



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANJİYOGENEZİN GEBE RAT OVARYUM MEDULLASINDA VE FETAL DERMİSTE ARAŞTIRILMASI

Esra KALENDER KÖK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Ayhan ERALP

Gaziantep
2018



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANJİYOGENEZİN GEBE RAT OVARYUM MEDULLASINDA VE
FETAL DERMİSTE ARAŞTIRILMASI**

Esra KALENDER KÖK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Ayhan ERALP

Gaziantep
2018

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
**ANJİYOGENEZİN GEBE RAT OVARYUM MEDULLASINDA ve FETAL
DERMİSTE ARAŞTIRILMASI**
Esra KALENDER KÖK
Yüksek Lisans Tezi

Tez Savunma Tarihi: 16.01.2018

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 Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

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

Yrd. Doç. Dr. Ayhan ERALP
Tez Danışmanı

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

Tez Jürisi

İmza

Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ

Prof. Dr. Mehmet BOŞNAK

Yrd. Doç. Dr. Ayhan ERALP

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 kaynak listesine aldığımı, yine bu tezin çalışması ve yazımı sırasındaki patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Ocak, 2018

Esra KALENDER KÖK

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması, düzenlenmesi ve deneylerim süresince değerli bilgileriyle bana yol gösteren ve sabırla desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım sayın Yrd. Doç. Dr. Ayhan ERALP'e,

Yüksek lisansım boyunca eğitimimde büyük emeği olan bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, kendileriyle çalışmaktan kıvanç duyduğum anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ başta olmak üzere bütün değerli öğretim üyelerine,

Bilimsel çalışma sürecim boyunca her aşamasında katkısı olan, birlikte çalışmaktan keyif aldığım değerli meslektaşım dostum Biyolog Gaye ŞENÇOBAN'a,

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından GÜ BAYBP TF.14.10 numaralı proje ile desteklenmiştir. Bu desteğinden dolayı Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığına,

Yaşamım boyunca beni maddi, manevi her konuda her zaman destekleyen, sevgilerini her zaman hissettiren, benzerlerini asla bulamayacağım aileme; sevgili annem Rukiye KALENDER'e, babam Cahit KALENDER'e, ağabeyim Tevfik KALENDER'e ve bana en güzel duyguları yaşatan canım kızım Beliz KÖK'e,

Ve her zaman yanımda olan, beni her konuda destekleyen sevgili eşim Selçuk KÖK'e

SONSUZ TEŞEKKÜRLER...

Bu tezimi canım aileme ithaf ediyorum...

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR ve SİMGELER	i
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
TABLolar DİZİNİ.....	iv
GRAFİKLER DİZİNİ.....	v
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kadın Genital Sistemi	3
2.1.1. Ovaryum	4
2.1.1.3. Ovaryumun Anatomisi.....	4
2.1.1.1. Ovaryumun Histolojisi.....	6
2. 1. 1. 1. A. Oogenez.....	12
2. 1. 1. 1. B. Ovulasyon.....	16
2.1.1.2. Ovaryumun Embriyolojisi	20
2.2. Anjiyogenez ve Vaskülogenez	22
2.2.1. Vaskülogenez	22
2.2.2. Anjiyogenez.....	22
2.2.2.1. Anjiyogenez Fizyolojisi	23
2.2.2.2. Bazı Anjiyogenik Faktörler	27
2.2.2.2.A. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	27
2.2.2.2.B. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)	28
2.2.2.2.C. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	28
2.2.2.2.D. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)	28
2.2.2.2.E. Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β)	29
2.2.2.3. Normal Ovaryum Döngüsünde Anjiyogenez	29
2.2.2.3.A. Folliküler Faz	29
2.2.2.3.B. Luteal Faz	30

2.3. Deri.....	32
2.3.1. Epidermis.....	33
2.3.1.1. Epidermisin Histolojisi	33
2.3.1.2. Epidermisin Embriyolojisi	35
2.3.2. Dermis	36
2.3.2.1. Dermisin Histolojisi	36
2.3.2.2. Dermisin Embriyolojisi.....	38
2.3.3. Hipodermis	39
2.3.4. Derinin Damar ve Sinirleri	39
2.3.5. Deride Damarlanma.....	39
2.3.6. Deri Eklentileri	40
2.3.6.1. Kıllar.....	40
2.3.6.2. Bezler	40
2.3.6.3. Tırnaklar.....	40
2.4. İmmünohistokimyasal Boyama.....	41
2.4.1. CD34.....	41
2.4.2. Düz Kas Aktini (Smooth Muscle Actin-SMA)	41
3. GEREÇ ve YÖNTEM	43
3.1. Gereç	43
3.2. Yöntem.....	43
3.2.1. Işık Mikroskopik Doku Hazırlama Yöntemleri.....	45
3.2.2. Hematoksilen-Eozin Boyası	46
3.2.3. Masson Trikróm Boyası	47
3.2.4. İmmünohistokimyasal Uygulamalar	47
3.2.4.1. Aktin (SMA-Smooth Muscle Actin) Boyası	47
3.2.4.2. CD34 Boyası.....	48
3.2.5. Kullanılan Cihazlar.....	49
3.2.6. Mikroskopik Ölçüm.....	49
3.2.7. İstatistiksel Yöntem	49
4.BULGULAR.....	50
4. 1. Ovaryum Bulguları.....	50
4. 2. Deri Bulguları.....	67
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	78
5.1. Tartışma.....	78

5.2. Sonuç.....	86
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	97
EKLER	98



KISALTMALAR ve SİMGELER

ANG	: Angiostatin
ANPT	: Angiopoietin
CD34	: Clusters of Differentiation 34
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DAP	: Diaminobenzidine
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
Flk-1	: FMS-Like Tyrosine Kinase-1
FSH	: Follikül Uyarıcı Hormon
GİST	: Gastrointestinal Stromal Tümör
gr	: Gram
GRH	: Gonadotropin Salgılayıcı Faktör
hCG	: Human Chorionic Gonadotropin
HCGH	: Human Corionic Gonadotropin Hormon
HE	: Hematoksilen Eozin
HGF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
HIF	: Hipoksi İndüklenebilir Faktör
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL-6 ve 8	: İnterlökin-6 ve 8
IU	: International Unit
kDa	: Kilodalton
KIT	: Kök Hücre Plantasyonu
LH	: Luteinizan Hormon
ml	: Mililitre
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
MT	: Masson Trikrom
NO	: Nitrik Oksit
OMI	: Oosit Matürasyonunu İnhibe Edici Madde

PAI	: Plazminojen Aktivatör İnhibitör
PDGF	: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGH	: Primordiyal Germ Hücreleri
PMSG	: Pregnant Mare Serum Gonadotropin
rER	: Granüllü Endoplazmik Retikulum
SF	: Scatter Factor
SMA	: Smooth Muscle Actin (Düz Kas Aktini)
TGF- β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü- β
TIMP-1 ve 2	: Doku İnhibitör Metalloproteinaz-1 ve 2
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör- α
tPA	: Doku Plazminojen Aktivatörü
uPA	: Urokinaz Plazminojen Aktivatörü
VEGF	: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
VEGFR -1,2,3:	Vasküler Endotel Büyüme Faktör Reseptörü -1,2,3
vWF	: vonWillebrand Faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kadın iç genital organlarının şematik çizimi.....	4
Şekil 2.2. Ovaryumun şematik resmi.....	8
Şekil 2.3. Primordiyal follikül.....	9
Şekil 2.4. Erken primer follikül.....	9
Şekil 2.5. Geç primer follikülün şeması.....	10
Şekil 2.6. Sekonder follikül.....	11
Şekil 2.7. Graaf follikül.....	12
Şekil 2.8. Damar ağı oluşum şeması.....	23
Şekil 2.9. Anjiyogenik gelişim faktörleri ve follikül gelişimine etkileri.....	31
Şekil 2.10. Epidermin yapısı.....	34
Şekil 2.11. Dermisin yapısı.....	38

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Anjiogenezin 4 evresi ve görevli moleküller.....	24
Tablo 2.2. Anjiyogenik ve anti-anjiyogenik faktörler.....	25
Tablo 2.3. Önemli anjiyogenik faktörler ve etki mekanizmaları.....	26
Tablo 3.1. Işık mikroskopik doku takip işlemi.....	45
Tablo 3.2. Hematoksilen-eozin boyama protokolü.....	46
Tablo 4.1. Gruplardaki damar sayısı ortalaması, follikül sayısı ortalaması, epidermis ve dermis kalınlığı.....	68



GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 2.1. Follikülogenez sırasında antral folliküllerde VEGF, FGF, IGF, ANPT ve HIF sistem üyelerinin ekspresyon profillerinin şematik sunumu.....	32
Grafik 4.1. x40 büyütmede birim kareye düşen aktin pozitif boyanan ortalama damar sayısı.....	69
Grafik 4.2. x40 büyütmede birim kareye düşen ortalama kıl follikülü sayısı.....	69
Grafik 4.3. Epidermis kalınlığı	70
Grafik 4.4. Dermis kalınlığı	70



RESİMLER DİZİNİ

Resim 4.1. G kontrol grubu HE boyama x40.....	52
Resim 4.2. G1 grubu HE boyama x20.....	52
Resim 4.3. G1 grubu HE boyama x40.....	53
Resim 4.4. G1 grubu HE boyama x40.....	53
Resim 4.5. G1 grubu HE boyama x40.....	54
Resim 4.6. G2 grubu HE boyama x10.....	54
Resim 4.7. G2 grubu HE boyama x40.....	55
Resim 4.8. G3 grubu HE boyama x20.....	55
Resim 4.9. G4 grubu HE boyama x40.....	56
Resim 4.10. G4 grubu HE boyama x40.....	56
Resim 4.11. G kontrol grubu MT boyama x40.....	57
Resim 4.12. G1 grubu MT boyama x40.....	57
Resim 4.13. G1 grubu MT boyama x40.....	58
Resim 4.14. G2 grubu MT boyama x40.....	58
Resim 4.15. G3 grubu MT boyama x40.....	59
Resim 4.16. G4 grubu HE boyama x40.....	59
Resim 4.17. G4 grubu MT boyama x40.....	60
Resim 4.18. G kontrol grubu aktin boyama x10.....	60
Resim 4.19. G kontrol grubu aktin boyama x20.....	61
Resim 4.20. G1 grubu aktin boyama x4.....	61
Resim 4.21. G1 grubu aktin boyama x20.....	62
Resim 4.22. G2 grubu aktin boyama x4.....	62
Resim 4.23. G2 grubu aktin boyama x20.....	63
Resim 4.24. G3 grubu aktin boyama x4.....	63
Resim 4.25. G3 grubu aktin boyama x20.....	64
Resim 4.26. G4 grubu aktin boyama x4.....	64
Resim 4.27. G4 grubu aktin boyama x20.....	65
Resim 4.28. G4 grubu aktin boyama x40.....	65
Resim 4.29. G4 grubu aktin boyama x40.....	66
Resim 4.30. G3 grubu CD34 boyama x20.....	66
Resim 4.31. F1 grubu HE boyama x40.....	71
Resim 4.32. F2 grubu HE boyama x20.....	71

Resim 4.33. F3 grubu HE boyama x40.....	72
Resim 4.34. F4 grubu HE boyama x20.....	72
Resim 4.35. F1 grubu MT boyama x20.....	73
Resim 4.36. F2 grubu MT boyama x20.....	73
Resim 4.37. F3 grubu MT boyama x20.....	74
Resim 4.38. F4 grubu MT boyama x20.....	74
Resim 4.39. F1 grubu aktin boyama x40.....	75
Resim 4.40. F2 grubu aktin boyama x40.....	75
Resim 4.41. F3 grubu aktin boyama x40.....	76
Resim 4.42. F4 grubu aktin boyama x40.....	76
Resim 4.43. F1 grubu CD34 boyama x20.....	77
Resim 4.44. F3 grubu CD34 boyama x40.....	77

ÖZET

ANJİYOGENEZİN GEBE RAT OVARYUM MEDULLASINDA VE FETAL DERMİSTE ARAŞTIRILMASI

Esra KALENDER KÖK

Yüksek Lisans Tezi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Ayhan ERALP

Ocak 2018, 98 sayfa

Bu çalışmada sıçanların gebelik sürecinde ovaryumlarındaki ve fetal sıçan derilerindeki damarlarda doğuma kadar meydana gelen gelişim ve değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 25 adet dişi ve 4 adet erkek Wistar albino türü sıçan kullanıldı. Gebe olmayan 5 adet dişi sıçan ile kontrol grubu oluşturuldu. Gerekli koşullar sağlanarak kalan 20 dişi sıçanın gebe kalması sağlandı. Gebeliğin 14., 17., 20. günleri ve doğumunun ilk günündeki sıçanlardan oluşan 4 grup oluşturuldu. Tüm anne sıçanların belirlenen günlerde her iki ovaryumu alındı. Tüm fetal ve henüz yeni doğan sıçanlardan belirlenen günlerde deri örnekleri incelenmek üzere alındı. Bu aşamadan sonra çalışma iki ayrı bölümde devam ettirildi. Anne sıçanlardan alınan ovaryumlar ile 4 ayrı grup, fetal ve postnatal dönemin ilk günündeki sıçanlardan alınan deri örnekleri ile de 4 ayrı grup oluşturuldu. Dokuların parafin kesitleri hematoksilin eozin, masson trikrom, aktin ve CD34 boyaları kullanılarak ışık mikroskobunda incelendi. Elde edilen bulgular, gebeliğin 14. ve 17. günlerinde, ovaryum medullasında yoğun damarlanma olduğunu, 20. günde ve doğumun ilk gününde damarlanmanın azaldığını gösterdi. Postnatal dönemin ilk günündeki sıçan ovaryumunda, diğer gruplara göre atretik folliküllerde damarlanmanın azaldığı gözlemlendi. Ayrıca gebelik ilerledikçe dermisde birim kareye düşen damar sayısı artarken, postnatal dönemin ilk günündeki grupta azaldı.

Anahtar Sözcükler: aktin, anjiyogenez, dermis, medulla, ovaryum.

ABSTRACT

RESEARCH ON ANGIOGENESIS IN PREGNANT RAT OVARY MEDULLA AND THE FETAL DERMIS

Esra KALENDER KÖK

Master of Science, Department of Histology and Embryology

Consultant of Thesis: Yrd. Doc. Dr. Ayhan ERALP

January 2018, 98 page

The aim of the research is to find out the development and changes occurring in the ovary of rat during pregnancy and in the veins of the fetal rat skin until birth. In this research twenty-five female and four male Wistar albino rats were used. The control group was formed with five non-pregnant female rats. Providing the necessary conditions, twenty rats became pregnant. Four groups were formed according to their 14th, 17th, 20th days of pregnancy and on the day of birth. The two ovaries of all mothers were extracted on the predetermined days. Examples of skin from the fetal and newborns were taken to be researched on the pre-determined date. After this phase, the research continued as two different researches. The ovaries taken from the mother rats from four groups and the skin example taken from the fetal and postnatal period on the first day of birth from other four groups. The paraffin sections of the tissue were studied under light microscopy with the help of hematoxylin eosin, masson trichrome, actin (SMA) and CD34 stains. The findings of the research shows that the vascularization in the medulla of the ovary is dense in different areas, on the 14th and 17th days of the pregnancy and that the vascularization decreases on the 20th days of pregnancy and on the day of birth. It is observed on the first day of the postnatal period of the rat ovary the vascularization in the atretic follicles decreased compared with other groups. Moreover, when the pregnancy was proceeding the number of the vessels increased at the square per unit in the dermis whereas the number of vessels decreased in the group of the postnatal period, on the 1st day.

Key words: actin, angiogenesis, dermis, medulla, ovary.

1.GİRİŞ

Ovaryumlar, iri badem büyüklüğünde, pelviste sağda ve solda kendilerine ait çukurcuklara (fossa ovarica) yerleşik iki organdır. Her bir ovaryum yaklaşık 3-3,5 cm uzunluğunda, 2-3 cm eninde ve 1-1,5 cm kalınlığındadır. Ağırlığı da 3 - 5 g. kadardır (1). Hem endokrin hem de ekzokrin bir bezdir. Ekzokrin işlevi puberte döneminde başlayarak menopoza kadar süren ve 28 günlük sikluslarla bir dişi yumurta hücresinin (sekonder oosit) üretilip holokrin tip salgılamayla atılmasıdır. Endokrin işlevi ise, steroid yapısında hormonlar olan östrojen ve progesteronun salgılanmasıdır. Bu hormonların oogeneziste çok önemli görevleri vardır (2, 3, 4).

Ovaryum, tek katlı yassıdan kısa kübik epitele kadar değişkenlik gösteren bir epitel ve epitelin hemen altındaki tunika albuginea denilen bağ dokusu bir tabaka ile çevrilmiştir. Histolojik kesitlerde içte medulla dışta da korteksten oluştuğu görülür. Medulla gevşek bir bağ dokusu olup, bol damar ve sinir içerir. Kortekste ise, farklı olgunlaşma aşamalarında bulunan dişi üreme hücresini içerisinde barındıran follikül adı verilen yapılar bulunur (2, 5).

Deri, bedenimizi dışarıdan çepeçevre saran, yaklaşık 4 kg ağırlığında, vücudumuzun en büyük organıdır (6). Deri canlı vücudunu dış ortama karşı örterek onu dış etkenlerden koruyan bir yapıdır. Ayrıca duyu, sekresyon ve çevreye uyum gibi fonksiyonlar yanında bazı omurgalı hayvanlarda solunumu da üstlenmiştir. Yaşama ortamlarına, canlıların türüne ve vücutta bulunduğu bölgelere göre yapısal farklılıklar gösteren bu yapı, temelde epidermis ve dermis olmak üzere iki bölümden oluşur. Epidermis, çok katlı yassı epitelden ibaret olup kıl, tırnak, tüy, yağ ve ter bezlerini içerir, ektodermden gelişir. Dermis, epidermis altında yayılan yoğun bir bağ dokusudur. Bu doku ise mezodermden gelişir. Dermisin altında gevşek bağ dokusu yapısında olan hipodermis bulunur. Hipodermis deriyi diğer vücut tabakalarına bağlar (4, 5, 7).

İnsanların hayatlarını devam ettirebilmeleri; besin ve oksijenin organ ve dokulara taşınmasını bunun yanında dokulardan atık maddelerin uzaklaştırılmasını sağlayan kompleks yapıdaki damar ağına bağlıdır. Damarsal yapının oluştuğu ilk evreye

vaskulogenez denmektedir. Anjiyogenez ise, endotel hücrelerinin kümelenmesi ile oluşan kapillerlerin dallanması, genişlemesi ve küçük damarların büyüüp filizlenmesidir (8). Fizyolojik olarak sıkı bir denetim altında ve nadiren gerçekleşen anjiyogenez, yara iyileşmesi esnasında ve dişi üreme sisteminde bolca meydana gelmektedir (9, 10).

Bu çalışmada 14, 17 ve 20 günlük gebe ve yeni doğum yapmış anne sıçanların ovaryum medullasında ve folliküllerindeki anjiyogenez ile birlikte, 14, 17 ve 20 günlük fetal ve doğumlarının 1. günündeki sıçanların dermisinde gelişen anjiyogenez süreçlerinin, papillaların ve kıl folliküllerinin histolojik olarak incelenmesi amaçlandı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kadın Genital Sistemi

Kadın üreme sistemi organları, kadın cinsiyet hücrelerinin (yumurta hücresi ve ovum) üretilmesi ve korunması; bu hücrelerin fertilizasyon (döllenme) bölgesine taşınması; dölün dışarı hareketi ve kadın cinsiyet hormonlarının üretilmesinden sorumludur.

Primer kadın üreme organları overlerdir. Overler, kadın cinsiyet hücresini ve cinsiyet hormonlarını üretir. Kadın üreme sisteminin diğer organları, tuba uterina, uterus, vajina, labia majör, labia minör, klitoris ve vestibüldür.

Overler, pelvis boşluğunun yan duvarlarında, kendilerine ait özel çukurlar içine yerleşmişlerdir. Pelvis duvarına ve uterustan uzanan tüplere ligamentler aracılığı ile tutunmuştur. Bu ligamentler overlerin bulundukları yerdeki pozisyonlarını korumalarını sağlarlar (3, 5, 11).

Foliküller, olgunlaşmamış ovum hücrelerinin bulundukları torbacıklardır. Kız çocuğu doğduğunda overlerinde 400 bin kadar follikül bulunur.

Ovulasyon follikülde olgunlaşan ovum hücresinin follikülün yırtılması ile serbest bırakılmasıdır. Ovulasyondan sonra, ovum uterus tüplerine gönderilir.

Tuba uterina, yumurta hücrelerini uterusu doğru taşırlar. Her tuba uterinanın uterusu açılan ucunda genişleme meydana gelir. Yumurtanın uterusu doğru hareketine tüp duvarında bulunan slia hücreleri ve tüp duvarının peristaltik kasılmaları yardımcı olur.

Uterus, embriyoyu alır ve uterus içindeki gelişimi boyunca barındırır. Uterus duvarı, endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum tabakalarından oluşmaktadır (1, 4).

Vajina, uterusu vestibüle bağlayan kanal şeklinde bir organdır. Uterus salgılarını ve doğum sırasında fetüsü dışarı taşır. Vajina duvarı mukoza, kas ve fibröz örtüden oluşmaktadır. Labia majörler adipoz doku ve deri katlarından oluşan, diğer kadın dış

uterus tabanı

tuba uterinanın uterus bölümü

istmus

mezosalpinks

ampulla

ovaryum arteri

ovaryum asıcı bağ

infundibulum

fimbriya

mezovaryum

ovaryum

ovaryum bağı

mezometriyum

perimetriyum

uterus arteri

endometriyum

miyometriyum

mukozal kıvrımlar

uterus boşluğu

uterus gövdesi

internal os

servikal kanal

serviks

eksternal os

vajina

Uterus duvarı 3 kısımdan oluşur:

- Endometriyum: İç katmandır. Uterus boşluğunu kaplar.
- Miyometriyum: Orta katmandır. Daha kalın yapıdadır.
- Perimetriyum: Dış tabakadır. Uterusun periton ile kaplı olan kısmıdır. (Şekil 2.1)

(12).

2.1.1.3. Ovaryumun Anatomisi

Ovaryumlar pelvis minor'un dış-yan duvarındaki fossa ovarica denilen çukurda yer alır. Ovaryumlar sağ ve sol olmak üzere bir çifttir, şekilleri bademe benzer. Her bir ovaryum

pembemsi-beyaz renkte, solid nodüler yüzeyle, 3-3,5 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde 1-1,5 cm kalınlığında ve 3-5 gr ağırlığındadır. Erkekteki testisin karşılığıdır (1, 6, 7).

Embriyonal yaşamın başlangıcında ovaryumlar, intraabdominal yerleşimli iken, gelişimin ikinci ayından başlayarak aşağıya pelvis boşluğuna doğru inmeye (descensus ovarii) başlarlar. Bu süreç testisin inişine göre daha kısa sürede tamamlanır. Ovaryum bu inişle pelvis minor'un duvarında ki fossa ovarica (Krause çukuru) denilen çukurlara yerleşirler (6). Fossa ovarica, a. İliaca externa ile a. iliaca interna arasında bulunur. Bu çukuru, alt-ön taraftan, lig. latum uteri'nin tabanı; yukarıdan, a. iliaca externa ve arkadan, ureterler sınırlar. Çukurun dibinde ve periton (peritoneum)'un altından a. v. obturatoria ile n. obturatorius geçer. İlk gebelikte ovaryumlar, uterus ile karın boşluğuna doğru çekilirler ve bir daha aynı yerlerine dönemezler. Çoklu doğumlarda ovaryumlar biraz daha aşağıda bulunur. Tuba uterina'nın arka ve alt kısmında bulunan ovaryumlar, lig. latum uteri içinde bulunurlar. Uzun eksenini hemen hemen vertikal yöndedir. Pembemsi-gri renkli olan ovaryumların yüzü ergenlik çağına değin peritonla örtülü olup düz ve parlaktır. Pubertadan sonra periton özelliğini yitirir ve matlaşır. Ovulasyon ve doğurmaya koşut olarak da üzeri pürüklü bir görünüm alır (4).

Ovaryumun facies medialis ve facies lateralis adı verilen iki yüzü, extremitas tubaria (üst uç) ve extremitas uterina (alt uç) adı verilen iki ucu, margo mesovaricus (ön kenar) ve margo liber (arka kenar) denilen iki kenarı vardır. Medial yüzü pelvis boşluğuna bakar, ince bağırsak kıvrımları ve colon sigmoideum ile komşudur. Dış yüzü fossa ovarica'yı örten parietal periton ile komşuluk yapar. Ovaryum büyük periton boşluğu içinde olup yüzleri periton ile örtülü değildir. Üst ucunda fimbria ovarica ve lig. suspensorium ovarii tutunur. Bu ligament içinde a.v. ovarica ve plexus ovaricus'tan ovarium'a gelen dallar bulunur. Ovarium'un alt ucu pelvis döşemesine doğru uzanır. Bu uçtan başlayan lig. ovarii proprium uterusun dış köşesine yapışır. Ön kenarı lig. mesovarium ile lig. latum uteri'nin arka-üst yüzüne tutunur. Bu kenarda yer alan damar ve sinirlerin girip çıktıkları yere hilum ovarii denir (6).

Ovariumun dışta cortex ovarii ve medulla ovari olmak üzere iki tabakası vardır. Cortex ovari'de folliküller bulunur. Folliküller her menstüel siklusa olgunlaşarak ovumu yapar. Doğumda ovaryumda 100-400 bin adet follikül mevcuttur. Ancak ergenliğe

kadar bu folliküllerin çoğu dejenere olur ve puberteden sonra yaklaşık 400 adet follikül olgunlaşarak ovumu meydana getirir. Medulla çok sayıda damar ve elastik lif içerir (6, 13).

Arterleri: A. ovarica'lar ile beslenir. A. ovarica'lar L2 vertebra seviyesinde aorta abdominalis'ten ayrılır. Intrauterin hayatta ovaryumlar karın boşluğu içindedir. Daha sonra pelvise inerler. Bu nedenle a. ovarica'lar aorta abdominalis'ten karın boşluğu içinde ayrılır ve aşağıya doğru seyrederek ovaryuma ulaşır. A. ovarica mezovaryum içinde ovaryuma giden dallarını verir. Bu dallar hilum ovarii'den içeri girdikten sonra foliküllerin çevresinde dağılır. A. ovarica, lig. latum uteri içinde medialde seyredip tuba uterinaya dağılır ve a. uterina ile anastomoz yapar. Ayrıca a. uterina'nın ramus ovaricus'undan da beslenebilir.

Venleri: Plexus pampiniformis adı altında hilum ovarii'den çıkar. Bu ven pleksusu daha sonra v. ovarica'yı oluşturur. Sağ v. ovarica, v. cava inferior'a, sol v. ovarica ise sol v. renalis'e dökülür (8).

Lenfatikleri: Ovaryumun lenf damarları nodi preaortici ve aortici lateralis'e drene olur.

Sinirleri: Plexus ovaricus tarafından sağlanır. Sempatik lifler medulla spinalis'in T 10-11 segmentlerinden, parasempatik lifler ise n. vagus'tan gelir (6).

2.1.1.1. Ovaryumun Histolojisi

Ovaryum, tek katlı yassıdan kısa kübik epitele kadar değişkenlik gösteren bir epitel (germinal epitel) ile çevrilmiştir (2, 12, 13, 14). Epitelin peritona bakan yüzünde mikrovilluslar ve az sayıda kinosilyalar gözlemlenir. Epitelin hemen altındaki tunika albuginea denilen bağ dokusu bir tabaka ile çevrilmiştir. Yaş ilerledikçe kalınlaşır ve sertleşir. Az damarlı, düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındadır. Kollajen lifler yüzeye paralel demetler meydana getirirler (15). Kesitlerde, korteks (kabuk) ve medulla birbirinden kesin bir çizgiyle ayrılmaz. Eni geniş olan korteks, bağ dokusu ve içinde primer oositlerin (I. Mayozun profaz evresinin sonunda bekleyen) bulunduğu primordiyal folliküller içerir (2). Farklı olgunlaşma aşamalarında bulunan dişi cins hücrelerini içerisinde barındıran follikül adı verilen yapılar bulunur (8, 16). Medulla,

hilustan ovaryuma giren; gevşek bir bağ dokusu, interstisyel hücreler, sinirler, lenf ve kan damarlarından oluşmuştur (2, 4, 8, 11).

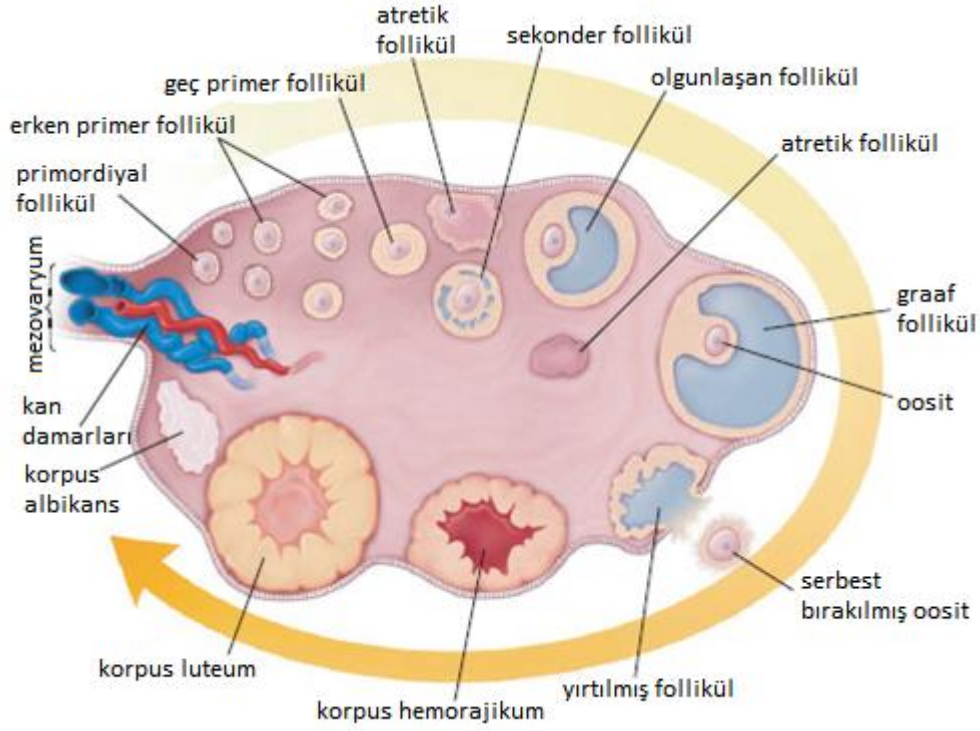
Ovaryumun fonksiyonları;

1. Dişi gamet üretimi
2. Östrojen ve progesteron oluşturmaları
3. Doğumdan sonra çocuğun üreme organlarının büyümesinin düzenlenmesi
4. Sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişmesi (2, 4).

Hem endokrin hem de ekzokrin bir bezdir. Ekzokrin işlevi puberte döneminde başlayarak menapoza kadar süren ve 28 günlük sikluslarla bir dişi yumurta hücresinin (sekonder oosit) üretilip holokrin tip salgılamayla atılmasıdır. Endokrin işlevi ise, steroid yapısında hormonlar olan östrojen ve progesteronun salgılanmasıdır. Bu hormonların oogeneizde çok önemli işlevleri vardır (8, 17).

Foliküller:

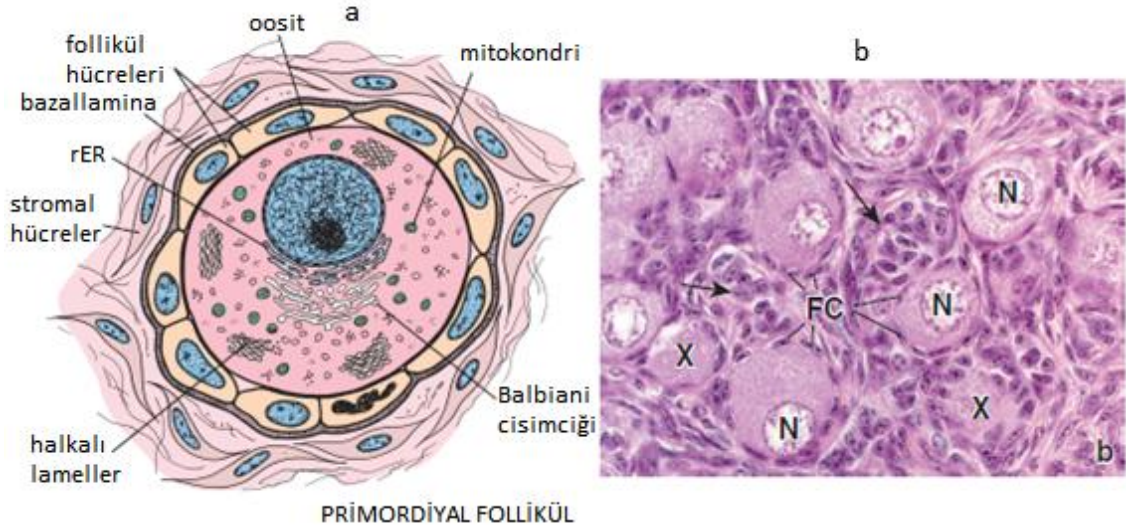
Ovaryum follikülü, bir primer oosit ve bunu çevreleyen follikül hücreleri ya da granüloza hücrelerinden oluşur. Ovaryum folliküllerinin gelişimi folliküler hücrelerin otokrin ve parakrin salgıları, ovaryum steroidleri ve hipofiz bezinden salgılanan follikül stimulan hormon (FSH) ve lüteinizan hormon (LH) gibi gonadotropinler ile kontrol edilir (Şekil 2.2) (5).



