleri, düz kas hücrelerini de işaretlediği göz önüne alındığında, boyanan bütün yapıların telosit olduklarını ifade etmek pek mümkün görünmemektedir.

Sunulan tez çalışmasındaki CD34 immünohistokimya boyamalarının sonuçları ve telositlerin farklı organlarda farklı belirteçleri hatta aynı organın farklı dokularında bile farklı belirteçleri ekprese ettiği göz önüne alındığında, CD34 antikorunun sıçan ovaryumunda telositleri göstermede tek başına yeterli olmadığı kanaatine varıldı. Yapılan çalışmalarda ovaryumda telositleri gösterebilmek adına CD34 antikoru ek olarak östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, folikül stimulan hormon reseptörü ve hatta c-kit, vimentin, PDGFR- α gibi antikorların da kullanılarak, herhangi ikisinin çiftli boyama yapılmak suretiyle kullanılmasının daha doğru sonuçlar elde edebilmek adına gerekli olduğu düşünüldü.

Laurentiu M. Popescu ve arkadaşları tarafından telositlerin ultrastrüktürel yapısı pek çok sayıda elektron mikroskobik çalışmalarla net olarak gösterilmiş, hatta telositlerin ultrastrüktürel yapıları için “platin standartlar” geliştirilmiştir (60). Popescu ile beraber başlayan akım içerisinde telositlerin daha ziyade 3000-5000 büyütme gibi düşük büyütmeli TEM görüntüleri çalışılmıştır; bu büyütme derecelerinde telositler ve çok uzun uzantıları olan telopodlar en iyi şekilde takip edilebilmiş ve gösterilmiştir.

Sunulan çalışmada elektron mikroskobik görüntülerde az miktarda sitoplazma ve telopod denilen ince uzun sitoplazmik uzantılarla karakterize telosit benzeri hücrelerin ovaryum stromasında varlığı görülmüştür. Gerek genç yetişkin ve gerek menopoz

grupları arasında, telosit benzeri hücrelerin bulunması açısından farklılık gözlenmemiştir. Bu durum telositlerin, fertil dönemdeki genç yetişkin ovaryumunda ve menopoza sonrası dönem ovaryumunda farklı farklı rollere sahip olabileceğini düşündürmüştür.

Yapılan yayınlarda telositlerin stromal mikroçevreyi oluşturan belli başlı hücrelerden birisi olduğu ifade edilmiştir (88). Bani ve ark (126), fare embriyosu kalbi üzerinde yaptıkları araştırmada, telositlerin kalbin oluşumu sürecinde, kalp kası hücrelerinin göçünü ve birlikte kas kümeleri oluşturmalarını sağladıkları gösterilmiştir. Bu doğrultuda, telositlerin ovaryum stromasında, folikülogenez sürecinde foliküler granüloza hücrelerinin prolifer olmasına ve matürasyonuna katkıda bulunabileceği, stromal hücrelerin foliküller çevresinde yönlendirilmesinde ve düzenlenmesinde yardımcı olabileceği düşünülmüştür.

Jian Yang ve arkadaşlarının (125) yorumlarından yola çıkılarak, ovaryumda stromal hücrelerin arasına dağılmış şekilde bulunan telositlerin telopodları aracılığıyla stromal hücrelerle temas kurarak, ovaryum stromasında hücrelerarası iletişime katkıda bulunabileceği, folikülogenez sürecine birlikte giren ve gelişmekte olan foliküllerin senkronizasyonunu sağlamaya yardımcı olabileceği düşünülmüştür.

İnfertil olgularda telositlerin sayılarının azaldığı veya muhtemel fonksiyonlarını yitirdiği değerlendirilmiştir. Nitekim, Veronika Aleksandrovyh ve arkadaşlarının tuba uterinda yaptığı bir çalışmada telositlerin patolojik süreçlerde rol oynayabileceği ve bu nedenle tuba uterina kaynaklı infertiliteye yol açabileceği ifade edilmiştir (127). Jian Yang ve arkadaşlarının tuba uterinda akut salpenjit üzerine yaptığı bir çalışmada; akut salpenjitten etkilenen tuba uterina dokularında telositlerin hasar görmesi ve kaybının söz konusu olduğu ifade edilmiştir (125). Xiao-Jun Yang ve arkadaşlarının endometriyozis üzerine yaptığı bir çalışmada; endometriyozis hayvan modeli oluşturulan sıçanlarda telositlerin sayılarının azaldığı ya da kaybolduğu ifade edilmiştir (115). Chi Chi ve arkadaşlarının fare uterusunda yaptığı bir derlemede telositlerin inflamasyon sürecinin indüksiyonunda ve korunmasında potansiyel olarak aktif rol aldığı belirtilmiştir (128). Ivan Varga ve arkadaşlarının yaptığı bir derlemede telositlerin dişi üreme sisteminde çeşitli hücresel mikroortamın oluşturulmasına katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Bununla beraber, geniş bir patolojik hastalık yelpazesinden yalnızca

belirli bir hücre popülasyonunun hatalı çalışmasının sorumlu olmasının da muhtemel olmadığı da ileri sürülen görüşler arasındadır (109).

Çalışmanın başlangıcında, menopoz öncesi ve menopoz sonrası ovaryumlarında telositlerin farklılıklarının ortaya konulmasıyla, infertil olgulardaki özellikle folikülogenezle ilgili olası telosit fonksiyon eksikliklerine ışık tutulabileceği düşünüldü. Ancak sunulan çalışmada, telositlere ait, menopoz öncesi ve menopoz sonrası ovaryumlarında net bir profil elde edilememesi nedeniyle çalışmamız bu konuyu aydınlatamamıştır. İnfertiliteye sebep olan patolojik durumlarda telositlerin ne şekilde etkilendiklerinin aydınlatılabilmesi için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

SONUÇ

Ovaryum dokusunda telositlerin gösteriminde ışık mikroskopik yöntemlerin çok etkili olmadığı sonucuna varıldı. CD34 immünohistokimya işaretlemesinin, her ne kadar en yaygın olarak kullanılan telosit belirteci olsa da, ovaryumda telositleri göstermede tek başına yeterli olmadığı gözlemlendi. Bunun, farklı organlardaki, hatta aynı organın farklı dokularındaki telositlerin bile aynı belirteçleri ekspresse etmemesinden kaynaklanıyor olabileceği sonucuna varıldı.

Ovaryumlarda telositlerle ilgili daha net sonuçlar elde edilebilecek çalışmalar yapılabilmesi için bütçenin, emeğin ve zamanın özellikle elektron mikroskopik yöntemler üzerine kaydırılması gerektiği düşünüldü. Elektron mikroskopik çalışmaların ise immünohistokimyasal boyamalarla, özellikle de ikili üçlü belirteçlerin kullanıldığı boyamalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Bununla birlikte telositlerin bulundukları mikroçevre içinde nisbeten sayıları az hücreler olmaları nedeniyle, yapılacak çalışmalarda mevcut telositlerin gerçek profilinin ortaya çıkarılabilmesi için, tüm organ parçalarının tamamının preparatlara dönüştürülerek, bütün preparatların da tüm alanlarının incelenmesiyle elde edilecek datanın ancak doğru ve güvenilir sonuçlar verebileceği düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Popescu, L. M., & Faussone-Pellegrini, M. S. (2010). TELOCYTES—a case of serendipity: the winding way from Interstitial Cells of Cajal (ICC), via Interstitial Cajal-Like Cells (ICLC) to TELOCYTES. *Journal of cellular and molecular medicine*, 14(4), 729-740.
2. Xu, T., Lu, S., & Zhang, H. (2016). Transmission electron microscope evidence of telocytes in canine dura mater. *Journal of cellular and molecular medicine*, 20(1), 188-192.
3. Zhu, Y., Zheng, M., Song, D., Ye, L., & Wang, X. (2015). Global comparison of chromosome X genes of pulmonary telocytes with mesenchymal stem cells, fibroblasts, alveolar type II cells, airway epithelial cells, and lymphocytes. *Journal of translational medicine*, 13(1), 318.
4. Janas, P., Kucybała, I., Radoń-Pokracka, M., & Huras, H. (2018). Telocytes in the female reproductive system: An overview of up-to-date knowledge. *Adv. Clin. Exp. Med*, 27, 559-565.
5. Eşrefoğlu, M. (2016). Özel Histoloji, 2. Baskı, *İstanbul Tıp Kitapevi Ltd. Şti. İstanbul*.
6. Pawlina, W., & Ross, M. H. *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology*. Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
7. The ovaries (female gonads), Kenhub. <https://www.kenhub.com/en/library/anatomy/the-female-gonads>. Erişim: 10.04.2019.
8. Krause, W. J. (2005). *Krause's essential human histology for medical students*. Universal-Publishers.
9. Utiger, R. D., Felig, P., Baxter, J. D., & Frohman, L. A. (2001). Endocrinology and metabolism. *McGraw-Hill Professional*
10. Standring, S. (2016). Gray's anatomy. The anatomical basis of clinical practice, Forty.
11. Ovalle, W. K., & Nahirney, P. C. (2013). *Netter's Essential Histology: With Student Consult Access*. Elsevier Health Sciences.
12. Young, B., Woodford, P., & O'Dowd, G. (2014). *Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas*. Elsevier Health Sciences.
13. Gartner, L. P. (2011). *BRS cell biology and histology*. Lippincott Williams & Wilkins.
14. Cummings, B. (2004). *Ovary*. Pearson Education.