Şekil 2.2. Ovaryumun şematik resmi (12). Bu çizim, erken primer follikülten olgun (Graaf) folliküle kadar, follikül gelişim evrelerini gösterir. Folliküllerin olgunlaşması ok yönünde gerçekleşir. Ovulasyondan sonra folliküldeki değişiklikler, korpus luteumun gelişmesine ve nihayetinde korpus albicansın gelişmesine yol açar. Ovaryumun hilumunda ve medullasında sarmal kan damarları bulunur (12).

1. Primordiyal Folliküller

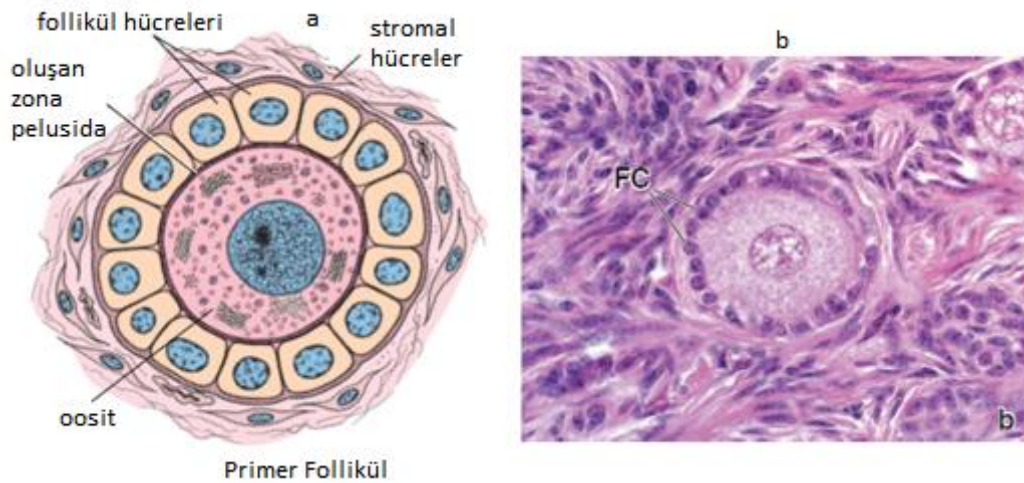
Doğumdan önce ovaryumda bulunan folliküllerdir. Kortekste, germinal epitelin hemen altında bulunurlar. İçerdikleri primer oositler tek katlı yassı ya da kübik olabilen folliküller hücrelerle kuşatılmıştır. Primordiyal folliküllerdeki oositlerin belirgin bir çekirdeği ve çekirdekçisi vardır. Organeller sitoplazmada dağınık olarak bulunurlar. Ayrıca golgi kompleksini andırır biçimde düzenlenmiş birbirine paralel sisternalar ve ufak veziküllerden oluşmuş annulate lameller vardır. Bu yapı büyüyen ve olgun oositlerde çok sayıdadır (Şekil 2.3) (4, 5, 8).



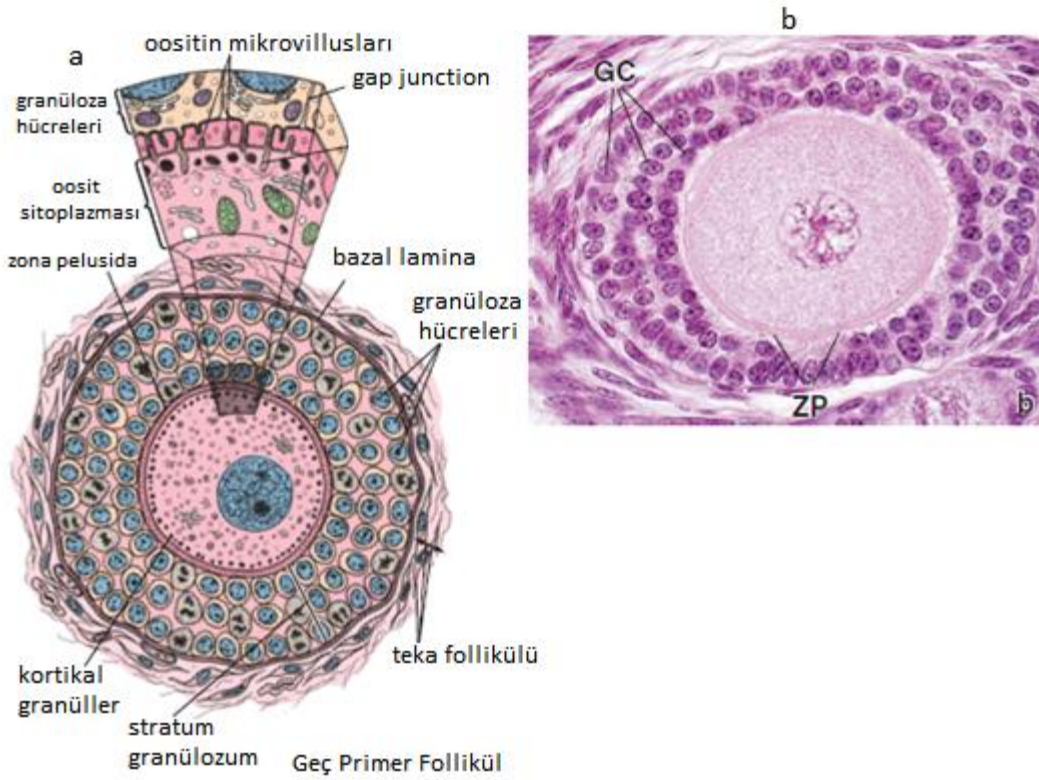
Şekil 2.3. Primordiyal follikül **a.** Primordiyal bir follikülün şematik çizimi, 1. Mayozun profazındaki oosit. Oosit, skuamöz follikül hücrelerinin tek bir tabakası ile yakından çevrilidir. Bu hücrelerin dış yüzeyi bir bazal tabakayla bağ dokusundan ayrılır. **b.** Primordiyal folliküllerin bu fotomikrografisi (12).

2. Primer Follikül (olgunlaşmakta olan follikül)

Tek sıralı veya birkaç tabakalı folliküler hücrelerle çevrilmişlerdir (Şekil 2.4, 2.5) (4, 5, 8, 18).



Şekil 2.4. Erken primer follikül **a.** Gelişimin erken safhasındaki primer bir follikülün şematik çizimi. Oosit ve bitişik follikül hücreleri arasındaki zona pelusidanın oluşumu gösterilmektedir. Tek bir katmanlı follikül hücreleri, büyüyen oositi kuşatır. **b.** Primer bir follikülün fotomikrografisi (12).



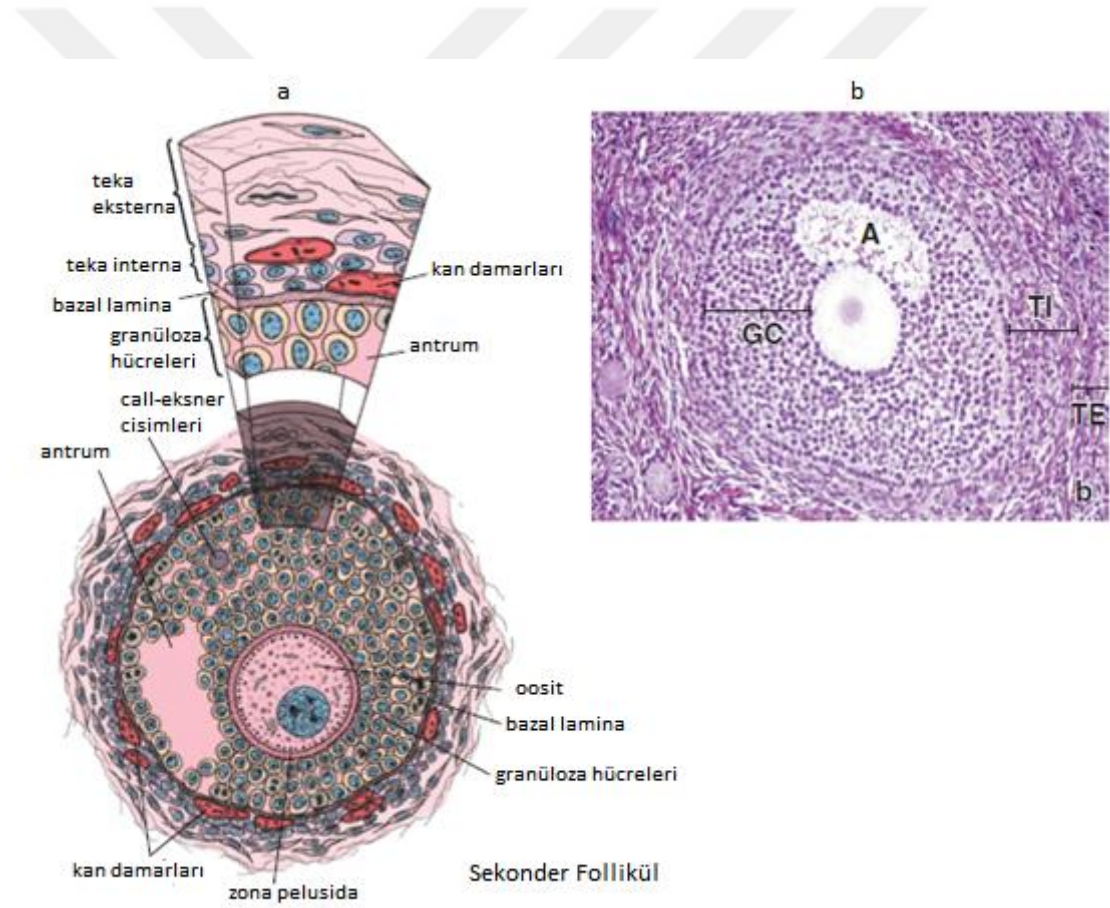
Şekil 2.5. Geç primer follikülün şeması **a.** Oositi çevreleyen çok tabakalı granüloza hücreleri bulunmaktadır. Granüloza hücrelerinin en içteki katmanı zona pellusidaya bitişiktir ve bu hücrelerin en dış katmanı, şu an teka tabakası adı verilen stromal hücelere bitişik bazal lamina üzerine oturmaktadır. Granüloza hücreleri oositin plazma membranına temas eder. **b.** Geç birincil follikülün fotomikrografisi. Primer oositi çevreleyen granüloza hücreleri (GC) çok katmanlı görünür. Zona pellusida (ZP), oosit ve follikül hücreleri arasında bulunur (12).

3. Sekonder Follikül (veziküler follikül)

Büyüyen folliküllerde gözlenen değişiklikler hem follikül hücrelerinde hem de oositin kendisinde gözlenir. İlk dönemde follikül hücrelerinin tamamı kübik iken giderek mitotik aktiviteleri artar ve çok katlı olarak granüloza hücrelerini meydana getirirler. Oosit de büyür ve çevresinde homojen, asidofilik boyanan zona pellusida gelişir. Zona pellusida içinde folliküler hücrelerin ve oositin mikrovillusları bulunur. Folliküllerde bu yapısal değişiklikler meydana gelirken, stroma da olaya katılır ve bir dizi değişim gösterir. Follikül çevresindeki bağ dokusu yapısında meydana gelen değişiklikten sonra teka follikülü (theca folliculi) adını alır. Bu yapı bir süre sonra teka interna ve eksterna olarak ikiye ayrılır. Teka interna hücreleri farklılıklarını tamamladıklarında steroid sentezleyen hücrelerin yapısal özelliklerini kazanırlar. Bu hücrelerin androjen salgıladığı ve bu salgının daha sonra granüloza hücreleri tarafından östrojene dönüştürüldüğü kabul edilmektedir. Dış tabakada bağ dokusu hücreleri ve kılcıl damarlar bulunur ve bu damarlarla salgı hücreleri arasında kapiller pleksusu vardır.

Oosit büyüdükçe ve organel dağılım ve düzeninde de değişiklikler gözlenir. Tek olan golgi aygıtı çoğalarak sitoplazmaya yayılır. Sitoplazmada granüllü endoplazmik retikulumu ve serbest ribozomların sayısı artar (12, 17, 18).

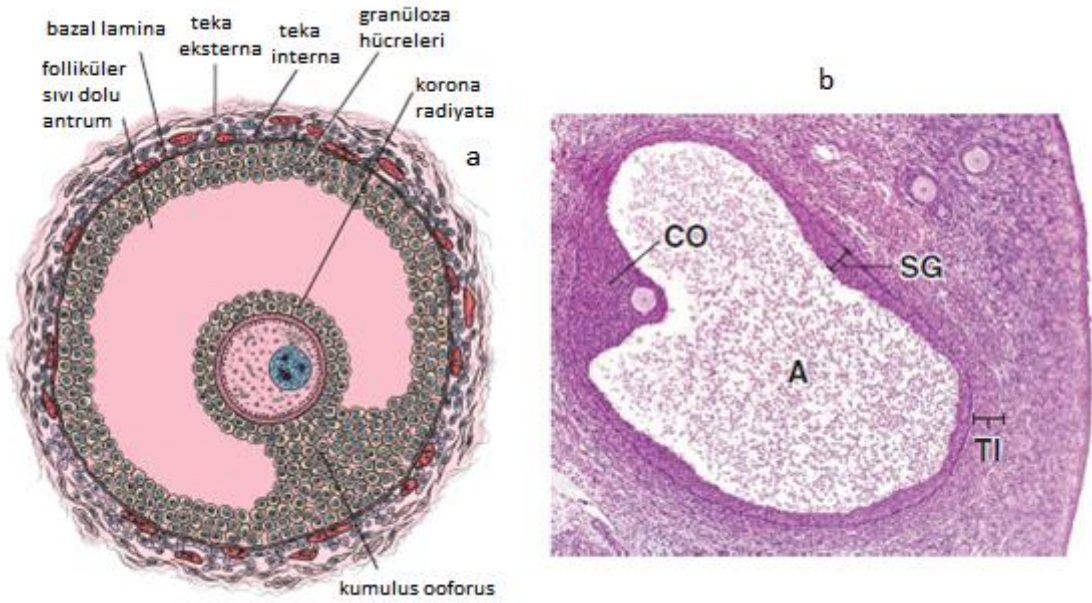
Oositin büyümesiyle eş zamanlı olarak granüloza hücreleri de çoğalır ve bir süre sonra bu hücreler arasında hiyalüronik asitten zengin bir sıvı birikmeye başlar. Boşluklar birleşerek tek bir boşluk (cavum follikülü, antrum) olur ve içinde liquor follikülü adı verilen bir sıvı bulunur. Bu dönemde folliküle antral follikül de denir (8). Granüloza hücrelerinin çok az bir bölümü oositi antrumun çevresinde ince bir tabaka olarak çevreleyerek granüloza hücrelerine bağlar ve kumulus ooforus adını alır (Şekil 2.6) (8, 12, 19).



Şekil 2.6. Sekonder follikül **a.**Granüloza hücreleri arasında küçük sıvı dolu boşlukların kaynaşmasıyla ortaya çıkan, sıvı dolu antrumu gösteren sekonder follikül şematik çizimi. Aktif olarak büyüyen bu follikülün birçok bölünen granüloza hücresi vardır. Gölge alanın genişlemesi, granüloza hücrelerinin, bazal laminanın, teka interna ve teka eksterna arasındaki ilişkiyi gösterir. Teka interna hücreleri yüksek vaskularize steroid üreten hücrelere ayrılırlar. Teka interna, teka eksterna adı verilen stromal hücrelerin dış bir katmanı ile çevrilidir. Bazal lamina granüloza hücrelerini teka internadan ayırır. **b.** Sekonder follikülün fotomikrografisi. Follikül sıvısı ile dolu antrum (A), stratum granulosum (GC) içinde görülebilir. Teka interna hücrelerinin (TI) ve teka eksterna hücrelerinin (TE) birden fazla tabakası sekonder follikülün bazal laminasının dışında görülebilir (12).

4. Graaf Follikül (olgun follikül, tersiyer follikül)

Yaklaşık 2-2.5 cm çapındadırlar ve ovaryum yüzeyinde çıkıntı oluştururlar. Antrum, içinde sıvı birikmesinden dolayı giderek büyür ve granuloza hücreleri ince bir tabaka halinde bu boşluğun iç yüzeyini döşer. Bu evrede kumulus ooforus hücreleri zona pellusidanın hemen üzerinde prizmatik bir şekil alarak düzenlenir ve korona radiyata hücreleri olarak bilinirler (Şekil 2.7) (5, 8, 12).



Şekil 2.7. Graaf follikül **a.** Kumulus ooforusun içinde, bir oosit içeren, büyük bir antruma sahip olgun (graaf) follikül. Oositi hemen çevreleyen kumulus ooforus hücreleri, ovulasyondan sonra onunla birlikte kalır ve korona radiata olarak adlandırılır. **b.** Büyük sıvı dolu antrum (O) ve oosit içeren kumulus ooforusuna (CO). Antrumun lümenini çevreleyen kalan hücreler, granuloza tabakasını (stratum granulosum, SG) oluştururlar (12).

2. 1. 1. 1. A. Oogenez

Doğum Öncesi Olgunlaşma (Prenatal maturasyon)

İlkel dişi cins hücreleri olan oogonyumlar, mitozla çoğalarak kümeler oluştururlar ve etrafları tek katlı yassı hücreler tarafından sarılır (3. ayın sonunda tek katlı kübik epitel ile sarılırlar). Çoğalan oogonyumların bir kısmı büyüyerek primer oositleri meydana getirir.

Primer oositlerin DNA'ları replike olur ve birinci mayoz bölünmenin profaz safhasına girerler. Gelişmenin 5. ayında ovaryumlarda yaklaşık 7 milyon oogonyum bulunur. Gerek oogonyumların gerekse primer oositlerin çoğu dejenere olur ve 8. ayda hemen hiç oogonyum kalmaz.

Sağlam kalan primer oositlerin tümü, 1. mayoz bölünmenin profaz safhasında (profaz I, diploten) kalırlar ve etrafları tek katlı yassı epitel hücreleri ile çevrelenir. Bu primer oosit, çevresindeki tek sıralı epitel hücreleriyle birlikte primordiyal follikül olarak bilinir (5, 8, 11).

Doğum Sonrası Olgunlaşma (postnatal maturasyon)

Doğumda tüm primer oositler 1. mayoz bölünmenin profaz safhasındadır. Daha sonra bu hücreler metefaza geçmek yerine diploten dönemi adı verilen uzun bir dinlenme dönemine geçerler. Ancak, puberte döneminde overden atılmadan kısa süre önce 1. mayozu tamamlarlar.

Puberteye kadar primer oositlerin mayozu bitirip olgunlaşmasını, oositi saran follikül hücrelerinden salgılayan oosit matürasyonunu inhibe edici madde (OMI) engeller. Doğumda yaklaşık 1-2 milyon kadar primer oosit bulunur (doğumdan sonra artık primer oosit meydana gelmez). Çocuklukta oositlerin çoğu dejenere (atretik) olur. Puberteye gelindiğinde ise genç kızın ovaryumlarında yaklaşık olarak toplam 400.000 adet primer oosit bulunur.

Puberteye ulaşıldığında, hipotalamusdan salınan gonadotropin salgılayıcı faktör (GRH), hipofizden FSH ve LH salınımına yol açar. FSH ve LH'nın etkisiyle genç kızlarda, gerek overlerde gerekse uterus endometriyumunda bir dizi değişiklikler meydana gelir. Bu siklus her ay düzenli olarak devam eder. Bu siklusa genital ya da menstrüel siklus adı verilir. Genital siklusa, overlerde gelişen değişikliklere, ovariyal siklus (ovaryum siklusu); endometriyumda gelişen değişikliklere de endometriyal siklus (uterus siklusu) adı verilir (5, 8, 16, 17).

Ovariyal Siklus

Her siklusta, FSH'nin etkisiyle overlerdeki 5-15 adet primordiyal follikül gelişip büyür. Ancak bunlardan sadece bir tanesi, özellikle LH'nin etkisiyle tamamen olgunlaşır. Daha sonra olgun follikül, ovaryum yüzeyi ile birlikte yırtılır ve içindeki olgun dişi cins hücresi olan oosit II (sekonder oosit) dışarı atılır (primordiyal follikülden tersiyer follikül oluşması ve ovulasyon için geçen süre 14 gündür). Geriye kalan 4-14 follikül farklı gelişme aşamalarında yavaş yavaş geriler, dejenere olurlar ve yok olup giderler. Bu dejenere olan folliküllere atretik follikül denir.

Böylece, kadının puberteden başlayıp, menapoz dönemine kadar olan tüm cinsel yaşamı boyunca yaklaşık olarak 350-400 adet olgun follikül yırtılır ve oosit II (sekonder oosit) atılır (2, 4, 8).

Folliküllerin Gelişmesi

Primordiyal folliküllerde yer alan primer oositler yaklaşık 30 mikrometre çapındadır. Çevresi tek sıralı yassı follikül hücreleri ile sarılmış durumdadır. Hipofizden salınan FSH'nin etkisiyle sırasıyla gerek primer oositte, gerekse çevredeki follikül hücrelerinde ve follikül hücrelerinin yakın çevresindeki ovaryum stromasında bir dizi değişiklikler başlar (8, 12).

Primer Follikülün Gelişmesi

Primer oositler büyürler ve çevresindeki tek katlı follikül epitel hücreleri mitozla çoğalarak, tek katlı kübik ya da çok katlı epitel hücrelerine dönüşürler. Bu follikül hücrelerine artık granüloza hücreleri adı verilir. Granüloza hücrelerinin çevresindeki ovaryum stroması da sıklaşarak teka follikülünü meydana getirir.

Ortada, büyüyüp gelişmiş olan primer oosit, çevresinde tek katlı ya da çok katlı granüloza hücreleri ve çevrede de teka follikülü beraberce primer follikül (125-250 mikron) yapısını oluştururlar. Bu arada, primer oosit ile granüloza hücreleri arasında her iki hücrenin ortak bir ürünü olan zona pellusida adı verilen bir yapı gelişir (4, 5, 11).

Sekonder Follikülün Gelişmesi

Primer folliküldeki granüloza hücrelerinin bulunduğu tabakada yer yer içi sıvı dolu küçük boşluklar meydana gelir. Follikül sıvısı adı verilen bu sıvı hyalüranik asitten özellikle zengindir. Bu içi sıvı dolu boşluk giderek büyür ve antrum adını alır. Böylece oluşan bu yeni folliküle, sekonder antral veya veziküler follikül (0.2 mm) adı verilir. Teka follikülü, hücre ve kan damarlarından zengin teka interna ve sıkı bağ dokusu yapısındaki teka eksternaya farklanır.

Teka interna hücreleri farklılaşmalarını tamamladıklarında steroid hormon salgılayan hücrelerin yapısal özelliklerini kazanırlar. Bu hücrelerin androjen salgıladığı ve bu salgının daha sonra granüloza hücreleri tarafından östrojene dönüştürüldüğü kabul edilmektedir (8). Teka interna sekretuvar hücreleri, fibroblastı ve kollajen lifleri içerir. Teka internanın dış tarafında yer bulunan teka eksternada fibroblast benzeri hücreler, düz kas hücreleri ve kollajen lif demetleri bulunmaktadır (10, 17).

Tersiyer Follikülün Gelişmesi

Sekonder follikül büyürken antrum at nalı şeklinde genişler ve granüloza hücre sırası farklılıklar gösterir. Primer oosit ile bağlantılı olduğu yörede kalın, diğer yerlerde ince ve eşit bir sıralama gösterir. Primer oositi saran ışınal olarak düzenlenmiş granüloza hücrelerine, korona radyata denilir ve primer oosit ve korona radyata hücreleri birlikte antruma doğru bir tümsek oluştururlar, bu tümsek ya da çıkıntıya, kumulus ooforus (yumurta tümseği) adı verilir. Bu folliküllere, olgun ya da graaf follikülü (tersiyer follikül; 2,5 cm) adı verilir. Bu sırada genital siklusun 14. gününe gelinmiş ve ovulasyon yaklaşmıştır.

Kumulus hücrelerinin işlevi, fertilizasyonun gerçekleşmesi için ideal bir çevre oluşturmak ve gametleri fertilizasyon için hazırlamaktadır. Başlangıçta kompakt bir yapı olan kumulus hücreleri preovulatuvar dönemde bazı yapısal değişiklikler gösterir. Oositler de bu değişikliklere matürasyonlarını sürdürerek eşlik ederler. Preovulatuvar dönemde, gonadotropinlerin yükselmesine bağlı olarak granüloza hücreleri proteoglikan ve glikozaminoglikan salgırlar. Follikül sıvısında bulunan kondroitin sülfat ve heparan sülfat etki mekanizmaları ve etkili oldukları olaylar sebebiyle birçok araştırmaya konu

olmuşlardır. Follikül sıvısındaki bir diğer yapı da hyalüronik asittir. Ovulasyon boyunca devam eden, kumulus hücreleri ve oositin geçirdiği değişikliklere musifikasyon adı verilir. Bu süreçte granüloza hücreleri birbirlerinden ayrılırken oosit de mayoz bölünme aktivitesini hızlandırır. Heparan sülfat ve kondroitin sülfat granüloza hücreleriyle fibroblastlar tarafından salgılanırlar. Hyalüronik asitinde kan kökenli olduğu kabul edilmektedir (5, 8, 11, 17).

Follikül büyümesinin son aşamasında; kumulus ooforus hücreleri giderek azalır. Bunun sonucunda hücreler arasında içi sıvı dolu boşluklar oluşur. Bu boşlukların giderek artması ve sonra da birleşmeleri sonucunda, kumulus ooforus hücreleri ile primer oosit arasındaki bağlantı gevşer. Sonuçta, primer oosit, z. pellusida ve kumulus ooforustan ayrılırlar ve follikül boşluğunda serbest gezinmeye başlar.

Teka internadaki hücreler östrojen salgılamak, granüloza hücreleri östrojen, progesteron ve steroid olmayan gonadostatin salgılar. Östrojenlerin esas kaynağı granüloza hücreleridir (4, 5, 8).

2. 1. 1. 1. B. Ovulasyon

Genital siklusun ortasında (14. günde), FSH ve LH'nin etkisi altında, olgun folliküllerden birinin follikül sıvısı aniden artar ve follikül duvarının bir yerinde **stigma** adı verilen bir çıkıntı belirir.

Matür follikülün büyümesiyle ovaryum yüzeyine yaptığı baskı artar ve o yörede avasküler bir bölge oluşur. Makula pellusida veya stigma olarak adlandırılan bu bölge artan iç basınç ve doku kanlanmasıyla giderek azalmasıyla yırtılır ve oosit, çevresindeki yapılarla birlikte atılır. Ovulasyondan hemen önce gözlenen LH yükselmesinin de etkili olduğu bilinmektedir.

LH'nin en yüksek düzeye ulaştığı bir anda, ovulasyondan kısa bir süre önce ya da ovulasyon anında, primer oosit 1. mayoz bölünmesini tamamlar ve 23 çift yapılmış kromozom taşıyan, diploit miktarda iki cins hücresi oluşur. Birinci hücre büyüktür, sekonder oosit adını alır. Diğer hücre çok küçüktür ve 1. polar cismi adını alır. Sekonder oosit, hemen 2. mayoz bölünmeye girer, ancak bölünmeyi spermiyum tarafından

döllendikten sonra tamamlar. 1. polar cisim ise sekonder oositin hücre zarı ile zona pellusida arasında (bu aralığa perivitellin aralık adı verilir) kalır (5, 8, 11, 16).

Ovulasyon puberteden menapoza kadar 28 günde bir gerçekleşir. Bu olay iki menstrual kanama arasındaki döngünün tam ortasındaki günde yani döngünün 14. gününde gerçekleşir. Genellikle bir oosit atılır. Bazen aynı anda birden fazla oosit atılabilir. Bu da ikiz ya da çoklu gebeliklere sebep olur (20).

Oositin Taşınması

LH'nin pik yapması sonucu stigma balon gibi şişer ve yırtılır. Sekonder oosit, bir miktar granüloza hücresi ve follikül sıvısı ile birlikte periton boşluğuna atılır.

Ovulasyondan hemen önce, uterus tüpleri ritmik bir şekilde kasılmaya ve tuba uterinanın fimbriya ovarika adı verilen saçakları overin yüzeyine doğru uzamaya başlarlar. Çevresindeki bir miktar granüloza hücreleri ile birlikte oositin uterus tüpleri içine doğru çekilmesi, fimbriyaların over yüzeyini süpürür tarzındaki hareketleri ve fimbriya yüzeyini örten epitel hücrelerinin siliyer hareketleriyle gerçekleştiğine inanılır. Fallop tüpleri içine ulaşan oositin çevresindeki kumulus hücreleri, sitoplazmik uzantılarını zona pellusidadan çekerek oositin serbest kalmasını sağlarlar.

Uterusun tüpü içine ulaşan oosit böylece tubadaki yolculuğu başlamış olur. Oosit II tüplerin duvarındaki kasların kasılmasıyla uterusu doğru itilir. Bu yolculuğun hızı, ovulasyondan önce veya sonraki endokrin değişimlerden etkilenirse de, insanda döllenmiş oositin uterus lümenine ulaşması 3-4 gün içinde tamamlanır. Genellikle her siklusda tek bir sekonder oosit atılır. Bir ay sağ diğer ay sol overden ovulasyon olur. Ovulasyon iki mensturasyon arasındaki 14.günde olaylanır.

Gonadotropin yetersizliğine bağlı ovulasyonun olaylanmasına karşı ovulasyon indükleyici ajan (klomifen sitrat) verilerek hipofizden FSH ve LH'nin salgılanması stimüle edilir. Bu tip olaylarda çoklu gebelik riski vardır (4, 8, 12).

Korpus Luteumun Gelişmesi

Ovulasyondan sonra yırtılmış ve boşalmış follikül duvarı teka follikülü ile birlikte içeriye doğru çöker. Teka internadaki damarların yırtılması ile oluşan kan, çöken follikül boşluğuna dolar, oluşan yapıya korpus hemorajikum (kanlı cisim) adı verilir. Kısa sürede, çevredeki ovaryum stroması follikülün merkezine doğru yayılır. Granüloza hücreleri ve teka interna hücreleri büyüyüp gelişirler ve sitoplazmalarında lutein pigmenti (lipokrom pigmenti de denilir) birikir. Lutein pigmenti sarı renkli olduğundan bu yapıya sarı cisim anlamına gelen korpus luteum adı verilir. Korpus luteum artık bir iç salgı gibi çalışır ve bu bezdeki granüloza hücreleri ve teka hücreleri, iki önemli steroid hormonu olan östrojen ve progesteron salgılar.

Eğer döllenme olmamışsa, korpus luteum 14 gün daha yaşar, daha sonra menstruasyon korpus luteumuna dönüşür. Bu da giderek küçülür ve zamanla beyaz bir skar dokusu bırakarak, korpus albicans denilen beyaz cisim halini alır.

Eğer döllenme olursa, yani gebelik söz konusu ise korpus luteum büyür ve gebelik korpus luteumuna dönüşür. Buradan salgılanan progesteron overlerde yeni follikül gelişmesini önler. Gebelik korpus luteumu gebeliğin 6.ayına kadar trofoblastlar tarafından salgılanan HCGH (Human Corionic Gonadotropin Hormon) ile işlevini yürütür. Sonra onun görevini plasenta üstlenir. Ancak korpus luteum gebelik boyunca steroid sentezini sürdürür. Özellikle, miyometriyumun kasılmasını önleyen (böylelikle gebeliğin devamını sağlayan) ve pelvik eklemler arasındaki bağları gevşetici, ayrıca serviksi yumuşatıcı etkiye sahip relaksin'i salgılar (5, 8, 16, 17, 20).

Endometriyal Siklus

Endometriyumun başlıca görevi, geç blastosist dönemindeki zigotun gömülmesi için ortam hazırlamak ve plasantanın anneye ait kısmını oluşturmaktır.

Ovaryum siklusu ile eş zamanla ve ovaryumdan salgılanan hormonlara (östrojen-progesteron) bağlı olarak uterus endometriyumu yapısal ve işlevsel değişimler gösterir. Bu periyodik olaya uterus (endometriyal) siklusu denir.

Dört evreden oluşur:

1. Proliferasyon evresi (folliküler evre; 5-14 günler arası)
2. Sekresyon evresi (progestasyonel evre; 14-27 günler arası)
3. İskemi evresi (27-28 günler arası)
4. Mensturasyon evresi (1-5 günler arası) (4, 8)

1. Proliferasyon evresi

Genital siklusun 5-14. günleri arasında görülür. Menstrüasyon evresinin sonunda, uterusun endometriyum fonksiyonalis tabakası dökülmüş ve geriye sadece 1 mm kalınlığında bazal tabakası kalmıştır. Uterusun bazal tabakasında, uterus bezlerinin bazal kısımları ve spiral arterlerin alt kısımları bulunur. Endometriyumda proliferasyon evresi yaşanırken, aynı dönemde, ovaryumlarda FSH uyarımı ile folliküller gelişmekte ve östrojen hormonunu salgılamaktadırlar (Granüloza ve T.İnterna hücreleri tarafından). Overdeki folliküllerden salgılanan östrojenlerin etkisiyle, dökülen endometriyumun fonksiyonel tabakası yenilenir. Bezlerin bazal kısımlarındaki hücreler hızla çoğalarak fonksiyonel tabakanın bezlerini yaparlar. Spiral arterler gelişen fonksiyonel tabakaya doğru dallanırlar. Sonuçta, fonksiyonel tabaka yeniden oluşur ve 3 mm kalınlığına ulaşır. Proliferasyon evresine, östrojenin hakimiyetinden dolayı östrojenik faz adı da verilir (8, 11).

2. Sekresyon Evresi

Siklusun 15.-27. günleri arasındaki dönemdir. Bu dönemde, 15. Günde ovulasyon olmuş ve oosit II 'nin atılmasından dolayı korpus luteum oluşmuştur. Korpus luteumdan salgılanan östrojen ve özelliklede progesteronun etkisiyle endometriyumdaki bezler daha da uzar ve son derece kıvrıntılı bir hal alır. Spiral arterler iyice uzayarak endometriyum yüzeyine kadar ulaşırlar. Bez hücreleri glikojenden zengin salgı salgılayarak bezlerin lümenlerini doldurur.