15. Monniaux, D., Cadoret, V., Clément, F., Dalbies-Tran, R., Elis, S., Fabre, S., ... & Uzbekova, S. (2019). Encyclopedia of Endocrine Diseases: Folliculogenesis. *Volume 2, 2019, Pages 377-398*.
16. Moore, K. L., Persaud, T. V. N., & Torchia, M. G. (2016). *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*. Elsevier Health Sciences.
17. Gray, H. (1988). *Gray's anatomy, part-II embriology: development of urogenital organs with original illustrations by Henry Carter*.
18. Fortune, J. E., Yang, M. Y., & Muruvi, W. (2010). The earliest stages of follicular development: follicle formation and activation. *Society of Reproduction and Fertility supplement*, 67, 203.
19. Junqueira, L. C., & Mescher, A. L. (2016). *Junqueira's basic histology: text & atlas/Anthony L. Mescher*. New York [etc.]: McGraw-Hill Medical.
20. Matsuda, F., Inoue, N., Manabe, N., & Ohkura, S. (2012). Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells. *Journal of Reproduction and Development*, 58(1), 44-50.
21. Hunzicker-Dunn, M., & Maizels, E. T. (2006). FSH signaling pathways in immature granulosa cells that regulate target gene expression: branching out from protein kinase A. *Cellular signalling*, 18(9), 1351-1359.
22. Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. (2016). *Histology and Cell Biology: an introduction to pathology*. Elsevier Health Sciences.
23. Magoffin, D. A. (2005). Ovarian theca cell. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(7), 1344-1349.
24. Gartner, L. P. (2017). *Textbook of Histology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
25. Rodgers, R. J., & Irving-Rodgers, H. F. (2010). Formation of the ovarian follicular antrum and follicular fluid. *Biology of reproduction*, 82(6), 1021-1029.
26. Williams, C. J., & Erickson, G. F. (2012). Morphology and physiology of the ovary. In *Endotext [Internet]*. MDText. com, Inc.
27. Hawkins, S. M., & Matzuk, M. M. (2008). Menstrual cycle: basic biology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1135, 10.
28. Son, W. Y., Das, M., Shalom-Paz, E., & Holzer, H. (2011). Mechanisms of follicle selection and development. *Minerva ginecologica*, 63(2), 89-102.
29. Holesh, J. E., & Lord, M. (2017). Physiology, ovulation. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.

30. Su, H. W., Yi, Y. C., Wei, T. Y., Chang, T. C., & Cheng, C. M. (2017). Detection of ovulation, a review of currently available methods. *Bioengineering & translational medicine*, 2(3), 238-246.
31. Hoehn, K., & Marieb, E. N. (2013). *Human anatomy & physiology*. Benjamin Cummings.
32. Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., & Brooks, H. (2016). Ganong's review of medical physiology. 23. NY: McGraw-Hill Medical.
33. Denschlag, D., & Keck, C. (2002). The corpus luteum. *Therapeutische Umschau. Revue therapeutique*, 59(4), 159-162.
34. Niswender, G. D., Juengel, J. L., Silva, P. J., Rollyson, M. K., & McIntush, E. W. (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological reviews*, 80(1), 1-29.
35. Reed, B. G., & Carr, B. R. (2018). The normal menstrual cycle and the control of ovulation. In *Endotext [Internet]*. MDText. com, Inc.
36. Christenson, L. K., & Devoto, L. (2003). Cholesterol transport and steroidogenesis by the corpus luteum. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1(1), 90.
37. Stocco, C., Telleria, C., & Gibori, G. (2007). The molecular control of corpus luteum formation, function, and regression. *Endocrine reviews*, 28(1), 117-149.
38. Choi, J., & Smits, J. (2014). Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: distinguishing unique physiologic roles. *Gynecological Endocrinology*, 30(3), 174-181.
39. Gezer A. (2004). . Menopoz ve Osteoporoz, Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi Kitabı. *Güneş Kitabevi, Ankara*, 1163-1165.
40. Leidy, L. E. (1994). Biological aspects of menopause: across the lifespan. *Annual Review of Anthropology*, 23(1), 231-253.
41. Hansen, K. R., Knowlton, N. S., Thyer, A. C., Charleston, J. S., Soules, M. R., & Klein, N. A. (2008). A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. *Human reproduction*, 23(3), 699-708.
42. Pal, L., & Sayegh, R. A. (Eds.). (2017). *Essentials of Menopause Management: A Case-Based Approach*. Springer.
43. Takahashi, T. A., Johnson, K. M. "Menopause". *The medical clinics of North America*, 99 (2015) 521–534.
44. Lobo, R. A., Kelsey, J., & Marcus, R. (Eds.). (2000). *Menopause: biology and pathobiology*. Academic press.