Sekresyon evresi sonunda endometriyumda 3 tabaka gözlenir:

A) Yüzeyel kompakt tabaka (Bezlerin boyun bölgelerini içermekte, az ödemli)

B) Kalın spongiyoz tabaka (Çok ödemlidir, bezlerin kıvrıntılı bölümlerini içerir)

C) Derin bazal tabaka (Bezlerin kök kısımlarını ve spiral arterlerin alt parçalarını içermektedir, doku kaybına uğramaz)

Endometriyumdaki bezlerin arasında yerleşim gösteren hücreler büyüyüp gelişirler ve bol glikojen ve lipid depolayarak açık renkli desidua hücrelerine dönüşürler. Damarlardan dışarıya sıvı sızar ve ödem oluşur. Sonuçta sekresyon evresinde, hiperemi, ödem, bol yedek besin deposu ve aktif salgılamadan dolayı endometrium desidua yapısına dönüşür. Eğer döllenme olmuşsa gelişen canlının gömülmesi ve gelişmesi için mükemmel ötesi bir ortam endometriyumda hazırlanmış durumdadır. Sekresyon evresine, progesteronun hakimiyetinden dolayı progesteron evresi de denilmektedir (8, 21).

3. İskemi Evresi

Siklusun 27-28. günleridir. Eğer döllenme olmamışsa korpus luteum 14 gün aktif kalır ve bu süre sonunda hormon salgılamayı keser. Sonuçta endometriyumdaki spiral arterlerde kontaksiyon oluşur ve endometrium kansız, beyaz bir renge bürünür. Bu olaya **iskemi** denir. Bezlerde salgılama yapamaz ve endometrium sudan yoksunlaşır ve nihayet büzülür. Sonuçta, fonksiyonel tabaka yavaş yavaş acı sona yaklaşır. Kan dolaşımı bazal tabakada normaldir (8, 21).

4. Menstrüasyon Evresi

Siklusun 1-5. günleridir. İskemiden sonra endometrium fonksiyonalist nekroze olur ve spiral arterlerin yırtılması ile kan ve bez artıkları vajinadan dökülmeye başlar. Buna menstrüasyon kanaması denir. Dökülme bazal tabakaya kadar sürer. Yaklaşık 30-50 ml kan kaybı olur. Daha sonra yeni bir siklus başlar. Genital siklus kadınlarda puberteden menapoz adı verilen ve yaklaşık 45-50 yaşlarına kadar süren dönemdir (8).

2.1.1.2. Ovaryumun Embriyolojisi

Erkek ve dişi morfolojik karakteristikleri, embriyonik 7. haftaya kadar gelişime başlamazlar. Genital sistem erken dönemde her iki cinste de birbirine benzer, bu

nedenle genital sistemin gelişiminin başlangıç dönemine, seksüel gelişimin farklanmamış safhası adı verilir.

Gonadlar üç kaynaktan köken alırlar:

1. Posterior abdominal duvarı döşeyen sölom epiteli (intermediyer mezodermin ürogenital plağından gelişir)
2. Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
3. Primordiyal germ hücreleri (PGH) (9, 10)

Gonadların gelişimi 5. haftada gözlenmeye başlar. Erken dönemde mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde bir kabarıklık (gonadal kabartı) oluşur. Kalınlaşmış mezotel primordiyal germ hücrelerini bölgeye çeken TGF- β (transforming growth factor β) ailesinden bir kemotaktik faktör salgılar ve aynı anda bu hücrelerin çoğalmasını uyarır. PGH'lerinin primitif gonadlara ulaşmasından hemen önce genital kabartının epiteli proliferer olur ve epitel hücreleri altındaki mezenşimin içine gömülür. Bu yapılar primer cinsiyet kordonları (gonadal kordonlar) adı verilen düzensiz şekilli yapıları oluşturur. Parmak şeklindeki epitel kordonlar (gonadal kordonlar) altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklanmamış gonad bu aşamada dışta korteks ve içte medulladan oluşmaktadır. Eğer embriyo XX cinsiyet kromozom kompleksine sahip ise, farklanmamış gonadın korteksi ovaryuma farklılaşırken medullası ise geriler (9, 10).

Dişi embriyolarda gonadal gelişim daha yavaş olur. Onuncu haftaya kadar, ovaryumlar histolojik olarak ayırt edilemezler. Gonadal kordonlar, belirgin değildirler, medulla içine doğru sokulurlar ve rudimenter bir yapı olan rete ovarii'yi oluştururlar. Rete ovarii ve gonadal kordonlar normalde dejenerer olurlar ve kaybolurlar. Kortikal kordonlar erken fetal dönemde ovaryum yüzey epitelinden köken alarak altta bulunan mezenşim içerisine doğru girerler. Bu epitel mezotelden gelişmektedir. Kortikal kordonların boyutları arttığında, primordiyal germ hücreleri aralarına girer. Yaklaşık 16. haftada, bu kordonlar izole hücre kümelerine (primordiyal folliküller) parçalanırlar. Oluşan folliküllerin her biri, primordiyal germ hücrelerinden köken alan bir oogonyum ve onu saran, yüzey epitelinden köken alan, tek sıralı yassılaşmış follikül hücrelerini içerir. Fetal yaşam sırasında oogonyumlarda oluşan follikül meydana gelir (9, 10).

2.2. Anjiyogenez ve Vaskülogenez

1787 yılında İngiliz cerrah Dr. John Hunter ilk kez anjiyogenez terimini (yeni kan damarı gelişimi) kullanmıştır. 1971 yılında cerrah Dr. Judah Folkman tümör büyümesinin anjiyogeneze bağlı olduğu teorisini ortaya attı. 1975 yılında Hery Brem ve Judah Folkman tarafından kıkırdak dokuda ilk anjiyogenez inhibitörü saptandı. 1983 yılında Dr. Harold Dvorak tümör dokusunda yeni damar oluşumundan sorumlu Vasküler Permeabilite Faktörü'nü (VPF) keşfetti. 1989 yılında en önemli anjiyogenik faktörlerden biri olan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), Napoleone Ferrara ve Jean Plouet tarafından keşfedildi (22, 23).

Kan damarı oluşumunu ortaya koyan iki mekanizma vardır; vaskülogenez, anjiyogenez (24).

2.2.1. Vaskülogenez

İnsanların yaşamlarını sürdürebilmeleri; besin ve oksijenin organ ve dokulara taşınmasını bununla birlikte dokulardan artık maddelerin uzaklaştırılmasını sağlayan kompleks yapıdaki damar ağına bağlıdır. Damarsal yapının meydana geldiği ilk evreye vaskülogenez adı verilir (25). Vaskülogenez erken embriyogenezde oluşur, mezodermden kökenlenen vasküler ağın meydana gelmesini ifade eder (24).

2.2.2. Anjiyogenez

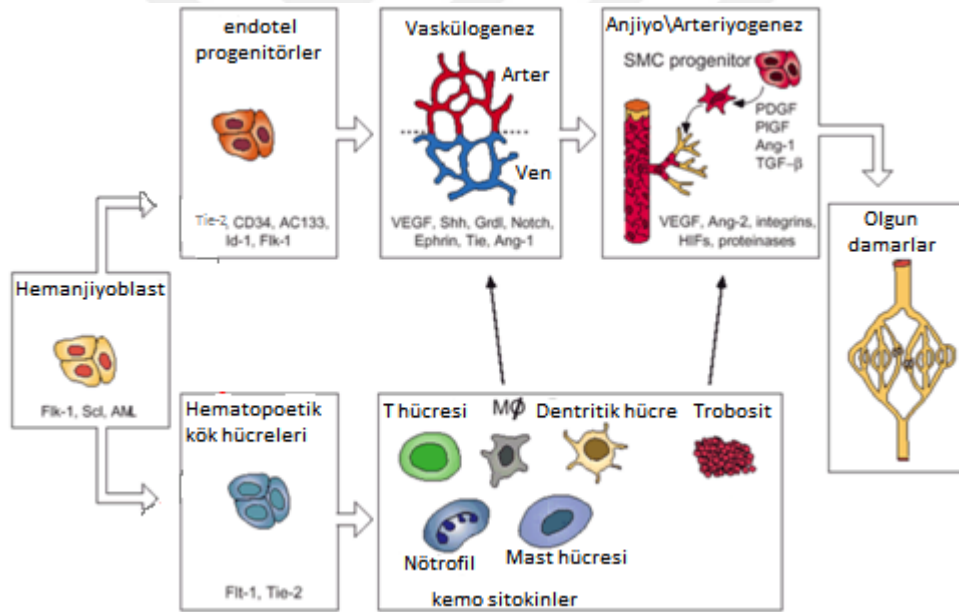
Anjiyogenez damarların oluşmasından önceki evrede endotel hücrelerinin kümelenmesi ile meydana gelen kapillerlerin dallanması, genişlemesi ve küçük damarların büyüüp filizlenmesidir (25). Kısaca anjiyogenez, yeni damar gelişimi şeklinde tanımlanmaktadır (25, 26, 27, 28, 29).

Anjiyogenez sadece post-embriyonik doku gelişimi için önemli değildir (30). Aynı zamanda yetişkinlerde endotelyal hücrelerin proliferasyon hızı, diğer birçok hücre tipine göre çok daha yavaştır. Fizyolojik olarak sıkı bir regülasyon altında ve nadiren gerçekleşen anjiyogenez, yara iyileşmesi sırasında, doku hasarlarının iyileştirilmesinde rol oynar (29, 30).

Ayrıca dişi üreme sisteminde follikül gelişimi, ovulasyon esnasında korpus luteum ve hamilelikte plasenta gelişimi anjiyogeneze bağlıdır. Kontrolsüz anjiyogeneze ise diyabetik retinopati, ateroskleroz ve solid tümör gelişiminde rastlanır (30).

Anjiyogenez, hücreler ile ekstraselüler matriks komponentleri arasındaki kapsamlı bir etkileşimin meydana geldiği, çok basamaklı ve karmaşık bir olaydır. Anjiyogeneze 4 farklı ardışık basamak bulunmaktadır:

- 1- Bazal membranın proteazlar ile yıkımı.
- 2- Endotelial hücrelerin interstitial alana migrasyonu.
- 3- Endotelial hücrelerin proliferasyonu.
- 4-Lümen oluşumu, perisitlerin toplanması ile yeni bazal membranın oluşumu, anastomozların oluşumu ve son olarak kan akışı (Şekil 2.8) (31).



Şekil 2.8. Damar ağı oluşum şeması (48)

2.2.2.1. Anjiyogenez Fizyolojisi

Anjiyogenez süreci; damar bazal membranının bozulmasını, göç eden endotel hücrelerin bir filiz ve yeni bir lümen oluşturmasını içerir ve daha fazla olgun damar oluşturmak için çoğalır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Anjiyogenezin 4 evresi ve görevli moleküller (30)

Anjiyogenik sinyaller	Anjiyogenik büyüme faktörlerinin ekspresyonu
1. Endotel migrasyonu için matriks degradasyonu	MMPLer, TIMP, uPA, tPa, PAI
2. Endotel migrasyonu	Integrinler, PDGFler
3. Endotel proliferasyonu	VEGF, FGF, PDGF, EGF
4. Tüpsü yapının meydana gelmesi	VEGF, FGF, Anjiyopoetinler

Anjiyogenezin primer destekleyicileri vasküler endotelial büyüme faktörü, asidik ve bazik fibroblast büyüme faktörleri, trombosit türevli büyüme faktörleridir. Bununla birlikte, anjiyogenezin çok sayıda farklı destekleyicileri tespit edilmiştir (Tablo 2.3). Vasküler endotelial gelişim faktörü, 3 tirozin kinaz reseptörüne sahiptir, endotelial hücrelere (Flt-1, KDR / Flk-1 ve Flt-4) yerleşmiştir, endotelial hücreler için kuvvetli bir mitojen, morfojen ve kemoatraktanttır ve hipoksi, sitokinler ve çeşitli hormonlar aracılığıyla uyarılır.

Anjiyogenez, rehberleri ve inhibitörleri arasında hassas bir denge ile korunan kompleks bir süreçtir (Tablo 2.2). Bu dengenin rahatsızlıkları, fizyolojik dengenin bozukluklarına veya çeşitli patolojik durumlara sebep olabilir (32).

Tablo 2.2. Anjiyogenik ve anti-anjiyogenik faktörler (33, 34, 35)

Anjiyogenik Faktörler	Antianjiyogenik Faktörler
VEGF	Trombospondin-1 ve -2
bFGF	Endostatin
TGF- α ve β	Angiostatin(ANG)-1, ANG-2
PDGF	İnterferon- α , - β
HGF/SF	İnterlökin -12
TNF- α	Platelet Faktör-4 fragmanı
EGF'ler	Angiopoietin-2 (ANPT-2)
Plasental büyüme faktörü	Metalloproteinaz doku inhibitörleri
Tissue Factor	TIMP-1 ve -2
IL-6 ve IL-8	Anti-trombin III fragmanı
Angiogenin	Vasostatin
Angiopoietin-1 (ANPT-1)	Fibronektin
Siklooksijenaz-2 (COX-2)	
Nitrik Oksit (NO)	
HIF	
IGF-1	

Tablo 2.3. Önemli anjiyogenik faktörler ve etki mekanizmaları (33)

Anjiyogenik Faktör	Etki mekanizması
Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF)	Endotelial mitojen, Survival faktör, Permeabilite indükleyici
Basic Fibroblast Büyüme Faktörü (bFGF / FGF-2)	Endotelial mitojen, Anjiyogenez indükleyici Survival faktör Flk-1 Ekspresyon indükleyici
FGF-1, FGF-3, FGF-4	Endotelial mitojen Anjiyogenez indükleyici
Transforme Edici Büyüme Faktörü- α (TGF- α)	Endotelial mitojen Anjiyogenez indükleyici VEGF ekspresyonu indükleyici
Epidermal Büyüme Faktörü	Zayıf endotelial mitojen VEGF ekspresyonu indükleyici
Hepatosit Büyüme Faktörü / Scatter Factor (HGF/SF)	Endotelial mitojen Anjiyogenez indükleyici
Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β)	Endotelial büyüme inhibisyonu Anjiyogenez indükleyici VEGF ekspresyonu indükleyici
Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)	Endotelial mitojen Anjiyogenez indükleyici VEGF ekspresyonu indükleyici
Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)	Endotelial mitojen Endotelial motilite faktörü Anjiyogenez indükleyici

Mikrodamarlardaki anjiyogenik cevap komşu endotelial hücreler, perisitler ve onları çevreleyen ekstraselüler matriks arasındaki hücresel adezif etkileşimlerdeki değişiklikler ile alakalıdır. Aktif neovaskülerizasyon sürecinde, aktive olmuş endotelial hücreler; kendi hücre iskeletlerini yeniden düzenleme yaparlar, integrinler ve selektinler gibi hücre yüzey adhezyon moleküllerini eksprese ederler, proteolitik enzimleri sekrete ederler ve komşu ekstraselüler matrikslerini yeniden düzenlerler. Bu olaylar kapiller tomurcukların oluşumu tarafından takip edilir. Bazal membranın yeniden kurulmasına, lümen oluşumuna ve diğer yeni veya önceden varolan damarlar ile anastomozlaşmasına ve son olarak bütün mikrodamarların meydana gelmesine öncülük eden endotelial hücrelerin migrasyonu, çoğalması, uzaması, yönlenmesi ve farklılaşmasının indüklenmesi için otokrin ve/veya parakrin anjiyogenik faktörler varolmalıdır (36).

2.2.2.2. Bazı Anjiyogenik Faktörler

2.2.2.2.A. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

Endotel hücrelerine özgül olan vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ailesi ilk olarak 1980'lerde bulundu. İlk bulunduğu yıllarda tek bir üyeden oluştuğu düşünülse de yapılan çalışmalarla bunun birçok üyesi olan bir aile olduğu ortaya kondu. Bu ailenin VEGF-A (Human- VEGF olarak da adlandırılır), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, Plasental büyüme faktörü (PlGF) ve yılan zehiri VEGF'si (svVEGF, VEGF-F) adı verilen yedi üyeden oluştuğu görüldü. Literatürde yer alan birçok makalede VEGF olarak isimlendirilen büyüme faktörü, aslında Human-VEGF'si ya da diğer adıyla VEGF-A'yı tanımlamaktadır (37, 38).

VEGF, trombosit kaynaklı büyüme faktör ailesinin bir üyesidir, endotel hücreleri için bilinen en spesifik mitojenik faktördür. Vaskülogenez ve anjiogenezde önemli rol oynarlar (39). Vücutta hem fizyolojik olaylarda hem de tümör büyümesi ve yayılması da dahil olmak üzere birçok hastalığın etyolojisinde rol almaktadır. VEGF endotel hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanarak hücreyi etkiler. Bilinen reseptörler VEGFR 1 (Flt 1), VEGFR 2 (KDR-flk 2), VEGFR 3 (flt 4), nörofilin 1 ve 2 dir (33, 40).

Anjiyogenik etkilerine ek olarak, endotelial hücrelerin migrasyon aktivitesini uyarmaktadır. Bu faktörün geri çekilmesi halinde vaskülerizasyonun gerilediği

gözlenmiştir (37). VEGF sayesinde endotel hücreleri prolifer olmakta ve bu büyüme faktörüne doğru göç edip dizilerek yeni damarlar için öncü olan tüp formasyonu oluşmasını sağlamaktadır. Dermal yaralanmaları da içeren birçok yaralanmada normal doku tamirinin ayrılmaz bir parçası olan anjiyogenez, yaralanmadan hemen sonra yüzeysel epidermal keratinositler tarafından salgılanan VEGF tarafından indüklenir. Bu sayede bir yanda kan akımının artması gerçekleşirken, diğer yandan yaralanma bölgesinde yeni kan damarları oluşumu tetiklenir ve iyileşme hızlanır (41).

Bazı çalışmalar, vasküler gelişimin, ovulasyon oluşumu için işlevsel bir adaptasyon ve bunun yanı sıra endokrin fonksiyonunun düzenlenmesi ile ilgili rolü olduğunu göstermiştir (42, 43).

Plaks ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; VEGF'nin, endotel hücreleri üzerinde doğrudan etki ederek anjiyogenezi teşvik ettiğini ve uterusu vasküler geçirgenlik ve anjiyogenezin birincil uyarıcılarından biri olduğunu belirtmişlerdir (44).

2.2.2.2.B. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

FGF, mezenşimal hücreler için bir mitojendir. Endotel hücre çoğalma ve hareketliliğini artırıp yeniden damarlanmayı hızlandırarak anjiyogeneze etkili olur. Ayrıca heparinin etkilerini kuvvetlendirmek, kollajen sentezini uyararak, yaranın kontraksiyonunu ve epitellenmesini sağlamak ve fibronektin ve proteoglikan sentezini uyararak yapışmayı kolaylaştırmak gibi etkileri bulunmaktadır (45).

2.2.2.2.C. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

EGF, polipeptid yapısında olup birçok dokuda bulunur ve trombosit degranülasyonu esnasında salınır. Epitel hücreler, endotel ve fibroblastlar için kemotaktiktir. Anjiyogenezi ve kollagenaz aktifliğini uyarır (19).

2.2.2.2.D. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)

PDGF, trombositlerin alfa granülleri içinde yer alır. Tümörler, endotel hücreler, makrofajlar, düz kas hücreleri ve trombositler PDGF benzeri büyüme faktörleri salgılar.

PDGF, makrofajların ve polimorf nüveli lökositlerin kemotaksisini uyarır. Fibroblastlarda ve düz kas hücrelerinde hem kemotaksisi, hem mitogenezi aktifleştirir. PDGF, kollajen ve fibronektin sentezini de uyarır; ayrıca kollajenaz faaliyetini de artırır (46).

2.2.2.2.E. Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β)

Trombositler, makrofajlar, lenfositler, kemik, böbrek gibi farklı dokulardan izole edilmiş olan TGF- β trombositlerin alfa granülleri içinde yoğun miktarda bulunur, hasarlanan bölgeye degranülasyonla salınır. TGF- β düşük dozda anjiyogenik, yüksek dozda antianjiyogenik özellikler göstermektedir ve monositleri uyarak FGF, PDGF, TNF- α , IL-1 gibi büyüme faktörlerinin salgılanmasını sağlar. TGF- β makrofajlar için kemotaktik olup fibroblast kemotaksisi ve çoğalmasını uyarır, fibroblastlarda fibronektin ve proteoglikan sentezini uyarak yara kontraksiyonunda rol oynar. Ayrıca epitel hücrelerin çoğalmasını uyarır (47).

2.2.2.3. Normal Ovaryum Döngüsünde Anjiyogenez

2.2.2.3.A. Folliküler Faz

Birincil follikül zona pellusida ile çevrili bir oosit ve bir kat granüloza hücrelerinden oluşur. Bu yapı, duvarı iki katmandan ibaret olan sekonder follikül içerisinde gelişir; dıştaki teka tabakası kendi vasküler kaynağına sahiptir, granüloza tabakası ise damarsızdır. Büyümeyen primordial folliküllerin ve yavaş büyüyen preantral folliküllerin kendi damarı yoktur, ancak çevresindeki stromaya ait damarlara sahiptir. Bununla birlikte, follikülde antrum geliştikçe, teka tabaka, sırasıyla, teka interna ve eksternada bulunan iki kapiler ağdan oluşan bir vasküler oluşur. Yeterli bir vasküler ağın oluşması, ovulasyona yönelik baskın follikülün seçimi ve olgunlaşmasında belirleyici bir adımdır. Östradiolün folliküler anjiyogenez üzerinde herhangi bir etkisi yoktur gibi görünmektedir. Kılcal çoğalma ilk önce apikal bölgede, daha sonra iç kılcal katmanın ekvatoryal veya bazal bölgede dağılmış gibi gözükmektedir (49).

Hem primordial hem de primer folliküllerinin granüloza hücrelerinde vasküler endotelial büyüme faktörü yoktur. Ancak preantral aşamada VEGF salınımı başlar ve

follikül boyunca bu durumda kalır. Teka interna hücreleri, teka tabakasındaki vasküler endotel hücrelerin çoğalan hücre çekirdeği antijeni ile ilişkilendirerek, vasküler endotel büyüme faktörü için follikül gelişiminin belirtisidir (50).

Granüloza hücrelerinin immünohistokimyasal boyaması, gelişmekte olan follikül içerisinde teka internanın aksine zayıftır. Teka interna hücreleri tarafından parakrin salgılanması vasküler endotelyal büyüme faktörünün etkisiyle, folliküler gelişimi sırasında anjiyogenez için gerekli olabilir. Atretik folliküller ve teka hücreleri içerisinde vasküler endotelyal büyüme faktörü negatiftir. Folliküler büyüme sırasında, dominant follikül teka tabakası içinde kompleks bir vasküler ağı geliştirir (51).

Folliküler vasküler endotelyal büyüme faktörü, folliküler progesteron ve luteinizan hormon (LH) düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon vardır. Ovaryum follikül sıvısındaki vasküler endotelyal büyüme faktörü konsantrasyonları, kendiliğinden gelişen folliküllerdeki luteinizasyon ile ilişkilidir (52).

Teka hücre tabakası ve luteinize granüloza hücre tabakası follikül içinde anjiyogenik aktivitesinin ağır basan alanlarıdır. Buna karşın, vasküler endotelyal büyüme faktörü granüloza hücre tabakasında çok az bulunmaktadır (32).

Ovaryum folliküllerinin mikrovaskülarizasyonu, follikülogenez, ovulasyon, ovaryum hormon üretimi, folliküler atrezi, luteal regresyonda önemli rol oynamaktadır. Temel fibroblast büyüme faktörü, bir anjiyojenik promotordur, follikül gelişimi ve korpus luteum oluşumunda önemli bir rolü vardır (53).

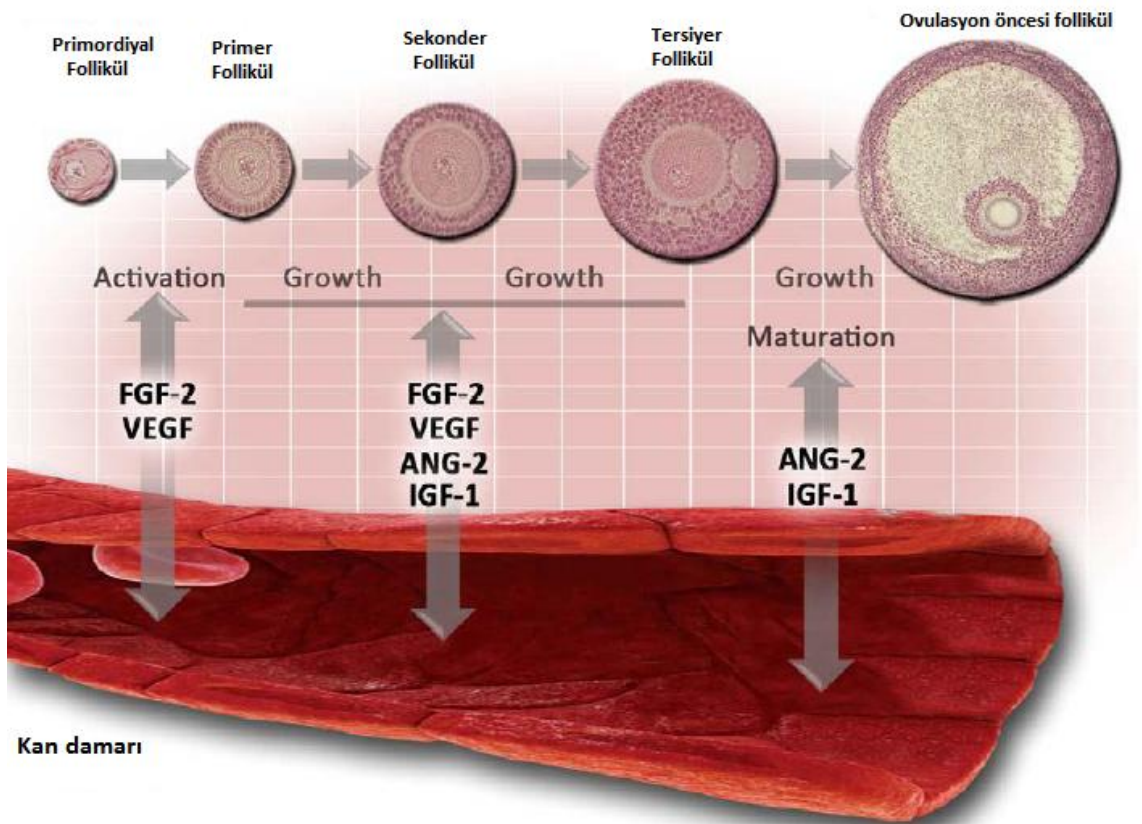
Vasküler endotel hücrelerinin çoğalması ve bazik fibroblast büyüme faktörünün immün lokalizasyonu arasında bir ilişki yoktur. Temel fibroblast büyüme faktörü, anjiyogenezin minimal olduğu atretik folliküllerdeki teka lutein hücrelerinde yoğun olarak bulunur (32, 50, 54, 55).

2.2.2.3.B. Luteal Faz

Korpus luteum gelişimi sırasında proliferatif hücrelerin % 85'inin endotel hücreleri olduğu tahmin edilmektedir. (55, 56). Morfometrik çalışmalar da, endotel hücreleri

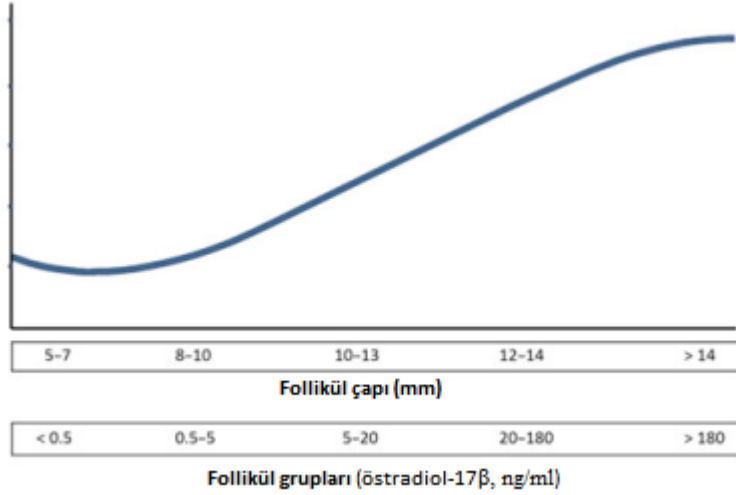
olgun korpus luteum içinde hücrelerin, yaklaşık %50'sini oluşturduğu doğrulanmıştır. Vasküler endotelial büyüme faktörüne bağlı anjiyogenez korpus luteum gelişimi için gereklidir (13, 57, 58, 59, 60).

Yapılan bir çalışmada, gebe olmayan dişi farelere bir anjiyogenez inhibitörü (0-klorasetilkarbamoyl fumagilol) verildiğinde, hem korpus luteumun inhibisyonu hem de endometriyal olgunlaşma meydana geldiği görülmüştür (60). Gebe farelerin bu maddeye maruz kalması, desidualizasyona müdahale sonucu embriyonik büyümenin tümüyle başarısız olmasına neden olmuştur ve endotel olgunlaşmasının bozulmasına sebep olur. Korpus luteum da granüloza hücreleri erken luteal fazda sadece vasküler endotel büyüme faktörü için kuvvetle pozitifdir. Luteinizan granüloza hücreleri, LH artışı ve ovulasyondan etkilenmektedir ve artan büyüme faktörü ile bağlantılıdır (61, 62, 63). Vasküler endotelial büyüme faktörü ve mesajcı RNA (mRNA) ekspresyonu sığır ve insanda üretilmiş granüloza hücrelerinde artan LH veya insan koriyonik gonadotropin (hCG) seviyelerinden önce gelmektedir (32, 53, 63, 64).



Şekil 2.9. Anjiyogenik gelişim faktörleri ve follikül gelişimine etkileri (43)

Ovulasyon öncesi folliküllerde
anjiyogenik faktörler (VEGF, FGF,
IGF, ANPT, HIF)



Grafik: 2.1. Follikülogenez sırasında antral folliküllerde VEGF, FGF-2, IGF-1, ANPT ve HIF sistem üyelerinin ekspresyon profillerinin şematik sunumu (65).

Ovulasyon öncesi folliküllerin büyümesine paralel olarak VEGF, FGF, IGF, ANPT, HIF gibi anjiyogenik faktörlerin de seviyesi artar. Bu da anjiyogenezin arttığının kanıtıdır (Şekil 2.9, Grafik 2.1) (65).

2.3. Deri

Deri, bedenimizi dışarıdan çevreleyen, yaklaşık 4 kg ağırlığında bir organdır (66). Bezlerin salgıları, epidermis tabakasının sertliği, dermis tabakasının elastikiyeti ve sıklığı sayesinde her türlü kimyasal, termik ve mekanik etkilere karşı vücudumuzun korunmasında önemli rol oynar ve vücudumuzun en büyük organıdır (67, 68). Yağ tabakası dahil edildiğinde vücut ağırlığının %7 sini oluşturur (67). 1.75 cm boyundaki bir erkekte kapladığı alan yaklaşık 1,5-2 m²'dir (68, 69).

Derinin çeşitli görevleri vardır:

1. Koruma (mekanik görevi)
2. Su bariyeri görevi
3. Vücut ısısının düzenlenmesi (ısı muhafazası ve ısı kaybı)
4. Özgün olmayan savunma (mikroorganizmalara karşı savunma görevi)
5. Tuz atımı
6. D vitamini sentezi
7. Duyu algılama

8. Cinsel uyarı (2)
9. Melanin pigmenti ile ultra viyole ışınlarının olumsuz etkilerinden koruma
10. Vücudun tüm yüzeyini örtme ve altındaki dokulara desteklik (70, 71)

Deri, birbirine sıkıca bağlı üç tabakadan meydana gelir: En dışta ektoderm kökenli epidermis, daha derinde mezoderm kökenli dermis ve anatomide yüzeysel fasya olarak adlandırılan hipodermis veya subkütanöz tabaka.

Vücutta genel olarak iki tip deri vardır: Kalın deri ve ince deri.

Kalın deri (5 mm'den daha kalındır) el ayası ve ayak tabanında bulunur. Kalın bir epidermis ve dermise sahiptir. Kalın deri kıl kökleri, yağ bezleri ve arrektör pili kaslarından yoksundur.

İnce deri (1-2 mm kalınlığındadır) vücudun geri kalan bölümlerini örter. Burada epidermis incedir. İnce deride kıl kökleri, yağ bezleri, arrektör pili kasları içerir (2, 18).

Deri yüzeyinde oyuklarla ayrılmış dar epidermal çıkıntılar bulunur. Parmak uçlarında bu çıkıntılar özel bir şekil oluştururlar. Bunlara ait izler, her bireye özgü parmak izlerini meydana getirirler.

Epidermal çıkıntı, epidermisin dermal tarafta yaptığı uzantılardır ve burada primer (birincil) dermal papillalar bulunur. İnterpapiller bir uzantı, primer dermal papillayı iki adet sekonder (ikincil) dermal papillaya ayırır. Dermal papilla, primer ve sekonder dermal papillaları içine alır. Dermal papillalar sayıca çoktur ve dallanmış halde bulunurlar. İnce deride, papillaların derinliği ve sayısı daha azdır (2).

2.3.1. Epidermis

2.3.1.1. Epidermisin Histolojisi

Epidermisin çok katlı yassı epitel tabakasında dört ayrı hücre tipi bulunur:

a. Keratinosit: Hakim hücre tipidir. Bu hücreler başlıca ürünleri olan ara filament proteini keratin nedeniyle bu ismi almışlardır.