45. Sengupta, P. (2013). The laboratory rat: relating its age with human's. *International journal of preventive medicine*, 4(6), 624.
46. Saladin, K. S., McFarland, R. K., Gan, C. A., Cushman, H.N. (2018). *Essential of Anatomy and Phsiology. McGraw-Hill Education.*
47. Camacho, P. M. (2011). *Clinical Endocrinology and Metabolism (Medical Color Handbook Series). Manson Publishing.*
48. Melmed, S., Polonsky, K. S., Larsen, P. R., & Kronenberg, H. M. (2016). *Williams textbook of endocrinology.* Elsevier Health Sciences.
49. Wassarman, P. M., & Rosenwaks, Z. (Eds.). (2014). *Human Fertility: Methods and Protocols.* Humana Press.
50. Rogers, K. (Ed.). (2010). *The reproductive system.* Britannica Educational Publishing.
51. Westwood, F. R. (2008). The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicologic pathology*, 36(3), 375-384.
52. Fox, J. G. (2015). *Laboratory animal medicine.* Elsevier.
53. Cora, M. C., Kooistra, L., & Travlos, G. (2015). Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicologic pathology*, 43(6), 776-793.
54. Hamid, H. Y., & Zakaria, M. Z. A. B. (2013). Reproductive characteristics of the female laboratory rat. *African journal of Biotechnology*, 12(19), 2510-2514.
55. Goldman, J. M., Murr, A. S., & Cooper, R. L. (2007). The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 80(2), 84-97.
56. Sato, J., Nasu, M., & Tsuchitani, M. (2016). Comparative histopathology of the estrous or menstrual cycle in laboratory animals. *Journal of toxicologic pathology*, 29(3), 155-162
57. McLean, A. C., Valenzuela, N., Fai, S., & Bennett, S. A. (2012). Performing vaginal lavage, crystal violet staining, and vaginal cytological evaluation for mouse estrous cycle staging identification. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (67), e4389.
58. Wang X., Cretoiu D. (2016). Telocytes: connecting cells. Springer. *Advances in Experimental Medicine and Biology.*
59. Popescu, L. M. (2011). Telocytes—a novel type of interstitial cells. *Recent researches in modern medicine-HISTEM*, 11, 424-432.
60. Aleksandrovych, V., Pasternak, A., Basta, P., Sajewicz, M., Walocha, J. A., & Gil, K. (2017). Telocytes: facts, speculations and myths. *Folia medica Cracoviensia.*

61. Zheng, Y., Bai, C., & Wang, X. (2012). Telocyte morphologies and potential roles in diseases. *Journal of cellular physiology*, 227(6), 2311-2317.
62. Aleksandrovykh, V., Walocha, J. A., & Gil, K. (2016). Telocytes in female reproductive system (human and animal). *Journal of cellular and molecular medicine*, 20(6), 994-1000.
63. Pellegrini, M. S. F., & Popescu, L. M. (2011). Telocytes. *BioMolecular concepts*, 2(6), 481-489.
64. Cretoiu, D., & Cretoiu, S. M. (2016, July). Telocytes in the reproductive organs: Current understanding and future challenges. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 55, pp. 40-49). Academic Press.
65. Cretoiu, D., Xu, J., Xiao, J., & Cretoiu, S. (2016). Telocytes and their extracellular vesicles—Evidence and Hypotheses. *International journal of molecular sciences*, 17(8), 1322.
66. Cretoiu, S. M., & Popescu, L. M. (2014). Telocytes revisited. *Biomolecular concepts*, 5(5), 353-369.
67. Cantarero, I., Luesma, M. J., & Junquera, C. (2011). The primary cilium of telocytes in the vasculature: electron microscope imaging. *Journal of cellular and molecular medicine*, 15(12), 2594-2600.
68. Rusu, M. C., Jianu, A. M., Mirancea, N., Didilescu, A. C., Mănoiu, V. S., & Păduraru, D. (2012). Tracheal telocytes. *Journal of cellular and molecular medicine*, 16(2), 401-405.
69. Kostin, S., & Popescu, L. M. (2009). A distinct type of cell in myocardium: interstitial Cajal-like cells (ICLCs). *Journal of cellular and molecular medicine*, 13(2), 295-308.
70. Gherghiceanu, M., Hinescu, M. E., Andrei, F., Mandache, E., Macarie, C. E., Faussone-Pellegrini, M. S., & Popescu, L. M. (2008). Interstitial Cajal-like cells (ICLC) in myocardial sleeves of human pulmonary veins. *Journal of cellular and molecular medicine*, 12(5a), 1777-1781.
71. Pieri, L., Vannucchi, M. G., & Faussone-Pellegrini, M. S. (2008). Histochemical and ultrastructural characteristics of an interstitial cell type different from ICC and resident in the muscle coat of human gut. *Journal of cellular and molecular medicine*, 12(5b), 1944-1955.
72. Hashitani, H., & Suzuki, H. (2004). Identification of interstitial cells of Cajal in corporal tissues of the guinea-pig penis. *British journal of pharmacology*, 141(2), 199-204.

73. Ciontea, S. M., Radu, E., Regalia, T., Ceafalan, L., Cretoiu, D., Gherghiceanu, M., ... & Popescu, L. M. (2005). C-kit immunopositive interstitial cells (Cajal-type) in human myometrium. *Journal of cellular and molecular medicine*, 9(2), 407-420.
74. Cretoiu, S., Simionescu, A., Caravia, L., Curici, A., Cretoiu, D., & Popescu, L. (2011). Complex effects of imatinib on spontaneous and oxytocin-induced contractions in human non-pregnant myometrium. *Acta Physiologica Hungarica*, 98(3), 329-338.
75. Hatta, K., Huang, M. L., Weisel, R. D., & Li, R. K. (2012). Culture of rat endometrial telocytes. *Journal of cellular and molecular medicine*, 16(7), 1392-1396.
76. Ullah, S., Yang, P., Zhang, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, W., ... & Chen, Q. (2014). Identification and characterization of telocytes in the uterus of the oviduct in the Chinese soft-shelled turtle, *Platystrophia sinensis*: TEM evidence. *Journal of cellular and molecular medicine*, 18(12), 2385-2392.
77. Cretoiu, S. M., Cretoiu, D., & Popescu, L. M. (2012). Human myometrium—the ultrastructural 3D network of telocytes. *Journal of cellular and molecular medicine*, 16(11), 2844-2849.
78. Horn, L. C., Meinel, A., & Hentschel, B. (2012). c-kit/CD 117 positive cells in the myometrium of pregnant women and those with uterine endometriosis. *Archives of gynecology and obstetrics*, 286(1), 105-107.
79. Salama, N. M. (2013). Immunohistochemical characterization of telocytes in rat uterus in different reproductive states. *Egyptian Journal of Histology*, 36(1), 185-194.
80. Ciontea, S. M., Cretoiu, D., & Popescu, L. M. (2006). Interstitial Cajal-like cells in human uterus and fallopian tube. *Journal of Biomechanics*, (39), S342.
81. Cretoiu, S. M., Cretoiu, D., Marin, A., Radu, B. M., & Popescu, L. M. (2013). Telocytes: ultrastructural, immunohistochemical and electrophysiological characteristics in human myometrium. *Reproduction (Cambridge, England)*, 145(4), 357.
82. Popescu, L. M., Ciontea, S. M., Cretoiu, D., Hinescu, M. E., Radu, E., Ionescu, N., & Zagrean, L. (2005). Novel type of interstitial cell (Cajal-like) in human fallopian tube. *Journal of cellular and molecular medicine*, 9(2), 479-523.
83. Cretoiu, S. M., Cretoiu, D., Simionescu, A. A., & Popescu, L. M. (2012). Telocytes in human fallopian tube and uterus express estrogen and progesterone receptors. *Sex Steroids*, 217(91), 114.