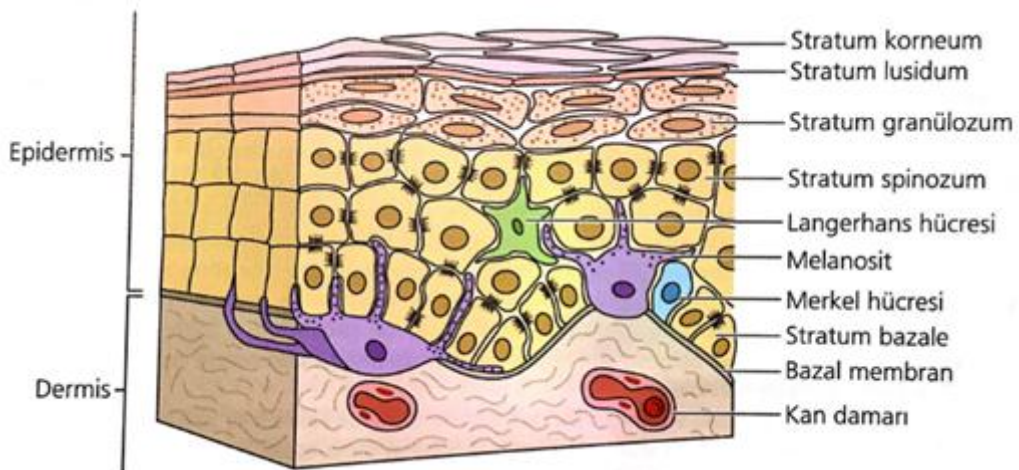
b. Melanosit: Melanin üretiminden sorumlu nöral krista kökenli hücrelerdir.

c. Langerhans Hücreleri: Kemik iliği kökenli dentritik hücrelerdir. T lenfositlere antijen sunan hücreler olarak görev yaparlar.

d. Merkel Hücreleri: Dokunma duyusunda rol alan nöral krista kökenli hücrelerdir.

Keratinositler, beş tabaka şeklinde düzenlenmişlerdir: (1) stratum bazale; (2) stratum spinozum; (3) stratum granülozum; (4) stratum lusidum; (5) stratum korneum.

Stratum spinozum ve stratum bazale ile birlikte Malpighi tabakasını oluştururlar. Stratum bazale (veya stratum germinativum) bir bazal membran üzerine dizilmiş tek sıra prizmatik veya yüksek kübik keratinositlerden meydana gelir. Hücre sitoplazmalarında desmozomlarla bağlantılı ara filamanlar bulunur. Işık mikroskopunda izlenebilen filaman demetlerine tonofilaman adı verilir. Hemidesmozomlar ve bunlarla bağlantılı ara filamanlar, bazal hücrelerin bazal yüzeylerini bazal membrana bağlarlar. Stratum bazale hücreleri mitozla çoğalır. Bölünen hücrelerin bir bölümü stratum bazalenin kök hücre topluluğunu oluştururken, geri kalanları stratum spinozuma göç ederler ve stratum korneum oluşumuna kadar giden farklılaşma sürecine girerler (2, 12). Stratum lucidum ve stratum korneum tabakaları nukleussuz ve organelsiz hücrelerden meydana gelirler (Şekil 2.10) (5).



Şekil 2.10. Epidermisin yapısı (18)

2.3.1.2. Epidermisin Embriyolojisi

Birinci ve ikinci trimesterde, epidermal büyüme, kalınlık artışına bağlı olan aşamalar halinde görülür. Epidermisin primordiyumu, yüzey ektodermal hücrelerinden meydana gelir. Bu hücreler çoğalarak, tek katlı yassı epitel tabakası olan periderm ve bazal germinatif (üreyen) tabakayı oluşturur. Periderm hücreleri devamlı keratinize ve deskuame olarak, bazal tabakadan gelen hücreler tarafından yenilenir. Dökülen peridermal hücreler, fetal deriyi örten beyaz ve kaygan bir madde olan verniks kazeozanın (vernix caseosa) bir kısmını oluşturur. Daha sonra, verniks derideki yağ (sebasöz) bezlerinin salgısı olan sebumu içerir. Verniks, fetal dönem boyunca gelişen deriyi, idrar içeren amniyon sıvısına sürekli maruz kalmaktan korur. Buna ek olarak, verniks kazeoza kaygan özelliğinden dolayı, fetüsün doğumunu kolaylaştırır.

Epidermisin bazal germinatif (üreyen) tabakası, stratum germinativum denilen tabakaya dönüşür. Bu tabakadan meydana gelen yeni hücreler, üst tabakalarda bulunan hücrelerle yer değiştirir. Stratum germinativum'dan gelen hücreler, 11. haftaya ulaşıldığında ara tabakayı oluşturur. Peridermal hücrelerin yer değiştirmesi yaklaşık 21. haftaya kadar devam eder, bundan sonra periderm ortadan kalkar ve stratum korneum oluşur. Ayrıca stratum germinativum'daki hücrelerin proliferasyonu, gelişmekte olan dermisin içine uzanan epidermal çıkıntıları da oluşturur. Bu epidermal çıkıntılar, 10 haftalık embriyoda görülmeye başlar ve 17. haftaya ulaşıldığında kalıcı olur. Bunlar, parmaklar dahil olmak üzere el avuçları ve ayak tabanları yüzeyinde bulunan girintileri oluşturur (9, 10).

Geç embriyonik dönemde, nöral krista hücreleri melanoblastlara farklılaşmak üzere, gelişmekte olan dermis mezenşiminin içine göç ederler. Sonra bu hücreler, dermoepidermal birleşim yerine göç ederek, melanositlere farklılaşırlar. Melanoblastların melanositlere farklılaşması, pigment granüllerinin oluşmasına sebep olur. Son yapılan çalışmalarda, melanositlerin gelişen deride ortaya çıkmasının, nöral krista hücre göçünün hemen sonrası olan 40-50. günler arasında olduğu saptanmıştır. Beyaz ırkta, melanositlerin hücre gövdesi genellikle epidermisin bazal tabakasında bulunmasına rağmen, bu hücrelerin dendritik oluşumları, epidermal hücreler arasına uzanır. Normalde, melanin içeren hücre sayısı dermisde azdır. Doğumdan önce melanositler, melanin üretmeye başlar ve epidermal hücrelere dağıtırlar. Koyu renk derili ırklarda, prenatal olarak pigment yapımı gözlemlenebilir, ancak aynı aktivitenin açık

renk derili fetüslerde bulunmasına ilişkin az sayıda kanıt vardır. Mor ötesi ışınlarına cevap olarak, melanin pigment yapımı artar. Melanositlerdeki melanin yapım miktarı, farklı deri renklerinin ortaya çıkmasına neden olur.

Yüzey ektoderminin çok katlı epidermise dönüşümü, dermisle olan devamlı indüktif etkileşimleri sonucu meydana gelir. Epidermin kalınlığı temel alınarak deri kalın ve ince olarak sınıflandırılır.

Kalın deri, avuç içi ve ayak tabanlarında bulunur; kıl follikülü, arrektör pili kası ve yağ bezleri içermez, fakat ter bezlerini içerir.

İnce deri, vücudun geri kalan kısmının çoğunu örter; kıl follikülü, arrektör pili, yağ bezi ve ter bezlerini içerir (9, 10).

2.3.2. Dermis

2.3.2.1. Dermisin Histolojisi

Dermis epidermisi destekleyen ve bunun altındaki komşu subkütan dokuya (hipodermis) bağlayan bağ dokusundan meydana gelir. Dermisin kalınlığı bulunduğu bölgeye bağlı olarak değişkenlik gösterir ve sırt bölgesi 4 mm ile en kalın olduğu yerdir. Dermis yüzeyi oldukça düzensizdir ve epidermin çıkıntıları ile iç içe geçen çok sayıda uzantılara (dermal papillalar) sahiptir. Bu yapılar basınca sık olarak maruz kalan deri bölgelerinde daha fazla bulunur; bunların dermal-epidermal gücünü artırdığına inanılmaktadır. Embriyolojik gelişim sırasında dermis, üzerindeki epidermin gelişimini belirler. Ayak tabanından alınan dermis, epitel hücrelerinin orijin aldığı bölgeye bağlı olmaksızın daima aşırı derecede keratinize bir epidermis oluşmasını indükler.

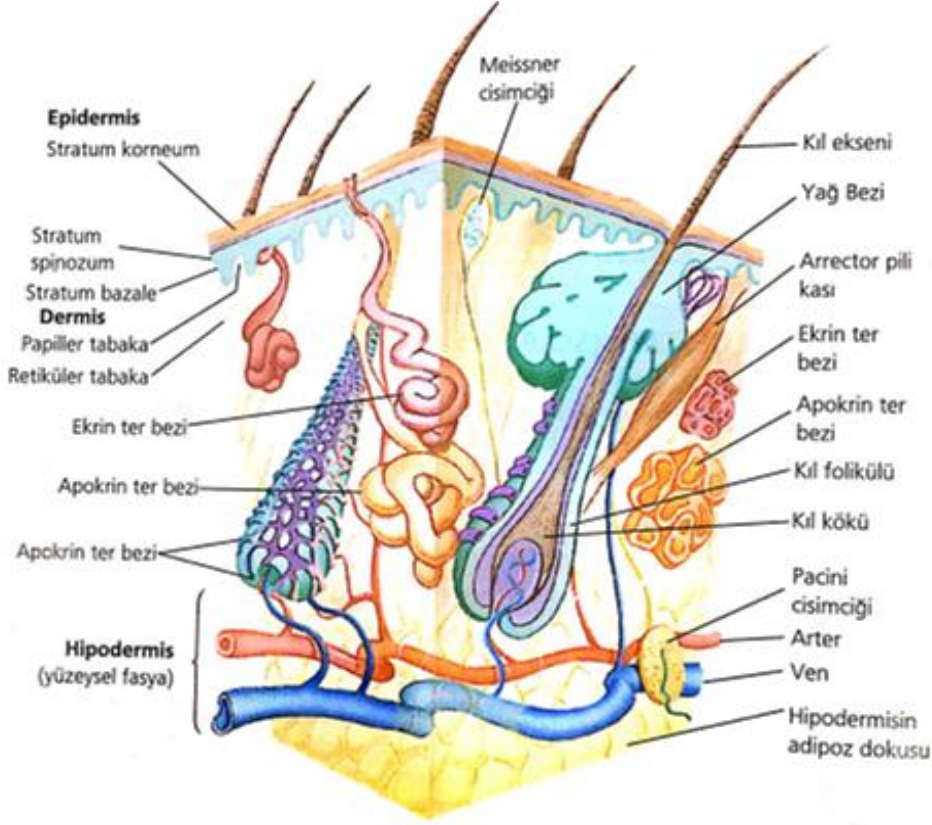
Histolojik insan derisi preparatlarında dermal-epidermal bağlantı belirgindir, bu epidermis yapısı vücudun her yerinde aynıdır. Dermisin papiller tabakası ile stratum germinativum arasında her zaman bir bazal lamina bulunur ve bu iki tabaka arasındaki kenetlenme hattı boyunca uzanır. Bazal laminanın altında ince bir retiküler lif ağı olan

lamina retikularis yer alır. Bunların birleşerek oluşturdukları yapıya bazal membran denir ve ışık mikroskobu ile görülebilir (12).

Dermiste sınırları ayırt edilemeyen iki tabaka bulunur. Bunlar en dışta bulunan papiller tabaka ile daha derinde yerleşmiş retiküler tabakadır. İnce papiller tabaka gevşek bağ dokusundan oluşur. Yapısında fibroblastlar, bol miktarda makrofaj, mast hücresi ve diğer bağ dokusu hücreleri bulunur. Ayrıca damar dışı lökositler de görülür. Burası dermal papillanın büyük bir kısmını kapsadığından papiller tabaka olarak isimlendirilir. Bu tabakadan bazal laminaya ve dermise özel kollajen fibriller uzanır. Bunlar dermisi epidermise bağlar ve tutturucu fibriller (yapılar) olarak isimlendirilir. Retiküler tabaka daha kalındır ve düzensiz tıkHz bağ dokusundan (başlıca tip I kollajen) oluşur. Retiküler tabaka papiller tabakaya göre daha bol lif ve daha az hücreye sahiptir. Dermisdeki glikozaminoglikan içeriği bölgeden bölgeye farklılık gösterir. Deride bulunan başlıca glikozaminoglikan dermatan sülfattır. Dermiste elastik lif ağı vardır. Bu ağda kalın lifler karakteristik olarak retiküler tabakada bulunur. Bu bölgeden çıkan lifler giderek inceler ve bazal lamina içine doğru sokularak burada sonlanır. Lifler bazal laminaya doğru ilerledikçe giderek amorf elastin bileşenini kaybeder ve bazal laminaya sadece mikrofiber bileşeni sokulur. Bu elastik ağ derinin elastikiyetinden sorumludur.

Dermiste zengin bir kan ve lenf damarı ağı vardır. Derinin bazı bölgelerinde kan, arterlerden venlere doğrudan arteriyovenöz anastomozlara ya da şantlara geçebilir. Bunlar vücut ısısı ve kan basıncının düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynarlar. Çünkü dermal damarlarda toplam kan hacminin %4,5 kadarı bulunur. Papiller tabakada zengin bir kapiller ağ epidermal çıkıntıları çevreler. Bu ağ vücut ısısının ayarlanmasında görev alır ve üzerindeki kendine ait kan damarları bulunmayan epidermisi besler (4, 11).

Ayrıca dermiste kıl follikülü ile ter ve yağ bezi gibi yapılar da bulunur. Dermis sinir bakımından zengindir. Derinin efektör sinirleri paravertebral zincirin sempatik gangliyonlarının postgangliyonik lifleridir. Parasempatik innervasyon yoktur. Afferent sinir sonlanmaları, serbest sinir sonlanmaları olan yüzeyel bir dermal ağ ile bir kıl follikülü ağı oluşturur ve kapsüllü duyu organlarının (Meissner ve Pacini cisimcikleri) innervasyonunu sağlar (Şekil 2.11) (4, 11).



Şekil 2.11. Dermin yapısı (18).

2.3.2.2. Dermin Embriyolojisi

Deris, yüzey ektoderminin altında bulunan mezoderm kökenli mezenşimden gelişir. Derinin bağ dokusunu oluşturan mezenşimin büyük bir kısmı, lateral mezodermin somatik tabakasından köken almasına rağmen bir kısmı somitlerin dermatomlarından gelişir. 11. haftaya ulaşıldığında, mezenşimal hücreler kollajen ve elastik bağ doku fibrillerini üretmeye başlar. Epidermal çıkıntılar oluşurken, dermis epiderminin içine doğru ilerleyerek, epidermal çıkıntılarla iç içe geçmiş olan dermal çıkıntıları (dermal papilla) oluşturur. Bazı dermal çıkıntılarda, epiderminin beslenmesini sağlayan kapiler halkalar (endotelial tüpler) gelişir. Diğer dermal çıkıntılarsa ise, duyu sinir sonlanmaları oluşur. Gelişen afferent sinir liflerinin, dermal papilla oluşumunun uzamsal ve geçici düzeninde önemli bir rol oynadığı sanılmaktadır.

Dermisteki kan damarları, mezenşimden farklılaşmış endotel ile döşeli basit yapılar olarak başlar. Deri geliştikçe yeni kılcıl damarlar, bu damar taslaklarından (anjyogenez) gelişerek ortaya çıkar. Bu tip basit kapiler benzeri damarlar, dermiste 5. haftanın sonunda gözlenmiştir. Çevre mezenşimde bulunan ve gelişmekte olan

miyoblastların farklılaşması ile bazı kılcal damarlar, müsküler örtü edinerek arteriol ve arterlere dönüşür. Diğr kılcal damarlar ise, geri dönen kan akımı oluşumu süresince müsküler örtü edinerek venül ve venlere dnr. Yeni kan damarları oluşurken, bazı geçici damarlar kendiliğinden ortadan kalkar. Birinci trimester sonunda, fetal dermisin damar yapılanmasının önemli bir kısmı tamamlanmış olur (9, 10).

2.3.3. Hipodermis

Hipodermis veya derinin subkütanöz tabakası, dermisin derindeki devamıdır. Vücuttaki lokalizasyonuna bağlı olarak değişen kalınlıklarda bir tabaka oluşturan, geek bağ dokusu ve yağ hücrelerinden meydana gelir (2, 12).

2.3.4. Derinin Damar ve Sinirleri

Deriyi besleyen arteriyel damarlar iki pleksus oluşturur. Biri papiller ve retiküler tabaka arasında, diğri ise dermis ile subkütan doku arasında yerlemitir. Bu pleksuslardan çıkan ince dallar dermal papillaları damarlandırır. Her papilla sadece bir çıkan arteriyel ve bir inen venöz dala sahiptir. Venler, ikisi arteriyel damarlar için tarif edilen konumda ve ncsde dermisin orta kısmında olmak üzere üç pleksus halinde düzenlenmiştir. Deride glomerallı arteriyovenöz anostozomlara sık rastlanır. Lenfatik damarlar dermisin papillasında kr kesecikler olarak balar ve arteriyel damarlarda tarif edildiği gibi iki pleksus oluturmamak üzere birbirine sokulurlar.

Derinin en önemli fonksiyonlarından biri bol miktarda innervasyonu ile çevreden uyarı almaktır. Epidermis ve kütanöz bezlerdeki serbest sinir sonlanmalarına ek olarak dermiste subkütan dokuda reseptörler mevcuttur; bunlar dermal papillada daha çok bulunur. Kıl folliküllerinde çevreden gelen dokunma uyarılarının işlenmesinde önemli olan zengin bir sonlanma ağı vardır (11).

2.3.5. Deride Damarlanma

Deride, birbirleriyle bağlantılı üç damar şebekesi bulunur:

a. Subpapiller pleksus: Dermisin papillalı tabakasında seyreder.

b. Kütanöz pleksus: Dermisin papillalı ve retiküler tabakaları arasındaki sınırda gözlenir.

c. Hipodermik veya subkütanöz pleksus: Hipodermisde ve subkütanöz yağ dokusunda bulunur.

Hipodermik ve kütanöz pleksusların dalları, hipodermisin yağ dokusunu, ter bezlerini ve kıl folliküllerinin derin kısımlarını besler.

Arteriyel ve venöz dolaşımlar arasında bulunan arteriyovenöz anostozomlar, retiküler ve hipodermik bölgelerde yaygın olarak bulunur ve vücut ısının düzenlenmesinde rol oynar (2).

2.3.6. Deri Eklentileri

2.3.6.1. Kıllar

İnsan embriyosundaki ilk kıl lanugo olarak adlandırılan ince pigmentsiz kıllardır. Lanugo doğumdan önce dökülür. Kıl follikülleri sürekli olarak yenilenirler. Folliküllerin büyüme aşamaları anajen, gerileme dönemi katajen, dinlenme dönemi telojen olarak adlandırılır. Kıllar, vücutta çok yaygın olarak bulunan uzun keratinize yapılardır (2, 5, 12).

2.3.6.2. Bezler

Derideki bezler yağ bezleri, ter bezleri ve meme bezleridir (2, 5, 12).

2.3.6.3. Tırnaklar

Tırnaklar, el ve ayak parmaklarının terminal falankslarının dorsal yüzünde bulunan sert keratin plaklarıdır. Tırnak plağı, yalnızca stratum bazale ve stratum spinosumdan oluşmuş deri yüzeyi olan tırnak yatağını örter (2, 11).

2.4. İmmünohistokimyasal Boyama

2.4.1. CD34

İnsan hematopoietik progenitor hücre antijeni ve fonksiyonu bilinmeyen bir transmembran proteinidir. Hem normal dokularda hem de insan neoplazmalarında gösterilmiştir (72). Biyokimyasal olarak 110 kDa ağırlığında olup genellikle embriyonik hematopoietik hücreler tarafından eksprese edilir. Ayrıca dermis ve yumuşak dokudaki dendritik ve içsi fibroblastik hücrelerde, endotel hücrelerinde, kemik iliğinin stromal hücrelerinin prekürsörlerinde reaksiyon gösterir (73). GİST (Gastrointestinal stromal tümör) ve düz kas hücre tümörlerinin yanı sıra bir kısım lösemilerde, kaposi sarkomu ve anjiosarkom, hemanjioperisitom gibi vasküler tümörlerde, sinir kılıfı tümörlerinde, epitelooid sarkom ve dermatofibrosarkomda da bulunduğu bildirilmiştir (72). GİST'lerin %70'inde kuvvetli yaygın sitoplazmik boyanma saptanmaktadır. Geri kalan olgularda yama tarzında orta derecede boyanma görülür. Nöral, schwannian, otonomik sinir diferansiyasyonu gösteren olgularda daha az ve zayıf pozitiflik saptanır (74, 75). Antijen retrieval muamelesi yapılmamış GİST olgularının ancak %3'den azında CD34 pozitif bulunur. CD34 pozitifliği kolorektal ve özofagial GİST'lerde sık gözlenir (76, 77). KIT negatif tümörlerin çoğu (%69) CD34 ile de negatiftir. CD34 negatif GİST'lerin çoğu epitelooid tiptir (78). Ayrıca çoğu tümörde lenfatik ve kan damar invazyonunun gösterilmesi için kullanılan belirleyicilerden biridir. CD 34 genellikle sitoplazmik boyanma gösterirken bazı vakalarda membran boyanması da görülebilmektedir (73).

2.4.2. Düz Kas Aktini (Smooth Muscle Actin-SMA)

İntermediyer filament olmayan miyojenik markerdir. Aktin protein ailesinde altı izoform mevcuttur. Bunlar mikroflamentöz kontraktıl proteinlerdir ve çizgili kas alfa, düz kas alfa ve gamma, kalp kası alfa, nonmiyojenik beta ve gamma aktinler olarak bilinirler. Alfa ve gamma kas izoformları, saf miyojenik diferansiyasyon gösteren dokularda bulunmasına karşın, fibroblast ve miyoepitel özelliğindeki hücrelerde de görülebilmektedir. Tanı için ideal olan, selektif izoformları kullanılmaktır (76). GİST olgularının %20-40'ında orta yoğunlukta 11 diffuz, %20-25'inde ise zayıf, yama

tarzında SMA ekspresyonu gözlenmektedir. İnce bağırsak lokalizasyonlu tümörlerde sıkça pozitifdir (75, 79, 80).

Aktin (SMA-Smooth Muscle Actin) immünohistokimyasal boyama yöntemi ovaryumda mikrovasküler sistemi görüntülemek için de kullanılmaktadır (81, 82, 83).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı, Gaziantep Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji AD Laboratuvarı ve Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma süresince Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Etik Kurul kararlarına uyuldu (22.05.2013, Karar No:2) (Ek-1). Çalışmada Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Araştırma Merkezinden elde edilen 25 adet dişi ve 4 adet erkek olmak üzere toplam 29 adet, ortalama 5-6 aylık, 250-300 gr ağırlığında Wistar albino sıçan kullanıldı.

3.2. Yöntem

Hayvanlar ortama alışmaları için deneye başlamadan 1 hafta önce diğerlerinden ayrılarak, ortam ışığının 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olarak ayarlandığı ortam ısısının 22 ± 2 °C sabitlendiği odalardaki tel kafeslere alındı (dişi ve erkek sıçanlar ayrı ayrı kafeslere konuldu). Deney süresince tüm hayvanlar standart pellet yem ve çeşme suyuyla beslendiler.

Deneyde kullanılan tüm hayvanlar çalışma başlangıcında tartılarak ağırlıkları kayıt edildi. Öncelikle, 5 adet gebe olmayan dişi sıçan, kontrol grubunu oluşturmak üzere, diğer hayvanlardan ayrı bir kafese alındı. Kalan hayvanlardan gebe olmadığı belirlenen her dişi sıçana 20 IU Pregnant Mare's serum Gonadotropin (PMSG), 48 saat sonra ise 20 IU insan koryonik gonadotropin (hCG) intraperitonel olarak enjekte edilerek sıçanlarda süperovulasyon sağlandı. Aynı günün akşamı her bir dişi sıçanların kafesine 1'er erkek sıçan bırakıldı. Hayvanların çiftleşmesi sonucunda vajinal plak oluşumları izlendi. Vajinal plak oluşumu gözlenen dişilerin yanından erkek sıçanlar alınarak dişi sıçanların gebeliğin 0. Gününde oldukları kabul edildi. Bu hayvanlar her grupta 5 hayvan olmak üzere toplam 5 gruba ayrıldı:

Kontrol Grubu: Kontrol grubunda gebe olmayan dişi sıçanlar sakrifiye edilerek her iki ovaryumu alındı.

1. Gruptaki 5 hayvan gebeliğinin 14. gününde sakrifiye edilerek yavruları sezeryan yöntemiyle alındı. Elde edilen fetal sıçanlardan deri örnekleri alındı. Anne sıçanların her iki ovaryumu alındı.
2. Gruptaki 5 hayvan gebeliğinin 17. gününde sakrifiye edilerek yavruları sezeryan yöntemiyle alındı. Elde edilen fetal sıçanlardan deri örnekleri alındı. Anne sıçanların her iki ovaryumu alındı.
3. Gruptaki 5 hayvan gebeliğinin 20. gününde sakrifiye edilerek yavruları sezeryan yöntemiyle alındı. Elde edilen fetal sıçanlardan deri örnekleri alındı. Anne sıçanların her iki ovaryumu alındı.
4. Gruptaki 5 hayvanın yavrularını doğurması beklendi. Doğumdan sonra tüm hayvanlar sakrifiye edildi. Yeni doğan yavru sıçanlardan deri örnekleri alındı. Anne sıçanların her iki ovaryumu alındı.

Bu aşamadan sonra çalışma iki ayrı bölümde devam ettirilmiştir. Anne sıçanlardan alınan ovaryumlar ile 5 ayrı grup oluşturulmuş, fetal ve postnatalin ilk günündeki sıçanlardan alınan deri örnekleri ile de 4 ayrı grup oluşturulmuştur. Elde edilen deney grupları ve deney hayvan sayıları:

G Kontrol: Gebe olmayan sağlıklı dişi ovaryumu (n=5)

G1. Grup: 14 günlük gebe sıçan ovaryumu (n=5)

G2. Grup: 17 günlük gebe sıçan ovaryumu (n=5)

G3. Grup: 20 günlük gebe sıçan ovaryumu (n=5)

G4. Grup: Yeni doğum yapan anne ovaryumu (n=5)

F1. Grup: 14 günlük fetal sıçan derisi (n=5)

F2. Grup: 17 günlük fetal sıçan derisi (n=5)

F3. Grup: 20 günlük fetal sıçan derisi (n=5)

F4. Grup: Postnatal 1 günlük sıçan derisi (n=5)

Alınan tüm dokular ışık mikroskopunda incelenmek üzere takipleri yapılarak blok haline getirildi.

3.2.1. Işık Mikroskopik Doku Hazırlama Yöntemleri

Doku örnekleri hemen bouin solüsyonu içerisine alınarak 8 saat süreyle tespit edildi. Daha sonra 2-3 saat akar suda yıkandı. % 50’likten başlayarak %60, %70, %80, %90, %95 ve %99 gibi alkollerde belirli sürelerde bekletildi. Bu sayede pikrik asitin uzaklaşması sağlandı. Daha sonra ksilende 1-2 saat bekletildi. Bu sayede dokunun şeffaflaştırılması sağlandı. Doku 50 °C’deki etüv içinde üç defa her seferinde 1-2 saat olmak üzere sıvı parafinde bekletildi. Böylece parafin şeffaflandırıcı ile yer değiştirdi ve doku içine nüfuz etti. Bundan sonra doku gömme materyali içine konularak bloklar elde edildi (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Işık mikroskopik doku takip işlemi

Solüsyon	Süre
1. Bouin	8 saat
2. Çeşme suyu	2-3 saat
3. Etil Alkol (% 50)	60 dakika
4. Etil Alkol (% 60)	60 dakika
5. Etil Alkol (% 70)	60 dakika
6. Etil Alkol (% 80)	60 dakika
7. Etil Alkol (% 90)	60 dakika
8. Etil Alkol (% 95)	60 dakika
9. Etil Alkol (% 99)	60 dakika
10. Ksilen	60 dakika
11. Sıvı parafin (3 kez)	60 dakika
12. Bloklama	

Blok haline getirilen dokulardan, 5 µm kalınlığında seri kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin veya Massons Trikom ile boyandı. Ayrıca çalışmada immünohistokimyasal boyama yöntemlerinden CD34 ve Aktin (SMA – Smooth Muscle Actin) boyaları da kullanılmıştır.

3.2.2. Hematoksilen-Eozin Boyası

Lam üzerine alınan kesitler 12 saat etüvde bekletildi. Daha sonra 40-45 dk ksilende bekletilen preparatlar sırasıyla %100 %90 %70 %50'lik alkollerde 3'er dakika bekletildi. Daha sonra hematoksilende 20 dakika bekletildi. Akar çeşme suyunda 20 dakika bekletildi. Suda yıkanan preparatlar 100 ml'si için 70 ml alkol içerisine 30 ml hidroklorük asit eklenmesiyle elde edilen asit alkole daldırılıp birkaç saniye tutulur. Akan çeşme suyunda 20 dakika yıkanır. Daha sonra örnekler 10 saniye eozin de bekletildi. Distile suda çalkalanıp %95 ve %100'lük alkollerde 2-3 dakika bekletildi. Son olarak 30 dakika ksilende bekletilen preparatlara entellan ile kapatma işlemi uygulandı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin boyama protokolü

Solüsyon	Süre
1. Ksilen	3 dakika
2. %100 alkol	3 dakika
3. %90 alkol	3 dakika
4. %70 alkol	3 dakika
5. %50 alkol	3 dakika
6. Hematoksilen	20 dakika
7. Çeşme suyu	20 dakika
8. Asit-alkol	birkaç saniye batır çıkar
9. Çeşme suyu	20 dakika
10. Eozin	10 saniye
11. Distile su	çalkala
12. %95 alkol	2-3 dakika
13. %100 alkol	2-3 dakika
14. Ksilen	30 dakika
15. Kapama	

3.2.3. Masson Trikrom Boyası

Parafin bloklardan alınan kesitler lamaların üzerine yerleştirildi ve masson trikom boyama için sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı:

1. Alınan dokular 1 saat etüvde bekletildi
2. Lamalar 1 saat ksilende bekletildi.
3. %100'lük, %90'lık, %70'lik, %50'lik alkollerde 3'er dakika bekletildi.
4. Çeşme suyunda 3 dakika bekletildi.
5. Lamalar distile suda yıkandı.
6. Bouinde 56°C 1 saat bekletildi.
7. Haematoxylen Weigerts A solüsyonu ve Haematoxylen Weigerts B solüsyonlarından eşit miktarda alınarak hazırlanan demirli hematoksilen solüsyonunda 1 saat bekletildi.
8. Örnekler mavi rengi alana kadar (yaklaşık 20 dakika) akar suda bekletildi.
9. Lamalar %1 hidroklorik asit, %70 etanol karışımına batırılıp çıkarıldı.
10. Distile suya batırıp çıkarıldı.
11. Plasma stain solüsyonunda 5-10 dakika bekletildi.
12. Lamalar distile suya batırıp çıkarıldı.
13. Örnekler Phosphomolybdic asit (%1) ve distile sudan oluşan B solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
14. %1'lik asetik asitte birkaç kez çalkalandı.
15. 400 mg light gren SF yellowish, 100ml distile su, 0,2 ml glacial acet asitten oluşan C solüsyonunda 15 dakika bekletildi.
16. %50'lik ve %70'lik alkolde 2'şer dakika, %90'lık ve %95'lik 1'er dakika alkol serilerinden geçirildi.
17. Örnekler ksilende 30 dakika bekletildi.
18. Lamaların üzeri entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

3.2.4. İmmünohistokimyasal Uygulamalar

3.2.4.1. Aktin (SMA-Smooth Muscle Actin) Boyası

Bu uygulamada Ultraview DAP detection kiti ve Neomarker Smooth Muscle Actin (SMA) primer antikoru kullanıldı.

Parafin bloklardan alınan kesitler lamların üzerine yerleştirildi ve aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulandı:

1. Alınan dokular 30 dakika etüvde bekletildi.
2. 30 dakika ksilende tutuldu.
3. 60 dakika antikor titrasyonu yapıldı.
4. Preparatlara yıkama işlemi yapıldı.
5. 8 dakika hematoksilen uygulaması yapıldı.
6. Örneklerle yıkama işlemi yapıldı.
7. 4 dakika blue regart uygulaması yapıldı.
8. Preparatlara yıkama işlemi yapıldı.
9. 2 dakika alkolde bekletildi.
10. 2 dakika ksilende bekletildi.
11. Lamlar entellan yardımıyla lamel ile kapatıldı.

3.2.4.2. CD34 Boyası

Bu uygulamada Ultraview DAP detection kiti ve Ventana CD34 primer antikoru kullanıldı.

Parafin bloklardan alınan kesitler lamların üzerine yerleştirildi ve aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulandı:

1. Preparatlar 120 dakika 75 °C’de bekletilerek antijenleri açığa çıkarıldı.
2. 90 dakika antikor titrasyonu yapıldı.
3. Preparatlara yıkama işlemi yapıldı.
4. 8 dakika hematoksilen uygulaması yapıldı.
5. Örneklerle yıkama işlemi yapıldı.
6. 4 dakika blue regart uygulaması yapıldı.
7. Preparatlara yıkama işlemi yapıldı.
8. 2 dakika alkolde bekletildi.
9. 2 dakika ksilende bekletildi.
10. Lamlar entellan yardımıyla lamel ile kapatıldı.

Boyanan tüm preparatlar Leica DM750 araştırma mikroskobunda bakıldı. Dokuların CD34 ve aktin ile boyanıp boyanmadığı belirlendi ve boyanan alanların dağılımı değerlendirildi.

3.2.5. Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada; elektro-mag 5040 BP model etüv, Leica RM 2245 mikrotom, Leica DM 750 mikroskop, Olympus DP 26 model kamera ve Ventana Ultra Benchmark immünohistokimya cihazı kullanılmıştır.

3.2.6. Mikroskopik Ölçüm

Epidermis ve dermis kalınlığı ölçümü “Kameram 2.x.x.x.” programıyla yapılmıştır. Ölçüm masson-trikrom ile boyanmış preparatlarda yapılmıştır. Epidermiste ölçüm yapılırken; oblik geçen alanlar sayılmadı, stratum korneumun ayrılmış bölümleri dahil edilmedi. Dermis kalınlığı ölçümü yapılırken, papillaların ucundan hipodermise kadar olan bölüm ölçülmüştür. Kıl folliküllerinin sayımı hematoksilen-eozin ile boyanmış preparatlarda, ışık mikroskobunun x40’lık büyütmesinde yapılmıştır. Sayım sırasında, aynı preparatta ardı ardına gelen 5 alan incelenmiştir.

Dermis tabakasındaki damarların sayımı, aktin (SMA - Smooth Muscle Actin) ile boyanmış preparatlarda ışık mikroskobu ile x40’lık objektifte yapılmıştır. Sayım sırasında, aynı preparatta ardı ardına gelen 5 alan incelenmiştir.

3.2.7. İstatistiksel Yöntem

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılan sayısal değişkenlerin iki grupta karşılaştırılmasında Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve LSD çoklu karşılaştırma testleri, normal dağılmayan değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve Dunn çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır. Analizlerde SPSS 23.0 paket programı kullanılmış ve P değeri 0.05’in altında ise anlamlı kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4. 1. Ovaryum Bulguları

Bu kısımda G kontrol, G1, G2, G3 ve G4 gruplarındaki örnekler incelenmiştir.

G kontrol grubu: Germinal epitel hücrelerinin tek katlı yassıdan tek katlı kübik epitele değişkenlik gösterdiği alanlara rastlandı (Resim 4.11). Tunika albugineada yer yer damarlanmalar görüldü. Medullada bol miktarda arteriol, venül, kapiller ve yoğun aktin (SMA) pozitif alanlar gözlemlendi (Resim 4.12, 4.18). Dominant folliküllerin teka tabakasında yoğun damarlanma görüldü. Primordiyal ve tek tabakalı primer folliküllerin teka tabakalarında damarlanma gözlenmezken, stroma çevresinde damarlara rastlandı. Sekonder follikül izlendi (Resim 4.1). Graaf follikülde teka tabakası çevresinde aktin pozitif boyanmış damarlara rastlandı (Resim 4.19).

G1 Grubu: Germinal epitel kübik ve yassı hücrelerle seçildi (Resim 4.4, 4.13). Tunika albugineada damarlara ve bağ dokusuna rastlandı (Resim 4.13). Medullada yoğun damarlanmalar ve aktin pozitif alanlar görüldü (Resim 4.2, 4.20). Atreziye giden çeşitli evrelerdeki folliküller gözlemlendi (Resim 4.5). Graaf ve sekonder folliküllerin teka tabakalarında damarlar ve aktin pozitif alanlar görüldü (Resim 4.21). Kortekste korpus luteumlar görüldü (Resim 4.2, 4.20).

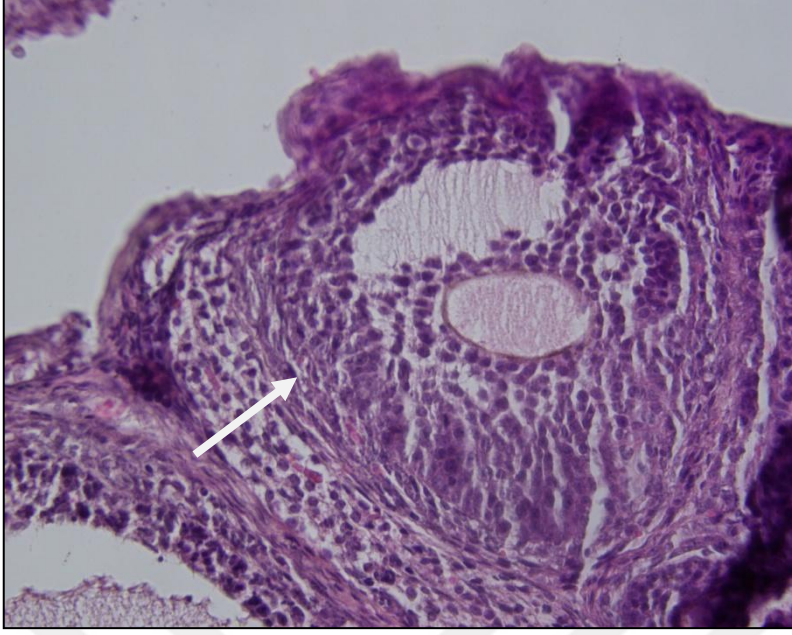
G2 Grubu: Germinal epitelde kübik ve yassı hücrelerle çevrilmiş alanlar saptandı. Tunika albugineada yer yer damarlanmalara ve bağ dokusu alanlarına rastlandı (Resim 4.14). Germinal epitel ve tunika albuginea açısından G kontrol ve G1 grubu ile farklılık göstermedi. Primer follikülün çok katlı evresinde ve diğer aşamalarda atreziye uğrayan folliküller görüldü (Resim 4.6, 4.23). Medullada arteriol, venül, kapiller, stromal hücreler ve yoğun aktin pozitif boyanmış alanlar görüldü (Resim 4.7, 4.22).

G3 Grubu: Germinal epitelde kübik ve yassı hücrelerle çevrilmiş alanlar görüldü. Tunika albugineada kapillerler, bağ doku, lifler ve stromal hücreler gözlemlendi (Resim 4.15). Germinal epitel ve tunika albuginea diğer gruplara göre farklılık göstermedi. Atreziye uğramış çeşitli aşamalarındaki folliküller izlendi (Resim 4.8, 4.25). Medullada

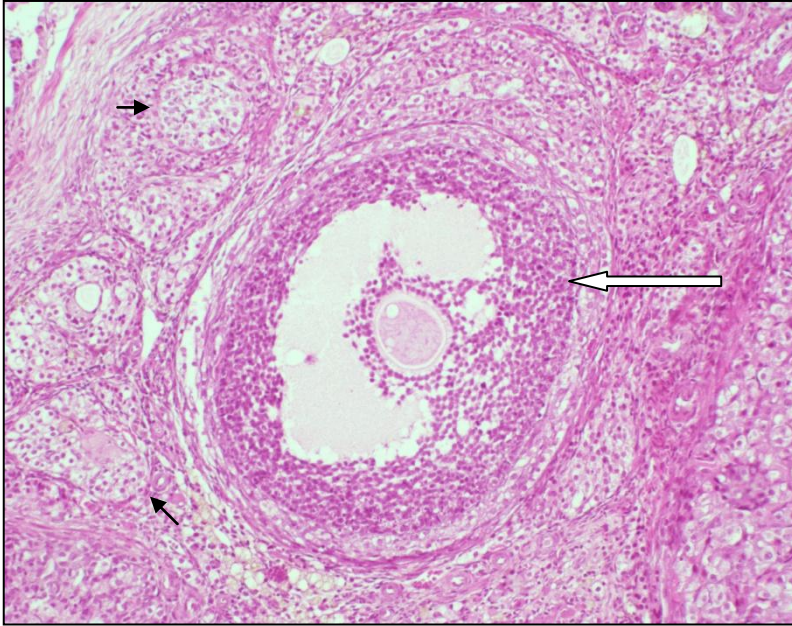
arterioller, venüller ve aktin pozitif boyanmış alanlara görüldü (Resim 4.24). Medulladaki damarlanmanın 14. ve 17. günlere kıyasla, 20. günde azaldığı görüldü.

G4 Grubu: Germinal epitelde kübik ve yassı hücreler görülmüştür. Tunika albugineada kapillerlere, stromal hücrelere ve bağ dokuya rastlandı (Resim 4.17, 4.29). Germinal epitel ve tunika albuginea diğer gruplara göre farklılık göstermedi. Bu gruptaki atreziye uğramış çeşitli aşamalardaki folliküllerin teka tabakalarında, diğer gruplardaki atretik folliküllere göre daha belirgin gerilemiş anjiyogeneze gözlendi (Resim 4.9, 4.27, 4.28). Medulla içerisinde arterioller, venüller ve aktin pozitif boyanmış alanlara rastlandı (Resim 4.10, 4.16). Ancak diğer gruplara göre damarlanmanın belirgin bir şekilde azaldığı görüldü (Resim 4.26).

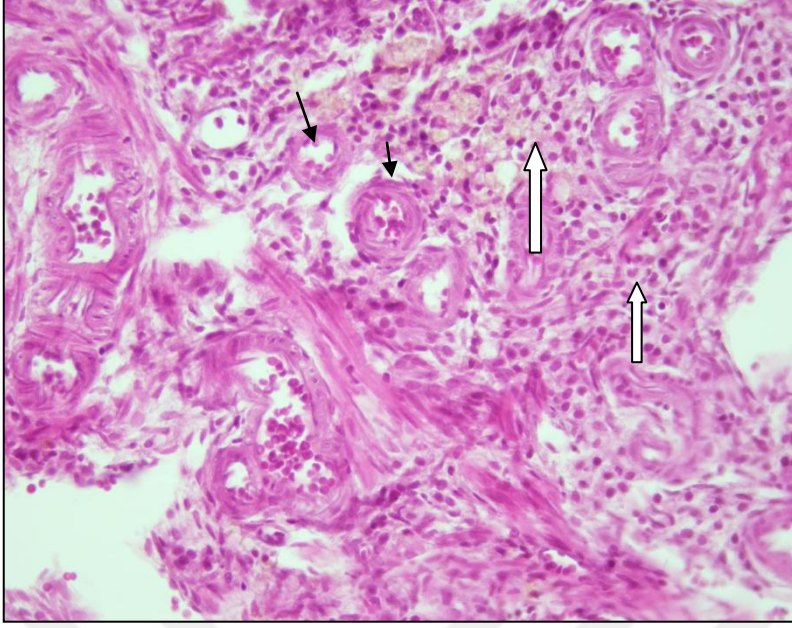
Çalışmada aktin primer antibody'nin yanında CD34 de kullanılmıştır. Fakat iki ayrı CD34 antibody denenmesine rağmen, teknik sebeplerden dolayı tüm preparatlarımızda CD34 negatif boyanma gözlenmiştir (Resim 4.30).



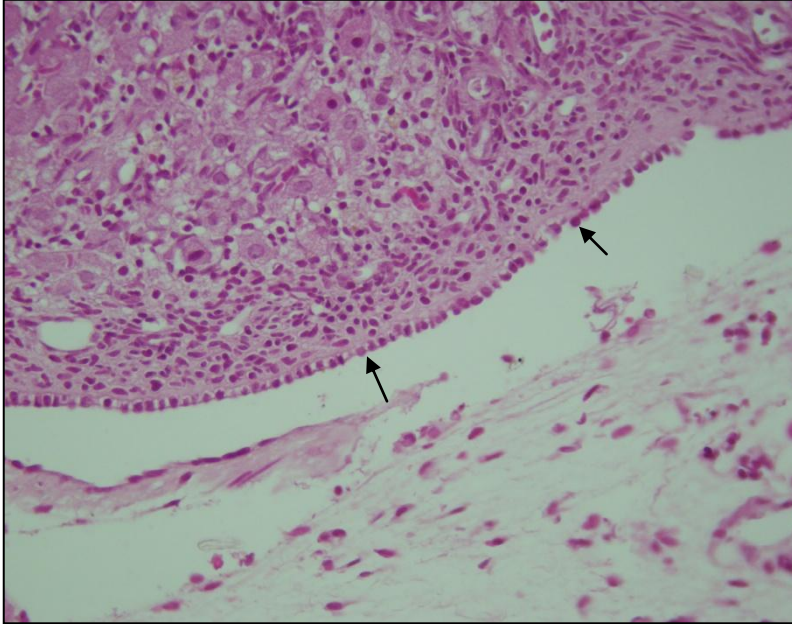
Resim 4.1. G kontrol grubunda gelişen bir sekonder follikül (⇨) izlenmekte. (x40 Hematoksilen Eozin)



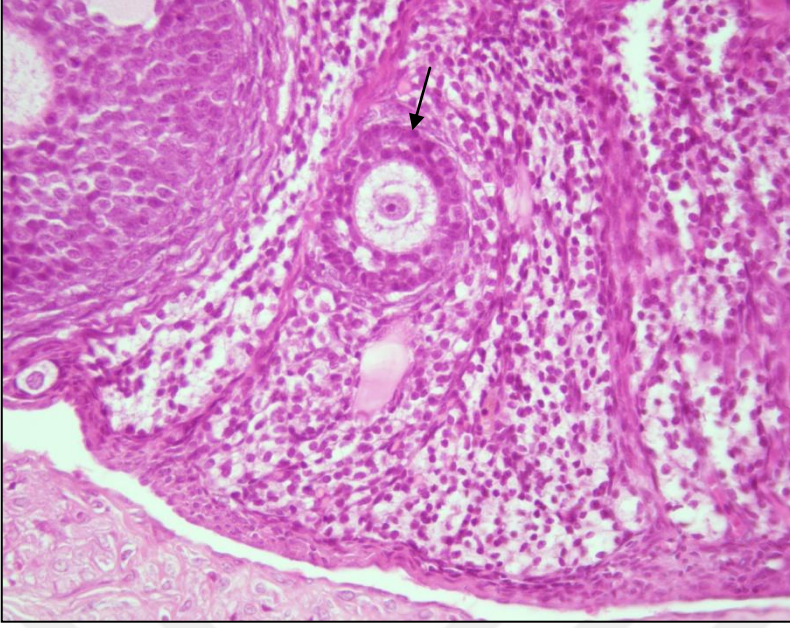
Resim 4.2. G1 grubunda bir graaf follikül (⇨) ve çevresinde gerilemekte olan korpus luteum yapıları (→) görülmekte. (x20 HE)



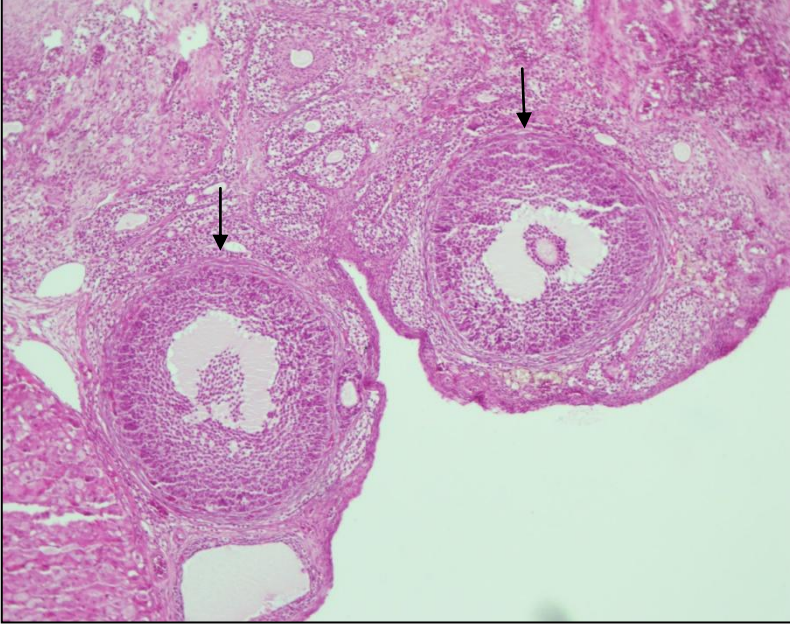
Resim 4.3. G1 grubunda medullada yoğun damarlar (→) ve stromal hücreler (⇨) görülmekte. (x40 HE)



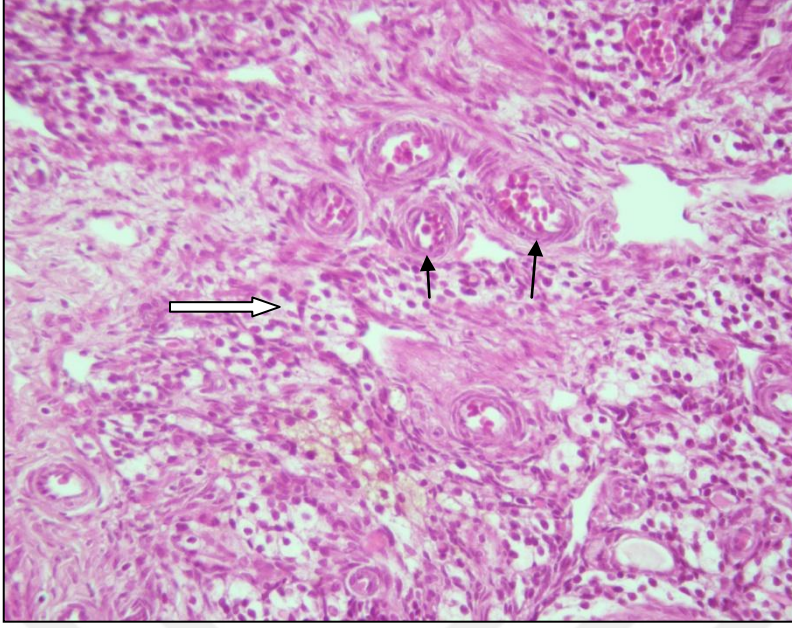
Resim 4.4. G1 gurubunda kübik hücreleriyle germinal epitel (→) görülmekte. (x40 HE)



Resim 4.5. G1 grubunda primer follikülün çok katlı evresi (→) görülmekte. (x40 HE)



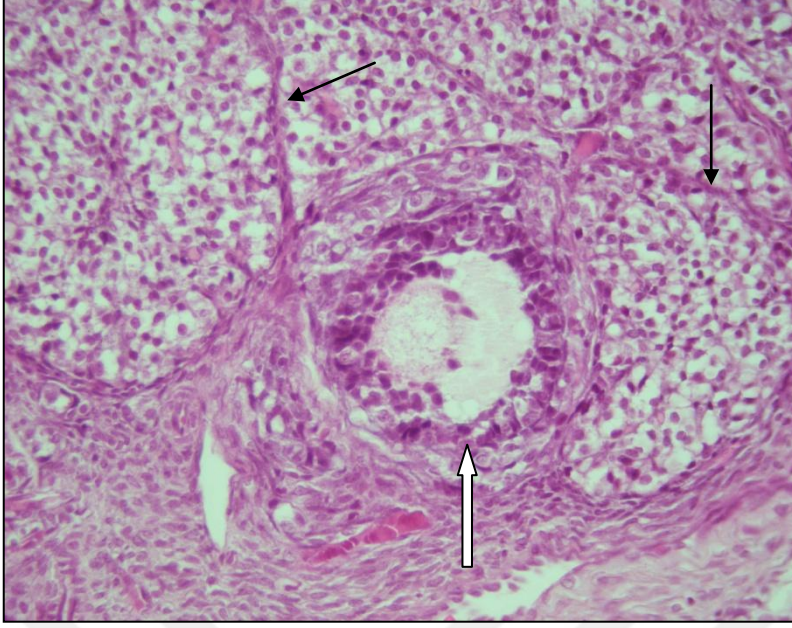
Resim 4.6. G2 grubunda primer ve tersiyer aşamada olan atreziye uğramış folliküller (→) görülmekte. (x10 HE)



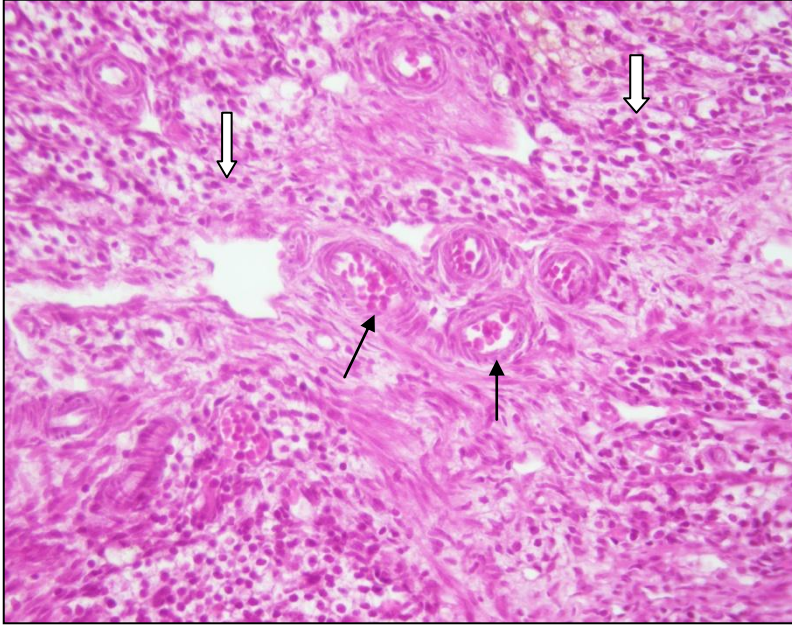
Resim 4.7. G2 grubunda medullada stromal hücreler (⇨) ve damarlar (→) görülmekte. (x40 HE)



Resim 4.8. G3 grubunda teka tabakasından ayrılmış atreziye uğramış bir tersiyer follükül (⇨) gözlenmekte. (x20 HE)



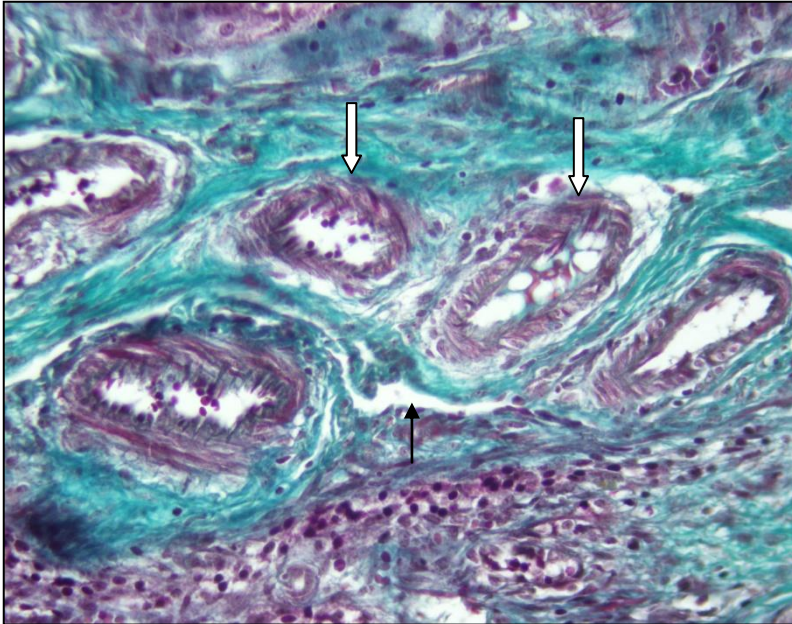
Resim 4.9. G4 grubunda atretik bir follikül (⇨) ve gerilemekte olan korpus luteumlar (⇨) izlenmekte. (x40 HE)



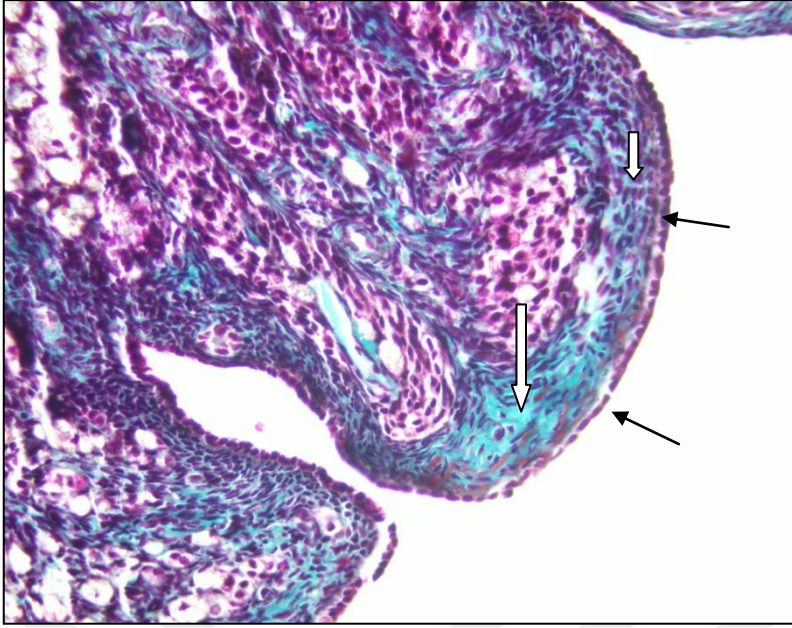
Resim 4.10. G4 grubunda medullada stromal hücreler (⇨) ve damarlar (⇨) görülmekte. (x40 HE)



Resim 4.11. G kontrol grubunda germinal epitel (→) ve tunika albuginea (⇨) görüntüsü. (x 40 Masson Trikrom)



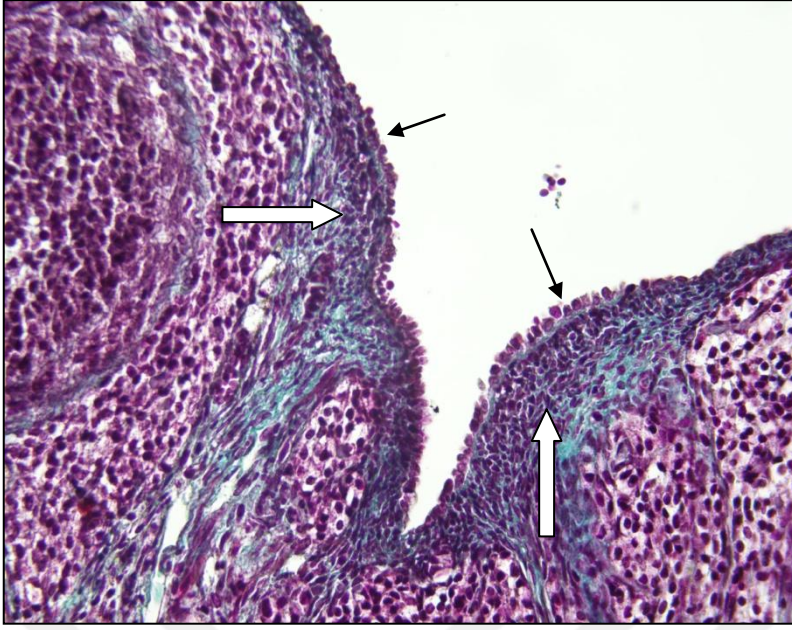
Resim 4.12. G1 grubunda medullada bağ dokusu alanları içerisinde arterioller (⇨) ve venüller (→) görülmekte. (x40 Masson-Trikrom)



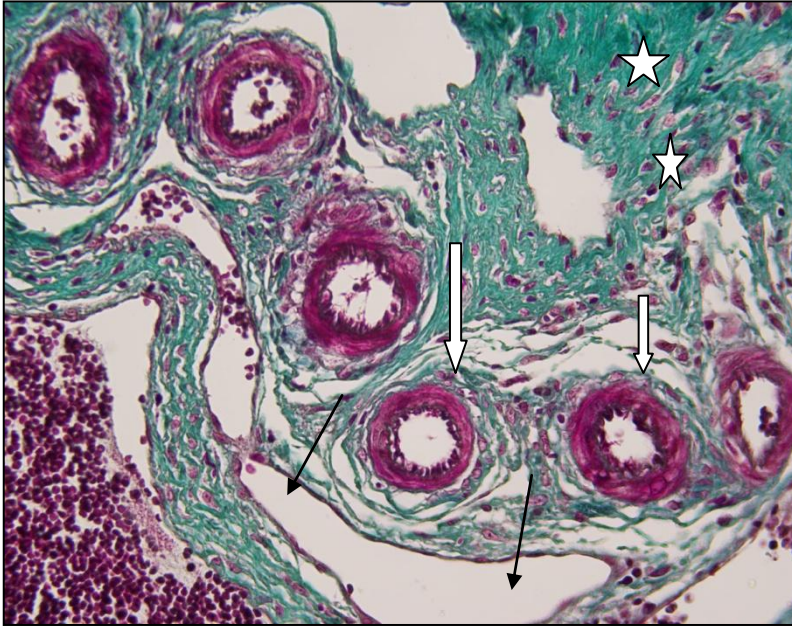
Resim 4.13. G1 grubunda yassı ve kübik arasında değişen germinal epitel (→) ve tunika albuginae lifleri (⇨)görölmekte. (x40 MT)



Resim 4.14. G2 grubunda germinal epitel (→), tunika albuginea (☆) ve atreziye giden folliküller (⇨) izlenmekte. (x40 MT)



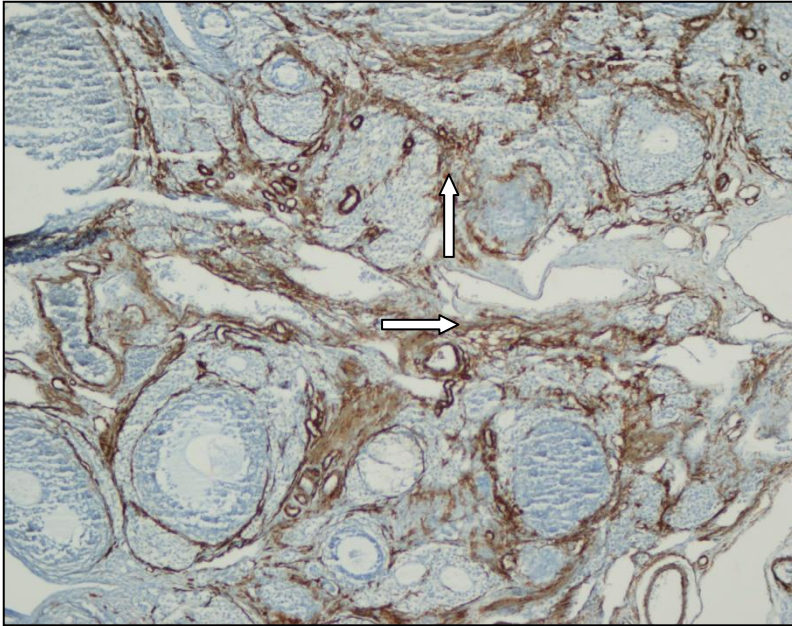
Resim 4.15. G3 grubundaki kübik epitele sahip germinal epitel (→) ve altında masson trikrom boyanmış lif ve stromal hücrelere sahip tunika albuginea yapısı (⇨). (x40 MT)



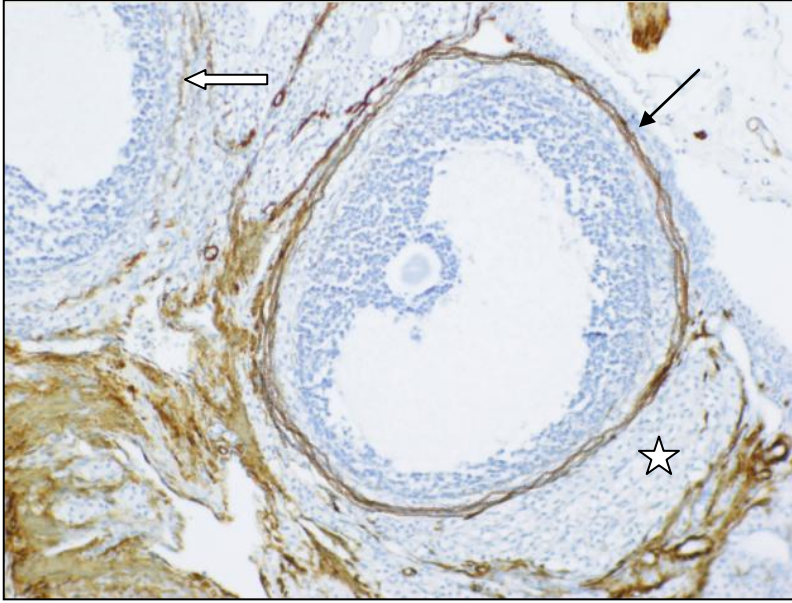
Resim 4.16. G4 grubunda medullada kollajen lifler (☆), arteriol (⇨) ve venül (→) yapıları görülmekte.(x40 MT)



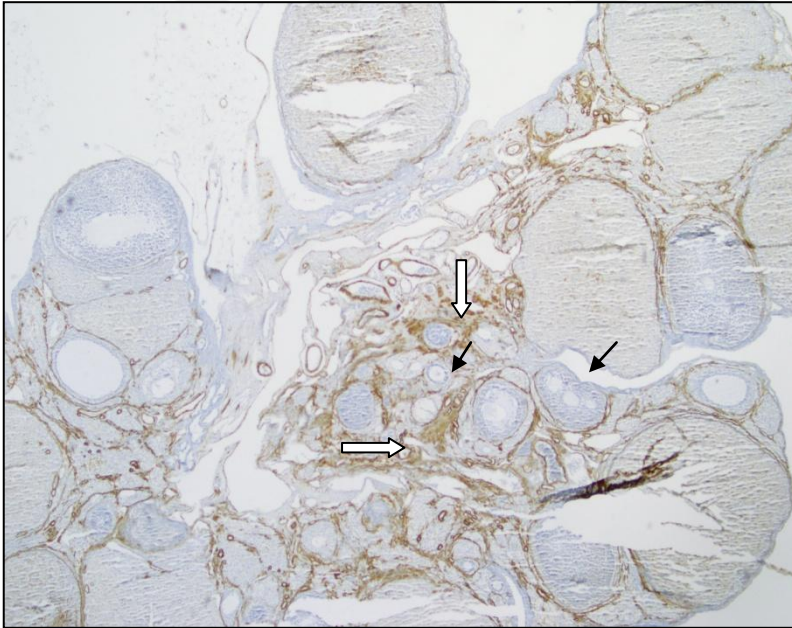
Resim 4.17. G4 grubunda kübik epitele sahip germinal epitel (→), altında tunika albuginea ve stromal hücreler (⇨) izlenmekte. (x40 MT)