84. Suci, L., Popescu, L. M., & Gherghiceanu, M. (2007). Human placenta: de visu demonstration of interstitial Cajal-like cells. *Journal of cellular and molecular medicine*, 11(3), 590-597.
85. Suci, L., Popescu, L. M., Gherghiceanu, M., Regalia, T., Nicolescu, M. I., Hinescu, M. E., & Faussone-Pellegrini, M. S. (2010). Telocytes in human term placenta: morphology and phenotype. *Cells Tissues Organs*, 192(5), 325-339.
86. Bosco, C., Díaz, E., Gutiérrez, R., González, J., Parra-Cordero, M., Rodrigo, R., & Barja, P. (2015). A putative role for telocytes in placental barrier impairment during preeclampsia. *Medical hypotheses*, 84(1), 72-77.
87. Liu, T., Wang, S., Li, Q., Huang, Y., Chen, C., & Zheng, J. (2016). Telocytes as potential targets in a cyclophosphamide-induced animal model of premature ovarian failure. *Molecular medicine reports*, 14(3), 2415-2422.
88. Abd-Elkareem, M. (2017). Cell-specific immuno-localization of progesterone receptor alpha in the rabbit ovary during pregnancy and after parturition. *Animal reproduction science*, 180, 100-120.
89. Shafik, A., El-Sibai, O., Shafik, I., & Shafik, A. A. (2005). Immunohistochemical identification of the pacemaker cajal cells in the normal human vagina. *Archives of gynecology and obstetrics*, 272(1), 13-16.
90. Mou, Y., Wang, Y., Li, J., Lü, S., Duan, C., Du, Z., ... & Wang, C. (2013). Immunohistochemical characterization and functional identification of mammary gland telocytes in the self-assembly of reconstituted breast cancer tissue in vitro. *Journal of cellular and molecular medicine*, 17(1), 65-75.
91. Popescu, L. M., Andrei, F., & Hinescu, M. E. (2005). Snapshots of mammary gland interstitial cells: methylene-blue vital staining and c-kit immunopositivity. *Journal of cellular and molecular medicine*, 9(2), 476-477.
92. Radu, E., Regalia, T., Ceafalan, L., Andrei, F., Cretoiu, D., & Popescu, L. M. (2005). Cajal-type cells from human mammary gland stroma: phenotype characteristics in cell culture. *Journal of cellular and molecular medicine*, 9(3), 748-752.
93. Pucovský, V., Moss, R. F., & Bolton, T. B. (2003). Non-contractile cells with thin processes resembling interstitial cells of Cajal found in the wall of guinea-pig mesenteric arteries. *The Journal of physiology*, 552(1), 119-133.
94. Zhang, H. Q., Lu, S. S., Xu, T., Feng, Y. L., Li, H., & Ge, J. B. (2015). Morphological evidence of telocytes in mice aorta. *Chinese medical journal*, 128(3), 348.

95. Harhun, M. I., Gordienko, D. V., Povstyan, O. V., Moss, R. F., & Bolton, T. B. (2004). Function of interstitial cells of Cajal in the rabbit portal vein. *Circulation research*, 95(6), 619-626.
96. McCloskey, K., Hollywood, M., Thornbury, K., Ward, S., & McHale, N. (2002). Kit-like immunopositive cells in sheep mesenteric lymphatic vessels. *Cell and tissue research*, 310(1), 77-84.
97. Li, Y., Zhang, X., Gao, J., Xiao, H., & Xu, M. (2016). Increased telocytes involved in the proliferation of vascular smooth muscle cells in rat carotid artery balloon injury. *Science China Life Sciences*, 59(7), 678-685.
98. Faussone-Pellegrini, M. S., & Gherghiceanu, M. (2016, July). Telocyte's contacts. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 55, pp. 3-8). Academic Press.
99. Awad, M., & Ghanem, M. E. (2018). Localization of telocytes in rabbits testis: Histological and immunohistochemical approach. *Microscopy research and technique*, 81(11), 1268-1274.
100. Gherghiceanu, M., & Popescu, L. M. (2012). Cardiac telocytes—their junctions and functional implications. *Cell and tissue research*, 348(2), 265-279.
101. Mirancea, N. (2016). Telocyte-a particular cell phenotype. Infrastructure, relationships and putative functions. *Rom J Morphol Embryol*, 57(1), 7-21.
102. Popescu, L. M., Fertig, E. T., & Gherghiceanu, M. (2016). Reaching out: junctions between cardiac telocytes and cardiac stem cells in culture. *Journal of cellular and molecular medicine*, 20(2), 370-380.
103. Fertig, E. T., Gherghiceanu, M., & Popescu, L. M. (2014). Extracellular vesicles release by cardiac telocytes: electron microscopy and electron tomography. *Journal of cellular and molecular medicine*, 18(10), 1938-1943.
104. Roatesi, I., Radu, B. M., Cretoiu, D., & Cretoiu, S. M. (2015). Uterine telocytes: a review of current knowledge. *Biology of reproduction*, 93(1), 10-1.
105. Sun, X., Zheng, M., Zhang, M., Qian, M., Zheng, Y., Li, M., ... & Wang, X. (2014). Differences in the expression of chromosome 1 genes between lung telocytes and other cells: mesenchymal stem cells, fibroblasts, alveolar type II cells, airway epithelial cells and lymphocytes. *Journal of cellular and molecular medicine*, 18(5), 801-810.
106. Popescu, L. M., Gherghiceanu, M., Manole, C. G., & Faussone-Pellegrini, M. S. (2009). Cardiac renewing: interstitial Cajal-like cells nurse cardiomyocyte progenitors