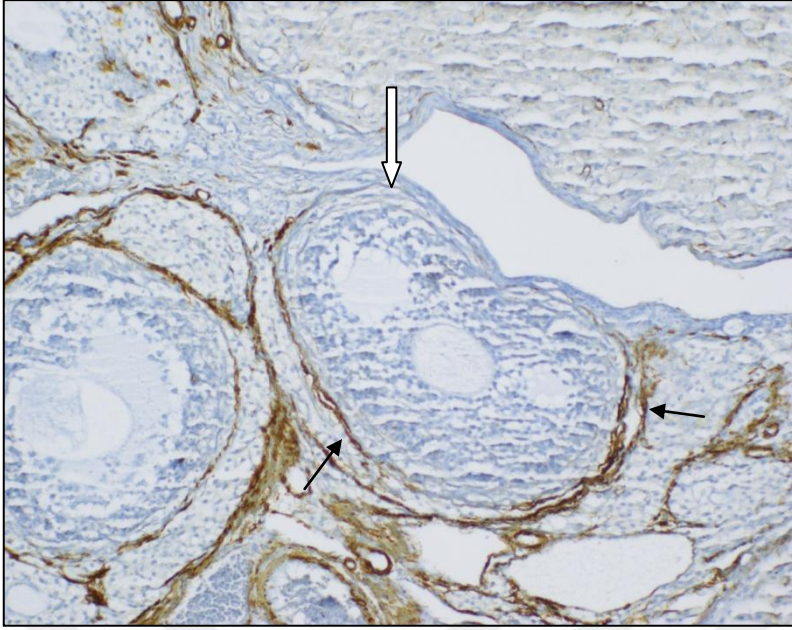
Resim 4.18. G kontrol grubunda medullada yoğun damarlar ve aktin pozitif (⇨) seçilmekte ve bol miktarda arteriol ve venül gözlenmekte. (x10 aktin)



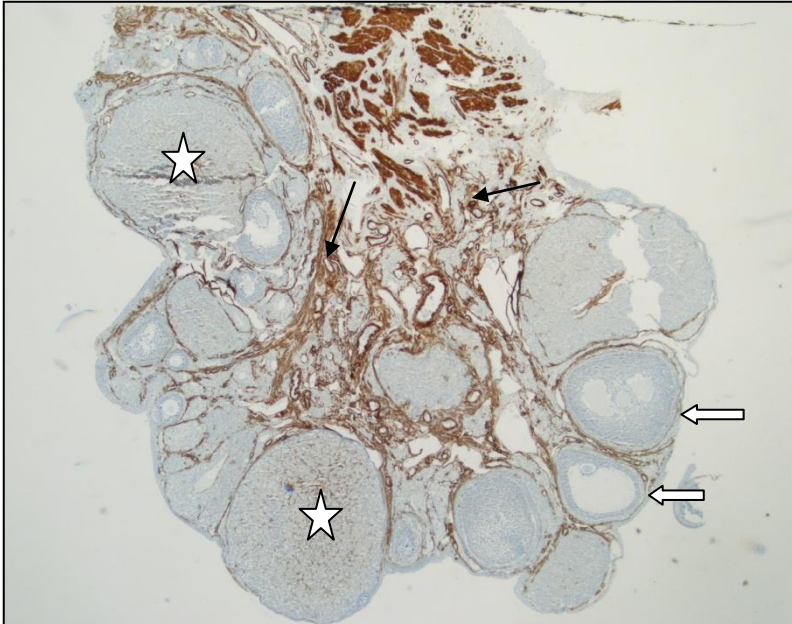
Resim 4.19. G kontrol grubunda aktin pozitif boyanmış alanlar ve gerilemekte olan korpus luteumlar (☆) izlenmekte. Sol üst köşede gerilemekte olan bir follikülde (⇨), graaf folliküle (→) oranla aktin pozitif alanların daha az olduğu gözlenmekte. (x20 aktin)



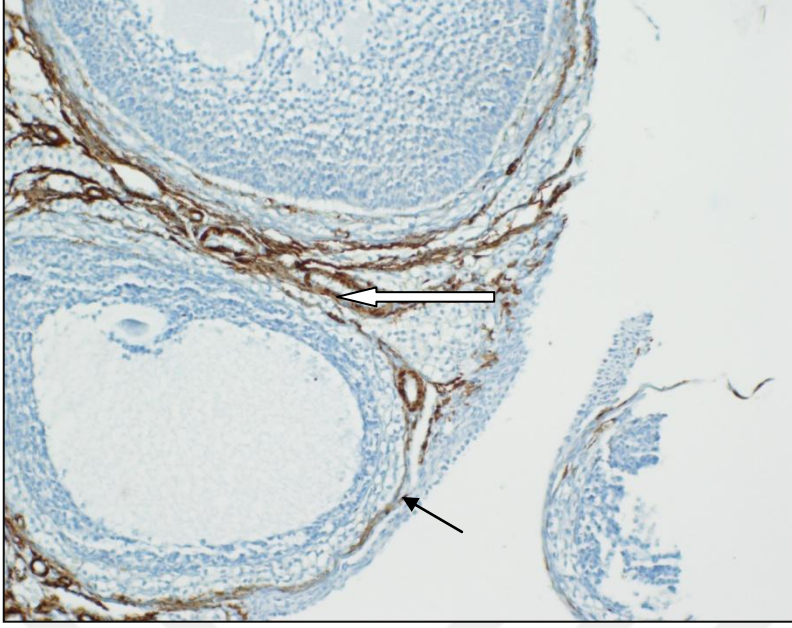
Resim 4.20. G1 grubunda medulla ve kortekste korpus luteumlar, medullada damarlar ve yoğun aktin pozitif alanlar (⇨) ve çeşitli aşamalı atretik folliküller (→) gözlenmekte. (x4 aktin)



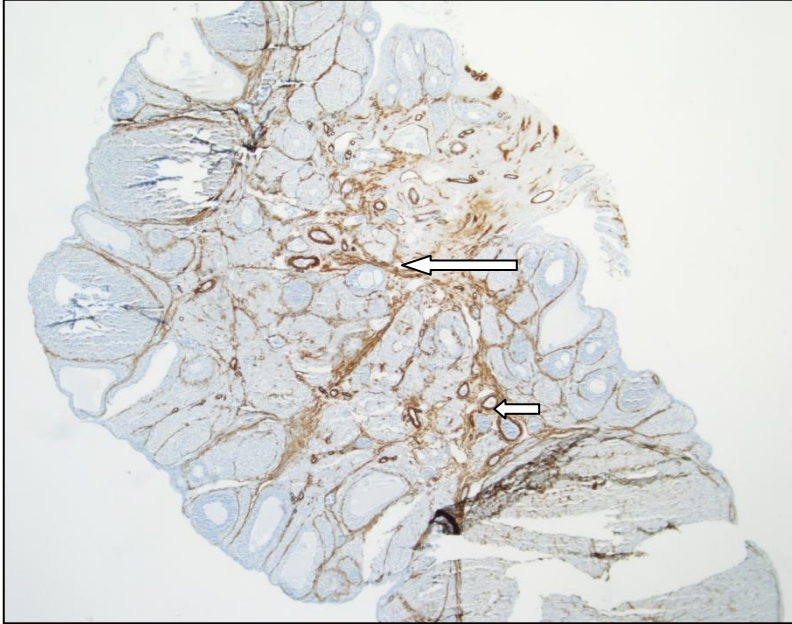
Resim 4.21. G1 grubunda atreziye giden folliküller (⇨) ve çevresindeki aktin pozitif alanlar (→) (x20 aktin)



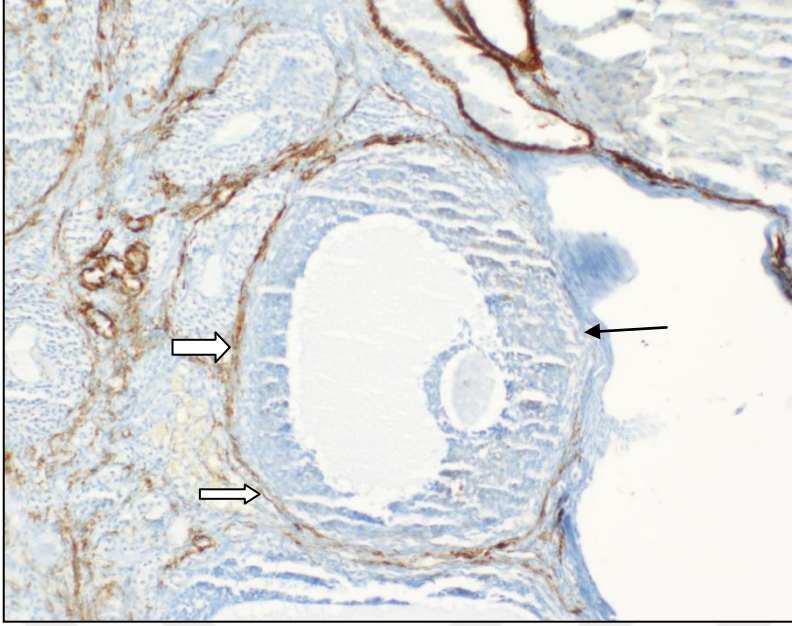
Resim 4.22. G2 grubunda medullada aktin pozitif alanlar (→), korpus luteumlar (☆) ve atreziye uğramış folliküller (⇨) izlenmekte. (x4 aktin)



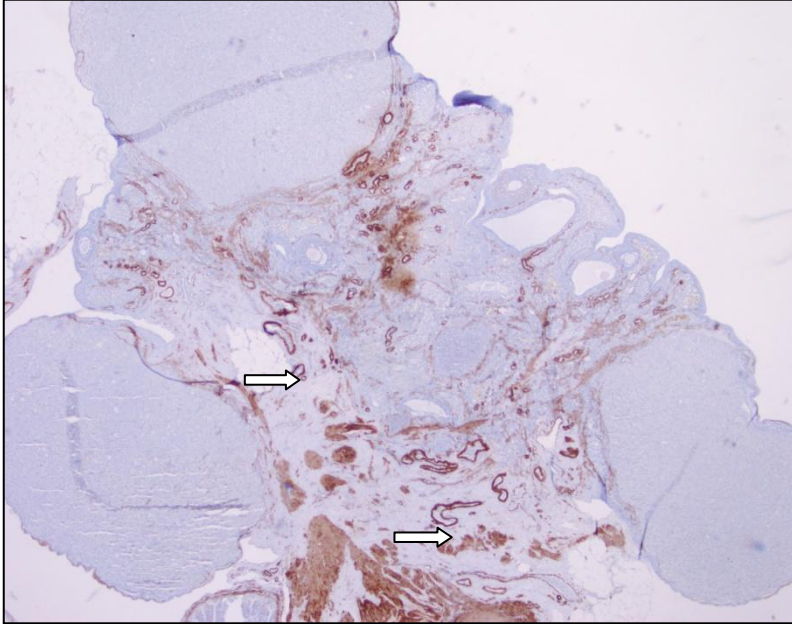
Resim 4.23. G2 atretik tersiyer folliküller (→) ve çevresinde aktin pozitif alanlar (⇨) izlenmekte. (x20 aktin)



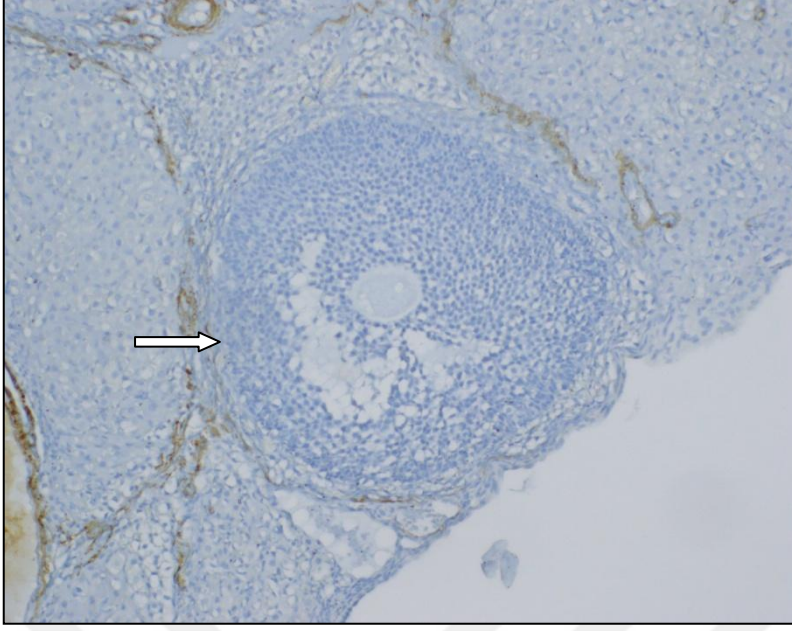
Resim 4.24. G3 grubunda medulla içerisinde arterioller, venüller ve aktin pozitif boyanmış alanlar (⇨) görülmekte. (x4 aktin)



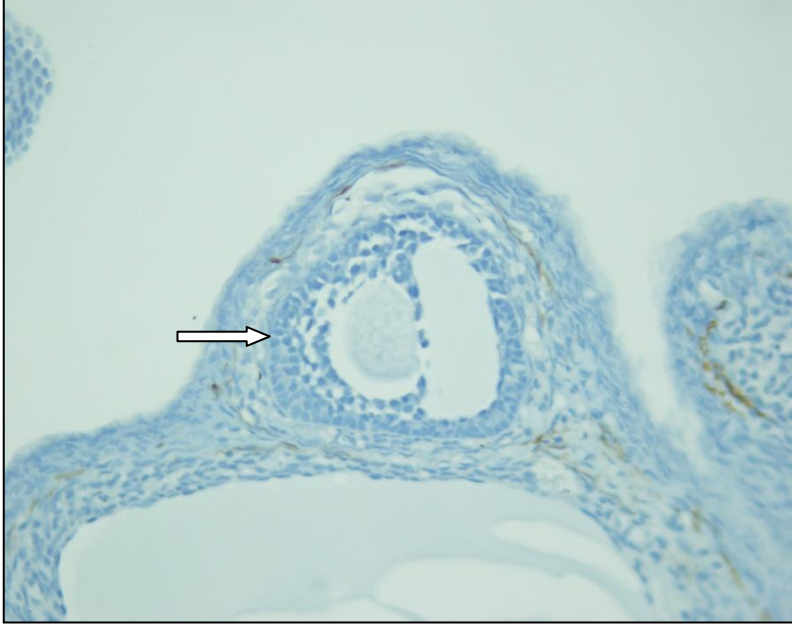
Resim 4.25. G3 grubunda atreziye giden tersiyer follikül (→) ve teka tabakasında azalmış aktin pozitif alanlar (⇨) görülmekte. (x20 aktin)



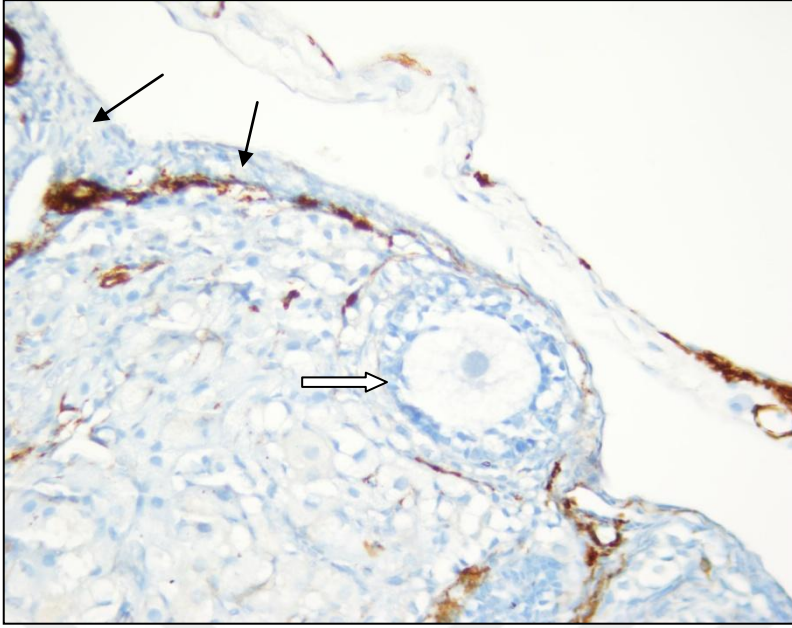
Resim 4.26. G4 grubunda medulla içerisinde arterioller, venüller ve aktin pozitif alanlar (⇨) görülmekte. (x4 aktin)



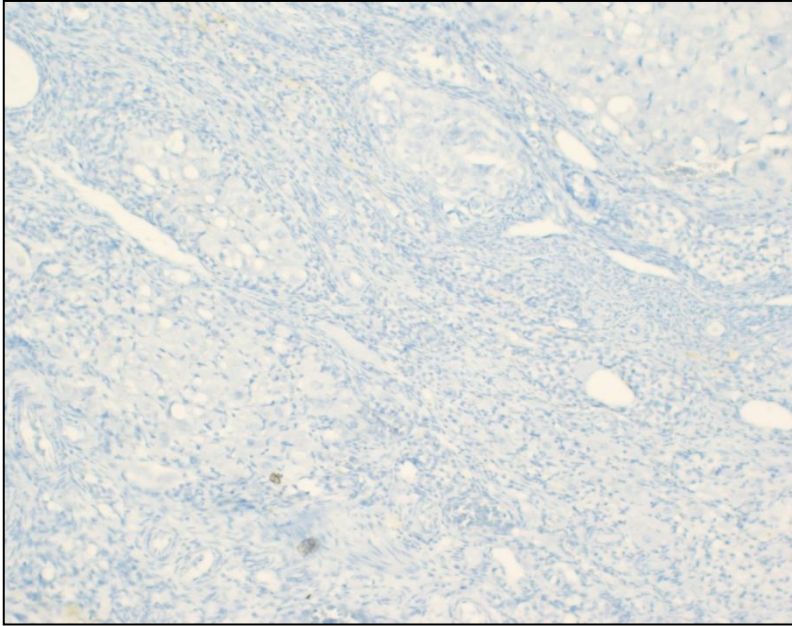
Resim 4.27. G4 grubunda aktin pozitif alanların azaldığı bir sekonder follikül (⇒) gözlenmekte. (x20 aktin)



Resim 4.28. G4 grubunda atreziye giden çok katlı primer follikül (⇒) görülmekte. (x40 aktin)



Resim 4.29. G4 grubunda tunika albuginea (→) ve atretik follikül (⇨) izlenmekte. (x40 aktin)



Resim 4.30. G3 grubu medullada CD34 negatif boyanma gözlenmekte. (x20 CD34)

4. 2. Deri Bulguları

Bu kısımda F1, F2, F3 ve F4 gruplarındaki örnekler incelenmiştir. Bulgular tablo 4.1’de özetlenmiştir.

F1 grubu: Diğer gruplara göre daha ince bir epidermis ve dermis tabakasının olduğu görüldü (Resim 4.31 grafik 4.3, 4.4 $p=0,001$). Stratum korneumun ince bir hat şeklinde ayrıldığı belirlendi (Resim 4.31). Kıl folliküllerinin oluşmaya başladığı gözlemlendi (Resim 4,35). Papilla düz bir şekilde uzanıyordu (Resim 4.31). Dermis tabakasındaki damarlar aktin (SMA) pozitif boyandı. Büyük damarların olduğu görüldü. Diğer gruplara göre daha az sayıda damar saptandı (Resim 4.39, grafik 4.1 $p=0,001$). Ter bezine rastlanmadı.

F2 grubu: Epidermis ve dermis kalınlığının F1 grubuna göre biraz daha arttığı görüldü (Resim 4.32, grafik 4.3, 4.4 $p=0,001$). Kıl follikülleri sayıca artmış ve follikül çapları gözle fark edilir şekilde genişlemişti (Resim 4.36, grafik 4.2 $p=0,001$). Dermis tabakasında aktin boyama yoğunlaştı (Resim 4.40). Damarların F1 grubuna göre sayıca arttığı (grafik 4.1, $p=0,001$) ve damar duvarlarının da kalınlaştığı gözlemlendi (Resim 4.40). Papillalar, F1. grubuna göre, nadiren epidermis altında hafif bağ dokusu dalgalanmaları başlamış olarak gözlemlendi (Resim 4.32). Ter bezine rastlanmadı.

F3 grubu: Epidermis ve dermis kalınlığının F2 grubuna göre biraz daha arttığı gözlemlendi (Resim4.33, grafik 4.3, 4.4 $p=0,001$). Stratum korneumun biraz daha kalınlaştığı ve ince bir hat şeklinde ayrıldığı gözlemlendi (Resim 4.33). Kıl follikülleri sayıca arttığı, follikül çaplarının arttığı ve folliküllerin kıllarını deri dışına çıkarmak üzere epidermise doğru uzadığı görüldü (Resim 4.37, Grafik 4.2 $p=0,001$). Dermis tabakasındaki damarlarda sayıca artış ve damar duvarlarında kalınlaşma gözlemlendi (Resim 4.41, grafik 4.1 $p=0,001$). Papilla dalgalanmalarının arttığı gözlemlendi (Resim 4.33). Ter bezine rastlanmadı.

F4 grubu: F3 gruba göre epidermin gözle fark edilir şekilde incelendiği (grafik 4.3 $p=0,001$), dermis kalınlığında ise belirgin bir artış olduğu gözlemlendi (Resim 4.34, grafik 4.4 $p=0,001$). Kıl folliküllerinin sayıca çok daha fazla arttığı ve follikül çaplarının genişlediği görüldü (Resim 4.38, grafik 4.1 $p=0,001$). Ayrıca folliküllerin çoğunun

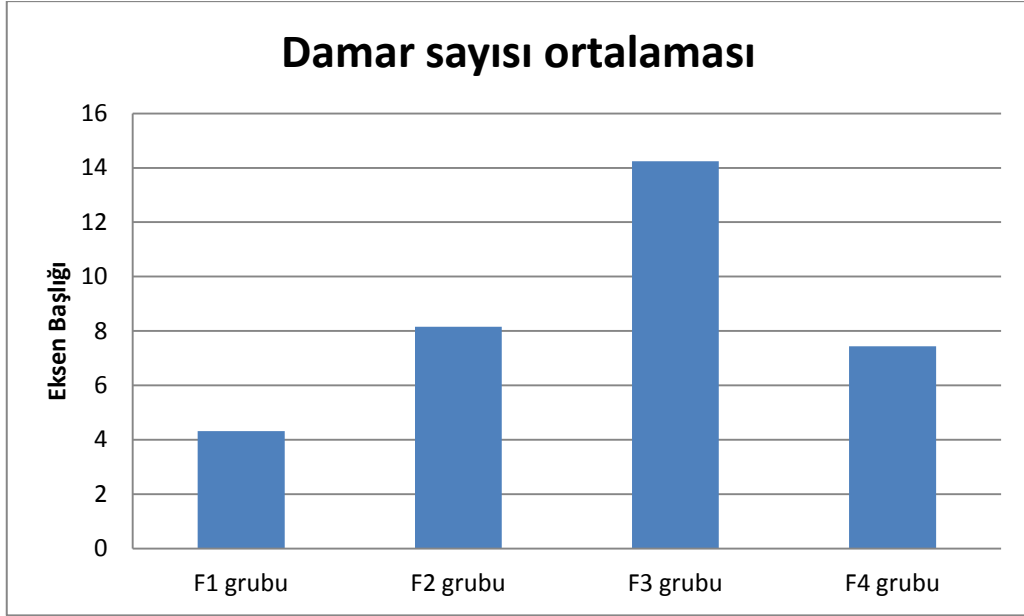
epidermise doğru uzadığı ve birkaç kılın deri dışına çıktığı gözlemlendi (Resim 4.34). Dermisdeki damar duvarlarında kalınlaşma görüldü (Resim 4.38). Dermis damarlarında birim kareye düşen damar sayısında azalma gözlemlendi (Resim 4.42, grafik 4.1 $p=0,001$). Dermal papilla dalgalanmalarının biraz daha ilerlediği ve kıvrımların sayıca daha da arttığı gözlemlendi. Ancak dermal papilla son şeklini henüz almamıştır (Resim 4.34). Ter bezine rastlanmadı.

Çalışmada aktin primer antibody'nin yanında CD34 de kullanıldı. Fakat iki ayrı CD34 antibody denenmesine rağmen, teknik sebeplerden dolayı tüm preparatlarımızda CD34 negatif boyanma gözlemlendi (Resim 4.43, 4.44).

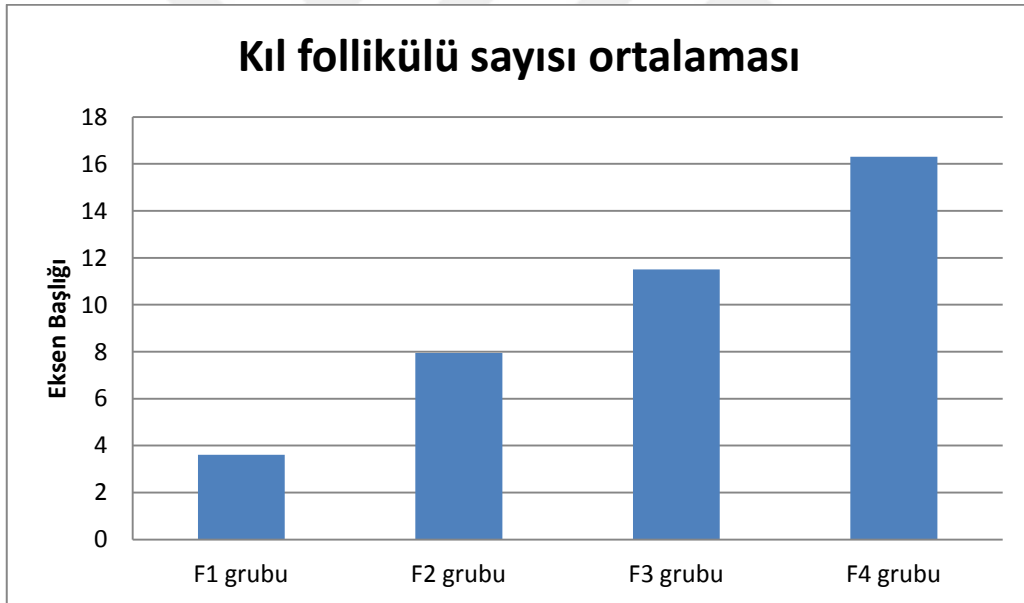
Değişkenler	Gruplar				P
	F1. fetal 14. Gün (n=5)	F2. fetal 17. gün (n=5)	F3. fetal 20. gün (n=5)	F4. postnatal 1. gün (n=5)	
Damar sayısı ortalaması (x40 birimkareye düşen)	4,32±0,54	8,16±0,17	14,24±2,43	7,44±0,91	0,001
Folikül sayısı ortalaması (x40 birimkareye düşen)	3,61±0,62	7,95±0,88	11,50±1,44	16,30±1,63	0,001
Epidermis kalınlığı (µm)	46,50±7,28	54,69±1,98	59,97±0,80	43,36±4,71	0,001
Dermis kalınlığı (µm)	109,53±19,26	137,09±2,01	149,04±0,85	277,86±57,15	0,001

Tablo 4.1. Gruplardaki damar sayısı ortalaması, follikül sayısı ortalaması, epidermis ve dermis kalınlığı

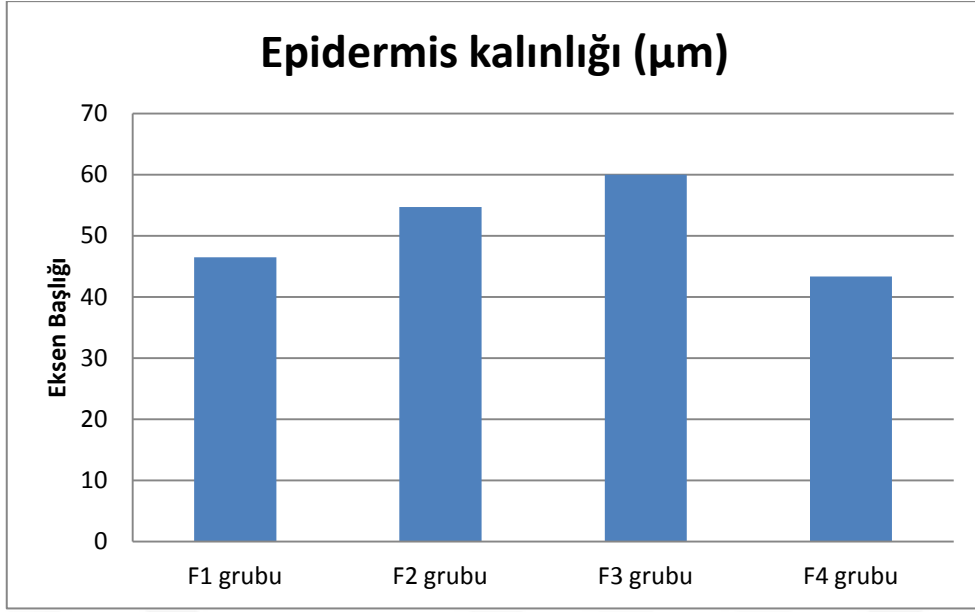
Bütün değişkenler bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenmiştir ($P=0,001$).



Grafik 4.1. x40 büyütmede birim kareye düşen aktin pozitif boyanan ortalama damar sayısı

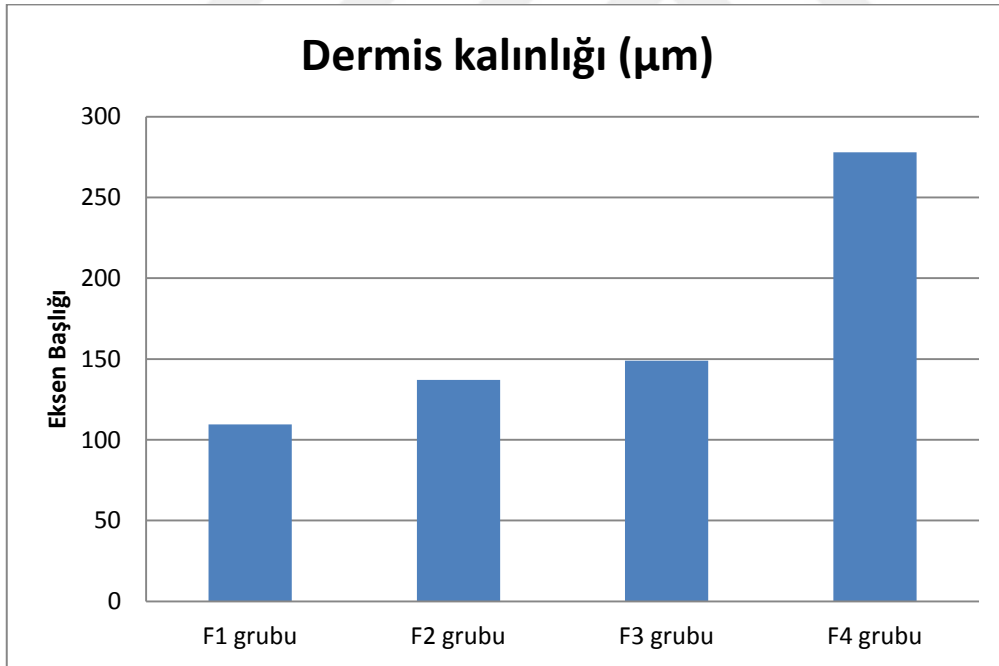


Grafik 4.2. x40 büyütmede birim kareye düşen ortalama kıl follikülü sayısı

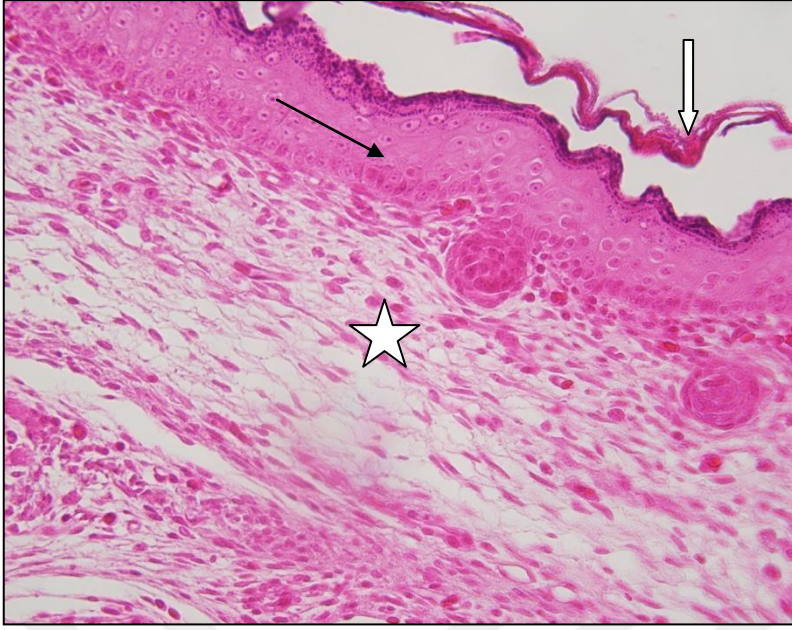


Grafik 4.3. Epidermis kalınlığı

(Epidermisde ölçüm yapılırken; oblik geçen alanlar sayılmadı, stratum korneumun ayrılmış bölümleri dahil edilmedi.)