- in epicardial stem cell niches. *Journal of cellular and molecular medicine*, 13(5), 866-886.
107. Nizyaeva, N. V., Sukhacheva, T. V., Serov, R. A., Kulikova, G. V., Nagovitsyna, M. N., Kan, N. E., ... & Shchegolev, A. I. (2018). Ultrastructural and immunohistochemical features of telocytes in placental villi in preeclampsia. *Scientific reports*, 8(1), 3453.
 108. Hutchings, G., Williams, O., Cretoiu, D., & Ciontea, S. M. (2009). Myometrial interstitial cells and the coordination of myometrial contractility. *Journal of cellular and molecular medicine*, 13(10), 4268-4282.
 109. Varga, I., Urban, L., Kajanová, M., & Polák, Š. (2016). Functional histology and possible clinical significance of recently discovered telocytes inside the female reproductive system. *Archives of gynecology and obstetrics*, 294(2), 417-422.
 110. Salama, N. M. (2013). Immunohistochemical characterization of telocytes in rat uterus in different reproductive states. *Egyptian Journal of Histology*, 36(1), 185-194.
 111. Cretoiu, S. M., Cretoiu, D., Suci, L., & Popescu, L. M. (2009). Interstitial Cajal-like cells of human Fallopian tube express estrogen and progesterone receptors. *Journal of molecular histology*, 40(5-6), 387-394.
 112. Cretoiu, D., Ciontea, S. M., Popescu, L. M., Ceafalan, L., & Ardeleanu, C. (2006). Interstitial Cajal-like cells (ICLC) as steroid hormone sensors in human myometrium: immunocytochemical approach. *Journal of cellular and molecular medicine*, 10(3), 789-795.
 113. Cretoiu, S. M., Radu, B. M., Banciu, A., Banciu, D. D., Cretoiu, D., Ceafalan, L. C., & Popescu, L. M. (2015). Isolated human uterine telocytes: immunocytochemistry and electrophysiology of T-type calcium channels. *Histochemistry and cell biology*, 143(1), 83-94.
 114. Rosenbaum, S. T., Svalø, J., Nielsen, K., Larsen, T., Jørgensen, J. C., & Bouchelouche, P. (2012). Immunolocalization and expression of small-conductance calcium-activated potassium channels in human myometrium. *Journal of cellular and molecular medicine*, 16(12), 3001-3008.
 115. Yang, X. J., Yang, J., Liu, Z., Yang, G., & Shen, Z. J. (2015). Telocytes damage in endometriosis-affected rat oviduct and potential impact on fertility. *Journal of cellular and molecular medicine*, 19(2), 452-462.

116. He, X., & Chen, Q. (2016). Reduced expressions of connexin 43 and VEGF in the first-trimester tissues from women with recurrent pregnancy loss. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14(1), 46.
117. Díaz-Flores, L., Gutiérrez, R., García, M. P., Sáez, F. J., Aparicio, F., Díaz-Flores Jr, L., & Madrid, J. F. (2014). Uptake and intracytoplasmic storage of pigmented particles by human CD 34+ stromal cells/telocytes: endocytic property of telocytes. *Journal of cellular and molecular medicine*, 18(12), 2478-2487.
118. Yang, P., Zhu, X., Wang, L., Ahmed, N., Huang, Y., Chen, H., ... & Brohi, S. A. (2017). Cellular evidence of telocytes as novel interstitial cells within the magnum of chicken oviduct. *Cell transplantation*, 26(1), 135-143.
119. Bosco Becerra, C., Díaz Guerra, E., Gutierrez Rojas, R., González Montero, J., Parra Cordero, M., Ramón Rodrigo Salinas, R., & Barja Yañez, P. (2016). Placental hypoxia developed during preeclampsia induces telocytes apoptosis in chorionic villi affecting the maternal-fetus metabolic exchange. *Current stem cell research & therapy*, 11(5), 420-425.
120. Long, J. A., & Evans, H. M. (1922). *The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena* (Vol. 6). University of California Press.
121. Mandl, A. M. (1951). The phases of the oestrous cycle in the adult white rat. *Journal of Experimental Biology*, 28(4), 576-584.
122. Eroğlu F., & Eroğlu H. E. Ratlarda Analjezi ve Anestezi. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. <http://www.jcam.com.tr/files/KATD-662.pdf> Erişim Tarihi: 17.04.2019
123. Demir, R. (2007). Histolojik boyama teknikleri başvuru kitabı. *Palme Yayıncılık*.
124. Bielschowsky's Silve Stain, IHC World. Erişim Tarihi: 17.04.2019 http://www.ihcworld.com/_protocols/special_stains/bielschowsky.htm
125. Yang, J., Chi, C., Liu, Z., Yang, G., Shen, Z. J., & Yang, X. J. (2015). Ultrastructure damage of oviduct telocytes in rat model of acute salpingitis. *Journal of cellular and molecular medicine*, 19(7), 1720-1728.
126. Bani, D., Formigli, L., Gherghiceanu, M., & Faussone-Pellegrini, M. S. (2010). Telocytes as supporting cells for myocardial tissue organization in developing and adult heart. *Journal of cellular and molecular medicine*, 14(10), 2531-2538.
127. Aleksandrovysh, V., Sajewicz, M., Walocha, J. A., & Gil, K. (2016). Tubal telocytes: factor infertility reason. *Folia Med Cracov*, 56(2), 17-23.