Grafik 4.4. Dermis kalınlığı



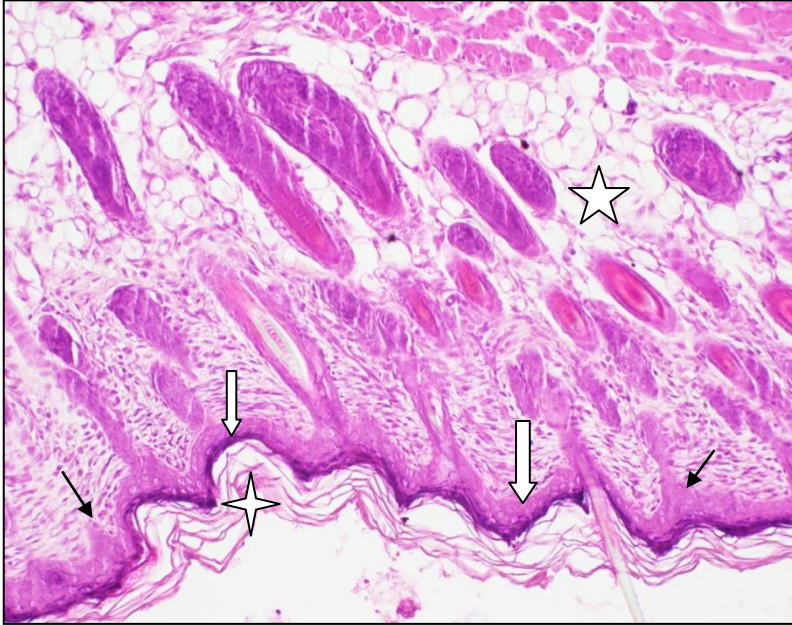
Resim 4.31. F1 Grubu 14 günlük fetal sıçan derisinde epidermis (→) , stratum korneum (⇨) ve dermis (☆) izlenmekte (x40 Hematoksilen eozin).



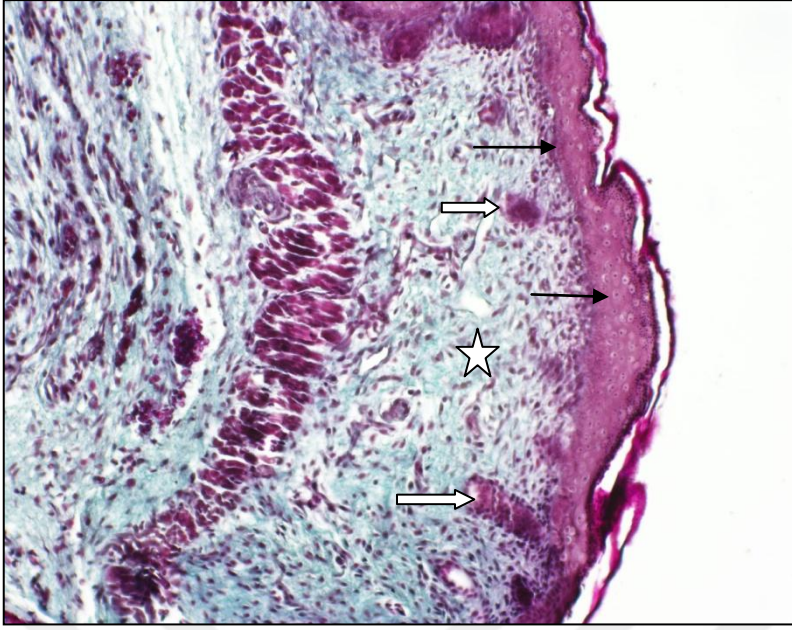
Resim 4.32. F2 Grubu 17 günlük fetal sıçan derisinde stratum korneum (⇨), epidermis(→)ve dermis (☆) görülmekte (x20 HE).



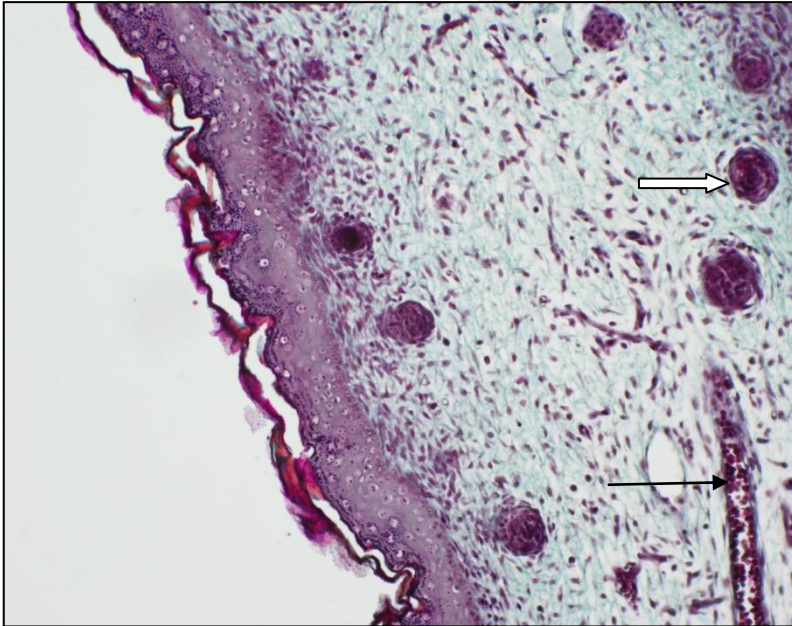
Resim 4.33. F3 Grubu 20 günlük fetal sıçan derisinde stratum korneum (→), epidermis (☆), papilla (→) ve dermis (☆) izlenmekte (x40 HE).



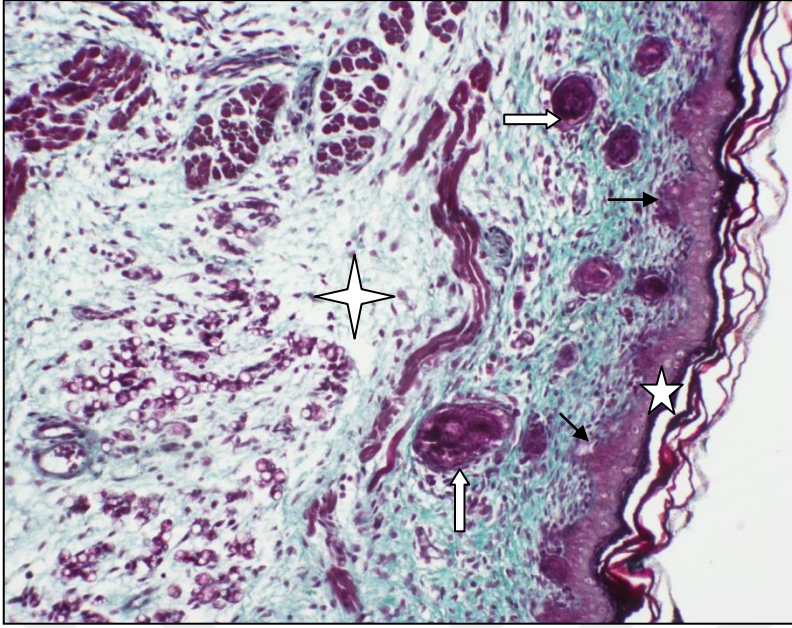
Resim 4.34. F4 Grubu postnatalinin ilk günündeki sıçan derisinde stratum korneum (☆), papilla (→), dermis (☆) ve epidermis (→) görülmekte (x20 HE).



Resim 4.35. F1 grubu 14 günlük fetal sıçan kıl follikülleri (⇨), dermis (☆) ve epidermis (→) görülmekte (x20 Masson Trikrom).



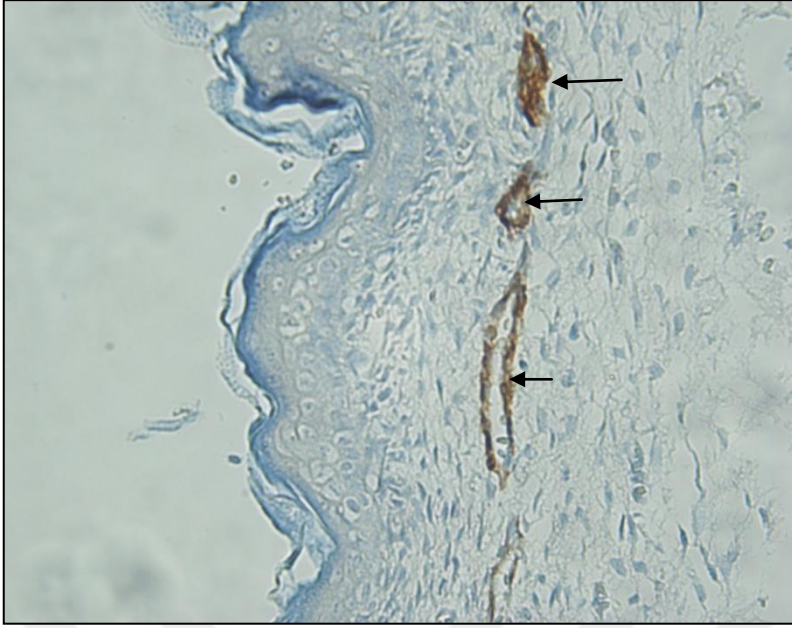
Resim 4.36. F2 grubu 17 günlük fetal rat derisinde kıl follikülleri (⇨), damar (→) izlenmekte (x20 MT).



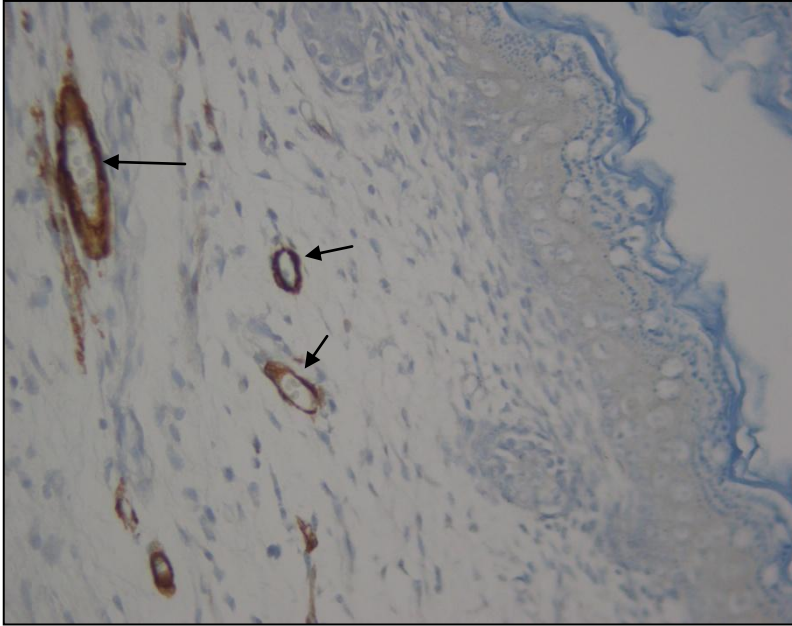
Resim 4.37. F3 grubu 20 günlük fetal sıçan derisinde artmış papilla kıvrımları (→), epidermis (☆), hipodermis (◇) ve kıl follikülleri (⇨) gözlenmekte (x20 MT).



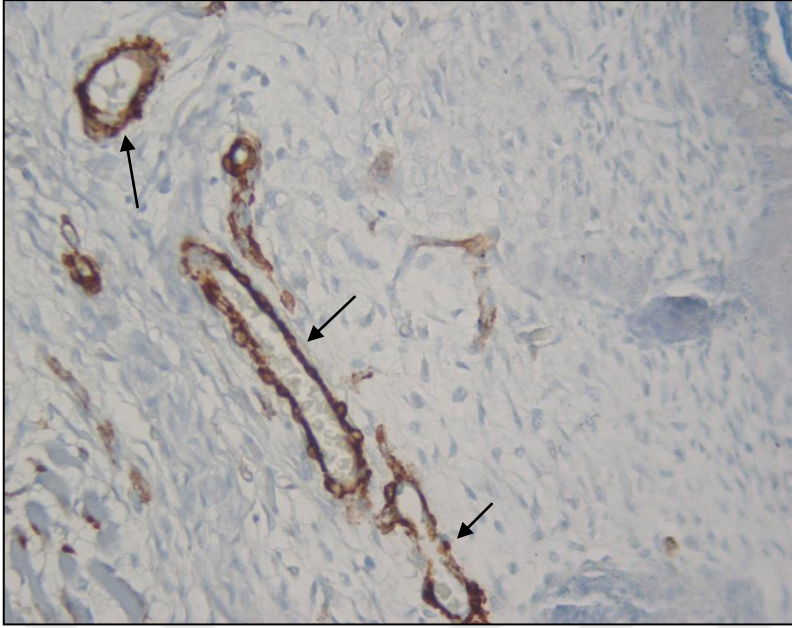
Resim 4.38. F4 grubu postnatalinin ilk günündeki sıçan derisinde artan kıl follikülleri (⇨), papillalar (→), epidermis (◇) ve hipodermis (☆) izlenmekte (x20 MT).



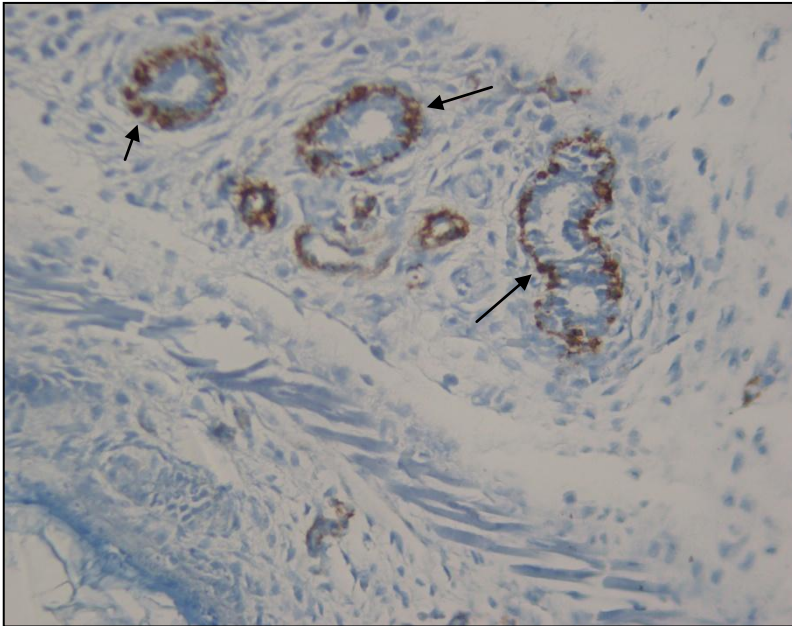
Resim 4.39. F1 grubu 14 günlük fetal sıçan derisinde damar endotelinde aktin pozitif boyanma (→) gözlenmekte (x40 aktin).



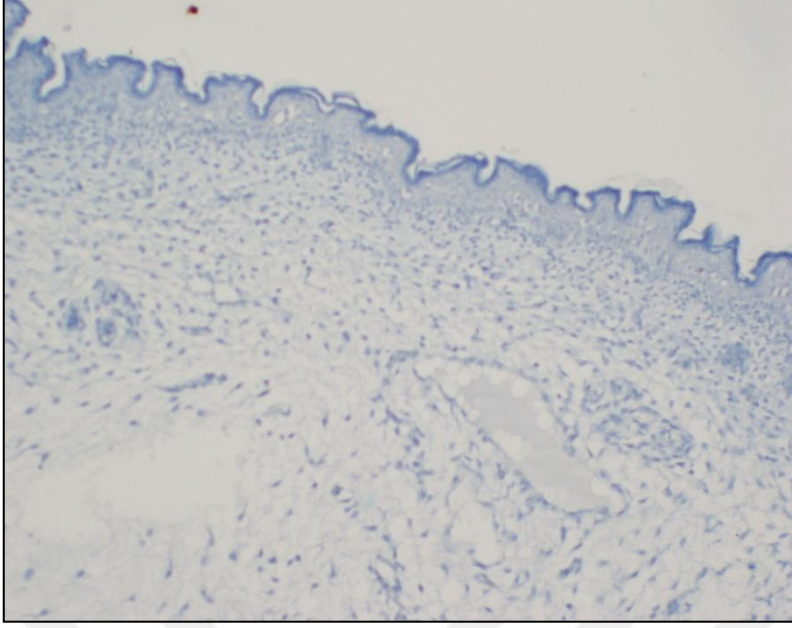
Resim 4.40. F2 grubu 17 günlük fetal sıçan derisinde damar endotelinde aktin pozitif boyanma (→) görülmekte (x40 aktin).



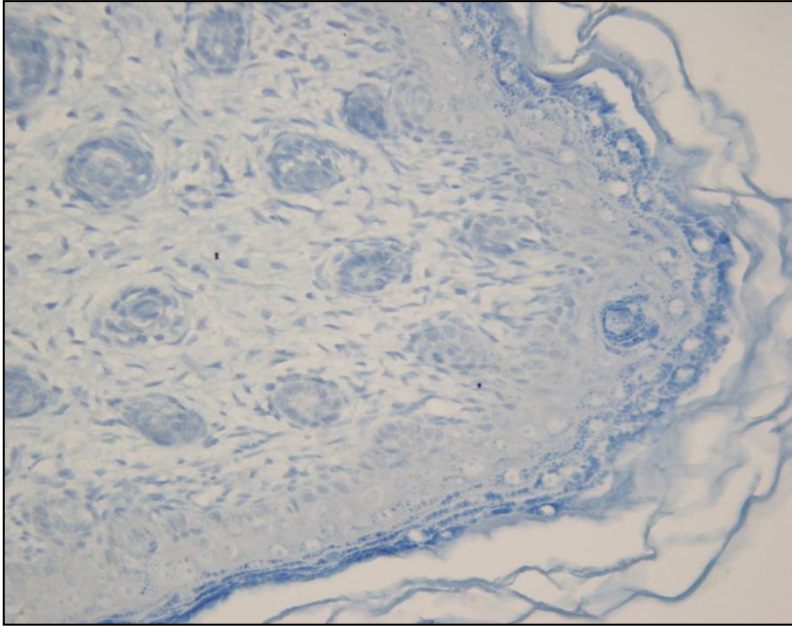
Resim 4.41. F3 grubu 20 günlük fetal sıçan derisinde damar endotelinde aktin pozitif boyanma (→) gözlenmekte (x40 aktin).



Resim 4.42. F4 grubu postnatalinin ilk günündeki sıçan derisinde damar endotelinde aktin pozitif boyanma (→) izlenmekte (x40 aktin).



Resim 4.43. F1 grubu 14 günlük fetal sıçan derisinde CD34 negatif boyanma izlenmekte (x20 CD34).



Resim 4.44. F3 grubu 20 günlük fetal sıçan derisinde CD 34 negatif boyanma görülmekte (x40 CD34).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. Tartışma

Ovaryum tek katlı yassıdan kübik epitele kadar değişkenlik gösteren germinal epitel ile çevrilidir (2). Bu çalışmada gebe olmayan, gebeliğin belirlenen aşamalarındaki ve henüz yeni doğum yapmış anne sıçan ovaryumlarında, ovaryumu dıştan saran germinal epitelde hücrelerin şekli itibarıyla, herhangi bir farklılık yoktur. Germinal epiteller birbirine benzer olarak, tek katlı kübik ve tek katlı yassı epitelden oluşmuştur.

Tunika albuginea epitelin hemen altında bulunan bağ dokusunu çevreleyen bir tabakadır ve bu tabakaya paralel olarak uzanan birçok damar ve kapillerler mevcuttur (2). Nitekim bu çalışmada da tüm gruplarda, tunika albuginea tabakasında bağ dokusu ve damarlar bulunmaktadır. Bu yapılar tüm preparatlarda benzer özelliktedir, hiçbir fark yoktur.

Over follikülü, oosit büyümesi ve olgunlaşması için gerekli ortamı sağlayan memeli ovaryumlarının yapısal ve işlevsel birimidir (84). Ovaryum follikülleri CO₂ ve diğer metabolitlerin elimine edilmesi ve oksijen, gıda ve hormonlar için uygun kan desteğine ihtiyaç duyar (43). Oosit büyümesi, follikül büyümesi, ovulasyon, korpus luteumun gelişmesi için bu desteğe ihtiyaç vardır. Yeterli vasküler ağın olması, gelişen follikülün seçimi ve olgunlaşmasında belirleyici bir adımdır (85). Vasküler destek folliküler büyümenin sonraki evrelerinde ovulasyona uğrayacak dominant follikülün seçilmesinde ve olgunlaşmasında önemli bir rol oynar (86). Bu bilgilere paralel olarak yapılan çalışmada, ovaryumun birçok bölgesinde ve özellikle medullada arterioller, venüller, kapiller ve yoğun damar ağı tespit edilmiştir. Gebe olmayan, 14 günlük gebe ve 17 günlük gebe sıçan ovaryum medullalarında yoğun damar ağı görülürken, 20 günlük gebe ve yeni doğum yapmış anne sıçan ovaryum medullalarında anjiyogenezin belirgin olarak azaldığı fark edilmiştir. Bunun sebebi; gebe olmayan, 14 günlük gebe ve 17 günlük gebe sıçanlarda folliküllerin ve korpus luteumların daha fazla damarlanma gösterirken, 20 günlük gebe ve yeni doğum yapmış anne sıçanlarda follikül ve korpus luteumların gerilemesi olabilir. Gerilemeden dolayı, bu dokuların besin, oksijen ihtiyacı azalır ve bu da anjiyogenezi baskılayabilir.

Suzuki ve ark. CD34 boyamasıyla yaptıkları anjiyogenez çalışmasında, ovaryumdaki anjiyogenezin, folliküler atrezi ve luteal regresyon işlevine ek olarak follikülogenez ve luteal büyüme dönemleri için gereklilik olduğu sonucuna varmışlardır (87). Kapiller ağ, damarsız granüloza hücrelerinden özel bir bazal membranla ayrılan folliküller tek katmanda gelişir (109). Folliküler büyüme sırasında, gelişen follikül, teka eksterna tabakası içinde bir kompleks vasküler ağ geliştirir. Temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), bir anjiyogenik promotordur, follikül gelişimi ve korpus luteum oluşumunda gerekli olduğu kabul edilmiştir (53). Bununla birlikte, Yamamoto ve ark., vasküler endotel hücrelerinin çoğalması ve temel fibroblast büyüme faktörünün immün lokalizasyonu arasında bir ilişki bulamamışlardır (50). Bu araştırmacılar, temel fibroblast büyüme faktörünün, anjiyogenezin minimal olduğu atretik folliküllerdeki teka lutein hücrelerinde yoğun olduğunu göstermişlerdir (50, 56).

Kılcal damarların dejenerasyonu, endotel hücrelerinin programlı hücre ölümü ile bağlantılıdır ve ovaryum follikülleri atreziye geçince maksimumdur. Buna ek olarak, daha önceki çalışmalar, sığır folliküllerinde atrezinin oosit yerine folliküler duvarda başladığını ve erken atretik folliküllerde, teka internada kılcal damarlarda tutarlı bir azalmanın olduğunu göstermektedir (88). Yapılan çalışmaya göre, gebe sıçan ovaryumlarında çeşitli aşamalardaki atretik folliküllerde damarlanma açısından bir takım farklılıklar vardır. Primordiyal ve erken primer folliküllerin kendi damar ağı yoktur ve çevresindeki stromal damarlarla beslenir. Folliküller büyüdükçe teka tabakalarındaki vaskülogenez başlar. Kendi damar ağına sahip olurlar. Ancak bu folliküller atretik olduğu için sınırlı anjiyogenez gerçekleşir ve ovulasyona uğrayacak bir follikül kadar çok damar ağına sahip olamazlar.

Ovaryum folliküllerindeki fizyolojik anjiyogenez, memelilerin üremesi için temel bir gereksinimdir. Vasküler gelişimin baskılanması, östrus siklusunda ve gebelikte yetersizliklere sebep olur (65). Aktif anjiyogenez, büyük folliküllerde daha belirgindir (89, 90). Ovaryum folliküllerinin mikrovasküler yapısı follikülogenez, ovulasyon ve ovaryum hormon üretiminde önemli rol oynamaktadır (91). Follikül büyümesi, kılcal damar ağının geliştirilmesini ve süratle genişleyen follikülü beslemek için anjiyogenezin sürdürülmesini gerektirir (92). Damarların, erişkin ovaryum folliküllerinin popülasyonu arasında eşit olarak dağılmadığı bilinmektedir, çünkü sadece folliküler aşamalardaki teka hücre tabakalarının damarları vardır (93). Yeterli bir

damarsal ağın elde edilmesi, muhtemelen, ovulasyona yönelik dominant follikülün seçilmesi ve olgunlaşması için sınırlayıcı ve belirleyici bir adımdır (94). Ovulasyon öncesi dominant follikül zengin bir damar ağına sahiptir (92). Follikül gelişiminin çeşitli evrelerinde tunika intima ve granüloza hücrelerinde, toplam follikül dokusunda VEGF ve mRNA ekspresyonu artar. Ovulasyon öncesinde granüloza hücreleri ve teka interna hücrelerinde VEGF'nin arttığı gösterilmiştir. Berisha ve ark.'nın araştırmalarına göre, ovulasyon öncesi folliküllerin büyümesine paralel olarak VEGF, FGF, ANPT, HIF gibi anjiyogenik faktörlerin arttığı gözlenmiştir. Dolayısıyla anjiyogenez artmıştır (65). Bu çalışmada gebe sıçanlardaki anjiyogenez incelendiği için sadece değişik gelişim aşamalarında baskılanmış folliküller ve bunların çevresindeki sınırlı anjiyogenez mevcuttur. Kontrol grubunda ise dominant follikül teka tabakasında ve stromasında, atretik folliküllere göre daha belirgin aktin pozitif alanları vardı ve dominant follikül ovulasyona yaklaştıkça teka tabakasındaki anjiyogenezin arttığı görüldü.

Östrüs döngüsünün folliküler fazındaki dominant folliküller, zengin bir kapiller yapıya sahiptir. Östrüs siklüsünün folliküler fazındaki dominant olmayan folliküller ve luteal fazdaki dominant folliküller, çok sayıda büyük damarsız alan ve iç katmanda az sayıda kapiller içerir. Orta boyutlu folliküllerde, küçük folliküllere kıyasla teka tabakasında önemli derecede daha fazla damar bulunur. Östrüs siklüsünün folliküler fazındaki dominant folliküllerin, östradiol progesteron oranlarının artmasıyla, aktif anjiyogenez ile iyi gelişmiş kapillerleri artmıştır. Östradiol progesteron oranlarının belirgin olarak düşük olduğu orta ve büyük folliküllerde (atretik folliküller) ise kılcal damar daha seyrek (42). Bu çalışmada kontrol grubunda, çok katlı primer folliküllerinin teka tabakalarında çok az kılcal damar varken, sekonder ve tersiyer folliküllerde aktif anjiyogenez ile birlikte daha fazla kapiller vardı. Östrüs siklüsünün folliküler fazındaki dominant folliküller, östrojen progesteron oranının artmasının etkisiyle, tersiyer follikülde aktif anjiyogenez ile birlikte yoğun kapiller ağ içermektedir. Ancak östradiol progesteron oranının düşük olduğu çeşitli gebelik dönemlerindeki büyük folliküllerde daha zayıf kapiller ağ bulunmaktadır.

Sığır ovaryumunda folliküler büyüme sırasında aktif anjiyogenezin arttığı bildirilmiştir (42). Isobe ve ark. tarafından yapılan, sığır ovaryum folliküllerinin mikrovasküler ağı üzerine yapılmış bir araştırmada, vonWillebrand faktörü (vWF) pozitif alanlarının, aynı

folliküllerde ve folliküllerin dominant veya atretik oluşuna göre bölgeden bölgeye farklılık gösterdiği ortaya konulmuştur. Teka internasında, vWF-pozitif alan büyük atretik folliküllerde küçük atretik folliküllere kıyasla belirgin şekilde daha yüksekti. Bu bulgular, gelişmekte olan folliküllerin farklı yerlerinde anjiyogenik faktörlerin salgılanması, dağılımı ve etkisinin farklı olduğunu göstermektedir. Bu veriler, yapılan çalışmadaki gözlemlerle uyumludur; apoptoz, ilk önce iç ve dıştaki kılcal damarlarda belirgindir ve vWF pozitif bölgeler, dominant folliküllerde teka internanın dış tabakasında daha belirgindir (95).

Pasif primordial folliküller ve yavaş büyüyen preantral folliküller kendi damarlarına sahip olmadıkları için, etraflarını saran stromadaki damarlarla desteklenirler (93). Nitekim bu çalışmada da, primordiyal folliküllerin stromal çevrelerinde damarlara rastlanmıştır. Ancak bu küçük folliküllerin kendi damarları henüz oluşmamıştır.

Teka tabakasındaki vasküler yapılanma muhtemelen granüloza hücrelerinde üretilen parakrin anjiyogenik faktörlerle düzenlenir. Seviyeleri folliküler büyümeye göre artan Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF), antral follikül gelişiminin erken safhalarında ilkel bir kılcal damar ağ oluşumunu indükleyebilir. Dahası, anjiyogenezin düzenlenmesi, diğer büyüme faktörleri arasındaki etkileşime bağlıdır; bazıları büyümeyi teşvik ederken diğerleri, daha kompleks vasküler yapılarda endotel hücrelerin yeniden düzenlenmesine aracılık eder. Elde edilen veriler, preantral follikül büyümesi sırasında, tek bir kılcal ağın organizasyonunun, folliküler vasküler yeniden modellemeyi uyarmak ve yönlendirmek için VEGFA'nın lokal sentezini gerektirdiğini doğrulamaktadır. Ek olarak, antrum oluşumunun hemen öncesinde folliküler yapıda yüksek seviyelerde VEGFA tespit edilmiştir (96).

Kılcal damar ağının dejenerasyonu, folliküler hücreler için metabolik ihtiyacın kesilmesi yoluyla folliküler atreziye neden olur. Ek olarak, antral folliküllerin etrafındaki vasküler yoğunluğun artması atrezinin önlenmesine katkıda bulunur (97). Reynolds ve ark. yapmış oldukları çalışmada, atretik folliküller ve teka hücreleri içerisinde vasküler endotelyal büyüme faktörünü negatif olarak bulmuşlardır (50, 51). Kapiller ağın dejenerasyonunun, folliküler atreziye sebep olduğu ifade edilmiştir. İlave olarak antral folliküllerde vasküler yoğunluğun artması atrezinin engellenmesine katkıda bulunur (97). Yapılan çalışmada kontrol grubuna kıyasla, gebelik

dönemlerindeki atretik folliküllerde vaskülogenezin daha az olduğunu belirlendi. Nadir rastlanan dominant bir antral follikülde, atretik folliküllere kıyasla aktin pozitif alanlar belirgindi. Özellikle 14 ve 17 günlük gebe ovaryumlarındaki atretik folliküllerin teka tabakalarındaki damar ağı daha yoğun iken, 20 günlük gebe ve yeni doğum yapmış sıçan ovaryumlarındaki follikül ve korpus luteumlarda anjiyogenezin baskılandığı dikkat çekmiştir.

Son yıllardaki araştırmalar, VEGF ve FGF'nin, ovaryumda vasküler gelişmeden sorumlu önemli anjiyogenik faktörler olduğuna işaret etmektedir. Bu nedenle, bu faktörlerin salgılanması, regülasyonu ve topografik ifadesi üzerine yapılacak daha ileri çalışmalar, over folliküler gelişiminde ve atrezide anjiyogenezin rolüne ilişkin önemli bilgiler sağlayacaktır (26, 56, 98, 99, 100, 101).

Kadınlardaki reproduktif performansın yükseltilmesi için anjiyogenezin iyi anlaşılması gerekmektedir. Son yıllarda anjiyogenez çalışmaları yoğunluk kazanmıştır (102). İlave olarak insan ve hayvanlarda ovaryum ve dişi genital kanallarında anjiyogenez çalışılmaktadır (103).

Martelli ve ark. yaptıkları çalışmada, domuz ovaryum folliküllerindeki kan damarlarını incelemiştir. Araştırmalarında aktin (SMA-Smooth Muscle Actin) immünohistokimyasal boyama yöntemini kullanmışlardır ve farklı aşamadaki birçok follikülün teka tabakasındaki damarların belirginleştiğini gözlemlemiştir (81). Alfa düz kas aktin (SMA) immüno lokalizasyonu; anjiyogenez çalışmalarında veya çeşitli türlerde ovaryum neoplazmalarını karakterize eden çalışmalarda, damar hiyerarşisinin oluşturulması için bir işaretleyici olarak sıklıkla kullanılmıştır. Ruth ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada, şimdiye kadarki mevcut verileri tamamlamak için, sığır ovaryumunu alfa-SMA immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Ovaryum stroması ve follikül çevrelerinin belirgin bir alfa-SMA reaktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (82). Jovanovic ve ark. yapmış oldukları çalışmada SMA immünohistokimyasal yöntemini kullanarak, ovaryum folliküllerinin çevresinde SMA pozitif alanlar gözlemlemiştir (83). Aktin ile boyanan bu çalışmada, literatür ile uyumlu SMA pozitif alanlar tespit edildi.

Ayrıca, folliküllerin mikrovasküler mimarisi; kemirgenlerde, domuzlarda, sığırlarda, atlarda, ineklerde ve koyunlarda çalışılmıştır. Bununla birlikte, literatürlerde ovaryumda mikrovasküler büyüme ve dejenerasyonların nasıl olduğu hakkında karanlık noktalar vardır (90, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112).

Vücudu çepeçevre saran ve çevre ile yakın ilişkili olan deri: epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç tabakadan oluşur (113). Dermis, epidermisi destekleyen ve bunun altındaki komşu subkutan dokuya (hipodermis) bağlayan bağ dokusundan meydana gelir. Dermisin kalınlığı bulunduğu bölgeye bağlı olarak değişkenlik gösterir (11). Literatürlerde dermis kalınlığının fetal dönemden erişkinlik dönemine kadar arttığını, yaşlılık döneminde ise dermis tabakası kalınlığının azaldığı belirtilmiştir (114, 115, 116). Yapılan çalışmada 14, 17 ve 20 günlük fetal ve yeni doğan sıçan derileri incelendiğinde gün ilerledikçe; dermis daha da kalınlaşmıştır. Özellikle yeni doğan sıçan derisinin 20 günlük fetal dermisi ile karşılaştırıldığında, bu kısa sürede dermisin dikkat çekici bir hızla diğer gruplara göre daha fazla kalınlaştığı görülmüştür. Bu sonuçlara dayanarak, deri gelişiminin doğumun son günlerinde daha da hızlı ilerlemekte olduğu söylenebilir.