128. Chi, C., Jiang, X. J., Su, L., Shen, Z. J., & Yang, X. J. (2015). In vitro morphology, viability and cytokine secretion of uterine telocyte-activated mouse peritoneal macrophages. *Journal of cellular and molecular medicine*, 19(12), 2741-2750.





T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
UNIVERSITY OF GAZİANTEP
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI
LOCAL ETHICS COMMITTEE OF ANIMAL EXPERIMENTS
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI
RESEARCH APPLICATION CONSENT



TOPLANTI TARİHİ (Meeting Date)	TOPLANTI SAYISI (Meeting No)	TOPLANTI YERİ (Meeting Place)
04.10.2017	9	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ Application Information	Araştırmanın Başlığı Research Title	Menopoz öncesi ve sonrası dönemlerde sıçan ovaryumunda telosit morfolojisi ve organizasyonunun ışık mikroskobu, immünohistokimya ve elektron mikroskobu yöntemleriyle incelenmesi Examination of telocyte morphology and organization in rat ovaries before and after menopause, by light microscopy, immunohistochemistry and electron microscopy
	Başvuru Tarihi Application Date	26.09.2017
	Protokol no Protocol no	40

KARAR BİLGİLERİ Decision	Karar No: 2017/24	Decision No: 2017/24
	☒ Kabul (Accepted)	☐ Red (Not Accepted)
Yrd. Doç. Dr. Mehmet TÜRKER'in yürütücüsü olduğu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, başvurunun "uygun" olduğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.		

Yürütücü Coordinator	Yrd. Doç. Dr. Mehmet TÜRKER Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
-------------------------	--

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ

Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Davut Sinan Kaplan (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Behçet Al (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Acil Tıp AD.	H	E	
Doç. Dr. İbrahim Halil Kılıç (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Biyoloji	H	E	
Doç. Dr. Mehmet Kahraman (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Kimya	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Ebru Deniz Karslı (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği F. Çene Cerrahisi AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Berna Kaya Uğur (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD.	H	E	
Öğr. Gör. Ahmet Sarper Bozkurt (Üye)	GAÜN Teknik Bilimler MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim	H	E	
Veteriner Hekim Celal Özsoyler (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	H	KATILMADI
Tekniker Ahmet Özkul (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	H	KATILMADI

E: Evet, H: Hayır



ESMA İŞCEL

Cep Telefonu: 0534 588 54 27

E-mail : esmaiscel@gmail.com

Uyruğu : T.C

Doğum Yeri: Gaziantep

EĞİTİM DURUMU:

- 2016- 2019 : Gaziantep Üniversitesi- Sağlık Bilimleri Enstitüsü- Histoloji ve Embriyoloji ABD- Yüksek Lisans
- 2011- 2019 : Anadolu Üniversitesi-Açıköğretim Fakültesi- İşletme Yönetimi Bölümü
- 2006 - 2011 : Abant İzzet Baysal Üniversitesi- Fen Edebiyat Fakültesi- Biyoloji (İngilizce) Bölümü
- 2001 - 2004 : Ülğan Konukoğlu Lisesi

DENEYİMLER:

- 2010 Hacettepe Teknokent Proje Yarışmasında derece kazandım.
- 4-6 Ağustos 2010 tarihleri arasında düzenlenen 4.Ulusal Limnoloji Sempozyumunun organizasyonu ve düzenlenmesinde görev aldım.

EĞİTİMLER ve SEMİNERLER:

- Deney Hayvanları Kullanım Kursu- GAÜN Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) ve Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (GAÜNDAM) (18.12.2018-25.12.2018)
- Kök Hücre Sempozyumu- Kök Hücre ve Hücresel Tedavi Derneği ve Marmara Üniversitesi- 05-06.05.2017
- İnfertilite Toplantısı- TSRM (Üreme Sağlığı ve İnfertilite Derneği) ve Başkent Üniversitesi Adana Dr. Turgut Noyan Uygulama ve Araştırma Merkezi (19.02.2017)