Dermis yüzeyi oldukça düzensizdir. Epidermal çıkıntılar oluşurken, dermis epidermisin içine doğru ilerleyerek, epidermal çıkıntılarla iç içe geçmiş olan dermal çıkıntıları (dermal papilla) oluşturur (117, 118). Ayrıca epidermal ileti, gelişmekte olan folliküler epitelden mezenşimal hücrelerin bulunduğu yere geçerek dermal papillayı oluşturduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, embriyonik follikül gelişiminde dermal papilla kökeni, hücre farklılaşmasının mekanizması ve zamanlaması henüz tam olarak bilinmemektedir. Bunun bir nedeni, dermal papilla hücrelerinin kesin göstergelerinin belirlenememiş olmasıdır (119). Dermal papillanın oluşumunun, en azından iki ardışık işlemi içerdiğini, yani follikül indükleyen hücrelerin mezenkimal hücrelerden ayrıldığını ve dermal papilla oluşturmaya için bir araya geldiğini göstermektedir (120). Martin çalışmasında, papillaların prenatal geç dönemde gelişmeye başladığını belirtmiştir (121). Bu çalışmada 14 günlük fetal sıçan derisinde dermis-epidermis sınırındaki papillalar yapı düz olarak izlenmiştir. 17 günlük embriyo derilerinde papillalarda dalgalanmalar çok hafif olarak başladığı görülmüş ve nadir bölgelerde rastlanmıştır. 20 günlük hayvanlarda papillalardaki dalgalanmalar biraz daha belirginleşmiştir. Yeni doğan sıçanlarda dermal papillalar fetal dönemdeki örneklerle

göre oldukça belirgin dalgalanmalar sergilemekteydi. Ancak erişkin dermal papillası gibi çok dalgalı şeklini almamıştı. Dolayısıyla dermal papillanın postnatal dönemde de gelişimini devam ettirdiği anlaşılmaktadır.

Kıl follikülleri, epitel-mezenkimal etkileşimlerle oluşun memelilere özgü deri ekleridir (122). Kıl kökü, iç ve dış kök kılıfları, bazal membran, dermal kılıf, dermal papilla, yağ bezi ve kas gibi dokular tarafından desteklenmektedir. Kıllar, gelişme, işlevler ve bakım için bu destekleyici dokulara bağımlıdır. Kas dışı aktin ve miyozin kıl follikülünün dış kök kılıfında bolca bulunmaktadır. Yenidoğan döneminde kıl folliküllerine bağı kasların oluştuğu ve doğumdan sonra ileriki günlerde tamamlandığı görülmüştür (123) Mezenşimden üretilen papilla, kıl üretiminde önemli bir rol oynamaktadır (122). Kıl follikülü indükleyen hücreler kıl kökü oluşumundan önce farklılaşır. Literatürlere bakıldığında 13 günlük fetal sıçan derisinde kıl folliküllerine rastlanmamıştır. Ancak 14 günlük veya daha ileri safhalardaki fetal sıçanlarda follikül epiteli kıl üretebilir. Buna dayanarak, follikülü indükleyici yeteneğe sahip mezenşimal hücrelerin, deride en az 14 gün kalması gerektiği sonucuna varmışlardır (120). Prenatal 14. günde mezenşimal hücreler ilk kıl tomurcuğun altında kümelenmişlerdir. Literatürlere bakıldığında follikül üreten hücrelerin 14 günlük mezenşimal dokuda mevcut olduğu, fakat 13 günlük dokuda olmadığı bildirilmiştir (120). Gato ve arkadaşları, geçici beta-katenin stabilizasyonunun, uzun süren epidermal sinyalin kıl gelişimine yol açan çok önemli bir faktör olabileceğini ileri sürmüşlerdir (124). Ayrıca Shimizu ve arkadaşlarının araştırmalarına göre, 16 günlük fetal sıçan derisinde mezenşimal hücrelerin 14 günlük fetal sıçanın derisine göre daha fazla kıl follikülü indükleyebildiği gösterilmiştir (125). Bu çalışmada farklı fetal evrelerdeki sıçanların kıl folliküllerinin etkinliği incelenmiştir. 14 günlük fetal sıçan derisinde mezenşimal hücrelerin yardımıyla kıl folliküllerinin oluşmaya başladığı görülmüştür. 17 günlük örneklerde kıl folliküllerinin sayılarının 14 günlük örneklerle göre ortalama olarak yaklaşık 2 katına çıktığı ve follikül çaplarının arttığı dikkat çekmiştir. 20 günlük fetal sıçanlarda 17 günlük fetal sıçanlara göre follikül sayılarında artış ve follikül çaplarında belirgin bir genişleme görülmüştür. Ayrıca folliküllerin, kıllarını deri dışına çıkarmak üzere epidermise doğru uzadığı fark edilmiştir. Henüz yeni doğan sıçan derilerinde kıl folliküllerinin sayıca çok daha fazla arttığı ve follikül çaplarının daha da genişlediği görülmüştür. Ayrıca folliküllerin çoğunun epidermise doğru uzadığı ve birkaç kılın deri dışına çıktığı görülmüştür.

Literatürlere bakıldığında, prenatal dönemdeki sıçanlarda ve yeni doğan sıçanlarda ter bezi görülmemiştir (126). Bu çalışmada da, 14, 17, 20 günlük fetal ve postnatalin ilk günündeki sıçanların hiçbirinde ter bezi henüz oluşmamıştır.

Temelli çalışmasında, prenatal dönemde kalın epidermis öncüsü izlerken, postnatal yeni doğanda ince ve erişkinde oldukça ince epidermis olduğunu vurgulamıştır (127). Nitekim bu çalışmada da 14, 17 ve 20 günlük fetal sıçan derileri incelendiğinde epidermis kalınlığı gün ilerledikçe artmaktaydı. Ancak yeni doğan sıçan derisi incelendiğinde epidermiste, 20 günlük fetal sıçan epidermisine göre belirgin bir incelme fark edilmiştir.

Dermisdeki kan damarları, mezenşimden farklılaşmış endotel ile döşeli basit yapılar olarak başlar. Deri geliştikçe yeni kılcıl damarlar, anjiyogenez ile ortaya çıkar. Çevre mezenşimde bulunan ve gelişmekte olan miyoblastların farklılaşması ile bazı kılcıl damarlar, müsküler örtü edinerek arteriol ve arterlere dönüşür. Diğer kılcıl damarlar ise, geri dönen kan akımı oluşumu süresince müsküler örtü edinerek, venül ve venlere dönüşür. Yeni kan damarları oluşurken, bazı geçici damarlar kendiliğinden ortadan kalkar (113). Yapılan çalışmada, 14, 17 ve 20 günlük fetal derileri incelendiğinde gün ilerledikçe, dermisteki damar sayılarının arttığı gözlenmekteydi. Dolayısıyla bu gözlem fetal sıçan derisinde ilerleyen günlerde anjiyogenezin arttığına işaret eder. Bunun sebebi gelişen dermisin içerisindeki yapıların oluşması ve ilerlemesiyle dokuların beslenme ihtiyacının artması olabilir. Bu ihtiyaç için en temel gereklilik anjiyogenez ile damarların artmasıdır. Kapiller ne kadar fazla dokuya nüfuz ederse gelişim o kadar hızlanacaktır. Ancak yeni doğan sıçan derisinde, 20 günlük fetal sıçan derisine göre birimkareye düşen damarların azaldığı görüldü. Bunun sebebinin yeni doğan fetal sıçan derisindeki kalınlaşmanın kısa sürede hızla artmasıyla hacmini genişletmesi olabilir. Bu sayede, damarlar birbirinden uzaklaşmakta ve birimkareye düşen damar sayısı azalmakta olabilir. Epidermisin incelmesi de bu azalmayı sağlamış olabilir.

5.2. Sonuç

Yapılan bu çalışmada, gebe olmayan 14 günlük gebe ve 17 günlük gebe sıçan ovaryumunda genel olarak, 20 günlük gebe ve yeni doğum yapmış anne ovaryumuna göre, medulla ve folliküllerde damar ağı daha yoğundu. 20 günlük gebe ve doğumunun ilk günündeki sıçan ovaryumunda diğer gruplara göre atretik tersiyer folliküllerde damarlanmanın azaldığı görüldü. Ovaryumda gelişen folliküller, medulla ve tunika albugineada, anjiyogenezin deneysel ve klinik olarak ileri çalışmaların yapılması anjiyogenezin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacak ve iyi bir nümune oluşturacaktır.

Fetal sıçan derisi incelendiğinde doğuma yaklaşıldıkça damar sayısında, follikül sayısında, dermis ve epidermis kalınlığında artış gözlemlendi. Ancak postnatalin ilk günündeki epidermiste 20 günlük fetal epidermise göre belirgin bir incelmeye görüldü. Dermiste hızlı bir kalınlaşma görülürken, dermisdeki birimkareye düşen damar sayısında azalma gözlemlendi. Elde edilen bulgular ve bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde deri gelişiminin prenatal dönemde tamamlanmadığı ve postnatal dönemde de gelişmeye devam ederek erişkin derisine benzer özellik kazandığı anlaşılmıştır. Bu araştırma, dermisin anjiyogenez çalışmaları açısından iyi bir örnek olarak kullanılabileceğini gösterdi.

KAYNAKLAR

1. Demirel HA, Koşar NŞ. İnsan Anatomisi ve Kineziyoloji. Nobel, Ankara: 2006: s.68-69.
2. Abraham L, Kierszenbaum MD. PhD Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Demir R (Çeviri Editörü). Ankara, Palme Yayıncılık: 2007: s.299-317, 567-572.
3. Aktümsek A. Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi. Ankara, Nobel Yayın Dağıtım, 2015: s.444-446.
4. Greep RO, Weiss L. Histology 4th Edition. McGraw-Hill Inc, 1977: p.495-498, 761-784.
5. Tress LL, Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology 4th Edition. St.Louis, Missouri: Mosby, Inc. 2015: p.339-354, 635-641.
6. Tamer D, Sancak B, Akşit D, Cumhuri M, İlgi S, Başar R, Taşçıoğlu B, Yener N, Önderoğlu S, Tuncel M, Çelik H, Durgun B, Atasever A, Sargon M, Sürücü S, Zağyapan R, Erbil M, Aldur M, Denk C, Özkul E, Bayramoğlu A, Demiryürek D. Temel Anatomi. Metu Press, 2001: s.281.
7. Arıncı K, Elhan A. Anatomi 1.cilt. Ankara: Güneş Kitap Evi Lmt, 2016: s.337-339.
8. Karaöz E. Özel Histoloji, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın No:29 Isparta, 2002: s.216-218.
9. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi, Nobel Tıp Kitapevleri, 8. Baskıdan Çeviri. 2017: s.265-266, 440-441.
10. Sadler TW. Langman's Medical Embryology. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2015: p.276-281.
11. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. Editörler: Aytekin Y, Solakoglu S, Nobel, 2017: s.346- 351, 423-436.
12. Pavlina W, Ross M. Histology Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular, Editor: Crystal Taylor Biology 17th ed. William & Wilkins, 2015: 831-837.
13. Ross MH. Histology: A text and Atlas. 4th ed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2010: p.726-742.
14. Andersen LJ, Therkildsen P, Olivarius F, Gniadecka M, Dahlstrom K, Poulsen T, Wolf HC. Epidermal thickness, skin pigmentation and constitutive photosensitivity, Photodermatol, photoimmunol and photomed, Aug, 1997; 13(4): 153-158.
15. Fair T. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. Anim Reprod Sci. 2003; 78(3-4): 203-16.

16. Yüncü M. Histobul, Çukurova Nobel Tıp Kitabevi, 2014: s.188-190.
17. Eroschenko VP. diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations Lippincott. Williams&Wilkins, 2013: p.505-518.
18. Gartner LP, Hiatt JL. Hücre Biyolojisi ve Histoloji, Hürdağ C. (çeviri editörü), 7. Baskı İstanbul kitapevi, 2016: s.243, 250, 330-336.
19. Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2004; 59: 21-6.
20. Paulsen DF. Histology Cell Biology Examination Board Rewiev 4th edution. McGraw-Hill, 2010: p.296.
21. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. (editörler) Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2009: s.400-425.
22. Jain RK, Carmeliet PF. Vessels of Death or life. Scientific American, Inc. 2001; 285(6): 38-45.
23. Pezzella F, Harris AL, Tavassoli M, Gatter KC. Blood vessels and cancer much more than just angiogenesis. Cell Death Discov. 2015; 15064: 1-2.
24. Coffin JD, Poole TJ. Embryonic vascular development: Immunohistochemical identification of the origin and subsequent morphogenesis of the major vessel primordial in quail embryos. Development. 1988; 102: 735-748.
25. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. J Biol Chem. 1992; 267: 10931-10934.
26. Redmer DA, Reynolds LP. Angiogenesis in the ovary. Reviews of Reproduction. 1996:182-192.
27. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. Science. 1987; 233: 442-447.
28. Klagsbrun MA, Damore PA. Regulators of angiogenesis. Annual Review of Physiology. 1991; 53: 217-239.
29. Hyder SM, Stancel GM. Regulation of angiogenic growth factors in the female reproductive tract by estrogens and progestins. Mol Endocrinol. 1999; 13: 806-811.
30. Pepper MS, Mandriota SJ. Regulation of vascular endothelial growth factor receptor-2 (flk-1) expression in endothelial cells. Exp Cell Res. 1998; 241: 414-425.
31. Bussolino F, Mantovani A, Persico G. Molecular mechanisms of blood vessel formation. Trends Biochem Sci. 1997; 22: 251-256.
32. Abulafia O, Sherer DM. Angiogenesis of the ovary. Brooklyn and Bronx, New York. 2000; 182: 240-246.
33. Güllü İ. Anjiojenez ve antianjiojenik tedaviler. XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Non-Hodgkin Lenfoma. 2004: 34-39.

34. Barouch FC, Miller JW. Potential future targets for treating ocular neovascularization. *Ophthalmol Clin N Am.* 2006; 19: 401-409.
35. Zhang SX, Ma JX. Ocular neovascularization: Implication of endogenous angiogenic inhibitors and potential therapy. *Prog Retin Eye Res.* 2007; 26: 1-37.
36. Gupta MK, Qin R. Mechanism and its regulation of tumor-induced angiogenesis. *World J Gastroenterol.* 2003; 9(6): 1144-1155.
37. Ferrara N. Role of VEGF in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001; 280: 1358-66.
38. Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surgical Oncology.* 2004; 87: 95-104.
39. Lecouter J, Lin R, Ferrara N. EG-VEGF: A novel mediator of endocrine-specific angiogenesis, endothelial phenotype, and function. *Ann NY Acad Sci.* 2004; 1014: 50-7.
40. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and independent regulation of angiogenesis *BMB reports.* 2008; 41(4): 278-286.
41. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992; 359: 843-5.
42. Jiang JY, Macchiarelli G, Tsang B, Sato E. Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles. *Reproduction.* 2003; 125: 211-223.
43. Bruno JB, Matos M, Chaves R N, Celestino J, Saraiva M, Lima-Verde I, Araújo V, Figueiredo V. Angiogenic factors and ovarian follicle development. *Anim. Reprod.* 2009; 2: 371-379.
44. Plaks V, Birnberg T, Berkutski T, Shay Sela S, Yashar A, Kalchenko V, Mor G, Keshet E, Dekel N, Neeman M, Jung S. Uterine DCs are crucial for decidua formation during embryo implantation in mice. *J Clin Invest.* 2008; 118(12): 3954-3965.
45. Steiling H, Werner S. Fibroblast growth factors: Key players in epithelial morphogenesis, repair and cytoprotection. *Curr Opin Biotechnol.* 2003; 14: 533-537.
46. Betsholtz C. Biology of platelet-derived growth factors in development. *Birth Defects Res Part C Embryo Today.* 2003; 69: 272-285.
47. Govinden R, Bhoola KD. Genealogy, expression, and cellular function of transforming growth factor-beta. *Pharmacol Ther.* 2003; 98: 257-265.
48. Simons M, Rubanyi GB. *Modern Concepts in Angiogenesis*, Imperial College Press USA, 2007; p.94-95.

49. Tamanini C, De Ambrogi M. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reprod Dom Anim.* 2004; 39: 206-16.
50. Yamamoto S, Konishi Y, Tsuruta Y, Nanbu K, Mandai M, Kuroda H. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) during folliculogenesis and corpus luteum formation in the human ovary. *Gynecol Endocrinol.* 1997; 11: 371-81.
51. Gordon JD, Mesiano S, Zaloudek CJ. Vascular endothelial growth factor localization in human ovary and fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovarian cyst formation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 353-9.
52. Anasti JN, Kalantaridou SN, Kimzey LM, George M, Nelson LM. Human follicle fluid vascular endothelial growth factor concentrations are correlated with luteinization in spontaneously developing follicles. *Hum Reprod.* 1998; 13: 1144-7.
53. Gospodarowicz D, Cheng J, Lui GM, Bohlen P. Corpus luteum angiogenic factor is related to fibroblast growth factor. *Endocrinology.* 1985; 117: 2283-91.
54. Yamamoto S, Konishi I, Nanbu K, Komatsu T, Mandai M, Kuroda H. Immunohistochemical localization of basic fibroblast growth factor (bFGF) during folliculogenesis in the human ovary. *Gynecol Endocrinol.* 1997; 11: 223-30.
55. Nicosia SV, Diaz J, Nicosia RF, Saunders BO, Muro-Cacho C. Cell proliferation and apoptosis during development and aging of the rabbit corpus luteum. *Ann Clin Lab Sci.* 1995; 25: 143-57.
56. Reynolds LP, Killilea SD, Grazul-Bilska AT, Redmer DA. Mitogenic factors of corpora lutea. *Prog Growth Factor Res.* 1994; 5: 159-75.
57. Phillips HS, Hains J, Leung DW, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is expressed in rat corpus luteum. *Endocrinology.* 1990; 127: 965-7.
58. Yan Z, Weich HA, Bernart W, Breckwolt N, Neulen J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) messenger ribonucleic acid (mRNA) expression in luteinized human granulosa cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 77: 1723-5.
59. Yan Z, Neulen J, Raczek S, Weich HA, Grunwald K, Breckwolt M. Vascular endothelial growth factor (VEGF)/vascular permeability factor (VPF) production by luteinized human granulosa cells in vitro; A paracrine signal in corpus luteum formation. *Gynecol Endocrinol.* 1998; 12: 149-53.
60. Klauber N, Rohan RM, Flynn E, Amato RJ. Critical components of the female reproductive pathway are suppressed by the angiogenesis inhibitor AGM-1470. *Nat Med.* 1997; 3: 443-6.

61. Kamat BR, Brown LF, Manseau EJ, Senger DR, Dvorak HF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human granulosa and theca lutein cells. *Am J Pathol.* 1995; 146: 157-65.
62. Ravindranath N, Little-Ihrig L, Phillips HS, Ferrara N, Zeleznik AJ. Vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid expression in the primary ovary. *Endocrinology.* 1992; 131: 254-60.
63. Neulen J, Raczek S, Pogorzelski M, Grunwald K, Yeo TK, Dvorak HF. Secretion of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor from human luteinized granulosa cells is human chorion gonadotrophic dependent. *Mol Hum Reprod.* 1998; 4: 203-206.
64. Neulen J, Yan Z, Raczek S, Weindel K, Keck C, Weich HA. Human chorionic gonadotropin-dependent expression of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in human granulosa cells: Importance in ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995; 80: 1967-1971.
65. Berisha B, Schams D, Rodler D, Pfaffl MW. Angiogenesis in the ovary the most important regulatory event for follicle and corpus luteum development and function in cow. *Anatomia Histologia Embryologia.* 2016; 45: 124-130.
66. Akar K. Fizyoloji. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 2000: s.245.
67. Arıncı, K., Elhan A. Anatomi (2. Cilt). Ankara: Güneş Kitabevi, 2016: s.394-398.
68. Sarsılmaz M. Anatomi. Nobel Yayın Dağıtım, 2015: s.94.
69. Yıldırım, M. İnsan Anatomisi. 5. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2001: s.306
70. Fawcett DW, Bloom, A. Textbook of Histology. 11. Edition. WB Saunders Company, Japan. 1994: p.543-578.
71. Chuong CM, Nickoloff BJ, Elias PM, Goldsmith LA, Macher E, Maderson PA, Sundberg JP, Tagami H, Plonka PM, Pedersen TK., Bernard BA, Schröder JM, Dotto P, Chang CH, Williams ML, Feingold KR, King LE, Kligman AM, Rees JL, Christophers E. What is the 'true' function of skin?. *Experi. Derm.* 2002; 11: 159-187.
72. Rijn M, Hendrickson M, Rouse R. CD34 Expression by gastrointestinal tract stromal tumors. *Hum Pathol.* 1994; 25: 766-771.
73. Joensuu H. Gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Annals of Oncology.* 2006; 17: 280-286.
74. Miettinen M, Virolainen M, Sarlomo-Rikala M. Gastrointestinal stromal tumors-value of CD34 antigen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas *Am J Pathol.* 1995; 19(2): 207-216.

75. Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. JCO. 2004; 22: 3813-3825.
76. Cerilli LA, Wick MR. Diagnostic Immunohistochemistry Theranostic and Genomic Applications, 4th Edition Dabbs DJ (ed). Elsevier Saunders, 2002: p.59-112.
77. Miettinen M, Sobin LH, Sarlomo RM. Immunohistochemical spectrum of GISTs at different sites and their differential diagnosis with a reference to CD117(KIT). Mod Pathol. 2000; 13: 1134-1142.
78. Miettinen M, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach: A clinicopathologic, immunohistochemical and molecular genetic study of 44 cases with long-term follow-up and review of the literature. Am J Surg Pathol. 2005; 29: 52-68.
79. Miettinen MM, Rikala M, Kovatich AJ, Lasota J. Calponin and h-caldesmon in soft tissue tumors: Consistent h-caldesmon immunoreactivity in gastrointestinal stromal tumors indicates traits of smooth muscle differentiation. Mod Pathol. 1999; 12(8): 756-762.
80. Goldstein NS, Silverman JF. Immunohistochemistry of the gastrointestinal tract, pancreas, bile ducts, gallbladder and liver. Dabbs DJ (ed). Diagnostic Immunohistochemistry New York, Edinburgh, London, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2002: p.333-406.
81. Martelli A, Palmerini MG, Russo M, Rinaldi C, Bernabo N, Giacinto OD, Berardinelli P, Nottola SA, Macchiarelli G, Barboni B. Blood vessel remodeling in pig ovarian follicles during the periovulatory period: An immunohistochemistry and SEM-corrosion casting study. Reproductive Biology and Endocrinology. 2009; 7: 72.
82. Hirschberg RM, Plendl J, Kaessmeyer S. Alpha smooth muscle actin in the cycling ovary - an immunohistochemical study. Selected articles of the 30th Annual Conference of the German Society for Clinical Microcirculation and Hemorheology. 2012; 50(1-2): 113-29.
83. Jovanovic VP, Sauer CM, Carrie J, Shawber CJ, Gomez R, Wang X, Sauer MV, Jan Kitajewski J, Zimmermann RC. Intraovarian regulation of gonadotropin-independent folliculogenesis depends on notch receptor signaling pathways not involving Delta-like ligand 4 (Dll4). Jovanovic et al. Reproductive Biology and Endocrinology. 2013; 11: 43.
84. Telfer EE. The development of methods for isolation and culture of preantral follicles from bovine and porcine ovaries. Theriogenology. 1996; 45:101-110.

85. Fraser HM, Lunn SF. Angiogenesis and its control in the female reproductive system. *Br Med Bull.* 2000; 56: 787-797.
86. Augustin HG, Braun K, Telemenakis I, Modlich U, Kuhn W. Ovarian angiogenesis. Phenotypic characterization of endothelial cells in a physiological model of blood vessel growth and regression. *American Journal of Pathology.* 1995; 147(2): 339-351.
87. Suzuki T, Sasano H, Takaya R, Fukaya T, Yajima A, Nagura H. Cyclic changes of vasculature and vascular phenotypes in normal human ovaries. *Hum Reproduction.* 1998; 13: 953-9.
88. Marion GB, Gier HT, Choudary JB. Micromorphology of the bovine ovarian follicular system *Journal of Animal Science.* 1968; 27: 451-465.
89. Robinson RS, Woad KJ, Hammond AJ, Laird M, Hunter MG, Mann GE. Angiogenesis and vascular function in the ovary. *Reproduction and Fertility.* 2009; 138(6): 869-881.
90. Macchiarelli G, Nottola SA, Vizza E, Kikuta A, Murakami T, Motta PM. Ovarian microvasculature in normal and hCG stimulated rabbits. A study of vascular corrosion casts with particular regard to the interstitium. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology.* 1991; 23: 391-395.
91. Yamada O, Abe M, Takehana K, Iwasa K, Hiraga T, Hiratsuka T. Microvasculature of mature bovine follicles and its changes with ovulation. *Journal of Reproduction and Development.* 1994; 40: 307-315.
92. Fraser HM, Duncan WC. Vascular morphogenesis in the primate ovary. *Angiogenesis.* 2005; 8: 101-116.
93. Martelli A, Bernabò N, Berardinelli P, Russo V, Rinaldi C, Di Giacinto O, Mauro A, Barboni B. Vascular supply as a discriminating for pig preantral follicle selection. *Reproduction.* 2009; 137: 45-58.
94. Stefanello JR, Barreta MH, Porciuncula PM, Arruda JN, Oliveira JF, Oliveira MA, Goncalves PB. Effect of angiotensin II with follicle cells and insulin-like growth factor-I or insulin on bovine oocyte maturation and embryo development. *Theriogenology.* 2006; 66: 2068-2076.
95. Isobe N, Kawai H, Yoshimura Y, Nakao T. Changes in the localization of immureactive von willebrand factor in microvascular network of bovine ovarian follicles during atresia. *Animal Science Journal.* 2001; 72: 473-482.
96. Grasselli F, Basini G, Tirelli M, Cavalli V, Bussolati S, Tamanini C. Angiogenic activity of porcine granulosa cells cocultured with endothelial cells in a microcarrier based three-dimensional fibrin gel. *J Physiol Pharmacol.* 2003; 54: 361-370.

97. Macchiarelli G, Nottola SA, Vizza E, Familiari G, Kikuta A, Murakami T, Motta M. Microvasculature of growing and atretic follicles in the rabbit ovary: A sem study of corrosion casts. *Archives of Histology and Cytology*. 1993; 56: 1-12.
98. Reynolds LP, Killilea SD, Redmer DA. Angiogenesis in the female reproductive system *FASEB Journal*. 1992; 6: 886-892.
99. Jiang JY, Umezu M, Sato E. Thyroxine treatment promoted ovarian follicular angiogenesis by regulating gene expression of angiogenic factors in immature hypothyroid rdw rats. *Biology of Reproduction*. 2000; 62(Suppl): 229.
100. Jiang JY, Umezu M, Macchiarelli G, Sato E. Ovarian microvasculature and angiogenic regulation in follicular development and atresia. In *Reproductive Biotechnology*. 2001: 73-80.
101. Shimizu T, Jiang JY, Sasada H, Sato E. Changes of mRNA expression of angiogenic factors and related receptors during follicular development in gilts *Biology of Reproduction*. 2002; 67: 1846-1852.
102. Smith SK. Angiogenesis and reproduction. *Br J Obstet Gynaecol*. 2001; 108: 777-783.
103. Acosta TJ, Hayashi KG, Ohtani M, Miyamoto A. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction*. 2003; 125: 759-767.
104. Jiang JY, Macchiarelli G, Miyabayashi K, Sa1to E. Follicular microvasculature in the porcine ovary. *Cell and Tissue Research*. 2002; 310: 93-101.
105. Kanzaki H, Okamura H, Okuda Y, Takenaka A, Morimoto K, Nishimura T. Scanning electron microscopic study of rabbitovarian follicle microvasculature using resin injection-corrosion casts. *Journal of Anatomy*. 1982; 134: 697-704.
106. Kardon RH, Kessel RG. SEM studies on vascular casts of the rat ovary. *Scanning Electron Microscopy*. 1979; 3: 743-750.
107. Murakami T, Ikebuchi Y, Ohtsuka A, Kikuta A, Taguchi T, Ohtani O. The blood vascular wreath of rat ovarian follicle, with special reference to its changes in ovulation and luteinization: A scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Archives of Histology and Cytology*. 1988; 51: 299-313.
108. Macchiarelli G, Vizza E, Nottola SA, Familiari G, Motta PM. Cellular and microvascular changes of the ovarian follicle during folliculogenesis: A scanning electron microscopic study. *Archives of Histology and Cytology*. 1992; 55 (Suppl): 191-204.

109. Kikuta A, Macchiarelli G, Murakami T. In *Ultrastructure of the Ovary*. Motta PM (ed). Kluwer Academic Publishers, Boston, 1991: p. 239-254.
110. Spaniel BK, Amselgruber W, Sinowatz F. Capillary sprouts in ovaries of immature superstimulated golden hamsters: A sem study of microcorrosion casts. *Anatomy and Embryology* Boston, 1987; 176: 387-391.
111. Murdoch WJ, Cavender JL. Effect of indomethacin on the vascular architecture of preovulatory ovine follicles: Possible implication in the luteinized unruptured follicle syndrome. *Fertility and Sterility*. 1989; 51: 153-155.
112. Kitai H, Yoshimura Y, Wright KH, Santulli R, Wallach EE. Microvasculature of preovulatory follicles: comparison of in situ and in vitro perfused rabbit ovaries following stimulation of ovulation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1985; 152: 889-895.
113. Johnson CL, Holbrook KA. Development of human embryonic and fetal dermal vasculature. *J Invest Dermatol*. 1993; (Suppl):10-17.
114. Smith LT, Holbrook KA, Madri JA. Collagen types I, III, and V in human embryonic and fetal skin. *Am J Anat*. 1986; 175(4): 507-521.
115. Yaar M, Gilchrist BA. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. In: Freedberg MI, Eisen AZ, Wolff K, Austen FK, Goldsmith LA, Katz S (editors). 6th edition, New York, Mc Grawe – Hill Book Company, 2003: p.1386-1398.
116. Freedberg I, Eisen AZ, Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI. Fitzpatrick's Dermatology in general medicine 6th edition, *J Am Acad Dermatol*, 2004: p.325-326.
117. Cormark DH. *Essential Histology* 2nd edition, Philadelphia, JB Lippincott, 1993: p.215-216.
118. Moore SJ, Munger BL. The early ontogeny of the afferent nerves and papillary ridges in human digital glabrous skin. *Dev Brain Res*. 1989; 48(1): 119-141.
119. Kobayashi K, Nishimura E. Ectopic growth of mouse whisker from implanted lengths of plucked vibrissa follicles. *J Invest Dermatol*. 1989; 92: 278-282.
120. Osada A, Kobayashi K. Appearance of hair follicle-inducible mesenchymal cells in the rat embryo. *Develop Growth Differ*. 2000; 42: 19-27.
121. Martin P. Tissue patterning in the developing mouse limb. *Int J Dev Biol*. 1990; 34: 323-336.
122. Hardy M. The secret life of the hair follicle. *Trends Genet*. 1992; 8: 55-61.

123. Morioka K, Arai M, Ihara S. Steady temporary expressions of smooth muscle actin in hair, vibrissa, arrector pili muscle, and other hair appendages of developing rats. *Acta Histochem Cytochem.* 2011; 44 (3): 141-153.
124. Gat U, Gupta R, Degenstein L, Fuchs E. De novo hair follicle morphogenesis and hair tumors in mice expressing a truncated beta-catenin in skin. *Cell.* 1998; 95: 605-614.
125. Shimizu T, Ogata A, Honda A, Nishihira J, Watanabe H, Abe R, Zhao Y, Shimizu H. Expression of macrophage migration inhibitory factor in rat skin during embryonic development. *Experimental Dermatology.* 2005; 14: 819-823.
126. Matoltsy AG. Keratinization. *The Journal of Investigative Dermatology.* 1976; 67: 20-25.
127. Temelli A. Farelerde derinin histolojik ve histokimyasal yapısı ve gelişimi. *İç Hastalıkları Dergisi.* 1998; 2(5): 102-106.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Gaziantep’te doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Gaziantep’te tamamladı. 2009 yılında Gaziantep Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2010 yılında Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Anabilim Dalı Biyoloji Öğretmenliği Tezsiz Yüksek Lisans programını tamamladı. Daha sonra Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı.



EKLER

Ek-1: Etik kurul onay belgesi

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	Fetal Siçan Ovaryumunda Damar Gelişimi
	Başvuru Tarihi	10.04.2013
	Protokol No	16

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Dili
	Başvuru Formu	Türkçe

KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2013/03	Karar No: 2	Tarih: 22.05.2013
	Yrd. Doç. Dr. Ayhan ERALP'in sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.		

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	KSÜ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ

Unvanı /Adı/Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç. Dr. Harun ÇIRALIK Başkan	Tıbbi Patoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	√E □H	√□E □H	
Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN Üye	Tıbbi Biyokimya	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	□E √H	√□E □H	
Doç. Dr. Yusuf ERGÜN Üye	Tıbbi Farmakoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	□E √H	√E □H	
Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK Üye	Fizyoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	√E □H	□E √H	
Yrd. Doç. Dr. Bülent ALTUNOLUK Üye	Üroloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	□E √H	E√□H	ARAŞTIRMACI
Yrd. Doç. Dr. Ali Murat KALENDER Üye	Ortopedi ve Travmatoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	□E √H	E√□H	İZİNLİ
Yrd. Doç. Dr. Akif Hakan KURT Üye	Tıbbi Farmakoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	□E √H	√E □H	KATILMADI
Erdal KÖRÜN Üye	Öğretmen	MEB	□E √H	√□E □H	
Fatih AKGÜL Üye	Eczacı Teknisyeni	Serbest	□E √H	√□E □H	
ŞERH (VARSA)					

*Araştırma ile ilişkili
**Toplantıda bulunma